

(70) 凝集阻害を引き起こす *Microcystis aeruginosa* 由来親水性物質の分離及び特性評価

高荒智子^{1*}・佐野大輔¹・須藤 丈¹・今野弘²・大村達夫¹

¹ 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻 (〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06)

² 東北工業大学工学部建設システム工学科 (〒982-8577 宮城県仙台市太白区八木山香澄町 35-1)

*E-mail: takazawa@water.civil.tohoku.ac.jp

閉鎖性水域における季節的な藻類の大量増殖は浄水処理において様々な障害を引き起こす。藻類障害の一つである凝集阻害については詳細な発生メカニズムが明らかにされていないため、抜本的な解決策が存在しないのが現状である。本研究では、藻類由来の凝集阻害物質として *Microcystis aeruginosa* 由来の親水性物質に着目し、その分画分離及び特性評価を行った。その結果、フェノールを用いた抽出法により水層に溶出される藻類由来有機物 (algogenic organic matter: AOM) は、非常に強い凝集阻害を引き起こすことを確認した。この凝集阻害物質はエタノール沈殿処理により沈殿させることが可能であり、分子量は 10kDa 以上であること、及び中性付近の pH では負に帯電していることを示唆する結果を得た。

Key Words : *Microcystis aeruginosa*; coagulation inhibition; algogenic organic matter; polyaluminum chloride; hydrophilic substances

1. はじめに

水需要の多い都市域ではダム湖などの閉鎖性水域を水道水源としている場合が多く、我が国における上水を目的とした水の約 40% は閉鎖性水域から取水されている¹⁾。しかしながら、これらの水域ではアオコ形成の原因藻類として知られる藍藻類 *Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) や緑藻類 *Dictyosphaerium* などの微細藻類の大量増殖が長年に渡って観測されており、閉鎖性水域を水源とする浄水場では凝集阻害、ろ過閉塞及びトリハロメタンの生成などの様々な藻類障害が発生している²⁾。

中でも凝集阻害は浄水処理システムの根幹を担う凝集プロセスで発生し、原水中に含まれる大量の藻類細胞や藻類由来有機物によって凝集効率が著しく低下することで問題となっている。これまでに浄水処理シス

テムにおける対策として凝集阻害の防止や軽減を目指した効果的な対策は講じられておらず、取水量の制限や薬品注入量の増強といった暫定的な対応が行われているのが現状である。しかしながらこのような対応は、発生汚泥量の増加やろ過池への凝集剤成分の残留などの二次的問題の起因になることから、新たな凝集阻害対策が切望される。

凝集過程の荷電中和反応や加水分解反応の阻害によって発生する凝集阻害は、藻類由来有機物 (algogenic organic matter: AOM) が発生因子として寄与することが報告されている。AOM は、細胞内有機物 (intracellular organic matter: IOM)、細胞表面保持有機物 (surface-retained organic matter: SOM) 及び細胞外有機物 (extracellular organic matter: EOM) に分類することができ²⁾、有機物の分子量や組成の違いが凝集阻害の阻害度に影響すると考えられている。菅原らは、分子量

1 万から 10 万の EOM にはアルミニウムイオンとの錯体形成能が認められ、分子量 10 万以上の AOM についてはフロックに対する保護コロイド形成作用があるとしている³⁾。本研究グループはこれまでの研究において、凝集剤をリガンドに用いたアフィニティークロマトグラフィーを用いることにより、*M. aeruginosa* 由来有機物から凝集阻害を引き起こす水溶性 cellular organic matter (COM : IOM と SOM を含む) を分離することに成功した。特に藻類細胞内に大量に存在するタンパク質は、死滅後に外界に放出されることで凝集阻害に関与しうると考えられた⁴⁾。また水溶性 EOM も凝集阻害能を示したが、EOM 画分にはタンパク質がほとんど含まれておらず、多糖類等の凝集阻害への関与が示唆される結果を得ている⁵⁾。

AOM の中で水溶性の高い有機物は、処理水中に溶解してアルミニウムイオンと錯体を形成したり、フロック等に対して保護コロイドを形成することで凝集阻害に寄与している可能性が高い。しかしながら、実際に凝集阻害誘因物質として機能する藻類由来の親水性有機物が分離、同定された事例は少ない。凝集阻害対策を講じるために必要な詳細な凝集阻害メカニズムを解明するには、凝集阻害に寄与する親水性物質の構造を明らかにし、凝集阻害機構を物理化学的な視点から考察する必要がある。

本研究では *M. aeruginosa* 細胞由来の親水性有機物をフェノール抽出、エタノール沈殿、限外ろ過及びイオン交換を行うことで分画および凝集実験を行うことで、凝集阻害に寄与する親水性有機物の分離を行い、予想される凝集阻害機構について考察した。

2. 実験方法

(1) 藻類の培養

本研究では凝集阻害の主な原因藻類の一種である *M. aeruginosa* (NIES-91) を用いた。培養は 300mL の *M. aeruginosa* 培地 (以下 MA 培地)⁶⁾ を用いて温度 30℃、照度 4000Lux、12 時間明暗の条件のもと、複数本用意した 500mL 三角フラスコ中で無菌状態にて行われた。細胞の増殖は波長 660nm の吸光度 (A_{660}) を分光光度計 (UV-1600, 島津) で測定することでモニタリングされた。そして A_{660} が 0.85 ± 0.05 (定常期初期) に達したフラスコを培養機から随時回収した。回収した培

養液を 50mL 遠心管に分注し、1600 x g、10 分間遠心分離した。上清を捨てペレットとして得られた藻類細胞を凍結乾燥後、-80℃ で保存した。

(2) *M. aeruginosa* 親水性有機物の分画分析

a) *M. aeruginosa* 由来親水性有機物の分離

培養した *M. aeruginosa* から親水性物質を回収するため、phenol/water 抽出⁷⁾を行った。凍結乾燥後に -80℃ で冷凍保存していた藻類細胞を滅菌済み MilliQ 水に懸濁させ、65℃ で 15 分間静置した。この懸濁液に 65℃ に保温した 95% フェノールを等量加え、Vortex で 15 秒間激しく攪拌した。その後、サンプルを 65℃ の条件下で 15 分間激しく攪拌し水中にて 15 分間静置後、遠心分離 (4000 x g, 30 分, 2℃) することで混合液を水層、中間層、フェノール層の三層に分離した。水層の体積の 80% 分を回収し、「フェノール水抽出物 1」とした。一方、MilliQ 水を phenol/water 抽出することで得た水を AOM 対照試料とした。

親水性物質以外の夾雑物を除くため、「フェノール水抽出物 1」に対して滅菌済み MilliQ 水 1mL を加えて 65℃ に温めた後、再び 65℃ に保温した 95% フェノールを加えて上述の操作を行った。このとき得られた水層の水を「フェノール水抽出物 2」とした。また、フェノール水抽出物 2 を同様の操作で再びフェノール抽出を行って得られたサンプルを「フェノール水抽出物 3」とした。得られたサンプルは後続の分画分析操作または凝集実験に使用するまで -20℃ で保存され、使用時に解凍して用いられた。

b) エタノール沈殿処理

a) で得られた「フェノール水抽出物 2」に対し、エタノール沈殿処理を行った。「フェノール水抽出物 2」と等量の 99% エタノールを加えて転倒混和し、15,000 x g、20 分間、4℃ で遠心分離を行った。得られた上清を「エタノール沈殿処理上清」として回収し、-20℃ で冷凍保存した。沈殿物の方は 100 μ L の滅菌済み MilliQ 水に溶解させ、「エタノール沈殿物」として -20℃ で冷凍保存した。

c) 限外ろ過

「エタノール沈殿物」の分子量分画を行うため限外ろ過を行った。まず、限外ろ過フィルターユニット (セントリカットミニ V-10, 倉敷紡績 (株)) を滅菌済み MilliQ 水で十分に洗浄した後、「エタノール沈殿物」を

投入し、遠心分離 (3000g, 30 分, 4°C) を行うことで限外ろ過を行った。得られたろ水を「限外ろ過水」として-20°Cで冷凍保存した。

d)陰イオン交換

「エタノール沈殿物」の陰イオン交換処理は以下の手順で行った。陰イオン交換樹脂 (IRA400J CL, オルガノ (株)) を Brian ら⁸⁾の方法に従い洗浄した後、カラム先端に石英綿を詰めたプラスチックカラムに 5mL 充填した。その後、15mL のバッファー (20mM Tris, pH 8.0) を流すことで樹脂の平衡化を行った。サンプルは、「エタノール沈殿物」1mL に 2mL のバッファーを加え、pH が約 8 になるように調整した。作成したサンプルを約 3mL/min の流速でカラムに添加し、続けてバッファーを 3mL 導入した。カラムで出口で樹脂を通過した水 6mL を回収し、得られたサンプルを「陰イオン交換水」とし、-20°Cで冷凍保存した。

(3)凝集実験

(2)で得られた各試料の存在下で Polyaluminum chloride (PAC)を用いた凝集実験を行った。

a) 原水作成

滅菌した水道水に標準カオリン物質を 20mg/L になるように加え、100g/L NaHCO₃を用いてアルカリ度 50 度に調整し、1M HCl または 1M NaOH を用いて pH=7.00±0.05 に調整した。これを対照原水として凝集実験に使用した。

AOM が含まれる原水は、以下の手順で作成された。まず滅菌済み水道水に、培養液 300mL ($A_{600}=0.85 \pm 0.05$) から回収された *M. aeruginosa* 細胞を各種分析を行うことで得られた AOM を混合し全量 300mL の溶液を作成した (表 1)、標準カオリン物質を 20mg/L になるように加え、100g/L NaHCO₃でアルカリ度 50mg/L にした後に 1M HCl または 1M NaOH を用いて pH=7.00±0.05 に調整した。

b) 凝集実験

全ての凝集実験は 20°Cの恒温室内で行われた。(a)で作成した原水 200mL を 200mL ピーカーに採り、ジャーテスターにセットした後 80rpm, 1 分間の攪拌を行った。その後 PAC を 15mg/L になるように添加し、2 分間の急速攪拌 (80rpm) 及び 15 分間の緩速攪拌 (30rpm) を行った。10 分間の静置後、上澄水 50mL を U 字型ガラス管の付いたピペッターを用いて回収し

分析に用いた。

原水および凝集沈殿操作後の上澄水に対して波長 660nmの吸光度 (A_{660}) を分光光度計により測定し、凝集沈殿操作前後における懸濁物質質量の変化を評価した。

(4)親水性有機物に含まれる核酸成分の確認

「エタノール沈殿物」における核酸成分の有無を調べるため、DNA 分解酵素 (DNase) 及び RNA 分解酵素 (RNase) による酵素処理を行った。

表 1. 凝集実験に用いる原水の組成および TOC

AOMの種類	AOM添加量 (mL)	滅菌水道水 添加量 (mL)	TOC±SD (mg/L)
フェノール水 抽出物1	6	294	857±59
フェノール水 抽出物2	6	294	338±60
フェノール水 抽出物3	6	294	374±68
エタノール沈殿 処理上清	18	282	-
エタノール沈殿 沈殿物	1	299	283±22
限外ろか	1	299	63±22
陰イオン交換水	6	294	166±44

a) DNA 消化

凍結乾燥させた「エタノール沈殿物」に 5μL の 10 × DNase buffer (TaKaRa) および 20μL の DNase I (TaKaRa)を加え、滅菌済み MilliQ 水で全量 50μL にした。37°Cで 6 時間静置後、フェノールクロロホルム処理およびエタノール沈殿を行うことで DNase を除去した。

b) RNA 消化

エタノール沈殿によって得られた沈殿物を 100μL の滅菌 MilliQ 水で溶解し、10mg/mL Ribonuclease A (SIGMA)を 10μL 加えた後、37°Cで 3 時間処理した。消化後、フェノールクロロホルム処理およびエタノール沈殿を行うことで RNase を除去した。

c) 核酸成分の検出

消化処理前後のサンプルについて 1.5%アガロースゲルにて電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色及び紫外線照射により DNA 及び RNA を検出した。

3. 実験結果および考察

(1) フェノール抽出物による凝集阻害

図1に「フェノール水抽出物1~3」の存在下での凝集実験における A_{660} 減少率を示した。カオリンのみを含む対照原水では91.6%の A_{660} 減少率が得られたが、原水に「フェノール水抽出物1」が存在すると A_{660} 減少率は7.5%まで低下しており、*M. aeruginosa* 由来の親水性物質による強い凝集阻害が確認された。AOM 対照原水 (MilliQ 水に対して Phenol/water 法を適用して得たサンプルを添加した原水) では94.2%の A_{660} 減少率を得ているので、「フェノール水抽出物1」における A_{660} 減少率の低下は残留フェノールの影響ではない。フェノール水抽出操作を2回及び3回繰り返したサンプルである「フェノール抽出物2」及び「フェノール抽出物3」を用いた場合には A_{660} 減少率がそれぞれ13.3%及び21.5%に上昇したがその増分は8.2%でわずかであった。抽出回数を増やせば凝集阻害が低減する傾向を示したが、いずれの原水をみても対照原水に比べて凝集効率は顕著に低い値であった。このことから、*M. aeruginosa* 由来親水性物質は明らかに凝集阻害に寄与し、phenol/water 抽出を行うことによって *M. aeruginosa* 細胞から親水性の凝集阻害誘因物質を分離することに成功したことが示される。

本研究で採用した phenol/water 抽出は、グラム陰性細菌のリボ多糖を精製する際の1ステップ目の操作として提案されており⁷⁾、大腸菌を対象とした抽出ではリボ多糖と細菌由来のRNAがほぼ等量存在していると報告されている⁷⁾。同様にグラム陰性細菌に属する *M. aeruginosa* は、リボ多糖を含む細胞表面構造をもっている。したがって *M. aeruginosa* 細胞に対して phenol/water 抽出を行った際に得る抽出物にはリボ多糖や親水性の高いRNA成分が含まれていることが予想でき、凝集実験の結果からこれらの物質が凝集阻害誘因物質として働く可能性が示唆される。

なお、抽出物中の夾雑物を排除し、かつ抽出操作による目的物質の損失を最小限にするため、phenol/water 抽出操作以後に行った分画操作は「フェノール水抽出物2」に対して行った。

(2) エタノール沈殿物による凝集阻害

図2には、「フェノール水抽出物2」に対してエタノール沈殿処理を行うことで得られた「エタノール沈殿

処理上清」と「エタノール沈殿物」を用いた場合の A_{660} 減少率を示した。この操作によって、リボ多糖や核酸などの高分子量物質として存在する親水性物質は脱水効果により沈殿物へ、単糖や夾雑物としての低分子量有機物は上清液へ移行すると思われる。

「エタノール沈殿処理上清」存在下では93.2%の A_{660} 減少率が得られたのに対し、「エタノール沈殿物」存在下では A_{660} 減少率が12.8%となり、凝集効率の大きな違いが見られた。この結果は、フェノール水抽出により得られた凝集阻害誘因物質は、エタノール沈殿処理により沈殿物を形成することを示している。

エタノール沈殿は主にDNAを精製する際に用いられる操作である。今回の場合、フェノール水抽出操作の際にProtease処理は行っていないので、様々なタンパク質が結合した状態で存在しているゲノムDNAは水層に溶出する事が困難な状況であると考えられる。

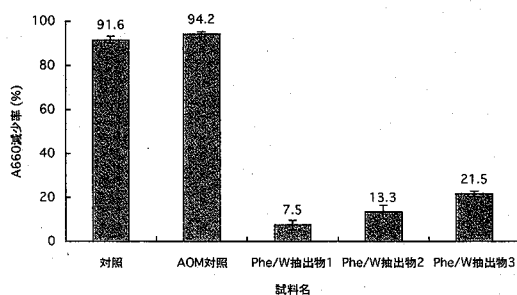


図1. フェノール水抽出物存在下での凝集実験における A_{660} 減少率。エラーバーは標準偏差を示す (N=3)

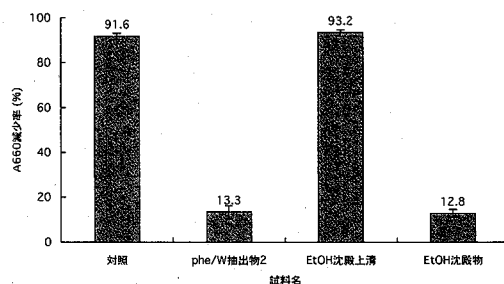


図2. エタノール沈殿処理上清及び沈殿物存在下での凝集実験における A_{660} 減少率。エラーバーは標準偏差を示す (N=3)

したがってエタノール沈殿操作前のサンプルに含まれる主な核酸成分は RNA であると予想される。同様にエタノール沈殿操作前のサンプルに含まれていると考えられたリポ多糖もエタノール沈殿操作で回収可能であるので⁷⁾、図 2 で見られた凝集阻害にはリポ多糖及び RNA の関与が強く疑われると言える。

(3) 限外ろ過及び陰イオン交換により得られたサンプルによる凝集阻害

凝集阻害誘因物質の存在が確認されたエタノール沈殿処理後の沈殿物を MilliQ 水中に溶解し、分画分子量 10kDa の限外ろ過を行った。また、エタノール沈殿処理後の沈殿物に含まれる凝集阻害誘因物質の表面荷電を評価するため、エタノール沈殿後の沈殿物を 20mM Tris バッファー (pH: 8.0) に溶解させ、陰イオン交換樹脂を透過させたサンプルを得た。図 3 には、限外ろ過及び陰イオン交換により得られたサンプルを用いた凝集実験における A_{660} 減少率を示した。「限外ろ過水」に対して凝集実験を行ったところ、 A_{660} 減少率は 80.5% であった。AOM を添加していない対照実験における A_{660} 減少率は 90.8% であるから、「限外ろ過水」に含まれる AOM による凝集阻害は、「フェノール水抽出物」や「エタノール沈殿物」に含まれる AOM によるそれと比べると軽微であると言える。つまり「エタノール沈殿物」中に含まれると考えられた凝集阻害物質は、分子量 10kDa 以上の画分に多く含まれていたと考えられる。

浄水処理システムにおける凝集沈殿は、負電荷間の斥力により分散している懸濁物質を凝集剤によって荷電中和し、さらに凝集剤の加水分解および架橋作用によってフロック化し沈殿除去する反応である。このことから、凝集阻害誘因物質がプラスに帯電する凝集剤成分に作用した結果、凝集効率が低下し凝集阻害が発生すると考えた場合、凝集阻害誘因物質は負に帯電する部位を有するはずである。そこで、エタノール沈殿によって分離された親水性物質を陰イオン交換樹脂に通すことにより、凝集阻害物質として働く親水性物質の表面電荷による分離を行った。

陰イオン樹脂を通過したサンプルである「陰イオン交換水」を用いて凝集実験を行ったところ、 A_{660} 減少率 76.1% を得た。陰イオン交換樹脂通過前のサンプルを用いた場合には A_{660} 減少率が 12.8% であったことを考えると、エタノール沈殿物に含まれていた凝集阻害

物質の多くが陰イオン交換樹脂に吸着して除かれていた、すなわち負に荷電していたと考えられる。「限外ろ過水」存在下の凝集実験結果と合わせると、陰イオン交換時の pH8 において負に帯電している 10kDa 以上の分子量を持つ有機物が、凝集阻害物質として存在していることが推測された。RNA 中に含まれるリン酸基は、pH8 において大部分が HPO_4^{2-} の形態で存在するため、RNA 全体は負に帯電している。また、リポ多糖の糖鎖中に酸性糖が含まれている場合、酸性官能基の脱プロトン化によってリポ多糖が全体的に負の電荷を帯びている可能性も示唆される。

(4) 核酸成分による影響に関する考察

グラム陰性細菌が細胞表面に保持しているリポ多糖は、Phenol/water 抽出により親水性有機物として回収することが可能である⁷⁾。この他に、細胞内に存在する核酸成分が抽出物として共存する⁷⁾。Phenol/water 抽出により抽出された凝集阻害物質を含むと考えられる「エタノール沈殿物」における核酸成分の有無を調べるため、DNase および RNase による消化前後の試料を 1.5% アガロースゲル電気泳動によって分離した (図 4)。酵素による消化前には、700bp および 1000bp 付近に核酸成分の存在を示すバンドが確認された (図 4, 2 レーン)。この「エタノール沈殿物」に対して DNase による消化を行った場合、700bp および 1000bp 付近のバンドはそのまま存在していた (図 4, 3 レーン)。それに対して RNase による消化では、全てのバンドが消失していた (図 4, 4 レーン)。これらの結果は、Phenol/water 法による抽出物には、リポ多糖の他に RNA が存在し

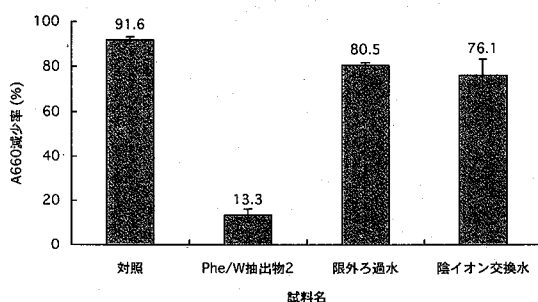


図 3. 限外ろ過水及び陰イオン交換水存在下の凝集実験における A_{660} 減少率。

ていることを示している。凝集実験に用いる原水の pH は中性に調整されているので、核酸成分は分子内に存在するリン酸基 (HPO_4^{2-}) の影響により水中では負に帯電している。また、RNA は通常 1 本鎖で存在しているので、700bp 及び 1000bp 付近に存在していた RNA はそれぞれ約 1400nt 及び 2000nt の塩基長を有していると考えられるが、1 塩基辺りの分子量を 300 として計算すると、これらの分子量は 10 万以上となる。つまり、限外ろ過及び陰イオン交換を用いた分画及び凝集実験で示された凝集阻害物質の特性を RNA は有していると言える。

しかしながら、RNA とアルミニウムの間の相互作用は可能ではあるが強いものではないとする文献が多い。例えば Rumini らは、ヌクレオチドは 3 か所の金属吸着部位、すなわちリン酸基、五炭糖部分のアルコール性水酸基及び塩基部分のカルボニル酸素と環内窒素を有しているが、ポリマーである核酸はアルミニウムとの結合力は弱いとしている¹⁰⁾。

つまり、既往の研究内容から考えると、RNA 自体はアルミニウムイオンとの安定な錯体を作ることで凝集阻害を引き起こすことは考えにくいことになる。菅原らは、分子量 1 万から 10 万の AOM にはアルミニウムイオンとの錯体形成能が認められ、分子量 10 万以上の AOM についてはフロックに対する保護コロイド形成作用があるとしている³⁾。また、核酸成分はカオリン等の粘土成分によく吸着する¹¹⁾ ことを考慮すると、

RNA が凝集阻害に関与する場合には、懸濁物質と相互作用することにより保護コロイドを形成する形で関与する可能性が高いと考えられる。

本研究により、*M. aeruginosa* 由来の親水性有機物の中に強力な凝集阻害物質が見出された。分離手法の原理を考慮すると、この凝集阻害有機物質は藻類の外膜 RNA であると考えられる。今後、さらに分画を進め、構成成分であるリボ多糖、或は藻類細胞内に存在する凝集阻害物質の同定を行う予定である。

4 結論

M. aeruginosa からフェノールを用いて親水性物質を抽出したところ、抽出された物質の中に強い凝集阻害能を有する有機物が含まれる事を確認した。その凝集阻害誘因物質はエタノール沈殿操作により沈殿すること、分子量は 10kDa 以上と推測される事、及び pH 中性付近で負に帯電していると考えられた。抽出操作の原理を考慮すると、今回得られた凝集阻害物質はリボ多糖もしくは RNA であると考えられたが、RNA に関してはアルミニウムイオンとの相互作用よりも懸濁物質との相互作用による保護コロイド形成に寄与していると推測された。今回得られた有機物の同定、及び凝集処理後の上澄水におけるアルミニウムイオンの残留量の把握等を行うことで、凝集阻害のより詳細なメカニズム解明が可能であると考えられる。

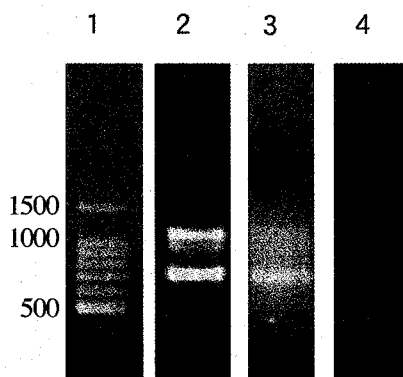


図4. *M. aeruginosa* 由来親水性有機物の DNase および RNase による酵素処理結果。レーン1, 100bp DNA ladder; レーン2, 消化前の *M. aeruginosa* 由来親水性有機物; レーン3, DNase 消化後の *M. aeruginosa* 由来親水性有機物; レーン4, RNase 消化後の *M. aeruginosa* 由来親水性有機物

参考文献

- 1) 厚生労働省環境衛生局：水道統計，日本水道協会，2003.
- 2) 佐藤敦久，真柄泰基：上水道における藻類障害—安全で良質な水道水を求めて，技報堂出版，1996.
- 3) 菅原繁，黒川眞弓，真柄泰基，胡建英：カオリン人工懸濁水の凝集沈殿に与える藻類由来有機物質の分子量の影響，水道協会雑誌，Vol. 66, No. 8, pp. 9-18, 1997.
- 4) Takaara T., Sano D., Konno H. and Omura T.: Affinity isolation of algal organic matters able to form complex with aluminum coagulant, *Water Science and Technology*, Vol. 4, No. 5-6, pp. 95-102. 2005.
- 5) 高荒智子，丸山亜紀子，佐野大輔，今野弘，大村達夫：アルミニウム錯体形成能を有する藻類由来有機物の分離，環境工学研究論文集，Vol. 40, pp. 227-236, 2003.
- 6) 西原一俊，千原光雄：藻類研究法，共立出版，pp.

294-305, 1979.

7) Westphal O. and Jann.: Bacterial lipopolysaccharides: extraction with phenol-water and further applications of the procedure, p. 83-91. In R. L. Whistler and M. L. Wolfrom (ed.), *Methods in carbohydrate chemistry*, vol. 5, Academic Press Inc., New York, 1965.

8) Brian B., Dixon D., Eldridge R., King S. and Linge K.: Removal of natural organic matter by ion exchange, *Water Research*, Vol. 36, pp. 5057-5065, 2002.

9) McGrath B.C. and Osborn M.J.: Localization of the terminal steps of O-antigen synthesis in *Salmonella typhimurium*, *Journal of Bacteriology*, Vol. 173, No. 2, pp. 649-654.

10) Rubini P., Lakatos A., Champmartin D. and Kiss T.: Speciation and structural aspects of interactions of Al(III) with small biomolecules, *Coordination Chemistry Reviews*, Vol. 228, pp. 137-152, 2002.

11) Franchi M., Bramanti E., Bonzi L. M., Orioli, P.L., Vettori C. and Gallori E.: Clay-nucleic acid complexes: characteristics and implications for the preservation of genetic material in primeval habitats, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, Vol. 29, pp. 297-315, 1999.

(2006. 5. 26 受付)

Fractionation and characterization of hydrophilic substances from *Microcystis aeruginosa* inducing coagulation inhibition

Tomoko TAKAARA¹, Daisuke SANO¹, Takeshi SUTO¹,
Hiroshi KONNO² and Tatsuo OMURA¹

¹Dpt. of Civil Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University

²Dpt. of Civil Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku Institute of Technology

Mass propagation of algae in drinking water source affects the coagulation process in water treatment systems. Algogenic organic matter (AOM) interacts with coagulants or suspended substances, and brings about several disorders in water treatment processes, but the inhibitory mechanism on the coagulation by AOM has remained to be elucidated. In this study, hydrophilic substances extracted from *Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) were found to involve potent inhibitory substances for coagulation with polyaluminum chloride. Those inhibitory substances were possible to be precipitated by ethanol. The fractionation of the precipitated AOMs with ultrafiltration and anion exchange enable us to confirm that the inhibitory substances have a net negative charge under the pH value of 8.0, and the molecular weights of those are larger than 10kDa. Lipopolysaccharide and RNA could be the possible inhibitory substances involved in the hydrophilic substances from *M. aeruginosa*, and how this algal organic matter induces the coagulation inhibition would be elucidated in the further study.