

〈研究発表〉

赤外分光分析による微生物中間生成代謝物の推定に関する基礎検討

栗津 邦男¹⁾, 長塩 尚之²⁾, 石井 克典¹⁾

¹⁾ 大阪大学大学院 工学研究科 環境・エネルギー工学専攻 (〒565-0871 吹田市山田丘 2-1-A14 棟, awazu@see.eng.osaka-u.ac.jp)

²⁾ 日新電機(株) 材料研究所 (〒615-8686 京都市右京区梅津高畝町 47, E-mail: nagashio_naoyuki@nissin.co.jp)

概要

活性汚泥法等の生物処理に於いて、有機物・窒素・リン等の挙動把握・解析が行われているが、中間生成代謝物はあまり注目されていない。しかし、多段の反応槽等の場合、中間生成物の挙動を知る事は、「処理性能」「省エネ」の観点から重要である。今回、大腸菌と模擬廃水を用いた生物処理系を用いて、赤外分光分析法を活用し、反応水中の動的変化の把握を試みた。その結果、全有機炭素(TOC)は経時的に減少し、糖類等に起因すると思われる吸収は消長が見られ、本法により生物処理過程のモニタリングの可能性を見出した。

キーワード: 生物学的処理, 中間生成物, 赤外分光分析, 活性汚泥法

1. はじめに

廃水処理施設における合理的な運転とは、最小限の運転コストで、要求される処理水質を安定的に維持する運転である。これを実現するためには、処理すべき汚濁負荷を的確に把握し必要となる動力や薬剤を必要最小限に制御する方法や、処理結果である処理水質を監視することにより要求される水質を維持できなかった場合に動力や薬剤の投入量を増加させるフィードバック制御技術が有効である。しかし、廃水処理施設において処理を強化することは、一般的には運転コストの増大につながるため、運転管理の合理化が望まれる。

適切な解析を行い、環境条件の適切な制御を行うと、ほとんどの廃水は生物学的処理により処理することができる。生物学的処理の一般的な方法である活性汚泥法による好氣的処理は、有機性の汚水中で微生物を連続的に培養し汚水中の浮遊物や溶解性物質を吸着・酸化・同化させるものである。活性汚泥の能力は経験的に微生物の代謝過程に基づいて変化することが知られている。1)

これまで主に「処理性能」に着目し、活性汚泥法等の生物学的処理に於いて、有機物・窒素・リン等の挙動把握・解析が行われている。しかしながら、微生物の代謝過程における中間生成物は、あまり注目されていない。多段の反応槽等の場合、中間生成物の挙動を知る事は、「処理性能」および「省エネ」の観点から重要であると考えられる。

そこで本研究では、活性汚泥中の微生物の代謝による中間生成物の動的把握を簡便に行うことができる分析手法の確立を目的として、有機物の簡便な同定に有力な振動分光法である赤外吸収分光分析を検討した。

本稿では、大腸菌と模擬廃水を用いた生物処理系を用いて、赤外吸収分光分析法を活用し反応水中の動的変化の把握を試みたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

(1) 前培養・種菌

普通ブイヨン培地(ダイゴ製) 50 mL を、坂口フラスコに入れ、蒸気滅菌(121°C, 15分)し、冷却後、事前に培養しておいた大腸菌(*Escherichia coli*, NBRC3301)を1白金耳、植菌した。その後、30°Cで20時間振盪培養を行った。

(2) 集菌・種菌

遠心分離(10000 r.p.m. 15分)を2回繰り返し、集菌した。全体で約50 mLとし、種菌とした。種菌液の菌数は平板希釈法で測定を行い、 5×10^{10} counts/mLであった。

(3) 植菌

予め、蒸気滅菌(121°C, 15分)を行ったBOD標準液(グルコース 682 mg とグルタミン酸 682 mg を1 Lの純水に溶解させた物、以下GGと略記) 50 mL と1410 mg/Lのスキムミルク溶液 50 mLに種菌液を1 mLづつ添加し、30°Cで振盪培養を行った。

(4) サンプルング

培養液と培養液を0.45 μm径のフィルターで濾過した濾液を100時間後までサンプルングした。サンプルングは約100 μLづつ行い、-60°Cのフリーザーにて急速冷凍させ分析時まで保存した。

2.2 分析方法

(1) TOC 分析

培養液の全有機炭素量 (Total Organic Carbon; TOC) を全有機体炭素計 (TOC5000, 島津製作所) を用いて測定した。

(2) 赤外分光分析

培養液およびその濾過液を 2 μL, 赤外透過性結晶のフッ化バリウム基板 (G.L. Science) に滴下し乾燥させたものを測定試料とした。顕微フーリエ変換型赤外分光光度計 (MB3000, ABB) を用い、赤外吸収スペクトルの測定を行った。測定条件は、透過法, 測定面積 100 μm φ, 測定波数域 4000~800 cm⁻¹ (測定波長域 2.5~12.5 μm), 波数分解能 4 cm⁻¹, 積算回数 4 回, ゲイン 1 であった。

3. 実験結果

3.1 TOC 分析結果

Fig. 1 に GG およびスキムミルクを添加し培養した培養液の TOC と経過時間の関係を示す。GG およびスキムミルクを添加した場合ともに、経過時間とともに TOC の減少が観測された。

3.2 赤外分光分析結果

Fig.2 に GG を添加培養し濾過後の溶液の赤外吸収スペクトルを、Fig.3 にスキムミルクを添加培養し濾過後の溶液の赤外吸収スペクトルを示す。両スペクトルともに、経過時間とともに測定波長全域において吸光度の減少が観測された。

Fig.4 に GG を添加培養し濾過後の溶液の波長 3.0, 7.1 および 9.7 μm における吸光度と経過時間の関係を示す。データ点は波長毎に指数近似を行った。波長 7.1 および 9.7 μm の場合、指数関数近似で良い相関があり (相関係数 R=0.9 以上), 培養経過時間とともに培養液に含まれる添加物および中間代謝物の指数関数的減少を観測することができた。

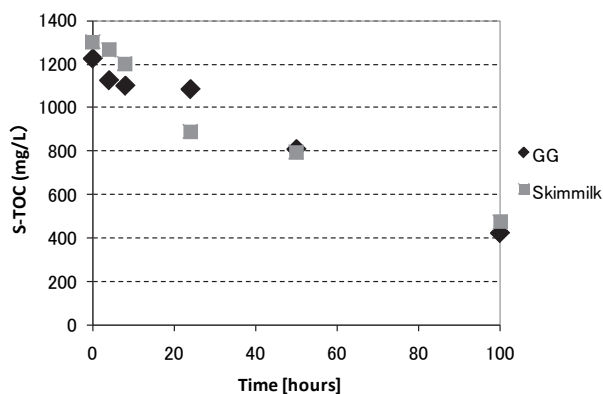


Fig.1: The TOC analysis of bacterial culture mediums for up to 100 hours

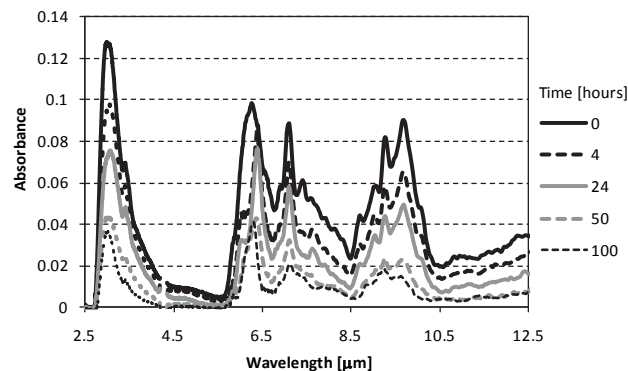


Fig.2: The infrared absorption spectra of bacterial culture medium supernatants (with GG) for up to 100 hours

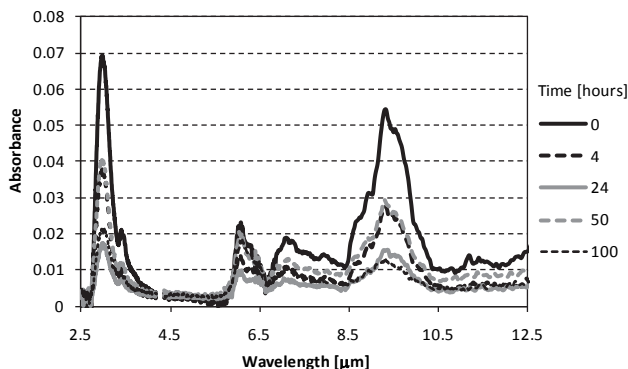


Fig.3: The infrared absorption spectra of bacterial culture medium supernatants (with fat-free milk) for up to 100 hours

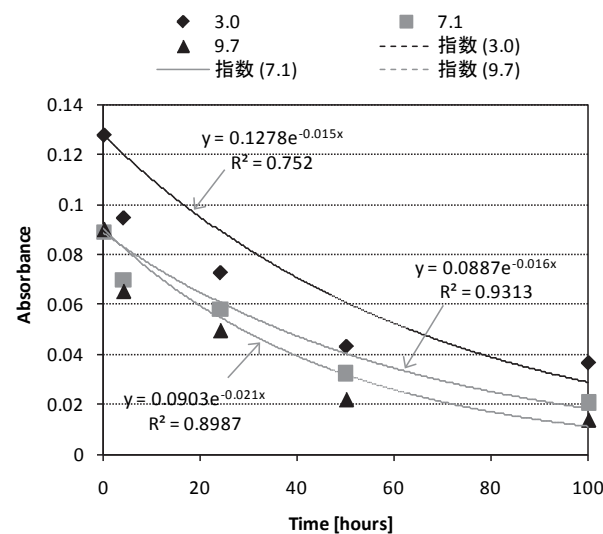


Fig.4: The relationship between absorbance and culture time at wavelengths of 3.0, 7.1 and 9.7 μm in the result of Fig. 2

これまで、廃水中の浮遊性固形汚濁物質を、レイリー散乱光やラマン散乱光を測定することによりモニタリングすることができることは、宗宮ら 2)により報告されている。宮田ら 3)は、蛍光分析法が廃水処理プラントの運転管理のためのモニタリング技術として活用できることを報告している。本研究は赤外吸収分光分析法により生物処理過程、特に微生物の中間生成物のモニタリングに着目し研究を行い、本概念が廃水処理の抜き打ち検査によるフィードバック制御のための有

用な分析ツールとなりうると考えている。

4. まとめと今後の展開

本研究では、生物処理過程のモニタリング手法として赤外吸収分光分析法が有力な手法となりえるかを検討するため、大腸菌と模擬廃水（GG およびスキムミルク）を用いた生物処理系を用いて反応水中の動的変化の把握を試みた。その結果、全有機炭素(TOC)は経時的に減少し、糖類等に起因すると思われる吸収は消長が見られ、本法により活性汚泥法による生物学的処理の代謝過程における中間生成物のモニタリングの可能性を見出した。

しかしながら、本研究は非常に単純化された系における一検討であり、このような手法の概念を示したに

過ぎない。実際の活性汚泥を用いて実際の事業所から出る廃水を生物処理し、代謝過程における中間生成物をモニタリング可能かどうか今後検証する必要がある。

参考文献

- 1) 社団法人日本下水道協会, エアレーションタンクの微生物 - 検鏡と培養の手引 -, pp. 1-21
- 2) 宗宮功ほか: 散乱スペクトル分析による水質の連続測定, 水環境学会誌, Vol. 19, No. 1, pp. 47-55 (1996)
- 3) 宮田純ほか: 廃水処理プラントにおけるオンサイト水質モニタリング技術, JFE 技報, No.13, pp. 59-64 (2006)