

富山県立短大 正員 ○金子光美

金井玲子

## 1. はしがき

活性汚泥処理法は微生物と有機物の反応を利用したものであり、処理機構解明には微生物の増殖・成長過程の理解を必要とする。活性汚泥中の核酸の消長を調べる目的は次の通りである。(1)活性汚泥中に微生物はどのくらい含まれているか。(2)曝気全時的に微生物はどのような質的、量的変化をするか。(3)活性汚泥の生化学的活性とどのような関係にあるか。(4)活性汚泥の反応を核酸レベルで捉える。これらについて考察するとき次の生化学的知識を前提とする。(1)微生物細胞当りのDNA量は増殖過程を通じてほぼ一定である。(2)RNAは蛋白合成に重要な役割を果たす。この実験段階で取扱う核酸は全核酸、全deoxyribonucleic acid (DNA)、全ribonucleic acid (RNA)であり、種々の機能的に分類される個々の核酸類については実験していない。

## 2. 実験方法

使用活性汚泥：名古屋市名城処理場、堀留処理場のもの、および人工下水を3週間以上曝気して作ったもの。人工下水は唯一の有機炭素源としてグルコース、ガラクトース、コハク酸、*n*-ブタノール、*iso*-ノールをえらび無機塩類溶液とともにそれぞれ1000ppmとする。PHは7.2。

操作：名古屋市処理場のものについては曝気槽入口、中間、出口の汚泥を、人工汚泥については汚泥と基質を混合してから全時的に汚泥を採取し、これらの汚泥の量(VSS)、核酸量、生化学的活性指標として酸素吸収速度を測定した。水温は20℃～25℃。

定量方法：VSS→下水試験方法による。

酸素吸収速度→ワールフルカ検圧計を使用し基質として、処理場の汚泥ではグルコース、グルタミン酸ナトリウム、酢酸アンモンを主成分とした人工下水を、人工汚泥ではそれぞれの汚泥作製に使用した有機物を同濃度に加えた。汚泥は使用前に無機塩類溶液で洗浄。攪運動5cm、回転数70回転/分。水温は曝気時の水温と同程度。

核酸の定量→全核酸量を260mμ吸光度で求めDNAをジエニールアミン反応で定量し、全核酸量よりDNA量を差引いてRNA量とする。具体的な定量方法は工業用水へ投稿中。

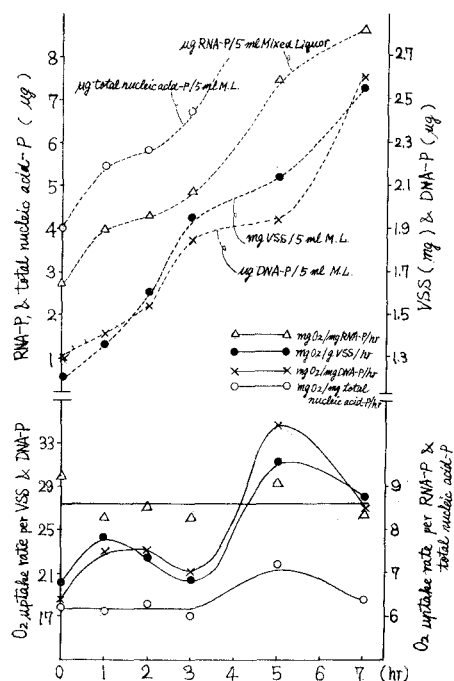


図-1 ガラクトース汚泥の酸素吸収速度の変化と核酸量の変化

### 3. 実験結果および考察

人工下水より作った活性汚泥のうちガラクトース、アルコース、フェノール汚泥について、核酸量、およびVSS当りまたは核酸当りの酸素吸収速度を定期的に測定したものが図-1〜3であり、表-1に各汚泥の核酸の消長を示す。表-2は処理場の曝気槽の下水の沸れにしたがってコケ所で採取した汚泥について行なった実験である。

現在、処理に關与する微生物量はもつぱらVSSで表わされており、負荷などの算定基礎として用いられている。VSSの測定は簡単であるが微生物量または数を正確に表わすものであるかは疑問である。DNAはほとんど細胞核にのみ含まれ、微生物当りのDNA量は増殖過程中あまり変化せず大体一定とみなされる。表-1, 表-2より $DNP \times 10^3 / VSS$ の値は1〜2位である。しかし定期的にやゝ変化がある。すなわちDNAはVSSとともに増加するが同じ割合で増加するとは限らずDNA/VSSは一定とならない。DNA増加速度の方がVSS増加速度より大の場合が多いがコハク酸汚泥のようにその逆のケースもある。これらのことからVSSの値は生物数を表わしていないことがわかる。DNA-P $\times 10^3 / VSS$ を1〜2とし、DNAのP含量を8.5%とするとDNA含量はVSSに対して1.2%〜2.4%となる。純菌のDNA含量はVSSに対しておよそ4.1%であるから活性汚泥の値はその約 $1/2 \sim 1/3$ となる。活性汚泥中のDNA量の少ない原因は汚泥を形成している微生物種の相違によることも一因と考えられるが活性汚泥の揮散性成分には微生物の分泌物などの無生物部分が多く含まれていることを示す。VSS中のDNA含量が多くなると汚泥の沉降性が悪くなる傾向にある。VSSの生物量としての意義は普通考えられているよりも少ないと思われる。

VSS当りの酸素吸収速度は時間によって大差があり、VSSがactive massでないことを示す。DNA当りの酸素吸収速度もVSS当りのものと同様

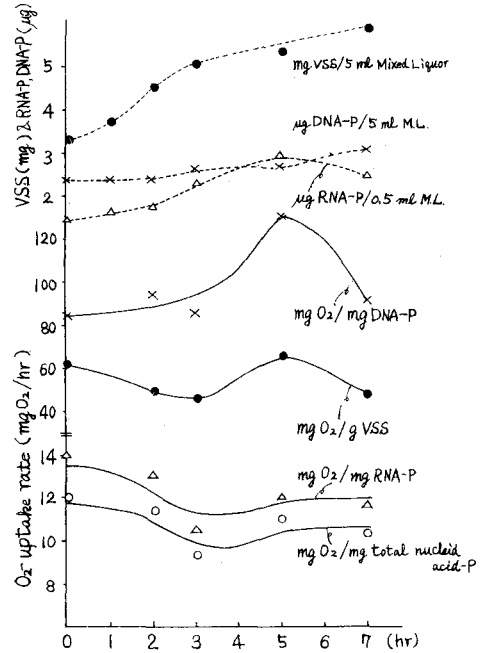


図-2 グルコース汚泥の酸素吸収速度の変化と核酸量の変化

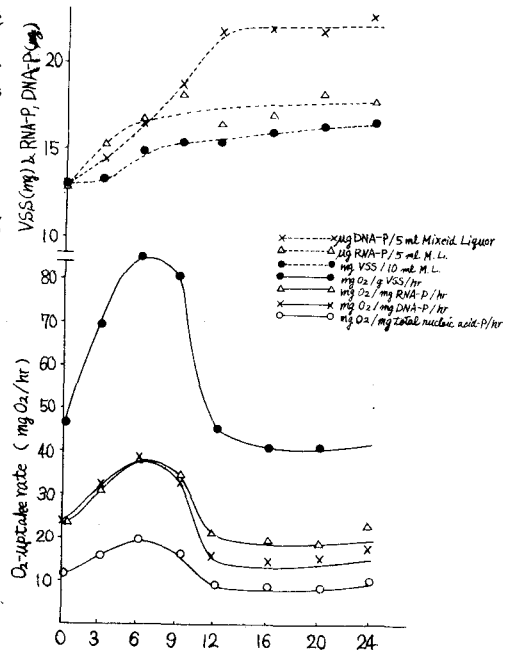


図-3 フェノール汚泥の酸素吸収速度の変化と核酸量の変化

の変化を示す(各図参照)。このことは生物数当りの酸素吸収量変化はVSSを用いても概略を知ることができるとを示す。活性汚泥の酸素吸収活性の高まる時期は細菌一般の場合と同様、誘導期から対数増殖期初期の頃である。

RNAは蛋白合成に重要な役割を果たすと考えられているがこの実験でも各図にみられるように常にVSSの増加に先行してRNAが増加する。RNAが増加する時期が酸素吸収活性の高まる頃と時期的に一致するのでRNA当りの酸素吸収速度を求めると曝気量時的に大体一定となることがある。(図1,2)。このような場合にはRNAをactive massのパラメーターとして取扱うことができる。しかし汚泥の種類が異るとそれぞれの汚泥のO<sub>2</sub>/RNAの値の間に少し相違がみられ、あらゆる汚泥に共通のパラメーターとして取扱うには無理がある。工学的に活性汚泥による反応を取扱う場合すべての汚泥に共通したactive massの指標が得られるとよいが微生物によって物質組成、代謝調節が異なるから、微生物組成の異なる活性汚泥の間に共通のactive massを規定すること自体に無理があるのかも知れない。

また、図-3のように酸素吸収活性の増減とRNAの増減が同じ割合でないためO<sub>2</sub>/RNAが一定とならずO<sub>2</sub>/VSSと似た変化を示すこともある。この場合、RNAはVSS増加(または蛋白合成)、Mixed Liquorの酸素吸収量の増減の目安にはなるがactive massとしての価値は小さい。単位容積

表-1 人工活性汚泥の酸素吸収速度の変化と核酸の消長

| 汚泥の種類                                                      | ガラクトース |      |      |      | コハク酸 |      |      |      | グルコース |      |       |      | n-ブタール |      |      |      | フェニール |      |      |      |
|------------------------------------------------------------|--------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|-------|------|--------|------|------|------|-------|------|------|------|
|                                                            | 0      | 2    | 5    | 7    | 0    | 2    | 5    | 7    | 0     | 2    | 5     | 7    | 0      | 2    | 6    | 24   | 0     | 3    | 6    | 12   |
| 曝気時間<br>hrs                                                |        |      |      |      |      |      |      |      |       |      |       |      |        |      |      |      |       |      |      |      |
| $\frac{\text{mg O}_2}{\text{g VSS} \cdot \text{hr}}$       | 20.6   | 22.6 | 31.3 | 28.0 | 21.9 | 21.4 | 29.9 | 18.1 | 62.1  | 51.1 | 67.2  | 48.6 | 21.4   | 30.6 | 38.7 | 21.3 | 46.7  | 69.9 | 85.1 | 45.2 |
| $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg 全核酸} \cdot \text{hr}}$      | 6.2    | 6.2  | 7.2  | 6.4  | 4.3  | 3.6  | 4.1  | 3.7  | 12.1  | 11.5 | 11.0  | 10.3 | 5.0    | 7.0  | 7.6  | 4.7  | 11.6  | 15.8 | 19.1 | 9.02 |
| $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg DNA} \cdot \text{hr}}$      | 18.7   | 23.4 | 34.9 | 27.4 | 19.6 | 19.9 | 33.4 | 18.9 | 85.6  | 95.1 | 131.1 | 91.8 | 28.0   | 37.1 | 40.7 | 17.5 | 23.2  | 32.5 | 38.3 | 15.8 |
| $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg RNA} \cdot \text{hr}}$      | 9.2    | 8.5  | 9.1  | 8.3  | 5.4  | 4.5  | 4.7  | 4.6  | 14.1  | 13.1 | 12.0  | 11.6 | 6.1    | 8.7  | 9.3  | 6.4  | 23.0  | 30.7 | 38.2 | 21.0 |
| $\frac{\text{核酸} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$  | 3.30   | 3.63 | 3.97 | 4.38 | 5.11 | 5.88 | 7.26 | 4.92 | 5.10  | 4.20 | 5.10  | 4.70 | 4.23   | 4.35 | 5.10 | 4.51 | 4.04  | 4.43 | 4.45 | 5.01 |
| $\frac{\text{DNA} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$ | 1.02   | 0.97 | 0.90 | 1.02 | 1.11 | 1.08 | 0.89 | 0.96 | 0.73  | 0.54 | 0.51  | 0.53 | 0.77   | 0.82 | 0.95 | 1.21 | 2.01  | 2.15 | 2.22 | 2.86 |
| $\frac{\text{RNA} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$ | 2.09   | 2.67 | 3.49 | 3.36 | 3.80 | 4.80 | 6.40 | 4.00 | 4.40  | 3.90 | 5.40  | 4.20 | 3.53   | 3.53 | 4.14 | 3.30 | 2.03  | 2.27 | 2.23 | 2.16 |
| $\frac{\text{RNA}}{\text{DNA}}$                            | 2.1    | 4.3  | 5.9  | 5.1  | 3.6  | 4.4  | 7.1  | 4.1  | 6.1   | 7.3  | 10.9  | 7.9  | 4.6    | 4.3  | 4.4  | 2.7  | 1.0   | 1.1  | 1.0  | 0.8  |

表-2 曝気槽内汚泥の酸素吸収速度と核酸量

| 処理場       | 採取時<br>処理方式 | 採取位置 | $\frac{\text{mg O}_2}{\text{g VSS} \cdot \text{hr}}$ | $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg 全核酸} \cdot \text{hr}}$ | $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg DNA} \cdot \text{hr}}$ | $\frac{\text{mg O}_2}{\text{mg RNA} \cdot \text{hr}}$ | $\frac{\text{核酸} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$ | $\frac{\text{DNA} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$ | $\frac{\text{RNA} \cdot \text{P} \times 10^3}{\text{VSS}}$ | $\frac{\text{RNA}}{\text{DNA}}$ |
|-----------|-------------|------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 名城<br>処理場 | スロブ<br>モーター | 入 口  | 31.5                                                 | 8.06                                                  | 31.6                                                  | 10.8                                                  | 3.90                                                      | 1.00                                                       | 2.91                                                       | 2.92                            |
|           |             | 中 間  | 36.0                                                 | 9.07                                                  | 39.1                                                  | 11.8                                                  | 3.97                                                      | 0.92                                                       | 3.05                                                       | 3.31                            |
|           |             | 出 口  | 35.9                                                 | 8.98                                                  | 38.7                                                  | 11.7                                                  | 4.01                                                      | 0.92                                                       | 3.08                                                       | 3.32                            |
| 堀留<br>処理場 | コンジ<br>ミナル  | 入 口  | 18.0                                                 | 4.36                                                  | 13.2                                                  | 6.51                                                  | 4.13                                                      | 1.36                                                       | 2.76                                                       | 2.03                            |
|           |             | 中 間  | 21.6                                                 | 4.94                                                  | 18.5                                                  | 6.75                                                  | 4.38                                                      | 1.17                                                       | 3.21                                                       | 2.74                            |
|           |             | 出 口  | 22.1                                                 | 4.52                                                  | 15.7                                                  | 6.36                                                  | 4.88                                                      | 1.41                                                       | 3.48                                                       | 2.46                            |

のMixed Liquor の酸素吸収量が最大になるときはRNA/DNAの比も最大、すなわち細胞当りのRNA量が最大となる。これは細胞の成長・増殖とエネルギー供給反応としての酸素消費が時期的に一致することを示す。

#### 4. 要 約

活性汚泥処理法は微生物を媒体として行う処理であるから核酸レベルの把握が必要と考え活性汚泥中の核酸量の至時的消長を調べた。要約すれば次の通りである。

- 1) 基質の種類が異なれば活性汚泥中の核酸量は異なり、またRNA、DNAの含量比率が異なる。
- 2) VSSは活性汚泥の生物的量を正確に示さなく、VSSとして測定される量の約 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ が生物的量と思われる。ゆえに正確な生物数の指標としたいときはDNAを用いる方がよい。
- 3) 活性汚泥の増殖至適とともに細胞当りの酸素吸収速度は高くなる。RNAはVSSに先行して増加し、それとともに酸素吸収速度が高くなる。
- 4) ゆえに、RNA当りの酸素吸収量は至時的に一定する場合が多い。しかしRNA増加より酸素吸収活性の方が一層増加する場合もあり、このときはRNA当りの酸素吸収量は一定とならない。活性汚泥当りの酸素吸収活性の程度は活性汚泥当りのRNA量で推定できるが汚泥の種類が異なるときは互に比較できない。

なお、本稿の研究は昭和41年度文部省科学研究費(各団研究)の一部によるものであることを付記する。

#### 参 考 文 献

- Agardy, F.J., and Shepherd, W.C., : DNA - A rational basis for digester Loadings. Jour. of WPCF, 37, p 1236 (1965)
- Wilson, B.W., and Levedahl, B.H., : Synthetic and division rates of *Euglena gracilis* grown in batch cultures. Exptl. Cell Research, 35, p 69 (1964)
- 金子光美, 金井玲子: 活性汚泥中の核酸量. 第3回下水道研究発表会講演集, p 22 (1966)