

東京大学 工学部 学生員 味整 俊  
 “ “ 正員 松尾 友矩

[1]. はじめに

本研究は、生化学的なりん分画法である、Schmidt-Thannhauser-Schneider法(STS法)<sup>(1),(2)</sup>を活性汚泥に適用し、汚泥内リン分布を追跡することにより、下水処理場におけるリンの挙動への新しいアプローチを試みたものである。ここでは、基本的な汚泥内リン分布の変化について得られた知見を報告する。

[2]. リン分画法・実験の材料など

本研究で用いたリン分画定量法を図1に示す。抽出後の遠沈はすべて0℃ 8000 r.p.m 10分で行なった。表2は分析結果の一例である。なお、この分画法では、ポリリン酸はTNA Fr. Δ7-Pとして定量される<sup>(3)</sup>。

実験に用いた汚泥は、1日1回のfill & drawで培養している基本汚泥(SRT 8days)をもとに、リン投与量のみを変えた前培養により作ったP<sup>+</sup>汚泥およびP<sup>-</sup>汚泥である。培養条件は表1に示した。

[3]. 実験の概要

汚泥内リン分画実験は次の5つを行なった。

- i). 同条件(内性相)のP<sup>+</sup>汚泥とP<sup>-</sup>汚泥のリン分布を比較した。(表-2)
- ii). P<sup>+</sup>汚泥に基質を投与し、増殖過程をSTS法により追跡した。リン投与と無投与の2つの場合を行なっている。(図-2)
- iii). P<sup>-</sup>汚泥によるOverplus型ポリリン酸蓄積<sup>(4)</sup>の過程を経時的に追跡した。リンと共に炭素源、他の栄養素も与えている。(図-3)
- iv). 栄養素欠乏型ポリリン酸蓄積<sup>(4)</sup>を見るため、Nの投与量を1/10にして8日間前培養したP<sup>+</sup>、P<sup>-</sup>汚泥を分析した。(図-4)
- v). P<sup>+</sup>、P<sup>-</sup>汚泥を嫌気状態にした時のリン溶出量をSTS法により調べた。生物の死滅を伴わない場合(20℃で23hr嫌気とする)と、溶菌が生じる場合(同37℃ 23hr)とを設定した。(図-5)

[4]. 結果と考察

ポリリン酸について：図. ポリリン酸はリン過剰期に蓄積され(P<sup>+</sup>汚泥)、リン欠乏期に著しく減少する(P<sup>-</sup>汚泥)。(表2) 図. ポ

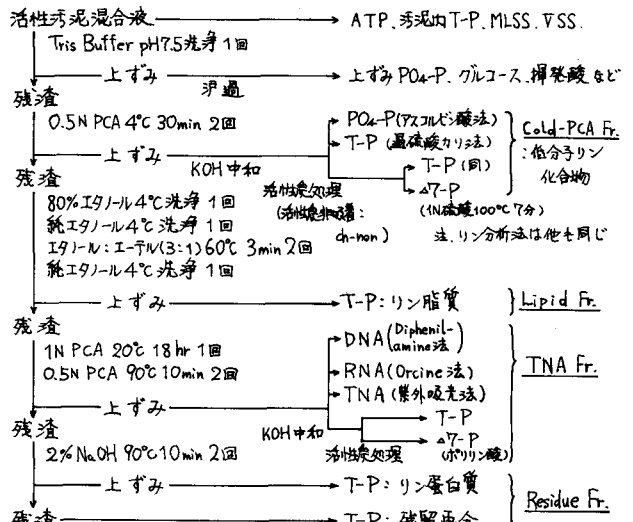


図-1. STS法による汚泥内リン化合物分画

表-1. 汚泥培養条件

基本培地(リン以外)		リン投与量と前培養期間		
		汚泥	リン投与量(μg/l)	前培養期間
グルコース	500 mg/l	基本汚泥	7.5 mg/l	—
ペプトン	50	P <sup>+</sup> 汚泥	3.75	7 days
尿素	42.5	P <sup>-</sup> 汚泥	0.75	2
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2.6			
FeCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.121			
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25.4			
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	2.3			

(注) ただし、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = 1 : 2 : 4 (モル比)

表-2. P<sup>+</sup>汚泥とP<sup>-</sup>汚泥のリン分布比較(単位mg P/g mass)

画	分	P <sup>+</sup> 汚泥	P <sup>-</sup> 汚泥
Cold-PCA Fr.	ch-non	0.77	0.27
	Δ7-P (ポリリン酸)	0.87	0.32
	T-P	1.25	0.54
	(T-Δ7)P	0.38	0.22
	T-P	1.69	0.76
	(T-P)-(ch-non)	0.44	0.23
	ATP-P	1.01	0.59
Lipid Fr.		1.34	0.95
TNA Fr.	DNA-P (Di)	1.11	0.96
	RNA-P (Or)	8.30	6.79
	TNA-P (紫外)	4.84	4.05
	RNA-P (TNA-DNA)	3.73	3.09
	Δ7-P:ポリリン酸	3.67	0.80
	T-P	9.37	3.65
	(T-P)-(Δ7-P)	5.70	2.86
Residue Fr.		1.39	1.71
合計値		13.78	7.01
汚泥内 T-P		14.39	8.20

リン酸を多く持つ汚泥は、外部リンを使わず、貯蔵ポリリン酸をリン源として増殖し、内生相に入ってからゆーくリンを摂取し、失ったポリリン酸を再形成する。一般的に、ポリリン酸は増殖相で減少し内生相で増加すると言える。(図2A) ㉑. P汚泥にリンを与えると、急激に多量のリン摂取がほじ、その60%がポリリン酸に転換される。ピーク時のポリリン酸量(5.46 mg/P/g MLSS)は、P汚泥の平均(同. 3.67)を上まわっており、これは、Poly-P Overplusとして多くの微生物に知られている現象である。<sup>43)</sup>(図3) ㉒. N欠乏による増殖阻害時において、ポリリン酸蓄積がP汚泥に見られた。(図4) これは栄養素欠乏型ポリリン酸蓄積として知られている。<sup>44)</sup> P汚泥に有意なポリリン酸増加がなかった原因は不明である。㉓. リン溶出ではポリリン酸からの溶出が最も早くほじた。(図5)

RNAについて: ㉔. 増殖期にMLSSの増加に伴ないRNAも増加するが、内生相に入りMLSSが減少に転じても、RNAは新增を続ける。(図2AB, 図3) このことは、RNAがリン貯蔵機能を持つ可能性があることを示唆している。RNAによるリン貯蔵は大腸菌など一部の細菌に報告例がある。<sup>45)</sup> ㉕. 生物死後のRNAの分解は比較的小みやかであり、溶菌がほじた時の大きなリッ溶出源となる。(図5)

その他: ㉖. DNAは環境条件(たとえばリン欠乏)の影響を受けにくく(表-2)、すぐれた生物指標と言えろが、生物死後の分解は遅い。(図5) ㉗. リン溶出期におけるポリリン酸の増加(図5B)は、溶出したリッが、一部の生存微生物に摂取されて、ポリリン酸形成がほじた結果と考えられる。混合培養系の特性として“種間のリッ受け渡し”を考慮する必要がある。㉘. リン欠乏時のリッ量減少のほじにくさ(生物にとっての必須性につながる)の順序; ①残渣留分(リッ量は増加) ②DNA ③RNA ④リッ脂質 ⑤低分子リッ化合物 ⑥ポリリン酸。(表-2)

[5]. まとめと課題

リッ貯蔵物質であるポリリン酸が、活性汚泥におけるリッの摂取および溶出において果たす役割はきわめて大きい。また、RNAはこれまで、“生物活性”の指標というところえ方をされてきたが、RNAによるリッ貯蔵の可能性が示された。これらの物質については、今後とも検討を加えてゆくつもりである。

Overplus型や栄養素欠乏型のポリリン酸蓄積のように、純培養で知られている現象が、混合系である活性汚泥においても確認されたが、純培養にない混合系の特性(たとえば微生物種間のリッ受け渡しなど)をどのように評価してゆくかは、今後の課題である。

一参考文献一

- 1). 金子他, 工業用水, 102, pp 7~13 (1967)
- 2). 水野, 「核酸の一般的分離定量法」学会出版センター
- 3). 吉田, 蛋白質・核酸・酵素, Vol.4, No.1, pp 39~ (1959)
- 4). Harold, Bacteriological Reviews, Vol.30, No.4, pp 772~ (1966)

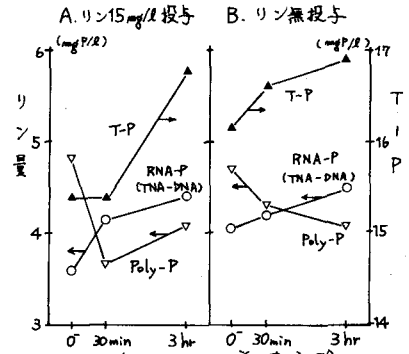


図-2. P汚泥による増殖実験

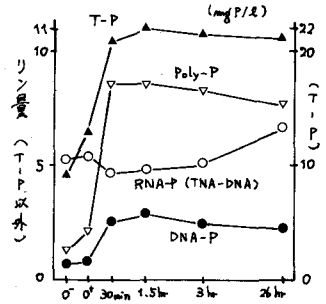


図-3. P汚泥によるPoly-P Overplus.

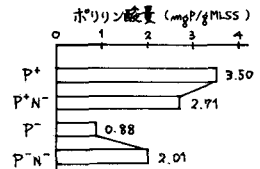


図-4. N欠乏によるPoly-P蓄積

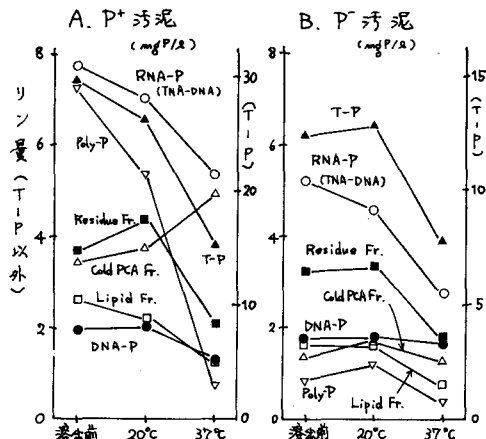


図-5. リン溶出実験