

II-496 細胞膜輸送系を考慮した活性汚泥による下水中有機物の取り込みと貯蔵機構

都立大学工学部 正 員 生 方 悠

1. 緒言

生物学的廃水処理は処理施設に存在する細菌が廃水中の有機物を取り込む現象を利用した処理方法であることは誰しも認めるところであろう。ところが細菌による有機物の取り込み機構と廃水処理機構の関係については今のところ検討されていない。最近の微生物学の進歩により細菌による有機物の取り込み機構も大分明らかとなってきた。これに関して重要な事柄は、細胞内代謝経路とは別個に存在する細菌細胞膜における物質の能動輸送系(透過酵素系)の発見である。

下・廃水中の主要な有機物は高分子有機物であり、この有機物の加水分解分解の過程が有機物除去における律速段階になっていることは以前に報告した(1)。ところがデキストリン活性汚泥による種々の分子量の糖の除去において最終的な加水分解産物であるグルコースより、グルコースが数個結合しているオリゴ糖の方が急速に除去されており、これらの現象は高分子有機物の除去は加水分解律速であるとの説に矛盾している。これらの現象に対しては糖類の分子量と吸着量の関係から、活性汚泥への有機物の初期吸着と便宜的に説明しておいたが(2)、必ずしも納得できるものではなく、新たな説明方法が必要であると感じていた。

その後デキストリンの除去機構に対して、種々のオリゴ糖を用いその除去過程をゲル濾過法により解析したところ、糖類はグルコースの形でなく二糖から四糖(分子量 666)のオリゴ糖の形で活性汚泥に取り込まれており、これらのオリゴ糖に対してデキストリンの除去は加水分解律速となっていることが判明した。また有機物除去に伴う貯蔵現象についても新たな説明方法が得られ、更にデキストリンとグルコースにより培養された活性汚泥においては、細菌相と基質の輸送系が異なることが推定されたのでここに報告する。

2. 細菌細胞膜における有機物の能動輸送系

これに関してより詳細に知りたい方は次に示す成書・総説を参考にされたい(3)(4)(5)。ここでは都市下水にも含有されており、また分子量分画が容易な炭水化物の取り込み機構について概略をさきに説明する。

(i) 細菌細胞は外膜(細胞壁)と内膜(原形質膜)との2種類の細胞膜を持ち、その中間がペリプラズム空間である。(ii) 外膜には分子量 600 程度までの有機物を透過させるポリンを持つ。従って高分子有機物は溶液中で細胞外加水分解酵素によりこの大きさの有機物に分解されてから細胞内に取り込まれる。

(A) ペリプラズム空間は細胞体積の 20-35 %程度を占めることが可能であり、有機物の能動輸送を促進させる結合タンパクを有する。(二) 内膜には特定の有機物を細胞内に能動輸送する輸送タンパクが存在し、輸送にはエネルギーを消費する。(B) 多糖類の加水分解産物はマルトース輸送系により取り込まれる。この系に対してはマルトースの他、マルトリオースなどのマルトデキストリンが基質になり得る(7)。(A) マルトース輸送系における酵素量の比は結合タンパク/輸送タンパク=100-10000であるので、ペリプラズム空間にマルトースが貯蔵される。(B) 通性嫌気性菌の大腸菌群はグルコースをリン酸化分子転送系(ATPの節約のため)で取り込むが、好気性菌の *Pseudomonas* などは能動輸送系を用いる(5)。

3. 実験方法

有機物 (Dextrin:Peptone=4:1) 負荷 0.2g/g.MLSS/D で、回分法により活性汚泥を長期間培養した。実験基質はグルコース(G1),オリゴ糖(G2-G7),デキストリン(Gn)などである。基質濃度はT O C計で測定した。ゲル濾過はH P L C法で行ない、カラムには Ashahi pack GC-220H を、検出には示差屈折計を用いた。なおカラムが短い為に隣接するオリゴ糖は同一のピークで示されたがその他の糖は識別できた。

4. 実験結果

1. F/M 比に関係なく、G 1 よりオリゴ糖の方が速く除去された。F/M 比を大きく取ると (0-1)h におけるオリゴ糖の除去速度はG 1 より高いが、(1-5)h における除去速度はG 1 がやや高いもののG 1 もオリゴ糖もほぼ同じ速度であった(1)。

2 G1とオリゴ糖及びオリゴ糖間のSSIを表-1に示す。（ $SSI(\%)=c/(a+b)$ ；a, b, c は各々有機物A, B, A・B混合物の除去速度）。オリゴ糖間におけるSSIは50%であり、呼吸速度も単独の場合のそれを示しているためオリゴ糖は同一の細菌群により除去されていることになる。

3 ゲル濾過による分子量分画。 F/M 比が小さい場合、除去過程でG1やG3などの低分子の糖は検出されなかったが、一方 F/M が大きい場合、Gnは加水分解されG3～G6の糖にピークが移動していた(7)。 F/M 比が大きい場合のオリゴ糖の除去過程における分子量分画の結果は次の通りであった。

(A) 単独のオリゴ糖の除去。(i) G2～G4糖は加水分解されずに除去されていた。(ii) G5～G7糖は加水分解されG3程度にピークが移動していた。(h) 17糖は処理行程で加水分解され、まず6～7糖になり、その後G3にピークが移動していた(7)。(B) G1とオリゴ糖混合物の除去。(i) G1とG3の混合物の除去時における各基質の濃度変化をクロマトグラム上の面積から計算したものを表-2に示す。これらの混合物の除去においては、グルコース効果にみられるように他の有機物に対してグルコースが先に取り込まれることがなく2つの有機物はほぼ同一の速度で減少していた。(ii) G1とG6の混合物の除去においてはG3は検出されずG1とG6は(i)のように同一の速度で減少した。(h) G3とG6の混合物の除去においてはG6が加水分解され先に消失しG3だけとなった。この活性汚泥のマルトース輸送系はオリゴ糖だけでなくG1に対しても同一の親和性を持つようである（初期基質濃度比を変えれば判明する）。

以上の実験結果を総合すると、デキストリンは溶液中で細胞外加水分解酵素により加水分解され、グルコースが2～4個結合したオリゴデキストリンの形で活性汚泥に取り込まれているとの結論が得られた。

4 除去基質当りの酸素消費量は時間と共に増加しており、6.5h 後の基質除去率約 80 %における酸素消費量は理論値（完全酸化を仮定）の約 15 %であった。この間における活性汚泥の収率は .85 以上を示した。なおこの活性汚泥によるG1除去時における酸素消費量は理論値の 16-18 %であった。

5. グルコース及びデキストリン活性汚泥の微生物相に対する考察

山本らは、グルコース活性汚泥によるグルコース除去の場合には高分子の炭水化物が、またデキストリン活性汚泥によるデキストリン除去の場合には低分子の炭水化物が細胞内に蓄積することを報告している(8)。最大貯蔵量は添加基質量に対して各々30%程度である。なおこの貯蔵物質の相連については他の活性汚泥でも追試すべきであろう。

リン酸化分子転送系でグルコースを輸送する場合、グルコース1モル当り1モルのリンを要する。高分子炭水化物を形成しないと仮定すると、細胞重量と同量のグルコースを取り込む場合には細胞重量の17%のリンを余分に含有する必要がある。グルコース活性汚泥はこれほど高いリンを含有していない。リン酸化分子転送系に必要なリンを高分子炭水化物を形成することにより回収しているものとも考えられる。

デキストリン活性汚泥が溶液中でデキストリンを加水分解しマルトース輸送系で細胞内に取り込む場合、結合タンパクと輸送タンパクの存在量の差からペリプラズム空間にオリゴ糖を貯蔵するので、細胞内には高分子炭水化物を貯蔵しない。同一菌株でもグルコースとマルトースでは輸送系が異なること、また菌株によりグルコースに対する輸送系が異なることなどから、廃水中の高分子の炭水化物をグルコースで代用した場合には、有機物の貯蔵機構について誤って説明しているものと考えられる。

<参考文献>

- (1) 生方(1988):第43回土木年講Ⅱ, p1018- (2) 生方(1989):第26回下水研究, p244-
- (3) 安楽(1986):細胞表層(田村編), 3章, p42-, 学会出版センター, 同(1985):新医科学体系(山村編),
- (4) 柳田(1980):微生物科学1, p229-, p267, 学会出版センター L 第2A巻, p43-, 中山書店,
- (5) 高橋他訳(1978)(スタニア著):微生物学(上), 10章, p325-, 培風館
- (6) B. P. Rosen (E.)(1978): Bacterial Transport, Marcel Dekker. 有機・無機物に対する専門書
- (7) T. J. Silhavy et al:(6), Chp. 4, p127-. (8) 松井他(1988):下水協誌, Vol.25, No.286, p53-

表-1
基質間のSSI

基質	SSI
G1/G2	58
G1/G3	59
G1/G6	60
G2/G3	53
G3/G6	51
G4/G5	49

表-2 TOC値

	計算値	測定値
h G1 G3 G1+G3		
0 67 83 150	154	
1 44 58 102	97	
2 31 22 53	65	
3 17 12 29	36	