

## II-138

## 有機物の取り込み・貯蔵機構からみた生物学的リン除去機構

都立大学工学部・衛生工学 正会員 生 方 悠

## 1 はじめに

嫌気・好気法による生物学的リン除去の基本的な機構については今だに不明である。リンの過剰摂取を行う細菌の生理学的な機構を正しく仮定できないことが研究を遅らせている主要な原因であろう。嫌気・好気法の嫌気過程においてはポリリン酸の加水分解エネルギーを利用して溶液中の基質を結合蛋白に結合しペリプラズムに貯蔵しており、また好気過程においては貯蔵された基質を原形質に輸送し代謝していると仮定すると、生物学的リン除去の機構は簡単な生物学的な反応として説明できる。本報告においては、リン放出量と基質取り込み量の間には簡単な化学量論が成立しているとの解析結果が得られたので報告する。

## 2 下水中有機物・基質・輸送系・貯蔵・細胞生理。

活性汚泥曝気槽流入水の有機物はタンパク質・炭水化物・脂肪等の高分子有機物であるので、これらの有機物はアミノ酸・オリゴ糖・揮発性脂肪酸等の低分子有機物に加水分解されてから細菌に取り込まれている<sup>1)</sup>。大腸菌や *Pseudomonas* などを用いた輸送系の研究によると、これらの有機物（基質）の取り込みにはペリプラズムにおける結合蛋白（酵素）の存在が必要であり、結合蛋白と輸送蛋白（酵素）との共同作業により基質は原形質に能動輸送される<sup>2, 3)</sup>。量的なものは不明であるが、基質の結合蛋白への結合および基質の原形質への能動輸送にはATPからのエネルギー供給を必要とする<sup>2)</sup>。

細胞（原形質）内のアミノ酸などの有機物濃度は浸透圧の関係から、 $10^{-3} \sim 10^{-4}$  Mに恒常的に維持されている<sup>2)</sup>。基質  $1 \text{ mM/l}$  が代謝を受けずに  $1000 \text{ mg/l}$  ( $=1 \text{ g/l} = 1 \text{ ml/l}$ ) の活性汚泥に取り込まれたとすると、活性汚泥中の基質濃度は  $1 \text{ mM/l} = 1 \text{ M}$  となり恒常値の  $10^3$  倍以上の濃度となる。細胞内の基質濃度の恒常性を保つためこのような多量の貯蔵物質はペリプラズムに低分子有機物として貯蔵するか、原形質内では高分子有機物に変換して貯蔵する必要があると考えられる<sup>4, 5)</sup>。リン除去細菌が細胞内にピロリン酸の代わりに不溶性のポリリン酸を貯蔵するのも浸透圧による不都合を避けるためである。

デキストリン活性汚泥は好気的な基質の取り込み時にSS量が約1.5倍となり、貯蔵基質量の約7割を低分子の糖として貯蔵していた<sup>4)</sup>。この活性汚泥を窒素ガスで曝気したり氷冷すると基質をほとんど取り込めない<sup>6)</sup>、基質の取り込みにはエネルギーの供給が必要である。グルコースを基質とすると増殖細菌種と能動輸送系がデキストリンとは異なっており、グルコースは炭水化物の代替基質としては不適当である<sup>4, 5)</sup>。

曝気槽流入水の有機物には蛋白質が多く、蛋白質の中ではグルタミン酸の含有量が高いので、下水の処理機構を考える上ではグルタミン酸の代謝が重要である。ペプトン活性汚泥によるグルタミン酸の好気性処理においては、活性汚泥の収率・ $\text{NH}_3\text{-N}$ の放出量から、グルタミン酸はほとんど貯蔵されていないと判断された<sup>7)</sup>。一方嫌気・好気法の嫌気過程でのグルタミン酸の除去においては、リン酸が放出されているのにグルタミン酸の酸化に伴う $\text{NH}_3\text{-N}$ の放出がほとんどなされず(15%)、グルタミン酸の単純蓄積が推測されていた<sup>8)</sup>。後にアミノ酸分析計により蓄積物がグルタミン酸であることが確認されている<sup>9)</sup>。その時の活性汚泥内グルタミン酸濃度は0.2 Mであった。従ってグルタミン酸は嫌気過程においては結合蛋白に結合されペリプラズムに貯蔵されており、好気過程において原形質に輸送され代謝されていることになる。なお有機酸・蛋白活性汚泥による嫌気過程でのピルビン酸除去時における炭素の収率は、高分子貯蔵物質(16%)、炭酸ガス(16%)であり、残り70%の炭素は不明であった<sup>8)</sup>。大部分のピルビン酸はペリプラズムに貯蔵されているのであろう。

## 3 リン放出量と基質取り込み量の化学量論

嫌気・好気法リン除去細菌はグルタミン酸の例にみられるように嫌気過程においては基質を代謝せずに結合蛋白に結合しているものと考えられる。嫌気過程における基質の取り込みをポリリン酸の加水分解エネルギーを利用していると仮定するとリン放出量と基質の取り込み量の間には厳密な化学量論が成立していることが必要である。結合蛋白と基質との結合に要するエネルギー量は両物質の立体構造や水溶液との親和性などの物理化学的特性に依存する筈である。これらの化学量論については、グルコース（流入水では揮発性脂肪酸に変化）：ペプトン＝1：1で培養した活性汚泥を用いて各基質の除去量とリン放出量を測定した既存のデータを参考

にした<sup>8)</sup>。そのデータからの解析結果を次に示す。

①飽和カルボン酸に関しては、モノカルボン酸の酢酸を1単位(0.6 P E M/ 基質 E M)としており、ジカルボン酸のコハク酸は2単位であった。揮発性脂肪酸の内、炭素数が偶数の酢酸・酪酸は1単位であり、炭素数が奇数のプロピオン酸・吉草酸は2単位であった。この単位数の相違は揮発性(飽和)脂肪酸の立体構造(炭素結合が平面的でなく、ジグザグ結合)に依存しているのであろう。

②アミノ酸に関してはアラニンが1単位であった。プロピオン酸の炭化水素鎖の1部に親水性のアミノ基が付加されたことにより、親水性が増し酢酸と同じ単位数になったのであろう。

③飽和型炭化水素鎖の1部が酸化されると単位数は半分程度以下に低下していた。基質の酸化の程度と単位数の低下の程度には正の相関関係があった。この関係はコハク酸に対するフマル酸・リンゴ酸・オキサロ酢酸、プロピオン酸に対する乳酸・ピルビン酸、又アラニンに対するセリンの例にみられる。飽和脂肪酸の炭化水素基が酸化されて2重結合や水酸基を持つ有機酸になると水溶液との親水性が増し、結合蛋白との結合に要するエネルギーが少なくても良いものと考えられる。

④炭素数の多いグルタミン酸、アスパラギン酸は、飽和脂肪酸とアラニンの単位数の和で示され、各々3, 2の単位数であった。ただし炭化水素鎖中の中央の炭素は2重に読んでいる。

⑤最小単位の脂肪酸である蟻酸および酢酸のアナログであるヨード酢酸・グリコール酸・グリオキシル酸は基質の取り込みがないのに多量のリンを放出している。前者は基質の親水性が強いため結合しても遊離され、後者は基質と結合蛋白の立体構造が不適当なので結合と遊離を繰り返し、その結果カルボキシル基が結合される度にエネルギーが消費され、多量のリンが放出されているのであろう。

⑥以上を総合すると有機酸はカルボキシル基とそれを除いた炭素鎖の2点で結合蛋白に保持されるものと考えられる。カルボキシル基を除いた炭素鎖の親水性の大小により結合エネルギー量は決定される。

#### 4 有機酸の取り込み時における基質の識別

ペプトン活性汚泥が好氣的に基質を取り込む時、基質を厳密には識別できず数種の基質は同一の輸送系で取り込まれていた。そのような基質には、T C A回路のコハク酸・フマル酸・リンゴ酸(オキサロ酢酸はほんの少し異なる)、酢酸・ピルビン酸・オキサロ酢酸等があり、基質混合物の除去においては各々の基質は濃度分圧で取り込まれているか、ジオキシー現象が起きているものと考えられる<sup>10)</sup>。酪酸・吉草酸混合物においては各々の基質は濃度分圧で取り込まれていることが確認された<sup>10)</sup>。嫌気・好気法リン除去活性汚泥も同じような現象を示していた<sup>11)</sup>。コハク酸とリンゴ酸を各々単独に除去すると基質の除去速度はほぼ同じであるが、リン放出量は2:1の比であった。同量のコハク酸・リンゴ酸混合物の除去においては各基質の除去速度は半減したが、混合物の除去速度は単独の場合と同じであった。この混合物におけるリン放出量は両者の中間の1.5を示していた<sup>11)</sup>。リン放出と基質取り込みの化学量論を適確に把握した見事な実験法である。好気法と嫌気・好気法における基質の取り込み機構は同じであり、結合蛋白は基質を識別せず濃度分圧で結合するが、結合エネルギーは基質により異なり各々の基質の結合量に比例していることになる。

#### 5 嫌気・好気法リン除去細菌の代謝生理に関する問題点と培養法

この細菌は嫌気過程でポリリン酸の加水分解エネルギーを用いて有機物を細胞内に取り込めるから嫌気好気法において他の細菌に対して優占出来ることになる。ただし無機物のポリリン酸を貯蔵エネルギーとする細菌の存在、および回分培養法の特徴であろうがペリプラズムにアミノ酸・有機酸などの低分子基質を蓄積する現象は現在の微生物学ではまだ常識にはなっていない<sup>1)</sup>。

この細菌は絶対好気性細菌であるので、嫌気過程での基質の存在によるポリリン酸加水分解酵素系の誘導を考慮すると、嫌気過程において有機物を残存させないことが生物学的リン除去法の運転管理上および純菌の生理的特徴を把握する上で最も重要な事柄となるであろう。

#### <参考文献>

- 1) 例えば柳田:微生物科学, スクニャ:微生物学, Gottschalk: Bacterial Metabolism,
- 2) 安楽:細胞表層, p42-, 3) Rosen(1978): Bacterial Transport, Marcel Dekker, 4) 生方(1991), 衛生討論会, Vol. 27, p4-, 5) 生方(1990), 土木年講Ⅱ, p1044-, 6) 生方(1989), 下水研究, p244-, 7) 生方, 未発表, 8) 松尾(1987), 衛生研究論文, Vol. 23, p287-, 9) 佐藤(1989), 土木年講Ⅱ, p1000-, 10) 生方(1991), 水濁年講, P418-, p570-, 11) 松尾(1987), し尿処理における膜利用...., p80-,