

1. 序論

嫌気好気リン除去活性汚泥のような混合微生物系においては、嫌気条件での有機物の取り込みと溶解性リンの放出、及び好気条件での溶解性リンの過剰な取り込みを行なうリン除去細菌が存在していることは明かである。一方リン除去細菌と考えられる細菌が多数分離されているが、それらの細菌は典型的なリン除去細菌としての機能を示していない¹⁾。厳密な意味でのリン除去細菌は1例のみで、その菌株はグラム陽性であり、好気培養の細菌はリン除去細菌としての機能を示さないが、静置培養の細菌はリン除去細菌としての機能を示すと報告されている²⁾。リン除去細菌ではリン除去に関与する代謝酵素系が誘導酵素であると仮定すれば、好気培養した細菌に対して嫌気好気の付加的な操作を施せばリン除去細菌としての機能が発現されることになる。そこで好気培養した細菌に対して、リンを含む無機塩溶液の好気条件と、それに有機物を添加して窒素ガスで置換した嫌気条件との付加的な操作を繰り返したところ、典型的なリン除去細菌としての機能を示す細菌を1株分離できた³⁾。好気培養直後でのこの細菌は好気的なリンの取り込み量も少なく、嫌気的なリンの放出量も少なかったが、嫌気好気の操作を2回繰り返すことによりリンの取り込み量も放出量も著しく増大した。なおリン除去に関与する酵素系の誘導には、嫌気条件と嫌気的に取り込まれる有機物の存在とが必要であり、片方の条件では誘導されないことが判明したのでここに報告する。

2. 活性汚泥・培地・実験方法

細菌の分離・培養に用いた培地は、有機物：酢酸 Na, プロピオン酸 Na, 酵母エキスを各 100mg とカザミノ酸 200mg、及び無機物： $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 30mg, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 10mg, KH_2PO_4 ; 100mg (23ppm as P), NaCl; 100mg を 1 L の蒸留水に溶解させ、希塩酸で pH を 6.90 程度に調整した。嫌気好気リン除去活性汚泥はこの培地に類似した成分で馴致されていた。細菌の分離は平板培養法で行ない、有機物の濃度は活性汚泥での供給有機物濃度とした。平板培養後 3 日以降にコロニーを形成した比較的増殖速度の遅いものをリン除去細菌として選択した。それらの中で特徴的な数種類を坂口フラスコで好気的に培養した。培養細菌を遠心分離し、好気条件では有機物が存在しない無機塩のみの溶液に移し、坂口フラスコで振盪した。嫌気条件ではその溶液に少量の濃厚有機物を添加し、密栓し気相を窒素ガスで置換した。嫌気過程終了後、細菌を遠心分離し、無機塩溶液に浮遊させ、新しい容器に移し替えた。なお分与された純粋菌にも同様の操作を施した。

3. 実験結果及び考察

3-1. リン除去細菌の特性

典型的なリン除去細菌としての機能を示す細菌は、8 株中の 1 株であった(この細菌のリン代謝の能力の 0.3% を示す細菌が 2 株あったが、工学的には有効でないと判断した)。嫌気好気の操作を 1 日間隔で繰り返すと 700 ppm のこの細菌は好気過程で全量の 23ppm のリンを取り込み、嫌気過程では TOC 換算で約 80 ppm の有機物を取り込むと共に、取り込み量と同程度のリンを放出した。リン放出量は厳密には定まらず、最小で 10ppm 最大で 35ppm のこともあった。なぜこのような現象が起こるのかその原因は不明である。このリン除去細菌はグラム陰性の単桿菌である。この細菌の最大比増殖速度は 1.43/日(倍加時間は 0.48 日)とかなり遅く、活性汚泥細菌のそれとはほぼ一致していた。好気培養時におけるこの細菌のリン含有率は 4.9-5.7% であった。この値は *Acinetobacter* のそれとはほぼ同じである⁴⁾。大腸菌のそれは 3% 程度であるからそれほど高いリン含有率ではない。嫌気好気操作後におけるリンの取り込み量は細菌乾燥重量当たり最大で約 15% であった。この値はリン除去活性汚泥の 2 倍以上である。この細菌は好気過程ではカザミノ酸と有機酸を取り込めたが、嫌気過程ではカザミノ酸のみを取り込み有機酸は取り込めなかった。有機酸で好気培養したこの細菌は、嫌気過程で有機酸を取り込めずリンも放出しなかったが、カザミノ酸を取り込みリンを放

出した。好気過程ではほぼ時間比例でTOC(3-5ppm程度)を放出したが、これは代謝廃物に由来するものであろう。なおこの細菌は嫌気過程でICを取り込み、好気過程でIC(10ppm程度)を放出した。したがってこの細菌は嫌気過程では有機物を貯蔵し、好気過程でのみ増殖しているものと考えられる。

3-2. リン除去に關与するリン代謝酵素系の誘導因子

好気培養した細菌を四等分し、遠心分離後各々を無機塩溶液に浮遊させ、嫌気時にはカザミノ酸、有機酸、炭酸ガスを添加し、残りは無添加とした。このような嫌気好気の操作を2度繰り返したところ、嫌気時にカザミノ酸を添加した細菌はリン除去細菌としての機能を示すようになったが、一方他の条件の細菌はリン除去細菌としての機能を全く示さなかった(有機酸は取り込まれず)。好気培養の細菌はリン除去細菌としての機能を示さないで、リン除去の代謝酵素系の誘導には、嫌気条件と嫌気過程で取り込まれる有機物の存在との両条件が必要であることが判明した。

3-3. 定常期の期間がリン除去酵素系の誘導に及ぼす影響

定常期を数日経過した細菌は1回の嫌気好気の操作でもリン除去細菌としての機能をそれなりに示した。一方指数増殖期直後の細菌は嫌気過程で有機物を取り込むがリンを全く放出しなかった。2回目の嫌気好気の操作から典型的なリン除去細菌としての機能を示した。このような場合を考慮すると、リン除去細菌を確認するには嫌気好気の操作を2回施すことが必要となるであろう。既報のリン除去細菌と称する細菌が嫌気過程においてリンを放出しない理由はここにあったのかも知れない。

3-4. リン除去に及ぼす有機物の影響

好気過程におけるリンの除去速度に及ぼす有機物の影響について調べたところ、有機物の存在によりリンの除去速度は1/3-1/2に低下していた。リン除去活性汚泥において何らかの理由により、嫌気過程で有機物を取りきれずに好気過程にまで有機物を残存させると好気時間の制限からリンの取り込み量が減少する。その結果嫌気過程での有機物の取り込み量が減少し、リン除去の機能は次第に低下する。リン除去活性汚泥においては好気過程に有機物を流入させないよう運転管理するのが一番重要な事柄である⁵⁾。

3-5. リン除去を示さない細菌の挙動

分離した細菌の内、5株は好気・嫌気の両過程において少量のリンを放出し、嫌気過程では有機物(アミノ酸であるか有機物酸であるか不明であるが)を取り込んでいた。これらの結果よりこの5株は通性嫌気性細菌であると判断できる。混合系においてはこれらの細菌の果たす役割にも注意すべきであろう。

リン除去細菌としては *Acinetobacter* がよく知られている。東京大学・微生物微細藻類総合センターから *A. calcoaceticus* (IAM-12087,-12580), *A. baumannii* (IAM-12088), *A. johnsonii* (IAM-1517) の4株を分譲して頂いた。この4株はすべて酢酸培地で好気的に培養できたが、1日間隔で嫌気好気の操作を4回ほど繰り返したにもかかわらず、嫌気過程では酢酸を全く取り込めなかった(リン濃度は測定せず)。これらの菌株はリン除去細菌としての機能を示さないことが既に報告されている⁶⁾。その実験方法には不備があっただけでなく、これらの菌株は酢酸を資化するリン除去細菌ではないことが本実験により判明した。

4. 結論

リン除去細菌においてはリン除去の代謝酵素系は誘導酵素と仮定した。好気培養した細菌に対して嫌気好気の付加的な操作を施すことにより、リン除去細菌は典型的なリン除去の機能を発現した。リン除去の代謝酵素系の誘導因子は嫌気条件と嫌気過程で取り込まれる有機物の存在であった。仮説は妥当であることが実証された。分離されたリン除去細菌はグラム陰性の単桿菌であり、最大比増殖速度は1.43/日と遅く、好気培養時におけるリン含有率は4.9-5.7%であった。嫌気好気操作後におけるリンの取り込み量は細菌乾燥重量当たり最大で約15%であった。筆者の示した手順によりリン除去細菌を確認する方法が確立された。

<参考文献> 1) Jenkins: W.R., Vol. 25, p1471-. 2)中村:25回水濁年講, p560-. 3)生方:27回水環年講, p166-. 4) Deinema et al, WST., p119-, 1985. 5)生方:46回土木年講, p316-. 6) Ohtake et al, W.R., Vol. 19, p1587-, 1985.