

ペプトン活性汚泥によるアミノ酸混合物の除去時における基質間の相互作用

都立大学工学部 生 方 悠

易分解性有機物の混合物の除去時において、一方の有機物の存在が他方の有機物の除去速度を低下させたりまたその有機物の除去を完全に阻害する場合には、その混合有機物の除去時において基質間に相互作用が生じていると表現して良からう。厳密にはグルコース効果にみられるように同一微生物群による2種類の有機物の選択的取り込みの現象であるが、基質の除去からみれば限りでは見かけ上基質間に相互作用が生じていることになる。ペプトン活性汚泥による非必須アミノ酸混合物の除去時においては基質間に大きな相互作用が生じていた^{1,2)}。この場合基質混合物における各アミノ酸の濃度を測定していないので、その内部構造については解析不可能であった。今回は、必須アミノ酸と非必須アミノ酸を組み合わせたアミノ酸混合物の除去時における各アミノ酸の濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定したところ、一方の基質がカタボライト抑制を受けるのではなく両基質ともカタボライト抑制を受けているとの実験結果が得られたので報告する。

1. 実験方法 活性汚泥の培養方法及び混合基質除去時における基質間の相互作用の測定方法については、筆者の方法を用いた¹⁾。混合基質溶液中のアミノ酸の濃度は TOC 計と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を併用して測定した。TOC 計には島津 TOC-500 を使用した。HPLC の送液装置には LC-6A を、検出器には示差屈折計 RID-6A (以上島津製作所) を、またカラムにはゲル濾過用の Ashahipak GS-220H (旭化成) を用いた。このカラムにおいては、使用したアミノ酸の検出面積と濃度との間にはほぼ比例関係が存在していた。HPLC で解析するアミノ酸には、ペプトン中における最大含有量である Glu、アミノ酸の相対除去速度が最大である Ala、非必須アミノ酸の中では分岐鎖アミノ酸の代表として Leu、また芳香環を持つ Phe を選択した。使用したゲル濾過用のカラムでは分離能が悪く、ここに使用したアミノ酸以外のアミノ酸はいずれかのアミノ酸とピークが重なるので同時に測定することは不可能であった。

2. 実験結果及び考察

2-1 ペプトン中のアミノ酸含有量に対する各アミノ酸の相対除去速度

表-1 にペプトン中のアミノ酸含有量に対する各アミノ酸の相対除去速度を示す。Arg を除く必須アミノ酸の相対除去速度の平均値は 0.5 程度である。また非必須アミノ酸の相対除去速度の平均値は 3 以上であり、特に Ala のそれは 5.9 と必須アミノ酸のそれに対して 10 倍もの高い値が得られた。相対除去速度の高いアミノ酸は混合基質除去時における基質間の相互作用が大きいことは既に報告してある^{1,2)}。アミノ酸混合物の除去において相互作用の大きいことは、ペプトンと同じ組成の遊離のアミノ酸混合物の除去速度が 73 TOCmg/g.SS/h であるのに、各々のアミノ酸の単独の除去速度の総和は 213 TOCmg/g.SS/h で示されたことから推測できる³⁾。基質の除去速度はその反応槽における微生物が持つ酵素量に比例すると仮定できる。非必須アミノ酸を取り込む酵素量は、各々の必須アミノ酸を取り込む酵素量の数倍も存在していることになるので、ペプトン活性汚泥中の微生物においては非必須アミノ酸を取り込む酵素は構成酵素になって

表-1 各アミノ酸含有量に対するアミノ酸の相対除去速度

	Gly	Ala	Ser	Thr	Asp	Glu	Val	Leu	Ile	Lys	His	Arg	Phe
1	4.6	6.4	8.5	14.3	10.9	33.5	15.0	24.4	14.1	20.6	5.1	5.8	16.2
2	13	38	35	4.9	25	32	6.2	12	6.5	4.7	4.7	20	9.6
3	2.8	5.9	4.1	0.34	2.3	0.96	0.41	0.49	0.46	0.23	0.92	3.4	0.59

1: アミノ酸含有量 (TOCmg/500mg, Peptone)、2: アミノ酸除去速度 (TOCmg/gSS/h)、

3: 各アミノ酸含有量に対するアミノ酸の相対除去速度 (2/1)

表-2 ペプトン活性汚泥による基質間の基質独立性指標と単独及び混合物中の基質の除去速度

基質混合物			単独基質		下記アミノ酸との混合物における除去速度*			
基質	除去速度*	SII	基質	除去速度*	Ala	Glu	Phe	Leu
Phe - Ala	17.0	76	Ala	17.9			14.1(79)	9.7(54)
Phe - Glu	17.6	75	Glu	18.9			14.0(74)	16.6(88)
Leu - Ala	15.0	64	Phe	4.3	2.1(50)	3.0(70)		
Leu - Glu	22.0	91	Leu	5.4	4.9(89)	5.4(100)		

*: (TOCmg/gSS/h), () の数値は単独の基質除去速度に対する混合物中での基質の除去速度の割合 (%)

いるものと考えられる。このことからアミノ酸を取り込むことが出来る微生物量は、非必須アミノ酸である Ala などの除去速度で代表させることもある程度可能である。

2-2 ペプトン活性汚泥による基質間の基質独立性指標と単独及び混合物中の基質の除去速度

ペプトン活性汚泥による基質間の基質独立性指標と単独及び混合物中の基質の除去速度を表-2に示す。実験に用いた4種のアミノ酸の除去速度は、表-1に示すそれらのアミノ酸の除去速度の半分程度しか示していないが、相対的な除去速度の割合は変化していない。この時期におけるこの活性汚泥によるグルコースや酢酸の除去速度は非必須アミノ酸のそれより高くなっていた²⁾。このような事実からこの実験で用いた活性汚泥にはペプトン以外の有機物、例えば活性汚泥の自己分解産物などの有機物を取り込む細菌の割合が増加しているものと考えられる。この頃は活性汚泥に対する有機物負荷が低下していたようである。

アミノ酸混合物の除去速度は、Leu - Glu の組合せを除くと、その実験に用いた非必須アミノ酸の単独の除去速度より低い値が得られた。必須アミノ酸の存在が非必須アミノ酸の取り込みを阻害していることになるので何とも説明しにくい現象である。単純にカタボライト抑制が生じているなら、2種のアミノ酸混合物の除去時においては、微生物にとって利用し易い、即ち取り込み速度の速い非必須アミノ酸が先に取り込まれるのでアミノ酸混合物の除去は非必須アミノ酸の除去速度で示されるはずである。

HPLC によるアミノ酸混合物中の各アミノ酸の除去速度の測定値は、各々2種のアミノ酸の除去速度の和がアミノ酸混合物の除去速度に対して 95-100% を示しているので、信頼できる値である。Leu の場合のみ例外的に他のアミノ酸の存在の影響が少ないものの、アミノ酸混合物中における各アミノ酸の除去速度は、単独の場合の除去速度よりかなり低下している。特に Ala との混合物中での Phe、および Leu との混合物中での Ala の除去速度は単独の場合の約半分を示していた。図-1に Ala, Phe について混合物中および単独の除去速度を示すが、各々のアミノ酸の除去速度は他のアミノ酸の存在により低下していた。

3. 結 論 アミノ酸混合物の除去時における各アミノ酸濃度を HPLC で測定した。このペプトン活性汚泥にはアミノ酸に対して基質選択性の広い酵母がある程度存在していること⁴⁾、また非必須アミノ酸を取り込む酵素が構成酵素として存在しているらしいこと、更にペプトン活性汚泥には数多くの細菌が存在している混合微生物系であることなどから、アミノ酸の混合物の除去時においては一方のアミノ酸が単純なカタボライト抑制を受けているのではなく両基質ともカタボライト抑制を受けているとの実験結果が得られた。

TOC 計および HPLC 装置の使用について便宜をはかって頂いた石田耕一係長を始めとする東京都下水道局計画部技術開発課水質係の皆様は御礼申し上げます。 <参考文献>

- 1) 生方(1991): 第27回衛生工学研究論文集、土木学会
- 2) 生方(1989): 第25回衛生工学研究論文集、土木学会
- 3) 生方(1988): 第24回衛生工学研究論文集、土木学会
- 4) 生方(1991): 第27回衛生工学研究討論会講演集、土木学会

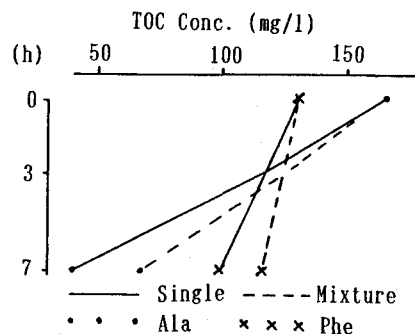


Fig. 1 Change of substrate conc.