

東北大学 正員 松本順一郎
同 学生員 原田秀樹

1. はじめに.

本実験は活性汚泥のような好気性他栄養型混合微生物系の生態学的構造を、増殖動力学面から解明し、微生物相の人為的制御の基礎的情報を得る為、行なわれた実験的研究である。

glucose $C_6H_{12}O_6$	4000 mg/l
NH_4Cl	784 mg/l
Na_2HPO_4	1136 mg/l
KH_2PO_4	968 mg/l
$\frac{C}{N}$	$\frac{1500}{205} \frac{mg}{mg}$

TAB-1 基質組成

2. 実験装置 および 実験方法

実験装置は連続型完全混合槽(送流なし)で、図-1に概略を示す。基質組成はグルコースを単一の炭素源とし、流入濃度4000(mg/l)と1000(mg/l)の、2つの系で行なつた。後者は表-1の1/4の規模である。実験パラメーターとして、希釈率D(hr^{-1})(すなわち、平均細胞滞留時間の逆数)を各段階に設定して連続定常実験を行ない、その系に適応した微生物の選択をした。また各連続RUNの終りでは、分離された微生物相の増殖パラメーターを求める為、回分実験を行なつた。槽内の分析試料は、0.45 μ mメン・レン・フィルターで濾過したものを用いた。分析方法としては、CODは重クロム酸カリ法、炭水化物はアンスロン法(グルコース還元量で表示)、 NH_4-N はインドフェール法、呼吸速度は電極法を用いた。なおMLSSは、OD 660nmによる光学的方法と、AP40メン・レン・フィルターによる重量法とを併用した。水温は20 $\pm$ 2 $^{\circ}C$ 、空気吹込倍率は約1.0(l_{air}/l_{min})で制御した。供試種汚泥は前述のグルコース流入濃度1000(mg/l)で、自然返流式曝気槽で長期馴馴馴馴したものをを用いた。

3. 実験結果 および 考察

連続定常実験における、槽内のCOD、炭水化物、MLSSの経時変化の一例を図-2に示す。各連続RUNは、少なくとも平均滞留時間の7倍以上の期間続けられ、定常状態が確認されてから、回分実験に移植した。図-3は、各連続定常適に対する希釈率の影響を示したものである。有機物濃度をCODおよび炭水化物で追跡したので、グルコース以外のCOD物質を代謝生産物とすると、流入濃度4000(mg/l)系、1000(mg/l)系ともに希釈率が大きくなるに従い、生産物生成速度も大きくなる。またその影響の大きさは、流入濃度に依存している。比呼吸速度は希釈率に対して、ほぼ線形的関係を示しているが、その傾き(酸素に対する増殖収率)は、流入濃度に依存し、1000系は4000系の約半分程度である。次に有機物の形態変化について、酸素バランスをとると次式を得る。

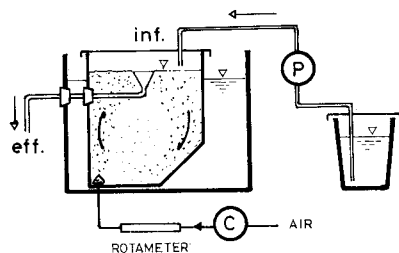


FIG. 1 連続培養装置

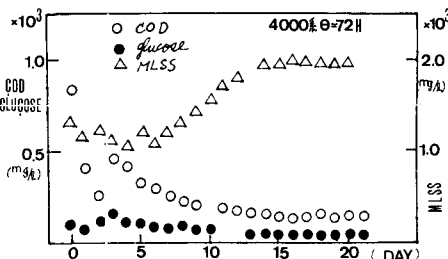


FIG-2 連続定常実験経時変化

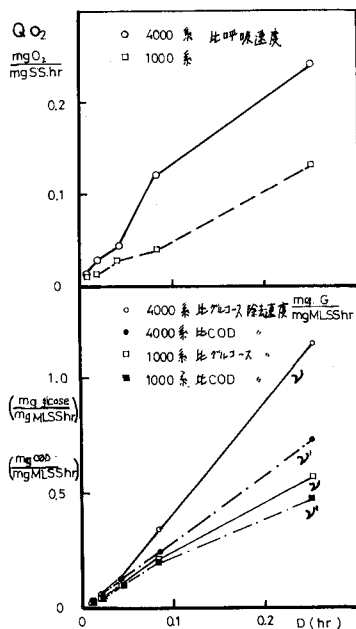


FIG-3 希釈率-比速度

$$A(-\Delta S) = B(\Delta X) + \Delta C_2 + \Delta P$$

$$\text{変形して, } 1 = \frac{B}{A} Y_2 + \frac{Y_{C_2}}{A} + \frac{Y_P}{A} \dots \text{①}$$

右辺が1項は、基質が生物体構成素材に転換した割合(X), 第2項は基質が酸化された割合(β), 第3項は代謝生産物に転換した割合(γ), である。

①式に基づいて、連続定常値から求めた X , β , γ を図-4に示した。

4000系, および1000系ともに、高希釈率の系では利用された基質総量のうち同化にまわった割合(X)は小さく、代謝生産物にまわった割合(γ)が大きくなっている。また、流入濃度の低い系の方が、酸化される基質の割合(β)が低くなっている。図-5は単位生物量が増殖する際の総グルコース利用量($\frac{\Delta X}{\Delta t} = \frac{1}{Y_2}$)の内訳を示したものである。4000系では、希釈率の高い系ほど、総グルコース利用量は大きくなる。しかるに、単位生物量あたりの同化、異化に必要なグルコース量は、各希釈率で一一定となる。また、1000系では、ほぼ Y_2 は一定である。代謝生産物の蓄積のみみられた高希釈率の系では、培養液が高粘性を示し、pHの低下もかなりみられた。

次に連続定常実験で各希釈率に対して優占種となった生物相の増殖パラメーターの評価について示す。図-6は回分実験例である。初期基質濃度は連続実験と同一とした。生物増殖はMonodモデルに使う(自己分解係数 $K_d(h^{-1})$ を考慮する。)と仮定すると、

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_s + S} - K_d$$

上式を差分形に変形して

$$\frac{X \cdot S \cdot \Delta t}{\Delta X + K_d \cdot X \cdot \Delta t} = \left(\frac{1}{\mu_m} \right) S + \frac{K_s}{\mu_m} \dots \text{②}$$

K_d は回分実験増殖終了後のMLSS減少速度から求めた値を代入して、図-7のLineweaver-Burk's Plotから μ_m , K_s が求められる。なおパラメーター評価は各回分RUNとも、lagを考慮した。1000系の各分離生物相の増殖特性を表-2に示す。また $\theta=4hr$ と $72hr$ の場合を図-8に示す。 μ_m と K_s の間には正の相関性が示され、また、 μ_m , K_s ともに希釈率が大きくなるに従って増大する。4000系では、高希釈率の系で代謝生産物蓄積の K_s の評価値が大きめに示しているが、同様の傾向を示した。このことから、本実験の条件下では、希釈率は混合微生物相の優占生物相を決定する大きな因子であるといえる。なお、高希釈率の系では、分散増殖であり、低希釈率の系では、糸状菌が優占種であった。

4. おわりに、本実験で得られた知見をまとめると、

(i) 希釈率と分離生物相の μ_m , K_s の間には、正の相関性がある。

(ii) μ_m , K_s の大きい生物相は多量の代謝生産物を生成する。(iii) 単位生物増殖当たりの消費酸素量は、増殖速度よりも流入濃度に影響される。

最後に、本研究に御協力いただいた当時東北大学学生高尾治海、吉田郁夫両君に深謝いたします。(参考文献) (1) 合葉永井 "生物化学工学" (科学技術社) (2) CHIU et al BioTech & Bioengi 14, 179, 1972

A: 基質のTOD (80% subst)
B: 生物のTOD (80% g MLSS)
 ΔS (g-subst), ΔX (g MLSS), ΔP (g CO₂/g₂)

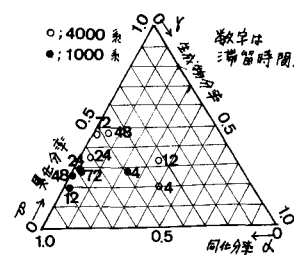


FIG-4 希釈率の炭素源転換率への影響

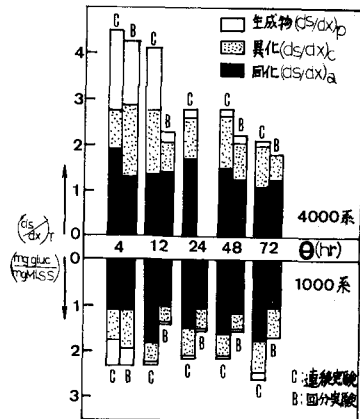


FIG-5 希釈率の収率への影響

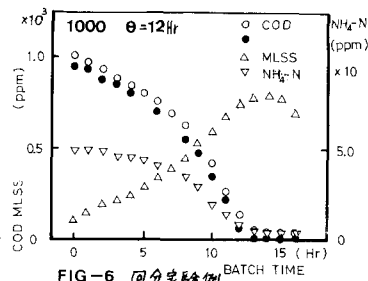


FIG-6 回分実験例

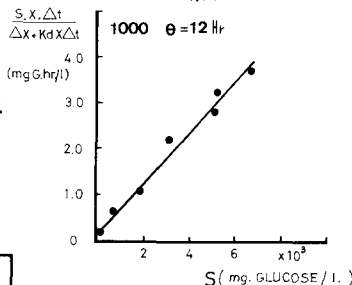


FIG-7 Lineweaver-Burk's Plot

希釈率D(h ⁻¹)	4	12	24	48	72
増殖時間(h)	0.250	0.083	0.0417	0.0208	0.0139
μ_m (h ⁻¹)	0.358	0.190	0.176	0.151	0.132
K_s (mg/l)	257	50.0	22.1	33.4	3.5
K_d (h ⁻¹)	0.028	0.033	0.060	0.0281	0.0255

TAB-2 希釈率のMonod定数への影響

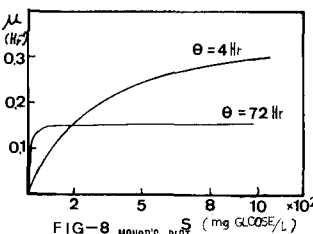


FIG-8 MONOD'S PLOT