II－562　硝化細菌の固定化担体内における減衰特性

日本大学　正員　田中和博　黒津健之
日立プラント建設（株）　正員　中村裕紀　角野立夫

１．はじめに

筆者らは，ポリエチレングリコールを主材料とした高分子ゲルに微生物を包括固定化した担体を硝化槽に添加し，従来の活性汚泥循環変法の滞留時間を標準活性汚泥法と同程度に短縮した硝化促進型循環変法の開発を進めてきた[1) 2)]。この担体の性能を評価する指標として，従来，担体の硝化活性や呼吸速度が用いられてきた。しかし，基本的評価指標としては硝化細菌数の計測が必要と考え，担体内の硝化細菌数の計測方法を開発[3)]した。本報告では，特に原水の供給が停止した空曝気下における担体内部での細菌の減衰特性に着目し，硝化細菌数及び硝化速度を計測し，若干の知見を得たので報告する。

２．実験方法

使用した担体は，材質がポリエチレングリコール製で活性汚泥を２％含有する３mm角形の包括固定化担体であり，現在稼動している２ヶ所の装置から採取した。（担体A，担体Bとする。）実験装置には１ℓのメスシリンダを使用し，水道水９００mℓに水を切った担体を加えて全量を１ℓとして充填率１０％とした。また，２０℃の恒温とし，酸素の供給と攪拌の為に５ℓ／分の通気量で曝気を行うことにより空曝気状態とした。

担体の硝化細菌数は最確値法（Most Probable Number法）によって求めるため，担体の破砕及び菌の分散が必要である。破砕にはホモジナイザ（池本理科製，ホモジナイザＰＡ型），菌の分散には超音波処理装置（日本精機製，ＵＳ３００型）を用い，表1のような範囲の条件で前処理を行った液を原液とし，最確値法に準じて硝化細菌数を計測する。表２に，供試したアンモニア酸化細菌計測用培地の組成を示す。硫酸アンモニウムを１００mg／ℓ含有する培地をＬ培地，５,０００mg／ℓ含有する培地をH培地と定義した[3)]。いずれもイオン交換水を用いて調製し，０.４５μmフィルタで除菌濾過後，クリーンベンチ内で試験管に９mℓずつ無菌分注する。前述の原液１mℓを９mℓの殺菌水に入れ１０倍希釈液とし，これを10^{-1}～10^{-10}まで調製して１０種の希釈倍率液を調製する。各希釈倍率液を各々５本の計測用培地に接種し（計５０本），３本の無接種の試験管とともに３０℃で８週間培養する。培養後，Griess-Ilosvary試薬１～２滴を各試験管に滴下し，赤色の発色により亜硝酸の有無を判定する。２～３分後，未発色の試験管に微量の亜鉛粉末を加え，新たに赤色が発色するか否かで，いったん生成された亜硝酸が共存した亜硝酸酸化細菌により硝酸まで酸化されたか否かを判定する。亜鉛粉末無添加及び添加により発色した（陽性）試験管数を各希釈段階毎に記録する。この値から，最確値表を用いて原液１mℓ当たりの生菌数X_0を算出した。次式により担体容

表１　前処理条件

①	ホモジナイズ処理 10,000rpm，10分
②	超音波処理 300W，400μA，1分

表２　アンモニア酸化細菌数の計測用培地

成　分	濃度（mg／L）	
	L培地	H培地
K_2HPO_4	２００	２００
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	５０	５０
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	２０	２０
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	１	１
$(NH_4)_2SO_4$	１００	５,０００

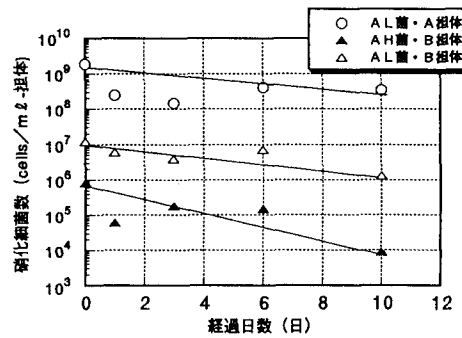

図１　空曝気下での硝化細菌の消長

積当たりの生菌数に換算した。

$$X = X_0 (Vp + Vw) / Vp \quad \cdots\cdots (1)$$

ここで，X　：担体内部の生菌数　(cells／mℓ－担体)

X_0 ：原液の生菌数　(cells／mℓ)

Vp：前処理した担体量　(mℓ)

Vw：前処理に用いた液量　(mℓ)

Ｌ培地で検出されるアンモニア酸化細菌をＡＬ菌，Ｈ培地でのそれをＡＨ菌と定義した。なお，菌数の測定精度は希釈操作の精度に大きく影響されるが，希釈液を10^{-10}まで調製することにより±５％の誤差を生じるが，その他の誤差を加えても菌数の測定精度としては±１０％以下であると考えられる。

３．実験結果と考察

採取した時の初期菌体濃度はいずれもＡＬ菌が優占しており，筆者等の既報告の文献[4]でもＡＬ菌が常に優占種であったことから，主にＡＬ菌について検討した。

それぞれの担体を空曝気した時の硝化細菌数の消長及び硝化速度を図１に示す。図１より硝化細菌数は全体として減少しているが，菌数に変動が認められる。これは，硝化細菌の自己分解と，自己分解生成物であるNH_4－Ｎを基質にして硝化細菌が再度増殖するという現象が担体内で繰り返されているものと考えられる。図２に硝化速度及び呼吸速度の変化を示す。図２より，硝化速度及び呼吸速度においても変動しながら減少している傾向が認められた。図２から硝化細菌の１細胞当たりの硝化速度（ｍｇ／cell／ｈ）を求めた結果を図３に示す。１０日間の空曝気では細胞当たりの硝化速度は若干の上昇が見られた。したがって，空曝気での菌数減少範囲では細胞当たりの硝化速度の低下はなく，担体内の菌数が減少することにより硝化速度が低下したと推定される。また，硝化細菌の死滅を次式で解析し，死滅速度を求めた。

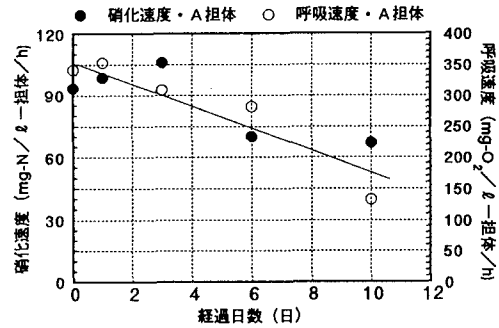

図２　空曝気下での硝化活性の変化

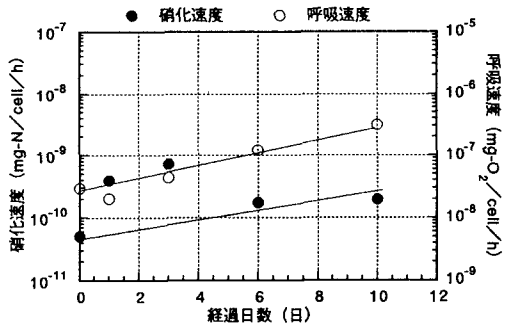

図３　空曝気による硝化細菌の細胞当たりの活性の変化
（A担体を使用）

$$dX/dt = -kX \quad \cdots\cdots (2)$$

ここで，X：硝化細菌数　(cells／mℓ－担体)

k：死滅速度定数（d^{-1}）

（２）式と図２からＡＬ菌の死滅速度定数を求めた結果，京都市担体で$0.200\ d^{-1}$，川越市担体で$0.224\ d^{-1}$であった。この定数から空曝気による菌数の半減期は３～４日と算出された。

４．まとめ

１．担体内部の硝化細菌数は空曝気することにより減衰し、空曝気による死滅速度定数は０．２００～～０．２２４d^{-1}で，半減期は３～４日であった。

２．１０日間の空曝気では細胞当たりの硝化速度の低下はなく，担体内部の菌数が減少することにより硝化速度が減少したと推定できる。

１）茂木ほか；硝化促進型循環変法の実規模施設への適用，第２９回下水道研究発表会（１９９２）

２）江森ほか；硝化促進型循環変法における反応槽構造の検討，第２８回下水道研究発表会（１９９１）

３）角野ほか；包括固定化微生物ペレット内部の硝化菌数の検討，第２７回水環境学会講演集（１９９３）

４）角野ほか；包括固定化微生物ペレットによる硝化処理とペレット内の生菌の挙動，第２７回水環境学会講演集（１９９３）