

VII-127

高温嫌気性汚泥消化における菌体計測に関する一考察

早稲田大学理工学部 学生会員 尾澤 勲

早稲田大学理工学部 学生会員 高木康行

早稲田大学理工学部 正 会 員 遠藤郁夫

1. はじめに

汚泥消化槽内混合液あるいは活性汚泥中において、従来よりSS濃度を菌体濃度を代表する1つの指標として用いてきた。しかしながら、微生物濃度をよりの確に把握するための研究は必ずしも十分ではないのが現状である。とくに、嫌気性細菌では使用する培地によって发育速度が異なり、かつコロニーを形成するまでに時間を要する等の問題点が考えられる。本研究では顕微鏡による直接観察と、培養法（公定法）としてのMPN法および平板培養法との相関性について検討を加え、さらにこの関係より菌体1個体あたりの重量を求め、嫌気性汚泥消化に関する総括反応速度論的動力学解析の可能性を試みたものである。

2. 測定方法

活性汚泥 (MLSS) および高温嫌気性汚泥消化混合液 (53℃) について次の観察を行なった。

(1) Hoechst33258を用いて菌体を染色し、落射蛍光顕微鏡にて観察を行ない、Thomas血球計数盤を用いて計数を行なった（以下、直接観察とする）。

(2) JISK0102に示された一般細菌試験に準じて操作を行ない36℃で24時間培養した後、平板上に形成された集落数を計数した。（以下、平板培養法とする）。

(3) MPN (5-5-5) およびMPN (3-3-3) 法による計測をおこなった。

3. 実験結果および考察

表-1 活性汚泥 (MLSS) の性質

I. 好気性条件による実験

好気性条件における実験

はS処理場より採取した活

pH	SS (mg/ℓ)	VSS (mg/ℓ)	Sv (%)	SDI	SVI	BOD-SS (kgBOD/kgSS)	HRT (hour)
7.01	1375	1060	19.0	0.724	138	0.249	12

性汚泥について、初沈流出水で馴養したものをもちいた。エアレーションタンク内のMLSSの性質を表-1に示した。平板培養にあたっては、普通寒天培地を用いて、36℃24時間培養した。平板培養法・直接観察法ともに活性汚泥 (MLSS) に対して、数段階の濃縮・希釈を行ないそれらを測定サンプルとした。図-1にはMPN法ならびに平板培養法と、直接観察法との関係を示した。2法（公定法）間には、当然のことながら、有意の差は認められなかった。また、培養法と直接観察法との関係を(1)式に示した。

すなわち、時間を要する培養法の代わりにHoechst 33258により菌体を染色し、蛍光顕微鏡下で計数す

ることによって、(1)式によって培養法による菌体数を知ることができることが認められた。

$$y = 0.5860 \times 10^{-2} x + 0.1991 \times 10^8 \quad (r=0.96) \quad \text{----- (1)}$$

II. 嫌気性汚泥消化槽内混合液による菌体計測

53℃における嫌気性汚泥消化実験をおこなった。反応槽容積は3ℓ、混合液容量は2.4ℓ、消化日数は14および16日消化として、菌体の測定を行なった。培養にあたっては嫌気ガスバックシステムを用い、21日間培養した。培地は嫌気性菌選択分離培地「GM加GAM寒天培地（ニッスイ）」を用いた。高温嫌気

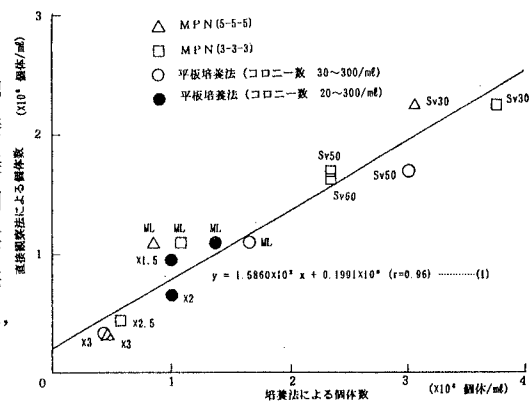


図-1 活性汚泥 (MLSS) における培養法による菌体数と直接観察法による菌体数との関係

性汚泥消化槽内混合液についても、活性汚泥と同様、MPN法および平板培養法いずれの場合でも、計数値に有意の差は認められなかった。直接観察法と培養法との関係を図-2に示した。この両者の間には高い相関性($r=0.98$)が認められ、(2)式で示すことができた。

$$y = 1.5919 \times 10^2 x + 0.2012 \times 10^8 \quad (r=0.98) \quad \text{----- (2)}$$

菌体1個体当たりの重量を求めるために濾過操作を行い $5\mu\text{m}$ のミリポア濾紙を通過して、 $0.45\mu\text{m}$ のミリポア濾紙上に堆積した重量を秤量した。また、 $5\mu\text{m}$ のミリポア濾紙を通過した液体中の菌体・微粒子混合体の位相差顕微鏡による写真観察をおこない、全個体数に占める菌体の割合は、 $\alpha=0.6\sim0.7$ の範囲で、 $\alpha=0.69$ であった。菌体重量の算出法の一例を示すと以下ようになる。直接観察法によって、 $5\mu\text{m}$ のミリポア濾紙を通過した液体中の菌体数(a)と、 $0.45\mu\text{m}$ のミリポア濾紙を通過した菌体数(b)の計測を行なった。すなわち、

$$(a) = 18.3 \times 10^8 \text{ 個体/ml}$$

$$(b) = 1.1 \times 10^8 \text{ 個体/ml}$$

$5\mu\text{m}$ のミリポア濾紙を通過して、

$0.45\mu\text{m}$ のミリポア濾紙上に堆積した重量

$$(c) = 480 \text{ mg 菌体・微粒子混合体/}\ell$$

を得た。 $0.45\mu\text{m}$ のミリポア濾紙上に堆積した菌体数は $(a) - (b) = 16.3 \times 10^8$ 個体/mlである。(2)式をもちいて培養法による菌体数を求めると 1.01×10^7 個体/mlとなる。

$$w = 480 \times 0.69 \div 1.19 \times 0.001 \div (10.1 \times 10^6) \\ = 2.76 \times 10^{-8} \text{ mg/個体 (但し、比重 } \gamma = 1.19)$$

となった。6日、8日、14日および16日消化等の反応槽について検討を行なうと、菌体1個体あたりの重量は $1.68\sim3.36 \times 10^{-8} \text{ mg/個体}$ となり、一般に考えられているメタン菌重量($10^{-8}\sim10^{-9} \text{ mg}$)の範囲と考えることができた。また、培養法による混合液中の菌体数は $1.7\sim2.8 \times 10^7$ 個体/mlとであった。二、三の報告による $10^6\sim10^8$ 個体/mlの範囲内に入っており、極めて妥当な値であると考えることができた。

4. 総括および結論

高温嫌気性汚泥消化槽混合液中の菌体数および菌体重量を直接観察法と培養法との関係式より実験的に求め、次のような結論が得られた。

(1) 蛍光顕微鏡下で観察して、計測を行った直接観察法と培養法との間には、高い相関性($r=0.91\sim0.96$)をもった線形関係が求められた。これらの関係から、比較的容易に直接観察法から培養法の菌体数を求めることができるものと考えられた。

(2) 菌体の直接観察法から、培養法による菌体数および菌体重量を求め、高温嫌気性汚泥消化槽の反応動力学的解析を試みた。図-3に認められるように基質濃度 X^* と、総括反

応速度 R_{cons} との関係はSigmoid Curveであることから、反応動力学式としてMoser式が適用できることを示唆している。Moser式に $n=2$ を代入して、Moser-Model constantを求め表-2に示した。これらの定数から、滞留時間について検討を加えると実験結果とよく一致することが認められた。

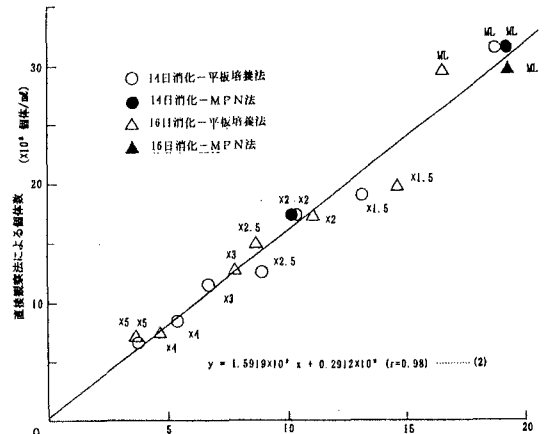


図-2 嫌気性汚泥消化槽混合液における培養法と直接観察法による菌体数との関係

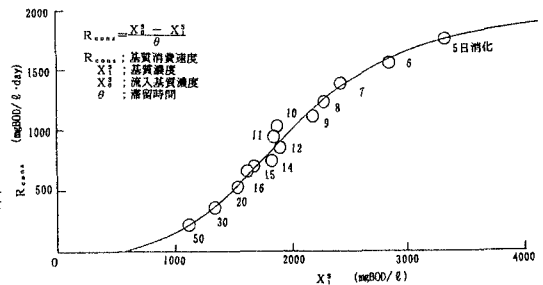


図-3 基質濃度と基質消費速度との関係

表-2 嫌気性汚泥消化実験によるMoser-Model定数 ($n=2$)

Y (mgMLSS/mgBOD)	K^d (1/day)	K^m (1/day)	K^{S*} (mgBOD/l) ²
0.089	0.0868	0.381	(2032) ²

* ; Moser-Modelの定数