

感潮河川における硝化菌活性の評価

九州大学 工学部 学生員○松永 忠久 正 員 楠田 哲也
同 上 正 員 古米 弘明 大石 京子

1. はじめに

河川における硝化作用は、溶存酸素の減少、微生物の増殖に深く関わっておりその把握は水質汚濁防止の上で重要である。本研究では、潮汐作用によって周期的に変化する塩分濃度と高濃度懸濁物質との影響のもとで硝化作用を行う硝化菌の活性を評価するために硝化菌量の推定法の検討を行った。

2. 菌体量推定式

2-1 解析式

推定のために用いた動力学式とその仮定¹⁾を以下に示す。

- 仮定 1. 菌体増殖はMonod式に従う。
2. 菌体増殖収率等の動力学定数は一定である。
3. 増殖の遅滞は無視できる。
4. 対象とする菌体以外の共存微生物は投与基質利用に影響を及ぼさない。

動力学式

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_s + S} X \quad (1) \quad X = Y(S_0 - S) + X_0$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \frac{dX}{dt} \quad (2) \quad \begin{array}{l} \mu_m: \text{最大比増殖速度} \quad S: \text{基質濃度} \quad Y: \text{増殖収率} \\ K_s: \text{飽和定数} \quad X: \text{菌体濃度} \quad \text{添字 } 0 \text{ は初期を示す。} \end{array}$$

(1),(2)式より以下の無次元化した解(3)式が求まる。

$$\mu_m t = \frac{1}{1+X_0} [-K_s \cdot \ln \bar{S} + (1+X_0+K_s) \cdot \ln \{ (1+X_0-\bar{S}) / X_0 \}] \quad (3)$$

ここで、 $K_s = K_s/S_0$, $\bar{S} = S/S_0$, $X_0 = X_0/(Y \cdot S_0)$
実験における設定条件 $X_0 < 1$, $K_s < 1$
 S が0に近くない濃度領域で(5)式が成立する。

$$\mu_m t = \ln \{ (1+X_0-\bar{S}) / X_0 \} \quad (5)$$

反復回分実験において、あるSまでの到達反応時間の比をとると

$$\frac{\mu_m t_1}{\mu_m t_2} = \frac{\ln \{ (1+X_1-\bar{S}) / X_1 \}}{\ln \{ (1+X_2-\bar{S}) / X_2 \}} \quad (6) \quad \begin{array}{l} X_2 = X_1 + \Delta X \\ = X_1 + Y \cdot (S_0 - S) \\ \Delta X \text{ は基質消費による菌体増殖量} \end{array}$$

3. 検討実験

上に示した推定式による推定法の妥当性を調べるために、初期菌体量を段階的に変化させた実験を行なった。そして、その結果から推定された菌体量を、VSSとタンパクの測定による微生物量と最確数法(MPN法)によって求められる算定菌体量と比較して、推定方法を評価・検討した。

3-1 実験方法

六角川の中流より採取した底泥を用いて、海水百分率25%の条件でアンモニアおよび亜硝酸単一基質で、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌を4ヶ月以上培養した。培養方法は、Fill & Draw方式である。図-1、表-1に実験装置および条件を示す。実験は暗条件で20℃恒温室で行った。初期菌体量を変化させるために初期添加培養液量を20、50、100ml/lにし、窒素源としてNH₄-NとNO₂-Nを10mg/l添加する回分実験を行った。一旦硝化させたのち基質を再添加し、窒素濃度経時変化を求めた。

3-2 実験結果および考察

図-2、図-3にNO₂培養汚泥およびNH₄培養汚泥に対して、NO₂-Nを添加した時の経時変化を示す。この図から解るように、1回目に添加したNO₂-Nの消費速度は、20、50、100mlの順で大きくなっている。しかし、再添加後では見掛け上ほとんど同じ速度で消費される。これは添加された基質により増殖した菌量が初期菌体量より十分多いためである。この反応時間の違いは、菌体量に差があることを示している。そこで、各実

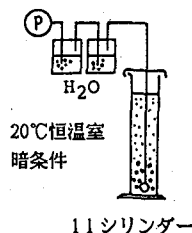


図-1 実験装置

表-1 実験条件

海水百分率	25%	
培養基質	NH ₄ Cl 10mg/l	NaNO ₂ 10mg/l
添加培養液量	20, 50, 100ml/l	20, 50, 100ml/l
基 質	NH ₄ -N NO ₂ -N	NO ₂ -N
添加 濃度	10mg/l	10mg/l
無機 塩類	BOD希釈液用 A, B, C, D液 1mg/l	

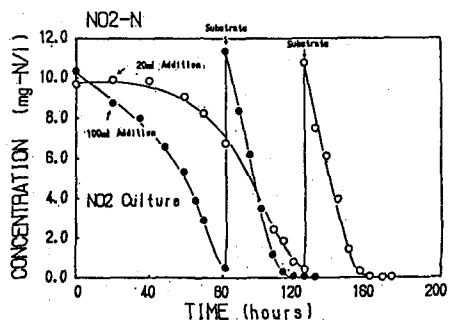


図-2 NO₂-Nの濃度変化(1)

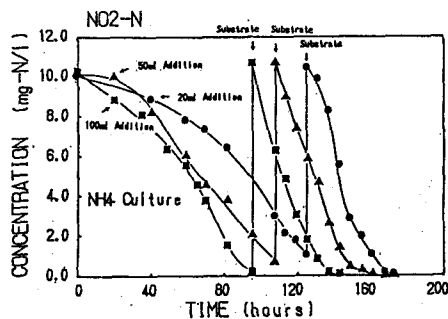


図-3 NO₂-Nの濃度変化(2)

験の $\bar{S}=0.5$ までの到達反応時間 t_1 、 t_2 を求めた。そして、亜硝酸酸化菌の収率を文献値²⁾を参照して0.05に設定し、式(6)を用いて各実験の初期菌体濃度 X_1 を推定した。その関係を表-2、図-4にまとめた。図-4を見ると解るように直線関係が成立しているため菌体量の推定が可能である。したがって、直線の傾きから添加汚泥中の硝化菌体量を求めることができた。

X_1 とともに求まる μ_m 値を式(5)において t_1 で割って μ_m 値を求め表-2に示した。表-2より各々の最大比増殖速度を比較すると、NH₄培養に比べNO₂培養の方が若干大きい値をとっている。しかし、これらの値は従来報告されている μ_m 値の範囲にあり、この方法での μ_m の推定も可能である。

動力学的な推定菌体量とタンパク、VSSおよびMPN法により評価した菌体量との比較結果を表-3にまとめた。VSSとタンパクより評価した菌体量との間に大きい差がある。NH₄培養についてはNH₄酸化菌が共存しているためであり、NO₂培養については死滅した菌の存在が考えられる。推定式による推定菌体量を実験開始前後のタンパクにより評価した菌体量と比較すると、ほぼ一致しているが、MPN法により評価された菌体量と比べると数オーダー高い値になっている。この点については、今後更に検討していくつもりである。しかし、タンパクにより評価される菌体量との比較では良い一致を得ているので、菌体量推定にあたってこの推定式の利用は有効であると考えられる。

4. 今後の課題

今後は今回得られた推定菌体量を用いて各実験での窒素濃度の経時変化曲線へのカーブフィッティングを行い、硝化菌の動力学定数の推定方法についても検討を行なう。同時に、対象河川のSSや底泥に対してこの菌体量推定法を適用して、現場の硝化活性を評価し感潮河川での硝化過程をシミュレーションを通じて検討していく予定である。

参考文献 1) H. Furumai, et al. Proc. Specialized Conference Coastal and Estuarine Poll. pp192-201 2) B. Sharma and R.C. Ahlert, Water Research, Vol.11 pp897-925

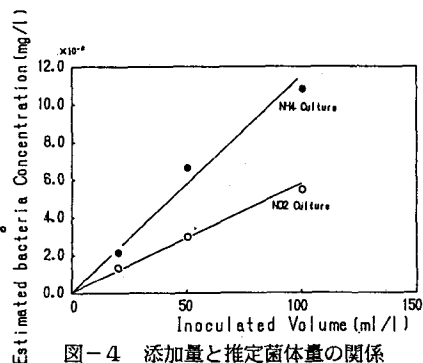


図-4 添加量と推定菌体量の関係

表-2 亜硝酸酸化菌体量の推定結果

培養基質	添加培養液量	t_1 (hr)	t_2 (hr)	$\mu_m t$	X_1 (mg/l)	μ_m
NH ₄ Cl	20ml	95.0	18.2	2.5084	0.0213	0.028
	50ml	74.1	19.1	1.5838	0.0660	0.021
	100ml	60.9	17.7	1.2198	0.1079	0.020
NaNO ₂	20ml	92.7	14.1	2.9628	0.0132	0.032
	50ml	89.5	15.5	2.3014	0.0294	0.026
	100ml	60.0	14.5	1.7449	0.0545	0.029

表-3 推定菌体量と他の菌体指標との比較

試料	基質	推定菌体量 mg/l	タンパク (<+0.7%) mg/l	VSS mg/l	MPN 個/l
添加培養液	NH ₄ Cl	1.12	2.0 (2.9)	4.9	—
	NaNO ₂	0.56	1.8 (2.6)	12.8	< 10 ⁴
20ml添加実験終了時混液	NH ₄ Cl	1.02*	1.0 (1.4)	2.3	2.3x10 ³
	NaNO ₂	1.01**	1.9 (2.7)	3.8	5.8x10 ³

菌体のタンパク含有率

* 1.12x20/1000+(10x2)x0.05=1.01

** 0.56x20/1000+(10x2)x0.05=1.02