

基質要求性を利用した活性微生物量の評価手法に関する検討

九州大学工学部 ○学 久場隆広 正 張 満良
同 上 正 古米弘明 正 楠田哲也

1. はじめに 微生物による処理特性を予測するモデルを構築する際、反応槽内に存在する微生物濃度をどのように評価するかが問題となる。著者らは、総括的な菌体量指標であるVSSあるいはタンパク質中には、死滅菌体等の不活性な有機物質が存在していることを指摘し¹⁾、個々の基質分解菌群の活性菌体量評価の重要性を述べてきた。また、生物膜法を利用した菌体量の高濃度化において、真に活性を有する菌体を反応槽内に最大に維持する運転条件を知る上でも、活性菌体量を推定する手法を開発することは必要である。本研究では、基質要求性が比較的明瞭なメタン生成菌(集積培養菌)について、基質要求性を利用した動力的菌体量推定手法²⁾により活性菌体量及び増殖速度定数の推定を行ない、その妥当性を検討した。

2. 実験装置及び実験方法・条件 表-1に供試集積培養菌の培養条件及び投入 表-1 培養条件及び投入基質組成
基質組成を示す。培養装置として有効体積850mLの完全混合槽を、基質には有機源として酢酸(HAc)を用いた。下水処理場嫌気性消化槽汚泥を接種汚泥とし、60 mLの基質を1日1回投入するfill&draw方式で培養した。有機源として酢酸を用いること及び光学顕微鏡による菌の形態観察より判断して集積培養菌はMethanotrix属の菌であると推察された。この集積培養菌を用いて、35℃の恒温振とう培養槽内でバイアル(体積70mL)反復回分実験を行なった。表-2にバイアル反復回分実験の条件を示す。後述する活性菌体量の評価方法においては低菌体濃度の条件が必要であることから、完全混合槽から採取した懸濁液を希釈して、3段階の菌体濃度で実験を行なった。採取した懸濁液を、嫌気雰囲気下で40mLのバイアル中で遠心分離して、その上澄水を希釈液とした。所定の濃度になるよう基質を添加した後、経時的に酢酸濃度、メタンガス生成量、タンパク質濃度を測定した。

《操作条件》	
容積負荷 (g-COD/L/d)	0.71
HRT (days)	14
反応槽温度 (℃)	35
《基質組成》	
有機源 (mg-COD/L) ; HAc	10000
酵母エキス (mg/L)	100
無機塩 (mg/L)	
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
KCl	750
NH ₄ Cl	850
FeCl ₃ ·6H ₂ O	420
CaCl ₂ ·2H ₂ O	150
緩衝剤 (mg/L)	
NaHCO ₃	4000
K ₂ HPO ₄	4000

表-2 バイアル反復回分実験条件

Vial No.	接種液量 (mL)	希釈水量 (mL)	基質量 (mg)	初期設定基質濃度 (mg-COD/L)
1	20	25	5	1000
2	10	35	5	1000
3	5	40	5	1000

3. 実験結果及び考察

a) バイアル反復回分実験結果 最初の基質が一旦消費された後、再度同一基質を添加する反復回分実験を行なった。図-1に酢酸濃度の経時変化を示す。一回目の基質消費に伴う菌体増殖により、いずれもその基質消費速度は一回目よりも、二回目の基質消費時において速い。また、接種菌体量が多いほど、その消費速度は大きいことが認められる。

b) 活性菌体量の評価方法 活性菌体量推定の基礎式として、以下の式を用いた。

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m \cdot S}{K_s + S} \cdot X \quad (1) \quad X = X_0 + Y \cdot (S_0 - S) \quad (2) \quad P = 0.35 \cdot (1 - Y) \cdot (S_0 - S) = Y_P \cdot (S_0 - S) \quad (3)$$

ただし、X: 菌体濃度、S: 基質濃度、P: メタン生成濃度、 μ_m : 最大比増殖速度、 K_s : 飽和定数、Y: 増殖収率係数、 Y_P : メタン収率係数、添字 0: 初期濃度。

基質消費と菌体増殖が共役していると仮定すれば、菌体濃度は(2)式で表わされる。最大比増殖速度 μ_m 及び増殖収率係数Yが一定で、初期基質濃度 S_0 が飽和定数 K_s より十分大きい場合、(1)~(3)式より以下のような簡単な式が導かれる。

$$\mu_m \cdot t = \ln[(X_0 + (S_0 - S) \cdot Y) / X_0] \quad (4) \quad \mu_m \cdot t = \ln\{(X_0 + Y \cdot Y_P \cdot P) / X_0\} \quad (5)$$

(4)、(5)式はある基質濃度あるいはメタン濃度に至る反応時間は、初期菌体濃度 X_0 に依存していることを示している。反復回分実験により一回目と二回目の基質消費あるいはメタン生成に関する反応時間比 t_1/t_2 を測定することにより、初期菌体濃度 X_0 は推定可能となる。したがって、本菌体濃度推定法では、この反応時間比が大きいほうが推定精度が良く、 $X_0/(S_0 \cdot Y)$ が十分に小さいという実験条件が望ましい。

c) 増殖収率係数 本菌体濃度推定法では増殖収率係数Yを仮定する必要がある。反復回分実験において、実測した消費基質濃度及び増加したタンパク質濃度より判断すると、Yは0.043~0.052(mg-COD/mg-COD)であつ

た。また、累積メタン生成量と消費基質濃度の関係を図-2に示す。この直線の傾き(0.329mL/mg-COD)から計算すると、Yは0.06となる。これらの結果から、本研究ではY=0.05を仮定した。

d) 活性菌体量評価の結果 (4)式を基礎として基質濃度変化より推定した活性菌体量及び増殖速度定数の値を表-3に示す。バイアルNo.2(中希釈倍率)及びNo.3(高希釈倍率)に比べNo.1(低希釈倍率)では、一回目と二回目の基質消費カーブに大きな差がないため、時間比が小さく、バイアルNo.1の推定精度は低いと思われる。十分な反応時間比が得られたバイアルNo.2及びNo.3の結果から判断して、酢酸分解菌の最大比増殖速度 μ_m は $0.15d^{-1}(=0.0064(h^{-1}))$ 程度であると考えらる。また、接種液量と活性菌体量 X_0 は比例関係にあることから、 $X_0/(S_0 \cdot Y)$ が十分に小さいという実験条件が満足されれば、精度よく活性菌体量が推定可能であることがわかる。初期菌体量及び最大比増殖速度に推定値を用いて、(1)、(2)式により飽和定数 K_s をパラメータとして数値計算を行なった。実験値と計算値の例として、バイアルNo.3の結果を図-3に示す。実験後半の酢酸分解速度の低下傾向から、飽和定数 $K_s=25(mg-COD/L)$ 程度が妥当であると考えられる。実験結果(■)と数値計算結果(——)はよく一致しており、推定された活性菌体量及び増殖速度定数が妥当であることを示している。

同様に、(5)式を用いて基質の消費に伴って生成されるメタンガスの累積量変化からの推定も行なった。図-4に累積メタン生成量の実測値(○)と数値計算結果(-----)との比較を示す。推定された最大比増殖速度は $0.14d^{-1}(=0.0060(h^{-1}))$ であり、基質濃度変化より推定された値と同程度であった。このことより、メタンガスの累積量変化からの推定も可能であると考えられる。しかしながら、実測値と数値計算結果には若干の違いがあり、生成メタンガスの測定法等を検討する必要があると思われる。尚、基質濃度変化より推定された活性菌体量及び増殖速度定数を用いると、メタン生成量の実測値と数値計算結果はより良く一致することが確認された。

4. 終わりに 本研究で得られた増殖速度定数の値と純粋培養菌(Methanothrix soehngenii)の文献値とを比較した結果、両者はおおむね一致しており、活性菌体量の評価を行なう上で、ここに提示した実験手法及び評価方法が有効な方法であると確認された。また、タンパク質濃度より換算したVSS濃度に対する活性菌体濃度の割合は半分以下であり、集積培養液中においても不活性な菌体や有機物質が存在していると考えられる。
[参考文献]

1) Kuba T. et al. : Proc. of IAWPRC's Asian Workshop on Anaerobic Treatment, p.11-1, 1988

2) Furumai H. et al. : Proceedings of Second IAWPRC Asian Conference on Water Pollution Control, p.81, 1988

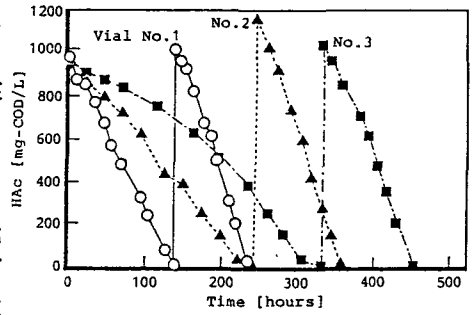


図-1 酢酸濃度の経時変化

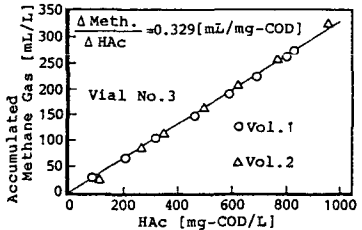


図-2 累積メタン生成量と消費基質濃度の関係

表-3 活性菌体量及び増殖速度定数

Vial No.	S_0 (mg-COD/L)	反応時間 (hours)	μ_m (h^{-1})	X_0 (mg-COD/L)	接種液量 (ml)
1	980 1074	71.4 50.8	0.0048	60.3	20
2	942 1162	128.2 81.0	0.0067	17.2	10
3	953 1044	209.3 67.1	0.0062	9.0	5

*: 基質濃度が S_0 の1/2となる時間

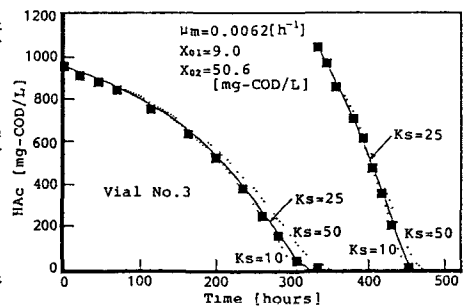


図-3 数値計算結果と実験結果の比較(酢酸濃度)

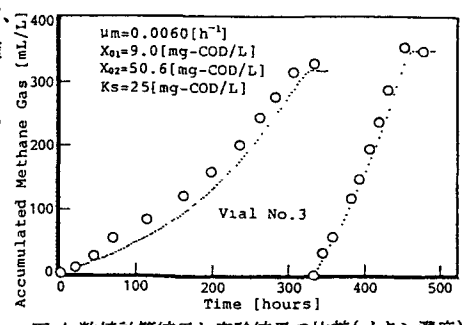


図-4 数値計算結果と実験結果の比較(メタン濃度)