

連続培養槽による混合微生物の増殖特性について

東北大学大学院 学生員 ○ 原田 秀樹
東北大学工学部 学生員 高尾 沿海
東北大学工学部 学生員 吉田 郁夫

1. はじめに

本実験は活性汚泥の生態学的構造を増殖動力学面から解明し、生物相の人為的制御に関する基礎的情報を得る為に行なわれた実験的研究である。

2. 実験装置 および方法

本実験は連続型完全混合槽(返送なし)を用いた。実験パラメータとして希釈率(水理学的滞留時間=平均細胞滞留時間)を各段階に変えて連続定常実験を行ない、その系に適応した生物相を選択した。又、各RUNの終りでは分離された生物相の増殖パラメータを求める為に回分実験を行なった。

槽内のCOD、グルコース、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の分析試料は、0.45 μm メンブレンフィルターで濾過したものを用いた。分析法としてCOD-重クロム酸カリ法、グルコース-アンスロン法、 $\text{NH}_4\text{-N}$ -インドフェール法、呼吸速度-電極法を用いた。なお、MLSSは、RUN 1, 2 はOD 660 nm で換算し、RUN 3, 4, 5 はミリボア社AP40フィルターを使用して求めた。

3. 実験結果及び考察

連続定常実験における結果及び解析値を表1に示す。また、一例としてRun-5の槽内の S_0, X, S, P および N の経時変化を図-1に示す。使用記号の意味、単位は表-1を参照されたい。

表2 連続及び回分実験の解析結果

RUN NUMBER			1	2	3	4	5	備考
連続定常実験結果	希釈率 D	hr^{-1}	0.25	0.083	0.0417	0.0208	0.0139	$= F/V$
	滞留時間 θ	hr	4.00	12.0	24.0	48.0	72.0	$= 1/D$
	槽内基質濃度 S_0	mg Glucose / l	1987	469	47.8	23.9	23.7	アンスロン法
	槽内COD濃度 S	mg COD / l	2499	1758	222	162	150	
	槽内生物濃度 X	mg MLSS / l	432	862	1391	1395	1951	
	槽内生成物濃度 P	mg COD / l	880	1258	171	137	125	$(S_0 - S) - A(S_0 - S_0)$
	槽内 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度 N	mg N / l	155.0	58.5	78.0	77.6	46.4	
	比基質除去速度 $1/\theta$	$\text{mg Glucose} / \text{mg MLSS} \cdot \text{hr}$	1.163	0.341	0.118	0.0594	0.0283	$= \frac{S_0 - S}{X \cdot \theta}$
	比COD除去速度 D	$\text{mg COD} / \text{mg MLSS} \cdot \text{hr}$	0.733	0.242	0.121	0.0613	0.0293	$= \frac{D}{Y_{X/S}}$
	比呼吸速度 Q_{O_2}	$\text{mg O}_2 / \text{mg MLSS} \cdot \text{hr}$	0.242	0.123	0.044	0.029	0.013	
	比生成物生成速度 P	$\text{mg COD} / \text{mg MLSS} \cdot \text{hr}$	0.51	0.121	0.0051	0.002	0.0009	$= Y_{P/S} D$
	単位MLSSと酸化された基質の割合	$\text{mg O}_2 / \text{mg MLSS}$	1.96	1.43	1.85	1.532	1.16	
	X/S_0 に対する収率 Y_{X/S_0}	$\text{mg MLSS} / \text{mg Glucose}$	0.215	0.244	0.352	0.351	0.491	$= \frac{X}{S_0}$
	P/X に対する収率 $Y_{P/X}$	$\text{mg COD} / \text{mg MLSS}$	2.04	1.46	0.123	0.098	0.064	$= \frac{P}{X}$
	Q_{O_2}/X に対する収率 $Y_{Q_{O_2}/X}$	$\text{mg O}_2 / \text{mg MLSS}$	0.968	1.476	1.061	1.411	0.945	$= \frac{Q_{O_2}}{X}$
回分実験結果	Q_{O_2}/S_0 に対する収率 $Y_{Q_{O_2}/S_0}$	$\text{mg O}_2 / \text{mg Glucose}$	0.208	0.360	0.373	0.495	0.463	$= \frac{Q_{O_2}}{S_0} = \frac{D}{Y_{X/S_0}}$
	X/N に対する収率 $Y_{X/N}$	$\text{mg MLSS} / \text{mg N}$	9.68	8.89	11.4	11.4	12.7	$= \frac{X}{N}$
	同化モル分率 α	$\text{mg Glucose} / \text{mg Glucose} + \text{mg O}_2$	0.395	0.328	0.609	0.504	0.536	$= 1 - \beta - \gamma$
	異化モル分率 β	$\text{mg Glucose} / \text{mg Glucose} + \text{mg O}_2$	0.195	0.338	0.350	0.464	0.435	$= \frac{Q_{O_2}}{S_0} = \frac{D}{Y_{X/S_0}}$
	生成物モル分率 γ	$\text{mg Glucose} / \text{mg Glucose} + \text{mg O}_2$	0.410	0.334	0.041	0.032	0.029	$= \frac{P}{S_0} = \frac{D}{Y_{X/S_0}}$
	最大増殖速度 μ_m	hr^{-1}	0.334		0.163	0.094	0.076	
	飽和定数 K_s	mg Glucose / l	1822		1220	44	25	
	自己分解速度 K_d	hr^{-1}	0.0185		0.0184	0.0186	0.0136	
	B	前記	1.411		1.46	1.22	1.21	
	各種収率							
	Y_{X/S_0}	"	0.241		0.438	0.467	0.532	
	Y_{X/S_0}	"	0.399		0.336	0.449	0.378	
	Y_{X/O_2}	"	0.605		1.303	1.326	1.407	
	$Y_{P/X}$	"	1.362		0.209	0.101	0.085	
	収率分率							
	α	"	0.318		0.599	0.534	0.665	
	β	"	0.374		0.315	0.421	0.354	
	γ	"	0.308		0.086	0.044	0.041	

酸素収支から, $A - (4S) = B(4X) + 4O_2 + C(4P)$ ①

変形して $1 = \frac{B}{A} \gamma_2 + \frac{Y_2}{A} + \frac{Y_2}{A}$... ①

右辺第1項は、基質が生物体構成素材に転換した割合(α)、第2項は基質がエネルギーに転換した割合(β)、第3項は生成物に転換した割合(γ)である。①式に基づいて連続および回分実験から求めた、 β , γ を図-6に示した。RUN 1, 2 では利用された基質のうち同化にまわる割合(α)が小さく、生成物にまわる割合(γ)が大きくなっている。図-5は単位生物あたりの総グルコース利用量 $(\frac{4S}{4X})_T = 1/Y_2$ が希釈率の高い系ほど大きい傾向を、連続および回分実験とも示している。しるに、単位生物あたりの同化、異化に必要なグルコース量は、各RUNを通してほぼ一定であることがわかる。

図-4は各希釈率に対する連続実験の解析値をプロットしたものである。 Y_2 が低希釈域で大きくなる傾向を示しているのに比し、 Y_2 (CODに対する増殖収率)がほぼ一定であることから上記の事が理解できる。

RUN 1, 2 では培養液が高粘性を示し、PHの低下も大きかった。これは、生成物の蓄積によるものと考えられる。

図-2は、RUN 4 の回分実験例である。各系で優占種となった生物相の増殖パラメータは以下のように評価した。生物増殖は Monod モデルに従う(自己分解係数 k_d (hr⁻¹)を考慮する。)と仮定すると

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S_0}{K_s + S_0} - k_d \quad \dots \text{②}$$

②式を差分形に変形すると $\frac{X \cdot S_0 \cdot \Delta t}{\Delta X + K_d X \cdot \Delta t} = \left(\frac{1}{\mu_m} \right) S_0 + \frac{K_s}{\mu_m} \quad \dots \text{③}$

K_d は回分増殖終了後のMLSS減小速度から求めた値を代入して、図-3の

Lineweaver-Burke Plot から μ_m , K_s が求められる。なお、パラメータ評価は各RUNとも lag を考慮した。

各増殖パラメータは表-2の回分実験欄に示した。RUN 1, 3 の回分実験では生成物蓄積の為阻害が生じ、 K_s の評価値が大きめに求めているが、定性的には μ_m の大きい系では K_s も大きいということがわかる。この傾向から槽内の基質濃度と変化させることによって生物相を制御することが可能であると考えられる。なお、RUN 1, 2 は分散増殖であり、RUN 3, 4, 5 は糸状菌が優占種であった。

最後に図-5の諸元を説明する。

$(\frac{4S}{4X})_T = \frac{1}{Y_2} = \frac{\Delta S}{\Delta X}$; 単位生物量が増殖するのに必要は (mg glucose removed / mg MLSS produced)

$(\frac{4S}{4X})_M = \alpha (\frac{4S}{4X})_T$; 単位生物量が増殖する時に、固相に合成されるグルコース量 (mg MLSS converted to cell / mg MLSS produced)

$(\frac{4S}{4X})_E = \beta (\frac{4S}{4X})_T$; 単位生物量が増殖する時に、異化に使用されたグルコース量 (mg glucose converted to energy / mg MLSS produced)

$(\frac{4S}{4X})_P = \gamma (\frac{4S}{4X})_T$; 単位生物量が増殖する時に、生成物に転換されたグルコース量 (mg glucose converted to product / mg MLSS produced)

4. おわりに、本研究は東北大学工学部土木工学科 木本眞一郎教授および野田達也助教授の御指導の下で行われたものである。

1) "生物化学工学" 合衆永井(科学出版社)

図-1 連続 RUN 4 経時変化

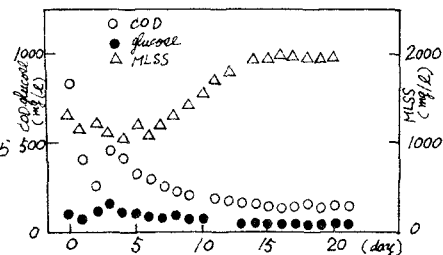


図-2 Batch 4 (θ = 48 hr) 経時変化

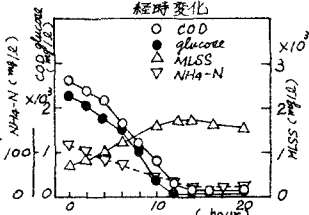


図-3 Batch 4 (θ = 48 hr) Lineweaver-Burke Plot

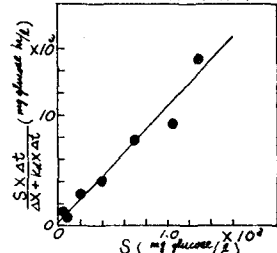


図-4

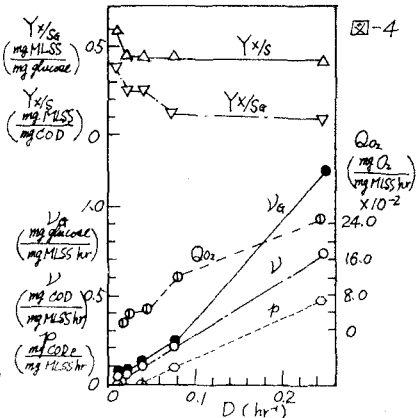


図-5

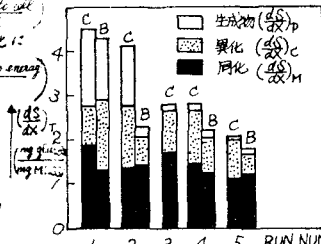


図-6

