

II-93

嫌気性流動床における微生物膜の菌相について

東北大学院 学○松本明人

東北工学部 学 坂本 勝

東北工学部 正 野池達也

1) はじめに.

嫌気性生物膜法の嫌気性微生物膜は様々な微生物群より構成されている。そして嫌気性微生物膜を構成する微生物群の把握は、嫌気性微生物膜形成機構や基質除去機構を知るうえで重要である。しかしながら嫌気性微生物膜の菌数測定を行なった例は少なく、電子顕微鏡による観察から優占菌種を調べる研究が多い。近年になりUASB法のグラニュー汚泥について嫌気性微生物群の菌数測定が行なわれつつあるが、流動床法における菌数測定の成功例は報告されていない。そこで本研究では嫌気性二相消化法のメタン生成相に導入した嫌気性流動床型リアクターにおいて形成された微生物膜の菌相を、現在もっとも直接的な菌体の定量法と考えられるMPN法により調べた。

2) 実験方法.

試料として酢酸、プロピオン酸、n-酪酸から成る混合酸に少量のグルコースを添加した基質を用いたメタン生成相用嫌気性流動床型リアクターの微生物付着担体を用いた。まず生物付着担体を含む反応槽混合液約50mlを N_2+CO_2 ガスで曝気しながら嫌気的にガラス製バイアル瓶120mlへ採取し、直ちにブチルゴム栓をしたのちバイアル瓶を500回激しく振とうして付着菌体を剥し、試料とした。そしてその試料10mlを90mlの希釈水を充填したバイアル瓶に注射器を用いて嫌気的に接種し、10倍に希釈した。同様な操作を繰り返すことにより試料を 10^{12} 倍まで希釈した。この様にして得られた各希釈倍率の試料1mlをフィンピペットもしくは注射器を用いて各種の細菌測定用培地が9ml入ったガラスチューブに CO_2 ガスもしくは H_2+CO_2 ガス（混合比80:20）を噴射して嫌気性を保ちながら接種し、 $36 \pm 1^\circ C$ で約二か月間培養し、代謝生成物や菌体の生成からMPN法(5本法)によって菌数を決定した。測定した菌群は酸生成菌、プロピオン酸資化性のアセトジェニック菌、酪酸資化性のアセトジェニック菌、水素資化性のメタン生成菌、酢酸資化性のメタン生成菌の五種類である。

3) 実験結果.

表1にMPN法によって得られた実験結果を示す。表1から分かるように水素資化性メタン生成菌の菌数がかつても多く、ついで酪酸資化性のアセトジェニック菌、プロピオン酸資化性のアセトジェニック菌、酢酸資化性のメタン生成菌、酸生成菌の順であった。本実験で得られた各細菌群の菌数（単位ml bedあたりの菌数）をStam et al.によってUASB法について得られた結果（単位ml granular suldgeあたりの菌数）と比べると、プロピオン酸基質のUASB法で求められた結果以外のものとはほぼ同じオーダー（ $10^8 \sim 10^{10}$ ）の結果が得られている。一般に嫌気性消化法におけるメタン生成の70%は酢酸経由のメタン生成とされているが、本実験では水素資化性のメタン生成菌の菌数のほうが酢酸資化性のメタン生成菌の菌数より10倍多いことが分かった。この傾向はUASB法での菌数測定でも見られる。嫌気性微生物膜やグラニュー汚泥の電子顕微鏡による観察から、本研究を含め一般に自己固定化法ではMethanothrixが優占菌種とされているのに対し、MPN法で測定するとMethanothrixを含む酢酸資化性のメタン生成菌の数が少ないことは興味深いことである。この原因としてはMethanothrixがほかの菌に比べて大きいこと（但し、純粋培養ではそのような事実は観察されていない。）やMethanothrixは自己分解しにくく電子顕微鏡により観察された菌の大部分が死んでいることなども考えられるが、更に検討を要する。特に試料の効果的分散方法の確立は極めて重要である。本実験において得られた酸生成菌数が低いのは、試料がメタン生成相のものであり、流入する基質のほとんどが有機酸であったためと考えられる。次に単位mgVSSあたりの菌数を見るとtotal bacteria数は 1.0×10^9 であつ

た。この菌数を張らが嫌気性二相消化法（SRT が五日以上のもの）について求めた菌数と比較すると、ほぼ同程度の値が得られている。このことより、流動床型リアクターであっても完全混合槽であってもmgVSS あたりの菌体数は 10^9 程度でほぼ同じであることが分かった。ただし嫌気性流動床では反応槽内の菌体濃度がきわめて高いため、反応槽内の菌数は完全混合槽に比べて高くなっている。

表 1 MPN 法による菌数測定結果.

Bacterial group	Number of organisms (MPN cells/mgVSS) ¹	Number of organisms (MPN cells/ml bed) ²	Portion of bacteria (%) ³
Acidogenic bacteria	4.3×10^7	1.6×10^9	4
Propionate utilizing H ₂ -producing acetogenic bacteria	6.5×10^7	2.4×10^9	6
Butyrate utilizing H ₂ -producing acetogenic bacteria	2.5×10^8	9.2×10^9	24
H ₂ utilizing methanogenic bacteria	6.2×10^8	2.3×10^{10}	60
Acetate utilizing methanogenic bacteria	6.2×10^7	2.3×10^9	6
Total bacteria ³	1.0×10^9	3.9×10^{10}	100

1:VSS concentration(mgVSS)=Protein concentration(mg/l) ÷0.6.

2:Assuming the VSS concentration in bed is 37200mg/l.

3:Total number is the amount of the each bacteria numbers.

4) おわりに.

嫌気性二相消化法のメタン生成相に嫌気性流動床法を導入し、その生物付着担体の微生物膜の菌相をMPN 法を用いて測定したところ、水素資化性メタン生成菌の菌数をもっとも多く、ついで酪酸資化性のアセトジェニック菌、プロピオン酸資化性のアセトジェニック菌、酢酸資化性のメタン生成菌、酸生成菌の順であった。またmgVSS あたりの総菌数は 10^9 であり、完全混合槽で得られた結果とほぼ一致した。