

VII-39

ポリリン酸蓄積菌によるリン除去特性について

八戸高専 建設環境工学専攻 学生会員 ○ 山道 泰隆
 八戸高専 建設環境工学科 千葉 基弘
 同 正会員 矢口 淳一

1. はじめに

閉鎖性水域の富栄養化防止のため窒素・リンまで除去できる高度処理施設の導入が必要になってきている。廃水中からリンを除去できる生物学的リン除去プロセスは、体内にリンを蓄積するポリリン酸蓄積菌の働きによると考えられているが、リン除去のメカニズムは解明されていない。本研究ではポリリン酸蓄積菌が報告されている *Microlunatus phosphovorus*(JCM9379)と *Tetrasphaera elongata*(JCM11141)¹⁾についてリン除去能力、リン除去可能な嫌気基質条件、脱窒脱リン活性などのリン除去特性を検討した。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

実験に用いた2つの菌株は、理化学研究所微生物系統保存施設から購入した。リン除去実験前に、JCM9379株は *Microlunatus medium* 培地、JCM11141株は R agar 培地²⁾において恒温水槽で25℃、125rpmで14日間振とう培養して増殖させた。

(2) 実験方法

①リン除去実験 300mL三角フラスコに前培養液90mLと表-1に示した嫌気(条件)培地10mLを添加し、気相をN₂ガスで十分置換して嫌気状態とし、20℃の恒温槽内に一晚静置した。遠心分離(3000rpm、15分間)後上澄み液を捨て、表-1に示した好気(条件)培地を100mL加えて振とうフラスコに移し、25℃の恒温水槽で10時間振とう培養した。嫌気好気サイクルを3回繰り返した。この実験は2回実施した。実験前、実験後にMLSSを測定し、菌体の量を測定した。

②嫌気基質実験 表-1に示した嫌気培地の代わりに、酢酸ナトリウム、グルコース、カザミノ酸、グルタミン酸ナトリウム、ロイシン(各2000mg/L)、混合基質を用いて同様にリン除去実験を行った。混合基質は表-1の嫌気培地で酢酸ナトリウム2000mg/L、カザミノ酸を1000mg/Lに調整したものである。JCM9379株は4サイクル、11141株は2サイクル行った。

③脱窒脱リン実験 50mLの密閉容器に前培養液45mLと嫌気培地5mLを添加後嫌気状態とし、24時間静置後、遠心分離で菌体を分離し、好気培地に硝酸カリウム150mg/Lを添加した培地50mlを加え嫌気状態にした。3サイクル繰り返した。

(3) 分析方法 リン濃度はモリブデン青吸光度法、窒素濃度はブルシン硫酸法によって求めた。

3. 実験結果および考察

(1) 増殖速度

表-1 培地の組成

培地名	原料	濃度 (mg/L)
嫌気培地	酢酸ナトリウム	5000
	酵母エキス	1000
	カザミノ酸	2000
好気培地	硫酸マグネシウム七水和物	60
	塩化カルシウム二水和物	10
	リン酸二水素カリウム	100

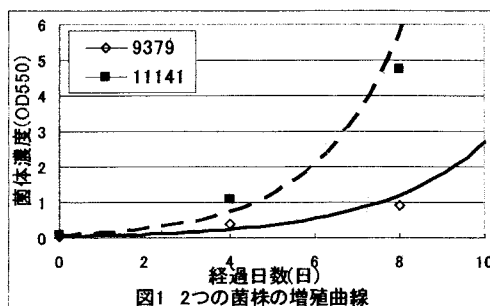


図1 2つの菌株の増殖曲線

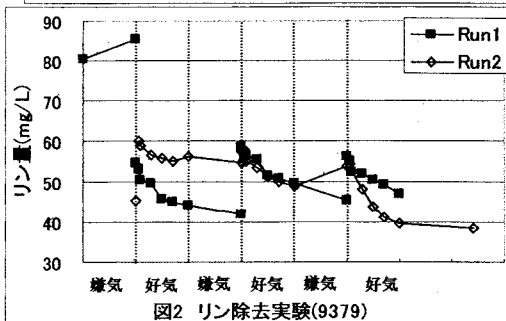


図2 リン除去実験(9379)

図1に2つの菌株の増殖曲線を示した。2つとも遅滞期が長く増殖速度は遅かった。増殖速度は、9379株は0.40(1/h)、11141株は0.514(1/h)で、これは大腸菌の1/5程度である。また11141株は2週間以上培養していると色素を分泌し培養液が黒ずんでくる。

(2) リン除去実験 リン除去実験の結果を図2、図3に示した。嫌気と好気状態でのリンの挙動を見ると嫌気状態でリン濃度が増加し、好気状態でリンが減少している。これは2つの菌とも嫌気状態でリンを吐き出し、好気状態で摂取するという典型的なリン除去パターンを示している。表2に2つの菌のリン除去量と除去速度を示した。

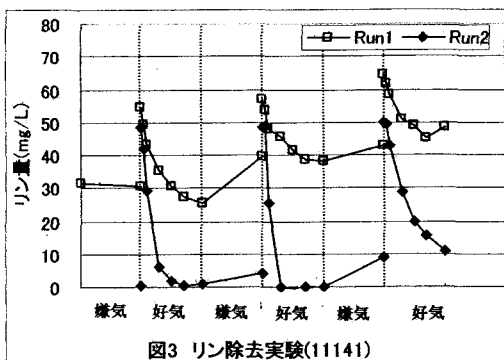


図3 リン除去実験(11141)

表-2 リン除去実験のリン除去量と除去速度

11141株の方が9379株よりもリン除去能が高いように見えるが、MLSSは約10倍11141株の方が多いため比速度に直すと9379株の方がリン除去能は高い事が分かる。

(3) 嫌気基質実験 嫌気基質実験の結果を図4,5に示した。9379株は、1サイクル目は、カザミノ酸と混合基質にしか活性を示さなかったが、2サイクル目にはグルコース、カザミノ酸、グルタミン酸、混合基質に活性を示し、酢酸ナトリウム、ロイシンに対してはほとんど活性を示さなかった。11141株は、混合基質以外の活性が低かったが、カザミノ酸とグルタミン酸に対しては他の基質よりも活性が高かった。

菌種			除去量	速度
			(mg/L)	(mg/L・h)
9379	RUN1	1日目	10.038	4.828
		2日目	9.050	4.06
		3日目	9.215	1.892
	RUN2	1日目	3.949	1.097
		2日目	8.447	1.179
		3日目	14.371	2.167
11141	RUN1	1日目	29.235	9.599
		2日目	19.143	3.949
		3日目	16.236	7.186
	RUN2	1日目	47.270	14.096
		2日目	48.473	23.256
		3日目	38.779	2.3696

(4) 脱窒脱リン実験 1サイクル目では2つの菌は窒素除去能を示したが、2サイクル目以降ははっきりした除去能を示さなかった。リンに関しては硝酸性窒素がない状態と比べるとその除去量は少なく、このことから硝酸性窒素が存在する状態ではリン除去能が十分に発揮されないことが分かった。また、窒素は亜硝酸性窒素の形態で残留している事が確認できた。

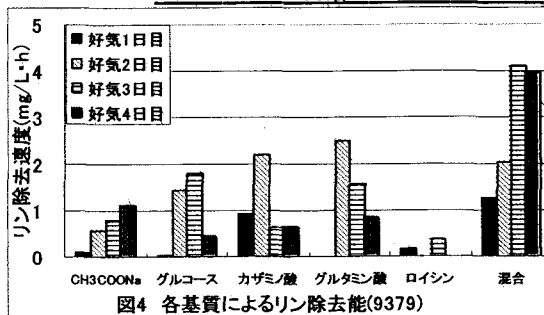


図4 各基質によるリン除去能(9379)

4. まとめ

リン除去実験ではリンの除去速度は菌体1mgあたり9379株では2~8mg/L・h、11141株では1~4mg/L・hであった。このことから9379の方が除去速度が高い事が分かった。嫌気基質実験ではグルコース、カザミノ酸、グルタミン酸ナトリウムがリン除去能の活性化に対して有効であった。また脱窒脱リン実験では2つの菌株に窒素除去能がある事が知られたが、硝酸性窒素の存在によりリン除去能が発揮されないことが分かった。

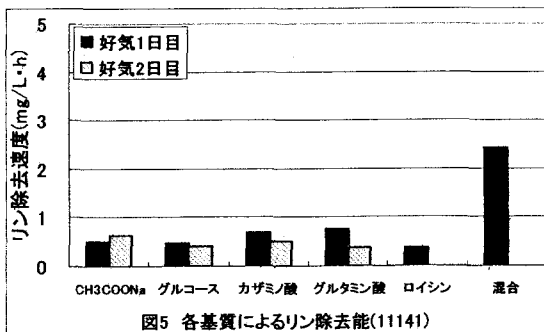


図5 各基質によるリン除去能(11141)

<参考文献> 1)中村和憲;環境と微生物・環境浄化

と微生物生存のメカニズム(1999) 2) http://www.jcm.riken.go.jp/JCM/JCM_Home_J.html、理化学研究所微生物系統保存施設ホームページ