

ポリリン酸蓄積菌によるリン除去に関する研究

八戸工業高等専門学校

学生会員

○佐藤 良紀

正会員

矢口 淳一

1.はじめに

閉鎖系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。窒素除去に関してはその原理も明らかで、安定的な除去方法も確立されている。しかし、リン除去に関して、未だ原理に於いてさえ完全に解明されておらず、そのため除去率も不安定である。生物学的リン除去プロセスは、体内にポリリン酸を多量に蓄えるポリリン酸蓄積菌の性質を利用してリン除去を行うものである。本研究では3つの活性汚泥からポリリン酸蓄積菌をスクリーニングするため、細菌を分離培養し、それらのリン除去能力の比較検討を行った。

2.実験材料および方法

(1)実験材料

実験には八戸市T終末処理場、同市M浄化センター、本校排水処理施設の返送汚泥を用いた。前培養培地の組成を表-1、分離株リン除去実験に用いた培地の組成を表-2にそれぞれ示した。各培地のpHは7.0~7.5の範囲に調整した。

(2)実験方法

①汚泥リン除去実験　返送汚泥380mlと流入水620mlを三角フラスコに投入し密閉した。サイホンを通して窒素ガスで曝気して気相を置換し、フラスコ内を嫌気状態に保った。スターーラーで攪拌し、時間ごとにサンプリングを行った。嫌気状態を5時間保った後、振とうフラスコに移した。20°Cで好気状態を一晩保ち、時間ごとにサンプリングを行った。また、各汚泥のMLSSも測定した。

②スクリーニング実験　ホモブレンダーで破碎した活性汚泥を汚泥エキス寒天培地で分離培養した。汚泥エキス寒天培地は、活性汚泥をオートクレーブ

(1.2atm、121°C、15分)で処理し、ろ液に寒天を添加して作成した。分離培養した菌株は、R2A寒天培地で増殖させ、前培養培地で2週間以上振とう培養(20°C、135rpm)させた。

③分離株リン除去実験　50ml遠沈管に前培養液50mlと表-2に示した嫌気培地10mlを入れ、窒素ガスページにより嫌気状態とした後、20°Cで20時間静置培養した。遠心分離(3000rpm、10分間)で菌体を分離し、上澄み液を捨てた後表2に示した好気培地50mlを加え振とうフラスコで24時間振とう(20°C、135rpm)した。また、ポリリン酸蓄積能が報告されている2つの細菌、*Microlunatus phosphovorus*(JCM9379)と*Tetrasphaera elongata*(JCM11141)を理化学研究所微生物系統保存施設から購入して分離株と比較した。

④染色　各処理施設の活性汚泥を染色して、ポリリン酸顆粒を顕微鏡で観察した。染色に用いた蛍光試薬は、4',6-diamidino-2-phenylindole(DAPI, 和光純薬)である。落射型蛍光顕微鏡はオリンパス製BX41であり、励起光源として水銀ランプ、U励起(U-MWU2)を用いた。

3.実験結果および考察

(1)汚泥リン除去実験

活性汚泥からポリリン酸蓄積菌を分離するために、先ず汚泥リン除去実験を実施

表-1 前培養培地の組成

培地名	材料	濃度(mg/l)
前培養培地	肉エキス	2000
	ペプトン	5000
	グルコース	2000
	酢酸ナトリウム	2000
	酵母エキス	1000
	塩化ナトリウム	500

表-2 嫌気培地と好気培地の組成

培地名	材料	濃度(mg/l)
嫌気培地	酢酸ナトリウム	2000
	グルコース	2000
	酵母エキス	1000
	ペプトン	3000
好気培地	硫酸マグネシウム七水和物	150
	塩化カルシウム二水和物	25
	リン酸二水素カリウム	250

して、活性汚泥中のポリリン酸蓄積菌を集積させた。汚泥リン除去実験の結果を図-1に示した。T終末処理場、M浄化センターに関しては、嫌気時にリンを放出し、好気時にリンを取り込むポリリン酸蓄積菌の特徴がよく表れている。特にM浄化センターは、好気状態開始から1時間も経たぬ内に初期リン濃度の半分以下となっている。一方本校排水処理施設は、リン濃度が殆ど変化せず安定しており、ポリリン酸蓄積菌の働きはほとんど確認できなかった。汚泥リン除去実験結果から、IWA活性汚泥モデル(Activated Sludge Model)ASM No.2を使用して、汚泥中のリン蓄積量を推定した。¹⁾図-2にはT終末処理場のリン蓄積菌濃度推定結果を示した。実験値と予測値はほぼ一致している。表-3には推定したリン蓄積菌濃度をまとめた。リン蓄積菌濃度の推定結果も、T終末処理場やM浄化センターに比べ極端に低く、本校排水処理施設にはリン蓄積菌は殆ど存在しないと考えられる。本校施設と他の2つの施設とリン蓄積菌濃度の差は施設の運転方法による。つまり、T終末処理場、M浄化センターは擬似嫌気・好気法で運転されているのに対し、本校排水処理施設の運転方法はリン除去を目的としていない為、元々リン蓄積菌の数が希薄であると考えられる。

(2) 分離株リン除去実験 3つの排水処理施設の活性汚泥から細菌の分離培養を行った。T終末処理場から2株、M浄化センターから1株、本校排水処理施設からは2株分離された。これら分離株のリン除去実験結果を図-3に示した。各処理場にリン除去能を示す株が存在したが、いずれにしても、その能力は購入株に比べ著しく低いものであった。

(3) 染色 図-4はT終末処理場の活性汚泥の顕微鏡写真である。明るく発光するポリリン酸蓄積菌が確認できる。しかし、顕微鏡写真では各処理施設に顕著な違いは見られなかつた。

4.まとめ

顕著なリン除去能を示した活性汚泥から細菌を分離培養してリン除去実験を行った。リン除去能力のある菌株は分離できたが、*M. phosphovorus*、*T. elongata*に匹敵する能力を示す菌は得られなかった。

<参考文献> 1)津島ら;平成16年度東北支部技術研究発表会講演概要集 pp836~837 (2005)

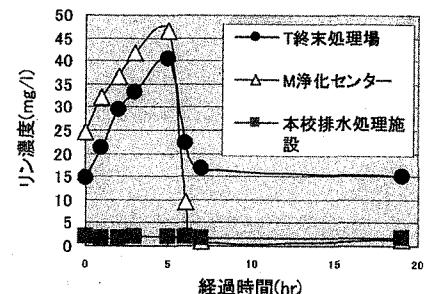


図-1 汚泥リン除去実験の結果

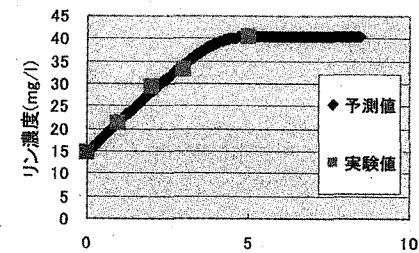


図-2 T終末処理場のリン濃度推定結果

表-3 リン蓄積菌の推定結果

汚泥の起源	運転方法	実験日	リン蓄積菌のポリリン酸量 X_{pp} (mg/l)	リン蓄積菌 X_{PAO} (mgCOD/l)	MLSS(mg/l)
T終末処理場	擬似嫌気・好気法	2005年11月7日	25.9	155	2234
M浄化センター	擬似嫌気・好気法	2005年12月21日	22.1	137	2022
本校生活排水処理施設	長時間曝気法	2005年11月21日	0.28	0.002	3566

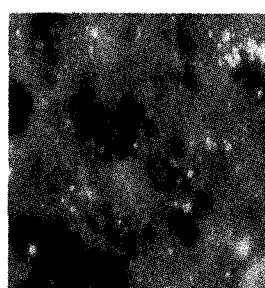


図-4 活性汚泥の顕微鏡写真

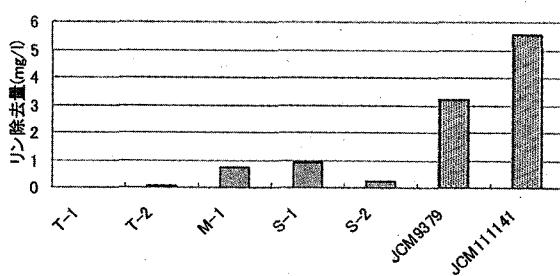


図-3 分離株リン除去実験の結果