

完全混合連続槽と反復回分槽における汚泥のグリコーゲン貯蔵能力の経時変化

東京大学

○ 松澤 裕

東京大学

味埜 俊

1. はじめに

著者らは、糸状性細菌を原因とするバルキングを、糸状性細菌とその他の細菌間の競合関係にとらえ、活性汚泥をグルコースを主炭素源とする実験室内培養においては細菌のグリコーゲン貯蔵能力が高いことが優占要因となると考えて、糸状性細菌とその他の細菌のグリコーゲン貯蔵能力の比較を行ってきた。既に活性汚泥において細胞内グリコーゲン量の飽和量を実験的に求め、この飽和量をグリコーゲン貯蔵能力と見なし、糸状性細菌のこの能力が他の細菌と比べ大きいのか小さいかを明らかにしようと試みている。既報¹ではこのグリコーゲン貯蔵能力は、周期の長い反復回分槽で高く、バルキング状態にあった完全混合連続槽で低いことを報告した。しかし反復回分槽は、槽の曝気、攪拌を停止し沈澱時間をおくことになるため沈降性の悪い糸状性細菌は上澄みの放出と共に流出し、このため反復回分培養では出現しない可能性がある。今回はこの影響を消去する系で実験を行った。すなわち、沈澱時間を持たない回分槽による培養と、連続槽を变形しグルコースだけを間欠投与し他は連続投与する培養をおこない、バルキング状態にある貯蔵能力の低い汚泥を用いて、培養日数が経過するにつれ、貯蔵能力がどのように変化するか、糸状性細菌の消長はどのようなようになるかを調べた。その結果、本研究で用いたグリコーゲン貯蔵能力が、反復回分槽・グルコース間欠投与連続槽での優占要因になることを確認したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 汚泥培養方法

活性汚泥は、表1の組成の基質で培養を行った。培養系は、図1の槽を用いた周期12時間及び3時間の反復回分培養、図2の槽を用いた連続培養及びグルコース間欠投与連続培養である。培養条件を表2に示す。

2. 2 グリコーゲン貯蔵能力の定量方法

グリコーゲン貯蔵能力を定量する実験は、それぞれの系の混合液を一定量採取し、曝気攪拌を行いつつグルコースを初期濃度500mg/L程度投与し、汚泥内グリコーゲン量の経時変化を約4時間調べるものである。汚泥内グリコーゲン量は、汚泥内のタンパク質量(微生物量)当りのグリコーゲン量で表すことにした。グリコーゲン貯蔵能力として、この実験における最終汚泥内グリコーゲン量を用いることにした。

表1 培養基質の組成

グルコース	5.0g/L
ペプトン	1.0g/L
酵母エキス	0.5g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.5g/L
KH ₂ PO ₄	0.8g/L
Fe・Ca塩	Mn・Mg塩

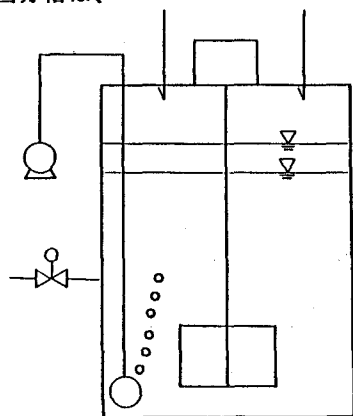


図1 反復回分槽

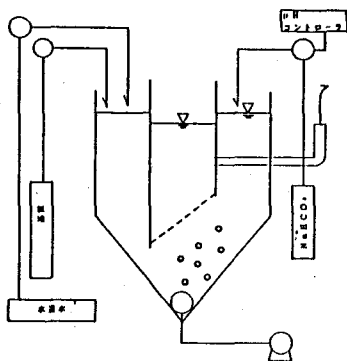


図2 連続槽

2. 3 グリコーゲン貯蔵能力の培養日数変化

a) RUN 1 同じ基質で約10カ月間培養し（表2の条件CSTR2）、バルキング状態にあった汚泥を表2の3つの条件（SB12・SB3・CSTR1）で培養を開始し、汚泥のグリコーゲン貯蔵能力を適宜定量した。この実験区では、糸状性細菌が沈降せずに流出することを防ぐために、沈澱時間を設けていない。

b) RUN 2 同じ基質で表2のCSTR2で約6カ月培養し、バルキング状態にあった汚泥を表2のGIFに条件を換え23日間培養し、再び条件CSTR2に戻した。GIFは、グルコース以外の基質は連続流入とし、グルコースを12時間に一度の間欠投与とする系である。この間、貯蔵能力の定量とSVIの測定を経目的に行った。

表2 培養条件

	RUN 1			RUN 2	
	CSTR1	SB3	SB12	CSTR2	GIF
SRT	5 d	5 d	5 d	5 d	5 d
HRT	5 d	5 d	5 d	1 d	1 d
容積負荷	4.0g	4.0g	4.0g	4.0g	4.0g
反復周期	連続	3hr	12hr	連続	12hr

容積負荷の単位は グルコースg/L/day

2. 4 分析方法

グルコース・グリコーゲンは、アンスロン法を用いた。グリコーゲンの抽出はKOH-エタノールで行った。タンパク質は、ビウレット法によった。TOCは島津TOC500で測定した。

3. 結果及び考察

3. 1 グリコーゲン貯蔵能力の定量

グリコーゲン貯蔵能力の定量実験の一例を図3に示す。液相中のグルコース存在下で、汚泥内グリ

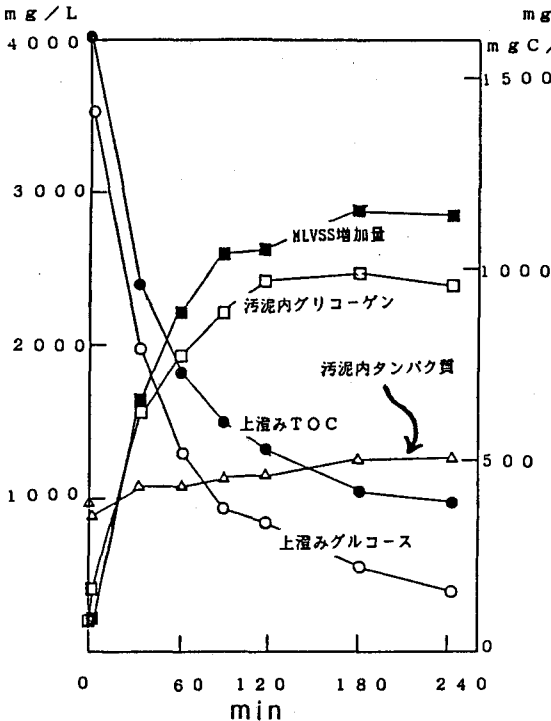


図3 グリコーゲン貯蔵能力定量実験例

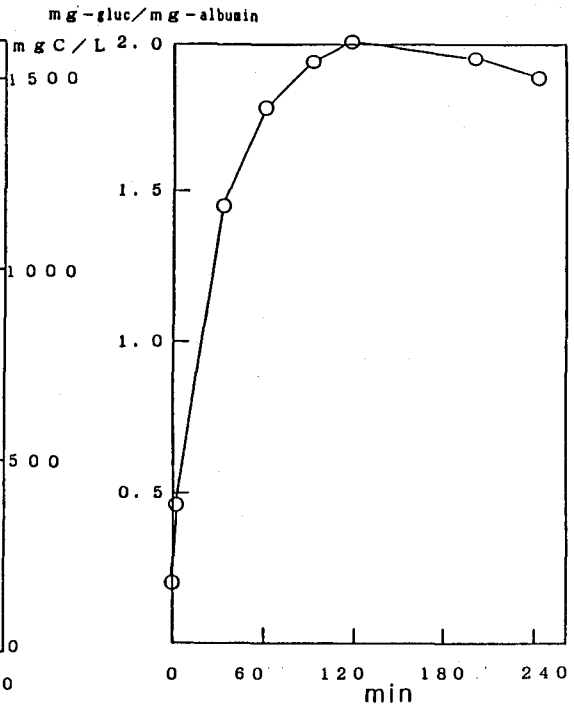


図4 汚泥内グリコーゲン量経時変化

コーゲン濃度は飽和する傾向にあり、 $\text{mg-gluc/mg-albumin}$ これはMLVSSの変化と一致する。

また、TOCはグルコースと同じ挙動を示している。このときの汚泥内グリコーゲン量の変化を図4に示す。汚泥内グリコーゲン量は飽和に達していることがわかる。汚泥内グリコーゲン量の最終値をグリコーゲン貯蔵量とする同様の結果は、他のどの実験でも得られた。この実験をRUN1、RUN2のそれぞれで経目的に行い、汚泥のグリコーゲン貯蔵能力を得た。

3. 2 RUN1の結果

グリコーゲン貯蔵能力の経日変化を図5に示す。条件SB12の結果は、反復回分系ではグリコーゲン貯蔵能力の高い細菌が優先し集積されることを示す。SB12に比べ反復周期が短く1周期での負荷が低いSB3と、常に基質と汚泥が接触するCSTR1では、グリコーゲン貯蔵能力は上昇しないので、これらの系ではこの能力の高いことが優先に必要な要因とはなっていない。

RUN1の各培養を開始した時点で、優先していた糸状性細菌は、細胞の連結の角度のふぞろいなこと、鞘皮がないこと、分枝のないこと等の形態的特徴がType021Nと類似していたが、活性汚泥中の糸状性細菌はどの系でも消失した。

3. 3 RUN2の結果

図6に貯蔵能力・SVIの経日変化を示す。グルコースのみの間欠投与に換えた後、グリコーゲン貯蔵能力が上昇してくると共に糸状性細菌は完全に消失し、グラム陽性の球菌が優先種となった。さらに再び条件を元に戻すと(24日目)貯蔵能力が下降し、同じ糸状性細菌が再び優先種となった。このことから、この系で優先していた糸状性細菌のグリコーゲン貯蔵能力は低く、貯蔵能力の高いことが優先に必要な要因となるGIF系では消失することがわかる。優先糸状性細菌は*Sphaerotilus natans*もしくは、Type1701と考えられる。この糸状性細菌は、*S. natans*とType1701の単離に用いられる寒天培地で単離された。

4. 結論

① この研究で提案をしたグリコーゲン貯蔵能力は、その高さが、周期12時間の反復回分培養・グルコース間欠投与連続培養で、優先に必要な要因である。

② 実験室内の活性汚泥混合系で、*Sphaerotilus*.spのグリコーゲン貯蔵能力は低い。

参考文献 1 第22回水質汚濁学会講演集 p47-48

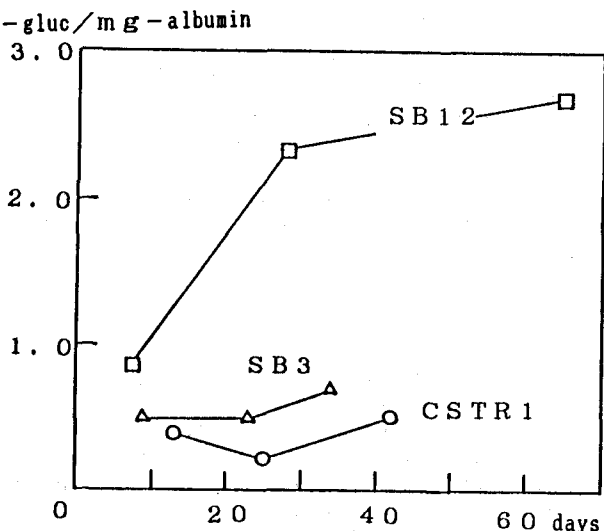


図5 グリコーゲン貯蔵能力の経日変化 (RUN1)

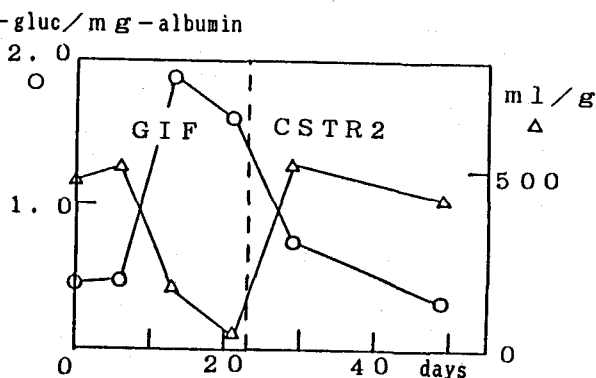


図6 グリコーゲン貯蔵能力とSVIの経日変化 (RUN2)