

B-29 グリコーゲン蓄積細菌群の酢酸摂取活性の急激な上昇

○國分 克樹¹・藤田 昌史^{2*}・辻 幸志³

¹茨城大学大学院理工学研究科都市システム工学専攻 (〒316-8511 茨城県日立市中成沢町 4-12-1)

²茨城大学工学部都市システム工学科 (〒316-8511 茨城県日立市中成沢町 4-12-1)

³日本下水道事業団技術開発部 (〒335-0037 埼玉県戸田市下笹目 5141)

*E-mail: fujita@mx.ibaraki.ac.jp

1. はじめに

近年、リンの枯渇が懸念されており、下水中からのリンの回収が期待されている。下水中からリンを除去する方法の一つに、生物学的リン除去 (以下, EBPR) がある。しかし, EBPR は突如として不安定になることが経験的に知られており, その要因の一つとして, グリコーゲン蓄積細菌群 (以下, GAOs) とポリリン酸蓄積細菌群 (以下, PAOs) の有機物競合がある。これまでに, 水温, pH, 有機物の種類など, 定常的な観点から GAOs, PAOs の優占化に対する至適条件が調べられている¹⁾。一方で, 実下水処理場における突発的な EBPR の悪化を想定すると, 非定常的な観点からもその機構に迫る必要がある。

辻ら (2009)²⁾ は, 都市下水処理場から採取した汚泥を嫌気好気回分式リアクター (A/O SBR) で 203 日間にわたり運転した。その初期 19 日間では pH を 7.0 にすることで GAOs の酢酸摂取活性の高い状況を作り出した。その後 pH を 8.2 に調整することで, GAOs の酢酸摂取活性が低下する過程を追跡した。A/O SBR の運転期間中, 比酢酸摂取速度に対する GAOs の寄与が 2.9~11% を示した期間があったが, このとき A/O SBR 運転よりも高い酢酸濃度で嫌気バッチ試験を行ったところ, その寄与は 32~47% となり, PAOs の酢酸摂取を抑制するほどであった。GAOs の酢酸摂取活性の低下過程において, このような酢酸摂取速度が上昇する現象が限定的に見られたのは, GAOs の細胞内蓄積物質の現況が関係するものと考えられた。

そこで本研究では, GAOs の急激な酢酸摂取速度の上昇は, ある細胞内蓄積物質含有量のときに, ある酢酸濃度に曝されると誘発するものと想定し, 検討を行なった。

2. 方法

2.1 GAOs の集積

都市下水処理場から採取した活性汚泥を有効容積 20L の円筒型リアクターに植種し, 1 サイクル 360 分の A/O

SBR 運転を行った。流入水は酢酸を主体とする人工下水を用いた²⁾。流入直後の最終酢酸濃度は 40mg-C/L とした。各工程の時間配分は, 流入・搅拌工程 120 分 (嫌気工程), 曝気・搅拌工程 180 分 (好気工程), 沈殿工程 50 分, 排水工程 10 分である。余剰汚泥は, SRT10 日となるように, 曝気・搅拌工程の終了直前に引き抜いた。水温 20 °C, pH7.0 になるように調整した。この運転を約 200 日にわたり継続した。

2.2 GAOs 集積汚泥の PHA 含有量の調整

GAOs の PHA 含有量を調整するために, Table 1 に示したように, 1 サイクルのみ流入酢酸濃度を変更した運転を行った。この運転の曝気・搅拌工程の終了直前に汚泥を採取して, PHA 含有量を推定するとともに, 後述する嫌気バッチ試験を Table 1 に示したさまざまな酢酸濃度条件で実施した。PHA 含有量は, 採取した汚泥を十分に洗浄し, 基質を与えずに酸素消費速度試験を行い, 得られたレスピログラムから算出した。Fig. 1 に示したように, さまざまな PHA 含有量の汚泥を得ることができた。

2.3 嫌気バッチ試験による比酢酸摂取速度, 比グリコーゲン消費速度の評価

GAOs 集積汚泥の酢酸摂取速度, グリコーゲン消費速度を求めるために嫌気バッチ試験を行った。採取した汚泥を洗浄し三角フラスコに入れた。あらかじめ窒素ガスにより脱気して, Table 1 に示した濃度になるように酢酸

Table 1 A/O SBR の流入酢酸濃度と嫌気バッチ試験の酢酸濃度の条件

		試験酢酸濃度 (mg-C/L)								
		40	50	60	70	80	90	100	110	120
流入酢酸濃度 (mg-C/L)	0	○				○	○	○	○	○
	10	○				○	○	○	○	○
	25	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	40	○				○	○	○	○	○
	50	○				○	○	○	○	○
	60	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	80	○				○	○	○	○	○

ナトリウムを加え、さらに pH 緩衝剤として炭酸水素ナトリウムも加えた。気相を窒素ガスで置換するとともに、嫌気状態を保ちながらサンプリングを行うために、窒素ガスを入れたテドラーバッグを取り付けた。その後、攪拌を始め試験を開始した。なお、試験時間中、水温を 20℃ に設定し、pH コントローラーを用いて pH7.0 に保った。

試験開始から定刻毎にサンプリングを行い、グリコーゲン、酢酸の分析に供した。これらが直線的に変化している部分に着目して、それぞれの傾きを求めた。これらをグリコーゲン消費速度 (mg-C/L.h), 酢酸摂取速度 (mg-C/L.h) とした。そして、その傾きを MLSS で除したものを比グリコーゲン消費速度 (mg-C/g-SS.h), 比酢酸摂取速度 (mg-C/g-SS.h) とした。

2.4 汚泥、水質の分析

MLSS, リン酸濃度の分析は、下水試験方法 (1997)³⁾ に従った。グリコーゲン分析は、アンスロン硫酸法を用いた⁴⁾。酢酸分析にはイオン排除カラム (Shim-pack SCR-102H, SHIMADZU 社) を用いて、電気伝導度検出器 (CCD-10A VP, SHIMADZU 社) 付き HPLC (SCL-10A, SHIMADZU 社) にて、同社より提案されているポストカラム法により分析した。

3. 結果と考察

3.1 GAOs 集積リアクターの運転状況

A/O SBR の運転期間中、定期的に MLSS 測定した。処理が安定すると MLSS は約 1.2 g/L でほぼ変化しなかった。このときの 1 サイクルの酢酸、グリコーゲン、リン酸の濃度の変化を Fig. 2 に示した。嫌気工程では、リン酸の放出が認められなかったが、グリコーゲンとともに酢酸も減少していた。つまり、目的どおり GAOs を集積できたと考えられた。

3.2 PHA 含有量を調整した GAOs 集積汚泥の

酢酸濃度に対する酢酸摂取の応答

流入酢酸濃度を調整したサイクルの曝気・攪拌工程終了直前に採取した汚泥を用いて、嫌気バッチ試験を行った。Fig. 3 に PHA 含有量が 6.1 mg-COD/g-SS と 11.9 mg-COD/g-SS のときの結果に示した。PHA 含有量が 6.1 mg-COD/g-SS のときには、比酢酸摂取速度は変化しなかったが、11.9 mg-COD/g-SS のときには、90 mg-C/L 以上の酢酸に曝されると比酢酸摂取速度が高くなった。

Fig. 4 に試験酢酸濃度が 120 mg-C/L のときの PHA 含有量と比酢酸摂取速度の関係を示した。PHA 含有量が 12 mg-COD/g-SS 付近のときに比酢酸摂取速度が上昇していた。以上のことから、GAOs の急激な酢酸摂取速度の上昇には、PHA 含有量が関係することが示された。

最新の GAOs の酢酸摂取速度 r_{GAO} は次のように提案されている⁵⁾。

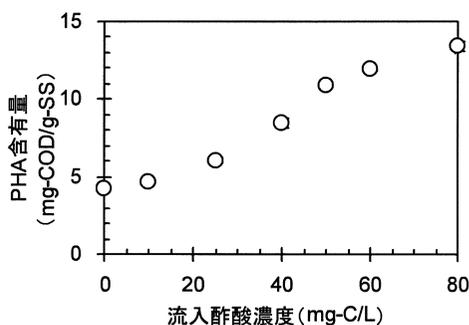


Fig. 1 流入酢酸濃度と PHA 含有量の関係

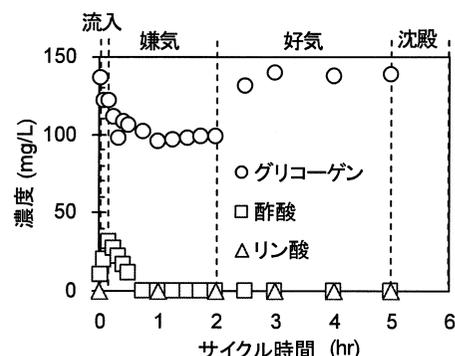


Fig. 2 1 サイクルの酢酸、リン酸、グリコーゲン濃度の変化

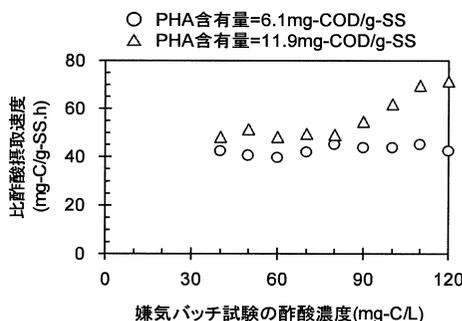


Fig. 3 試験酢酸濃度と比酢酸摂取速度との関係

$$r_{GAO} = q_{GAO}^{max} \frac{C_{Acetate}}{C_{Acetate} + K_S} X_{GAO} \quad (1)$$

ここで、 q_{GAO}^{max} : 最大比酢酸摂取速度 (g-C/g- X_{GAO} -h), $C_{Acetate}$: 酢酸濃度 (mg-C/L), K_S : 飽和定数 (mg-C/L), X_{GAO} : GAOs 濃度 (mg/L) である。この反応速度式で十分に表現できる場合もあるが、Fig. 3 や Fig. 4 に示したように、ある細胞内蓄積物質量のときに、これまで以上の酢酸濃度に曝され、比酢酸摂取速度が上昇する場合には、原理的にこのような Monod 型反応速度式では表現することができない。今後、反応速度式の改良が望まれる。

3.3 比酢酸摂取速度と比グリコーゲン消費速度との関係

Fig. 5 に PHA 含有量を 8.5 mg-COD/g-SS (対照系) と 11.9 mg-COD/g-SS (増加系) に調整した GAOs 集積汚泥を用いて、嫌気バッチ試験を酢酸濃度 40, 120 mg-C/L で行ったときの比酢酸摂取速度、比グリコーゲン消費速度、そして両者の比 $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{Ace}$ を示した。

比酢酸摂取速度は、対照系、増加系ともに試験酢酸濃度が高い方が大きくなった。また、これまでの試験結果と同様に、対照系よりも増加系の方が、比酢酸摂取速度が大きい結果となった (Fig. 5 (A))。

比グリコーゲン消費速度は、対照系では試験酢酸濃度が高い方が比酢酸摂取速度と同様に大きかったが、増加系では逆に小さかった (Fig. 5 (B))。

そこで、酢酸摂取とそのエネルギー源となるグリコーゲンの消費との関係を調べるために、 $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{Ace}$ を算出した (Fig. 5 (C))。既報⁹⁾では、 $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{Ace}$ は 1.0~1.3 g-C/g-C 程度と報告されている。対照系、増加系ともに、試験酢酸濃度が 40 mg-C/L のときには、この範囲であった。しかしながら、増加系で試験酢酸濃度が 120 mg-C/L のときには、0.64 g-C/g-C となり、既報値を大きく下回る結果となった。したがって、比酢酸摂取速度が急激に上昇するときには、通常よりも少ないグリコーゲン消費で酢酸を摂取しているものと解釈される。ただし、通常よりも少ないエネルギーで酢酸を摂取できたのか、あるいはグリコーゲン以外のエネルギーを利用しているためグリコーゲン消費量が少ないのかについては、今後明らかにする必要がある。

4. まとめ

A/O SBR を用い、酢酸を基質として、pH7.0, 20°C で常運転したところ、GAOs を集積することができた。PHA 含有量を調整した GAOs 集積汚泥を用い、嫌気バッチ試験を行ったところ、PHA 含有量が 12 mg-COD/g-SS 付近のときに、通常運転よりも高い酢酸濃度に曝されると、酢酸摂取速度が上昇する現象が確認できた。また、このときに $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{Ace}$ が既報値よりも小さくなることがわかった。GAOs の酢酸摂取速度が急激に上昇するときには、エネルギー獲得方式が通常とは異なる可能性が考えられた。

参考文献

- 1) Oehmen *et al.*: *Water Res.*, 39 (15), 3727-3737, 2005.
- 2) 辻ら: 水環境学会誌, 191-196, 32 (4), 2009.
- 3) 日本下水道協会: 下水試験方法 (上巻), 812p., 1997.
- 4) Oshiki *et al.*: *Wat. Sci Technol.*, 58 (1), 13-20, 2008.

5) Zeng *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, 83 (3), 293-302, 2003.

6) Chao *et al.*: *Water Res.*, 42, 3745-3756, 2008.

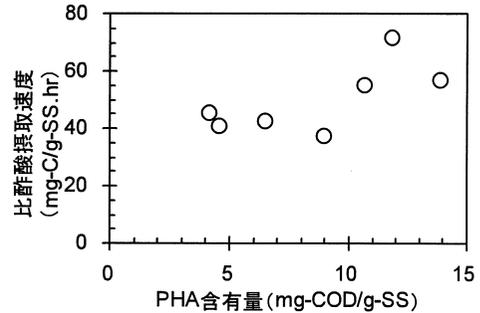


Fig. 4 試験酢酸濃度 120mg-C/L のときの PHA 含有量と比酢酸摂取速度との関係

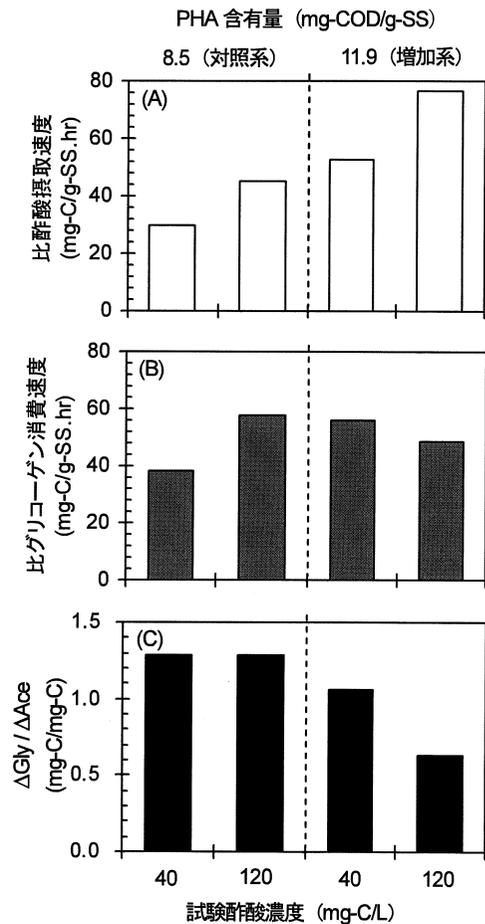


Fig. 5 比酢酸摂取速度 (A), 比グリコーゲン消費速度 (B), $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{Ace}$ (C) の比較