

BOD 植種液の培養方法の検討

Studies on Culture Condition of BOD Inoculum

齋藤 善則 柳 茂 佐藤 好克
高橋 正弘*

Yoshinori SAITO, Shigeru YANAGI, Yoshikatsu SATO
Masahiro TAKAHASHI

キーワード：植種培養液，MLSS，合成培地，無負荷培養

Key Words：Inoculum Culture，MLSS，Synthetic medium，Non-load Culture

JIS K 0102によればBOD測定時の植種液には、河川水、下水の上澄液と共に試験室内で試料に馴らした微生物を培養した上澄液も含まれている。河川水等は入手の困難さ、水質の不安定性が常に問題となり、植種液の安定供給、及び水質の安定のためには、試料に適応した微生物を増殖させて、常時手元にあることが最も好ましい。

そこで、今回植種培養液の維持管理について、微生物の餌となる合成培地の保存性、最適組成、そして培養液の至適水温、MLSS濃度、さらに長期休暇に対応する無負荷培養実験等の検討を行った。

その結果、合成培地の保存性については140 ℃で2時間容器を加熱して用いることにより腐敗を防止できた。培地組成ではpH安定のためには、リン酸塩がある程度過剰に含まれている必要があった。また、植種培養液の日常管理においては、上澄液のBODをあまり下げすぎないようなMLSS管理が必要であった。水温は5 ℃～25 ℃の範囲内で安定した培養が可能であった。長期休暇時を想定した無負荷培養実験では間欠曝気、連続攪拌と冷蔵庫保存を検討したが、冷蔵庫保存のものが汚泥の崩壊が少なく最も良好であった。

1 はじめに

一般に、河川水等の環境水を除きBODを測定する場合、希釈水に植種液を添加して測定する。この植種液には、JIS K 0102によれば、河川水、下水の上澄液、土壌抽出液、さらに培養液として試験室内で試料に馴らした微生物を培養した上澄液がある。しかし、河川水等はBOD測定に適したものを選択して使用しなければならず、入手の困難さ、水質の不安定性が常に問題となる。植種液の安定供給、及び水質の安定のためには、試料に適応した微生物を増殖させて、常時手元にあることが最も好ましい。

そこで、今回植種培養液の維持管理について、回分式培養方法を用いて、合成培地組成、MLSS管理、及び長期休暇時を想定した無負荷培養実験等種々の検討を行ったので報告する。

2 実験装置及び実験方法

2.1 実験装置の概要

日常の培養には塩化ビニル製の図-1に示す培養槽に、はじめに種汚泥として下水処理場の活性汚泥を1 L入れて水道水で6 Lとして曝気を開始した。そして、回分式

培養方法により、朝30分曝気を止め、上澄液を3 L引き抜き、合成培地を40ml加えて元の水位まで水道水を満たし曝気を開始する操作を毎日繰り返した。

また、無負荷培養実験は2 Lのポリ容器に培養液を1.5 L入れて、表-1に示す方法で検討した。Run1, 2は図-2の接続方法で12日間の無負荷培養を行った。その後さらに全てのRunを連続曝気に戻して、合成培地を日常の培養と同様の比率で加えて、2週間培養を続けた。なお、通気は図-2の接続方法で水洗した空気を用いて行い、曝気後の排気は活性炭で脱臭した。

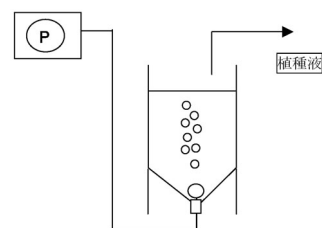


図-1 回分式培養槽

金魚用エアポンプ タイマーセット ⇄ エア洗浄 ⇄ 間欠曝気槽 ヒーターで保温 ⇄ 活性炭脱臭

図-2 Run1, 2の接続方法

* 現 原子力センター

表-1 無負荷培養実験

	培養方法	培養温度()
Run 1	間欠曝気(2時間曝気22時間停止)	20~30
Run 2	間欠曝気(1時間曝気11時間停止)	20~30
Run 3	スターラーによる連続攪拌	20~30
Run 4	冷蔵庫保存	4

培養液量 : 1,500ml MLSS : 9,500mg/L

2.2 合成培地の保存性及び組成の検討

スクリーキャップ付きガラスビンを恒温槽で140℃、2時間加熱し、余熱のあるうちに40~50℃の作りたての合成培地を注ぎ入れ、室温まで冷ましてから冷蔵庫に保存した。この方法で合成培地1Lを使い切るまで変質は認められなかった。なお、合成培地は1Lのビーカーに約900mlの精製水を入れ、試薬を添加してホットプレート上で沸騰させないように加熱溶解し、中和後に1Lとした。

合成培地はJISの植種液使用基準への適合状況、及び硝化作用によるpHの低下状況を見ながら、適宜組成の検討を行った。表-2に示す5種類の組成について、最低でも1ヶ月間の培養を継続して良否を判定した。

表-2 合成培地の組成

試薬名	pH : 7.2 添加量 : g				
	培地-I	培地-II	培地-III	培地-IV	培地-V
リン酸-カリウム	12	12	4	8	12
グルコース	10	40	40	40	40
ペプトン	30	40	35	35	35
L-グルタミン酸	-	-	5	5	5
水酸化ナトリウム	3.8	3.8	3.0	3.8	4.8

2.3 培養液の水温、MLSS及びpHの影響

1年間以上、回分式培養方法を継続して、培養液への水温の影響を調べた。また、MLSSは低温時には高めに維持し、15℃以上の時は2000~4000mg/Lに維持した。

培養液の曝気停止直前、停止30分後、水位復元曝気直後、培地添加直後、曝気開始1時間後のpHを測定し、合成培地添加前後のpH、亜硝酸性窒素、及び硝酸性窒素の変動を調べた。

2.4 無負荷培養実験

回分式培養方法で培養した溶液を4分して、表-1に示す方法でRun 1~4に各1.5L使用した。Run 1~3はラインヒーターにて20~30℃に保温した。Run 1は2時間曝気22時間停止の1日1サイクルの繰り返し、Run 2は1時間曝気11時間停止の1日2サイクルの繰り返し、Run 3はスターラーによる連続攪拌を行った。Run 4は4℃の冷蔵庫に保存した。これを12日間続けた後に、さらにRun 1~4の連続曝気を開始し、翌日から合成培地を10ml添加して、回分式培養方法に戻して沈降性(SV30)、pH、及びBODの変動を調べた。

3 結果及び考察

3.1 合成培地組成による水質変化

合成培地組成を表-2に示す5種類に変化させて培養を行った。培地-Iではグルコースが10g、ペプトンが30gと少ないためBODが低く、窒素の比率が高いことから消化菌が増殖しやすく、特に休日明けの月曜日に低pHになりやすかった。

培地-IIではpHは安定しているが上澄液のBODが1mg/L程度になるとJISの植種液使用基準を満足しにくくなる傾向が見られたが、BODが10mg/L程度なら図-3に示すとおりBOD:210±10mg/Lの基準を満足した。そこで、ペプトンの一部を植種液使用基準確認溶液に含まれるL-グルタミン酸に変えた培地-III~Vを検討した。

また、活性汚泥が正常に生育するために必要な栄養バランスは、一般にBOD:N:P=100:5:1以上と言われているが、このバランスを満たす濃度にPの添加量を減らした培地-IIIにおいても、培地-IIと同様に休日明けの月曜日にpHの低下傾向が見られた。P濃度を培地-IIの2倍にした培地-IVでもこの傾向は変わらなかった。

培地-VはP濃度を培地-IIまで戻して、さらにL-グルタミン酸を添加したことでJISの植種液使用基準を満足しやすくなるかどうかを検討した。図-4に示すとおり、その効果はあまり見られず、培地-IIとほぼ同程度であった。なお、硝化菌抑制のためアリルチオ尿素を添加したものはBODが170mg/Lと無添加のものよりやや低かった。

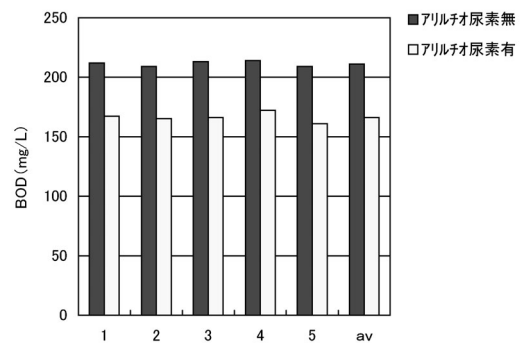


図-3 培地-IIによるグルコースグルタミン酸混合液のBOD

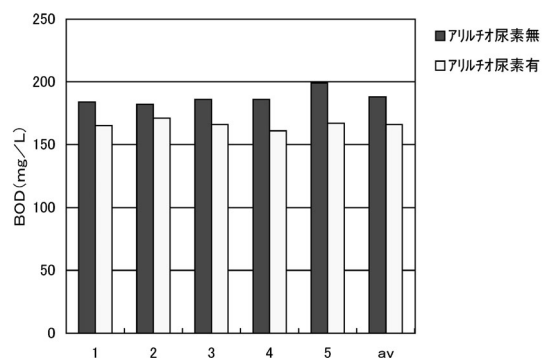


図-4 培地-Vによるグルコースグルタミン酸混合液のBOD

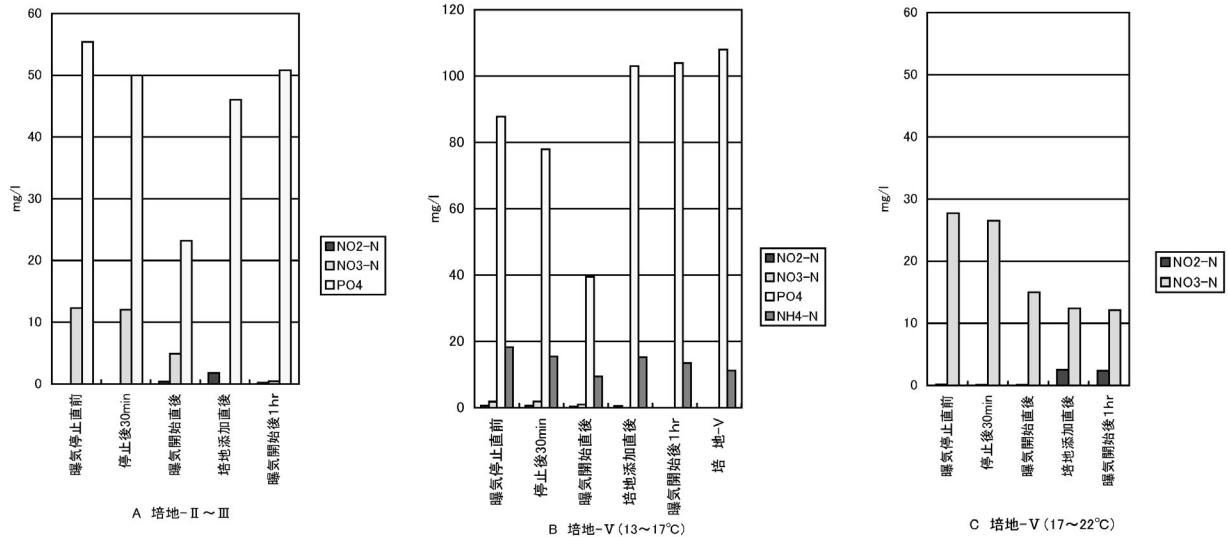


図-5 合成培地添加前後の窒素濃度

3.2 培養液の水温, MLSS及びpHの変化

培養液の水温は11月の5 が最低(以降20 に保温)で, 8月の25 が最高であったが, この範囲では培養に問題はなく, むしろ高温時に汚泥の引き抜きを頻繁に行い, MLSSの管理で消化菌の増殖を抑制する必要があった。高温時にはMLSSを2000mg/L程度に抑えた方がpHの低下を防ぐことができた。図-5に示すとおり, 曝気停止直前に比べ, 培地添加直後に亜硝酸性窒素が高くなり, 硝酸性窒素が低くなる傾向が見られた。図-5のAは培地- から培地- に変えて3日目のもの。また, 同じ培地- でMLSS(4000mg/L)がほぼ同じ場合(図-5のB, C), 水温の高い方が硝酸性窒素の濃度が高くなりやすく, 休日明けの月曜日にpH6を下回る値を示すこともあった。

合成培地添加前後のpHの変化は図-6に示すとおり, 培地添加直後に低くなる傾向が見られた。これはイオンクロマトグラフで酢酸を確認したことから有機酸生成によるものと推察された。

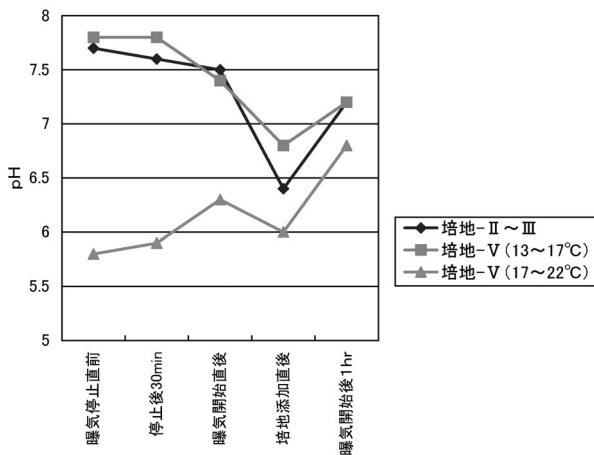


図-6 培地添加前後のpH変化

3.3 無負荷培養実験

Run 1 ~ 4のSV30を図-7に示す。Run 3を除き, SV30は無負荷培養終了直後の70台から徐々に低下し60まで推移したが, その後の3日間の空曝気によりやや上昇する傾向を示し, 汚泥崩壊による濁りも増加した。Run 3は無負荷培養終了直後から他に比べ濁りが認められ, 沈降性の回復も悪かった。

上澄液引き抜き量とpHの変化を図-8に示す。無負荷培養終了後, いずれのRunでも合成培地添加の回分式培養方法に戻しても, pHの回復は認められなかった。また, 3日間の空曝気でさらに硝化菌が活発化してpHが低下した。このことから, 硝化菌の増殖によるpHの低下防止対策には, MLSSの適正管理しか方法は無いものと思われた。それはこの実験の終了後, 培養液を4倍に希釈して回分式培養槽に戻してMLSS 2000mg/Lで, 平常の培養を続けたところ, 3日目でpHが中性に回復したことにより確認できた。

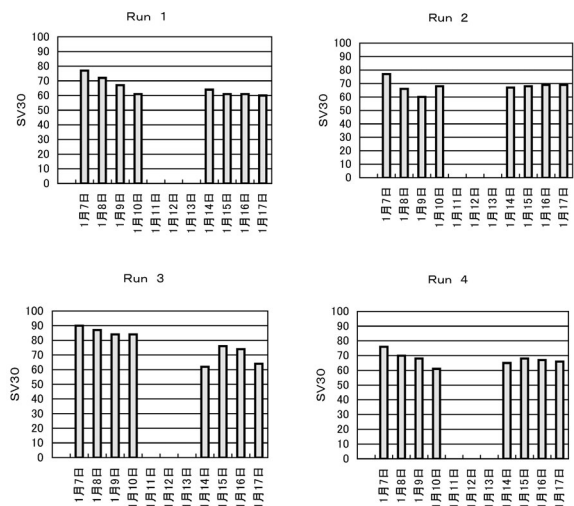


図-7 SV30の変化

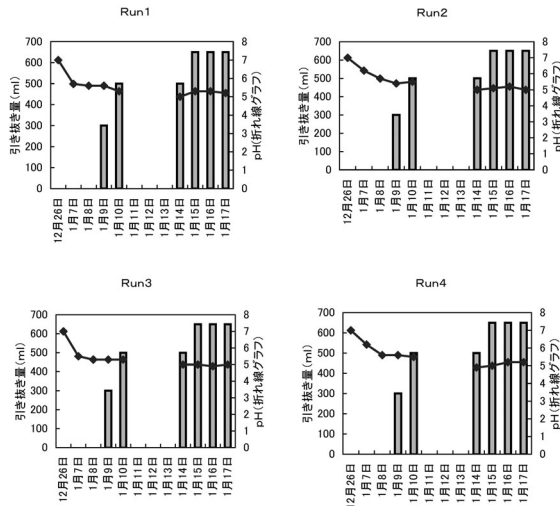


図-8 上澄液引き抜き量とpHの変化

無負荷培養後の上澄液BODの推移を図-9に示す。培地添加開始3日目(1月9日)ではRun 3が7mg/Lと最も高かったが、その後の3日間(1月11~13日)の空曝気後では、Run 1~3が20mg/Lを超える値まで悪化したのに対し、Run 4は13mg/Lと最も低い値を示した。この結果から、冷蔵庫保存は培養液の活性低下が少なく、特別な装置も必要なく、最も省エネルギーな方法であることがわかった。

4 ま と め

今回の検討の結果、下記のことが明らかになった。

- 1) 合成培地の保存性については140 ℃、2時間加熱したガラスビンを用い、40~50 ℃の合成培地を注ぎ入れることにより、腐敗を防止できた。
- 2) 合成培地の組成を5種類検討したが、従来から使用していた培地 - が良好であった。
- 3) 回分式培養方法により、水温は5 ℃から25 ℃の範囲内で安定した培養が可能であった。
- 4) 植種培養液の日常管理には上澄液BODをあまり下げすぎないことと、硝化菌の増殖を抑えるMLSS管理が必要であった。
- 5) 長期休暇時を想定した無負荷培養実験では2週間程度なら冷蔵庫保存が汚泥の崩壊も少なく、最も良好であった。

参 考 文 献

- 1) 工場排水試験方法：1998，日本規格協会，p49~54
- 2) 桜井敏郎他：活性汚泥法と維持管理，産業用水調査会，p40~60

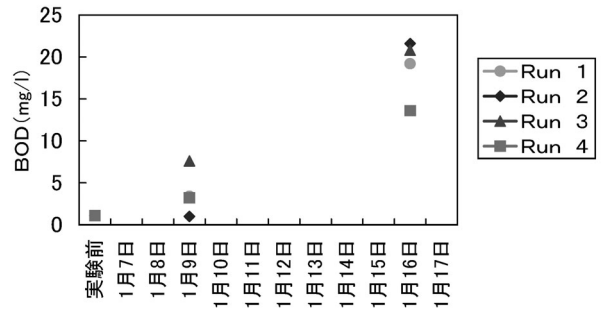


図-9 無負荷培養後の上澄液BOD