



Title	混合培養系における沈降特性および振動現象に関する 個体群の動力学
Author(s)	田中, 博己
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32238">https://hdl.handle.net/11094/32238</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka- u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文につい て</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	田 中 博 己
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 4 4 8 0 号
学位授与の日付	昭和 54 年 2 月 8 日
学位授与の要件	薬学研究科 応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	混合培養系における沈降特性および振動現象に関する個体群の 動力学
論文審査委員	(主査) 教 授 三浦 喜温 (副査) 教 授 上原喜八郎 教 授 鎌田 皎 教 授 近藤 雅臣

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 緒 論

生物的水処理において問題となっている活性汚泥のバルキング現象と石油系廃液のように分解しにくい物質の処理における個体群の挙動に着目し生態学的立場から次の二つの問題を取り上げた。

- (1) 環境条件の変化により混合培養系の機能的変化をもたらす活性汚泥のバルキング現象と、
- (2) 混合培養系の種間の相互関係と個体群の動特性を知る目的から、石油系廃液を処理させた場合の偏利共生系の動特性について研究を行なった。

活性汚泥のバルキング現象は第1, 2章において取り扱い、第1章では主にバルキング現象を引き起こす環境因子の探索を行なった。第2章では、高次の活性汚泥系におけるバルキング現象を低次の混合培養系で扱うため、汚泥の沈降性を支配するフロック形成菌と糸状性細菌による混合培養系を組立てた。そして環境変化に対する混合培養系の沈降性及び個体群の変化について調べ、バルキング現象に対する考察を行なった。

第3章, 4章においては二種個体群間の相互関係と動特性について取り扱った。

第3章は、石油系廃液を基質とし、偏利共生関係で結ばれている二種個体群の動特性を調べた。その結果、個体数の不規則な振動現象が観察されたので、その要因について実験的考察を行なった。

第4章では、二種個体間の相互関係を拡張し、基質の競合的資化、偏利共生、相利共生を考えた。そして、それらの相互関係が単独または複数で二者混合培養系に存在する場合の系の安定性について解析を行ない個体数の振動現象との関係について論じた。

## 第1章 活性汚泥のバルキング現象

活性汚泥の沈降性に影響を及ぼす環境因子として、溶存酸素濃度、pH、負荷、栄養条件について調べた。いずれの環境因子においても、糸状性微生物の異常増殖によるバルキングが観察された。

(1) 槽内溶存酸素濃度が  $4 \times 10^{-5}$  mol/l 以下において、糸状性バルキングが起こった。

(2) バルキング汚泥の沈降性の回復は純酸素通気より空気通気の方が速かった。

(3) pH に関しては、槽内 pH が 5～8.5 の範囲では、バルキングが起こらなかった。しかし、pH 4 の場合、過渡期に沈降性が変化した、その後正常な沈降性に回復した。

したがって、pH 変動はバルキング因子として重要な因子でないと考えられる。

(4) グルコースを炭素源とする合成下水 G-SW での馴養が 2～4 ケ月の範囲における汚泥は、負荷 1～1.2kg COD/kg MLSS/day を越えると、糸状性細菌によるバルキングが起こった。

しかし、G-SW での馴養を半年以上の長期間にわたって行なった汚泥では、負荷 0.5kg COD/kg MLSS/day を越えると、カビである *Fusarium* によるバルキングが起こった。

(5) 糖を含まず、肉エキス、ペプトン等からなる合成下水 M-SW で連続処理を行なった場合、*Fusarium* の個体数は減少した。

カビは、一般に、栄養に乏しい培地で細菌よりも良く生育できるので、G-SW では、*Fusarium* が増加したものと考えられる。しかし、M-SW では、細菌の増殖の方が良くなるために、*Fusarium* が減少したものと考えられる。

## 第2章 フロック形成菌と糸状性細菌による混合培養

活性汚泥は多種類の微生物の集合体であり、バルキング現象を調べるには系が複雑すぎる。そこで、単純な低次の系でバルキング現象を取り扱うために、フロック形成菌と糸状性細菌の混合培養を行なった。

### I. 各菌の培養特性および混合培養系の作成

(1) 活性汚泥より単離したフロック形成菌 strain 138 は *Sphaerotilus* sp. と同定し、糸状性細菌 strain F6 は *Pseudomonas* sp. と同定した。

(2) 糸状性細菌 strain F6 は活性汚泥のバルキング現象を引き起こす細菌であった。

(3) Strain 138 のフロック形成能に影響を及ぼす因子として、回分培養で、(i) 培養温度、(ii) 金属塩、(iii) 窒素源の影響について調べた。

strain 138 は (i) 温度 20～25℃ でフロックの形成が良く、(ii) 金属塩に関しては、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  はフロックの形成にほとんど影響を及ぼさなかったが、 $\text{Mg}^{2+}$  濃度はフロック形成に対し負の相関を示した。(iii) 窒素源については、アンモニア性窒素源でフロックの形成が良く、硝酸性およびペプトン、肉エキスなどの有機性窒素源では悪かった。

(4) 一方、糸状性細菌 strain F6 も種々の環境因子で形態的变化を受けやすい菌であり、20℃ ではパルプ状、25～40℃ ではペレット状の増殖が認められた。

(5) Strain 138 の培養液で、栄養要求性のある strain F6 は増殖したが、グルコースまたはサッカロースを炭素源とする培地で、連続混合培養を行なった場合、strain 138 が優先種となったが、

培地に肉エキスを添加した場合共存系が得られ混合培養系が成立した。

(6) 活性汚泥において、高負荷、低酸素濃度でバルキング現象（第1章）が観察されたが、この混合培養系においても、同様に、連続条件下、高い希釈率（Ⅱ）低い溶存酸素濃度（Ⅲ）でバルキング現象が認められた。

## Ⅱ．希釈率の影響

高い希釈率でのバルキングの発生原因を探るため、希釈率に対する各菌の増殖および沈降特性を調べた。

(1) 希釈率の変化は Strain 138 のフロック形成に影響を及ぼし低い希釈率では沈降性の良いフロックができるが、高い希釈率ではフロック形成の悪化が認められた。

(2) Strain F 6 も希釈率の影響を受け、低い希釈率 ( $0.2 \text{ hr}^{-1}$  以下) では、ペレット状の増殖を示し、高い希釈率では菌糸の分散したパルプ状の増殖を示した。

(3) Strain F 6 は希釈率  $0.68 \text{ hr}^{-1}$  でも wash out しなかったが、strain 138 は希釈率  $0.6 \text{ hr}^{-1}$  で wash out したので、最大比増殖速度は strain F 6 の方が高いことがわかった。

(4) したがって、混合培養系における、高い希釈率でのバルキング現象は、strain F 6 の比増殖速度が strain 138 のそれより高いので、strain F 6 が優先種となり、かつ、菌糸の分散化とフロック形成能の低下に基づき、混合培養での菌の沈降性が悪くなるものと考えられる。

## Ⅲ．溶存酸素の影響

低溶存酸素濃度における混合培養系のバルキング現象を調べるため、連続培養（希釈率  $0.15 \text{ hr}^{-1}$  以下）で各菌の対酸素挙動を調べた。

(1) Strain 138 は低い溶存酸素条件でフロック形成能の低下が認められた。

(2) Strain F 6 も低い溶存酸素濃度においては、菌糸の分散したパルプ状の増殖が認められた。

(3) 両菌の凝集性は生育条件によって異なり低い希釈率かつ高い溶存酸素濃度で増殖した細胞は、両菌とも凝集性が向上していることが認められた。したがって、strain F 6 のペレット化や、strain 138 のフロック形成は、細胞表面の凝集性に帰因していると考えられる。

(4) 増殖ポテンシャルを示す指標の一つである酸素の取込速度 ( $Q_{O_2}$  について、糸状性細菌は低い溶存酸素条件の場合、高い溶存酸素条件に比べ 1.6 倍も増加した。しかし、フロック形成菌は 1.2 倍しか高くないことがわかった。

(5) したがって、低い溶存酸素濃度における混合培養系のバルキング現象の発生理由として (i) 糸状性細菌 strain F 6 の低溶存酸素下における酸素取込速度の活性化に基づき、糸状性細菌が優先種となること、かつ、(ii) 低溶存酸素下において、両菌の凝集性の低下に基づき strain F 6 の菌糸の分散化と strain 138 のフロック形成能の低下により菌の形態的变化がもたらされることがあげられる。そのため、沈降性の悪化がおりバルキング現象が引き起こされたものと考えられる。

第1章で述べた活性汚泥の糸状性細菌によるバルキング現象も、本章で観察された高い希釈率や低い溶存酸素濃度における *Sphaerotilus* の培養特性が主に帰因しているものと考えられる。*sphaerotilus* は高い溶存酸素濃度で希釈率が低い場合、菌糸がからみあってペレット状の増殖を示し、そのときに

は呼吸活性が低い。しかし、低い溶存酸素濃度では *Sphaerotilus* の凝集性が低下し、菌糸が分散したパルプ状で増殖し、かつ、酸素の取込み速度が活性化され、増殖ポテンシャルが高められるので、*Sphaerotilus* が優先種となり、菌糸が分酸した状態の糸状バルキングが引き起こされたものと考えられる。したがって、特に糖を多く含む廃水では、糸状性バルキングがおこりやすいから、活性汚泥のバルキングを未然に防ぐには、やはり一般的ではあるが、負荷量を 0.8kgCOD/kg MLSS/day 以下で運転することが望ましく、槽内溶存酸素濃度は  $5 \times 10^{-5}$  mol/ℓ 以上で制御する必要がある。

### 第3章 石油系廃液における酵母と細菌の混合培養

生物的廃水処理において問題となっている比較的分解しにくい hydrocarbon と毒性のある phenol を石油系廃液のモデル基質とし、酵母と細菌の共生関係にある混合培養系を組立て、種間の相互関係を明らかにするとともに、その動特性について検討を行なった。

この混合培養系の特徴は、*Pseudomonas oleovorans* が phenol を資化し biotin を生産した。一方、*Mycotorula japonica* は biotin 要求性であり、phenol と n-tetradecane の両基質を資化した。したがって両菌は基質の競合的資化と偏利共生関係によって結びつけられていた。(Fig.1)。

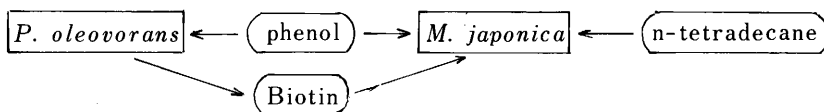


Fig.1. Interactions between *P. oleovorans* and *M. japonica*.

二種微生物より構成されている混合培養系において、両微生物間に偏利共生と基質の競合的資化が存在する場合、連続培養において、潜在的に振動現象の要素を含んでいる。

他方 n-tetradecane に対する資化性の変化は、連続培養中において菌体収率が 0.3 から 0.95 まで変化したこと、そして、連続培養中の *M. japonica* の増加時と減少の細胞では、最大比増殖濃度および最終菌体量が変化していたこと、さらに連続培養中に *M. japonica* の形態的变化すなわち擬菌糸の生成も観察されたことから *M. japonica* は連続培養中に基質の資化性が変化すると結論づけられる現象はおもに *M. japonica* の資化性と両微生物間に存在する関係(基質の競合的資化と偏利共生)の相互作用に帰因するものであり、pH 変化、偏利共生、diauxic growth 現象、基質の競合的資化などの単独の因子によるものではなかった。

### 第4章 二種微生物の混合培養系における相互作用とその動特性

共生系における菌相互関係と振動現象の存在の有無を調べるため、一方から他方へ growth factor を供与しあう相利共生、基質の競合的資化の関係を想定した。そして、それらの関係が単独あるいは複数に存在する二者混合培養系の安定性について解析を行ない、種間の相互作用と振動現象との関係を明らかにした。

各菌の比増殖速度は Monod の式を用い、growth factor の生産は増殖連動型とした。

混合培養系における種間の相互関係と連続培養におけるその系の安定性について整理すると、Table 1 のようになる。

Table 1 Characteristics of steady solution between two microbes in mixed culture systems.

	single interaction	two interaction (+ competition)
Competitive assimilation	Case I. (II) $M_A \leftarrow S_I \rightarrow M_B (\leftarrow S_{II})$ SN	
Commensalism	Case IV $S_I \rightarrow M_A \rightarrow G_A \rightarrow M_B \leftarrow S_{II}$ SN	Case III, (V) $M_A \leftarrow S_I \rightarrow M_B (\leftarrow S_{II})$ SN $\searrow G_A \nearrow$ SF
Mutualism	Case VI $S_I \rightarrow M_A \xrightarrow{G_B} M_B \leftarrow S_{II}$ $\searrow G_A \nearrow$ SN SP	Case VII $M_A \leftarrow S_I \rightarrow M_B$ $\searrow G_A \nearrow$ SN SF SP

SN: stable node, SF: stable focus (damping oscillation)

SP: saddle point

基質の競合的資化(case I, II), 偏利共生(case VI)の単一な関係が存在する二者混合培養系では, 連続培養において個体の振動はあられず本質的に安定である。

しかし, 基質の競合的資化と偏利共生(case III, V), または, 基質の競合的資化と相利共生(case VII)のように, 二つの異なる関係が共存した混合培養系においては減衰振動の存在することがわかった。

#### 総括

以上, 生物的廃水処理において問題となっている活性汚泥のバルキング現象と, 比較的分解しにくい石油系廃液処理を生学的立場から混合培養の問題として取扱って来た。

第1, 2章で述べた活性汚泥のバルキング現象は環境変化によって糸状性微生物の異常増殖が引起され微生物集団の沈降性が変化する現象である。

活性汚泥のバルキング現象は高負荷, 低溶存酸素濃度などの環境条件下で認められた。また, バルキングの原因微生物として *Fusarium* と *Sphaerotilus* を単離同定した。

さらに, バルキング現象の詳細を調べるため, 沈降性を左右するフロック形成菌と糸状性細菌に着目した。そして, 両菌の純粋および混合培養において, 希釈率, 溶存酸素の影響を検討した。

その結果, 糸状性菌 strain F6 は活性汚泥のバルキング現象に対応した挙動を示し, 顕著な形態的变化を示す細菌であった。さらに, この菌は低溶存酸素濃度において, 酸素の取込速度の増大が認められた。

フロック形成菌 strain 138 も高い希釈率や低酸素濃度において, フロック形成能の悪化が認めら

れた。

したがって、高負荷（高い希釈率）や低い溶存酸素濃度においては、両菌のこのような性質が帰因して糸状性細菌が優先種となり沈降性の悪化が起こったものと考えられる。

第3，4章では混合培養系の種間の interaction とその系の動特性について検討した。

第3章においては石油系廃液として phenol と *n*-tetradecane を用い酵母(*M. japonica*)と細菌(*P. oleovorans*)の混合培養を行なった。

この系における両菌は phenol の競合的資化と biotin を介した偏利共生によって結びつけられていた。また、連続培養において、この系は菌体濃度や残存基質濃度の不規則な変動が認められた。そこで、この不規則な振動現象の要因を実験および解析の両面からさがしたところ、連続混合培養における振動現象は主に *M. japonica* の資化性の変化と両菌を結びつけている競合的資化と偏利共生の相互作用に帰因するものであった。そして、pH 変化、偏利共生関係、diauxic 現象、競合的資化などの単独の因子によるものではなかった。

第4章では、二種個体間の相互関係を拡張し、基質の競合的資化、偏利共生、相利共生について、解析的に二者混合培養系の連続培養における安定性を調べた。

その結果、基質の競合的資化、偏利共生または相利共生だけの単一の interaction よりなる系では個体数の振動が現れず本質的に安定な系であることがわかった。しかしながら、基質の競合的資化と偏利共生、または、基質の競合的資化と相利共生のように、二種微生物間に二つの異なる interaction が存在した場合、増殖速度を抑えるような阻害物質が存在しなくとも振動現象の存在することがわかった。

## 論文の審査結果の要旨

生物的廃水処理において問題となっている活性汚泥のバルキング現象と、比較的分解しにくい石油系廃液処理を生態学的立場から混合培養の問題として取扱った研究である。活性汚泥の沈降性に重大な影響を持つバルキング現象をフロック形成菌と糸状性細菌との混合培養によって詳細に検討し、その機構を解明した。石油系廃液中でも処理しにくいフェノールと *n*-テトラデカンを酵母と細菌との混合培養によって処理する場合の系の安定性を追求し、両微生物間の反応と系の安定性との関係を求めた、さらに複雑な関係をもつ混合培養系の安定性をも理論的に追求した。本研究論文は混合培養系の動特性の基礎を与えたもので、博士論文に値する。