〈論文〉

嫌気性流動床における付着生物膜内不活性有機固形物の蓄積過程のモデル化

古 米 弘 明* 今 井 剛** 楠 田 哲 也**

Modeling of Accumulation of Inert Organic Solids in Anaerobic Fluidized Bed

Hiroaki FURUMAI*, Tsuyoshi IMAI** and Tetsuya KUSUDA**

* Department of Urban and Civil Engineering, Ibaraki University, 4-12-1 Nakanarusawa, Hitachi 316 Japan

** Department of Civil Engineering Hydraulics and Soil Mechanics, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Fukuoka 812 Japan

Abstract

A simple model, which includes accumulation of inert organic solids such as decayed biomass and extracellular polymers, has been developed to predict the treatment efficiency, and to evaluate the accumulation of "active biomass" and the biofilm development in a methanogenic fluidized bed. Mass balance equations of substrate and biomass comprised additional rate terms of extracellular polymer production and biomass detachment, respectively.

The results of a steady-state analysis indicated that the biofilm contained a significant amount of inert organic solid when a lower detachment rate was given to the inert solids than the "active biomass". The accumulation of inert organic solids might explain why reported maximum specific rates of acetate consumption for methanogenic biofilms were much lower than those of enriched and pure cultures of acetate utilizing methanogens. The conventional concept of solid retention time (SRT) seems to overestimate the true SRT of "active biomass", which is a more useful index for controlling the treatment in fluidized beds. The model experiments also implied that maximum specific activities of total biofilm and washed-out biomass were fundamentally related to the biomass detachment rates at the biofilm surface. Determination of the activities of sloughed biomass would be useful to investigate the bacterial distribution in biofilms.

Key words: dynamic model, biomass decay, extracellular polymer, biofilm detachment, anaerobic fluidized bed

1. はじめに

嫌気性処理は曝気によるエネルギー消費を削減できること、余剰汚泥の発生が少ないことに加え、数年来、難分解性有機物や有機塩素化合物などの微量汚染物質の分解にも有利であることが明らかになってきている^{1)~3)}。嫌気性処理を効率化するためには、処理を担う微生物量を増大させる必要があり、嫌気性汙床、嫌気

性流動床などがその条件を満足できる有望な処理プロセスと考えられる。しかし、第一義的には、有機物が安定して除去できる必要があることには変わりなく、処理特性をより良く表現できるモデルの開発は、一層嫌気性付着増殖型処理プロセスを広範に利用する可能性を開く意味においても有用と考えられる。近年、流動床の処理特性の研究^{4)~8)}が進み、そのモデル化も検討されてきている。しかし、生物膜内での微生物群の

* 茨城大学工学部都市システム工学科

** 九州大学工学部水工土木学科

相互作用や生物膜の成長を考慮した非定常処理過程を表現するためには、従来のように付着生物全体を経過的な菌体量として定義された動力学定数を基礎とした処理水質予測モデルでは限界があると考えられる。

生物膜は、増殖特性の異なる微生物群が相互に複雑に絡み合いながら増殖、死滅、剝離現象を通して形成される。1980年台半ばに、Kisselら⁹⁾や Wanner & Gujer¹⁰⁾によって、微生物組成を考慮した非定常生物膜モデルが提案されて以来、生物膜の成長に関連して死滅菌体を含めた膜内の菌体分布がモデル計算により予測されてきている。わが国においても、回転円板付着生物膜に関して従属栄養菌と硝化菌の膜内分布の研究が進められてきている^{11),12)}。

生物膜の形成・成長過程に関する研究¹³⁾では、好気性生物膜を構成する要素として細胞外ポリマーも取り上げられており、生物膜形成の新しい側面を提示している。また、メタン生成流動床内の嫌気性生物膜についても、相当量の不活性な有機固形物が存在することが報告されている⁸⁾。

したがって、高濃度に微生物を付着保持する処理プロセスにおいて、その生物膜内の死滅菌体や細胞外ポリマーのような不活性部分の蓄積過程を定量化することは、生物膜厚や保持可能な活性菌体量を予測する上で非常に重要であると考えられる。そして、見かけのバイオマス量ではなく、処理を担う活性菌体量を正當に評価することにより、処理水質予測を一層精度良いものにすることができるとと思われる。

そこで本研究では、メタン生成流動床の付着微生物を対象として、新たに改良を加えた水質予測モデルを展開した。そして、活性菌体とともに、生物膜成分としての細胞外ポリマーや死滅菌体の蓄積過程の定常解析を行い、不活性有機固形物の蓄積過程の重要性や、生物膜プロセスの評価において検討すべき課題を明らかにすることを目的とした。

2. モデルの展開

2.1 不活性有機固形物の蓄積過程の概念

ここでは酸生成相における主要中間代謝産物である酪酸 (HAc), プロピオン酸 (HPr), 酢酸 (HAc) からのメタン生成を対象とする処理過程について検討する。この処理過程には、3グループの微生物が深く関わっている。HAc または HPr を分解するアセトジェニック菌、酢酸利用のメタン生成菌、水素利用のメタン生成菌がそれに相当する。このほかにもホモアセトジェニック菌や硫酸塩還元菌も考えられるが、水素分圧や硫酸塩濃度が高いという場合を除きそれらの重要度は低いと考えられる。また、モデル化を簡単にする

Fig. 1 Concept of kinetic model

ため、これらの菌群は考慮していない。

一般に生物膜の形成過程では死滅や剝離などが同時に起こっており、その増殖量と死滅および剝離量の和が釣り合ったときに、定常な生物膜が形成されることが考えられる。このとき、形成された生物膜には上記の菌体の他に、細胞外ポリマー（以下、バイオポリマーという）や死滅菌体が含まれる。これらの不活性有機固形物の蓄積をも考慮したモデルの模式図を、Fig. 1に示した。ここで定義される各基質を分解する菌体は、動力学的に推定可能な活性のある菌体量¹⁴⁾を意味し、不活性な死滅菌体と区別している。また、不活性有機固形物とは、活性な菌体として定量されないすべての有機固形物を意味する。厳密には、これらの固形物の分解過程をモデルに組み込むことも可能であるが、それによりモデルが複雑になるだけでなく、死滅係数やポリマー生成率などの精度に大きく依存した形でしか取り込めないと考えられる。また、本研究では、活性菌体と区別して不活性固形有機物の蓄積を考慮することにより、生物膜プロセスの評価のあり方を検討することに主眼を置いたため、これらの過程は無視した。

活性菌体量の意義に関連して、筆者らはメタン生成流動床のモデル上の菌体量指標として VSS と活性菌体量を用いた場合の処理水質予測の比較を行い、活性菌体量という概念が非定常の水質予測に有効であることを示した¹⁵⁾。しかし、その研究では、水質予測を主眼としていたため、水素利用のメタン生成菌を無視し、また付着生物量の蓄積過程についての検討が不足していた。また、剝離速度と死滅速度を一まとめにした取扱に留まっており、付着生物量として活性菌体のみを対象とした憾みがあった。今回用いたモデルにおいて

は、水素利用メタン生成菌も考慮し、死滅と剝離を分離して取扱っているため、生物膜内の活性菌体量や不活性有機固形物の蓄積過程を考察することが可能である。

2.2 モデル式と定常状態での解析式

本研究で対象とする流動床では、一般に付着比表面積が大きいため生物膜厚が薄くなり、かつ、液膜厚さ

が十分薄い条件が満足されるため、液本体と生物膜内濃度の差が無視できる完全浸透状態を仮定できる。また、循環の条件から液本体は均一濃度状態と仮定でき、菌体の増殖速度を表現するために液本体の基質濃度を用いることによる誤差は、さほど大きくないと考えられる。完全浸透の他に、生物膜の増殖と剝離について以下のような仮定を設けた。

Table 1 Rate and mass balance equations

Specific growth rate		
Attached biomass		
$M_{bi} = \frac{\mu_{mbi} \cdot S_i}{K_{sbi} + S_i}$	$i = A(HAc), P(HPr), B(HBu), H(H_2)$	... (1)
Suspended biomass		
$M_{si} = \frac{\mu_{msi} \cdot S_i}{K_{ssi} + S_i}$	$i = A, P, B, H$	... (2)
Active biomass		
Attached		
$\frac{dX_{bi}}{dt} = M_{bi} \cdot X_{bi} - K_{di} \cdot X_{bi} - K_{ai} \cdot X_{bi}$	$i = A, P, B, H$	... (3)
Suspended		
$\frac{dX_{si}}{dt} = \frac{Q(X_{si}^0 - X_{si})}{V} + M_{si} \cdot X_{si} - K_{di} \cdot X_{si} + K_{ai} \cdot X_{bi}$	$i = A, P, B, H$	... (4)
Inactive biomass		
Attached		
$\frac{dX_{biI}}{dt} = \sum_i K_{di} \cdot X_{bi} - K_{aiI} \cdot X_{biI}$	$i = A, P, B, H$	... (5)
Suspended		
$\frac{dX_{siI}}{dt} = \frac{Q(X_{siI}^0 - X_{siI})}{V} + \sum_i K_{di} \cdot X_{si} + K_{aiI} \cdot X_{biI}$	$i = A, P, B, H$	... (6)
Substrate		
$\frac{dS_i}{dt} = \frac{Q(S_i^0 - S_i)}{V} - \frac{1}{Y_{bi}} \cdot M_{bi} \cdot X_{bi} - \frac{1}{Y_{si}} \cdot M_{si} \cdot X_{si} - \frac{\alpha_i}{\beta_{Poly}} \cdot (M_{bi} \cdot X_{bi} + M_{si} \cdot X_{si}) + R_{pi}$	$i = A, P, B, H$	... (7)
$R_{pA} = \sum_i \gamma_i \cdot \left(\frac{1}{Y_{bi}} \cdot (1 - Y_{bi}) \cdot M_{bi} \cdot X_{bi} + \frac{1}{Y_{si}} \cdot (1 - Y_{si}) \cdot M_{si} \cdot X_{si} \right)$	$i = P, B$	... (7.1)
$R_{pP} = 0$		... (7.2)
$R_{pB} = 0$		... (7.3)
$R_{pH} = \sum_i (1 - \gamma_i) \cdot \left(\frac{1}{Y_{bi}} \cdot (1 - Y_{bi}) \cdot M_{bi} \cdot X_{bi} + \frac{1}{Y_{si}} \cdot (1 - Y_{si}) \cdot M_{si} \cdot X_{si} \right)$	$i = P, B$	... (7.4)
Bio-Polymer		
Attached		
$\frac{dP_b}{dt} = \sum_i (\alpha_i \cdot M_{bi} \cdot X_{bi}) - K_{aP} \cdot P_b$	$i = A, P, B, H$	... (8)
Suspended		
$\frac{dP_s}{dt} = \frac{Q(P_s^0 - P_s)}{V} + \sum_i (\alpha_i \cdot M_{si} \cdot X_{si}) + K_{aP} \cdot P_b$	$i = A, P, B, H$	... (9)
Methane Gas		
$\frac{dCH_4}{dt} = \sum_i \beta_{CH_4} \cdot \left(\frac{1}{Y_{bi}} \cdot M_{bi} \cdot X_{bi} + \frac{1}{Y_{si}} \cdot M_{si} \cdot X_{si} \right)$	$i = A, H$	... (10)

- 1) 菌体増殖は Monod 式で表現できる。
- 2) 付着微生物と浮遊微生物の両者を考慮する。
- 3) バイオポリマーは活性菌体が生成し、その量は、活性菌体の増殖量に比例する。

- 4) 剥離速度は各有機固形物量に比例する。

微生物の代謝産物の生成速度は、増殖に関係するものと維持代謝に関係するものとに分けられることが知られている¹⁰⁾。しかし、嫌気性微生物の維持代謝に関連するバイオポリマー生成についての知見は見あたらない。したがって、ここでは増殖に関連した形でバイオポリマー生成をモデルに組み込んだ。

剥離や再付着については、まだモデル化をするには十分な知見がないものの、生物膜の成長を考える上では非常に重要な現象である。そこで、両者を総括的に捉え、見かけの剥離速度を付着生物量の 1 次式¹⁷⁾で近似的に表現できると考えた。

一般に、剥離現象には生物膜表面から連続的にあるいは断続的に侵食・剥離する場合と、担体への付着表面から生物膜全体が剥がれ落ちる場合とに分類されている¹⁶⁾が、流動床では前者が優先すると考えられる。生物膜からの剥離が導入されている流動床型処理プロセスの研究^{18),19)}でも、付着微生物全体に対する総括的な

値を剥離係数として一律に与えて、解析がなされている。しかしながら、生物膜内に多種の微生物が均一に存在するとは限らず、分布を有することが十分に考えられる。例えば、従属栄養菌と硝化菌の好気性生物膜内分布に関連して、比増殖速度の大きい従属栄養菌が生物膜表面に卓越して増殖することが推測されていたり^{20),21)}、生物膜のモデル計算結果¹⁰⁾からも、同様な分布や深層部での死滅菌体の蓄積が予測されている。増田ら¹¹⁾は、回転円板において従属栄養菌と硝化菌が、生物膜の深さ方向にほぼ均一に分布しているとの報告をしているが、その生物膜は、膜表面に数百 μm 厚の凹凸を有し、厚さ方向に膜密度が増加すること、パッチ状に生物膜全体の脱離が起こることなど、膜性状や剥離形態が流動床のそれとは大きな違いがあるため、このような傾向がでたものと予想される。

著者ら²²⁾は、メタン生成流動床における、その多くを生物膜から剥離されたと考えられるバイオマス（流出水中のバイオマス）と、担体付着バイオマスとの比基質消費活性の比較したところ、前者の活性が後者に比べ高いという測定結果を得た。この結果の解釈として、活性菌体が不活性固形物より剥離しやすいことや両者が異なる分布を有することを推論した。

Table 2 Steady-state solutions of model

Solution	Assumptions
$S_I = \frac{K_{sl} \cdot (K_{dl} + K_{al})}{\mu_{mbI} - (K_{dl} + K_{al})} \quad \dots (1)$	$X_{bl} \gg X_{sl}, Y_{bl} = Y_{sl} = Y_I,$ $\frac{1}{Y_I} \gg \frac{\alpha_I}{\beta_{Poly}}$
$X_{bl} = \frac{\left(\frac{Q(S_I^0 - S_I)}{V} + R_{pl}\right) \cdot Y_I}{K_{dl} + K_{al}} \quad \dots (2)$	
$X_{bI} = \frac{\sum_i (K_{dl} \cdot X_{bi})}{K_{aI}} = \sum_i \frac{K_{dl} \cdot \left(\frac{Q(S_I^0 - S_I)}{V} + R_{pl}\right) \cdot Y_I}{K_{aI} \cdot (K_{dl} + K_{al})} \quad \dots (3)$	
$P_b = \frac{\sum_i \alpha_i \cdot (K_{dl} + K_{al}) \cdot X_{bi}}{K_{aP}} = \sum_i \frac{\alpha_i \cdot \left(\frac{Q(S_I^0 - S_I)}{V} + R_{pl}\right) \cdot Y_I}{K_{aP}} \quad \dots (4)$	〃
$VSS_b = \sum_i (X_{bi}) + P_b + X_{bI} \quad \dots (5)$	
$X_{sl} = \frac{K_{al} \cdot X_{bl}}{\frac{Q}{V} - K_{al}} \quad \dots (6)$	$X_{sl}^0 = 0$
$X_{sI} = \frac{V}{Q} \cdot \sum_i K_{dl} \cdot (X_{bi} + X_{sl}) \quad \dots (7)$	$X_{sI}^0 = 0$
$P_s = \frac{V}{Q} \cdot \sum_i \alpha_i \cdot (K_{dl} + K_{al}) \cdot (X_{bi} + X_{sl}) \quad \dots (8)$	$P_s^0 = 0$
$VSS_s = \sum_i (X_{sl}) + X_{sI} + P_s \quad \dots (9.1)$	$\frac{1}{\theta} \gg K_{aI}, X_{bl} \gg X_{sl}, K_{dl} \equiv K_{aI}$ $K_{aI} = K_{aI} = K_{aP} = K_a$
$= \frac{V}{Q} \cdot \left(\sum_i (K_{aI} \cdot X_{bi}) + K_{aI} \cdot X_{bI} + K_{aP} \cdot P_b\right) \quad \dots (9.2)$	
$= \frac{V}{Q} \cdot K_a \cdot VSS_b \quad \dots (9.3)$	

Table 3 Values of kinetic and operational parameters

$\mu_{mbi} = 0.1 - 0.3 \text{ [d}^{-1}\text{]}$	$K_{di} = 0.01 - 0.145 \text{ [d}^{-1}\text{]}$	$K_{ai} = 0.05 \text{ [d}^{-1}\text{]}$
$K_{aI} = 0.001 - 0.01 \text{ [d}^{-1}\text{]}$	$K_{aP} = 0.001 - 0.02 \text{ [d}^{-1}\text{]}$	$\alpha = 0.05 - 0.5 \text{ [-]}$
$V/Q = 1.0 \text{ [d]}$	$S^0_i/K_{si} = 50 \text{ [-]}$	$X^0_{si} = X^0_{sl} = P^0_s = 0 \text{ [mg/l]}$

以上のことより、流動床のように表層からの剥離が卓越している場合、付着生物膜内の菌体分布を考慮できるように、剥離係数を各活性菌体および不活性有機固形物ごとに与えられるものと考えた。

Table 1 に菌体の増殖速度式と基質 (S_i)、付着状態と浮遊状態の有機固形物としての活性菌体 (X_{bi} , X_{si})、バイオポリマー (P_b , P_s)、死滅菌体 (X_{bi} , X_{si}) およびメタンガス (CH_4) の物質収支式を示した。既報のモデル¹⁵⁾と異なる主要な点を以下に述べる。

第一に、不活性有機物の構成物として死滅菌体 (式(5), (6)) とバイオポリマー (式(8), (9)) を考慮している点であり、バイオポリマー生成に伴い、新たな基質消費項 (式(7)右辺第4項) が追加されている。第二に、水素利用のメタン生成菌を追加していること (式(3), $i=H$ の場合)。第三に、浮遊状態で存在する活性菌体や不活性有機物を取り扱えるようにしている点 (式(4), (6), (9)) である。すなわち、浮遊状態で存在する活性菌体は、付着生物膜から剥離したもの (式(4)右辺第4項) とそこで増殖するもの (式(4)右辺第2項) からなると考えた。

次に、このモデルでの定常解を求めた。浮遊と付着活性菌体の動力学定数は同一とみなし、付着微生物量は浮遊微生物量に比べ十分に大きい (水理学的滞留時間が短い場合に成立) などの仮定のもとで、得られる定常状態での濃度式を Table 2 に示した。ここで、付着および流出 VSS (式(5)と式(9.1)~(9.3)) は、浮遊活性菌体、バイオポリマー、そして死滅菌体で構成されると考えた。

2.3 モデル実験のためのパラメータ値の決定

モデル計算を行うには、微生物の動力学定数や流入および運転操作条件を設定する必要がある。次節における計算で使用するパラメータ値の範囲を、まとめて Table 3 に示した。全体の処理特性や付着生物量を評価するには、4種類の活性菌体に対する増殖動力学定数およびバイオポリマー生成率や活性菌体と不活性有機固形物に対する剥離係数がそれぞれ必要となる。しかし、ここでは不活性有機固形物の蓄積過程の解析をしやすくするため、単一基質条件での検討を行うこととした。また、処理水質濃度や活性菌体および不活性有機固形物の付着濃度を、それぞれ飽和定数および流入基質濃度と増殖収率の無次元化表現した。すなわち、

Fig. 2 Model prediction of substrate concentration in effluent

水質については基質親和性の指標である飽和定数との比較により、また生物量については、連続流完全混合型反応器において、死滅係数を0とした場合の最大増殖可能な活性菌体量との比率により表現することになる。これにより、これらの無次元化に関わるパラメータの仮定値の大小による影響を除き、より一般化した形で表示することができる。

最大比増殖速度は、酢酸利用のメタン生成菌についての平均的な値 (0.2 d^{-1}) を基準に範囲を決定した。死滅係数は、従来の対数値^{23), 24)}を参考にして、その数倍までの範囲を設定した。活性菌体量の剥離係数については、死滅係数と剥離係数の和の文献値 ($0.063 \sim 0.126 \text{ d}^{-1}$)¹⁵⁾から死滅係数を引いた概略な値として 0.05 d^{-1} を用いた。一方、不活性有機固形物の剥離係数は、流動床において VSS 基準で求められている剥離係数^{18), 19)}に近い値を与えた。また、運転条件として水理学的滞留時間 (HRT) を1日、流入基質濃度を飽和定数の50倍で一定とし、その他の流入濃度は0とした。なお、この HRT では、浮遊菌体量は付着菌体量に比べ無視できることになる。

Fig. 3 Model prediction of attached active biomass concentration

Fig. 4 Observed substrate concentration in effluent from anaerobic fluidized beds
(○): Wang et al., 1985; (●): Matsumoto et al., 1989, 1990; (▲): Furumai et al., 1987; (△): Kuba et al., 1990; (□): Shin et al., 1986

Table 4 Measured maximum specific substrate removal rates (r_s), μ_m , and K_s of enrichment and pure cultures (acetate utilizing methanogens)

Culture type	Temp. [°C]	r_s^* [mg mg ⁻¹ d ⁻¹]	μ_m [d ⁻¹]	K_s [mgCOD/l]	Reference
Enrichment (CSTR)	35	8.64	0.32	164	Lawrence and McCarty, 1969 ²⁵⁾
Pure	33	-	0.11	30	Zhender et al., 1980 ²⁶⁾
Pure	37	2.49	0.16	45	Huser et al., 1982 ²⁷⁾
Enrichment (CSTR)	35	5.03	0.26	57	Chang et al., 1983 ²⁸⁾
Enrichment (CSTR)	35	2.48	-	-	Furumai et al., 1987 ⁵⁾
Enrichment (CSTR)	35	2.8**	0.14	25	Furumai et al., 1991 ¹⁵⁾
Attached*** biomass	35	5.2**	0.26	20	Kuba et al., 1990 ⁸⁾

*: Substrate unit is based on COD.

**: Value calculated by multiplying μ_m and Y ($=0.05$ [mgCOD mgCODcell])

***: Detached biomass from fluidized bed fed with mixture of acetate, propionate and butyrate

3. モデル実験結果と考察

3.1 流出水質および活性菌体付着量の予測とその評価

定常状態での流出基質濃度 (S_i) は、その基質を分解する菌群の最大比増殖速度 (μ_{mbi}) や飽和定数 (K_{si})

とともに死滅係数 (K_{di}) と剝離係数 (K_{ai}) の和にも依存することとなる。一方、付着活性菌体量 (X_{bi}) は、基質消費量、増殖収率 (Y_i) と K_{di} と K_{ai} の和に依存している。そこで、まず μ_{mbi} と死滅係数と剝離係数の和 ($K_{di} + K_{ai}$) の値を適当な範囲に選び、各パラメータ値の水質濃度や付着活性菌体量への影響を検討し

た。 S_i の予測結果を K_s で無次元化し、3次元的に表現したものがFig. 2である。 μ_{mbi} と $K_{di}+K_{ai}$ の相対的な差によって水質が規定されていることがわかる。したがって、担体表面での剪断条件や微生物の付着力等に関わる剥離係数を、小さく設定できれば処理水質が向上することになる。このことは、Fig. 3に無次元化して示されているように、付着活性菌体が、 $K_{di}+K_{ai}$ の低下とともに増大することに対応している。

付着活性菌体は、 $K_{di}+K_{ai}$ の低下だけでなく、基質流入負荷量が増大しても大きくなるのが定常解（参照Table 2の式(2)）によってわかる。しかし、実際の処理装置では、処理水質や付着可能な生物量に限界が存在すると思われる。その理由として、付着生物量が増大するとともに完全浸透の仮定が成立しなくなること、微生物由来の有機性代謝産物が増大すること、さらには剥離現象が単純に付着生物量に比例した形で表現できなくなることなどが考えられる。

Fig. 4は、従来の流動床、膨張床における定常水質データの文献値を流入負荷に対してプロットしたものである。ここに示した流入廃水はグルコース、HAc, HPr, HBUなどの人工廃水であるため、律速となる過程はHAcからのメタン生成と考えられ、定常状態での流出COD成分の多くはHAcと予想される。流入負荷条件の範囲が広いにもかかわらず、ほとんどのデータは10~100mg・l⁻¹の範囲内に収まっている。この範囲は、Table 4に示す酢酸利用のメタン生成菌の飽和定数の文献値の範囲にほぼ一致している。したがって、Fig. 2の無次元化基質濃度(S_i^*)=1の平面上で、 μ_{mbi} の文献値の範囲に対応する $K_{di}+K_{ai}$ を求めるとおよそ μ_{mbi} の約半分にあたる0.05~0.13d⁻¹程度であることが予想される。そして、その平均的な値を組み合わせた条件では、 X_{bi}^* はおおよそ10程度であることがわかる(Fig. 3参照)。

3.2 不活性有機固形物の蓄積予測とその評価

新たに生物膜の構成物として導入した死滅菌体やバイオポリマーについては、剥離係数(K_{ai} , K_{ap})およびそれらを生成する速度を規定する死滅係数(K_{di})とバイオポリマー生成率(α_i)が及ぼす付着量への影響を検討した。まず、死滅菌体の付着量(X_{bi})の予測については2通りの結果を示す。Fig. 5 a)は、死滅係数と活性菌体の剥離係数の和を一定($K_{di}+K_{ai}=0.1\text{ d}^{-1}$)とした場合であり、 K_{di} の変化に応じて K_{ai} を変化させているため基質消費量が一定となる。一方、Fig. 5 b)は、 K_{ai} を一定とした場合であり、 K_{di} の変化に伴い $K_{di}+K_{ai}$ も変化する。基本的には、両図とも K_{ai} が小さいほど、また K_{di} が大きいほど無次元化した死滅菌体量(X_{bi}^*)が増えることを示している。しかし、Fig.

5 b)に示されるように $K_{di}+K_{ai}$ が μ_{mbi} の値近くまで増加すると、死滅菌体を生成する活性菌体量が低下し、 X_{bi}^* も制限されていることが分かる。ここで、Table 3に示した K_{ai} の中央値を与えると、 X_{bi}^* はおおよそ100程度であり、前述の X_{bi}^* の約10倍であることが予想される。このように K_{ai} が K_{di} に比べ非常に小さいことにより、死滅菌体が生物膜の相当量を占めることが予測される。

ここで、Table 5に示したメタン生成流動床の付着生物に関して推定あるいは測定された最大比基質消費速度(r_s)を、Table 4に示した酢酸利用メタン生成菌

Fig. 5 Model prediction of attached inactive biomass concentration (a) $K_{di}+K_{ai}=0.1\text{ d}^{-1}$; (b) $K_{ai}=0.05\text{ d}^{-1}$

Table 5 Estimated and measured maximum specific substrate removal rate (r_s) in fluidized bed

Wastewater composition	r_s [mg mgVSS ⁻¹ d ⁻¹]	Loading rate [kg m ⁻³ d ⁻¹]	Unit basis	Method	Reference
Acetate	0.88*	0.85-6.75	HAc	St	Wang et al., 1985 ²⁹⁾
	0.4 - 0.5	0.33-3	HAc	St	Furumai et al., 1987 ⁵⁾
	0.34	3.0	HAc	B	
	0.7	2.5-7.5	HAc	St	Matsumoto et al., 1989 ⁶⁾
Mixed VFA (HAc:HPr:HBu = 2:1:1)	2.5	>20	HAc	St	Matsumoto et al., 1990 ⁷⁾
	0.9	3 - 12	HAc	St	Matsumoto et al., 1989 ⁶⁾
	0.53	0.5	COD	B	Kuba et al., 1990 ⁸⁾
	0.39	1.0			
	0.12	4.0			
	0.31	1.0	COD	B	Furumai et al., 1991 ¹⁵⁾
	0.21	4.0			
Mixed VFA +Glucose (25:1)	0.4	3 - 12	HAc	St	Matsumoto et al., 1989 ⁶⁾
	0.6	>20	HAc	St	Matsumoto et al., 1990 ⁷⁾
HAc+Glucose (1:1)	0.4	2.1 - 7.5	COD	St	Shin et al., 1986 ¹⁸⁾
	0.4 - 0.7	2.1 - 3.6	COD	B	

*: Original biomass unit of carbohydrate was converted into VSS with a typical content of carbohydrate in bacteria (0.2).

St: Estimation using steady-state data at various loading rates

B: measurement by batch test with acetate as substrate

の集積培養あるいは純粋培養について測定されたものと比較してみる。流動床内の付着 VSS 当りの r_s は、培養菌に比べ 5 倍から 10 倍程度低いことが分かる。これは、死滅菌体量が活性菌体量に比等多量に存在するという上記の予測と関連しているものと考えられる。すなわち、VSS を基礎とした r_s は死滅菌体の存在割合に依存して、見かけ上低く測定されている可能性を示している。

しかしながら、今回比較対象とした r_s は、F/M 比の異なる条件で得られたデータであり、死滅菌体が多量に存在することのみで説明することはできない。活性汚泥について検討がなされているように、F/M 比により細胞内蓄積基質量が変化し、基質除去速度に影響を与えていること³⁰⁾も考えられる。したがって、メタン生成でも同様な影響が、このような r_s の違いを生じさせているという説明も可能となる。

ここで、F/M 比による活性の違いに関連して、F/M 比の影響をバイオマスの更新率という異なる観点からさらに検討を加えた。処理水質が流入水質に比べ無視

できるとき、F は基質消費量を意味しており、ひいては増殖量と強い相関があると考えられる。すなわち、定常状態で、かつ流入 VSS が無い場合には、F/M 比は VSS 当たりの更新率と見直せる。したがって、F/M 比が大きいことは、バイオマスの SRT が短いことに対応し、活性菌体の増殖速度に比べて小さい速度 ($K_d X$) で生産される死滅菌体の存在量は低くなる。まさに、他の流動床より F/M 比が高い条件での r_s の測定値 (松本ら⁷⁾) が、比較的高い値を示していることは、負荷の増大にともなう著しい膜成長が頻繁な剝離をもたらし、死滅菌体の蓄積が抑えられた結果とも解釈可能である。

一方、もう一つの不活性有機固形物である付着バイオポリマーの蓄積は、その生成率 (α) と剝離係数 (K_{dp}) に依存している。そこで、これらの係数がバイオポリマー付着量へ及ぼす影響を検討した。 $\alpha = 1$ は、活性菌体の増殖量と同量のバイオポリマーが生成されることを意味する。ここでは、その半分までの範囲について、付着量の予測値を Fig. 6 に示した。死滅菌体の剝離係

Fig. 6 Model prediction of attached bio-polymer concentration

数の標準値として用いた 0.005d^{-1} をバイオポリマーにも適用した場合、 α が0.5まで増加してはじめて無次元化濃度(P_b^*)が100程度になり、上記の X_{bi}^* の同等の量になることがわかる。しかし、バイオポリマーが活性菌体の近辺に存在し、死滅菌体に比べ剥離しやすいと考えれば、剥離係数は大きくなり、それに応じて付着バイオポリマー量も減少することが分かる。Morganら³¹⁾は、ある流動床内付着汚泥の細胞外ポリマー量の分析結果として $44.1\text{mg}\cdot\text{gSS}^{-1}$ という値を報告している。その汚泥のVSS/SS比にも依存するが、付着VSS当たりのバイオポリマーの割合は10%未満と予想され、流動床の場合に死滅菌体が付着生物量の大部分を占めていることを考え合わせると、剥離係数は死滅菌体のそれより大きく、生成率もさほど大きくないものと推察される。

ここで、松本ら(1989)⁶⁾の r_s 実測値(参照Table 5)で、揮発性脂肪酸を混合した基質へのグルコース添加の有無による比較を行うと、同じ負荷条件であるにも拘らずグルコース添加により r_s が、低くなることが読み取れる。このことは、グルコース分解を行う酸生成菌の存在に関わっているように思われる。一般に、嫌気性菌の担体表面への付着には、酸生成菌により生成される細胞外ポリマーが重要な役割を担っていることが指摘されてきている^{6),32)}。したがって、死滅菌体と同様な理由で酸生成菌やそれが生成するバイオポリマーの存在量が増大することにより、見かけの r_s が一層低下することになる。また、バイオポリマーの存在により生物膜表面がコーティングされ、死滅菌体が一層剥離しにくくなったとも解釈できる。

以上のように、活性菌体からの死滅菌体やバイオポ

リマーの蓄積量の増大が、見かけの最大比基質消費速度の低下の一因になっているものと考えられる。そして、その蓄積量は死滅係数、バイオポリマー生成率とともに剥離係数に大きく左右される。したがって、この剥離係数の定量化が、付着生物量や最大比基質消費速度の予測に重要な課題であると思われる。

3.3 剥離係数と生物膜内棲み分けについて

前節での予測結果からもわかるように、活性菌体に比べ、その生産量が少ない不活性有機固形物が生物膜内により多く存在するには、活性菌体に比べかなり小さい剥離速度を有する必要がある。すなわち、増殖速度の大きい活性菌体は、生物膜表面のような剥離係数の大きい場においても存在でき、生産速度の遅い不活性有機固形物は剪断応力の影響を直接受けにくい場所にしか存在できないと言い替えられる。このことは、従属栄養菌と硝化菌との関係^{20),21)}と共通するところがある。

Fig. 7とFig. 8に示したのは、 K_{di} をパラメータとして、この変化に伴う付着バイオマス(VSS_b)と流出バイオマス(VSS_s)の内訳の変化を無次元化表現したものである。まず、 VSS_b は VSS_s に比べ非常に大きく、流動床のような処理系では浮遊状態の微生物による処理への寄与は無視できることがわかる。また、 K_{di} の増加につれて VSS_b はピークを有するのに対して、 VSS_s は単調減少する。これは、流出バイオマス中では、物質収支式から判断できるように、同じ流出速度を有する死滅菌体と活性菌体が相補的な関係にあるのに対して、付着バイオマスでは低い剥離速度を与えた死滅菌体の蓄積量が、全体の VSS_b 値を大きく左右するためである。

ここで、最も注目すべき点は、死滅菌体に対して低い剥離速度を与えると、 VSS_b と VSS_s に占める活性菌体量(X_{bi} と X_{si})の割合が非常に異なることであ

Fig. 7 Predicted composition of attached biomass
 $\mu_{mbi}=0.2\text{ [d}^{-1}\text{]}$, $K_{di}=0.05\text{ [d}^{-1}\text{]}$, $K_{di}=K_{ap}$
 $=0.003\text{ [d}^{-1}\text{]}$, $\alpha=0.3\text{ [-]}$

Fig. 8 Predicted composition of biomass in effluent
 $\mu_{mbi}=0.2$ [d⁻¹], $K_{ai}=0.05$ [d⁻¹], $K_{ai}=K_{ap}$
 $=0.003$ [d⁻¹], $\alpha=0.3$ [-]

る。通常、生物量として測定可能な VSS を基準に考察を進めると、まず VSS_b を VSS_s で割ることによって定義する見かけの SRT は、非常に長く見積られるものの、 X_{bi} の実 SRT はさほど長くはないことになる。また、流出 VSS と付着 VSS 当たりの最大比基質消費速度は大きく異なり、その違いは、両者の剥離速度の差を反映することになる。すなわち、その値を解析することにより、生物膜表面での微生物の棲み分け現象を調べることも可能と思われる。

3.4 流動床における付着生物量の制御について

好気性処理に比べ、嫌気性処理ではその処理を担う嫌気性微生物の増殖収率が低いため、発生余剰汚泥量が少ない利点を有しているものの、必ず微生物は増殖する。したがって、申ら¹⁸⁾が指摘しているように、流動床の操作・運転管理上重要な点の一つは付着生物量の制御である。上述のように、剥離係数が活性菌体と生物膜の主体である不活性有機固形物と異なるならば、VSS などを基準に増殖量と剥離量を測定しても、処理を担う活性菌体については必ずしも正しく評価されていない状況が考えられる。また、長期間の運転とともに、剥離にさらされない生物膜内部に不活性有機固形物の著しい蓄積が起り、生物付着担体の肥大化や担体表面に存在する活性菌体量の剥離の増大を引き起こすならば、結果として処理水質の低下をもたらすことが予想される。

すなわち、処理水質の安定を確保するための付着生物量の管理を行う場合には、活性菌体量と不活性有機固形物量の把握が重要となる。また、生物膜内の微生物の棲み分け等を考慮したり、活性菌体量基準による担体の引き抜き量の制御や選択的な活性菌体の保持や不活性有機固形物の除去などが、高度に付着生物膜処理プロセスを制御・運転するための要件となるように

思われる。これらの事項を検討し、その解明すべき課題を明らかにするための一手段として、本モデルは有用と考えられる。

4. 結 論

本研究では、嫌気性流動床を対象に付着生物膜成分としての不活性有機固形物の蓄積過程をモデル化し、定常状態での解析を通して付着生物量と処理特性について検討した結果、以下のことが明らかとなった。

1) 流動床における実測処理水質のデータをもとに、酢酸利用メタン生成菌の死滅係数と剥離係数の和が、その最大比増殖速度の半分程度であることが予測された。また、その活性菌体量は、流入濃度と増殖収率の積の約10倍程度の付着量を有することが予測された。

2) 付着微生物の最大比基質消費速度が、集積あるいは純粋培養菌のそれに比べ低い理由として、付着生物膜内に大量に不活性有機固形物が存在することが一因として考えられた。その不活性有機固形物の蓄積は、その剥離速度を活性菌体に比べ非常に低く仮定することにより表現できる。また、酸生成菌が生成するパイオリマーにより、剥離速度が低下している可能性も考えられた。

3) 活性菌体の剥離係数は、不活性有機固形物のそれより大きいことが予想され、その結果活性菌体の SRT は生物膜全体としての SRT に比べ短いことが示唆された。また、付着 VSS と流出 VSS の最大比基質消費速度を測定し、その違いにより、活性菌体や各不活性有機固形物成分の剥離状況や、間接的に生物膜表面での棲み分けを調べることが可能である。

4) 流動床の操作・運転管理上で、付着生物量の管理指標として活性菌体量の把握が重要であり、そのためには付着生物量全体ではなく、活性菌体量の剥離係数の定量化が必要であることが示された。

(原稿受付 1991年8月26日)

(原稿受理 1992年7月3日)

使 用 記 号

CH₄: メタンガス発生量 [ml・l⁻¹]

K_s: 飽和定数 [mg-COD・l⁻¹]

K_a: 剥離定数 [d⁻¹]

K_d: 死滅係数 [d⁻¹]

P: バイオリマー濃度 [mg-COD_{Poly}・l⁻¹]

Q: 流量 [l・d⁻¹]

S: 基質濃度 [mg-COD・l⁻¹]

V: 反応器容量 [l]

X: 菌体濃度 [mg-COD・l⁻¹]

Y: 増殖収率 [mg-COD_{cell}・mg-COD⁻¹]

α: バイオリマー生成率 [mg-COD_{Poly}・mg-COD_{cell}⁻¹]

β_{CH_4} : COD からガス量への換算係数 [$ml \cdot mg-COD^{-1}$]
 β_{poly} : バイオポリマー基質との濃度換算係数 [$mg-COD_{poly} \cdot mg-COD^{-1}$]
 γ : 酢酸への転換係数 [-]
 μ_m : 最大比増殖速度 [d^{-1}]
 下付き添字: b (附着), s (浮遊), A (HAc), P (HPr), B (HBu),
 H (H_2), I (死滅菌体)
 上付き添字: 0 (流入)

参考文献

- McCarty, P.L. (1988) Bioengineering issues related to in situ remediation of contaminated soils and ground water, *Environmental Biotechnology* (G.S. Omenn Ed.), 143-162, Plenum Publishing Corp.
- Fox, P., Suidan, M.T. and Pfeffer, J.T. (1988) Anaerobic treatment of a biologically inhibitory wastewater, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **60**, 86-.
- Bhatnagar, L., Wu, W.-M., Jain, M.K. and Zeikus, J.G. (1991) Design and function of biomethanation granules for hazardous waste treatment, Proc. of Int. Sympo. Environmental Biotechnology I, April, Oostende (Belgium), 1-10.
- 依田元之, 服部美和子, 宮地有正, 松井三郎 (1986) 嫌気性流動床による下水処理(2)一有機物除去の速度論的解析, 下水道協会誌, **23**(269), 37-43.
- 古米弘明, 松本明人, 松本順一郎 (1987) 嫌気性膨張床におけるメタン生成に及ぼす流入負荷の影響, 下水道協会誌, **24**(280), 25-34.
- 松本明人, 李光浩, 野池達也 (1989) 嫌気性流動床によるメタン生成に及ぼす基質組成の影響, 水質汚濁研究, **12**, 95-104.
- 松本明人, 野池達也 (1990) 嫌気性流動床におけるメタン生成に及ぼす流入基質濃度および流入負荷の影響, 水質汚濁研究, **13**, 54-62.
- Kuba, T., Furumai, H. and Kusuda T. (1990) A kinetic study on methanogenesis by attached biomass in a fluidized bed, *Water Research*, **24**, 1365-1372.
- Kissel, J.C., McCarty, P.L. and Street, R.L. (1984) Numerical simulation of mixed-culture biofilm, *Journal of Environ. Eng. (ASCE)*, **110** (2), 393-411.
- Wanner, O. and Gujer W. (1984) Competition in Biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, **17**, 27-44.
- 増田純雄, 渡辺義公, 石黒左儀 (1987) 回転円板付着生物膜の細菌に関する研究, 下水道協会誌, **24** (278), 19-31.
- Nishidome, K. and Kusuda, T. (1991) Mechanism and simulation of biofilm formation in a rotating biological contactor, Proc. of Int. Sympo. Environmental Biotechnology I, April, Oostende (Belgium), 347-351.
- Trulear, M.G. and Characklis W.G. (1982) Dynamics of biofilm processes, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **54** (9), 1288-1301.
- 古米弘明, 久場隆広, 楠田哲也 (1990) 嫌気性混合培養系における酢酸利用メタン生成菌の活性菌体量推定法とその応用, 衛生工学研究論文集, **26**, 9-18.
- Furumai, H., Kuba T. and Kusuda T. (1991) Transient response of wastewater treatment and biomass development in a methanogenic fluidized bed, *Wat. Sci. Tech.*, **23**, 1327-1336.
- Characklis, W.G. and Marchall, K.C. (1990) Biofilm, John Wiley & Sons, Inc.
- Rittmann B.E. (1982) The effect of shear stress on biofilm loss rate, *Biotech. & bioeng.*, **24**, 501-506.
- 申錫雨, 依田元之, 渡辺敦, 服部美和子, 北川幹夫, 宮地有正 (1986) 嫌気性流動床における付着生物膜の動力学特性, 下水道協会誌, **23** (270), 47-55.
- 津野洋, マクラム・スイダグ (1990) 粒状活性炭流動床型嫌気性反応器による石炭ガス化廃水の処理特性のモデル化に関する研究, 水質汚濁研究, **13**, 515-524.
- Christensen, M.H. and Harremoes, P. (1978) Nitrification and denitrification in wastewater treatment, Chap. 15, *Water Pollution Microbiology Vol. 2* (R. Micchell Ed.), 391-414, Wiley-Interscience.
- McCarty P.L., Reinhard M., and Rittmann B.E. (1981) Trace organics in groundwater, *Environ. Sci. Technol.*, **15** (1), 40-51.
- 今井剛, 古米弘明, 楠田哲也 (1992) 嫌気性流動床における剝離速度と付着生物活性に関する研究, 衛生工学研究論文集, **28**, 11-20.
- McCarty, P.L. (1964) Anaerobic waste treatment fundamentals -Part 4 Process design, *Public Works*, No. 12, 95-99.
- 今井剛, 古米弘明, 楠田哲也 (1992) メタン生成相における嫌気性菌の死滅係数推定に関する検討, 水環境学会誌, **15**, 179-186.
- Lawrence, A.L., and McCarty P.L. (1969) Kinetics of methane fermentation in anaerobic treatment, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **41**, R1-R7.
- Zehnder, A.J.B., Huser, B.A., Brock, T.D., and Wuhrmann, K. (1980) Characterization of an acetate-decarboxylating, non-hydrogen-oxidizing methane bacterium, *Arch. Microbiol.*, **124**, 1-11.
- Huser, B.A., Wuhrmann, K., and Zehnder, A.J.B. (1982) *Methanothrix soehgenii* gen. nov. sp. nov., a New acetotrophic non-hydrogen-oxidizing methane bacterium, *Arch. Microbiol.*, **132**, 1-9.
- 張祖恩, 野池達也, 松本順一郎 (1983) 嫌気性消化のメタン生成相における混合基質の利用特性, 土木学会論文報告集, **335**, 79-87.
- Wang, Y.-T., Suidan, M.T., and Rittmann, B.E. (1985) Performance of expanded-bed methanogenic reactor, *Journal of Environ. Eng. (ASCE)*, **111** (4), 460-471.
- 森山克美, 栗谷陽一, 久米秀俊 (1983) 活性汚泥の基質除去・代謝に関する動力学モデル, 土木学会論文報告集, **339**, 89-98.
- Morgan, J.W., Forster, C.F. and Evison, L. (1990) A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and aerobic sludge, *Water Research*, **24**, 743-750.
- 原田秀樹, 桃井清至, 石浜英司, 種市尚仁 (1988) 嫌気性細菌の自己造粒化機構を利用したメタン発酵リアクターの高速処理特性, 衛生工学研究論文集, **24**, 241-251.