〈論文〉

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

今井 剛* 古米 弘明** 楠田 哲也*

Estimation of Microbial Decay Coefficients in Methanogenesis

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

* Department of Civil Engineering, Kyushu University, Hakozaki, Fukuoka 812 Japan

** Department of Urban and Civil Engineering, Ibaraki University, Hitachi, Ibaraki 316 Japan

Abstract

An estimation method of decay coefficients of anaerobic bacteria involved with methanogenesis is experimentally discussed from the aspect that decay phenomena have an important role in biofilm development and its composition.

Attached biomass in a methanogenic fluidized bed was collected and incubated for more than 100 days without any substrate addition. During the incubation, batch tests of substrate consumption were conducted to estimate each concentration of "active" biomass which decomposes acetate, propionate or butyrate. The growth increment in bacteria during the batch tests was taken into consideration, when the "active" biomass concentrations were estimated. In addition, the biomass concentrations were corrected by subtracting biomass increment due to the production of fatty acids from decomposition of biomass decayed during incubation. Neglecting the increments of the biomass during the batch tests and incubation caused a significant error in the estimation of decay coefficients.

The decay coefficients of acetate, propionate and butyrate decomposing bacteria were estimated at 0.014, 0.015 and 0.024 [day^{-1}], respectively, based on the decrease in "active" biomass concentrations with incubation time. The coefficients are available to investigate the accumulation of inactive biomass in the anaerobic biofilm.

Key words: kinetic parameter estimation, decay coefficient, anaerobic biofilm, microbial activity test, fluidized bed

1. 緒言

嫌気性処理法は、従来より主として下水汚泥や産業廃水などの高濃度有機性廃水の処理に適用されてきた。その後、汙床や流動床プロセスが嫌気性廃水処理に適用され、嫌気性微生物の自己固定化機能を利用し

た UASB が開発されるに至り、従来の枠を越えた新たな廃水処理プロセスとして幅広い利用が期待され、その応用が検討されてきている^{1)~7)}。これらの処理法の第一の特長は、系内に処理を担う微生物が生物膜またはグラニュールの形で高密度に保持され、高効率な処理を可能にしている点である。そして、これら生物膜

* 九州大学工学部水工土木学科 〒812 福岡市東区箱崎 6-10-1

** 茨城大学工学部都市システム工学科 〒316 日立市中成沢町 4-12-1

処理プロセスの性能を評価する上で、重要となる生物膜の特性や構造に関して重要な因子が整理されてきている⁹⁾。そのうち、今まで研究が不足している点として、生物膜の剝離現象とともに生物膜内の不活性固形物の蓄積現象がある。

嫌気性廃水処理プロセス内の付着微生物に関する化学組成分析、電子顕微鏡観察および動力学モデルによる解析を通じて、不活性な部分が相当量存在することやVSSのような指標をすべて基質消費に有効に働く菌体と考えることには無理があることが報告されている^{9)~11)}。したがって、高濃度に微生物を付着させる必要のある嫌気性処理において、その不活性部分を定量化することは、生物膜厚や活性のある菌体量を知る上で非常に重要であると考えられる。この不活性部分は死滅菌体や細胞外ポリマーのような代謝産物により構成されていると考えられている。この中でも死滅菌体の蓄積を把握することは、付着生物膜の組成を規定する上で重要であり、付着微生物型プロセスの処理水質を予測するモデルの展開の上でも不可欠である。

一般に、嫌気性菌の死滅係数は、好気性菌に比べ小さいと考えられており、代表的な値として $0.01 \sim 0.04 \text{ d}^{-1}$ ^{12),13)}が報告されている。しかし、その定量には連続流完全混合槽を長期間運転し、定常状態でのデータをもとに求める必要があり、増殖速度の遅い嫌気性菌についてデータを手に入れることは、好気性菌に比べ日数を要することもあると報告数は少ないようである。また、付着微生物に関する死滅係数の検討も余りなされていない。そこで本研究では、嫌気性流動床において混合酸（酢酸、プロピオン酸、n-酪酸）で長期間培養を行ってきた付着微生物について、バイアルビンを用いた簡便な死滅係数の推定のための実験を行い、動力学的に死滅係数を求めるとともに、その推定法について検討を加えることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 死滅係数測定実験

酢酸(HAc)、プロピオン酸(HPr)、n-酪酸(n-HBu)の混合酸(HAc:HPr:n-HBu=2:1:1)を基質として、Table 1に示す条件で長期間連続運転してきた循環系付着嫌気性流動床（担体：ゼオライト）の担体付着菌体を嫌気条件下で剝離させ、この懸濁液を用いて菌体の死滅過程を調べる実験を行った。

まず、窒素ガスで水上置換したバイアルビン（内容積約70ml）に、嫌気性流動床内の担体より剝離させた菌体を分取し、その剝離懸濁液のVSS濃度を希釈調整したものを多数準備した。そして、温度を35℃、振とう数を100回・min⁻¹に設定した恒温振とう槽により、

Table 1 Experimental conditions and composition of substrate

Reactor Volume [l]	1.59
Liquid Phase Volume* [l]	1.52
Linear Velocity [m · hr ⁻¹]	9.4~12.5
Expansion Ratio [%]	20~30
HRT [day]	1.0
Temperature [°C]	35±1
Influent VFA [mg-COD · l ⁻¹]	4000
Substrate [mg · l ⁻¹]	
Acetic acid**	2000
Propionic acid**	1000
Butyric acid**	1000
Yeast Extract	40
NaHCO ₃	4250
K ₂ HPO ₄	4250
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
KCl	750
NH ₄ Cl	830
FeCl ₃ · 6H ₂ O	420
MgCl ₂ · 6H ₂ O	815
MgSO ₄ · 7H ₂ O	246
CoCl ₃ · 6H ₂ O	18
CaCl ₂ · 6H ₂ O	147

*: Including volumes of circulating part and biofilm

**: Based on COD concentration

基質を一切与えることなく保存した。Fig. 1に実験装置を示す。およそ1~2カ月おきに、保存されていたバイアルビンのうち3本を取り出し、それぞれ酢酸、プロピオン酸、n-酪酸の各濃縮基質溶液（10,000mg-COD・l⁻¹）を用いて、初期濃度が1,000mg-COD・l⁻¹になるように添加し、基質消費活性を測定する回分実験を行った。この回分実験より測定された基質消費活性から菌体量を推定し、死滅係数を求めることを検討した。Table 2にバイアル実験条件をまとめて示した。濃縮基質添加によりpHが7を下回った場合には1N水酸化ナトリウム溶液により、pHを7.0~7.3程度に調整した。なお、添加した濃縮基質はCOD成分を除きTable 1に示した組成と同一である。また、バイアル実験の手順は久場ら¹⁴⁾の手法に準じた。

実験での測定項目は、揮発性脂肪酸（VFA）濃度、pH、ガス生成量、ガス組成である。VFAはFIDガスクロマトグラフ法によって、またガス組成はTCDガスクロマトグラフ法によって分析した。

2.2 付着生物膜の剝離と懸濁液の調整

バイアル実験に用いた懸濁液の調整は以下のように

Fig. 1 Experimental apparatus

Table 2 Experimental conditions of batch test

Added substrate	HAc, HPr, n-HBu
Liquid phase volume [ml]	35
Average VSS [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	1780
Average protein [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	1010

行った。基質が残存していない流動床の循環液をバイアルビン (内容積約150ml) に満し、流動床からシリンジを用いて採取した菌体付着担体を、空気に触れないように上記のバイアルビンに沈降させたのち、ブチルゴムで密栓した。窒素ガスでバイアルビンの液相の一部を置換して気相部をつくり、振とうによって担体から菌を剥離させ高濃度剥離懸濁液を得た。気相部を窒素ガスで水上置換し、ブチルゴム栓およびアルミニウムキャップで密栓したバイアルビン (内容積約35 ml) を用意し、流動床の床内循環液をこのバイアルビン内に分取し、遠心分離 ($2,100 \times g$, 5 min) を行い、その上澄み液を懸濁液の VSS 濃度調整用希釈液として準備した。この希釈液を用いて、上述のように70mlのバイアルビン中で菌体剥離懸濁液の濃度調整を行った。

嫌気性流動床からの担体付着菌体および床内液の採取や基質の添加などすべての操作にシリンジを用い、菌が一切空気に触れないようにした。なお、すべてのバイアルビン内に酸化還元状態指示薬であるレサズリン ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) および還元剤として硫化ナトリウム (Na_2S , $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) を添加し、還元状態が維持されていたことを確認した。

3. 実験結果および考察

3.1 基質消費活性回分実験

恒温振とう槽において基質無添加の条件で保存を開始してから0, 27, 62, 125日目において、酢酸、プロピオン酸、n-酪酸添加のバイアル反復回分実験を行った。その各基質濃度経時変化を Fig. 2(a), (b), (c) に示す。どの基質においても、保存経過日数が長くなるほど各基質の消費速度が減少しており、基質消費活性が低下しているのがわかる。これは各基質分解を担う菌体量が死滅により減少しているためであると考えられる。本回分実験では、1回目の基質消費のあと再度基質を添加しており、反復して基質消費活性を調べて

Fig. 2 Results of repetitive batch experiment

いる。Fig. 2 からわかるように 2 回目の基質消費速度は、一回目と比較して増大しており、基質消費にともない菌体が増殖したことがうかがえた。

3.2 活性菌体量と死滅係数の推定

3.2.1 推定基礎式

回分条件において菌体濃度は、(1)式のように表される。

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - K_d \cdot X \quad (1)$$

ここに、 X : 菌体濃度 [mg-COD・l],

μ : 比増殖速度 [d^{-1}],

K_d : 死滅係数 [d^{-1}],

t : 保存経過日数 [d]

恒温振とう槽における保存期間中は一切基質を与えていないことから、(1)式の右辺第 1 項である増殖項は無視できると考えられ、また基質の有無によって死滅係数が変化しないと仮定すると、以下ようになる。

$$\frac{dX}{dt} = -K_d \cdot X \quad (1')$$

(1')式を $t=0$ において $X=X_{t=0}$ の条件の下で積分すると(2)式ようになる。

$$\ln(X/X_{t=0}) = -K_d \cdot t \quad (2)$$

ここに、 $X_{t=0}$: 保存開始時の菌体濃度 [mg-COD・l]

各回分実験の初期菌体濃度が求められれば、(1)式から t 日目と 0 日目の回分実験における初期菌体濃度の比と保存経過日数をプロットすることにより、死滅係数を推定することが可能である。

3.2.2 反復回分実験結果による菌体量推定

Monod の増殖式を基礎とした動力学的な解析により、反復した基質消費活性を利用して菌体量を推定する方法¹⁵⁾が提案されている。この方法は、基質濃度が飽和定数よりも十分に大きい条件下では、ある基質濃度に達する時間が初期菌体濃度のみに依存する関係を利用した菌体量推定法である。2 回の連続する基質消費

データをもとに、両者間の菌体増殖分を増殖収率と基質消費量の積で与え、1 回目と 2 回目の反応時間の違いから実験初期の菌体量を求める方法である。また、この方法では同時に最大比増殖速度の推定も可能である。

ここでの菌体量推定には、反応時間として初期濃度の 50% に到達する時間を用い、また増殖収率は文献値^{13),15),16)}を参照して与えた。菌体量を COD 換算するため、各基質消費菌についての増殖収率の文献値^{13),15),16)}を COD 換算したところ、それぞれ 0.05mg-COD_{cell}・mg-COD⁻¹前後であったので、その値を採用した。推定された結果を Table 3 に示す。同一流入基質条件での流動床内付着微生物について、Kuba et al.¹⁰⁾ が求めた酢酸利用メタン菌、プロピオン酸および酪酸分解菌の最大比増殖速度（それぞれ 0.26, 0.19, 0.60 d^{-1} ）とよく一致しているデータもあるものの、最大比増殖速度の推定値にばらつきがみられ、それに左右されて菌体量も一定の減少傾向を示していない。このばらつきの原因として、2 つのことが挙げられる。第一に、菌体の振とう保存に当たって一切の基質を与えていなかったために、回分実験の基質添加直後において基質消費に対する馴致の必要性が生じたことが考えられる。基質無添加の条件で振とう保存を開始してから 62 日や 125 日など長期間経過した場合については、とくに菌体の代謝機能が極度に低下し、必要な馴致時間が増大するものと考えられる。第二に、比較する 2 つの反応時間の差が小さいため、反応時間のわずかな誤差が推定の精度を低下させたことが考えられる。この推定法では、初期菌体量が、基質の消費にともない増加する菌体量に比べて大きい場合には、精度よく初期菌体量が推定ができないことが指摘されている¹⁵⁾。すなわち、0 日目での実験のように、環境条件の変化にともなう遅滞や馴致現象がないものについても、今回の設定した初期菌体濃度が高すぎたため、この方法で精度

Table 3 Estimation of active biomass concentration based on reaction time ratio

	HAc		HPr		n-HBu	
	μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD・l ⁻¹]	μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD・l ⁻¹]	μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD・l ⁻¹]
0 days	0.21	244	0.13	265	0.67	162
27 days	0.24	159	0.24	63	1.01	27
62 days	0.15	228	0.24	36	0.66	36
125 days	0.08	248	0.20	35	0.45	20

よく菌体量を推定することに限界があったと考えられる。

3.2.3 基質消費速度を用いた菌体推定量

上記の推定法の代替として、基質消費速度を用いて推定することを検討した。定常状態にある嫌気性流動床の付着生物膜内においては、各基質消費菌ごとに優先種が存在し、それらの最大比増殖速度および増殖収率は振とう保存中においても変化しないと考えられる。ここでは最大比増殖速度として、同一流動床で得た実験値¹⁰⁾を与え、増殖収率は前述の値を用いて以下のように初期菌体量の推定を行った。

基質消費速度と菌体濃度は、基質濃度が飽和定数より十分大きいという条件の下で、次式により関係づけられると仮定した。

$$X_0 = \frac{R \cdot Y}{\mu_m} - (S_0 - S) \cdot Y \quad (3)$$

ここに、 R : 基質消費速度 [$\text{mg-COD} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$],
 Y : 増殖収率 [$\text{mg-COD}_{\text{cell}} \cdot \text{mg-COD}^{-1}$],
 μ_m : 最大比増殖速度 [d^{-1}],
 S : 基質濃度 [$\text{mg-COD} \cdot \text{l}^{-1}$],

添え字 $_0$: 各回分実験開始時を意味する。

右辺第一項および第二項は、それぞれ基質消費速度を求めた基質濃度の時点における菌体量とそれまでに増殖した菌体量に対応する。

Fig. 3(a), (b), (c)に示すような1回目の回分実験の基質消費カーブの接線部分を用いて各基質消費速度を求め、その基質消費速度から(3)式を用いて各基質消費菌の初期菌体濃度を推定した。初期菌体濃度は、(3)式からわかるように最大比増殖速度および増殖収率の関数である。したがって、初期菌体濃度の推定結果はこれらの値の大小により増減するが、死滅係数の推定は各回分実験の初期菌体濃度と基質無添加の条件での振とう保存開始後0日目の回分実験における初期菌体濃度の比をとることにより、増殖収率の値によらないことがわかる。

求められた各回分実験の初期菌体量を用いて、(2)式にしたがって菌体量の比の対数と保存経過日数をFig. 4 (Case. 1)に示すようにプロットし、その傾きから死滅係数を最小自乗法により推定した。推定された各初期菌体量および各死滅係数をTable 4 (Case. 1)に示した。推定された死滅係数は基質消費ごとに若干異なるものの、その値は完全混合槽での集積培養汚泥について報告されてきている文献値¹³⁾の範囲内にある。

この推定結果を検討するために、2回目の回分実験の基質消費カーブの接線部分から求めた各基質消費速度を用いて、先ほどと同様に各回分実験の初期菌体濃度の推定を行った。ただし、(3)式における右辺第二項

Fig. 3 Determination of substrate consumption rates in batch experiment

は、1回目の回分実験での増殖量と2回目の回分実験において基質消費速度を推定した基質濃度までに増殖した菌体量との和とした。推定された各初期菌体量と死滅係数をTable 4 (Case. 2)に示す。Case. 1およびCase. 2での死滅係数の推定値は、ほぼ一致していることがわかる。このことから、回分実験結果である基質消費カーブより基質消費速度を求め、それを用いて死滅係数の推定を行うことの妥当性が示されたと考えられる。

上記の方法では、(3)式の右辺第二項によって表現される回分実験時における菌体の増殖分を考慮して初期菌体量を決定している。この必要性を検討するために、

Table 4 Estimation of active biomass concentration and decay coefficient based on substrate consumption rate

		HAc			HPr			n-HBu		
		μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD·l ⁻¹]	K_d [day ⁻¹]	μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD·l ⁻¹]	K_d [day ⁻¹]	μ_m [day ⁻¹]	X_0 [mg-COD·l ⁻¹]	K_d [day ⁻¹]
Case.1	0 day	0.26	186	0.010	0.19	167	0.015	0.60	176	0.024
	27 days		143			87			58	
	62 days		116			51			40	
	125 days		51			26			7	
Case.2	0 day	0.26	146	0.012	0.19	124	0.014	0.60	154	0.025
	27 days		114			84			75	
	62 days		71			52			32	
	125 days		7			27			—	
Case.3	0 day	0.26	211	0.007	0.19	192	0.009	0.60	198	0.013
	27 days		169			112			81	
	62 days		144			75			67	
	125 days		83			61			33	

Case.1 : Data based on the consumption rates in the first phase of batch experiment.

Case.2 : Data based on the consumption rates in the second phase of batch experiment.

Case.3 : Data without consideration of bacterial increment during batch experiment.

— : Negative value was calculated.

Fig. 4 Relationship between decreasing ratio of biomass and incubation time

回分実験時における菌体の増殖を無視して死滅係数の推定を行った。その推定結果を Table 4 (Case. 3)に示す。Case. 1やCase. 2と比較すると、その値は30～40%程度低めである。これは、保存経過日数が長くなるほど初期菌体量が小さくなるものの、Case. 1では考慮した増殖量分だけ、菌体減少量を小さく評価

することとなり、その結果死滅係数が低く見積られるからである。このことから、回分実験時における菌体の増殖は無視できず、それを考慮する必要性が示唆された。

3.3 死滅菌の分解にともなう基質供給の影響

基質を投与していない振とう保存期間中にガスの発生があり、そのメタンガス分率も増加していたことが確認された。このことは、死滅菌体やポリマーなどの不活性な固形有機物が酸生成菌などの働きにより分解され、メタン生成が引き起こされたことを示す。

そこで、この生成メタンガス量から、酢酸利用メタン菌の増分 (ΔX_A) を推定し、各回分実験開始時の菌体量の補正を試みた (Fig. 5 参照)。

基質無添加条件での振とう保存期間中のメタンガス生成量が am/l であるとき、その COD 生成量はメタンガスの COD 換算係数 ($0.35\text{ml} \cdot \text{mg-COD}^{-1}$) を用いて、 $\text{a}/0.35\text{mg-COD}$ となる。発生したメタンは、水素および酢酸から由来しているが、酢酸経由でメタンガスに転換された比率を α [-] とすると、 $\text{a} \cdot \alpha / 0.35\text{mg-COD}$ が酢酸利用メタン菌によって生成されたことに

Fig. 5 The bio-degradation process of decay biomass

なる。その増殖収率を $Y_A \text{ mg-COD}_{\text{cell}} \cdot \text{mg-COD}^{-1}$ とし、バイアル実験での液相体積が V_l であるとき、 $\Delta X_A \text{ mg-COD} \cdot l^{-1}$ は(4)式で表される。

$$\Delta X_A = \frac{a \cdot \alpha \cdot Y_A}{0.35 \cdot V \cdot (1 - Y_A)} \quad (4)$$

(4)式における α , Y_A , V の値としてそれぞれ $0.7^{17)}$, $0.05 \text{ mg-COD}_{\text{cell}} \cdot \text{mg-COD}^{-1}$ ¹⁵⁾, 35 ml を与えて ΔX_A を求め、Case. 1 での初期菌体量の推定値から差し引いた値を用いて、死滅係数を再度推定した。推定に用いたプロット (●) を Fig. 4 に併記した。死滅菌やポリマーなどの分解にともなう基質供給の影響を評価したことにより、初期菌体濃度の補正値は Case. 1 に比べ低くなる。補正された菌体量および死滅係数を Table 5 にまとめて示した。新たに推定された値は 0.014 d^{-1} であり、Case. 1 の値 0.010 d^{-1} の1.4倍となった。このことから、死滅菌体の分解にともなう基質供給の影響は大きく、それを無視することはできないことが明らかとなった。

死滅菌体などの固形有機物の嫌気分解過程では酢酸以外にプロピオン酸、酪酸も生成される可能性が十分考えられ、酢酸利用メタン生成菌の死滅係数が補正されたと同様に、プロピオン酸および酪酸分解菌の死滅係数もここでの推定値よりも高い可能性が考えられる。しかしながら、死滅菌体の分解から生成されるプ

ロピオン酸、酪酸の比率に関して、利用可能な文献値がないためここでは評価していない。

3.4 本推定法の有用性

プロピオン酸および酪酸分解菌については、3.3で検討したように補正の必要性があるものの、死滅係数はそれぞれ、酢酸利用メタン菌： 0.014 、プロピオン酸分解菌： 0.015 、 n -酪酸分解菌： 0.024 d^{-1} と推定された。申ら¹⁸⁾は、グルコースと酢酸を1：1とした混合基質を処理する流動床について、その付着生物膜を基質無添加の条件で長期間培養し、自己分解係数(死滅係数)をVSS減少速度から測定している。基質成分が本実験条件とは異なるもの、付着させたままのものと剝離・分散させたものについて測定された値は、それぞれ 0.0018 , 0.009 d^{-1} であり、VSSを菌体濃度指標として推定された死滅係数は本推定値と比べ1オーダー近く低いことがわかる。また、死滅菌体の分解からの基質供給を考慮していないことも、低い値が求められた原因と考えられる。本実験でも、経時的に懸濁液のVSS濃度を4回測定したものの、サンプル量が不十分であったこともあり、分析値はすべて誤差範囲内にあり、はっきりとした減少傾向を見いだせなかった。

このように推定にあたり菌体量の指標として何を用いるかによって、推定値は大きく左右されることがわかる。一般にその指標として、VSSなどの固形有機物量、有機体窒素やDNAなどの細胞構成物量、さらには細胞計数値が利用可能である。従来より廃水処理の研究分野では、VSSを基礎として多くの動力学的係数が求められてきているため、VSS中の不活性固形有機物含有量の違いにより、求められる値がまちまちとなる傾向があることが指摘できる。

次に、実験方法の観点からの本推定法の限界を考える。死滅係数を求める際、従来よりケモスタットでの定常値データを数組求めて定量する方法が一般的である^{13), 16), 19)}。この方法で定量される値は、微生物が増殖している状態における値であるのに比べ、本法では基

Table 5 Correction of decay coefficient by considering bacterial increment during incubation

	CH ₄ [%]	Gas Phase volume * [ml]	CH ₄ [ml]	$\Delta X [\text{mg-COD} \cdot l^{-1}]$	Case.1 $X_0 [\text{mg-COD} \cdot l^{-1}]$	$X_0 - \Delta X$ [$\text{mg-COD} \cdot l^{-1}$]	μ_m [day^{-1}]	K_d [day^{-1}]
0 days	2.02	35	0.71	—	186	186	0.26	0.014
27 days	8.83	40	3.53	8	143	135		
62 days	12.39	50	6.20	17	116	103		
125 days	13.39	55	7.37	20	51	31		

*: Roughly measured values

質が投与されない条件での値が求められるため、両者は異なる可能性がある。しかしながら、本推定法は、簡便に付着微生物に対しても死滅係数を求めることができ、基質消費活性を基礎とした値を与えるものとして有用であると考えられる。また、今回の推定値は、特に付着生物型プロセスの処理水質の予測を行うときに重要となる生物膜内に存在する活性のある菌体量の予測や、死滅により蓄積する不活性な固形有機物量を明らかにするための動力学的モデルの基礎情報となると考えられる。

4. 結 言

本研究では嫌気性流動床の担体付着菌の剝離懸濁液をバイアルビンに採取し、恒温振とう槽による基質無添加条件での振とう保存の後、バイアル回分実験により死滅係数の推定を行った。さらに本推定法および推定値に関する検討を行い、次の結果を得た。

1) 回分実験結果の基質消費速度を用いて活性菌体量を求め、それを基礎とする死滅係数を簡便に推定することが可能である。そして、酢酸利用メタン菌、プロピオン酸分解菌、*n*-酪酸分解菌の死滅係数はそれぞれ、0.014, 0.015, 0.024 d^{-1} と推定された。

2) 推定の基礎となる活性菌体量を求める際に、各回分実験において基質消費カーブが初期から直線的に低下しない場合があったので、基質消費速度を求める時点までに増殖した菌体量を考慮する必要があった。

3) 死滅菌体やポリマーの分解にともなう基質供給の影響も無視できず、活性菌体量の補正が必要であった。

(原稿受付 1991年6月30日)

(原稿受理 1991年10月28日)

参 考 文 献

- 1) 井上雄三, 神山桂一 (1985) 改良型二相嫌気性消化法による下水処理に関する基礎的研究, 下水道協会誌, 22(255), 33-43.
- 2) 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)—有機物除去の速度論的解析, 下水道協会誌, 23 (269), 37-43.
- 3) 榑原豊, 湯沢恩, 黒田正和 (1986) メタン菌固着生物膜槽における酢酸除去速度の解析, 土木学会論文集, 375/II-6, 311-318.
- 4) 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.
- 5) 稲森悠平, 松重一夫, 岡田光正, 砂原広志, 須藤隆一 (1988) 嫌気性ろ床法の負荷変動下における浄化特性に関する研究, 下水道協会誌, 25 (293), 69-80.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) Arvin, E. and Harremoes, P. (1990) Concepts and models for biofilm reactor performance, *Wat. Sci. Tech.*, 22 (1/2), 171-192.
- 9) Switzenbaum, M.S. and Eimsted, R.B. (1987) Analysis of anaerobic biofilms, *Environmental Technology Letters*, 8 (1), 21-32.
- 10) Kuba, T., Furumai, H. and Kusuda, T. (1990) A kinetic study to methanogenesis by attached biomass in a fluidized bed, *Water Research*, 24, 1365-1372.
- 11) Furumai, H., Kuba, T. and Kusuda, T. (1991) Transient response of wastewater treatment and biomass development in a methanogenic fluidised bed, *Wat. Sci. Tech.*, 23, Kyoto, 1327-1336.
- 12) McCarty, P.L. (1964) Anaerobic waste treatment fundamentals—part 4 Process design, *Public Works*, No.12, 95-99.
- 13) Lawrence, A.L., and McCarty, P.L. (1969) Kinetics of methane fermentation in anaerobic treatment, *Jour. Water Pollut. Control Fed.*, 41, R1-R7.
- 14) 久場隆広, 古米弘明, 楠田哲也 (1990) バイアル実験によるメタン生成活性の測定手法に関する検討, 水質汚濁研究, 13, 121-125.
- 15) 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.
- 16) 張祖恩, 野池達也, 松本順一郎 (1982) 嫌気性消化のメタン生成相に及ぼす滞留時間と投入基質濃度の影響, 土木学会論文報告集, 320, 67-76.
- 17) McCarty, P.L. (1982) One-hundred years of Anaerobic Treatment, "Anaerobic digestion 1981" (ed. D.E. Hughes et al.), Elsevier Biomedical Press, 3-22.
- 18) 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的特性, 下水道協会誌, 23 (269), 37-43.
- 19) Lin C.Y., Sato K., Noike T. and Matsumoto, J. (1986) Methanogenic digestion using mixed substrate of acetic, propionic and butyric acids, *Water Res.*, 20, 385-394.