

嫌気性流動床における微生物群組成の推定

九州大学工学部 ○学 久場 隆広 正 古米 弘明
九州大学工学部 正 楠田 哲也 学 佐藤 和大

1. はじめに 生物膜処理法は反応槽内に高濃度の菌体を保持できることから、嫌気性廃水処理の分野において研究が進められているが、付着菌の増殖特性や各基質分解菌の相互関係については不明な点が多い。反応槽内には数種の基質分解菌あるいは不活性な有機物質が存在していることから、著者らは菌体量推定に関する基礎的研究を行ってきた。本研究では、生物膜処理法の一つである嫌気性流動床を用いた回分実験を行ない、メタン相での酢酸・プロピオン酸・酪酸分解菌の“活性菌体量”を動力学的に推定した。

2. 実験方法 装置は有効高さ80cmのWater-Jacket付きアクリル樹脂製流動床反応槽を用いた。反応槽は温度コントローラーにより35~37℃に保持し、循環ポンプにより上昇流速を与えて菌付着担体を流動した状態に維持した。担体には粒径0.299~0.344mmの合成ゼオライト(真比重2.27、内部空隙率13.8%)を用いた。表-1に装置操作条件及び投入基質組成を示す。基質は酢酸(HAc)、プロピオン酸(HPr)、酪酸(n-HBu)を2:1:1で混合したものである。HRTが2日及び1日の条件下で処理が安定した時点でHAc、HPr、n-HBuを単一で投入した回分実験を行なった。最大比増殖速度(μ_m)の推定には、低菌体濃度の条件が必要であることから、剝離汚泥を適量添加したバイアルびんを用いた反復回分実験(容積120ml)を行なった。表-2に各回分実験の条件を示す。各基質を所定の濃度になるように添加した後、経時的に揮発性脂肪酸(VFA)濃度を測定した。

反応槽の種類	嫌気性流動床
<装置操作条件>	
内容積	4.5
有効体積(I)	1.81
液相体積(I)	1.67
初期ゼオライト沈降体積(I)	0.43
膨張率	1.2~1.3
水理学的滞留時間(d)	(線流速9.4~12.5m/h)
反応槽温度(℃)	HRT= 1.2
設定投入濃度(mg-COD/l)	35
	1000
<基質組成>	
有機酸(mg-COD/l)	HAc:HPr:n-HBu=2:1:1
酵母エキス(mg/l)	10
無機塩(mg/l)	
	(NH ₄) ₂ HPO ₄ 700
	KCl 750
	NH ₄ Cl 830
	MgCl ₂ ·6H ₂ O 815
	MgSO ₄ ·7H ₂ O 246
	CaCl ₂ ·6H ₂ O 18
	CaCl ₂ ·6H ₂ O 147
緩衝剤(mg/l)	
	NaHCO ₃ 1400
	K ₂ HPO ₄ 1400

3. 実験結果及び考察 各回分実験より求まるVFA濃度の経時変化に対してカーブ・フィッティングを行ない、各基質分解菌の最大比増殖速度(μ_m)、飽和定数(K_s)及び菌体量の推定を行なった。微生物の増殖式としてはMonod型の速度式を用いた。ただし、仮定として①収率は一定($Y=0.05$ (菌体COD/基質COD))

表-2 回分実験条件

実験装置	流動床本体						バイアル		
	汚泥の種類			HRT=2(d)			HRT=1(d)の剝離汚泥		
RUN	A1	P1	B1	A2	P2	B2	VA	VP	VB
基質	HAc	HPr	n-HBu	HAc	HPr	n-HBu	HAc	HPr	n-HBu
初期設定濃度(mg-COD/l)	500	500	500	250	500	500	1000	1000	1000

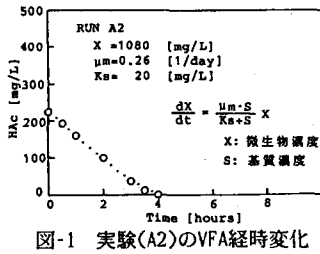


図-1 実験(A2)のVFA経時変化

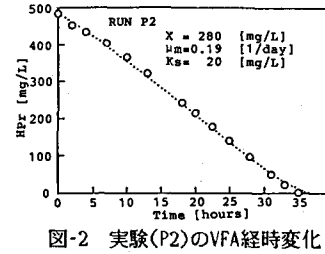


図-2 実験(P2)のVFA経時変化

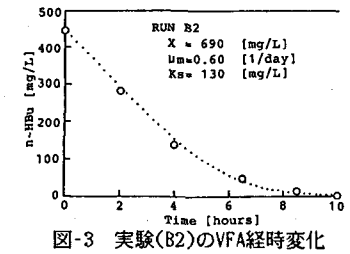


図-3 実験(B2)のVFA経時変化

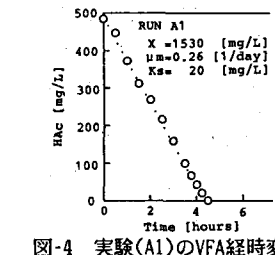


図-4 実験(A1)のVFA経時変化

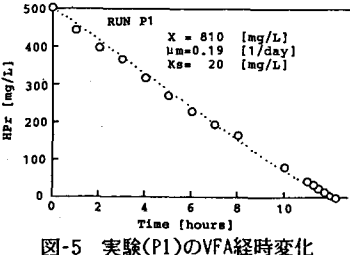


図-5 実験(P1)のVFA経時変化

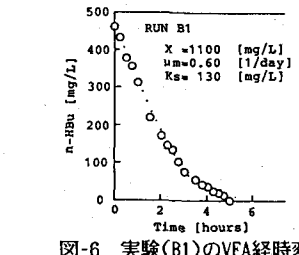


図-6 実験(B1)のVFA経時変化

とする。②基質要求性ごとの菌群を考え、それら菌群の増殖パラメータは各群ごとにそれぞれの値を一律に与える。③増殖パラメータを用いて求めた菌体量をモデル上の“活性菌体量”とする。④水素利用菌は考慮していない。

a)流動床本体を用いた回分実験(飽和定数 K_s の推定) 図-1~3にHRT=2日、図-4~6にHRT=1日においてHAc、HPr、n-HBuを投入した回分実験のVFA濃度の経時変化を示す。実験初期において各基質が直線的に消費されていることから、最大比増殖速度 μ_m の推定を行なうことはできない。実験後半の基質分解速度の低下傾向は飽和定数の影響を表わすものであり、カーブ・フィッティングより飽和定数の推定が可能である。推定されたHAc、HPr、n-HBu分解菌の飽和定数は、HRT=2日に対してそれぞれ $K_{A2}=15$ 、 $K_{P2}=20$ 、 $K_{B2}=130$ 、HRT=1日に対して $K_{A1}=20$ 、 $K_{P1}=30$ 、 $K_{B1}=110$ (mg-COD/l)であった。後述するように負荷の増加に伴い菌体量は増加しているが、2回の実験により推定された各基質分解菌の飽和定数間に違いが認められないことから膜での物質拡散律速はほとんどないと考えられる。

b)バイアルびんを用いた回分実験(最大比増殖速度 μ_m の推定) HRT=1日の流動床から採取した菌付着担体をバイアルびんに入れ無酸素状態で剝離し、24時間振とう培養したのち、窒素ガスで置換した3本のバイアルびんに剝離菌を分取した。この時、菌体が空気に触れないよう十分注意した。低菌体濃度の条件でHAc、HPr、n-HBuを単一で投入し、基質消費後、再度同一の基質を投入して反復回分実験を行ない、増殖後における基質消費カーブのデータを得た。図-7に酢酸を添加したバイアル実験の結果を示す。a)で求めた飽和定数の代表値を用いカーブ・フィッティングにより最大比増殖速度の推定を行なった。反復実験結果に対して数値計算結果はよく一致している。HPr、n-HBuを添加したバイアル実験においても同様であった。推定されたHAc、HPr、n-HBu分解菌の最大比増殖速度は、それぞれ $\mu_{mA}=0.26$ 、 $\mu_{mP}=0.19$ 、 $\mu_{mB}=0.60$ (d⁻¹)であった。

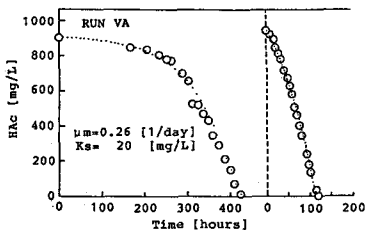


図-7 実験(VA)のVFA経時変化

c)“活性菌体量”の推定 以上より、カーブ・フィッティングにより決定した増殖速度パラメータの推定値及び文献値を表-3に示す。表に示したパラメータを用い、再度流動床本体を用いた回分実験のVFA濃度経時変化に対してカーブ・フィッティングを行ない、“活性菌体量”の推定を試みた。図1~6の破線はこれらの増殖パラメータ及び推定された“活性菌体量”を用いたVFAの経時変化の計算結果を示す。HAc、HPr、n-HBu分解菌の“活性菌体量”推定値と浮遊担体付着物(SS)とその揮発性物質(VSS)の測定値を表-4に示す。数値計算により推定された“活性菌体量”の合計値は実験値(VSS)よりも低いことが認められ、反応槽内には不活性な菌体が存在していると思われる。表-5に各揮発性脂肪酸分解菌の菌体量比、VSS/SS、タンパク質濃度/VSSを示す。推定された菌体量比と理論比に違いが認められ、これは各基質分解菌の収率、付着力の違いによるものと考えられる。タンパク質濃度/VSSは別途培養している完全混合槽の汚泥の値は理論値とほぼ一致しているが、流動床においては理論値よりも低く、このことから反応槽内には不活性な有機物質がかなり存在し、その量も経時的に変化する可能性があると考えられる。

表-3 増殖パラメータ値

	最大比増殖速度 μ_m (d ⁻¹)	飽和定数 K_s (mg-COD/l)	文献値 ¹⁾ μ_m (d ⁻¹)
HAc分解菌	0.26	20	0.24~0.50
HPr分解菌	0.19	20	0.25~0.37
n-HBu分解菌	0.60	130	0.37

表-4 “活性菌体量”推定値

	HRT=2(d)	HRT=1(d)
推定値(mg/l)		
HAc分解菌	1080	1530
HPr分解菌	280	810
n-HBu分解菌	690	1100
合計	2050	3440
測定値(mg/l)		
VSS	13350	21020
SS	45730	102510
Protein	3480	6730

(全て、担体+菌体沈降体積当たり)

表-5 推定菌体量比

	流動床 HRT=2(d)	流動床 HRT=1(d)	完全混合槽	理論値
推定値 菌体量比(%) (HAc:HPr:n-HBu)	53:14:34	44:23:32	—	62:19:19
測定値 VSS/SS (%)	29.2	20.5	43.8	—
Protein/VSS (%)	26.1	32.0	62.2	66.8*

(*)菌体組成をC₅H₈O₃Nとし、タンパク質のN含量を1%とすると14/131/0.16=66.8%)

4. おわりに 今後、推定に用いた各揮発性脂肪酸分解菌の収率を含め仮定の妥当性を検討し、更に酸生成菌、水素利用菌についても同様な検討を行ないたい。

(参考文献) 1) Lawrence, A., W., and McCarty, P., “Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment” Jour. WPCF Vol.41, No.2, Part.2, pp.R1~7, 1969