

微生物の比増殖速度ならびにBOD除去係数に 対する基質濃度のベキ関数表示

都立大学 (正) 。生 才 悠
左 合 正 雄

生物学的廃水処理法における生物吸着や同化に関する理論^(1,2,3)は、今までの研究により確立しつつあるが、かならずしも十分とはいえない。微生物の増殖と有機物の除去に関して、微生物の比増殖速度が基質濃度に関係なく一定の場合、および基質濃度に比例する場合には、いろいろな表現方法で説明がなされているが、それらの中間の濃度域については前者に近似させる程度ではつきりとした説明はなされていない。また、基質濃度の全範囲にわたって微生物の比増殖速度を表わしている酵素反応式や吸着式は、取り扱いや表現方法がやや複雑なのであまり利用されていない。この論文では、生物学的廃水処理施設と微生物の連続培養槽とを考え、微生物の増殖・有機物の除去に関し連続培養の理論を用いて考察を行い、微生物の比増殖速度とBOD除去係数を基質濃度のベキ関数で表示すると、実験結果にうまく一致し、実用上からも非常に有効な方法があるので報告する。

I. 連続培養の理論

生物学的廃水処理施設は、生物学的な見方をすると、槽に微生物と培養し、その結果として有機物が消費されると考えられる。そのゆえに廃水処理の淨化理論には、連続培養の理論が適用できる。連続培養の理論的考察は、MonodおよびNovick⁵⁾らにより始められたが、こゝを簡単に説明する⁶⁾。

1. 微生物の増殖

ある培地に N_0 個の微生物を培養したとする。これらの微生物が対数増殖相にあるとすると、 Z 世代時間係には $2^Z \cdot N_0$ 個となる。 Z 世代時間後の微生物が N 個であったとすると $N = 2^Z \cdot N_0$ となる。対数式より変形すると $Z = (\log N - \log N_0) / \log 2$ となる。平均世代時間と G とし、微生物が N_0 個から N 個まで増加するに要した時間を t とすると $Z = t/G$ となる。ゆえに $(\log N - \log N_0) / \log 2 = t/G$ となる。

微生物の増殖と比増殖速度(μ)を用いて表わすと、

$$\frac{dx}{dt} \text{ 増殖} = \mu x \quad (1-1)$$

となる。ただし x は微生物量($x \propto N$)。 (1-1) 式と積分すると、 $x = x_0 e^{\mu t}$ となる。したがって、 $\log x$ と t に対してプロットすれば直線になり、その勾配は $1/2.3$ となる。 μ がわかれば平均世代時間 (G) は、 $G = \log_e 2 / \mu = 0.693 / \mu$ となる。

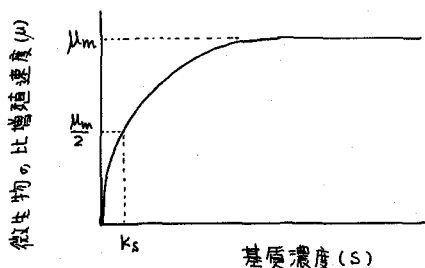


図-1 微生物の比増殖速度と基質濃度

2. 微生物の比増殖速度

微生物の比増殖速度(μ)と基質濃度(S)との関係を図-1に示す。この曲線は双曲線と考えると次のように示すことができる^{7), 8)}。

$$\mu = \mu_m \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (1-2)$$

ただし、 μ_m : 基質が飽和濃度であるときの μ の最大値

S : 基質濃度

K_s : 飽和定数で $\mu = \frac{\mu_m}{2}$ を与える基質濃度

(1-2) 式からわかるように基質濃度を一定値に維持すれば μ は一定値となる。

3. 全微生物量

ある培地において得られる全微生物量は次の因子に支配される。(a) 必要栄養素の消費、(b) 不適当な pH への推移、(c) 代謝終末物の蓄積、(d) および (e) の因子は増殖を支配しないものとし、増殖に必要な栄養素は1つと除去他は十分あるものとするれば、全微生物量はこの1つの栄養素の量に比例する。

$$x = Y \cdot S \quad (1-3)$$

ただし、 x : 生成された全微生物量

Y: 収量係数

S: 消費された栄養素の量

4. 培養槽の水理

連続培養においては反応は培養槽で行われ、そこで微生物は適当な条件下で増殖する。これは返送汚泥のないことと除けば活性汚泥法の曝気槽と同じ作用を行う。培養槽からの微生物の流出は完全混合を仮定すると

$$\frac{dx}{dt} \Big|_{\text{流出}} = -\frac{Q}{V}x$$

となる。ただし、 Q : 流入および流出量、 V : 培養槽体積。ここにおいて、滞留時間を T 、希釈率を D とすると、 $Q/V = D = T^{-1}$ となり、前式に代入すると

$$\frac{dx}{dt} \Big|_{\text{流出}} = -Dx \quad (1-4)$$

5. 微生物の濃度変化

培養槽において微生物は(1-1)式で増殖し、(1-4)式で流出するから、槽内における微生物の増加分は

$$\text{増加分} = \text{増殖分} - \text{流出分}$$

$$\frac{dx}{dt} \Big|_{\text{増加}} = \mu x - D x \quad (1-5)$$

6. 基質の物質収支

基質は培養槽に濃度 S_R で入り、微生物により消費され、濃度 S で出てゆく。そこで、基質濃度の増加分

$$\text{増加分} = \text{流入分} - \text{流出分} - \text{消費分}$$

$$= \text{流入分} - \text{流出分} - \text{増殖/収量係数}$$

$$\frac{dS}{dt} = D S_R - D S - \frac{\mu x}{Y} \quad (1-6)$$

7. 連続培養の方程式

(1-5)、(1-6)式は共に μ を含み μ はそれぞれ μ の関数である。そこで μ を S で置換すると、

$$\frac{dx}{dt} = x \left[\mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) - D \right] \quad (1-7)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_R - S) - \frac{\mu_m x}{Y} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (1-8)$$

となる。この二つの式は(1-1)、(1-2)、(1-3)式で示された増殖関係が成立する連続培養の状態を表わしている。(1-7)、(1-8)式から明かなように、 S_R と D が一定で、ある臨界値((1-11)式で見る)をこえないならば $\frac{dx}{dt}$ と $\frac{dS}{dt}$ も0とする。すなわち系は定常状態とする特異的な S と x が存在する。これを $\bar{S}$ と $\bar{x}$ とすると、

$$\bar{S} = K_s \left(\frac{D}{\mu_m - D} \right) \quad (1-9)$$

$$\bar{x} = Y(S_R - \bar{S})$$

$$= Y \left[S_R - K_s \left(\frac{D}{\mu_m - D} \right) \right] \quad (1-10)$$

となる。 $\bar{S}$ と $\bar{x}$ を希釈率 D の関数でプロットすると図-2に示すようになる。図-2からわかるように希釈率のほぼ全範囲にわたって $\bar{S}$ は低い、希釈率が臨

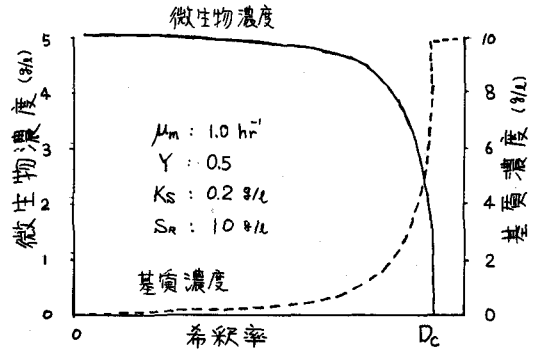


図-2 定常状態の基質濃度と微生物濃度

界値(D_c)に近づいた時、はじめて消費されなかった基質が槽中に認められるようになる。臨界希釈率 D_c のとき槽内の基質濃度は S_R となり、次式がなりたつ。

$$D_c = \mu_m \left(\frac{S_R}{K_s + S_R} \right) \quad (1-11)$$

図-2に示すように、基質濃度に対して微生物濃度と適当なスケールにとると、微生物濃度と基質濃度は鏡像関係になっている。

II 理論的考察

1. 比増殖速度の基質濃度によるべき関数表示

微生物の比増殖速度と基質濃度との関係を表わした(1-2)式は、酵素反応における反応速度と基質濃度との関係を表わした Michaelis-Menten 式と同一の式であり、また吸着における飽和吸着量と基質濃度との関係を表わした Langmuir 式とも同一である。一般的に Langmuir 型吸着等温線の曲線部分、すなわち基質濃度の割合低く飽和吸着量に達する前は、Freundlich 型の吸着式で近似することができる。したがって μ は μ_m になるまでと基質濃度の範囲を限定すると、(1-2)式で表わした微生物の比増殖速度は、Freundlich 型の基質濃度のべき関数で表わることができる。適当な C と n ($0 \leq n \leq 1$) とすれば次のようになる。

$$\mu = C S^n \quad (2-1)$$

この式を(1-7)式に代入し $\frac{dx}{dt} = 0$ と解くと、定常状態における基質濃度 $\bar{S}$ は $C \bar{S}^n = D$ となり、希釈率(D)と滞留時間(T)に置き換えると次のようになる。

$$\bar{S} = (CT)^{-1/n} \quad (2-2)$$

そこで $\log \bar{S}$ と $\log T$ は直線関係にある。なお(2-1)式は $\mu = \mu_m$ まで適用されるから、基質濃度の上限 S_m は $S_m = (\mu_m/C)^{1/n}$ となる。 C と n の取り方に

より S_m は変化するが、一般には K_s の数倍の範囲である。

2. BOD 除去係数の BOD 濃度によるべき関数表示
廃水を生物学的に処理すると、BOD の除去は 1 次反応式で表わされることが多い。しかし実際には、すべての濃度にわたって BOD の除去速度が一定であることはむしろ稀で、ほとんどの場合 BOD 濃度が低下すると除去係数は減少する。

Fair によると、BOD 除去係数 (K) は利用できる基質の割合が減少するものとして、次式を導いている³⁾。

$$K = C \left(\frac{L}{L_0} \right)^n \quad (2-3)$$

ゆえに、微分式は $-\frac{dL}{dt} = C \left(\frac{L}{L_0} \right)^n L$ となり、積分すると
$$L/L_0 = (1 + n C t)^{-1/n}$$

ただし、 L : t ときの BOD、 n, C : 定数
 L_0 : $t=0$ " " " " t : 時間

この式は、1 次反応式 (片対数で直線) のような簡単な形ではないのであまり利用されていない。

ここで、BOD の除去機構を考えると、この反応には外界に対応する生物作用の反応があるから、反応速度の項に生物作用の因子も含む。それゆえ、BOD 除去係数と微生物の比増殖速度 またはそれに類似したもので表わすと次のようになる。

$$K = K_m \frac{L}{L_s + L} \quad (2-4)$$

ただし、 K_m : 最大 BOD 除去係数

L_s : 飽和定数で $K = \frac{K_m}{2}$ と与える BOD 濃度

ゆえに微分式は $-\frac{dL}{dt} = K_m \left(\frac{L}{L_s + L} \right) \cdot L$ となり、積分すると、 $L_s (L_0 - L) + \log (L/L_0) = -K_m t$ となる。
この式は、分対数関数と対数関数を合わせたものであるから、簡単にはグラフに表わせない。

ここにおいて、 K は K_m までは BOD 濃度を限定して BOD 除去係数を BOD 濃度のべき関数で表わすと

$$K = C L^n \quad (2-5)$$

となる。ゆえに微分式は $-\frac{dL}{dt} = C L^{n+1}$ となり、積分すると次のようになる

$$L^{-n} - L_0^{-n} = n C t \quad (2-6)$$

この式は時間が経つと、すなわち BOD 除去の反応が進行すると、 L^{-n} は L_0^{-n} に較べ小さく無視できるから

$$L = (n C t)^{-1/n} \quad (2-7)$$

となり、 $\log L$ と $\log t$ は直線になる。したがって (2-7) 式の適用される範囲においては、BOD 除去の反応次数は濃度に対して 1 次ではなく、1 次と 2 次の

中間の $(1+n)$ 次となる。

BOD で測定される有機物量と基質濃度とは、内容的にかなり違うと考えられるが、工学的意味から両者と同等に扱えば、連続培養の理論から導いた (2-2) 式と BOD 除去からの (2-6) 式は同じ式となる。

なお (2-3) 式を変形すると、 $K = C \left(\frac{L}{L_0} \right)^n = \frac{C}{L_0^n} \cdot L^n = C_1 L^n$ となり、BOD 除去係数の考え方は異っているが、表現方法は (2-5) 式と同じである。

III 実験結果

実験データは少ないが、筆者が今まで手がけてきた「水域の自浄作用」の研究に伴う測定値と連続培養の理論で整理してみた。実験は連続法だけでなく回分法であるが、回分法における滞留時間は連続法のそれに相当する、すなわち回分法においては各希釈率についての連続培養が順次継続しているものと仮定すれば、回分法における基質濃度と微生物濃度は連続培養の理論を用いて説明することができる。活性汚泥微生物は微生物群であり 1 つの生態系を構成しているが、連続培養法では特定の微生物を接種し培養している。したがって単一生物のいわゆる連続培養法と多生物系の活性汚泥法とは、微生物の挙動に関して若干の相異が予想される。実験条件を次に示す。実験 (1), (4), (11) に対して初期脱脂粉乳量はそれぞれ 2000, 2000, 1000 ppm、初期活性汚泥量は 100, 200, 100 ppm である。したがって実験初期における F/M 比は $BOD_5/MLSS$ で 1/2, 6, 1/2 となる。水温は (1), (4) で 14~17°C, (11) で 22~23°C であった。測定するにあたり、脱脂粉乳と活性汚泥の混合物を速に沈殿 (3000 rpm・3 分) し、沈殿するものは微生物、沈殿しない上澄水中有機物は基質と考えた。

1. 定常状態における上澄水の BOD 濃度

II の理論的考察において、BOD 濃度の範囲を限定すれば、微生物の比増殖速度 (μ) および BOD 除去係数 (K) は BOD 濃度 (L) のべき関数 (μ も $K = C L^n$) で表わせ、定常状態における BOD 濃度と滞留時間 (T) は両対数をとると直線になると述べた。実験結果を図-3 に示す。図-3 からあきらかなように、上澄水中有機物の BOD 濃度が約 500 ppm 以下になると、 $\log L$ と $\log T$ は直線となり、(2-1) 式ならびに (2-5) 式で示されたように L の低下により μ と K が減少している

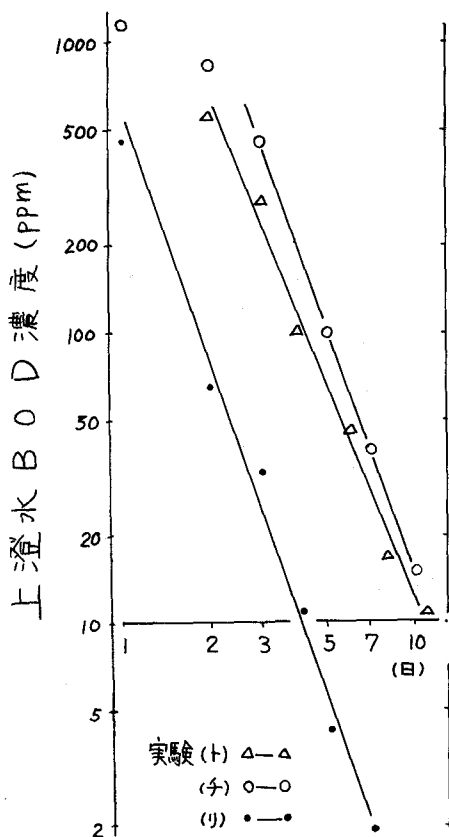


図-3 滞留時間と上澄水BOD濃度
ことが確認された。

$\log L$ の $\log T$ に対する勾配は実験 (H), (K), (I) に対し $-2.5, -2.9, -2.8$ となり, n は $0.35 \sim 0.40$ となった。参考までに, Monod²⁾ や Schaefer³⁾ の報告した μ と S のべき関数で表示すると, 両対数グラフ上で μ は S に対して完全な直線にはならず, やや上に凸の曲線となるが, 平均をとると $n=0.4$ 値となった。また Fair³⁾ は (2-3) 式において, $n=0.4$ のとき L の計算値と実測値が一致すると報告している。これらのことより, この実験で得られた n 値はかなり一般的な値と考えられる。

以上のことから, BOD濃度500ppm以下においては, BOD除去の反応次数はBOD濃度に対して1次ではなく, 1次と2次の中間の $(1+n)$ 次となった。

2. 収量係数

脱脂粉乳と基質として用いた場合の活性汚泥の増殖曲線を図-4に示す。図-4において活性汚泥量が最大となった時, 溶液中には図-3に示される未利用の

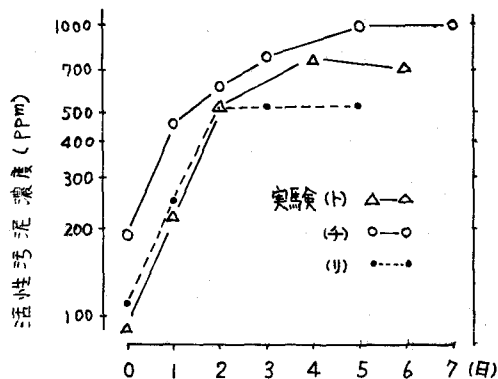


図-4 活性汚泥の増殖曲線

基質が残存しているのを引いて収量係数を求めた。活性汚泥の脱脂粉乳に対する収量係数は, 実験 (H), (K), (I) に対してそれぞれ $0.40, 0.48, 0.46$ であり, 平均すると 0.45 となった。一般に好気性微生物の糖類に対する収量係数は 0.5 強とされているが, 活性汚泥のそれは 0.5 弱とやや少なめであった。活性汚泥微生物は多生物系であるから, 槽中に食物連鎖が起り微生物量が減少したものと思われる。

3. 活性汚泥の比増殖速度

活性汚泥の比増殖速度 (μ) は図-4における活性汚泥量の各点の勾配で表わされるが, この図からはつまりとした μ の最大値 (μ_m) の決定は困難である。その理由としては次のことが考えられる。(1) 測定実数が少ない。(2) 活性汚泥が多生物系である。(3) 水温が変化した。(4) 実験初期において活性汚泥による基質の吸着がある。図-4において, 初期汚泥量が最大汚泥量になるまで直線的に増加したと仮定すると, 各々の活性汚泥微生物の個々の μ の平均値を $\bar{\mu}$ とすると, 実験 (H), (K), (I) に対して $0.23, 0.15, 0.34$ (1/日) となり, 平均世代時間 (G) は $1.3, 2.0, 0.9$ 日となった。増殖曲線上の μ の最大値を μ_{md} とすると, μ_{md} はいずれの実験に対してもほぼ 0.38 /日となり G は約 0.8 日となった。Eckm⁴⁾ felder⁵⁾ は製薬工場廃水を回分法で処理し, μ_m は 0.64 /日と報告している。基質や微生物の違いが μ_m の値を変えるものと考えられる。

4. 飽和定数

図-3にも述べたように, 図-4からは μ_m がはっきりしないので μ_m から飽和定数 (K_s) を決定するのは

困難である。仮に μ_{md} を μ_m とすると、 K_s は $\mu = \frac{\mu_{md}}{2}$ の時の基質濃度であるから、図-3より溶液中の BOD 濃度は最大で 1000 ppm 位となる。また $\bar{\mu}$ を μ_m とすると、 K_s は実験 (1), (4), (11) に対し BOD で 550, 450, 80 ppm となる。単一微生物の場合には $\mu = 0$ のとき $S = 0$ となるはずであるが、図-4の活性汚泥の増殖曲線においては、 $\mu = 0$ (活性汚泥の増殖量と食物連鎖による減少量が釣り合った状態と考えられる) においても、溶液中の BOD が実験 (1), (4), (11) に対し 100, 100, 80 ppm もあった。

このように活性汚泥の比増殖速度からは脱脂粉乳の飽和定数は求められなかったが、IIの理論的考察において、BOD 除去係数は微生物の比増殖速度と同格のものとして述べているので、比増殖速度のかわりに BOD 除去係数を用いると、活性汚泥に対する脱脂粉乳の飽和定数(厳密には(2-5)式における L_s)が求められる。

BOD 除去を 1 次反応と仮定して BOD の対数をとると図-5に示すようになる。BOD 除去係数はいずれの実験においても BOD 約 500 ppm で最大となり、その後(2-5)式に示したように、BOD 濃度の低下に伴い序々に減少している。BOD 除去係数の最大値を K_m とすると、 K_m は図-5から実験 (1), (4), (11) に対し 0.45, 0.35, 0.85(1/日) となった。飽和定数は BOD 除去係数が $K_m/2$ のときの BOD 濃度であり、 μ は実験で求められているから、(2-5)式より計算で求められる。飽和定数の計算値は実験 (1), (4), (11) に対し BOD で 110, 65, 80 ppm となり、平均で 85 ppm となった。

参考までに、ある種の微生物に対するいろいろな基質の飽和定数を表-1に示す。飽和定数は微生物の種類と基質との組合せにより、1 ppb から 4500 ppm と極端に大きな差があり、また平均世代時間も時間単位から日単位と大きな巾があった。

なお実験で得られた結果をまとめて表-2に示す。

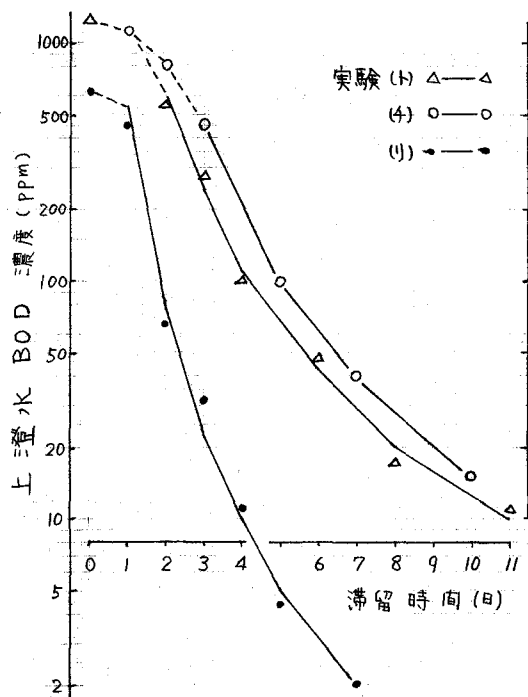


図-5 滞留時間と上澄水 BOD 濃度

表-1 微生物の飽和定数

微生物	基質	K_s	G	報告者
E. coli	tryptophan	1 ppb	1.2 hr	Novick ⁽⁵⁾
"	glucose	4 ppm	0.8 "	Monod ⁽⁶⁾
"	mannitol	2 "		"
"	lactose	20 "		"
A. cloacae	glycerol	12 "	1.2 hr	Herbert ⁽⁷⁾
M. tuberculosis	glucose	4500 "	1.2 day	Schaefer ⁽⁸⁾

表-2 実験結果

実験	Y	$\bar{\mu}$	μ_{md}	η	K_m	$K_s(L_s)$
(1)	0.40	0.23	0.39	0.40	0.45	110
(4)	0.48	0.15	0.38	0.35	0.37	65
(11)	0.46	0.34	0.38	0.35	0.86	80

Ⅳ 結論

1. 活性汚泥法で有機物を処理する場合、回分法における生物学的反応、特に基質の除去について、連続培養の理論を用いて説明することができた。

2. 微生物の比増殖速度(μ)は基質濃度(S)の関数で $\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S}$ と表わされるが、 $\mu = \mu_m$ までと基質濃度を限定すると $\mu = C S^n$ と基質濃度のべき関数で表わすことができる。この式を連続培養の方程式に代入すると、定常状態における基質濃度($\bar{S}$)は $\bar{S} = (CT)^{-1/n}$ となる。したがって、 $\log \bar{S}$ と $\log T$ は直線になり、実験結果と一致した。

なお、実験において、基質濃度の上限はBODで約500 ppm、飽和定数(K_s)はBODで60~110 ppm、 n は0.35~0.40であった。

3. BOD除去式において、BOD除去係数(K)は微生物の比増殖速度と同様に考えることができ、BOD濃度(L)のべき関数で表わすと $K = C_1 L^{m_1}$ となる。

したがって、BOD除去の微分式は $-\frac{dL}{dt} = C_1 L^{m_1}$ と表わせ、積分すると $L^{-m_1} - L_0^{-m_1} = m_1 C_1 t$ となる。BOD除去の反応が進行すると、 $L = (m_1 C_1 t)^{-1/m_1}$ となり、連続培養の方程式から得られた式と一致した。

なお、前式の適用される範囲において、BOD除去の反応次数は、BOD濃度に対して1次と2次の中間の(1+n)次となった。

おわりに

この研究を行うにあたり、いろいろと援助してくださった川口助教授、ならびに、実験を手伝ってくれた卒論生の樋口君(46年卒)、柏木君(47年卒)、満野君(48年卒)に、お礼申し上げます。

参考文献

1. W.W. Eckenfelder & D.J. O'Connor "Biological Waste Treatment" Pergamon Press (1961)
2. 橋本 賢 "活性汚泥の浄化理論とその応用" 水処理技術 Vol. 9 No. 5 (1968)
3. G.M. Fair and J.C. Geyer "Water Supply and Waste-Water Disposal" John Wiley and Sons, Inc. (1954)
4. J. Monod "LA TECHNIQUE DE CULTURE CONTINUE" Ann. inst. Pasteur Vol. 79 (1950)
5. A. Novick & L. Szilard "Experiment with the Chemostat on Spontaneous Mutation of Bacteria" Proc. Nat. Acad. Scie. Vol. 36 (1950)
6. D. Herbert, R. Elsworth and R.C. Telling "The Continuous Culture of Bacteria" J. gen. Microbiol. Vol. 14 (1956)
7. E.A. Dawes : 中馬 他訳 "生物物理化学" 共立出版 (1969)
8. J. Monod "The Growth of Bacterial Culture" Ann. Rev. Microbiol. Vol. 3 (1950)
9. W. Schaefer "SUR LA CROISSANCE DU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN CULTURE HOMOGÈNE" Ann. inst. Pasteur Vol. 74 (1948)
10. 慶伊富長 "吸着" 共立出版 (1965)
11. 生才 悠 "水域における有機物の挙動について" "用水と廃水" Vol. 15 No. 3 (1973)
12. 生才 悠 "好気性状態における有機物の質的量的変化と酸素消費について" 才10回下水道研究発表会講演集 (1973)
13. 瀬戸昌之 "微生物による有機物の分解に関する動的様態" 日本生態学会, (1969)
14. 林香剛・滝井進 "活性汚泥浄化における物質収支について" 日本水処理学会誌, Vol. 2, No. 1 (1965)