

(35)

再生水中における残留塩素と従属栄養細菌の消長に関する実験実験

Suspended Growth of Heterotrophic Bacteria and Decrease of Chlorine in Reclaimed Water: Lab-Scale Experiment

船水尚行*, 大仲孝昌*, 高桑哲男*

N. FUNAMIZU*, T. OHNAKA*, and T. TAKAKUWA*

ABSTRACT; The lab-scale experiments were performed to study suspended growth of heterotrophic bacteria and decay process of free and combined chlorine in reclaimed water. It was found that suspended growth of bacteria was suppressed by combined chlorine and that the rapid growth began after combined chlorine had been consumed completely. It was also found that the initial dose of the chlorine could delay their growth, but could not control the maximum count of bacteria. Decay process of free chlorine was described by the simple first-order reaction. To simulate disappearance of combined chlorine, two steps model of first-order reaction was required. The values of rate constants for the first-order reactions depended on the initial chlorine concentration. The simple model for simulating bacteria growth was developed with aid of the activated sludge model No.2 and data from experiments without chlorine dose. It was found that the simple model was also applicable to the experimental results with chlorine dose.

KEYWORDS; combined chlorine; free chlorine; reclaimed water; suspended growth of heterotrophic bacteria

1. はじめに

下水処理再生水の雑用水等への利用においては、再生水の輸送・貯留系での変質やバクテリアの増殖を抑制する必要がある。輸送・貯留系におけるバクテリアの再増殖に関する研究は主として飲料水を対象とした配水系における検討が行われてきた^{1),2)}。Dukanら¹⁾は配水系の微生物再増殖に関する現象について整理し、バクテリアの再増殖に関する重要な素過程として次の8種類を挙げている：(1)水中に浮遊するバクテリアの増殖、死滅、(2)パイプ壁面への浮遊バクテリアの付着、(3)パイプ壁面における付着バクテリアの増殖と死滅、(4)壁面からのバクテリアのはく離、(5)水中残留塩素の消費、(6)壁面生物膜による残留塩素の消費、(7)残留塩素と浮遊バクテリアの反応、(8)残留塩素と壁面生物膜内微生物の反応。

再生水が多様な用途に用いられ、飲料水と比較して再生水水質の幅が広いことから、従来の飲料用水配水系を対象とした研究を再生水の貯留・輸送系における微生物の再増殖の検討に拡張していくためには、上記の素過程それぞれについて検討を行う必要があると考えられる。特に、本研究の最終的な目的を再生水貯留・輸送系の微生物再増殖モデルを用いた微生物再増殖制御方策の検討としていることから、再生水を対象に上記の個々の素過程を表現するモデル開発が必要である。

上記の8種類の素過程のうち、本研究では水中の反応、すなわち、(1)水中に浮遊するバクテリアの増殖、

*北海道大学工学研究科 (Graduate school of engineering, Hokkaido University)

死滅、(5)水中残留塩素の消費に注目し、同一試料水（下水処理場砂ろ過水）を用いて塩素添加量を変化させた実験室規模実験を行うことによって、再生水中における従属栄養細菌の増殖と遊離・結合塩素濃度変化の関係を検討し、簡易な数学モデルによりこれら二つの過程が表現可能であるか検討した。

2. 方法

2. 1 実験

実験では塩素水とアンモニア態窒素の添加量を変化させることにより、初期遊離塩素濃度、結合塩素濃度の異なる試料を用意し、褐色びん内（スターによる攪拌付）における全菌数(DTMC)、溶存全有機性炭素(DOC)、ならびに遊離塩素、結合塩素濃度の経時変化を測定した。実験は暗所、20°Cの条件で行った。実験条件を整理して表-1に示す。実験には下水処理場の砂ろ過水を用い、以下に示す前処理を施して実験用サンプルを作成した：

- (1)砂ろ過水を0.2μmのPTFEメンブレンフィルターでろ過し、所定量を褐色びんへ投入する。0.2μmフィルターのろ過効率、実験操作時汚染、全菌数測定誤差等の影響によりこのろ過水の全菌数は10³(cells/mL)のオーダーと測定されている³⁾。このため、表-1に示したように初期菌数が10⁴オーダーとなるように植種を行い、実験上の誤差による影響を小さくするように配慮した。実験に用いた褐色びんは純水で洗浄後オートクレーブにより滅菌操作を実施したもの用いた。本実験で用いた純水は次のようにして調製した：水道水をイオン交換→蒸留→マイクロフィルターによるろ過→オートクレーブ処理。このように調製した水の電気伝導度は約0.05μS/cm、DOCは約0.3mg/Lであった。
- (2)所定量のアンモニア態窒素、塩素水を添加し15分間混合する。この混合操作は下水処理施設の塩素混和池の接触時間が15分程度⁴⁾であることに対応させて設定した。

表-1 実験条件、各試料の初期濃度、バクテリア増殖時の結合塩素濃度

サンプル No.	実験条件		初期濃度				微生物増殖開始時 の結合塩素濃度 (mg/L)
	塩素添加濃 度(mg/L)	NH4-N添加 濃度(mg/L)	遊離塩素 (mg/L)	結合塩素 (mg/L)	DOC (mg/L)	DTMC (cells/mL)	
1	0	0	-1)	-	4.8	1.7×10^5	-
2		0	0.01	0.11	4.8	7.2×10^4	0.0
3	1.5	0.1	0.01	0.34	4.9	8.5×10^4	0.0
4		0.5	0.03	0.51	4.8	7.0×10^4	--2)
5		1.0	0.02	0.60	4.8	9.1×10^4	--
6	2.5	0	0.07	0.19	4.9	8.3×10^4	0.01
7		0.1	0.03	0.53	4.9	7.5×10^4	0.0
8		0.5	0.06	1.19	4.8	6.9×10^4	--
9		1.0	0.05	1.30	4.9	6.7×10^4	--
10	3.5	0	0.50	0.22	4.8	6.9×10^4	0.0
11		0.5	0.08	1.82	4.8	6.9×10^4	--
12 ³⁾		0			4.8	1.0×10^4	-
13 ³⁾		0	-	-	2.4	1.0×10^4	-
14 ³⁾					0.8	1.0×10^4	-

1)塩素無添加。2)微生物増殖観察されず。3)文献3)より引用。

(3)所定量の植種を行う。植種には $0.2\mu\text{m}$ PTFE メンブレンフィルターでろ過を行わなかった砂ろ過水をそのまま用いた。植種量はあらかじめ測定した砂ろ過水のDTMC値をもとに設定した。

(4)初期の遊離塩素濃度、結合塩素濃度、DOC濃度、DTMCの測定を行う。

サンプル1～サンプル11では同一の砂ろ過水を用い、塩素添加濃度とアンモニア態窒素添加濃度を系統的に変化させた。サンプル12～サンプル14は初期有機物濃度の影響を検討した実験³⁾に用いたサンプルで、純水の添加により初期有機物濃度を変化させている。また、初期植種量も他のサンプルより少ない。このサンプルによる結果は後述する微生物増殖モデルのパラメータ値設定に用いた。サンプル14では初期DOC値で 0.8mg/L まで希釈しており、希釈用純水中の有機物(DOC値は 0.3mg/L)の影響も受けたものとなっている。なお、塩素無添加系で初期アンモニア態窒素濃度、リン酸態リン濃度、有機物濃度を変化させた実験³⁾において、再生水中のバクテリアの増殖は再生水中有機物によって制限されていることが示されているので、本実験ではリンの添加は行わなかった。表-1には各サンプルの初期濃度も示した。同一の塩素添加濃度のサンプルではアンモニア態窒素添加濃度が高いほど結合塩素濃度、全残留塩素濃度(遊離塩素と結合塩素濃度の和)が高くなっていた。

2. 2 分析方法

溶解性全有機炭素濃度(DOC)の測定は $0.2\mu\text{m}$ のPTFE メンブレンフィルターろ液について島津TOC-5000Aを用いて測定した。遊離塩素、結合塩素濃度はオルトトリジン法により測定した⁵⁾。この方法による測定精度は全残留塩素として 0.01mg/L 程度であることから⁵⁾、本研究では残留塩素濃度の測定結果は小数点以下2桁で表示する。全菌数(DTMC)の測定はDAPI(4'6-diamidino-2-phenylindole)による染色を施した試料をポリカーボネイト・メンブレンフィルタに固定し、1000倍の倍率で蛍光顕微鏡により計数した⁶⁾。

3. 実験結果と考察

3. 1 DTMCと遊離、結合塩素の経時変化

図-1に各サンプルについてDTMC、遊離塩素、結合塩素濃度の測定結果を示す。塩素を添加していないサンプル1では実験開始直後からバクテリアの増殖が観察されている。サンプル2～サンプル5は塩素添加濃度を 1.5mg/L と一定とし、アンモニア態窒素濃度を変化させたものである。サンプル2の残留塩素は実験開始時に遊離塩素で約 0.01mg/L 、結合塩素で約 0.11mg/L 存在していたが、約24時間後の測定では遊離塩素が検出されず、約35時間後には結合塩素も検出限界以下となった。そして残留塩素が検出されなくなった後、バクテリアの増殖が観察されている。サンプル3はサンプル2よりアンモニア態窒素添加濃度を高くして、初期結合塩素濃度を高くしたものである。このサンプルでは、結合塩素が実験開始後約120時間まで検出されているが、サンプル2と同様に残留塩素が検出されなくなった後、バクテリアの増殖が観察されている。アンモニア態窒素添加濃度を更に増加させたサンプル4では、約2週間(330時間)の実験期間終了時に結合塩素が残存(濃度約 0.01mg/L)し、バクテリアの増殖が観察されていない。なお、更にアンモニア態窒素添加濃度を増加させたサンプル5では実験終了時に遊離、結合塩素とも残存し、バクテリアの増殖は観察されなかった。

サンプル6～サンプル9は塩素添加濃度を 2.5mg/L としたサンプルである。アンモニア態窒素を添加していないサンプル6では実験開始時に遊離塩素が約 0.17mg/L 存在し、まず、遊離塩素濃度が結合塩素より速い速度で低下している。このサンプルにおいても、結合塩素が観察されなくなった時点(約150時間後)からバクテリアの増殖が観察されている。サンプル6よりアンモニア態窒素添加濃度が高いサンプル7では、初期結合塩素濃度がサンプル6より高く、最終検出時間も約230時間後となっている。これに伴い、バクテリア増殖も230時間以降に観察されている。更にアンモニア態窒素添加濃度を増加させたサンプル8では実験

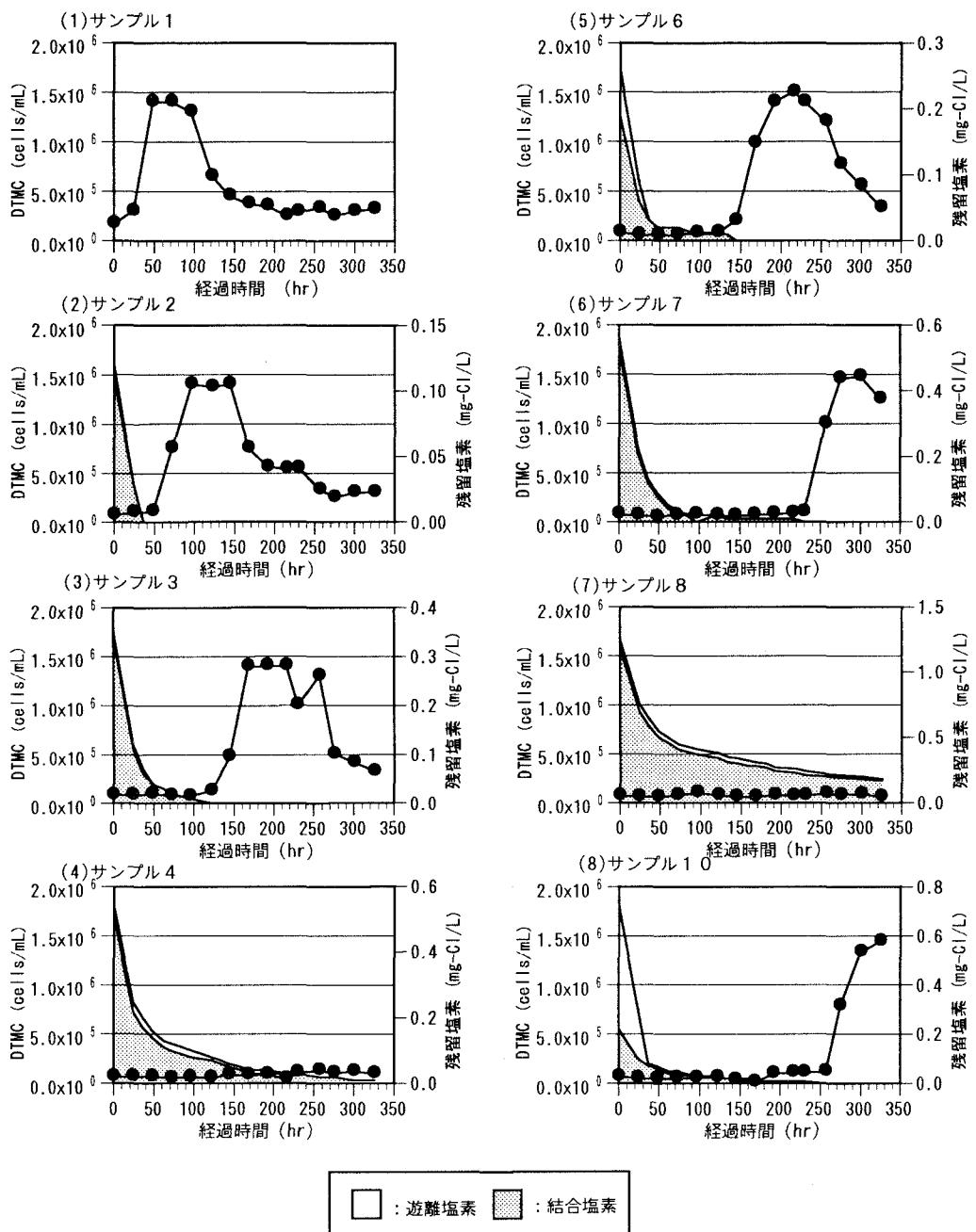


図-1 DTMC値、残留塩素濃度の経時変化

終了時まで遊離塩素、結合塩素が存在し、バクテリアの増殖も観察されていない。なお、サンプル9についても同様の結果であった。

塩素添加濃度を3.5mg/Lとしたサンプル10、11ではサンプル10でバクテリアの増殖が観察された。サンプル10の実験開始時の結合塩素濃度は約0.2mg/Lとサンプル6と同程度であったが、遊離塩素濃度が

高くなっていた。この場合においても、遊離塩素濃度減少速度は結合塩素より速く、まず遊離塩素が検出限界以下に低下し、続いて結合塩素濃度の低下が観察され、最後にバクテリア濃度が増加している。なお、アンモニア態窒素添加濃度を増加させたサンプル11でも実験終了時まで塩素が残留し、バクテリアの増殖は確認されなかった。

以上の観察結果を整理すると以下のようにまとめられる。

- ・ 塩素添加とバクテリア増殖抑制 :

DTMC値の増加が観測され、バクテリアの増殖が開始したと判断された時点の残留結合塩素濃度の測定結果を前出の表-1に整理して示す。本実験でバクテリアの増殖が確認された実験例では、結合塩素濃度が検出されなくなった後にバクテリアの増殖が観察されていることがわかる。遊離塩素は結合塩素より早く検出されなくなっていることから、バクテリアの増殖が結合塩素により抑制されていたと推測される。また、バクテリアの増殖が観察された図-1中の6サンプルについて、最大DTMC値はほぼ同一であることから、塩素添加によりバクテリアの増殖を遅らせることが可能であるが、バクテリア増殖ボテンシャルを変化させることはできないことがわかる。

- ・ 結合塩素とバクテリア増殖 :

サンプル2～5の比較、ならびにサンプル6～9の比較により同一塩素添加濃度の場合にはアンモニア態窒素濃度が高いほど初期結合塩素濃度が高くなり、結合塩素濃度低下速度が遊離塩素より遅いこととあわせて、バクテリア増殖開始時刻を遅くすることが可能であることがわかる。

3. 2 遊離、結合塩素濃度の減少過程

従来より水中の残留塩素成分の濃度減少過程は一次反応モデルにより記述されてきた⁷⁾。そこで、本実験で得られた結果も次の一次反応モデルにより近似可能かを検討してみる。

$$\frac{dS_{FCl}}{dt} = -K_{Free} S_{FCl} \quad (遊離塩素) \quad (1)$$

$$\frac{dS_{CCl}}{dt} = -K_{Com} S_{CCl} \quad (結合塩素) \quad (2)$$

ここに、 S_{FCl} は遊離塩素濃度、 S_{CCl} は結合塩素濃度、 K_{Free} は遊離塩素に関する一次反応速度係数、 K_{Com} は結合塩素に関する一次反応速度係数。

図-2は実験開始時最も残留塩素濃度が高かったサンプル11中の遊離塩素、結合塩素濃度の経時変化の測定結果と式(1)、(2)の適用結果の比較である。図中の実線は式(1)、(2)の一次反応モデルによる計算結果である。なお、実験方法の項で記述したように本研究では塩素添加後15分を経過時間ゼロとしている。図-2(a)からわかるように、遊離塩素濃度の減少過程は一つの反応速度係数 K_{Free} を用いた一段階の一次反応モデルにより記述可能である。一方、図-2(b)に示した結合塩素濃度については、初期の急激な濃度減少とそれに続く濃度変化では反応速度が異なっており、一段階の一次反応モデルでは記述が難しく、反応初期（実験開始後24時間から50時間）の大きな反応速度係数 $K_{Com,a}$ と後半の300時間程度までの反応を表現する反応速度係数 $K_{Com,b}$ の二つの係数が必要であることがわかる。

図-3はサンプル5, 6, 11で得られた実験開始24時間以降の結合塩素濃度変化を24時間後の濃度C(24)で正規化して片対数プロットしたものである。図より、初期結合塩素濃度が小さいほど片対数プロットの傾

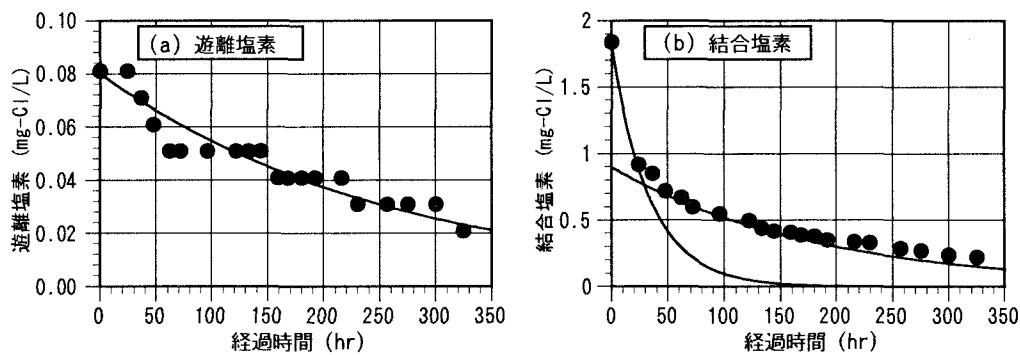


図-2 遊離塩素、結合塩素濃度の経時変化(サンプル11)

きが急になっていることがわかる。本実験のすべてのサンプルについて、三つの反応速度係数 K_{Free} , $K_{\text{Com},a}$, $K_{\text{Com},b}$ を求め、初期結合塩素濃度を横軸にとって整理すると図-4(a), (b), (c)のようになる。図より3つの反応速度係数とも初期濃度が大きいほど係数値が小さくなるという傾向を読み取ることができる。今回、遊離塩素については一段階の一次反応モデル、結合塩素については二段階の一次反応モデルを適用し、反応速度係数値を初期結合塩素濃度により整理したが、塩素濃度の減少過程については反応相手の有機物の濃度や質を考慮した高次反応としての検討や結合塩素分解後の窒素成分の挙動に関する考察が必要と考えられる。

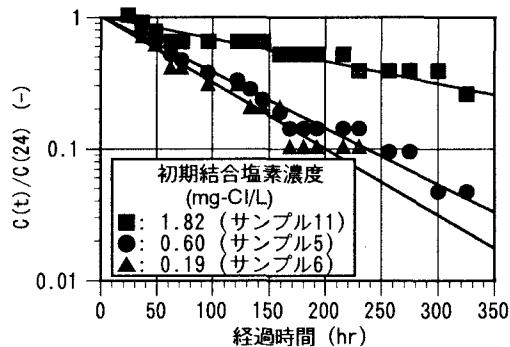


図-3 結合塩素濃度経時変化の片対数プロット

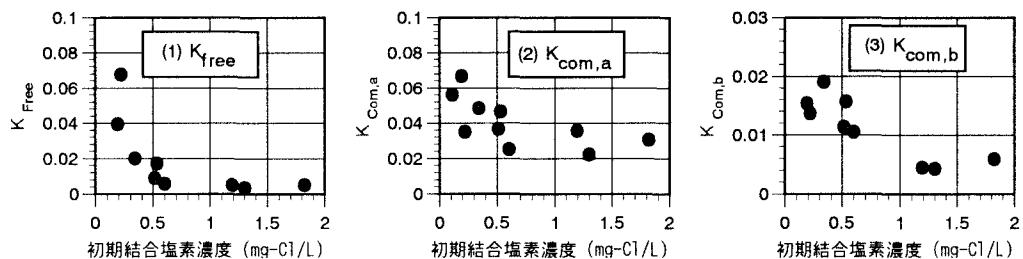


図-4 反応速度係数値の変化

3.3 バクテリアの増殖過程

前出の図-1に示したように、バクテリアの増殖は残留塩素濃度が検出限界以下になった後に観察され、最大DTMC値は初期残留塩素濃度に依存せずほぼ一定であった。ここでは、残留塩素を添加しない場合のバクテリア増殖パターンが塩素を添加した場合にもあてはまるかを浮遊性従属栄養細菌増殖過程のモデルの適用によって検討する。

本研究では、褐色びん内で生じるDTMC値の増加を従属栄養細菌の増殖によって近似し、その増殖の表現に活性汚泥モデルNo.2 (ASM2)⁸⁾の適用を試みた。本実験の微生物濃度、有機物濃度は通常の活性汚泥法の生物反応槽と比較して、極めて低い濃度となっている。このため、微生物間の共生関係等考慮すべき現象も存在するが、ここでは簡易なモデルによる現象の再現を最優先しASM2に記述されている多くの反応のうちから好気性条件下の従属栄養細菌の増殖に関する次の反応による記述を試みた：

- 1) 容易に分解する有機物を用いた従属栄養細菌の増殖
- 2) 遅い速度で分解する有機物の加水分解
- 3) 従属栄養細菌の自己酸化

これらの反応を用いて従属栄養細菌増殖過程を表現するための状態変数としては、従属栄養細菌濃度 X_H 、容易に分解する有機物 S_s 、遅い速度で分解する有機物 X_s が必要であり、これらの收支方程式は次のようになる：

$$\frac{dX_H}{dt} = \mu_{\max} \frac{S_s}{K_s + S_s} \cdot X_H - K_d X_H \quad (3)$$

$$\frac{dS_s}{dt} = -\frac{1}{Y_H} \cdot \mu_{\max} \frac{S_s}{K_s + S_s} \cdot X_H + K_x \frac{X_s / (X_H / UC)}{K_{xx} + X_s / (X_H / UC)} \cdot X_H \quad (4)$$

$$\frac{dX_s}{dt} = -K_x \frac{X_s / (X_H / UC)}{K_{xx} + X_s / (X_H / UC)} \cdot X_H \quad (5)$$

ここで、 μ_{\max} は従属栄養細菌の最大比増殖速度； K_s は容易に分解する有機物 S_s に関する飽和定数； K_d は自己酸化係数； Y_H は収率係数； K_x は加水分解の反応定数； K_{xx} は遅く分解する有機物の加水分解反応の飽和定数； UC は単位換算係数。

なお、本研究では従属栄養細菌濃度をDTMC値すなわちcells/mL、有機物濃度をDOC基準のmg-C/Lで表現することとする。

まず、塩素を添加しない場合（サンプル1 2～1 4）の微生物増殖の測定結果¹⁾を図-5に示す。これらのサンプルは試料を純水で希釈することにより初期DOC濃度を3段階に設定したものである。既報³⁾で示したように微生物の増殖量は有機物量に依存しており、初期有機物濃度が高いほどDTMC値の最大値も大きくなっている。DTMC値が最大値をとった時刻をピーク時間とし、この時刻におけるDOCの測定値と初期DOCの差を生物分解可能有機物（BDOC）と定義する。文献3)の結果ならびに本実験で微生物増殖が観察された場合についてこのBDOC値を求め、このときのDTMC値の最大値（DTMC_{max}）との関係をプロットすると図-6のようになる。本実験（図中○印）では、初期有機物量を一定にしているので、各サンプル間に差は見られず、DTMC_{max}値は約1.5×10⁶ (cells/mL)、BDOCの平均値は約0.2(mg-C/L)であった。BDOCとDTMC_{max}の間には線形関係があり、この線形関係の傾きから菌のみかけの収率を求めることができる。図中の実線の傾きよりみかけの収率は約6.4×10⁶ (cells/mg-C)であることがわかる。本研究ではこの値を式(4)中の収率係数の第一近似値とみなして計算に用いた。

式(3)～(5)中の収率以外のパラメータ値は試行錯誤により定めた。計算の初期値は X_H についてはDTMC実

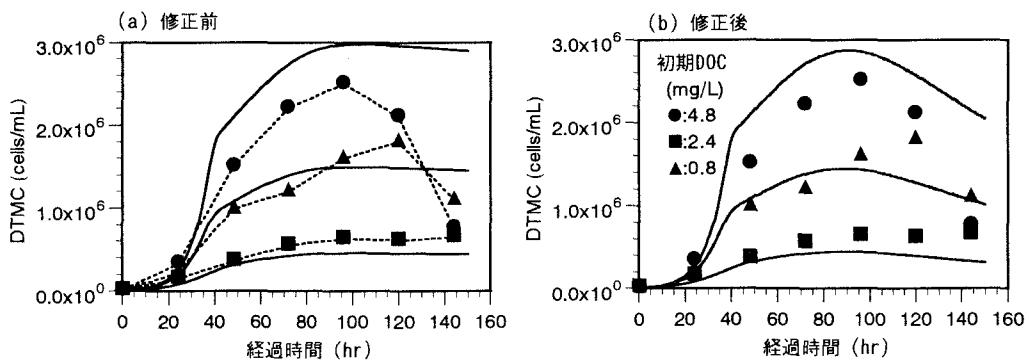


図-5 バクテリア増殖モデルのキャリブレーション

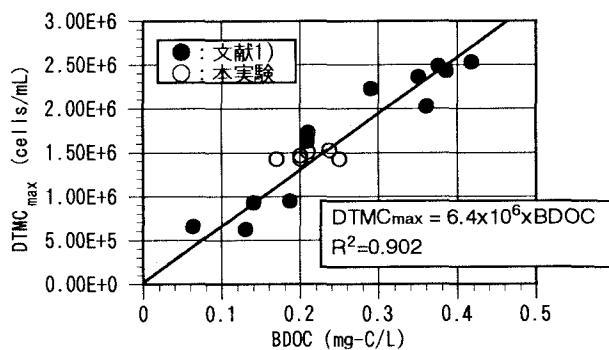


図-6 BDOCとDTMC_{max}の関係

測値を用い、S_sとX_sの初期値の和が実測BDOC値に対応するとした。なお、BDOC値のS_sとX_sの初期値への按分はそれぞれ1/2とした。サンプル1～14について計算結果と実測値を比較した結果を図-5(a)に示す。また、シミュレーションに用いた係数値を整理して表-2に示す。図-5(a)の比較結果より、シミュレーション結果はDTMCがピーク値を迎えた後の急激な菌数の減少をうまく記述できていないことがわかる。この菌数の減少を表現するために式(3)を次のように修正した：

$$\frac{dX_H}{dt} = \mu_{\max} \frac{S_s}{K_s + S_s} \cdot X_H - K_d X_H - K_a \frac{K_{ss}}{K_{ss} + S_s} X_H \quad (6)$$

この修正は、式(6)の最後の項にあるK_aの値をK_dの10倍に設定して菌数の急激な減少を表現できるようにしたものである。また、DTMCがピーク値となった後に急激な菌数の減少が生じることから、この菌数の減少を容易に分解する有機物が消費されてしまった後に生じると仮定し、容易に分解する有機物濃度をスイッチとした係数を用意した。このスイッチ関数は式(6)中のK_{ss}/(K_{ss}+S_s)項であり、K_{ss}値を小さく設定することにより、S_s=0の場合には1、S_s値がある程度大きい場合に0に近い値をとるようにしたものである。式(3)の代わりに式(6)を用いることにより、計算結果は図-5(b)のように改善する。

表-2 計算に使用したパラメータ値

μ_{\max} (hr ⁻¹)	K _S (mgC/L)	K _a (hr ⁻¹)	K _x (hr ⁻¹)
0.15	0.02	7.5x10 ⁻⁴	0.03
K _{xx} (-)	K _a (hr ⁻¹)	K _{Ss} (mgC/L)	
0.3	7.5x10 ⁻³	1.0x10 ⁻⁴	

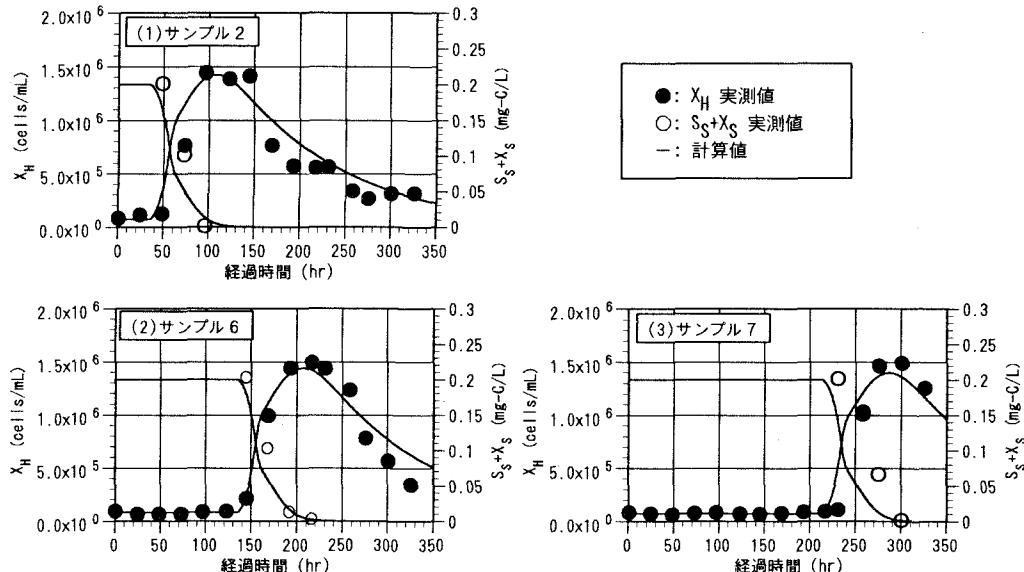


図-7 バクテリア増殖過程の計算結果と実測の比較

次に、式(4)～(6)と表-2のパラメータ値を塩素添加後のバクテリア増殖実測結果（サンプル2，6，7）に適用した結果を図-7に示す。これらの図では実測のバクテリア増殖開始時刻と計算開始時刻を一致させるように計算結果を表示している。図中のS_s+X_sの実測値は、初期値をBDOC値とし、実測TOC値の減少量をもとに定めたものである。計算結果と実測値の比較より、塩素添加後に観察されたバクテリア増殖パターンも塩素添加が無い場合と同様に計算可能であることがわかる。このことから、残留塩素濃度が検出限界以下になった後に観察されるバクテリア増殖と塩素無添加系におけるバクテリア増殖は同一のパターンであると近似することが可能であろう。

4. まとめ

再生水中における有機物、バクテリア、残留塩素の相互作用のうち、残留塩素とバクテリアの関係に注目し、下水処理場砂ろ過水を用いた室内実験により残留塩素濃度と全菌数の消長を測定した。本研究で得られた結果を以下にまとめる：

- (1) 塩素が残留している再生水にバクテリアを植種した場合、遊離、結合塩素濃度がともに検出限界以下になった後、バクテリアの増殖が観察された。
- (2) 結合塩素消失後のバクテリア増殖において、観察された最大菌数は初期残留塩素濃度によらず一定であったことから、塩素添加量の調整でバクテリア増殖の時間を制御することができるが、増殖量そのものを制

御することは難しいことが示された。

(3)遊離塩素濃度の減少過程は一次反応モデルにより記述可能であった。一方、結合塩素については二段階の一次反応モデルを用いる必要があった。再生水中における残留塩素濃度変化に関しては反応前後の有機物、塩素、窒素成分の収支を含めた今後の検討が必要である。

(4)塩素無添加系の実験結果を用いて作成したバクテリアの増殖モデルを塩素添加系の結果に適用することができた。このことから、残留塩素濃度が検出限界以下になった後に観察されるバクテリア増殖は塩素無添加系のバクテリア増殖と同一パターンとあると近似できる。

【謝辞】

本研究を進めるにあたり、カリフォルニア大学土木・環境工学科 Takashi Asano 教授、本学眞柄泰基教授に大変貴重な議論をいただいた。記して謝意を表する。また、本研究は科学技術振興事業団の戦略的基礎研究推進事業（CREST）「質の利用を中心とした新しい都市水代謝システムの構築」（研究代表：渡辺義公教授）の援助を受けた。

REFERENCES

- 1) Dukan S., Levi Y., Piriou P., Guyon F., and Villon P.: Dynamic modelling of bacterial growth in drinking water networks. *Wat. Res.* 30(9), 1991-2002 (1996).
- 2) United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1992). *Control of Biofilm Growth in Drinking Water Distribution Systems*, EPA/625/R-92/001, Office of Research and Development, Washington, DC. USA.
- 3) Funamizu N., Kanno M., and Takakuwa T: Measurement of bacteria growth potential in a reclaimed water. *Water, Sanitation and Health, World Health Organization Water Series* vol.105, 281-286 (2000).
- 4) 日本下水道協会：下水道施設設計指針と解説，389(1994)
- 5) 日本分析化学会北海道支部編：水の分析 第3版，228 (1987)
- 6) Porter K.G. and Feig Y.S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora, *Limnol. Oceanogr.* 25(5), 943-948
- 7) Lyndon L., Gyürék L. and Finch G.R. (1998). Modeling water treatment chemical disinfection kinetics. *Journal of Environmental Engineering*, 124(9), 783-793
- 8) Henze M., Gujer W., Mino W., Matsuo T., Wentzel M and Marais G. (1995). Activated sludge model No.2. *IAWQ Scientific and Technology Report*.