

浸漬型付着生物膜内における細菌活性度の分布と 最大比反応速度定数の平均化モデルについて

京都大学工学部 寺島 泰 ○尾崎博明 陳光浩

1. はじめに

著者らは、生物膜による有機物と窒素の同時除去に関し、有機物酸化、硝化、脱窒反応に関与する各種細菌が膜全体に十分に混在するものとして数学モデルを展開してきた。¹⁾ 本研究では、細菌の種類等により膜を構造化しない上記のようなモデル化の妥当性について検討するために、生物膜深さ方向の他栄養性菌、硝化菌、脱窒菌の細菌密度とそれらの菌の活性度の分布状態を実験的に調べた。また、膜内における基質除去に関する動力式中で用いる膜密度と最大比反応速度定数については、実際には膜内において分布が存在すると考えられるが、深さ方向に平均化したそれらの値を用いて基質除去フラックスをもとめることの是非についても考究した。

2. 生物膜内における細菌の密度と活性度

2.1 実験装置と方法 浸漬型の回転円板を10枚装着した実験装置(円板直径15cm、回転速度13rpm、容量8ℓ)に酢酸と塩化アンモニウムを主成分とする人工下水を連続に流入させ、生物膜の培養を行った。約2カ月後、処理水質がほぼ安定し、 COD_{Cr} 、 NH_4-N 及びT-Nの除去率としてそれぞれ約90%、90%、60%の値を得た。その時点から、生物膜を支持体の一部から採取し、そのままマイクロスライサー(小松電気社製)により表面から5~20 μm の厚さずつスライスした。得られた膜片を表層部(表面から330 μm まで)、中層部(330~660 μm)と底層部(660~1067 μm)の3グループに分け、それぞれのグループを7.5分間ホモジナイズしたのち、各グループ中の他栄養性菌、硝化菌、脱窒菌を計数した。他栄養性菌の計数は、酢酸と酵母エキスを主成分とするAY培地²⁾を用いる10倍希釈平板培養法³⁾(30℃, 9日間)により、また、硝化菌と脱窒菌の計数は最確数法(MPN法)³⁾により行った。なお、培養条件は、アンモニア酸化菌が30℃, 30日間、亜硝酸酸化菌が30℃, 40日間、脱窒菌が30℃, 9日間とした。

各菌の計数を行うとともに、上記の3グループから一定量の試料を採取し、各グループごとに有機物酸化、硝化及び脱窒に関する回分実験を行い、それらの反応の最大比反応速度定数をもとめた。有機物酸化と硝化に関する回分実験は、前者では一定量の酢酸のみを、また後者では一定量の塩化アンモニウムと重炭酸塩のみを加えた反応液を、DOセンサーを備えた二つの反応器(容量102ml)にそれぞれ封入して密閉下で行った。なお、上記の3グループから採取できる試料が少ないため、これらの実験においては反応器中の COD_{Cr} や NH_4-N 濃度の経時変化を追跡するのではなく、DO濃度の経時変化を測定することにより、各反応の最大比反応速度定数をもとめた。これらの詳細と活性度のもとめ方については後述する。脱窒反応に関する回分実験では、試料とともに一定量の硝酸ナトリウムと十分量の酢酸のみを加えた反応液を容量150mlの反応器に封入し、窒素ガス曝気下で反応器中のT-Nの経時変化を測定し、脱窒反応の最大比反応速度定数をもとめた。各実験終了後、反応器中のMLSSを測定した。なお、上記の回分実験はすべて20℃の恒温室で行った。

2.2 結果と考察 (A) 生物膜内の細菌数分布と膜密度

生物膜内における他栄養性菌、アンモニア酸化菌、亜硝酸菌及び脱窒菌の膜深さ方向の細菌数の分布状態を図-1に示す。これらの細菌数は最適条件で培養したものであり、生物膜内における潜在的細菌数を示したものである。この図において、他栄養性

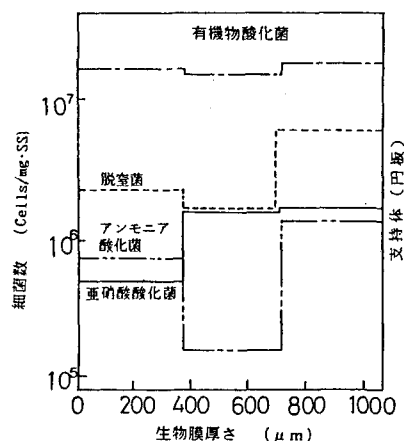


図-1 膜深さ方向における各種細菌数分布

菌は膜全体にほぼ均一に存在しているが、亜硝酸菌と脱窒菌は膜底層部ほど多く、一方、アンモニア酸化菌は中層部においてやや少ない。また、全体としては各菌とも底層部において最も多い。いずれにしても、膜全体において各菌は十分に混在しており、浸漬型の付着生物膜においては膜内のあらゆる部分で有機物と窒素の除去反応が生じる可能性があることが明らかとなった。この点において、著者らが展開してきたモデル（前述）は妥当であると言える。また膜密度の分布については、図-2に示すように底層部ほど値が若干大きくなり、膜の構造が緻密な状態となる傾向を示した。

(B) 最大比反応速度定数と細菌活性度 上記回分実験における有機物酸化、硝化反応にともなうDOの経時変化、あるいは脱窒反応にともなう T-Nの経時変化よりもとめた各反応の最大

比反応速度定数を表-1に示す。ここで、有機物酸化、硝化の最大比反応速度定数は、DOの経時変化よりもとめた最大比酸化速度定数にそれぞれ0.56 (mgO₂/mgCOD) の変換係数、あるいは4.33 (mgO₂/mgN) の理論値を乗じてもとめた。また、得られた最大

比反応速度定数を膜の表層、中層、底層部における有機物酸化菌、硝化菌あるいは脱窒菌の生菌数で除することにより、各菌のそれぞれの層における活性度をもとめた。なお、硝化菌の生菌数はアンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌を平均した。得られた結果を表-2に示す。この結果より、有機物酸化菌の活性度については、表層部と中層部においてほとんど同じであるが、底層部のそれは比較的小さく、硝化菌の活性度は表層部ほど高いことがわかる。一方、脱窒菌の活性度は中層部において比較的高い結果となった。これは必ずしも

予想と合致するものではないが、実験時において生物膜深さ方向における中層部のDO濃度が底層部のそれと同様に低く、また液本体から流入する有機物が底部より中層部に多く存在し、脱窒反応が十分に進行する環境条件が整っていたためと推察される。ただし、底部の方が脱窒菌数が多いため、表-1に示したように脱窒反応自体は底層部の方がよく進んでいる。

3. 細菌密度と最大比反応速度の平均化

上記のように、膜内における細菌の密度と最大比反応速度定数には深さ方向に分布が存在するため、基質除去動力学式においてもそれを考慮する方が、より精緻であるといえる。しかしながらこのモデルは非常に複雑であり実際には用いにくい。ここでは、これらの値を膜表面から底まで深さ方向に平均化し、基質除去フラックスの計算に用いる方法について検討した。

各反応の動力学式において、最大比反応速度定数以外のパラメータ値が膜全体において一定と仮定した場合、基質除去フラックスに関し下記の式が成立する。

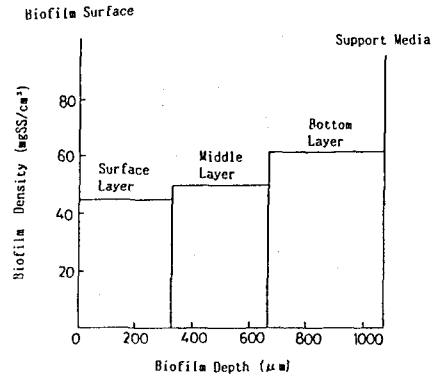


図-2 膜深さ方向における膜密度の分布

表-1 有機物酸化、硝化と脱窒の最大比反応速度定数

最大比反応速度定数 (mg/mgSS·day)	生物膜深さ (μm)			
	0~330	330~660	660~1067	全 膜
有機物酸化反応	3.99	3.46	2.57	3.28
硝化反応	0.139	0.130	0.100	0.13
脱窒反応	0.105	0.131	0.145	0.13

表-2 生物膜内における有機物酸化菌、硝化菌、脱窒菌の活性度

細菌活性度 (mg/cells·day)	生物膜深さ (μm)		
	0~330	330~660	660~1067
好気性従属栄養菌	2.1×10^{-7}	2.3×10^{-7}	1.1×10^{-7}
硝化菌	1.7×10^{-7}	1.2×10^{-7}	5.6×10^{-8}
脱窒菌	3.3×10^{-8}	5.2×10^{-8}	1.9×10^{-8}

$$\int_{L_r} K_{maxi} \cdot f_i \cdot X_{ri} \cdot d(L_r) = \int_{L_r} K_{maxa} \cdot f_i \cdot X_{ra} \cdot d(L_r) \quad (1)$$

ここで、 L_r ; 生物膜の厚さ (cm), K_{maxi} ; 膜内の任意区域における最大比反応速度定数 (day^{-1}), X_{ri} ; 膜内の任意区域における膜密度 (mgSS/cm^3), $f_i = C_i / (K_i + C_i)$, K_{maxa} ; 最大比反応速度定数を平均化した値 (day^{-1}), X_{ra} ; 膜密度を平均化した値 (mgSS/cm^3), である。

一方、膜密度を平均化した値 (X_{ra}) は下記の (2) 式でもとめることができる。

$$X_{ra} = \frac{\int_{L_r} X_{ri} \cdot d(L_r)}{\int_{L_r} d(L_r)} \quad (2)$$

上記の (1) 式と (2) 式より、最大比反応速度定数を平均化した値 (K_{maxa}) は下記の (3) 式でもとめることができる。

$$K_{maxa} = \frac{\int_{L_r} K_{maxi} \cdot X_{ri} \cdot d(L_r)}{\int_{L_r} X_{ra} \cdot d(L_r)} \quad (3)$$

X_{ra} と K_{maxa} を用いると、生物膜による基質除去フラックスをもとめる一般式は下記のように表わせる。

$$J_{sj} = \int_{L_r} K_{maxa} \cdot f_i \cdot X_{ra} \cdot d(L_r) \quad (4)$$

ここで、 J_{sj} ; 生物膜による j 種類基質の除去フラックス ($\text{mg}/\text{cm}^2 \cdot \text{day}$), である。

上記で得られた生物膜深さ方向における膜密度の分布と各反応の最大比反応速度定数の分布に関する実験結果を用いて、(2) 式と (3) 式によりこれら分布を平均化したのち、個々の計算値と膜全体のそれらの実測値との比較を行った。表-3に上記の計算値と実測値を示す。この表より両者はかなり一致しており、(1) 式誘導のための仮定のもとで、膜全体を用いて実測した膜密度と各反応の最大比反応速度定数を (4) 式に与えて基質除去フラックスをもとめることは、モデルの簡略化の面から妥当であると考えられる。

表-3 膜密度と各反応の最大比反応速度定数の平均に関する計算値と実測値との比較

名 称	計算値	実測値
膜密度 (mgSS/cm^3)	53.2	50.1
有機物酸化の最大比速度定数 ($\text{mgCOD}_{\text{or}}/\text{mgSS} \cdot \text{day}$)	3.25	3.28
硝化の最大比速度定数 ($\text{mgN}/\text{mgSS} \cdot \text{day}$)	0.12	0.13
脱窒の最大比速度定数 ($\text{mgN}/\text{mgSS} \cdot \text{day}$)	0.13	0.13

4. まとめ

①生物膜における各種細菌数は、膜深さ方向に均一ではなく分布が存在したが、各菌は十分に混在していることから、反応条件が整えば膜のいずれの部分でも有機物と窒素の除去が行われることが確認できた。

②各細菌の活性度は、DOの浸透深さに対応して分布している傾向が認められた。

③膜内基質除去動力学式のパラメータの内、最大比反応速度定数及び膜密度に関し、膜全体のそれらの実測値を用いて基質除去フラックスを予測することは、モデルの簡略化の面から妥当であると考えられる。

[参考文献] 1) Chen et al ; Wat. Sci.Tech., 21, 791 (1989)

2) 中村ら ; 第21回水質汚濁学会講演集, 21 (1987)

3) 土壤微生物研究会編 ; 土壤微生物実験法, 養賢堂 (1979)