

嫌気性廃水処理における微生物活性に関する基礎的研究

久場, 隆広
Graduate School of Engineering, Kyushu University

<https://doi.org/10.11501/3065507>

出版情報 : 九州大学, 1992, 博士 (工学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

第4節 細胞外バイオポリマーの抽出法に関する検討

4-1 細胞外バイオポリマーとは

生物学的廃水処理に関わる微生物フロック、生物膜、自己凝集汚泥の形成において細胞外バイオポリマーは重要な物質の一つである。細胞外バイオポリマーは、"生物細胞を破碎することなしに回収でき、また、それがなくとも生物は死に至らない細胞外の物質"^{15, 16}、と定義され、付着した微生物細胞間あるいは微生物細胞と担体・ろ材表面との間を橋かけする物質の総称である。さらには、微生物表層に見られる繊維構造体(鞭毛、線毛)¹⁷・夾膜¹⁸をも含むと考えられる。その細胞外バイオポリマーの主成分は多糖¹⁹・タンパク質²⁰・核酸²¹等であると言われている。このバイオポリマー量を決定するためには、まず微生物細胞から細胞質を漏出させたり、細胞壁を破壊することなしに細胞外バイオポリマーのみを剥離抽出しなければならない。その抽出法として、従来様々な方法が提案・検討されてきた^{16~24}。これらの抽出方法は、付着・凝集現象を生物学的に解明するために提案されたものであり、いくつかの複雑な抽出段階を必要とし、また、長時間を要する場合が多い。

本節では、嫌気性完全混合槽内でグルコースにより培養された汚泥を供試汚泥とし、細胞外バイオポリマーの簡便な抽出方法であるアルカリ抽出・熱水抽出・冷却抽出・水蒸気抽出の比較検討を行う。抽出された細胞外バイオポリマー量の指標として糖およびタンパク質濃度を比較する。また、細胞外バイオポリマー抽出後の微生物細胞の相対的な分散状態や相対的な細胞数を、顕微鏡観察により検討する。

さらに、細胞外バイオポリマーの抽出法として最も良いと考えられる方法を用いて、嫌気性流動床内の付着生物膜中の細胞外ポリマー量について検討する。

4-2 実験装置および方法

4-2-1 供試培養汚泥

下水処理場嫌気性中温消化槽汚泥を植種し、嫌気性完全混合反応槽(5l)内で約50日間培養した汚泥を供試汚泥とした。MLSS濃度は約3200mg/l、MLVSS濃度は約1800mg/lだった。表5-9に、投入基質組成および装置操作条件を示す。グルコース

表5-9 投入基質組成および装置操作条件

[基質組成]			
C ₆ H ₁₂ O ₆	10000*		
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700	MgCl ₂ ·6H ₂ O	810
KCl	750	MgSO ₄ ·7H ₂ O	250
NH ₄ Cl	850	CoCl ₂ ·6H ₂ O	18
FeCl ₃ ·6H ₂ O	420	CaCl ₂ ·2H ₂ O	150
NaHCO ₃	4000	K ₂ HPO ₄	4000
Yeast extract	100		[mg/l]
[装置操作条件]			
有効体積 [l]		5	
容積負荷 [g-COD/l/d]		1	
水理的滞留時間 [d]		10	
反応槽温度 [°C]		35±1	

* : [mg-COD/l]

を唯一の有機源とした基質を用い、1日1回基質を与えるFill&Draw方式により培養した。培養温度は35℃、水理的(汚泥)滞留時間は約10日、容積負荷は約1g-COD/l/dayである。

4-2-2 細胞外バイオポリマーの簡易抽出方法

図5-14に示す細胞外バイオポリマーの抽出操作にしたがい、以下のことを検討した。アルカリ抽出および熱水抽出、冷却抽出、水蒸気抽出による各抽出液中の糖およびタンパク質濃度について比較検討を行った。また、抽出操作後の微生物細胞の相対的な分散状態と相対的な細胞数を顕微鏡観察により比較した。これらの検討により、各操作により細胞外バイオポリマーが抽出されることによって細胞の分散性が向上しているか、または細胞が破壊され、細胞数が減少していない

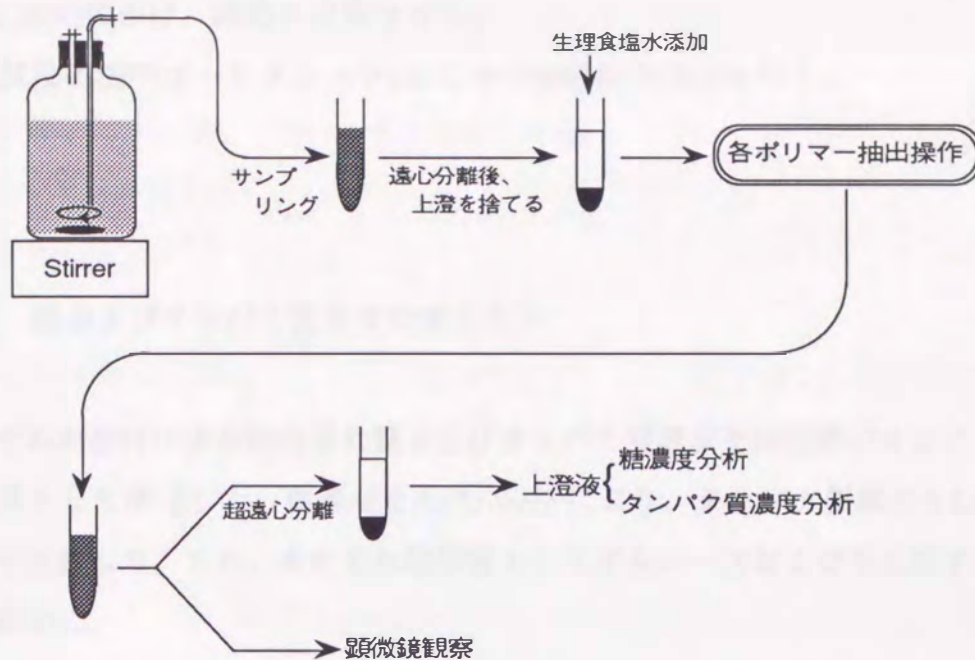


図5-14 細胞外バイオポリマーの抽出操作

かを検証した。顕微鏡観察の際は、ボルテックスミキサーでよく混合した懸濁液をスライドグラス上に数滴滴下し、乾燥・固定した塗抹サンプルを準備した。この塗抹サンプルを、Huckerのクリスタルバイオレットで1分間染色し、水洗・乾燥後、検鏡した²⁵⁾。

図5-14に示すように、反応器から採取した懸濁液5mlを遠心分離(2100×g、10分間)し、上澄を捨て、汚泥を生理食塩水5mlに再懸濁させた。この汚泥を用い、各抽出操作を以下のように行った後、超遠心分離(10000×g、30分間)した上澄を抽出液とした。

- (1)アルカリ抽出法²³⁾:約1% W/Vになるように37%ホルムアルデヒド溶液0.15mlを添加し、攪拌後、室温で約15分間静置する。1N NaOHを2ml添加し、所定の時間(1分あるいは3分、5分間)氷冷下で超音波分散装置(25W)にかけ、細胞を分散させた後、1N HClで中和する。
- (2)熱水抽出法²³⁾:約0.2% W/Vになるように37%ホルムアルデヒド溶液0.03mlを添加し、沸騰水中で15分間攪拌する。
- (3)冷却抽出法²³⁾:約0.2% W/Vになるように37%ホルムアルデヒド溶液0.03mlを添

加し、攪拌した後、所定の時間(1分あるいは3分、5分間)氷冷下で超音波分散装置(25W)にかけ、細胞を分散させる。

(4)水蒸気抽出法²⁴⁾:オートクレーブ110℃中で60分間の抽出を行う。

4-2-3 糖およびタンパク質濃度の測定方法

それぞれの操作による抽出液の糖およびタンパク質濃度を細胞外バイオポリマーの指標として測定した。糖濃度をAnthrone法により、タンパク質濃度をLowry法により定量した。また、それぞれ標準液としてグルコースおよび牛血清アルブミンを用いた。

4-3 細胞外バイオポリマーの簡易抽出法に関する検討

4-3-1 タンパク質変性剤の比色定量への影響

(1)糖濃度測定

抽出操作において添加するホルムアルデヒドは、糖濃度分析上の阻害物質である。そのため、各抽出液2mlを試験管にとり、一旦全ての水分を気化させることにより、ホルムアルデヒドを除去した後、蒸留水2mlを加えて分析を行うことを試みた。

標準液(グルコース、0~50mg/l)を用いて、上記の操作による定量的な影響を調べたところ、操作の有無によらず両者の分析結果は一致した。したがって、この操作により糖濃度分析に影響を与えることなく、ホルムアルデヒド溶液の阻害を除去することが可能であると考えた。

(2)タンパク質濃度測定

糖濃度分析と同様に、ホルムアルデヒドは、Lowry法によるタンパク質濃度分析上の阻害物質である。図5-15に、標準液(牛血清アルブミン)にホルムアルデヒドを添加・無添加の場合の標準液濃度(0~150mg/l)と吸光度(750nm)の関係を示した。ホルムアルデヒドを添加した場合、約20%の発色阻害が起こった。

次に、完全混合槽内の汚泥の加水分解液をサンプルとして用い、ホルムアルデヒド添加の影響について調べた。図5-15に示したそれぞれの検量線を用いて、タンパク質濃度を求めたところ、両者の濃度に差がないことが確認された。したがって、ホルムアルデヒドを添加した標準液を用いて抽出液中のタンパク質濃度を測定できるものと考えた。

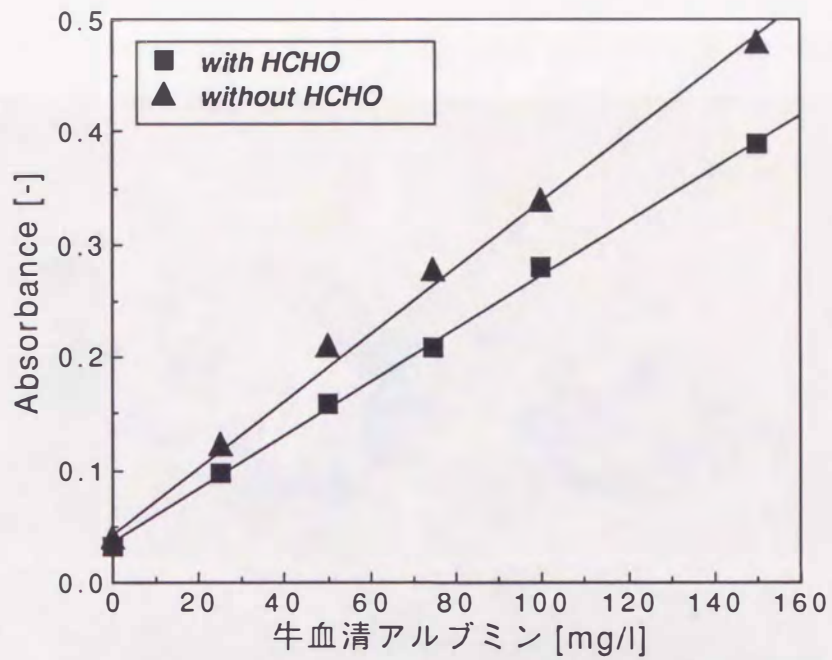


図5-15 ホルムアルデヒド(HCHO)を添加した場合と無添加の場合の標準液濃度と吸光度の関係

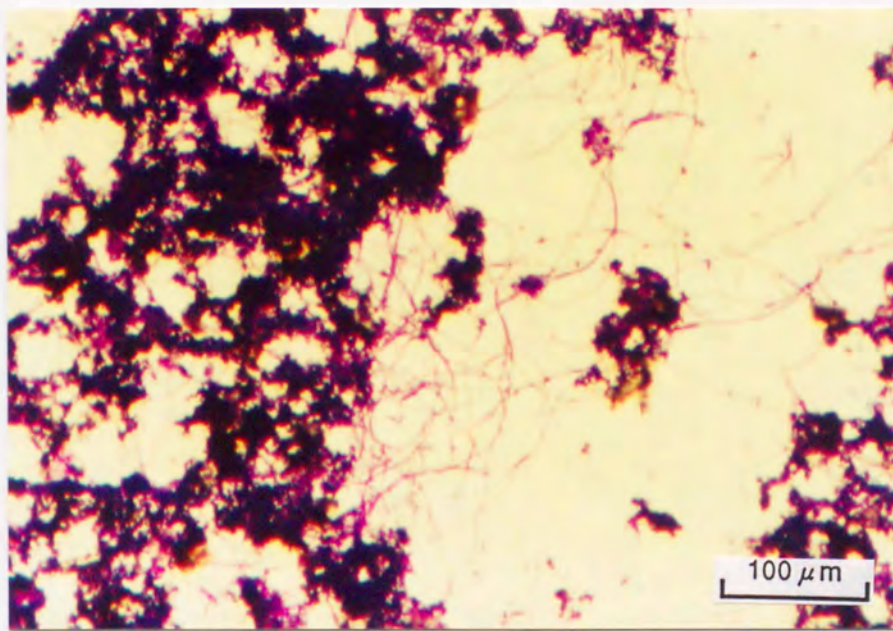


写真5-5(a) 細胞外バイオポリマー抽出前の汚泥の顕微鏡写真

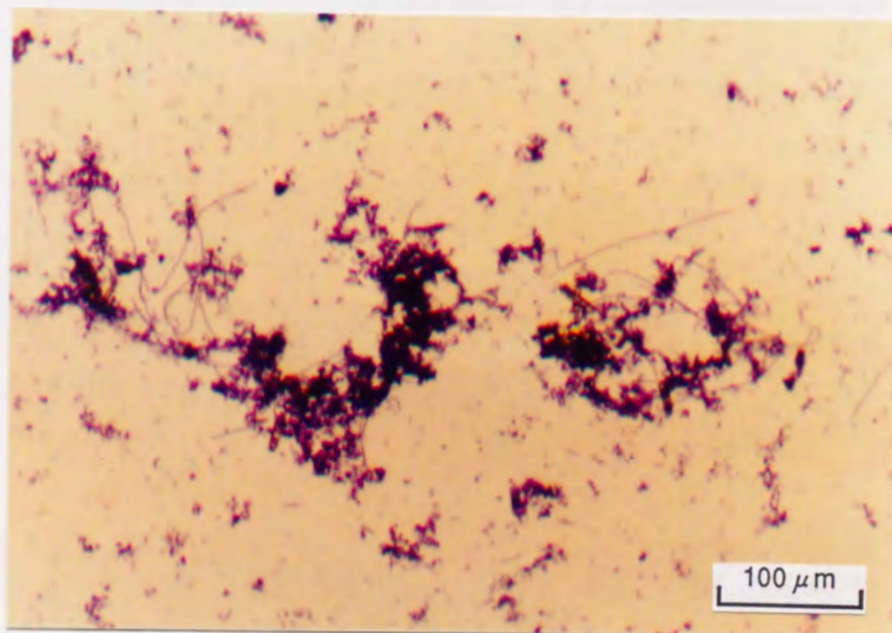


写真5-5(b) アルカリ抽出後の汚泥の顕微鏡写真

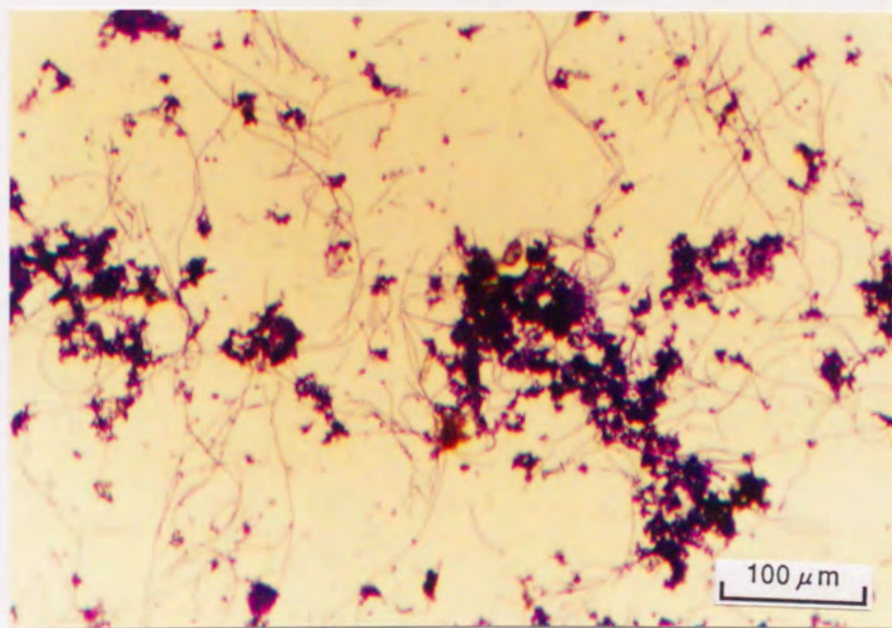


写真5-5(c) 熱水抽出後の汚泥の顕微鏡写真

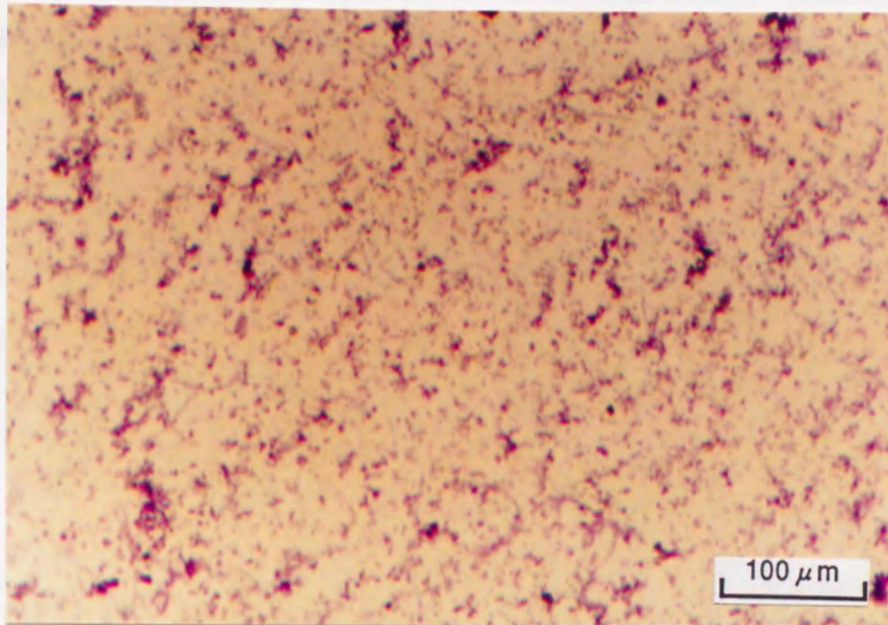


写真5-5(d) 冷却抽出後の汚泥の顕微鏡写真

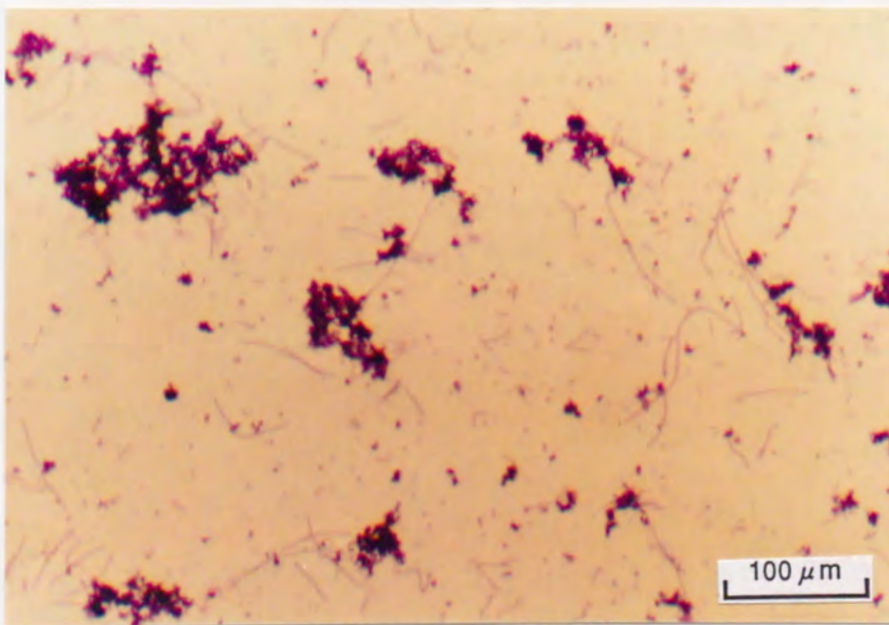


写真5-5(e) 水蒸気抽出後の汚泥の顕微鏡写真

4-3-2 微生物細胞の相対的な分散状態および細胞数の比較

写真5-5(a)に細胞外ポリマー抽出前の汚泥の顕微鏡写真を、写真5-5(b)~(e)に各抽出操作後の汚泥の顕微鏡写真を示す。顕微鏡観察から、冷却抽出(d)では、微生物細胞の分散が相対的に良いことが確認された。これは細胞外バイオポリマーが剥離し、その結果、微生物細胞が一様に分散したものと考えられる。アルカリ抽出(b)や熱水抽出(c)では分散が悪く、抽出前の汚泥(a)より相対的な細胞数も少なかった。また、水蒸気抽出(e)では相対的な細胞数が非常に少なく、抽出操作により細胞が破壊され、細胞質が漏出している可能性のあることが示唆された。

4-3-3 各抽出液中の糖・タンパク質濃度の比較

図5-16(a)、(b)に各抽出液中の糖(ECP-carbohydrate)およびタンパク質(ECP-Protein)濃度の比較を示す。また、表5-10に、各抽出操作後の相対的な分散状態および

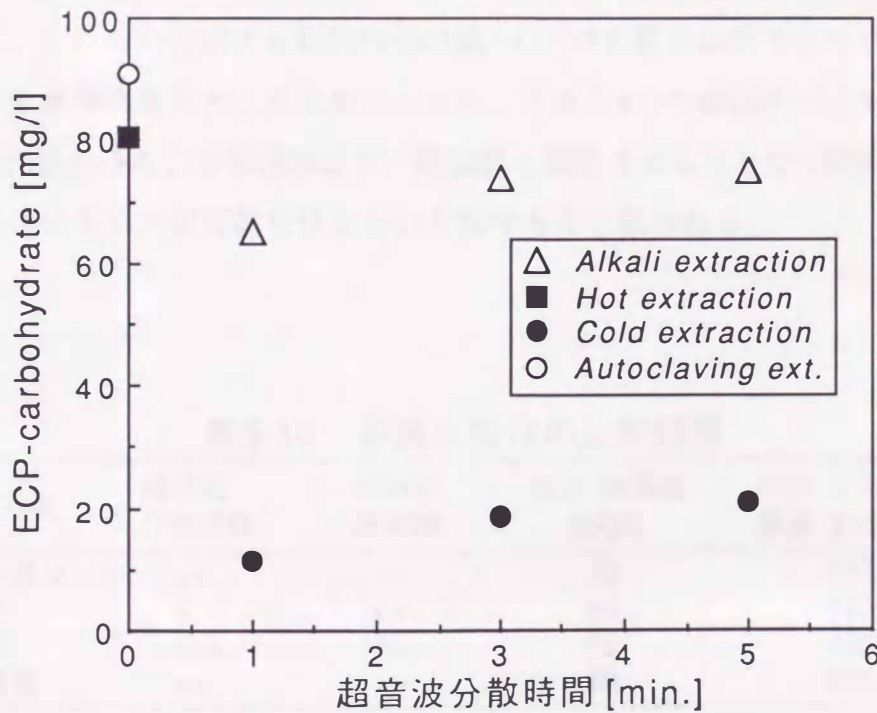


図5-16(a) 各抽出液中の糖濃度の比較

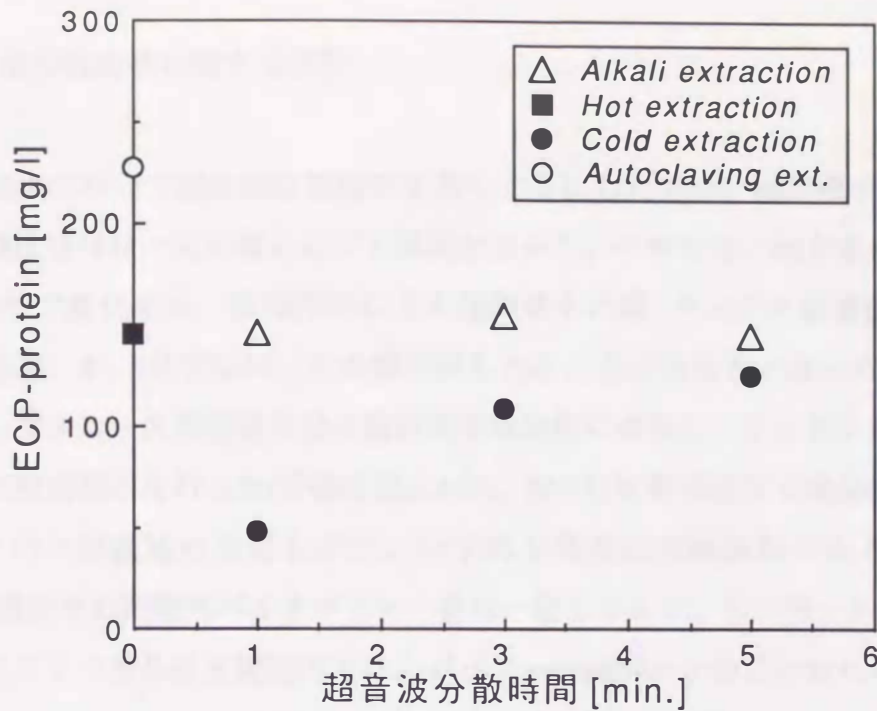


図5-16(b) 各抽出液中のタンパク質濃度の比較

び細胞数、抽出液中の糖濃度、タンパク質濃度の結果をまとめた。熱水抽出およびアルカリ抽出、水蒸気抽出では汚泥の分散状態が悪いにもかかわらず、糖・タンパク質濃度が高いことや、細胞数の減少が見られた水蒸気抽出で値が最も高いことから、これらの方法では細胞内部の糖・タンパク質も抽出されている可能性のあることが示唆された。以上のことから、これら4つの細胞外バイオポリマーの簡易抽出法のうち、冷却抽出法が、細胞質を漏出させることなく細胞外ポリマーを抽出させることが可能な最も良い方法であると思われる。

表5-10 各抽出操作の比較結果

抽出方法	相対的分散状態*	相対的細胞数	ECP-糖濃度 [mg/l]	ECP-タンパク質濃度 [mg/l]
(1)アルカリ	++	++	70	150
(2)熱水	+	++	80	145
(3)冷却	+++	+++	20	130
(4)水蒸気	++	+	90	225

*: +が多いほど、相対的な分散性が良いことを示す。

4-3-4 冷却抽出法に関する検討

冷却抽出において超音波分散時間を長くするにしたいが、抽出液中の糖・タンパク質濃度はほぼ一定の値に近づく傾向があった。そのため、超音波分散時間を0.5~10分に変化させ、冷却抽出による抽出液中の糖・タンパク質濃度の測定を行った結果、4~6分ではほぼ一定の値が得られることが明らかとなった。

次に、グルコース培養完全混合槽汚泥を数段階に希釈し、それぞれのサンプルに対して冷却抽出を行った(分散時間は4分)。図5-17に菌体濃度と冷却抽出液中の糖・タンパク質濃度の関係を示す。いずれも両者は直線関係にあり、菌体量(MLSS)当たりの細胞外バイオポリマー量は一定となった。したがって、MLSSで3000mg/l以下の菌体濃度範囲内では、ポリマーの抽出は十分に行われることが確認された。

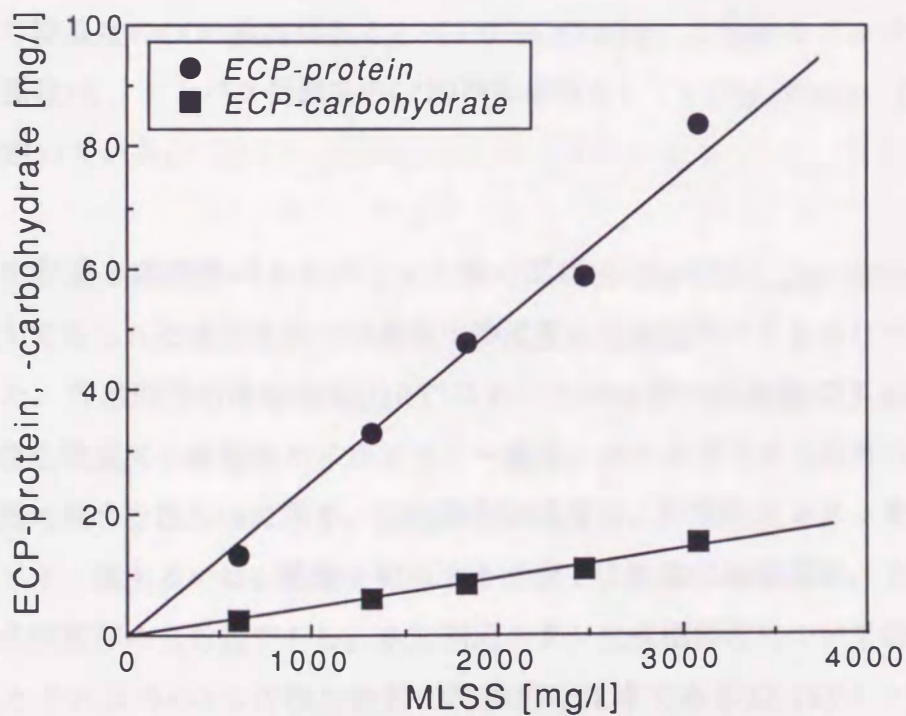


図5-17 冷却抽出液中の糖およびタンパク質濃度と菌体濃度との関係

4-4 嫌気性流動床内の付着生物膜中の細胞外バイオポリマー

本章第3節で述べたように、嫌気性流動床内の付着生物膜中には多量の不活性有機物が存在することが明らかとなった。一方、生物膜の形成において、細胞外バイオポリマーが重要な物質の一つであることも指摘されている^{16), 19), 26)}。今井ら^{27), 28)}は、同じ嫌気性流動床(担体も同様)で、同じ混合酸基質を用い、HRT=1日(容積負荷=1g-COD/l/d)で培養した付着生物膜に対して、冷却抽出法により測定した細胞外バイオポリマー量を報告している。この付着微生物量と細胞外バイオポリマー量の関係を用いて、ここでは、不活性有機物分の説明を試みた。

今井らは、付着微生物量と細胞外バイオポリマー量の関係を $0.06 \sim 0.08 \text{g-COD}_{\text{ECP}}/\text{g-VSS}$ である、と報告している。彼らは、細胞外バイオポリマーとして、冷却抽出による抽出液中の糖濃度(グルコース当量)とタンパク質濃度を測定しており、両濃度をCOD換算して、その合計値を求めている。その際、細胞外バイオポリマーの糖濃度のCOD換算係数として $1.07(\text{g-COD}/\text{g})$ 、理論的なグルコースのCOD換算係数)を、タンパク質濃度のCOD換算係数として $1.83(\text{g-COD}/\text{g})$ 、第4章第2節2-4)を用いている。

この微生物量と細胞外バイオポリマー量の関係($0.08 \text{g-COD}_{\text{ECP}}/\text{g-VSS}$)を用いて、本論文で得られた流動床内の付着微生物濃度から細胞外バイオポリマー濃度を推定した。各水理学的滞留時間(HRT)における付着VSS濃度(表5-8)に占める、活性微生物濃度と細胞外バイオポリマー濃度、バイオポリマー以外の不活性有機物濃度の割合を図5-18に示す。活性微生物濃度は、酢酸利用メタン生成細菌群、プロピオン酸あるいはn-酪酸を利用する水素生成酢酸生成細菌群、水素利用メタン生成細菌群の合計値である。水素利用メタン生成細菌群については、この微生物群とそれ以外の3つの微生物群の理論的な比率である22:188より計算した。図5-18から明らかなように、全ての不活性な有機分を細胞外バイオポリマー量のみで説明することはできなかった。細胞外バイオポリマーは、不活性有機物分の11~15%を占めているに過ぎなかった。この理由として、2つのことが考えられる。

第1の理由として、細胞外バイオポリマー中の有機分として糖とタンパク質しか評価していないことが挙げられる。そのほかの細胞外バイオポリマーの主成分として、核酸²¹⁾が報告されており、また、脂質も存在すると考えられる。しかしながら、細胞外バイオポリマー中の核酸と脂

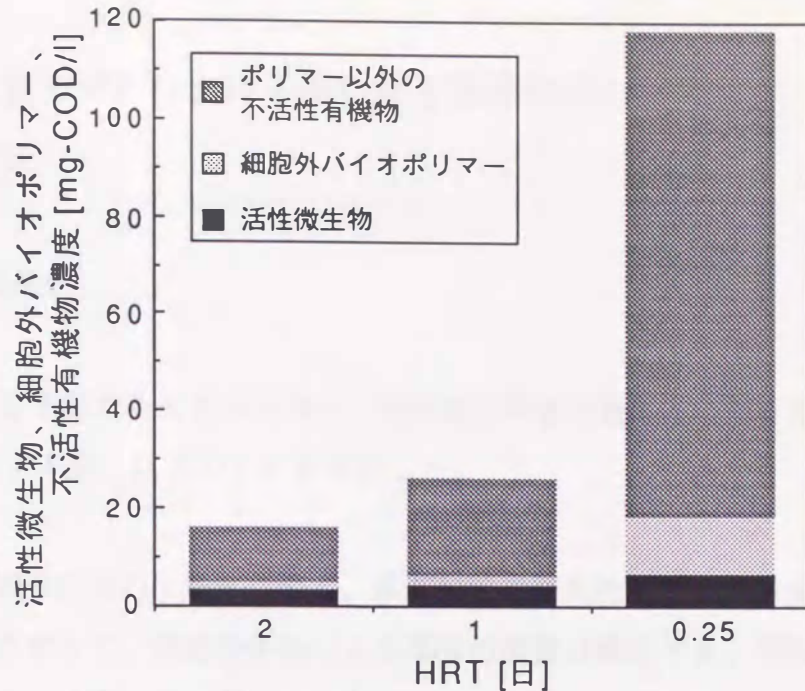


図5-18 各HRTにおける活性微生物濃度および不活性有機物濃度

質を考慮したとしても、約80%の不明な不活性有機分を説明することはできないであろう。

第2の理由として、生物膜内での死滅微生物の蓄積が考えられる。生物膜中には、上記の4つの微生物群のほかに硫酸還元菌群あるいは酵母エキスを分解する微生物群が存在しているが、基質組成(表5-9)から考えてこれらの微生物量は非常に低いと考えられる。また、死滅微生物を分解する微生物群の存在も考えられることから、その一部は分解・無機化されている。その微生物群の存在量は不明であるが、微生物細胞は高分子有機物であるため、その分解速度は非常に遅く、死滅微生物の大半は生物膜中に蓄積していると考えられる。付着生物膜あるいはグラニュール汚泥を形成している場合は、活性微生物のみならず不活性な物質も系外に排出されにくいために、付着微生物を利用した反応器において、この死滅微生物の蓄積は非常に重要であると考えられる。特に、生物膜が厚くなり、生物膜内で基質拡散律速となった場合、その深部に基質が到達せず、生物膜内部が不活性化することが予想される。また、これらの不活性な有機分を含む微生物量指標を用いた従来の研究において、基質消費活性を基礎として最大比増殖速度を求めている場合、この値はかなり小さく見積もられている可能性がある。

第5節 処理水質予測モデルにおける活性微生物量設定の妥当性の検証

5-1 モデル化と前提条件

本節では、処理水質を予測するモデルを用い、活性微生物量の重要性を明らかにする。モデルを構築する際、以下のことを仮定した。

- 1)水理的滞留時間(HRT)は非常に短く、浮遊状態で嫌気性微生物は増殖できない。したがって、浮遊微生物による基質の消費は無視でき、担体付着微生物のみにより基質は消費される。
- 2)実験期間中、各微生物群の比増殖速度定数は一定である。すなわち、基質は特定の優占種により消費されており、生物相の変化はないと仮定する。
- 3)付着微生物の消失は、死滅および担体からの剥離により生じる。ただし、死滅および剥離を分離して考えず、消失項として一括して取り扱う。また、HRTの変動に関係なく、この比消失速度は常に一定で、その消失速度は微生物量に比例する。
- 4)付着生物膜は薄く、生物膜内では基質拡散律速とならない。したがって、生物膜モデルでなく、完全混合槽モデルを用いることができる。

また、以下のことを前提条件とした。

- 1)流入量に比べ循環流量は非常に多く、流動床内の水質は均質である。
- 2)酢酸(HAc)利用メタン生成細菌、プロピオン酸(HPr)あるいはn-酪酸(n-HBu)を利用する水素生成酢酸生成細菌の3つの微生物群について考察を行う。
- 3)流動床の気相のガス組成分析から水素はほとんど検出されておらず、水

素生成メタン生成細菌群への水素による阻害はない。

4)循環液中の各基質度は低く、基質阻害のレベルに達していない。

式(32)～式(37)に各基質および各微生物群の物質収支を示す。

$$\begin{aligned} \frac{dS_a}{dt} &= [\text{流入}] - [\text{流出}] - [\text{消費}] + [\text{生成}] \\ &= \frac{S_{0a} - S_a}{\theta} - \frac{1}{Y_{xa}} \frac{\mu_{ma} S_a}{K_{sa} + S_a} X_a \\ &\quad + \frac{4}{7} (1 - Y_{xp}) \frac{1}{Y_{xp}} \frac{\mu_{mp} S_p}{K_{sp} + S_p} X_p + \frac{4}{5} (1 - Y_{xb}) \frac{1}{Y_{xb}} \frac{\mu_{mb} S_b}{K_{sb} + S_b} X_b \dots (32) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{dX_a}{dt} &= [\text{増殖}] - [\text{剥離}] - [\text{死滅}] = \frac{\mu_{ma} S_a}{K_{sa} + S_a} X_a - K_{(D)a} X_a - K_{(A)a} X_a \\ &= \frac{\mu_{ma} S_a}{K_{sa} + S_a} X_a - K_{(D+A)a} X_a \dots (33) \end{aligned}$$

$$\frac{dS_p}{dt} = [\text{流入}] - [\text{流出}] - [\text{消費}] = \frac{S_{0p} - S_p}{\theta} - \frac{1}{Y_{xp}} \frac{\mu_{mp} S_p}{K_{sp} + S_p} X_p \dots (34)$$

$$\frac{dX_p}{dt} = \frac{\mu_{mp} S_p}{K_{sp} + S_p} X_p - K_{(D+A)p} X_p \dots (35)$$

$$\frac{dS_b}{dt} = \frac{S_{0b} - S_b}{\theta} - \frac{1}{Y_{xb}} \frac{\mu_{mb} S_b}{K_{sb} + S_b} X_b \dots (36)$$

$$\frac{dX_b}{dt} = \frac{\mu_{mb} S_b}{K_{sb} + S_b} X_b - K_{(D+A)b} X_b \dots (37)$$

ただし、 S_i :基質濃度(mg-COD/l)、 X_i :微生物濃度(mg-COD/l)、 μ_{mi} :最大比増殖速度(1/day)、 K_{si} :飽和定数(mg-COD/l)、 Y_{xi} :増殖収率(g-COD/g-COD)、 $K_{(D)i}$:比死滅速度(1/day)、 $K_{(A)i}$:比剥離速度(1/day)、 $K_{(D+A)i}$:比消失速度(1/day)、 θ :HRT(day)、添字*i*:基質の種類(HAc;a、HPr;p、n-HBu;b)、添字0:流入濃度を示す。

流動床内の各付着微生物群の活性微生物濃度と増殖速度定数を用いて、これらの式について数値計算を行い、微生物濃度と基質濃度を求めた。表5-11に、数値

計算に用いた増殖速度定数および初期条件を示す。

表5-11 数値計算に用いた速度定数および初期条件

対象微生物	初期活性微生物濃度* X_{oi} [mg-COD/l]	最大比増殖速度 μ_{mi} [1/day]	飽和定数 K_{si} [mg-COD/l]	増殖収率 Y_{xi} [g-COD/g-COD]	比消失速度 $K_{(a+d)i}$ [1/day]
酢酸利用 メタン生成	540	0.26	20	0.05	0.12
HPrを利用する水素生成酢酸生成	370	0.19	20	0.05	0.05
HBuを利用する水素生成酢酸生成	390	0.60	130	0.05	0.04

*: HRT=0.5日変更時の活性微生物濃度

5-2 非定常下における処理応答性に対するモデルの適用

表5-11に示す条件を用いて、水理的滞留時間(HRT)が0.5、0.25日の期間の活性微生物濃度の増加、循環液中の基質濃度の増減を計算した。この計算結果と実験から得られた結果(図5-4)との比較を図5-19に示す。まず、HRT=0.5日開始時の活性微生物濃度を初期値として与えて数値計算を行い、HRT=0.25日において推定された活性微生物濃度と一致するように、各微生物群の比消失速度 $K_{(D+A)_i}$ を決定した(表5-11)。比消失速度は0.04~0.12(1/day)と推定され、流動床の付着微生物について、Furumaiら²⁹⁾が報告している $K_{(D+A)}=0.09(1/day)$ とほぼ一致していた。

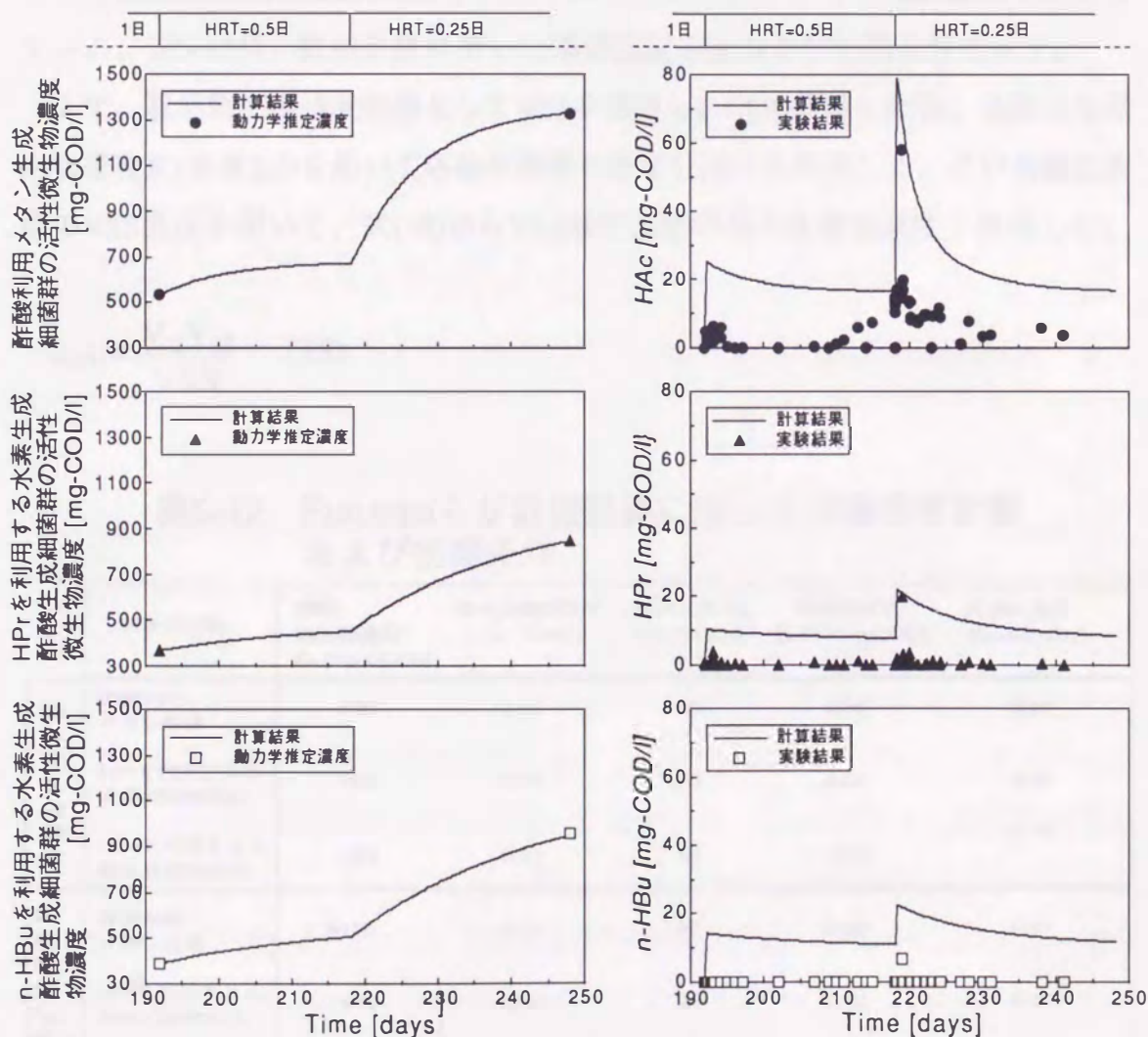


図5-19 流動床の連続運転における循環液中の基質濃度の実験結果と計算結果との比較

実験から得られた循環液中の基質濃度は、回分実験から推定された飽和定数 K_s 以下であった。式(32)~式(37)の形から判断して、低基質濃度の領域では飽和定数 K_s の影響により基質消費速度が低下してしまうために、各基質濃度の計算値は実測値よりも若干高めに推定された。

本論文と同様に嫌気性流動床を用いて、Furumaiら²⁹⁾は、負荷を急激に変化させる応答実験を行った結果を報告している。彼らは、HAcとHPr、n-HBuを混合した基質(COD濃度比で2:1:1)を用い、流動床を基質濃度1000mg-COD/lで長期間培養した後、基質濃度を4000mg-COD/lに急激に上昇させ、循環液中の各基質濃度の応答性を調べた。さらに、前述のモデルの微生物量指標として活性微生物量あるいは総括微生物量指標(VSS)を用いて数値計算を行い、この実験結果と比較している。表5-12に、数値計算に用いた増殖速度定数および初期条件を示す。

まず、総括微生物濃度指標としてVSSを測定し、COD換算した後、理論的な微生物濃度比(本章2-3)を用いて各微生物群の微生物濃度を決定した。この各微生物群のVSS濃度を用いて、式(38)からVSS濃度基準の最大比増殖速度を決定した。

$$\mu_{mi} = \frac{V_{si} Y_{xi}}{VSS_i} \dots (38)$$

表5-12 Furumaiらが数値計算に用いた増殖速度定数および初期条件

対象微生物		初期微生物濃度* X_0 [mg-COD/l]	最大比増殖速度 μ_m [1/day]	飽和定数 K_m [mg-COD/l]	増殖収率 Y_m [g-COD/g-COD]	比消失速度 $K_{(a+d)}$ [1/day]
活性微生物濃度	酢酸利用 メタン生成	530	0.26	20	0.05	0.09
	HPrを利用する水素生成酢酸生成	150	0.19	20	0.05	0.09
	HBuを利用する水素生成酢酸生成	190	0.60	90	0.05	0.09
総括微生物量VSS指標	酢酸利用 メタン生成	5100	0.11	20	0.20	0.01
	HPrを利用する水素生成酢酸生成	1470	0.08	20	0.20	0.01
	HBuを利用する水素生成酢酸生成	1470	0.30	90	0.20	0.01

*: 基質濃度を4000mg-COD/lに変更した際の微生物濃度

ただし、 μ_m :VSS濃度基準の最大比増殖速度(1/day)、 V_s :流動床本体回分実験から得られる最大基質消費速度(g-COD/l/day)、 Y_x :増殖収率(g-COD/g-COD)、VSS:実測したVSS濃度(g-COD/l)、添字*i*:基質の種類(HAc;a、HPr;p、n-HBu;b)を示す。

次に、本章3-3と同様に、本研究で得られた活性微生物濃度基準の最大比増殖速度を用いて、各微生物群の活性微生物濃度を式(39)から決定した。

$$X_{0i} = \frac{V_{si} Y_{xi}}{\mu_{mi}} \dots (39)$$

ただし、 X_0 :活性微生物濃度(g-COD/l)、 V_s :流動床本体回分実験から得られる最大基質消費速度(g-COD/l/day)、 μ_m :活性微生物濃度基準の最大比増殖速度(1/day)、 Y_x :増殖収率(g-COD/g-COD)、添字*i*:基質の種類(HAc;a、HPr;p、n-HBu;b)を示す。

すなわち、総括微生物量指標の場合は、実測のVSS濃度を用いて、式(38)から最大比増殖速度を決定しており、従来より行われてきた方法である。一方、活性微生物濃度の場合は、回分実験での基質消費活性を基にして得られた最大比増殖速度から、逆に微生物濃度を決定している。

VSS濃度あるいは活性微生物濃度を基準とした増殖速度定数を用いて数値計算を行った結果を図5-20に示す。図5-20の0時間において、基質濃度を1000mg-COD/lから4000mg-COD/lに上昇させた。VSS濃度を用いた場合、ピーク後の基質の消費傾向を表わすことができない。これは、初期微生物濃度を高く見積もり過ぎており、結果として最大比増殖速度を小さく見積もってしまうためである。そのため、初期微生物量に対して増殖微生物量が小さく、増殖に伴う基質消費速度の増加が軽減されてしまい、ピーク後の基質の消費傾向を表わすことができない。また、この数値計算では、各微生物群の増殖収率として0.05(g-COD/g-COD)ではなく、0.2を用いている。増殖収率として0.05を用いた場合、ピーク後の基質濃度はほとんど低下せず、全く実験結果と一致しなかった。嫌気性微生物について報告されている非常に高い増殖収率である0.2を与えたとしても³⁰⁾、総括的微生物

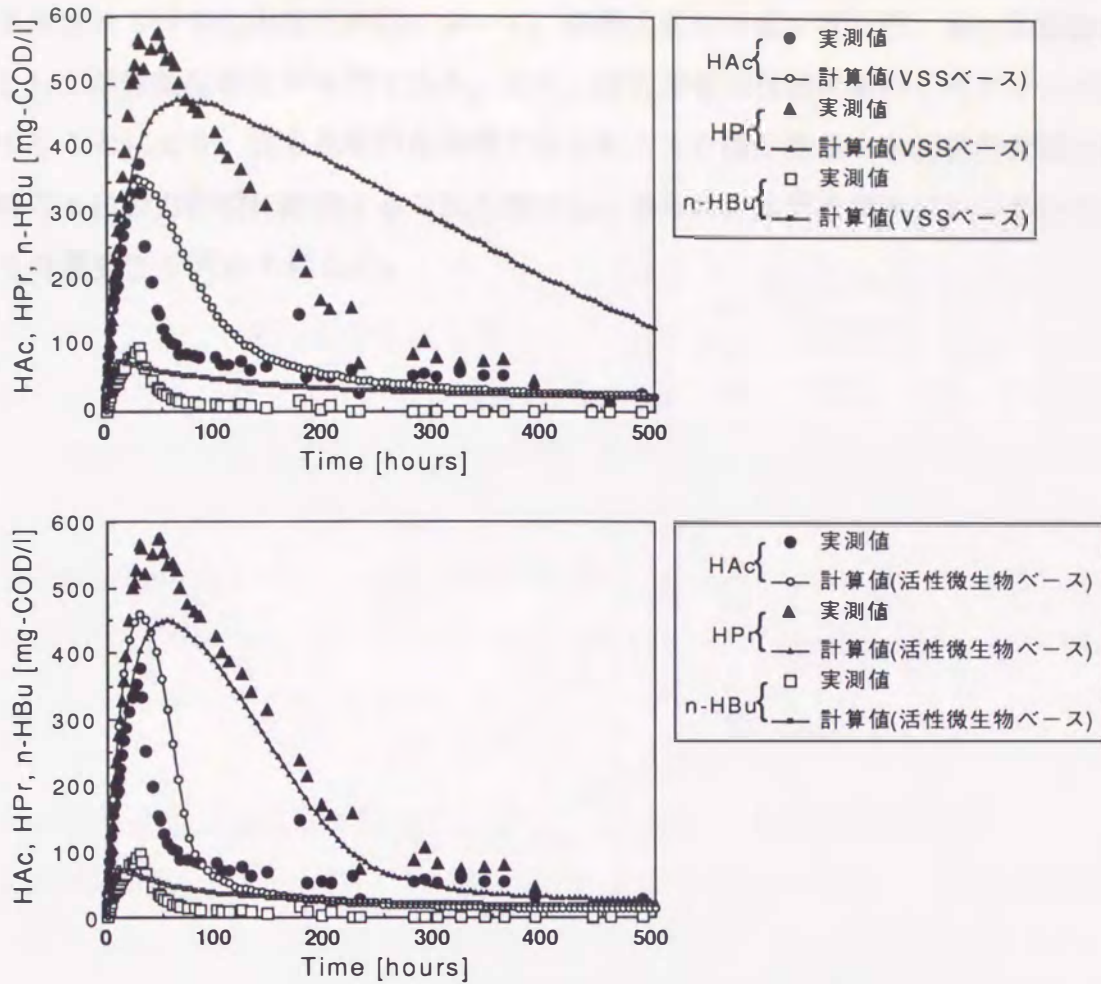


図5-20 流動床内循環液の基質濃度の
実験結果²⁹⁾と計算結果の比較

物量指標であるVSS濃度を用いる限り、基質濃度の増減傾向を表わすことができなかった。

一方、活性微生物濃度を基準とした増殖速度定数を用いた場合、ピークの位置に若干の違いはあるものの、VSS濃度を用いた場合に比べ、基質濃度の増減傾向を非常に良く表現できている。活性微生物濃度は動力的に決定される濃度であり、不活性物質を含まない濃度であるため、活性微生物濃度はVSS濃度よりもかなり低く、初期微生物量に対して増殖量が無視できない。そのため、各微生物群の増殖に伴い基質消費速度が急激に増加し、基質濃度の増減傾向を非常に良く表現できる。したがって、ここに示したような非定常条件下での水質予測モデルにおける微生物量指標として、活性微生物量が有効であることが明らかとなった。特に、不活性物質が流出しにくく、それが反応器内に多量に蓄積することが

予想される付着生物膜反応器において、処理水質の予測を行う際、微生物量指標として活性微生物量が有効である。また、消費基質の種類に着目してグループ化することにより、従来総括的な指標で扱われてきた微生物量を各基質消費微生物群ごとに動力学的に評価する方法を提示し、さらに、水質予測モデルにおいてのその重要性を明らかにした。

第6節 総括

本章では、反応槽内微生物の高濃度化の手段の一つである嫌気性流動床を用いて、連続運転実験からその処理特性を、回分実験から流動床内の付着微生物の増殖速度定数および活性微生物量を明らかにした。また、生物膜中に蓄積する不活性有機物質の一部を担っている細胞外バイオポリマーの抽出方法について検討し、最適な抽出方法を用いて測定された、流動床内の付着生物膜中の細胞外バイオポリマー量について検討した。さらに、処理水質を予測するモデルを構築し、活性微生物濃度およびVSS濃度を用いて数値計算を行い、非定常下で得られる基質濃度の応答データとの比較を行った。本章で得られた結果を列記すると以下のようである。

A)嫌気性流動床の処理特性および流動床内付着微生物の基質分解活性

- 1)嫌気性流動床はHRT=0.25日、容積負荷4g-COD/l/d程度でも十分良好な処理が可能である。負荷の段階的な増加に対しても、安定した処理が可能であった。
- 2)動力学的手法により流動床内付着生物膜中の活性微生物量を推定し、従来の総括的微生物量との比較を行ったところ、活性微生物量はVSS濃度の1割程度であり、生物膜中にはかなりの不活性有機物質が蓄積していることが示唆された。
- 3)走査型電子顕微鏡による観察から、Methanotrix属と思われる微生物が認められ、微生物以外の物質も確認された。特に、HRT=0.25日の条件下では、しっかりと生物膜が形成されていたが、その表面はポリマー様の物質で覆われており、その内部に連鎖状に連なった長桿菌が多数存在していた。

B)細胞外バイオポリマーの抽出法に関する検討

- 1)糖およびタンパク質濃度分析に対するタンパク質変成剤の阻害の影響を避けるために、糖濃度分析については水分を気化することにより、また、タンパク質濃度分析についてはタンパク質変成剤を添加した標準液を用いることにより、それぞれの濃度を定量可能である。

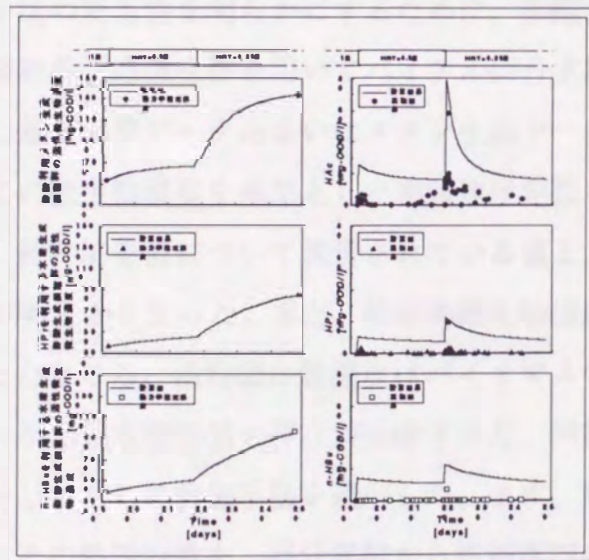
- 2)各抽出液中の糖・タンパク質濃度の測定より、汚泥の分散性が悪いにもかかわらず熱水抽出・アルカリ抽出・水蒸気抽出ではこれらの濃度が高いことが確認され、微生物細胞の破壊による細胞質の漏出の可能性が示唆された。
- 3)冷却抽出では、微生物細胞の分散が良い事が確認された。これは細胞外バイオポリマーが剥離抽出され、その結果、微生物細胞が一様に分散したものと考えられる。したがって、冷却抽出法が、細胞質を漏出させることなく細胞外ポリマーを抽出可能な最も良い方法であると判断された。また、分散時間は4~6分でほぼ一定の細胞外ポリマー濃度が得られることと、MLSSで3000mg/l以下の菌体濃度範囲内ではポリマーの抽出は十分に行われることも確認された。
- 4)嫌気性流動床内に形成される生物膜中の細胞外バイオポリマー量は不活性有機物質の1割程度であり、バイオポリマーのみでは全ての不活性物質を説明することはできなかった。このことは、生物膜を形成しているために、多量の死滅した微生物が生物膜内に蓄積していることを示唆していた。

C)処理水質予測モデルによる活性微生物量設定の妥当性の検証

- 1)剥離・死滅による付着活性微生物の消失速度は0.04~0.12(1/day)であると推定された。
- 2)微生物濃度としてVSSを用いた場合、処理水質予測モデルにより負荷の急激な増加後の基質濃度の増減傾向を表現できなかった。一方、活性微生物濃度を用いた場合、基質濃度のピークに若干の違いはあるものの、ピーク後の基質濃度の低下傾向を非常に良く表現することが可能であった。

以上のように、動力的推定手法および走査型電子顕微鏡観察から、付着生物膜中には多量の不活性有機物質が存在していることが明らかとなり、したがって、総括的微生物量指標を用いて最大比増殖速度を計算した場合、その値は非常に小さく見積もられることが予想される。実際に、非定常下での基質濃度の増減傾向をVSS濃度では表現できなかったが、活性微生物濃度を用いた場合、非常に良く表現可能であった。

第6章 結論



第6章 結論

本論文において、従来の総括的微生物濃度指標であるVSSやタンパク質濃度に代わる新しい指標として、“活性微生物濃度”という概念を提示し、嫌気性浮遊微生物および嫌気性付着微生物を供試微生物とし、その評価手法および実験手法を実験的に検証した。この活性微生物濃度を用いてバイオマス中の各微生物群や不活性物質の存在割合、さらに、水質予測のモデルを通して、新たな微生物濃度指標としての活性微生物濃度の有効性について、本論文は取りまとめたものである。その概略は以下のようである。

従来の総括的微生物濃度指標であるSS・VSS・タンパク質濃度に代わる活性微生物濃度を推定するための基礎式およびその適用条件を示した。この活性微生物濃度推定はその利用基質に着目し、その種類にしたがってそれぞれの微生物量を動力学的に推定するものである。この活性微生物濃度を推定するためにバイアル回分実験を行う必要があり、この実験手法の有効性についても明らかにした。活性微生物濃度の評価手法の妥当性を明らかにするために、酢酸あるいはプロピオン酸を基質とした集積培養浮遊微生物を用いてバイアル回分実験を行った。この回分実験から得られた基質消費データあるいはメタン生成データを使い、活性微生物濃度を推定し、この微生物濃度を基準とした増殖速度定数を求めた。推定された増殖速度定数は、純粋培養菌について報告されている値と大きな違いはなく、この手法の妥当性が明らかとなった。また、総括的微生物濃度指標と活性微生物濃度との比較を行ったところ、活性微生物濃度はバイオマスの3~6割り程度を占めているに過ぎず、不活性有機物質の存在が示唆された。同様に、嫌気性流動床内の付着微生物に対してもこの評価手法を適用した。まず、嫌気性流動床を用いた連続運転実験からその処理特性を、回分実験から流動床内の付着微生物の増殖速度定数および活性微生物濃度を明らかにした。付着生物膜中には多量の不活性有機物質の蓄積が認められ、その不活性有機物質の説明を試みるために、生物膜中の細胞外バイオポリマーの抽出方法について検討し、流動床内の付着生物膜中

の細胞外バイオポリマー量について検討した。活性微生物と細胞外バイオポリマーのみでは全てのバイオマスを説明できず、付着生物膜を形成している場合、多量の死滅微生物が反応槽内に蓄積している、と結論づけられた。さらに、処理水質を予測するモデルを構築し、活性微生物濃度およびVSS濃度を用いて数値計算を行い、非定常下で得られる基質濃度の応答データとの比較を行ったところ、非定常下での基質濃度の増減傾向をVSS濃度では表現できなかったが、活性微生物濃度を用いた場合、非常に良く表現可能であった。

本論文で得られた主要な結果は次の通りである。

第1章では、従来の微生物量指標の問題点、嫌気性廃水処理プロセスの問題点・研究課題、反応槽の性能や処理特性の解明を行う上での嫌気性微生物の動力的検討の必要性、さらに、本論文で取り上げる活性微生物濃度という概念の重要性について述べた。

第2章では、嫌気性廃水処理の歴史的変遷と嫌気性廃水処理に関する既往の研究について、文献により検討した。

第3章では、従来の総括的微生物量指標に代わる活性微生物量を推定するための基礎式およびその適用条件を示した。本章で得られた主要な成果を列記すると、以下のようなものである。

1) 回分実験から得られる任意の反応時間と基質濃度あるいは代謝産物濃度を与えることにより、Monod式を基礎とした活性微生物量推定式から活性微生物量を評価できる。 2) その際、初期基質濃度が飽和定数よりも十分に大きいとし、また、実験条件として、初期微生物濃度を微生物増殖に比べ十分に低く設定する必要がある。 3) この評価法により推定される活性微生物量は、利用基質に着目したものであり、利用基質ごとの微生物量である。しかも、従来のように不活性物質を含み、さらにあらゆる微生物群種をも含んだ指標ではない。 4) 活性微生物量と同時に、活性微生物量を基礎とした最大比増殖速度も推定可能である。

第4章では、活性微生物量推定のために行うバイアル回分実験手法について検討した後、酢酸あるいはプロピオン酸を基質とした集積培養微生物を用いてバイアル回分実験を行った。この実験から得られた基質消費データあるいはメタン生成データを使い、活性微生物濃度を推定し、この活性微生物濃度を基準とした最

大比増殖速度を求めた。本章で得られた結果を列記すると次のようである。

A) バイアル回分実験手法に関する検討

1)還元剤である硫化ナトリウムとシステインの添加・無添加により、微生物活性に違いが認められ、また、有機系の還元剤であるシステインを用いると、その分解によりメタン転換率は1.0を超える。 2)微生物が空気に触れないように全ての操作にシリンジを用い、また、希釈水としてバイアル中で遠心分離した懸濁液の上澄水を用いることにより、還元剤を添加しなくても簡単に実装置内と同じ嫌気的環境の設定が可能となる。 3)本バイアル実験手法はメタン生成活性の測定手法として有効で、かつ簡便な方法であり、その再現性も高い。 4)正確な生成メタンガス量を評価するには、サンプリングによる気相体積の増減や溶存メタン量を考慮する必要がある。これにより、COD収支からメタン生成細菌の増殖収率係数を推定することが可能である。

B) 酢酸を基質とした集積培養微生物中の活性微生物量の推定

1)集積培養された酢酸利用メタン生成細菌を用いて、微生物量推定手法の妥当性を検討したところ、希釈段階に応じた微生物濃度推定値が得られた。また、同時に推定される最大比増殖速度も純粋培養菌で報告された値と良く一致していた。

2)基質濃度変化だけでなく、生産物であるメタン蓄積量変化データからも活性微生物量の推定が可能であることが確認された。また、メタン生成細菌だけではなく、対象とする微生物群の電子供与体や受容体または生産物が共存する微生物群に対して特異的であり、その増殖収率さえ与えられれば、この手法は適用可能である。 3)微生物量指標の1つであるタンパク質濃度と推定された活性微生物濃度の比較から、完全混合槽内の集積培養浮遊微生物中にも不活性固形有機物が存在していることが示唆された。

C) プロピオン酸を基質とした集積培養微生物中の活性微生物量の推定

1)酢酸利用メタン生成菌群とプロピオン酸を利用する水素生成メタン生成細菌群の共存している系においても、プロピオン酸あるいは酢酸を単一基質として用いたバイアル回分実験を行うことにより、それぞれの微生物群の活性微生物量および最大比増殖速度を推定可能である。 2)それぞれの微生物群の活性微生物量および最大比増殖速度を用いて数値計算を行ったところ、プロピオン酸分解に伴って生成される酢酸の蓄積と、酢酸利用メタン生成細菌による酢酸の消費傾向を表現

することが可能であった。したがって、混合培養系の微生物処理予測モデルにおける微生物量指標として、ここで定義される"活性微生物量"が有効である。3) 従来から用いられてきた総括微生物量指標と推定された活性微生物濃度の比較から、完全混合槽内のプロピオン酸集積培養液中にも不活性有機物分が存在していることが示唆された。

第5章では、嫌気性流動床を用いて連続運転実験からその処理特性を、回分実験から流動床内の付着微生物の増殖速度定数および活性微生物量を明らかにした。また、生物膜の形成において重要な物質の一つであり、且つ、不活性有機物の一部を担っていると考えられる細胞外バイオポリマーの抽出方法について検討した。その最適な抽出方法を用いて測定された、流動床内の付着生物膜中の細胞外バイオポリマー量について検討した。さらに、処理水質を予測するモデルを用い、活性微生物濃度およびVSS濃度を用いて数値計算を行った上で、非定常下で得られる基質濃度の応答データとの比較を行った。本章で得られた結果を列記すると次のようである。

A)嫌気性流動床の処理特性および流動床内付着微生物の基質分解活性

1)嫌気性流動床は水理学的滞留時間0.25日、容積負荷4g-COD/l/d程度でも十分良好な処理が可能であり、負荷の段階的な増加に対しても、安定した処理が可能であった。2)流動床内付着生物膜中の活性微生物量を推定し、従来の総括的微生物量との比較を行ったところ、活性微生物量はVSS濃度の1割程度であり、生物膜中にはかなりの不活性有機物質が蓄積していることが示唆された。3)このことは、走査型電子顕微鏡によって微生物以外の物質が観察されたことから、確認された。特に、水理学的滞留時間0.25日の条件下では、生物膜の表面はポリマー様の物質で覆われており、その内部に連鎖状に連なった長桿菌が多数存在していた。

B)細胞外バイオポリマーの抽出方法に関する検討

1)糖およびタンパク質濃度分析に対するタンパク質変成剤の阻害の影響を避けるために、糖濃度分析については水分を気化することにより、また、タンパク質濃度分析についてはタンパク質変成剤を添加した標準液を用いることにより、それぞれの濃度を定量可能である。2)各抽出液中の糖・タンパク質濃度の測定結果より、汚泥の分散性が悪いにもかかわらず、熱水抽出・アルカリ抽出・水蒸気抽出

ではこれらの濃度が高いことが確認され、微生物細胞の破壊による細胞質の漏出の可能性が示唆された。3)抽出後の微生物細胞の分散性や相対的な細胞数、さらに糖・タンパク質濃度の比較から、冷却抽出法が、細胞質を漏出させることなく細胞外ポリマーを抽出可能な最も良い方法であると判断された。その際の分散時間は4~6分ではほぼ一定の細胞外ポリマー濃度が得られることと、MLSSで3000mg/l以下の菌体濃度範囲内ではポリマーの抽出は十分に行われることも確認された。4)嫌気性流動床内に形成される生物膜中の細胞外バイオポリマー量は不活性有機物質の1割程度であり、バイオポリマーのみでは全ての不活性物質を説明することはできなかった。このことは、多量の死滅微生物が生物膜内に蓄積していることを示唆している。

C)処理水質予測モデルによる活性微生物量設定の妥当性の検証

1)剥離・死滅による付着活性微生物の消失速度は0.04~0.12(1/day)であると推定された。2)微生物濃度としてVSSを用いた場合、負荷の急激な増加後の基質濃度の増減傾向を、処理水質予測モデルにより表現できなかった。一方、活性微生物濃度を用いた場合、基質濃度のピークに若干の違いはあるものの、ピーク後の基質濃度の低下傾向を非常に良く表現することが可能であった。このことは、非定常下での、混合培養系の水質予測モデルにおける微生物量指標として、ここで定義される活性微生物量が有効であることを示している。

以上で、本論文の結論とする。

謝辞

本論文は、九州大学大学院工学研究科水工土木学専攻下水工学研究室において、筆者が行ってきた研究成果をまとめたものである。本研究を遂行するにあたり、終始懇切に御指導、御助言を賜った九州大学工学部教授楠田哲也博士に深く感謝致します。また、当時九州大学工学部助教授であった古米弘明博士(現、茨城大学工学部)には、修士の大学院生として筆者が当研究室に配属されて以来、実験、研究方針等、多数の御指導、御助言を賜りました。ここに、厚くお礼申し上げます。さらに、研究成果のとりまとめにあたって、暖かい御配慮と御指導を頂きました九州大学工学部教授宗像健博士、平野宗夫博士に心から感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたって、当研究室大石京子助手、二渡了助手(現、工学部環境システムセンター)、森山克美博士、山西博幸助手にも多大の助力を受けました。今井剛氏を始め、当研究室の大学院生、学生諸氏、また、当研究室卒業生諸氏にも実験、計算等に御協力を頂きました。ここに、記して厚くお礼申し上げます。最後に、筆者が佐賀大学理工学部土木工学科水資源工学研究室在籍時、非常に御世話になった、同学部教授井前勝人博士、助教授古賀憲一博士(現、同学部教授)、助手荒木宏之博士(現、同学部助教授)にも深甚の謝意を表します。

記号説明

$K_{(D)}$:比死滅速度
$K_{(A)}$:比剥離速度
$K_{(D+A)}$:比消失速度
K_i	:阻害定数
K_s	:飽和定数
P	:生産物濃度
r	:希釈液による希釈率、あるいは、反復回分実験における2回目の 基質添加による希釈率
S	:基質濃度
t	:反応時間
V_s	:最大基質消費速度($=\mu_m X_0/Y_x$)
X	:微生物濃度
Y_p	:生産物収率($=0.35(1-Y_x)$)
Y_x	:増殖収率
μ	:比増殖速度
μ_m	:最大比増殖速度
ν	:比基質消費速度
添字0	:初期濃度あるいは流入濃度
添字1	:反復回分実験における1回目の基質添加
添字2	:反復回分実験における2回目の基質添加
添字a	:酢酸、あるいは、付着物
添字b	:酪酸
添字f	:反復回分実験における1回目の基質消費終了時
添字h	:水素

添字p	:プロピオン酸
添字z	:ゼオライト
COD	:化学的酸素要求量(Chemical Oxygen Demand、本論文では、理論的に、ある物質を全て酸化するために必要な酸素量を意味する)
ECP	:細胞外バイオポリマー(Extracellular Biopolymers)
HAc	:酢酸(Acetic Acid)
HBu	:プロピオン酸(Propionic Acid)
HPr	:酪酸(Butyric Acid)
HRT	:水理学的滞留時間(Hydraulic Retention Time)
MLSS、SS	:浮遊物質(Mixed Liquor Suspended Solids)
MLVSS、VSS	:有機性浮遊物質(Mixed Liquor Volatile Suspended Solids)
VFA	:揮発性脂肪酸(Volatile Fatty Acid)

参考文献

第2章

- 1) McCarty, P. L.: "One Hundred Years of Anaerobic Treatment", in: 'Hughes et al. Eds., Anaerobic Digestion 1981', Elsevier biomedical Press B.V., pp.3~22, 1982
- 2) 松井三郎、依田元之: "流動床式嫌気性廃水処理法", 水質汚濁研究, Vol.10, No.11, pp.24~28, 1987
- 3) 白井隆: "流動層", 科学技術社, pp.13~27, 1958
- 4) 環境技術研究会: "微生物による環境制御・管理技術マニュアル", pp.239~245
- 5) 稲森悠平、須藤隆一: "有機性排水の嫌気性処理の現状と今後の動向", 用水と廃水, Vol.25, No.10, pp.975~995, 1983
- 6) Henze, M., and Harremoës, P.: "Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors - A Literature Review-", in: 'Henze Eds., Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors', IAWPRC, Denmark, PERGAMON PRESS, pp.1~101, 1982
- 7) 野池達也: "嫌気性排水処理法の原理", 水質汚濁研究, Vol.10, No.11, pp.652~656, 1987
- 8) Harper, S., R., and Pohland F., G.: "Recent Developments in Management During Anaerobic Biological Wastewater Treatment (Biotechnology Report)", Biotechnology and Bioengineering, Vol.28, pp.585~602, 1986
- 9) Zinder, S., H.: "Conversion of Acetic Acid to Methane by Thermophiles", in: 'Hall Eds., Anaerobic Digestion 1988', IAWPRC, Italy, PERGAMON PRESS, pp.1~12, 1988
- 10) 古賀洋介、森井宏幸: "メタン生成菌の分類と生化学", 醗酵工学, Vol.64, No.2, pp.115~137, 1986
- 11) 古賀洋介、森井宏幸、西原正照: "メタン生成細菌の分離・培養法の実際", 醗酵工学, Vol.65, No.5, pp.419~430, 1987
- 12) 松山英俊: "嫌気性微生物の基礎", 水質汚濁研究, Vol.10, No.11, pp.647~

651、1987

13)山中健生:"無機物だけで生きてゆける細菌"、共立出版、pp.72~84、1987

14)古賀洋介:"古細菌"、東京大学出版会、pp.6~16、1988

第3章

1)Switzenbaum, M. S. and Eimstad, M. S.: "Analysis of Anaerobic Biofilms", Environmental Technology Letters, Vol.8, pp.21~32, 1987

2)Kuba, T., Furumai, H. and Kusuda, T.: "A Kinetic Study on Volatile Fatty Acids Decomposition in Anaerobic Fluidized Bed", Proc. of IAWPRC's Asian Workshop on Anaerobic Treatment, pp.(11-1)~(11-10), 1988

3)Knoewele, G.: "Determination of Kinetics for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture, with the Aids of an Electric Computer", J. Gen. Microbiology, Vol.38, pp.263~278, 1965

4)Young, S. T. and Okos, M. R.: "Kinetics and Mathematical Modeling of Methanogenesis of acetate Using Pure Cultures of methanogens", Biotechnology and Bioengineering, Vol.30, No.10, 1987

5)Gates, W. E. and Marlar, J. T.: "Graphical Analysis of Batch Culture Data Using the Monod Expressions", Journal WPCF, Vol.40, No.11, pp.R469~R476, 1968

6)Ong, S. L.: "Least Square Estimation of Batch Culture Kinetics Parameters", Biotechnology and Bioengineering, Vol.XXV, pp.2347~2358, 1983

7)Henze, M., and Harremoës, P.: "Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors -A Literature Review-", in:'Henze Eds., Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors', IAWPRC, Denmark, PERGAMON PRESS, pp.1~101, 1982

8)申錫雨、依田元之、渡辺敦、渡辺美和子、北川幹夫、宮地有正:"嫌気性流動床における付着微生物膜の動力学特性"、下水道協会誌、Vol.23、No.270、pp.47~55、1987

9)Furumai, H., Matsunaga, T., Futawatari, T. and Kusuda, T.: "Estimation of Nitrification

Activity in a Tidal River Sediment", Proc. of Second IAWPRC Asian Conference on "Water Pollution Control in Asia" (Panswad T., Polprasert C. and Yamamoto K. Eds.), Advances in Water Pollution Control, pp.81~87, 1988

第4章

- 1)丸山智裕、松井三郎、土屋之也:"嫌気性流動床によるキシロースの分解特性"、土木学会第43回年次学術講演会概要集II、pp.1000~1001、1988
- 2)外村雅生、原田秀樹、桃井清至:"UASB反応器培養グラニューール生物のメタン生成活性と補酵素F420の関係"、土木学会第43回年次学術講演会、pp.1066-1067、1988
- 3)Kuba, T., Furumai, H. and Kusuda, T.: "A Kinetic Study on Volatile Fatty Acid Decomposition in Anaerobic Fluidized Bed", Proceedings of IAWPRC's Asian Workshop on Anaerobic Treatment, pp.11(1)~(10), 1988
- 4)Miller, T. L. and Wolin M. J.: "A Serum Bottle Modification of Hungate Technique for Cultivating Obligate Anaerobes", Applied Microbiology, Vol.27, pp.985~987, 1974
- 5)Balch, W. E., Fox, G. E., Magrum, L. J., Woese, C. R. and Wolfe, R. S.: "Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group", Micro-biological Reviews, Vol.43, pp.260~296, 1979
- 6)古賀洋介、森井宏幸、西原正照:"メタン生成菌の分離・培養法の実際"、醗酵工学、Vol.65、pp.419~430、1987.
- 7)Yang, S. T. and Okos, M. R.: "Kinetic Study and Mathematical Modeling of Methanogenesis of Acetate Using Pure Culture of Methanogens", Biotechnology and Bioengineering, Vol.30, pp.661~667, 1987
- 8)Karhadkar, P. P., Jean-Marc Audic, Faup, G. M. and Khanna, P.: "Sulfide and Sulfate Inhibition of Methanogenesis", Water Research, Vol.21, 1061~1066, 1987
- 9)古米弘明、久場隆広、張満良、楠田哲也:"嫌気性微生物群の活性菌体量推定法とその応用"、第23回水質汚濁学会講演集、pp.185-186、1989

- 10)久場隆広、今井剛、古米弘明、楠田哲也:"嫌気性混合培養系における活性菌体量の評価方法に関する検討"、第26回下水道研究発表会講演集、pp.553~555、1989
- 11)本章第3節
- 12)張満良、古米弘明、楠田哲也:"嫌気性消化における硫酸還元菌の基質消費活性に関する実験的研究"、第26回下水道研究発表会講演集、pp.556~558、1989
- 13)Zehnder, A. J. B., Huser, B. A., Brock T. D. and Wuhrmann K.: "Characterization of an Acetate-Decarboxylating Non-Hydrogen-Oxidizing Methane Bacterium", Archives of Microbiology, Vol.124, pp.1~11, 1980
- 14)Huser, B. A., Wuhrmann, K. and Zehnder, A. J. B.: "Methanotrix soehngenii gen. nov. sp. nov. A New Acetotrophic Non-Hydrogen-Oxidizing Methane Bacterium", Archives of Microbiology, Vol.132, pp.1~9, 1982
- 15)McCarty, P. L.: "One hundred years of anaerobic treatment" in: 'Hughes et al. Eds., Anaerobic Digestion 1981', Elsevier Biomedical Press B.V., pp.3~22, 1981
- 16)Speece, R. E. and McCarty, P. L.: "Nutrient Requirements and Biological Solids Accumulation in Anaerobic Digestion" in 'Advances in Water Pollution Research', Proc. of 1st Int. Conference on Water Pollution Research, Vol.2, pp.305~322, 1964
- 17)柳田友道:"微生物化学 2(成長・増殖・増殖阻害)"、学会出版センター、p.259、1981
- 18)Speitel Jr., G. E. and DiGiano, F. A.: "Determination of Microbial Kinetic Co-efficients through Measurement of Initial Rates by Radiochemical Techniques", Water Research, Vol.22, No.7, pp.829~835, 1988
- 19)Gates, W. E. and Marlar, J. T.: "Graphical Analysis of Batch Culture Data Using the Monod Expressions", Journal WPCF, Vol.40, No.11, pp.R469~R476, 1965
- 20)Zehnder, A. J. B., Ingvorsen, K. and Marti, T.: "Microbiology of Methane Bacteria" in : 'Hughes et al. Eds., Anaerobic Digestion 1981', Elsevier Biomedical Press B.V., pp.45~68, 1981
- 21)張祖恩、野池達也、松本順一郎:"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、N0.320、pp.67~76、1982
- 22)張祖恩、野池達也、松本順一郎:"嫌気性消化のメタン生成相に及ぼすpHの影響

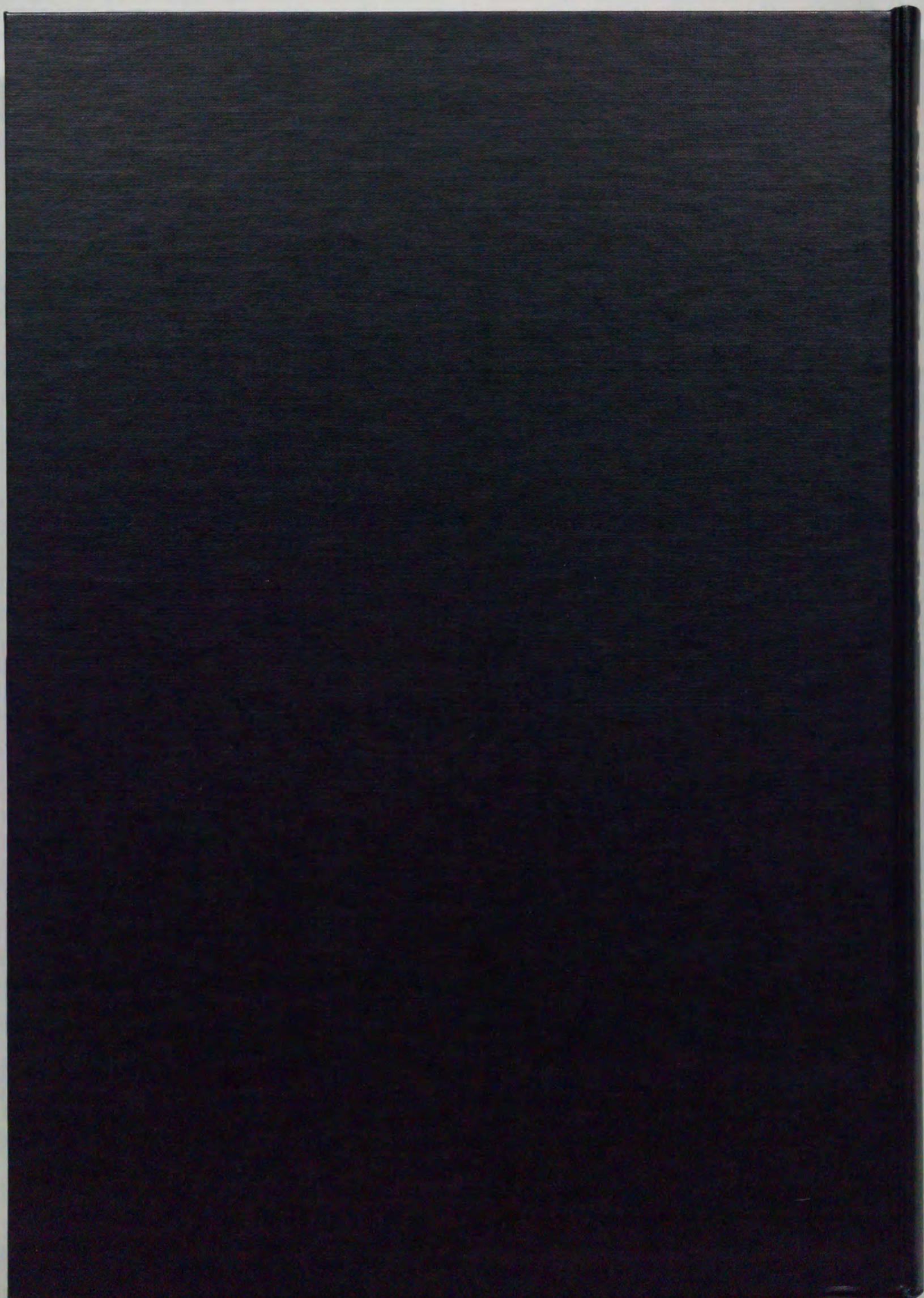
- "、土木学会論文報告集、N0.333、pp.101~108、1983
- 23)張祖恩、野池達也、松本順一郎:"嫌気性消化のメタン生成相における混合基質の利用特性"、土木学会論文報告集、N0.335、pp.79~87、1983
- 24)Lawrence, A. W. and McCarty, P. L.:"Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment", Journal WPCF, Vol.41, No.2, pp.R1~R17, 1969
- 25)Gujer, W. and Zehnder, A. J. B.:"Conversion Processes in Anaerobic Digestion", Water Science & Technology, Vol.15, pp.127~167, 1983
- 26)McCarty, P. and L.Smith, D. P. : "Anaerobic Wastewater Treatment", Environmental Science Technology, Vol.20, No.12, 1986
- 27)Smith, D. P. and McCarty, P. L.:"Energetic and Rate Effects on Methanogenesis of Ethanol and Propionate in Perturbed CSTRs", Biotechnology & Bioengineering, Vol.34, pp.39~54, 1989

第5章

- 1)Heijnen, J. J., van Loosdrecht, M. C. M., Mulder A. and Tjihuis L.:"Formation of Biofilms in a Biofilm Air-lift Suspension Reactors", IAWPRC, Water Quality International '92, Part 2, Washington DC, pp.647~654, 1992
- 2)松井三郎、依田元之:"流動床式嫌気性廃水処理法"、水質汚濁研究、Vol.10、No.11、pp.24~27、1987
- 3)Yoda, M., Shin, S. W., Watanabe, M., Kitagawa, M. and Miyaji, Y.:"Anaerobic Fluidized Bed Treatment with a Steady-state Biofilm", Water Science & Technology, Vol.19, Rio, pp.287~298, 1987
- 4)申錫雨、依田元之、渡辺敦、渡辺美和子、北川幹夫、宮地有正:"嫌気性流動床における付着微生物膜の動力学特性"、下水道協会誌、Vol.23、No.270、pp.47~55、1987
- 5)APHA:"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 16th edition, American public health association, Washington D.C., 1985

- 6) 田中敬一: "医学・生物学領域の走査電子顕微鏡技術"、講談社サイエンティフィック、1992
- 7) Switzenbaum, M. S and Eimstad, R. B.: "Analysis of Anaerobic Biofilms", Environ. Technol. Lett., vol.8, pp.21~32, 1987
- 8) 古米弘明、松本明人、松本順一郎: "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、Vol.24、No.280、pp.25~34、1987
- 9) Lawrence, A. W. and McCarty, P. L.: "Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment", Journal WPCF, Vol.41, No.2, pp.R1~R17, 1969
- 10) Chiu-Yue, L., Sato, K., Noike, T. and Matsumoto, J.: "Methanogenic Digestion Using Mixed Substrate of Acetic, Propionic and Butyric Acids", Water Resarch, Vol.20, N0.3, pp.385~394, 1986
- 11) Zehnder, A. J. B., Ingvorsen, K. and Marti, T.: "Microbiology of Methane Bacteria", in: 'Huges et al. Eds, Anaerobic Digestion 1981', Elsevier Biochemical Press B.V., pp45~68, 1981
- 12) Harremoës, P.: "Biofilm Kinetics", in: 'Mitchell Eds., Water Pollution Microbiology', Vol.2, John Wiley & Sons, pp.71~109, 1978
- 13) McCarty, P. and L. Smith, D. P.: "Anaerobic Wastewater Treatment", Environmental Science Technology, Vol.20, No.12, 1986
- 14) Smith, D. P. and McCarty, P. L.: "Energetic and Rate Effects on Methanogenesis of Ethanol and Propionate in Perturbed CSTRs", Biotechnology & Bioengineering, Vol.34, pp.39~54, 1989
- 15) Gehr, R. and Henry, J. G.: "Removal of Extracellular Material: Techniques and Pitfalls", Water Research, Vol.17, pp.1743~1748, 1983
- 16) 小泉淳一: "細胞外バイオポリマーの機能と利用; バイオフィロキュラントとバイオサーファクタント"、微生物、Vol.5、pp.546~541, 1989
- 17) 森崎久雄、服部黎子: "界面と微生物"、p.29、学会出版センター、1986
- 18) 有馬啓、田村学造: "生物による環境浄化"、p.3、東京大学出版界、1980
- 19) Morgan, J. W., Foster, C. F. and Evison, L.: "A Comparative Study of the Nature of Biopolymers Extracted from Anaerobic and Activated Sludges. Water Research", Vol.24, pp.743~750, 1990

- 20)西川正三、栗山光央:"活性汚泥中の粘質物成分としての核酸"、*醸工*、Vol.52、pp.335~338、1974
- 21)小林民枝、桃井清至、末吉裕紀:"好気性及び嫌気性微生物群から抽出した細胞外ポリマーの凝集能"、*土木学会第46回年次学術講演会概要集II*、pp.338~339、1991
- 22)高橋忠正、本多和彦、森山清、小林豊:"熱水抽出法による細胞外高分子物質 (Extracellular polymers)の抽出と組成について"、*第28回下水道研究発表会講演集*、pp.379~381、1991
- 23)Sutherland, I. W. and Wilkinson J. F.:"Chemical Extraction Methods of Microbial Cells", *Methods in microbiology*, Vol. 5B, Chapter IV, Academic press, London and New York, 1971
- 24)大橋晶良、原田秀樹、桃井清至: "生物膜の生長過程と剥離に関する実験的研究"、*衛生工学研究論文集*、Vol.25、pp.209~220、1989
- 25)Biological Stain Commission編:"Staining Procedures"(第4版)、藤田企画出版株式会社、pp.295~298、1985
- 26)小林民枝、原田秀樹、桃井清至:"微生物凝集に及ぼす細胞外ポリマーの凝集能発現物質の分離"、*土木学会第47回年次学術講演会概要集II*、pp.780~781、1992
- 27)今井剛、久場隆広、古米弘明、楠田哲也:"嫌気性流動床における不活性固形有機物の蓄積過程のモデル化について"、*土木学会第46回年次学術講演会概要集II*、pp.314~315、1991
- 28)今井剛、久場隆広、古米弘明、楠田哲也:"嫌気性流動床における不活性有機物の蓄積量の評価について"、*土木学会西部支部研究発表会講演概要集*、pp.352~353、1991
- 29)Furumai, H., Kuba, T., Imai, T. and Kusuda, T.:"Transient Responses of Wastewater Treatment and Biomass Development in a Methanogenic Fluidized Bed", *Water Science & Technology*, Vol.23, Kyoto, pp.1327~1336、1991



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

