

活性汚泥におけるアンモニウム塩の影響

富山県立大谷技術短大 安田正志
中村郁子

I はじめに

活性汚泥は、バクテリア 真菌 原生動物 輪虫類 そして時に円虫類などの生物群よりなる一つの生態系である。バクテリアは中でも有機物の分解、フロック形成などで最も重要な役割を果たしている。しかし、全体の系の中では各種生物がある相対的関係を持って出現する。また生物は環境条件に支配され、活性汚泥の場合でも曝気槽内での栄養条件、酸素、物理的条件などによって汚泥を構成する生物も異なってくる。

我々は、本実験においてこの生物群の構造として 自栄養細菌(硝化菌)、有機栄養細菌群(*Zoo-gloea* sp. など)、さらに原生動物、後生動物群を考え、まず栄養条件として、窒素源である $\text{NH}_4\text{-N}$ を取り上げ、それがどのように影響するかを調べてみた。

II 実験方法

図-1のような装置を使い、1日1回の fill and draw 方式で各実験とも2週間程度行った。使用した槽は、実験I~IIIでは1用、実験IV~Vでは500 ml 用である。水温は21℃と一定にし、空気量は各槽とも同じ程度になるようにし、散気板は木下式ガラスボールフィルターを使用した。活性汚泥はあらかじめ長期間グルコースで飼育していたものを、実験開始時、各槽のMLSSが約3000 mg/l となるようにして使った。投入原水は、所定の濃度になるように水道水にグルコース 400 mg/l と各種アンモニウム塩を加えて調整した(表-1)。実験は、毎日決まった時間(午前10:30~11:00)に曝気を止め30分間沈降させた後、そ

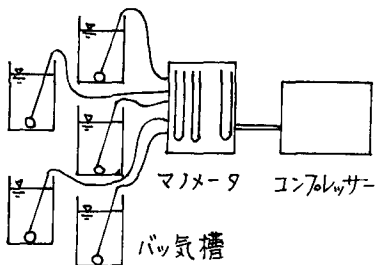


図-1 実験装置

表-1 実験条件

実験番号	実験期間	アンモニウム塩の種類	濃度 (mg/l)	$\text{NH}_4\text{-N}$ の濃度 (mg/l)	原水の pH
I-A	'70.11.20	$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	0	0	7.0~7.2
B	?		270	49	7.4
C	12.4		1350	245	7.1
D			5400	980	7.05
II-A	'70.12.10	NH_4Cl	0	0	7.0~7.2
B	?		190	50	7.4
C	12.26		960	250	7.05
D			3830	1000	6.75
III-A	'71.1.18	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0	0	7.0~7.2
B	?		240	50	7.4
C	2.4		1180	250	7.0
D			4720	1000	6.7~6.8
IV-A	'71.2.10	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0	0	
B	?		240	50	
C	2.26		1180	250	
D			4720	1000	
E			9450	2000	
V-A	'71.3.8	NH_4Cl	0	0	
B	?		190	50	
C	3.23		960	250	
D			3830	1000	
E			7660	2000	
VI-A	'71.3.8	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0	0	
B	?		240	50	
C	3.23		1180	250	
D			4720	1000	
E			9440	2000	

の上澄液を採取し、水質を調べた。また適宜生物相を調べるために20~30 mlの混合液を採取した。

pHは、実験Ⅰ、Ⅱでは原水投入時毎にNaOHとH₂SO₄でpH 7.0に調整することを試みたが安定しなかった。実験Ⅲでは調整を行わなかった。しかし、実験Ⅳ~Ⅶではリン酸緩衝液(リン酸一カリウム50g、リン酸ニカリウム200gを水1ℓに溶かしたもの)を各槽に3mlずつ原水とともに加えて、投入時のpHを7.4~7.1に調整した。

測定項目および測定方法は以下の通りである。pH(ガラス電極法) 透視度(透視度計) COD(1/20重クロム酸法JIS 0102) MLSS(遠心沈殿法、下水試験方法) 槽容量の制限から10 ml採取 NH₄-N(直接ネスラー法JIS 0102) NO₂-N(GR法、下水試験方法) NO₃-N(ブルシン法JIS 0102) 呼吸速度(ベックマン製DO計を記録計に接続してDOの減少速度を測定) 硝化細菌数(培地は、西尾・古坂に従い、MPN法によった)

Ⅲ 結果と考察

1) 与えた栄養及び環境条件

本実験では、基質は有機源としてグルコース(一定)及び各種アンモニウム塩(変化条件)を付加した。各種アンモニウム塩は、*Zoogloea* sp.などの有機栄養細菌にとっては、N源であり、また自栄養細菌である硝化細菌にとっては、エネルギー源である。したがってこの両者の間ではNH₄-Nに対して競合関係にあることが予想される。一方、C源としてグルコースのみを付加し、その他の微量元素は無視したので、いずれの細菌にとっても偏った栄養条件にあることは否定できない。しかし、栄養条件を限定することによるコントロールの容易さということを考慮して実験した。

また硝化細菌は、唯一のC源としてCO₂を利用し、これは有機性細菌の呼吸作用また曝気によって供給される。グルコースが、硝化作用を阻害するという報告もあるが²⁾他には阻害しないという報告が多いので、^{3)~5)}ここでは一応、硝化細菌はグルコースを栄養源として利用しないが抵抗性があると考え。有機栄養細菌からの代謝産物については、硝化細菌にとって阻害作用を呈するものもあるが、今回の実験ではそこまでわからない。

環境条件としては、水温は21℃で一定であり、また曝気は十分なものである。pHは、各実験の期間中ほとんど変わらず、pH調節を行わなかった時は各槽間で大きな差を示したが、調節した時は、いずれもpH 6.7~7.5の範囲に入っている(図-2)。なお、実験Ⅱ-Dで他と異なってpHが高くなったのは、汚泥の解体によって細胞物質が溶出し、それが緩衝能の増大をもたらしたものと思われる。

2) 硝化作用

硝化作用は、主に自栄養細菌である*Nitrosomonas* sp. *Nitrobacter* sp.によってNH₄-N → NO₂-N → NO₃-Nの2段階で進行することはよく知られている。この硝化作用に対するNH₄-N濃度の影響については多くの報告があり^{7~10)}この影響はpHと密接な関係があることが知られ

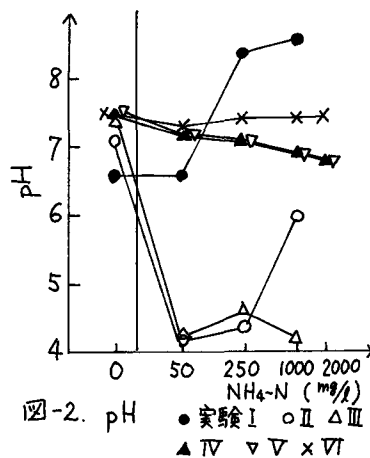


図-2. pH ● 実験Ⅰ ○ Ⅱ △ Ⅲ ▲ Ⅳ ▽ Ⅴ × Ⅵ × Ⅶ

ている¹¹⁾。また、アンモニウム塩の種類による影響の差異について、リン酸塩、硫酸塩より塩化物の方が阻害し^{12) 13)} 塩素イオンは硝化作用(酸化作用)にはそれ程影響せず、菌の増殖あるいは炭酸同化作用に強く影響するといわれている。¹⁴⁾ 硝化細菌の最適 pH についても多くの報告があり^{2) 3) 6) 10)} 通常アルカリ側にあるが、最適 pH の範囲はかなり広い。しかし、純粋培養の最適 pH は菌の分離されたもとの環境に必然的に関係するものでなく、活性汚泥では混合培養系の最適 pH 範囲は純粋培養における最適 pH よりもかなり酸性側に偏差すると報告されている。¹⁰⁾

我々の行った実験では、pH 調節をしない実験Ⅰ～Ⅲでは pH は大きく影響しており、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 250 mg/l 以上では硝化はほとんど進行していない(図-3)。一方、リン酸緩衝液で pH 調節を行った場合では pH 6.7~7.5 であり、pH による悪影響はないと考えてよいと思われる。

しかし、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の影響が認められ、第1段階は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が 50 mg/l の時が最も進行し、それより高くなる程低下した。すなわち、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は、その濃度が高くなると、アンモニウム塩の種類にかかわらず亜硝酸菌の働きを阻害することを示している。また、第2段階では、硫酸塩では 1000 mg/l までほとんど影響がないが、塩化物、リン酸塩では 250 mg/l より高濃度では 50 % 程度に低下した。(図-4)

硝化作用に対する各塩の種類による差異について比較するには、我々の実験は同時に平行して行っていないという問題点がある。しかし、あらかじめ活性汚泥を一定条件で飼育していたこと、各実験を2週間程度行って影響を安定化させたことを根拠にあえて比較すれば、pH 調節をした場合、硫酸塩 < 塩化物 < リン酸塩の順に影響が大きくなっている。但し、pH 調節を行った時、pH を安定化させるため、リン酸イオンがかなり高濃度になっており(1440 mg/l) さらにアンモニウム塩を加えているので、塩類濃度の影響も考えられるが、³⁾ 今回の実験では不明である。pH 調節をしなければ、塩化物より硫酸塩の方の影響が大きかった。

なお、実験Ⅳで最終日に硝化菌数の計数を行った(図-5)。亜硝酸菌では各槽であまり変化がなく硝酸菌は、50 mg/l 以上で減少傾向を示した。この硝化細菌の存在数と、硝化作用との結果から、亜硝酸菌は高濃度の $\text{NH}_4\text{-N}$ によって活性が抑制されていたこと、硝酸菌では $\text{NH}_4\text{-N}$ 2000 mg/l で活性の抑制の他に菌の死滅の影響もあったことが考えられる。

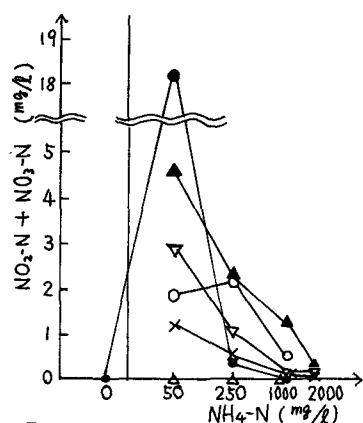


図-3 第1段階の硝化
●実験Ⅰ ○Ⅱ ▲Ⅲ ▼Ⅳ ▽Ⅴ ×Ⅵ

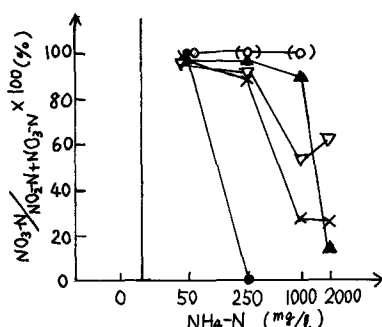


図-4 第2段階の硝化
●実験Ⅰ ○Ⅱ ▲Ⅲ ▼Ⅳ ▽Ⅴ ×Ⅵ

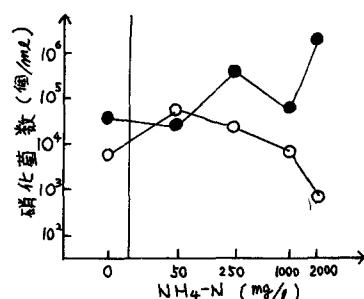


図-5 硝化菌数(実験Ⅳ)
●亜硝酸菌 ○硝酸菌

3) 有機物除去作用

本実験で有機栄養細菌の増殖の傾向をMLSSが表わすと考える(図-6)。N源が存在する場合よりグルコースのみの場合の方がいづれも大きく増加している。

しかし呼吸活性は逆に小さくなっており(図-7)、一方COD除去率では最大になっている(図-8)。

活性汚泥の栄養要求に関する報告は多く出されており、^{(15)~(19)} C源に比してN源が不足している時は、活性汚泥はCarbonatiousなものとなり逆にN源が多いと汚泥のN含有率が高くなるといわれている。本実験でもグルコースのみの場合は蛋白質の合成はほとんど行われず、多糖類の蓄積となつて、みかけの上では増殖していったものと思われる。

しかし、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が250 mg/l 以上ではMLSSは停滞もしくは減少の傾向と認められる。但し実験I

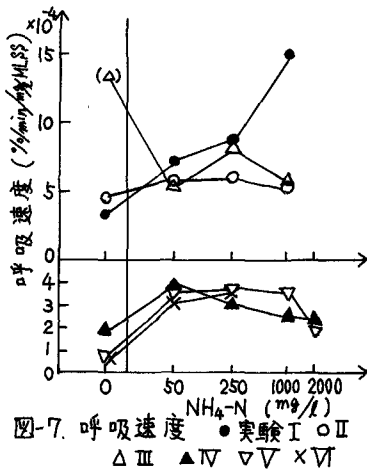


図-7. 呼吸速度 ●実験I ○II
△III ▲IV ▽V ×VI

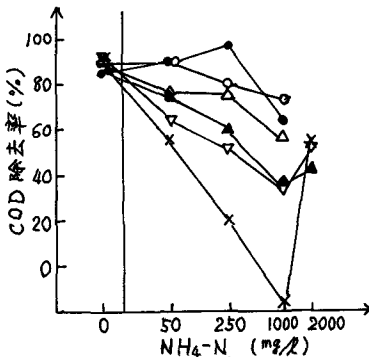


図-8. COD除去率 ●実験I ○II
△III ▲IV ▽V ×VI

でいずれも増加したのは、アンモニウム塩の酢酸イオンがC源となったものであろう。

呼吸活性は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ がある²⁰⁾と呼吸を促進しまた、汚泥内N含有量が多くなると呼吸活性度が大きくなると

いわれている。本実験でも明らかにN源の存在下で呼吸活性は上昇した。しかし、N源がさらに高く $\text{NH}_4\text{-N}$ 2000 mg/l となると逆に阻害している。(図-7)

一方、顕微鏡で調べたZoogloea sp.の状態は、いつでも凝集性のよいのはAのみで、B~Dでは散在状態のものが多くなりEになると逆に無機的な凝集の様相を呈していた。

以上のことを考慮すれば、N源がある時はZoogloea spは蓄積した多糖類を利用して代謝を行い、したがってみかけの上

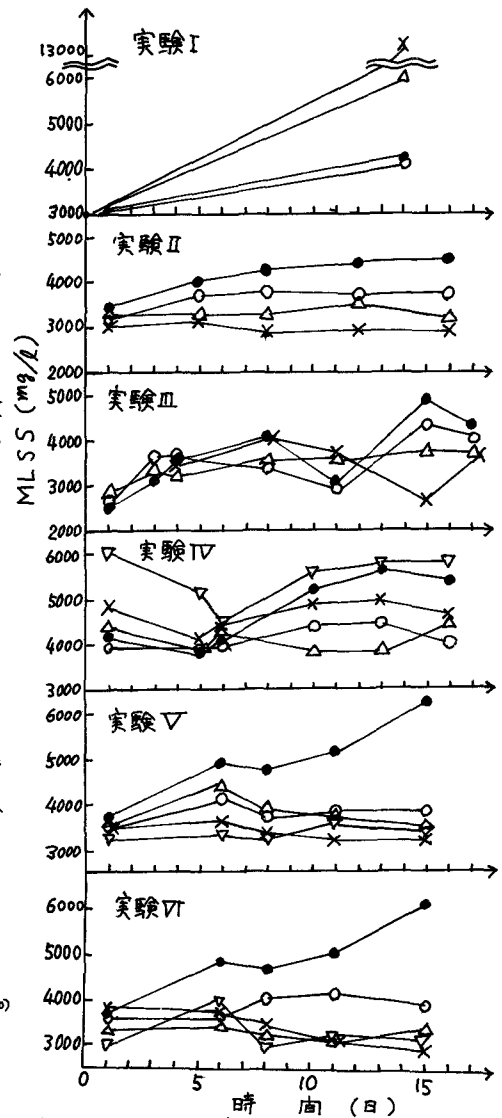


図-6. MLSSの変化
●A ○B △C ×D ▽E

では MLSS の大きな増大とならなかったこと、また高濃度の $\text{NH}_4\text{-N}$ の場合は毒として作用し、汚泥の解体现象も起きていることが考えられる。

この *Zoogloea* sp. などの有機栄養細菌の働きの結果が、COD 除去率に影響してくる。すなわち、N を付加せず、グルコースのみの時が最も COD 除去率が大きく、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が高くなる程、低下していく傾向にあった(図-8)。しかし、pH 調節を行った時、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 2000 mg/L では逆に COD 除去率がよくなったが、これは *Zoogloea* sp. の活性低下による無機物的凝集によると思われる。なお、透視度でも、この COD 除去率と同様な傾向が認められた(図-9)。

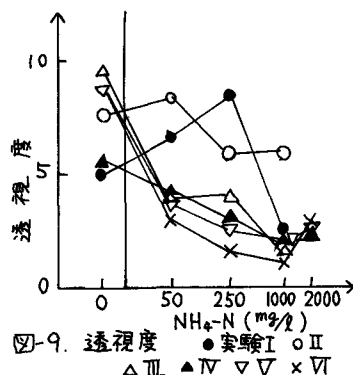


図-9. 透視度 $\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/L)
● 実験I ○ II
△ III ▲ IV ▽ V × VI

アンモニウム塩の種類による差異は、pH 調節をしない時も、pH 調節を行った時にも大きな差異は認められなかった。但し、実験Iでは酢酸アンモニウムを使用したので、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度を高くするということは、同時にC源も付加することになり、他とは異なった結果になったものと思われる。

活性汚泥は、pH 6.5～9.0の範囲で良好に機能するといわれている。²¹⁾ 実験II、IIIではpH 4～5にまで下った(図-2)けれども、COD 除去率に関しては、それ程大きな影響を与えていないようである。

本実験では、呼吸活性でもCOD除去率でも、リン酸緩衝液によるpH 調節を行った時の方が小さい値を示した。リンによる活性汚泥の浄化に対する影響や、リン除去に関しての報告があり²²⁻²⁴⁾ またリンは代謝速度が非常に早く、細菌に利用される量は非常に少なくてよいことが知られている。本実験のような高濃度では当然その影響があるものと考えられるが、量的関係はここでは不明である。

4) 生物相について

原生動物には、廃水の有機物の安定化には直接機能せず、その有機物を摂取しているバクテリアを食べて生存しているものが多いが、中には直接有機物を食うもの(*Bodo* など)もいる。^{21) 25)} 有機物の無機化の面からは、*Zoogloea* sp. などの細菌群がより重要な意味を持つが、原生動物は化学的・物理的環境条件によ、て種類や数、活性に影響を受けるので、²⁶⁾ 逆に活性汚泥の環境条件を総合的に示すものとして、またその捕食活動は細菌群を健全に保つといわれており、その種によ、て活性汚泥の性状を示すという可能性もある。²⁷⁾

本実験において、*Zoogloea* sp. などの細菌と原生動物のそのような関係については、水質の変化を媒介として考察しうるのみだが、各種アンモニウム塩の濃度をかえることによる原生動物・後生動物への影響を認めることができた(図-10)。生物相の構成としては、付加した栄養素の単絶性から種類数としては少なくな、たと思われる。また、実験期間の2週間は生物相が、各条件に適合していく生態学的遷移過程と考えられる。したが、て、ここで定常化したものとして実験最終日をとれば、pH 調節を行った場合、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 250 mg/L まではいづれも最も多いのは、縁毛目であるが、1000 mg/L になるとほとんどみられなかつた。*Rotaria rotatoria* は、いずれも $\text{NH}_4\text{-N}$ 50 mg/L で最も多く、250 mg/L 以上になると急激に減少している。実験IVでは *Cephalodella* sp. が少しみられた。

pH 調節しなかつた場合は、pH 調節をした時とはかなり違う様相を呈しており、縁毛目は、実

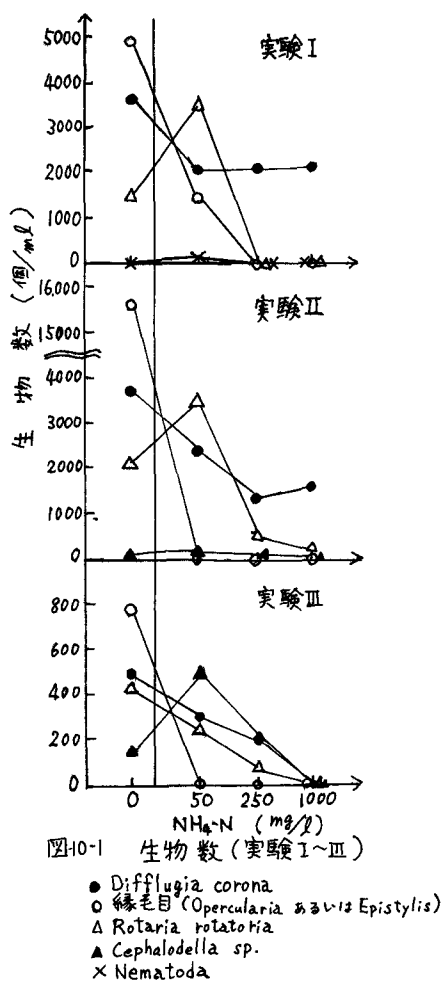


図10-1 生物数(実験I~III)

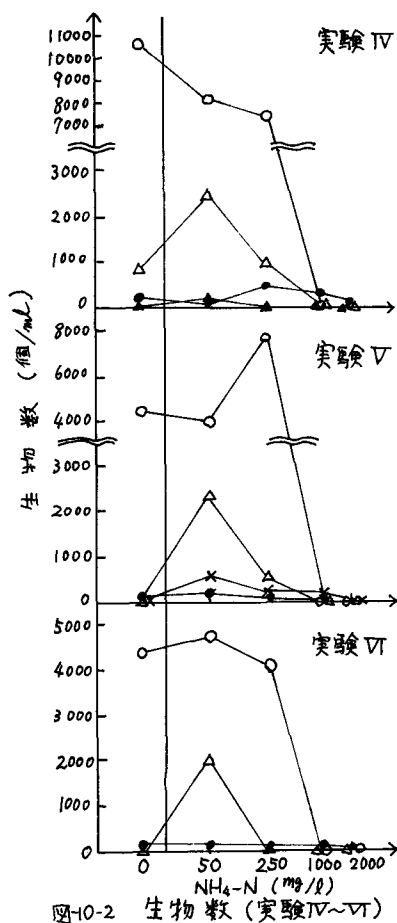


図10-2 生物数(実験IV~VI)

験II、IIIで $\text{NH}_4\text{-N}$ 50 mg/l ですでにみられなかった。これは、 pH 4~5 (図-2) では、生存できないことを示している。

Rotaria rotatoria は、実験IV~VIと同じように、実験I、IIの $\text{NH}_4\text{-N}$ 50 mg/l で最大値を示しているが、実験IIIでは $\text{NH}_4\text{-N}$ の増大とともに減少し、逆に同じ輪虫類である *Cephalodella* sp. が多くなっていて、それをこみにすれば同じ傾向になる。

輪虫類は バクテ

リアを食物源とし、他に汚泥フロックの断片や小さな有

機物粒子は何でも食うといわれているが²¹⁾ このような食物上の競争に pH などの環境要因が重なって *Rotaria* と *Cephalodella* との拮抗的な現象が表われたと思われる。

前述の縁毛目は、*Opercularia* sp. と *Epiplatys* sp. の2種がみられ、実験IV~VIではすべて *Opercularia* sp. であり、実験Iでは、はじめ *Opercularia* sp. だけであったが、I-Cの10日目以後、また実験IIではII-B、II-Cでの9日目以後、*Epiplatys* sp. があらわれた。このことは、

Opercularia sp. は pH の影響をうけやすく、 pH 7前後のときに、 A 及び N 源が C 源に比して少ないところで出現し、*Epiplatys* sp. は、 N 源のある程度の濃度で出現するが、しかしその N 源もさらに高くなると死滅してしまうと思われる。

また *Fungi* が実験I-Dの10~14日目 III-Dの15~18日目に大量にみられ、VI-Eでは14日目に少しみられた。*Fungi* について有機廃水の多いところや、 pH の低いところで出現しやすいこと、^{21) 28) 29)} また N 含有率がバクテリアに比して低いことなど知られている。²¹⁾ 本実験でも有機物の多い時に(実験I) また pH 4~5の時に(実験III) みられた。

また pH 調節を行った実験IV~VIでははじめ微小藻類の出現がみられ、実験の経過とともに減少し

ていった。この藻類の存在は、COD除去率に影響すると考えられ、特に実験Ⅱ-Dで、球形のらん藻やクロレラが多く発生しており、これらがCOD除去率を悪化させたのではないと思われる。

ところで、これらの生物相と、MLSS、CODなどとの結果を比較してみると、次のように推論される。実験Ⅳ～Ⅵにおいて縁毛目 がB、Cで増加し、*Rotaria* もBで増加していた。これらはいずれもバクテリア捕食性であり、*Rotaria* は他の有機物粒子も食する。したがって、これらの生物の多い時、バクテリアの調査結果は、実際の増殖量よりも少なく表われてくるはずである。このことは、実験Ⅳ～ⅥにおけるMLSSの変化がB、Cであまり増加していない事と関係しているのではないだろうか。また、COD除去に関する生物の影響は、主に浮遊物として残存CODに反映すると思われる。すなわち、えさとして有機物をとって、その除去には貢献していても、生物自身の増殖による有機物量の増加となり、もしそれが沈降性のよくない生物（微小藻類やFungi, *Bodo* などのように）である時には、逆にCODの増加という結果を招くと考えられる。したがって、どんな種類の生物が増えるかということと、MLSSやCODとは非常に密接な関係があり、縁毛目 や輪虫類ならば、増えても有機物除去に貢献するだけで、水質の悪化を招くことにはならないと思われる。

Ⅳ. おわりに

栄養条件として、グルコースと各種アンモニウム塩を使って、活性汚泥における $\text{NH}_4\text{-N}$ の影響を調べてみた。しかし、実験条件の制約から多くの問題点が残されていると思われる。

たとえば、実験方法が1日1日のfill and draw方式であることそのものにも存在するし（連続法ならどうなるか）、またグルコースとアンモニウム塩溶液で培養した混合微生物群を活性汚泥と呼べるであろうか²⁷⁾（実際の下水ではどうなっているか）ということもある。

今後、さらに実験条件を検討し、活性汚泥の機構とその限界を明確にする実験を行っていきたいと考えている。

参考文献

- 1) 西尾・古坂；土壌粒子の大きさと硝化細菌数，日本土壤肥料学会誌，40，8，315-320，1964.
- 2) 加藤；活性汚泥の硝化反応，第7回下水道研究発表会講演集，239-241，1970.
- 3) 浅野・有馬；硝化細菌について，土と微生物第6号，13-30，1964.
- 4) 有馬・浅野；硝化細菌について(II)，醗酵協会誌，20，8，437-448，1962.
- 5) Demarco, J. et al；Influence of Environmental Factors on the Nitrogen Cycle in Water, J. AWWA, 55, 5, 580-592, May 1967.
- 6) 有馬・浅野；硝化細菌について(I)，醗酵協会誌，20，7，381-404，1962.
- 7) Stojanovic, B. J. and Alexander, M.; Effect of Inorganic Nitrogen on Nitrification, Soil Sci., 86, 208-215, 1958.
- 8) 甲斐；土壌の硝化作用に関する2.3の考察，土と微生物，第3号，7-13，1961.
- 9) Siddigi, R. H. et al；Elimination of Nitrification in the BOD Determination with a 0.1M Ammonia Nitrogen, J. WPCF, 39, 4, 579-589, Apr. 1967.
- 10) 遠矢；生物学的脱窒素法に関する研究I，下水道協会誌，7，74，21-42，1970.
- 11) Warren, K. S.；Ammonia Toxicity and PH, Nature, 195, 47-49, July 7 1962.

- 12) Ishizawa and Matzuzuchi; Studies on the Nitrification in Soil with Special Reference to the Population of Nitrifier, *Soil Sci. & Plant Nutrition* 8, 6, 35-42, 1962.
- 13) 藤原・瀬戸; 硝酸化成に関する研究(第2報), *日本土壤肥料学会誌* 31, 4, 143-145, 1960.
- 14) 土壤微生物研究会, 土と微生物 岩波書店 1966
- 15) 佐藤・渡辺; 活性汚泥の栄養要求について, *下水道協会誌* 6, 57, 2-14, 1969.
- 16) 岩井・北尾・後神; 活性汚泥の浄化機能に及ぼす窒素化合物の影響, *下水道協会誌* 5, 50, 16-30, 1968.
- 17) Ramarao, et al ; The Response of Activated Sludge to Nitrogen Deficient Condition, *J. WPCF* 37, 10, 1422-1436, Oct. 1965.
- 18) Gaudy, G.F. JR. et al ; Application of Continuous Oxidation Assimilation and Endogenous Protein Synthesis to the Treatment of Carbohydrate Waste Deficient in Nitrogen, *Biotechnol. Bioeng.* XI, 53-65, 1969.
- 19) Goel, K.C. and Gaudy, A.F. JR.; Studies on the Relationships between Specific Growth Rate and Concentration of Nitrogen Source for Heterogeneous Microbial Populations of Sewage Origin, *Biotechnol. Bioeng.* XI, 67-68, 1969.
- 20) 浜村; 活性汚泥の細菌, *下水道協会誌* 5, 48, 17-23, 1968.
- 21) McKinney, R.E., *Microbiology for Sanitary Engineering*, McGraw-Hill 1962.
- 22) 岩井・北尾・後神; 活性汚泥の浄化機能に及ぼすリンの影響, *下水道協会誌* 6, 56, 20-28, 1969.
- 23) Wells, W.N Jr. ; Difference in Phosphate Uptake Rate Exhibited by Activated Sludge, *J. WPCF* 41, 5, 765-771, May 1969.
- 24) Bargman, R.D et al; Nitrogen-Phosphate Relationships and Removal Obtained by Treatment Processes at the Hyperian Treatment Plant, 第5回国際水質汚濁会議発表論文 1970
- 25) 津田; 汚水生物学 北隆館 1964.
- 26) 木内・相田; 活性汚泥とその微生物, *水処理技術* 10, 6, 13-22, 1969.
- 27) Pipes, W.O.; The Ecological Approach to the Study of Activated Sludge, *Advances of Applied Microbiology* 8, 77-103, 1966.
- 28) 鈴木; 汚水中のバクテリアと水生菌について *淡水生物* 8, 15, 1962.
- 29) 北川・松尾; 糸状菌による水のBOD除去に関する試験研究, *日本水処理生物学会誌* 5, 2, 25-31, 1969.