

活性汚泥に及ぼす重金属の影響に関する二、三の考察
—主に銅と鉛の濃縮について—

北海道大学工学部 寺町和宏

1. はじめに 近年都市下水中には多少にかかわらず種々の金属イオンが混入してきており、それが活性汚泥法によった場合如何に処理(除去)し得るか、さらにBOD, COD除去に与える影響はどうであるかを知ることは河川、海洋の二次汚染ともからみ重要な問題である。筆者は主に濃縮という観点から基本的な室内実験を行なっており今回は銅と鉛についてその濃縮率、銅と水銀の毒性について報告する。活性汚泥に及ぼす金属イオンの影響或いはその除去に及ぼす影響として、それを支配する条件は数多く考えられるが、実際問題として次の三つが(他にPH, 温度, 酸素量等)重要となると考える。1. 共存イオン 2. 共存有機物(有機試薬のようなキレート能のあるものを含めて) 3. 微生物体への金属の濃縮量(度合)

はじめに銅と水銀の毒性について、濃縮馴化により阻害度が著しく減少することを論じ次にカルシウム、マグネシウム、亜鉛、キレート試薬の阻害に対する効果について検討し、最後に微生物体への銅鉛の濃縮パターンについて論ずる。

2. 実験方法

札幌市創成川下水処理場からの種汚泥を用い、炭素源としてグルコース、N-源として塩化アンモニウム、P, K, Naをリン酸緩衝液(PH≒7.2)として使用し水は札幌市水道水(豊平川水源)を用い人工下水とした。実験は全て2ヶ月以上馴養した汚泥について行なった。馴養方法は、負荷0.4 kg COD/kg MLSS・MLSS 2000, 24時間サイクル(Fill and draw), 温度20°C, 沈殿時間30分種々の阻害についてのバッチ実験はメインの大型汚泥馴養タンクより1日の余剰混合汚泥液を2ℓのメスシリンダー2本に取り、1本は対照として使い馴養条件と同じ方法で実験を行なった。実験装置を図-1に示す。

基質除去阻害をみる実験は有機基質と金属イオンの相当量を手法で同時に入れ、各時間毎に混合液をサイフォンにて50~100 mlとりNo.5Cのろ紙で吸引ろ過した、そのろ液のCODを重クロム酸法により測定した。

金属の濃縮実験法; 金属イオンは全て硝酸塩として用いた。添加方法は基質(グルコース)とは別々に定量注入ポンプより2~10分間に添加したが一部は手法で1分以内に添加した。馴化された汚泥に対する阻害実験が終わってから金属イオンを添加しはじめた。鉛, 水銀, 銅, カドミウムをそれぞれ単独で入れた場合と、それらの混合溶液を入れた場合について段階的に濃度を変えて行なった。鉛と水銀の場合最初0.05 PPM

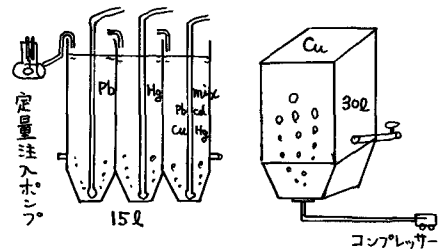
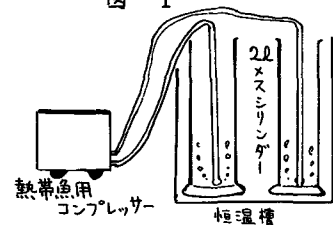


図-1-



0.4, 0.8 16 ppm の四段階で、銅と混合金属（以下mixと記す）の場合は0.05, 0.2 0.4 0.8 ppm の四段階について行なった。各濃度段階はそれぞれ1ヶ月以上または約1ヶ月間連続運転し、最終濃度まで約6ヶ月間要した。なお銅と混合金属の場合は0.8 ppm で後半、バルキングが著しく運転が困難になった為止む得ず終了したものである。

3. 汚泥の分析方法

活性汚泥混合液 100 ml を 3000 R.P.M. で 10 分間遠心分離し、分離した汚泥を 50 ml のコニカルビーカーに移し、濃硝酸 10 ml, 過塩素酸 (70%) 10 ml を加え沸石を入れ静かに加熱沸騰させ液が白～淡黄色になるまで行なう。冷却後 NO 5 B 3 紙でろ過し一定量とする。金属の定量は、ジチゾン、DDTC 等による溶媒抽出比色法によった。

4. 実験の結果と考察

活性汚泥の基質初期除去に及ぼす金属であるが、全ての金属イオンが初期除去に影響を与えることはなく、筆者が試みた Pb, Cu, Cd, Hg, Zn (いずれも 4 ppm) の中で Cu と Hg だけが影響を与えた。鉛においては 16 ppm でも全く初期除去には阻害を与えなかった。その様子を図-2- に示す。

従来阻害物質を加えた場合の影響を表わす方法として基質初期除去速度・呼吸活性度を測定する方法があるが、阻害度の時間による変化をより定量的に比較する試みとして筆者は次のような阻害度を定義した。各時間における阻害物質を加えた場合と加えない場合の溶液中の残存有機物量 (BOD, COD 等) の倍率比の対数をとって阻害度とする。

$$\text{阻害度, } I_i = \log \frac{L_{ti}}{L_t}$$

ここで、 L_t ; 阻害物質を加えない時の残存 COD 量

L_{ti} ; 阻害物質を加えた時の残存 COD 量

である。図-2-を阻害度で表現すると図-3-のようになる。Pb, Cd, Zn 4 ppm では基質除去阻害度はほとんどゼロである。銅イオンによる阻害は 1 ppm でほんのわづか見られ 4 ppm で顕著となった。

本実験の基質初期濃度は全てグルコース 800 ppm MLSS $\approx$ 2000 ~ 2200 であった。

次に金属の添加馴養により銅と水銀を濃縮した汚泥に対してそれぞれ水更に銅及び水銀を加えて阻害実験を行なった結果を示す。図-4-、図-5-。

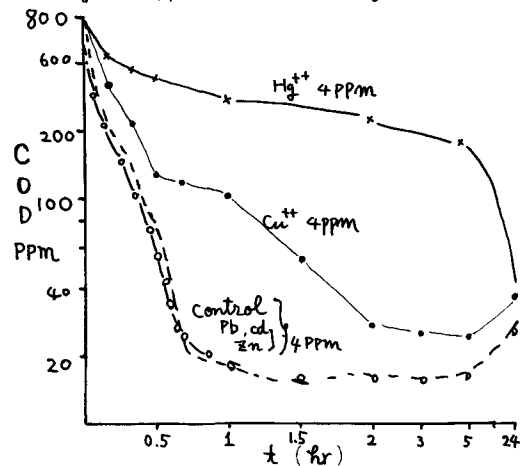


図-2-

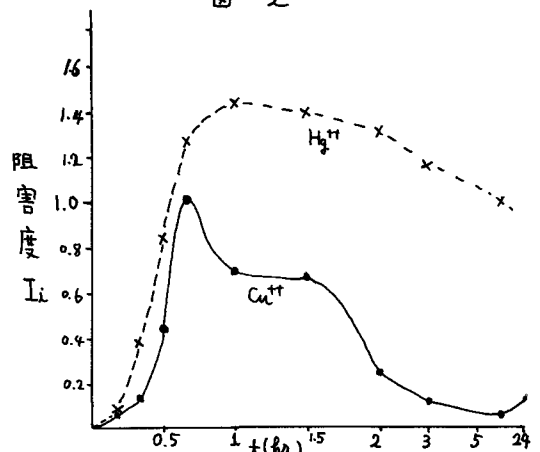


図-3-

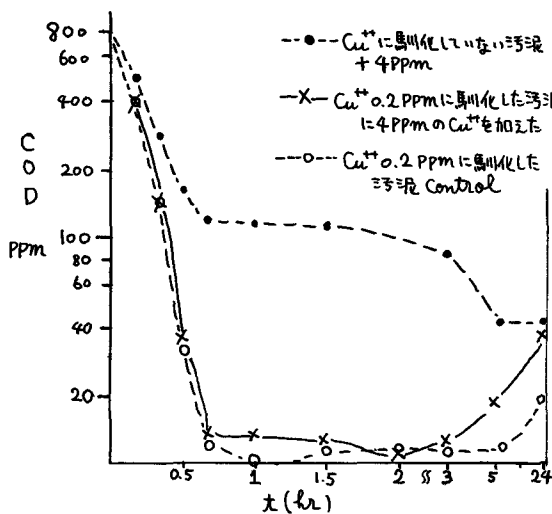


図-4-

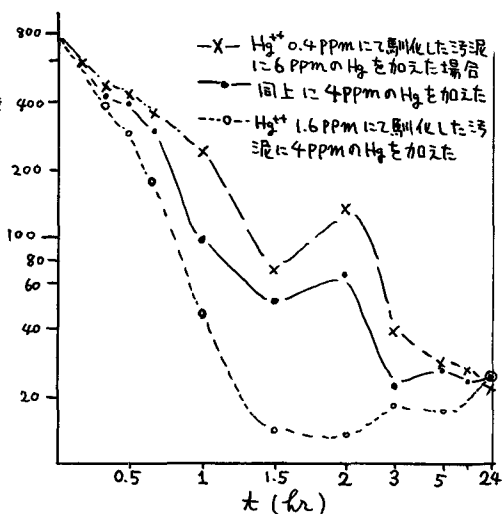


図-5-

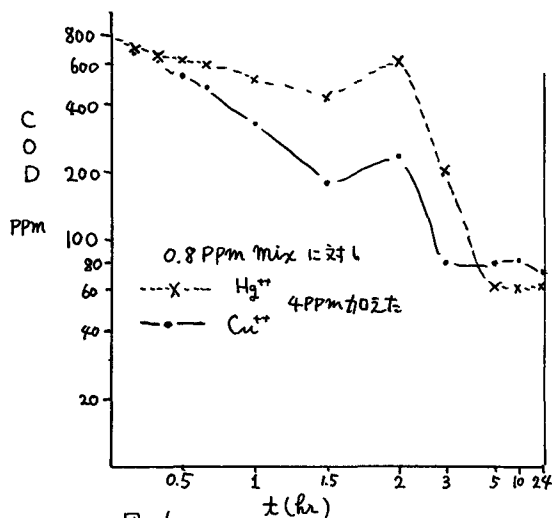


図-6-

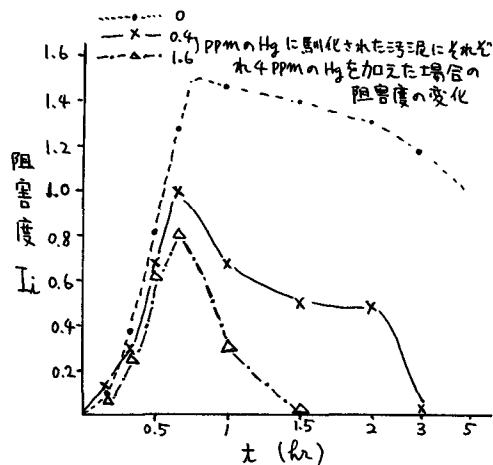


図-7-

図-4-を見ると明らかに銅イオン 0.2 ppm で馴養された汚泥 (後で示すがこの汚泥は 110 mg/kg dry の銅を濃縮している) は 4 ppm の銅イオンに対して全くと言ってよい程度基質除去阻害は示していない。図には示していないが 8 ppm に対してもほとんど阻害を示さなかったことは驚くべきことである。このことは実際の下水処理場において 0.2 ppm 程度の銅イオン濃度が普通にみられる濃度であることを考慮すると、すでに一般の下水処理場の活性汚泥は 4~8 ppm 程度の Cu^{++} に対して強い抵抗力を持っている可能性があると考えられる。同じようなことは水銀について (図-5-) も言えるが、 Hg の場合銅ほどはその毒性に対する抵抗力 (馴化) はついていないと言える。これは水銀の毒性が非常に強く Jones⁷⁾ が溶解電離圧を用いて金属の毒性の強さを比較し水銀が最も毒性が強くそれに次いで銅が強いとしていることと一致している。また銅と水銀とでは生体への阻害のメカニズムに差があるからではないか。つまり銅が種々の生体に必須な金属であるというところからも支持されよう (例えば、ヘモシアニン、アスコルビン酸酸化酵素、ガラクトース酸化酵素^{1), 2)})。また Cu^{++} 0.2 ppm で馴化され

た汚泥に別の金属として Hg^{++} 4ppm を添加した実験では著しい阻害を示し24時間後ですら500ppm以上のC.O.D.が残存しており Hg^{++} を対照汚泥に添加した場合よりも大きな阻害を示した。このことから或特定の金属に馴化した汚泥は他の別の金属の馴化とは全く無関係でありむしろ逆の効果—相乗作用—があることがわかる。これに似た例として魚類に対するCu-Znの相乗効果が考えられる。

次に共存イオンの影響について考えてみる。古くから魚類の毒性に対してカルシウムイオンが効果あると言われており³⁾、従って都市下水中にも種々の塩類が含まれている訳であるからその事によって活性汚泥微生物への阻害(毒性)が弱められているということが考えられる。そこで筆者は Ca^{++} について Cu^{++} と同時に 0, 4, 10, 20 ppm の Ca^{++} を加えてその効果を検討してみた。結果を図8-9-10-に示す。

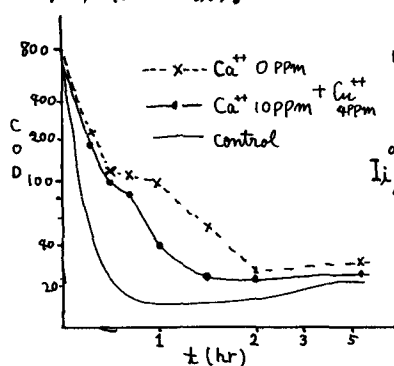


図-8-

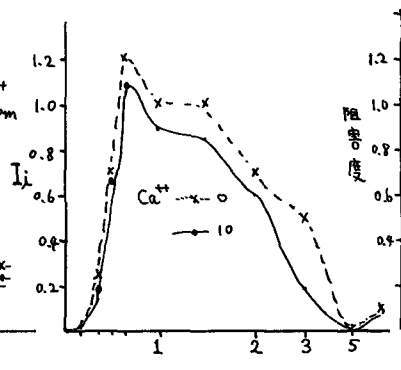


図-9-

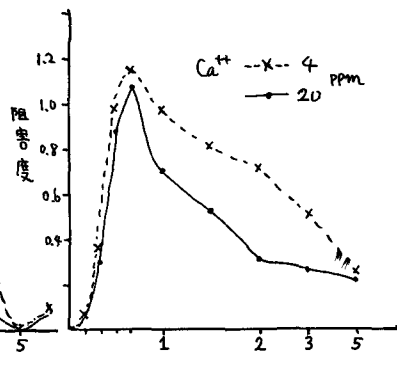


図-10-

図-9-、図-10-から明らかなように Ca^{++} の増加とともに銅イオンの毒性が弱められていることがわかる。この理由は定性的には共存イオンの増加によって相対的に Cu^{++} の毒性が弱まったということであろうが、汚泥の吸着反応が基質有機物- Cu^{++} - Ca^{++} 3者の競争反応であると考え、 Ca イオンが優先して汚泥に吸着しその結果 Cu^{++} の吸着及び吸収に続く酸素阻害(呼吸阻害)を引きおこせることを妨げた為と考えることができる。なお Ca^{++} を単独に加えた実験から Ca^{++} による基質除去阻害又は活性は見られなかった。マグネシウムイオンの効果も Ca^{++} の場合と全く同じであった。従って他のアルカリ土類金属も同様の効果があることが期待される。次に亜鉛イオンが共存していた場合であるが、先にふれたように魚類に対しては銅と亜鉛とで毒性を強め合う相乗効果が認められている⁴⁾。活性汚泥に対する結果は予想に反して、 Ca^{++} の場合と同様に銅の毒性が弱められた。阻害度の変化で表わした結果を図-11-に示す。

この結果は Ca^{++} の場合と同じように説明することが出来るであろう。なぜなら Zn^{++} 単独では4ppmの濃度で基質初期除去に全く影響を与えないし、さらに重要なことは Zn^{++} は金属イオンの中でも最も普通に存在し、著者の実験に用いた水道水にも0.3~1.0ppmの Zn が存在していて、実験に使われた汚泥には約400~800ppmの Zn が濃縮しており Zn^{++} に対してかなり馴化が進んでいたと考えられるからである。

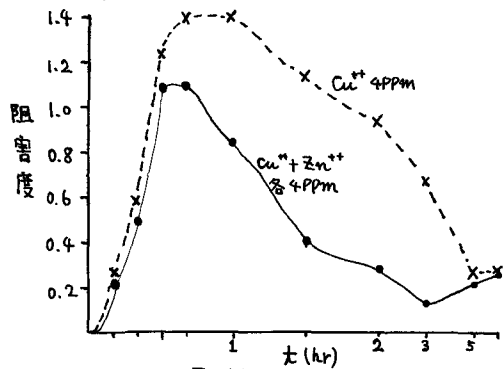


図-11-

5. キレート試薬の効果；

下水中には種々の有機酸，アミノ酸，たん白質等が含まれており，それらが金属イオンと結合して金属キレート化合物 (Metal chelate compound) となっていることは容易に考えられることである。そこで筆者は銅イオンと安定な水溶性キレート化合物を作る DDT C (Sodium diethyldithiocarbamate ($(C_2H_5)_2CS_2 \cdot Na \cdot 3H_2O$)) を用いて銅イオンをキレート化合物として活性汚泥に添加した場合の効果について検討してみた。銅と DDT C は 1 : 2 の割合で結合するので 4 ppm の Cu^{++} に対して銅-DDTC 試薬 = 1 : 2 になるように，つまり 0.75 g の DDT C を添加する銅の溶液と混合した。(この時溶液は黄色に発色する) 結果を図-12，図-13- に示す。

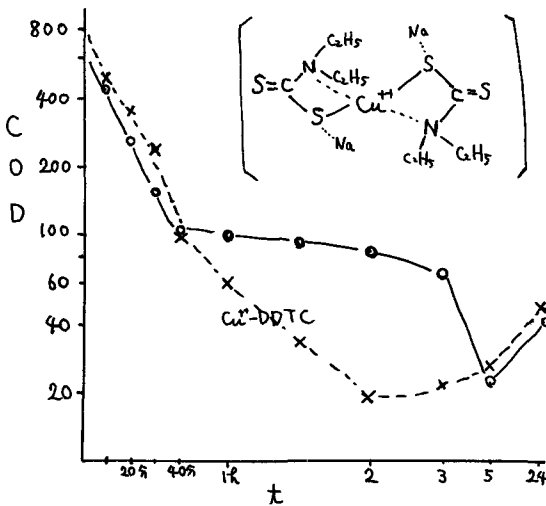


図-12

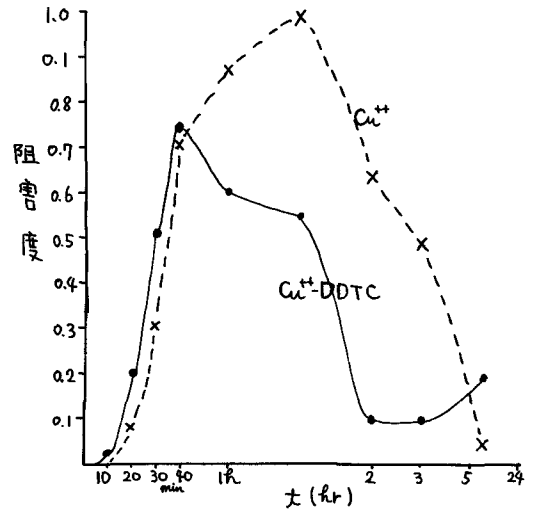


図-13-

図をみると40分までは Cu^{++} -DDTC の方が除去阻害がやや強く出ているが1度40分を過ぎてから逆転して Cu^{++} -DDTC complex の方が阻害が減少している。図-13- をみるとよりはっきりと解る。これは40分までは Cu -DDTC 或は DDT C 自体の毒性により主として物理吸着が阻害されたと考えることが出来る。つまり基質初期除去反応において約30~60分の間に物理的或は無機吸着反応が終了し(その時，外部基質濃度は最低となっている)その後基質の分解及び合成等の内生呼吸相に入ることから，その内生呼吸への Cu^{++} による阻害が酵素阻害(脱水素酵素阻害)によるとすれば Cu^{++} イオンが DDT C と結合して安定なキレートとなっている為， Cu^{++} イオンが酵素のカルボキシル基 ($-COOH$) やアミノ基 ($-NH_2$)，スルフィドリル基 ($-SH$) 等の官能基と反応することが出来ない。つまり酵素阻害を引き起させることができないと考えることができる。内生呼吸相へのものはっきりした阻害ということに関して先に触れなかったが図-5-，図-6- を見ると，どちらの場合も2時間の時点で吸着除去された基質とみられる C O D が水層に一時吐き出されている。この現象は常に観測される訳ではないが，基質の吸着除去反応がある程度可逆的なものであること，それが40~60分以降の内生呼吸相とみられる時期の汚泥の生理状態によって影響されているいは支配されていることを暗示しているのではない。また図-13- をみると40分までは阻害度が時間に対して一次の直線になって両方の傾きがほぼ同じであることはそれまでの阻害を含めた初期除去のメカニズムが等しいと思われる。

6. 銅と鉛の濃縮について； バッチ連続実験により行なった銅・鉛をそれぞれ単独に加えた場合と (Cu, Pb, Cd, Hg) mix を加えた場合の中 Cu と Pb についての結果を図-14, -15, -16, に示しそのパターンについて検討する。

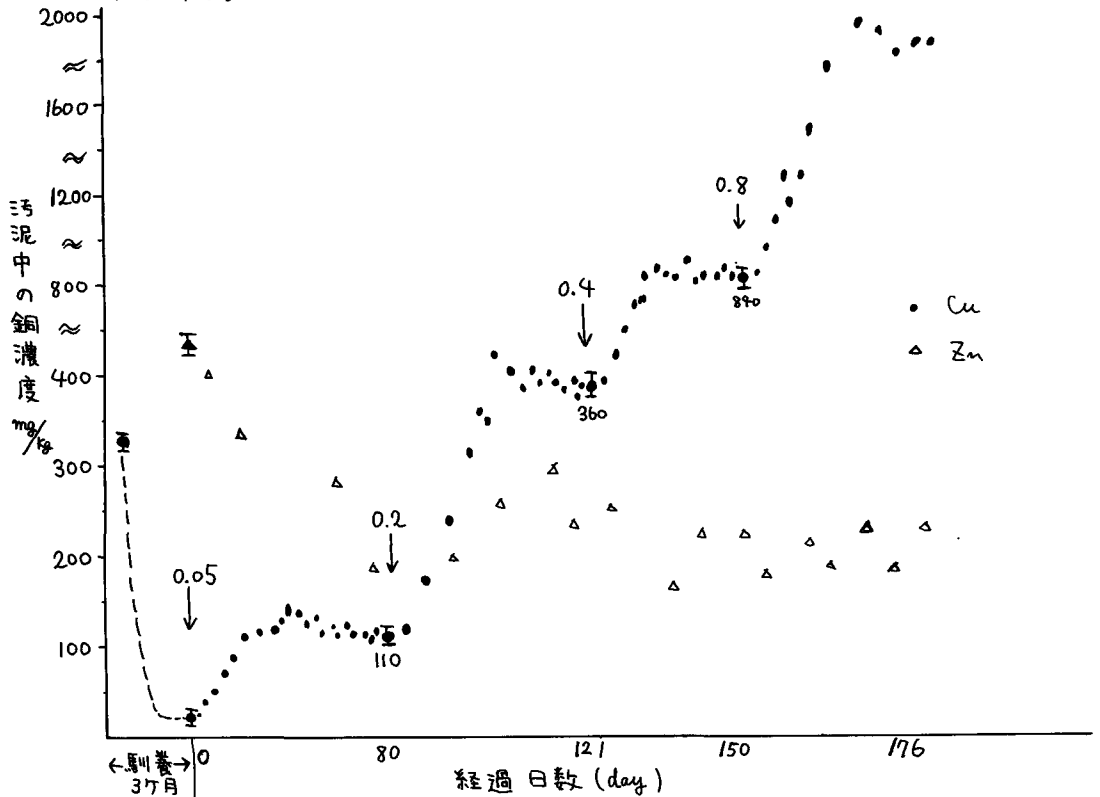


図-14-

馴化をする前の汚泥は約300 ppmの銅を含んでおり、馴化が進むにつれ急にCuが減少し最後には使用している水道水中の銅濃度(約0.002 ppm)と平衡になり21 ppm となった。Cu⁺⁺イオンを添加することにより急速に濃縮を始め一度ピークがあってからやや減少しほぼ一定値に近づく傾向がみられた。このようにCuが濃縮することにより他の金属イオンの組成に変化はないものかと考えて同じサンプルについてZnを分析してみたところ(図-14-のΔ印)最初560 ppmあったものが200 ppm前後まで減少していた。さらに対照汚泥においては120日前後で650 ppm, 160日前後で850 ppmと高濃度で濃縮している(これは使用している水道中のZn濃度の変化による)ことから明らかに銅の濃縮によりZnの濃縮がおさえられていると考えられる。次に濃縮係数を求めて検討してみる。

濃縮係数(Concentration factor)

$$f = \frac{\text{汚泥乾燥重量当りの濃度 } \frac{\text{金属の}}{\text{mg/kg}}}{\text{水中の金属イオン濃度}}$$

ここで水中濃度はバッチ実験であるから金属イオン添加ゼロ時の濃度とする。各金属イオン濃度における微生物体中の平衡濃縮濃度を蓄積量が一定となったとみられる約10日間の平均値としてとり各濃縮係数を求めると表-1-のようになる。

7. 総括; 普通の都市下水中でもみられる銅イオン濃度 0.2PPMで馴化された汚泥はすでに相当の銅イオンに対して抵抗力を持っているということ。金属イオンによる阻害といっても簡単なメカニズムで阻害が起るのではなくその溶存状態によって相当変化することがわかった。又ある程度の阻害を受けとも多くの場合数時間以後では基質除去が行なわれているが連続的な金属の注入ではどうなるか確かではない。しかしながらアメリカ公衆衛生局 Robert A. Taft 衛生工学研究所の研究結果によると 10 ~ 25 mg/l で 4% の効率低下であったと報告している。したがって実際の下水中で金属イオンが例えば高分子有機物に配位または吸着しているのか、それ自身コロイド水酸化物になっているのか、種々の粘土粒子に吸着しているのか…等を適格に把握してその除去のメカニズム、阻害のメカニズムを究明しなければならないと考える。近年の下水道の普及による河川の汚染という関点からも現在の都市下水処理場における重金属の収支及び挙動はどうであるかをつかまことは重要であると思う。

参考文献

- 1) Galactose Oxidase of *Polyporus circinatus*: a Copper Enzyme *Jour. Biol. Chem.*, V238 No. 9 1963
- 2) 生物体中における金属の働き 不破 幾波; 科学 V. 36, No. 3, 1966
- 3) The relative toxicity of salts of lead, zinc and copper to the stickleback and the effect of calcium on the toxicity of lead and zinc salts J.R. Erickson Jones (1938) *J. exp. Biol.*, 15, 334-407
- 4) Sublethal copper-zinc pollution in a salmon river, J.B. Sprague, ... Aug. 1964 Tokyo
- 5) The biogeochemistry of trace element uptake by some New Zealand riverines *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 10, 1965
- 6) Trace Elements in the common brown algae and in seawater
Spectrographic analyses of Marine plankton G.D. Nicholls *Limnol. Oceanogr.*, 1957
- 7) The relation between the electrolytic solution pressures of the metals and their toxicity to the stickleback J.R. Jones *Jour. exp. Biol.*, 16, 425-37
- 8) 重金属の生物処理に及ぼす影響 (2) 銅 下水道協会誌 Vol. 3 No. 3, 1966

おわび; スペースの都合で図-16 (Pbの濃縮について) をのせることが出来ませんでした。

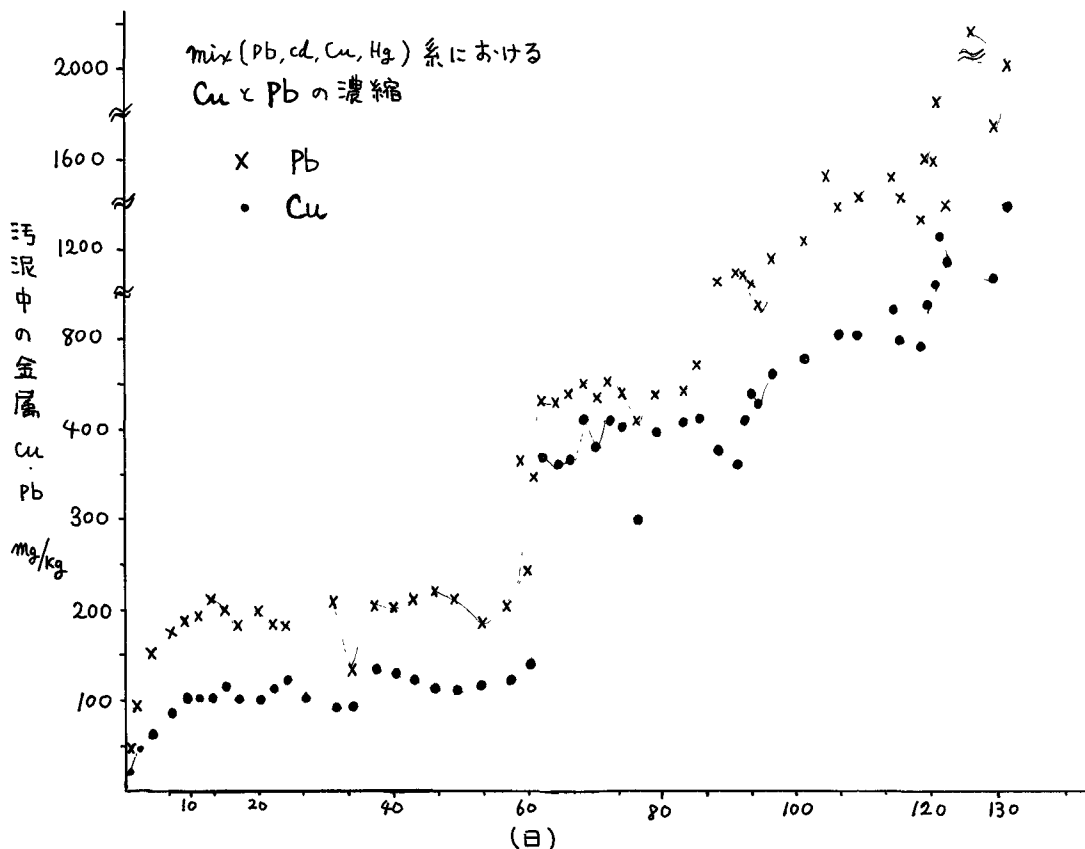


図-15-

表-1-

C PPM	Cu only	Mix Cu	$f_{Cu} \times 10^3$	$f_{mix} \times 10^3$	Pb 単	Mix Pb	$f_{Pb} \times 10^3$	$f_{mix} \times 10^3$
Cu 0.002 Pb 0.004	22 PPM	21	1.1	1.1	48 PPM	48	1.2	1.2
0.05	110	110	2.2	2.2	100	206	2.0	4.0
0.2	365	400	1.8	2	—	540	—	2.7
0.4	820	805	2.05	2	1000	1400	2.5	3.5
0.8	1600 ~1800	1200	2 2.5	1.5	1800	1800	2.3	2.3
1.6					3200		2.0	

図より明らかなように銅よりも鉛の方が濃縮量が高く、濃縮係数が大きいことがわかる。但し、プランクトン及び実際の札幌市下水処理場における濃縮量を f 値で比較してみると表-2- のようになりやはり Pb の方が Cu より濃縮しやすいこと、処理場の汚泥も予想される量で濃縮していることがわかる。筆者は種々の金属イオンの濃縮係数を求めておくことにより遂に環境の汚染の程度を、下水処理場などでは流入下水の金属濃度とその量についての情報を適格につかむことが出来るのではないかと考える。mix 系の他の金属 Cd, Hg についても検討し他の機会に発表する予定である。

	水中濃度 PPM	f_{Cu}	f_{Pb}
S 処理場	0.1	5×10^3	—
T 処理場	0.1	2.5×10^3	—
5) Scallop oyster	Sea water (Cu 0.003 Pb 0.0001)	3×10^3 1.4×10^4	1.6×10^5 1×10^5
6) Marine plankton Coelenterata	"	4×10^3	6×10^4

表-2-