

活性汚泥に及ぼす重金属の影響

— 下水中の重金属の存在形態について —

北海道大学 ○ 寺町 和宏

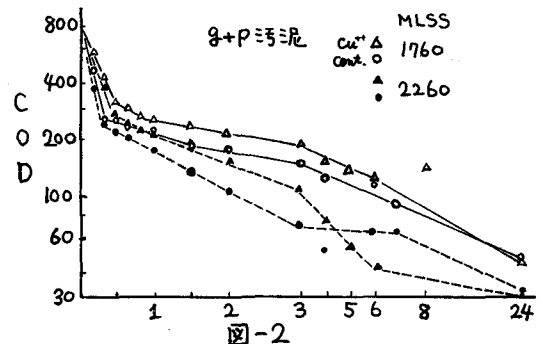
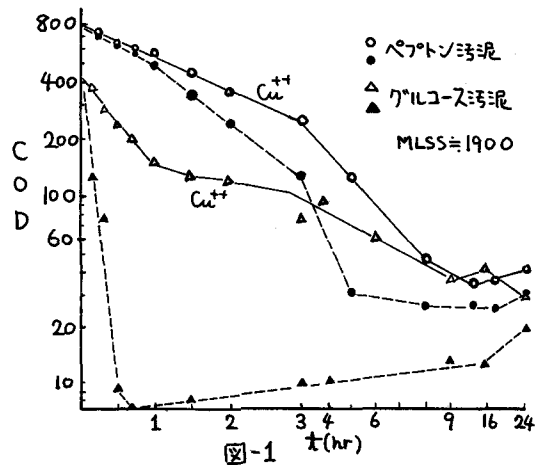
〃 藤嶋 正紀

1. はじめに 近年都市下水中における重金属の問題は、汚泥の処理処分の問題、放流先の生態系への影響と困難な状況にある。先に著者はオ8回討論会において重金属の影響と濃縮の問題について論じた。その結果重金属の溶存状態、つまりその水質の種類によって大きな違いがあること等が明らかになった。さらに筆者らは下水系の重金属の溶存状態と活性汚泥に及ぼす影響に関する基礎的な検討を試みた。まず活性汚泥の種類の違いによって（馴化時の基質の違いによる活性汚泥微生物の違い）、阻害物質に対する応答がどのように違うのか、また基質除去が阻害されるといっても最初からの基質が単にそのままの形で残存しているのか確かではない。つまり細胞の破壊、溶出現象による液層（放流水）の変化がないであろうかといった観点から、蛋白質の定量、ゲル濾過による分画等によって検討した。

2. 実験方法 用いた汚泥は24時間サイクルバッチ法、負荷 $0.4 \text{ kg COD/kg MLSS/日}$ にて馴養したものを使った。基質は①グルコース、②ペプトン、③グルコース+ペプトン(1:1)の3種、N源は塩化アンモニウムを用い、リン酸塩で緩衝能をもたせた。重金属として銅を用い（実験では全て6 PPM、沈殿を生じない程度に中和した）、DDTC- CCl_4 抽出比色法により定量した。ゲル濾過は、2.5-55cmのカラムでセファデックスG-25を使用した。炭水化物；アンスロン硫酸法、蛋白質；フォーリン法、COD；重クロム酸法を用いた。固液分離は3500 RPM 5min後NO.5C濾紙で吸引濾過した。

3. 実験結果と考察

まず3種の汚泥による阻害パターンの違いについて図-1、図-2に示した。グルコース汚泥の場合始めから大きな基質除去阻害が現れているが、ペプトン汚泥の場合は3時間付近で最も大きなCOD除去に対する影響が出ている。グルコース+ペプトン汚泥の場合、アンスロン法でグルコースを、重クロム酸法CODでペプトン量を（COD当量 $\div 1.05$ ）測定したところ、グルコース（400 Ppm）は銅（6 Ppm）を加えた方も、コントロー



ルの方も約20分でほとんど除去されていることが解った。したがってグルコースの除去に対してはそれ程障害を示さないが、その後のペプトンの除去に大きな障害を示していると言える。3種の汚泥について各時間におけるControlと障害を与えた場合のCODの差をプロットしたのが図-3である。

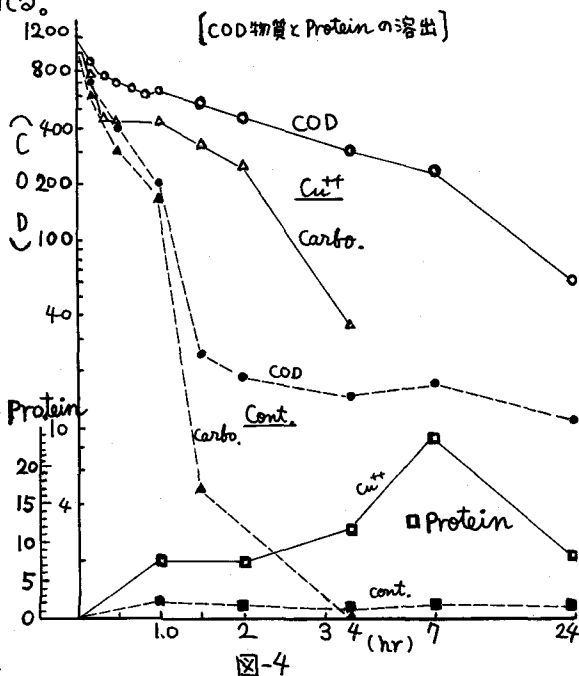
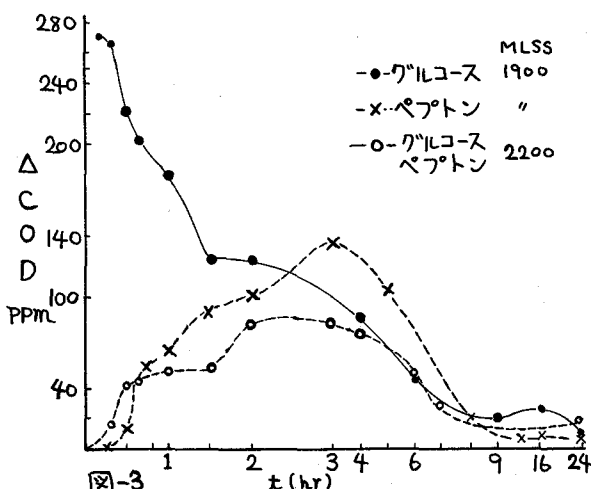
グルコース汚泥の場合は最初から大きな障害があるが、ペプトン及びグルコース+ペプトン汚泥の場合は、最初の方の障害は小さいが次第に大きくなって3時間で最大となっている。

このことは基質除去の機構と障害の機構に何らかの関係があることを現わしているのではないか。グルコース汚泥が膜透過障害とすれば、グルコース+ペプトン汚泥における銅イオンはペプトンと何らかの結合をしていて細胞膜自体に直接吸着したりして障害を与えないと考えることが出来る。(著者らの実験では、 $DDTC \cdot Cu^{+}$ 錯体は障害力が小さいことがわかっている。オ8回討論会P-83)

一方ペプトンを低分子化する為の酵素(菌体外酵素)に対する障害や、細胞内にとり込まれた銅-ペプトンComplexの代謝酵素障害が時間とともに徐々に現われてきた結果3時間付近で最大となったと考えられる。このように汚泥の種類の違い(基質の違い)によって障害のメカニズムや程度が違ふということは大きな問題である。結局基質の初期除去速度(活性)の変化だけでは障害については判断出来ないことはもちろんであり、活性の回復もペプトン、グルコース+ペプトン汚泥の場合グルコース汚泥にくらべて非常に遅くなると予想される。

※ 金属イオン障害による蛋白質の溶出について

障害を与えた場合菌体の破壊、溶解により細胞物質の溶出によるCOD物質の増加があることが重クロム酸CODとアンスロン法の併用により確かめられた。図-4。(グルコース1200PPm) Controlの方はCODとアンスロン法による炭水化物の量がほぼ一致しているが、銅を加えた方はCODと炭水化物に大きな差が出て、明らかにグルコース以外のCOD物質が溶出していることがわかる。各時間の汚液の蛋白質を測定したところ銅を加えた方の蛋白質量が非常に多く、溶出したCOD物質は蛋白質とその他の有機酸等からなると考えられる。このCOD物質の特性をみる為24時間後の汚液のゲル



汚濁を試みた。24時間後の汚濁を蛋白質の沈殿を防ぐため0.1N-NaOH 溶液としロータリーエバポレーター (T≒35°C) で濃縮した。

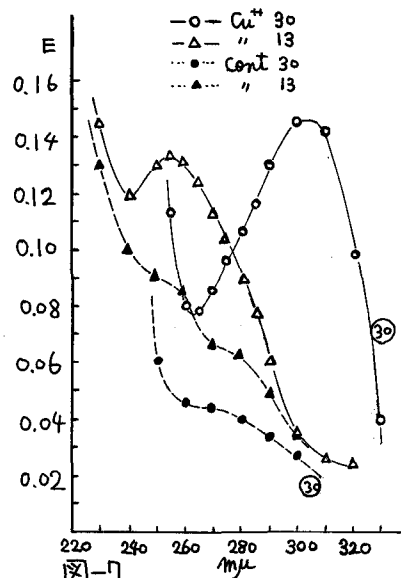
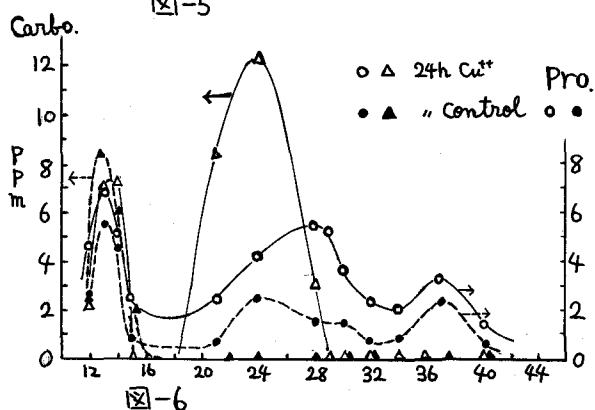
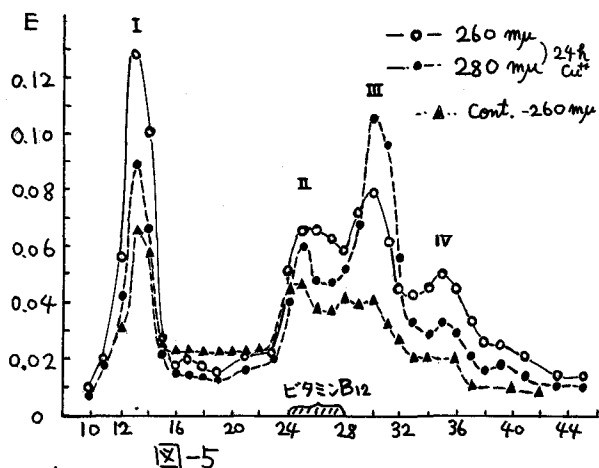
	濃縮	COD	Protein ppm
Cu ⁺⁺ 6ppm	10倍	600	57
Control	31倍	340	32

濃縮液を1万RPM 10min 超遠心分離し上澄み5ml (0.1N-NaOH soln.) をセファデックスG-25 (分画可能範囲100~5000) を用い分画した。溶出液は蛋白質の安定性を保つ為0.1N-NaCl-0.1N-AcNa (PH≒6) の緩衝溶液を用いた。分画は5mlづつ採取し、溶出速度は40ml/hrとした。分画後260mμ (核酸の吸収極大) 280mμ (蛋白の吸収極大) の紫外部吸収を求めさらに各フラクションの蛋白と炭水化物を定量した。(図-5 図-6)

銅を加えた方もControlの方もほぼ同じパターンで吸収をしている。全体に260mμの吸収が280mμより大きいCu⁺⁺を加えた方のフラクションNO. 30では逆転しているのが注目される。各フラクションの蛋白質、炭水化物を定量したのが図-6である。明らかな違いが炭水化物のパターンに現われ、Controlの炭水化物ピークは1つであるに対し、阻害のあった方では2つのピークが現われた。

次に代表的なピークであるNO. 13とNO. 30のフラクションの紫外部吸収曲線をとって比較したのが図-7である。ここではピークIの物質(分子量1万以上)に大きな違いがあり、銅を加えた方のピークIは260mμに極小、280mμに極大があることから蛋白が相当混ざっているが核酸であろうと思われる。NO. 30フラクションの場合銅を加えた方は吸収極大がかなり長波長側にずれているが、パターンは蛋白に近いものであろうと思われる。

次に加えた銅イオンと特異に結合した有機物質が存在しているのではないかという考えから各フラクションの銅を分析してみたのが図-8である。ほぼピークII, III, IVで銅濃度も極大を示しよく対応している。分子量1万以上のピークIには銅は全く結合していないことは興味



深い。

※ Cu^{++} 阻害による放流水汚液の変化についてまとめ

①蛋白質が抽出される。②分子量1万以下の多糖類(炭水化物)が抽出される。

③核酸物質が抽出される。④銅イオンと特異に結合した物質(蛋白, 有機酸)が存在する。

特異的に銅イオンが結合した物質が存在する訳であるが、これらの物質は銅イオンが細胞膜に吸着あるいは菌体内に入って結合し、菌体の破壊、溶菌、酵素阻害等により Cu^{++} -有機物 Complexとして抽出され汚液に出てきたものであろう。さらに図-2に示したグルコースペプトン汚液についても各時間における汚液の蛋白量を測定し、CODとの比をとったのが図-9である。ペプトンの蛋白当量が0.34であるのに対し、銅を加えた方もControlの方も時間とともに高い値を示しているが、銅を加えた方が後半大きな値を示していることはグルコース汚泥と同様な現象であらう。

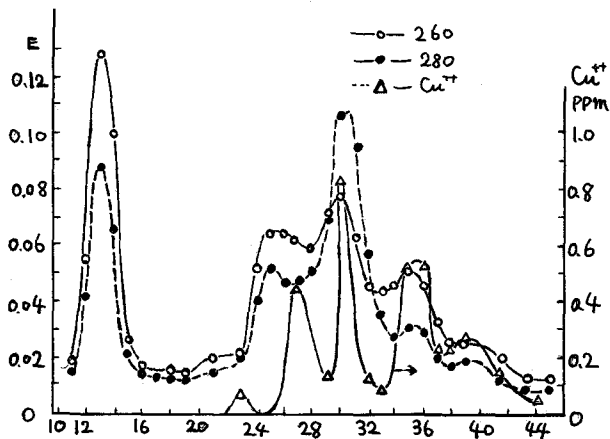


図-8

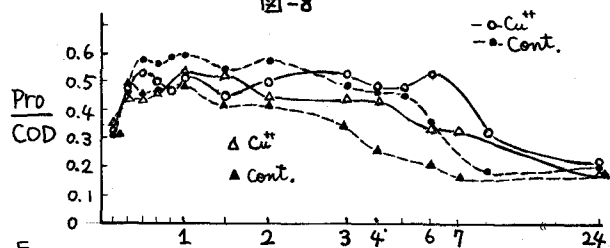


図-9

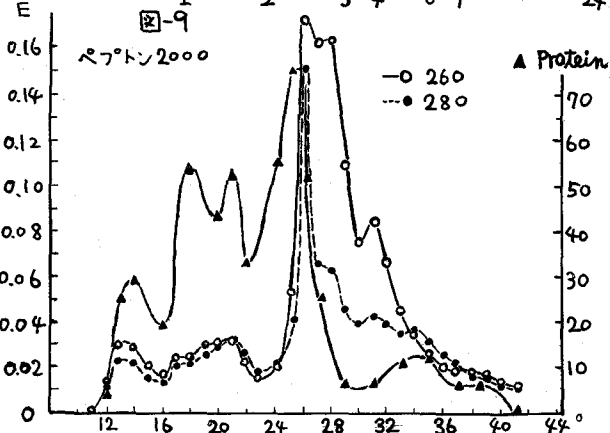


図-10

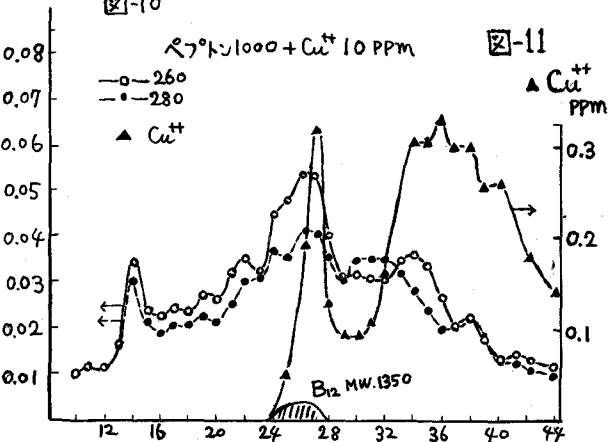


図-11

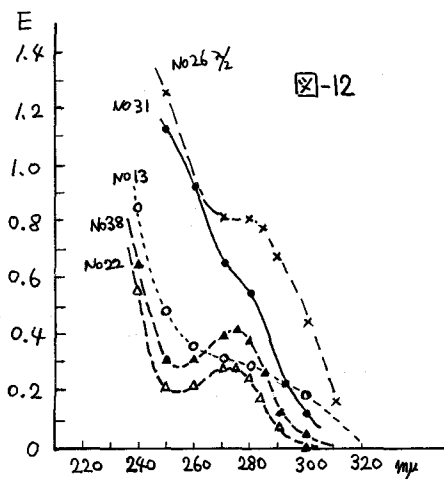


図-12

※ペプトンと銅の結合性について

先のゲル濾過と銅の分析により銅が特異にある有機物に結合して挙動することがわかったが、ペプトンのように蛋白質のある程度分解の進んだ物質には Cu^{++} がよく配位結合するであろうと考え、ペプトン2000ppmのゲル濾過と、ペプトン1000ppm+ Cu^{++} 10ppmのゲル濾過を行ない紫外吸収と蛋白量及び銅の分析を行なった。(図-10, 図-11) 図をみるとやはり低分子側の物質に銅が結合していること、より分子量が大きくしかも蛋白量も高い所にはほとんど銅は配位していないことがわかる。ペプトン2000ppmの分画の紫外吸収曲線を図-12に示す。NO.22とNO.38が蛋白質で、NO.38の低分子蛋白に銅がより多く配位していることがわかる。蛋白がほとんど検出されないNO.41フラクション以降の画分にもある程度検出されているが、これは官能基を持つ有機酸に配位した結果であろう。このようにペプトン- Cu^{++} Complexのような形の物質は広く都市下水中にも存在していると考えられる。グルコース汚泥に対して Cu^{++} 6ppm+ペプトン100ppm混合液を加えた場合のグルコース除去についてみたのが図-13で、ペプトンの存在によってグルコースの除去はほとんど阻害されていないことがわかった。これはペプトン錯体としての銅イオンがグルコースの膜透過阻害には効力が無いことを示していると考えられる。重要なことは、これらの重金属Complexが阻害力を持たないということではなく、グルコースペプトン汚染の場合(図-2)のようにグルコース除去にはそれ程影響を与えなくともペプトンの除去には大きな影響を与えているわけである。又ペプトン- Cu^{++} Complexの存在はより高濃度で銅が溶液系に残存することをも意味している。

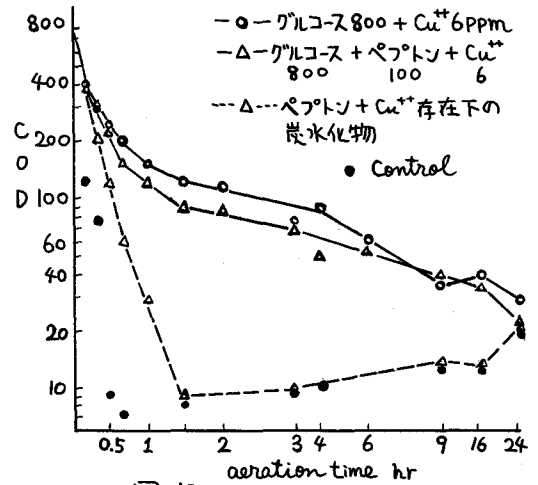


図-13

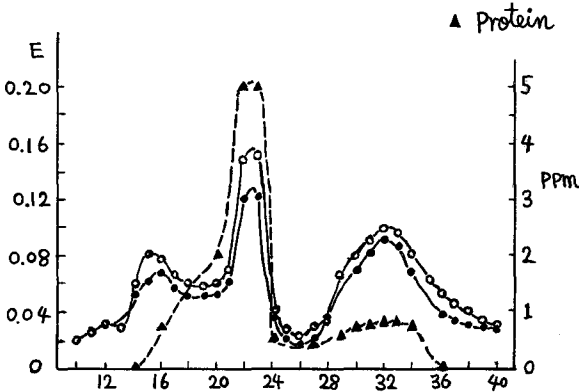


図-14

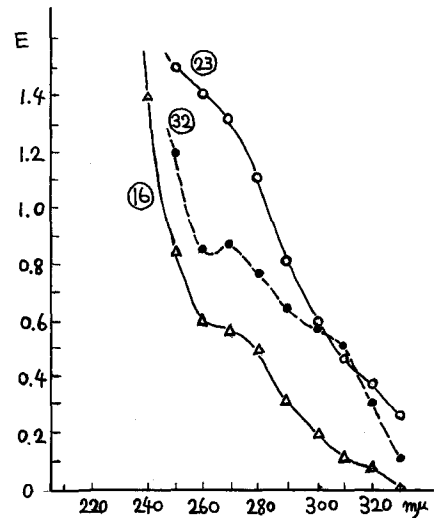


図-15

※ 都市下水と銅イオンの溶存状態について
の一考察……

札幌市S処理場に流入する下水を1万rpmで10min超遠心分離し、上澄みを13.3倍に濃縮し0.1N-NaOH溶液としさらに1万rpm 10min超遠心分離し上澄みをゲル濾過用試料とした。一方銅濃度が20ppmになるようにこの試料に銅を加え、それぞれ5mlをG-25でゲル濾過を行った。この試料は淡黄色でCOD=320, protein 67ppmであった。銅を加えない下水のゲル分画を図-14に示し同時に蛋白の分布を示した。蛋白と紫外部の吸収曲線はよく一致している。図-15にピークI, II, IIIの画分の紫外部吸収曲線を示した。銅を入れた場合を図-16

に示す。銅を入れない場合に3つのピークが出現したのに対し銅を加えた場合には1つのピークしか現われなく、銅添加により有機物の荷電状態に変化を与え、その結果I, IIのピークが合わさって1つの大きなピークになったのではないかと推定する。図-8, 図-11において分子量の大きな画分の方には銅がほとんど検出されなかったのに対し、図-16の実際の下水においては分子量の大きな画分にも若干検出されていることは重要な違いである。都市下水は比較的分子量の大きな有機物も金属イオンを配位結合することが出来る物質を含んでいるのであろうか。今後種々の下水に対して検討する必要があると考える。No.26のフラクシヨンの吸光度が極端に大きく、銅濃度も極端に高いことは興味ある事実である。このフラクシヨンは全く透明で4ppm以上の銅イオンが完全に溶解性になっていることは驚くべきことである。ビタミンB₁₂の溶出位置から分子量1300前後の有機金属錯体であると思う。蛋白質に銅イオンが配位すると紫外部の吸収が変化増加することがわかっている。蛋白質に銅イオンが配位した場合と銅を加えない場合の紫外部吸収を図-17に示し、下水に銅を加えた場合のゲル濾過画分No. 26, 27の吸収曲線を図-18に示し、銅を加えなかった時の図-15の吸収曲線と比較すると、その変化が牛血アル

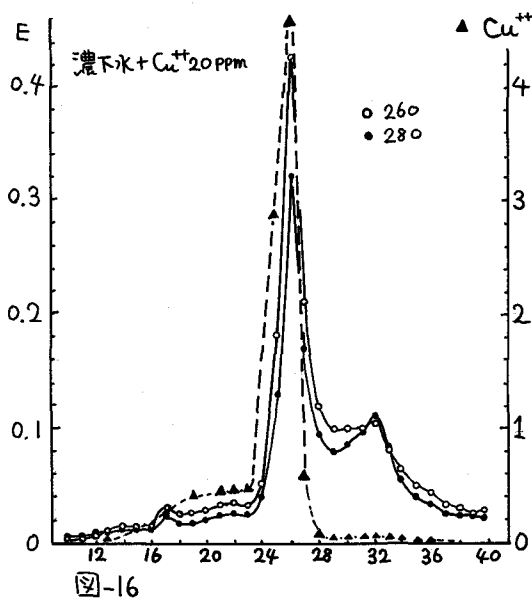


図-16

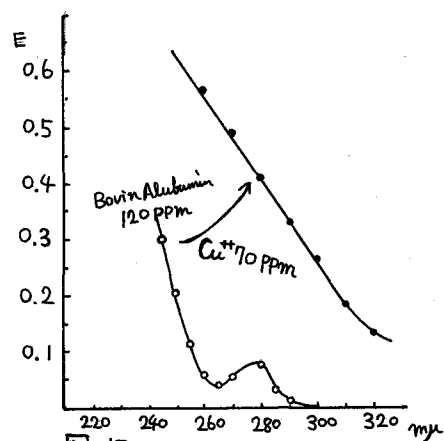


図-17

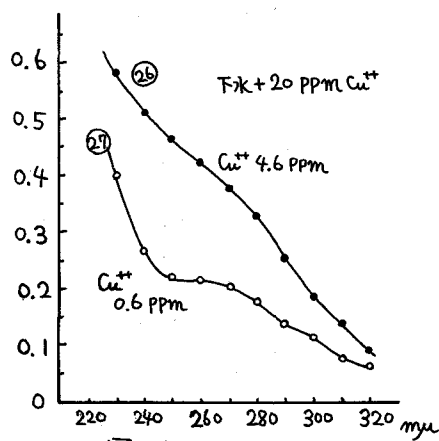


図-18

ブミンの場合とよく似ていることがわかる。

※ 総括

3種類の汚泥を用いて銅イオンの阻害について種々検討した結果、グルコースのような低分子で簡単な化合物を基質とした汚泥とペプトンのような比較的高分子で組成も複雑な物質を基質とした汚泥とでは基質除去のメカニズムはもちろん、阻害の受け方も違っていることがわかった。

基質の違いがすなわち汚泥の違いであり、実際の都市下水も種々様々であるから、一様に浄化機構や阻害の問題を論ずることは出来ないであろう。一方何れれの汚泥も阻害を受けると蛋白質などのCOD物質が溶出してくること、さらには核酸及び高分子多糖類が溶出してくること等が「ケル尹過」によって明らかになった。ペプトン汚泥、グルコースペプトン汚泥への阻害が比較的時間が経過してから大きく現われることなどを考えると、活性汚泥処理水の悪化が流入下水中の有機物が除去されないというだけではなく、より難分解性の蛋白類、有機酸類が溶出され二重に引き起こされるであろう。そのような現象が現在多くの下水処理場において放流水の重クロム酸COD値、TOC値がBOD値にくらべて異常に高い値を示すことによって現われているのではないかと……。

一方、下水系における重金属の存在状態は、活性汚泥への影響はもちろん広く河川、海洋への影響を考えると重大な問題を含んでいると考えられる。

本研究において都市下水中には特異的に銅イオンと水溶性錯体を形成する物質が存在することを明らかにした。近年汚泥の熱処理、処分、廃棄物処理に伴なって重金属の溶出が非常な危険を生んでいる。更なる金属の溶存状態、溶出機構についての研究が必要と思う。