

## (7) 活性汚泥の培養方式と汚泥中糖蓄積の挙動

東京大学工学部 ○益 永 茂 樹  
 “ 楠 井 隆 史  
 “ 河 崎 哲 久  
 “ 中 西 準 子

### 1. 活性汚泥法における糖類の除去機構について

演者らはこれまで活性汚泥法における糖類の除去機構について、汚泥内蓄積物を直接定量する方法で研究を進めてきた。<sup>(1)(2)(3)</sup>その結果から、活性汚泥による除去パターンには、大きく分けて次の2つのタイプがあることを示した。<sup>(4)</sup>

第1の型は、馴致された基質、あるいはグルコースなどの馴致不要の基質を与えられた場合に見られるものである。パッチ投与された基質は極めて速やかに除去され、その大部分は汚泥中にグルコースの重合体の形で蓄積される。除去は基本的には基質濃度に対して零次反応であるが、蓄積物の増加によって阻害されるために除去速度は時間を追って遅くなる。また代謝については、除去が行なわれている間は、除去速度に比例した速度で代謝され、除去完了後は蓄積量に比例した速さで代謝される。除去が速やかであることと、除去活動中の代謝が活発であることから、除去と代謝がエネルギー的に共役していると考え、この型を能動輸送型と呼ぶことにする。

第2の型は、キシロースをグルコース培養汚泥に投与した場合に見られたものである。パッチ投与された基質は初期に急速な除去が起こるが、汚泥量に応じた平衡状態で除去は停止する。この時、汚泥内には投与された基質がそのままの形で蓄積される。また平衡状態での溶液中基質濃度と蓄積量との間にはラングミュア型の吸着等温式が当てはまる。これを吸着型と呼ぶことにする。このタイプの現われる原因として、投与基質を細胞内に蓄積することができても、それを代謝できないことが考えられるが、単に汚泥表面に基質が吸着しているにすぎない場合も考えられ、これらを区別することはできない。

既報において、培養基質の違いによる、各基質の除去パターンについて報告している<sup>(2)(3)</sup>、それらをまとめて、表-1に示す。これから、グルコース、フラクトースは馴致不要で、培養基質にかかわらず能動輸送型の除去を受けるが、キシロースは、除去にはグルコース馴致で充分であるけれども、代謝にはキシロース自身による馴致が必要であって、そのためにキシロースをグルコース培養汚泥に投与すると吸着型を示すということが推定できる。

本研究では、パッチ方式と連続完全混合方式の2つの培養方式による除去パタンの相違について実験を行ない、いくつかの知見を得たので報告する。

表-2 実験用汚泥の培養条件

| 培養基質                       |         | グルコース                                        | 脱脂粉乳                |
|----------------------------|---------|----------------------------------------------|---------------------|
| 培養条件                       |         |                                              |                     |
| パ<br>ッ<br>チ                | 投 与 負 荷 | グルコース 500mg/(ℓ・日)<br>栄養塩類                    | 脱脂粉乳<br>500mg/(ℓ・日) |
|                            | 汚 泥 引 抜 | 1/8                                          | 1/8                 |
|                            | 上 澄 入 換 | 1/2                                          | 3/8                 |
| 連<br>続<br>完<br>全<br>混<br>合 | 投 与 負 荷 | グルコース 250mg/(ℓ・日)<br>ペプトン 25mg/(ℓ・日)<br>栄養塩類 | 脱脂粉乳<br>500mg/(ℓ・日) |
|                            | 流 入 水 量 | 36ℓ/日                                        | 36ℓ/日               |
|                            | 混合液引抜   | 1ℓ/日                                         | 1ℓ/日                |

表-1 培養基質の違いによる除去パタンの差

| 投与基質   | 培養基質  | グルコース | フラクトース | キシロース |
|--------|-------|-------|--------|-------|
| グルコース  | 能動輸送型 | ——    | 能動輸送型  |       |
| フラクトース | 能動輸送型 | 能動輸送型 | 能動輸送型  |       |
| キシロース  | 吸着型   | ——    | 能動輸送型  |       |

主な基質として連続培養したものである。各々の培養条件を表-2に示す。

いずれも特に生物相の差異は見られなかったが、全般にバルキング気味であった。特に連続培養汚泥は両方ともしばしばひどいバルキングを起こして、汚泥の流出を起こした。

3. 培養方式と除去ボタン

はじめに、培養方式の異なる汚泥に糖類を投与する実験を行なった。

実験はすべてバッチ実験で、4種の実験用汚泥に糖類を栄養塩類とともに投与して、除去、代謝および蓄積物についての経時変化を追った。投与した基質はグルコース、α-メチルグルコシド、キシロース、および、ラクトースの4種類である。それぞれの構造を図-1に示す。α-メチルグルコシドは、生化学などでグルコースのアナログとして使われる物質で、大腸菌などでは一般にグルコースペーミラーゼによって細胞内に取り込まれるが、容易に代謝できないとされる<sup>(5)</sup>。キシロースは、これまでの演者らの研究では五炭糖の代表として使用してきたが、α-メチルグルコシドと同様にグルコース（六炭糖）のアナログとして、ある種の微生物では細胞内に取り込まれるが、代謝できない物質としている文献もある<sup>(6)</sup>。ラクトースは二糖類の一種で、乳糖とも呼ばれ、脱脂粉乳の主成分であり、ガラクトースとグルコースが結合したものである。

分析方法は、キシロース以外の糖にはアンスロン法を用い、キシロースにはオルシン-Fe<sup>3+</sup>-塩酸法を用いた<sup>(7)</sup>。またグリコーゲン<sup>(8)</sup>は30% KOHで抽出して、エチルアルコールで沈澱させたものをアンスロン法で定量した<sup>(9)</sup>。

実験結果の例を図-2に示し、表-3に整理した。結果について検討したい。

1) 馴養基質を投与した場合…グルコース培養汚泥にグルコースを、そして脱脂粉乳培養汚泥にラクトースを投与した場合がこれにあたる。バッチ培養と連続培養の違いは、投与された基質のうちの蓄積にまわる割合が全く異なることである。グルコース投与の場合、バッチ培養汚泥では除去された基質のうちの5割以上が蓄積される典型的な能動輸送型であるのに対し、連続培養汚泥では約2割が蓄積されるのみで残りは代謝されている。これは代謝速度と除去速度の比が、バッチ培養の約0.4に対して連続培養では約0.8にもなることによっている。言い換えれば蓄積速度と除去速度の比がそれぞれ0.6と0.2であるこ

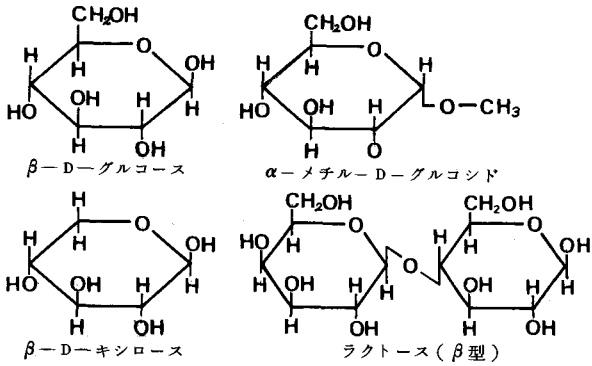


図-1 投与基質の構造式

表-3 培養方式の違いによる除去ボタンの差

数字は上から順に、除去速度 (mg/mgSS・hr)、代謝速度 (mg/mgSS・hr)、代謝速度と除去速度の比、および収率をそれぞれ示す。

| 汚泥<br>基質                             | グルコース                                                             |                                           | 脱脂粉乳                       |                          |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------|--------------------------|
|                                      | バッチ                                                               | 連続                                        | バッチ                        | 連続                       |
| グル<br>コ<br>ー<br>ス                    | 能動輸送型                                                             | 非蓄積型                                      | 能動輸送型                      | 非蓄積型                     |
|                                      | 600 ~ 1000                                                        | 150 ~ 230                                 | 438                        | 40 ~ 100                 |
|                                      | 270 ~ 400                                                         | 100 ~ 200                                 | 241                        | 40 ~ 95                  |
|                                      | 0.37 ~ 0.44                                                       | 0.56 ~ 0.86                               | 0.55                       | 0.93 ~ 0.97              |
| α<br>グ<br>リ<br>メ<br>コ<br>チ<br>シ<br>ド | 吸着型<br>初期: 180 ~ 350<br>後期: 0 ~ 15<br>15 ~ 50<br>後期 1 以上          | 非蓄積型                                      | 非蓄積型                       | 非蓄積型                     |
|                                      | 初期 0.2 ~ 0.4                                                      | 0 ~ 30<br>10 ~ 30<br>約 1.0<br>0.23 ~ 0.30 | 25.6<br>21.4<br>0.84<br>0  | 8.7<br>6.9<br>0.79<br>0  |
| キシ<br>ロ<br>ー<br>ス                    | 吸着型<br>初期: 投与濃度に依存<br>後期: 5 ~ 25<br>8 ~ 30<br>後期 1 以上<br>0 ~ 0.50 | 非蓄積型                                      | 非蓄積型                       | 非蓄積型                     |
|                                      |                                                                   | 15<br>14<br>0.93<br>0.11                  | 36.7<br>25<br>0.68<br>0.38 | 19<br>17<br>0.89<br>0.02 |
| ラク<br>ト<br>ー<br>ス                    | 非蓄積型                                                              | 非蓄積型                                      | 能動輸送型                      | 非蓄積型                     |
|                                      | 274                                                               | 15 ~ 95                                   | 360                        | 434                      |
|                                      | 100 ~ 30 ~ 20                                                     | 0 ~ 92                                    | 141                        | 31.6                     |
|                                      | 初期 1 以上<br>0.71                                                   | 0.97<br>0.44                              | 0.39<br>0.63               | 0.73<br>0.23             |

とによっている。

脱脂粉乳培養汚泥にグルコースを投与した場合も、グルコースが馴致を必要としない基質であるので、同種の違いが観察されている。

ロ) グルコース培養汚泥にグルコースのアナログを投与した場合… $\alpha$ -メチルグルコシド、キシロースはグルコースと同一の膜透過機構で微生物に取り込まれるが、代謝には特別な酵素が必要とされる。実験結果は、この現象が、活性汚泥という混合培養系でも起こっていることを示した。すなわち $\alpha$ -メチルグルコシドとキシロースをバッチ培養汚泥に投与すると、その代謝は非常に遅いが、除去は初期に急速に進行し、溶液中濃度と平衡する段階で除去は止まり、吸着型を示す。エタノール抽出により、汚泥中増加分に相当する単糖が抽出されることから、蓄積形態は投与基質のままであると思われる。一方、連続培養汚泥では、初期除去は全く見られず、代謝と並行して除去される。これから、連続培養汚泥は、 $\alpha$ -メチルグルコシドやキシロースの蓄積スペースを持たないと考えるのが妥当である。

ハ) 未馴致基質を投与した場合…グルコース培養汚泥にラクトース、脱脂粉乳培養汚泥に $\alpha$ -メチルグルコシドやキシロースを投与した場合がこれにあたる。この場合、いずれも除去と代謝が並行して起こる。ただし、連続培養汚泥の場合、除去は遅めで、時間の経過とともに早くなるという傾向が観察された。

以上のように、同じ基質で培養しても、培養方式によって汚泥の

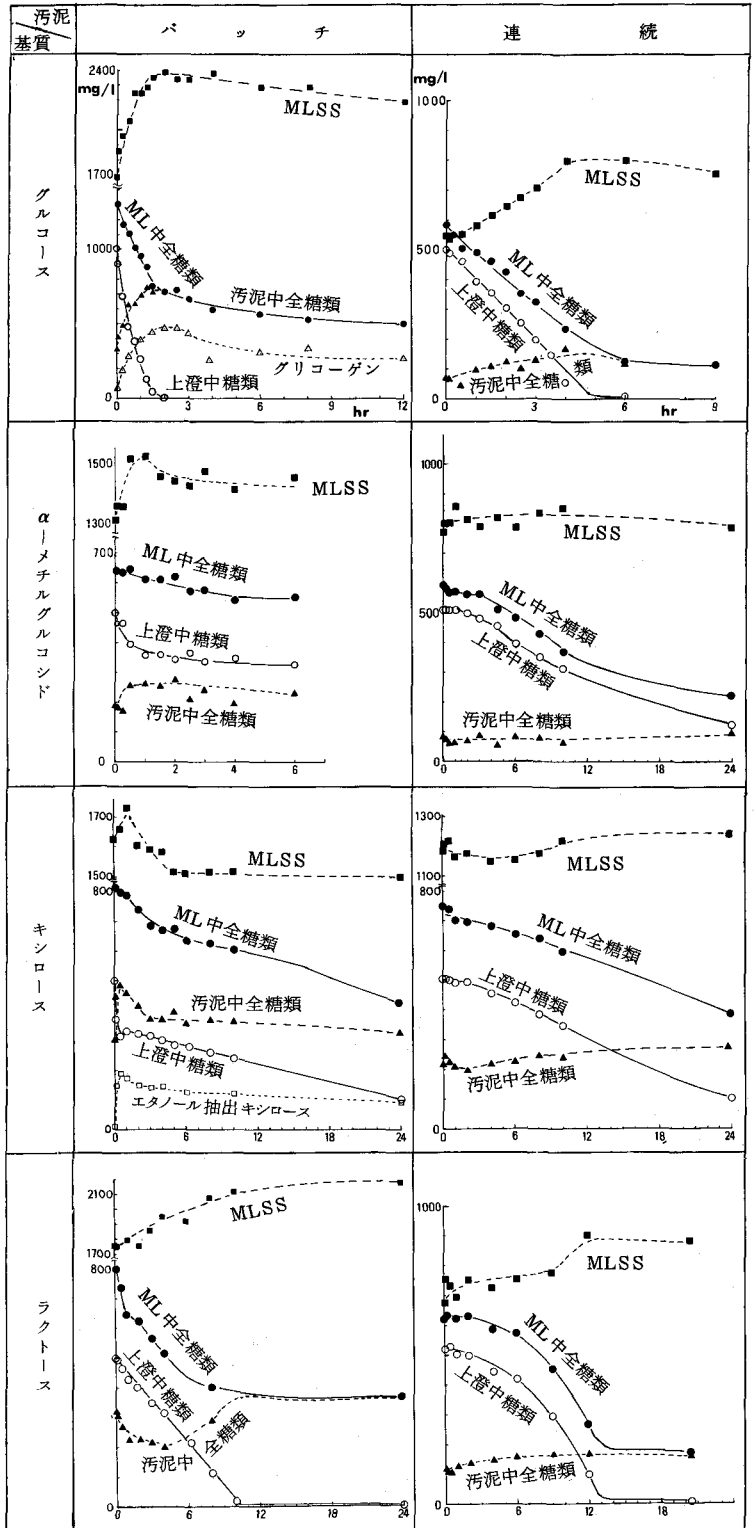


図-2(a) 培養方式の違いによる除去パタンの差  
(グルコース培養汚泥)

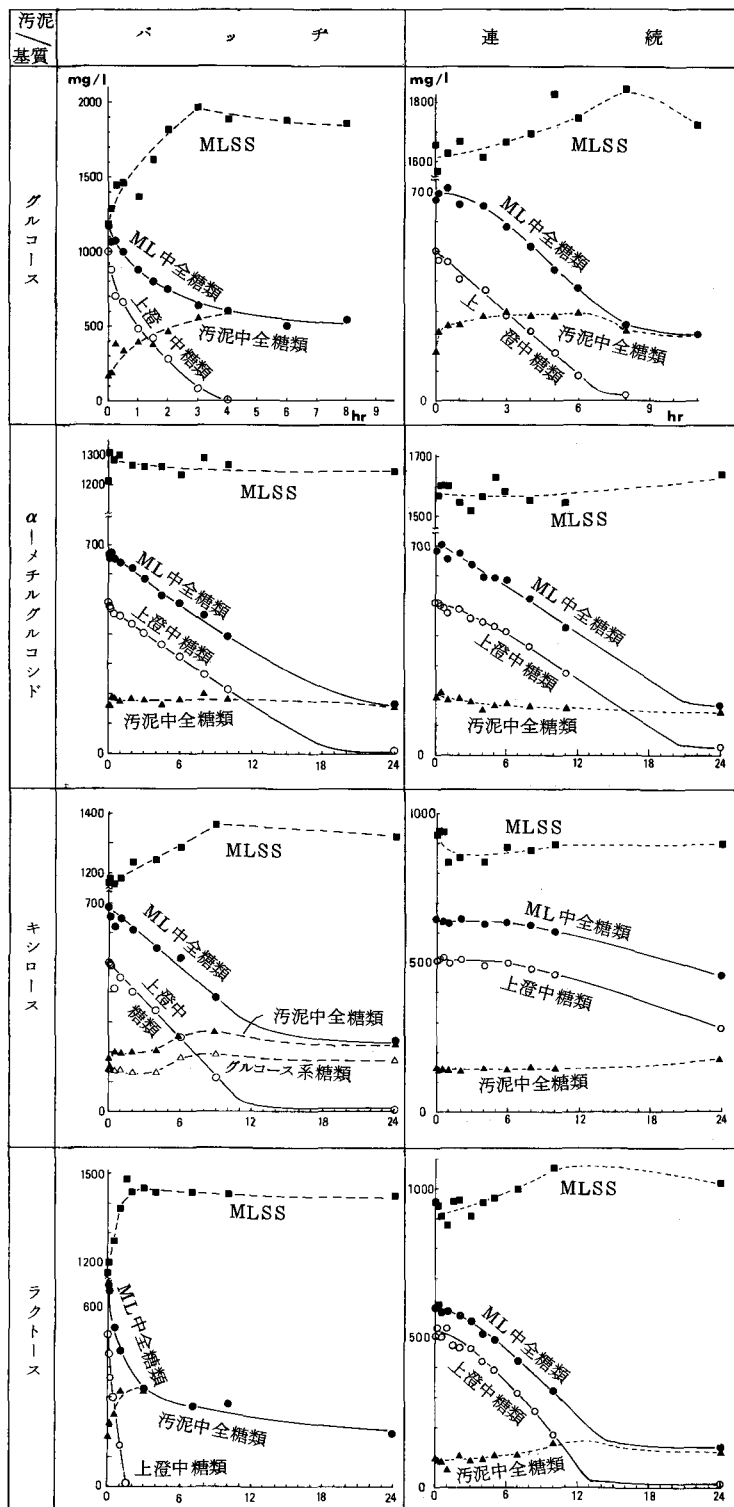


図-2(b) 培養方式の違いによる除去パタンの差  
(脱脂粉乳培養汚泥)

性質、能力が異なることが明らかになった。表-3においては、能動輸送型、吸着型以外の汚泥中蓄積物の変化の少ない除去パターンを第3の型として非蓄積型と名付けて示した。一般に、(1)連続培養汚泥ではすべての場合が非蓄積型であること、(2)同一基質に対して、除去速度、代謝速度とも常にバッチ培養の方が大きいこと、がわかる。

#### 4. 連続培養汚泥からバッチ培養する実験

前節の実験で連続培養汚泥とバッチ培養汚泥について、除去パターンに差があることが明らかになった。そこで、この節では、グルコースで連続培養した汚泥を同じ基質の同じ負荷 ( $250\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{日})$ ) で1日1回の fill and draw でバッチ培養し、その間の除去パタンの経日変化について観察した。実験Ⅰでは、 $250\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{日})$  のバッチ培養槽から直接サンプリングして、グルコースの除去と代謝の様子を追った。実験Ⅱでは、 $250\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{日})$  のバッチ培養槽から引き抜かれた汚泥を2つに分けて、ひとつにはグルコース  $1000\text{mg}/\text{L}$  を、もうひとつには  $\alpha$ -メチルグルコシド  $500\text{mg}/\text{L}$  を投与して経時変化を追った。

その結果を、表-4に示す。比較のために、連続培養汚泥とバッチ培養汚泥によるバッチ実験の結果を付け加えた。表からわかるように、実験Ⅰでは、5回のバッチ投与を終えた汚泥はほぼ通常の長期間バッチ培養を続けた汚泥と変わらない能動輸送型を示した。実験Ⅱでは、4回のバッチ投与で、かなりバッチ培養汚泥に近づいた

が、8回の投与の後も

表-4 連続培養汚泥からバッチ培養する実験の結果

あまり変化がなかった。  
この原因は不明である  
が、7回めの投与をし  
た直後、数時間にわた  
る停電があり、その間  
曝気が停止されていた。  
そのため汚泥に悪影響  
が出た可能性がある。  
実験期間中のグルコース  
除去速度と代謝速度  
の経日変化の様子を図  
-3に示す。なお、実  
験Ⅰでは、汚泥は一貫  
して低S V Iであり、  
一方、実験Ⅱでは、当  
初ひどいバルキングを  
起こして、30分  
沈降率が90%以上と

|         | 投与回数 | 日付   | 投与量<br>(mg/ℓ) | MLSS <sub>0</sub><br>(mg/ℓ) | F/M比 | 除去速度<br>mg/(gSShr) | 代謝速度<br>mg/(gSShr) | 代謝速度<br>除去速度 | ΔSin<br>(mg/ℓ) | ΔMLSS<br>(mg/ℓ) | 収率<br>(%) |
|---------|------|------|---------------|-----------------------------|------|--------------------|--------------------|--------------|----------------|-----------------|-----------|
| 実験Ⅰ     | 0    | 9/3  | 250           | 1058                        | 0.24 | 164                | 92                 | 0.56         | 97             | 179             | 0.72      |
|         | 1    | 9/4  | "             | 1046                        | 0.24 | 202                | 126                | 0.62         | 84             | 185             | 0.74      |
|         | 2    | 9/5  | "             | 913                         | 0.27 | 370                | 200                | 0.54         | 116            | 245             | 0.98      |
|         | 3    | 9/6  | "             | 967                         | 0.26 | 443                | 254                | 0.57         | 93             | 249             | 1.00      |
|         | 4    | 9/7  | "             | 1120                        | 0.22 | 509                | 370                | 0.72         | 115            | 184             | 0.74      |
|         | 5    | 9/8  | "             | 911                         | 0.27 | 619                | 234                | 0.38         | 141            | 179             | 0.72      |
|         | 10   | 9/14 | "             | 854                         | 0.29 | 656                | 341                | 0.52         | 133            | 205             | 0.82      |
|         | 10   | 9/14 | 1000          | 884                         | 1.13 | 740                | 371                | 0.50         | 449            | 742             | 0.74      |
| 実験Ⅱ     | 0    | 9/17 | 1000          | 791                         | 1.26 | 158                | 112                | 0.71         | 270            | 669             | 0.67      |
|         | 2    | 9/19 | "             | 788                         | 1.27 | 279                | 178                | 0.64         | 360            | 722             | 0.72      |
|         | 4    | 9/21 | "             | 858                         | 1.17 | 438                | 237                | 0.54         | 409            | 726             | 0.73      |
|         | 8    | 9/25 | "             | 699                         | 1.43 | 449                | 245                | 0.55         | 431            | 718             | 0.72      |
| 連続培養汚泥  | 6/26 | 500  | 545           | 0.92                        | 187  | 161                | 0.86               | 99           | 254            | 0.51            |           |
|         | 6/26 | 1000 | 509           | 1.88                        | 231  | 198                | 0.86               | 124          | 578            | 0.58            |           |
|         | 9/22 | 500  | 697           | 0.71                        | 187  | 106                | 0.57               | 150          | 268            | 0.54            |           |
| バッチ培養汚泥 | 12/6 | 1000 | 882           | 1.13                        | 734  | 461                | 0.63               | 486          | 687            | 0.69            |           |
|         | 1/22 | 1000 | 1688          | 0.59                        | 617  | 267                | 0.43               | 418          | 703            | 0.70            |           |
|         | 2/22 | 1000 | 1314          | 0.76                        | 788  | 291                | 0.37               | 691          | 766            | 0.76            |           |
|         | 6/20 | 1000 | 1421          | 0.70                        | 634  | 291                | 0.46               | 555          | 740            | 0.74            |           |
|         | 7/24 | 500  | 984           | 0.51                        | 1711 | 431                | 0.25               | 328          | 369            | 0.74            |           |

いう状態であったが、8回めの投与後には21%まで下がった。生物相の変化は見られなかった。

α-メチルグルコシドの除去パターンについては、しだいに吸着型を示すようになることが期待されたが、除去速度、代謝速度ともに全く不変であった。

以上の実験で、連続培養汚泥とバッチ培養汚泥における相違点はかなり明らかになった。すなわち、バッチ培養汚泥では能動輸送型を示す基質も連続培養汚泥では非蓄積型を示すのであるけれども、

連続培養汚泥は数回のバッチ培養でバッチ培養汚泥に段階的に変化させることができる。このことは、両汚泥の違いは蓄積能力の大小であって、そのために見かけ上、除去パターンの差になっているにすぎないということを示唆している。そこで、この実験結果を演者らが能動輸送型について提示しているモデルに適合し得るかを検討することで考察してみよう。

演者らは、既に触れたように、除去を基質濃度に対して零次反応であるとし、蓄積物の増加によって阻害されるとして、次のような式を仮定している。

$$-dS_{ex}/dt = K_0 \cdot M \cdot (C_{max} - (S_{in}/M)) \quad (1)$$

ここで、 $S_{ex}$  は外部基質濃度 (mg/ℓ)、 $S_{in}$  は汚泥中全糖濃度 (mg/ℓ)、 $M$  は MLSS 濃度 (mg/ℓ) を表わし、 $C_{max}$  は仮想最大汚泥中糖蓄積 (mg/mg SS)、 $K_0$  は速度定数 (1/hr) である。すなわち、これは除去速度が蓄積スペースに比例するというモデルである。

本研究で使用したバッチ培養汚泥では、 $(S_{in}/M)_0 \div 0.17$  であり、これとバッチグルコース汚泥に対する

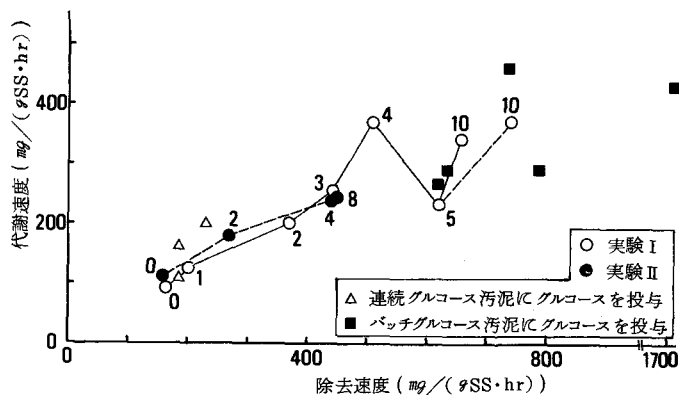


図-3 グルコース除去速度と代謝速度の経日変化

値として得ている、 $K_0 = 2.1$ 、 $C_{max} = 0.52$ を代入すると、 $MLSS$ 当りの除去速度は $0.735 \text{ mg}/(\text{mgSS} \cdot \text{hr})$ となり、実測値に近い。これに対して連続培養汚泥では、 $(S_{in}/M)_0 \approx 0.13$ であるから、除去速度の実測値、 $0.185 \text{ mg}/(\text{mgSS} \cdot \text{hr})$ から逆算すると、 $K_0 = 2.1$ を一定とすると、 $C_{max} = 0.22$ となる。この値はやや小さすぎるようで、このままでは、除去カーブは実験結果よりも一次反応に近い曲線になるはずである。これに対する説明としては、バッチ投与ごとに除去速度が速くなることから、除去活動中に $C_{max}$ が大きくなると考えることができる。そのために蓄積物の増加が相殺されて、一定の除去速度を保つとするものである。しかし、実際には、 $K_0$ が $2.1$ よりも小さく、 $C_{max}$ は $0.22$ と $0.52$ の間にあり、また除去活動中の $C_{max}$ の増大もあるとするのが妥当であろう。連続培養の場合、グルコース蓄積量の異なる汚泥を作ることが容易でない（バッチ培養の場合は、1バッチの間に経時的に汚泥を採取することで得られた）、蓄積量と除去速度の関係を求めるのは困難であり、実験によって $K_0$ と $C_{max}$ を求めることができない。したがって現在のところ、それらの関係を証明することができないが、先に提示したモデルは連続培養汚泥に対しても矛盾していない。すなわち、連続培養汚泥にグルコースを投与した時、非蓄積型の除去パターンを示すのは、本質的には能動輸送型であり、蓄積スペースの大きさが小さいために見かけ上異なるパターンを示しているにすぎないと言えることができる。

## 5. 議論

バッチと連続（すなわち、押し出し流れと完全混合）について比較した既存の研究は多いが、実プラントでは両者に明確な除去率の差は得られていない。また、理論的考察をしているものも、多くは一次以上の反応を仮定して、その定数の違いを示しているが、一般に完全混合の方が有利とする報告が多いようである。これは、一次以上の反応を仮定して、同一の定数を用いて計算をすると、理論的には押し出し流れの方が高い除去率を得るはずであるが、実測値に差がないために完全混合の方が速度定数が大きいという結論に達するものと思われる。除去は基本的に基質濃度に対して零次反応であることを認めれば、たとえば混合基質で、零次反応の重ね合わせによって見かけ上零次以外の反応に見えても、個々の基質について零次反応である以上、両者は速度定数などの汚泥の性質が全く同一であるとした場合、除去率に差はないはずである。しかし、本研究により、蓄積スペースの大小という、汚泥そのものの違いが明らかになり、単純なモデルによる比較は意味がないことがわかる。

一般に、除去の速度定数の違いだけでなく、バルキングの起こりやすさなど、培養方式の違いによる汚泥の性質の違いがいくつか報告されているにもかかわらず、本研究のように、これらの間の汚泥そのものの性質の相違について、同一条件の実験（たとえば本研究のようなバッチ実験）で比較した研究は少ないようである。ここに、活性汚泥法の基礎的研究としての今回の研究の意義がある。しかし、演者らの使用した連続培養槽内での除去速度は、基質流入速度に規定されていて、バッチ実験で得られた除去速度よりもはるかに遅いことになる。したがって、この結果をもとに処理方式としての押し出し流れと完全混合を比較することはできない。そのためには、グルコースのような完全に除去されやすい基質を扱うのではなく、複合基質の場合を考慮したり、その際の蓄積物の挙動を調べるなど、今後のさらなる研究が必要である。

〈参考文献〉 (1)中西・益永・杉淵・坂口：第14回下水道研究発表会講演集 P.467 (1977)。(2)中西・益永・楠井・河崎：第16回下水道研究発表会講演集 P.200 (1979)。(3)楠井・益永・中西・河崎：第34回土木学会年講 P.545 (1979)。(4)益永・中西・楠井・河崎：土木学会論文報告集投稿中。(5)R. H. Siddiqi et al. : Advance in Wat. Poll. Res. Proc. 3rd Int. Conf. (1966)。(6)C. F. Heredia et al. : European J. Biochem. 5, P. 321 (1968)。(7)Gaudy, Jr. : Ind. Water and Wastes 7, [1]。(8)Methods in Microbiology 5B, P.285。(9)微生物研究法。