

(9) 活性汚泥の培養と主要元素の挙動に関する研究

大阪大学工学部 橋本 奨
 " ○藤田 正憲
 西原環境衛生研究所 浜本 洋一

1. 緒 言

活性汚泥微生物を良好な状態に保つために、温度、溶存酸素濃度、食物／微生物（F/M）比、BOD 負荷量等の影響について多くの研究がなされているが、活性汚泥微生物と下水・廃水中の各種無機元素の間の関係を明らかにした研究は極めて少い。しかし、流入下水・廃水中の無機元素は微生物細胞の構成成分等として、微生物の成長と維持に不可欠である。従って、活性汚泥の浄化機能と各種無機元素の種類及び濃度の間の関係を定量的に明らかにすることは、活性汚泥法の運転・管理上極めて重要である。

ここでは、活性汚泥法における主要無機元素及び微量無機元素の挙動を明らかにすると共に、これら元素の活性汚泥微生物に対する役割について考察を試みた。

2. 無機元素の摂取・蓄積に対する吸着理論の応用

活性汚泥微生物による基質除去は、活性汚泥と基質（ここでは無機元素）の複合体形成速度が律速であると仮定すれば、次式で示される。^{1,2)}

$$n\ell + S \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} (n\ell - S) \xrightarrow{k_3} nP + S \quad \dots\dots\dots (1)$$

ここで、S：活性汚泥， ℓ ：基質， $(n\ell - S)$ ：基質と活性汚泥の複合体，P：生産物， k_1, k_2, k_3 ：反応速度恒数，n：定数（ $1/n$ は単位量の活性汚泥 S が単位量の基質 ℓ を吸着するに要する力の割合を意味する）。ここで、定数 n はより一般的に表わすためである。(1)式から、修正 Michaelis-Menten 式は次のように表わされる。

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{1}{1 + \frac{[Km]}{\ell^n}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

ここで、v：吸着あるいは除去速度， $V_{\max}$ ：最大吸着速度または最大除去速度，[Km]：修正 Michaelis 恒数（ $= k_2 + k_3 / k_1$ ）， ℓ ：基質平衡濃度。

(2)式の [Km] は、次式で表わされることが実験的に示された。

$$[Km] = K_m S^m \quad \dots\dots\dots (3)$$

(2)式，(3)式から(4)式が誘導される。

$$v = \frac{V_{\max} \frac{\ell^n}{S^m}}{K_m + \frac{\ell^n}{S^m}} \quad \dots\dots\dots (4)$$

(4)式では、Michaelis 恒数は、活性汚泥濃度 (S) と基質濃度 (ℓ) が広範囲に変動する場合には、恒数ではなく、S と ℓ の関数となることを示している。¹⁾

本研究では、連続実験における活性汚泥濃度の範囲はあまり大きく変化していないことから、橋本²⁾が示したように、 $n=1, m=0$ の場合とみなすことができる。このとき [Km] = K_m となる。ここで、連続実験における定常状態では、吸着除去速度は、活性汚泥単位重量当りに吸着された無機元素重量で置き換えることができる。即ち、 ℓ_a ：汚泥単位重量当りの無機元素量 (mg/kg)， ℓ_m ：汚泥単位重量当りの最大無機元素量とすると、(4)式は次のように書き換えられる。

$$l_a = \frac{l_m \cdot l_e}{K_m + l_e} \dots\dots\dots (5)$$

(5)式のLineweaver — Burk のプロットから、 K_m および l_m を求めることができる。ここで、無機元素の場合、生産物Pの生成は考えられないので、 K_m は、 k_2/k_1 比で近似され、活性汚泥と無機元素の親和性 ($1/K_m$ が大きいほど親和性は強い) を表わす。

3. 実験材料ならびに方法

3-1 合成培地

炭素源としてグルコース 1000mg/ℓ を用い、窒素と磷は ThOD (理論的酸素要求量) : N : P が、約 100 : 5 : 1 となるように定めた。その他の主要元素特にカリウム (K), マグネシウム (Mg), 鉄 (Fe) およびマンガン (Mn) は、各種文献値^{3,5)} に示された値を参照し、決定した。

表-1に、ここで採用した合成培地の組成を示す。表-1の基本元素は、各 Runごとくその濃度を変えて用いた。これを一括して表-2に示す。ここで、Run 3 は、N, P, Ca は基本元素の濃度と同じであるが、Fe, Mg及びKは基本元素の3~7倍濃度を又、Mnは7~20倍濃度を用いている。稀釈水は、ことわらない限り、比抵抗 $500 \times 10^4 \Omega \cdot \text{cm}$ 以上の脱イオン水を用い、試薬はすべて特級試薬を用いた。

3-2 実験装置

活性汚泥の培養は Run1 及び 4 では、沈殿槽を有する完全混合式曝気槽を用い (曝気槽容積 5.0 ℓ), Run 2, 3 及び 5 では、図-1に示す底部が円錐型の円筒曝気槽 (内容積 5.5 ℓ) を用いた。固液分離は、工業用パッド (住友スリーエム社製タイプ A, very fine) をアクリル製円筒 (直径 9 cm) の底面に接着したフィルターにより行った。

種汚泥として研究室で培養した合成下水馴養汚泥を用いた。

3-3 実験方法

Run 1, 2, 3, 5 では、M/2炭酸水素ナトリウムで曝気槽

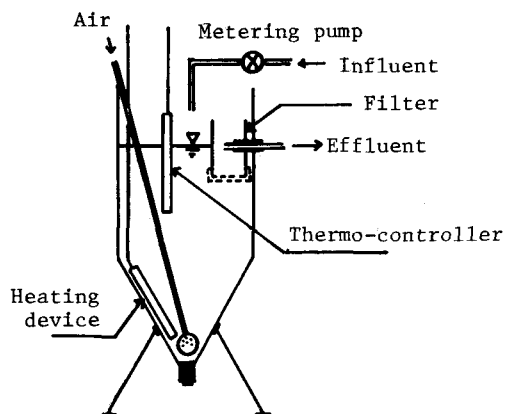


Fig.1. Schematic diagram of completely-mixed experimental aeration tank. (working volume=5.5ℓ)

Table 1 Composition of synthetic medium.

Basal Elements		
	mg/l	mg/l
FeSO ₄ 7H ₂ O	1	(0.20 as Fe)
MnSO ₄ 4H ₂ O	1	(0.25 as Mn)
MgSO ₄ 7H ₂ O	200	(19.7 as Mg)
(NH ₄) ₂ SO ₄	250	(53.0 as N)
NaH ₂ PO ₄ 2H ₂ O	50	(9.9 as P)
KCl	50	(26.2 as K)
CaCl ₂ 2H ₂ O	10	(2.7 as Ca)
Carbon Source		
Glucose	1000	(400 as C)
Trace Metals		
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.39	(0.10 as Cu)
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.44	(0.10 as Zn)
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.40	(0.10 as Co)

Table 2 Summary of operational indices.

Run	Conc. of Basal Elements	Trace Metals	Water Used
1-1	x 1/10	-	Deionized
1-2	x 1/2	-	
1-3	x 1	-	
1-4	x 5	-	
2-1	x 1/5	-	Deionized
2-2	x 1	-	
2-3	x 2	-	
2-4	x 5	-	
3-1	x 1	-	Deionized
3-2	x 1	-	
3-3	x 1	-	
3-4	x 1	-	
4-1	x 1	-	Deionized Tap
4-2	x 1	-	
5-1	x 3	+	Deionized
5-2	x 5	+	
5-3	x 5	+	
5-4	x10	-	

内の pH を 6.5 ～ 7.5 に連続的に制御し、所定負荷量になるように基質を連続投入し、毎日 1 回曝気槽から汚泥を引き抜くことにより活性汚泥滞留時間 (t_s) を制御した。²⁾ Run 4 では、合成培地を脱イオン水 (Run 4-1) と水道水 (Run 4-2) で調整し、炭酸カルシウムを用いて槽内 pH を 5 ～ 7 に制御した。 t_s は、Run 3-3、及び 3-4 では 50 日、Run 4 では 230 日、その他は 10 日に保たれた。水温は Run 1, 2, 3, 5 では 30℃ に制御され、Run 4 では室温のまゝに置かれた。流出水 SS が無視しえない場合、この影響も考慮して、 t_s の制御を行った。

Fe, Mn, Mg は原子吸光法で、K (カリウム) は蛍光分析法で求めた。又、全燐はバナド・モリブデン酸法⁶⁾によった。

4. 実験結果ならびに考察

4-1 無機元素の親和性

Run 1-3 の定常状態のデータを用い、流出水中の無機元素イオン濃度 (l_e) と活性汚泥単位重量当りの元素量 (l_a) の関係を Fe, Mn, Mg, P, K について求めた。一例として Mg について図示すると、図-2 のようなカーブが得られ、(5)式の成立することが示された。

Lineweaver-Burk プロットから求めた各無機元素の l_m , K_m 及び吸着平衡式を一括表示すると、表-3 のようになる。表-3 から明らかなように、Fe, Mn 及び P の Michaelis 恒数 K_m は小さく、従って活性汚泥のこれら元素への親和性が強いことを示す。一方、K の親和性はかなり低く、Mg はこれら 2 グループの

中間の傾向を示した。又、活性汚泥単位重量当りの最大吸着元素量 (l_m) は、Fe と Mn が 2000 mg/SSkg のオーダーでほぼ等しく、Mg と K が 8000 mg/SSkg のオーダーでそれより大きい。一方、P は 21800 mg/SSkg と極めて大きな値を示し、P の汚泥中へのとり込みの多いことを示している。これは P が生体構成元素として、あるいはエネルギー関与物質として極めて生体内でのウェイトが高いことと関連している。

次に、各無機元素の汚泥負荷量と汚泥中の無機元素量の間の関係を調べた。元素-汚泥負荷量は、実際のプラントでの無機元素の不足、あるいは充足を知る上では、極めて便利な指標であることから、これらのデータをもとに最適あるいは必要最小負荷量を推定することが可能である。ここでも一例として、Mg-SS 負荷量と汚泥中の Mg 量の関係を図-3 に示した。Fe, Mn, P, K の場合も Mg とほぼ同様な関係が得られた。Mg の例から明らかなように、汚泥中の元素量は、ある負荷量 (以下これを臨界負荷量という) まではその

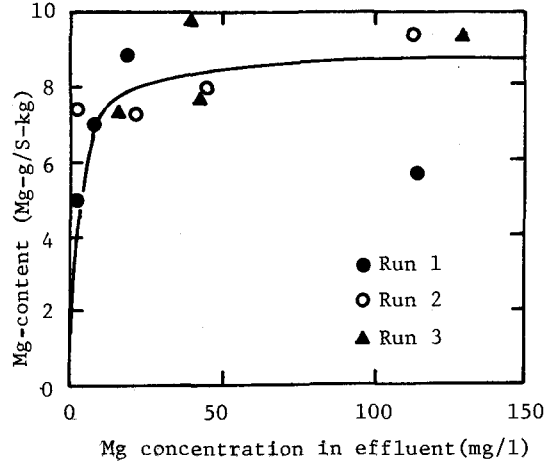


Fig. 2. Relationship between Mg concentration in effluent and Mg-content in the activated sludge.

Table 3. Regression lines and values of K_m and l_m obtained from experimental data.

Element	Regression Line	K_m (mg/l)	l_m (mg/S-kg)
Fe	$l_a = \frac{2138 l_e}{0.0306 + l_e}$	0.0306	2138
Mn	$l_a = \frac{2653 l_e}{0.0161 + l_e}$	0.0161	2653
Mg	$l_a = \frac{8710 l_e}{1.72 + l_e}$	1.72	8710
P	$l_a = \frac{21800 l_e}{0.381 + l_e}$	0.381	21800
K	$l_a = \frac{8980 l_e}{20.0 + l_e}$	20.0	8980

増加と共に増大するが、一定の負荷量を越え
ると、ほぼ飽和した状態を示す。各元素
の臨界元素—汚泥負荷量を推定すると次の
ようになる。Fe—SS負荷量は 200 mg/SS-Kg/day 、
Mn—SS負荷量は 200 mg/SS-Kg/day 、
Mg—SS 負荷量は $10,000 \text{ mg/SS-Kg/day}$ 、
P—SS 負荷量は $5,000 \text{ mg/SS-Kg/day}$ 、又、
K—SS負荷量は $30,000 \text{ mg/SS-Kg/day}$ となる。
これから Fe 及び Mn については、各元素の負荷量は少くてよく、
一方、Mg, P, K については、活性汚泥微
生物がかなり大量に要求することが明らか
である。特に P は親和性が良いにもかかわ
らず、かなり大量の P—SS 負荷量を要求
することは、先にも述べた通り、これ
が生体構成、エネルギー伝達等に広く
用いられていることと関係している。
さらに、P については、いわゆる過
剰摂取 (luxury uptake) 現象が
知られている。これは活性汚泥との親
和性が強く、かなり低濃度になるまで
摂取可能であるにもかかわらず、なお
かつ高い P—SS 負荷量になるまでど
んどん摂取をし続けるという、ここで
得られた結果と一致している。

4-2 微量元素の活性汚泥への影

ここでは、水道水中に含まれる微量

元素の影響をみるために、脱イオン水を希釈用水として用いた場合と、水道水を用いた場合の活性汚泥中の
各元素の挙動を比較・検討した。Mg と Mn の活性汚泥中の蓄積量の経日変化を、図—4 及び 5 に示す。Mg
の蓄積量は、水道水と脱イオン水の間でほとんど差がみられず、元素含量は経日的に変動しながら定常値に
近づいた。Fe, K, P は Mg と同じ挙動
を示した。

一方、Mn は、脱イオン水を用いた場
合、培養 60 日後、汚泥中濃度が徐々に
高くなり、120 日以後急激に高くなっ
ている。

現在、多くの金属酵素が知られている
が、その活性化に必要な金属は他の金属
で代替される場合が認められている。7)
水道水中には各種の微量金属が含まれて
おり、当研究室のデータによれば、一例
ではあるが、Co $0.0054 \mu\text{g/l}$ 、Zn 8.77

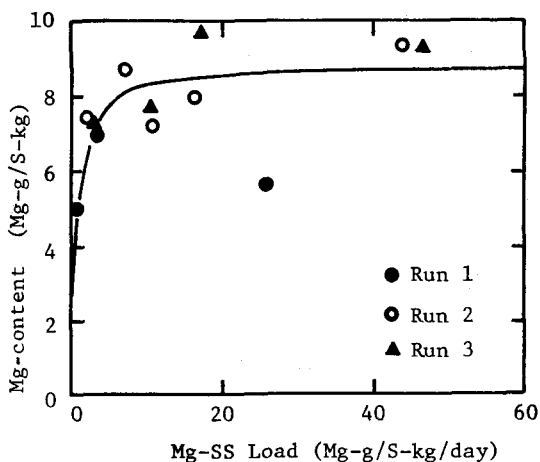


Fig.3. Relationship between Mg-load and Mg-content in the activated sludge.

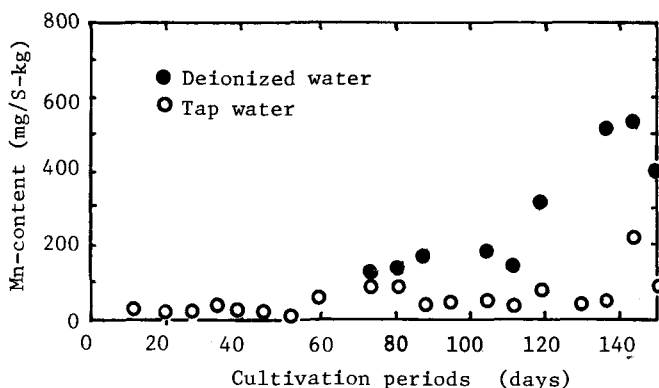


Fig.4. Time course of Mn-content in the activated sludge.

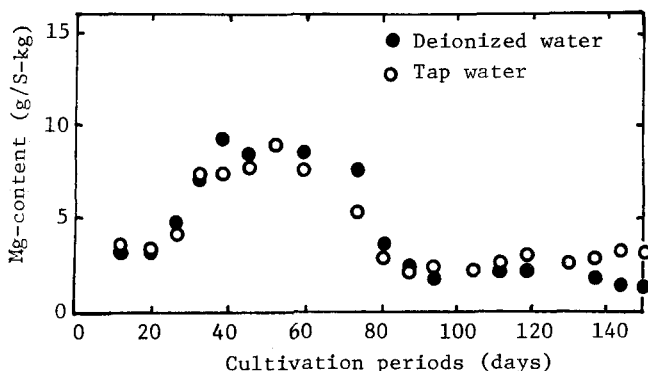


Fig.5. Time course of Mg-content in the activated sludge.

$\mu\text{g}/\ell$, Cu $3.65\mu\text{g}/\ell$, Ni $3.20\mu\text{g}/\ell$, (Co, Znは、放射化分析により、Cu, Niは原子吸光分析によった)が含まれている。本実験で、脱イオン水を用いた培養では、水道水中には微量存在する何らかの金属イオンが不足し、その代替としてMnが摂取・利用され、そのために汚泥中のMn量が高くなったのではないかと推測される。図-4から培養経過120日後に、顕著な差がみられたのは、本実験の活性汚泥滞留時間が230日と長く、それまでは種汚泥に由来した微量元素が残っており、これが長期間の培養中、流出水として失われたためと考えられる。

このように、水道水と脱イオン水の間であまり大きな差がみられなかったが、微量元素が何んらかの形で関与していることが示唆されたので、次に、Cu, Co及びZnの3元素をとり上げ、これの添加効果について調べた。本実験では、 t_s を10日に設定して培養した場合に、これまで、培養期間中にしばしば糸状性細菌が出現し、沈降性の悪化をもたらした。ここでは、バルキングの生じた時期を選んで、Cu, Co, Znを含む合成培地にきりかえる実験を行った。各微量元素は、Cu, Co, Znとして各々 $0.5\text{mg}/\ell$ 一定濃度とし、基本培地の濃度を種々かえて用いた。本実験のSVIの経時変化を

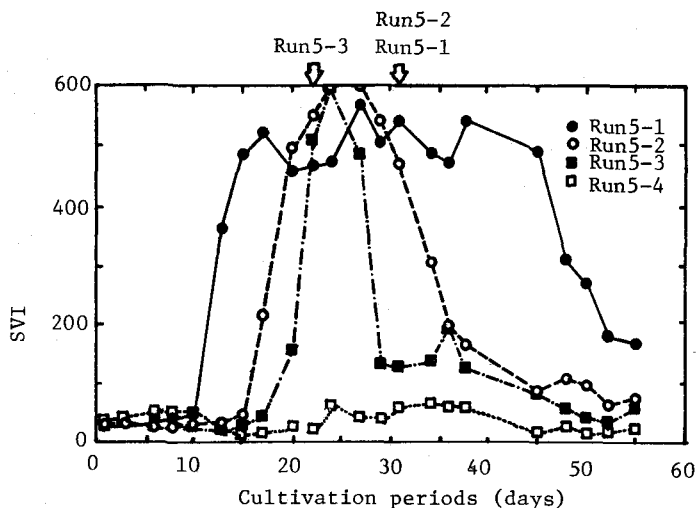


Fig.6. Time course of sludge volume index(SVI) and effects of trace metals on SVI.

↓ = Start of feeding

図-6に示す。基本培地の濃度が高いほど、活性汚泥の沈降性が悪化する時期が遅れるが、いずれの培地もついに沈降性は悪化する。ここでRun5-4の基本培地の10倍濃度投入では、SVIは増大しないかわりに、フロクの解体が生じ、上澄液はきわめて悪かった。本実験から基本培地だけではその濃度を変化させても、良好な活性汚泥の培養ができないことが明らかとなった。そこで、Cu, Co, Zn 3元素をRun5-1, 5-2及び5-3共に各々 $0.5\text{mg}/\ell$ に上昇させると、汚泥の沈降性が良好となり、糸状性細菌も減少した。図中矢印は、Cu, Co, Znを各々 $0.5\text{mg}/\ell$ 含む培地にきりかえた時期を示している。

糸状性バルキングの発生原因の1つとして、Wood, Tchobanogious⁸⁾は、N, Pあるいは微量元素の欠乏をあげている。本実験では、グルコースを唯一の炭素源として用いており、バルキングが発生しやすい状態であり、しかも $t_s=10$ 日と比較的短く、活性汚泥の増殖、引き抜きによる微量元素の要求が高いと考えられる。このことは、 $t_s=230$ 日(Run4とリーズ)を採用した例では、バルキングが発生しなかったことにより裏付けられる。

又、微量元素Cu, Co, Znを各々 $0.5\text{mg}/\ell$ 含む培地を連続添加することにより、顕微鏡観察からSphaerotilus sp.は減少し、汚泥の沈降性が改善された。このことはCu, Co, Znの3元素は活性汚泥微生物にとって、有効に働くことを示唆している。

これをさらに確認するために、微量元素を含まない合成培地で培養された活性汚泥の元素組成を表-4に示す。同時に比較のため、あまり工業廃水を含まない都市下水処理場の余剰汚泥の元素組成、ならびに本研究で肉エキス、ペプトンを主体とした合成下水で培養された活性汚泥の元素組成を表-4に示した。グルコース馴養汚泥中の各元素は、すべて都市下水処理場汚泥中の元素濃度より少く、又、合成下水馴養汚泥よ

りも2～3の例外を除いて低くなっている。

都市下水処理場余剰汚泥は、活性汚泥微生物に不必要な元素まで取り込んでいると考えられるが、このことを考慮しても、グルコース馴養汚泥中の各元素濃度は低く、Cu, Co, Zn 以外にも微量元素を要求することが示唆される。例えばその一例として、Ni や Ba などが考えられる。バルキングに対する微量元素の添加効果は極めて興味深く、ここでは、Cu, Co, Zn の添加効果を認めたにすぎない。本研究室では、この問題に関し、さらに突っ込んだ研究を行っている。

5. 要約ならびに結論

アミノ酸類、ビタミン類、核酸類を含まない、基本培地を用いて活性汚泥の培養を行い、活性汚泥法における無機元素の挙動を追求した。

- 1 処理水中の元素イオン濃度と、活性汚泥中の元素量の間に、Michaelis-Menten 型の関係式が成立することを示し、続いて各元素の最大吸着濃度と親和恒数を求めた。
- 2 最大吸着濃度、親和恒数及び元素一汚泥負荷量と汚泥中の元素量の間の関係から得られた臨界負荷量から、各元素の挙動を説明した。特に、本理論により、磷の過剰摂取現象を説明することができた。
- 3 ある微量元素の不足は、他の元素により代替されることが、Mn の活性汚泥内濃度から示唆された。

4 微量元素 Cu, Co, Zn は *Sphaerotilus*

sp. の増殖を抑え、活性汚泥の沈降性を改善することが示された。

- 5 本合成培地馴養汚泥の元素分析値と、都市下水余剰汚泥の元素分析値の比較から、活性汚泥は Cu, Co, Zn 以外の微量元素を要求することが示唆された。

6. 謝 辞

放射化分析による元素分析をお引き受けいただきました、大阪府放射線中央研究所次長 真室哲雄博士に深く感謝いたします。又、実験を手伝っていただいた嘉茂君に感謝いたします。

尚、本研究の一部は、昭和52年5月23日及び昭和54年5月23日の下水道研究発表会ならびに昭和53年11月20日の日本醸酵工学会大会において講演した。又、本研究は昭和53年度科学研究補助金によって実施したものである。

Table 4. Radio-activation analysis of various activated sludges.

Element	Glucose-Acclimated Sludge (mg/S-kg)	Sewage-Acclimated Sludge (mg/S-kg)	Peptone-Acclimated Sludge (mg/S-kg)
Na	120(19)	6500(5)	650(8)
Al	85(5)	9500(4)	60(6)
Cl	400(11)	480(20)	160(12)
K	15000(27)	15000(28)	17000(28)
Ca	1200(14)	-	4600(7)
Sc	0.02	8.8(6)	0.3
V	-	12(15)	0.30(25)
Cr	3	34(28)	7
Mn	43(7)	160(10)	12(10)
Fe	300(24)	33000(4)	500
Co	0.3(30)	11(4)	1.7(21)
Ni	4	39(9)	10
Cu	230(5)	360(19)	120(4)
Zn	89(8)	530(6)	120(4)
As	0.1	20(5)	18(4)
Se	0.5	6.6(8)	18(8)
Br	1.2(8)	7.6(5)	5.5(5)
Rb	1.8(22)	110(3)	2
Ag	1.0(16)	3.3(12)	430(5)
Cd	0.8	2	4
Sn	10	50	30
Sb	0.045(9)	2.1(4)	0.03
Cs	0.03	6.5(2)	0.1
Ba	7	460(4)	21(18)
La	0.1	39(4)	2
Ce	1	84(13)	3
Sm	0.011(23)	8.5(17)	0.079(7)
Eu	0.05	1.4(15)	0.4
Yb	0.06	3.8(4)	0.2
Lu	0.03	0.78(11)	0.06
Hf	0.2	5.7(5)	0.4
Ta	0.01	2.7(3)	0.1
W	0.1	2.4(11)	10
Th	0.03	17(3)	0.07

() : Standard deviation as %.

参 考 文 献

- 1) 橋本・藤田： 下水道協会誌，5(50) pp. 1~14 (1968)
- 2) 橋本： 第7回水处理研究会講演集，於大阪科学技術センター 昭和53年11月 (1978)
- 3) Grady, Jr., C.P.L.・Williams, D.R. :Water Res., 9,pp. 171-180 (1974)
- 4) Chiu, S.Y., Erickson, L.E., Fan, L.T. & Kao, I.C. : Biotech. & Bioeng., 14,pp. 207-231 (1972)
- 5) Sinclair, C.G.・Ryder, D.N. : Biotech. & Bioeng., 16,pp. 965-985 (1974)
- 6) 土壤養分測定法委員会： "土壤養分分析法" 広川書店(1969)
- 7) 田隅： 化学と工業 30 (3) pp. 161-164 (1977)
- 8) Wood, D.K.・Tchobanogious, G. : Journal WPCF, 47, pp. 1933-1944 (1975)