

1 はじめに

生物学的廃水処理における浄化過程は、浄化の主体である生物と、それを囲む種々の環境因子に支配されている。これらの支配要因の中で最も重要なものとして、生物の浄化能力、基質濃度及び基質組成が挙げられる。これらの問題について、従来、多くの研究がなされており、生物の浄化能力としては、活性度表示を^{1), 2)}試みたものがある。基質については、基質組成を考慮したものもあるが、一般には、基質である有機物の指標として、BOD, COD等の総括的な表現を採用し、動力学的解析を行なっている。これは、実際の廃水組成が極めて複雑なため、BODのような総括的有機物指標で示さざるを得ないということに起因している。一方、水処理過程の把握に近年用いられるようになってきたゲルクロマトグラフィーを始めとする種々のクロマトグラフィーの結果をみると、生物処理における廃水の浄化過程には、物理化学処理と同様に、処理の対象となる基質に特異性のあることが推察される。そこで、組成の複雑な基質と、その生物学的浄化過程との間に、何らかの対応を見出す試みは、生物処理プロセスの運用や処理効率、あるいは、生物学的廃水処理の浄化能力の限界等、種々の問題を検討するうえで重要であると考えられる。

以上のような視点に基づき、本研究では、単一及び二成分系混合基質を用いた活性汚泥による基質除去特性に検討を加え、浄化過程における基質の挙動と、その支配要因についての基礎的知見を得ようとするものである。

2 混合基質間の相互作用について

基質の代謝機構に関する研究は、主に純粋培養された微生物の分子レベルで進展し、混合基質におけるいわゆるグルコース効果や、それに起因する重増殖という現象も究明されてきた。また、混合微生物系においても同様な現象が発現することが、Stumm等⁶⁾、Gaudy等⁷⁾によって報告されている。一方、活性汚泥処理における多成分系混合基質除去については、Grau等⁸⁾がモデル化を試みている。更に、Eckenfelder等^{9), 10)}はこのモデルの廃水処理への適用を試みている。すなわち、BODを構成している各成分が相互に影響することなく零次反応で除去されると仮定し、各成分の除去速度の合計がみかけのBOD除去速度になることを、そのモデルでシミュレートしている。また、Yoon等¹¹⁾は、単一制限基質での生物増殖を表示するMonodの式を、二成分系混合基質の場合に拡張している。これは、互いの基質利用に及ぼす基質の酵素反応的な影響を考慮しており、混合基質の代謝と生物の増殖をよく表現している。一方、単一酵素に対する二基質間の拮抗作用という酵素反応から導かれる速度式とYoon等の式は一致している。

そこで、本論文では、活性汚泥による二成分系混合基質除去における基質間の相互作用について、拮抗作用の考えを基に検討を加える。

いま、2種の基質が活性汚泥により消費されるとき、両基質間に拮抗作用が生じると仮定すると、各々の基質の単位MLSSあたりの基質消費速度、すなわち比消費速度は次式-(1)で表わされる。

$$\left. \begin{aligned} \nu_a &= \frac{\hat{\nu}_a (C_a/K_a)}{1 + (C_a/K_a) + (C_b/K_b)} \quad \text{----- (a)} \\ \nu_b &= \frac{\hat{\nu}_b (C_b/K_b)}{1 + (C_a/K_a) + (C_b/K_b)} \quad \text{----- (b)} \end{aligned} \right\} \text{----- (1)}$$

ここに、

ν_a, ν_b : 基質 a, 基質 b の比消費速度 (day^{-1})

$\hat{\nu}_a, \hat{\nu}_b$: 基質 a, 基質 b の単一基質時の最大比消費速度定数 (day^{-1})

C_a, C_b : 基質 a, 基質 b の濃度 (mg/ℓ)

K_a, K_b : 基質 a, 基質 b に関する飽和定数 (mg/ℓ)

式-(1)-(a),(b)において、それぞれ $C_b=0$ 、 $C_a=0$ とおいた場合、単一基質における Monod の式となる。また、式-(1)からわかるように、拮抗作用として混合基質間の相互作用を取り扱くと、混合基質中の各基質の濃度、及び飽和定数の相対的な大きさが、その浄化反応の主な支配要因と考えられる。

3 実験方法

実験に用いた活性汚泥は、都市下水処理場返送汚泥を表-1に示す培地で半年から1年以上培養したものである。培養は1日1回の fill and draw方式で、 F/M はおよそ0.05~0.1の値である。各汚泥による単一あるいは混合基質の除去特性を回分実験で調べた。実験に際し、汚泥は表-1に示す無機塩類のみの溶液で3回洗浄後、実験に用いた。前培養、回分実験共に 20°C の恒温室にて行ない、糖類の分析は、グルコース：フェノール硫酸法、キシロース：オルシン- Fe^{3+} -塩酸法、フラクトース：レゾルシン-塩酸法を用いた。混合基質の場合は、上記の各分析法を併用して各基質濃度を求めた。

4 実験結果とその考察

1) 比消費速度に及ぼす飽和定数の影響

拮抗作用として混合基質間の相互作用を取り扱くと、飽和定数の相対的な大きさが重要になることを先に述べた。ここでは、その影響を考察するために、飽和定数の異なる場合とほとんど等しいと考えられる場合の実験結果を示す。

-XM汚泥による実験結果について-

XM汚泥による実験結果を図-1, 2に示す。図-1はXM汚泥のキシロース、マルトース各々に関する飽和定数、最大比消費速度を示すものである。マルトースの飽和定数は、キシロースのその約1/3である。図-2は、XM汚泥にキシロース $100\text{mg}/\ell$ +マルトース $100\text{mg}/\ell$ の混合基質を投与したときの結果である。マルトースによってキシロースの消費が阻害されていることが分かる。キシロースについては、比消費速度の初速度が、マルトースの影響の為どの程度低下したかを、図-2のデータと式-(1)より検証することは困難である。一方、マルトースについては、図-1におけるマルトース、キシロースの $\hat{\nu}$ 、 K の値、及び初期条件の濃度(各々 $100\text{mg}/\ell$)を用いて式-(1)から求めたマルトースの初速度は約 4.2day^{-1} であり、図-2から求めた初速度の実測値は約 4.6day^{-1} である。

表-1 前培養培地 (mg/ℓ)

	汚泥	成分	濃度
糖類	XM	キシロース	250
		マルトース	250
	GF	グルコース	250
		フラクトース	250
	GX	グルコース	250
無機塩類	共通	キシロース	250
		グルコース	500
		KH_2PO_4	300
		K_2HPO_4	1050
		NaCl	300
		$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200
		NH_4Cl	100

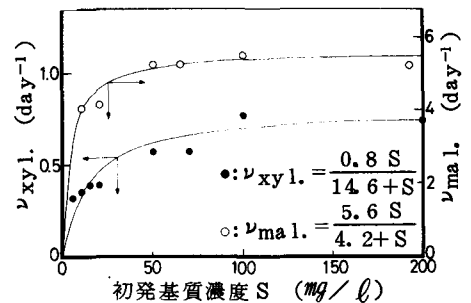


図-1 XM汚泥における $\hat{\nu}$ と K

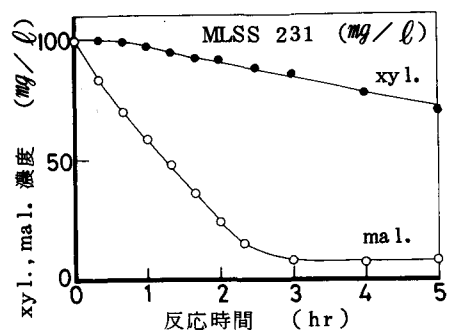


図-2 XM汚泥による混合基質除去

- GF汚泥による実験結果について -

GF汚泥による実験結果を図-3～5に示す。図-3にGF汚泥のグルコース、フラクトース各々に関する飽和定数、最大比消費速度を示す。飽和定数については、両者が近い値を示した。図-4、5は、グルコース単独100mg/ℓ、フラクトース単独100mg/ℓ、グルコース100mg/ℓ+フラクトース100mg/ℓ混合の3種の基質を、それぞれGF汚泥に投与したときの実験結果である。単独基質投与の実験ではMLSS≒90mg/ℓとし、混合基質投与の場合はMLSS≒90, 180mg/ℓの2種類とした。図-3における各定数、及び図-4、5における基質濃度の初期条件を用いて式-(1)で計算した各基質の比消費速度の初速度と、図-4、5から求めた初速度の実測値を表-2に示す。

図-4では、グルコース100mg/ℓで $\nu_{glu}=2.27\text{ day}^{-1}$ となり、これと同程度のMLSSでグルコース100mg/ℓ+フラクトース100mg/ℓにすると、フラクトース共存の影響により、グルコースの除去速度が緩やかになり、 $\nu_{glu}=1.19\text{ day}^{-1}$ を示した。更に、これと同じ混合基質でMLSSを2倍、約180mg/ℓにすると、このときのグルコース除去曲線は、グルコース単独時のそれにおおよそ一致し、 $\nu_{glu}=1.18\text{ day}^{-1}$ を示した。これら比消費速度の初速度値は、表-2に示すように、式-(1)から求めた計算値にかなり近いものである。

同一の混合基質中におけるフラクトースの挙動も上述のグルコースの挙動と全く同様であることが、図-5、及び表-2から認められる。

以上の結果、混合基質間の相互作用、特にここでは、比消費速度の初速度に及ぼす相互の影響を、拮抗作用に基づく考えにより、ある程度表現できるものと考えられる。

表-2 GF汚泥による実験結果

初期条件 (mg/ℓ)		比消費速度 (day ⁻¹)			
基質組成	MLSS	ν_{glu}		ν_{fru}	
		実測値	計算値	実測値	計算値
glu.100	90	2.2.7	2.3.4	—	—
fru.100	92	—	—	2.9.0	2.8.4
glu.100 + fru.100	97	1.1.9	1.2.6	1.4.1	1.4.7
	177	1.1.8	—	1.5.9	—

2) 回分実験過程における拮抗作用モデルの適合性

GX汚泥による実験結果を図-6～8に示す。これらは、キシロース濃度100mg/ℓで、グルコース濃度だけを300, 400, 600mg/ℓにした混合基質の実験結果である。グルコース濃度を高めるに従って、キシロースの除去速度が

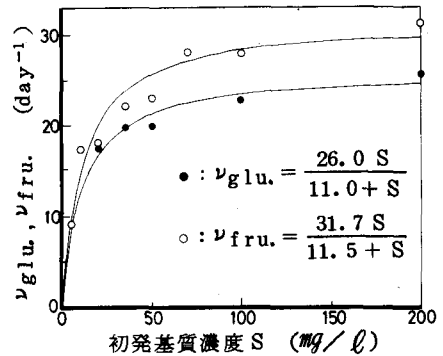


図-3 GF汚泥における $\hat{\nu}$ とK

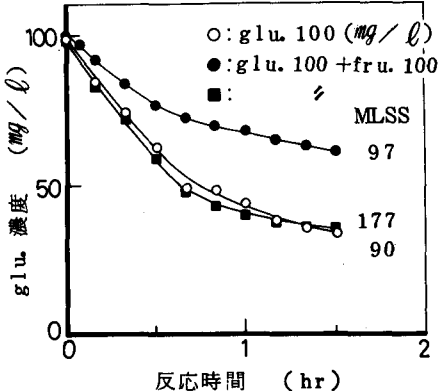


図-4 GF汚泥による混合基質除去

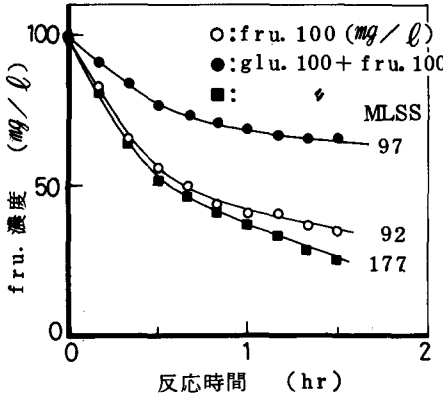


図-5 GF汚泥による混合基質除去

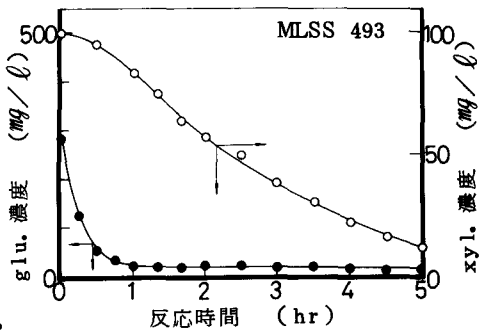


図-6 GX汚泥による混合基質除去-1

著しく低下していることが分かる。GX汚泥については、飽和定数の測定を行っていないが、XM汚泥における図-1の結果や、フラクトース+キシロース混合基質で培養した汚泥でキシロースに関する飽和定数約 $17 \text{ mg}/\ell$ を得ており、GX汚泥についても $K_{glu.} < K_{xy.}$ であると考えられる。従って、キシロースの除去速度が低下したものと考えられる。一方、グルコースの除去については、グルコース除去量が単位汚泥当たり約 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{glucose}/\text{mg MLSS}$ を超える付近から、その除去速度が顕著に低下している。これと同様な現象は、GF汚泥における図-4、5でも認められる。GF汚泥の場合には、MLSS、基質濃度の条件が種々あるが、単位汚泥当たりおよそ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{substrate}/\text{mg}$

MLSSを除去した付近から、グルコースについてもフラクトースについてもその除去速度が顕著に低下している。式-(1)は、その誘導される基礎が純粋な酵素反応であることを考えれば、そこに生物反応における特性を考慮しなければならない。従って、このような現象は、式-(1)のままではうまく説明できないことが考えられる。

このような除去速度の顕著な低下の原因と、またそれをうまく説明するものとして、一つには活性汚泥細胞内における蓄積物の増加が考えられ、合田等¹⁾は、活性汚泥細胞内蓄積物の挙動に着目し、基質除去過程を解析している。すなわち、基質除去速度は、飽和蓄積容量の不飽和量に比例するとしたものである。これに依れば、図-4、5あるいは、図-6、7、8におけるグルコースの挙動は、不飽和量の大きい初期に急激な除去(汚泥細胞への蓄積)が生じ、その後、細胞内の代謝速度により平衡に達した不飽和量に比例した比較的緩やかな速度で除去が進行しているものと解せられる。また、このような現象の他の原因として、中間代謝生成物が液本体に蓄積されることも考えられる。この点については以下に考察する。

3) 中間代謝生成物に関する考察

活性汚泥による有機物の摂取、分解過程における中間代謝生成物に関する報告としては、岩井等³⁾の C^{14} でラベルされたグルコースを用いた例がある。一般に、グルコースのような分子量の小さい単糖類の場合、代謝に先立つ加水分解による前駆体を想定することは困難であるが、岩井等の結果によると、投入グルコースの約20%が、中間代謝生成物として溶液中へ放出され、残存グルコースの減少した後に、これも除去されている。中間代謝生成物に関する実験結果を図-9、10、11に示す。図-9は、G汚泥にグルコースを投与したときの結果である。初発グルコース濃度 $600 \text{ mg}/\ell$ の除去は、約 $200 \text{ mg}/\ell$ 付近まで直線的に減少しており、およそ $0.8 \text{ mg} \cdot \text{glucose}/\text{mg MLSS}$ で細胞内蓄積の影響が現われたと考えられる。そこで、初発濃度 400 、 200 、 $100 \text{ mg}/\ell$ の除去曲線を見ると、先の 0.8 という値以前で、いずれの除去速度も減少している。これは、MLSS濃度が総て等しい条

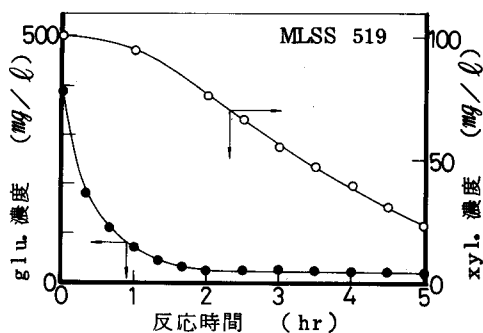


図-7 GX汚泥による混合基質除去-2

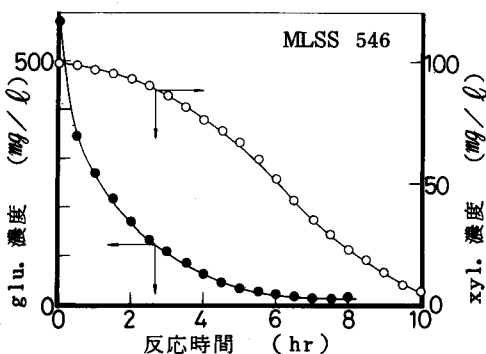


図-8 GX汚泥による混合基質除去-3

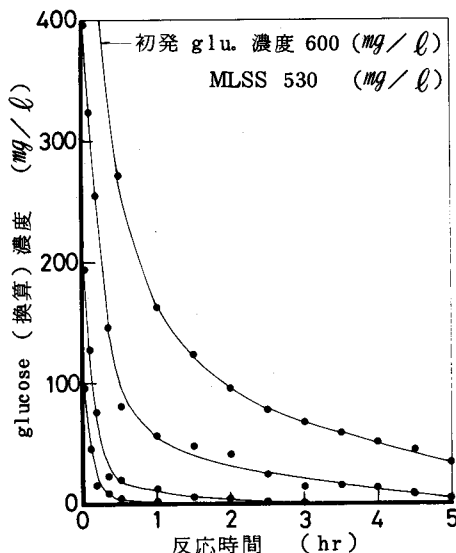


図-9 G汚泥によるグルコース除去

件下での実験であるから、系内の蓄積容量としては、いずれも同じであり、従って、この現象は細胞内蓄積に起因するものではないと考えられる。また、Monodの式を想定した場合でも、グルコースの飽和定数は数 mg/ℓ 以下と考えられ、図-9にみられるような濃度域で除去速度の減少があることは考えにくい。以上のことから、図-9に示された現象は、中間代謝生成物が溶液中に蓄積された結果と思われる。本実験では、グルコースの分析法として、フェノール硫酸法を用いた。この分析法の明確な基本反応は不明であるが、還元糖あるいは還元基に対して特異性がないため、蓄積された中間代謝生成物が還元性の糖質であれば、これをグルコース換算で定量したことになる。この可能性は充分考えうるものであろう。以上のことより、図-9の初発グルコース濃度 $600\text{ }mg/\ell$ については、細胞内蓄積と中間代謝生成物の両者の影響が見掛け上の除去速度の低下として現われたと思われる。初発濃度 $400\text{ }mg/\ell$ 以下の場合には、見掛け上の除去速度の低下は、中間代謝生成物が主な原因であることが考えられる。

上述のG汚泥によるグルコース除去における中間代謝生成物の見掛け上の除去速度に及ぼす影響を検討するため、G汚泥によるフラクトース除去の回分実験を行なった。この結果を図-10、11に示す。図-10は、初発フラクトース濃度 100 、 $200\text{ }mg/\ell$ 、図-11は 400 、 $600\text{ }mg/\ell$ の回分実験結果である。フラクトースはレゾルシン-塩酸法で定量し、フラクトースと中間代謝生成物と考えられる糖質の両者を、フェノール硫酸法で定量したものである。フェノール硫酸法で定量できない中間代謝生成物の存在も否定はできないが、ここではフェノール硫酸法と、レゾルシン-塩酸法によるフラクトースの差を中間代謝生成物と考え、フラクトース換算で示す。ケトヘキソースに高い特異性をもつ、レゾルシン-塩酸

法によるフラクトースの分析は、中間代謝生成物の影響を受けず、フラクトースの真の除去過程を示し得ると考える。このことは、細胞内蓄積物の影響を然程受けていないと思われる図-10のフラクトース除去過程が、Monodの式に近似できるような曲線を示すことから考えられる。

初発濃度 100 、 200 、 $400\text{ }mg/\ell$ のフラクトース除去は、それぞれ 30 分、 30 分、 1 時間程度で完了している。初発濃度 $600\text{ }mg/\ell$ についてのみ細胞内蓄積の影響が顕著に現われ、初期の急激な除去に比べ極めて緩やかな速度でフラクトースが除去されている。一方、中間代謝生成物は、いずれの初発濃度でも、ほとんど直線的に液本体へ蓄積されている。蓄積速度は、フラクトースの除去速度に比例していると考えられる。液本体へ蓄積された中間代謝生成物は、初発濃度 $600\text{ }mg/\ell$ 以外については、フラクトースの除去が完了した時点から除去され始める。また、その除去速度が、初発濃度 $600\text{ }mg/\ell$ における蓄積の影響が現われたと思われる以後のフラクトースの除去速度と、ほとんど等しいことは興味深い。一方、初発濃度 $600\text{ }mg/\ell$ の場合は、フラクトース除去速度が細胞内蓄積物の影響で低下し始めた付近で、中間代謝生成物濃度は最大に達し、以後、他の初発濃度の中間代謝生成物の除去速度に比べ極めて緩やかな速度で除去が進行している。これは、フラクトース共存の影響と思われる。

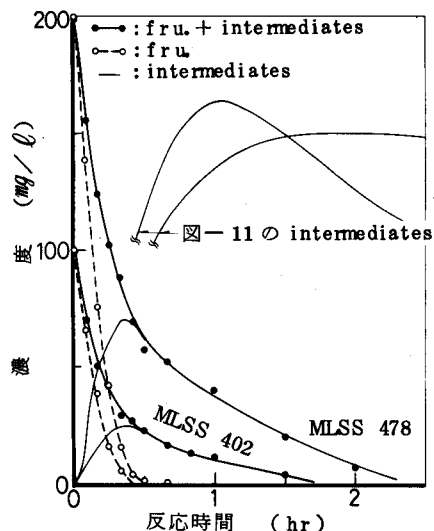


図-10 G汚泥によるフラクトース除去

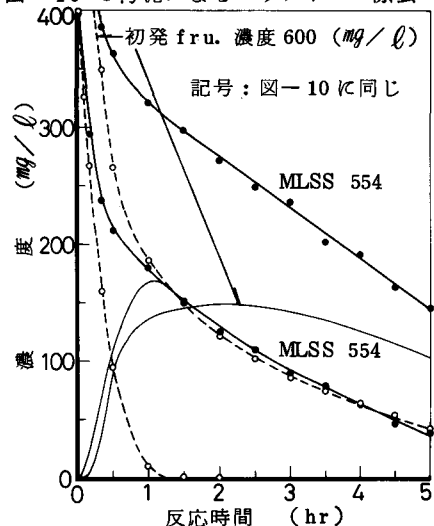


図-11 G汚泥によるフラクトース除去

以上の結果から、中間代謝生成物が、G汚泥にグルコースあるいはフラクトースを投与したときに、見掛け上の除去速度を低下させたと考えられ、混合基質除去においても考慮しなければならないものと思われる。また、中間代謝生成物の液本体での蓄積量は、汚泥の培養に用いた基質グルコースとそうでないフラクトース¹⁸⁾でかなりの差がある。これは、Krishnan 等¹⁸⁾が示したような質的な shock-load の影響と思われる、この点について検討を加えねばならないと考える。

5 おわりに

本論文では、生物処理の浄化過程における基質の挙動を、拮抗作用及び中間代謝生成物の液本体への蓄積という点から糖類について検討することを試みた。

今回行なった実験で得られた混合基質中における各基質の除去の初速度は、拮抗作用で表現できるような結果であり、このような現象の支配要因として飽和定数の相対的な大きさが重要となることが考えられる。但し、基質間の相互作用を拮抗作用を基にして検討することは、下水の組成を考えた場合、必ずしも総ての現象を把握するものではないと考える。

また、混合基質の浄化過程において、式(1)で表現し得ない除去速度の低下が認められた。この現象は、単独基質除去においても観察され、中間代謝生成物の液本体への蓄積、活性汚泥細胞内蓄積の影響という点から考察を加えた。この結果、中間代謝生成物の液本体への蓄積を認める実験結果を得たが、この蓄積で見掛け上の基質除去速度が低下するという現象の一般性については、検討を加えねばならない。また、細胞内蓄積という現象を考慮した場合、本実験に用いた活性汚泥は飢餓状態のため十分に蓄積スペースがあると仮定できるが、このような状態の汚泥を用いた実験においてさえ、中間代謝生成物が液本体に蓄積されるという現象についても検討を加えねばならないと考える。

参 考 文 献

- 1) 合田, 宗宮, 津野; 基質除去ならびに代謝に関する動力学モデル, 土木学会論文報告集, 第 213 号, 1973, 5
- 2) 加藤善盛; 活性汚泥の物質移動と代謝機構に関する基礎的研究, 北海道大学学位論文, 1975
- 3) 岩井, 北尾; 生物酸化における基質濃度の浄化速度におよぼす影響, 土木学会論文報告集, 第 159 号, 昭和 43, 11
- 4) M.Zuckerman and H.Molof; High Quality Reuse Water By Chemical-Physical Wastewater Treatment J.WPCF, March 1970
- 5) 丹保, 亀井; マトリックスによる都市水代謝の水質評価, 水道協会雑誌, 502 号, 昭和 51, 7
- 6) Stumm-Zollinger; Effects of Inhibition and Repression on The Utilization of Substrates by Heterogeneous Bacterial Communities, Applied Microbiology, July 1966
- 7) K.Komolrit and A.F.Gaudy; Substrate Interaction During Shock Loadings to Biological Treatment Processes J.WPCF, August 1966
- 8) P.Grau et al; Kinetics of Multicomponent Substrate Removal by Activated Sludge, Water Research Vol.9, 1975
- 9) C.E.Adams and W.W.Eckenfelder; A Kinetic Model for Design of Completely-Mixed Activated Sludge Treating Variable-Strength Industrial Wastewaters, Water Research, Vol.9, 1975
- 10) W.W.Eckenfelder; Effluent Quality Variation from Multicomponent Substrates in The Activated Sludge Process, Water Research, Vol.14, 1980
- 11) H.Yoon et al; Competition for Mixed Substrates by Microbial Populations, Biotechnology and Bioengineering, Vol. XIX, P.P. 1193-1210, 1977
- 12) 福井作蔵; 還元糖の定量法, 学会出版センター, 1969
- 13) P.Krishnan et al; Studies on The Response of Activated Sludge to Shock-Loadings, Biotechnology and Bioengineering, Vol. VII, P.P. 455-470, 1965