

(14) 生物学的窒素・リン除去に関する検討

STUDIES ON BIOLOGICAL REMOVAL OF PHOSPHORUS AND NITROGEN

清水 俊 昭*, 野 池 達 也*

Toshiaki SHIMIZU*, Tatsuya NOIKE*

ABSTRACT; A biological removal of phosphorus and nitrogen by endogenous denitrification process was investigated using a pilot-scale plant. Denitrification rate decrease exponentially as the aeration period preceeding denitrification zone increased. The influent phosphorus concentration, BOD-SS loading, and magnesium and potassium concentration affected the removal of phosphorus.

A laboratory work on the bacterium, *Acinetobacter calcoaceticus*, which has been considered to be responsible for the biological phosphorus removal, was carried out to clarify the effect of temperature on the growth and its biochemical properties. These results suggested that some micro-organisms other than *A. calcoaceticus* might be also contributed to the phosphorus removal.

KEYWORDS; Biological removal, Phosphorus, Nitrogen, Endogenous denitrification, *Acinetobacter*

1. はじめに

湖沼・内湾等の閉鎖性水域における富栄養化現象は、広範囲に及ぶ利水上の障害・景観の悪化を惹起し、大きな社会問題のひとつとしてその早急な対策が要請されている。こうした背景の下で、湖沼の窒素・リンに係わる環境基準が設定され、排水基準制定作業が急がれている。また、滋賀県・茨城県では独自に条例によって富栄養化防止対策を実施している。

富栄養化の抑制には、流入する窒素・リンの削減が不可欠であり、下水道整備はその最も実効性の高い方策のひとつと考えられている。現在、下水処理方式の主流をなしている標準活性汚泥法およびその変法は、本来、有機物除去を主目的としているが、窒素・リンについても20-40%程度の除去が見込まれることから、当面、現処理方式での下水道普及率を引き上げることが富栄養化防止に対しても有効であるとされている。しかし、水域の類型指定が行われ、環境基準達成のために厳しい排水基準が課せられた場合には、現状のままでは対応しきれなくなることが考えられ、窒素・リンをも処理対象とした既存処理施設の修正・改造、物理化学的な処理施設の増設等の対応が必要となる。既存処理施設を最少限の改造で有効に活用する場合には、生物学的作用を利用した処理方式が適当であると考えられる。

本文では、生物学的窒素・リン除去法の一方式についてパイロットプラント実験で検討した結果ならびにリン除去に係わる細菌に関する実験結果について報告する。

2. 生物学的窒素・リン除去法のパイロットプラント実験

2.1. 実験の概要

パイロットプラント実験は京都市鳥羽下水処理場に設置した生物処理施設を用いて行った。処理フローを図-1に示す。生物処理施設のエアレーションタンクは仕切板によって8槽に分割されており、一槽当りの

* 建設省土木研究所 Public Works Research Institute, Ministry of Construction

容量は25 m³となっている。今回の調査では、流入側の第1槽を嫌気槽（Anaerobic）、第2～第4槽を有機物質の酸化と硝化とを目的とした好気槽（Aerobic）、続く3槽を主として内生呼吸による脱窒を行わせる無酸素槽（Anoxic）とし、最終の第8槽を再曝気槽に割り当てた。嫌気槽ならびに無酸素槽は空気の供給を止め、水中攪拌機（下吐出し型）によって攪拌を行った。最終沈殿池は、容量100 m³、水面積38 m²、セキ長23 mである。生物処理施設への流入水には鳥羽下水処理場の最初沈殿池流出水を用いた。

運転条件を表-1に示す。流入水量は400 m³/d（定量供給）に設定した。エアレーションタンクにおける滞留時間は流入水ベースで12時間、返送汚泥を含めた実質ベースで8時間（一槽当り1時間）であった。MLSS濃度はほぼ2,000 mg/lに保持することを目標とし、これに沿って汚泥の引抜率を決定した。実験区分Ⅰ～Ⅲは同一条件で運転を行ったが、施設の運転中断、水温の高低より便宜的に実験期間を3つに区分して整理した。

水質分析は初沈流出水（流入水）と終沈流出水（処理水）とについて原則として週1回の頻度とし、1時間間隔の24時間コンポジットサンプルを分析に供した。なお、採水は図-1に示す位置で行った。分析方法はリンを混合試薬法¹⁾に拠った他は下水試験方法（1974）に準じて行った。水温、PH、SV₃₀の測定は毎日定時（午前10時）に行った。さらに流入水および処理水のNH₄-N、NO₃-N、P-D（hydrolyzable）、濁度の各項目についてはモニターにより連続的に監視・記録した。ここにP-D（hydrolyzable）は、逕過・硫酸分解後の試料中のリンを混合試薬法で測定したものである。これによって、試料中のオルトリン酸（PO₄-P）と加水分解性リンとが測定されるが、実際に測定値の中に占める加水分解性リンの比率は、調査期間中、初沈流出水で5～10%、処理水で2%以下であったため、P-D（hydrolyzable）はほぼPO₄-Pの値に近い。

以上のような日常的な処理状況の観察の他に、エアレーションタンク内での各水質項目の挙動を把握する目的で追跡調査を実施した。試料はエアレーションタンク各槽毎に滞留時間に応じて順次、流下方向に向かって採取した。また、活性汚泥の窒素・リン除去機能を把握するために、適宜、バッチ実験を行った。

2.2. 実験結果と考察

各実験区分の流入水および処理水水質の平均値を表-2に、窒素・リンの収支を表-3に示す。

Table-2 Results of Water Quality Measurement

	I		II		III	
	Influent	Effluent	Influent	Effluent	Influent	Effluent
BOD	108.6	6.8	97.3	12.2	90.7	7.8
ATU-BOD		5.1		5.5		4.4
COD _{Mn}	83.1	17.1	77.9	18.0	66.2	14.2
COD _{Mn} -D*	52.5	11.8	52.0	12.3	47.0	10.6
SS	75.5	14.8	74.6	14.8	67.0	10.4
K-N	24.62	2.05	25.63	2.77	22.55	2.62
K-N-D*		1.10		1.79		1.64
NH ₄ -N	18.2	0.3	16.3	1.1	15.2	1.4
NO ₃ -N		3.2		4.2		6.2
T-P	3.23	1.24	3.21	1.46	3.31	1.89
T-P-D*		0.96		0.90		1.23
	149.6	64.5	146.4	64.7	136.9	61.4

* filtered through GF/B paper

(mg/l)

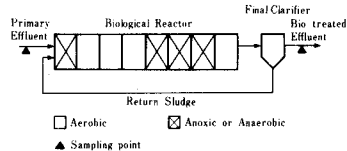


Fig-1 Schematic flow diagram

Table-1 Operating Condition

		I '83 11/18~ 12/26	II '84 1/6~ 3/30	III '86 4/1~ 6/30
Influent Flow	m ³ /d	400	400	400
Detention Time	hr	12	12	12
Anaerobic		1.5	1.5	1.5
Anoxic		4.5	4.5	4.5
Aerobic		6	6	6
Sludge Return Rate	%	50	50	50
Ratio of Air to Influent Flow		10.1	10.1	10.1
Excess Sludge Rate	%	0.61	0.68	0.79
Water Temperature	°C	16.2	14.0	21.1
pH (No. 3/No. 8)		7.01/6.77	7.00/6.89	6.99/6.92
SVI (No. 8)	g/ml	289	418	374
MLSS	mg/l	2235	2209	2870
MLVSS	mg/l	1740	1794	1380
BOD-SS Loading	kg/kg/d	0.097	0.105	0.116
SRT	d	16.4	13.9	14.1

Table-3 Mass balance of nitrogen

and phosphorus in the system

		Entrained (kg/d)	Dis- charged (kg/d)	Removed in the system (kg/d)	Wasted with excess sludge (kg/d)	Fraction in the activated sludge (%) (ys SS)	Removal (%)
N	I	9.82	2.09	7.73	1.62	7.29	79
	II	10.22	2.80	7.42	2.01	7.57	73
	III	9.02	3.52	5.50	1.32	6.14	61
P	I	1.29	0.50	0.79	0.68	3.34	61
	II	1.28	0.58	0.70	0.63	3.09	55
	III	1.32	0.76	0.56	0.61	2.53	43

2.2.1. 窒素の除去

区分Ⅰ、Ⅱでは70～80%の除去が達成されたが、区分Ⅲでは流入負荷量が他の区分に比較して低いにもかかわらず、60%の除去にとどまっている。区分Ⅲの処理水中の窒素形態としてはNO_T-N (=NO₂-N + NO₃-N)が約70%を占め、脱窒反応が充分に進んでいないことが窒素除去の低い原因のひとつといえる。脱窒反応速度は種々の要因によって左右されるが、本運転方式の場合は、脱窒槽混合液中に残存あるいは活性汚泥中に存在している有機物量の多寡が支配的な因子と考えられる。しかしながら、実際にこうした有機物量を把握・推定することは極めて困難であるため、ここでは脱窒に先立つ曝気時間（前

曝気時間)をひとつの間接的指標として、その脱窒速度に対する影響をバッチ実験によって検討した。実験ではパイロットプラントの返送汚泥と流入水とを一定の割合(1:2)で混合した試料を数分割し、それぞれ所定の時間曝気した後、攪拌に切換えて脱窒速度の測定を行った。

表-4に測定時の条件(Case 1~3)を示す。

表-5はCase 1, 3の各前曝気時間ごとの脱窒反応に伴うBOD・D, NO_T-N, およびVS%の変化を示したものである。前曝気時間が長くなるほど同じ反応時間内に脱窒される窒素量は少なくなるが、前曝気時間の0以外は脱窒開始時にBOD・Dが殆ど存在していなかったことから、汚泥に吸着あるいは取込まれた有機物が影響していたと考えられる。しかし、汚泥のVS%には、採水・分析に起因すると見られる測定値のバラツキが大きく、前曝気時間あるいは脱窒量との間に明確な関係は見られなかった。このことはCase 2でも同様であった。

図-2はCase 2におけるNO_T-Nの経時変化を示したものである。Case 2では浮遊性BODの脱窒に及ぼす効果を見るために、初沈流出水と初沈流入水を用いた比較実験を行っている。表-4に示されるように初沈流入水の初期浮遊性BOD濃度は初沈流出水の約2倍であったが、前曝気時間の長短にかかわらず、NO_T-Nの減少傾向には両者の間に殆ど相違は見られなかった。

図-3に前曝気時間と脱窒速度との関係を示す。脱窒速度は前曝気時間に比例して指数関数的に減少していくことが読み取れるが、その依存性は必ずしも一意的でない。脱窒速度の減少傾向と初期BOD濃度(あるいは初期BOD/SS比)、浮遊性BODの存在割合との間には明確な関係が認められなかったことから、ひとつには短期的な有機物負荷の多少よりも相対的に長期的な負荷状況、換言すると汚泥の履歴ともいべきものの要因が大きく関わっていると考えられる。

以上のように、脱窒速度が前曝気時間とともに指数関数的に減少することから、内生呼吸を利用した窒素除去法においては、脱窒に先立つ硝化槽の滞留時間の設定が重要な検討事項であり、過度の硝化時間は窒素除去に大きく影響することがわかる。

区分Ⅲにおける窒素除去が劣る今ひとつの原因として余剰汚泥とともに引抜かれる窒素量が相対的に少ないことが挙げられる。表-3に示されるように、汚泥の窒素含率は6.1%と区分Ⅰ, Ⅱに較べて約1%低い値となっている。これは、VSS/SSの値から推察されるようにひとつには汚泥の自己分解による無機化が進んでいることによる。汚泥の自己分解は必然的に窒素分の液相への回帰を伴うため、脱窒反応を考えなければ、引抜かれる窒素量の減少分は液側の増加分と見ることができる。内生呼吸を利用した脱窒反応は、汚泥の化学組成をHelmerらの提示したC₁₁₈H₁₇₀O₅₁N₁₇P²⁾と仮定し、簡単のためにPを省略すると、次式によって表わされる。



この反応式から、TO_T-N 1mgを脱窒することによってNH₄-Nが0.17mg遊離されることがわかる。

図-4は、脱窒反応に伴うNH₄-Nの変化を見たものである。横軸には脱窒槽でのNH₄-N濃度の増減をわしている。また、脱窒槽内の混合液を用いて測定した結果を併せてプロットしている。この結果を見る限りでは、上式で示される程のNH₄-Nの生成は認められない。しかし、脱窒槽でNN₄-Nが遊離されれば、

Table-4 Summary of conditions of laboratory test

Case	1	2-1	2-2	3
Initial BOD	primary eff. 73.5	primary eff. 68.6	primary inf. 119.4	primary eff. 50.4
BOD-D	mg/l 25.0	28.0	41.5	18.1
MLSS	mg/l 1518	2150	2320	3156
VSS/SS	% 65.3	80.0	80.6	75.8
BOD/SS	kg/kg 0.048	0.032	0.051	0.016
Water temperature	°C 24.5	19.0	19.0	13.5

Table-5 Change in BOD-D, NO_T-N, and VS% with different lengths of initial aeration period

Case	1	3
initial aeration period (hr)	0 3 6 12	0 1 2 3
BOD-D (mg/l)	ini 25.0 1.9 1.2 0.5 fin 3.9 1.1 1.1 0.8	ini 18.1 2.5 1.1 0.7 fin 1.6 1.6 1.9 1.0
NO _T -N (mg/l)	ini 5.41 9.72 10.56 11.48 fin 0.03 5.04 7.51 9.63	ini 12.15 15.21 17.06 19.47 fin 5.20 10.07 13.22 17.17
VSS/SS (%)	ini 65.3 65.4 66.4 65.2 fin 75.0 74.6 76.0 76.1	

ini: at the start of denitrification
fin: after 4 hours

このことはCase 2でも同様であった。

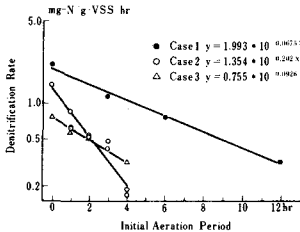


Fig-2 Change in NO_T-N concentration with different lengths of initial aeration period

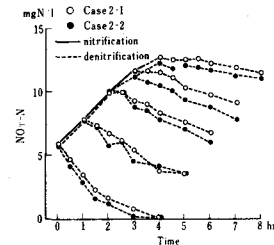


Fig-3 Influence of initial aeration period on denitrification rate

増加した $\text{NH}_4\text{-N}$ が再曝気槽で $\text{NO}_3\text{-N}$ に酸化されてもその $\%$ は処理水として流出する（返送汚泥率50%のとき）ため、その生成量によっては窒素除去効率に影響の出る可能性がある。

2.2.2 リンの除去

リン除去の状況を各区分ごとの平均値で見ると、流入水リン濃度はいずれの区分においても $3.2\text{--}3.3\text{ mg P/l}$ とほぼ同程度であったが、処理水質には区分間で相違が見られる。除去率としては40–60%であり、今回の調査ではそれほど高率のリン除去は達成されなかった。

図-5に流入水と処理水に含まれる溶解性リン（P-D hyclro）濃度の経時変化の測定例を示す。この図は区分Iの晴天時における測定結果であるが、他の区分においても晴天時には同様の変動パターンが観察された。つまり、処理水リン濃度にはかなり明確な変動パターンが認められ、通常、日～火曜日の週の前半には極めて良好な処理水質（ 0.1 mg P/l 前後）が得られるものの、その後は徐々に処理水リン濃度が上昇し週の後半には 1.0 mg P/l 程度となった。しかし、図-5に見られるように、処理水リン濃度が時として、2–3 mg P/l にまで達することがあった。流入水中のリン濃度が高くなるとそれにつれて処理水のリン濃度が上昇する傾向が見受けられ、流入リン濃度あるいはP-SS負荷といった要因が、実際の生物学的な脱リン現象に影響を及ぼしうるということがわかる。

図-6はBOD-SS負荷と処理水の溶解性リン濃度との関係を表わしている。図中の曲線は、BOD-SS負荷(L)とリン濃度(P)の逆数とが比例関係にあると仮定して推定したものであり、関係式は $P=0.096/L$ で表わされる。この関係から、BOD-SS負荷が 0.1 kg/kg/d 以上であれば 1 mg P/l 以下の処理水の得られることが推定されるが、実際には、 1 mg P/l 以上となることが多かった。また、生物学的脱リン反応においては有機物量といった量的側面だけでなく、その種類によって資化性に差があるとの指摘¹⁾もあり、更に検討する余地がある。

表-6に活性汚泥中の各種金属の存在割合を示す。汚泥Aの値はリン除去機能が低下した時点での存在割合を、汚泥Bはリン除去が良好に行われていた時の結果を表わしている。両者を比較すると、リン除去が良好な活性汚泥においては概してP、Ca、Mg、Kを多く含有する傾向のあることがわかる。その他の金属に関してはいずれの状態でもあまり変わりがないといえる。

図-7は、MgおよびKが嫌気あるいは好気工程でどのような挙動を示すかをバッチ実験で検討した結果である。実験では表-4の汚泥Bを流入水と混合したものを嫌気および好気状態に置き、各状態での液側、汚泥側の各金属の分析を行った。この図はMgおよびKはリンが汚泥から放出されるときは随伴するように液側での濃度が上がり、逆に好気状態でリンが汚泥に摂取されるときには同じようにMg、Kの液側濃度が低下することを示している。その際のMgおよびKの変化量(ΔMg 、 ΔK)はリンの変化量(ΔP)と極めて相関が高い。また、リンの放出および摂取時における $\Delta\text{P}/\Delta\text{Mg}$ （モル比）は3.7、3.6、一方、 $\Delta\text{P}/\Delta\text{K}$ （モル比）は5.8、5.1である。いずれの元素もリンとある一定の割合でリンとともに汚泥側と液側との間を移動していた。ただ、リンとこれらの元素が同時に細胞を出入りしていたか否かについては更に検討を要する。

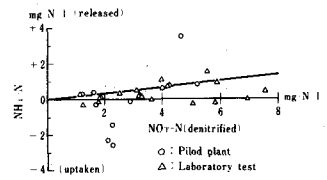


Fig-4 Change in ammonia concentration with denitrification

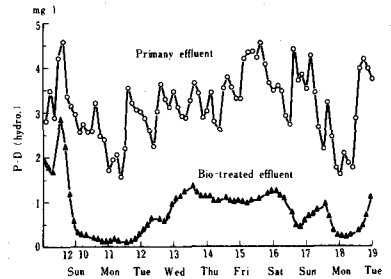


Fig-5 Variation of dissolved phosphorus concentration

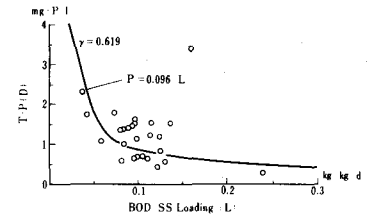


Fig-6 Dependence of effluent phosphorus concentration on BOD-SS Loading

Table-6 Average fractions of mineral nutrients in the activated sludges

	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Zn	Al
Sludge-A	2.37	1.14	0.39	0.78	0.45	0.92	0.09	0.50
Sludge-B	3.28	1.48	0.58	1.08	0.32	1.04	0.10	0.39

Table-7 Composition of media

Tryptone soy broth		Acetate medium	
Casein peptone	17.0 g	Sodium acetate	5 g
Soy peptone	3.0	NH_4Cl	0.5
NaCl	5.0	KH_2PO_4	0.15
Glucose	2.5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
K_2HPO_4	2.5	FeCl_3	0.01
Distilled water	1 l	Tap water	1 l

単段式硝化脱窒法で培養された活性汚泥について硝化工程ならびに脱窒工程でのMg、Kの挙動を調べた結果では、Mgはいずれの工程でも変化が認められなかった。Kに関しては、硝化反応時には殆ど変化は見られなかったが、脱窒反応時には液側のK濃度の増加があった。脱窒素量($\Delta \text{NO}_T - \text{N}$)との関係は明確でないが、 $\Delta \text{NO}_T - \text{N}$ が4-10 mg-N/ℓのときに25 mg/ℓ前後のKの放出が見られた。このKの変化量はリン放出時の値に較べて極めて大きい。

図-8は、Caについてリンの挙動との関連を見たものである。リンが活性汚泥に摂取されているときにはCaの液側濃度が低下す傾向がある。このときの $\Delta \text{P} / \Delta \text{Ca}$ (モル比) ≈ 8.8 は、たとえば、Caとリンとの代表的な化合物のひとつであるヒドロキシアパタイトのP/Caのモル比0.6に比較してかなり大きな値となっている。一方、放出が起こっているときにはリンとCaとの間に明確な関係は見出せない。活性汚泥のリン除去機能が低下したときのCa濃度は、リンの変化が殆どない場合でも $\pm 1 \text{ mg/ℓ}$ 程度の変化を示すことがある。これらのことから、Caの活性汚泥によるリン除去への係わりについて判断を下すことは難しいが、少なくとも化学的な凝集反応という面での関連の可能性は小さいといえる。表-4に示したその他の金属に関しては、リンの放出・摂取に係わりなく、液側濃度の増減は認められなかった。

以上のことから、いわゆる生物学的脱リン現象においては、Caに關しては更に検討の余地が残されているが、MgとKが重要な役割を果たしていると考えられる。Mg、Kなどの金属は酵素の共同因子として代謝に重要な元素であることが知られている。たとえば、細胞内でのポリリン酸の合成・分解に与るポリフォスフェートキナーゼは Mg^{++} を必要とし、またポリリン酸によるグルコースのリン酸化を触媒する酵素は Mg^{++} とともに K^{+} を必要とするといわれている。⁴⁾あるいはまた、Mgの欠乏がエタノール培地でのAcinetobacterの増殖を抑えるとの報告がなされている。ただ、ここで観察されたMg、Kの挙動が、その酵素の共同因子としての働きとどのように関連するのかは明らかでない。

3. 生物学的脱リン現象に關する細菌に關する実験

生物学的なリン除去に關する微生物(あるいは微生物群)については未だに明らかでない部分が多いが、そうした中で、Acinetobacterが重要な役割を演じているとの指摘がある。Fuhsら⁶⁾は、リンの過剰摂取現象に關する細菌として、実際の下水処理場の活性汚泥中からAcinetobacterタイプの細菌を分離し、これが嫌気—好気工程の中でのリンの放出—摂取現象を示すこと、また室内活性汚泥実験装置に分離した細菌を接種することによってリンの蓄積現象が起こることを明らかにしている。また、Buchar⁷⁾によって、すぐれたリン除去を示す処理施設の活性汚泥すべてにAcinetobacterが存在し、純粋培養実験によってAcinetobacterが多量のリンを蓄積する能力を有することが示されている。一方、嫌気—好気法の処理施設の活性汚泥中に存在する細菌としては、AeromonasやPseudomonasが多く、Acinetobacterの存在比率はそれほど大きくないとの報告もある。⁸⁾

Bergey's Manualによれば、Acinetobacterは、グラム陰性好気性桿菌であり、通常、対をなして存在し、種々の長さの連鎖をつくることがあるとされている。また、普通の培地でよく生育し、唯一の炭素源を含む制限培地においても増殖可能である。自然界の土壌、水の中に広く存在し、全地栄養性好気性菌の少なくとも0.001%はAcinetobacter属といわれ、下水中に存在することも確認されている。現在のところ、Ac-

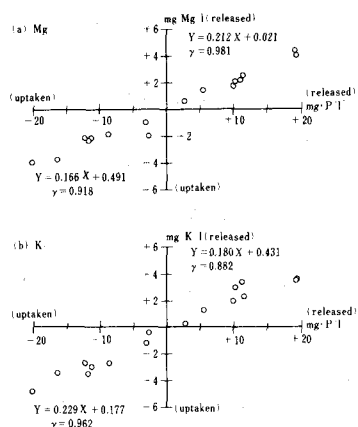


Fig-7 Relationship between magnesium, potassium and phosphorus in biological phosphorus removal process

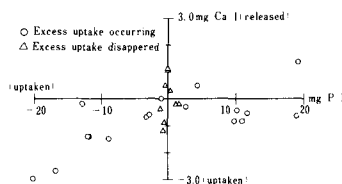


Fig-8 Relationship between calcium and phosphorus in biological phosphorus removal process

netobacter 属には A. calcoaceticus の 1 種のみが知られている。

ここでは、Acinetobacter が実際の処理施設で増殖可能か否かを検討するための基礎的資料を得ることを目的として、Acinetobacter calcoaceticus の純粋菌株を用いて増殖に及ぼす温度の影響とその生化学的性状について検討した。

3.1. 増殖に及ぼす温度の効果

実験には凍結乾燥状態で保存された A. calcoaceticus IAM 12087 を培養液に懸濁させ、普通寒天培地に接種・培養して復元したものを用いた。

温度の効果については、トリプトソージャブイオン (TSB) と酢酸培地 (AcM) の二種類の液体培地を用いて検討した。表-7 に液体培地の組成を示す。生菌数の計測には、目的とする細菌が好気性菌であることを考慮して、平板塗布法 (トリプトソージャ寒天培地、酢酸寒天培地) を採用した。培養条件は 30℃ 24 時間培養とした。

試料中の細菌の分散にはカップ式超音波破碎機を用いた。分散条件については、A. calcoaceticus を懸濁させた TSB を種々の破碎機出力・処理時間で処理し、その生菌数を計測して決定した。破碎機出力 80 W、処理時間 5 分が適当であると判断し、以後の実験ではこの条件で試料の超音波処理を行った。ただ、平板塗布法を用いたために、上記の分散条件であっても培地上のコロニーが多少重なり合うことは避けがたかった。

A. calcoaceticus の増殖曲線を図-9 に、比増殖速度 μ (hr^{-1}) と温度との関係を図-10 に示す。 μ は振盪培養と静置培養の2つの条件で測定した。振盪は円弧往復方式とし、振盪角度 30℃、振盪数 30 回/分とした。 μ は、培養時間 t_1, t_2 における菌数を N_1, N_2 とすると

$$\mu = \ln (N_2 / N_1) / (t_2 - t_1)$$

によって求めることができる。つまり、培養時間に対して菌数の対数をプロットして得られる増殖曲線 (図-9) の対数増殖期にあたる直線部分の勾配と与えられる。TSB の場合について見ると、振盪培養することによって μ は静置時の 1.5-2 倍となった。これは振盪を行うことで培地の攪拌が行われて菌の発育が均一となり、十分な酸素が供給されたためである。このことは A. calcoaceticus の増殖において DO 濃度が重要な要因のひとつであることを示唆するものと考えられる。増殖の至適温度は 37℃ 前後であると推定され、10℃ 以下では増殖しえなかった。AcM の場合には、静置培養の結果のみであるが、TSB と異なり 30℃ 前後に増殖の至適温度が存在した。10℃ 以下で生成しえない点は TSB と同じであった。Bergey's Manual (8 版) には Acinetobacter 属の至適温度として 30-32℃ なる値が記されているが、TSB の場合には異なる状況を呈した。ここで得られた結果に基づいてパイロットプラント内で A. calcoaceticus が増殖可能か否かを試算してみる。今回の実験区分Ⅱにおける SRT は 14 日であったが、15℃ での μ は図-10 から約 0.07 hr^{-1} ($= 1/0.6 \text{ day}^{-1}$) であり、両者の比較から、増殖速度的には A. calcoaceticus は処理系内で十分に増殖可能であることがわかる。このことから、水温の面では、全区分において A. calcoaceticus が存在しうる条件にあったといえる。

3.2. A. calcoaceticus の生化学的性状

表-8 に A. calcoaceticus IAM12087 について調べた生化学的性状の検査項目と検査結果を示す。糖の分解に関する検査では、分解されたのはアラビノースだけで、他の糖類はいずれも分解されなかった。タン白質・アミノ酸に関する検査では、アミノ酸の脱炭酸反応以外は、インドール反応をはじめとしていずれの反応も陰性であった。ただ、Acinetobacter 属はアルギニンテスト陰性 (陽性率 0%)⁹⁾ とされて

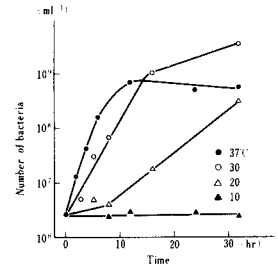


Fig-9 Typical growth curves of A. calcoaceticus (TSB, Shaking culture)

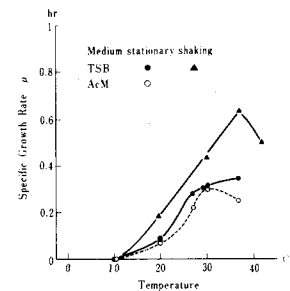


Fig-10 Growth rate of A. calcoaceticus

おり、今回行ったテストでは相反する結果が得られた。有機酸の利用に関する検査では、酢酸、クエン酸、マロン酸などの多くが陽性となった。これらの結果から、生物型によって生化学的性状に幾分相違があるが、*A. calcoaceticus* の利用しうる有機物は有機酸類が主で、その範囲はかなり限定されることがわかる。また、*A. calcoaceticus* は硝酸塩を還元することができなかった。図-11 はパイロットプラントの活性汚泥について、バッチ実験で嫌気・無酸素・好気の各状態での窒素・リンの挙動を再現した結果の一例である。

Table-8 Biochemical properties of *A. calcoaceticus*

Items investigated		results
Utilization of Saccharides	Monose	+
	Arabinose	+
	Rhamnose	-
	Glucose	-
	Mannose	-
	Oligosaccharide	-
Utilization of Protein and amino acid	Lactose	-
	Sucrose	-
	Adonitol	-
	Mannitol	-
	Sorbitol	-
	Inositol	-
Utilization of organic acid	gelatin liquefaction	-
	indole test	-
	phenylalanine deaminase	-
	lysine decarboxylase	+
	arginine decarboxylase	+
	ornithine decarboxylase	+
Utilization of Ester	Acetate	+
	Adipate	+
	Caprate	+
	Citrate	+
	Glucosamine	+
	Malonate	+
H ₂ S reaction	Malate	+
	Phenyl acetate	+
	urease test	+
	nitrate reductase test	+
	Oxidase test	-

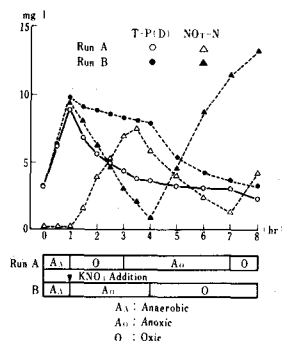


Fig-11 Example of laboratory studies on biological removal of nitrogen and phosphorus

この図から、脱窒反応が進行している時に、速度的には小さいが、リンの摂取現象が認められる。このことは、硝酸呼吸を行いうる細菌の中にリンの過剰摂取に関与するものが存在することを示唆しており、*A. calcoaceticus* のみがリン除去に関与する微生物ではないことを示す証左である。

4. おわりに

生物学的窒素・リン除去法に関するパイロットプラント実験によって次の点が明らかとなった。

- (1) 内生呼吸を利用した脱窒反応では、前曝気時間とともに脱窒速度が指数関数的に減少するために、前曝気時間の設定は実処理に際しての重要な検討事項である。なお、脱窒速度の減少傾向は必ずしも一意的でない。
- (2) 内生呼吸による脱窒反応では $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 1 mg の脱窒に伴い、0.17 mg の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ の遊離が起こると推定されるが、今回調査では推定される程の $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ の生成は認められなかった。
- (3) 処理水リン濃度にはかなり明確な週間変動パターンが認められた。これには流入リン濃度、BOD-SS 負荷が深く係っており、今回調査では、処理水リン濃度 (P) と BOD-SS 負荷 (L) との間に $P = 0.096 / L$ なる関係のあることが示された。
- (4) 生物学的脱リン現象では、Mg、K がリンと一定のモル比 ($\Delta P / \Delta \text{Mg} = 3.6 \sim 3.7$, $\Delta P / \Delta \text{K} = 5.1 \sim 5.8$) でリンと共に液側と汚泥側との間を移動することが認められた。

また、*A. calcoaceticus* の純粋菌株を用いた実験を行い、その結果、

- (5) 増殖の至適温度は、用いる培地によって異なるが、30～37℃前後で、10℃以下では増殖できない。
- (6) 利用しうる有機物質は酢酸、クエン酸などの有機酸が主で、グルコース等の多くの糖類は分解できない。
- (7) パイロットプラントにおけるリン除去では、硝酸塩還元反応の点から、*A. calcoaceticus* 以外の細菌が関与していた可能性がある。

最後に、*A. calcoaceticus* の純粋菌株を分譲して頂いた東京大学応用微生物研究所の山里一英助教授に謝意を表します。また、パイロットプラント実験に御協力頂いた京都市下水道局の関係各位に感謝致します。

参考文献

- 1) Standard Methods (1980)
- 2) E. N. Helmers et al. Sewage and Ind. Wastes, 23 (1951)
- 3) 深瀬 他, 第18回衛生工学討論会講演論文集 (1982)
- 4) F. M. Harold, Bacteriol. Rev., 30 (4) (1966)
- 5) B. J. Abbott et al. Appl. Microbiol., 25 (5) (1973)
- 6) G. W. Fuhs et al. Microbial Ecology, 2 (1975)
- 7) L. Buchan IAWPR Post Conference Seminar (1982)
- 8) K. E. U. Brodish et al. ib id.
- 9) Manual of Clinical Microbiology (1980)