

(11) 酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における 硫酸塩還元と糸状性バルキングの関係

INFLUENCE OF SULFATE REDUCTION ON FILAMENTOUS BULKING IN ACTIVATED SLUDGE CULTIVATED WITH ACETATE AND PEPTONE

山本（池本）良子* ・ 小森友明* ・ 松井三郎**

Ryoko Ikemoto YAMAMOTO, Tomoaki KOMORI, Saburo Matsui

ABSTRACT; Influence of sulfate reduction on filamentous bulking in the activated sludge process was examined in two types of laboratory units. One is the conventional system and the other is the anaerobic-oxic system. When the units were operated with acetate, sulfate reduction occur in the oxic tank and filamentous bulking due to Type 021N occurred. However, in the high mineral conditions, Type 021N could not grow predominantly. When the units were cultivated with acetate and peptone, sulfate reduction occurs in the anaerobic tank and/or settling tank. Sulfate reducing bacteria did not utilize acetate. They utilized organic acids or amino acids similar to lactate produced from peptone and decomposed biomass. Sulfate reduction could be a cause for filamentous bulking due to Type 021N which could utilize sulfide as energy source.

KEYWORDS; Activated sludge, filamentous bulking, sulfate reduction, Type 021N, sulfate reducing bacteria.

1. 緒 言

我が国の都市下水中には10～100mg/Lの硫酸塩が含まれている。嫌気条件下では硫酸塩は硫酸塩還元菌によって硫化物に還元されることが知られている。硫酸塩還元による下水管の腐食問題は有名であり、近年我が国でも、下水道の老朽化に伴い、各地で陥没事故が発生している。下水処理場の悪臭問題も硫酸塩還元に起因していることが多い。活性汚泥処理においては、処理法が好気性であることから硫酸塩還元については殆ど無視されてきたが、嫌気部分やフロック内部に硫酸塩還元菌が育成すれば、その構成微生物のポピュレーションに影響をおよぼすと考えられる。特にある種の糸状性細菌は硫化物を酸化してエネルギーを得ることができることが報告されており、硫酸塩還元菌と糸状性硫黄細菌との関係を明らかにすることが重要と考えられる。

一方、近年、窒素やリンの除去を目的として活性汚泥プロセスに曝気を行わない無酸素(ANOXIC)槽や嫌気(ANAEROBIC)槽を付加した運転が採用されるようになってきている。栄養塩の除去を行う活性汚泥法では嫌気(ANAEROBIC)槽において硫酸塩は容易に還元されるであろう。Wannerらは嫌気(ANAEROBIC)槽を付加した栄養塩除去プロセスにおいてType 021Nや*Sphaerotilus natans*などの糸状性細菌が抑制されることを報告しているが、同時に、*Thiothrix* sp.が増殖することを経験し、硫酸塩還元の影響を指摘している。筆者らは、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて嫌気好気活性汚泥法の室内実験装置を運転し、硫酸塩還元がリン除去と糸状性細菌の増殖に与える影響について実験的に検討を行った。その結果、硫酸塩還元が、糸状性硫黄細菌である*Beggiatoa* sp.やType 021Nの増殖の一因となっていることを指摘した。また、硫酸塩還元が起こるとリン除去が何らかの理由により阻害されることを報告した。実験に用いたグルコースは、嫌気条件下で容易に有機酸に転換され、硫酸塩還元が起こりやすい基質である。しかし、このような嫌気性で分解されやすい糖類は下水管内で分解が終わってしまうため、我が国の都市下水に含まれることはまれであり、都市下水中の有機物の大部分は蛋白質と有機酸である。本研究では、より都市下水に近い組成の

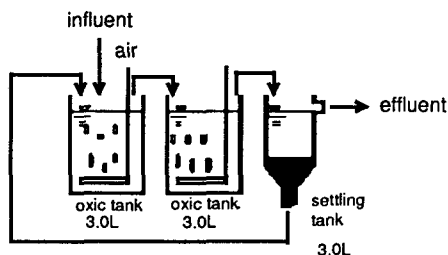
*;金沢大学工学部土木建設工学科 Department of Civil Engineering., Kanazawa Univ. , **;京都大学工学部附属環境微量汚染制御実験施設 Lab. for Control of Environmental Microplutants, Kyoto Univ.

人工廃水を想定して、有機酸として酢酸を、蛋白質としてペプトンを用いて、標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行い、硫酸塩還元と糸状性細菌の増殖の関係を更に検討した。さらに、それぞれの活性汚泥中の微生物生態系について考察を行った。

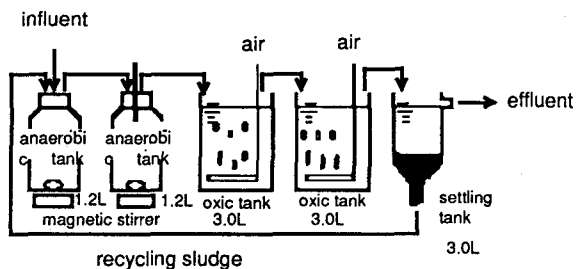
2. 実験方法

2.1 実験装置と運転方法

都市下水の性状に比較的近いと考えられる酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて活性汚泥の馴養を行い、硫酸塩還元について検討を行った。実験はFig. 1に示す連続装置を用い、標準法と嫌気好気法の2系列を並行して運転した。標準法の実験装置は3.0Lの曝気槽2個からなり、嫌気好気法は同一の曝気槽の前に1.2Lの嫌気槽を2槽接続したものである。両装置は水理学的滞留時間(HRT)を24時間となるように流量を設定して運転を行った。有機物負荷は都市下水なみに設定したがHRTを長くにとってあるため流入排水の濃度は通常の都市下水よりも高く作成した。また、返送率を1に設定して運転を行なった。運転条件と人工廃水の組成をTable 1にまとめて示した。用いた人工廃水は3種類である。Run 1からRun 4は酢酸を単一有機炭素源とし、蛋白質は添加していない。Run 3とRun 4の人工廃水中にはRun 1、Run 2よりも高濃度のCa、MgとFeが含まれている。この条件では生成した硫化物は硫化鉄となって沈殿する。Run 1とRun 3は標準法で運転を行っており、Run 2とRun 4は嫌気好気法である。Run 5とRun 6は、酢酸とペプトンを有機炭素源とした人工廃水を用いて運転を行ったものであり、Run 5は標準法、Run 6は嫌気好気法である。全ての



(a) Conventional system



(b) Anaerobic-oxic system

Fig. 1 Experimental set up.

Table 1 Technological parameters of activated sludge system operated with acetate and peptone.

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
Volume of anaerobic tank	-	1.2 L x 2	-	1.2 L x 2	-	1.2 L x 2
Volume of oxic tank	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2
Volume of settling tank	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1
HRT in the whole system	24	24	24	24	24	24
Recycling ratio	1	1	1	1	1	1
Temperature (°C)	20	20	20	20	20	20
Composition of synthetic wastewater (mg/L)						
CH ₃ COONa 3H ₂ O	1360	1360	1360	1360		
CH ₃ COOK					588	588
Peptone					200	200
Yeast extract					20	20
(NH ₄) ₂ SO ₄	132	132	132	132		
KH ₂ PO ₄	50	50	50	50	92	92
NaHCO ₃	150	150	1500	1500	71	71
CaCl ₂			830	830	52	52
MgCl ₂ 6H ₂ O			1250	1250		
FeCl ₃ 6H ₂ O	2.5	2.5	25	25		
KCl					174	174
MgSO ₄ 7H ₂ O					157	157
Volumetric load in whole system on COD _{Cr} base (kg COD _{Cr} /m ³ day)	0.66	0.66	0.66	0.66	0.61	0.61

実験において、1日1回曝気槽の容積の1/15にあたる400mLの混合液を余剰汚泥として曝気槽第2槽目から引き抜いた。沈降性が悪化すると沈殿池から汚泥が流出したためSRTを一定に保つことはできなかった。

2. 2 分析方法

すべての運転において、余剰汚泥を用いてMLSS、SVIおよびSVIC (SV₃₀が30%以下になるまで希釈して求めたSVI)⁹⁾の測定をほぼ毎日行った。糸状性細菌の現存量の指標として糸状体長の測定⁹⁾を不定期に行った。出現した糸状性細菌について、糸状性細菌の形態的な特徴に基づく分類を、Eikelboomの方法⁹⁾と河野の方法⁹⁾を用いて行った。運転開始から2週間以上経過した後に、各槽の混合液と流入廃水および流出水、返送汚泥について分析を行った。分析項目は0.45μmメンブレンフィルターろ液について、硫酸塩、りん酸塩、炭水化物、蛋白質、有機酸濃度、汚泥について硫化物含有量である。分析方法は、炭水化物はアンスロン法を、蛋白質はローリー法を用いた。硫酸塩、りん酸塩、酢酸塩および乳酸塩については細管式等速電気泳動分析装置またはイオンクロマトグラフを、その他の有機酸はガスクロマトグラフを用いた。硫化物濃度および汚泥中硫化物含有量は、塩酸により酸性にした試料をガス洗浄瓶によって吸引曝気し、ガス検知管により測定を行った。活性汚泥と壁面附着汚泥を超音波破壊器によって分散した後、m-ISA培地を用いたMPN法⁹⁾により硫酸塩還元菌数を数回測定した。

2. 3 回分実験

活性汚泥と壁面附着汚泥を用い、嫌気条件下での硫酸塩還元を伴う有機物分解について回分実験によって検討した。Run 1からRun 4では人工廃水中には酢酸のみが含まれており、嫌気槽ではその他の有機酸はほとんど検出されなかったことから、酢酸を用いた回分実験のみを行った。実験には25mLのバイアル瓶を用い、汚泥混合液10mLまたは壁面附着汚泥を投入した後酢酸100mg/LとTable 2に示す無機塩とを混合した基質を満たした。酸素の混入を防ぐために密栓して20°Cで培養し、一定時間ごとにバイアル瓶を開栓して有機酸濃度と硫酸塩濃度の測定を行った。Run 5とRun 6では、嫌気槽には種々の有機酸と蛋白質が検出されたため、これらを用いた回分実験を行った。用いた基質は、酢酸、プロピオン酸、乳酸、iso-酪酸、iso-吉草酸、ペプトンそれぞれの濃度を100mg/Lとして、Table 2に示す無機塩を添加したものである。実験時間を短縮するため、汚泥を遠心分離により濃縮し、乾燥重量で約50mgを25mLのバイアル瓶に移し、基質を満たすことにより、バイアル瓶内のMLSSを増加させた。また、培養中は振とう培養器によって振とうをおこなった。

Table 2 Composition of minerals in the medium of batch experiments.

Concentration (mg/L)	
KH ₂ PO ₄	92
NaHCO ₃	71
KCl	174
MgSO ₄ ·7H ₂ O	52

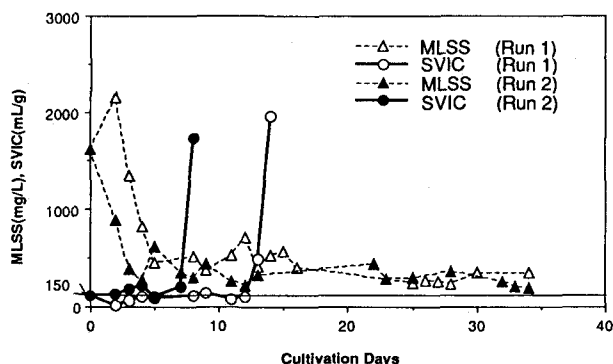


Fig. 2 The time courses of MLSS and SVIC of Run 1 and Run 2.

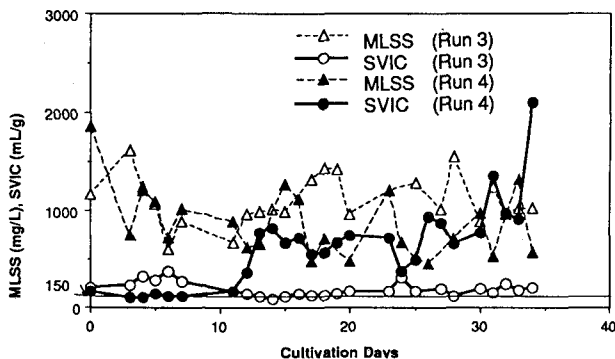


Fig. 3 The time courses of MLSS and SVIC of Run 3 and Run 4.

3 実験結果と考察

3. 1 生成した活性汚泥の特徴

Fig. 2、Fig. 3、Fig. 4におのおのの運転におけるMLSS、SVICの日変化を、Table 3に生成した活性汚泥の特徴をまとめて示す。酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水を用いて運転を行ったRun 1とRun 2では、沈降性が直ちに悪化した。活性汚泥中にはType 021Nが多量に増殖していた。酢酸を単一有機炭素源とし、Ca、MgおよびFeを多量に添加した人工廃水を用い標準法で運転を行なったRun 3ではType 0041の増殖

によるバルキングがゆっくりと発生した。同様の人工廃水を用いて嫌気好気法で運転を行ったRun4では30日間の運転でも糸状性細菌の増殖は認められなかった。酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて標準法で運転を行ったRun5では当初Type021Nによるバルキングが直ちに発生した。この期間しばしば汚泥が沈殿池に滞留して、沈殿池の汚泥が黒変することがあった。定常に運転を行うようになってからはType021Nは徐々に減少し、優先種は河野IV-1タイプとなったが、全糸状性細菌の現存量は変わらなかったため沈降性は改善されなかった。同様の人工廃水を用いて嫌気好気法で運転を行ったRun6では直ちにバルキングが発生した。汚泥中の優占糸状性細菌はType021Nであったが、河野IV-1タイプも共存していた。

3. 2 各槽の水質分析結果

Fig. 5、Fig. 6は酢酸を単一有機炭素源として運転を行なったRun1からRun4の各槽の水質および汚泥内物質の分析結果を示している。標準法のRun1とRun3はよく似た結果を示している。酢酸は曝気槽1槽目で完全に除去されており、好気性細菌による分解を表わしているが、曝気槽第1槽において、硫酸塩が減少し、汚泥中の硫化物含有量が増加している。これは、曝気槽において硫酸塩還元が起こったことを示唆するものである。嫌気好気法で運転を行ったRun2とRun4もよく似た傾向を示している。嫌気槽では1槽目から2槽目にかけ酢酸はほとんど変化せず、流入酢酸濃度の半分程度であった。返送率を1に設定してあるため、酢酸が嫌気槽で全く変化がなかったと考えることができる。硫酸塩濃度も嫌気槽では殆ど変化しなかった。しかし、曝気槽第1槽目において硫酸塩が減少し汚泥内硫化物が増加することが認められる。これは、曝気槽内で硫酸塩還元菌が活動したことを示している。嫌気槽内で十分に酢酸が与えられているにも関わらず酢酸が利用されなかったことから、系内の硫酸塩還元菌は酢酸は利用できないと考えた方が妥当であろう。硫酸塩還元は、曝気槽内で生成された汚泥の自己分解産物を利用したと考えられる。

Fig. 7はRun5とRun6の各槽の水質および汚泥内物質を表している。標準法のRun5では有機物の殆どが曝気槽第1槽目で分解され、硫酸塩濃度はペプトンの分解によって増加している。返送汚泥中の硫酸塩濃度の変化は認められないが硫化物がやや増加していることから、最終沈殿池内では僅かながら硫酸塩還元が起こっていると考えられる。しかし、返送ラインの詰まり等でしばしば汚泥が最終沈殿池に長く滞留した初期に行なった実験では、返送汚泥中の硫酸塩濃度が50mg/L程度まで減少し、汚泥が黒変していることが観察されたことから、硫酸塩還元が活発であったと考えられる。この時、汚泥中に存在していたType021Nの増殖は硫酸塩還元が一因となっていたことが考えられる。嫌気好気法のRun6では嫌気槽において硫酸塩が減少し硫化物含有量が増加している。硫酸塩の減少量に対し硫化物の増加量が少ないのは、嫌気槽の汚泥の採取に時間を要して硫化水素が揮散したためと考えられるが、硫化物が検出されたことは嫌気槽において硫酸塩還元が起こっていることを示すものである。嫌気槽1槽目では蛋白質の減少と酢酸の生成が、嫌気第2槽では酢酸の減少が認められた。好気槽ではすみやかに硫酸酸化細菌によって硫酸塩が生成されていた。

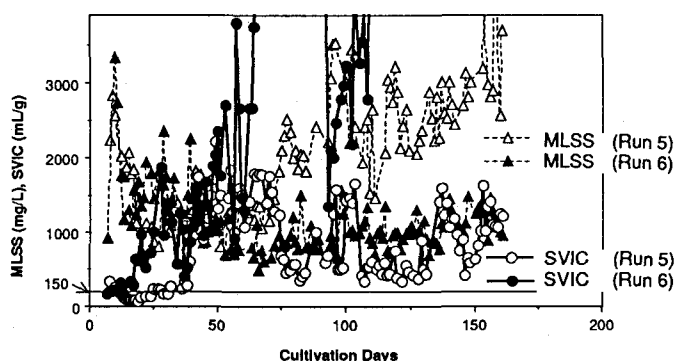


Fig. 4 The time courses of MLSS and SVIC of Run 5 and Run 6.

Table 3 Characteristics of produced activated sludge.

	MLSS* (mg/L)	SVIC* (mL/g)	Filament length** (cm/mg MLSS)	Filamentous bacteria***	
				dominant	miner
Run 1	260	∞	2.8×10^4	Type 021N	
Run 2	290	∞	5.9×10^4	Type 021N	
Run 3	670	1520	2.5×10^4	Type 0041	
Run 4	900	161	2.5×10^2	None	
Run 5	1310	1084	1.6×10^4	Type IV-1(Kohno)	Type 021N
Run 6	1020	1470	7.8×10^3	Type 021N	Type IV-1(Kohno)

*: Average values which were obtained from everyday measurement after 2 weeks of cultivation.

**: Average values which were obtained from several times measurement.

∞: The sludge did not settle at all even if the dilution ratio was over 16 times.

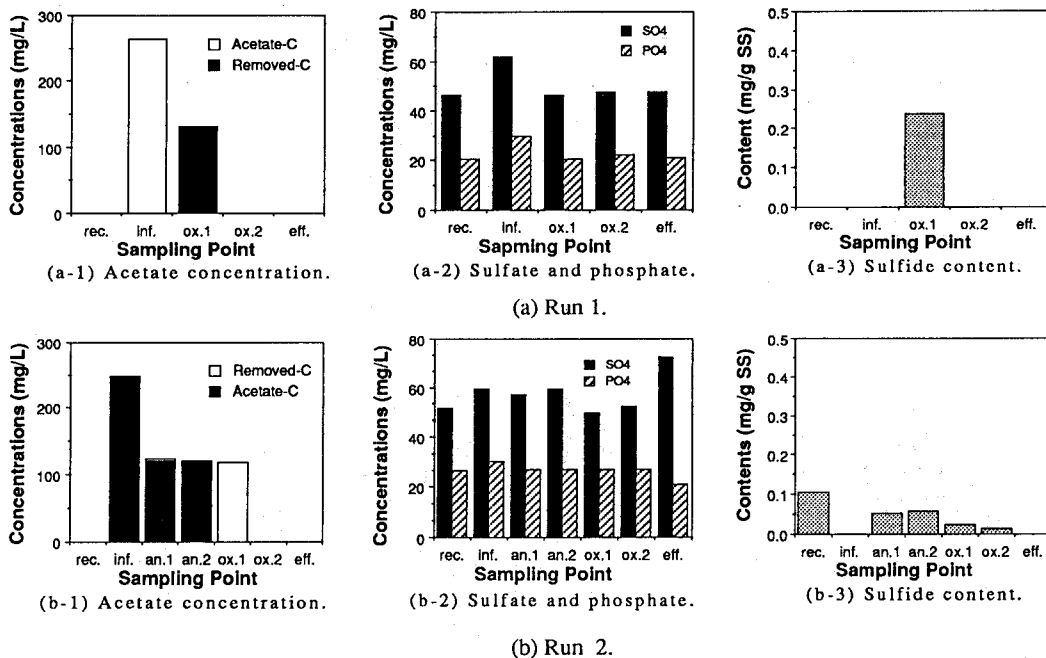


Fig. 5 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 1 and Run 2. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first oxalic tank; ox.2 is second oxalic tank; eff. is effluent tank.

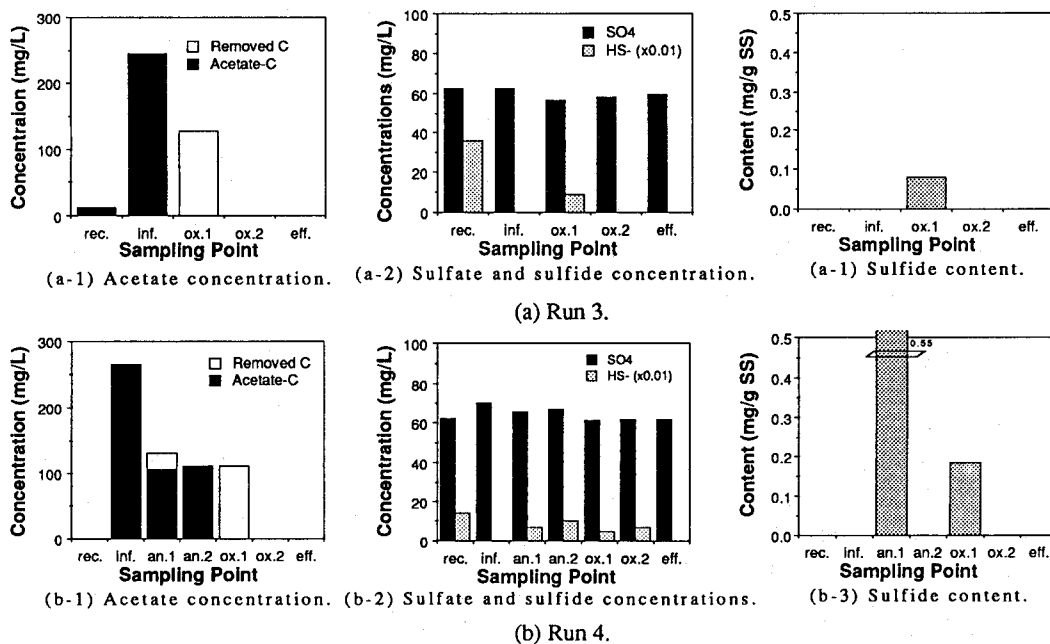
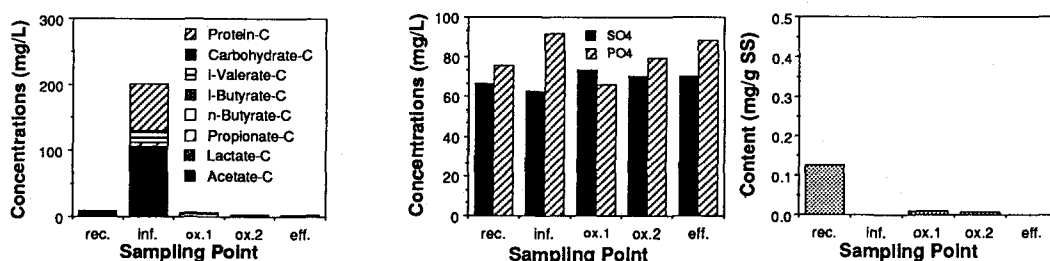
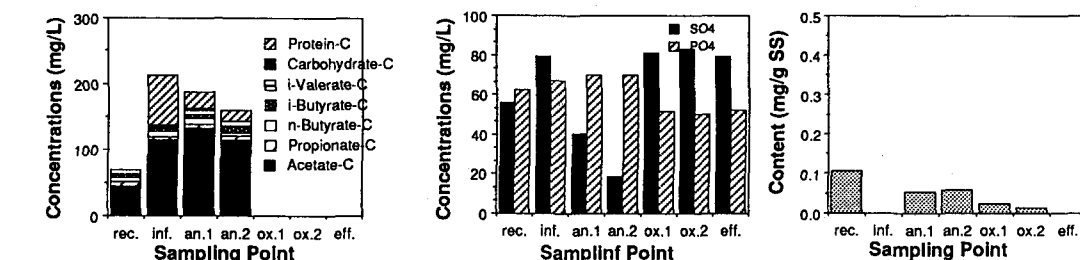


Fig. 6 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 3 and Run 4. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first oxalic tank; ox.2 is second oxalic tank; eff. is effluent tank.



(a) Run 5.



(b) Run 6.

Fig. 7 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 5 and Run 6. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first ox. tank; ox.2 is second ox. tank; eff. is effluent tank.

3. 3 硫酸塩還元菌の有機物分解に果たす役割

ある種の硫酸塩還元菌は乳酸やプロピオン酸を不完全酸化して酢酸を生成することが知られている¹⁰⁾。この種の代表的なものが *Desulfovibrio* sp. (*D. baarsii* は例外) と *Desulfobulbus* sp. である。 *Desulfobacter* sp. や *Desulfotomaculum acetoxidans* のように酢酸を完全酸化する硫酸塩還元菌も自然界には多く存在する。前述したように、Run 1 から Run 4 で増殖した硫酸塩還元菌は酢酸を利用していないことが示唆された。Run 2 の活性汚泥混合液と壁面付着汚泥を用いて、嫌気条件下での硫酸塩還元を伴う酢酸分解について回分実験により検討を行った。Fig. 8 は Run 2 の回分実験の結果の一例を示している。廃水中に単一有機炭素源として添加した酢酸は除去されず、逆に硫酸塩の減少に伴って増加していることがわかる。これは、短い滞留時間の嫌気槽において酢酸が除去されなかったこととよく一致している。同様の傾向が全ての回分実験において認められた。本装置内に成育した硫酸塩還元菌は微生物の自己分解産物を利用して酢酸を生成するものと考えられる。

Run 5 と Run 6 では種々の有機酸が検出された。槽内の活性汚泥を用い、酢酸、プロピオン酸、乳酸、酪酸、吉草酸およびペプトンを用いた回分実験を行った。Fig. 9-14 はその結果を示したものである。全ての回分実験において硫酸塩の減少と硫化物の増大が認められた。Fig. 15 は減少した硫酸塩と増加した硫化物の関係を示している。硫化物の測定方法が簡易的であることと同時に調整して同時に開封してはいるが別々のバイアル瓶で測定したことによる片寄りが

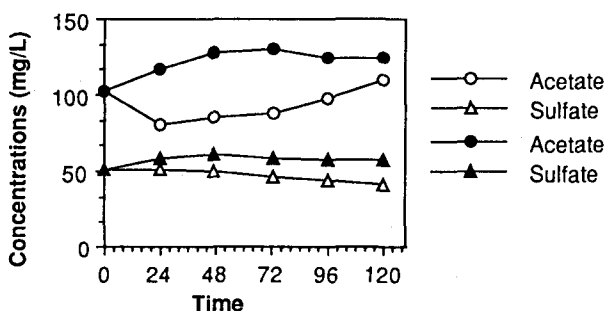


Fig. 8 A result of batch experiment using acetate as a carbone source in the anaerobic conditions using activated sludge and wall growing sludge of Run 2.

あるためややデータはばらついてはいるが、減少した硫酸塩のほとんどが硫化物として検出されていることから、硫酸塩の減少は硫酸塩還元菌によるものと見做しても良いであろう。酢酸を用いた回分実験 (Fig. 9) では、硫酸塩の減少と硫化物の増加にともなって酢酸が増加している。また、微生物の自己分解による溶解性蛋白質の増加が認められた。Run 1からRun 4の回分実験と比較すると、硫酸塩還元速度は実験方法の改良によって上昇しているが、傾向は類似していた。活性汚泥中に生育した硫酸塩還元菌は酢酸を利用せず酢酸を生成するものと考えられる。Run 6では嫌気槽第2槽目で酢酸が減少していた (Fig. 7-b-1) が、このとき嫌気槽壁面に汚泥が付着しており、その中に酢酸を利用する硫酸塩還元菌が存在していたが活性汚泥中では優勢にはならなかったと推定される。Fig. 10からFig. 12はプロピオン酸、酪酸および吉草酸を用いた回分実験の結果を示している。これらの有機酸は減少せず、硫酸塩の減少と硫化物の増大に伴って酢酸が生成していることがわかる。汚泥の自己分解に伴う溶解性蛋白質の増加も認められた。硫酸塩還元菌は微生物の自己分解産物を利用して酢酸を生成していると考えられる。Fig. 13は乳酸を用いた回分実験の結果を示している。硫酸塩の減少と硫化物の増大に伴って、乳酸が減少し酢酸が生成されている。Run 6の汚泥では、その他の有機酸と比較して減少量が多い。硫酸塩還元菌は乳酸を利用できると考えられる。Fig. 16は乳酸を用いた回分実験における硫酸塩還元量と乳酸分解量の関係を示している。図中の直線は乳酸がすべて硫酸塩還元菌により酢酸に転換されたと仮定した理論線である。実験結果は理論線とはほぼ一致していることから、乳酸を用いた回分実験では、汚泥中の硫酸塩還元菌は乳酸を不完全酸化して酢酸を生成したと考えられる。本実験で生成した活性汚泥中に生育した硫酸塩還元菌は乳酸を酢酸に不完全酸化できるタイプのものと考えられる。Fig. 15はペプトンを用いた回分実験の結果を示している。溶解性蛋白質は余り変化していないが、ローリー法により検出された蛋白質はペプトンと微生物自己分解産物の両方を含んでおり、ペプトンの減少と自己分解産物の増加が重なったものと考えられる。硫酸塩の減少と硫化物の増加に伴って酢酸が多く生成されている。硫酸塩還元菌はペプトンの分解産物を利用したと考えられる。Fig. 17はすべての回分実験における硫酸塩還元量と酢酸生成量の関係を示している。図中の

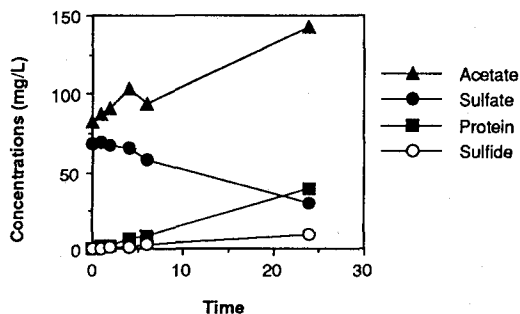


Fig. 9 A result of batch experiment using acetate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 6.

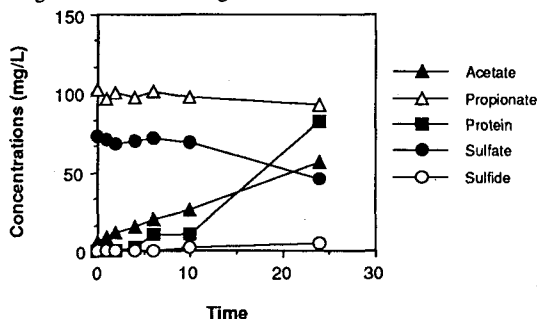


Fig. 10 A result of batch experiment using propionate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 6.

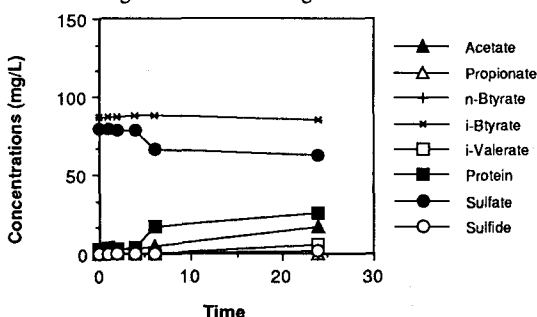


Fig. 11 A result of batch experiment using isobutyrate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 6.

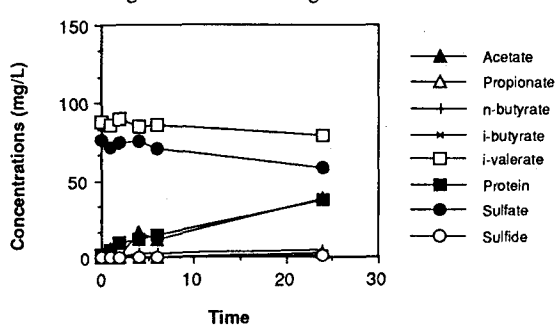


Fig. 12 A result of batch experiment using isovalerate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 6.

直線は酢酸がすべて硫酸塩還元菌により乳酸から生成されたと仮定した理論線である。ほとんどの実験において実験値は理論線をやや上回っており、硫酸塩還元の関与しない酢酸生成が同時に進行したと考えられるが、生成された酢酸のほとんどが硫酸塩還元菌の活動によるものと推定できる。Table 4にRun 4.11とRun 4.12の回分試験で得られた比硫酸塩還元速度をまとめて示した。ペプトンを用いた回分実験において硫酸塩還元速度がもっとも速く、ついで乳酸を用いた回分実験の順であった。硫酸塩還元にとまって乳酸が著しく減少したにも関わらず、嫌気槽内で検出されたプロピオン酸や酪酸、吉草酸はほとんど減少しなかったことより、これらの有機酸を水素酢酸生成菌が利用して、そこで生成した水素を硫酸塩還元菌が利用したとは考えにくい。乳酸は流入人工廃水中には含まれておらず、装置内でも回分実験でも中間生成物として検出されることはなかったが、ペプトンは流入廃水中の主要有機物である。硫酸塩還元菌は主にペプトンから生成された乳酸かもしくはペプトン由来の乳酸に類似した物質を利用していたと考えられる。乳酸の酸化経路はピルビン酸とアセチルCo-Aを経由することが知られている。いくつかのアミノ酸はピルビン酸やアセチルCo-Aに転換可能である。*Desulfovibrio* sp. 等の硫酸塩還元菌はアミノ酸を利用することができると報告されている¹⁰。硫酸塩還元菌はペプトンから生成されたアミノ酸を利用したことも考えられるであろう。一方、Run 5の活性汚泥の硫酸塩還元活性はRun 6の汚泥と比較すると非常に低かった。糸状性硫黄細菌のType 021N がRun 6で多く育成したのは硫酸塩還元菌の活性が高かったためと考えられる。

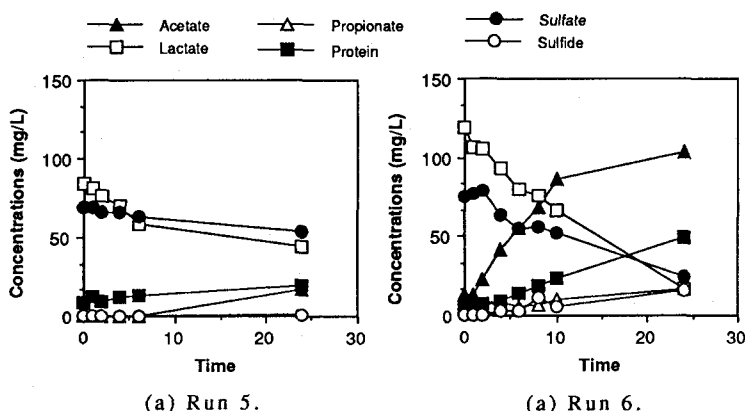


Fig. 13 Results of batch experiment using lactate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 5 and Run 6.

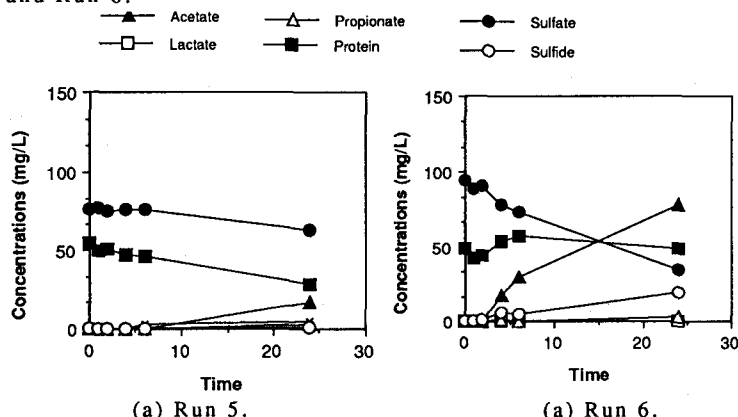


Fig. 14 Results of batch experiment using peptone as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 5 and Run 6.

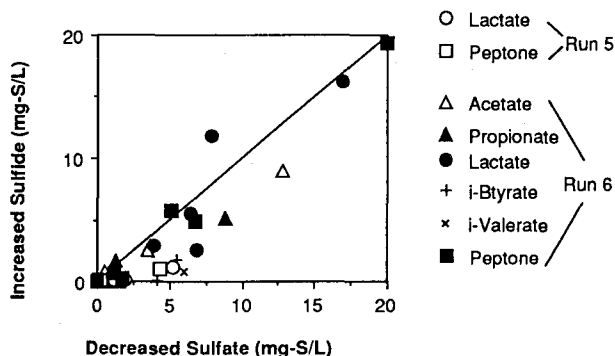


Fig. 15 Relationship between decreased sulfate and increased sulfide in the batch experiment.

Table 4 Specific sulfate reduction rates obtained by the batch experiments.

	Run 5 (mg SO ₄ /g MLSS. hr)	Run 6
Acetate	-	0.83
Propionate	-	0.44
Lactate	0.31	1.11
iso-Butyrate	-	0.36
iso-Valerate	-	0.35
Peptone	0.26	1.23

3. 4 活性汚泥中の硫酸塩還元菌数

活性汚泥と壁面付着汚泥中の硫酸塩還元菌数をMPN法により計数した。Table5はその結果を示したものである。硫酸塩還元菌は1gの活性汚泥中には $10^5 \sim 10^7$ MPN、壁面付着汚泥中に $10^6 \sim 10^8$ MPN増殖していた。活性汚泥中の生菌数は 10^{10} 個/gMLSS程度であるといわれており¹¹⁾、硫酸塩還元菌は時には活性汚泥細菌の0.1%を占めることになる。硫酸塩還元菌数は必ずしも硫酸塩還元活性を表してはならず、硫酸塩還元菌数と糸状性細菌の増殖量の間に相関性は認められなかった。しかし、都市下水と比較的性質の近い人工廃水で好気性で馴養した活性汚泥中に硫酸塩還元菌が高い割合で計数されたということは非常に重要なことであり、硫酸塩還元菌に好適な条件になれば、硫酸塩還元菌の活性が増大し、糸状性細菌の増殖が起こることを意味すると考えられる。

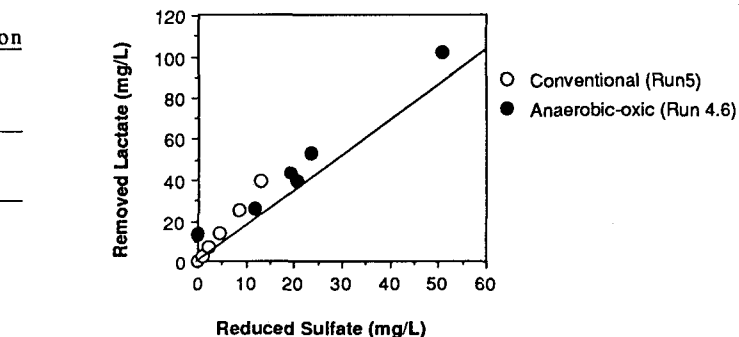


Fig. 16 Relationship between reduced sulfate and removed lactate in the batch experiments using lactate.

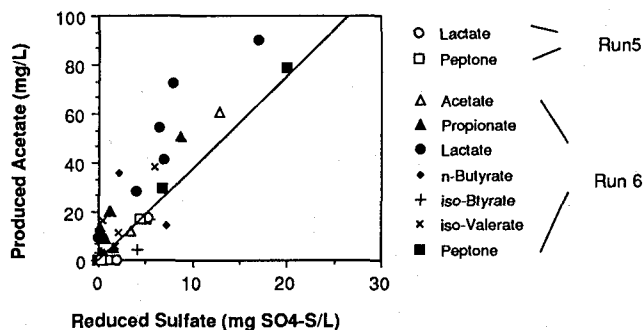


Fig. 17 Relationship between reduced sulfate and produced acetate in all batch experiments using activated sludge of Run 5 and Run 6.

Table 5 The number of sulfate reducing bacteria in the activated sludge and wall growing sludge.

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
Influent*	-	-	-	-	3.3×10^5	1.4×10^5
Liquid phase of*	-	-	-	-	$4.6 \sim 9.4 \times 10^5$	$2.3 \sim 6.0 \times 10^4$
aeration tank	-	-	-	-	-	-
Activated sludge**	0.92×10^6	$3.4 \sim 26 \times 10^6$	$0.53 \sim 1.6 \times 10^6$	$18 \sim 36 \times 10^6$	$2.6 \sim 8.5 \times 10^6$	$2.0 \sim 3.2 \times 10^6$
Wall growing sludge**	-	26×10^6	-	87×10^6	1.8×10^6	-
in anaerobic tank	-	-	-	-	-	-
Wall growing sludge**	11×10^7	3.4×10^6	$0.64 \sim 4.3 \times 10^6$	36×10^6	4.4×10^6	0
in aeration tank	-	-	-	-	-	-

*; MPN/L

**; MPN/gSS.

3. 5 酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における生態系

Run 1 からRun 4では酢酸を単一有機炭素源として標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行った結果、曝気槽において硫酸塩還元が活発におこっていた。その時の活性汚泥細菌群の生態系はFig. 18のように推定することができる。嫌気槽には酢酸のみが流入する。嫌気条件下で酢酸を利用できる細菌は以下のものが考えられる。(1)酢酸資化性硫酸塩還元菌 (*Desulfo bacter* sp. 等)、(2)酢酸資化性メタン菌 (*Methanotrix* sp. 等)、(3)Poly-P蓄積菌 (*Acinetobacter* sp. 等)、(4)脱窒菌。(1)に関しては、各槽の水質分析結果および回分実験によって、本装置内には酢酸を利用する硫酸塩還元菌は増殖しなかったと考えられた。嫌気好気法では、(2)のメタン生成菌が育成できるような絶対嫌気状態は成立しないため増殖することはないであろう。本実験条件ではMLSS濃度が小さく(3)のPoly-P蓄積菌の増殖は認められなかったが、もし、実験条件が整ってPoly-P蓄積菌が活発に活動したなら、酢酸は減少したものと考えられる。SRTが短かったので硝化は起こらず硝酸塩も添加しなかったため、嫌気槽での脱窒は起こらなかった。硝酸塩が存在すれば、嫌気槽で脱窒

が起こることも考えられる。本実験条件では嫌気槽で酢酸を利用する細菌が増殖できなかったため、酢酸の利用は行われず、曝気槽にそのまま流入した。曝気槽では酢酸は好気性または通性嫌気性細菌によって直ちに分解される。糸状性硫黄細菌にとっても酢酸は非常に利用しやすい基質である。微生物の自己分解も活発に行われ、フロック内部ではアミノ酸や有機酸が生成される。フロック内部に成育した*Desulfobulbus* sp. 等の硫酸塩還元菌は生成された有機酸やアミノ酸を利用して酢酸を生成すると考えられる。糸状性硫黄細菌はフロック内部で生成した硫化物もエネルギー源として利用することができるため好適な条件とであったと考えられる。以上のように、硫酸塩還元菌は糸状性細菌のエネルギー源を供給することにより、その増殖に影響を与えるものと考えられる。標準法でも曝気槽における生態系は嫌気好気法と同様と考えられる。しかし、特に鉄イオンを多く添加した系では生成した硫化物は硫化鉄となって沈澱するため、糸状性硫黄細菌は硫化物を利用することができなくなる。そのために、糸状性硫黄細菌の増殖は認められなかったものと考えられる。活性汚泥中のは、別のタイプの糸状性細菌IV-1タイプが増殖しており、その理由については別の観点から説明する必要があるであろう。

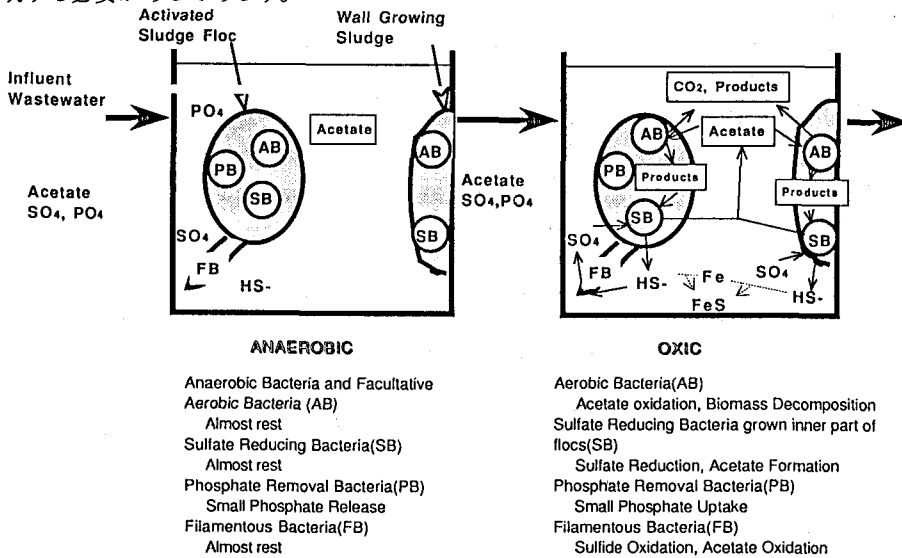


Fig. 18 Bacterial population model in the activated sludge cultivated with acetate.

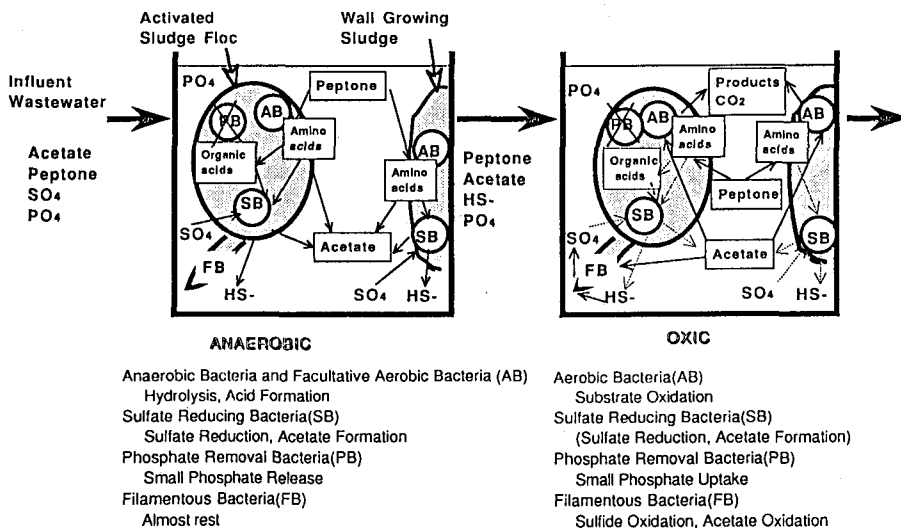


Fig. 19 Bacterial population model in the activated sludge cultivated with acetate and peptone.

Run5、Run6ではさらに、酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いた運転を行い硫酸塩還元が嫌気槽で起こることを示した。この時の細菌群の生態系はFig. 19の様であると推定できる。嫌気槽では嫌気性細菌や通性嫌気性細菌が細胞外においてペプトンの加水分解を行い低分子化した後に、細胞内に取り込んで分解し、あるものは有機酸を生成する。回分実験の結果、活性汚泥内に成育した硫酸塩還元菌は主にペプトンから生成された乳酸を利用するか乳酸に類似したアミノ酸を利用し、酢酸を生成するものと考えられた。曝気槽には、嫌気槽で分解されなかった流入水中のペプトンと酢酸および嫌気槽で生成した酢酸が流入する。これらはただちに好気性細菌や通性嫌気性細菌によって利用される。糸状性硫黄細菌は曝気槽条件下では酢酸も硫化物も利用できるので優勢に増殖することができる。標準法では曝気槽に流入したペプトンは素早く好気性細菌または通性嫌気性細菌に利用され、硫酸塩還元は余り活発には起こらなかったが、フロック内部には硫酸塩還元菌は存在しており、最終沈澱池に汚泥が滞留すると硫酸塩還元が活発となり、糸状性細菌の増殖の一因となると考えられる。

4. 結 言

酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水と、酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行い、糸状性硫黄細菌の増殖に及ぼす硫酸塩還元菌の影響について実験的に検討した。その結果をまとめると以下のようである。

- 1) 酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水を用いた運転では、標準法でも嫌気好気法でも、曝気槽において汚泥の自己分解産物を利用した硫酸塩還元が起こったが、硫酸塩還元菌による酢酸の消費は認められなかった。
- 2) 酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水を用いた運転では、曝気槽での硫酸塩還元が糸状性細菌Type 021の増殖の一因となっていると推定された。しかし、廃水中の鉄濃度が高い場合には硫酸塩還元が活発に起こっても生成した硫化物が硫化鉄として沈澱するために糸状性硫黄細菌の増殖は認められなかった。
- 3) 酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて嫌気好気法で運転を行った結果、嫌気槽においてペプトンから生成された、有機酸もしくは乳酸類似のアミノ酸を用いた硫酸塩還元が活発に起こり、糸状性硫黄細菌のType 021Nの増殖の一因となっていた。
- 4) 酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いた場合、標準法でも最終沈澱池に汚泥が長時間滞留した場合に硫酸塩還元菌の活性が上昇し、Type 021Nの増殖を招いた。
- 5) 全ての実験で、活性汚泥中にも壁面付着汚泥中にも硫酸塩還元菌が計数された。
- 6) これらの実験における活性汚泥中の細菌群の生態系について考察を行った。

以上のことより、糸状性硫黄細菌Type 021Nの増殖の一因は硫酸塩還元にあることが推定された。硫酸塩還元の抑制がバルキングの抑制に重要であると考えられる。

<参考文献>

- 1) Wanner J., Kucman K., Ottava V. and Grau P.: Effect of anaerobic conditions on activated sludge filamentous bulking in laboratory systems. *Water Res.*, Vol. 21, pp. 1541-1546, 1987.
- 2) Yamamoto R. I., Matsui S. and Komori T.: Filamentous bulking and hinderance of phosphate removal due to sulfate reduction in activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 23, Kyoto, pp. 927-935, 1991.
- 3) 松井三郎・山本良子: カラーテレビモニターを用いた活性汚泥の糸状性細菌長, 糸状菌長およびフロック投影面積の測定, *下水道協会誌*, Vol. 20, No. 224, 1983/1
- 4) 松井三郎・山本良子: 活性汚泥の沈降性に及ぼす糸状性細菌, 糸状菌の役割, *下水道協会誌*, Vol. 20, No. 225, 1983/2
- 5) Eikelboom D. H.: Identification of filamentous organisms in bulking activated sludge. *Prog. Wat. Tech.*, Vol. 8, No. 6, 153-161.
- 6) 河野哲郎: Microbiological study on activated sludge bulking caused by filamentous bacteria. *東京都立大学学位論文*, 1987.
- 7) D. Herbert, P. J. Phipps and R. E. Strange: *Methods in microbiology* (ed. J. R. Morris et al.), 5B, pp. 226, Academic Press.
- 8) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall: Protein measurment with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, Vol. 193, pp. 265-275, 1951
- 9) Mara D. D. and Williams D. J. A.: The evaluation of media used to enumerate sulfate reducing bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 33, pp. 543-552, 1970.
- 10) Thauer R. K.: Energy metabolism of sulfate-reducing bacteria. In *Autotrophic bacteria* (Ed. Schlegel H. G. and Bowien B.), pp. 397-414, *Splinger-Verlag*, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo, 1989.
- 11) 須藤隆一 他: *活性汚泥法*, 思考社