

(40) 嫌気条件において界面活性剤に曝されたリン除去活性汚泥による有機物の摂取過程

辻 幸志¹・藤田 昌史^{2*}・古米 弘明³

¹山梨大学 大学院医学工学総合教育部博士課程
(〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11)

²山梨大学 大学院医学工学総合研究部 (〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11)

³東京大学 大学院工学系研究科 (〒113-8654 東京都文京区本郷7-3-1)

* E-mail: mfujita@yamanashi.ac.jp

市販の洗剤やLASのみを現場汚泥に添加したリン放出活性試験では、リン濃度とともに汚泥PHA含有率の増加が認められ、続くリン摂取活性試験では、明らかなリン濃度の減少が見られた。したがって、界面活性剤が最終的にPHAとして蓄積されたものと考えられた。次に、晴天時における流域終末下水のLAS濃度の変化や嫌気槽汚泥のLAS吸着量を調べ、LASやAEを含む洗剤やLAS単品を用いることにより、界面活性剤に曝されたことのない実験室汚泥で、現場汚泥のLAS吸着量を模擬した。そして、リン放出活性試験を行い、酢酸摂取に及ぼす影響を調べた。洗剤を添加した場合、酢酸摂取速度は増加し、 $+\Delta P/-\Delta Ac$ 値は減少した。一方、LASを添加した場合、いずれも逆の結果となった。したがって、LASは酢酸摂取の速度やエネルギー効率を低下させるのに対し、AEは逆に作用する可能性が示された。

Key Words : acetate uptake, adsorption, LAS, PHA, phosphate release, polyphosphate-accumulating organisms, surfactant

1. はじめに

リン鉱石は、世界的にその希少性が認識されており、約40～50年で枯渇すると予測されているが¹⁾、我が国では、すべて輸入に依存している現状にある²⁾。一方、我が国の下水処理施設から年間に排出される余剰汚泥に含まれるリンは、輸入量に匹敵するという試算もある³⁾。それゆえ、古くから余剰汚泥からのリン回収は重要視され、これまでにさまざまな回収方法が検討されてきている^{4,5)}。ただし、回収効率を向上させるためには、余剰汚泥にリンを確実に蓄積させること、すなわち安定した生物学的リン除去を達成することが求められる。これは、第六次水質総量規制という観点からも重要な課題となるが、生物学的リン除去は、突如として不安定になることが経験的に知られている。

これまでに、その要因について、さまざまな研究がなされている。たとえば、生物学的リン除去を担うポリリン酸蓄積細菌群 (以下、PAOs) とグリコーゲン蓄積細菌群 (以下、GAOs) との有機物競合⁶⁾や好気条件下^{7,8)}あるいは無酸素条件下⁹⁾での亜硝酸のリン摂取阻害などの生物反応槽における反応に係わるもの、下水の有機物負

荷の低下¹⁰⁾や嫌気槽への硝酸の流入¹¹⁾などの流入・返流条件に係わるもの、さらには、過剰なエアレーション¹²⁾などの運転操作条件に係わるものが挙げられる。一方、下水とともに流入する界面活性剤¹³⁾、医薬品¹⁴⁾、ホルモン類¹⁵⁾などの吸着、生物分解に着目した研究がなされているが、このような化学物質が活性汚泥微生物群の水質浄化機能に及ぼす影響という新しい視点も重要になるものとする。

界面活性剤は、年間に100万トン以上生産され、一部は乳化剤、分散剤として使用されるものの、その多くは洗浄剤として使用されている¹⁶⁾。2001年度の洗浄剤関連品の販売量は163万トンであったが、そのうち家庭用洗濯洗剤 (以下、洗剤) は61万トンで37%を占めていた。2003年3月にPRTR制度にもとづいて推計された界面活性剤の環境排出量は、陰イオン界面活性剤である直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (以下、LAS) が3.3万トンで最も多く、非イオン界面活性剤であるアルキルポリオキシエチレンエーテル (以下、AE) が1.9万トンでそれに次いで多かった。これらの約75%が下水処理施設に到達すると言われている。LAS、AEの構造式をそれぞれ図-

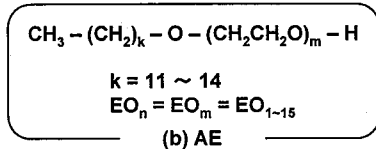
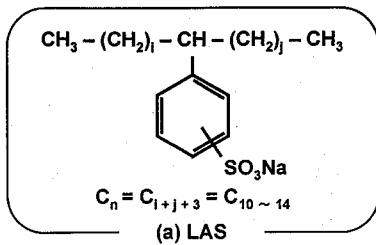


図-1 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS) とアルキルポリオキシエチレンエーテル (AE) の構造式

1 (a), (b) に示した。

下水処理施設に流入したLASは、活性汚泥表面に吸着しやすいことや、その吸着量は液相中の濃度に比例することが報告されている¹⁶⁾。また、嫌気槽ではほとんど分解しないことも報告されている¹⁷⁾。一方、PAOsは嫌気槽において、細胞外に存在する酢酸などの低級脂肪酸を細胞内にポリヒドロキシアルカノエイト (以下、PHA) として蓄積するために、細胞内に蓄積したポリリン酸を加水分解することにより、エネルギーを獲得することが知られている¹⁸⁾。以上のことから、界面活性剤が濃度変動をともなって嫌気槽に流入すると、PAOsの細胞膜表面における吸着状況も変動することから、細胞膜を通じた有機物輸送に影響を及ぼすことが仮説として想定される。

そこで本研究では、洗剤に含まれる界面活性剤に着目し、PAOsの有機物摂取に及ぼす影響を調べることを目的とした。ただし、これらについては、既存の研究例がないことから、まず、流域終末下水処理施設のリン除去活性汚泥 (以下、現場汚泥) に市販の洗剤やLAS単品を加えて、リン放出/摂取活性試験を行った (Exp. 1)。次に、これを踏まえて、界面活性剤に曝されていない人工下水馴致汚泥 (以下、実験室汚泥) を用いて、酢酸とともに洗剤やLAS単品を添加して、リン放出活性試験を行い、目的とする検討を行った (Exp. 2)。この試験では、現場汚泥のLAS吸着量の変動を考慮したことから、

事前に晴天時における流域終末下水のLAS濃度の日間変動や嫌気槽における汚泥LAS吸着量を調べた。そして、実験室汚泥で現場汚泥のLAS吸着量を再現し得る洗剤の添加条件について検討した。

2. 実験材料および方法

(1) 家庭用洗濯洗剤

a) 組成

リン放出活性試験で用いた市販の洗剤 (Det-I ~ III) の組成を表-1に示した。洗剤に含まれている界面活性剤の種類と含有率は、商品の成分表示を参照した。洗剤のLAS含有率は、後述する方法により実測した。この値と上述の界面活性剤含有率から、界面活性剤のLAS含有率を求めた。LASの炭素含有率は、アルキル基 C_{10} から C_{14} の成分の含有量を定量し、それぞれの組成式をもとに算出した。さらに、洗剤の炭素含有率は、DOCの実測値から求めた。

b) 界面活性剤の炭素含有率の概算

表-1に示した洗剤のLAS含有率とLASの炭素含有率を乗じることにより、洗剤に対するLASの炭素含有率を求めた。次に、洗剤に含まれるLAS以外の界面活性剤の含有率を求めた。洗剤の成分表示には、すべての界面活性剤が記載されていない可能性があるが、ここでは、その表示にしたがって、Det-IではAE、Det-IIIでは、 α -スルホ脂肪酸エステル (以下、MES)、純石けん分、AEがそれぞれ残分に含まれていたと仮定した。ただし、それぞれの構成百分率は表示されていなかったことから、ここでは均等に含まれているものと仮定した。Det-IIでは、LASのみが表示されていたため、残分もLASと想定した。また、それぞれの界面活性剤のアルキル基の炭素数 (C_n) やエチレンオキシドのモル数 (EO_n) についての情報も表示されていなかったため、ここでは、MESは C_{10} 、純石けん分は C_8 、AEは C_{12} 、 EO_{10} を代表成分と想定して、それぞれの炭素含有率を49%、58%、61%とした。そして、残分の炭素含有率を計算した。これと先に求めた洗剤に対するLASの炭素含有率を合計したものを洗剤に対する界面活性剤の炭素含有率とした。

表-1 リン放出活性試験で用いた洗剤の組成

Item	Surfactant (SF)		LAS			Carbon (%)
	Component displayed	(%)	(%)	(% of SF)	(C-% of LAS)	
Det-I	LAS, AE	25	13.0	52	61.7	18.2
Det-II	LAS	24	21.0	88	61.6	17.7
Det-III	MES, Soap, LAS, AE	30	10.2	34	61.6	19.5

MES: α -Methyl Ester Sulfonate

表-2 リン放出活性試験における有機物の添加条件

Exp.	Run	Additives						
		Item	Detergent		LAS		NaAc	
			(mg-SF/L)	(mg-LAS/L)	(mg-C/L)	(mg/L)	(mg-C/L)	(mg-C/L)
1	A	Det-I	50	26	36	—	—	—
	B	Det-II	50	44	37	—	—	—
	C	Det-III	50	17	33	—	—	—
	D	—	—	—	—	22	8	—
	E	—	—	—	—	—	—	4
	F	—	—	—	—	—	—	—
2	G	—	50	26	36	—	—	100
	H	—	40	21	29	—	—	100
	I	Det-I	30	16	22	—	—	100
	J		20	10	15	—	—	100
	K	—	10	5	7	—	—	100
	L	—	50	26	36	—	—	—
	M	—	—	—	—	—	—	100
	N	—	—	—	—	30	11	100

(2) リン放出／摂取活性試験

a) リン放出／摂取活性試験 (Exp. 1)

添加有機物として洗剤やLASを用いて、PAOsによるリン放出過程やそれにもなる汚泥PHA含有率の変化を調べた(表-2)。Run A～Cでは、表-1に示した各洗剤を添加し、Run Dでは、LAS(衣料用合成洗剤試験用、Wako社)を添加した。また、酢酸を添加したRun Eや有機物を一切添加しないRun Fも設けた。それぞれの試験液をpH7.2に調整して、流域終末下水処理施設(分流式)の好気槽末端の嫌気好気活性汚泥(MLSS=1225 mg/L, 汚泥リン含有率=4.1% of MLSS)を加えて、嫌気条件下で3時間にわたって、合計6ケースのリン放出活性試験¹⁹⁾を同時に1回行った。

試験終了後、汚泥混合液を回収し、遠沈洗浄した。それに、リン酸および重曹を添加した試験液を加え、曝気を開始して、2時間にわたってリン摂取活性試験を行った。いずれの試験においても、0.5時間ごとに採水して、ガラス繊維ろ紙(孔径0.7 μm, GF/F, Whatman社, 以下、GF/Fフィルター)でろ過した後、リン酸を分析した。リン放出活性試験の開始時と終了時においては、汚泥のPHAも分析した。

b) リン放出活性試験 (Exp. 2)

この試験では、界面活性剤がPAOsによる酢酸摂取に及ぼす影響を調べるために、界面活性剤に曝されていないペプトン/酢酸基質で馴致した実験室汚泥(MLSS=1470 mg/L, 汚泥リン含有率=3.4% of MLSS)を用いた。それゆえ、事前に、晴天時における流域終末下水中のLASの時間変動や上述した処理施設の嫌気槽汚泥のLAS吸着量を調べ、現場汚泥のLAS吸着量を再現できるような界面活性剤の添加濃度を決定した(表-2)。

Run G～Kでは洗剤(Det-I)を、Run NではLASをそれ

ぞれ酢酸とともに添加した。また、洗剤や酢酸のみをそれぞれ添加したRun LやRun Mも設けた。ただし、ここではExp. 1とは違って、十分量の酢酸を添加した。それぞれの試験液をpH7.2に調整した後、実験室汚泥を加え、合計8ケースのリン放出活性試験¹⁹⁾を同時に1回行った。試験開始後、初期2時間までは0.5時間ごとに、その後は1時間ごとに合計6時間まで採水した。そして、GF/Fフィルターを用いてろ過した後、リン酸と酢酸を分析した。

得られたリン酸、酢酸の時系列データの試験初期における直線部分に着目し、リン放出速度(+ΔP/Δt)および酢酸摂取速度(-ΔAc/Δt)を求めた。さらに、両者の比(+ΔP/-ΔAc値)も算出した。これは、酢酸を摂取するために必要としたエネルギーを間接的に示している。

(3) 流域終末下水の採水

前述の流域終末下水処理施設の嫌気槽に流入する最初沈殿池越流水(以下、沈後水)を、採水対象とした。晴天時の平日において、3時間コンボジットにて、24時間にわたりオートサンプラー(Model 3700, ISCO社)により採水した。この2日前までは、1 mm以上の降雨は観測されていない。採水した沈後水は、GF/Fフィルターでろ過を行い、DCOD₅とLASを分析した。

(4) 実験室汚泥のLAS吸着量の調整

Exp. 2を行うにあたり、界面活性剤に曝されていない実験室汚泥で現場汚泥のLAS吸着量を再現することを試みた。前述したリン放出活性試験と同様の手順で実験室汚泥を用いて行った。試験液には、洗剤(Det-I)のみを界面活性剤濃度として10, 30, 50 mg/Lとなるように、それぞれ添加して、pH7.2に調節した。その後、実験室汚泥を加えて、嫌気条件下で攪拌を開始した。そして、汚泥混合液を採取して、後述するLAS分析に供した。

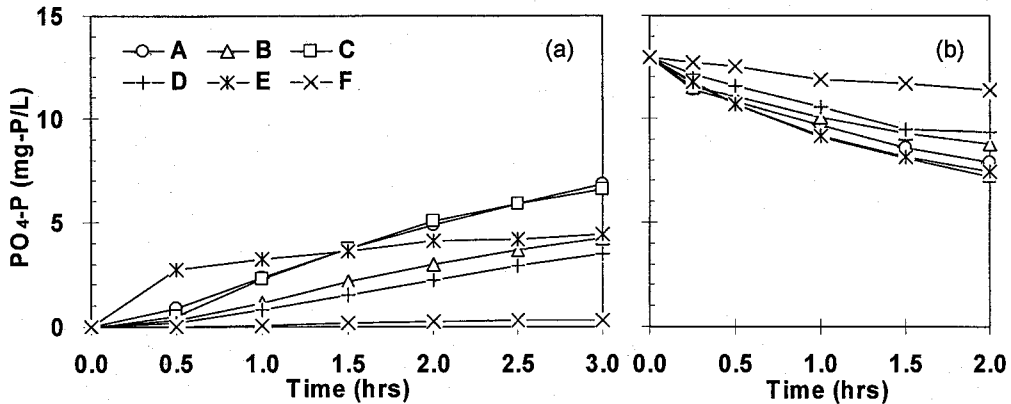


図-2 リン放出活性試験 (a) およびリン摂取活性試験 (b) におけるリン濃度の変化 (Exp. 1)

(5) 水質分析

a) LAS

前述のろ過済みの沈後水および活性汚泥を分析対象とした。真名垣ら²⁰⁾は、Graphitized Carbonblack (SPELCO社), Bond ELUT SAX (Varian社), tC18Sep-pak (Waters社), Bond ELUT PPL (Varian社) の計4種類の固相抽出カラムを用いて、LASやその分解産物であるスルホフェニルカルボン酸の回収率を検討している。ここでは、そのなかで最もLASの回収率が高かった陰イオン交換樹脂カラム (BOND ELUT SAX, Varian社) を用いた。この報告にしたがって、試料の濃縮・精製を行い、蛍光検出器 (RF-10A XL, Shimadzu社) 付きHPLC (SCL-10A VP, Shimadzu社) により、アルキル基C₁₀からC₁₄までの成分を同定・定量し、全同族異性体の合計濃度をLAS濃度とした。ただし、活性汚泥については、前処理として、まず、汚泥混合液を遠心分離した。そして、上澄み液を捨て、メタノールを適量添加して、オムニミキサー (GLH, ヤマト科学社) を用いて、分散処理 (2,300 rpm, 10 min) を行った。再度、遠心分離を行う抽出作業を二度繰り返した。いずれも、ほぼ全量のLASが回収可能であることを事前に確認している。

b) その他

活性汚泥のMLSSは、下水試験方法²⁰⁾にしたがった。PHAは、佐藤の方法²²⁾にしたがって、3-ヒドロキシ酪酸 (以下、3HB) および3-ヒドロキシ吉草酸 (以下、3HV) を定量した。以下の項目は、GF/Fフィルターによるろ過液を用いて測定した。リン酸は、下水試験方法²⁰⁾にしたがって分析した。酢酸は、UV検出器 (SPD-M10A VP, Shimadzu社) 付きHPLC (SCL-10A VP, Shimadzu社) にて分析した。DCOD₅は、簡易分析キット (HACH社) を用いて測定した。DOCは、TOC計 (TOC-5000A, Shimadzu社) により分析した。

3. 結果および考察

(1) 洗剤やLAS添加時におけるリン濃度と汚泥PHA含有率の変化

Exp. 1において、洗剤やLASのみを添加したリン放出活性試験と、それに引き続き行ったリン摂取活性試験におけるリン濃度の変化をそれぞれ図-2 (a), (b) に示した。

まず、リン放出活性試験では、PAOsがリン放出により得たエネルギーを用いて、摂取することが知られている酢酸を添加したRun Eと同様に、洗剤のみを添加したRun A～CやLASのみを添加したRun Dでも、リン濃度の上昇が見られた。洗剤やLASを添加したRunのうち、Run AやCが相対的に増加量が多く、それに続いてRun B, Dの順となった。

次に、リン摂取活性試験では、先の試験で有機物を一切添加しなかったRun Fにおいて、リン濃度がわずかに減少した。図-2 (a) で見られたように、リン濃度はほとんど上昇していなかったことから、試験開始前にもともと蓄積していたPHAを利用したと考えられる。他のRunでは、Run Fよりもさらにリン濃度が減少していた。これは、Run Fに比べて、PAOsがPHAをより多く利用できたことを示している。言い換えると、先の試験において、PAOsはPHAをより多く蓄積していたものと考えられる。試験終了時までのリン濃度の減少量は、Run B, D, Eでは、先の試験での増加量を上回っていた。逆に、Run A, Cでは、それぞれの増加量の74%, 87%に留まっていた。

リン放出活性試験の開始時と終了時における汚泥PHA含有率を図-3に示した。酢酸のみを添加したRun Eと同様に、洗剤またはLASのみを添加したRun A～Dでも、汚泥PHA含有率の増加が確認された。これは、洗剤に含まれる有機物やLASが、最終的にPHAとして蓄積されたことを意味している。

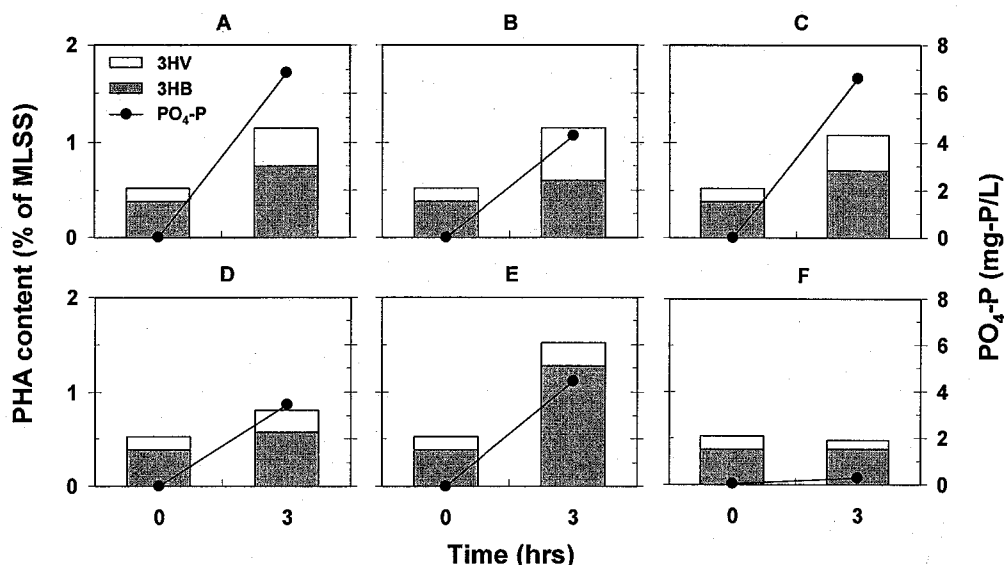


図-3 リン放出活性試験における汚泥 PHA 含有率の変化

本試験で用いた3種類の洗剤について、洗剤に対する界面活性剤の炭素含有率を前述の方法で算出したところ、Det-I, II, IIIは、それぞれ15.4%, 14.8%, 17.4%と概算された。これらを、表-1に示した洗剤中のすべての炭素の含有率と比べると、界面活性剤に含まれる炭素は、それぞれ84%, 84%, 89%を占めると見積もられた。したがって、洗剤中の炭素のほとんどが界面活性剤に含まれると判断される。また、前述したように、界面活性剤であるLASのみを添加したRun Dにおいて、リン放出活性試験では、リン濃度や汚泥PHA含有率の増加が認められたこと、リン摂取活性試験では、リン濃度の減少が観察されたことを考慮すると、洗剤を添加したRunにおいて、図-2 (a)で見られたように、リン濃度が上昇したのは、界面活性剤をPHAとして蓄積するために、PAOsがリンを放出したためであると考えられる。

このように考えると、リン摂取活性試験でRun AとCのリンの減少量が、先の試験の増加量に至らなかったのは、PAOsがリンを放出したわりには、摂取しきれていなかったと言い換えられる。これは、次のように説明できる。既に図-3で示したように、洗剤のみを添加したRun A～Cでは、汚泥PHA含有率はほぼ同じ増加量であったのに対し、Run AとCではRun Bよりも多くのリンを放出していた。すなわち、Run AとCにおけるPHA合成のエネルギー効率は、Run Bよりも低かったと言える。それゆえ、リン摂取活性試験において、PAOsのリン回収量が少なかったものと考えられる。

界面活性剤のなかには、例えば、Det-IIIに含まれる純石けん分(脂肪酸ナトリウム)のように、酢酸を生成する可能性があるものも含まれている。ただし、図-3に示したように、Run A, BやDet-IIIを用いたRun Cでは、試験

終了までに3HVの方が多く合成されたのに対し、酢酸のみを添加したRun Eでは、3HBの合成が顕著であった。Takabatakeらは、3HBや3HVの合成割合は、添加有機物の種類に関係することを報告している²⁹⁾。したがって、洗剤を添加したRunでは、PHAに至ったそれぞれの界面活性剤は、直接摂取されたのか、あるいはその中間産物が摂取されたのかはわからないが、少なくとも酢酸を経由したPHA合成が卓越していたとは考えにくい。すなわち、洗剤を添加したRunでは、界面活性剤が単に酢酸の初発物質としての役割を果たしたわけではないと考えられる。

(2) 晴天時における流域終末下水のLAS濃度の変動

リン放出活性試験 (Exp. 2) に先立ち、晴天時における流域終末下水のLAS濃度の日間変動を調べた (図-4)。流量は、0～9時まで減少したが、逆に、9～15時まででは増加し、その後は、それほど変化は見られなかった。DCOD₅濃度は、12時以後に増加していた。したがって、この時間以後に、午前中に排出された有機物濃度の高い生活雑排水が到達したものと予想される。一方、LAS濃度は、流量やDCOD₅濃度の増加初期において、上昇していた。また、日間で約3倍の差が見られたが、各成分の構成割合は、平均でC₁₀:C₁₁:C₁₂:C₁₃=10±0.7:40±1.5:38±1.7:12±1.5% (C₁₄は不検出)であった。一方、本研究で用いた3種類の洗剤は、平均でC₁₀:C₁₁:C₁₂:C₁₃=11±0.7:33±0.8:34±1.5:22±0.2% (C₁₄は不検出)であった。日間にわたり下水中のLAS組成が洗剤に類似していた理由は不明であるが、少なくともこの間の下水に含まれたLASは、主として家庭から排出された洗濯 wastewater に由来したのと考えられる。

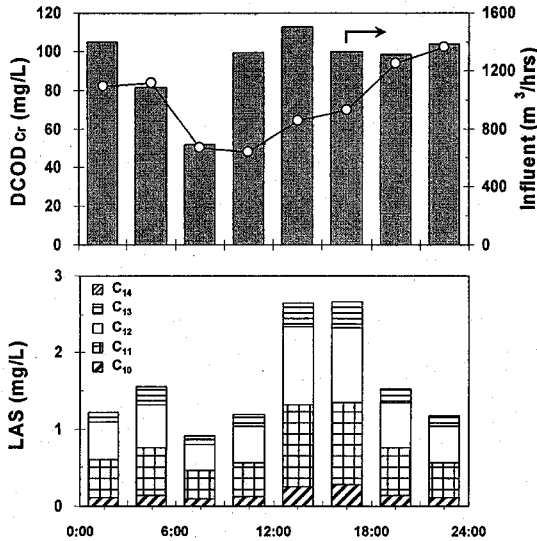


図-4 晴天時における流域終末下水のLAS濃度の変化

(3) 人工下水馴致汚泥のLAS吸着量の調整

前述したように、LAS濃度は日間で約3倍の変動が見られたことから、汚泥のLAS吸着量も同時に変動するものと予想される。例えば、汚泥のLAS吸着量は、汚泥混合液のLAS濃度を変数としたFreundlich等温吸着式(べき数=1)で表現できることが報告されている¹⁰⁾。ここでは、現場汚泥のLAS吸着量を調べ、この吸着平衡を仮定した。そして、前述の観測で得られた晴天時におけるLAS濃度の日間変動を考慮して、汚泥LAS吸着量の変動範囲を推定した(図-5)。さらに、実験室汚泥に洗剤(Det-I)を添加して汚泥LAS吸着量を測定した結果もあわせて示した。

現場汚泥のLAS吸着量は、MLSSあたり0.13%であり、日間で0.07~0.22%の間で変動すると推定された。一方、実験室汚泥では、界面活性剤濃度を高くすると、汚泥LAS吸着量も高くなった。界面活性剤濃度が10 mg/Lのとき、現場汚泥とほぼ同じ汚泥LAS吸着量が得られた。ま

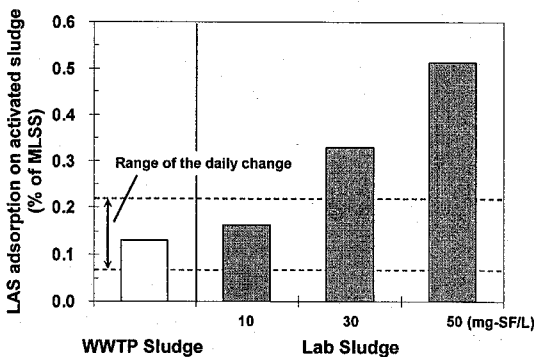


図-5 晴天時における現場汚泥のLAS吸着量の推定変動範囲と実験室汚泥での調整

た、推定した日間の汚泥LAS吸着量の変動範囲を考慮すると、晴天時における現場汚泥のLAS吸着量を実験室汚泥で再現するためには、界面活性剤濃度が10~20 mg/L程度になるように洗剤を添加すればよいと判断される。

界面活性剤濃度を最も高く設定した50 mg/Lでは、汚泥LAS吸着量は、現場汚泥の約4倍となる0.51%となった。ここでも、前述の吸着平衡を仮定すると、下水のLAS濃度が約5 mg/Lのとき、この値になると推定された。晴天時における日間の最大のLAS濃度は2.8 mg/Lと観測されたが、時折、目視されるように、下水が発泡している場合には、この値よりも明らかに高くなるものと予想される。一方、処理場の汚泥LAS吸着量を調べた既存の研究では、1%付近の値も報告されている¹⁰⁾。したがって、この設定濃度で得た汚泥LAS吸着量も、現場で実際にあり得ると判断した。

(4) 界面活性剤がPAOsによる酢酸摂取に及ぼす影響

Exp. 1では、添加有機物として洗剤やLASのみを用いたが、ここではこれらに加えて、PAOsの主要なPHA源として知られている酢酸も添加してリン放出活性試験(Exp. 2)を行った。まず、Run G, J, L, M(表-2)におけるリンと酢酸濃度の変化を図-6に示した。

洗剤のみを添加したRun Lでは、明らかなリン濃度の上昇が認められた。これは、前述の現場汚泥と同様に、この実験室汚泥も界面活性剤をPHAとして蓄積するために、PAOsがリンを放出したためにこのような現象が観察されたものと考えられる。

洗剤に加えて酢酸を添加したRun G, Jでも、リン濃度の上昇が認められた。酢酸のみを添加したRun Mと比較

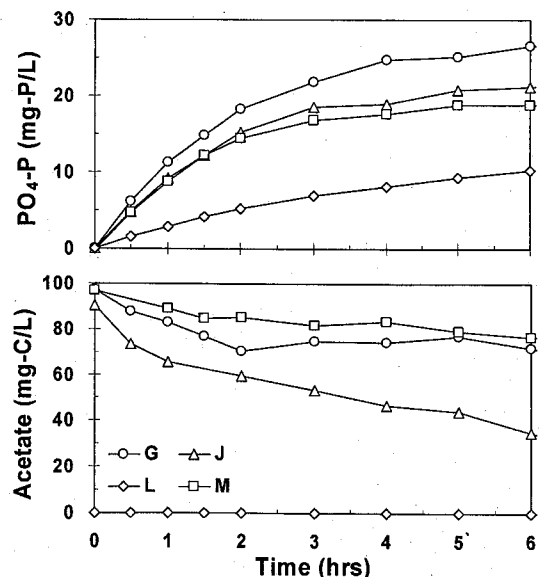


図-6 リン放出活性試験におけるリンと酢酸濃度の変化(Exp. 2)

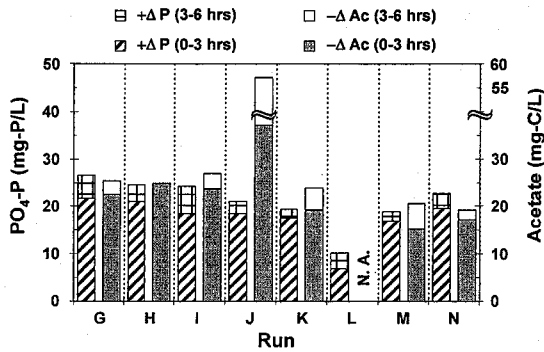


図-7 リン放出活性試験の前半、後半におけるリンと酢酸の変化量

すると、いずれもリン濃度は上回っており、逆に酢酸濃度は下回っていた。特に、界面活性剤濃度が20 mg/Lとなるように洗剤を添加したRun Jでは、試験開始3時間以後はリン濃度の上昇がわずかであったにも係わらず、酢酸濃度は試験終了時まで著しく減少し続けていた。

Run G, J, Lでは、試験終了時付近でもわずかなリン濃度の上昇が見られたが、Run Mでは、試験開始5時間以後はほとんど変化が認められなかった。このRunは、確認のため8時間まで継続したが、引き続き変化は認められなかった。一方、酢酸は試験終了時でも十分に残存していた。したがって、酢酸を摂取したPAOsが含有するポリリン酸は、試験時間内に十分にリン酸として放出し尽くされたものと考えられる。

次に、Exp. 2のすべてのRunにおけるリンや酢酸濃度の変化をより詳細に検討するために、試験時間を前半と後半に分けてそれぞれの変化量を示した(図-7)。

酢酸に加えて洗剤を添加したRun G～Kにおけるリン放出量は、上述したように、ポリリン酸を加水分解し尽くしたと考えられたRun Mよりも多かった。したがって、両者の差分は、界面活性剤を最終的にPHAとして蓄積するために放出したリン量であると考えられる。さらに言えば、このリンは、酢酸を摂取したPAOsではなく、別なPAOsに由来した可能性がある。つまり、界面活性剤を最終的にPHAとして蓄積するPAOsは、酢酸を摂取したPAOsではない可能性が考えられる。

また、Run Mでは試験後半において、リン放出量に対して酢酸摂取量の方が多かったが、洗剤を添加したRun G～Kのうち、添加濃度を高めに設定したRun G～Iでは逆に少なかった。すなわち、酢酸を摂取するためのリン放出と界面活性剤を最終的にPHAとして取り込むためのリン放出では、前者の方がより速く進んだことになる。既に表-1に示したように、酢酸と界面活性剤の添加炭素量の違いなのか、あるいはそれぞれをPHAとして蓄積するPAOsの存在量の違いに関係したのかは明らかではないが、この目的である酢酸摂取への影響を検討するた

めには、試験前半に着目したほうがよいと言える。一方、Run Kは、Run G～Iよりも界面活性剤の添加量が少なかったことから、これらのRunで見られたような界面活性剤由来のリン放出が、試験時間内ではほとんど起こらなかったものと考えられる。それゆえ、Run Mのリン放出量とほとんど違いがなかったものと考えられる。残るRun Jでは、試験前半からリン放出量に対して酢酸摂取量が極めて多かった。

嫌気好気活性汚泥を用いて、pH7付近でリン放出活性試験を行うと、試験初期におけるリン放出量と酢酸摂取量は、それぞれリン、炭素の重量ベースで見ると、ほぼ等しくなることが報告されている^{24,29}。酢酸のみを添加したRun Mの試験前半もほぼ同じであった。しかしながら、Run Jの試験前半における酢酸摂取量は、リン放出量の約2倍、試験後半では約7倍に達しており、他のRunに比べて著しく高かった。また、実下水処理場におけるリン除去汚泥に、酢酸やプロピオン酸を用いたMARFISH法を適用したところ、PAOsとほぼ同量のグリコーゲン蓄積細菌群(GAOs)が生息したことが報告されている²⁹。これらを加味すると、Run Jでは、GAOsによる酢酸摂取が卓越していた可能性がある。一方、洗剤を添加した他のRunでは、試験後半における酢酸摂取量がRun Mよりも少なかったことから、上述した現象が起こっていたとは考えにくい。したがって、再現性を確認する必要があるが、前述したように、同じ活性汚泥を用いて、同時に試験を行ったにもかかわらず、Run Jだけがこのような傾向を示したのは、GAOsによる酢酸摂取を促進するような特異的な界面活性剤の汚泥吸着量が存在する可能性が考えられる。

界面活性剤がPAOsによる酢酸摂取に及ぼす影響を検討するために、上述したように試験初期に着目し、リン放出速度(+ΔP/Δt)、酢酸摂取速度(-ΔAc/Δt)および両者の比(+ΔP/-ΔAc値)を算出した(図-8)。ただし、GAOsによる酢酸摂取が卓越していたと予想されたRun Jは、この検討からは外した。

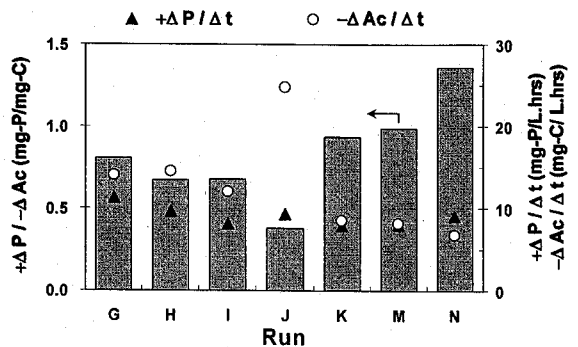


図-8 リン放出試験初期における酢酸摂取速度、リン放出速度および+ΔP/-ΔAc値

洗剤を添加したRunにおける酢酸摂取速度は、酢酸のみを添加したRun Mと比べると、Run Kではそれほど違いはなかったが、界面活性剤の添加量が比較的多いRun G～Iでは明らかに高くなっていた。一方、界面活性剤濃度が増すと、活性汚泥フロックのサイズがより小さくなるのが定量的に調べられている²⁾。本試験でも、フロックの解体は明らかに目視できた。したがって、この報告のように、界面活性剤の添加量が増すにつれて、フロックサイズが小さくなっていくとすると、PAOsの比表面積がより大きくなったことにより、酢酸とより接触しやすくなったものと予想される。そのため、界面活性剤の添加量とともに酢酸の摂取速度が高くなったものと考えられる。しかしながら、LASを添加したRun Nの酢酸摂取速度は、Run Mよりも逆に低くなった。上述したように、PAOsと酢酸との接触効率は向上したとすると、それにもかかわらず、酢酸摂取速度が低かったのは、LASが酢酸摂取を阻害した可能性が考えられる。この洗剤は、表-1に示したように、界面活性剤としてAEも含まれるが、これはLASのような阻害は示さなかったものと判断される。

リン放出速度は、Run G、HやRun Nが、Run Mよりも高かった。洗剤を添加したRunのなかでも前者は、界面活性剤の添加量が比較的多かったことから、最終的にPHAとして取り込むためのリン放出が、試験開始初期から起こり、これが酢酸摂取のためのリン放出に上乘せされたためであると考えられる。

+ $\Delta P/\Delta Ac$ 値は、洗剤を添加したいずれのRunでもRun Mを下回っていた。言い換えると、酢酸を摂取するために必要としたエネルギーが少なかったことを意味する。特に、Run G、Hの放出リン量には、上述したように、酢酸を摂取するためだけでなく、界面活性剤を摂取するためのものも明らかに含まれていたことから、実際にはさらに効率よく酢酸摂取が行われていたものと判断される。この+ $\Delta P/\Delta Ac$ 値は、酢酸摂取速度のように、界面活性剤の添加量とともに単調には連動していなかった。これは、前述とは異なる別な要因に起因したことを意味する。この値は、PAOsの細胞膜間を通じた物質輸送の効率を意味するものである。したがって、PAOsの細胞表面に吸着した界面活性剤が、細胞膜間を通じた物質輸送に影響を及ぼすという仮説が正しいとすると、Run Nでは、+ $\Delta P/\Delta Ac$ 値が逆に高くなっていたことから、LASは酢酸摂取の効率を低減させたのに対し、洗剤 (Det-I) にLASとはほぼ同量含まれるAEは、酢酸摂取速度を向上させた可能性が考えられる。

4. まとめ

市販の家庭用洗濯洗剤やLASのみを添加して行ったリン放出活性試験では、リン濃度の上昇とともに、汚泥PHA含有率の増加も認められた。引き続き行ったリン摂取活性試験では、明らかなリン濃度の減少が確認された。したがって、界面活性剤が最終的にPHAとして蓄積されたものと考えられた。また、このときのPHAの合成割合が、酢酸のみを添加したときとは異なっていたことから、界面活性剤が単に酢酸の初発物質としての役割を果たしたわけではないと考えられた。

次に、晴天時における流域終末下水に含まれるLAS濃度の日間変動を調べたところ、約3倍の差が見られた。また、同処理施設における嫌気槽汚泥のLAS吸着量を調べると、MLSSあたり0.13%であった。これを、界面活性剤に曝されていない人工基質で馴致した汚泥で再現するには、界面活性剤濃度が10～20 mg/Lになるように洗剤を添加すればよいと判断された。

最後に、LASやAEを含む洗剤やLAS単品を添加して、リン放出活性試験を行った。界面活性剤濃度が20 mg/Lとなるように洗剤を添加したとき、酢酸摂取量がリン放出量に対して、試験前半では約2倍、後半では約7倍であったことから、GAOsによる酢酸摂取が卓越したと考えられた。一方、洗剤を添加した他のRunでは、酢酸摂取速度は増加し、+ $\Delta P/\Delta Ac$ 値は減少したが、LASを添加したRunでは、いずれも逆の結果となった。したがって、LASは酢酸摂取の速度やエネルギー効率を低下させるのに対し、AEは逆に作用する可能性が示された。

謝辞：東京農工大学大学院共生科学技術研究部の高田秀重助教授、真名垣聡氏（現、東京大学大学院工学系研究科）には、LAS分析についてご助言をいただいた。また、東京大学大学院新領域創成科学研究科の佐藤弘泰助教授、同博士課程の押木守氏には、汚泥のPHA分析をご協力いただいた。ここに記して、深く謝意を表する。

参考文献

- 1) Abelson P.H.: A potential phosphate crisis, *Science*, Vol. 283, p. 2015, 1999.
- 2) 越智正義：リンの循環利用とその展望、再生と利用, Vol. 26, No. 98, pp. 6-7, 2003.
- 3) 三品文雄：下水汚泥の有効利用「ニコ肥料プロジェクト21」、環境技術, Vol. 30, pp. 290-294, 2001.
- 4) 大竹久夫, 黒田章夫, 加藤純一, 池田幸, 滝口昇, 木下強, 糖信輝領謹：リンの回収と再資源化のためのバイオテクノロジー, 環境バイオテクノロジー学会誌, Vol. 1, No. 1, pp. 25-32, 2001.

- 5) 村上定藤, 竹内正美, 今井剛: 高温高压を利用した新しい水処理技術, 粉体と工業, Vol. 34, No. 3, pp. 57-67, 2002.
- 6) Liu W.T., Nakamura K., Matsuo T. and Mino T.: Internal energy-based competition between polyphosphate and glycogen-accumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors-effect of P/C feeding ratio, *Water Research*, Vol. 31, No. 6, pp. 1430-1438, 1997.
- 7) Saito T., Brjjanovic D. and van Loosdrecht M.C.M.: Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms, *Water Research*, Vol. 38, No. 17, pp. 3760-3768, 2004.
- 8) 吉田征史, 高橋紘平, 齋藤利晃, 田中和博: 亜硝酸による好氣的リン摂取阻害を緩和する脱リン細菌の脱窒能力, 環境工学研究論文集, 第42巻, pp. 69-79, 2005.
- 9) Kuba T., van Loosdrecht M.C.M. and Heijnen J.J.: Effect of cycle oxygen exposure on the activity of denitrifying phosphorus removal bacteria, *Water Science and Technology*, Vol. 34, No. 1-2, pp. 33-40, 1996.
- 10) Kuba T., van Loosdrecht M.C.M., Brandse F.A. and Heijnen J.J.: Occurrence of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants, *Water Research*, Vol. 31, No. 4, pp. 777-786, 1997.
- 11) Hascoet, M.C. and Florentz, M.: Influence of nitrates on biological phosphorus removal from wastewater, *Water SA*, Vol. 11, No. 1, pp. 1-8, 1985.
- 12) Brjjanovic D., Slamet A., van Loosdrecht M.C.M., Hooijmans C.M., Alaerts G.J. and Heijnen J.J.: Impact of excessive aeration on biological phosphorus removal from wastewater, *Water Research*, Vol. 32, No. 1, pp. 200-208, 1997.
- 13) Schröder F.R., Schmitt M. and Reichensperger U.: Effect of waste water treatment technology on the elimination of anionic surfactants, *Waste Management*, Vol. 19, pp. 125-131, 1999.
- 14) 浦瀬太郎, 田中俊至: 異なる活性汚泥による女性ホルモン類・医薬品等の除去特性, 環境工学研究論文集, Vol. 42, pp. 347-355, 2005.
- 15) 日本水環境学会: 非イオン界面活性剤と水環境, 技報堂出版, 2000.
- 16) Painter H.A. and Zabel T.: The behaviour of LAS in sewage treatment, *Tenside Surfactants Deterg*, Vol. 26, pp. 108-115, 1989.
- 17) Larson R.J., Rothgeb T.M., Shimp R.J., Ward T.E. and Ventullo R.M.: Kinetics and practical significance of biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in the environment, *Journal of the American Oil Chemists Society*, Vol. 70, pp. 645-657, 1993.
- 18) Mino T., van Loosdrecht M.C.M. and Heijnen J. J.: Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process, *Water Research*, Vol. 32, pp. 3193-3207, 1998.
- 19) 藤田昌史, 古米弘明, 中島典之: 生物学的リン除去機能の発現過程における嫌気好気回分式活性汚泥のキノプロファイル解析, 水環境学会誌, Vol. 27, No. 3, pp. 189-194, 2004.
- 20) 真名垣聡, 小嶋早和香, 原田新, 中田典秀, 田中宏明, 高田秀重: 高速液体クロマトグラフィー質量分析計による直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩および分解産物の分析方法の開発と環境試料への応用, 水環境学会誌, Vol. 28, No.10, pp. 621-628, 2005.
- 21) 日本下水道協会: 下水試験方法, (上巻), 1997.
- 22) 佐藤弘泰, 味埜俊, 松尾友矩: PHA の測定とその意味, 環境微生物工学研究法, 土木学会衛生工学委員会編, 技報堂出版, pp. 67-70, 1993.
- 23) Takabatake H., Satoh H., Mino T. and Matsuo T.: Recovery of biodegradable plastics from activated sludge process, *Water Science and Technology*, Vol. 42, No. 3-4, pp. 351-356, 2000.
- 24) Smolders G.J.F., van der Meij J., van Loosdrecht M.C.M. and Heijnen J.J.: Model of the Aerobic Metabolism of the Biological Phosphorus Removal Process Stoichiometry and pH influence, *Biochemistry and Bioengineering*, Vol. 43, pp. 461-470, 1994.
- 25) Oehmen A., Saunders A.M., Vives M.T., Yuan Z. and Keller J.: Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources, *Journal of Biotechnology*, Vol. 123, pp. 22-32, 2006.
- 26) Chua A.S.M., Onuki M., Satoh H. and Mino T.: Investigation of *in situ* physiology *Candidatus* Accumulibacter phosphates and GB group in full-scale EBPR plants by using FISH-MAR method, 第40回日本水環境学会年会講演集, p. 470, 2006.
- 27) Bizukojc E.L. and Bizukojc M.: Digital image analysis to estimate the influence of sodium dodecyl sulphate on activated sludge flocs, *Process Biochemistry*, Vol. 40, pp. 2067-2072, 2005.

(2006. 5. 26 受付)

Uptake of Organic Matter by EBPR Activated Sludge under Exposure of Surfactant in Anaerobic Condition

Koji TSUJI¹, Masafumi FUJITA¹ and Hiroaki FURUMAI²

¹Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi

²Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

Firstly, phosphate release activity test in which commercial laundry detergents and LAS were added to an actual anaerobic aerobic activated sludge showed the increase of phosphate concentration and PHA content, and subsequent phosphate uptake activity test exhibited the remarkable decrease of phosphate concentration. Therefore, surfactant was likely to be finally accumulated as PHA. Secondly, the adsorption amount of LAS to actual anaerobic aerobic activated sludge in anaerobic tank as well as a daily change in LAS concentration of influent wastewater were examined, so that the adsorption amount of LAS in a lab activated sludge which has never been exposed by any surfactant was adjusted to the actual level by adding detergent including LAS and AE, and sole LAS. Finally, phosphate release test was conducted using the adjusted activated sludge to investigate the effect of surfactant on acetate uptake by polyphosphate-accumulating organisms. The addition of the detergent brought the increase of acetate uptake rate and the decrease of $+\Delta P/-\Delta Ac$ value. On the other hand, the addition of the sole LAS caused respective opposite effects. In other words, LAS decreased acetate uptake rate and its energy efficiency, while AE would increase them.