

B-3 嫌気好気式活性汚泥法におけるアレロパシー作用の存在の可能性とその意味

○東京大学大学院環境学専攻
静岡県
東京大学大学院環境学専攻
東京大学工学系研究科

佐藤 弘泰
太田 智久
味埜 俊
松尾 友矩

1. はじめに

嫌気好気式活性汚泥法を用いると、ポリリン酸を蓄積する細菌が汚泥内に集積され、その結果としてリンの除去が促進されることが知られている。一方、近年の研究の進展により、嫌気好気式活性汚泥法で選択されるのはポリリン酸蓄積細菌であるとは限らず、ある種のグリコーゲン蓄積細菌がポリリン酸蓄積細菌と競合し、時にはポリリン酸蓄積細菌に卓越する場合があることがわかってきた。ポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌との競合関係として、嫌気槽汚泥滞留時間¹⁾や基質選好性²⁾が指摘されている。しかし著者らは、通常はポリリン酸蓄積細菌が卓越するはずの条件で、グリコーゲン蓄積細菌が卓越する場合があることを経験しており、ポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の競合が基質やpHといった外在的因子だけでは説明がつかないのではないかと考えている。一方、足立ら³⁾はリン除去活性が低下した活性汚泥中に何らかのリン取り込み阻害物質が蓄積されていたと考えられる実験結果を示している。本研究では、前報⁴⁾に続き、汚泥中微生物間の競合メカニズムとして化学物質を介した相互作用（アレロパシー作用⁵⁾）があるのではないかと予想し、その検証を試みた。

2. 方法

本研究では、連続式嫌気好気リアクターRun AおよびRun Bを平行して運転した。Run Aは、水理学的滞留時間を2日に設定し、想定している化学物質が蓄積されやすいような運転を行った。一方、Run Bは対照系として通常の水理学的滞留時間の範囲で運転した。Run AおよびRun Bの汚泥について、相互の上澄みを入れ替えた条件での回分実験、および汚泥を混合した条件での回分実験を行い、嫌気条件での有機物摂取速度やリン酸放出速度、好気条件でのリン酸摂取速度に与える影響を検討した。

連続式嫌気好気リアクターは、いずれも嫌気槽2.5L、好気槽6Lからなる。Run AおよびRun Bの運転条件を表1に示す。流入水の成分は、有機物に関してはRun AおよびRun Bで容積負荷がほぼ等しくなるように、また、リン酸に関してはRun Aでは放流水中に数十mg/L程度のリン酸が残るように設定した。また、Run AとRun Bで反応槽内の塩濃度が極端に異ならないようにした。汚泥返送率は、嫌気槽から好気槽への流量がRun A、Run Bともに約60L/dになるように設定した。

上澄み交換回分実験（SEE, supernatant exchange experiment）では、Run AとRun Bの汚泥混合液をそれぞれ的好気槽末端から採取し、遠心分離により汚泥を沈殿させた後、上澄みを入れ替えた。そして、密閉した容器に入れ、窒素曝気により酸素を除去し、さらに2時間嫌気に保って硝酸・亜硝酸を内生呼吸により除去し、酢酸ナトリウム30mgC/Lを投与した。酢酸ナトリウム投与から60分経過後曝気を開始して好気条件にし、さらに挙動を追跡した。同時に、上澄みを入れ替えない対照実験を行った。また、いずれの実験においてもpHは7.5～8.0の範囲で行った。

汚泥混合実験（SME, sludge mixing experiment）は、Run AとRun Bの汚泥混合液を、4:0、3:1、2:2、1:3、および0:4の5段階の比率で混合し、それぞれを密閉した容器に入れ窒素曝気をした後、基質として酢酸ナトリウム20または30mgC/Lを投与した。酢酸ナトリウム投与から60分経過後曝気を開始して好気条件とし、さらに挙動を追跡した。pHは7.5～8.0の範囲で行った。汚泥混合実験はSME-1、SME-2、SME-3の3回行った。

各回分実験を行った当日または前日における、Run AおよびRun Bの状況を表2に示す。

汚泥のMLSS、MLVSSは下水試験方法により、また、汚泥のリン含有率はベルオキシソニ硫酸カリウムによる分解の後、アスコルビン酸モリブデン青法により、DOCは島津TOC-500により、酢酸を含め陰イオン類はキャピラリー電気泳動（Capillary Ion Analyzer, Waters）により測定した。

3. 結果と考察

3.1 リアクターの運転状況

Run Aの汚泥リン含有率は、回分式実験を行った期間において2～3%前後で比較的安

表1 Run AおよびRun Bの基質組成と主な運転条件

	Run A	Run B
酢酸ナトリウム三水和物	280mg/L	286mg/L
プロピオン酸ナトリウム	42mg/L	43mg/L
酢酸	1070mg/L	0mg/L
ペプトン	1180mg/L	159mg/L
酵母エキス	260mg/L	35mg/L
硫酸マグネシウム七水和物	170mg/L	175mg/L
塩化カリウム	66mg/L	67mg/L
塩化カルシウム	21mg/L	20mg/L
リン酸水素カリウム	181mg/L	57mg/L
流入水量	4.25L/d	31.5L/d
汚泥返送率	2100%	100%
水理学的滞留時間	48h	6.4h
汚泥滞留時間	10d	10d

定していた。また、嫌気条件下での有機物摂取も活発であった。

一方、Run Bについては安定したリン除去を行う汚泥を得ることができなかった。都市下水処理場から入手した汚泥を植種して運転をはじめると、初期の1、2週間は良好なリン除去が行われ、リン含有率も上昇したが、3、4週間目から処理水のリン濃度が上昇し、汚泥のリン含有率も減少するという現象が、数回繰り返された。すなわち、Run Bは生物学的リン除去をおこなってはいたものの、決して安定していたわけではない。

実験期間中、Run AのMLSSは4000mg/L～6000mg/L程度、またRun BのMLSSは3500mg/L～4000mg/L程度であった。

3.2 上澄交換回分実験

上澄交換回分実験(SEE)の結果を図1に示す。

A/A (Run A上澄とRun A汚泥の組み合わせ)、B/A (Run B上澄とRun A汚泥の組み合わせ)、B/B (Run B上澄とRun B汚泥の組み合わせ)、A/B

(Run A上澄とRun B汚泥の組み合わせ)の全ての場合について、嫌気条件下での酢酸の摂取とリン酸の放出、および好気条件下でのリン酸の摂取が見られた。リン含有率の低いRun A汚泥でも嫌氣的酢酸摂取に伴ってリン酸の放出が観察されたが、放出量はRun B汚泥の場合の半分程度であった。

嫌気条件初期における酢酸摂取速度、リン酸放出速度、および、好気条件で残存酢酸がなくなつてからの初期リン酸摂取速度を表3に示す。嫌気条件下での代謝については、Run B汚泥の場合Run Aとの上澄の入れ替えによって酢酸摂取速度が約35%程度低下し、また、リン酸の放出速度は約9%減少した。一方、Run A汚泥については上澄の入れ替えによる酢酸摂取速度、リン酸放出速度の顕著な変化は見られなかった。一方、好気条件下でのリン酸摂取については、Run A汚泥の場合Run Bとの上澄の交換によって約50%酢酸摂取速度が増加した。それに対して、Run B汚泥の場合も上澄の交換によってリン酸摂取速度が増加したが、増加は約13%にとどまった。

測定精度や代謝速度の評価方法等の要因により、代謝速度には相当の誤差がある。しかしそれでも、30%を越える代謝速度の違いには、実験上の誤差以外の要因が関連している可能性が高いと考えられる。仮に、その要因がRun Aの上澄中に蓄積された代謝阻害物質が原因であるとする、Run Aの上澄をRun Bの汚泥に加えたときにRun B汚泥中のポリリン酸蓄積細菌による酢酸摂取が阻害されることや、Run Bの上澄みをRun Aの汚泥に加えたときに好気条件下でのリン酸摂取が活発化されることを説明することができる。

3.3 汚泥混合回分実験

汚泥混合回分実験は、SME-1、SME-2、SME-3の3回行った。例としてSME-2の結果を図2に示す。A4B0、A3B1、A2B2、A1B3、A0B4は、それぞれRun Aの汚泥混合液とRun Bの汚泥混合液との混合比率を示す。どの場合でも、嫌気条件下でのリン酸の放出と酢酸の摂取、および好気条件下でのリン酸の摂取が

表2 回分実験を行った当日または前日のRun A、Run Bの運転成績

	SME-1		SME-2		SEE, SME-3	
	Run A	Run B	Run A	Run B	Run A	Run B
嫌気槽末端DOC (mgC/L)	36	22	40	20	52	26
嫌気槽末端リン酸 (mgP/L)	40	40	21	51	100	47
好気槽末端DOC (mgC/L)	28	9	28	7	39	11
好気槽末端リン酸 (mgP/L)	21	n.d.	4.2	0.7	87	0.1
MLSS (mg/L)	5500	3600	5200	4000	4000	4200
MLVSS (mg/L)	4200	2500	3800	2700	2800	2800
MLSSあたりリン含有率 (好気槽末端) (%)	3.1	3.9	2.8	4.4	3.2	4.1

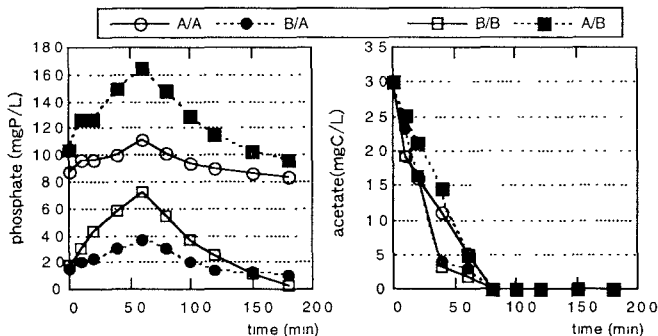


図1 上澄交換実験の結果

表3 上澄交換実験における代謝速度

	phosphate release rate under anaerobic condition (mgP/L/h)	acetate uptake rate under anaerobic condition (mgC/L/h)	phosphate uptake rate under aerobic condition (mgP/L/h)
A/A	9.1	14.8	5.7
B/A	8.6	14.4	8.6
B/B	27.3	14.7	15.6
A/B	24.8	9.5	17.6

観察された。

それぞれの汚泥混合回分実験における嫌気条件初期の酢酸摂取速度、リン酸放出速度、および好気条件で残存酢酸が存在しなくなつてからの初期リン酸摂取速度を計算し、汚泥の混合比に対してプロットした図を図3に示す。

ここで、仮に、二つの汚泥XとYを混合したとき、XとYが混合比に関わらず独立に代謝を行うとすると、図4(A)のようにXとYの混合比に対して代謝速度は直線になるはずである。一方、XがYの代謝を阻害する成分を含んでいるとすると、Xの比率が高い場合にはYの微生物は代謝を阻害されるため、図4(B)のように代謝速度は混合比に対して下に凸の形状をとるはずである。

図3を見ると、SME-2およびSSME-3では好気条件でのリン酸摂取速度が下に凸の形状をとっており、Run A汚泥中にRun B汚泥のリン酸摂取を阻害する成分が存在していた可能性を支持している。また、SME-3では嫌気条件での酢酸摂取やリン酸の放出についても阻害が起きていた可能性が示されている。

以上の結果は、Run A汚泥中にRRRun B汚泥中のポリリン酸蓄積細菌の代謝を阻害する成分が存在していたことを強く示している。

4. 結論と今後の展望

本研究では、嫌気好気式プロセスで馴致された二つの活性汚泥について、生物学的リン除去に関連する嫌気条件での酢酸の摂取とリン酸の放出、および好気条件でのリン酸の摂取につい

て、化学物質を介した相互作用が見られるかどうか検討した。その結果、化学物質を介した相互作用が存在することを強く示唆する結果を得ることができた。本研究で得られた観察結果は今後再現性を確認するとともに、相互作用の原因となっている物質を特定する必要がある。

活性汚泥中の微生物は、非常に近接した距離で他の微生物と接触している。そうした状況にあって、単に基質摂取速度や原生動物による捕食・比食といった関係だけが種間競争の要因であるとは考えにくい。特に、生物学的リン除去プロセスにおけるポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の競争については従来の活性汚泥中微生物の生態に関する知見だけでは説明がつかない。こうした疑問に対して応えるために、そして、嫌気好気法による生物学的リン除去を、理論的にも裏付けられた信頼性の高い技術にまで高めるために、アレロパシーや遺伝子伝播など生態学の世界で知られている種間相互作用のメカニズムを視野に入れつつ検討を進めるべきであろう。

謝辞：本研究は、文部省科学研究費補助金COE形成基礎研究により行われた。

参考文献：1) Matsuo, Y. (1994), Wat. Sci. Tech., Vol.30, No.6 pp193-202, 2) Cech, J.S. and Hartman, P. (1990), Environ. Tech., Vol.11, pp651-656, 3) 足立崇博ら(1995)第29回日本水環境学会年会講演集, P19, 4) 太田智久ら(1997) 第34回環境工学研究フォーラム講演集, P82-84, 4) アレロパシー, E.L. Rice著, 八巻敏雄ら訳, 学会出版センター, 1991.

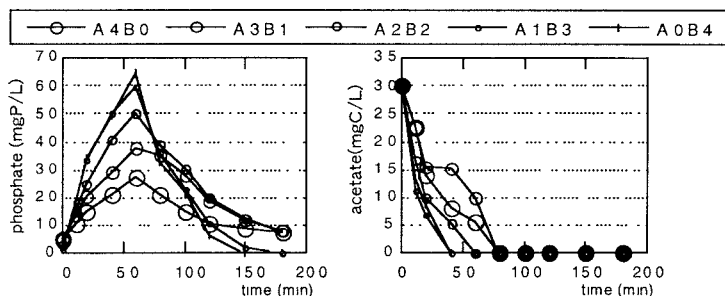


図2 汚泥混合実験の結果 (SME-2)

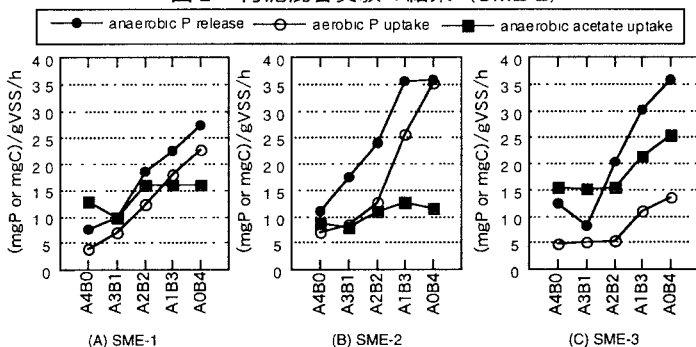
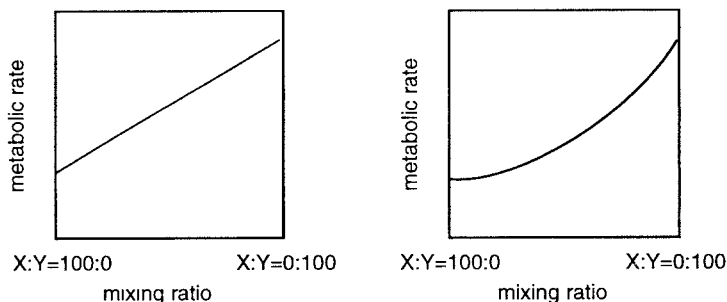


図3 汚泥混合比と代謝速度



(A) when there is no interactions between sludges X and Y

(B) when sludge X inhibits the metabolism of sludge Y

図4 汚泥混合が代謝速度に及ぼす影響