報 文

バルキングの抑制と固定化微生物の保存条件

Repression of bulking and optimal reservation condition
of immobilized microorganisms

有 賀 修・河 原 由実子・中 島 賢 生^{*}
藤 井 昭 雄・佐 納 良 樹^{*}

SUMMARY

For repression of bulking, an attempt was tried by addition of immobilized microorganisms to a mixed liquor. This resulted in the temporary increasing of MLSS and as well as the rapid decreasing of TOC. When some of immobilized activated sludge was added to the aeration tank containing bulking sludge, a remarkable decreasing of the SVI was observed comparing to the reference, under a batch system.

Optimal reservation condition of immobilized microorganisms will be required to for unexpected bulking trouble. Under optimal reservation condition, i.e. in tap water lower than 10 °C, the activity higher than 70% of the initial activity was kept throughout six months.

目 的

固定化微生物を混合槽内に添加することによって槽内の微生物濃度を一時的に増加させ、槽内の有機物濃度の急速な低下を起こし、これによって活性汚泥法で発生する糸状性バルキングの抑制の可能性について検討した。また、プロセスの異常時にすぐに対応できるように固定化微生物を保存しておくことが必要であるので固定化微生物の呼吸活性を指標として保存性について検討し、最適保存条件を調べた。

成 果

バルキング汚泥に対して固定化活性汚泥を添加したところ、槽内の有機物濃度は無添加と比べ急速に減少した。また、100ml/lの濃度で固定化活性汚泥を添加した場合、無添加と比べて、早くSVIが通常の値に戻り、バルキングは抑制された。固定化微生物は10℃以下で保存することによって、約6ヵ月後でも初期活性の約70%を保っていた。また、水道水中で10℃以下で保存するのが望ましいという結果が得られた。

1. 緒 言

近年、活性汚泥法の改良として固定化微生物の利用が注目されており、従来からの生物膜法だけでなく、多糖類などの高分子担体による微生物の包括固定化も研究されている。設楽ら^{1, 2)}は脱窒菌を寒天、ポリアクリルアミド、カラギーナン等により種々の方法で固定化し、遊離の菌との活性の比較を行った。また、橋本ら³⁻⁵⁾はポリビニルアルコールへの活性汚泥の固定化を試み、廃水処理への固定化微生物の応用の可能性について報告した。飯島ら⁶⁾は負荷変動が起きた際に

貯蔵しておいた固定化微生物を用いて対応するという応用を提案し、そのための固定化脱窒菌の保存性について検討している。

しかしながら、固定化微生物をバルキングの抑制に適用した研究は現在までまだ報告されていない。バルキングの抑制については種々の研究が報告されており、例えば、Shimizuら⁷⁾、Nozawaら⁸⁾は活性汚泥中のフロック形成菌を混合槽中に添加するという方法を検討している。また、稲森ら⁹⁾は原生動物の活性汚泥中への添加を試みている。これらの方法ではフロック形成菌もしくは原生動物という特定微生物の培養（純粋

* 信州大学繊維学部精密素材工学科

昭和62年10月8日 受理

Osamu ARIGA, Yumiko KAWAHARA, Kensei NAKAJIMA, Akio FUJII, Yoshiki SANO

培養)を必要とする。

本研究は固定化微生物を混合槽中へ添加することにより、一時的に槽内の微生物濃度を増加し、混合槽中の有機物を低濃度に保つことによって糸状性微生物の増殖を抑えることを試みた。また、廃水処理のような長期間の連続操作を伴うプロセスではプロセスの異常が発生したときにすぐに対応できるように固定化微生物を保存しておくことが必要である。そこで、固定化微生物の保存条件についても検討した。

2. 実験方法

2. 1 供試菌及び培地組成

本研究に用いた活性汚泥は上小衛生施設組合より提供を受けたものを種菌として表1に示した人工下水によりFill and draw方式で馴養したものを使用した(これを通常汚泥と呼ぶことにする)。また、表1の組成中のグルコースのみを2倍とした人工下水でバルキングを起こさせ、SVIが200以上になったものをバルキング汚泥として実験に使用した。また、重金属の流入により発生したバルキングの抑制効果を調べるため、人工下水に硫酸銅50mg/ℓを加えたもので汚泥を馴養してバルキングを起こさせたものも使用した。

2. 2 固定化剤及び固定化方法

本研究では長期保存・長期使用の出来ると思われる3種類のゲルすなわち、ホウ酸処理したPVA、凍結融解処理したPVA、及び光硬化性樹脂ENTG-3800(関西ペイント(株)製)を用いて実験を行った。

バルキングの抑制実験では固定化剤として光硬化性樹脂(親水性ENTG-3800)を用い、成型助材としてアルギン酸ナトリウムを使用した。表2に示した重量比の混合液を1.5M CaCl₂溶液中に滴下して球状のゲルを調製し、紫外線照射装置により5分間光照射し硬化させた。

表1 人工下水の組成

成 分	濃度 [mg/ℓ]
glucose	500
pepton	150
CaCl ₂	27.5
K ₂ HPO ₄	5.86
KH ₂ PO ₄	2.30
NaHPO ₄ ・12H ₂ O	12.0
NH ₄ Cl	45.1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	22.5
FeCl ₃ ・6H ₂ O	0.25

表2 光硬化性樹脂の配合(重量比)

ENTG-3800	10
光重合開始剤	0.08
成型助剤	2
菌体懸濁液	4

保存性を調べる実験では上記の光硬化性樹脂に加えてホウ酸処理したPVA(ポリビニルアルコール)ゲルおよび凍結融解法により硬化させたPVAゲルを用いた。PVAのホウ酸処理は橋本らの方法⁵⁾に従い、PVAはクラレ社製PVA-HCを用いた。また、凍結融解法によってPVAゲルを調製する場合は前報¹⁰⁾に従い上記のPVA-HCの7.5%溶液を流動パラフィン中に滴下して球状の液点をつくり、-17℃の冷蔵庫にて7回凍結融解することにより調製した。

2. 3 実験操作

Fill and draw方式により汚泥を水道水で数回洗浄した後、予め測定しておいた汚泥濃度に基づきMLSSを所定値になるように調整し、汚泥混合液に表1の組成になるように各成分を加え、全量を500mlとして24時間回分処理実験を行った。TOC20mlを抜き取り、4℃で汚泥を遠心分離(12,000rpm 10min)し、その上澄み液を分析した。固定化微生物添加の効果を見る場合には、上記と同様に調製した汚泥混合液に所定量の固定化ゲルを添加し、回分処理した。バルキング抑制実験ではバルキングの回復を遅らせ固定化微生物添加の効果の有無をより顕著にし、またC/N比の高い廃水に対する有効性を検討するため、バルキング汚泥に表1の組成中のグルコースのみを2倍としてFill and draw方式で24時間毎に回分処理を繰り返し、そのときの汚泥濃度、SVI等の経日変化を測定した。

2. 4 分 析

サンプルの分析は表3に示した方法で行った。TOCの分析は手塚の方法を本研究室で改良した方法を用いた¹¹⁾。汚泥沈降率(SV₃₀)は汚泥混合液100mlをメスシリンダーに採取し、30分間静置後の沈降物の体積を測定することによって求め、SVIはこの値を用いて算出した。(下水試験法においては1ℓのメスシリンダーで30分後の沈降体積を測定することになっているが、予備実験から100mlで求めたSV₃₀を10倍したものとほぼ同じであった)。汚泥濃度は遠心分離(12000rpm, 10min)した汚泥を110℃で24時間乾燥し、その乾燥重量を測定した。

表3 分析方法

測定項目	分析方法
TOC	過硫酸塩酸化法
$\text{NH}_4^+ - \text{N}$	フェノール次亜塩素酸法
$\text{NO}_2^- - \text{N}$	α -ナフチルアミン法
$\text{NO}_3^- - \text{N}$	ブルシン法
T-N	過硫酸塩による分解の後紫外線吸光法

呼吸活性は30℃で5 mlのゲルが消費する酸素の量を以下の方法で測定することによって求めた。5 mlのゲルを表1の組成の人工下水95 mlの入ったふ卵瓶に添加し、溶存酸素濃度の経時変化を溶存酸素計（東亜電波工業製、DO-1 B）を用いて測定した。溶存酸素濃度が5 mg/lでの傾きから酸素消費速度を推算した。

3. 結果と考察

3. 1 通常汚泥とバルキング汚泥の処理特性の比較

Hasegawaら¹²⁾は連続培養においてC/N比を変えるというshock loadingを与えることによりバルキングが誘発され、硝化菌の流出がバルキングの誘発に関係していると報告した。そこでバルキングを起こした汚泥が通常の汚泥と比較してどのような処理特性を持つか回分式活性汚泥法で人工下水を処理したときの各種成分の経時変化を調べた。

図-1は各種成分濃度の経時変化を示している。通常汚泥とバルキング汚泥とを比較すると、バルキング汚泥では全窒素が極めて早く低下しているが、TOCの処理が遅いことが分かる。また、バルキング汚泥ではアンモニア態窒素の減少が極めて早く、全窒素の減少はアンモニア態窒素によるものであることが分かる。Richardら¹⁰⁾は糸状性バルキングで最も一般的であるType 021N (*S. natans*) は単糖類と単純な有機酸に対し高い親和性を有し、またアンモニアに対してはフロック形成菌より高い親和性を有し窒素制限下においてはアンモニアの速やかな同化と蓄積を行うこと、溶解性有機物濃度及びC/N比が高い場合に発生し易いことを明らかにした。本研究で用いたバルキング汚泥がType 021Nが優勢かどうかは確認していないが、バルキング原因菌の代表株であるType 021Nに近いものと思われる。亜硝酸態窒素の濃度変化を見ると、バルキング汚泥では殆ど亜硝酸態窒素、硝酸態窒素の生成がみられずHasegawaらが述べているようにバルキング汚泥では回分処理の繰り返しの間増殖速度

図-1 通常汚泥とバルキング汚泥の処理特性の違い

の極めて遅い硝化菌がFill and drawの際に流出してしまったものと考えられる。

以上のように本研究で用いたバルキング汚泥は通常汚泥に比べ硝化活性が極めて低いに関わらず、全窒素の取り込みが早く、またそれに対してTOCの処理が遅いことが分かる。これを廃水のC/N比で表すと図-1 (C) のようになる。この図から分かるように、通常汚泥では24時間を通してC/N比が低く保たれているのに対して、本研究で用いたバルキング汚泥では初期においてC/N比が極めて大きくなってしまふこ

とが分かった。

3. 2 固定化微生物添加による処理特性の改善

バルキング汚泥は一般的に単糖類の取り込みが早く、その様な基質ではバルキングが起こり易い。Type 021Nが優勢となったバルキング汚泥ではアンモニアの取り込みが早く、これが初期のC/N比を大きくし、バルキングの回復を遅らせてしまう原因の一つとなっているのではないかと考えた。そこで、槽内の有機物除去速度を上げ、汚泥の飢餓時間を長くすることにより、糸状性微生物の増殖を抑制できるのではないかと考え、固定化微生物を添加し、槽内の微生物濃度を一時的に増加させることを考案した。

バルキング汚泥による人工下水の回分処理に対して、固定化活性汚泥を添加した場合と無添加の場合での処理特性の違いを検討した。グルコース濃度のみを表1の2倍とした人工下水に対して、100ml/ℓの固定化活性汚泥を添加し、各種成分の経時変化を測定した(図-2)。ゲル無添加の場合に比べて、固定化活性汚泥を添加した場合はTOCの除去速度は非常に向上した。固定化増殖微生物の場合、ゲル内の微生物濃度は基質のゲル内への拡散速度により変化し、定常状態においてのみ一定となり、連続使用により固定化時と異なる汚泥濃度となる。本研究で用いたPVAおよび光硬化性樹脂の場合、ゲルが容易に溶解せずゲル内の微生物量の推定はきわめて難しい。しかしながら、 κ -カラギーナンに微生物を固定化し廃水処理した場合¹⁹⁾

図-2 固定化微生物添加の効果

には定常状態において数十g/ℓ-gelの微生物濃度に達した。PVAや光硬化性樹脂においても同程度であるとすると100ml/ℓのゲル濃度ではゲル内の微生物の総量は液中(ゲル外)の汚泥量(2000-3000mg/ℓ)に匹敵するものと思われる。また、基質除去速度も遊離の場合の約50%ほど持っていると考えられるので、固定化微生物の添加により各成分の濃度変化がかなり大きくなったものと思われる。T-Nの除去速度も向上しており、T-Nがかなり低濃度になったためC/N比に変動がみられたが、C/N比は無添加の場合に比べ全体的に低い値を取るようになった。

また家庭雑廃水のように昼夜で流量変動を伴う場合にも固定化微生物添加法により添加量を制御することにより流量変動や負荷変動に容易に対応できるものと思われる。

3. 3 固定化微生物によるバルキングの抑制

3-2の結果から明らかなように固定化活性汚泥を添加することにより、バルキングの制御が可能であると期待される。

そこで、C/N比の高い人工下水で馴養し予めバルキングを起こさせた汚泥を用いてグルコース濃度のみを表1の2倍とした人工下水をFill and draw方式で回分処理し、汚泥のSVIの経日変化を測定し、固定化活性汚泥添加の効果を検討した。図-3から明らかなように固定化活性汚泥を添加しない場合にも汚泥は新しい組成の人工下水に適応し、SVIは徐々に低下した。24時間の回分処理の間の槽内の有機物は図-2から分かるように12時間でほぼ分解されてしまい、汚泥は残り12時間もの間飢餓状態にさらされるため糸状性微生物の増殖が抑制されたと思われる。それに対して固定化活性汚泥を添加した場合にはSVIは4日でほぼ通常の活性汚泥の値に戻っており、固定化活性汚泥の添加はバルキングの抑制に有効であると考えてよい。

図-3 固定化微生物の添加によるバルキングの抑制

次に重金属の流入によって発生したバルキングが固定化微生物の添加により抑制されるかをみるため、硫酸銅を添加してバルキングを起こさせた汚泥にゲルの添加量を変えて実験した。図-4は硫酸銅により発生したバルキング汚泥を用いて図-3と同じ実験（硫酸銅は除いた人工下水を用いる。）をゲル添加量を変えて行い、バルキング汚泥のSVIの経日変化を見たものである。明らかにこのような汚泥に対しても固定化微生物の添加は効果があるように思われる。槽内のゲル量が40ml/ℓでは余り効果がなく無添加の場合とほとんど同じであった。また、200ml/ℓの添加量では添加初期にSVIが大きくなってしまった。この原因はよく分からないが、おそらくこの添加量では槽内の酸素濃度が低くなり過ぎ糸状性微生物が増殖し易くなったものと考えられる。この実験の場合にはゲル添加量は100ml/ℓで十分であったが、処理水質や操作条件により個々に検討する必要があるものと思われる。

Shimizuら、Nozawaらのバルキングの抑制の原理はフロック形成菌の添加による沈降特性の改善であり、フロック形成菌を別途培養しておく必要がある。（純粋培養となる場合もある。）また、稲森らの方法も培養が困難といわれている原生動物を常に培養しておく必要がある。また、嫌気・好気を繰り返すことによりバルキングが抑制されることは多数報告されているが、この方法ではフェノールのような難分解性物質の流入により発生したバルキングに対しては有効な方法ではない。

これに対して固定化微生物添加の種類・添加法を変えることによりどのような廃水にも適用できると思われる。

3. 4 固定化微生物の保存性

バルキングが発生したときにすぐに対処できるようにするためには固定化微生物を保存しておく必要がある。そこで、固定化微生物の保存性に対する種々の因

図-4 固定化微生物添加量の影響

子の影響を検討した。保存性は遊離もしくは固定化微生物の呼吸活性を測定し、初期活性との相対値により表した。図-5はPVA（ホウ酸処理）を用いた固定化活性汚泥と遊離の汚泥の保存性を温度を変えて比較したものであり、保存溶液としては水道水を用いた。この図から明らかに固定化によって保存性は向上しており、従来からいわれているように微生物の固定化は活性の安定化に有効であることが確認できた。以下に固定化微生物の保存性に対する温度、保存溶液、固定化担体の影響について検討し、最適保存条件を決定した。

(1) 保存性に対する温度の影響の検討

固定化微生物の保存は出来るだけ常温に近くしかも活性低下が余り起こらない温度が望ましい。

本研究では固定化微生物の保存性に対する温度の影響を光硬化性樹脂ENTG-3800および2種類の硬化処理を施したPVAに固定化した活性汚泥の呼吸活性を指標にして検討した。

図-6から分かるように保存溶液として水道水を用いて30℃で保存した場合、約2週間で初期活性の50%に低下したが、10℃以下での保存では約6カ月の保存でも70%の活性を維持していた。従って、保存は10℃以下が望ましいと思われる。しかしながら、冷却のエネルギーを考慮にいと常温に近い温度での保存が望まれる。常温で保存し、活性の低下に応じて間欠的に人工下水のような培地にて固定化微生物の活性化をすることも一つの方法であろう。

本研究で用いた方法は微生物に多少の活性低下または死滅を引き起こすので、遊離の微生物の呼吸活性との比較することは妥当であるとは言えない。しかしながら、κ-カラギーナンに固定化した場合には微生物重量当りの活性は遊離の場合の約50%程になった。従って、本研究で用いたゲルの場合にもこのようなゲル内拡散の影響を受けるものと思われる。

図-5 固定化菌体と遊離菌体の保存性の比較

図-6 保存性に対する温度の影響

(2) 保存溶液の検討

ゲルを浸漬して保存するための保存溶液の検討を行った。保存溶液としては表1に示した人工下水、生理食塩水、水道水を用い3℃で保存性を比較した。図-7はホウ酸処理したPVAに固定化した活性汚泥の保存性に対する保存溶液の影響を示している。人工下水に保存したゲルの活性は上昇したが、このときゲルの回りに糸状性の微生物の増殖がみられた。バルキングの抑制実験に於てゲルを更に長期間混合槽中に入れておいたところ、ゲルの回りに糸状性微生物の増殖がみられ、また汚泥のSVIも徐々に増加してきた。このようにゲルの回りの糸状微生物はバルキングを誘発する原因になると考えられるので、人工下水中での保存は避けるべきであろう。また、生理食塩水と水道水中での保存性には大きな差異は認められなかった。従って、簡便さから考えて水道水中での保存で十分であると思われる。

(3) 固定化担体による保存性の違い

図-8は水道水中で3℃で保存した場合の結果である。ホウ酸処理したPVAが良好な保存性を示したが、他の2種類のゲルには大きな差はなく、共に初期の60-70%の活性を保った。また、凍結融解処理したPVA

図-7 保存溶液による保存性の違い

図-8 固定化担体の保存性に対する影響

に関してはこれまで長期間使用した報告がなかったが、本研究によって長期間の使用が可能な固定化担体であることが明らかになった。

4. 結言

回分式活性汚泥プロセスで発生したバルキングの固定化微生物添加法による抑制について研究した。更に固定化微生物の保存性についても検討し、以下のような結論が得られた。

- 1) 固定化微生物の添加により槽内の有機物濃度が素早く低下し、これによってバルキングが抑制された。
- 2) 固定化活性汚泥は水道水中で10℃以下で保存することが望ましい。

謝 辞

本研究で使用した試料を賜ったクラレ株式会社に感謝の意を表す。また、光硬化性樹脂ならびに紫外線照射装置を貸与下さった関西ペイント株式会社に感謝の意を表す。

参 考 文 献

- 1) 設楽惣助, 渡辺昭, 鈴木達彦: “固定化微生物による廃水処理の基礎的研究(1)-脱窒菌の固定化の試み”, 下水道協会誌, 20, 31-36 (1983)。
- 2) 設楽惣助, 渡辺昭, 鈴木達彦: “固定化微生物による廃水処理の基礎的研究(2)-脱窒菌の固定化の試み”, 下水道協会誌, 21, 35-45 (1984)。
- 3) 橋本奨, 古川憲治, 濱宏: “活性汚泥の固定化とその浄化機能に関する研究”, 下水道協会誌, 22, 42-50 (1985)。
- 4) 橋本奨, 古川憲治, 濱宏: “活性汚泥の固定化とその浄化機能に関する研究-PVA-冷凍法について”, 下水道協会誌, 23, 16-22 (1986)。
- 5) 橋本奨, 古川憲治, 濱宏: “活性汚泥の固定化とその浄化機能に関する研究-PVA-ホウ酸法について”, 下水道協会誌, 23, 41-48 (1986)。
- 6) 飯島信司, 三浦洋, 山内一寿, 田谷正仁, 小林猛: 発酵工学会大会講演要旨集, P. 197 (1986)。

- 7) Shimizu, N and Y. Odawara : "Floc-Forming Bacteria Isolated from Activated Sludge in High-BOD Loading Treatment", J. Ferment. Technol., **63**, 67-71 (1985).
- 8) Nozawa, I., N. Takizawa and H. Kiyohara : "Restoration of the Ability to Settle Bulking Sludge by Bacterial Seeding in Wastewater Treatment", J. Ferment. Technol., **65**, 333-340 (1987).
- 9) 稲森悠平, 国安祐子, 須藤隆一 : "原生動物纖毛虫類によるバルキングの制御", 下水道協会誌, **23**, 74-86 (1987).
- 10) Ariga, O., H. Takagi, H. Nishizawa and Y. Sano : "Immobilization of microorganism with P V A hardened by iterative freezing-thawing", J. Ferment. Technol., **65**, 651 (1987).
- 11) 有賀修, 河原由実子, 久保武隼, 佐納良樹 : "有機炭素量の簡便な測定法", 環境技術, **16**, 28 (1987).
- 12) Hasegawa, S., K. Fukui, Y. Maeda and M. Nakajima : "Response of Activated Sludge Process in Step-wise Shortening of Biological Solids Retention Time" J. Ferment. Technol., **63**, 357-362 (1985).
- 13) 有賀修, 横山亮, 佐納良樹 : 化学工学協会第19回秋季大会講演要旨集, P. 83 (1985).
- 14) Richard, M. G., Shimizu, G. P. and Jenkins, D. : "The growth physiology of the filamentous organism Type 021 N and its significance to activated sludge bulking", J. WPCF, **52**, 1.

海外環境情報

**欧州共同体の各国大臣,
セシウム新許容量決定のために参集**
Ministers rush to agree new caesium limits
H2101641

欧州共同体の各国外務大臣は今週ブリュッセルに集まり、食物に含有される放射性物質の最大許容量を決定する予定である。これはソ連のChernobyl事故後の欧州産食品の輸出行き詰まりを打開するための意図もある。事故直後、EEC科学者はセシウム-137について食物1kg当たり5,000ベクレル(Bq)の上限値を、西独およびデンマーク委員会はその1/4の値を提案した。現在、これらの国では600Bqが採用されている

が、緑の党ではこの値でさえも高過ぎると主張している。

英国代表者は5,000Bqでも科学的には許容されるものであり、問題は人々が実際に摂取する食物がどの程度汚染しているか、年間5mシーベルト(Sv)の被ばく量を越えないためにはいかに汚染物摂取を制限するかであると述べている。

ブリュッセルではChernobyl起源の汚染法定許容量を600Bq、今後の事故での実質上の許容値を5,000Bqとすることで決まりそうであるが、これが食糧生産者に混乱をきたすとする批判もある。

H420A New Sci **116** [1584] 29 (Oct. 29, '87)

**Battelle社、下水スラッジを燃料油に転化する
最初のパイロットプラントを計画**
The first pilot plant to convert sewage
sludge to fuel oil
H2101575

Battelle社のPacific Northwest研究所(米、ワシントン州Richland)に標記のプラントが建設される。これはAmerican Fuel and Power社の資金によるもので、85万ドルをかけて1988年夏に完成の予定である。このシステムは、販売可能な燃料とともに処理に必要なエネルギーも生成するので、従来のスラッジ焼却法に比べ設備費、運転費ともほぼ半額で済む。また、廃棄物量は約20%に減る。

このシステムでは、固形分20%以上のスラッジに5

%の炭酸カルシウムを混合し、300℃で1.5~3.0h加熱する。セルロース、ヘミセルロースは低分子量のアルデヒド、ケトンに分解され、再結合して発熱量17,000 Btu/lbの燃料油を生成する。リグニンも分解される。有機物などを含む液は循環使用し、炭下した残存固形物はこの処理の燃料に用いる。油はそのままでも売れるし、ボイラー用に改質もできる。

処理費は油の売却収入を差引いて、乾燥スラッジ1t当たり43ドルである。供給乾燥スラッジ100lb/h当たり14lb/hの油と17lb/hの炭化残存固形物が得られる。100万人分の一次下水スラッジを処理する施設の設備費は、600万ドルとみられる。

B251 A Chem Eng (New York) **94** [15] 18 (Oct. 26, '87)

(日本科学技術情報センター 許可第文-6225号)