

# 2011 年度 修士論文

微量元素の不足によるリン除去悪化の検討と  
不足元素の特定

The study on deterioration of enhanced biological phosphorus  
removal without trace element and specification of short trace  
element.

佐藤 祐樹  
Yuki, Sato

東京大学大学院新領域創成科学研究科  
社会文化環境学専攻

# 目次

<b>第1章</b>	<b>はじめに</b>	<b>1</b>
1.1	研究の背景	1
1.2	研究の目的	2
1.3	論文の構成	3
<b>第2章</b>	<b>既存の研究</b>	<b>4</b>
2.1	活性汚泥法	4
2.1.1	活性汚泥法の歴史	4
2.1.2	生物処理の分類	4
2.1.3	活性汚泥法の原理	5
2.2	生物学的リン除去プロセス	7
2.2.1	生物学的リン除去プロセスの原理	7
2.2.2	生物学的リン除を用いた処理方式	8
2.2.3	生物学的リン除去の不安定性	12
2.2.4	生物学的リン除去プロセスに存在する微生物	13
2.2.5	ポリリン酸蓄積細菌の系統分類	14
2.3	リン除去悪化因子	18
2.4	微量元素について	20
<b>第3章</b>	<b>各章で用いた水質分析方法</b>	<b>23</b>
3.1	リアクターの運転	23
3.2	モニタリング・サンプリング	26
3.2.1	MLSS	26
3.2.2	溶存態リン	27
3.2.3	DOC	27
3.2.4	pH	27
3.2.5	SVI	28
<b>第4章</b>	<b>微量元素の不足によるリン除去悪化の検討</b>	<b>29</b>
4.1	第4章の概要	29
4.2	実験結果	29
4.2.1	Run1の実験概要	29
4.2.2	Run2の実験概要	32
4.2.3	Run3の実験概要	34
4.3	第4章の考察	37
<b>第5章</b>	<b>微量元素の再添加によるリン除去改善の検討</b>	<b>38</b>
5.1	第5章の概要	38
5.2	実験結果	38
5.2.1	Run4の実験概要	38
5.3	第5章の考察	41
<b>第6章</b>	<b>生物学的リン除去プロセスにおける不足元素の特定</b>	<b>42</b>
6.1	第6章の概要	42
6.2	実験方法	42

6.2.1	Run5の実験概要	42
6.2.2	Run6の実験概要	45
6.2.3	Run7の実験概要	47
6.2.4	Run8の実験概要	49
6.2.5	Run9の実験概要	51
6.2.6	Run10の実験概要	53
6.3	第6章の考察	55

---

## 第7章 総括 56

- 7.1 まとめ
- 7.2 今後の展望

謝辞  
参考文献

# 第 1 章 序論

---

## 1.1 研究の背景

湖沼、内湾、内海等の閉鎖性水域における富栄養化は、長年にわたり世界各国で問題となっている。日本でも、富栄養(湖)化という言葉は、環境白書の前身である昭和 44 年版公害白書の時代から平成 23 年度版環境白書まで欠かさず使われてきており、30 年以上もの長い間、問題とされてきた。富栄養化とは、閉鎖性水域が流域からの栄養塩類の負荷によって、水中の栄養塩濃度を増加させる現象のことである。その原因が、排水の流入など人為的な場合、人為的富栄養化と呼ぶ。水域の富栄養化は、アオコ、赤潮等を大量発生させ、水道水の異臭、当該水域の生態系の破壊、漁獲高の減少、透明度の低下等の問題を引き起こす。

富栄養化を引き起こす主な栄養塩として、窒素及びリンが挙げられるが、この中でもリンによる影響が大きいと考えられている。窒素は、大気中からの固定が可能であるが、リンは我々の家庭や農業等の人間活動により供給されることが多く、その点で制限因子となっているからである。そのため、人間活動によって排出されるリンを、公共水域に放流される前に排水から除去する必要がある。

現在、排水からリンを除去するため、微生物を利用した生物学的リン除去プロセスが、多くの下水処理施設で採用されている。閉鎖性水域の東京湾を抱える東京都では、21 箇所ある水再生センターのうち、標準活性汚泥法との併用も含めて 17 箇所で生物学的リン除去プロセスが既に導入されている。しかし、生物学的リン除去プロセスは、流入水の負荷変動等による不安定なリン除去性能が問題となっている。リン除去が不安定になる原因を解明するため、リン除去を担っている主要な細菌であるポリリン酸蓄積細菌に関する知見を得る必要がある。これまでの研究により、炭素源や温度、pH 等の運転・環境因子と、ポリリン酸蓄積細菌の増殖やリン除去の関係が、一部明らかになったが、これらの関係を明らかにできても、リン除去が不安定になる原因を解明しきれていない(Fukushima et al, 2007)。生物学的リン除去プロセスの不安定な処理性能の原因を解明するため、リン除去に関わる制限因子について、さらなる検討が必要である。

そこで、筆者は生物学的リン除去プロセスの制限因子の中でも、微量元素に着目した。微量元素は、生物にとってごく少量しか必要とされていないが、細胞機能にとって重要な元素である。だが、微量元素の必要量と微生物の関係は、十分に解明されておらず、それは活性汚泥中の微生物、とりわけポリリン酸蓄積細菌においても例外ではない。

## 1.2 本研究の目的

そこで本研究では、生物にとって必要であると考えられている微量元素が、生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響を明らかにすることが目的である。本研究は、以下の3つに大きく分けられる。

- 1つ目は、微量元素の添加を停止することにより、リン除去機能悪化の検討を行った。
- 2つ目は、微量元素を再添加することにより、リン除去機能改善の検討を行った。
- 3つ目は、生物学的リン除去プロセスの不足元素を特定した。

これらの研究を行うことで、微量元素が生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響を明らかにすることを試みた。

### 1.3 論文の構成

本論文の各章の概略を以下に示す。第 1 章で研究の背景と目的、論文の構成、第 2 章で既存の研究、第 3 章で実験手法を述べ、第 4 章から第 6 章に実験結果及び考察を述べた。そして、第 7 章に本研究で得られた成果及び今後の展望を述べた。

#### 第 1 章 序論

本研究の背景と目的、及び論文の構成を述べた。

#### 第 2 章 既存の研究

本研究に関わる現在までに行われてきた研究について知見の整理をした。

#### 第 3 章 実験方法

本研究で行った実験方法についてまとめた。

#### 第 4 章 微量元素の添加停止によるリン除去機能悪化の検討

微量元素の添加を約 1 週間停止することで、リン除去悪化が見られるか検討を行った。

#### 第 5 章 微量元素の再添加によるリン除去機能改善の検討

微量元素の添加を 2 日停止した後、微量元素を再添加することで、リン除去の改善が見られるか検討を行った。

#### 第 6 章 生物学的リン除去プロセスの不足元素の特定

微量元素の一部の添加を停止することで、生物学的リン除去プロセスの不足元素を特定した。

#### 第 7 章 総括

本研究の成果についてまとめ、今後の研究の展望を示した。

## 第2章 既存の研究

### 2.1 活性汚泥法

#### 2.1.1 活性汚泥法の歴史

微生物を利用して下水を処理する活性汚泥法は、19世紀後半ごろから欧州で始まった。19世紀初頭から中ごろにかけて、産業革命が起こっていたロンドンでは、テムズ川の汚染が問題となっていた。そこで水源取水口の変更や、下水道網の整備・延長、また沈殿池及びろ床からなる下水処理施設を建設し、下水を処理することで河川の水質を改善することができた。

活性汚泥法は、元々微生物に下水を処理させるためでなく、下水の悪臭対策として下水を曝気するために始まった。下水の放つ悪臭は、嫌気的な環境から発生するため、空気を送り込んで好気的な環境にすることで、悪臭が改善される。その過程で、反応槽の中で生じる浮遊物質が、下水を浄化する効果があると分かり、1914年のイギリス化学会で活性汚泥法の誕生宣言が行われた。日本においても、1922年に東京都三河島処理場で散水ろ床法が、1924年に名古屋市堀留下水処理場で活性汚泥法が、それぞれ運転を開始した。こうして下水の生物処理は、20世紀以降日本全国に普及し、その後、標準活性汚泥法を改良した方法が考案・実用化されてきた。

#### 2.1.2 生物処理の分類

下水処理とは、人間の生活、事業活動などによって生じた下水を下水官渠で収集し、河川や海域などへの放流に適した水質にまで浄化することである。下水処理には、物理学的処理、化学的処理、生物学的処理があり、通常これらの処理を組み合わせ、下水処理が行われる。ここでは、その中でも生物処理について述べる。生物処理の分類を図2.1に表す。

生物処理とは、主として微生物の代謝を利用することで、下水中の汚濁物質などを分解する処理方法のことである。微生物は、その代謝様相によって好気性と嫌気性に分類されるため、生物処理も好気性処理と嫌気性処理とに分類される。また、微生物が浮遊させた状態で処理を行うのか、支持体の表面や内部に付着させた状態で処理を行うかによっても分類されるが、前者を浮遊型生物処理法、後者を生物膜法という。

好気性の浮遊型生物処理法は、活性汚泥法を中心として、オキシデーションディッチ法(OD法)やラグーンなどがある。また好気性の生物膜法は、散水ろ床法や回転円盤法など多くの方法が存在する。好気性処理の中でも活性汚泥法については、生物学的リン除去プロセスを始めとして様々な変法があるため、その原理を含めて2.1.3以降で詳しく説明する。

嫌気性の浮遊型生物処理法は、主に嫌気性消化として利用されている。また嫌気性の生物膜法としては、嫌気性ろ材や上向流式嫌気流動床(UASB法)がある。

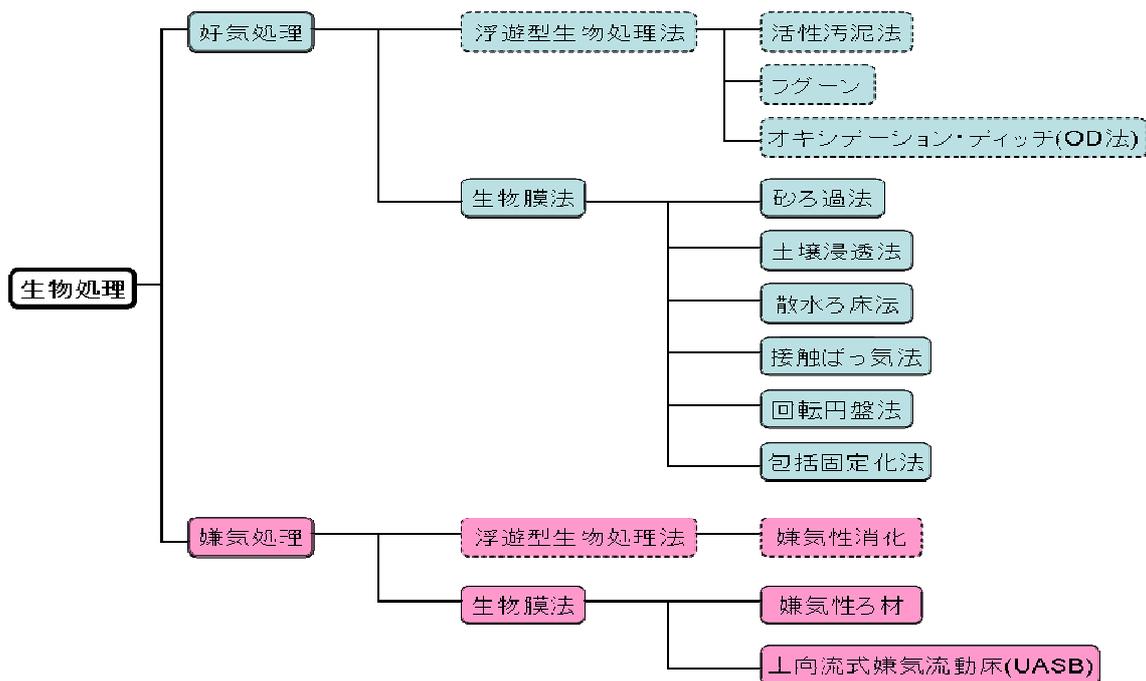


図 2.1 生物処理の分類

### 2.1.3 活性汚泥法の原理

活性汚泥法は、活性汚泥を用いた下水の生物処理方法のことである。生物処理の中で最も代表的な好気性の浮遊型生物処理法である。活性汚泥とは、高濃度の細菌、原生動物、および小型の後生動物から構成される微生物の集合体であり、反応槽内に凝集性のあるフロックを形成して存在している。活性汚泥は、有機物の吸着能や酸化能に優れ、また沈降性も極めて高いため、下水中の汚染物質の除去に用いられている。

活性汚泥法の一般的な処理フローを図 2.2 に表わす。流入下水は、沈砂池で大きな砂などが除去された後、最初沈殿池へ流入し、沈砂池で除去できなかった細かい浮遊物質と有機物の一部が除去される。最初沈殿池からの流出水は、返送汚泥と混合され反応槽へ送り込まれる。反応槽では、エアレーションと呼ばれる空気の吹き込みにより活性汚泥に必要な酸素が供給されており、槽内の水流により活性汚泥は浮遊状態を保っている。そこで下水中の有機物や栄養塩は、活性汚泥に吸着された後、酸化・分解され、一部は活性汚泥に転換される。反応槽から流出した活性汚泥混合液は、最終沈殿池で静置されて活性汚泥と上澄みに沈殿分離され、上澄みは清澄な処理水として河川へ放流される。また上澄みは、必要に応じて高度処理が施される。最終沈殿池で沈殿した汚泥の一部は、返送汚泥として反応槽へ戻され、下水と混合して再び下水処理に用いられる。そうすることで、反応槽内の微生物濃度は一定に保たれる。一方、返送されなかった残りの汚泥は、余剰汚泥として汚泥処理で処理・処分される。運転操作条件の違いにより、各種の活性汚泥法が用いられており、目的に応じて、下水中の有機物除去の他、生物学的硝化脱窒及び生物学的リン除去に用いられる。2.2 では、その中でも生物学的リン除去について説明する。

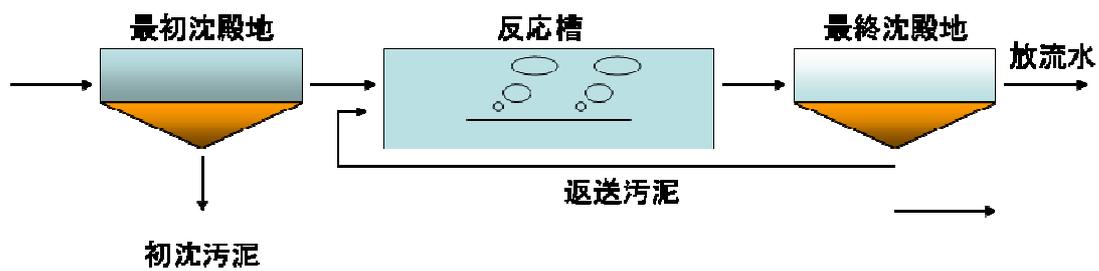


図 2.2 活性汚泥法の基本処理フロー

## 2.2 生物学的リン除去プロセス

### 2.2.1 生物学的リン除去プロセスの原理

生物学的リン除去プロセス(Enhanced Biological Phosphorus Removal :EBPR)は、曝気槽の前段に嫌気槽を設けることで、下水を一度嫌気性処理した後、好気性処理を行い、汚泥中の微生物にリンを高濃度に蓄積させることで、下水中からリンを取り除く技術である。1970年代、曝気槽の前段に嫌気槽を設けることで高濃度のリン含有汚泥を得られることが分かり、生物学的にリンと有機物を同時に除去できるプロセスが提案された (Barnard et al., 1975)。生物学的リン除去プロセスのフローを図 2.3 に表す。

嫌気状態と好気状態が繰り返される環境は、ポリリン酸蓄積細菌(PAOs ; Polyphosphate Accumulating Organisms)と呼ばれる細菌が優占化しやすい環境であるため、この細菌が増殖してリンの代謝を行うことで、下水中のリンが除去される。ポリリン酸蓄積細菌は、嫌気条件下でポリリン酸を加水分解して得たエネルギーで有機物を摂取して PHA(Poly Hydroxy Alkanoates: ポリヒドロキシ脂肪酸)を蓄積し、好気条件下で PHA を酸化分解して増殖、ポリリン酸合成を行うポリリン酸蓄積微生物と考えられている(Onuki et al., 2005)。ポリリン酸蓄積細菌は、嫌気条件下で体内のポリリン酸を加水分解してエネルギーを生産し、そのエネルギーを利用して有機物を摂取する。この有機物は、主に酢酸及びプロピオン酸であるとされている (Fukushima et al, 2007) 。摂取された有機物は、細胞内に蓄積されているグリコーゲンを分解することで得られる還元力を用いて PHA へと合成・蓄積される。そのため、嫌気槽では混合液中のリン酸濃度は上昇し、有機物濃度は減少する。一方、好気条件下では、ポリリン酸蓄積細菌は蓄積した有機物を酸化分解することにより ATP を生産し、そのエネルギーでポリリン酸の再合成、菌体の増殖、グリコーゲンの回復を行う。その際、嫌気条件下で放出した以上の量のリン酸を摂取するため、混合液中からリン酸が除去される。そして、リン酸を高濃度に蓄積したポリリン酸蓄積細菌を系内から取り除くことで、混合液中のリン除去が可能となる。

標準活性汚泥法では、汚泥中に 2%程度のリンが、微生物のリン脂質や核酸などとして含まれるため、それに相当する量のリンが余剰汚泥として下水から除去される。このため、標準活性汚泥法でもリンの除去は可能である。しかし、汚泥中にポリリン酸蓄積細菌を集積させることができれば、ポリリン酸が蓄積される分だけ汚泥のリン含有率は高くなる。生物学的リン除去プロセスでは、汚泥のリン含有率を 5%程度まで上げることができる。

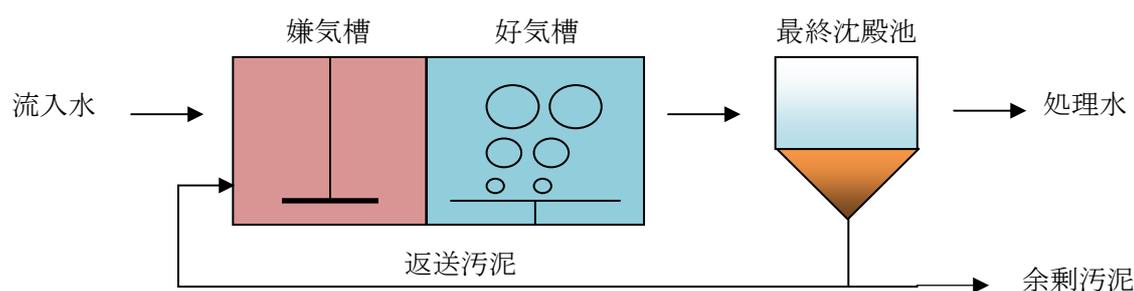


図 2.3 嫌気好気法(AO 法)のフロー

### 2.2.2 生物学的リン除を用いた処理方式

生物学的リン除を行うための必要条件是、嫌気状態の反応槽と好気状態の反応槽をこの順序で持っていることである。近年、無酸素槽と組み合わせて、窒素・リンの同時除去を可能にした処理方式も提案されている。ここでは、生物学的リン除去の主な処理方式について記述する。

### (1) 嫌気好気法 (AO 法)

生物学的リン除去プロセスの最も基本的な形で、曝気槽の前段に嫌気槽を設けたプロセスである。返送汚泥は、最終沈殿池から嫌気槽に送られ、嫌気・好気のサイクルが厳密に繰り返されるため、生物学的リン除が効率的に行われる。

### (2) 擬似嫌気好気法 (Pseudo-AO 法)

多くの処理場で採用されている標準活性汚泥法の前段の曝気量を制限することにより、溶存酸素濃度を 0 に近づけて運転し、嫌気好気の状態を作り出す方式である。制限曝気とは、攪拌を行うための曝気で、これにより機械攪拌装置を必要とする嫌気槽の設置工事を行うことなく、従来の標準活性汚泥法の装置のままで嫌気好気法を運転することができる。また、制限曝気を行っていない標準活性汚泥法の処理場でも、流入 BOD 負荷が非常に高いと、前段の溶存酸素が消費され、意図せず擬似嫌気好気状態となっていることもある。一方、制限曝気はリン除去を意図せずに、バルキングの原因となる一部の糸状性細菌の抑制や、返送汚泥に含まれる硝酸性窒素の制限曝気槽での脱窒を目的として採用される場合もある。

### (3) 嫌気無酸素好気法 (A2O 法)

嫌気好気法と循環式硝化脱窒法を組み合わせた処理方式である。反応槽を嫌気槽、無酸素槽、好気槽の順に配置し、流入水と返送汚泥を嫌気槽に流入させる一方、好気槽混合液を無酸素槽に循環させる。流入下水は、嫌気槽でポリリン酸蓄積細菌が一部の有機物を PHA の形で取り込む。次の無酸素槽で、硝化液が循環され、有機物除去と脱窒が行われる。最後の好気槽で、リンのポリリン酸蓄積細菌による摂取、アンモニア性窒素の硝化、残った有機物の除去が行われる。これにより、有機物、リン、窒素の同時除去を可能となる。

### (4) ケープタウン大学法 (UCT 法)

A2O 法とほぼ同じ構成であるが、汚泥の返送方法が異なっている。A2O 法では最終沈殿池からの返送汚泥は、嫌気槽へと送られるが、UCT 法では最終沈殿池からの返送汚泥は無酸素槽に戻し、無酸素槽の末端で脱窒を終えた汚泥を嫌気槽へと循環させる。返送汚泥は、硝酸性窒素を含んでいるため、そのまま嫌気槽へと返送すると、嫌気槽が無酸素状態になる恐れがある。そのため、返送汚泥を一度無酸素槽に送り、脱窒をした後に一部の汚泥を嫌気槽に返送する。A2O 法と比べて嫌気槽に流入する硝酸性窒素の量を減らすことができるため、脱窒細菌の有機物摂取を防ぐことができる。その結果、ポリリン酸蓄積細菌が優先的に有機物を摂取することが可能となり、リン除去能力が高まる。しかし、内部循環量が増加するため、より費用のかかるシステムとなっている。そのため、海外では盛んに研究が行われているものの、日本の処理場での採用例はまだない。

### (5) ステップ A2O 法

ステップ A2O 法は、窒素・リン除去を目的とした高度処理法の一つで、特に窒素を効率よく除去できる方法である。ステップ A2O 法のフローは、図 2.4 に示すように嫌気・無酸素・好気・無酸素・好気と 5 つのゾーンから成り立っている。A2O 法との違いは、後段に無酸素槽と好気槽が追加されている点である。流入水を複数に分けて後段の無酸素槽に流入させることにより、前段好気槽で硝化した窒素を次の無酸素槽で循環ポンプなしで脱窒することができ、通常の A2O 法に比べて硝化液循環ポンプの動力を大幅に削減させることができる。しかし、そのためには第一好気槽で完全硝化し、第二無酸素槽で確実に脱窒させることが重要となる。また通常の A2O 法と比べて、後段に無酸素槽と好気槽が追加された分、必要面積が増える。この処理方式は、窒素流入負荷が高く、処理水の窒素濃度も高い処理施設で導入する場合、高い効果が期待できる。

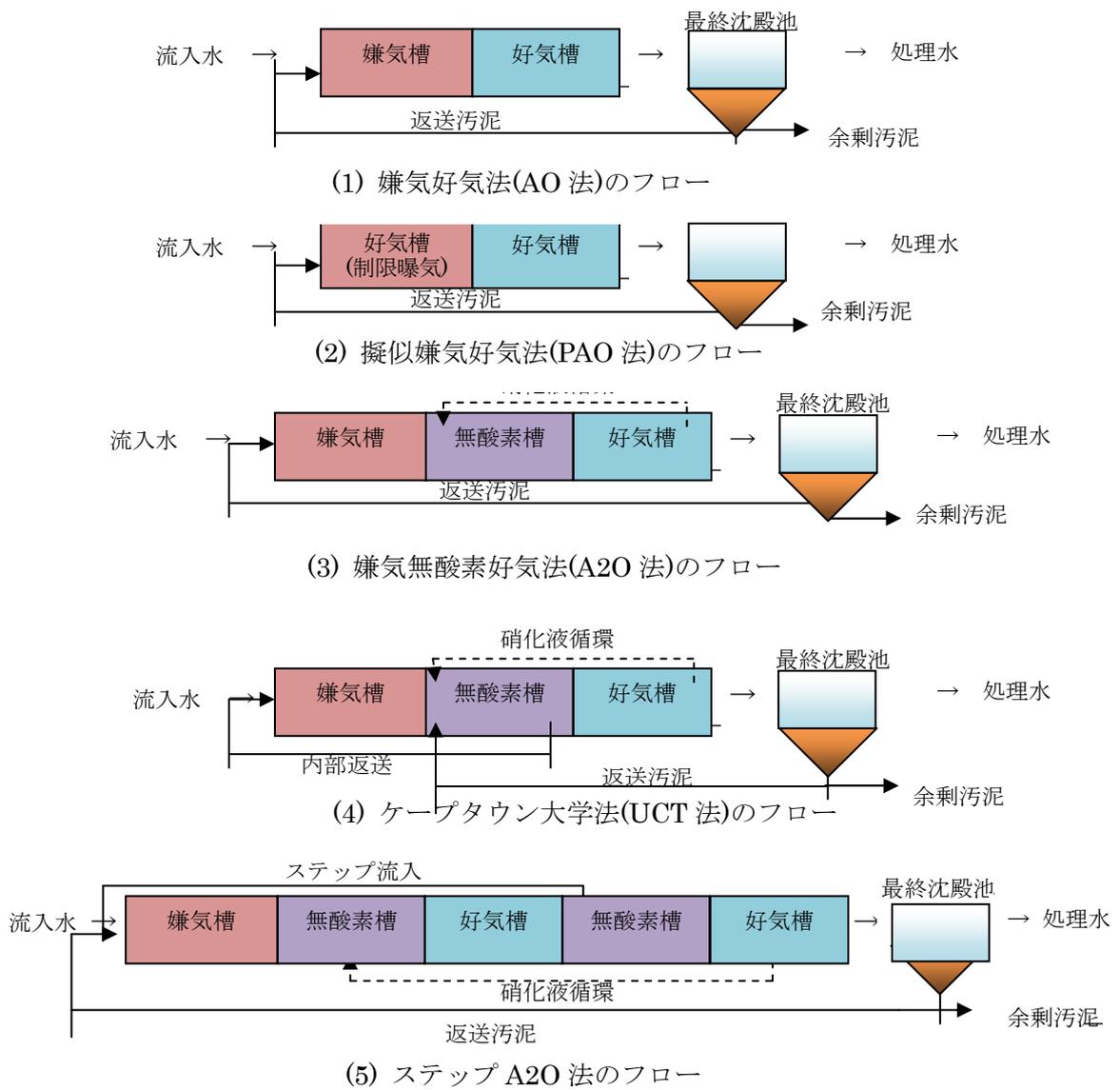


図 2.4 様々な生物学的リン除去プロセス

### 2.2.3 生物学的リン除去の不安定性

生物学的リン除去プロセスは、既に実処理場でも採用されており、費用対効果に優れている処理技術である。しかし、実用化されてはいるものの、まだ様々な問題点が指摘されている。その問題点の1つとして、リン除去プロセスの不安定性である。リン除去能の低下、あるいは除去が全く行われなくなるという事例も報告されており、その安定性と信頼性に課題を残している。実処理場においてリン除去が悪化した場合、嫌気槽でのリンの放出量が少なくなるとともに、好気槽でのリンの過剰摂取も見られなくなる。そして、それに伴い処理水のリン濃度が上昇する。

生物学的リン除去プロセスのリン除去能低下の原因として、降雨による流入水量の増加、硝酸塩の流入増加、カリウムやマグネシウムの不足等の流入水の負荷変動により引き起こされるという報告がある。なお、生物学的リン除去における運転・環境因子については、2.3で詳しく説明する。また、嫌気条件下で有機物を摂取する細菌が、ポリリン酸蓄積細菌と競合することも、リン除去能の低下の一因とされている。この細菌は、グリコーゲン蓄積し、ポリリン酸蓄積細菌と競合する細菌であるので、ポリリン酸蓄積細菌と対比させてグリコーゲン蓄積細菌(GAOs; glycogen accumulating organisms)と呼ばれている(Mino, 1995)。グリコーゲン蓄積細菌とポリリン酸蓄積細菌の代謝の相違を図2.5に表す。グリコーゲン蓄積細菌は、嫌気条件下でグリコーゲンを分解して有機物を摂取し、好気条件下で蓄積した有機物(PHA)を好気呼吸によって分解して増殖し、グリコーゲンの再蓄積を行う微生物である(Onuki et al., 2005)。グリコーゲン蓄積細菌は、嫌気条件下でポリリン酸蓄積細菌がポリリン酸をエネルギー源として代謝を行うのに対して、内部に蓄積したグリコーゲンをエネルギー源として利用するという点で異なっており、リン除去の役割を果たさない。嫌気条件下でグリコーゲンを加水分解して得られたエネルギーを利用して、有機物摂取及びPHA合成を行い、次の好気条件下で蓄積したPHAを酸化分解して、菌体の合成とグリコーゲンの回復を行う。そのため、ポリリン酸蓄積細菌と競合する。ポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の唯一の明らかな違いは、嫌気での基質を摂取するためのエネルギー源である(Mino, 1998)。生物学的リン除去を安定して行うための条件の一つとして、ポリリン酸蓄積細菌がグリコーゲン蓄積細菌との競合に勝つ必要があるが、pHや温度の変化など何らかの理由でリンの代謝が見られなくなったとき、グリコーゲン蓄積細菌による代謝が見られるようになる。

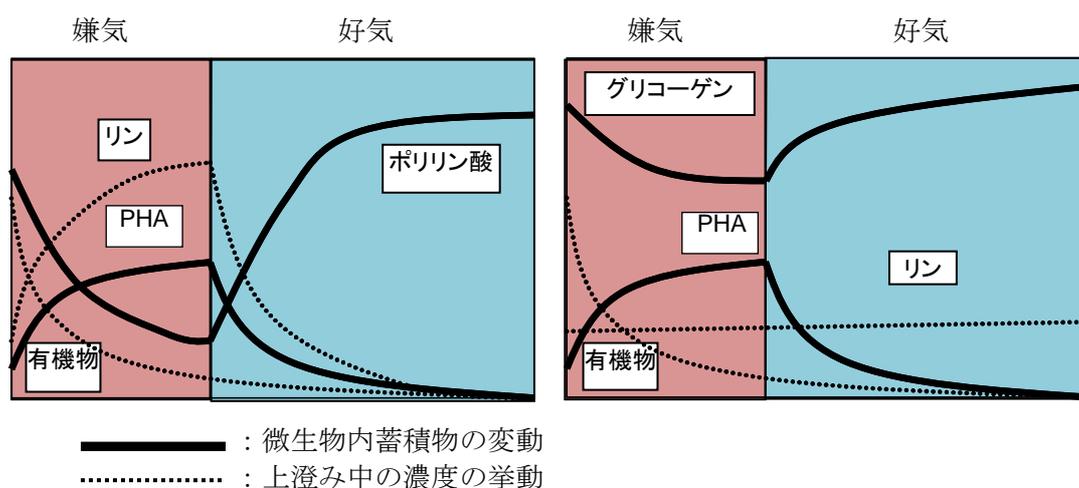


図 2.5 ポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の代謝パターンの比較

### 2.2.4 生物学的リン除去プロセスに存在する微生物

生物学的リン除去プロセスの微生物群集のうち、リン除去に関与するポリリン酸蓄積細

菌や、ポリリン酸蓄積細菌と競合し、リン除去悪化の一因とされているグリコーゲン蓄積細菌のほかに、それらの定義とは少し異なる代謝をする微生物も存在する。また、ポリリン酸蓄積細菌やグリコーゲン蓄積細菌以外では、グルコースを基質とした生物学的リン除去プロセスにおける乳酸生成細菌 (LPO ; Lactic acid Producing organisms) の存在を提唱している (Jeon et al., 2000)。乳酸生成細菌は、通性嫌気性細菌で、嫌気槽においてグリコーゲンを蓄積するためのエネルギーを得るために乳酸を生成し、基質のグルコースをグリコーゲンとして蓄積している。そしてポリリン酸蓄積細菌が嫌気槽において、その乳酸を PHA へ変換するというポリリン酸蓄積細菌と共生する微生物が想定されている。このようなポリリン酸蓄積細菌やグリコーゲン蓄積細菌と共生するような細菌が存在することが考えられるが、この分野の研究はあまり進んでいないのが実態である。他にも、バルキングの要因となる糸状性細菌なども存在していることが分かっている (Erhart et al., 1997, Blackall et al., 2000, Kong et al., 2005)。ここでは、ポリリン酸蓄積細菌について報告されている細菌種をまとめた。

#### 2.2.5 ポリリン酸蓄積細菌の系統分類

生物学的リン除去プロセスでリン除去を担うポリリン酸蓄積細菌を同定する研究は、培養法あるいは分子生物学的手法を用いて盛んに行われている。ポリリン酸蓄積細菌は、単一の種ではなく、複数の主要な種で構成されていると考えられている (Mino et al., 1998)。

##### (1) *Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis'

*Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' は、Proteobacteria  $\beta$  の *Rhodocyclus* 属に近縁なグループで、現在のところ最も主要なポリリン酸蓄積細菌として考えられている。以下、*Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' に関する現在までの研究をまとめる。

リン除去能の高い汚泥と低い汚泥をクローニングした結果、リン除去の高い汚泥から *Rhodocyclus* 属が多く検出された (Bond et al., 1995)。また、酢酸を主とした人工下水を処理する実験室規模生物学的リン除去リアクターにおける活性汚泥から、*Rhodocyclus* 属に近縁なグループを検出した (Hesselmann et al., 1999, Crocetti et al., 2000)。これらの細菌群に特異的なプローブを設計して、FISH 法及びリン染色法を行った結果、これらの細菌群が実際にポリリン酸を蓄積していることが確認された。この結果から、新属 *Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' が提案された (Hesselmann et al., 1999)。その存在割合も、酢酸で馴致した汚泥のリン含有率と非常に相関が高いこと ( $R^2=0.937$ ) が示されており、時には全細菌の 80% 近く存在することが報告された (Crocetti et al., 2000)。また高濃度 DAPI 染色と FISH による二重染色法が開発されたことにより、同一視野によって *Accumulibacter* がリンを蓄積していることも顕微鏡下で直接確認された (Onuki, 2001, Liu, 2001)。*Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' は、単離はされていないものの、分子生物学的手法を用いた同定法によっても、主要なポリリン酸蓄積細菌として認められている (Seviour et al., 2003)。嫌気条件下で *Accumulibacter* が PHA を蓄積していることも確認され (Liu et al., 2001)、MAR-FISH 法により *Accumulibacter* の短鎖脂肪酸の利用特性も明らかにされている (Kong et al., 2004)。この結果は、酢酸やプロピオン酸等の揮発性脂肪酸 (Volatile Fatty Acids: VFA) に加えて、グルタミン酸等のアミノ類を摂取可能にしていることを示している。グルコースについては、直接摂取するのではなく、VFA に発酵された後に摂取すると結論付けられている。*Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' は、*Rhodocyclus* related organism (bacteria) 等、様々な呼び方があるが、本論文では *Accumulibacter* と呼ぶ。

その一方で、*Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' のみで生物学的リン除去を説明できないことも分かっている。確かに様々な国や処理方式における実下水処理場汚泥において、4~22% の *Accumulibacter* が存在することが報告されている (Zillers et al., 2002, Wong et al., 2005, He et al., 2005)。しかし、日本の実下水処理場を対象にして、'Accumulibacter phosphatis' の存在量とリン含有率の関係を評価したところ、相関関係は見られなかったと

いう報告もある(Wong et al. 2005)。また、酢酸の他に様々な炭素源を用いて実験室規模リアクターを運転したところ、全てのリアクターにおいて *Accumulibacter phosphatis* がポリリン酸を蓄積していることが確認された(Fukushima, 2003)。しかし、*Accumulibacter* の存在量がリン含有率と類似した変動を示していたのは、酢酸、アスパラギン酸またはグルコースを用いた場合のみであった。*Accumulibacter* が主要なポリリン酸蓄積細菌であることは、ほぼ明白であるが、*Accumulibacter* のみでリン除去を説明できるわけではなく、その他のポリリン酸蓄積細菌とともに生物学的リン除去を行っていると考えられる。

## (2) Actinobacteria 属

Actinobacteria に属する細菌も *Accumulibacter* と同様にポリリン酸蓄積細菌として提案されている。

この細菌群は、生物学的プロセスから分離され(Fuhs et al. 1975)、その後同プロセスから検出が相次いだ。このため、主要なポリリン酸蓄積細菌として研究が盛んに行われた(Streichan et al., 1990, Beacham et al., 1992)。生物学的リン除去を行っている污泥に Actinobacteria が多く存在していることも分かった(Wagner et al., 1994, Bond et al., 1999)。高濃度 DAPI 染色で染まる細菌の中に Actinobacteria が存在しているとの報告もある(Kawaharazaki et al., 1999)。そして、*Tetrasphaera* に近縁な細長い形をした細菌と *Candidatus Nostocoidia limicola* を特異的に捉える Actino1011 プローブが設計され、これらの細菌がポリリン酸を蓄積していたことも確認された(Liu et al., 2001)。しかし、この細菌群は、PHA を蓄積していなかった。その後、研究で用いられてきた Actino1011 プローブは、形態的に様々な種を捉えるプローブであることが明らかになったため、短桿菌を捉える Actino658 プローブと球菌を捉える Actino221 プローブが設計された(Kong et al., 2005)。これらのプローブを用いて基質特性を研究したところ、Actinobacteria は酢酸などの短鎖脂肪酸やグルコースは摂取せず、カザミノ酸などのアミノ酸を摂取したと報告している。すなわち、アミノ酸などを摂取して PHA 以外の蓄積産物を蓄積し、好気条件下でポリリン酸を蓄積するという *Accumulibacter* とは異なる代謝を行っている。また、実下水処理場におけるこれらの微生物群の定量も行われており、Actino221、Actino658 の両方を合わせて、3%~35%存在し、*Accumulibacter* よりも多く存在した処理場もあったと報告されている(Kong et al., 2005)。また短桿菌の Actinobacteria の方が、球菌より高い割合で存在していたことを報告している。他にも、実下水処理場において Actinobacteria が、*Accumulibacter* とほぼ同等の存在量を示しているとの報告もある(Uda et al., 2005)。

その一方で、Actinobacteria 属の細菌に特異的なプローブを用いた FISH を活性污泥に適用した結果、これら細菌のリン除去が大きくないことが確認されている(Wagner et al., 1994)。そのため、*Accumulibacter* だけでなく、Actinobacteria だけでも生物学的リン除去を行えるとは言い難い。

## (3) *Microlunatus Phosphovorius*

*Microlunatus Phosphovorius* は、シヨ糖密度勾配遠心分離により、活性污泥から高リン含有污泥が分離され、その污泥から分離、培養された(Nakamura et al., 1995)。その結果、*Microlunatus Phosphovorius* は単離され、嫌気中でポリリン酸を放出し、好気中でポリリン酸を蓄積することも確認された。しかし、嫌気条件下で酢酸の利用性はなく、グルコースを摂取する。PHA も合成せず、ポリグルコースの形で蓄積する。また沈降性が低いことから、一般的な活性污泥には、ほとんど存在しない可能性が示唆された。*Microlunatus Phosphovorius* に特異的なプローブを設計し、ポリリン酸染色法を目的とした DAPI 染色とあわせて活性污泥試料に適用したところ、ポリリン酸を蓄積する細菌のうち、*Microlunatus Phosphovorius* は、約 9%程度であったとする報告もある(Kawaharasaki et al., 1998)。これまでの研究から、上述した *Accumulibacter* や Actinobacteria 以上に、生物学的リン除去への寄与率は低いと考えられる。

#### (4) *Tetrasphaera* 属

*Tetrasphaera* に属するポリリン酸蓄積細菌は、数種が分離されている。いずれもグラム陽性の細菌で、リン染色法の一つである Neisser 染色法によりポリリン酸を蓄積することが確認されているが、ポリリン酸蓄積細菌としての詳細な代謝（リンの放出や蓄積）は明らかにされていない。これらの形態は、2種類確認されており、*Tetrasphaera japonica* と *Tetrasphaera australiensis* (Maszenan *et al.*(2000))は球菌、*Tetrasphaera elongate* (Hanada *et al.*(2002))は桿菌、である。

#### (5) *Lampropedia* 属

この細菌は、酪農排水を処理する生物学的リン除去プロセスから単離された (Stante *et al.*, 1997)。この細菌は、嫌気条件下で酢酸を摂取して PHA として蓄積し、リンを放出することも報告されている。しかし、酢酸摂取とリンの放出がモデルと大きく異なるため、実処理場でリン除去を担う主要な細菌だとは考えられていない。

#### (6) *Gammatimonas aurantiaca*

グラム陰性の桿菌で、高濃度 DAPI を用いたリン染色法によりポリリン酸を蓄積することが確認されている (Zhang *et al.*, 2003)。嫌気でのリン放出等については、まだ検討されていない。門(Phylum)レベルで新規の系統群に属している低濃度の遠心分離で濃縮し、低栄養の培地によって長期培養した結果、分離された。*Gammatimonas aurantiaca* の培養における最適 pH は中性の 7.0 である。最適温度は 30°C であり、20°C 以下では増殖できないことが報告されている。

#### (7) *Malikia granosa*

都市下水処理場から分離された Proteobacteria  $\beta$  の *Comamonas* 属に属する分離株で、グラム陰性の桿菌である (Spring *et al.*, 2005)。PHA とポリリン酸の蓄積能力を持っていることが確認されている。なお、嫌気でのリン放出については、まだ検討されていない。

#### (8) その他のポリリン酸蓄積細菌

バルキングの原因となる糸状性細菌についても、いくつかの種はポリリン酸の蓄積能力を持つものが存在している。生物学的リン除去プロセスによく見られる *Microthrix parvicella* や *Nostcoida limicola* II のような糸状性細菌は、ポリリン酸を蓄積することが確認されている (Erhart *et al.*, 1997、Blackall *et al.*, 2000)。さらに、リン除去悪化時に検出した G バクテリアである GAM1019 プローブで捉えられる細菌が、ポリリン酸及び PHB を蓄積していることが確認された (Liu *et al.*, 2001)。

## 2.3 リン除去悪化に影響する因子について

リン除去の悪化に影響する因子として、pH、温度、炭素源等の研究が、数多く報告されている。これらの報告では多くの場合、グリコーゲン蓄積細菌がポリリン酸蓄積細菌よりも優占し、リン除去の悪化となっている。

また、嫌気槽内における硝酸 (Kuba et al., 1994)、過度の曝気 (Brdjanovic et al., 1998)、マグネシウムやカリウムの不足 (Imai et al., 1988、Rickard et al., 1992) 等によっても、リン除去が悪化することが報告されている。ただ、マグネシウムやカリウムは、高濃度でも良好なリン除去は行われず、高濃度のカルシウムが存在する場合でも不活性なポリリン酸が生成し、リンの放出および摂取を阻害することも報告されている (Barat et al., 2006)。

### (1) pH による影響

リン除去の pH による影響については多くの研究例が報告されており、主に酢酸を中心とした VFA を炭素源としたバッチ試験または実験室規模リアクターにおいて、ポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の競合を評価している。多くの報告において pH を 8 程度まで上昇させると、ポリリン酸蓄積細菌が優占しやすくなるとされている。

好気条件における pH を 6.5、7.0、7.5 に設定したところ、pH を 6.5 に下げるとポリリン酸蓄積細菌のリンの摂取、PHA の消費および増殖が阻害されるという報告がある (Filipe et al., 2001)。また、嫌気条件における酢酸摂取を各 pH において比較したところ、pH が 7.25 未満における酢酸摂取速度はグリコーゲン蓄積細菌の方が速く、7.5 を超えるとポリリン酸蓄積細菌の方が速いという報告もある (Filipe et al., 2001b)。

この他の論文においても、嫌気、好気条件の両方もしくは一方の pH を上げることにより、良好なリン除去が見られることが報告されている (Bond et al., 1999、Jeon et al., 2001、Schuler et al., 2002、Serafim et al., 2002)。しかし、pH を 8 よりも高くしてしまうと、逆にリン除去が悪化することも報告されている (Liu et al., 1996、Oehmen et al., 2005a)。

### (2) 水温による影響

水温による影響について検討した報告の多くが、水温を下げる方が良好なリン除去が行われたとしている。20°Cで運転したリアクターにおいては、良好なリン除去が見られたが、30°Cで運転したリアクターでは、嫌気での酢酸摂取は見られるものの、リンの放出および摂取が減少し、リン除去が悪化したことという報告がある (Whang et al., 2002)。また嫌気におけるリンの放出量と酢酸の摂取量からポリリン酸蓄積細菌とグリコーゲン蓄積細菌の生物量を推定した結果、水温上昇によるリン除去の悪化は、グリコーゲン蓄積細菌の増殖速度が速くなったからであると推測している (Panswad et al., 2003、Bradjanovic et al., 1997、1998)。この他にも、5°Cのような低い温度においても、良好な生物学的リン除去プロセスを運転できるという報告もされている (Brdjanovic et al., 1998a)。

### (3) 炭素源による影響

種々の炭素源を用いて実験室規模リアクターを運転した研究例が、数多く報告されている。グルコースを炭素源として用いた場合においては、リン除去が見られたケースと見られないケースの両方が報告されている。逆に、酢酸またはプロピオン酸を炭素源とすると、良好なリン除去が得られると報告されている。

グルコースを炭素源とした場合、良好なリン除去が行われた場合 (Jeon et al., 2000) と、リン除去が行われなかった場合 (Cech et al., 1990) の両方の報告がされている。

酢酸を主要な炭素源として実験室規模リアクターを運転した場合、良好なリン除去が確認されるとの報告が多くされている (Hesselmann et al., 1999)。一方で、酢酸はグリコーゲン蓄積細菌も摂取可能であることが明らかになっており (Kong et al., 2006)、pH の変

化等によっては、グリコーゲン蓄積細菌が優占化することも報告されている (Oehmen et al., 2005a、Oehmen et al., 2006)。

プロピオン酸を用いた実験室規模リアクターにおいて、ポリリン酸蓄積細菌がグリコーゲン蓄積細菌よりも優占するとの報告がされている (Oehmen et al., 2005a、Oehmen et al., 2005b、Oehmen et al., 2006)。しかし、主要なグリコーゲン蓄積細菌の一つとして考えられている *Alfaproteobacteria* に属する細菌は、プロピオン酸を摂取可能であるという報告もされている (Meyer et al., 2006)。

そのほかの炭素源として、酢酸、グルコースに加え、アミノ酸であるアスパラギン酸、グルタミン酸を主な炭素源として、実験室規模リアクターを運転した研究が行われている (Fukushima., 2003)。その結果、全てのリアクターにおいてリン除去が確認され、*Accumulibacter* がリンを蓄積していたことも報告されている。ただし、リン除去機能は、酢酸を炭素源としたリアクターが最も高い結果となっている。また、炭素源の種類だけでなく、流入水に含まれる炭素とリンの比率 (P/C 比) が、ポリリン酸蓄積細菌の代謝に影響を及ぼすことも報告されている。酢酸を炭素源として運転した実験室規模リアクターにおいて、P/C 比を 1 : 10 から 1 : 50 に変更することで、リンの放出量が激減したという結果が示されている (Kong et al., 2002)。

## 2.4 微量元素について

微量元素とは、生物にとってごく少量しか必要とされていないが、多量栄養元素と同じくらい細胞機能にとって重要な元素であり、微量栄養元素とも言われている。しかし、必要とされる量が少ないため、微生物を培養する際に培地に添加しないことが多く、微量元素と微生物の関係は、十分に解明されていない。

当研究室では、鉄、モリブデン、銅、コバルト、ホウ素、ヨウ素、マンガン、亜鉛の計 8 種類の微量元素を人工下水に添加したところ、良好なリン除去が行われることを発見した。ここでは、本研究でも用いた上記 8 つの微量元素を中心として、生物にとって必要であると考えられている微量元素についてまとめた。

### (1) 鉄

鉄は、細胞呼吸に主要な役割を果たし、電子伝達にシトクロムと、鉄-硫黄タンパク質にとって重要な成分である。鉄は、シトクロムや鉄-硫黄タンパク質の他に、カタラーゼやペルオキシダーゼ、オキシゲナーゼ、全てのニトロゲナーゼ等の補酵素に必要とされている。しかし、ほとんどの無機鉄化合物は、全くと言っていいほど水に溶けないので、多くの生物がシデロフォアと呼ばれる特殊な鉄結合物質をつくる。これは、鉄を水溶性にして、細胞内へ運ぶ役割を果たす。シデロフォアの主要なグループは、ヒドロキサム酸の誘導体から成っていて、これは三価の鉄イオン( $\text{Fe}^{3+}$ )を強くキレートする。鉄-ヒドロキサム酸複合体が細胞内に入ると、鉄は放出され、ヒドロキサム酸は細胞から外へ出て鉄の輸送に再び使われる。

大腸菌やサルモネラ菌のような腸内細菌は、構造的に複雑なエンテロバクチンと呼ばれるフェノール基をもつシデロフォアをつくる。これらのシデロフォアは、芳香族化合物カテコールから派生しており、鉄に対して非常に高い親和性を持つ。

### (2) モリブデン

モリブデンは、植物に必須の微量栄養元素の一つであり、窒素代謝に必要な元素である。生体内では、多くの酵素に含まれ、酵素活性の発現に重要な役割を果たす。例えば、モリブデンニトロゲナーゼ、硝酸レダクターゼ、亜硝酸オキシダーゼ、DMSO-TMAO レダクターゼ、いくつかのギ酸デヒドロゲナーゼ、オキシトランスフェラーゼなどフラビン含有酵素に存在する。オキシダーゼは、主に生体内で有害な物質に対して酸化反応を起こす。オキシダーゼの中でもキサンチンオキシダーゼは、体内にあるキサンチンという物質を酸化し、尿酸を生成する。

### (3) 銅

銅は、動植物に必要不可欠な微量栄養元素の一つであると考えられており、遷移元素としては生体内に 3 番目に多く含まれている。呼吸に関与するたんぱく質であるシトクロム c オキシダーゼ、光合成に関与するタンパク質であるプラストシアニン、いくつかのスーパーオキシドジスムターゼの中に含まれている。また生体内のアミン酸化酵素の構成元素でもある。

### (4) コバルト

コバルトは、生体必須元素の一つであり、ビタミン B12 に錯塩として含まれている。またプロピオン酸細菌がもつトランスカルボキシラーゼを構成している。

### (5) ホウ素

ホウ素は、一部の藻類に必要であるが、動物にとって必須元素であるとは考えられていない。動物の各組織中の濃度は、植物に比して低い。また動物の腸管からの吸収は早く、

吸収率も高いものの、ほとんどが尿中に排出される。

#### (6) ヨウ素

ヨウ素は、人間にとって必須元素であり、特に細胞の代謝率を上昇させる働きを持つ甲状腺ホルモンが機能するために必要であるが、微生物への影響については詳しいことは分かっていない。

#### (7) マンガン

マンガンは、動植物の発育に必要な元素であり、動物体内で欠乏すると、成長の抑制、貧血、骨格異常、運動障害や生殖障害を引き起こす。またマンガン酵素の活性発現に必須の元素である。スーパーオキシドジスムターゼと、酸素発生型の光合成栄養生物における光化学系Ⅱの水を酸化する酵素に存在する。

#### (8) 亜鉛

亜鉛は、必須栄養元素の一つで、生体内に鉄に次いで 2 番目に多く存在しており、動植物の組織内に他の微量元素と比して、はるかに高濃度かつ広く分布している。DNA 及び RNA ポリメラーゼ、カルボニックアンヒドラーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼの金属成分として非常に重要な役割をもつ。

#### (9) その他の微量元素

その他、バナジウム、ニッケル、セレンウム、クロムなどが、生物にとって必要であると考えられている。

バナジウムは、ラットの生殖作用に影響が認められている他、脂質の合成を抑制し、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP アーゼの特異的調整因子とも考えられており、動物の生命維持に深く関与する金属として注目されている。またバナジウムニトロゲナーゼとして、鉄やモリブデンと同じくニトロゲナーゼに含まれていることがある。バナジウムは、土壤中に比較的高濃度で含まれていることが多いため、合流式下水道の終末処理場から発生する下水汚泥中にも比較的多く含まれている場合が多い元素の一つである。そのため、バナジウムが活性汚泥中の微生物に対して何かしらの影響を与えていることが十分に考えられる。

ニッケルは、各種の RNA 中に比較的高濃度で存在し、核酸の安定化作用をもつと考えられている。ほとんどのヒドロゲナーゼの中に存在しており、メタン生成菌の補酵素 F<sub>430</sub>、一酸化炭素デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼの中にも存在している。土壤微生物の分野では比較的研究されているが、活性汚泥への影響は詳しく分かっていない。

クロム（六価クロムを除く）は、極めて低濃度であるが、人体の組織に広く分布している。糖質、脂質代謝に関与し、正常のインスリン作用及び分泌にとって必要な元素であるが、微生物の要求性は分かっていない。

セレンウムは、化学的な性質は硫黄と似ており、微量の範囲、つまり 0.1mg 以下であると、抗酸化作用や有毒金属の吸収を抑制する作用がある。ギ酸ヒドロゲナーゼ等、いくつかのヒドロゲナーゼ中に存在している。しかし、大量に摂取すると、ガン、高血圧、白内障などの原因となる物質で、環境にも悪影響を及ぼすため、法律で排出が制限されている物質である。

## 第3章 各章で用いた水質分析方法

---

### 3.1 リアクターの運転

本研究では、実下水処理場から種汚泥を採取し、人工下水を基質とした二つの実験室規模 SBR 式リアクター（実験系及び対照系）で、生物学的リン除去プロセスを運転した。実験室規模 SBR 式リアクターの実験装置概略図を図 3.1 に示す。

運転プロセスを表 3.1 に示す。リアクターの有効容積は、10L、人工下水の流入と嫌気反応が 1 時間、好気反応が 2 時間、沈殿・放流合わせて 1 時間の合計 4 時間を 1 サイクルとして運転した。水理学滞留時間(Hydraulic retention time : HRT)は約 8 時間、汚泥滞留時間(Solids retention time : SRT)は約 7 日と設定した。

流入人工下水は、1 サイクルあたり人工下水 5L を供給した。人工下水中の有機物とリンの組成を表 3.2、微量元素の組成を表 3.3 に示す。人工下水 5L のうち、有機物原液の組成は、酢酸ナトリウム 3 水和物 113mg/L、プロピオン酸ナトリウム 53.6mg/L、ペプトン 100mg/L、酵母エキス 20mg/L、塩化カリウム 42mg/L、塩化カルシウム 2 水和物 13.2mg/L、硫酸マグネシウム 7 水和物 110mg/L である。リン原液の組成は、リン酸水素 2 カリウム 72mg/L。また微量元素溶液の組成は、塩化鉄 6 水和物 450  $\mu$ g/L、ホウ酸 45  $\mu$ g/L、硫酸銅 5 水和物 9  $\mu$ g/L、ヨウ化カリウム 54  $\mu$ g/L、塩化マンガン 4 水和物 36  $\mu$ g/L、モリブデン酸ナトリウム 2 水和物 18  $\mu$ g/L、硫酸亜鉛 7 水和物 36  $\mu$ g/L、塩化コバルト 6 水和物 45  $\mu$ g/L、エチレンジアミン四酢酸 3,000  $\mu$ g/L である。

また、各リアクターの各 Run の運転期間(Run1~Run10) は、2011 年の 1 月~11 月にかけて行った。途中、外部からの汚泥の植種は行わず、二基の SBR の運転を継続した。各 Run の開始時、二基の汚泥を混合し、その後、各 Run を運転した。各 Run の終了後、リン除去が悪化した汚泥は廃棄し、4°C の冷蔵庫に蓄えた余剰汚泥を追加して汚泥を補った。

運転期間のうち、最初の期間は、準備期間として、実験系・対照系とも 8 種の微量元素を添加した人工下水で運転した。その後の期間は、比較期間として、実験系のみ微量元素の全て、もしくは一部の添加を停止し、運転を継続した。また Run1~4 は、8 種の微量元素の添加を停止した後、再添加した。各リアクターの各 Run の運転期間と、比較期間において人工下水に添加した微量元素の種類を表 3.4 に示す。

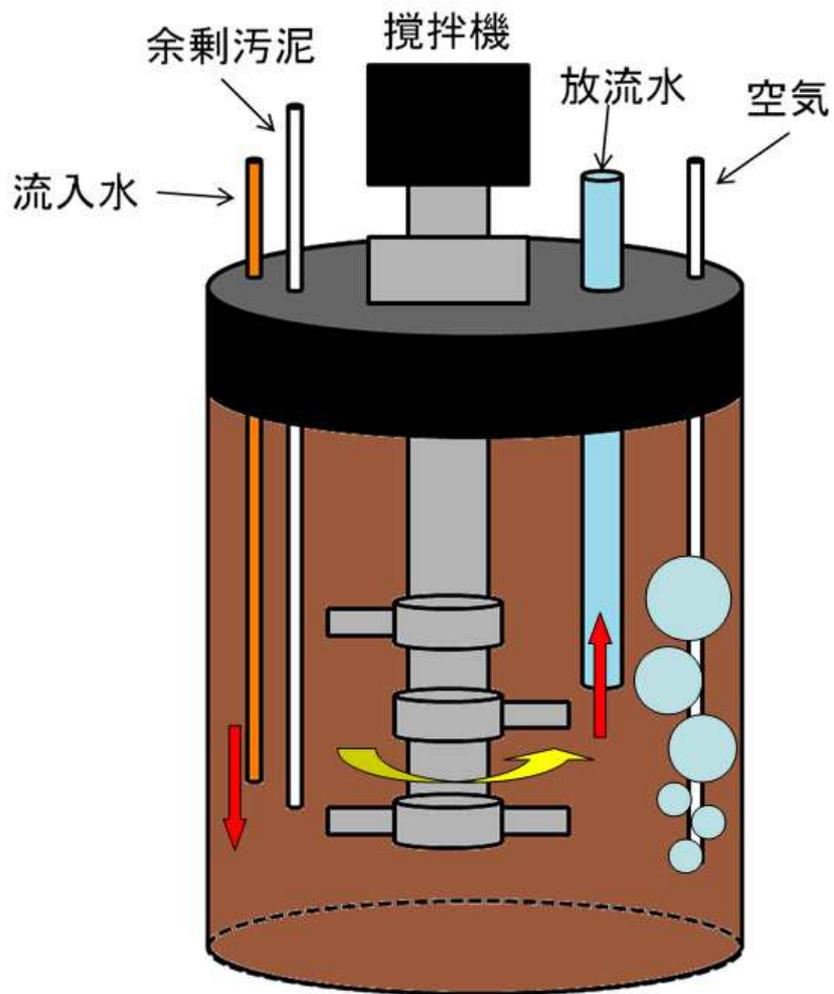


図 3.1 実験室規模リアクターの装置概略図

表 3.1 運転プロセスと各プロセスの運転時間

運転プロセス	運転時間(h/cycle)
流入・嫌気反応	1
好気反応	2
沈殿・放流	1
合計	4

表 3.2 人工下水中の有機物とリンの組成

薬品名	濃度(mg/L)
有機物原液	
酢酸ナトリウム三水和物	113(53mg as COD)
プロピオン酸ナトリウム	56.5(51mg as COD)
ペプトン	100(124mg as COD)
酵母エキス	20(19.4mg as COD)
塩化カリウム	42
塩化カルシウム二水和物	13.2
リン酸水素二カリウム	110
リン原液	
リン酸水素二カリウム	72

表 3.3 人工下水中の微量元素の組成

微量元素名	濃度( $\mu$ g/L)
塩化鉄六水和物	450
ホウ酸	45
硫酸銅五水和物	9
ヨウ化カリウム	54
塩化マンガン四水和物	36
モリブデン酸ナトリウム二水和物	18
硫酸亜鉛七水和物	36
塩化コバルト六水和物	45
エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)	3,000

表 3.4 各 Run の運転期間と、比較期間において人工下水に添加した微量元素の種類

Run 名	運転期間	実験系	対照系
Run1	2011 年 1 月 3 日～2 月 16 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn
Run2	2011 年 4 月 14 日～5 月 17 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	
Run3	2011 年 6 月 15 日～7 月 2 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	
Run4	2011 年 7 月 15 日～8 月 4 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	
Run5	2011 年 8 月 7 日～8 月 26 日	Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn	
Run6	2011 年 8 月 30 日～9 月 5 日	Fe, Mo, Cu, Co, <del>B, I, Mn, Zn</del>	
Run7	2011 年 9 月 17 日～9 月 23 日	Fe, Mo, <del>Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	
Run8	2011 年 10 月 9 日～10 月 16 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	
Run9	2011 年 10 月 18 日～10 月 24 日	Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn	
Run10	2011 年 11 月 15 日～11 月 21 日	<del>Fe, Mo, Cu, Co, B, I, Mn, Zn</del>	

(取消線は、添加しなかった元素を表す)

### 3.2 モニタリング・サンプリング

リアクターを運転している間は、ほぼ毎日実験系と対照系のモニタリングとサンプリングを行った。リアクターの水質モニタリング項目として、嫌気反応終了時の DOC、溶存態リン、pH、好気反応終了時の MLSS、DOC、溶存態リン、pH、汚泥容量指標(Sludge Volume Index : SVI)を測定した。これらの測定は、下水道試験法(1997)に従って測定した。

サンプリングでは、混合液浮遊物質 (Mixed liquor suspended solids : MLSS)、溶存有機性炭素 (Dissolved organic carbon : DOC)、イオンクロマトグラフィー (Ion Chromatography : IC) 用の試料を採取した。サンプリング方法としては、嫌気反応と好気反応の終了時に約 100mL の汚泥を採取した。その後、採取した汚泥をガラス繊維ろ紙法でろ過し、ろ液約 25mL を DOC 分析用の試料として採取した。IC 用の試料は、そのろ液を Cellulose Acetate 0.45 $\mu$ m Filter (Advantec 社)でろ過し、約 1mL 採取して IC 分析用の試料を得た。

好気反応の試料は、嫌気反応と同様の方法で DOC、IC 用の試料を採取した。MLSS は、採取した汚泥 25mL を 50mL 遠心管に移し、3,500rpm で 5 分間遠心分離した。遠心した後、サンプルの上澄み液を捨て、残った汚泥を MLSS の測定に用いた。

#### 3.2.1 MLSS

MLSS とは、反応槽の微生物量を表し、反応槽の管理指標として用いられる。MLSS の測定では、蒸発皿を予め水で洗い、108 $^{\circ}$ C の乾燥機で 2 時間以上、デシケーターで 30 分以上乾燥・放冷させた後、質量を測定した。その後、採取した汚泥を蒸発皿に移し、汚泥を入れた蒸発皿を上記と同様の方法で乾燥・放冷させた後、蒸発皿の重量を測定した。その後、汚泥を入れる前後の蒸発皿の質量の差(a mg)を求め、次式によって MLSS を算出した。

$$MLSS(mg/L)=a \times 1,000 / \text{試料 ml}$$

なお、標準活性汚泥法では、MLSS は 1,000～2,000(mg/L)程度になるよう設計・管理されている。

#### 3.2.2 溶存態リン

嫌気及び好気工程終了時にサンプリングした IC 用の試料を ICS-3000(DIONEX 社)に供

することによって、嫌気及び好気反応終了時における溶存態リンの濃度を求めた。嫌気反応時と好気反応時の溶存態リン濃度を求めることで、それぞれポリリン酸蓄積細菌の嫌気反応時のリン放出、好気反応時のリン摂取の程度を知ることができる。

イオン交換クロマトグラフィーは、固定相に陽イオン交換体あるいは陰イオン交換体を用い、移動相には酸、塩基、緩衝液などの水溶液を用いて、イオン性物質の分離を行う方法である。無機陰イオン類、有機酸、アルカリ金属、アルカリ土類金属等の多成分同時分析に用いられる。検出下限は、イオンによって異なるが、数百  $\mu\text{g/L}$  程度である。

イオン交換体は、イオン交換基とそれを固定化しているマトリックスから成り、マトリックスにはポリスチレン、ポリアクリルアミドなどの有機合成ポリマー、セルロースなどの多糖、およびシリカゲルなどの無機ポリマーが用いられる。同一のイオン交換基を持つ場合でも、マトリックスが異なれば分離挙動が異なってくるので、マトリックスの構造を十分理解して上でイオン交換体を選択することが重要である。イオン交換体をマトリックスの構造によって大別すると、ゲル型樹脂、巨大網目状樹脂、架橋多糖型になる。ゲル型、巨大網目状樹脂は、低分子極性物質の分離には有効であるが、生体高分子などの高分子の分離に際しては交換容量が不足する場合が多い。またマトリックスが疎水性であるため、非特異的な吸着とそれに伴う変性が起こるなどの不都合な点がある。一方、架橋多糖型イオン交換体は、マトリックスが親水性であるため、非特異的な吸着や変性の心配が少なく、生体高分子が内部に潜り込める三次元的な網目構造と十分な数のイオン交換基を持つ。

### 3.2.3 DOC

DOC とは、試料をろ過して求めた TOC のことで、水中に溶存している有機性炭素を指す。DOC は、活性汚泥内の有機物濃度とみなすことができ、この値が高ければリアクター内の活性汚泥が有機物をあまり摂取していないことを示している。DOC 用の試料は TOC-VCSN(SHIMAZU 社)を用いて、DOC 濃度を測定した。

### 3.2.4 pH

pH は、嫌気反応時におけるポリリン酸蓄積細菌の酢酸摂取を確認するため測定を行った。ポリリン酸蓄積細菌は、嫌気反応において酢酸を摂取することが知られているが、それに伴い二酸化炭素が発生し、pH が低下する。その後、嫌気反応時に発生した二酸化炭素は、好気反応時に酸素が供給されることで除去されるため、pH が上昇する。本研究では、Run1 と Run2 において 8 種類の微量元素の添加を停止したところ、嫌気反応時に pH の低下が見られなくなった。そのため、Run3 以降では、微量元素の添加停止による pH への影響を検討するため、pH のモニタリングを行った。

摂取 pH の制御は、設定値  $0.1 \pm 0.1$  になるよう pH コントローラー(mk-250、ASR)を用いて設定した。また 1 週間に 1 回程度ポータブル pH 計を用いて pH が正確に制御されているかを確認した。

### 3.2.5 SVI

SVI は、活性汚泥の沈降性を表す指標の一つである。これは、反応槽内混合液を 30 分間静置したとき、1g の活性汚泥浮遊物質が占める容積を mL 数で表したものである。SVI は、MLSS と活性汚泥沈降率(Sludge Volume : SV)から次式で計算される。

$$\text{SVI} = \text{SV}(\text{vol}\%) \times 10,000 / \text{MLSS}(\text{mg/L})$$

また SV とは、反応槽内混合液または返送汚泥を容量 1L のメスシリンダー中で 30 分間静置した時の沈殿汚泥体積を、その試料 1L に対する百分率で表したものであり、SV30 と記される時もある。SV は、試料 1L をメスシリンダーにとり、汚泥が均一になるよう攪拌した後、30 分間静置した時の沈殿体積(a mL)を読み取り、次式によって算出する。

$$SV=a(\text{mL})/1,000\times 100$$

SVI は、一般的に 200 以下が良好な状態と言われているが、分流式の標準活性汚泥法、オキシレーションディッチ(OD)法等の MLSS が高い処理方式では、200~300 程度が通常  
の値となっている。しかし、それらの処理方式以外で SVI が 200 を超えるような場合は、  
汚泥の沈降しにくくなっており、その状態をバルキングという。そのため、SVI の急激な  
上昇が見られる場合は、バルキングの原因である活性汚泥中の糸状性細菌の有無などの確  
認が必要である。

本研究では、Run1 と Run2 において 8 種類の微量元素の添加を停止したところ、汚泥の  
沈降性が悪化していることが確認された。また、それに伴い MLSS も低下した。そのため、  
Run3 以降では、微量元素の添加停止による活性汚泥の沈降性悪化を検討するため、SVI の  
測定を行った。

## 第4章 微量元素の不足によるリン除去悪化の検討

### 4.1 第4章の概要

本章では、微量元素の不足によるリン除去悪化を検討した。運転期間のうち、最初の期間は準備期間として、実験系・対照系とも8種の微量元素を添加した人工下水で運転した。この期間を設けることで、リン除去が正常に行われているのか確認を行った。その後の期間は、比較期間として、実験系のみ微量元素の全ての添加を停止し、運転を継続した。微量元素の添加を停止することで、微量元素の不足によりリン除去が悪化するのか検討した。8種の微量元素の添加停止後、比較期間2として、微量元素の再添加を行った。微量元素を再添加することにより、リン除去が改善するのか検討した。

各リアクターの各Runの運転期間(Run1～Run3)は、2011年の1月～7月にかけて行った。Run1からRun3では、準備期間を約1週間、比較期間を約1週間、比較期間2を約1週間として設定して運転を行った。また同一内容の実験を3回行うことで、再現性を確認した。

### 4.2. 実験結果

#### 4.2.1 Run1の実験概要

Run1は2011年1月2日から2月16日の45日間運転した。準備期間を19日間、比較期間を13日間、比較期間2を13日間として設定して運転を行った。

##### 4.2.1.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化(嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時のMLSS)を測定した。モニタリング結果を図4.1に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約30mg/Lであり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取していた。比較期間のリン酸濃度は、微量元素の添加停止数日後に嫌気反応終了時で約40mg/L、好気反応終了時で約10mg/Lまで上昇した。また添加停止約1週間後から、嫌気反応終了時のリン酸濃度が徐々に低下し、最終的に嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度は、約10mg/Lとほぼ同一になった。その後、比較期間2のリン酸濃度は、嫌気反応終了時と好気反応終了時ともに変化はなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約30mg/L、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。

MLSSについて述べる。準備期間では、実験系のMLSSは2.0g/L弱であった。比較期間のMLSSは、微量元素の添加停止6日後に2.0g/Lまで低下し、8日後に3.0g/L程度まで上昇したものの、11日後に2.0g/L以下になった。比較期間2のMLSSは、微量元素の再添加5日後、2.0g/Lまで上昇したが、その後低下し続け、14日後に1.5g/L程度まで低下した。一方、微量元素の添加を続けた対照系のMLSSは、2.5g/L程度を維持していた。

DOC濃度について述べる。準備期間では、実験系のDOC濃度は、嫌気反応終了時で20mg/L程度であり、好気反応終了時で2.0mg/L程度だった。しかし、比較期間のDOC濃度は、嫌気反応終了時で微量元素の添加停止1日後に15g/L程度まで低下したものの、8日後に20g/L弱まで上昇し、11日後に40mg/Lまで上昇した。また好気反応終了時には、常時10mg/L以下であった。比較期間2では、嫌気反応終了時のDOC濃度は依然として上昇を続け、微量元素の再添加5日後、50mg/L程度まで上昇したが、その後は低下を続け、12日後に30mg/L程度まで低下した。また好気反応終了時のDOC濃度は、微量元素を再添加した後も常時10mg/L程度であった。一方、微量元素の添加を続けた対照系のDOC濃度は、嫌気反応終了時で10mg/L程度、好気反応終了時で2.0mg/L程度を維持していた。

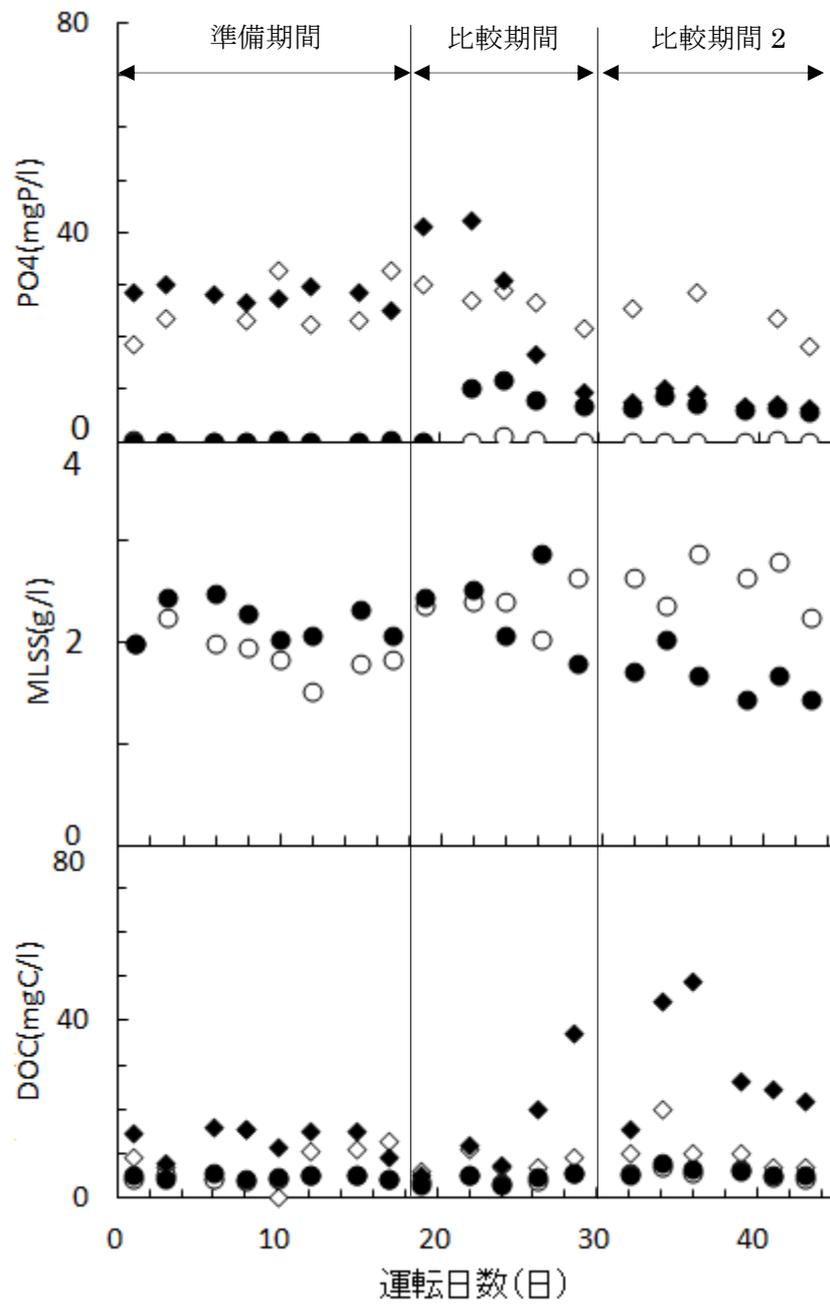


図 4.1 Run1 の水質モニタリング結果

## 4.2.2 Run2の実験結果

図 4.2 に示す通り、Run2 は 2011 年 4 月 17 日から 5 月 17 日の 31 日間運転した。準備期間を 15 日間、比較期間を 7 日間、比較期間 2 を 9 日間として設定して運転を行った。なお、Run1 の結果より、微量元素の添加停止数日後、リン除去の悪化が見られたので、今回の実験では実験系、対照系ともに IC 用のサンプルを毎日採取し、リン酸濃度の経日的変化を厳密にとらえることを試みた。

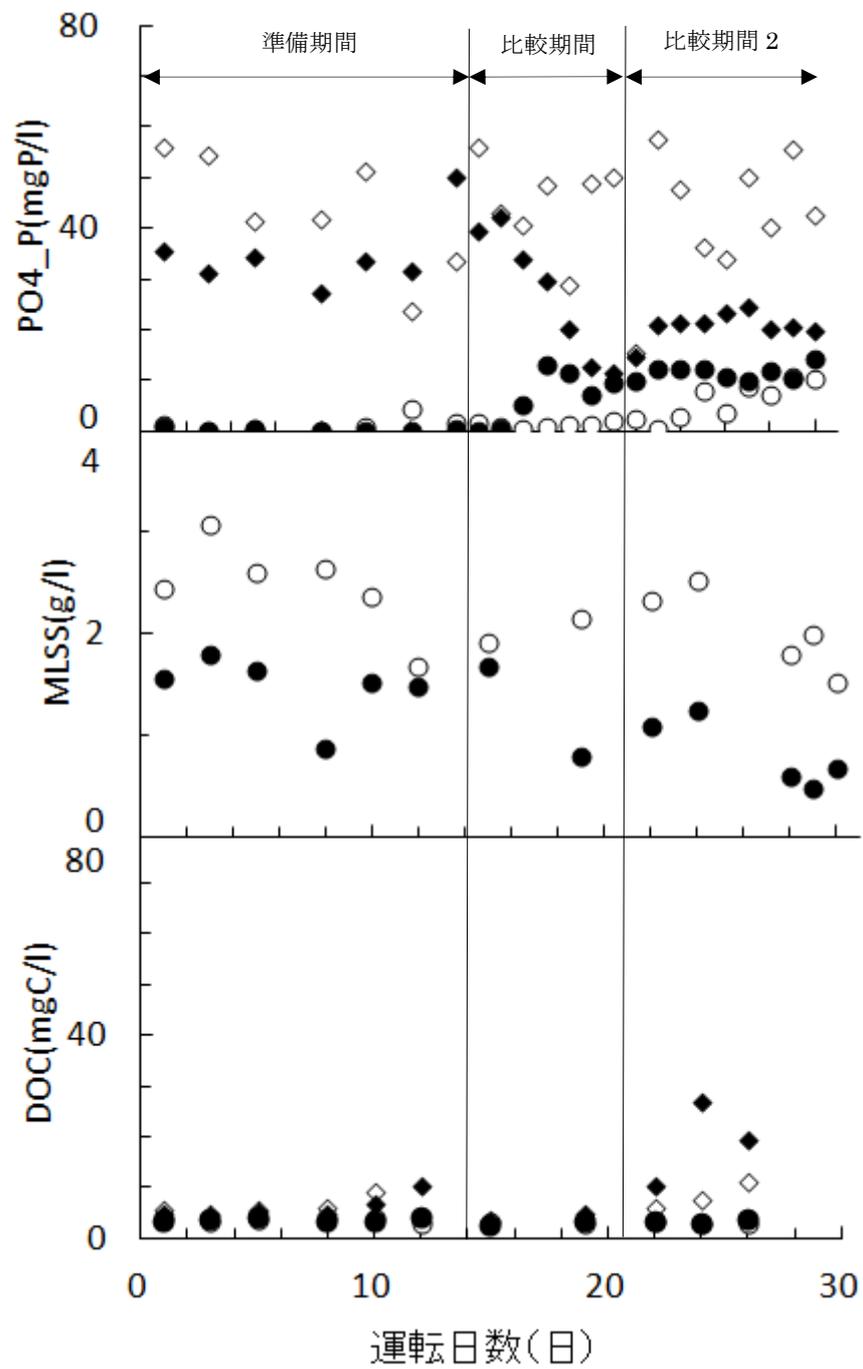
### 4.2.2.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 4.2 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、30mg/L 程度であり、好気反応終了時のリンは、完全に摂取されていた。比較期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、微量元素の添加停止 3 日後から低下し、好気反応終了時のリン酸濃度も添加停止 3 日後から上昇した。そして添加停止 7 日後に嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度は、10mg/L 程度とほぼ同一になった。その後、比較期間 2 の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、再添加 2 日後に 20mg/L 程度まで上昇し、その後も 20mg/L を維持したが、好気反応終了時のリン酸濃度は、変化が見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は 50mg/L 程度を維持していたが、好気反応終了時のリン酸濃度は、運転開始後 21 日目から上昇し、27 日目以降は 10mg/L 程度を維持していた。

MLSS について述べる。実験系では、準備期間の MLSS は、1.5g/L 程度を維持していた。比較期間の MLSS は、微量元素の添加停止 5 日後に 1.0g/L 以下まで低下した。比較期間 2 の MLSS は、微量元素の再添加 3 日後に 1.0g/L 程度まで上昇したが、その後再び低下し、9 日後に 0.5g/L 程度まで低下した。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、MLSS は常時 2.0g/L 程度を維持していた。

DOC 濃度について述べる。実験系では、準備期間の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 10mg/L 以下だった。その後、比較期間の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応時も変化は見られなかった。比較期間 2 の嫌気反応終了時の DOC 濃度は、微量元素の再添加 1 日後から上昇し、5 日後に 20mg/L 程度になった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時で 10mg/L 程度、好気反応終了時で 2.0mg/L 程度を維持していたが、運転開始後 22 日目から嫌気反応終了時で上昇し、26 日目に 10mg/L 程度になった。



### 4.2.3 Run3の実験結果

図 4.3 に示す通り、Run3 は 2011 年 6 月 14 日から 7 月 2 日の 18 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 7 日間、比較期間 2 を 7 日間として設定して運転を行った。なお、Run1 と Run2 の結果より、微量元素の添加停止後、もしくは再添加後、実験系の MLSS と DOC 濃度に変化が見られたので、今回の実験では実験系、対照系ともに MLSS と DOC 用のサンプルもほぼ毎日採取し、これらの項目の経日的変化も厳密にとらえた。同様に Run1 と Run2 の結果から、実験系で嫌気反応終了時の pH の低下、汚泥の沈降性悪化が見られたので、今回の実験から pH と SVI のモニタリングもほぼ毎日行った。

#### 4.2.3.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 4.3 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、30mg/L 程度であり、好気反応終了時のリン酸濃度は、5.0mg/L 程度だった。比較期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、微量元素の添加停止 1 日目から上昇し、3 日目に 35mg/L 程度になったが、4 日後以降は低下し続けた。比較期間の好気反応終了時のリン酸濃度は、添加停止 2 日後に 20mg/L 程度まで上昇し、その後も 20mg/L 程度を維持した。そして添加停止 7 日後に嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度は、20mg/L 程度とほぼ同一になった。比較期間 2 のリン酸濃度は、微量元素を再添加しても嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに変化は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は、運転開始後 13 日目までは 30mg/L 程度を維持し、15 日目以降は 40mg/L 程度まで上昇した。好気反応終了時のリン酸濃度は、運転開始後 6 日目までは 5.0mg/L 程度だったが、7 日目以降はリンを完全に摂取していた。

MLSS について述べる。実験系では、準備期間の MLSS は、1.5g/L 程度であった。また比較期間の MLSS も、1.5g/L 程度を維持していた。比較期間 2 の MLSS は、1.5g/L 程度から 1.0g/L 程度を上下するようになった。一方、微量元素の添加を続けた対照系も、運転開始後 12 日目までは 1.5g/L 程度を維持していたが、13 日後以降は 1.5g/L 程度から 2.0g/L 程度を上下するようになった。

DOC 濃度について述べる。実験系では、準備期間の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度だった。比較期間の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了とともに 2.0mg/L を維持し、変化は見られなかった。しかし、比較期間 2 の嫌気反応終了時の DOC 濃度は、微量元素の再添加 2 日後から上昇し、7 日後に 10mg/L 程度になった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も常時 2.0mg/L 程度を維持していた。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.25 程度、好気反応終了時は 7.5 程度だった。比較期間の pH は、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに微量元素の添加停止 1 日後から上昇し、7 日目に嫌気反応終了時が 7.5、好気反応終了時が 7.7 まで上昇した。比較期間 2 の pH も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに微量元素を再添加した後も上昇を続け、再添加 7 日後に嫌気反応終了時が 7.9、好気反応終了時が 8.0 になった。

SVI について述べる。実験系では、準備期間の SVI は、運転開始後 2 日目までは 200 程度であり、4 日目に 300 程度まで上昇した。比較期間の SVI は、400 弱から 300 弱までを上下するようになった。比較期間 2 の SVI は、微量元素の再添加 1 日後に 200 程度まで低下したが、2 日目に再び 400 程度まで上昇し、その後も上下に変動を繰り返すようになった。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、常時 150 程度であった。

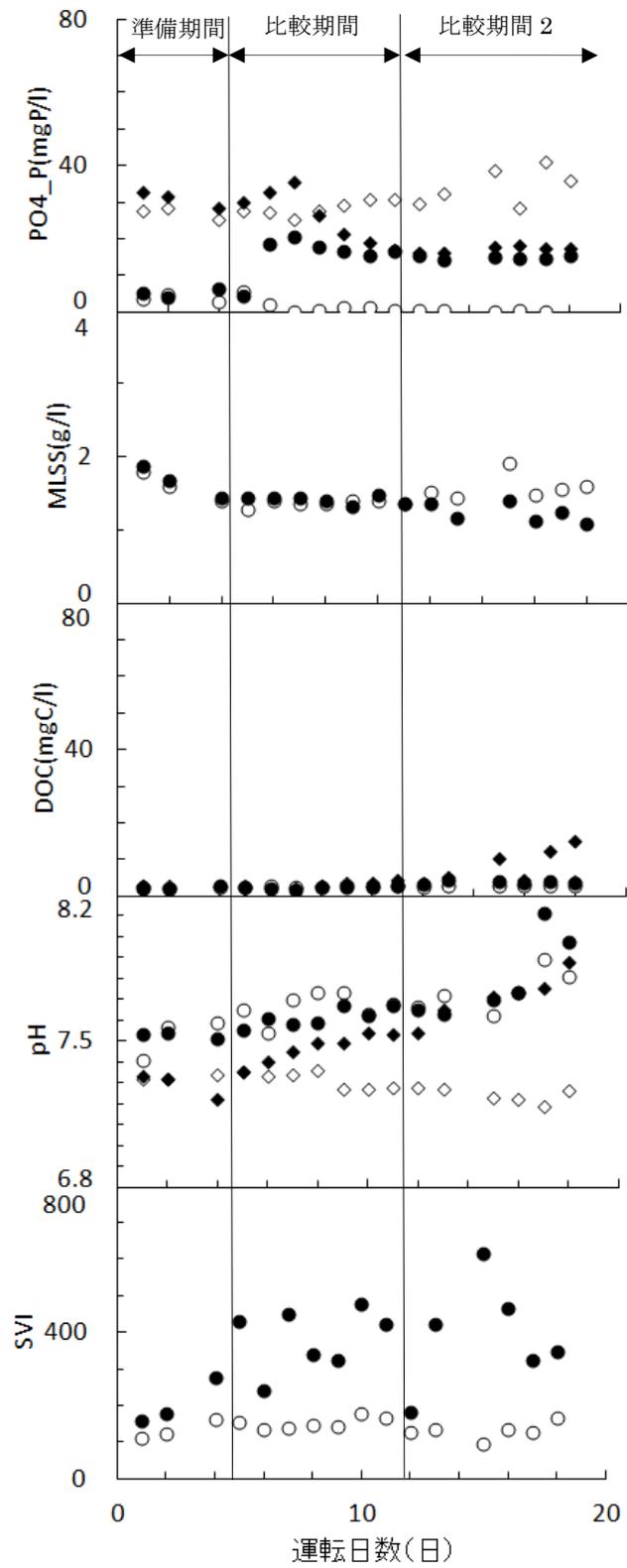


図 4.3 Run3 の水質モニタリング

### 4.3 第4章の考察

本章では、微量元素の不足によるリン除去悪化を検討した。本章の結果より、8種類の微量元素の添加を停止すると、嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度が数日で上昇した。また微量元素の添加停止数日以降、嫌気反応終了時のリン酸濃度の低下し、添加停止約1週間で嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度が同程度になった。8種類の微量元素の全て、もしくは一部の添加を停止すると、リン除去が悪化することが分かった。また微量元素の添加を約1週間停止した場合、その後、微量元素を約1週間再添加しても、嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度に変化が見られなかった。微量元素の添加を約1週間停止した後、微量元素を再添加してもリン除去が改善しないことが分かった。

また微量元素の添加を停止、もしくは再添加をすると、MLSSが低下した。MLSSが低下したことから、微量元素の添加を停止、もしくは再添加することにより、リアクター内の微生物量が減少することが分かった。

同様に、微量元素の添加を停止、もしくは再添加すると、嫌気反応終了時のDOC濃度が上昇した。微量元素の添加を停止すると、リン除去が悪化したことから、嫌気条件下で有機物を摂取するポリリン酸蓄積細菌が有機物を摂取できなくなったことが考えられる。ただ、Run2とRun3では、微量元素の添加を停止しても、嫌気反応終了時のDOC濃度は上昇しなかった。これは、グリコーゲン蓄積がポリリン酸蓄積細菌に代わり嫌気条件下で有機物を摂取していた可能性があるが、これが事実だとしたら、グリコーゲン蓄積細菌は微量元素の有無に関わらず嫌気条件下で有機物を摂取できることになる。

Run3の結果より、微量元素の添加を停止すると、嫌気反応終了時のpHが上昇した。嫌気反応終了時のpHの上昇は、嫌気条件下において微生物がポリリン酸を放出できなくなったからだと考えられる。

また微量元素の添加を停止すると、SVIが上昇した。微量元素の添加を停止したことにより、糸状性細菌が増殖したため、もしくは活性汚泥中の微生物がフロックを形成できなくなったためと考えられる。もし糸状性細菌が優占的に増殖したのなら、糸状性細菌は微量元素がなくても増殖できると考えられる。また微生物がフロックを形成できなくなったのなら、微量元素の添加停止により微生物が有機物を摂取できなくなり、内生呼吸により蓄積した有機物を消費したことも考えられる。

## 第 5 章 微量元素の再添加によるリン除去改善の検討

### 5.1 第 5 章の概要

本章では、微量元素の再添加によるリン除去改善を検討した。運転期間のうち、最初の期間は準備期間として実験系・対照系とも 8 種の微量元素を添加した人工下水で運転した。その後の期間は、比較期間として、実験系のみ微量元素の全ての添加を停止して運転を継続し、その後の期間を比較期間 2 として微量元素の再添加を行った。第 4 章との違いは、比較期間と比較期間 2 を 2 日とした点である。第 4 章の結果より、微量元素の添加停止から 2 日程度でリン除去の悪化が見られたため、リン除去が悪化した直後なら、リン除去の改善が可能ではないかと考えた。また微量元素の添加停止より 2 日程度でリン除去の悪化が確認できれば、今後の実験期間を単短縮できると考えた。

各リアクターの各 Run の運転期間(Run1~Run3) は、2011 年の 7 月~8 月にかけて行った。Run4 では、準備期間を約 1 週間、比較期間を 2 日、比較期間 2 を 2 日として設定して運転を行った。また比較期間と比較期間 2 を、それぞれ 3 回程度交互に繰り返した。

### 5.2. 実験結果

#### 5.2.1 Run4 の実験概要

Run4 は、2011 年 7 月 14 日から 8 月 4 日の 21 日間運転した。準備期間を 7 日間、比較期間を 2 日×4 回、比較期間 2 を 2 日×3 回として設定して運転を行った。

##### 5.2.1.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化(嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS) を測定した。モニタリング結果を図 5.1 に示す。

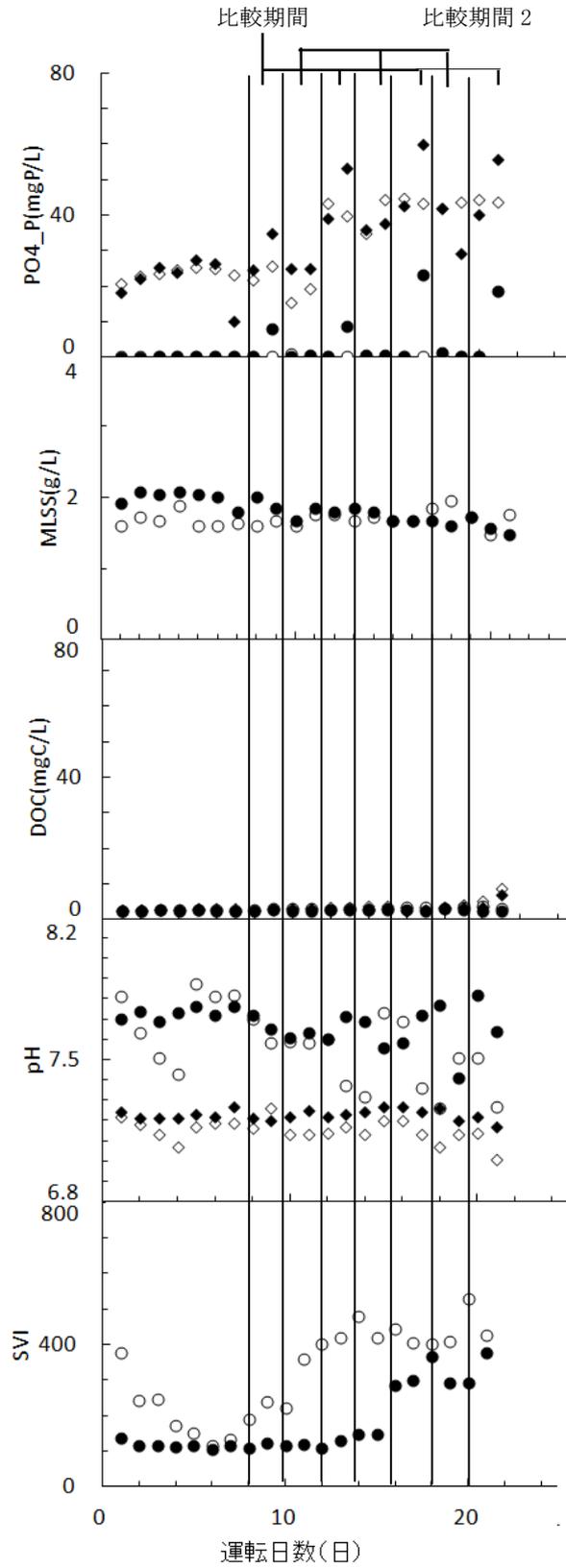
リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約 25mg/L であり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取しており、良好なリン除去が見られた。比較期間のリン酸濃度は、微量元素の添加停止 1 日後に嫌気反応終了時で上昇した。また微量元素の添加停止 2 日後に嫌気反応終了時のリン酸濃度は更に上昇して 35mg/L 程度になり、好気反応終了時のリン酸濃度も上昇して約 10mg/L 程度になった。比較期間 2 のリン酸濃度は、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに低下し、好気反応終了時では完全にリンを摂取していた。その後、同様の実験を 2 回繰り返したが、微量元素の添加停止 1 日目で嫌気反応終了時のリン酸濃度が上昇し、2 日目では嫌気反応終了時だけでなく、好気反応終了時のリン酸濃度も上昇するという結果を得られた。また、比較期間 2 で微量元素を再添加すると、嫌気反応終了時、好気反応終了時のリン酸濃度ともに低下した。一方、微量元素の添加を続けた対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 35mg/L、好気反応終了時では完全にリンを摂取していた。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は 2.0g/L 程度であった。比較期間の MLSS は、微量元素の添加を停止しても変化は見られなかった。また比較期間 2 においても、微量元素を再添加しても変化は見られなかった。しかし、微量元素の添加停止と再添加を繰り返していくうちに、徐々に低下していき、運転開始後 21 日目で 1.5g/L 程度になった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の MLSS は、常時 1.5g/L 程度を維持していた。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度であり、良好な有機物除去が行えていた。また比較期間、比較期間 2 の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度であり、微量元素の添加停止と再添加を繰り返したことによる影響は、見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度であり、良好な有機物除去を維持していた。

pHについて述べる。実験系では、準備期間のpHは、嫌気反応終了時で7.25程度、好気反応終了時は7.75程度だった。また比較期間、比較期間2のpHも、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに微増減を繰り返し、一貫した傾向は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系のpHは、嫌気反応終了時で7.15程度を維持していたが、好気反応終了時のpHは増減を繰り返した。

SVIについて述べる。実験系では、準備期間のSVIは、100弱を維持していた。比較期間、比較期間2のSVIも、微量元素の添加停止、再添加を繰り返しても、運転開始後15日目までは200を超えることはなかったが、運転開始後16日目以降は、300程度を維持していた。一方、微量元素の添加を続けた対照系のSVIは、運転開始1日目で400程度であったが、2日目以降は低下し続け、6日目で100程度になった。しかし、その後再び上昇し、運転開始後12日目以降は、400程度を維持していた。



### 5.3 第5章の考察

本章では、微量元素の再添加によるリン除去改善を検討した。本章の結果より、8種類の微量元素の添加を停止すると、添加停止 2 日目で嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度が上昇した。微量元素の添加停止から 2 日目で、リン除去が悪化することが分かった。加えて、微量元素の添加を 2 日間停止した後、微量元素の再添加をすると、1 日で嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度が低下した。微量元素の添加を 2 日間停止した後、微量元素を再添加すると、1 日でリン除去が改善することが分かった。

一方、微量元素の添加停止、再添加を繰り返しても、MLSS と DOC 濃度は、変化しなかった。微量元素の停止期間が 2 日間であれば、リアクター内の微生物量や有機物の摂取に及ぼす影響は少ないことが分かった。

同様に、微量元素の添加停止と再添加を繰り返しても、pH に変化は見られなかった。微量元素の停止期間が 2 日間であれば、嫌気条件下でのリン酸放出への影響は少ないことが分かった。

また微量元素の添加停止、再添加を繰り返したところ、SVI が上昇した。微量元素の添加停止と再添加を繰り返していくうちに、糸状性細菌が増殖した、もしくは微生物がフロックを形成できなくなったことが考えられる。

## 第6章 生物学的リン除去プロセスにおける 不足元素の特定

### 6.1 第6章の概要

本章では、生物学的リン除去プロセスに不足している微量元素の特定を行った。Run1からRun4の結果より、実験系で添加を停止した8元素のうち、全てもしくは一部が不足したため、リン除去が悪化したものと推察された。そのため、本章では、その不足元素の特定を試みた。運転期間のうち、最初の期間は準備期間として、実験系・対照系とも8種の微量元素を添加した人工下水で運転した。その後の期間は、比較期間として、実験系のみ微量元素の一部の添加を停止し、運転を継続した。対照系では、常時人工下水に8種類の微量元素を添加して運転した。

各リアクターの各Runの運転期間(Run5~Run10)は、2011年の9月~11月にかけて行った。Run2の結果より、微量元素の添加停止から2日でリン除去の悪化が見られたことから、実験系では運転開始後4日で添加する微量元素の種類を減らし、微量元素を減らしたことによる影響を十分に把握するため3日間運転した。

### 6.2. 実験結果

#### 6.2.1 Run5の実験概要

図6.1に示す通り、Run5は2011年8月20日から8月26日の7日間運転した。準備期間を4日間、比較期間を3日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は、B, I, Mn, Znのみである。

##### 6.2.1.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時のMLSS）を測定した。モニタリング結果を図6.1に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約35mg/Lであり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取していた。比較期間のリン酸濃度は、微量元素の変更2日目に嫌気反応終了時で約50mg/L、好気反応終了時で約10mg/Lまで上昇した。また変更3日目に好気反応終了時で約20mg/Lになった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約40mg/L程度、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。

MLSSについて述べる。準備期間では、実験系のMLSSは1.8g/L弱であった。比較期間のMLSSは、微量元素の変更3日目に1.5g/L程度まで低下した。一方、微量元素を変更しなかった対照系のMLSSは、常時1.8g/L程度を維持していた。

DOC濃度について述べる。準備期間では、実験系のDOC濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も2.0mg/L程度だった。また比較期間のDOC濃度も変化は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系のDOC濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに2.0mg/L程度を維持していた。

pHについて述べる。実験系では、準備期間のpHは、嫌気反応終了時で7.25程度、好気反応終了時は7.5程度だった。比較期間のpHは、嫌気反応終了時で7.35程度、好気反応終了時で7.6程度と微増した。一方、微量元素を変更しなかった対照系のpHは、嫌気反応終了時で7.15程度、好気反応終了時で7.25程度であり、安定していた。

SVIについて述べる。実験系では、準備期間、比較期間のSVIともに100程度を維持していた。一方、微量元素を変更しなかった対照系でも常時100程度と安定していた。

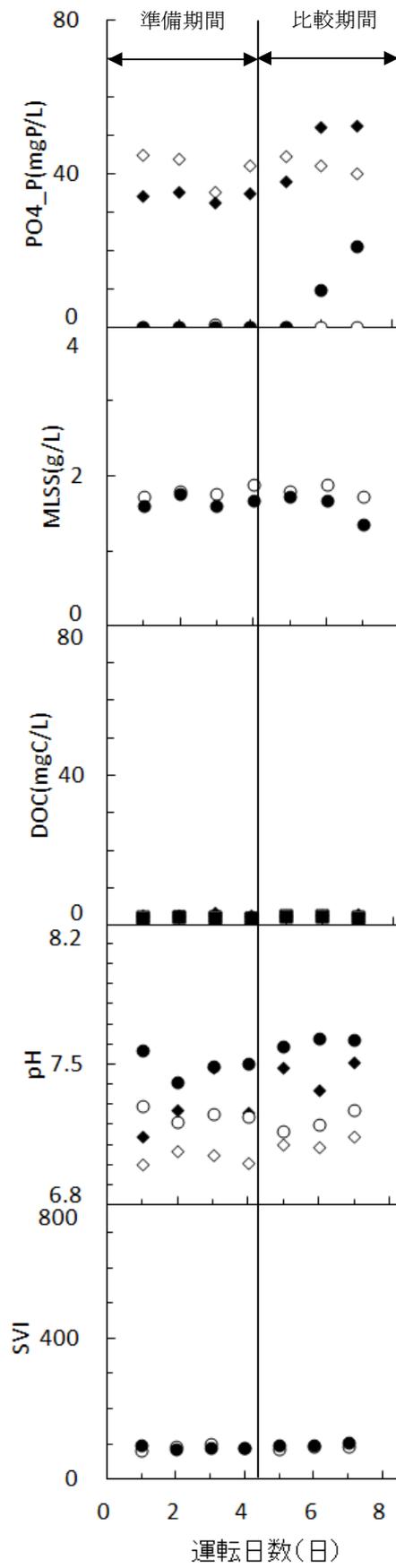


図 6.1Run5

## 6.2.2 Run6の実験結果

図 6.2 に示す通り、Run6 は 2011 年 8 月 30 日から 9 月 5 日の 7 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 3 日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は、Fe, Mo, Cu, Co のみである。

### 6.2.2.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 6.2 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約 40mg/L であり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取していた。また比較期間のリン酸濃度は、微量元素を変えた後も変化が見られなかった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 45mg/L 程度、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は 2.0g/L 弱であった。比較期間の MLSS は、徐々に低下していき、微量元素の変更 2 日目に 2.0g/L 以下になったが、3 日目に再び 2.0g/L 程度まで上昇した。一方、微量元素を変更しなかった対照系の MLSS は、常時 1.8g/L 程度を維持していた。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度だった。また比較期間の DOC 濃度も変化は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度を維持していた。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.3 程度、好気反応終了時は 7.6 程度だった。比較期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.4 程度、好気反応終了時で 7.6 程度と微増した。一方、微量元素を変更しなかった対照系の pH は、嫌気反応終了時で 7.1 程度、好気反応終了時で 7.3 程度であり、安定していた。

SVI について述べる。実験系では、準備期間、比較期間の SVI とともに 100 程度を維持していた。一方、微量元素を変更しなかった対照系でも常時 100 程度と安定していた。

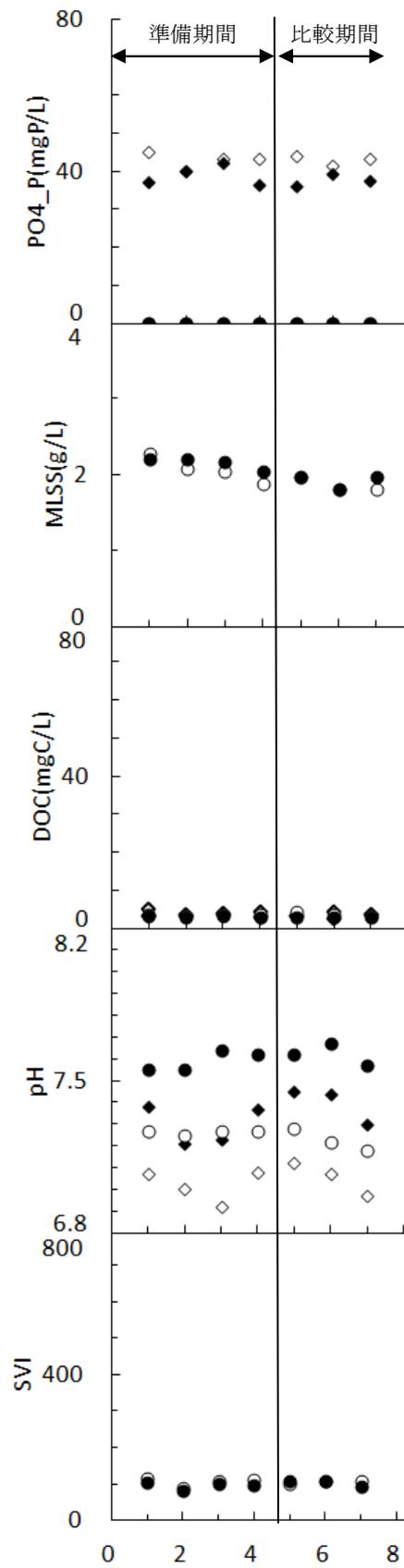


図 6.2 Run6

### 6.2.3 Run7の実験結果

図 6.2 に示す通り、Run6 は 2011 年 9 月 17 日から 9 月 23 日の 7 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 3 日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は、Fe, Mo である。

#### 6.2.3.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 6.3 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約 30mg/L であり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取していた。また比較期間のリン酸濃度は、微量元素を変えた後も変化が見られなかった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 40mg/L 程度、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は 2.0g/L 程度であった。比較期間の MLSS は、微量元素の変更 1 日目で 1.5g/L 程度まで低下した。一方、微量元素を変更しなかった対照系の MLSS も、運転開始 4 日目までは 2.0g/L 程度であったが、5 日目以降は 1.5g/L 程度を維持していた。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度だった。また比較期間の DOC 濃度も変化は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度を維持していた。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.25 程度、好気反応終了時は 7.9 程度だった。比較期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.2 程度、好気反応終了時で 7.8 程度であり、準備期間と比較してやや低下した。一方、微量元素を変更しなかった対照系の pH は、嫌気反応終了時で 7.05 程度、好気反応終了時で 7.3 程度であり、安定していた。

SVI について述べる。実験系では、準備期間、比較期間の SVI とともに 100 程度を維持していた。一方、微量元素を変更しなかった対照系は、運転開始直後は 100 程度を維持していたが、運転開始 3 日目で上昇し、4 日目で 200 弱まで上昇した。しかし、5 日目以降は再び低下し、100 程度を維持するようになった。

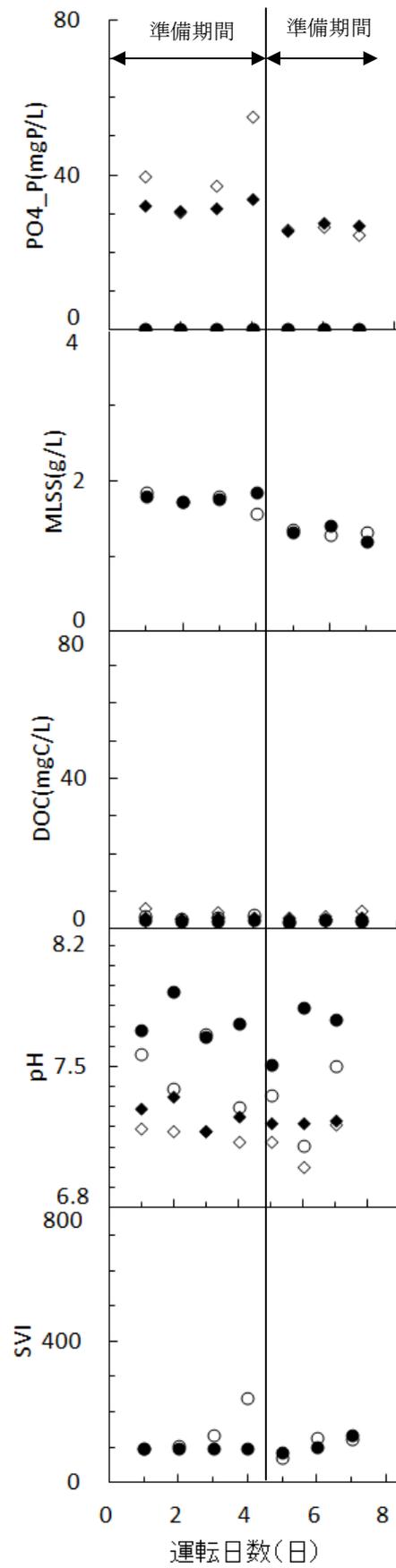


図 6.3 Run7

## 6.2.4 Run8の実験結果

図 6.4 に示す通り、Run8 は 2011 年 10 月 9 日から 10 月 16 日の 7 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 3 日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は、Cu, Co である。

### 6.2.4.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 6.4 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約 40mg/L であり、好気反応終了時においては完全にリンを摂取していた。比較期間のリン酸濃度は、微量元素の変更 2 日目に嫌気反応終了時で変化は見られなかったものの、好気反応終了時で約 5.0mg/L まで上昇した。また変更 3 日目に好気反応終了時で約 20mg/L になった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 40mg/L 程度、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。しかし、嫌気反応終了時のリン酸濃度は、運転開始 4 日目以降から徐々に低下し、6 日目で 25mg/L 程度まで低下したが、7 日目に再び 40mg/L 程度まで上昇した。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は運転開始 1 日目で 1.0g/L 弱であったが、2 日目に上昇し、3 日目で 1.5g/L 程度になった。比較期間の MLSS は、微量元素の変更 1 日目に上昇したものの、2 日目以降は低下し、3 日目で 1.0g/L 程度になった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の MLSS も、実験系と同様の挙動が見られた。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度だった。また比較期間の DOC 濃度も変化は見られなかった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度を維持していた。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.15 程度、好気反応終了時は運転開始 2 日目までは 7.5 程度、3 日目に 7.8 程度まで上昇したが、4 日目以降は低下し続けた。比較期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.1 程度、好気反応終了時で 7.3 程度だった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の pH は、嫌気反応終了時で 7.1 程度だったが、好気反応終了時で 6.9 から 7.5 の間を推移していた。

SVI について述べる。実験系では、準備期間の SVI は、運転開始後 2 日目までは 100 程度だったが、3 日目に 200 程度まで上昇した。比較期間の SVI も上昇を続け、微量元素の変更後 3 日目で 700 程度になった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の SVI は、常時 100 程度であった。

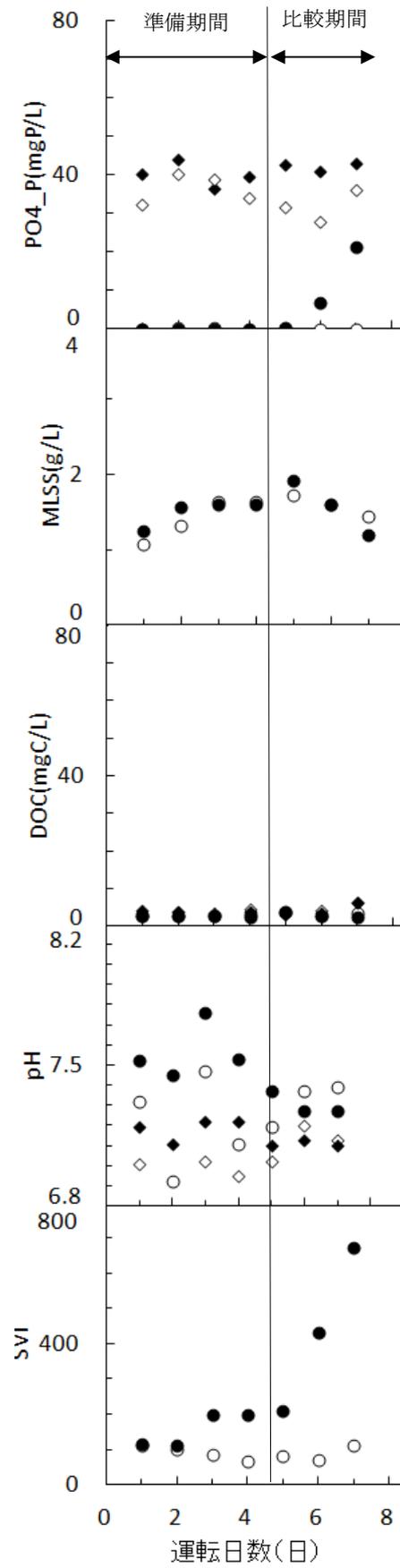


図 6.4 Run8

## 6.2.5 Run9の実験結果

図 6.5 に示す通り、Run9 は 2011 年 10 月 18 日から 10 月 24 日の 7 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 3 日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は、Fe のみである。

### 6.2.5.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 6.3 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間の嫌気反応終了時のリン酸濃度は、約 35mg/L であり、好気反応終了時には完全にリンを摂取していた。また比較期間のリン酸濃度は、嫌気反応終了時には変化が見られなかったが、好気反応終了時には微量元素を変えて 2 日目で上昇し、3 日目で 5mg/L 程度になった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系では、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 35mg/L 程度、好気反応終了時には完全にリンを摂取しており、良好なリン除去が見られた。また好気反応終了時のリン酸濃度が、運転開始後 4 日目に 5.0mg/L 程度まで上昇したが、5 日目以降では低下し、完全にリンを摂取していた。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は運転開始後 2 日目で 2.0g/L 弱だったが、3 日目に 1.5g/L 程度まで低下した。比較期間の MLSS は、微量元素を変更して 3 日目で 1.5g/L 以下まで低下した。一方、微量元素を変更しなかった対照系の MLSS も、実験系と同様、運転開始後 2 日目で 2.0g/L 弱だったが、3 日目に 1.5g/L 程度まで低下した。また運転開始 4 日目以降も低下し続け、7 日目で 1.0g/L 程度になった。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 2.0mg/L 程度だった。また比較期間の DOC 濃度も、微量元素の変更 2 日目までは変化が見られなかったが、3 日目に嫌気反応終了時で 10g/L 程度まで上昇した。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度も、嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 2.0mg/L 程度を維持していたが、運転開始 5 日目に嫌気反応終了時で上昇し、7 日目に 10g/L 程度になった。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.2 程度、好気反応終了時は 7.5 程度だった。比較期間の pH は、微量元素を変更して 1 日目から嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに低下し、3 日目に嫌気反応終了時で 7.1 程度、好気反応終了時で 7.2 程度になった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の pH は、嫌気反応終了時で 7.0 程度だったが、好気反応終了時には 7.0 から 7.3 の間を上下していた。

SVI について述べる。実験系では、準備期間の SVI は、200 程度を維持していた。比較期間では、微量元素を変更して 3 日目に 350 程度まで上昇した。一方、微量元素を変更しなかった対照系も、運転開始直後は 200 程度を維持していた。運転開始 3 日目から上昇し、5 日目に 300 程度になったが、7 日目に 200 以下まで低下した。

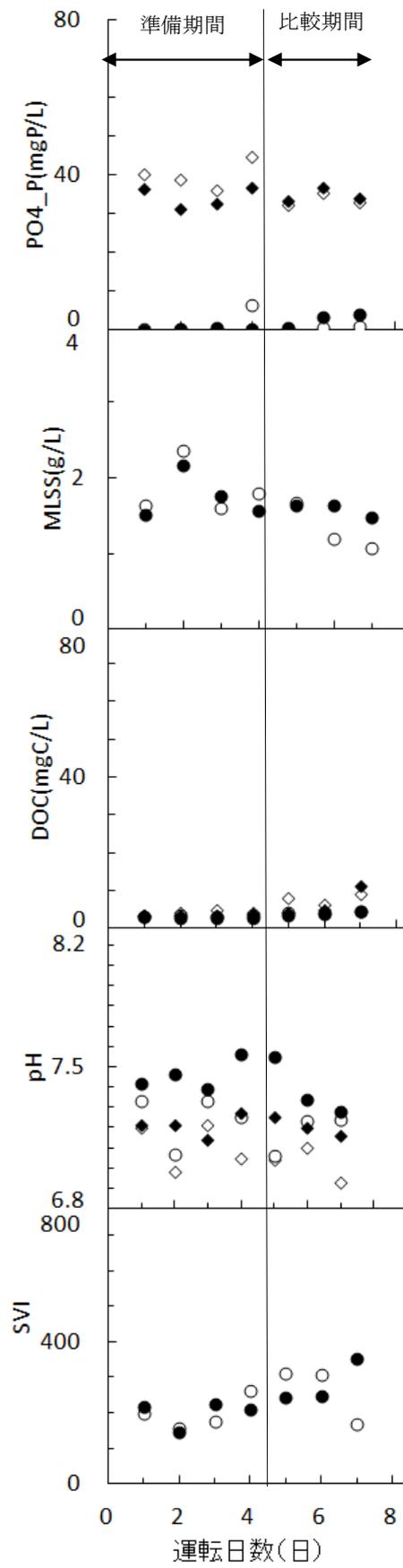


図 6.6 Run9

## 6.2.6 Run10の実験結果

図 6.6 に示す通り、Run8 は 2011 年 11 月 15 日から 11 月 25 日の 7 日間運転した。準備期間を 4 日間、比較期間を 3 日間として設定して運転を行った。また比較期間で用いた微量元素は Mo のみである。

### 6.2.6.1 リアクターの水質モニタリング結果

各項目の経日変化（嫌気反応終了時と好気反応終了時のリン酸濃度、DOC、及び好気終了時の MLSS）を測定した。モニタリング結果を図 6.4 に示す。

リン酸濃度について述べる。実験系では、準備期間のリン酸濃度は、運転開始 1 日目で嫌気反応終了時が 20mg/L 程度、好気反応終了時が 1.0mg/L 程度だった。その後、嫌気反応終了時、好気反応終了時のリン酸濃度ともに上昇し続け、4 日目に嫌気反応終了時が 30mg/L 程度、好気反応終了時が 5.0mg/L 程度になった。比較期間のリン酸濃度は、微量元素の変更 1 日目から嫌気反応終了時が低下し続ける一方、好気反応終了時は上昇し続け、変更 3 日目に嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 20mg/L 程度になった。一方、微量元素の変更をしなかった対照系は、嫌気反応終了時のリン酸濃度は約 20mg/L 程度、好気反応終了時は 5.0mg/L 程度だった。

MLSS について述べる。準備期間では、実験系の MLSS は 1.5g/L 程度だった。比較期間の MLSS は、微量元素の変更 1 日目から低下し続け、3 日目で 0.5g/L 程度になった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の MLSS は、1.0g/L 程度だったが、運転開始 7 日目に 1.5g/L 程度になった。

DOC 濃度について述べる。準備期間では、実験系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時も好気反応終了時も 5.0mg/L 程度だった。比較期間の DOC 濃度は、微量元素の変更 1 日目から嫌気反応終了時で上昇し続け、3 日目に 30mg/L 程度になった。一方、微量元素の添加を続けた対照系の DOC 濃度は、嫌気反応終了時で 10mg/L 程度、好気反応終了時で 5.0mg/L 程度を維持していた。

pH について述べる。実験系では、準備期間の pH は、嫌気反応終了時で 7.6 程度、好気反応終了時は 8.0 程度だった。比較期間の pH は、嫌気反応終了時では変化は見られなかったが、好気反応終了時には微量元素の変更 1 日目から低下し続け、3 日目に 7.5 程度になった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の pH は、運転開始 3 日目に嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 7.75 程度まで上昇したが、4 日目以降は嫌気反応終了時、好気反応終了時ともに 7.2 程度まで低下した。

SVI について述べる。実験系では、準備期間、比較期間の SVI ともに 700 程度であり、微量元素の変更後も変化は見られなかった。一方、微量元素を変更しなかった対照系の SVI は、300 から 600 の間を上下していた。

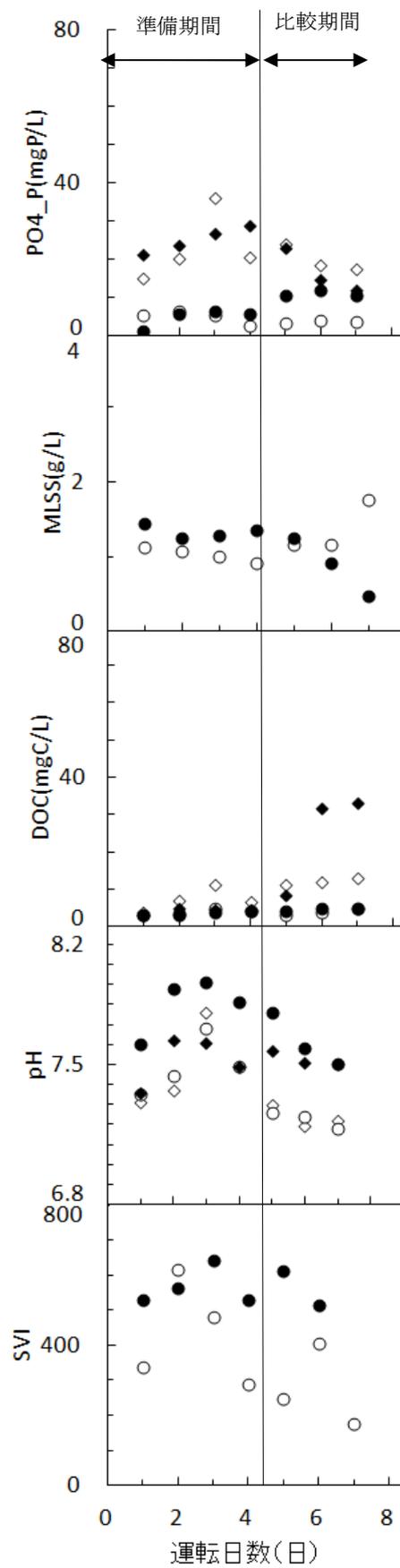


図 6.6 Run10

### 6.3 第6章の考察

本章では、生物学的リン除去プロセスにおける不足元素の特定を行った。本章の結果より、Cu、Co、B、I、Mn、Znの添加を停止しても、リン酸濃度は変化しなかった。一方、FeとMoの両元素の添加を停止すると、添加停止2日目で好気反応終了時のリン酸濃度が上昇した。また、Feのみを添加すると、好気反応終了時のリン酸濃度が若干上昇した。さらに、Moのみを添加すると、好気反応終了時のリン酸濃度が上昇した。この結果から、生物学的リン除去プロセスにおいて、FeとMoの両元素が不足すると、リン除去が悪化することが分かった。

またCu、Co、B、I、Mn、Znの添加を停止しても、MLSS、DOV、pH、SVIに影響が見られなかった。一方、FeとMoの両元素の添加を停止すると、添加停止3日目にMLSSが若干低下する傾向が見られたが、DOC、pH、SVIに影響は見られなかった。また、Feのみを添加すると、微量元素を変えて3日目でMLSSの低下、嫌気反応終了時のDOCの上昇、嫌気反応終了時のpHの低下、SVIの上昇が見られた。さらに、Moのみを添加した場合も、MLSSの低下、嫌気反応終了時のDOCの上昇、嫌気反応終了時のpHの低下が見られた。この結果から、FeとMoの両元素が不足すると、リアクター内の生物量、嫌気条件下での有機物摂取、汚泥の良好な沈降性を維持できなくなることも分かった。

## 第7章 総括

### 7.1 結論

本研究では、生物にとって必要であると考えられている微量元素が、生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。微量元素の不足によるリン除去悪化の検討、微量元素の再添加によるリン除去改善の検討、及び生物学的リン除去プロセスにおける不足元素の特定を行った。

第4章では、微量元素の不足によるリン除去悪化の検討を行った。8種類の微量元素の添加を約1週間停止したところ、添加停止数日後にリン除去が悪化した。また微量元素の添加を約1週間停止した後、微量元素を再添加しても、リン除去が改善しなかった。さらに、微量元素の添加停止後、もしくは微量元素の再添加後、リアクター内の微生物量の減少、嫌気条件下での有機物摂取量の減少、また汚泥の沈降性悪化などが起こった。第4章の研究結果により、本研究で使用した8種類の微量元素の全て、もしくは一部が、生物学的リン除去プロセスにおいて良好なリン除去を行うために必要であることが分かった。また8種類の微量元素の全て、もしくは一部が、リアクター内の微生物量の維持、嫌気条件下での有機物摂取、汚泥の良好な沈降性に必要であることも分かった。

第5章では、微量元素の再添加によるリン除去改善の検討を行った。8種類の微量元素の添加を2日間停止したところ、添加停止2日目でリン除去が悪化することが確認された。また微量元素の添加を2日間停止した後、微量元素を再添加すると、1日でリン除去が改善することが分かった。さらに、微量元素の添加停止と再添加を繰り返しても、リアクター内の微生物量、嫌気条件下での有機物摂取量などに影響は見られなかったが、汚泥の沈降性が悪化した。第5章の研究結果から、微量元素の添加停止期間が2日間である場合、微量元素を添加することで、悪化したリン除去を1日で改善できることが分かった。また微量元素の添加停止と再添加を繰り返しても、リアクター内の微生物量、嫌気条件下での有機物摂取などに及ぼす影響は少ないことも分かった。

第6章では、生物学的リン除去プロセスにおける不足元素の特定を行った。8種類の微量元素のうち、その一部の添加を停止したところ、FeとMoの両元素が不足すると、リン除去が悪化した。またFeとMoの両元素が不足すると、リアクター内の生物量、嫌気条件下での有機物摂取、汚泥の良好な沈降性を維持できなくなった。第6章の研究結果から、FeとMoの両元素が、生物学的リン除去プロセスに必要な微量元素であることが分かった。

本研究より、生物学的リン除去プロセスにおいて微量元素が不足すると、リン除去が行えなくなることが分かった。また微量元素を添加することにより、微量元素の不足に起因するリン除去の悪化を改善できることが分かった。さらに、本研究で使用した8種類の微量元素のうち、良好なリン除去を行うためにFeとMoが必要であることが分かった。これらの成果により、生物学的リン除去プロセスの不安定性の原因解明に資することができた。

### 7.2 今後の展望

本研究により、微量元素、その中でもFeとMoの不足が、生物学的リン除去プロセスにおけるリン除去悪化の一因であることを明らかにすることができた。しかし、微量元素と生物学的リン除去プロセスの関係が、全て明らかになったわけではない。本研究の結果を踏まえて、微量元素が生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響を解明するため、今後の展望を以下に述べる。

まず生物学的リン除去プロセスに必要な元素を完全に解明する必要がある。本研究では、8種類の微量元素を研究対象としたが、これら以外の元素の中にも生物学的リン除去に必要

な元素があるかもしれない。例えば、V は脂質の代謝を促進させ、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>-ATP アーゼの特異的調整因子とも考えられている。土壌中に比較的高濃度に含まれているため、合流式下水道の終末処理場から発生する下水汚泥中にも比較的多く含まれていることが多い微量元素である。また Ni は、核酸の安定化に必要であると考えられている。これらの微量元素が、生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響を検討する価値はあるだろう。

次に不足している微量元素の量を明らかにする必要がある。本研究の対照系では、常時微量元素を添加しながら運転を行ったが、それでもリン除去が不安定になることが何度か見られた。使用した人工下水中の微量元素濃度は、最も高い Fe で 93µg/L であったが、添加した微量元素の量が、良好なリン除去を行うために充分であったのか検討する必要がある。

また微量元素が、微生物に必要である理由を明らかにする必要がある。微量元素は、一般的に酵素活性において必要であると考えられているが、微量元素の中でもどのような元素が、微生物、とりわけポリリン酸蓄積細菌のどのような酵素活性の働きに必要なのか明らかにする必要がある。

さらに、実処理場において、微量元素の不足によるリン除去の悪化が起こっているのかを把握する必要もある。下水処理施設では、既定の微量元素以外は、測定していないことが多い。そのため、生物学的リン除去プロセスにおいて、不足するとリン除去悪化の一因となる微量元素を測定していない可能性がある。実処理場の下水中の微量元素を分析し、リン酸濃度と微量元素濃度の関係を明らかにすることができれば、微量元素の不足によるリン除去の不安定性を実処理場でも証明することができるかもしれない。

また、本研究では微量元素が生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響のみを対象としてきたが、ポリリン酸蓄積細菌のみならず、グリコーゲン蓄積細菌や糸状性細菌など、その他の細菌に及ぼす影響も把握することにより、微量元素が生物学的リン除去プロセスに及ぼす影響の全体像が明らかにすることができる。

これらの知見を集約して、微量元素が生物処理に及ぼす包括的な影響の理解が進むことにより、生物学的リン除去プロセスのメカニズムの解明、さらには安定的・効率的な生物学的リン除去プロセスの構築が可能になる。

## 謝辞

本研究は、私の修士課程 2 年間の研究成果をまとめたものです。2 年間の修士課程では、学内外を問わず大勢の方に御協力していただいたおかげで、本論文を完成させることができました。多くの方の御世話になりましたことを、この場を借りて深く御礼申し上げます。

まず指導教官である佐藤弘泰准教授は、研究計画の立案から、実験方法の教授、論文の執筆、発表に至るまで研究の全てにおいて御指導して下さいました。私は、他専攻から進学したため、研究分野の知識や経験が不足していたので、研究計画の立案や実験結果に対する考察に苦勞をしていました。そんな私に対しても、佐藤先生は私を見捨てることなく辛抱強く御教授して下さいました。また私は、2 年間の研究生生活でリアクターの運転トラブルや実験の失敗に何度も直面しました。そのようなときにも、トラブルシューティングの方法や心構えを教えて下さいました。佐藤先生は、私の研究能力やエンジニアとしての心構えを鍛えて下さったことはもちろん、私をこの研究室に受け入れて下さったことを心より御礼申し上げます。

副査の味埜俊教授は、研究に対する考え方や論文執筆、研究発表で御指導して下さいました。私が知らなければならないリアクターの構造を知らなかったときや、行うべき水質分析を行っていなかったときも、これらの見落としとしていた点を御教授して下さいました。また私が、先生や企業との連絡で不手際があったときも、どうするべきであったか等の社会人としての心構えを教えて下さりました。味埜先生は、私の研究の御指導だけでなく、これから社会に出ることを見据えた御指導をして下さったことを感謝致します。

副指導教官の鯉渕幸雄講師は、御専門の沿岸環境という観点から御指導して下さいました。どうしても下水処理という観点から下水道における研究や水質改善を考えてしまう私に対して、下水道で行える研究の中でも下水処理以外の研究や、沿岸で行っている水質改善のお話などをして下さりました。また鯉渕先生は、日頃から私の研究の進捗を聞いて下さったり、御自身が取り組んでおられる研究をお話しして下さいたりと、何かと気にかけていただきました。他研究室の学生である私に対して御厚意にいただいたことを御礼申し上げます。

また本研究を行うにあたり、先生方以外の方たちにも大変お世話になりました。

栗村光一様（東京都下水道局建設部土木設計課）は、東京都下水道局の事業内容についてお話しして下さいました。栗村様は、本研究のテーマである微量元素が生物脱リンに及ぼす影響について、下水道局でも知られていないことを教えて下さりました。また下水処理施設で分析されている微量元素や、下水汚泥の再利用のお話もして下さいました。

当研究室の卒業生である高畠寛生様（東レ株式会社）、末岡一男様（新日本製鐵株式会社）、新井俊介様（新日本製鐵株式会社）、金井佑樹様（オルガノ株式会社）、東友子様（日鉄環境エンジニアリング株式会社）は、エンジニアとして微量元素が活性汚泥に及ぼす影響について御存知であることを教えて下さいました。また私が研究と就職活動の両立や、研究計画で悩んだときにも親身になって相談に乗って下さりました。

北島正章様（アリゾナ大学）は、研究計画の立案から研究方法について助言を下さりました。また私が学会発表を行った時も、研究内容やポスターの構成についても貴重な意見を下さりました。

当研究室の先輩方にもお世話になりました。博士課程 3 年の李寧さんは、水質分析と微生物解析の方法や専門知識を母国語ではない日本語で何度も教えて下さいました。博士課程 2 年の石維さんは、TOC 分析の方法を教えて下さったり、私がリアクターの運転トラブルに直面した時も一緒になって考えて下さったりしました。博士課程 1 年の蘇濤さんは、私より半年後に当研究室に入学されましたが、私が就職活動をしていた時は、私に代わって

リクアターの運転管理を下さりました。

当研究室の後輩である北川力君、片岡良将君、桑江英将君は、優秀であることはもちろん、素直で明るい性格であったので、彼らが当研究室に入学してくれたおかげで、研究に足を運ぶことが一段と楽しくなりました。

同期の西村星五君、鯉淵研究室の比嘉紘士君と古屋秀基君、辻研究室の松本優衣さんは、公私ともにお世話になりました。彼らとは、研究の相談をしたり、一緒に遊んだりしましたが、私の大学院生活が充実していたのは、彼らのおかげです。学友と呼ぶに相応しい同期と出会えたことを大変光栄に思います。

最後に、還暦を迎えても私を大学院に通わせてくれた父、仕事と家庭を両立しながら私の面倒を見てくれた母に感謝の意を表します。

## 参考文献

---

### 英文

- Barat, R., Montoya, T., Borrás, L., Seco, A. and Ferrer, J. (2006) Calcium effect on enhanced biological phosphorus removal. *Water. Sci. Technol.* 53(12): 29-37.
- Barnard, J.L. (1975) Biological nutrient removal without the addition of chemicals. *Water Res.* 9:485-490.
- Blackall, L.L., Seviour, E.M., Bradford, D., Rossetti, S., Tandoi, V. and Seviour, R.J. (2000) *Candidatus Nostocoida limicola*, a filamentous bacterium from activated sludge. *Int J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 703-709.
- phosphate-removing and non-phosphate-removing activated sludge from sequencing batch reactors, *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1910-1916.
- Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M.C.M., Hooijmans, C.M., Alaerts, G.J. and Heijnen, J.J. (1997) Temperature effects on physiology of biological phosphorus removal. *J. Environ. Eng.-ASCE* 123 (2): 144\_153.
- Brdjanovic, D., Logemann, S., Van Loosdrecht, M.C.M., Hooijmans, C.M., Alaerts, G.J. and Heijnen, J.J. (1998a) Influence of temperature on biological phosphorus removal: process and molecular ecological studies. *Water Res.* 32: 1035\_1048.
- Cech, J.S. and Hartman, P. (1990) Glucose induced break down of enhanced biological phosphate removal. *Environ. Technol.* 11: 651\_656.
- Crocetti, G.R., Banfield, J.F., Keller, J., Bond, P.L. and Blackall, L.L. (2002) Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. *Microbiology* 148: 3353\_3364.
- Filipe, C.D.M., Daigger, G.T. and Grady, C.P.L. (2001a) Effects of pH on the rates of aerobic metabolism of phosphate-accumulating and glycogen-accumulating organisms. *Water Environ. Res.* 73: 213-222.
- Filipe, C.D.M., Daigger, G.T. and Grady, C.P.L. (2001b) pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating and phosphate-accumulating organisms. *Water Environ. Res.* 73:223-232.
- Hanada, S., Liu, W.T., Shintani, T., Kamagata, Y. and Nakamura, K. (2002) *Tetrasphaeraelongata* sp. nov., a polyphosphate-accumulating bacterium from activated sludge. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 883-887.
- Hesselmann, R.P.X., Werlen, C., Hahn, D., van der Meer, J.R. and Zehnder, A.J.B. (1999) Enrichment, phylogenetic analysis and detection of a bacterium that performs enhanced biological phosphate removal in activated sludge. *Syst. Appl. Microbiol.* 22:454-465.
- Imai, H., Endoh, K. and Kozuka, T. (1988) Magnesium requirement for biological removal of phosphate by activated sludge. *J. Ferment. Technol.* 66: 657-666.
- Jeon, C.O. and Park, J.M. (2000) Enhanced biological phosphorus removal in a sequencing

batch reactor supplied with glucose as a sole carbon source. *Water Res.* 34: 2160-2170.

Jeon, C.O., Lee, D.S., Lee, M.W. and Park, J.M. (2001) Enhanced biological phosphorus removal in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor: effect of pH. *Water Environ. Res.* 73: 301-306.

Kawaharasaki, M., Kanagawa, T., Tanaka, H. and Nakamura, K. (1998) Development and application of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probe for detection of the phosphate-accumulating bacterium *Micrococcus phosphorus* in an enhanced biological phosphorus removal process. *Water Sci. Technol.* 37(4-5): 481-484.

Kong, Y.H., Beer, M., Rees, G.N. and Seviour, R.J. (2002a) Functional analysis of microbial communities in aerobic-anaerobic sequencing batch reactors fed with different phosphorus/carbon (P/C) ratios. *Microbiology* 148: 2299-2307.

Kong, Y., Nielsen, J.L. and Nielsen, P.H. (2004) Microautoradiographic study of Rhodocyclus-related polyphosphate-accumulating bacteria in full-scale enhanced biological phosphorus removal plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 5383-5390.

Kong, Y.H., Nielsen, J.L. and Nielsen, P.H. (2005) Identity and ecophysiology of uncultured actinobacterial polyphosphate-accumulating organisms in full-scale enhanced biological phosphorus removal plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4076-4085.

Kuba, T., Wachtmeister, A., Vanloosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J. (1994) Effect of nitrate on phosphorus release in biological phosphorus removal systems. *Water Sci. Technol.* 30(6): 263-269.

Liu, W.T., Nielsen, A.T., Wu, J.H., Tsai, C.S., Matsuo, Y. and Molin, S. (2001) In situ identification of polyphosphate- and polyhydroxyalkanoate-accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process. *Environ. Microbiol.* 3: 110-122.

Maszenan, A. M., Seviour, R. J., Patel, B. K. C., Janssen, P. H. and Wanner, J. (2005) *Deffluvicoccus vanus* gen. nov. sp. nov., a novel Gram-negative coccus/coccobacillus in the Alphaproteobacteria from activated sludge. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 2105-2111.

Meyer, R.L., Saunders, A.M. and Blackall, L.L. (2006) Putative glycogen accumulating organisms belonging to Alphaproteobacteria identified through rRNA-based stable isotope probing. *Microbiology* 152: 419-429.

Mino, T., Liu, W.T., Kurisu, F. and Matsuo, T. (1995) Modeling glycogen storage and identification capability of microorganisms in enhanced biological phosphate removal process. *Water Sci. Tech.* 31(2): 25-34.

Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J. (1998) Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Res.* 32: 3193-3207.

Nakamura, K., Hiraishi, A., Yoshimi, Y., Kawaharasaki, M., Masuda, K. and Kamagata, Y. (1995a) *Micrococcus phosphorus* gen. nov., sp. nov., a new gram-positive polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sludge. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 45: 17-22.

Oehmen, A., Lemos, P. P., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Lind, L., Reis, M.A.M. (2007) Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Res.* 41: 2271-2300

Oehmen, A., Vives, M.T., Lu, H., Yuan, Z. and Keller, J. (2005a) The effect of pH on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Res.* 39: 3727\_3737.

Oehmen, A., Yuan, Z.G., Blackall, L.L. and Keller, J. (2005b) Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnol. Bioeng.* 91(2): 162\_168.

Oehmen, A., Saunders, A.M., Vives, M.T., Yuan, Z. and Keller, J. (2006) Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *J. Biotechnol.* 123: 22\_32.

Panswad, T., Doungchai, A., Anotai, J. (2003) Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Res.* 37: 409\_415.

Rickard, L.F. and McClintock, S.A. (1992) Potassium and magnesium requirements for enhanced biological phosphorus removal from wastewater. *Water Sci. Technol.* 26: 2203-2206.

Schuler, A.J. and Jenkins, D. (2002) Effects of pH on enhanced biological phosphorus removal metabolisms. *Water Sci. Technol.* 46 (4\_5): 171\_178.

Serafim, L.S., Lemos, P.C. and Reis, M.A.M. (2002) Effect of pH control on EBPR stability and efficiency. *Water Sci. Technol.* 46 (4\_5): 179\_184.

Seviour, R.J., Mino, T. and Onuki, M. (2003) The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiol. Rev.* 27: 99-127.

Spring, S., Wagner, M., Schumann, P. and Kämpfer, P. (2005) *Malikia granosa* gen. nov., sp. nov., a novel polyhydroxyalkanoate- and polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sludge, and reclassification of *Pseudomonas spinosa* as *Malikia spinosa* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Bacteriol.* 55: 621-629.

Stante, L., Cellamare, C. M., Malaspina, F., Bortone, G. and Tilche, A. (1997) Biological phosphorus removal by pure culture of *Lamproedia* spp. *Water Res.* 31:1317-1324.

Wagner, M., Erhart, R., Manz, W., Amann, R., Lemmer, H., Wedi, D. and Schleifer, K.-H. (1994) Development of an rRNA-targeted oligonucleotide probe specific for the genus *Acinetobacter* and its application for in situ monitoring in activated sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 792-800.

Whang, L.M. and Park, J.K. (2002) Competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in biological phosphorus removal systems\_effect of temperature. *Water Sci. Technol.* 46(1-2): 191\_194.

Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamagata, Y. and Nakamura, K. (2003) *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. *Int. J. Syst. E vol. Microbiol.* 53:1155-1163.

## 和文

小貫元治, 味埜俊, 佐藤弘泰(2005), 生物学的リン除去プロセスにおける微生物群集構造: 現状

と展望, 水環境学会誌 8月号 479-483

宇田直樹, 小貫元治, 佐藤弘泰, 味埜俊(2005) 実処理場に存在するポリリン酸蓄積細菌の FISH 法による群集解析, 第 40 回日本水環境学会年会 講演集, 469

金澤孝文(1997), リン - 謎の元素は機能の宝庫

栗田工業株式会社(2006), 入門ビジュアルテクノロジーよくわかる水処理技術

産業用水調査会(1996), 図説微生物による水質管理

社団法人土木学会(2008), 環境工学の新世紀

社団法人日本下水道協会(1997) 下水道試験方法(上巻)

社団法人日本下水道協会(1997) 下水道試験方法(下巻)

末石富太郎, 中島重旗(1980), 衛生工学入門 - 上下水道・廃棄物処理 -

須藤隆一(1998), 環境微生物工学実験法

田宮信雄, 八木達彦(1988), コーン・スタンプ生化学

中村和憲(1998), 環境と微生物, 産業図書

西村雅吉(1991), 環境化学

服部勉(1998), 微生物を探る

福島寿和(2003), 生物学的リン除去プロセスにおける微生物群集解析-炭素源の種類による群集構造の差異に関する検討-, 東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻社会文化環境コース修士論文

藤田正憲, 池道彦(2006), バイオ環境工学

堀越弘毅, 井上明(2006), ベーシックマスター微生物学

松尾友矩(1999), 大学土木水環境工学

松尾吉高(1997), 生物脱リン法の最適運転方法に関する研究, 157-161

室伏きみ子, 関啓子(2003), Brock 微生物学

山口潤一郎(2007), よくわかる最新元素の基本と仕組み