

氏 名	柿 井 一 男
授 与 学 位	工 学 博 士
学位授与年月日	平成 2 年 1 月 10 日
学位授与の根拠法規	学位規則第 5 条第 2 項
最 終 学 歴	昭 和 50 年 3 月 東北大学大学院理学研究科化学第二専攻 修士課程修了
学 位 論 文 題 目	活性汚泥および汚泥構成細菌の凝集と沈降に 関する研究
論 文 審 査 委 員	東北大学教授 野池 達也 東北大学教授 佐藤 敦久 東北大学教授 澤本 正樹 東北大学教授 野澤 庸則

論 文 内 容 要 旨

排水処理は不溶化・固液分離技術と言われ、生物処理法は可溶性有機物の生物体への転換と不溶化生物体の処理水からの分離に尽きると言ってもよい。このうち、活性汚泥法は処理条件が適切でその機能が安定していれば大量の排水を高度に浄化できるため、下水の二次処理や工場排水処理などに広範に利用されている。

活性汚泥とは、通常、細菌および原生動物を主体とする一見泥状の不定形の凝集体（フロック）である。活性汚泥法では、吸着・酸化・沈殿の単位操作が各々の目的に従いながら、円滑にバランスして行われるように管理することが重要であり、良好な処理水を得るには、活性汚泥が処理水から十分に沈降分離されなくてはならない。従って、汚泥の凝集性・沈降性の良否が最も重要な操作因子である。

活性汚泥の凝集機構として今までに諸説が提出されているが、光学顕微鏡で汚泥表面にゼラチン状の粘質物が観察され、実際にタンパク質、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）および多糖から成る粘質物が汚泥から抽出されるため、この粘質物説が一般的に受け入れられている。しかしながら、汚泥の性状とこれらの細胞外高分子の関連性を詳しく研究した例は少ない。また、これらの細胞外高分子がカルボキシル基やリン酸基を有するアニオン性高分子であることを考慮すると、陽イオンである金属イオンが汚泥の性状と密接に係っているものと予想される。しかしながら、この様な方向からの研究例は無きに等しく、むしろ活性汚泥の処理・処分の面から汚泥中の有害金

属を測定したり、汚泥による重金属の吸着除去および汚泥に及ぼす重金属の毒性効果を調べた例が多い。

一方、活性汚泥の凝集機構を説明するため、その主たる構成員である細菌に焦点を絞った研究もなされている。今まで、タンパク質、ムコ多糖、セルロースおよび DNA などの生体高分子が細菌の凝集の原因物質である例が報告されており、これは細菌の凝集機構の多様性を示すものであった。しかしながら、活性汚泥を構成する細菌相は一般に複雑であり、活性汚泥の凝集を細菌による凝集で満足に説明するには至っていない。

活性汚泥法が開発されて70有余年が経過し、この間数々の変法が開発されているにもかかわらず、維持・管理といった応用面が先行し、活性汚泥の凝集および沈降についての基礎的な理解が十分に得られたとは言い難い。

本研究は上述の認識に基づき、一般都市下水ならびに工場排水を処理している活性汚泥を対象とし、その凝集と沈降に関する基礎的理解を深めることを目的とした。

本研究は、一方では、活性汚泥の細胞外高分子である粘性物および汚泥中の金属イオンに着目し、これらが実際の汚泥の凝集性や沈降性にどのような役割を演じているのかについて検討を加え、もう一方では、活性汚泥から多価金属イオンで凝集する細菌を選択的に分離し、分離菌株の分類と同定を行うと共に、その凝集機構について検討を加えたものである。

本論文は全7章から構成されている。

第1章「総論」

第2章「活性汚泥ならびに細菌の凝集と沈降」

第3章「下水活性汚泥の凝集に及ぼす金属イオンの役割」

第4章「下水活性汚泥から抽出される粘質物多糖の特徴」

第5章「活性汚泥の沈降性に及ぼす細胞外高分子の役割」

第6章「下水活性汚泥から分離した凝集性細菌とその凝集機構」

第7章「総括および結論」

である。

第1章「総括」では、本研究の意義と目的について述べている。

第2章「活性汚泥ならびに細菌の凝集と沈降」では、まず、活性汚泥の微生物相、汚泥フロックの物理化学的構造、汚泥の沈降性に関係する支配因子を示し、沈降性悪化の代表である糸状性バクテリアとその制御についての過去の研究経過を整理した。続いて、活性汚泥ならびに細菌の凝集に関する既往の研究成果をまとめ、最後に、本研究を取り上げるに至った必然性をまとめている。

第3章「下水活性汚泥の凝集に及ぼす金属イオンの役割」では、下水汚泥に含まれている金属イオンが汚泥の性状に如何に関係しているかを明らかにすることを目的とし、まず、汚泥中の金属の詳細な定量分析を行い、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} が1～3%と高濃度で含まれていることを明らかにした。次に、有機的な表面状態を変化させずに、これらの金属イオンを抽出する条件を検討し、pH 3の弱酸性条件が Ca^{2+} の選択的な抽出に適し、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)の添加が Al^{3+} と Fe^{3+} の抽出に有効であることを示した。こうして金属の除かれた汚泥を調質し、この汚泥混合

液に Na^+ 、 Ca^{2+} または Fe^{3+} を添加してその効果を調べるという再構成的手法を用い、下水汚泥の凝集に及ぼす金属イオンの役割を検討した。これより、 Ca^{2+} と Fe^{3+} は下水汚泥の凝集ばかりでなく、圧密化にも重要な役割を果しており、特に Fe^{3+} が有機物を不溶化して汚泥に強く捕捉することに役立っていることを明らかにした。

第4章「下水活性汚泥から抽出される粘質物多糖の特徴」では、下水汚泥の表面を覆っている細胞外高分子（粘質物）の1つの成分である多糖について、一般的な物理化学的性質と構成糖組成を調べ、その特徴を明らかにすることを目的とした。ゲルろ過ならびに陰イオン交換クロマトグラフィーでの吸着挙動から、この多糖は少なくとも 10^5 ダルトンの分子量を有する酸性多糖であること、酸加水分解条件の検討から、Dowex50W (H⁺型) の存在下において、 $0.05\text{NH}_2\text{SO}_4$ 中で48時間加水分解する条件が中性糖および酸性糖の定量分析に最適であることを示した。

下水活性汚泥の粘質物多糖はいずれもメチルペントース（ラムノース、フコース）、ペントース（アラビノース、キシロース）、ヘキソース（マンノース、ガラクトース、グルコース）、アミノ糖およびウロン酸から成り、その主な構成糖はラムノース（12～18%）、マンノース（14～21%）、ガラクトース（16～19%）およびグルコース（15～23%）であった。この多糖の糖組成は、異なる起源の下水汚泥について極めて類似しており、また同一起源の下水汚泥についても季節的に大きく変化するものではなかった。以上のことより、下水活性汚泥は都市下水に含まれる特有の有機性基質とその培養条件に馴養されているため、汚泥構成細菌が年間を通じてある独特の細菌相を形成しており、これが酸性ヘテロ多糖である粘質物多糖に反映されたものと結論した。

第5章「活性汚泥の沈降性に及ぼす細胞外高分子の役割」では、起源の異なる各種活性汚泥を用い、その沈降性と細胞外高分子量との関連性を明らかにすることを目的とした。

まず、各種活性汚泥について細胞外高分子を分析し、細胞外高分子量と汚泥容量指標（SVI）との関連性を調べた。これにより、汚泥のSVIは概して細胞外高分子量に依存して直線的に増大することを示した。

また、陽イオン性界面活性剤であるセチルトリメチルアンモニウムブロミド（CTAB）や酸の添加が30分間静置後の活性汚泥沈澱率（ SV_{30} ）を大きく低下させるという新しく見出した事実に基づいて、汚泥の沈降性に及ぼす細胞外高分子の役割を定量的に評価する方法を提案した。この原理は、 SV_{30} の減少率を次式のように定義し、これを細胞外高分子量と関連づけるというものである。（但し、汚泥濃度は SV_{30} で約30%とした。）

$$\text{SV}_{30}\text{の減少率}(\%) = (\text{SV}_{30}^0 - \text{SV}_{30}) \times 100 / \text{SV}_{30}^0$$

ここで、 SV_{30}^0 ：コントロールの SV_{30}

SV_{30} ：1 mM の CTAB 添加後または酸性条件下（pH 2）における SV_{30}

各種汚泥について、CTAB と酸は SV_{30} の減少に対して同等の作用を示し（相関係数0.88）、これらによる SV_{30} の減少率と細胞外高分子量との間に高い相関係数（0.72～0.75）を得、本法の有効性を示した。

この CTAB または酸の添加による SV_{30} の大きな減少は汚泥表面の細胞外高分子層の脱水・収縮によるフロック密度の増加と二次的フロックへの会合による汚泥界面沈降速度の増加であることを

汚泥湿重量の測定およびフロックの顕微鏡観察から説明した。更に、CTABおよび酸による大きな脱水効果は炭素鎖長16の長いアルキル側鎖の疎水性効果と汚泥の等電点によることも明らかにした。

第6章「下水活性汚泥から分離した凝集性細菌とその凝集機構」では、市販のタンパク質分解酵素であるアクチナーゼEおよびキレート試薬であるEDTAを汚泥解体剤として用い、下水汚泥を構成する凝集性細菌の選択的分離を行い、その分類・同定と凝集機構を明らかにすることを目的とした。

分離された菌株はいずれもポリペプトン培地における凝集に低濃度の Ca^{2+} を要求する Ca^{2+} 依存性フロック形成菌であった。菌学的性質から、これらの菌株は腸内細菌科に属する *Kluyvera cryocrescens*, *Enterobacter* 属細菌, *Citrobacter freundii* とビブリオ科に属する *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* であると同定された。

これらの菌株のフロックは分離源である下水中では極めて安定であり、いずれの菌株も下水中に含まれている濃度と同程度の Ca^{2+} (約 $20\text{mg}/\ell$) のみで、またはこの Ca^{2+} と低濃度で添加された Na^+ との共同効果により著しく凝集した。下水は Ca^{2+} 以外に多種多様の溶存性の陽イオンを含んでおり、凝集に適したある種のイオン雰囲気を形造っているため、本研究で分離された細菌は下水中で安定なフロックを形成しているものと結論した。

第7章「総括および結論」では、本論文で得られた成果のまとめを行っている。

以上、活性汚泥の表面を覆っている含水率に富む高分子ゲルマトリックス量が汚泥の沈降性を決定する大きな支配因子であることを明らかにした。従って、活性汚泥法における有機性排水処理においてその処理効率を更に向上させるためには、このゲルマトリックス量をできうる限り減少させ、汚泥を沈降性・圧密性に優れた状態に調質することが重要であり、本研究に関する今後の応用課題として期待される。

審査結果の要旨

有機性排水処理法である活性汚泥法において、汚泥の凝集性および沈降性は最も重要な操作因子である。凝集の原因物質と考えられる細胞外高分子粘性物質および活性汚泥構成細菌の細菌相と凝集性に関しては、詳細な研究が行われていない。本論文では、活性汚泥法の処理効率の向上のために、活性汚泥の沈降性および凝集機構について、細胞外高分子物質および細菌相を中心に基礎的検討を行ったもので、全編7章よりなる。

第1章は総論である。

第2章では、活性汚泥の微生物相、汚泥フロクの物理化学的構造および汚泥の沈降性を支配する因子を示すと共に、活性汚泥および細菌の凝集に関する既往の研究成果をまとめ、本研究を行うに至った必然性について論じている。

第3章では、下水活性汚泥に含有する Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} の定量分析を行い、有機的な表面状態を変化させずにこれらの金属イオンを抽出・除去し、金属を除いた活性汚泥に Na^+ 、 Ca^{2+} および Fe^{3+} を添加する再構成的手法により、下水活性汚泥の凝集に及ぼす金属イオンの役割について検討し、 Ca^{2+} と Fe^{3+} は下水活性汚泥の凝集のみでなく、圧密にも重要な役割を果たすことを明らかにした。これは新しい知見である。

第4章では、下水活性汚泥の表面を覆っている細胞外高分子物質の構成糖類組成を調べ、この多糖類は少なくとも分子量 10^5 ダルトンを有する酸性ヘテロ多糖類であることを明らかにした。これも新しい知見である。

第5章では、起源の異なる活性汚泥について、細胞外高分子物質と汚泥容量指標 (SVI) との関連性を検討すると共に、陽イオン性界面活性剤であるセチルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB) および酸の添加が30分沈降率 (SV_{30}) を著しく減少させる原因を究明すると共に、汚泥の沈降性に及ぼす細胞外高分子物質の役割の定量的評価方法を提示した。これは有用な成果である。

第6章では、タンパク質分解酵素であるアクチナーゼEおよびキレート試薬であるEDTAを汚泥分解剤として用い、下水活性汚泥を構成する凝集性細菌の選択的分離および同定を行い、下水中の Ca^{2+} および Na^+ 等の陽イオンが細菌のフロク形成に及ぼす役割を明らかにした。これは重要な知見である。

第7章は結論である。

以上要するに本論文は、活性汚泥の表面を覆う細胞外高分子物質が汚泥の沈降性を支配する重要な因子であり、処理効率の向上のためには、細胞外高分子物質含有量の少ない汚泥への調質が重要であることを示したもので衛生工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として合格と認める。