

内生呼吸の促進による添加有機物を削減する脱窒と汚泥消化を兼ね備えた排水処理リアクターの開発

岐阜工業高等専門学校 環境都市工学科

角野 晴彦

1. はじめに

本研究の目的は、排水処理の脱窒過程において、内生呼吸を利用して、添加有機物と余剰汚泥の削減、他槽の余剰汚泥消化を実現できる散水ろ床型の AnDHS (anoxic down-flow hanging sponge) リアクターの開発である。この開発は、排水処理分野において、カーボンニュートラルや維持管理低減に貢献できる。

内生呼吸とは、汚泥自身を有機源として酸化することで、外部から有機源を不要で従属栄養的に反応し、汚泥の自己分解（消化）が期待できる。本研究で取り扱う内生呼吸は、酸化に O_2 （溶存酸素）ではなく、 NO_3^- を用いるため、以降、内生脱窒と呼ぶ。AnDHS リアクターは、排水を移流（重力）で生物膜内に届けることができる。よって、内部の微生物と排水の接触が増え、内生脱窒が進行すると考えた。

2. 実験方法

(1) 実験装置

図 1 に AnDHS リアクターの概略を示す。カラムは、直径 12 cm、高さ 160 cm とした。カラム内部は、窒素ガスを満たし無酸素状態にした。担体は、直径 3 cm、高さ 3 cm の PP 製リングにスポンジを詰め込んだものを用いた。充填した担体は、充填個数 136 個、充填高さ 120 cm、保水容積 2.3 L とした。

(2) 連続処理

排水は、 NO_3^- 排水 (NO_3^- 30 mgN/L)、汚泥排水 (SS 1000 mg/L) とし、脱窒を促すため 32 日目から処理水循環を始めた。汚泥排水は、本校の合併処理浄化槽の活性汚泥を希釈したものとした。各排水と処理水循環は、送液ポンプによって AnDHS リアクター上部より供給した。本報告では、処理性能を評価するため、処理水循環を除いた NO_3^- 排水と汚泥排水の混合液を流入水と呼ぶ。流入水における設定は、図 1 内の流量を用いて算出し、 NO_3^- 25 mgN/L、SS 169 mg/L となる。汚泥排水の設定流量は、1.3 mL/min と少量である。そのため、送液 13 mL/min $\times$ 1 min、送液停止

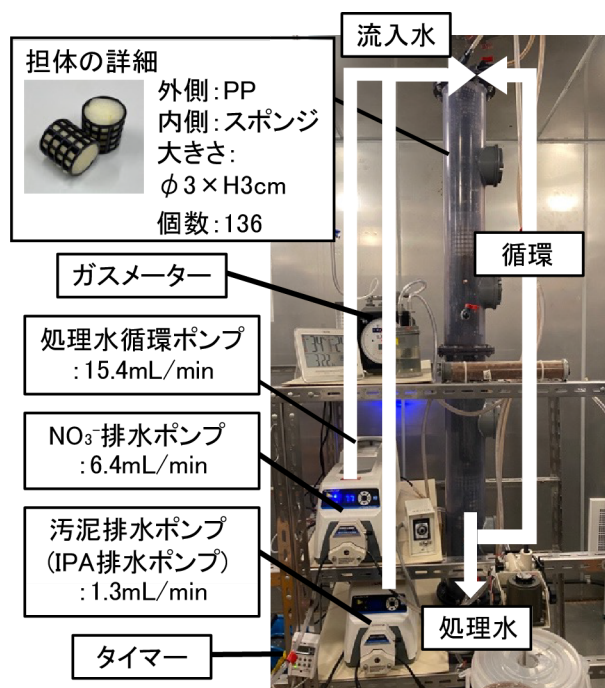


図 1 AnDHS リアクターの概略

9 min の合計 10 min が 1 サイクルとなるようにタイマーで制御した

運転期間は 5 つに分けた。期間 1～2 は、汚泥排水によって汚泥濃度を増加させ、内生脱窒のみを試みた。期間 1 は処理水循環なし、期間 2 は処理水循環ありとした。期間 3 からは、汚泥排水を IPA (2-propanol) 排水 (470 mgCOD/L) に変更し、有機源を添加することで脱窒自体を促進させた。期間 4～5 は、有機源の最適添加量の調査をした。全期間において、室温 25℃、HRT 5.0 h とした。なお、岐阜県の排水基準¹⁾は T-N 15 mgN/L である。

(3) 回分実験

運転の経過とともに、適宜、AnDHS リアクター流下方向 80 cm 付近の汚泥濃度を測定した。サンプルは、スポンジ担体を 3 個採取し、搾汁して測定に供した。②⁺ (136 日目)、③⁺ (140 日目) の回分実験では、処理水の循環による脱窒反応の違いを調査した。②⁺回分実験は処理水の循環あり、③⁺回分実験は処理水の循環なしである。ここでの流入水の設定は NO₃⁻ 25 mgN/L、溶解性 COD (IPA) 210 mg/L とした。

(4) 分子生物学的手法による保持微生物の評価

微生物叢のうち、生菌率を求めるため、Live/Dead 法を適用する。試薬は、Live/Dead BacLight Bacteria Viability kits (Invitrogen 社) を用いた。サンプルに用いた汚泥は、1 視野あたり 30～100 個程度になるように希釈した。蛍光顕微鏡による観察は、1 サンプルあたり 10 視野の菌数を計数した。

本研究の微生物叢解析は、生菌と死菌を区別できると良い。死菌を微生物叢解析から除くため、PMA (propidium monoazide) 処理と PCR を組み合わせた方法²⁾を適用する。PMA 処理の条件は、PMA 濃度 200μM、照射時間 15 min とした。PCR に供する DNA 抽出物は、PMA 処理後の汚泥と、PMA 未処理の汚泥とした。DNA 抽出は、ISOIL for Beads Beating (ニッポンジーン社) を用いた。PCR に用いたプライマーは、EUB338-F-primer、UNIV907-R-primer とした。PCR による DNA 増幅の有無を確認後、DNA 抽出物を iSeq (次世代シーケンサー) 解析した。

3. 実験結果

(1) 連続処理

図 2 に期間 1～3 の流入水と処理水の各窒素態の経日変化を示す。期間 1～2 の処理状況は次の通りであった。流入水の各窒素態の平均は、T-N 42.7 mgN/L、NO₃⁻ 27.2 mgN/L、NO₂⁻ 0.0 mgN/L、NH₄⁺ 0.1 mgN/L、Org-N (有機性窒素) 15.4 mgN/L であった。処理水の Org-N は、流入水と比較すると減少した。流入水の Org-N は、汚泥由来の固形性 Org-N (SS とほぼ同意) と考えられる。よって、処理水の Org-N の減少は、スポンジ担体に SS が

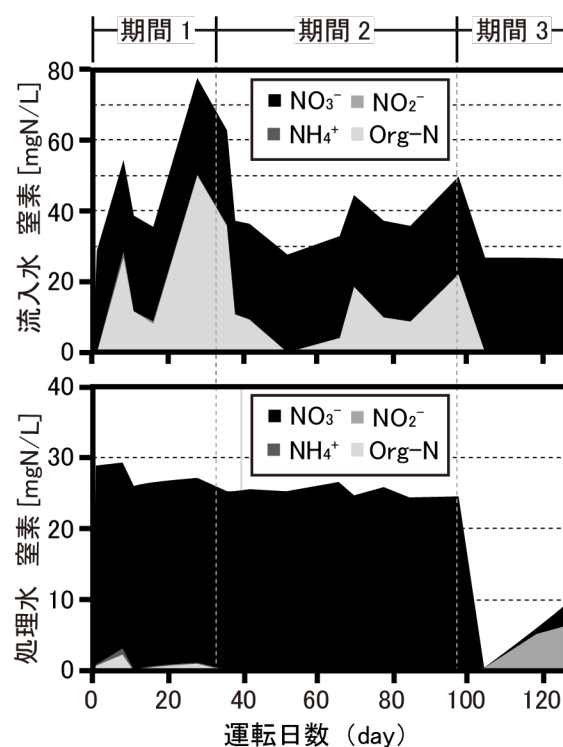


図 2 期間 1～3 の各窒素態の経日変化

捕捉されたことを示している。処理水の NO_3^- の減少量は、処理水循環によって大きく変化せず徐々に増加し、98 日間で最大 3.0 mgN/L であった。この脱窒は、化学量論より、内生脱窒だと考えられる。しかし、処理水の T-N の平均は 25 mgN/L であり、内生脱窒のみでは岐阜県の排水基準を満たす見込みは立たなかった。

期間 3 の処理状況は次の通りであった。流入水の各窒素態の平均は、T-N 26.6 mgN/L、 NO_3^- 26.5 mgN/L、 NO_2^- 0.0 mgN/L、 NH_4^+ 0.0 mgN/L、Org-N 0.1 mgN/L であった。処理水の NO_3^- は 105 日目において 0 mgN/L であり、除去率 100% で脱窒した。119 日目と 127 日目は除去率 100% にならず、脱窒の中間代謝物である NO_2^- が検出された。この理由は、汚泥濃度が増加していないことと微生物活性が上がっていないことが挙げられる。脱窒が進む汚泥濃度と活性を確保するためには、引き続き連続処理を行う必要がある。期間 3 において、岐阜県の排水基準は満たしていた。

期間 4～5 は次の通りである。表 1 に各期間の実験結果を示す。期間 3 の最終分析日(127 日目)の値と期間 4～5 を比較した。COD/N 比は、期間 3～5 において、2.8 から 1.4 と 0.9 に減らした。処理水の T-N において、県の排水基準を満たしていたのは、期間 3 のみであった。式 (1) に溶解性 COD の物質収支を示す。

$$\text{見掛け上の溶解性 COD 減少量} = \text{脱窒} + \text{硫酸塩還元} + \text{DO 消費} + \text{汚泥増殖} \quad (1)$$

式 (1) に表 1 の値を用いて、汚泥増殖への使用によって減少した溶解性 COD を計算すると、期間 3～5 において、8.8、-10.2、-10.4 mg/L となった。期間 3 は、流入水の溶解性 COD 8.8 mg/L が汚泥増殖に使われたと考えられる。この値は、見掛け上の溶解性 COD 減少量 73 mg/L の 12% 分に当たる。一般的なリアクターは 1 g の COD を消費すると 0.4 g (COD 換算) 汚泥増殖する³⁾ のに対して、AnDHS リアクターでは 0.12 g (COD 換算) しか汚泥増殖しなかった。この差は、内生脱窒によって汚泥が分解された、あるいは汚泥増殖収率の低い微生物が増殖していたと考えられる。よって、AnDHS リアクターは、余剰汚泥が発生しにくいと推測できる。期間 4 と 5 は、汚泥増殖へ使用された溶解性 COD の値が負であるため、汚泥が増殖せず、自己分解が進んだと考えられる。しかし、その値はほとんど変わらなかった。よって、COD/N 比を下げると内生脱窒が進行するが、1.4 以下にすると、それ以上の内生脱窒の進行は期待できないと考えられる。

表 1 期間 3～5 の処理状況

	期間3		期間4		期間5	
経過日数(日)	127		129		133	
汚泥濃度(mgSS/L-sponge)			12000			
COD/N [設定]	2.8 [3.2]		1.4 [1.6]		0.9 [0.8]	
	流入水	処理水	流入水	処理水	流入水	処理水
T-N (mgN/L)	26	9	27	16	27	21
NO_3^- (mgN/L)	26	3	25	12	25	19
NO_2^- (mgN/L)	0	6	0	2	0	0
NH_4^+ (mgN/L)	0	0	0	0	0	0
溶解性COD (mg/L)	75	2	39	7	18	3

(2) 回分実験

図 3 に汚泥濃度の経日変化を示す。0～24 日目、63～93 日目において、MLVSS の増加量は、4.0、4.6 gVSS/L-sponge であった。これらに対して、24～63 日目、93～136 日目において、MLVSS の増加量は、0.4、1.0 gVSS/L-sponge と少なくなった。24～63 日目において、処理水循環の実施によって、スポンジ担体の飽和汚泥保持量が少なくなったと考えられる。93～136 日目において、流入水の COD/N 比は 2.9 以下であり、増殖に必要な有機物が不足している⁴⁾。これより、汚泥の増殖が抑えられたと考えられる。

表 2 に 136 日目の②⁺回分実験（循環あり）と 140 日目の③⁺回分実験（循環なし）における COD 減少機構の内訳を示す。両回分実験において、NO₃⁻除去率は、約 90% であった。ここでの汚泥増殖は、式（1）によって汚泥増殖以外の項に実験結果を用いて算出した。汚泥増殖に用いられた COD は、②⁺回分実験（循環あり）で 33.6%、③⁺回分実験（循環なし）で 11.0% であった。実験日が近いので微生物の汚泥増殖収率に違いはないと仮定できる。従って、保持汚泥の自己分解速度は、③⁺回分実験（循環なし）の運転が②⁺回分実験（循環あり）の運転より、速いと考えられる。保持汚泥が十分に増殖した AnDHS リアクターにおいて、内生脱窒や内生呼吸を促すためには処理水循環を施さない方が良いと考えられる。

(3) 分子生物学的手法による保持微生物の評価

図 4 に生菌率の経日変化を示す。運転日数が 0、24、56、91 日目と経過するのに伴い生菌率は減少した。AnDHS リアクターでは、この運転期間中、溶解性 COD を供給しておらず、微生物が日々、生存・増殖する環境が厳しくなっている。この状況が、Live/Dead の結果に表れたと考えられる。また、91～133 日目では生菌率は減少しなかった。ここから 99 日目に有機物である IPA を添加したため、生菌率の低下が止まったと考えられる。

図 5 に DNA 抽出物を iSeq で解析した結果を示す。解析には、解析ソフト Qiime2 を用い、レベル 7 で分類したものを示す。レベル 7 の分類は、おおよそ属レベルを示している。各微生物種までは言及しない。そのため本報告では凡例（微生物種）を省略する。ここで、G-14、20、24、38 は、0、24、56、98、133 日目のサンプルであり、PMA 処理していない結果である。G-14 と G-20 の微生物叢を比べると、A の微生物種の割合が増加した。続いて A の微生物種の割合は、IPA の添加後の G-24、38 で減少した。これに対して、

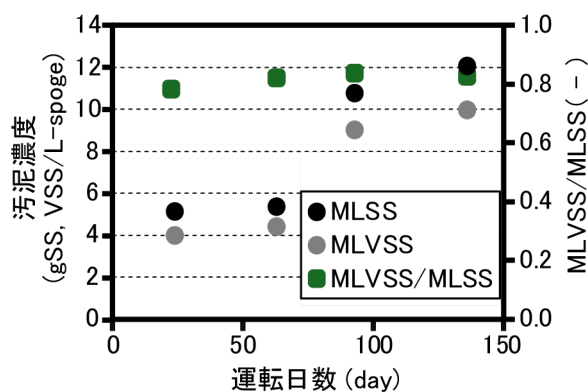


図 3 汚泥濃度の経日変化

表 2 回分実験の COD 減少機構の内訳

運転日数	136日目	140日目
回分実験番号	② ⁺	③ ⁺
COD減少	割合 (%)	割合 (%)
好気性分解	6.8	9.2
従属栄養性脱窒	59.6	79.8
汚泥増殖	33.6	11.0

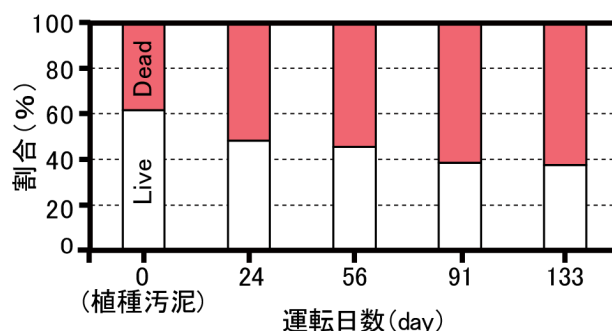
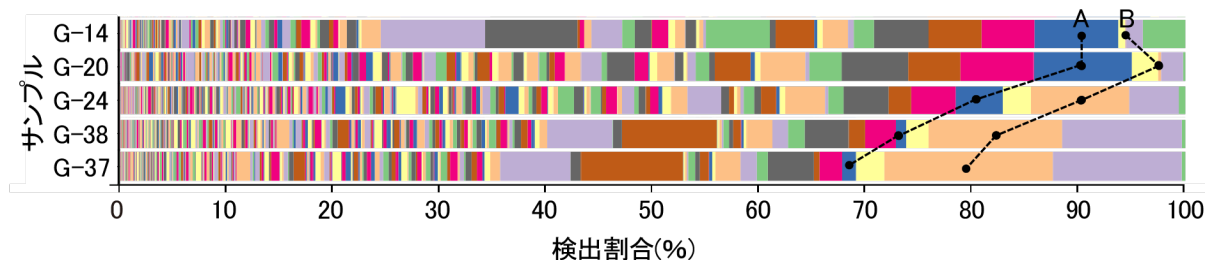


図 4 生菌率の経日変化

B の微生物種の割合は、G-14、20 では非常に小さかったが、IPA を添加した後、G-24、38 で割合が急激に増加した。特に G-24 は IPA を添加してから 7 日後のサンプルであり、非常に短時間で B の微生物種の割合が増加した。この結果より、合併処理浄化槽から、AnDHS リアクター、IPA の添加など微生物の生息する環境条件が変化したタイミングにおいて微生物叢の変化が見られたこれより、環境条件に対して優占的な微生物種が存在しており、この変化を PCR によって追うことができた。G-37 は、G-38 のサンプルに PMA 処理したものである。IPA 添加後のサンプルの微生物叢は、PMA 処理の有無によって変化しなかった。ここから、A の微生物種が死滅したのではなく、B の微生物種が増加することにより割合が変化したと考えられる。



注) G-37のみPMA処理済み

図 5 保持汚泥の iSeq (次世代シーケンサー) による解析

4. まとめ

本研究の結果から示される室温 25℃における最適な運転条件は、HRT 5.0 h、処理水循環なし、COD/N 比 2.8、汚泥濃度 12000 mgSS/L-sponge である。この条件は、水質の悪化や余剰汚泥を発生せず、有機源の添加量を減らすことができる。この運転条件では化学量論的に増殖のための有機物が不足し、汚泥濃度は低下する。そうなった場合、AnDHS リアクターは、別のリアクターからの余剰汚泥を添加されれば、汚泥消化と脱窒の 2 つの機能を発揮できる。内生脱窒は、COD/N 比を下げると進行するが、ある値（本研究では 1.4）以下になると進行し難いと示唆された。Live/Dead と PMA-PCR の適用によって、微生物の生息する環境条件が変化するタイミングにおいて、生菌と死菌を考慮した微生物叢の変化を捉えることに成功した。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。当時、本研究室に所属していた内藤咲綾氏、廣瀬誠門氏、森川太智氏から実験に尽力を頂きました。ここに記して謝意を示します。

参考文献

- 1) 岐阜県ホームページ、第 9 次総量規制に係る C 値（窒素含有量）、2022、2025.1.3 閲覧
- 2) 阿部天磨、佐藤幹子、矢口淳一、李玉友、久保田健吾、PMA-PCR 法を用いた高温嫌気性消化汚泥の微生物群集構造の解明、土木学会論文集 G (環境)、77 (7)、III_103-III_109、2021
- 3) 土木学会環境工学委員会、環境工学公式・モデル・数値集、第 1 章上水道・下水道、土木学会、2004

- 4) Halling-Sorensen, B, Jorgensen, S.E., The removal of nitrogen compounds from wastewater, Elsevier, 1993

外部発表

- 1) 柳澤茉依、川上周司、幡本将史、角野晴彦、Aptamer を用いた DNA 抽出を介さない微生物検出技術の開発、第 42 回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会、VII-315、2024.11
- 2) 廣瀬誠門、内藤咲綾、森川太智、角野晴彦、川上周司、内生脱窒を促す AnDHS リアクター保持汚泥の分子生物学的手法を用いた解析、令和 6 年度土木学会中部支部研究発表会、VII-01、2025.3