

蓄電性バイオミネラルと微生物電気共生系を活用した革新的嫌気排水処理システムの構築

静岡大学 グリーン科学技術研究所*

二又 裕之

1. はじめに

脱炭素循環型社会の構築は喫緊の世界的課題である。本研究では社会インフラとして根本的かつ重要な廃水処理技術の革新を目指す。廃水処理は飲料水および良好な水環境の維持にとって極めて重要である。そのため現状では、効率的浄化の為に空気を十分量曝気する好氣的処理が実施されている。しかし、曝気の消費電力量は日本全体の 0.7%を占め、加えて日々発生する余剰汚泥の処理にもエネルギーが投入されている。その一方、嫌氣的処理は余剰汚泥の発生も少なく曝気も不要な極低エネルギー型である。しかし、嫌氣的処理には宿命的な課題が2つ存在する。まず有機物の完全分解が難しく低分子有機物が残留するため水質基準のクリアが難しいこと、次に処理時間が極めて長いことである。その為、残念ながら実用的には不適である。この宿命的な課題は嫌気処理が発酵プロセスであることに依存している。

その解決策として、嫌気廃水処理の効率化を図る為に嫌気条件であっても呼吸プロセスが可能な微生物燃料電池(MFC)の導入が検討する。しかし世界的にも MFC 導入によって嫌気排水処理が好氣的処理と同等レベルになった事例は報告されていない。その最大要因の1つは、分解速度が遅く好氣的処理の高々数%に過ぎないことである。

そこで本研究では、上記課題を克服し嫌気廃水処理の超高度を図る為に、微生物由来の蓄電性バイオミネラル (RBM: Rechargeable Bio-mineral)¹⁾を活用した革新的嫌気排水処理システムの実験室レベルでの高度化を目的とした。そのために、一般都市下水と同等の低濃度汚濁廃水の有効な処理が可能かどうかを明らかにするため、実験室内においてリッタースケールのリアクターを運転し、汚泥の減容と廃水処理能力の向上が可能かどうかを検討した。さらに、RBMが微生物および電子フローに及ぼす影響を明らかにするため、微生物群集構造に関して分子生物学的手法を用いて解析し微生物生態学的考察を実施した。

2. 材料および方法

2-1. 嫌気廃水処理リアクターの運転

本研究で供試した人口廃水 (D-glucose 1.5 g, Sodium hydrogen L-glutamate monohydrate 1.9 g, Urea 0.5 g, KH₂PO₄ 0.2 g per liter, pH 7.3) は、COD 値で約 3000 mg L⁻¹であるため、一般都市下水と同等(300 mg L⁻¹)となるように希釈し用いた。実験には 2 L 容量のリアクターを設計し用いた (図 1)。人工廃液を上部背面側から供給し、U字型に流れが生じるように中央に仕切りを設置し、下部を通過し上部側面から排出する。正極の窓枠面積は 1 cm²とし、正極には白金担持 (0.5 mg cm⁻²) カーボンペーパーを用いその内側にはプロトン交換膜 (Nafion117) を設置した。負極には前処理したカーボングラファイト (80 mm × 80 mm × 5 mm) 2枚の間に RBM を 0.25 g 塗布し、2枚を縫い合わせて一組とし、この正極 5組を負極槽内中段に設置した。正極と負極間は 51 Ω の外部抵抗を通して連結した。リアクターは RBM 無添加系 (RBM-系系) と RBM 添加系 (RBM+系系) の 2基2系列で実施した。

*現在の所属：静岡大学大学院工学領域

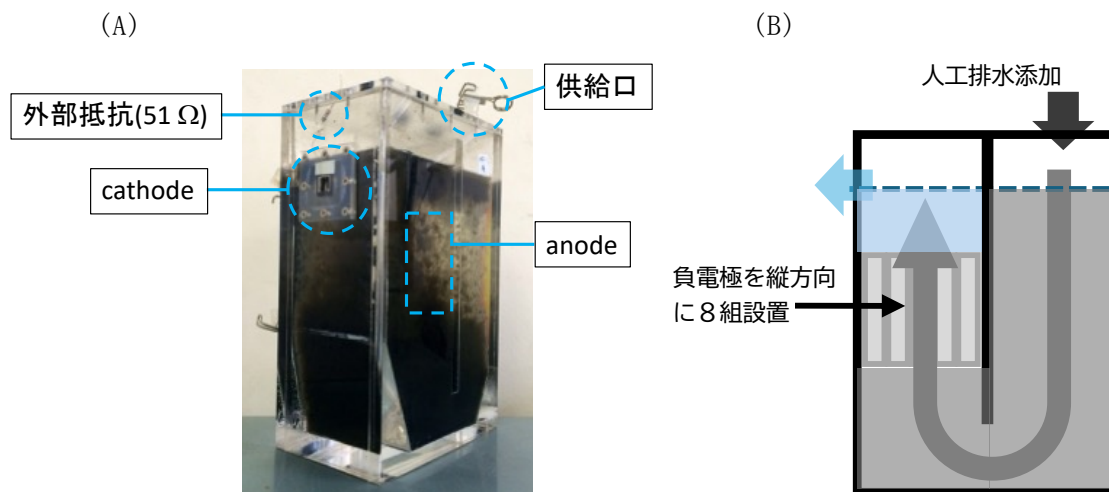


図1 研究に使用したリアクター
 (A) リアクター外観の写真とパーツ説明、(B)リアクターの見取り図

負電極間に挿入した RBM¹⁾は硫酸還元細菌 *Nitratidesulfovibrio* sp. HK-II 株を硫酸還元条件下およびクエン酸鉄(III)存在下で約 2 週間培養し、嫌気条件下でリアクター用培地で洗浄後使用した。RBM を、リアクターI には 6.4 dry mg、リアクターII には 24.45 mg 添加した。リアクターはスターラーによる攪拌およびポンプによる循環 (HRT: 4 時間) を実施した。電流生産値が著しく低下した時に培地の入れ替えを行なった。入れ替える際は、攪拌と循環を停止し 30 分間静置し汚泥を沈下させた後に、培地を 1 L 抜き取り COD を 600 mg L⁻¹ に調整した人口廃水を 1 L 添加した。リアクターI では培養 56 日目～67 日目において、リアクターII では培養 54 日～75 日の期間においては、2 日毎に培地交換を実施した。好気系処理槽では曝気 (5.0 L min⁻¹) を行い 2 日毎に培地交換を実施した。生産された電流は、電圧測定器 (midi LOGGER GL820, GRAPHTEC) に MFC を接続して 5 分毎に電圧値を測定した。

2-2. 嫌気廃水処理リアクターの運転性能の評価

1) MLSS 測定

本研究における重要事項は、余剰汚泥の発生量である。そのため、リアクターの処理水を攪拌し、10 mL をガラスろ紙(GS-25, ADVANTEC)を用いて吸引ろ過した。ガラスろ紙をガラスシャーレに移し 110°C で 2 時間乾燥させた後にデシケータ内で 30 分間放冷し、重量を電子天秤で測定した。サンプルをろ過した重量を a [mg]、純水をろ過したコントロールの重量を b [mg] とし、以下の式より MLSS 量を計算した。

$$\text{MLSS}(\text{mg/L}) = (a [\text{mg}] - b [\text{mg}]) \times \frac{1000(\text{mL/L})}{10(\text{mL})}$$

2) COD 測定

それぞれのリアクターから 1.5 mL エッペンドルフチューブに溶液を採取し、それを遠心分離 (20,000 × g, 5 分間) した。ピペットマンを用いて上清を回収し、フィルター (Millex-LG LH シリンジフィルター 0.2 μm) でろ過した。このろ液をイオン交換水で 10 倍に希釈し、低濃度用 COD 測定を行なった。用いた溶液は以下のように作成した。手法は STANDARD METHODS 20th 5520D に準じた。

3) 電気化学的解析

電流電圧曲線解析をオートマチックポラリゼーションシステム (HSV-110: 北斗電工) を用いて行った。測定条件として、測定時間 100 分、最高電圧値 500 mV、掃引速度 5 mV s⁻¹、サンプリング間隔 100 ms で実施した。測定を実施する 30 分前に外部抵抗を外し、Ag/AgCl 電極 (HX-R6: 北斗電工) を装置に取り付けた。リアクターの電圧 V [V]、内部抵抗 R [Ω]、電流 I [A] とすると $V = IR$ の関係式より電流電圧曲線の V - I グラフの傾きから内部抵抗を求めた。また電力密度の最高値から最大電流密度を求めた。

4) 微生物群集構造の解析

微生物群集構造を解析するため、時系列的に負極槽内の浮遊液をサンプリングし DNA を phenol/chloroform 法にて抽出し、16S rRNA 遺伝子を標的とした PCR-DGGE 解析を実施しそのデータを基にした MDS 解析を実施した。具体的にどのような微生物によって構成されているのかを調べるために、16S rRNA 遺伝子を標的としたクローンライブラリー解析を実施した。

3. 結果

3-1. 余剰汚泥発生量の比較

好気系において運転 22 日で汚泥量 (MLSS: Mixed Liquor Suspended Solid) の初期設定量の 2 倍量である 3000 mg L⁻¹ に増加した (図 2)。

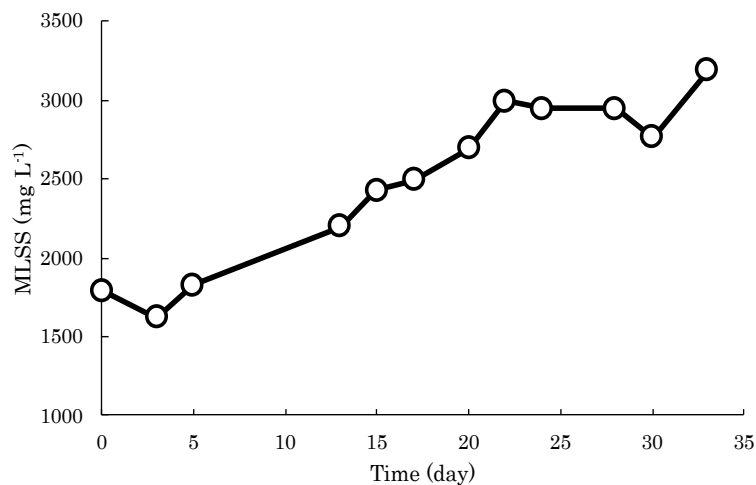


図 2 好気条件下での汚泥量の推移

系列 1 における嫌気閉回路系では RBM-系と RBM+系の両リアクター共に汚泥の減容が見られた (図 3-A)。運転 56 日から 67 日まで 3 日に一度培地の交換を行った。RBM-系と RBM+系における MLSS は運転 48 日目~140 日目における平均がそれぞれ 1360±180 mg L⁻¹ および 930±120 mg L⁻¹ であった。系列 2 でも RBM-系と RBM+系の両リアクター共に汚泥の減容が確認された (図 3-B)。運転 51 日目まで MLSS にあまり差がみられなかった。運転 54 日目から 80 日目まで 2 日に一度培地の交換を行った。80 日以降の平均 MLSS 値は RBM-系で 822.7±117.5 mg L⁻¹、RBM+系で 604.0±94.1 mg L⁻¹ と明瞭な差が生じた。

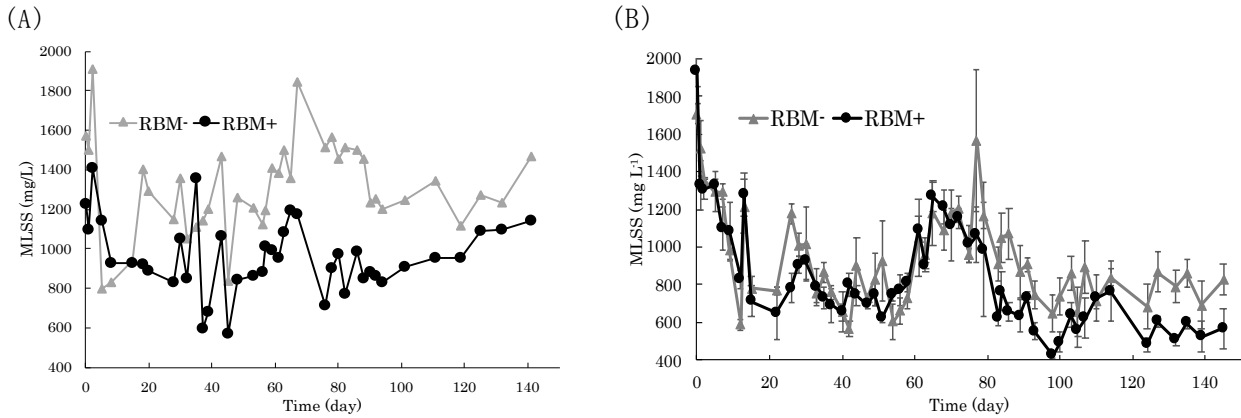


図3 嫌気条件下での汚泥量の推移

(A)系列1の結果。運転56日から67日まで3日に一度培地の交換を行った。(B)系列2の結果。運転54日から80日まで2日に一度培地の交換を行った。

3-2. 電流生産量の比較

系列1において、運転中期(72日)まではRBM+系が僅かに大きな電流値(RBM-系: $0.989 \pm 0.369 \text{ mA m}^{-2}$, RBM+系: $1.060 \pm 0.533 \text{ mA m}^{-2}$)を示したが、その後は同等の値となった(図4-A)。一方、系列2では、運転51日目から80日目において2日毎に培地を交換したところ、電流値に明らかな有意差が生じた。その後運転方法を戻してもRBM+系における電流生産値が高い傾向は継続し、運転51日目以降の平均電流密度はRBM-系で 1.159 mA m^{-2} 、RBM+系で 1.711 mA m^{-2} とRBM-系の約1.5倍に達した(図4-B)。

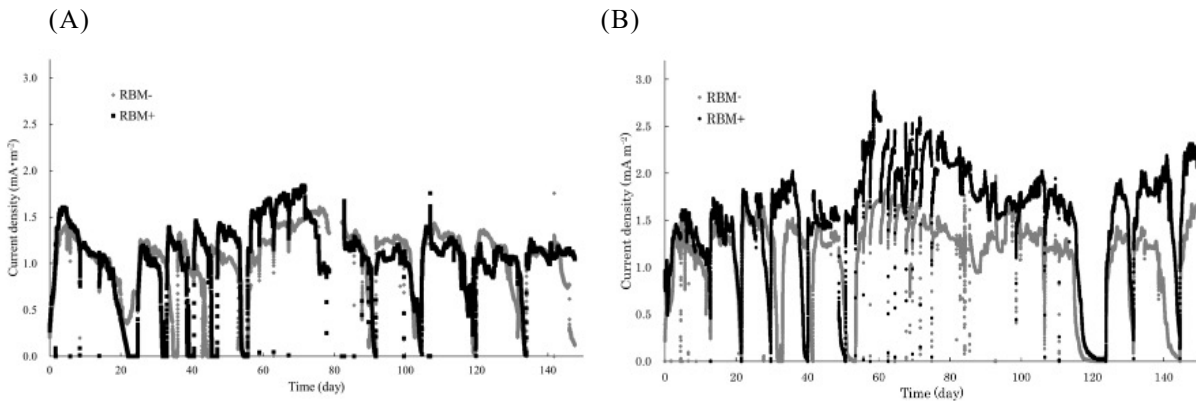


図4 嫌気条件下での汚泥量の推移

(A)系列1の結果。運転56日から67日まで3日に一度培地の交換を行った。(B)系列2の結果。運転54日から80日まで2日に一度培地の交換を行った。

3-3. 廃水処理能力

系列1において、両リアクターとも1サイクルの平均分解率は約80%を示した。運転55日までにRBM-系は5サイクルの処理(COD処理量: 2100 mg L^{-1})を行ったのに対してRBM+系は6サイクルの処理(COD処理量: 2700 mg L^{-1})を示した(図5)。単位汚泥量あたりの分解速度はRBM+系が8~11サイクルにおいて $0.0839 \pm 0.0084 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1} \text{ ppmMLSS}^{-1}$ とRBM-系と

比較して約 2 倍高い値を示した。好気系の 1 サイクルの平均分解率は約 85%であったが、単位汚泥量あたりの分解速度は RBM+系の半分程度であった。

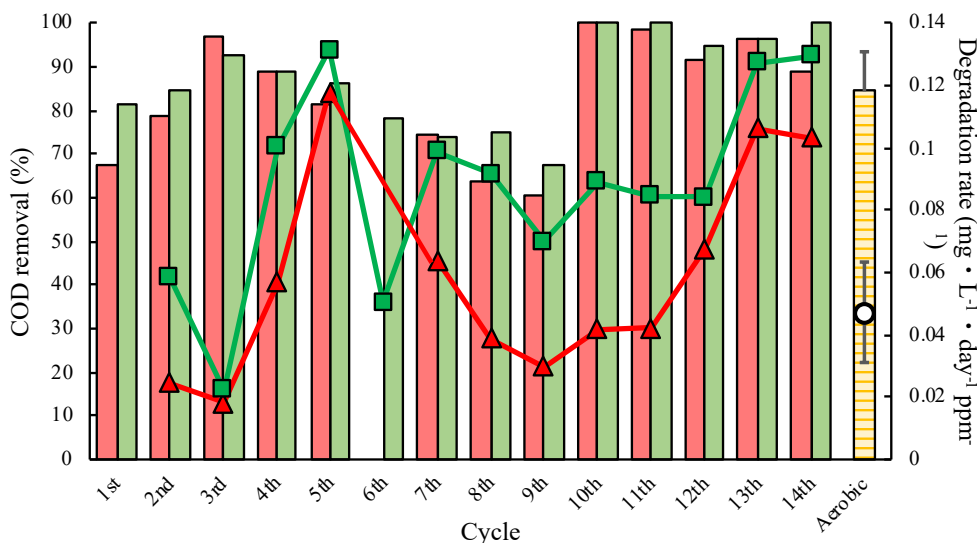
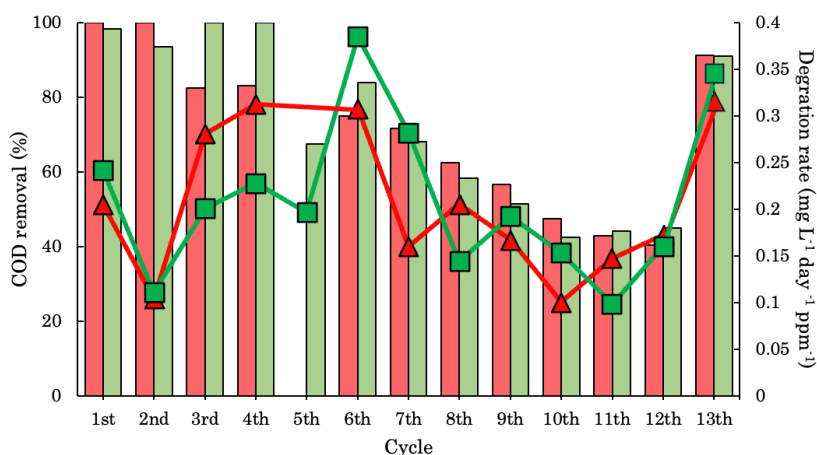


図 5 系列 1 における COD 除去率と単位汚泥量当たりの分解速度
 ■ COD removal (RBM-) ■ COD removal (RBM+) ■ COD removal (Aerobic)
 ▲ removal rate (RBM-) ■ removal rate (RBM+) ○ removal rate (Aerobic)

系列 2 において、1 から 4 サイクルでは電流値が低下してから培地交換を行う運転を行ったところ、4 サイクル時の分解速度は RBM-系が $0.313 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1} \text{ ppm}^{-1} \text{ MLSS}$ 、RBM+系が $0.229 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1} \text{ ppm}^{-1} \text{ MLSS}$ と RBM-系が高い値を示したが、電流値が低下するまでの日数は RBM+系の方が短く、分解率は RBM+系が安定して高い値を示した。5 から 12 サイクルでは培地交換頻度を 2 日毎に培地を交換したところ分解率および分解速度ともに低下した(図



6)。

図 6 系列 2 における COD 除去率と単位汚泥量当たりの分解速度

3-4. 微生物群集構造



系列 1 において、運転 0 日目から 100 日目までの各サイクルの浮遊微生物と運転 100 日目の電極上の微生物に関してバクテリアを標的とした PCR-DGGE 法を用いて群集構造解析を行った (図 7-A)。MDS 解析の結果から 100 日目における電極上の微生物は RBM-系および RBM+系で似た群集構造を形成していた。浮遊微生物では、RBM-系において運転初期に大きな変遷が観察され、59 日目以降、電極上微生物に近い群集構造に変遷していく傾向が伺えた。RBM+系では運転初期から電極上微生物に近い群集構造で変遷していたことが示された (図 7-A)。

運転 0 日 (接種源) と運転 100 日時の浮遊および電極上微生物に関してバクテリアを標的としたクローンライブラリ解析を行った。門レベルでの解析では接種源および浮遊微生物では *Proteobacteria* 門が優占 (RBM-系: 85.3 %、RBM+系: 96.6 %) しており、電極上微生物では RBM+系において電極上に多く存在するとされる⁽²²⁾*Firmicutes* 門が優占(58.2%)していた。綱レベルでの解析 (図 7-B) では接種源では多様な微生物が存在し、運転 100 日目では浮遊微生物において *alphaproteobacteria* が集積(91.5%)し、電極上微生物とは大きく異なる群集構造を形成していた。特に RBM+の浮遊微生物群では *Pseudoxanthobacter soli* (相同性 97%) が全体の約 86%を占めていた。また両リアクターでの比較を行うと RBM+の浮遊および電極上微生物群集において微生物群集の多様性の減少が示された。

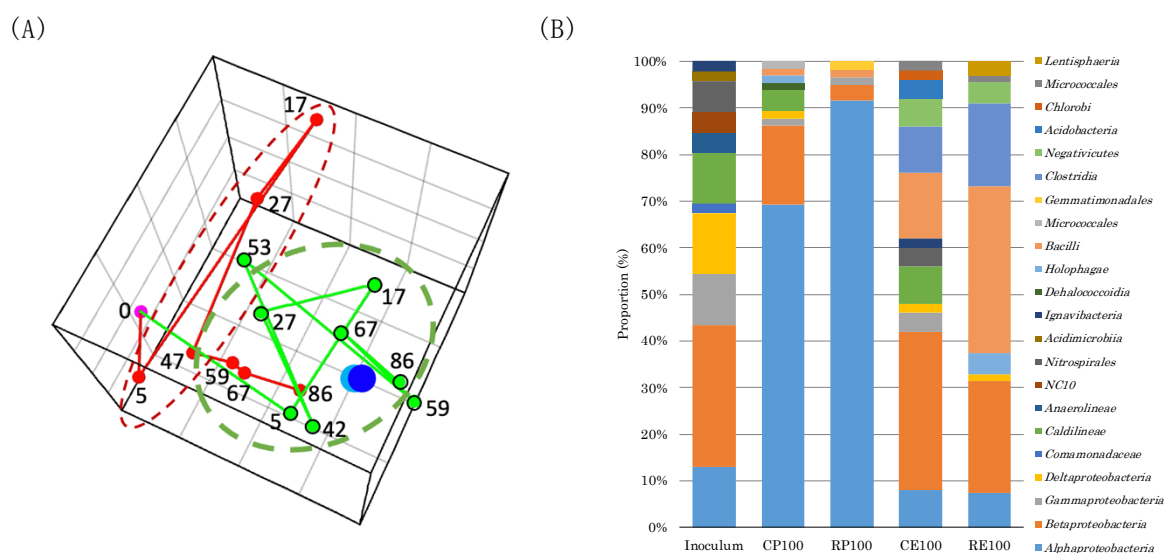


図 7 微生物群集構造の動態

(A)MDS 解析、(B) クローンライブラリー綱レベル

- : 0日目
- : 電極表面の微生物群集 (RBM+)
- : 電極表面の微生物群集 (RBM-)
- : 浮遊微生物群集 (RBM+)
- : 浮遊微生物群集 (RBM-)

4. 考察

RBM 添加により余剰汚泥の増加抑制しつつ嫌氣的廃水処理能力の向上が図れることが示された。微生物燃料電池のシステムでは、浮遊微生物群の発酵プロセスで生じた有機酸を電極上の微生物群が効率的に利用し、全体の電子フローの向上と有機物分解の促進が報告されている²⁾。また、導電性鉱物の存在が微生物の代謝を活性化させることが報告³⁻⁴⁾されており、RBM による微生物群集全体の代謝の活性化、結果的に電極上微生物群集の変化および少ない汚泥量で廃

水処理システムを維持したと考えられた。一方で、COD 処理速度は UASB リアクターなど他の嫌気性廃水処理の報告⁵⁾に比べてまだ向上の余地があり、電極と廃水との接触効率の向上や電子フローをより速める導電性物質の探索などが求められる。

5. まとめ

当初の計画では、嫌氣的有機物分解において蓄積されるプロピオン酸を初期基質として添加し長期培養運転をしているプロピオン酸分解 MFC に集積されていると予想される嫌氣的プロピオン酸高分解電気共生微生物群を活用し、嫌氣的廃水処理の高度化を図る予定であった。しかし、利用予定であった MFC において負極溶液 pH の低下とそれに伴うプロピオン酸分解の低下が突発的に生じた。そのため、嫌氣的廃水処理の高度化に向けて、嫌氣的プロピオン酸高分解電気共生微生物群の利用は一旦断念し、蓄電性バイオミネラルの活用による嫌氣的廃水処理の高度化について検討した。その結果、2 L リアクターを用いた実験結果では、単位汚泥当たりの COD 除去速度は好気系のその約 2 倍、余剰汚泥は実験開始時の汚泥量と比較し約 75%を維持し、RBM による嫌氣的廃水処理高度化の可能性を示した。

今後、導電性物質担持電極の最適化、実測データに基づく情報科学的解析による電極と汚水の接触効率の最適化を可能とする電極構造の検討、および、有機物分解微生物群の電氣的代謝制御を組み込み、最終的な目標である余剰汚泥発生ゼロ、かつ、好氣的処理速度とほぼ同等レベルの処理能を有する嫌氣的高度廃水処理システムを進展させる。

謝辞

本研究は（公益財団法人）天野工業技術研究所、2024 年研究助成を受けて実施されました。

参考文献

- 1) Yui Arashi, Hiroki Mochihara, Hiroko Kubota, Kei Suzuki, Yusuke Chiba, Yutaka Kato, Toshihiro Kogure, Ryota Moriuchi, Hideo Dohra, Yuto Nakamura, Yosuke Tashiro, and Hiroyuki Futamata. 2025. "A Rechargeable Biomineral Induced by Sulfate-reducing Bacterium *Nitratidesulfovibrio* sp. HK-II." *Microbes Environ.* 2025 40(2): Article ME24022. doi:10.1264/jsme2.ME24022
- 2) Shuji Yamamoto, Kei Suzuki, Yoko Araki, Hiroki Mochihara, Tetsuya Hosokawa, Yusuke Chiba, Hiroko Kubota, Owen Rubaba, Yosuke Tashiro, Hiroyuki Futamata 2014. "Different communities dynamics are capable of generating sustainable electricity from microbial fuel cell with organic wastes." *Microbes Environ.* 29(2):145-153 doi:10.1264/jsme2.ME13140
- 3) Souichiro Kato, Ryuhei Nakamura, Fumiyoshi Kai, Kazuya Watanabe, Kazuhito Hashimoto. 2010. Souichiro Kato *et al.* "Respiratory interactions of soil bacteria with (semi)conductive iron-oxide minerals.", *Environmental Microbiology* 12, 12 3114-3123 DOI: 10.1111/j.1462-2920.2010.02284.x
- 4) Carolina Cruz Viggli, Simona Rossetti, Stefano Fazi, Paola Paiano, Mauro Majone, Federico Aulenta.2014. "Magnetite particles Triggering a faster and more robust syntrophic pathway of methanogenic propionate degradation." *Environmental Science and Technology* 48, 7536-7543 (2014) DOI: 10.1021/es5016789
- 5) Yong Hu, Zhaoqian Jing, Yuta Sudo, Qigui Niu, Jingru Du, Jiang Wu, Yu-You Li. 2015. "Effect of influent COD/SO₄²⁻ ratios on UASB treatment of a synthetic sulfate-containing wastewater." *Chemosphere* 130, 24-33 DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.02.019

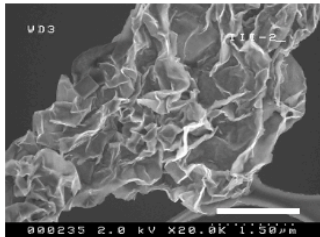
研究テーマ 蓄電性バイオミネラルと微生物電気共生系を活用した革新的嫌気排水処理システムの構築

所属・研究者名 静岡大学 グリーン科学技術研究所 教授 二又裕之

[目的] 排水処理におけるエネルギー負荷軽減に向けた効率的嫌気処理の開発

研究概要[内容] 導電性バイオミネラルを用い排水処理能力を多面的に解析。

[成果] 導電性バイオミネラルによる微生物代謝の活性化により効率化に成功。



蓄電性バイオミネラルのSEM画像。本物質を負電極間に挿入した微生物燃料電池システムにより嫌氣的排水処理効率が向上した。

