

生物膜型リアクターを用いたリン回収と微生物群集構造の解析

広島大学大学院 学生会員 ○小寺 博也
 正会員 幡本 将史
 正会員 金田一智規
 正会員 尾崎 則篤
 正会員 大橋 晶良

1. はじめに

リン枯渇が危惧されている現代において、下水中に存在しているリン資源の回収再利用は、リンを100%輸入に頼っている我が国の緊急の課題となっている。しかし、従来の生物学的リン回収法はコスト面の問題があり採算が取れない。そこで、生物膜型の嫌気好気DHS(downflow hanging sponge)リアクターによる汚泥に依らない低コスト型リン回収システムが考案されている。これは気相部と微生物膜保持担体のスポンジ部からなり、この気相部を好気・嫌気に制御する事で単一のリアクターでリン回収が行われる。好気時にはリン含有水を流しポリリン酸蓄積細菌（以下PAOs）にリン摂取させ、リンが除去された処理水を排出する。嫌気時には有機物を含む排水を流し、PAOsに蓄積したリンを放出させ、高濃度のリン含有水として回収する方法である。この密閉型DHSリアクターによるリン回収の特長は、微生物を高密度に保持できるためコンパクトであり、エアレーションの動力エネルギーが不要なことである。本研究では有機性排水：嫌気処理水の比、有機物負荷、嫌気・好気時間の長さがパラメータとしてどのように回収液のリン濃度に影響を与えるかを調査した。更にリアクターからバイオマスを採取しFISH法、クローニングによる菌叢解析を行った。

2. 運転方法

2.1 DHSリアクターによるリン回収

実験には、ガラス製カラム（全長600 mm、内径48 mm、容積800 mL）の中に微生物保持担体として2 cm辺のスポンジ15個（全容積120 mL）を直列に吊るしたDHSリアクターを用いた（図1）。スポンジ担体には標準活性汚泥法の返送汚泥を植種し、20°Cで運転を行った。運転制御は以下に示すように嫌気条件と好気条件を交互に繰り替えした。

①好気時：リアクター上部から気相中に吊したスポンジ担体に都市下水処理水を模擬したリン含有排水（リン濃度5 mgP·L⁻¹、アンモニア40 mgN·L⁻¹、pH 7.8）をHRT10分で散水し、同時に空気を96 mL·min⁻¹の流量で上部よりリアクター内へ送風した。供給した排水は好気処理水としてポンプで常時排出し、リアクター内に排水が溜まらないようにした（図1のP1、P2ポンプが稼働）。

②嫌気開始：好気流入及び排出ポンプを止め、嫌気処理水と有機性排水の混合液800 mLをリアクター内に満たす事で、リアクター内を嫌気状態にした。有機性排水は初沈汚泥の酸生成液の使用を想定して、酢酸ナトリウムとプロピオン酸ナトリウムとし、そのCOD比は1:1とした。また、リン濃度はリン含有排水と同じ5 mgP·L⁻¹にした。また、嫌気開始時には、嫌気処理水貯留タンクから有機性排水と同量の嫌気処理水を回収することで、循環している嫌気処理水の

キーワード：リン回収、ポリリン酸蓄積細菌
連絡先：〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1
 広島大学大学院工学研究科 TEL:842-424-5718

水量は一定になるようにした（P3、P4、P5が稼働）。

③嫌気時：リアクターが有機性排水と嫌気処理水で満たされた状態で維持した（稼働ポンプ無）。

④嫌気終了：リアクター内を満たしてあるリンを放出させた水（嫌気処理水）を貯留タンクへ移動させた後、再び①の好気時の運転に戻る（P6が稼働）。

Phase毎に有機性排水と嫌気処理水の水量、嫌気好気時間、有機物負荷が異なっており、それらを表1にまとめた。

2.2 FISH法による菌叢解析

運転128日目のリアクターから汚泥サンプルを採取し、FISH法を施した。汚泥サンプルはスポンジ表面部と内部に分けて観察し、全細菌対象としたEUBMIX probe、及びPAOsに特異的なPAOMIX probe、及び競合細菌であるグリコーゲン蓄積細菌を対象としたGAOMIX probe、DF1MIX probeを用いて顕微鏡観察を行った¹⁾。各細菌群の存在割合は12視野の最大値と最小値を除いた蛍光面積の平均値（n=10）とした。

2.3 16S rRNA遺伝子に基づく系統解析

スポンジ表面部、内部それぞれの汚泥サンプルに対し、16S rRNA遺伝子を標的としたクローニング解析を行った。DNA抽出にはFast DNA SPIN KIT for soil(Q-BIO)を用いた。PCR増幅は全細菌を対象としたEUB338F-UNIV907Rのプライマーセットを用いた。

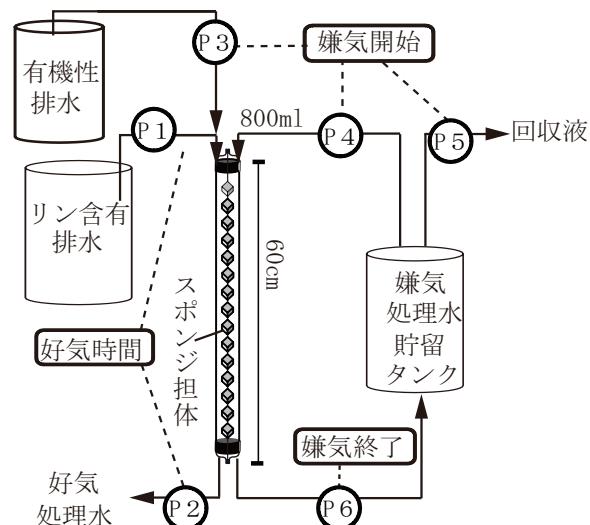


図1 リアクター概要図及び運転フロー

表1 運転条件一覧

	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4
有機性排水 / 嫌気処理水 (ml)	80/720	40/760	80/720	80/720
嫌気 / 好気時間 (hour)	4/8	4/8	5.3/10.7	5.3/10.7
有機物負荷 (gCOD·cycle ⁻¹)	2.00	2.00	2.00	2.67

3. 実験結果

3.1 DHSリアクター運転結果及び考察

回収液のリン濃度の推移を図2に示す。phase 1では0~50日の間、運転日数の経過と共に回収液のリン濃度が上昇した。この期間にはバイオマスの増加も観察され、スポンジのPAOsの密度が増加したため回収できるリンもそれに従って増えたと考えられる。60日以降、回収液のリン濃度は96 mgP·L⁻¹で安定するようになった。phase 2では、徐々に回収液のリン濃度は高くなり、128日目には158 mgP·L⁻¹（好気流入リン濃度の31.6倍）に達した。この濃度はMAP法等のリン回収法に適用可能な濃度である。理論上では除去したリンは全て回収液へ移動するため、回収するリン濃縮液を少く操作した事で回収液のリン濃度が高くなつたと考えられる。

Phase 3では運転時間を嫌気4時間・好気8時間から嫌気5時間20分・好気10時間40分に変更しているが、運転と同時に徐々に回収されるリンの濃度が下がつていき、77 mgP·L⁻¹前後で安定するようになった。Phase 1とPhase 3を比較すると、1サイクル当たりの有機物負荷は等しいが、運転時間が変わつた事により1日当たりの有機物負荷量が減少したと言える($4 \text{ gCOD} \cdot \text{day}^{-1} \rightarrow 3 \text{ g COD} \cdot \text{day}^{-1}$)。そこで1日当たりの負荷をPhase 4ではPhase 1,2と等しく4 g COD·day⁻¹に変更した所(2.67 g COD·cycle⁻¹)、回収液のリン濃度はPhase 1とほとんど同じ98.6 mgP·L⁻¹に上昇した。この結果から本実験装置における回収液のリン濃度は有機物の負荷速度に依存していると考えられる。

3.2 FISH法による菌叢解析結果及び考察

FISH法によって得られた細菌群の存在割合を図3に示す。スポンジ表面部ではPAOsが全細菌のうち58%を占めていた。一方、スポンジの内部バイオマスのPAOsの存在割合は24.6%とスポンジ表面部汚泥の約半分であった。リン含有量を調査した結果、スポンジ表面部では、嫌気時と好気時におけるリン含有量は嫌気終了時と好気終了時で7.01 mgP·gVSS⁻¹の差が生じていたが、内部ではリン含有量に差が生じておらず、リン回収に関わつていなかつた。これは酸素がスポンジ表面部で律速してしまい、内部まで酸素が届かなかつたためこのような結果になつたと推測される。よつて、スポンジ表面積／体積を大きくする事でスポンジ担体当たりの活性は高くなり、リアクター全体のリン回収性能はより向上すると考えられる。スポンジ内部バイオマスが表面部と同じ活性をもつた場合、単純計算でリアクター当たりの回収性能は約2倍、PAOsの存在割合は1.4倍になる。

本リアクターではグリコーゲン蓄積細菌(GAOs)とされている*Competibacter*や*Defluviicoccus*-related GAOがスポンジ表面部及び内部において確認された。GAOsは一定の割合でスポンジに存在しており、PAOsと基質競合をしているとされているが、本実験ではGAOsとの競合による処理の破綻は観察されなかつた。

3.3 系統解析結果及び考察

表面部及び内部バイオマスの系統解析結果を図4に示す。スポンジ内部(uchi:青)と表面部(SOTO:赤)共にPAOsに近縁なクローニが検出された。更に互いに近縁なクローニがそれぞれのバイオマスで検出された(図中破線)。また、PAOMIX probeに対応したクローニが内部では1種類のみ

であるのに対し、表面部では2種類検出された。これは酸素供給の有無によってこのような結果が得られたと考えられる。

4. まとめ

本実験結果から本装置の回収リン濃度は回収液の水量及び有機物の負荷に依存する事が明らかになつた。更にスポンジ表面積／体積を大きくする事でスポンジ担体当たりの処理性能はより向上すると推測される。

<参考文献>

- 1)Oehmen et al., (2007) Water Research. vol. 41 (11) pp. 2271-2300

謝辞:本研究はNEDOの助成を受けて実施された。ここに記して謝意を表す。

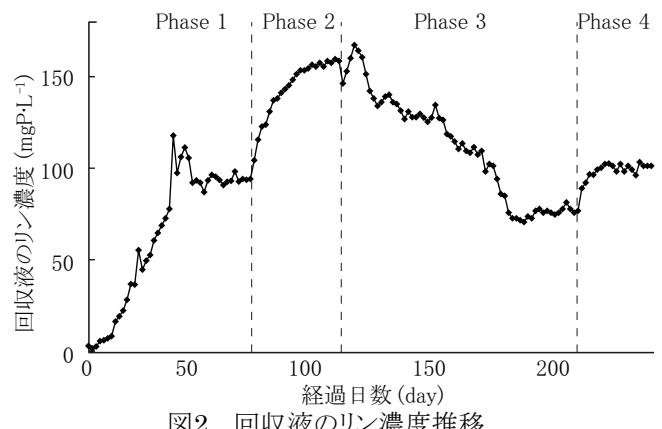


図2 回収液のリン濃度推移

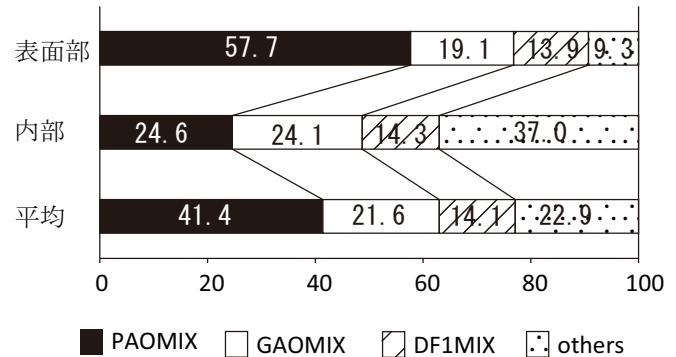


図3 各細菌群の存在割合

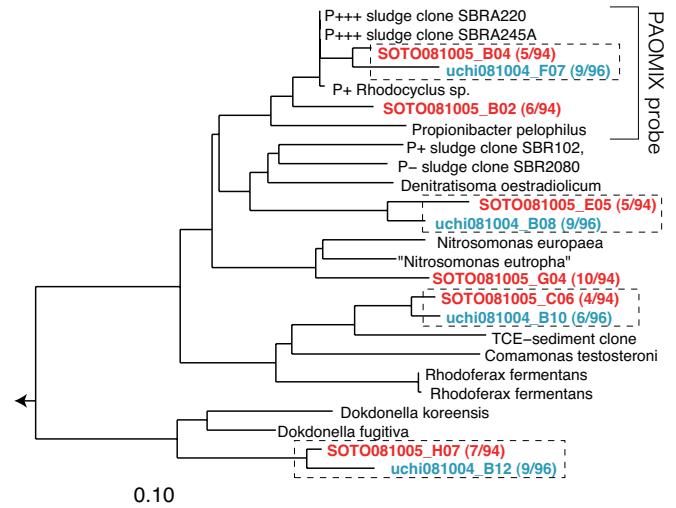


図4 β及びγ proteobacteria 門の系統樹