

# 嫌気性消化法における硝酸性窒素の挙動

具仁秀<sup>1</sup>・宮原高志<sup>2</sup>・野池達也<sup>3</sup>

<sup>1</sup>工修 東北大学大学院生 工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉06)

<sup>2</sup>正会員 工博 静岡大学助教授 工学部システム工学科 (〒432-8561 浜松市城北3-5-1)

<sup>3</sup>フェロー会員 工博 東北大学教授 大学院工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉06)

嫌気性消化槽の窒素除去機能を検討するために、消化槽に硝酸性窒素を流入させた結果、メタン生成反応と脱窒反応が同時に観察された。硝酸性窒素無添加の系では、CODの64.2%がメタンガスに転換されたが、COD/NO<sub>3</sub>-N=6では21.8%のみがメタンガスに転換された。COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴いアンモニア性窒素および亜硝酸性窒素へ変換されるCODの割合が増大した。COD/NO<sub>3</sub>-N=9の場合、投入した硝酸性窒素を窒素ガスへ最も効率よく転換できた。Blank, COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9および6の場合、ORPは-376~-330mVと同様なレベルを示していたが、COD/NO<sub>3</sub>-N=3へ低下させるとORPは+68mVと高いレベルになり、これに伴ってメタン生成細菌数も急激な減少を示した。

**Key Words:** anaerobic digestion, denitrification, material balance, nitrate.

## 1. 結論

嫌気性消化法は、有機性廃棄物を減量化し、エネルギー源として有用なメタンを回収できる生物学的プロセスであり、地球環境時代と言われる今日、重要な役割を担っている。しかし、嫌気性消化過程におけるタンパク質の分解に伴って生成するアンモニア性窒素が消化槽脱離液あるいは消化汚泥の脱水ろ液中に高濃度に残存することが本法の難点であり、有効な解決策は未だ見い出されていない。

嫌気性消化槽内に高濃度のアンモニア性窒素が存在することによって、主として以下の2つの問題が生ずる。第1に高濃度のアンモニア性窒素が嫌気性細菌の活性を低下させることであり、第2に脱離液あるいは脱水ろ液に高濃度に含有したアンモニア性窒素は下水処理施設に返流し、脱窒素処理を行わねばならない。今後、嫌気性消化方式の集約型汚泥処理施設が採用される際には、設置場所を既存の下水処理場の位置にとらわれずに選定できることが望ましい。それゆえ、嫌気性消化過程で生成するアンモニア性窒素の除去を含めた汚泥処理システムの構築が必要不可欠である。

排水から窒素を除去する代表的な処理方法として、生物学的硝化脱窒素法<sup>1)</sup>が挙げられる。本法は、排水

中に存在するアンモニア性窒素を好気性条件下で硝化細菌の作用で亜硝酸および硝酸性窒素に酸化させた後、無酸素条件下で排水中の有機物を電子供与体として脱窒素細菌の作用により、それらを窒素ガスに還元し、大気中に放出する処理方法である。脱窒素槽は無酸素状態であることから、環境条件の類似した嫌気性消化法が、メタン生成および脱窒素反応双方の機能を兼ねることが可能であれば、嫌気性消化槽から排出されるアンモニア性窒素を低減することが可能となる。

図-1に提示したシステムは、通常の下汚泥あるいはし尿の嫌気性消化によって生成するアンモニア性窒素を硝化槽において硝化し、メタン生成機能を保持しつつ、脱窒素槽としての機能を嫌気性消化槽に担わせようとするものである。このシステムを実現するためには、嫌気性消化槽の主要な機能であるメタン生成に対する硝酸性窒素の影響を定量的に明らかにすることが重要である。著者らは現在までに、硝酸性窒素がメタン生成に対して阻害作用を有すること<sup>2)</sup>、嫌気性消化槽に硝酸性窒素が投入される場合、還元的アンモニア生成反応も生じること<sup>2)</sup>、および嫌気性消化反応と脱窒素反応を同時に起こさせる最適COD/NO<sub>3</sub>-Nが存在すること<sup>3)</sup>を明らかにしている。

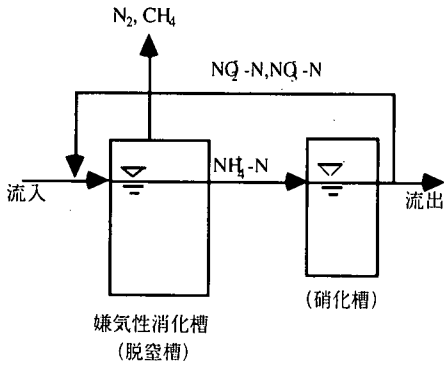
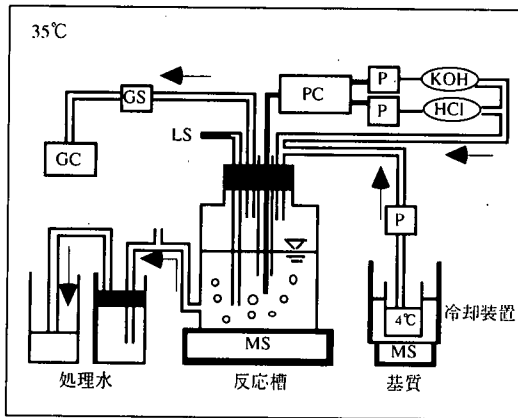


図-1 嫌気性消化に対する脱窒機能の導入

表-1 合成基質の組成 (1Lあたり)

| 組成                                    |       | Mineral sol.                          | (mg/L) |
|---------------------------------------|-------|---------------------------------------|--------|
| Glucose                               | 9.35g | CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | 120    |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 0.4g  | Alk(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>    | 10     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>       | 0.4g  | NaCl                                  | 1000   |
| NH <sub>4</sub> Cl                    | 3.0g  | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>      | 10     |
| MgSO <sub>4</sub>                     | 0.4g  | FeCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | 400    |
| CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O | 0.05g | MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O | 100    |
| NaHCO <sub>3</sub>                    | 6.0g  | ZnCl <sub>2</sub>                     | 100    |
| Mineral sol.                          | 10ml  | CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O | 10     |
|                                       |       | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>        | 10     |
|                                       |       | NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | 20     |



GS:ガスサンプリング P:マイクロチューブポンプ  
 LS:混合液サンプリング GC:ガスカウンタ  
 PC:pHコントローラー MS:攪拌

図-2 連続実験装置概要図

本研究は、下水汚泥の主要な構成成分であり、また、酸生成細菌だけでなく脱窒素細菌の基質としても利用される炭水化物成分に焦点を絞り、その中でも易分解性成分の代表的存在であるグルコースを用

いた連続実験を行った。基質に添加する硝酸性窒素は段階的に変化させ、各COD/NO<sub>3</sub>-Nにおける窒素およびCOD物質収支を求めることにより、嫌気性消化において併行して進行するメタン生成反応および硝酸塩還元反応に及ぼすCOD/NO<sub>3</sub>-Nの影響を定量的に把握し、嫌気性消化法の窒素除去機能に関する基礎的検討を行ったものである。

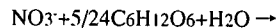
## 2. 実験装置および方法

### (1) 種汚泥および投入基質

本実験は、Y市の下水処理場の嫌気性消化槽より採取した汚泥を、硝酸性窒素を添加しない条件でグルコースを基質として、培養温度35℃、水理学的滞留時間(HRT)10日、pH6.95~7.05の条件で3ヶ月以上培養したものを種汚泥として用いた。表-1に本実験で用いた合成基質(COD<sub>Cr</sub>:10g/L)の組成を示す。

### (2) 実験装置および実験条件

図-2に反応槽の概略を示す。本実験に用いた反応槽は、有効容積3Lの嫌気性ケモスタット型反応槽である。基質はマイクロチューブポンプを用いて連続的に投入し、1N NaOHおよび0.1N HClを用い、pH6.95~7.05に調節しながら実験を行った。基質は室温条件下では変質しやすいため、冷却装置を用いて基質タンク内の温度を4℃に保持した。添加する硝酸性窒素源には硝酸カリウムを用いた。その添加量は、以下の化学量論式から算出し、脱窒素反応に必要なCOD/NO<sub>3</sub>-Nの値である2.86以上の6種類のCOD/NO<sub>3</sub>-Nとした。



設定したCOD/NO<sub>3</sub>-Nは0(blank), 50, 30, 15, 9, 6および3(硝酸性窒素濃度として、それぞれ、0, 0.2, 0.33, 0.67, 1.11, 1.67および3.33g/Lに対応している)の7段階である。本研究では、各COD/NO<sub>3</sub>-Nにおいて滞留時間の3倍程度実験を継続し、メタンガス生成速度の変化が±7%以内になった時点を選定状態とした。

### (3) 細菌群の計数方法

定常状態におけるグルコース利用酸生成細菌、酢酸利用メタン生成細菌、硝酸塩還元細菌および脱窒素細菌の細菌数について、それぞれ以下の方法で計数した。嫌気的操作はHungateのガス噴射法を用いた。噴射ガスは350℃還元銅カラムによって脱酸されたCO<sub>2</sub>ガスである。サンプルの希釈や接種などのあら

表-2 各細菌群の計数に用いた培地の組成 (1Lあたり)

| 組成                                    | グルコース利用酸生成細菌 | 酢酸利用メタン生成細菌 |
|---------------------------------------|--------------|-------------|
| Glucose                               | 3.0g         | -           |
| Sodium acetate                        | -            | 3.0g        |
| Yeast extract                         | 0.2g         | 0.2g        |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 0.4g         | 0.4g        |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>       | 0.4g         | 0.4g        |
| NH <sub>4</sub> Cl                    | 1.0g         | 1.0g        |
| MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | 0.1g         | 0.1g        |
| Mineral solution(a)                   | 10ml         | 10ml        |
| Vitamin solution(b)                   | 10ml         | 10ml        |
| NaHCO <sub>3</sub>                    | 6.0g         | 6.0g        |
| L-Cysteine · HCl · H <sub>2</sub> O   | 0.5g         | 0.5g        |
| Na <sub>2</sub> S · 9H <sub>2</sub> O | 0.25g        | 0.25g       |
| Resazurin                             | 0.002g       | 0.002g      |
| pH                                    | 7.0~7.2      | 7.0~7.2     |

(a) 蒸留水1Lあたりの重量 (g)

N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>3</sub>, 4.5; FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.4; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.12; AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 0.01; NaCl, 1.0; CaCl<sub>2</sub>, 0.02; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 0.01; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.10; ZnCl<sub>2</sub>, 0.10; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.01; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.01; NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.02.

(b) 蒸留水1Lあたりの重量 (mg)

biotin, 2; folic acid, 2; pyridoxine HCl, 10; thiamine HCl, 5; riboflavin, 5; nicotinic acid, 5; DL-calcium pantothenate, 5; Vitamin B12, 0.1; p-aminobenzoic acid, 5; lipoic acid (DL-thioctic acid), 5.

ゆる操作は嫌气的条件下において行った。

希釈水の組成は蒸留水 1L あたり, NaHCO<sub>3</sub> 4.36g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.4g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4g, NH<sub>4</sub>Cl 1.0g, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.1g, 0.1% Resazurin 2ml, L-Cysteine·HCl·H<sub>2</sub>O 0.5g, Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O 0.25g である。グルコース利用酸生成細菌および酢酸利用メタン生成細菌の計数に用いた培地組成<sup>4), 5)</sup> は表-2 に示す。硝酸塩還元細菌および脱窒素細菌の計数に用いた培地<sup>6)</sup> は蒸留水 1L あたり, KNO<sub>3</sub> 1g, アスパラギン 1g, BTB solution(1%) 5ml, クエン酸ナトリウム 8.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1g, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.05g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.2g である。グルコース利用酸生成細菌, 酢酸利用メタン生成細菌用培地および希釈水の気相部は 80%N<sub>2</sub>+20%CO<sub>2</sub> ガス, 硝酸塩還元細菌および脱窒素細菌用培地は CO<sub>2</sub> ガスを充填した。各細菌群の計数培地に 5 段階, 5 本ずつ接種して, 35℃で培養した。

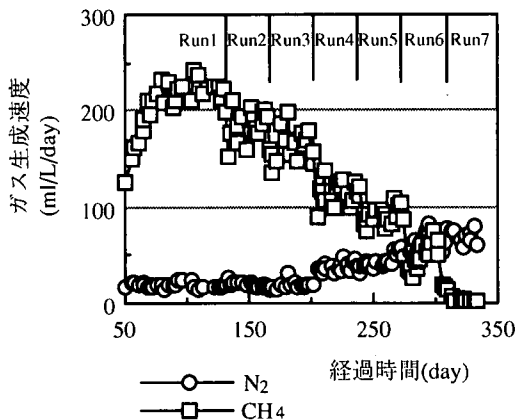


図-3 ガス生成速度の経時変化

グルコース利用酸生成細菌の計数は 2 週間培養して, 細菌の増殖によって培養液が白濁したものを陽性として判定した。酢酸利用メタン生成細菌は 4 週間培養して, メタンガスが存在した試験管を陽性として判定した<sup>4), 5)</sup>。硝酸塩還元細菌の計数は 4 週間培養して, 培養液が緑色から濃青色へ変化したものを陽性として判定した<sup>6)</sup>。脱窒素細菌の計数は 4 週間培養して, 培養液が緑色から濃青色へ変化しかつ N<sub>2</sub> ガスの発生が認められたものを陽性として判定した<sup>6)</sup>。各細菌群の MPN (最確数) は 5-5-5 法の最確数表を用いて決定した<sup>7)</sup>。

#### (4) 分析方法

ORP 測定においては電極金属を白金, 参照電極を飽和塩化銀電極としたガラス電極法を用いた。ガス生成量は, 湿式ガスカウンターで測定されたガス量を標準状態に換算して表した。N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> および CO<sub>2</sub> ガスの分析には TCD- ガスクロマトグラフを用いた。N<sub>2</sub>O ガスの分析には ECD- ガスクロマトグラフを用いた。SS, VSS および COD<sub>Cr</sub> (以降 COD と略記する) は Standard Methods<sup>8)</sup>, タンパク質はローリー法<sup>9)</sup> に従って分析を行った。揮発性脂肪酸 (VFA) 濃度は, 上澄水に 0.1N の塩酸溶液を添加することで pH が 2.0 以下になるように調節してから, FID- ガスクロマトグラフ法 (SHIMADZU GC-8A, カラム温度: 160 度, 検出器温度: 180 度, キャリヤガス: He) で分析を行った。アンモニア性窒素, 硝酸性窒素, 亜硝酸性窒素を除く各溶解性成分の分析にはサンプルを 14000rpm で 40 分間遠心分離した上澄液を用いた。アンモニア性窒素, 硝酸性窒素, 亜硝酸性窒素は上述の上澄液をさらにフィルター (0.22 μm) 処理した後, イオンクロマトグラフ法により測定した。

表-3 ガス生成量及びガス組成に及ぼすCOD/NO<sub>3</sub>-Nの影響

| COD/NO <sub>3</sub> -N | blank | 50   | 30   | 15   | 9    | 6    | 3    |
|------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| ガス生成量(ml/g 投入COD)      | 313   | 303  | 303  | 243  | 283  | 270  | 227  |
| 窒素生成量(ml/g 投入COD)      | 16.0  | 18.6 | 20.6 | 37.9 | 57.9 | 72.6 | 80   |
| メタン生成量(ml/g 投入COD)     | 225   | 198  | 178  | 115  | 105  | 76.2 | 1.6  |
| 窒素含有率(%)               | 5.1   | 6.1  | 6.8  | 15.6 | 20.4 | 26.9 | 35.3 |
| メタン含有率(%)              | 71.7  | 65.3 | 58.7 | 47.3 | 37.1 | 28.2 | 0.7  |
| N <sub>2</sub> O(ppm)  | 0     | 0.28 | 0.36 | 0.45 | 3.32 | 7.59 | 19.9 |

表-4 定常状態における反応槽混合液の性状

| COD/NO <sub>3</sub> -N               | blank | 50   | 30   | 15   | 9    | 6    | 3    |
|--------------------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| SS(g/L)                              | 1.3   | 1.43 | 1.7  | 1.6  | 1.79 | 1.72 | 6.13 |
| VSS(g/L)                             | 1.19  | 1.15 | 1.2  | 1.22 | 1.31 | 1.29 | 2.71 |
| 全COD(g/L)                            | 3.72  | 3.4  | 3.64 | 3.88 | 3.4  | 3.16 | 5.52 |
| 溶解性COD(g/L)                          | 2.06  | 1.82 | 1.9  | 2.35 | 1.52 | 1.66 | 1.33 |
| 全タンパク質(g/L)                          | 0.72  | 0.67 | 0.65 | 0.89 | 1.15 | 1.24 | 1.84 |
| 溶解性タンパク質(g/L)                        | 0.18  | 0.12 | 0.1  | 0.16 | 0.22 | 0.36 | 0.33 |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N(g/L) | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.87 |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N(g/L) | 0     | 0.09 | 0.14 | 0.18 | 0.25 | 0.49 | 0.83 |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(g/L) | 0.58  | 0.64 | 0.67 | 0.7  | 0.77 | 0.83 | 0.85 |
| 酢酸(g/L)                              | 0     | 0.01 | 0.02 | 0.66 | 0.31 | 0.18 | 0    |
| プロピオン酸(g/L)                          | 1.19  | 0.94 | 1.08 | 0.81 | 0.51 | 0.09 | 0    |
| i-酪酸(g/L)                            | 0.05  | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0    |
| ORP(mV)                              | -376  | -368 | -374 | -360 | -355 | -330 | +68  |

### 3. 実験結果

#### (1) 運転特性

実験開始から350日間のガス生成速度の経時変化を図-3に、各条件の定常状態におけるガス生成量及びガス組成を表-3にそれぞれ示した。COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴い、全ガス生成量およびメタンガス生成量は減少を示した。Blank, COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9, 6および3におけるメタンガス生成速度はそれぞれ225, 198, 178, 115, 105, 76.2および1.6ml/L/dayと低下した。これとは逆にN<sub>2</sub>生成量およびN<sub>2</sub>生成速度は増大する傾向を示した。

各条件における反応槽混合液の性状を表-4に示した。SS, VSSおよび全CODはCOD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴い増大した。また、N<sub>2</sub>生成量の増大および全タンパク質濃度の増大とともに観察されており、脱窒素細菌の増殖の影響によるものと考えられる。

代謝産物であるVFAは、主として酢酸、プロピオ

ン酸およびi-酪酸であった。また、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴い、プロピオン酸濃度は低下を示した。Akunnaら<sup>2)</sup>はグルコースを用いた回分実験で嫌氣的分解における硝酸や亜硝酸性窒素の存在は、酢酸生成を高め、プロピオン酸の生成を抑制することを報告している。Ganayら<sup>10)</sup>は、硝酸性窒素を還元する能力を持つ3つの細菌(*Alcaligenes denitrificans*, *Pseudomonas mendocina*, *Comamonas testosteroni*)をそれぞれ無酸素槽で培養し、4種類の揮発性脂肪酸(酢酸, プロピオン酸, 酪酸, 吉草酸)を基質とした実験を行い、*mendocina*の場合、基質消費速度11.5mg/gSS/hで酢酸, *denitrificans*の場合、基質消費速度28.2mg/gSS/hでプロピオン酸, そして*testosteroni*の場合には基質消費速度17.3mg/gSS/hで酪酸の消費速度が最も高いこと、3種類の細菌はすべて酢酸を利用する場合の亜硝酸の蓄積が最も高いことを報告した。これらのことから、プロピオン酸資化性脱窒素細菌の資化性が、電子受容体である硝酸性窒素濃度の増大により促進されたた

めに、メタン生成細菌のメタン生成能が低下したものと考えられる。それゆえ、高い硝酸性窒素濃度の場合においても嫌気性消化槽内のプロピオン酸が低いレベルで維持されたものと推定される。

投入した硝酸性窒素のうち脱窒素反応および菌体生成に利用されなかった部分は主に亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素、亜酸化窒素として存在していた。また、COD/NO<sub>3</sub>-N=3では硝酸性窒素としても残存していた。

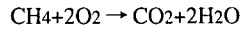
Blank, COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9および6の場合、ORPは-376~-330mVとほぼ同程度レベルを示していたがCOD/NO<sub>3</sub>-N=3へ低下させるとORPは+68mVと高いレベルになった。このCOD/NO<sub>3</sub>-N=3ではメタン生成はほぼ停止し、また、硝酸性窒素から窒素ガスへの転換率も低い値を示した。Chen and Lin<sup>11)</sup>はメタノールを有機炭素源とした実験で、初期に添加した硝酸及び亜硝酸性窒素が存在している場合には-100mV程度であった酸化還元電位が、硝酸及び亜硝酸性窒素の還元に伴って徐々に低下し、-300mVに達したところでメタン生成が開始したことを報告している。Carley and Mavinic<sup>12)</sup>は有機炭素源としてグルコースを用いた実験でCOD/NO<sub>x</sub>-N=4.5, 9および23においてORPはそれぞれ+10, -150および-325mVであったことを示した。田中ら<sup>13)</sup>は硝酸および亜硝酸性窒素を含む人工廃水を完全に脱窒素処理する最適条件についてメタノールを基質として検討し、C/NO<sub>x</sub>-Nの増大に伴い、ORP値はほぼ直線的に減少することを明らかにした。以上のことから、本研究において、COD/NO<sub>3</sub>-N=3における急激なORPの上昇は、電子供与体の不足によって硝酸性窒素が残存したためであり、これによってメタン生成反応が阻害されたと考えられる。Hanakiら<sup>14)</sup>は、脱窒素反応においてCOD/NO<sub>3</sub>-Nが低く、SRTが短く、pHが低いほど、亜硝酸性窒素濃度が増大するためN<sub>2</sub>Oガス生成が増大することを示した。嫌気性消化槽に硝酸塩を添加した本研究においても、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴って亜硝酸性窒素濃度も高くなり、同時に地球温暖化の原因物質である亜酸化窒素濃度も増大を示した。このことは、COD/NO<sub>3</sub>-Nが3から9の間で顕著であった。

## (2) CODおよび窒素の物質収支

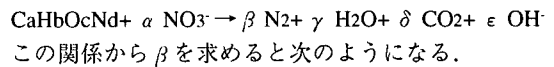
反応槽へ投入された有機物は嫌気性消化反応および硝酸還元反応によって様々な形態へ変化する。これらの生物反応に及ぼす硝酸性窒素の影響を明らかにするため窒素成分を含めたCOD物質収支の計算を行った。この計算方法は以下に示すとおりである。

累積メタンガス生成量においては、次の反応式を

用いてCOD換算係数を2.86 (gCOD/L)と算出した。



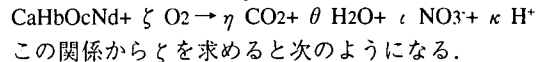
揮発性脂肪酸も同様に酸素と反応して二酸化炭素と水を生成する反応式から、酢酸は1.07 (mgCOD/mg acetic acid)、プロピオン酸は1.51 (mgCOD/mg propionic acid)、酪酸は1.82 (mgCOD/mg butyric acid)と算出した。また、VSSの換算係数は1.42 (mgCOD/mg VSS)<sup>15)</sup>、タンパク質は1.24 (mgCOD/mg protein)<sup>15)</sup>を用いた。また、本研究では一般に嫌気性消化で考慮することのない窒素成分についても流入水中に硝酸性窒素を含んでいることからそのCOD換算係数を求めておく必要がある。本研究でCOD物質収支算出の対象とした窒素成分は窒素ガス、亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素である。累積窒素ガス生成量においては、次の方法でCOD換算係数を算出した。はじめに有機物の一般式をCaHbOcNdとするとこれを用いる脱窒素反応は次のように表すことができる。



この関係からβを求めると次のようになる。

$$\beta = (4a + b - 2c + 5d) / 10$$

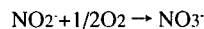
したがって、1molのCaHbOcNdが有するCOD (COD<sub>org</sub>)は(4a+b-2c+5d)/10 molのN<sub>2</sub>が有するCODと等しくなる。次にCOD<sub>org</sub>は次の反応式を基にして求めた。



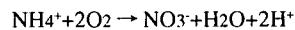
この関係からζを求めると次のようになる。

$$\zeta = (4a + b - 2c + 5d) / 4$$

したがってCOD<sub>org</sub>は8(4a+b-2c+5d) gCOD/molとなる。これが上述したβ molのN<sub>2</sub>のCOD<sub>Cr</sub>と等しいことから、窒素ガスのCOD換算係数は3.57 (gCOD/L)と算出した。亜硝酸性窒素においては、次の反応式を用いてCOD換算係数を1.14(gCOD/gN)と算出した。



アンモニア性窒素においては、次の反応式を用いてCOD換算係数を4.57(gCOD/gN)と算出した。



窒素物質収支は各定常状態における測定値を基にして、窒素ガス、硝酸性窒素、亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素、有機性窒素および亜酸化窒素に分類して算出した。有機体窒素は微生物体の窒素成分を表しており、測定された全タンパク質から溶解性タンパク質を減じた値に0.16<sup>16)</sup>を乗じたものである。以上の方法で算出された窒素物質収支を図-4、窒素成分を含んだCOD物質収支を図-5に示した。

図-4より、投入した硝酸性窒素の窒素ガスへの転換率は、COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9, 6および3においてそれぞれ16.3, 17.25, 41.1, 47.1, 42.5および24%であり、COD/NO<sub>3</sub>-N=9の場合が最も高かった。こ

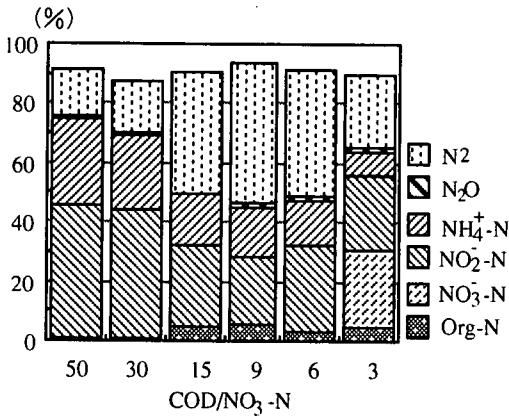


図-4 各条件における添加した硝酸性窒素の化学形態変化

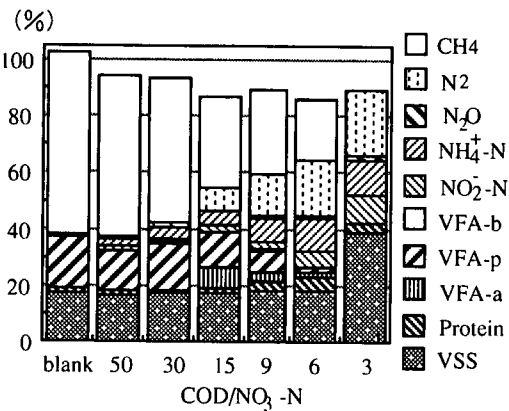


図-5 各条件におけるCOD物質収支

れより、COD/NO<sub>3</sub>-Nを低下させた場合に、硝酸性窒素から窒素ガスへの転換率が低下する原因は、前述したとおり主に脱窒素のために必要な電子供与体の不足であると考えられる。Carley and Mavnic<sup>12)</sup>は埋立地浸出水の脱窒素に最適なCOD/NO<sub>x</sub>-Nは、有機炭素源が酢酸の場合は5.9、メタノールでは6.2、グルコースでは9.0であることを明らかにし、グルコースを用いた場合の値が高い原因として、グルコースが従属性嫌気性細菌の増殖を促進させ、その一部分が生体の合成に使われ、脱窒素細菌に必要な有機炭素が不足したためであると推察した。Tiedji<sup>17)</sup>は脱窒素反応における電子供与体としての有機炭素の不足は脱窒素反応速度の低下、及び一連の脱窒素過程でのNO<sub>2</sub><sup>-</sup>、あるいはN<sub>2</sub>Oの段階での反応の停止を引き起こすと報告しており、本実験におけるCOD/NO<sub>3</sub>-N=3での窒素ガスへの転換率の低下も脱窒素のための電子供与体である有機炭素源の不足であると考えられる。

また、全てのCOD/Nにおいて、窒素の収支が完全

ではなかったことは、脱窒素反応で生成したアンモニア性窒素の一部がアンモニアガスとして系外に放出されたことに主な原因があると考えられる<sup>18)</sup>。Akunnaら<sup>2)</sup>は、硝酸や亜硝酸性窒素の存在はメタン生成を阻害するが、この阻害は硝酸および亜硝酸の完全な除去の後には起こらないことを示した。Lin and Chen<sup>19)</sup>およびHendriksen and Ahring<sup>20)</sup>も脱窒素反応とメタン発酵を同時に起こさせるためには、多量の有機炭素源が必要であることを示した。

図-5より、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴ってメタンガスへ転換されるCODの割合が低下することが示された。硝酸性窒素を添加しなかった場合は、投入したCODの64.2%がメタンガスに転換したがCOD/NO<sub>3</sub>-N=6の場合には、21.8%、COD/NO<sub>3</sub>-N=3の場合には、投入CODの0.46%のみがメタンガスに転換された。COD収支から考えると、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下により、アンモニア性窒素および亜硝酸性窒素の形態の占めるCODの割合が増大しているが、窒素収支においてはむしろその割合は小さくなっている。Akunnaら<sup>21)</sup>は、グルコースやグリセロールを基質とした場合には、アンモニア生成反応が無視できないことを報告した。さらにグルコースを基質として硝酸塩還元およびメタン生成に及ぼすCOD/NO<sub>x</sub>-Nの影響を分析し、硝酸性窒素負荷を低下させるとアンモニア生成反応が増大することを明らかにした<sup>2)</sup>。本実験においても添加した硝酸性窒素がCOD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30ではアンモニアになる反応(異化的硝酸還元反応)が優先的に起こり、COD/NO<sub>3</sub>-N=15, 9, 6および3においては脱窒素反応が優先的に起こったと考えられる。また、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴って亜酸化窒素へ転換されるCODの割合が増大した。

### (3) 細菌群の分布

各条件における細菌群の分布を図-6に示した。グルコース利用酸生成細菌、硝酸塩還元細菌および脱窒素細菌数はCOD/NO<sub>3</sub>-Nの低下によって、2.4 × 10<sup>10</sup>から3.5 × 10<sup>11</sup>、3.1 × 10<sup>7</sup>から9.2 × 10<sup>9</sup>および1.1 × 10<sup>7</sup>から7.9 × 10<sup>7</sup>MPN/mlへそれぞれ増加した。特にグルコース利用酸生成細菌の場合、COD/NO<sub>3</sub>-N=15では急な増加が見られた。一般に、メタン生成が順調に進んでいる中温嫌気性消化槽における酢酸利用メタン生成細菌は、10<sup>6</sup> ~ 10<sup>8</sup>MPN/mlのオーダーで計数されている<sup>4)</sup>。本実験における酢酸利用メタン生成細菌は、2.4 × 10<sup>8</sup>MPN/mlからCOD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴って若干減少する程度であったが、COD/NO<sub>3</sub>-N=3においては、5.4 × 10<sup>6</sup>MPN/mlへの急激な減少が見られた。

Blank, COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9, 6および3の各定常状態における増殖収率(Y)は、それぞれ0.19,

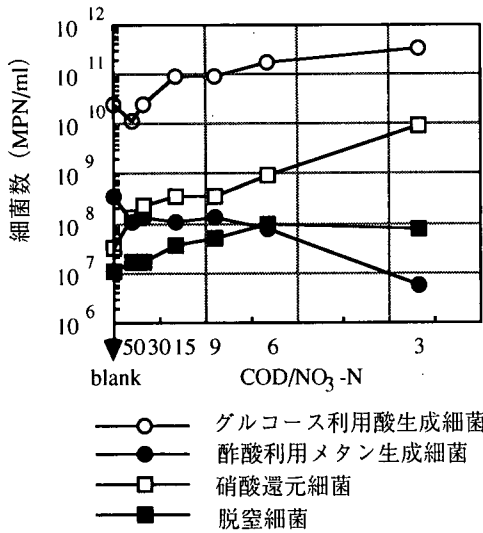


図-6 各条件における細菌群の分布

0.17, 0.19, 0.2, 0.2, 0.19, 0.6mgVSS/mgCODであり、メタン生成細菌数が急激に低下したCOD/NO<sub>3</sub>-N=3以外の増殖収率は、ほぼ一定であった。Ghoshらは、嫌気性消化の酸生成相でのグルコースを用いた回分実験<sup>22)</sup> および連続実験<sup>23)</sup> で各々の増殖収率を0.15および0.17mgVSS/mgCODと報告しており、野池ら<sup>24)</sup> は、グルコースを用いた酸生成相の連続実験で0.14mgVSS/mgCODを報告した。Henze and Harremoës<sup>25)</sup> は、酸生成細菌およびメタン生成細菌の増殖収率は各々0.15および0.03mgVSS/mgCODであることを報告した。張ら<sup>26)</sup> は、メタン生成槽の基質として酸酢、プロピオン酸および酪酸を用いた連続実験における増殖収率が各々0.108, 0.043および0.022mgVSS/mgCODであったと報告している。Shimizuら<sup>27)</sup> は、*Paracoccus denitrificans*を用いた回分実験で硝酸の脱窒反応においては0.25g菌体/gCODと報告しており、Stenselら<sup>28)</sup> は、混合培養系における硝酸を電子受容体とする脱窒素反応において0.18mgSS/mgCODを報告した。以上のことから、増殖収率の低いメタン生成細菌の急激な減少に伴って、反応槽全体の増殖収率が上昇したものと考えられる。

#### 4. 結論

従来の嫌気性消化法では、一般に流入水には含まれることがなかった硝酸性窒素を含有したグルコースを主成分とする人工基質を用いた連続実験により、嫌気性消化槽内部で起きたメタン生成反応および硝酸塩還元反応に及ぼすCOD/NO<sub>3</sub>-Nの影響を検討した結果、以下の知見が得られた。

(1) 硝酸性窒素無添加の系では、投入したCODの64.2%がメタンに転換されたが、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴い、メタン生成量は低下し、COD/NO<sub>3</sub>-N=6では、21.8%、COD/NO<sub>3</sub>-N=3では投入CODの0.46%のみがメタンに転換された。

(2) COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下に伴い、アンモニア性窒素および亜硝酸性窒素へ変換されるCODの割合が増大したことがCOD物質収支から明らかにされたが、窒素収支からはむしろその割合は減少することが確認された。また、COD/NO<sub>3</sub>-N=9の場合、投入した硝酸性窒素を窒素ガスへ最も効率よく転換できた。

(3) Blank, COD/NO<sub>3</sub>-N=50, 30, 15, 9および6の場合、ORPは-376 ~ -330mVと同様なレベルを示していたがCOD/NO<sub>3</sub>-N=3へ低下させるとORPは+68mVと高いレベルになった。このCOD/NO<sub>3</sub>-N=3ではメタン生成はほとんど観測されず、また、硝酸性窒素から窒素ガスへの転換率も低い値となった。

(4) グルコース利用酸生成細菌、硝酸塩還元細菌および脱窒素細菌は、COD/NO<sub>3</sub>-Nの低下によって、2.4 × 10<sup>10</sup>から3.5 × 10<sup>11</sup>, 3.1 × 10<sup>7</sup>から9.2 × 10<sup>9</sup>および1.1 × 10<sup>7</sup>から7.9 × 10<sup>7</sup>MPN/mlへそれぞれ増加した。酢酸利用メタン生成細菌数はCOD/NO<sub>3</sub>-N=3において5.4 × 10<sup>6</sup>MPN/mlと低い値であったが、それ以外のCOD/NO<sub>3</sub>-Nではほぼ一定の値を示した。

謝辞：本研究の一部は文部省科学研究費補助金（奨励研究A）のもとに行われた。記して謝意を表する。

#### 参考文献

- 1) 合田健: 水質工学, 応用編, pp.122-125, 1976.
- 2) Akunna, J. C., Bizeau, C. and Moletta, R.: Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations: ammonification, denitrification and methanogenic activities, *Environmental Technology*, Vol. 15, pp.41-49, 1994.
- 3) 具仁秀, 宮原高志, 野池達也: 嫌気性消化に及ぼす硝酸性及び亜硝酸性窒素の影響, 廃棄物学会論文集, Vol. 10, No.3, pp.152-159, 1999.
- 4) 李玉友, 野池達也: 汚泥の嫌気性消化における細菌群の分布と物質分解特性, 水質汚濁研究, Vol. 12, pp.771-780, 1989.
- 5) Zhang, T.-C. and Noike, T.: Influence of retention time on reactor performance and bacterial trophic populations in anaerobic digestion process, *Wat. Res.*, Vol. 28, pp.27-36, 1994.
- 6) 須藤降一, 稲森悠平: 水処理バイオ入門, 産業用水調査会, pp.96, 1994.
- 7) 下水試験方法, 日本下水道協会, pp.248-255, 1984.
- 8) American Public Health Association: Standard methods for

- the examination of water wastewater, 18th ed, American public health association, Washington, D. C, 1992.
- 9) 岩永貞昭：タンパク質の化学 I (生化学実験講座 1), 日本生化学会編, 東京化学同人, pp.45, 1976.
  - 10) Ganaye, V., Fass, S., Urbain, V., Manem, J. and Block, J. C.: Biodegradation of volatile fatty acids by three species of nitrate reducing bactereria, *Environmental Technology*, Vol. 17, pp.1145-1149, 1996.
  - 11) Chen, F.-C. and Lin, Y.-F.: The relationship between denitrifying bacteria and methanogenic bacteria in a mixed culture system of acclimated sludges, *Wat. Res.*, Vol. 27, No.12, pp.1749-1759, 1993.
  - 12) Carley, B. N. and Mavinic, D.S.: The effect of external carbon loading on nitrification and denitrification of a high-ammonia landfill leachate, *J. WPCF*, Vol. 63, pp.51-59, 1991.
  - 13) 田中一彦, 安江鉦次, 大津正見, 石原豊, 中嶋邦雄: 酸化還元転位による生物学的脱窒素処理工程の自動制御, 水処理技術, Vol. 23, No.8, pp.35-41, 1982.
  - 14) Hanaki, K., Hong, Z. and Matsuo, T.: Production of nitrous gas during denitrification of wastewater, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 26, No.5-6, pp.1027-1036, 1992.
  - 15) 李玉友, 野池達也: 嫌気性消化の酸生成相における余剰活性汚泥の分解特性, 水質汚濁研究, 第 10 卷, 第 12 号, pp.729-740, 1987.
  - 16) 福井哲也, 伊藤正樹: タンパク質定量法, 廣川書店, pp.55-61, 1991.
  - 17) Tiedje, J. M.: Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: *Biology of anaerobic microorganisms*, Zehnder A.J.B. (ed), John Wiley, New York, pp.179-244, 1988.
  - 18) 清原雄康, 宮原高志, 水野修, 野池達也, 李玉友: 高温嫌気性消化法を用いた高濃度下水汚泥の処理特性, 土木学会論文集, No.601/VIII-8, pp.35-43, 1998.
  - 19) Lin, Y.-F. and Chen, K.-C.: Denitrification and methanogenesis in a co-immobilized mixed culture system, *Wat. Res.*, Vol. 29, No.1, pp.35-43, 1995.
  - 20) Hendriksen, H. V. and Ahring, B. K.: Integrated removal of nitrate and carbon in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor: operating performance, *Wat. Res.*, Vol. 30, No.6, pp.1451-1458, 1996.
  - 21) Akunna, J. C., Bizeau, C. and Moletta, R.: Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol, *Wat. Res.*, Vol. 27, pp.1303-1312, 1993.
  - 22) Ghosh, S. and Klass, D. L.: Two-phase anaerobic digestion, *Proc. Biochem.*, Vol. 13, pp.15-24, 1978.
  - 23) Ghosh, S. and Pohland, F. G.: Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion, *J. WPCF*, Vol. 46, No.4, pp.748-759, 1974.
  - 24) Noike, T., Endo, G., Chang, J.-E., Yaguchi, J.-I. and Matsumoto, J.-I.: Characteristics of carbohydrate degradation and the rate-limiting step in anaerobic digestion, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 27, pp.1482-1489, 1985.
  - 25) Henze, M. and Harremoes, P.: Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors—a literature review, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 15, No.8-9, pp.1-101, 1983.
  - 26) 張祖恩, 野池達也, 松本順一郎: 嫌気性消化のメタン生成相における混合基質の利用特性, 土木学会論文報告集, Vol. 335, pp.79-87, 1983.
  - 27) Shimizu, T., Furuki, T., Waki, T. and Ichikawa, K.: Metabolic characteristics of denitrification by *Paracoccus denitrificans*, *J. Ferment. Technol.*, Vol. 56, pp.207-213, 1978.
  - 28) Stensil, H. D., Loehr, R. C. and Lawrence, A. W.: Biological kinetics of suspended-growth denitrification, *J. WPCF*, Vol. 45, pp.249-261, 1973.

(2000. 5. 26 受付)

## BEHAVIOR OF NITRATE IN ANAEROBIC DIGESTION

In Soo GOO, Takashi MIYAHARA and Tatsuya NOIKE

Both of methanogenic reaction and denitrification were observed at an anaerobic digester fed with synthetic substrate which contained glucose and nitrate. The anaerobic digester to which nitrate was not fed converted 64.2% of influent COD to methane. On the other hand, the COD conversion efficiency decreased to 21.8% when the COD/NO<sub>3</sub>-N ratio of the substrate decreased to 6. The highest conversion ratio of nitrate to nitrogen gas was observed at the COD/NO<sub>3</sub>-N of 9. ORP of the digester contents were maintained between -376 and -330 mV if the COD/NO<sub>3</sub>-N were higher than 6, While on the other hand, the ORP level reached extremely high value of +68 mV and the number of methanogenic bacteria decreased dramatically when the COD/NO<sub>3</sub>-N ratio of the substrate decreased to 3.