

B-2

無酸素槽・好気槽循環スポンジ担体内の硝化脱窒反応

長岡技術科学大学工学部 ○小淵万友美・大橋晶良・関口勇地・原田秀樹
西原環境衛生研究所 小針昌則・土肥哲哉・伊東崇

1. はじめに

下水処理において活性汚泥法を嫌気・無酸素・好気循環法に改良することで、下水中の窒素・リンの生物学的除去が期待できる。しかも何らかの微生物付着・保持担体をリアクター内に投入し、微生物濃度を高めることで、処理性能の向上が可能である。このコンセプトに基づき、Y市の下水処理場に設置した嫌気・無酸素・好気循環法パイロットプラントでは担体としてスポンジキューブを用い、冬季においても実下水の良好な窒素除去（通年平均除去率 80%）が得られている。なお本プロセスの特徴として、好気槽から無酸素槽へ返流する際、スポンジ担体も返送しており、スポンジ担体は無酸素槽と好気槽を循環している。そこで本研究では、この良好な有機物除去と窒素除去を担っているスポンジ担体の硝化脱窒反応機構を明らかにすることを目的として、スポンジ担体の硝化・脱窒活性試験、微小電極を用いて担体内部の基質濃度プロファイル測定を行い、さらに FISH 法を用いてスポンジ担体表面および内部に保持されている微生物、特に硝化細菌の空間分布を観察した。

2. 実験装置と実験方法

2.1 プロセスの概要

本プロセスの処理フローを Fig.1 に示す。嫌気槽、無酸素槽、好気槽の容積はそれぞれ 1、2、3 m³ で、初沈汚泥の発酵液は嫌気槽へ流入され、実原水(24m³/d)は無酸素槽へ流入されていて、HRT 6 時間で運転されている。好気槽処理水は 2 倍の返送比で無酸素槽へ戻しており、リアクターに投入されているスポンジ担体(12×12×15mm)もエアーリフトで返送され、無酸素槽と好気槽間を循環している。無酸素槽・好気槽内のスポンジ担体投入量は容積比 30%である。スポンジ担体内の平均微生物濃度は 9,800mgVSS/L で、VSS/SS 比は 0.63 であった。

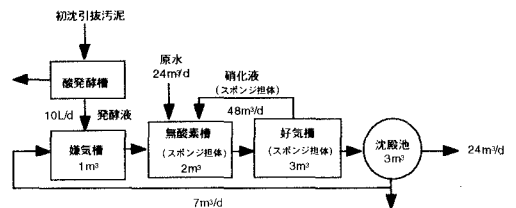


Fig.1 New sewage treatment system in which sponge-cube carriers are installed for investigating nitrification and denitrification of them.

2.2 硝化・脱窒活性試験

パイロットプラントの好気槽から採取したスポンジ担体の硝化と脱窒の活性を測定した。スポンジ担体を各活性測定用基質に 6 時間馴致させた後、10 個の担体を基質 200ml の入ったフラスコへ移し変えて測定を開始した。基質は、硝化において NH_4Cl (25mgN/L)、 NaHCO_3 (420mg/L) を主成分とし、脱窒に対しては NaNO_3 (25mgN/L)、 CH_3COONa (150mg COD/L) を窒素曝気下で行った。また、好気槽内では空気曝気下でもスポンジ担体内で硝化脱窒の同時反応が起きていることが予想されるため、基質組成を NH_4Cl (15mgN/L)、 NaNO_3 (15mgN/L)、 CH_3COONa (150mg COD/L) とし、空気曝気して硝化と脱窒の同時活性試験も実施した。さらにアリルチオ尿素 (2mg/L) を添加した基質を用いて他栄養細菌のみの酸素消費活性も測定した。すなわち、4 種類の基質条件下で実施し、適切な時間間隔でフラスコ内バルク液を採取 (酸素消費活性以外) して $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度をイオンクロマトグラフで分析した。4 種類の基質には、無機塩類 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 3.8mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 741.3mg/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 0.0338mg/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.035mg/L, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0.375mg/L, CuSO_4 : 0.0021mg/L, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.0012mg/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.0002mg/L) が添加されていて、リン酸緩衝液 (10mM) で pH を 7 に調節している。

また、スポンジ担体から汚泥を搾取して、分散汚泥状態での硝化および脱窒の 2 活性を測定した。基質は上記インタクト担体状態での活性試験と同一とした。

2.3 微小電極による基質濃度プロファイル測定

好気槽から採取したスポンジ担体を濃度分布測定用基質で 6 時間馴致させ、1 担体をフローセル (容積 324mL) 内に固定し、基質を連続的に供給した。フローセル内は空気あるいは窒素で曝気され、さらにスターラーで攪拌しており、液は完全混合状態である。微小電極をスポンジ担体表面中央部から中心に向かって挿入し、50~500 μm 間隔で基質濃度を測定した。微小電極は DO 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ 測定の 3 種類を用いた。濃度分布測定用基質

は上述の活性試験と同様に、処理プロセスの無酸素槽での脱窒環境を模擬した条件、好気槽での硝化あるいは硝化脱窒同時反応を模擬した条件、および他栄養細菌のみの酸素消費を評価する条件下の4種類である。その基質組成は濃度以外活性用基質と同一であり、 NH_4Cl (5mgN/L), NaNO_3 (10 あるいは 5mgN/L), CH_3COONa (100mg COD/L)とした。

2.4 FISH (Fluorescent InSitu Hybridization)法

スポンジ担体を凍結し、厚さ約 1~2mm の凍結切片を作成してから、関口ら¹⁾の FISH 方法に準拠して *In situ* hybridization を行った。用いたプローブは *Nitrosomonas* 等のアンモニア酸化細菌を特異的に検出する NSO190²⁾と真正細菌を特異的に検出する EUB338³⁾の2種類である。

3. 実験結果

3.1 硝化・脱窒活性

活性試験より算出したインタクト状態におけるスポンジ担体の表面積当たりの脱窒および硝化活性値は、それぞれ 0.33mgN/cm²/d、0.20mgN/cm²/d とほぼ同等の値で、スポンジ担体が無酸素槽と好気槽を循環していることを察すると、脱窒と硝化の両能力を備えても不思議ではない。しかも、好気的な環境下でも硝化と脱窒の同時反応がインタクトのスポンジ担体内で起きており、この時の脱窒速度は無酸素条件下の速度より劣るものの 0.10mgN/cm²/d の活性を示し、硝化速度は 0.30mgN/cm²/d というやや高い活性を有していた。

一方、スポンジ担体からの搾取汚泥における分散状態での脱窒と硝化の活性値は、それぞれ 0.12gN/gVSS/d と 0.05gN/gVSS/d であった。スポンジ担体の生物濃度は 9,800mgVSS/L であったので、これらの値を用いて、スポンジ内には基質拡散抵抗が存在しない架空状態での表面積当たりの活性値 (単位として mgN/cm²/d に変換)を算出すると、インタクト状態 (拡散抵抗が存在) における脱窒や硝化の活性とほぼ同じ値が得られた。すなわち、このことはスポンジ担体内部すべての微生物が有効に活動していることを示しており、12×12×15mm³ サイズのスポンジでは微生物活性に及ぼす物質移動抵抗の影響は少ないと考えられる。

3.2 スポンジ担体内部の活性

微小電極を用いて測定したスポンジ担体内部の基質濃度プロファイルを図2~ 図5に示す。各基質濃度プロファイルともスポンジ表面に約 400μm 厚さの大きな液境膜が存在していて、フローセル内でのバルク液の混合はリアクター内でのものと比べて穏やかで、スポンジ表面付近の流速は小さかったようである。硝化基質条件下

(図2)において、DO はスポンジ担体内部 1000μm 付近まで浸透しており、表面より約 1000μm までは好気ゾーンで、それより深部は無酸素ゾーンであることが分かる。事実、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度プロファイルを見ると、微小電極の感度の問題や測定時の誤差のため明白ではないが、深さ 1000μm の領域で約 2mg/L の $\text{NH}_4\text{-N}$ が減少し、その代わりに等量の約 2mg/L の $\text{NO}_3\text{-N}$ が生成しており、硝化反応が起きていることが確認できる。図4に示す硝化脱窒同時反応の基質条件下では、好気性他栄養細菌が酸素を消費することから、硝化反応のみの時よりも DO の浸透深さは浅く、800μm 程度で DO 濃度がゼロとなっている。また $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度プロファイルより、硝化反応はスポンジ表面近傍で起こり、深部で脱窒反応が進行している ($\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が深部に向かって減少)ことが伺える。また脱窒基質条件下 (図3)においては、10mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ の濃度が液境膜からスポンジ内部へ向かって 1mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ まで低下しており、脱窒反応の現象が観察できる。

基質濃度プロファイル結果から、好気的環境下ではスポンジ担体内の好気ゾーンがたかだか 1000μm 以内で、それより深部は全て無酸素ゾーンということになると、一見、好気ゾーンは極僅かしか存在しないように感じられる。しかしながら、スポンジ担体はキューブであり、表面から 1000μm までの好気ゾーンの容積を計算すると、担体全容積の 40% (= (12×12×15-10×10×13)/(12×12×15)) の占有率になる。従って、スポンジ担体サイズが 12×12×15mm 角程度であることで、好気的な環境下でも硝化と脱窒の同時反応が起きていると推察できる。

基質濃度プロファイルより Fick の拡散法則を適用して、単位体積当たりあるいは単位表面積当たりの基質消費速度を評価することができる。この方法を用いて計算した担体内部の単位体積当たりの DO 消費速度あるいは $\text{NO}_3\text{-N}$ 消費速度を基質濃度プロファイルの図中 (図2~ 図5) に棒グラフで示した。硝化に伴う DO 消費速度

(図2)は、担体表面近傍よりも少し内部に入った場所の方が高くなっている。一方、硝化脱窒の同時反応時における DO 消費速度 (図4)は、硝化反応時の速度よりもかなり高く、また表面付近での反応が盛んとなっており、好気性他栄養細菌の作用によるものと推測される。無酸素環境下では、脱窒速度 (図3)も表面付近の方が卓越しており、内部に向かって低下している。

また基質濃度プロファイルから算出した単位表面積当たりの硝化および脱窒速度は、それぞれ 0.011mgN/cm²/d と 0.088mgN/cm²/d であった。これらの値は上述した活性試験より求めた速度より1オーダー近くも小さいものである。この速度が非常に異なる原因として、活性試験と濃度プロファイル測定でのバルク液の流動状態が異なる

ることによる液境膜厚さの違いが考えられる。すなわち、濃度プロファイル測定時のバルク液攪拌は穏やかで、液境膜厚さが大きくて拡散抵抗により基質の物質移動量が少ないことが1つの要因かもしれない。また実際の反応槽や活性試験での流動状態は激しく、スポンジ担体同士の衝突による変形などによってスポンジ表面付近で水の移流が起こっていることが主な原因とも考えられる。担体が流動している状態で NaCl のスポンジ内拡散係数を別途測定したところ、水中での拡散係数よりも数%ほど高い値であった。このことはスポンジ担体内に移流があることを示唆しており、スポンジ担体を固定し穏和な攪拌では移流が起こらず、このために濃度プロファイルから求めた硝化や脱窒速度が低くなったと推察される。

基質濃度プロファイルから評価した硝化や脱窒速度が実際の反応槽で起こっている現象よりも小さいことを考えると、実際の好気槽内で流動しているスポンジ担体は、表面から 1000 μm の部位よりも深く酸素が到達しており、好気ゾーンの容積は 40% 以上に存在していることになる。このことは、好気槽内で硝化と脱窒の同時反応が起きていても、好気的な環境を十分に提供していると言える。

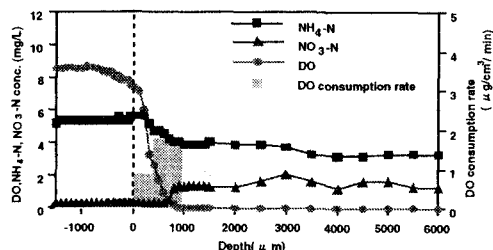


Fig.2 Profiles of nitrification substrate under aerobic condition

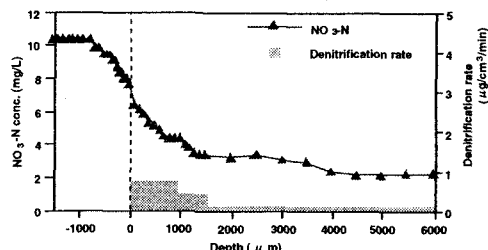


Fig.3 Profile of denitrification substrate under anoxic condition

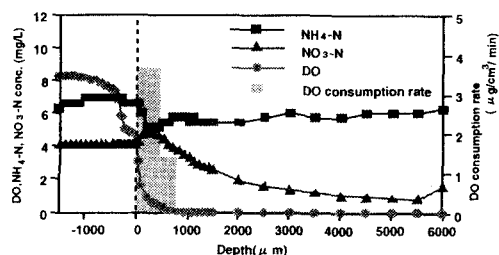


Fig.4 Profiles of nitrification and denitrification substrate under aerobic condition

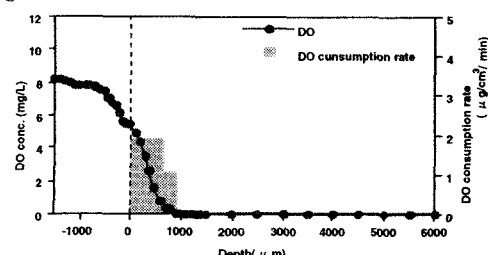


Fig.5 Profile of Heterotrophs oxygen uptake substrate under aerobic condition

3.3 FISH 法による微生物分布の観察

FISH 法によるスポンジ担体断面の微生物分布の画像（白黒印刷では分布の様子が不明のため図示せず）より、真正細菌はスポンジ繊維に沿って大小様々な形状のクラスターを形成して、表面から中心部 6mm まで満遍なく生息していることが明らかになった。一方、プローブ NSOI90 で検出されるアンモニア酸化細菌は、表面から 0.3~0.7mm 付近に小さなクラスターを形成し存在しているが、その量は真正細菌に比較してほんの僅かであり、少なそうに見えるアンモニア酸化細菌量でも、十分な硝化速度を有していることが分かった。この微生物分布の様子は微小電極を用いた基質濃度プロファイル結果と非常に符号しており、担体表面から 1mm の間に硝化が起きているに違いない。なお FISH 法で亜硝酸酸化細菌の生存分布の観察も試みたが、存在量が少ない原因か、検出することはできなかった。

4. まとめ

無酸素槽と好気槽間を循環しているスポンジ担体の硝化脱窒機構を活性試験、微小電極による基質濃度分布測定や FISH 法より調べた。スポンジ担体は好気的环境下でも硝化と脱窒の同時反応が起きている、担体表面から深さ約 1mm の間で硝化が、深部で脱窒が進行している。僅か深さ 1mm 程度で酸素が消費されるが、この薄い好気ゾーンは容積比で表すと 40% にも相当する。FISH 法の画像からも硝化反応の現象を支持するものであった。インタクトのスポンジ担体の表面積当たりの硝化と脱窒活性は 0.20 $\text{mgN/cm}^2/\text{d}$ 、0.33 $\text{mgN/cm}^2/\text{d}$ であり、他の担体と同等の硝化活性を有していた。また、スポンジ担体への水の移流が示唆された。

5. 参考文献

- 1) 関口勇地ほか, 環境工学研究論文集, 35, 427-438, 1998,
- 2) Mobarry, B. K. et al., Appl. Environ. Microbiol. 62, 2156-2162, 1996,
- 3) Amann, R. I. et al., Appl. Environ. Microbiol. 56, 1919-1925, 1990