

N-5 硝化脱窒細菌の窒素負荷履歴を考慮した 活性汚泥モデルの開発

○ 山下 哲生^{1*}・竹田 尚弘¹・辻 幸志²・藤田 昌史²
味埜 俊³・赤司 昭¹

¹株式会社神鋼環境ソリューション 技術開発本部 (〒651-2241 神戸市西区室谷1-1-4)

²山梨大学大学院 医学工学総合研究部 (〒400-8511 甲府市武田4-3-11)

³東京大学大学院 新領域創成科学研究科 (〒277-8563 柏市柏の葉5-1-5)

* E-mail: t.yamashita@kobelco-eco.co.jp

1. はじめに

IWA 活性汚泥モデル(ASM: Activated Sludge Model)を利用したシミュレーションソフトは、下水処理をはじめとする生物学的な排水処理設備の設計や運転管理の支援ツールとして期待されており、実務利用に向けた検討が進められている¹⁾。

ASM では、硝化細菌など水質浄化機能に応じて分類された生物群の増殖や死滅などを計算することで、処理水質等を予測するモデルである。しなしながら、そのキャリブレーションは、反応に寄与する生物群に着目して行われるのではなく、結果として得られる処理水質をベースに行われており、生物群の挙動について触れられることは少なかった。

一方で、活性汚泥に含まれる微生物を遺伝子解析により定量する技術が飛躍的に発達しており、活性汚泥中の様々な微生物情報を高精度かつ短時間で入手することが可能になった。我々はいち早く、遺伝子解析による水処理微生物情報を用いた水質管理に取り組み、脱窒に寄与する*nirS*遺伝子と処理水質との間に高い相関性が認められることを示した²⁾。よって、これらの遺伝子解析より得た微生物群の情報をASMに組み込むことによって、より精度の高い処理水質の予測ができるのではないかと考えた。

本研究では、遺伝子解析による微生物情報を基にした活性汚泥モデル開発に向けて、火力発電所硝化脱窒排水処理設備のアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌、亜硝酸還元細菌および全細菌を追跡調査した。同時に、硝化脱窒回分活性試験を行い、細胞数あたりの最大反応速度を測定した。そして、排水処理設備の細菌数の変化と、最大反応速度の関係を解析した。これらの結果を基に微生物情報とASMとの融合性について検討し、ASMの窒

素除去に係わる反応速度をより普遍的に表現できるモデルを検討した。

2. 方法

(1) 対象とする施設

本研究で対象とした火力発電所の排水処理設備に流入する原水は、アンモニアや硝酸などの窒素成分を含んでおり、下水と比較すると流入水質変動、水温共に比較的稳定している。アンモニアを含む原水は硝化槽に流入し硝化処理が行われ、後段の脱窒槽ではメタノールをプロトンとして添加し脱窒処理が行われる。7ヶ月間にわたり1週間に1~2回の頻度で硝化槽および脱窒槽より活性汚泥を採取し、すみやかに遺伝子解析用の凍結サンプル(-20℃保存)を作成するとともに、後述する硝化脱窒回分活性試験を実施した。

(2) 細菌数の定量方法

硝化槽の硝化細菌と脱窒槽の脱窒細菌を解析対象とした。前者としてはアンモニア酸化細菌(AOB)と亜硝酸酸化細菌(NO₂-B)、後者としては亜硝酸還元細菌(NIRB)を対象として、それぞれリアルタイムPCR法により細菌数を定量した。AOBの定量は、プライマーとしてCTO 189fA/BとCTO 189fCの混合液(2:1)とRTI_rを、プローブとしてTMP1を用いたTaqMan probe法により行った³⁾。NO₂-Bの定量は、*Nitrospira* spp.を対象とし、プライマーとしてNSR1113f、NSR1264rを、プローブとしてNSR1143Taqを用いたTaqMan probe法により行った⁴⁾。NIRBの定量は、*nirS*を対象とし、プライマーとしてα3aF、R3cdを用いたSYBR Green法により行った⁵⁾。

(3) 硝化脱窒回分活性試験

対象施設の活性汚泥の最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度、および最大亜硝酸還元速度を調べるために、3ケースの回分活性試験を行った。それぞれの試験に用いる汚泥は、残留している有機物などを取り除くために、遠心分離した。そして、濃縮した汚泥に最大反応速度を得るのに十分な基質や栄養塩等が含まれている希釈液を加えて、試験を行った。定刻ごとにサンプリングを行い、ろ水の $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ を測定し、目的とするそれぞれの最大反応速度を算出した。

3. 結果および考察

(1) 対象施設の処理状況

流入原水のT-Nは、調査期間中40mg/L前後で推移した。その内訳は、約60%が $\text{NH}_4\text{-N}$ 、約35%が $\text{NO}_3\text{-N}$ 、残りの約5%が $\text{NO}_2\text{-N}$ であった。処理水のT-Nは1~5mg/Lで推移し、残留T-Nの大半は $\text{NO}_3\text{-N}$ であった。また、調査期間中のMLSSは、3,500~4,000mg/Lで推移しており、大きな変動はなかった。

(2) 硝化細菌数および脱窒細菌数の推移

図1に硝化槽のAOB、NOBと脱窒槽のNIRBの推移を示す。AOBは、 $2.77 \times 10^7 \sim 2.3 \times 10^8 \text{ cell/ml}$ で推移し、最大値と最小値で約8.3倍の差があった。NOBは、 $2.59 \times 10^6 \sim 2.43 \times 10^7 \text{ cell/ml}$ で推移し、最大値と最小値で約9.4倍の差が見られた。一方、NIRBは、 $1.52 \times 10^9 \sim 1.19 \times 10^{10} \text{ cell/ml}$ で推移し、最大値と最小値で7.8倍の差があった。MLSSの変動が $\pm 10\%$ 程度であったことと比べると、MLSS中のAOB、NOBおよびNIRBの細菌数は比較の変動が大きかった。

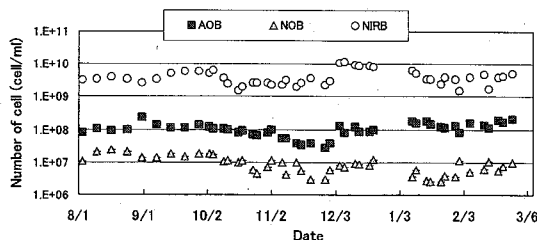


図1.AOB、NOBおよびNIRBの細菌数の推移

(3) 最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度および最大亜硝酸還元速度の変化

図2に硝化脱窒回分活性試験より求めた最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度および最大亜硝酸還元速度を示す。アンモニア酸化速度は $6 \sim 17 \text{ mg-N} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、亜硝酸酸化速度は $14 \sim 35 \text{ mg-N} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、亜硝酸還元速

度は $10 \sim 30 \text{ mg-N} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ で推移しており、活性が高いときと低いときの間で2~3倍の差を確認した。

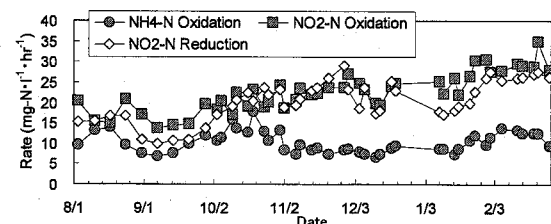


図2.最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度および最大亜硝酸還元速度の推移

図3にAOB、NOB、NIRBの細菌数あたりの最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度、亜硝酸還元速度をそれぞれ示す。最大アンモニア酸化速度は、 $50 \sim 300 \text{ fg-N} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、最大亜硝酸酸化速度は、 $1,000 \sim 10,000 \text{ fg-N} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、最大亜硝酸還元速度は、 $3 \sim 15 \text{ fg-N} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ を示し、電子供与体や電子受容体を十分に与えられた条件下で求めた最大反応速度であるにもかかわらず、いずれも大きく変動していた。ASMでは、例えば最大アンモニア酸化速度は、硝化細菌の最大比増殖速度 μ_a と増殖収率 Y_a の比で表現されているが、これは定数値で与えられている。しかしながら、図3の結果は細菌数あたりの最大反応速度は一意的に決まらないことを意味しており、何らかの要因で変化している可能性を示唆している。

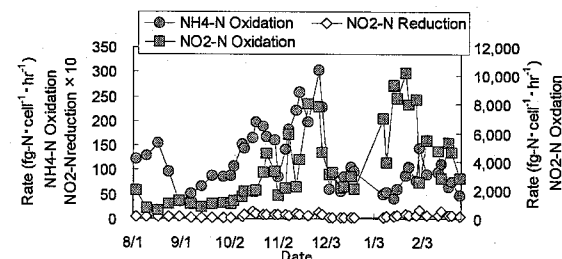


図3.細菌数あたりの最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度および最大亜硝酸還元速度の推移

(4) 最大反応速度の変動要因の検討

細菌数あたりの最大反応速度の変動要因を検討するために、AOBの細菌数あたりのアンモニア負荷と最大アンモニア酸化速度との関係を調べた(図4)。ここで前者は、汚泥を採取した直前までの1日コンポジットサンプルの $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度と流量から算出したアンモニア負荷をAOBの細菌数で除することにより求めたものであり、採取した汚泥がどの程度のアンモニア負荷状況で運転されていたのかを意味している。図4に見られるように、両者には非常に高い相関が認められ、細菌数あたりのアンモニア負荷が高い状況では、細菌数あたりの最大アン

モニア酸化速度が高くなることが示された。最大亜硝酸酸化速度や最大亜硝酸還元速度についても、同様の解析を行った結果、細菌数あたりの負荷と最大反応速度との間に高い相関が確認された。

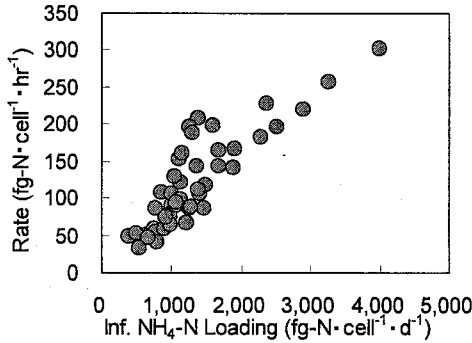


図 4. AOB 細菌数あたりのアンモニア負荷と最大アンモニア酸化速度の相関

(5) モデル化の構想

現在、ASMで一般的に組み込まれているアンモニア酸化反応のモデル式を次式に示す。

$$\frac{dS_{NH_4}}{dt} = \frac{\mu_{NH_4}}{Y_{NH_4}} \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}} \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} X_{NH_4} \quad (1)$$

AOB細菌数あたりの最大アンモニア酸化反応速度は μ_{NH_4}/Y_{NH_4} で表され、通常は μ_{NH_4} や Y_{NH_4} には定数が与えられることから、細菌数あたりの最大反応速度は一定値として表現されている。しかしながら、本調査において、AOB細菌数あたりの最大アンモニア酸化反応速度は一定でなく、変動することが確認されており、AOB細菌数あたりのアンモニアの負荷により変化する関数として方程式の中でモデル化することが妥当であると考えられる。これらの事象を考慮したモデル式を次式に示す。

$$\frac{dS_{NH_4}}{dt} = f_{NH_4}(t) \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}} \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} X_{NH_4} \quad (2)$$

ここで $f_{NH_4}(t)$ は図4に基づくAOB細菌数のアンモニア負荷を変数とする関数である。また、アンモニア酸化細菌量を示す X_{NH_4} については、キャリブレーションを行う際に数値を最適化する必要があるが、本法ではリアルタイムPCR法によるAOB細菌数の定量値を利用して直接入力することが可能であり、キャリブレーションが容易となる。亜硝酸酸化反応および亜硝酸還元反応においても同

様に、NOBおよびNIRBの細菌数あたりの負荷を変数とする細菌数あたりの最大反応速度関数でモデル化することが可能である。

4. おわりに

硝化脱窒排水処理設備の微生物をリアルタイムPCRで定量化し、最大反応速度との相関を検討した。その結果、細菌数あたりの窒素負荷が高くなれば、細菌数あたりの最大反応速度が高くなることが確認された。ASMでは、最大反応速度は定数で与えられていることから、モデルの構造上、この変動を表現することは出来なかったため、負荷の状況が変化した場合など、予測精度を維持するためにキャリブレーションを行う必要があった。本報にて提案するモデルでは、細菌数あたりの窒素負荷に応じた最大反応速度の変動を表現することにより、処理水質の予測精度の向上やキャリブレーション作業負荷の軽減、および頻度の低減が期待される。

今後は、我々の新しい概念を組み込んだ新しいモデルを用いて水質予測のシミュレーションを行い、モデルの有効性について検討する予定である。

【謝辞】

本研究は、独立行政法人科学技術振興機構の平成18年度革新技術開発研究事業により実施した。ここに記して謝意を表する。

【参考文献】

- 1) 日本下水道事業団「活性汚泥モデルの実務利用の技術評価に関する報告書」
- 2) 赤司昭, 山下哲生, 第40回日本水環境学会年回講演集, 39(2006)
- 3) Hermanson, A. and Lindgren, P.-E. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 972-976, 2001.
- 4) Hams, C. et al. *Environ. Sci. Technol.* 37, 343-351, 2003.
- 5) Throback, J.N. et al. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49, 401-417, 2004.