

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2011

課題番号：21860019

研究課題名（和文） 有機物の一時貯蔵によって減少する脱窒量の把握と
その改善に向けた検討研究課題名（英文） Temporal carbon storage in activated sludge under
denitrifying condition

研究代表者

押木 守 (OSHIKI MAMORU)

北海道大学・大学院工学研究院・博士研究員

研究者番号：90540865

研究成果の概要（和文）：

都市下水処理場脱窒槽に流入する有機物の最大 3 割が脱窒反応のために消費されず、PHA として蓄積されていたことを明らかにした。脱窒条件下で PHA 蓄積を抑制する運転条件を見いだすために、先だって、蛍光色素を用いた PHA の簡易迅速定量法を開発した。異なる培養条件下で回分試験を行い、蓄積された PHA 量を比較した結果、有機物種としてメタノール、低 pH 条件、基質の連続投与を行うことによって、脱窒条件下における PHA 蓄積を抑制できることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Up to 28% of biodegradable organic matters in sewage was tentatively stored as PHA under denitrifying condition. This outcome suggested that the occurrence of temporal carbon storage decreased the availability of biodegradable organic matters for denitrification. In order to consider an operational condition to decrease the magnitude of PHA accumulation under denitrifying condition, a sets of batch experiments were conducted and the amounts of accumulated PHA were compared. Prior to the batch experiment, the author developed a novel PHA quantifying method using Nile blue A, a fluorescence dye specific for PHA, which enabled us to determine PHA concentrations in activated sludge within only 5 minutes. The outcome of the batch experiments showed that the addition of methanol, low pH condition and continuous feeding of substrate significantly decreased the amounts of PHA accumulated under denitrifying condition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	820,000	246,000	1,066,000
2010 年度	850,000	255,000	1,105,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,670,000	501,000	2,171,000

研究分野：廃水処理工学

科研費の分科・細目：工学・土木環境システム

キーワード：脱窒、活性汚泥、ポリヒドロキシアルカン酸、PHA

1. 研究開始当初の背景

活性汚泥法は現在下排水処理に最も一般的に用いられており、活性汚泥プロセスにお

ける窒素除去は閉鎖性水域の富栄養化現象を予防するための点源対策として有効である。例えば、東京湾に流入する全窒素負荷に

対して都市下水処理場由来の窒素成分は27%に及び、この負荷量を低減することは点源対策として有効と言える。そして、現在稼働する活性汚泥プロセスの全窒素除去率はおよそ5~7割程度であり、改善されるべき余地がある。

活性汚泥による窒素除去は硝化・脱窒プロセスが主流であり、アンモニア態窒素を硝酸に酸化する硝化反応、硝酸を窒素ガスとして除去する脱窒反応からなる。この際、脱窒反応には有機物が電子供与体として必要であり、有機物が不足すると脱窒反応は停滞する。

筆者は活性汚泥プロセスにおいて有機物が一時貯蔵される現象についてこれまで研究を行ってきたが、脱窒槽で有機物の一時貯蔵が生じた場合、図1に示すように、脱窒反応に利用できる有機物量が減少し、脱窒量が減少する可能性に気がついた。活性汚泥が有機物を一時貯蔵する現象は生物学的リン除去プロセスで良く知られ、有機物の一時貯蔵が生物学的リン除去プロセスに限らず様々な活性汚泥プロセスで生じうることを筆者は明らかにしてきた。そして、この有機物の一時貯蔵が脱窒プロセスでも生じ、脱窒反応に利用できる有機物量が減少しているのではないかという発想に至った。一時貯蔵される有機物量を減少させることができれば、脱窒反応により多くの有機物を消費させることができ、ひいては窒素除去率が向上すると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) 有機物の一時貯蔵が脱窒反応に及ぼす影響を調査し、(2) 一時貯蔵現象を抑制するために、脱窒反応に利用され易く一時貯蔵されづらい有機物の検討を行うことにある。

3. 研究の方法

本研究では、第一に都市下水処理場脱窒槽において一時貯蔵物質として蓄積される有機物量を把握するための検討を行なった。そのために、都市下水処理場脱窒槽より活性汚泥試料を採取し、硝酸態窒素、有機物、一時貯蔵物質PHAを定量し、脱窒量およびPHAの蓄積量を算出した。そして、PHAとして一時貯蔵された有機物が脱窒反応に消費された場合の脱窒量を推定し、PHA蓄積によって減少した脱窒量を評価した。また、一時貯蔵現象をより詳細に観察する目的で、都市下水処理場活性汚泥を実験室へ持ち帰り、硝酸性窒素および有機物を投与する回分試験につい

有機物 + 硝酸 = N_2 (脱窒反応)

一時貯蔵

脱窒に利用できる有機物が不足 → 脱窒量の減少

図1. 有機物の一時貯蔵が脱窒反応へ及ぼす影響

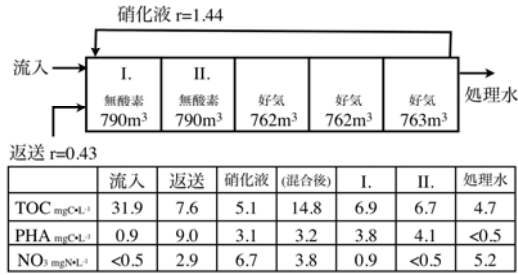
でも実施した。

第二に、脱窒条件下で一時貯蔵される有機物量を減少させる培養条件を見いだすために、回分試験を実施した。これに先立ち、簡易かつ迅速に活性汚泥中PHA濃度を定量するための定量法を開発した。この目的で、活性汚泥を蛍光染色剤 Nile blue A にて染色し、蛍光強度を測定し、ガスクロマトグラフィー法で定量したPHA濃度との相関を調査した。続いて、様々な条件(有機物種、pH、基質添加法)において活性汚泥を培養し、活性汚泥中に蓄積されたPHAを定量し、PHAの蓄積が抑制される培養条件を検討した。

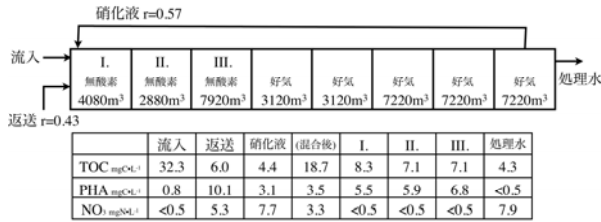
4. 研究成果

脱窒プロセスとして運転される都市下水処理場の処理過程でPHAが蓄積されていることを確認するために、硝化液循環法にて運転される都市下水処理場A~Cの反応槽内において COD_{Cr} 、PHA、 NO_3^- の定量を行った。図2に示す通り、活性汚泥中にPHAが蓄積され、その蓄積量が第一無酸素槽において有意に上昇していることが確認された。これは脱窒条件下において有機物がPHAとして一時貯蔵されてしまう現象が都市下水処理場において実際に生じていたことを示している。一方、第一無酸素槽において硝酸濃度が既に検出下限程度まで消費されてしまっており、脱窒過程におけるPHA蓄積を詳細に観察することがこの実験ではできなかった。そこで、都市下水処理場から活性汚泥試料および流入下水を持ち帰り、実験室において回分試験を実施した。回分試験期間における溶解性有機物、硝酸性窒素、PHAの挙動を図3に示す。溶解性有機物が消費される過程において若干量のPHAが蓄積された様子が確認できた。同様の試験を他の都市下水処理場活性汚泥についても実施した結果、溶解性有機物の最大28%がPHAとして貯蔵される場面があった。これらの観察結果から、脱窒反応の過程において有機物が一時貯蔵される現象が、実際の下水処理過程において生ずることを確認した。

a) A 処理場 1 回目調査



b) B 処理場 1 回目調査



c) C 処理場 1 回目調査



図 2. 都市下水処理場における溶解性有機物 (TOC)、PHA、硝酸性窒素濃度の分布: 混合後の項目は物質収支から計算した。

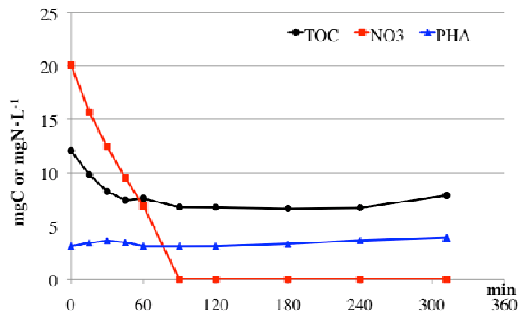


図 3. 下水を投与した場合の溶解性有機物、硝酸性窒素、PHA の挙動

次に、PHA の蓄積を抑制し、脱窒反応へ有機物を効率的に消費させる培養条件を見いだすことを目的とした研究に取り組んだ。一方、そうした培養条件を見いだすためには複数の回分試験を実施し、活性汚泥中に蓄積された PHA を定量・比較する必要がある。活性汚泥中の PHA 濃度はガスクロマトグラフィー法で定量されてきたが、本法は測定に約 2 日を要し、測定操作が煩雑であった。そこで、PHA 濃度を簡易、迅速に定量する手法の開発

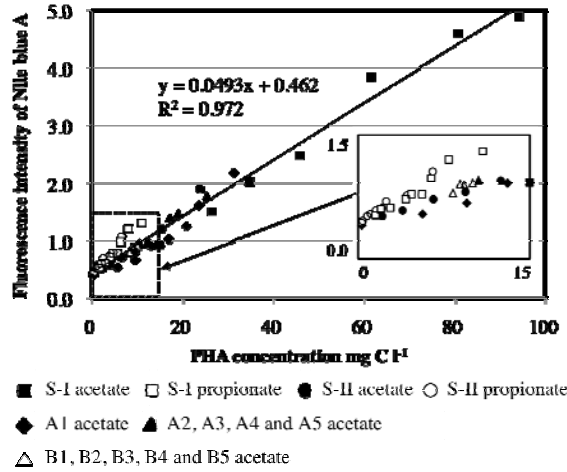


図 4. Nile blue A の蛍光強度と活性汚泥中 PHA 濃度の相関; S-I および S-II: 実験室リアクター、A1~A5、B1~B5: 都市下水処理場活性汚泥

に先だって取り組んだ。この目的で、PHA に特異的に結合する蛍光試薬 Nile blue A に着目した。すなわち、活性汚泥を Nile blue A で染色し、その蛍光強度を指標とすることで活性汚泥中の PHA 濃度を定量できると考え、検証実験を実施した。活性汚泥を Nile blue A で染色し、測定した蛍光強度と、ガスクロマトグラフィー法で定量した PHA 濃度の相関を図 4 に示す。Nile blue A の蛍光強度と活性汚泥中の PHA 濃度に強い相関 ($r^2=0.972$) が認められたことから、Nile blue A の蛍光強度を指標とすることによって、活性汚泥中の PHA 濃度を定量できることが明らかとなった。続いて、本法の適用性を確認する目的で、夾雑物が Nile blue A の蛍光強度へ及ぼす影響を調査した。その結果、SDS や EDTA といった一部の夾雑物が Nile blue A の蛍光強度に影響を及ぼすことが確認されたが、試料を希釈することによってその影響を排除できることを確認した。著者が開発した手法は、活性汚泥と Nile blue A 染色液を混合し、蛍光強度を測定するだけの極めて簡便な測定手法であり、測定はわずか 5 分以内に終了する。また、蛍光プレートリーダーを用いることによって、96 検体を一度に処理でき、迅速性にも優れている。さらに、ガスクロマトグラフィー法で使用していた酸や有機溶媒を使用しないため、安全性にも優れた手法である。続いて、脱窒条件下で一時的に蓄積される有機物量を減少させる培養条件を見いだすために、活性汚泥を様々な条件で回分培養し、蓄積された PHA 量を前述の Nile blue A を用いた定量法にて測定した。有機物種として、イーストエキストラクト、ペプトン、プロピオン酸、酢酸、メタノールを添加し、比較した結果、メタノールが最も PHA として蓄積され

づらいことが明らかとなった。従って、脱窒反応に効率的に消費される有機物種としてメタノールを投与することが好ましいことが判明した。続いて、pHの影響についてpH6～9の範囲で培養を行った。この場合、pHが高いほどPHA蓄積量が増加することが明らかとなった。従って、脱窒反応槽のpHを低pH域に制御することによって脱窒反応におけるPHA蓄積の影響を軽減できると言える。さらに、基質の添加方法として、回分試験期間を通じて連続的に基質を投与した場合と、試験開始時に一度に投与した場合のPHA蓄積量を比較した。この場合、連続的に投与した方がPHA蓄積量は少なかった。従って、脱窒プロセスを回分的に運転する方式はPHA蓄積量を増加させてしまうため、好ましく無いことが明らかとなった。以上の検討結果から、脱窒条件下で一時貯蔵される有機物量を減少させる培養条件として、メタノールの添加、低pH環境の設定、基質の連続添加が有効であることが明らかとなった。

以上、本研究で得られた成果をまとめると以下の通りである。

- (1) 都市下水処理場の脱窒プロセスにおいて有機物がPHAなどの形態で一時的に貯蔵される現象が実際に生じていることが明らかとなった。その蓄積量として、溶解性有機物の最大3割に及ぶ場面があった。
- (2) 活性汚泥中のPHA濃度を簡便かつ迅速に定量する手法を開発した。本法は96検体を一度に5分以内で測定することを可能にするものである。
- (3) 脱窒条件下で一時貯蔵される有機物量を減少させる培養条件として、有機物としてメタノールを添加すること、低pH域、基質の連続添加が有効であることが確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Oshiki, M., H. Satoh and T. Mino. 2010. Acetate Uptake by PHA-Accumulating and non-PHA-Accumulating Organisms in Activated Sludge from an Aerobic Sequencing Batch Reactor fed with Acetate. Water Sci. Technol. 62(1):8-14. (査読有り)

[学会発表] (計1件)

- ① 押木守、佐藤弘泰、味埜俊 (2010年3月15日) 余剰汚泥消化プロセスにおけるポリヒドロキシアルカン酸(PHA)の分解挙動、第44回日本水環境学会年会、福岡大学、福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

押木 守 (OSHIKI MAMORU)

北海道大学・大学院工学研究院・博士研究員

研究者番号：90540865

(2) 研究分担者

該当無し

(3) 連携研究者

該当無し