

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26249076

研究課題名(和文) 高圧ジェット装置を用いた活性汚泥減量化機構の解明

研究課題名(英文) Elucidating mechanisms of activated sludge reduction by a high-pressure jet device

研究代表者

細見 正明 (Hosomi, Masaaki)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90132860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 25,500,000円

研究成果の概要(和文)：排水処理施設から排出される余剰汚泥削減のために、高圧ジェット装置を開発した。この装置による細菌細胞の損傷メカニズムの解明を行った。原子間力顕微鏡による1細胞観察により、摩擦・衝突・圧壊の中で、圧壊が細菌細胞の損傷に最も効果を示した。高圧ジェット装置を循環式硝化・脱窒法に適用した結果、最大で73%の余剰汚泥の削減が達成された。また、高圧ジェット装置の導入による処理水の水質悪化や沈降性の低下は見られなかった。16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行った結果、高圧ジェット装置を導入した活性汚泥中には、糸状性細菌の割合が減少しており、バルキング抑制に寄与する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：To reduce the amount of excess sludge from a wastewater treatment facility, a high-pressure jet device (HPJD) was developed. Bacterial cell disruption mechanisms by an HPJD were investigated. The application of an atomic force microscopy to a single bacterial cell elucidated that cavitation is most intense factor to disrupt bacterial cells among friction, collision and itself. The installation of an HPJD into a modified Ludzak-Ettinger process reduced the amount of excess sludge discharge by, at maximum, 73% in comparison with the process without an HPJD. Deterioration of water qualities of the treated water and settlability of activated sludge due to an HPJD was not observed. The analysis of amplicon sequencing based on 16S rRNA gene displayed the reduction of filamentous bacteria in the process with an HPJD, suggesting an effectiveness in prevention of sludge bulking.

研究分野：環境化学工学

キーワード：高圧ジェット装置 汚泥減容化 活性汚泥 圧壊 排水処理 16S rRNA 酸素富化

1. 研究開始当初の背景

下水処理施設から発生する余剰汚泥は、脱水・焼却・運搬等で多大なコストが必要であることや、最終処分場の残余年数が短いことを鑑みると、その削減が必要不可欠である。汚泥処理の対象は、最初沈殿池から重力分離により排出される汚泥と生物反応槽にある活性汚泥の余剰分の双方であるが、活性汚泥由来の余剰汚泥は脱水性に乏しいため、活性汚泥由来の余剰汚泥量を削減することができるメリットは大きい。

活性汚泥からの余剰汚泥の削減に向け、これまでオゾン、高圧ホモジナイザー、ピーズミル、好熱性微生物など、物理的・化学的・生物学的作用を利用した余剰汚泥削減技術の開発が行われてきた。この技術は、活性汚泥へ酸素供給を行う曝気槽の後段にある最終沈殿池から、濃縮活性汚泥を曝気槽に返送するラインに設置される。活性汚泥を破碎し、曝気槽に返送させることに、余剰汚泥の排出量削減が達成されているものの、コストが高いこと、微生物細胞の破碎による内包物の溶出がもたらす二次汚染が問題となっていることより、普及に至っていない現状がある。

低コスト・省エネに生物反応槽からの余剰汚泥を削減するため、我々は高圧ジェット装置を開発してきた。この装置は高圧ポンプを介してジェット流で活性汚泥を側方から供給する入口と、上方から空気を引き込みながら活性汚泥を供給する入口の2つを有する鉄製の配管で構成されている。また、配管は中央部の直径が小さくなっている。このようなユニークな構造を有する高圧ジェット装置は、微生物細胞の鉄板への衝突、上方・側方部からの活性汚泥供給による摩擦、上方部から引き込まれる微細気泡が管径の異なる配管で膨張・収縮がもたらす圧壊、といった複合的なメカニズムにより、活性汚泥中の微生物細胞を効率的に破碎することが予想される。さらに、残存する微細気泡が生物反応槽に返送されることにより、曝気補助効果を有する可能性が考えられる。

しかしながら、高圧ジェット装置の微生物破碎に関する基礎的知見は十分でなく、上述した破碎メカニズムはまだ証明されていない。また、高圧ジェット装置を用いた効率的な汚泥減容化は、装置の長期的な運転に基づく検討が必要である。さらに、高圧ジェット

装置の高いスループット性を考慮すると、生物処理槽のサイズは、トンレベルになることが望ましく、パイロット規模の活性汚泥装置を構築して包括的な評価を行う必要がある。このような課題を鑑み、本研究では、高圧ジェット装置を導入した活性汚泥システムによる汚泥減容化、曝気補助による低コスト化を目指した。高圧ジェット装置の包括的な理解に向け、単一種で構成されるサンプルを準備し、細菌破碎メカニズムの解明を目指した。さらに、実排水を投入したパイロット装置を運転し、活性汚泥の余剰汚泥削減、曝気補助効果を評価した。

2. 研究の目的

1. で記述した背景より、本研究の目的を以下のように設定した。

- (1) 純粋細菌株を用いた、高圧ジェット装置による細菌破碎メカニズムの解明
- (2) 高圧ジェット装置を用いた、活性汚泥中の複合微生物の選択的破碎の可能性
- (3) パイロット規模の循環式硝化・脱窒法に高圧ジェット装置を導入し、実下水の連続流入による汚泥減容化性能、余剰汚泥の脱水性、排水処理性能、曝気量削減の可能性評価。
- (4) (3)に基づくコスト・エネルギー試算

3. 研究の方法

- (1) 高圧ジェット装置による細菌破碎メカニズムの解明

細胞破碎による余剰汚泥削減には高圧ジェット装置の最適化が必要である。最適化を行うため、その前段として細胞破碎のメカニズム解明に向けた基礎検討を行った。*Escherichia coli* と *Bacillus subtilis* をグラム陰性・陽性細菌のモデルとして用い、高圧ジェット装置に適用し、細胞から溶出した有機物の同定を行った。また、細菌の破碎状況を原子間力顕微鏡によりシングルセルレベルで確認した。高圧ジェット装置内の圧力や装置上方・側方から供給する細菌懸濁液の割合を変化させて評価を行った。

また、高圧ジェット装置による細胞破碎の要因となる、圧壊・摩擦・衝突のそれぞれの効果を検証するために、装置の改良を行った。改良した装置を用い、それぞれの効果のみが適用する細菌細胞に影響を及ぼすようにして評価を行った。

(2) 高圧ジェット装置を用いた、活性汚泥中の複合微生物の選択的破碎の可能性

活性汚泥を用いた高圧ジェット装置の選択的破碎が可能かどうかを、通常の活性汚泥にて評価した。活性汚泥を高圧ジェット装置に適用し、固形分として残存した DNA と溶液中に移動した DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子を標的としたアンプリコンシーケンス解析に適用した。得られた塩基配列を元に、高圧ジェット装置により細胞破碎により溶出した細菌の同定とその傾向を評価した。また、この手法をバルキングの要因となる糸状性細菌に適用して評価を行った。

高圧ジェット装置の導入により真核生物の破碎の選択性についても評価を行った。光学顕微鏡による真核生物の観察を行い、高圧ジェット装置に導入した前後の真核生物の消長を評価した。

(3) パイロットスケールによる余剰汚泥減容化の長期試験

活性汚泥を導入した無酸素槽・好気槽、沈殿槽および返送ラインから構成されたパイロットスケール（各容積：1 m³）の循環式硝化・脱窒法のシステムを 2 系構築し、実下水処理施設の建屋に設置した。1 系は高圧ジェット装置を導入し（これを実験系と呼ぶ）装置の導入により循環式硝化・脱窒法から排出した汚泥発生量を対照系と比較評価した。対照系は、無酸素槽・好気槽、沈殿槽および返送ラインで構成された従来の循環式硝化・脱窒法である。最初沈殿池後の越流水を流入水として実験系・対照系に約 4 ヶ月間連続通水した。実験系・対照系からの汚泥引き抜きは、無酸素槽・好気槽の懸濁物の濃度が一定になるように引き抜き速度を調節した。高圧ジェット装置による曝気補助効果の評価として、好気槽の溶存酸素濃度が同じになるように、実験系のブロワの空気量を調整した。

(4) コスト・エネルギー試算

(3) で得られた運転結果をもとに運転コスト・エネルギー試算を行った。実験系および対照系からの積算汚泥排出量の違いから、削減コストを見積もった。また、空気量の減少から、曝気のために必要とされる電気代を差し引いた。また、それに伴う必要エネルギー

量も評価した。

4. 研究成果

(1) 高圧ジェット装置による細菌破碎メカニズムの解明

高圧ジェット装置による細菌細胞の損傷を促進させる因子は、高圧ジェット装置の配管内の圧力であり、装置適用の繰り返し回数よりも、圧力上昇により細菌の損傷の度合いが大きくなることが分かった。また、細菌損傷の程度は、グラム陽性・陰性細菌が有する細胞壁・細胞膜の構造の違いにより大きく異なり、厚い細胞壁を有するグラム陽性細菌である *B. subtilis* の損傷には、より多くのエネルギーが必要となることが明らかになった。また、高圧ジェット装置による細菌細胞の損傷により溶出した有機物の同定、定量を行ったところ、トリプトファンやチロシンを含む有機化合物が多く溶出されることが明らかになった。

E. coli と *B. subtilis* をグラム陰性・陽性細菌のモデルとして用い、高圧ジェット装置に適用し、細菌の破碎状況を原子間力顕微鏡によりシングルセルレベルで確認したところ、細胞壁・細胞膜の構造の違いにより、細胞破碎のパターンが 2 つの細菌群で大きく異なることを明らかにした。

改良した装置を用いて細菌破碎の評価を行ったところ、圧壊が細菌細胞の破碎にとって最も影響を及ぼす因子であることを実証した。また、その効果は *E. coli* と *B. subtilis* の種類に関わらず共通であり、圧壊が細菌破碎に重要であることを示した。

(2) 高圧ジェット装置を用いた、活性汚泥中の複合微生物の選択的破碎の可能性

高圧ジェット装置の適用により、細胞外へ溶出された DNA の系統学的な評価を 16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンスにより行った。その結果、高圧ジェット装置により破碎される細菌群の同定に成功した。一方、高圧ジェット装置による処理は活性汚泥の微生物群集構造をただちに変化させることは無かった。また、グラム陽性細菌・グラム陰性細菌が有する細胞膜・細胞壁の構造の違いによる細菌群の選択的破壊は生じなかった。

真核生物の消長を顕微鏡で観察した結果、

高圧ジェット装置による微小後生動物の選択的な破碎が明らかになった。高圧ジェット装置の導入により、多細胞生物である微小後生動物は容易に破碎されることを明らかにした。

さらに、高圧ジェット装置により活性汚泥内に生息する細菌群の選択的破碎が可能かどうかを、バルキングの要因となる糸状性細菌をターゲットとして評価した。沈降性が低いバルキングが起きている活性汚泥を選出し、高圧ジェット装置を適用した。高圧ジェット装置の適用により汚泥容量指標が減少し、活性汚泥の沈降性が向上した。光学顕微鏡の評価により、糸状性細菌の形状を有した細胞が破碎されていることを確認した。また、16S rRNA 遺伝子に基づくアンプリコンシーケンスの結果、糸状性細菌として系統的に同定されている細菌群の溶出が確認された。高圧ジェット装置が糸状性細菌の破碎に効果を示し、活性汚泥の沈降性の向上に寄与する可能性を示唆した。

(3) パイロットスケールによる余剰汚泥減容化の長期試験

4 ヶ月間の排水の連続通水により、実験系の積算余剰汚泥排出量は、対照系の積算余剰汚泥排出量の 27% であり、73% の削減効果が得られた。また、ベルトプレス脱水機での脱水性評価試験の結果、実験系の余剰汚泥の脱水性は、一般的な余剰汚泥の脱水性と同等であることが分かった。つまり、活性汚泥の破碎による活性汚泥の沈降性や実験系から排出させた余剰汚泥の脱水性の悪化は見られなかった。実験系・対照系双方のシステムから越流する処理液中の有機物、窒素および懸濁物質濃度は、実験系と対照系で有意な差は見られなかった。以上より、高圧ジェット装置を循環式硝化・脱窒法に適用したシステムは、有機物・窒素除去性能を低下させることなく余剰汚泥の削減が可能であり、かつ脱水性の悪化も無い、優れたシステムであることが示唆された。

さらに、実験系の曝気量は対照系と比較して最大で 45% 削減可能であり、システムの排水処理性能の悪化は見られなかった。これより、高圧ジェット装置を用いた余剰汚泥削減は、曝気槽の酸素富化という観点からも有効であることを示した。

次に、高圧ジェット装置による微生物叢の変遷を明らかにするために、16S rRNA 遺伝子を対象とした次世代シーケンサーによるアンプリコンシーケンス解析を行った。その結果、システムの運転終了時点で実験系の活性汚泥のみ大きく微生物叢が変化していることが明らかになった。特に、*Chloroflexi* 属や *Thiothrix* 属などの糸状性細菌として知られる種類が実験系において大幅に減少している傾向が確認された。このことから、高圧ジェット装置の導入が活性汚泥のバルキング抑制に役立つ可能性が示唆された。

また、原生動物や微小後生動物についても顕微鏡によりカウントを行った。その結果、実験系において鞭毛虫が大きく増加する結果となった。これは活性汚泥フロックが高圧ジェット装置によって分散され、小型の原生動物である鞭毛虫による捕食が起きやすくなったことに起因すると考えられる。

(4) コスト試算

(3) で示した 4 ヶ月の連続運転の結果から、施設に高圧ジェット装置を導入したことを想定してコスト・エネルギー試算を行った。

高圧ジェット装置導入によるコスト・エネルギーの削減効果を試算するに当たり、余剰汚泥削減効果が期待される汚泥処理工程を調査した。本パイロット装置を導入した生活排水処理システムの汚泥処理は、濃縮、脱水、焼却となっている。そこで、最初沈殿池と最終沈殿池の汚泥を濃縮後、脱水、焼却した後、灰を処分するシナリオを従来系とした。一方、高圧ジェット装置を導入する系は実験系とし、処理汚泥を好気槽に送るようにした。高圧ジェット装置の導入により、好気槽および汚泥処理工程(脱水、焼却および焼却灰処分)においてコスト等の削減が期待されるため、これらを評価範囲とした。

高圧ジェット装置の導入によるコスト削減効果は 23% だった。曝気補助効果による曝気電気代の削減効果は 40%、余剰汚泥削減による汚泥処理費用(脱水～汚泥処分)の削減効果は 22% であった。

エネルギー消費量は、高圧ジェット装置の導入により 26% 削減可能と試算された。曝気補助効果により曝気に必要な電気の 40%、余剰汚泥の削減により脱水から焼却にかかるエネルギーの 23% を削減できた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Yoshino, H., Suenaga, T., Fujii, T., Hori, T., Terada, A. and Hosomi, M. (2017) Efficacy of a high-pressure jet device for excess sludge reduction in a conventional activated sludge process: Pilot-scale demonstration. *Chemical Engineering Journal* 326, 78-86.

DOI: 10.1016/j.cej.2017.05.084 (査読あり)

Xie, L., Terada, A. and Hosomi, M. (2017) Disentangling the multiple effects of a novel high pressure jet device upon bacterial cell disruption. *Chemical Engineering Journal* 323, 105-113.

DOI: 10.1016/j.cej.2017.04.067 (査読あり)

Xie, L., Bao, Q., Terada, A. and Hosomi, M. (2016) Single-cell analysis of the disruption of bacteria with a high-pressure jet device: An application of atomic force microscopy. *Chemical Engineering Journal* 306, 1099-1108.

DOI: 10.1016/j.cej.2016.07.112

(査読あり)

Xie, L., Bao, Q., Suenaga, T., Yoshino, H., Terada, A. and Hosomi, M. (2015) Identification of a predominant effect on bacterial cell disruption and released organic matters by a high-pressure jet device. *Biochemical Engineering Journal* 101, 220-227.

DOI: 10.1016/j.bej.2015.05.019 (査読あり)

Suenaga, T., Nishimura, M., Yoshino, H., Kato, H., Nonokuchi, M., Fujii, T., Satoh, H., Terada, A. and Hosomi, M. (2015) High-pressure jet device for activated sludge reduction; Feasibility of sludge solubilization. *Biochemical Engineering Journal* 100, 1-8.

DOI: 10.1016/j.bej.2015.03.022 (査読あり)

〔学会発表〕(計 17 件)

吉野 寛之, 堀 知行, 寺田 昭彦, 細見 正明 2018. 高圧ジェット装置を導入した硝化液循環活性汚泥法における余剰汚泥減容化, 化学工学会 第 83 年会 (関西大学, 大阪) 2018.3.13-3.15

吉野 寛之, 堀 知行, 寺田 昭彦, 細見 正明 2017. 活性汚泥法への高圧噴射装置の導入による細菌・真核生物群集構造変化の追跡, 第 51 回日本水環境学会年会 (熊本大学, 熊本) 2017.3.15-3.17

吉野 寛之, 堀 知行, 藤井 忠弘, 寺田 昭彦, 佐藤 由也, 細見 正明 2017. 高圧噴射装置の導入による活性汚泥中の細菌・真核生物群集構造変化の追跡, 化学工学会 第 82 年会 (芝浦工業大学, 東京) 2017.3.6-3.8

Lie, X., Terada, A., and Hosomi, M. 2016. Elucidating a dominant effect of high-pressure jet device on bacterial adhesion disruption and release of intracellular substances, 1st International Conference on Bioresource Technology (Barcelona, Spain) 2016.10.23-10.26

Yoshino, H., Fujii, T., Hori, T., Terada, A., and Hosomi, M. 2016. Feasibility of a high pressure jet device for excess activity sludge reduction and selective bacterial disruption towards microbial community control, MEWE and Biofilms IWA Specialist Conference (Copenhagen, Denmark) 2016.9.4-9.8

吉野 寛之, 末永 俊和, 寺田 昭彦, 細見 正明 2016 高圧ジェット装置を用いた活性汚泥減容化プロセスの減容化性能と微生物群集構造, 第 50 回日本水環境学会年会(アステイ徳島, 徳島) 2016.3.16-3.18

湊 拓弘, 吉野 寛之, 寺田 昭彦, 藤井 忠弘, 細見 正明 2016 高圧噴射装置を導入した循環式硝化脱窒法における余剰汚泥減容化, 第 50 回日本水環境学会年会(アステイ徳島, 徳島) 2016.3.16-3.18

Li, X., Bao, Q., Suenaga, T., Yoshino, H., Terada, A., and Hosomi, M. 2015 Elucidating a predominant effect on bacterial cell disruption by a high pressure jet device and released dissolved organic matters, 6th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition (Beijing, China) 2015.9.20-9.24

吉野 寛之, 藤井 忠弘, 堀 知行, 寺田 昭彦, 佐藤 由也, 細見 正明 2015. 高圧噴射装置の設置による余剰汚泥減容化とそれに伴う微生物群集の変化, 化学工学会第 47 回秋季大会 (北海道大学, 札幌) 2015.9.9-9.11

吉野 寛之, 藤井 忠弘, 堀 知行, 寺田 昭彦, 細見 正明 2015. 高圧噴射装置による余剰汚泥減容化に伴う細菌・真核生物群集構造の変化, 環境バイオテクノロジー学会 2015 年度大会 (東京大学, 東京) 2015.6.29-6.30

Terada, A., Yoshino, H., Xie, L., Suenaga, T., Hori, T., Riya, S., and Hosomi, M. 2015. Pilot-scale demonstration of a high pressure jet device for excess sludge reduction from a

conventional activated sludge system, The 3rd EnvironmentAsia Conference (Bangkok, Thailand) 2015. 6.17-6.19

Yoshino, H., Suenaga, T., Hori, T., Terada, A., Fujii, T., Nonokuchi, M., and Hosomi, M. 2015. Sludge reduction and microbial community of activated sludge system with a high pressure jet device, The 12th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies (Hong Kong, China) 2015.5.30-6.3

吉野 寛之, 藤井 忠弘, 堀 知行, 寺田 昭彦, 細見 正明 2015. 高圧ジェット装置による汚泥減容化が活性汚泥に棲息する細菌・真核生物群集構造に与える影響, 化学工学会第80年会(芝浦工業大学, 東京) 2015.3.19-3.21

Li, X., Bao, Q., Suenaga, T., Yoshino, H., Terada, A., and Hosomi, M. 2015 Characterization of bacterial cell destruction and dissolved organic matter by a high pressure jet device, 化学工学会第80年会(芝浦工業大学, 東京) 2015.3.19-3.21

吉野 寛之, 藤井 忠弘, 堀 知行, 寺田 昭彦, 細見 正明 2015 高圧ジェット装置による余剰汚泥減容化に伴う細菌・真核生物群集構造の変化 第49回日本水環境学会年会(金沢大学, 石川) 2015.3.16-3.18

吉野 寛之, 寺田 昭彦, 藤井 忠弘, 堀 知行, 野々口稔, 細見 正明 2014 高圧ジェット装置による余剰汚泥減容化が微生物叢の変化と排水処理性能に及ぼす影響 環境科学会 2014 年会(つくば国際会議場, 茨城) 2014.9.18-9.19

Yoshino, H., Suenaga, T., Terada, A., Fujii, T., Nonoguchi, M., and Hosomi, M. 2014 Performance of excess activated sludge reduction and the resultant microbial community structure by a high pressure jet device, Water and Environment Technology Conference 2014(早稲田大学, 東京) 2014.6.28-6.29

6 . 研究組織

(1)研究代表者

細見 正明 (HOSOMI, Masaaki)
東京農工大学・大学院工学研究院・教授
研究者番号 : 90132860

(2)研究分担者

堀 知行 (HORI, Tomoyuki)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・
環境管理研究部門・主任研究員
研究者番号 : 20509533

寺田 昭彦 (TERADA, Akihiko)
東京農工大学・大学院工学研究院・准教授
研究者番号 : 30434327