

機関番号：55501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20510086

研究課題名（和文） 高酸素濃度生物法による余剰汚泥の減量化

研究課題名（英文） Excess sludge suppression system under the high concentration of dissolved oxygen

研究代表者

山崎 博人 (YAMASAKI HIROHITO)

独立行政法人国立高等専門学校機構宇宙部工業高等専門学校・物質工学科・教授

研究者番号：20300618

研究成果の概要（和文）：家庭排水は標準的な活性汚泥法で処理されているが、この場合、余剰汚泥が大量に発生し、問題になっている。この研究では、高い溶存酸素(DO)濃度の環境で生存する新種の微生物群（活性汚泥）を適用した汚泥減量化型の生物学的汚水処理法の開発を試みた。高DO濃度の環境下では、成長率は基質の除去速度の減少に関わらず低下した。そして、沈降性は従来のプロセスにおけるものより良好であった。遺伝子工学分析より、高DO濃度の環境下で培養は、従来のプロセスとは異なった微生物種を得ることが確認された。

研究成果の概要（英文）：Domestic wastewater is treated by conventional activated sludge process. In this system, a mass of excess sludge is generated. The sludge has been treated through a variety of processes and has been reused or landfilled. In this study, the activated sludge process was performed under the high concentration of dissolved oxygen (DO) to suppress the growth of microorganisms for building up the treatment process with lower amount of excess sludge. Under the high concentration of dissolved oxygen, the growth rate was reduced without decrease in the removal rate of the substrate. And, the sedimentation properties are better than those in the conventional process. The genetic engineering analysis has confirmed that different microbial species were cultured under the high DO condition from those in the conventional process.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：環境技術・環境材料・環境保全技術

1. 研究開始当初の背景

生活・産業から排出される有機性汚水は、経費の安価な生物法により浄化されている。しかし、汚水処理では、微生物が汚濁物質（栄養源）を摂取して増殖し、余剰汚泥として排出される。例えば、5人家族の生活排水から

濃縮汚泥換算で3.6～7.3m³/年の汚泥が発生する。この様な汚水処理汚泥は廃棄物の中で最大の割合を占めている。すなわち微生物の増殖を抑制し余剰汚泥そのものの発生量を減量化する技術の開発が求められている。

2. 研究の目的

高濃度の溶存酸素 (DO) 環境で生存する新規の微生物群 (新型活性汚泥) を用いる余剰汚泥減量型の生物学的汚水処理法を開発する。次の①～④の計画を推進し、本目的の実現を目指す。

- ① DO 濃度と汚泥増殖率の関係を調べ、新型活性汚泥法の最適 DO 濃度を決定する。
- ② 遺伝子工学的手法による微生物群の解析と汚水処理に関わる汚泥特性を測定する。
- ③ 高 DO 濃度を維持する効率的な酸素供給装置と反応タンクを開発する。
- ④ 本法のプロセス設計を行い、運転管理指針を作成する。

3. 研究の方法

(1) 高酸素濃度型活性汚泥装置

実験装置の概略図及び写真を図 1 に示す。実験装置は容積 3L の密閉型の曝気槽を用い、容量 2L の分離槽を付設した。曝気槽の外側の槽は恒温槽となっており、この恒温槽により曝気槽内の温度が 25～30℃になるようにした。pH は 5.0～7.0、曝気槽は滞留時間 (HRT) 12h、分離槽は HRT 8h、曝気槽の BOD 容積負荷は 0.5kg-BOD/(m³・d) で実験を行った。実験試料としての汚泥は本研究室の活性汚泥処理で使用しているものを採取した。

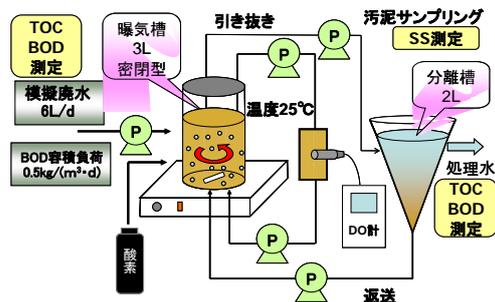


図 1 活性汚泥処理装置の概略図

① 活性汚泥処理装置の運転

有効容積 3L の曝気槽に汚泥を入れ、スターラーで攪拌しながら曝気を行い、模擬廃水を 6L/日の割合で曝気槽に投入した。表 1 に模擬排水の組成を示した。模擬廃水は曝気槽へ少しずつ投入していき、活性汚泥は曝気槽容積が 3L になるようにポンプで引き抜き、分離槽に送った。分離槽では沈降分離が行われ、上澄み液は処理水として取り出し、沈降した活性汚泥はポンプで曝気槽に返送した。なお、実験期間中、余剰汚泥の引き抜きは行っていない。DO 濃度の測定についてはポンプで汚泥を循環させ系外で測定した。

表 1 模擬排水組成

成分	スキムミルク	(NH ₄) ₂ SO ₄	KH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	Na ₂ CO ₃
重量	4.00g	1.88g	0.18g	4.00g	0.25g

(2) 純酸素曝気および混合ガス曝気

高 DO 濃度を維持する方法として、純酸素ガスで曝気する方法と、圧縮空気曝気する方法がある。純酸素または圧縮空気のいずれが低コストであるかは、施設規模に依存するので、実証実験により確認する必要がある。しかし、圧縮空気を用いる場合には、窒素の影響が懸念される。そこで、汚泥の性状や水処理性能への窒素の影響を検討するために、純酸素ガスで曝気する純酸素曝気実験と、窒素と酸素の混合ガスで曝気する混合ガス曝気実験を行った。混合ガス曝気実験についてはどの程度の混合割合ならば高 DO 濃度を維持できるかを試すために、まず混合割合を窒素：酸素=1：4 とし実験を行った。次により空気の組成に近づけるために混合割合を 1：1 とした。DO 濃度の調節は、目標とする DO 濃度を維持するように純酸素ガス及び酸素と窒素の混合ガスをバルブで調節しながら一定の流量で供給して行った。各実験で行った溶存酸素濃度を表 2 に示す。各条件において模擬廃水と処理水の TOC 及び BOD の測定を行い水質処理能力について検討し、汚泥分離性能についても検討した。また、曝気槽内の汚泥を定期的にサンプリングして MLSS (活性汚泥濃度) 測定を行った。

表 2 各実験での DO 濃度

曝気方法	空気	純酸素	混合ガス(1:4)	混合ガス(1:1)
DO濃度(mg/L)	2	10,13,15,17,18,20,22,23,25	10,13,17	8,11,12,13,15,16

① 分析項目

1) MLSS (活性汚泥濃度) 分析

MLSS (活性汚泥濃度) を下水道試験法に従い、水に含まれる粒子を孔径 1.2μm のガラス繊維ろ紙 (GF/C) でろ過した後、110℃の電気乾燥機を用いて乾燥し、重量を測定した。

2) 水質分析

原液、処理液に関して BOD 及び TOC の測定を行い、原液がどれだけ除去されたか、つまり水質処理能力を調べた。BOD は、ウィンクラーアジ化ナトリウム法で分析し、TOC は、TOC-V (CPH) と ASI-V (島津製作所) を用いて分析を行った。

3) 汚泥分離性能

曝気槽から汚泥を採取しメスシリンダーに移し、採取直後と静置 30 分後の写真を撮影し比較した。

(3) 負荷限界の検討実験

曝気槽に投入する模擬排水の BOD 容積負荷を大きく設定して同様の実験を行い、MLSS、水質処理能力の変化を調べ、現装置の処理能力の限界を検討した。模擬排水の組成を表 3 に示す。スキムミルクの量を 6.00g に変更し、その他の組成は前述の実験と同様としたところ、その BOD 容積負荷は 0.9kg-BOD/(m³・d) であった。高負荷実験における純酸素曝気

実験での溶存酸素濃度の平均は約 19mg/L であり、混合ガス曝気実験ではガスの混合割合は 1:1 で行い、溶存酸素濃度の平均は約 6mg/L であった。

表 3 高負荷実験の模擬排水の組成

成分	スキムミルク	(NH ₄) ₂ SO ₄	KH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	Na ₂ CO ₃
重量	6.00g	1.88g	0.18g	4.00g	0.25g

(4) 遺伝子工学実験

遺伝子工学的手法による菌種の同定を試みた。まず各条件下の汚泥をサンプルとして採取し、DNA を抽出し、この DNA を PCR 法により増幅させる。増幅させた DNA を DGGE 法で微生物種ごとに分離する。次に分離させた DNA をゲルごと切り取り、DNA を抽出し大腸菌 DNA に組み込む。その DNA をシーケンス反応にかけ、塩基配列を決定し相同性検索により微生物種を決定する。なお、遺伝子実験についてはサンプリングした汚泥を企業に送り、DNA 抽出から菌種の同定までは委託した。

4. 研究成果

(1) 汚泥発生量比較

図 2、図 3、図 4、図 5、図 6、図 7 に、x 軸を経過日数、第 1 y 軸を DO 濃度、第 2 y 軸を MLSS とし、各目標 DO 濃度における DO 濃度と MLSS の推移を表したグラフを示す。図 2 および図 3 は純酸素曝気実験、図 4 は混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:4)、図 5 は混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) の結果である。図 6、図 7 は BOD 容積負荷を高くした時の純酸素曝気実験、混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) の DO 濃度と MLSS の推移を表したグラフである。また、図 8 にそれぞれの実験における各 DO 濃度での平均汚泥量を表したグラフを示す。純酸素曝気実験の DO 濃度 19mg/L および混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) の DO 濃度 6mg/L の円で囲まれているプロットは BOD 容積負荷 0.9kg-BOD/(m³・d) であり、その他は BOD 容積負荷 0.5kg-BOD/(m³・d) での結果である。

図 8 を見ると、DO 濃度 2mg/L の空気曝気においては、DO 濃度が低いため、MLSS が多くなっている。純酸素曝気においては DO 濃度 15 mg/L から 17mg/L の時に MLSS が減少して

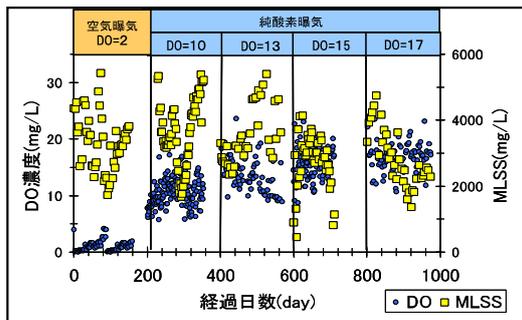


図 2 純酸素曝気時の DO と MLSS の推移①

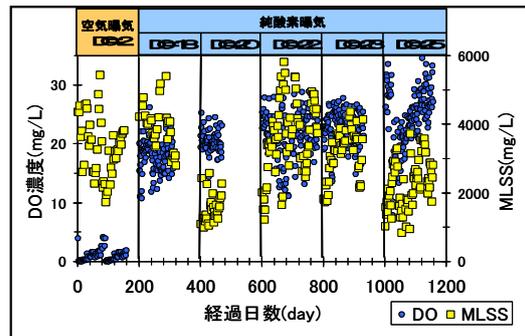


図 3 純酸素曝気時の DO と MLSS の推移②

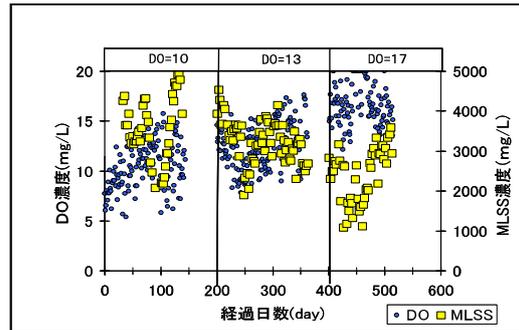


図 4 混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:4) での各条件における DO と MLSS の推移

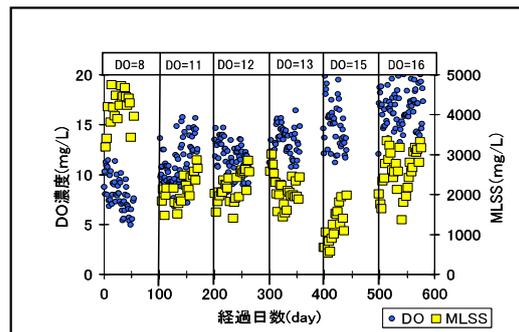


図 5 混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) での各条件における DO と MLSS の推移

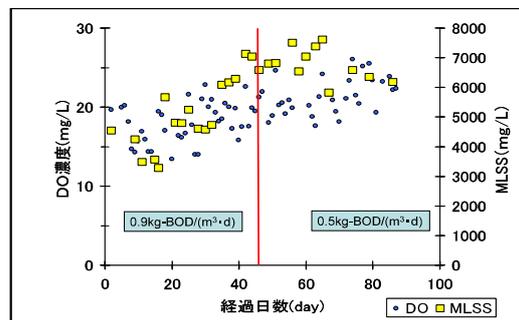


図 6 純酸素曝気による高負荷実験での DO と MLSS の推移

おり、DO 濃度 20 mg/L の時点でさらに MLSS が減少し、DO 濃度が 20mg/L 以上の領域ではまた MLSS が増えていることがわかる。このことから DO 濃度 20 mg/L のときに特異的な

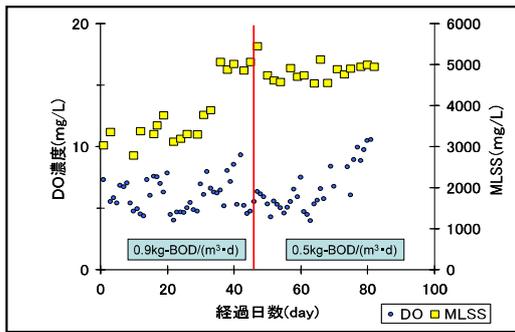


図7 混合ガス曝気 ($N_2 : O_2 = 1 : 1$) による高負荷実験での DO と MLSS の推移

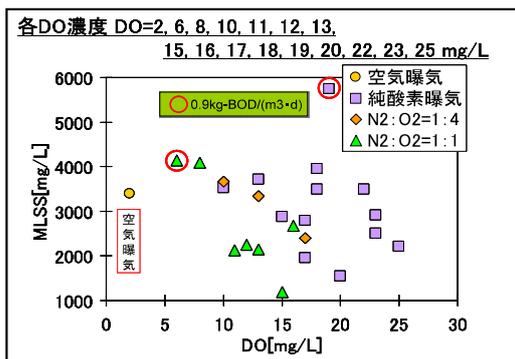


図8 各実験での平均汚泥量

条件の菌が生育している可能性があると考えられるが、再現性を確認する必要がある。

混合ガス曝気 ($N_2 : O_2 = 1 : 4$) においては、DO 濃度を 10 mg/L 以上の高い領域に維持することができた。図7および図11から 10 mg/L ~ 15 mg/L と高くなるにつれて MLSS の減少がみられるので、汚泥の発生の抑制が出来ていると考えられる。また、純酸素曝気時の結果を比較すると DO 濃度が 10 mg/L ~ 15 mg/L の範囲では高くなるにつれて同様に MLSS が減少していることがわかる。

混合ガス曝気 ($N_2 : O_2 = 1 : 1$) についても高 DO 濃度で実験を行うことができた。図8および図11を見ると、結果としては DO 濃度 10 mg/L ~ 15 mg/L の範囲でどの実験条件よりも MLSS を抑制できている。これらの結果については再現性を確かめてみる必要があるが、再現性が確認できればこれまでの実験では最も汚泥発生を抑制できる方法となる。

高負荷実験では図9、図10に示すように純酸素曝気、混合ガス曝気ともに BOD 容積負荷 $0.9 \text{ kg-BOD}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ では MLSS が上昇する傾向がみられたため、この負荷の現装置を用いた処理は難しいと考えられる。このため BOD 容積負荷 $0.5 \text{ kg-BOD}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ に戻したところ、MLSS の増加傾向は抑制できた。

(2) 水質処理能力比較

図9、図10に、x軸を DO 濃度、y軸を TOC 及び BOD の除去率とし、純酸素曝気実験およ

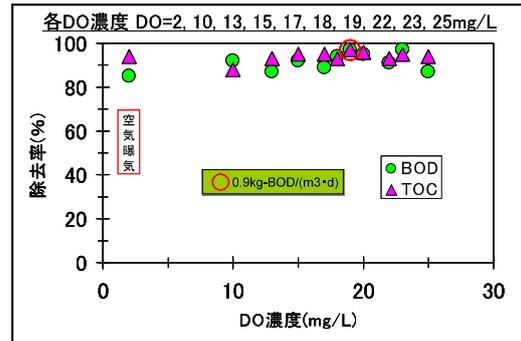


図9 純酸素曝気実験での水質処理能力

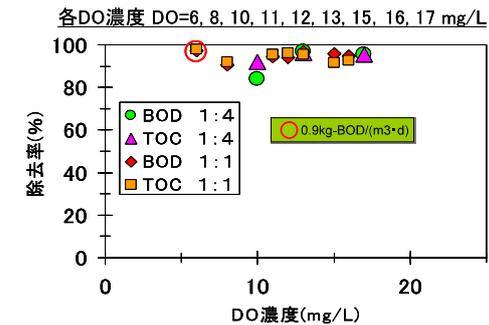


図10 混合ガス曝気実験の水質処理能力

び混合ガス曝気実験での各 DO 濃度における水質処理能力を表したグラフを示す。図9は純酸素曝気実験、図10は混合ガス曝気 ($N_2 : O_2 = 1 : 4$ および $1 : 1$) の結果を示した。また、図9および図10の円で囲んだプロットは高負荷実験時の結果である。

図9の空気および純酸素曝気実験で、各 DO 濃度での水質処理能力は良好である。MLSS が減少している領域でも水質処理能力に低下はなく良好であった。また、BOD 容積負荷を高くしても水質処理能力は良好であった。

図10より混合ガス曝気実験についても、TOC および BOD の除去率は、窒素と酸素の混合割合に関係なく良好である。また、純酸素曝気実験と同様に MLSS が減少しても処理能力は高く、BOD 容積負荷を高くしても水質処理能力は良好であった。このことから窒素を混合しても水質処理能力に影響はないといえる。

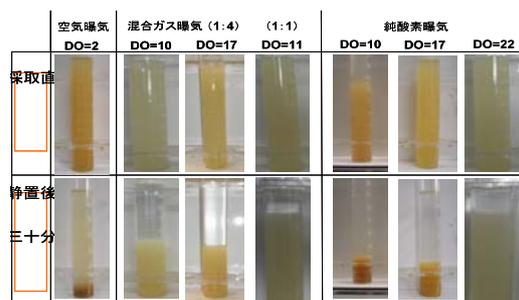


図11 汚泥の沈降分離性能の比較写真

(3) 汚泥分離性能比較

図 11 に各実験条件での各 DO 濃度の汚泥の分離性能を比較した写真を示す。上側の写真は曝気槽から汚泥を採取した直後の写真で、下側の写真はその後 30 分静置したときの写真である。左側から空気曝気の DO 濃度 2 mg/L、混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:4) の DO 濃度 10 mg/L と 17 mg/L、混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) の DO 濃度 11mg/L、純酸素曝気の DO 濃度 10 mg/L と 17 mg/L、22mg/L の写真である。写真を見ると空気曝気では、上澄み液が濁っており汚泥の分離性能が良くない。また純酸素曝気の DO 濃度 20 mg/L と混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) の DO 濃度 10 mg/L において、上澄みはきれいであるが沈降性能は満足な結果ではない。純酸素曝気においては DO 濃度 15、18、22 mg/L 以外では十分な沈降性能が得られた。また混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:4) においてはどの DO 濃度でも十分な分離性能が得られた。しかし、純酸素曝気においては DO 濃度 15 mg/L、18 mg/L、22 mg/L、混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1) においてはどの DO 濃度でも写真のような結果になり、汚泥の分離性能は満足な結果は得られなかった。また、高負荷実験でも同様に沈降性は不十分であった。

(4) 微生物群の遺伝子工学的比較

DO 濃度を高く維持することにより余剰汚泥の発生を抑制できたが、これには 2 つの原因が考えられる。[原因 1] DO 濃度を高くすることにより、同一の微生物群ではあるが、その異化反応が促進されるため。[原因 2] DO 濃度を高くすることにより、異化率が高い異なる微生物群が生育するため。この原因を追究するために微生物同定実験をおこなった。

図 12 に各条件における PCR-DGGE 法を用いて微生物同定実験を行ったときの電気泳動像の写真を示す。各レーンには左から①DGGE マーカー、②混合ガス曝気 (N₂:O₂=1:1)、③空気曝気の結果である。図の写真における各条件での DNA バンドについては同じ変性剤濃度の位置にバンドがあればどの条件下でもその菌は生育していることを示す。図 12 において仮にレーン②および③が同じ結果であれば、どの条件下でも同じ菌が成育し、前述した原因 1 が考えられる。しかし、図の

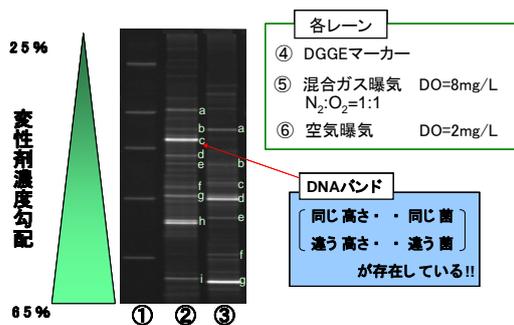


図 12 PCR-DGGE 法による電気泳動像

表 4 DNA バンド解析結果より特定の菌種

バンド名	推定される帰属分類群
a	Sphingobacteria 綱
b	Ferruginibacter 属
c	Rhizobiales 目
d	Cytophagia 綱
e	Burkholderiales 目
f	Burkholderiales 目
g	Bacteroidetes 門
h	Acidobacteria 門
i	Nitrospira 属

写真を見ると②と③ではそれぞれ違う高さにバンドが得られたことから、原因 2、つまり各 DO 濃度、各曝気条件で生育している微生物群の種類が違ふことが判明した。

図 12 の結果より得られた a~i の DNA バンドを切り出し、DNA の抽出を行い塩基配列の決定を行い、微生物種を同定した。各バンドより特定された菌種を表 4 に示す。

表 4 に示した 9 種の菌について、それぞれどのような特徴があるのかを調査した。9 種の菌の分類、及びそれらの特性は、以下の様に 5 系統に大別できる。

- ① バクテロイデス門に類する細菌 (バンド; a, b, d, g): 粘性を上昇させる特性を持ち、膜分離活性汚泥法における膜の目詰まりの原因とされている。
- ② リゾビウム目に類する細菌 (バンド; c): 粘質物を出すと考えられている。
- ③ バークホルデリア目に類する細菌 (バンド; e, f): 粘質物を出す。
- ④ アシドバクテリウム門に類する細菌 (バンド; h): 培養不可能とされおり、知見が少ない菌。
- ⑤ ニトロスピラ属に類する細菌 (バンド; i): 亜硝酸を硝酸に酸化させる硝化細菌。以上のように生育した菌の多くが、粘質物を産出すると考えられる菌であることが分かった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① 山崎博人, 辻村春菜, 村上定瞭, 品川恵美子, 杉村佳昭, 福永公寿: "ストリッピングと硝化反応を併用した超高濃度アンモニア性窒素の除去 - 固定化高濃度アンモニウムイオン耐性硝化菌体の特徴 -", 化学工学論文集, 査読有, Vol.35, 2009, pp.20-26
- ② Hirohito YAMASAKI, Yosuke MAKIHATA, Kimitoshi FUKUNAGA: "Preparation of crosslinked β -cyclodextrin polymer beads and their application as a sorbent for removal of phenol from wastewater", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 査読有, Vol.83, 2008, pp.991-999
- ③ 竹内正美, 山崎博人, 村上定瞭: "生物学的排水処理の基本原則とプロセス", 環境技術, 査読有, Vol.37, 2008, pp.226-232

- ④ 宮崎英男、竹内正美、村上定瞭:化学工業排水における生物処理プロセスとその維持管理, 環境技術, 査読有, Vol.37, 2008, pp.268-273
- ⑤ 竹内正美、山崎博人、村上定瞭:生物学的排水処理の基本原則とプロセス, 環境技術, 査読有, Vol.37, 2008, pp.226-232
- ⑥ 村上定瞭、竹内正美:汚泥減量化技術—汚泥基質化活性汚泥法—, 環境浄化技術, 査読有, Vol.7, 2008, pp.31-36

[学会発表] (計 14 件)

- ① 児玉領太, 竹内正美, 山崎博人, 村上定瞭:高溶存酸素濃度条件下における余剰汚泥削減技術の開発, 第 16 回高専シンポジウムin米子、E-11、米子コンベンションセンター、2011.1.22
- ② Hikaru TOKUNAGA, Taiji ITO, Hirohito YAMASAKI:“Preparation of spherical PVA hydrogels bearing β -cyclodextrin and their application as immobilizing support for microbes”, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), MACR 638, Hawaii(USA), 2010. Dec.15-20
- ③ Hirohito YAMASAKI, Narumi UCHIDA, Yasuyuki NAGASAWA, Taiji ITO, Kimitoshi FUKUNAGA:“Preparation of spherical photo-crosslinkable hydrogels bearing β -cyclodextrin and their application as immobilizing support for microbes”, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), MACR 639, Hawaii(USA), 2010. Dec.15-20
- ④ 徳永光, 山崎博人:“シクロデキストリン含有 PVA 球状含水ゲルの合成と応用”, 高分子学会第 25 回中国四国地区高分子若手研究会, PB2, 白兔会館(鳥取市), 2010.11.11-12
- ⑤ 吉屋愛恵, 竹内正美, 山崎博人:“高濃度アンモニアに耐性を持つ固定化細菌群による亜硝酸化”, 2010 年日本化学会西日本大会, 10-09, p.130, 熊本大学, 2010.11.6-7
- ⑥ 内田成美, 山崎博人, 伊藤太二:“有機物の濃縮機能をもつ光硬化型球状含水ゲルの開発と生体固定化担体としての応用”, 第 10 回環境技術学会研究発表大会, pp.48-49, 龍谷大学, 2010.9.10
- ⑦ Hirohito YAMASAKI, Masami TAKEUCHI, Kimitoshi FUKUNAGA:“Microbial Ecology of Immobilized Aerobic Nitrifying Bacteria in High-Concentration Ammonium Wastewater”, 3rd EuCheMS Chemistry Congress Nürnberg 2010, Vc.018, Programme p.78, Nürnberg(Germany), 2010. Aug.29-Sep.2
- ⑧ Narumi UCHIDA, Yasuyuki NAGASAWA, Hirohito YAMASAKI, Kimitoshi FUKUNAGA:“Preparations of Photo-crosslinkable Hydrogel Beads bearing β -Cyclodextrin and Application as an Immobilizing Support for Microbes”, 11th Pacific Polymer Conference 2009, P377,

- Cairns(Australia), 2009. Dec. 6-10
- ⑨ 内田成美, 山崎博人:“シクロデキストリン含有光硬化型球状含水ゲルの生体固定化担体としての応用”, 高分子学会第 24 回中国四国地区高分子若手研究会, PA02, p.23, あわぎんホール(徳島市), 2009.11.12-13
- ⑩ 児玉領太, 竹内正美, 山崎博人, 村上定瞭:高濃度酸素曝気における余剰汚泥削減技術の開発, 第 9 回環境技術学会研究発表大会, pp.69-70、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス、2009.9.11
- ⑪ Hirohito YAMASAKI, Taiji ITO, Masami TAKEUCHI, Kimitoshi FUKUNAGA:“Microbial ecology of immobilized nitrifying bacteria in high concentration ammonium wastewater by FISH”, 3rd European Conference on Chemistry for Life Sciences, P054, p.138, Frankfurt(Germany), 2009. Sep. 2-5
- ⑫ 児玉領太、富田次郎、竹内正美、村上定瞭:高濃度酸素曝気による余剰汚泥削減技術の開発, 第 14 回高専シンポジウムin高知、p64、高知市文化プラザかるぼーと、2009.1.24
- ⑬ 長澤康致, 山崎博人:“有機物の濃縮機能をもつ球状含水ゲルの開発と排水処理への応用”, 第8回環境技術学会研究発表会, pp.37-38, 大阪教育大学, 2008.9.19
- ⑭ Hirohito YAMASAKI, Sadaaki MURAKAMI, Taiji ITO, Kimitoshi FUKUNAGA: “Treatment of super high concentration ammonium wastewater with immobilized aerobic nitrifying bacteria and stripping effects”, 18th International Congress of Chemical & Process Engineering, Summaries 4, p.1577, Praha(Czech Republic), 2008. Aug. 24-28

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 博人 (YAMASAKI HIROHITO)
 宇部工業高等専門学校・物質工学科・教授
 研究者番号: 20300618

(2) 研究分担者

竹内 正美 (TAKEUCHI MASAMI)
 宇部工業高等専門学校・物質工学科・教授
 研究者番号: 30043889

(3) 連携研究者

伊藤 太二 (ITO TAIJI)
 徳島大学・疾患ゲノム研究センター・講師
 研究者番号: 60343109
 (H20→H21:研究分担者)

村上 定瞭 (MURAKAMI SADA AKI)
 広島商船高等専門学校・校長
 研究者番号: 00035065