

<研究発表>

硝化細菌の最大活性の変動を考慮した活性汚泥モデルの検討

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

(株)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 E-mail:t.yamashita@kobelco-eco.co.jp)¹

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)²

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)³

概要

実稼働中の窒素含有排水処理設備の活性汚泥中のアンモニア酸化細菌数、亜硝酸酸化細菌数および亜硝酸還元細菌数をリアルタイム PCR により、7ヶ月間モニタリングを行い、同時に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を回分活性試験により評価した。その結果、それぞれの細菌数あたりの最大反応速度は変動することが明らかになった。そこで、細菌数あたりの窒素負荷と最大反応速度との関係をそれぞれ調べたところ、両者には非常に高い相関が認められた。したがって、例えば ASM における硝化反応の計算において、最も感度の高い最大比アンモニア酸化速度定数(μ_A/Y_A)を定数値ではなく、窒素負荷に応じて柔軟に表現することで、シミュレーションの予測精度を向上させることや、キャリブレーション頻度を低減できる可能性が示された。

キーワード: 活性汚泥モデル, リアルタイム PCR, 硝化脱窒, 窒素負荷, 最大反応速度

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排水処理設備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。

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構築に向けて、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。また、ASM の窒素除去に係わる反応速度をより普遍的に表現する可能性を検討した。

2. 方法

2.1 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いる。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。

2.2 細菌数の定量方法

硝化細菌と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(NO_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 RT1r を、プローブとして TMP1 を用いた TaqMan probe 法により行った²⁾。NO_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³⁾。NIRB の定量は、*nirS* を対象とし、プライマーとして cd3aF、R3cd を用いた SYBR Green 法により行った⁴⁾。

2.3 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、試験を開始した。定刻ごとにサンプリングを行い、ろ水の NH₄-N、NO₂-N、NO₃-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

3.1 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 NH₄-N、約 35%が NO₃-N、残りの約 5%が NO₂-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 NO₃-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。

3.2 硝化細菌数および脱窒細菌数のモニタリング結果

Fig.1 に硝化槽の AOB、NOB と脱窒槽の NIRB の推移を示す。AOB は、 $2.77 \times 10^7 \sim 2.3 \times 10^8$ copies/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、 $2.59 \times 10^6 \sim 2.43 \times 10^7$ copies/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、 $1.52 \times 10^9 \sim 1.19 \times 10^{10}$ copies/ml で推移し、最大値と最小値で 7.8 倍の差があった。

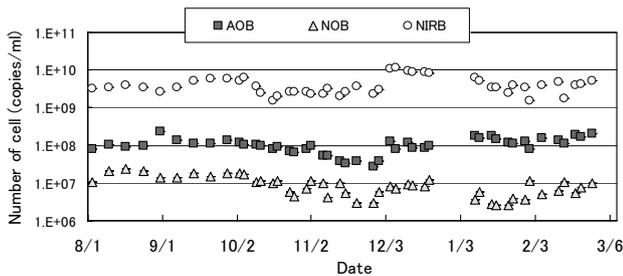


Fig.1 Cell Numbers of AOB,NOB and NIRB

3.3 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

Fig.2 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、 $50 \sim 300 \text{ fg-N} \cdot \text{copy}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、最大亜硝酸酸化速度は、 $1,000 \sim 10,000 \text{ fg-N} \cdot \text{copy}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、最大亜硝酸還元速度は、 $3 \sim 15 \text{ fg-N} \cdot \text{copy}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 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。例えば ASM では、最大アンモニア酸化反応速度は、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、Fig.2 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、何らかの外的要因で変化している可能性を示している。

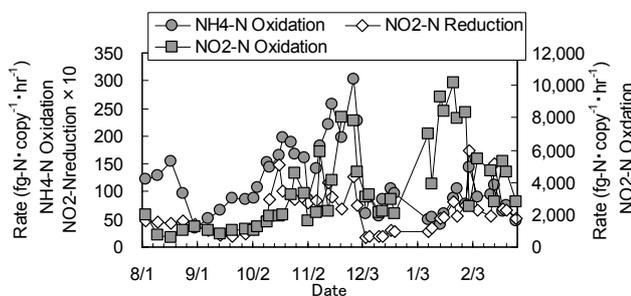


Fig.2 Changes in Maximum Specific $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ Oxidation Rates and $\text{NO}_2\text{-N}$ Reduction Rate.

3.4 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、まず AOB の細胞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 (Fig.3)。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 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度と流量から算出したアンモニア負荷を AOB の細胞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。Fig.3 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ている。

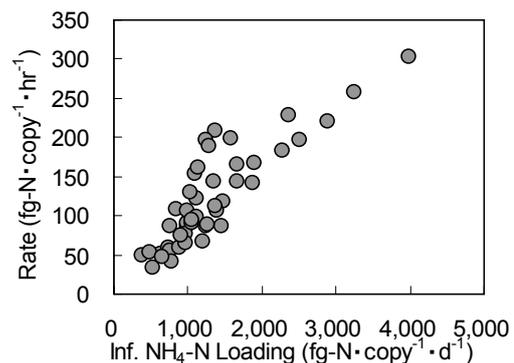


Fig.3 Relationship between Influent $\text{NH}_4\text{-N}$ Loading and Maximum $\text{NH}_4\text{-N}$ Oxidation Rate per Cell

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、最大反応速度が高くなることが確認された。ASM では、最大反応速度は最大比増殖速度と増殖収率で表された定数で与えられており、モデルの構造上、最大反応速度この変動を表現することは出来なかった。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活性汚泥モデルで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頻度の低減が期待される。

[謝辞]

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

[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) Hermansson, A, and Lindgren, P-E. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 972-976, 2001.
- 3) Harms, C. et al. *Environ. Sci. Technol.* 37, 343-351, 2003.
- 4) Throckmold, I.N. et al. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49, 401-417, 2004.