2. メタン発酵ー脱窒素同時プロセスによる嫌気消化汚泥の

多機能・高度化研究

創価大学大学院 工学研究科 秋月 真一 創価大学大学院 工学研究科 Lim Yong-Giak 創価大学大学院 工学研究科 泉 光一 創価大学工学部 教授 黒沢 則夫 創価大学工学部 教授 戸田 龍樹

【研究目的】

メタン発酵プロセスは、温度、水理学的滞留時間(HRT)、有機物負荷等の運転パ ラメータによって、制御されている。しかしながらメタン生成効率やプロセスの安定性 などの「メタン発酵プロセスの性能」は、リアクター内に保持されている汚泥の性質に よって決定されており、各種運転パラメータは、安定した性能を発揮する汚泥を生成・ 維持するための生育環境に過ぎない。例えば、UASB リアクターに見られるグラニュー ルは、処理対象を溶解性の高濃度有機性汚水に特化することによって 100 kg-COD m³ day¹のような超高負荷運転が可能になることが知られている(原田ら 1998)。また本研 究グループが実施した研究では、湿式メタン発酵槽での微生物集積による汚泥の高機能 化によって、一般に知られている湿式メタン発酵の有機物負荷 5 kg-COD m³ day⁻¹の4 倍にあたる 20 kg-COD m³ day⁻¹の超高負荷運転においても安定した処理性能を維持で きることが証明されている(田島 2009)。つまりメタン発酵プロセスにおける機能の高 度化は、嫌気性消化汚泥を高機能化することに他ならない。

一般に、嫌気性消化プロセスにおける汚泥の高機能化は、動物体内の消化器系に存 在する特殊微生物の添加(Hu & Yu 2005)、Fe、Ni、Co などの微量元素添加(Speece 1996)、 対象基質を長期間供給することによる汚泥の馴化(戸田ら 2010)、微生物集積による高 負荷耐性(田島 2009)などによって達成される例が報告されている。これらの中で、 回分処理プロセスへの適応は、(1)異なる機能を持つ微生物の添加と(2)微量元素 の添加、の2つのアプローチが考えられる。

異なる機能を持つ微生物の添加というアプローチにおいて、本研究では、比較的易 分解として知られるムラサキイガイの貝肉を処理対象とするため、従来研究で実施され てきたようなルーメン内の特殊微生物の添加ではなく、硝酸態窒素ならびに亜硝酸態窒 素を窒素へと変換する脱窒素菌に注目した。メタン発酵プロセスは、pH 6.5~8.2 の条 件で、35℃と55℃付近の2つの温度域に至適環境を持つ生物反応である(Speece 1996)。 一方、脱窒素菌が活躍する脱窒素プロセスはメタン発酵プロセスと同じ嫌気条件下にお いて、pH 7.5~9.5、温度 37℃~39℃の中温域において至適環境を持つことが知られて いる(井出 1999, Hu et al 2006)。嫌気度については、脱窒素プロセスは、-200mV が至 適であり、メタン発酵プロセスは-200~-400mV が至適環境である。メタン発酵プロセ スと脱窒素プロセスは、pH、温度、嫌気度等の至適環境が近似していることから、そ れぞれのプロセスで働く微生物群を同時に単一のリアクター内で共働できる可能性が ある。これらの両プロセスの同時処理が可能になる場合、脱窒素リアクターを削減する ことが可能で、低コスト化とプロセスを同時進行させることによる高機能化が同時に達 成できる。さらに脱窒素プロセスは、有機物を電子供与体として消費する生物学的プロ セスであり、一般に都市排水処理においては工業用メタノールが利用されている。この メタノールの添加費用は、全体のオペレーティングコストの 6~7 割を占めるとの報告 もあり、メタノール等の電子供与体となる有機物の代わりに、貝肉等の処理有機物を利 用すれば、添加薬剤の削減が可能となり、装置とオペレーションの両面からの低コスト 化が達成される(図 2-2-1)。

20



(a) 従来の有機性固形廃棄物処理

(b) メタン発酵 - 脱窒素同時処理プロセス

さらに多機能回分処理プロセスの更なる高度化を目指し、亜硝酸態窒素型の脱窒素 プロセスについての実験を行った。一般の脱窒素プロセスでは、硝化プロセスにおいて、 アンモニアから亜硝酸に酸化された窒素は、さらに硝酸態窒素となる。その後、嫌気条 件において硝酸態窒素が還元され、脱窒素される。ここで硝化プロセスにおいて亜硝酸 態窒素を選択的に蓄積でき、亜硝酸態窒素からの脱窒が可能となれば、(1) 従来に比 べ硝化プロセスにおける曝気エネルギーが削減される、(2) 硝酸態窒素の酸化数が+5 であるのに対し、亜硝酸態窒素の酸化数は+3 であることから、還元に必要とされる電 子供与体が少なくなり、脱窒素において必要な有機物量が削減される。結果としてメタ ン発酵に利用できる有機物量が増加し、バイオガスの回収効率が上がる。本プロジェク トが目指す多機能回分プロセスにおいて、亜硝酸蓄積型硝化とメタン発酵の同時処理プ ロセスが可能となれば、より高度化された多機能回分処理プロセスの構築につながる (図 2-2-2)。



図 2-2-2. メタン発酵 - 亜硝酸脱窒素同時処理プロセス

メタン発酵と脱窒素の両プロセスを単一の嫌気槽内において適正に共働させ、効果 的なバイオガス回収と脱窒素を達成するためには、両プロセスの有機物消費に伴う競合 性についての研究を実施する必要がある。メタン発酵ー脱窒素同時プロセスでは供給さ れる硝酸態窒素、亜硝酸態窒素が過剰に蓄積した場合、メタン発酵が阻害される(Tugtas et al 2006)。このため、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素を用いたメタン発酵ー同時脱窒素プ ロセスの検証と同時に、プロセス内で共働できる硝酸態窒素濃度と、亜硝酸態窒素濃度 について調査する必要がある。そこで脱窒素菌という異なる機能を持つ微生物の機能を 添加・共働させる研究として、(1)異なる濃度の硝酸態窒素におけるメタン発酵と脱 窒素の同時処理、(2)異なる濃度の亜硝酸態窒素におけるメタン発酵と脱窒素の同時 処理の2つの実験を実施した。

一方、微量元素の添加による汚泥の高機能化では、Fe、Ni、Coのような微量金属の 添加によるメタン生成活性の向上が報告されている。微量金属の添加は、メタン生成細 菌をはじめ酸性細菌や酢酸・水素生成細菌など様々な嫌気性微生物に対する活性促進作 用を持ち、嫌気性処理プロセスに重要な影響を与えることが知られている(Takashima & Speece 1990)。各種微量元素の要求性は基質の違いあるいは嫌気性微生物種によって異 なると考えられており、わずか一種類が欠乏していてもプロセス全体が制限される。一 方、系内に高濃度に存在する微量金属による毒性は細胞内に非特異的復合物を生成させ、 嫌気性微生物の働きを阻害する作用についても報告されている(Harries et al 1990)。このため各種元素のメタン発酵プロセスに与える影響を正確に評価する場合、従来行われてきたような特定の元素をプロセスに添加しその影響を評価するというような単純な実験系列では正確な評価できない。そこで本研究では、前述の2つのメタン発酵ー脱窒素同時処理プロセスに関わる実験に加え、(3)微量元素添加の影響を評価するため、
15 種類の元素を組み合わせて、それらを嫌気性消化汚泥に添加することによって、汚泥の各種元素要求性とその相互関係についても研究を実施した。

【研究方法】

<基質と種汚泥>

実験に用いるムラサキイガイは、平成20年6月、平成21年7月に岩手県、大槌湾に て採取し、-20℃で冷凍保存したものを貝殻ごと用いた。

種汚泥は、横浜市北部汚泥資源化センターより中温嫌気消化槽の消化汚泥を、北部第 二水再生センターより A₂O 法の脱窒素汚泥を提供していただいた。(2) 亜硝酸型脱窒 素同時処理における種汚泥は、消化汚泥(40%-VS)と脱窒素汚泥(60%-VS)の混合 汚泥を亜硝酸態窒素で5日間順養し用いた。

<実験装置ならびに実験条件>

実験装置は、(1)硝酸型脱窒素同時処理、(2)硝酸型脱窒素同時処理、(3)元素 要求性の実験はいずれも、2Lの三角フラスコを用い、フラスコ上部の空間をアルゴン ガスで置換した後に、37 ℃にて振盪培養を実施した(図 2-2-3)。基質と種汚泥は実験 開始時に1回投入した。



投入基質量は、殻長から貝肉の乾燥重量を予測する式を用いて計算し、7.1 g-VS(強熱 減量: Total Volatile Solid) とした(式 1-1)。

 $TS_{M} = 4.683 \times 10^{-6} \times L$ (式 1-1)

ここで、TS_Mは貝殻1個あたりの乾重量(g-TS)を表し、L は殻長(mm)を表してい る。(1)硝酸型脱窒素同時処理では、種汚泥を消化汚泥(AS)のみと消化汚泥と脱窒 素汚泥の混合種汚泥(AD)の2系列において、硝酸態窒素濃度500、1500、3000 mg-NO₃-N L⁻¹の3条件について実験を行った(表 2-2-1)。(2)亜硝酸型脱窒素同時処理では、亜 硝酸態窒素濃度350、500、1000、2500 mg-NO₃-N L⁻¹の4条件で実験を行った(表 2-2-2)。

		種汚測	尼投入量	投入COD濃度	硝酸態窒素 濃度 (mg-NO ₃ ⁻ -N L ⁻¹)		
	Run No.	消化汚泥 (g- VS)	脱窒素汚泥 (g- VS)	(mg-COD L ⁻¹)			
_	1.AS-500	15	-	8609	500		
	2.AS-1500	15	-	8609	1500		
	3.AS-3000	15	-	8609	3000		
	4. AD-500	12	3	8609	500		
	5. AD-1500	12	3	8609	1500		
	6. AD-3000	12	3	8609	3000		

表 2-2-1. 硝酸型脱窒素同時処理における実験条件

		種汚測	尼投入量	投入COD濃度	亜硝酸態窒素 濃度 (mg-NO ₂ ⁻ -N L ⁻¹)		
	Run No.	消化汚泥 (g- VS)	脱窒素汚泥 (g-VS)	(mg-COD L ⁻¹)			
-	1	12	3	8609	350		
	2	12	3	8609	500		
	3	12	3	8609	1000		
	4	12	3	8609	2500		

表 2-2-2. 亜硝酸脱窒素同時処理実験における実験条件

(3)元素要求性実験では、実験終了後の AD-500 の消化液に各種微量元素を組み合わせた混合液を添加し(表 2-2-3)、振盪条件下で培養し、その消化液に含まれる各種元素濃度の時間変化を測定した。

化合物	濃度	元素濃度	全て	全て	Ca	Р	Fe, Ni, Co	Mn	Sr	Cu	Mg
	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	なし	あり	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
KH₂PQ₄	7.95	4980(K)		-	-		-		-	-	-
K₂HPQ₄	7.86	2880(P)	-	0	0	-	0	0	0	0	0
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.1	27.3	-	0	-	0	0	0	0	0	0
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.11	109 (Mg) 144 (S)	-	0	0	0	0	0	0	0	-
CuCl ₂	0.038	14.2	-	0	0	0	0	0	0	-	0
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.5	139	-	õ	õ	õ	ŏ	-	ŏ	0	õ
SrCl ₂ .6H ₂ O	0.035	11.5	-	ŏ	õ	Õ	ŏ	0	-	ŏ	Õ
FeCl ₂ .4H ₂ O	10.0	2810	-	Ō	Ō	Ō	-	Ō	0	Ō	Ō
NiCl ₂ .6H ₂ O	0.142	35.1	-	Õ	Õ	Õ	-	Ō	Ō	Ō	Ō
CoCl ₂ .6H ₂ O	2.0	495	-	Õ	Õ	Õ	-	Ō	Ō	Ō	Ō
ZnCl ₂	0.05	24	-	0	0	0	0	0	0	0	0
H₃BO₃	0.1	8.74	-	Ō	Ō	Ō	Ō	Ō	Ō	Ō	Ō
Na₂MoO₄	0.001	0.466	-	Õ	Õ	Õ	Ŏ	Ō	Õ	Ō	Õ
Na ₂ SeO ₃	0.123	56.2	-	0	Ó	Ō	Ŏ	0	Ō	Ó	0
NH₄CI	2.8	733	-	Ő	Ó	Õ	Ō	Ő	Ō	Ő	Ō

表 2-2-3. 元素要求性実験における添加物質と各種培養条件

*複数の化合物に起因する元素は、元素濃度欄()内に記した元素ごとに、合計した。

<サンプリングならびに測定項目>

(1)硝酸型脱窒素同時処理では、実験開始時から24時間目までは、0、6、12、18、
24時間の5回、1-3日目は2、3日の2回、3-12日目は6、9、12、19日の4回、合計11
回試料採取を実施した。(2)亜硝酸型脱窒素同時処理では、実験開始から1日目までは0、6、12、24時間の4回、実験開始後2、3、6、9、15、21日の6回、合計10回試

料採取を行った。(1)、(2)の両実験において、バイオガスはガスパックで回収し、 発酵液は嫌気条件下において採取した。投入基質および種汚泥について pH、蒸発残留 物 (Total Solid: TS)、VS、全化学的酸素要求量 (Total Chemical Oxygen Demand : TCOD)、 溶解性 COD (Soluble COD: SCOD)を測定した。バイオガスはガス生成量とバイオガス 組成(メタン、二酸化炭素、窒素、亜酸化窒素)を測定した。pH、TS、VS、TCOD、 SCOD、VFAs の測定は下水試験法(1997)および Standard method(1998)に準拠して 行った。各種 VFAs はガスクロマトグラフィー (GC-9A, Shimazdu, Column: Shincarbon A, Detector: FID) を用いて、酢酸、プロピオン酸、n-酪酸、i-酪酸、n-吉草酸、i-吉草酸を それぞれ測定した。(1) 硝酸型脱窒素同時処理では、発酵槽内の微生物の挙動を把握 する為に、バクテリアおよびアーキアについて変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE 法)による微生物群集構造の変遷について解析を行った。解析は、1) 実験開始時(0 日目)、2) 6日目、3) 19日目の3点について行った(8系列×3点=合計24試料)。 DGGE の測定は、各汚泥試料約1mL を破砕・懸濁後、自動核酸抽出機を用いて混合 DNA を抽出した。これを鋳型として、PCR 法によりバクテリアおよびアーキアの 16S rDNA の一部(約200bp)をそれぞれ増幅した。PCR 産物を精製・濃縮後、DGGE を行った。 変性剤の濃度勾配は 20-60 %または 40-60 %とし、200 V、4 時間で泳動を行った。発酵 汚泥中の菌体数は Aman(1992)の方法を用いて、核酸染色剤 DAPI (4,6'-diamidino-2-phenylindole, U 励起: 380nm)を用いて総菌体数を計測した。また、 元素要求性実験における各種微量元素は、高周波誘導結合プラズマ(ICP)発光分析装 置(ICPS-7000; 島津製作所, Ver. 2 Sequential Plasma Spectrometer)を用いて各微量元素 (Ca、Fe、K、Mg、Mn、P、Se、Zn)を測定した。微量元素の分析は、Environmental Protection Agency (EPA) 200.7 法に準じて行った。

26

<ガス化に伴い消費された SCOD の算出方法>

メタン生成に伴う COD 消費量を COD_{CH4} として式 1-2 によって求めた。

COD_{CH4}=メタン生成量〔mL〕×1/0.395〔mg-COD mL-CH4⁻¹〕 (式 1-2) 窒素生成に伴う COD 消費量を COD_{N2} として式 1-3 によって求めた。

 COD_{N2} = 窒素生成量〔mL〕×1/1.71〔mg-COD mL-N₂-1〕
 (式1-3)

 亜酸化窒素生成に伴う COD 消費量を COD_{N20} として式 1-4 によって求めた。

 $COD_{N20} = 亜酸化窒素生成量 [mL] × 1/1.14 [mg-COD mL-N_2O^1]$ (式 1-4) メタンガスの生成に伴う COD 消費量を COD_{CH4} 、硝酸態窒素が還元される際に必要な COD 量を COD_{N2} 、亜酸化窒素の生成に伴う COD 消費量を COD_{N20} 、基質として投入し た COD 量 (g-CODcr) を TCOD として、実験期間中のガス生成に伴う COD 消費の割 合 (S) を式 1-5 によって求めた。

S (%) =
$$(COD_{CH4} + COD_{N2} + COD_{N20}) / TCOD \times 100$$
 (式 1-5)

【結果と考察】

<硝酸型脱窒素同時処理>

メタン生成や脱窒素反応は、それぞれの反応においてアンモニアならびに水酸化物イ オンを生成し、共に pH の上昇を引き起こす(Bernet et al 2001, Yadvika 2004)。一方で、 嫌気可溶化は、VFAs 等の酸を生成するために pH を低下させることが知られている

(Griffin et al 1998)。本研究における消化汚泥の pH は実験初期に一度低下した後に、 再び上昇し安定した(図 2-2-4)。全ての実験期間、実験系列において pH は 7 以上の値 を示し、メタン発酵ならびに脱窒素プロセスにとって至適環境を維持していたものの、 特に硝酸態窒素を 3000 mg-NO₃⁻-N L⁻¹加えた実験系(AS-3000、AD-3000)では汚泥の種 類に関わらず pH8.5 を超える高い値を示した。一方で、硝酸態窒素濃度が低い系列では、 pH は 8.5 を超えることはなかった(図 2-2-4)。硝酸態窒素濃度 3000 mg-NO₃⁻-N L⁻¹での 高い pH は、脱窒素反応に伴う水酸化物イオンの生成が引き起こしたものと考えられる。



図 2-2-4. 各条件における pH の経時変化 AS:消化汚泥のみの系、AD:消化汚泥と脱窒素汚泥の系

積算メタン生成量は、混合汚泥を用いた場合の硝酸態窒素濃度 500 mg-NO₃-N L⁻¹ (AD-500) と消化汚泥のみを添加した 500 mg-NO₃-N L⁻¹ (AS-500) において、実験開 始9日目まで高い値を示した (図 2-2-5)。AD-500 の実験終了時のメタン生成量は、他 の条件と比較して最も高い値を示し、2.4 L に達した。また混合汚泥を用いた硝酸態窒 素濃度 1500 mg-NO₃-N mg L⁻¹ (AD-1500) の条件も実験終了時には、消化汚泥のみの AS-500 と同程度のメタン生成量 1.8L 程度を生成した。この値は当研究グループが過去 に実施した硝酸態窒素を添加しない実験系で得られた 1.7 L とほぼ同じ値となった (Lim et al 2008)。このことから硝酸態窒素濃度が 500 mg-NO₃-N L⁻¹程度であれば、メタン発 酵と脱窒素プロセスは競合せずに同時に共働できることが示された。



窒素生成は、脱窒素汚泥の添加に関係なく実験初期から確認された(図 2-2-6)。混合 汚泥を用いた AD の条件では、硝酸態窒素濃度 1500 mg-NO₃-N L⁻¹が最も高くなった。



AS:消化汚泥のみの系、AD:消化汚泥と脱窒素汚泥の系

消化汚泥のみの AS の条件における硝酸態窒素濃度 1500、3000 mg-NO₃-N L⁻¹ (AS-1500, 3000) では、メタン発酵、脱窒素の両プロセスで、硝酸態窒素による阻害が観察された。 このことから、AS の方が、硝酸態窒素の影響を強く受けることが明らかとなった。

消化汚泥のみの AS と混合汚泥を用いた AD の両条件において、メタン生成速度は硝酸態窒素濃度 500 mg-NO₃⁻-N L⁻¹で最大値 320 mL day⁻¹、340 mL day⁻¹を示した(図 2-2-7)。



図 2-2-7. 実験期間中のガス生成速度の経時変化 上図:メタン生成速度、下図:窒素生成速度 AS:消化汚泥のみの系、AD:消化汚泥と脱窒素汚泥の系

メタン生成速度の最大値は、硝酸態窒素濃度の増加に伴い減少し、消化汚泥飲みの AS-1500 は AS-500 の約 13 分の 1 を示し、混合汚泥を用いた AD-1500 のメタン生成量 も AD-500 の 2 分の 1 を示した。メタン発生のタイミングも硝酸態窒素濃度が高い実験 系ほど遅くなった。一方、窒素生成速度は、実験初期に最大値に達し、その後、AD-1500 において若干の生成が見られた以外は、窒素ガスの生成は低い値を示した。Percheron ら (1999) は、糖蜜排水を利用した嫌気消化プロセス中において、窒素生成後にメタン 生成が起きたことを報告している。本研究においても、メタンガスよりも早い段階で窒 素ガス生成が観察され、脱窒素生成がメタン生成より優占して起こることが明らかとな った。さらに、発醗酵液中における硝酸態窒素濃度が 500 mg-NO₃-N L⁻¹以上の場合、 メタン生成と脱窒素の両プロセスが阻害されることが明らかとなった。このことから効 率的な多機能液相プロセスの運転には、硝酸態窒素濃度を最適値に制御する必要である。 投入基質あたりの可溶化率は、実験開始直後より増加し、種汚泥の違いによって変化



がみられた(図 2-2-8、2-2-9)。

図 2-2-8. AS 系列における投入基質あたりの可溶化率の経時変化



図 2-2-9. AD 系列における投入基質あたりの可溶化率の経時変化

実験期間中の消化汚泥飲みの AS の条件における可溶化率は、硝酸態窒素濃度の違い によって異なる傾向を示し、実験終了時の AS-500、1500、3000 ではそれぞれ 95.2、60.4、 91.9%を示した(図 2-2-8)。一方で、混合汚泥を用いた AD の条件では、硝酸態窒素濃 度の違いによる影響はみられず、AS と比較して約 2 倍高い値を示した(図 2-2-9)。こ の結果より、AD の条件における可溶化過程では、硝酸態窒素の増加による影響はない ことが明らかとなった。また、可溶化率は実験開始 6 日目付近で定常状態に達し、どの 条件においても 100%を超えていた。これは AD の条件において投入した種汚泥がバイ オガスや醗酵液中の SCOD に変換された可能性が示唆される。

実験終了時の窒素ガス化率、バイオガス化率、COD 分解率を図 2-2-10 に示した。メ タン生成ならびに脱窒素の両プロセスが同時に阻害されず進行したのは、AS-500、 AD-500 の条件であった(図 2-2-10)。また AD1500 の系でも高いバイオガス生成が確認 されが、AD-500 において確認されたバイオガス化率よりは低い値を示し、硝酸態窒素 による阻害が確認された。脱窒素汚泥の添加によって硝酸態窒素によるメタン発酵プロ セスの阻害が緩和された可能性も考えられる。



図 2-2-10. 実験終了時の窒素、バイオガス化率ならびに投入 COD 分解率 AS:消化汚泥のみの系、AD:消化汚泥と脱窒素汚泥の系

<硝酸型脱窒素同時処理における微生物相の遷移と役割>

DGGE のバンドパターンを試料間で比較した結果、実験開始時においては、脱窒汚泥 添加の有無により、バクテリアの種組成の一部に違いが見られたものの、全体としての 微生物群集構造には大きな差は見られなかった(図 2-2-11)。アーキアの群集構造は、 実験系列および実験期間全てにおいて、ほとんど変化が見られなかったが、バクテリア については経過時間に伴って群集構造が変化していた(図 2-2-11 上図)。特に、実験 6 日目において試料間で顕著な差が見られ、とりわけ、種汚泥として消化汚泥のみを用い た条件では、硝酸態窒素濃度の違いにより異なる群集構造となることが判明した。しか しながら、定常状態に達したと考えられる実験開始 19 日目では各条件間で違いが見ら れず、全ての実験系列において同様な微生物群集構造となっていた。



図 2-2-11. DGGE による各条件の微生物相の径時変化 上図:バクテリアの微生物相、下図:アーキアの微生物相

生成したガスの組成から判断して、メタン発酵との競合反応も一部見られたが、どの 条件においても脱窒素反応が起こっていたと推定された。また、実験初期および実験6 日目で検出され、定常状態に達した実験開始 19 日目では検出されなかった微生物は、 有機物の分解過程に関与している可能性が示唆された。

これまでの研究において、バクテリアと比較してメタン発酵槽内のアーキアは、増殖 速度が遅いことや、種組成が安定している等の報告がされている(Dearman et al 2006, Liu & Whitman 2008)。本研究においてもこれらと同様にアーキアの増殖速度は遅く、微 生物群集構造も安定していると考えられた。

<亜硝酸型脱窒素同時処理>

メタン発酵槽内の pH は、亜硝酸態窒素濃度が低い 350、500 mg-NO₂-N L⁻¹ の系列に おいて、7.8 であった(図 2-2-12)。



図 2-2-12. pH の経時変化

一方、亜硝酸態窒素濃度が高い 1000、2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹ の系列における pH はそれ ぞれ 8.5、9.7 であり、特に 2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列において、高い値を示した。ムラ サキイガイがより低分子に加水分解される可溶化では、H⁺が生成されるため槽内の pH が低下する(Tugtas et al 2006)。一方、脱窒素では H⁺が消費されるため槽内の pH が上 昇する(Griffin et al 1998)。槽内の pH は、可溶化と脱窒素のバランスによって変化し ており、特に高い pH を示した亜硝酸態窒素濃度 2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列では、活発 な脱窒素により高い pH が維持されたものと考えられる。

槽内の SCOD 濃度は、実験開始後 24 時間、全系列において上昇する傾向が見られた (図 2-2-13)。亜硝酸態窒素 350、500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列において、最終的な残存 SCOD 濃度はそれぞれ 114、604 mg-COD L⁻¹と低い値を示した。また亜硝酸態窒素 1000、2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列において、残存 SCOD 濃度はそれぞれ 2352、2855 mg-COD L⁻¹であ った。

槽内の有機物分(COD)は、メタン生成ならびに脱窒素反応において消費される。 亜硝酸態窒素濃度 2500 mg-NO₂-N L⁻¹の系列では、高い SCOD 濃度を示し、投入した SCOD が消費されなかったことから、メタン生成あるいは脱窒素の両プロセスが、阻害 を受けていたことが示唆された。



図 2-2-13. 残存 SCOD 濃度

発酵液中の亜硝酸態窒素濃度は、全ての系列において、実験開始後すぐに濃度の減 少が見られた(図 2-2-14)。さらに亜硝酸態窒素除去速度は、実験開始直後に高い値を 示したが、5日目には除去速度はほぼゼロになった。



図 2-2-14. 亜硝酸態窒素濃度

積算窒素生成量は、亜硝酸態窒素濃度の違いによって異なる傾向を示した(図 2-2-15)。





亜硝酸態窒素濃度 350、500、1000 mg-NO₂-N L⁻¹ の系列における積算窒素生成量は、 それぞれ 602、642、1252 mL を示し、投入した亜硝酸態窒素のガス化率はいずれの系列 も 100%であった。一方で、亜硝酸態窒素濃度 2500 mg-NO₂-N L⁻¹の系列における積算 窒素生成量は、302 mL を示したものの、投入亜硝酸態窒素のガス化率は 35.5%と低い 値を示した。

窒素生成速度は全系列において、実験開始 2 日目に最大値を示し、亜硝酸態窒素濃 度の低い 350、500、1000 mg-NO₂⁻-N L⁻¹ の系列における最大窒素生成速度は、それぞれ 103、165、346 mL day⁻¹に達した(図 2-2-16)。亜硝酸態窒素濃度の高い 2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列における最大窒素生成速度は、202 mL day⁻¹ の値を示した。

亜酸化窒素生成量は、亜硝酸態窒素濃度 350、500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹において、それぞれ 20、45 mL と低い値を示した(図 2-2-17)。亜硝酸態窒素 1000 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列での 亜酸化窒素生成量は 194 mL、亜硝酸態窒素 2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列では 677 mL と他 の系列と比較して 10 倍程度の高い値を示した。



図 2-2-16. 窒素生成速度



図 2-2-17. 積算亜酸化窒素生成量

亜硝酸態窒素濃度 350、500、1000 mg-NO₂⁻N L⁻¹ の系列において投入窒素のほとん どがガス化された一方で、2500 mg-NO₂⁻N L⁻¹ の系列では、窒素生成は確認されたもの の、添加された亜硝酸態窒素の多くを脱窒素することができなかった(図 2-2-18)。



図 2-2-18. 投入亜硝酸態窒素に対するガス化率

これは高い亜硝酸態窒素濃度による脱窒素プロセスの阻害があったことを示唆して おり、本プロセスで亜硝酸態窒素型の脱窒素プロセスを実施する場合、亜硝酸態窒素濃 度が阻害濃度まで達しないような制御を実施する必要がある。

脱窒素において、投入窒素を脱窒素するために必要な理論 COD 量に対して、投入 COD が十分量リアクター内に存在しない場合、溶液中に存在する亜硝酸態窒素ならび に硝酸態窒素の全量の脱窒素は不可能である。Itokawa ら (2000) は、脱窒素するため に必要な理論 COD 量に対して投入 COD 量 (以下、添加 COD 量比) が 1.23 mg- COD mg-COD_{N2}⁻¹ 以下である場合、脱窒素が阻害され投入窒素のうち 40~60%が中間生成物であ る亜酸化窒素として排出されたと報告している。本研究において、ガス化率の高かった 亜硝酸態窒素濃度が 350、500、1000 mg-NO₂-N L⁻¹ の系列における、脱窒素に必要な COD 量に対する投入 COD 量の倍率はそれぞれ、14.4、10.1、5.04 mg- COD mg- COD_{N2}⁻¹ であった。一方、ガス化率の低い亜硝酸態窒素濃度 2500 mg-NO₂-N L⁻¹ の系列において、 脱窒素に必要な COD 量に対する投入 COD 量の倍率は、2.01 mg- COD mg- COD_{N2}⁻¹ であ った。脱窒素阻害が単純に必要 COD 量の比で決定されていると仮定した場合、今回の 結果では、亜硝酸型脱窒素における適正な添加 COD 量比は、5.04 mg-COD mg- COD_{N2}⁻¹ 以上であると考えられた。

亜硝酸態窒素濃度 350、500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列ではメタン生成が見られたが、亜硝 酸態窒素濃度 1000、2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列ではほとんどメタン生成は見られなかっ た。積算のメタン生成量は、亜硝酸態窒素濃度 350、500 mg-N L⁻¹の系列で、それぞれ 1331、1506 mL の高い値を示した (図 2-2-19)。一方、亜硝酸態窒素濃度 1000、2500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列において、積算メタン生成量はそれぞれ 50.74、0 mL と低い値を示 した。

40



メタン発酵は亜硝酸態窒素により阻害を受けることが報告されている (Speece 1996)。 さらに亜硝酸態窒素は、同程度の濃度であれば、硝酸態窒素よりも阻害の影響が大きい ことが知られている (Tugtas et al 2006)。平成 20 年度に泉ら (2009) によって実施され た研究において、硝酸態窒素濃度が高い 1500 mg-NO₃⁻-N L⁻¹の系列において、脱窒素と メタン生成の同時処理が可能であった (図 2-2-20)。これは亜硝酸態窒素の阻害の影響 が、硝酸態窒素よりも大きいことが原因であると考えられる。実際に、メタン生成が確 認された 350、500 mg-NO₂⁻-N L⁻¹の系列においても、泉ら (2009) が実施した硝酸態窒 素を用いた同時処理と比較すると、生成されたメタン量は低い値を示した (図 2-2-20)。

これは亜硝酸態窒素による阻害が、脱窒素プロセスよりもメタン生成プロセスの方に 強く影響していた可能性がある。一方で、実験終了時の SCOD 濃度は十分に低い値ま で低下しており、メタン生成、脱窒素プロセスの両プロセスが完全に共働したことを示 していた。



図 2-2-20. 投入 COD に対する各種ガス生成による COD 消費の割合 (a)硝酸型脱窒素同時処理プロセス 、(b)亜硝酸型脱窒素同時処理プロセス

メタン生成活性は、汚泥に含まれる微生物の活性状態や、基質の化学組成や状態によっても大きく変動するため、今回の結果のみで低濃度の亜硝酸態窒素によるメタン生成 プロセスへの阻害を立証することはできない。本プロセスを実装値の運転に応用させる には、今後、低濃度の亜硝酸態窒素がメタン生成に与える影響を調べると共に、実装置 の運転における亜硝酸態窒素ならびに硝酸態窒素の挙動について精査する必要がある。 また亜硝酸態窒素濃度 2500 mg-NO₂-N L⁻¹の系列では、発酵液中の pH が高かったこと によりメタン生成阻害が起こっていた可能性についても留意しておく必要がある (Clark et al 1970)。

<微量元素の要求性に関する研究>

P 及び Fe、Ni、Co を添加したとき各種元素の吸収性が上昇した。このことから、P 及び Fe、Ni、Co は汚泥の各種元素の要求性を増加させ、制限元素となっている可能性がある。また、P を添加した場合には、要求性が高い元素群とそうでない元素群が存在

した。例えば P を添加しなかった場合、Zn 濃度は低い値を示した(図 2-2-21)。



図 2-2-21. 各種元素添加実験の条件における Zn 吸収

一方 Ca 濃度は、P を添加しなかった場合、他の条件と比べて、Ca 濃度が高い値を示した(図 2-2-22)。



図 2-2-22. 各種元素添加実験における Ca の吸収

これは特定の元素(この場合は P)の存在の有無によって、ある種の元素要求性が変 化することを示している。各種元素を添加した実験について、その相互関係を明らかに したところ、①P、Kが欠乏した場合に吸収されやすく、Fe、Ni、Coの影響を受けない 元素群、②P、Kが欠乏した場合に吸収されにくく、Fe、Ni、Coの影響を受けない元素 群、③Fe、Ni、Co及び P、Kのどちらかもしくは両方が欠乏した場合に吸収されにく い元素群、④Fe、Ni、Coが欠乏した場合に吸収されにくく、P、Kの影響を受けない元 素群、⑤全ての元素と相互関係が無い元素の5つのパターンに分類された(図 2-2-23)。 嫌気性消化プロセスに存在する微生物群は P や K などの栄養塩や微量金属などの各種 元素に対して特異的な要求性をもっていることが予測され、特定の微量元素比のプロセ スへの添加が、メタン発酵プロセスを活性化させる可能性が示唆され、プロセスの高機 能化に応用できる可能性がある。



図 2-2-23. ムラサキイガイを用いた嫌気性消化プロセスにおける元素要求性