

廃棄物処理等科研費補助金 総合研究報告書概要版

研究課題名・研究番号 = 生活排水処理システム浄化槽の窒素除去の律速因子となる硝化細菌の迅速測定・高度処理・維持管理技術の開発研究 (K1644)

国庫補助金精算所要額 (円) = 62,332,000

研究期間 (西暦) = 2002 2005

研究年度 (西暦) = 2002 2004

代表研究者名 = 稲森悠平 (独立行政法人国立環境研究所)

共同研究者名 = 水落元之, 蛭江美孝, 磯田博子 (独立行政法人国立環境研究所), 松村正利 (筑波大学), 常田聡 (早稲田大学)

研究目的 =

高度処理型の合併処理浄化槽が平成 11 年度より補助事業を開始し、全面的整備が推進されているが、この補助事業の中間鎖性水域富栄養化防止対策の BOD と同時に窒素等の除去が重要な位置づけにある

この浄化槽における生物学的窒素除去の中核をなすのが硝化と脱窒だが、その律速段階は硝化反応である。特、アオコ、赤潮の藻類増殖の制限因子である窒素を除去するには、硝化反応を支配する硝化細菌の個体群動態を迅速に検出することが維持管理対策上極めて重要である

このため、本研究事業は、初年度および次年度に簡易かつ迅速な硝化細菌の測定技術の開発、機能遺伝子の転写活性解析による活性モニタリング等を行うとともに、多数の現場を対象とした調査により科学的根拠に基づいた運転管理条件支援化技術を構築する上での基盤を確立し、最終年度は、初年度および次年度の実績を踏まえ、簡易かつ迅速な硝化細菌の測定技術の開発および迅速測定解析に基づく高度処理浄化槽における硝化細菌のモニタリング解析の充実化を図り、現場対応に資する高度処理対応維持管理技術の構築を目的とする。

研究方法 =

高度処理浄化槽の開発における問題点は、硝化細菌の増殖速度が極めて遅、MPN 法培養

法では結果を得るまでに1~2ヶ月を要する上、培養過程におけるバイアスが考えられるなど、現場対応に資するデータにはなり得なかった。

本研究はこれらの点を鑑み、培養による問題点を回避し、分子生物学に基づく硝化細菌の迅速測定技術を駆使し、従来培養法により1~2ヶ月を要していた測定期間を飛躍的に短縮することで、多数の現場浄化槽を対象とした硝化細菌の解析を行い、科学的根拠に基づいた知見が乏しい処理プロセスの処理特性と硝化細菌との関係の解明を行い、負荷変動および高負荷運転に対応可能な現場レベル、新技術開発レベルにおける高度処理浄化槽の維持管理手法の確立を図る研究を推進する。

結果と考察 =

1) 高度処理浄化槽の汎用化のための培養法にかわる硝化細菌の迅速測定技術の開発

高度処理浄化槽の開発における問題は、窒素除去の速段階を担う硝化細菌の増殖速度が極めて遅く、従来法では結果を得るまで長期間を要し、得られた結果を基に運転管理を行うことが困難である。

そこで、本研究は、現場の維持管理にフィードバック可能な硝化細菌の同時迅速定量化手法の開発を行った。本手法は、96穴のマイクロタイタープレート上でFISH法を行い、ハイブリダイゼーション反応・フィルター吸引洗浄・吸光度測定を同一プレートで行い、測定時間を飛躍的に短縮することを可能とし、維持管理の高度化を図る上で極めて大きく貢献可能なことを明らかにした。

2) 高度処理浄化槽の汎用化のための分子生物学的手法による流入環境負荷の条件変化との比較解析技術の開発

高度処理浄化槽の開発において硝化細菌の活性状態を把握することが重要である。高度処理浄化槽を対象とし、アンモニア酸化活性を基に群集構造解析(RT-PCR-DGGE法)を行い、硝化反応に寄与しているアンモニア酸化細菌について、負荷変動に対する挙動解析を行った。

その結果、流入排水量が増加した場合に硝化反応に寄与している細菌種が遷移したことが明らかになった。同時に、排水量や排水濃度が上昇した場合は、単位容積あたりの負荷量もDGGEバンドパターンに顕著な差を生じた。また、同じ負荷量でも運転条件の違いにより働く細菌が異なることが明らかになった。高活性を示したバンドはデータベース上に登録された単離菌とは異なる新規の*amoA*遺伝子配列であり、未だ単離されていないアンモニア酸化細菌群が排水処理プロセスにおいて硝化反応に寄与していることが新規的な知見を得られた。

3) 現場調査に基づいた高度処理浄化槽における窒素除去性能の解析評価

戸建住宅で稼働中の高度処理浄化槽(多孔質担体を用いた6系)を対象として、処理状況年間調査を行った。その結果、アンモニア酸化が十分に進行していないと目標の窒素除去性能(処理水T-N濃度10mg・L⁻¹以下)の達成が困難となることが明らかになった。亜硝酸酸化反応および

脱窒反応は、全の系年間を通じて良好進行あり、これが窒素除去性能に与える影響は小さいこと示された。高度処理浄化槽は、アンモニア酸化の進行が重要であること示された。高度処理浄化槽の高度化は、アンモニア酸化を支配するアンモニア酸化細菌の挙動を踏まえた処理機能解析が重要であると考えられた。

4) 現場高度処理浄化槽における窒素除去の律速因子となる硝化細菌の迅速測定技術に基づく個体群動態と処理機能の関係解析

硝化細菌の分子生物学に基づいた迅速測定技術を活用し、高度処理浄化槽における硝化細菌の挙動と処理機能との関係解析を3)で得られた結果を踏まえて各浄化槽におけるアンモニア酸化細菌1細胞当りのNH₄-N負荷と目標窒素除去性能の達成との関係評価はアンモニア酸化細菌1細胞当たりの負荷が比較的低い系においては硝化反応が十分に進行し目標の窒素除去性能を達成していた。一方、アンモニア酸化細菌1細胞当りのNH₄-N負荷が比較的高い系は目標窒素除去性能を達成できなかったから、アンモニア酸化細菌数を高く維持し1細胞当たりの負荷を低減することが窒素除去性能の高度化において重要であることが示された。

5) 現場高度処理浄化槽における硝化機能向上のための生物膜厚の適正条件の解析

高度処理浄化槽における重要維持管理技術の一つに保持される生物膜の厚み(膜厚)の維持管理がある。全の系中에서도アンモニア酸化細菌の保持量が高いアンモニア酸化細菌1細胞当りのNH₄-N負荷は低く関わらず目標の窒素除去性能を達成する系存在が原因は、他の系は担体当りの生物膜量約3倍程度高適正膜厚保持にもかかわらず、窒素除去性能の低原因と考えられた。1細胞当たりのNH₄-N負荷は低く抑えられているものの生物膜が肥大しておりDO供給不足などから生物膜深層部のアンモニア酸化細菌の硝化活性が低いため、窒素除去性能が低くなったと考えられた。この結果から、目標の窒素除去性能を達成する上でのアンモニア酸化細菌保持機能強化および膜厚の適正化の両立の重要性が示された。

6) 高度処理浄化槽の設計・維持管理技術向上のための適正支援化システムの確立化

本研究は現場浄化槽における維持管理状況と硝化細菌1細胞当りのNH₄-N負荷等の関係より、高度に安定した窒素除去性能を得るための条件の確立化を図った。その結果、分子生物学的手法の活用により硝化細菌群の質的・量的特性の把握を行うことの重要性が再確認されると同時に裏付けられた。このことから、運転操作条件の設定、適正容量の構造決定等の高度処理浄化槽の効率化等において重要な維持管理技術の確立を行う上での適正支援化システムの基盤の構築が可能と考えられた。

結論 =

1) 本研究で開発した硝化細菌の迅速定量化技術により多検体を数時間で測定可能となり、

- 従来法に比べ測定時間を飛躍的に短縮することと同時に、本手法で得られた結果を現場の運転操作条件の設定等にフィードバックするのに十分な迅速解析技術であることが明らか
- 2) 環境条件および運転操作条件の変化に対し、硝化反応に寄与しているアンモニア酸化細菌は異なっていることが示唆されると同時に、排水処理プロセスにおいては未だ単離されていないアンモニア酸化細菌が硝化反応に寄与していることが示唆され、浄化槽高度化を図る上での知見は貢献するが明らか
 - 3) 高度処理浄化槽の設置現場において、亜硝酸酸化反応および脱窒反応は年間を通じて良好に進行してはいるが、アンモニア酸化反応の進行が窒素除去性能を左右する重要な因子となることが示され、アンモニア酸化を効率的に進行させることの重要性が示された
 - 4) 高度処理浄化槽の設置現場において、分子生物学に基づく迅速測定法による硝化細菌の解析により目標の窒素除去性能の達成においてアンモニア酸化細菌 1 細胞当たりにかかる $\text{NH}_4\text{-N}$ 負荷が重要なパラメータとなることが示され、アンモニア酸化細菌の現存量を高く維持することの重要性が示された
 - 5) 高度処理浄化槽の設置現場において、適正膜厚が維持されればアンモニア酸化細菌数を保持しても窒素除去性能の低下を引き起こさず、膜厚の適正化の重要性が明らか
 - 6) 分子生物学的手法を導入することで、従来の経験と勘に頼っていた維持管理に対し現場の高度処理浄化槽の維持管理を科学的根拠に則って行うことを可能とする適正支援化システムの基盤が確立できた。