３－４　　高度処理における効率的な栄養塩除去の機構解明と下水処理施設の評価手法に関する研究

計画調整部 技術開発課　海老澤 雅美

１．調査概要

本委託研究は、高度処理施設の運転管理の効率化、処理安定化及び下水処理システムの評価のため、以下の項目について研究を委託したものである。

(1) 高度処理における窒素およびりんの除去に関し、活性汚泥微生物の群集構造解析等を通じて効率的な生物反応条件の提示。

(2) りん除去において栄養源となる有機物の種類によるりん摂取反応の効果に関する研究。

(3) 下水処理場の水処理におけるエネルギー消費、環境改善効果、地球温暖化ガスの排出を指標にした下水道施設の多面的評価手法の検討と、その手法を活用した処理施設の最適運転についての解析。

研究委託先：東京大学大学院 都市工学研究科

研究期間：平成 14 年度～16 年度

２．調査内容

２．１　パイロットプラントの運転、あるいは実処理施設を対象とした調査を通じて、微生物レベルでの窒素およびりん除去の基礎研究

２．１．１　活性汚泥モデル No.3 へのりん除去予測モジュールの導入とそのキャリブレーション方法の確立

国際水協会（International Water Association：IWA）が提唱している活性汚泥モデル（Activated Sludge Model）の ASM No.2d（以下「ASM2ｄ」）には従属栄養細菌、硝化細菌、りん蓄積細菌に関する反応が組み込まれており、有機物、窒素、りん除去の予測が可能である。

一方、ASM2d を修正し、様々な現象を追加するための基本モデルである ASM No.3(以下「ASM3」)にはりん蓄積細菌に関する反応が組み込まれていない。そこで、活性汚泥モデルの実務利用のためにりん除去モジュールを ASM3 に組み込み、一般の下水処理プロセスに適用できるようなキャリブレーションの方法を開発し、そのキャリブレーション方法を実処理場の処理プロセスに適用し、下水処理プロセスの平均的な挙動の再現性を評価した。

２．１．２　異なる電子受容体を用いた生物学的窒素・リン除去プロセスにおける処理特性および細菌群集に関する研究

生物学的窒素除去は、アンモニアを硝酸へ酸化する硝化反応と硝酸性窒素を窒素ガスに還元する脱窒反応から成り立っている。これらの反応には硝化細菌（独立栄養細菌）と脱窒細菌（従属栄養細菌）がかかわっている。一方、生物学的りん除去は、従属栄養細菌であるポリりん酸蓄積細菌（Phosphorus Accumulated Organismｓ：PAOs。以下「PAOｓ」）が担っている。脱窒細菌と PAOｓが共に従属栄養細菌のため、流入下水中の限られた有機物を取り合う競合関係になっている。このため下水中の窒素、りんに比べて有機物濃度の低い日本の場合、有機物濃度が制限因子となって窒素、りん除去が十分に機能しない。

そこで、生物学的窒素、りん除去が抱える有機物不足という課題に対して、りん除去を担う PAOｓが効率よく有機物を利用し、酸素以外に電子受容体（酸素供給源）としての硝酸性窒素、亜硝酸性窒素を脱窒すると共に、りん除去を同時に行う PAOｓに関する研究を行った。

２．２　りん除去プロセスにおいて、栄養源となる有機物の種類が、りん摂取反応に及ぼす影響についての研究と効率的な運転管理手法

２．２．１　都市下水および合成下水を処理する生物学的りん除去活性汚泥の PCR-DGGE 法と FISH 法を用いた微生物群集解析

SBR（Sequencing Batch Reactor ＝回分式反応装置）を用いた嫌気好気の反応条件で、酢酸（Acetic acid)が有機物源である人工下水を用いた Run-A、都市下水(Sewage)を用いた Run-S、都市下水に都市下水由来の懸濁物質（Particulate Organic Matter：POM）を更に加えた Run-SP の３つの系について、りん除去と活性汚泥中の微生物群の関係について PCR-DGGE 法と FISH 法によって解析し、りん除去プロセスにおいて栄養源となる有機物の種類が、活性汚泥の微生物群集構造に及ぼす影響について研究を行った。

・PCR-DGGE 法：遺伝子断片を短時間で増やし、その断片を電気泳動によって分離する方法

・FISH 法：蛍光物質を用いて特定の遺伝子だけを光らせる方法

２．３　下水処理システムにおけるエネルギー消費、下水処理による環境改善効果、地球温暖化ガスの排出を基に下水道施設の評価手法の検討を行い、その手法を用いて算出した水処理トータルコストの総合的な検討

２．３．１　実際の下水処理システムにおけるエネルギー消費、下水処理による環境改善効果、地球温暖化ガスの排出を基にした下水処理施設の評価例

東京都下水道局の高度処理運転で得られた処理水質と電力消費量のデータを基に、その処理場に高度処理が導入された場合のコストと環境便益を算出し、高度処施理設導入に対する総合的評価を行った。

３．研究結果と考察

３．１　パイロットプラントの運転、あるいは実処理施設を対象とした調査を通じて、微生物レベルでの窒素およびりん除去の基礎研究

３．１．１　活性汚泥モデル No.3 へのりん除去予測モジュールの導入とそのキャリブレーション方法の確立

ASM3d にりん除去モジュールを導入したモデルのキャリブレーション方法の開発にあたり、まず一般の下水処理プロセスを想定した仮想の嫌気―無酸素―好気 SBR を対象に感度解析を行い、下水処理プロセスの挙動に大きな影響を及ぼすパラメータを抽出した。各水質項目に与える影響の大きいパラメータ上位３位を表１に示す。

表１　水質項目への影響の大きいパラメータ

順位	MLSS	NH_4^+（処理水）	NO_3^-（処理水）	PO_4^{3-}（処理水）	PO_4^{3-}（嫌気槽）
1	Y_{PAO}	μ_A	$Y_{STO,\ NOX}$	$Y_{STO,\ NOX}$	$Y_{STO,\ NOX}$
2	$Y_{H,O2}$	$K_{A,NH4}$	$Y_{H,O2}$	Y_{PAO}	Y_{PO4}
3	$Y_{STO,O2}$	$b_{A,O2}$	$Y_{H,NOX}$	q_{pp}	$(S_A+S_F)/X_S$

・MLSS

Y_{PAO}　：基質 PHA に対する菌体収率（生物量/PHA）

$Y_{H,O2}$　：好気条件下での従属栄養細菌の収率

$Y_{STO,O2}$　：好気状態での貯蔵有機物の生成収率

・NH_4^+（処理水）

μ_A　：独立栄養細菌の最大比増殖速度

$K_{A,NH4}$　：独立栄養細菌のアンモニア飽和定数
$b_{A,O2}$　：好気状態での独立栄養細菌の比内生速度
・NO_3^-　（処理水）
$Y_{STO,\ NOX}$　：無酸素状態での貯蔵有機物の生成収率
$Y_{H,O2}$　：好気条件下での従属栄養細菌の増殖収率
$Y_{H,NOX}$　：無酸素状態での従属栄養細菌の収率
・PO_4^{3-}　（処理水）
$Y_{STO,\ NOX}$　：無酸素状態での貯蔵有機物の生成収率
Y_{PAO}　：基質 PHA に対する菌体収率（生物量/PHA）
q_{pp}　：ポリりん酸の蓄積速度定数
・PO_4^{3-}　（嫌気槽）
$Y_{STO,\ NOX}$　：無酸素状態での貯蔵有機物の生成収率
Y_{PO4}　：PHA 蓄積に対するポリりん酸の消費量
$(S_A+S_F)/X_S$　：BOD のうち溶解性成分（S_A+S_F）と懸濁性成分（X_S）の比率

キャリブレーションには、水質成分だけでなく、各有機物除去、硝化反応、りん除去にかかわる各微生物群濃度に大きな影響を与えるパラメータを抽出した。抽出したパラメータ以外のパラメータは、IWA の Task group の推奨値で固定した。

抽出したパラメータについて生物学的意味を考慮し、①回分試験により推定するもの、②処理施設のデータからフィティングにより推定するもの、③推奨値で固定するものに分類し、キャリブレーションを行った。

実下水を用いた嫌気好気式 SBR の結果に開発したキャリブレーション方法を適用したところ、推奨値を用いた計算では好気工程で PHA（ポリヒドロキシアルカノエート）が枯渇し、好気工程後半でりんの再放出を生じる結果となり、SBR におけるりん除去の挙動を再現できないため K_{PHA}（PHA 含有率の半飽和定数）の値を推奨値の 0.01 から 0.2 に変更することが必要であった。

流入水質が大きく変動し、りん除去が不安定な状態の挙動についてキャリブレーションを行ったモデルが実機を再現できるかを検証したところ、ほぼ処理水りん濃度、MLSS 濃度の挙動を再現できた。

また、開発したキャリブレーション方法を中川水再生センター、浅川水再生センターの A^2/O 法施設に適用したところ、アンモニア性窒素、硝酸性窒素、リン酸等の水質成分、MLSS、活性汚泥中の全りん濃度、ポリりん酸等の平均的な挙動を再現できた。

しかし、実処理施設においては第二沈殿池で無視できないレベルで脱窒が起きていることが明らかになったが、第二沈殿池での脱窒量の正確な把握が困難なためモデル化できず、硝酸性窒素の挙動を再現できなかった。このことから、ASM の利用には第二沈殿池での脱窒量の把握、硝化反応にかかわる好気槽での DO 濃度の把握が重要であることが示唆された。

３．１．２　異なる電子受容体を用いた生物学的窒素・リン除去プロセスにおける処理特性および細菌群集に関する研究

実下水を基質として SBR で、酸素、硝酸、亜硝酸という 3 種類の電子受容体を与えて活性汚泥を馴致した。SBR の運転条件としては、PAO s の集積を目的として嫌気状態で基質（実下水）を与えて十分に反応させた後、電子受容体を与えて更に反応を進めた。

電子受容体が酸素の場合、嫌気状態の後、曝気によって好気状態にすることで、電子受容体である酸素を供給した。また、電子受容体が硝酸、亜硝酸の場合には、嫌気状態の後、硝酸あ

るいは亜硝酸塩を SBR に添加し、無酸素状態状態で撹拌を行った。本研究において電子受容体が酸素の場合には「嫌気好気法」、電子受容体が硝酸、亜硝酸の場合には「嫌気無酸素法」、嫌気好気法と嫌気無酸素法を組み合わせたものを「嫌気無酸素好気法」と呼ぶ。

SBR の運転を嫌気好気法で開始し、嫌気無酸素好気法、嫌気無酸素法と電子受容体を酸素から硝酸へと置き換えてゆく過程では PAOs が利用できる電子受容体にも変化が見られた。嫌気好気法では硝酸をほとんど利用できなかったが、嫌気無酸素好気法以降の反応条件では硝酸を利用する能力が現れた。活性汚泥の微生物群集としては、酸素だけを利用する好気性の PAOs が減少するのにともない脱窒性 PAOｓが増加したことになる。りん摂取活性の結果から、硝酸の添加を開始（嫌気好気法を嫌気無酸素好気法に変更）後に脱窒性 PAOｓが増加し、酸素の供給を停止（嫌気無酸素好気法を嫌気無酸素法に変更）後に好気性 PAOｓが減少していた。

各反応条件における活性汚泥の微生物群集解析を PCR-DGGE-Sequencing 法を用いて行った。この方法は活性汚泥中の細菌の遺伝子を抽出し、増幅（PCR 法）した後、ゲル電気泳動で分離（DGGE 法）し、分離されたバンド（細菌）の遺伝子の塩基配列を解析（Sequencing）するものである。

群集解析の結果、硝酸添加によって新たに出現したバンドは紅色細菌（*Proteobacteria*）のβサブクラスに分類属する *Aquaspirillum* に近縁な配列、同じくδサブクラスに属する *Polyangium* に近縁な配列、同じくγサブクラスに属する *Thiothrix* に近縁な配列であった。電子受容体として硝酸を与えることにより、既存の研究で報告されている *Rhodocyclus* 近縁種以外の脱窒性 PAOｓの候補を見つけることができた。

一方、酸素を好む傾向のあるバンド（細菌）としては、緑色非硫黄細菌に近縁なもの、*Actinobacteria* に分類されるものが検出された。

硝酸添加による嫌気無酸素法の後、亜硝酸添加による嫌気無酸素法の運転も行った。亜硝酸添加は亜硝酸の毒性が PAOｓに与える悪影響が懸念されたが、りん蓄積能力は低いものの、亜硝酸でも PAOs を集積できることを確認した。亜硝酸で馴致した汚泥中の PAOs は電子受容体として亜硝酸の他、酸素の利用も可能で、１時間ほど馴致すれば硝酸も利用することができた。これらの電子受容体を用いたりん摂取の効率を測定したところ、酸素を利用したときを１とした場合、硝酸、亜硝酸では約 0.6 であった。以上のことから、亜硝酸を利用した脱窒と PAOｓによるりん除去の両立が可能であることが分かった。

３．２　りん除去プロセスにおいて、栄養源となる有機物の種類が、りん摂取反応に及ぼす影響についての研究と効率的な運転管理手法

３．２．１　都市下水および合成下水を処理する生物学的りん除去活性汚泥の PCR-DGGE 法と FISH 法を用いた微生物群集解析

SBR を用いた嫌気好気の反応条件で、炭素源として酢酸（Run-A)、都市下水（Run-S）を用いて馴致しりん除去が安定した活性汚泥処理系を構築した。その日を 0 日として、都市下水を用いて馴致した系の活性汚泥を分取し、都市下水に都市下水由来の懸濁物質（POM）を徐々に添加した処理系（Run-SP）の３つの系を 63 日間運転し、りん摂取や活性汚泥のりん平均含有率について評価を行ったこれらの系の実験条件を表２に示す。

Run-A は実験期間を通じて安定したりん除去ができた。また、Run-S、Run-SP についても安定したりん除去ができたが、例外的に、年末年始で前日に大雨が降り流入下水濃度が低下した 42 日目は Run-S、SP の系においてりんの吐き出し、摂取が一時的に観察されなかった。

表２　実験条件

<table>
<tr><td rowspan="2">Run</td><td rowspan="2">Run-A</td><td rowspan="2">Run-S</td><td colspan="3">Run-SP</td></tr>
<tr><td>Phase Ⅰ
(0～20 日)</td><td>Phase Ⅱ
(21～42 日)</td><td>Phase Ⅲ
(43～63 日)</td></tr>
<tr><td rowspan="3">条件</td><td rowspan="3">酢酸ナトリウム
りん酸塩、他
ATU(4mg/L)</td><td rowspan="3">実下水
(無希釈)</td><td colspan="2">実下水（無希釈）</td><td>実下水(2 倍希釈)</td></tr>
<tr><td>POM 30mgC/L 添加</td><td colspan="2">POM 30mgC/L 添加</td></tr>
<tr><td colspan="3">ATU(4mg/L)</td></tr>
</table>

実験期間中の各系の活性汚泥りん平均含有率を表３に示す。

表３　活性汚泥のりん平均含有率

<table>
<tr><td rowspan="2">系</td><td rowspan="2">Run-A</td><td rowspan="2">Run-S</td><td colspan="3">Run-SP</td></tr>
<tr><td>Phase Ⅰ</td><td>Phase Ⅱ</td><td>Phase Ⅲ</td></tr>
<tr><td>含有率(%)</td><td>8.3</td><td>5.4</td><td>5.6</td><td>4.8</td><td>3.2</td></tr>
</table>

３系列の活性汚泥についてポリりん酸染色、FISH 法を組み合わせて PAOs の検索を行った。

その結果、３系列とも *Proteobacteria* β群が優占種となっていた。*Proteobacteria* β群の Rhodocyclus 近縁種が Run-A で平均 60%、Run-S 及び Run-SP で平均 10%以上優先していることを確認できた。しかし、Run-S、SP では *Rhodocyclus* 近縁種以外の細菌がポリりん酸を蓄積していることが確認され、*Rhodocyclus* 近縁種以外の細菌もりん除去を担っている可能性が示唆された。

また、PCR-DGGE 法を用いて３系列の活性汚泥から検出された DNA バンドから、Run-A では *Rhodocycius* 近縁種に類似した DNA バンドが検出された。Run-S で検出された DNA バンドのうち、塩基配列解読に成功した DNA バンドは *Proteobacteria* β群、δ群及び HGC 群に属する細菌のものであった。同様に Run-SP で検出され、塩基配列解読に成功した DNA バンドは *Proteobacteria* β群、γ群に属する細菌のものであった。しかし、FISH 法では検出されたものの、Run-S、SP で検出された DNA バンドで塩基配列の解読に成功したものからは、*Rhodocyclus* 近縁種の DNA バンドは見つからなかった。

これらより都市下水を処理する生物学的りん除去プロセスにおいては、*Rhodocyclus* 近縁種の他、HGC 群、*Proteobacteria* γ群もりん除去を担っていることがわかった。

３．３　下水処理システムにおけるエネルギー消費、下水処理による環境改善効果、地球温暖化ガスの排出を基に下水道施設の評価手法の検討を行い、その手法を用いて算出した水処理トータルコストの総合的な検討

３．３．１　実際の下水処理システムにおけるエネルギー消費、下水処理による環境改善効果、地球温暖化ガスの排出を基にした下水処理施設の評価例

東京都下水道局で行った A_2O 法、AO 法、制限曝気法、硝化促進法の電力消費量、処理水質、温室効果ガス排出量の実態調査結果を用いて算出したコストと施設建設にかかるコストを合わせた費用と、高度処理施設導入による水質改善効果から得られる便益を金額に換算した結果を比較することで高度処理導入に対する総合評価を行った。

高度処理施設導入による便益は、東京湾の水質改善効果として現れると考え、既存の報告からその便益を金銭に換算した。一方、高度処理に伴う二酸化炭素排出量を算出し、地球温暖化面での損害として計上した。さらに、実際に必要となる経費を算出し、これらを比較した。

環境に対するインパクトを評価すると、水環境改善の便益が二酸化炭素による損害よりも 40

倍以上は大きいという結果が得られた。高度処理による費用と便益の比較を表４に示す。

実際にかかるコストとの比較では、水環境改善便益が全コストを上回り、A_2O 法で 1.8 倍、AO 法では 6.3 倍となり、高度処理の追加的導入は費用便益の面でも有効であると推察された。

表４　高度処理による費用と便益の比較

		A_2O 法	AO 法
東京湾水環境改善便益	（円/m^3）	8.82	5.45
温室効果ガスの損害	（円/m^3）	0.12	0.13
差し引き環境便益	（円/m^3）	**8.70**	**5.32**
運転時の電力費用	（円/m^3）	0.25	0.20
建設費用	（円/m^3）	4.58	0.64
全コスト	（円/m^3）	**4.83**	**0.84**
環境便益－全コスト	（円/m^3）	**3.87**	**4.48**
環境便益／全コスト	（ －－ ）	**1.80**	**6.33**

注）硝化促進法を基準とし、その場合との差分を高度処理施設導入による追加分とした。

４．まとめ

1)　活性汚泥モデル（ASM）の利用にあたっては流入水分画や有機物除去、窒素除去、りん除去にかかわるパラメータを施設ごとに適切に推測することが精度の高い処理水質予測を行うには不可欠である。また、第二沈殿池で生じている脱窒反応による返送汚泥中の硝酸性窒素濃度低下は、モデルの中で無視できないレベルであることが本委託研究から明らかになった。

ASM の利用にあたっては、第二沈殿池で脱窒量の値を実態に合うように設定することが必要である。

2)　生物学的りん除去には複数の PAOs がかかわっており､流入水の有機物濃度が薄くても有機性の懸濁物質があれば、または、有機性の懸濁物質を添加し活性汚泥を馴致すればその環境に適応した PAOｓが増殖し、安定したりん除去が可能であることが示された。

このことは、A_2O 法や AO 法において嫌気槽へ生汚泥投入を投入しても、すぐにはりん除去の効果が現れず、しばらく投入を継続すると効果が現れるという現象と一致する。本研究の知見は、生汚泥投入を行っている施設の運転管理に有用な情報である。

また、除去すべき窒素、りん濃度に比較して流入水の基質（炭素源としての有機物）濃度が薄い日本の下水処理において、効率的に生物学的窒素、りん除去を行う脱窒性 PAOs を実処理施設で利用する運転技術の確立が今後の課題である。

3)　高度処理運転で得られた処理水質と電力消費量のデータを基に、その処理場に高度処理が導入された場合のコストと環境便益を算出し、高度処施理設導入に対する総合的評価を行った結果、環境便益が高度処理施設導入にかかる全コストを上回り、高度処理の追加的導入は費用便益の面でも有効であるという結果が得られた。

参考文献

・花田茂久、味埜俊、佐藤弘泰、：Activated Sludge Model No.3（ASM3）へのリン除去モジュールの導入とそのキャリブレーション方法の開発，下水道協会誌，Vol.41.No.496(2004 年 2 月号)，pp.114･125，2004

・庄司仁，佐藤弘泰，味埜俊：実下水処理場の生物学的リン除去プロセスにおける脱窒性脱リ

ン細菌の評価，水環境学会誌，Vol.27，No.4，pp.255･260，2004
・Tadashi Shoji, Hiroyasu Satoh, Takashi Mino：Biological phosphorus removal using nitrite as electron acceptor.Proc.of IWA Asia-Pacific Regional Conf.ASIAN WATERQUAL 2003,Paper No3Q2B16 in CD-ROM
・庄司仁，新田見匡，佐藤弘泰，味埜俊：脱窒機能遺伝子による生物学的窒素・リン除去プロセスの微生物群集解析，第 38 回日本水環境学会年会
・李美京，古米弘明，中島典之：酢酸，都市下水および懸濁性有機物を添加した都市下水を処理する嫌気好気活性汚泥法の微生物群集構造解析，土木学会論文集，Ⅶ-31，（2004 年 5 月号）
・Mikyung Lee,Fumiyuki Nakajima,Hiroaki Furumai:Comparison of microbial community in enhanced biological phosphorous removal process fed with acetate and domestic sewage by PCR-DGGE method ,Proc.of IWA Asia-Pacific Regional Conf.ASIAN WATERQUAL 2003,Paper No.3Q2B17 in CD-ROM.
・花木啓祐：下水道施設の多面的評価手法（未発表）
・Keishiro Hara,Takashi Mino:Energy Consumption analysis in sewage sludge treatment and recycling process-Case study in Tpkyo,Proc.of IWA Asia-Pacific Regional Conf.ASIAN WATERQUAL 2003,Paper No.1QL08 in CD-ROM.