硝化促進型循環変法の浮遊汚泥の脱窒性能に及ぼす有機物量と脱窒細菌数の影響

Influence of amount of organic matter in sludge and population density of denitrifiers on denitrification performance of suspended sludge from combined nitrification / denitrification process with recycled mixed-liquor nitrified by immobilized microorganisms

中村裕紀¹、美川一洋¹、田中和博²

¹日立プラント建設(株)／〒271 千葉県松戸市上本郷537松戸研究所

²日本大学 理工学部 土木工学科／〒101 東京都千代田区神田駿河台1-8

HIROKI NAKAMURA¹, KAZUHIRO MIKAWA¹, and KAZUHIRO TANAKA²

¹Hitachi Plant engineering & Construction Co., Ltd.

/ Matsudo Research Laboratory, 537, Kamihongo, Matsudo, Chiba 271, Japan

²College of Science and Technology, Nihon University / 1-8, Kanda-surugadai, Chiyoda, Tokyo 101, Japan

Abstract

Influence of amount of organic matter in sludge and population density of denitrifiers on denitrification performance was studied using suspended sludge obtained from the denitrification tank of a bench plant operated by a combined nitrification / denitrification process with recycled mixed-liquor nitrified by immobilized microorganisms. In batch denitrification tests, the amount (A) of organic matter in sludge decreased according to the relation in which the metabolism rate of organic matter in sludge was proportional to A, and the denitrification rate (K_{DN}) was obtained by an equation with K_{DN} proportional to A. Under a condition of A of more than around 40 mg-BOD / g-SS, the population density of denitrifiers increased with decreasing A, thus the decreasing K_{DN} was attributable to the significant decrease of the amount of organic matter per one cell of denitrifier. While, under a condition of A of less than around 40 mg-BOD / g-SS, the population density of denitrifiers decreased with A, thus the denitrification reaction was assumed to be in endogenous stage using the organic matter derived from bacterial lysis.

Key words : denitrification, denitrifiers, suspended sludge, organic matter

1. はじめに

廃水の窒素除去方法として、硝化細菌の包括固定化担体を従来の活性汚泥循環変法の硝化槽に添加した、硝化促進型循環変法^{1, 2)}が開発されている。この方法は、硝化時間が従来の循環変法の1/3程度でもほぼ完全な硝化が可能であり、脱窒槽を合わせた反応槽全体の滞留時間

を約1/2に短縮できる特徴をもつ。しかし、硝化時間の短縮に加えて脱窒時間も短縮し、さらにコンパクトなシステムに改良することが望まれており、脱窒性能に及ぼす影響因子の解明が必要になっている。

脱窒反応は、活性汚泥中の脱窒細菌の働きにより、硝化槽から循環される硝酸・亜硝酸性窒素を、主に廃水中の有機物を利用して窒素ガスに還元するものである。

硝化促進型循環変法では、従来の循環変法と比較して、単位汚泥量あたりの脱窒速度が大きくなる傾向が認められている。この一因として、従来より反応槽容積が小さいために有機物負荷量（BOD-SS負荷量）が高くなり、脱窒に利用できる有機物量が増加することがすでに報告されている^{3, 4)}。また、このときの有機物は、溶存態のものよりもむしろ汚泥内に吸着・蓄積された有機物（汚泥内有機物）が大部分を占め、森山ら⁵⁾が提案した硝化・内生脱窒法における脱窒反応の解析方法である、汚泥内有機物量を脱窒の制限因子とする方法を適用できることが確認されている。

このように、脱窒反応に係る物質としての因子は解明されつつあるが、さらに、反応の主体者である脱窒細菌数に着目した解明も重要である。そこで、脱窒細菌数と脱窒速度の関係を明らかにすることを目的に、組成の安定した合成下水を連続処理しているベンチプラントの脱窒槽汚泥を採取し、回分脱窒試験における脱窒細菌数と脱窒速度の変化を検討した。また、汚泥内有機物量の変化を調べ、脱窒細菌数の挙動との関係についても考察した。

2. 実験方法

2.1 試料

硝化促進型循環変法として連続運転しているベンチプラントから、脱窒槽の浮遊汚泥を採取し、回分脱窒試験用の試料とした。

ベンチプラントのフローをFig. 1に示す。反応槽（容積330l）は、脱窒槽と硝化槽から成る。各槽の容積比は隔壁の位置により変更可能である。硝化槽では、底部からの空気の供給により担体（3mm角）を流動させた。合成下水としてコーンステーパーリカー（日本食品化工製）を用いた。これを2600倍に希釈し、塩化アンモニウムを2,500mg/l加えて原液とし、タンクに貯留した。原液をさらに水道水で100倍に希釈しながら原水とし、脱窒槽の上流端に供給した。実際の下水処理施設では、最終沈殿槽から沈殿濃縮した汚泥が余剰汚泥として引抜かれるが、ここでは、引抜き量を正確に把握できるように、汚泥（MLSS）濃度がより安定している反応槽（硝化槽末端）から引抜いた。

原水組成およびベンチプラントの運転条件をTable 1に示す。ベンチプラントは、別途、硝化性能に対する硝化時間の影響を検討するため、反応槽全体に対する硝化槽の容積比を、各Runで0.2~0.4（硝化槽滞留時間で1.7~3.4h）に変えて運転した。なお、硝化槽に添加した担体量は、いずれも13.2lで同量である。各Runごとに余剰汚泥の引抜き量を変え、汚泥滞留時間を3.2~21dで変化させた。これにより、反応槽のMLSS濃度は840~2320mg/l、反応槽全体のBOD-SS負荷量（全槽BOD-SS負荷量）は0.15~0.40kg-BOD₅/kg-SS・dの範囲で変化した。

各Runともに、汚泥滞留時間の2~3倍程度の長さの期間にわたって余剰汚泥の引抜き量を一定に保ち、MLSS濃度が安定してから脱窒槽汚泥を試料として採取

Fig. 1 Schematic diagram of bench plant.

した。ちなみに、試料採取時の廃水の処理状況を同じく Table 1 に示す。処理水質として、アンモニア性窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 濃度は各 Run ともに 1 mg/l 以下であり、ほぼ完全に硝化されている。一方、硝酸性窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 濃度は $8\sim 20\text{ mg/l}$ 程度が脱窒されずに残存し、全窒素

(T-N) 濃度も同程度が残存している。しかし、除去された T-N 濃度に対する BOD_5 濃度の比率は $3.3\sim 4.8$ であり、実下水での実績¹⁾である $3\sim 4$ と比較すると、脱窒性能は概ね同等であると考えられる。

Table 1 Operational conditions of bench plant and its treatment performance of synthetic wastewater

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4
Hydraulic retention time (h)				
Total	8.5	8.5	8.5	8.5
Denitrification tank	6.8	6.8	5.1	5.1
Nitrification tank	1.7	1.7	3.4	3.4
Recycling ratio ^{*1} (—)	2.5	2.5	2.5	2.5
Return sludge ratio ^{*2} (—)	1.0	1.0	1.0	1.0
DO in nitrification tank (mg/l)	3.2	2.7	2.8	3.0
Solids retention time (d)	8.0	15	21	3.2
MLSS (mg/l)	1130	2320	1750	840
BOD-SS loading ($\text{kg-BOD}_5/\text{kg-SS} \cdot \text{d}$)	0.40	0.15	0.16	0.35
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	30	26	17	17
Influent water quality (mg/l)				
BOD_5 [including 85% soluble BOD_5]	162	119	97	105
T-N [including 60% $\text{NH}_4\text{-N}$]	43	40	46	50
Effluent water quality (mg/l)				
BOD_5	12.5	8.1	5.8	12.4
T-N	8.9	17	18	23
$\text{NH}_4\text{-N}$	0.04	0.61	0.25	0.61
$\text{NO}_3\text{-N}$	7.8	15	16	20
Soluble BOD_5 in denitrification tank (mg/l)	9.3	5.5	5.4	3.1

*¹: Ratio of nitrified liquor recycling rate to inflow rate

*²: Ratio of return sludge rate to inflow rate

2. 2 回分脱窒試験方法

Run 1 ～Run 4 の各々について、試料 (脱窒槽汚泥) 500 ml と 10 g-N/l に調製した KNO_3 溶液 5 ml (初期の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は 100 mg/l 程度) をフラスコに入れ、ヘッドスペースを嫌気状態に保ちながらスターラで攪拌を開始し、168 時間後まで脱窒を継続した。水温は、試料採取時の脱窒槽と同じ値に保った。試料の pH は、回分反応の開始から終了まで $6.5\sim 7.0$ の範囲で安定していた。経過時間ごとにフラスコ内から約 10 ml の汚泥をサンプリン

グし、直ちに孔径 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ のフィルタでろ過し、ろ液の亜硝酸性窒素 ($\text{NO}_2\text{-N}$) 濃度と $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度を分析した。また、これらの分析値をもとに、次の 3 項に示す方法により各経過時間後の汚泥内有機物量と脱窒速度を算出した。さらに、別に汚泥を約 5 ml サンプリングし、脱窒細菌数の計測に供した。

$\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度と $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、イオンクロマトアナライザ (横河電機製、IC-7000) で分析した。また脱窒細菌数の計測では、試料をホモジナイザ ($10,000\text{ rpm}$ 、10 分間) および超音波破砕機 (300 W 、 $400\text{ }\mu\text{A}$ 、1 分間)

で前処理した後、10段階希釈液の各々を5本ずつの試験管内のGiltay培地に接種した。30℃で2週間培養した後、MPN法⁶⁾に準じて計数した。

3. 汚泥内有機物量および脱窒速度の算出方法

森山らの方法⁵⁾に準じ、回分脱窒試験において硝酸・亜硝酸性窒素の脱窒に利用できる有機物量 (BOD量) を求め、これを汚泥内有機物量として間接的に算出した。

ここで、ろ液のNO₃-N濃度はいずれも数mg/lで安定して推移し、その変化量はNO₃-N濃度(C)の変化量に対して小さく無視できる程度であったため、Cの変化量のみを考慮し、脱窒反応の終了を意味するCの減少曲線の下限值 (収れん値) Cuを求めた。脱窒量 (C-Cu) から、式(1)により各経過時間における汚泥内有機物量(A)を算出した。Aは、回分反応の初期 (時間0 h) の汚泥量 (g-SS) あたりのBOD量 (mg-BOD) で表した。

$$A = m \cdot (C - Cu) / X \quad \dots\dots\dots(1)$$

ここに、A : 汚泥内有機物量 (mg-BOD/g-SS)
 m : 定数 (2.86mg-BOD/mg-NO₃-N)
 C : NO₃-N濃度 (mg/l)
 Cu : 最終NO₃-N濃度 (mg/l)
 X : 初期汚泥 (MLSS) 濃度 (g-SS/l)

菌体合成を無視し、有機物量をBOD換算で評価するとmは化学量論的に2.86となる^{5, 7)}。また、脱窒速度の制限因子が汚泥内有機物量であり、溶存態の有機物量の影響を無視できる場合、脱窒反応に伴う汚泥内有機物の代謝速度を有機物量に関する一次反応式で近似でき、Aの変化速度dA/dtは式(2)で、Aは式(3)で表される。

$$dA/dt = k_1 \cdot A \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$A = A_0 \cdot \exp(k_1 \cdot t) \quad \dots\dots\dots(3)$$

ここに、k₁ : 脱窒反応に伴う汚泥内有機物の代謝速度定数(1/h)
 A₀ : 初期汚泥内有機物量 (mg-BOD/g-SS)
 t : 経過時間 (h)

また、式(1)、式(3)から式(4)が得られる。

$$C - Cu = (C_0 - Cu) \cdot \exp(-k_1 \cdot t) \quad \dots\dots\dots(4)$$

ここに、C₀ : 初期NO₃-N濃度 (mg/l)

式(4)のCuは、回分試験の時間内で得られない場合でも、Thomas法^{5, 8)}を用いて推算できる。また同時に、脱窒反応に伴う汚泥内有機物の代謝速度定数k₁が推算できる。

なお、脱窒速度 (K_{DN}) は、単位汚泥量あたりのCの

減少速度であり、式(1)と式(2)から、K_{DN}はk₁と各経過時間におけるAとの積に比例する次の式(5)で表される。

$$\begin{aligned} K_{DN} &= -(1/X) \cdot (dC/dt) \\ &= -(1/m) \cdot (dA/dt) \\ &= (k_1/m) \cdot A \quad \dots\dots\dots(5) \end{aligned}$$

ここに、K_{DN} : 脱窒速度 (mg-N/g-SS · h)

4. 実験結果および考察

4.1 回分脱窒反応に伴う汚泥内有機物量と脱窒細菌数の変化

1) NO₃-N濃度の経時変化

Run 1 ~ Run 4 の汚泥を用いた各回分脱窒試験におけるNO₃-N濃度Cの経時変化をFig. 2 ~ Fig. 5 の(a)に示す。いずれの場合もCの減少速度、すなわち脱窒速度が経過時間とともに低下する傾向を示している。Run 2 の汚泥では、約50時間でCがCuに収れんし、式(4)でうまく近似できなかった。それ以外のRunでは、Thomas法を用いてCuを推算し、Cの減少速度を式(4)により近似できた。初期NO₃-N濃度C₀はいずれも100mg/l程度であるが、Cuは25.5~75.9mg/lと異なり、汚泥によって脱窒量 (C₀-Cu) が異なることを示している。

なお、いずれもCuは20mg/l以上であり、脱窒速度のMonod式のCに関する飽和定数として報告されている0.1~0.2mg/l程度より十分に高い⁷⁾。従って、本実験では脱窒速度に及ぼすCの影響を無視でき、脱窒速度が時間とともに低下するのは、汚泥内有機物量が減少し制限因子となったためと考えられる。

2) 汚泥内有機物量の経時変化

Fig. 2 ~ Fig. 5 の(b)に汚泥内有機物量 (回分脱窒試験の初期汚泥量あたり) の経時変化を示す。図中のプロットは、NO₃-N濃度Cの実測値を用いて式(1)から算出した汚泥内有機物量Aを、直線は式(3)によるAの近似式 (Run 2 以外) を示す。Run 2 以外のいずれの汚泥も、時間の経過とともに、概ね20mg-BOD/g-SSまでは測定値が直線にほぼ一致しており、脱窒反応に伴う汚泥内有機物の代謝速度が有機物量に関する一次反応式にほぼ従う ((3)式で代謝速度定数k₁が一定) とみなせる。しかし、有機物量が10mg-BOD/g-SS程度に低下すると、プロットの値が直線ほど減少しなくなり、有機物量が少ない領域でk₁が変化し小さくなったものと考えられる。従って今回の回分脱窒試験では、10mg-BOD/g-SSのオーダ以下の厳密な有機物量は計算できないことが示された。こ

Fig. 2 Result of the batch denitrification test using suspended sludge in Run 1

Fig. 3 Result of the batch denitrification test using suspended sludge in Run 2

Fig. 4 Result of the batch denitrification test using suspended sludge in Run 3

Fig. 5 Result of the batch denitrification test using suspended sludge in Run 4

ここでは、あくまで回分反応全体で汚泥内有機物の代謝速度を有機物量に関する一次反応式で近似し、概算で有機物量を求めた。ちなみに初期汚泥内有機物量 A_0 は、汚泥により約40~170mg-BOD/g-SSで異なることが分かった。この有機物量は、Table 1に示す各RunのMLSS濃度を掛け合わせると、汚泥容積あたり約90~190mg-BOD/lと計算される。脱窒槽の溶存態 (No. 5 Aろ紙によるろ液) のBOD₅濃度は数mg/lのオーダーである (Table 1) ことから、脱窒槽の有機物は大部分が汚泥固形物中に存在し、溶存態の有機物の脱窒への影響は無視できると考えられる。

3) 脱窒細菌数の経時変化

Fig. 2 ~ Fig. 5 の(c)に、脱窒細菌数 (初期汚泥量あたり) の経時変化を示す。Run 2 以外の汚泥では、細菌数は回分反応の開始とともに増加したが、その後、減少する傾向に転じた。脱窒細菌数が減少に転じた時点で、いずれも汚泥内有機物量が40mg-BOD/g-SSを下回っていることが認められた。また、Run 2 では回分反応初期の汚泥内有機物量が約40mg-BOD/g-SSと少なく、脱窒細

菌数は最初から減少する傾向を示した。

4. 2 脱窒細菌数と汚泥内有機物量の関係

Fig. 2 ~ Fig. 5 の汚泥内有機物量 A と脱窒細菌数の関係をまとめFig. 6に示す。なお、 A が10~20mg-BOD/g-SS以下でプロットが近似直線から大きく離れているものは、 A の算出精度が低いと考えられ、考慮から除外した。また回分反応により、汚泥 (MLSS) 濃度が168時間後に初期の50~60%まで低下するため、以下の解析では、実際の汚泥量あたりの値に換算した。図中の白抜きのプロットは、各回分反応の初期 (時間0h) のものであり、ベンチプラントの連続運転における脱窒槽の状態を示すと考えられる。回分反応初期、および各経過時間におけるプロットも含めて、 A が約40mg-BOD/g-SS以上の場合、 A が少ないほど脱窒細菌数が多くなる傾向が認められた。一方、 A が約40mg-BOD/g-SSより少ない場合は、両者の関係は明確でないが、Fig. 2 ~ Fig. 5 を併せて考慮すると、 A の減少とともに細菌数も減少する傾向にあると推定される。

以上の関係をまとめると、汚泥内有機物量 A が約

Fig. 6 Relation between the amount of organic matter in sludge and most probable number (MPN) of denitrifiers. Symbols(Fig. 6 ~ Fig. 8) : , Run 1 ; , Run 2 ; , Run 3 ; , Run 4 ; , Time 0h.

Fig. 7 Amount of organic matter per one cell of denitrifier.

40mg-BOD/g-SS以上ある場合には、有機物の代謝に伴う脱窒細菌の増殖が支配的である。逆にAがそれ以下では、脱窒細菌の死滅が支配的になり、また、4. 1項で汚泥内有機物の代謝速度定数 k_1 もやや小さくなると考えられることから、菌体の自己分解に由来する有機物を代謝する内生脱窒反応の領域になるものと推察される。なお、内生反応では脱窒細菌数が減少してしまうことから、窒素除去プロセスにおける脱窒槽の運転は、最初沈殿槽の運転条件の調整などによりBODの流入量を確保し、汚泥内有機物量を40mg-BOD/g-SS以上に保った運転が好ましいと判断される。

ここで、Fig. 6 から脱窒細菌1細胞あたりの有機物量を求め、汚泥内有機物量Aとの関係としてFig. 7に示す。Aが約170mg-BOD/g-SSから40mg-BOD/g-SSまで低下すると、1細胞あたりの有機物量は 10^{-7} mg-BOD/cellから 10^{-9} mg-BOD/cellのオーダーまで減少した。Aが約40mg-BOD/g-SS以下のとき、1細胞あたりの有機物量にややばらつきがみられるが、概ね 10^{-9} mg-BOD/cellのオーダーがその下限値であるとみられる。このことから、内生脱窒反応における脱窒細菌1細胞あたりの有機物量は、 10^{-9} mg-BOD/cellのオーダーであると推定される。

4. 3 脱窒細菌数と脱窒速度の関係

4. 1項で、脱窒反応に伴う汚泥内有機物の代謝速度を有機物量に関する一次反応式でほぼ近似できたRun 2以外の場合について、脱窒速度 K_{DN} が汚泥内有機物量Aに比例する式(5)により K_{DN} を算出した。 K_{DN} と脱窒細菌数との関係をFig. 8に示す。なお、4. 2項で考慮から除外したAについては、 K_{DN} の算出にも使用していない。図中の白抜きのプロットは、各回分反応の初期における状態を示している。

4. 2項で、脱窒が内生反応になると推定されたAが約40mg-BOD/g-SS以下の場合、 K_{DN} も0.3mg-N/g-SS・h以下の低い値であることが示された。一方、Aが約40mg-BOD/g-SS以上では、汚泥中の脱窒細菌数が増加するほど K_{DN} が低下する関係が認められた。このとき、Fig. 7を併せて考慮すると、 K_{DN} およびAが概ね1/2に減少すると、1細胞あたりの有機物量は1オーダー減少している。このことから、汚泥内有機物量が減少すると、脱窒細菌1細胞あたりの有機物量が著しく少なくなるため、脱窒速度が低下すると考察される。

Fig. 8 Relation between the denitrification rate of suspended sludge and MPN of denitrifiers.

5. まとめ

硝化促進型循環変法の脱窒槽から採取した浮遊汚泥を用いて回分脱窒試験を行い、脱窒細菌数、脱窒速度、および汚泥内に吸着・蓄積した有機物量（汚泥内有機物量）の挙動を検討し、以下の結果を得た。

- 1) 回分脱窒反応に伴い、汚泥内有機物量Aは、汚泥内有機物の代謝速度が概ねAに比例する式に従って減少し、脱窒速度 K_{DN} は、 K_{DN} がAに比例する式により算出できることを確認した。
- 2) Aが約 40mg-BOD/g-SS 以上の領域では、Aの減少に伴い脱窒細菌数が逆に増加し、Aおよび K_{DN} が概ね1/2に減少すると、1細胞あたりの有機物量は1オーダー減少する傾向が得られた。このことから、Aの減少に伴う K_{DN} の低下は、脱窒細菌1細胞あたりの有機物量が著しく低下することによると考察された。
- 3) Aが約 40mg-BOD/g-SS 以下の領域では、Aの減少に伴い脱窒細菌数も減少する傾向が得られ、脱窒が菌体の自己分解に由来する有機物を代謝する内生反応になると示唆された。このとき、脱窒速度は約 $0.3\text{mg-N/g-SS}\cdot\text{h}$ 以下に低下した。また、脱窒細菌1細胞あたりの有機物量は、 $10^{-9}\text{mg-BOD/cell}$ のオーダーであると推定された。

謝辞

本研究の推進にあたり、多大なご協力をいただいた日本大学理工学部土木工学科の学生の皆様に感謝いたします。

[参考文献]

- 1) 日本下水道事業団技術開発部：包括固定化担体を用いた硝化促進型循環変法「ベガサス」の評価に関する報告書（1993）
- 2) 江森弘祥、中村裕紀、竹島 正、田中和博、中西 弘：包括固定化微生物を用いた窒素除去リアクターの開発：土木学会論文集、(515)、115-126(1995)
- 3) 中村裕紀、江森弘祥、竹島 正、田中和博：硝化促進型循環変法の脱窒速度に及ぼす有機物負荷と水温の影響：土木学会論文集、(521)、155-162(1995)
- 4) 中村裕紀、江森弘祥、竹島 正、田中和博：硝化促進型循環変法における脱窒速度の定式化：環境工学研究論文集、32、349-358(1995)

-
- 5) 森山克美、高橋正宏、原田良誠、北村武之：硝化・内生脱窒法における脱窒反応速度に関する研究：下水道協会誌論文集、29(339)、65-73(1993)
- 6) 土壤微生物研究会 編：土壤微生物培養法、養賢堂(1979)
- 7) U.S. Environmental Protection Agency : Manual, Nitrogen Control, 101-110(1993)
- 8) Thomas A.H. Jr. : Graphical Determination of BOD Curve Constants : Water & Sewage Works, 97, 123-124(1950)
- (受付 1997. 8. 25)
- (受理 1997. 12. 1)