

UASB 法に DHS リアクターを組み合わせた新規低コスト型 下水処理システムにおける溶存メタンの消長

水圏環境制御研究室 江口 拓
指導教官 大橋晶良、原田秀樹

1. はじめに

本研究室では上昇流嫌気性スラッジブランケット(UASB)リアクターと懸垂型スポンジ (DHS: Down flow Hanging Sponge) リアクターを組み合わせた新規の低コスト・省エネ型の下水処理システムを開発しており、卓越した有機物除去および高い硝化性能を有していることが確認されている。下水のような低濃度の排水を UASB リアクターで処理すると、発生するメタンの一部はガスとして回収できるものの、残りのメタンは処理水中に溶存して、ゆくゆくは大気に放出される。本システムでは後段の DHS リアクター内で UASB 処理の残存有機物が好氣的に微生物分解されており、溶存メタンが DHS リアクターから大気に気散されるだけでなく、微生物酸化されている可能性がある。そこで本研究では、どの程度の溶存メタンが DHS リアクター内で生物学的酸化分解されているのかを調べるために、FISH (Fluorescent *in situ* hybridization)法 によりメタン酸化細菌の検出と定量を行い、物理的気散機構を記述する数学的モデルを構築すると共にメタン酸化活性試験を実施した。

2. 実験方法

2.1 UASB と DHS の下水処理システム

調査したシステムは、実下水を処理しているパイロットプラントである。UASB リアクターの容積は 155 L で HRT 4 時間、処理温度 25°C で運転している。後段階の DHS リアクターは、塩化ビール板 (幅 80 cm × 高さ 200 cm) の両面に直角三角柱 (1 辺 3 cm, 幅 75 cm) のポリウレタンスポンジを接着させカーテン状にしたものを 2 枚並べ、上部より UASB 処理水が滴下される。全スポンジ容積は 51300 cm³ で、HRT 1 時間 20 分で運転している。(Fig1.参照)

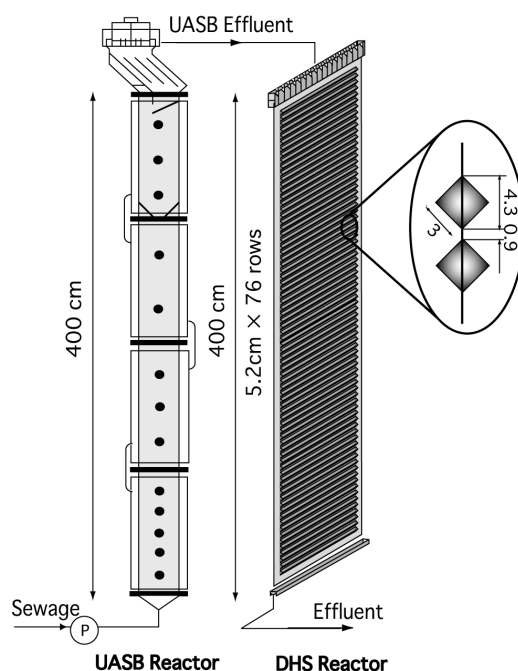


Figure 1 Schematic diagram of the whole system consisting of UASB and DHS reactors installed at a sewage treatment site.

2.2 溶存メタン濃度測定

UASB と DHS の処理プロセスでのメタン濃度の消長を把握するため、UASB の流出、DHS の流入・流出、分散装置直後を流下距離 0 cm として、200 cm までの 12 地点からの処理水をバイアルビンに採取し、塩化第二水銀 (20mmol) を添加後、ブチルゴム、アルミシールで密栓し、0°C に氷冷後、ヘッドスペースガスクロマトグラフ法により溶存メタン濃度を測定した。

2.3 DHS 内のメタン酸化活性試験

DHS での溶存メタンの酸化分解量を把握するために、DHS スポンジ内保持汚泥のメタン酸化活性試験を行った。サンプルは流下距離 5, 36, 73, 94, 114, 135, 166, 197, 200, 400 cm 地点のスポンジの保持汚泥を搾取し、リン酸バッファーで気質洗浄したものをサンプルとして、NMS 培地、温度 25°C でバッチ試験を行い、気相部のメタン量の変化からメタン酸化活性を求めた。

2.4 FISH 法によるメタン酸化細菌の特定と定量

メタン酸化活性試験結果から DHS リアクター内にメタン酸化細菌の存在が示唆されたため、FISH 法による検出を試みた。FISH 法は、Amann らの方法¹⁾に準拠して行った。メタン酸化細菌は代謝経路の違いにより Type I (RuMP Pathway) と Type II (Serine Pathway) に分類される²⁾ため、それぞれに特異的な DNA プローブを用いた。DNA

プローブは、Type I メタン酸化細菌に特異な 1041-5, Gm705, Mlb482, Mmb1007, Mlc123, Mcd77 と Type II メタン酸化細菌に特異な 1034-Ser, Am445, の合計 8 種類の DNA プローブ³⁾⁴⁾を使用した。サンプルは活性試験と同位置の搾汁汚泥を使用した。

メンブレンフィルターを用いた FISH 法によるメタン酸化細菌の定量は、パラホルムアルデヒド固定した汚泥濃度既知のサンプルを超音波分散、希釈し、DAPI で全菌染色を行った後、メンブレン (Millipor-MillicellCM, 0.4 μm, φ30 mm) に集菌し FISH 用に供した。

2.5 DHS 内での溶存メタンの消長

DHS リアクター内の物理的および生物学的な作用による溶存メタンの消長を次の数学的モデルで評価した。

$$C_{i+1} = C_i \cdot K (C_s - C_i) \Delta t + \nu X \Delta t$$

ここに C_i : スポンジ内溶存メタン濃度

C_s : 大気平衡の溶存メタン濃度

K : 総括物質移動係数

Δt : スポンジ内の滞留時間,

ν : メタン酸化活性 or 速度

X : 汚泥濃度 or 菌数濃度

流下に伴う溶存メタンの気散速度に関係する未知数の総括物質移動係数 K を決定するため、

バージンスポンジの模型 DHS（幅 10 cm、高さ 52 cm：三角柱スポンジ 10 列）を用い、実流速と同条件で人工飽和溶存メタン水を流下させ流入と流出のメタン濃度から評価した。

3. 結果および考察

3.1 溶存メタン濃度測定結果

UASB 処理水の溶存メタン濃度は、UASB リアクターから発生するメタンガス濃度に依存して決まり、平均 983 $\mu\text{mol/L}$ であった。よって、UASB から発生した全メタンのうち 40 %程度が処理水中に溶存し排出されている結果となった。その後溶存メタンは、UASB 処理水が後段の DHS リアクターに送水される間に約 50 %のメタンは大気へ気散していた。残存の溶存メタン 431 $\mu\text{mol/L}$ は、DHS リアクターの流下に伴って指数的に減少し、流下距離 150cm 付近で未検出となった (Fig. 2)。

3.2 DHS 内のメタン酸化活性

溶存メタン濃度の減少が生物学的な作用によるものかを調べるため、バッチ実験により DHS リアクターの保持汚泥のメタン酸化活性の測定を行った。その結果 DHS 流入部ではメタン酸化活性は見られなかったが、流下 1 m 付近で最大活性を示し、その後は減少傾向にあった (Fig. 2)。従って、DHS リアクターでの溶存メタン消費の一部は生物的酸化によるものと推察された。

3.3 メタン酸化細菌の特定及び定量

DHS 内に生物学的作用があることを確認するため、FISH 法によるメタン酸化細菌の生息確認と存在量の測定を実施した。8 種類のメタン酸化細菌に特異的な DNA プローブを使用してメタン酸化細菌の特定を行ったところ、Gm705 と Mlb482 の 2 種類でのみ検出され、RuMP 代謝経路を有する Type 1 メタン酸化細菌に属する *Methylobacter* グループであることが分かった。Fig. 3.に示すようにこの *Methylobacter* の存在量の分布結果 (Gm705 プローブを用いて定量) はメタン酸化活性分布の傾向と非常に一致しており、メタン酸化細菌が溶存メタンを酸化分解していることがわかった。しかも、メタン酸化細菌数が最も多かった流下 1 m 付近では全菌数に対して 12%も占めていた。さらに、溶存メタン濃度が検出量以下の微量濃度となった流下 1.5m 以降も *Methylobacter* が生存しメタン酸化活性を有していた。

3.4 DHS 内におけるメタン酸化細菌の寄与

メタン消失の寄与度を求めるためにメタン酸化活性値と DHS リアクター内での溶存メタン消長モデルを用いて、溶存メタン濃度プロファイルのシミュレーションを行った (Fig. 2)。溶存メタン濃度の測定値と計算値が非常に一致しており、簡単な数学的モデルであるが、溶存メタン濃度の消長

を上手く表現することができた。このシミュレーションによりメタン酸化の寄与度を計算したところ 8%であった。すなわち、92%が物理的に気散している結果となった。生物学的作用を考慮しないで物理的気散のみでの計算においても実測溶存メタン濃度をよくシミュレートしており、DHSリアクターに流入したメタンの大半が物理的に気散することが分かった。一方、DHSリアクター内でのこの速いガス物質移動が溶存酸素濃度を素早く高め、これによって良好な好氣的有機物分解が行われる要因でもあると言える。

参考文献

1) Amann, R.I. : In situ identification of micro-organism by whole cell hybridization with rRNA-

targeted nucleic acid probes, In Molecular microbial ecology manual, London, Kluwer Academic Publishers, Vol.3.3.6, pp.1 - 15,1995

2) Hanson, R.S and Hanson, T.E. : Methanotrophic Bacteria, Microbiol. Reviews, 60, pp.439-471,1996

2) Brusseau.et.al. Phylogenetic Analysis and development of Probes for Differentiating Methylophilic Bacteria. App. Environ. Microbiol , 60 , pp626 - 636, 1994

4) Gulledege.et.al. , Family- and Genus-Level 16S rRNA-Targeted Probes for Ecological Studies of Methanotrophic Bacteria, App. Environ. Vol.67, pp.4726 - 4733, 2001

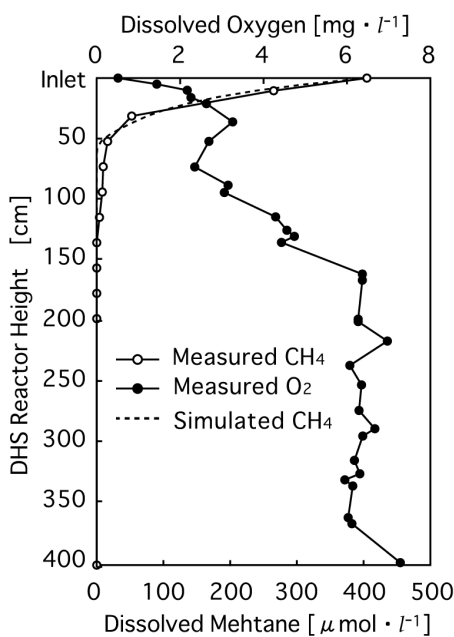


Figure 2 Profiles of measured CH₄, simulated CH₄, and dissolved oxygen along the DHS reactor height.

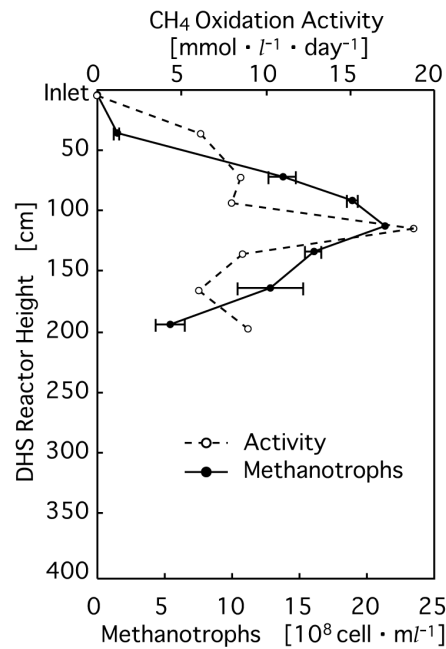


Figure 3 Profiles of methane oxidation activity by batch test and cell direct count of Methanotrophs by FISH in the DHS reactor.