

活性汚泥を用いた高濃度塩分排水処理および菌叢解析

日大生産工(院) ○土井 和希

日大生産工 高橋 岩仁・佐藤 克己・南山 瑞彦 日大生産工（非常勤）森田 弘昭

1. まえがき

現在、日本には2147箇所の下水処理場が存在し(令和2年度末現在)、そのほとんどが生物処理法である。生物処理法は、浮遊生物法と固着生物法に分けられ、下水処理場の多くは浮遊生物法(活性汚泥法)を採用している¹⁾。この処理プロセスは好気性微生物を用いて有機物を除去する方法であり、低コストかつ環境に対して優しいシステムといえるが、高濃度塩分排水処理は困難である²⁾。しかし、日本の下水処理場は多くが沿岸部に建設されており、高濃度塩分を含む排水の処理を余儀なくされている。

既往の研究では、震災時における破損した管路などからの海水流入を想定し、塩分濃度の馴致を行わずに塩分濃度を3%にして有機物除去実験を行ったところ、処理能力が低下していることが報告された³⁾。また、塩分濃度が急激に上昇しすぎると活性汚泥の順応が成功せず⁴⁾、塩分濃度の増加によってCOD除去率と効率が低下することも報告されている⁵⁾。一方で、2%の塩分濃度環境下においても、適正な塩分による馴致を行うことで正常な処理が可能である⁶⁾との報告がある。また、活性汚泥内の細菌叢には処理場の立地場所や周辺環境によって異なるが、同一の処理場であっても異なる処理方式の細菌叢は、処理対象物質や運転条件によって相違することが報告されている⁷⁾。これらのことから、塩分による馴致を行うことで活性汚泥が塩分に順応し、高濃度塩分環境下でも排水処理が可能な細菌類が発生することが考えられる。なお、本研究では塩分による馴致を塩分馴致と称す。

本研究では、活性汚泥に塩分馴致を行うことで塩分濃度3%の高濃度塩分環境下での活性汚泥の処理能力を検討したのち、活性汚泥中の菌叢解析を実施した。なお、高濃度塩分とは、海水の塩分濃度を想定しており、海水流入環境下における活性汚泥の適応と高濃度塩分環境下でも排水処理可能な細菌の特定を最終目的としている。

2. 実験条件および測定方法

活性汚泥は、N市浄化センターから採取した返送汚泥を使用した。実験で使用する際は、下水道施設計画・設計指針と解説⁸⁾に基づきMLSS濃度を1500～2000mg/Lに調整した。

表1に今回使用した試料1Lに対する人工基質の組成を示す。塩分条件のみを変更した実験を行うために基質は品質が安定したスキムミルクを主としたものを使用した。

実験槽は、透明なアクリル製の矩形容器(25cm×30cm×40cm)を用いた。活性汚泥への空気供給は、小型のエアーポンプ(安永社:エアーポンプAP-40P40)と内径4mmのシリコン製チューブに接続したエアーストーンを用いて槽内の活性汚泥が十分に攪拌できる程度となるように流量を設定した。

表2に馴致条件を示す。

表1 試料 1L に対する人工基質の組成

スキムミルク (mg)	400
硫酸アンモニウム (mg)	188
リン酸二水素カリウム (mg)	18
炭酸水素ナトリウム (mg)	400
炭酸ナトリウム (mg)	25

表2 馴致条件

CASE	馴致速度			馴致総日数
	0～1%	1～2%	2～3%	
1	塩分添加なし			0 日
2	塩分馴致なし 3 (%/日)			1 日
3	0.1 (%/日)			30 日
4	0.1 (%/日)		0.1 (%/3 日)	50 日
5	0.1 (%/日)	0.1 (%/3 日)		70 日

Treatment of High-Salinity Wastewater Using Activated Sludge Adapted by Salinity and Analysis of Bacterial Flora

Kazuki DOI, Iwahito TAKAHASHI, Katsumi SATO, Mizuhiko MINAMIYAMA and Hiroaki MORITA

実験に使用する活性汚泥の馴致条件は、人工海水粉末を添加せずに人工基質のみで実験を行ったCASE1、塩分馴致を行わずに人工海水粉末を3%添加して実験を行ったCASE2、0.1%/日の馴致速度で到達塩分濃度3%まで塩分馴致して実験を行ったCASE3、塩分濃度2%までは0.1%/日、それ以降は0.1%/3日で到達塩分濃度3%まで塩分馴致して実験を行ったCASE4、塩分濃度1%までは0.1%/日、それ以降は0.1%/3日で到達塩分濃度3%まで塩分馴致して実験を行ったCASE5の5パターンとした。なお、CASE3～5の馴致速度は既往の研究³⁾から、塩分濃度1%までは0.1%/日の馴致速度での塩分馴致が有効であると考えられるため、この馴致速度を設定した。

実験は、各CASEの馴致条件を満足したのち、BOD濃度を約200mg/Lになるように人工基質を投入(全量15L)して行った。実験時間は6時間とし、実験開始から1時間ごとに水質を測定した。なお、測定時には曝気を止めて10分間の固液分離を行い、分離された上澄みを検水した。測定項目はBODとCOD_{Cr}とした。なお、COD_{Cr}は0.4%の塩分濃度までしか塩化物イオンのマスキング効果がないため⁹⁾、試料を十分に希釈したのち、測定した。

活性汚泥中の微生物群集構造解析に使用した検体は、CASE1、3、4、5の4CASEとした。CASE2は塩分添加していないCASE1と同様な菌叢を示すと考えられるため、解析には使用しなかった。なお、各CASEの馴致条件を満足したのち、全てのCASEで培養日数が90日間となるように培養したものを検体として解析した。測定時は、採取した検体に16SrNAの次世代シーケンシングを使用して塩基配列を取得し、得られた結果をQiime2で微生物群集構造解析を行った。

3. 実験結果および考察

3.1 有機物濃度測定結果

図1に各CASEのBOD経時変化、図2にCOD_{Cr}の測定結果を示す。

CASE1のBOD濃度は低下傾向を示し、6時間で86.7%の有機物除去が確認できた。COD_{Cr}でも、6時間で70.8%の有機物が除去された。BOD濃度とCOD_{Cr}の測定結果から、本実験に使用した活性汚泥には有機物の処理能力があることがわかる。

CASE2のBOD濃度は3時間まで増減を繰り返す、それ以降は60～100mg/L付近で推移した。

COD_{Cr}は6時間で27.8%と低い除去率であった。BOD、COD_{Cr}共に処理能力が塩分添加していないCASE1と比べて低下していることから、3%の塩分添加が活性汚泥の処理能力に影響することが示された。

CASE3のBOD濃度は低下傾向を示し、6時間で91.4%の有機物除去が確認できた。COD_{Cr}では、6時間で68.1%の有機物が除去された。BOD、COD_{Cr}共に塩分添加していないCASE1と同程度の処理能力が確認できた。よって、0.1%/日で塩分馴致を行うことで3%の塩分環境下でも有機物の処理が可能であることが示された。

CASE4のBOD濃度は低下傾向を示し、6時間で89.6%の有機物除去が確認できた。一方で、COD_{Cr}では、6時間で43.6%の除去率であり、処理能力が塩分添加していないCASE1、0.1%/日で塩分馴致を行ったCASE3と比較して大きく低下した。この理由としては、0.1%/3日での塩分馴致に適応するための時間が不足しており、活性汚泥中の有機物を処理する細菌類が十分に増殖できなかったものと推察される。この理由については3.2で考察する。

CASE5のBOD濃度は低下傾向を示し、6時間で87.5%の有機物除去が確認できた。COD_{Cr}で

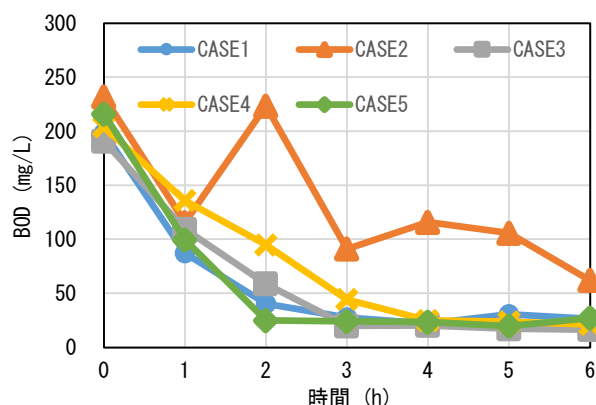


図1 BOD経時変化

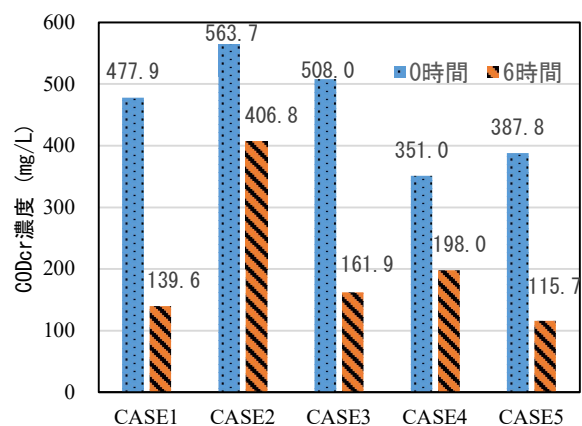


図2 COD_{Cr}測定結果

は、6時間で70.2%の有機物が除去され、同じ馴致速度0.1%/3日を設定したCASE4より良好な結果が得られた。この理由として、CASE5ではCASE4よりも0.1%/3日での塩分馴致期間を長く設けたことで、汚泥が順応したものと推察される。よって、塩分濃度1%までは、0.1%/日、それ以降は0.1%/3日で到達塩分濃度3%まで塩分馴致することで、3%の塩分環境下でも有機物の除去が可能であり、塩分添加していないCASE1と同程度の処理能力を有することが示された。

塩分馴致を行ったCASEでは、塩分馴致を行っていないCASE2よりも高い処理能力を示したことから、塩分馴致が高濃度塩分環境下における排水処理に有効であると考ええる。また、CASE3とCASE5は同程度の処理能力を示したが、CASE3は30日、CASE5は70日の馴致日数を要するため、効率面を考慮した場合、CASE3の0.1%/日が最適な塩分馴致速度であるといえる。

3.2 菌叢解析結果

各CASEの活性汚泥の微生物群集について検討した結果、得られたリード数はCASE1が52916、CASE3が58541、CASE4が62344、CASE5が54924であった。各CASEでリード数に違いが見られたが、これはMLSSを1500~2000mg/Lと幅を持たせて調整していることが原因であると考えられる。

属レベルで分析した結果を表3に示す。塩分を添加していないCASE1と3%塩分添加したCASEでは確認できた属に大きな違いが見られた。特にProteobacteria門に属するZobellella属とBacteroidetes門に属するAequorivita属に特徴的な変化が見られた。Proteobacteria門_Betaproteobacteria綱に属するZobellella属はCASE1で0.08%、CASE3で11.25%、CASE4で6.13%、CASE5で16.11%を占めている。表4のリード数で見ると、CASE1で43、CASE3で6587、CASE4で3819、CASE5で8847となった。塩分を添加していないCASE1のみ数値が極端に低く、3%の塩分環境下の中でも良好な処理が可能であったCASE3、5で高い数値となった。また、Bacteroidetes門_Flavobacteriia綱に属するAequorivita属はCASE1で0.01%、CASE3で10.58%、CASE4で0.62%、CASE5で12.88%を占めている。リード数はCASE1で5、CASE3で6196、CASE4で385、CASE5で7072となっており、Zobellella属同様にCASE1が極端に低く、CASE4に比べて、塩分濃度3%でも処理が行えたCASE3、5は高い数値となっている。

Zobellella属は増殖にNaClを必要とし¹⁰⁾、Aequorivita属はNa⁺を必要としている¹¹⁾。なお、人工基質に含まれるナトリウムが影響を及ぼしている可能性も考えられるが、全てのCASEにおいて同量の人工基質を投入しているため、人工基質に含まれるナトリウムは影響がないものとする。塩分を添加していないCASE1と塩分濃度3%時の処理能力が最も低かったCASE4では、Aequorivita属とZobellella属のリード数が低い値を示し、活性汚泥中に占める割合が低く、3%の塩分環境下でも良好な有機物処理が可能であるCASE3とCASE5では、Aequorivita属とZobellella属の占める割合が高くなっている。これは、活性汚泥が塩分馴致速度に適応するための時間が関係していると推察される。CASE3では0.1%/日での塩分馴致を3%の塩分濃度まで継続したため、Aequorivita属とZobellella属が十分に増殖したことが考えられる。また、CASE5では0.1%/日での塩分馴致に10日間を要した後、0.1%/3日での塩分馴致の環境に適応でき、Aequorivita属とZobellella属が十分に増殖した

表3 各CASEのリード数(属レベル)

属	CASE1	CASE3	CASE4	CASE5
<i>Propionicimonas</i>	657	6	134	27
<i>Pseudoxanthomonas</i>	3704	0	68	0
<i>Luteimonas</i>	1637	0	24	3
<i>Dokdoneella</i>	2488	0	4	0
<i>Elizabethkingia</i>	7016	0	0	0
<i>Thermomonas</i>	6052	0	0	0
<i>Nannocystis</i>	1297	0	0	0
<i>Rhodanobacter</i>	696	0	0	0
<i>Gelidibacter</i>	302	3739	9242	4984
<i>Paracoccus</i>	88	1916	9075	3554
<i>Zobellella</i>	43	6587	3819	8847
<i>Marinobacter</i>	0	1786	2731	1345
<i>Aequorivita</i>	5	6196	385	7072
<i>Oceanimonas</i>	0	887	578	142
<i>Planctomyces</i>	102	698	285	336
<i>Lewinella</i>	0	54	52	1236
<i>Sinomonas</i>	133	4	753	4
その他	31184	36668	35198	27374
合計	52916	58541	62344	54924

と推察される。一方で、CASE4では0.1%/日での塩分馴致に20日間を要した後に0.1%/3日での塩分馴致を30日間行っている。そのため、CASE3、5と比べて活性汚泥が0.1%/3日での塩分馴致への順応が不完全であったと考えられる。この菌叢の相違が3.1で示した有機物処理に影響を与えているものといえる。

以上のことから、*Aequorivita*属と*Zobellella*属が高濃度塩分環境下でも正常な処理が可能な細菌である可能性が示唆された。

4. まとめ

本報告では、高濃度塩分環境下での活性汚泥の処理能力と活性汚泥中の菌叢について検討した。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) 3%の塩分環境下では、活性汚泥の処理能力を低下させることが確認されたものの、塩分馴致を行うことで、3%の塩分環境下でも活性汚泥は有機物の除去が可能であることが確認された。
- 2) 本実験で設定した条件では、1日あたり0.1%の塩分添加を塩分濃度3%まで行う塩分馴致が効率面を考慮した場合の最適な塩分馴致速度である。
- 3) *Aequorivita*属と*Zobellella*属が高濃度塩分環境下でも正常な処理が可能な細菌である可能性が示唆された。

以上のことから、活性汚泥に対する塩分馴致は高濃度塩分排水処理に有効であり、高濃度塩分環境下でも排水処理が行える細菌が存在することが確認できた。

今後の課題として、海水と同等の塩分濃度3.5%までのより効率的な馴致速度の検討や連続的な海水の流入を想定した実験を進めていくことが必要である。また、高濃度塩分環境下においても排水処理が行える可能性のある*Aequorivita*属と*Zobellella*属が活性汚泥処理で担っている役割について検討していく必要がある。

参考文献

- 1) 公益社団法人 日本下水道協会, 令和5年度下水道白書 日本下水道 資料編, (2023), pp.22
- 2) 土井宏育, 優占化した海洋性繊毛虫を利用した塩分含有廃水の処理技術, 日本海水学会誌73(5), (2019), pp.271~272.
- 3) 稲田拓海, 森田弘昭, 佐藤克己, 高橋岩仁, 神林大介, 伊賀叡一, 高濃度塩分に対応した活性汚泥に関する基礎研究, 第

57 回下水道研究発表講演集, (2020) pp.913~915.

- 4) Wang, J.L. Zhan, X.M. Feng, Y.C. Qian, Y. Effect of salinity variations on the performance of activated sludge system. Biomed Environ Sci. , 18, (2005)pp. 5~8.
- 5) Kargi, F.Dincer, A.R. Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. Enzyme and Microbial Technology, 19(7), (1996)pp. 529~537.
- 6) 鈴木藍, 五十嵐愛美, 高橋岩仁, 佐藤克己, 森田弘昭, 高濃度塩分環境下における活性汚泥の処理機能に関する基礎研究, 環境情報科学 学術研究論文集 36, (2022), pp.57~61.
- 7) 山崎廉予, 出口浩, 5か所の下水処理場における活性汚泥内細菌叢の分類比較, 日本水処理生物学会誌 49(4), (2013), pp.123~132.
- 8) 公益社団法人 日本下水道協会, 下水道施設計画・設計指針と解説 後編 2019年版, pp.64
- 9) 田崎雅晴, 小島啓輔, 岡村和夫, 石油随伴水のCOD測定法の評価, Journal of the Japan Petroleum Institute. 56 (4), (2013) pp.244~248.
- 10) Lee, D.W. Lee, H. Kwon, B.O. Khim, J.S. Yim, U.H. Park, H. Park, B. Choi, I.G. Kim, B.S. Kim, J.J. , *Zobellella maritima* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium, isolated from beach sediment. Int J Syst Evol Microbiol. 68(7), (2018), 2279~2284.
- 11) Bowman, J.P. Nichls, D.S., *Aequorivita* gen. nov., a member of the family Flavobacteriaceae isolated from terrestrial and marine Antarctic habitats. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 52 (5), (2002), pp.1533~1541.