

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 30 年度

受付番号 201860754

氏名 秋月 真一

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地 (派遣先国名) 用務地: グアナファト州グアナファト市 (国名: メキシコ合衆国)
2. 研究課題名 (和文) ※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。
スポンジ担体を用いた微細藻類-硝化-脱窒素共生系による高濃度窒素含有廃水の処理
3. 派遣期間: 平成 30 年 10 月 1 日 ~ 令和 2 年 8 月 23 日
4. 受入機関名及び部局名
グアナファト大学工学部
5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)
(注)「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

【研究・調査実施状況】

本研究では、日射量の豊富なサンベルト地域に適した省エネルギー型窒素含有廃水処理技術として、スポンジ固定化担体に異なる微生物群(微細藻類, 硝化菌, 脱窒素菌等)を共存させた下向流スポンジ懸垂型(Down-flow hanging sponge: DHS)光バイオリアクターを提案し、メキシコで発生する実廃水処理への利用可能性を明らかにすることを目的した。

研究 1. アンモニア耐性を有する自生微細藻類の探索・選定

まず、グアナファト州内(以下、現地)の湖・下水処理場等の異なる 6 地点から自生微細藻類群を採取し、集積を行った(表 1)。次に、集積した各微細藻類群のアンモニア耐性の有無を大まかに判断するために、高濃度窒素含有廃水として現地で処理が問題となっているメタン発酵消化液(ろ液)を純水で 5 倍希釈したものを培地とし各微細藻類群を培養した。比較的良好な増殖が見られた 4 群を選定し(AL, AD, ADS, PTL)、それらのアンモニア耐性を評価するため、異なる希釈倍率(1, 2.5, 5 倍)のメタン発酵消化液(ろ液)を用いた回分培養実験を実施し、アンモニア耐性の高い 2 群を選定した(AL, AD)。次に、選定した 2 群を用いて、異なる温度・光強度下における増殖特性を回分培養実験で評価した。最終的に、メタン発酵消化液由来の微細藻類群(AD, 優占種: *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp.)が最も高いアンモニア耐性と増殖速度を示した。これらの結果から、廃水中に内在する微細藻類群を集積培養することで、高濃度アンモニア含有廃水処理に応用できる可能性が示された。

研究 2. 下降流スポンジ懸垂型(DHS)光バイオリアクターの制作と消化液処理性能評価

[研究 2-1. DHS 光バイオリアクターの設計・制作]

微細藻類・硝化菌・脱窒素菌が単一リアクター内で効果的に働くためには、1. 微細藻類への効率的な光供給, 2. 硝化菌への光障害の緩和, 3. 脱窒素に適した低溶存酸素状態の形成, を同時に

表1. 自生微細藻類群の採取地および集積方法

採取地	集積方法	選定理由
グアナフト市 ロスサントス人工湖 (Artificial lake: AL)	夾雑物・動物プランクトン等をメッシュで取除いた後、藻類を沈降濃縮し、遠心分離により液分を取り除き回収	生活廃水が流入した湖に繁茂していたため、アンモニア耐性が高いと期待
グアナフト市 都市下水 (Municipal wastewater: MW)	実験室内で試料水に直接光を照射し、自然発生した藻類を沈降濃縮・遠心分離により回収	し尿を含む下水由来の藻類はアンモニア耐性が高いと期待
ベンハモ市 屠殺場 メタン発酵消化液 (Anaerobic digestate: AD)	実験室内で試料水（沈降後の上澄み）に直接光を照射し、自然発生した藻類を沈降濃縮・遠心分離により回収	消化液由来の藻類はアンモニア耐性が高いと期待
ベンハモ市 屠殺場 メタン発酵貯留槽 (AD storage: ADS)	夾雑物・動物プランクトン等をメッシュで取り除いた後、藻類を沈降濃縮し、遠心分離により液分を取り除き回収	消化液貯留槽で繁茂していたため、アンモニア耐性が高いと期待
ベンハモ市 屠殺場 一時湖 (Penjamo temporary lake: PTL)	夾雑物・動物プランクトン等をメッシュで取り除いた後、微細藻類を沈降濃縮し、遠心分離により液分を取り除き回収	屠殺場残渣（牛・豚の解体残渣）が大量に投棄された場所付近の一時湖に繁茂していたため、アンモニア等の栄養塩耐性が高いと期待
レオン市 屠殺場 一時湖 (Leon temporary lake: LTL)	夾雑物・動物プランクトン等をメッシュで取り除いた後、微細藻類を沈降濃縮し、遠心分離により液分を取り除き回収	消化液の浸出水と見られる一時湖に繁茂していたため、アンモニア耐性が高いと期待

達成する必要がある。そこで、光供給に適したリアクターとして、透明なアクリルを素材とした細長い円筒リアクターを設計・製作した。また、スポンジ担体の外側から内側にかけて微細藻類、硝化菌、脱窒素菌という順序で層状に微生物相を構築することで、微細藻類・バクテリアの生物膜形成による光透過度の減衰（上記2に対応）と、硝化に伴う酸素消費によるスポンジ内部での低溶存酸素下（上記3に対応）が可能になると考え、スポンジ担体への微生物固定化を下記の手順で行った：

- (1) 1辺2cmの立方体スポンジ（ポリウレタン製、写真1）を20Lポリタンク内に充填し、その後、下水処理場から採取した硝化菌・脱窒素菌を含む汚泥をタンク内に満たした。酸素供給を行わない無酸素状態で約1週間かけてスポンジ担体への微生物固定化を行った。
- (2) タンク内の懸濁液（主に担体に付着しなかった微生物群）を排出した後、新たに同上の下水処理場から採取した汚泥を満たした。エアレーションによる酸素供給を約1週間行い、担体への硝化菌の付着を促した。
- (3) タンク内から担体を取り出し、ガラス製の円筒状リアクター内に充填した後、研究1で選定した微細藻類群が含まれる培養液で満たした。実験室内で数日間光照射を行い、担体に微細藻類を付着させた。最終的に得られたスポンジ担体を写真2に示した。



写真1. 研究で用いたポリウレタン製スポンジ担体。DHSリアクターは吸水後の担体を積み重ねる構造を取るため、担体が自重で潰れないように周囲をプラスチック製の棒で囲った。

実験室内で数日間光照射を行い、担体に微細藻類を付着させた。最終的に得られたスポンジ担体を写真2に示した。

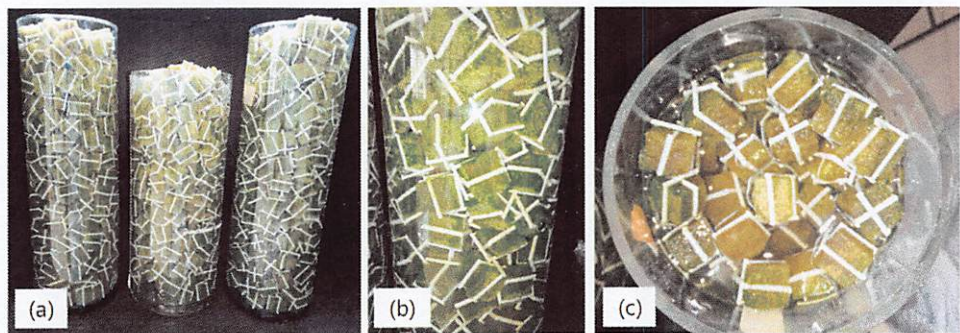


写真2. 微生物固定化後の担体。(a) 固定化に用いたリアクター全体像; (b) 正面; (c) 上面。光照射を受けた外側に微細藻類の付着が見え、内側には細菌群の付着が見える。

微細藻類・細菌を

固定化したスポンジ担体をリアクターに充填し、続く研究2-2・3-3で用いた。

[研究2-2. DHS光バイオリアクターによる消化液の連続処理性能評価（屋内）]

実験方法：対象廃水として、メタン発酵消化液（ろ液）を2倍希釈したものをを用いた。リアクターには、研究3-1で製作したDHS光バイオリアクター2基を用いた。スポンジ担体一個当たりの保水量は約6.25 mLであり、リアクター内に400個の担体を投入することで有効容積を2.5 Lとした。消化液をリアクターに1日あたり約500 mL連続的に供給した。光照射強度を0 lux（フェーズ1: 0~50日目）、2000 lux（フェーズ2: 50~85日目）、3000 lux（フェーズ3: 85~129日目）、10000 lux（フェーズ4: 129~156日目）に段階的に増加し、運転期間中の処理性能を評価した。明暗周期は12時間毎に切り替え、温度を25±2℃とした。連続処理システムの概要を図1に示した。処理水

中の pH, 溶存酸素 (DO: Dissolved oxygen), 電気伝導度, 浮遊性固形分, クロロフィル *a*, 各種栄養塩 (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}), 全窒素, 全リン, 溶存態の化学的酸素要求量等を定期的に測定した。

主要な結果: 処理水中の pH は実験開始から約 70 日目まで 6 前後で安定していたが, その後 70 ~ 80 日目までにかけて低下し, それ以降約 4~5 付近を維持した(図 2). 硝化反応に伴い pH は減少するため, 特にフェーズ 2 の後半以降は, 活発な硝化の進行が示唆された. 投入基質の全窒素除去率は, 光照射の有無によって大きく異なり, 光照射の無いフェーズ 1 では約 4 割以下の値であったが, 光照射を行ったフェーズ 2 以降の除去率は 7 割程度を示し, 光照射により窒素除去率が向上することが示された. これは, リアクター内で, 微細藻類による酸素供給が起点となり, 硝化菌, 脱窒素菌が機能し, 窒素除去が効果的に進んだことを示唆している. 一方で, 最大光照射強度(フェーズ 4, 10000 lux)の条件では, 処理水中に突発的に硝酸・亜硝酸等の窒素酸化物の生成が確認され, 全窒素除去率が低下した. 光強度が高い場合, 微細藻類による酸素供給量が増加するため, 硝化反応には有利に働くが, 無酸素条件下で機能する脱窒素反応には不利に働くと考えられる. 実際に, 処理水中の DO 濃度はフェーズの移行と共に徐々に増加しており, フェーズ 4 では光照射強度が過剰となっていた可能性が考えられる.

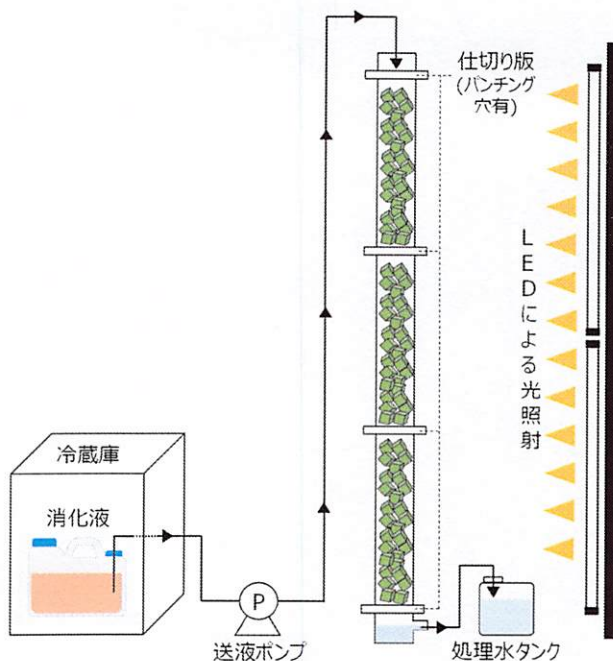


図1. DHSリアクターを用いた連続処理システムの概要.

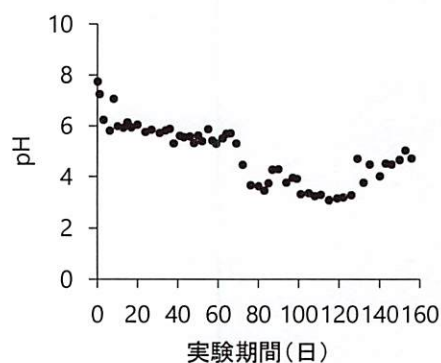


図2. 屋内処理実験における処理水中のpHの経時変化.

[研究 2-3. DHS 光バイオリアクターによる消化液の連続処理性能評価 (屋外)]

実験方法: 対象廃水, リアクター, スポンジ担体および充填量, 分析項目等は研究-2 と同様とし, 温度・光条件は制御せずに, 現地の気候条件下(2月中旬~7月中旬)で処理を実施した.

主要な結果: 実験開始から約 1 カ月は, スポンジ担体から微細藻類層の形成・消失が繰り返され, 処理水中の pH, DO, 栄養塩濃度は日により大きく異なった. これは, 天候が優れた際に, 太陽光の直接照射によりリアクター内が加温されることで 35 °C 以上となる温度環境が生じ(図 3), 微細藻類の生育阻害が引き起こされたためと考えられる. しかし, 実験開始から約 1~2 カ月目までにかけて, 徐々にスポンジ担体に微細藻類の付着量の増加が見られ, 実験開始から約 80 日目以降は, 処理が安定化した. 80 日目以降の処理水中の pH は 6.7 ± 0.8 を示し, 全窒素除去率は約 5 割に達した. 屋内実験と比較して全窒素除去率が低い原因として, 屋外での高い光照射強度(日中 10000~60000 lux)が微細藻類による活発な酸素生成に繋がり, スポンジ担体内の DO が上昇することで脱窒素が制限されたためと考えられる. 実際に, 80 日目以降の処理水中の DO 濃度は 6 mg/L 以上の高い値を示し, 窒素酸化物濃度は約 100 mg-N/L 以上の高濃度を示した. 全窒素除去率を向上させるためには, 1. スポンジ担体のサイズを大きくすることで, 表面の微細藻類層と中央までの距離を伸ばし, 担体内部に無酸素層を形成し易くする, 2. リアクターの口径を広げ, リアクター内部に光が照射されない暗所域を作る, 等の手法が考えられる. 今後は,

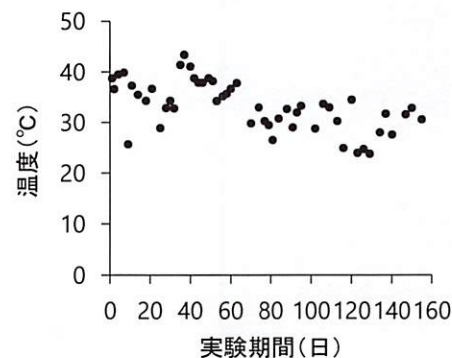


図3. 屋外処理実験におけるリアクター内温度の経時変化.

本研究を通し得られた結果を踏まえて、提案システムの改良を進めていきたい。

メキシコでのコロナウイルスの蔓延のために 2021 年の研究活動が大幅に制限され、当初予定していた微生物構造解析と環境影響評価・経済性評価は遂行することはできなかった。今後はそれらの分析・解析を進め、論文投稿等の発表の際に含める予定である。

【成果の発表・関連学会への参加状況】

派遣期間中に、本課題に関連する研究内容が査読付国際学術誌 5 報に掲載され(筆頭著者として)、国内会議での口頭発表を 3 件、国際会議での口頭発表を 2 件行った。また、グアナファト大学での学部・大学院主催シンポジウム・セミナーでの招待講演を 4 件、国際会議での招待講演を 1 件行った。