

嫌気性下水処理の後段DHSリアクターにおける 溶存メタンの生物学的酸化と物理的揮散

松浦 哲久¹・江口 拓²・幡本 将史³・原田 秀樹⁴・大橋 晶良³

¹学生会員 広島大学大学院 社会基盤環境工学専攻 (〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1)

E-mail : matsuurara@hiroshima-u.ac.jp

²学生会員 長岡技術科学大学 環境システム工学専攻 (〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1)

³正会員 広島大学大学院 社会基盤環境工学専攻 (〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1)

E-mail : hatamoto@hiroshima-u.ac.jp, ecoakiyo@hiroshima-u.ac.jp

⁴正会員 東北大学大学院 土木工学専攻 (〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06)

E-mail : harada@ep11.civil.tohoku.ac.jp

嫌気性処理水中にはバイオガスのメタン分圧に相応するメタンが溶存している。Down-flow Hanging Sponge (DHS) リアクターによって嫌気性下水処理水が後段処理された場合、流入溶存メタンはどのような挙動を示すのか調査した。溶存メタンはDHSリアクター上部で速やかに減少し、流下2 mの中間位置では検出されなかった。リアクター上部から1 m付近でメタン酸化細菌の検出が最も高く、メタン酸化ポテンシャルも最大値を示した。溶存メタンの消失を記述する数学的モデルを構築し、メタン物質移動係数とメタン酸化活性を用いてシミュレーションを行ったところ、メタン酸化による溶存メタン消失の寄与は、僅か約5%であった。DHSリアクターにおいては流入溶存メタンのほとんどは大気に放出されることがわかった。

Key Words : anaerobic process, down-flow hanging sponge (DHS), dissolved methane, methane oxidizing bacteria (MOB), methane emission

1. はじめに

嫌気性排水処理法は、省エネルギー、地球温暖化防止の観点から近年再注目され、現在も開発が行われている。その適用範囲は拡大され、下水のような低濃度排水にも適用されつつある^{1),2)}。しかしながら、低濃度排水を嫌気性処理した場合、有機物負荷が低いため、生成されるメタンガス量が少なくなる。一方、生成したメタンは処理水中に溶存し、その溶存メタン量はメタン分圧に依存する。したがって、低濃度排水に嫌気性処理法を適用すると、相対的にメタンが溶存する割合が増える事になる。例えば、下水に嫌気性処理を適用した場合、全生成メタン量(メタンガス+溶存メタン)の約40%が溶存メタンとして処理水と共に、回収されずに放出されている³⁾。また、Cakir & Stenstrom は、嫌気性処理法と活性汚泥法での温室効果ガス排出量をCO₂ ベースで比較し、排水のBOD濃度がおよそ700 mg・L⁻¹以下の場合には、活性汚泥法より嫌気性処理法で処理する方がCO₂排出量は多く

なると試算している⁴⁾。これは低濃度排水において、溶存メタンの大気揮散によるCO₂排出量に見合うだけのエネルギーを回収メタンガスで補えないために起きる。このため、溶存メタンの回収を試みた研究が行われている。佐藤らは嫌気性処理装置内に脱気膜を浸漬させて溶存メタンを回収する実験を行い⁵⁾、Hartley & Lant は嫌気性処理装置に微量な空気を供給し、溶存メタンの回収を試みている⁶⁾。

一方、嫌気性処理法は単独で排出基準を満たす事ができないことが多く、排水のポリッシュアップを行う何らかの好気処理法による後段処理が必要である。ところが後段処理において、溶存メタンの挙動に関する知見は非常に乏しいのが現状である。福永らは、嫌気性排水処理から排出される溶存メタンと後段処理槽から放出されるメタンのガス化量を測定している⁷⁾。その結果、活性汚泥法のような曝気を行う処理方法では流入した溶存メタンの多くがガス化し、大気に揮散されると報告している。また、エアレーションタンク内のメタン酸化ポテンシヤ

ルを測定すると、能力は有しているものの、生物酸化はほとんど機能していないと報告している。

我々の研究グループは Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) 処理水の後段処理として、低コスト・省エネルギー型である散水ろ床タイプの Down-flow Hanging Sponge (DHS) リアクターを開発してきた⁸⁾⁻¹¹⁾。DHS リアクターは曝気を必要とせずに、大気から酸素を取り込み、反応槽内の充填スポンジに保持された微生物によって処理が行われる。UASB と DHS を組み合わせたシステムによる下水の処理は、活性汚泥法単独処理に匹敵する処理性能が得られることが明らかになっている。しかしながら、後段処理装置である DHS リアクターにおける溶存メタンの消長に関する報告は皆無である。

そこで本研究では溶存メタンを含んだ UASB 処理水を用い、DHS リアクター内の溶存メタンの濃度プロファイルを調査した。さらに、簡易的なメタン消失モデルを構築して DHS リアクターから大気に揮散されるメタンの物質移動係数 K_La を算出し、またメタン酸化ポテンシャル等を測定し、溶存メタン消失のシミュレーションより、DHS リアクター内の微生物によるメタン酸化と大気放散の割合を把握した。

2. 実験および解析方法

(1) UASB+DHS による実下水処理システムの概要

溶存メタンの挙動の調査は実下水を処理している UASB リアクターとその後段処理の DHS リアクターを組み合わせた UASB+DHS システムを対象とした¹²⁾。その排水処理システムの概略を図-1 に示す。前段に設置した UASB リアクターにはスクリーン通過後の実下水を下部から供給し、UASB リアクター上部から排出される処理水は、チューブを通して DHS リアクター上部に供給される。

前段の UASB リアクターは内径 0.2 m、塔長 4 m のカラムに Gas-Solid Separator (GSS) を上部に備えた構造となっている。リアクターの全容量は 155 L (カラム容量: 120 L, GSS: 35 L) である。

後段の DHS リアクターは、塩化ビニール板の両面に直角三角柱スポンジ (一辺 3 cm、幅 75 cm) が 38 列接着したスポンジシート (高さ 2 m、幅 75 cm) を 2 枚直列に設置しており、合計 4 m の DHS リアクターである。1 枚目のスポンジシートの流出水はマスターフレックスポンプで 2 枚目のスポンジシート上部にポンプアップして供給した。スポンジシートの上部に設置されたノッチ部は横方向 3 cm おきに三角に切り込みを設けており、流入した排水は一度溜められ、オーバーフローによってスポンジに均等に散水される。DHS リアクターは、常に外気

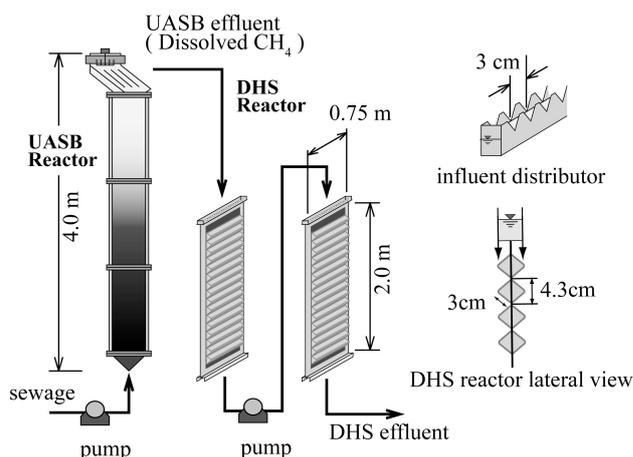


図-1 UASB+DHS システムの概略図

と接触しており、酸素の供給は大気から行えるようになっている。

処理システムは、UASB リアクターに消化汚泥を植種して実下水の処理を開始し、 $25\pm 3^\circ\text{C}$ に温度制御して約 4 年間運転している。溶存メタンの挙動の調査は、水理的滞留時間 (HRT): UASB リアクター 4 時間、DHS リアクター 80 分 (スポンジ容積当たり)、トータルシステム 5.3 時間で運転した装置の処理が安定している期間 (運転開始 996 日目~1360 日目) に行った。この期間における流入下水の COD_G は $373 (\pm 83) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BOD は $162 (\pm 37) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ であり、UASB 処理水はそれぞれ $173 (\pm 50) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ と $68 (\pm 23) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。DHS 処理水の COD_G は $69 (\pm 23) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BOD は $9 (\pm 5) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ であり、処理性能等の詳細は既報¹²⁾にて報告している。

(2) 溶存メタンの測定

溶存メタンの測定は、運転開始 1260, 1329, 1360 日目に DHS リアクター内 38 列の各スポンジ通過後の排水を採水して、ヘッドスペースガスクロマトグラフ法にて 3 回行った。まず、サンプリングは容量 122 mL のセラムバイアル瓶に気泡が混入しないように緩やかに排水を注ぎ、バイアル瓶の容積の 2 倍量以上をオーバーフローさせ、瓶内を満たした。その後、生物学的メタン酸化を抑制するために 20 mM 塩化第二水銀溶液 (HgCl_2) を 1 mL 添加し、ブチルゴム栓とアルミシールでバイアル瓶を密栓した。次にバイアル瓶内の溶液 20 mL をシリンジで引き抜き、ヘッドスペースを窒素で置換した (液量 102 mL)。 25°C に設定したウォーターバスにバイアル瓶を設置し、1 時間の振とう (100 rpm) で瓶内を気液平衡状態にした後、気相部のメタン濃度をガスクロマトグラフ (GC-TCD, Shimadzu, GC-8A) で測定した。ヘンリーの法則から、ブンゼンの吸収係数 $0.0301 [\text{mL CH}_4 / \text{mL water}] (25^\circ\text{C}, 1 \text{ atm})$ を用いて溶存メタン濃度を算出した。

(3) 溶存酸素の測定

溶存酸素の測定は運転開始 1343 日目に DHS リアクターの高さ方向に沿って 30 ヶ所で行った。サンプリングは、溶存メタンの測定と同様にフラン瓶に 2 倍量以上のサンプルをオーバーフローさせ、瓶内に空気が入らないように採水し、DO センサー (YSI/Naonotech, Model 5100) を用いて測定した。各測定地点に対し、2 回ずつ分析を行った。

(4) 保持汚泥のサンプリング

DHS リアクターに保持された汚泥を 3 回目の溶存メタン測定が終了した後に、1 段目のスポンジシートの 8 ヶ所(高さ方向に等間隔で)から採取した。汚泥のサンプリングは、スポンジを幅 5 cm にカットして取り出し、スポンジを圧搾して、リン酸緩衝液で 3 回洗浄しながら汚泥を回収した。回収汚泥の濃度を測定し、次節のメタン酸化ポテンシャル試験、メタン酸化細菌の検出および定量に供した。

(5) メタン酸化ポテンシャル試験

汚泥のメタン酸化ポテンシャルはバッチ試験により評価した。実験は、サンプリングした汚泥に対し、2 本ずつバイアル瓶を用いて行った。汚泥と Nitrate mineral salts (NMS) 培地 (ATCC Culture Medium 1306) の混合液 22 mL を 122 mL バイアル瓶に入れ、プチルゴム栓とアルミシールで密栓した。バイアル瓶内の気相部をエアークンプレッサーにて通気した後、基質のメタンガス (99.8%) 20 mL を加圧投入した。この時の気相部の CH₄ と O₂ は 1:1 となっている。バイアル瓶を 25°C のウォーターバス内で振とう培養 (100 rpm) させ、定期的に気相部をガスシリンジで 0.5 mL 引き抜き、GC-TCD でメタン濃度を計測し、メタン濃度の経時変化をグラフ化して、初期の傾きからメタン酸化ポテンシャルを求めた。

(6) FISH 法によるメタン酸化細菌の検出

16S rRNA を標的とした Fluorescence *In Situ* Hybridization (FISH) 法にてメタン酸化細菌の検出を行った。実験に用いた汚泥サンプルはメタン酸化ポテンシャルの最も高か

った DHS リアクター流下方向 1 m 付近のものを使用した (メタン酸化ポテンシャルは後述する)。実験にはメタン酸化細菌を網羅するように 6 種類のプローブを用いた (表-1)¹³⁾。Gm705 は Type I の γ -Methanotrophs を、Am445 は type II の α -Methanotrophs をターゲットとしており、Mlb482, Mmb1007, Mlc123, Mcd77 の各プローブは Type I メタン酸化細菌をそれぞれの属レベルで検出する。ホルムアミド濃度は Tm 値からの計算および実験によって決定した (表-1)。汚泥は 4%パラホルムアルデヒドで固定し、超音波により菌体の分散処理を施した後、Amann らの方法に準じて FISH を行い、顕微鏡観察した¹⁴⁾。

(7) 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

メタン酸化細菌の定量は、Gm705 プローブのみを用い、サンプリング汚泥に対し、メンブレンフィルターを用いた FISH 法¹⁵⁾を 2 回ずつ行った。また DAPI で全菌染色を行い、フィルター上の 20 視野を顕微鏡付属のデジタルカメラで撮影し、それぞれの視野内の FISH 及び DAPI で検出される細胞数をカウントした。

(8) DHS リアクター内での溶存メタンの物理的揮散評価

a) メタンの物質移動係数評価実験

DHS リアクターから大気に揮散するメタンの物質移動係数を求めるために、小型実験装置を作成した (図-2)。小型実験装置は下水処理している図-1 の DHS リアクターを小型化したもので、断面のスポンジサイズ (一辺 3 cm) は同規格であるが、幅を 10 cm と短くしている。60×20 cm の塩化ビニール板の片面に 10 列スポンジを接着させた。スポンジは汚泥を付着させていないクリーンなものを用い、流入水は蒸留水にメタンガスを飽和させたものを使用した。貯留タンクは、溶存メタン濃度を一定に保つ為、メタンガスで満たしたガスパックを取り付け、気相部が常に純メタンガスで満たされるようにした。流入水の流下速度および温度は下水処理の DHS リアクターと同じである。流入水と流出水の溶存メタン濃度を測定することで、次節の方法より物質移動係数を求めた。

表-1 メタン酸化細菌の検出に用いた DNA プローブとホルムアミド濃度

Probe	Target group	Sequence (5'-3')	FA conc. (%)
Am445	α -Methanotrophs	CTTATCCAGGTACCGTCATTATCGTCCC	0 ~ 16
Gm705	γ -Methanotrophs	CTGGTGTTCCTTCAGATC	7
Mlb482	<i>Methylobacter</i>	GGTGCTTCTTCTAAAGGTAATGT	6
Mmb1007	<i>Methylobacterium</i>	CACTCTACGATCTCTCACAG	0 ~ 12
Mlc123	<i>Methylococcus</i>	CACAACAAGGCAGATTCCCTACG	0 ~ 4
Mcd77	<i>Methylocaldum</i>	GCCACCCACCGGTTACCCGGC	0 ~ 9

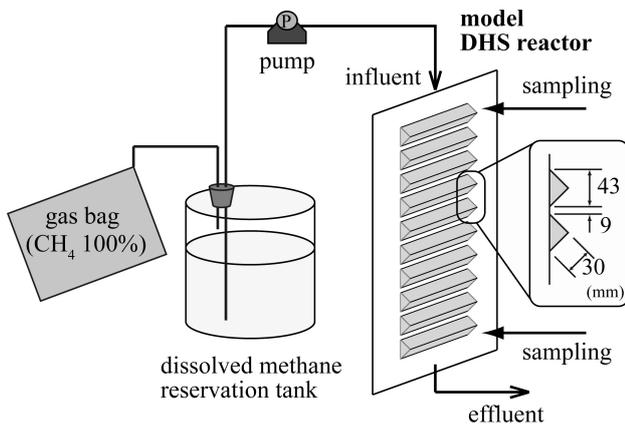


図2 メタン移動係数評価実験装置

b) 物質移動係数評価方法

溶存メタンのスポンジ表面から大気への物理的揮散は複雑な現象であるが、簡易的に次のような数学的モデルで表される。

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_S - C) \quad (1)$$

ここに、 C : 溶存メタン濃度 [$\text{mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$]、 C_S : 大気中のメタンガス濃度に平衡した飽和溶存メタン濃度 [$\text{mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$]、 $K_L a$: 総括物質移動係数 [day^{-1}] である。溶存メタン濃度はスポンジ内部で均一であり、このモデルがスポンジ1列に適用できるとすると、リアクター上部から i 番目と $i+1$ 番目の溶存メタン濃度 (C_i と C_{i+1}) の関係は、差分表示を用いて次式で示される。

$$C_{i+1} = C_i + K_L a (C_S - C_i) \Delta t \quad (2)$$

ここに、 Δt : スポンジ1列の滞留時間 [day] である。上式はリアクター上部から順次計算して、流出水の溶存メタン濃度が計算できることを意味しており、その実測値と一致するように逆算して $K_L a$ を評価することができる。 C_S の値は、大気中のメタン濃度 1774 ppb^{10} から計算した値 ($1.53 \times 10^{-4} \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$) を用いた。

(9) 溶存メタン濃度プロファイルシミュレーションモデル

排水中の溶存メタンは、物理的な揮散と生物学的酸化によって、流下とともに消失する。これを記述する数学的モデルは、式 (2) に生物学的酸化の項が付加され、次式で表される。

$$C_{i+1} = C_i + K_L a (C_S - C_i) \Delta t - v X \Delta t \quad (3)$$

ここに、 v : 比メタン酸化活性 [$\text{mg COD}\cdot\text{g VS}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$]、 X : 汚泥濃度 [$\text{g VS}\cdot\text{L}^{-1}$] である。溶存メタン濃度は、上述の試験から評価したパラメータ値を用いてリアクター上部から順次計算でき、溶存メタン消失における物理的揮

散 ($\sum K_L a (C_S - C_i) \Delta t$) および生物学的酸化 ($\sum v X \Delta t$) の寄与度を評価することができる。スポンジシート同士の間は離れていて、シートのまわりは大気環境と同じと考えられたため、気相のメタン濃度は物質移動係数評価方法と同様に大気中の値を用いた。なお、 C_{i+1} はマイナスになることはないので、計算では C_{i+1} がマイナスになったときにはゼロとした。

3. 実験結果および考察

(1) メタンガス量と溶存メタン濃度

UASB リアクターから発生するガス生成量は平均 $40.7 \text{ NL}\cdot\text{day}^{-1}$ であり、メタン濃度は平均 69%であった。したがって、下水 1 L 当りから回収できるメタンガス量は $86.3 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。一方、溶存メタン濃度は $62.9 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。また、メタンガス濃度の分圧から求めた理論的溶存メタン濃度は $59.3 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ であり、ヘッドスペースガスクロマトグラフ法による測定値とほぼ同等の値であった。処理水 1 L 当りの全生成メタン (メタンガス+溶存メタン) は $149.2 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ となり、溶存メタン量は 42.2%である。このことは、UASB リアクターから発生するメタンエネルギーの半分近くが回収できないことを示している。

(2) DHS リアクター内での溶存メタンおよび酸素のプロファイル

UASB 処理水の溶存メタン濃度は $62.9 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ であるが、DHS リアクターノッチ部での溶存メタン濃度は $34.1 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ に低下しており、DHS に供給される間に送水チューブ内等で 50%程度揮散していた。さらに、DHS に均等に供給するノッチ部で 10%程度揮散し、実際にスポンジに流入する溶存メタン濃度は $27.6 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。このことは、嫌気性処理水から排出される高濃度の溶存メタンは容易に揮散しやすいことを示している。DHS リアクター内での溶存メタン濃度および溶存酸素濃度のプロファイルを図-3 (a) に示す。流下距離 50 cm までに溶存メタンは速やかに減少し、流下距離わずか 50 cm 付近で 95%以上の溶存メタンが DHS リアクター内から消失していた。流下距離 50 cm 以降、溶存メタンは徐々に減少し、流下距離約 130 cm 以降から溶存メタンは検出されなかった。そのため、流下距離 200 cm 以降の測定は行わなかった。一方、溶存酸素濃度は溶存メタン消失とは対照的に徐々に大気中の酸素を取り込んで増加していた。約 200 cm 以降の溶存酸素濃度は $6.5 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ を維持し、飽和酸素濃度 (25°C : $8.8 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) との差 (約 $2 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) が微生物による酸素消費に相応していると考えられた。

(3) メタン酸化ポテンシャル

DHS リアクター内のメタン酸化のポテンシャルを把握するため、バッチ試験を行った。バイアル瓶内の気相部のメタン濃度を経時的に測定したところ、メタン濃度は徐々に減少が大きくなる曲線を描いた。これは、試験時間が長すぎてメタン酸化細菌が対数増殖期に入ったと考えられ、直線からメタン酸化ポテンシャルを評価する事が困難であった。そこで、曲線から比活性値を求める方法¹⁷⁾を採用して評価した。DHS リアクター内における汚泥のメタン酸化ポテンシャルを図-3 (b) に示す。DHS リアクター流入部では、溶存メタン濃度が高いにも関わらず、メタン酸化ポテンシャルが低い結果となった。流下と共にメタン酸化ポテンシャルは上昇し、流下距離 114 cm の位置で $35 \text{ mg COD}\cdot\text{g VS}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ と最も高い値を示した。なお、DHS リアクター内の保持汚泥は上部から下部にかけてほとんど変化はなく、汚泥濃度は平均 $25 \text{ g VS}\cdot\text{L}^{-1}$ (スポンジ容積当たり) であった。したがって、DHS リアクター上部から 1 m 付近の溶存メタン濃度がほぼゼロに近い部分において、最も高いメタン酸化ポテンシャルを有しているという事がわかった。以上のことから、流下距離約 50 cm までの急激な溶存メタンの減少は、メタン酸化細菌による溶存メタン消費以外の要因

(物理的揮散)であることが推察できる。

メタン酸化ポテンシャルは上部から中部に向かって徐々に上昇する傾向が見られた。このプロファイルと溶存メタン濃度のプロファイルと比較すると、全く異なる傾向を示している。Tandukar らによると、DHS 上部では有機物酸化の活性が高く、下部に向かうに従って減少し、逆にアンモニア酸化ポテンシャルは上部から下部に進むに連れ高くなる傾向があった¹⁸⁾。本実験装置におけるメタン酸化ポテンシャルのプロファイルは、既往の研究のアンモニア酸化ポテンシャルのプロファイルに近い分布をしていた。アンモニア酸化細菌と従属栄養細菌は酸素をめぐる競合の関係にあり、CN 比が高くなると従属栄養細菌が優占化すると報告されている¹⁹⁾。また、メタン酸化細菌と従属栄養細菌の競合では、有機物及び酸素が少ない環境下ではメタン酸化細菌が優占化するが、本実験のような有機物も酸素も十分ある様な環境下では従属栄養細菌が優占化すると報告されている²⁰⁾。図-3 (c) に示すように、DHS リアクター上部では全菌に対するメタン酸化細菌の割合 (MOB/DAPI) が低い、すなわち従属栄養細菌が優占化して、メタン酸化ポテンシャルが低くなったと考えられる。

メタン酸化ポテンシャルと溶存酸素の高さ方向のプロ

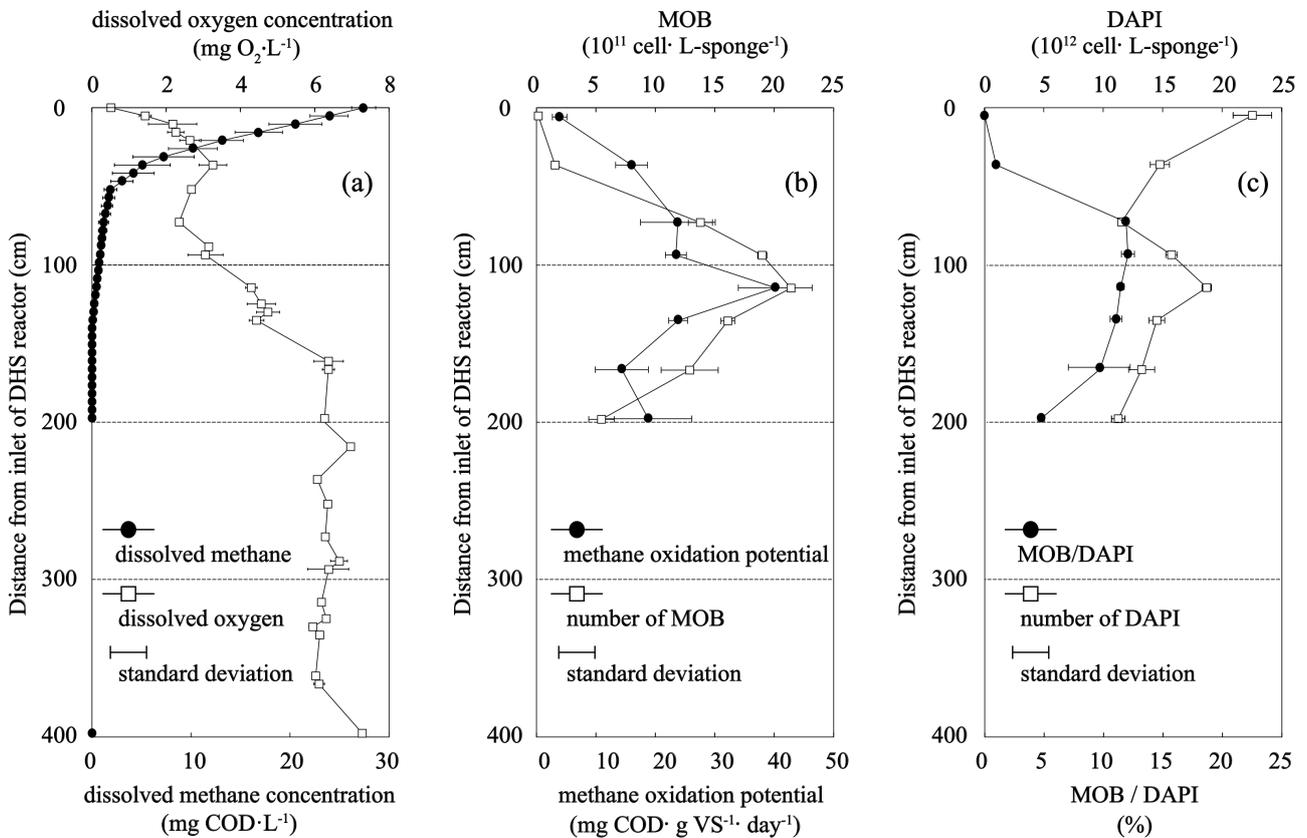


図-3 DHS リアクター内の各種プロファイル測定結果。(a) 溶存メタン濃度と溶存酸素濃度, (b) メタン酸化ポテンシャルとメタン酸化細菌数, (c) メタン酸化細菌の割合と全菌数

ファイルと比較すると、1 m 付近までは溶存酸素の増加に伴いメタン酸化ポテンシャルも増加している。しかし、中部では溶存酸素が増加してもポテンシャルは減少している。このことは、中部では溶存メタンが枯渇気味であるために、**図-3 (c)** に示すようにメタン酸化細菌の生存数が少なくなり、ポテンシャルが低下していると考えられる。

(4) FISH 法によるメタン酸化細菌の検出および定量

メタン酸化ポテンシャルの実験より、微生物によるメタン酸化が確認され、DHS リアクターの上部から 1 m 付近で最もメタン酸化ポテンシャルが高いことが判明した。そこで、メタン酸化ポテンシャルの最も高かった流下距離 114 cm のサンプルに FISH 法を適用し、メタン酸化細菌の検出を試みた。その結果、使用した 6 種類のプローブ (**表-1**) のうち、Gm705 と Mlb482 のプローブを用いた場合に微生物からの蛍光が検出された。なお、検出されなかったプローブは、ホルムアミド濃度を 0% にしても検出されなかった。検出されたプローブは Type I メタン酸化細菌をターゲットとしていることから、DHS リアクター内には Type I メタン酸化細菌が生息していることがわかった。Mlb482 プローブは Type I メタン酸化細菌の中でも *Methylobacter* を特異的にターゲットしている。*Methylobacter* の最適環境は 25°C 付近と言われ²¹⁾、本 DHS リアクターの運転条件とほぼ一致する。Mcd77 プローブの標的である *Methylocaldum* と Mlc123 プローブの標的である *Methylococcus* は高温性のメタン酸化細菌であり^{22,23)}、Mmb1007 プローブで検出される *Methylomicrobium* はアルカリに対して耐性を持っている²⁴⁻²⁶⁾。このことから、本下水処理環境を鑑みると検出されなくても妥当であると考えられる。Type II メタン酸化細菌は貧栄養環境下でメタン濃度が高く、酸素濃度の低い環境で生育すると言われており²⁷⁾、本実験に用いたサンプルは酸素濃度が高くメタン濃度の低い環境下にあったため、Type II メタン酸化細菌は検出されなかったと考えられる。

Type I メタン酸化細菌が検出されたため、Type I メタン酸化細菌を網羅する Gm705 プローブを用いて DHS リアクター内におけるメタン酸化細菌の定量を FISH 法の菌数カウントにより行った。その結果、上部においてはメタン酸化細菌はほとんど検出されなかった (**図-3 (b)**)。しかし、DHS の下部に向かうに従い徐々に菌体数は増加し、流下距離 114 cm で 21.4×10^{11} cell·L-sponge⁻¹ と菌体数が最も多くなり、その後は徐々に減少していた。このプロファイルはメタン酸化ポテンシャルと同じ様な傾向を示している。すなわち、菌体数とメタン酸化ポテンシャルには強い相関が見られ、両データの測定は妥当であったと考えられる (**図-3 (b)**)。一方、DAPI 染色による全菌体数は上部で最も多く 22.5×10^{12} cell·L-sponge⁻¹ であった。

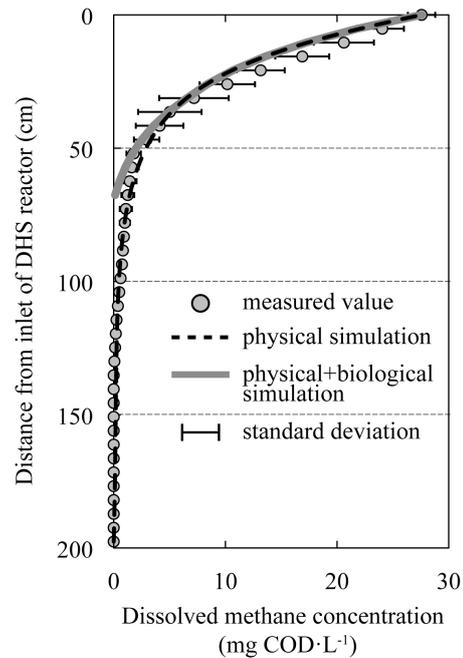


図4 溶存メタンの消失シミュレーション

流下方向に進むに連れ、徐々に菌体数は減少したものの、オーダーでのずれはなく、微生物はほぼ一様に存在していると考えられた (**図-3 (c)**)。DHS リアクターの上部では溶存メタン濃度が高いにも関わらず、メタン酸化細菌数が少なく、メタン酸化細菌以外の菌体数が非常に多いことがわかる。この結果から、DHS 上部でのメタン消失は主に物理的揮散であることが強く示唆される。

また、DAPI 染色細菌に対するメタン酸化細菌の割合は上部から 1 m 付近で最も高く、約 12% であった (**図-3 (c)**)。この位置は溶存メタンが微量にも関わらず、メタン酸化ポテンシャルを有し、多くのメタン酸化細菌が生育していた。土壌中でメタン酸化細菌は大気の 1.7 ppm のような微量なメタンを利用して生育していると報告がある²⁸⁾。また、メタン酸化細菌は酢酸等の有機酸を利用して生育すると報告がある²⁹⁾。このように、溶存メタン濃度が非常に少ないリアクター中部においては、検出限界以下のような極微量のメタンを利用したり、他の有機物を利用するメタン酸化細菌が存在していると考えられる。

(5) 溶存メタン消失のシミュレーション

溶存メタンの物理的揮散が示唆された為、小型 DHS リアクターで溶存メタンの物質移動係数を求めた。この実験での流入水の溶存メタン濃度 $86.6 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ と流出水の溶存メタン濃度 $8.3 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$ を提案したモデル式に入れ、計算するとメタンの物質移動係数 K_{ia} は $2.85 \times 10^2 \text{ day}^{-1}$ となった。この値は大浦らによる DHS の酸素取り込み実験より得られた酸素の物質移動係数 (約

$4.0 \times 10^2 \text{ day}^{-1}$) とほぼ同等の値であった³⁰⁾。本実験より求めた K_{La} の値を用いて下水処理 DHS リアクターにおける物理的揮散による溶存メタンのシミュレーションを行った(式(2))。その結果、シミュレーションの溶存メタン濃度(図4 黒波線)は実測値とほぼ同じ軌跡を辿った。このことは、本研究のモデルで溶存メタンの揮散現象を表現することができ、溶存メタンの消失が主に物理的揮散によるものであることを示唆している。次に、メタン酸化細菌の生物学的酸化を考慮し、物理的揮散モデルに生物酸化の項($\sum vX\Delta t$)を加え、メタン酸化ポテンシャルと汚泥濃度(測定値とその線形補間した値)を用いてシミュレーションを行った(式(3))。その結果、生物学的酸化を加味したシミュレーション(図4 灰色実線)では、溶存メタン濃度の挙動をほぼ近似できているものの、生物学的酸化を考慮しない方がよくシミュレートされている。シミュレーションに使用したメタン酸化ポテンシャルは、酸素とメタンが十分ある最適な環境下でのポテンシャル値である。そのため、メタン酸化量は実際よりもシミュレーションでは過大評価されると考えられ、溶存メタン濃度は DHS リアクター内で早く消失する結果になったと思われる。

このシミュレーション結果から、DHS リアクター内での溶存メタンの消失における物理的揮散の寄与($\sum K_{La}(C_s - C_i)\Delta t$)と生物酸化の寄与($\sum vX\Delta t$)を評価すると、DHS リアクターに流入する溶存メタン量に対する生物酸化の寄与率は 7.9%であった。また、実験方法を割愛したが³¹⁾、DHS リアクター内のメタン細菌を培養し、1cell 当りのメタン酸化速度を求めると $1.61 \times 10^9 \text{ mL}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ となり、この値と測定メタン酸化細菌数を用いての生物酸化を使ってシミュレーションを行ったところ、生物酸化の寄与率は、12.3%となった。このように、メタン酸化ポテンシャルからの評価、および 1cell 当りのメタン酸化速度から評価しても、溶存メタンの大部分が物理的に揮散していることがわかった。したがって、UASB から排出される溶存メタン ($62.9 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$) に対する生物酸化の割合は約 5%、物理的揮散の割合は残りの約 95%になる。

このように開放系である DHS リアクターにおいては、生物的酸化はほとんど期待できず、溶存メタンは速やかにガス化され大気に放散する。そのため、UASB の後段に DHS リアクターを設置する場合、地球温暖化防止の観点から、密閉等の対策を講じ溶存メタンの回収や酸化分解を行う必要があると言える。

4. 結論

本研究は、UASB リアクターの排水が DHS リアクターで後段処理された場合、溶存メタンは DHS リアクターで速やかに消失することを溶存メタン測定より示した。DHS リアクターの上部から中部にかけて Type I メタン酸化細菌が生息し、溶存メタンは酸化分解されているが、その分解量をメタン酸化ポテンシャル、物質移動係数を用いたシミュレーションにより評価したところ、生物酸化は僅かであった。溶存メタンは主に物理的に消失し、UASB リアクターから排出される溶存メタンの約 95%はガス化して大気放散することを明らかにした。

参考文献

- 1) Kleerebezem, R. and Macarie, H. : Treating industrial wastewater: Anaerobic digestion comes of age, *Chem. Eng.*, Vol.110, No.4, pp. 56-64, 2003.
- 2) Halalshah, M., Sawajneh, Z., ZuÖbi, M., Zeeman, G., Lier, J., Fayyad, M. and Lettinga, G. : Treatment of strong domestic sewage in a 96 m^3 UASB reactor operated at ambient temperatures: two-stage versus single-stage reactor, *Bioresour. Technol.*, Vol.96, pp.577-585, 2005.
- 3) 高橋優信, 山口隆司, 上村繁樹, 大橋晶良, 原田秀樹 : 発展途上国に適応可能なエネルギー最小消費型の下水処理プロセスの開発～スポンジ担体散水ろ床(DHS-G3)リアクターの処理特性～, 環境工学研究論文集, Vol.41, pp.175-186, 2004.
- 4) Cakir, F. Y. and Stenstrom, M. K. : Greenhouse gas production: A comparison between aerobic and anaerobic wastewater treatment technology, *Water Res.*, Vol.39, pp.4197-4203, 2005.
- 5) 佐藤久, 池田真之, 高橋正宏, 岡部聡, 中原禎仁, 笹川学 : 嫌気性消化プロセスへの脱気膜の適用, 用水と廃水, Vol.51, pp.925-932, 2009.
- 6) Hartley, K. and Lant, P. : Eliminating non-renewable CO_2 emissions from sewage treatment: An anaerobic migrating bed reactor pilot plant study, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol.95, pp.384-398, 2006.
- 7) 福永栄, 永井清, 河野哲郎 : メタン酸化細菌を利用した溶存メタン除去リアクター, 下水道研究発表会講演集, Vol.31, pp.851-853, 1994.
- 8) Machdar, I., Harada, H., Ohashi, A., Sekiguchi, Y., Okui, H. and Ueki, K. : A novel and cost-effective sewage treatment system consisting of UASB pre-treatment and aerobic post-treatment units for developing countries, *Water Sci. Technol.*, Vol.36, No.12, pp.189-197, 1997.
- 9) Machdar, I., Sekiguchi, Y., Sumino, H., Ohashi, A. and Harada, H. : Combination of a UASB reactor and a curtain type DHS (downflow hanging sponge) reactor as a cost-effective sewage treatment system for developing countries, *Water Sci. Technol.*, Vol.42, No.3-4, pp.83-88, 2000.
- 10) 原田秀樹 : 途上国に適用可能な下水処理技術の国際共同開発-インドでの実規模プラントによる実証試験-, 水環境学会誌, Vol.28, pp.429-434, 2005.
- 11) 小野寺崇, Doni Sugiyana, Madan Tandukar, 上村繁樹, 長野晃弘, 山口隆司, 大橋晶良, 原田秀樹 : 新型汚泥保

- 持担体を適用した第 6 世代型 DHS 反応器における下水処理性能, 土木学会論文集 G, Vol.64, No.2, pp.78-87, 2008.
- 12) Tandukar, M., Machdar, I., Uemura, S., Ohashi, A. and Harada, H. : Potential of combination of UASB and DHS reactor as a novel sewage treatment system for developing countries: long-term evaluation, *Environmental Eng.*, Vol.132, No.2, pp.166-172, 2006.
 - 13) Gullidge, J., Ahmad, A., Steudler, P.A., Pomerantz, W.J. and Cavanaugh, C.M. : Family- and genus-level 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes for ecological studies of methanotrophic bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol.67, No.10, pp.4726-4733, 2001.
 - 14) Amann, R.L., Ludwig, W. and Schleifer, K.H. : Phylogenetic identification and situ detection of individual microbial cells without cultivation, *Microbiol. Rev.*, Vol.59, No.1, 143-169, 1995.
 - 15) Chen, A.C., Ueda, K., Sekiguchi, Y., Ohashi, A. and Harada, H. : Molecular detection and direct enumeration of methanogenic archaea and methanotrophic bacteria in domestic solid waste landfill soils, *Biotechnol. Lett.*, Vol.25, pp.1563-1569, 2003.
 - 16) IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 (AR4) : The AR4 Synthesis Report, http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/syr/en/contents.html
 - 17) 大橋晶良, 福田江津子, 原田秀樹 : 低活性な汚泥における回分試験からの比活性値評価図解法, 水環境学会誌, Vol.26, No.3, pp.167-170, 2003.
 - 18) Tandukar, M., Uemura, S., Machdar, I., Ohashi, A. and Harada, H. : A low-cost municipal treatment system with a combination of UASB and the “fourth-generation” down-flow hanging sponge reactors, *Water Sci. Technol.*, Vol.52, No.1-2, pp.323-329, 2005.
 - 19) 佐藤久, 岡部聡, 渡辺義公 : 微小電極および FISH 法を用いた生物膜内アンモニア酸化細菌菌体密度分布および活性分布に及ぼす流入基質 C/N 比の影響評価, 水環境学会誌, Vol.22, No.9, pp.763-769, 1999.
 - 20) van Bodegom, P., Stams, F., Mollema, L., Boeke, S., Lefelaar, P. : Methane oxidation the competition for oxygen in the rice rhizosphere, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol.67, No.8, pp.3586-3597, 2001.
 - 21) Kevbrina, M. V., Okhapkina, A. A., Akhlynin, D. S., Kravchenko, I. K., Nozhevnikova, A. N. and Gal'chenko, V. F. : Growth of mesophilic methanotrophs at low temperatures, *Microbiol.*, Vol.70, No.4, pp.444-451, 2001.
 - 22) Bodrossy, L., Holmes, E. M., Holmes, A. J., Kovács, K. L. and Murrell, J. C. : Analysis of 16S rRNA and methane monooxygenase gene sequences reveals a novel group of thermotolerant and thermophilic methanotrophs, *Methylocaldum* gen. nov., *Arch. Microbiol.*, Vol.168, pp.493-503, 1997.
 - 23) Bowman, J. P., Sly, L. I. and Stackebrandt, E. : The phylogenetic position of the family *Methylococcaceae*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, Vol.45, No.1, pp.182-185, 1995.
 - 24) Khmelenina, V. N., Kalyuzhnaya, M. G., Starostina, M. G., Suzina, N. G. and Trotsenko, Y. A. : Isolation and Characterization of Halotolerant Alkaliphilic Methanotrophic Bacteria from Tuva Soda Lakes, *Current Microbiol.*, Vol.35, pp.257-261, 1997.
 - 25) Sorokin, D. Y., Jones, B. E. and Kuenen, J. G. : An obligate methylotrophic, methane-oxidizing *Methylomicrobium* species from a highly alkaline environment, *Extremophiles*, Vol.4, pp.145-155, 2000.
 - 26) Kaluzhnaya, M., Khmelenina, V., Eshinimaev, B., Suzina, N., Nikitin, D., Solonin, A., Lin, J., McDonald, I., Murrell, C. and Trotsenko, Y. : Taxonomic characterization of new alkaliphilic and alkalitolerant methanotrophs from soda lakes of the Southeastern Transbaikalian region and description of *Methylomicrobium buryatense* sp. nov., *Syst. Appl. Microbiol.*, Vol.24, pp.166-176, 2001.
 - 27) Amaral, J. A. and Knowles, R. : Growth of Methanotrophs in methane and oxygen counter gradients, *FEMS Microbiol. Lett.*, Vol.126, pp.215-220, 1995.
 - 28) Conrad, R. : Soil Microorganisms as Controllers of Atmospheric Trace Gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO), *Microbiol. Rev.*, Vol.60, No.4, pp.609-640, 1996.
 - 29) Dedysh, S. N., Knief, C. and Dunfield, P. F. : *Methylocella* species are facultatively methanotrophic, *J. Bacteriol.*, Vol.187, No.13, pp.4665-4670, 2005.
 - 30) 大浦一恵, 渡辺悠介, 久保田健吾, 李玉友, 原田秀樹, 松永健吾, 山口隆司 : DHS リアクターの酸素移動特性, 第 43 回日本水環境学会年会講演集, pp.343, 2008.
 - 31) 江口拓 : 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, 長岡技術科学大学大学院工学研究科修士論文, pp.87-98, 2003.

(2009.9.28 受付)

BIOLOGICAL OXIDATION AND EMISSION OF DISSOLVED METHANE IN DHS REACTOR POLISHING UP ANAEROBICALLY TREATED WASTEWATER

Norihisa MATSUURA, Taku EGUCHI, Masashi HATAMOTO,
Hideki HARADA and Akiyoshi OHASHI

Anaerobically treated waters possess dissolved methane in proportion to partial pressure of methane in biogas. In a DHS reactor as post treatment process for polishing up anaerobic wastewater treatment, how much of biological oxidation of dissolved methane was investigated using an actual municipal sewage. Dissolved methane rapidly decreased in the upper portion of DHS reactor and disappeared at the middle point, 2 m from the inlet. Near 1 m from the inlet, methane oxidizing bacteria (MOB) were most detected, and methane oxidation activity was highest. A mathematical model describing the disappearance of dissolved methane has been constructed and simulations were performed using the measured values of methane oxidation activity and mass transfer coefficient of methane from liquid to gas phase, showing that the contribution of biological methane oxidation to the disappearance was only about 5%. Even though MOB inhabits DHS reactor, almost all of the dissolved methane is physically emitted to the atmosphere.