

小規模下水処理場での嫌気性消化および肥料高品質化による 資源・エネルギー循環

Resource and energy circulation by anaerobic digestion and upgrading fertilizer
at small scale wastewater treatment plants

京都大学大学院工学研究科 講師 日高 平
神戸大学大学院農学研究科 特命助教 吉田 弦

(研究計画ないし研究手法の概略)

環境保全のため適切に処理・処分されるべき下水汚泥は、近年豊富な資源・エネルギーを含むバイオマスとの認識が広まりつつある。都市部の下水処理場では嫌気性消化・バイオガス発電によるエネルギー利用や、窒素およびリンを結晶として回収する肥料利用などが導入されつつある。一方小規模施設では、その効率の悪さから積極的に普及しているとはいえない。汚水処理の広域化・共同化（経済・財政再生計画改革工程表 2017 改定版）を含めて、市町村合併後の施設更新に即した新システム構築が求められており、下水汚泥と生ごみの集約嫌気性消化がその対応となり得る。嫌気性消化汚泥を近隣農地で直接液肥として利用できれば、エネルギー利用と肥料利用が同時に達成可能である。下水汚泥の肥料利用は一般市民に認識されつつあるものの、コンポスト化の廃止、府県外の遠方での肥料化、汚泥肥料利用の旨をアピールしない作物販売など、適切な地域内循環とは言えない事例も多い。嫌気性消化汚泥の肥料価値を高めることで、積極的な肥料利用の拡大につながると考えられる。本研究では、光合成微生物による消化汚泥の肥料としての高品質化に着目する。農産物に加えて牧草などのエネルギー作物栽培と組み合わせることで耕作放棄地対策ともなり、地域農業振興も期待される。

具体的には、下記 3 点に着目した実験を行い、嫌気性消化汚泥の肥料利用の観点で、資源・エネルギー循環を促進する技術の開発を目的とした。

1. 光合成微生物の集積培養

光合成微生物としては、藻類と異なり酸素を発生しない紅色非硫黄細菌などが知られており、一般に湖や池、水田、下水処理場など自然水界に生息している。農家個人レベルでは、アミノ酸などの有用成分を有する高品質肥料として用いられている。光合成微生物を含むと考えられた環境試料（水田土壌、下水汚泥など）からの光合成微生物の集積培養を試みた。

光培養には人工気象器(MNLH06061, NKsystem)を用い、三角フラスコに環境試料 10 ml と人工培地 190 ml を混合した培養液 200 ml を投入して、培養を開始した。人工培地には、光合成微生物の培養に適切とされている 702 培地を用いた。照明は明条件 12 hr および暗条件 12 hr を繰り返し、光量子束密度は $45 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、温度は 25°C に設定した。1ヶ月毎に培養液 150 ml を引き抜き、人工培地 150 ml を投入することで継続的に培養を行った。実験開始から 8ヶ月目に、培養液を採取し、次世代シーケンス解析により、微生物群集解析を行った。また、光合成微生物の定量分析として、紅色硫黄細菌および紅色

非硫黄細菌に含まれる *pufM* 遺伝子の定量分析を試みた。

実際の下水汚泥中での光合成微生物の増殖状況を確認するために、集積した光合成微生物と下水の嫌気性消化汚泥との混合培養実験を行った。その際には光照射あり/なしの条件で比較した。また、対照系として、集積した光合成微生物を含まない人工培地と下水の嫌気性消化汚泥との混合培養実験も同様に行った。

2. 熱処理における嫌気性消化汚泥中の大腸菌の挙動

液肥利用を行う場合に元々必要となる病原性微生物や雑草種子混入対策のための加熱消毒処理（一般的には 50℃ 程度以上）を、嫌気性消化でのガス発生率を増加させる前処理として組合せ、嫌気性消化の運転効率の向上を試みた。そのために、排熱の活用でも対応可能な 80℃ の加温処理を検討した。確実に効果を把握するために、処理時間は 24 時間とした。過去の研究で、生ごみや下水汚泥に対する効果が示されている手法である。また後段の嫌気性消化では、通常 35℃ 程度まで加温するのに対して、本研究ではより低い温度を含めて、15～55℃ の範囲での消化特性を、前処理と組み合わせた。実下水汚泥試料を対象とした熱処理および嫌気性消化の室内実験を行い、大腸菌群数および大腸菌数を分析し、肥料利用の安全性の観点でその効果を検証した。

3. コマツナ栽培試験による肥料効果の評価

環境試料から培養した光合成微生物に加えて、化学肥料も比較しながら、コマツナ栽培試験により、肥料効果を検証した。肥料取締法に基づく栽培試験に準じ、ノイバイエルポットにバーミキュライトを充填し、コマツナ“浜美 2 号”を 3 週間栽培して行った。ポットあたり 25 粒、縦横 5×5 となるように播種し、所定の重量まで灌水を行った。発芽までの間は水分が蒸発しないように暗所でラップを覆い静置させておき、45 時間後、出芽を確認し、明所に移動させた。3 日目から 21 日目までは毎日 1 回、所定の重量まで洗浄瓶を用いてイオン交換水を散布した。光の当たり方を均等にさせるために、灌水ごとにポットの置く位置を適宜変更した。7 日目にコマツナの生育状況を均等にさせるために、ポットあたり 9 株を選抜し、それ以外は切り取った。各種肥料は液肥として利用することを想定し、窒素濃度が 10 kgN/10 a（ポットあたり 100 mgN）となるように、本葉が開き始める 7 日後より毎日 10 日間施肥した。

（実験調査によって得られた新しい知見）

1. 光合成微生物の集積培養

集積培養開始から 4 ヶ月目において、培養液の色はそれぞれ様々な色になっており、青色や緑色、赤色などであった。8 ヶ月目には、どの系も黄褐色および茶色に近い色に変化してきた。光合成微生物は、培養条件や照度によって、紅色や赤色、褐色、黄緑色など様々であり、色の変化が紅色非硫黄細菌数の指標の一つとされている。

微生物群集解析の結果を図 1 に示す。ここでは、代表的な科以外をその他としている。下水汚泥由来および水田土壌由来の光合成微生物集積培養試料では、Proteobacteria 門の Rhodospirillaceae が多く検出されていた。Rhodospirillaceae は光合成微生物の一種の紅色非硫黄細菌であることから、集積培養により、汚泥などの環境試料に含まれている紅色非硫黄細菌が集積できたと考えられる。集積培養前の試料である、「消化汚泥と人工培地の

混合培養」でも 0.01%程度検出され、元々消化汚泥に含まれていることが確認された。また、「消化汚泥と集積光合成微生物の混合培養」でも *Rhodospirillaceae* が検出された。光ありの場合、光なしの場合より高かったので、消化汚泥混合条件下での増殖は確認された。ただし、消化汚泥との混合比を考慮してもやや低めであったことから、消化汚泥との混合条件下での増殖を促進するためには、光の透過性や基質の供給を確保する必要があると考えられた。

pufM 遺伝子数の測定結果を、微生物群集解析での *Rhodospirillaceae* の検出率と比較しながら図 2 に示す。下水汚泥由来および水田土壌由来の試料で、それぞれ 3.3×10^9 copies/g および 2.0×10^9 copies/g であった。そして、*pufM* 遺伝子数は微生物群集解析での検出率に概ね比例していた。これらの結果より、*pufM* 遺伝子数の定量により、紅色非硫黄細菌の増殖状況を把握することが可能であると考えられた。

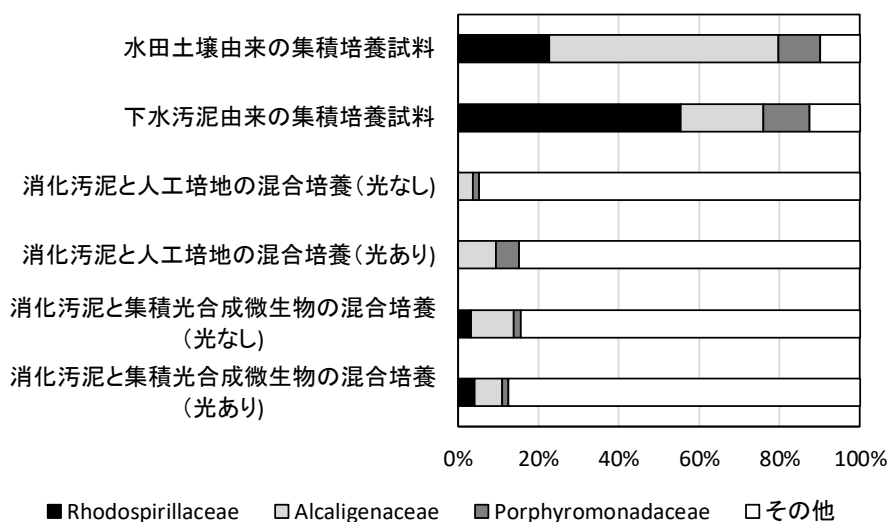


図 1 集積培養した光合成微生物の微生物群集解析結果

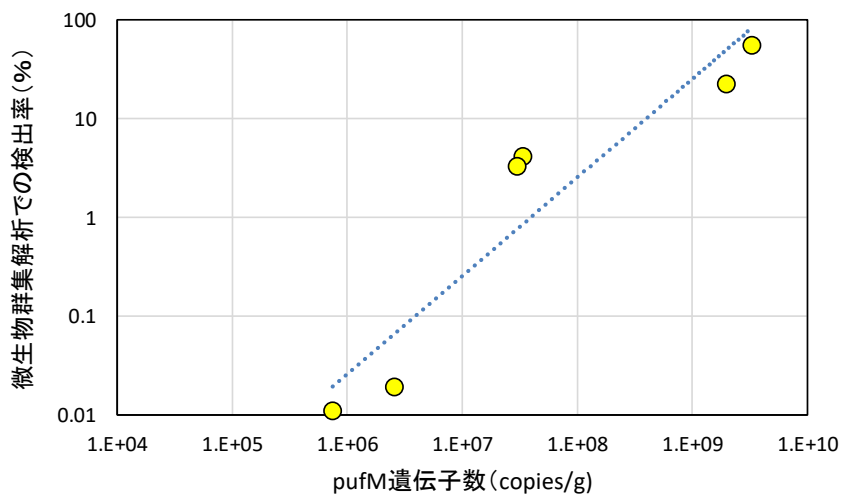


図 2 *pufM* 遺伝子数の測定結果

2. 熱処理における嫌気性消化汚泥中の大腸菌の挙動

熱処理が嫌気性消化汚泥の大腸菌群数および大腸菌数に及ぼす影響の測定結果を図3に示す。消化前汚泥では大腸菌群および大腸菌が含まれていたのに対して、熱処理後は全く検出されなかった。その後嫌気性消化を行ったところ、嫌気性消化温度 45℃以下の場合、大腸菌群および大腸菌が増加しており、熱処理による低減効果は特に見られなかった。嫌気性消化温度 55℃の場合は、大腸菌が検出されなかった。これより、嫌気性消化汚泥をそのまま肥料利用する場合に、大腸菌群および大腸菌の挙動に注意を要することが示された。ただし、熱処理のもう一つの対象である雑草種子については、嫌気性消化槽内で増加することは考えにくく、嫌気性消化前の対応で可能であると考えられる。

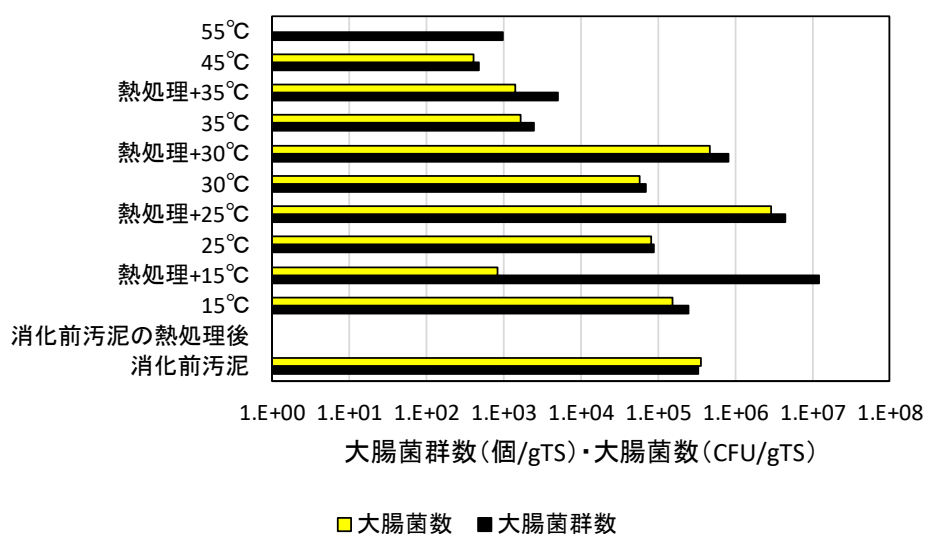


図3 熱処理が嫌気性消化汚泥の大腸菌群数および大腸菌数に及ぼす影響

3. コマツナ栽培試験による肥料効果の評価

コマツナの栽培試験では、株径、最大葉長、新鮮重量および SPAD（クロロフィル含量に比例した指数）の測定により比較した。株径および最大葉長は、光合成微生物の場合、化学肥料と同様の値を示した。新鮮重量は、光合成微生物の場合、化学肥料よりも低かった。一方で、SPAD は光合成微生物で化学肥料より高い値が得られた。これは化学肥料の新鮮重量が光合成微生物に比べて高い、すなわち、窒素以外の栄養素であるリンやカリウムがコマツナの成長に影響したことで、単位面積当たりのクロロフィル濃度が低下したためと考えられる。光合成微生物のうち、下水汚泥由来で、株径、最大葉長および新鮮重量がそれぞれ 64.1 mm、46.9 mm および 3.72 g で最大であった。これより、環境試料から集積培養した光合成微生物は化学肥料と同等もしくはそれ以上の肥料効果を有することが確認され、肥料としての有用性が示された。

4. まとめ

以上のように、本研究では、下水汚泥由来の光合成微生物として、Rhodospirillaceae が増殖したことを遺伝子解析により明らかにした。また嫌気性消化後の肥料利用に向けて、熱処理の効果および肥料効果を確認した。

今後、嫌気性消化条件が異なる現場での試料を用いた実験を行うことで、光合成微生物

の増殖や肥料効果に及ぼす影響を一般化する計画である。

(発 表 論 文)

- ・日高平：熱帯亜熱帯地域を想定した排水処理汚泥の嫌気性消化技術の検討，第 22 回日本水環境学会シンポジウム講演集，p.201, 2019.
- ・鈴木慧，日高平，佐野修司，吉田弦，西村文武：光合成微生物を用いた嫌気性消化汚泥の肥料価値向上，第 56 回環境工学研究フォーラム講演集，B-9, p.11, 2019.
- ・鈴木慧，日高平，西村文武，佐野修司，吉田弦：嫌気性消化汚泥性状が肥料価値向上のための光合成細菌増殖に及ぼす影響，第 54 回日本水環境学会年会，p.228, 2020.