

## 植物系資材を用いた畜産汚水中の窒素低減

瀧澤秀明<sup>1)</sup>・星野佑太<sup>1)</sup>・大橋博子<sup>2)</sup>・石代正義<sup>1)</sup>

**摘要:**竹粉、モミガラ及びオガクズによる畜産汚水中の窒素低減能力(脱窒能)を明らかにするために、硝酸カリウム溶液を模擬汚水として使用したバッチ式及び連続式脱窒試験を実施した。

- 1 滅菌処理をした竹粉でも窒素の低減効果が認められ、脱窒細菌(脱窒菌)の増殖がみられることから、竹粉由来ではない常在菌中の脱窒菌の担体として機能する可能性が示唆された。
- 2 模擬汚水中にメタノールを添加することにより竹粉の脱窒能持続期間が延長した。
- 3 モミガラは竹粉と同様の脱窒がみられたが、オガクズはほとんどみられなかった。
- 4 竹粉及びモミガラは処理模擬汚水当たりの資材量を増加すると脱窒能持続期間が延長した。また、水理的滞留時間を60時間から24時間に短縮すると竹粉では大幅に脱窒能持続期間が延長したのに対してモミガラでは短縮した。

**キーワード:** 畜産汚水、脱窒、脱窒菌、竹粉、モミガラ

### 緒言

水質汚濁防止法に定められる、アンモニア、アンモニウム化合物、亜硝酸化合物及び硝酸化合物(硝酸性窒素等)の畜産排水における基準については、一般基準100 mg/Lを達成することが著しく困難と認められるため、暫定基準500 mg/Lが2022年6月まで設定されているが、将来に向けて一層の低減が求められている。これに対応するためには、畜産排水処理の主流である連続式活性汚泥法に加えて、高度処理として硝化脱窒法による窒素除去を強化する必要がある。しかしながら、畜産農家において環境対策は生産コストの上昇を招き収益性を圧迫するため、浄化槽に新たな高額投資をすることが困難な状況にある。そのため、簡易技術として安価で効率の良い脱窒促進材の開発が有用である。瀧澤<sup>1)</sup>は既報で畜産汚水中に竹粉を添加すると、有機物と脱窒能を有するクレブシエラ属菌(*Klebsiella pneumoniae*及び*K. oxytoca*)が供給されて脱窒を促進することを報告した。また、今後の課題として竹粉の脱窒資材の有用性を明確にするため、微生物を除去した竹粉、あるいはその他の資材を用いた比較試験や投入量、脱窒反応時間及び炭素源供給効果を検討する必要があると述べている。

そこで今回、これらについて竹粉に加えて植物系資材であるモミガラ及びオガクズについて試験を実施し、各資材の脱窒能について知見を得たので報告する。

### 材料及び方法

#### 1 竹粉による脱窒過程における関連微生物動態調査(試験1)

##### (1) 供試竹粉の調整方法

愛知県内で伐採した竹「モウソウチク」を樹木粉砕機GS220G(株式会社大橋、佐賀)で粉砕後、6 mmのスクリーンを通しパウダー状にし、3週間自然乾燥したものを保存して使用した。なお、以降の試験も同じ処理をしたものを使用した。

##### (2) 試験方法

竹粉による脱窒過程における関連微生物動態モニタリングのため、通常処理した竹粉(通常竹粉区)と乾熱滅菌器SH600(ヤマト科学株式会社、東京)により105°C72時間乾熱滅菌処理した竹粉(滅菌竹粉区)との比較をバッチ式脱窒試験により実施し、供試した竹粉中の脱窒関連微生物遺伝子量を調査した。使用汚水は硝酸カリウム1 gを蒸留水1 Lに溶解した模擬汚水を用い、硝酸性窒素濃度を140 mg/Lとした。模擬汚水1 Lをビーカーに入れて、そこに不織布製のだしパックに充填した竹粉50 gを浸漬させて、25°Cに設定したインキュベーターMIR-554(三洋電機株式会社、東京)内に静置後、経時的(24、48、72、96時間後)に採水した。1回の採水量は10 mLとした。また採水時に竹粉も採材した。

##### (3) 調査項目

供試した模擬汚水及び試験期間中に採水した試料は下水処理法<sup>2)</sup>に従い、溶存酸素量(DO)、亜硝酸性窒素及び硝酸性窒素の含量濃度(NO<sub>x</sub>-N)と全有機体炭素濃度(TOC)の分析をした。DOは光学式DO計FOD Multi3510型(WTW社、ドイツ)を用いて測定した。また、0.45 µm孔径メンブランフィルターディスミック25CS045AN(アドバンテック東洋株式会社、東京)で試料をろ過した後、NO<sub>x</sub>-NとTOCを測定した。

<sup>1)</sup>畜産研究部 <sup>2)</sup>環境基盤研究部

NO<sub>x</sub>-Nは銅・カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光度法により土壌用オートアナライザーモジュール(ビーエルテック株式会社、東京)を用いて測定した。TOCはTOC計multi N/C 3100、(株式会社アナリティクイエナジャパン、横浜)を用いて測定した。

試験開始時の浸漬前並びに試験期間に採材した竹粉中細菌のDNAは、DNAすいすいW(株式会社リーゾ、つくば)を用いて、添付のプロトコルに従って抽出した。DNAは分析に供試するまで-30℃で冷凍保存した。リアルタイムPCRはCFX96 Touch(バイオ・ラッド ラボラトリー株式会社、東京)を用いた。KOD SYBR qPCR Mix(東洋紡株式会社、大阪)を反応試薬として、アニーリング温度55℃、40サイクルでリアルタイムPCRを行い、脱窒関連遺伝子として、亜硝酸還元遺伝子nirK(プライマーnirKFlaCu/nirKR3Cu)、亜酸化窒素還元遺伝子nosZ(プライマーnosZ1F/nosZ1R)を定量した。

## 2 メタノール添加が竹粉の脱窒能に及ぼす影響(試験2)

### (1) 試験方法

炭素窒素(C/N)比改善のためのメタノール添加が竹粉の脱窒能に及ぼす影響を調査するために、連続式脱窒装置を用いて試験をした。装置並びに試験設定の概要を図1と表1に示した。脱窒槽は7.3 L容(内寸270 mm×160 mm×170 mm)ポリスチレン製飼育ケースを使用し、容器の上部に排水用の穴を設け、脱窒槽内の模擬汚水量4 Lを目安に維持した。脱窒槽は25℃に設定したインキュベーター内に設置し、脱窒槽内には竹粉 200 g(容積1.74 L)を不織布に包んで、竹粉が完全に汚水中に浸漬するようフラスコリングにより底面に固定した後、汚水を脱窒槽に満たして試験を開始した。汚水槽からシリコンチューブを接続したペリスタポンプSJ-1211 II-H(アトー株式会社、東京)により汚水を供給した。水理学的滞留時間(HRT)を120時間(5日間)とし、42日間試験を実施した。なお、メタノール無添加区(竹粉ALC無添加区)の模擬汚水は試験1と同様とし、メタノール添加区(竹粉ALC

添加区)の模擬汚水は硝酸カリウム1 gを蒸留水998 mL及びメタノール2 mLで溶解したものを使用した。

### (2) 調査項目

採水した試料は試験1と同様の方法でDO、NO<sub>x</sub>-N、TOCの分析をした。また、試験開始時の浸漬前と終了時に資材を採取して試験1と同様の方法で脱窒関連遺伝子量を定量した。

## 3 モミガラ及びオガクズの脱窒能調査(試験3)

### (1) 試験方法

竹粉との比較のため植物系資材であるモミガラ及びオガクズの脱窒能を調査するために、試験2と同様の連続式脱窒装置を用いて試験をした。試験設定の概要を表1に示した。なお、資材200 gの容積はモミガラ1.72 L、オガクズ1.47 Lであった。

### (2) 調査項目

採水した試料は試験1と同様の方法でDO、NO<sub>x</sub>-N、TOCの分析をした。また、試験開始時の浸漬前と終了時に資材を採取して試験1と同様の方法で脱窒関連遺伝子量を定量した。加えてpHをガラス電極法によりマルチ水質計MM-60R(東亜ディーケーケー株式会社、東京)を用いて測定した。

## 4 資材量及びHRTが脱窒能に及ぼす影響(試験4)

### (1) 試験方法

資材量及びHRTが脱窒能に及ぼす影響を調査するために、竹粉とモミガラについて連続式脱窒装置を用いて試験をした。資材量は模擬汚水1 L当たり50 gと100 gとした。HRTは60時間(2.5日間)及び24時間(1日間)とした(表1)。なお、脱窒槽は3.5 L容(内寸210 mm×130 mm×130 mm)ポリスチレン製飼育ケースを使用し、容器の上部に排水用の穴を設け、脱窒槽内の模擬汚水量が2 Lとなるよう調整した。

### (2) 調査項目

採水した試料は試験1と同様の方法でNO<sub>x</sub>-N、TOCの分析をした。

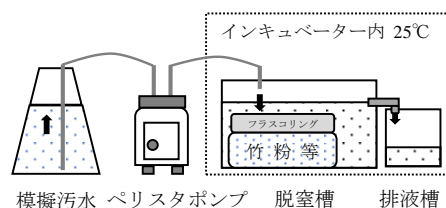


図1 模擬汚水による連続式脱窒試験装置

表1 連続式脱窒試験設定一覧

試験名	試験区名	資材量 g	脱窒槽 汚水量 mL	HRT h	1日あたり 汚水供給量 mL/day	メタノール 添加量 mL/L	試験 期間 day
2	竹粉 ALC 無添加区	200	4400	120	880	0	42
	竹粉 ALC 添加区						2
3	モミガラ区	200	4400	120	880	2	35
	オガクズ区		4200				
4-1	60h 50g/L-竹粉区	100	2000	60	800	2	35
	60h 50g/L-モミガラ区						
4-2	60h 100g/L-竹粉区	200	2000	60	800	2	56
	60h 100g/L-モミガラ区						
4-3	24h 100g/L-竹粉区	200	2000	24	2000	2	56
	24h 100g/L-モミガラ区						

## 結果及び考察

### 1 竹粉による脱窒過程における関連微生物動態調査(試験1)

脱窒が起こるDOの目安とされる0.2 mg/L以下となったのは通常竹粉区において試験開始24時間後であったのに対して滅菌竹粉区は試験開始48時間後であった。NO<sub>x</sub>-Nは通常竹粉区において試験開始24時間後から48時間後の間に急激に減少し72時間後には、ほぼ脱窒が完了したのに対して、滅菌竹粉区は脱窒の速度が遅く、試験開始96時間後においても30 mg/L程度残存した(図2)。このことは溝浦ら<sup>3)</sup>の報告と同様の傾向であった。TOCは試験終了時に両区とも300 mg/L程度残存しており、従属栄養細菌である脱窒菌の脱窒に必要な炭素源となる有機物が竹粉から十分量供給されたと考えられた。脱窒関連遺伝子量の推移では滅菌竹粉区は試験開始時には通常竹粉区に対して大幅に減少していた

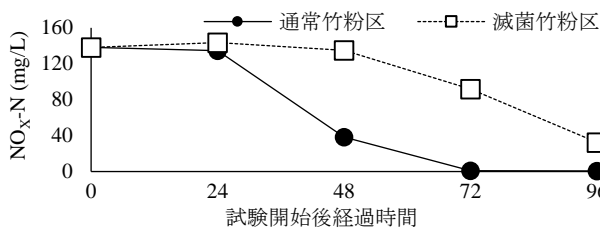
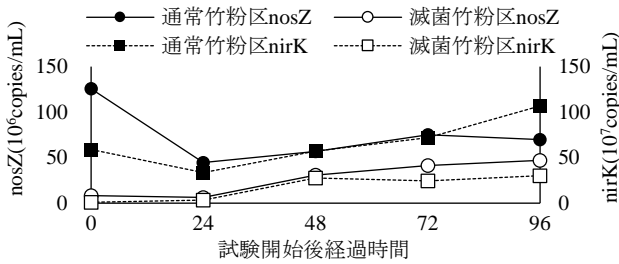


図2 竹粉の滅菌処理の有無が脱窒能に及ぼす影響(試験1)



nosZ:亜酸化窒素還元遺伝子、nirK:亜硝酸還元遺伝子

図3 竹粉の滅菌処理の有無と脱窒関連遺伝子量の継時的変化との関係(試験1)

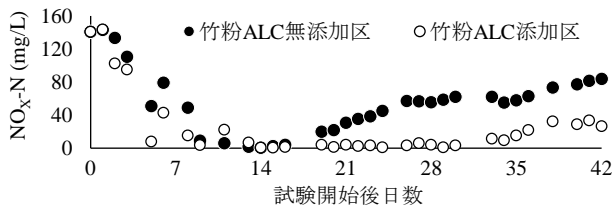


図4 メタノール添加の有無が竹粉の脱窒能に及ぼす影響(試験2)

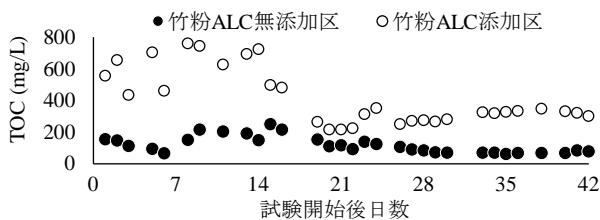


図5 メタノール添加の有無と竹粉添加模擬汚水中のTOC濃度の継時的変化との関係(試験2)

が、試験開始48時間後には通常竹粉区の半量程度まで増加した(図3)。このことから竹粉中には脱窒菌が多く含まれており、脱窒槽への投入直後から脱窒に関与している。その一方で、滅菌した竹粉においても投入後時間差はあるものの脱窒があり、脱窒菌の増殖がみられることから、前出の報告において溝浦らは言及していないが、竹粉由来ではない実験環境由来の常在菌中の脱窒菌の担体として機能する可能性が示唆された。

## 2 メタノールの添加が竹粉の脱窒能に及ぼす影響(試験2)

DOが0.2 mg/L以下となったのは竹粉ALC無添加区が試験開始1日後、竹粉ALC添加区が2日後であった。NO<sub>x</sub>-Nは両区とも試験開始後から漸減し、試験開始9日以降10 mg/L以下が維持されていたが、竹粉ALC無添加区では試験開

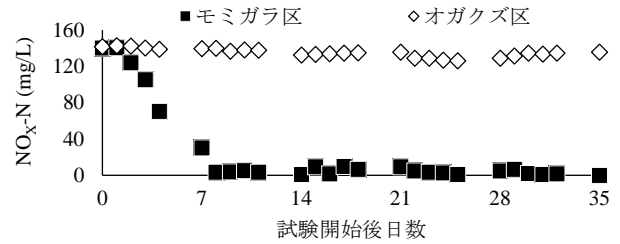


図6 モミガラ及びオガクズ添加が模擬汚水中の窒素濃度低減に及ぼす効果(試験3)

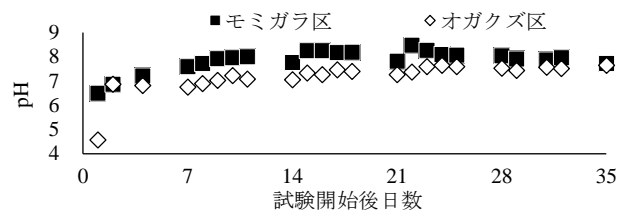


図7 モミガラ及びオガクズ添加と模擬汚水中のpHとの関係(試験3)

始19日以降明らかな漸増となったのに対して、竹粉ALC添加区は試験開始34日後まで10 mg/L以下が維持され、それ以降漸増傾向となった(図4)。TOCは竹粉ALC無添加区で試験開始15日後に252 mg/L、竹粉ALC添加区は試験開始8日後761 mg/Lとピークに達した後に漸減傾向となった。試験開始30日後には竹粉ALC無添加区が71 mg/Lまで低下したのに対して、竹粉ALC添加区は301 mg/Lとなった(図5)。なお、模擬汚水中のTOCは竹粉ALC無添加区では0 mg/L、竹粉ALC添加区では580 mg/Lであった。このことから、竹粉から溶出する易分解性有機物は試験開始直後に多く、脱窒に利用される以外に液循環による排液槽への流亡があり、経時的に減少すると考えられた。一般に窒素除去が順調に進むためには、C/N比の影響が大きく、汚水中の生物化学的酸素要求量/窒素比が3倍以上であることが必要とされているため、試験後半には竹粉から十分な有機物量が供給されなかったことが竹粉ALC無添加区の脱窒能低下の一因と考えられた。そのため模擬汚水中へのメタノール添加は竹粉の脱窒能持続性延長に有効と考えられた。脱窒関連遺伝子量は両区とも試験開始時よりも試験終了時に増加した。また、メタノール添加による差は認められなかった。

## 3 モミガラ及びオガクズの脱窒能調査(試験3)

オガクズを始めとする木質系資材及びモミガラが窒素低減に有効な資材であるという報告<sup>5-7)</sup>がある。本試験においてNO<sub>x</sub>-Nはモミガラ区で試験開始後から漸減し、試験開始8日以降10 mg/L以下が維持されたのに対してオガクズ区では、ほとんど低下しなかった(図6)。試験開始1日後及び試験終了時のTOCはモミガラ区が565 mg/L、441 mg/L、オガクズ区が886 mg/L、375 mg/Lであり、両区とも試験開始直後に竹粉同様炭素源となる有機物が供給され、時間経過とともに減少し、試験終了時においても脱窒槽内には脱窒に必要な炭素源が残存していたと考えられる。このことから、本試験に用いたオガクズは、炭素源の供給資材としては適しているが、試験開始時の脱窒関連遺伝子量が竹粉及びモミガラと比較し

表2 脱窒関連遺伝子量の推移(試験2及び試験3)

	nosZ (10 <sup>4</sup> copies/mL)			nirK (10 <sup>4</sup> copies/mL)		
	開始時	終了時		開始時	終了時	
		ALC 無添加	ALC 添加		ALC 無添加	ALC 添加
竹粉	612	7895	8903	2102	21048	33988
モミガラ	270	-	2784	432	-	39501
オガクズ	2	-	295	10	-	1397

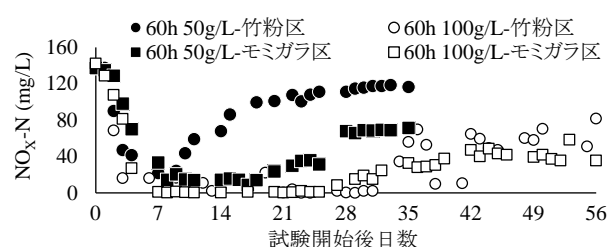


図8 HRT60時間における竹粉及びモミガラの添加量が窒素濃度低減に及ぼす影響(試験4)

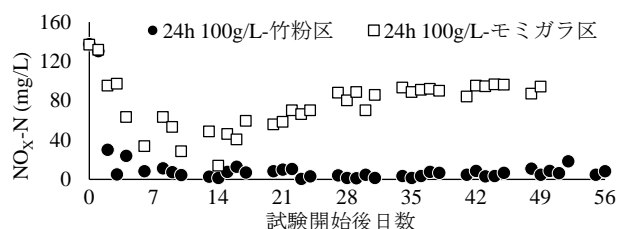


図9 HRT24時間における竹粉及びモミガラの添加量が窒素濃度低減に及ぼす影響(試験4)

で少量で増加も抑えられており(表2)、脱窒菌の担体として機能していないことが、窒素が低減しなかった原因と考えられる。オガクズは、その原材料の特性により脱窒菌の担体として機能に差があると考えられるが、本試験に用いたオガクズは、試験開始1日後にpHが4.6と脱窒の好適pH領域と報告<sup>8-10)</sup>されている中性から弱アルカリ性より著しく低下した(図7)ことから、pHが脱窒菌の増加に影響を及ぼした要因と考えられる。モミガラは竹粉と同等の脱窒効果がみられたが、試験開始当初、試験2の竹粉ALC添加区よりやや緩慢にDOの低下とNO<sub>x</sub>-N低減が進行した。このことはモミガラの脱窒関連遺伝子量は竹粉と比較して少ないことが一因と考えられた。一方で試験終了時には脱窒関連遺伝子量は増加し、特にnirKは竹粉と同等であった(表2)。このことからモミガラは竹粉とは脱窒菌の構成が異なることと、また脱窒菌の担体として機能して脱窒能が持続するものと考えられた。

#### 4 資材量及びHRTが脱窒能に及ぼす影響(試験4)

資材量が脱窒能に及ぼす影響をHRT60時間で検討したところ、NO<sub>x</sub>-Nが100 mg/L以上低下し40 mg/L以下となった期間は、竹粉は50g/L区で7~10日目、100g/L区で3~34日目であった。一方、モミガラは50g/L区で7~25日目、100g/L区で4~42日目であった。このことから資材量が増加すると脱窒が速まるとともに脱窒効果が延長できることを確認した(図7)。TOCは各区とも試験終了時に350 mg/L以上あり、試

験終了時においても脱窒槽内には脱窒に必要な炭素源が残存していると考えられた。このように資材量を増やせば脱窒能が持続することが考えられるが、資材の容積重が竹粉は115 g/L、モミガラが116 g/Lであるため、本試験装置及び規模では100 g/L程度の投入が限界と考えられた。

HRTが脱窒能に及ぼす影響を資材量100 g/Lで検討したところ、NO<sub>x</sub>-Nが40 mg/L以下となった期間はHRT 24時間の試験では、竹粉で2~56日目、モミガラで6~16日目(途中40 mg/L以上の日あり)であった(図8)。HRT60時間の試験と比較すると竹粉で大幅に窒素低減期間が延長したのに対してモミガラでは短縮した。HRTは脱窒プロセスの効率に大きな影響を与えるため<sup>9)</sup>、HRTを見極める必要がある。HRTの短縮により嫌気性細菌である脱窒菌が呼吸するために必要な硝酸及び炭素源の供給量の増加が見込まれる。その一方で脱窒槽の容積当たりの処理すべき硝酸性窒素が増加し、脱窒反応時間の短縮や微生物及び可溶化した基質の流失の増加も見込まれる。これらのバランスを考慮することが重要であるが、今回HRTを短縮した竹粉で大幅に窒素低減期間が延長した要因については更なる研究が必要である。

#### 引用文献

1. 瀧澤秀明, 星野佑太, 鈴木良地, 堤公生, 豊島浩一. 竹粉を利用した畜産汚水の窒素低減技術. 愛知農総試研報. 51, 123-126(2019)
2. 建設省都市下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部. 下水道試験法(上巻). 日本下水道協会. 東京. p.1-812(1997)
3. 溝添暁子, 竹田智和, 里岡嘉宏, 西原基樹, 中田一則. 竹粉を利用した排水処理材の開発. 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研報. 53, 5-8(2008)
4. 有馬 啓, 田村学造. 生物による環境浄化. 財団法人東京大学出版会. 東京. p.159-174(1980)
5. Shao, L., Xu, Z. X., Jin, W. and Yin, H. L. Rice husk as carbon source and biofilm carrier for water denitrification. Polish J. of Environ. Stud. 18(4), 693-699(2009)
6. Hashemi, S. E., Heidarpour, M. and Mostafazadeh-Fard, B. Nitrate removal using different carbon substrates in a laboratory model. Water Science & Technology. 63(11), 2700-2706(2011)
7. Warneke, S., Schipper, L. A., Matiassek, M. G., Scow, K. M., Cameron, S., Bruesewitz, D. A., and McDonald, I. R. Nitrate removal, communities of denitrifiers and adverse effects in different carbon substrates for use in denitrification beds. Water Reserch. 45, 5463-5475(2011)
8. 北尾高嶺. 生物学的排水処理工学. コロナ社. 東京. p.241-255(2003)
9. 井出哲夫. 水処理工学-理論と応用-(第二版). 技報堂出版株式会社. 東京. p.296-303(1993)
10. 吉村二三隆. これでわかる水処理技術. 工業調査会. 東京. p.131-140(2002)