

## セメント固化微生物製剤による廃水処理技術の検討

Evaluation of Waste Water Treatment by Cement Microorganism Formulation

田中 孝国, 齋藤 央樹\*, 須見 将太\*\*, 福井 悠太\*\*\*

Takakuni TANAKA, Hiroki SAITOU, Shouta SUMI, Yuta FUKUI

### 【緒言】

日々大量に排出される生活廃水, し尿中には環境及び人体に強い悪影響を及ぼすアンモニア性窒素が多く含まれていることが知られている。水処理場に送られた, もしくは環境中に放出されたアンモニア性窒素は, 無機性窒素と排水中の炭素源を酸化する亜硝酸菌 (Nitrosomonas属など) と硝酸菌 (Nitrobacter属など) により好気条件下, 以下の(1), (2)の式でまず硝酸性窒素に変換される<sup>1)</sup>。

亜硝酸菌:  $\text{NH}_4^+ + 1.5\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$  (1)

硝酸菌:  $\text{NO}_2^- + 0.5\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$  (2)

(総括反応式:  $\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ )

続いて, 嫌気条件下 (無酸素条件下) において, 通性嫌気性菌である脱窒菌によって, 硝酸性窒素が窒素ガスに変換される。ただし, 脱窒菌は好気条件では酸素を使用してしまい脱窒を行わない。よって脱窒を行わせる場合は, 嫌気状態で用いられる<sup>1)</sup>。

脱窒菌:  $2\text{NO}_3^- + 10\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{OH}^- + 4\text{H}_2\text{O}$  (3)

通性嫌気性菌である脱窒菌の例として *Pseudomonas* が上げられる。中でも良く知られているのが *P. stutzeri* であり, 活発に研究が行われている。脱窒菌は硝酸を窒素ガスに変換する際に, 炭素源を要求することが知られており, 通常は廃水中の有機物が利用されるが, 不足する場合は多く律速段階になりやすい。現在は経済性の点から安価なメタノールが注入される。しかし

原油価格の高騰などにより, 薬品としてのメタノール価格が上昇したことで代替物の必要性が高まってきているのが現状である。

脱窒活性が非常に高いとされる炭素/窒素の比は, 3.0~3.5と言われている<sup>1, 13, 17)</sup>。また, 炭素源代替物として, エタノール・クエン酸・グリセリン・ポリカプロラクタン<sup>9)</sup>などが用いられているが, 価格の点からメタノール代替物とするのは難しい。その一方で, 廃車不凍液で環境汚染物質にもなっているエチレングリコールを炭素源として使用した報告<sup>10)</sup>がある。この報告によれば, エチレングリコールの分解とともに脱窒が同時に進み, 炭素/窒素比が2.0前後の活性が非常に高かったとされている。このように難分解性の物質であっても, 炭素源であれば脱窒菌は資化することが可能である。他に廃液を炭素源とした例として, 缶詰工場シロップ廃液<sup>14)</sup>や焼酎製造廃液の例が見られるが, “安価”・“定期的に入手可能”は実現できているものの, 保存しやすく, 安全であり (可燃性ではない), 添加によって二次汚染を起こしにくい, 等の条件を全て満たす製品の開発は, まだ発展途上である。

我々は, 乾燥生ゴミ廃材 (共同研究先より提供, 野菜などで構成されている, 廃材と略) の代替炭素源としての利用性について, 地元企業と共同開発を行っている (2007年度より継続中)。この廃材は肥料以外の使用用途が極めて狭いものの, 炭素源としてタンパク質や糖質をそれぞれ20%前後 (炭素源としては合わせて30%以上) 含んでいるため, 有効利用することにより処分費の削減につながることが期待されたからである。廃材自身も脱窒菌の代替炭素源になる可能性のあることが学外共同研究者によって解明されている (データは未記載)。

しかし乾燥状態で供給される廃材は, 水に浮

\*2009年度 小山高専 物質工学科5年

\*\*2008年度 小山高専 物質工学科卒業

\*\*\* 2008年度 小山高専専攻科 物質工学専攻修了

遊しやすい欠点を持つ（1mm以下の不定形粒子サイズ）。一般に脱窒作用を持つ細菌は通常の培養槽では浮遊しやすい<sup>11)</sup>ため、廃材に付着して資化しつつ脱窒を行ったとしても流出しやすく、分解速度を高く保つことが可能な高密度培養系になりにくい。従って、脱窒作用を持つ細菌を高濃度で添加すると同時に、細菌と栄養源（廃材）の保持を同時に行うことが必要不可欠である。

本実験では、安価なバインダーとして何種類かを試した後、セメントを用いた試作品を作製した。セメントにより生分解性の廃材を固化し有効利用する試みは、水処理剤<sup>16)</sup>、抗菌剤<sup>7)</sup>、敷設材<sup>8)</sup>、試料<sup>3)</sup>等があるため有効な方法であると考えられた。ただし、今回バインダーとして使用したセメントはポルトランドセメント（JIS R 5210）である。このセメントは空気中/水中問わず、固化した後に中性化を行い劣化していく。その際に、アルカリ成分が固化物の周囲に広がることが知られている。従って、処理水の環境を強アルカリ下に変えないよう、セメント濃度の調整を行った。

本報告では、この脱窒菌 *P. stutzeri* と生ゴミ廃材を複数のバインダーで固化させ、セメントを用いた場合について、ブロック状の微生物製剤を試作し、その脱窒効果について評価試験を行ったので報告する。

### 【実験方法】

まず、脱窒菌 *P. stutzeri* (NBRC13596) を入手し、NBRC指定に従って、好気下で振とう培養を24時間行い増殖させた。増殖後の培養液100mLを遠心（10,000rpm、1min）して2倍濃度の培養液を作成し、それを既知のバインダーと混ぜ合わせて固化させた。バインダー（ゲル化剤とも称される）試験として、今回は特許等を中心に調査した結果、ポリビニルアルコール#2000（PVA、アズワン株式会社）、カルボキシ・メチル・セルロース（CMC、関東化学株式会社）、寒天（WAKO）<sup>15)</sup>、白色セメント（サンホーム株式会社製）の4種を試験的に採用することにした<sup>3-6)</sup>。これらを採用した理由は、バインダーにより二次汚染を起こさず、使用後は生分解により再び自然に戻る事が可能な素材であったからである。

まず、PVAとCMCについてはパン型造粒機

（ASONE, PZ-01R）にて、廃材に対してバインダーを重量比で3%の割合（試薬の添付書通り）になるように混ぜ合わせた。混ぜ合わせる際は、少量の水を霧吹きでかけながらステンレス製のパンの部分の約100rpm程度のスピードになるように回転させた。最大で約10時間の反応を行い、固化（造粒）の様子を観察した。寒天は0.5重量%濃度になるように廃材と混ぜ合わせ、120度で加熱後に寒天が固まる寸前の約45度まで湯浴にて温度を下げた後、脱窒菌と混ぜ合わせて固化を行い作製した（クリーンベンチ内で無菌操作にて行った）。

続いて、セメントの重量に対して、廃材を0%・25%・50%・75%の割合になるように添加し、練り上げて約20×15×15mmの箱に入れて、固化及び乾燥を行った(図1)。



図1 “セメント+廃材(図中の%) +脱窒菌”  
を混ぜて乾燥させた微生物製剤

それぞれの試作品を作製後、もっとも完成度の高かったセメント製剤に関して、その脱窒性能の試験を行った(図2)。窒素成分を含む模擬廃水であるGiltay培地（KNO<sub>3</sub>を主窒素源とする培養液、表1及び2を混ぜて1.0Lで調整した）<sup>8)</sup>の硝酸性窒素分解実験（脱窒）を嫌気下で行った。

Giltay培地はpH7.0～7.2に調製し、培養は温度25度、攪拌速度70rpm、Ar通気により嫌気状態においた。培養中はpHと脱窒菌濃度（乾燥重量）、硝酸性窒素濃度の3項目の測定を行った。硝酸性窒素濃度は迅速水質分析計DR/850（HACH社）を使用して測定した。培地の交換はFill and Draw法（沈殿させて上澄みを除去後、新しい培地を入れる）にて行った。

表1 Giltay培地の組成A

| 脱窒細菌用培地 (Giltayの培地) - A |       |
|-------------------------|-------|
| KNO <sub>3</sub>        | 1.0g  |
| L-アスパラギン                | 1.0g  |
| BTB溶液(1w/v%)            | 5.0mL |
| Distilled water         | 500mL |

表2 Giltay培地の組成B

| 脱窒細菌用培地 (Giltayの培地) - B              |       |
|--------------------------------------|-------|
| クエン酸ナトリウム                            | 1.0g  |
| MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O | 1.0g  |
| FeCl <sub>3</sub> ・6H <sub>2</sub> O | 0.05g |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | 1.0g  |
| CaCl <sub>2</sub> ・2H <sub>2</sub> O | 0.2g  |
| Distilled water                      | 500mL |



図2 脱窒菌ブロックを用いた脱窒実験  
(培養液量3Lで実験 in 5Lジャーファーマンター)

### 【結果と考察】

まず、4種のバインダーによる廃材及び脱窒菌の固化実験を行った(表3)。

PVAを用いた場合、パン型造粒機により12時間以上固化を行ったが、PVA割合を10%以上に上げても粒子径は1~2mm程度にしか成長せず、PVAによる固化は困難であることが判明した。続いて、CMCを用いて同様の条件で固化したが、添加10%以下ではPVAと形状は変わらなかったが、10%以上添加し、乳鉢などで練り合わせることで、20mm以上の塊が作製できた。しかし、手間がかかること、乾燥が進むと亀裂が入りやすく保存が極めて難しかったことなどから、今回はこの試薬を採用しなかった。

次に寒天を用いて脱窒菌と廃材を混ぜ合わせた。寒天濃度は通常の細菌をプレーティングする濃度0.3%程度より固めの0.5%にして作製を行った。この方法は、PVAやCMCより安価で固く作製することが可能であったが、非常に腐敗しやすく、4度冷蔵下であっても保存が難しかった。従ってこの方法も今回は採用しなかったが、保存方法を確立出来れば、使用を検討しても良い方法であると考えられた。

最後に、セメントを用いた固化実験を行った。固化には2~3日必要であったが、PVAやCMCよりも強固な塊になった(図1,3)。作製当初よりも乾燥後は縮み、図3のように凹凸の激しい形状になった。この方法のコストは他の方法よりも非常に安価であった。乾燥後は室温で放置していても腐敗などの現象は全くなく、極めて保存性の高い微生物製剤が完成した。ただし、セメントの濃度を40%以上にすると周囲を長期にわたって強アルカリ下にするという結果を示したため、今回は約25重量%以下の条件で作製を行った。

作製したセメント製剤は水系に浸した場合(図2の装置)、約1週間かけて形状を崩していき(図4)、その過程で脱窒菌の生存も確認出来たが前述の通り、セメント成分の溶出によりpHがアルカリ側に進行してしまうことが判明した(図5)。

表3 バインダーを変えた場合の固化条件の違い  
(水系：攪拌と曝気が伴った環境)

| 100gの微生物製剤作製を想定                                 |       |                   |            |
|-------------------------------------------------|-------|-------------------|------------|
|                                                 | 価格[円] | 成型時間              | 水系での形状保持期間 |
| PVA                                             | 164   | 造粒失敗              | 迅速に分散      |
| CMC                                             | 156   | 10時間以上            | 1~2日       |
| 寒天                                              | 60    | 5時間程度<br>(加熱など)   | 1~2日       |
| セメント                                            | 7     | 2日程度(乾燥<br>時間も含む) | ~1週間       |
| 固化後のサイズ及び形状保持期間は、<br>セメント > CMC, 寒天 > PVA となった。 |       |                   |            |

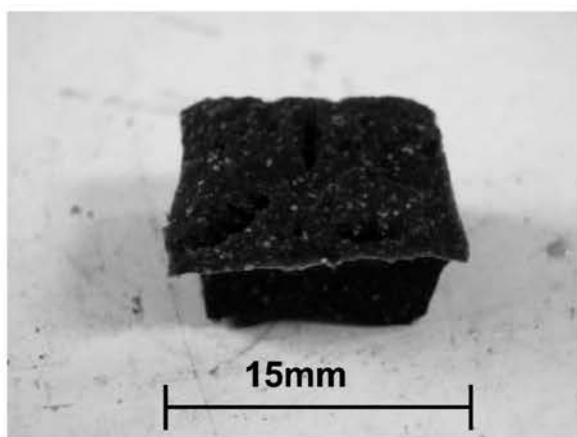


図3 作製した微生物製剤  
(25重量%セメント含有)

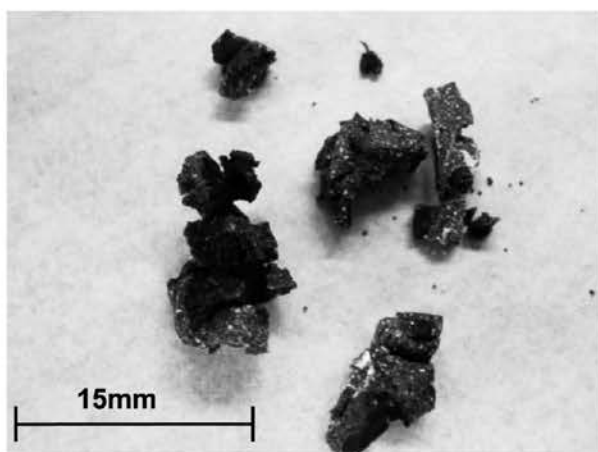


図4 5日後の微生物製剤を乾燥させた写真  
(図3の条件で作製、実験に使用)

図3の25重量%のセメント製剤は、pH範囲が7~8程度と安定であり、セメント成分を少なくした10重量%の時にアルカリ性pH9.0を示した。このアルカリ範囲は、使用した脱窒菌の生育範囲を超えるとされていることから、10重量%セメント濃度の固化条件は使用できない事が判明した。セメント成分が少ないが急にアルカリ性を示した理由として、セメント濃度10%の方は25%濃度のものより脆くすぐに分散し、ブロックを構成しているセメント成分が25%のものより流出しやすかったことによるものと考えられた。これはpH9.0を示した後、培地交換を経ると25%濃度のデータよりpHが低くなることから推測出来る。ただし、対照実験として行った、100%セメントブロックでの中性化実験では、開始2-3時間後からpH10前後を示したため、より詳細なセメント濃度の調整が必要であると考えられた。

以上の結果より、中性化を現状より抑えるセメント固化法として、低アルカリポルトランドセメント<sup>12)</sup>を使用することが考えられた。しかし、セメントを取り扱う複数の業者へ問い合わせを行ったが、入手不可能であったため、試作に至らなかった。

続いて図6は、セメント製剤中の脱窒菌が培養液中で増殖する様子を示している。このグラフから、廃材75% (セメント成分25%)の方が増殖良好であることが判明した。廃材90% (セメント成分10%)の方のpHがアルカリ側に傾いたことで(図5)、脱窒菌の生育に影響を及ぼしたと考えられる。脱窒菌のみの場合は、最大増殖時でも0.45mg/Lにしか到達しなかった結果と比較してみると、廃材75%は約2.0mg/Lと4倍になっていたことから、廃材は脱窒菌の増殖に強く影響していることが判明した。しかし、90%廃材(最大で約0.50mg/L)については明確な差が見られなかった。

これらの結果から、使用した廃材を固化する際は、迅速に分散させない量の固化剤が必要であることが示唆された。尚、脱窒が終わる7~10日後には、培養槽内の廃材の形状は見た目上、残っておらず全て資化されたと考えられるが、バインダーであるセメントは砂上となって培養槽に沈殿する現象が見られた。砂上成分の分解は不可能であるため、今後は取り除く方法もし

くは、生分解性を持つセメント以外のバインダーについて再度考察する必要がある。

図7は、作製した微生物製剤を用いた実際の硝酸性窒素分解実験である。このグラフより、約2週間経過後の硝酸性窒素濃度分解に差は見られないものの、微生物製材添加後の様子は大きく異なっている。両方とも経過時間は異なるが、硝酸性窒素濃度の分解を示す前に、一度大きく濃度を上昇させている。脱窒菌は硝酸性窒素を自ら産生して同時に増殖する傾向があるためである（分解に入る前のラグタイムと考えられる）。今回の実験ではセメント濃度によってこの段階のズレが生じた。ズレが生じた理由として、セメント濃度が低いと微生物製剤が分解しやすいため、微生物が培養液中に放出されて分解前に硝酸性窒素濃度を高めたことが考えられた。しかし、図6を見ると、廃材90%は脱窒菌の濃度が上昇しておらず、その後も廃材75%より高い濃度になっていないことから、この現象については今回の実験ではわからなかった。また、両方の微生物製剤とも、培地が交換されるたびに、脱窒菌の増殖と分解が連動して起こっていることが判明した。2週間以降は分解が早く、低濃度まで分解することも判明した（20日目のデータは約60mg/L）。一方で図6の脱窒菌濃度は1週目以降、ある一定濃度で推移し、高密度培養にはなりにくいことが判明した。高密度培養法については現在、検討中である。

今回の実験からでは、学外共同研究者の示した廃材成分による強い脱窒作用のデータが一致しなかった（増殖作用は確認した）。そのため、この微生物製剤を使用する際には、更なる栄養源の追加が必要ではないかと考えられる。現在、定期的に廃材のみを添加した時の実験法についても検討中である。

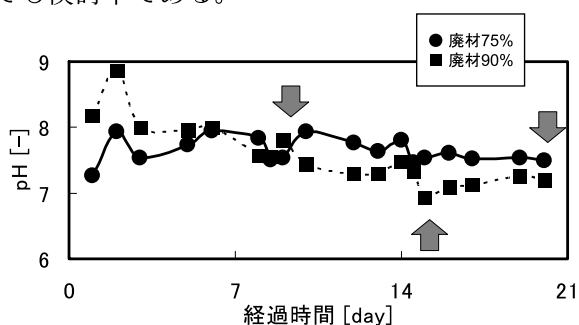


図5 廃材濃度を変えた場合の脱窒菌製剤の示すpH変化（図中の↑↓は、培地の交換を示す）

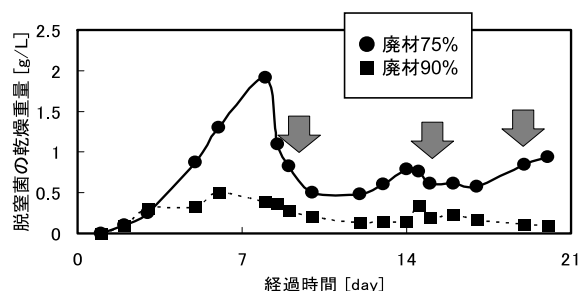


図6 脱窒菌製剤中の脱窒菌増殖の様子（図中の↑↓は、培地の交換を示す）

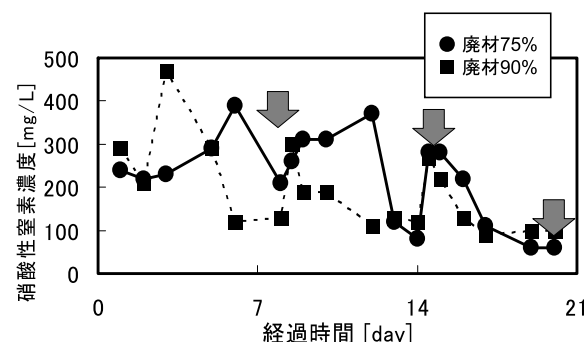


図7 脱窒菌製剤の示す硝酸性窒素分解の様子（図中の↑↓は、培地の交換を示す）

### 【謝辞】

様々な資料・ご助言を頂いた学外共同研究者である、群馬大学・中国瀋陽化工学院の名誉教授(現：足利工業大学総合研究センター・客員研究員)の大澤善次郎先生に感謝の意を表します。

### 【参考文献】

- 1) 森直道他：“高濃度アンモニア性窒素耐性菌による窒素処理技術”，化学装置，pp.36-41，(2004)
- 2) 和泉意登志編：“コンクリートの劣化と補修がわかる本”，pp. 10-19 (2005)
- 3) 特開2005-261299 水分吸着剤を利用したサイレージの製造方法
- 4) 特開2004-183348 雑草抑止マルチング材、マルチングキューブ及び雑草抑止方法
- 5) 特開2006-290977 生分解性樹脂組成物及び生分解性成形体
- 6) 中谷純夫他：“微生物の機能を利用した水質浄化(第2報)”，三重県環境科学センター研究報告 第18号、pp.1-8 (1998)
- 7) 特開2001-288022 卵殻を利用した抗菌剤および脱臭剤の製造方法

- 8) 須藤隆一編：“環境微生物実験法”，p.265，  
講談社，1997
- 9) 大澤善次郎他：“種々の高分子材料による排水  
中窒素の生物学的除去効果の比較”，マテ  
リアルライフ学会誌，Vol. 17，No.2，pp.67-  
71 (2005)
- 10) 本田善則他：“廃車不凍液の処理・利用に関  
する基礎的研究”，マテリアルライフ学会誌，  
Vol. 19，No.1，pp.38-43 (2007)
- 11) 田中淳一：“高度廃水処理用担体に付着する  
硝化細菌群の解明”，塗料の研究，No.139，  
pp.2-11 (2002)
- 12) 小谷昇：“コンクリートの知識(第四版)”，  
pp.2-8，技報堂 (1988)
- 13) 田中康男：“畜産排水対策”，畜産環境情報  
第42号，pp.3-10 (2008)
- 14) 嶋澤光一他：“回分式活性汚泥浄化処理にお  
ける缶詰シロップ廃液を活用した窒素除去”，  
日本畜産学会第106回大会講演要旨115  
(2006)
- 15) 特開2005-161285 脱窒素処理剤とそれを用い  
た脱窒素処理方法
- 16) 特開2000-233195 水処理用ろ材
- 17) 角谷弘雅他：“食品コンビナートにおける排  
水処理工程中の窒素およびリンの挙動”，  
用水と廃水，Vol. 48，No. 6，pp.74-79  
(2006)

小山工業高等専門学校 物質工学科  
E-mail: tanakatakakuni@oyama-ct.ac.jp

「受理年月日 2009年8月17日」