

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25289168

研究課題名(和文)高温型嫌気性生物反応を活用したエネルギー自立型新規高度廃水処理システムの開発

研究課題名(英文)Development of energy self-sustained advanced wastewater treatment system using anaerobic biological reaction

研究代表者

西村 文武(NISHIMURA, Fumitake)

京都大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60283636

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：排熱を生物反応に適用する場合を想定して、高温条件での生物反応器による物質変換特性への影響を調査した。高温条件でメタンの生成効率向上や乳酸発酵の効率化等、有機成分を資源として回収しやすくてできる反応を優先させることができた。アナモクス反応も35℃付近で効率化できることを示した。設定条件によりそれら反応が優先化する微生物叢が形成されることも確認した。結果としてエネルギー・資源回収を促進できることを示した。一方で、条件によってはN₂O発生などの副次的反応を促進される場合があった。目的とする反応の効率化と、副次的反応の発生リスクの低減化を図る操作が希求されるが、そのための基礎的情報を整理し、提示した。

研究成果の概要(英文)：Characteristics of biological transformation under high temperature condition with bioreactor for wastewater treatment were investigated. High temperature condition compared with that used in conventional process can promote biological transformation. For example, methane fermentation, lactic acid fermentation are prioritized under the higher temperature condition. Anammox reaction was promoted around 35°C condition. It is confirmed by molecular biological technique that some microbial flora which can make the biological reaction was formed in each desirable condition. Energy and resource recovery can be conducted as results. On the other hand, some higher temperature condition can provoke undesirable adverse reaction such as N₂O production. Enhancement the efficiency of desirable condition avoiding undesirable adverse reaction is required, and the fundamental information was collected and organized as the useful knowledge in this study.

研究分野：水環境工学

キーワード：高温嫌気性生物反応 メタン発酵 嫌気性アンモニア酸化 亜酸化窒素 乳酸発酵 微生物叢解析

1. 研究開始当初の背景

嫌気性反応は、曝気が不要であり生成するメタンがエネルギー源として再利用できるなど、省エネルギー・創エネルギー型生物学的廃水処理システムを構成する中核反応として、関心が高まりつつあった。また窒素除去反応においても嫌気性アンモニア酸化反応(アナモクス反応)が見出され、従来の生物学的硝化脱窒法に比べて、曝気エネルギーを大幅に削減できかつ必要有機剤量やアルカリ量を削減できるなど、嫌気性反応を活用することで省エネルギー・省資源型廃水処理システムを構成できることがわかり、その実廃水処理への適用が期待されてきた。メタン発酵やアナモクス反応などの嫌気性発酵に関する知見は従来から多く集積されいたものの嫌気性反応の短所は反応速度が小さいことであり、長時間の反応時間を要することから結果的に施設規模を大きくせざるを得ない事情があり、その普及が広くなされているとは言えない現実があった。生物反応を促進する手法のひとつに操作温度を上げる方法があるが、近年 80 に近い反応場をシステム内に設定することでメタン発酵の前段階である固形物の可溶化・酸発酵を促進させることがわかり、温度条件を上げることで反応システム全体の効率化を図るとともに、系内での微生物群が超高温条件に適應できる群集形態になることから、システムの安定化やウイルスや病原性菌などの排除を行いうるなど付随的な長所があることも明らかになってきていた。

一方で、メタン発酵後の脱離液にはアンモニア性窒素が高濃度で含有されているが、アンモニアの一部を亜硝酸に酸化させることで、アナモクス反応の適用が可能となる。アンモニアを硝酸化させず亜硝酸までの酸化で留めることは、アナモクス反応の必要条件であるが、安定的な亜硝酸化は困難であり、これまでに pH 制御(アルカリ条件下での制御)や加熱処理、DO 制御が有効な処理方法であるといわれている。高温メタン発酵プロセスに接続することで、アルカリ条件や低 DO 条件が達成しやすくなることから、亜硝酸型硝化反応が達成されやすくなることが期待でき、またメタン発酵と同様に嫌気性反応であることから反応速度が小さいアナモクス反応も、温度上昇を行わせることでその反応速度の上昇が期待できると考えられた。

温度制御に必要な熱源は生成したメタン燃焼や産業プロセスにおける排熱利用が考えられ、メタン回収率の高効率化と併せ、結果としてエネルギー抑制型プロセスとなり、温室効果ガスを抑制することにも結びつくものと考えられる。とりわけ下水には未活用エネルギーが内在していること、また、地域で発生する有機性廃棄物を集約して混合消化させることで、有機性廃棄物の利用やその促進を図りうるとも考えられた。温度制御は熱源があれば比較的行いやすいと考えられ

るが、一方で生物反応は、基本は酵素反応であるため、至適温度条件があると考えられ、全体としてはある程度の温度上昇が反応を促進するとは考えられ期待されるが、一方で、その結果として生じる生物反応系がどのような状態として定着しうるのかについては、十分な知見がなく、とりうる実装化条件を想定した個々の調査研究が必要となる。

2. 研究の目的

そこで、温度制御という比較的制御しやすい手法により、嫌気性生物反応の短所である低反応速度を補完しうる、高温嫌気性生物反応を用いた廃水処理システムの構築を目指し、関連する基礎的知見を収集することを目的とした。具体的には以下の点について、実験を行い解明することを目的とした。

- ・嫌気性生物反応の具体的活用法である、メタンや各種有機酸の生成をについて、廃水や廃棄物からのエネルギーや資源回収を想定し、用いる微生物反応条件を高温条件としたときの生物反応系の応答を解明する。解析には菌叢解析など、分子生物学的手法等を活用する。

- ・嫌気性アンモニア酸化反応(アナモクス反応)における反応特性や温室効果ガス(亜酸化窒素: N_2O)発生特性を調査し、その特性を把握するとともに、温度変化の影響を明らかにする。

3. 研究の方法

基本的にはラボスケールの実験を設定して、連続培養・処理実験を実施し、構成される微生物叢による反応特性や、菌叢の変化、特徴を分子生物学的手法のひとつであるパイロシーケンス法等を活用して行った。メタン発酵に関しては、下水汚泥や有機性産業廃棄物であるコーヒー飲料製造工程で発生するコーヒー滓を対象としたラボスケールでの発酵実験を行った。その例として、メタン発酵システムと調査用の回分実験装置を図-1および2に各々示す。

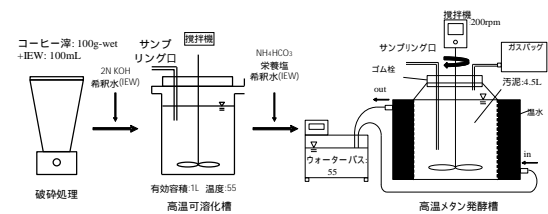


図-1 連続処理実験装置概要図

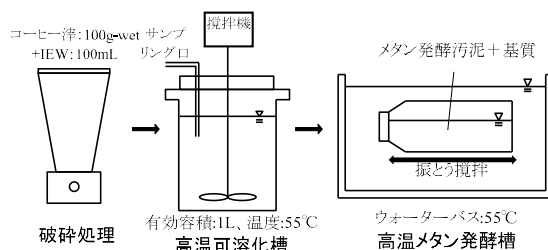


図-2 回分式実験装置概要図

汚泥を対象とした実験も同様の装置を用いた。またアナモクス反応時の処理特性や、 N_2O 発生特性については、図-3に示す単槽型アナモクス反応器を4槽直列で連結させた反応器システムあるいは、単槽を用いて、連続的な処理実験を行うとともに、回分式実験も併用した。

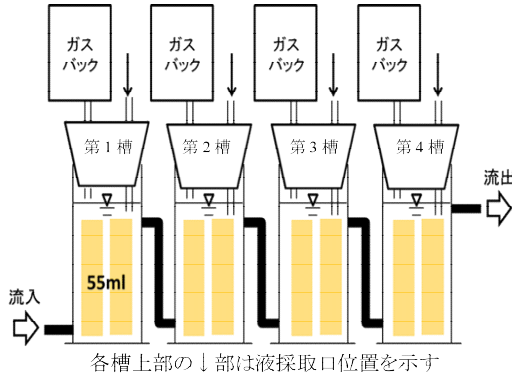


図-3 連続式アナモクス反応器概略図

4. 研究成果

結果の例について、以下に示す。

(1) 嫌気性反応について、高温メタン発酵例として、汚泥、生ごみとコーヒー滓の混合消化を行った。図-4にコーヒー滓を基質とした場合の連続処理実験結果を示した。また各条件(term)毎に測定した微生物種の構成割合情報を元に、類似性および相違性に関して主成分分析を行った。結果を図-5に示した。高温メタン発酵条件下においては、メタン生成菌量はTerm Aにおいて増加し、Term A後半には菌量はほぼ一定となり、その後も維持された。菌量の推移とメタン転換率の推移には強い相関関係は見られなかったことから、メタン生成菌の活性が低下していた可能性が考えられた。一方、Term Aにおいて運転開始後まもなく菌叢は推移し始め、運転開始後30日あたりから菌叢が安定した。これと比較して、全Termでは生ごみの添加後菌叢は変化し、別の菌叢で安定していることがわかる。これらの結果から、生ごみ添加により増減する菌種が存在しており、この菌叢の変化から、処理が安定する一方でコーヒー滓の分解速度が低下している可能性も考えられた。共発酵による処理の安定性の向上が確認された。

高温嫌気性消化では、汚泥や有機性廃棄物としてのコーヒー滓の投入は汚泥のメタン発酵量を増大させる可能性があることが示された。一方で、コーヒー滓の割合を高くすると、発酵中間代謝物によるメタン発酵への阻害が生じることがわかり、阻害回避策として、活性炭の活用が有効であることの知見を得た。また次世代シーケンサを用いた菌叢解析を行い、生ごみなどの投入による共発酵を行うと、菌叢も投入基質条件に応じた菌叢に変遷していくことが観察され、生物反応槽に

よる処理には、菌叢の変遷と安定化が関与している実態を把握した。

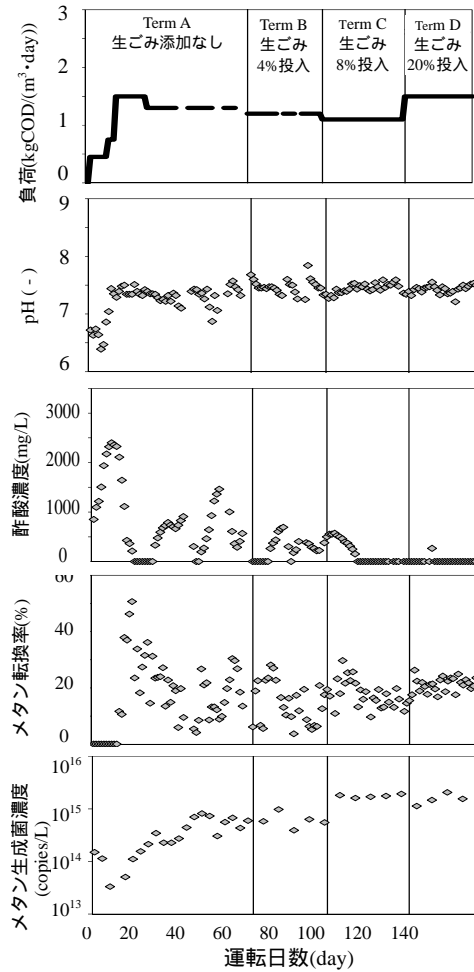
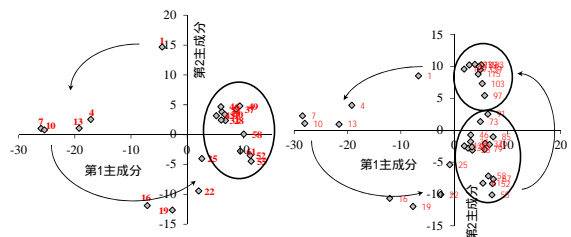


図-4 連続処理実験結果



(左図：TermA 右図：全Term)

図-5 主成分分析結果

(2) その他、高温嫌気性条件下における有機酸発酵特性について反応器内の微生物解析を行った。まずラボスケールの反応器を用いて発酵を行った。基質としてグルコースや模擬生ごみ、米や下水汚泥などを用いたケースを設定した。既往研究(Akaoら: Wat. Res., 41, 2636-2642, 2007)と同様の条件での乳酸発酵を基本とし、水素発酵汚泥を植種した系も設定した。これらは、pH 5.5 および 55 の条件下とした。微生物群集解析は、パイロシーケンシング法 (Genome Sequencer FLX Titanium system, 454 Life Sciences)を用いて行った。遺伝子は PowerSoil DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Inc.)を用いて抽出し、

プライマーは Primer A-Key-MID-27F および Primer B-Key-519R を用いた。96%の相同性により操作的分類単位(OTU)を整理し、DNA Data Bank of Japan (DDBJ)の BLAST で検索した。その結果、グルコースを用いた乳酸発酵系では、従来のランダムクローニング法による分析結果(Hidaka ら : Wat. Res. 44, 2554-2562, 2010)と同様に、検出された OTU のほとんどが *B. coagulans* に近縁であった。生ごみを用いた乳酸発酵系でも、*B. coagulans* 近縁種の優占が確認された。一方、水素発酵系では *Clostridium* 近縁種が、メタン発酵系では *Thermotogaceae* 近縁種が、多く検出され、発酵生成物やでんぷんの糖化効率が異なる系で、微生物群集が大きく異なることがわかった。これらは温度や基質を制御したものであり、その他の条件は特に設定せずに行った。しかし、特徴的な微生物叢が形成され、結果として乳酸発酵が卓越するなどの現象が確認された。高温条件下において特異な生物反応場が、自発的に形成され、基質となる廃棄物や廃水中の汚濁物が有する、資源としての活用性やエネルギー再利用に活用しうるケースを例示することができた。

(3) 嫌気性アンモニア酸化反応(アナモクス反応)における反応特性や温室効果ガス(N_2O)発生特性について、実験結果例を図-6~8に示す。図-6には、4槽連続反応器システムにおける各槽内の反応槽あたりの無機態窒素除去速度の推移を示す。運転開始から約15日目から無機態窒素の減少速度が各槽で増大していき、約40日目にはリアクター全体の除去速度は 200mgN/day ($800\text{gN}/(\text{m}^3 \cdot \text{day})$)に達する結果となった。リアクター全体の負荷は、 300mgN/day ($1200\text{gN}/(\text{m}^3 \cdot \text{day})$)となるため、除去率は67%に到達していた。各槽で無機態窒素の減少は確認されていたが、前槽での無機態窒素の減少量の増大に伴い第2槽から第4槽での無機態窒素の減少速度が減少した。図-8に第1槽の N_2O 発生速度および第2槽から第4槽での N_2O 発生速度(見かけ値)の合計を示す。 N_2O の発生は各槽で見られ、運転開始直後は多量に発生していたが、運転を継続するにつれ発生量は減少していった。運転期間を通して第1槽での発生量が最も多かったが、無機態窒素の減少速度に関わらず N_2O の発生速度は安定していた。また、第2槽から第4槽においては、運転期間の後期には N_2O 発生速度は負となり、 N_2O が消費されていたことがわかった。図-9に運転終了直前の N_2O の発生、消費に関わる酵素を有する微生物濃度および N_2O の発生速度を示す。次世代シーケンサを用いた菌叢の調査から、第1槽内にはアナモクス菌だけでなく N_2O を発生する菌が約2%存在していたため、これらの菌が N_2O を発生させていたと推察された。しかし、 N_2O の発生と消費に関連する遺伝子を有する微生物は第1槽だけでなく、全ての槽で同程度の濃度で存在することが確認されているため、第1槽で N_2O が多量に発生したのは亜硝

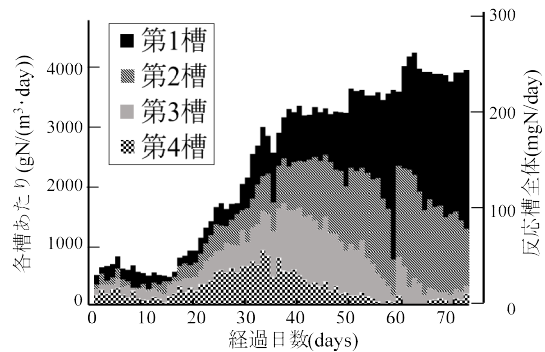


図-6 アナモクスリアクターにおける無機態窒素減少速度の推移

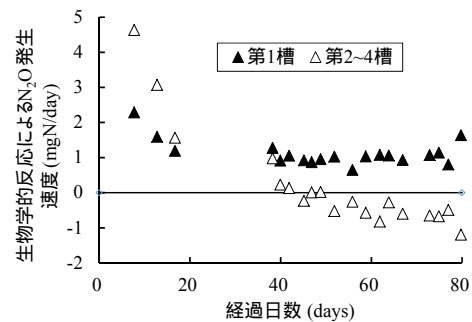


図-7 各槽内からの N_2O 発生速度の推移

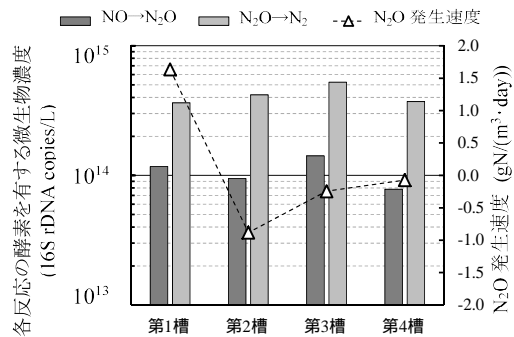


図-8 各槽内の各菌の存在量および各槽における N_2O 発生速度

酸性窒素濃度や微量の D_0 残存などの反応初期条件が関与した可能性が考えられた。反応初期段階の N_2O の抑制並びに、後半での N_2O 消費促進を図ることで、システム全体としての N_2O 発生抑制が達成できる可能性があることを明らかにした。

また、アナモクス反応におよぼす温度の影響についても調査した。ラボスケールの反応器の運転を行い、15 から 55 の範囲で反応槽内温度を制御した。55 条件下ではアナモクス細菌の保持が困難であり、反応器としては長期的な操作が成立しないことが分かったが、45 では反応は認められ、35 条件下では最も処理効率が高くなることが示された。25、15 条件においてもアナモクス反応は現出されることがわかったが、35 での反応効率が最も高かった。一方 N_2O 生成特性については45 条件での発生効率や発生量が最も高かった。適度な温度制御は反応の効率化

が図れる一方で、副次的反応を生じさせることがあり、それらの条件についても適切に把握して、処理全体の効率を上げる操作が求められることが示された。

エネルギー形態としては質が高くない熱を生物反応に適用する場合を想定して、高温条件での生物反応器による物質変換特性への影響を調査した。高温条件により反応効率を高めう一方、副次的な反応も生じやすくなる場合があることが明らかにした。メタンの生成効率向上や乳酸発酵の効率化等、有機性成分を資源として回収しやすくなる反応を優先させることができ、アナモクス反応も35℃付近で効率化でき、結果としてエネルギー・資源回収を促進できることを示した。一方で、条件によってはN₂O発生などの副次的反応を促進される場合があった。目的とする反応の効率化と、副次的反応の発生リスクの低減化を図る操作が希求されるが、そのための基礎的情報を整理し、提示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

西村文武、村角浩平、楠田育成、高部祐剛、水野忠雄、亜硝酸型硝化-ANAMMOX プロセスにおける亜酸化窒素の排出特性に関する基礎的研究、土木学会論文集、査読有、70巻、2014、100-125
http://doi.org/10.2208/jscej.70.111_243

西村文武、渡邊航介、高部祐剛、水野忠雄、コーヒー淳の高温メタン発酵における発酵阻害と阻害回避に関する研究、環境衛生工学研究、査読無、28巻、2014、51-24

Feng Wang, Taira Hidaka, Jun Tsumori, Enhancement of anaerobic digestion of shredded grass by co-digestion with sewage sludge and hyperthermophilic pretreatment, Bioresource Technology, 査読有, 169, 2014, 299-306
<http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.053>

Fumitake Nishimura, TREATMENT CHARACTERISTICS AND OPERATIONAL PARAMETERS OF A NEWLY DEVELOPED REACTOR WITH SLUDGE SEPARATION FILTER AND AIRLIFT PUMP FOR CARBON AND NITROGEN REMOVAL, Journal of Urban and Environmental Engineering, 査読有, Vol.8, No.2, 2014, 136-141
<http://doi.org/10.4090/juee.2014.v8n2.136141>

西村文武、萬泰一、コークス炉廃水含有物質の硝化および嫌気性アンモニア酸化反応(ANAMMOX)への影響に関する研究、環境衛生工学研究、査読無、29巻、2015、59-62

[学会発表](計5件)

西村文武、鉄鋼業廃水(コークス炉廃水)の部分亜硝酸化-アナモクス法による窒素除去特性に関する研究、京都大学-清華大学-JST CREST 日中環境技術共同研究・教育の促進に関するシンポジウム、2013年12月

西村文武、嫌気性アンモニア酸化反応における亜酸化窒素の挙動に関する研究、第17回日本水環境学会シンポジウム、2014年9月
日高平、下水汚泥と刈草の混合消化、第17回日本水環境学会シンポジウム、2014年9月

Taira Hidaka, Fumitake Nishimura, Hiroshi Tsuno: Effect of adaptation and microbial community on thermophilic saccharification and lactate fermentation from kitchen garbage and rice, The 24th Joint KAIST-KU-NTU-NUS Symposium on Environmental Engineering, Taipei, TAIWAN, 2015.6

日高平、赤尾聡史、西村文武、津野洋、津森ジュン、高温嫌気性有機酸発酵反応器の微生物解析、第18回日本水環境学会シンポジウム、2015年9月

Fumitake NISHIMURA, Characteristics of nitrogen removal and nitrous oxide emission through partial nitrification-anammox process, International Conference on Biofiltration and Bioconversion, (Biofiltration-2015), 中国・長沙、湖南大学、2015.7

Fumitake NISHIMURA: Nitrous Oxide(N₂O) Emission through Anammox, Process, Thailand - Japan Workshop on Wastewater and Water Treatment Technology, Kyoto, 2015.11

西村文武、アナモックス反応時の亜酸化窒素発生特性に関する研究、第53回下水道研究発表会、2016年7月

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村 文武 (NISHIMURA, Fumitake)
京都大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：60283636

(2) 研究分担者

津野 洋 (TSUNO, Hiroshi)
大阪産業大学・人間環境学部・教授
研究者番号：40026315

日高 平 (HIDAKA, Taira)
独立行政法人土木研究所・主任研究員
京都大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：30346093

水野 忠雄 (MIZUNO, Tadao)
京都大学・大学院工学研究科・講師
研究者番号：00422981

高部 祐剛 (TAKABE, Yugo)
京都大学・大学院工学研究科・助教
独立行政法人土木研究所・研究員
鳥取大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：70625798

(3) 連携研究者

なし