

平成21年 5月22日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18310054
 研究課題名 (和文) 部分的硝化脱窒法を取り入れた省エネ型膜分離活性汚泥法の開発
 研究課題名 (英文) Development of energy saving membrane bioreactor
 using partial nitrification and denitrification
 研究代表者
 松本 幹治 (MATSUMOTO KANJI)
 横浜国立大学・大学院工学研究院・教授
 研究者番号：30011224

研究成果の概要：硝化脱窒の反応経路を NO_3^- 経由から NO_2^- 経由とすることで、浸漬型膜分離活性汚泥リアクターの運転に必要な曝気量を 28%削減することに成功した。本結果は、硝化反応を NO_2^- でとめる部分的硝化の導入が、膜分離活性汚泥法の省エネルギー運転に有効であることを実証するものであった。また同成果に付随して、部分的硝化の制御因子、 NO_2^- 経由の硝化脱窒に関わる微生物群集、膜ファウリングの制御等に関する知見を得たので、併せて報告する。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2007年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	15,500,000	4,650,000	20,150,000

研究分野：化学工学

科研費の分科・細目：環境学／環境技術・環境材料

キーワード：膜分離活性汚泥法 (MBR)、硝化脱窒、曝気量、アンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌、脱窒細菌、イオン電極、ファウリング

1. 研究開始当初の背景

微生物による排水処理法として汎用される活性汚泥法では、処理の最終段階で重力沈降により処理水と活性汚泥を分離する。しかし近年、その重力沈降を膜分離に置き換えて分離を行う、膜分離活性汚泥法(MBR)の開発が進んでいる。MBR では重力沈降のための沈殿池が不要なほか、その高い固液分離能により高濃度の活性汚泥を処理槽内に維持できるため、重力沈降を行う従来の活性汚泥法に比べ敷地面積あたりの処理量が大きいという長所がある。栄養塩(窒素, リン)の除去

など、年々処理の高度化が求められる排水処理では、処理設備が拡大傾向にある。そのため一部の下水処理場では、活性汚泥による窒素除去法(硝化脱窒法)と MBR を組み合わせた処理法(以下 NDMBR とする)が導入され始めた。

MBR が抱える最大の課題として、過剰な空気の供給(曝気)がある。これは従来の活性汚泥法と同様、排水中の有機物やアンモニア態窒素を酸化する際に必要となる“処理槽への酸素供給”目的のほか、処理槽に浸漬した膜に付着する活性汚泥をはがす“膜洗浄”の

目的においても曝気が必要となるためである。従来の活性汚泥法においても、処理全体に要するエネルギーの大半を曝気操作で消費すると言われる。よって膜洗浄のためさらに1~2倍の曝気が必要な MBR では、曝気を抑えることが処理コストおよび環境負荷を下げる上で重要な課題だと言える。

他方排水から活性汚泥で窒素を除去する新たな方法として、近年“Partial nitrification(部分的硝化)”が注目されている。硝化とは、 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ という一連の酸化反応を指すが、部分的硝化とは硝化を NO_2^- で止める操作である。部分的硝化を適用した場合、従来の硝化脱窒法における反応経路 ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$) は、 NO_3^- を經由しない部分的硝化脱窒の経路 ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$) に短縮される。その結果、下線部の酸化・還元反応が必要とされる電子受容体(酸素)および電子供与体(有機物)は不要となる。つまり処理工程での曝気や有機物添加が減り、従来の硝化脱窒法に比べ、エネルギー消費やコスト面で有利な処理法となる。

2. 研究の目的

本研究の最終目標は、上記の「MBR」と「部分的硝化脱窒法」を組み合わせた、省スペースで曝気量の少ない窒素除去法の開発である。部分的硝化脱窒法を MBR に取り入れることにより、従来の NDMBR が持つ省スペースという特長に加え、NDMBR よりも曝気に要するエネルギーやコストの低い処理が実現できると考えた。この部分的硝化脱窒法と MBR を組み合わせた処理法(以下 PNDMBR とする)の実用化に向け、本研究課題では以下の3項目について研究を行う。

- (1) PNDMBR による曝気量の削減効果を実験により検証する
- (2) PNDMBR の排水処理性能を評価するとともに処理速度に影響を及ぼす微生物群集を解析する
- (3) 膜の目詰まり (ファウリング) についてその制御方法を検討する

3. 研究の方法

上記研究の目的 (1)-(3) を達成するため、下記 (1)-(4) の研究を行った。研究の目的3項目と研究の方法4項目の対応を以下に示す。

- ・研究の目的(1)：研究の方法(1)
- ・研究の目的(2)：研究の方法(1), (2), (3)
- ・研究の目的(3)：研究の方法(4)

(1) 2槽式 MBR による排水処理実験

硝化を NO_2^- でとめたときと NO_3^- まで進行させたときの曝気量の比較を行うため、また硝化を NO_2^- でとめる条件の検討を行うため、硝化槽と脱窒槽からなる MBR により、排水

処理の実験を行った。

① 実験装置

実験に用いた反応槽は、有効容積 10 l の脱窒槽と有効容積 20 l の硝化槽の2槽であり、25℃の恒温水槽内に設置した。硝化槽には固液分離用の中空糸膜を浸漬させた。中空糸膜(三菱レイヨン)は公称孔径 0.4 μm 、膜面積 0.2 m^2 のポリエチレン (polyethylene: PE) 膜であった。膜ろ過は透過流束を 0.25 $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ に設定し、間欠運転 (12分吸引-3分停止) により行った。硝化槽にはまた pH 電極 FX-300H (東興化学研究所) および溶存酸素計 DO-24P (東亜 DKK) を設置し、pH は 8.0 ± 0.1 、DO は 0.35-2.0 $\text{mg} \text{ l}^{-1}$ の範囲で制御を行った。また硝化槽内には 2 つの拡散器を設置した。一方は膜洗浄用として一定流量で曝気を行い、他方は DO 計と連動させ、DO が上記の設定値より低下した際に曝気を行うものであった。両拡散器による曝気量は、エアコンプレッサと拡散器の間に設置したマスフローメータ CMS0020 / 0050 (山武) により測定した。処理槽に植種した汚泥は都市下水処理場の高度処理 (A₂O) 系列より採取した。なお処理期間を通し、余剰汚泥の引き抜きは行わなかった。

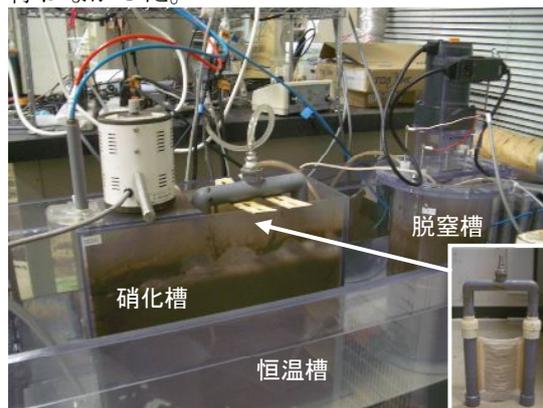


Fig. 1 実験に使用した MBR 装置

② 人工排水

人工排水、水道水、硝化槽の活性汚泥 (硝化液) を脱窒槽に流入した。人工排水は以下の試薬より調製した (CH_3COONa , Bacto Pepton, Bacto Yeast Extract, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, nutrient solution, NH_4Cl , KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)。水道水は脱窒槽に設置したレベルセンサーで流入を制御し、硝化液量は処理水量の3倍に設定した。

③ 運転方法

運転は 169 日間行った。添加する人工排水の NH_4^+ 濃度 ($\text{mgN} \text{ l}^{-1}$) と硝化槽内の DO ($\text{mg} \text{ l}^{-1}$) は下記のとおり変更した (Run0 (day 0-63): NH_4^+ 0-255, DO 0.35-0.65; Run1 (day 64-94): NH_4^+ 110, DO 2.0; Run2 (day 95-122): NH_4^+ 110, DO 0.6; Run3 (day 123-169): NH_4^+ 168,

DO 0.6)。

④ 化学分析

硝化槽より採取した活性汚泥サンプルをガラス繊維フィルターGB-140 (ADVANTEC)でろ過した後、NO₃⁻濃度、NO₂⁻濃度およびNH₄⁺濃度を測定した。NO₃⁻濃度、NO₂⁻濃度の測定にはイオンクロマトグラフLC-10A (島津製作所)を使用し、イオン交換カラムにはShim-pack IC-A3 (島津製作所)を用いた。NH₄⁺濃度の測定はインドフェノール法により行った。また硝化槽の活性汚泥のMLSSを下水試験方法に従って測定した。

⑤ 酸素消費速度の測定

反応槽内の汚泥のアンモニア酸化活性および亜硝酸イオン酸化活性を調べるため、硝化槽より汚泥を採取して濃度を4000 mg l⁻¹に調整し、酸素消費速度 (OUR) を測定した。測定には汚泥の培養とDOの測定とを別の槽で行う2槽式タイプの回分試験装置TSchecker (小川環境研究所)を使用した。測定方法は装置の説明書に従った。なおOUR測定時の基質として、NH₄Cl (20 mgN) またはNaNO₂ (20 mgN) を添加した。

⑦ 硝化細菌群集の解析

リアクター内の硝化細菌 (アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌) の遺伝子量をreal-time PCR法により測定し、硝化脱窒の経路との関連について調べた。また蛍光顕微鏡を用いたFluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法により亜硝酸酸化細菌の観察も行い、活性汚泥中におけるその存在を確認した。

(2) イオン電極による窒素処理性能の測定

膜分離活性汚泥装置内の硝化細菌の活性の変化を迅速に把握する目的で、イオン電極による活性汚泥中のNH₄⁺、NO₃⁻、NO₂⁻濃度変化の測定を検討した。

イオン電極にはアンモニアイオン電極 (TOADKK; AE-2041)、亜硝酸イオン電極 (Thermo Orion; 9546BN)、硝酸イオン電極 (TOADKK; N-2031)を用いた。これらの電極はサンプルとイオン強度調整剤を混合したのち測定する必要があるため、サンプルとイオン強度調整剤との混合部を有する流通式セルの開発も行った。また、DO電極 (TOADKK; OE-470BA)、pH電極 (TOADKK; GST-5741C)、ORP電極 (TOADKK; PDT-7521C)についても同時に測定に用いた。サンプル中の硝酸イオン濃度、亜硝酸イオン濃度、アンモニアイオン濃度は、イオンクロマトグラフィー、インドフェノール法により測定し、各電極による測定結果と比較した。測定対象液は、Fig. 1に示したMBRの脱窒槽から、汚泥を適量採取し、遠心分離により濃縮後MLSS:4000 mg l⁻¹となるように調整した。調製した汚泥1lをビーカーに入れ、NaNO₃もしくはNaNO₂を適量投入し、窒素曝気により溶存酸素濃度

を0 mg l⁻¹付近まで下げた。発砲スチロール製の蓋とpH電極、ORP電極、DO電極をセットし、同時にCH₃COONaを適量投入した時をt=0 minとした。一定間隔で、反応槽内の液をサンプルして硝酸電極、亜硝酸電極によりNO₂⁻、NO₃⁻濃度を測定した。

(3) 脱窒細菌群集の解析

NO₂⁻の還元反応 (脱窒反応) についても、別途回分式脱窒リアクターを運転し、その脱窒活性や脱窒を担う細菌群集について調べた。

① リアクターの運転

脱窒細菌解析用の活性汚泥反応槽にはSequencing batch reactor (SBR)を用いた。SBRの有効容積は6L、HRT、SRTはそれぞれ12hと6dであった。回分1サイクルは6hとし、流入工程(40 min)、脱窒工程(4.5 h)、沈殿工程(30 min)、排出工程(20 min)の4工程を行った。流入工程でSBRに添加した人工排水は、C₆H₁₂O₆ (or CH₃OH)、NaNO₃ (or NaNO₂)、NH₄Cl、KH₂PO₄、K₂HPO₄、2NaEDTA、MgSO₄·7H₂O、nutrient solutionより調製した。SBRには都市下水処理場のA₂Oプラントから採取した汚泥を植種して馴養を行った。運転期間前半は電子受容体としてNaNO₃のみを添加し、後半ではNaNO₂のみを添加した。脱窒工程で採取したSBR内の汚泥懸濁水のNO₃⁻濃度およびNO₂⁻濃度をイオンクロマトグラフで測定し、下水試験方法に記された計算式に従って脱窒速度を算出した。

② 脱窒細菌の解析

SBRから活性汚泥サンプルを採取し、FastDNA SPIN Kit for Soil (Qbiogene)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型に、脱窒の機能遺伝子をターゲットとしたプライマーセットを用いてクローニングを行った。各クローンより解読した塩基配列は、アミノ酸配列に変換した後、DNA data bank of Japan (DDBJ) が提供するプログラムClustal Wにより多重アライメントを行い、Neighbor-joining法を使って系統樹を作成した。

(4) ファウリング抑制方法の検討

1槽式のMBRを運転し、凝集剤の添加によりファウリングを抑制する方法を検討した。

① MBRの運転

有効容積10lのMBRを2槽用意し、一方には汚泥に無機凝集剤PFSを2.2 mM Fe、もう一方には汚泥にPFS 2.2 mM Feと有機高分子凝集剤を汚泥乾燥重量の0.1%分添加し、経時的に膜間差圧を記録した。運転時はグルコースを含む人工排水を添加し、Polyvinylidene difluoride (PVDF)の平膜 (東レ、細孔径0.08 μm、膜面積0.0288 m²)より間欠的に処理水を吸引した。運転0-5日目は処理速度を12 l

day⁻¹とし、6日目以降は処理速度を24 l day⁻¹にした。

② 化学分析

処理水中のグルコース濃度をグルコースキット(和光純薬)により測定した。またMLSSと汚泥を遠心分離にかけた上澄み水の濁度を下水試験方法に従って測定した。

③ 活性試験

凝集剤の汚泥の活性に対する影響を調べるため、TS checker(小川環境研究所)により汚泥のOURを測定した。測定は凝集剤添加前の汚泥と、添加して運転開始後の汚泥各槽に対して行った。OUR測定時の基質として、グルコース水溶液(10 mgC l⁻¹)を添加した。

4. 研究成果

(1) 2槽式 MBR による排水処理実験の結果

① PNDMBR の実践

NO₂経由の硝化脱窒を行うためには、リアクター内のアンモニア濃度と溶存酸素濃度の調整が重要であることを確認した。同濃度の調整により、膜分離活性汚泥リアクターにおいて、NO₂経由の硝化脱窒を行うことに成功した。Fig. 2には MBR 装置 (Fig. 1) 運転時の添加 NH₄⁺濃度 (NH₄⁺_{in}) と硝化槽の DO 制御値 (DO) および硝化槽の NH₄⁺濃度 (NH₄⁺_{out})、硝化槽の NO₃濃度と NO₂濃度の合計に対する NO₂濃度の割合 (NO₂/NO_x) の変化を示した。Run 3において、DOを0.6 mg l⁻¹、添加 NH₄⁺濃度を168 mgN l⁻¹に調整した結果、NO₂/NO_xは90%に達した。

この硝化をNO₂でとめる部分的硝化は、従来反応槽内における活性汚泥の滞留時間が短く(数日程度)、反応槽の温度が高い(30℃以上)プロセスにおいて検討されることが多かった。しかし本研究では、反応槽内の活性汚泥の滞留時間が非常に長く(反応槽から余剰な活性汚泥の引抜を行わなかったため)、また反応槽の温度も25℃と比較的低温で運転した MBR において、部分的硝化が可能であることを示した。

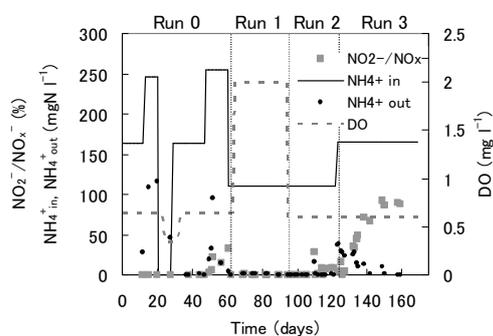


Fig. 2 2槽式 MBR の運転条件 (添加 NH₄⁺濃度と DO) の変化とそれに伴う処理水中の NH₄⁺濃度と NO₂濃度の変化(雑誌論文②より引用)

② 硝化脱窒が NO₂経由となる指標

部分的硝化により硝化脱窒が NO₃経由から NO₂経由に変化するとき、活性汚泥による亜硝酸イオンの酸化活性が低下することを OUR の測定結果より確認した。一方、硝化脱窒が NO₂経由に変化しても、硝化細菌の遺伝子量の応答は確認できなかった。既往の報告においては、亜硝酸酸化細菌 (の遺伝子量) の低下により、部分的硝化の達成が説明されることが多かった。しかし本研究では、亜硝酸酸化細菌の数ではなく、亜硝酸イオンの酸化活性、つまり亜硝酸酸化細菌の活性の変化により、部分的硝化反応が達成されたものと推測する。なお蛍光顕微鏡による亜硝酸酸化細菌の観察 (Fig. 3) においても、硝化脱窒が NO₂経由に変化したことを説明できる硝化細菌数の変化はみられなかった。

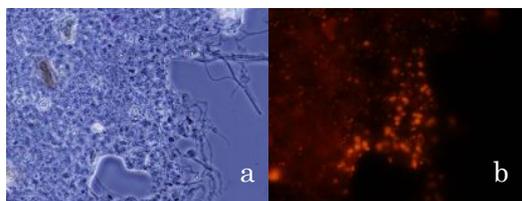


Fig. 3 MBR の活性汚泥の顕微鏡写真 a: 位相差観察, b: FISH 法による亜硝酸酸化細菌の観察

③ PNDMBR による曝気量の削減効果

部分的硝化により硝化脱窒を NO₃経由から NO₂経由とすることで、浸漬型膜分離活性汚泥装置の運転に必要な曝気量を28%削減することに成功した。Fig. 4は2槽式 MBR 装置 (Fig. 1) における処理アンモニア量あたりの曝気量の変化を示す。各 Run は Fig. 2 と対応しており、Run 2 は部分的硝化前 (硝化が NO₃まで進んでいるとき) で、Run 3 は部分的硝化後 (硝化が NO₂でとまったとき) である。Run 2 で NO₂/NO_xが0%であった期間 (day 96-105) の平均値 (4.14 / mgN⁻¹) と Run 3 で NO₂/NO_xが90%程度であった期間 (day 149-169) の平均値 (2.98 / mgN⁻¹) とを比較すると、単位 NH₄⁺量を処理するにあたり、day 149-169 では約28%の曝気量が削減された計算であった。

部分的硝化を取り入れた窒素除去の報告はこれまでも多くなされてきた。しかし部分的硝化を MBR に導入した研究は少なく、また部分的硝化により曝気量が削減されることを実証した研究は皆無であった。よって本研究の成果は、MBR に部分的硝化脱窒法を取り入れる実験を行ったこと、そして理論どおり少ない曝気量で MBR の運転が可能であることを実証した点であったといえる。世界的に MBR の市場が拡大している現状において、その省エネ運転方法を提案した本研究の意義は大きいと考える。

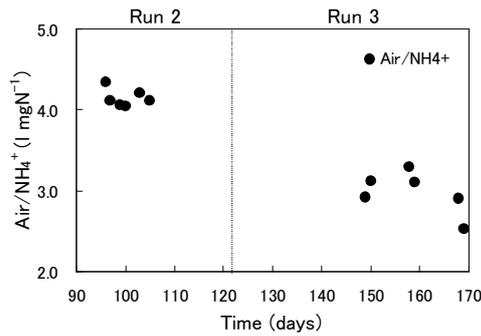


Fig. 4 2槽式 MBR における処理アンモニア量あたりの曝気量の変化

(2) イオン電極により計測した窒素処理性能
イオン電極により簡易に測定した活性汚泥中の NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- の濃度は、公定法であるインドフェノール法およびイオンクロマトグラフィーにより測定したそれらの濃度とは異なった。しかし経時的な濃度変化においては、その測定結果の増減傾向が一致した (Fig. 5)。よって本結果は、硝化、脱窒細菌の活性をイオン電極で簡易かつ迅速に追跡できる可能性を示すものであった。

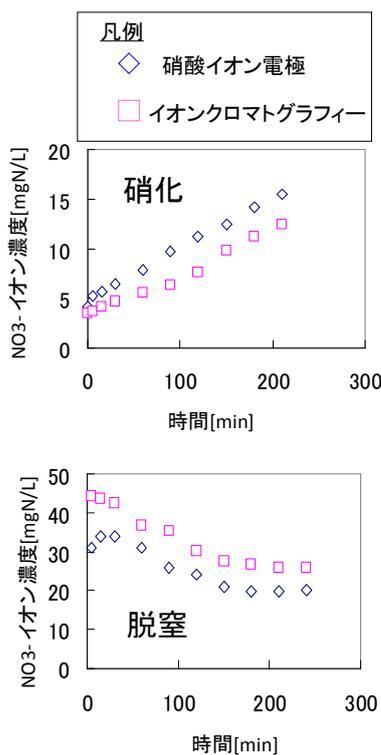


Fig. 5 硝酸イオン電極による硝化・脱窒反応のモニタリング

(3) 部分的硝化による脱窒速度および脱窒細菌群集への影響

最終電子受容体が NO_3^- から NO_2^- に切り替わると、活性汚泥の脱窒速度が一時的に低下

することがわかった。これは最終電子受容体が NO_3^- と NO_2^- のときでは、脱窒を担う細菌群集が異なることが一因となっているようであった。これまで電子供与体の違いによる細菌群集の変化については、多くの報告がなされてきた。しかし電子受容体の違いによる細菌群集の変化については、ほとんど知見がなかった。本研究では NO_2^- を最終電子受容体とするときに脱窒を担う細菌群集を脱窒の機能遺伝子により整理し、報告することができた。Fig. 6 には最終電子受容体が NO_3^- であるときの活性汚泥サンプル (D37), NO_2^- であるときの活性汚泥サンプル (D64) より得られた、脱窒の機能遺伝子 *nirK* の系統樹を示した。Fig. 6 において、名前が 37, 64 から始まる配列は、それぞれ D37, D64 のサンプルから検出されたクローンの配列を表す。また配列名の最後に付記した括弧の数字は、検出された同じ配列の数を表している。*nirK* の系統樹では cluster が大きく 2 つ (I, II) に分かれた。cluster I には、D37 から検出された配列の 97%、および D64 から検出された配列の 5% が分布した。一方 cluster II には、D37 から検出された配列の 3%、および D64 から検出された配列の 93% が分布した。以上より脱窒の電子受容体の異なる 2 つのサンプルでは、検出される *nirK* は配列が 9 割程度異なるのみならず、その配列が系統的にも大別されることが分かった (雑誌論文③より引用)。

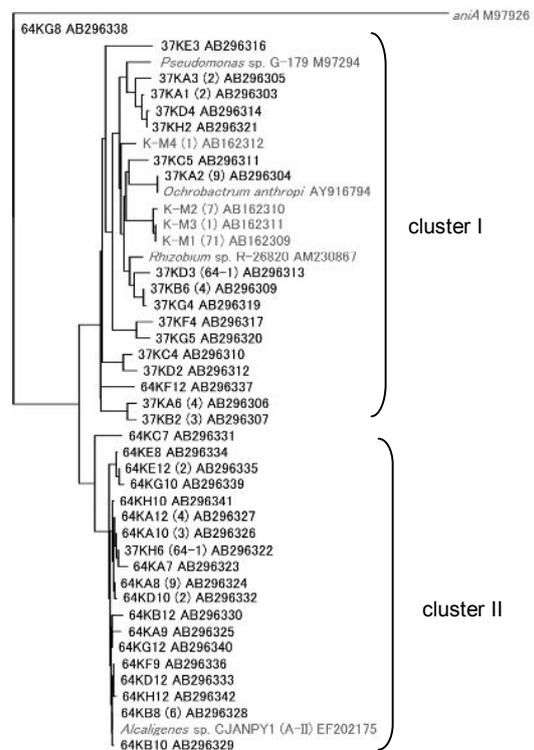


Fig. 6 Neighbor-joining 法による脱窒の機能遺伝子 *nirK* の系統解析 (雑誌論文③より引用)

(4) 凝集剤によるファウリングの抑制

無機凝集剤と有機凝集剤を併用すると、無機凝集剤のみの使用より、ファウリングを抑制することができた (Fig. 7)。これまで有機凝集剤によるファウリング抑制の報告は少ないので、今後も研究を継続し、有機凝集剤の効果を検証する予定である。なお約2週間の MBR 運転期間中、有機高分子凝集剤添加による処理水質の悪化や、活性汚泥の OUR の低下は確認されなかった。

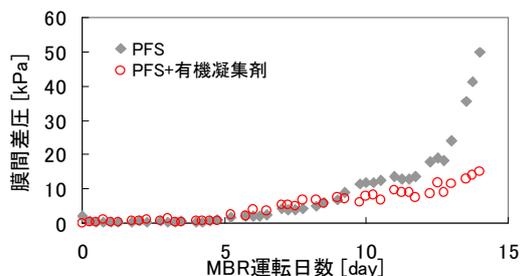


Fig. 7 MBR の膜間差圧の経時変化

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 3 件)

- ① Tadashi Nittami, Takayuki Magura, Yuko Imai, Kanji Matsumoto, Influence of the electron acceptor on nitrite reductase gene (*nir*) diversity in an activated sludge community, Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009 (in press), 査読有
- ② 新田見匡、大竹弘晃、細貝雄也、中村一穂、松本幹治、浸漬型膜分離活性汚泥法における亜硝酸イオン経由の硝化脱窒、第 45 回環境工学研究フォーラム講演集、29-31、2008、査読無
- ③ 新田見匡、今井裕子、中村一穂、松本幹治、NO₃ および NO₂ を電子受容体としたメタノール脱窒リアクターの運転とその脱窒細菌の遺伝子の解析、水環境学会誌、31 巻、269-274、2008、査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① 新田見匡、大竹弘晃、細貝雄也、中村一穂、松本幹治、浸漬型膜分離活性汚泥法における亜硝酸イオン経由の硝化脱窒、環境工学研究フォーラム、2008 年 11 月 29 日、大阪工業大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 幹治 (MATSUMOTO KANJI)
横浜国立大学・大学院工学研究院・教授
研究者番号：30011224

(2) 研究分担者

新田見 匡 (NITTAMI TADASHI)

横浜国立大学・大学院工学研究院・
特別研究教員

研究者番号：20377089

(3) 連携研究者

なし