

令和 4 年 5 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H01573

研究課題名(和文) 一槽型MBRによる亜硝酸化-Anammox-従属栄養脱窒法の確立と実廃水への適用

研究課題名(英文) Establishment & application of simultaneous nitritation-anammox-nitrification with MBR

研究代表者

川越 保徳 (Kawagoshi, Yasunori)

熊本大学・くまもと水循環・減災研究教育センター・教授

研究者番号：00291211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：MBRにて単一槽型部分亜硝酸化-Anammox-従属栄養脱窒(SNAD)を実現するSNAD/MBR法の構築とSNAD/MBRの窒素除去能・細菌叢に対する有機物添加濃度の影響を明らかにした。グルコースを50-500 mg/Lの濃度で添加して窒素除去能の変化を調べた結果、100 mg/Lの添加時に硝酸の生成が抑えられて最も高い窒素除去能(約91%)が得られ、500 mg/Lの添加ではAnammox活性の著しい低下が認められた。リアクタ内の懸濁態バイオマスの細菌叢については、グルコース濃度の上昇に伴ってAnammox細菌の割合が減少した一方、アンモニア酸化細菌の割合が増加する傾向が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに逐次回分方式でのSNAD法におけるグルコースなど有機物添加の影響に関する報告例はあるものの、MBRを利用するSNAD法に関する知見は乏しく、特に、平膜型メンブレンによる浸漬型MBRを用いた連続処理にてSNAD法の構築を試みた事例はない。本研究では、実廃水処理施設ですでに実績のある平膜メンブレンのMBRを用いてSNADを構築することに成功したことから、実廃水・実処理施設へ展開可能性を示すことができた。また、有機物添加の窒素除去能への影響は先行研究結果と概ね一致したが、有機物濃度の上昇に伴ってアンモニア酸化細菌の割合が上昇する傾向がみられるなど興味深い学術的知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in the establishment of SNAD/MBR process which removes nitrogen by combining partial nitritation, anammox, and denitrification with heterotrophic bacteria in single membrane bio-reactor, and investigated that effect of organic carbon addition on the nitrogen removal performance of SNAD/MBR in the 50 to 500 mg/L glucose concentration range. The highest nitrogen removal efficiency (91%) was obtained when glucose concentration was 100 mg/L. However, anammox activity was drastically declined when glucose concentration was 500 mg/L. An abundance of anammox bacteria were detected when no and 50 mg/L glucose was added into the reactor, but the abundance of anammox bacteria decreased with the increase of glucose concentration. On the other hand, increasing of the abundance of ammonium oxidizing bacteria with the increase of glucose concentration was observed.

研究分野：環境工学

キーワード：Anammox MBR 部分亜硝酸化 部分亜硝酸化-Anammox

1. 研究開始当初の背景

水環境への過剰な窒素負荷による閉鎖性水域での富栄養化問題に加え、近年は硝酸性窒素による地下水汚染が世界的な問題となっている。この抜本的な解決策は排出源における窒素削減であり、技術的にはコストなどの実用面から生物学的手法が有利となる。

従来の生物学的窒素除去法は、アンモニアなど還元態窒素を酸化する「硝化」と、従属栄養微生物による「脱窒」による「硝化-脱窒」法をベースとしていた。しかし1990年代後半に新たな窒素代謝経路である Anammox (ANaerobic AMMonium Oxidation: 嫌気性アンモニア酸化) 反応¹⁾が発見されて以降、Anammox 反応の水処理など工学技術への応用、開発に関する研究が加速的に進んでいる。

Anammox は、分子状酸素の無い嫌気条件下でアンモニアが亜硝酸によって酸化されて窒素ガスに変換される反応である(図1)。これを触媒する Anammox 細菌は独立栄養細菌であるため、その維持に有機炭素源の添加を必要とせず、従来の「硝化-脱窒」法に対するアドバンテージの一つとなる。

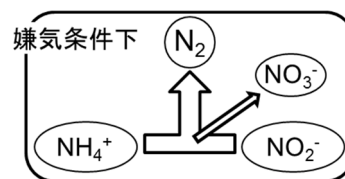


図1 Anammox反応の概要

また、Anammox の窒素除去速度は一般的な脱窒反応の数倍であり、処理施設の省スペース化が期待できる²⁾。一方で、Anammox で高い窒素除去率を達成するには、概ね等量のアンモニアと亜硝酸(モル比として $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+ \approx 1.3$) の存在が前提となるため、Anammox 反応の前段にて窒素の形態をいかに適切な組成比にできるかが処理能を左右する。また、実廃水中に亜硝酸が存在することは希であるため、Anammox の処理対象は、アンモニアなど還元態窒素を含む廃水となる。すなわち、Anammox を機能させるには、これら窒素の適当量を亜硝酸に酸化するためのアンモニア酸化反応(亜硝酸化)が必要で、これを別の反応槽で行うとなれば、結局はそのための施設整備が必要となって省スペース化の効果は薄れる。さらなる課題は、Anammox では硝酸を処理することはできず、むしろ反応副生成物として処理水中に残存してしまうことである。



申請者らは、省スペースで有機炭素源の添加を要せず、曝気動力を削減できるといった Anammox を利用する窒素処理技術の長所を活かすべく、単一槽での膜分離生物反応槽 (Membrane Bio-Reactor: MBR) を用いる亜硝酸化-Anammox 法 (Partial Nitrification and Anammox by MBR: PNA/MBR) の確立に成功し、模擬廃水で $1.45 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ の窒素除去速度を達成した³⁾。しかし本法における有機物の影響は未検討であり、実廃水の処理に際しては大きな問題となる。

2. 研究の目的

本申請研究の第一の目的は、一槽型の MBR にて「亜硝酸化—Anammox—従属栄養脱窒 (Simultaneously partial Nitrification & Anammox and Denitrification: SNAD)」の一連の反応を完結する SNAD/MBR 法(図2)を構築して、窒素処理に関する制御因子の確

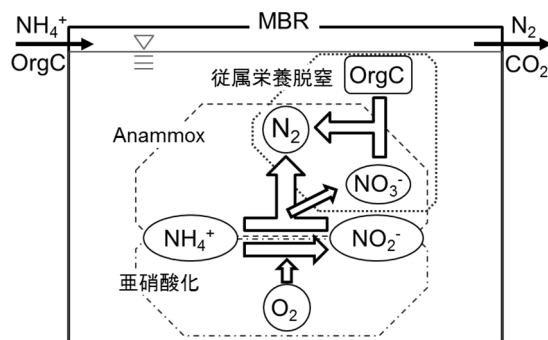


図2 一槽型MBRによる亜硝酸化-Anammox-従属栄養脱窒法(SNAD/MBR) 概念図

定と最適化を図ることである。また、以上の検討を行う中で、SNAD/MBRの窒素除去能に対する有機物の影響とそれに関わる微生物叢との関係を明らかにすることである。

3. 研究の方法

3.1 有機物の MBR による一掃型亜硝酸化-Anammox 法 (PNA/MBR) の窒素除去能への影響

図3に本研究で用いる MBR の概要を示す。

反応槽容量は 3.6L, 膜モジュールは制御の容易な平膜とした。廃水は連続流入し, 膜モジュール外側から内側に向けてろ過される。槽内下部には散気管を設け, 槽内ヘッドスペースと外気とを混合して循環曝気される。槽内温度と pH は自動制御, 溶存酸素 (DO) 濃度は定期的に測定し, 外気と循環気のパランスを調整した。

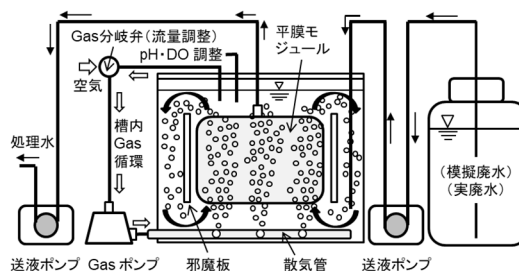


図3 一槽型MBR実験装置模式図

本研究では、申請者らが有する既存の PNA/MBR に有機物を含む模擬アンモニア廃水を連続流入する方法で SNAD/MBR の検討を行った。添加する有機物にはグルコースを用い, 添加濃度が Anammox 反応に与える影響を明らかにしつつ, 脱窒反応の発現と制御方法について検討を行った。

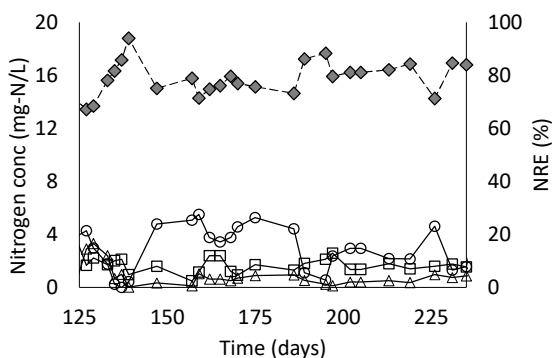
3.2 PNA/MBR への有機物添加と微生物叢との関係

SNAD/MBR では、亜硝酸化を担うアンモニア酸化細菌と Anammox 細菌, 脱窒細菌, さらに有機物の酸化に関わる従属栄養好気性細菌のパランスが処理特性を左右する。分子生物学的 (遺伝子情報による) 手法にて細菌叢の全体像と SNAD/MBR に関わる細菌群の量的・空間的状态を解析し, それらの相互関係や窒素/炭素処理能との関係を明らかにした。細菌種の同定には次世代 DNA シーケンサーによる網羅的解析を実施した。

4. 研究成果

4.1 有機物の MBR による一掃型亜硝酸化-Anammox 法 (PNA/MBR) の窒素除去能への影響

SNAD/MBR の検討に先立ち PNA/MBR を立ち上げた。グルコースの添加開始前までにアンモニア濃度を 22 - 27 mM の範囲に設定して窒素負荷を 0.4 kgN/m³/d とし, 窒素除去率が安定して 80%を維持できる状態を確認した上でグルコースの添加を開始した。はじめに, グルコースを 50 mg/L の濃度になるように添加し, 約 2 週間の期間で検討を行った。グルコース添加直後には硝酸の生成が認められたものの, 約 1 週間後には濃度の減少がみられ, 従属栄養性細菌による脱窒反応が推定された。そこで, グルコース濃度を 100 mg/L に上昇させて約 2 カ月の期間において検討を行った。この間の窒素除去率と各態窒素濃度の経時変化を図 4 に示す。100 mg/L のグルコース添加後にはア



◇ : NRE, ○ : NH₄⁺, △ : NO₂⁻, □ : NO₃⁻

図4 グルコース濃度 100 mg/L の窒素除去率 (NRE)と各態窒素濃度の経時変化

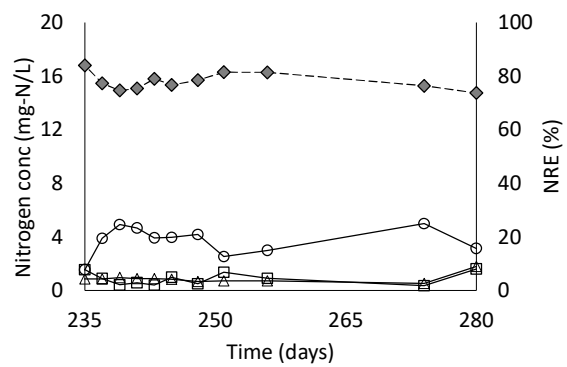
アンモニアと亜硝酸の減少がみられ窒素除去率は高くなった（約 91%）が硝酸濃度の顕著な減少は認められなかった。その後、硝酸の減少が認められたもののアンモニア濃度が上昇したために窒素除去率は若干低下した。それ以降、アンモニア濃度が減少したものの、窒素除去率の劇的な上昇はみられず、85%前後で安定した。次にグルコース濃度を 300 mg/L に上昇させて約 1 カ月間の検討を行った。この間の窒素除去率と各態窒素濃度の経時変化を図 5 に示す。グルコース濃度を上昇させてすぐに、アンモニア濃度の上昇が認められ窒素除去率は約 75-80%にまで低下したが、約 2 週間後に若干減少し、約 80%の窒素除去率で安定した。この時点で膜の目詰まりが発生して、HRT の制御ができなくなったために、膜の交換を行ってリアクタを再度立ち上げ、500 mg/L の濃度でグルコースを添加した。その結果、急激なアンモニア濃度の上昇とそれに伴う窒素除去率の低下がみられた。一方で亜硝酸、硝酸ともに生成はほとんどみられず、Anammox 反応の活性低下が認められた。

Anammox リアクタに関する先行研究においては 400 mg/L のグルコース添加によって窒素除去能の著しい低下が報告されており、部分亜硝酸化-Anammox リアクタを用いた本研究結果においても概ね同様の結果となった。

4.2 PNA/MBR への有機物添加と細菌叢との関係

グルコースの添加前、および、グルコース添加後（50 mg/L, 100 mg/L, 300 mg/L, 500 mg/L）のリアクタ内バイオマス試料について細菌叢解析を行った。なお、グルコース濃度 50-300 mg/L の条件においては、リアクタ内の懸濁態バイオマスと膜付着バイオマスについて分析を実施した、グルコース添加前とグルコース濃度 500 mg/L の条件下については、膜付着バイオマスが採取できなかったため、懸濁態バイオマスについてのみ分析を行った。

図 6 に、グルコース濃度 50 mg/L, 100 mg/L, 300 mg/L での懸濁態バイオマスにおける細菌叢解析の結果を示す。50 mg/L のグルコース添加時には属レベルで推定が可能であった細菌の大半が Anammox 細菌（‘Candidatus Jettenia’, ‘Candidatus Brocadia’など）であったが、グルコース濃度の上昇とともにその割合は低下し、100 mg/L では約 50%, 300 mg/L では約 30%まで低下した。一方、アンモニア酸化細菌の割合は 50 mg/L のグルコース濃度では約 0.5%だったのに対して、グルコース濃度の上昇によって割合が増加し、300 mg/L では約



◇ : NRE, ○ : NH₄⁺, △ : NO₂⁻, □ : NO₃⁻

図 5 グルコース濃度 300 mg/L の窒素除去率 (NRE)と各態窒素濃度の経時変化

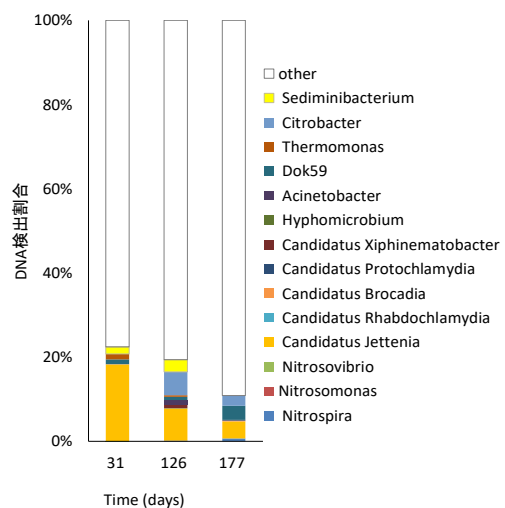


図 6 グルコース濃度 100 mg/L の条件下での懸濁態バイオマスの細菌叢解析結果

4.0%にまで上昇することが分かった。

引用文献

- 1) A. Mulder, et al. (1995) FEMS Microbiol. Ecol.,16,177-183
- 2) J.A. Brandes, et al. (2007) Chem.Rev., 107, 577-589
- 3) X. Huang, et al. (2016), Environ. Sci. Pollut. Res., 23 (11), 11149–11162 (2016)
- 4) J. Li, et al. (2016) Biores. Technol., 218, 1064–1072
- 5) Y. Qin, Y. Cao, J. Ren, T. Wanga, B. Han, et al. (2017) Biores. Technol., 244, 33–39

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sano Toshio, Kawagoshi Yasunori, Kokubo Ituki, Ito Hiroaki, Ishida Kei, Sato Akira	4. 巻 10
2. 論文標題 Direct and indirect effects of membrane pore size on fouling development in a submerged membrane bioreactor with a symmetric chlorinated poly (vinyl chloride) flat-sheet membrane	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 107023 ~ 107023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jece.2021.107023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toshio Sano, Hiroaki Ito, Kei Ishida, Akira Sato, Luong Van Duc, Yasunori Kawagoshi	4. 巻 57
2. 論文標題 Effect of Surface Hydrophilicity of Symmetric Polytetrafluoroethylene Flat-sheet Membranes on Membrane Fouling in a Submerged Membrane Bioreactor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Water Treatment Biology	6. 最初と最後の頁 79-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sano Toshio, Koga Yoshiki, Ito Hiroaki, Duc Luong Van, Hama Takehide, Kawagoshi Yasunori	4. 巻 304
2. 論文標題 Effects of structural vulnerability of flat-sheet membranes on fouling development in continuous submerged membrane bioreactors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 123015 ~ 123015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2020.123015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Huang Xiaowu, Mi Wenkui, Hong Nian, Ito Hiroaki, Kawagoshi Yasunori	4. 巻 253
2. 論文標題 Efficient transition from partial nitrification to partial nitritation/Anammox in a membrane bioreactor with activated sludge as the sole seed source	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 126719 ~ 126719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2020.126719	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Huang Xiaowu, Mi Wenkui, Ito Hiroaki, Kawagoshi Yasunori	4. 巻 316
2. 論文標題 Unclassified Anammox bacterium responds to robust nitrogen removal in a sequencing batch reactor fed with landfill leachate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 123959 ~ 123959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2020.123959	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Duc Luong Van, Hiroaki Ito, Takehide Hama, Yasunori Kawagoshi	4. 巻 1
2. 論文標題 Adaption of anammox bacteria to iron-manganese-sepiolite as a fenton-like catalyst	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 2019 international conference on climate change, disaster management and environmental sustainability	6. 最初と最後の頁 774-778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toshio Sano, Hiroaki Ito, Takehide Hama, Duc Luong Van, Yasunori Kawagoshi	4. 巻 1
2. 論文標題 Influence of hydrophilicity on membrane fouling in submerged membrane bioreactor with polytetrafluoroethylene flat-sheet membranes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 2019 international conference on climate change, disaster management and environmental sustainability	6. 最初と最後の頁 351-356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasunori Kawagoshi, Yuki Yamashita, Hiroaki Ito, Takehide Hama, Duc Luong Van, Tsugihito Watanabe	4. 巻 1
2. 論文標題 Nitrogen removal anammox-bacterial community in continuous reactors inoculated with mixed biomass composed of marine and freshwater anammox bacteria under different culture conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 2019 international conference on climate change, disaster management and environmental sustainability	6. 最初と最後の頁 357-363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasunori Kawagoshi, Yuki Yamashita, Luong Van Duc, Hiroaki Ito, Takehide Hama	4. 巻 217
2. 論文標題 Changes of nitrogen-removal performance and that of the bacterial community in a mixed culture comprising freshwater and marine anammox bacteria under averaged environmental condition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 609-617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawagoshi Yasunori, Yamashita Yuki, Van Duc Luong, Hama Takehide, Ito Hiroaki	4. 巻 217
2. 論文標題 Changes of nitrogen-removal performance and that of the bacterial community in a mixed culture comprising freshwater and marine anammox bacteria under averaged environmental condition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 609 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2018.11.047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 藤本 喬太, 伊藤 紘晃, 濱武 英, 川越 保徳
2. 発表標題 浸漬型MBRにおけるPTFE膜の親・疎水性と膜ファウリング挙動との関係
3. 学会等名 2019年度日本水環境学会九州沖縄支部研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川越 保徳
2. 発表標題 anammox bacteria and anammox reaction for nitrogen removal technology
3. 学会等名 Cooperative workshop to respond to the forth industrial revolution between Japan and Koria (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	惣田 訓 (Soda Satoshi) (30322176)	立命館大学・理工学部・教授 (34315)	
研究分担者	伊藤 紘晃 (Ito Hiroaki) (80637182)	熊本大学・くまもと水循環・減災研究教育センター・助教 (17401)	
研究分担者	濱 武英 (Hama Takehide) (30512008)	熊本大学・くまもと水循環・減災研究教育センター・准教授 (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------