

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20560501

研究課題名（和文）脱窒とメタン生成の複機能を有するグラニュールを用いた排水処理プロセスの創生

研究課題名（英文）A novel wastewater treatment system using anoxic upflow sludge bed reactor containing granules capable of both methanogenesis and denitrification

研究代表者

渡邊 智秀 (WATANABE TOMOHIDE)

群馬大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：60251120

研究成果の概要（和文）：メタン発酵と脱窒が見かけ上同時に進行可能な USB 槽と亜硝酸型硝化槽を組み合わせた含窒素高濃度有機性廃水処理システムを構築した。流入 N/COD 比（重量基準）が 0.08～0.56、流入 COD 負荷が約 30kg-COD/(m³・d) まで、流入 TN 負荷が約 4kg-N/(m³・d) までおよび硝化液循環比 11 までの条件下で高効率な有機物・窒素除去が安定的に可能であった。USB 槽のグラニュールは脱窒活性とメタン生成活性を有し、微生物群集解析から酢酸資化性の *Thauera* 属と *Alcaligenes* 属および *Methanosaeta* 属がそれぞれ脱窒およびメタン生成に主として寄与していると推定された。

研究成果の概要（英文）：A novel wastewater treatment system combined an anoxic upflow sludge bed (USB) reactor with a nitrification reactor for a high-strength nitrogenous organic wastewater was developed and the performance was investigated experimentally. Soluble organic matter removal efficiency was attained to be over 95% and the TN removal occurred effectively depending on the recycle ratio of nitrified liquor to the influent wastewater under the experimental conditions within less than 0.56 of the influent TN/COD ratio by mass, less than 30 kg-COD/(m³ d) of influent COD loading, less than 4 kg-N/(m³ d) of influent TN loading and less than 11 of recycle ratio of nitrified liquor to the influent wastewater. The granules in the USB reactor consistently had the activities for both methanogenesis and denitrification. The microbial community analysis indicated that *Thauera* spp. and *Alcaligenes* spp. as denitrifying bacteria and *Methanosaeta* spp. as methanogenic archaea appeared in the granules.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：環境工学

科研費の分科・細目：土木工学・土木環境システム

キーワード：脱窒，嫌気性グラニュール，メタン発酵，高濃度有機性廃水，複合微生物系，廃水処理

1. 研究開始当初の背景

メタン生成古細菌は、硝酸や亜硝酸イオン等の酸化態窒素による阻害に加え、増殖速度の相違や有機物摂取の競合等のため浮遊汚泥系で脱窒細菌と共存することは極めて困難である。ところが、上向流式嫌気性汚泥床(UASB)に保持されているような嫌気性グラニューールを脱窒環境へ馴致していくとメタン生成能と脱窒能を併せ持つ状態を形成可能であることが認められた。このことは、含窒素有機性廃水のメタン発酵による有機物除去と脱窒を別々の槽で行うことなく、単一槽化させて省スペース化を実現するとともに、有機物の脱窒への効果的利用ならびに有機物除去に曝気を必要としない新規な処理プロセスへと展開していくことが期待される。しかし、このようなグラニューールやそれによる処理の特徴や特性は明らかでなく、処理プロセスは確立されていない。

2. 研究の目的

本研究の最終目標は、メタン発酵と脱窒の複機能を有するグラニューールの特徴を生かし、高濃度有機性廃水に対する省スペース、高速・高効率な有機物及び窒素処理システムを開発することである。そのため、本研究課題では、複機能グラニューールの基本的なメタン生成および脱窒特性を把握するとともに、グラニューール内における微生物群集の構造と機能の関係を調査して処理性能の向上や安定性に関わる知見を収集した。また、複機能グラニューールを利用した有機性廃水処理システムを構築し、その基本特性を明らかにした。

3. 研究の方法

(1)十分に長い期間、安定的にメタン発酵処理へ供されていた嫌気性グラニューールを用い、その所定量を充填した反応槽に硝酸塩を基質に併せて供給しながら、脱窒環境への馴致を試みた。その際、予め培養しておいた脱窒汚泥の添加効果を検討した。

(2)有効液容積約 1.4L の反応槽に馴致されたグラニューールの充填し、人工有機性廃水と硝酸塩を種々の条件下で連続通水した。COD 負荷 (以下、有機物量は COD で表記)、流入水の COD/N 比および水理学的滞留時間(HRT)等の操作条件を変更しながら、槽内ならびに発生ガス等の測定を行い、処理速度や除去率と操作条件の関係を検討した。

(3)馴致過程および馴致されたグラニューール充填槽の連続処理実験において、適宜グラニューールを採取し、種々の基質条件下でメタン生成活性ならびに脱窒活性試験を行い、環境条件の及ぼす影響を把握した。

(4)嫌気性グラニューールから開始して安定的

な脱窒とメタン生成が生じるようになる過程でグラニューール充填槽からグラニューールを採取する。メタン生成古細菌については、16SrRNA 遺伝子、脱窒細菌に対しては亜硝酸還元酵素 *nirS* および *nirK* の機能遺伝子を対象としたプライマーセットを用いたクローンライブラリ法により、グラニューール内の微生物群集の特徴を明らかにした。また、得られた結果や文献情報に基づいて、脱窒やメタン発酵に関与する微生物を検出可能な蛍光標識した合成オリゴヌクレオチドプローブを準備し、蛍光 *in-situ* ハイブリダイゼーション法(FISH 法)を採取したグラニューールの薄片に適用し、その空間的存在状況を観察するとともに環境条件との相互関係を検討した。

(5)複機能グラニューール充填槽の脱窒およびメタン生成特性を踏まえて、循環式硝化脱窒型となるように硝化槽と組み合わせた図2のようなラボスケール処理システムを構築した。硝化槽には多孔性担体を投入して硝化細菌保持量を向上させるとともに、酸素必要量の低減を図るために亜硝酸型硝化となるように操作した。まず、易分解性有機物とアンモニウム塩が主成分の人工排水を種々の操作条件で連続供給し、水質やガス等の測定値に基づいて、提案したシステムの処理特性ならびに影響因子を明らかにした。

(6)構築された循環式複機能グラニューール-亜硝酸型硝化プロセスに対し、人工排水通水系と並行して、実廃水のひとつとして養豚廃水の一次処理水を徐々に通水した連続処理実験を実施し、含窒素高濃度有機性実廃水への適用性や特性を把握した。

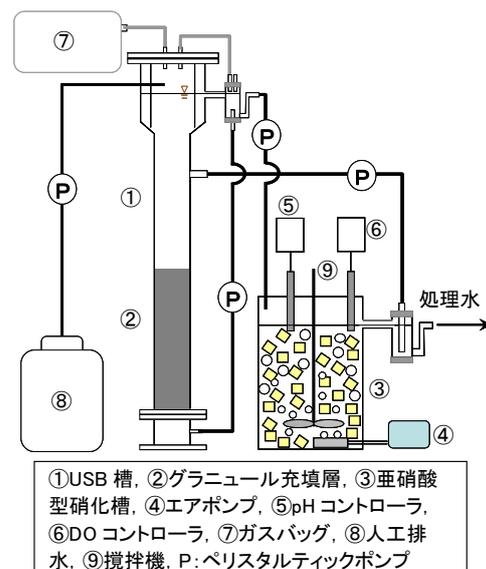


図1 循環式 USB-亜硝酸型硝化プロセス連続処理実験装置の概略

4. 研究成果

(1) 流入 COD 負荷 $10\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ 、流入硝酸性窒素負荷 $2\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ (以下、グラニュールのみかけ充填容積基準) となるように通水を開始した場合、図 2 に示したように、脱窒汚泥を外部から植種した系 (RS1) と植種しない系 (RS2) では TN 除去が同等となるのに 5 日程度要した。また、COD 除去でも同様な傾向であった。30 日後に採取したグラニュールの比メタン生成活性と比脱窒活性はそれぞれ脱窒汚泥植種の有無によらずほぼ等しく、長期にメタン発酵環境に置かれていた嫌気性グラニュールでも脱窒細菌が潜在しており、外部から植種せずに脱窒条件下で比較的容易にグラニュール内で増殖可能であることがわかった。また、脱窒に要する有機物量が含まれているのであれば、流入硝酸性窒素や流入 N/COD 比が高い条件でグラニュールの馴致に要する時間が短い傾向があった。

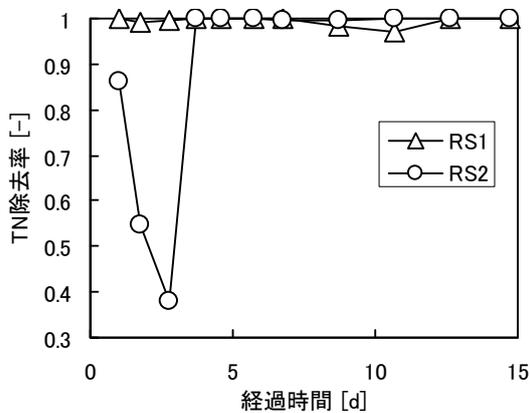


図 2 馴致開始期間での TN 除去の状況

(2) 馴致されたグラニュールの充填槽へ種々の操作条件で連続通水したところ、図 3(a) および(b)のように実験の範囲では、COD 除去速度が流入 N/COD 比の系列ごとに流入負荷に比例的に増大し、COD 除去率はいずれの条件においても 90%以上となった。また、TN 除去速度も COD と同様な流入負荷との関係が認められ、除去率は流入 N/COD 比が 0.2 以下で流入負荷が $4\text{kg-N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ までの範囲において、安定的に 90%以上に維持可能であり、単一槽で高効率な有機物除去と脱窒を達成できることが明らかとなった。

(3) ①馴致期間およびそれに続く連続処理実験で定期的に採取したグラニュールの比活性は、グラニュール充填槽への流入 N/COD 比が 0.03 から 0.2 の範囲と硝酸性窒素の供給開始からの時間経過 (約 150 日間) に伴い、比脱窒活性が徐々に増大した。一方、比メタン生成活性は N/COD 比が 0.1 を超えると明らかに低下傾向を示した。しかし、脱窒環境下に曝されてから約 1 年経過したグラニュールでも、脱窒活性だけでなくメタン生成活性は常に安定的に維持されていた。

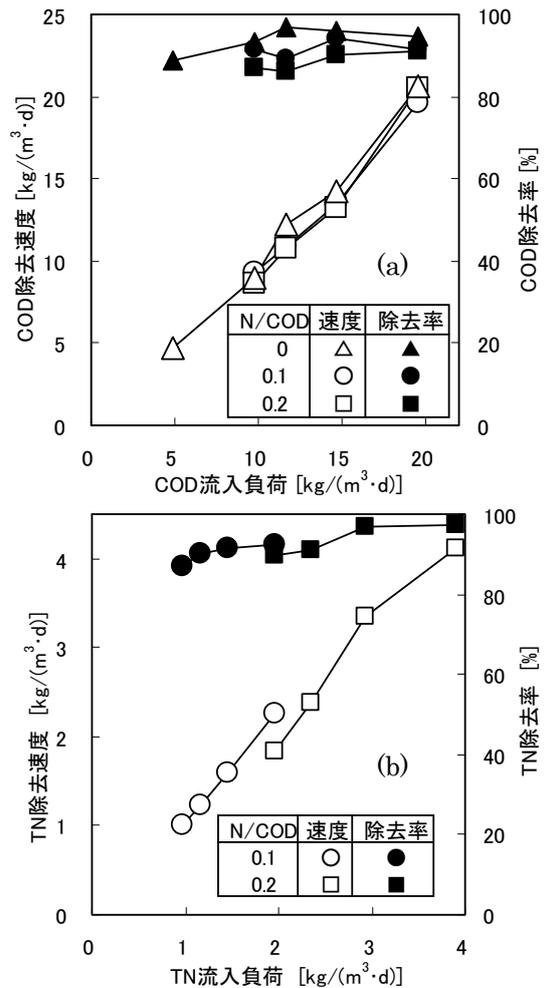


図 3 流入負荷に対する除去率ならびに除去速度 (a): COD 除去、(b): TN 除去

②人工排水の主たる有機成分であるグルコースに加え、酢酸を用いて炭素源の活性への影響を比較したところ、馴致開始から約 3 ヶ月までは、ほぼ同程度の比脱窒活性となったが、それ以降に採取したグラニュールでは、酢酸での比脱窒活性がグルコースの場合に比べ約 1.4 倍となり、徐々にグラニュール内では酢酸を炭素源として利用する経路が安定的に形成されることがわかった。

③種々の条件で運転されている反応槽から採取したグラニュールは、実験の範囲で反応槽の流入 N/COD によらず、流入負荷の増大に伴い、比メタン生成活性と比脱窒活性が増大する傾向があった。これは、流入負荷に応じてグラニュール内における脱窒細菌やメタン発酵微生物の存在量が全体的に増加したことに起因していると考えられた。

④循環式 USB-亜硝酸型硝化槽型処理システムへ易分解性有機物を主成分とする人工廃水ならびに実廃水を連続通水した場合においても、流入 COD 負荷の増大に伴い USB 槽内のグラニュールの比メタン生成活性が増大

した。また、流入 TN 負荷の増大に伴い比脱窒活性が増大傾向を示した。

(4) ①3. (2)の連続通水実験に伴い約 1 年経過した反応槽から採取したグラニュールに対するクローン解析から、脱窒細菌は、酢酸資化性の *Thauera* 属および *Alcaligenes* 属が高頻度に検出された。一方、古細菌では、酢酸資化性の *Methanosaeta* 属が多数検出された。これを踏まえ、グラニュール薄切片に種々のプローブを用いて FISH 法を適用したところ、上記の酢酸資化性脱窒細菌は、表層領域で検出された *Bacteria* のうち 60~70% を占めていたが、最表層の約 15 μm にはほとんど存在しなかった。反応槽には有機物としてグルコースを流入させていたことから、最表層領域の *Bacteria* は主として酸生成細菌で構成されていると考えられた。これを含めてグラニュール表層領域の微生物群集を模式的示すと、図 4 のように *Methanosaeta* 属が上記の酢酸資化性脱窒細菌の存在領域と一部重なりを持ちながらその深部領域に多数存在する傾向が観察された。また、硝酸塩流入前の嫌気性グラニュール表層では、*Bacteria* 層厚さが 15~20 μm であったが、硝酸塩流入から時間経過すると、厚さ約 70 μm にまで達し、この領域に *Archaea* も数多く検出された。以上から、グラニュール表層で酸生成細菌が産生した酢酸は *Thauera* 属や *Alcaligenes* 属を主とする脱窒細菌と *Methanosaeta* との間で競合するが、脱窒の進行によって硝酸性窒素のグラニュール深部への浸入が妨げられることでメタン生成が可能な環境も維持されていると推察された。

②循環式 USB-亜硝酸型硝化槽型処理システムへ人工廃水ならびに実廃水を連続通水した場合においても、USB 槽から採取したグラニュール内には酢酸資化性の *Thauera* 属や *Alcaligenes* 属および *Methanosaeta* 属が多数検出された。

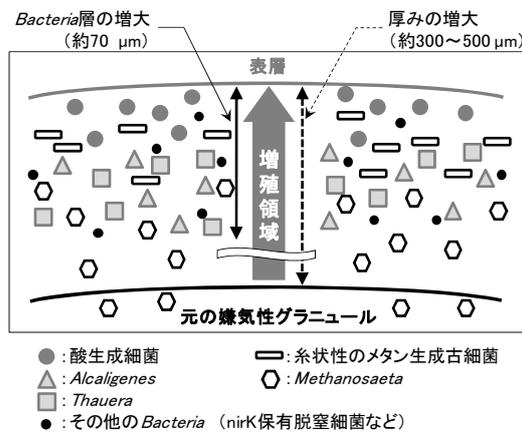


図 4 グラニュール内での微生物群集の模式図

(5) ①循環式 USB-亜硝酸型硝化槽型処理システムで人工廃水を通水した場合を例とし

たときの各槽での有機物と形態別窒素の状況は、図 5 のように、有機物は USB 槽内で流入水に対し十分に低減され、硝化槽でさらに若干減少する傾向があった。なお、硝化槽での有機物減少の程度は有機物流入負荷に依存したが、硝化槽への負担が小さい条件で運転されている場合には、システム全体の溶解性 COD 除去に対して硝化槽での除去が占める割合は数%以下で無視できる程度であった。形態別窒素の変化に関し、USB 槽と硝化槽のアンモニア性窒素濃度差に概ね相当する亜硝酸性窒素が硝化槽に蓄積する一方で、硝酸性窒素はほとんど生成しなかった。すなわち、本研究での亜硝酸型硝化は、常に安定的に進行したといえる。また、亜硝酸性窒素は USB 槽内でほとんど検出されず、硝化槽で生成した亜硝酸性窒素は、USB 槽内で脱窒されたものと考えられた。

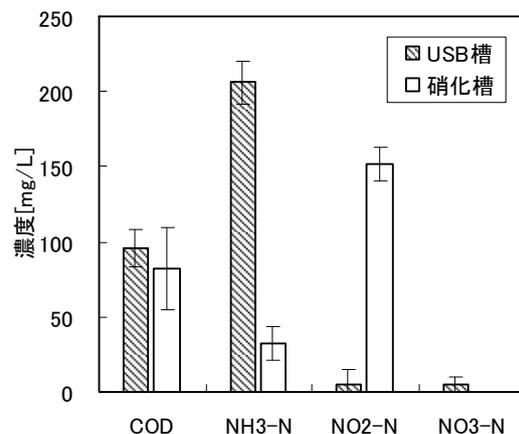


図 5 各槽における定常状態での COD と形態別窒素の例 (流入 COD 濃度: 12g/L, 流入 N/COD 比: 0.21, 硝化液循環比: 9)

②操作条件が及ぼす影響の例として、流入 TN 負荷、HRT および硝化液循環比が一定の下で、流入 COD 濃度により流入 N/COD 条件を変更した場合を図 6(a)および(b)に示す。処理システム全体での TN 除去率は、流入 N/COD 比が 0.4 を越えると若干低下の傾向があるものの、0.08~0.56 の広範囲で概ね理論値と同等であった。すなわち、亜硝酸型硝化プロセスの適用により、高 N/COD 比の性状を有する廃水の処理への有効性が実証された。処理システム全体の溶解性 COD 除去率は、流入 COD 負荷が 30kg-COD/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)までの範囲において 98%程度まで達した。但し、20kg-COD/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)を超えると全体での除去率は維持されるものの硝化槽での除去が無視できない程度へ増大するようになることに留意が必要であった。実験の範囲では、流入 N/COD が 0.08~0.56、流入 COD 負荷が約 30kg-COD/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)まで、流入 TN 負荷約 4kg-N/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)までおよび硝化液循環比 11 までの条件下において、溶解性 COD 除去率 95%以上と硝化液循環比に対応した

TN 除去率の達成が可能であった。また、亜硝酸型硝化は安定的に維持された。

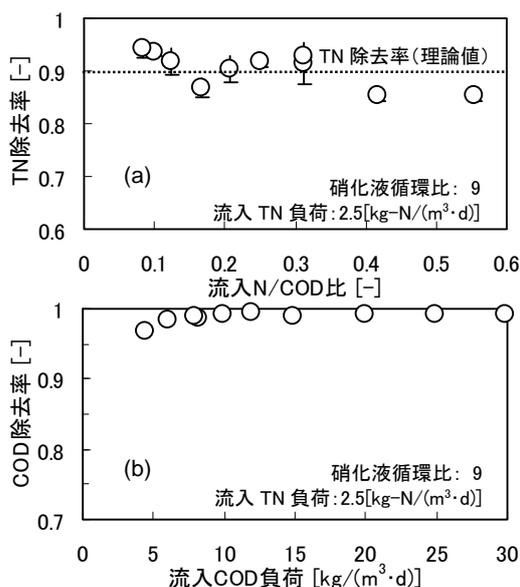


図6 流入窒素負荷 2.5 kg-N/(m³·d)、硝化液循環比 9 での処理特性

(a): TN 除去率と流入 N/COD 比の関係,
(b): COD 除去率と流入 COD 負荷の関係

③実験の範囲ではUSB槽から常にメタンが検出されており、メタン生成古細菌は、汚泥の引き抜き等で系外へすべて排除されてしまうことなく、槽内のグラニュール中に保持されていた。また、USB槽における有機物除去は、図7のように流入してくる亜硝酸性窒素の有機物に対する相対的な負荷の増大に伴い、脱窒に伴う割合が増大し、メタン発酵に伴う割合は低下した。しかし、これらが見かけ上、常に並列的に進行するため、広い流入N/COD比の範囲で高いCOD除去率が達成されることがわかった。

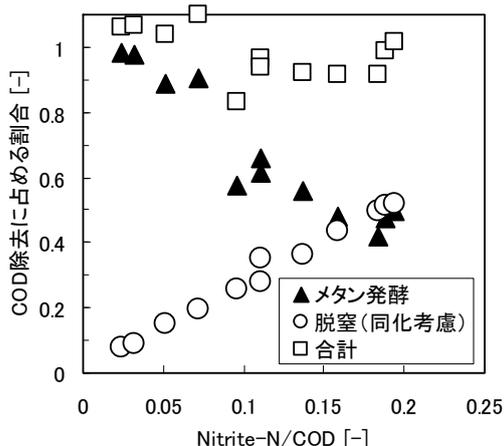


図7 USB槽でのCOD除去に対するメタン発酵と脱窒の占める割合

(6)人工廃水での実験に基づいてUSB槽と亜硝酸型硝化槽の容積比率を変更したラボス

ケール循環式 USB-亜硝酸型硝化槽型処理システムで、人工廃水から実廃水（養豚廃水の一次処理水を使用）への置換率を徐々に増大していくことで円滑な実廃水への馴致が可能であった。また、流入負荷が約 16kg-COD/(m³·d)（流入 N/COD 比 0.31 で流入 COD 濃度 8g/L）までの範囲で行った実験では、人工廃水を通水した対照系と同等で高効率な有機物及び窒素除去が安定的に維持された。このことから、当該研究課題で構築した複機能グラニュールが充填された循環式 USB-亜硝酸型硝化システムが含窒素高濃度有機性廃水の実廃水への適用性が実証された。

今後は、実廃水でのさらなる高負荷条件における処理の長期的安定性を検討するとともに、パイロットスケールでの実証試験への展開が期待される。

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 2 件）

- ① 渡邊智秀, 植原啓介, 森俊輔, 高寄真: 循環式 USB-亜硝酸型硝化プロセスによる含窒素高濃度有機性排水の処理特性, 環境工学研究論文集, Vol. 47, 281-287 (2010), 査読有
- ② 渡邊智秀, 森俊輔, 伊藤司, 丸尾俊文: 無酸素条件下のメタン発酵グラニュール充填槽における有機物除去・脱窒特性, 環境工学研究論文集, Vol. 46, 665-672 (2009), 査読有

〔学会発表〕（計 10 件）

- ① 渡邊智秀: 低炭素型廃水処理技術について, 第 47 回環境工学研究フォーラム企画セッション, 2010. 11. 13, 高知大学(高知市)
- ② 渡邊智秀, 植原啓介, 森俊輔, 高寄真: 循環式 USB-亜硝酸型硝化プロセスによる含窒素高濃度有機性排水の処理特性, 第 47 回環境工学研究フォーラム, 2010. 11. 12, 高知大学(高知市)
- ③ 渡邊智秀, 植原啓介, 高建明: 循環式 USB-亜硝酸型硝化プロセスによる含窒素高濃度有機性排水の処理特性, 化学工学会宇都宮大会, 2010. 8. 20, 宇都宮大学(宇都宮市)
- ④ 植原啓介, 高建明, 伊藤司, 渡邊智秀: UASB-亜硝酸型硝化プロセスによる含窒素高濃度有機性排水の処理特性, 第 44 回

- 日本水環境学会年会, 2010. 3. 17, 福岡大学(福岡市)
- ⑤ 渡邊智秀, 森俊輔, 伊藤司, 丸尾俊文: 無酸素条件下のメタン発酵グラニューール充填槽における有機物除去・脱窒特性, 第46回環境工学研究フォーラム, 2009. 11. 29, 新島学園短期大学(高崎市)
- ⑥ 植原啓介, 高嵯真, 伊藤司, 渡邊智秀: 循環式 USB-亜硝酸型硝化プロセスによる含窒素有機性排水の処理特性, 第46回環境工学研究フォーラム, 2009. 11. 28, 新島学園短期大学(高崎市)
- ⑦ 渡邊智秀, 植原啓介, 森俊輔, 伊藤司: 脱窒能を有する嫌気性グラニューール充填槽の排水処理特性, 化学工学会第41回秋季大会, 2009. 9. 18, 広島大学(東広島市)
- ⑧ 森俊輔, 伊藤司, 渡邊智秀: 単一槽型メタン発酵・脱窒処理槽内グラニューールの微生物群集構造, 第43回日本水環境学会年会, 2009. 3. 18, 山口大学(山口市)
- ⑨ 森俊輔, 伊藤司, 渡邊智秀: 脱窒能を有する嫌気性グラニューールを形成する微生物群集構造の解析, 土木学会第63回年次学術講演会, 2008. 9. 10, 東北大学(仙台市)
- ⑩ 渡邊智秀, 高嵯真, 伊藤司, 丸尾俊文, 松島克典: 脱窒能を有する嫌気性グラニューール充填槽を組み込んだ排水処理システムの構築, 土木学会第63回年次学術講演会, 2008. 9. 10, 東北大学(仙台市)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 含窒素有機性排水の処理方法
 発明者: 黒田正和, 湯沢恩, 荒井哲雄,
渡邊智秀
 権利者: 同上
 種類: 特許
 番号: 特願 2008-224530, 特開 2010-058021
 出願年月日: 2008. 9. 2
 国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊智秀 (WATANABE TOMOHIDE)
 群馬大学・大学院工学研究科・教授
 研究者番号: 60251120

(2) 研究分担者

伊藤司 (ITO TSUKASA)
 群馬大学・大学院工学研究科・講師
 研究者番号: 80431708
 (2008~2009)