

Professional Report

水処理向け生物学的窒素処理技術とその展望

Biological Nitrogen-removal Technology for Wastewater Treatment and the Future Trend

角野 立夫 Tatsuo Sumino

19世紀後半から欧州で土壤微生物を利用した下水の灌漑処理が始まり、その後、欧米で曝気槽内に微生物を保持し、下水を接触させて処理する活性汚泥法が普及した。20世紀前半に日本でも本格的な下水処理技術が東京市（当時）三河島処理場に導入され、有機物汚濁の処理が開始された。さらに20世紀後半から東京湾、伊勢湾、瀬戸内海などの閉鎖性水域での富栄養化が進み、その原因物質である化学的酸素要求量(COD)成分、窒素、リンの除去の必要性が生じ、特に窒素処理に関しては硝化細菌を高分子ゲルの中に固定化した包括固定化担体を生物反応槽に投入することで、高速で安定した処理が可能となった。これらの水処理技術開発の変遷と、包括固定化担体利用技術「ベガサス」の開発経緯、次世代窒素処理技術であるアナモックス菌などの有用菌探索と活性発現を引き出すためのセルソータ、マイクロリアクタやショットガンアレイを用いた取り組みについて述べる。

角野 立夫
1978年日立プラント建設株式会社入社
株式会社日立プラントテクノロジー
研究開発本部 松戸研究所 所属
現在、水処理技術開発に従事
水処理生物学会会員
農学博士



1 はじめに

地球上の水量は14億km³と推定されている。そのうち97～98%が海水で、2～3%が陸水である¹⁾。降雨などにより海水と陸水が循環する中で、生態系が形成され、豊かな地球環境が維持されてきた。近年、人口の増加および集中により、陸水水源の不足、生態系の破壊が生じ、人間と他の共生生物のバランスが崩れ、生態系による水系の自浄能力が低下し始めている。このような状況の中、人間の生活生産活動で発生する排水を人為的に浄化する必要が生じ、水質浄化技術が開発されてきた。いかに自然の摂理を利用し、安価に浄化するかが課題である。水質浄化技術としては、(1)生態系自浄作用を人為的にリアクタ内で行う生物技術、(2)太陽の紫外線や空気中の酸素やオゾンで酸化分解反応を人為的に加速する物理化学技術に分類できる。発酵生産での有用菌は工業的に利用されているが、生態系自浄作用で活躍する有用菌はほとんど分離されていなく、

人類は利用できていない。

ここでは、汚染問題の経緯と課題、河川や湖沼などの汚染を解決するために筆者らが開発した、有用菌を用いた窒素処理技術（包括固定化微生物利用技術）の開発、今後の展望などについて述べる。

2 水質汚染と浄化技術の経緯^{1)~3)}

人口の集中は欧州で早く進み、14世紀に過密都市パリで地下に石造りの下水道が初めて誕生した。その後、19世紀にコレラが流行するとさらに下水幹線が作られ、下水の灌漑（かんがい）処理が開始された。灌漑処理は土壤中の微生物と下水を接触させ処理する古典的な生物浄化方法である。

日本の場合、江戸に人口が集中したが、そのころの尿（し）尿は有用な肥料として利用され、水質汚濁の原因とはならなかった。20世紀に入り、1922年に本格的な下水処理が東京市（当時）の三河島処理場で開始

されている（図1参照）。

20世紀後半になると、科学技術、とりわけ化学工業の急速な発展により、水質汚染による公害が顕在化した。特に水俣病やイタイタイ病などを機に、水質汚濁が公害として社会問題となり、1967年に公害対策基本法が制定され、1971年には環境庁が設立された。このころから汚染の加害者が特定され、生物処理や物理化学的処理技術の開発が進められた。1993年に環境基本法が制定され、公共用水域の水質環境基準は、人の健康の保護に関する環境基準および生活環境の保全に関する環境基準に分けて定められ、有機物の処理や、浮遊物質の処理技術が確立し、必要な施設が整備された。その後、湖沼、海域などの栄養化の原因物質である窒素を処理するための有用菌利用技術がクローズアップされてきた。

最近では、ダイオキシン、環境ホルモンなどを含有する排水の水質浄化が注目されている。この問題に関しては、一般市民も事業者も加害者であり、かつ被害者である。昔の公害問題とは別の形態である。

環境ホルモンの影響については、1972年に世界保健機関の国際化学物質安全計画（WHO/IPCS）において、すでに指摘されていた。国際的関心が高まったのは、1996年にT.Colbornらによる「奪われし未来」の出版が契機である。新しい毒性観念であるため、作用する物質の種類およびその影響、環境中での汚染状況など不明な点が多く、幅広い調査、研究が行われている。

米国環境保護庁（EPA：Environmental Protection Agency）は、内分泌攪（かく）乱性の評価方法について、スクリー

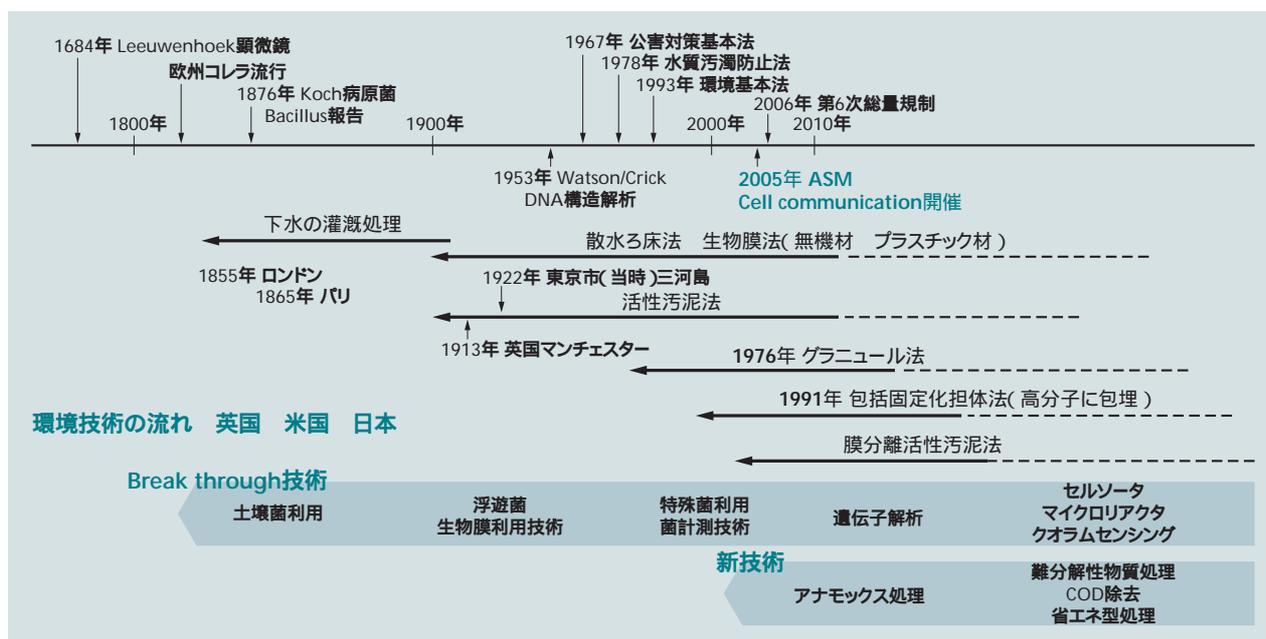
ニングとテストに関する諮問委員会（EDSTAC：Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee）を設け、1997年に「環境内分泌攪乱に関する特別レポート」を提出している。国内では環境庁（当時）が1997年に、国内外の文献調査を基に内分泌攪乱作用が疑われる67物質（群）を提示した。また、1998年には、環境ホルモン戦略計画「SPEED'98（Strategic Programs on Environmental Endocrine Disruptors）」を発表し、環境ホルモン物質の特定や汚染状況の調査など包括的な取り組みを開始した。調査結果から、環境ホルモン物質を含む排水としては、埋立地浸出水や下水が報告されており、特に、埋立地浸出水ではダイオキシン類、下水ではベンゾフェノン、フタル酸エステル類などが検出されている。

排水中の環境ホルモン物質の処理方法として、オゾン酸化や紫外線酸化など、物理化学的手法の適用を検討しているが、いずれも既存の処理プロセスに新たな工程を付加する必要がある。

3 活性汚泥による排水処理

活性汚泥法は、20世紀前半から用いられている排水処理法であり、現在もほとんどの下水処理場で用いられている。下水を入れた槽に空気を吹き込むと、細菌や微小動物がフロック状に自然繁殖する。このフロック状の微小生物集合体が活性汚泥である。土壌微生物よりも、どぶ川の水生微小動物や細菌に近い生物相である。

この活性汚泥は次の機能を有する。



注：略語説明 DNA（Deoxyribonucleic Acid）、ASM（American Society Microbiology）、COD（Chemical Oxygen Demand）

図1 生物処理技術開発の経緯と時代背景

下水の生物学的処理は、古くから欧州で行われ、自然に淘汰された微生物フローラを用いて下水中汚濁成分を微生物分解している。今後、遺伝子やクオラムセンシングでの解析により、生態系の潜在機能を発現させた新たな環境保全技術開発が可能になると考える。

- (1) 有機物を分解する機能（バイオマスに変換）
- (2) 浮遊成分や重金属などを吸着する作用
- (3) 混合菌であるため凝集性がよく、沈降性がよいフロックを形成する機能

活性汚泥法による処理装置は、活性汚泥を保持した曝（ばっ）気槽と活性汚泥フロックを沈降させ上澄水（処理水）を得る沈殿池から構成される。工学的には確立された技術である。生物化学的酸素要求量（以下、BODと言う。）や浮遊物質（以下、SSと言う。）成分の除去には好ましいが、窒素やリンの処理については不十分である。微生物学的には複合系の微生物群であり、解析が困難であった。今後、分子生物学的解析技術が進み、微生物の種類、機能などが明らかになることが期待できる。

4 富栄養化の現状と窒素・リン処理の必要性

わが国の大都市を中心とする人口・産業集中地区は東京湾、伊勢湾、瀬戸内海などの内湾、内海の流域に直接に面して立地されてきた。1955～1975年に、これらの地区およびその周辺地区は、下水道の普及が遅れてきたことから、そこに流入する河川、水路を含め、内湾、内海水域に甚だしい水質汚濁（特に有機汚染）がもたらされた。従来の濃度規制では十分な水質改善効果が望めなかった。1978年に「水質汚濁防止法」および「瀬戸内海環境保全特別措置法」の改正によって水質総量規制制度が導入され、1979年以来、海域の水質環境基準項目である化学的酸素要求量（以下、CODと言う。）を指定項目とする総量規制が実施された⁴⁾。

この間も公共下水道普及のための努力が続けられ、1997年度には全国の下水道普及率は56%に達した⁵⁾。特に、集中的な投資が行われてきた大都市およびその周辺地区での下水道普及率は90%を超えるまでになった。

しかし、下水道普及率が向上したにもかかわらず、内湾、内海などの水域のCODは必ずしも大幅に改善されるに至っていないことが見出されてきた。東京湾を例にとってみるとCODの環境基準達成率は1978年からほぼ横ばいである⁴⁾。

これは、外部要因としてのCOD、すなわち流入するCODは以前よりも大幅に減少したものの、藻類の増殖という内部要因によるCOD、すなわち内部生産のCODの増加によるものであった。藻類は窒素とリンの存在下で光合成を行い異常増殖する。分解すると水中にCODを溶出する。内湾・内海のCOD濃度は、内部生産の増加により、改善が妨げられている。その水質汚濁

は約20数年前とは形を変えて、栄養塩の増加、すなわち富栄養化による障害をもたらすことを示している。富栄養化に起因して生産された緑藻植物、らん藻植物、鞭（べん）毛藻植物などの藻類の増殖により、赤潮の発生が頻発してきた⁶⁾。東京湾での赤潮は1997年に1979年以降最多の61件が、また、青潮についても1998年には4件が報告され、閉鎖性海域での環境汚染や養殖漁業などへの被害も毎年のように発生しているとの報告がある⁷⁾。

富栄養化の要因である下水や工場廃水からの全窒素（以下、T-Nと言う。）、全リン（以下、T-Pと言う。）の除去については、湖沼水域を除いてはそれまで義務づけられてこなかった。これは、内湾・内海の富栄養化によってもたらされる水質汚濁のメカニズムの解明が遅れたことに起因している。しかし、1993年8月になって海域のT-N、T-Pの環境基準が設定され、さらに同年10月には排水基準の改正がなされた。そして、1996年度までにこれら閉鎖性海域のうち、東京湾を含め15海域（40水域）について類型指定が行われてきた。

東京湾に面している7都府県市では、1997年3月に「東京湾流域別下水道整備総合計画」を作成した⁸⁾。この中の東京湾特定水域高度処理基本計画のシミュレーションでは、東京湾における流入負荷量に占める下水処理場からの排出量は、下水道が100%普及した段階で窒素75%、リン64%を占めると試算された。また、東京湾の環境基準達成や富栄養化防止に対する下水処理場での削減効果についてみると、(1) BOD (COD)、浮遊物除去を主目的とした二次処理、(2) BOD (COD)、浮遊物、T-N、T-P除去を行う高度処理、(3) 合流式下水道の水質改善であり、その寄与率はT-Nの場合についてみると、(1)は27%、(2)は67%、(3)は3%であり、(2)の高度処理による削減寄与率が非常に高くなっている。このようなことから、下水処理場ではBODやSSに加えて、T-NおよびT-P除去のための高度処理を適用していくことは非常に重要であり、そのための技術を開発することの必要性が論じられてきた。これらの技術開発を前提に、7都府県市では先の東京湾流域別下水道整備総合計画を進めた。わが国の大都市およびその周辺地区は、下水高度処理に使用できる用地面積が大きな制約を受けることは明らかである。このことを前提に、これらの目標値をクリアできる省面積型の下水高度処理の技術開発とその実用化が、その当時の課題となってきた。

下水処理技術として、わが国で広く採用されてきた標準活性汚泥法や長時間曝気法などの活性汚泥変法は、

二次処理と呼ばれ、BODとSSの大部分を除去することを主目的としてきた。この処理法では、T-NとT-Pについては最初沈殿池での固形物分離や、活性汚泥の細胞合成によるものであり、その除去率は、平均的にはT-Nで32%、T-Pでは15%であった⁹⁾。すなわち、T-NおよびT-Pの除去に関しては十分な能力を有していない。都市下水に含まれたT-NおよびT-P化合物の除去に関する研究は、物理化学的処理法と生物学的処理法について行われてきた⁸⁾。

以上の背景の下で、筆者らがT-Nに関し、有用菌を利用した生物学的除去技術を開発したので詳細を以下に記す。

5 有用菌の利用技術

窒素処理には下水に含まれるアンモニアを酸化する硝化細菌(*Nitrosomonas sp.*, *Nitrobacter sp.*など)と酸化して得られる硝酸を窒素ガスに分解する脱窒細菌(*Pseudomonas denitrificans*)を保持することが必要である。

硝化細菌は、特に増殖速度が遅く、活性汚泥中に維持することが困難である。筆者らは1982年に有用細菌を固定化する技術の開発に着手した。当初、アクリルアミドで細菌を包括固定化し、排水を処理した結果、包括担体(細菌を含有するゲル状担体、3mm角型担体)から細菌がリークしにくく、細菌を高濃度に保持できることを見出した。この技術を基盤にして1985年に、建設省(当時)総合技術開発プロジェクト(バイオフィーカスWT)に参画し、硝化細菌の固定化に適した材料としてポリエチレングリコールプレポリマ(以下、PEGと言う。)による固定化方法を開発した(図2参照)。

PEGは、(1)固定化後の活性が高い、(2)安価である、(3)物性が優れているという特長を持っている。通常の

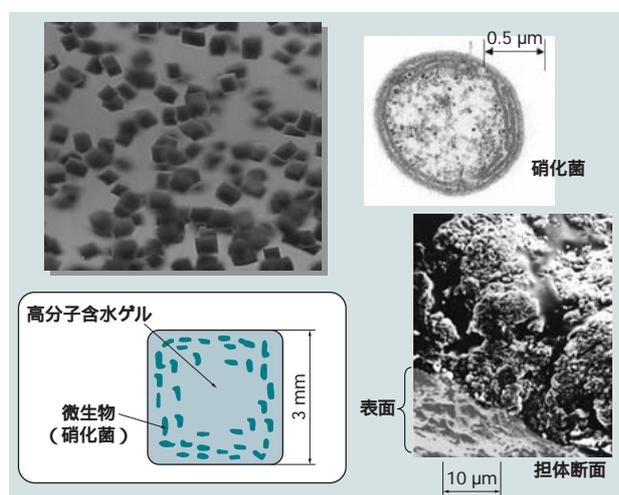


図2 包括固定化担体と硝化細菌

包括固定化担体をリアクタ内に流動させ、アンモニアが硝化細菌によって酸化され、処理される。



図3 パイロットプラント

1988年、下水を48m³/日で処理する装置を北野下水処理場(八王子市)に設置した。包括固定化担体を硝化槽に投入し、負荷変動や処理水温など処理因子を検討した。



図4 実証プラント

1989年、下水を3,000m³/日で処理する装置を滝の下終末処理場(川崎市)に設置した。包括固定化担体を硝化槽に投入し、処理の安定性を実証した。

液体培養では $10^5 \sim 10^6$ cells / mL までしか培養できない硝化細菌を、PEG担体内部にコロニー形成させることにより、 $10^7 \sim 10^{10}$ cells / mL まで増殖できることを見出している。この担体を用いた処理プロセスとして、高速処理可能な窒素含有廃水処理技術「ペガサス」を開発し、廃水処理施設として実用化した^{10)~18)}。

1988年からのパイロットプラント(図3参照)、実証プラントテスト(図4参照)を経て、1991年にアンモニア性窒素廃水用の硝化处理1号機を、1994年には同2号機を、1995年には都市下水終末処理場に有機物、窒素、リン同時処理設備を納入した。さらに産業廃水処理向けにも多数実用化されている。

これまで納入された中で、宗像市宗像終末処理場の装置について以下に述べる。この処理場は放流先の釣川環境保全と水質保全を目的に、既設の活性汚泥処理施設に包括固定化担体を添加した設備に改築し、窒素・リンの高度処理を可能にした。概略フローを図5に、全景写真を図6にそれぞれ示す。脱窒槽容積2,008 m³、硝化槽容積1,436 m³で、下水の滞留時間がそれぞれ4.3時間、3時

間である。硝化槽に担体が7.5% 投入されており、硝化槽でNH₄-NがNO₃-Nに酸化され、この硝化液が脱窒槽に循環されて脱窒槽でBOD成分を水素供与体として脱窒される。また廃水中のリンは凝集剤添加によって除去される。

従来の活性汚泥処理での処理水は、T-N平均で20 mg/L、T-P平均値で3 mg/Lであったのが、包括固定化担体添加と凝集剤添加によりそれぞれ10 mg/L、0.3 mg/Lと向上した¹⁹⁾。

廃水処理技術は、散水ろ床法や活性汚泥法のように欧米の技術が多い中、包括固定化担体を添加した処理法は、純国産品技術で米国農務省などからも注目されている。これまで欧米を含め30か所の処理場で、約6,000 m³の包括固定化微生物担体が稼働している。包括固定微生物といえば田辺製薬株式会社のアスパラギン生産が有名であるが、食品、医薬品などの分野を含めてみても、生態触媒としてこれだけの包括固定化担体を生産し、稼働させた例はない。

現在、有用微生物として、ダイオキシン、環境ホルモン、PCB(ポリ塩化ビフェニル)、トルエン、マイクロシスチンなど有害な物質を分解する細菌が見出されている。これらの有用細菌を保持し、反応に使う手段として、固定化は有効である。高濃度に保持できることはもちろん、研究手段としても固定化担体を使うとハンドリングがきわめてよく、反応の解析が容易になる

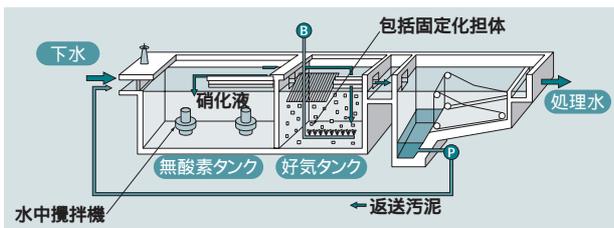


図5 宗像市宗像終末処理場の概要
包括固定化担体を用いた窒素除去プロセスの概略フローを示す。



図6 宗像終末処理場の外観
1995年、下水を11,300 m³/日で処理する装置を福岡県宗像終末処理場に納入した。良好な処理水を得ており、現在、順調に稼働中である。

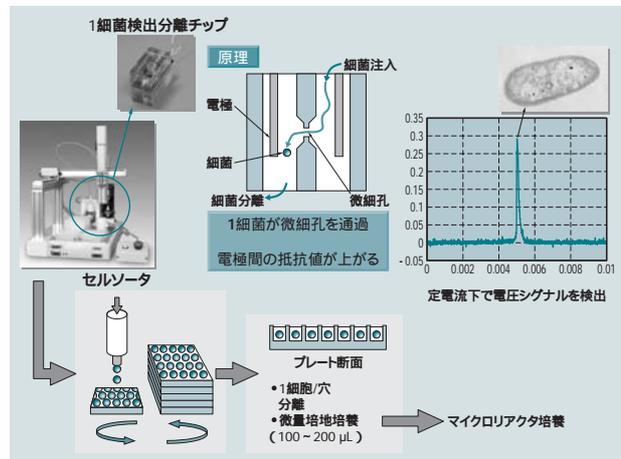


図7 セルソータの概要

細菌の純粋分離機を開発中である。これまで10 μmの酵母など純粋分離するセルソータは報告されているが、1 μmの細菌を純粋分離できるセルソータは世界で初めてであり、有用菌の分離に使用することができる。

ことを実感できる。水系には細菌が多く棲(せい)息し、気中には真菌(カビ)が多く、土壌には細菌、放線菌、酵母、真菌が棲息する。このように棲息域の異なる生態系に、数多くの微生物が棲息しているが、人間が分離し、その存在を確認しているのは、わずか1%であり、99%は未知の微生物である。これらの未知の微生物を分離し、より有効に利用する手段として固定化は有望である。筆者らは固定化材料にさらに機能性を持たせるための分子設計を試みるとともに、MEMS(Micro Electro Mechanical Systems)技術を利用したセルソータを用い、有用菌の純粋分離を試みている(図7参照)。有用菌の活性発現には共生微生物が産生する生理活性物質が必要である場合が多く、共存または共生する微生物は、互いに生理活性物質を介してセルコミュニケーションすることが解明されつつある。環境浄化のための理想的な生態触媒を設計できるのもそう遠くはなく、いずれは人類が化学物質を介して微生物と会話できる時代が到来し、生態系と会話できてこそ本来の共生社会が可能となる。ドラえもん「翻訳こんにやく」の世界も夢ではない。

6 今後の展開

現在、水処理での省エネルギー、省スペース化技術の開発が一段と望まれており、窒素を高速処理でき、かつ水素供与体の必要がない省エネルギー型のアナモックス反応が注目されている。筆者らはこの反応を行う新種のアナモックス菌を見出し、大量培養に成功している^{20),21)}。この種の未知の有用菌は自然界で広く分布しているが、活性発現のメカニズムが分かってない。活性発現のための生理活性物質がある濃度以上になる

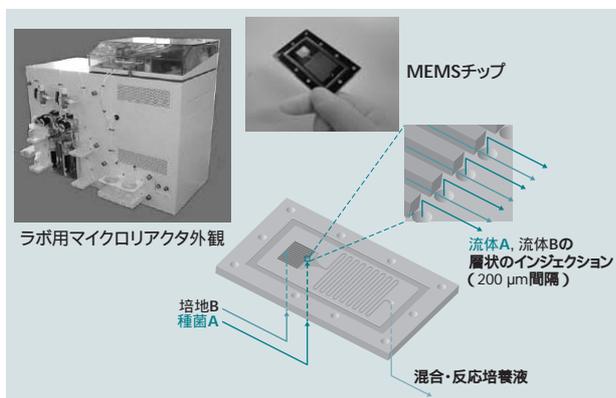


図8 マイクロリアクタを用いた有用菌の培養

セルソータで純粋分離した細菌は、マイクロリアクタの微小空間領域で培養する。特殊な微生物は培養が難しく、活性発現物質（オートインデュサー、AI）が一定濃度以上にならないと発現しない。微小空間で培養することにより、AIが濃縮され、培養/活性発現が不可能な菌を可能とするシステムを研究開発中である。

と活性が発現すると考えられている。現在、これら未知の純粋分離培養不可能な微生物をセルソータ/マイクロリアクタでの純粋分離培養を試みている（図8参照）。マイクロリアクタ培養の特長は、以下のとおりである。

- (1) セルソータで分離した菌を直接培養可能
- (2) 微小空間で培養することによる生理活性物質濃度の濃縮とそれに起因した活性増大
- (3) 基質拡散律速のない反応が可能，最大反応速度での解析が可能
- (4) 細胞にせん断力をかけずに培養が可能

また、日立製作所ライフサイエンス推進事業部の加来らは、筆者らが集積培養したアナモックス菌群フローラのゲノムをショットガンアレイで解析し、活性発現でのゲノムの遷移解析を可能とするFloraArray法を開発している²²⁾。セルソータ/マイクロリアクタでの純粋分離培養系とFloraArray法を用いた混合培養系の両面からの解析により、窒素処理などの有用微生物の活性発現メカニズムを解明することで、新たな生態系制御が可能となり、新浄化システムの開発に展開できるものと考えている。

7 おわりに

ここでは、有用菌の利用技術について、生物処理の開発経緯、窒素処理の必要性、有用菌の利用技術、セルソータやマイクロリアクタを用いての今後の展開などについて述べた。

窒素処理の主流になると思われるアナモックス反応については、陸水学や海洋学の分野で、この反応が自然界で行われていることを古くから知られていた。最近になって、アナモックス菌の培養が可能となったことから、環境浄化分野で注目されている。この種の自然界で昔か

ら見出されている現象で、解明されてない生物反応は依然として多々ある。それを解明する糸口の一つがセルコミュニケーションで構成される生態系のクオラムセンシングの世界であり、セルソータ、マイクロリアクタやFloraArray法を活用して生態系を解明することが、生態系を利用した環境保全技術開発の近道と考えている。

用語解説

クオラムセンシング quorum sensing

自分と同種の菌の生息密度を感知して、それに応じて物質の生産や代謝分解をコントロールする機構。quorumとは、議会における定足数（議決に必要な定数）のことを指し、細菌の数が一定数を越えたときに初めて特定の物質が生産されることを、案件が議決されることに喩えて名付けられた。

参考文献

- 1) 松尾編：水環境工学，朝倉書店，pp.2-9（2000）
- 2) 住友，外：環境工学，朝倉書店，pp.80-96（1998）
- 3) 鯖田：水道の文化，新潮選書，pp.23-75（1989）
- 4) 環境庁：第5次水質総量規制のあり方について，官公庁公害専門資料，Vol.35，No.1，pp.91～109（2000）
- 5) 日本の下水道 平成10年，日本下水道協会，pp.46～47（1998）
- 6) 環境庁水質保全局：「第5次水質総量規制のあり方について」に係る中央審議会答申及び第5次水質総量規制における総量規制基準等に係る中央審議会への諮問について，官公庁公害専門資料，Vol.35，No.2，pp.82～112（2000）
- 7) 津野，外：環境衛生工学，共立出版，p.35（1995）
- 8) 大川昌俊：川崎市における高度処理導入計画，下水道協会誌，Vol.35，No.430，pp.18～24（1998）
- 9) T. Annaka：Research and Practice on Phosphorus Control in Japan，EPA International Seminar on Control of Nutrients in Municipal Wastewater Effluents（1980）
- 10) 角野，外：固定化微生物を用いた窒素除去に関する研究，下水道協会誌論文集，28（334），pp.44-53（1991）
- 11) 包括固定化担体を用いた硝化促進型循環変法「ベガス」の評価に関する報告書，日本下水道事業団技術開発部（1993）
- 12) 角野：包括固定化微生物を用いた廃水処理，用水と廃水，34（11），pp.27（1992）
- 13) H.Emori，et al.：High rate and compact single sludge pre-denitrification process for retrofit，Wat. Sci. Tech.，30（6），pp.31-40（1994）
- 14) 角野：固定化微生物による下水再利用技術，日本工業用水協会第19回研究発表会講演集，pp.74-76（1984）
- 15) 角野：固定化微生物による下水の処理，第21回下水道研究発表講演集，pp.251-253（1984）
- 16) T.Sumino：Immobilization of activated sludge by the acrylamide method，J. Ferment. Bioeng.，72，pp.141-143（1991）
- 17) T.Sumino：Immobilization of nitrifying bacteria by polyethylene glycol prepolymer，J. Ferment. Bioeng.，73，pp.37-42（1992）
- 18) T.Sumino：Immobilization of nitrifying bacteria in porous pellets of urethane gel for removal of ammonium nitrogen from wastewater，Appl. Microbiol. Biotechnol.，36，pp.556-560（1992）
- 19) 浦田，外：包括固定化による排水の窒素除去技術の開発，環境研究，No.103，4-13（1996）
- 20) K.Isaka，et al.：Growth characteristics of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtrated reactor. Appl. Microbiol. Biotechnol.，70，pp.47-52（2006）
- 21) T.Sumino，et al.：Nitrogen removal from wastewater using simultaneous nitrate reduction and anaerobic ammonium oxidation in single reactor. J. Biosci. Bioeng.，102，pp.346-351（2006）
- 22) 加来，外：新しい1DNAマイクロアレイテクノロジー，日立評論，88，9，pp.738-741（2006）