

総説論文

リンの回収と再資源化のためのバイオテクノロジー

Biotechnology for phosphorus recovery and recycling

大竹 久夫^{1*}, 黒田 章夫¹, 加藤 純一¹, 池田 宰¹

HISAO OHTAKE, AKIO KURODA, JUNICHI KATO, TSUKASA IKEDA

滝口 昇¹, 木下 勉², 糠信輝領謹²

NOBORU TAKIGUCHI, TSUTOM KINOSHITA and KIMINORI NUKANOBU

¹ 広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻 〒739-8526 広島県東広島市鏡山1-3-1

* TEL: 0824-24-7756 FAX: 0824-24-7047

* E-mail: hohtake@hiroshima-u.ac.jp

² 神鋼パンテック株式会社 〒651-2241 神戸市西区室谷1-1-4

¹ Department of Molecular Biotechnology, Graduate School of Advanced Sciences of Matter,
Hiroshima University, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8526, Japan

² Technical Research Center, Shinko Pantec Co. Nishi-ku Kobe 651-2241, Japan

キーワード: 活性汚泥, 富栄養化, ポリリン酸, リサイクル技術, リン資源

Key words: Activated sludge, eutrophication, polyphosphate, recycle technology, phosphorus reserves

1. はじめに

リンは、あらゆる生物にとって必須の元素である¹⁸⁾。言うまでもなく、人間が食料を生産し生命活動を営むためにも絶対に欠くことができない。リンは空気のように人間が住んでいるところならどこにでも存在するから、私たちはそのありがたみになかなか気がつかない。しかし、たとえリンがどこにでも存在しようとも、まとまって存在していなければ、それは資源とはなりえない。私たちはこれまで、自然が集めてくれたリンだけを、資源として利用してきた。そのリン資源が今、枯渇することが懸念されている¹⁾。そもそも資源問題というものは、画期的技術の登場でもなければ、なかなかよい解決策が見つからずに、その対策は先送りになされがちである。リンについて言えば、あたかもリン資源など無尽蔵であるかのように、私たちが使い捨て続けていることに問題がある。リンは、石油や天然ガスなどと違って、何度使用しても分解されて無くなるものではないから、まさにリサイクルにむいている。

今や世をあげて循環型社会をめざそうという時代である。経済的で環境にもやさしいリサイクル技術に、人々の関心が集まるのもっともなことである。これまでに成功したリサイクル技術の多くは、ハイテクと言うよりもむしろアイデア勝負の技術である。この分野においては、コロンブスの卵のようなちょっとしたアイデアにこそ、閉塞しがちな技術開発の現状を打破する活力があるのかもしれない。筆者らは、都市下水処理場の余剰汚泥が蓄積したリンを、短時間加熱するだけで簡単に取出せるという画期的な技術を開発した²⁰⁾。加熱して取出したリンを、カルシウムにより沈殿させると、人工的にリン

鉱石ができあがる。本稿では、この広島大学での小さな発見から生まれたわが国のオリジナル技術について紹介する。既に、広島大学と神鋼パンテック株式会社とが共同で実施したパイロットプラントによる実証試験の結果は、都市下水に含まれるリンの少なくとも50%を、人工リン鉱石として回収することが可能であることを示している²¹⁾。

2. リン資源枯渇の潜在的危機と富栄養化問題

現代農業は多量のリンと窒素を肥料として必要とするが、リンは窒素のように空気中から固定できないから、毎年まき続けなければならない。このため、地球上で採掘されるリン鉱石の量は年間約1億5千万トンにも達しており、この量は世界の食塩生産量よりも多いと言われている²³⁾。世界のリン鉱石の寿命予測によれば、現在の採掘コストでまかなえる品質の良いリン鉱石の埋蔵量は、あと約40-50年に過ぎないようである¹⁷⁾。品質の良いリン鉱石であったグアノは、既に世界中で掘り尽くされ、主要なリン鉱石の産出国では、リン鉱石の輸出を規制する動きも始まっている。これらのリン鉱石が採掘されてしまうと、採掘コストは少なくとも倍増すると言われている。もちろん採掘コストが倍増しても、日本など豊かな国が直ちに困ることはないかもしれない。しかし、急速な人口増加と慢性的な食料不足に苦しむ発展途上国ではそうはいかない。これらの国では、現在でも価格が高いために、十分な肥料を使用できないでいる。リン鉱石の採掘コストの増加は、必然的に肥料の価格に跳ね返り、世界的規模での農業生産に深刻な打撃を与えかねない。ひいては、人類の生存そのものにも重大な危機

を招きかねない。リン資源枯渇の潜在的危機は、これまでも繰り返し叫ばれてきた。しかし、人類は未だにリンを循環再利用するシステムを作り上げておらず、あたかもリン資源など無尽蔵であるかのように消費が続いている。

一方わが国は、年間約100万トンものリン鉱石を総て海外から輸入しており、その約80%がリン肥料の生産にまわり消費されている¹⁰⁾。最近では、現地で燐安などに加工されてから国内に持込まれるリンの量も増加しているようである。加えて、輸入食料や家畜飼料に含まれて持ち込まれるリンの量も増えている。にもかかわらず、リンを資源としてリサイクルするシステムは、未だに確立されてはいない。このためわが国では、わざわざお金を払って国内に持ち込んだリンが、やがて閉鎖性の強い水域に流れ込んで、深刻な富栄養化問題を引き起すという皮肉な結果を生んでいる。将来のリン資源の枯渇を見越して、魚や家畜の骨などの未利用廃棄物からリンを回収しようという提案もなされているが⁷⁾、これだけでは富栄養化による環境破壊には対処できない。むしろ最大の負荷源である下水中のリンを、閉鎖性水域に流れ込む前に回収して、再利用に回すべきであろう。もし、わが国がリンのリサイクルシステムを逸早く確立すれば、地球的規模でのリン資源枯渇の危機を回避することに貢献できるばかりか、国内的にも富栄養化による環境破壊の防止に、一石二鳥の効果が期待できるだろう。

3. リン回収のバイオテクノロジー

3.1. 活性汚泥によるリンの除去

リンは人間活動が生み出す殆どの排水に含まれている。リンは、硫酸アルミニウムなどの化学凝集剤の添加によっても除去できるが、都市下水の様に処理すべき水量が多くなると、化学的処理法ではコストが掛かり過ぎる。化学的処理法にはまた、汚泥の発生量が増加するなどの問題点もある¹⁰⁾。一方、活性汚泥などを用いる生物学的処理法も、有機汚濁物質の除去には効果的であるが、さすがにリンの除去となると万全とは言えない。リンは、窒素のように大気中に飛ばすこともできないから厄介である。近年、廃棄物の海洋投棄の禁止に伴い、食品加工廃棄物、尿尿、生ゴミなどの有機性廃棄物の処理コストが高騰し、不法投棄に拍車をかけるなど、深刻な社会問題となっている。有機性廃棄物はできるだけ資源化して、再利用をはかるべきであるが、この再資源化の過程においても、行き場を失ったリンの処理が厄介な問題として残されている。他方、わが国における湖沼や内湾の富栄養化による水質の悪化は危機的な状況にあり、いよいよリンと窒素に関する総量規制も始められた。こうした事情も、最近になってリンの回収技術に関心が集まる一因となっているようである。

生物学的処理法における主役は細菌であり、如何にして細菌のリン除去能力を増大させるかは、排水からリンを除去する技術を考える上で、とくに重要なポイントである。既に述べたように、リンは分解されて消失することがないから、リンの除去とは排水中から汚泥細菌へリンを移動させて、固液分離するだけのことである。した

がって、排水から回収できるリンの量は、汚泥細菌が細胞内に蓄積できるリンの量のよって、当然制限を受ける。一般に、都市下水の処理を行っている活性汚泥の乾燥重量当たりのリン含有率は、約1から2%程度に過ぎず、このような活性汚泥では、都市下水に含まれるリンの約30%程度しか除去できないと言われている⁹⁾。しかし面白いことに、活性汚泥を嫌気条件および好気条件に交互に繰り返し晒すことによって、そのリン含有率を6~8%にまで増加させることが可能である²²⁾。この場合、活性汚泥は嫌気条件下においてリン酸(PO_4^{3-})を放出し、好気条件下でリン酸を取り込む。好気条件下で活性汚泥が取り込むリン酸の量が、嫌気条件下で放出するリン酸の量を上回ることにより、結果的にリンが排水から除去されることになる。一見すると、嫌気条件下でのリン酸の放出は無駄のようにみえるが、この過程を省略すると、活性汚泥のリン除去能力は、顕著に低下してしまう。

汚泥細菌が取込んだリン酸は、ポリリン酸として細胞内に蓄積される¹⁹⁾。生物が合成するポリリン酸は、リン酸が直鎖状に縮合してできたポリマーである¹¹⁾。その鎖の長さは、最も短いもので3であるが、長いものになると1000を越えると言われている。ところで、嫌気および好気条件に繰返し晒された活性汚泥によるリン除去の機構については、現象を上手く説明できる面白い仮説が作られている¹⁰⁾。まず、活性汚泥を嫌気条件に晒すと、排水中に含まれる有機汚濁物質を通性嫌気性菌が分解して、酢酸などの有機酸を放出する。次に、ポリリン酸を蓄積できる細菌が、ポリリン酸をエネルギー源として有機酸を細胞内に取り込み、PHB(ポリ-β-ヒドロキシ酪酸)などのエネルギー貯蔵物質を合成する。PHBなどを合成するためのエネルギー源として使われたポリリン酸はリン酸に分解され、細胞内で過剰となったリン酸が細胞外に放出される。好気条件になると、ポリリン酸蓄積細菌は、細胞内に貯えたPHBなどのエネルギー貯蔵物質を酸化して、今度は細胞外からリン酸を取り込んでポリリン酸を合成する。活性汚泥を嫌気条件と好気条件に交互に晒し続けると、ポリリン酸蓄積細菌は貯蔵エネルギーをうまく利用して増殖できるから、やがて活性汚泥の優占種となり、その結果活性汚泥のリン除去能力が向上する。残念ながら、活性汚泥が複雑な微生物群集から成り立っているため、この仮説を証明することは容易ではない。しかし、もし本当にポリリン酸の合成と分解が、PHBなどエネルギー貯蔵物質の代謝と直接関係があるのであれば、ポリリン酸の細胞機能を知る上でも大変興味深い。既に、この特性を利用して嫌気好気活性汚泥法と呼ばれる生物学的リン除去プロセスが実用化されている(図1)。

3.2. 細菌のポリリン酸蓄積機構

最近ポリリン酸の定量技術が発達したことにより、細菌から高等動植物に至るまで多くの種類の生物に存在することがわかってきた¹²⁾。細菌などの微生物では、ポリリン酸はリン貯蔵物質として重要な役割を担っている(図2)。自然界ではリンは欠乏しがちであり、細菌はリン飢餓に備えて、リンを貯えておかねばならない。大腸菌から精製されたポリリン酸合成酵素(PPK)は、

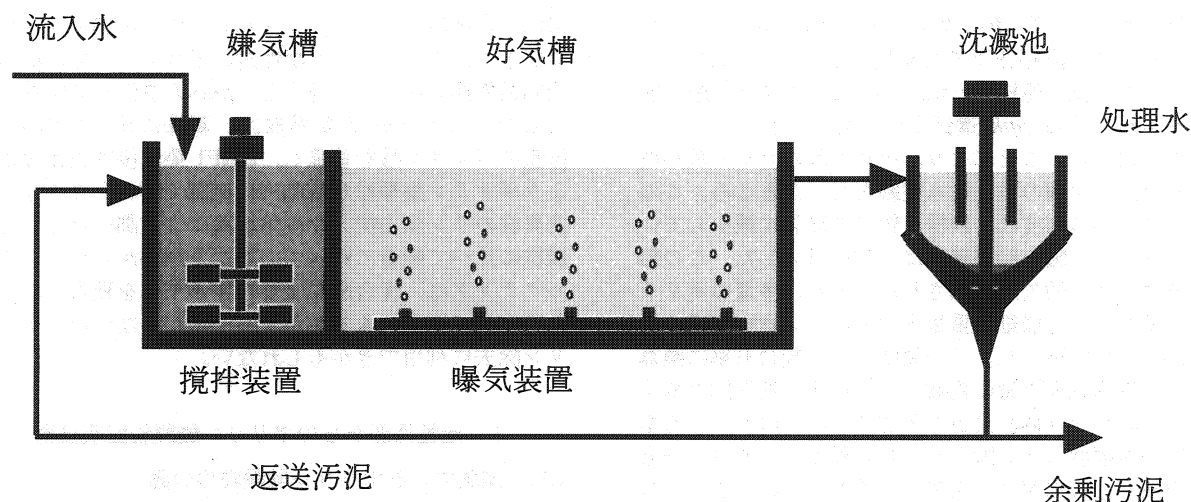


図1. 嫌気好気活性汚泥法。

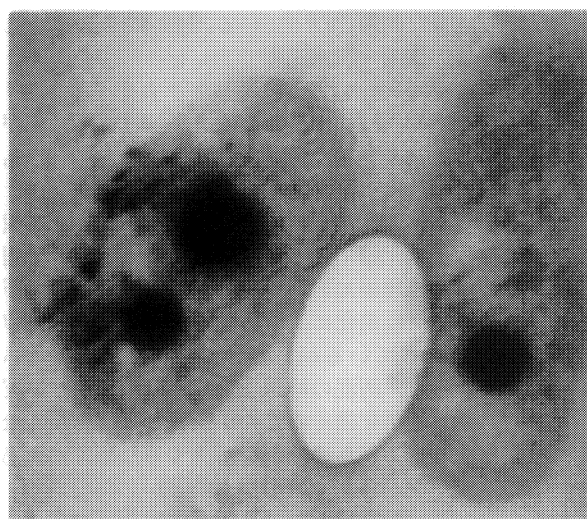


図2. 活性汚泥に蓄積されたポリリン酸顆粒の透過型電子顕微鏡写真。

ATP を原料としてポリリン酸を合成するが、その逆反応としてポリリン酸から ATP を合成することもできる²⁾。このことは、ポリリン酸が細胞のエネルギー代謝に関わっていることを示唆しているのかもしれない。ある種の始原菌においては、ポリリン酸が蛋白質のリン酸化に利用されることも知られている。最近、筆者らは活性汚泥由来の細菌の中に、グルコースのリン酸化に ATP ではなくポリリン酸を使うものを見つけた。細菌の病原性の発現制御にも、ポリリン酸が関係しているとの指摘がある¹¹⁾。面白いことに、ヒトの口腔内での歯垢や歯石の形成防止に、ポリリン酸が一役買っているようである²⁴⁾。その他、熱や浸透圧ショック耐性の誘導、定常増殖期における転写調節、形質転換や DNA 合成にもポリリン酸が関係していることが分かりつつある。さらには、哺乳動物の脳などからもポリリン酸が見つかり、その機能の解明に期待が寄せられている。ポリリン酸はまた、火山活動で作られたり、海底の熱水中などにも含まれており、太古の地球上で生命が誕生した当時

に、エネルギー物質として重要な役割を果たしたのではないとも言われている¹²⁾。

ポリリン酸の合成には、細胞内にしか存在しない高エネルギー化合物である ATP を必要とするから、ポリリン酸の合成は細胞内でしか行われない。そのため、生物はまず細胞外にあるリン酸を、細胞内に輸送せねばならない。大腸菌の場合、リン酸に相対的に親和性が低く細胞がリン酸に欠乏していない時に使われる Pit 系 (PitA と PitB の 2 つが存在する) と、リン酸への親和性が高くリン酸が欠乏した時に誘導される Pst 系と呼ばれるリン酸輸送系が存在する。これらの輸送系により、菌体内に取り込まれたリン酸は、様々な経路で ATP に変換されてから、ポリリン酸の合成に使われる。この反応を触媒するのが、ポリリン酸合成酵素 (PPK) である²⁾。当然ながら、ポリリン酸の蓄積は、合成速度が分解速度を上まわるときに生じる。これには、大きく別けて 2 つの場合があり、それぞれ過剰摂取 (luxury uptake) および補償摂取 (overplus) と呼ばれている⁶⁾。

過剰摂取は、リン酸以外の栄養物の枯渇により、細菌の増殖が押さえられた場合に起こる。例えば、大腸菌がアミノ酸欠乏に晒されると、緊縮応答とよばれるストレス応答が起こるが、その際応答の引き金となる (p) ppGpp というシグナル物質が合成される。(p) ppGpp は、PPK の酵素活性とは無関係に、ポリリン酸分解酵素 (PPX)³⁾ の酵素活性を阻害するため、結果的にポリリン酸が蓄積する¹³⁾。一方、補償摂取は、リン酸欠乏に晒された細菌に、突然リン酸が与えられた場合に起こる。面白いことに、大腸菌は補償摂取を示さないが、大腸菌に近縁の *Klebsiella aerogenes* (以前に *Aerobacter aerogenes* と呼ばれていた) は、リン酸欠乏に晒された後にリン酸を添加されると、急速にリン酸を取込みポリリン酸を蓄積する。この場合、リン酸欠乏条件下で Pst 系が誘導され、高い PPK 活性ともあいまって、リン酸が与えられるとポリリン酸の蓄積が起こるようである⁹⁾。

細菌が、余剰のリン酸をポリリン酸として蓄積できると言っても、乾燥細胞重量当たりのリン含有率は、せいぜい 2% (リン酸として 6%) 程度に過ぎない。そこで筆者らは、大腸菌をモデルにポリリン酸蓄積細菌の分子育

種を試みた⁸⁾。まず、Pst 系をコードする *pst* オペロン遺伝子が、リン酸存在下でも発現するように、*lac* プロモーターの下流に連結された。そして、ポリリン酸合成酵素をコードする *ppk* 遺伝子とともに、多コピープラスミドに組入れることにより、それぞれのコピー数が増やされた。リン酸の取り込み実験を行ったところ、この組換え株の増殖速度は、親株に比べて顕著に減少していたが、逆にリン酸の除去速度は、数倍増大した。この組換え株は、リン酸欠乏に晒されなくとも、多量のポリリン酸を蓄積し、乾燥細胞重量当たりのリン含有率は、最大約16%にまで達した。この値は、リン酸含有率に換算すると、細胞乾燥重量の約48%にも達する驚異的な結果であった。ちなみに、良質の天然リン鉱石のリン含有率は、約14%程度（リン酸として42%程度）であり、筆者らが育種した大腸菌は、天然リン鉱石をも越えるリン含有量を示したことになる。

しかし、この組換え株は、ポリリン酸の蓄積に必要な遺伝子を多コピープラスミド上に持っており、培養条件によっては増殖が著しく遅くなったり、プラスミドの保持が不安定になったりした。また、遺伝子組換え細菌は、パブリックアクセプタンスを考えると、まだ利用しやすい状況にはない。そこで、遺伝子組換え技術を使わずに、変異剤による突然変異法により、ポリリン酸蓄積細菌を育種することが検討された。大腸菌を、突然変異誘発剤であるニトロソグアニジン (NTG) により処理することにより、多量のポリリン酸を蓄積する変異株が得られた。大腸菌の野生株は殆どポリリン酸を蓄積しないが、この変異株 (MT4 株と命名) は、野生株の約千倍近い量のポリリン酸を蓄積した。また、ジアミノフェニルインドール (DAPI) で染色し蛍光顕微鏡で観察すると⁹⁾、黄緑色に染まった顆粒のようなものが細胞内に認められた。MT4 株は、リン酸飢餓に晒されなくとも、多量のリン酸を培地から取り込むことができた。MT4 株においてどの遺伝子に変異しているのかを調べたところ、*phoU* 遺伝子に変異が起こっていることがわかった。この *phoU* 遺伝子は *pst* オペロンに含まれる遺伝子であり、Pst 系のコンポーネントそのものではないが、*pst* 遺伝子の発現を抑制する。塩基配列を調べた結果、MT4 の *PhoU* 蛋白質の N 末端から29番目のグリシンが、アスパラギン酸に変わっていることがわかった。MT4 株は *phoU* 遺伝子の変異により、Pst 系がリン酸存在下でも抑制されないため、細胞内に過剰のリン酸を取り込むことが可能であり、その結果としてポリリン酸が細胞内に蓄積したものと考えられる。

この変異剤処理法が他の細菌にも適用できるかどうかを調べるため、*K. aerogenes* の NTG 変異によるポリリン酸蓄積株の取得が試みられた。NTG 処理後に X-リン酸を含む寒天プレート上で、リン酸十分条件下でも青色のコロニーを形成する変異株を選択したところ、親株の約100倍ものポリリン酸を蓄積する株が得られた。この変異株も、リン酸欠乏に晒されなくとも、培地からリン酸を取り込み続けた。この変異株の場合にも、大腸菌の MT4 株と同様に、*phoU* 遺伝子に変異が生じていた。さらに、*phoU* 遺伝子に変異を起こさせれば、ポリリン酸蓄積細菌の育種が可能であることを確認するために、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803 株の *phoU*

遺伝子の破壊を行った。すなわち、PCC6803 株の *phoU* 遺伝子に、カナマイシン耐性遺伝子カセットを、細胞内相同組み換え法により導入し、*phoU* 遺伝子破壊株を取得した。この *phoU* 変異株は、親株に比べて約4~5倍量のポリリン酸を蓄積し、DAPI 染色後蛍光顕微鏡によりポリリン酸顆粒が細胞内に確認できた。この *phoU* 変異株のリン除去能力を液体培養により調べたところ、親株に比べて顕著に優れていることがわかった。シアノバクテリアは、光合成によりエネルギーを獲得し、炭酸を固定して増殖できるから、有機物が少ない排水からのリン除去に利用できかもしれない。

4. 活性汚泥からのポリリン酸顆粒回収技術

4.1. 加熱によるポリリン酸顆粒の分離

生物学的処理法では、リンを取込んだ活性汚泥を沈澱により処理水と分離し、余剰汚泥として系外に引き抜く。このリンを蓄積した余剰汚泥の処分が、今全国の下水処理場で厄介な問題となっている。リンを過剰に含んだ余剰汚泥は、濃縮・脱水工程でリンを再溶出したり、焼却時に内張り耐火物を劣化損傷したりする。また、リンを多く含む焼却灰は、水洗時にリンが溶け出して再び汚染源となるばかりか、セメント原料等への有効利用も難しい。さらに最近、余剰汚泥から再溶出したリンが、不溶性のマグネシウムアンモニウム塩 (MAP) を形成し、嫌気性汚泥消化槽の配管等を詰まらせるという障害が、全国の下水処理場において発生している。多くの下水処理場では嫌気性消化により汚泥の減量化とメタンガスの回収とを行っているが、配管の曲がり部などにスケールができると、汚泥の輸送を妨げるばかりか、ひどい場合には嫌気性消化槽そのものが使い物にならなくなることさえある。これらの問題を解決するためには、あらかじめ余剰汚泥からリンを引抜くことが必要である。

筆者らは、リンを蓄積した活性汚泥を短時間加熱するだけで、汚泥からポリリン酸を効率よく取り出すことが可能であることを発見した²⁰⁾。人工下水を用いた実験室内の回分式嫌気好気活性汚泥プロセスから採取した汚泥を、50、70および90°Cの恒温槽内で加熱したところ、70°Cでは約60分、90°Cではわずか10分ほどで汚泥中に蓄積されたポリリン酸のほぼ全量が、水中に放出された (図3)。興味深いことに、この間に出てきたリン酸の量は、70°Cではポリリン酸の放出量の約20%、90°Cでは15%に過ぎなかった。いずれの温度においても、時間が経てばポリリン酸は次第に分解し、リン酸が増加する。ポリリン酸分解は、加熱中に pH の低下により加速されるため、pH を中性付近に保てば防ぐことも可能である。加熱温度が50°C以下では、ポリリン酸の溶出量よりもリン酸のそれが幾分上回り、活性汚泥からの全リンの放出速度も著しく減少する。逆に、90°C以上の温度で加熱しても、エネルギーが無駄になるだけで、とりたててポリリン酸の溶出量に改善は見られなかった。70°Cで60分加熱した汚泥を、DAPI 染色し蛍光顕微鏡を用いて観察すると、活性汚泥のフロックの外に多数の黄色のポリリン酸顆粒が認められた。汚泥フロックの方は、ポリリン酸顆粒が抜けたために、核酸の青白い蛍光を示していた。なお、70°Cでの加熱処理の前後で活性

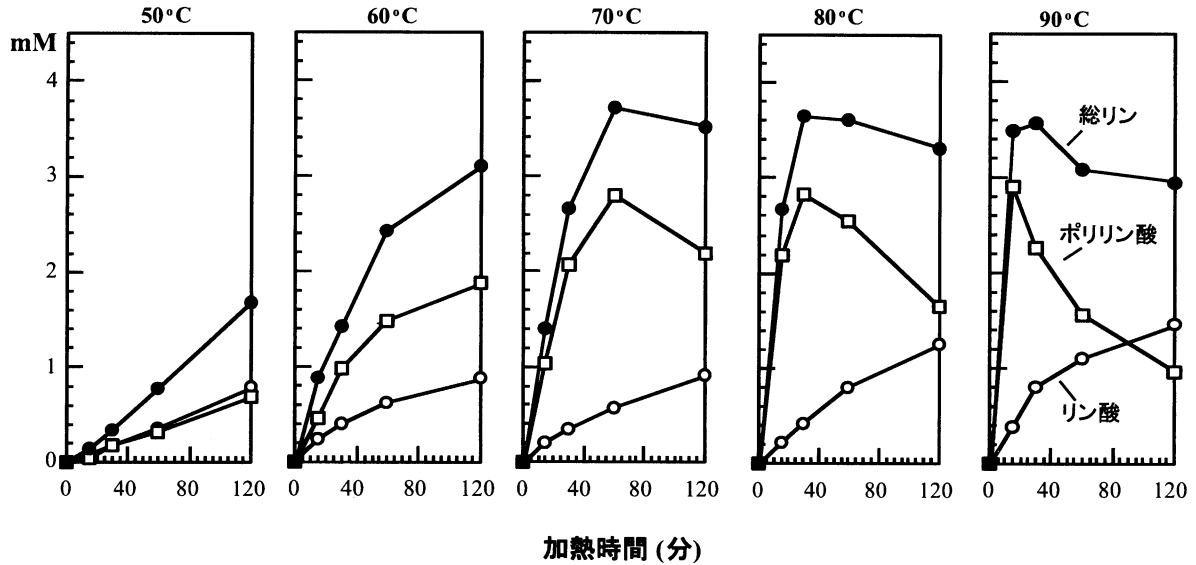


図3. 加熱による汚泥からのポリリン酸の放出。

汚泥サンプルを走査型電子顕微鏡で観察したところ、汚泥細菌の細胞壁が多少変形しているだけで、外見はほぼ原形を留めていた。このことから考えて、恐らくポリリン酸は、加熱処理により開いた細胞膜の小さな穴から、細胞外に溶出したものと思われる。加熱処理によりフロックが破壊されることも少なく、汚泥の沈降性にもあまり変化は認められなかった。70°Cでの加熱による活性汚泥からの全リンの溶出率は約90%であり、ポリリン酸を多く蓄積した活性汚泥ほど溶出率も高くなった。

活性汚泥のリン除去に関する研究は数多くなされているが²⁵⁾、汚泥を加熱するだけでポリリン酸を分離できることには、誰も気がつかなかった。加熱するだけで、これほど効率よくポリリン酸が汚泥から分離できるとは、筆者らも予想だにしていなかった。70°C程度の温度での加熱であれば、プロセス技術上もとくに問題はないであろう。熱交換を上手く行えば、熱エネルギーも節約できる。多くの下水処理場には、余剰汚泥の嫌気性消化槽があり、多量のメタンガスが得られる。これを燃料ガスとして有効利用することもできる。気がつきさえすれば誰にでも簡単にできる技術であり、まさにコロンブスの卵のようなアイデアであると言えよう。

4.2. ポリリン酸の回収

加熱により汚泥から分離されたポリリン酸は、カルシウムの添加により、凝集沈澱させることが可能である。ここで注目すべきは、ポリリン酸とリン酸が共存すると、中性付近のpHでも沈澱が生じることである。70°Cで60分加熱してから汚泥を沈降させた上澄み液に、pHを調整することなく塩化カルシウムを添加すると、ポリリン酸はリン酸とともに白く大きなフロックとなって沈澱する。リン酸だけでは、塩化カルシウムを添加しても、なかなか沈澱しない。恐らく、ポリリン酸が比較的少量のカルシウムにより架橋し、凝集しやすくなるのではないと思われる。ところで、ポリリン酸を蓄積した汚泥を、酢酸など有機酸の存在下で嫌気条件に晒すと、リン酸を穏やかに放出することは、以前からよく知られ

ている²²⁾。例えば、輸入技術の一つであるホストリップ法などでは、嫌気条件下でリン酸を放出させてから、カルシウムを添加してリン酸を回収する^{14,15)}。しかし、この場合には汚泥がリン酸しか放出しないため、沈澱時にpHを高くする必要がある。また、汚泥からのリン放出率と速度のいずれも、汚泥を加熱する場合に較べ見劣りする。また、後で述べるように、下水汚泥の表面に付着したリン酸の金属塩などは、汚泥を嫌気条件に晒すだけでは分離できず、加熱処理を行う必要がある。

カルシウム添加で得られた沈澱物を乾燥させれば、リン含有率の高い人工リン鉱石ができあがる。筆者らは、これをバイオリン鉱石と呼んでいる。もともと天然のリン鉱石そのものも、その生成には生物が重要な役割を果たしている。したがって、バイオテクノロジーによりリン鉱石を製造することは、自然の理にかなっていると言えよう。天然リン鉱石の主成分はカルシウムアパタイトであり、リン酸がカルシウムと凝集して出来たものである。一方、バイオリン鉱石は、ポリリン酸とリン酸から生産されるから、当然カルシウムの割り合いが小さく、リンの含有率が高い。

5. パイロットプラントによる実証試験

パイロットプラントは、平成12年8月神戸市内の下水処理場内に設置された(図4)。このパイロットプラントは、嫌気好気活性汚泥法による下水からのリン除去プロセスと、余剰汚泥からのリン回収プロセスとからなっている(図5)。嫌気槽には、下水処理場の最初沈澱池からの流出水が、100 m³/日の流量で流れ込む。嫌気槽と好気槽の容積は、それぞれ9および23 m³あり、好気槽および返送汚泥のMLSS濃度は、それぞれ2000 mg/lおよび6000 mg/lに設定された。また、汚泥の返送率は50%、汚泥の滞留時間(SRT)は4.5日である。このパイロットプラントにおける余剰汚泥の発生量は、1日当たり10~20 kgになると設計されており、1日分の余剰汚泥をまとめて沈澱槽から加熱槽に送り、回分的に加熱処

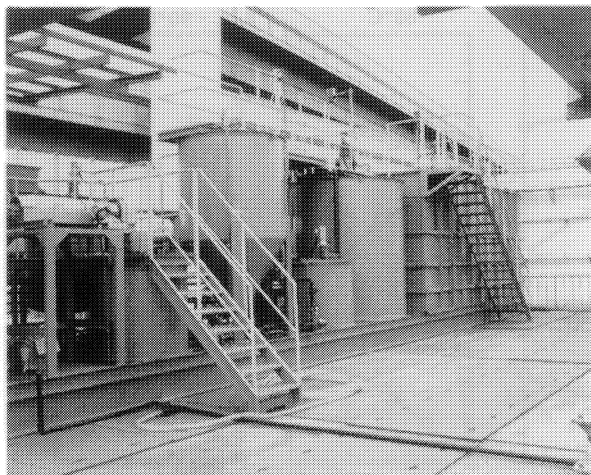


図4. 実証試験のために設置したパイロットプラント。

理をするようになっていく。加熱槽の容積は 1 m^3 、加熱温度は $70\sim 90^\circ\text{C}$ で、加熱槽における汚泥の滞留時間は約1時間である。加熱された余剰汚泥は、冷却後に浮上分離機で濃縮分離され、脱水されてからケーキとして系外に取出される。この段階になると、汚泥からは余分なリンが去除されているから、リンの再溶出や焼却時における炉の損傷を心配することなく、処理工程にまわることができる。浮上分離機から出るリンを多く含んだ液には、凝集沈澱槽で塩化カルシウムが添加され、リンがバイオリン鉱石として回収される。このパイロットプラントでは、流入下水からのリンの除去率が90%として、1日当たり 400 g のリンが回収されるものと期待された。

平成12年8月に種汚泥を投入し、約半月間の馴養期間を経た後、パイロットプラントの通年運転が行われた。プロセスが安定した平成12年10月以降の流入水総リン濃度は $4.6\sim 4.9\text{ mg/l}$ 、一方処理水の総リン濃度は 0.4

mg/l 以下であり、90%以上のリン除去率が安定して維持された。汚泥の乾燥重量当たりのリン含有率は、嫌気槽において $3\sim 3.7\%$ 、好気槽で $3.5\sim 4.5\%$ に達した。好気槽汚泥の全リン量に占めるポリリン酸の割合は $60\sim 70\%$ であり、鉄などの金属イオンと結合して汚泥表面に沈着したと思われるリン酸が $10\sim 15\%$ を占めていた。残りの多くは、核酸や細胞膜などに含まれるリンと考えられたが、下水汚泥のポリリン酸の正確な測定法が確立されていないので、この中にもポリリン酸が一部含まれていた可能性は否定できない。

このパイロットプラントの余剰汚泥を 70°C で1時間加熱すると、約 $50\sim 70\%$ のリンが汚泥から分離できることがわかった。活性汚泥には、核酸や細胞膜などに含まれ加熱しても溶出しにくいリンが、もともと乾燥重量の1%近くある。したがって、汚泥のリン含有率が4%程度の場合、加熱により溶出が可能なリンの割合は、最大75%程度と推定される。この点を考慮すると、 $50\sim 70\%$ の溶出率は、十分満足のいく結果であると言って良いだろう。しかし、溶出したリンを分析してみると、予想に反してポリリン酸が少なく、多くはリン酸であった。また、鉄などの金属イオンと結合して汚泥に沈着したと思われるリン酸は、加熱によりほぼ100%分離できていたが、汚泥中のポリリン酸は完全には溶出していなかった。ポリリン酸が少なかったために、加熱後汚泥を浮上分離した液に、pH 調節をせずに塩化カルシウムを添加しても、リンは約40%程度しか沈澱しなかった。pH を上げて塩化カルシウムを添加することにより、80%以上のリンを回収することができたが、必要とする塩化カルシウムの量は多くならざるを得なかった。

前に述べたように、人工下水で培養した実験室汚泥では、 70°C で1時間の加熱により、ポリリン酸のほぼ全量が溶出する。この結果は明らかに、パイロットプラントの余剰汚泥で得られた結果とは異なっている。この理由を明らかにするため、パイロットプラントの余剰汚泥

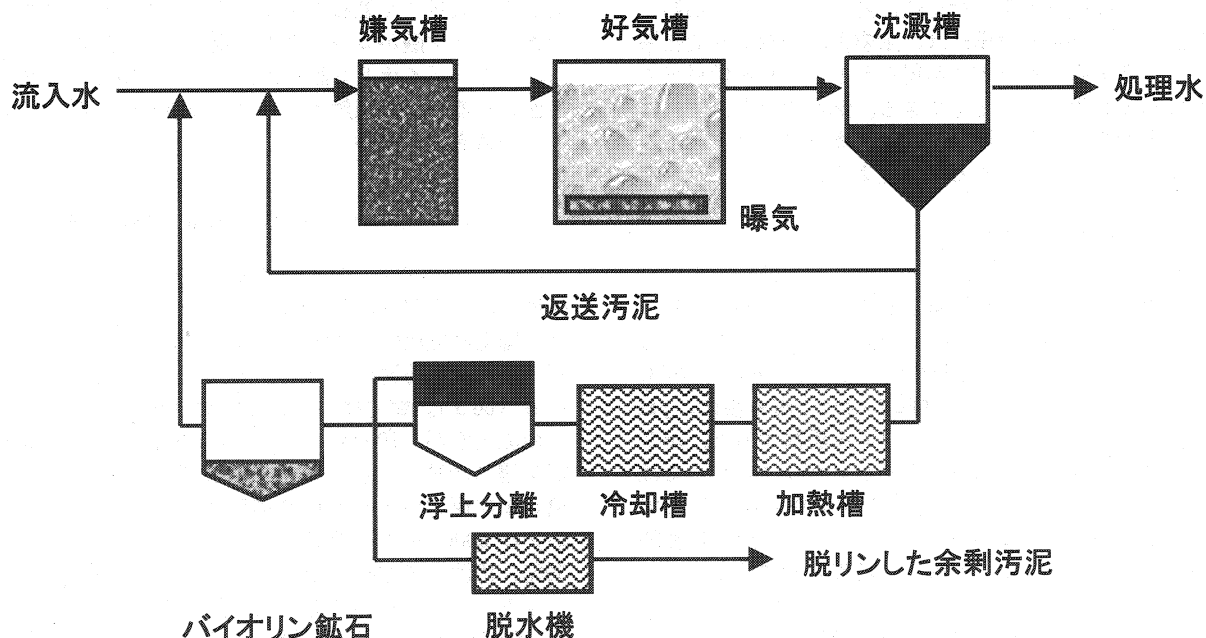


図5. 都市下水からのリン回収プロセスの概要。

を実験室に持ち帰り化学分析を行ったところ、汚泥の表面にはかなりの量の鉄が沈着していた。この下水処理場では、汚泥の脱水処理の過程で鉄が添加されており、この脱離液が返送されるために、流入水に鉄が多く含まれているようである。そこで、人工下水に塩化鉄 (III) を添加して実験室汚泥を培養してから、70°C で1時間の加熱処理を行ってみたところ、ポリリン酸の溶出率が著しく低下することが認められた。硫酸鉄 (II) を加えた場合にも、ポリリン酸の溶出率が低下することから、過剰な鉄の存在は、ポリリン酸の熱溶出を阻害すると考えられる。事実、EDTA などのキレート剤を添加して加熱処理を行うと、ポリリン酸の溶出率は著しく改善する。この室内実験で得られた結果をもとに、パイロットプラントの余剰汚泥についても、EDTA を添加して加熱処理を行ったところ、実験室汚泥と同様にはほぼ100%のポリリン酸の溶出率が得られた。言うまでもなく、キレート剤として EDTA を用いることは、コストからみて得策ではない。EDTA の代わりにクエン酸などを用いても、ポリリン酸の熱溶出に十分な効果が認められることから、より安価なキレート剤を探し出すことは、今後十分に可能と思われる。

パイロットプラントの通年運転の結果を総括すると、pH を上げて塩化カルシウムを添加する方法を採用した場合には、都市下水に含まれるリンの約50%をバイオリン鉱石として回収することがわかった (図6)。処理コストは、処理場内で生産されるメタンガスを燃料に用いれば、凝集剤に用いる塩化カルシウムの量により決まることもわかった。より安価な凝集剤の使用が、処理コストを低減する上で重要である。リンを凝集沈澱させた後の上澄み液は、返流水として嫌気槽に戻す必要がある。この返流水にはカルシウムが含まれているが、パイロットプラントの返流水で実験を行った限りでは、活性汚泥によるリン除去には殆ど影響を及ぼさないこともわかった。

これまでも、活性汚泥からリンを回収するプロセスは、海外でいくつか提案されている。前にも述べたホストリップ法は、嫌気条件下で活性汚泥からリン酸を放出させる技術であるが、放出に時間が掛かるばかりでなく、放出には嫌気条件とともに酢酸やプロピオン酸など

の易分解性の有機酸を必要とする。また、放出されるリンはポリリン酸でなくリン酸であり、凝集沈澱させるためにより多くのカルシウムを必要とする。この方法では、曝気槽に凝集剤を直接添加する場合などのように、汚泥に取込まれることなく沈澱したリンは回収できない。嫌気性汚泥消化槽などの汚泥処理工程で溶出したリン酸とアンモニウムイオンを、マグネシウムを添加してリン酸マグネシウムアンモニウム (MAP) として回収する技術もある。この技術の場合には、マグネシウムの価格が高いことや、懸濁物質 (SS) の濃度を低く押さえないと、うまく MAP が生成しないなどの問題点もある。しかし何よりも重要なことは、これらの技術がいずれも海外で開発され輸入された技術であり、本技術だけがわが国のオリジナル技術であるという点である。

6. おわりに

現在、わが国が輸入しているリン鉱石の量は、年間約100万トンと言われている。輸入リン鉱石のリン含有率を約14%とすると、年間約14万トンのリンが輸入されていることになる。一方、わが国の下水処理場における余剰汚泥の発生量は、乾燥重量として年間約170万トンと言われている。今後、リンの総量規制などにより活性汚泥のリン含有率が約6%にもなれば、余剰汚泥として排出されるリンの量は、年間約10万トンにもなる。筆者らが行ったパイロットプラントによる実証試験の結果のように、都市下水に含まれる全リン量の約50%を回収できるとした場合でも、これが総べてリサイクルにまわるとすれば、わが国のリン鉱石の輸入量を、少なくとも30%減らすことが可能になる。

一般に、都市下水には重金属類が含まれており、バイオリン鉱石への混入も避けたいことであろう。しかし、輸入されている天然のリン鉱石にも、もともと重金属類は含まれており、肥料製造の過程で取除かれているようである。したがって、バイオリン鉱石を輸入リン鉱石の代替物として、工業原料に使用するのであれば、重金属類が多少混入するとしても、リサイクルの障害とはならないだろう。天然のリン鉱石と較べると、バイオリン鉱石には汚泥由来の有機物がかなり含まれている。もし、そのままでは工業原料に不向きであれば、焼成して有機物を取除く必要があるかもしれない。これから解決すべき技術的課題はまだ多々あるものの、本技術の様子が大学で得られた素朴なアイデアが、パイロットプラントレベルでの実証試験にまで至った例は非常に少ない。今後、本技術によるリン回収プロセスが事業化できれば、環境バイオテクノロジー分野におけるサクセスストーリーとしても、世界の注目を集めることになることだろう。

謝 辞

本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の平成10年度即効型提案公募事業、日本学術振興会と NEDO による平成11年度マッチング・ファンド方式による産学連携研究開発事業、および平成13~15年度のNEDOによる産学連携実用化開発補助事業により



図6. 都市下水から生産されたバイオリン鉱石。

行われている。パイロットプラントの通年試験が終了するまで、パイロットプラントの使用を許可下さった NEDO に心から感謝を申し上げたい。なお、パイロットプラントによる実証試験は、神鋼パテック株式会社が広大との共同研究として行ったものである。また本事業に関連する基礎研究の実施に当り、地球環境産業技術研究機構、トヨタ自動車株式会社や日立金属株式会社など、多くの企業や財団等からの御支援も頂戴した。最後に、パイロットプラントの設置を許可頂いた神戸市建設局東部建設事務所水環境センターに感謝を申し上げたい。

文 献

- 1) Abelson, P.H. 1999. A potential phosphate crisis. *Science*. **283**: 2015.
- 2) Ahn, K. and A. Kornberg. 1990. Polyphosphate kinase from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **265**: 11734-11739.
- 3) Akiyama, M., E. Crooke and A. Kornberg. 1993. An exopolyphosphatase of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **268**: 633-639.
- 4) Allan R.A. and J.J. Miller. 1980. Influence of S-adenosylmethionine on DAPI-induced fluorescence of polyphosphate in the yeast vacuole. *Can. J. Microbiol.* **26**: 912-920.
- 5) Carberry, J.B. and M.W. Tenney. 1973. Luxury uptake of phosphate by activated sludge. *J. Water Pol. Cont.* **45**: 2444-2462.
- 6) Harold, F.M. 1966. Inorganic polyphosphates in biology: Structure, metabolism, and function. *Bacteriol. rev.* **30**: 772-794.
- 7) 金澤孝文. 1997. リン. 研成社. 142 pp.
- 8) Kato, J., K. Yamada, A. Muramatsu, Hardoyo, and H. Ohtake. 1993. Genetic improvement of *Escherichia coli* for the enhanced biological removal of phosphate. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 3744-3749.
- 9) Kato, J., T. Yamamoto, K. Yamada, and H. Ohtake. 1993. Cloning, sequence and characterization of the polyphosphate kinase-encoding gene (*ppk*) of *Klebsiella aerogenes*. *Gene*. **137**: 237-242.
- 10) 児玉 徹, 大竹久夫, 矢木修身編. 1995. 地球をまもる小さな生き物たち. 技報堂出版. 238 pp.
- 11) Kornberg, A. 1995. Inorganic polyphosphate: toward making a forgotten polymer unforgettable. *J. Bacteriol.* **177**: 491-496.
- 12) Kulaev, I., V. Vagabov, and T. Kulakovskaya. 1999. New aspects of inorganic polyphosphate metabolism and function. *J. Biosci. Bioeng.* **88**: 111-129.
- 13) Kuroda, A. and A. Kornberg. 1997. Guanosine tetra- and pentaphosphate promote accumulation of inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **272**: 21240-21243.
- 14) Levin, G.V., G.J. Topol, and A.G. Tarnay. 1975. Operation of full-scale biological phosphorus removal plant. *J. Water Pol. Cont.* **47**: 577-590.
- 15) Levin, G.V., G.J. Topol, A.G. Tarnay, and R.B. Samworth. 1972. Pilot-plant tests of a phosphate removal process. *J. Water Pol. Cont.* **44**: 1940-1954.
- 16) 中西弘. 1979. 環境における窒素, リンの循環とその制御. 環境創造. **12**: 109-119.
- 17) 小田部廣男. 1987. リン資源の現在と未来. *Gypsum & Lime*. **210**: 307-316.
- 18) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 福場博保編. 1983. リン酸のはたらき. 第一出版. 197 pp.
- 19) Ohtake, H., K. Takahashi, Y. Tsuzuki, and K. Toda. 1985. Uptake and release of phosphate by a pure culture of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Water Res.* **19**: 1587-1594.
- 20) 大竹久夫, 黒田章夫, 加藤純一, 池田 宰, 滝口 昇. 1999. リン資源の循環再利用のためのバイオテクノロジー. 環境科学会誌. **12**: 433-441.
- 21) 大竹久夫, 黒田章夫, 木下 勉, 糠信輝領謹. 2001. 下水汚泥からのリンの回収と再資源化. バイオサイエンスとインダストリー. **59**: 330-333.
- 22) Shapiro, J. 1967. Induced rapid release and uptake of phosphate by microorganisms. *Science*. **155**: 1269-1271.
- 23) シェルダン R.P. 1982. リン鉱床. 日経サイエンス, **12**: 8-15.
- 24) 高添一郎. 1978. バクテリアの石灰化と歯石. 日経サイエンス. **8**: 104-113.
- 25) van Loosdrecht, M.C.M., C.M. Hooijmans, D. Brdjanovic, and J.J. Heijnen. 1997. Biological phosphate removal processes. *App. Microbiol. Biotechnol.* **48**: 289-296.