

アナモックス反応と嫌氣的メタン酸化脱窒反応を組み合わせた 窒素除去システムの性能評価

長岡技術科学大学 学生会員 ○吉田悠亮 非会員 根本 笙 正会員 幡本将史 山口隆司

1. はじめに

廃水中からの窒素除去法として嫌気性アンモニア酸化（アナモックス）反応と嫌氣的メタン酸化脱窒（DAMO）反応が近年注目されている。アナモックス反応はアンモニアを電子供与体として用いて亜硝酸塩を還元する反応であり¹⁾、DAMO 反応はメタンを電子供与体として硝酸塩もしくは亜硝酸塩を窒素ガスに還元する反応である。DAMO 反応には硝酸塩の還元には古細菌（DAMO アーキア）、亜硝酸塩の還元には NC10 門に属する細菌（DAMO バクテリア）の 2 種類の微生物群が関わっていると報告されている²⁾。

近年、環境に配慮した新たな窒素除去システムとしてこの 2 つの反応を組み合わせたシステムが提案された³⁾。アナモックス反応と DAMO 反応を組み合わせた脱窒システムは溶存メタン及び二酸化炭素の排出の低減や、制御の難しい部分硝化を必要としないこと等が利点として挙げられている。加えて、本システムはアンモニアと硝酸の同時除去が期待できる。

そこで、本研究ではアナモックス反応と DAMO 反応を組み合わせた新規リアクターの開発を目的としてアナモックス細菌と DAMO 微生物の共培養リアクターにおける窒素除去性能の評価を行った。

2. 実験方法

図 1 に実験に用いたリアクターの概略図を示す。はじめにアナモックス細菌と DAMO 微生物の培養を 2 本の容積 255 cm³ の円筒形の上向流式リアクターによって行った。リアクターの水理学的滞留時間 (HRT) は 4 時間、培養温度は 35℃に設定し、基質は無機培地を用いた。アナモックス細菌の培養には窒素源として NH₄⁺-N と NO₂⁻-N を 20 mg-N/L で供給し、DAMO 微生物の培養には NO₃⁻-N を 11 mg-N/L、メタンガスを基質にバージして供給した。また、アナモックスリアクターは還元剤を用いていなかったが、DAMO リアクターは還元剤を用いて運転していたが、後に汚泥を混合することを考えて還元剤の有無によるそれぞれの反応への影響評価を行った。アナモックスリアクターは運転 30 日目から還元剤を投入し、DAMO リアクターは運転 40 日目から還元剤の投入を停止し実験を行った。共培養リアクターは運転 99 日目に DAMO 汚泥とアナモックス汚泥を 1 : 1 で混合して上記と同様のリアクターを用いて連続運転を行った。共培養リアクターに供給する NH₄⁺-N と NO₃⁻-N はそれぞれ 20 mg-N/L に設定した。基質はアルゴンでバージを行った後、メタンでバージし還元剤を投入してリアクターに供給した。脱窒活性は各リアクターの窒素除去率より算出した。NO₃⁻-N と NO₂⁻-N 濃度は高速液体クロマトグラフィー (SPD-10A, Shimadzu) を用いて測定した。NH₄⁺-N 濃度はネスラー試薬を用いた吸光度測定 (DR2800, HACH) により測定した。運転 72 日目の共培養リアクターの保持汚泥に対して 16SrRNA 遺伝子を対象とした微生物群集構造解析を行った。汚泥からの DNA 抽出には FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals) を使用した。抽出した DNA は 515F と 806R のプライマーを用いて PCR 増幅を行った。PCR 増幅後、増幅産物の精製を MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN) にて行った後、MiSeq (イルミナ社) を用いてシーケンス解析を実施した。

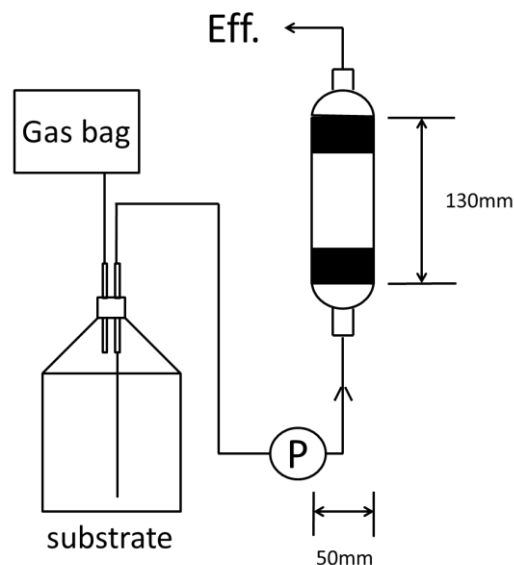


図 1 実験に用いたリアクターの概略図

3. 結果と考察

本研究ではまず、アナモックスリアクターと DAMO リアクターの培養を 97 日間行った。図 2 にアナモックスリ

キーワード：アナモックス反応・嫌氣的メタン酸化脱窒反応・窒素除去
連絡先：新潟県長岡市上富岡町 1603-1 電話番号：0258-47-1611

アクターの NO_3^- -N 除去率の経日変化, 図 3 に DAMO リアクターの除去率の経日変化を示す. アナモックスリアクターは全運転期間を通して NH_4^+ -N 除去率 $75 \pm 14\%$, NO_2^- -N 除去率 99%以上, DAMO リアクターにおいては全運転期間を通して NO_3^- -N 除去率 $41 \pm 5\%$ であった. また, 2つのリアクターは後に汚泥を混合することを考えて還元剤の有無による影響を確認した. まず, アナモックスリアクターは運転 30 日目から還元剤を投入した. その結果, 亜硝酸の除去率の変化はほとんど見られなかったが, NH_4^+ -N の除去率は徐々に低下し, 運転 58 日目から 97 日目で $59 \pm 8\%$ と安定した. DAMO リアクターは還元剤の停止により硝酸除去率は 10%以下まで低下したが, 還元剤の再投入により除去率は $41 \pm 6\%$ にまで回復した. これらの結果より共培養リアクターでは還元剤を投入することとした. 還元剤の影響を確認した後, それぞれの汚泥を混合し共培養リアクターの運転を開始した. 図 4 に共培養リアクターの運転結果を示す. 共培養リアクターの NO_3^- -N と NH_4^+ -N の除去率は運転 50 日目までにそれぞれ $47 \pm 9\%$, $17 \pm 4\%$ であった. また, NO_2^- -N は流出水において検出されなかった. 運転開始 50 日間の共培養リアクターの NH_4^+ -N 除去率はアナモックスリアクターの除去率と比較して約 60%低かった. その原因は, 共培養リアクター内では NO_2^- -N に対して DAMO 微生物とアナモックス細菌による競合が起きていたことが考えられる. そこで, 共培養リアクターの NH_4^+ -N の除去が全てアナモックス反応によるものと仮定し, 除去された NO_3^- -N が全て DAMO アークアにより NO_2^- -N となったと仮定した場合, NO_2^- -N はアナモックス反応経路により 37%, DAMO 反応経路により 63%が消費されると計算できる. したがって, DAMO アークアにより生成された NO_2^- -N の消費に対しては DAMO 反応に優位性があることが示唆された. また, アナモックス反応への NO_2^- -N 濃度の影響を調査するために, 共培養リアクターに供給する基質を一時的に NO_3^- -N から NO_2^- -N に変えて実験を行った. すると, NH_4^+ -N の除去率は変更した 2 日後に $47 \pm 4\%$ に上昇した. したがって, アナモックス反応の低下の原因の一つとしてアナモックス細菌への NO_2^- -N の供給不足が考えられた. 運転 72 日目の共培養リアクターの保持汚泥中の微生物群集解析の結果, アナモックス細菌が属しているとされる *Planctomycetes* 属の細菌が検出された. しかし, 本解析で用いたプライマーセットでは DAMO 反応に関わる微生物は確認することができなかった.

4. 結論

アナモックス反応と DAMO 反応を組み合わせた共培養リアクターの処理性能の評価を行った結果, NO_3^- -N の除去率は $47 \pm 9\%$, NH_4^+ -N の除去率は $17 \pm 4\%$ であった. 共培養リアクターの NH_4^+ -N 除去率が低かった原因として, アナモックス細菌に対する NO_2^- -N の不足が考えられ, DAMO アークアの NO_2^- -N 生成反応が律速となっている可能性や DAMO バクテリアとの競合が示唆された.

参考文献

- 1) Mulder A et al., Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiology Ecology, 1995, 177-183
- 2) Knowles, R. Denitrifiers associated with methanotrophs and their potential impact on the nitrogen cycle, Ecological Engineering, 2005, 441-446
- 3) Zhu B et al., Combined anaerobic ammonium and methane oxidation for nitrogen and methane removal, Biochemical Society Transactions, 2011, 1822-1825

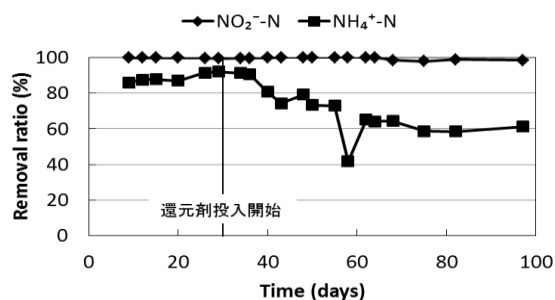


図 2 アナモックスリアクターの除去率の経日変化

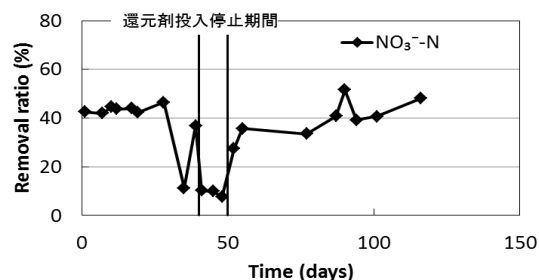


図 3 DAMO リアクターの除去率の経日変化

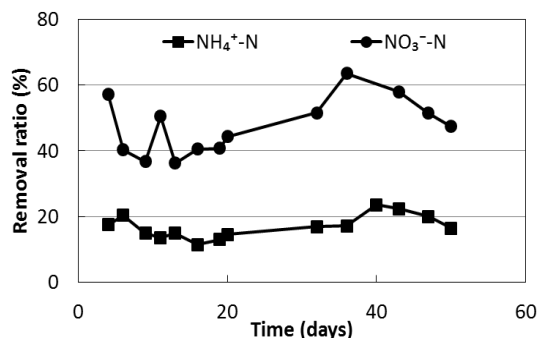


図 4 共培養リアクターの連続処理結果