

嫌気性アンモニア酸化 (Anammox)に関する研究

熊本大学工学部（正員） 古川 憲治

熊本大学工学部 Rouse, J. D.

熊本大学工学部（学員）○小田 浩史

1.はじめに

近年、脱窒リアクタ内部での窒素収支の検討からアンモニアの嫌気酸化(Anammox)が提案され⁽¹⁾新たな窒素変換の経路として注目されている。

本研究ではこれまで十分に明らかにされていない Anammox 反応の生起条件を明らかにすることを最終目的に、実験室で馴養している脱窒活性汚泥を種汚泥として行った Anammox 反応の結果について報告する。

2.実験材料並びに方法

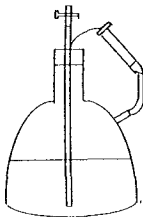
供試汚泥としてはメタノールを脱窒の炭素源とする脱窒培地で長期間 fill and draw 法にて馴養している脱窒汚泥を使用した。Anammox 培地としては表ー 1 に示す組成の培地を使用した。

表一 1 Anammox 培地組成		#1 A.S.nutrients 組成	#2 Micro nutrients 組成		
成分	濃度	成分	濃度	成分	濃度
NH ₄ Cl	100~200mg-N/ ℓ	NaCl	1.0 g/ ℓ	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.25 g/ ℓ
NaNO ₃	0~400mg-N/ ℓ	KCl	1.4 g/ ℓ	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.43 g/ ℓ
NaNO ₂	0~10mg-N/ ℓ	CaCl ₂	1.4 g/ ℓ	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.24 g/ ℓ
KHCO ₃	500mg/ ℓ	MgSO ₄	1.0 g/ ℓ	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.99 g/ ℓ
KH ₂ PO ₄	27mg/ ℓ			Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.22 g/ ℓ
A.S.nutrients ^{#1}	20 ml/ ℓ			NiCl ₂ · 6H ₂ O	0.19 g/ ℓ
Micro nutrients ^{#2}	1 ml/ ℓ			Na ₂ SeO ₄	0.11 g/ ℓ
Micro Fe ^{#3}	1 ml/ ℓ			H ₃ BO ₃	0.014 g/ ℓ

#3 Micro Fe → FeSO₄ · 7H₂O = 9.0 g/ ℓ

実験には図ー 1 に示すガス交換器付きの容量 1.0 ℓ のリアクタを使用した。

脱窒汚泥が 6000mg/ ℓ となるように 0.316 ℓ の Anammox 培地を含むリアクタに投入し、N₂ ガスで混合液の DO を追い出した後実験を開始した。培養は室温（20~30℃）で行い、一日一回容器を転倒させ内部を混合した。適宜、嫌気グローボックス内で混合液を採取し、遠心分離した上澄み液について NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N を分析した。分析はすべて下水試験方法によった。



図ー 1 嫌気リアクタ

3.理論

これまでの知見では NH₄⁺は嫌気条件下硝化菌によって NO₂⁻、NO₃⁻に独立栄養的に酸化され、生成した NO₃⁻は酸素の存在しない条件下（anoxic）で従属栄養の脱窒菌によって N₂に脱窒される。

表ー 2 窒素の循環経路

従来の知見	Anammox 反応
硝化 (O ₂ あり) NH ₄ ⁺ → NO ₂ ⁻ → NO ₃ ⁻	e- NH ₄ ⁺ → NO ₂ ⁻ or NO ₃ ⁻
脱窒 (O ₂ なし) NO ₃ ⁻ → NO ₂ ⁻ → N ₂ ↑	↓ 5NH ₄ ⁺ + 3NO ₃ ⁻ → 4N ₂ + 9H ₂ O + 2H ⁺ NH ₄ ⁺ + NO ₂ ⁻ → N ₂ + 2H ₂ O

Anammox 反応は NO_3^- の還元により NH_4^+ を電子供与体として使う反応で自由エネルギーの減少する発エルゴン反応であることから、理論的には Anammox 反応によって細菌の生育に必要なエネルギーを供給することができる。

4. 結果と考察

図-2 には $\text{NO}_3\text{-N}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ 共存下での各態窒素の経時変化を示した。この実験では $\text{NO}_2\text{-N}$ はほとんど検出されなかった。実験開始 60 日後に $\text{NO}_3\text{-N}$ が完全に消費されたので、再び混合液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ が 400mg/l となるように NaNO_3 を添加し実験を継続した。70 日までは $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ とともに減少し、Anammox 反応が起きているようにも判断できるが、70 日以降は $\text{NO}_3\text{-N}$ の低下は起こるものの、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が高まり Anammox 反応を確認できなかった。これには、長期間汚泥が炭素飢餓状態におかれたため汚泥の自己分解が起こったと考えられる。

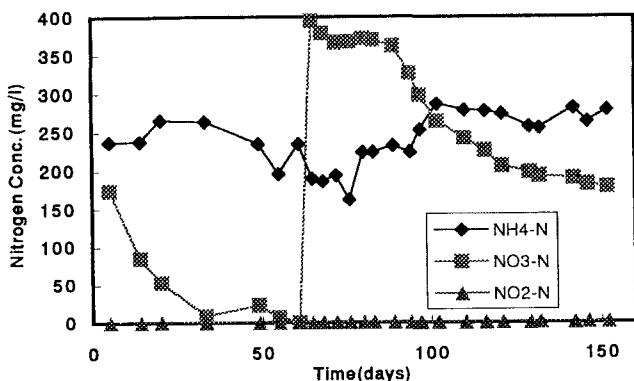


図-2 脱窒活性汚泥による $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の経時変化

図-3 には $\text{NO}_2\text{-N}$ が高濃度で存在する際の各態窒素の経時変化を示した。 $\text{NO}_2\text{-N}$ が消費された 13 日目に再び $\text{NO}_2\text{-N}$ を加え培養を継続した結果、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の低下に伴い $\text{NH}_4\text{-N}$ がほぼ平行で減少し、Anammox 反応の起きていることが確認できた。以上の結果、Anammox 反応の生起には $\text{NO}_2\text{-N}$ の存在が鍵をにぎっているようで、現在この点を重点的に検討中である。

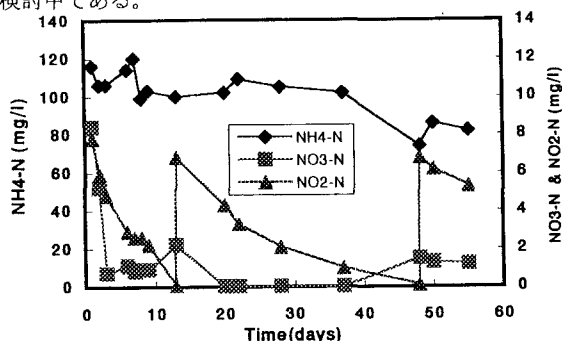


図-3 脱窒活性汚泥による $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の経時変化

5. まとめ

脱窒汚泥を用いて Anammox 反応が実際に起こりうるかどうか回分試験で検討した結果、 $\text{NO}_2\text{-N}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ を組み合わせた系で $\text{NO}_2\text{-N}$ と $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の低下が平行で起こり、Anammox 反応の起きていることを確認した。

(参考文献)

(1) A. Mulder et al. : Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiology Ecology, vol.16, pp.177-184(1995)