

## Anammox 汚泥の大量調製と安定同位体による代謝経路の検討

熊本大学大学院 学生会員 ○畑中 勇人  
 熊本大学工学部 正会員 古川 憲治  
 栗田工業株式会社 今城 麗

## 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<sup>(1)</sup>、新たな窒素変換の経路 (図-2) として注目されている。本研究では実験室で馴養している脱窒活性汚泥を種汚泥として調製した Anammox 汚泥を用いて行った Anammox 集積培養と、不織布を Anammox 汚泥の付着担体として活用した大型リアクタ (15L) の連続実験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 汚泥の培養には表-1 に示す組成の培地を使用した。

表-1 Anammox 培地組成

成分	濃度
NaNO <sub>2</sub>	0~300mg-N/L
NH <sub>4</sub> Cl or (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0~300mg-N/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	54mg/L
KHCO <sub>3</sub>	125mg/L
Micro Fe / EDTA <sup>#1</sup>	1ml/L

#1 Micro Fe / EDTA 組成…FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 9g, EDTA · 2Na 5g

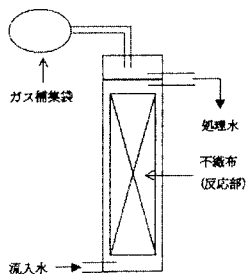


図-1 連続実験装置

集積培養は、表-1 に示す培地と気相をを窒素

ガスで置換した 1.8L の Jar Fermentor を用いて温度 35°C、pH8.0、90rpm の緩速攪拌、静置培養の条件で行った。2.6~6.4mM の硫酸アンモニウム溶液、1.3~3.8mM の亜硝酸ナトリウム溶液の添加により消費された NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup> を補った。また、実験開始 9 日後からは 300ml の PVA ゲルビーズ (クラゲール) を担体として加えて行った。<sup>15</sup>N でラベルした NH<sub>4</sub>Cl を使いラベルした窒素の変換を追跡した。

連続実験には図-1 に示す容量 15.0L の円筒型のアクリル容器を使用した。Anammox 馴養汚泥を菊花状のゼオライト担持ポリエステル不織布 (日本バイリーン社) を充填した担体 (6,000cm<sup>2</sup>) に付着固定化させた。流入量は上向流にて 15L/d の流量で供給し、培養は室温 (20~30°C) で行った。流入水の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N 濃度を変化させ、流入水、処理水の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N を分析することでその変化を追跡した。

## 3. 理論

従来の見解では NH<sub>4</sub><sup>+</sup> は好気条件下で硝化菌によって NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> に独立栄養的に酸化され、生成した NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 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 N<sub>2</sub> に脱窒される。

Anammox 反応は NH<sub>4</sub><sup>+</sup> の還元で NO<sub>2</sub><sup>-</sup> を電子受容体として使う反応で自由エネルギーの減少によ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。(図-2)

## 4. 実験結果及び考察

図-3 には集積培養による培養液中の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N の濃度変化を示した。培養開始から 9 日後までほとんど変化が見られなかったが、9 日後に PVA ゲルビーズを担体として投入して

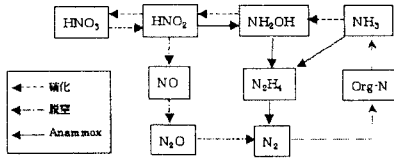


図-2 窒素変換経路

$\frac{(1/2^{29}\text{N}_2 + 30\text{N}_2)}{(28\text{N}_2 + 29\text{N}_2 + 30\text{N}_2)} \times 100 (\%)$	
	<sup>15</sup> N atm%
1回目	42.3
2回目	42.1
3回目	45.0

ガス分析結果 (Jar Fermentor 内)

から NO<sub>2</sub>-N の除去速度は高くなった。22 日後からは NH<sub>4</sub>-N の除去速度も高くなり、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N の同時除去が確認できた。この集積培養では NO<sub>3</sub>-N が除去されている時も見られるが、これは NO<sub>2</sub>-N が消費されてしまった後 NO<sub>3</sub>-N が NO<sub>2</sub>-N の代わりに使われたと思われる。この結果より最終的に NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N 濃度をそれぞれ 1 日に約 40mg/L、50mg/L 除去することができた。

ラベルした <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>C 1 はほとんど窒素ガスとして変換され Anammox 反応の進行を確認できた

図-4 は Anammox 条件下で長時間馴養した脱窒活性汚泥を用いた場合の各態窒素の変動を示した。実験開始から NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N 濃度を 200mg/L に設定したが、この条件では窒素はほとんど除去されず、50mg/L の濃度に下げたところ除去率が上がり、それから段階的に負荷を上げた。流入水の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N 濃度が 250mg/L でも良好な窒素除去が達成できた。最終的に大型リアクタにおいても HRT が 1 日で各 200mg/L 流入に対し 70% の除去した。

図-5 には連続実験での NH<sub>4</sub>-N 除去速度に関する NO<sub>2</sub>-N 除去速度と NO<sub>3</sub>-N 生成速度の関係を示した。この結果、Mulder<sup>(1)</sup>らの提唱しているものとほぼ同じ化学量論で反応の進行していることが明らかになった。

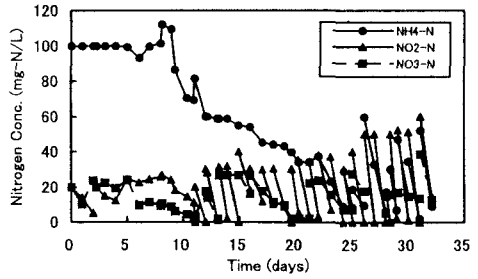


図-3 集積培養液中の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N の経時変化

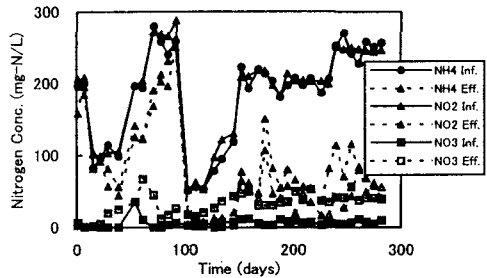


図-4 連続実験の流入水の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N の経時変化

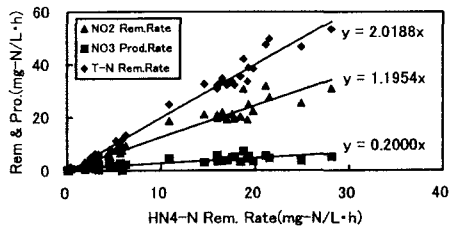


図-5 連続実験の NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、Total-N の反応比

## 5. まとめ

Anammox 集積培養において <sup>15</sup>N でラベルした実験で窒素変換から Anammox 反応を確認した。

Anammox 条件下で長時間馴養した汚泥をポリエステル不織布に付着固定させたりアクタを運転し、Anammox 反応を認めた。負荷量を段階的に高める方法で、高い窒素負荷条件下で 75% の Total-N 除去率が達成できた。

(参考文献)

- (1) A.Mulder et al.: Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiology, Vol.16, pp.177-188 (1995)