

# 嫌気性アンモニア酸化を応用した 窒素廃水処理技術の開発

🔗 嫌気性アンモニア酸化, アナモックス, 高濃度窒素廃水, 窒素除去

\* 中村安宏 Yasuhiro Nakamura \* 福崎康博 Yasuhiro Fukuzaki \* 張 文杰 Wenjie Zhang

## 概 要

閉鎖性水域における富栄養化による水質汚濁防止の観点から、窒素・リンを対象とした高度処理の重要性が高まっている。従来、廃水からの窒素除去技術として硝化と脱窒を組み合わせた生物処理が一般的であったが、近年、嫌気性アンモニア酸化（以下、アナモックス）を用いた高濃度窒素廃水処理技術は、従来法に替わる新たな処理技術として注目を浴びている。この処理技術は従来法と比較し処理コストの低減や省スペース化が期待されており、各方面で精力的な研究が行われている。

当社では、アナモックス菌を応用した独自の高濃度窒素廃水処理システムの製品化に向け、研究開発を行っている。



アナモックスリアクタ

## 1. ま え が き

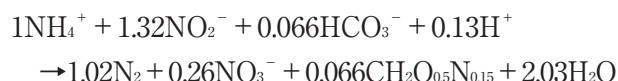
近年、独立栄養性細菌であるアナモックス菌を利用した高濃度窒素廃水処理技術が注目され、従来の従属栄養性細菌を利用した脱窒処理に替わる優れた窒素廃水処理技術として期待されている。実施もオランダや日本において稼働し始めており、実用段階を迎えつつある<sup>(1)</sup>。当社では、日本におけるアナモックス研究の第一人者である熊本大学 古川憲治教授のご指導の下研究を開始し、独自の処理システム構築に向け研究開発を進めている。

本稿では、当社が開発した廃水処理装置（以下、リアクタ）の構造、及びその適用事例として高い窒素除去能が達成された実験結果について紹介する。

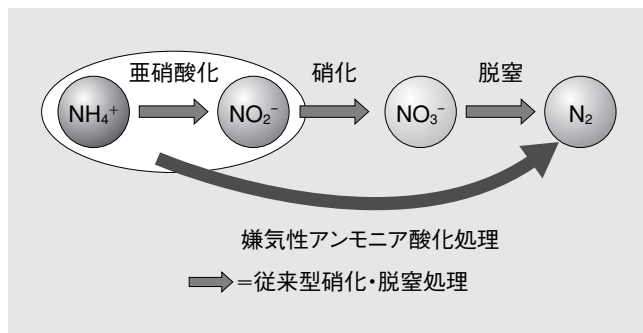
## 2. アナモックスによる窒素除去

### 2.1 嫌気性アンモニア酸化とは

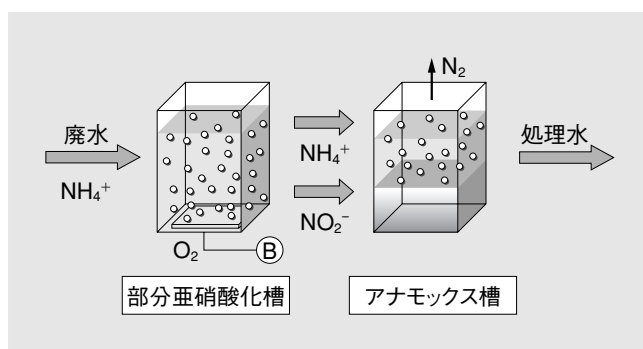
嫌気性アンモニア酸化、略してアナモックス（anammox：anaerobic ammonium oxidation）と呼ばれる反応は、オランダデルフト工科大学の研究グループにより1995年に発表された微生物によるまったく新しい窒素の代謝経路である。アナモックス反応は $\text{NH}_4^+$ を電子供与体、 $\text{NO}_2^-$ を電子受容体とした独立栄養性細菌による脱窒反応であり、次の反応式が提唱されている<sup>(2)</sup>。



第1図に嫌気性アンモニア酸化の代謝経路を示す。硝酸経由の従属栄養性脱窒と異なりアナモックス菌による脱窒は、無酸素条件下で $\text{NH}_4^+$ と $\text{NO}_2^-$ を反応基質として直接窒素ガスを生成するこ



**第1図 嫌気性アンモニア酸化の代謝経路**  
嫌気性アンモニア酸化は近年発見された新しい窒素の代謝経路であり、 $\text{NH}_4^+$ と $\text{NO}_2^-$ を反応基質として直接窒素ガスへと変換する特長を有する。



**第2図 アナモックス処理フロー**  
部分亜硝酸化槽に酸素を供給し、廃水に含まれる $\text{NH}_4^+$ の約半量を $\text{NO}_2^-$ に硝化させた部分亜硝酸化処理水をアナモックス槽に通水して脱窒処理を行う。

とを特長とする。

## 2.2 アナモックス処理システムの特長

第2図にアナモックス菌を利用した窒素処理フローを示す。前述したように、アナモックス反応は $\text{NH}_4^+$ と $\text{NO}_2^-$ を基質とした反応であり、 $\text{NH}_4^+$ を主成分とする廃水の場合、アナモックス処理の前段において廃水に含まれる $\text{NH}_4^+$ の約半量を $\text{NO}_2^-$ に酸化する部分亜硝酸化処理が必要となる。従来の硝化脱窒法と比較すると以下のようなメリットがある。

- (1) 曝気動力の削減 硝酸経由の脱窒と比べ半量の $\text{NH}_4^+$ を $\text{NO}_2^-$ まで酸化すれば済むため、硝化工程での酸素必要量が減り、曝気動力を削減できる。
- (2) 有機炭素源の添加が不要 独立栄養性細菌であるアナモックス菌は、脱窒時にメタノールなどの有機炭素源を必要としないため、薬品コストを削減できる。
- (3) 余剰汚泥処理コストの削減 窒素除去量に対して汚泥の発生量が少ないため、余剰汚泥の処理コストを削減できる。
- (4) 設置面積の削減 汚泥当たりの窒素除去速

度が高速なため、大きな容積負荷を許容することができ、装置の小形化が可能である。

(5) 温室効果ガス抑制 アナモックス反応では、 $\text{N}_2\text{O}$ などの脱窒中間生成物が生成されないため、地球温暖化の原因といわれる温室効果ガスを発生しない。

## 2.3 アナモックス処理の適用廃水

アナモックス処理は、廃水に含まれるアンモニア性窒素濃度が高く、窒素濃度に対し含有有機物濃度が低い廃水の処理に適しており、下水処理場の嫌気性消化脱離液や汚泥脱水ろ液、廃棄物埋め立て浸出水、畜産廃水などへの適用が期待されている。

また、廃水中の有機物成分が多く含まれる場合でも、部分亜硝酸化工程の前段で好気処理あるいは嫌気メタン発酵処理などによりあらかじめ有機物成分を除去することで、アナモックス処理に適用することが可能となる。

## 3. アナモックスリアクタの開発

当社のリアクタは、汚泥流出を抑制し低コストで安定した窒素废水处理を実現するため、アナモックス菌の自己造粒化特性を利用し、担体を用いることなくリアクタ内にアナモックス菌を高濃度に保持することを目的として開発を行った。

開発当初、アナモックス菌の固定化担体として不織布を充てんしたリアクタにより、菌体培養を行っていた。長期間培養を実施した結果、不織布上で増殖したアナモックス汚泥は不織布からはがれ落ちてリアクタ下部に堆積し、リアクタの窒素除去のほとんどがこの堆積汚泥で行われている様子を確認した。この堆積汚泥は、自ら生成する脱窒ガスにより流動しながら自己造粒し、直径0.5～5mm程度の粒状塊を形成していた。これはグラニューールと呼ばれ、メタン発酵菌などでも見られる微生物膜の一形態で、アナモックスにおいてもグラニューールを形成することが確認された。本グラニューールは非常に優れた沈降性を有していることから、担体を用いた菌体固定化を用いずに、グラニューールをリアクタに保持する当社独自の方式を検討した。

グラニューールを利用する場合、アナモックス処理で発生する窒素ガスにより汚泥床であるグラニューールベッドが流動化する利点がある一方、窒

素ガスによる上昇流や窒素ガスの付着によるグラニューールの浮上及びリアクタからの流出が発生し、窒素除去性能向上の律速となる問題があった。そこで、独自の解決案としてスパイラル形の気固分離構造（GSS：Gas Solid Separator）を考案し、形状の検討及び適用時の窒素除去特性について評価した。本スパイラル形の気固分離構造についての検討結果を以下に紹介する。

### 3.1 気固分離構造

気固分離構造としてリアクタ中央の支柱に固定されたらせん状の整流板を、グラニューールベッドの上方に取り付けた（以下、スパイラル形GSS）。整流板の下面は上昇する窒素ガスと浮上グラニューールが衝突し、窒素ガスが上部ガス捕集管まで上昇する流路となり、整流板の上面は気固分離されたグラニューールが落下しベッドまで沈降する流路となる。従って、リアクタ内部で窒素ガスによる上昇流とグラニューール沈降流を分離することが可能となる。

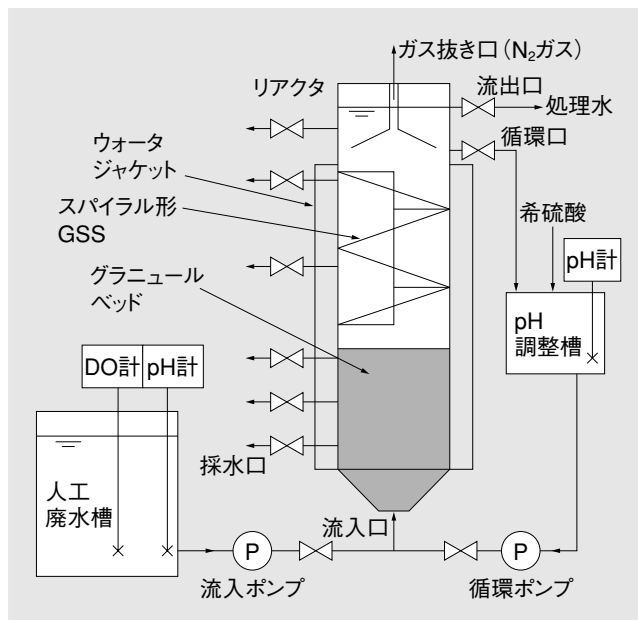
### 3.2 評価方法

第3図に実験に使用した装置の概略図を示す。比較実験を同一条件下で行うため、2つの上向流リアクタ（容積9.1L）を用意した。同量のアナモックスグラニューールをリアクタに接種し、 $\text{NH}_4^+$ と $\text{NO}_2^-$ を基質とした合成無機廃水をリアクタ下部より連続通水した。実験は、リアクタ内温度が $35^\circ\text{C}$ の恒温条件下で実施した。実験期間中に流出口から流出するグラニューール汚泥（SS）を捕集し、計量することによりスパイラル形GSSの汚泥保持能力を評価した。

長さ10cmを1ユニットとした2重のSUS製スパイラル形GSSを用い、同GSSの有無、長さ、整流板下面に取り付けた邪魔板の有無について評価した。1回の実験期間は1～2週間とした。

### 3.3 実験結果

第1表にスパイラル形GSSを評価した結果を示す。スパイラル形GSSの有無に関しては、同形GSS有りの場合は無しの場合と比較し0.79倍の流出汚泥量であり、約20%の汚泥流出低減効果があった。GSSの長さに関しては、4ユニット（40cm）の場合は3ユニット（30cm）と比べ0.76倍であり、長い方が汚泥の流出を低減できた。



第3図 実験装置の概略図

$\text{NH}_4^+$ と $\text{NO}_2^-$ を含む人工廃水（原水）をリアクタ下部より供給し、アナモックス菌を充てんしたグラニューールベッド内で窒素処理が行われる。原水と処理水の各態窒素濃度を比較し窒素除去特性を評価している。スパイラル形GSSの評価では、グラニューールベッド上部に同形GSSを設置し、浮上するグラニューールの流出抑制効果を評価した。

第1表 スパイラル形GSSの評価結果

スパイラル形GSSの汚泥保持能力の評価を行い、グラニューールの流出抑制に効果があることを確認した。

実験	条件	実験期間	NLR ( $\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{日}$ )	HRT (時間)	流出汚泥量 ( $\text{g-SS}/\text{日}$ )	流出比
実験1	スパイラル無	7日間	1.61	3.89	0.510	1
	スパイラル有		1.61	3.89	0.402	0.79
実験2	邪魔板無	14日間	2.60	2.89	0.546	1
	邪魔板有		2.56	2.94	0.475	0.87
実験3	長さ30cm	14日間	2.98	2.89	0.611	1
	長さ40cm		2.94	2.93	0.463	0.76

注記. NLR：Nitrogen Loading Rate（窒素容積負荷）  
HRT：Hydraulic Retention Time（水理的滞留時間）  
SS (MLSS)：Mixed Liquor Suspended Solid（混合液浮遊物質）

邪魔板を付けた場合の効果に関しては、無い場合に比べ0.87倍となり、汚泥の流出低減効果が認められた。邪魔板にはガスがたまり、ある一定量になるとガス塊となって上昇し、上部に浮上しているグラニューールに衝撃を与え、スパイラルで分離できなかったガスが外れ、グラニューールを再びベッドまで沈降させる効果があることも観察できた。

リアクタ内にスパイラル形GSSを設置することで、リアクタから流出するグラニューールを抑制でき、リアクタ内に多くのグラニューールを保持することが確認された。

### 3.4 リアクタ立ち上げ実験

3.3項で最も効果の高い形状のスパイラル形GSS

をリアクタに設置して立ち上げ実験を行った。第3図と同じ構造のリアクタを使用し、実験には容積32.8Lのリアクタを用いた。冷蔵庫内で保存していたアナモックスグラニューール216g（乾燥質量）を種汚泥として使用した。合成無機廃水を原水として用い、原水と処理水の各態窒素濃度を分析し、リアクタの窒素除去特性を評価した。

窒素容積負荷は、合成無機廃水の基質濃度（ $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ ）を高めること、及びHRTを短縮することの両方法により段階的に高めた。

第4図にリアクタ立ち上げ実験結果を示す。原水・処理水の各態窒素濃度と窒素容積負荷・窒素除去速度の経時変化を示している。

窒素容積負荷 $0.5\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{日}$ から処理状況に応じて段階的に窒素容積負荷を増加させ、運転開始32日後に窒素除去速度が $2.4\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{日}$ （HRT：2.0時間、窒素除去率73%）に達した。発生ガス量の増加に伴いグラニューールベッドの流動化や汚泥の浮上が観察されるようになったが、前述のスパイラル形GSSの設置効果により汚泥流出が低減され、リアクタ内に汚泥が保持されていた。その後も段階的に窒素負荷を増加させたが、処理の悪化は見られず安定した処理水質が得られた。

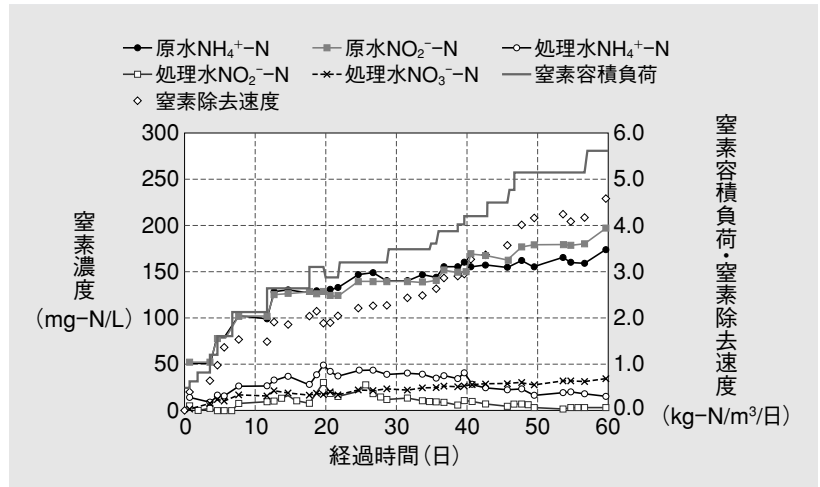
運転開始60日後には窒素除去速度 $4.6\text{kg-N}/\text{m}^3/\text{日}$ （HRT：1.7時間、窒素除去率86%）を達成した。スパイラル形GSSを用いることで短期間で立ち上げにおいて高い窒素除去が達成できることを確認した。

#### 4. アナモックスグラニューールの菌そう解析

##### 4.1 グラニューール菌そう解析

当社で培養しているアナモックスグラニューール内の微生物群集を確認するため、菌そう解析を実施した。微生物の遺伝子（16S rDNA）をPCR法で増幅し、形質転換（クローニング）を行った。得られた遺伝子塩基配列をデータベース上の遺伝子と比較し菌の同定を行った。

第2表に当社グラニューールの菌そう解析結果を示す。アナモックス菌はPlanctomycetes門に属する



第4図 立ち上げ実験時の各態窒素の経時変化

原水・処理水の窒素濃度の変化及び窒素容積負荷・窒素除去速度の変化を示す。窒素容積負荷の増加と共に窒素除去速度も増加しており、処理が悪化することなく安定した処理水質であった。

##### 第2表 菌そう解析結果

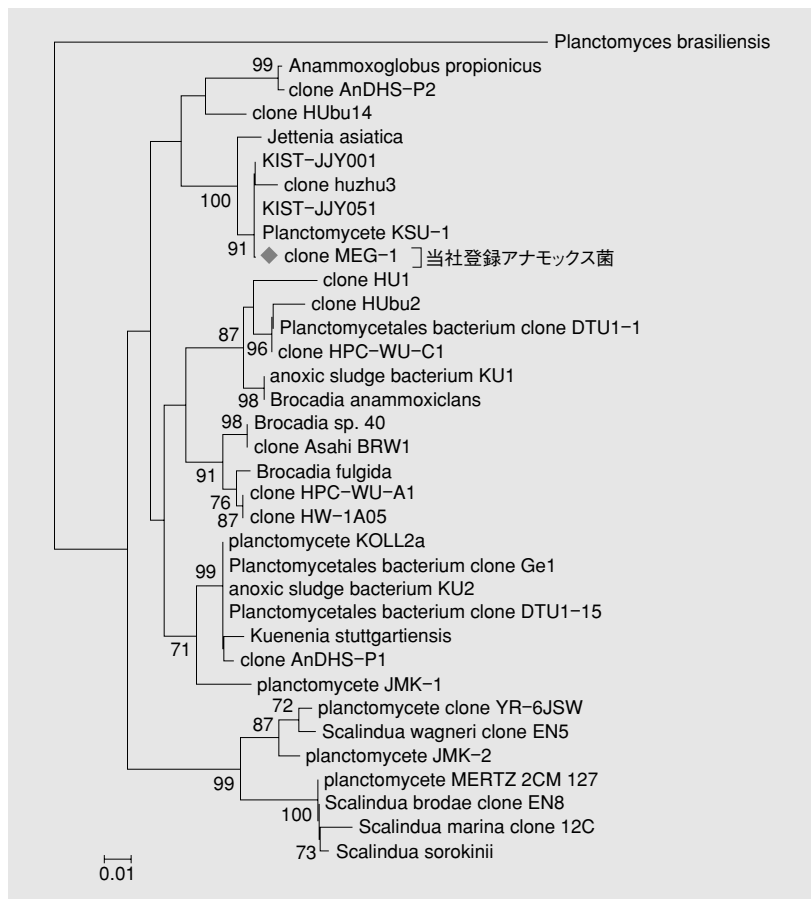
当社で培養しているアナモックスグラニューールの微生物構成を示す。□部分はアナモックス菌であり、汚泥中に占める割合が高いことを確認した。

	データベース上で相同性の高い微生物	相同性 (%)	クローン数
Planctomycetes門	Planctomycete KSU-1	99	7
	Uncultured bacterium clone KIST-JJY001	99	
	Planctomycete KSU-1	93~94	3
	Uncultured bacterium clone : HUBu14	94~95	
	Uncultured bacterium clone AnDHS-6	99	
	Uncultured bacterium clone S-73	99	1
	$\beta$ -proteobacteria門		3
	$\gamma$ -proteobacteria門		1
	Chlorobi門		1
	Chloroflexi門		1
	その他		3
	解析した全クローン数		20

微生物で、解析した20クローン中10クローンがアナモックス菌であり、約半数を占めていた。熊本大学で発見されたアナモックス菌Planctomycete KSU-1株に近縁な菌<sup>(9)</sup>がグラニューール内で優占種であり、この菌が窒素除去反応を担っていたと考えられる。アナモックス菌以外の微生物が複数検出されており、他の微生物と共生して存在していることを確認した。これらの共生菌はアナモックスグラニューールからよく検出される菌であり、グラニューール内でそれぞれ独自の役割を果たしていると考えられる。

##### 4.2 新規アナモックス菌の登録

第2表に示すアナモックス菌10クローンの内、



第5図 アナモックス菌の系統樹

データベース上に登録されているアナモックス菌の一部を示す。当社で培養しているグラニュールからはPlanctomycete KSU-1に近縁なアナモックス菌が発見された。(図中、菌の名称は省略して表記している。)

3クローンはPlanctomycete KSU-1株との相同性が94%と低く、新種のアナモックス菌と考えられた。この新種の菌は当社で培養中に集積されたものと考えられ、菌の塩基配列は当社オリジナルの菌として、データベース上 (DDBJ: DNA Data Bank of Japan) に『Uncultured bacterium clone for 16S rRNA, partial sequence clone: MEG-1 (AB530135)』として登録を行った。

第5図に代表的なアナモックス菌と当社登録菌の塩基配列を基にした系統樹を示す (菌の同定に用いるAccession Numberは省略)。これまでアナモックス菌は排水処理施設や湖沼・海洋の土壌など環境中に幅広く存在していることが確認されており<sup>(4)</sup>、塩基配列の登録の多さからも国内外問わず精力的に研究が行われていることがうかがえる。

## 5. む す び

当社が開発中のアナモックス処理技術について紹介した。気固分離構造を工夫することにより汚

泥流出が抑制され、アナモックスリアクタの短い立ち上げ期間と、高い窒素除去能力を期待できることが示された。

今後は、当社の強みを生かしシステム制御を含めた独自のアナモックス処理システムの構築、及び実廃水を用いた現地パイロット試験を実施していく所存である。

本窒素処理技術の開発に当たり、ご指導ご助言をいただいた熊本大学 古川憲治教授に、また菌そう解析を実施していただいた崇城大学 藤井隆夫教授、西山孝准教授に深く感謝する次第である。

### 《参考文献》

- (1) 古川憲治：環境浄化技術，Vol.7, No.5, 2008, pp.2~31
- (2) M. Strous, et al：Appl Microbiol Biotechnol, Vol.50, 1998, pp.589~596
- (3) Fujii, T, et al：J. Biosci. Bioeng., Vol.94, No.5, 2002, pp.412~418
- (4) H.J.M. Op den Camp, et al：Biochemical Society Transactions, Vol.34, part 1, 2006, pp.174~178

### 《執筆者紹介》



中村安宏 Yasuhiro Nakamura  
水処理システムの研究・開発に従事



福崎康博 Yasuhiro Fukuzaki  
水処理システムの研究・開発に従事



張 文杰 Wenjie Zhang  
水処理システムの研究・開発に従事