

Anammox グラニュールを活用する 単一槽窒素除去リアクターの立上げとその影響因子

Start-up of the Single Stage Nitrogen Removal System Using Anammox Granules
and Its Affecting Factors

今城 麗¹、河野洋平¹、古川憲治²

¹熊本大学大学院自然科学研究科 / 〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1

²熊本大学工学部環境システム工学科 / 〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1

URARA IMAJO¹, YOHEI KAWANO¹, and KENJI FURUKAWA²

¹Department of Environmental Science, Graduate School of Science and Technology,
Kumamoto University

²Department of Civil Engineering and Architecture, Faculty of Engineering, Kumamoto University
/2-39-1, Kurokami, Kumamoto city, 860-8555, Japan

Abstract

Recently, nitrogen pollution is one of the biggest problems and novel nitrogen removal process, Anammox (anaerobic ammonium oxidation) is now regarded to be a promising alternative to the conventional nitrogen removal process. In Anammox reaction, ammonia is oxidized to nitrogen gas using nitrite as an electron donor. Recently, CANON process, in which nitrification to nitrite and anammox occur in one reactor, has been developed. Using anammox granules, new CANON reactor could be started up within 1 month and the anammox rate of the reactor was 56% of that of the seed granules. The reactor showed a stable nitrogen removal performance for 4 months. The average nitrogen removal rate of the reactor was observed to be 0.4 kgN/m³/d and the average nitrogen removal efficiency was 74%. There seems to be various factors affecting CANON process, in which nitrification in aerobic condition and anaerobic anammox reaction occur at the same time. Among them, DO concentration was proved to be the most important factor affecting nitrogen removal efficiency in CANON process.

Key words: Anammox, CANON, DO, Nitrification, Denitrification

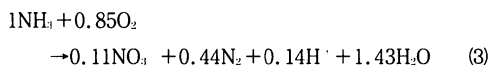
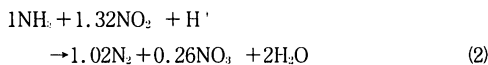
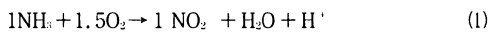
1. はじめに

第5次水質総量規制において、従来のCODに加え窒素およびリンも総量規制の対象となり、排水および地下水から窒素を除去する技術が注目を集めている。現状の硝化脱窒の二工程での窒素除去法はエネルギーおよび薬品のコスト負担が大きいことから、より経済的な処理技術の開発が望まれている。1995年に初めて論文発表された

嫌気性アンモニア酸化 (anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 反応は、無酸素条件下でNH₄⁺が電子供与体、NO₂⁻が電子受容体となる独立栄養性の脱窒反応であり、新たな窒素除去技術として注目を集めている¹⁻⁴⁾。Anammoxを利用した、部分的亜硝酸化/Anammoxシステムが確立されれば、従来の硝化/脱窒プロセスに比べ、酸素供給量、外部炭素源の添加、余剰汚泥の発生量を大幅に削減でき、またN₂Oなどの温室効果ガスを発生しな

いなど、極めて経済的で低環境負荷の窒素除去プロセスの構築が可能となる。Anammox反応は窒素濃度が高く、C/N比が低い排水の処理に適しており、ごみ浸出水や畜産廃液、消化脱離液や汚泥の脱水濾液等への活用が期待される。最初の論文発表以来、各国の複数のグループにより研究が進められており、日本国内でも有望な窒素除去プロセスとして開発が進んでいる⁷⁾。

最近、部分亜硝酸化とAnammox反応を単一槽内で行う方法が検討され、CANON (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) 法と名付けられた¹¹⁾。CANON法においては、NH₄⁺が好気性アンモニア酸化菌によって(1)式のように部分亜硝酸化され、次にAnammox微生物によって(2)式のようにNH₄⁺とNO₂⁻が窒素ガスに変換される。反応式をまとめると(3)式ようになる。CANON法は硝化/脱窒法と比較して前述の運転コスト削減のメリットを有すると共に、一槽で処理が行えるというメリットを有する。



既報では、2001年にSequencing Batch Reactor (SBR) を用いて一槽で亜硝酸型硝化とAnammoxを行わせることに成功している⁸⁾。SBR内にはAnammox微生物と硝化菌が混在していることがFISHにより確認された。Anammox微生物は酸素により阻害を受けるが、CANON法が安定して窒素除去を行える理由として、外側に硝化菌、内側にAnammox微生物が存在し、内側には酸素が浸透せず嫌気条件が保たれるという生物膜モデルが提唱されている¹²⁾。このSBRによる窒素除去速度は、アンモニアを過剰に添加した系で0.08kgN/m³/d、アンモニア律速の場合には0.04kgN/m³/dであった。2003年には、二重管型のガスリフトリアクターを用いたCANON法が報告された¹⁰⁾。Anammox汚泥をリアクター内で培養し約9kgN/m³/dの処理能力を有するまで増殖させた後、アンモニア酸化菌を含む硝化汚泥を添加し、吹き込みガス中の空気の割合を徐々に増加させることにより、窒素除去速度1.5kgN/m³/dを60日間達成している。NH₄⁺濃度約1,500mgN/lの合成排水を用い処理水中に約900mgN/lのNH₄⁺が残存しているため、除去率は42%と低い。

Anammoxの前処理に必要な亜硝酸型硝化は、これまでも硝化/脱窒の際の曝気エネルギー削減および脱窒時の有機物添加量削減を目的として研究が進められてきた。

酸素に対する親和性の違い、遊離アンモニアおよび亜硝酸の阻害効果の差、高温条件(25℃以上)での増殖速度の差、アンモニア酸化と亜硝酸酸化の活性化エネルギー(68kJ/mol, 44kJ/mol)の違いを利用する方法、阻害剤によって亜硝酸酸化菌を抑制する方法等が挙げられ、最近では、グラニューク化した硝化菌を用いたエアリフトリアクターで亜硝酸型硝化に成功した報告がある¹³⁻¹⁹⁾。一般に、実際の運転で亜硝酸型の硝化反応を維持することは低濃度であるほど難しいと言われているが、CANON法は、200mgN/l以下程度の低濃度の含アンモニア排水に対しても安定した処理が行える可能性がある。我々は、前述のような大きなメリットを有するCANON法に着目し、ベンチスケールの二重管型ガスリフトリアクターを用いて実験を行った。

Anammox微生物は倍化時間が約11日と増殖速度が非常に遅い。十分量のAnammox微生物をリアクター内に保持すること、かつ微生物が酸素による阻害を受けにくい状態にすることを目的に、種汚泥として事前に作成したAnammoxグラニュークを用いた²⁰⁾。硝化菌の種汚泥には亜硝酸型の硝化を1年以上行い*Nitrosomonas*が含まれることを確認した硝化汚泥を用いた。立上げ時の処理水の変化および添加した汚泥量とリアクターの処理能力との比較を行った。

次に、CANON法の処理に対する影響因子について検討を行った。CANON法においては、流入するNH₄⁺をめぐってアンモニア酸化菌とAnammox微生物が、生成したNO₂⁻をめぐって亜硝酸酸化菌とAnammox微生物が、酸素をめぐってアンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌が競合する。亜硝酸酸化菌が優勢になると、処理水NO₂⁻濃度の上昇、NH₄⁺の残存が起こるため、アンモニア酸化菌とAnammox微生物の活性を保ち、亜硝酸酸化菌の働きを抑制する必要がある。

これらの微生物活性に影響を及ぼす因子としては、pH、温度、溶存酸素(DO)濃度、基質濃度(NH₄⁺、NO₂⁻)、水理的滞留時間(HRT)、汚泥滞留時間(SRT)、各種阻害物質濃度等が挙げられる。本実験ではその中でpH、温度、DO濃度がAnammoxグラニュークを活用するCANON法の窒素除去性能に及ぼす影響について検討を行った。既報では、実際の実験条件として、pHは7.8⁸⁾、温度は30℃⁸⁾、¹¹⁾以外の条件での結果はない。DO濃度は、SBRで0~0.4mg/l⁸⁾、ガスリフトリアクターで0.5mg/l¹⁰⁾、粒状微生物を有するSBRでは0.16mg/l¹¹⁾であった。他の条件についてはモデルを用いて検討されている²¹⁾。温度は15~40℃の範囲で影響が検討されている。DO濃度につ

いてもモデルで検討されており、最適DO濃度は生物膜厚さ、アンモニア負荷、増殖速度、生物膜密度に依存することが示されている。±0.2mg/l 違ってても窒素除去率が5~15%低下するとし、アンモニア負荷に対応したDO制御が必要であると結論付けている。条件変化の影響はリアクター形状、特に微生物の存在形態によって異なるため、実際のリアクターにおける影響を調べることは重要である。本実験では、Anammox グラニュールとフロック汚泥が混在するエアリフトリアクターにおける条件変化の影響を示す。

2. 実験材料および方法

2.1 実験装置

1) 実験装置

実験装置を Fig. 1 に示す。容量3.5l (反応部体積2.7l)、外管内径50mm、内管外径32mm、内径26mmの二重管型リアクターで、底部から空気を送ることによるガスリフト型となっている。合成基質、空気は共に底部から流入させ、処理水は上部の気固液分離部 (GSS) を経て処理水槽に排出される。DOおよびpHはGSSにより分離された空気により液が流動する位置で測定した。リアクター温度はウォータージャケットにより調整した。pHは電磁定量ポンプEH-B10VH-100PW1-PH1 (IWAKI) にpHガラス

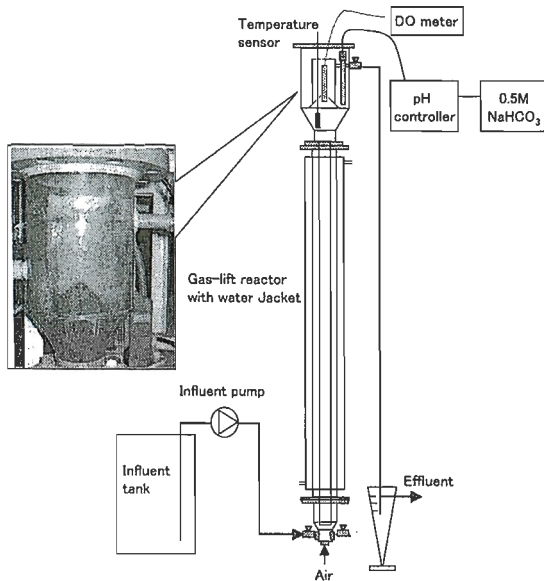


Fig. 1 Schematic diagram of the gas-lift reactor system.

電極 (METTLER TOLED) を接続し比例制御運転を行い、DOはpHメータD-55 (HORIBA) を用いた隔膜式ガルバニ電池法で測定した。温度はThermo RecorderおんどとりTR-71S型 (T&D) で連続データを記録した。

2) 種汚泥

Anammox微生物の種汚泥として、6ヶ月以上運転した上向流リアクターから採取し、約2ヶ月間冷蔵保存した平均径0.9mmのAnammoxグラニュールを用いた。実験開始時に沈降体積0.1l、5日目に0.4l、合計0.5l (28.17gSS (19.89gVSS)) のグラニュールを種汚泥として用いた。硝化菌の種汚泥には亜硝酸型の硝化を行う曝気槽から採取したフロック状汚泥3.3gSS (3.0gVSS) を用いた。事前にグラニュールのAnammox活性を回分実験により測定した。

3) 合成基質

窒素源としてNH₄-Nのみを含む合成無機基質を用いた。基質の組成をTable 1に示す。pH7.5 (0.5MのNaHCO₃で調整)、温度30℃の条件で連続実験を行った。

4) 分析方法

定期的にNH₄⁺・NO₂⁻・NO₃⁻の濃度をHITACHI U-2010を使い、NH₄⁺はo-phenyl phenolを用いたインドフェノール青吸光光度法の変法であるOPP法²²⁾、NO₂⁻はColorimetric method²³⁾、NO₃⁻はUltraviolet Spectrophotometric Screening Method²³⁾を用いて比色分析で測定した。SS、MLSS、MLVSSの分析は下水試験方法によった²⁴⁾。

2.2 実験方法

1) 立上げ

NH₄⁺濃度100mgN/lの基質で運転を開始し、6日目に基質濃度を200mgN/lに変更した。その後はHRTを徐々に短

Table 1 Composition of synthetic medium

(NH ₄) ₂ SO ₄	472,943 mg
KHCO ₃	168 mg
KH ₂ PO ₄	25 mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O	300 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	200 mg
Trace element I (EDTA 5 g/l, FeSO ₄ ·7H ₂ O 9.14 g/l)	1 ml
Tap water	1 l

くすることにより負荷を上げた。処理水中のNH₄⁺濃度が10mgN/l以下になった時を、負荷を上げるタイミングの目安とした。空気量はDO濃度が約0.2mg/lとなるように調整した。

2) 低DO濃度域での長期運転

1) で用いたCANONグラニューール12.79gMLSS (9.98gVSS) に硝化汚泥0.80gMLSS(0.76gVSS) を追加して再度立上げを行い、基質NH₄⁺濃度200mgN/l、DO濃度0.5mg/l以下で運転を行った。

3) 環境因子の影響検討

DO濃度を0.8~2.0mg/lに上げて運転し、リアクタ内部に亜硝酸酸化菌が増殖した状態でリアクタ内のpH、温度、DO濃度を変化させ、培養環境条件の変化が亜硝酸酸化菌の活性にどのような変化をもたらすかを調べた。実験条件をTable 2に示す。pH、温度の値には、安定した亜硝酸化を長期間維持する目的で実験を行った過去の事例を参考に、亜硝酸が蓄積しやすいとされる条件を選択した²³⁾。

3. 結果および考察

3.1 立上げ時

立上げ後33日間の基質濃度、処理水濃度、HRTの経時変化をFig.2に、窒素負荷とAnammox速度、アンモニア酸化速度、亜硝酸酸化速度の経時変化をFig.3に示す。窒素の減少はAnammox反応のみによると仮定し、Anammox速度は全窒素の減少量から算出した。アンモニア酸化速度および亜硝酸酸化速度は流入・流出水の濃度の値と式(2)のAnammoxの化学量論式を用いて、下式により算出した値を示している。亜硝酸酸化速度は式(vii)によっても算出し、式(vi)との差が2.2 l)の実験では1.6mgN/l以下、2)の実験では2.4mgN/l以下、3)の実験では1.3mgN/l以下であることを確認した。

Table 2 Experimental conditions

Run	pH	Temp(°C)	DO(mg/l)
I	7.5	30	0.8~2.0
II	8.0	30	0.8~2.0
III	7.5	34.5	0.8~2.0
IV	7.5	30	0.2~0.4

$$\text{流入全窒素} - \text{流出全窒素} = \Delta \text{TN} \quad (i)$$

$$\Delta \text{NH}_{4\text{ANA}} = \Delta \text{TN} \times 1 / (1.02 \times 2) \quad (ii)$$

$$\Delta \text{NO}_{2\text{ANA}} = \Delta \text{TN} \times 1.32 / (1.02 \times 2) \quad (iii)$$

$$\text{NO}_{3\text{generation ANA}} = \Delta \text{TN} \times 0.26 / (1.02 \times 2) \quad (iv)$$

$$\text{亜硝酸化} (\Delta \text{NH}_{4\text{Nit}}) = (\text{NH}_{4\text{inf}} - \text{NH}_{4\text{eff}}) - \Delta \text{NH}_{4\text{ANA}} \quad (v)$$

$$\text{硝酸化} (\Delta \text{NO}_{2\text{Nit}}) = (\text{NO}_{2\text{inf}} - \text{NO}_{2\text{eff}}) + \Delta \text{NH}_{4\text{Nit}} - \Delta \text{NO}_{2\text{ANA}} \quad (vi)$$

$$\text{硝酸化} (\Delta \text{NO}_{2\text{Nit}}) = (\text{NO}_{3\text{eff}} - \text{NO}_{3\text{inf}}) - \text{NO}_{3\text{generation ANA}} \quad (vii)$$

種汚泥として添加したAnammoxグラニューールのVSS当たりのAnammox反応速度は0.1kgN/kgVSS/dであり、初期添加量は最大窒素除去速度0.20kgN/m³/dの能力を有

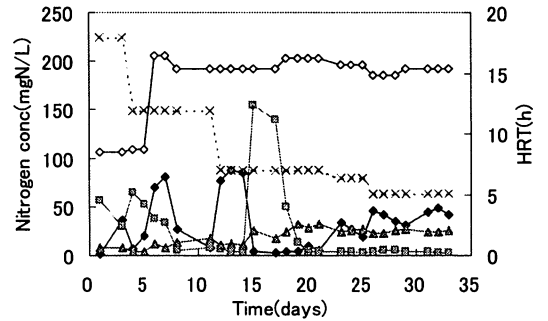


Fig. 2 Changes in HRT and nitrogen concentration. Symbols ◇:NH₄-N inf, ◆:NH₄-N eff, ■:NO₂-N eff, ▲:NO₃-N eff, ×:HRT

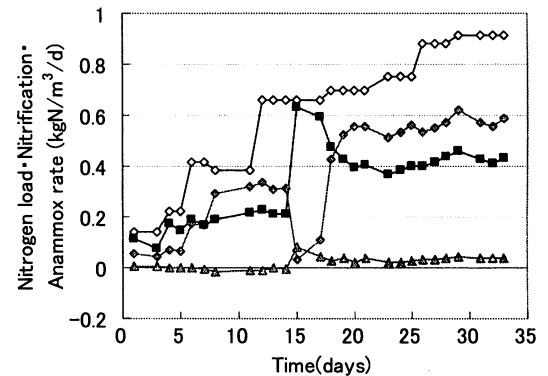


Fig. 3 Changes in nitrogen load and reaction rate of anammox, nitrification (oxidation of ammonium to nitrite) and nitratation (oxidation of nitrite to nitrate). Symbols ◇:Nitrogen load, ◆:Anammox, ■:NH₄-N→NO₂-N, ▲:NO₂-N→NO₃-N

していると計算された。しかし、処理水濃度から計算したAnammox速度は $0.05\text{kgN/m}^3/\text{d}$ と低かった。これは微好気条件におかれたAnammox微生物が酸素による阻害を受けたためであると推察される。しかし活性が完全に失われていないことから、一部の嫌気条件は確保されていることがわかる。アンモニア酸化速度は $0.11\text{kgN/m}^3/\text{d}$ の速度を有したため、処理水中に NO_2^- が残存した。そこで、5日目にAnammoxグラニュールを追加投入した。

アンモニア酸化速度は4日目から14日目まで約1.2倍の増加であるのに対し、Anammox速度は6日目以降3日間で、5日目の値の4.6倍に上昇した。処理水中の NO_2^- は5日目から低下傾向がみられたが、これはアンモニア酸化速度の低下が原因であり、6日目以降の低下はAnammox速度の上昇に従うものと考えられる。

12日目以降の負荷上昇時には NO_2^- 濃度は 10mgN/l 以下で推移し上昇はみられなかった。Anammox反応速度の上昇により、硝化反応で生じた NO_2^- はAnammox反応により即座に窒素ガスへ変換されたためと考えられる。20日目以降は処理水中に NH_4^+ が残存し、負荷を上げるとその濃度も上昇した。処理水中の NO_2^- 濃度はAnammox速度

の上昇に伴い高くなった。

Fig. 4にリアクター内DO濃度、アンモニア酸化菌によるアンモニア消費速度、Anammoxによるアンモニア消費速度の経時変化を示す。DO濃度が 0.23mg/l から 0.90mg/l に上昇した15日目に、アンモニア酸化速度は前日の3倍の値に大きく上昇し、逆にAnammox反応速度は10分の1の値に低下した。その後DO濃度を 0.8mg/l (18日目)とするとAnammox速度は $0.21\text{kgNH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ まで上昇し、DO濃度 0.6mg/l (19日目)においては $0.26\text{kgNH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ となった。アンモニア酸化速度は19日目以降約 $0.4\text{kgNH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ に低下し、その後大きな変動はなかった。

この結果より、本リアクターに存在するAnammox微生物はDO濃度の上昇(0.9mg/l 以上)により阻害を受け、阻害はDO濃度を下げること(0.6mg/l 以下)により回復することが示された。Anammox微生物は酸素に対する阻害の感度が強く、酸素分圧 0.5% でも阻害を受けるとされているが、本実験で用いたAnammox微生物はグラニュールの形態で存在するため、グラニュールの外側に酸素を消費する層が形成され、内部に嫌気ゾーンが確保されたと推測される³⁶⁾。

また、リアクターのアンモニア酸化活性は $0.6\text{kgNH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ 以上の速度を有していたが、その後 0.3mg/l 以下の低DO運転によりその活性の抑えられていることが確認された。

Fig. 3から明らかのように、DO濃度が高かった期間の後、亜硝酸酸化速度の上昇することがわかる。低DO運転に戻した後も、硝化速度は約 $0.04\text{kgN/m}^3/\text{d}$ で推移した。これは高DO時に亜硝酸酸化菌が増殖したためと考えられる。その後の低DO運転により亜硝酸酸化速度の上昇は抑えられるものの、亜硝酸酸化菌は系内に何らかの形で留まり、その反応を完全には抑えられないことが示された。

Table 3に、窒素負荷と得られた最大窒素除去速度お

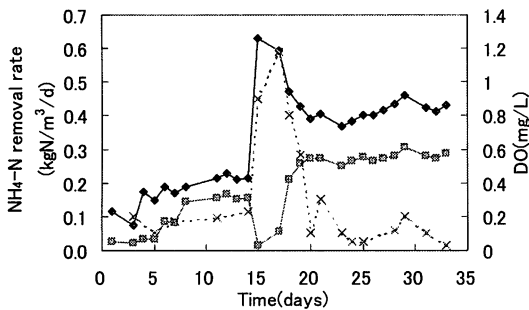


Fig. 4 Changes in ammonium removal rate by nitrification, ammonium removal rate by anammox reaction and DO concentration. Symbols ◆: Nitrification, ■: Anammox, ×: DO

Table 3 Nitrogen load, nitrogen removal rate and effluent nitrogen concentration

day	Influent conc. (mgN/l)	Load (kgN/m ³ /d)	Max. N-removal		Effluent concentration		
			(kgN/m ³ /d)	(%)	NH ₄ (mgN/l)	NO ₂ (mgN/l)	NO ₃ (mgN/l)
1-3	100	0.14	0.05	37.4	1.2	57.0	8.5
4-5	100	0.22	0.07	31.2	7.2	64.6	3.5
6-11	200	0.40	0.32	79.6	8.0	8.5	17.0
12-17	200	0.66	0.34	51.2	77.0	6.2	10.5
18-21	200	0.70	0.56	79.9	9.5	3.5	28.0
22-25	200	0.75	0.56	75.3	18.5	3.0	27.0
26-33	200	0.90	0.62	68.9	31.0	3.7	27.0

よび除去率、その時の処理水窒素濃度を示した。Anammoxによる窒素除去速度の33日間の最大値は0.62kgN/m³/dであった。種汚泥として添加したAnammoxグラニューールのVSS当たりのAnammox反応速度は0.1kgN/kgVSS/dであり、使用したグラニューールの全量は窒素除去速度1.14kgN/m³/dの能力を有していた。したがって、Anammoxグラニューールとアンモニア酸化菌を用いて立ち上げたガスリフトCANONリアクターは、約1ヶ月間の立上げ運転により、添加Anammoxグラニューールの窒素除去能力に対し56%の能力を持つことが確認された。また、窒素除去率の最大値は79.9%であり、負荷の調整によって処理水のNH₄⁺、NO₂⁻を10mgN/l以下にした高除去率運転が可能なることも示された。

3. 2 低DO濃度域でのCANON法の長期運転結果

上記実験で用いたCANONグラニューールと硝化汚泥を用いて再度立上げを行い、0.5mg/l以下のDO条件での処理の安定性を検討した。Fig. 5、Fig. 6に処理結果を示す。約4ヶ月の運転中、硝酸化は抑えられAnammox活性が保たれた。グラフ中硝酸化速度が上がっているところは、トラブルにより一時的にDOが0.8mg/l以上に上昇したことによるものである。処理水にはNO₂⁻の蓄積はみられなかった。一時的にNH₄⁺が上昇した点はトラブルによる空気量の一時的な低下(45~47day)、pHの低下(54day)が原因である。96dayに空気量を増やしたところ、窒素負荷を上げてもNH₄⁺濃度は低下したことから、57~94dayについても空気量の不足が原因であると推察される。リアクター能力に対し低い負荷とし、空気量を調節することにより、NH₄⁺、NO₂⁻を残存させず、NO₃⁻の生成をAnammoxによるもののみとして、高除去率を得る運転が可能であることが示された。消費されたNH₄⁺に対する生成NO₃⁻のモル比(NO₃⁻-N/NH₄⁺-N)は、一時的に硝酸化が起こった3点(13、28、54日目)を除くと0.06~0.26(平均0.13)であった。実験期間中の最大窒素除去率は87.4%、平均窒素除去率は74.0%であり、部分亜硝酸化とAnammox反応を約4ヶ月間継続させることができた。

3. 3 pH、温度、DOの影響

Fig. 7にpH、温度、DOを変化させたときの反応速度経日変化を示す。図中番号はTable 2における条件を示す。始めにDOを0.2mg/lから0.8~2.0mg/lに上げ(条件I)、硝酸化速度を上昇させた。pHを7.5から8.0に変化させたところ(条件II)、硝酸化の抑制はみられず、Anammox

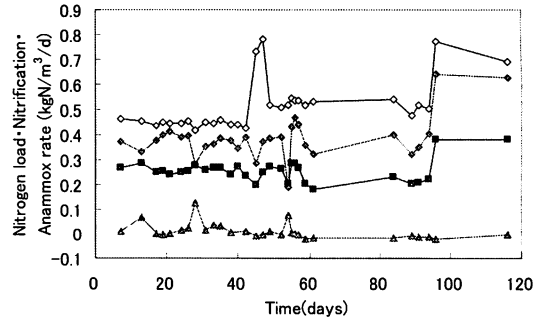


Fig. 5 Changes in nitrogen load and reaction rate of anammox, nitrification and nitratation at low DO condition. Symbols ◇:Nitrogen load, ◆:Anammox, ■:NH₄-N→NO₂-N, ▲:NO₂-N→NO₃-N

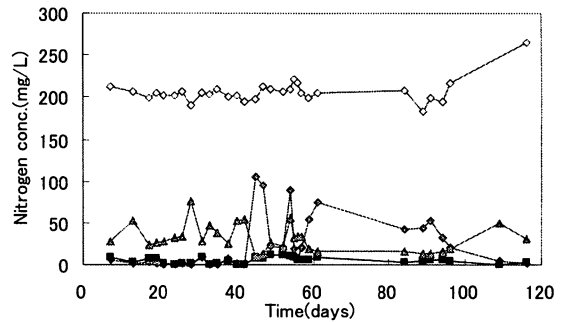


Fig. 6 Changes in influent and effluent nitrogen concentration at low DO condition. Symbols ◇:NH₄-N inf, ◆:NH₄-N eff, ■:NO₂-N eff, ▲:NO₃-N eff

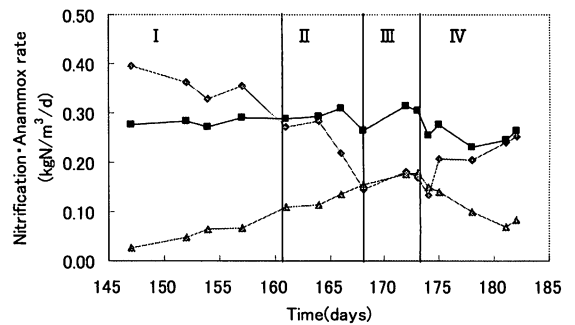


Fig. 7 Changes in reaction rate of anammox, nitrification and nitration at each condition, I (pH 7.5, 30°C, DO 0.8~2.0mg/l), II (pH 8.0, 30°C, DO 0.8~2.0mg/l), III (pH 7.5, 34.5°C, DO 0.8~2.0mg/l), IV (pH 7.5, 30°C, DO 0.2~0.4mg/l). Symbols ◆:Anammox, ■:NH₄-N→NO₂-N, ▲:NO₂-N→NO₃-N

速度は低下した。次に温度を30℃から35℃に上げたところ（条件Ⅲ）、Anammox速度の上昇は見られたが、硝酸化速度も上昇しており、窒素除去率はほとんど変わらなかった。次にDOを0.8~2.0mg/lから0.2~0.4mg/lに下げたところ（条件Ⅳ）、亜硝酸化速度および硝酸化速度が低下傾向を示し、Anammox速度は逆に上昇した。その結果、除去率の向上がみられた。条件の効果をTable 4にまとめる。

連続実験におけるDOの値の変化がAnammox・亜硝酸化・硝酸化の各速度に与える影響を、30℃と35℃におい

て詳細に検討した。結果をFig.8に示す。DOの低下とともに亜硝酸化速度、硝酸化速度が低下する傾向がみられた。Anammox速度は30℃、35℃ともにDO 0.3mg/l付近で最大となった。0.2mg/l以下においてAnammox速度が低下したのは、亜硝酸化速度の低下により、基質である亜硝酸の生成が減少したためであると推察される。既報のモデルを用いた解析では、負荷2 gNH₄-N/m³/d、生物膜厚さ0.7mmの条件で最大除去率を得るDOは、30℃で0.8mg/l(除去率74%)、35℃で0.9mg/l(85%)である²¹⁾。同じ負荷では温度が低いほど最大除去率を得るのに大き

Table 4 Effect of experimental conditions on nitrogen conversion

Run	pH	Temp(°C)	DO(mg/l)	Nitrification	Anammox	Nitratation	N-removal
I	7.5	30	0.8~2.0	△	×	○	×
II	8.0	30	0.8~2.0	×	×	○	×
III	7.5	34.5	0.8~2.0	○	○	○	△
IV	7.5	30	0.2~0.4	×	○	×	◎

◎:very effective, ○:effective, △:No effect, ×:negative effect

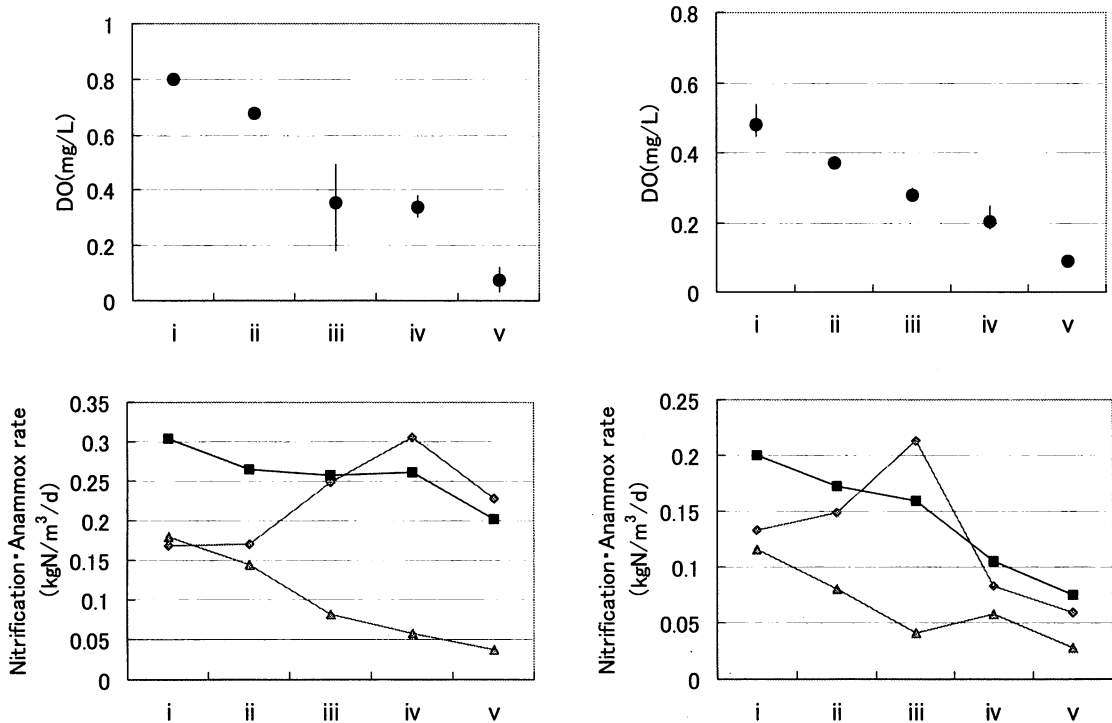


Fig. 8 Effect of DO concentration on each reaction rate (left: 30°C, right: 35°C). Symbols ●:DO (average), ◆:Anammox, ■:NH₄-N → NO₂-N, ▲:NO₂-N → NO₃-N

な生物膜厚さと高いDOが必要であり、 $2 \text{ gNH}_4\text{-N/m}^2\text{/d}$ において、それぞれ 30°C では 1 mm 、 1.3 mg/l 、 35°C では 0.6 mm 、 0.8 mg/l となっている。本リアクターにおいては、生物の存在形態は径約 1 mm のグラニューールとフロック汚泥の混在であるため、生物膜面積当たりの負荷を用いたモデルと比較することは困難であるが、生物膜厚さを 0.5 mm と考えると、 30°C における至適DOは 0.5 mg/l 、 35°C では 0.6 mg/l であり、本実験の結果に近い値となる。Fig. 8におけるAnammoxの至適DOが 0.3 mg/l であったのは、フロック汚泥中の硝化菌も反応に寄与するため、全ての硝化菌が生物膜表面に存在する場合と比較すると生物膜の硝化菌が少なく、より低いDOでAnammoxに対する阻害が起こるためであると考えられる。また、計算では競合に負けるはずの亜硝酸酸化菌が、一度系内に増殖すると反応速度は低下しても完全に消失することはなく、その存在を考慮した制御が必要であることが示された。

CANONリアクター内では、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌、Anammox微生物の3種類の微生物が存在し競合状態にある。アンモニア酸化菌、Anammox微生物の活性を保ちつつ亜硝酸酸化菌の活性を抑制するためには、極端な環境条件を用いることはできず、3者の至適条件の僅かな差を利用することが必要である。上記の結果から、本実験で検討したpH、温度と比較し、DOの値がこの競合状態により大きく影響を与えることが確認された。CANON法においては、硝化速度の上昇は窒素除去率の低下を引き起こすため、硝酸の生成を抑制する必要がある。DOの制限が硝化抑制に最も効果的であると考えられる。ただし、DOの値が 0.2 mg/l 以下では酸素律速となるために亜硝酸化速度が下がり、その結果としてAnammox速度が下がる。したがって、硝化を抑制し、かつ高い窒素除去速度を保つためには、DOを $0.2\sim 0.5 \text{ mg/l}$ で運転することが望ましいと言える。

4. まとめ

本研究ではAnammoxグラニューールを用いたガスリフトリアクターでのCANON法の立上げと、亜硝酸化反応、Anammox反応、硝化反応のバランスに対する影響因子の解析を行った結果から以下の知見が得られた。

Anammoxグラニューールを用いることにより早期立上げが可能であり、Anammoxグラニューールとアンモニア酸化菌を用いて立ち上げたガスリフトCANONリアクターは、1ヶ月の立ち上げ期間で最大 $0.62 \text{ kgN/m}^2\text{/d}$ の窒素除

去速度を有し、添加Anammoxグラニューールの有するアンモニア除去速度能力に対し56%の能力を持つことが確認された。

運転開始直後は NO_2^- が残存するが、Anammoxグラニューール表面に硝化菌が増殖し嫌気条件が形成されることによりAnammox速度が上昇し、 NO_2^- が低下する。処理能力に対し低い負荷にすることで、処理水の NH_4^+ 、 NO_2^- 濃度 10 mgN/l 以下で運転できる。

CANONリアクターでの窒素除去率に大きな影響を及ぼす因子はDO濃度であり、安定したDO濃度の制御がCANON法での処理能力の向上につながる事が分かった。系内のAnammox微生物の活性を保つため、DO濃度 0.6 mg/l 以下で運転することが必要である。高DO濃度ではAnammox反応は阻害により低下し、アンモニア酸化速度が上昇するため NO_2^- 濃度の蓄積が起こる。Anammoxへの阻害はDO濃度を戻すことにより回復するが、亜硝酸酸化菌の存在量が増加するため、亜硝酸酸化速度は高DO運転前より上昇する。硝化を抑制し、かつ高い窒素除去速度を保つためには、DO濃度を $0.2\sim 0.5 \text{ mg/l}$ で運転することが望ましい。DO濃度の制御方法としては、流入 NH_4^+ 負荷に対し空気量の調整を行うか、DO濃度を指標として空気量の調整を行うことが有効である。その他の運転管理は容易であり、本実験では平均窒素除去速度 $0.4 \text{ kgN/m}^2\text{/d}$ 、平均窒素除去率74.0%で4ヶ月間安定して処理を行うことができた。

安定した亜硝酸型硝化が困難な 200 mgN/l 以下の低濃度含アンモニア排水を対象とした処理方法として本法は有効であると考えられる。本法では処理水中に、流入アンモニア濃度に対し10~20%の硝酸が残存する。直接放流する場合には後段に従属微生物を用いる小型の脱窒槽を設ける必要があるが、有機物処理のための排水処理設備を有する場合には、有機物濃度が低くアンモニア濃度が高い排水のみを選択的に本法で処理し、処理水を他の排水と混合する方法によって、効率的な窒素除去が可能であると考えられる。

引用文献

- 1) Van de Graaf, A.A., Mulder, A., Slikhuis, H., Robertson, L.A., and Kuennen, J.G.: Anoxic ammonium oxidation, Proc.5th European Congress on Biotechnology, 1, 388-391 (1990)
- 2) A. Mulder, A.A. van de Graaf, L.A. Robertson, and J.G. Kuennen: Anaerobic ammonium oxidation discovered in denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiology Ecology, 16, 177-184 (1995)

- 3) Verstraete, W. and Philips, S.: Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts, *Environmental Pollution*, 102(1), S1, 717-726 (1998)
- 4) Schmidt, I., Sliemers, O., Schmid, M., Bock, E., Fuerst, J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., and Strous, M.: New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater, *FEMS Microbiology Reviews*, 27(4), 481-492 (2003)
- 5) 古川憲治: 嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) の発見とその後の研究開発動向, *水環境学会誌*, 27 (7), 442-447 (2004)
- 6) 徳富孝明: anammoxプロセス実用化の展望, *水環境学会誌*, 27 (7), 453-457 (2004)
- 7) 井坂和一: 嫌気性アンモニア酸化法の有効性と実用化に向けた課題と対策, *水環境学会誌*, 27 (7), 458-462 (2004)
- 8) K.A. Third, A. Olav Sliemers, J.G. Kuenen, M.S.M. Jetten: The CANON System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria, *System. Appl. Microbiol.*, 24, 588-596 (2001)
- 9) A.Olav Sliemers, N. Derwort, J.L. Campos Gomez, M. Strous, J.G. Kuenen, M.S.M. Jetten: Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor, *Water Research*, 36, 2475-2482 (2002)
- 10) A.Olav Sliemers, K.A.Third, W.Abma, J.G.Kuenen, and M.S.M.Jetten : CANON and Anammox in a gas-lift reactor, *FEMS Microbiology Letters*, 218, 339-344 (2003)
- 11) M. Nielsen, A. Bollmann, O. Sliemers, M. Jetten, M. Schmid, M. Strous, I. Schmidt, L. H. Larsen, L. P. Nielsen, and N. P. Revsbech: Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor, *FEMS Microbiology Ecology*, 51, 247-256 (2004)
- 12) Hao X., Heijnen J.J. and Loosdrecht M.C.M.: Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process, *Biotechnology and Bio-engineering*, 77(3) 266-277 (2002)
- 13) Alfieri Pollice et al. : Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate, *Water Research*, 36(10), 2541-2546 (2002)
- 14) Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S., and Srinath, E.G.: Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid, *J. Water Pollt. Control Fed*, 48(5), 835-852 (1976)
- 15) Hellinga C., Schellen A.A.J.C., Mulder J.W., van Loosdrecht M.C.M., and Heijnen J.J.: The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water, *Wat. Sci. Tech.*, 37(9), 135-142 (1998)
- 16) Garrido J.M., van Benthum W.A.J., van Loosdrecht M.C.M., and Heijnen J.J.: Influence of dissolved oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor, *Biotech. Bioeng.*, 53, 168-178 (1997)
- 17) Bernat N., Dangkong N., Delgenes J.P., and Moletta R.: Nitrification at low oxygen concentration in biofilm reactor, *J. Env. Eng.*, 127(3), 266-271 (2001)
- 18) Tokutomi, T.: Operation of a nitrite-type airlift reactor at low DO concentration, *Wat. Sci. Tech.*, 49(5-6), 81-88 (2004)
- 19) 遠矢泰典: 生物学的脱窒素法に関する研究 (I), *下水道協会誌*, 7 (74), 21-42 (1970)
- 20) Imajo U., Tokutomi T., and Furukawa K.: Granulation of Anammox microorganisms in up-flow reactors, *Wat. Sci. Tech.*, 49(5-6), 155-164 (2004)
- 21) Hao X., Heijnen J.J., and Loosdrecht M.C.M.: Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification-ANAMMOX biofilm process, *Water Research*, 36, 4839-4849 (2002)
- 22) Kanda J.: Determination of ammonium in sea water based on the indophenol reaction with o-phenylphenol (OPP), *Water Research*, 29(12), 2746-2750 (1995)
- 23) APHA, AWWA, WEF: Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th edition, USA (1995)
- 24) 日本下水道協会編: 下水試験方法, 116-118, 269-271 (1997)
- 25) 時任博之: Anammox処理の前処理としての部分亜硝酸化に関する研究, 熊本大学大学院自然科学研究科平成15年度修士論文
- 26) Strous, M., Van Gerven, E., Kuenen, J.G., and Jetten, M.: Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(6), 2446-2448 (1997)

(受付 2005. 9. 20)

(受理 2005. 11. 28)