

## 嫌気性アンモニア酸化 (Anammox) プロセスにおける亜酸化窒素の挙動 ならびに制御に関する研究

Behaviors and control of nitrous oxide in anaerobic ammonia oxidation (Anammox) process

京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻 准教授 西村 文武

### (研究計画ないし研究手法の概略)

約20年前に新規の窒素代謝形態である嫌気性アンモニア酸化(Anammox:アナモックス)反応が発見された。この反応がアンモニア性窒素を含む廃水の処理に適用されると、従来法と比較して大幅な省エネルギー・省資源化が図れるとして、世界的に注目され、現在欧米や中国で廃水処理への実プラントが建設されつつある。Anammoxは代謝過程に温室効果ガスの一種で二酸化炭素の約300倍もの温室効果がある亜酸化窒素( $N_2O$ )の発生経路がないとして、温暖化防止面においても注目されている。しかしながら、Anammox反応を生じさせるための部分亜硝酸化や、同時に生起する他の代謝により実際には $N_2O$ が反応プロセスにおいては発生すると言われ、その適切な制御を行いつつAnammox反応を卓越させることが求められている。しかしながら、生物学的反応システムにおけるどのような因子により微生物叢が影響を受け、また結果としてAnammox反応や $N_2O$ の消長に影響を与えているのかについてはほとんど解明されていない。そこで本研究では、Anammox反応や $N_2O$ の消長(発生と消滅)に及ぼす因子とその影響について明らかにするとともに最も望ましい反応形態になる条件を解明することを目的とした。研究はラボスケールのリアクターを用いて行った。産業排水など実排水に含まれる物質の中で、とりわけ硫黄系の化合物に着目した。硫黄系化合物は還元性の化合物形態であれば硫黄脱窒の基質となる。有機物が十分存在しない条件はAnammox反応には有利に働くが同時に硫黄脱窒にとっても有利な条件となることから、亜硝酸をめぐる競合や微生物叢の変遷、それに伴う反応の変化が生じうると考えられる。硫黄系の化合物がAnammox反応系に混入する際の、Anammox反応や $N_2O$ の消長について調査した。

### 実験方法

図-1に装置の概略を示す。リアクターの有効容積は50mLとし、連続式で培養を行った。リアクター内に $5 \times 2 \times 0.7 \text{ cm}^3$ の不織布(ポリエステル日本バイリーン)を2枚と実験室で集積培養したAnammox汚泥を植種しシリコン栓で密閉し嫌気状態を保った。また流出用チューブをリアクターからの流出水で満たしたバイアルに接続し、リアクター内で発生した気体を捕集した。このリアクターを4系列運転し、3系列は各々フェノール、チオシアン酸およびチオ硫酸添加系とし、1系列は化学物質を添加せず対照系列とした。また流入水はAnammox細菌の培養に用いたものと同じ組成のものを用い、フェノール、チオシアン酸およびチオ硫酸は流入水中に添加した(Case 1)。

また、チオシアン酸添加系におけるチオシアン酸添加濃度の影響をより詳しく調査するため、ステップ応答で流入水負荷を変化させたときの応答を調査した。実廃水では流入水質が一定になることはなく、時間的な変動は常に生じる。短時間の水質変動は現存する微生物群への代謝に影響を与える可能性があり、また長期的な変化は、構成される微生物群集そのものを変遷させる推進力となる。この実験に用いたリアクターの概要および形状を、図-1に併せて示す。内径4.1cm、高さ18.4cmの亚克力製

の円筒型で、流出口は、リアクター内の液相が200mLになるように設定した。上部はシリコン栓で蓋をした。リアクターの中には微生物の担体として、 $6 \times 6 \times 150 \text{mm}^3$ の不織布を12本詰め、充填率は32.4%になるようにした。実験室で以前から集積培養していたアナモックス汚泥を植種し、その後、至適温度および至適pHである $35^\circ\text{C}$ 、pH7の条件で2ヶ月間以上連続培養を行ったのち、アナモックス反応が安定して確認できてから、最大 $200 \text{ mg SCN}^-/\text{L}$ までの一定濃度のチオシアン酸を継続添加し、反応特性を調査した(Case 2)。

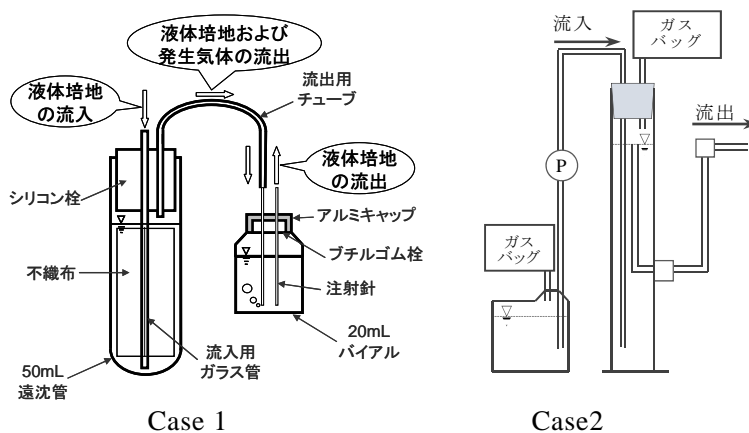


図-1 リアクター概略図

## 実験結果

図-2、図-3および図-4にそれぞれフェノール、チオシアン酸およびチオ硫酸添加槽における窒素除去速度および $\text{N}_2\text{O}$ 発生量を示す。

フェノール添加槽において、 $200 \text{mg-Phe}/\text{L}$ のフェノールを加えた期間ではAnammox活性は約6割程度を保持しており、完全に反応が停止することはなかった。Anammox活性はフェノール除去後約27日で回復した。その後 $400 \text{mg-Phe}/\text{L}$ を添加した期間では高濃度のフェノールの添加によるショックで全体の脱窒能が落ち込んでいるものの、添加開始9日付近で7.5割程度の活性を維持していた。フェノールを除去した後は14日程度でAnammox活性は回復しており、フェノールへの耐性がついたためと推察される。

チオシアン酸は $100 \text{mg-SCN}^-/\text{L}$ 以上でAnammox活性を1/4程度に減少させた。リアクター内に黒色の硫化鉄が発生していたことから、硫黄脱窒細菌の代謝反応が進行していると推察される。また $100 \text{mg-SCN}^-/\text{L}$ 以上では添加チオシアン酸濃度に関わらずAnammox活性は1/4程度に落ち込んでいる。またチオシアン酸を添加している期間では継続的に $\text{N}_2\text{O}$ の発生が確認できた。 $100 \text{mg-SCN}^-/\text{L}$ のチオシアン酸を除去した後は27日間で活性は回復した。

チオ硫酸は $750 \text{mg-S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{L}$ の存在下でAnammox活性は1/3程度にまで落ち込み、チオ硫酸除去後50日が経過しても活性は8割程度にしか回復に至らなかった。またリアクター内に硫化鉄粒が発生しており、硫黄脱窒細菌の働きによるものと考えられる。またチオ硫酸添加期間においてもチオシアン酸と同様 $\text{N}_2\text{O}$ の継続的な発生が認められた。

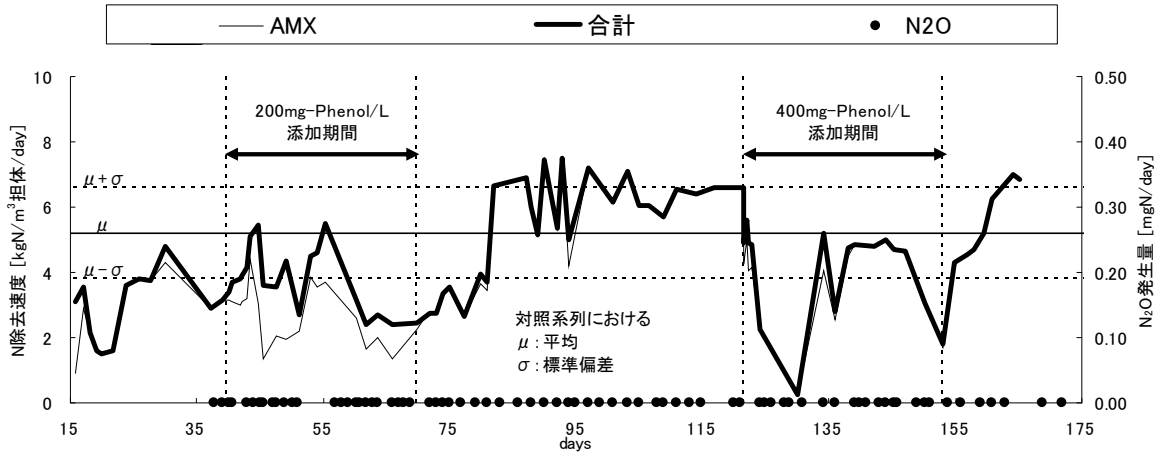


図-2 フェノール添加槽における窒素除去速度およびN<sub>2</sub>O発生量

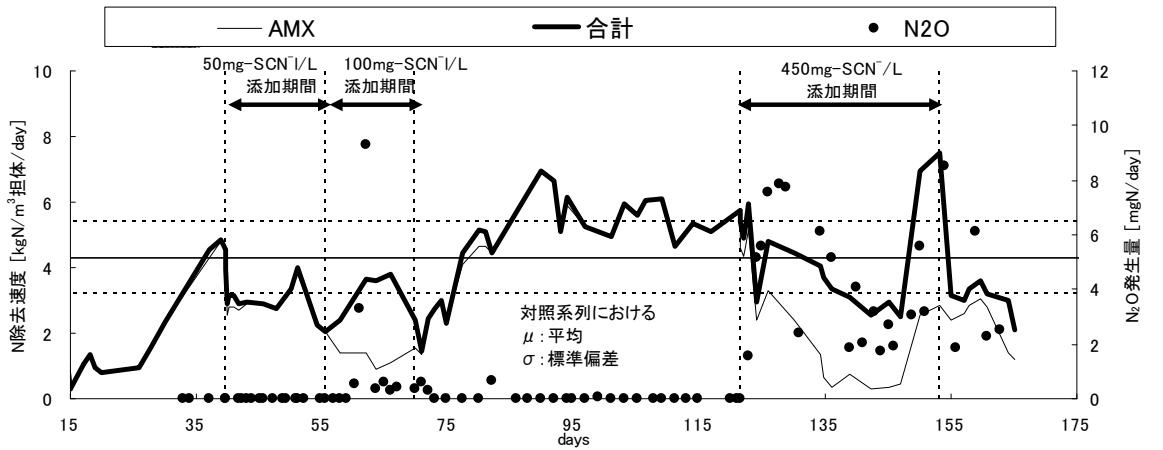


図-3 チオシアン酸添加槽における窒素除去速度およびN<sub>2</sub>O発生量

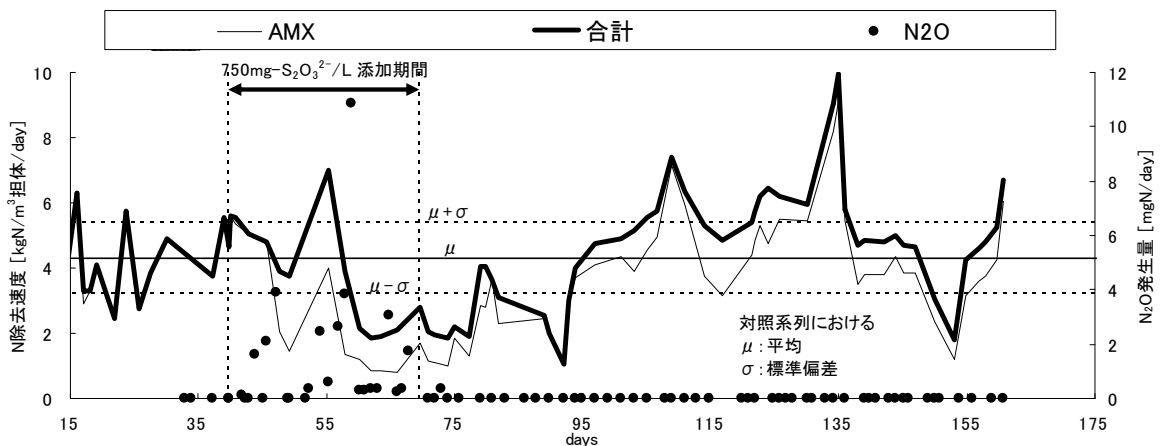


図-4 チオ硫酸添加槽における窒素除去速度およびN<sub>2</sub>O発生量

Case 2の実験結果について以下に示す。チオシアン酸添加後は、設定した全てのリアクターで、約10日間は大きな変化が見られず、アナモックス反応が継続しているような挙動を示した。しかし、添加から約10日間経った110日目を越えたあたりから、チオシアン酸を50から200 mgSCN<sup>-</sup>/Lの範囲で添加したり

アクターでアンモニア態窒素濃度が増加し始め、添加から約20日後には、100mgSCN<sup>-</sup>/L以上添加したリアクターでアンモニア態窒素の消費がほとんどなくなり、流出水の濃度が流入水の濃度とほぼ等しくなった。また、チオシアン酸を添加した全てのリアクターで硝酸態窒素の減少が見られ、アナモックス反応で生成した硝酸態窒素もリアクター槽内で消費されていると考えられた。50 mgSCN<sup>-</sup>/L程度のチオシアン酸の添加では、アナモックス反応と硫黄脱窒は共存し得るが、100mgSCN<sup>-</sup>/L以上のチオシアン酸存在下では、ほぼ完全に硫黄脱窒反応が優先化することが示された。また、N<sub>2</sub>Oの発生速度の経日変化と流入負荷に対するN<sub>2</sub>O発生割合を図-5に示す。チオシアン酸添加前においては、アナモックスリアクターからのN<sub>2</sub>Oの発生は、微量、もしくは検出できない程度であったが、チオシアン酸添加直後から、発生した気体中でN<sub>2</sub>Oが検出されるようになった。全てのリアクターで添加から1週間は少なくとも200ppm以上の濃度のN<sub>2</sub>Oの発生が確認できたが、その後、添加から14日目にはN<sub>2</sub>O発生はほとんど見られなくなった。200mgSCN<sup>-</sup>/L添加したリアクターでは、一時的に約2400ppmの高濃度のN<sub>2</sub>Oの発生が見られたものの、その後N<sub>2</sub>Oの発生はほぼなくなった。発生量としては、チオシアン酸の添加濃度が高いほど、多い傾向があった。全流入窒素負荷の約0.5%以下の割合で発生したが、200mgSCN<sup>-</sup>/Lの添加ケースにおいては一時的に、全流入負荷の約3.0%に相当する窒素が、N<sub>2</sub>Oとして存在する結果となった。

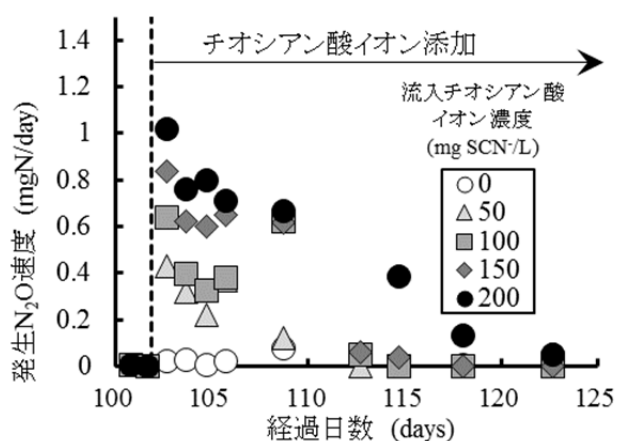


図-5 N<sub>2</sub>O発生速度の経日変化 (Case 2)

### (実験調査によって得られた新しい知見)

チオシアン酸およびチオ硫酸は、各々100mg-SCN<sup>-</sup>/L および 750mg-S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>/L 以上の存在下でAnammox 活性を各々1/3 および 1/4 に減少させ、硫黄脱窒反応共存形となること、またその際にN<sub>2</sub>Oを発生させることがわかった。

流入水中にAnammox反応に関連する基質以外の物質が含有されると、反応器内の微生物叢も変化し、またその結果として、処理成績も変化する。とくにAnammoxは系内では比較的影 響を受けやすい細菌であると考えられ、Anammox菌叢場が形成されている系においても、基 質以外の物質が入るとAnammox反応の割合が低下する形で変化する。ただし、一度形成され たAnammox菌叢場からAnammox菌が完全に除去されることではなく、共存物質が除去され るとAnammox菌叢場が再度回復されることが観察された。実廃水のような成分や濃度が変化する場においては、適切な生物相の維持のための手法、例えばオゾン処理導入などの前処理が 希求されるケースがあると考えられる。一方、硫黄脱窒が生じると考えられる系において、 N<sub>2</sub>Oの生成が顕著になるケースが観察された。またチオシアン酸流入時には、一時的にN<sub>2</sub>Oが 発生し、その発生速度は添加チオシアン酸濃度が高くなるほど高くなる傾向を示した。硫黄 脱窒が十分に発現していない環境下においても、短期的な水質変動によりN<sub>2</sub>Oが発生しうること が示された。アナモックス反応時もN<sub>2</sub>O発生の特徴把握のためのモニタリングの必要性が示 唆された。

**( 発 表 論 文 )**

西村文武，萬泰一：コークス炉廃水含有物質の硝化および嫌気性アンモニア酸化反応(Anammox)への影響に関する研究，環境衛生工学研究，Vol.29, No.3, pp.59-62, 2015.

西村文武，村角浩平，菅健太，日高平，水野忠雄：アナモックス反応時の亜酸化窒素発生特性に関する研究，第53回下水道研究発表会講演集，2016，印刷中.