

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12291

研究課題名(和文)炭素繊維懸垂型無曝気2流路1槽型アナモックスプロセスによる低濃度排水処理

研究課題名(英文) Nitrogen removal by a 2 inflow non-aerated nitrification/anammox reactor using carbon fiber media

研究代表者

池本 良子 (Yamamoto-Ikemoto, Ryoko)

金沢大学・地球社会基盤学系・研究協力員

研究者番号：40159223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アナモックス菌(AMX)を用いた窒素除去は、省エネルギー型の排水処理法として注目されている。本研究では、さらなる省エネルギー化と安定した処理法の確立を目指し、炭素繊維担体を用いた無曝気1槽型処理法を提案し、室内実験により最適な運転条件と微生物群集を検討した。その結果、炭素繊維の上端から廃水を添加するだけで、窒素を除去することができ、1.5時間の加水処理時間で0.3kg-N/m<sup>3</sup>/dの窒素除去率を達成した。循環がない場合、炭素繊維上に形成されたバイオフィームでは、気相ではアンモニア酸化細菌(AOB)が、液相ではAMXが優勢であった。循環により気相ではAOBとAMXが共優勢となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、当初期待した微生物のすみ分けを誘導することができたが、すみ分けを行った場合と共存2重生物膜で処理する場合の優位性については今後検討する必要がある。提案した処理法により、滞留時間1.5時間で流入のアンモニアを30m/L程度削減できたことから、下水処理において硝化抑制運転により省エネルギー化を図り、処理水を本処理装置に通すことで、処理水中のアンモニアの削減が可能となることを示しており、省エネルギーな排水処理として、活用が期待できると考えられる。一方、炭素繊維担体を用いることにより、短期間でアナモックス微生物を集積できたことから、今後のアナモックス処理に有効性が示された。

研究成果の概要(英文)：Nitrogen removal using anammox bacteria (AMX) has attracted attention as an energy-saving wastewater treatment method. In this study, we proposed an aeration-free one-stage reactor using carbon fiber carriers to further save energy consumption and establish a stable treatment method. The optimum operating conditions and microorganisms community were investigated using a labo-scale reactor. The results showed that nitrogen could be removed when the wastewater was added from the top end of the carbon fiber, and a nitrogen removal rate of 0.3 kg-N/m<sup>3</sup>/d was achieved with a hydraulic retention time of 1.5 hours. In the absence of circulation, ammonia-oxidizing bacteria (AOB) dominated in the biofilm formed on the carbon fiber in gas phase and AMX in the liquid phase. In contrast, circulation induced a co-dominance of AOB and AMX in the gas phase.

研究分野：環境工学

キーワード：アナモックス 部分硝化 1槽型 排水処理

## 1. 研究開発当初の背景

Anammox 細菌が発見されて以来、Anammox 反応を用いた窒素除去法に期待が集まり、多くの研究がなされてきた。本処理法では、アンモニアの一部を亜硝酸まで酸化することにより窒素除去が可能であり、従来型の硝化脱窒法と比較すると、曝気量が削減されるだけでなく、有機物の添加が必要なく、余剰汚泥の発生量の減少も期待できる。しかし、アンモニアの酸化を亜硝酸でとどめるための曝気量の制御が難しいことが欠点である。そのため、都市下水のようなアンモニア濃度の低い排水処理のメインフローへの適用が進んでいないのが現状である。一方、Anammox 反応とアンモニア酸化反応を1つの反応槽内で行う1槽型 anammox プロセスは、2槽型プロセスよりも経済性が高いが、生物膜やグラニュール内で両者をバランスよく共存させるための制御が必要である。現在、一槽型アナモックスプロセスの都市下水の処理への適用に向けて多くの研究が行われている。それらの多くは、スタートアップ期間の短縮や AOB とアナモックス細菌の共存に向けた曝気戦略などが中心であり、無曝気による窒素除去を検討している研究はほとんどない。都市下水の水温は 25°C 以下であり、アンモニア濃度も低いことから、アナモックスプロセスを適用するためには常温でアンモニア処理を行う必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、常温でも処理可能な炭素繊維を用いた無曝気1槽型アナモックスプロセスを提案した。本プロセスは、懸垂した炭素繊維の上端から排水を供給し、炭素繊維の気相部と液相部で AOB、アナモックス細菌の棲み分けを誘導することで安定した処理を行うものである。懸垂した炭素繊維の気相部では空気中から酸素を供給し AOB によるアンモニア酸化、液相部ではアナモックス細菌により窒素の除去を行う。

本研究では、提案する無曝気1槽型アナモックスプロセスの性能評価を行うことを目的として、実験室規模のリアクターによる低濃度アンモニア人工排水を用いた処理実験により窒素除去性能の影響因子の把握と 16S rRNA 遺伝子を標的とした微生物解析により、顕写真と模式図転条件の違いによる菌叢変化の把握を行った。

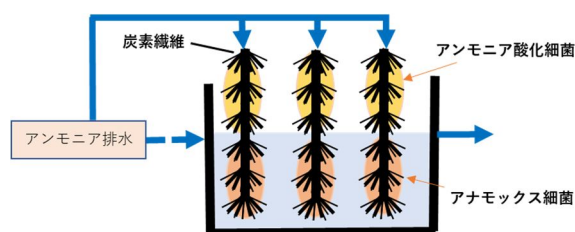


図1 提案するアナモックスプロセス

## 3. 研究の方法

実験装置の概要を図2に、用いた炭素繊維の写真を図3に示す。有効容積約 1.5L のリアクターの上部から微生物付着担体である炭素繊維を一部は気相に開放、一部は液相に浸漬するように懸垂した。炭素繊維は、炭素繊維量 20 g、全長 70 cm のものを使用し、二つ折りにして懸垂した。リアクターは 25°C の恒温室内に設置し、炭素繊維の上部またはリアクター下部から表1に示す人工井水を供給した。

表1 実験に用いた人工排水の組成

化学物質	濃度 (mg/L)
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	27.2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	180
$\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	300
$\text{KHCO}_3$	1000
$\text{NaNO}_2$	0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	250
Trace Element1	1ml/L
Trace Element2	1ml/L

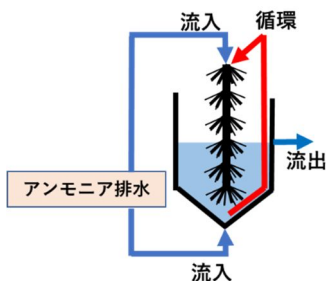


図2 実験装置の概要

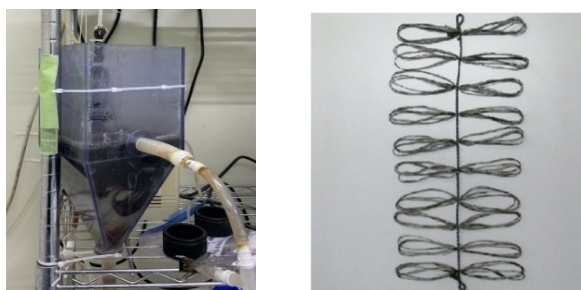


図3 実験装置に浸漬した炭素繊維

Run 1 では、表 2 の条件で連続運転を行った。リアクターの立ち上げ前に、種菌として犀川左岸浄化センターで採取した活性汚泥のみを接種し Stage 1, 2 では、循環を行わずに炭素繊維高さを段階的に変化させながら、微生物の馴致を行った。Stage 3~6 では、酸素供給量の増加を促すために、循環を開始し、段階的に循環流量を増加した。Stage 7 では、循環を停止し、Stage 8 では炭素繊維を 1 本追加した。

Run 2 では、犀川左岸浄化センターで採取した活性汚泥に加えて、2 章で述べた UASB リアクターで集積したアナモックスグラニューールを接種し、表 3 に示す運転条件で連続運転を行った。Stage 1~2 では、リアクター下部と炭素繊維の上部から人工排水を供給した。Stage 3~8 では人工排水の供給をリアクター下部からのみとし、リアクター底部の水を循環した。循環流量を段階的に増加させていくとともに、Stage 7 では炭素繊維高さを増加した。Stage 9 では、炭素繊維を 1 本追加し、Stage 10 では循環を停止し、炭素繊維の上部とリアクター下部から人工排水の供給を行った。また、Stage 10 ではリアクター下部からの人工排水の供給を停止し、炭素繊維の上部からのみ供給を行った。

表 2 Run 1 における運転条件

stage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
期間 (日)	0-132	133-260	261-293	294-369	370-424	425-439	440-456	457-496	497-	527	576	597	706	785
流入流量 (mL/min)	3.7	4.2	4.2	4.2	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	16.6	16.6	16.6	16.6	16.6
HRT (h)	6.8	6.0	6.0	6.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
ILR (kg-N/m <sup>3</sup> /d)	0.19	0.21	0.21	0.21	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84
炭素繊維高さ (cm)	24 10	15	15	15	15	15	15	15	15	15	20	23	28	34
循環流量 (mL/min)	3.7	0	8.4	16.5	16.5	33.2	0	0	0	0	0	0	0	0
炭素繊維本数 (本)	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
散水流量 (mL/min)	3.7	4.2	12.6	20.7	24.8	41.5	8.3	8.3	8.3	16.6	16.6	16.6	16.6	16.6

表 3 Run 2 における実験条件

stage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
期間 (日)	0-58	59-148	149-184	185-198	199-221	222-282	283-345	346-352	353-387	388-420	421-
流入流量 (mL/min)	6.0	6.0	8.3	8.3	8.3	8.3	10.7	8.3	8.3	8.3	8.3
HRT (h)	4.2	4.2	3.0	3.0	3.0	3.0	2.3	3.0	3.0	3.0	3.0
NLR (kg-N/m <sup>3</sup> /d)	0.3	0.3	0.42	0.42	0.42	0.42	0.55	0.42	0.42	0.42	0.42
炭素繊維高さ (cm)	10	15	15	15	15	15	20	20	20	20	20
循環流量 (mL/min)	0	0	6.8	8.3	16.6	33.2	33.2	33.2	33.2	0	0
炭素繊維本数 (本)	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
散水流量 (mL/min)	3	3	6.8	8.3	16.6	33.2	33.2	33.2	33.2	4.2	8.3

週に一度、流入人工排水、流出水及びリアクター液相部から採水を行い、イオンクロマトグラフィーを用いてアンモニア態窒素 [NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N]、亜硝酸態窒素 [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N]、硝酸態窒素濃度 [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N]を測定した。測定した窒素濃度から、窒素除去速度 (NRR)、窒素除去率 (NRE)、アンモニア酸化率 (ARE)、アンモニア酸化速度 (ACR) を算出し、窒素除去性能の評価を行った。pH と DO はそれぞれ pH メーター (F-71, 株式会社 HORIBA, 京都, 日本) と DO メーター (HQ30d, Hach, Loveland, USA) を用いて測定した。

水面付近 (WU) および液相の中間部 (WM) の浮遊物質、リアクターの底部に沈殿物、炭素繊維気相部 (A) 水面付近 (WU) 液相中間部 (WM) 液相下層部 (WL) のバイオフィーム (BF) を採取し、微生物層の解析を行った。DNA 抽出は FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, USA) を使用し、キプロトコルに従い、全工程を室温で行った。16S rRNA 遺伝子 V4 のライブラリーは、2 ステップ PCR プロトコルとユニバーサルプライマーセット 515T, 806R を使用して調製した。すべての PCR 反応は、T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, USA) で実施した。OTU は UPARSE (Edgar 2013) パイプラインに従い作成し SILVA\_128 (Quast et al. 2012) を使用して QIIME スクリプト parallel\_assign\_taxonomy\_blast.py を使用して分類学的に割り当てた。

## 4. 研究の成果

### 4.1 水質分析結果

図3にRun1の運転結果を示す。当初アンモニアの参加が進行した後、50日程度で亜硝酸が減少し、アナモックス反応が確認された。その後、 $NRR_{0.24} \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$ の条件で、徐々にNRRが増加し、期間9では、 $NRR_{0.12}$ 、窒素除去率50%を達成した。その後滞留時間を1.5時間に短縮し窒素負荷(NLR)  $0.86 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$ まで増加させたが、窒素除去率40-50%を維持し、最大窒素除去速度(NRR)は  $0.3 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$

以上を示した。しかし、炭素繊維の気相部の長さを長くするにしたがい、硝酸の生成量が増加し、NRRが低下した。

図4にRun2の運転結果を示す。アナモックスグラニュールを植種したことから、運転当初からアナモックス反応が進行したが、NRR、EARともに、Run1と比較すると低かった。

#### 4.2 微生物解析結果

図5, 6に、窒素循環に係るアンモニア酸化細菌(AOB)、亜硝酸酸化細菌(NOB)、アナモックス細菌(AMX)および脱窒細菌(DNB)の存在割合を示す。Run1では、41日目には、AOBが水面付近で検出されたが、アナモックス細菌は検出されなかった。水質分析結果では、41日目付近では、アンモニア態窒素の減少と亜硝酸態窒素の蓄積が確認されたことから、AOBによるアンモニア酸化が気相部生物膜で起こっていたと考えられる。Stage1の後半である133日目およびStage2では、炭素繊維気相部においてAOB、液相部においてアナモックス細菌の存在割合が増加しており、微生物の棲み分けが起こっていることが分かる。

また、活性汚泥のみの植種にもかかわらず、アナモックス細菌を集積できたことを示している。しかし、循環を行ったStage5(411日目)では、いずれの微生物も気相部液相部に検出された。循環を停止したStage9(510日目)では、AOBが気相部が液相部よりも多く検出されていたものの、アナモックス細菌が気相部においても高濃度で検出された。これは、循環中に気相部においてAOBとアナモックス細菌の二重生物膜が形成され、循環を停止しても生物叢が変化しなかったものと考えられる。

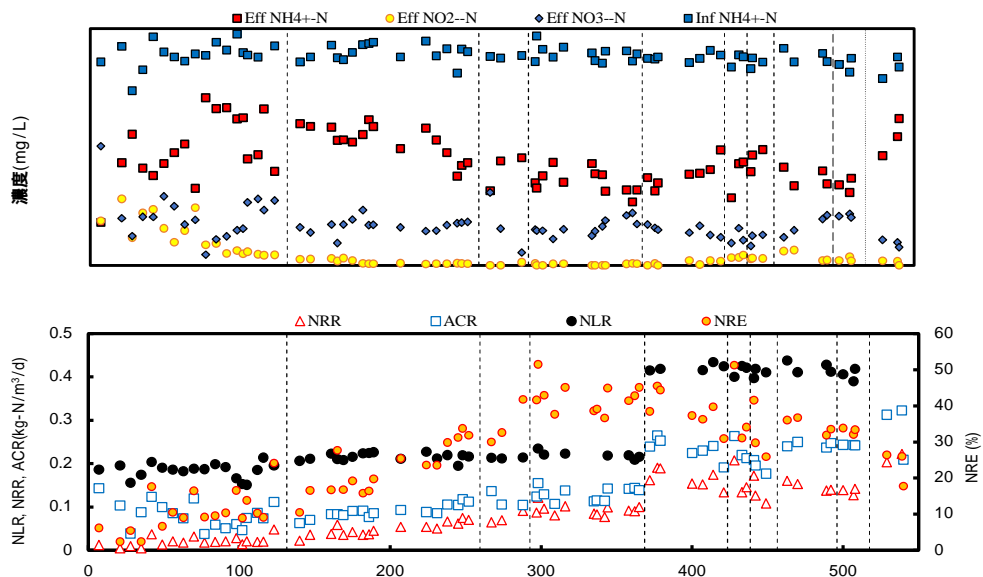


図3 Run1における水質変化

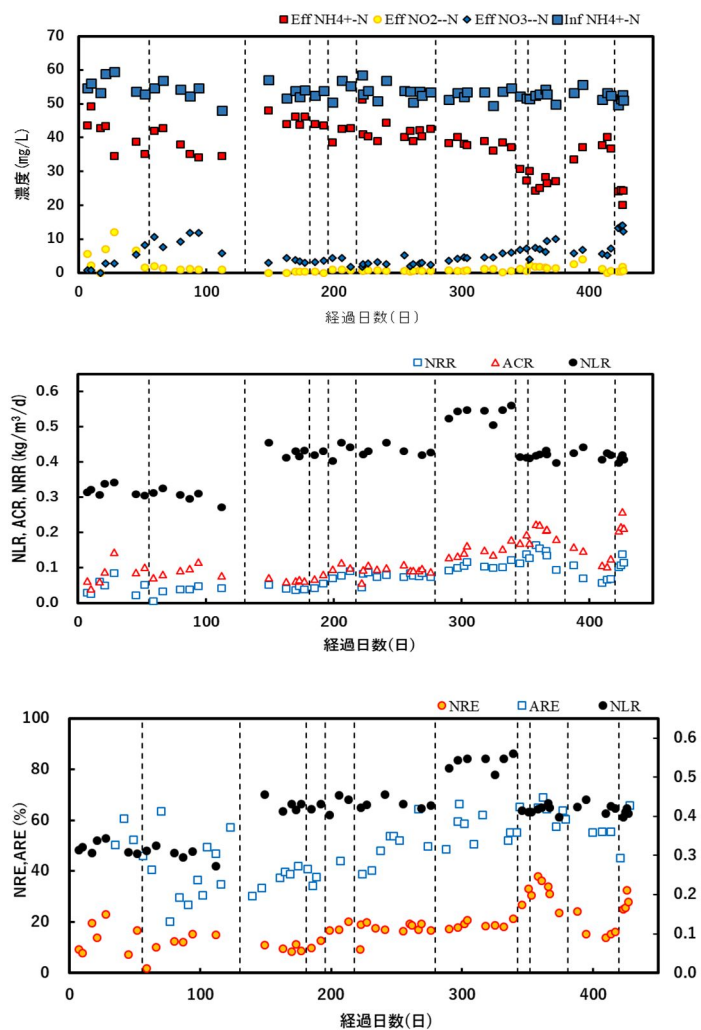


図4 Run2における水質変化



Run 2 では、循環中であった 366 日目では、全体的にアナモックスが検出されたが、割合は 4.65%と少なく、低いアンモニア酸化率を説明する結果であったが、循環停止後の 429 日目では、気相部において AOB と NOB が、液相部においてアナモックスが優占化し、すみ分けが誘導されていた。しかし、NOB の存在割合が AOB と同程度であり、処理水中に高濃度の硝酸態窒素の増加と一致していた。炭素繊維を追加したことのより、散水流量が低下し、炭素繊維表面への供給酸素量が増加し、気相部において完全硝化が進行したものと考えられる。

図 7 に nMDS 解析の結果を示す。nMDS 解析は似た微生物群集を持つサンプル同士が、近くにプロットされるが、循環を行う前の Stage 1 と Stage 2 では、気相部、水面付近、液相部と生物膜の部位ごとにプロットがされているが、循環中である 411 日目 (Stage 5) および循環停止後の 510 日においては、全ての点が近くにプロットされている。循環により液相部で増殖した微生物が気相部に供給されることで、微生物の均質化が起こることがわかる。Run 2 では、循環中であっても、Run 1 に比べると気相部と液相部でやや違いが認められるが、循環停止後に違いが大きくなっていることがわかる。循環は、菌叢の均質化を招くが、長期間循環を停止することにより、微生物のすみ分けが起こることがわかった。

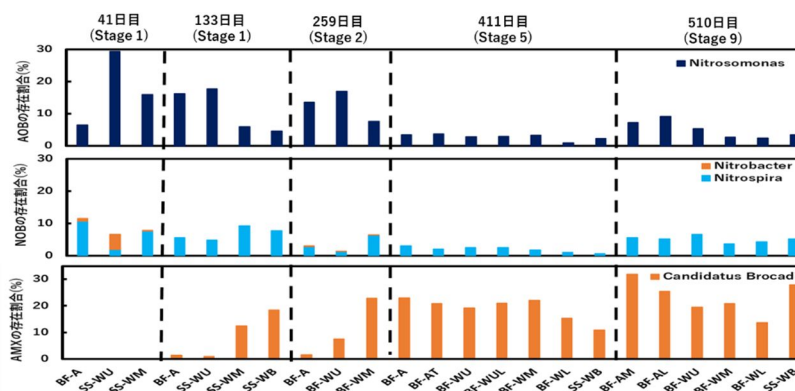


図 5 Run 1 の微生物叢解析結果

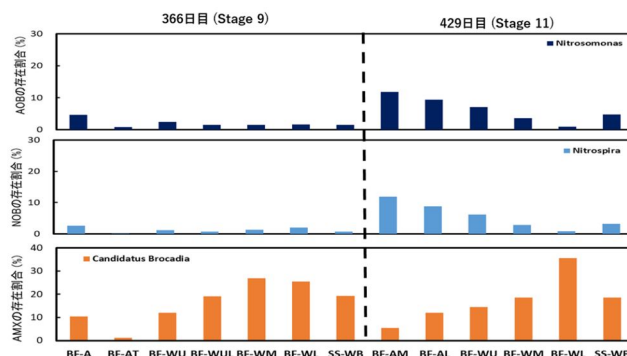


図 6 Run 2 の微生物叢解析結果

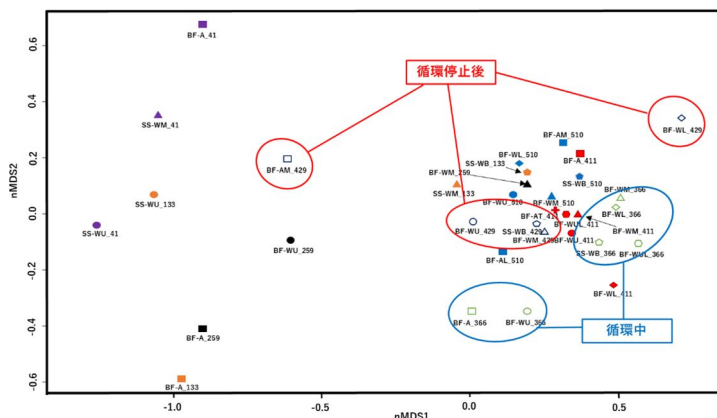


図 7 nMDS 解析の結果。Solid : Run 1, Open : Run 2

#### 4.3 微生物解析結果

本研究では、炭素繊維懸垂型の 1 槽型無曝気アナモックスプロセスを提案して、長期の連続運転を行った。下水汚泥のみを植種することにより、炭素繊維上端からの散水のみで部分硝化とアナモックス反応によるアンモニア除去が可能であり、滞留時間 1.5 時間で窒素除去率 40-50% を達成できた。上端からのみ排水を供給すると気相部に AOB と NOB、液相部にアナモックス細菌というすみ分けが起こるが、槽内を循環すると、菌叢が均一化され、気相部に 2 重生物膜が形成された。

本プロセスでは、除去率は高くないが NRR は高かったことから、下水処理水の後処理として適用可能であると考えられる。今後除去率を向上させるために、AOB をさらに増やす方法を検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石村直人, 松浦哲久, 池本良子
2. 発表標題 炭素繊維を用いた無曝気1槽型アナモックス プロセスによる低濃度アンモニア排水の処理
3. 学会等名 第65回水環境学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松浦 哲久  (Matsuura Norihida)  (90771585)	金沢大学・地球社会基盤学系・准教授   (13301)	微生物解析

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------