

## 一槽式アナモックスリアクタによる廃水からの連続窒素除去

## Continuous Removal of Nitrogen from Wastewater Using a Single-Stage Anammox Reactor

多田羅 昌 浩 石 川 秀<sup>1)</sup> 上 野 嘉 之

## 要 約

嫌気性アンモニア酸化反応（アナモックス）は、従来の硝化脱窒法に代わり、廃水から窒素を除去する新しい技術として注目されている。本研究では、部分亜硝酸化反応とアナモックス反応を同一の反応槽で行う一槽式プロセスについて、固定床式リアクタを使用し、その処理性能の検討を行った。

無機塩類からなる人工廃水を用いて、活性汚泥より一槽式反応を行う微生物群を集積した後、醸造廃水のメタン発酵脱水ろ液を用いた実廃水試験を行った。その結果、窒素負荷：0.19～0.53 kg-N/m<sup>3</sup>/day で、260 日に及ぶ連続処理において、77%以上の窒素除去効率を確認した。16SrRNA 遺伝子を標的とした菌叢解析では、リングレース上に生成したバイオフィームの内深部にアナモックス菌、外側にアンモニア酸化細菌が存在することが明らかとなり、このバイオフィーム構造が一槽式での反応を効率化させているものと考察された。菌叢は、人工廃水では 200 日以上連続処理においても安定し、顕著な変化はなかったが、実廃水では、連続処理 249 日後には、アナモックス菌の割合が 4%まで低下していた。しかしながら、窒素除去効果は安定して得られていることから、アナモックス菌は、窒素除去反応には十分な量で存在していると考えられた。また、実廃水では検出されたクローン数も増加していることから、菌叢が多様化していることが示された。

## 目 次

- I. はじめに
- II. 実験方法
- III. 実験結果
- IV. 考 察
- V. おわりに

## I. はじめに

嫌気性アンモニア酸化反応（アナモックス）は、1990 年代に発見された新しい窒素除去反応<sup>1)</sup>で、アンモニアの一部を亜硝酸化し、生成した亜硝酸と残りのアンモニアで、嫌気条件下で独立栄養的に脱窒を行う。アナモックス菌による窒素除去プロセスは、従来の硝化脱窒法に比べ、下記の特長を有しており、近年盛んに開発が進められている。

- a. 曝気に要するエネルギーが少ない
- b. 脱窒反応で有機物を必要としない
- c. 窒素除去速度が速いため、リアクタの小型化が可能
- d. 余剰汚泥生成量が少ない
- e. 温暖化ガスである N<sub>2</sub>O の発生量が少ない

これまでのアナモックス反応では、その反応の特徴から、部分亜

硝酸化を行う好気性リアクタと、アナモックス反応を行う嫌気性リアクタの二槽で反応を行う必要があった。この反応を一槽で行うことができれば、二槽式に比べシステム構成も単純であり、インシヤルコストの低減も期待できる。

筆者らはこれまで、アナモックス菌を独自に集積し、窒素除去特性、および亜硝酸化制御条件を最適化してきた<sup>2)</sup>。その一環として、部分亜硝酸化反応とアナモックス反応を同一の反応槽で行う一槽式プロセスについて、リングレース担体を充填した固定床式リアクタを用いて検討を行った。本報では、立ち上げ条件、人工廃水と実廃水の連続処理結果、およびリアクタ内に生成した微生物バイオフィームの菌叢解析の結果について報告する。

## II. 実験方法

## 1. 供試廃水

硫酸アンモニウムを窒素源とする人工廃水 (Table 1)、および醸造廃水のメタン発酵脱水ろ液 (Table 2) を実廃水として使用した。

## 2. 実験装置

攪拌機構を備えた有効容積 5.5L (人工廃水)、1.5L (実廃水) のジャーファーメンタに、モールド外径 25mm の塩化ビニリデン製ひも状固定床担体 (リングレース：鹿島環境エンジニアリング社製) を

1) エンジニアリング事業本部 Engineering Division

**キーワード：**アナモックス、嫌気的アンモニア酸化、窒素除去、廃水処理、嫌気性処理、メタン発酵

**Keywords:** anammox, anaerobic ammonium oxidation, nitrogen removal, wastewater treatment, anaerobic treatment, methane fermentation, anaerobic digestion

Table 1 人工廃水の組成  
(Composition of the Artificial Wastewater)

基質	濃度 [mg/L]
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,750
KHCO <sub>2</sub>	1,000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	300
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	180
Trace Element S1 *1	1 (mL/L)
Trace Element S2 *2	1 (mL/L)

\*1: Trace Element S1

基質	濃度 [g/L]
EDTA	5
FeSO <sub>4</sub>	5

\*2: Trace Element S2

基質	濃度 [g/L]
EDTA	15
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.43
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.24
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.99
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.25
NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.22
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.19
NaSeO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	0.21
H <sub>2</sub> BO <sub>4</sub>	0.014

Table 2 実廃水の組成  
(Composition of the Industrial Wastewater)

		[mg/L]
T-COD <sub>Cr</sub>	739	PO <sub>4</sub> -P <0.05
T-BOD	308	SS 42
T-N	619	VSS 32
K-N	619	n-Hex 2.0
NH <sub>4</sub> -N	538	

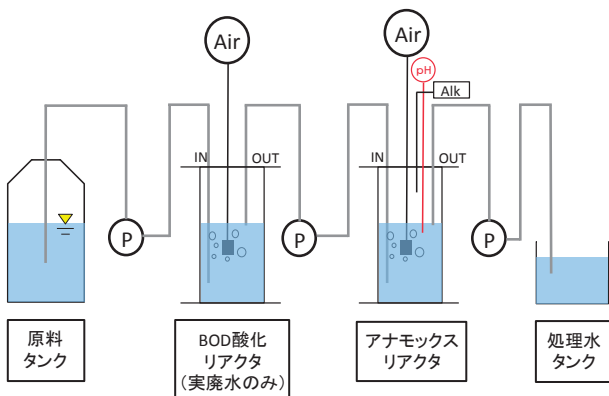


Fig. 1 実験装置の概略フロー  
(Experimental Flow Diagram)

縦に等間隔で充填したリアクタを用いた (Fig. 1)。アナモックスリアクタの温度, pHは, それぞれ 35°C, 7.6±0.05 になるように制御した。溶存酸素濃度 (DO) は, 0.5 mg/L 以下となるように, エア供給量を調節した。実廃水の処理を行う実験では, アナモックスリアクタの前段に, 有効容積 0.5L の BOD 酸化リアクタを設置し, 有機物濃度を低減させて供給した。BOD 酸化リアクタのエア供給量は, 原水中のアンモニア態窒素が酸化されないように調整した。

### 3. リアクタ運転方法

人工廃水処理実験では, リアクタ容積 5.5L に対し, 廃水処理施設の活性汚泥 6g (乾重量) を植種し, 立ち上げを行った。水理的滞留時間 (HRT) は, 実験期間中 4.4 時間で一定とした。高負荷実験では, Table 1 に示す (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度を 3,500mg/L (2 倍) にし, 窒素濃度を上昇させた原料を供給した。

実廃水処理実験には, 人工廃水処理実験リアクタより採取した汚泥を, リアクタ容積 1.5L に対し 0.9g 植種し, 立ち上げを行った。立ち上げ初期の HRT は 72 時間に設定し, 24 時間まで徐々に短縮し, 窒素除去データを収集した。

### 4. 分析方法

アンモニウムイオン, 亜硝酸イオン, 硝酸イオン濃度は, 液体クロマトグラフィー (LC-8A, 島津製作所製) を用いて測定した。BOD 濃度, COD<sub>Cr</sub> 濃度など, その他の成分分析は, 日本工業規格 (JIS K1021) に従って実施した。

### 5. Pyro-tag シークエンスによる菌叢解析

担体に付着したバイオフィルムを採取し, Soil DNA extraction kit (NucleoSpin®Soil, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. K.G., Duren, Germany) を用いて, DNA を抽出した。抽出した DNA を使用し, 菌叢解析で最も一般的な 16S rRNA 遺伝子を標的とした pyro-tag シークエンスによる菌叢解析を実施した。PCR 法による 16S rRNA 遺伝子の増幅には, AmpliTaq Gold® DNA Polymerase kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) を使用した。プライマーは, ad-tag-515F (5'-CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAGXXXXXXXXXXGTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') と, ad-806R (5'-CTATGC GCCTTGCCAGCCCCTCAGGGACTACHVGGGTWCTAAT-3') を使用した。PCR 反応条件は, 95°C で 10 分間変性後, 95°C で 45 秒, 55°C で 60 秒, 72°C で 90 秒の工程を 28 サイクルとした。クローン解析では, 遺伝子配列が 97% 以上の相同性を示すものを同一とした。

## III. 実験結果

### 1. 人工廃水処理実験

人工廃水を用いた一槽式アナモックス反応における, 各窒素濃度 (左軸), 窒素除去率 (NRE, 右軸) の経日変化を Fig. 2 に示す。窒素負荷 (NLR) 2.0 kg/m<sup>3</sup>/day (HRT: 4.4 時間) で立ち上げを行い, この間, 部分亜硝酸化のため, 30 mL/L-reactor/min の流量で, 連続的にエアーを供給した。28 日目までは, 流入水中のアンモニアの約半分が, 亜硝酸に酸化されていることを確認した。この時, 硝酸の生成は見られなかった。その後, 亜硝酸の減少に伴い, 窒素除去率が徐々に上昇した。実験開始後 78 日目には, 窒素除去率が 80% まで到達し, その後安定した。この時の処理水中の亜硝酸態窒素, 硝酸態窒素濃度は, それぞれ 17 mg/L, 60 mg/L であった。

143 日目から, アンモニア態窒素濃度を 2 倍に増加させ, これに合わせてエアー供給量も, 80 mL/L-reactor/min に増加させた。この窒素負荷上昇直後は, 一時的に窒素除去率が低下したが, その後回復し, 200 日目以降は約 80% を維持した。この時の処理水中の亜硝酸態窒素, および硝酸態窒素濃度は, それぞれ 13 mg/L, 92 mg/L であり, 除去窒素に対する硝酸生成割合は 0.15 となった。一槽式アナモックス反応 (1) での硝酸生成割合は, 0.11 であることから,

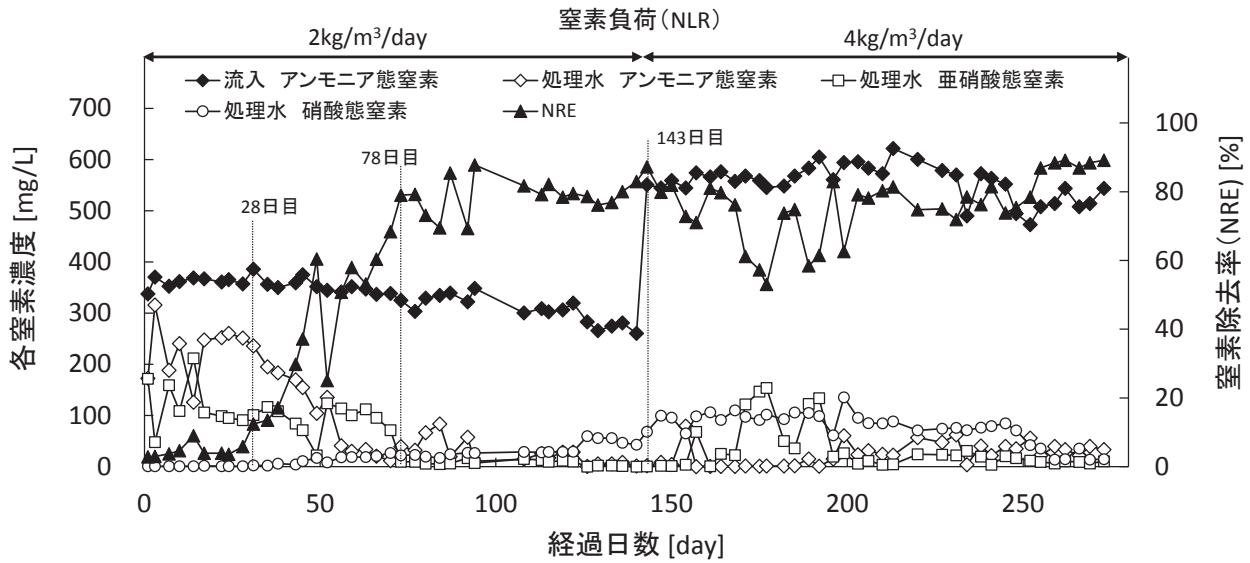


Fig. 2 人工廃水処理実験における、リアクタパフォーマンスの経日変化  
(Time Course of Reactor Performance of Artificial Wastewater Treatment Experiment)

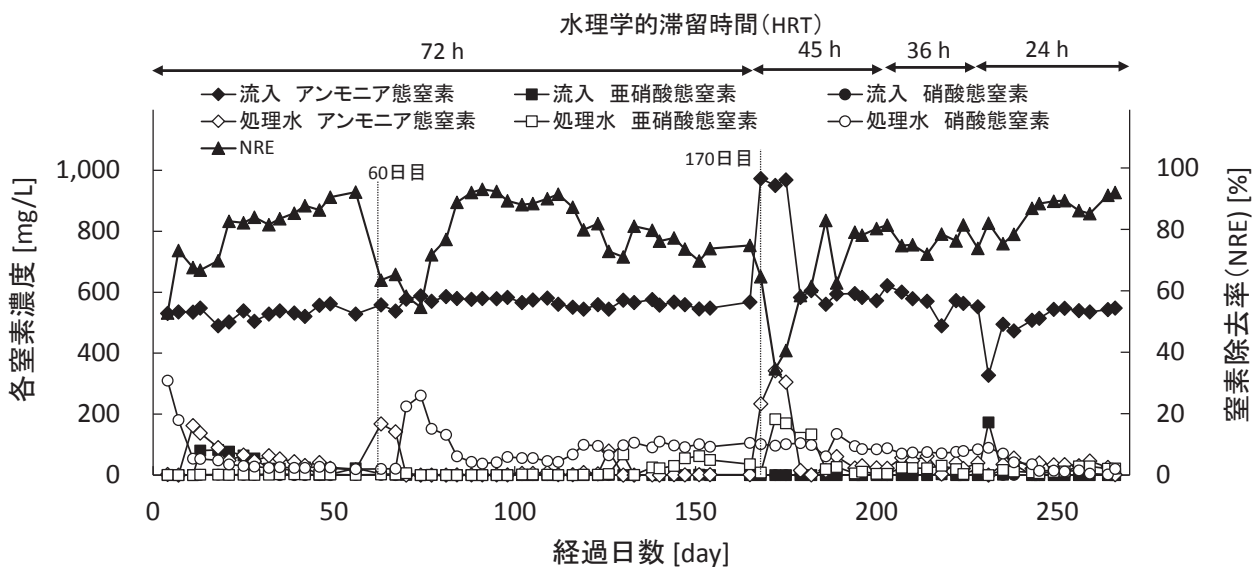
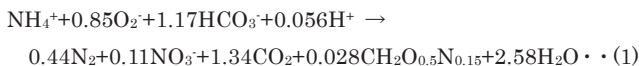


Fig. 3 実廃水処理実験における、リアクタパフォーマンスの経日変化  
(Time Course of Reactor Performance of Real Wastewater Treatment Experiment)

本実験で得られた値は化学量論的に妥当と考えられた。



## 2. 実廃水処理実験

実廃水処理を用いた一槽式アナモックス反応における、各窒素濃度 (左軸)、窒素除去率 (右軸) の経日変化を Fig. 3 に示す。また、全期間のリアクタパフォーマンスを Table 3 にまとめる。立ち上げ時、窒素負荷 0.2 kg/m<sup>3</sup>/day (HRT : 72 時間) で通水したところ、速やかな窒素除去率の上昇が認められた。60 日目に、pH 調節計のトラブルによる窒素除去率の低下があったが、160 日まで、おおむ

ね 80% 前後の窒素除去率を維持した。その後、窒素負荷を徐々に上昇させ、運転を継続した。170 日目に、原料調整のトラブルにより窒素濃度が急増し、一時的に窒素除去率が低下した以外は、おおむね 75% 以上の窒素除去率を維持した。窒素負荷 0.53 kg/m<sup>3</sup>/day (HRT : 24 時間) での運転期間では、窒素除去率は 88.5% まで上昇した。

エア供給量は、DO が 0.5 mg/L 以上とならないように、負荷上昇に伴い増加させた。処理水中の亜硝酸態窒素濃度は、トラブル時以外は 20 mg/L 以下で維持されており、生成した亜硝酸が速やかに除去されていることが確認できた。窒素負荷 0.53 kg/m<sup>3</sup>/day (HRT : 24 時間) の時に、硝酸態窒素濃度が理論値よりも大きく減少したが (Table 3)、これは、原水中に含まれる有機物により、従属的脱

Table 3 全期間のリアクタパフォーマンスのまとめ

## (Summary of Reactor Performance on Continuous Nitrogen Removal from Real Wastewater)

運転条件			処理水組成					NRE <sup>c)</sup> (%)	NO <sub>3</sub> -N 生成	
HRT (h)	窒素負荷 (kg/m <sup>3</sup> /day)	エア流量 <sup>a)</sup> (ml/L/min)	(mg/L)						理論値 <sup>d)</sup> (mg/L)	実験値/理論値
			NH <sub>4</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	FA <sup>b)</sup>	FNA <sup>b)</sup>			
72	0.19	3.3	4.8	14	80	0.39	0.0013	79.8	64.7	1.24
45	0.31	5.3	31	13	92	2.51	0.0012	76.6	63.1	1.46
36	0.36	6.7	26	19	78	2.11	0.0017	77.5	60.2	1.30
24	0.53	13.3	29	17	15	2.35	0.0015	88.5	58.6	0.26

a) エア流量は、DOが0.5 mg/L以下になるように調整

b) フリーアンモニア(FA), フリー亜硝酸(FNA)は、下記式により算出<sup>3)</sup>.

$$FA = 17/14 * NH_4-N * 10^{pH} / (e^{6344/(273+35)} + 10^{pH})$$

$$FNA = 46/14 * NO_2-N / (e^{(-2300/(273+35))} * 10^{pH})$$

c) 窒素除去率 (Nitrogen removal efficiency)

d) NO<sub>3</sub>-N 生成の理論値は、式(1)より算出

Table 4 バイオフィルムの菌叢解析結果

## (Results of Pyro-tag Sequencing Analysis of Microbial Biofilm Developed on the Media)

クローン	人工廃水				実廃水				近縁種	Accession No.	相同率 (%)
	43 日目		213 日目		63 日目		249 日目				
	外側	内側	外側	内側	外側	内側	外側	内側			
<b>Anammox bacteria</b>											
AMX-01	50.7	70.8	47.7	71.8	2.1	20.6	0.1	4.3	<i>Ca. Brocadia anammoxidans</i>	AF375994	99
AMX-02	0.1	-	3.3	1.3	-	-	-	0.1	<i>Ca. Brocadia fulgida</i>	GQ175281	99
AMX-03	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	<i>Ca. Kuenenia sp.</i>	GQ175286	99
<b>Ammonia oxidizing bacteria</b>											
AOB-01	5.8	0.5	0.2	-	4.8	2.1	11.0	5.1	<i>Nitrosomonas sp.</i>	FJ710733	99
AOB-02	2.0	0.1	7.9	1.4	-	-	-	-	<i>Nitrosomonas sp.</i>	DQ337098	99
AOB-04	-	-	-	-	0.7	0.2	-	-	<i>Nitrosomonas europaea</i>	AB070982	97
<b>Nitrite oxidizing bacteria</b>											
NOB-01	-	-	1.3	0.5	-	-	-	-	<i>Nitrospira sp.</i>	EF594048	100
<b>Denitrifying bacteria &amp; related bacteria</b>											
DEN-01	-	-	-	-	3.1	1.3	0.7	0.1	<i>Thiobacillus sp.</i>	DQ836746	99
DEN-05	-	-	-	-	-	0.1	2.6	2.2	<i>Brachymonas denitrificans</i>	EU434404	99
DEN-06	-	-	-	-	0.1	0.1	2.5	1.2	<i>Azoospira sp.</i>	FJ710731	99
DEN-02	-	-	-	-	0.4	0.2	0.3	1.0	<i>Azoarcus sp.</i>	FJ167501	98
DEN-07	-	-	-	-	0.3	0.8	-	-	<i>Pseudomonas sp.</i>	FJ901047	99
<b>Other dominants</b>											
Mjr-01	3.3	6.2	13.7	12.0	22.4	22.1	0.9	18.7	Candidate division OP10	FJ710638	99
Mjr-08	-	-	-	-	9.3	3.9	17.0	7.6	<i>Bacteroidetes bacterium</i>	EU283494	95
Mjr-02	9.8	10.8	2.3	1.8	7.1	2.0	-	-	<i>Planctomycetes bacterium</i>	FJ936840	99
Mjr-03	4.0	3.3	7.3	4.9	0.2	7.5	2.9	3.4	<i>Chloroflexi bacterium</i>	AB462406	99
Mjr-04	2.2	1.4	2.3	1.0	8.8	4.5	2.2	5.0	<i>Chloroflexi bacterium</i>	EF444696	99
Mjr-15	-	-	-	-	-	-	17.3	6.4	<i>Verrucomicrobia bacterium</i>	FJ710622	99
Mjr-05	4.2	3.1	4.3	1.7	3.0	5.2	-	0.3	<i>Proteobacteria bacterium</i>	AY945922	99
Mjr-06	-	-	-	-	1.4	1.9	4.3	4.7	<i>Chlorobi bacterium</i>	EF584533	99
<b>Miscellaneous organisms</b>											
	17.9	3.8	9.7	3.6	36.3	27.5	38.0	39.8			
Reads	5,492	6,117	3,708	4,315	2,934	4,022	2,935	2,933			

存在率(%)で表示

窒が起ったためであると考えられた。

## 3. バイオフィルムの菌叢

各実験で使用したリアクタ中の、リングレース上に生成したバイ

オフィルムの内深部と外側の菌体を、ニードルを用いて採取し、pyro-tag シークエンス解析による菌叢解析を行った結果を Table 4 に示す。



人工廃水では、43日目のサンプルから、アナモックス菌に属する2つのクローン(AMX-01, AMX-02)が検出された。AMX-01, AMX-02は、それぞれ *Candidatus Brocadia anammoxidans*, *Candidatus Brocadia fulgida* と99%の相同性であった。AMX-01は、バイオフィーム内深部に多く存在し、70.8%の割合を占めていた。アンモニア酸化細菌(AOB)は、*Nitrosomonas* 属に帰属する菌が、バイオフィームの外側から約8%の割合で検出された。亜硝酸酸化細菌(NOB)は、43日目のサンプルからは検出されなかったが、213日目のサンプルからは低い割合であるが、検出された。43日目のサンプルと、213日目のサンプルでは、菌叢の大きな変化は確認されなかったが、いずれも、バイオフィームの外側にアンモニア酸化細菌が、内深部にアナモックス菌が多く存在することが明らかとなった。

実廃水処理したリアクタからは、人工廃水で検出された2種類を含む3種類のアナモックス菌のクローンが検出され、NOBは検出されなかった。AMX-03は、*Candidatus Kunenia* sp.と99%の相同性があった。実廃水では、人工廃水よりも顕著なAOBとアナモックス菌の棲み分けが確認され、また、検出されたクローンは、人工廃水よりも多く、菌叢が多様化していることが明らかとなった。実廃水は、人工廃水に比べ、様々な物質を含有するため、菌叢も多様化するものと考えられた。

#### IV. 考察

##### 1. リアクタ立ち上げ条件

本実験では、人工廃水を用いて、活性汚泥から一槽式アナモックス反応を立ち上げた。これまで、アナモックス菌の集積条件として、DO: 0.2 mg/L以下、フリーアンモニア(FA)濃度: 2 mg/L以下、フリー亜硝酸態窒素(FNA)濃度: 2 mg/L以下が好ましいと報告されている<sup>4)</sup>。本実験での、これらの値は、それぞれ0.1 mg/L以下、1.26 mg/L, 30 mg/Lであり、ほぼこれらの条件を満足していた。一方、本実験では、立ち上げ初期から比較的短いHRT(4.4時間)で通水した。これにより初期の段階でアナモックス菌以外の菌を系外にウォッシュアウトできたことが、アナモックス菌が優占化するニッチを作り出すことに影響したのと考えられた。これらのことから、一槽式アナモックスリアクタの立ち上げには、運転パラメータの適切な管理が重要なことが改めて示された。

##### 2. リングレース担体によるバイオフィームの構造化

一槽式反応は、以下のようなバイオフィームの構造化により達成できているものと考えられる。

人工廃水では、リングレース上に生成したバイオフィーム内深部に、アナモックス菌と思われる赤い微生物、外側にはピンク色の異なる微生物が増殖している様子が目視で観察され(Photo 1)、Pyrotag シークエンス解析でも、バイオフィーム内でAOBとアナモックス菌が構造化し、棲み分けが起こっている状況が明らかとなった。これらのことから、通気を行うことで、AOBがアンモニアを亜硝酸に酸化し、同時に酸素消費により、嫌気的環境が作られる。その後、バイオフィーム内深部で、嫌気性のアナモックス菌が、残存するアンモニアをAOBが生成した亜硝酸で酸化し、窒素ガスに変換していると推察できる。

##### 3. 亜硝酸化反応の安定化

アンモニアの部分亜硝酸化は、いくつかの要因で制御可能である

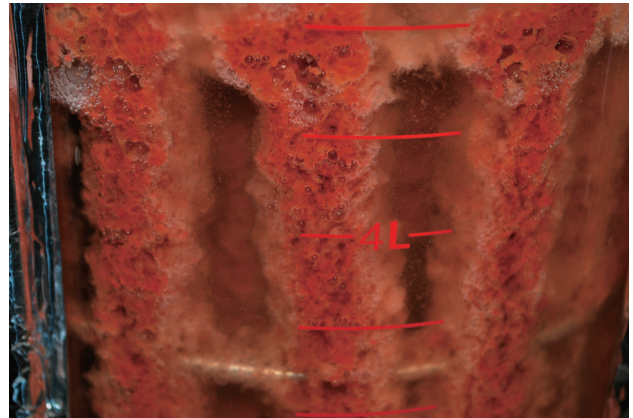


Photo 1 担体上で増殖したバイオフィーム  
(Biofilm Developed on Ring-Laced Strings)

ことが本実験で示された。アンモニアが硝酸まで酸化されない理由としては、本実験での温度が、比較的高温であり、NOBよりもAOBに有利であったことが一因と考えられる。また、FNAは、AOBよりも、NOBに強い阻害があるとされ、完全な活性抑制濃度は0.02 mg/Lと報告されている<sup>5,6)</sup>。本実験でのFNA濃度は0.0017 mg/Lであり、NOBの活性を抑制できていたと推察される。これらに加え、pHを適切に制御することにより、NOBの活性を抑え、安定した窒素除去が可能であったと考察できる。

##### 4. 一槽式反応におけるDO濃度

一槽式反応では、亜硝酸化に酸素供給が必要であると同時に、アナモックス反応のための嫌気的環境が必要である。アナモックス菌は、DO濃度0.032 mg/Lで阻害を受けると報告されている<sup>7)</sup>。本実験においては、DOを0.5 mg/L以下となるようにエア供給を行っていた。これは、アナモックス菌の活性を阻害する濃度であるが、本方式では、アナモックス菌は局所的に限定された空間であるバイオフィームの内深部に存在しているために、その周辺の菌が酸素を消費し、アナモックス菌の活性を保持できていたと考えられる。

##### 5. 固定床一槽式リアクタの特長

アナモックスプロセスでは、アナモックス菌をいかに高濃度にリアクタ内に保持するかがキーとなる。これまで一槽式のアナモックスプロセスでは、菌体保持のためにバッチ反応のシステムが多かった。また、膜型リアクタによる連続処理も検討されているが、膜の目詰まり、ランニングコストなどが課題となっている。本報に示したリングレース担体を使用した固定床式リアクタは、下記の特長から、これらの課題を解決するリアクタであると考えられる。

- アナモックス菌などの菌体の補足性がよい
- リアクタ内に、高濃度に微生物を保持可能
- 連続処理においても、アナモックス菌の流出が少ない
- エアの連続供給が可能で、亜硝酸化に適している
- 一槽式反応に適したバイオフィームを構成しやすい
- ショックロードに対する耐性が高い

本実験での菌体あたりの窒素除去能力は、0.16 g-N/g-MLSS/dayと計算され、既報の0.15~0.4 g-N/g-MLSS/day<sup>7)</sup>と同等の値であったが、一方で、本実験の窒素負荷量は、0.53 kg-N/m<sup>3</sup>/dayであり、既報の0.7~1.5 kg-N/m<sup>3</sup>/day<sup>8)</sup>と比較して低かった<sup>9)</sup>。今後、担体充

填量の増加, pH などの制御因子の最低化を行うことで, 許容窒素負荷を高めることが可能であると考えられる。

#### V. おわりに

本実験では, 適切な担体を採用し, 制御を行うことで, 1 つのリアクタ内に, 好気性と嫌気性の領域を理想的に配置し, それを維持できることを明らかにした。

メタン発酵廃液は, 高濃度に窒素を含有する 경우가多く, 窒素処理に多大なコスト, エネルギーが必要となっており, メタン発酵技術の拡大の足かせとなっている。本実験で, アナモックス技術がメタン発酵廃液の後処理に適用可能であることが明らかとなり, メタン発酵プロセスと一体化した技術開発と展開が可能であることが示された。アナモックスプロセスは, メタン発酵処理液だけでなく, 処分場浸出水や, 下水処理場返流水など, 様々な窒素含有廃水の処理に適用可能である。今後, 窒素除去速度の向上, 安定性の検討を行い, 従来の硝化脱窒に代わる窒素除去方法として, 実施への適用を検討していく。

#### 謝 辞

本実験に推進に当たり, 実廃水を提供いただいた霧島酒造株式会社殿に謝意を表す。

#### 参考文献

- 1) Graaf A.A. et.al. ; Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor, *Microbiology*, Vol.142, 1996, pp.2187-2196.
- 2) 多田羅昌浩ほか; 嫌気性アンモニア酸化反応を利用した廃水処理技術に関する基礎的検討, 鹿島技術研究所年報, 第 61 号, 2013.9, pp.149-154.
- 3) Park S. et.al. ; Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid, *Process Biochem.*, Vol.44, 2009, pp.631-640.
- 4) Jung J. Y. et.al. ; Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor, *Wat. Dci. Technol.*, Vol.55, 2007, pp.459-468.
- 5) Vadivelu V. M. et.al. ; Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol.95, 2006, pp.830-839.
- 6) Vadivelu V. M. et.al. ; The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.40, 2006, pp.4442-4448.
- 7) Strous m. et.al. ; Key physiology of anaerobic ammonium oxidation, *Appl. Environ. Microb.*, Vol.65, 1999, pp.3248-3250.
- 8) Terada A. et.al. ; Presence and detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and appraisal of anammox process for high-strength nitrogenous wastewater treatment: a review, *Clean Techn. Environ. Policy*, 2001, online publishing.

## Continuous Removal of Nitrogen from Wastewater Using a Single-Stage Anammox Reactor

*Masahiro Tatara, Shu Ishikawa<sup>1)</sup> and Yoshiyuki Ueno*

The anaerobic ammonium oxidation (anammox) process is emerging as an efficient and cost-effective alternative to conventional processes for removing nitrogen from ammonia-rich wastewater. This study examines nitrogen removal efficiency (NRE) using a single-stage packed-bed reactor, in which ring-laced strings were installed as the supporting medium, and microbial composition in the reactor biofilm.

The stability of reactor performance for industrial wastewater was confirmed, demonstrating an NRE of greater than 77% during 260 days of continuous operation with a nitrogen loading rate of between 0.19 and 0.53 kg/m<sup>3</sup>/day. Pyrotag sequencing analysis of the biofilm revealed a clear abundance of anammox bacteria in the inner part of the biofilm and ammonium-oxidizing bacteria in the outer part. In the artificial wastewater, the microbial community structure did not change drastically between the early and late phases of continuous operation, which extended over 200 days. In industrial wastewater (IW), however, the existence ratio of anammox bacteria decreased to 4% on day 249 of continuous operation. The number of detected operational taxonomic units increased in the IW, implying that the community structure was widely diversified. However, anammox bacteria could propagate sufficiently to catalyze nitrogen removal under this condition because the NRE was stable at approximately 88%.