

# 窒素を除去するアナモックス菌

## —畜産における可能性—

(独)農研機構 畜産草地研究所  
畜産環境研究領域 資源環境研究グループ  
主任研究員

和木 美代子

### 1. はじめに

我が国の河川・湖沼等公共用水域や地下水の窒素汚染は深刻であり、その主要な汚染原因の一つに家畜排せつ物が挙げられている。家畜排せつ物に含まれる窒素として、国内で年間約70万トン発生し<sup>1)</sup>、これは同じく国内で一年間に消費される化学肥料の約1.5倍に相当する、膨大な量である。

公共用水域への排水水において、水質汚濁防止法には窒素に係わる項目が2つ存在する。一方は1982年(湖沼)および1993年(海域)に生活環境項目に追加された、「窒素含有量」である。この項目は、特定の湖沼、海域およびこれらに流入する公共用水域に排水する、平均排水量が50 m<sup>3</sup>以上の事業所に対して適用される。該当する畜産事業所数は平成25年において80事業所程度である<sup>2)</sup>。放流基準は窒素として一律基準が許容限度120 mg/L(日間平均60 mg/L)であるが、特定海域に関わる養豚業については暫定基準として許容限度が170 mg/L(日間平均140 mg/L)となっている(平成30年まで)。

もう一方は2001年に健康項目に追加さ

れた「アンモニア、アンモニウム化合物、亜硝酸化合物及び硝酸化合物」(以下硝酸性窒素類)である。この規制項目は公共用水域に水を排出する特定事業所すべてに適用され、畜産農業(畜産業)は豚房面積50 m<sup>2</sup>以上、牛房面積200 m<sup>2</sup>以上などの条件を満たす事業所が対象となり、登録数は平成23年において約3万事業所ある。対象となる事業所の規模は概ね肥育豚65頭、成牛約35頭に相当することから、小さな事業所も含まれることになる。

この排出基準として、一律排水基準は100 mg/Lだが、これに対して、畜産農業では当該汚水における窒素除去が困難であるとの理由から暫定基準が適用されており、この暫定基準値は法律制定時の2001年に1,500 mg/Lであったものが、3年間隔の見直しにおいて徐々に厳しくなり、現在は(2016年6月まで)700 mg/Lまでになった。この項目は小規模の事業所が含まれるため、暫定基準値の低下に伴い将来は対応が困難になると予想される。また、基準については各都道府県レベルでさらに厳しい放流基準を設けてい

る場合があり、実際はより広範囲の事業所がより厳しい値への対応が求められていると言える。法令遵守および地域社会と調和した畜産業の発展のために、畜産廃水処理における窒素問題の解決は必要不可欠である。

## 2. 一般的な窒素除去メカニズムと畜産廃水の窒素除去の現状

### (1) 窒素除去メカニズム

畜産廃水の処理技術として最も使われているのは活性汚泥法である。この技術は活性汚泥という様々な微生物を含む汚泥が、酸素の存在する好気的な条件で汚

水中の様々な物質を分解することにより成り立つ。

汚水からの窒素が除去されるメカニズムは、一般的には微生物による硝化反応および脱窒反応によるものである(図1)。硝化反応は、酸素のある好気的な条件で起こり、アンモニアを酸素で酸化することにより、亜硝酸が生成する(式1)、もしくは、亜硝酸を酸素で酸化することにより硝酸が生成する(式2)。脱窒反応は酸素の無い無酸素条件で起こり、硝酸もしくは亜硝酸が、汚水に含まれる有機物により還元され、窒素ガスが発生する。

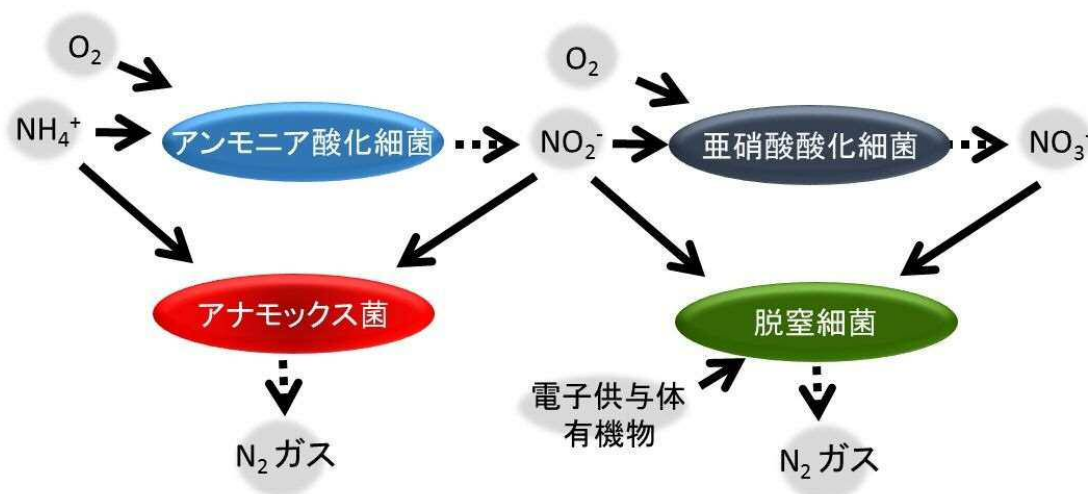
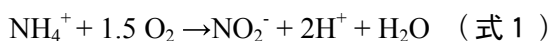


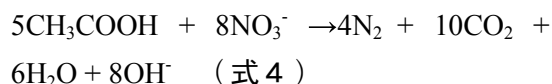
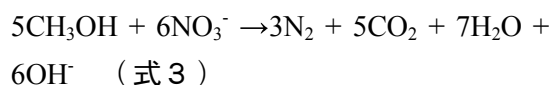
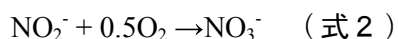
図1 アナモックス反応など窒素代謝に関わる微生物反応

### (2) 脱窒に利用される有機物

有機物は様々なものが利用される。式3、4にメタノールおよび酢酸の例を示す。これらの物質の酸化還元反応によって微生物はエネルギーを得る。アンモニア酸化反応を行う微生物として、Nitrosomonas 属, Nitrosococcus 属、亜硝酸酸化反応を行う微生物として Nitrobacter

属、Nitrospira 属、等様々な微生物の存在が知られており、これらは独立栄養である。脱窒反応を行う微生物は非常に多様であり、多くの場合、好気的な条件では酸素を使い有機物を酸化し、無酸素条件では脱窒を行う従属栄養微生物である<sup>3,4)</sup>。





### (3) 脱窒微生物の存在

これらの微生物は、自然界の至るところに存在し、畜舎廃水を浄化する活性汚泥の中にも存在する。硝化反応と脱窒反応は、好気条件と無酸素条件で適する条件が異なるものの、実際には、活性汚泥浄化槽の中では曝気をしていても部分的に無酸素な空間が生じたり、溶存酸素濃度が低く両反応に適用される条件が生じたり、また窒素除去を目的として間欠曝気処理が適用されている等の理由で、ある程度の窒素が除去される。

### (4) 養豚廃水処理施設における脱窒

実際、筆者らの調査では、養豚廃水の処理をおこなう活性汚泥処理施設において、流入水に含まれる平均 1,300 mgN/L の窒素の概ね半分以上が、処理過程で除去されていた。しかし一方で、それらの処理水には依然、平均 430 mg/L といった高い濃度の窒素が残存しており、施設によっては将来の窒素規制の強化に備えて窒素除去の高度処理を必要とすると考えられた<sup>5)</sup>。

### (5) 有機物/窒素比(BOD/N比)

活性汚泥処理プロセスにおいて窒素除去が不十分な最大の理由は、有機物/窒素比が低いことにある。養豚廃水処理において、適切間欠曝気または回分式運転を行うことで、硝化反応—脱窒反応を保持し90%以上の窒素除去を行うのに必要な

有機物/窒素比(BOD/N比)は3程度以上と言われているが<sup>6,7)</sup>、筆者らが調査した養豚廃水処理施設の一次処理水(活性汚泥流入水)のBOD/N比は、平均2.7で、最小0.02、最大5.1であり、有機物/窒素バランスに余裕が無いもしくは不十分な施設がかなり存在していた<sup>5)</sup>。これらが畜産廃水は従来の方法では窒素除去が難しいと言われる理由である。

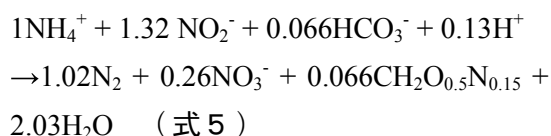
## 3. アナモックス反応

### (1) 反応メカニズム

アナモックス反応は、このような有機物/窒素バランスの低い汚水からも窒素除去が可能となる微生物反応であり、アンモニアと亜硝酸という無機窒素化合物同士のカップリングで窒素ガスを作る(図1)。

アナモックス菌は1990年代にその存在が発見された<sup>8)</sup>。現在までに明らかになった特徴は下記のようなものである。

式5のように1モルのアンモニアと1.3モルの亜硝酸を消費し、1モルの窒素ガスと約0.3モルの硝酸を生産する<sup>9)</sup>。



### (2) pHと水温

反応は無酸素条件で起こるが、それ以外には極端な環境を必要とせず、最適条件として、pH 7~8.5、水温として30~37°C<sup>10, 11, 12)</sup>が上げられる。ちなみに、養豚廃水を有機物とした脱窒の最適pHは6.9~7.9、水温は30~40°Cであり、最適条件が非常に近い<sup>13)</sup>。

### (3) 亜硝酸及びアンモニアによる阻害

代謝する基質が高濃度になるとそれにより阻害をうける。亜硝酸は比較的低い濃度から阻害を示し初め、100 mgN/L から阻害を示すこともあるが、連続試験において 400 mgN/L まで阻害を示さなかった例もある<sup>14, 15)</sup>。著者が畜産廃水処理施設のアナモックス活性について調べた際は、140 mgN/L までは阻害を示さなかった<sup>12)</sup>。

一方で、アンモニアは阻害を示す濃度が高く、1,000 mgN/L まで阻害を示さなかったとの報告もある<sup>14)</sup>。畜産廃水処理施設のアナモックス活性について 450 mgN/L まで阻害を示さなかった<sup>12)</sup>。

### (4) フリーアンモニア

むしろ阻害を示す原因はアルカリ性の条件でアンモニアイオンから生成するフリーアンモニア(NH<sub>3</sub>) (遊離アンモニア) のほうであると考えられている。フリーアンモニア濃度は 13~187 mg/L の幅を持ってそれによる阻害が報告されている<sup>12, 16, 17)</sup>。フリーアンモニアは式6により計算され<sup>18)</sup>、アンモニア濃度が低くても pH が高いと濃度が高くなるので注意が必要である。

例えば、水温が 30°C で、全アンモニア態窒素濃度が 500 mgN/L の時、pH 7 ではフリーアンモニア濃度が 4.9 mg/L だが、pH が 8 では 45 mg/L、pH が 8.5 では 124 mg/L となる。ちなみに、中性より低い pH において亜硝酸から生成する遊離亜硝酸(HNO<sub>2</sub>) (式7により計算)<sup>18)</sup>も阻害の原因になると考えられている<sup>16)</sup>。

一般的に、畜産廃水の場合、亜硝酸が存在するような状況においても有機物の

残存があるため、無酸素状態においては脱窒により pH が上昇する傾向があるが、もし亜硝酸濃度が高い条件で pH が低下していた場合は注意が必要である。

$$\begin{aligned} & \text{フリーアンモニア濃度 (NH}_3, \text{ mg/L)} \\ & = 17/14 \times \text{全アンモニア N 濃度 (mg/L)} \\ & \times 10^{\text{pH}} / (e^{(6344 / (273 + \text{水温}))} + 10^{\text{pH}}) \quad (\text{式 6}) \end{aligned}$$

$$\text{遊離亜硝酸濃度(HNO}_2, \text{ mg/L)}$$

$$= 46/14 \times \text{全亜硝酸 N 濃度(mg/L)} / (e^{(-2300 / (273 + \text{水温}))} \times 10^{\text{pH}}) \quad (\text{式 7})$$

### (5) 有機物の影響

有機物の影響として、アルコール、特にメタノールに 0.5~数 mM の濃度でアナモックス反応は不可逆的に阻害されるので注意が必要である<sup>19, 20)</sup>。一方でアナモックス菌は多様な代謝を示し、酢酸等を利用できるものもあり、グルコース、ギ酸などには影響を受けない<sup>19)</sup>。畜産廃水の場合、汚水に含まれる有機物そのものに阻害を受けなくても、有機物の存在により従属栄養細菌が早い速度で増殖し、相対的に後述のように増殖速度の遅いアナモックス菌の占有率が下がり、リアクターから流出してしまう状況を招かないよう注意が必要である。

### (6) その他の阻害因子

その他の畜産廃水処理で関わりがあるアナモックス阻害因子としては、硫化物やリン酸が各々 1 mM, 20 mM レベルで阻害すると報告がある<sup>21)</sup>。また凝集剤(カチオン系ポリマー)は 1000 mg/L とかなり高濃度で少し阻害が出始めるとされている<sup>21)</sup>。また、銅と亜鉛はそれぞれ 5 mg/L、

10 mg/L で阻害が現れ始めるが、その影響は可逆的である<sup>22)</sup>。

#### (7) アナモックス菌の特徴

菌濃度が高くなると汚泥が赤く見え(写真1)、これは鉄含有タンパク質であるヒドラジン酸化酵素のためと考えられている<sup>23)</sup>。



写真1 アナモックス菌の集積された汚泥

独立栄養細菌であり、増殖の倍加時間が9~11日(25℃、32~33℃において)と極端に長い<sup>9, 24)</sup>、菌の培養に時間がかかる。ちなみに、従属栄養細菌に比べて増殖が遅いと言われる硝化細菌ですら、倍加時間は30℃において0.5日程度である<sup>4)</sup>。自然界から採取した汚泥等を用いて培養しアナモックス活性が表れるまでに、一般的には、最適な条件下での培養で3ヶ月以上必要である。筆者の経験では目視で赤く見えるまでにはもっと長い時間を要する。

#### (7) 分類上の位置づけ

純粋培養菌株は得られていないものの、分類上は Bacteria の Planctomycetes 門、Planctomycetia 綱、Candidatus Brocadiales 目、Ca. Brocadiaceae 科に属し、現在は Ca. Brocadia、Ca. Kuenenia、Ca. Jettenia、Ca. Anammoxoglobus、Ca. Scalindua、Ca.

Anammoximicrobium の6つの属が提案されている。なお”Ca”は“Candidatus”の略称で、培養に成功していない生物につけられている。これらのうち、汚水処理装置で検出されやすいのは Brocadia と Kuenenia である。

筆者らが、後述の調査でアナモックス活性が得られた畜舎廃水の活性汚泥処理汚泥について調べたところ、Ca. Jettenia asiatica, Planctomycete KSU-1, Ca. Brocadia caroliniensis に近縁な微生物が見いだされた<sup>12)</sup>。Ca. Brocadia caroliniensis は養豚廃水処理施設から集積された菌であり、条件に近い汚水においては近縁な菌が広く存在しているものと推測された。

#### (9) 窒素除去への期待

以上のように、アナモックス菌は培養条件の多少の難しさや、増殖に時間がかかることなどいくつかの難点はあるものの、有機物を使わずに、さらにアンモニアの段階の窒素を利用できるという優位性が存在する。脱窒のための電子供与体が不要であり、元のアンモニアの半分のみを亜硝酸までに酸化すればよいため、酸化のための酸素それに伴う曝気動力が節約できることから、有機物/窒素バランスの低い汚水からの窒素除去への利用が期待されている。

## 4. 畜産廃水処理施設に存在するアナモックス菌

### (1) 存在する場所

アナモックス菌の存在が最初に見いだされたのは食品工場廃水の処理施設の汚泥であったが<sup>8)</sup>、その後の研究により、海洋、湖沼、河川の底泥、汚水処理施設の

汚泥、等、自然界の様々な場所でアナモックス菌の存在が示されている<sup>25, 26, 27</sup>。一方で、これらの場所でも必ず存在するものではなく、その存在傾向は明らかとなっていない。

(2) 畜産廃水における存在

畜舎廃水処理において、アナモックス

反応を簡易に利用する場合の最初の問題点としては、まずアナモックス菌を高濃度に含む汚泥の入手が上げられる。前述のように、増殖速度が遅いことから、より高い濃度にアナモックス菌を含む種汚泥を入手しなければ立ち上げに非常に時間がかかるためである。

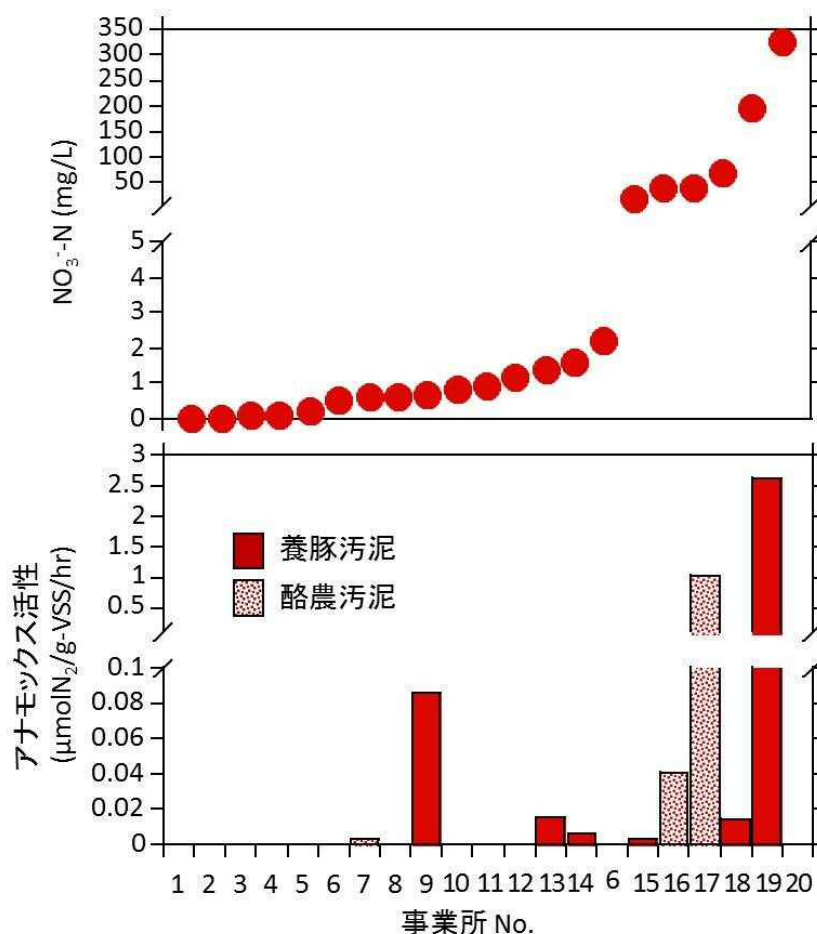


図2 養豚・酪農農家由来のアナモックス活性に対する硝酸濃度の影響 (Waki, et al., 2010; 和木 他, 2011 より作成)

数多く存在する畜産農家のいずれでも容易に導入可能にするには、畜産現場から種汚泥を得られるようにしておく必要があると筆者らは考え、畜産廃水処理施設におけるアナモックス菌の存在調査を

行った。養豚および酪農農家の活性汚泥処理施設20施設について調査を行った結果、約半数の施設の曝気槽における浮遊汚泥にアナモックス活性が検出された<sup>28, 29</sup>(図2)。活性は、養豚廃水処理施設、酪

農廃水処理施設両方から得られ、また、回分式、固定床曝気方式、連続式、膜分離方式、いずれの施設からも検出された。

### (3) 硝化の進行とアナモックス活性

曝気槽内汚水の水質および溶存酸素濃度とアナモックス活性との相関解析を行った結果、硝酸、 $\text{NO}_x^-$ （亜硝酸と硝酸の和）濃度と有意な正の相関が示され（それぞれ、 $r=0.59, 0.44$ ）、pHおよび遊離アンモニア濃度との有意な負の相関が得られた（それぞれ  $r=-0.49, -0.48$ ）<sup>30)</sup>。この結果は、アナモックス菌は畜産廃水処理施設において、硝化が比較的進行している曝気槽を好んで生息していると示唆している。

アナモックス反応の基質にはアンモニアと亜硝酸が必要であるが、この調査ではこれらの基質とアナモックス活性の間に相関は見いだされなかった。アンモニア濃度は多くの施設において  $\text{NO}_x^-$  濃度より高い値で存在したことから、制限要因とならなかったと考えられた。

一方で、亜硝酸は、曝気槽内のアンモニア酸化反応による代謝物もしくは硝酸からの脱窒反応による中間代謝物として生成したものを利用していると考えられた。検出されたアナモックス活性はごく低いものであることから、これらのような中間代謝物で充足していたと予想された。曝気槽の溶存酸素濃度とアナモックス活性の間にも相関は見いだされず、その理由として、見かけ上溶存酸素濃度が検出されても、汚泥内部に嫌気部分が存在しアナモックス菌が生息していると推測された。

### (4) バイオフィーム中のアナモックス活性

さらに、浮遊汚泥については活性は最高でも  $2.6 \mu\text{mol N}_2/\text{g-VSS}/\text{hr}$  と低いものであったが、担体入り活性汚泥施設の担体に付着したバイオフィームからは、 $26 \mu\text{mol N}_2/\text{g-VSS}/\text{hr}$  という10倍の活性が検出された。この活性は、菌体を VSS、 $3,000 \text{ mg/L}$  に保ったアナモックス最適条件のリアクターにおいて  $0.05 \text{ gN/L/day}$  の窒素除去能を示すことに相当する。このままの活性で十分な窒素除去能とは言えないものの、アナモックス菌を増やすための種汚泥として十分な活性であると考えられた。

バイオフィームに注目して探索することで、畜産廃水処理現場の高濃度にアナモックス菌を含む汚泥を採取できる可能性があると思われる。

## 5. 畜産廃水の活性汚泥処理水を用いたアナモックス菌の培養

### (1) アナモックス菌の培養

アナモックス菌の培養は、一般的には亜硝酸とアンモニアを含む無機塩培地で行われるが、この条件に完全に等しい畜舎廃水は容易には存在しない。窒素処理が最も求められている養豚廃水の活性汚泥処理水はほとんどの場合 BOD が残存しており、その平均は  $83 \text{ mg/L}$  であった。窒素の形態は一定では無いが、硝化が進行し pH が 8 以下の場合、多くは 3 割以上がアンモニアであり、残りは硝酸、亜硝酸、もしくはその両方であった<sup>4)</sup>。

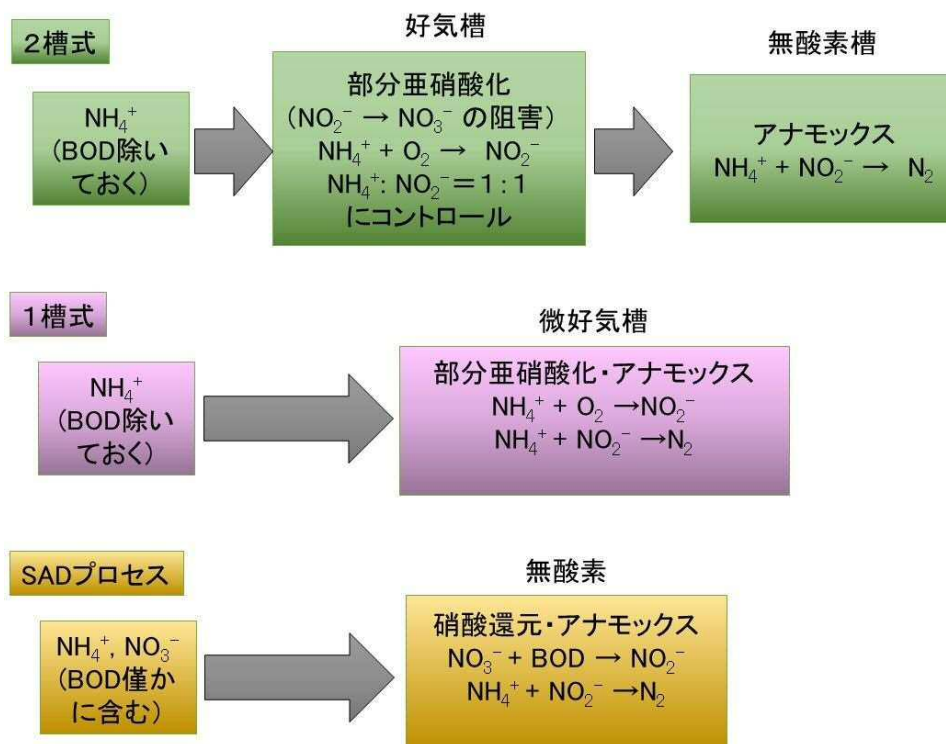


図3 アナモックス処理プロセス

## (2) 畜産廃水処理水における培養

そこで筆者らは、小型連続処理装置を用いて、畜産廃水の活性汚泥処理水を用い、酸素除去無し、室温程度の温度といった、実際の畜産農家の状況に近い条件で畜産農家由来のアナモックス菌の培養を試みた<sup>31)</sup>。この培養に用いた活性汚泥処理水はアンモニアと硝酸、また 30 mg/L の BOD を含んでいた。積極的な酸素除去を行わなくても装置内の DO はほぼ検出限界以下になり、汚泥の約 3 ヶ月間の運転により、硝酸とアンモニアの減少が徐々に増加し、0.09 gN/m<sup>3</sup>/day で定常状態になった。

培養前に種汚泥のアナモックス活性は、0.14 μmolN<sub>2</sub>/g-VSS/hr であったが、培養により約 1,000 倍の 127 μmolN<sub>2</sub>/g-VSS/hr にまで増加した。この現象は、実廃水に含まれる僅かな BOD を脱窒細菌が利用し、硝

酸還元反応を起こし、それによって生じた亜硝酸をアナモックス菌が利用することによって起こったと考えられた。これらの結果から、畜産廃水の活性汚泥処理水を用い、簡易な条件でも十分アナモックス菌を培養することが可能であると言える。

## 6. アナモックスプロセスの畜産廃水処理への利用の可能性

### (1) 稼働している実規模施設

アナモックスリアクターは実規模施設として現在世界中で 100 施設ほど稼働していると報告されている<sup>32)</sup>。しかしその多くは下水関連もしくは工場廃水を対象としており、畜産関係の報告は、実規模レベルでは酪農関連が 1 施設のみである。畜産廃水への適用は研究レベルに留まっていると



実規模施設のリアクター容積は数百  $\text{m}^3$  から数万  $\text{m}^3$  以上のものであり、pH、DO、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$  などがオンラインでモニターされ、装置の制御に使われている。中小規模の多い日本の畜産農家の污水处理にアナモックス処理を導入する場合は、より小規模でかつ管理が容易であることが求められるであろう。

## (2) 二槽式

窒素除去へアナモックス反応を利用するプロセスは、大まかには二種類の方法に分けられる。一つは二槽式と呼ばれ、第一槽で部分亜硝酸化反応をおこない、第二槽において第一槽で生成した亜硝酸と残存したアンモニア(または原水中のアンモニアをバイパスさせる)を基質としてアナモックス反応を起こさせる(図3)。

第一槽では自然にまかせると多くの場合、アンモニアが硝酸まで完全に酸化してしまうため、部分亜硝酸化を保持するためにはいくつかの制御が必要となる。

アンモニア酸化細菌と亜硝酸酸化細菌の増殖速度や酸素に対する親和性の違いを利用して、アンモニア酸化細菌を優占化させるために、 $25\sim 35^\circ\text{C}$  といった高い水温、 $1.0\sim 1.5\text{ mg/L}$  といった低いDO濃度、汚泥滞留時間を1~2.5日程度に短くする<sup>33)</sup>、 $60^\circ\text{C}$  程度のヒートショックをかける<sup>34)</sup>などの制御が提案されている。

## (3) 一槽式

もう一方は一槽式であり、アンモニア態窒素を流入させ、槽内をごく低い溶存酸素濃度に保ち、微生物膜を保持することにより、低溶存酸素条件でのアンモニアの亜硝酸への酸化とバイオフィーム内での生成した亜硝酸と残存したアンモニアを使っ

たアナモックス反応を共存させる。

制御や菌体を保持する手段によってCANONプロセス<sup>35)</sup>、SNAPプロセス<sup>36)</sup>、OLANDシステム<sup>37)</sup>など様々なものが提案されている。アンモニア酸化細菌、アナモックス細菌どちらにとっても条件が最適で無いことから窒素除去能は一槽式には劣るとされるが、実規模装置に占める割合は高く9割近くを占めると報告されている<sup>32)</sup>。

## (4) SADプロセス

また前述の、硝酸およびアンモニアの混合汚水から硝酸還元とアナモックスを共存させることで窒素除去を行うプロセスはSAD (Simultaneous Anammox and Denitrification) プロセスと呼ばれている(図4)<sup>38, 39)</sup>。この場合は硝酸が生成しないように亜硝酸化を制御する問題が回避できる一方で、硝酸還元のための電子供与体の選択や制御が必要となる。

## (5) 畜産廃水への適用

筆者らが養豚廃水原水を電子供与体として用いこのプロセスを検討した結果<sup>13)</sup>、ごく僅かな当該汚水の添加によりSAD反応が起こり、硝酸およびアンモニア存在条件でのアナモックス反応は、亜硝酸およびアンモニア存在条件と遜色無いレベルまで回復した。

しかしながら、汚水を過剰に添加した場合は、脱窒活性の急激な増加を引き起こした。この現象は、汚泥中のアナモックス菌の割合が低下し、連続処理装置においてはアナモックス細菌の装置からの流出を引き起こすことを意味する。そのため、養豚廃水原水をSADプロセスに用いる場合はその添加量は厳密に制御する必要がある

と言える。

## (6) 畜産廃水における課題

アナモックスプロセスを畜産廃水の活性汚泥の高度処理においてどのように利用するかは多くの課題が残っている。一槽型を適用する場合は、活性汚泥処理において、有機物のみを上手く除去し、処理水に含まれる窒素はアンモニア態にしなければならない。二槽型の場合も、亜硝酸化槽を設けるならば同様だが、活性汚泥処理の処理水を亜硝酸とアンモニアにするよう制御するという選択肢もあり得るだろう。すべての制御は、提案されている条件に従えば可能ではあるが、現実的には農家レベルでの制御の容易なシステムを構築する必要がある。いずれにおいても、前段の活性汚泥処理の運転と切り離しては考えられないことから、一次処理、活性汚泥処理、アナモックス処理と一体的に考えデザインする必要がある。

## 7. 人工湿地のアナモックス菌

### (1) 人工湿地の特徴

農家現場では、飼養頭数、飼養形態、環境要因や思いがけないトラブルによって流入水質が変動する。高濃度の有機物や窒素を含む汚水は、まず固液分離により負荷物質を除去し、次いで活性汚泥処理やアナモックス処理等の処理により浄化するのが一般的であるが、ここまでのプロセスで常に完璧な除去を行うのは負担が大きいであろう。これらの処理の後の高度処理として人工湿地等の植物による浄化能を利用した処理を行えば、思いがけない汚水の負荷に対するセイフティーネットとして機能できる可能性がある。

人工湿地の利点として、運転に係わる消費エネルギーが低くメンテナンスの労力も少ない事が上げられるが、一方で広い敷地面積を必要とする欠点も存在する。しかし、活性汚泥処理の高度処理としてならば敷地面積が押さえられ、また畜産農家では比較的敷地に余裕がある場合もあると考える。

### (2) アナモックス菌の存在

筆者らは畜産廃水等の汚水を処理する人工湿地を調査し、そこにアナモックス菌が存在することを明らかにした<sup>40, 41)</sup>。湿地における土壌水分量や亜硝酸態窒素濃度もしくは硝酸態窒素濃度と相関が見いだされ、また、植生状況が均一でない場合、植生の正の影響も示唆された。今後人工湿地においてもアナモックス菌を活用することで、全体としてより安定性の高い汚水処理システムとなることが期待される。

## 8. おわりに

畜産廃水処理施設は場所によっては高濃度のアナモックス菌が存在しており、また実廃水を用いて菌を増やすことも可能であった。今後はこれらを上手く利用し、畜産農家に導入しやすい窒素除去技術を検討する必要がある。

家畜排せつ物処理の現場において処理すべき対象は、汚水のみならず、固形分(ふん、堆肥)や悪臭も存在し、また堆肥を耕地に還元し資源循環の一翼を担うことも処理の一端である。このすべてのプロセスにおいて家畜ふん尿に由来する高濃度の窒素が存在し、大気中へのアンモニアガスや亜酸化窒素ガスの揮散、公共用水域や地下水の窒素汚染の直接、間接的

な原因となる。

堆肥化過程でのアナモックス菌存在の確認報告は無く、脱臭施設における存在の可能性はごく僅かであるが<sup>42)</sup>、耕地における存在の可能性は高い<sup>43)</sup>。将来、これらの農業系物質循環に存在するアナモックス菌を、そのプロセス毎に上手く制御することによって窒素汚染を削減できることを期待する。

## 参考文献

- 1) 押田敏雄, 柿市徳英, 羽賀清典 (2012) 新編 畜産環境保全論, 40.
- 2) 中央環境審議会水環境部会 (第31回) 議事要旨、議事録:  
[http://www.env.go.jp/council/09water/y090-3\\_1a.html](http://www.env.go.jp/council/09water/y090-3_1a.html)
- 3) JÖrdening, H.-J. and J. Winte ed.(2005) *Environmental Biotechnology* (環境生物工学), Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA.
- 4) Tchobanoglous, G., F.L. Burton, and H.D. Stensel (2003) *Wastewater Engineering* 4th edition (廃水工学)
- 5) 和木美代子, 安田知子, 福本泰之, 黒田和孝, 坂井隆宏, 鈴木直人, 鈴木良地, 松葉賢次, 鈴木一好 (2010) 養豚廃水の活性汚泥処理施設から排出される窒素の特性, 水環境学会誌 **33** (4), 33-39.
- 6) Osada, T., K. Haga, and Y. Harada (1991) Removal of nitrogen and phosphorus from swine wastewater by the activated sludge units with the intermittent aeration process (間欠曝気式活性汚泥法による豚舎排水からの窒素、リンの除去), *Water Res.*, **25** (11), 1377-1388.
- 7) 金 主鉉, 酒村哲郎, 千葉信男, 西村 修, 須藤隆一 (1999) 回分式間欠曝気活性汚泥法による豚舎排水の有機物・窒素除去に関するパイロットプラント実験, 水環境学会誌, **22** (12), 990-996.
- 8) Mulder, A., A.A. van de Graaf, L.A. Robertson, and J.G. Kuenen (1995) Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bed reactor (流動床式脱窒反応槽から発見された嫌気性アンモニア酸化反応), *FEMS Microbiol. Ecol.*, **16** (3), 177-183.
- 9) Strous, M., J.J. Heijnen, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten (1998) The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms (成長速度の遅い嫌気性アンモニア酸化微生物研究のための回分式反応槽), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50** (5), 589-596.
- 10) Schmidt, I., O. Sliemers, M. Schmid, E. Bock, J. Fuerst, J.G. Kuenen, M.S.M. Jetten, and M. Strous (2003) New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater (汚水の窒素除去のための微生物処理プロセスの新しい概念), *FEMS Microbiol. Rev.*, **27** (4), 481-492.
- 11) Quan, Z.X., S.K. Rhee, J.E. Zuo, Y. Yang, J.W. Bae, J.R. Park, S.T. Lee, and Y.H. Park (2008) Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor (グラニュール(粒状)汚泥による嫌気性アンモニア酸化(アナモックス)反応槽におけるアンモニア酸化微生物の多様性), *Environ. Microbiol.*, **10** (11), 3130-3139.

- 12) Yamagishi, T., M. Takeuchi, Y. Wakiya, and M. Waki (2013) Distribution and characterization of anammox in a swine wastewater activated sludge facility (豚舎汚水処理施設におけるアナモックス菌の分布と特性), *Water. Sci. Technol.*, **67** (10), 2330-2336.
- 13) Waki, M., T. Yasuda, Y. Fukumoto, K. Kuroda, and K. Suzuki (2013) Effect of electron donors on anammox coupling with nitrate reduction for removing nitrogen from nitrate and ammonium (硝酸とアンモニアから窒素を除去する硝酸還元とアナモックス反応への電子供与体の影響), *Bioresour. Technol.*, **130** 592-598.
- 14) Strous, M., J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten (1999) Key physiology of anaerobic ammonium oxidation (嫌気性アンモニア酸化の鍵となる生理学), *Appl. Environ. Microbiol.*, **65** (7), 3248-3250.
- 15) Kimura, Y., K. Isaka, F. Kazama, and T. Sumino (2010) Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation (嫌気性アンモニア酸化の亜硝酸による阻害), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **86** (1), 359-365.
- 16) Waki, M., T. Tokutomi, H. Yokoyama, and Y. Tanaka (2007) Nitrogen removal from animal waste treatment water by anammox enrichment (アナモックス菌の増殖による畜産汚水からの窒素除去), *Bioresour. Technol.*, **98** (14), 2775-2780.
- 17) Jin, R.C., G.F. Yang, J.J. Yu, and P. Zheng (2012) The inhibition of the Anammox process: A review (アナモックス・プロセスの阻害、総説), *Chem. Eng. J.*, **197** 67-79.
- 18) Anthonisen, A.C., R.C. Loehr, T.B.S. Prakasam, and E.G. Srinath (1976) Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid (アンモニアと亜硝酸による硝化の阻害), *Journal of Water Pollution Control Federation*, **48** (5), 835-852.
- 19) Guven, D., A. Dapena, B. Kartal, M.C. Schmid, B. Maas, K. van de Pas-Schoonen, S. Sozen, R. Mendez, H.J.M. Op den Camp, M.S.M. Jetten, M. Strous, and I. Schmidt (2005) Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria (アンモニア酸化細菌によるプロピオン酸の酸化分解とメタノールによる阻害), *Appl. Environ. Microbiol.*, **71** (2), 1066-1071.
- 20) Isaka, K., Y. Suwa, Y. Kimura, T. Yamagishi, T. Sumino, and S. Tsuneda (2008) Anaerobic ammonium oxidation (anammox) irreversibly inhibited by methanol (アンモニア酸化(アナモックス)のメタノールによる不可逆的阻害), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **81** (2), 379-385.
- 21) Dapena-Mora, A., I. Fernandez, J.L. Campos, A. Mosquera-Corral, R. Mendez, and M.S.M. Jetten (2007) Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production (バッチ式窒素ガス発生試験法に基づくアナモックス・プロセスの活性及び阻害効果の評価), *Enzyme Microb. Technol.*, **40** (4), 859-865.
- 22) Kimura, Y. and K. Isaka (2014) Evaluation of inhibitory effects of heavy metals on anaerobic ammonium oxidation (anammox) by continuous feeding tests (連続投入式試験法による嫌気性アンモニア酸化(アナモックス)の重金属阻害効果の評価), *Appl.*

- Microbiol. Biotechnol.*, **98** (16), 6965-6972.
- 23) 古川憲治、藤井隆夫、徳富孝明、井坂和一 (2004) 実用化が見えてきた? anammox 反応, 水環境学会誌 **27** (7), 442-462.
- 24) Yasuda, T., M. Waki, I. Yoshinaga, T. Amano, K. Suzuki, Y. Tanaka, T. Yamagishi, and Y. Suwa (2011) Evidence of exponential growth of an anammox population in an anaerobic batch culture (嫌気性バッチ式培養によるアナモックス菌の指数級数的増殖の確認), *Microbes. Environ.*, **26** (3), 266-269.
- 25) Tsushima, I., Y. Ogasawara, T. Kindaichi, H. Satoh, and S. Okabe (2007) Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors (高効率の嫌気性アンモニア酸化(アナモックス)バイオフィルム反応槽の開発), *Water Res.*, **41** (8), 1623-1634.
- 26) Zhu, G.B., M.S.M. Jetten, P. Kuschik, K.F. Ettwig, and C.Q. Yin (2010) Potential roles of anaerobic ammonium and methane oxidation in the nitrogen cycle of wetland ecosystems (湿地生態系の窒素循環における嫌気性アンモニア酸化によるメタン酸化の可能性), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **86** (4), 1043-1055.
- 27) Terada, A., S. Zhou, and M. Hosomi (2011) Presence and detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and appraisal of anammox process for high-strength nitrogenous wastewater treatment: a review (高濃度窒素含有汚水の処理における嫌気性アンモニア酸化(アナモックス)の存在と検出及びアナモックス・プロセスの評価: 総説), *Clean Technologies and Environmental Policy*, **13** 759-781.
- 28) Waki, M., T. Yasuda, K. Suzuki, T. Sakai, N. Suzuki, R. Suzuki, K. Matsuba, H. Yokoyama, A. Ogino, Y. Tanaka, S. Ueda, M. Takeuchi, T. Yamagishi, and Y. Suwa (2010) Rate determination and distribution of anammox activity in activated sludge treating swine wastewater (養豚廃水処理施設汚泥のアナモックス活性の測定), *Bioresour. Technol.*, **101** (8), 2685-2690.
- 29) 和木美代子, 安田知子, 福本泰之, 黒田和孝, 川村英輔, 鈴木良地, 森岡理紀, 山岸昂夫, 諏訪裕一 (2011) 酪農廃水処理施設におけるアナモックス活性, 第45回日本水環境学会年会講演集, 677.
- 30) 和木美代子 (2014) 畜産廃水処理施設に存在するアナモックス菌とその利用の可能性, 水環境学会誌 **37** (9), 325-328.
- 31) 和木美代子, 安田知子, 鈴木一好, 福本泰之, 黒田和孝 (2009) アナモックス反応を用いた畜産廃水活性汚泥処理水の窒素除去に関する研究, 日本水処理生物学会 第46回大会 講演要旨, p50.
- 32) Lackner, S., E.M. Gilbert, S.E. Vlaeminck, A. Joss, H. Horn, and M.C.M. van Loosdrecht (2014) Full-scale partial nitrification/ anammox experiences - An application survey (実規模における部分亜硝酸化/アナモックス処理-実用調査), *Water Res.*, **55** 292-303.
- 33) Peng, Y.Z. and G.B. Zhu (2006) Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway (亜硝酸反応経路を経由する硝化・脱窒による生物学的窒素除去), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73** (1), 15-26.
- 34) Isaka, K., T. Sumino, and S. Tsuneda (2008)

- Novel nitrification process using heat-shocked nitrifying bacteria entrapped in gel carriers (熱ショックを与えたゲル状担体固定化硝化菌を用いた新規な亜硝酸化プロセス), *Process Biochem.*, **43** (3), 265-270.
- 35) Sliemers, A.O., N. Derwort, J.L.C. Gomez, M. Strous, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten (2002) Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor (一槽式反応槽を用いた亜硝酸による完全独立栄養窒素除去), *Water Res.*, **36** (10), 2475-2482.
- 36) Lieu, P.K., R. Hatozaki, H. Homan, and K. Furukawa (2005) Single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) for treatment of synthetic landfill leachate (埋立地浸出合成排水処理のためにアナモックスと部分亜硝酸化を利用した一槽式窒素除去 (SNAP)), *Japanese journal of water treatment biology*, **41** (2), 103-112.
- 37) Kuai, L.P. and W. Verstraete (1998) Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system (酸素を制限した独立栄養硝化-脱窒によるアンモニウム塩除去), *Appl. Environ. Microbiol.*, **64** (11), 4500-4506.
- 38) Zhong, Y.M. and X.S. Jia (2013) Simultaneous ANAMMOX and denitrification (SAD) process in batch tests (バッチ試験によるアナモックスと脱窒素の同時反応プロセス (SAD)), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **29** (1), 51-61.
- 39) Takekawa, M., G. Park, S. Soda, and M. Ike (2014) Simultaneous anammox and denitrification (SAD) process in sequencing batch reactors (回分式活性汚泥法によるアナモックスと脱窒素の同時反応プロセス (SAD)), *Bioresour. Technol.*, **174** 159-166.
- 40) Waki, M., T. Yasuda, K. Suzuki, M. Komada, and K. Abe (2013) Rate Determination of ANAMMOX Activity in a Constructed Wetland, *The 2nd International Anammox symposium Proceedings*, p.63-64.
- 41) 和木美代子, 安田知子, 福本泰之, 原田純, 張 曉萌, 泉本隼人, 井上 京, 家次秀浩, 菅原保英, 青木和彦, 加藤邦彦 (2014) 畜産系有機性排水を浄化するハイブリッド伏流式人工湿地におけるアナモックス菌の分布, 第51回水処理生物学会, p48.
- 42) Haneke, J., N.M. Lee, T.W. Gaul, and H.F.A. Van den Weghe (2010) Characterization of microbial communities in exhaust air treatment systems of large-scale pig housing facilities (大規模豚舎施設の排気処理システムにおける微生物コミュニティの特徴), *Water Sci. Technol.*, **62** (7), 1551-1559.
- 43) Shen, L.D., S. Liu, L.P. Lou, W.P. Liu, X.Y. Xu, P. Zheng, and B.L. Hu (2013) Broad distribution of diverse anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in Chinese agricultural soils (中国の農耕地土壌における多様な嫌気性アンモニア酸化菌の広範囲な分布), *Appl. Environ. Microbiol.*, **79** (19), 6167-6172.