

窒素除去プロセスにおける亜硝酸型硝化を誘導する効果的な因子の探索

水圏土壌環境制御研究室 阿部 憲一
指導教員 大橋 晶良 教授

1. はじめに

亜硝酸型硝化 (Nitritation) は ANAMMOX をはじめとする低コスト型窒素除去プロセスの前段処理として必要不可欠であるため、安定した制御方法の確立が急がれている。既往の知見より高アンモニア濃度および低 DO 濃度が主要な制御因子だと考えられており、また最近では塩分濃度に関する報告もあるが、DO 濃度以外の各報告については大きな差違があり不明瞭な点が多い。本研究では①アンモニア濃度が亜硝酸型硝化に及ぼす影響と②塩分濃度の効果の有無を連続処理実験により明らかにした。また分子生物学的手法を用いて微生物群集の経時的な変遷を追跡した。

2. 実験方法

2-1. 連続処理実験によるアンモニア濃度の影響評価

容積 3 L のエアリフト型リアクターに 3 mm 辺スポンジ担体を充填し (充填率約 30%), 下水処理場の返送汚泥を殖種したものを 3 台用いた (運転温度: 35°C, 30°C, 25°C)。供給廃水には硫酸アンモニウムを窒素源とする無機人工廃水を用い、段階的にアンモニア流入負荷を上げて供給した (流量一定として 0.25, 0.5, 1, 2 gNH₄⁺-N·L⁻¹·day⁻¹)。pH は 7.5 ± 0.1 として 1M NaOH の添加により制御した。DO 濃度は曝気量を調整して 4 mg O₂·L⁻¹ 以上¹⁾で制御することにより、亜硝酸塩の蓄積に対する DO 濃度の影響を排除した。

2-2. 連続処理実験による塩分濃度の効果の検証

前述 (2-1) の実験終了時からアンモニア流入負荷を 1gNH₄⁺-N·L⁻¹·day⁻¹ に変更し (流量一定)、処理水質が安定するまで運転を続けた。その後、NaCl を添加した人工廃水を供給して、塩分濃度による亜硝酸型硝化の誘導効果について検証した。NaCl 濃度は 2 週間毎に 0, 150, 300, 450 mM と、最終的には海水と同程度の塩分濃度まで上げた。温度、pH、DO 濃度については前述 (2-1) の実験条件を継続した。

2-3. スポンジ担体内の微生物群集解析

アンモニア流入負荷 0.5 g NH₄⁺-N·L⁻¹·day⁻¹ (完全硝化時) および 2 g NH₄⁺-N·L⁻¹·day⁻¹ (亜硝酸塩蓄積時)、NaCl 濃度 0 mM および 450 mM で運転した各フェーズ終了時におけるスポンジ担体内のバイオマスに対して、Bacteria の 16S rRNA 遺伝子に基づいたクローン解析を行った (プライマーセットは EUB338F-mix. と UNIV1500Rm.)。

3. 実験結果および考察

3-1. アンモニア濃度が亜硝酸型硝化に及ぼす影響

アンモニア流入負荷の増加 (1 gNH₄⁺-N·L⁻¹·day⁻¹ 以上) に伴いリアクター内にアンモニア性窒素の残存および亜硝酸性窒素の蓄積が確認された。亜硝酸性窒素の濃度比はアンモニア性窒素と温度が高まるにつれ増加する傾向にあったが (図 1 左)、Anthonisen らの式 2) を用いて算出した遊離アンモニア濃度と整理することで両者には比例関係に近い強い相関性がみられた (図 1 右)。このことより亜硝酸型硝化にはリアクター内に残存するアンモニウムイオン (NH₄⁺) 濃度よりも遊離アンモニア濃度 (NH₃) が大きく影響していることが示された。また 8 mg NH₃-N·L⁻¹ 付近における亜硝酸性窒素の濃度比は 0.8 以上となり、良好な亜硝酸型硝化の進行が確認された。

16S rRNA 遺伝子に基づいたクローン解析からは運転温度に関わらず、完全硝化時には *Nitrospira* cluster 1

に属する亜硝酸酸化細菌 (NOB)の、亜硝酸塩蓄積時には *Nitrosomonas europaea* lineage に属するアンモニア酸化細菌 (AOB)のクローンが最も高頻度に検出された。また AOB は *N. oligotropha* から *N. europaea* へと、NOB は *Nitrospira* sp. から *Nitrobacter* sp. へと優占菌種の変遷がみられたが、これには各細菌のアンモニア性窒素および亜硝酸性窒素に対する基質親和性が大きく影響していると考えられる。

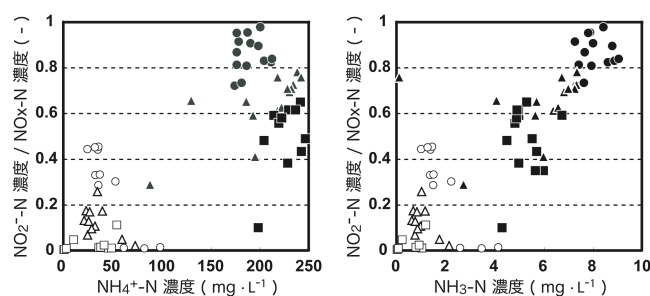


図1 亜硝酸塩蓄積に対するアンモニア性窒素と遊離アンモニアの効果
アンモニア流入負荷 1 g NH₄⁺-N·L⁻¹·Day⁻¹:白色, 2 g NH₄⁺-N·L⁻¹·Day⁻¹:黒色,
35°C: ○, ●, 30°C: △, ▲, 25°C: □, ■.

3-2. 塩分濃度による亜硝酸型硝化の誘導効果

塩分濃度による亜硝酸型硝化の誘導効果については、処理システムから微生物レベルでの実験においてまで可否が議論されている。本実験では NaCl 濃度の増加に伴い残存するアンモニア性窒素濃度の増加はみられたが、亜硝酸性窒素の蓄積は確認されなかった (図2左: 35°C, 右: 25°C)。この結果より AOB は NOB に比べ塩分濃度に対して虚弱であり³⁾、塩分濃度による直接的な亜硝酸型硝化の誘導効果はないことが示された。塩分濃度の効果に肯定的な報告

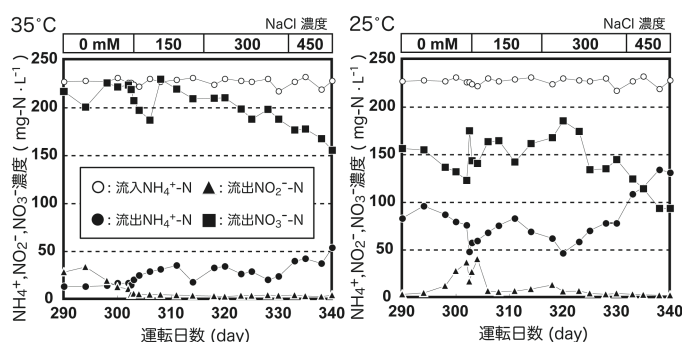


図2 NaCl 添加期間におけるリアクター内の各窒素成分の経日変化

⁴⁾に対しては、塩分濃度の増加に伴う酸素の溶込み量の減少による低 DO 濃度状態、または AOB の活性低下に伴うアンモニア性窒素の残存量の増加 (すなわち遊離アンモニア濃度の増加)などが主要因となり、亜硝酸型硝化が誘導されたと推測できる。

高塩濃度 (NaCl 濃度 450 mM)では *N. europaea europaea* lineage (AOB)および *Nitrobacter* sp. と *Nitrospira* sp. (共に NOB)に属するクローンがそれぞれ検出されたが、いずれのリアクターにおいても NOB の検出頻度が AOB を上回っていた。また各クローンの塩基配列は NaCl 無添加時に検出されたものとは明らかに異なっており、塩分濃度により微生物群集は大きく変遷することが示された。

4. まとめ

- (1) 亜硝酸型硝化の誘導にはアンモニア性窒素や温度を単独で制御するよりも、これらの複合的影響で生じる遊離アンモニアを指標として制御する方が効果的であることを示した。
- (2) 海水程度の塩分濃度でも亜硝酸塩の蓄積は起きなかったことから、塩分濃度に亜硝酸型硝化の誘導効果はないことが判明した。
- (3) リアクター内の基質濃度や塩分濃度の変化に伴い、アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌の種類や存在割合が大きく変遷すること示した。

<参考文献>

- 1) Oyanedel-Craver et al., (2005) *Environ. Eng. Sci.*, **22**, pp.450.
- 2) Anthonisen et al., (1976) *JWPCF*, **48**, pp.835.
- 3) Moussa et al., (2006) *Water Res.*, **40**, pp.1377.
- 4) Cui et al., (2006) *Wat. Sci. Tech.*, **53**, pp.115.