

低分子有機酸存在下の ANAMMOX の活性評価

広島大学大学院	学生会員	○栗田	貴宣
広島大学大学院	学生会員	百合	昭太
広島大学大学院	正会員	金田一	智規
広島大学大学院	正会員	尾崎	則篤
広島大学大学院	正会員	大橋	晶良

1. はじめに

排水中に含まれる窒素を微生物除去する場合に有効なプロセスの一つに嫌気性アンモニア酸化 ANAMMOX がある。この ANAMMOX 反応は、 $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ で表され、アンモニア性窒素と亜硝酸性窒素から直接窒素ガスを生成する微生物反応であり、現在広く採用されている硝化・脱窒による窒素除去よりも大幅なコスト削減が可能となる。

メタン発酵や嫌気性消化後の脱離液は有機物に比べて窒素の割合が高く、ANAMMOX を用いて窒素除去を行うことが望ましいが、脱離液中に含まれる有機物質の影響は明らかとなっていない。そこで本研究では有機物質の中でも低分子有機物質に着目し、低分子有機物質が ANAMMOX 活性に対してどのような影響があるかを同化・異化代謝の 2 つの観点から評価することを目的とする。

2. 実験方法

(1)ANAMMOX 細菌の培養

ANAMMOX 細菌の培養は生物膜リアクターを用いて行い、生物膜担体として不織布を用いた上向流カラム式リアクターを採用した。カラムの仕様は内径 45 mm、長さ 130 mm、断面積 15.90 cm²、容積 206.8 mL である。HRT は 1.3h で運転を行った。このリアクターに人工無機培地を流入させ、リアクターの除去性能の上昇に合わせて徐々に流入窒素負荷を上昇させることで運転した。流入・流出の各態窒素濃度はイオンクロマトグラフィーを用いて測定し、リアクターの除去性能評価として窒素除去速度(流入全窒素濃度から流出全窒素濃度を引いたものを HRT で除したものを)を定義した。

(2)回分培養における窒素濃度

ANAMMOX 細菌を用いて回分培養を行う際に亜

硝酸性窒素の濃度が低いと回分培養の途中で枯渇してしまい、また高すぎると亜硝酸による阻害が発生する¹⁾ことから適切な窒素濃度を決定する必要がある。そこで本研究ではアンモニア、亜硝酸性窒素濃度を 50、75、100、150、200、250 mg-N L⁻¹ で 24 時間の回分培養を行い、アンモニア、亜硝酸性窒素の変化量から回分培養に用いる培地の各態窒素濃度を決定した。

(3)異化代謝活性測定

本研究ではアンモニア除去量を ANAMMOX の異化代謝活性と定義し、有機物質が含まれる環境中での ANAMMOX の異化代謝活性の測定を行った。異化代謝活性の測定は比較的低分子であるギ酸、酢酸、プロピオン酸を添加した回分培養を行い、4 または 24 時間の培養後に各態窒素濃度を測定した。添加したギ酸、酢酸、プロピオン酸の濃度は、10、25、50 mM である。さらに NO₃⁻ を 5 mM 添加するものとしないので培養を行った。NO₃⁻ の添加は、プロピオン酸が存在する場合に NO₃⁻ を添加して培養を行うと ANAMMOX 活性が向上するという興味深い報告²⁾があったためである。

各態窒素濃度の測定結果からアンモニアの減少量を算出し、アンモニアの減少量から活性評価を行った。ここで活性評価の指標としてアンモニアの減少量を用いた理由としては、嫌気条件下では亜硝酸の減少には脱窒によるものも考えられるが、アンモニアの減少は ANAMMOX のみに関与していると考えられるからである。

3. 結果と考察

(1)ANAMMOX リアクターの窒素除去性能

ANAMMOX 細菌の培養を行うとともに運転中のリアクターの窒素除去性能を測定した結果を図 1 に

キーワード 嫌気性アンモニア酸化(ANAMMOX)、窒素除去速度、低分子有機物質、同化・異化代謝

連絡先 〒739-8527 広島県東広島市鏡山 1-4-1 広島大学院工学研究科 環境保全工学研究室 TEL 082-424-5718

示す。運転開始から順調に窒素除去速度は増加し、129 日目で $8.6 \text{ kg-TN m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ を達成し、目視でも明らかにリアクター内の細菌の増殖が確認できた。その後大きな窒素除去速度の低下が観察されたが、これは回分培養のためにバイオマスを大量に引き抜いたことによるものと考えられる。

(2)回分培養における窒素濃度

亜硝酸濃度と total 窒素除去量の関係を表したものを図 2 に示す。亜硝酸濃度を増加させると 24 時間の回分培養では 100 mM までは亜硝酸が枯渇し、200 mM 以上では亜硝酸による阻害が確認された。150 mM では亜硝酸の枯渇は見られず、阻害の影響もないと考えられることから 24 時間の回分培養には 150 mM が適当であると考えられる。

(3)異化代謝活性測定

4 時間の回分培養を行った後、イオンクロマトグラフを用いて各態窒素濃度を測定した結果を図 3、4 に示す(ここでは酢酸を添加した場合のものを記載した)。硝酸性窒素の添加に関わらず 50 mM の酢酸の添加でも 6 割程度の ANAMMOX 活性があることが示唆された。また 4 時間の培養では各窒素濃度の差が確認できなかったことから培養時間をより長くし、かつ亜硝酸が枯渇しない条件で培養を行う必要があると考えられる。

4. 今後の課題と予定

今回は異化代謝活性について検討を行ったが、本実験で用いた各有機物質が同化代謝に及ぼす影響についても検討する必要がある。この同化代謝の評価は ^{14}C の無機炭素の取り込み量を測定することで行う。さらに本実験で得られた回分培養の結果をふまえてカラム実験の条件を検討し、有機物質を含む排水を長期間リアクターに通水させた際の影響についても検討する。

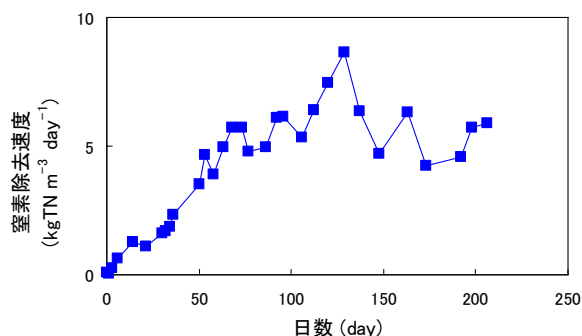


図 1 窒素除去速度の経時変化

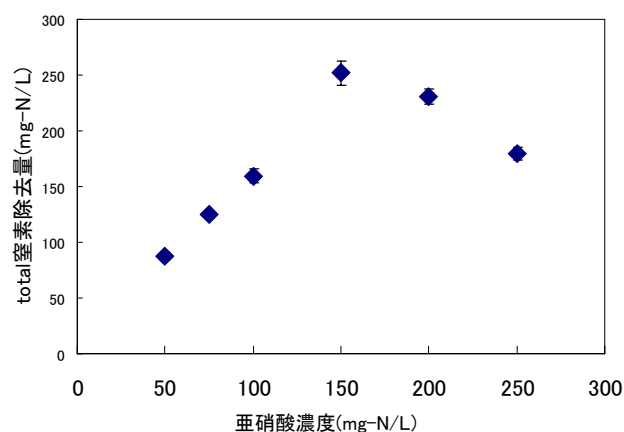


図 2 亜硝酸濃度と total 窒素除去量の関係

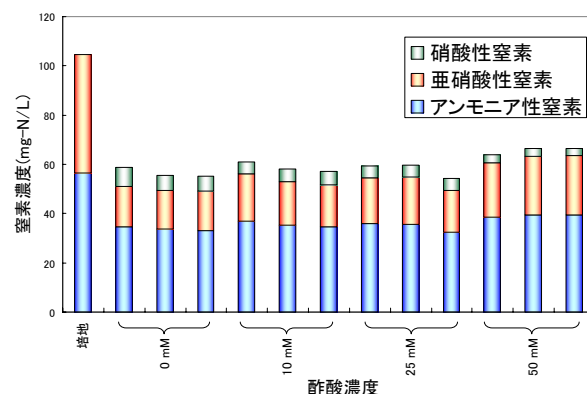


図 3 酢酸添加時の各態窒素濃度(硝酸なし)

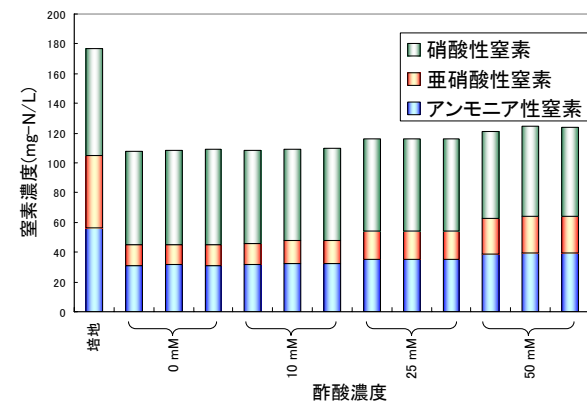


図 4 酢酸添加時の各態窒素濃度(硝酸あり)

参考文献

- 1) Mora et al. (2007) *Enzyme Microb. Technol.*, **40**, 859-865.
- 2) Kartal et al. (2007) *Syst. Appl. Microb.*, **30**, 39-49.

謝辞

本研究の一部は、国土交通省「建設技術研究開発助成制度」、文部科学省科学技術開発補助金「若手研究 B」の支援を受けて実施されました。ここに記して感謝の意を表します。