

ANAMMOX グラニューールの物理的性質および機能

北海道大学大学院 学 ○山田陽平、三浦佑己、曹順子、正 佐藤久、正 岡部聡

1. はじめに

嫌気性アンモニア酸化(ANAMMOX)反応は、無酸素条件下においてアンモニア性窒素(NH_4^+)を電子供与体、亜硝酸性窒素(NO_2^-)を電子受容体として、両化合物を窒素ガスへ変換する反応である。ANAMMOX反応を廃水の窒素除去プロセスに適用できれば、硝化脱窒法に比べて酸素曝気に伴うエネルギー、有機物供給コスト、余剰汚泥発生量の削減が可能となる。このためにはANAMMOX細菌の生態学的知見を集積することが不可欠である。しかしながら、倍加時間が約11日であるなど集積培養が困難なANAMMOX細菌の生態学的知見は極めて少ない。本研究室ではANAMMOX細菌の集積培養に成功し、超高速(総窒素(T-N)除去速度として31.2 g-N/L/day)のANAMMOX生物膜リアクターを構築した¹⁾。しかしながら、このリアクターにおいても生物膜深層に存在するANAMMOX細菌は十分に活性を發揮していなかった²⁾。この結果は、生物膜を薄くすることにより更に処理速度を高められることを示唆している。しかしながら、このリアクターでは生物担体として不織布を用いており、生物膜厚のコントロールは極めて難しいと考えられる。本リアクターの運転を継続したところ、剥離した生物膜がリアクター内でグラニューールとなった。微生物グラニューールはリアクター内の流動条件を変更することにより比較的容易にサイズをコントロールすることができる³⁾。そこで本研究ではANAMMOXグラニューールリアクターを構築することを試みた。さらに、ANAMMOXグラニューールの物理的性質および内部のANAMMOX活性を*in situ*で測定した。

2. 実験方法

本研究ではANAMMOXグラニューールリアクターとしてガスリフトリアクター(GLR)を用いた。GLRは直径5.5cm、高さ60cmの円筒形であり、上部に処理水、発生ガス、および浮上したグラニューールを分離するための装置を備えている。有効容積は約3.1Lである。ANAMMOX生物膜リアクターに形成されたグラニューールを100mL採取しGLRに投入した。人工廃水²⁾はGLR下部から流入させた。リアクター内水温は38°Cに保った。人工廃水の NH_4^+ および NO_2^- 濃度は処理速度に対応させて変更した。運転初期はガスを通気しなかった。ANAMMOX反応が見られ始めた運転開始21日目から、発生したガスをGLR下部から通気することでリアクター内を流動させた。投入したグラニューールの物理的性質(直径、SS、VSS、沈降速度)を求め、グラニューール密度を算出した。さらに、微小電極を用いてグラニューール内の NH_4^+ 、 NO_3^- 、pH濃度分布を測定し、*in situ* ANAMMOX活性を解析した。測定方法はSatoh *et al.*⁴⁾の方法に準拠した。測定用培地および測定条件は人工廃水と同様とした。

3. 結果および考察

3.1. リアクターの性能

Fig. 1にGLRのT-N負荷および除去速度を示す。運転開始から15日後、0.96 g-N/L/dayのT-N負荷に対してT-N除去速度は0.57 g-N/L/dayに達した。循環を始めた21日以降も除去速度は安定していた。負荷および除去速度がANAMMOX生物膜リアクター(26.0 g-N/L/day)⁶⁾に比べて低いのは、GLR体積あたりのバイオマス量(1.2g-VSS/L)が少ないためであり、今後バイオマス量が増大すれば負荷および除去速度を高めることは可能と考えられる。既往の研究と比活性(VSSあたりの活性)で比較すると、本研究の比活性(最大で0.49 g-N/g-VSS/day)はANAMMOX生物膜リアクター⁶⁾(1.6 g-N/g-VSS/day)の1/3程度であったが、SBRのANAMMOXグラニューール(0.4 g-N/g-VSS/day)³⁾よりも高かった。

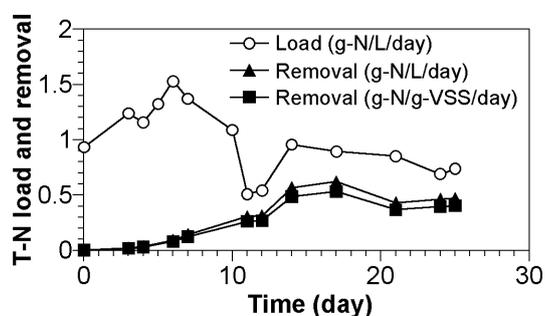


Fig. 1 リアクターの総窒素負荷および除去速度

キーワード: ANAMMOX、グラニューール、ガスリフトリアクター、グラニューール性質、微小電極

連絡先: 〒060-8628 札幌市北区北13条西8丁目 北海道大学工学部 衛生環境工学コース TEL:011-706-6277

3. 2. グラニューールの物理的性質

グラニューールの直径と沈降速度(平均±標準偏差)の関係を Fig. 2 に示す。グラニューールの沈降速度は、直径約 1.0mm では約 0.7 ± 0.2 m/min であり、直径が増大するにつれて増大し、直径約 5.0mm では約 1.9 ± 0.2 m/min であった (n=6)。各グラニューールのレイノルズ数が 13 から 179 であったので、後述したグラニューールの平均密度を用いて Allen の式から沈降速度を算出した。計算値と実測値 (Fig. 2 中の実線) の差は直径が大きい場合により顕著であった。この結果は、直径の大きなグラニューールほど密度が低いことを示している。また、計算値が実測値を上回ったことから、グラニューールの平均密度を過大評価した、または直径を過小評価したと考えられた。沈降試験終了後、691 個のグラニューールをランダムに採取し、画像解析ソフト (ImageJ)⁷⁾ を用いて直径を測定した。直径の平均値、最大値、最小値は 1.1 ± 0.7 mm、5.7mm、0.16mm であった。直径を 0.5mm 毎に区分すると、42% のグラニューールが 0.5~1.0mm の範囲に含まれており、1.0~1.5mm (29%)、0.15~0.5mm (11%)、1.5~2.0mm (10%) の範囲の順にグラニューール数が多かった。すなわち、直径 2.0mm 以下のグラニューールが全グラニューールの 92% を占めた。さらに、SS、VSS を測定しグラニューール密度を算出した。グラニューール体積当たりの SS は 41.1 ± 0.6 mg/cm³ (n=3) であった。この結果から、グラニューールの密度を 1.041g/cm³ とした。VSS/SS 比は $90.3 \pm 0.7\%$ (n=3) であった。

3. 3. グラニューール内の *in situ* ANAMMOX 活性

運転開始から 15 日後にグラニューールを採取し、微小電極を用いて内部の NH₄⁺、NO₃⁻、pH 濃度分布を測定した (Fig. 3)。培地中で約 7,000μM であった NH₄⁺ は、グラニューール内で急激に減少し、深さ 500μm の地点では約 3,800μM となり、それ以深ではさほど低下しなかった。NO₃⁻ は表面から徐々に増大し、深さ 500μm の地点で約 1,000μM となり、それ以深ではほぼ一定であった。pH は表面から深さ 500μm の地点まで増大した。以上の結果から、ANAMMOX 反応は主にグラニューール表面から深さ 500μm の領域で生じていることが明らかとなった。深部に活性が見られなかった理由として、基質 (NO₂⁻) または栄養源の律速、pH または阻害物質の蓄積などが考えられたが、原因の解明は今後の研究課題である。

4. 結論

本研究ではガスリフト型の ANAMMOX グラニューールリアクターを構築した。グラニューールの比 ANAMMOX 活性は、生物膜よりは小さかったものの他のグラニューールを上回った。グラニューールは沈降速度が高く、リアクター内に容易にバイオマスを保持できた。微小電極を用いた測定から、ANAMMOX 反応は主にグラニューール表層で生じていることが明らかとなった。

参考文献

- 1) 高橋ら (2007) 環境工学研究論文集、**44**, 201-206.
- 2) Kindaichi *et al.* (2007) *Appl. Environ. Microbiol.*, **73** (15), 4931-4939.
- 3) Arrojo *et al.* (2006) *J. Biotechnol.*, **123**, 453-463.
- 4) Satoh *et al.* (2007) *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**(22), 7300-7307.
- 5) Cho *et al.* (2008) 第42回日本水環境学会年會講演集、187.
- 6) Tsushima *et al.* (2007) *Water Res.*, **41**, 1623-1634.
- 7) <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>

謝辞

本研究の一部は NEDO「微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発」、国交省「建設技術研究開発助成制度」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。

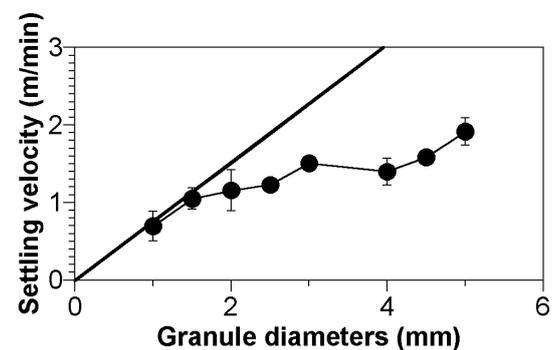


Fig. 2 グラニューールの直径と沈降速度の関係

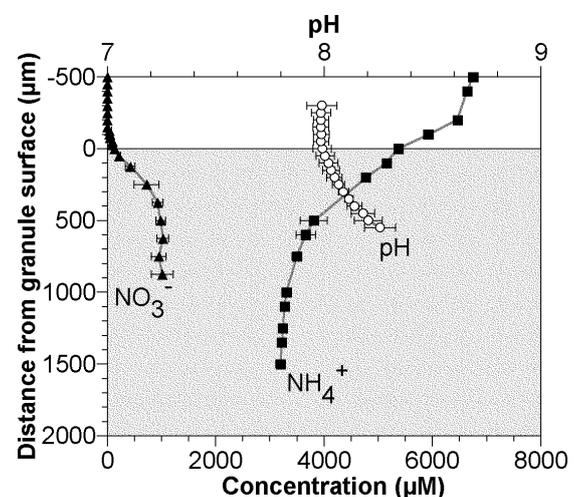


Fig. 3 グラニューール内の NH₄⁺、NO₃⁻、pH 濃度分布