

## DHS リアクタを利用した亜硝酸生成プロセスにおける塩分と HRT の影響

木更津高専 学生会員 ○松林 未理 池田 直生 正会員 大久保 努 上村 繁樹  
 東北大院・工 学生会員 竹村 泰幸 名取 哲平 正会員 原田 秀樹  
 広島大院・工 学生会員 阿部 憲一 正会員 大橋 晶良

## 1. はじめに

省資源・高効率型の脱窒プロセスである嫌気性アンモニア酸化プロセス (Anammox) を適用する際には、その前段処理として、アンモニア塩の酸化を亜硝酸塩で留める、亜硝酸化プロセスが不可欠である。

我々の既往の研究<sup>1)</sup>では、安水を模したフェノールおよびアンモニア性窒素 (TAN : Total Ammonia Nitrogen) を主とし、高塩分を含む人工排水を処理したところ、最終処理水において亜硝酸性窒素 ( $\text{NO}_2^-$ -N) が優先する現象を確認した。塩分制御による亜硝酸生成プロセスを構築できれば、塩分含有廃水への適用は容易であり、その他の廃水に対しても塩分調節には安価である NaCl を用いればよい。そこで、本研究では、無曝気の好気処理が可能である下降流懸垂型スポンジ (DHS : Down-flow Hanging Sponge) リアクタを用いた亜硝酸生成プロセスを目的とし、塩分制御による亜硝酸生成の誘導効果の検証を行った。

## 2. 実験装置および方法

DHS リアクタは、三角柱スポンジを高さ 2 m のアクリル板に 5 mm 間隔で 60 個 (スポンジ容量 : 240  $\text{cm}^3$ ) 貼り付けたものとし、HRT=2 時間、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  : 100  $\text{mg-N/L}$  を単一基質とした無機性人工廃水の処理を行った。塩分の亜硝酸生成の誘導効果を検証するため、基質中の塩分に NaCl を用いて Phase1 から Phase7 まで段階的に増加させ、アンモニア酸化性状の観察を行った。水質測定項目は、TAN,  $\text{NO}_2^-$ -N, 硝酸性窒素 ( $\text{NO}_3^-$ -N) とした。また、塩分変化に伴う硝化細菌叢を調査するため、Phase1, 4, 7 のリアクタ上部と下部から採取したスポンジ汚泥 (計 6 サンプル) を対象に、Bacteria の 16SrRNA 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- Univ1500R)。各サンプル共に 96 クロ

ーンずつ塩基配列を決定し、BLAST を用いて相同性検索を行った。さらに亜硝酸生成に対する HRT の影響を検討するために、1~4 時間の間で HRT を制御し、安定した亜硝酸の生成が維持されるかどうかの検証を行った。

## 3. 実験結果および考察

## 3. 1 塩分の増加による検証

リアクタの処理水の窒素の経日変化を図 1 に示す。なお、Phase1 にした日を 0 day とした。Phase3 後半以降、塩分の増加とともに、徐々に処理水中の  $\text{NO}_2^-$ -N の蓄積が進行する一方で、 $\text{NO}_3^-$ -N は減少する傾向が見られた。特に、Phase7 (25g-Cl/L) において、 $\text{NO}_3^-$ -N の生成はほぼ完全に阻害され、全無機性窒素濃度に対する  $\text{NO}_2^-$ -N 濃度の割合が  $87.6 \pm 2.4\%$  と最も高くなった (図 2)。その際、流入負荷  $1.2 \pm 0.1 \text{ kg NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$  に対して、亜硝酸生成速度は、 $0.9 \pm 0.1 \text{ kg NO}_2\text{-N/m}^3/\text{d}$  を記録した。クローン解析で検出された、アンモニア酸化細菌 (AOB) および亜硝酸酸化細菌 (NOB) に属するクローンの近縁種と相同性および検出頻度を表 1 に示す。AOB および NOB の塩耐性に起因した菌叢遷移が観察された。AOB に関しては、*Nitrosomonas europaea* 系統群に近縁なクローンである NSOM-1 が各塩分において高頻度に検出された。また 15, 25 g-Cl/L において、0-Cl/L には検出されなかった *Nitrosococcus mobilis* 系統群に近縁である NSOM-3 が検出された。両系統群ともに塩耐性の高い AOB として知られているため、高塩分条件下においても TAN 酸化を担っていたと考えられる。NOB に関しては、0 g-Cl/L において *Nitrospira* に属する NSPI-1 が高頻度に検出されたが、塩分増加後では検出頻度が著しく低下した。一方で、塩分増加後においては *Nitrobacter* に属する NBAC-2 の検出頻度が高くなる傾向が見られ、塩分によって NOB の優占種

キーワード DHS, 亜硝酸生成, 塩分, HRT

連絡先 (上村) 〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1 木更津高専環境都市工学科 TEL 0438-30-4152

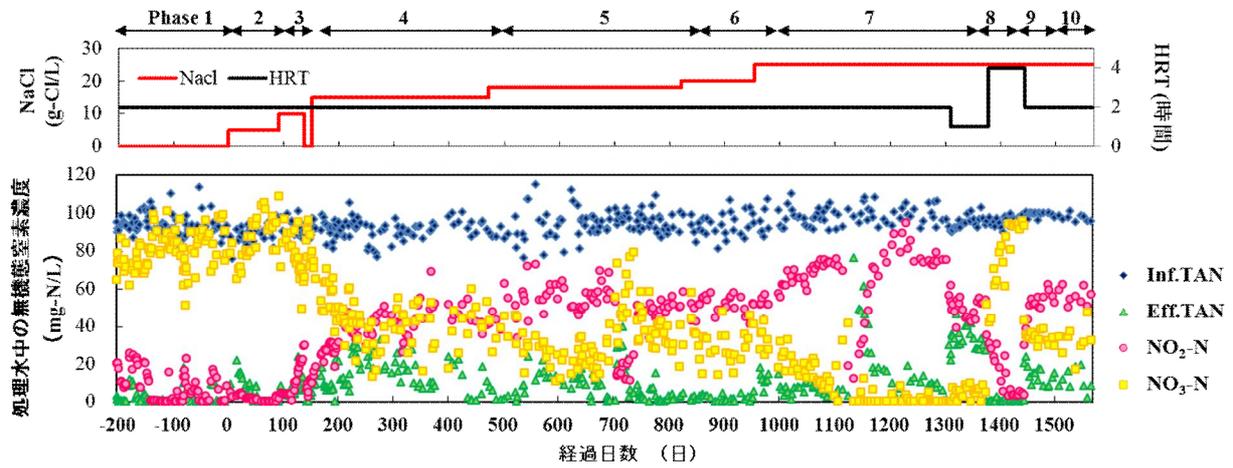


図1 連続実験結果

表1 クローン解析結果

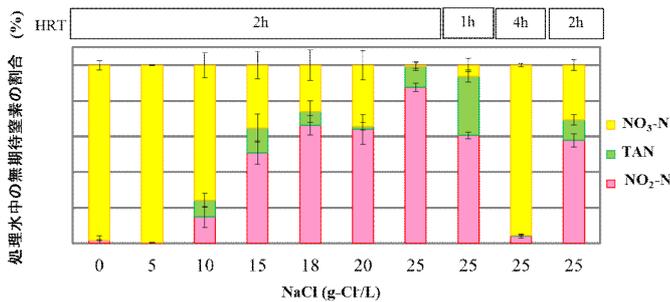


図2 窒素形態の成分比率

Clone	Closest related species (Accession No.)	Identity (%)	Percentage of total clones (%)							
			0 g-Cl/L		15 g-Cl/L		25 g-Cl/L			
			Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower		
<i>Nitrosomonas europaea</i> -lineage										
NSOM-1	<i>Nitrosomonas</i> sp. ENI-11 (AB079053)	99	34	8	13	10	15	31		
NSOM-2	<i>Nitrosomonas</i> sp. R5c47 (AF386749)	99	2	-	1	-	-	-		
<i>Nitrosococcus mobilis</i> -lineage										
NSOM-3	<i>Nitrosomonas</i> sp. BF16c52 (AF386747)	99	-	-	4	8	8	2		
<i>Nitrosomonas marina</i> -lineage										
NSOM-4	<i>Nitrosomonas</i> sp. R7c140 (AF386753)	99	1	4	-	1	-	-		
<i>Nitrospira</i> Sublineage I										
NSPI-1	<i>Nitrospira</i> sp. strain RC25 (Y14639)	99	-	27	1	-	-	-		
<i>Nitrospira</i> Sublineage IV										
NSPI-2	<i>Nitrospira marina</i> Nb-295 (X82559)	99	-	-	-	-	-	1		
<i>Nitrobacter</i>										
NBAC-1	<i>Nitrobacter</i> sp. AB3 (AM292291)	99	-	2	-	-	-	-		
NBAC-2	<i>Nitrobacter winogradskyi</i> R1.30 (AM286389)	99	-	-	2	5	3	7		
<i>Nitratireductor</i>										
NRDC-1	<i>Nitratireductor aquibidomus</i> NL21 (AF534573)	99	-	-	3	-	5	4		
NRDC-2	<i>Nitratireductor</i> sp. CL-SC22 (HQ176466)	100	-	-	-	1	2	-		

が遷移したことが示唆された。最も亜硝酸生成が進んだ 25 g-Cl/L に着目してみると、処理水中の NO<sub>3</sub>-N 濃度が低いにもかかわらず、リアクタの上部および下部から NBAC-2 のクローンが検出されている。このことから、本研究で高塩分条件下において亜硝酸生成が観察された原因として、*Nitrobacter* に近縁な NOB は、リアクタ内に存在はしていたものの、高塩分によって阻害を受け、亜硝酸酸化活性が低下したことで亜硝酸化生成が進行されたものと考えられる。さらに NO<sub>3</sub>-N を NO<sub>2</sub>-N へ還元することで知られている *Nitratireductor* の近縁種が塩分の増加に伴い検出されたことから、*Nitratireductor* は亜硝酸生成に何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。

### 3. 2 HRT の変動による検証

Phase8 において、HRT=1 時間 (2.4 ± 0.1kg NH<sub>4</sub>-N/m<sup>3</sup>/d) に設定したところ、残存 TAN の割合が増加したものの、Phase7 と比べて、亜硝酸生成速度は 1.3 kg-NO<sub>2</sub>-N/m<sup>3</sup>/d とおよそ 40% 向上した。また、HRT=4 時間 (Phase9) では、時間経過に伴い完全硝化に移行し、処理水中の NO<sub>2</sub>-N および NO<sub>3</sub>-N は、それぞれ 4.2 ± 1.1%, 94.6 ± 1.0% となった。これは、リアクタ内における処理水の滞留時間が長くなった

ことで、塩分阻害を受けながらも NOB の増殖が促進されたものと考えられる。従って、塩分 25 g-Cl/L という高塩分環境においても、HRT を長くとることにより NOB による NO<sub>2</sub>-N の酸化は進行することが確認された。さらに、再び HRT=2 時間 (Phase10) に戻して運転を行ったところ、亜硝酸生成能は回復せず、処理水中の NO<sub>2</sub>-N および NO<sub>3</sub>-N の割合はそれぞれ、57.9 ± 3.7%, 30.7 ± 3.0% となった。亜硝酸生成速度も 0.7 ± 0.0 kg-NO<sub>2</sub>-N/m<sup>3</sup>/day にまで低下した。図 2 より、Phase10 と比較して、Phase7 と比べて TAN の残存量は変わらず、NO<sub>3</sub>-N の割合が増加していることがわかる。亜硝酸生成能が回復しなかった原因として、Phase9 (HRT=4 時間) で増殖した NOB が、HRT を再度短くした期間においても、なお、スポンジ内部に保持されたからと考えられる。

- 参考文献
- 1) S. Uemura *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. **101**, pp. 518065185, 2010.
  - 2) T. Natori *et al.*, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2012 (印刷中).