

閉鎖循環式陸上養殖に適用可能な脱窒グラニューールの早期培養技術の確立

長岡技術科学大学大学院 学生会員 ○大野 拓摩
正会員 渡利 高大, 幡本 将史, 山口 隆司

1. はじめに

閉鎖循環式陸上養殖 (RAS) は、食糧生産の効率化や環境負荷の低減といった観点から注目されている。また、更なるタンパク質需要の拡大に伴い、陸上養殖の需要拡大が予測される。

RASにおいて、残餌や魚体から排出されるアンモニア (NH_4^+) は魚にとって毒性が高いため、微生物によって硝酸 (NO_3^-) に酸化される。硝酸はアンモニアや亜硝酸 (NO_2^-) と比較して毒性が低いが、水槽内に蓄積すると魚類は成長障害を起こす。また、急激な脱窒を行うと水槽内の溶存窒素濃度が上昇し魚類にガス病が発生するため、常に硝酸濃度を低く保つことが求められる。

Up-flow sludge blanket (USB) は、微生物の自己凝集作用によって形成されたグラニューール汚泥を用いることにより高濃度の汚泥を保持し、装置容量の削減や高速処理が可能であることから、水族館や陸上養殖に適用した例が報告されている。一方、このグラニューール形成には時間を要することが課題である。本研究では脱窒グラニューール汚泥の早期培養を目的に、有機源に酢酸ナトリウムを用いた模擬養殖水を用いて2基のUSBの運転を行った。

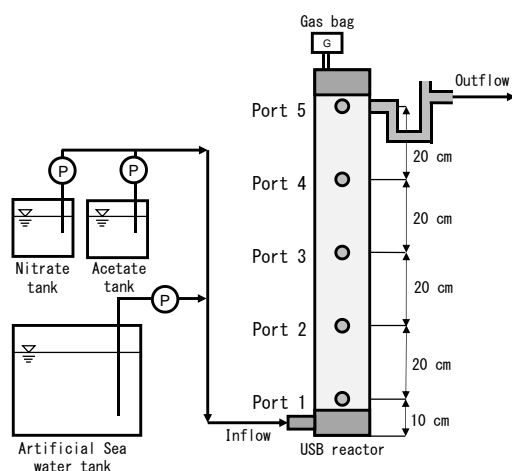


図1 USBリアクターの概略図

2. 実験方法

図1に実験に用いたUSBの概略図を示す。実験には、高さ100 cm、直径15 cm、有効容積は15.9 LのUSBを用いた。USBは上昇流量 $40 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$ 、HRT 2.2 時間の条件で運転を行った。植種汚泥は別のUSBから採取した脱窒グラニューールを4分間ホモジナイズしたものを用い、リアクターに3 L(汚泥濃度 $28.3 \text{ g MLVSS}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{VSS/SS} = 0.45$) を植種した。USBは2基 (USB1,2) を40日間運転し、USB1の NO_3^- -N、TOC濃度をそれぞれ $100 \text{ mg-N}\cdot\text{L}^{-1}$, $100 \text{ mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$ から $500 \text{ mg-N}\cdot\text{L}^{-1}$, $500 \text{ mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$ に段階的に増加させることで、比較実験を行った(表1)。流入水は人工海水に硝酸ナトリウムと酢酸ナトリウムをTOC/N比: 1で加えた模擬養殖水を用いた。サンプルはリアクターの流入 (Inf.) と流出 (Eff.) から採取した。測定項目はpH、ORP、水温、 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N、TOCとした。また、MLSS、MLVSS、汚泥容量指標 (SVI) は、リアクター底部のポート (Port1) から採取した汚泥を用いた。微生物群集構造解析は、リアクター底部のポート (Port1) から採取した汚泥を対象に行った。DNA抽出はFast DNA Spin Kit for Soilを用いて行い、得られたDNAに対して16S rRNA遺伝子を対象とした515F-806Rプライマーペアを用いてPCR増幅を行った。生成したPCR産物を、次世代シーケンサー (iSeq 100) を用いて解析した。

表1 各Phaseでの NO_3^- -N、TOC濃度

Phase	Day	USB1		USB2	
		NO_3^- -N	TOC	NO_3^- -N	TOC
		$\text{mg-N}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg-N}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$
Phase 1	0 - 10	100	100	100	100
Phase 2	11 - 25	300	300	100	100
Phase 3	26 - 40	500	500	100	100

キーワード：脱窒、グラニューール、RAS、USB

連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1 長岡技術科学大学 E-mail: s193245@stn.nagaokaut.ac.jp

3. 実験結果

図2に植種汚泥と運転25日目のUSB保持汚泥写真を示す。凝集態汚泥は、実験10日目に確認され、25日目(Phase2終了時)においてUSB1,2で最大粒径がそれぞれ8.2, 9.9 mmのグラニュール汚泥の形成が確認された。一方、40日目(Phase4終了時)においては、USB1,2で最大粒径がそれぞれ8.4, 11.5 mmであった。一方、40日目のSVIはUSB1,2でそれぞれ7.4, 6.0 ml・g⁻¹であり、NO₃⁻濃度を段階的に上昇させることで、沈降性の高いグラニュールの形成を促進した。

図3に各リアクターの流入、流出のNH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-Nの測定結果を示す。USB1のNO₂⁻-NとNO₃⁻-Nの合計除去率はPhase1,2,3でそれぞれ82.2±5.1, 98.0±1.8, 49.8±12.7%であり、USB2ではそれぞれ88.3±5.8, 95.8±2.2, 87.8±13.3%であった。USB1では、Phase3でNO₃⁻除去率が低下したとともに、NO₂⁻-Nが生成されたためNO₂⁻-NとNO₃⁻-Nの合計除去率が低下した。NO₃⁻除去率の低下は、リアクター内にNO₂⁻が蓄積したことにより、脱窒が阻害されたためであると考えられる。

微生物群集構造解析の結果、USB1,2で10日目において、独立栄養脱窒菌である *Sulfurimonas* 属 (15.6 - 16.6%) が優占した²⁾。USB2で40日目にEPS生成菌である *Colwellia* 属 (22.7%) が優占し、グラニュール形成に関与したと考えられる³⁾。また、40日目において、好塩性の従属栄養脱窒菌である *Halomonas* 属 (7.85 - 4.34%) や偏性嫌気性従属栄養脱窒菌である *Sedimenticola* 属 (8.24 - 1.08%) が多く検出された⁴⁾⁵⁾。これらの属は海水ベースの養殖水を処理するUSBからも検出されており、リアクター内の脱窒反応に関与していると考えられる¹⁾。

4. まとめ

USBリアクターと有機源に酢酸ナトリウムを用いた人工模擬養殖水を用いてグラニュールを形成した結果、運転25日目において最大粒径8.2, 9.9 mmのグラニュールが形成された。一方、硝酸濃度を段階的に上昇されることによって沈降性

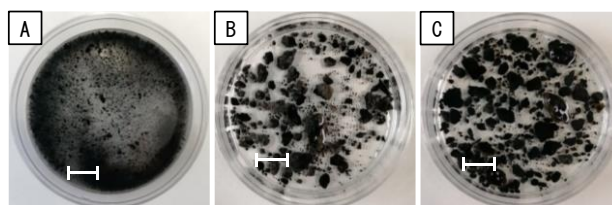


図2 運転25日目と植種汚泥写真(バー:1cm)

(A) 植種汚泥 (B) USB1 (C) USB2

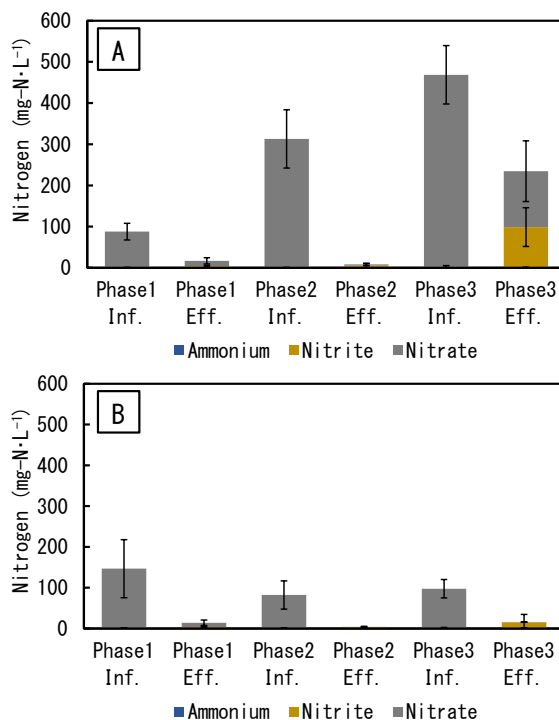


図3 NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-Nの流入・流出濃度

(A) USB1 (B) USB2

の高いグラニュールの形成を促進するとともに安定した処理性能を示した。今後の予定として、本実験で形成したグラニュールをRASのUSB内に充填することで、養殖水の脱窒に適用し、その処理性能を評価する。

謝辞

本研究の一部は、フソウ技術開発振興基金の助成を受け実施しました。記して深謝致します。

参考文献

1. T. Watari et al., *Aquaculture*, 532, 735997 (2021)
2. M. Zhang et al., *Chemosphere*, 76, 5, (2009), 677 - 682
3. J. Marx et al., *Canadian Journal of Microbiology*, 55, 1, (2009), 63-72
4. C. Domenech et al., *Microbiology society*, 59, 6, (2009)
5. P. Narasingarao et al., *Aquacultural Engineering*, 34, 3, (2006), 364 - 376