

海水環境から集積したアナモックス菌の塩濃度と温度特性

鹿島建設(株) 正会員 柴田晴佳 ○多田羅昌浩 東條瑠美

1. 背景および目的

新しい窒素除去技術であるアナモックスプロセスは、従来の硝化脱窒法に比べ、省エネルギー・低コストな技術として着目されており、すでに国内外で下水汚泥消化液の返流水や工場廃水など、塩濃度の低い廃水の処理に適用されている。一方、製錬廃水や水産加工廃水、処分場浸出水などの廃水は窒素を含むものが多いが、塩濃度が高く、これらの廃水にアナモックスプロセスを適用するためには、耐塩性を有するアナモックス菌の確保が必須である。既往の研究では、海洋環境から集積されたアナモックス菌が耐塩性を示すことが報告されている<sup>1)</sup>。そのため、著者らは、海洋環境から採取した汚泥を種汚泥として集積を試み、*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* と *Ca. Scalindua sp.*の2種類の耐塩性アナモックス菌の集積に成功した<sup>2)</sup>。

本報では、集積したこれらの2種類のアナモックス菌について、バイアル試験で把握した耐塩性と温度特性を報告する。

2. 実験方法

2.1. 実験培地

耐塩性アナモックス菌のバイアル実験に用いた基本培地の組成を表-1に示す。塩濃度調整のために、基本培地に人工海水（SEALIFE、マリンテック社製）を添加した。

2.2. バイアル試験

容量 120 mL のバイアル瓶に、塩分を調整した基本培地を 80 mL 投入し、密封後、アルゴンガスで 5 分間脱気した。その後、脱気済みのアナモックス菌を含む汚泥（アナモックス汚泥）を 20 mL 添加した。アナモックス汚泥は、それぞれを 25℃で集積培養した *Ca. Kuenenia stuttgartiensis* と *Ca. Scalindua sp.*を用いた。培養 0, 1, 2, 3, 4 日後の培養液を採取し、イオンクロマトグラフィーを用いて、アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素を測定し、これらの結果をもとに、単位汚泥重量当たりの窒素除去速度を算出した。各バイアルは、3 反復で実験を行った。

塩濃度特性試験は、塩濃度を 0.5～9%に調整した基本培地を使用し、培養温度は 25℃で実施した。温度特性試験は、塩濃度を 3%に調整した基本培地を使用し、培養温度を 5～50℃で実施した。

3. 結果

3.1. 塩濃度特性

バイアル試験における各塩濃度の窒素除去速度を図-1に示す。*Ca. Kuenenia stuttgartiensis* は、塩濃度 0.5～5%で窒素除去活性を確認した。最大窒素除去速度は、塩濃度 1%および 2%で 0.15 ± 0.01 mg N/mg cell/day となった。塩濃度 3%以上においては、塩濃度が高くなるにつれ、窒素除去速度は低下し、塩濃度 6%以上では窒素除去活性は確認されなかった。

一方、*Ca. Scalindua sp.*は、塩濃度 0.5～9%で窒素除去活性を確認した。最大窒素除去速度は、0.60 ± 0.04 mg N/mg cell/day（塩濃度 2%）であったが、塩濃度 0.5～4%では、窒素除去速度に大きな差は見られなかった。また、塩濃度 5%以上でも窒素除去活性が認められたが、塩濃度の上昇に伴い低下した。

表-1 基本培地組成<sup>3)</sup>

| 成分                                              | 濃度[mg/L]      |
|-------------------------------------------------|---------------|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 875           |
| NaNO <sub>2</sub>                               | 1,030         |
| KHCO <sub>3</sub>                               | 500           |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | 27            |
| MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O            | 300           |
| CaCl <sub>2</sub> ・2H <sub>2</sub> O            | 180           |
| Trace Element S1                                | 1 (mL/L)      |
| Trace Element S2                                | 1 (mL/L)      |
| 人工海水                                            | 5.8～109 (g/L) |

キーワード アナモックス, 耐塩性, 温度特性, 処分場浸出水, 廃水処理

連絡先 〒182-0036 東京都調布市飛田給 2-19-1 鹿島建設(株)技術研究所 TEL 042-485-1111

### 3.2. 温度特性

バイアル試験における各温度の窒素除去速度を図-2に示す。*Ca. Kuenenia stuttgartiensis* は、15～40℃において窒素除去活性を確認した。最大窒素除去速度は、35℃で  $0.12 \pm 0.01$  mg N/mg cell/day であった。温度が10℃以下および45℃以上においては、窒素除去活性は確認されなかった。

一方、*Ca. Scalindua* sp.は、5～40℃において窒素除去活性を確認した。最大窒素除去速度は、30℃で  $0.52 \pm 0.02$  mg N/mg cell/day であった。温度が45℃以上では窒素除去速度は確認されなかった。

### 4. 考察

*Ca. Kuenenia stuttgartiensis* は淡水性アナモックス菌だが、Kartal et al. (2006)によると、塩濃度を徐々に上昇させることで、塩濃度3%まで、温度は25～37℃で活性を維持したと報告されている<sup>4)</sup>。一方、海洋性アナモックス菌である *Ca. Scalindua* sp.の活性温度は10～30℃、塩濃度1.5～4.0%の環境で生息することが報告されている<sup>5)</sup>。本研究によって集積した菌、特に *Ca. Scalindua* sp.は、既往の研究の報告よりも、幅広い塩濃度、温度に対応できるアナモックス菌であることが示唆された。

### 5. まとめ

本実験から、2種類の耐塩性アナモックス菌の温度特性と耐塩性が明らかとなった。*Ca. Scalindua* sp.は、高塩濃度かつ低温の環境下においても活性を維持しており、幅広い廃水に適用できる可能性を示した。今後は、ミネラル要求性、両菌のカクテル化などの検討を進め、実廃水処理への適用性を評価する予定である。

### 参考文献

- 1) Stephen et al., Molecular diversity of soil and marine 16SrRNA gene sequences related to subgroup Ammonia-Oxidizing Bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 62, 4147-4154, 1996.
- 2) 柴田ら, 高塩濃度窒素系廃水処理のための耐塩性アナモックス菌の集積, 土木学会第77回年次学術講演集, 2022.
- 3) Tatara et al., Continuous nitrogen removal by a single-stage reactor packed with ring-laced string medium. J. Biosci. Bioeng., 124, 660-667, 2017.
- 4) Kartal et al., Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater. J. Biotechnol., 126, 546-553, 2006.
- 5) Awata et al., Physiological Characterization of an Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacterium Belonging to the “*Candidatus Scalindua*” Group. Appl. Environ. Microbiol., 79, 4145-4148, 2013.

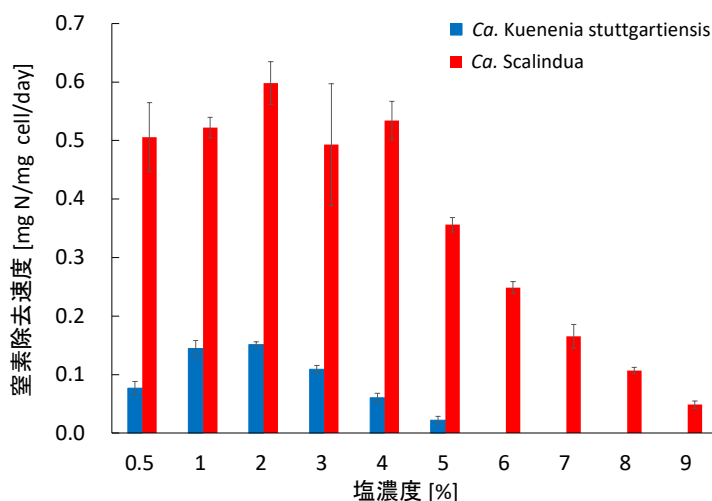


図-1 塩濃度による窒素除去速度

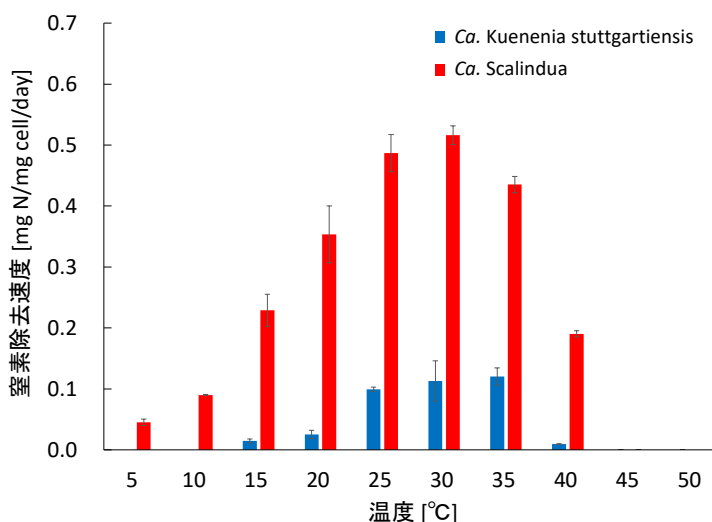


図-2 温度による窒素除去速度