

処理水循環を伴った DHS リアクターにおける脱窒関連細菌の特定と 窒素除去に対するフェノールの影響

木更津高専 学生会員 ○関野 翔梧, 伊東 貴大, 池田 直生, 正会員 大久保 努, 上村 繁樹
長岡技術科学大学 学生会員 青木 仁孝, 木村 晶典, 正会員 山口 隆司
東北大学 正会員 原田 秀樹

1. まえがき

本研究室では、有機物、アンモニア性窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) を大量に含んだ産業廃水 (鉄鋼排水等) を対象とし、前段で DHS (下降流スポンジ懸垂) リアクターを用いた有機物除去とアンモニア酸化を行い、後段で従来型の脱窒もしくは嫌気性アンモニア酸化等により窒素を除去する新しい排水処理システムの開発を行っている。既報において、すでに DHS における有機物除去およびアンモニア酸化については、優れた性能を有していることを確認した¹⁾。また最終処理水の一部を 1st 流入口に循環し、DHS 生物膜内部における脱窒を促進する試みを行い、循環比 1.5 にて、最大の脱窒率 58.7% を確認した²⁾。

本研究では、最大の脱窒率が得られた循環比 1.5 における生物膜汚泥のクローニング解析を行い、DHS のアンモニア性窒素およびフェノールの除去に関与している細菌種の特定を行った。さらに DHS の窒素除去性能に対するフェノールの阻害性を確認することを目的とし、基質中のフェノール濃度を段階的に増加させ、DHS 内における硝化と脱窒に対する影響を調査した。

2. 実験方法

2.1 クローニング解析

循環比 1.5, COD/ $\text{NH}_4\text{-N}$ 比 2.88 の条件において、事前に行われた硝化および脱窒活性の結果を参考に最も脱窒活性の高い 1st から 3 点, 2nd, 3rd から 1 点ずつ汚泥を採取した。それらの汚泥より DNA を抽出し、プライマー Eff388F-UNIV1500R によって PCR で 16rRNA 遺伝子の増幅を行った。各サンプルにおいて無作為にクローンを採取し、塩基配列の読み取りを行った。読み取った塩基配列は、系統解析ツール (Blast : <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) により細菌種の特定を行った。

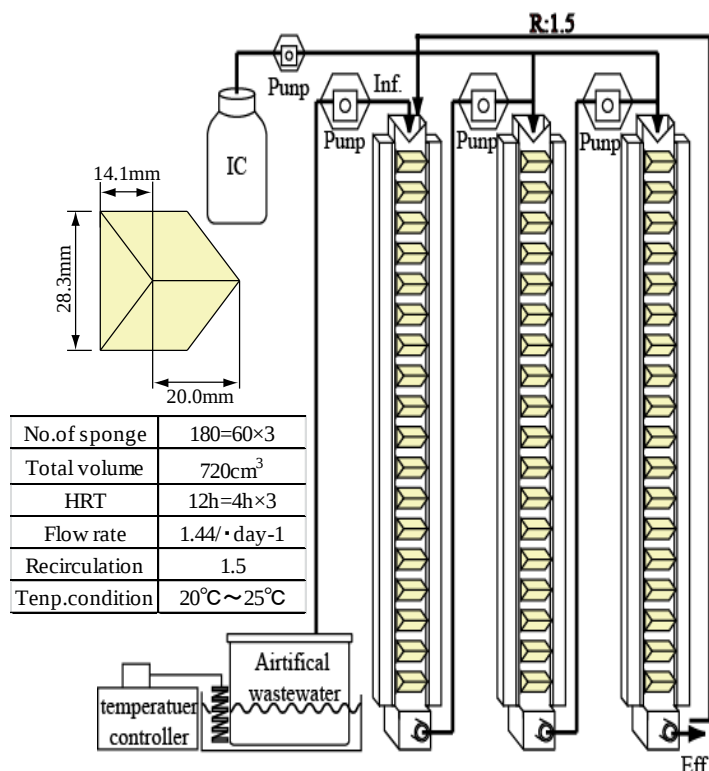


図-1 DHS リアクター概略図

2.2 連続実験

本研究で用いた DHS リアクターは、3 台の同形状のユニットから成り、排水の流入順に 1st, 2nd および 3rd と称する (図-1)。無機炭素とアルカリを補給するために 2nd と 3rd の上部から炭酸水素ナトリウムを添加した。また 3rd 処理水を 1st ユニット上部にポンプアップし循環比 1.5 で運転を行った。人工基質の組成は、 $\text{NH}_4\text{-N}$; 500 mg/L, 炭酸水素ナトリウム ; 3600 mg/L とし、さらに人工海水を添加し塩分を 10.9g-Cl/L に設定した²⁾。フェノール濃度は COD として 1440 (Phase 1, COD/ $\text{NH}_4\text{-N}$ =2.88), 2160 (Phase 2, 4.32) および 2880 mg/L (Phase 3, 5.76) に段階的に上昇させた。なお、本 DHS は約 1900 日にわたり、連続処理実験を行ったものを継続して使用した。

キーワード DHS 循環 アンモニア 脱窒 フェノール

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

E-mail : uemura@wangan.c.kisarazu.ac.jp

表-1 検出された窒素および有機物除去に関与する細菌種

採取地点	クローン数	近似クローン	相溶性(%)	代謝
1st最上部	2/89	<i>Rhodococcus</i> sp.	99	フェノール分解
	1/89	<i>Marinobacter</i> sp.HS7	98	脱窒
	12/89	<i>Azoarcus</i> sp.	96	フェノールを利用できる脱窒経路
1st上部	15/94	<i>Azoarcus</i> sp.	97	フェノールを利用できる脱窒経路
	1/94	<i>Paracoccus</i> sp.	99	脱窒
	4/94	<i>Desulfotignum toluenicum</i> strain	98	硫酸還元
1st中部	9/87	<i>Azoarcus</i> sp.	96	フェノールを利用できる脱窒経路
	1/87	<i>Nitratireductor</i> sp.	99	硝酸還元
2nd中部	17/96	<i>Nitrosomonas</i> sp.	100	アンモニア酸化
	1/96	<i>Ralstonia</i> sp.	100	フェノールを利用できる脱窒経路
3rd中部	4/91	<i>Nitrosomonas</i> sp.	99	アンモニア酸化
	2/91	<i>Pseudomonas</i> sp.	99	脱窒
	1/91	<i>Paracoccus</i> sp.	99	脱窒

3. 実験結果と考察

3. 1 クローニング解析

表-1 に各汚泥採取点における窒素および有機物除去に関与する細菌と近縁のクローンを示す。クローニング解析では1stの3点より脱窒細菌が多く検出され、2nd, 3rd からは硝化細菌が確認され、同条件で行った硝化および脱窒活性試験と符合した結果となった。特に1stの3点より採取した汚泥からはフェノールを利用可能である脱窒細菌 *Azoarcus*³⁾ も確認されたことから、1stで *Azoarcus* によるフェノールを直接電子供与体とする脱窒およびその他の脱窒細菌によるフェノールの分解産物を利用した脱窒の両方が行われているものと示唆された。

3. 2 連続実験

図-2 に各 Phase の最終処理水の各無機態窒素濃度の割合および COD 除去率を、図-3 に流入水に対する最終処理水の各無機態窒素濃度の割合を示した。Phase1 における平均脱窒率 59.1%に対し、Phase2 では、投入するフェノールの増加に伴い 71.6%まで増加した。Phase3 では 69.2%と脱窒率はほとんど増加せず、また最終処理水に残存する $\text{NH}_4\text{-N}$ の増加と $\text{NO}_x\text{-N}$ の減少が確認されたことから、フェノールにより硝化細菌の阻害の影響が示唆された。

4. まとめ

本研究の結果から、DHS 内における脱窒には、フェノールを直接電子供与体として利用する経路とフェノールの分解産物を利用した経路の両方が存在することが示唆された。またフェノールの増加に対する硝化細菌への阻害性を確認することができた。

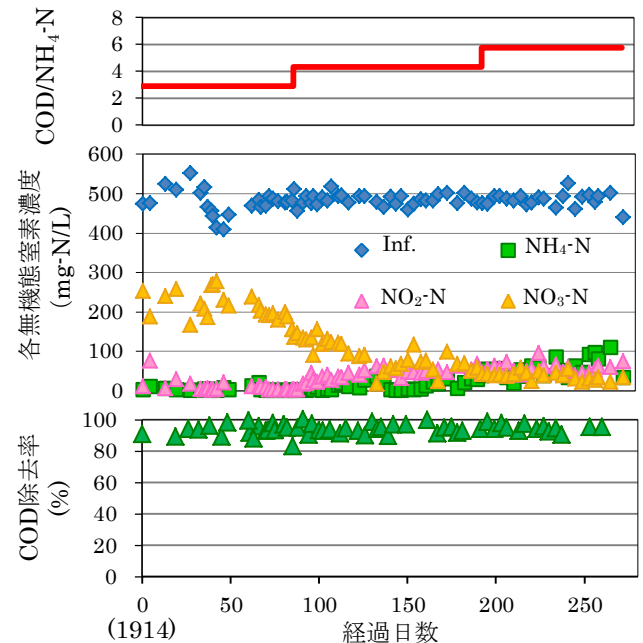


図-2 処理水の各無機態窒素濃度と COD 除去率の経日変化

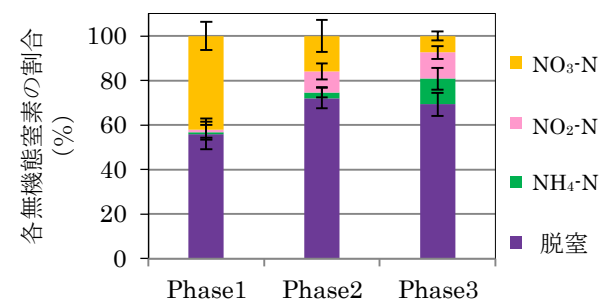


図-3 処理水の各無機態窒素濃度の割合

参考文献

- 1) 鈴木沙織他, 土木学会論文集 G, Vol. 64, No. 4, 327-335, (2008)
- 2) 千田朋洋他, 土木学会 第 38 回関東支部技術研究発表会 (2011)
- 3) Y. Shinoda, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66, No. 4, p. 1286-1291 (2000)