

海洋性 Anammox 細菌の集積培養条件に関する研究

熊本大学工学部 学生会員 野村太一 熊本大学大学院 非会員 藤崎幸市郎
 熊本大学工学部 正会員 川越保徳 熊本大学工学部 非会員 藤本綾

1. はじめに

Anammox (嫌気性アンモニア酸化) 細菌は、アンモニアと亜硝酸をそれぞれ電子供与体、電子受容体としてエネルギーを獲得し、増殖に有機炭素源を必要としない独立栄養細菌である。Anammox 細菌は当量の亜硝酸とアンモニアを直接窒素ガスに変換できるため、従来の硝化脱窒法よりも省エネルギー、低コストな窒素除去技術への応用が期待されている。

現在、淡水系の Anammox 細菌については実プラントの運用が開始される等、すでに多くの知見集積が図られているが、海洋性 Anammox 細菌に関する知見は非常に乏しい。そこで、本研究では、海洋性 Anammox 細菌の高濃度集積培養を目的として、培養条件に関する検討を行った。

2. 実験方法

2.1 海洋性 Anammox 培養リアクタ

本研究では、容量 1.1L と 0.5L の 2 種類の上向流カラム型リアクタ (図-1 参照) を用いた。培地には、表-1 に示す海洋性 Anammox 細菌用人工海水培地を用い、使用前に窒素ガスにて 10 分間曝気し、嫌気状態とした。

表-1 人工海水培地組成

NaCl	30g/L	SrCl ₂ ・6H ₂ O	20mg/L
MgSO ₄ ・7H ₂ O	6g/L	KCl	700mg/L
MgCl ₂ ・6H ₂ O	5g/L	K ₂ HPO ₄	54mg/L
NaBr	100mg/L	(NH ₄) ₂ SO ₄	40mg-N/L
H ₃ BO	20mg/L	NaNO ₂	40mg-N/L
NaF	2mg/L	CaCl ₂ ・2H ₂ O	1g/L
KHCO ₃	0.5g/L	KI	0.08mg/L

2.2 温度の影響に関する検討

容量 1.1L の上向流カラム型リアクタを用

い、アンモニア性窒素 (NH₄-N) と亜硝酸性窒素 (NO₂-N) をそれぞれ 170ppm、水理学的滞留時間 (HRT) を 24 h、pH7~8、窒素負荷 0.3 kg/m³/day で固定し、設定温度を 21℃~39℃まで段階的に変化させながら窒素除去速度の推移をみた。

2.3 窒素除去速度の向上に関する検討

容量 0.5L の上向流カラム型リアクタを用い、HRT、窒素濃度等を徐々に上昇させながら窒素除去速度の向上を検討した。

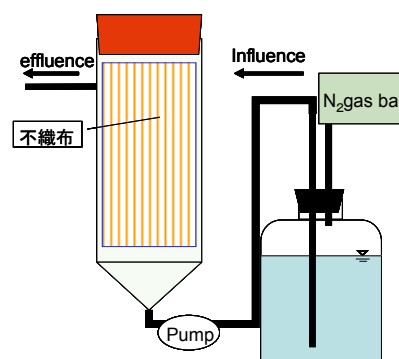


図-1 海洋性 Anammox 細菌集積培養リアクタ

2.4 分析方法

アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素の測定については比色定量法を用いて行なった。また、リアクタ内での海洋性 Anammox 細菌および共存細菌の解明を目的に 16S rRNA による PCR-DGGE による細菌群集構造解析を行なった。方法については、既報¹⁾に従って行なった。

3. 結果・考察

3.1 温度の影響に関する検討

図-2 に、リアクタ内温度と窒素負荷を変

化させた時の窒素除去速度を示す。リアクタ内温度を 21℃ から 39℃ まで段階的に上昇させたところ、温度を上げた直後に除去速度が低下し、その後回復するといった傾向がみられた。しかし、32℃ に上げた際には、除去速度の低下が続き、さらに温度 37℃ 以上ではほとんど窒素除去が認められなくなった。この時点で、細菌の Anammox 細菌の死滅が危惧されたため、温度を 21℃ に戻すと同時に、窒素負荷も $0.1 \text{ kg/m}^3/\text{day}$ まで引き下げ、窒素除去の回復を試みた。その結果、窒素除去速度の緩やかな上昇がみられたことから再度負荷を段階的に上げ、元の窒素除去速度まで回復させることができた。

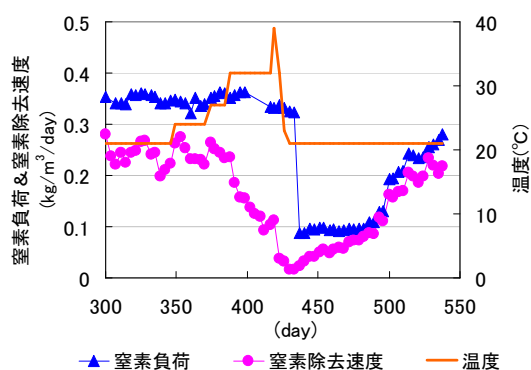


図-2 海洋性Anammoxリアクタにおける窒素除去能に及ぼす温度の影響

3.2 窒素除去速度の向上に関する検討

流出液中のアンモニアおよび亜硝酸濃度を一定濃度以下に抑えながら、窒素濃度およびHRTを変化させて窒素負荷を上昇させ、窒素除去速度の向上を図った連続培養リアクタにおける窒素負荷と窒素除去速度の経時変化を図-3に示す。その結果、本研究期間においてバイオマスの赤変が観察され、窒素負荷 $1.04 \text{ kg/m}^3/\text{day}$ で約 $0.7 \text{ kg/m}^3/\text{day}$ の窒素除去速度を達成することができた。しかしながら、実験途中にてチューブの詰り等のトラブルにより処理の低下が起き、その際の回復にはかなりの時間を要した。一

般的に Anammox 細菌は増殖速度が非常に遅いとされ、処理の安定性が課題であるが、海洋性 Anammox 細菌に関しても同様と考えられる。

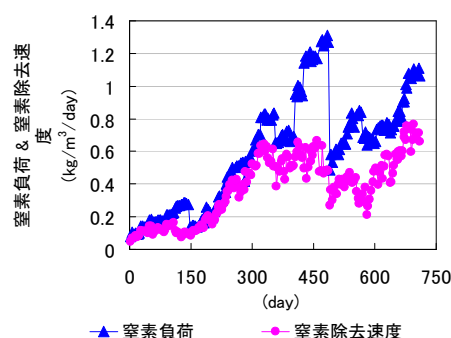


図-3 海洋性 Anammox リアクタにおける窒素負荷上昇に伴う窒素除去能の推移

3.3 PCR-DGGE 解析

上記の2つのリアクタからバイオマス試料を採取し、PCR-DGGE 法により解析を行ったところ、筆者らがすでに報告した *Planctomycete* UKU-1 が検出された¹⁾。*Planctomycete* UKU-1 は、*Candidatus scalindua wagnei* および英虞湾から培養された *Planctomycete* JMK-2 と高い相同性を示す Anammox 細菌である。

4. まとめ

- (1) 本研究で集積培養された海洋性 Anammox 細菌は、32℃ 以上では処理能が低下する傾向が見られ、淡水性 Anammox 細菌とは異なる至適温度を有する可能性が示された。
- (2) 窒素負荷 $1.0 \text{ kg/m}^3/\text{day}$ 以上で、窒素除去速度 $0.7 \text{ kg/m}^3/\text{day}$ を達成した。
- (3) PCR-DGGE 解析により、海洋性 Anammox 細菌の存在が確認された。

引用文献

- 1) 川越保徳、他、海洋性 Anammox 細菌集積系で認められる細菌叢について、第 42 回日本水環境学会年会講演集、p286 (2008)