

海洋性 Anammox 培養系への温度と塩分濃度の影響

熊本大学工学部 学生会員 山城建人
 熊本大学大学院 非会員 友重勇気
 熊本大学大学院 正会員 川越保徳

1. はじめに

近年懸念されている水環境問題の一つに、赤潮などに代表される閉鎖性水域の富栄養化現象が挙げられる。この主な原因の一つに、窒素やリンといった栄養塩の水環境への過剰流出があり、排出削減が今もって重要な課題となっているが、近年発見された Anammox (嫌気性 Ammonium 酸化) 細菌を利用する新規な窒素除去技術が注目されている。Anammox 細菌はアンモニウムイオン (NH_4^+) を電子供与体、亜硝酸イオン (NO_2^-) を電子受容体としてエネルギーを獲得する独立栄養細菌であり、本細菌を用いた窒素除去法は、従来の硝化脱窒法に比べ低コストで省エネルギー・省スペースなどの利点を有することからその実用化が期待されている。

一方、現在研究されている Anammox 細菌の殆どは淡水環境から分離、培養されたものであり、海洋環境に生息する海洋性 Anammox 細菌 (Marine Anammox Bacteria: MAAOB) については培養成功例が世界でも 3 例程度しかなく、微生物学的特性についても不明な点が多い。本研究では、MAAOB 培養系への温度影響や塩分濃度の影響について検討を行い、知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1 海洋性 Anammox 細菌(MAAOB)

本研究では、我々の研究室で確立された海面埋立廃棄物処分場の底泥を植種源とする MAAOB 培養系を用いた²⁾。

2.2 MAAOB 培養系に及ぼす温度の影響

有効容積 1L の上向流型リアクタ (図-1) を用い、アクリル繊維不織布を微生物付着担体とした。リアクタを恒温器に設置して遮光し、温度を変化させて窒素除去能、細菌叢に対する影響を調べた。 NO_2^- 、 NH_4^+ 濃度はともに 170mg/L に固定し、窒素ガス曝気にてリアクタ内を嫌気状態とした。培地には、表-1

に示した MAAOB 培養用の合成人工海水培地を用い、水理的滞留時間 (HRT) を 24h として培地を流入し、連続培養を行った。

2.3 MAAOB 培養系に及ぼす塩分濃度の影響

NaCl の濃度を 10~30g/L の間で段階的に変化させ、窒素除去能に対する影響を調べた。

表-1 合成人工海水培地

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

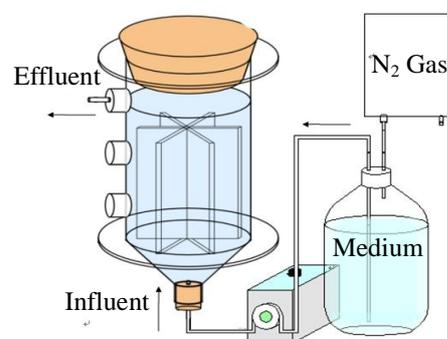


図-1 MAAOB リアクタの概要

2.4 分析方法

流入水 (培地) と流出水の NH_4^- 、 NO_2^- 濃度は比色法にて、 NO_3^- 濃度は Cu · Cd カラム還元法にて測定した。各温度条件にて培養物を採取し、一般細菌用プライマーと MAAOB 用プライマー用いて 16S rRNA による PCR-DGGE を行い、細菌叢解析を行った。

3. 結果および考察

3.1 窒素除去能への温度影響

図-2 に流入と流出水における窒素濃度の経日変化を示す。温度を 25~5℃まで段階的に下げたが、除去率の低下が認められ、逆に温度を 25℃まで上昇させるのに伴い除去率は上昇、回復した。このことから MAAOB の窒素除去能は温度変化に対して敏感に反応し、温度影響を受けやすいことが示された。次に、温度を 25~36℃まで段階的に上げた場合には、除去率は低下する傾向が認められたことから、MAAOB の窒素除去能の至適温度は 25℃付近であると推定された。また、ここで温度を 25℃へ再び戻したが、除去率の回復に時間を要したことから、高温下での窒素除去能の低下は、低温下での低下に比べて回復し難い可能性が示唆された。

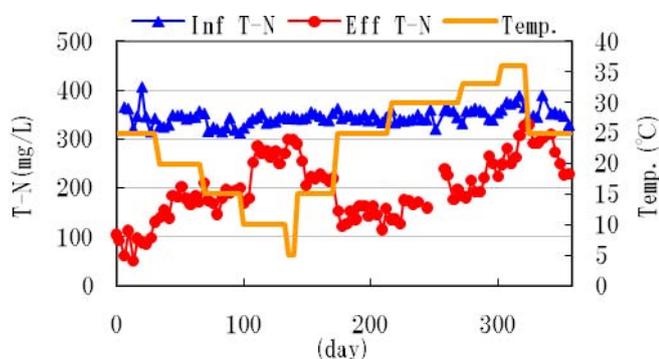


図-2 温度による窒素除去能への影響

3.2 MAAOB 培養細菌叢への温度影響

図-3 に、一般細菌用プライマーによる DGGE の結果を、図-4 に MAAOB 用プライマーによる結果を示す。図-3 における DNA バンド (i~iii) は、各々 *Myxosarcina*、*Thiopfundum*、*Nitrosomonas* と高い塩基配列相同性が得られ、これら細菌との共存が推定された。また、温度の違いによる変化はみられなかった。次に図-4 の DNA バンド (iv, v) は、MAAOB と推定される Anaerobic ammonium-oxidizing planctomycete UKU-1¹⁾と高い相同性が得られた。しかし、一般細菌での結果と同様に、温度の違いによる変化は特に見られず、窒素除去能の変化と細菌叢との関係は見いだせなかった。

3.3 窒素除去能への NaCl 濃度の影響

図-5 に、NaCl 濃度を 30g/L~20g/L にした場合と、10g/L にした場合の流入水と流出水における NaCl、NH₄-N、NO₃-N、NO₂-N の濃度変化を示す。図-5 か

ら明らかなように、NaCl 濃度が 10g/L~30g/L の範囲では、NaCl 濃度を変化させても、流出水中の客体窒素の濃度に顕著な変化は認められず、NaCl の低下による窒素除去能への影響は小さいことが示された。

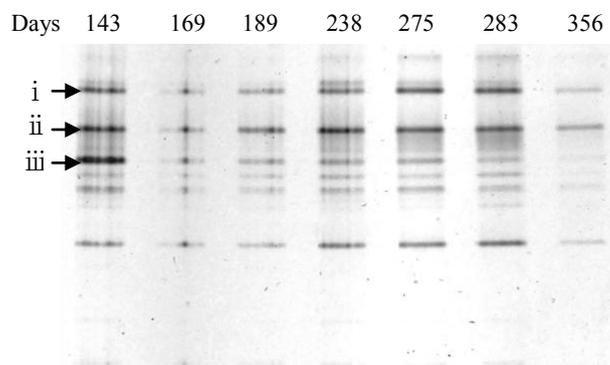


図-3 一般細菌用プライマーによる DGGE 結果

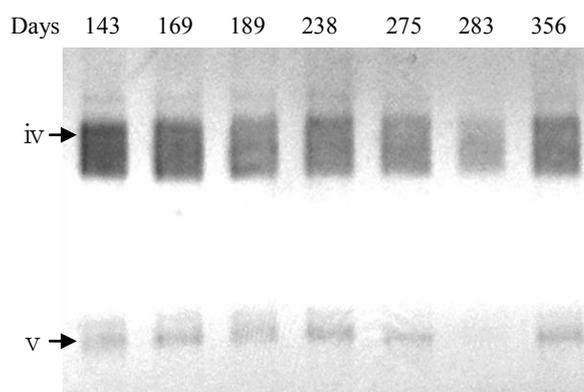


図-4 MAAOB 用プライマーによる DGGE 結果

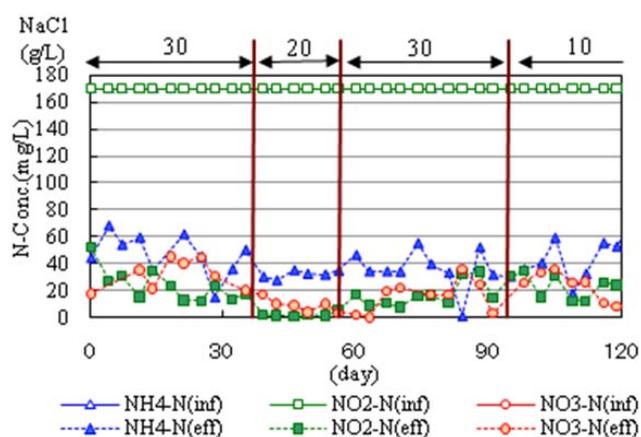


図-5 NaCl 濃度と各態窒素濃度との関係

参考文献

- 1) Kawagoshi Y., et al., J. Biosc. Bioeng., Vol. 107(1), 61-63, (2009)
- 2) Kawagoshi Y., et al., Water Sci. Technol., Vol. 61(1), 119-26 (2010)