

B-19 生物学的リン除去に及ぼす亜硝酸塩の影響と脱窒性脱リン細菌の寄与

日本大学大学院理工学研究科土木工学専攻

○吉田征史

同上

高橋紘平

日本大学理工学部土木工学科

齋藤利晃

同上

田中和博

1. はじめに

近年、酸素のみでなく硝酸も電子受容体として利用することにより、同一の有機物源で脱窒と脱リンを同時に行うことのできる脱窒性脱リン細菌の存在が明らかとされてきた¹⁾。この細菌を利用することにより既存のプロセスと比較して COD 必要量、酸素必要量、余剰汚泥発生量を削減できることが報告されている²⁾。一方、亜硝酸は阻害物質として一般に知られており、また脱窒反応の中間生成物であるため、脱窒性脱リン細菌（無酸素的リン摂取）に与える亜硝酸の影響^{3),4)}は数多く報告されている。しかし、好氣的リン摂取に与える亜硝酸の影響を調べた例⁵⁾は数少ない。本研究では実下水を用いて回分式活性汚泥法(SBR)を運転しており、その反応槽内に亜硝酸が蓄積した場合に、リン摂取活性が著しく低下することが観察された。このため、上記の混合培養汚泥に加え、人工下水を用いた嫌気・好気(A/O)および嫌気・無酸素(A/A)SBRにより集積培養した計3種類の汚泥に対し亜硝酸の影響を調べることで、生物学的リン除去に及ぼす亜硝酸の影響と、その影響に対する脱リン細菌の脱窒能力との関係を調べた。

2. 実験方法

2.1 実下水を用いた回分式活性汚泥法

下水処理場の沈砂池流出水を流入水とし、有効容積 100L の回分式反応槽を用いて行った。各工程時間は、流入/嫌気(30min)、曝気(75min)、攪拌(75min)、再曝気(30min)、沈殿/排水(78min)の 1 サイクル 288min で運転した。SRT は 20 日、引抜き比は 1/3 であり、曝気工程終了時の DO は 2~4mg/l であった。

2.2 A/O および A/A 培養

それぞれ人工下水を用いて A/O(有効容積 4L、流入/嫌気(180min)、好気(130min)、沈殿/排水(50min))および A/A(有効容積 1L、嫌気(120min)、無酸素(190min)、沈殿/排水(50min))SBR を運転した。両系とも SRT は 10 日、引抜き比は 1/2 であり、pH は 7.0 付近で調整している。A/A SBR は嫌気工程終了後、人工的に硝酸を添加している。また、A/O SBR では適宜アルルチオ尿素(ATU)を用いて硝化細菌の活性を抑制した。

2.3 好氣的リン摂取におよぼす亜硝酸の影響

予め酢酸を添加して嫌氣的リン放出実験を行った3種類の汚泥を 100ml 容器に分取し、初期亜硝酸濃度 0、1、3、5mgN/l で添加した計 12 系列を用意し、曝気を開始した時点を 0min として各系列での好氣的リン摂取速度を求めた。実験中 pH は 7.0 付近に調整し、DO は十分に高く保った。

3. 結果と考察

3.1 実下水を用いた回分式活性汚泥法における亜硝酸蓄積時のリン除去活性の変化

実下水を用いた回分槽の処理は、同時硝化・脱窒（亜硝酸蓄積前）から亜硝酸型、そして硝酸型へと変化した。図 1 に亜硝酸蓄積前後での 1 サイクルの経時変化を示す。蓄積前の期間は同時硝化・脱窒が進行し酸化態窒素は全く検出されずにアンモニアが除去された。この期間は、曝気工程において全量のリン酸が摂取されている。これに対し、亜硝酸蓄積後はリン摂取速度が低下し、曝気工程においてリン酸が残存した。

このため、好氣的リン摂取が亜硝酸によって阻害されているのではないかと考え、回分実験より算出した好氣のおよび無酸素的リン摂取活性と亜硝酸蓄積濃度の推移を調べ、図 2 に示した。その結果、亜硝酸蓄積前と比較し、3mgN/l 程度の亜硝酸が蓄積を続けた際に好氣的、無酸素的リン摂取活性が共に著しく低下していることが示された。また、その後蓄積濃度が 2mgN/l 以下になると共に回復に向かったが、好氣的リン摂取活性は最終的に 50% までしか回復しなかったのに対し、無酸素的リン摂取活性は亜硝酸蓄積以前と同程度まで回復している。この結果、活性比（好氣的リン摂取に対する無酸素的リン摂取の比）は亜硝酸蓄積以前よりも見かけ上高くなっていた。この回復の差が、脱窒性脱リン細菌の亜硝酸に対する耐性によるもの（亜硝酸を電子受容体として利用し得るとの報告もある^{4,6)}）なのか、硝酸曝露量の増大によるものかなのかは明らかではない。そこで、次に好氣的リン摂取に与える亜硝酸の影響を回分実験により検討した。

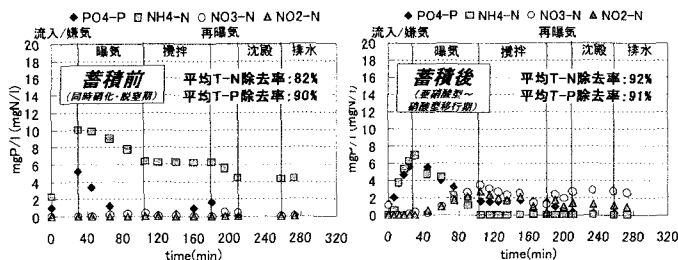


図 1：亜硝酸蓄積前後での 1 サイクルの変化

図 2 は、リン摂取活性と亜硝酸、硝酸の蓄積濃度の推移を示す。好氣的リン摂取活性（○）は亜硝酸蓄積以前を 100% とした時の速度比で示され、無酸素的リン摂取活性（△）も同様に示される。活性比（●）は好氣的リン摂取に対する無酸素的リン摂取の比を示す。図 2 の下部には、亜硝酸蓄積濃度（○）と硝酸蓄積濃度（△）の推移も示されている。図 2 は、リン摂取活性と亜硝酸、硝酸の蓄積濃度の推移を示す。好氣的リン摂取活性（○）は亜硝酸蓄積以前を 100% とした時の速度比で示され、無酸素的リン摂取活性（△）も同様に示される。活性比（●）は好氣的リン摂取に対する無酸素的リン摂取の比を示す。図 2 の下部には、亜硝酸蓄積濃度（○）と硝酸蓄積濃度（△）の推移も示されている。

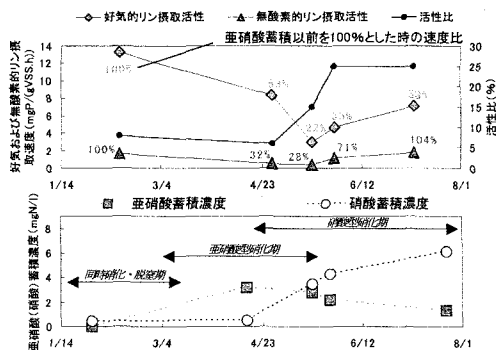


図 2：リン摂取活性と亜硝酸、硝酸の蓄積濃度

3.2 培養過程の異なる 3 種の汚泥における好氣的リン摂取への亜硝酸の影響

実下水による混合培養および人工下水により集積培養した汚泥に対し、亜硝酸濃度を変えて好氣的リン摂取試験を実施した結果、すべての汚泥において亜硝酸添加濃度に伴い好氣的リン摂取速度は低下した（3mgN/l 添加時の結果を図 3 に示す）。また、亜硝酸無添加時のリン摂取速度を 100% とした場合のリン摂取速度の割合を汚泥量あたりの亜硝酸濃度に対して整理した結果と、実験時の各汚泥の活性比とを図 4 に示した。培養過程の相違によって亜硝酸無添加時の摂取速度に対する低下率が異なっており、A/A 汚泥では最も低下が少なく、逆に A/O 汚泥では特に低下が著しかった。この結果は、活性比の高さに比例しており、活性比の高い汚泥ほど亜硝酸阻害への耐性が強い、つまり脱窒性脱リン細菌の存在量が多いことが亜硝酸阻害を緩和できるということが明らかとなった。これは、脱窒性脱リン細菌がもともと亜硝酸を経由する脱窒反応を担っていることに起因していると考えられる。

また、この実験において興味深い現象が観察された。それは、実験開始時に添加された亜硝酸が A/O および A/A 汚泥では硝化反応とは違った機構により亜硝酸が好氣的雰囲気下で消費され（図 3 参照）ていたのに対し、混合汚泥系においては亜硝酸添加濃度に係らず、すべての系列で亜硝酸減少量と硝酸生成量のバランスが保たれており、硝化反応によってのみ亜硝酸が消費されていた。

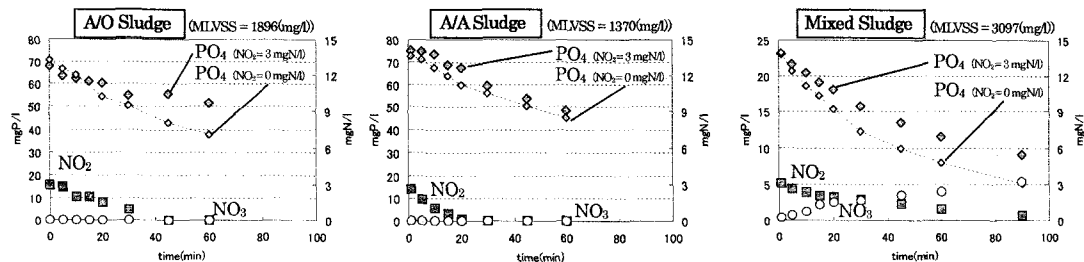


図 3：好氣的リン摂取試験におけるリン酸および酸化態窒素の経時変化（初期亜硝酸添加濃度 0、3mgN/l）

3.3 亜硝酸消費メカニズムの検証・考察

亜硝酸消費のメカニズムとして、まず化学的反応による可能性を考え、人工下水に用いている基質溶液とリン酸放出試験を行ったA/Oおよび混合汚泥をろ過した計3種のろ液に対して同様の実験を行った。その結果、すべての系列においてリン酸、亜硝酸ともに増減すること無く不変であった(データ省略)。このことから3.2で述べた現象は生物学的反応であることが明らかとなった。また、A/OおよびA/A汚泥における亜硝酸消費速度を算出すると、今回の亜硝酸濃度範囲(1、3、5mgN/l)においては亜硝酸添加濃度と亜硝酸消費速度に相関は見られないが、A/O汚泥ではそれぞれ2.4、2.4、3.3mgN/gVSS.h、A/A汚泥では5.2、5.6、4.9mgN/gVSS.hであり、A/A汚泥の方が速かった。このことから脱窒性脱リン細菌が好気的条件下で亜硝酸を利用し、その結果、亜硝酸による阻害を緩和している可能性が示唆され、今後検証する予定である。

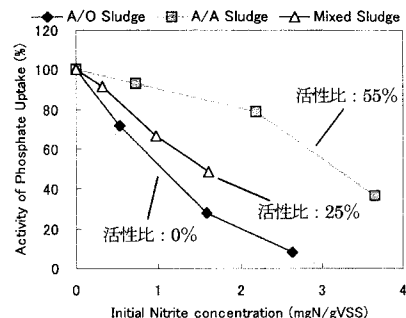


図4：好気的リン摂取速度に与える汚泥量あたりの亜硝酸濃度の影響

4. まとめ

実下水を用いた混合培養汚泥について、反応槽内に亜硝酸が蓄積することによりリン除去速度が低下し、亜硝酸が生物学的リン除去の阻害因子として機能し得ることが示された。亜硝酸は硝化、脱窒両反応の中間生成物質であるため窒素除去を併用したリン除去プロセスではこのような亜硝酸阻害が発生する可能性が高い。本研究では、リン摂取速度が低下しても、硝化に必要な曝気時間を要するため、T-P除去率の実質的な低下は観察されなかったが、リン除去活性が低下していることから、流入有機物負荷の変動などにより容易にリン除去率が低下する可能性が懸念される。また、亜硝酸の蓄積により、見かけ上脱窒性脱リン活性比が高まることが観察されたこと、および、脱窒性脱リン細菌の方が好気性(脱窒能力を有さない)脱リン細菌よりも明らかに亜硝酸への耐性を持つことが確認されたことから、亜硝酸が脱窒性脱リン細菌の優占化因子となり得ること、および、脱窒性脱リン細菌を優占化させることで亜硝酸阻害を緩和できる可能性が示唆された。しかし、今回の結果だけでは脱窒性脱リン細菌が好気条件下においても亜硝酸を利用し得るのか、また、著しく阻害を受ける好気性脱リン細菌も亜硝酸に長期間曝露されることで耐性を持ち得るのかどうか、さらに、好気的リン摂取に対する亜硝酸阻害の現象は確認されたが、増殖や呼吸そのものに対する阻害の有無は明らかで無く、今後検討が必要である。

謝辞 本研究を遂行するにあたり、多大なるご尽力を頂いた日立プラント建設㈱に深く感謝の意を表します。

【参考文献】

- 1) Kernn-Jespersen, JP. and Henze, M. (1993). Biological phosphorus uptake under anoxic conditions, *Water Research*, Vol. 27, No. 4, pp. 617-624.
- 2) Kuba, T., van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J. (1996). Phosphorus and Nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a Two-Sludge system., *Water Research*, Vol. 30, No. 7, pp. 1702-1710.
- 3) Meinhold, J., Arnold, E. and Isaacs, S. (1999). Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge. *Water Research*, Vol. 33, No. 8, pp. 1871-1883.
- 4) Dae Sung Lee, Che Ok Jeon, and Jong Moon Park. (2001). Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system., *Water Research*, Vol. 35, No. 16, pp. 3968-3976.
- 5) Saito, T., Brdjanovic, D. and van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Effect of Nitrite on Phosphate Uptake by Phosphate Accumulating Organisms., *Water Research*, Vol.38, pp. 3760-3768.
- 6) 庄司仁 (2003) 異なる電子受容体を用いた生物学的窒素・リン除去プロセスにおける処理特性および細菌群集に関する研究, 博士論文.
- 7) 吉田征史, 岡賀祥平, 齋藤利晃, 田中和博. (2004) 包括固定化担体を用いた回分式活性汚泥法による窒素・リン同時除去, 第38回日本水環境学会年会講演集, p. 554.