

B-21 上向流固定床型リアクターにおける 部分硝化反応の制御及び評価

○高橋 慶考*・Sun-Ja Cho・藤井 直基・岡部 聡

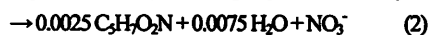
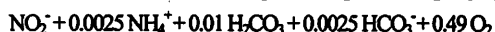
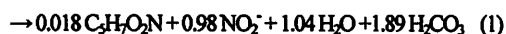
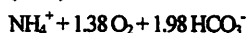
北海道大学大学院 工学研究科環境創生工学専攻 (〒060-8628 北海道札幌市北区北13条西8丁目)

* E-mail: y.takahashi-1983@hotmail.co.jp

1. はじめに

新規の窒素除去プロセスである ANAMMOX プロセスの導入においては、前段において亜硝酸性窒素の生産を行う部分硝化プロセスの確立が必要である。

部分硝化反応(アンモニア酸化反応)はアンモニア酸化細菌(AOB)によって担われ(1)に示す化学量論式で示されるが、生成した亜硝酸は直ちに亜硝酸酸化細菌(NO_B)によって硝酸にまで酸化される(2)。



本研究では、ヒドロキシルアミン(NH₂OH)を系内に添加することにより、部分硝化反応の迅速な安定化及び性能向上を図ることを目的とし、ANAMMOXプロセスに応用可能な部分硝化プロセスの構築を目指す。

2. 実験方法

2.1 リアクター及び培養条件

本実験では、植種汚泥として創成川下水処理場の曝気槽内の活性汚泥を使用した。汚泥を約 20 日間馴養させた後、ポリエステル製の不織布を生物膜担体として充填した(充填率:1%)内径 45 mm、全長 500 mm、容積 800 mL のガラス製固定床型リアクター内に汚泥を植種した。人工無機培地及び空気をリアクター下部より連続供給することにより連続運転を行った。部分硝化リアクター内に供給した人工無機培地の構成及び培養条件を表 1 に示す。人工無機培地内には亜硝酸酸化細菌(NO_B)の活性を抑制すると報告されている¹⁾ヒドロキシルアミン(NH₂OH)を、250 μM となるように添加した。また、重炭酸添加量は(1)に示したアンモニア酸化細菌(AOB)の化学量論式にならない、供給するアンモニア性窒素濃度に応じて変化させた。流入及び流出水中の各窒素濃度は、

イオンクロマトグラフィーにより測定した。さらに、リアクター内よりバイオマスを採取しリアクター内の菌体重量(VSS)を測定した。

表 1 人工無機培地の構成及び培養条件

Synthetic Medium	(mg/L)	Running Condition	
(NH ₄) ₂ SO ₄	30-280	Temperature	38°C
KHCO ₃	430-3140	Influent pH	7.8±0.1
KH ₂ PO ₄	27	HRT	4 h
MgSO ₄ ·7H ₂ O	300	Air flow rate	100 - 200 mL/min
CaCl ₂ ·2H ₂ O	180	Volume	800 mL
Trace Element Solution (TES I, TES II)			
NH ₂ OH (250 μM)	0.017		

2.2 FISH 法による完全硝化確認前後における菌相解析

部分硝化確認時の Phase 1、完全硝化確認時の Phase 2、及び部分硝化回復時の Phase 3 において、リアクター内よりバイオマスを採取し FISH 法を行い、各硝化細菌の存在割合を算出した。FISH 法に用いた蛍光オリゴヌクレオチドプローブは、*Nitrosomonas* spp. (AOB) に特異的な NEU (5'-CCCCTCTGCTGCACTCTA-3')、Phylum *Nitrospira* (NOB) に特異的な Ntsps712 (5'-CGCCTTCGCCACCGGCCTTCC-3')、及び *Nitrobacter* spp. (NOB) に特異的な NIT3 (5'-CCTGTGCTCCATCCG-3') の 3 種である。

3. 実験結果及び考察

3.1 処理性の経日変化

窒素負荷量、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及び曝気量の経日変化を図 1 に示す。部分硝化リアクターの運転開始後、曝気量を 100 mL/min 程度、HRT を 4 h に固定した状態で窒素負荷量のみを増加させた結果、リアクターの運転開始後 80 日間で 0.61 kg-N m⁻³ day⁻¹ の亜硝酸生成速度に到達した。また、硝酸生成速度は 0.03 kg-N m⁻³ day⁻¹ 以下で安定的に推移し、良好な部分硝化反応が確認された。

次に、窒素負荷量を急激に低下(1.1→0.2 kg-N m⁻³ day⁻¹)

させたところ、亜硝酸生成速度の低下とともに硝酸生成速度が急激に上昇し、完全硝化の進行が確認された。ここで、完全硝化確認前の状態を Phase 1、完全硝化確認後の状態を Phase 2 と定義することにする。

さらに、Phase 2 において完全硝化から部分硝化への回復が確認された後、系内へのヒドロキシルアミン (NH_2OH) の添加を取り止めた状態でリアクターの運転を行った結果、Phase 2 における部分硝化回復時と同様の状態を維持することが可能であった。このヒドロキシルアミン (NH_2OH) の添加を取り止めた後の状態を Phase 3 として定義する。また、ヒドロキシルアミン (NH_2OH) の添加を取り止めた後、曝気量を 200 ml/min 程度に増加させた状態を Phase 4 として定義する。

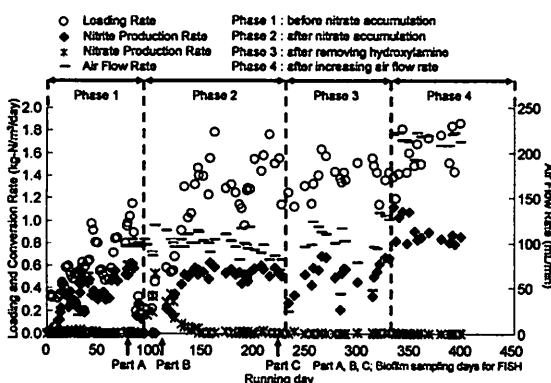


図1 窒素負荷量、亜硝酸生成速度、及び硝酸生成速度の経日変化

32 完全硝化確認前 (Phase 1) における比アンモニア酸化活性

Phase 1 における亜硝酸生成速度が最大に達した後、亜硝酸生成速度を単位菌体重量 (g-VSS) あたりの値に変換した比アンモニア酸化活性の値を算出した結果 $0.27 \text{ g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$ であった。ここで、既往の報告における最大比アンモニア酸化活性の値を表 2 に示す。本研究における比アンモニア酸化活性の値は $0.27 \text{ g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$ であったが、この値は生物膜系による培養を行った報告より 2 倍以上高い値であった。これは、ヒドロキシルアミン (NH_2OH) により NOB の活性を抑制し、AOB のみを選択的かつ効率的に活性化することができたためであると考えられる。

表 2 既往の報告における最大比アンモニア酸化活性

Specific ammonium oxidizing activity ($\text{g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$)	System	Reference
0.17-0.29	Suspended	Tokutomi, 2004 ²⁾
		Yang et al., 2003 ³⁾
0.08-0.10	Biofilm	Garrido et al., 1997 ⁴⁾
		Yun and Kim, 2003 ⁵⁾
0.12	Biofilm	Chuang et al., 2007 ⁶⁾
0.27	Biofilm	In this study

33 完全硝化確認後 (Phase 2) における処理性

Phase 2 における各窒素負荷量に応じたアンモニア消費速度、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及びフリーアンモニア (NH_3) 濃度を図 2 に示す。低負荷領域 ($< 0.5 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$) においては、完全硝化が確認されたが、窒素負荷量を増加させることにより、硝酸生成速度の低下とともに亜硝酸生成速度が次第に上昇していった。窒素負荷量が $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 程度以上となった後は、亜硝酸生成速度及び硝酸生成速度は Phase 1 と同程度に推移し、部分硝化の回復が確認された。

また、流出水中のフリーアンモニア (NH_3) 濃度の増加に伴い、部分硝化反応が回復する傾向が確認された。Anthonisen らは、フリーアンモニア (NH_3) 濃度が 0.1 mg/L 以上となった時に NOB の活性が抑制されたと報告 ⁷⁾ しており、本実験においては、フリーアンモニア (NH_3) 濃度が 0.4 mg-N/L 程度となった時に硝酸生成速度の低下が確認されたことより、フリーアンモニア (NH_3) 濃度が NOB の活性抑制に寄与している可能性は高いと考えられる。

以上より、窒素負荷量を高負荷側に設定することにより、部分硝化反応を安定化させることができる可能性が示唆された。

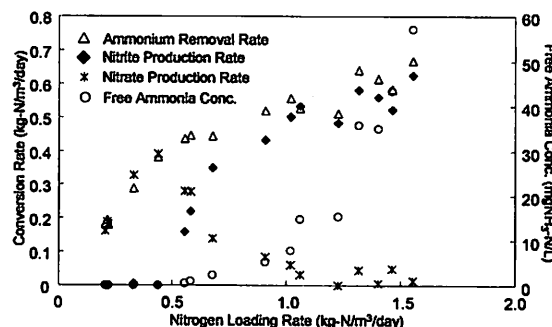


図2 各窒素負荷量に応じたアンモニア消費速度、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及びフリーアンモニア (NH_3) 濃度

34 ヒドロキシルアミン (NH_2OH) 添加停止後 (Phase 3) における処理性

窒素負荷量を $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 以上の高負荷に保った状態でヒドロキシルアミン (NH_2OH) の添加を取り止めた後 (Phase 3) においても、亜硝酸生成速度は Phase 2 と同程度 ($0.6 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 付近) に推移した。このことから、ヒドロキシルアミン (NH_2OH) の系内への添加は、リアクターのスタートアップ時のみで十分であることが示唆された。また、ヒドロキシルアミン (NH_2OH) の系内への添加により部分硝化反応が安定した後は、ヒドロキシルアミン無添加の状態においても、窒素負荷量を $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 以上の高負荷に設定することにより、部分硝化反応を安定的に維持できる可能性が示唆された。

3.5 曝気量増加後 (Phase 4) における処理性

ヒドロキシルアミン (NH_2OH) の添加停止後において曝気量を 200 ml/min 程度に増加させた (Phase 4) 結果、最大亜硝酸生成速度 $1.1 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ を達成したが、その後速度の低下が確認され、亜硝酸生成速度は $0.9 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 程度で推移した。この速度の低下は曝気量の増加による生物膜の剥離及び流出が原因であると考えられる。

曝気量と亜硝酸生成速度との相関を図 3 に示す。図 3 より曝気量と亜硝酸生成速度との間には高い正の相関 ($R^2 = 0.84$) が認められ、このことから本研究における部分硝化反応の律速因子は電子受容体である溶存酸素量である可能性が示唆された。

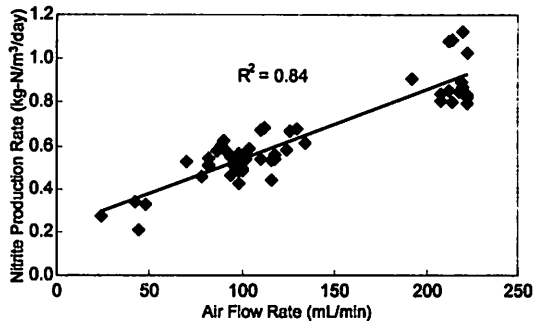


図 3 曝気量と亜硝酸生成速度との相関関係

3.6 FISH 法による完全硝化確認前後における菌相解析

完全硝化確認前後において、AOB として *Nitrosomonas* spp., NOB として *Phylum Nitrospira* 及び *Nitrobacter* spp. を対象に FISH 法を行った。完全硝化確認前の Phase 1 (Part A) においては、*Nitrosomonas* spp. に特異的な NEU の蛍光が確認されたが、*Phylum Nitrospira* 及び *Nitrobacter* spp. に特異的な *Ntspa712* 及び *NIT3* の蛍光は確認されなかった。次に Phase 2 で完全硝化確認後の状態 (Part B) においては、NEU 及び *Ntspa712* の蛍光がそれぞれ確認された。さらに、Phase 2 で部分硝化回復後の状態 (Part C) においては、NEU の蛍光が顕著に見られたが、*Ntspa712* の蛍光もごく僅かに確認された。しかし、Part B 及び Part C においても Part A 同様 *NIT3* の蛍光は確認されなかった。

また、各 Part における各硝化細菌 (*Nitrosomonas* spp., *Phylum Nitrospira*, *Nitrobacter* spp.) の存在割合を算出した結果、*Nitrosomonas* spp. は Part A では 34%、Part B では 9%、Part C では 47% 存在しており、完全硝化確認時における存在割合の低下、及び部分硝化回復時における存在割合の増加が確認された。また、*Phylum Nitrospira* は Part A では 0%、Part B では 4%、Part C では 2% 存在しており、完全硝化確認時において存在が確認され、部分硝化回復時においてもごく僅かの存在が確認された。

4. まとめ

- ・ ヒドロキシルアミン (NH_2OH) を $250 \mu\text{M}$ となるように系内に添加することで、迅速な部分硝化リアクターのスタートアップに成功し、運転開始後 80 日間で $0.61 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ($0.27 \text{ g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$) の亜硝酸生成速度に到達し、また、運転開始後 333 日目には最大亜硝酸生成速度 $1.1 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ を達成した。
- ・ 窒素負荷量を $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 以上の高負荷に設定することによって、完全型硝化反応から部分硝化反応への回復及び安定化が可能なが示唆された。
- ・ 高負荷運転に伴うフリーアンモニア (NH_3) 濃度の上昇が亜硝酸酸化細菌 (NOB) の活性を抑制している可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Kindaichi, T., S. Okabe, H. Satoh, and Y. Watanabe. Effects of hydroxylamine on microbial community structure and function of autotrophic nitrifying biofilms determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Water Science and Technology*, Vol. 49, pp. 61-68, 2004.
- 2) Tokutomi, T. Operation of a nitrite-type airlift reactor at low DO concentration. *Water Science and Technology*, Vol. 49, pp. 81-88, 2004.
- 3) Yang, W., J. Vlietsen and T. Hvitved-Jacobsen. Nitrite accumulation in the treatment of wastewaters with high ammonia concentration. *Water Science and Technology*, Vol. 48, pp. 135-141, 2003.
- 4) Garride, J. M., W. A. J. van Benthum, M. C. M. van Loosdrecht and J. J. Heijnen. Influence of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 53, pp. 168-178, 1997.
- 5) Yun, H. J. and D. J. Kim. Nitrite accumulation characteristics of high strength ammonia wastewater in an autotrophic nitrifying biofilm reactor. *Journal of Chemistry, Technology and Biotechnology*, Vol. 78, pp. 373-383, 2003.
- 6) Chuang, H. P., A. Ohashi, H. Imachi, M. Tandukar and H. Harada. Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition. *Water Research*, Vol. 41, pp. 295-302, 2007.
- 7) Anthonisen, J. E., R. C. Loehr, T. B. S. Prakasam, and E. G. Srinath. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal WPCF*, Vol. 48, pp. 835-852, 1976.