

低 pH 環境下における硝化

広島大学大学院工学研究科 ○田原 和典

広島大学大学院工学研究院 阿部 憲一, 金田一 智規

尾崎 則篤, 大橋 晶良

1. はじめに

家庭や工場の廃水などに含まれるアンモニアは、自然環境中において水質汚濁や湖沼の富栄養化といった問題を引き起こす。そのため排水の窒素除去は環境保全の重要なプロセスであり、その中で生物学的硝化・脱窒法は重要な役割を担っている。

硝化反応が進むと H^+ が生成され溶液の pH は低下し、微生物による硝化反応は停止する。一般的に、酸性条件下では硝化は起こらず、事实在単離されている AOB および AOA の生育 pH は 7~8 の範囲であり、pH 6.5 以下ではアンモニア酸化はほぼ停止することが知られている¹⁾。しかし近年、低 pH 環境下においても硝化反応が進行することが報告されており²⁾、pH 制御不要の硝化プロセスの開発などが期待されている。その一方で、通常の硝化プロセスに比べ処理速度が著しく低いことが廃水処理技術への適用の妨げとなっている。そこで本研究では、低 pH 環境下における硝化速度の向上、および低 pH 環境下での硝化を担う微生物の同定を目的とする。

2. 実験概要

本研究では、処理速度と汚泥濃度・接触能力に着目し、汚泥濃度を高めることで処理速度が向上するのではないかと考えた。また汚泥浮遊型のリアクターにおいては微小汚泥の流出が考えられたため、高い汚泥保持能を有する Down-flow hanging sponge (DHS) リアクターを用いて、高い汚泥濃度のもと低 pH 条件下における連続処理実験を行った。

そしてリアクター内の生物膜がどのような微生物群によって構成されているかを把握するため、リアクターから採取したスポンジ汚泥を対象として DNA 抽出を行い、Bacteria および Archaea を対象として 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行った。また FISH 法・DAPI 染色による顕微鏡観察によって微生物の視覚的な観察を行い、どのような微生物が低 pH 条件下において硝化を行っているかを同定する。

2-1. 実験装置および運転条件

本実験には、円筒型カラム (内径 6.6 cm、高さ 110 cm) 内に、3.5 cm 角のポリウレタン製スポンジ担体を 18 個直列に吊るした DHS リアクターを用いた。リアクターの概略を図 1 に示す。スポンジ担体には東広島浄化センターより採取した返送汚泥を植種した。アンモニア態窒素濃度を 20 mg-N/L に調整した無機人工廃水をリアクター上部より供給した (流入量 0.77 L/day、水理的滞留時間 [HRT] 1 day)。カラム内を好気条件に保つために、リアクター上部より十分量の空気供給を行った。運転開始当初は、室温 20°C、人工廃水 pH 5 で運転を行い、運転 25 日目に返送汚泥を再植種してからは、室温 30°C、人工廃水 pH 4 に変更した。

2-2. 分析項目

水質分析として、流入水 (人工廃水タンクより採取) および流出水 (リアクター下部の越流水を採取) の pH、各イオン態窒素 (NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^-) について測定を行った。各イオン態窒素の測定にはイオンクロマトグラフを用いた。ガス分析として、リアクター上部および下部の気相部より採取したガスについて、ガスクロマトグラフ (GC-TCD) を用いて O_2 、 N_2 、 CO_2 分圧を測定した (データ非表示)。

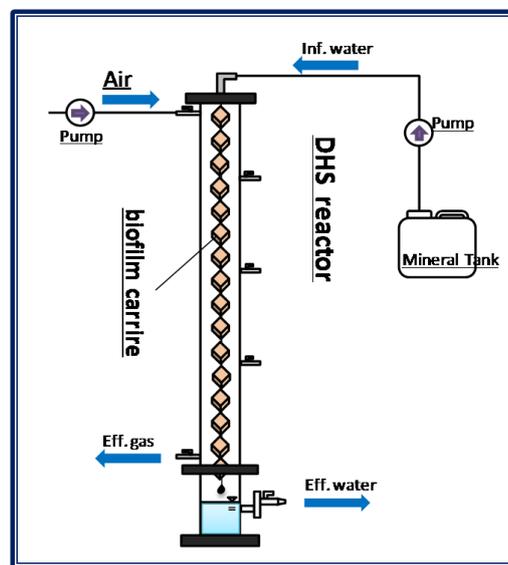


図 1 DHS リアクターの概略

3. 実験結果

3-1. 連続処理実験

基質の流入・流出における NH_4^+ 濃度、 NO_3^- 濃度および pH の経時変化を図 2 に示す。培養開始から 20 日以上経過したが NH_4^+ 濃度の減少および NO_2^- 、 NO_3^- の生成は見られず、硝化反応は確認できなかった。そのためリアクター運転条件の再検討と再植種を行った。培養開始から 25 日目、東広島浄化センターにて採取した返送汚泥を再植種し、設置室内の温度を 30°C に変更した。またこれ以降液体培地の pH を 4 で作成した。

再植種を行った以降、流出水において NO_3^- 生成、 NH_4^+ の増加が確認されたが、おそらく持込みの有機物や汚泥の自己分解に由来すると考えられる。培養 70 日目には流出水の NO_3^- 濃度は流入水と同程度またはそれ以下となり、pH についても流出時の値が流入時を下回ることはなかった。

運転 120 日目を過ぎた頃から、再び流出水の NO_3^- 濃度の増加が確認され始め、運転開始から 210 日目以降では 2~3 mg NO_3^- -N/L 程度で安定して検出された。 NH_4^+ 濃度についても、測定機器の不調と重なり測定値にばらつきがあったが、流出水において濃度の減少が確認された。pH についても流出時の値が流入時を下回り始め、流入時の pH が 4 前後であるのに対し流出時では 3.5 以下であった。また、全運転期間を通して流入水、流出水ともに NO_2^- は検出されなかった。

以上より、低 pH 環境下において顕著な硝化反応が確認された。しかし、処理速度はおおよそ 2 mg-N/m³/day で頭打ちとなってしまう、一般的な処理速度の 100 分の 1 程度であった。その要因として pH の低下に伴い微生物の生育可能な下限 pH に達した事などが考えられるが、これに関しては今後調査が必要である。

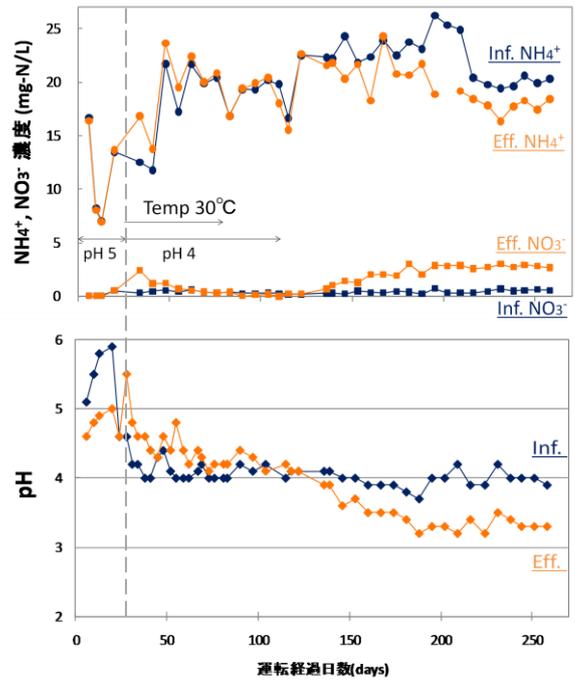


図2 NH_4^+ 、 NO_3^- 濃度および pH の経時変化

3-2. 微生物群集構造解析

培養開始から 216 日目にリアクターから採取した汚泥を用いて、16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行った結果、亜硝酸酸化細菌である *Nitrospira* 属に属する 1 クローン(図 3)とアンモニア酸化古細菌(AOA)のグループに属する 34 クローン(図 4)が検出され、これらのグループは低 pH 環境に特化した微生物群である可能性が示された。また低 pH 環境下における硝化は、系統学的に全く異なった生物である Archaea と Bacteria によって担われている可能性が示唆された。

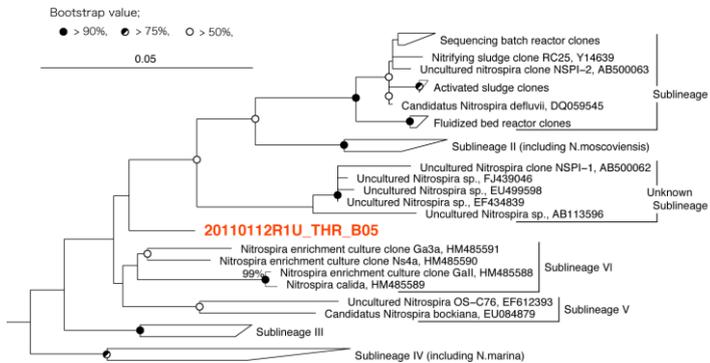


図3 *Nitrospira* 属の系統樹

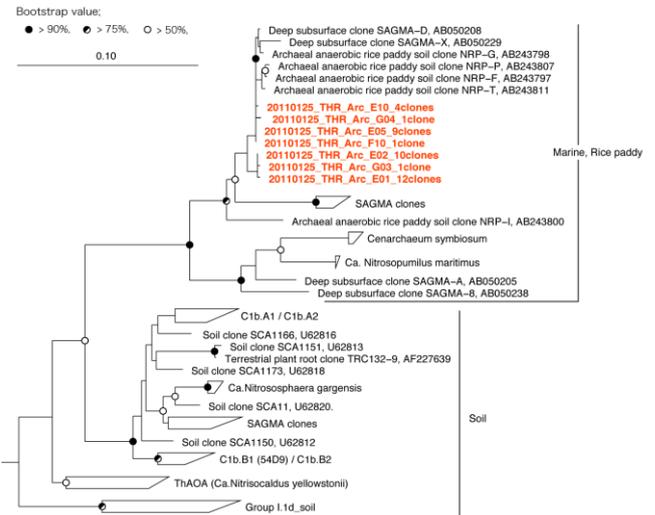


図4 AOA の系統樹

DAPI 染色による顕微鏡観察では小さな球菌の存在が確認できたが、FISH 法を用いた観察では Archaea と Bacteria 共に発光は見られなかった。おそらく低 pH 環境において微生物活性は低い状態にあると考えられる。

今後は微生物活性および処理性能の向上のため、硝化反応の律速となっている要因を調査・特定していく必要がある。また低 pH 環境下での硝化を担う微生物群に関してはさらなる調査を要し、今後微生物群の視覚的な観察などを行っていく必要がある。

4. 参考文献

- 1) Painter, H.A.: Nitrification in the treatment of sewage and wastewater. In (J. I. Prosser ed.) Nitrification. IRL Press, Oxford, UK, 185-211, 1986
- 2) Takashi Kurogi, Masatoshi Matsuba, Thuy Linh, Nguyen Minh Giang, and Akira Hiraishi : Distribution of ammonia-oxidizing bacteria in an acidophilic nitrifying reactor. 第 24 回日本微生物生態学会, 10-182