

12 SRT 制御を利用した亜硝酸型硝化法の開発

Development of partial nitrification reactor with SRT control

京都大学 萬 泰一、日高 平

西村 文武、津野 洋

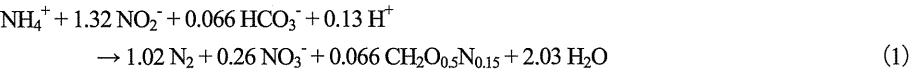
Kyoto Univ. Hirokazu YOROZU, Taira HIDAKA,

Fumitake NISHIMURA and Hiroshi TSUNO

1. はじめに

湖沼や内湾等の閉鎖性水域における富栄養化は解決すべき重要な水質汚濁問題の一つである。窒素は富栄養化の原因物質である栄養塩の一つであり、その効率的な除去技術の確立が求められている。現在、下水処理場を中心に最も広く普及している窒素除去技術として、生物学的硝化脱窒法が挙げられる。生物学的硝化脱窒法は、硝化工程と脱窒工程から成り、硝化のための曝気、脱窒の際の有機物添加、また余剰汚泥の発生といった運転および処分コスト面での課題を抱えている。

一方で 1995 年にオランダ・デルフト工科大学の研究グループにより、嫌気性アンモニア酸化 (Anaerobic Ammonium Oxidization: ANAMMOX) とよばれる、嫌気性条件下でアンモニア性窒素と亜硝酸性窒素を基質とした脱窒反応が報告された¹⁾。この代謝の反応式は式 (1) のように表される²⁾。



ANAMMOX 反応を利用して窒素除去を実現するには亜硝酸性窒素を必要量確保する必要がある。亜硝酸型硝化反応を達成するためには、反応場でアンモニア酸化細菌と亜硝酸酸化細菌の活性に差を生じる環境を現出させる方法、例えば低 DO や高 pH 等の手法が検討されてきているが、別の手法としてアンモニア酸化菌を存在させつつ、亜硝酸酸化菌を排除することが考えられる。アンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌はその最大比増殖速度に違いがある。アンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌の最大比増殖速度を表 1 に示す³⁾。アンモニア酸化菌の増殖速度が亜硝酸酸化菌のそ

れを上回ることから、理論的には固形物滞留時間 (SRT) の制御により、亜硝酸酸化菌の選択的排除が可能である。そこで本研究では SRT の制御によって安定的な亜硝酸型硝化を目指した。

表 1 アンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌の最大比増殖速度と平均倍加時間³⁾

	最大比増殖速度[1/h]	平均倍加時間[h]
アンモニア酸化菌	0.025	28
亜硝酸酸化菌	0.013	53

2. 実験方法

図 1 に示されるような有効容積 10L の連続式リアクターを 2 系列運転した。リアクターの周りに温水を循環させることにより、リアクター内を約 25℃ に保持した。各リアクターともに体積充填率が 10% となるようにポリウレタンフォーム担体 (1.2cm×1.2cm×1.5cm の直方体担体リンボーキューブ、(株) 西原環境テクノロジー) を投入し、人工無機廃水を対象として運転した。水理学的滞留時間(HRT)は 12 時間とし、pH は 8 ~9 とした。人工無機廃水の組成を表 2 に示す。流入水のアンモニア性窒素は 120mgN/L とした。リアクター内の攪拌は底部に設置したエアストーンを通じての曝気により行った。

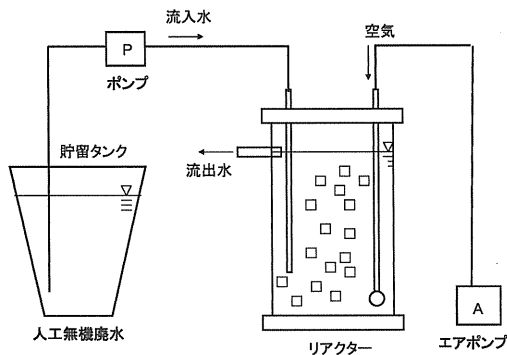


図1 連続式リアクター模式図

表2 流入人工無機廃水組成

K ₂ HPO ₄	5.62mg/L
KH ₂ PO ₄	4.39mg/L
MgSO ₄	2.00mg/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	566mg/L
NaHCO ₃	2.016g/L

表3 SRT制御とその運転期間

SRT (days)	2	3	4	5
運転期間 (days)	10	10	12	15

表4 PCR 条件

反応段階	amoA 1F-2R	FGPS872f-1269r	NSR1113f-1264r
初期変性	94℃,600sec	95℃,600sec	94℃,300sec
変性	94℃,15sec	94℃,45sec	94℃,30sec
アニーリング	55℃,20sec	50℃,45sec	65℃,30sec
伸長	72℃,120sec	72℃,90sec	72℃,30sec
最終伸長	72℃,300sec	72℃,600sec	72℃,900sec
合成停止	4℃,∞sec	4℃,∞sec	4℃,∞sec

本実験での SRT は、全菌がポリウレタンフォーム担体に付着していると仮定し、設定したものである。SRT 制御は、それまで上述の条件の下で連続的に硝化運転を行っていたリアクター内の硝化菌付着ポリウレタンフォーム担体を半分 (232 個) 新しいものに入れ替えて運転を継続し、亜硝酸性窒素の蓄積を確認した時点から開始した。この亜硝酸性窒素の蓄積に関しては、ポリウレタンフォーム担体を半分入れ替えることにより、徐々に亜硝酸性窒素の蓄積が観察され、4 日から 5 日にかけてその蓄積量が最大となることが確認された。

SRT 制御を行う際のポリウレタンフォーム担体の入れ替えについては、1 滞留時間に相当する約 12 時間間隔で行った。入れ替え方については、リアクターの蓋をあけてリアクター内のポリウレタンフォーム担体の所定量をランダムに選び、軽く含有水を除去し取り出した後、同量の新しいポリウレタンフォーム担体を補充した。SRT の設定は引き抜くポリウレタンフォーム担体の割合を変えることで行った。その条件を表 3 に示す。このようにして至適な SRT を選定することとした。

また、SRT4 日の運転において、流出水中に含まれるアンモニア酸化菌および亜硝酸酸化菌の菌数を、Real-time PCR を用いて測定した。アンモニア酸化菌は β -AOB を、亜硝酸酸化菌は *Nitrospira* ならびに *Nitrobacter* を対象に測定した。PCR 条件を表 4 に示す。amoA1F-2R は β -AOB を対象とした primer set であり、FGPS872f-1269r および NSR1113f-1264r は *Nitrobacter* および *Nitrospira* を対象とした primer set である。流出水試料は、400mL をサンプリングし、その後 200 倍濃縮して測定した。また、担体試料としては、担体内含有水を含んだ状態でサンプルとして保存した。担体のサンプルについては、担体間の誤差を考慮して一度に 3 個採取した。

3. 実験結果

本実験で得られた結果(各 SRT における各態窒素存在割合)を図 2 に示す。

3.1 SRT=2 日および 3 日での運転結果

SRT を 2 日および 3 日で運転した場合では同程度の結果が得られた。SRT 制御を開始してから、急激なアンモニア性窒素の蓄積が観察された。これはアンモニア酸化菌の増殖量に対してポリウレタンフォーム担体の入れ替えによる菌の除去量が大きく、アンモニア酸化菌がリアクター内に菌体を維持できなかったためと

考えられる。またそれに伴って、亜硝酸性窒素濃度および硝酸性窒素は、SRT 制御開始後、急激な濃度低下および低濃度での停滞 (17.0mgN/L 程度) が観察された。これもポリウレタンフォーム担体の入れ替えによる影響と考えられる。結果として、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素およびアンモニア性窒素の存在比が、およそ 3 : 1 : 6 程度となった。上記の式 (1) より、ANAMMOX プロセスへの適用には、亜硝酸性窒素とアンモニア性窒素の存在比がおおよそ 1 : 1 であること望ましい。したがって SRT2 日および 3 日での制御は、ANAMMOX プロセスへの適用には向いていないと判断された。

3. 2 SRT=4 日での運転結果

SRT4 日で運転した場合、SRT 制御開始からアンモニア性窒素の緩やかな蓄積がみられたが、SRT 制御を開始してから 9.0 日目から減少に転じ、10mgN/L (存在割合 0.08) 程度に収束した。また、亜硝酸性窒素は SRT 制御開始 3.0 日目から緩やかな増加に転じ、90mgN/L (存在比 0.75) 程度を維持することができた。また、硝酸性窒素に関しては、SRT2 日および 3 日の場合と同様、ゆるやかに減少した。

この実験結果から SRT4 日での運転は、アンモニア酸化菌の存在を維持しつつ、亜硝酸酸化菌を選択的に除去できたと考えられる。したがって本研究の実験条件では、SRT4 日が亜硝酸型硝化を達成するために適用可能な SRT 条件であると判断された。

3. 3 SRT=5 日での運転結果

SRT を 5 日で運転した場合では、他の SRT と比較して、最も安定的なアンモニア酸化活性 (約 2.0mgN/(cm³・day)) が得られた。この要因として、SRT を長く設定したことによりアンモニア酸化菌がリアクター内に安定的に菌体を維持できたことが挙げられる。しかしながら、同時に各 SRT の中で最も硝酸性窒素の存在比が高い結果となった。一方で、実験開始から 3 日目以降は急激に硝酸性窒素の割合が減少していることから、より長期間にわたる運転により、他の SRT 同様に低濃度に収束する可能性も示唆された。

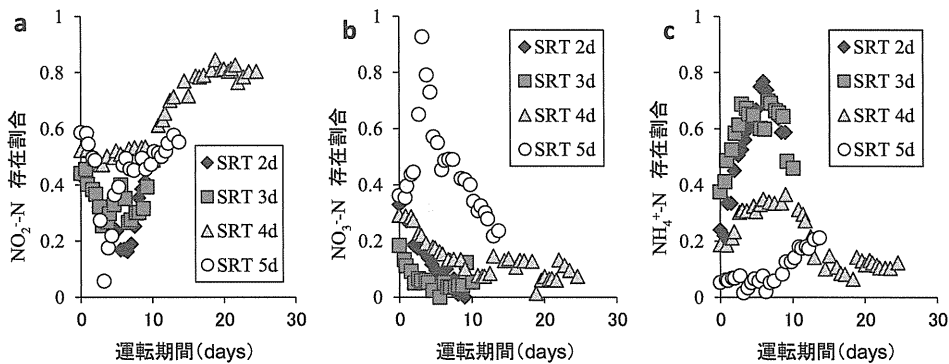


図 2 各 SRT における各態窒素存在割合

3. 4 亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の濃度差

図 3 に流出水における亜硝酸性窒素濃度と硝酸性窒素濃度との差と、SRT との関係を図 3 に示す。図中では SRT 制御開始から 6 日目ならびに 10 日目の結果を示している。この図から、SRT4 日における亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の濃度差が最も大きく、この条件が亜硝酸型硝化に適していると言える。また、10 日目における各 SRT での値が 6 日目よりも上昇しているのは、亜硝酸性窒素が蓄積したためで

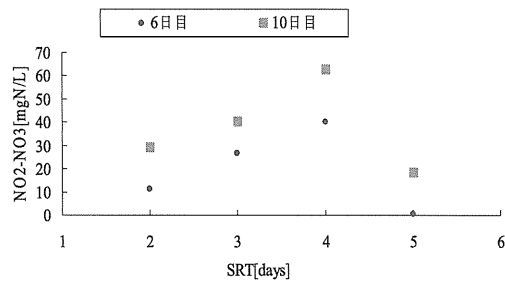


図 3 亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の濃度差

ある。硝酸性窒素は SRT5 日の条件を除いて、SRT 制御開始から減少に向かった。本研究での実験条件では、SRT4 日として運転することにより、亜硝酸型硝化が最も効率的に達成できることが示された。

3. 5 Real-time PCR 測定結果および考察

図 4 に SRT を 4 日として運転した場合の Real-time PCR 測定結果を示す。亜硝酸型硝化が達成された SRT4 日での運転において、流出水中における β -AOB 数は増加傾向にあった。硝酸性窒素濃度の経時変化より、亜硝酸酸化菌は大きく減少することが予想されたが、亜硝酸酸化菌数 (*Nitrospira*+*Nitrobacter*) は一端減少したものの、13 日目には増加

に転じた。担体中に存在する硝化菌数については、担体によって大きく異なることが明らかとなった。より詳細な調査は必要と考えられるが、今回の測定結果より、全体的に β -AOB の存在量が亜硝酸酸化菌数 (*Nitrospira*+*Nitrobacter*) に比べて多く、亜硝酸型硝化反応が達成できたことと関連していることが示されている。

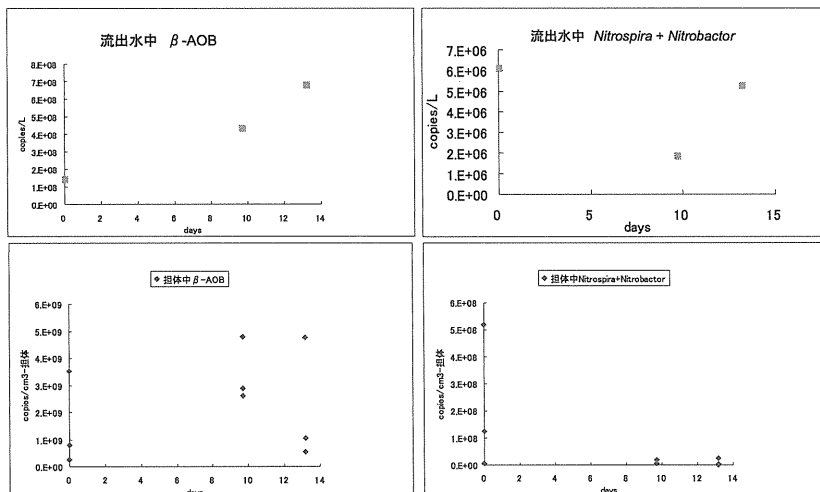


図4 Real-time PCR測定結果

4 まとめ

本研究により、SRT を制御することによって、各態窒素の存在割合を変化させることが示された。本研究では各実験条件間での水温や DO、pH 等の環境条件は同一として運転されていることから、SRT 制御によりアンモニア酸化菌および亜硝酸酸化菌の存在量を変化させたことの結果であると考えられる。SRT を 2 日および 3 日で運転した場合、アンモニア酸化菌および亜硝酸酸化菌は、リアクター内に菌体を維持できず、アンモニア性窒素の蓄積が観察された。一方、SRT を 4 日および 5 日で運転した場合、アンモニア酸化菌の蓄積が亜硝酸酸化細菌の蓄積よりも卓越し、結果として亜硝酸性窒素の蓄積が生じたと考えられた。特に SRT を 4 日とした場合は、亜硝酸性窒素の存在割合が各 SRT の中で最大 (80%程度) となり、(亜硝酸性窒素) - (硝酸性窒素) の値も最大となったことから、本実験条件では、SRT を 4 日として運転することにより、亜硝酸性窒素の蓄積が最も効率的かつ安定的に生じさせることができ、亜硝酸型硝化が達成されることが明らかになった。

参考文献

- 1) 藤井 隆夫(2004), 微生物学的側面からみた anammox, 水環境学会誌 Vol.27, No.7, pp.448-452.
- 2) 古川 憲治(2004), 嫌気性アンモニア酸化(anammox)の発見とその後の研究開発動向, 水環境学会誌 Vol.27, No.7, pp.442-447.
- 3) 宗宮 功 津野 洋(1999), 環境水質学, コロナ社

キーワード：亜硝酸型硝化、SRT、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌、ANAMMOX

Key Words : partial nitrification, SRT, ammonia oxidizing bacteria, nitrite oxidizing bacteria, ANAMMOX