

DHS リアクターを用いた低温海水魚水槽での硝化技術の開発

長岡工業高等専門学校 相塚陸 荒木信夫 押木守
長岡技術科学大学 山口隆司
三機工業株式会社 大森聖史 長野晃弘

1. はじめに

近年、魚介類の水槽養殖や生け簀など、新鮮度を落とさずに魚を生かしたまま維持して輸送する技術は年々需要が高まっている。しかし、水槽内は閉鎖的な環境であるため、魚に有害となる排泄物や残渣のエサによりアンモニウム態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) の濃度が高くなり、魚介類を維持することが困難になっており、水槽養殖における最も大きな課題は水槽内の $\text{NH}_4\text{-N}$ の除去となっている。

そこで、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を除去する方法の一つとして硝化細菌による生物学的硝化法が考えられる。硝化反応は、アンモニア酸化細菌 (AOB) が行うアンモニア (NH_3) を亜硝酸 (NO_2^-) へ酸化する段階と亜硝酸酸化細菌 (NOB) が行う NO_2^- を硝酸 (NO_3^-) へ酸化する二つの段階に分けられる¹⁾。しかし、硝化細菌は水中の pH、水温の変動、阻害物質に感受性が高いため硝化能力が阻害されやすく、さらに増殖速度が極めて遅いという特徴を有している²⁾。したがって、水槽内の硝化を安定的に進めるために、硝化細菌の量と活性を最大限に維持することが重要である。以上より、硝化システムとして新規の好気性処理技術 DHS リアクター法²⁾が開発された。DHS は Down-flow Hanging Sponge の略であり、スポンジ担体を微生物の付着担体として用いたものである³⁾。DHS リアクターは大気に暴露しているスポンジ担体に流入水を上部から自然流下させるため、硝化細菌の増殖に必要な酸素を自然供給する構造である。このため、曝気を必要としない経済的な処理技術である。また、スポンジ担体の表面や内部に大量の細菌が付着でき、増殖速度の遅い硝化細菌に適した処理技術である⁴⁾。

$\text{NH}_4\text{-N}$ は他に活性炭やゼオライトといった吸着材を用いて除去することも可能である⁵⁾。また、多孔質な構造を特徴とする活性炭はバイオフィルムの形成に有利であることから⁶⁾、細菌の保持にも適した担体である。

魚介類を生きた状態で維持するため、水温は 10°C から 15°C に設定されている。一方、硝化細菌は低温環境での活性と増殖速度が低いため、これまでに述べた DHS 法と吸着材を複合したリアクターの導入により低温海水の高効率硝化技術が有望である。本研究では、吸着材複合型 DHS リアクターによる低温海水の硝化技術の開発を目的とし、 10°C と 20°C での連続運転により処理能力を評価し、さらに低温条件で優占する硝化細菌種を遺伝子解析により特定する。

2. 実験方法

(1) DHS リアクターの運転

① DHS リアクターと植種汚泥

スポンジ (容積 5L) を保持担体とした容積 10L の DHS リアクターに活性炭を 100 mL 添加したもの (活性炭系)、ゼオライトを 100 mL 添加したもの (ゼオライト系)、吸着材を添加しないもの (スポンジ系) の 3 基を用意し、 20°C と 10°C 温度条件で合計 6 基の連続運転を行った。なお、スポンジ系と活性炭系の比較に注力するため、ゼオライト系は 212 日目に運転を停止させた。植種汚泥は、寺泊水族館の水槽砂濾過装置内のろ材 (サンゴ砂) に付着した汚泥を集積培養したものを植種した。なお、この集積にはアンモニア基質を用い、流出水を膜分離して排出する培養装置により 15°C で 160 日間培養を行った。

② 培地と窒素負荷

培地には人工海水に NH_4^+ 濃度を 100 mg/L、炭酸水素ナトリウム 1 g/L に調整した pH 7.5 (運転 101 日目から調整を行い 8.0) の基質を用いた。なお、リアクター内の pH は調整を行わず、6.8 (101 日目から 7.2) とした。初期窒素負荷は 11.2 mg-N/L/day に設定し、処理が安定し次第、負荷を上げていくこととした。

(2) 化学分析

3~4 日に 1 度の間隔で、各リアクター流入水の $\text{NH}_4\text{-$

N, 流出水の $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度を水質分析機 (HACK DR2800) にて測定した. また流出水の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度を硫酸ブルシン法にて吸光度計を用い測定した.

(3) 遺伝子解析と細菌数の定量

次世代シーケンサーMiSeq を用いて, 膜分離培養 160 日目の植種汚泥と DHS リアクターの運転 34, 212 日目のスポンジ搾汁液の DNA サンプルについて遺伝子解析を行い, 優占菌種の特特定を行った. また, DHS リアクターのスポンジ搾汁液サンプルについては硝化細菌数の定量を顕微鏡を用いたダイレクトカウントと遺伝子解析の結果から行った. 計算式は【AOB または NOB の全体における比率 (%)】×【ダイレクトカウントによる全菌数 (cells/ml)】を用いた.

3. 実験結果及び考察

(1) DHS リアクターの運転

① スポンジ系

図 1, 2 に 20°C , 10°C のスポンジ系リアクター内の窒素成分濃度と窒素負荷の経日変化を示す. 20°C では運転開始から徐々に $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_2\text{-N}$ が蓄積していき, 培地の pH を 8.0 へ変更した 101 日目から硝酸型硝化へと移行し始めた (図 1). NOB は pH 6.5 以下では亜硝酸酸化反応が停止することが報告されており⁷⁾, 運転 101 日以前のリアクター内 pH は 6.8 ほどであったため, 硝酸型硝化への移行を阻害されていたものと考えられる. 現在は窒素負荷 60 mg-N/L/d で安定した処理を行っている. 10°C では運転開始から徐々に $\text{NH}_4\text{-N}$ が蓄積していき, 運転 60 日目に NH_3 酸化速度を確認する目的で培地の供給を一時停止した後も, $\text{NH}_4\text{-N}$ が全て除去されることはなかった (図 2). 培地の供給を再開し, 40 日経過した後から $\text{NO}_2\text{-N}$ が徐々に蓄積していき, 現在硝酸型硝化へ移行しつつある.

② 活性炭系

図 3, 4 に 20°C , 10°C の活性炭系リアクター内の窒素成分濃度と窒素負荷の経日変化を示す. 20°C ではスポンジ系とはほぼ同じ挙動を示したが, 運転開始直後に $\text{NH}_4\text{-N}$ が蓄積することなく亜硝酸型硝化へ移行し, 現在は窒素負荷 60 mg-N/L/d で安定した処理を行っている (図 3). またスポンジ系とは異なり, 硝酸型硝化へ移行する際に $\text{NH}_4\text{-N}$ の蓄積が見られた.

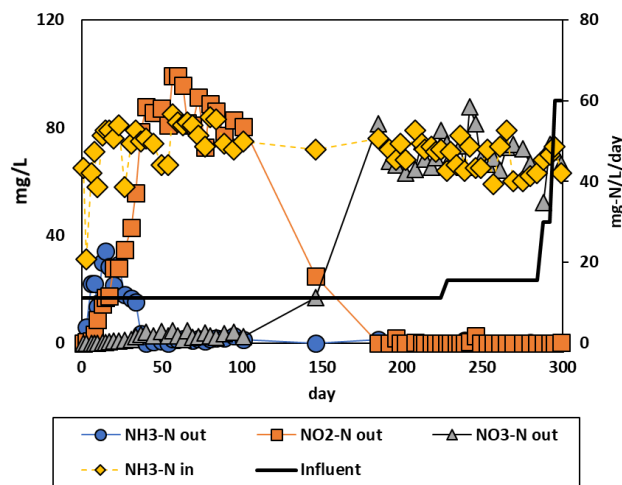


図 1 20°C -スポンジ系

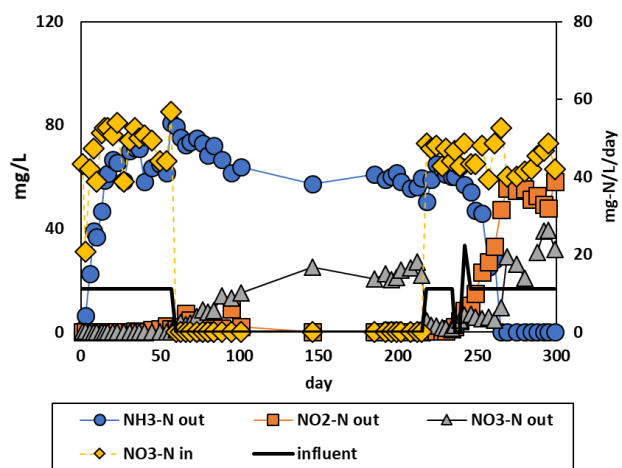


図 2 10°C -スポンジ系

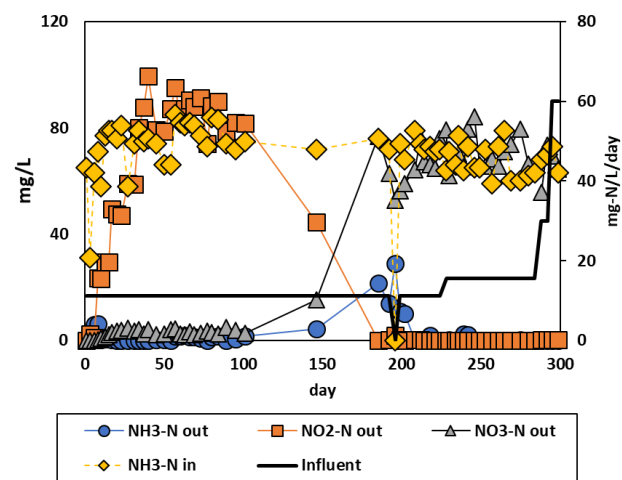


図 3 20°C -活性炭系

10°C ではスポンジ系とは異なり, 運転開始から $\text{NH}_4\text{-N}$ ・ $\text{NO}_2\text{-N}$ が同時に蓄積し始め, pH を変更した後硝酸型硝化へ移行した (図 4). また 200 日目前後で $\text{NO}_2\text{-N}$ が増加しているが, 原因としてこの時期に劣化していたポンプチューブを換装したことにより, 換装

前と比較して流量が若干上昇した可能性が考えられる。現在 30 mg-N/L/d で硝酸型硝化へ移行しつつある。

③ ゼオライト系

図 5, 6 に 20°C, 10°C のゼオライト系リアクター内の窒素成分濃度と窒素負荷の経日変化を示す。20°C, 10°C 共に、運転を行った 212 日間スポンジ系とほぼ同様の挙動を示した (図 5, 6)。ゼオライトには活性炭と比較して NH_4^+ の吸着能力に優れているという報告があるが⁵⁾、両温度においても活性炭系のように運転開始直後の $\text{NH}_4\text{-N}$ の蓄積を抑えることはなかった。このことから、活性炭系では活性炭の NH_4^+ 吸着能力が直接的に働くのではなく、細菌保持能力により硝化細菌が増殖することでアンモニア酸化速度促進に寄与するものと推察される。

(2) 硝化細菌の優占菌種

優占硝化菌種は全リアクター、温度において AOB では *Nitrosospira multififormis*, NOB では *Nitrospira japonica* であり、温度や吸着材の違いにより優占する硝化菌種に変化は見られなかった。

(3) 各リアクターの細菌セル数

① 全細菌セル数

図 7 に 34 及び 212 日目の各リアクターのスポンジ搾汁液に存在する全細菌セル数を示す。20°C では全リアクターについて全細菌セル数が増加した一方で、10°C では活性炭系のみセル数が増加し、スポンジ系・ゼオライト系では半分ほどに減少していた。スポンジ系・ゼオライト系では 60~215 日目まで培地の供給を停止していたことで、細菌の増殖源が枯渇しセル数が減少したものと推察される。

② AOB セル数

図 8 に 34 及び 212 日目の各リアクターのスポンジ搾汁液に存在する AOB セル数を示す。運転 34 日目において活性炭系のセル数は、スポンジ系・ゼオライト系と比較して最も多く、その差は 20°C では 1.5×10^6 cells/mL, 10°C では 6.0×10^5 cells/mL ほどであった (図 8)。また、リアクター内の $\text{NH}_4\text{-N}$ の蓄積量を同時期と比較しても両温度共に活性炭系が最も少ないことから (図 4)、活性炭はその多孔質構造により AOB を保持し、アンモニア酸化速度促進に寄与することが確認された。212 日においては、20°C では全リアクタ

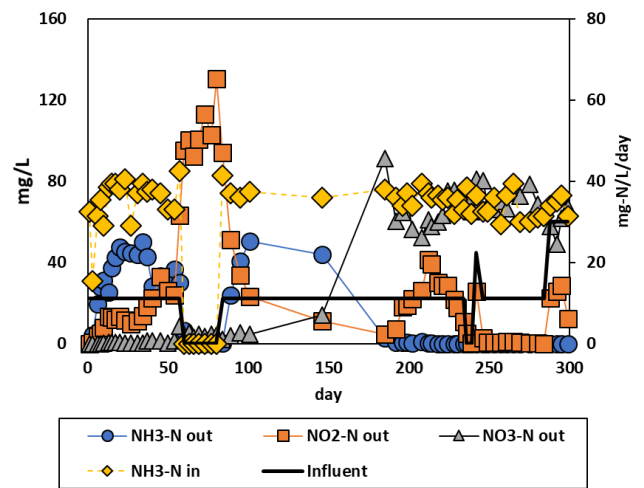


図 4 10°C-活性炭系

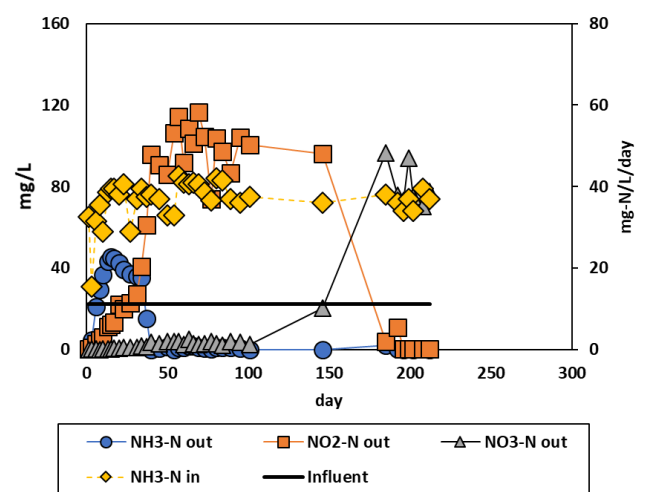


図 5 20°C-ゼオライト系

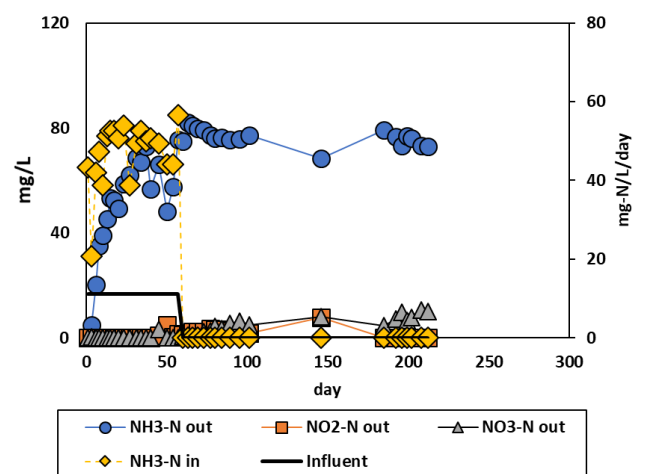


図 6 10°C-ゼオライト系

一のセル数が 34 日目から増加している一方で、10°C では活性炭系のみが増加していた。これは全細菌セル数が減少した際と同様に、細菌の増殖源が枯渇したことが要因の一つとして考えられる。

③ NOB セル数

図9に34及び212日目の各リアクターのスポンジ搾汁液に存在するNOBセル数を示す。運転34日目において20°CではNOBセル数に優位な差は見られなかったが、10°Cでは活性炭がスポンジ系・ゼオライト系と比較して最も多く、その差は 1.4×10^5 cells/mLほどであった(図9)。212日目においては、20°Cでは全リアクターのセル数が34日目から増加している一方で、10°Cでは全リアクターのセル数が減少していた。これは全細菌セル数が減少した際と同様に、細菌の増殖減が枯渇したことが要因の一つとして考えられる。しかし、10°C-活性炭系は34日目と比較して212日目ではNOBセル数が減少したものの、硝酸型硝化を達成していることから(図4)、34日目の時点でNOBが低pHによる亜硝酸酸化阻害を受けていたものと推察される。

4. まとめと今後の予定

- (1) DHSリアクターが硝酸型硝化を行える最大窒素負荷は20°Cで60 mg-N/L/day, 10°Cで11.2 mg-N/L/dayであった。
- (2) 温度, 吸着材の違いにより優先する硝化細菌種に変化はなかった。
- (3) 活性炭はその多孔質構造により硝化菌を保持し, アンモニア酸化速度促進に寄与する。
- (4) 今後はDHSリアクターへの窒素負荷を増加させていき最大窒素負荷を確認すると共に, 活性炭にどの程度硝化細菌が付着し, アンモニア酸化速度促進に寄与しているのかを明らかにする。

5. 参考文献

- 1) Shijian Ge et al. (2015), *Chemosphere*, vol.140, pp85-98.
- 2) 比尾高嶺, (2003), 生物学的排水工学 [第1版], コロナ社, 283p.
- 3) 小野寺崇 他, (2008), 土木学会論文集 Vol.63, No.2, pp78-87.
- 4) 川又睦 他, (2011), 大成建設技術センター報, 44, pp.53-1-53-
- 5) Azhar AbdulHalim et al., (2010), *Desalination*, Vol.262,

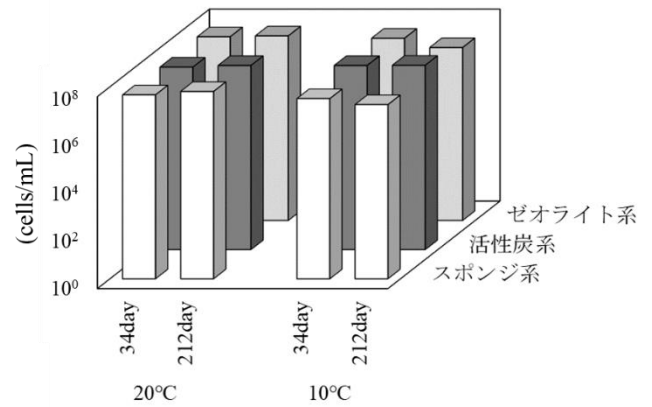


図7 各リアクターの全セル数

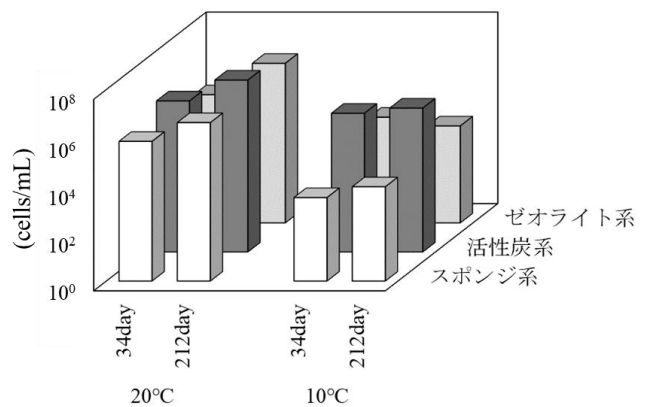


図8 各リアクターのAOBセル数

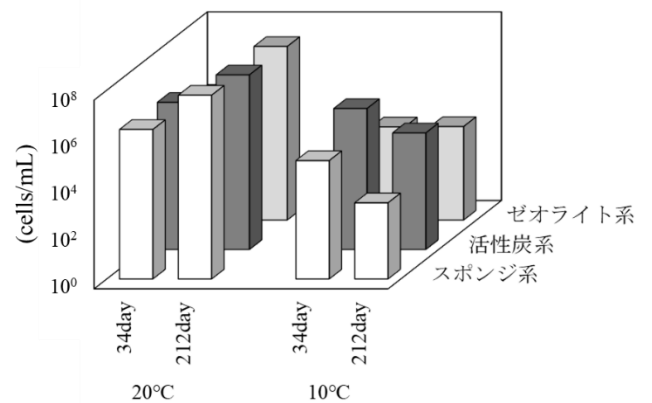


図9 各リアクターのNOBセル数

Issues 1-3, pp.31-35.

6) David R. Simpson, (2008), *Water Research*, Vol.42, Issue 12, pp.2839-2848.

7) E. Jiménez et al., (2011), *Bioresour Technol*, 102, pp8741-8747