



Title	Characterization of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria enriched at low temperature
Author(s)	朴, 起里
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61764
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (朴 起里)	
論文題名	Characterization of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria enriched at low temperature (低温で集積した嫌気性アンモニア酸化細菌の特徴づけ)
論文内容の要旨 Nitrogen removal from wastewater is essential for avoiding eutrophication of closed water bodies. Although nitrogen in wastewater is biologically treated by combinations of nitrification and denitrification, these conventional processes have several problems such as energy requirement for aeration and external carbon demand. In contrast, the anaerobic ammonium oxidation (anammox) is an innovative nitrogen removal process that requires less energy and external carbon compared with the conventional processes. Anammox is a biological reaction in which ammonium is oxidized to nitrogen gas using nitrite as the electron acceptor. However, the anammox process generally requires an additional heating system to maintain the reactor temperature at 30–37°C for efficient nitrogen removal. Therefore, development of the anammox process applicable at ambient temperature is desired. The purpose of this study is enrichment of anammox bacteria at low temperatures and its characterization for future applications to the practical nitrogen removal processes without any additional heating system. This Ph.D thesis is composed of the following five chapters. In chapter 1, current situations of water pollution caused by nitrogen, the conventional nitrogen removal process, and discovery, history, and current obstacles of the anammox process were reviewed. In chapter 2, the start-up of lab-scale anammox reactors packed with a nonwoven fabric material was attempted at 20°C using various inoculum sources. The reactor Low-R1 was inoculated with activated sludge sampled in Kumamoto, a temperate region of Japan, while Low-R2 with activated sludge obtained from Hokkaido, a subarctic region. Low-R3 was inoculated with groundwater microorganisms sampled from Kumamoto. After 800 days from the start-up of the reactors, Low-R1 and Low-R2 achieved high nitrogen removal rates (NRR) of 0.64 kg-N/m³/day at 20°C with the typical anammox reaction stoichiometry. Although NRR increased to 0.38 kg-N/m³/day also in Low-R3 after 700 days, the stoichiometrical analysis indicated the simultaneous occurrence of anammox and nitrification. It can be said that anammox bacteria which can grow at ambient temperature are ubiquitous in the environment and that their enrichment is possible. In chapter 3, the temperature dependence of the anammox activity of was investigated. The specific anammox activity (SAA) of Low-R1 and Low-R2 had peaks, respectively, of 2.8 at 25°C and 4.2 mg-N/g-VSS/h at 30°C, respectively, and dropped over the optimum temperature. Also the SAA of Low-R1 and Low-R2 was higher at 10–25°C and 10–30°C, respectively, than that of an anammox reactor operated at 35°C (Mod-R). The apparent activation energy of Low-R1, Low-R2 and Mod-R was 107 (10–25°C), 73 (10–30°C) and 89 kJ/mol (10–35°C), respectively. In phylogenetic analysis, <i>Candidatus</i> Kuenenia stuttgartiensis dominated in Mod-R, Low-R1 comprised of <i>Ca. K. stuttgartiensis</i>, <i>Ca. Brocadia caroliniensis</i>, <i>Ca. B. fulgida</i> and uncultured anammox- or planctomycete-like bacteria. Low-R2 was comprised of various uncultured anammox- or planctomycete-like bacteria. The results suggested that the enrichment of anammox bacteria at low temperature is expected to be an effective strategy for anammox applications under a wide temperature range. In chapter 4, a mathematical model was developed for predicting the nitrogen removal performance using Low-R1, Low-R2 and Mod-R under temperature variations of 10–35°C. The specific growth rate of anammox bacteria in Low-R1 and Low-R2 was characterized by a temperature function with minimum, optimum, and maximum temperatures, while Mod-R was expressed by the exponential model. Simulation results showed that considerable drops of nitrogen removal were commonly observed for all the reactors at lower temperature period, and additionally at higher temperature region only for Low-R1 under temperature fluctuation. Low-R2, which has high anammox activity under a relatively wider temperature range, can be practically applicable. In chapter 5, this study was summarized and conclusions were shown. It was concluded that enrichment of the anammox bacteria at low temperature is an effective step for their practical applications for efficient nitrogen removal. Knowledges obtained in this study would contribute to development of more low-cost and energy-saving nitrogen removal technologies using anammox in future.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (朴 起 里)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	池 道彦
	副 査	教授	東海 明宏
	副 査	准教授	惣田 訓
	副 査	准教授	町村 尚

論文審査の結果の要旨

閉鎖性水域の富栄養化を防止するため、下排水中の窒素を除去することが重要であるが、現状の硝化－脱窒による窒素除去プロセスはエネルギー多消費型であり、外部炭素源添加が求められるなど高コストとなる問題がある。20世紀末に発見された嫌気性アンモニア酸化（anammox）は、このような問題を大幅に低減することのできる画期的微生物反応であるが、これまでの事例では 30-37℃という比較的高温域でのみ高い活性を示すことが知られ、その利用範囲は制限されている。本論文は、20℃前後の水温においても効率的な窒素除去性能を示し、下水処理などへの広範囲な利用が可能な anammox プロセスの構築を目指した基礎的研究の成果を取りまとめたものである。

第 1 章は、本論文の全体的なイントロダクションであり、低温域での現状の anammox の限界を明確にしたうえで、研究の目的を明確に述べている。

第 2 章では、熊本および北海道の排水処理施設から採取した活性汚泥と、熊本の地下水由来の微生物群集を植種として、20℃という比較的低温で anammox リアクターの立ち上げを試みている。この結果、2 年近くの長期間を要したものの、何れの植種からも 20℃において効率的な anammox 反応を示す集積系を構築できることを明らかにしている。また、地下水微生物群集からは安定な活性を示す系を構築できなかったことから、効率的で安定な低温型 anammox リアクターの構築には、適当な植種源の選択が重要であると考察している。

第 3 章では、活性汚泥から構築された 2 種の低温型 anammox 集積系（低温型集積系）について、窒素除去性能の温度依存性を明らかにするとともに、微生物群集の解析を行い、35℃で集積された従来型の中温型 anammox 集積系（中温型集積系）との比較から、その特徴を明らかにしている。この検討で、低温型集積系は何れも比較的低温下（10-25℃）において、中温型集積系よりも高い窒素除去性能を有することを確認している。特に熊本の排水処理施設から採取した活性汚泥由来の集積系は、30℃においても中温型集積系に勝る窒素除去性能を示し、極めて有用であることを明らかにしている。また、低温型集積系は、中温型集積系では優占していない、多様な anammox 細菌によって構成されていることを明らかにし、これまで知られていなかった低温型 anammox 細菌群の特徴の一端を解明している。

第 4 章では、これまでに得られたデータを用いて、数学モデルにより低温型 anammox リアクター（低温型リアクター）による窒素除去特性を表し、処理性能に及ぼす処理水温の影響をシミュレーションにより評価している。その結果、低温型リアクターは、下水処理が行われる一般的な処理水温下においては、中温型 anammox リアクター（中温型リアクター）よりも高い窒素除去性能を継続的に示し得ること、並びに、10-25℃の処理温度の変動に対しては中温型リアクターに勝る処理の安定性を示し得ることを明らかにしている。一方、30℃以上の高温域で処理温度が変動する場合には、処理の安定性が失われる場合があるが、汚泥滞留時間を長くすることで、ある程度の安定化を図れることを明らかにするなど、低温型 anammox 利用プロセスの設計・運転管理に寄与する知見を提示している。

第 5 章では、本論文の研究成果の総括を行い、20℃のような低温下においても anammox リアクターの構築が可能であり、anammox を下水処理等へも広範に適用できる可能性が十分にあると結論付けている。

以上のように、本論文は、環境工学分野、特に anammox による窒素除去技術の発展に大いに貢献する成果を提示している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。