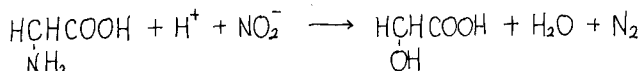


東京大学工学部 ○学生員 伊藤 和夫

正員 松尾 友矩

Ⅰはじめに …… 硝化細菌は、酢酸を炭素源及びエネルギーとする一部の *Nitrobacter* 株を除き、全て偏性独立栄養性であると言われているが⁽¹⁾、C.Clark らは、*Nitrosomonas europaea* はある種の有機物を取り込むことができると報告している⁽²⁾。特にアミノ酸については、グルタミン酸、アスパラギン酸などは、*Nitrosomonas europaea* による硝化を促進し、逆にリシン、バリンなどは 4 mg/l の濃度で硝化を阻害するという⁽³⁾。また同様な報告が *Nitrobacter agilis* に関するものでもなされており⁽⁴⁾⁽⁵⁾、バリン、トレオニンなどは 10^{-3} M で阻害が起きるといわれる⁽⁴⁾。

一方、アミノ酸と亜硝酸は反応して N_2 ガスを生成することが知られており、アミノ酸の定量法としても用いられる⁽⁶⁾。例えばグリシンと亜硝酸が次式のごとく反応するときの ΔG を計算すると、 $\Delta G = -330.8$ kJ となり、反応



は自然に進行することが可能であるとわかるが、その時 pH が触媒的に反応速度を支配していると予想される。

本研究においては、上記の純粋培養系で得られた硝化に対するアミノ酸の影響が、どの程度回転円板法という処理形態の中で実際に反映されるかを調べることに、アミノ酸と亜硝酸による化学的脱窒の可能性を検討し、実際の処理形態の中でそれが起きるとしたら、どの程度なものかを評価することを目的としている。

2 実験装置および実験方法

①化学的脱窒に関する実験 …… 図1に示す容量約120 ml のバイアルを用い、フタル酸水素オリウムを主体とした緩衝液中で、アミノ酸(グリシン、グルタミン酸ソーダ)と亜硝酸ナトリウムを反応させ、発生した N_2 ガスをガスクログラフで定量する (Run I)。また表1に示すような溶液に、回転円板付着汚泥(硝化菌主体)を接種し、バイアル中室温 20°C で培養させ、発生する N_2 ガスを定量する (Run II)。

②回転円板装置でのアミノ酸連続投与実験 …… 図2に示す回転円板装置を用い、表2に示す基質を馴致した後、アミノ酸(グリシン、グルタミン酸ソーダ、アスパラギン酸、バリン)を添加した基質を2日間(連続的)に投与し、その間の窒素系の指標の変化を追う (Run III)。ただし初期馴致期間は2ヶ月以上、実験シリーズ間の再馴致は1ヶ月間であった。

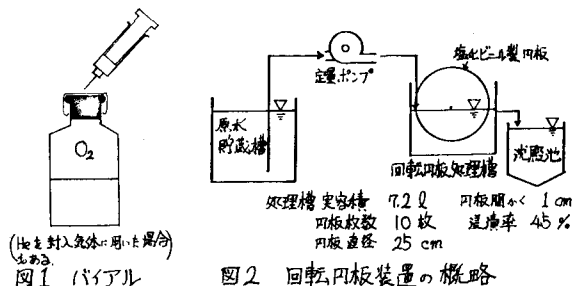


図1 バイアル
(N_2 に対する気体を用いた場合)

図2 回転円板装置の概略

表1 溶液組成 (Run II)

NH_4Cl	N として 400 mg/l
アミノ酸	N として 400 mg/l
NaH_2PO_4	4.2 g/l
KH_2PO_4	0.42 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01 g/l
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01 g/l
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01 g/l
NaHCO_3	0 ~ 3000 mg/l
蒸留水	

表2 馴致基質組成 (Run III)

NH_4Cl	150 mg/l
NaHCO_3	500 mg/l
K_2HPO_4	22.1 mg/l
KH_2PO_4	14.1 mg/l
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	10.5 mg/l
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10.3 mg/l
FeCl_3	0.06 mg/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12.8 mg/l
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.2 mg/l
水道水	

表3 主要な分析項目および方法

○ $\text{NO}_2\text{-N}$	GR 法	○ アミノ-N	ニンヒドリン法
○ $\text{NO}_3\text{-N}$	Cd-Gu カラム還元法	○ N_2 ガス発生法	カラム充填剤
○ $\text{NH}_4\text{-N}$	イオノメトリック法 ^(a) イオン電極法		モレキュラシーブ 5A
○ Kj-N	カダグル分解後蒸留に測定	(a) アミノ酸によっては、イオノメトリック法による 呈色は著しく障害がおきた。	

3 実験結果および考察

Run I の結果を図3に示す。 N_2 転換率とは、反応式通りに完全に脱窒が起きたとするときの値を基準とした比率である。 N_2 ガス発生量の増加は、初期30分まで

は急激であり、以後、一日後と徐々に増加した。図3よりpHがより小さいところで反応が起きることがわかる。またグリシンの方がグルタミン酸ソーダより N_2 転換率が高いと言える。次にRun IIの結果を図4,5に示す。グルタミン酸ソーダを用いた場合は、40時間経過後、急激に N_2 ガスが発生したが、これは、他栄養性の細菌の増殖が著しく起こり、生物学的脱窒が起こったためと推定できる。また逆に、少なくとも一日程度は、ラグとして他栄養性の細菌の増殖は考慮なくともよいと考えられる。このことは、観察結果とも一致する。一方、グリシンを用いた場合と N_2 ガスが検出されているのは、硝化により生成した亜硝酸とグリシンが反応して化学的脱窒が起きた可能性が高い。図5中のpHはより高いが、生物集団中の亜硝酸生成成分のpHは、溶液中のpHよりも低いことが予想され、図3の結果と必ずしも矛盾しないと考ええる。

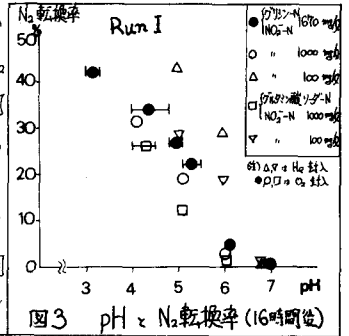


図3 pHと N_2 転換率(16時間後)

Run IIIの結果から、窒素の収支をとった例を図6に示す。グルタミン酸ソーダ添加2日後のTotal-Nの減少は、他栄養性の細菌の増殖にともない、生物学的脱窒が起きたためと考えられる。図7は、アミノ酸添加前の NO_x-N 生成量を基準(100)としたアミノ酸添加後の NO_x-N 生成量比と、アミノ酸濃度との関係を表わしたものである。この図には、Nの収支とRun IIの結果を考慮して、他栄養性の細菌に関してはラグ期にあると判断できるものをプロットしてある。図7の結果から、グルタミン酸ソーダ添加の場合は、硝化が若干促進される傾向にあることが認められる。グリシンの場合は、ばらつきが大きく何とも言えない。バリンの場合は、逆に阻害される傾向にあると言えるが、バリンを相当高濃度に添加しても、せいぜい1/2割の阻害しか示さず、実際の処理の過程では全く問題にならないと言える。またアスパラギン酸の場合硝化が阻害されているのはpHが低下したためと考えられる。図8は処理水のTotal-Nと原水のTotal-Nの比をプロットしたものである。グリシンとアスパラギン酸の場合、総じて処理水T-Nが減少する傾向にあり、収支計算の結果からも脱窒が若干量

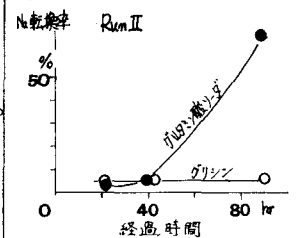


図4 N_2 転換率の推移

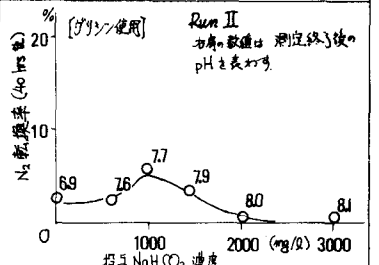


図5 グリシンを用いた場合の N_2 転換率(60時間後)

起きていて、化学的脱窒の可能性が示唆されるが、有意な量とは言えず、実際の処理の場合追加的な脱窒プロセスとして、化学的脱窒を考慮する必要はないと言える。[参考文献] (1) 山本, 工芸化学 (2) Uptake and Utilization of Amino Acid by Resting Cells of Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (3) Clark et al., Specific Response of Nitrosomonas europaea to Amino Acids, J. Bacteriol., 1977 (4) CC Dehydro Carbon and Energy Sources of the Nitrosifying Bacterium Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (5) SIDA Permeability of Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (6) 硝化細菌の生理

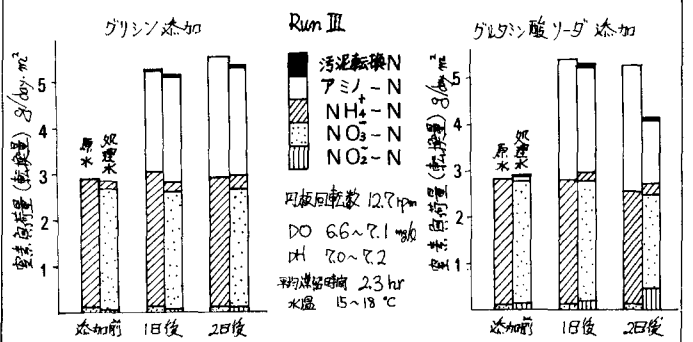


図6 窒素収支の例

起して、化学的脱窒の可能性が示唆されるが、有意な量とは言えず、実際の処理の場合追加的な脱窒プロセスとして、化学的脱窒を考慮する必要はないと言える。[参考文献] (1) 山本, 工芸化学 (2) Uptake and Utilization of Amino Acid by Resting Cells of Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (3) Clark et al., Specific Response of Nitrosomonas europaea to Amino Acids, J. Bacteriol., 1977 (4) CC Dehydro Carbon and Energy Sources of the Nitrosifying Bacterium Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (5) SIDA Permeability of Nitrosomonas europaea, J. Bacteriol., 1977 (6) 硝化細菌の生理

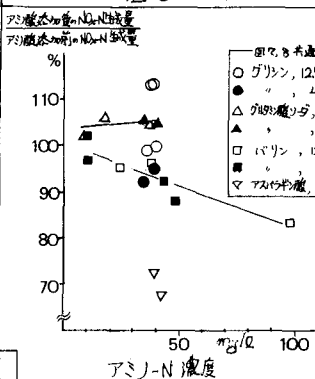


図7 アミノ酸添加前と基準とした NO_x-N 生成量比とアミノ酸濃度

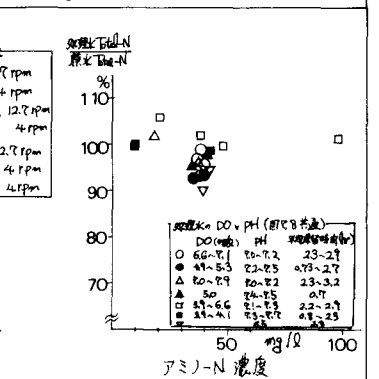


図8 処理水T-N / 原水T-N とアミノ酸濃度