

II-423

硝化細菌の塩分阻害耐性

長岡技術科学大学 ○学生員 佐々木幸一
 長岡技術科学大学 正 員 滝沢 智
 長岡技術科学大学 正 員 桃井清至
 ユニチカ（株） 加納裕士

1. はじめに

硝化細菌の中には生育のために、塩分依存性を示すものそうでないものがある。また、塩分非依存性の菌株の間にも塩分阻害耐性があると考えられる。アンモニア吸着性ゼオライトの生物学的再生実験の一環として、硝化細菌の高濃度塩分に対する適応能力を調べるため、塩分濃度の低い対照系に対してNaCl濃度を100mM、300mMに設定した付着型の反応槽において硝化細菌を連続培養した結果、300mMの系でも馴致することにより塩分阻害耐性を獲得し、塩分ストレスのない対照系とほぼ同じ硝化活性を得ることがわかった。本研究では、連続培養した硝化細菌を付着状態と浮遊状態で回分試験することによって、塩分阻害耐性を調べた実験結果を報告する。

2. 実験方法

1) 供試汚泥

反応槽の運転状況を表-1に示す。今回の実験ではRun 1（コントロール）とRun 3（Na 300mM）の汚泥を用いた。

2) 付着型試験

反応槽から担体を取り出しφ3×30cmのカラムに25cm充填する。1ℓのビーカーに基質を投入し、カラムにポンプで通水し循環させる。ビーカーから経時的に試料を取り出しNO₂-N、NO₃-N濃度の変化を測定した。

3) 浮遊型試験

担体から生物膜をかき落とし、500mlの容器に入れる。基質を投入し恒温水槽中で曝気攪拌し、経時NO₂-N、NO₃-N濃度の変化を測定した。

試料中のNO₂-N、NO₃-Nをスルファニルアミド・ナフチルエチレンジアミン法、Cd-Cuカラム還元法によりそれぞれ測定した。

アンモニア酸化速度はNO₂+NO₃生成量として、亜硝酸酸化速度はNO₃生成量として求めた。

実験は、付着型、浮遊型に対して表-2の基質組成に示したように3種類のNa濃度で行われた。

Na濃度がほとんどない基質を作ることと、Run 3の実験系で浸透圧を300mMに保つ理由でトリス塩酸緩衝液を使用した。

表-2 実験条件（基質組成）

		NH ₄ Cl mgNH ₄ -N/l	NaHCO ₃ mg/l	トリス塩酸緩衝液 mM	NaCl mM	KH ₂ PO ₄ mgP/l
R 1 1	①(Na0.4mM)	50	—	50	—	1
	②(Na 7 mM)	50	600	—	—	1
	③(Na300mM)	50	600	—	300	1
R 1 3	①(Na0.4mM)	50	—	300	—	1
	②(Na 7 mM)	50	600	290	—	1
	③(Na300mM)	50	600	—	300	1

3. 実験結果および考察

図-1、2にアンモニア酸化活性、硝酸生成活性を示す。縦軸は実験系における最大硝化速度を100%としたときの各Na濃度における硝化速度（活性率）を示したものである。図-1からRun 1の菌体は付着型、浮遊型共にNa=7mMで最大活性を示し、Run 3の菌体は付着型、浮遊型共にNa=300mMで最大活性を示したことがわかる。これは、実際に菌体が反応槽内に置かれている状態と一致した。また、

Run 1の菌体はNa=300mMで活性が低下しているけれども、Run 3の菌体は活性が上昇していることからRun 3の菌体は塩分適応性を獲得したと考えられる。次に付着型と浮遊型を比較すると、Run 1の菌体はともにNa=300mMの場合において活性が50%以下になっているが、低下の割合は浮遊型の方が著しく大きい。Run 3の菌体もNa=0.4mMの場合に浮遊型の方が活性低下率が大きくなっているが、Run 1と比較するとその傾向は小さい。

図-2から硝酸生成活性はRun 1、Run 3の菌体共にNaがほとんどないときに最大活性を示したことがわかる。このことから亜硝酸酸化菌はNa濃度に敏感に阻害されるといえる。しかし、Run 3付着型のNa濃度7mMと300mMの活性を比較すると低下はほとんどないことから、塩分耐性を獲得したと考えられる。また、付着型と浮遊型を比較すると、Run 1もRun 3も付着型より浮遊型の方がNa濃度に対して活性が著しく低下している。特にRun 1の浮遊型は低下の割合が大きくNa=300mMではほとんど活性を有しない。

図-1、2からRun 3の菌体はNa濃度が高められた場合でも活性の低下率は少ない。しかし、Naがほとんどない場合においても活性を有していることから耐塩性の菌体であるといえる。アンモニア酸化菌も亜硝酸酸化菌も付着型の方がNa濃度に影響を受けにくいことがわかる。

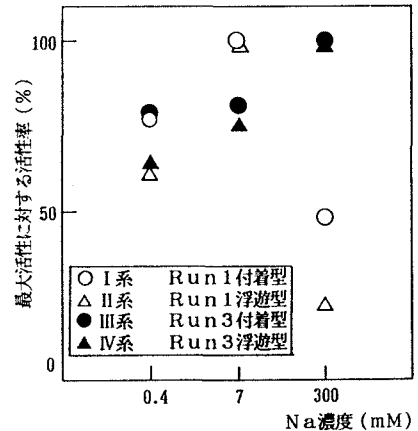


図-1 アンモニア酸化活性

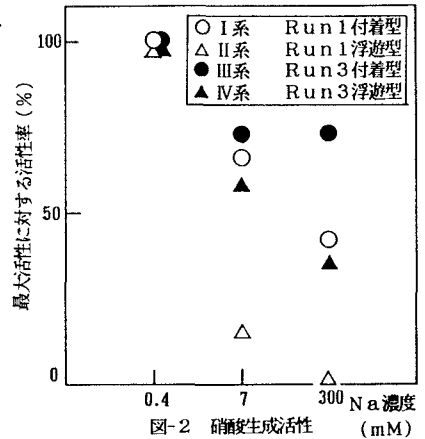


図-2 硝酸生成活性

表-3 アンモニア酸化活性と硝酸生成活性

Run 1 コントロール	* アンモニア酸化活性		硝酸生成活性	
	付着型 (mgN/l/hr)	浮遊型 (KgN/Kgcell/d)	付着型 (mgN/l/hr)	浮遊型 (KgN/Kgcell/d)
① (Na0.4mM)	4.80	0.46	2.74	0.37
② (Na 7 mM)	6.20	0.75	1.82	0.05
③ (Na300mM)	2.95	0.16	1.16	0.01
Run 3 Na300mM	* アンモニア酸化活性		硝酸生成活性	
	付着型 (mgN/l/hr)	浮遊型 (KgN/Kgcell/d)	付着型 (mgN/l/hr)	浮遊型 (KgN/Kgcell/d)
① (Na0.4mM)	1.70	0.18	1.53	0.17
② (Na 7 mM)	1.74	0.21	1.12	0.10
③ (Na300mM)	2.14	0.28	1.12	0.06

4. まとめ

- 1) Run 3 (Na 300mM) で培養した反応槽では塩分耐性を獲得した硝化細菌が得られた。
 - 2) アンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌では300mM NaCl 馴養により異なった挙動を示し、アンモニア酸化菌は適応性を獲得したが亜硝酸酸化菌では塩分耐性が上昇するに留まった。
 - 3) 塩分ストレスの高い場合には、硝化反応槽は浮遊型より付着型の方が有利であるといえる。
- なお本研究の一部は文部省科学研究費奨励研究(A)01750548の補助を受けて行われた。