

脱窒菌の好気性条件下における硝酸塩還元能の把握に関する研究

京都大学 学生員 山田登志夫

京都大学 正 員 宗宮 功

京都大学 正 員 津野 洋

1. 実験目的 現在の生物学的硝化・脱窒法では、硝化は好気性槽、脱窒は無酸素槽で行われており、この方式では2槽の反応槽が必要となり、反応容積が非常に大きくなることや返流水ラインが必要であるなどの欠点がある。本研究では、好氣的条件下でも脱窒を生じうる細菌の報告¹⁾に注目し、好気性槽1槽にて硝化・脱窒を行う処理法の開発を検討するものである。まず、硝酸塩を還元する細菌の検索と同定および同菌の硝酸塩還元能に及ぼす溶存酸素濃度の影響について調べた。

表-1 培地組成表(g/l)

ポリペプトン	0.15
CH ₃ COON _a	1.14
KNO ₃	0.144
K ₂ HPO ₄	0.022
KH ₂ PO ₄	0.02
Na ₂ HPO ₄ ・12H ₂ O	0.0446
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.0225
CaCl ₂	0.0275
FeCl ₃ ・6H ₂ O	0.00025

2. 実験方法 し尿処理場の曝気槽中より採取した活性汚泥から、Gamble等の複合培地²⁾を用いて、硝酸塩還元菌を単離し、同定を行った³⁾。硝酸塩還元能を調べる実験では、まず各処理場ごとに単離した菌を各々大量培養した後に混合し、表-1の培地を用いて溶存酸素濃度(DO)を任意の値に設定できる反応容器中において、嫌気状態(DO:0.0mg/l)を経て好気状態(DO:0.5mg/l)に移行させる条件で、回分式培養を行った。

表-2 単離菌の同定結果

処理場・菌NO	属あるいは菌群
広島 1	<u>Bacillus</u>
2	<u>Bacillus</u>
3	<u>Moraxella-Acinetobacter</u>
徳島 4	<u>Pseudomonas</u>
5	グラム陰性球菌群
岡山 6	<u>Bacillus</u>
7	<u>Bacillus</u>
8	<u>Pseudomonas</u>
9	<u>Moraxella-Acinetobacter</u>

このうち、酸化態窒素(NO_x-N)が減少した混合細菌群については、DOを上昇させて実験を行い(DO:1.0mg/l~4.0mg/l)、さらに表-1の培地からポリペプトンを除いた培地を用い、好気状態(DO:1.0mg/l)で培養実験を行った。次にこの混合細菌群を構成している各単離菌について同様の回分式実験を行った。嫌気状態(DO:0.0mg/l)を経た後の好気状態(DO:0.5mg/l~4.0mg/l)でNO_x-Nの減少がみられた単離菌については、嫌気状態の影響を調べるため、大量培養後直接好気状態(DO:1.0mg/l)に移行させ、同様の回分式実験を行った。全ての実験においてDO条件を変える前に培養液の遠心分離を行って、菌体を捕集した。環境条件を表す指標として、DO、pH、酸化還元電位(ORP)、生物量を把握する指標としてSS、吸光度、硝酸塩還元能を把握する指標としてNO_x-N、全溶解性窒素(SN)を測定した。また、顕微鏡観察によって、各実験において細菌試料はフコッカ形成せず分散状態であったことを確認した。

3. 実験結果 3ヶ所のし尿処理場の活性汚泥中より単離した菌の同定結果を表-2に示す。各処理場から単離した菌を混合し、嫌気状態から好気状態(DO:0.5mg/l)へ移行させた培養実験における各状態のNO_x-N減少率の経時変化を図-1に示す。この結果より菌6、7、8、9を混合した培養において硝酸塩の減少がみ

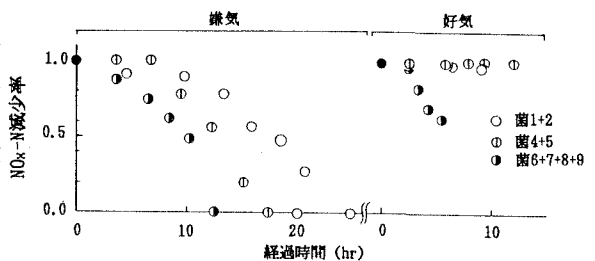


図-1 NO_x-N減少率の経時変化

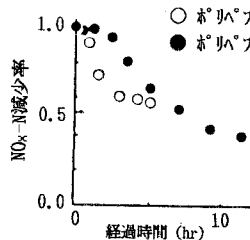


図-2 NO_x-N減少率の経時変化

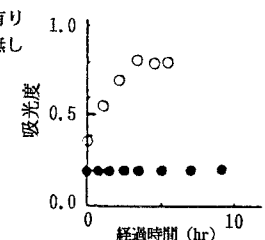


図-3 吸光度の経時変化

られたので（硝酸塩還元速度：22mg N/gSS・hr）、さらに高いDO条件へ移行させた。この結果、DOが4.0mg/ℓの条件下まで硝酸塩の減少がみられた。図-2、図-3は同混合細菌群でDO:1.0mg/ℓ、培地中にホリパプトンを含む条件下と含まない条件下で行った培養のNO_x-N減少率と吸光度の経時変化である。吸光度の結果から、ホリパプトンを含まない条件下では菌体増殖はほとんどみられず、減少した硝酸塩中の窒素分は菌体生成には用いられないと考えられる。次に各単離菌6、7、8、9の嫌気状態を経て好気状態（DO:0.5mg/ℓ）に移行させた培養実験における各状態のNO_x-N減少率の経時変化を図-4に示す。菌8においてNO_x-Nの減少がみられたので（硝酸塩還元速度：4.2mg N/gSS・hr）、さらに高いDO条件へ移行させた。この結果、DOが4.0mg/ℓの条件下まで硝酸塩の減少がみられた。また、大量培養から直接好気状態へ移行させた培養では、菌9においてNO_x-Nが減少した（硝酸塩還元速度：2.7mgN/gSS・hr）。

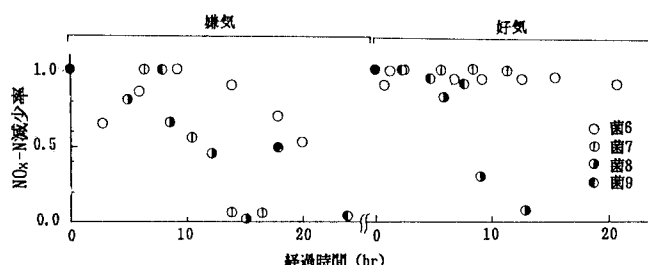


図-4 NO_x-N減少率の経時変化

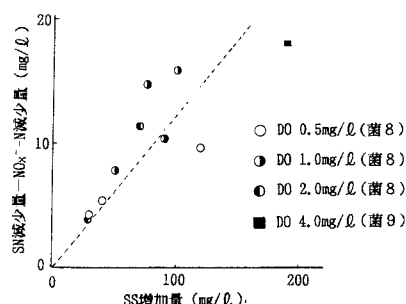


図-5 SN減少量-NO_x-N減少量とNO_x-N減少量との関係

菌8、9における培養実験において、SNの減少量からNO_x-Nの減少量を差し引いたものとSSの増加量との関係を図-5に示す。破線は菌体量の示式でC₅H₇O₂Nと仮定した場合のSSとSS中の窒素の関係を示した理論的直線である。この図から、ホリパプトン中の窒素が菌体生成に用いられたと考えられる。菌8、菌9の硝酸塩還元速度とDOおよびORPとの関係をそれぞれ図-6、図-7に示す。これより菌8はDO:0.0~4.0mg/ℓ、ORP50mv程度以下の範囲で硝酸塩還元能を有し、菌9は、DO:1.0mg/ℓ、ORP:-15~50mvの範囲で硝酸塩還元能を有していることがわかる。

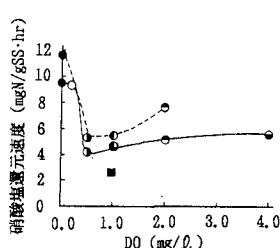


図-6 菌8、菌9の硝酸塩還元速度と溶解酸素濃度との関係

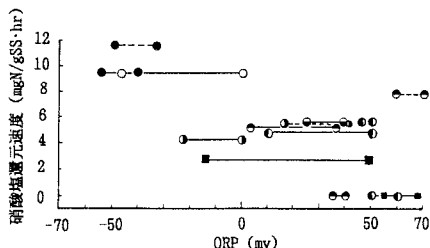


図-7 菌8、菌9の硝酸塩還元速度と酸化還元電位との関係

4. おわりに 本研究では好気性脱窒菌を検索する方法として、好気性条件下におけるNO_x-Nの減少を調べ、2種類の単離菌では好氣的条件下で、NO_x-Nが明らかに減少することを確認した。この減少が菌体中に取り込まれたことによるものか脱窒反応によるものかを、①培地の窒素源の種類を変えての培養実験、②SNとNO_x-Nの減少量の比較、の2つの方法によって検討を行った。この結果、好気性条件下において2種類の単離菌の培養実験でのNO_x-Nの減少は、菌体生成に用いられたことによるものではないことを示した。しかし、これが好気性条件下での脱窒反応であるとの確認にはさらに詳細な検討が必要であると考えている。

（参考文献）1)Robertson等” Aerobic denitrification” Arch Microbiol(1984)、2)Jeter等” The Denitrifying Procarvates Chapter 73”、3)加藤敏明” 活性汚泥における他栄養性細菌の分布に関する研究” 京都大学修士論文(1986)