# 亜硝酸蓄積時の好気的リン摂取阻害を再現する活性汚泥モデルの開発

日本大学大学院理工学研究科 学生会員 〇吉田征史、高橋紘平 日本大学理工学部 正 会 員 齋藤利晃、田中和博

#### <u>1.はじめに</u>

生物学的リン除去を担う脱リン細菌については未だ詳細な代謝経路や酵素学的解明がなされておらず、時折未 知の要因により処理が不安定になることが知られている。我々はこれまでに、未知の不安定化因子の解明を行な うべく、微生物代謝阻害物質として知られる「亜硝酸」に着目し、亜硝酸が生物学的リン除去(リン摂取および 増殖)を阻害すること<sup>1)</sup>、阻害が亜硝酸消失後にも継続されること<sup>1)</sup>、並びに、脱窒能力が大きい脱リン細菌ほど 亜硝酸阻害を受け難いこと<sup>1)</sup>などを実験結果により明らかにしてきた。本報では、細胞内における亜硝酸の反応生 成物による阻害を組み込んだ数式モデル(Complexモデル)を開発し、脱リン細菌に対する初めての亜硝酸阻害 モデルを提案するとともに、脱窒能力による亜硝酸阻害の耐性メカニズムについて検討を行った結果を報告する。

#### <u>2.Complexモデルの概要</u>

これまでに得られた実験結果および関連文献<sup>20</sup>の報告を元に、亜硝酸と脱リン細菌(PAOs)の間に作用する反応プロセスとして、①溶液中の亜硝酸による阻害、②溶液からの好気的な亜硝酸摂取と摂取された亜硝酸と呼吸酵素との反応複合体(Complex)の生成、③Complexによる阻害、④Complexの分解による阻害緩和の4プロセスを想定し、数式モデルとしてそれぞれ表1のような記述を行った。すなわち、IWAの活性汚泥モデルASM2dを基に、新たに亜硝酸成分(SNo2)および亜硝酸と呼吸酵素との反応複合体成分(Xcomplex)を追加し、従来のPAOsによる好気的リン摂取と増殖のプロセスに、溶液中のSNo2による阻害(①)とXcomplexによる阻害項(③)を非拮抗型で与えた。Xcomplexによる阻害の導入により、亜硝酸消失後の阻害の継続をモデル化した。また、SNo2の好気的脱窒現象は、エネルギー生産を伴わず細胞内でXcomplexを生成するSNo2の見かけの脱窒(②)と、エネルギー生産を伴ってXcomplexが細胞内で分解される真の脱窒(④)の2種類に分けて記述し、後者の収率は、別途行った無酸素工程における実験結果を元に、亜硝酸の電子受容体効率を硝酸と同等と仮定して与えた。以上の結果導入された新たな4つのパラメータ(亜硝酸阻害定数:KNo2PAO、亜硝酸の最大比脱窒速度:KDN,NO2、Complex阻害定数:Kcomplex、Complexの脱窒速度減少係数: $\eta$ complex)は、いずれも亜硝酸阻害に関するパラメータであり、これらについて、亜硝酸を添加した好気的リン摂取回分試験の結果を用いてキャリブレーションを行い、脱窒活性比(PAOsの脱窒能力の大きさを表す指標)と亜硝酸阻害耐性の関係について考察した。なお、供試汚泥は、人工下水により嫌気ー好気法および嫌気-無酸素法で培養されたPAOsの集積培養汚泥である。

	The second
Complexモデル	①亜硝酸阻害項 ③Complex 阻害項
好気的リン摂取	$q_{PP} \cdot \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}} \cdot \frac{S_{PO_4}}{K_{PS} + S_{PO_4}} \cdot \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} \cdot \frac{X_{PBA} / X_{PAO}}{K_{PHA} + X_{PHA} / X_{PAO}} \cdot \frac{K_{MAX} - X_{PP} / X_{PAO}}{K_{IPP} + K_{MAX} - X_{PP} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} \left[ \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + S_{NO_2} / X_{PAO}} \right] \frac{K_{complex}}{K_{complex} + X_{complex} / X_{PAO}} \right]$
脱リン細菌の増殖	$\mu_{PAO} \cdot \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}} \cdot \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \cdot \frac{S_{PO_4}}{K_P + S_{PO_4}} \cdot \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} \cdot \frac{X_{PHA} / X_{PAO}}{K_{PHA} + X_{PHA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} \left( \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + S_{NO_2} / X_{PAO}} \right) \frac{K_{complex}}{K_{complex} + X_{complex} / X_{PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO}} \cdot X_{PAO} \left( \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + S_{NO_2} / X_{PAO}} \right) \frac{K_{Complex}}{K_{Complex} + X_{Complex} / X_{PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + S_{NO_2} / X_{PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + K_{NO_2, PAO} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + K_{NO_2, PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + K_{NO_2, PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO} + K_{NO_2, PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2, PAO}} + \frac{K_{NO_2, PAO}}{K_{NO_2$
亜硝酸摂取	$K_{DN,NO_2} \cdot \frac{S_{NO_2}}{K_{NO_2,DN} + S_{NO_2}} \cdot \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \cdot \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} \cdot \frac{X_{PHA} / X_{PAO}}{K_{PHA} + X_{PHA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} \cdot \cdot \cdot \text{② 亜硝酸摂取および Complex 生成}$
X <sub>complex</sub> を用いたリン摂取	$q_{PP} \cdot \eta_{complex} \cdot \frac{X_{complex} / X_{PAO}}{K_{complex} + X_{complex} / X_{PAO}} \cdot \frac{S_{PO_4}}{K_{PS} + S_{PO_4}} \cdot \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} \cdot \frac{X_{PHA} / X_{PAO}}{K_{PHA} + X_{PHA} / X_{PAO}} \cdot \frac{K_{MAX} - X_{PP} / X_{PAO}}{K_{IPP} + K_{MAX} - X_{PP} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MAX} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO} - \frac{K_{MA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO} - X_{PA} / X_{PAO}}{K_{MA} - X_{PA} / X_{PAO}} + \frac{K_{MA} / X_{PAO}}{K$
X <sub>complex</sub> を用いた増殖	$\mu_{PAO} \cdot \eta_{complex} \cdot \frac{X_{complex} / X_{PAO}}{K_{complex} + X_{complex} / X_{PAO}} \cdot \frac{S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \cdot \frac{S_{PO_4}}{K_p + S_{PO_4}} \cdot \frac{S_{ALK}}{K_{ALK} + S_{ALK}} \cdot \frac{X_{PHA} / X_{PAO}}{K_{PHA} + X_{PHA} / X_{PAO}} \cdot X_{PAO} $

表1: Complex モデルの主要プロセス

キーワード:生物学的リン除去、亜硝酸、脱窒性脱リン細菌、活性汚泥モデル 連絡先:〒101-8308 東京都千代田区神田駿河台1-8-14 TEL&FAX:03-3259-0875

# 3.計算結果および考察

### 3-1. 亜硝酸蓄積時リン摂取阻害の再現

シミュレーション結果の代表例として嫌気-好気 培養汚泥の135日目と299日目のデータを図1に示 す。図中実線で示されるように、Complex阻害項を 導入すること(Complexモデル)により亜硝酸阻害 項のみ(点線)では表現できなかった亜硝酸消失後 のリン摂取阻害が表現可能となっている。

### 3-2.脱窒活性比と亜硝酸阻害の関係

脱室活性比の異なる 10 種類の汚泥についてキャ リブレーションで求めた4つのパラメータと脱窒活 性比の関係を図2に示す。SNO2とXcomplexに関する阻 害定数であるK<sub>NO2,PAO</sub>やK<sub>complex</sub>は、脱窒活性比と正 の相関があることから、脱窒能力が大きいほど阻害 を受け難いことが読み取れる。特に、KNO2,PAOと Kcomplexを比べると、脱窒活性比の小さい嫌気-好気 汚泥ではほぼ変化が無いものの、脱窒活性比の大き い嫌気-無酸素汚泥は特にSN02による阻害を受け難 い性質を有していることを示している。脱窒能力と 直接関連するKDN,NO2やη complexは当然脱窒活性比と 正の相関があるが、どちらも脱窒活性比 0%と 70% ではおよそ 7~8 倍の速度があり、阻害緩和能力が 大きいことが読み取れる。今後、詳細な感度解析が 必要であるが、以上の結果は、脱窒能力の大きい PAOsの亜硝酸阻害耐性が、SN02に対する阻害の受け 難さとComplex代謝能力に優れていることに由来し ている可能性を示唆している。一方、以上の考察は、 脱窒活性比の低い嫌気-好気汚泥だけを見るといず れもバラつきが大きく、必ずしも関係は明確では無 い。この理由については今後の詳細な検討が必要で ある。



#### <u>4.まとめ</u>

実験により得られた知見を基に、亜硝酸阻害とその緩和能力を組み込んだ ASM2d の修正モデル (Complex モ デル)を開発し、回分実験結果の再現を試みた結果、亜硝酸による好気的リン摂取阻害の詳細な再現可能なモデ ルとしてその妥当性を示す事ができた。また、新たに導入した亜硝酸阻害に関する4種のパラメータのキャリブ レーションから、脱窒能力による阻害耐性のメカニズムが、特に、溶液中の亜硝酸に対する低感受性と阻害能を 有する複合体の分解(脱窒)能力に由来している可能性が示唆された。

謝辞:この研究は、文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C)(課題番号 17560489)の補助を得て行なわれました。また、本研究を進めるにあたり多大なる御尽力を頂いた日立プラント建設㈱に深く感謝の意を表します。

参考文献: 1)Yoshida Y., Takahashi K., Saito T. and Tanaka K. (2005). The effect of nitrite on aerobic phosphate uptake and denitrifying activity of phosphate-accumulating organisms. IWA-ASPIRE conference and exhibition (Singapore).(CD-ROM). 2)Casey T.G, Ekama G.A, and Wentzel M.C. (1999) Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge systems: Paper 9: Review of biochemistry of heterotrophic respiratory metabolism. Water SA 25(4) 409-424.