

酢酸とペプトンの混合基質で集積培養したリン蓄積細菌に対する
好氣的リン摂取に及ぼす亜硝酸阻害の影響

日本大学理工学部土木工学科 学生会員 ○坪井宣太
非会員 河合郁郎、高橋典久
高林 亨、湯本高太
正会員 齋藤利晃

1、はじめに

近年、閉鎖性水域の富栄養化が問題視され、その原因である排水中の栄養塩類を除去することが必要不可欠になっているが、一方で生物学的リン除去プロセスにおいて突如としたリン除去率の低下が問題視されている。その生物学的リン除去阻害の一端を担っているものの一つに「亜硝酸曝露」がある¹⁾。しかし、リン除去を担うリン蓄積細菌(PAOs)の全てのグループが亜硝酸阻害を受けるかは不確かである。

また近年、炭素源が異なることにより汚泥中のPAOsの構成が異なることが明らかにされてきた²⁾。

そこで本研究では、2種類の炭素源を同時に用いることにより、集積培養した汚泥中に性質の異なる2つ(もしくは2つ以上)のPAOsグループを発生させ、それらの亜硝酸に対する感受性の相違を調べた。

2、実験方法

連続運転

表1に表記するように、炭素源として酢酸とペプトンの混合液を用いてPAOsの集積培養を嫌気好気回分式反応槽(A/O SBR)内で行った。定期的に嫌気工程開始時・終了時・好気工程終了時のリン酸濃度の測定を行い、経日変化について調べた。

また定期的に硝化を抑制するATU(アシルチオ尿素)を添加した。

回分実験

A/O SBRから嫌気工程前の汚泥を採取し、汚泥中の片方のPAOsグループのみを活性させるため、酢酸もしくはペプトンのどちらか一方の炭素源を添加し、嫌気工程下180分間に有機物摂取とリン放出を行わせた。その後、好気工程下130分間に移った直後に亜硝酸を添加させ、PAOsの好氣的リン摂取の亜硝酸阻害の影響を調べた。

(実験装置の関係から、この実験において酢酸とペプトンの基質をそれぞれ同時に使用することが出来なかった。したがって、それらは別の機会に行ったため、使用している汚泥は異なる。) 右の表2に各回分実験の炭素源と亜硝酸添加量と経過日数を表記した。

3、実験結果

連続運転

培養に用いた汚泥は、A/O SBRの環境下で酢酸のみを炭素源として培養されてきた汚泥である。したがって、連続運転開始時点での汚泥中には酢酸を利用可能なPAOsグループ(C-PAOs)が優占化されていると考えられる。

キーワード：生物学リン除去、リン蓄積細菌、ペプトン、酢酸、亜硝酸

連絡先：〒101-8308 東京都千代田区神田駿河台 1-8-14 日本大学理工学部 TEL03-3259-0875

表1 A/O SBRの運転条件

運転条件		
条件	数値	単位
反応槽容積	4	L
サイクル時間	6	h/cycle
SRT	10	d
HRT	12	h
嫌気工程(流入10min)	180	min
好気工程	130	min
沈殿排水時間	50	min
余剰汚泥引抜	0.1	L/cycle
pH制御	6.9-7.1	
流入濃度		
酢酸	200	mgCOD/L
ペプトン	200	mgCOD/L
リン酸	30	mgP/L
その他栄養素		

表2 回分実験条件

酢酸	亜硝酸添加量(mgN/L)		経過日数
①	0,	5	49
②	0,	6, 10	91
ペプトン			
①	0,	3,	24
②	0,	5,	38
③	0,	16, 24	59

図1にリン酸濃度の経日変化を示す。もともと酢酸で培養されていた理由からC-P A O s が優占化していることが考えられる。そのため、若干のリン除去活性が出ていることがわかる。しかし、酢酸とペプトンの混合液でP A O s の培養を開始した日(0日)から6日までは嫌気工程下におけるリン放出量が他のポイントよりも低いことからペプトンを利用可能なP A O s (P-P A O s)が活性していないことが考えられる。しかし、7日以降になるとリン放出量が各ポイントとも安定してきており、P-P A O s が活性したことが考えられる。

図2にリン濃度とT O Cのサイクル変化を示したグラフ(21日目)を載せた。60分を境にリン濃度とT O Cの挙動が明らかに変化している。これは、炭素源としてP A O s が利用しやすい酢酸の方を先に摂取していることが考えられる。逆に、加水分解を要するペプトンは摂取速度が遅い。つまり、C-P A O s が60分の時点で酢酸のほとんどを取り終え、残ったペプトンをP-P A O s が継続して摂取している状態になったと推測される。それに伴い、リン放出にも関係してきていると考える。

回分実験

混合基質で連続運転培養された汚泥を用いて、1種類の炭素源、つまり酢酸もしくはペプトンの一方を嫌気開始時に添加させることにより、この汚泥に存在する一方のP A O s グループのみを働かせた。次に、好気工程に適当な量の亜硝酸を曝露させ好氣的リン摂取に対する亜硝酸阻害を調べた結果が表3に示してある。またその1部の経時変化が右の図3である。

図3-上)は酢酸で図3-下)はペプトンで回分実験を行ったときのリン濃度とT O Cの経時変化である。このとき、反応槽内が亜硝酸濃度5mgN/Lになるように亜硝酸を添加した。

表3と図3-上)より、C-P A O s は亜硝酸濃度5mgN/Lの環境下に曝露されるとリン摂取速度が無添加の場合と比べて12.1(mgP/gVSS.h)も低下する。このことから、明らかに亜硝酸阻害を受けたと考える。次に、表3と図3-下)より、P-P A O s は亜硝酸濃度5mgN/Lの環境下に曝露されるとリン摂取速度が無添加の場合と比べて3.8(mgP/gVSS.h)ほど低下している。若干の阻害があるもののC-P A O s の場合と比べ、亜硝酸阻害が小さいことが考えられる。しかし、表3から実験を行った日

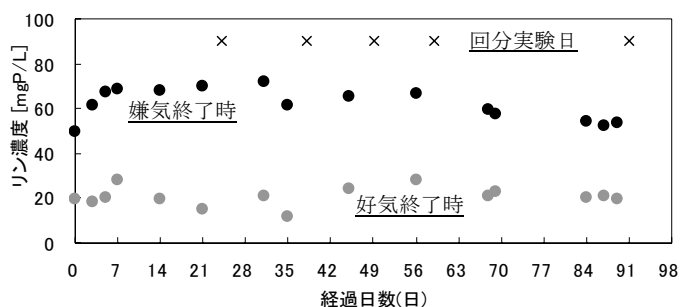
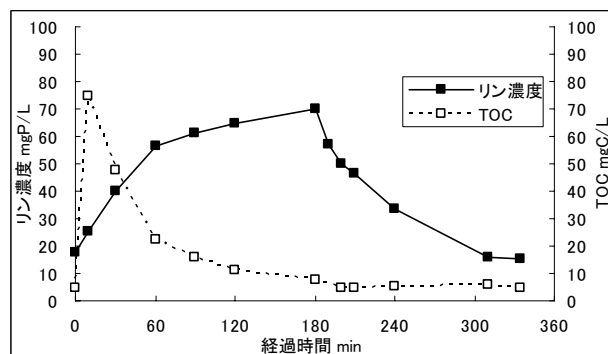


図1 リン濃度の経日変化



〈21日目〉

図2 リン濃度とT O Cのサイクル変化

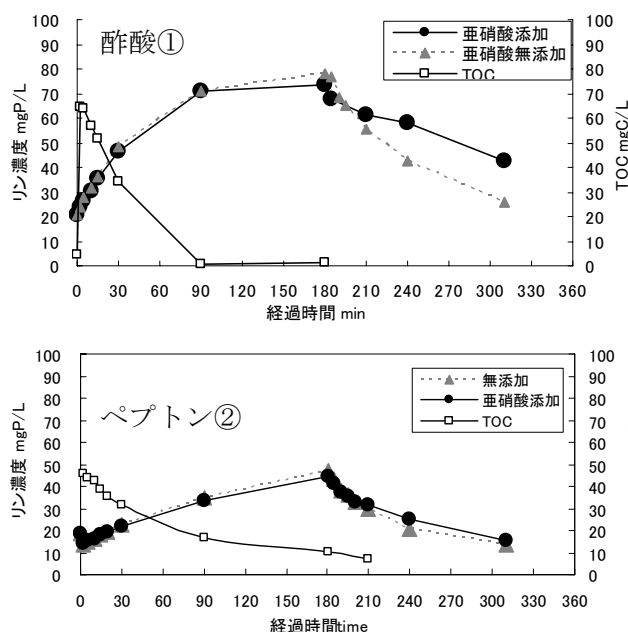


図3 亜硝酸5mgN/L添加時、炭素源別のリン濃度とT O Cの経時変化

表3 リン摂取速度の無添加・添加系の差

	リン摂取速度(mgP/gVSS.h)		
	無添加	添加	差
酢酸 ①-5	23.0	10.9	-12.1
②-6	9.9	6.4	-3.5
②-10	9.9	5.2	-4.7
ペプトン ①-3	23.4	20.8	-2.6
②-5	19.5	15.7	-3.8
③-16	15.7	11.6	-4.1
③-24	15.7	5.5	-10.3

によって各リン摂取速度にバラツキがあり、ただ単純に差をとることで亜硝酸阻害を比べることが出来ないことが示唆され、亜硝酸阻害の影響の評価方法を検討する必要がある。

そこで、我々は好氣的リン摂取速度が嫌気時のリン放出量に関係していると考え、その関係から各リン摂取速度のバラツキを補正できないかと考えた。図3から、酢酸の系とペプトンの系のリン放出量を比べてみると明らかにペプトンの系が小さい。それは、有機物摂取量に関係してくるが、C-P A O s が酢酸を容易に摂取できるのに対して、P-P A O s がペプトンを容易に摂取できない。その理由の一つにペプトンは加水分解を経ないと摂取しにくいという性質がある。したがって、今回設定した嫌気工程下 180 分では有機物の摂取量に差が生じ、それに伴いリン放出量に違いが生じた。

次に、右の図4は回分実験時と連続実験時のリン放出量とリン摂取速度の関係をプロットしたものである。プロットに若干の乱れがあるもののリン放出量が増加するほどリン摂取速度が増加している関係が見て取れる。このことから、炭素源別の好氣的リン摂取速度に対する亜硝酸阻害を、単純に亜硝酸無添加系と添加系のリン摂取速度の差を比べることで表すことが出来ないことが分かった。

そこで、我々はそれらのことを考慮して亜硝酸阻害の指標を次のように表した。

$$\frac{APUR/APRV}{NPUR/NPRV} \times 100 = \text{リン摂取能力}(\%)$$

NPUR：無添加リン摂取速度(mgP/gVSS.h)

APUR：添加リン摂取速度(mgP/gVSS.h)

NPRV：無添加リン放出量(mgP/gVSS)

APRV：添加リン放出量(mgP/gVSS)

この式は、リン摂取速度にリン放出量を割ることによりリン放出量の違いの影響を少なくすることを目的としている。

この指標を用いて、各回分実験の結果を右の図5に示す。

右の図5は利用可能な基質による阻害応答の相違を表したものである。ペプトン、酢酸の系ともに亜硝酸比濃度が増加するに従い、好氣的なリン摂取能力が低下している。しかし、酢酸の系に比べ、ペプトンの系の方が明らかに亜硝酸の阻害を受けにくいことがわかる。このことにより、C-P A O s も、P-P A O s も亜硝酸阻害を受けることが分かったと同時に、C-P A O s のほうが亜硝酸阻害に強い性質を持っていることが分かった。

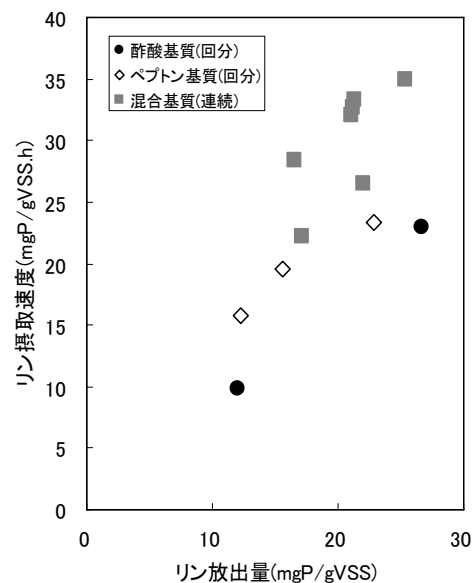


図4 リン放出量とリン摂取速度の関係

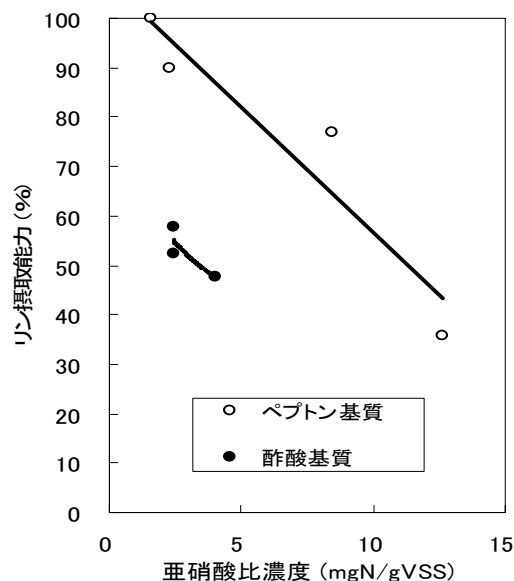


図5 利用可能な基質による阻害応答の相違

また右の図6は前の頁の図5に他の知見³⁾から引用した亜硝酸比濃度に対するリン摂取能力の関係図を合わせて載せ、培養炭素源の違いによる阻害応答の相違を表したグラフである。他の知見³⁾で用いている汚泥は酢酸基質のみで集積培養した汚泥である。ここでも、亜硝酸比濃度が増加するに従い好氣的なリン摂取能力が低下している。しかし、阻害の感受性が本研究の酢酸添加系の結果のプロットと比較して明らかに阻害を強く受けている。このことから、本研究で培養した汚泥中のC-PAOsと他の知見³⁾で培養した汚泥中の酢酸を利用可能なPAOsグループは別のグループであるか、またはP-PAOsが他のPAOsグループに対しての亜硝酸阻害を緩和させる作用があることが考えられる。つまり、利用可能な酢酸は同一であるが、添加させる有機物にペプトンを加えることで、少なくともC-PAOsに対する亜硝酸阻害を緩和できることはこの結果から分かることである。

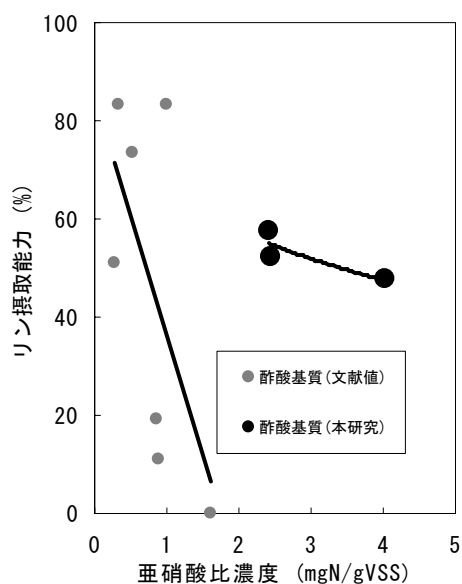


図6 培養炭素源の違いによる
阻害応答の相違

4、結論

リン蓄積細菌(PAOs)を酢酸とペプトンの混合基質で集積培養し、好氣的リン摂取に及ぼす亜硝酸阻害を、利用する基質を変えて調べた。その結果、ペプトンを利用可能なPAOsグループの方が、酢酸を利用可能なPAOsグループより亜硝酸阻害を受けにくいこと、および、本研究で培養された酢酸を利用可能なPAOsグループは、既報の酢酸を主基質として培養されたPAOsグループより阻害を受けにくいことが示された。

このことから、亜硝酸阻害が不確実であることの理由として、近年、脱窒能力を有するPAOsが亜硝酸阻害を受けにくいことが挙げられている⁴⁾が、本研究の結果は、培養時の炭素源の違いによっても、亜硝酸阻害の受け方に違いが現れることを示唆している。

5、参考文献

- 1) 吉田征史ら (2005) 環境工学研究論文集 Vol. 42, pp69-79

亜硝酸による好氣的リン摂取阻害を緩和する脱リン細菌の脱窒能力

- 2) 宇田直樹ら (2006) 日本水環境学会年会講演集 Vol. 40th Page. 469

実処理場に存在するポリリン酸蓄積細菌のFISH法による群集解析

- 3) Saito et. al (2007) WEF Nutrients Removal

- 4) 高橋紘平ら (2004) 日本水処理生物学会誌 別巻 第24号 Page. 90

嫌気好気法と嫌気無酸素法で培養した汚泥の好氣的リン摂取能に及ぼす亜硝酸塩の影響