

アンモニア酸化細菌叢の亜硝酸濃度別による亜酸化窒素生成ポテンシャルの評価

日本大学大学院 学生会員 ○杉浦将平, 加賀美雅彦  
 日本大学 正会員 齋藤利晃, 小沼 晋

1. 研究背景及び目的

地球温暖化対策として、水処理プロセスからの亜酸化窒素(以下、N<sub>2</sub>O)生成を抑制する方法の開発が課題となっている。これまでの研究から、アンモニア酸化細菌の硝化反応が主な N<sub>2</sub>O 生成経路であるとされ、亜硝酸濃度が影響因子であることが確認されている。しかし、実際はアンモニア酸化細菌の量、細菌叢により、亜硝酸蓄積速度、量が変化するため、その複合的な判断が出来ていないのが現状である。よって、本研究ではアンモニア酸化細菌に注目し、各試験における細菌叢、量を調べ、各細菌叢が亜硝酸濃度の違いにより、N<sub>2</sub>O 排出にどの程度寄与しているのか定量化を行う。結果から、実下水での水処理において、特定の細菌叢をコントロールすることが出来れば N<sub>2</sub>O 生成の抑制が可能となるのではないかと。

2. 実験方法

2-1 活性試験

実下水(汚泥-I, 汚泥-II)を用いて、一週間毎に七週間実験を行った。有効容量 4L のファーマーターで活性試験を行った。

汚泥自体の活性反応を測定するため、実験前に無機栄養塩水で洗浄し、有機物を駆除した。PH は 7.0±0.1 で制御を行い、DO 濃度は約 80%になるよう空気曝気を継続させた。その後、塩化アンモニウム水を 20mgN/L となるように投入した。サンプルは 10 分毎に 60 分までのサンプルを採取し、アンモニウムイオン、亜硝酸イオンおよび硝酸イオンについてイオンクロマトグラフィーを用い濃度測定を行った。その他の測定項目として、各試験時の MLVSS、ガス態 N<sub>2</sub>O 濃度、溶存態 N<sub>2</sub>O 濃度を測定した。ガス態 N<sub>2</sub>O の測定は反応槽から排出されるガスを採取し、ガスクロマトグラフィーで測定した。溶存態 N<sub>2</sub>O は、10 分ごとに採取した汚泥を密閉容器内で 5 分間攪拌し、気相部の N<sub>2</sub>O 濃度を測定することにより溶存態 N<sub>2</sub>O 濃度を算出した

2-2 FISH 法による細菌叢の定量

活性試験において汚泥を採取し、FISH 法による蛍光染色を行い蛍光顕微鏡による撮影を行った。使用したプローブはアンモニア酸化細菌(以下、AOB)については Nso190(以下、グループ A)、NEU (以下、グループ B)の 2 種類を使用した。AOB については、2 種のプローブで、ほぼ全ての AOB を観察出来るとされている。カウント方法は、PC 画面上において手動カウントを行った。

3. 実験結果

3-1 アンモニア酸化活性試験結果

図 2 にアンモニア酸化活性試験から得られたデータの例を示す。アンモニア酸化活性速度はアンモニアの減少速度を求め、MLVSS で除したものとした。

表 1 に結果を示す。

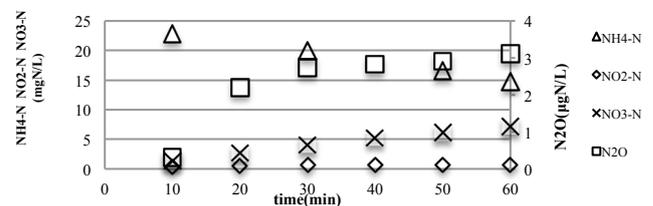


図 2 活性試験データの例

表 1 活性試験結果

		$r_{obs}$	$X_A$	$X_B$	N <sub>2</sub> O 転換率%
汚泥 I	1	3.96	5.5.E+10	1.6.E+09	0.58
	2	2.29	7.6.E+10	3.9.E+09	0.55
	3	3.22	4.1.E+10	3.1.E+09	0.43
	4	2.90	1.1.E+10	9.2.E+08	0.33
	5	3.08	4.7.E+10	8.6.E+08	0.26
	6	3.28	2.8.E+10	8.0.E+09	0.25
	7	3.04	1.0.E+10	5.7.E+09	0.45
汚泥 II	1	3.79	3.0.E+10	3.9.E+09	0.80
	2	3.84	4.6.E+10	5.9.E+09	0.38
	3	3.04	1.2.E+10	1.5.E+09	0.38
	4	2.62	3.1.E+10	1.2.E+09	0.28
	5	3.67	2.8.E+10	4.1.E+08	0.55
	6	3.24	2.1.E+10	1.2.E+10	0.42
	7	3.09	1.6.E+10	3.2.E+09	0.47

※1時間でのN<sub>2</sub>O転換率

$r_{obs}$ : 活性試験時に実測したアンモニア酸化活性[mgN/gVSSh]

$X_A$ : 細菌グループAの細胞量 [cell/gVSS]

$X_B$ : 細菌グループBの細胞量 [cell/gVSS]

キーワード：アンモニア酸化細菌 N<sub>2</sub>O 活性 FISH

連絡先：〒101-8308 東京都千代田区神田 1-8-14 日本大学大学院理工学研究科 TEL：03-3259-0688

3-2 各細菌別の平均活性速度

各実験で求めた、アンモニア酸化速度(mgN/gVss・h)と各日のグループ A, B の細菌数(cell/gVss)から、最小二乗法を用い、1cell 当たりの平均活性速度  $R_A$ ,  $R_B$  (mgN/cell・h)を算出した(図 2)。

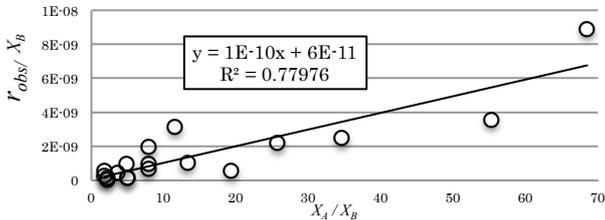


図 3 グループ A,B の平均活性速度

平均活性速度を算出した式を以下に示す。

$$r_{obs} = R_A \times X_A + R_B \times X_B$$

グループ A は、9.79E-11mgN/cell・h, グループ B は 5.61E-11mgN/cell・h という結果となった。この結果から、グループ A の活性速度がグループ B と比べ 2 倍近い速さであるとわかった。このデータを使用し、グループ A, B の N2O 生成ポテンシャルを算出する。

3-3 活性試験時の亜硝酸濃度と N2O 転換率の関係

図 4 に、10 分間での亜硝酸濃度と N2O 転換率を示す。N2O 転換率を算出した式を以下に示す。

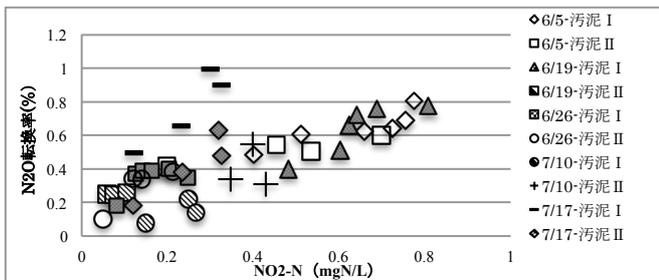


図 4 亜硝酸と N2O 転換率の関係

また、N2O 転換率を算出した式を以下に示す。

$$N2O \text{ 転換率} = \frac{N2O \text{ 生成速度} \left( \frac{mgN}{gVss} \cdot h \right)}{NH4 - N \text{ 酸化速度} \left( \frac{mgN}{gVss} \cdot h \right)} \times 100$$

各日とも正の相関を示していたが、N2O 転換率の大きさが異なる結果となった。このことから、同じ亜硝酸濃度ごとに分類し、各濃度ごとでグループ A, B の N2O 生成ポテンシャルを求める。

3-4 Nso190 と NEU の N2O 生成ポテンシャルの定量

アンモニア酸化活性試験時の 10 分間ごとの亜硝酸濃度を振り分け、その濃度に対する N2O 転換率、各 Nso190 と NEU の細菌数、図 3 で算出した各細菌の平均活性速度から、最小二乗法を用いて、亜硝酸濃度別の各細菌の転換率を算出した。使用した式を以下に示す。

$$\alpha_{obs} = \frac{\alpha_A \times R_A \times X_A + \alpha_B \times R_B \times X_B}{R_A \times X_A + R_B \times X_B} = \frac{\alpha_A \times R_A \times X_A + \alpha_B \times R_B \times X_B}{r_{obs}}$$

$\alpha_{obs}$ : 活性試験時に実測した N<sub>2</sub>O 転換率[%]  
 $\alpha_A$ : 細菌グループ A の N<sub>2</sub>O 転換率[%]  
 $\alpha_B$ : 細菌グループ B の N<sub>2</sub>O 転換率[%]

得られたデータについて、明らかに測定ミスと思われるデータは除外した。結果について図 5 に示す。

亜硝酸濃度が高くなると、グループ B の N2O 生成寄与が大きいことが確認された。どの濃度範囲においても、グループ B が A より N2O 生成に寄与していることがわかる。このことから、グループ B の増殖を抑制することが、N2O 削減につながるということが示唆された。

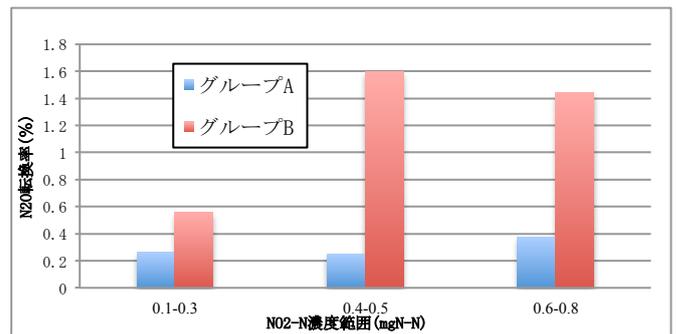


図 5 亜硝酸濃度別グループ A,B の N2O 転換率

4 考察

本研究により、NEU が N2O 排出に深く関わりがあることがわかった。1cell 当たりのアンモニア酸化活性を比較しても、Nso190 が速く、NEU はその半分程度であった。このことから、今後 NEU を抑制する運転条件を探索することが N2O を抑制する運転が可能であると考え。うえで非常に有効である。

今後データ数を増やし、より確実な評価することを目指していく。

参考文献

[1] 社団法人日本下水道協会:「下水道試験方法 上巻」, 283-287 (1997) .  
 [2] 小沼晋:「分子生物学的手法を中心としたアンモニア酸化細菌定量手段の実用性評価」, 東京大学大学院工学系研究科博士課程論文 (1999).