

メタンを唯一の有機源とした生物学的脱窒の試み

九州大学工学部 学生員○高谷 清香 正会員 久場 隆広
フェロー 楠田 哲也

1. はじめに

生物学的窒素除去の脱窒過程において有機物の存在は必要不可欠である。本研究では下水処理場での嫌気汚泥消化過程で発生するメタンガスを有機源として利用し、脱窒反応を進行させることを試みた。メタンを唯一の有機源として直接利用する脱窒をここでは簡単のためにメタン脱窒と呼ぶことにする。これまでもメタンを脱窒の有機源として利用する研究は行われてきたが、それらの研究は一旦メタンをメタノールに好氣的に酸化して脱窒に利用するというものであるため経済的とはいえない。また、そのメタノール生成率も極端に低い。メタンを無酸素条件下で直接的に脱窒反応の有機源として利用できるならば非常に経済的な脱窒方法となる可能性がある。しかしながら、単離された好気性メタン酸化細菌の脱窒能に関する報告は少なく、また、メタン脱窒細菌の集積培養を試みた研究もほとんどない。本研究では下水処理場より採取した活性汚泥を対象とし、硝酸塩あるいは亜硝酸塩を用いたメタン脱窒の可能性を検討すると同時に、メタン脱窒条件下での集積培養による脱窒能の向上も試みた。

2. 試験方法

2.1 室内回分メタン脱窒試験

メタンを唯一の有機源とする脱窒反応が進行する可能性を確認するために室内回分試験を実施した。まず下水処理場の好気槽から採取してきた活性汚泥を遠心分離にかけ、上澄み液を蒸留水に置き換える作業を繰り返すことにより洗浄した。洗浄した活性汚泥を硝酸塩と微生物の成長に必要なミネラル分を十分に含んだ基質に懸濁し、アルゴンガスで脱気した後、メタンで置換したバイアルにシリンジを用いて50ml注入した。メタンは溶解度が低い(20℃で $0.033\text{cm}^3/\text{cm}^3$)ため、バイアルにさらにメタンを注入しバイアル内を常に加圧状態(2気圧)に保った。20℃で振とう培養し、定期的にシリンジを用いてサンプリングした。その上澄液中の硝酸態窒素濃度を銅・カドミウムカラム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光光度法を用いて測定した。更に、培養液中に有機源が存在しない状況下での汚泥の内生脱窒能を把握するため、アルゴンガスで置換したバイアルを用いた比較試験も実施した。同様の方法で硝酸塩の代わりに亜硝酸塩を用いた回分メタン脱窒試験も実施した。亜硝酸態窒素濃度の測定にはナフチルエチレンジアミン吸光光度法を用いた。

2.2 メタン脱窒細菌の集積培養

活性汚泥を供試汚泥とし、バイアル内でメタン脱窒細菌の長期培養を試みた。下水処理場から採取してきた活性汚泥を2.1のメタン回分試験と同様の方法を用いて20℃で長期間振とう培養した。定期的に液相中の硝酸塩の有無を確認し、硝酸塩が消費されていた場合はシリンジを用いて硝酸塩を補充した。TCDガスクロマトグラフ法でメタンがバイアル内に常に存在していることを確認した。また、同様の方法で亜硝酸塩基質を用いた培養も実施した。硝酸塩、あるいは、亜硝酸塩基質で長期間培養したこれらの汚泥を用いて2.1で述べたものと同様の回分メタン脱窒試験を実施した。

3. 試験結果

室内回分メタン脱窒試験の結果を図-1,2,3に示した。各試験の比脱窒速度を表-1に示した。

3.1 活性汚泥を用いたメタン脱窒試験

下水処理場より採取した活性汚泥を硝酸塩基質のメタン回分脱窒試験に使用すると、メタン脱窒条件下で硝酸の消費速度は内生脱窒条件下のものより若干高いものの、メタンの存在しない内生脱窒条件下での消費速度とは大きな差がなかった(図-1(a))。このことより培養していない活性汚泥ではメタン脱窒はほとんど起こらず、

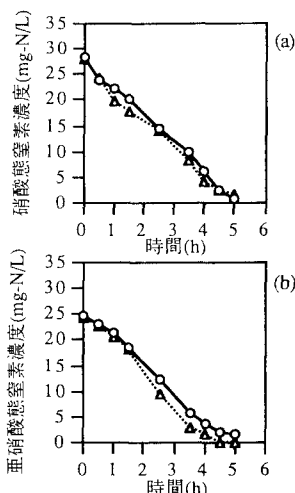


図-1 培養していない活性汚泥

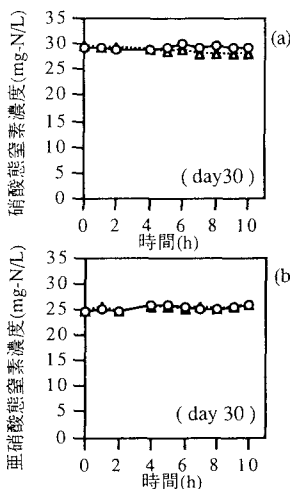


図-2 硝酸塩基質で培養した活性汚泥

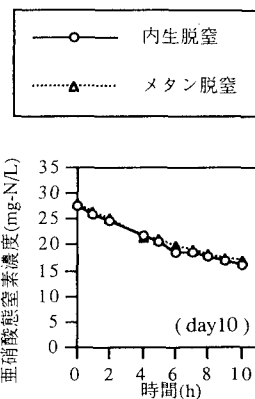


図-3 亜硝酸塩基質で培養した活性汚泥

内生脱窒により大半の硝酸塩が消費され
ていたと思われる。浜田ら²⁾が行った同
様な回分試験では、メタン分圧の増加に
伴い明確なメタン脱窒活性が認められた
が、本試験に用いた活性汚泥ではそれは
ほとんど認められなかった。一方亜硝酸

塩基質ではメタン脱窒と内生脱窒の脱窒能に差があり(図-1(b))、メタン脱窒活性が認められた。本研究に用い
た活性汚泥では、硝酸塩よりも亜硝酸塩のメタン脱窒活性が高かった。

3.2 集積培養汚泥を用いたメタン脱窒試験

硝酸塩基質で集積培養した汚泥を用いたメタン回分脱窒試験では、長期にわたる培養により微生物の内生脱
窒能がほとんど失われていた。内生脱窒条件下に比べて、メタン脱窒条件下では硝酸塩の消費速度は若干増加
しているものの(図-2(a))、亜硝酸塩の消費速度には両条件下においてほとんど差がなかった(図-2(b))。また、同
様に亜硝酸塩基質で長期間培養した汚泥についても、内生脱窒条件下と比較して、メタンを添加しても亜硝酸
塩の消費速度にはほとんど差がなかった。メタン脱窒条件下で活性汚泥を長期間培養することによりメタン脱窒
能の向上を期待していたが、硝酸塩基質については若干の向上は認められたものの、亜硝酸基質では、むしろ
メタン脱窒能は失われていた。

4. おわりに

本研究及び浜田ら²⁾の研究から、下水処理場から採取してきた活性汚泥はメタン脱窒能を有することが確認
された。また、硝酸還元能よりも亜硝酸還元能が卓越していることも明らかとなった。しかしながら、メタン
脱窒条件下で集積培養することにより、硝酸還元能については若干の向上は認められるものの、亜硝酸還元能
は失われるようである。この理由としては、脱窒過程ではメタンをエネルギー源としては利用できるが、同化
のための炭素源として利用できない可能性があることが挙げられる。今後、メタン脱窒条件下での硝酸塩や亜
硝酸塩の還元酵素群の発現機構やメタン脱窒菌の同化のメカニズムを明らかにすると同時に、メタン脱窒能を
有する菌群を如何に反応槽内に高濃度に保持するかを検討していく必要がある。

【参考文献】

- 1) Richard S. Hanson et al. : Methanotrophic Bacteria, *Microbiological Reviews*, vol.60, No.2, pp. 439-471, 1996
- 2) 浜田ら : 栄養塩高度除去廃水処理方式開発に向けて, 土木学会第53回年次学術講演会講演概要集第7部, pp. 203-202, 1998