

B-2 硝化細菌群の活性を考慮した 反応速度式の検討

○ 中村 摩理子^{1*}・辻 幸志²・竹田 尚弘¹藤田 昌史²・赤司 昭¹¹株式会社神鋼環境ソリューション 技術開発本部²山梨大学大学院医学工学総合研究部

*E-mail: m.nakamura@kobelco-eco.co.jp

1. はじめに

第6次水質総量規制により窒素やリンなどの規制が更に強化されることから、それを達成するための合理的な運転方法の確立が強く望まれている。IWAの活性汚泥モデル(ASM: Activated Sludge Model)を利用したシミュレーションは、排水処理施設の設計や運転管理支援のツールとして期待されており、実施施設における適用性の検討が行われている^①。

ASMは、除去機能に応じて分類した活性汚泥細菌群の増殖や死滅などの反応を計算し、水質を予測するモデルであるが、そのキャリブレーションは、細菌群ではなく水質をベースに行われている。すなわち、モデルパラメータは水質に合わせて調整される。しかしながら、同じ処理施設を対象とした計算でも、例えば、硝化細菌の最大比増殖速度 μ_a などの反応速度論定数をキャリブレーションしても硝化過程の再現性が得られない場合があることが知られている。その意味では、これまで着目されて来なかった細菌群量を把握したうえで、反応速度との関係を調べる必要があると考えられる。

一方、遺伝子解析技術の適用により、種々の生物処理プロセス中の細菌群集に関する解析が飛躍的に進んでいる^②。我々はこれまでに、火力発電所排水の硝化・脱窒プロセスに遺伝子解析を適用し、*nirS* 遺伝子数と処理水質との間に高い相関性があることを示した^③。遺伝子解析により得られた細菌に関する情報をシミュレーションに組み込むことができれば、より信頼性の高い水質予測が可能になると考えられる。

そこで本研究では、硝化反応に着目し、アンモニア酸化細菌群および亜硝酸酸化細菌群の存在量とそれぞれの反応速度との関係を調べた。次に、それぞれの細菌群の活性を考慮したパラメータを従来の反応速度式に導入し、その妥当性について検討した。

2. 方法

(1) 対象施設

本研究で対象とした流域終末下水処理施設の流入水量は7500 m³/dayである。全5槽の反応槽の有効容量は2800 m³であり、その分画比は1:1:1:1:0.7である。標準活性汚泥法を採用しているが、第1槽のエアレーションは停止している。MLSSは約1500 mg/Lである。後述する硝化速度試験で用いる活性汚泥を第5槽から5月11日、6月1日、6月15日、6月29日(2週間に1度)の計4回採取した。このとき、最初沈殿池越流水と処理水を、それぞれ1時間コンボジットで採水し、流入水と処理水の水質を分析した(表1)。

表1. 流入水・処理水の水質 (n=4)

水質項目	単位	流入水	処理水
TCOD _{Cr}	mg/L	108	24
TN	mg-N/L	15.1	8.6
NH ₄ -N	mg-N/L	9.7	2.3
NO ₂ -N	mg-N/L	0	0.7
NO ₃ -N	mg-N/L	0	4.0

(2) 硝化速度試験

対象施設にてサンプリングした汚泥のアンモニア酸化速度と亜硝酸酸化速度を求めるために、既報^④にしたがって回分試験を行った。それぞれの最大速度が得られるように、アンモニア性窒素あるいは亜硝酸性窒素を十分に添加し、水温は20℃、pHは7.0とした後、エアレーションを開始した。定刻ごとに採水し、ガラス繊維ろ紙(φ0.3μm)でろ過した後、NH₄とNO₂をHPLC(SHIMADU LD-10AD)により分析した。

(3) 遺伝子解析

全DNAは、ISOIL for Beads Beating (ニッポンジーン)を用いて精製した。リアルタイムPCR法によりアンモニア

酸化細菌 (AOB: Ammonia Oxidizing Bacteria), 亜硝酸酸化細菌 (*Nitrospira*) の細菌数を解析した。

AOB 数, 及び, *Nitrospira* 数の定量には, それぞれ, CTO 189fA/B, CTO 189fC, K11r, TMP1[®] 及び, NSR1113f, NSR1264r, NSR1143Taq の Primer/Probe セット[®] を用いた TaqMan 法により行った。

3. 結果と考察

(1) 各測定日における最大硝化速度と細菌数

図 1 に各測定日におけるアンモニア酸化速度と亜硝酸酸化速度を, 図 2 に AOB と *Nitrospira* の細菌数を示す。図 1 より, アンモニア酸化速度の最大値と最小値の差は 21 mg-N/L/hr, 亜硝酸酸化速度では 1.6 mg-N/L/hr であり, 測定日によりばらつきが見られる。一方, 細菌数を見ると, AOB は 10⁸ オーダーで推移している。また, *Nitrospira* は 10⁷ オーダー後半から 10⁸ オーダーで推移している。以上から, 各測定日において, それぞれの速度と細菌数は必ずしも対応していなかった。すなわち, 最大の酸化速度は細菌数だけに依存しないことが分かる。

(2) 硝化細菌群の活性の表現と反応速度式の検討

ASM 等では, 硝化速度式は, モノ一項で制限要因の影響が表現されているが, 本試験では, 基質と酸素を十分に与えているため, 制限項は 1 と見なすことができる。したがって, アンモニア酸化速度と亜硝酸酸化速度は, 以下のように表される。

$$\frac{d(S_{NH_4})}{dt} = \frac{\mu_{A,NH_4}}{Y_{A,NH_4}} X_{A,NH_4} \quad (1)$$

$$\frac{d(S_{NO_2})}{dt} = \frac{\mu_{A,NO_2}}{Y_{A,NO_2}} X_{A,NO_2} \quad (2)$$

ここで, μ_A は最大比増殖速度, Y_A は増殖収率, X_A は細菌濃度[mg-COD/L]である。反応速度論定数は, 多数提案されているが, ここでは, $\mu_{A,NH_4}/Y_{A,NH_4} = 0.067$ mg-N/mg-COD/hr, $\mu_{A,NO_2}/Y_{A,NO_2} = 0.29$ mg-N/mg-COD/hr^⑦ を用いた。そして, 硝化速度試験の結果から, 式(1), (2)を用いて細菌の濃度を求めた。

一方, 以下の式により, 実測の細菌数から濃度に換算した。

$$X_{A,NH_4}(\text{Cell}) = W \times N \times 1.416 \quad (3)$$

$$X_{A,NO_2}(\text{Cell}) = W \times N \times 1.416 \quad (4)$$

ここで, $X_A(\text{Cell})$ は実測の細菌数から求めた濃度[mg-COD/L], W は 1 細菌当たりの乾燥重量 (2.8×10^{-10} mg-dry weight/Cell^⑧), N は細菌数である。

図 3 にアンモニア酸化細菌の濃度, 図 4 に亜硝酸酸化細菌の濃度を示す。アンモニア酸化, 亜硝酸酸化共に, $X_A(\text{Cell})$ の大きさが X_A に対応していないことが分かる。

X_A は, 硝化速度試験においてそれぞれの機能を発揮した細菌群の存在量を示しているのに対し, $X_A(\text{Cell})$ はそれぞれの機能を潜在的に有する細菌群の総量を示している。したがって, X_A と $X_A(\text{Cell})$ の差異は, それぞれの細菌群のうち機能を発揮したものの割合の違いによるものと反応速度論的には解釈される。ここでは, これを活性の違いと表現し, それぞれの細菌群の活性を表すパラメータ η_A を新たに導入して, アンモニア酸化速度式と亜硝酸酸化速度式を以下のように表す。

$$\frac{d(S_{NH_4})}{dt} = \eta_{A,NH_4} \frac{\mu_{A,NH_4}}{Y_{A,NH_4}} X_{A,NH_4}(\text{Cell}) \quad (5)$$

$$\frac{d(S_{NO_2})}{dt} = \eta_{A,NO_2} \frac{\mu_{A,NO_2}}{Y_{A,NO_2}} X_{A,NO_2}(\text{Cell}) \quad (6)$$

式(1), (2), (5), (6)から, η_A は以下のように求めることができる。

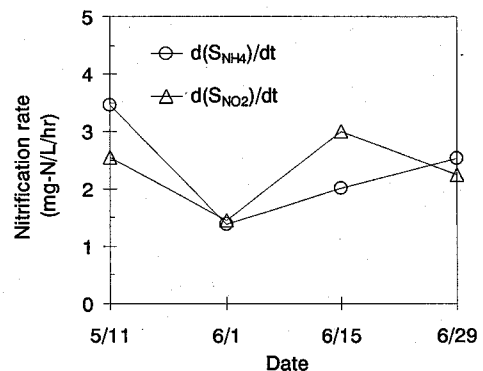


図 1. 各測定日における硝化速度

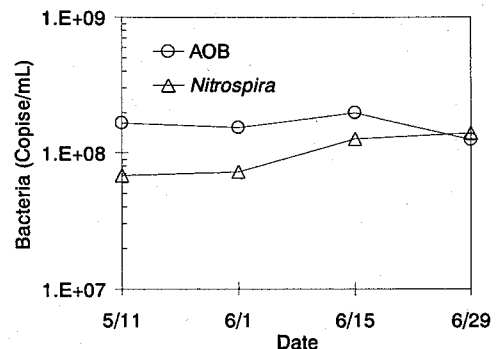


図 2. 各測定日における AOB 数と *Nitrospira* 数

$$\eta_{A,NH_4} = \frac{X_{A,NH_4}}{X_{A,NH_4}(Cell)} \quad (7)$$

$$\eta_{A,NO_2} = \frac{X_{A,NO_2}}{X_{A,NO_2}(Cell)} \quad (8)$$

図5に、各測定日におけるそれぞれの η_A を示す。 η_A は反応速度論定数の設定によって値が変わるため、定量的な検討には留意が必要であるが、各測定日において、同一のパラメータ値を用いて算出しているため、相対的な比較は可能と考える。算出した η_{A,NH_4} および η_{A,NO_2} は、測定期間中、約2倍の変動が見られた。したがって、硝化細菌群の活性は一意的には定まらなと解釈される。

例えば、従来の反応速度式(1)から算出した X_{A,NH_4} は、図3に示したように、6月1日から6月29日にかけて増加したと見積もられたのに対し、 $X_{A,NH_4}(Cell)$ や η_A は、それぞれ同様の傾向を示していなかった。これは、従来の速度式で基質の摂取過程を表現することには、限界があることを示している。そこで、今回考慮したような活性を示すパラメータを導入することで、柔軟に表現できるものと考えられる。ただし、一意的に定まらない活性パラメータを、どのように表現するかが今後の課題となろう。

4. まとめ

流域終末下水汚泥を対象に定期的に遺伝子解析と硝化速度の測定を行い、アンモニア酸化細菌群および亜硝酸酸化細菌群とそれぞれの反応速度との関係を調べた。さらに、それぞれの細菌群の活性を考慮したパラメータを導入した反応速度式の妥当性について検討した。結果より、以下の知見が得られた。

- ・最大アンモニア酸化速度、最大亜硝酸酸化速度と細菌数の測定を行ったところ、各測定日において、それぞれの速度と細菌数は必ずしも対応していなかった。したがって、最大の酸化速度は細菌数だけに依存しないことが分かった。
- ・硝化速度試験から求めた細菌の濃度は、それぞれの機能を発揮した細菌群の存在量を示している。一方、遺伝子解析によって測定された細菌数から換算した濃度は、それぞれの機能を潜在的に有する細菌群の総量を示している。これらは、一方が増加しても、他方は必ずしも同様の傾向を示さなかった。両者の差異を、細菌群の活性パラメータとして評価したところ、細菌の濃度と活性パラメータの大小についても対応は見られなかった。

本報では、従来の反応速度式では表現に限界があった基質の摂取過程を、活性パラメータの導入により表現でき

る可能性を示した。

参考文献

- (1) 周藤ら, 第42回下水道研究発表会講演集, 136~138 (2005).
- (2) 田中ら, 第40回日本水環境学会年会講演集, 37 (2006).
- (3) 赤司昭, 山下哲生, 第40回日本水環境学会年会講演集, 39 (2006).
- (4) 古屋勇治, 佐々木康成, 古米弘明, 下水道協会誌, Vol.6, No.443, 99-111 (1999).
- (5) A. Hermansson and P-E Lindgren, Appl. Environ. Microbiol., 67, 972-976 (2001).
- (6) C. Hams et al, Environ. Sci. Technol., 37, 343-351 (2003).
- (7) H. Furumai et al, Indian J. Eng. Materials Sci., 5, 173-181 (1998).
- (8) H. M. Dionisi, et al, Applied and Environmental Microbiology, 68, 245-253 (2002).

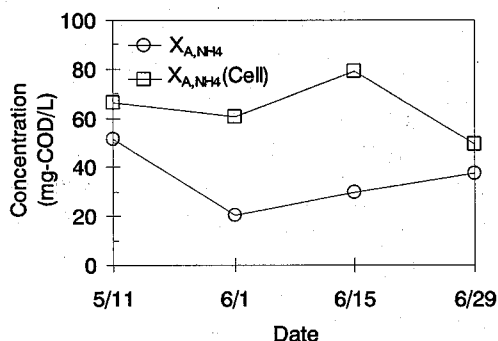


図3. アンモニア酸化細菌濃度

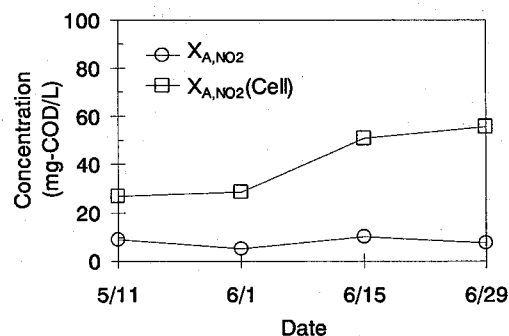


図4. 亜硝酸酸化細菌濃度

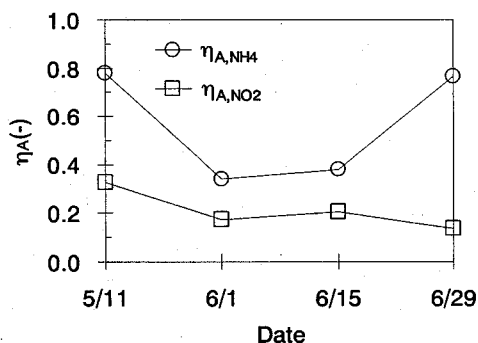


図5. 活性パラメータ η_A