

嫌氣的メタン酸化と脱窒の共役による亜酸化窒素の生物学的除去

広島大学大学院	学生会員	○山本	崇寛
広島大学大学院	正会員	幡本	将史
広島大学大学院	正会員	金田	一智規
広島大学大学院	正会員	尾崎	則篤
広島大学大学院	正会員	大橋	晶良

1. はじめに

地球温暖化防止の観点から、排水の硝化、脱窒処理に伴って発生する亜酸化窒素が問題視されている。亜酸化窒素は脱窒し、窒素に還元することで処理を行うことが出来る。脱窒には一般的に有機物が電子供与体として用いられるが、近年メタンを用いた脱窒が注目されている。メタンも生物学的排水処理法によって発生する温室効果ガスであるが、安価な炭素・エネルギー源であり、脱窒に用いる上で優れた点が多い。メタンを用いた脱窒はメカニズムが不明な部分があるが、一般的にはメタン酸化細菌がメタンを酸化し、放出する中間代謝物を脱窒菌が利用していると考えられている。好氣的環境下でのメタン脱窒は以前から知られていたが、近年メタンを用いた嫌氣的環境下での硝酸・亜硝酸の脱窒を行う微生物の報告がされた。嫌氣的なメタン脱窒の場合、酸素供給のための曝気が必要であり、エネルギーコストを抑えることが出来る。また曝気による亜酸化窒素、メタンの大気中への放散も防ぐことが出来る。よって、この微生物を利用すれば亜酸化窒素とメタンの効率的同時処理が出来るのではないかと考えられる。そこで、本研究ではメタンを用いた亜酸化窒素の脱窒プロセスの開発を最終的な目標とし、まずは基礎的知見の収集として、バッチ培養実験による嫌氣的メタン酸化と硝酸の脱窒の共役に関与する微生物の集積培養、またラボスケールリアクターを用いた処理実験を行った。

2. 実験方法

2-1. バッチ培養実験

培養には 720 mL バイアル瓶を用い、嫌気メタン酸化細菌を対象としたプライマー(ANME4-280F, ANME4-1044R)を用いた PCR 法により、嫌気メタン酸化細菌が確認された水田土壌の培養を行った。担体(2 cm 角ポリウレタン製スポンジ 9 個)の有無、攪拌培養または静置培養の条件分けにより 4 系列を用意した。攪拌はロータリーシェイカーを用いて 120 rpm で行った。培地として NaNO_3 5 mM を含む嫌気性無機人工排水を 250 mL 用いた。バイアル瓶気相部は純

メタンを充填し、培養温度を 30℃とし暗所で培養を行った。

2-2. DHS リアクターによる連続培養実験

本研究で用いたリアクター(図-1)は内径 68 mm 高さ 1200 mm の円柱状でカラム容積 4 L である。内部に担体として 2cm 角のポリウレタン製スポンジ(30 個)をナイロン糸に繋げたものを用いた。リアクターの有効容量であるスポンジ全容積は 0.21 L である。植種はバッチ培養実験に用いたものと同様の水田土壌をスポンジに染み込ませることで行った。流入基質は、溶存亜酸化窒素、溶存メタンを含む嫌気性無機人工排水に NaNO_3 1 mM を添加し、9:1 の流量比となるよう供給し、無酸素条件下で運転をおこなった。本研究ではメタンを唯一の炭素源とするため、他の有機物を含めなかった。また溶存亜酸化窒素、及び溶存メタンの濃度測定はヘッドスペースガスクロマトグラフ法で行った。HRT 4 時間、運転温度 30℃とし暗所で運転を行った。

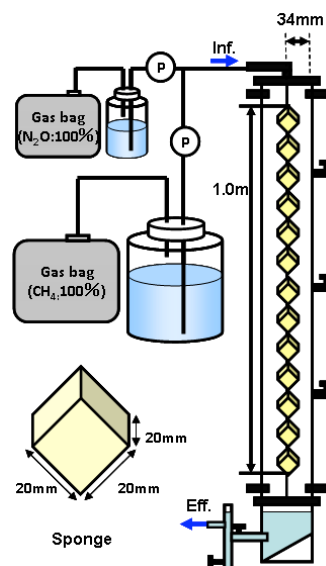


図-1 リアクター外略図

3. 実験結果

3-1. バッチ培養実験結果

バッチ培養実験は 119 日間行った。各培養系で 720 mL バイアル瓶あたりメタン 1.5~2.5 mmol、硝酸約 3 mmol の減

少が確認された(図-2,図-3)。培養は無酸素条件下で有機物を添加せずに行ったことから、メタン及び硝酸の減少は嫌氣的メタン酸化と脱窒によるものであると考えられる。またメタン減少量と硝酸減少量の比についても、全ての培養系で嫌氣的メタン脱窒の理論値($\text{CH}_4:\text{NO}_3=5:8$)に近い値をとった。しかし培養初期の約 1 ヶ月間の硝酸の減少速度が、それ以降の硝酸減少速度に比べ速いことから、植種に用いた水田土壌中に存在していた有機物が、硝酸の脱窒に関与しているのではないかと考えられる。このことから、実際にメタンを用いて行われた硝酸の脱窒量は測定値よりも若干小さくとなると考えられる。また攪拌培養を行っている培養系では、徐々に亜硝酸が蓄積されるという現象が確認された。この蓄積はスポンジがある培養条件に比べ、スポンジが無い培養条件において蓄積量が大きかった。その詳細は今のところ不明であるが、攪拌によって微生物同士が近接できないために脱窒の中間生成物として亜硝酸が蓄積した可能性が考えられた。またメタン、および硝酸イオンの減少速度の向上は確認できず、対象とした微生物の増殖速度が非常に遅いと考えられた。

3-2. DHS リアクターによる連続培養実験の経過

運転条件により Phase を 3 つに分けて培養実験を行った。全 Phase において HRT、運転温度は一定とした。各溶存ガスは培養 30 日目には減少が確認された(図-4)。しかし Phase 1 では溶存亜酸化窒素減少量に対し、溶存メタン減少量が大きかった。これは添加した硝酸の減少量を考慮した場合でも約 1.8 倍程度多くメタンが減少している。そこで Phase 2 として溶存亜酸化窒素の流入を停止して運転を行い溶存メタン濃度の変化を観察した。その結果溶存メタンは溶存亜酸化窒素の有無に関わらず大幅に減少していることが確認された。この原因として本実験で用いたリアクターは、充填率 5 %と低く、気相部が全スポンジ容積に対し非常に大きいため、気相部と流入基質においてガス濃度が平衡に達しておらず、溶存ガスが気相部に放散していると考えられた。そのため流入基質から想定される気相部の平衡時の濃度の亜酸化窒素・メタン混合ガスを作成、充滿させて運転を再開し亜酸化窒素とメタンの反応比についての調査を行い、これを Phase 3 とした。Phase 3 では流出の溶存、及びリアクター気相部の亜酸化窒素・メタン濃度の減少が確認された。量論的に安定した結果はいまだ見られていないが、嫌氣的なメタンと亜酸化窒素の処理がなされることを確認した。

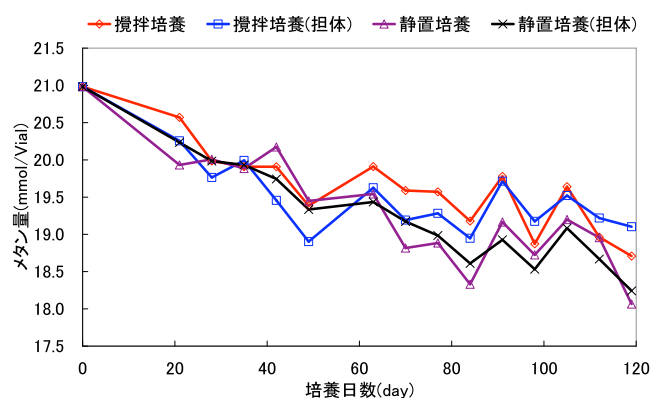


図-2 バイアル内メタン量推移

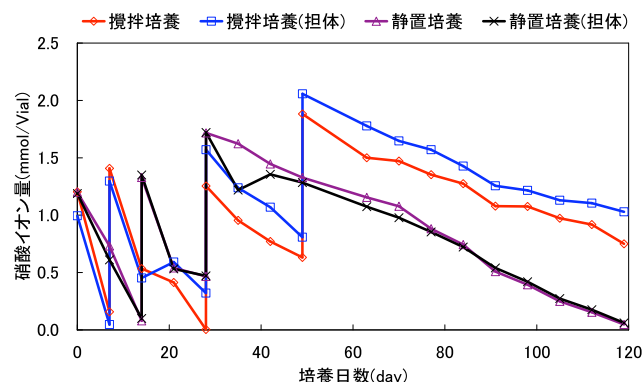


図-3 バイアル内硝酸量推移

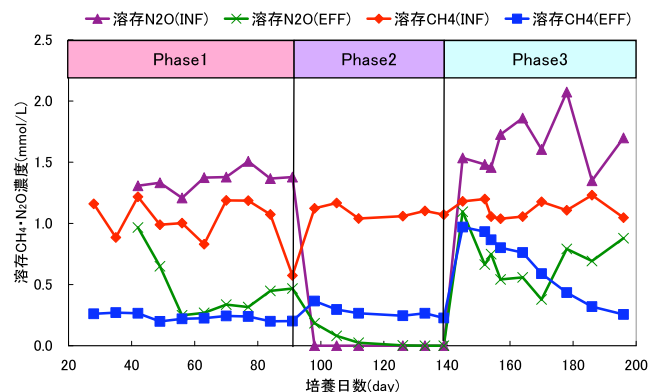


図-4 溶存亜酸化窒素・メタン濃度

4. 今後の予定

連続培養を継続し、メタン・亜酸化窒素反応比についての調査を行うとともに、分子生物学的な解析を行うことで、関与微生物の特定を行い除去機構の解明を目指す。

謝辞

本研究は、(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の“微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発”プロジェクトの一環として実施した。