

## MICP法を用いたDHSリアクターによる尿素分解及びアンモニア除去性能評価

松江高専専攻科 非会員 ○藤原 莉久  
松江高専 正会員 山口 剛士

## 1. 目的

近年、微生物による尿素分解菌の副産物として発生する微生物誘導炭酸沈殿塩(Microbially induced carbonate precipitation: MICP) を利用し、地盤の強度を向上させるバイオセメンテーションが注目されている<sup>1)</sup>。本手法は、微生物を用いた方法であるため、セメントを用いた場合と比較してCO<sub>2</sub>排出量が少なく、また有害な六価クロムが排出しないことが報告されている。一方、MICPと同時に微生物反応により、高濃度のアンモニアが発生することが知られている。しかし、発生するアンモニアに関する除去方法について知見が少ないのが現状である。そこで、本研究では、水処理装置に用いられているDHS(Down-flow Hanging Sponge)リアクターに着目し、DHSリアクターを用いて尿素分解によるアンモニアの発生および発生したアンモニアが除去可能であるか評価することを目的とした。

## 2. 実験方法

### 2.1 実験設備

本研究で用いた装置の模式図を図1に示す。本研究では、2つのDHSリアクターを用いて尿素分解とアンモニア除去を試みた。まず、尿素分解を対象としたリアクター1を設置した。その後、発生したアンモニアを除去するためにリアクター2を設置した。DHSリアクターは、直径20cm、高さ50cmのカラムを用意し、畑から採取した土壌を固着させたポリウレタンスポンジ80個を充填させた。リアクター1の尿素を含んだ流入基質は既報<sup>2)</sup>を参考に作成した。

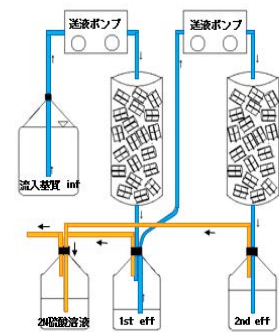


図1 DHSリアクター模式図

### 2.2 水質分析

DHSリアクターにおける微生物反応を確認するために水質分析を行った。水質分析に供したサンプルは、リアクター1の流入部(inf)、流出部(1st eff)及びリアクター2の流出部(2nd eff)として採取を行った。水質分析は、イオンクロマトグラフィを用いてアンモニウム(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)、亜硝酸(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)、硝酸(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)の濃度を測定した。

### 2.3 DNA抽出

尿素分解およびアンモニア除去に関与する微生物を同定するために、DNA抽出を行った。土壌中およびDHSリアクター内のDNAは、ISOIL for Beads Beatingのプロトコルに準拠し抽出した。サンプリングはスポンジ内の汚泥が含まれた水注射器を用いて採取した。

### 2.4 微生物群集構造解析

土壌中およびDHSリアクター内の微生物群集構造解析は、16S rRNA遺伝子のV4領域を標的としたプライマー(Mi515f-Mi806r)を選定し、外注により解析を行った。得られた塩基配列は、Qiime2 softwareを用いて近縁種を解析した。

キーワード バイオセメンテーション, DHSリアクター, 尿素分解, 硝化反応

連絡先 〒690-8518 島根県松江市西生馬町14-4 松江工業高等専門学校 環境・建設工学科

T E L 0852-36-5261

### 3. 実験結果

#### 3.1 尿素分解及びアンモニア除去

図2に本装置で生じたアンモニア濃度を示す。リアクター1の流出部(1st eff)において、infと比較してアンモニア濃度が大きく上昇していることが明らかとなった。これは、リアクター1に存在する尿素分解菌によって尿素分解されアンモニアが生成されたと考えられる。また、尿素分解で生じるアンモニア濃度の理論値と水質分析を比較した結果、理論値が5109 mg/Lであり、測定値が $4630 \pm 1190$  mg/Lであった。従って、リアクター1において9割以上の尿素がアンモニアに分解されていることが明らかとなった。一方、1st effと2nd effのアンモニア濃度を比較した結果、変化が見られなかった。従って、リアクター2では、ほとんど硝化反応が進行していないことが明らかとなった。図3に本装置で生じた硝酸濃度を示す。リアクター2の1st effと2nd effと比較した結果、リアクター2の流出部における濃度の方が高いことから僅かながら硝化反応が生じていることが明らかとなった。しかし、未だ有効な硝化反応が生じていないことが明らかとなった。

#### 3.2 微生物群集構造解析

まず、DHSリアクターに使用した土壤中の微生物群集構造解析を行った。その結果、硝化反応を担う*Nitrospira*属の存在割合は、土壤中に0.4%程度であった。したがって、実験開始直後では、DHSリアクター内に硝化反応を担う微生物がほとんど存在していなかったことが明らかとなった。その結果が、リアクター2における硝化反応が鈍化している要因であると考えた。そこで、現在、硝化細菌が土壤よりも存在していると考えられる活性汚泥を追加し、リアクターを稼働させる予定である。また現在、DHSリアクターの微生物群集構造解析を行っており、土壤に存在していた尿素分解およびアンモニア除去に関する微生物が増加しているのか同定し確認している段階である。

### 4. まとめ

本研究においてDHSリアクターによる尿素分解でアンモニアが生成されることが明らかとなった。しかし、アンモニア除去を目的としたリアクター2ではアンモニア除去が確認できなかった。今後は、活性汚泥を追加することで硝化反応が進行するのかが確認するとともに、土壤硬化で生じる炭酸カルシウムの濃度やウレアーゼ活性を測定する予定である。さらに、微生物群集構造解析を行い、尿素分解及びアンモニア除去に関する微生物を同定する予定である。

### 参考文献

- 1) Satoru Kawasaki, 微生物機能を利用した地盤改良技術の現状, Journal of MMIJ, Vol131, pp.155-163, 2015
- 2) Masataka aoki *et al*, A Low-Tech Bioreactor System for the Enrichment and Production of Ureolytic Microbes, Polish Journal of Microbiology, Vol 67, No 1, pp59-65, 2018

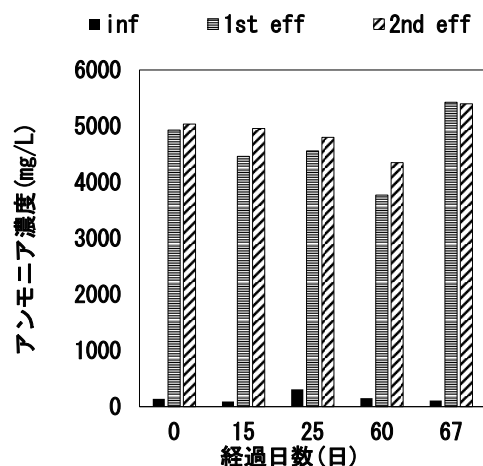


図2 本装置で生じたアンモニア濃度

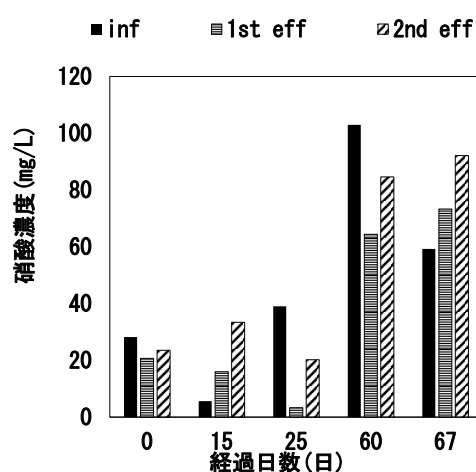


図3 本装置で生じた硝酸濃度