

H4-22

硝化細菌の活性測定と細菌群定量による亜酸化窒素生成メカニズムの解析

Analysis of the production mechanism of nitrous oxide by the activity analysis of nitrifying bacteria and the quantification of bacterial groups

○杉浦将平¹, 加賀美雅彦¹, 小沼晋², 齋藤利晃²Shohei Sugiura¹, Masahiko Kagami¹, Susumu Konuma², Toshiaki Saito²

i

Abstract: In order to reduce global warming on a global scale, greenhouse gas suppression of is urgently needed, because GHGs to be discharged in wastewater treatment accounts for 0.5% of Japan. It is nitrous oxide is 310 times that of CO₂ has the effect of having a high greenhouse effect compared to other GHGs among other GHGs. However, the detailed production mechanism has not been elucidated yet. This study analyzed into the production mechanism of nitrous oxide by the activity analysis of nitrifying bacteria and the quantification of bacterial groups. The nitrifying activity seemed not to correlate with the number of nitrifying bacteria. Ammonia oxidizing bacteria which can be detected with NEU probe was suggested to have relationships with nitrous oxide production.

1. 研究背景および目的

世界規模での地球温暖化を抑えるために、温室効果ガス(以下, GHGs)の発生抑制は急務の課題であり、排水処理において排出される GHGs は日本の 0.5% を占めている。GHGs の中でも特に亜酸化窒素(以下, N₂O)は他の GHGs に比べると高い温室効果を持ち CO₂ の 310 倍の効果を持つとされている。下水処理過程では硝化、脱窒作用により N₂O が生成されてしまうことが知られている。しかし、未だにその詳細な生成メカニズムは解明されていない。そこで本研究では、特に N₂O 生成に寄与している硝化細菌(アンモニア酸化細菌(以下, AOB), 亜硝酸酸化細菌(以下, NOB))に注目し、細菌本来の窒素除去能力及び、細菌数を調べるとともに N₂O 排出量を測定することにより、N₂O 生成に寄与する細菌の種類、N₂O 排出特性を解明することを目的とする。

2. 実験方法

2-1 活性試験

メタウォーター(株)が6連槽小型処理装置(1系, 2系)を用いて行う「ORP 及び DO 制御における N₂O 排出特性の検討」において試験を行った。試験期間、各槽の運転条件について Table1, Table2 に示す。

同期間において一週間毎に小型処理装置内の汚泥を採取し、有効容量 4L のフェーマーターを用いて、活性汚泥の硝化速度¹⁾を調べるために活性試験を行った。硝化能力を有する活性汚泥に対し処理速度を測定するため、洗浄溶液を用いて余分な有機物を駆除した後、アンモニア酸化活性試験にはアンモニウム水溶液を

20mg/L となるように投入し、亜硝酸酸化活性試験においては亜硝酸水溶液 10mg/L になるように投入した。pH は各実験ともに 7.0±0.1 で制御を行い、DO は約 80% になるよう空気曝気を継続させた。汚泥濃度については、2000mg/L から 3000mg/L を目標に希釈を行った。各試験時間は 0 分から 60 分までとし、10 分毎に汚泥を 15ml 採取し濾過をさせ NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N の測定を行った。また、ガス態 N₂O 濃度は 10 分毎に採取、測定を行い、溶存態 N₂O 濃度は 30 分毎に採取した汚泥を密閉容器内で 5 分間攪拌し、気相部 N₂O 濃度を測定することにより、溶存 N₂O 濃度を測定した。また、各イオン濃度についてはイオンクロマトグラフィーを用いて測定し、N₂O ガスの分析には ECD を検出器とするガスクロマトグラフィーを用いて測定を行った。

Table1. Operation schedule

	1st.week	2ndweek	3rd.week	4th.week	5th.week	6th.week
	6/6~6/12	6/12~6/19	6/19~6/26	6/26~7/3	7/3~7/10	7/10~7/17
series.1	RUN0	RUN0	RUN1	RUN2	RUN2	RUN2
series.2	RUN0	RUN0	RUN1	RUN1	DO control	DO control

Table2. Operation DO and ORP

Target of ORP	1st.reactor	3rd..reactor	6th..reactor
RUN0	-50mV	45mV	120mV
RUN1	-50mV	RUN × 1/2	120mV
RUN2	-50mV	RUN × 2	120mV
Target of DO	1st~4th.reactor	5th.reactor	6th..reactor
DO control	2L/min aeration	1.5mg/L	2.5mg/L

2-2FISH 法による細菌の定量

活性試験で使用する活性汚泥を採取し、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²⁾。使用したプローブは AOB については Nso190, NEU の 2 種類を使用した。NOB については NIT3, Ntspa662,

1 : 日大理工・院(前)・土木、2 : 日大理工・教員・土木

Ntspn, Ntcoc の 4 種類を使用した。カウント方法は、PC 画面上において手動でカウントを行った。

3. 実験結果

活性試験による活性と FISH 法による細菌数の経日変化について Figure1, Figure2 に示す。

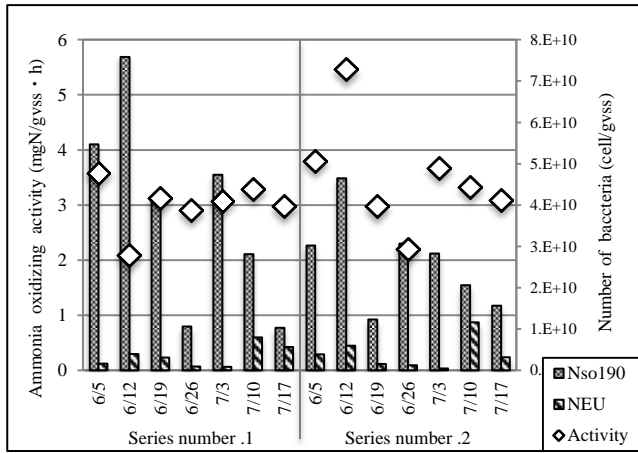


Figure1. Aging of ammonia oxidizing activity and number of bacteria

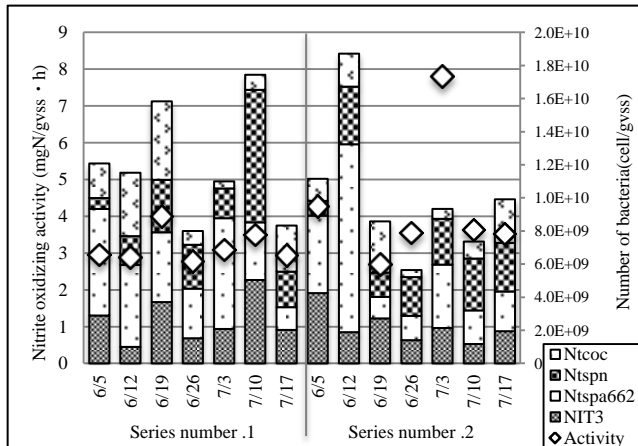


Figure2. Aging of nitrite oxidizing activity and number of bacteria

Figure1 では 1, 2 号機のアンモニア酸化活性と AOB 数の関係を経日変化で表している。Nso190 がほとんどの AOB の割合を示していることがわかる。1 号機について活性試験データを踏まえると、6 月 12 日は AOB が多く観察されたが、活性は他と比べると低い傾向にある。逆に AOB 数が少なく観察された 6 月 26 日、7 月 17 日は 6 月 12 日と比較すると活性は高い。2 号機では日が経つにつれ AOB 数とともに活性も減少傾向にあった。Figure2 では 1, 2 号機の亜硝酸酸化活性と NOB 数の関係を経日変化で表している。過去の予備実験から、NIT3 が NOB 数の多くを占めるのではないかと予想されていたが、今回の実験系では 4 種類の NOB が確認された。特に、Ntspa662 の存在割合が多かった。活性については 1, 2 系ともに大きな変動はないことがわかる。しかし、細菌数と種類は日ごとに変化があるの

が見受けられる。このことから細菌が多く存在している状態でも活性は一概に良くなるとは言えないことがわかる。活性の善悪に影響を与える因子は装置内の環境条件や活性汚泥 1cell そのものの処理能力に左右されたと考えられる。

次に NEU プローブで検出される AOB が N₂O 生成に深く関わりがあるという可能性から、Nso190 に含まれる NEU の割合と N₂O 転換率の関係を Figure3 に示す。

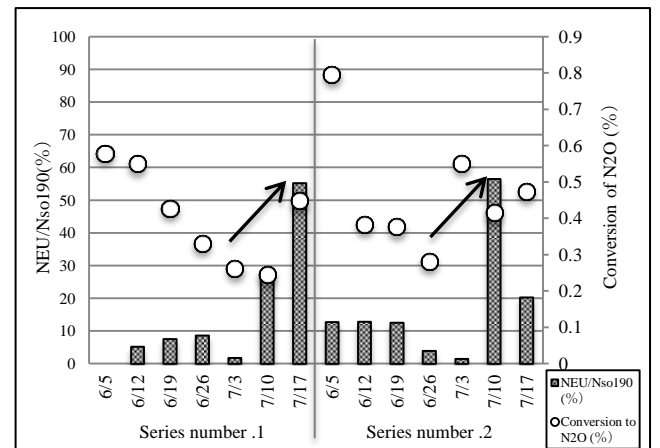


Figure3. N₂O conversion ratio and proportion NEU accounted for Nso190

1, 2 号機においても N₂O 転換率の経日的な変化は運転を開始した 6 月 6 日から減少を始め、7 月 10 日まで減少傾向にあったが、7 月 10 日の N₂O 転換率は上昇し、それに伴い Nso190 に含まれる NEU の割合も増加した。このことから、N₂O 生成に AOB 中の NEU の存在割合が起因している可能性が示唆された。

4. 考察

活性試験と FISH 法により、細菌が多く存在している状態でも活性は一概に良くなるとは言えないということが示唆された。活性に影響を与える因子は装置内の環境条件、活性汚泥 1cell そのものの能力に左右されたと考えられる。NEU について、AOB の中でその割合が多いと活性に影響を及ぼさないが、N₂O 生成に深く関わりがある可能性が示唆された。今後、活性試験を継続させるとともに、細胞 1cell 当たりの活性や NEU と N₂O 生成の詳細なメカニズムを解明していく。

5. 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).