H4-15

一酸化窒素曝露による亜酸化窒素生成抑制効果の検討

An examination of the effects of nitric oxide on nitrous oxide production

○赤城大史[1]，　齋藤利晃[2]，　小沼晋[2]
Taishi Akagi[1], Toshiaki Saito[2], Susumu Konuma[2]

Abstract: The effect of nitric oxide (NO) exposure on nitrous oxide (N_2O) production by ammonia oxidizing bacteria (AOB) was examined with the nitrifying sludge cultivated with inorganic substrate. The cultivated nitrifying sludge was exposed to NO in the mixing process (MixNO) or in the aeration process (OxNO) of the sequencing batch reactor operational cycle. In the case of MixNO, both of ammonia oxidation rate and N_2O production increased. On the other hands, in the case of OxNO, decrease of ammonia oxidation rate and N_2O production were observed. From these results, it is suggests that the control of NO exposure could be the possible measure to reduce N_2O production. Further, decrease in ammonia oxidation rate in the case of OxNO implies the suppression of ammonia oxidation by aerobic NO exposure. From the results of MLSS and DO measurements, the respiration of AOB was supposed to be inhibited by aerobic NO exposure. This is possibly the main mechanism of the reduced N_2O production.

1. 研究背景および目的

現在，地球温暖化が全世界で問題となっており，その原因物質である温室効果ガスの削減が求められている．下水道事業から排出される温室効果ガスの 1 種である亜酸化窒素（N_2O）は，CO_2 の約 300 倍の温室効果があり，また水処理過程から発生する温室効果ガスの約 10%を占めていることから，削減効果は大きいとされている．下水処理過程では，アンモニア酸化細菌（AOB）の亜硝酸脱窒が主な N_2O 生成経路であるとされていることから，AOB の亜硝酸脱窒を抑制することが N_2O 排出抑制につながると考えられる．一方，AOB が亜硝酸脱窒を行う際には N_2O とともに NO も生成されることが知られており，また NO にはアンモニア酸化活性を上昇させるという報告がある[1]ことから，AOB による亜硝酸脱窒は NO 生成のために行っている可能性がある．すなわち，NO を外部から添加すれば亜硝酸脱窒が抑制され，ひいては N_2O 生成抑制につながるのではないかと考えられる．そこで本研究では，NO 曝露を攪拌時と曝気時にそれぞれ与え，NO 曝露時の環境条件が N_2O 生成に与える影響を調べた．

2. 実験方法

実験には有効容積 4L の回分式反応槽を用い，アンモニア態窒素 30mgN/L を含む無機栄養塩を HRT15h で流入させ，概ね pH=7.05±0.05，水温=20±2° に制御して硝化汚泥を培養した．種汚泥には首都圏某処理場の汚泥を用いた．Table1 にサイクルを示す．*N.I*～*N.III* は NO 曝露を行わない通常運転であり，*MixNO* では，撹拌工程 24 分間に 200ppm の NO ガスを 5ml/min，窒素ガスを 50ml/min で投入した．また，*OxNO* では，曝気工程 120 分間に同濃度の NO を毎分 5ml 添加した．

試料は，曝気工程に液体とガスを採取し，前者は NO_2^- 及び NO_3^- 濃度を液体クロマトグラフィーで測定し，後者は N_2O 濃度を GC/ECD にて測定した．

Table1. Cycle Operations

Operation		Elapsed Time (days)	Cycle Phases (min)				
Name	Period		Aeration	Settling	Drainage	Mixing	Idle
N.I	Mar.3,2015 -Nov.7	0 - 249	120	50	5	0	5
MixNO	Nov.7 -Nov.28	249 - 270	120	30	5	24 with NO	1
N.II	Nov.28 -Jan.12,2016	270 - 315	120	30	5	24	1
OxNO	Jan.12 -Jan.23	315 - 326	120 with NO	30	5	24	1
N.III	Jan.23 -Feb.13	326 - 347	120	30	5	24	1

3. 結果と考察

Figure1 にアンモニア酸化速度及び亜硝酸酸化速度の経日変化を示す．アンモニア酸化速度は，運転を *N.I* から *MixNO* へ切り替えた後に運転トラブルにより一度は低下したが，全体的には上昇傾向を示した．また，*N.II* から *OxNO* に変更したところ，アンモニア酸化速度は減少傾向を示し，*MixNO* へ切り替えた場合とは逆の結果であった．亜硝酸酸化速度は，*MixNO* への切り替え時には変化が見られなかったが，*N.II* へ移行後，緩やかに減少していった．原因は定かではないが，NO による NOB の呼吸阻害が生じた可能性がある[2]．

また NO がアンモニア酸化活性を向上させるとする報告があるが，*OxNO* では知見と逆の結果となった．この原因は明確には出来なかったが，AOB も NO からの呼吸阻害を受けるのではないかと考えられる．

1:日大理工・院(前)・土木　2:日大理工・教員・土木

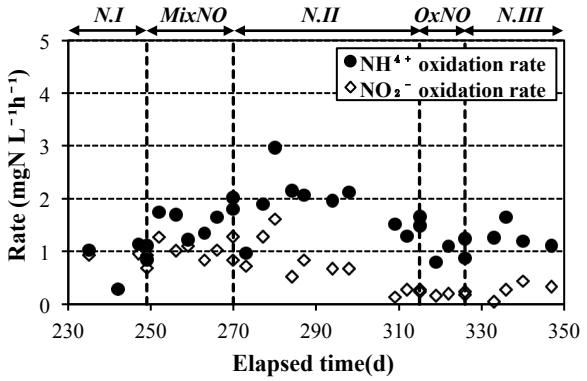

Figure1. Course of Oxidation Rates

そこで，呼吸阻害を受けた可能性を検証するため，Figure2 に MLSS 及び DO（曝気時の平均）の経日変化を示す．MLSS は多少ばらつきがあるものの，0.2～0.3g/L 付近で推移していた．*N.II* で高い値を示したのは排泥を停止していたためである．しかし，*OxNO* への変更後に大きく減少し，*N.III* で回復した．DO は *MixNO* から大きく低下し，*N.II* では 40%程度で推移，*OxNO* では徐々に上昇し，*N.III* では *N.II* と同じくらいの値となった．アンモニア酸化速度と MLSS が減少し，DO が増加したことから，AOB も種類によって NO による呼吸阻害を受けている可能性がある．

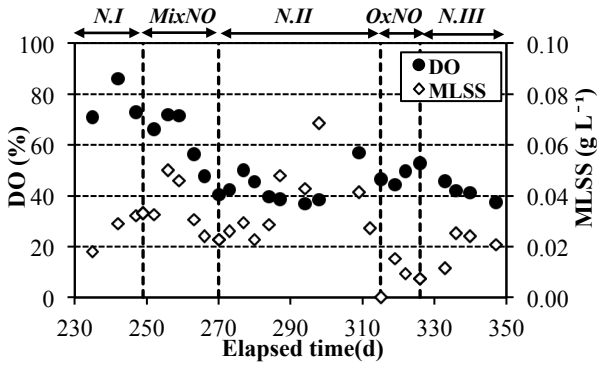

Figure2. Courses of MLSS and DO

Figure3 に N_2O 濃度と転換率を示す．転換率は，アンモニア酸化量あたりの N_2O 生成量で求めた．N_2O 濃度は，*MixNO* 時に上昇した後，*N.II* では高い値に保たれ，*OxNO* への移行後に減少した．転換率に関しても同様の傾向が見られた．*OxNO* 時の濃度と転換率の減少が亜硝酸濃度によるものか，NO の直接的影響によるものなのかを調べるために，Figure4 に亜硝酸濃度と N_2O 濃度の関係を示した．*N.I* から *N.II* までは，亜硝酸濃度が増加するほど N_2O 濃度が増加しているのに対し，*OxNO* は同程度の亜硝酸濃度と比べて低い傾向にあり，NO 曝露が N_2O 排出を抑制している可能性が示唆された．

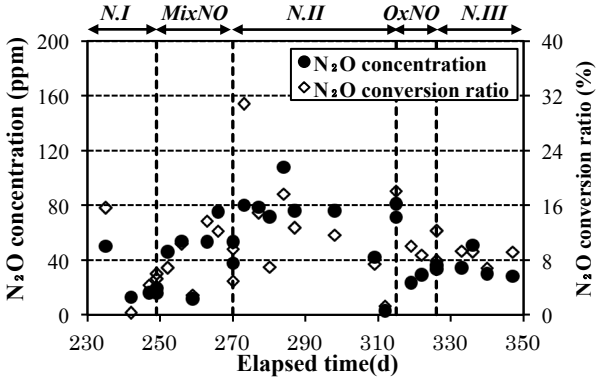

Figure3. N_2O concentration and N_2O conversion ratio

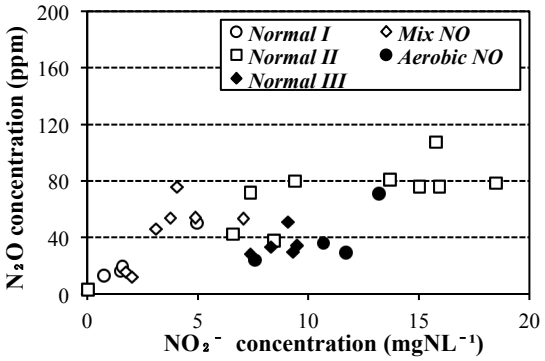

Figure4. Relation of NO_2^- concentration and N_2O concentration

4. 総括

本研究では，攪拌工程および曝気工程に NO 曝露を行い，N_2O 生成に及ぼす影響の相違を調べた．その結果，攪拌工程時に曝露させた場合は，アンモニア酸化速度や N_2O 生成が上昇したのに対し，曝気時に曝露させた場合は，両者とも減少する結果となった．このことから，NO の曝露条件を制御することにより，N_2O の排出抑制が可能ではないかと考えられる．しかし，両系の相違を生じた NO の曝露条件については明らかにできなかった．今後は，DO や曝露時間を変化させて実験を行っていく必要がある．また，曝気工程時に観察されたアンモニア酸化速度の低下は，NO がアンモニア酸化活性を高めるという知見[1]と逆の結果である．このことから，AOB の細菌種により応答が異なることが示唆される．FISH 法を用いるなどにより，今後，細菌種による応答の相違を明らかにしていきたい．

5. 参考文献

[1] Zart 他 (2001) *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol.77, 49−55
[2] Courten 他 (2015) *Journal of Biotechnology*, 193, 120–12