

固相脱窒リアクターにおける硝酸除去の動力学的特性と 細菌群集構造との関係

ふたまた ひろゆき にかわ ゆうき ひらいし あきら
○二又裕之、西川裕貴、平石 明
豊橋技術科学大学 エコロジー工学系

【目的】生物学的排水処理において、脱窒に必要な電子の安定供給は重要な課題の一つである。そのため、電子の供給が簡便で安定と考えられる生分解性プラスチックを電子供与体とした固相脱窒リアクターが注目されている。これまでに我々は、生分解性プラスチック PHBV (poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)) を用いた固相脱窒リアクターが高い脱窒能力を発揮し、 β -プロテオバクテリア細菌群が優占化することを見出した¹⁾。そこで本研究では、何故、固相脱窒リアクターが高い脱窒能力を発揮し得るのかを明らかにするため、脱窒能力の特性と細菌群集構造との関係を複数の手法を用いて解析した。

【方法】MLSS 濃度を 500 mg L^{-1} に調整した活性汚泥を模擬廃水で半連続集積培養により馴用し固相脱窒リアクターを酸素制限下で構築した。初期硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 濃度を 300 ppm とし、3~4 日おきに MLSS 濃度を新鮮な模擬廃水で 500 mg L^{-1} に再調整した。PHBV は 0 日目に 2% (wt/vol) となる様に添加し、運転期間中追加しなかった。リアクターの硝酸除去速度を算出するため $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度をイオンクロマトグラフィーで測定し、培養液中の各種脂肪酸を HPLC で測定した。また、直接検鏡法および培養法により総菌数、生菌数および脱窒細菌数の測定と単離を行った。硝酸除去に関する動力学的特性を把握するため、リアクターから汚泥を採取・洗浄後、PHBV を電子供与体とした培地を用いて経時的に硝酸濃度を測定し速度論量を求めた。リアクターのサンプルから直接 DNA を抽出し、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE) を用いて 16S rDNA を標的とした細菌群集構造の解析を行った。

【結果および考察】リアクターの硝酸除去速度は徐々に増加し、24 日目以降急激な増加傾向を示し約 $75 \text{ mg NO}_3\text{-N h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ dry wt}$ に達した。その後、減少傾向を示し 40 日目では $10 \text{ mg NO}_3\text{-N h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ dry wt}$ にまで低下した。その時点で、添加した PHBV はほぼ完全に消費されていた。総菌数、生菌数および PHBV 分解脱窒細菌数は、それぞれ約 10^9 、 10^8 および $10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ と概ね安定していた。動力学的解析の結果、硝酸に対する親和性 (K_S) と最大除去速度 (V_{\max}) が増加し、 V_{\max}/K_S 値が 0.45 (7 日目) から 10.4 (32 日目) へと約 20 倍に増加した。興味深いことに、25~35 日の間ではリアクターの硝酸除去速度が V_{\max} 値より最大で約 2 倍高かった。DGGE の結果、24 日目以降優占細菌群集構造が大きく変化していた。また、21 日目以降、培養液中に酢酸が蓄積することが見出され、酢酸を電子供与体とした動力学的解析ではリアクターと同程度の V_{\max} 値を発揮した。

以上の結果から、脱窒に必要な電子の供給をも含めた脱窒に関わる細菌群集の構造と機能の変化が、高脱窒活性を発揮し得た要因と推察された。現在、分離菌株の遺伝的生理的解析と脱窒関連遺伝子を標的とした細菌群集構造解析を行っている。

1) Khan S.T. et al. 2002 Appl. Environ. Microbiol. 68:3206-3214 発表者 二又裕之 futamata@eco.tut.ac.jp