

嫌気性アンモニア酸化（アナモクス）活性を阻害する物質の影響評価法確立に関する研究

研究代表者 諏訪 裕一 研究員

1)研究目的: 嫌気性アンモニア酸化反応(アナモクス)は1990年代後半に発見された水圏のアンモニアと亜硝酸を窒素ガスに変換する微生物反応である(図1)。省エネ型廃水処理技術開発の革新的なシーズであり、実用化研究もすすんでいる。ただし、このプロセスが適用できる廃水種の範囲についての知見は乏しい。これは、アナモクス活性のフラスコ試験が確立されておらず、阻害性の検討が進捗していないためである。本研究では、当研究室で確立したアナモクス活性測定技術を用いて、この目的のために改良し、さまざまな物質の阻害効果を評価する。

2)研究計画: 次の2つの課題を実施する。

課題1. 影響評価用活性測定法の確立; 阻害によって低められた活性を精密に測るための高感度・高精度で、かつ迅速な分析系を確立する。

課題2. 阻害要因の影響評価系の確立; アナモクスなどの窒素循環に関わる微生物反応を阻害する物質等の影響を定量評価する実験系を確立し、データを集積する。

3)成果:

課題1. 「中大式」として販売されているGCMSを用い、活性を精密かつ迅速に測定できる、高感度活性測定システムを確立した(図2)。アナモクス活性を持つ試料(淡水湖沼および企業の開発研究用プロセスで集積培養されたアナモクス微生物集団)を用いて、アッセイ方法を確立した。

課題2.

これまで、重金属(Ni(II), Cu(II), Zn(II), Mn(II), Ni(II), Co(II)など)、金属と錯体を形成する可能性のある化合物、有機溶媒、および微生物の窒素代謝を阻害することが知られている物質について、アナモクス活性への影響を定量的に検討した。以下に、結果および問題点等を記す。

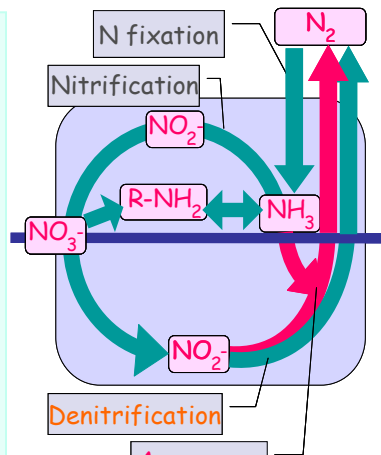


図1. 地球化学的窒素循環

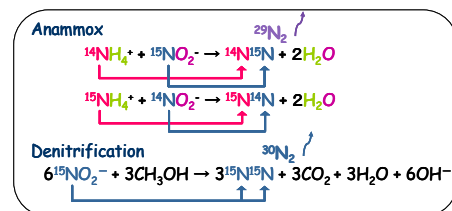


図2. アナモクス活性測定の原理。化学量論が示すように、等モルのアンモニアと亜硝酸から窒素ガスを生じるので、どちらかに¹⁵Nで標識しておくと、²⁹N₂が生じる。

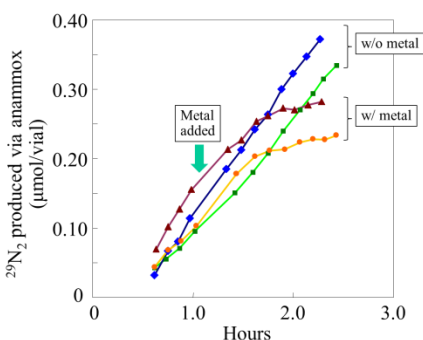
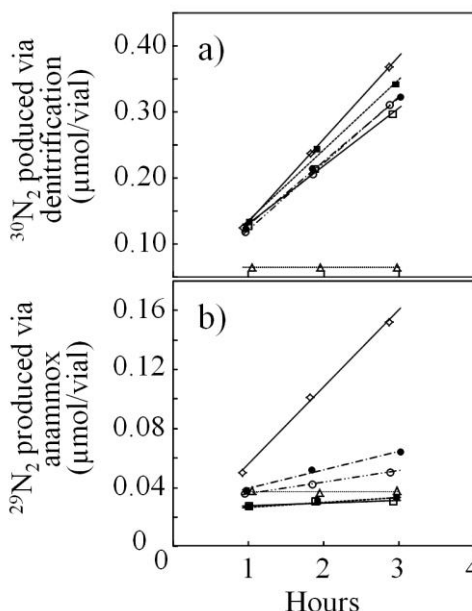


図3. アナモクス微生物集積培養系のアナモクス活性に対するある重金属の影響。

重金属の影響 ある種の重金属は低濃度でアナモクス活性を阻害した。ただし、これを添加した直後には阻害が認められず、緩慢に阻害することが多かった。このアッセイ系は物質の急性毒性を評価するが、急性的でない阻害効果を評価することが必要であろう。錯体を形成する物質の影響はきわめて複雑であり、今後、さらに精査する必要がある。



有機溶媒などの影響 有機溶媒AおよびB(いずれも極性非プロトン性)は脱窒活性に対する阻害効果は認められなかったが、アナモクス活性を阻害した(図4)。脱窒とアナモクスの代謝中間体であるNOを除去する物質(2種類)はいずれの活性をも阻害した(図4)。

図4. 淡水湖沼堆積物のa)脱窒活性およびb)アナモクス活性に対する極性非プロトン性溶媒AおよびBの影響。この堆積物は脱窒とアナモクスが同等の活性を示す、稀有な性格を持ち、両方の活性に対する影響を同時に見ることが出来る。堆積物懸濁液(25(w/v)%) 10mLに: ●, 溶媒A 0.5ml; ○, 溶媒A 1ml; ■, 溶媒B 0.1ml; □, 溶媒B 0.5ml添加した。△, NOを除去する物質; ◇, 無添加(control)。

アナモクスに対する「急性毒性試験」を確立し、有機溶媒などの影響について、データを積み重ねた。重金属をはじめとして、アナモクス活性への阻害を定量化することは問題点も残された。その解決のため、外部資金を獲得し、検討を継続する。