

ポーラスコンクリートブロックに封入された 有用微生物群と土壌中の脱窒菌との 共生による水質浄化

WATER QUALITY PURIFICATION BY THE SYMBIOSIS OF
USEFUL MICROBIAL GROUP IN THE POROUS CONCRETE BLOCK
AND DENITRIFYING BACTERIA IN SOIL

松永信博¹・増田壮佑²・中牟田大嗣³・徳永貴久⁴
Nobuhiro MATSUNAGA, Sousuke MASUDA, Taishi NAKAMUTA, Takahisa TOKUNAGA
矢野真一郎⁵・押川英夫⁶・橋本彰博⁷・藤田和夫⁸
Shinichiro YANO, Hideo OSHIKAWA, Akihiro HASHIMOTO, Kazuo FUJITA
古賀雅之⁹・岩下智明¹⁰・原田敦彦¹¹
Masayuki KOGA, Toshiaki IWASHITA, Atsuhiko HARADA

¹正会員 工博 九州大学大学院 総合理工学研究院教授 (〒816-8580 福岡県春日市春日公園6-1)

²非会員 三菱重工業 株式会社 (〒672-8035 兵庫県姫路市飾磨区中島1350)

³学生員 九州大学大学院 総合理工学府 (〒816-8580 福岡県春日市春日公園6-1)

⁴正会員 博(工) 佐賀大学 低平地研究センター講師 (〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1)

⁵正会員 博(工) 九州大学大学院 工学研究院准教授 (〒812-8581 福岡県福岡市西区元岡744番地)

⁶正会員 博(工) 九州大学大学院 工学研究院助手 (〒812-8581 福岡県福岡市西区元岡744番地)

⁷正会員 博(工) 九州大学大学院 工学研究院学術研究員 (〒812-8581 福岡県福岡市西区元岡744番地)

⁸正会員 九州大学大学院 工学研究院 (〒812-8581 福岡県福岡市西区元岡744番地)

⁹非会員 コヨウ 株式会社 (〒835-0006 福岡県山門郡瀬高町大字坂田169)

¹⁰非会員 株式会社 ビッグバイオ (〒862-0962 熊本県熊本市田迎6丁目11-55)

¹¹非会員 NPO法人 河川環境基金 (〒816-0063 福岡県福岡市博多区金隈1丁目28-45)

Laboratory experiments were carried out on water quality purification with EcoBio-Block (EBB). EBB is a porous concrete block including *Bacillus subtilis* natto group. In this study, we examined experimentally denitrification effect of EBB by letting it live together with denitrification bacteria in soil. The time variations of TN, ON, DIN, NH₄-N, NO₂-N, and NO₃-N were obtained under the aerated condition by changing the weight ratio of EBB to water. On the basis of those data, the denitrification rate, the mineralization rate, and the decreasing rate of DIN were obtained. As a result, we confirmed that the processes of organic matter decomposition, nitrification, and denitrification were performed effectively by the symbiosis of useful microbial group and denitrifying bacteria.

Key Words : EcoBio-Block, water quality purification, laboratory experiments

1. はじめに

近年の急激な人間活動の活発化により、自然の水質浄化システムは崩壊している。生活排水や工業排水等による有機物や栄養塩の過剰な負荷が、河川、湖沼、沿岸域等の自然水域の水質を悪化させ、水質汚濁をはじめさまざまな問題を引き起こしている¹⁾。これらの過剰な負荷による水環境の悪化を防ぐには、水域に流入する負荷量を抑えることが重要であるが、下水道整備や高次排水処理

には莫大な費用と時間が必要となる。このような状況下で、我々は自然のシステムを修復しながら人間と自然の共生を可能とする革新的な水質改善技術が求められている。特に、生態系の持つ物質循環システムを有効利用することで、水域の負荷を減少させようという取り組みが有望視されている^{2), 3), 4)}。

著者ら^{5), 6)}は、多孔型コンクリートブロック内に耐アルカリ性をもつ有用微生物群を封入し、有機汚濁の進行した水域の水質を高効率に浄化する環境ブロックの開発に

取り組んでいる。このブロックはエコバイオ・ブロック (EBB) と呼ばれている。その水質浄化機能のメカニズムは未だ不明な点はあるものの、EBB中の有用微生物群 (以下、EBB菌と呼ぶ) が、水中に存在する様々な菌と互いに補完しあう関係を保つことで、単菌では得られない優れた自然浄化能力を有していることを明らかにした。

本研究の目的は、試料水の溶存酸素濃度を飽和状態に保ち、水槽の底に敷き詰めた底泥とEBBとの相互作用により、系における脱窒機能がどのように促進されるのかについて調べると共に、水質の経時変化を実験的に明らかにすることにある。

2. 実験概要

(1) EBBの性状

EBBとは、有用微生物群を封入したポーラスコンクリートブロックのことである。ここで、有用微生物群とは、土壤中に生息する納豆菌群 (*Bacillus subtilis natto group*) を抽出・培養し、耐アルカリ性を持たせたものである。代表的なEBBを図-1に示す。形状は、100mm×100mm×60mmの直方体形状である。EBB菌およびEBBの性状について以下に示す。

- EBB菌はpH3～11程度までの範囲で生存できるため、セメントペースト中への封入が可能である。
- EBB菌の有効な増殖可能温度帯は10～65℃であることから、水温が日変動や季節変動により激しく変化する自然界においても水質浄化機能を発揮することが十分期待できる。
- EBBはポーラス構造のコンクリートブロックであり、水との接触面積が非常に大きいことに加え、封入されたEBB菌は直径10～100μmの無数の穴を通じて水中の有機物を分解することができる。

著者ら^{5), 6)}は、これまでフランビンによる閉鎖系と水槽を用いた開放系において、EBBの基本性能実験を行ってきた。EBBによる有機物分解能力および硝化能力は、市販されている通常のコンクリートブロックに比べ著しく大きく、富栄養化した水域の水質浄化に有効であることを示した。また、水温が高くなるにつれ、EBBによる有機物分解速度と硝化速度は高くなり、有機物→アンモニア態窒素→硝酸態窒素という無機化プロセスが高効率に行わ

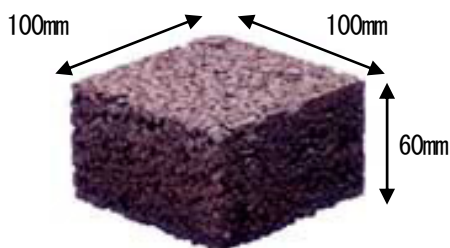


図-1 EcoBio-Block

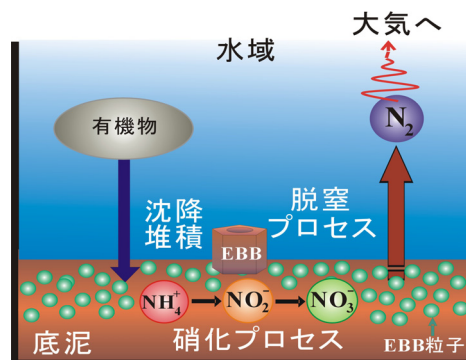


図-2 EBBの水質浄化プロセス

れることを明らかにした。図-2は、水域における有機物分解→硝化→脱窒プロセスを模式的に示したものである。EBBに封入された有用微生物群と土壤中の脱窒菌との共生により、有機物の分解と無機化プロセスが促進され、硝酸態窒素の生成が促進されれば、脱窒プロセスも活性化し、水質浄化が著しく進むものと期待される。

(2) 実験方法

実験には、九州大学筑紫キャンパス内にある池の水を試料水として用いた。試料水の採水を2006年10月23日に行った。水槽の底に敷き詰める底泥として、福岡県大宰府市にある水田の土を用いた。EBB粒子は、EBB-OCT (約800g) と呼ばれる中空円筒状のものを粒径10mm程度の粒子状に砕いて使用した。実験では、40水槽を9個用意し、水田の土520gをそれぞれの水槽の底に敷き詰めた。EBBの投入質量を表-1に示すように8通り設定した。それらを8個の水槽内の土の表面上に一様に置いた。それぞれの水槽に試料水を30注入して水質の経時変化を調べた。残りの1つの水槽には、リファレンスとして、土と試料水のみが投入された。EBB粒子を投入した場合の水質の経時変化とリファレンスの水質を比較することにより、EBBによる水質浄化能力を評価した。設定した (ブロック・水) 質量比を表-1に示す。試料水30に対しEBB粒子を25g投入した場合の実験を基本実験としてEBB 1.0と呼び、EBB粒子を50g投入した場合をEBB 2.0のようにEBB 0.5～EBB 8.0までEBB投入量を変化させた。

水温は恒温装置で20℃に保たれており、暗条件下において植物プランクトンの光合成による一次生産は抑えられた。また、エアープンプで常に曝気することで試料水のDO濃度は飽和状態に保たれた。約1ヶ月間にわたって、定期的に各水槽から毎回約50mlの試料水を採水し、

表-1 (ブロック・水) 質量比

	EBB投入量 (g)	試料水量 (l)	(ブロック・水)質量比 [×10 ⁻²]
EBB 0.5	12.5	3	0.42
EBB 1.0	25	3	0.83
EBB 1.5	37.5	3	1.25
EBB 2.0	50	3	1.67
EBB 4.0	75	3	2.5
EBB 5.0	100	3	3.33
EBB 6.0	150	3	5
EBB 8.0	200	3	6.67

表-2 初期試料水の性質

pH	Chl.a[μg/l]	Pheo.[μg/l]	BOD ₅ [mg/l]
7.86	24.83	9.37	7.28
COD[mg/l]	TN[mg/l]	TP[mg/l]	NH ₄ -N[mg/l]
9.4	1.69	0.102	0.002
NO ₂ -N[mg/l]	NO ₃ -N[mg/l]	PO ₄ -P[mg/l]	SiO ₂ -Si[mg/l]
0.007	0.011	0.01	17.175

水質分析を行うことで水質の経時変化を調べた。

水質の測定項目は、形態別栄養塩類 (TN, TP, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, PO₄-P, SiO₂-Si), DO濃度, pHである。形態別栄養塩類は、TN・TP Auto Analyzerにより測定された。DO濃度はポータブル溶存酸素計 (東亜DKK DO-24P), pHはハンディ型pH/ORPメータ (東興化学研究所 TPX-90SiN) を用いて測定した。初期水におけるChl. a濃度とPheo. 濃度は試料水500mlをガラス繊維濾紙 (Whatman GF/F 0.45μm) で濾過した後、濾紙を90%アセトン溶液に入れ、得られた抽出液をLorenzenの方法⁷⁾に従って分析した。初期試料水の生物化学的酸素要求量 (BOD) と化学的酸素要求量 (COD) の測定は工業用水試験方法⁸⁾に沿って行われた。BOD₅を測定する際のDO濃度の測定はウインクラ法を用いた。CODの測定には過マンガン酸カリウム酸性法 (KMnO₄法) を用いた。

3. 実験結果

(1) 水質の経時変化

実験開始時における試料水の水質を表-2に示す。クロロフィルa (Chl. a) 濃度とフェオフィチン (Pheo.) 濃度は、それぞれ24.8μg/l, 9.4μg/lという値をとっており、初期の試料水には植物プランクトンが通常の河川と比べて多く存在していたことがわかる。BOD₅の値とCODの値はそれぞれ7.28mg/l, 9.40mg/lという値をとっており、BOD₅について、アユ等貧腐食性水域の水産物用などに利用できる水の環境基準においては、3mg/l以下とされている点からも、本実験に用いた試料水の値はこの基準を大きく上回っており、有機物量が多く含まれていることがわかる。また、平成18年の全国一級河川における総窒素平均と総リン平均はそれぞれ0.4mg/l, 0.03mg/l程度となっており、それに比べるとTNは1.69mg/l, TPは0.105mg/lとそれぞれ3~4倍程度の大きな値をとっている。溶存態無機窒素濃度 (DIN = NH₄-N + NO₂-N + NO₃-N) と溶存態無機リン濃度 (DIP = PO₄-P) について見てみると、それぞれほぼ0~0.01程度であり、比較的小さな値を示していると考えられる。これは、採水時には植物プランクトンが大量に増殖しており、すでに栄養塩が吸収されたためと考えられる。一方、ケイ酸態ケイ素濃度についてはかなり高い値を示している。これらのデータから実験に用いた試料水はかなり有機汚濁していたことがわかる。

図-3 (a), (b) にそれぞれDO濃度とpHの経時変化を示す。DO濃度の変化から常にエアープンプで曝気することにより、試料水中のDO濃度は飽和状態に維持されていることが確認できる。コンクリートブロックが高アルカリ性のためEBBの投入量が多くなるにつれてpH値が高くなる傾向にある。しかし、pH値は7.5~8.5の間にあり、pHの変化による水質への影響はそれほど大きくないと考えられる。

図-4 (a) ~ (f) にそれぞれ形態別窒素濃度 (TN, ON, DIN, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N) の経時変化を示す。図中のデータは各実験値からリファレンスの値を差し引いた値である。TN濃度の値は時間とともに増加し、実験開始後20日後くらいから減少し始める。DIN濃度の経時変化はNO₃-N濃度の分布と類似しており、時間とともに増加する傾向が認められる。有機態窒素 (ON) 濃度の値はTN濃度からDIN濃度を引くことにより算定されている。TN濃度の分布とON濃度の分布から、初期段階におけるTN濃度の増加はEBBからの有機物の分解・溶出に起因していると考えられる。一方、20日目以降に見られるTN濃度の減少は脱窒による低下と考えられる。

溶存態窒素 (NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N) 濃度の経時変化について見てみると、EBB 6.0, EBB 8.0において実験開始から10日後までの期間で急激に有機物分解が起こり、NH₄-N濃度が徐々に増加している。10日目以降は硝化活性が高まりNH₄-N濃度が減少し、代わりにNO₂-N濃度が増加している。13日目以降は増加したNO₂-N濃度が減少しNO₃-N

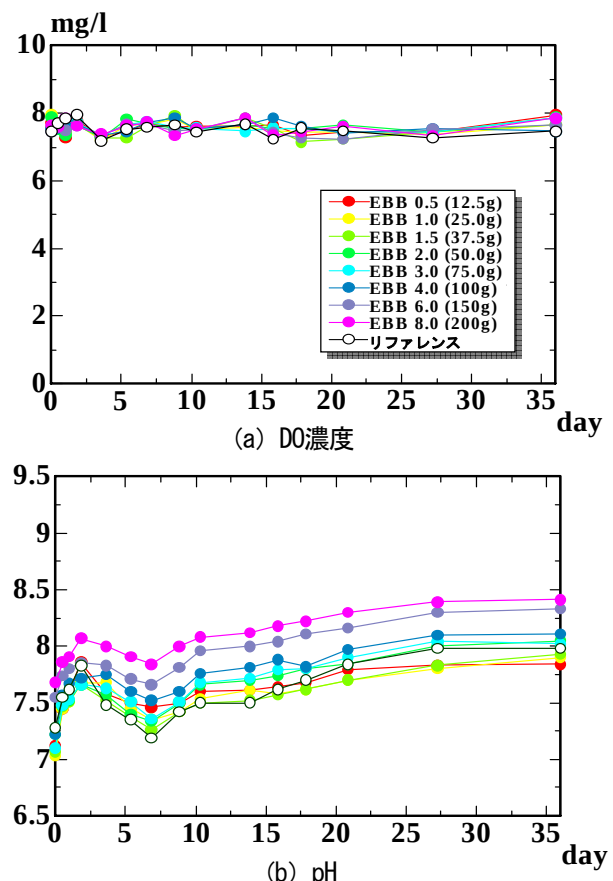


図-3 水質の経時変化

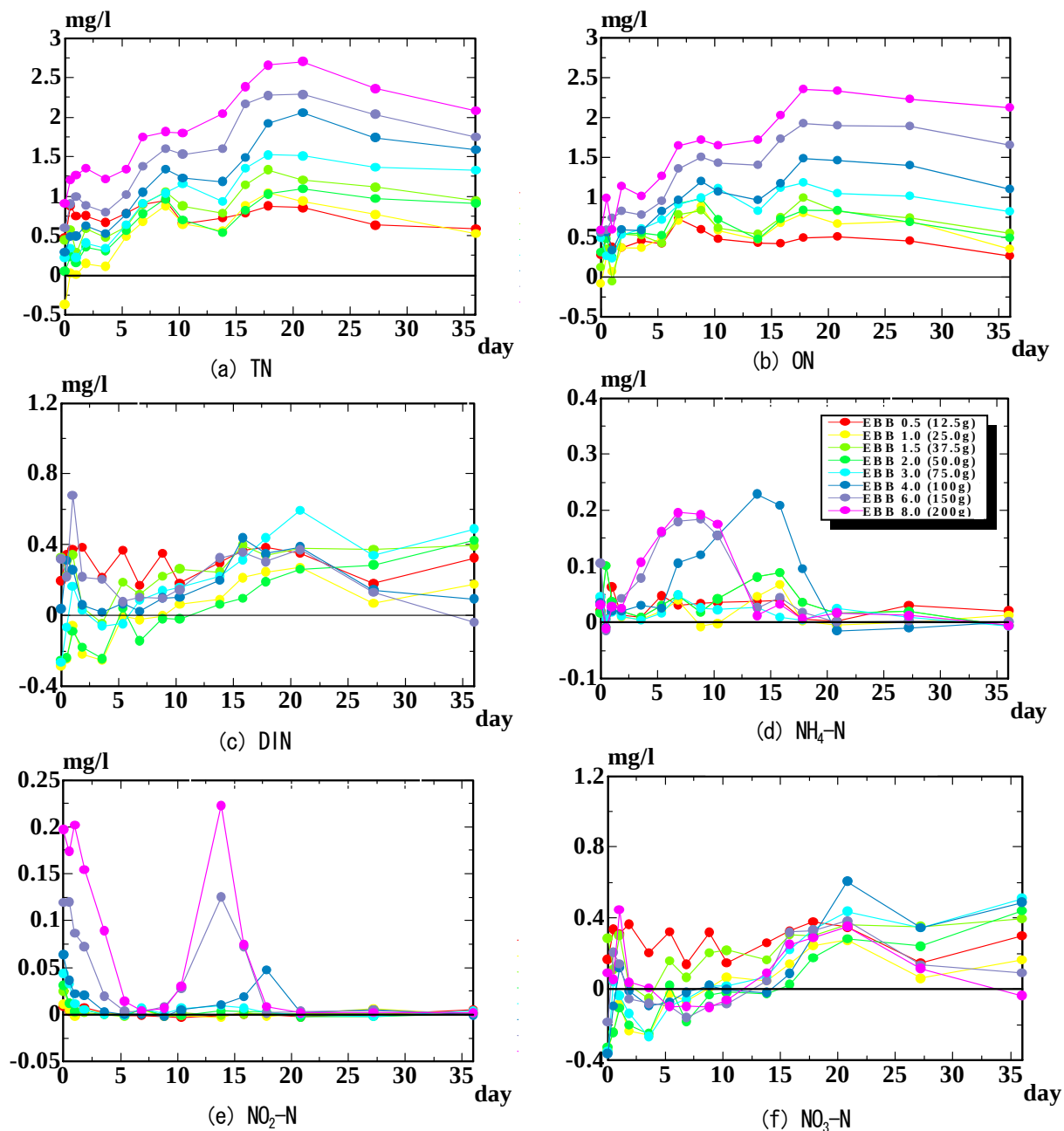


図-4 各形態別窒素濃度 (TN, ON, DIN, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$) の経時変化
(上図のデータはすべてリファレンスを差し引いた値)

濃度が増加している。22日目以降は $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度がほぼ停滞か減少傾向を示している。土壌中の脱窒菌が存在しなければ $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が増加するはずであるが、TN濃度の値が減少していることから硝酸態窒素が脱窒され大気中に抜けていることが推測される。EBB 4.0においてはEBB 6.0, EBB 8.0に比べ有機物分解・硝化のプロセスともにやや遅れて現れていることがわかる。EBB 0.5～EBB 3.0においても値は小さいが同じ傾向がみられる。図-4 (e) で示された $\text{NO}_2\text{-N}$ の経時変化において、初期に見られるピークは、EBBから試料水中に溶出したものと思われる。溶出した $\text{NO}_2\text{-N}$ は直ちに硝化され $\text{NO}_3\text{-N}$ に変化したと考えられる。

溶存態無機窒素濃度 (DIN) の経時変化は10～20日目までは増加傾向を示しているが、その後は脱窒作用によりEBB 1.5と2を除いてほとんどが減少傾向を示している。

TN濃度の経時変化は、EBBの投入量が多くなるにつれ内

部にEBB菌の餌として封入されている有機物量が多くなるため、投入量に比例して高い値を示している。EBB内に封入されている有機物の溶出は実験開始から15～20日目まで続くが、その後は、硝酸態窒素の供給により脱窒活性が高まっていることがわかる。また、その効果はブロック投入量に比例して高くなっていることがわかる。EBB菌は好気性であり、脱窒菌は嫌気性である。この両者が共生して脱窒活性を高めるためには、水域のどこかに低酸素領域が形成される必要がある。著者らは、現時点ではEBB粒子と底泥との接触面において貧酸素領域が形成されているものと考えている。

ON濃度に関しては、EBBの投入量が多くなるにつれ内部に封入されている有機物量が多くなるため、TN濃度と同様に投入量に比例して高い値を示している。有機物の溶出が抑えられ、脱窒活性が高まった実験開始後20日以

降に減少傾向を示していることから、脱窒活性が高まった状態においても有機物分解・硝化能力は高い状態を維持しており、硝酸態窒素を絶えず生成している状態であるといえる。

$\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は初期に急激に増加し、その後減少して $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度と $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が増加している。従って、DO濃度が高い状態に維持されている水域においては、EBBを施工すると初期に急激な有機物分解が起こり、そこで発生したアンモニア態窒素が硝化され、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素に変化することがわかる。初期に $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は急激に増加し、その後減少する。有機物が分解して発生したアンモニア態窒素は、硝化菌が活性化するまでは増加するが、硝化菌が活性化した後は、アンモニア態窒素は直ちに硝化され、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素と変化する。有機物分解はブロック投入量の増加に伴い促進され、分解速度は増加する。続いて行われる硝化も有機物分解による影響を受け、ブロック投入量が増加するにつれ活性が高まるまでの時間が早くなっている傾向が見られる。このように、土壤中の脱窒菌とEBB菌を共生させた状態でも、EBBの高い有機物分解能力と硝化能力は発揮されていることがわかる。

(2) 形態別窒素の関係式

全窒素 (TN) , 有機態窒素 (ON) , 無機態窒素 (DIN) および大気中に放出される窒素 (N_2) との間には、次式で示される保存則が成立する。

$$[\text{TN}] = [\text{ON}] + [\text{DIN}] + [\text{N}_2] \quad (1)$$

ここで $[a]$ は物質aの量を示す記号である。脱窒量 $[\text{N}_2]$ まで考慮した場合、 $[\text{TN}]$ は保存されることから

$$\frac{d[\text{TN}]}{dt} = 0 = \frac{d[\text{ON}]}{dt} + \frac{d[\text{DIN}]}{dt} + \frac{d[\text{N}_2]}{dt} \quad (2)$$

となる。従って、

$$\frac{d[\text{ON}]}{dt} = -\frac{d[\text{DIN}]}{dt} - \frac{d[\text{N}_2]}{dt} \quad (3)$$

で与えられる。ここで、 $d[\text{ON}]/dt$ は有機態窒素生成速度、 $d[\text{DIN}]/dt$ は無機態窒素生成速度、 $d[\text{N}_2]/dt$ は脱窒速度である。

本実験では、 $[\text{N}_2]$ が測定されていないことより

$$[\text{TN}]_E = [\text{ON}] + [\text{DIN}] \quad (4)$$

という関係が成り立つ。ここで、 $[\text{TN}]_E$ は本実験で得られた全窒素量であり、保存量ではないことに注意する。従って、両辺を時間で微分すると

$$\frac{d[\text{TN}]_E}{dt} = \frac{d[\text{ON}]}{dt} + \frac{d[\text{DIN}]}{dt} \neq 0 \quad (5)$$

となる。(3)式と(5)式から

$$\frac{d[\text{N}_2]}{dt} = -\frac{d[\text{TN}]_E}{dt} \quad (6)$$

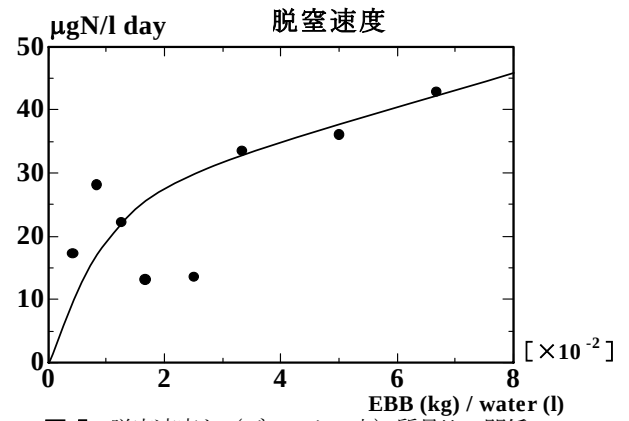


図-5 脱窒速度と(ブロック・水)質量比の関係

(上図のデータはすべてリファレンスを差し引いた値)

$$\text{脱窒速度: } \frac{d[\text{N}_2]}{dt} = -\frac{d[\text{TN}]_E}{dt} \quad (7)$$

有機物生成速度:

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{ON}]}{dt} &= -\frac{d[\text{DIN}]}{dt} - \frac{d[\text{N}_2]}{dt} \\ &= -\frac{d[\text{DIN}]}{dt} + \frac{d[\text{TN}]_E}{dt} \end{aligned} \quad (8)$$

$$\text{DIN生成速度: } \frac{d[\text{DIN}]}{dt} \quad (9)$$

となる。

(3) 脱窒速度

図-4 (a) で示されたTN濃度の分布において、20日以降のTN濃度の減少率に(7)式を当てはめ、脱窒速度を求めた。図-5 は、そのようにして求めた脱窒速度を(ブロック・水)質量比に対してプロットしたものである。図中の実線で示されるように(ブロック・水)質量比が増加するにつれ脱窒速度は増加する傾向が見られる。これは、EBBによる硝化作用により、硝酸態窒素が十分供給され、脱窒菌が活性化したためと考えられる。図-4 で示されたすべてのデータでは、EBBを投入していないリファレンスの結果が差し引かれている。従って図中の実線は(ブロック・水)質量比が0の時、脱窒速度が0となるように引かれている。これは、以下で示す無機化速度及びDIN生成速度においても同様である。

(4) 無機化速度

無機化速度は有機物分解速度 $d[\text{ON}]/dt$ に負符号をつけたものに等しい。図-4 (b) で示されたON濃度の経時変化において、20日以降の減少率を求め、無機化速度を算定した。図-6 は無機化速度を(ブロック・水)質量比に対してプロットしたものである。データにばらつきはあるものの、図中の実線が示すように無機化速度は(ブロック・水)質量比が増加するにつれ減少する傾向が見られる。(ブロック・水)質量比が大きくなるにつれ、有

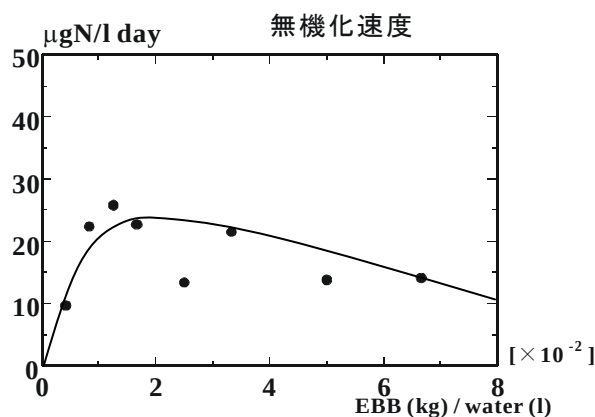


図-6 無機化速度と（ブロック・水）質量比の関係
（上図のデータはすべてリファレンスを差し引いた値）

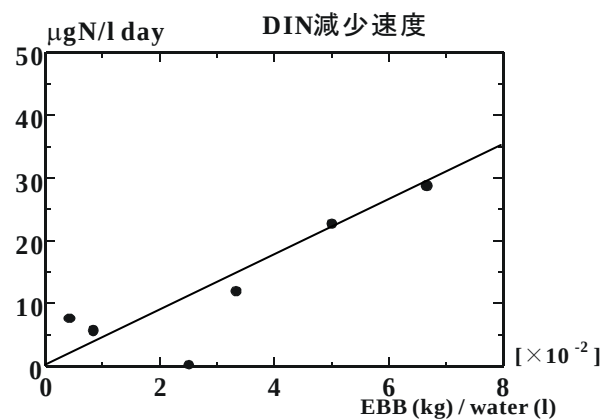


図-7 DIN減少速度と（ブロック・水）質量比の関係
（上図のデータはすべてリファレンスを差し引いた値）

機物分解速度が増加するというこれまでの結果^{5), 6)}と矛盾するが、これに関しては、今後更なる実験を行い、検討していく予定である。

(5) DIN生成速度

実験開始20日以降におけるDIN生成速度は、図-4 (C) で示されたDIN濃度の経時変化に基づいて算定された。EBB1. 5と2を除いて20日以降のDIN濃度は減少しており、 $d[\text{DIN}]/dt$ は負値となる。時間的にDIN濃度が減少することは、脱窒速度が有機物分解速度よりも大きいことを意味している。図-7では $d[\text{DIN}]/dt$ の絶対値を（ブロック・水）質量比に対してプロットしたもので、DIN減少速度と（ブロック・水）質量比の関係を表している。今回の実験に置いては、図中の実線が示すようにDIN減少速度は（ブロック・水）質量比とともに線形的に増加していることがわかる。

4. おわりに

EBB菌と脱窒菌を共生させ、試料水のDO濃度を飽和状態に保ち、（ブロック・水）質量比を種々変化させることでEBBの有機物分解能力および脱窒能力を調べた。得られた結果は以下の通りである。

- 1) ポーラスコンクリートブロック内に封入された有用微生物群と土壌脱窒菌との共生により有機物分解→硝化→脱窒プロセスが効率的に行われることが確かめられた。
- 2) 脱窒速度は（ブロック・水）質量比が増加するにつれて増加する傾向がある。
- 3) 無機化速度は、（ブロック・水）質量比が増加するにつれて減少する傾向が得られたが、この点に関しては今後詳細な実験を行って確かめていきたい。

- 4) 無機態窒素濃度（DIN）は時間とともに減少しており、今回の実験においてはEBBによる有機物分解速度よりも脱窒速度のほうが勝っていた。

謝辞：本研究は、平成18年度建設技術研究開発助成制度の助成（代表者 松永信博）を受けて行われた。また、室内実験および水質分析を行うにあたり高橋篤氏に多大なる協力を受けた。ここに記して感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 高橋鉄哉, 藤原建紀, 久野正博, 杉山陽一：伊勢湾における外洋系水の進入深度と貧酸素水塊の季節変動, 海の研究, 9, pp. 223-236, 2000.
- 2) 須藤隆一：環境修復のための生態工学, 講談社, pp. 22-28, 2001.
- 3) 池田佳子, 荒木佐知子, 鷺谷いづみ：浚渫ヘドロを利用した水辺の植生復元の可能性の検討, 保全生態学研究, Vol. 4, pp. 21-31, 1999.
- 4) 羽田好孝：アオサの除去による浜名湖の水質浄化対策, 水学シリーズ 水産業における水圏環境保全と修復機能, 恒星社厚生閣, pp. 106-118, 2002.
- 5) 松永信博, 徳永貴久, 増田壮佑, 矢野真一郎, 押川英夫, 藤田和夫, 古賀雅之, 岩下智明, 原田敦彦：エコバイオ・ブロック (EBB) の水質浄化機能に関する基礎的実験, 水工学論文集(2006), 第50巻, pp. 1081-1086.
- 6) 松永信博, 増田壮佑, 中牟田大嗣, 徳永貴久, 矢野真一郎, 押川英夫, 藤田和夫, 古賀雅之, 岩下智明, 原田敦彦：納豆菌群を封入した多孔型コンクリートブロックによる水質浄化能力, 水工学論文集(2007), 第51巻, pp. 1415-1420.
- 7) Lorenzen, C. J. : Determination of Chlorophyll and Pheo-Pigments: Spectrophotometric Equation, Limnology and Oceanography(1967), Vol. 12, No. 2, pp. 343-346.
- 8) 日本分析化学会北海道支部：水の分析, 第5版, 化学同人, pp. 290-303, 2005.

(2007. 9. 30受付)