

宮崎大学工学部 正員 ○増田 雄  
 宮崎大学工学部 正員 渡辺 義公  
 宮崎大学工学部 正員 石黒 政儀

1.はじめに 生物膜内での硝化・脱窒・有機物酸化が同時に起る (*Simultaneous Nitrification, Denitrification and Mineralization*) × カニズムは生物膜内を絶対好気性ゾーン、絶対嫌気性ゾーンおよび酸素が間欠的に浸入する通性嫌気性ゾーンの3つに分類することにより説明ができる。通性嫌気性ゾーン内に溶存酸素が存在する場合Kはアンモニア性窒素と有機物の酸化が行なわれ、嫌気性状態になると通性嫌気性ゾーンで生成された  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$  の一部を有機物の存在下で通性嫌気性脱窒素菌がガス態の窒素に変換する。本文では数値計算により、生物膜内の基質濃度分布を明らかにし、DOの浸入深さにより前述の3つの生物膜ゾーンが形成されることを示し、さらに、生物膜をスライス状に切断し(以下、*Cutting*という)、他栄養性細菌、硝化菌、脱窒菌の定量を行なった結果について報告する。

2.計算および実験方法 2-1. 数値計算 数値計算モデルは渡辺らのモデル<sup>1)</sup>を準用し、以下のような仮定を設けた。  
 ①生物膜内では酸素、有機物、 $\text{NH}_4\text{-N}$  が存在する場合には硝化と有機物酸化が起る。  
 ②硝化は硝酸型で、基質消費速度は0次である。  
 ③生物膜内に酸素が無く、有機物と  $\text{NO}_3\text{-N}$  があれば脱窒反応が生ずる。

2-2. Cuttingによる菌濃度の測定 回転円板装置に人工下水を供給し、円板上に硝化菌が十分付着生育した時点での有機物として  $\text{CH}_3\text{OH}$  を加え一週間後、生物膜を支持体(円板の一部 10mm × 65mm)ごと採取取り、そのままマイクロスライサー<sup>2)</sup>の表面から 50μm づつ Cutting 1回。Cutting 1回の生物膜片は表面部(50μm)、中間部(50~200μm)、底部(250~350μm)に分け、ホモジナイザー<sup>2)</sup>均一化後、硝化菌、脱窒菌、他栄養性細菌(好気性細菌と通性嫌気性細菌の和)の培養を行なった。硝化菌と脱窒菌の定量は MPN 法、他栄養性細菌の定量は希釈平板法<sup>2)</sup>、培養、定量方法は土壤微生物実験法によった。

3.結果と考察 3-1. 生物膜内の基質濃度分布 図-1～3に気相酸素分圧 21%、液体体の  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$ , DO 濃度をそれぞれ 0.1, 5.0, 5.0, 2.4 mg/l, 付着水膜の溶存酸素飽和濃度 7.9 mg/l の場合の生物膜内の基質濃度分布を示す。図-1は生物膜内の DO 濃度変化である。円板が水中から空气中に突出する瞬間、DO は生物膜厚 10 μm まで残存しないが、3 秒後には最大浸入深さ(60 μm)に達する。逆に、円板が空气中から水中に入った瞬間、DO は 60 μm まで残存するが、1 秒後には生物膜厚 10 μm まで減少する。し

Table 1 Simulation Conditions

Biofilm Thickness	1000 μm
Attached-Water Layer Thickness	50 μm
Diffusion Layer Thickness	70 μm
Nitrification Rate	7300 g/m <sup>3</sup> h
Denitrification Rate	1000 g/m <sup>3</sup> h
Oxidation Rate of $\text{CH}_3\text{OH}$	4300 g/m <sup>3</sup> h
Water Temperature	30 °C
Disk Rotating Velocity	7.5 rpm
Diffusion Coefficient of $\text{NH}_4^+$	$2.4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$
Diffusion Coefficient of $\text{O}_2$	$3.4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$
Diffusion Coefficient of $\text{CH}_3\text{OH}$	$1.96 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$
Diffusion Coefficient of $\text{NO}_3^-$	$2.2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$

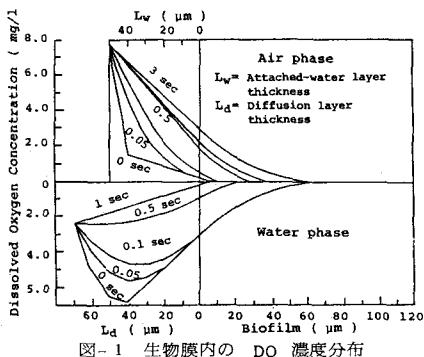
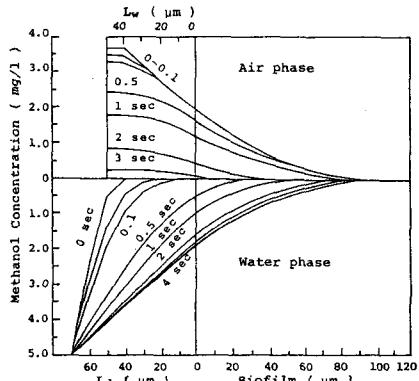
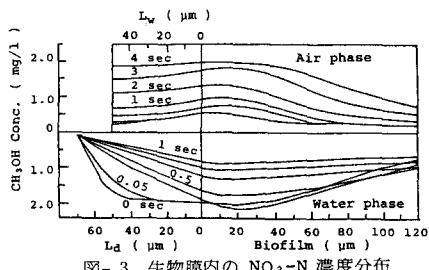


図-1 生物膜内の DO 濃度分布

図-2 生物膜内の  $\text{CH}_3\text{OH}$  濃度分布図-3 生物膜内の  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度分布

をがって、空中、水中部とも  $50\text{ }\mu\text{m}$  程度が間欠的に酸素が浸入する通性嫌気性ゾーン、生物膜厚  $60\text{ }\mu\text{m}$  以上が絶対嫌気性ゾーン、生物膜表面部の  $10\text{ }\mu\text{m}$  程度が絶対好気性ゾーンとなる。図-2は  $\text{CH}_3\text{OH}$  浓度の変化である。 $\text{CH}_3\text{OH}$  は生物膜内へ最大  $90\text{ }\mu\text{m}$  まで浸入する。空中部では時間の経過につれ減少し、3秒後にはほとんど消費される。図-1から分るようく、有機物は DO が生物膜内へ浸入するにつれ他栄養性細菌により酸化されると、DO が浸入する以前は通性嫌気性脱窒菌の有機炭素源として使われる。水中部では  $0.5$  秒後に生物膜内へ  $\text{CH}_3\text{OH}$  が浸入し、4秒後には最大浸入深まで達する。図-1、2から、水中部の方が嫌気性状態の通性嫌気性ゾーンが長時間維持され、 $\text{CH}_3\text{OH}$  も十分供給されるため水中部での脱窒が顕著であることが分る。図-3は生物膜内へ生成された  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度の変化である。空中部では DO が 3秒後で最大浸入深まで達するために、硝化が活発となり図のよう  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度が増加する。図-2に示すように、 $\text{CH}_3\text{OH}$  の最大浸入深を  $90\text{ }\mu\text{m}$  であるため、 $90\text{ }\mu\text{m}$  以上の生物膜内では脱窒反応が起らない。水中部では時間の経過と共に  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度が減少する。このことは硝化反応よりも脱窒反応が大きいことを示す。図-4に  $\text{NH}_4\text{-N Flux}$ 、脱窒 Flux と気相酸素分圧の関係を示す。本文では液本体から生物膜内に移送された  $\text{NH}_4\text{-N Flux}$  と生物膜内から液本体へ移送された  $\text{NO}_3\text{-N Flux}$  の差を脱窒 Flux と定義する。図から明らかなようく、気相酸素分圧  $10\%$  程度までは有機深律速を示すが  $5\%$  以下では硝化律速となる。これは先に報告した硝化・脱窒パターンの B型に相当する。

3-2. 生物膜内の菌濃度分布 生物膜内の菌濃度については先の生物膜モデルの中でも以下のように仮定した。①生物膜内には通性嫌気性細菌が一様に分布する。②他栄養性細菌は絶対好気性ゾーンで一定で、通性嫌気性ゾーンでは徐々に減少する。③硝化菌は生物膜表面から徐々に増加し最大酸素浸入深まで最大になる。ここではこれらの菌濃度分布を確かめるため、付着生物膜を表面から  $50\text{ }\mu\text{m}$  づつ Cutting し、表面、中間、底部の 3つの部分について各菌体数を測定した。図-5に生物膜厚さ方向の各種菌数の変化を示す。生物膜内の他栄養性細菌と硝化菌はいずれの場合にも生物膜表面部 ( $50\text{ }\mu\text{m}$ ) に多く存在し、生物膜深部になると従い減少する。他栄養性細菌と脱窒菌の減少は Oneオーダーであるが、硝化菌は Twoオーダーである。これは他栄養性細菌の大部分が通性嫌気性細菌で、かつ、脱窒菌の一部が通性嫌気性細菌に含まれているためと考えられる。以上の結果から、他栄養性細菌分布は仮定とはほぼ一致している。しかしながら、硝化菌については生物膜内への DO 浸入深が  $60\text{ }\mu\text{m}$  であることから、生物膜をさらに細かく Cutting し検討する必要がある。

4. おわりに 数値計算により、生物膜内の基質濃度分布を明らかにし、生物膜内に絶対好気性、絶対嫌気性、通性嫌気性ゾーンが形成され硝化・脱窒が生ずる機構を明らかにした。今後は数値計算に用いた定数の精度を上げて、実験で得られたデータと数値計算値との照合および生物膜内の菌濃度分布（亞硝酸菌、通性嫌気性細菌、生物膜を細かく Cutting した場合の硝化菌、他栄養性細菌）について詳細な実験・検討を行う予定である。なお、本研究の遂行に当り、菌の定量、Cutting について御指導と助言を頂いた本学農学部応用微生物学講座の小川助手に謝意を表す。本研究は鹿島財團の助成を受け遂行されたことを記す。

#### 参考文献

- 1) 農立試験所農政課、面倒清；回転円板法による土壤中の硝化菌の測定(Ⅳ) 下水道協会誌, Vol.17, No.195, pp.14~23, 8 (1980)
- 2) 土壤微生物調査法；土壤微生物研究会編、農業出版社、1975
- 3) 増田純雄、渡辺公、石黒政義；回転円板法による土壤微生物の測定(Ⅳ) 下水道協会誌, Vol.18, No.215, pp.12~20, 4 (1982)
- 4) 増田純雄、渡辺公、石黒政義；回転円板法による更なる水の硝化部脱窒に作用する研究、第1回日本農業土壤生物学研究会、pp.5~8, 11 (1982)

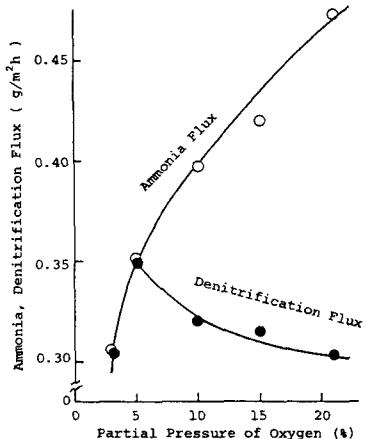


図-4  $\text{NH}_4\text{-N Flux}$  脱窒 Flux と  
気相酸素分圧の関係

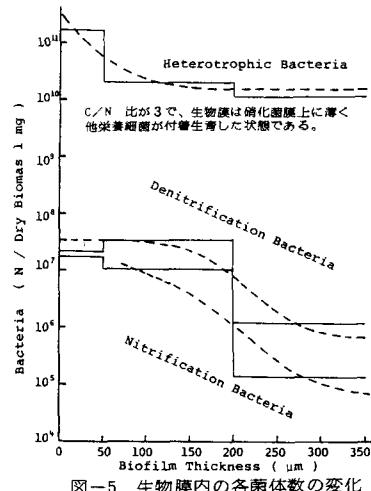


図-5 生物膜内の各菌体数の変化