

東北大学工学部 正員 〇川崎重明
 学生員 酒井龍司
 正員 松本順一郎

1. はじめに、河川水中における硝化作用は、主として河床に付着増殖した生物膜中に存在する硝化菌によって行われる。潮汐によって海水が遡上する河口域においては、河床の付着生物も海水の影響を受けることが予想される。そこで、図1に示す連続実験装置によって混合培養の付着生物膜の硝化作用に及ぼす海水の影響を検討したところ、図2に示すような結果が得られた。すなわち、海水混入率が0~10%の間では、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度は共に海水混入率の増加に伴って上昇する。一方、海水混入率が10%以上になると、亜硝酸生成速度は緩やかに増加するが、硝酸生成速度は減少する。そこで今回は、海水混入率による硝化活性を比較する為に連続実験の定常期の生物膜を使って、浮遊状態で回分実験を行ったので、その結果を報告する。

2. 実験条件および分析 (i) 生物：連続実験の定常期(海水混入率40および50%)の生物膜を全て反応槽内にひき落とし、この混合液を遠心濃縮(3,000rpm 15min×2)した後ホモジナイズ(25W 90 sec.)したものを回分実験の植種生物として使用した。

(ii) 実験装置：恒温水槽(20℃)中に2ℓビーカーを設置しこれに散気球を取り付け1ℓ/minで通気した。

(iii) 実験手順：2ℓビーカーに表2に示す各Runの基質(NH_4Cl を除く)1.5ℓを入水、これに(i)の生物を植種したのち、 NH_4Cl を所定の濃度になるように添加し実験を開始し所定の時間毎に採水した。尚、海水は表1に示す組成の人工海水を用いた。また、実験は光合成生物の増殖をみええる為に暗条件で行なった。

(iv) 分析：分析は、SS(ガラスファイバーフィルターGS25)およびpH(電極法)の測を採水と同時にしない、アンモニア性窒素(インドフェノール法)、亜硝酸性窒素(α-ナフテルアミン・スルファニル酸法)、硝酸性窒素($\text{Cd}-\text{Cu}$ ラム還元法)の測定は、冷凍保存した試料を用いて行なった。

3. 実験結果および考察

(a) 経時変化について、図3および図4にRun 40-CおよびRun 50-Cのアンモニア、亜硝酸および硝酸各態窒素濃度の経時変化を示す。窒素の回収率($\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$)は95%以上であるのでアンモニアストリップによる影響は少ないと考えられる。

表2. 基質組成

	Sea Water (%)	NH_4Cl (mg-N/l)	KH_2PO_4 (mg-P/l)	Na_2HPO_4 (mg-P/l)
Run 40-A	40	2.5	0.6	1.5
Run 40-B	40	5.0		
Run 40-C	40	10.0		
Run 40-D	40	20.0		
Run 50-A	50	2.5	0.6	1.5
Run 50-B	50	5.0		
Run 50-C	50	10.0		
Run 50-D	50	20.0		

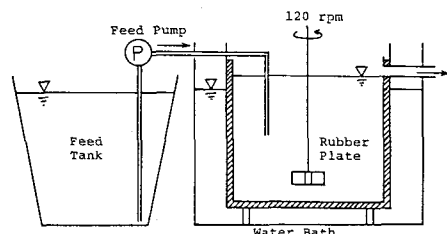


図1. 連続実験装置の概要

表1. 人工海水の組成

NaCl	23.476
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10.64
Na_2SO_4	3.917
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.46
KCl	0.664
NaHCO_3	0.192
KBr	0.096
H_3BO_3	0.026
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.04

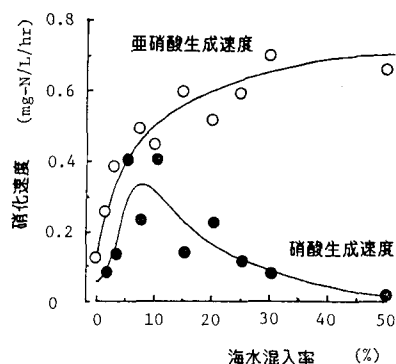


図2. 海水混入率と硝化速度の関係(連続実験)

初期アンモニア性窒素濃度 2.5 mg/L の場合約 10 時間、5 mg/L では約 14 時間、10 mg/L では約 18~20 時間でアンモニアのほとんどが硝酸に酸化される。しかし、初期アンモニア性窒素濃度が 20 mg/L の場合には 3 mg/L 程度のアンモニア性窒素が酸化されずに残ってしまう。これは、pH が 6 程度まで下がるのでこの影響によるものと考えられる。また、SS はアンモニア性窒素が消費されるまでほとんど変化しなかった。図 3 および図 4 より、海水混入率 50% の Run 50-C の場合亜硝酸の一時的な蓄積量が多くなっている。実験初期の亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の存在比を見ると海水混入率 50% の場合（図 4）には、亜硝酸性窒素で多く存在していることがわかる。したがって、海水混入率の増加によって初期の亜硝酸から硝酸への酸化速度は減少するものと考えられる。これは、連続実験の結果と一致する。しかしながら、時間の経過に伴ない亜硝酸は酸化され硝酸となる。このことにより、連続実験においても滞留時間を十分長く設定することにより、硝酸にまで酸化されることの可能性が示された。

(b) 亜硝酸生成速度 硝化作用は、アンモニアから亜硝酸、亜硝酸から硝酸への 2 段階の反応である。したがって亜硝酸の生成量を考える場合は、その時点での亜硝酸と硝酸の濃度の和を考えればよい。経時変化の亜硝酸+硝酸性窒素濃度の初期の傾きから亜硝酸生成速度を求め、その逆数と初期アンモニア性窒素濃度の逆数の関係をプロットすると図 5 のようになる。したがって、亜硝酸生成速度は、次の様な Michaelis-Menten 式で表わされ、

$$v = \frac{v_{max} \cdot S}{K_m + S}$$

ここで v : 亜硝酸生成速度, K_s : Michaelis 定数, S : アンモニア性窒素濃度, v_{max} : 最大亜硝酸生成速度。各定数は、海水混入率によってそれぞれ次のようになる。

海水混入率 40% ; $v_{max} = 0.021 \text{ (mg-N/mg-ss-hr)}$
 $K_m = 1.13 \text{ (mg-N/L)}$

海水混入率 50% ; $v_{max} = 0.024$
 $K_m = 1.22$

以上より、海水混入率が 40% から 50% に増加すると亜硝酸生成速度が上昇することが示された。

4. おわりに、以上結論をまとめると、(1) 海水混入率が 40% から 50% に増加すると初期の硝酸生成速度が低下し一時的に亜硝酸の蓄積量が増加する。(2) 亜硝酸生成速度は M-M 型の式によって表わされ、海水混入率の増加によってその速度も上昇する。尚本研究は 58 年度文部省科学研究費の補助を受けて行なった。

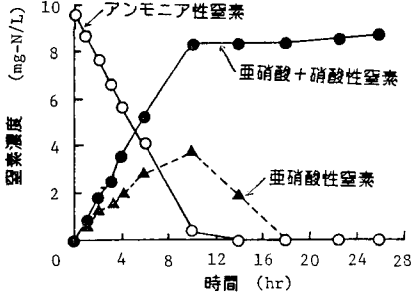


図 3. Run 40-C の経時変化 (海水混入率 40% NH_4N 10 mg/L)

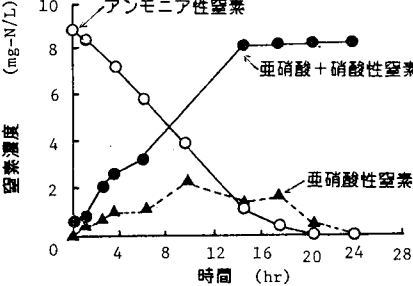


図 4. Run 50-C の経時変化 (海水混入率 50% NH_4N 10 mg/L)

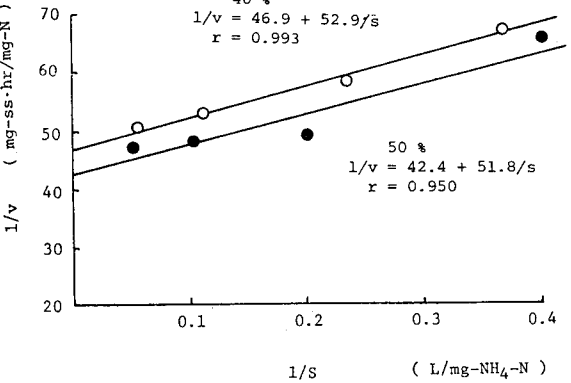


図 5. 回分実験の Lineweaver-Burk プロット

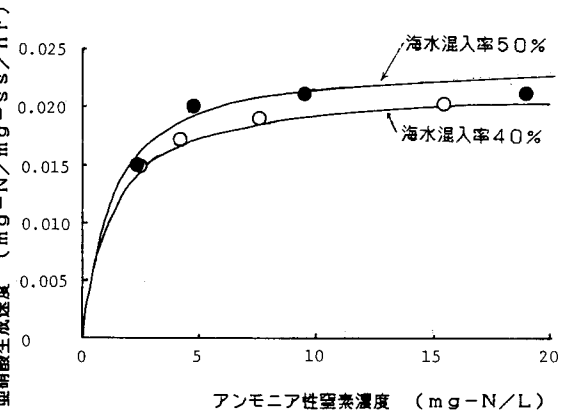


図 6. 亜硝酸生成速度とアンモニア性窒素濃度の関係