

II-537

流入基質C:N比の生物膜内の硝化菌の挙動に与える影響

北海道大学工学部○正 岡部 聡 正 渡辺 義公
パシフィックコンサルタンツ(株) 正 平田 貴紅子

1. はじめに

生物学的下水処理に用いられている生物膜は、多種の微生物が混在する Multispecies Biofilm であり、下水中には有機物が普遍的に存在するため、硝化を目的とする生物膜内では硝化菌(アンモニア酸化及び亜硝酸酸化細菌)と他栄養性細菌が酸素と空間を競合する。自栄養性細菌である硝化菌は一般的に最大比増殖速度が遅く、他栄養性細菌との競合に不利であるといわれている。そのため運転開始から安定した硝化が達成されるまで長期間を必要としたり処理の失敗を招く。従来は自然に付着、増殖した生物膜を処理に利用してきたが、今後は目的とする微生物、窒素除去を目的とする生物処理では硝化菌、を優占的に制御し、短期間により安定した処理を達成する事が望まれる。そこで本研究では、流入基質C:N比の生物膜内の硝化菌の動態に与える影響を明らかにするために、膜深さ方向の各種微生物密度分布を異なるC:N比で求め検討を加えて報告する。

2. 実験装置及び実験方法

実験装置は、直径18cmの亚克力製円板10枚から構成される半水没型回転円板槽である。円板回転速度は15rpm、HRT(水理学的滞留時間)を5時間とした。生物膜は宮崎市木花下水処理場の最初沈殿池流出水を用いて約10日間回分状態で馴養し、円板上に薄い生物膜が形成された事を確認後、アンモニア性窒素と無機炭素を主体とする人工基質(NH_4Cl (76.4), NaHCO_3 (600), K_2HPO_4 (70), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (100), NaCl (73), 酢酸ナトリウム(0, 17.4, 104)(mg/L)を用いて連続運転を行い、経時的に槽内の水質、生物膜厚、SS、生物膜内の微生物濃度を測定した。SS及び三態窒素の測定は、下水試験法及びイオンクロマトグラフにより行った。TOCの測定には全有機炭素アナライザー(TOC-5000, SHIMADZU)を用いた。生物膜厚はBakkeら¹⁾の方法に従った。全菌数はHobbieら²⁾の方法に従って、アクリジンオレンジで染色後、蛍光顕微鏡を用いて定量した。生物膜内の微生物濃度が定常状態に達した後、生物膜の一部をマイクロスライサー(D. S. K. DTK-1000)により膜表面から深さ方向にスライスした後、遠心分離(4,000 rpm, 40min.)により集菌し、ホモジナイズし、各種細菌数を増田ら³⁾の方法に従って定量した。

3. 実験結果と考察

連続運転開始後の反応槽内の水質変化を図-1(a~c)に示す。C:N=0, 0.25の場合、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の酸化は運転開始直後より進行し、約1週間程度で亜硝酸型の反応となった。C:N=0.25の場合は即座に硝酸型へ移行した。しかしながら、C:N=0の場合、亜硝酸型から硝酸型への移行はC:N=0.25の場合に比べて遅く約1ヵ月後、安定した硝酸型となった。一方C:N=1.5の場合は、硝化反応の進行は非常に遅く亜硝酸型となるのに約1ヵ月を要し、1.5ヵ月後硝酸型へと移行した。しかしながら流出水中には、まだ3mg/L程度の亜硝酸が残存し、決して良好な処理とはいえない。

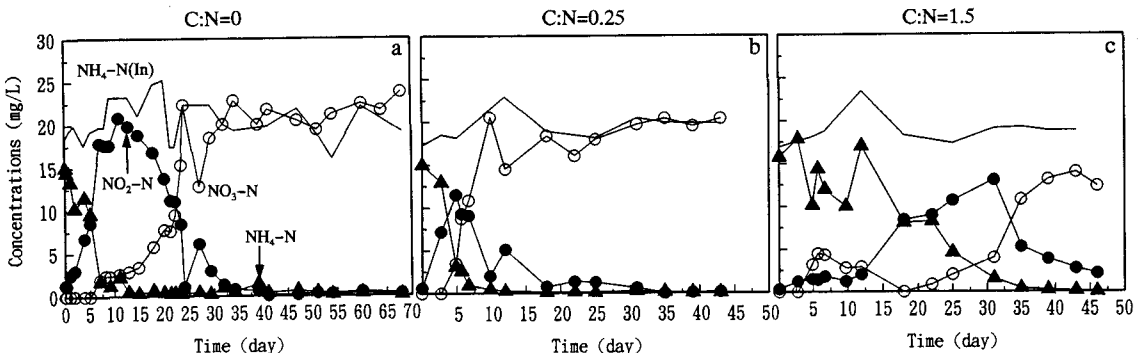


図-1 槽内三態窒素濃度の経時変化

これらの槽内水質変化に対応する生物膜内の各種微生物濃度の経時変化を図-2(a~c)に示す。連続運転開始時(T=0)の初期生物膜厚は、それぞれ40~50μm程度であった。初期生物膜内の微生物構成は各C:N比とも類似している。初期生物膜は他栄養性細菌が優占種であり、アンモニア酸化細菌及び亜硝酸酸化細菌の存在比が著しく小さい。これは、両者とも増殖速度が他の微生物に比べて遅い上、種付けに用いた都市下水の組成に依存するためである(使用した下水には亜硝酸は殆ど存在しなかった)。連続運転開始後、アンモニア性窒素の酸化(亜硝酸性窒素の蓄積)に伴い両者の菌数は増加し始める。C:N=0の場合、有機炭素源が供給されないため他栄養性細菌は時間の経過と共に減少した。アンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌は

徐々に増加し44日目には他栄養性細菌と同様のレベルに達した。アンモニア酸化細菌及び亜硝酸酸化細菌の増加速度はC:N=0.25の場合に比べて遅いが、酸素を競合しないため良好な硝化がえられた。C:N=0.25では20日目までの亜硝酸の蓄積に対応し亜硝酸酸化細菌の増加が顕著となり、1カ月後には他栄養性細菌と同レベルまで増加した。C:N=1.5の場合、他栄養性細菌と酸素と生物膜内の空間を競合するため、アンモニア酸化細菌及び亜硝酸酸化細菌の増加は他の2つのケースに比べて遅い。しかし、30日目以降、十分な硝化菌が存在するにもかかわらず安定した硝化が達成されない理由は、他栄養性細菌が優先的に酸素を消費したためと考えられる。このように酸素消費に優位性が生じるのは微生物の動力学的特性によるものか、または生物膜内の細菌分布に依存するためであることを検討するために、生物膜内の微生物相が安定した後、生物膜の一部をスライスし膜深さ方向の各種細菌密度分布を測定した（図-3(a~c)）。生物膜厚は、C:N=0, 0.25, 1.5の場合それぞれ340, 270, 1100 μm であった。C:N=0の生物膜はC:N=0.25に比べて表面は粗く不均一であった。この結果より、均一で強固な生物膜の形成には、多少の有機物が必要であると思われる。C:N=1.5の生物膜は、表面から約800 μm は白い羽毛状のソフトな生物膜で覆われていて、深部(300 μm)は黒褐色でrigidであった。図-3に示すように、全菌数を含め各種細菌密度は膜深部方向に増加する傾向にあった。C:N=0において、アンモニア酸化細菌密度は他のケースと異なり表層部で高かった。C:N比が増加するに伴いアンモニア酸化細菌は表層部で減少し底層部へ移行する。この結果は、有機物負荷の増加に伴い表層部では、他栄養性細菌の増殖が促進されアンモニア酸化細菌との間の生物膜空間の競合に優勢となったためである。底層部では両者の増殖速度が均衡しアンモニア酸化細菌は存在できる。しかしながら、生物膜は層状化しておらず、増殖速度の遅い細菌も膜表層部に共存する事が明かとなった。これらの実験結果は既存の生物膜モデル⁴⁾の妥当性を検討するために非常に興味深いデータである。

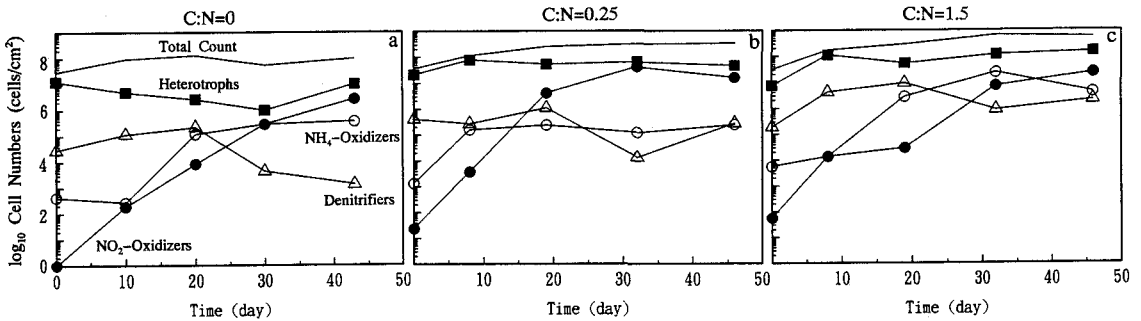


図-2 付着生物膜内の各種細菌数の経時変化

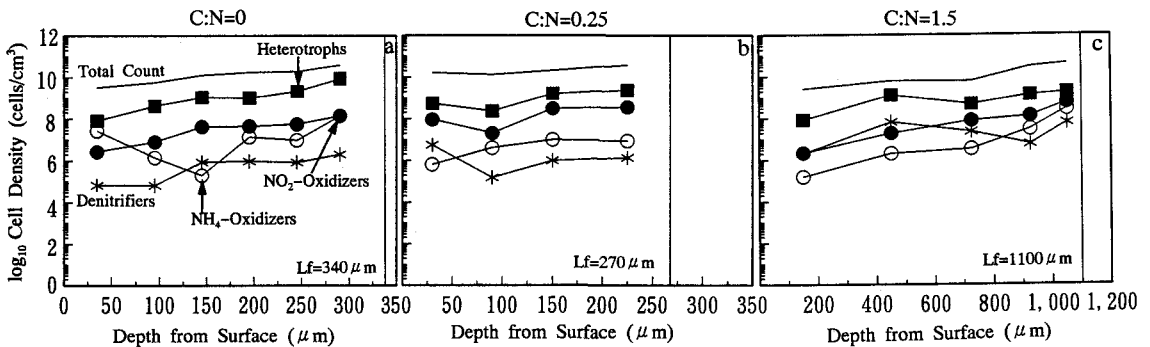


図-3 生物膜深さ方向の各種細菌密度分布

4. おわりに

本研究の結論は以下に示す通りである。(1)C:N=0.25の場合、生物膜内の亜硝酸酸化細菌の増加が早く、最も早く硝化が安定した、(2)C:N比が増加するに伴いアンモニア酸化細菌は表層部で減少し底層部へ移行した、(3)生物膜は層状化しておらず膜全体に各種細菌が混在する。

5. 参考文献 1)Bakke, R. and Olsson, P.Q. (1986) *J. Microbiol. Method*, Vol.5, Pp.93-98. 2)増田ら、(1987) 下水道協会誌, Vol.24, No.278, Pp.19-31. 3)Hobbie et al., (1977) *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.33, Pp.1225-1228. 4)Rittmann, B.E. and Manem, J.A. (1992) *Biotech. Bioeng.* Vol.39, Pp.914-922.