

九州大学工学部 ○学生員 進藤 健治

Boonsak Warinpaisan

同上 正会員 久場 隆広

楠田 哲也

1. はじめに

生物学的硝化脱窒法は廃水から窒素を除去する有効な手段である。脱窒菌に比べ、硝化菌の増殖速度は遅く、また、その増殖収率が低いことから、硝化過程が窒素除去における律速段階となりやすい。したがって、高い硝化活性を維持するためには、好氣的汚泥滞留時間を十分に長くする必要がある。ゲルへの包括固定による硝化菌の高濃度化は、アンモニア性窒素の高速処理及び硝化反応槽の省容量化を可能にしたり。しかしながら、一方で、包括固定化担体内部へのアンモニア性窒素及び酸素の拡散律速により、担体表層部に存在する硝化菌しか処理に関与していないと考えられる。そこで、本研究では包括固定化担体として、温度変化によって不連続な体積変化(体積相転移)を引き起こす機能性ゲルを用い、担体内部への物質輸送の促進を試みた。本研究の目的は、硝化活性の促進に対する包括固定化担体としての機能性ゲルの有効性を処理水質及び担体内部での硝化菌数の空間分布から明らかにすることである。

2. 機能性ゲルの作製と実験方法

2.1 ゲルの作製

本研究では機能性ゲルとしてN-イソプロピルアクリルアミド(NIPAAm)ゲルを用いた。NIPAAm 7.8g(主モノマー)とBIS 0.133g(架橋剤)を蒸留水 100mlに溶かし、窒素置換を行う。これを溶液Aとする。長期間集積培養した硝化菌(30mg-VSS)を遠心分離・洗浄した後、20mlのA溶液に再懸濁する。この硝化菌懸濁液に10%ペルオキソ二硫酸アンモニウム 160 μ l(開始剤)及びN,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン 80 μ l(ゲル化促進剤)を加え、厚さ3mmのガラス製型枠に流し込む。これを25℃の恒温水槽中でゲル化(約5分間)させた後、型枠から取り出し、未架橋部分を取り除くために蒸留水中に約1日浸す。その後、3×3×3mm³のキューブ型に切断する。

2.2 NIPAAmゲルの膨潤・収縮特性

NIPAAmゲルは、ある特定の温度(相転移温度)を境にして不連続な体積変化(体積相転移)を起こす。本実験に用いたNIPAAmゲルの相転移温度は34℃付近にあり、ゲルは相転移温度以上で収縮し、相転移温度以下で膨潤する。図1にNIPAAmゲルの体積相転移の一例を示す。ゲルの膨潤率の測定には読み取り顕微鏡を用いた。各温度における定常状態でのゲルの一辺の長さを測定し、35℃を基準体積(V_0)として V/V_0 で無次元化した。

2.3 実験方法

硝化菌を包括固定したNIPAAmゲルを4つの反応槽(容積200ml)に投入した。ゲルの添加率は10%(v/v)である。4つの反応槽をそれぞれ、25℃、28℃、35℃の恒温条件及び25~35℃の間を繰り返す変温条件下(図2)で好氣的に連続回分運転した。基質は1日1回投入した。定期的に基質添加後のアンモニア性窒素濃度をオートアナライザーを用いて測定し、硝化活性を評価した。また、PVA(ポリビニルアルコール)に同量の硝化菌を包括固定し、硝化活性の比較を行った。

3. 結果及び考察

3.1 恒温・変温条件下での硝化活性の比較

恒温条件(25℃、28℃、35℃)と変温条件(25~35℃)下での温度パターンと運転開始3週間後の硝化活性の比較を図2に示す。それぞれの硝化速度は1.0、1.2、1.2、1.7(mg-N/l.h)であり、変温条件下で硝化活性が最も高

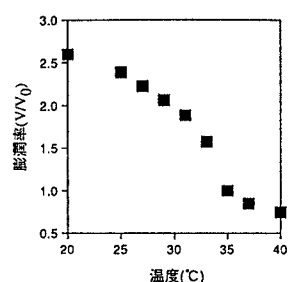


図1 硝化菌を包括固定した機能性ゲル(NIPAAm)の体積相転移

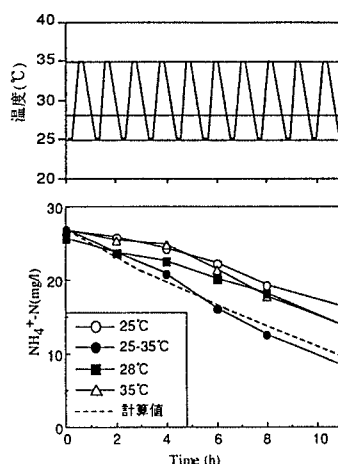


図2 各反応器の温度パターンと硝化活性の比較(3週間後)

キーワード：機能性ゲル、硝化、包括固定、生物学的廃水処理、NIPAAmゲル、体積相転移、PVA

連絡先：〒812 福岡市東区箱崎6-10-1 電話(092)642-3241 FAX(092)642-3322

かった。図3に運転開始後の各反応槽の硝化活性の経日変化を示す。start-up時から全期間を通して変温条件下において硝化活性が高かった。また、図4にPVAに包括固定した硝化菌の硝化活性の経日変化を示す。PVAは、ゲル強度が大きく、微生物への毒性が少ない高分子材料であるが、体積相転移しない。PVAの場合、温度が高いほど硝化活性が高い。これは25-35℃の変温条件が硝化活性を高めているのではないことを示唆している。したがって、この硝化活性の促進は、NIPAAmゲルの体積相転移による物質輸送の増加に起因すると推察される。35℃から25℃に温度を低下させると、ゲルは約1.6倍の体積に水膨潤する。すなわち、変温条件下においてゲルが膨潤・収縮を繰り返すことによって、あたかもポンプのような働きをし、これによりゲル内への物質輸送が促進されたためと考えられる。ゲルの水膨潤により流入した基質（1サイクルで約7.5ml/20ml-gel）が完全に硝化されていたと仮定すると、アンモニア性窒素の濃度変化は図2の計算値（-----）で与えられる。この計算値と変温条件下での活性を比較すると、両者はほとんど一致しており、したがって、膨潤・収縮によって取り込まれたアンモニア性窒素は完全に硝化されていたと考えられる。

3.2 ゲル担体内の微生物空間分布

微小電極による生物膜やグラニュー汚泥内の物質濃度分布の研究結果は、その有効生物膜厚は数十～数百 μm 程度であることを示唆している^{2),3)}。また、包括固定化担体（PEGASUS）では60 μm 程度であることも報告されている⁴⁾。これらの結果は、拡散律速により、包括固定化担体表層部に存在する微生物しか処理に関与していないことを示している。もし、機能性ゲルの体積相転移により担体深部にまで物質が輸送されているのであれば、微生物の担体内空間分布はより内部まで広がっている可能性がある。そこで、DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)で核酸染色を施し、蛍光顕微鏡でNIPAAmゲル内の微生物数をおおまかに計数した。

図5に、25℃の恒温条件下及び25～35℃の変温条件下での微生物数の空間分布を示す。DAPIによる核酸染色法では死滅した微生物も計数する可能性がある。また1つのスポットが1つの微生物を染色しているとは限らないという問題点があり、おおまかにしか微生物分布を表せないが、25～35℃の変温条件下のゲル内には微生物が比較的均一に分布しているように思われる。一方、25℃の恒温条件下ではゲルの表層部で微生物数が多く、ゲルの中心部で微生物数が少ないようである。このことは、25～35℃の変温条件下では体積相転移によりゲル内の深部まで基質や酸素が輸送されている可能性を示唆している。体積相転移量の大きなゲルを用い、また、基質負荷速度を大きくすれば、空間分布により明確な違いが見いだせる可能性がある。

4. 終わりに

各温度条件下での硝化活性の比較及びゲル担体内の微生物空間分布の違いから、NIPAAmゲルの体積相転移による硝化活性の促進が明らかになった。このような体積相転移を起こすゲルには、ここで用いられている温度に応答するものの他にも、pH・電圧・光などに応答するものもある。今後、これら機能性ゲルの衛生工学・環境工学分野への応用も検討する予定である。

[参考文献]

- 1) 浦田健一ら (1996) 包括固定化硝化細菌による排水の窒素除去技術の開発, 環境研究, No.103
- 2) L. Tjhuis (1994) The Biofilm Airlift Suspension Reactor, Ph.D thesis, TU Delft
- 3) 大橋晶良ら (1996) 微小電極と数学的モデルによる嫌気性微生物グラニュール内の基質濃度とpHプロファイルの評価, 環境工学研究論文集, 第33巻, pp.235～245

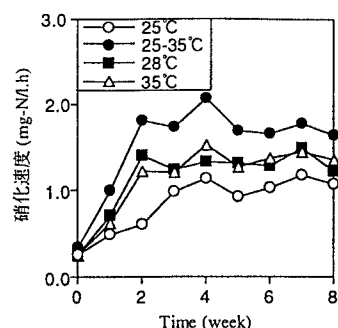


図3 硝化活性の経日変化

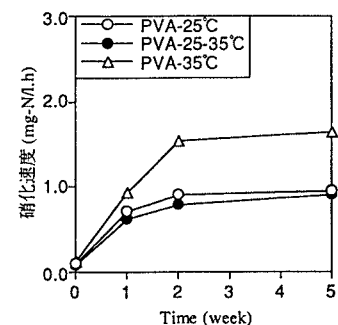


図4 PVAに包括固定した硝化菌の硝化活性の経日変化

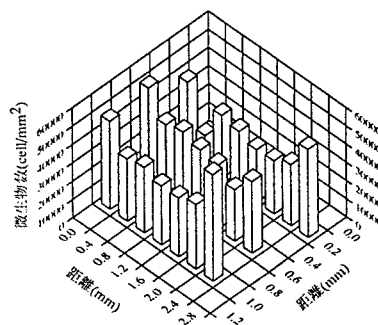
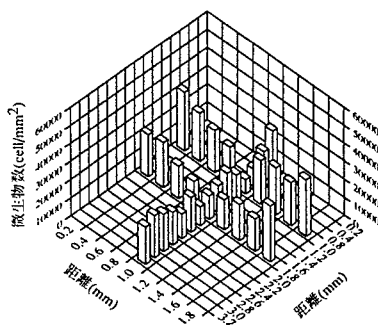


図5 微生物数の空間分布:
上図は25℃の恒温条件、
下図は25-35℃の変温条件