

生物活性炭における脱窒細菌の活性

金 徳鎮¹・宮原高志²・野池達也³

¹工博 東亜大学校非常勤講師 土木工学科(〒604-714 韓国釜山市沙下区840)

²正会員 工博 東北大学講師 大学院工学研究科(〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)

³フェロー会員 工博 東北大学教授 大学院工学研究科(〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)

流動床生物活性炭における活性炭の吸着能が脱窒活性に及ぼす影響を検討した。有機炭素としてはサッカロースを用いた。また、脱窒反応に及ぼす吸着能の影響を評価するため非吸着性担体として人工軽量骨材を用いた。その結果、活性炭および人工軽量骨材への細菌の付着量や蛋白質当りの細菌数がほぼ等しいにも関わらず、活性炭付着細菌の硝酸および亜硝酸還元速度は人工軽量骨材のそれぞれ1.64倍、1.45倍であった。また、同一の生物活性炭反応槽でも付着状態の細菌の脱窒活性が浮遊性細菌および脱離された付着細菌よりも常に高く、阻害性がないサッカロースを炭素源とした場合、活性炭の有機物吸着能は脱窒活性の向上に影響を与えていることが明らかになった。

Key Words : BAC, denitrification, adsorption, C/N ratio

1. はじめに

生物活性炭は活性炭の吸着性と微生物の分解特性を組み合わせた水処理方法であり、上水、下水等様々な水処理への適用^{1), 2)}やモデル化³⁾が試みられてきている。生物活性炭では活性炭表面に細菌が付着することによって細菌の分解作用が付加され、活性炭の吸着作用による溶存有機物の吸着除去とともに付着細菌の生分解作用による有機物の分解除去が可能になり、さらに吸着された有機物が生分解されることによる、いわゆる生物再生によって活性炭寿命の延長効果が期待できると考えられている。

生物活性炭処理の有効性については、①難分解性物質や生物阻害性物質の除去率向上⁴⁾、②微生物濃度を高濃度に保つことによる生物処理の安定化⁵⁾、③吸着物質の生分解作用による活性炭の吸着能の維持⁶⁾、④活性炭の吸着能の維持による流入水質の変動に対する緩衝効果⁷⁾、⑤活性炭付着微生物の活性向上⁸⁾などが報告されている。

特に、生物活性炭における細菌の分解活性は、プロセス全般の処理能を決定し、生物活性炭の設計因子として重要である。

生物活性炭における生分解特性は、活性炭の吸着能および活性炭の表面構造特性のため、他の生物付着担体を用いた場合の生分解特性と異なると考えられてき

た。即ち、生物活性炭表面では、その吸着作用による活性炭表面の有機物濃度の増加⁹⁾、微生物と吸着有機物との接触時間の増加¹⁰⁾、活性炭表面における酸素濃度の増加^{9), 11)}が起こり、さらに、毒性物質の吸着によるバルクの細菌に対する毒性緩和¹²⁾なども起こることで、微生物の活性は促進されると報告されている。しかし、これとは逆に活性炭付着細菌の活性の促進効果を否定した結果も報告されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。従って生物活性炭における活性炭の吸着能が付着細菌の活性に及ぼす影響に関しては、付着細菌の活性促進効果の有無を含めてその原因の解明が十分に行われていない。

本研究は、地下水および上・下水の硝酸性窒素除去にサッカロースを外部有機炭素源とした流動床生物活性炭を適用することを目的とした場合に重要な脱窒活性に及ぼす活性炭の吸着能の影響を検討した。

2. 実験装置および方法

(1)連続脱窒実験

連続脱窒実験は内径5cm、高さ100cmのアクリル管に活性炭および人工軽量骨材をそれぞれ高さ20cmまで充填した反応槽を用いた。担体の充填量は、それぞれ185g、330gであった。流動化は循環ポンプを用いて行った。活性炭の初期膨脹率は2.0に設定したが、人工軽量骨材は活性炭より比重が大きいため同一循環

表-1 連続実験の人工排水組成

組成	mg/L
サッカロース	125.76
KH ₂ PO ₄	6.58
KNO ₃	144.40
MgSO ₄ · 7H ₂ O	11.25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	1.00
CaCl ₂ · 2H ₂ O	10.00
FeCl ₂ · nH ₂ O	0.35
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0.04

流量においての膨脹率は 1.6 であった。人工基質はサッカロースと窒素および無機塩を分けて定量ポンプで反応槽底部から連続的に流入させた。反応槽は 20 °C の恒温室で設置した。

人工基質の組成は表-1に示す。人工基質の pH は 7.0 ~ 7.2 に調整した。反応槽の滞留時間は、EBCT(Empty Bed Contact Time)として 60, 40, 20, 10, 5 分の条件で行った。流入 C/N(as COD) は 7.06 で実験を行った。活性炭はカルゴン社の F-400 を用い、平均粒径 1.0 mm の活性炭を 48 時間蒸留水に浸水させた後、105 °C で 24 時間乾燥させたものを用いた。人工軽量骨材、ALA (artificial light aggregate) は平均粒径 1 mm であるものを用いた。種汚泥は S 市 H 流行センターの第二嫌気槽の汚泥を人工基質で約 1 ヶ月間馴養したもの用いた。

(2) 活性炭および人工軽量骨材の吸着能実験

活性炭および人工軽量骨材の吸着能を比較するため回分吸着実験を行った。回分吸着実験はサッカロース溶液(1000mgCOD/L)100mLを注入し、活性炭および人工軽量骨材の添加量を変化させた約 120mL のバイアル瓶をブチルゴム栓とアルミニウム製の金属で密栓し、96 時間、20 °C で吸着実験を行った。実験に用いたサッカロース溶液、バイアル瓶、活性炭および人工軽量骨材は滅菌済のものを用いた。

(3) 定常状態に達した連続反応槽の生物活性炭の回分吸着特性実験

生物活性炭における吸着特性は活性炭と異なり、また生物活性炭においても付着生物膜の厚さによって吸着特性は異なると考えられることから定常状態になった連続反応槽内の各 EBCT の生物活性炭に対して回分吸着実験を行った。

実験装置は内径 1 cm、高さ 20 cm のガラス製カラムを用いた。定常状態になった連続反応槽内の生物活性炭約 5 g を生物膜が脱離しないように取り出し、滅菌

してカラムに充填した。生物活性炭の滅菌は、ガラス瓶に生物活性炭と生物活性炭が浸される程度の水を入れ密封したものをオートクレーブ滅菌した。サッカロース溶液(1000mgCOD/L)は滅菌後、定量ポンプを用いてカラム底部から EBCT 0.5 分の流量で流入させ、溶液の循環を行いながら溶液濃度の経時変化を測定することで、生物活性炭の吸着速度を求めた。投入生物活性炭量をそれぞれ 5, 3, 2, 1, 0.5 g の 5 段階に変化させて同様な吸着実験を行い、Freundlich 吸着等温式を求めた。吸着実験は連続実験と同一温度の 20 °C で行った。

(4) 細菌の計数方法

細菌数の測定は以下の方法に従った。付着細菌の場合、反応槽から担体約 0.2 g を滅菌済試験管に取り、1 mL の 0.85% NaCl 滅菌済溶液で 2 回洗浄し、洗浄済の担体に 2 mL の 0.85% NaCl 滅菌溶液を加え、30 秒間手で強く攪拌した後、その試験管を 40 W 超音波処理中の水中で 3 分間処理した懸濁溶液に対して細菌数の測定を行った¹⁶⁾。浮遊性細菌の場合は、サンプル 2 mL に 2 mL の 0.85% の NaCl 滅菌溶液を添加し遠心分離機を用い、4000 rpm で 10 分間遠心分離した後、2 mL の 0.85% NaCl 滅菌済溶液に再懸濁させた。同様の操作を 2 回行った懸濁溶液に対して細菌数の測定を行った。脱窒細菌、硝酸還元細菌および從属栄養細菌は土壤微生物実験法¹⁷⁾に従い、從属栄養細菌は標準寒天培地、脱窒細菌および硝酸還元細菌は GILTAY の培地を用いた。脱窒細菌および硝酸還元細菌の計数は MPN(最確数)5-5-5 法の最確数表より計算し、從属栄養細菌は平板培養を行いコロニー数から計数した。

(5) 回分脱窒活性実験

定常状態になった連続反応槽の担体における細菌の存在形態別脱窒活性実験を行った。細菌の存在形態は、浮遊細菌および付着細菌に分類した。さらに、付着細菌に対しては、担体に付着している細菌と浮遊している細菌の種類の違いが脱窒活性に影響を及ぼす可能性を検討するために、担体に付着している状態および付着細菌を脱離させた状態に分類して実験を行った。付着生物膜の脱離は担体約 10 g と蒸留水約 30 mL を 100 mL のバイアル瓶に入れ、強く攪拌して生物膜を脱離させて用いた。付着状態の付着細菌の活性実験では、生物膜の厚さが生物活性に及ぼす影響を調べるために、各 EBCT の連続反応槽の担体について同様の脱窒活性実験を行った。

付着細菌の脱窒活性には付着生物膜の厚さが大きく影響を及ぼすため、脱窒活性実験における生物膜形態の保存は重要である。そのため脱窒活性実験装置は内

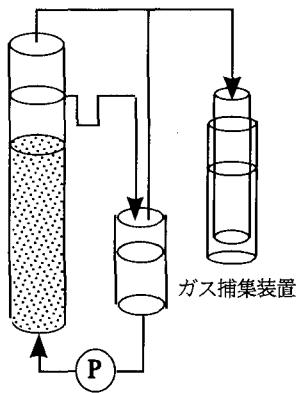


図-1 回分脱窒活性実験装置

表-2 回分脱窒活性実験の人工基質組成

組成	mg/L
サッカロース	223.56
KH ₂ PO ₄	11.71
KNO ₃	361.00
MgSO ₄ · 7H ₂ O	20.03
CuSO ₄ · 5H ₂ O	1.78
CaCl ₂ · 2H ₂ O	17.80
FeCl ₂ · nH ₂ O	0.62
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0.07

径3cm、高さ50cmのカラムを用いて連続実験と同様に循環ポンプを用い流動させながら実験を行った。また、大気からの溶存酸素の溶け込みを防ぐため反応槽の上部はゴム栓で密栓し、また、1Lの容量のガラス瓶の貯留槽もゴム栓で密栓した。反応槽の酸化態窒素は貯留槽から採取して分析を行い、ガス発生量およびガス組成はガス捕集器から採取して分析を行った。図-1に実験装置の概略を示す。

定常状態の連続反応槽から各々浮遊性細菌、生物膜が付着した状態の担体および担体から脱離させた生物膜を表-2の人工基質1Lが入っている反応槽に投入した。その後Heガスで2分間置換し溶存および気相部の酸素を除去した。この時、溶存酸素および気相部の酸素がほとんど存在しないため、生体合成を考慮した脱窒に必要な理論的なC/N(as COD)は5.02であることから¹⁸⁾、実験初期の反応槽のC/N(as COD)を5.02に設定した。

また、投入する担体の重さが同一になるように活性炭は16g、人工軽量骨材は20-24g投入した。特に、生物活性炭の場合は吸着による活性炭表面の有機炭素濃度の増大が脱窒活性向上の原因の一つと考えられるため、投入担体量が同一になるように注意した。投入し

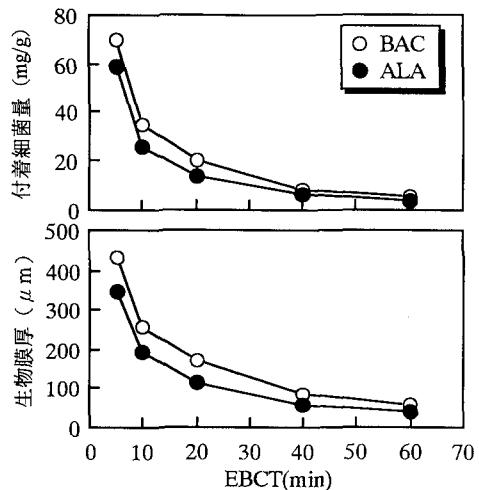


図-2 連続実験の定常状態における付着生物量および生物膜厚さに及ぼすEBCTおよび担体の影響

た細菌量は蛋白質として定量し、全ての脱窒活性実験は連続実験と同一の20°Cで行った。

(6) 分析方法

NO₃-NおよびNO₂-Nは下水試験法、CODcrはStandard Methodsに従った。蛋白質および炭水化物(サッカロース)はそれぞれLowry法およびアンスロン-硫酸法で測定した。ガス組成(N₂)の分析はTCD(Thermal Conductivity Detector)式ガスクロマトグラフ(SHIMADZU GC-8A、カラム充填剤:活性炭(60/80)、カラム温度:120°C、検出器温度:140°C、キャリヤガス:He)で行った。

3. 実験結果および考察

(1) 付着生物膜の厚さが吸着能および吸着速度に及ぼす影響

定常状態になった連続反応槽の活性炭および人工軽量骨材におけるEBCTによる付着生物膜厚さおよび付着細菌量を図-2に示す。ここでEBCT 5, 10, 20分の場合、生物膜厚が明確に区分可能であるため顕微鏡を用いて直接測定したが、EBCT40, 60分の場合は、生物膜の厚さが不規則であるため、EBCT5, 10, 20分において生物膜厚と生物膜密度との関係を求め、EBCT40, 60分の付着細菌量から生物膜の平均厚さを求めた。この時、担体の表面積は平均粒径が1mmで完全な球形だと仮定し計算した。

生物活性炭および人工軽量骨材におけるEBCT5, 10, 20分の生物膜厚と生物膜密度との関係を図-3に示す。この結果から生物活性炭および人工軽量骨材における生物膜厚さと生物膜密度との関係式はそれぞ

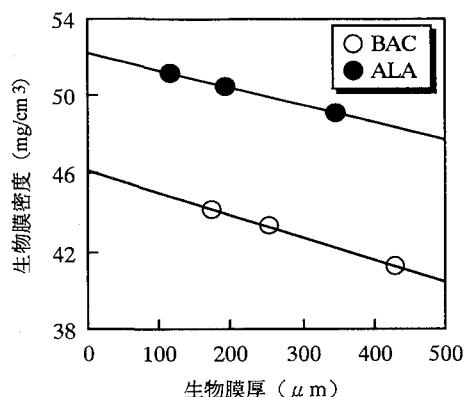


図-3 各担体における付着生物膜厚と生物膜密度の関係

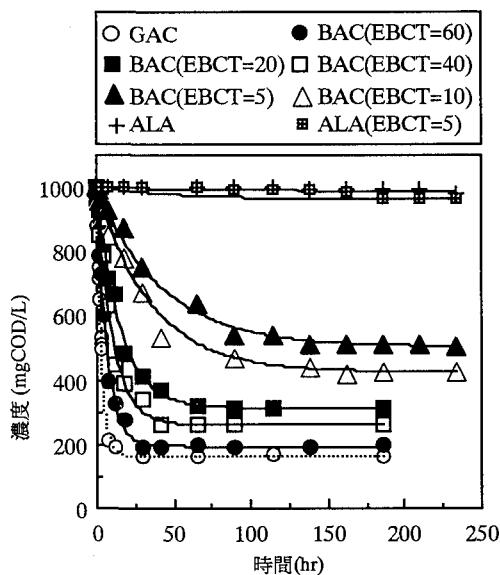


図-4 サッカロースの吸着実験における担体別 EBCTの影響

れ、 $\rho = 46.1 - 0.0113L$ 、 $\rho = 52.2 - 0.00914L$ であった。ここで L ; 生物膜厚 (μm)、 ρ ; 生物膜密度 (mg/cm^3) である。吸着反応は吸着濃度と平衡吸着濃度の差に対しして1次反応であるとすれば¹⁹⁾、式(1)のように表現できる。式(1)を0から t まで積分し、整理すると式(2)が得られる。

$$V \left[\frac{dC_t}{dt} \right] = -kW [C_t - C^*] \quad (1)$$

$$C_t = [C_0 - C^*] e^{-kWt/V} + C^* \quad (2)$$

ここで、 V ; 反応液体積 (L)、 W ; 担体重量 (g)、 k ; 吸着速度定数 ($L/g\cdot hr$)、 C^* ; 平衡濃度 (mg/L)、 C_t ; バルク濃度 (mg/L)である。

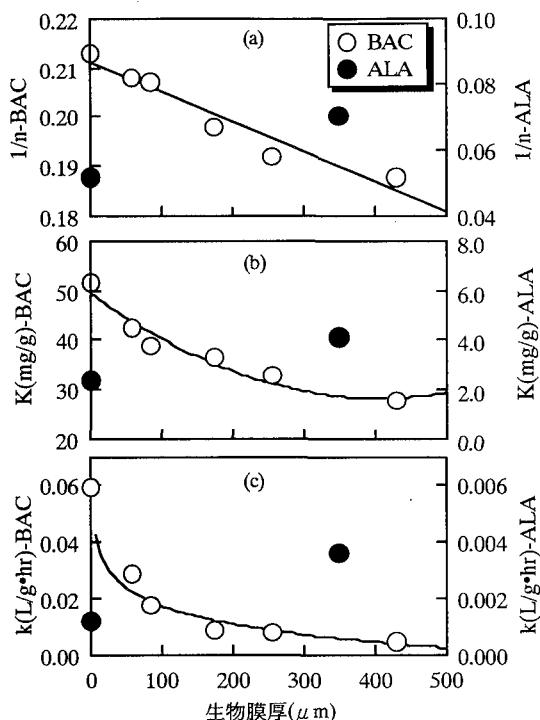


図-5 各担体における吸着速度および吸着能に及す付着生物膜厚の影響

ク濃度 (mg/L)、 C_0 ; 初期濃度 (mg/L)、 t ; 時間 (hr)である。

図-4に初期サッカロース濃度 $1000mg/L$ で行った生物活性炭および人工軽量骨材の回分吸着実験の結果を示した。生物活性炭の場合、EBCTが短いほど即ち、生物膜厚さが厚いほど吸着能および吸着速度は低下した。各EBCTにおける回分吸着実験前の生物活性炭の吸着量はほぼ同一であったため¹⁸⁾、吸着能および吸着速度の差は生物膜の厚さと関係があると推察される。生物膜厚と式(2)を用いて算出した吸着速度定数(k)の関係を図-5(c)に示した。また、投入生物活性炭量を変化させた実験の結果を式(3)のFreundlich等温吸着式に代入して得られる係数 K および $1/n$ と生物膜厚との関係をそれぞれ図-5(a), (b)に示した。

$$q = KC^{(1/n)} \quad (3)$$

ここで、 q ; 吸着量 (mg/g 担体)、 C ; バルクの平衡濃度 (mg/L)、 K 、 $1/n$; 定数である。人工軽量骨材の場合は生物膜が一番厚いEBCT5分および一番薄いEBCT60分のみに対して同様な実験を行った。

EBCT60(生物膜厚さ ; $57 \mu m$)の生物活性炭の吸着能は新活性炭の $80.0 - 81.2\%$ (バルク濃度範囲 ; $1 - 1000mg/L$) であり、吸着速度は新活性炭の 48.3% で

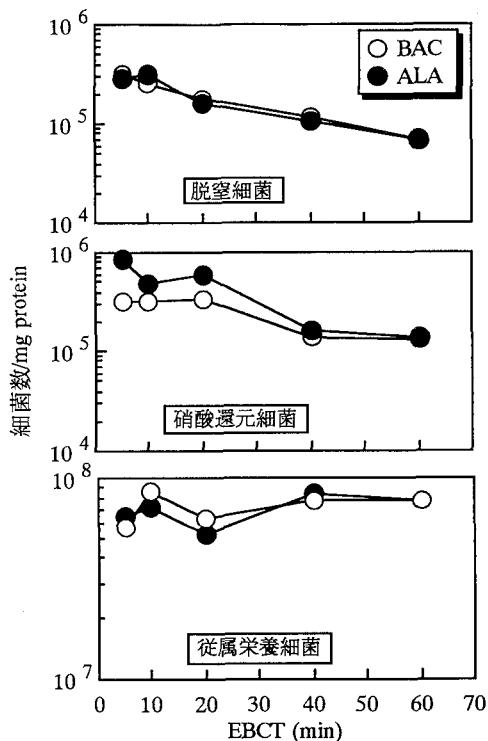


図-6 各担体における付着細菌密度に及ぼすEBCTの影響

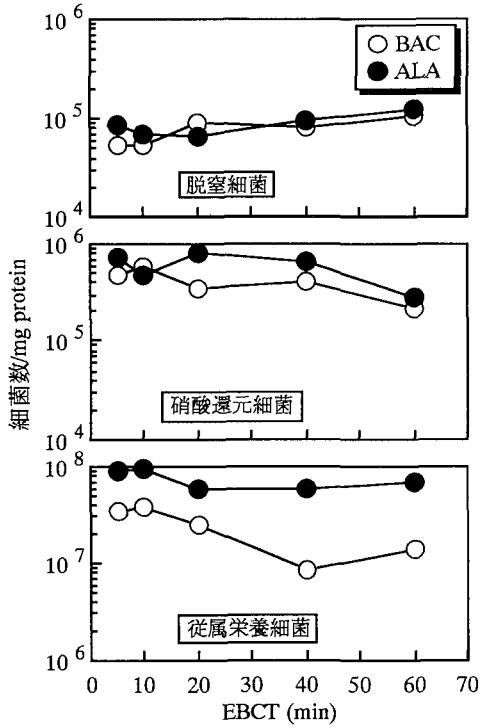


図-7 各担体における浮遊細菌密度に及ぼすEBCTの影響

あった。EBCT5分(生物膜厚さ; 430 μm)の生物活性炭の吸着能はEBCT60分(生物膜厚さ; 57 μm)に比べ59-63% (バルク濃度範囲; 1-1000mg/L)であった。

また、生物活性炭における生物膜が厚いほど、吸着等温式のKは対数的に減少し、1/nの値は直線的に減少した。これらの結果は、フェノールの嫌気性分解に用いた生物活性炭の吸着能および吸着速度は新活性炭のそれぞれ54%および26%であったと報告したKindzierskiら¹⁹⁾の結果と同様な傾向であった。

一方、人工軽量骨材の場合、活性炭とは異なり、生物膜が厚くなるほど吸着能および吸着速度定数が大きくなつたが、これは人工軽量骨材による吸着作用のためではなく付着細菌による吸着のためであると考えられる。しかし生物活性炭の吸着能に比べるとその吸着能は無視できる大きさであった。

(2) 浮遊および付着細菌の菌体量および細菌数

図-6および図-7に生物活性炭および人工軽量骨材における付着細菌および浮遊細菌の蛋白質当たりの細菌数を示した。生物活性炭付着細菌の場合、脱窒細菌、硝酸還元細菌および従属栄養細菌はそれぞれ $7.12 \times 10^4 - 3.11 \times 10^5$ MPN/mg protein, $1.31 \times 10^5 - 3.41 \times 10^5$ MPN/mg protein, $5.69 \times 10^7 - 7.78 \times 10^7$ CFU/mg protein

であり、人工軽量骨材の付着細菌の場合は、それぞれ $6.92 \times 10^4 - 3.14 \times 10^5$ MPN/mg protein, $1.34 \times 10^5 - 8.75 \times 10^5$ MPN/mg protein, $5.27 \times 10^7 - 7.64 \times 10^7$ CFU/mg proteinの範囲でEBCTによる蛋白質当たりの細菌数の差は見られなかった。また、図-2に示したように活性炭および人工軽量骨材の1g当たりの付着細菌量がほぼ同一であったことから、定常状態における活性炭および人工軽量骨材の1g当たりの付着細菌数はほぼ同一である。

一方、浮遊細菌の場合、蛋白質当たりの従属栄養細菌数は人工軽量骨材の方が活性炭よりやや高い値を示しているが、脱窒細菌および硝酸還元細菌には生物付着担体の違いによる差はほとんど見い出されなかった。

これらは、浄水処置における砂ろ過と生物活性炭の処理特性を調べた結果、担体による付着細菌数には違いないと報告した黒沢らの結果と一致した¹¹⁾。しかし、活性炭の広い表面積、空隙、不規則な表面構造が水理学的挾断力から付着微生物を保護し、多量の付着微生物量を維持することが可能であると推察したFoxら²⁰⁾およびGardnerら⁴⁾の結果とは異なった。

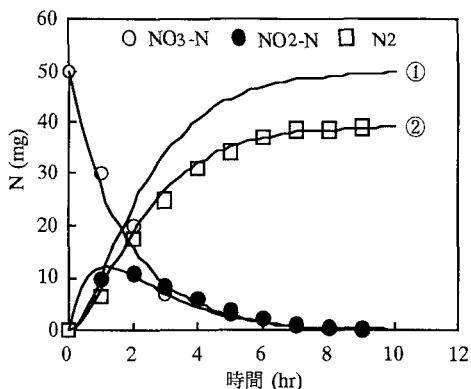


図-8 生物活性炭付着細菌による脱窒反応における窒素形態の経時変化

(3) 脱窒反応の動力学的解析

脱窒反応の代謝経路は $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ であると知られている。有機炭素が十分に存在する場合、脱窒反応は窒素濃度に対して0次反応であると報告されている²¹⁾。しかし、矢野ら²²⁾によると酢酸ナトリウムを脱窒の有機炭素源として用いた結果、亜硝酸還元反応および硝酸還元反応は一次反応であったが、全脱窒反応は最適C/Nであれば0次反応であると報告している。また、生物膜プロセスにおいては、脱窒反応が生物膜特性によって異なり、Vossoughiら²³⁾によると、流動床反応槽を用い亜硝酸性窒素の脱窒を行った結果、脱窒反応が1次反応であると報告し、Harremoes²⁴⁾は厚い生物膜における脱窒反応は1/2次反応であると報告した。

実際に定量した NO_3^- , NO_2^- , N_2 のみを考慮し、それぞれ0次反応および1次反応に対して解析を行った結果、実測値と計算値との残差平方和は、各々24-78, 15-26の範囲で、本実験の条件では脱窒反応が1次反応に近いと考えられた。このため、各段階の反応が硝酸あるいは亜硝酸性窒素濃度に対して1次反応で進行すると仮定することで、脱窒反応を式(4), (5)で表した。

$$C_1 = C_{10} \exp(-U_1 X t) \quad (4)$$

$$C_2 = C_{20} \exp(-U_2 X t)$$

$$+ C_{10} \frac{U_1}{U_2 - U_1} [\exp(-U_1 X t) - \exp(-U_2 X t)] \quad (5)$$

ここで X : 付着細菌量 (mg protein), C_1 および C_{10} はそれぞれ時間 t および初期の硝酸性窒素の濃度 (mg/L), C_2 および C_{20} はそれぞれ時間 t および最初の亜硝酸性窒素の濃度 (mg/L) である。また、 U_1 および U_2 はそれ

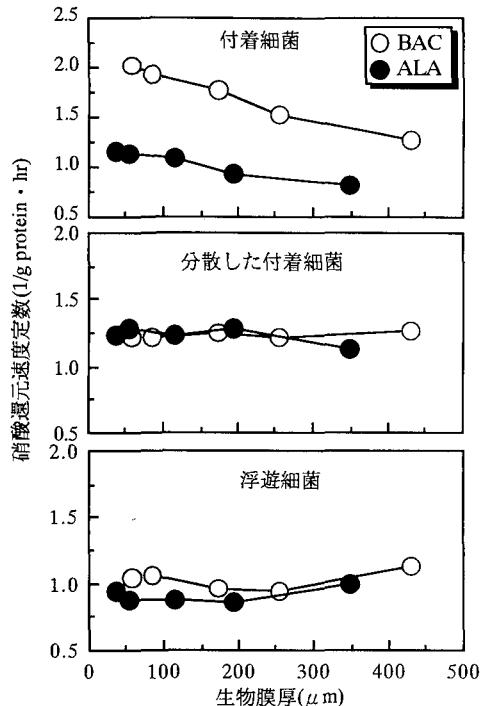


図-9 各担体における硝酸還元速度に及ぼす細菌の存在形態及び生物膜厚さの影響

それ硝酸還元速度定数および亜硝酸還元速度定数 (1/g protein /hr) である。EBCT20分の活性炭付着細菌に対する回分脱窒反応の実験結果を、1次反応仮定に従って解析した結果を図-8に示した。ここで N_2 の場合、反応式(4), (5)から求めた N_2 生成量は線①に示し、生体合成に用いられる窒素を考慮した場合は線②に示した。この結果、実測された N_2 発生量は生体合成に用いられた窒素を計算に含めた場合の結果とよく一致した。

(4) 吸着能が脱窒反応速度に及ぼす影響

図-9 および図-10に(3)の動力学的解析方法に従って定常状態になった各EBCTにおける存在形態別脱窒反応速度定数を示した。浮遊細菌の場合、担体およびEBCTの違いによる硝酸および亜硝酸還元速度の差はほとんど見られなく、硝酸還元速度は 0.95-1.13(1/g protein · hr), 亜硝酸還元速度は 2.49-2.68(1/g protein · hr) の範囲であった。

一方、生物膜付着状態の場合、硝酸還元反応および亜硝酸還元反応両方とも EBCT および担体の違いによって大きい差が見られた。活性炭および人工軽量骨材両方とも、EBCTが短いほど硝酸および亜硝酸還元速度が低下することが見い出され、活性炭を用いた場合、EBCT5 分(生物膜厚 ; 430 μ m)の硝酸および

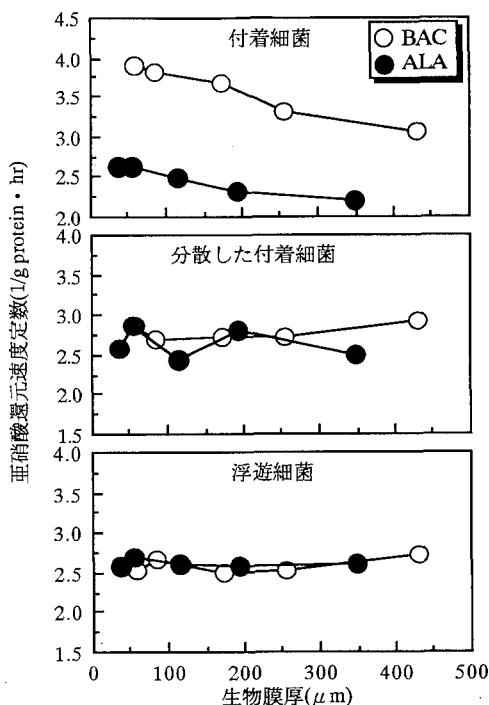


図-10 各担体における亜硝酸還元速度に及ぼす細菌の存在形態及び生物膜厚さの影響

亜硝酸還元速度はそれぞれEBCT60分(生物膜厚; 57 μm)の63%および78%であり、人工軽量骨材を用いた場合は、EBCT5分(生物膜厚; 350 μm)の硝酸および亜硝酸還元速度はEBCT60分(生物膜厚; 37 μm)のそれぞれ71%および84%であった。このように生物膜が厚くなるほど脱窒活性が低下する原因としては、人工軽量骨材の場合は生物膜が厚くなるほど生物膜内部の非活性な脱窒細菌が多くなるためであると考えられるが、生物活性炭の場合は、生物膜が厚いほど吸着能や吸着速度の低下による活性炭表面の有機炭素濃度が低下すること及び生物膜が厚くなるほど活性炭と生物膜間の相互作用がなくなり、吸着された基質の有効性が失われること³¹⁾も影響していたと考えられる。

また、付着生物膜の脱離状態および浮遊状態の場合、担体の違いによる差はほとんど見られなかったが、付着状態の場合、活性炭付着細菌の硝酸および亜硝酸還元速度は人工軽量骨材付着細菌の1.64倍および1.45倍であり、生物活性炭反応槽の浮遊細菌および脱離した付着細菌より高かった。

これらの結果から、サッカロースのような阻害性のない基質を用いた場合、活性炭の吸着能は活性炭から脱離した細菌の活性には影響を及ぼさず、活性炭に付着した細菌のみの活性を増大させることが明らかになった。

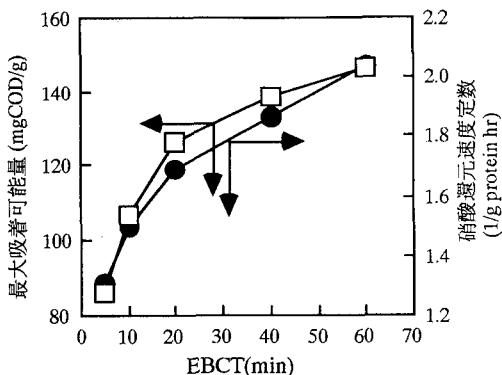


図-11 生物活性炭における最大吸着可能量と硝酸還元速度定数の関係

活性炭付着細菌の脱窒活性が高い原因としては、第一に同一反応槽の付着細菌と浮遊性細菌の種類が異なり付着細菌の脱窒活性が高いことが考えられる。しかし、本研究では、付着した生物膜を脱離させた状態では脱窒活性の増大が見られなかったことから、この理由は妥当ではない。第二の理由として、活性炭の有機物吸着能が脱窒活性向上に関与していることが考えられる。ここで、回分脱窒活性実験の各バルク濃度から生物活性炭の吸着等温式を用いて計算した最大吸着可能量と脱窒活性(硝酸還元活性)との関係を図-11に示した。EBCTの増加に伴い、最大吸着可能濃度および硝酸還元活性は同様な傾向で増大しており、活性炭の持つ有機物吸着能が脱窒活性向上に関与していることが推察された。

(5)生物活性炭における付着細菌の活性向上に関する考察

生物活性炭における活性炭の吸着能が細菌活性に及ぼす影響については、多くの研究が行われてきた。Liら⁹⁾は活性炭と石炭および砂の比較実験を行った結果、活性炭付着細菌の比増殖速度および有機物分解活性は他の付着細菌に比べて、それぞれ2倍、および1.4-2.7倍の高い値を示したと報告した。また、西嶋ら²⁵⁾は予め流入水で吸着平衡に達した活性炭およびアンスラサイトを担体にした流動床反応槽を用い、フェノール、安息香酸、グルコース、m-アミノ安息香酸の処理特性を検討した結果、両方の反応槽の付着細菌数および細菌相は同様であったにも関わらず、活性炭反応槽における安息香酸、グルコース、フェノールの除去率が増大し、特に、フェノールの場合、活性炭反応槽の分解速度がアンスラサイトに比べて約3倍高く、付着細菌の増殖速度も活性炭反応槽が高かったと報告し、これらの原因は活性炭反応槽細菌の有機物分解活性の

向上によるものと結論した。

一方、吸着性が低いグルコース²⁶⁾および染色廃水²⁷⁾を基質とした場合も有機物の除去率が他の担体あるいは担体を投入しなかった場合と比べるとはるかに高かったとする報告もなされている。

また、Ehrhardtら²⁸⁾はフェノールが活性炭に吸着することでバルクのフェノール濃度の低下をもたらすことによって細菌に対するフェノールの毒性が緩和されることで浮遊性細菌の活性が維持されたと推察したが、生物活性炭における付着細菌の生物活性の増大を否定した報告も數多くなされている^{5), 14), 15)}。また、Nishijimaら³⁰⁾によると、易分解性基質の場合、基質の吸着性は微生物活性には影響を及ぼさなかったと報告されている。

このように担体の吸着能が微生物活性に及ぼす影響は対象有機物の吸着性および生物分解性によって異なり、また、同一基質においても生物活性向上効果を否定する報告もあり、さらに生物活性の向上の原因の推察も異なるため、活性炭の吸着能がどのように微生物活性に関与するかについては十分な検討がなされているとは言い難い。

研究者によって生物活性炭への付着細菌の活性に対する結果や推察などが異なることに対して、西嶋ら³¹⁾は付着生物膜の厚さが関係していると推察している。即ち、活性向上を認めた研究は生物膜が薄い流動床を用いた場合が多く、活性向上を否定した研究は生物膜が厚い固定床¹³⁾、あるいは流動床¹⁴⁾を用いた場合が多いことから、生物膜が厚くなると、活性炭と生物膜間の相互作用がなくなり、吸着されている基質の有効性が失われることが原因であると推察した。

しかし、生物活性炭の吸着能が付着細菌の活性に及ぼす影響が異なる原因の一つには、実験上の問題も含まれていると考えられる。生物活性炭の付着細菌量の測定が困難であることから、反応槽全体の除去率の比較から活性炭の付着微生物の活性を評価することが多い^{4), 7)}。また、生物活性炭の吸着能が付着細菌の活性増大の原因であるとすれば、付着生物膜の特性(生物膜の密度、生物膜の厚さ)によって生物活性炭の吸着特性は大きく影響を受けるため、付着生物膜の形態保存下での活性実験が重要である。しかし、生物膜付着状態の活性炭に対する活性実験において、実験方法によっては生物膜の脱離あるいは生物膜の形態の変化が起きてしまうため、活性炭付着細菌の正確な活性評価は困難である。

活性炭の吸着作用による活性炭表面の基質濃度の増大が付着細菌の活性向上の原因であることを明確にすることには、同様な付着細菌を用いて活性炭に付着している状態と脱離された状態との比較も必要であり、

また、浮遊細菌に対しても同時に比較検討を行う必要があると考えられる。この比較を行わない場合、付着細菌の活性向上が付着細菌と浮遊細菌の種類の違いによるものか、あるいは活性炭の吸着作用によるものかを明確にすることが困難である^{5), 14), 25), 28), 30)}。

本研究では定常状態に達した生物活性炭および人工軽量骨材を用い、生物膜が脱離しないように流動床回分脱窒活性実験を行い、細菌の存在形態別の脱窒活性の評価を行った結果、阻害性がなく易分解性であるサッカロースを炭素源とした場合、細菌は生物活性炭の外表面に付着することによって脱窒活性が向上することが明らかになった。その原因として、付着細菌と浮遊性細菌の種類の違いによって脱窒活性が異なるのではなく、活性炭の持つ有機物吸着能が脱窒活性向上に関与していることが示された。

4. 結論

1) 定常状態における生物活性炭の吸着能は新活性炭の80.0-81.2%(バルク濃度範囲; 1-1000mg/L)であり、吸着速度は新活性炭の48.3%であった。また、生物活性炭においても生物膜が厚いほど吸着能及び吸着速度が低下して、EBCT5分(生物膜厚さ; 430 μm)の生物活性炭の吸着能および吸着速度はEBCT60(生物膜厚さ; 57 μm)に比べ、それぞれ59-63% (バルク濃度範囲; 1-1000mg/L), 16.1%であった。

2) 同一EBCTにおける人工軽量骨材および活性炭1g当たりの付着細菌量はほぼ等しく、また付着細菌量(蛋白質量)当りの細菌数はEBCTや担体に関係なくほぼ一定であった。生物活性炭付着細菌の場合、脱窒細菌、硝酸還元細菌および従属栄養性細菌はそれぞれ $7.12 \times 10^4 - 3.11 \times 10^5$ MPN/mg protein, $1.31 \times 10^5 - 3.41 \times 10^5$ MPN/mg protein, $5.69 \times 10^7 - 7.78 \times 10^7$ CFU/mg proteinであり、人工軽量骨材の付着細菌の場合は、それぞれ $6.92 \times 10^4 - 3.14 \times 10^5$ MPN/mg protein, $1.34 \times 10^5 - 8.75 \times 10^5$ MPN/mg protein, $5.27 \times 10^7 - 7.64 \times 10^7$ CFU/mg proteinの範囲であった。

3) 脱窒反応における硝酸および亜硝酸還元反応は一次反応で表わすことが可能であり、全てのEBCTにおいて亜硝酸還元速度は硝酸還元速度の約2倍であった。

4) 活性炭および人工軽量骨材への細菌の付着量や蛋白質当りの細菌数がほぼ等しいにも関わらず、活性炭付着細菌の硝酸および亜硝酸還元速度は人工軽量骨材のそれぞれ1.64倍、1.45倍であった。また、同一の生物活性炭反応槽の中でも付着状態の細菌の脱窒活性が浮遊性細菌および脱離された付着細菌より常に高かった。

参考文献

- 1) 黒沢義乗, 真柄泰基, 武藤暢夫: 生物活性炭による有機性汚染物質の除去, 水質汚濁研究, 第11巻, pp.590-598, 1988.
- 2) Narathanan, B., Suidan, M. T., Gelderloos, A. B. and Brenner, R. C. : Treatment of semivolatile compounds in high strength wastes using an anaerobic expanded-bed GAC reactor, Water Research, Vol.27, pp.171-180, 1993.
- 3) Ying, W. C. and Weber, W. J. Jr. : Bio-physiochemical adsorption model systems for wastewater treatment, Jr. WPCF., Vol.51, pp.2661-2677, 1979.
- 4) Gardner, D. A., Suidan, M. T. and Kobayashi, H. A. : Role of GAC surface activity and particle size during the fluidized-bed anaerobic treatment of refinery sour water stripper bottoms, Jr. WPCF., Vol.60, pp.505-513, 1988.
- 5) Jonge, R. J. de, Breure, A. M. and Andel, J. G. van : Enhanced biodegradation of o-cresol by activated sludge in the presence of powdered activated carbon, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol.34, pp.683-687, 1991.
- 6) Speitel, G. E. Jr. and DiGiano, F. A. : The bioregeneration of GAC used to treat micropollutants, Jr. AWWA., Vol.79, pp.64-73, 1987.
- 7) Khan, A. K., Suidan, M. T. and Cross, W. H. : Role of Surface Active Media in Anaerobic Filters, Jr. Environ. Eng., Vol.108, pp.269-285, 1982.
- 8) Morsens, A. and Rehm, H. J. : Degradation of phenol by a mixed culture of *Pseudomonas putida* and *Cryptococcus elinovii* adsorbed on activated carbon, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol.26, pp.283-288, 1987.
- 9) Li, A. Y. L. and DiGiano, F. A. : Availability of sorbed substrate for microbial degradation on activated carbon, Jr. WPCF., Vol.55, pp.392-399, 1983.
- 10) Flynn, B. P. : A model for the powdered activated carbon-activated sludge treatment system, Proc. 30th Ind. Waste. conf., pp.233-252, 1975.
- 11) Chao, Y. M., Yeh, T. F. and Shieh, W. K. : PAC-activated sludge treatment of a steel mill coke-plant wastewater, Jr. WPCF., Vol.58, pp.333-338, 1986.
- 12) Nayar, S. C. and Sylvester, N. D. : Control of phenol in biological reactors by addition of powdered activated carbon, Water Research, Vol.13, pp.201-205, 1979.
- 13) Zhang, X. J., Wang, Z. S. and Gu, X. S. : Simple combination of biodegradation and carbon adsorption - The mechanism of the biological activated carbon process, Water Research, Vol.25, pp.165-172, 1991.
- 14) Voice, T. C., Pak, D., Zhao, X., Shi, J. and Hickey, R. F. : Biological activated carbon in fluidized bed reactors for the treatment of groundwater contaminated with volatile aromatic hydrocarbons, Water Research, Vol.26, pp.1389-1401, 1992.
- 15) Scaramelli, A. B. and DiGiano, F. A. : Upgrading the activated sludge system by addition of powdered activated carbon, Wat. Sewage Works, 120, 90-94, 1973.
- 16) 金 周永, 稲森悠平, 杉浦則夫, 高木博夫, 須藤隆一: 細菌類の活性炭に対する親和性および生物活性炭による基質の除去特性, 水環境学会誌, 第 16 卷, pp.202-208, 1993.
- 17) 土壌微生物実験法: 土壌微生物研究会編, 養賢堂, 1975.
- 18) 金 徳鎮, 宮原高志, 野池達也: 脱窒工程における生物活性炭の吸着および生物再生, 環境工学研究論文集, 第 33 卷, pp.115-121, 1996.
- 19) Kindzierski, W. B., Gray, M. R., Fedorak, P. M. and Hruedy, S. E. : Activated carbon and synthetic resins as Support material for methanogenic phenoldegrading consortia-comparision of surface characteristics and initial colonization, Wat. Environ. Res., Vol.64, pp.766-775, 1992.
- 20) Fox, P., Suidan, M. T. and Bandy, J. T. : A comparsion of media types in acetate fed expended-bed anaerobic reactors, Water Research, Vol.24, pp.827-835, 1990.
- 21) Cecen, F. and Gonenc, I. E. : Criteria for nitrification and denitrification of high-strength wastes in two upflow submerged filters, Wat. Environ. Res., Vol.67, pp.132-142, 1995.
- 22) 矢野正孝, 保利 一, 古賀 実, 田中勇武, 秋山高: 生物膜流動層による脱窒処理—酢酸ナトリウムを用いた場合, 水質汚濁研究, 第 12 卷, pp.53-58, 1989.
- 23) Vossoughi, M., Laroche, M., Navarro, J. M., Faup, G. and Leprince, A. : Continuous denitrification by immobilized cells, Water Research, Vol.16, pp.995-1002, 1982.
- 24) Harremoës, P. : The significance of pore diffusion to filter denitrification, Jr. WPCF., Vol.48, pp.377-388, 1976.
- 25) 西嶋涉, 東条光峰, 岡田光正, 村上昭彦: 生物活性炭による低濃度有機化合物の分解除去, 水環境学会誌, 第 15 卷, pp.683-689, 1992.
- 26) Sundström, D. W., Klei, H. E., Tsui, T. and Nayar, S. : Response of biological reactors to the addition of powdered activated carbon, Water Research, Vol.13, pp.1225-1231, 1979.
- 27) Perrotti, A. E. and Rodman, C. A. : Factors involves with biological regeneration of activated carbon, AIChE Symp. Ser., Vol.144, pp.316-325, 1974.
- 28) Ehrhardt, H. M. and Rehm, H. J. : Semicontinuous and continuous degradation of phenol by *Pseudomonas putida* P8 adsorbed on activated carbon, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol.30, pp.312-317, 1989.
- 29) Weber, W. J., Jones, J. E. and Katz, L. E. : Fate of toxic organic compounds in activated sludge and integrated PAC systems, Wat. Sci. Tech., Vol.19, pp.471-482, 1987.
- 30) Nishijima, W., Tojo, M., Okada, M. and Murakami, A. : Biodegradation of organic substances by biological activated carbon-simulation of bacterial activity on granular activated carbon, Wat. Sci. Tech., Vol.26, pp.2031-2034, 1992.
- 31) 西嶋涉, 岡田光正: 生物活性炭における付着細菌の役割, 用水と廃水, 第 35 卷, pp.703-711, 1993.

(1997. 3. 11 受付)

ACTIVITY OF DENITRIFYING BACTERIA ON THE BIOLOGICAL ACTIVATED CARBON

Duk-Jin KIM, Takashi MIYAHARA and Tatsuya NOIKE

The improvement of biological activity on biological activated carbon (BAC) were investigated using denitrifying fluidized bed reactors. Saccharose were used as a source of organic carbon. To estimate the effect of adsorption capacity of media on denitrification activity, artificial light aggregate (ALA) was used as a non-adsorptive media. There were no significant difference between BAC and ALA in nitrate and nitrite reduction rate of suspended biomass and detached biofilm from media. But the nitrate and nitrite reduction rates of attached biomass on BAC were 1.64 and 1.45 times higher than those of ALA, though there are not a significant differences between BAC and ALA in attached biomass and number of denitrifying bacteria. These results indicate that bio-activity of attached biomass on BAC were improved by adsorption capacity of BAC.