

(19) 阿武隈川におけるよども部底質による窒素系自浄作用機構について

SELF-PURIFICATION PROCESS OF NITROGEN BY STAGNATING ORGANISMS
ON THE RIVER BED OF ABUKUMA RIVER

高橋幸彦^{*}・中村玄正^{*}・松本順一郎^{*}

Yukihiko Takahashi^{*}, Michimasa Nakamura^{*}, Jun'ichiro Matsumoto^{*}

ABSTRACT: Our previous investigation had revealed various interesting aspects on tiny air bubbles found on the Abukuma river bed.¹⁾ The gas composition of the tiny bubbles were 99.8% of nitrogen, and it had been concluded that the river had been undergoing self-purification process of nitrogen. For the purpose of better evaluations of the microorganism activities related with nitrogen on the river bed, field research was carried out for two months from March to April 1995. On the other hand, we carried out batch tests with bed biofilms taken from the Abukuma river in which the initial $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ concentration were adjusted as 10mg/l. In the tests, we found that the biofilms supplied the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ when the bacterial activities were low. In this report, we revealed the relationship between bacterial activities and nitrification and denitrification rate on the river bed.

KEYWORDS: nitrogen gas, bacterial activity, nitrification and denitrification

1. はじめに

前報で筆者ら¹⁾は、河川底質による窒素系自浄作用機構について着目し、底質を構成する生物膜を含む底泥と各態窒素の変化、さらに水質に關与する細菌相の關係を検討した。阿武隈川中流のよども部では、一年を通して底質表面上に『気泡』が確認され、その『気泡』の主成分は窒素であることが確認されており、これらの気泡群は底質による脱窒によって生じた窒素ガスと推定される。呉ら³⁾は自然浄化機能としての野川における脱窒過程の役割を研究している。古米ら⁴⁾は沼沼川における河床生物膜の成長と硝化活性について研究している。川島ら⁵⁾は付着性生物膜による脱窒速度を主に支配するものは、生物膜における溶存物質の拡散速度と脱窒菌の単位体積あたりの存在密度であると報告している。Nakajima⁷⁾、Hill⁸⁾は好氣的な河川環境においても、懸濁粒子内部あるいは河床堆積物中の微小嫌気領域において脱窒過程が進行することを明らかにしている。本研究では、窒素系自浄作用の機構解明の一連の研究として、主に河床生物膜の成長と硝化、脱窒活性について検討しようとするものであり、底質表面に存在する硝化細菌、脱窒細菌の反応速度を決定することによって、生物膜の硝化、脱窒活性をより一層定量化することを目的としている。

2. 河川底質の状況

2.1 調査地点の状況

(1) 調査地点と状況

調査地点は、那須連峰旭岳に発する源より約100km下流地点の郡山市内日出山橋(図-1)であり、1993年5月から1995年4月の間毎週1回水質調査を行った。

(2) 調査地点の状況

阿武隈川上流部の白河市等の市町村は下水道事業に着手してからの日が浅く、中流部に位置する郡山市は下水道整備が進みつつある状態である。このため流域内の地点によっては生活雑排水、畜産排水等の影響によるBOD、全窒素、アンモニア性窒素、硝酸性窒素などが高い。2年間の調査地点の平均的水質分析結果を表-1に示す。

2.2 実験方法

(1) 現地調査

昨年¹⁾の報告では、阿武隈川における河川底質による窒素とその変化に關与する硝化細菌、脱窒細菌について実験的に検討を進め、阿武隈川の水質特性と比較検討した。今回はことによども部底質による窒素

^{*} 日本大学工学部土木工学科 (Dept. of Civil Engineering, College of Engineering, Nihon Univ.)

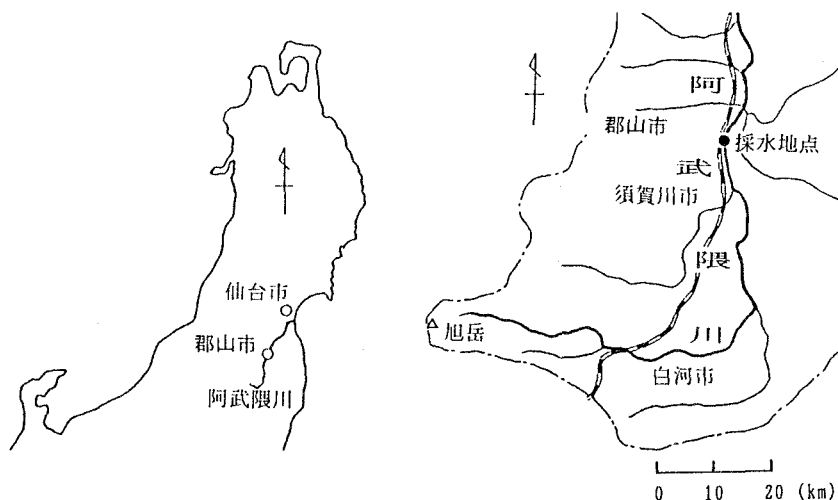


図-1 調査地点

系自浄作用の機構を解明することを目的として、現地よどみ部の底質層の深さ方向での河床生物膜の成長と総括的ではあるが見かけの硝化、脱窒活性について実験的検討を進めている。

(2) 実験・分析方法

調査地点で、よどみ部の気泡が付着している茶褐色の河床部を対象として、底質を採取した。この時底質層の表面に近い部分での茶褐色生物膜の厚さは6mm前後であった。採取は長さ20cm、幅15cm、厚さ3mmの硬質透明塩化ビニル板を用いて、底質層を乱さないように長さ15cm、幅15cm、厚さ8cmを採取して原試料とした。

a) 底質層のふるい分け試験

底質層の深さ方向の粒径分布をふるい分け試験で測定した。気泡の付着した茶褐色底質表面

の底質層を深さ方向0～5mmで長さ3.0cm、幅3.0cm、次の深さ5～10mmで長さ3.0cm、幅3.0cm、続いての深さ10～15mmで長さ3.0cm、幅3.0cm、15～20mmで長さ3.0cm、幅3.0cmを採取し、これをふるい目0.001mm～2.00mmの粒径に分類した。この底質層と蒸留水200mlの混合液をスターラーで緩速攪拌し、ふるい目0.074mm以下の粒径に関しては1μmの濾過材上に残留するものと、ふるい目0.074mm以上の粒径に関してはふるい分け試験により調べた。

b) 底質層のSSおよびVSS、各態窒素量、各種細菌数

底質層の深さ方向による底質中のSSおよびVSS、各態窒素量、各種細菌数等の変化を調べるために、500mlのビーカーを準備しこれにふるい分け試験同様底質採取時の一部分長さ1.5cm、幅1.5cm、厚さ5mmで採取し、蒸留水200mlに加え、スターラーで30分間緩速攪拌した。各底質層での生物膜内の細菌構成をみるためにアンモニア酸化細菌培地、亜硝酸酸化細菌培地、GILTAYの培地(脱窒細菌)、桜井の培地(好気性従属栄養細菌)を用いて培養を行い、MPN法⁹⁾で菌数を測定し1gSS中の菌数として求めた。また底質中の硝化細菌、脱窒細菌の成長過程に必要なと考えられる底質中のアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素、全窒素の存在量を知るために水質分析を行い1gSS中の存在量として求めた。底質中の各態窒素の分析は、アンモニア性窒素(インドフェノール法)、亜硝酸性窒素(スルファニルアミド・ナフチルエチレンジアミン法)、硝酸性窒素(ブルシンスルファニル酸法)、T-N(紫外外部吸光度法)について、上水試験方法¹⁰⁾に準じて行った。

表-1 阿武隈川日出山橋地点の主な水質

	平成6年	平成6年
流量 (m ³ /sec)	19.2 ~ 1289.3 (136.9)	15.0 ~ 339.7 (57.2)
水温 (°C)	1.0 ~ 26.2 (11.1)	1.2 ~ 31.6 (17.9)
透明度 (cm)	1.7 ~ 98.1 (42.6)	8.0 ~ 100.0 (51.9)
pH (-)	6.7 ~ 9.3 (7.5)	6.8 ~ 8.8 (7.7)
ORP (mv)	59 ~ 526 (264)	134 ~ 418 (318)
DO (mg/l)	6.4 ~ 16.1 (10.8)	7.2 ~ 14.4 (10.1)
ROD (mg/l)	1.1 ~ 7.0 (3.7)	1.1 ~ 9.3 (3.7)
COD (mg/l)	1.7 ~ 19.5 (5.5)	1.9 ~ 14.4 (4.4)
NH ₄ -N (mg/l)	0.00 ~ 0.63 (0.26)	0.10 ~ 3.03 (0.57)
NO ₂ -N (mg/l)	0.01 ~ 0.20 (0.05)	0.01 ~ 0.13 (0.06)
NO ₃ -N (mg/l)	0.63 ~ 2.12 (1.40)	0.13 ~ 1.74 (0.87)
T-N (mg/l)	1.52 ~ 6.45 (2.22)	0.95 ~ 4.68 (1.86)
PO ₄ -P (mg/l)	0.00 ~ 0.35 (0.06)	0.00 ~ 0.37 (0.02)
T-P (mg/l)	0.00 ~ 0.81 (0.18)	0.00 ~ 0.31 (0.03)
SS (mg/l)	0.0 ~ 210.0 (34.7)	0.0 ~ 222.0 (22.2)
VSS (mg/l)	0.0 ~ 40.0 (8.1)	0.0 ~ 44.0 (6.5)
Chl-a (μg/l)	2.1 ~ 176.1 (19.4)	0.0 ~ 37.9 (8.7)

()内の値は平均値 データ数 70

2.3 結果と考察

(1) 対象底質の状況

阿武隈川での対象地点での流れの緩やかなよどみ部底質表面を観察すると底凹部に生物膜らしき茶褐色の膜が多くみられ、この膜に抱かれるように気泡群が多数付着していた。この『気泡』はピーカーの開口部を下側に向けて気泡付着河床の上側に水没させ、気泡群をガラス棒で河床より強制剝離させて水上置換し、これを試験管に移して密閉して、実験室に持ち帰り、TCDガスクロマトグラフィーでガス組成を調べた。ガス組成割合は平均して N_2 :99.8%、 CO_2 :0.1%、 H_2 :0.1%であった。このことから底質表面に付着する気泡の主成分は、脱窒によって生じた窒素ガスと推定された。

(2) 底質層での通過乾燥試料質量

細菌群は、底質表面や底質の間隙に有機物とともに存在すると考えられるので、間隙の割合は底質を構成する粒径に大きく支配されるものと考えられる。そこでふるい分け試験を行った。図-2に底質層での通過乾燥試料質量の変化を示す。深さ方向0～5mmでふるい目0.074mm以下では0.89g存在しており、深さ方向5～10mmでは0.15g、深さ方向10～15mmでは0.02g、深さ方向15～20mmでは0.08gであった。このことは、深さ方向0～5mmにおいて有機物や各種細菌が多く含まれていると推測され、硝化-脱窒が速やかに進行すると推測される。気泡の付着した生物膜は茶褐色を呈しており、その厚さは6mm前後であった。また気泡の付着していない茶褐色を呈する生物膜厚は2mm前後であった。

(3) 底質層のVSSおよびVSS/SS

図-3に底質層のVSSおよびVSS/SSを示す。なおここでのSSは底質砂粒子間隙中のSSを考えているものであり、分析上ピペットで吸える100 μ m程度より小さいものである。深さ方向0～5mmでは0.020gVSS/cm²、5～10mmでは0.004gVSS/cm²、10～15mmでは0.001gVSS/cm²、15～20mmでは0.001gVSS/cm²であり、上記と同様深さ方向0～5mmにおいて有機物の存在割合が大きいことが確認された。また深さ方向10～15mmでVSS/SS値が0.38と高い。これはこの部位では100 μ mより大きい砂が多いため微細SSは少なく、SSが0.003gSS/cm²と小さいことによるものであり、相対的に微細SSが小さいとVSSは高くなる傾向がみられる。

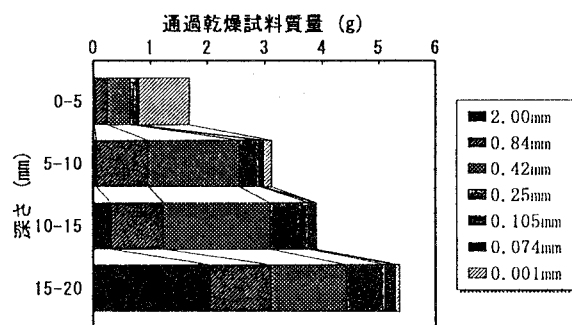


図-2 底質層での通過乾燥試料質量の変化

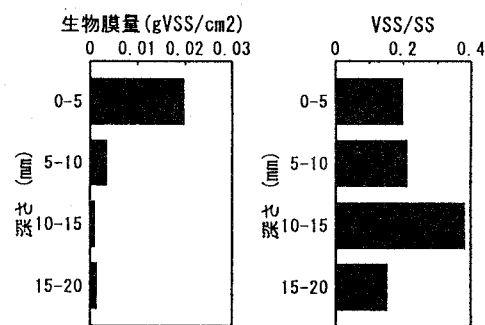


図-3 底質層のVSSおよびVSS/SS

(4) 底質層gSS当りの窒素量および各種細菌数

底質中の窒素量や各種細菌数は底質表面や底質の間隙に存在すると考えられるので底質を構成する粒径に大きく支配されるものと考えられる。一方底質中の NH_4^+-N や NO_3^--N などの窒素は間隙水中及び土粒子と静電引力によって吸着されていると考えられるので、採取した底質を蒸留水200mlに加えスターラーで攪拌して、脱着した窒素を懸濁液の液相側に存在する量から求めて、底質層中の窒素量とした。

図-4に底質層の窒素量を示す。ここでの窒素量は各底質層1cm³当りに存在する窒素量である。いずれの深さにおいても、アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素はほとんどみられない。一方硝酸性窒素は、底質層0～5mmで0.42mg/cm³と高い。5～10mmで0.12mg/cm³、10～15mmで0.05mg/cm³、15～20mmで0.07mg/cm³であった。また有機性窒素は、底質層0～5mmで1.64mg/cm³と極めて高い。5～10mmで0.16mg/cm³、10～15mmで0.01mg/cm³、15～20mmで0.04mg/cm³であった。ことに底質層0～5mmでは全窒素に占める有機性窒素の割合が高いことから、有機物が多く含まれていると考えられる。

図-5に底質層gSS当りの窒素量を示す。深さ方向に関係なくアンモニア性窒素は、0.00～0.17mg/gSSと少ない。一方亜硝酸性窒素はほとんどみられない。硝酸性窒素は0～5mmで2.12mg/gSS、5～10mmで3.38mg/gSSであり、10～15mmで10.27mg/gSS、15～20mmで3.63mg/gSSであった。これはことに深さ方向0～10mmで脱窒作用が盛んに行われているためだと考えられる。底質層の0～10mmでは、T-Nに占める各態窒素量の割合が小さく、これは有機物や細菌が多く含まれているために、有機性窒素の割合が大きくなったものと推測さ

れる。一方深さ方向10～20mmでは、有機性窒素の割合が小さいため脱窒作用が速やかに進行せず、10～15mmでは硝酸性窒素が10.27mg/gSS存在したと考えられる。

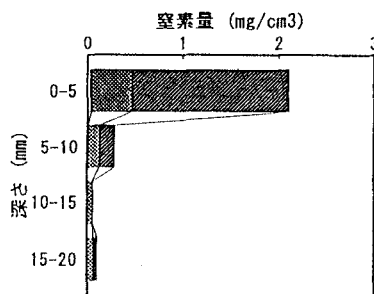


図-4 底質層の窒素量

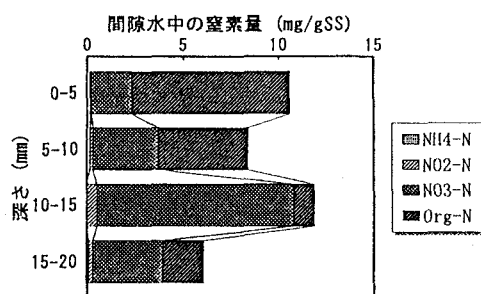


図-5 底質層gSS当りの窒素量

図-6に底質層gSS当りの各種細菌数を示す。アンモニア酸化細菌は $2.46 \times 10^5 \sim 6.58 \times 10^5$ MPN/gSS、亜硝酸酸化細菌は $1.57 \times 10^5 \sim 3.19 \times 10^6$ MPN/gSS、脱窒細菌は $2.86 \times 10^4 \sim 3.80 \times 10^5$ MPN/gSS、好気性従属栄養細菌は、 $3.58 \times 10^9 \sim 1.83 \times 10^{10}$ MPN/gSSの範囲であった。このように底質gSS当りの各種細菌数は深さ方向では、顕著な差はみられないことから、底質層の0～20mm間の生物相の変化はないものと考えられた。

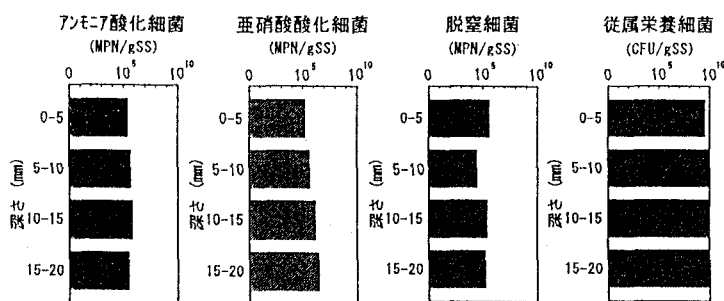


図-6 底質層gSS当りの各種細菌数

3. 底質生物相による生物活性

3.1 実験目的

底質部における窒素系自浄作用機構を明らかにするためには、硝化活性と脱窒活性を完全独立系に分離し、それぞれの活性を評価する必要がある。しかしながら阿武隈川よどみ部においては完全独立系ではなく、現象や反応が複雑に絡み合っていると考えられる。しかしこのような系でも、なおかつ硝化・脱窒現象が進行し、無数の窒素ガスが底質表面に付着発生している。本項では現場で生じている窒素系自浄作用機構を明確にしていく第一段階として底質生物膜の成長と見かけの硝化、脱窒活性について検討を行った。

3.2 実験装置と実験方法

底質中の硝化細菌、脱窒細菌による窒素の代謝等を明らかにするために、アンモニア性窒素添加試験と硝酸性窒素添加試験を行った。

a) アンモニア性窒素添加試験

アンモニア性窒素添加試験では11のピーカーに採取した底質、長さ3.0cm、幅3.0cm、厚さ5mmを静置し、これに NH_4^+-N 濃度の初期基質濃度を10mg/lに調整し、痕跡元素としてBOD希釈液用A～D液を各1ml加えた河川水1lを静かに注いだ。活性試験は、阿武隈川よどみ部（流速0.5～3.5cm/sec、BOD濃度3.7mg/l、DO濃度13mg/l、全体水深5～10cm）の状況を考慮し、曝気や攪拌を行わずに静止状態での培養を回分的に行い、濃度の経日変化を調べた。水温は20℃に制御した。

b) 硝酸性窒素添加試験

硝酸性窒素添加試験では11のピーカーに採取した底質、長さ3.0cm、幅3.0cm、厚さ5mmを静置した。水素供与体は阿武隈川河川水中のBODの炭素源を使用した。これに NO_3^--N 濃度の初期基質濃度を10mg/lに調整しBOD希釈液用A～D液を各1ml加えた河川水を1lを静かに注いだ。硝酸性窒素添加試験は、アンモニア性窒素添加試験同様曝気や攪拌を行わずに静止状態での培養を回分的に行い、濃度の経日変化を調べた。水温は20℃に制御した。

3.3 結果と考察

(1) 底質生物膜によるアンモニア性窒素添加試験

河川の窒素系自浄作用機構を解明するためには、現地底質層の単位面積当りの硝化速度、脱窒速度について検討する必要があると考えられる。二渡ら⁶⁾は、硝化反応に関わる微生物の菌体量を把握する方法に Monod の式を用い、反復回分実験による活性菌体量の推定法を用いて SS 及び底泥における硝化菌濃度を推定している。

本実験では菌体増殖が基質濃度の変化に関係する部分は小さく、基質濃度の変化は細菌の代謝によるものが支配的であると考えた。反応槽内の総括的な NH_4^+-N や NO_3^--N の増減は生物反応によるものと仮定し 1 次反応に従うものとして整理した。

$$\text{NH}_4^+-\text{N} \text{ の減少} \quad C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (1)$$

$$\text{NO}_3^--\text{N} \text{ の増加} \quad C = C_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (2)$$

ここで C : t 時間後の基質濃度、 C_0 : 初期基質濃度、 k : 見かけの反応定数

図-7 に底質生物膜によるアンモニア性窒素添加試験におけるアンモニア性窒素の経日変化を示す。気泡の付着した茶褐色底質 0~5mm では培養 1、2 日のうちにアンモニア性窒素が減少していることから硝化現象あるいは一部吸着と考えられる現象が進行していると推測される。この時硝化に伴う pH の低下がみられたものと考えられ、このため培養後 2~7 日の間ではアンモニア性窒素の減少はみられていない。その後 7 日以降脱窒現象による回復があり、再び硝化の進行によると考えられるアンモニア性窒素の減少がみられた。このような 3 段階の現象が推測されたので、それぞれに (1) 式の 1 次反応を適用したところ、見かけの反応定数 K の値は $k_1 = 0.180$ 、 $k_2 = -0.001$ 、 $k_3 = 0.057$ が得られた。その他の深さでは見かけの硝化速度より底質生物膜からのアンモニア性窒素の溶出速度が上回ったため一時、アンモニア性窒素が溶出する傾向がみられたが、その後硝化が優先的に進行した。見かけの反応定数 k の値は 5~10mm で 0.022、10~15mm で 0.027、15~20mm で 0.023 であった。

図-8 に底質生物膜によるアンモニア性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化を示す。深さ方向 0~5mm では培養 1 日のうちに硝化の進行によると考えられる硝酸性窒素の増加がみられ、その後脱窒現象によると考えられる硝酸性窒素の減少がみられた。培養後 7 日頃まで前述のアンモニア性窒素の急激な減少にもかかわらず、硝酸性窒素が 0.3mg/l 前後と低いことから、硝化と同時に脱窒が進行していると考えられる。その後 7 日頃より硝酸性窒素が生成されていることから脱窒が停止し、硝酸が蓄積されてきたものと考えられる。これより 3 段階の反応が推測されたので、それぞれに (2) 式の 1 次反応を適用したところ、見かけの反応定数 k の値は $k_1 = 0.131$ 、 $k_2 = -0.010$ 、 $k_3 = 0.024$ であった。

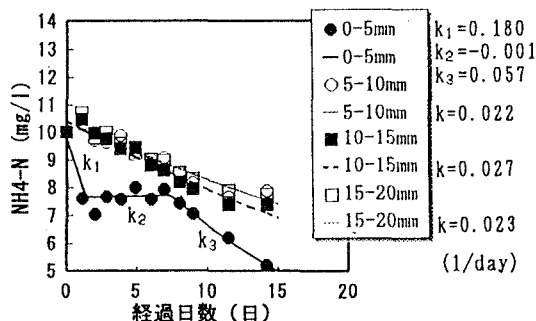


図-7 底質生物膜によるアンモニア性窒素添加試験におけるアンモニア性窒素の経日変化

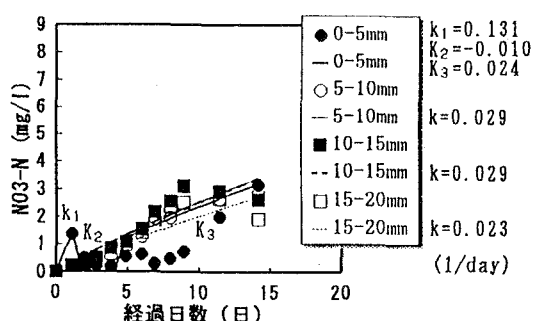


図-8 底質生物膜によるアンモニア性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化

(2) 底質生物膜による硝酸性窒素添加試験

硝酸性窒素添加試験はアンモニア性窒素添加試験と同様に、菌体増殖が基質濃度の変化に関係する部分は小さく、基質濃度の変化は細菌の代謝によるものが支配的であると考えのもとに NO_3^--N の増減は生物反応によるものと仮定し 1 次反応に従うものとして整理した。

$$\text{NO}_3^--\text{N} \text{ の増減} \quad C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (3)$$

ここで C : t 時間後の基質濃度、 C_0 : 初期基質濃度、 k : 見かけの反応定数

図-9 に底質生物膜による硝酸性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化を示す。深さ方向 10~15mm

での硝酸性窒素は、実験開始後6日目まで溶出が優先し25mg/lと高くなり、その後硝酸性窒素は低くなった。その他の深さ方向では、硝酸性窒素は5mg/l前後溶出し、その後低くなる傾向がみられた。このことから深さ方向に関係なく5～8日まで硝酸性窒素が溶出し、その後脱窒作用により硝酸性窒素は減少傾向を示したと推測される。このような2段階の現象が推測されたのでそれぞれに(3)式の1次反応を適用した。この時の見かけの反応定数 k_2 の値は0～5mmで0.031、5～10mmで0.061、10～15mmで0.030、15～20mmで0.044であった。この試験では見かけの脱窒活性は5～10mmで最も高く、図-7では0～5mmで最も見かけの脱窒活性が高いと推測されることから、見かけの脱窒活性の高い領域は茶褐色の層と対応していることがわかる。また深さ方向10～20mmの茶褐色層より深い部分での見かけの反応定数 k_2 の値は、10～15mmで0.030、15～20mmで0.044が得られた。以上より、この試験は、阿武隈川よどみ部の状況を考慮し、曝気や攪拌を行わずに静止状態での培養を行った結果、すべての深さ方向で14日目の硝酸性窒素は10mg/l以上であった。このことから河川水中の炭素源では脱窒に必要な炭素源を十分に満足することができないと考えられ、この脱窒は底質生物膜内の自己分解で行われていることが推測される。

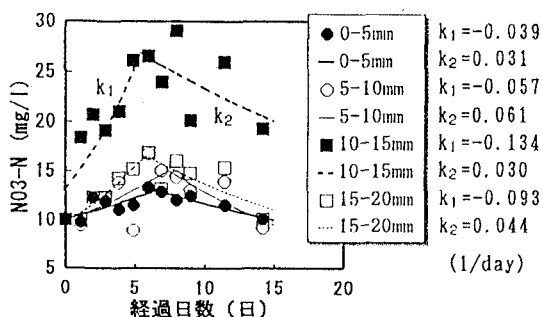


図-9 底質生物膜による硝酸性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化

4. ブロックに付着する生物膜の増殖と各種細菌について

4.1 調査地点と実験目的

井上ら²⁾は、一年間のうち生物膜の高い現存量を維持し得るのは、降雨が少なく流量が安定し、また水温の低下がまだ著しくない11月から12月に限られると報告している。このことを考慮すると、水温が7℃前後である3月から4月にかけては生物膜の現存量は少ないことが予測される。しかし阿武隈川よどみ部底質上においては冬季でも(水温1～3℃)直径5mm程度までの気泡が無数付着しているのがみられ、これは脱窒によって生じた窒素ガスと推定されることから、よどみ部底質上における硝化-脱窒現象に関する細菌活性はかなり高いと考えられる。そこで低水温時に生物膜の生成傾向や活性を確認するため、現場でブロックへの生物膜付着実験を行った。また生物膜中の硝化細菌、脱窒細菌の成長過程に必要なであると考えられるアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素、全窒素の存在量を知るために水質分析を行い1gSS中の存在量として求めた。

図-10にブロック設置地点の平面図を示す。よどみ部は低水時に郡山市日出山橋付近では左岸部にみられる。阿武隈川よどみ部の流況に関しては、底質表面の流速は0.5～3.5cm/sec、表面水の溶存酸素濃度は12mg/lであり過飽和、全体水深 5～10cmであった。底質生物膜の成長過程を検討するために、1995年3月より阿武隈川河床上に19cm×39cm×10cmの建設用ブロックを設置した。生物膜の成長過程はブロック上面に付着する生物膜の経日変化を調べ、単位面積当たりのVSS量として評価した。ブロックの設置条件は、次のとおりである。

- A点:よどみ部底質表面上に設置
- B点:よどみ部でブロック上面が底質表面と一致するように埋設
- C点:よどみ部と流心中間あたりの底質表面上に設置
- D点:流心部底質表面上に設置

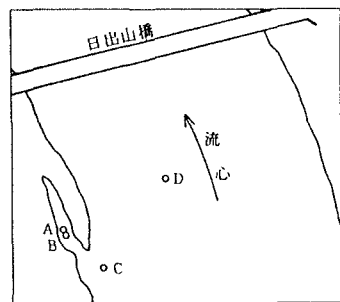


図-10 ブロック設置地点の平面図

4.2 実験方法

底質生物膜の成長を調べるためブロックを河床底質表面に設置し、ブロック上面の生物膜をブロック設置後20、30、40、50日目で採集した。これらの微生物相の細菌構成は最確値(MPN)法で調べた。手順としてブロック上面の生物膜1.5cm×1.5cmを蒸留水200mlに加え、スターラーで30分間緩速攪拌し細菌培養を行い1gSS中の菌数を求めた。

4.3 結果と考察

(1) ブロックに付着増殖する生物膜のVSS/SS

図-11にブロックに付着増殖する生物膜のVSS/SSを示す。なおここでのSSは間隙中のSSを考えているものであり、分析上ピペットで吸える100μm程度より小さいものである。ブロック上面に付着した生物膜を長さ1.5cm×幅1.5cmで剥し取りA、B、C、D地点のVSS/SS値を求め、単位面積当りの有機物の存在割合を検討した。VSS/SSはC点、D点で高い傾向が示された。よどみ部でブロック上面が底質表面と一致するように埋設したB点では40日目に生物膜量が0.046gVSS/cm²と高くなっていることから、阿武隈川よどみ部底質の生物膜中に占める有機物の割合はかなり高いと推測される。またA点、B点ではよどみ部のため、有機物の存在量も多いがそれ以上に粘土などの微粒無機物質の沈殿存在量も多いため、全体的にVSS/SSの値は小さくなると考えられる。

(2) ブロックに付着増殖する生物膜のVSS

図-12にブロックに付着増殖する生物膜のVSSを示す。ブロックを河床表面上に設置後、すべての地点で生物膜量は増加傾向を示した。なお20日目において、B点のみがブロック上面に付着する生物膜に一部茶褐色を呈するところが見られた。この時のgVSS/cm²は、A点で0.008gVSS/cm²、B点で0.006gVSS/cm²、C点で0.004gVSS/cm²、D点で0.002gVSS/cm²であった。このことからよどみ部は生物膜の剝離等の影響を受ける流心部と違い、生物膜の成長過程は順調に進行すると考えられる。またB点は、よどみ部でブロック上面が底質表面と一致するように埋設したことから、上流より流下した活性の高い細菌がブロック上面に付着し、生物膜は茶褐色を呈したと考えられる。その後40日目当りからすべての地点で生物膜が茶褐色を呈した。また45日目に降雨があったため、50日目にはすべての地点で生物膜量が減少傾向を示したが、これは生物膜が剝離したものと考えられる。この時のgVSS/cm²はA点で0.001gVSS/cm²、B点で0.021gVSS/cm²、C点で0.003gVSS/cm²、D点で0.002gVSS/cm²であった。このように底質の生物膜は降雨の有無により微生物群によって構成される生物膜の形成、剝離等があり、水質変化に及ぼす影響が多分に大きいと推測される。前述したように低水時阿武隈川底質表面凹部に茶褐色を呈する生物膜が多く見られ、微生物の活性が高く硝化-脱窒が速やかに進行することが確認された。呉ら³⁾の河床堆積物中の脱窒活性試験では、脱窒活性が高かった領域は茶褐色の層と対応していたことを報告している。このことから底質表面に付着する生物膜中の細菌活性は、20~40日で高くなるものと推測される。

(3) ブロックに付着増殖する生物膜gSS当りの細菌数および窒素量

図-13にブロックに付着増殖する生物膜gSS当りの細菌数および窒素量を示す。ブロックを底質表面に設置後20日目、40日目にブロック上の生物膜を採集し、生物膜中の生物相を調べた。アンモニア酸化細菌、

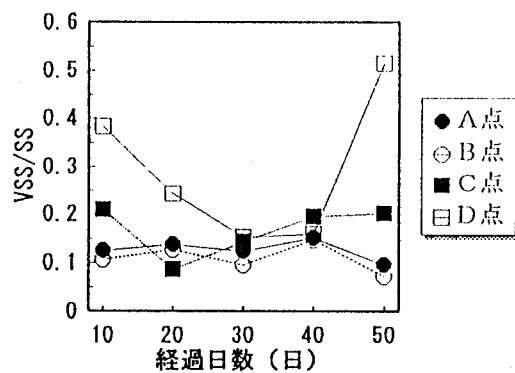


図-11 ブロックに付着増殖する生物膜のVSS/SS

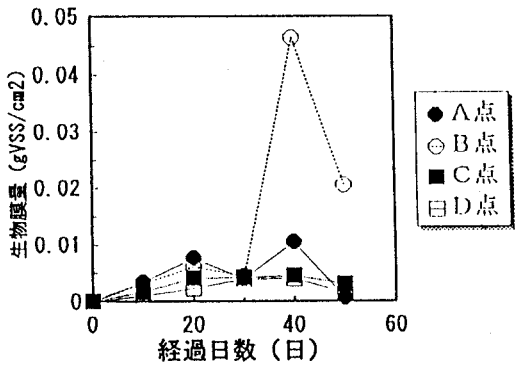


図-12 ブロックに付着増殖する生物膜のVSS

亜硝酸酸化細菌は、ブロック設置地点あるいは経過日数による影響は見られず、アンモニア酸化細菌では $10^4 \sim 10^6$ MPN/gSS、亜硝酸酸化細菌では $10^4 \sim 10^6$ MPN/gSSであった。一方脱窒細菌は20日目A点、B点、C点、D点で $10^4 \sim 10^6$ MPN/gSSであるが、40日目にC点、D点で 10^6 MPN/gSSと高くなった。好気性従属栄養細菌は、20日目に $10^7 \sim 10^9$ CFU/gSSであるが40日目は $10^8 \sim 10^{10}$ CFU/gSSと高くなった。このことから各種細菌はブロック設置後およそ20日間で増殖し生物膜を構成することが考えられる。またgSS当りの各態窒素量は、20日目、30日目には、A点、B点、C点でアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素はほとんど存在していなかったが、D点で硝酸性窒素が4.28mg/gSS存在した。これは流下するSSが硝化作用の働きで硝酸性窒素が蓄積され、ブロック上面にこのSSが付着したと推測される。40日目、50日目にA点、D点で各態窒素量が高いが、これはブロック上面に付着する生物膜のgSS/cm²値がA点で0.006g/cm²、D点で0.003g/cm²と小さいため、1gSS中の存在量としては高くなったものと考えられる。全窒素量は硝酸性窒素量と同じ傾向が示された。B点では、A点、C点、D点と比較してアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素が少なく、全窒素は0.24mg/gSS $\sim$ 6.46mg/gSSの範囲であった。このことからよどみ部でブロック上面が底質表面と一致するように埋設したB点では、上流より流下した活性の高い細菌がブロック上面に付着するために窒素は硝化-脱窒現象により除去されたものと考えられる。

5. ブロックに付着増殖する生物膜の活性試験

5.1 実験目的

生物膜による総括的な硝化、脱窒活性を定量化することを目的として、ブロックに付着増殖した生物膜の成長と見かけの硝化、脱窒活性について検討を行った。

5.2 実験方法

ブロック上面の生物膜長さ3.0cm $\times$ 幅3.0cmを剝し取り、膜中に存在する硝化細菌、脱窒細菌による窒素の代謝等を明らかにするために、アンモニア性窒素添加試験、硝酸性窒素添加試験を行った。本実験では、生物膜が分解してアンモニア性窒素の供給源となることも考えられたため、ブロックを設置後20、30、40、50日目におけるアンモニア性窒素添加試験、硝酸性窒素添加試験を行い、経日変化における濃度変化を硝化細菌、脱窒細菌の見かけの活性とした。またこの時培養中に生物反応と生物膜からの溶出等の作用が同時に進行することが考えられるため、ブロック付着生物膜現存量の変化と並行してこれらの試験を行う必要性を感じる。

5.3 結果と考察

(1) ブロックに付着増殖する生物膜のアンモニア性窒素添加試験

図-14にブロックに付着増殖する生物膜のアンモニア性窒素添加試験におけるアンモニア性窒素の経日変化を示す。本実験では菌体増殖が基質濃度の変化に関係する部分は小さく、基質濃度の変化は細菌の代謝によるものが支配的であるとの考えた。反応槽内の総括的な NH_4^+-N や NO_3^--N の増減は生物反応によるものと仮定し1次反応に従うものとして整理した。ブロックを底質表面に設置後20日目では、A点、C点、D点は生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給により見かけの反応定数 k の値は-0.008 $\sim$ -0.012であった。B点は培養後5日まで生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給があるが、その後硝化作用によりアンモニア性窒素が減少した。この時、 k の値は0.003であった。設置後30日目ではA点のみが生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給があるためアンモニア性窒素が溶出するが、その他の地点では見かけの硝化速度が溶出速度よりも速いことからアンモニア性窒素が減少する傾向を示したのと考えられる。設置後40日目では k の値は0.006 $\sim$ 0.019、50日目では k の値は0.011 $\sim$ 0.020であることから、ブロックに付着増殖する生物膜は地点によって異なるが30日目から40日目以降に見かけの硝化活性が高まると推測される。前述したようにブロック設置後40日目当りからすべての地点で生物膜が茶褐色を呈したことから、微生物の活性が高く硝化-脱窒が速やかに進行することが考えられる。以上のように硝化細菌の見かけの活性が低い時には、生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給が優先的に進行し、見かけの活性が高い時には硝化作用が優先的に進行することが考えられる。

図-15にブロックに付着増殖する生物膜のアンモニア性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化を示す。20日目には、B点、C点で見かけの反応定数 k の値が高く、B点で0.025、D点で0.014であった。この場合、B点は硝化作用が進行したため硝酸性窒素が増加したと考えられるが、D点では培養中アンモニア性窒素の減少がみられないことから、生物膜中の硝化作用による硝酸性窒素の生成あるいは生物膜中に存在している硝酸性窒素の一部が溶出したことによると推測される。30日目以降よどみ部に位置するA点、B点では硝酸性窒素が増加する傾向を示したが、その後50日目には硝酸性窒素が減少する傾向がみられ、これは脱窒作用によるものと考えられる。

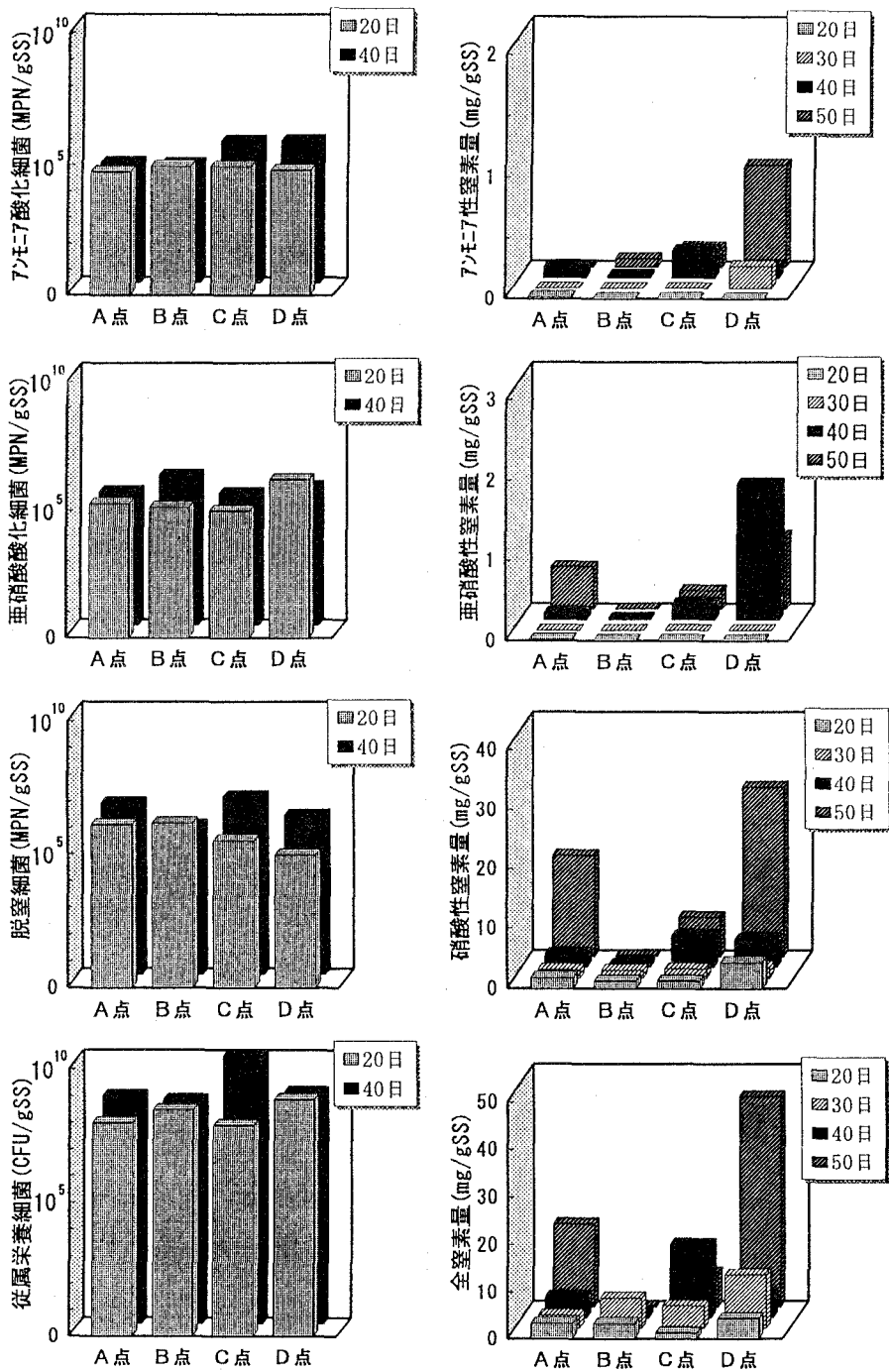


図-13 ブロックに付着増殖する生物膜gSS当りの細菌数および窒素量

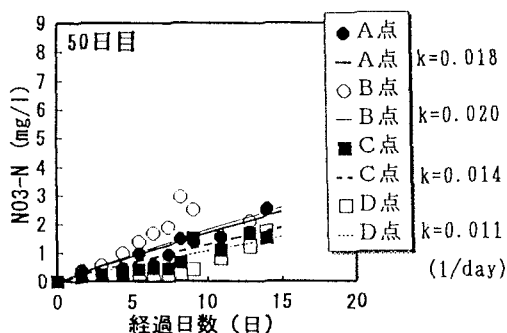
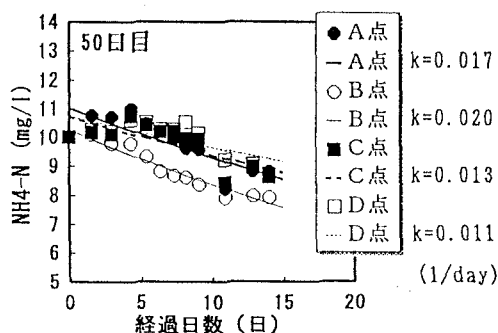
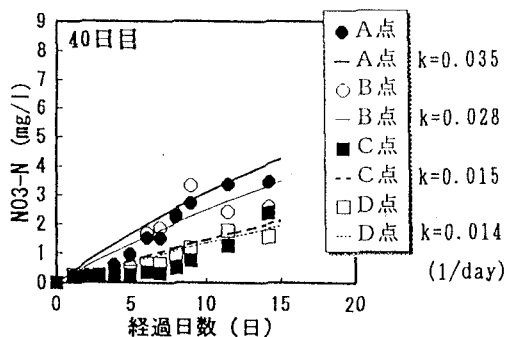
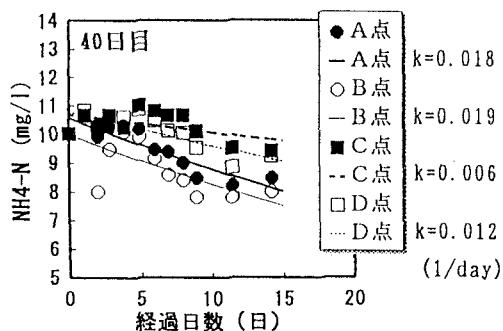
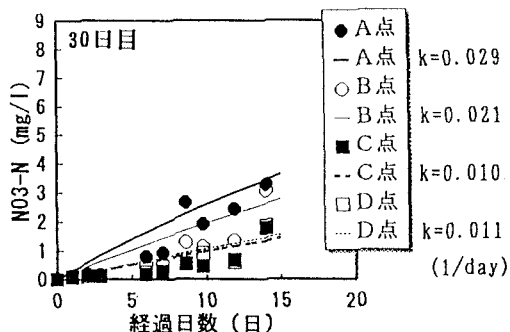
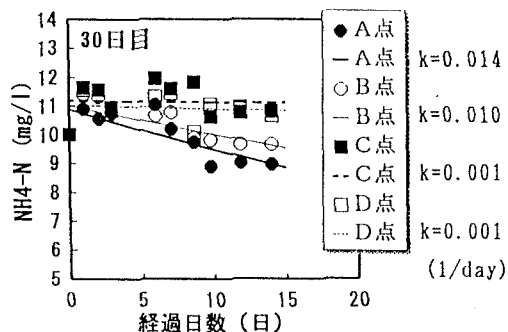
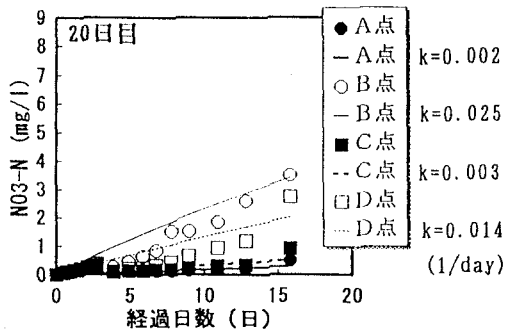
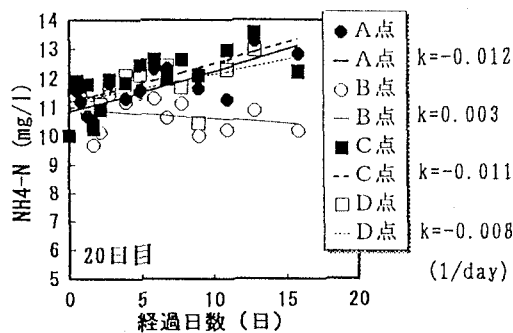


図-14 ブロックに付着増殖する生物膜のアンモニア性窒素添加試験におけるアンモニア性窒素の経日変化

図-15 ブロックに付着増殖する生物膜のアンモニア性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化

(2) ブロックに付着増殖する生物膜の硝酸性窒素添加試験

図-16にブロックに付着増殖する生物膜の硝酸性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化を示す。20日目、30日目には、すべての地点で見かけの反応定数 k の値が $-0.010 \sim -0.032$ の範囲にあり、これは一部生物膜中の硝酸性窒素が溶出したことや生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給により硝化細菌の活性が高まり硝酸性窒素として培養中に溶出したと考えられる。40日目にはB点の生物活性が高まり、50日目にはすべての地点で生物活性がみられる。このため50日目の溶出現象と脱窒現象を区別するために2段の1次反応を適用した。B地点は $k_1 = -0.071$ と溶出速度が大きくまた $k_2 = 0.060$ と見かけの脱窒速度が大きかった。このようにブロック上面の生物膜は地点によって異なるが30日目から40日目以降に見かけの硝化活性が高まりその後見かけの脱窒活性が高まる現象がみられた。

以上よりアンモニア性窒素添加試験、硝酸性窒素添加試験に用いた生物膜は、長さ3.0cm、幅3.0cm、厚さ5mmであることからブロック設置後初期の期間では、生物膜内に活性のある硝化細菌、脱窒細菌が十分に存在していないものと考えられる。ブロック設置後20日目のアンモニア性窒素添加試験では、生物膜分解によるアンモニア性窒素の溶出が優先して起こること、40日目当りから硝化によると考えられるアンモニア性窒素の減少、硝酸性窒素の増加傾向がみられること、またブロック設置後40日目当りからすべての地点で生物膜が茶褐色に呈したことを考慮すると、おそらくよどみ部底質の硝化現象は、40日前後でかなり起きるものと推測される。硝酸性窒素添加試験は、阿武隈川よどみ部の状況を考慮し、曝気や攪拌を行わずに静止状態での培養を行った結果、河川水中の炭素源では脱窒に必要な炭素源を十分に満足することができないと考えられ、この脱窒は底質生物膜内の自己分解で行われていることが推測される。

本実験では見かけの硝化や脱窒の速度を求めるために1次反応式を適用したが、これは限られた生物系内での現象であり、これを一般化して系内の反応は明かになると考えられる。しかし一般化して普遍化していくためには動力学的な解析が必要であり、今後検討が必要であると考えられる。

6. まとめ

本研究では、窒素系自浄作用の機構解明の一連の研究として、現地底質層の構成、底質層の見かけの硝化、脱窒活性、ブロック上に付着増殖する生物膜の成長と見かけの硝化、脱窒活性について検討を行った。

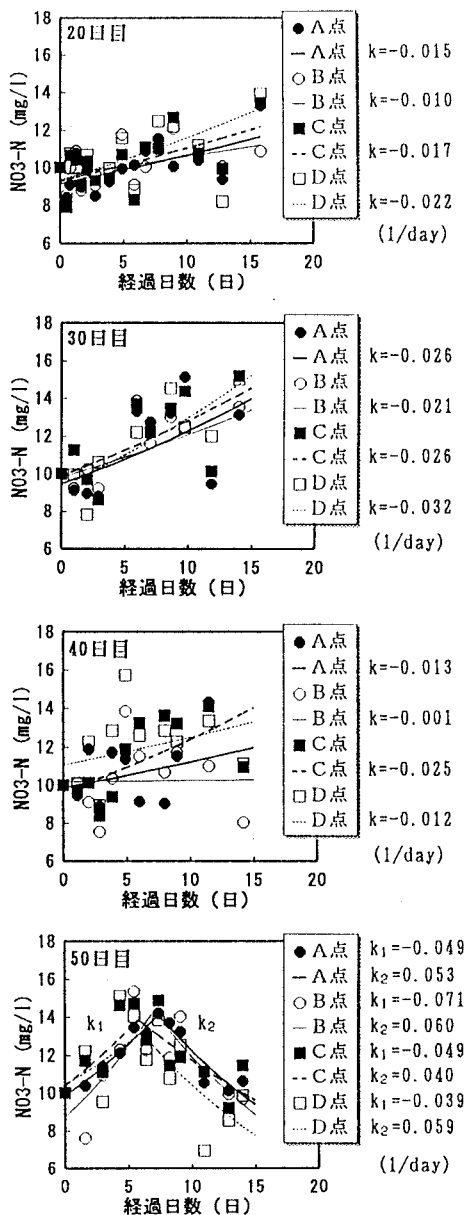


図-16 ブロックに付着増殖する生物膜の硝酸性窒素添加試験における硝酸性窒素の経日変化

その結果、次のようなことが明らかになった。

- (1) 生物膜に抱かれるように気泡群が多数付着しており、この気泡の主成分は脱窒によって生じた窒素ガスと推定された。
- (2) 気泡の付着した生物膜は茶褐色を呈しており、またその厚さは6mm前後であることから硝化－脱窒が速やかに進行する。
- (3) 底質層0～10mmに有機物や細菌が多く含まれているために、有機性窒素の割合が大きくなりT-N量に占める各態窒素量の割合が小さくなった。
- (4) 底質による見かけの硝化活性は0～5mm、見かけの脱窒活性は5～10mmで最も高かった。
- (5) よどみ部は生物膜の剝離等の影響を受ける流心部と違い、生物膜の成長過程は順調に進行する。
- (6) 底質の生物膜は降雨の有無により微生物群によって構成される生物膜の形成、剝離等があり、水質変化に及ぼす影響が多分に大きい。
- (7) 各種細菌はブロック設置後およそ20日間で増殖し生物膜を構成する。
- (8) よどみ部でブロック上面が底質表面と一致するように埋設したB点では、上流より流下した活性の高い細菌がブロック上面に付着するために窒素は硝化－脱窒機構により除去されたものと考えられる。
- (9) 硝化細菌の見かけの活性が低い時には、生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給が優先的に進行し、見かけの活性が高い時には硝化作用が優先的に進行する。
- (10) 生物膜中の硝酸性窒素が溶出したことや生物膜の分解によるアンモニア性窒素の供給により硝化細菌の活性が高まり硝酸性窒素として培養中に溶出したと考えられる。
- (11) 生物膜は地点によって異なるが30日目から40日目以降に見かけの硝化活性が高まり、その後見かけの脱窒活性が高まる現象がみられる。

謝辞

本研究をまとめるにあたりご協力頂いた大学院博士前期課程2年 成田大介君、大学院博士前期課程 1年 黒沢幸二君、AKASHAH BIN MAJIZAT氏、卒業研究生 真田啓司君に謝意を表します。また資料を提供頂いた建設省福島工事事務所の方々に謝意を表します。

参考文献

- 1) 高橋幸彦, 中村玄正, 松本順一郎: 阿武隈川における河川底質による窒素系自浄作用機構について, 環境工学研究論文集, Vol. 31, pp.107-115, 1994
- 2) 井上隆信, 海老瀬潜一: 河床付着生物膜現存量の周年変化と降雨に伴う剝離量の評価, 水環境学会誌, Vol. 16, pp. 507-517, 1993
- 3) 呉鍾敏, 上田真吾, 小倉紀雄: 自然浄化機能としての野川における脱窒過程の役割, 水環境学会誌, Vol. 15, pp. 909-917, 1992
- 4) 古米弘明, 上田映子: 地方中小河川における河床生物膜の成長と硝化活性について, 環境システム研究, Vol. 22, pp.182-187, 1994
- 5) 川島博之, 鈴木基之: 河床付着性生物膜による脱窒, 水質汚濁研究, Vol. 9, pp. 225-230, 1986
- 6) 二渡了, 大石京子, 古米弘明, 楠田哲也: 強混合河川感潮部における硝化・脱窒過程に関する研究, 土木学会論文集, No. 479, pp.101-110, 1993
- 7) Nakajima, T.: Denitrification by the sessile microbial community of a polluted river, Hydrobiologia, Vol. 66, pp. 57-64, 1979
- 8) Hill, A. R.: Denitrification in the nitrogen budget of a river ecosystem, Nature, Vol. 281, pp. 291-292, 1979
- 9) 土壤微生物研究会, 土壤微生物実験法, 養賢堂, pp.193-200, 1981
- 10) 日本水道協会, 上水試験方法, 日本水道協会, pp. 205-532, 1985
- 11) 土木学会衛生工学委員会編, 環境微生物工学研究法, 技報堂出版, 1993