

茨城大学工学部

○古米 弘明

西原環境衛生研究所

尾林 寿

(株)ミカミ

高橋 雅彦

1. はじめに

著者らは、水道原水からの生物学的な硝酸塩除去を行う場合に、有機物を利用しない独立栄養性の硫黄脱窒菌を積極的に利用した新たな粒状ろ過プロセスについて実験的な検討を行ってきた。そして、従来の実験結果から、チオ硫酸塩を基質として硫黄脱窒菌を集積させる系では、亜硝酸塩が蓄積する傾向があることや、エタノールなどを補助的に添加する場合には、その注入位置について考慮する必要があることなどを指摘してきた^{1)、2)}。本報告では、チオ硫酸塩単独添加系とエタノール単独添加系に加えて、チオ硫酸塩添加系にろ層の途中からエタノールを注入した系の実験を行い、これら3種類のろ過処理結果の比較とそれぞれの付着生物膜の脱窒活性やキノプロファイルからポピュレーションダイナミクスを検討した結果について述べる。

2. 実験方法

連続ろ過実験装置の概要を図-1に示す。内径10cm、高さ200cmのアクリル樹脂製で、90cmの深さまでろ材としてアンサラサイトを充填したものを3基用意した。そして、緩速ろ過レベルを想定して、下向きろ過速度が4m/日になるようにポンプで模擬水道原水を20℃に調節して流入させた。模擬原水は、水道水に表-1に示すように硝酸塩、脱窒のための電子供与体(チオ硫酸塩とエタノール)、アルカリ剤、リン酸塩を添加したものである。ただし、C筒のエタノールはろ層表面から17cm下から注入している。

連続処理実験に先立ち、別途集積した硫黄脱窒菌、エタノールで培養した従属栄養脱窒菌を接種した。処理の立ち上げを含めて、約4ヶ月間の運転における処理水質、流れ方向水質分布を調べるにより硝酸塩除去について検討を行った。また、実験終了においてろ層を深さ方向に5区間に分け、それぞれ厚さ5cm部分から付着生物膜を剥離回収した。そして、チオ硫酸塩とエタノールを電子供与体とした脱窒活性試験

(バイアル回分試験)と、呼吸における電子伝達系物質であるキノン組成の測定^{3)、4)}を行った。主な測定項目と方法は以下のとおりである。pH(電極法)、亜硝酸塩、硝酸塩、硫酸塩(DIONEXイオンクロマトグラフ)生体内キノン(Sep-Pak Plus Silicaカラム吸着&HPLC分析)。

3. 実験結果及び考察

3. 1 連続処理実験における処理状況

運転期間中のろ層深さ方向の水質(硝酸塩、亜硝酸塩、硫酸塩)分布を図-2に示す。チオ硫酸塩を添加しているA筒、C筒では、約1週間程度では硝酸塩は除去できるようになっているが、両者とも同様に亜硝酸塩が蓄積している。その後、エタノールを添加しているC筒では、ろ層高さ73cmを境に、亜硝酸塩の除去が進行している。2か月を過ぎるとろ層上部10cm程度までで、硫黄脱窒作用により硝酸塩の亜硝酸塩への還元は終了し、亜硝酸塩もその下部でエタノールを利用しながら窒素ガスへと還元除去されている。

一方、エタノールの単独添加系であるB筒では、亜硝酸塩の蓄積もなく、窒素除去が完了しているものの、数日でろ過抵抗の増加を招き1週間程度で閉塞した。一方、チオ硫酸塩の単独添加系では、亜硝酸塩の蓄積はあるものの長期間ろ過抵抗の増加はなかった。その意味では、上記のエタノール途中添加系ではこれら両者の利点をともに有する結果が得られている。

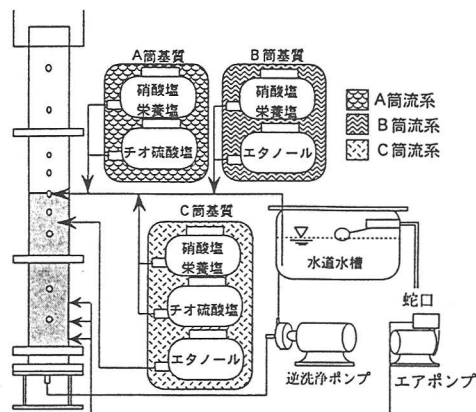


図-1 実験装置

表-1 模擬水道原水の組成

	A筒	B筒	C筒
KNO ₃	20mgN/l		
Na ₂ S ₂ O ₃ 5H ₂ O	665mg/l	-	665mg/l
C ₂ H ₅ OH	-	21.4mgC/l	21.4mgC/l
NaHCO ₃	120mg/l		
KH ₂ PO ₄	2.2mgP/l		

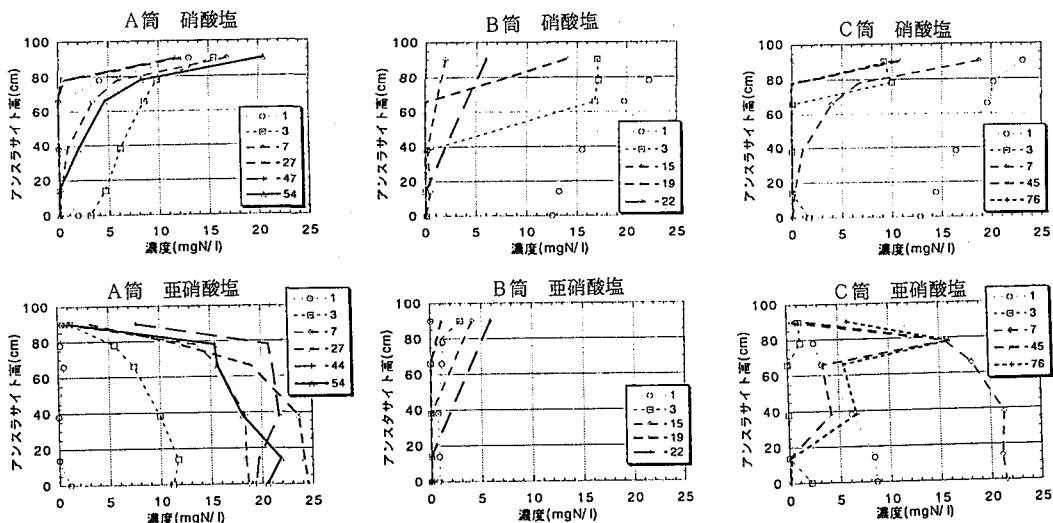


図-2 粒状層内の硝酸塩と亜硝酸塩濃度分布

3. 2 附着生物膜量と脱窒活性分布の比較

表-2 附着生物膜 VSS 濃度 (単位: mg/l 層体積基準)

ろ層区間	A 筒	B 筒	C 筒
0~5cm (上部1)	5140	2190	4000
5~18cm (上部2)	860	2100	670
18~38cm (中央部)	710	290	2380
38~64cm (下部1)	1240	1290	330
64~90cm (下部2)	480	1100	1050

処理実験終了後、粒状層を分割して取りだし、無機塩溶液に附着生物膜を分散させ、附着生物膜を懸濁液として回収した。そして、ろ層体積当たりの生物量として VSS を分析した結果を表-2 に示した。各筒のろ層上部やエタノールを注入している C 筒の中央部に生物膜の蓄積があることが伺える。

この回収附着生物膜を用いて、汚泥濃度をろ層内での状態の $1/20$ に希釈調整して脱窒活性試験を行った。その試験結果の代表例を図-3 に示す。チオ硫酸塩を基質にした A 筒と C 筒の上部の活性試験では、急激な硝酸塩の除去に伴い一旦亜硝酸塩が蓄積し、その後最終的に窒素ガスへと脱窒されており、除去速度に違いは見られるもののほぼ同様な脱窒特性を有している。この結果から、硫黄脱窒菌は、硝酸塩が存在しない状態で亜硝酸塩から窒素ガスへ脱窒する能力も有していることは明かである。

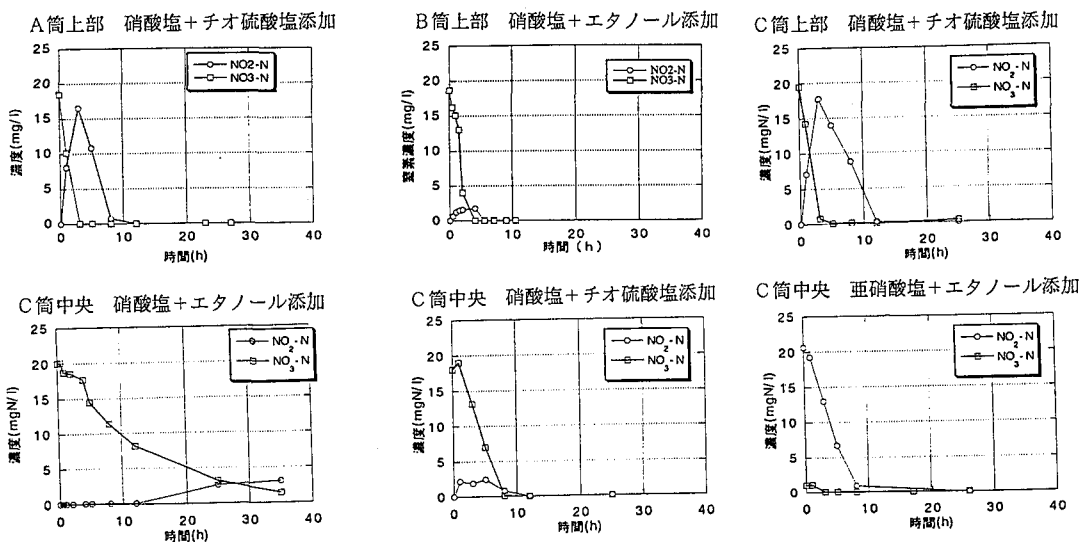


図-3 バイアルを用いた脱窒活性試験結果

したがって、A筒下部に亜硝酸塩が蓄積する理由として、生物膜の未発達やアルカリ度不足（生物膜内pHの低下）による活性低下が考えられた。一方、エタノールを基質にしたB筒上部の活性試験では亜硝酸塩の蓄積もほとんどなく、速やかに脱窒が完了している。

C筒中央部については、エタノールとチオ硫酸塩をそれぞれ基質にする試験を行った。エタノールの場合には硝酸塩の除去が遅いものの、チオ硫酸塩の場合では、比較的速やかに硝酸塩が除去され、亜硝酸塩もさほど蓄積していない。これは、硫黄脱窒反応による硝酸塩の亜硝酸塩への還元と従属栄養脱窒菌による亜硝酸塩から窒素ガスへの還元が組み合わせられた結果と想像された。そして、この試験での亜硝酸塩からの脱窒は、共存する従属栄養菌による内生脱窒によるものと思われる。さらに、亜硝酸塩添加でエタノールを基質とした試験も追加して行ったところ、亜硝酸塩の脱窒は速やかに進行した。

3. 3 キノン量分布と脱窒活性との関連性

回収した付着生物膜について、活性試験とともにキノンの抽出を行い、ユビキノ（Q）とメナキノ（MK）組成分析を行った。表-3には、生物膜のキノンをろ層体積基準でまとめた。表-2に示したVSS値とキノン値とは相関性があり、上部とエタノール注入部で生物量が多いことやろ層下部で低くなっていることがわかる。

表-3 付着生物膜キノン濃度（単位：mg/lろ層体積基準）

ろ層区間	A筒	B筒	C筒
0～5cm（上部1）	33.6	6.0	25.5
5～18cm（上部2）	4.6	5.5	3.8
18～38cm（中央部）	3.7	4.8	9.9
38～64cm（下部1）	5.0	2.7	4.1
64～90cm（下部2）	2.1	2.3	5.6

備考：濃度はユビキノ10標準物質の検量線より求めた。

また、図-4に示したキノンプロファイルに着目すると、脱窒特性が似通っていたA筒とC筒の上部の生物膜は、同様なプロファイルを示しており、従属栄養脱窒菌が集積していると思われるB筒上部の生物膜とは、異なるプロファイルであることが明かである。一般に独立栄養菌はメナキノンをほとんど有しないことが知られており⁵⁾、総括的な生物量指標であるVSSでは知ることができないが、キノンプロファイルによりA筒とC筒の上部に独立栄養の硫黄脱窒菌が上部に集積していることが推測できる。一方、両脱窒菌が共存していると思われるC筒中央部については、A筒やC筒上部のプロファイルとB筒上部のプロファイルとを組み合わせる予想される組成とも若干異なり、ユビキノQ-9の存在が少なく従属栄養の脱窒菌の種類が異なる可能性を示している。

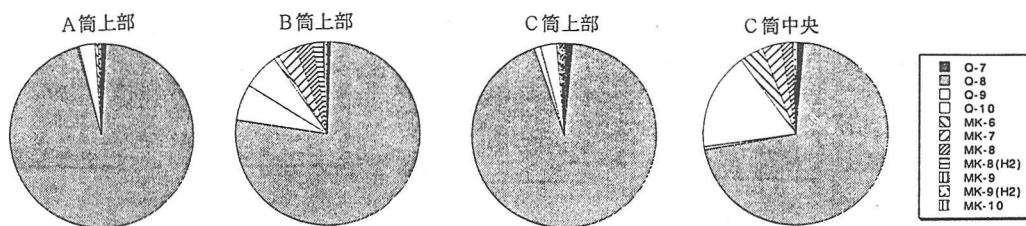


図-4 キノンプロファイル

記号Q：ユビキノ、記号MK：メナキノ、数字：イソブレン側鎖数

4. まとめ

- 1) エタノール単独添加系に比べ、チオ硫酸塩単独添加系ではろ過閉塞の問題はないものの、亜硝酸塩の蓄積が見られた。しかし、活性試験から硫黄脱窒菌には、窒素ガスまでの完全な脱窒能があることが確認され、亜硝酸塩の蓄積は生物膜の発達やアルカリ度補給などにより、解消する可能性があることが推察された。
- 2) チオ硫酸塩添加系に、ろ層途中よりエタノールを途中添加することで、ろ過閉塞の問題もなく、亜硝酸塩の蓄積を解消できることがわかった。
- 3) 付着生物膜の回分活性試験における脱窒特性とキノンプロファイルの両者に対応関係が見られた。また、VSSで評価した生物膜量と抽出キノン量にも相関性があり、硫黄脱窒菌と従属栄養脱窒菌が共存するろ過層における生物量の指標ともに、キノン種を比べることで菌体群組成を解析することが可能と思われる。

<参考文献>

- 1) 尾林、古米（1994）硫黄脱窒作用による硝酸性窒素の除去特性、第45回全国水道研究発表会講演集, pp236-237
- 2) 古米、尾林（1994）硫黄脱窒による水道原水の生物ろ過プロセス、土木学会第49回年次学術講演概要集 II-498
- 3) 平石（1990）キノンプロファイル法による活性汚泥細菌の生態学的研究、用水と廃水, Vol.32, no.12, pp1059-1070
- 4) 胡ら（1993）菌体キノン分析手法および多様性指標の検討、第27回日本水環境学会年会講演集, pp606-607
- 5) 平石（1992）呼吸鎖キノンをバイオマーカーとして用いる廃水処理系微生物群集の動態解析、水環境学会誌, Vol.15, no.9, pp558-563