

B-5 間伐材を充填した脱窒生物ろ床における硫酸塩還元細菌の役割

金沢大学大学院自然科学研究科 ○嶋津昌幸・山下恭広・池本良子

1. はじめに

下水2次処理水や農業排水等の有機物濃度が低い排水からの窒素除去には、電子供与体の添加が不可欠である。著者らは電子供与体としてアスペン材を充填した脱窒生物ろ床において硫酸塩還元細菌と硫黄脱窒細菌の共存による窒素除去が進行することを報告した¹⁾。また、杉間伐材を充填した嫌気条件の生物ろ床において、硫酸塩還元が進行することを明らかにしている。そこで、本研究では杉とアテ間伐材を充填した脱窒生物ろ床の有効性について実験的検討を行うとともに硫酸塩還元細菌の役割について検討を行った。

2. 実験方法

2.1 実験装置と運転方法

図1に実験装置の概要を示す。実験装置には高さ260mm、直径100mm、容積10Lの亚克力樹脂製の円筒形カラムを用いた。表1に人工排水の組成を表2に実験条件を示す。Run 1には杉を1cm角に切ったものを充填し、Run 2には乾燥状態で180gのアテの枝及び葉を充填した。種汚泥として金沢市下水処理場返送汚泥を乾燥重量で1.2g添加して運転を開始した。Run1は56日目までは硝酸を含まない排水1を通水し、嫌気条件として硫酸塩還元細菌を集積した後(Run 1-1)、57日目から排水2に変更し無酸素条件とした(Run 1-2)。230日目10日間は装置のトラブルにより極端に滞留時間が大きくなった。硫酸塩還元の継続を確認するために、369日後に滞留時間を48hr時間に延長して約1週間の運転を行った。583日目から滞留時間を6時間に短縮し、排水1に戻して40日間馴養を行った(Run 1-3)後、623日目から50日間(Run 1-4)排水2を用いて滞留時間6時間の運転を行った。脱窒の進行が遅かったため、673日目からは滞留時間を再び12時間とし(Run 1-4)、730日目からは(Run 1-5)溶存酸素を除くために人工下水中の硫酸カリウムを亜硫酸カリウムに変更した排水3を通水した。Run 2では人工排水2を用いて運転を開始し(Run 2-1)、707日目に排水4に変更した(Run 2-2)。脱窒率が低かったために、447日目から滞留時間を72時間とした(Run 2-3)。

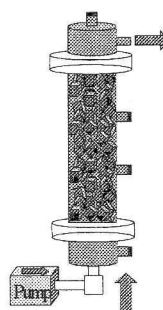


表1 人工排水の組成

	排水1	排水2	排水3
NaHCO ₃	35	35	35
CaCl ₂	46	46	46
K ₂ HPO ₄	46	46	46
K ₂ SO ₄ /K ₂ SO ₃	58/0	58/0	0/116
NaNO ₃	0	85	85

(mg/l)

2.2 回分実験

Run 1装置内の生物膜を292日目、419日目および462日目に取り出して、剥離生物膜と担体(杉)に分けて種々の条件で回分実験を行うことにより、脱窒活性、硫黄脱窒活性、硫酸塩還元活性を評価した。実験条件は、剥離生物膜単独、担体単独、および剥離生物膜と担体の混合系、剥離生物膜とカラムに充填前の杉間伐材の混合系の4種類とし、それぞれ、排水1および2と同組成の基質1、2、排水2からK₂SO₄を除いた基質3および排水2のK₂SO₄をNa₂S₂O₃とした基質4の4種類を添加した。

2.3 微生物群集解析

Run1で馴養した装置内の96日目と292日目の剥離生物膜を取り出し、硫酸塩還元細菌についてFISH法による群集解析を行った。表3は実験に用いたオリゴヌクレオ

図1 実験装置の概要図

表2 各装置の運転条件

	経過日数	排水	HRT	充填材
Run 1-1	0-56	排水1	24→12	杉
Run 1-2	57-582	排水2	12	
Run 1-3	583-622	排水1	6	
Run 1-4	623-672	排水2	6	
Run 1-5	673-749	排水2	12	
Run 1-6	750-	排水3	12	
	経過日数	排水	HRT	充填材
Run 2-1	0-706	排水2	12	アテ
Run 2-2	707-946	排水3	12	
Run 2-3	947-	排水3	72	

チドプローブである。

3. 実験結果と考察

3.1 処理槽内の経日変化

図2, 3に各装置の処理水質の経日変化を示す。Run 1-1 では、硫酸塩の減少と無機炭素の増大が認められたことから、硫酸塩還元が進行したことがわかる。Run 1-2 では、硫酸塩の変化は認められないが、32%の脱窒が進行した。運転開始230日後の装置トラブルの後、脱窒率が急激に上昇したが、装置から生物膜を取り出して60日後に脱窒率が32%に戻った。Run 1-3で硫酸塩還元を促進したが、Run 1-4では滞留時間が6時間と短いため脱窒率は17%にとどまった。しかし、滞留時間を12時間に戻したRun 1-5では脱窒率は32%に回復し、溶存酸素を除いても(Run 1-5)脱窒率の上昇は認められなかった。一方、アテを用いたRun 2では分解しやすい葉が混ざっていたせいか、当初脱窒が良好に進行したが、その後徐々に脱窒率が低下し300日以降11%程度で安定した。滞留時間を72時間に増加させたところ(Run

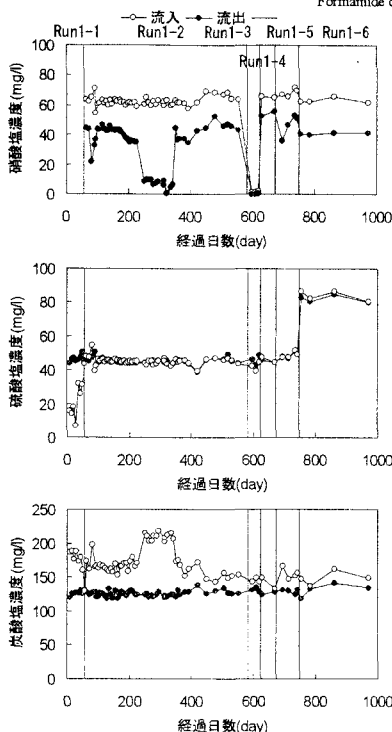


図2 Run 1の処理水質の経日変化

表3 実験に用いたDNAプローブ

Probe	Specificity	Target site ^a	FA ^b concn (%)	Reference
660	<i>Desulfobulbus</i> spp.	660-679	30	Deverex et al. 1992
687	members of 13 genera <i>Geobacter</i> , <i>Desulfomonas</i> , <i>Desulfuromonas</i> , <i>Desulfurobium</i> , <i>Bilophila</i> , and <i>Pelobacter</i>	687-702	0	Deverex et al. 1992
221	<i>Desulfobacterium</i> spp.	221-240	20	Deverex et al. 1992
129	<i>Desulfobacter</i> spp.	129-149	10	Deverex et al. 1992
DMNA657	<i>Desulfonema</i> spp.	657-676	20	Fukui et al. 1992

^a 16S rRNA position according to *E. coli* numbering.

^b Formamide concentration in the 1

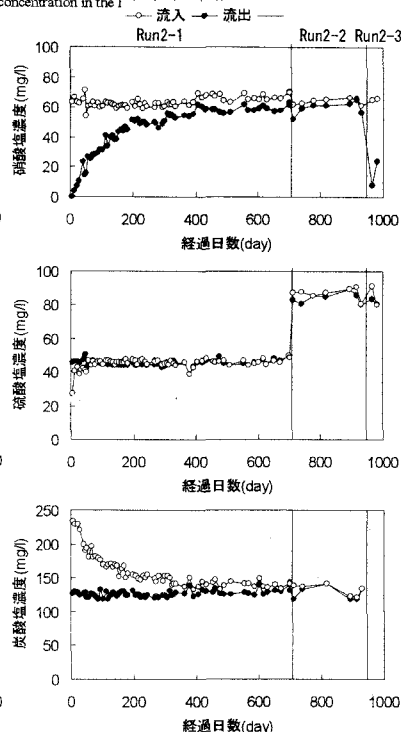


図3 Run 2の処理水質の経日変化

図4は、硝酸塩減少量と炭酸塩増加量の関係を示したものであるが、脱窒に伴い無機炭素が生成されていることがわかる。このことは、脱窒に伴って充填した間伐材の分解が進行したことを示唆するものである。

図5は滞留時間を延長したときの硝酸塩と硫酸塩の変化を示したものである。脱窒が終了すると硫酸塩還元が進行することがわかる。このことは脱窒素条件の生物ろ床内に硫酸塩還元細菌が増殖していることを示している。表3は、硝酸塩を含まない排水1を通水して求めた硫酸塩還元

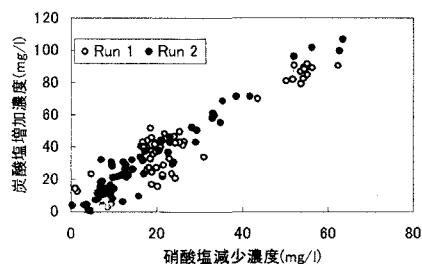


図4 硝酸塩減少量と炭酸塩増加量の関係

速度を示したものである。Run 1-1 では高い硫酸塩還元速度を示しているが、硝酸塩を含む排水を通水していた Run 1-2 の期間でも、Run 1-1 と同程度の活性を示していた。Run 1-3 では、回分実験のために生物膜を取り出したため、付着生物膜がほとんど認められない状態であったにもかかわらず、Run 1-1 と同程度の活性を示したことから、木質担体内部に硫酸塩還元細菌が増殖していることが示唆された。

3.2 Run1 装置内生物膜を用いた回分実験

表 5 に Run 1 の装置内の剥離生物膜および担体を用いた回分実験から得られた硫酸塩還元速度、脱窒速度をまとめて示す。292 日目では装置内に剥離生物膜が多く存在していたが、生物膜内に硫酸塩還元細菌、他栄養性脱窒細菌、硫黄脱窒細菌が共存していたことがわかる。一方、担体内生物膜では剥離生物膜よりも硫酸塩還元活性と硫黄脱窒活性が高かった。これは、担体内部で木質の分解に伴う硫酸塩還元と、硫酸塩還元により生成した硫化物を用いた脱窒が進行していたことを示唆するものである。

表 5 Run 1 の生物膜の微生物活性

経過日数 (day)	用いた生物膜	硫酸塩還元速度		脱窒速度		硫黄脱窒速度
		基質1 (SO ₄)	基質2 (NO ₃)	基質3 (NO ₃ +SO ₄)	基質4 (S ₂ O ₃)	
292 日目	剥離生物膜	0.02	0.31	0.32	0.58	
	担体内部生物膜	0.19	0.76	0.77	0.96	
	剥離生物膜+杉	0.06	2.29	1.98		
	剥離生物膜+担体内部生物膜	0.13				
419 日目	担体内部生物膜	0.22	0.80	0.65	0.54	
462 日目	担体内部生物膜	0.10	0.30	0.23		

(mg COD/g ss・hr)

3.2 Run1 槽内の剥離生物膜の微生物群集解析

図 6 に Run 1 剥離生物膜内の硫酸塩還元細菌の群集解析結果を示す。96 日目には *Desulfobacter* spp. と *Desulfonema* spp. が優占的に存在しているのに対し、292 日目には *Desulfonema* spp. が優占的に存在していた。嫌気条件で増殖した *Desulfobacter* spp. と *Desulfonema* spp. のうち無酸素条件では *Desulfonema* spp. が担優先的に担体の外側に増殖したものと推定される。このことは、無酸素条件で担体内部に *Desulfobacter* spp. などの硫酸塩還元細菌が増殖していたことを示唆するものである。担体内部に増殖した硫酸塩還元細菌の FISH 法での検出および担体内部生物膜からの DNA 抽出を試みたが、困難であったことから、今後、DNA 抽出方法について検討を行う必要がある。

4. まとめ

間伐材(杉)を充填した無酸素条件の生物ろ床において、脱窒と硫酸塩還元が進行することがわかった。充填した間伐材内部に硫酸塩還元細菌と硫黄脱窒細菌が増殖していると推定された。付着生物膜には *Desulfonema* spp. が多量に検出された。今後、間伐材内部の微生物群集を明らかにすることが重要である。

<参考文献> 1) 山下・池本, 環境工学研究論文集, 2005

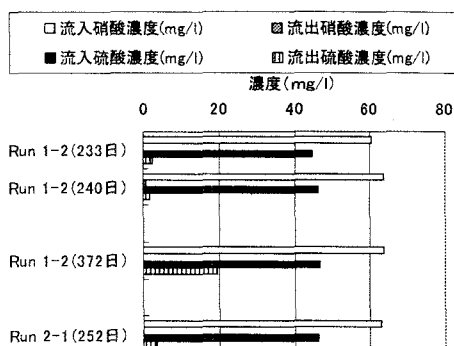


図 5 滞留時間延長実験での硝酸塩と硫酸塩濃度の変化

表 3 装置内の硫酸塩還元速度

	硫酸塩還元速度 (mg/l・h)
Run 1-1	1.4
Run 1-2	1.2
Run 1-3	0.6

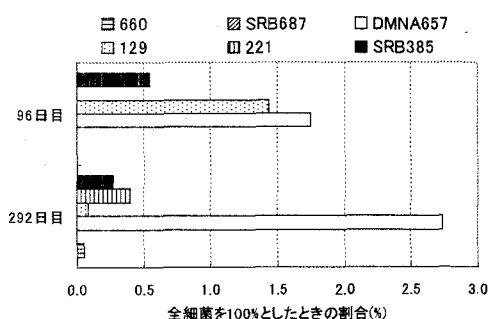


図 6 Run 1 生物膜内の硫酸塩還元細菌の群集変化