

原 著

## 多自然型河川作りに関する研究 第2報 鹿沼土を用いた同時脱リ・脱窒法

加藤進, 山下晃, 岩崎誠二, 高橋正昭

環境に優しい吸着担体として鹿沼土を利用し, 河川水からの同時脱リ・脱窒法を開発した。すなわち, 鹿沼土の細孔に脱窒菌の濃厚溶液を吸蔵させ, さらに前培養で固定化することに成功した。この担体を, 30 ~ 70 mg/L の硝酸イオンを含む河川水に浸せきし, 回分操作(反応時間: 24時間)で, 脱窒と脱リ率は1ヶ月間にわたってほぼ90%以上を, 特別な処理を必要としないで維持した。また, 処理溶液量を300 mLと2000 mLの2種類とし, 反応器のスケールアップに伴う問題も検討したが, 取り立てた困難な問題点は存在しなかった。また, この脱窒菌の硝酸イオン分解最適温度は25 °Cであった。しかし, 10 °Cにおいても25 °Cにおける硝酸イオン分解率を100%としたときの25%の分解率を示した。微生物分解の動力学係数(Michaelis-Menten parameter)は,  $\mu_{max} = 0.236 \text{ mmol/H}$ ,  $K_m = 5.75 \text{ mmol/L/H}$ であった。

キーワード: 鹿沼土, 脱リ, 吸着, 脱窒, 微生物分解, 反応速度, MPN法

### はじめに

筆者らは, すでに鹿沼土を利用したリンの吸着除去法について前報<sup>1)</sup>で明らかにした。生活排水を含む中小河川水には, リンはもとより高濃度の窒素も含まれている。従って, 富栄養化防止対策上からのこれらの栄養塩類の除去は, きわめて重要である。これまでに, 脱窒菌はいろいろと報告されている。しかし, 実際に河川にバイオリアクターとして固定担体を設置すると, 河川にもともと生息する従属栄養細菌との競合に破れ効果は長続きしない場合が多かった。あるいは, 担体への脱窒菌の定着性を高めるため人工基材を利用しているために, 担体使用後の用途に問題があった。さらに, これまでに報告された大部分の脱窒菌は, 嫌気性であるために, 取り扱いがきわめて面倒であった。これらの点が, 脱窒菌のバイオリアクターへの実用化のネックとなっていた。

ところで, 菅原<sup>2, 3)</sup>によって報告された脱窒菌は, 好気性であり, ハンドリングがきわめて容易である。本報告では, この脱窒菌を微生物源として利用し, 鹿沼土に安定して固定化させることによって, 河川水中の硝酸イオンの微生物分解ならびにバイオリアクターとしての可能性について検討したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 脱窒菌の固定方法

三重大学生物資源学部菅原教授から分与された菌株を表1に示した液体培地(固体培地はこの組成に15g/Lの寒天を追加)10mLを用いて12時間, 25 °Cで振とう培養した。さらに, この溶液を同組成の溶液350mLを含む坂口フラスコに移し, 同条件でさらに12時間培養し

た。遠心分離器を用いて定法(7000rpm, 20min)によって菌体を集菌し, 滅菌水で2回菌体を洗浄した(この操作で, 2~3 g/Lの集菌が可能である)ものを利用した。

脱窒菌(20~30 g/wet-base)を1/10に希釈した表1の培地1Lに懸濁させ, 1 kg(dry-base)の鹿沼土に全量吸収させた。さらに, 同培地を1L追加し, 6時間30分で培養した。この操作を前培養と本研究では言う。

#### 2. 分析方法

処理前後のリン濃度はモリブデンブルー法, 硝酸イオン濃度はイオンクロマトグラフ(IC-7000P)で分析した。なお, 亜硝酸イオンの有無については, GR試薬でも確認した。

試験水中の脱窒菌および従属栄養細菌数は, 表1の培地を利用して, MPN法で実施した。すなわち, 従属栄養細菌は培地の混濁(+)で, 脱窒菌はダーラム管へのガス発生(+)で行った。

表1. 脱窒菌用基本培地組成

成分	濃度
ポリペプトン	5 g/L
酵母エキス	2 g/L
KNO <sub>3</sub>	1 g/L
pH	7.0

#### 3. リン・脱窒実験法

連続方法では, 前法<sup>1)</sup>と同様の装置(3cm × 100 cm)で, 成形した鹿沼土担体や大粒子の鹿沼土を充填した。試料溶液の供給速度は300mL/Hであり, 空間速度(SV)は1.5, 実験温度は室温である。

また、回分試験においては、500mL と 5000mL のガラス容器に脱窒菌を固定した担体を 250g と 1000g 充填し、25℃、24 時間培養した。

## 実験結果及び考察

### 1. 連続方法による脱リ・脱窒実験

図 1 は、脱窒菌 20 g を無菌水 1000mL に懸濁させ、250g の鹿沼土担体に固定した連続カラム実験から得られた脱窒結果である。試料として用いた河川水に、リンを 1mg/L ( $KH_2PO_4$  で添加)、硝酸イオンを 20 ~ 30mg/L ( $KNO_3$  で添加) した。脱窒菌の固定によってモリンの除去率には固定しない場合との差が無く 20 ~ 40 % のリンが除去された。

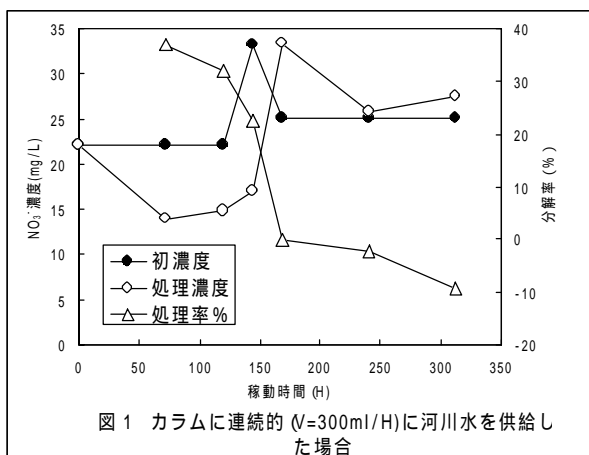


図 1 カラムに連続的 ( $V=300\text{ml/H}$ ) に河川水を供給した場合

これに対して、硝酸イオンは、160 時間 (1 週間) までは脱窒菌によって分解されたが、その後急激に脱窒率は低下した。そこで、試料水の導入を 5 日間停止し、カラムに回分式で 250mL の試料液を 2 4 時間毎に添加した。その結果、硝酸イオンが分解されていることを確認した。同時に、担体 1 g を乳鉢ですりつぶし、滅菌水で希釈後、表 1 の培地で培養し、MPN 法により担体中に、まだ脱窒菌が存在することを確認した。

以上のことから、この固定方法では、担体表面の脱窒菌が連続通水によって、洗浄されていき、濃度が薄くなるので、あるいは担体の内部からの表面への脱窒菌の供給速度が遅く、連続方法による脱窒は困難と判断し、回分方法による分解法を検討した。

### 2. 回分方法による脱リ・脱窒実験

図 2 は、上に述べた回分式カラム実験を 300 時間 (12 日間) 継続した結果である。この際、4 ~ 5 日毎に微生物の炭素源として、グルコースを 100mg/L となるように、試験水 (河川水) に添加した。長時間にわたって硝酸イオンが 80 % 以上で分解されていることがわかる。さらに、回分方法なのでリンの担体による除去率はおおむね 95 % 以上である。硝酸イオンの分解率は、300 時間後に急速に減少した。

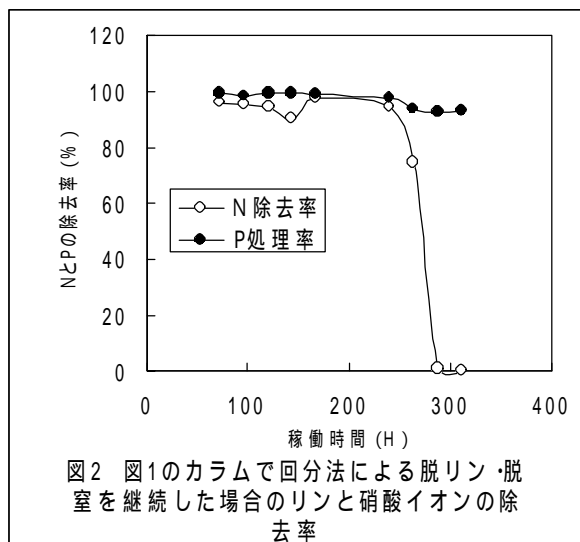


図 2 図 1 のカラムで回分法による脱リ・脱窒を継続した場合のリンと硝酸イオンの除去率

次に、最初から回分実験 (担体重量: 250g) を実施した。カラム 1 は従来から使用している鹿沼土の成型品を充填したものである。カラム 2 は、大粒子の鹿沼土 (直径 1 ~ 2cm の粒子状) に同様の方法で脱窒菌を固定したものである。すなわち、カラム 1 では、担体の総表面積は少ないが、担体内部に相当量の菌体を保持できる。一方、カラム 2 では、総表面積が大きくなる分、担体内部への菌体保持量が少ない特徴がある。このような 2 種類のカラムで得られた脱窒結果を図 3 に示した。カラム 2 では、320 時間までは、分解率もカラム 1 よりも高い。これは、表面積の寄与によるものと思われる。しかし、480 時間 (40 日) でカラム 2 の脱窒力は消失した。しかし、カラム 1 では、やや硝酸イオンの分解力がカラム 2 に比較すると低いが、480 時間から回分操作の際に発生するスカムをカラム 1 に返送した。このスカムの「返送」操作によってカラム 1 における脱窒菌の分解能は長期に継続し、脱窒率が 20 % 程度になるものの、稼働時間は 960 時間に達した。従って、最初は硝酸イオンの分解率が悪いが、長時間経つと担体の中に多くの脱窒菌を保持していることが働き、成型品の方が長時間脱窒能力を発揮したものと思われる。なお、この場合も、カラム 1 と 2 とともに、脱窒菌の炭素源としてグルコースを 4 ~ 5 日毎に 100mg/L となるように試料液に添加した。

以上の実験から、長期にわたって脱窒菌の能力を維持するためには、

- 1) 連続分解方法よりも回分式
- 2) スカムの返送

が有効であることがわかった。

### 3. 大容量 (2000mL) の脱リ・脱窒実験結果

以上のことを考慮して、

- 1) 最初からスカムの返送を実施、
- 2) 4 ~ 5 日毎にグルコースを添加
- 3) 処理量を 2000mL にスケールアップ

とし、前培養によって脱窒菌を担体により堅固に固定化し脱窒・脱リン実験を開始した。得られた結果を図4と図5に示した。おおむね1か月にわたって、90%以上の脱窒率と95%以上に脱リン率を維持することに成功した。さらに、表2には脱窒・脱リン処理水のpH、ECおよび溶存酸素(DO)濃度の変化も示した。処理によって、pHやECが大きく変化すると、河川中に生息する魚類等の忌避反応を誘発する恐れがあるが、この担体を使用した場合にはその恐れがないことがわかる。

一方、DOは、微生物による消費によって低下する。しかし、この反応系を通過後にエアレーションによって通常濃度まで回復させることが可能である。

なお、脱窒処理能力を10倍とすることで、維持管理上の問題が懸念されたが、何ら問題がなかった。また、時間とともに脱窒菌の菌数を測定した。実験を開始してから5週間後に脱窒菌の菌数は $10^2 \sim 10^3$  MPN/g減少し、同時に脱窒特性も低下した(図6)。従って、おおむね脱窒菌数が $2 \times 10^6$  MPN/gよりも低下すると、実用的な分解率が得られなくなることがわかった。

#### 4. 微生物反応の動力学

微生物反応の動力学的パラメータを決定するために初期硝酸イオン濃度を変えて、25°Cにおける最大反応速度( $\mu_{max}$ )とミカエリス・メンテン(Michaelis-Menten)の定数( $K_m$ )を定法で求めた。その結果、 $\mu_{max} = 0.236\text{mmol/H}$ 、 $K_m = 5.75\text{mmol/L}$ であった。さらに、このバイオリアクターの温度特性を調べるために10~30°C

において硝酸イオン分解性を求めた。その結果、最大の分解率(83.7%)は25°Cで得られた。しかしながら、この脱窒菌は水温が10°Cに低下しても25°Cにおける反応率を100%としたときに約20%の反応率を示し、低温にあってもある程度硝酸イオンの分解に貢献することも確認した。

### ま と め

脱窒菌を鹿沼土をベースとする担体に固定し河川水中のリンを吸着除去、硝酸イオンを好氣的に微生物分解す

る方法について検討した。その結果、

1) 試験液をカラムに連続供給する連続試験方法では、4~5日毎に炭素源としてグルコースを添加しても脱窒菌の脱窒能を長期に維持することは出来なかった。

2) 回分処理の際に、スカムを返送、脱窒菌の炭素源としてグルコースを添加することによって、脱窒能(分解率90%)を1ヶ月以上保持できた。

3) リン除去率は、微生物の固定化処理によって影響を受けず、連続方法では20~40%、回分方法では95%であった。

4) 回分方法で微生物分解に伴う動力学パラメータを求めたところ、最大分解速度 $\mu_{max} = 0.236\text{mmol/H}$ 、 $K_m = 5.75\text{mmol/L}$ であった。

5) 硝酸イオン分解の至適温度条件は25°Cであった。しかし、脱窒菌は、10°Cにおいても20°Cにおける分解率を100%としたときに20%の分解率を示した。

### 謝 辞

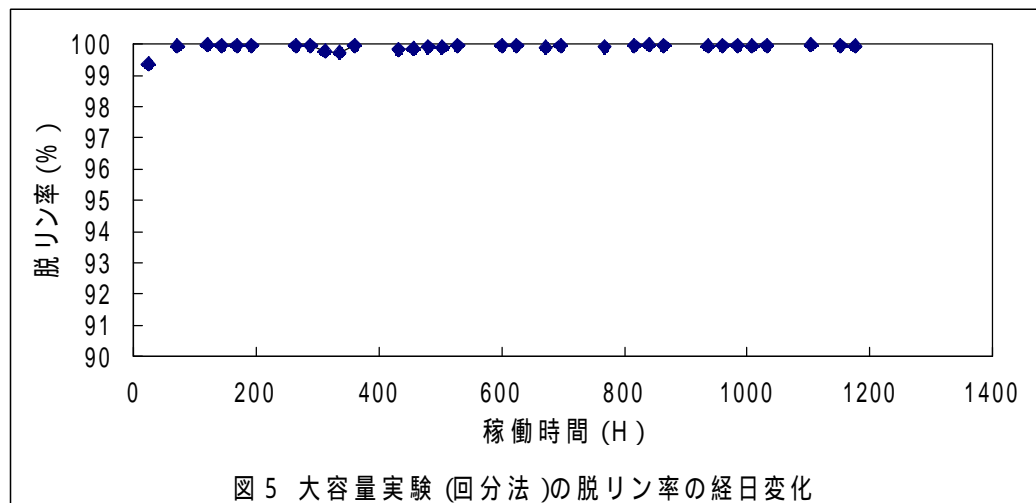
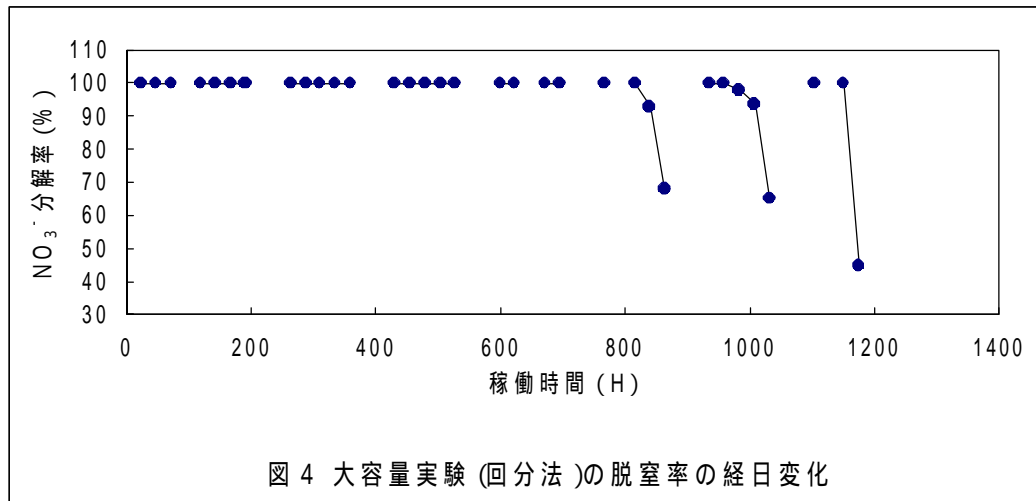
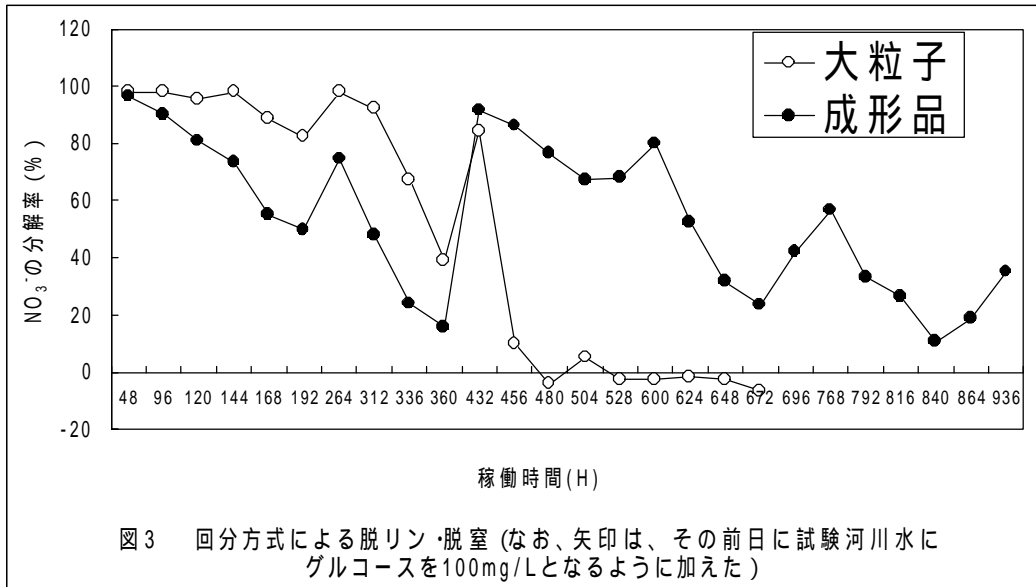
本研究の遂行に関し、脱窒菌を供与していただき、さらに、始終懇切丁寧なご指導を賜った三重大学生物資源学部菅原庸教授にあつくお礼申し上げます。

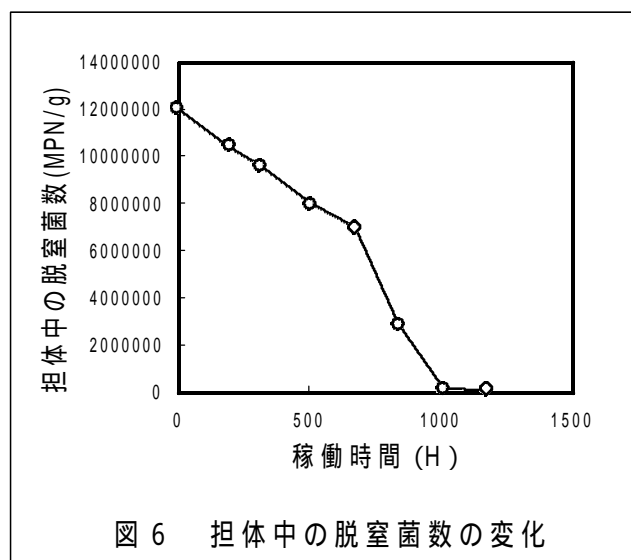
### 文 献

- 1) 加藤進, 山下晃, 岩崎誠二, 高橋正昭: 他自然型河川作りに関する研究 - 環境に優しい吸着材を用いた脱リン法, 三重県保健衛生環境研究所報, 1, 7-18 (2000).
- 2) 市岡高男, 佐来栄治, 加藤進, 澤智恵, 木村俊夫, 菅原庸: 微生物の機能を利用した水質浄化 - 担体付着微生物群集による有機物分解および窒素除去 -, 三重県環境科学センター研究報告, 19, 71-82 (1999)
- 3) Sugahara I, K. Hayashi, and T. Kimura: Distribution and genetic composition of denitrifying bacteria in coastal and oceanic bottom sediments, 日本水産学会誌, 54, 1005-1010 (1988).

表2 処理水のpH、ECおよびDO

回分操作	pH	EC $\mu\text{S/cm}$	DO mg/L
1日後	7.08	226	0.1
15日後	7.10	232	0.6
30日後	7.04	252	2.6





## Simultaneous Removal of $\text{PO}_4^{3-}$ and $\text{NO}_3^-$ from Waste Water Using Environmentally Sound Material

Susumu KATO, Akira YAMASHITA, Seiji IWASAKI and Masaaki TAKAHASHI

**Key words:** Adsorption,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ , denitrifying bacteria, batch-reactor, Michaelis-Menten's parameters

Bench-scale experiments on adsorptive removal of phosphate and microbiological decomposition of  $\text{NO}_3^-$  from river water was carried out using Kanumatuchi (containing 10wt/wt% Bentonite) as working materials. After molding, Kanumatuchi was dried under 150 °C (1hour), then treated successively under 600 °C in the furnace. Since this material shows high porosity, we soaked this material into concentrated suspension solution containing denitrifying bacteria (20g/L) and the nitrifying bacteria was fixed on this material by absorption. Using this bacteria-fixed matrices, a simultaneous removal of  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{NO}_3^-$  was conducted by both continuous and batch flow system. The effective working period on continuous system was within 7 days, however this on batch system extended about one month with decomposition rate above 90% for  $\text{NO}_3^-$  and 95% for  $\text{PO}_4^{3-}$  without special treatment of matrices. The Michaelis-Menten's parameters were  $\mu_{\max} = 0.236 \text{ mmol/L/H}$  and  $K_m = 5.75 \text{ mmol/L}$ , respectively.