<論 文>

硫黄脱窒作用を利用した生物濾過による硝酸性窒素の除去

古 米 弘 明* 尾 林 寿** 藤 田 賢 二***

Removal of Nitrate in Sulfur-Denitrification Filter Process

Hiroaki FURUMAI*, Hisashi OBAYASHI** and Kenji FUJITA***

* Department of Urban and Civil Engineering, Ibaraki University, 4-12-1, Nakanarusawa, Hitachi 316 Japan

** Nishihara Environmental Sanitation Research Corp., LTD, 3-6-18, Shibaura, Minato-ku, Tokyo 108 Japan

*** The Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, Shimo-Okubo 255, Urawa 338 Japan

Abstract

Two types of laboratory-scale experiments were conducted to investigate nitrate removal by sulfur oxidizing denitrifiers fed with thiosulfate as electron donor. One was a batch-type activity test of denitrification with glass vials using enrichment culture. The other was a downflow column experiment at 20°C and at a filtration velocity of 4m·day⁻¹, in which artificially contaminated water was supplied to packed-bed filled with granular anthracites. The stoichiometries of denitrification from nitrate and nitrite by oxidation of thiosulfate were discussed with removal and production data in several batch tests. The conversion rate from nitrate to nitrite was much higher than from nitrite to nitrogen gas in the batch test. The nitrogen concentration profile along the column showed that rapid removal of nitrate was observed at the upper part of the filter after development of biofilm in bed, although remarkable accumulation of nitrite took place there. The accumulation was reduced downward to some extent by distribution of attached biomass to the lower part. However, nitrite in the effluent was not removed completely after ammonium was added as an easily assimilable nitrogen source in order to promote the activity and growth of sulfur-denitrifiers. There was a possibility that their activity and growth was not controlled by nitrogen source for synthesis but suppressed by lower pH condition within the biofilm than bulk water in the column.

Key words: sulfur-denitrification, biological filtration, water treatment, groundwater, nitrate removal

1. はじめに

一般に地下水は清澄で、水量が安定した質の高い貴重な水道水源であるが、近年硝酸性窒素による地下水の汚染が進行しつつあり、飲料水の水質基準である10 mg・l⁻¹を上回る井戸が増えてきている¹⁾。硝酸性窒素あるいは亜硝酸性窒素は、メトヘモグロビン血症の原

因物質であり、強力な発ガン性物質であるニトロソアミンの前駆物質でもある。したがって、地下水以外に代替水源を求められない地域において、地下水からの硝酸および亜硝酸性窒素の除去は重要な課題である。

硝酸性窒素を除去する手法には、イオン交換法や逆浸透法などに代表される物理的処理法と、微生物の硝酸呼吸を利用する生物学的脱窒処理法がある。イオ

* 茨城大学工学部都市システム工学科 〒316 日立市中成沢町 4-12-1

** (株)西原環境衛生研究所 〒108 東京都港区芝浦 3-6-18

*** 埼玉大学大学院理工学研究科 〒338 浦和市下大久保255

ン交換法は水中の硝酸性窒素を分離する方法であるため、樹脂の再生廃液中に高濃度の硝酸塩を含有し、その処理が問題となる。また、逆浸透法も膜特性の改良や経済性に課題が残されている。一般的な生物学的脱窒法は、従属栄養細菌による有機物添加方式であるが、処理速度は高いものの残留有機物や余剰汚泥による汚層閉塞など、有機物の添加量制御や汚泥管理に課題があることが指摘されてきている^{2)~5)}。従属栄養細菌を用いることによって生じるこれらの問題を回避するため、水素を利用する独立栄養細菌の研究^{6)~8)}なども行われている。

本研究では、水道原水を対象に独立栄養性の硫黄脱窒細菌を用いた硝酸性窒素の生物学的除去の可能性を実験的に検討した。独立栄養の硫黄脱窒細菌を用いる利点は、有機物が不要であるため残留有機物の問題が少ないこと、余剰汚泥の生成量が少ないことである。しかしながら、除去速度が従属栄養細菌に比べて低いため、粒状汚層による生物汚過など菌を高濃度に保持できる処理形態を採用するなどの工夫が必要と考えられる。硫黄脱窒では電子供与体として還元型の硫黄化合物を添加する必要があるが、下水処理を対象とした場合では、安価な単体硫黄を利用する方法^{9),10)}も検討されている。しかしながら、浄水プロセスに組み込むことを考慮すると、経済的に不利であるものの、毒性が低く、水への溶解性が高く、取り扱いが容易であるチオ硫酸塩を電子供与体として選択することが考えられる。

そこで、硫黄脱窒細菌の集積培養を用いて、チオ硫酸塩を電子供与体として利用して硝酸塩除去特性を評価したのち、集積培養液を植種した生物汚過プロセスの立ち上げ段階における連続処理状況と、その連続実験で観察された亜硝酸塩の蓄積現象について調べた結果を報告する。

2. 硫黄脱窒細菌と硫黄脱窒反応

Thiobacillus 属は、一般的な特徴として元素状硫黄、硫化物、チオ硫酸塩などの硫黄化合物を酸化してエネルギーを得る化学合成独立栄養細菌である。*Thiobacillus* 属の中でも特に脱窒能を有する細菌が硫黄脱窒細菌 (*Thiobacillus denitrificans*) と呼ばれ、それは河川の水、海水、鉱山、土壌などに広く分布する。生育の際の電子供与体には還元型硫黄化合物を用い、これを硫酸塩までに酸化する時に電子受容体として亜硝酸塩や硝酸塩などを用いる。硫黄脱窒細菌は、硝酸塩より酸素を好むため、脱窒反応は硝酸塩の存在する無酸素条件下で起きる。チオ硫酸塩を電子供与体とする硝酸塩からの脱窒反応の化学量論式は、菌体合成とエネルギー

生成に関する熱力学的な解析手法¹¹⁾を用いて式(1)のように求められている¹²⁾。

また、同様な熱力学的な解析手法¹¹⁾から亜硝酸塩からの脱窒反応の化学量論式を求めたところ、次式が得られた。

両反応とも、有機物を利用した脱窒とは逆にアルカリ度を消費し、脱窒が進行するとともに pH が低下する。微生物学の分野において、硫黄脱窒細菌の生理学的な特徴を調べた研究成果^{13)~15)}がいくつかあり、菌体合成の窒素源としてアンモニア塩が必要であるという知見¹³⁾と、窒素源を硝酸塩に求めアンモニア塩を必ずしも要求しないという報告¹⁴⁾がある。下水と異なり水道原水のようにアンモニア性窒素を含まない水を対象に、硫黄脱窒を試みる場合には、菌体合成のための窒素源への配慮が必要となるものと思われる。

3. 実験方法と実験条件

3.1 集積培養の方法と脱窒活性試験

下水処理場の活性汚泥を植種源として、Table 1 に示す培養基質¹³⁾を用いて硫黄脱窒細菌を集積培養した。当初培地に 2% 容の活性汚泥を植種して、白濁および窒素ガスの発生を確認後、10% 容の懸濁液を植継ぎ、最終的に 5 l 集積培養を得た。培養が安定した段階では 3~4 日おきに培地交換と菌の引き抜きを行った。このように半年以上集積培養された硫黄脱窒細菌の懸濁液を用いて、硝酸性窒素および亜硝酸性窒素からの脱窒活性試験とアンモニア塩の有無が脱窒活性に及ぼす影響について確認実験を行った。

活性試験は、容易に嫌気状態を保てるバイアル瓶を用いた方法¹⁶⁾により行った(参照 Fig. 1)。バイアル瓶は 20°C の恒温槽内で、ロータリーシェイカーにより 100rpm で旋回振とうする。液量は、120ml/容バイアルに対し 100ml とした。活性試験における基質組成を Table 2 にまとめた。アンモニア塩を菌体合成の窒素源として添加しない条件で硝酸塩からの脱窒試験を行ったのち、さらに、アンモニア塩を無添加、0.5、5.0 mg-N・l⁻¹ 添加した場合の 3 ケースについて、それぞれ硝酸塩と亜硝酸塩を基質とした試験を行った。

3.2 連続処理実験の装置及び運転条件

実験装置を Fig. 2 に、実験条件を Table 3 に示す。装置は内径 10cm、高さ 200cm のアクリル樹脂製であ

Table 1 Culture media for enrichment of sulfur-denitrifiers

KNO ₃	5.0g/l
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	2.0g/l
NH ₄ Cl	0.5g/l
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.5g/l
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01g/l
NaHCO ₃	1.0g/l
KH ₂ PO ₄	2.0g/l
trace metal solution	40ml/l

trace metal solution	
EDTA	500.0mg/l
CaCl ₂	55.4mg/l
CuSO ₄ · 5H ₂ O	15.7mg/l
CoCl ₂ · 6H ₂ O	16.1mg/l
MnCl ₂ · 4H ₂ O	50.6mg/l
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	220.0mg/l
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	11.0mg/l
FeSO ₄ · 7H ₂ O	49.9mg/l

All constituents were dissolved in tap water.
pH was adjusted to 7.0 by 1N NaOH.

Fig. 1 Procedure of batch-type activity test

り、汚材として粒径2～3 mm、均等係数1.4程度のアンスラサイトを80cm (実験 A-1) または、90cm (実験 A-2) 充填している。汚過速度が4 m・d⁻¹ になるように、硝酸塩汚染を模擬した原水を20°C に調節して下向流で流入させた。ここで、下向流汚過を採用したのは、下部からの流入に伴い発生ガスが汚層下部で捕捉され、流れ障害を引き起こす可能性を懸念したためである。

実験 A-1 の開始は、集積した硫黄脱窒細菌を植種 (約1 gMLSS) し、約1 カ月間高濃度条件 (硝酸塩100 mg-N・l⁻¹) で循環培養し生物汚過膜を形成させた後、

Table 2 Substrate composition for batch-type activity test

KNO ₃ , KNO ₂	20mgN/l
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	1000mg/l
NaHCO ₃	500mg/l
KH ₂ PO ₄	1.0mgP/l
NH ₄ Cl	0、0.5、5mgN/l

All constituents were dissolved in tap water.

Fig. 2 Experimental apparatus for continuous-flow treatment

Table 3 Experimental conditions for continuous-flow treatment

R UN	A - 1	A - 2
Bed Height	80 cm	90 cm
Na ₂ S ₂ O ₃ 5H ₂ O	442mg/l	665mg/l
KNO ₃	20mgN/l	
NaHCO ₃	120mg/l	
KH ₂ PO ₄	1.0mgP/l	

汚過閉塞気味になった時点で逆洗浄 (膨張率20%になるように空気流量を設定) を行った時点とした。実験 A-2 では、A-1 に比べ電子供与体であるチオ硫酸塩濃度を高く、汚材厚さを大きく設定し、硫黄脱窒細菌を多めに植種 (約5 gMLSS) した。当初 A-1 と同様に循環培養して菌体を汚層全体に付着させた後、逆洗浄なしで連続流入を開始した。

測定項目と方法については、DOとpHは電極法であり、亜硝酸塩、硝酸塩、硫酸塩は、イオンクロマトグラフ法である。また、汙過抵抗を汙過筒内の水面と流出口水面との差として測定した。

4. 実験結果と考察

4.1 集積培養菌による脱窒活性の評価

4.1.1 アンモニア塩の脱窒活性への影響

脱窒活性試験における硝酸塩と亜硝酸塩の各濃度の経時変化をFig. 3に示す。硫黄脱窒細菌は硝酸塩を一旦亜硝酸塩に還元し、硝酸塩が消失したのち亜硝酸塩を脱窒除去している傾向が見られる。4時間までの硝酸塩の除去と亜硝酸塩の増加および10時間以降の亜硝酸塩の減少傾向から、亜硝酸塩への比還元速度に比べ、最終的な亜硝酸塩からの比脱窒速度が著しく低い値であることがわかる。

上述の亜硝酸塩の蓄積傾向が、実験基質に菌体合成の窒素源としてアンモニア塩を添加しなかったために生じたという可能性も考えられたため、3段階にアンモニア塩の添加濃度を設定し、硝酸塩添加と亜硝酸塩添加の活性試験をそれぞれ行った。その結果をFig. 4とFig. 5に示す。アンモニア塩の添加濃度によらず硝酸塩は亜硝酸塩に着実に還元され、亜硝酸塩までの還元にはアンモニア塩の存在は影響しないことがわかる。そして、蓄積した亜硝酸塩が最終的に除去されるまでの時間には、アンモニア塩添加濃度によってわずかながら違いが現れている。

本試験結果から判断すると、菌体合成の窒素源としてアンモニア塩を添加することにより亜硝酸塩の蓄積は解消されていないものの、低濃度領域において亜硝酸塩からの脱窒に若干影響があることがうかがえる。しかしながら、実験に用いた菌体濃度(160および60 mg・l⁻¹)が添加硝酸塩濃度に比べて高く、菌体の自己分解等でアンモニア性窒素が供給され、無添加のケースでも菌体合成への制限とならなかったという可能性も考えられる。したがって、少なくとも一旦高濃度に菌体を保持できれば菌体合成のための窒素源としてアンモニア塩を添加する必要はないものと推定することができる。

また、Fig. 5に示されているように、亜硝酸塩単独添加の場合にも直線的に窒素除去は進むものの、アンモニア性窒素の有無にかかわらず、その除去速度は硝酸塩の場合と比べて遅い。そこで、両者を定量的に比較するために、硝酸塩および亜硝酸塩添加の活性試験における窒素濃度の直線的な減少データから除去速度を求めた。また、硝酸塩添加の試験では硝酸塩と亜硝酸塩の合計濃度の直線的な減少データについても計算

Fig. 3 A typical pattern of nitrate removal by the enrichment culture in batch tests

Fig. 4 Effect of ammonium on nitrate removal in batch tests

Fig. 5 Effect of ammonium on nitrite removal in batch tests

Table 4 Specific nitrogen removal rate in batch tests

Batch Experiment	Added $\text{NH}_4\text{-N}$ [mg-N/l]	Specific Removal Rate [mg-N/g-VSS hr]	
		$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{NO}_2\text{-N}$
$\text{NO}_3\text{-N}$ Addition	0	29.5	8.0
	0.5	29.3	9.1
	5.0	28.6	9.8
$\text{NO}_2\text{-N}$ Addition	0	-	9.2
	0.5	-	10.3
	5.0	-	10.5

Table 5 Relationship between denitrification and sulfate production

Batch Experiment	Added $\text{NH}_4\text{-N}$ [mg-N/l]	$\Delta\text{SO}_4 / \Delta\text{NO}_3\text{-N}$ [mg-N/mg]	
$\text{NO}_3\text{-N}$ Addition	0	$252 / 22.0 = 11.5$	Average
	0.5	$246 / 22.2 = 11.1$	≈ 11.3
	5.0	$245 / 21.8 = 11.2$	(11.6*)
Batch Experiment	Added $\text{NH}_4\text{-N}$ [mg-N/l]	$\Delta\text{SO}_4 / \Delta\text{NO}_2\text{-N}$ [mg-N/mg]	
$\text{NO}_3\text{-N}$ Addition	0	$111 / 15.1 = 7.35$	Average
	0.5	$94 / 15.1 = 6.22$	≈ 6.62
	5.0	$95 / 15.1 = 6.29$	(7.32*)
$\text{NO}_2\text{-N}$ Addition	0	$130 / 19.5 = 6.67$	Average
	0.5	$150 / 18.5 = 8.11$	≈ 6.84
	5.0	$111 / 19.3 = 5.75$	(7.32*)

* : Stoichiometric ratio of produced sulfate and removed nitrogen based on Eq.(1) and (2).

を行った。これらの除去速度を Table 4 に取りまとめ示す。硝酸塩除去速度は亜硝酸塩のそれぞれの約3倍であり、硝酸塩の還元により生成される亜硝酸塩が蓄積する傾向が出ることの裏付けとなった。また、硝酸塩存在下での亜硝酸塩の除去速度も同様に求めたところ、単独で存在する場合に比べ、約10%程度除去率が低下していることが明らかとなった。

4.1.2 硫黄脱窒反応の化学量論について

上記の活性試験データを用いて窒素除去量と硫酸塩生成量との関係について化学量論的な検討を行った。Table 5 に両者の比の実験値と式(1)および式(2)からの理論値を示した。亜硝酸塩については理論値に比べて若干低めの値が実験から得られたが、硝酸塩についてはほぼ一致している。そこで、2つの硫酸塩生成の化学量論係数を用いて、硝酸塩添加試験の経時的な硫酸塩変化を硝酸塩と亜硝酸塩濃度変化データを用いて計算した。その結果、Fig. 6 に示されるようにうまく実験値を再現できることがわかった。このように前述の化学量論係数を用いて、硫黄脱窒反応の非定常過程での除去量や生成量も理論的に計算できる。

なお、脱窒により生成される硫酸塩については、飲料水の性状目標値として $250\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ があり、この量は $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の硝酸塩除去により生成される量に匹敵し

Fig. 6 Sulfate production in batch test with nitrate addition

てくる。

4.2 連続処理実験による脱窒特性の評価

4.2.1 処理水質の経時変化と流下方向分布

Fig. 7(a), (b)に実験A-1, A-2の結果を示す。両実験とも経日的に汙層流下方向に硝酸塩の除去が進むが、それに伴い亜硝酸塩が蓄積して行く。また、汉層厚さを増加させた実験A-2でも、亜硝酸塩の蓄積が解消されていない。処理の立ち上がりは、逆洗浄を行った実験A-1で遅いが、これは連続流入直前の逆洗浄により付着菌体量が低レベルになったためと考えられる。なお、両実験でのチオ硫酸塩添加濃度は、式(1)から計算される硝酸性窒素 $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ を脱窒に必要な濃度の1.5~2倍程度であり、脱気していない原水中の溶存酸素による消費を差し引いても十分量であった。また、汉層厚さを増加させた実験A-2でも、汉層流下方向の水質にほとんど大きな影響を及ぼさず、亜硝酸塩の蓄積が解消されていない。前節での回分脱窒活性試験でも亜硝酸塩の蓄積傾向が見られたが、最終的には脱窒が完了しており、亜硝酸塩の消長が回分系と連続系で異なる結果が得られた。

4.1.1で示した活性試験での比除去速度と汉層体積基準で $1\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 程度の付着膜濃度を仮定すると、数時間の汉過時間で脱窒は完了するはずである。しかしながら、本実験では硝酸性窒素の還元は予想以上に早いものの、亜硝酸塩の除去が不完全で進行していないことになる。

Matsui ら⁹⁾は、亜硝酸塩の蓄積について硝酸塩に対するチオ硫酸塩の添加比率 (S/N) が低い場合に起こることや、化学量論式の解析からこの比として4.3が最低必要であることを報告している。また、橋本ら¹⁵⁾は菌体の増殖律速が $\text{S/N}=4.2$ 以下で起こったことを実験から求めている。しかしながら、今回の流入原水の条

Fig. 7 a) Nitrogen profiles with bed height in Run A-1

Fig. 7 b) Nitrogen profiles with bed height in Run A-2

件では S/N 比は 5.70 および 8.58 と高く、チオ硫酸塩不足による蓄積とは考えられない。したがって、硝酸塩の除去が完了した汙層部分において付着菌体量が非常に低い状態にあるか、その活性が阻害されている可能性が示唆された。

4.2.2 汙過抵抗の変化

Fig. 8 に汙過抵抗の経日変化を示す。多めの植種を行い、逆洗浄も行わなかった実験 A-2 では、処理の立ち上がりが A-1 より速やかではあるが、早い時期から汙過抵抗の上昇が見られる。汉層上部に多量の菌体が肉眼で観察されたが、中部や下部ではその存在は顕著

ではなかった。したがって、窒素除去の大半が上部汉層で行われており、汉層閉塞もここで起きているものと推察される。

しかしながら、上部汉層においても独立栄養細菌を用いているため余剰菌体が少なく、長期間汉層の閉塞もなく運転できたとも言えられる。

4.2.3 亜硝酸塩蓄積抑制のための付着菌体の汉層全体への分散効果

汉層に空気洗浄を適用した場合、一旦砂上水中に排出された濁質の一部が汉層内に舞い戻る現象が起きる事が明らかとなっている¹⁷⁾。本実験では、この舞い戻り

を利用して、汙層上層で集積した硫黄脱窒細菌を汉層下部にも分散させることにより、汉過抵抗の問題を解消すると共に、汉層下部の処理能力を向上させ、蓄積した亜硝酸塩の除去を促進する可能性を検討した。

実験には、汉過抵抗の増大した A-2 の汉過筒を用い、供給空気量 $7.5\text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ 、砂上水深 10 cm の条件で空洗を30分間行った。菌体の舞い戻り量は上中下部の3つのサンプリング口から経時的に採水を行い、濁度を用いて表した。このサンプルには若干の黒ずみが見られ、汉材の摩滅粉が含まれるが、菌体の相対的な汉過筒内の分布を評価するには十分と判断した。濁度の経時変化を Fig. 9 に示す。空洗開始後5分でかなりの付着菌体が剥離しており、徐々に菌体が上部と中央部

において混合分散していくことがわかる。剥離菌は中央部に蓄積を見せ、また上部に戻って行く。この結果から、空洗により10分～20分の間でほぼ下部を除き、よく分散していったことがわかる。また、30分後には量は少ないものの菌体が下部まで届いていた様子が、汉層壁面から肉眼でも観察された。

菌体分散後の処理結果を Fig. 10 に示す。菌体を分散させた直後1日目では、空気泡が汉層に捕捉されたことも影響して亜硝酸塩の除去に改善が見られないが、8日目からは上部で蓄積した亜硝酸塩が若干ながら除去されるようになってきている。なお、汉過抵抗はこの期間を通して 0 cm であった。しかしながら、約50日間の運転でも完全には亜硝酸塩の除去が達成でき

Fig. 8 Comparison of head losses in Runs A-1 and A-2

Fig. 9 Biomass distribution in the filter bed after dispersion by bubbling

Fig. 10 Nitrite removal by distributed biomass to lower part of bed

Fig. 11 Nitrite removal in the filter bed with nitrite feeding

Fig. 12 Effect of ammonium on nitrite removal in the filter bed with nitrite feeding

ておらず、汙層下部への菌体移植が不十分であったか、あるいは活性を抑制する要因が残されていたため菌体が増殖保持されなかった可能性がある。

4.2.4 亜硝酸塩除去特性とアンモニア塩添加の効果

汙層全体への分散により、亜硝酸塩除去が若干ながら向上したことを受けて、硝酸塩の代わりに亜硝酸塩を流入させ、汙層全体での亜硝酸塩からの除去特性を直接評価した。さらに、原水にアンモニア性窒素を $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 添加して、菌体合成の窒素源としての効果も調べた。

Fig. 11 に、流入濃度を $40 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の幅で設定し

て運転した40時間の流下方向水質分布を示す。亜硝酸塩除去は硫黄脱窒細菌が集積している上部においてもさほど進行しておらず、硝酸塩のない状態でも亜硝酸塩の除去が促進する傾向は見られなかった。

次に、連続汙過処理における硫黄脱窒菌の増殖促進に関連して菌体合成の窒素源としてのアンモニア塩の添加効果を検討した結果を Fig. 12 に示す。6時間目に効果が一時的に見られたが、19時間後には効果は見られず、菌体合成の窒素制限による結果として亜硝酸塩が蓄積したものではないと推測できる。

4.2.5 亜硝酸塩除去の抑制要因の検討

亜硝酸塩の蓄積原因として、上述の窒素源に加えて菌体増殖の炭素源についても重炭酸塩を十分に添加しており、問題がないため、その他の可能性として pH の影響が考えられた。

今回観測された汙層下部での pH は、重炭酸塩の緩衝作用により最低でも 6.5～6.8 程度に保たれていた。硫黄脱窒細菌の生育最適 pH 範囲として、6.2～7.0⁽¹³⁾ や 7.5～8⁽¹⁴⁾ など異なる範囲が報告されており、この観測された pH が脱窒活性に著しく影響したかどうかは即断できない。しかしながら、上記のうち高めの最適 pH 範囲を報告している Claus & Kutzner ら⁽¹⁴⁾ による pH=6.5 での活性試験結果においても、最大脱窒活性の 3 割程度は保持されたことも考慮すると、今回の亜硝酸塩の蓄積は、硫黄脱窒反応が起きている生物汙過膜内の菌体が、観測される液相の pH よりさらに低い条件に曝されていたことによるものと推察される。

4.2.6 従属栄養脱窒細菌の共存

亜硝酸塩流入実験において、測定された硫酸塩生成量と亜硝酸塩除去量との関係を Fig. 13 に示した。理

Fig. 13 Stoichiometric relationship between sulfate production and nitrite removal

論式の化学量論比(=7.32)に比べて、低い値(=4.1)が観測され、亜硝酸塩の脱窒が硫黄脱窒反応だけで起きていない可能性がある。すなわち、下部において不活性化した菌体を有機源として従属栄養脱窒細菌が共存して脱窒している可能性が考えられる。

5. ま と め

硫黄脱窒細菌に関する脱窒活性試験と生物汚過処理実験から、次のような知見が得られた。

1) 菌体合成を考慮し、熱力学的考察から理論的に誘導された硫黄脱窒の化学量論が、集積培養を用いたチオ硫酸塩による脱窒活性試験において検証された。したがって、これらの反応式を基礎として窒素除去機構と副産物の生成を解析できる。

2) 硫黄脱窒細菌の集積培養を用いた脱窒活性試験から、最終的には完全な脱窒が行われるものの、20°Cにおいて硝酸塩の比除去速度に比べて亜硝酸塩の比除去速度が3倍程度遅いため、亜硝酸塩が蓄積する傾向が見られる。

3) 生物汚過処理実験において、20°C、汚過速度4 m/日の条件で、汚層上部10cm程度で硫黄脱窒細菌による速やかな硝酸塩の還元は進行するものの、長期間亜硝酸塩が蓄積したままとなり除去が進行しなかった。しかしながら、菌体を下層に分散させることにより、ある程度亜硝酸塩からの脱窒が改善する。

4) 汚過層における脱窒活性の低さの原因として、菌体合成に利用されやすい窒素源であるアンモニア塩の不足よりも、硫黄脱窒に伴うアルカリ度消費のために、生物膜内pHが計測される液相内pHより低い状態にあることが可能性として考えられた。

5) 硫酸塩生成量と亜硝酸塩除去量の関係から、一部亜硝酸塩からの脱窒に従属栄養脱窒細菌が関与している可能性も考えられた。

(原稿受付 1995年10月17日)

(原稿受理 1996年5月20日)

参 考 文 献

- 1) 環境庁(1990, 1991)「地下水質保全対策調査」平成2年度及び平成3年度環境庁委託業務結果報告書。
- 2) 藤田賢二, スラポン・ワタナチラ, 金子栄廣(1989) 粒状炉層による硝酸態窒素除去, 水道協会雑誌, 58(10), 2-9.
- 3) スラポン・ワタナチラ, 藤田賢二(1990) 粒状層脱窒処理における汚過速度, pH及び温度の影響, 水道協会雑誌, 59(6), 2-8.
- 4) Hiscock, K.M., Lloyd, J.W. and Lerner, D.N. (1991) Review of natural and artificial denitrification of groundwater, *Water Research*, 25, 1099-1111.
- 5) Bouwer, E.J. and Crowe, P.B. (1988) Biological processes in drinking water treatment, *J. AWWA*, 80(9), 82-93.
- 6) 黒田正和, 渡辺智秀, 梅津嘉忠(1994) バイオエレクトロ法による硝酸汚染水脱窒特性とその高速処理に関する検討, 水環境学会誌, 17, 623-631.
- 7) 明賀春樹, 角田ふで子, 楊敏, 三宅西作, 真柄泰基(1994) 水素酸化脱窒菌の比脱窒速度に及ぼす諸因子の検討, 水環境学会誌, 17, 669-675.
- 8) Kurt, M., Dunn, I.J. and Bourne, J.R. (1987) Biological denitrification of drinking water using autotrophic organisms with H_2 in a fluidized-bed biofilm reactor, *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 493-501.
- 9) Matsui, S. and Yamamoto, R. (1986) A new method of Sulphur denitification for sewage treatment by a fluidized bed reactor, *Wat. Sci. Tech.* 18, 355-362.
- 10) 橋本奨, 古川憲治, 塩山昌彦(1989) 硫黄補填好気-嫌気式活性汚泥法の脱窒・脱リン機能, 水質汚濁研究, 12, 441-448.
- 11) McCarty, P.L. (1972) Chap. 5 Energetics of organic matter degradation, in "Water Pollution Microbiology (Ed. R. Mitchell)".
- 12) Bisogni, J.J.Jr. and Driscoll, C.T.Jr (1977) Denitrification using thiosulfate and sulfide, *J. Env. Eng., Am. Soc. Civ. Eng.*, 103, No. EE4, 593-604.
- 13) Baalsrud, K.K. and Baalsrud, K.S. (1954) Studies on *Thiobacillus denitrificans*, *Archiv für Microbiologie*, 20, 44-62.
- 14) Claus, G. and Kutzner, H.J. (1985) Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 283-288.
- 15) 橋本奨, 古川憲治, 塩山昌彦(1989) 硫黄脱窒菌の集積と単体硫黄への馴養, 水質汚濁研究, 12, 431-440.
- 16) 久場隆広, 古米弘明, 楠田哲也(1990) バイアイル実験によるメタン生成活性の評価手法の検討, 水質汚濁研究, 13, 121-125.
- 17) 海老江邦雄, 笠原伸介, 李富生(1994) 急速砂汚過池の空洗における排出濁質の舞い戻り, 第45回全国水道研究発表会講演集, 182-183.