リン酸塩添加による低水温時の 水道水処理工程における硝化活性促進効果

Effects of Phosphate on Nitrifying Activity in a Water Treatment Plant at Low Temperature

西尾孝之^{1*}, 芳倉太郎¹, 福永勲^{1,2}

¹大阪市立環境科学研究所／〒543-0026 大阪市天王寺区東上町8-34

TAKAYUKI NISHIO, TARO YOSHIKURA, and ISAO FUKUNAGA

¹Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences

/8-34 Tojo, Tennoji, Osaka 543-0026

Abstract

Nitrification by autotrophic bacteria is sensitive to low temperature and nitrification efficiency decreases in winter, however, the activity can be maintained when phosphate, which is eliminated through a coagulation-sedimentation process in potable water treatment plants, is amended prior to sand and GAC filtration. We examined seasonal changes in the population of nitrifying bacteria during the water treatment process and the effect of phosphate amendment in the laboratory. The population densities of nitrifying bacteria in the biofilm attached to sand and GAC observed in winter were of the same order as those in other seasons. The potential nitrifying activity in winter was about 0.5- to 1.8-fold that in summer when examined at 30 °C. Filter sand seemed to be more sensitive to low temperatures than GAC as seasonal deviations in nitrifying activities were larger in sand. The immediate effect of phosphate addition was confirmed using a sand column and the population of ammonia-oxidizing bacteria did not increase significantly after 3 weeks of incubation. Phosphate addition enhanced ammonia-elimination rate more than nitrification products accumulation rate. When nitrifying activity was inhibited by the addition of allylthiourea, the respiration in phosphate-amended culture was more active than in culture without phosphate. Thus a possibility remained that addition of phosphate might have enhanced ammonification by heterotrophic bacteria in the biofilm resulting in an increase in nitrifying activity.

Key words: nitrification, phosphate, low temperature, water treatment plant, biofilm, GAC

1. はじめに

上水処理工程において、アンモニアの処理は水質の維持に欠かせない要素であり、従来、急速ろ過法では前(中)塩素処理により除去されていた。塩素処理によるトリハロメタンなどの低沸点有機塩素化合物の生成を抑制するとともに、微量化学物質や臭気物質の除去効率を高める

ために、オゾンと粒状活性炭(Granular Activated Carbon; GAC)の処理を組み合わせた高度処理が採用されるようになってきた^{1) 4)}。微生物膜が付着した生物活性炭を用いる高度処理では、トリハロメタン生成の抑制および微生物膜処理における微生物の活性を損なわないように前(中)塩素処理を行わないが、アンモニウムイオンの除去性能は高く維持されている⁵⁾。これは、ろ過砂

2) 現住所：大阪人間科学大学

やGACの表面に付着する微生物膜中の硝化細菌によるものであるが、独立栄養性の硝化細菌は低水温に感受性が高く⁶⁻⁸⁾、冬期に除去効率が低下する現象がみられる。しかし低水温期でもろ過砂⁵⁾やGAC⁹⁾による処理の前にリン酸カリ塩を添加することによりアンモニウムイオンの硝化が促進されることがわかっている。

活性汚泥により嫌気/好気処理を行っている工場排水処理場で有機物負荷が高まった場合や¹⁰⁾、前段に凝集沈殿処理工程のある微生物膜により3次処理を行っている下水処理場¹¹⁾において、リンの欠乏により硝化活性が低下する場合があることが報告されている。上水処理工程における有機物負荷は、下水処理場に比べて非常に低い。ため従属栄養性微生物の増殖に伴うリンの消費量は少ないと考えられるが、実際は、原水の凝集沈殿処理工程でリンが除去されるので非常に低い濃度となる³⁾。リン酸塩添加により硝化活性が促進する要因として、硝化細菌の直接的な活性化や従属栄養細菌と硝化細菌の間のリン競合の緩和などが考えられる。

そこで本研究では、高度浄水処理の各工程即ち、凝集沈殿処理水、急速ろ過砂、およびGAC付着微生物膜中の硝化細菌の挙動及び硝化活性を調べると共に、室内実験でろ過砂を低温馴養してリン酸塩添加による低水温下での硝化活性維持効果を確認した。

2. 実験材料及び方法

2.1 細菌の計数

実験に用いた試料は、高度処理実証処理装置から凝集沈殿処理水、ろ過砂、及びGACを採取した。ろ過砂およびGAC担体は試料を採取する1~2時間前に逆洗を行った。担体に付着している生物膜中の細菌数は、滅菌水道水9 mlに担体1.0 g wetをいれた18 mmφ試験管中で、UD200超音波処理装置 (Tomy Seiko, Tokyo, Japan) を用い80Wで氷冷下30秒間2回処理を行い、生物膜を剥離して計数した。

従属栄養細菌数は、Trypticase peptone (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA) 0.5 g, yeast extract (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 0.05 g l⁻¹ tap waterを含むTT⁻¹寒天平板培地 (agar 15 g l⁻¹, Nacalai tesque, Kyoto, Japan) に適当に希釈した試料を塗抹し、30℃で10日間培養後生じたコロニーを計数して求めた。

アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌数は、最確数 (most probable number; MPN) 法により求めた。CaCO₃

を0.1%添加したSynthetic Nitrogen Base (SNB) 培地 (1 mM MgSO₄·7H₂O, 0.25 mM K₂HPO₄, 0.25 mM NaH₂PO₄·2H₂O, 0.1 mM CaCl₂·2H₂O, ZnSO₄·7H₂O 100 mg, CuSO₄·5H₂O 20 mg, MnCl₂·4H₂O 2 mg, CoCl₂·6H₂O 2 μg, Fe-EDTA及びNa₂MoO₄·2H₂O 1 μg; pH 7.8)に(NH₄)₂SO₄またはNaNO₂を0.1 mMになるように添加し、10倍希釈5本建てで行った。30℃で8週間培養後、亜硝酸および硝酸を測定し、最確数をCochranの表より求めた¹²⁾。

2.2 硝化活性測定

(1) バッチ培養法

凝集沈殿処理水50 mlあるいは担体5 g wetに凝集沈殿処理水45 mlを加えたものを100 ml容の三角フラスコにいれ、120回/分往復振盪で培養し、試料水中の各態窒素濃度の経時変化を調べた。現場での硝化活性を再現する系では現場水温で培養した。また、潜在的活性を調べるために30℃で培養した系には、無添加区、0.2 mMアンモニウム塩 (0.1 mM硫酸アンモニウム) 添加区、及び0.2 mMアンモニウム塩と0.1 mMリン酸塩をそれぞれ添加した実験区を設けた。

測定精度を上げ、短時間で実験を終了するために、担体の量を増やし溶存酸素 (DO) 消費速度を測定した。即ち、容量100 mlのBODフラン瓶に担体を湿重量で20.0 g及び0.2 mMアンモニウム塩を添加した滅菌水道水を入れ、回転子で攪拌しながら20℃で培養してDO濃度の経時変化を溶存酸素電極 (YSI Model54) で測定した。試料水に硝化反応阻害剤であるアリルチオ尿素 (ATU; allylthiourea) を0.10 mMになるように添加した系としない系の溶存酸素消費速度の差を硝化に伴う溶存酸素消費速度として求めた。また、シアン化カリウムを1.0 mM添加し、ブランク実験とした。ATUあるいはシアン化カリウムを添加した実験では、これらの阻害剤を添加後およそ60分してから測定を開始した。DO測定後に培養液を分取し、-35℃で凍結保存して各態窒素濃度測定用の試料とした。

(2) カラム法

高度処理実証プラントのろ過砂約100 mlをカラム (2.5 × ca. 25 cm) 2本に詰め、一方にはアンモニウム塩を0.2 mM添加した水道水を、他のカラムにはアンモニウム塩0.2 mMとリン酸塩緩衝液2 μMを添加した水道水を約60 ml h⁻¹で通水し、10.0℃で培養して低温馴養した。硝化活性を測定する場合は、基質流速にならないように基質添加水道水の流速を200~350 ml h⁻¹の範囲で変化さ

せ、カラム流入液と流出液中の亜硝酸および硝酸濃度の差から各カラムの硝化活性を求めた。

2. 3 分析方法

ろ過砂およびGAC担体に保持されている全窒素は、微生物膜の付着した各担体5 g(湿重量)をKjeldahl法¹³⁾で灰化した後に、TN-301P全窒素計(Yanaco, Kyoto, Japan)で測定した。各態窒素濃度はTRAACS800(Bran Luebbe, Germany)自動分析計で測定した。リン酸イオンは比色法¹³⁾により求めた。

3. 結果および考察

3. 1 細菌数の季節変動

従属栄養細菌および硝化細菌数の季節変化をFig. 1に示した。凝集沈殿処理水中の従属栄養細菌数は 6.4×10^2 から 7.4×10^4 cfu ml⁻¹まで変動したが、低水温期に減少する傾向は認められず、季節的な変動よりも懸濁物質の量に影響されたものと考えられる。凝集沈殿処理水中の硝化細菌数はアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌ともに少なく、10 MPN ml⁻¹未満のことが多かった。

担体付着微生物膜の従属栄養細菌は、ろ過砂では $8.0 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^8$ cfu g⁻¹ wet, GACでは $1.3 \times 10^7 \sim 1.5 \times 10^8$ cfu g⁻¹ wetと、通年では $10^7 \sim 10^8$ cfu g⁻¹ wet程度存在した。一方、硝化細菌は、ろ過砂にはアンモニア酸化細菌が $2.8 \times 10^3 \sim 3.3 \times 10^6$ MPN g⁻¹ wet, 亜硝酸酸化細菌が $3.5 \times 10^4 \sim 1.6 \times 10^7$ MPN g⁻¹ wet, GACではそれぞれ $1.1 \times 10^4 \sim 3.3 \times 10^6$ MPN g⁻¹ wetおよび $2.8 \times 10^4 \sim 2.8 \times 10^6$ MPN g⁻¹ wet検出され、従属栄養細菌に比べ変動が著しかった。硝化細菌は冬期にもかなり高密度で存在することが確認され、水温の低下に伴い生理活性が低下しても、担体付着微生物膜に安定に保持されていることが判った。

3. 2 硝化活性

(1) 季節変化

三角フラスコを用いたバッチ培養法により硝化活性を調べた。培養期間中の微生物群集構造や基質濃度の変化の影響をなるべく抑えるために、24時間以内の各態窒素濃度変化からアンモニウムイオン消費速度と硝化産物蓄積速度を求めた。添加したアンモニウム塩は硝酸にまで酸化され、亜硝酸の蓄積は殆ど認められなかった。最も顕著に表れたケースをFig. 2に示した。

アンモニウム塩もリン酸塩も無添加の実験系では、ア

ンモニウムイオンの減少速度よりも硝化産物濃度([NO₂]⁻ + [NO₃]⁻)の増加速度の方が高い値になった。アンモニウム塩を添加した実験系においてもアンモニア濃度の減少速度よりも硝化産物濃度の増加速度の方が大きかったが、両者の比率は小さくなった(Table 1, 2)。アンモニア酸化反応の阻害剤であるATUを添加して実験したところ、ろ過砂の系では硝化反応は進行せずアンモニウムイオンが顕著に蓄積したことから、付着微生物膜中の従属栄養細菌がアンモニウムイオンを供給していることが確かめられた(Fig. 3)。一方、GACの系では0.5 mMまでのATUでは硝化反応を阻止できなかった。また、GACを用いた別の実験では、1 mM KCNで硝化活性は阻害されたものの、呼吸活性およびアンモニア化活性は阻害されなかった(データ示さず)。GACがATUやCN⁻を物理的に吸着し、付着微生物膜の生理活性に対する阻害効果が緩和されたものと考えられる。ろ過砂ではアンモニウム塩を添加した実験系の硝化産物蓄積速度は、季節により無添加系の1.6-36倍高くなったが、GACでは1.3-6.0倍であり、ろ過砂ほど差は顕著でなかった(Table 1)。

Fig. 1 Annual changes in numbers of bacteria in water (A), filter sand (B), and GAC (C) at a pilot plant of a water treatment facility. Symbols (□), (⊠), (■) represent heterotrophic, ammonia-oxidizing, and nitrite-oxidizing bacteria, respectively.

GACの方がろ過砂よりもアンモニウムイオンの供給能力が高いことを示していると考えられる。そこで担体をケルダール分解して窒素量を調べたところ、ろ過砂とGACではそれぞれ約17および100 mmol kg⁻¹ wetあることが判った。30℃で培養して潜在的硝化活性を測定した場合のアンモニア無添加系硝化活性は、冬期の硝化活性が夏期の硝化活性を上回った (Table 2)。これは、低

水温期には従属栄養細菌によるアンモニア化活性も硝化活性と共に低く消費されないで、付着微生物膜中に蓄積されている有機態窒素は夏期よりも冬期の方が多かったためと考えられる。これらの結果を考えると、実験期間中の凝集沈殿処理水中のアンモニウムイオン濃度は低く、硝化反応は基質律速になっていると考えられる。このため、硝化産物蓄積速度を硝化活性とする必要

Fig. 2 Time course of concentrations of nitrogen compounds within 20 hours of incubation of filter sand under different conditions. Samples were collected on Feb. 22, 1997. Cultures shown in the top and bottom four panels were incubated at 30 and 6 °C, respectively. Other conditions are indicated at the top of the panels. Symbols ($\square$), ($\square$), ($\blacksquare$) represent ammonium, nitrite, and nitrate, respectively.

Fig. 3 Time course of concentrations of nitrogen compounds during 8 days of incubation at 30 °C. Time course of the first 24 hours in the same culture were shown in Fig. 1. The conditions of incubation and symbols are the same as specified in Fig. 1.

Table 1 Seasonal changes in nitrification activities in biofilm on filter sand and GAC at a pilot plant of a water treatment facility

sampling date	Incubation temperature ℃	Sand						GAC					
		no addition		NH ₄ ⁺ added		NH ₄ ⁺ and PO ₄ ³⁻ added		no addition		NH ₄ ⁺ added		NH ₄ ⁺ and PO ₄ ³⁻ added	
		-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]
		mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet
1997.2.22	6.0	0.13 (0.03)	0.28 (0.01)	0.35 (0.02)	0.47 (0.05)	0.33 (0.14)	0.49 (0.04)	0.06 (0.04)	0.42 (0.04)	0.51 (0.24)	0.55 (0.10)	0.65 (0.42)	0.64 (0.07)
1997.5.22	18.5	0.15 (0.13)	0.46 (0.07)	2.25 (0.15)	2.83 (0.06)	2.49 (0.23)	2.99 (0.07)	0.01 (0.09)	0.43 (0.26)	1.56 (0.29)	1.43 (0.30)	2.21 (0.87)	1.39 (0.34)
1997.8.27	30.0	0.01 (0.01)	0.53 (0.06)	2.26 (0.18)	3.18 (0.43)	2.47 (0.09)	3.18 (0.08)	0.01 (0.01)	0.45 (0.11)	1.63 (0.32)	2.15 (0.21)	1.76 (0.25)	2.22 (0.13)
1998.1.22	6.9	0.03 (0.14)	0.01 (0.21)	0.63 (0.20)	0.40 (0.14)	0.70 (0.27)	0.43 (0.29)	0.04 (0.05)	0.10 (0.11)	1.12 (0.81)	0.60 (0.11)	1.09 (0.97)	0.59 (0.06)

Nitrification activities were measured at temperatures at sampling site

Numbers in the parenthesis indicate standard error.

-Δ[NH₄⁺]: ammonium removal rateΔ[NO_x]: nitrification products accumulation rate**Table 2** Seasonal changes in potential activities of nitrification in biofilm on filter sand and GAC at a pilot plant of a water treatment facility

sampling date	Incubation temperature ℃	Sand						GAC					
		no addition		NH ₄ ⁺ added		NH ₄ ⁺ and PO ₄ ³⁻ added		no addition		NH ₄ ⁺ added		NH ₄ ⁺ and PO ₄ ³⁻ added	
		-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]	-Δ[NH ₄ ⁺]	Δ[NO _x]
		mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet	mmol day ⁻¹ kg ⁻¹ wet
1997.2.22	30.0	0.12 (0.09)	0.87 (0.11)	2.13 (0.10)	2.91 (0.15)	2.60 (0.28)	3.44 (0.35)	0.19 (0.21)	2.72 (0.61)	1.09 (0.15)	3.30 (0.55)	0.83 (0.30)	3.17 (0.68)
1997.5.22	30.0	0.00 (0.02)	0.65 (0.10)	3.60 (0.35)	4.27 (0.20)	3.86 (0.27)	4.94 (0.08)	0.00 (0.04)	1.29 (0.11)	2.81 (0.20)	3.15 (0.16)	3.11 (0.47)	3.55 (0.20)
1997.8.27	30.0	0.01 (0.01)	0.53 (0.06)	2.26 (0.18)	3.18 (0.43)	2.47 (0.09)	3.18 (0.08)	0.01 (0.01)	0.45 (0.11)	1.63 (0.32)	2.15 (0.21)	1.76 (0.25)	2.22 (0.13)
1998.1.22	30.0	0.03 (0.07)	0.63 (0.07)	1.75 (0.41)	2.17 (0.08)	1.95 (0.16)	2.66 (0.09)	0.04 (0.21)	1.37 (0.38)	1.01 (0.34)	2.53 (0.22)	1.31 (0.51)	2.93 (0.19)

Potential nitrification activities were measured at 30℃.

Numbers in the parenthesis indicate standard error.

-Δ[NH₄⁺]: ammonium removal rateΔ[NO_x]: nitrification products accumulation rate

がある。

基質律速にならないようにアンモニウム塩を培養系に添加し、現場水温で実験をおこなった (Table 1, NH₄⁺ added)。担体付着微生物膜の夏期の硝化活性は冬期の硝化活性に比べ、ろ過砂で最大7.9倍、GACでは3.9倍高かった。一方、アンモニウム塩を添加して30℃で培養した場合、潜在的硝化活性の冬期の値に対する夏期の比率はろ過砂で2.0倍、GACでは0.9から1.3倍であった (Table 2)。夏期の硝化活性はろ過砂の方がGACに比べて高いこと、付着微生物膜中の硝化細菌数は、GACとろ過砂の間に有差はない (Fig.1) ことを考え合わせると、ろ過砂に付着している硝化細菌はGACのものよりも低水温の影響を受けやすいと考えられる。ろ過砂およびGAC担体付着微生物膜中の従属栄養細菌数も両者で大差はなかったことから (Fig.1)、GACの有機物捕捉能力が高く、従属栄養細菌による有機態窒素のアンモニア化活性が低水温期でも比較的高く維持された結果、硝化細菌の活性が維持されているものと考えられる。

(2) リン酸塩添加効果

現場水温で測定した冬期の硝化活性は低く、リン酸塩の添加効果は明確ではなかった。しかし、ろ過砂にリン酸塩を添加して30℃で潜在的硝化活性を測定した場合は、低水温期に硝化活性が促進される傾向が認められた (Table 2)。

3. リン酸塩添加による砂ろ過カラムの馴養

リン酸塩添加の有無による硝化活性促進効果を明確にするために、より多くの担体試料を用いて硝化活性を測定することにより測定感度を高め、リン酸塩添加による硝化活性の相違を比較検討した。

10℃で培養開始直後のリン酸塩無添加カラムの硝化産物蓄積速度は0.037 mmol h⁻¹ kg⁻¹ wetであったのに対して、リン酸塩添加カラムは0.060 mmol h⁻¹ kg⁻¹ wetであった。試験液がカラムを通過するのに5-15分間しかかからないので、独立栄養細菌の増殖速度から考えて実験時間内の細菌数の変化は無視できると考えられ、リン酸塩添加による硝化活性の促進効果には硝化細菌の増殖

は関係ないことが判った。低温馴養中のリン酸塩添加および無添加カラムによる硝化活性の経時的变化をFig. 4に示した。低温馴養を続けると、リン酸塩無添加カラムでも時間と共に硝化活性が高くなる傾向が認められた。これは、水道原水中濃度に比べ約20倍のアンモニウム塩を流し続けたことと、逆洗を行わないためにカラム内のろ過砂付着微生物膜が肥厚したことによるものと考えられる。19日後には、リン酸塩無添加カラムとリン酸塩添加カラムの硝化活性はそれぞれ0.074と0.163 mmol h⁻¹ kg⁻¹ wetになり、両者の硝化活性には約2倍の差が生じた。

19日間の低温馴養後、砂カラム表層から5 cm毎に砂を採取して三角フラスコ法で硝化活性を測定すると共に、0-5 cmと10-15 cm層の硝化細菌数を計数した。三角フラスコ法による硝化活性の測定実験で、10℃で培養した場合には硝化活性の僅かな差を測定することが出来なかったで、30℃で行った実験結果をFig. 5に示した。0-5 cmの表層では、実験開始直後の活性の10分の1以下に減少したが、5-10 cm層以深では培養開始時よりも2倍以上高くなり、20-25 cm層のリン酸塩添加カラムの硝化活性は0.156 mmol h⁻¹ kg⁻¹ wet、無添加カラムでは0.097 mmol h⁻¹ kg⁻¹ wetとリン酸塩を添加した方が活性が高かった。今回行った実験条件下では、リン酸塩添加カラムでは硝化活性が20 cm層以深で減少する傾向が認められた。実施施設の砂ろ過およびGACろ過層の層厚は2 m程度であり、今回行った実験条件下では、30 cm程度の比較的表層で基質が枯渇するものと考えられる。

表層0-5 cmのアンモニア酸化細菌と亜硝酸酸化細菌数は、リン酸塩無添加カラムでそれぞれ初期値のおおよそ1/4800および1/660に、リン酸塩添加カラムでそれぞれおおよそ1/73および1/16に著しく減少した (Table 3)。カラム表層で硝化細菌数が減少したのは、脱塩素していない水道水を培地として流し続けたためと考えられる。実験期間中の残留塩素濃度は0.2-0.4 mg l⁻¹であり、硝

Fig. 4 Time course of acclimation of nitrifying bacteria of filter sand to low temperature. Closed and open circles represent nitrifying activities in sand column amended with and without phosphate

Fig. 5 Vertical distribution of nitrifying activity in the low temperature-acclimated sand column. Closed and open circles represent nitrifying activities of filter sand amended with and without phosphate, respectively. Closed and open squares represent initial activities with and without addition of phosphate

Table 3 Vertical distribution of nitrifying bacteria in a sand column acclimated to low temperature

		ammonia-oxidizing bacteria				nitrite-oxidizing bacteria	
		MPN g ⁻¹ wet				MPN g ⁻¹ wet	
depth (cm)	initial	after acclimation		initial	after acclimation		
		control	+ PO ₄ ³⁻		control	+ PO ₄ ³⁻	
0-5	2.4 × 10 ⁶	5.0 × 10 ²	3.3 × 10 ⁴	3.3 × 10 ⁵	5.0 × 10 ²	2.1 × 10 ⁴	
10-15		5.4 × 10 ⁵	7.0 × 10 ⁵		5.4 × 10 ⁵	1.7 × 10 ⁶	

control : phosphate not added
+ PO₄³⁻ : phosphate added

化細菌の生存に影響するとして報告されている遊離塩素やモノクロルアミン濃度^{14,15)}より低いが、低水温により感受性が高くなったのかも知れない。一方、10-15 cm層の硝化細菌数はリン酸塩添加の有無にかかわらず、アンモニア酸化細菌は初期値の約1/4に減少したのに対して、亜硝酸酸化細菌は1.6~5.1倍に増加した (Table 3)。リン酸塩を添加した場合、菌数を維持あるいは増殖させる傾向が認められ、基質の飢餓、低温、生育阻害物質に対する抵抗性が増加すると考えられた。深層のアンモニア酸化細菌数は減少したにも拘わらず硝化活性は増加したことから、低水温期におけるリン酸塩添加効果は菌数を維持する効果はあるが増殖するまでには至らず、硝化細菌の活性を高める効果があると考えられる。飢餓状態から回復過程では、飢餓期間中に枯渇したATPが一定以上にならないと炭酸同化が起こらないので、活性の回復の方が菌数の増加を上回るとする報告に一致する¹⁷⁾。低温馴養砂カラムに添加したリン酸濃度は僅かに2 μ Mであり、*Nitrosomonas*や*Nitrobacter*増殖の至適要求濃度¹⁸⁾よりも遙かに低濃度であるが、硝化活性を維持、促進するには十分であることがわかった。これは、他の研究者の結果と一致するものである^{10,19)}。また、微生物膜中に密集することで、基質の飢餓状態に耐性になったと考えられる^{16,20)}。凝集沈殿を行う前の水道原水中のリン酸濃度は4.2 μ M程度であったものが、凝集沈殿処理後には0.2 μ M以下になっており、極微量のリン酸塩を添加することでも元の活性を示すようになるものと考えられる。

4. まとめ

現場における硝化細菌の活性

担体付着微生物膜内の硝化細菌数は、冬期でもかなり高密度に維持されており水温による影響は少なかった。硝化活性は、ろ過砂の方がGACに比べて低水温の影響が大きかった。30℃で培養した潜在的硝化活性は、冬期でも夏期の硝化活性の0.5から1.8倍程度の活性を示した。

硝化活性対するリン酸塩添加効果

砂ろ過カラムによる実験を行った結果、リン酸塩を添加することにより硝化活性は即座促進されることがわかった。馴養期間中に硝化細菌数の増加が認められなかったことから、リン酸塩添加効果は一細胞当たりの硝化活性が高くなったためと考えられた。

謝辞

本研究を行うに当たり、浄水場各位にお世話になりましたことを深謝いたします。

参考文献

- 1) Argaman, Y., S. E. Shelby Jr., J. S. Davis, S. C. Betts, and R. J. Hufft Jr.: Preventing haloform formation in treated surface water. A case study, J. Am. Water Works Assoc. 76 (4), 172-176 (1984)
- 2) Glaze, W. H. and J. L. Wallace: Control of trihalomethane precursors in drinking water: Granular activated carbon with and without preozonation, J. Am. Water Works Assoc. 76 (2), 68-75 (1984)
- 3) Rice, R. G., C. M. Robson, G. W. Miller, and A. G. Hill: Uses of ozone in drinking water treatment, J. Am. Water Works Assoc. 73 (1), 44-57 (1981)
- 4) Rook, J. J.: Haloforms in drinking water, J. Am. Water Works Assoc. 68, 165 (1976)
- 5) 微量有機物に関する調査研究分科会, 微量有機物に関する調査研究 (第6報) — 高度浄水処理実証プラントにおける調査 —, 水道事業研究, 131, 54-120 (1992)
- 6) Painter, H. A. and J. E. Loveless: Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated-sludge process, Water Res., 17, 237-248 (1983)
- 7) Painter, H. A.: Nitrification in the treatment of sewage and waste-waters, p.117-126. In J. I. Prosser (ed.), Nitrification. IRL press, Oxford. (1986)
- 8) Quinlan, A. V.: The thermal sensitivity of nitrification as a function of the concentration of nitrogen substrate, Water Res., 14, 1501-1507 (1980)
- 9) 海老江邦雄, 末広誠一, 萩下隆, 東義洋, 土井克哉: 低水温下における生物活性炭のアンモニア酸化機能, 水道協会誌, 66, 15-22, 1997 (in Japanese).
- 10) Nowak, O., K. Svardal, and H. Kroiss: The impact of phosphorus deficiency on nitrification-Case study of a biological pretreatment plant for rendering plant effluent, Wat. Sci. Tech., 3, 229-236 (1996)
- 11) Nordeidet, B., B. Rusten, and H. Odegaard: Phosphorus requirements for tertiary nitrification in a biofilm, Wat. Sci. Tech., 29, 77-82 (1994)
- 12) Cochran W. G.: Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number," Biometrics 6, 105-116 (1950)
- 13) 日本規格協会: 工場排水試験方法, JIS K0102-1993, 日本規格協会 (1993)
- 14) Cunliffe, D. A.: Bacterial nitrification in chloraminated water supplies, Appl. Environ. Microbiol., 57, 3399-3402 (1991)
- 15) Wolfe, R. L., N. I. Lieu, G. Izaguirre, and E. G. Means: Ammonia-oxidizing bacteria in a chlorinated

- distribution system: seasonal occurrence, distribution, and disinfection resistance, Appl. Environ. Microbiol. 56, 451-462 (1990)
- 16) Tappe, W., A. Laverman, M. Bohland, M. Braster, S. Rittershaus, J. Groeneweg, and H. W. van Verseveld: Maintenance energy demand and starvation recovery dynamics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* cultivated in a retentostat with complete biomass retention, Appl. Environ. Microbiol., 65, 2471-2477 (1999)
- 17) Johnstone, B. H. and R. D. Jones: Recovery of a marine chemolithotrophic ammonium-oxidizing bacterium from long-term energy-source deprivation, Can. J. Microbiol., 34, 1347-1350 (1988)
- 18) van Droogenbroeck, R. and H. Laudelout: Phosphate requirements of the nitrifying bacteria, Antonie van Leeuwenhoek 33, 287-296 (1967)
- 19) Meiklejohn, J. Minimum phosphate and magnesium requirements of nitrifying bacteria, Nature, 170, 1131 (1952)
- 20) Batchelor, S. E., M. Cooper, S. R. Chhabra, L. A. Glover, G. S. A. B. Stewart, P. Williams, and J. I. Prosser: Cell density-regulated recovery of starved biofilm populations of ammonia-oxidizing bacteria, Appl. Environ. Microbiol., 63, 2281-2286 (1997)
- (受付 2001. 7. 18)
(受理 2002. 1. 19)