

水処理における生物学的窒素除去に関する研究

佐々木雄真, 浅野 孝幸, 三津橋浩行, 鎌田 樹志

Study on Biological Removal of Nitrogen in Water Treatment

Takema SASAKI, Takayuki ASANO, Hiroyuki MITSUHASHI, Tatsuyuki KAMADA

抄 録

微生物を固定化した担体を用い、窒素除去に関する基礎的な試験を様々な条件下で行った。その結果、硝化工程では、硝化細菌を担体に固定化することにより高い硝化速度が得られ、特に低温条件下においてその効果が大きいことが分かった。脱窒工程では、硫黄酸化脱窒細菌の特性について検討したところ、硫黄と炭酸カルシウムを主成分とする担体を用いることにより、スポンジ担体を用いる場合よりも高い脱窒速度が得られた。また、亜硝酸性窒素の脱窒も可能であることや、低温条件下でも脱窒効率が極端には低下しないことなどが明らかになった。

キーワード：窒素除去, 硝化, 脱窒, 担体, 硫黄酸化脱窒細菌

Abstract

The basic examinations on the nitrogen elimination by the bacteria immobilized carrier were carried out under various conditions. The results obtained were as follows: In the nitrification process the nitrification rate of immobilized nitrifying bacteria was higher than suspended nitrifying bacteria especially under low temperature. In the denitrification process the characteristic of *Thiobacillus denitrificans* immobilized carrier composed of sulfur and calcium carbonate was investigated. It had higher denitrification rate than sponge carrier and could also denitrify nitrite nitrogen. Lower temperature did not cause the large decrease of denitrification performance.

KEY-WORDS : removal of nitrogen, nitrification, denitrification, carrier, *Thiobacillus denitrificans*

1. はじめに

近年、産業排水及び生活排水に由来する窒素化合物による水環境の汚染が顕在化している。湖沼や内湾といった閉鎖性水域では、富栄養化によりアオコや赤潮の発生、悪臭などが問題となっており、地下水においては、飲用した場合にメトヘモグロビン血症や発がん性などの健康被害の懸念が指摘されている¹⁾硝酸性窒素による汚染が問題となっている。この

ような背景から、平成13年に水質汚濁防止法が改正され、排水規制の強化が進められており、高効率で低コストな窒素除去技術の確立が急務となっている。

生物学的窒素除去においては、硝化・脱窒法(図1.1)が一般的に用いられているが、硝化工程は硝化細菌の増殖速度が遅く反応に時間がかかるため、滞留時間を長く取らなければならない。また、脱窒工程においては脱窒細菌が有機物を必要とするため、メタノールなどの添加が必要な場合があり、

事業名：一般試験研究

課題名：水処理における窒素除去技術

コストの高さや維持管理の難しさが問題となっている。

本研究では、硝化工程においては硝化細菌を微生物担体で固定化することによる高効率化について、脱窒工程においては有機物を必要としない新規な手法として注目されている硫黄酸化脱窒細菌による処理の特性について、人工排水を用いた回分試験を行い検討した。また、微生物処理は温度による影響を受けやすいため、北海道のような寒冷地での適用を想定し、低温条件下における試験を実施した。

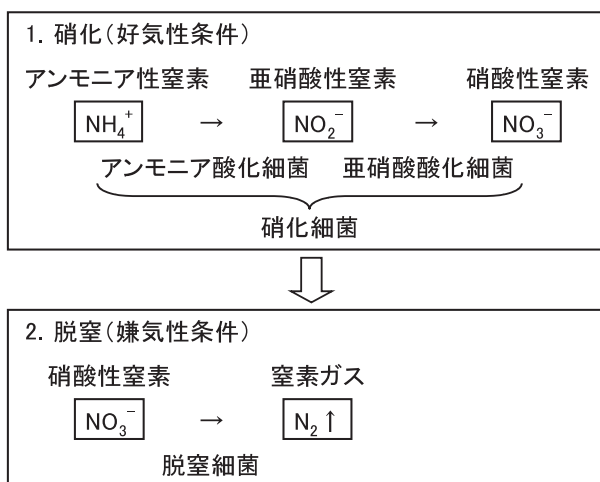


図 1.1 生物学的硝化・脱窒法

2. 担体を用いた硝化処理試験

2.1 試験の目的

微生物による硝化反応は、好気性条件下において、アンモニア酸化細菌がアンモニア性窒素を亜硝酸性窒素に酸化し、次に亜硝酸酸化細菌が亜硝酸性窒素を硝酸性窒素に酸化する工程からなっており、これらの細菌はまとめて硝化細菌と呼ばれている。硝化細菌は独立栄養細菌であるため増殖速度が遅く、さらに系外への流出もあることから、処理槽内での菌体濃度を高く維持するのは難しい。以上のような要因で、硝化反応は速度が遅く、窒素除去工程における律速段階となっている。

微生物による処理では、担体を用いて細菌を固定化することにより、槽内の菌体濃度を高く維持することができ、処理速度が向上することが知られており、実際の硝化工程に適用されている事例も多い。そこで、担体を用いることによる

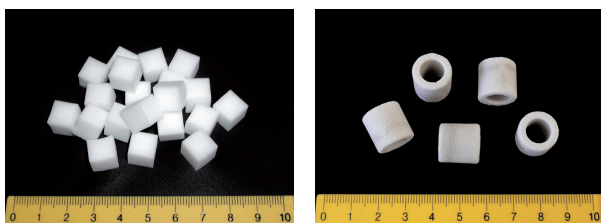


図 2.1 スポンジ担体 (左) とセラミックス担体 (右)

効果及びデータの少ない低温条件下における特性を明らかにするため、図2.1のスポンジ担体（アイオン社「マイクロプレス」）及びセラミックス担体（セラ社「シボラックス」）を用い、回分処理による人工排水の硝化試験を行った。

2.2 試験装置

硝化細菌は硝化の際に酸素を消費する。そこで、硝化細菌による硝化反応の進行状況を調べるため、BOD Trak（ハック社）を用い、酸素消費量の経時変化を測定した。図2.2は装置の写真及び概略図である。

以下に装置の原理について説明する。硝化細菌による硝化が起こると試料水中の溶存酸素が消費され、それに伴い気相部より酸素が補給される。したがって、消費された酸素の量に対応する分だけ試料瓶中の圧力が低下する。その変化が圧力センサーにより自動計測され、酸素消費量に換算された値が表示される。ただし、大気圧や温度の微小な変化によっても圧力は異なるため、ブランクとの差をもって酸素消費量とした。

さらに、硝化によりアンモニア性窒素はすべて硝酸性窒素に酸化されると仮定し、(1)の化学量論式からアンモニア性窒素を完全に硝化するために理論的に必要な酸素量を求め、消費量との比から硝化率に換算した。

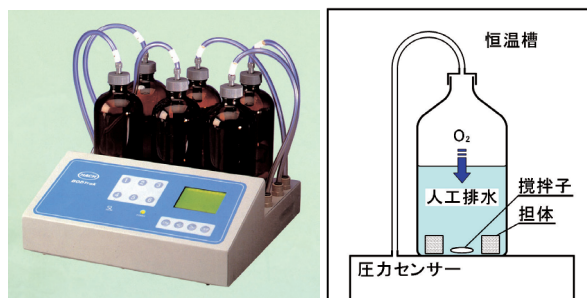


図 2.2 試験装置 (写真及び概略図)

2.3 分析方法

試験終了後の培養液を、孔径0.45 μmのメンブレンフィルターでろ過後、アンモニア性窒素は水質分析計 DR/2000（ハック社）、亜硝酸性窒素及び硝酸性窒素はイオンクロマトグラフ 861 Advanced Compact IC（メトローム社）を用いて測定した。

2.4 試験方法

試料瓶中に人工排水とあらかじめ乳牛ふん尿由来の微生物を固定化した担体を入れ、攪拌しながら恒温槽内で培養し、酸素消費量の経時変化を測定した。人工排水は塩化アンモニウムを主成分とし、pH 緩衝剤や無機栄養塩などを加えたも

ので、アンモニア性窒素濃度を105～110mg/L程度に調整したものをを用いた。担体は人工排水に対する体積比で3～4%程度投入し、排水と担体を合わせて160mlとした。なお、担体の体積は細孔等を無視した見かけのものである。試験期間は7日間とし、繰り返し実施した。繰り返しは、担体投入系では、試験終了後の担体を取り出し、再び新しい人工排水中に投入するという方法で行った。一方、担体を投入しない系については、試験終了後の培養液の一部を新しい人工排水に添加することとし、その分量は担体投入系における担体の体積と同程度とした。

2.5 試験の結果と考察

2.5.1 担体を用いた硝化試験

まず、乳牛ふん尿中に含まれていた硝化細菌を十分増殖させるため、25℃の条件下で回分試験を繰り返し行った。10回程度で硝化率の推移が一定になってきたことから、ほぼ定常に達したものと判断した。

このときの硝化率の経時変化を図2.3に示す。系列毎の比較では、硝化反応はスポンジ担体、セラミックス担体、担体なしの順で速く進行した。試験終了後の培養液における形態別の窒素濃度は図2.4のとおりで、担体なしの系ではアンモニア性窒素の残存が見られるのに対し、担体投入系では硝酸性窒素の生成が確認された。これは、担体に硝化細菌が高濃度に保持されているためと考えられる。

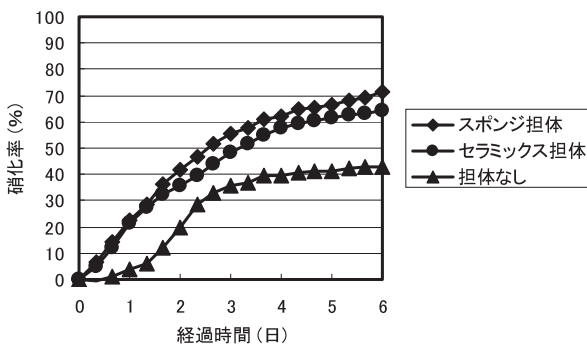


図 2.3 25℃における硝化率の経時変化

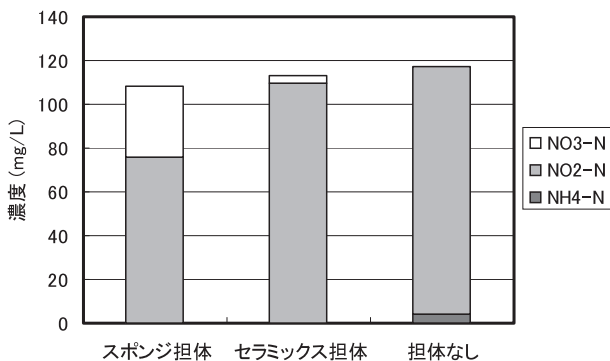


図 2.4 25℃における試験終了後の形態別窒素濃度

2.5.2 低温条件下における硝化試験

その後、低温条件下での特性を検討するため、徐々に温度を下げながら回分試験を繰り返した。温度は20℃(2回)→15℃(2回)→10℃(2回)→5℃(2回)の順で変化させた。

このときの5℃、1回目における硝化率の経時変化及び試験終了後の形態別窒素濃度の結果を図2.5, 2.6に示す。すべての系列において25℃に比べ硝化速度は低下したが、担体なしの系では硝化がほとんど停止したのに対し、担体投入系では極端な低下は見られなかった。

徐々に温度を下げて回分試験を繰り返した場合、担体投入系では細菌が固定化されているため、細菌数が維持されていると考えられる。一方、担体なしの系では温度が下がるにつれ増殖速度が低下するため、繰り返すにつれ希釈され細菌数が徐々に減少していると推測される。したがって、5℃まで下げた時点では細菌数に大幅な差が生じ、単純にそれが硝化速度の差として反映された可能性が高い。

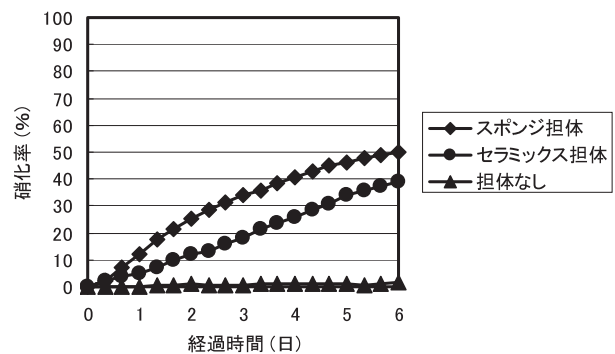


図 2.5 5℃における硝化率の経時変化

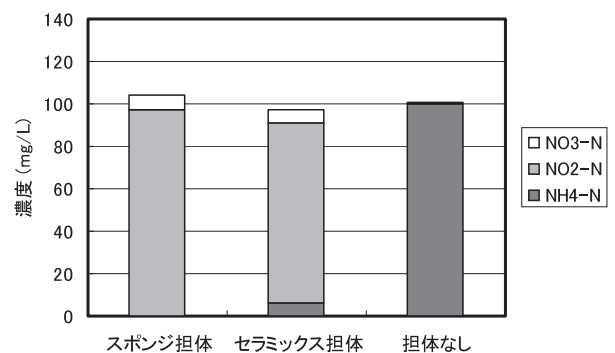


図 2.6 5℃における試験終了後の形態別窒素濃度

そこで、細菌数の差による影響をなるべく抑えるため、25℃で定常に達するまで回分試験を繰り返し、その後、温度を一気に5℃まで下げて試験を行った。

その結果を図2.7～2.10に示す。担体なしの系は5℃ではほとんど硝化が進まなかったのに対し、担体投入系では硝化速度は低下したものの、その度合いは小さかった。前述の試験に比べ、細菌数の差による影響は少ないはずであるが、ほぼ同様の結果が得られた。理由を明らかにするには至らなかった。

たが、特に低温条件下において担体を用いる効果が大きいことが分かった。

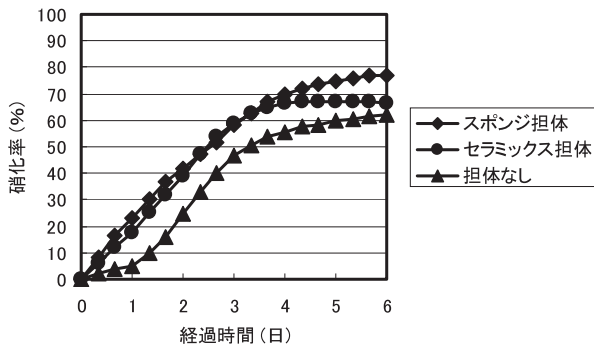


図 2.7 25°Cにおける硝化率の経時変化

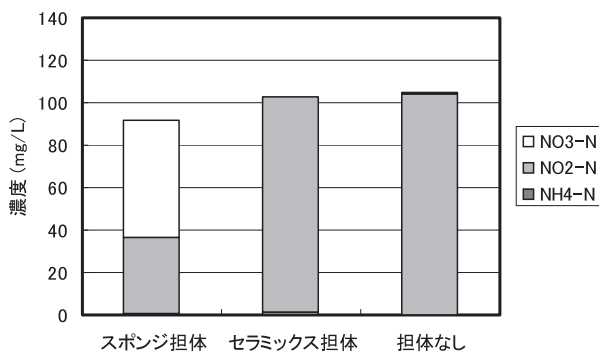


図 2.8 25°Cにおける試験終了後の形態別窒素濃度

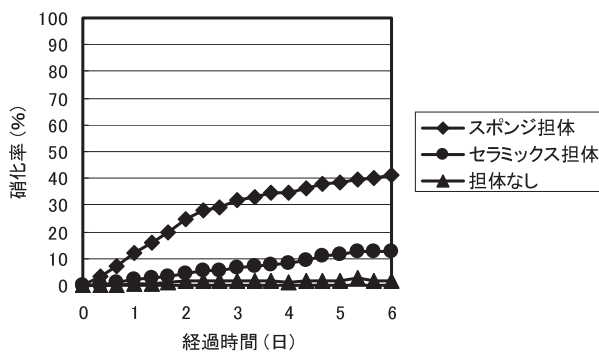


図 2.9 5°Cにおける硝化率の経時変化

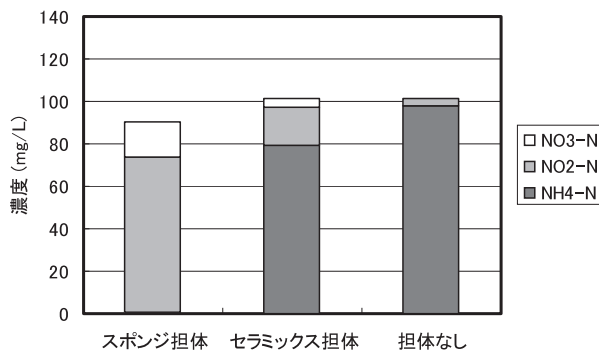


図 2.10 5°Cにおける試験終了後の形態別窒素濃度

3. 硫黄酸化脱窒細菌による脱窒試験

3.1 試験の目的

硫黄酸化脱窒細菌は、図3.1のように嫌気性条件下では酸素の代わりに硝酸を利用し、硫黄を電子供与体として脱窒を行う。この細菌を用いた脱窒処理は、従来から用いられている脱窒細菌による処理と異なり、有機物を必要としないためメタノールなどの添加が不要で、独立栄養細菌であることから余剰汚泥の発生量も少ない³⁾。以上により、低コストで維持管理が容易な手法として注目されている。

そこで、硫黄酸化脱窒細菌の特性を把握するため、図3.2のスポンジ担体（バイオキャリアテクノロジー社「リガンドキャリア」）及び硫黄カルシウム剤（新日鐵化学社「パチルエース」）を用い、様々な条件下で回分処理による人工排水の脱窒試験を行った。

硫黄カルシウム剤は、硫黄と炭酸カルシウムを主成分とするペレットで、微生物を固定化する担体としての機能のほか、硫黄分は硫黄酸化脱窒細菌の硫黄源に、炭酸カルシウムは硫黄酸化によって生成する硫酸の中和剤及び細菌の炭素源としての役割を持っている。

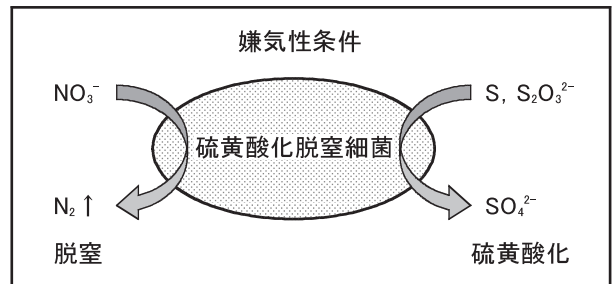


図 3.1 硫黄酸化脱窒細菌による脱窒の仕組み



図 3.2 スポンジ担体（左）と硫黄カルシウム剤（右）

3.2 試験装置

脱窒細菌及び硫黄酸化脱窒細菌は、脱窒の際、窒素ガスを生成する。そこで、これらの細菌による脱窒反応の進行状況を調べるため、硝化試験と同じBOD Trakを用い、窒素ガス生成量の経時変化を測定した。図3.3は装置の概要である。

以下に装置の原理について説明する。脱窒反応が起こると気相部に窒素が放出される。また、二酸化炭素も放出されるが、それは二酸化炭素吸収剤（水酸化リチウム）に取り込まれる。よって、生成された窒素ガスの量に対応する分だけ試料瓶中の圧力が上昇することになり、それが圧力センサーで

測定される。この装置は本来BODを測定するためのものであるため、酸素消費量として算出され負の値で表示されるが、それを窒素ガス生成量に換算した。なお、大気圧や温度の微小な変化によっても圧力は異なるため、ブランクとの差をもって窒素ガス生成量とした。

さらに、脱窒により硝酸性窒素はすべて窒素ガスに還元されると仮定し、(2)~(4)の化学量論式から理論的に発生する窒素ガスの量を求め、実際に生成したガス量との比から脱窒率に換算した。

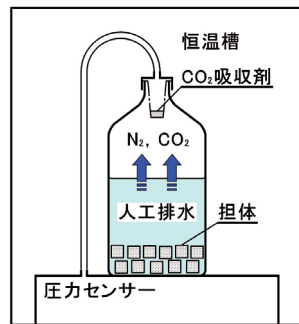
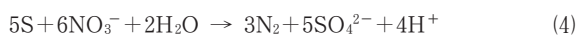
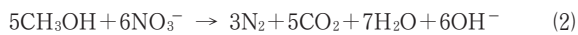


図 3.3 試験装置（概略図）



3.3 分析方法

試験終了後の培養液を、孔径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過後、硫酸イオンを水質分析計DR/2000を用いて測定した。

3.4 試験方法

試料瓶中に人工排水とあらかじめ乳牛ふん尿由来の微生物を固定化した担体を入れ、恒温槽内で静置培養し、窒素ガス生成量の経時変化を測定した。人工排水は硝酸カリウムを主成分とし、無機栄養塩などを加えたもので、硝酸性窒素濃度を 140mg/L 程度に調整したものをを用いた。担体は人工排水にする体積比で10%程度投入し、排水と担体を合わせて 160ml とした。なお、担体の体積は細孔等を無視した見かけのものである。試験期間は原則7日間とし、繰り返し実施した。繰り返しは、試験終了後の担体を取り出し、再び新しい人工排水中に投入するという方法により行った。

3.5 試験の結果と考察

3.5.1 脱窒細菌との比較試験

脱窒細菌の系では有機物源としてメタノールを 1ml/L (790mg/L) 添加した。硫黄酸化脱窒細菌の系においては、スポンジ担体を用いたものは硫黄源としてチオ硫酸ナトリウム五水和物を 5000mg/L 添加したが、硫黄カルシウム剤を用いたものは担体自体に硫黄が含まれるため、別途硫黄源の添加は行わなかった。

25°C で繰り返し試験を行い、乳牛ふん尿中に含まれていた脱窒細菌及び硫黄酸化脱窒細菌を増殖させ、脱窒率の推移がほぼ定常に達したときの結果を図3.4に示す。スポンジ担体を使用した場合は、脱窒細菌による脱窒の方が、硫黄酸化脱

窒細菌によるものより反応が速やかに進行した。これは、脱窒細菌の方が増殖が速いためと推測されるが、脱窒率が80%程度で反応が停止したのは、脱窒に伴うアルカリ度の生成によりpHが上昇し、細菌の活性が低下したためと思われる。一方、硫黄カルシウム剤を使用した場合は、脱窒細菌と同程度の速さで反応が進み、脱窒率も100%程度に達した。硫黄酸化脱窒細菌は独立栄養細菌であるため、増殖速度が遅く脱窒反応も遅いとされているが、硫黄カルシウム剤を用いることで反応速度が上昇することが分かった。

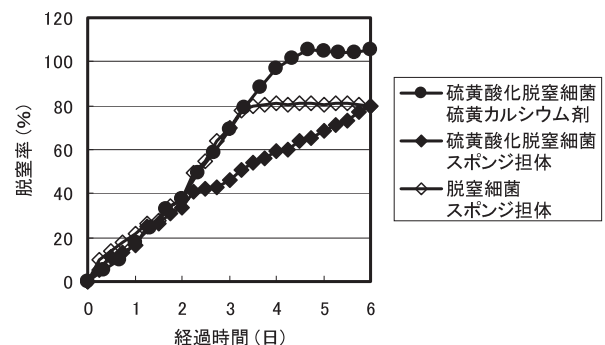


図 3.4 硫黄酸化脱窒細菌及び脱窒細菌による脱窒率の経時変化

硫黄カルシウム剤の有効性が明らかとなったため、以後はこの担体を用いた脱窒処理の特性を検討することにした。

3.5.2 亜硝酸性窒素の脱窒試験

実際の脱窒処理では硝酸性窒素だけでなく、亜硝酸性窒素も含まれていることがあるため、亜硝酸性窒素の脱窒について試験を行った。人工排水の亜硝酸性窒素を 140mg/L とし、それ以外の条件は前述の試験と同じにした。その結果を図3.5に示す。脱窒反応は硝酸性窒素よりも速く進行し、亜硝酸の形態でも問題なく脱窒できることが分かった。

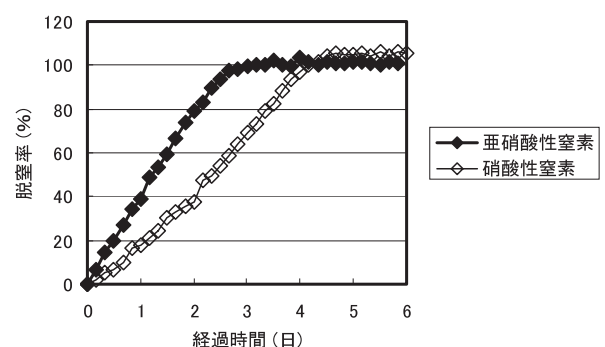


図 3.5 亜硝酸性窒素の脱窒率の経時変化

3.5.3 低温条件下における試験

硫黄酸化脱窒細菌の低温条件下での脱窒特性を明らかにするため、 25°C での試験が終了した後、 20°C 、 15°C 、 10°C 、 5°C で各々2回ずつ、段階的に温度を下げながら回分試験を繰り返

返した。それぞれの温度における1回目の脱窒率の経時変化を図3.6示す。温度が下がるにつれ除去速度は落ちる傾向となっているものの、極端な低下は見られず、低温条件下においても比較的良好な脱窒処理が可能であることが分かった。

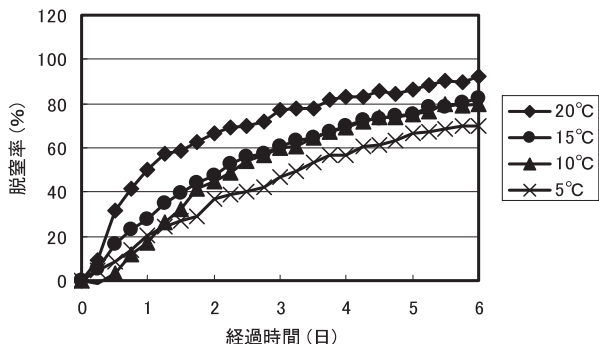


図 3.6 低温条件下における脱窒率の経時変化

3.5.4 有機物添加試験

硫酸酸化脱窒細菌は有機物を必要としないため、これまでの試験は有機物を含まない人工排水を用いてきた。しかし、実際の排水では有機物を含む場合がある。また、ゼラチンを添加したところ脱窒が速く進んだという報告もある⁴⁾。そこで、人工排水に各種有機物を添加して試験を行い、脱窒反応への影響を調べた。有機物の種類はゼラチン、グルコース、メタノール、酢酸ナトリウムとし、添加量はC/N比が2となるように調整した。温度は20°Cとした。

脱窒率の経時変化を図3.7に示す。全体的に有機物を添加した系列が、有機物無添加系に比べて速やかに脱窒が進行した。特にグルコースを添加した系が速かった。また、この試験終了後（7日後）の溶液について、硫酸イオンを測定したところ、図3.8のように有機物添加系は有機物無添加系に比べて硫酸イオンの生成量が少ないことが分かった。硫酸酸化脱窒細菌による脱窒反応が起こると、それに比例して硫酸イオンが生成されるはずである。その生成量が少ないにもかかわらず脱窒が進行しているということは、別の種類の細菌による脱窒反応が起きており、有機物を添加していることから脱窒細菌によるものと思われる。以上により、硫酸カルシウ

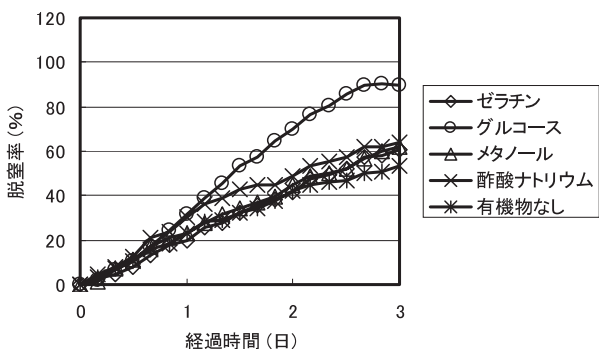


図 3.7 有機物添加時における脱窒率の経時変化

ム剤には硫酸酸化脱窒細菌と脱窒細菌が共存しており、有機物存在条件下においては両者が並列で脱窒を行っているものと推測される。

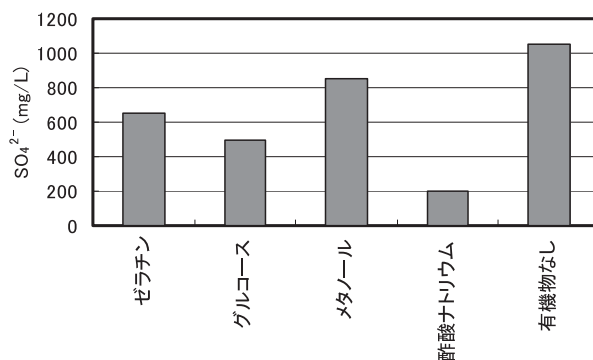


図 3.8 試験終了後（7日後）の溶液の硫酸イオン濃度

次に、最も速く脱窒が進行したグルコースについて、C/N比を変えて試験を行った。繰り返し試験の2回目の結果を図3.9, 3.10に示す。全体にグルコース添加系で脱窒が速く進行し、特にC/N比が1~2のときに速い傾向が見られた。また、試験終了後（3日後）の硫酸イオンの生成はC/N比が高くなるにつれて少なくなっていることから、有機物が少ないときは硫酸酸化脱窒細菌が、多いときは脱窒細菌がそれぞれ優先的に脱窒を行っていることが示唆された。

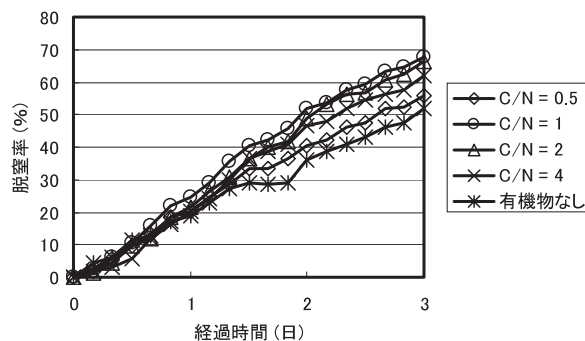


図 3.9 各C/N比における脱窒率の経時変化

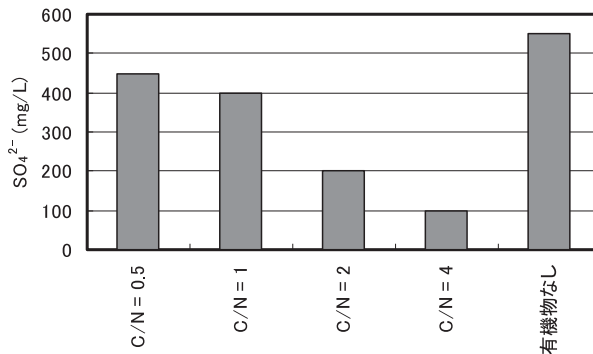


図 3.10 試験終了後（3日後）の溶液の硫酸イオン濃度

4. まとめ

微生物による窒素除去について、硝化反応では担体を用いる効果について、脱窒反応では硫黄酸化脱窒細菌を用いた手法について、人工排水を用いた回分試験を行い特性を検討した。その結果、以下の知見が得られた。

担体を用いた硝化

- (1) 硝化細菌を担体に固定化し、アンモニア性窒素の硝化反応について比較試験を行ったところ、担体を用いない場合に比べ高い硝化速度が得られた。
- (2) 担体なしの系は5℃で硝化反応がほとんど進まなかったのに対し、担体を用いた場合は5℃でも硝化速度の低下は小さいことが分かり、特に低温条件下において担体を用いることの有効性が明らかとなった。

硫黄酸化脱窒細菌による脱窒

- (3) 硫黄酸化脱窒細菌による脱窒処理について、脱窒細菌との比較試験を行ったところ、スポンジ担体を用いた場合は脱窒細菌に比べて反応が遅かったが、硫黄カルシウム剤を用いることにより、反応速度が向上することが分かった。
- (4) 硫黄酸化脱窒細菌は亜硝酸性窒素の脱窒も可能であった。
- (5) 低温条件下では、温度が下がるにつれて反応速度が遅くなったが、極端な低下は認められなかった。
- (6) 硫黄カルシウム剤には硫黄酸化脱窒細菌と脱窒細菌が共存しており、有機物存在条件下においては両者が並列で脱窒を行っていることが推察された。

謝辞

本研究で使用したイオンクロマトグラフは競輪補助事業により整備されました。記して感謝いたします。

参考文献

- 1) 国包章一：硝酸・亜硝酸性窒素による水道水源汚染と健康影響，第44回日本水環境学会セミナー講演資料集，pp.12-17，(2002)
- 2) 滝沢 智：微生物固定化法の特徴と技術課題への対応，微生物固定化法による水処理，エヌ・ティー・エス，pp.85-105，(2000)
- 3) 三木 理・加藤敏朗・伊藤公夫：硫黄酸化細菌の造粒化と高濃度硝酸性窒素含有廃水への基礎的適用検討，水環境学会誌，第24巻，第8号，pp.551-556，(2001)
- 4) 新日鐵化学(株)技術開発本部開発企画部 編：硫黄カルシウム剤による脱窒法，化学工業日報社，pp.54-56，(2004)