

清流の復活に関する研究(その4) 野火止用水における硝化菌について

信 楽 義 夫 西井戸 敏 夫
(非常勤研究員)

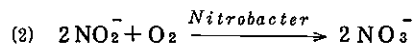
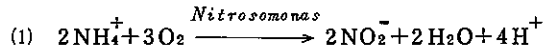
1 はじめに

清流復活事業の一環として野火止用水に通水されてから、すでに3年目に入った。当研究部では通水以来の野火止用水の水質変化について検討を行っており、これまでに昭和59年度および60年度の野火止用水水質調査結果を報告した。これらの報告で述べているように、BODに関しては、供給源である多摩川上流処理場(St.1)での値よりも野火止用水放流口(St.2)での値の方が大きいという結果が得られ、その原因として、St.1とSt.2をつなぐ導水管内で繁殖した硝化菌によるアンモニアや亜硝酸の酸化反応、すなわちN-BOD(NODともいう)の影響が考えられた。

BODは水中の好気性微生物による酸素消費量で、これには有機炭素質が、好気性微生物によって酸化されるときに消費される酸素量を表すC-BODと、アンモニアや亜硝酸が、硝化菌によって酸化(硝化)されるときに消費される酸素量を表すN-BODとがある。このC-BODは狭義のBODで、基質となる水中の有機炭素質の濃度の指標として位置付けられる。C-BODの場合は反応に関わる微生物の増殖速度が大きいので、植種などの操作が適正であれば、C-BODの値は好気性微生物の初期の量にはほとんど影響を受けない。一方、N-BODの場合は、硝化菌の増殖速度が小さいので、試料中の硝化菌の数がN-BODの値の支配因子となり、N-BODの値は基質であるアンモニアや亜硝酸濃度にはほとんど依存しない。そのため、アンモニアや亜硝酸の濃度に差がなくても、硝化菌の数が多いた試料では、時として異常に高濃度のBODが測定されることがある。上述した野火止用水のBODの値が供給源である多摩川上流処理場処理水のBODの値より大きいのは、このことが原因の一つになっていると考えられる。

硝化菌は、*Nitrosomonas* に代表されるアンモニア酸化菌と、*Nitrobacter* に代表される亜硝酸酸化菌に

分類され、これらの硝化菌によるアンモニアや亜硝酸の酸化反応は、一般には次に示す反応式で説明される。



以上の式からアンモニア性窒素1mgを酸化するのに必要とされる酸素量N-BODが計算されている。

$$\text{N-BOD} = 3.43(\text{NH}_4^+ - \text{N} \rightarrow \text{NO}_2^- - \text{N}) \\ + 1.14(\text{NO}_2^- - \text{N} \rightarrow \text{NO}_3^- - \text{N})$$

すなわち、この計算によれば、アンモニア性窒素1mgが硝酸にまで酸化されると4.57mgの酸素が消費されることになる。この値は、基質量から算定した硝化による溶存酸素消費量の最大値であり、実際にはその範囲内で、硝化菌の数や環境条件などに応じてN-BODの値が変化する。

昭和59年度の調査によると、野火止用水にはアンモニア性窒素が最大10.1mg/l存在するので、この酸化による潜在的なN-BODは十分に大きい。

そこで、今回はN-BODの変動の要因となる硝化菌の計数法をMPN法によって検討し、多摩川上流処理場処理水および野火止用水の試料における硝化菌の存在量について検討を行った。

一般に、菌数をMPN法で計数する場合には、個々の菌が単独で存在していることが要求される。しかし、硝化菌は付着性が強く、水中ではその多くが懸濁粒子に付着しているものと思われ、しかも、1個の懸濁粒子中には複数個の硝化菌が存在する可能性があるため、MPN法により硝化菌を計数する際には、あらかじめ対象となる試料について、1個の懸濁粒子に存在している硝化菌の数を確認しておく必要がある。

懸濁粒子に存在する硝化菌の数を厳密に明らかにする

のは容易ではないが、以下の計数法の検討では硝化菌が存在する懸濁粒子の粒径範囲を求め、その粒子を超音波で破碎することにより変化した粒子の数や容積とMPN法で測定した見かけの硝化菌数の変化とから、懸濁粒子に存在する硝化菌数の推定を行った。

2 実験方法

(1) 懸濁粒子の粒径による分画

St.1とSt.2の試料を化学ふるい(孔径 $200\mu m$, $71\mu m$)またはメンブランフィルター(孔径 $8.0\mu m$, $1.2\mu m$, $0.43\mu m$)を用いてろ過し、粒径 $D \leq 200\mu m$, $D \leq 71\mu m$, $D \leq 8.0\mu m$, $D \leq 1.2\mu m$, $D \leq 0.43\mu m$ に分画した。これらと原水の計6種類の検水について、MPN法により硝化菌を計数し、硝化菌の存在する粒径範囲を求めた。

(2) 懸濁粒子の超音波による破碎, 分散

トミー精工社製超音波破碎機(UP200P; 35A, 最大出力200W)を用いて、出力25W(出力目盛りの1), 30W(同2), 40W(同3), 50W(同4), 70W(同5)で2分間、各々100mlの試料に超音波を照射し、試料中の懸濁粒子の破碎を行った。この試料を用いてパーティクルカウンターによる懸濁粒子の計数と粒子容積の測定、およびMPN法による硝化菌の計数を行い、超音波による粒子の壊れ方と硝化菌数の関係を検討した。

(3) 懸濁粒子の計数と粒子数の測定

エルマ光学製のPC-820改造型パーティクルカウンターを用いて行った。このカウンターで測定できる粒子の粒径範囲は $3.4 \sim 43\mu m$ である。

(4) MPN法による硝化菌の計数

土壤微生物実験法(養賢堂⁵⁾)に準じて調製した試料を、 $28 \sim 30^\circ C$ で4週間培養し、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌の計数を行った。試料の調製は5倍希釈5連で行った。

3 実験結果と考察

(1) 硝化菌の計数方法の検討

ア 硝化菌が存在する懸濁粒子の粒径範囲

表1, 表2は、St.1とSt.2の試料中の懸濁粒子を化学ふるいまたはメンブランフィルターで粒度分画し、各粒径範囲に存在する硝化菌の数をMPN法で計測した結果である。

表1 懸濁粒子の粒径分布と硝化菌数
(多摩川上流処理場; St.1)

粒径 (μm)	アンモニア酸化菌 (MPN/ml)	亜硝酸酸化菌 (MPN/ml)
$200 \leq D$	16	0
$71 < D \leq 200$	0	0
$8.0 < D \leq 71$	31	0
$1.2 < D \leq 8.0$	0	0
$0.45 < D \leq 1.2$	0	0
$D \leq 0.45$	2	0

表2 懸濁粒子の粒径分布と硝化菌数
(野火止水放水放流口; St.2)

粒径 (μm)	アンモニア酸化菌 (MPN/ml)	亜硝酸酸化菌 (MPN/ml)
$200 \leq D$	3	(-)
$71 < D \leq 200$	(-)	1,100
$8.0 < D \leq 71$	44	970
$1.2 < D \leq 8.0$	3	280
$0.45 < D \leq 1.2$	0	46
$D \leq 0.45$	2	3

注) (-)は計算過程で負になったもの

アンモニア酸化菌は、St.1, St.2のいずれにおいても $8.0\mu m < D \leq 71\mu m$ の粒径範囲に最も多く存在し、次いで $200\mu m$ を超えるものに多いが、その他の粒径にはほとんど存在しなかった。

亜硝酸酸化菌の場合は、St.1では全ての粒径において検出されなかった。これは後で述べるように、残留塩素の影響と考えている。一方、St.2では $71\mu m < D \leq 200\mu m$ の粒径範囲に最も多く、以下、粒径が小さくなるにしたがって硝化菌の数も少なくなった。

硝化菌の大きさはアンモニア酸化菌の*Nitrosomonas*が $0.6 \sim 0.9\mu m$ 、亜硝酸酸化菌の*Nitrobacter*が $0.4 \sim 1.1\mu m$ 程度であるから、一部を除けばほとんどが菌体の数十から数百倍の粒径の懸濁粒子に存在していると考えられる。このように、硝化菌が存在している懸濁粒子の大きさは、硝化菌の大きさよりも十分大きいので、これらの粒子1個に複数個の硝化菌が存在する可能性がある。

そこで、懸濁粒子に存在する硝化菌の数を推定する実験では、試料に超音波を照射して懸濁粒子を破碎し、見かけの硝化菌数の変化を調べた。

イ 超音波の出力と懸濁粒子の粒径変化

野火止用水のSt.2の試料に2分間超音波を照射し、各粒径範囲に存在する粒子数を測定して、超音波の出力との関係を検討したのが図1である。

全体を通して見た場合、粒子数は3.4~5.0 μm の範囲のものが最も多く、粒径が大きくなるにしたがって粒子数は順次小さくなった。超音波の出力を上げると、大きな粒径範囲にある粒子が壊れて小さい粒径範囲へ移行し、40Wを超えると20 μm 以上の粒径範囲の粒子は存在しなくなった。

同じ試料について、粒径変化を粒子容積との関係のみ見たのが図2である。粒子容積は、粒子の形状を球形とした場合の粒子数と粒径から計算したものである。

原水の粒子容積は10~15 μm の範囲で最も大きかった。超音波の出力を上げると、25Wで25~30 μm の範囲の粒子がなくなり、40Wで20~25 μm の範囲の粒子がなくなった。また30W以上では、10~15 μm の粒子

にかわって、より小さな5~10 μm の粒子が多くなり、特に70Wの出力で超音波破碎を行ったものは、10 μm 以上の粒子の割合が非常に少なくなった。

これらの図では最小粒径が3.4 μm になっているが、これはカウンターの性能によるもので、実際には3.4 μm 以下の粒子が多数存在するものと考えられる。また、このカウンターにより検出できる最大粒径は、43 μm とされているが、カウンターの機構上、沈降性の粒子の場合には、この粒径範囲内であっても正確に計測するのは困難である。ここで検出された最大粒径は原水で25~30 μm の範囲であるが、表1、表2でも明らかのように、実際にはこの値を超える粒径にも粒子が存在するものと考えられ、その粒径変化が問題になる。しかし、この点に関しては、超音波の出力を上げると、図1、図2のように大きな粒子が次第に検出されなくなるので、検出限界以上の大きな粒子も、土壤鉱物のような壊れにくいものでなければ、この処理過程で15 μm 以下の粒子に壊れるものと思われる。

図3は図2の結果をまとめて、超音波の出力と、3.4~43 μm の範囲にある全粒子容積の関係を示したもので

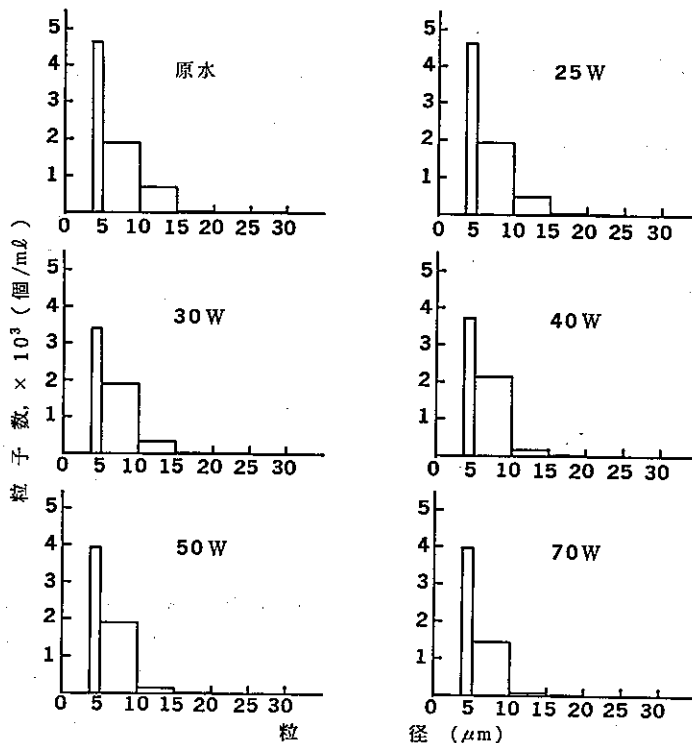


図1 超音波処理における懸濁粒子の粒径(3.4~4.3 μm)と粒子数の関係(野火止用水放流口; St.2)

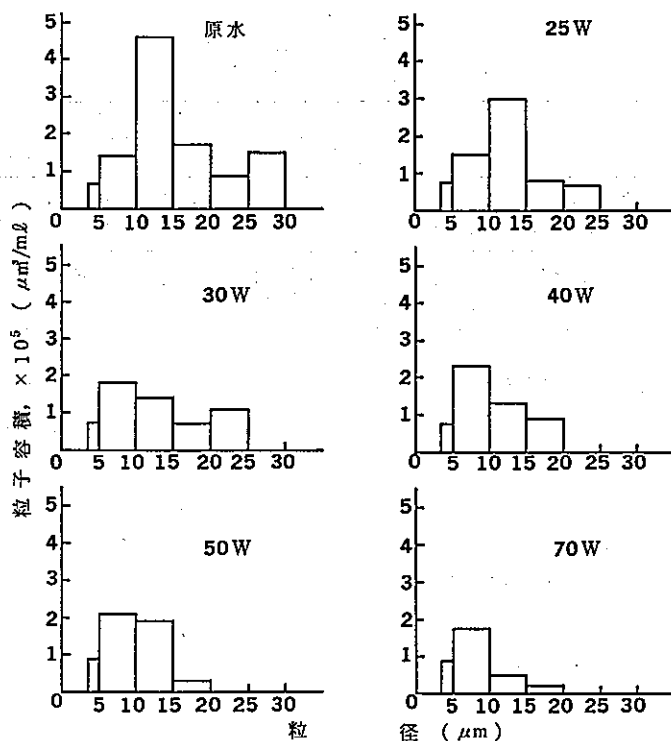


図2 超音波処理における懸濁粒子の粒径 (3.4 ~ 4.3 μm) と粒子容積の関係 (野火止用水放流口; St. 2)

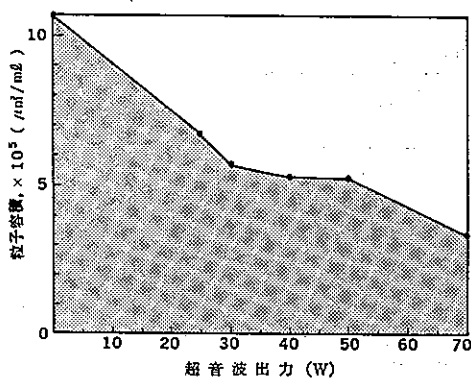


図3 超音波破砕機の出力と 3.4 ~ 4.3 μm の範囲に存在する粒子の容積 (野火止用水放流口; St. 2)

ある。超音波処理を行わない原水では、全粒子容積が $1.1 \times 10^6 \mu\text{m}^3/\text{ml}$ であったが、75Wで2分間超音波照射したものでは、それが $3.4 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{ml}$ にまで低下した。その間に減少した容積は検出限界の $3.4 \mu\text{m}$ 以下の粒子に壊れたものと思われる。

また、表1、表2で述べたように、アンモニア酸化菌、

亜硝酸酸化菌はいずれも $8.0 \mu\text{m}$ 以上の粒子中にほとんどが集まっているので、比較のために、超音波破砕した結果を $10 \mu\text{m}$ の粒径で二分して、粒子数と粒子容積を計算したものが表3である。それによれば、硝化菌が存在する $10 \mu\text{m}$ 以上の粒子数は原水の 7.8×10^2 個から70W時の 8.0×10^1 個へ、粒子容積は $8.7 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{ml}$

表3 超音波の出力と懸濁粒子の粒径変化
(野火止用水放流口; St.2)

粒 径 (μm)		超 音 波 出 力					
		0	25W	30W	40W	50W	70W
$3.4 < D \leq 10$	粒子数(個/ml)	6.5×10^3	6.5×10^3	5.2×10^3	5.8×10^3	5.8×10^3	5.4×10^3
	粒子容積($\mu m^3/ml$)	2.1×10^5	2.2×10^5	2.5×10^5	3.1×10^5	3.0×10^5	2.6×10^5
$10 < D \leq 43$	粒子数(個/ml)	7.8×10^2	5.3×10^2	3.8×10^2	2.0×10^2	1.8×10^2	8.0×10^1
	粒子容積($\mu m^3/ml$)	8.7×10^5	4.5×10^5	3.1×10^5	2.2×10^5	2.2×10^5	7.4×10^4

から $7.4 \times 10^4 \mu m^3/ml$ へと、いずれも 1/10 程度にまで減少した。

以上の結果から、硝化菌が存在する粒径範囲の懸濁粒子も、この処理過程で多数の小さな粒子に破碎されると判断される。したがって、1個の懸濁粒子に多くの硝化菌が集まっても、それらは懸濁粒子の破碎と共に分散されるものと考えられる。

そこで、このようにして超音波照射をした試料中の硝化菌数をMPN法で計数し、超音波の出力と硝化菌数の関係について検討した。

ウ 超音波の出力と硝化菌数

表4は超音波出力と試料中の硝化菌数の関係を示したものである。

表4 超音波の出力と硝化菌数
(野火止用水放流口; St.2)

出 力 (W)	アンモニア酸化菌 (MPN/ml)	亜硝酸酸化菌 (MPN/ml)
0	130	3,300
25	240	3,300
30	240	2,200
40	130	3,500
50	240	2,400
70	130	2,400

1個の懸濁粒子に複数個の硝化菌が存在すれば、硝化菌の数も超音波の出力に応じて増加するはずであるが、表4によれば、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌のいずれにおいても、菌数は超音波の出力にほとんど依存しなかった。したがって、この結果は硝化菌が単独に近い状態で粒子に存在することを示唆するものである。

ただし、硝化菌が複数個存在する場合でも、このような結果が得られる可能性はある。例えば、粒子の一部分に集団で存在し、超音波によっても容易には分かれな

場合や、超音波により分散した硝化菌の一部が死んだ場合、あるいは一度分散した硝化菌が再結集した場合などが考えられるが、この点に関する確認は行っていない。

これまでの結果によると、超音波処理による硝化菌の分散効果は小さいので、野火止用水の硝化菌数をMPN法により計数する場合には、超音波による硝化菌の分散処理は必ずしも必要がないと考えられる。

なお、表4の値は一般の化学分析の結果に比べてバラツキが大きいように見えるが、MPN法ではこの程度のバラツキは許容誤差の範囲にあると考えられる。

4 野火止用水の硝化菌数

図4は1986年2月24日に採水した野火止用水およ

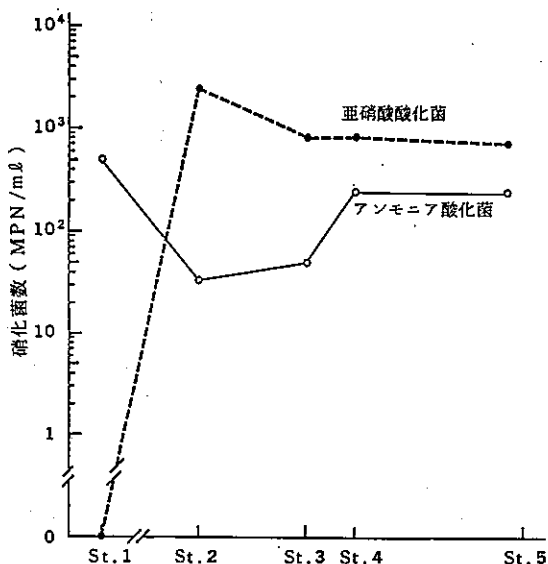


図4 野火止用水試料および多摩川上流処理場処理水の硝化菌数

び多摩川上流処理場の試料中に存在する硝化菌の数を上述の結果に基づいてMPN法で測定した結果である。

St.1は多摩川上流処理場の処理水、St.2は野火止用水への流入口で、St.3~5はその下流である。また、St.1とSt.2の間は約10.7kmであり、その間は全て導水管である。

図4から、①多摩川上流処理場(St.1)の処理水中にはアンモニア酸化菌は存在するが、亜硝酸酸化菌は存在しないこと、②導水管以降の野火止用水(St.2~St.5)では、亜硝酸酸化菌の方がアンモニア酸化菌よりも1桁ほど多いことが明らかである。

この原因にはSt.1における残留塩素の影響とSt.1とSt.2以下を結ぶ導水管の存在が考えられる。

一般に、残留塩素に対する耐性はアンモニア酸化菌(*Nitrosomonas*)の方が大きいとされており、硝化菌の入った試料中に1.0mg/lの濃度で塩素を添加した実験によると、20分程度では*Nitrosomonas*はそれほど減少しないが、亜硝酸酸化菌(*Nitrobacter*)は死滅するという報告がある。津久井らの測定⁶⁾では、St.2以降には残留塩素は存在しないが、St.1には結合性の残留塩素が3mg/l存在する。このことから、St.1の処理水中に亜硝酸酸化菌が検出されなかったのは、残留塩素の影響によるものと思われる。

また、St.1では検出されなかった亜硝酸酸化菌がSt.2において大量に存在するのは、導水管内で残留塩素が消失することにより亜硝酸酸化菌の増殖環境が好転したことや、導水管内に生息する亜硝酸酸化菌が剝離し、水中に移行したためと考えられるが、この点に関しては今後の検討課題である。

津久井ら²⁾によると、1986年2月25日のBODはSt.1ではC-BOD 2.7mg/l、N-BOD 4.8mg/lの合計7.5mg/lであり、St.2ではC-BOD 3.6mg/l、N-BOD 8.0mg/lの合計12mg/lである。St.1とSt.2のBODの差は主にN-BODの差であるが、図4の結果は、このN-BODの差が、主に亜硝酸酸化菌の存在量の差に起因することを示すものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 津久井公昭他：清流の復活に関する研究(その1) 昭和59年度野火止用水水質調査結果、東京都環境科学研究所年報、114(1986)
- 2) 津久井公昭他：清流の復活に関する研究(その2) 昭和60年度野火止用水水質調査結果、東京都環境科学研究所年報、126(1987)
- 3) 林清彦他：生物処理のBOD試験における硝化菌の影響、第20回下水道研究発表会講演集、492(1983)
- 4) Young, J.C.: Chemical methods for nitrification control, Jour. Water Poll. Control Fed., 45, 637(1973)
- 5) 土壌微生物研究会編：土壌微生物実験法、養賢堂(1981)
- 6) 中川公子他：塩素処理によるN-BODの抑制効果、第20回下水道発表会講演集、239(1983)