

都城圏域における地下水の硝酸性窒素濃度の実測調査および脱窒菌を用いた脱窒プロセスの開発

金澤亮一

Measurement Study of Nitrate Nitrogen Concentration of Groundwater in Miyakonojo City, and Preparation of Denitrification Apparatus by Denitrifying Bacterium

Ryoichi KANAZAWA

(Accepted August 30, 2013)

Abstract A groundwater investigation was conducted at 26 points at Miyakonojo city and nearby region in 2008. Nitrite nitrogen and nitrate nitrogen were detected at almost all points, and 2 points were found to be exceeding environmental standards. The denitrification apparatus was made with denitrifying bacterium (*Paracoccus denitrificans*). This denitrification apparatus was evaluated in denitrification performance. The denitrification performance of this denitrification apparatus was evaluated. The apparatus showed high denitrification performance.

Keyword [Nitrate nitrogen, Denitrifying bacterium, Denitrification apparatus]

1 序論

都城市およびその圏域は農業および畜産業において全国有数の生産量を誇り、有力な地場産業として成り立っている。近年では、こうした農業および畜産地帯における地下水の硝酸性窒素濃度が問題となっており、都城市および圏域においても同様の問題が起こっている^{1,2)}。

これらは、田畑に散布された大量の窒素肥料や家畜の尿尿の不適切処理、生活排水などが地下に浸透することが原因と考えられている。これらの硝酸性窒素を多く含む水を飲用とした場合、メトヘモグロビン血症の原因となるほか、発癌性物質であるニトロソ化合物を生成すると言われており³⁾、環境省では 10 mg/l という環境基準を設けている。さらには、水棲の野生生物の保護を目的に飼育を行う場合、安価な地下水を利用することが多いが、これらの硝酸性窒素が生物の窒息を引き起こすという問題もある。

本研究では、都城圏域内でも特に農業と畜産業が盛んな地域における井戸 23 箇所を対象に、サンプリングを行い、硝酸性窒素濃度の測定を行った。

さらには、安価で簡易的な硝酸性窒素除去装置として、脱窒菌を用いたバイオリアクターの作成も行い、その性能評価および利用形態の検討も行った。一般的に脱窒処理はイオン交換、電気浸透、触媒反応による除去などが行われているが、どれも簡易的であるとは言いがたい⁴⁾。そこで脱窒菌による脱窒反応に着目した。脱窒菌によって行われる脱窒メカニズムを図 1 に示す。

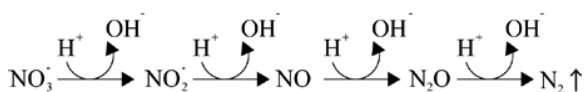


図 1 脱窒のメカニズム

嫌気条件下において脱窒菌の作用により硝酸性窒素

を窒素ガスにまで分解し、大気に放出する⁵⁾。これらは生物学的手法と呼ばれ、菌を固定化する担体や装置形態の選定によっては非常に安価で簡便な装置となることが期待される⁶⁾。そこで本研究では、脱窒菌に代表的な脱窒菌として知られる *Paracoccus denitrificans* を用い、菌固定化担体としてアルギン酸ゲルを用いて脱窒材を合成した。充填塔型の装置に適用し、脱窒実験を行った。図2に制作した脱窒装置の装置図を示す。

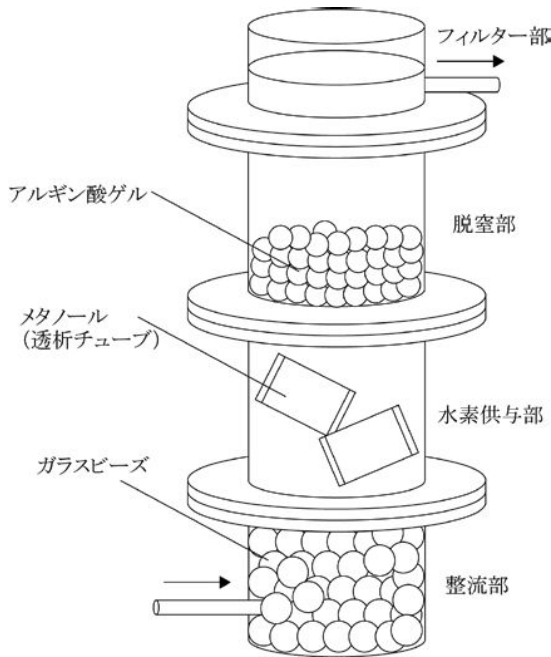


図2 充填塔型脱窒装置

装置下部に整流部を設け、その上の段に水素供給部を設けている。ここでは透析チューブ内に充填されたアルコールが透析によって供給される。さらに上部に脱窒層を設けている。これらは市販のポンプによって生み出される流量および脱窒に必要な接触時間より計算し、塔内で適切な流速になるように設計されている。これらの装置による脱窒性能の評価に加え、プロセス形態の選定および水素供与体の選定も行い、簡便な脱窒プロセスの提案を行った。

2 実験方法

2.1 地下水のサンプリング

都城市内および圏域においける浅井戸を中心に26箇所の地点でサンプリングを行った。井戸水を組み上げ、その場で水温およびpHを測定し、容器に密閉して持ち帰ったものを硝酸性窒素濃度測定に用いた。多くの井戸において、具体的な地名を明かさないと条件での協力であったため、詳細な採取地点についての報告

は行わない。調査は2008年9月に行った。

2.2 硝酸性窒素濃度の測定

測定は硝酸性窒素濃度および亜硝酸性窒素濃度について行った。220nm付近で大きな吸光が起こることが知られている。硝酸性窒素は簡便に測定する方法として分光光度計によって220nmの吸光度を測定し定量を行った。亜硝酸性窒素濃度の測定はナフチルエチレンジアミン吸光度法によって行った。スルファニルアミド(4-アミノベンゼンスルホンアミド)を加え、これを亜硝酸イオンによってジアゾ化し、N-1-ナフチルエチレンジアミン(二塩化N-1-ナフチルエチレンジアミンモニウム)を加えて生じる赤い色のアゾ化合物の吸光度を測定して亜硝酸イオンの定量を行った。

2.3 菌の固定化

脱窒菌には *Paracoccus denitrificans* を用い、Polypepton、Yeast extract、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ および蒸留水で作成した培地によって26°Cで5日間静置培養を行った。培養によって得られた *Paracoccus denitrificans* 培養液を1%-アルギン酸ナトリウム水溶液と混合し、1%-塩化カルシウム水溶液内へ滴下することにより粒子状の脱窒材を得た。

2.4 脱窒実験

硝酸性窒素濃度15.8 mg/lの初期溶液6Lを水槽内に入れ、ポンプによって脱窒装置に供給した。装置概念図を図3に示す。

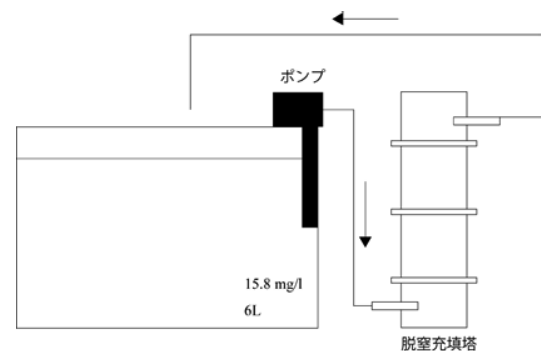


図3 脱窒実験装置図

脱窒装置には水素供与体として透析チューブ内にエタノールを入れた水素供給層があり、浸透によってメタノールが供給される。脱窒層ではアルギン酸ゲル内の脱窒菌の働きにより脱窒が起こり、生成した窒素ガスは装置上部より大気に放出される。水相は装置上部より水槽に戻され、循環する。所定時間ごとにサンプリングを行い、硝酸性窒素濃度の測定を行った。

3 実験結果および考察

3.1 地下水の硝酸性窒素濃度の測定

都城市内および圏域における 26 箇所の浅井戸を対象に地下水のサンプリングを行い、硝酸性窒素の測定を行った。最も濃度の高かった地点の結果を表 1 に示す。

表 1 硝酸性窒素濃度の測定結果

| | 地点 A | 地点 B |
|---------------|------|------|
| 硝酸性窒素濃度[mg/l] | 19.6 | 16.4 |

これら 2 箇所においてはいずれも環境基準である 10 mg/l を大きく超える結果となっている。またその他の地点においても概ね 3~8 mg/l の濃度であり、比較的高い濃度であるといえる。これらの調査結果は、都城盆地地下水保全対策連絡協議会が行っている測定結果とも一致している。

これらは農業および畜産業が盛んな地域で高い傾向にあり、さらには比較的標高が低い地域において高い傾向にあった。窒素を含む肥料等が地中に浸透していることが原因と考えられる。

3.2 脱窒実験

図 4 に脱窒実験結果を示す。

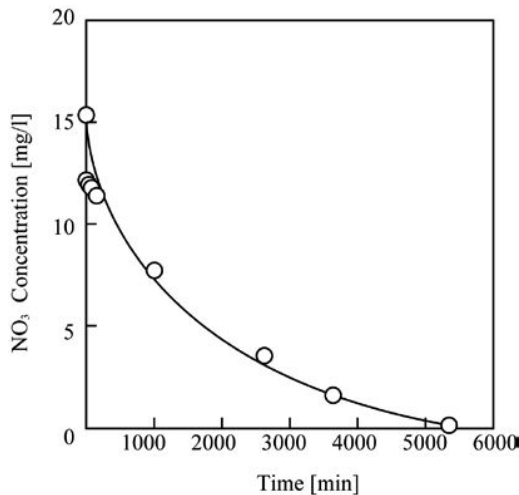


図 4 脱窒実験における硝酸性窒素濃度の経時変化

環境基準以上である 15.8 mg/l の硝酸性窒素濃度の初期溶液が、時間経過と共に濃度が減少していることがわかる。これは期待通りに脱窒菌によって脱窒作用が起きていると言える。また、約 5500 分でその濃度は

ほぼ 0 になるという結果が得られた。脱窒に用いている *Paracoccus denitrificans* は嫌気的環境下でしか、脱窒作用を起こさないことが知られており⁷⁾、これが脱窒菌による脱窒操作を難しくしている一つの要因となっているが、アルギン酸ゲル内に固定化することにより、ゲル内が嫌気的環境になっていると考えられる。結果として、期待以上に脱窒作用が起こったと考えられる。

3.3 ヒメダカ飼育下における脱窒実験

図 5 に一方には脱窒装置を接続し、もう一方には脱窒装置を接続せずに、ヒメダカ 20 匹を飼育した比較実験結果を示す。初期の水は 6.4L の水道水とし、一日に 2 度、市販の餌を 1g 与えた。

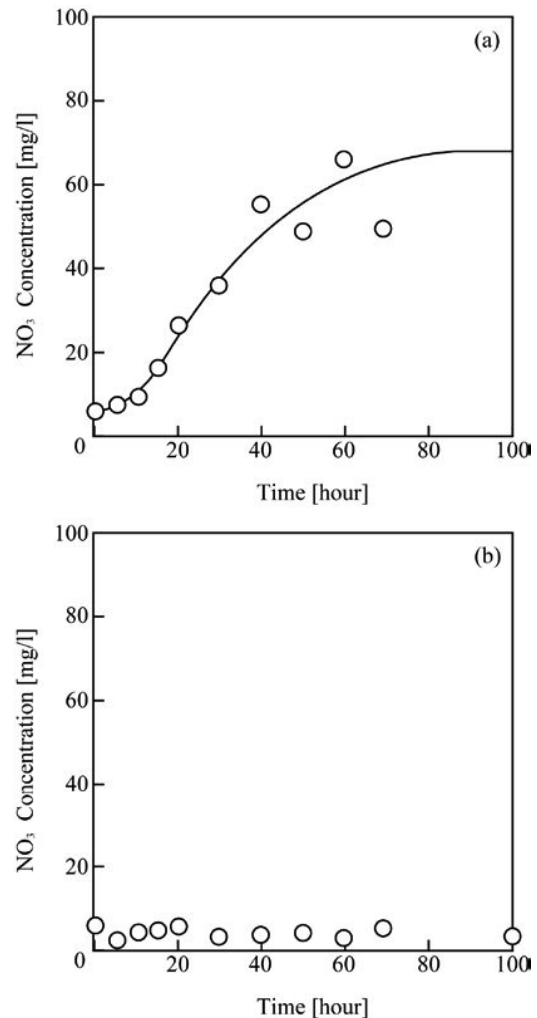


図 5 ヒメダカ飼育環境下における硝酸性窒素の濃度変化 (a)脱窒装置なし(b)脱窒装置あり

脱窒装置のない水槽についてはヒメダカの排泄等の生命活動および与える餌に含まれる窒素化合物により徐々に硝酸性窒素濃度が上昇した。環境基準である 10 mg/L を超えたあたりで死にはじめ、7 日後 (168 hour)

には 80 mg/l となり、全てのヒメダカが死に絶えた。一方、脱窒装置を接続した方は硝酸性窒素濃度の上昇もほとんど見られず、ほぼすべての期間で環境基準以下の濃度であり、ヒメダカが窒息することもなかった。脱窒装置の働きにより硝酸性窒素濃度が上昇しなかったと考えられ、有用性が確認できたといえる。

3.4 プロセス形態の検討

作成した脱窒装置の有用性は確認することができた。しかしながら、外部循環型の充填塔であるこの装置は非常に大きい。そこでもっと簡便なプロセス形態で使用するための検討を行った。図 6 に用いた装置の概略図を示す。

いずれの場合においても脱窒材には同様のアルギン酸ゲルに固定化された脱窒菌 *Paracoccus denitrificans* を用いている。装置を簡略化してプロセス形態の有効性を確認するため、ここでは水素供給層を設けず、循環水内にメタノールを混合した形で脱窒を行っている。結果を図 7 に示す。

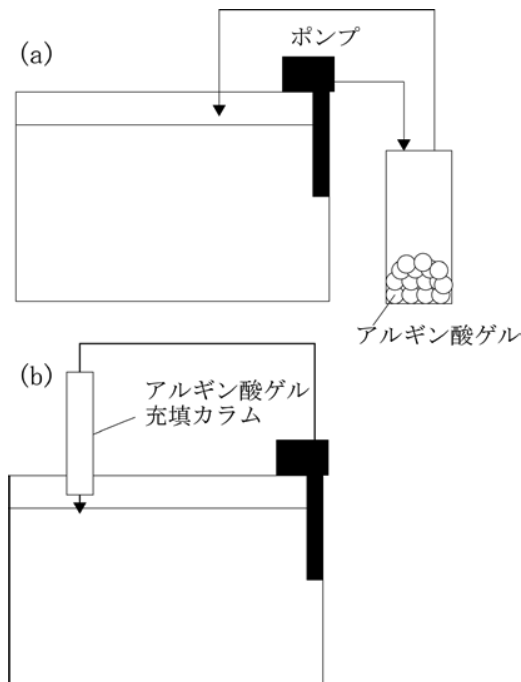


図 6 脱窒装置概略図 (a)簡易外部循環型 (b)充填カラム型

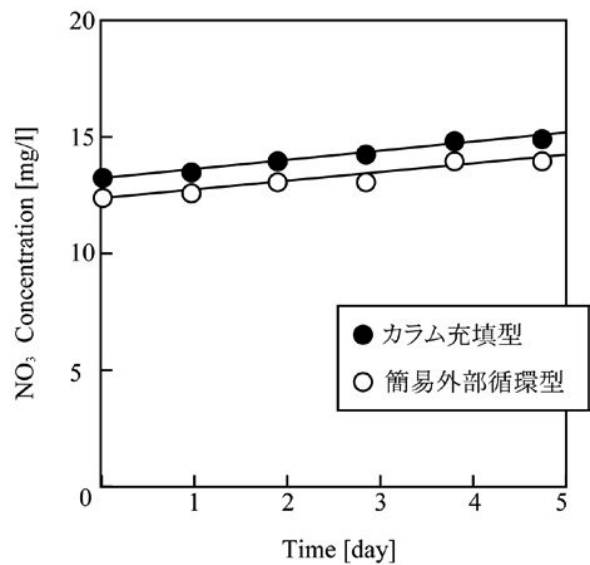


図 7 種々のプロセス形態における脱窒実験結果

いずれの場合も硝酸性窒素濃度は徐々に増加しており、全く脱窒が起こっていなかった。この原因として考えられるのは、簡易外部循環型の場合は脱窒部の水の流動が不完全であるためにアルギン酸ゲルの接触が不十分であるために十分に脱窒が起こらなかったと考えられる。また、カラム型については、充填したアルギン酸ゲルが非常に柔らかいため充填密度が高くなり、循環水の充填層内部への流動が妨げられたため、十分な接触が起こらず、脱窒が起こらなかったと考えられる。この種の形態で用いるには硬い担体を用いて充填密度を低下させる必要がある。現状では、最初に提案した装置が最も有用であるといえる。

3.5 水素供与体の選定

脱窒反応においては水素供与体の存在が必要不可欠である。本研究においては、水素供与体としてメタノールを使用した。しかしながら、メタノールは生体にとって有害であり、水を扱うという観点から使用は避けたい。本研究で作成した脱窒装置においては、透析チューブ内から必要最小限のメタノールが透析によって浸出し、それらの全量が上部の脱窒部で消費されるように設計されている。実際に、塔上部の排出時点でメタノール濃度は 0 であり、ヒメダカの飼育に使用しても全く問題はなかった。

しかしながら、安全性およびコストの観点から、メタノールの使用を避け、水素供与体として焼酎の製造過程で排出される焼酎粕を使用して脱窒実験を行った。結果を図 8 に示す。

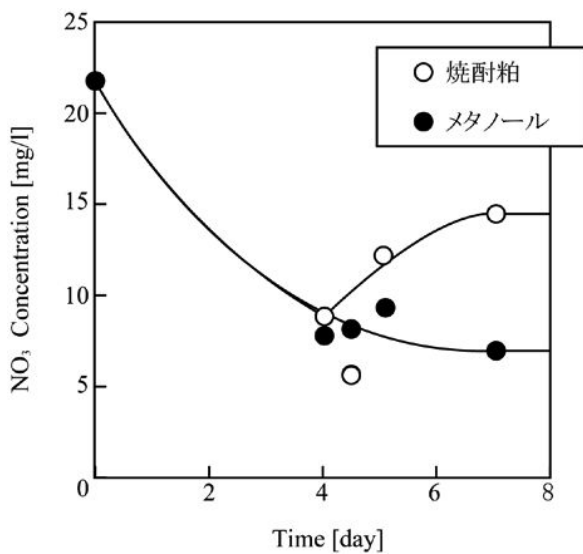


図 8 脱窒操作における水素供与体の影響

水素供与体としてメタノールを用いたもの、焼酎粕を用いたもの、いずれの場合も時間の経過と共に硝酸性窒素濃度は減少している。焼酎粕もメタノール同様に水素供与体として有用であると言える。しかしながら、4日目以降は、焼酎粕を使用した場合に限り大きく硝酸性窒素濃度が増加している。これは、焼酎粕に含まれる窒素が新たに硝酸性窒素を生み出しているためと考えられる。比較実験において、脱窒を行わずに循環させた場合においても4日目以降に硝酸性窒素の増加が見られている。水素供与体として焼酎粕を用いる場合は、3日ごとに新しいものと交換する必要がある。

4 結言

都城圏域における地下水の硝酸性窒素濃度を、浅井戸を対象に調査したところ、全体的に高い傾向が見られ、そのうち2地点の井戸では環境基準を大きく上回る硝酸性窒素が検出された。これらは農業における肥料等の地下への浸透など複数の要因が考えられる。これらの問題を根本的に解決するには非常に長い年月が必要である。

簡易的に地下水の硝酸性窒素を除去するための装置を、脱窒菌を固定化したアルギン酸ゲルによって合成した脱窒材を備えた充填塔を作成した。これは非常に高い効果を発揮し、環境基準を上回る 15.8 mg/l の硝酸性窒素濃度を持つ水を処理し、約 4500 分でその濃度をほぼ 0 にまで減少させた。実際にヒメダカの飼育に用いたところ、窒息も起こらなかった。

また種々のプロセス形態について有用性を検討したところ、効率よく流動が起こり、ゲルとの接触も効率的な充填塔型が最も有用であることがわかった。しか

しながら、カラム型はプロセスの小型化においては有用であると考えられ、充填密度が高くないよう、菌固定化担体を変えることで有用性が増す可能性がある。

生体への安全性および低コストの観点から、水素供与体をメタノールから焼酎粕に変えて脱窒実験を行ったところ、同様に脱窒が起こっていることを確認した。ただし、長時間使用すると焼酎粕から新たな硝酸性窒素が生成するため、ある程度の期間で取り替える必要があることがわかった。

これらの検討により、都城圏域で問題となっている地下水の硝酸性窒素において、それらを簡易かつ低コストに除去することのできるプロセスの実現について可能性が示された。

参考文献

- 1) B. Singh, G.S. Sekhon: Nitrate pollution of groundwater from nitrogen fertilizers and animal wastes in the Punjab, India, *Agriculture and Environment* Vol.3(1), pp.57-67, 1976
- 2) P. J Thorburn, J. S Biggs, K. L Weier, B. A Keating: Nitrate in groundwaters of intensive agricultural areas in coastal Northeastern Australia, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol. 94(1), pp.49-58, 2003
- 3) P. Jakszyn, C.A. Gonzalez: Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence, *World Journal of Gastroenterology*, 12 (27), pp.4296-4303, 2006
- 4) A. Kapoor, T. Viraraghavan: Nitrate removal from drinking water-review, *Journal of Environment Engineering*, 123 (4), pp.371-380 1997
- 5) R. Knowles: Denitrification, *Microbiol. Rev.*, 46, pp. 43-70, 1982
- 6) J.M. Tiedje: Ecology of Denitrification and Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium, pp.179-218, 1988
- 7) K. Yamada: Selectivity of foodbacteria for the growth of anaerobic ciliate *Trimyema compressum*, *Arch Microbiol*, 161, pp229-233, 1997