

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：32647

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00804

研究課題名(和文) 生物処理による飲料水の硬度と硝酸塩濃度の低減化研究

研究課題名(英文) Reduction of hardness and nitrate concentration of drinking water by biological treatment

研究代表者

小関 正道 (KOSEKI, Masamichi)

東京家政大学・家政学部・教授

研究者番号：60248987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：水槽で自然発生した藻類または沖縄県糸満市の浄水場で生育している藻類が、硬度を低減化できるか、ならびに硝酸態窒素濃度の高い地下水の硝酸態窒素濃度を低減化できるか検討した。どちらの藻類によっても硬度を低減化することができた。硬度は光照射時に低下し暗所化では低下しなかった。また水のpHは光照射時に高くなり暗所時には変化がなかった。このことから、藻類が光を受けて光合成を行った時に水中に溶存している重碳酸カルシウムのCO₂を吸収した結果硬度が低下したことがわかった。硝酸態窒素濃度も硬度同様に低下した。それぞれの藻類は、Aphanochaete magnum、Cladophora albidaであった。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether algae spontaneously generated in aquarium or algae growing at a water treatment plant in Itoman City in Okinawa Prefecture can reduce hardness and can reduce nitrate nitrogen concentration in groundwater with high nitrate nitrogen concentration. Both algae could reduce the hardness. Hardness decreased at the time of light irradiation and did not decrease at dark place. The pH of water increased at the time of light irradiation and did not change at dark place. From this, it was found that the hardness decreased as the algae absorbed the CO₂ of calcium bicarbonate dissolved in water when receiving photosynthesis. Nitrate nitrogen concentration also decreased as hardness. Each algae was Aphanochaete magnum, Cladophora albida.

研究分野：食品学

キーワード：飲料水 硬度 硝酸態窒素 藻類 生物処理

1. 研究開始当初の背景

飲料水の硬度が高いと味が悪く、多量に摂取すると下痢を起こすことがある。そのため日本の水道水質基準で水道水の硬度は300mg/L以下と定められており、さらに水質管理目標値として硬度は10mg/L以上100mg/L以下とされている。このようなことから水道原水硬度の高い一部の地域では、浄水場に硬度低減化施設を建設し、薬品処理により硬度を低下させた水道水を供給している。しかしこのような施設の建設や運営はかなり費用が掛かることから、どこの浄水場でも導入できる方法ではない。

硬度とは別に浄水場原水の硝酸態窒素濃度が高く、通常の浄水処理ではこの物質の濃度を低下させられず、水道水の供給に支障をきたしている地域がある。硝酸態窒素濃度が高い原因は、農作物の肥料として使用した硝酸塩肥料が地下に浸透し、地下水を原水としている浄水場の原水の硝酸性窒素濃度が高くなったためである。なお、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の水質基準値は10mg/L以下である。

水道原水の硬度や硝酸態窒素を低減化するためには、専用設備の導入と恒常的な運営費用の発生が生じる。そのためこれらの濃度が高い水道原水を使用しなければならない地域では、対応できない水道事業者が多い。

水道水の浄水法は、急速ろ過法と緩速ろ過法に大別できる。急速ろ過浄水法は、砂層ろ過前の薬品処理を主にする方法であり、緩速ろ過浄水法は、ろ過砂層表面に自然発生した生物叢による生物作用を主にする方法である。この二つの浄水法は化学作用による方法と生物作用による方法に区別できる。現在の日本で主流になっているのは急速ろ過浄水法であるが、この方法で硬度や硝酸態窒素を処理するためには、薬品をさらに使用するか、電気化学的な設備を導入しなければならない。一方緩速ろ過浄水法は、硬度や硝酸態窒素濃度の低減化作用という、処理法としては未開発な生物作用を見い出せれば、簡易で安全な処理方法を開発できる可能性がある。このようなことから、浄水場で自然発生する生物により、硬度と硝酸態窒素濃度を低減化させる研究を行うことは大きな意義がある。

2. 研究の目的

緩速ろ過浄水法は、浄水池に自然発生する各種生物による複合作用により、原水中に溶解するにおい物質、有害有機物、鉄、マンガンなどを分解し、原虫、細菌、ウイルスなどの生物を死滅させ、安全でおいしい飲料水を作る方法であることから、生物浄水法とも言われるようになった。しかし現状の方法では硬度や硝酸態窒素は除去することができない。

ところで湖沼では、光合成により炭酸カルシウムが生成沈殿し白濁する現象が知られている¹⁾。このことから、原水の硬度が高い緩速ろ過浄水場のろ過地で光合成を盛んに

すれば、硬度成分を沈殿除去し浄水後の水の硬度を低減化できる可能性がある。水中で藻類が光合成を行うと、水中のCO₂が吸収され同時に水のpHは上昇する。水に溶存している一時硬度成分の重炭酸カルシウムCa(HCO₃)₂は水中で、 $Ca(HCO_3)_2 \rightleftharpoons CaCO_3 + H_2O + CO_2$ の平衡にある。藻類が光合成して水中のCO₂を吸収すると平衡は右辺に進み水中に溶解している重炭酸カルシウムが減少し硬度は低下する。このように藻類が水中のCO₂を吸収すれば、硬度を低下させられることから、浄水処理前に藻類を大量に繁殖させたる過池に高硬度原水を導入し、硬度を低減させる処理法が実用化できれば、硬度低減施設を建設せずに硬度低減化処理を行うことができる。

硝酸態窒素については、アオウキクサやアオミドロによる水田の硝酸態窒素減少を観察した報告²⁾、溜池の硝酸態窒素の消失に及ぼす藻類の影響³⁾などがある。これ等の植物の繁殖により硝酸態窒素濃度が低減する理由は、植物が窒素の栄養源として硝酸塩を吸収するためである。藻類も窒素源として硝酸塩を利用できれば、緩速ろ過池に藻類を大量に繁殖させることにより、水道原水の硝酸態窒素を低下させられる可能性がある。

緩速ろ過浄水法は藻類を含む生物群集の作用による浄水法なので、ろ過池に生育する藻類が水道原水の硬度および硝酸態窒素濃度を実用化レベルまで低減させることができれば、安価で安全な処理法として各地域で導入することができる。このような考え方から、藻類による硬度および硝酸態窒素濃度の低減化法を開発することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

硬度低減実験

(1) 緩速ろ過浄水場を模したろ過装置をペットボトルで作成した(図1)。浄水場のろ過池は図2の様な構造なので、ペットボトルの中には、ろ過材として小石、軽石または砂を入れた装置をそれぞれ作成した。この装置に東京都北区の井戸水を循環通水し装置内部に藻類を自然発生させた。

ろ過材が小石、軽石または砂のPETボトルに、それぞれevian 2.5Lを9日間循環通水し、0,1,3,5,7,9日目で採水し、硬度を測定した。

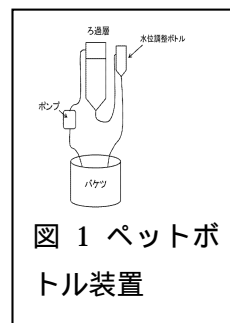


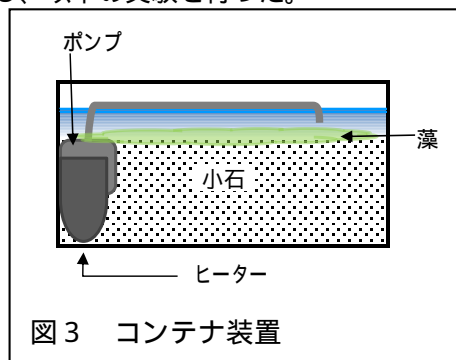
図1 ペットボトル装置



図2

<http://san.ap.teacup.com/tamariu417.html>

(2) 図3に示したコンテナ(W 28.0cm × D 36.6cm × H 13.6cm, PP製)を用い、高さ6cmまで小石のろ過材を詰め、装置内に井戸水を循環させ、藻を生じさせた後実験装置として使用し、以下の実験を行った。



白色LED点灯時間による硬度低減効果の検討方法：図3の装置に白色LEDを取り付け上から箱を被せ、循環ろ過・採水を行った。点灯のみ：48時間LEDを点灯し、光を当て続けた。

点灯・消灯：12時間ごとに点灯消灯を繰り返し、合計24時間光を当てた。

循環ろ過期間：48時間(ろ過前、ろ過12、24、36、48時間後で採水)、採水は各150mL、測定項目：総硬度、pH

(3) 砂利をろ過材として図3の装置に詰め、藻の違いによる硬度低減効果の比較をした。装置に研究室内で自然発生させた藻(*Aphanochaete magnum*)または沖縄県南部水道企業団摩文仁浄水場ろ過池内に繁殖する藻(*Cladophora albida*)をそれぞれ約20g入れて循環ろ過・採水を行った。循環ろ過期間：24時間(ろ過前、ろ過6、12、24時間後で採水)、採水は各150mL、測定項目：総硬度、pH

硝酸態窒素濃度低減実験

(1) 摩文仁浄水場のろ過池で生育している*Cladophora albida*を用いて硝酸塩濃度低減化を検討した。

原水処理装置としてペットボトル、三角フラスコ、平型コンテナを用いた。硝酸塩濃度測定用サンプルは採水後分析時まで冷凍保存し、サリチル酸ナトリウムによる吸光度法により硝酸イオン濃度を算出した。

実験1 ペットボトル

図1の装置内に井戸水を循環させ藻を繁殖させた。その後東京都北区十条の井戸水1リットルを装置内に循環させ、0,1,2,3,5,7日目に10mLずつ採取し、硝酸態窒素濃度測定サンプルとした。

実験2 三角フラスコ

水槽で繁殖させた摩文仁浄水場の藻と摩文仁浄水場の原水100mLを使用した。200mLの三角フラスコに、藻と摩文仁浄水場の原水を加え、振盪培養器にかけ、0,1,2,3,5日目に水を5mLずつ採取し、硝酸態窒素濃度測定サンプルとした。摩文仁浄水場の水に代えて、東京都北区十条の井戸水でも同条件で実

験を行った。

実験3 平型装置

図3の装置にろ過材として小石(カラーストーン)を入れ、井戸水を循環し実験室内で藻を自然繁殖させた。水5.5Lをポンプにて循環させた。日光の条件を一定に保つため、段ボールで平型装置を覆い光源はLEDのみとした。照度は水面1750LUX、石の上821LUXであった。試料水は、0,1,2,3,5,7日目に15mLずつサンプル瓶に採取し、硝酸態窒素濃度測定サンプルとした。

(2) 藻の重量による違いによる効果の比較藻：摩文仁浄水場に生育していたシオグサ属(*Cladophora albida*)

試料水：摩文仁浄水場原水(硝酸態窒素濃度8.6mg/L)

実験方法

水温25℃の恒温槽を段ボールで覆い、LED照射(照度7000lux)、200mLの三角フラスコ4個に水100mLを入れ、遠心分離機で4000回転10分間脱水した藻をそれぞれ0.25g、0.5g、0.75g、または1.0g投入し、5分後、6時間後、12時間後、24時間後に10mL採水し、サンプルを冷凍保存した。硝酸塩濃度はサリチル酸ナトリウムによる定量法で測定した。

藻類の同定

ペットボトルおよびコンテナ実験装置に自然発生した藻、摩文仁浄水場から取り寄せた藻2種について、18S/16S rRNA領域のシーケンスにより種同定した。

(1) DNAを抽出して鋳型DNAとした。

(2) Polymerase Chain Reaction(PCR)

PCR増幅には18S/16S rRNAのユニバーサルプライマー4)(Table 1)およびEx Taq(タカラバイオ)を用いた。PCR産物はアガロースゲル電気泳動で増幅を確認した後、Ampure®(日本ジェネティクス)により精製した。

(3) シークエンス

BLAST検索でヒットした種のうち、相溶性が最も高くかつ形態が最も近いと判断された種を同定結果として採用した。

Table 1 使用プライマー配列4)

名称	配列
1422F (Forward)	5'-ATAACAGGTCTGTGATGCC-3'
1642R (Reverse)	5'-CGGGCGGTGTGTACAAAGG-3'

4. 研究成果

硬度低減実験

(1) 図4に示した通りろ過材が砂の場合循環通水9日目で硬度が約80%、軽石の場合約79%、小石の場合約90%除去されており、ろ過材として小石が最も硬度低減効果が高かった。

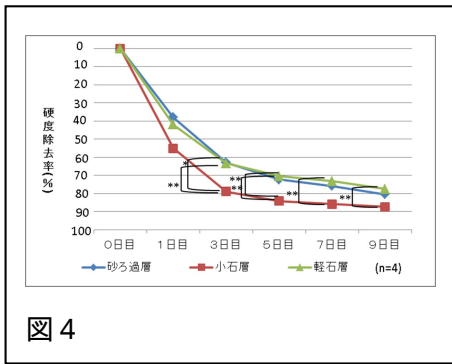


図 4

(2) 図5に示す通り、点灯し続けた場合はpHの上昇に伴い、硬度が減少していた。消灯時間があつた場合では消灯している間はpHの上昇が見られなかった。そのため、硬度も点灯している間は減少し、消灯している時間では減少が見られなかった。

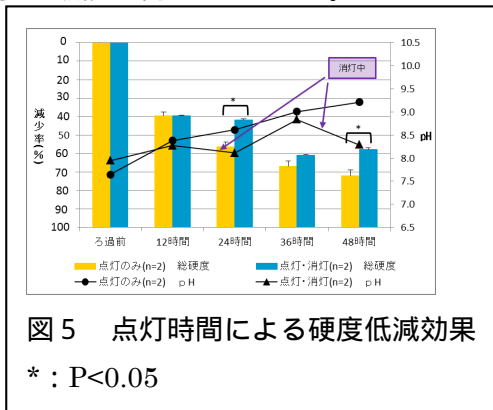


図 5 点灯時間による硬度低減効果

* : $P < 0.05$

(3) 図6に示すように *Aphanochaete magnum* と *Cladophora albida* の24時間後の硬度低減効果には差がなかった。このことから藻類は十分に光合成を行える条件であれば、藻類の種類による硬度低減効果には差がないと思える。

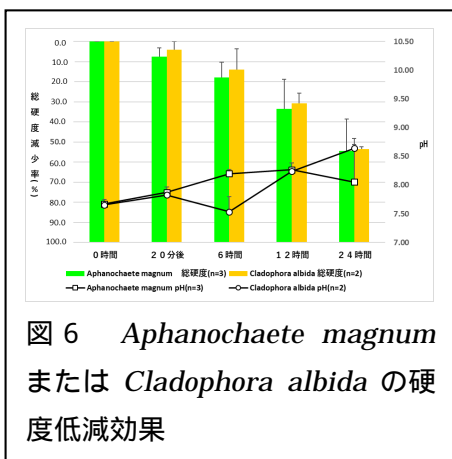


図 6 *Aphanochaete magnum* または *Cladophora albida* の硬度低減効果

硝酸態窒素濃度低減実験

(1)

実験 1

図7に示すように0日目と7日目の硝酸態窒素濃度は有意に減少した。

実験 2

図8に示すように摩文仁浄水場原水、井戸水共に、0日目と5日目の試料水の硝酸態窒素濃度は危険率1%で有意に減少した。両サンプルの減少率が異なつたのは、藻類の量、種類が関係していると考えられる。

実験 3

図9にコンテナ装置での結果を示した。エアレーション有・無両条件で減少傾向が見られた。両条件共に統計学的に有意差のある減少は見られなかったが、一定の減少傾向が示された。

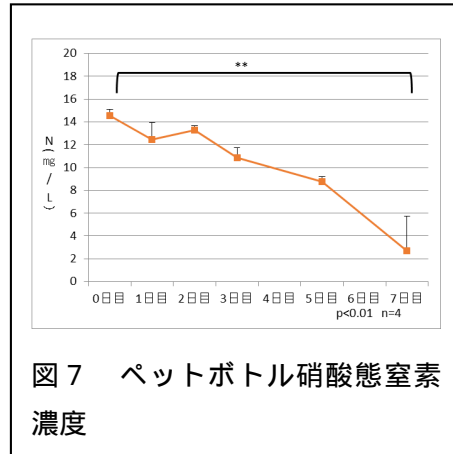


図 7 ペットボトル硝酸態窒素濃度

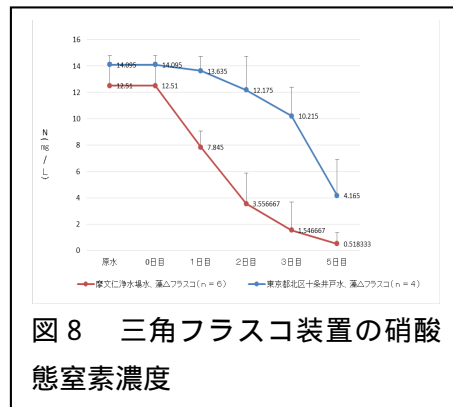


図 8 三角フラスコ装置の硝酸態窒素濃度

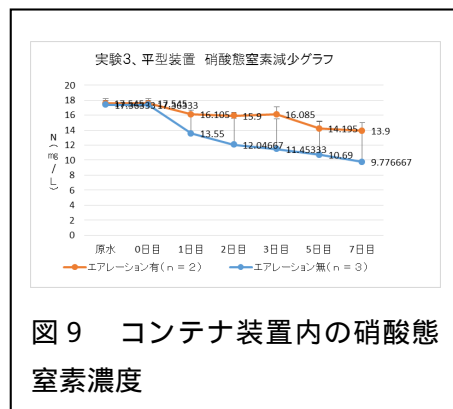
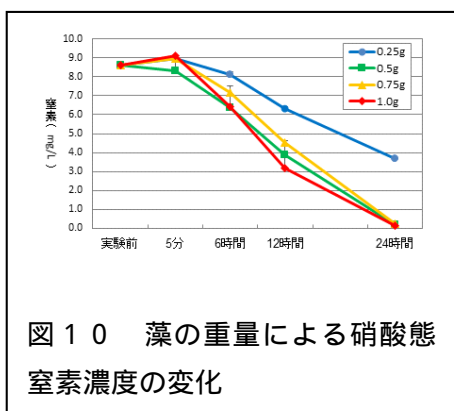


図 9 コンテナ装置内の硝酸態窒素濃度

(2) 図10に示す通り、24時間後における重量0.5g、0.75g、1.0gの藻の水の窒素量は、それぞれ0.2mg、0.3mg、0.2mgで、差はなか

った。藻の重量が0.25g他に比べて高い値になった。藻0.25gでは窒素を十分に除去することができなかった。



藻類の同定

サンプルの同定結果を Table 2 に示した。*Aphanochaete* 属は緑藻類の一系統で、淡水域に広く生息している。5) *Polysiphonia anomala* は紅藻類であるイトグサ属の一種である。浄水場から採取した藻(マブニ、)はシオグサ属である *Cladophora albida* とフサゴケと呼ばれる *Rhytidiadelphus squarrosus* と同定された。

Table 2 採取したサンプルの同定結果

No.	サンプル名	同定性
1	コンテナ	<i>Aphanochaete magnum</i> 125/137 (91%)
2	ペットボトル	<i>Polysiphonia anomala</i> 98/108 (90%)
3	マブニ	<i>Cladophora albida</i> 130/130 (100%)
4	マブニ	<i>Rhytidiadelphus squarrosus</i> 141/141 (100%)

<引用文献>

- 1) Wetzel, R.G. (2001) *Limnology* 3rd Edition, Academic Press (An Elsevier Science Imprint), San Francisco, New York, London, 187p
- 2) 汚濁水流入田の田面水質 * アオウキクサと藻類の窒素に及ぼす影響、日高イ申、柴英雄、日本土壤肥料学雑誌第 54 巻、第 5 号 p. 429~433 (1983)
- 3) 灌漑用溜池における硝酸態窒素の消失、戸田任重・松本英一・宮崎龍雄・芝野和夫・川島博之、日本土壤肥料学雑誌第 65 巻第 3 号 p. 266~273 (1994)
- 4) Wang *et al.*, Optimal Eukaryotic 18S and Universal 16S/18S Ribosomal RNA Primers

and Their Application in a Study of Symbiosis. PLoS ONE 9: e90053 (2014).
 5) M.D. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2017. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.
<http://www.algaebase.org>; searched on 14 June 2017.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 5 件)

- (1) 万木理恵、曾根美咲、立川友貴、渡辺純乃、小関正道、生物浄水法を用いた水の硬度除去方法の検討、第 52 回日本水環境学会年会 2018 (札幌)
- (2) 高橋迪子、今村みなみ、岡倉優美子、大島千尋、万木理恵、高橋肇、久田孝、木村凡、小関正道、緩速ろ過による原水中の病原体除去と次世代シークエンサーを用いた生物膜のフローラ解析、環境微生物系学会合同大会 2017 (仙台)
- (3) 万木理恵、北出真弓、小関正道、生物ろ過による水の硬度除去方法の検討、第 51 回日本水環境学会年会 2017 (熊本)
- (4) 岡田紗央里、万木理恵、小関正道、緩速ろ過浄水用藻類による硝酸濃度低減化、日本陸水学会第 81 回大会 2016 (沖縄)
- (5) 宮平理恵、栗本真衣、小宮理絵、鈴木智子、中田未来、小関正道、緩速・生物ろ過による硬度低減法の実用化研究、日本農芸化学学会大会 2016 (札幌)

〔その他〕

- (1) 食品工業におけるおいしい水、小関正道、月間フードケミカル 2017 年 5 月号、107-111
- (2) おいしい水、小関正道、月刊フードケミカル 2016 年 10 月号、98-103
- (3) 緩速ろ過浄水法の有効利用、小関正道、食品機械装置 52, 48-54 頁 (2015)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小関正道 (KOSEKI, Masamichi)
 東京家政大学・家政学部・教授
 研究者番号：60248987

(2) 研究分担者

高橋肇 (TAKAHASHI, Hajime)
 東京海洋大学・学術研究院・准教授
 研究者番号：40413116