

生物ろ過がつくるおいしい水

—微生物複合系による地下水からの重金属除去—

鈴木 市郎

水質や水温の変化が少ない地下水は、上水・用水における重要な水資源として、適正な採取量を保ちつつ利用されている。日本国内では水道水源の2割程度を地下水が占めており、2009年度の年間取水量約158億 m^3 のうち31.2億 m^3 が地下水（井戸水）である。現在利用されているこれらの地下水の原水には、鉄（Fe）やマンガン（Mn）、あるいはヒ素（As）や鉛（Pb）などの重金属を含むものが少なくない。FeやMnは着色や異味、水道管の閉塞などの理由により、またAsなどは健康上の理由により、それぞれ定められた水道水質基準値以下までに除去されなければならない。アジア各地で見られるAs汚染など、このような重金属による地下水の汚染は地質的要因による恒常的なものであり、安全・安心かつ簡便・安価な浄化法が求められている。

微生物による水処理といえまず廃水処理が思い浮かぶが、上水処理においても微生物はさまざまな場面で活躍している。19世紀初めより用いられている緩速ろ過は、物理的ろ過とろ過池内の生態系およびろ過砂に生じたバイオフィームによる生物的浄化が複合した上水処理法である¹⁾。また、高度浄水処理の一つである生物活性炭など、上水において生物処理は実績のある安心・安全な浄化法として利用されている。さらに、本稿で述べる微生物によるFeやMnの酸化除去を利用した「生物ろ過法（biological filtration）」では、微生物が生じたFe・Mn酸化物が有する酸化能・吸着能によりAsなどの重金属を吸着除去することが可能である。しかし、廃水処理と同様、上水の生物処理においても浄化には複数の微生物が複合的に関与しており、その微生物群集構造の詳細および浄化の機構を解明し、より高機能な生物的上水処理プロセスの開発へと発展させるにはまだ長い道のりが必要である。本稿ではこの微生物複合系を利用した地下水からのFe・Mnや他の重金属除去法について、その利用と研究の現状、および今後の課題を述べる。

微生物によるFe・Mn除去を用いた上水処理

河川水や地下水などに含まれるFeやMnを酸化・不溶化する「鉄バクテリア」と呼ばれる細菌は、らせん状の柄を持つ*Gallionella ferruginea*²⁾や、細胞外に中空糸状の鞘を形成する*Leptothrix ochracea*³⁾など、その特殊な形状により古くから存在が知られていた。これらの細

菌は水道事業ではむしろ水道管の閉塞などを起こす障害バクテリアとして認識されていたが、いくつかの緩速ろ過池や前塩素添加を行わない急速ろ過池においてこのようなFe・Mn酸化細菌が生育するとFeやMnが除去されることが発見され、微生物によってFe・Mn除去を行う「生物ろ過法」あるいは「鉄バクテリア法」と呼ばれる上水処理法が開発された^{4,5)}。フランスでは微生物によるFe酸化とMn酸化の条件が異なることを考慮し、Fe除去の後に曝気、pH調整を経てMn除去を行う二槽式の生物ろ過システムが開発された⁴⁾。一方、日本では香川県多度津町水道の緩速ろ過池にて「鉄バクテリア」の生育によりFeが除去されることが発見され⁶⁾、その後緩速ろ過池に「鉄バクテリア」を繁殖させてFeやMnを除去する手法が実用化された⁵⁾。1993年には京都府城陽市の第3浄水場においてろ過速度70 m/日の中速で処理を行う生物ろ過施設が完成し⁷⁾、2001年には360 m/日のろ過速度で処理を行う奈良県大和郡山市北郡山浄水場の生物ろ過施設が供用を開始した。これら国内の生物ろ過施設は上述の二槽式砂ろ過ではなく、アンスラサイト（無煙炭）やポリエステル製球状繊維担体といった微生物保持能の高いろ材を使用し、一つのろ過槽でFeとMnを同時に除去するという独自の手法を用いている。

生物ろ過によるFe・Mn除去の利点

城陽市の生物ろ過槽は、深井戸から汲み上げた地下水を落下による曝気のものアンスラサイトと砂から成るろ過槽を通し、その後塩素処理することで上水を得ている⁷⁾。原水の平均的な Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 濃度はそれぞれ0.41、0.12 mg/lであり、ろ過により0.03、0.005 mg/l未満にまで除去される。酸化・凝集剤を添加する急速ろ過とは異なり、生物ろ過によってろ過した後の浄水は地下水本来の味を損なわない「おいしい水」である。また、この第3浄水場では生物ろ過施設と従来型の急速ろ過施設を併設しているため、両者のコスト面での比較ができる。建設費：生物ろ過では薬剤を添加して攪拌する設備が不要なため、同処理水量当たりの建設費は3割以上安価であった。薬品費：凝集剤は不要で浄化後の塩素処理のみで済むため、4割以上削減できる。余剰汚泥：汚泥発生量も5割以下である。使用電力：攪拌や凝集剤の添加が不要なため、使用電力は従来型の急速ろ過のわずか5%程度

である(城陽市上下水道部 田村, 私信)。このように生物ろ過によるFe・Mn除去は、「おいしい水」が得られるうえに非常に経済的な手法である。ただし、城陽市第3浄水場では従来型の急速ろ過施設が併設されており、また大和郡山市北郡山浄水場では生物ろ過槽は従来型の急速ろ過の前処理を行う設備となっている。生物ろ過では急速ろ過と同様、ろ過閉塞を防ぐための定期的な逆洗浄が必要であり、そのときに生じる廃水を浄化する必要性や、生物ろ過での浄化能を上回る濃度のFe・Mnが原水に混入する可能性、あるいは生物ろ過の予期できない性能の低下の可能性が否定できないこと、などから従来型の急速ろ過施設を完全に生物ろ過に置き換えることは難しい。しかし、発展途上国など電力の利用に制限がある地域ではこの省電力のFe・Mn除去法が注目されており、城陽市の生物ろ過施設にも毎年各国から視察が訪れている。また、2008年度に塩素酸が水質基準項目に追加されたことから、従来の前塩素・凝集剤添加を伴う急速ろ過によるFe・Mn除去だけでなく、これまで塩素添加によって除去されてきたアンモニアなどにも、代替技術としてこの生物ろ過法の利用が広がっていくと考えられる。

生物ろ過槽の biological filter media

生物ろ過によるFe, Mn除去において、実はFeの大半は曝気の段階で酸化・不溶化し除去される。一方、Mnは中性のpHでは曝気だけでは酸化が起きにくく、新規の生物ろ過槽を立ち上げる場合も、Feの除去は速やかに起こるが、Mnが十分に除去されるようになるまでには数週間～一か月程度かかる⁵⁾。また、原水にアンモニアも含まれる場合はアンモニアが完全に除去されるまでMnの除去が起きないため、立ち上げにはさらに時間を要する^{5,8)}。ただし、十分な除去能が得られるようになった後は、生物ろ過槽のメンテナンスはろ過閉塞を防ぐための定期的な逆洗浄のみで、ろ材の入れ替えも不要である。また、逆洗浄後に浄化能が回復するまでに要する時間は1時間程度である⁷⁾。ろ過槽のろ材の表面は微生物が定着して生じたバイオフィームと蓄積したFe・Mn酸化物に覆われており、この状態になったろ材を筆者らは biological filter media (BFM) と称している⁹⁾。生物ろ過におけるMn除去は、このBFM表面へのMn²⁺の速やかな吸着と、バイオフィーム中の微生物のMn酸化能および表面に蓄積したMn酸化物自体の酸化能(auto-catalytic oxidation) による複合的な除去であると考えられている^{8,9)}。生物ろ過槽内で酸化・不溶化したFeおよびMnのほとんどは逆洗浄時に排出されるが、一部はろ材表面に蓄積し、金属吸着能および酸化能をもつ catalytic layer を形成する。城陽市生物ろ過槽のBFM表面を調べたところ、興味深いことに表面のFe酸化物とMn

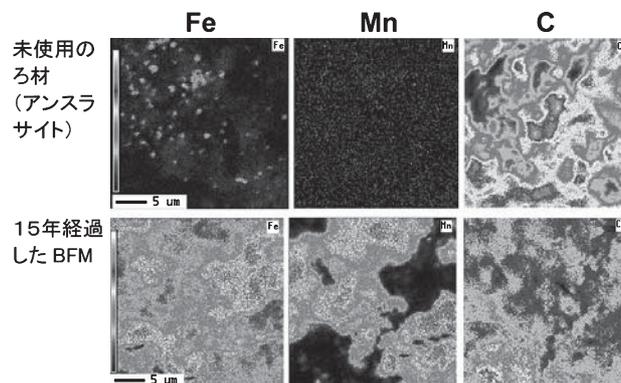


図1. 城陽市生物ろ過槽から採取したろ材 (BFM) 表面のFe, Mn, Cの波長分散型X線分光器 (WDS) によるマップ⁹⁾

酸化物は局所的に蓄積していた⁹⁾ (図1)。この局在性が酸化物の自己酸化能によって生じたのか、Fe酸化細菌やMn酸化細菌がBFM表面に局所的に定着しているためなのかは不明である。城陽市生物ろ過槽は6つのろ過池があり、そのうち3つは1993年から、他の3つは2005年から稼働している。採取時(3年および15年経過)の新旧のBFM表面の被覆物を比較した結果、Fe・Mn酸化物は蓄積量に4倍程度の差が見られたが、タンパク質量や16S ribosomal RNA 遺伝子 (16S rDNA) コピー数などについては差は見られず、BFM表面のバイオフィームは経時的に更新されていると考えられる^{9,10)}。

生物ろ過によるFe・Mn除去を担う微生物

この生物ろ過によるFe・Mn除去を担う微生物は前述した *Gallionella*, *Leptothrix* などの「鉄バクテリア」と考えられている。「鉄バクテリア」とは分類学の一つのグループではなく、FeやMnを含む河川水や湧水などのFe・Mn酸化物や水道管の鉄錆などに見られる細菌群の俗称である。これらはその存在が古くから知られているにもかかわらず、いまだ単離されていないものが多く、生物ろ過槽の堆積物中にはこれらの細菌が顕微鏡で観察されるが^{7,11,12)}、そのFe・Mn除去における役割は推測の域を出ていない。「鉄バクテリア」のFe・Mn酸化酵素やその遺伝子に関する情報も乏しく、Mn酸化については multicopper oxidase と呼ばれる酵素が関与すると考えられているが¹³⁾、「鉄バクテリア」では *Leptothrix* 以外にこの酵素に対する報告はない。しかし近年、集積培養などの手段によって *Gallionella*, *Crenothrix*, *Clonothrix* などさまざまな「鉄バクテリア」の16S rDNA塩基配列が明らかになったため、16S rDNAを指標としての微生物群集構造の解析手法、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) やクローンライブラリー構築、蛍光 *in situ* hybridization (FISH)、リアルタイムPCRな

どを用い、生物ろ過槽内の微生物群集の状態を研究することが可能となった。de Vetら¹⁴⁾はオランダの生物ろ過槽のアンモニア除去に参与する微生物群集構造をPCR-DGGEで解析したが、これらの生物ろ過槽は原水にFe・Mnも含んでおり、16S rDNAをPCRで増幅しDGGEで分離したバンド中には*Gallionella*や*Leptothrix*に系統的に近いものが検出されている。一方、Burgerら¹⁵⁾はカナダのMn除去を行う生物ろ過施設を対象に、*Leptothrix*属の16S rDNAを特異的に検出するプライマーを用いてリアルタイムPCRを行った結果、4か所の生物ろ過施設のうち1か所しか増幅は認められなかった。つまり、これまで生物ろ過によるMn除去の主要と考えられてきた*Leptothrix*以外にも、Mn酸化の担い手が存在すると考えられる。筆者らは城陽市生物ろ過槽および他の2か所の地域の生物ろ過試験プラントからそれぞれ作製した16S rDNAクローンライブラリーより、*Leptothrix mobilis*や*Leptothrix discophora* SS-1に高い類似性を示す配列のクローンを検出した¹⁶⁾。それらの配列を特異的に検出するプライマーを作製しリアルタイムPCRによる解析を行ったところ、城陽市および大和郡山市の生物ろ過槽では*Leptothrix*近縁細菌は全細菌16S rDNA量の0.1–1%程度であった¹⁷⁾。一方、これらのクローンライブラリーからは他のMn酸化細菌候補として*Hyphomicrobium*属に高い類似性を示すクローンが得られており、そのリアルタイムPCRを用いての全細菌16S rDNA量に対する存在比は城陽市、大和郡山市ともに15–20%前後であった¹⁷⁾。以上の結果より、筆者らは生物ろ過槽におけるMn除去の担い手として*Hyphomicrobium*や*Pedomicrobium*などの有柄細菌も候補とすべきと考えている。なお、城陽市のクローンライブラリーからは*Gallionella*や近縁のFe酸化細菌*Sideroxydans*に95%程度の類似性を示すクローンも多数得られている。

しかし、これらの結果はあくまで既知のFe・Mn酸化細菌に近縁な細菌が生物ろ過槽に存在するという情報に過ぎず、やはりその細菌を培養しFe・Mn酸化能を調べてみなければ、浄化の詳細はわからない。Vandenabeeleら¹⁸⁾は酵母エキス、ペプトンおよびMnを含む培地を用いてベルギーの生物ろ過槽のろ過砂からMn酸化能を示す微生物フロックを培養し、そのMn酸化について報告した。しかし、そのフロックの微生物群集構造は調べられていない。そこで筆者らは同様の培地を用いて城陽市生物ろ過槽のBFMよりMn酸化能をもつ微生物フロックを培養したところ、PCR-DGGEの結果もとのBFMと培養したフロックの16S rDNAのパターンは大きく異なっており、またリアルタイムPCRでの解析でも前述の*Leptothrix*や*Hyphomicrobium*近縁細菌の増殖は見られなかった¹⁹⁾。よって、生物ろ過槽におけるFe・Mn除

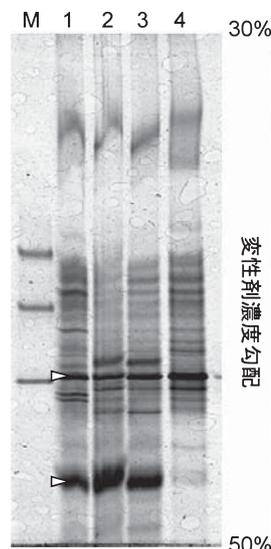


図2. 鉾山廃水の生物ろ過試験プラントのサンプルに対する、*Leptothrix*属近縁細菌のnested PCR-DGGE. レーン1：原水、レーン2, 3：逆洗排水中の堆積物、レーン4：BFM.

去に参与する微生物を特定するには、微生物群集の組成への影響ができるだけ少ない培地の組成や培養条件を検討する必要がある。

また、生物ろ過槽のろ材の開発においても、微生物群集構造の情報は不可欠である。図2はある鉾山廃水のAsを浄化する生物ろ過試験プラントのBFMサンプルについて、*Leptothrix*近縁細菌の16S rDNAを増幅するプライマーでいったんPCRを行った後にnested PCR-DGGEを行ったものであるが、原水や逆洗排水では主要なバンドが2本見られるのに対し、ろ材に定着しているのは1種類のみであった。この2本のバンドに相当する細菌がMn酸化細菌かどうかはまだ分からないが、ろ材の開発や選定を行う際に、このような方法で細菌の定着性を評価することが可能である。

このように、これまでブラックボックスであった生物ろ過によるFe・Mn除去の機構について、16S rDNAの情報などにより「どのような細菌が、どれくらいいるのか」は徐々に解明されつつある。

生物ろ過による重金属の除去

ヒ素 (As) による飲用の地下水の汚染は世界中で深刻な問題となっており、さまざまな浄化法が研究・開発されている。Asは水中では5価 [As(V)] のヒ酸イオンまたは3価 [As(III)] の亜ヒ酸イオンの状態で存在し、As(III)の方が毒性が強くまた吸着材などへの吸着性が低い。そこで一般的な除去法ではAs(III)をまずAs(V)に酸化したのち、吸着材や凝集沈殿などで除去する。一方、Fe・Mn酸化物はAs(III)とAs(V)のどちらも直接

吸着し、除去できることが知られている²⁰⁾。Asを含む地下水は同時にFeやMnを含むことが多いので、生物ろ過で生じたFe・Mn酸化物にAsを吸着させ、生物ろ過でAs, Fe, Mnを同時に除去するという浄化法が研究されている²¹⁻²³⁾。この方法の利点としては、省電力・低コストかつ維持・管理が簡便という生物ろ過法の特徴や、すでに上水処理法として実績のある手法がベースであること、また酸化・吸着材となるFe・Mn酸化物が*in situ*で供給されること、などが挙げられる。すでにいくつかの研究室規模での実験や試験プラントを用いた実験では、水質基準値（WHOによる基準値は10 ppb）以下までのAs除去が可能であることが示されている²¹⁻²³⁾。ただし、この生物ろ過によるAs, Fe, Mnの同時除去がそれぞれの地下水に適用できるかどうかは、その地下水に生息する微生物の組成に依存している。現在は生物ろ過が適用できるかどうかの判断には実際に試験プラントを立ち上げてみるしかないが、地下水中の微生物叢を調べることでその地下水の生物ろ過による浄化の可否を判断できるようになれば、生物ろ過法は格段に利用しやすくなると考えられる。現在筆者らは、このようなAs, Fe, Mnを同時除去する生物ろ過試験プラントについて、微生物群集の構造解析や各細菌のリアルタイムPCRによる定量などを行っている²⁴⁾。

As以外にも、生物ろ過槽のBFMはPbやカドミウム(Cd)などの陽イオンも吸着・除去することができる²⁰⁾。Mn²⁺のBFMへの吸着では、さらに銅イオンを添加すると一部のMn²⁺が再溶出し、また再溶出量は時間の経過に伴い減少する⁹⁾。したがって、BFMによる金属イオンの除去は、速やかなイオン結合とその後の酸化によるものと考えられる。一方、ヒ酸イオンなどの陰イオンの除去ではBFMからのリン酸の溶出が見られる²⁵⁾。このように、BFMはその表層のバイオフィルムやFe・Mn酸化物の複雑な構造により、さまざまな金属イオンの吸着除去を行うことができる。また、Fe・Mn酸化物は放射性的セシウムやストロンチウムなども吸着することが知られている^{26,27)}。東日本大震災による原子力発電所事故で飛散した放射性物質による上水処理施設での放射性物質の検出は記憶に新しいが、生物ろ過槽のFe・Mn酸化物に覆われたBFMは、このような放射性物質を吸着除去する能力を有する可能性がある。

おわりに

以上に述べてきたように、生物ろ過という微生物群集を用いたFe・Mn除去とそれを利用した重金属の除去法は、非常に有用であると共に、複雑かつ未知の現象に満ちている。生物ろ過の、現在までの技術的な進展に比べて微

生物学・分子生物学・生物工学的裏付けに乏しい部分が非常に多い、という問題点は、微生物複合系を利用する他のオールドバイオにも通じる課題である。このような微生物複合系を用いたバイオプロセスに参与する個々の微生物の動態を把握し、それらの相互作用を明らかにしていくことで、この現在の生物工学に残されたフロンティアの一つに今後も挑戦していきたいと考えている。

本研究においてサンプルや生物ろ過槽の情報などをご提供いただきました城陽市上下水道部 綱井孝司氏、田村太喜男氏、山田圭氏、(株)水処理技術開発センター 殿介和夫氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 中本信忠：水浄化技術の最新動向，p.83，シーエムシー出版(2011)。
- 2) Ehrenberg, C. G.: *Poggendorf's Annalen Physik. Chemie*, **38**, 213 (1836)。
- 3) Winogradsky, S.: *Bot. Zeitung*, **46**, 261 (1888)。
- 4) 小島貞男：用水と廃水，**14**, 709 (1972)。
- 5) Mouchet, P.: *J. AWWA*, **84**(4), 158 (1992)。
- 6) 谷本 清：水道協会雑誌，**213**, 19 (1952)。
- 7) 田村太喜男ら：水道協会雑誌，**68**(6), 2 (1999)。
- 8) Štemba, I., T. et al.: *J. Water Supply Res. Technol.-Aqua*, **53**, 509 (2004)。
- 9) Sahabi, D. M. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **107**, 151 (2009)。
- 10) 鈴木市郎ら：生物工学，**86**, 605 (2008)。
- 11) Czekalla, C. et al.: *Water Supply*, **3**, 111 (1985)。
- 12) Pacini, V. A. et al.: *Water Res.*, **39**, 4463 (2005)。
- 13) Tebo, B. M. et al.: *Trends Microbiol.*, **13**, 412 (2005)。
- 14) de Vet, W. W. J. M. et al.: *Water Res.*, **43**, 4029 (2010)。
- 15) Burger, M. S. et al.: *J. Water Supply Res. Technol.-Aqua*, **57**, 351 (2008)。
- 16) 藤田卓也ら：第25回日本微生物生態学会講演要旨集，p.83 (2009)。
- 17) 田房弘光ら：第27回日本微生物生態学会講演要旨集，p.81 (2011)。
- 18) Vandenaabeele, J. et al.: *Microb. Ecol.*, **24**, 91 (1992)。
- 19) 桜庭和沙ら：第26回日本微生物生態学会講演要旨集，p.114 (2010)。
- 20) Sahabi, D. M. et al.: *J. Environ. Eng.*, **136**, 493 (2010)。
- 21) Katsoyiannis, I. A., Zouboulis, A. I.: *Water Qual. Res. J. Canada*, **41**, 117 (2006)。
- 22) Pokhrel, D., Viraraghavan, T.: *J. Environ. Manage.*, **90**, 1956 (2009)。
- 23) 藤川陽子ら：用水と廃水，**50**, 105 (2008)。
- 24) Thapa Chettri, R. et al.: *2009 Asia-Pacific Biochem. Eng. Conf. (APBioChEC'09)*, EN-P30 (2009)。
- 25) Sahabi, D. M. et al.: *J. Hazard. Mater.*, **168**, 1310 (2009)。
- 26) Dyer et al.: *J. Mater. Chem.*, **10**, 1867 (2000)。
- 27) Langley et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 1008 (2009)。