生物膜法による

汚濁湖沼水浄化における微小動物の役割

稲 森 悠 平 *・大内山 高 広 **・須 藤 隆 一 *

1. は じ め に

汚濁湖沼水を水源としている浄水場において、浄水工程の前段に生物膜法の一つである接触酸化法を用いて生物処理する方法が注目されている。本法は反応槽内に充填されたハニコム状、ひも状、板状の接触材上に形成された生物膜により浄化することを特徴としている。生物膜には細菌、菌類、原生動物、後生動物が生息しておりこれらの混合微生物群が有機物の分解・浄化に貢献している。しかし、とくに懸濁状の藻類の除去、分解には捕食者としての微小動物の役割が大きいものと考えられる。汚濁湖沼水中には藍藻類に属する、糸状性のアオコの原因生物である *Microcystis aeruginosa*, *M. wesenbergii*, 糸状性のカビ臭生成原因生物である *Phormidium tenue* などが年間を通して各時期に出現するが、これらの藻類の微小動物による捕食分解能についてはほとんど知られていない。

本研究では上記の点に鑑み汚濁湖沼水に生息する藻類の中でも、出現頻度が高くかつ障害藻類として知られている *Microcystis* 属の藍藻類を対象とし、微小動物の輪虫類 *Philodina erythrophthalma*, 貧毛類 *Aeolosoma hemprichi* による捕食、分解能を明らかにすると同時にこれらの微小動物を接触酸化槽内へ定着化させる条件を明らかにすることを目的として実験的検討を行った。

2. 方 法

1) 供 試 藻 類

藻類としては、霞ヶ浦で発生した水の華より分離した細胞直径 3~7 μm で偽空胞を持ち、フロック形成能を消失した *M. aeruginosa* を用いた。本種は国立

公害研究所微生物系統保存施設より譲渡された株である。

2) 供 試 動 物

微小動物としては、原始貧毛類の *A. hemprichi* と輪虫類の *P. erythrophthalma* を用いた。*A. hemprichi* は、貧毛類のアブラミズ科に属し大きさは 1 mm 程度で、皮下に紅色を呈する油滴を含み各体節には背側に二対の剛毛束があり、横分裂で無性生殖的に増殖する。食物源は主に細菌類からなる凝集体であり、特定の細菌を捕食して増殖し食性の範囲は狭い。水の華や汚濁湖沼水の生物膜処理に優的に出現する。また、凝集体を摂食することから凝集体摂食者と称せられる。本実験で用いた *A. hemprichi* は M-11 培地で培養した *M. aeruginosa* を食物源として継代培養したものである。*P. erythrophthalma* は体長 200~400 μm で、肢の背側に 2 本末端に 2 本の足があり、遊泳あるいは足で他のものに付着しながらひる型運動を行い頭部は左右一対の円形葉状に分かれていて、2 つの纖毛管を有し強力な纖毛運動により懸濁状の食物源を取り込むことを特徴としている。なお、食物源として種々の細菌を摂食して増殖でき、食性の範囲は広い。*P. erythrophthalma* は無性生殖で増殖できるが卵生であり、*M. aeruginosa* を食物源とした場合の比増殖速度は 0.5~0.69 day⁻¹ 程度である。*P. erythrophthalma* は分散状の細菌や微小鞭毛虫類等を纖毛運動によりろ過して取り込むことからろ過摂食者と称せられる。

3) 供 試 培 地

基本培地として M-11 培地を用いた。培地組成は表 1 に示す通りであるが Gorham の藍藻用培地を改変したものであり、窒素、リン濃度を 1/2 とし、クエン酸、ケイ酸と Gaffron の微量元素溶液を除いたものである。培地の滅菌は、沈殿を防ぐため KH_2PO_4 、クエン酸鉄、EDTA はそれぞれ別に 120℃、15 分間オートクレー

* 国立公害研究所 Yuhei INAMORI, Ryuichi SUDO

** 日本環境クリエイト Takashi OHUCHIYAMA

表1 M-11 培地の組成

NaNO ₃	100mg	Fe-citrate	6
K ₂ HPO ₄	10	Na ₂ EDTA・2H ₂ O	1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	75	Deionized water	1ℓ
CaCl ₂ ・2H ₂ O	40	pH	8.0
Na ₂ CO ₃	20		

ブで滅菌し、滅菌終了後室温で放冷したあと無菌的に混合した。

4) 培養方法

供試藻類である *M. aeruginosa* の前培養は、3 ℓ の三角フラスコに M-11 培地を 1 ℓ 入れ、無菌的に *M. aeruginosa* を接種し温度 25℃、照度 2,000lux、かくはん強度 90rpm で振とうした。また、供試動物の *A. hemprichi* と *P. erythrophthalma* の前培養には、対数増殖期の *M. aeruginosa* の混合液培養を無菌的に滅菌 HCl で pH を 8.0 に調整し 500cc の三角フラスコに 200cc 入れそこにそれぞれ微小動物の *A. hemprichi* と *P. erythrophthalma* を接種した後、アルミホイルでくるみ暗所条件、温度 25℃、かくはん強度 90rpm で振とう培養を行った。実験に際しては増殖期の *M. aeruginosa* の pH を 8.0 に調整し 1 ℓ の三角フラスコに 500cc 入れ、あらかじめ培養しておいた微小動物を接種した系としない系をつくり混合培養を行った。その系は、MB 系 (*M. aeruginosa* と *Bacteria* のみの系)、MBA 系 (*M. aeruginosa* と *Bacteria* と *A. hemprichi* の系)、MBP 系 (*M. aeruginosa* と *Bacteria* と *P. erythrophthalma* の系)、MBPA 系 (*M. aeruginosa* と *Bacteria* と *A. hemprichi* と *P. erythrophthalma* の系) 合計 4 系をつくりフラスコをアルミホイルでくるみ暗条件、25℃、かくはん強度 90rpm で振とう培養を行った。なお、ここでは MB 系を対照系、MBA、MBP 系を単独系、MBPA 系を共存系と称することにする。

5) 測定方法

①微小動物の個体数：培養液を均一になるように混合した試料 0.05m を滅菌ピペットで採取し、実体顕微鏡下で検鏡し平均値を培養液 1 ml 当りの個体数に換算して求めた。②細菌の生菌数：培養液を均一に混合した試料 1 ml を採取し滅菌水 9 ml のはいた乾熱滅菌済みの試験管に入れ、超音波破砕機で 30 秒処理した後、この原液を無菌条件下で 10 倍ごとの希釈段階をつくって生菌数測定用の試料とした。これらの希釈段階ごと

の試料をそれぞれ 1 ml づつ採取して無菌シャーレに滴下し、ここに 10 倍希釈標準寒天培地 10 ml を分注し、寒天が固まった後、20℃ で 10 日間平板培養し、生じたコロニーを計数して生菌数を求めた。③バイオマス量：バイオマス量は培養液中のアオコの細胞濃度を求めることから評価した。その場合、恒量の測定された GF/C 4.7cm でろ過し、ろ紙を 105℃ で 2 時間乾燥させたのち 1 時間デシケーターで放置し、ろ過前後のろ紙の質量を求め、それぞれ 1 ℓ 当りに換算してバイオマス量とした。④TOC (全有機性炭素)：培養液を均一にかくはんした懸濁液および培養液を 1 時間静置した後の上澄み液を採取しそれぞれを試料として有機性炭素分析計を用いて分析した。⑤DOC (可溶性有機性炭素)：GF/C 4.7cm でろ過したろ液を、有機性炭素分析計で分析した。⑥T-N (全窒素)：全窒素分析装置 (TN-02) で分析した。⑦D-N (可溶性窒素)：GF/C 4.7cm でろ過したろ液を、全窒素分析装置で分析した。⑧T-P (全リン)：リンモリブデン酸ブルー法で行った。⑨クロロフィル a：試料 10cc をワットマン GF/C 4.7cm でろ過し、水蒸気でろ紙を蒸し試験管に入れた 90% アセトンを 10cc 加え一晩かけクロロフィル a を抽出させ 630, 645, 663 および 750 の吸光度を測定し、次式より計算した。
$$\text{Chl-a} (\mu\text{g}/\ell) = \{11.64(E_{663} - E_{750}) - 2.16(E_{645} - E_{750}) + 0.1(E_{630} - E_{750})\} \times 10\text{cc}$$
⑩比増殖速度 (μ)：微小動物の個体数を測定し、次式より対数増殖期における μ を算出した。
$$\mu = 2.303 \log(N - N_0) / t - t_0$$
ここで μ ：比増殖速度、N：t 日目の個体数、N₀：0 日目の個体数。

3. 結果および考察

1) 微小動物の単独および共存下における *M. aeruginosa* の培養液の水質特性

微小動物の捕食作用によるアオコ分解過程の水質変化を表す指標として培養液の混合有機物量、全窒素、培養上澄み液の懸濁物質濃度が挙げられる。培養混合液中の TOC の変化は、微小動物によるアオコ分解量を知る重要な指標となるが結果は図-1 に示す通りである。MB 系では *Bacteria* のみが存在しており微小動物が存在しないため、顕著な TOC の減少は認められない。しかし、微小動物の存在する MBA、MBP、MBAP 系では分解能が高まった。すなわち、*A. hemprichi* の存在する系では、*P. erythrophthalma* が存在する系よりも分解能は高かつ両者が共存する

図-1 単独系および共存系におけるTOCの経日変化

ことにより更に分解能は高まることがわかった。このことはバイオマスの減少量を示した図-2から裏付けられる。また、培養液中の可溶性有機物量(DOC)の変化は図-3に示す通りである。当初*M. aeruginosa*が捕食分解されるにともなうて*M. aeruginosa*細胞中から50%程度の有機物が培養液中に可溶化してくるのではないかと考えられたが図より微小動物が存在してもDOCは増加しないことがわかった。これは、*M. aeruginosa*由来の有機物が微小動物やBacteriaの増殖の基質となったからだと考えられる。混合培養の濁度の変化は図-4に示す通りである。微小動物の存在する系はBacteriaのみの系に比べて低く、中でも*P. erythrophthalma*の存在する系が最も低かった。これは*P. erythrophthalma*の摂食機構が強力な繊毛環で懸濁している細菌や*M. aeruginosa*をろ過摂食すると同時に、粘性物質とともに排出された未消化物質のふん塊がフロック形成を促進することから培養液の透明性が向上したものと考えられる。また、

図-2 単独系および共存系におけるバイオマス量の経日変化

図-3 単独系および共存系におけるDOCの経日変化

図-4 単独系および共存系における濁度の経日変化

*P. erythrophthalma*が単独で存在するときよりも*A. hemprichi*が共存する方が更に透明な培養液が得られた。このことより、微小動物の種類および摂食機構の違いにより水質の浄化に果たす役割が異なっていることがわかる。また、培養期間中においてpHは、大きく変動することはなく常にpH7.5~8.0の間であった。

2) 微小動物の単独および共存下における分解特性

*M. aeruginosa*の分解特性は、バイオマス量およびクロロフィルa(以下Chl-aとする)の変化から推測することができる。結果は図-5に示す通りである。減少量の最も高かったのはMBAPでありMBA>MBP>MBの順に低下した。この結果は*A. hemprichi*のバイオマスの減量に果たす役割の大きいことを示唆している。これは*A. hemprichi*の摂食機構が凝集体摂食者ということで、フロックなど沈殿物を食物源にすることに起因するものと考えられる。一方Chl-aの分解能は、微小動物の存在しない系に比べ存在する系では著しく高まりMBAP系で最も高く次いでMBA>MBP>MBの順に低下した。この傾向はバイオマスの減少量と同様のパターンを示した。また、微小動物の存在しないMB系でもバイオマスがかなり減量するのが認められるが、これは*M. aeruginosa*に付着しているBacteriaが分解に貢献したためだと考えられる。以上の結果よりフロック形成能を有していない*M. aeruginosa*の分解に果たす役割は*P. erythrophthalma*より*A. hemprichi*の方が大きくかつ

図-5 単独系および共存系におけるChl-aの経日変化

*hemprichi*が単独で存在するよりも共存することによりさらに高まることが明らかにされた。

4. ま と め

本研究は汚濁湖沼水の接触酸化処理反応槽内に出現する微小動物の藻類の分解・浄化に果たす役割について実験的に検討を加えたものであるが、得られた成果は次に示す通りである。①微小動物は*M. aeruginosa*を効果的に捕食分解すると同時に水質浄化の上からも大きな役割を有している。②微小動物の中でも*A. hemprichi*はバイオマスの減量化に*P. erythrophthalma*は濁度の減少化に貢献している。③微小動物の中で摂食機構を異にする過摂食性の*P. erythrophthalma*と凝集体摂食性の*A. hemprichi*の両者が共存することによりアオコの原因生物の*M. aeruginosa*の捕食分解能は更に高まる。

すなわち、①～③は汚濁湖沼水を水源としている浄水場の接触酸化処理反応槽内において微小動物が藻類の分解・除去・水質浄化に大きく貢献していることを意味している。

参 考 文 献

- 1) 須藤隆一：廃水処理の生物学，産業用水調査会，東京，(1977)
- 2) 稲森悠平，国安祐子，須藤隆一：生物処理における指標生物としての微小後生動物，日本水処理生物学会講演要旨集 21回，33-35，(1984)
- 3) CALAWAY, W. T. : The Metazoa of Waste Treatment Processes-Rotifers, Jour. Wat. Poll. Con. Fed., 40, 412-422, (1968)
- 4) DOOHAN, M. : Rotifera in Ecological Aspects of Used-Water Treatment Vol. 1 (ed) CURDS, C. R. and HAWKES, H. A. Academic Press 289-303, (1975)
- 5) INAMORI, Y., SUZUKI, R., and SUDO, R : Mass Culture of Small Aquatic Oligochaeta, Research Report from the National Institute for Environmental Studies No.47, (1983)
- 6) 稲森悠平，国安祐子，須藤隆一：生物処理における微小後生動物の役割に関する研究，日本水処理生物学会誌，Vol.23, No. 2, 15-23 (1987)
- 7) 稲森悠平，林 紀男，須藤隆一：水路浄化法におけるアオコの分解に果たす微小動物の役割，国立公害研究所研究報告第118号 (1988)

海外環境情報

ウィスコンシン大学，スクラップからの新規金回収方法を開発

A slick new way to recover gold from scrap

H22070856

ウィスコンシン大学（米）のS. H. ランジャーは、コンピューターの回路板などから金を回収する新しい方法を開発した。この方法では純度55～90%の金を電子機器，金属くず，あるいは宝石製品から抽出するために，塩化第二銅，食塩，希塩酸を使用する。

この方法の特徴は，金を溶解せずに，スクラップ中の金以外の金属を溶かす浸出液を使用する。溶解せずに残った金属状の金を機械的に回収する。

この発明のキーポイントは，浸出液に2つ以上の酸化数をもつ金属を，酸化剤に使用することである。塩

化第二銅は一例である。第二銅イオンは，銅，スズ，鉄，銀などの金属を酸化する。この結果，第二銅イオンは第一銅イオンに還元されるが，第一銅イオンは水溶性なので，沈澱は生じない。

浸出液は，さらに，錯化剤，一般には塩化ナトリウムを含んでいる。これは金属と水溶性の錯体を生成する。望ましい反応条件は，pH約3，温度100～110℃，常圧である。攪拌は反応を促進する。

ランジャーは，重量%で銅49.2，金40.8，銀6，亜鉛4を含む10ktの金合金を試料とした。試料2.2gを，3.42mol NaCl, 0.6mol CuCl₂, 0.1mol HClで浸出した。22時間後に，金84.2%，銅5.1%を含む固体が回収された。

SPALDING B J

B258A Chem Week 142 [23] 31-32 (Jun. 8, '88)

(日本科学技術情報センター許可第文6330号)