

第5章 輪虫類*P. erythrophthalma*の生物処理反応槽における生息場としての

付着担体の比較と大量定着条件

5-1 はじめに

前章までに*P. erythrophthalma*の大量培養、乾燥・凍結による保存法について検討を行なったが、処理槽へ接種された微小動物が反応槽内に迅速に定着し、微小動物が持つ機能を発揮させ処理機能の高度化に貢献させるためには、生息の場となる槽内の環境が、*P. erythrophthalma*の生理生態学的条件と一致しない限り定着は図れないものと考えられる。特に原生動物や微小後生動物は、細菌類と比較すると、増殖速度が低いいため、特定微生物の定着を左右する汚泥滞留時間（SRT）が最適に保持されない限り、特定微生物の生物処理反応槽外への洗い出しが生じ、リアクター内へ定着することはできない。このことは、流入水質等の変化による生物相の変遷によっても起こる。とくに、小規模の反応槽では微生物細胞増殖時間としてのSRTを増殖速度の遅い輪虫類にあわせて制御することは実質的に困難である。このような観点から個別家庭用の浄化処理施設に浮遊微生物を用いる活性汚泥法では、従来の技術のみでは有用微小動物を適正に定着化させることは極めて困難となる。この問題点の解決策として、小規模施設では、生物膜法と活性汚泥法のハイブリッド化が有効と考えられる。すなわち、活性汚泥に生物付着担体を添加すると同時に、大量培養した特定の微生物を反応槽内に接種し、かつその微生物を反応槽内に定着させることにより、処理の高度化が図れるものと考えられる^{17,19,51)}。本章では特に輪虫類*P. erythrophthalma*担体の特性解明と定着を図るための条件について検討を行なった。

5-2 実験方法

5-2-1 供試微生物

*P. erythrophthalma*は細菌を主として捕食することから、細菌を食物源とし、継代培養しているが、最も増殖能を高く維持できるレタスと鶏卵の抽出培地すなわち

LE(Lettuce & Egg yolk)培地に共存する細菌を供試することとした。

5-2-2 供試培地および供試排水

供試培地としてLE培地を用いた。作成方法は4-2-1に従った。供試排水としてはTable5-1に示す組成のBOD,T-N,T-Pが各々200、40、5mg・l⁻¹の121℃、40分間オートクレーヴ滅菌したものを実験に用いた⁵²⁾。

5-2-3 実験装置

*P. erythrophthalma*の定着の有無による処理特性に及ぼす影響を解析評価するため、Figs.5-1,5-2に示す反応容積280mlのアクリル製のリアクターを用いた。このリアクターにTable5-2に示した性状の担体をそれぞれ充填率（嵩）8%となるように充填しオートクレーヴ滅菌後、実験に用いた。多孔質担体では、孔径が微小動物の定着性を左右すると考えられたため、258±126,153±75,498±41および492±162μmの4種類を供試した。つぎに、これらの担体をリアクターに充填し、さらに、人工排水を定量流入させるため電磁弁タイマー計量器を組み合わせた自動流入装置をセットした。なお、リアクター内を好気条件にするためエアープンプによりリアクターの下部から通気した。

5-2-4 運転条件

*P. erythrophthalma*の食物源となる同培養液中の細菌類を担体に付着させることを目的として、リアクターおよび計量器を滅菌後、*P. erythrophthalma*の培養液を4μmのメンブレンフィルター（COSTAR®Nuclepore）でろ過した後、そのろ液の細菌類を接種量が 2.6×10^5 CFU・ml⁻¹となるように接種した。ついで、リアクターのBOD容積負荷を0.3kg-BOD・m⁻³・day⁻¹、HRTを10hr、通気量を200ml・min⁻¹とし、20℃の恒温室内で5日間予備運転した。次に、本運転として運転5日後のリアクターに、LE培地で培養し、3,000rpm、15分間遠心濃縮後、400N・ml⁻¹となるように調整した*P. erythrophthalma*を接種し、実験を開始した。実験条件は、Table5-3に示した通りである。

Table5-1. Composition of synthetic wastewater.

NaCl	6.60
MgSO ₄ ·7H ₂ O	8.2
KH ₂ PO ₄	18.6
KCl	13.4
NH ₄ Cl	95.5
Dextrin	30.45
Bactopeptone	65.40
Yeast Extract	65.40
Meat Extract	74.60

Unit : mg·l⁻¹

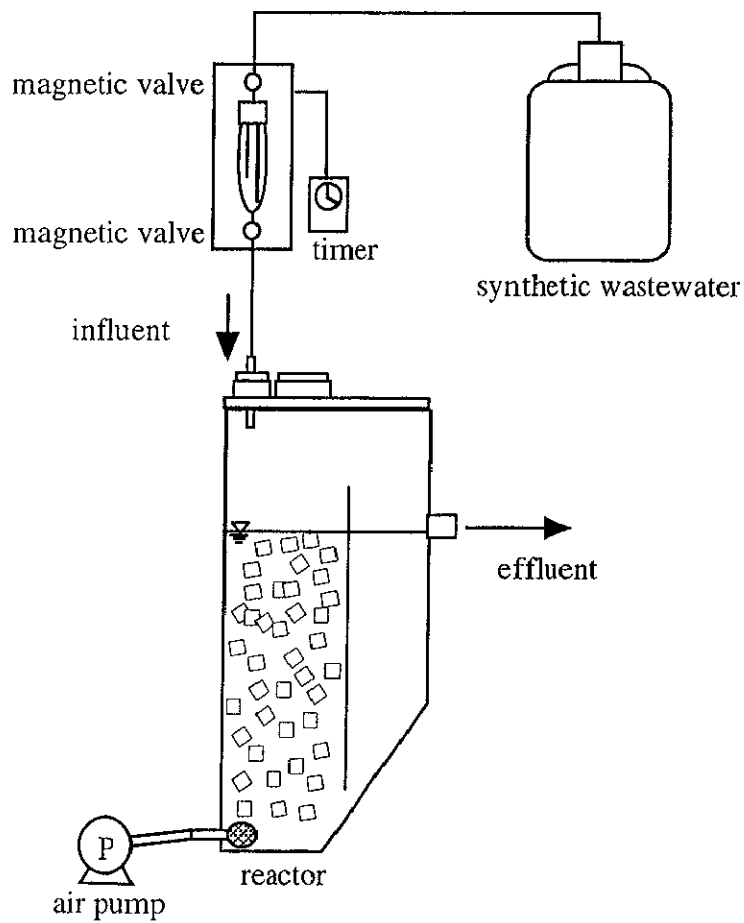


Fig.5-1. Schematic diagram of reactor for fixation of the rotifer.

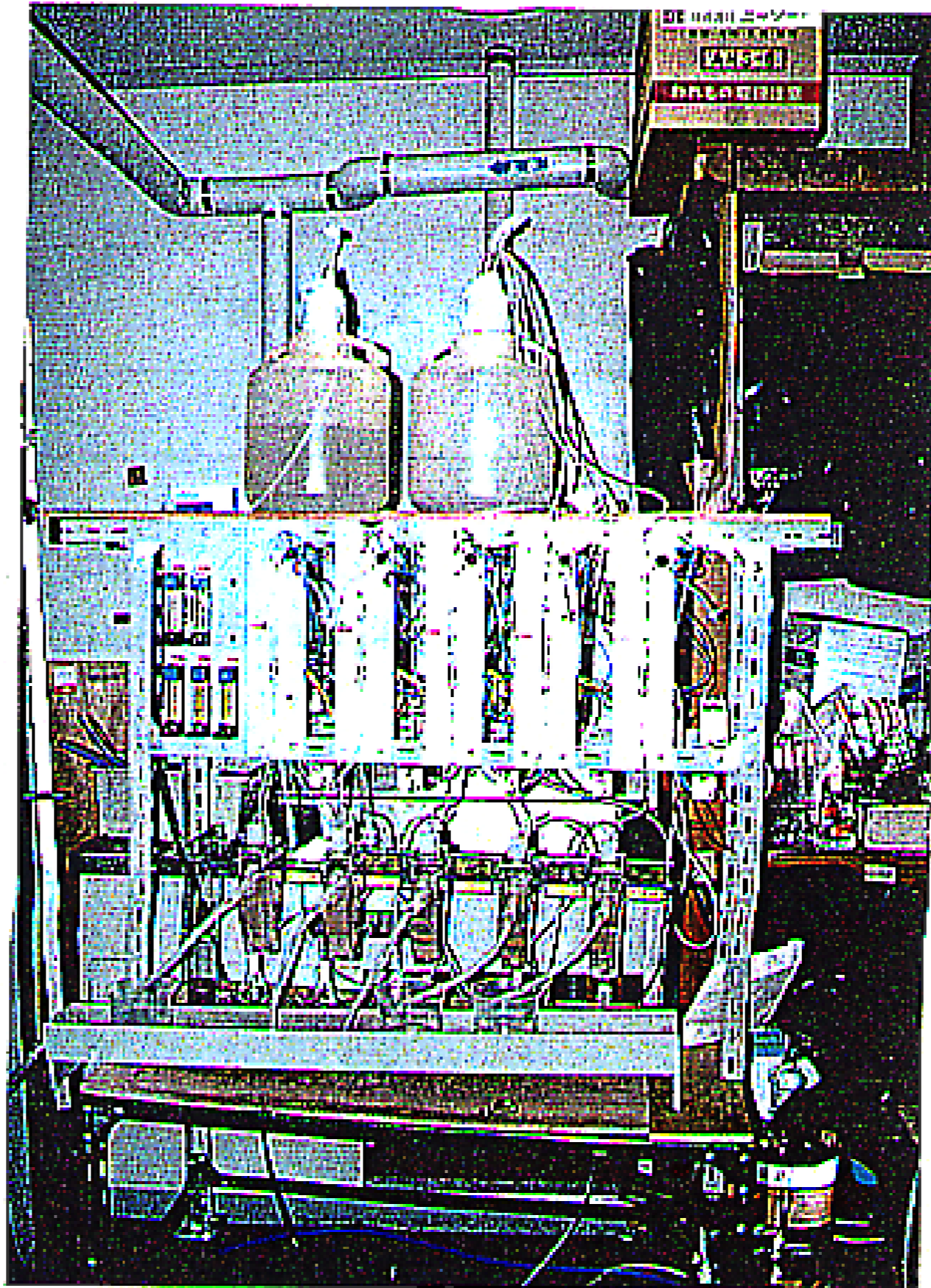


Fig.5-2. Photo of reactor for fixation of the rotifer.

Table 5-2. The properties of carrier.

	Run1	Run2	Run3	Run4
bulk [mm ³]	16.00	32.99	27.66	28.64
specific gravity [g·cm ⁻³]	0.083	0.20	0.033	0.043
average of pore [μ m]	258±126	153±75	498±141	492±162
ratio of gap[%]	97.7	99	88.5	94.5
shape	cube	sphere	cube	cube
material	cellulose	cellulose	polyurethane	polyethylene

Table 5-3. Operating condition of reactors.

Item	Run1	Run2	Run3	Run4
pore size [μm]	258	153	498	492
inflow load [$\text{kg-BOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$]		0.3		
HRT [hr]		10		
aeration [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$]		200		
temperature [$^{\circ}\text{C}$]		20		
Inoculation of rotifer [$\text{N} \cdot \text{ml}^{-1}$]		400		

5-2-5 測定項目

測定項目としてはSS、透視度、DOC、T-N、T-P、担体当たりの*P.erythrophthalma*の定着量、生菌数とした。SSはガラスフィルタ(WhatmanGF/C)でろ過し、105℃乾燥後秤量によって求めた。DOCはガラスフィルタ(WhatmanGF/C)でろ過後、TOC計(SHIMADZU model TOC-5000)によって測定した。T-N、T-Pについては、ペルオキソ二硫酸カリウムによる同時分解後、(BRAN+LUEBBE社製TRAACS800)を用いて測定した。また、*P.erythrophthalma*の個体数の測定については、装置から各担体を3個ずつ無菌的に取り出し、ピンセットを用いて顕微鏡下で崩した後、担体の表面および内部にいた*P.erythrophthalma*を担体に付着していたものとして計数した。さらに、実験で用いた4種の担体について、マイルドスパッタE-1030(日立製作所製)を用いてPt-Pd蒸着を2分間行なった後に、走査電子顕微鏡S-3200N(日立製作所製)を用い、担体の表面構造を撮影した。

5-3 結果および考察

5-3-1 *P. erythrophthalma*の定着性と懸濁性浮遊物質および透視度との関係

生物処理の高度化における課題は、処理水の有機物濃度を低レベルに維持できること、固液分離能が高く透明な処理水が得られること、窒素、リンの除去機能を向上させることなどがあげられる。なかでも固液分離機能を高めることは、維持管理面や生物処理の安定化を図る上での重要な技術課題とされている。ここでは、*P. erythrophthalma*の存在による処理水のSS濃度の低下および透視度の改善効果を水質の経日変化より調べた。結果はFigs.5-3,5-4に示す通りである。*P.erythrophthalma*の添加前は、Run1,2,3,4のいずれの系でもSS濃度約20~30mg・l⁻¹、透視度10cm前後であった。このような安定した水質が得られたのを確認後、*P.erythrophthalma*を添加した。しかし、*P.erythrophthalma*添加6日後において、Run1,2でのSSは、約40mg・l⁻¹で濁質が多かったのに対し、Run3,4では10mg・l⁻¹以下であった。また、このことは透視度からも裏づけられ、Run3,4では、添加4日後で顕著な向上を示し、6日後においても高い透視度が保

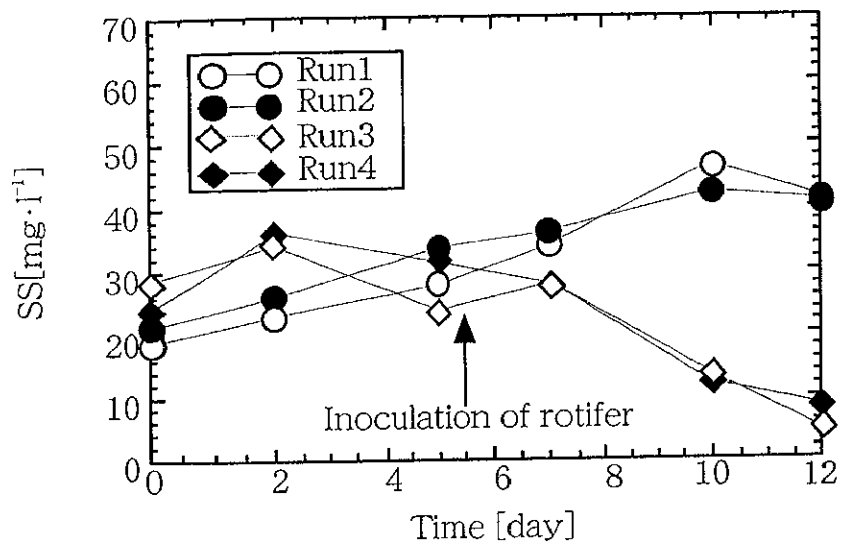


Fig.5-3. Time course of effluent SS concentration.
 average of pore size :
 Run 1: 258 Run 2: 153
 Run 3: 498 Run 4: 492

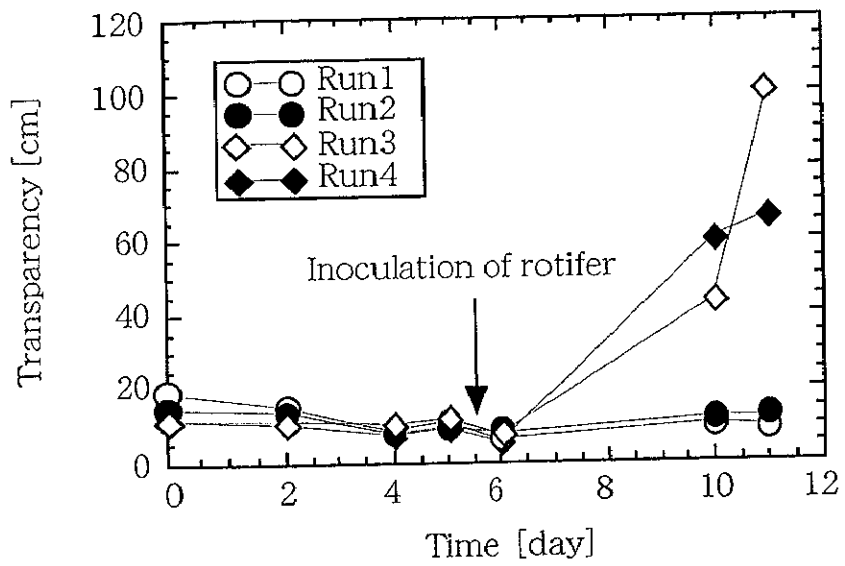


Fig.5-4. Time course of effluent transparency.
 average of pore size :
 Run 1: 258 Run 2: 153
 Run 3: 498 Run 4: 492

持された。なお、透視度とSS濃度との関係については、Fig.5-5に示すとおりであり、SSと透視度は反比例の関係にあるが、SS30mg・l⁻¹以上では、透視度は10cm以下であった。この透視度およびSS濃度の変化に及ぼす*P.erythrophthalma*添加後の効果の有無を明らかにするために、*P.erythrophthalma*の個体密度とSSとの関係について解析を行なった。その結果、*P.erythrophthalma*添加後の担体の単位容積当たりの個体数とSSとの間にはFig.5-6の関係が得られた。*P.erythrophthalma*を添加したRun3,4においては、添加4日後にSS濃度が14mg・l⁻¹となり、透明度の高い処理水が得られた。このときの*P.erythrophthalma*の付着個体数は、担体当たり $1.5 \times 10^4 \text{N} \cdot \text{cm}^{-3}$ となった (Figs.5-6)。このことから、リアクターに接種した*P.erythrophthalma*が $1.5 \times 10^4 \text{N} \cdot \text{cm}^{-3}$ 以上の密度で定着させれば、処理水の透明度は高レベルで維持できると考えられる。水質改善効果を短期間で発揮できるものと考えられた。なお、充填する担体の違いについては、透明度の低かったRun1,2と透明度の高かったRun3,4において、接種した輪虫の初期定着量は各々 6.3×10^2 , 4.2×10^2 および、 1.6×10^4 , $1.2 \times 10^4 \text{N} \cdot \text{cm}^{-3}$ と大きな差が認められたことから、処理の高度化を図る上では、有用微生物が定着し、適正な生息場とする担体の表面構造が重要であると考えられた。

5-3-2 *P. erythrophthalma*の定着化と栄養塩類、窒素・リン濃度との関係

有用微小動物の生息条件を左右する因子として窒素、リン濃度が*P.erythrophthalma*の増殖性、定着性に影響を及ぼすか否かについての検討を行なった。なお、処理水質中の窒素、リン濃度と担体に付着している*P.erythrophthalma*の個体数との関係はFig.5-7に示すとおりである。T-Pについては生活排水の流入水の標準濃度と考えらる5mg・l⁻¹において*P.erythrophthalma*は全く影響を受けないことがわかった。また、T-Nについては、*P. erythrophthalma*の個体数密度が高まると共に減少が認められたものの、生物膜の高度処理システムが適切に機能している時の水質である10~15mg・l⁻¹では当然のこと影響を受けないものと考えられた。なお、*P. erythrophthalma*がこのような窒素、リン濃度で生息可能であること、また輪虫類は嫌気好気循環型の生物膜法の硝化脱窒プロセ

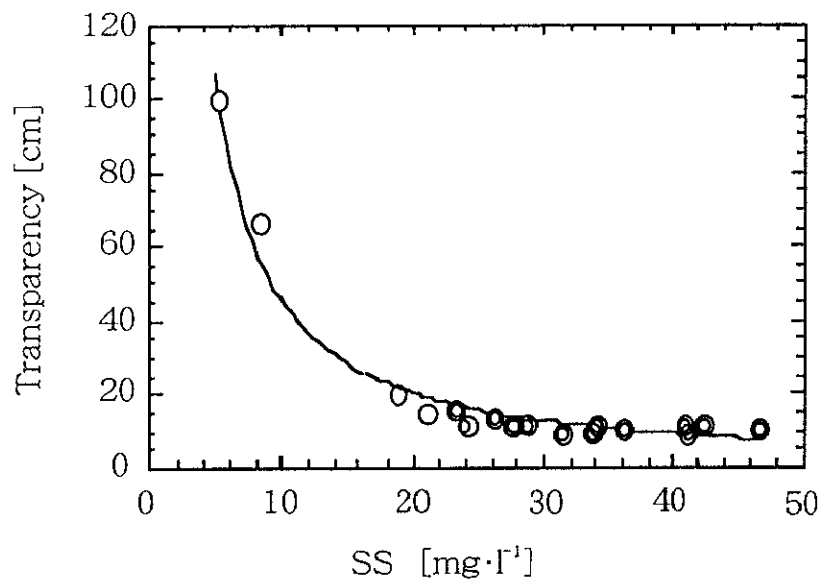


Fig.5-5. Correlation between transparency and SS concentration.

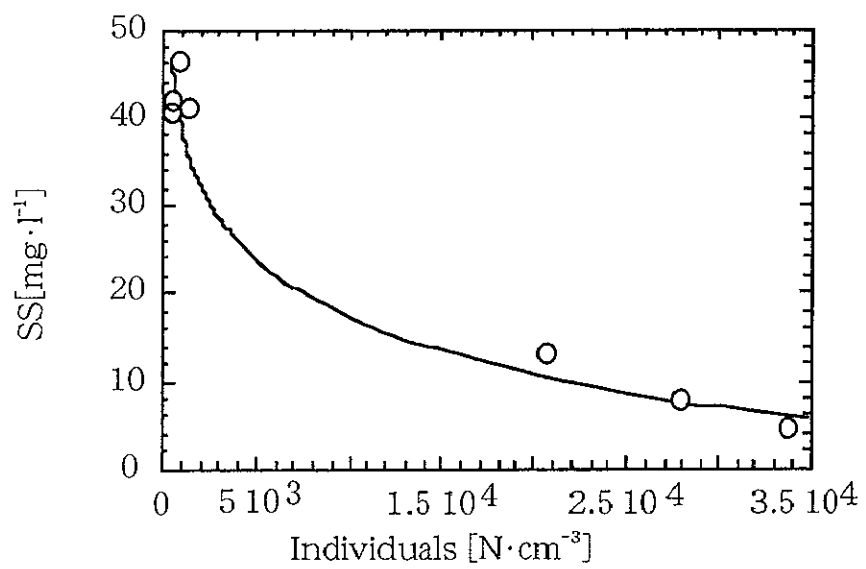


Fig.5-6. Correlation between number of rotifer and SS concentration.

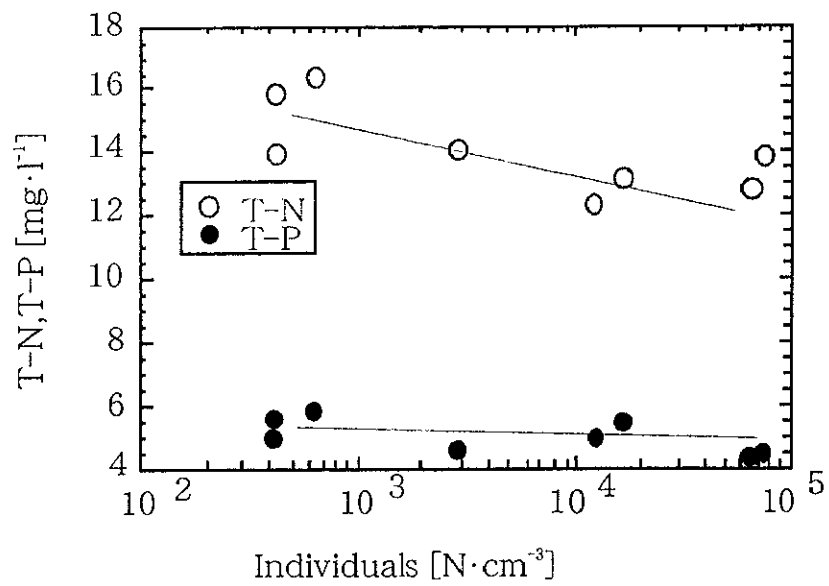


Fig.5-7. Correlation between T-N, T-P and number of rotifer.

スにおいても生息可能であることから、プロセスの嫌気・好気化と、そのプロセスへの輪虫類の定着化を強化することにより処理水の透明化、栄養塩類の除去機能も強化できるものと考えられた。

5-3-3 *P. erythrophthalma*の付着に対する担体の表面構造の影響解析

生物処理反応槽における*P. erythrophthalma*の初期定着量の強化が、処理機能の迅速な向上に対してきわめて重要であることは既に述べたとおりである。ここでは大量定着を図る上で、重要な要因となる生息場としての多孔質担体の孔径の違いによる添加*P. erythrophthalma*の付着性について、*P. erythrophthalma*添加4日目および8日目の担体の孔径と付着*P. erythrophthalma*の個体数 (Fig.5-8) との関係を支配すると考えられる担体の表面構造を電子顕微鏡により解析した。その結果、担体表面はFig.5-9~12に示す構造を有していることがわかった。担体の孔径と*P. erythrophthalma*の定着量との間には高い相関性が示され、Run3,4では担体材質が違っても関わらず担体の孔径が大きいほど、*P. erythrophthalma*の定着性は高まり、初期定着を左右する重要な要因となることがわかった。さらに、Run3,4の担体では*P. erythrophthalma*の平均体長の300 μm よりも大きく、検鏡による担体表面の*P. erythrophthalma*が担体内部まで生息可能であったことから、最大個体数 $5 \times 10^6 \text{N} \cdot \text{cm}^{-3}$ 以上の高密度化が可能であると考えられる (Fig.5-13)。また、*P. erythrophthalma*は体外にバイオポリマーを生産し、分散状微生物の凝集化と同時に、自身の生息場を形成するときの付着物質としての役割も考えられることから、定着性を短期に高める上では、適切な孔径による生息場の存在が効果的と考えられる。これらのことから、活性汚泥と生物膜の共存するハイブリッド型担体流動型のリアクターの場合、*P. erythrophthalma*の初期定着性を高めるためには、多孔質担体を用いる場合、担体の孔径が少なくとも300 μm 以上を有し、さらに*P. erythrophthalma*が付着後速やかに担体内部へ入り込む事が可能な構造になっていることが重要であると考えられた。

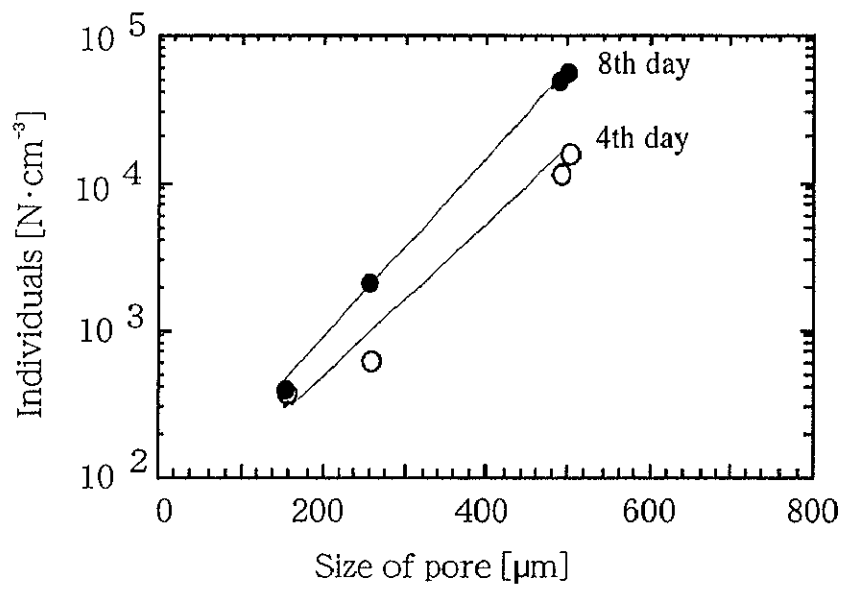


Fig.5-8. Correlation between pore size on carrier and number of rotifer attached on carrier.

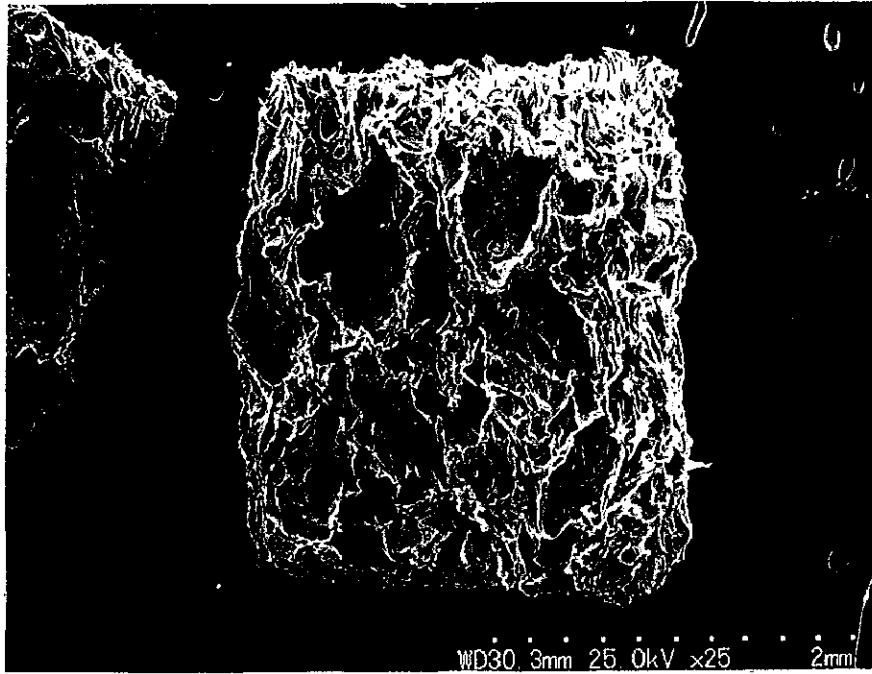


Fig.5-9. SEM of carrier Run1.

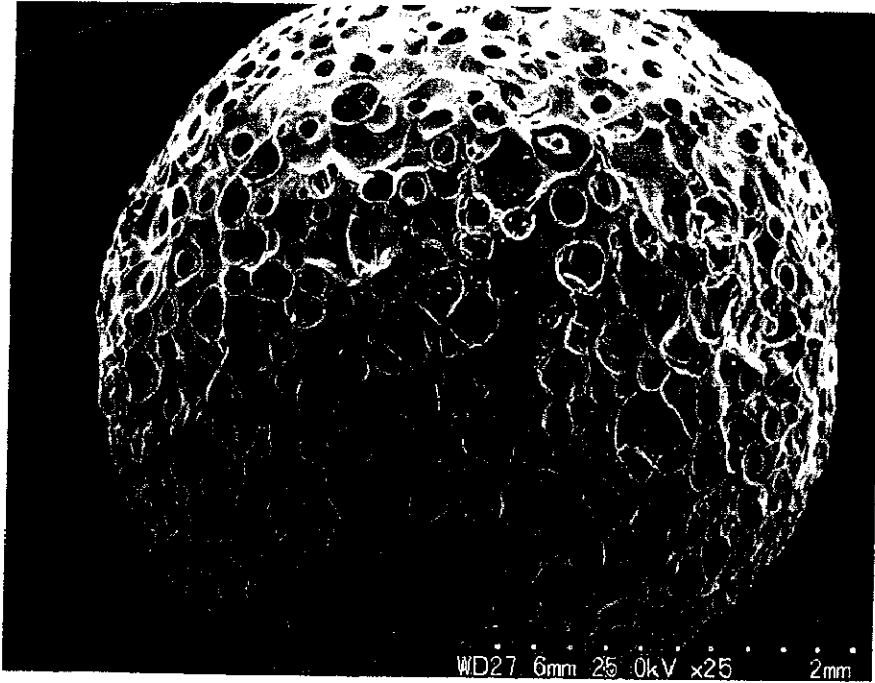


Fig.5-10. SEM of carrier Run2.

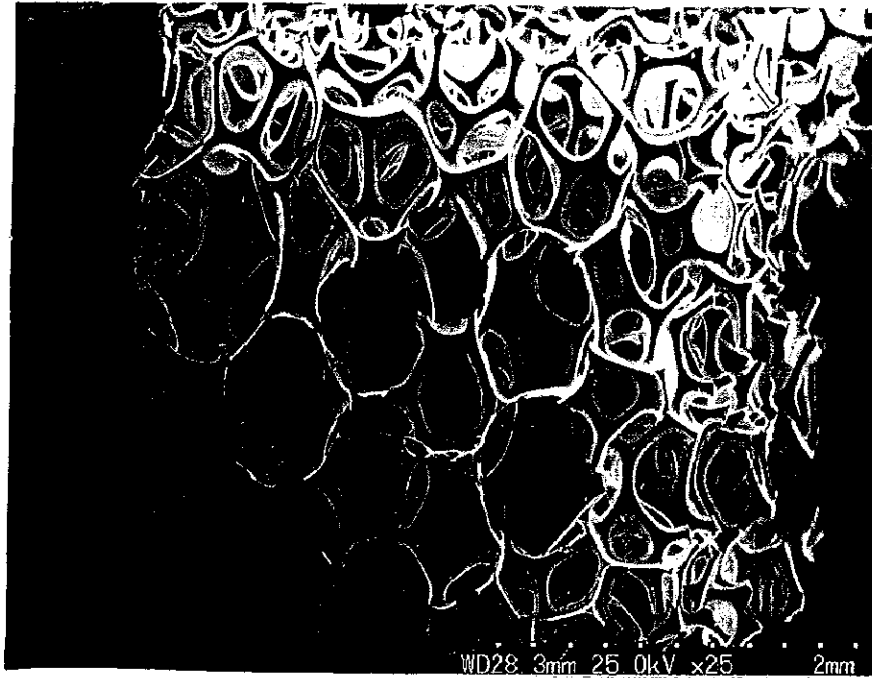


Fig.5-11. SEM of carrier Run3.

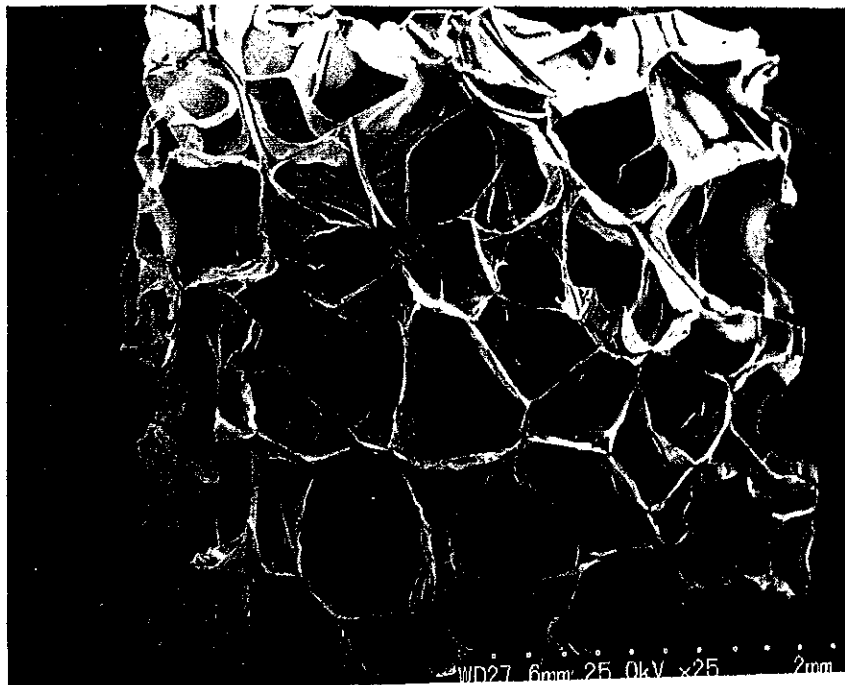
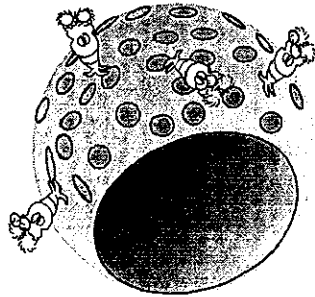
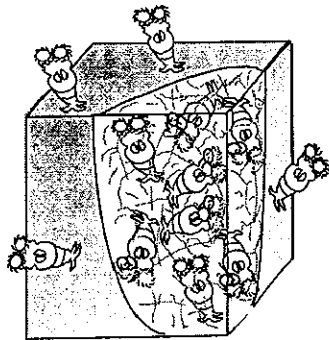


Fig.5-12. SEM of carrier Run4.



A: pore size of media $< 300 \mu\text{m}$



B: pore size of media $> 300 \mu\text{m}$

Fig.5-13. Difference of the fixation ability on the structure of surface and inside of the packed media.
A: The rotifer can not / is hard to get into the media
B: The rotifer is easy to get into the media

5-3-4 生菌数変化と*P. erythrophthalma*の捕食効果の解析

生物処理反応槽における浄化は、汚水中の有機物の細菌による摂取ならびに細菌の微小動物による捕食という食物連鎖が重要な位置づけにある。微小動物の存在しない系においては有機物除去能の低いこと、SS濃度も高いことがCurdsら¹⁹⁾による原生動物を用いた実験から明らかにされている。そこで、輪虫類*P. erythrophthalma*と細菌との共存下における*P. erythrophthalma*の個体数と細菌の生菌数の変動特性と有機物除去特性の関係から、輪虫類の定着による処理機能に及ぼす影響を解析した。担体に付着した捕食者としての*P. erythrophthalma*とリアクター内の被食者としての細菌、および処理水のSSとの関係はFig.5-14に示すとおりである。*P. erythrophthalma*の存在しないときの生菌数は $3 \times 10^6 \text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ であったのに対し、*P. erythrophthalma*が $1.5 \times 10^4 \text{N} \cdot \text{cm}^{-3}$ 存在した場合の生菌数は $2 \times 10^7 \text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ で1オーダー低く、SS濃度についても低くなった。すなわち捕食者の増大により被食者が減少するという現象が確認された。このことは*P. erythrophthalma*がSS成分のほとんどを占める分散性の細菌を捕食したことを意味している。ここで、本実験系での食物連鎖を考えると、細菌の基質となるのは原水中DOC成分であり、*P. erythrophthalma*の食物源となるのは細菌のみである。さらに、DOC成分を*P. erythrophthalma*が直接利用しないことを考えると、*P. erythrophthalma*の捕食により細菌数が減少することで処理水中のDOC濃度が上昇することが考えられる。そこで、処理水中のDOC,SS濃度と担体に付着した*P. erythrophthalma*の個対数について調べた (Fig.5-15) が、*P. erythrophthalma*の個体数の増加によってSSの現象、すなわち細菌の個体数密度が減少しても処理水のDOC濃度は増加せず、むしろDOC除去能が高まったことを示している。これは、*P. erythrophthalma*が産生したバイオポリマーにより担体表面および内部に凝集された細菌が、間引き効果によりDOC除去を促進したためと考えられた。このように*P. erythrophthalma*は細菌類を捕食し、バイオマスの減量に効果を発揮すると同時に水質向上にも大きく貢献する効果を有しているといえる。なお、微小動物の種類によっては遊泳性の繊毛虫類、鞭毛虫類等は捕食効果は高いものの固液分離性が低く、沈殿後も遊泳して洗い出し現象の生ずることが知られている。この

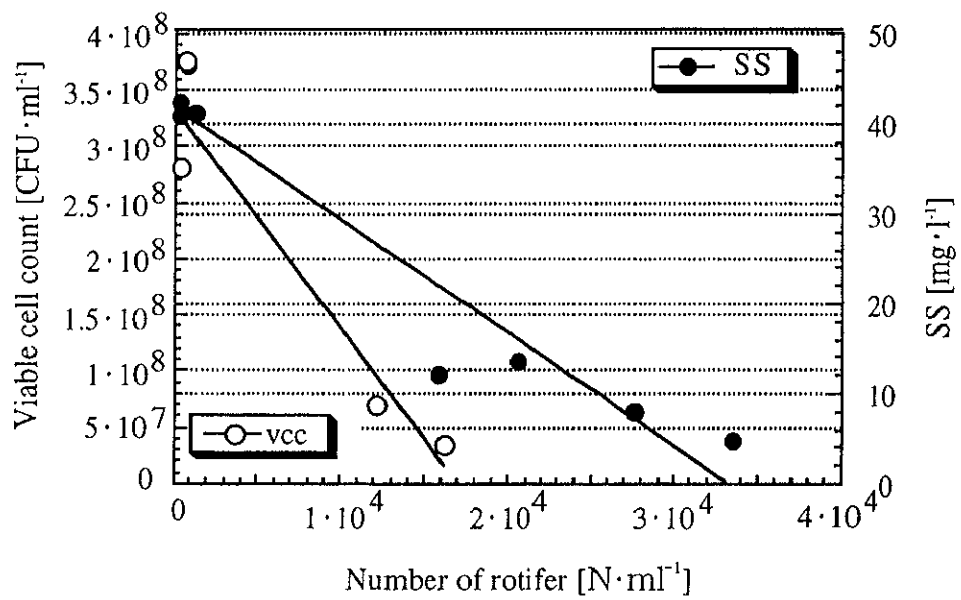


Fig.5-14. Correlation between viable cell count, SS and number of rotifer.

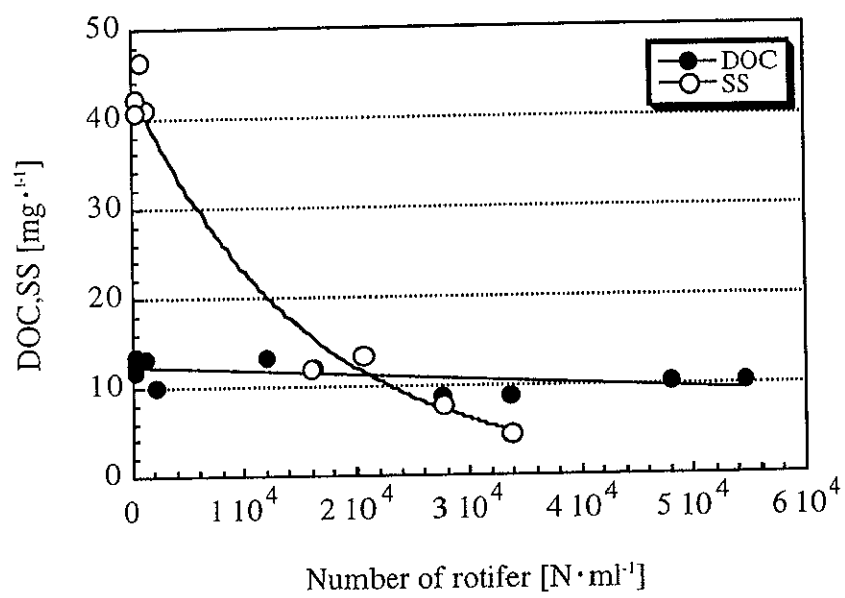


Fig.5-15. Correlation between DOC, SS and number of rotifer.

ことから、バイオリアクターへの定着化を図る場合は当然のこととして、*P. erythrophthalma*をはじめとする有用微小動物に的を絞ることが重要であるが、ここで得られた結果より*P. erythrophthalma*の定着化を高め処理効果を高めることが可能なことが明らかとなった。

5-4 まとめ

本研究では有用微小後生動物輪虫類*P. erythrophthalma*のバイオリアクターへの定着性を高め処理機能を短期間で向上、保持する手法を開発するために、付着担体の最適化にかかわる生物物理化学的特性に着目した検討を行なったが、得られた結果は以下のようによまとめられる。

1) 細菌-*P. erythrophthalma*の二者系からなるリアクターによるを用いて、担体の性状の違いによる*P. erythrophthalma*の付着性能と水質との関係について検討を行なった。その結果、*P. erythrophthalma*が担体に高密度に定着することにより透視度100cm以上の透明度の高い処理水を得ることができた。

2) 生物処理反応槽に*P. erythrophthalma*を短期間に定着させるため、活性汚泥に担体添加を行なったが、担体の孔径が、*P. erythrophthalma*の平均体長300 μ m以上であり、さらに*P. erythrophthalma*が容易に内部へ入り込むことが可能な構造であることが大量定着を図る上で必要なことがわかった。

3) 生物処理反応槽における*P. erythrophthalma*の定着化に及ぼす栄養塩類の影響について検討を行なったが、T-N10mg \cdot l⁻¹、T-P5mg \cdot l⁻¹の通常的生活系排水処理で認められる水質では全く増殖、定着に影響しないことがわかった。

4) 生物処理では有機物の細菌による摂取、細菌の微小動物による捕食の食物連鎖が重要であるが、生菌数が捕食者の*P. erythrophthalma*により捕食され、減少してもDOC除去能に変化は見られず、これは単位生菌当たりの活性が高まることで、有機物除去機能の高まることが考えられた。

5) 生物膜処理法として各種担体が活用されているが、有用微小動物を定着化させ、

処理機能の向上、汚泥の減量化を達成する上では、生息場としての最適な担体を選定することが極めて重要なことが明らかとなった。