

VII-22

攪拌強度 (G 値) と生物活性による *Phormidium* sp. の形態変化について

東北工業大学 学生会員 ○佐藤正浩

東北工業大学 正会員 今野 弘

東北工業大学 吉田陽二

1. はじめに：貯水池の富栄養化に伴い、水道原水の水質の悪化や藻類繁殖が進行し、浄水過程においては藻類起因の浄水障害が発生している。S市では、水源において藍藻類である *Phormidium* sp. (以下 *P.sp.*) が大量に繁殖した際、浄水でザラザラした食感を受け、その水を検査したところ *P.sp.* の藻体が検出された。これは、凝集沈澱処理で除去しきれなかった *P.sp.* が濾過池から漏出したものと考えられる。*P.sp.* は数 μm の細胞が連なって糸状体を形成しており、細胞の分裂または図1のような連鎖体(ホルモゴン)の形成により生殖¹⁾、濾過池から漏出しやすい藻類種であることが知られている²⁾。



著者はこの *P.sp.* の糸状体が、物理・化学的作用を受けて、数 μm の糸状体または細胞単体に破壊されることにより、濾過池から漏出するものと考えた。今回はその中で物理的作用に着目し、*P.sp.* 培養株を攪拌させることにより、攪拌の強さと糸状体の破壊の程度を、凝集過程でのブロック衝突の基本式である攪拌強度 (G 値) を用いることにより考察した。また、増殖期や生死といった生物活性によっても糸状体の破壊状況は変わると考え、各増殖期ごとに塩素処理を行い、*P.sp.* の不活化についても同時に考察した。

2. 実験方法および条件：全体の実験フローを図2に示す。

I *P.sp.* 培養株の増殖期の把握：今回使用した *P.sp.* は S 市水道局より頂戴した培養株を用いた。培養条件は培地 CT 培地、水温 20℃、照度 1000Lux、12 時間明暗サイクルとし、静置培養を行った。計数は標準計数板法を採用した。

II *P.sp.* (対数増殖期) の塩素による不活化実験：実験条件は *P.sp.* の個数濃度を約 100 個/ml にした試料水 250ml を塩素注入率 0、0.1、0.2、4、5、6、7、8mg/l に設定し、回転数 40rpm で 13 分間攪拌を行った。不活化の確認方法として、*P.sp.* の光合成色素の自家蛍光を利用した落射蛍光顕微鏡による判別³⁾を採用した。励起波長は B 励起とし、使用したフィルターの組合せを表1に示す。光合成色素の自家蛍光の退色を防ぐため実験中は暗照明とし、作製したプレパラートはアルミホイルで包み、作成後は迅速に蛍光観察を行った。また、再培養は塩素処理した *P.sp.* を吸引濾過し、その濾紙を CT 培地に浸し、遠心分離器 (1500rpm) にかける濾紙から *P.sp.* を剥離させ、上記の I と同じ培養条件下で行った。その後、標準計数板法で計数を行い、増殖の有無を確認した。

III G 値による *P.sp.* の糸状体破壊特性実験：実験に用いた攪拌機の概略図を図3に示す。また、G 値 (1/s) は以下の式により算出した⁴⁾。

$$G = \sqrt{\frac{\rho C a u}{2 \mu V}} \quad \text{ここで、} \rho : \text{密度 (kg/m}^3\text{)}, C : \text{攪拌翼抵抗係数 (-)}, a : \text{攪拌翼面積 (m}^2\text{)}$$

$$u : \text{攪拌翼平均速度 (m/s)}, \mu : \text{粘性係数 (kg/m} \cdot \text{s)}, V : \text{攪拌機容量 (m}^3\text{)}$$

攪拌機の回転数を 0、100、200、300、400、500、600rpm に設定し、各々の攪拌翼平均速度を算出し上記の式に適用させた。攪拌時間は 5min で行った。攪拌終了後、個数濃度も確認するためメンブランフィルター法によりランダムに選んだ 20 視野内の全糸状体の長さを測り、記録した。

3. 実験結果および考察：**I *P.sp.* 培養株の増殖期の把握：***P.sp.* の増殖傾向を図4に示す。この図から、培養開始10日から40日頃までゆっくりと増殖を続けているが、今回は急激に増殖する培養開始から10日までの対数増殖期、65日までの定常期、以降71日までの死滅期とした。また、IIIの実験に使用した培養日数は、対数増殖期は活性が著しく個数濃度も多い9日目、定常期は個数濃度が最大となる55日目、死滅期は個数濃度が下降した69日目とした。

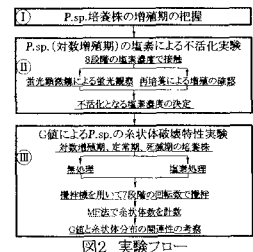


表1 フィルターの組合せ

励起フィルター	BP460-490
ダイクロイックミラー	DM505
吸収フィルター	BA515IF

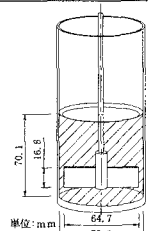


図3 攪拌機概略図

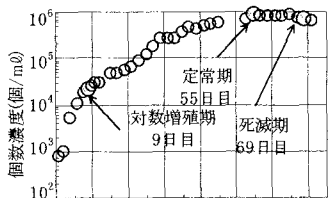


図4 *P.sp.* の増殖傾向

II *P.sp.*(対数増殖期)の塩素による不活化実験: 対数増殖期の *P.sp.*を塩素処理し落射蛍光顕微鏡で観察した結果を表2に示す。ここで、暗赤色は主要光合成色素がフィコシアニンであることを、鮮赤色はクロロフィルであることを示している。また、黄色はそのどちらの光合成色素もない状態と考えられる。この結果から、今回実験に用いた *P.sp.*は、塩素濃度が 0mg/l のとき暗赤色であったため、主要光合成色素としてフィコシアニンを持ち、この暗赤色が鮮赤色に変わった濃度が細胞壁の破壊が生じた塩素濃度、すなわち不活点であると考えた⁵⁾。次に、塩素処理を行った *P.sp.*を再培養した増殖傾向を図5に示す。この図からわかるように、塩素注入率 0mg/l 以外の *P.sp.*は増殖しておらず、活性がなくなったことを示している。これらの実験結果から、両者の条件を満たす塩素注入率である 0.2mg/l を今回の実験では不活化濃度とした。

表2 塩素処理後の蛍光観察

塩素濃度 (mg/l)	蛍光
0	暗赤色
0.1	暗赤色と鮮赤色
0.2	鮮赤色
4-6	塩素濃度の増加に伴い鮮赤色から黄色に移行
7-8	黄色

III G 値による *P.sp.*の糸状体破壊特性実験: 図6に各活性段階における G 値 0 を基準とした個数比を示した。この図から L が $2 \sim 32 \mu m$ の比較的短い糸状体は G 値の上昇に伴って増加し、逆に $32 \mu m$ 以上の糸状体は比較的減少傾向にある。特に $2 \leq L < 8$ の範囲の糸状体が無処理の対数増殖期を除きその傾向が著しいことがわかる。そこで図7に各活性段階における全個数中の $2 \leq L < 8$ の個数割合を示した。またこの図の中で、各要素から最小自乗法により回帰近似直線を描いた。この結果から、定常期および死滅期はあまり塩素の影響を受けていないが、対数増殖期では塩素の影響を強く受け、 $2 \leq L < 8$ の範囲の糸状体の割合が増加している。つまり、活性が著しく代謝が早い対数増殖期においては、より塩素と反応し、糸状体の破壊を促進しているものと考えられる。また、対数増殖期では連鎖体(ホルモゴン)が数多く形成され、その連鎖体は形成されたばかりで細胞自体が弱いため、破壊が進行したものと考えられる。

4. おわりに: 今回は *P.sp.*が凝集沈澱池で除去しきれず、濾過池から漏出すると想定し、その形状変化を6パターン¹⁾の生物活性の面から G 値を用いて考察した。結果として、G 値の上昇に伴い比較的短い $2 \sim 32 \mu m$ の糸状体の比率が高くなっていくことが分かった。また、対数増殖期の $2 \leq L (\mu m) < 8$ の糸状体の割合が、塩素処理を行うことによって大幅に増加することが分かった。

しかしながら、実際の水源における *P.sp.*の増殖期を把握することは、個数濃度を高頻度で測定することとなり大変困難である。また、濾過池に流入する水は、多くの浄水場では凝集沈澱処理水のため、濾過池から漏出と思われる短い糸状体の凝集性の検討が必要不可欠である。今後は攪拌による *P.sp.*の破壊状況をより正確に把握し、上記の問題点も加味した上で、急速濾過池におけるカラムを用いた *P.sp.*の濾過池漏出現象を解明していく。

<参考文献>

- 1) 廣瀬弘幸、山岸高旺編: 日本淡水藻図鑑、pp.2-100、内田老鶴圃(1977)
- 2) 日本水道協会: こまった生物、上水試験方法 2001 年版、添付 CD(2001)
- 3) 中村寿子: 落射蛍光顕微鏡を用いた水道生物試験、水道協会雑誌、第57巻第7号(第646号)、pp.21-32(1987)
- 4) 日本水道協会: 水道施設設計指針2000年版、pp.186-190(2000)
- 5) 金子光美編: 水質衛生学、pp.258-259、技報堂出版(1996)

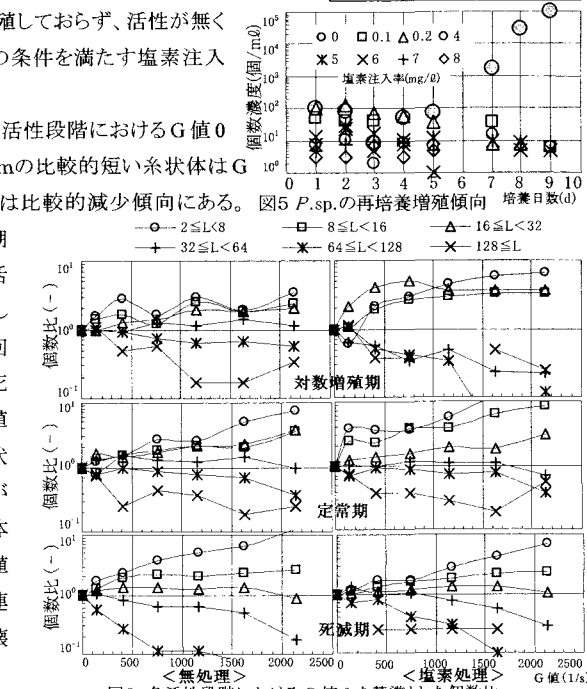


図5 *P.sp.*の再培養増殖傾向

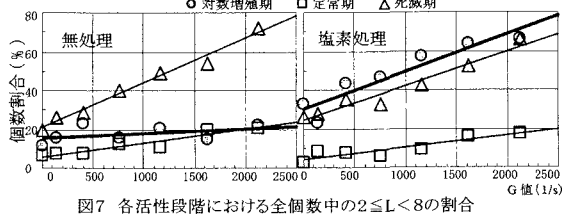


図6 各活性段階における G 値 0 を基準とした個数比



図7 各活性段階における全個数中の $2 \leq L < 8$ の割合