

(44) 浄化水路における排水水質と水路床部微生物相との関係

**Relation between Water Quality and Microbial
Composition of the Biofilm Attached on the Bed
of the Stream Purification Facilities**

小浜暁子*・林誠二**・千葉信男*・山田一裕*・西村修*・須藤隆一*
Akiko KOHAMA*, Seiji HAYASHI**, Nobuo CHIBA*, Kazuhiro YAMADA*
Osamu NISHIMURA*, Ryuichi SUDO*

ABSTRACT; The objective of this study was to investigate the relation between water quality and the species composition of microorganism in the stream purification facilities. The results showed that the concentration of dissolved organic matters like dissolved organic nitrogen (DON), dissolved protein decreased as the wastewater flowed down. In August, the concentration of the DON was very little ($0.19\sim0.43\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), among the three points the seed biofilm was fetched out, population of the bacteria raised in the media with inorganic nitrogen source was higher than that with the organic ones. However, in February, media with organic nitrogen source led to higher bacteria population than those with inorganic nitrogen source in the case that the seed biofilm was stripped out from the upstream point. On the other hand, the biofilm sampled from the middle- and down-stream area, the media with inorganic source resulted in higher bacterial population than the ones of organic source. In the upstream point where the organic concentration was higher, zoomastigophara was dominant protozoa. In February, the ciliate *Colpidium* sp. was the dominant species with its population occupied 88~95% of the total protozoan population. It suggests that the occurrence of different dominant species should be the different characteristics of the bacteria assimilating the nitrogen. It was clarified that the microbial composition of the biofilm was affected by the nitrogen composition and its concentration.

KEYWORDS; water quality, organic matters, nitrogen, biofilm, microorganism

1. 緒論

有機物が都市河川に流入することによる河川水質の悪化が問題となっている。河川中の有機物の濃度や組成は下水等に影響されやすく非常に多様であり、季節や場所によって変動しやすいこと、流下距離に応じて量的にのみ減少するのではなく、質的にも変化することがこれまでの研究によって明らかにされてきた¹⁾²⁾。とくに河川中の有機物の分解には好気性従属栄養細菌群集が重要な役割を果たしているといわれているが³⁾、その実態、例えば、(1)この分解過程に関与しているのはどのような細菌群集であるのか、(2)有機物の濃度や組成の変化に対し、細菌群集の構造はどのように変化するのか、(3)細菌群集の変化がそれらを捕食する原生動物、微小後生動物といった、食物連鎖上でさらに高次に位置する生物にどのような影響を与えるのか、ということについてはあまり研究がなされていない。環境要因を可能な限り把握し、形成された生物相を理解することは、多様化する有機物に適切に対応するうえで非常に重要である。また、生物相の形成には温度や基質の組成および濃度がとくに重要な因子であ

* 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻 (Graduate School of Engineering, Tohoku university)

** 国立環境研究所 (National Institute for Environmental Studies)

る³⁾。

そこで、本研究では、屋外の水路において有機物の流下に伴う質的变化と、水路床部に形成された生物膜中微生物との関係を明らかにすることを目的として、とくに細菌の栄養資化性に着目して検討を行った。

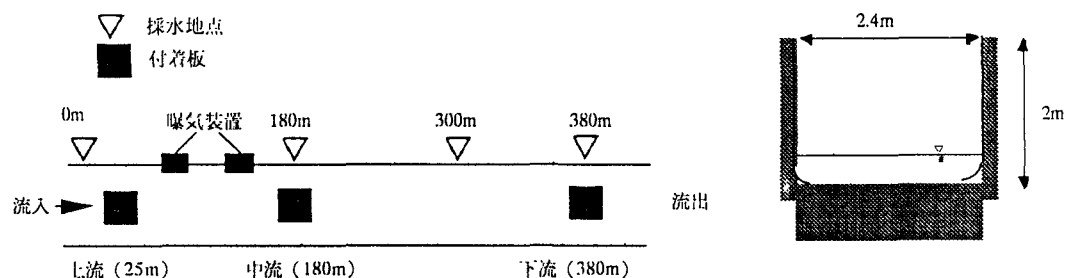
2 研究方法

一般に排水中の有機物は、溶存態有機物と懸濁態有機物とに大別される。そこで、好気性微生物により容易に分解される有機物、あるいは分解しがたい有機物が排水中にどの程度含まれているかを知るために、排水に含まれる溶存態有機物の組成について検討を行った。また、微生物と環境要因との関係については、水路床部に形成された生物膜のILおよび組成、さらに生物膜中の細菌、原生動物、微小後生動物といった微生物相を調べるために、とくに細菌について窒素源の異なる培地を作成して培養を行い、それらについて検討を行った。

2.1 調査対象の概要と調査方法

水路床部生物膜と排水の水質変化に関する調査は、水温変化に伴う水質および生物相の変化を予測し、夏季(1996年8月8日、12時の気温28.0℃、水路流入部における流速 $12.5 \cdot \text{sec}^{-1}$)と冬季(1997年2月17日、12時の気温5.5℃、水路流入部における流速 $6.6 \cdot \text{sec}^{-1}$)の2回行った。

対象とした水路は、流入部における幅2.4m、高さ2m、全流路長450mのコンクリート3面張りであり、宮城県登米郡迫町佐沼の住宅街の道路、水田、工場等に沿って流下している。対象地域の生活排水処理施設が未整備であるため、家庭や工場などからの雑排水の浄化を目的として設置された、排水が未処理のまま水路に流入しているために水質汚濁が著しく、ドブ川化が進行している。現場概要を図-1に示した。微生物による好気処理を行うため、曝気装置が100m地点及び170m地点に2機設置されている。



排水の流下に伴う水質変化を調べるために、水路流入部から0m、180m、300m、380mの4地点において採水を行った。試料はポリエチレン製の10ピンに採取し、冷蔵して実験室に持ち帰り、直ちに以下の項目について分析を行った。方法は表-1に示した。

ただし、水温、pH、DOは現場で測定した。BOD、COD、Chl-a、SS、 E_{260} 、 E_{280} 、TOC、T-N、T-P、タンハク質、炭水化物、さらにこれらを $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルター(ミリポア社)でろ過し、溶存態(D-)とし、TOC、T-N、T-Pから溶存態を差し引いたものを懸濁態(P-)とした。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルター(ミリポア社)でろ過後測定した。

2.2 水路床部に形成された付着生物膜の組成および微生物数の測定

付着生物膜の回収は、以下のようにして行った。陶製の付着板(15cm×15cm)を流入部より25m、180m、380mの3地点に各2枚設置した。ここでいう付着生物膜とは、付着板上の付着性藻類、細菌および原生動物の死骸、および生物体からの分泌物やこれらに付着した有機物、無機物を含んだものの総称とする。また、生物膜の形成期間

は河川水質、流況、季節等によって異なる^{7) 8)}が、海野ら⁹⁾が好気性付着生物膜の初期形成過程を400時間としていることを考慮し、設置期間を2週間とした。現場において金属のへらで剥離させた生物膜をポリエチレン製の密閉容器に採取し、水冷して実験室に持ち帰った。生物膜は密度が高く不均一であったため、それぞれ1~2lのメスシリンダーに移し、蒸留水を加えて500ml(8月の上流、中流は生物膜量が多かったため1l)にメスアップしたものを生物膜液として組成および微生物数の測定に供した。付着した生物膜中には土粒子などの有機物以外の物質も多く含まれるため、単位重量(mg)あたりのIL⁶⁾(Ignition Loss; 強熱減量)を測定し、微生物を含む有機物量を求めた。付着生物膜組成については、定量した付着生物膜を適宜希釈し、TOC、T-N、T-Pの測定を行った。

細菌の基質の利用方法は多様であると考えられるので、生物膜中細菌の計数については、好気性従属栄養細菌用の桜井培地⁶⁾を用いた。栄養源の資化特性を調べるための培地は、グルタミン酸ナトリウムまたはグルコースとNH₄Clを主成分とした。便宜上前者を有機態窒素培地、後者を無機態窒素培地と呼ぶ。培地組成は表-2に示した。定量後の付着生物膜液を直径18mmの試験管に10ml分取し、アルコールでよく拭いた発振用チップを挿入し出力100Wで60秒¹⁰⁾処理を行った。処理中は容器を水冷し、発熱による細菌の死滅を防止した。超音波破砕処理後、試料を10段階に希釈し、作成した培地に希釈液1mlを混釈し、出現するコロニー数が増加しなくなるまで20℃で15日間培養した。

付着生物膜中の微小動物の計数は、生物膜液をマイクロピペットで0.05ml界線入りスライドガラスに滴下し、顕微鏡下で観察して行った。なお、生物膜中の微生物数は、微生物を含む有機物として単位面積当たりのIL(mg・cm²)を求め、その単位重量(mg)あたりの数(CFU・mgIL⁻¹もしくはN・mgIL⁻¹)として表現した。

3.結果および考察

3.1 浄化水路における水質変化

立本ら¹¹⁾は、都市下水および家庭下水に含まれる有機物の組成について検討を行い、その結果、家庭下水中の溶解性有機物の組成はタンパク質、炭水化物、揮発性有機酸、タンニン、およびアニオン界面活性剤などで、それらの組成の占める割合はDOCに対してそれぞれ42、8、5、5および2%であった述べている。これらのことをふまえ、本調査においては水温と、排水中のBOD、CODといった有機物、窒素化合物、炭素化合物の濃度および組成に着目して検討を行った。

(1) 各調査地点における有機物濃度

まず調査中の水温について、8月は23.2~23.8℃、2月は7.3~8.6℃であった。微生物に対する温度の影響は大き

表-1 水質測定方法

項目	分析方法、使用機器など
水温	水銀法
SS	ガラスフィルター法(Whatmann GF/C)
流速	簡易流速計による
流量	流速および河川断面積(台形近似)により算出
Chl-a	UNESCO/SCOR法
DO	ウィンクラーアジ化ナトリウム変法
pH	pHメータ(電極法)
COD	酸性過マンガン酸カリウム法
BOD	ウィンクラーアジ化ナトリウム変法
TOC	燃焼-非分散型赤外線ガス分析法(TOC5000使用)
NH ₄ -N	インドフェノール法(TRAACS800使用)
NO ₂ -N	スルファニルアミド、ナフチルジアミンによる吸光度法(TRAACS800使用)
NO ₃ -N	NOx-NよりNO ₂ -Nを差し引いて算出
NOx-N	Cd-Cu還元カラム法(TRAACS800使用)
PO ₄ -P	モリブデン青法(TRAACS800使用)
T-N、T-P	ベルオキシソ硫酸カリウムにより同時分解後、それぞれNO ₃ -N、PO ₄ -Pとして分析(テクニコンオートアナライザー使用)
タンパク質	Lowry-Follin法 ⁴⁾
炭水化物	フェノール-硫酸法 ⁵⁾
原則として下水道試験法に準ずる ⁶⁾	

表-2 細菌用培地組成

桜井培地	g・l ⁻¹
Polypepton	2
Yeast Extract	1
Glucose	0.5
Agar	15
有機態窒素培地	g・l ⁻¹
C ₅ H ₈ O ₄ N・Na	1
K ₂ HPO ₄	1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.5
Agar	15
無機態窒素培地	g・l ⁻¹
Glucose	1
NH ₄ Cl	0.03
K ₂ HPO ₄	1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.5
Agar	15

いことが知られており^{12) 13)}。

2月において微生物の活性は低下していることが予想された。そこで、各調査地点における BOD、COD 濃度を表-3

表-3 各調査地点におけるBOD、COD濃度

採水地点(m)	0		180		300		380	
	8月	2月	8月	2月	8月	2月	8月	2月
BOD($\text{mg} \cdot \ell^{-1}$)	39	112	13	52	10	45	9.1	48
COD($\text{mg} \cdot \ell^{-1}$)	25	28	11	19	9.1	19	7.4	15

に示した。2月は8月と比較すると BOD、COD が高かった。いずれの調査においても流入部における BOD、COD の値が高く、この水路に有機物が高濃度で流入していることが明らかであった。0~180m 間では流下に伴い、懸濁物質の沈殿、吸着、溶存態物質の分解により生分解性物質が急速に減少したが、180~380 m間では分解しきれないものが残存した。

(2) 各調査地点における窒素化合物濃度

流下に伴う窒素化合物の濃度変化を図-2a, b に示した。

8月は $\text{NH}_4\text{-N}$ が全地点において $1.4 \sim 2.0 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 検出された。180m 地点における $\text{NO}_3\text{-N}$ 増加の理由として、この地点に曝気装置が設置されているため好気状態となり硝化反応が進行したと考えられるが、一方でDT-Nも増加していることから、曝気により堆積物が巻き上がったため溶出した $\text{NH}_4\text{-N}$ が酸化されたものと考えられる。溶存態有機物であるDO-Nは流下に伴い減少傾向が見られたが、濃度は全流域において低かった。これは、有機態窒素の構成成分である溶存態タンパク質が流下方向に従って減少し、下流においてはほとんど検出されなかったことから明らかであった。2月はDT-Nが $7.6 \sim 9.3 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ と高く、 $\text{NH}_4\text{-N}$ が $4.5 \sim 6.4 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、DO-Nは $2.1 \sim 1.8 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であり、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の占める割合が高かった。0m 地点に対し、380m 地点における $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DO-Nの減少率はそれぞれ33%、14%であり、流下方向における減少傾向はほとんどみられなかった。2月の測定では、硝化および生物分解が進んでいないことが示唆され、その要因として水温の影響が考えられた。

(3) 各調査地点における炭素化合物濃度

各地点におけるDOC濃度を図-3に示した。8月の測定ではDOCは流入地点 $16.0 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であり、流入地点から180m 流下する間に65%減少したが、180~380m 間の変化は顕著ではなかった。2月において、流入部のDOC濃度は $14.4 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、380m 地点で $11.0 \text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であり、流下に伴う減少はほとんど見られなかった。これらのことから、炭素化合物濃度は流入地点で高く流下に伴い減少傾向は見られたが、180~380m 間においてDOCの減少は顕著ではないこと、さらに8月はDOCの濃度が低く、それと比較して2月は高いということが明らかとなった。また、DOCは細菌の栄養源として利用されると考えられ

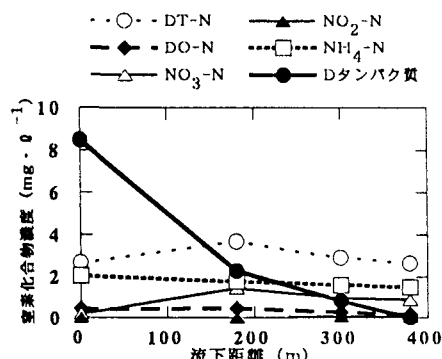


図-2a 各地点における窒素化合物濃度 (8月)

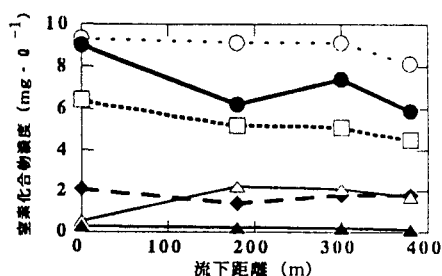


図2-b 各地点における窒素化合物濃度 (2月)

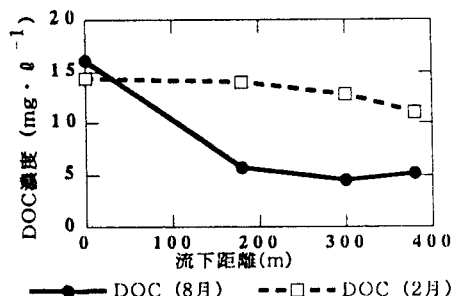


図-3 各地点におけるDOC濃度

ているが、細菌類の炭素利用形態は様々である。そこでDOCの組成を知ることは有用であると考え、D-炭水化物、D-タンパク質中の炭素量を各炭素含量40%¹⁾、49.1%²⁾として算出し、これらのDOCに対する比について検討を行った。DCHOC (D-炭水化物炭素)、DPC (D-タンパク質炭素) 各々のDOCに対する割合を図-4に示した。8月はタンパク質由来の炭素が少なく、流出部では検出されなかった。DCHOCが8.3%と流入部で少なかったのは、炭水化物以外の物質が多かったためと考えられる。DCHOC、DPCをそれぞれ既知成分とすると、検出した既知成分濃度の合計(既知溶存態炭素化合物)は流下に伴い減少する傾向にあり、これら以

外の物質が増加したと考えられる。その物質としては、夏季は生物の代謝が活発であるため、基質を利用して排泄または生成された代謝産物などと考えられる。一方2月は、8月に比べるとタンパク質由来の炭素化合物の割合が特に下流において著しく大きいのが特徴的であった。また全域を通して炭水化物を含む炭素化合物が多かった。小倉ら¹⁴⁾は、天然水中の溶存態有機物の分析を行い、溶存態有機物の中で、炭水化物は6~15%、タンパク質は29~36%、同定された既知有機物は全溶存態有機物の50~70%であったと報告している。さらに、立本ら¹⁵⁾は、集水域の変容と水質汚濁状態について検討し、DOC濃度変化について、家庭下水に類似した有機物の寄与を受けている河川では3月から10月に低く(6.0~7.2 mg・ℓ⁻¹)、11月から2月に高い濃度(平均7.5 mg・ℓ⁻¹)にある傾向がみられ、さらにDOC濃度に対する有機物組成の割合についても家庭下水に類似した有機物の寄与を受けている河川の場合、タンパク質18~23%、炭水化物24~28%、揮発性有機酸4~7%であったと報告している。以上の報告と比較すると、本水路の排水はDOCが夏に低く冬に高いという同様の傾向が見られ、組成から、本水路は家庭下水に類似した排水が主に流入していると考えられた。

3.2 水質変化と付着生物膜の関係

付着生物膜の単位面積当たりの有機物量をIL (mg・cm²)として求めると、8月は上流、中流、下流域でそれぞれ14.7 mg・cm²、20 mg・cm²、5.8 mg・cm²で、下流と比較して上流、中流が多く、2月は上流、中流、下流域でそれぞれ2.5 mg・cm²、2.1 mg・cm²、1.2 mg・cm²で8月と比較して少ないことが特徴的であった。単位面積当たりの生物膜量をILとした場合、一定期間での生成量は温度が低いと減少するという報告¹³⁾がある。一方、小河川において流量の安定した秋季から冬季にかけて高値をとり、降雨等により流量の安定しない春期から夏季にかけて低値をとるという報告¹⁶⁾もある。本調査においては、低温により、生物の活性が低く、生物膜形成が劣ったものと考えられる。また、稲森ら¹⁷⁾の研究によれば、人工水路において生成された生物膜量は、流入水の有機物濃度が高いほど多く、同一水路内においても流入点付近が最も多く、流下して浄化が進行するにつれ減少したという報告がある。本調査においても、排水中の炭素、窒素成分は流下に伴い減少傾向が見られたことから、基質濃度が生物膜形成に寄与していたと考えられる。

次に、付着生物膜の組成を調べるためにILとT-Nとの比を検討した。一般に、細菌の構成はC:N=5:1¹⁸⁾で表される。原生動物、藻類もほぼ同様である。ILを有機物量とみなし、有機物中の炭素の割合は50~60%^{18) 19)}であることを考慮すると、8月はILとT-Nの比が上流、中流、下流においてそれぞれ35:1、49:1、68:1とT-N量が少なく、生物体の組成比とは大きく異なっていることが明らかであった。これに対して、2月はIL:T-Nがそれぞれ13:1、9:1、7:1であり、8月と比較してILに対してT-Nの割合が高かった。この違いは排水の組成に起因するのではないかと考え、表-4に示したように各調査地点における排水のC/N比を算出したところ、DOC/DO-Nに関

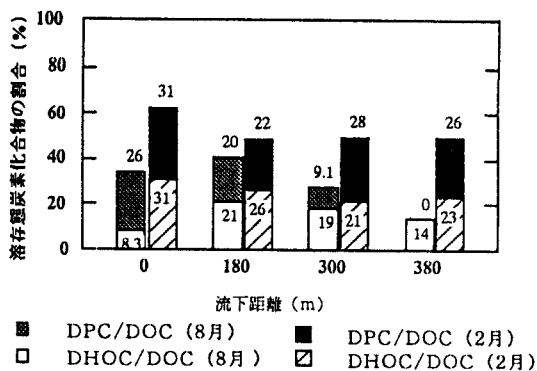


図-4 DOCに対するDCHOC、DPCの割合

して8月は12~38, 2月は6.2~9.7という値を示し, 8月においてDO-Nが著しく低いことが明らかであった。一方DOC/DI-Nは, 8月と2月の調査において

表-4 調査地点におけるC/N比

採水地点(m)	0		180		300		380	
	8月	2月	8月	2月	8月	2月	8月	2月
DOC/DT-N	6.0	1.5	1.6	1.5	1.6	1.4	2.0	1.4
DOC/DO-N	38	7.0	12	9.7	15	7.1	28	6.2
DOC/DI-N	7.1	1.8	1.8	2.3	1.7	1.7	2.2	1.7

0m地点以外は1.7~2.3であり,

大きな差が見られなかった。橋ら¹⁹⁾は, 水中のT-N, T-P, TOCを生物膜に棲息する生物の増殖を支配する成分とした場合, T-N, T-P濃度と生物膜中の従属栄養細菌数, IL等について相関性があると報告している。これらのことから, 排水中のDO-N濃度が, 生物膜内のT-N量及び組成比に影響を及ぼしたことが示唆された。

3.3 付着生物膜中の微生物

(1) 各培地に生育した細菌数の経日変化

各調査地点に形成された細菌相を把握するために, 付着生物膜中の生菌数(CFU・mgIL⁻¹)を調べた。3種類の培地に試料を摂取した後, 15日間培養した。8月は2月に比べていずれの培地においても細菌数が一定に達するまで8月は12日以上要したのに対し, 2月は8日目以降は著しい増加は見られなかった。細菌数の増加が一定になるということは, 存在する細菌の増殖速度が大きく異ならない, または種類数が少ないということを示唆している。これは, ILが大きいと付着層構造がより複雑になるため, 細菌群集の微生息環境が一様ではなくなり細菌群集の構成が複雑になる, と森川²⁰⁾が述べていることから説明される。これらのことから, 8月は2月に比べて付着生物膜中において細菌群集の構成が多様であったと考えられる。

(2) 各調査時期, 各調査地点における好気性従属栄養細菌数の比較

一般に, 環境中の好気性従属栄養細菌数は桜井培地によって計測される。本調査においても, この培地を用い, 各調査時期, 各調査地点における好気性従属栄養細菌数の比較を行った。有機物に対して細菌が占める割合を知るためにILあたりで表し, 結果を表-5に示した。

表-5 各調査時期, 各調査地点における好気性従属栄養細菌数

	上流	中流	下流
8月	4.4×10^7	6.6×10^7	7.4×10^7
2月	3.8×10^7	6.5×10^6	2.4×10^7

単位: CFU・mgIL⁻¹

8月は, 上流, 中流, 下流いずれの調査地点においても 10^7 CFU・mgIL⁻¹以上であり, 流下方向に従って細菌数は増加した。2月は, 上流で最も多く, 中流, 下流では減少した。8月は下流において細菌以外の有機物が少なかったためILあたりの細菌数が相対的に多くなったと考えられる。2月は, 水温が低いにも関わらず, 上流における細菌数は8月と大きく変わらなかった。この理由として, 生物膜が薄かったため, 好気性従属栄養細菌が豊富な有機物を資化して増殖し得たと考えられる。

(3) 細菌の窒素資化性に関する検討

芳倉³⁾らは, 河川中の細菌の生存と増殖を規定している大きな環境要因は, 従属栄養細菌の基質となる水中の溶存態有機物の種類と濃度が考えられると述べ, さらに連続培養実験によって有機物の流入負荷が変化すると, 水中の細菌群集の中で変化が生じ, 供給された濃度で最も良く増殖する細菌群が優占することを示した。また, 服部²¹⁾らは, 低栄養感受性の細菌が存在することを示すとともに, ペプトン, プイオンおよびアミノ酸(カザミノ酸)を培地濃度の1%-2%添加することで増殖阻害を示すことを報告している。そこで, 有機態窒素を含む窒素の栄養資化性に関して検討を行った。

作成した有機態窒素培地では有機態窒素であるグルタミン酸ナトリウムを, 無機態窒素培地は無機態窒素であるNH₄Clを唯一の窒素源としている。8月および2月の, 各培地に生育した細菌数を図-5に示した。

8月はいずれの地点においても無機態窒素資化性細菌数が有機態窒素資化性細菌数を上回った。排水中の窒素化合物について検討すると, DO-Nがほとんど検出されなかった下流では有機態窒素資化性細菌数が明らかに少なか

ったこと、さらに $\text{NH}_4\text{-N}$ はいずれの地点においても $1.4 \sim 2.0 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 検出されたことから、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 資化可能な細菌が優占的であったと考えられる。このことから排水中の窒素の形態および濃度が、細菌相に影響を及ぼしたということが示唆された。2月には各培地に出現した細菌数が調査地点によって大きく異なった。すなわち、上流は有機態窒素資化性細菌が、中流、下流は無機態窒素資化性細菌が優占的であり、窒素資化性の異なる細菌相が形成されていることが明らかであった。排水中の窒素化合物について検討すると、図-2b から $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は上流である 0m 地点で $0.51 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、中流である 180m 地点で $2.2 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、下流である 380m 地点で $1.7 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であり、明らかに濃度が異なることから中流以下の地域において硝化が進行しており、この地点において無機態窒素資化性細菌が多いということから、無機態窒素資化性細菌が $\text{NH}_4\text{-N}$ を利用し、その結果 $\text{NO}_3\text{-N}$ が増加したと考えられた。

以上のことより、生物膜内の細菌相の形成には、排水中の炭素化合物、窒素化合物の濃度およびそれらの質が影響していることが示された。

(4) 微小動物相

各調査によって観察された微小動物の個体数および全個体数に占める各属の割合を表-6a, 6b に示した。微小動物の総個体数は8月よりも2月の方が多い傾向にあった。その理由として、2月はILが小さかったため、付着生物膜内における原生動物の数が相対的に増加したものと考えられた。胡ら¹³⁾の報告によれば、生物膜形成実験の結果、温度が低下すると細菌および原生動物の数は顕著に増加し、5℃での細菌数および原生動物数は35℃に比較してそれぞれ10倍以上であったとしている。また、低温では細菌および原生動物の活性低下により、酸素および基質の比消費速度が低下するので、生物膜内部にまで酸素および基質が拡散によって供給されるようになり、反応に関与する細菌および原生動物の数が増加するとしている。胡らはさらに、温度の低下は細菌の増殖速度を低下させるので、剥離による生物膜の更新が抑制され原生動物が生物膜表面に棲息しやすくなることや、温度が低下すれば死滅速度も低下するので、担体表面に棲息する細菌および原生動物の増加をもたらしたとも判断している。2月における本調査結果も、水温は7～8℃と低温であったこと、また上流から下流における生物膜のILがそれぞれ8月の10～20%であったこと、さらに膜の厚さが約1～3mmと薄かったことから、微小動物の総個体数が8月よりも多い傾向にあったと説明できると考えられる。

8月はいずれの調査時期においても全地点で鞭毛虫類の占める割合が高く、特に上流部で顕著であった。これらは有機汚濁が進行した水域において優占化する生物であることから²²⁾、この水路の有機物濃度が高いことを示していた。下流では *Aspidisca* sp., *Trachelophyllum* sp., *Philodina* sp. が観察された。これらは活性汚泥において細菌やその代謝産物から構築されるフロック上を匍匐、または固着する生物であるといわれている²²⁾ ことから、これらが棲息できるような生物膜構造であることが示唆された。*Aspidisca* sp. が出現するときの処理水BODは $15 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下²²⁾ といわれており、また稲森ら²³⁾の人工水路における研究からは、水路に出現する微小後生動物の占める比率は流入有機物濃度が低くなるほど、また浄化能が向上するほど高まったが、特に *Philodina* sp. といったワムシ類、貧毛類の出現頻度が高かった、という結論が得られている。本調査においても、BODは流入部で $39 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、

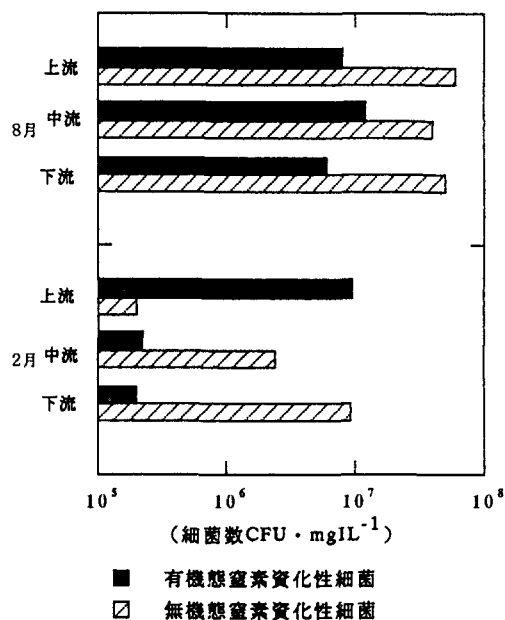


図-5 8月、2月の各調査地点における有機態窒素資化性細菌数および無機態窒素資化性細菌数

下流で $9.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であり、*Philodina* sp.の存在が確認されなかった上流、中流よりは下流の方が有機物濃度が低いということから、原生動物と水質の対応が明らかであった。

2月の各調査地点における付着生物膜内の微小動物相は*Colpidium* sp.が圧倒的に優占化しており、総個体数の88~95%を占めていた。*Colpidium* sp.は低水温時に多く出現する傾向があるが、この理由として須藤²⁴⁾は、*Colpidium* sp.が低水温を好むというよりは、水温の低下によって細菌のプロキュレーションの状態が悪くなり、分散している細菌が多くなった結果、侵入を許してしまうのではないかと推定している。さらに、調査地点による種構成の違いが明らかであり、上流では*Colpidium campylum*しか観察されなかったが、中流、下流では*Colpidium colpoda*も観察され、*Colpidium campylum* : *Colpidium colpoda*の比は中流では3 : 1、下流では1.1 : 1であった。

*C. campylum*はBODが $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下と有機物濃度が比較的低い環境でも、 $30\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以

上の汚濁が進行した環境でも観察され、その出現範囲は広いが、*C. colpoda*はBODが $20\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上の場合に出現することが多く、*C. campylum*と比較して出現範囲はやや狭い²²⁾。このような特徴の違いから、付着生物膜内において、優占順位が決定される何らかの要因があると考えられる。その一つとして食物源である細菌に着目したところ、窒素源の違う培地に生育した細菌数に大きな違いが見られたことと関連性があると考えられた。

3.4 IL、生物膜組成、細菌、原生動物との関係

細菌数は8月、2月で大きな差はあまりないが、微小動物数や種類が大きく異なった。胡ら¹³⁾は、生物膜形成実験の結果、低温ほど生物膜内の全有機物に占める細菌数の比率が大きくなるとしている。すなわち、高温では微生物死滅速度が上がり、微生物として計数されない細胞外高分子や微生物の死骸等の有機物の比率が増加したと考察している。このことから、本調査においても、8月は排水中の未知溶存態炭素化合物が流下に伴い増加したことから、生物膜中には、ILとして測定される代謝産物などの微生物以外の物質が蓄積されていたと考えられる。一方、2月は微生物が生物膜中に占める割合が大きく、また、*Colpidium* sp.は低温時においても細菌を捕食し、ILの低下に寄与していることが明らかになった。

4.まとめ

有機物といった水質要因と、細菌、原生動物、後生動物といった微生物との相互関係に関する知見を得ることを目的として、1996年8月と1997年2月に屋外の生活雑排水が流入する浄化水路において、排水の流下に伴う質的变化と、水路床部に形成された生物膜中微生物に関して、とくに細菌の栄養資化性に着目して検討した結果、以下の結論が得られた。

(1) 排水水質を調べた結果、BOD、DOC、DO-N、溶存態タンパク質、溶存態炭水化合物といった有機物は流下距離に応じて量的に減少した。とくに窒素の形態に着目すると、8月は有機態窒素化合物である溶存態タンパク質は流

表-Ga 各地点に出現した微小動物数および総個体数に対する割合 (6月)

微小動物名	上流		中流		下流	
	個体数	(%)	個体数	(%)	個体数	(%)
動物性鞭毛虫類	770	72	170	35	1300	50
植物性鞭毛虫類	160	15	190	39	650	24
<i>Colpidium</i> sp.	8	0.8	26	5.4		
<i>Paramecium</i> sp.	49	4.6	22	4.5		
<i>Aspidisca</i> sp.	25	2.3	57	12	340	13
<i>Chilodonella</i> sp.			4	0.9		
<i>Litonotus</i> sp.			4	0.9		
<i>Trachelophyllum</i> sp.			4	0.9	150	5.8
<i>Vorticella</i> sp.			13	2.7		
<i>Amoeba</i> sp.	58	5.4			60	2.3
<i>Philodina</i> sp.					120	4.7
総個体数(N・mgIL ⁻¹)	1070	100	491	100	2620	100

表-6b 各地点に出現した微小動物数および総個体数に対する割合 (2月)

微小動物名	上流		中流		下流	
	個体数	(%)	個体数	(%)	個体数	(%)
動物性鞭毛虫類	140	0.5	1300	3.9	2200	2.1
<i>Colpidium campylum</i>	27000	95	23000	69	49000	47
<i>Colpidium colpoda</i>			7600	53	44000	42
<i>Paramecium</i> sp.					200	0.2
<i>Chilodonella</i> sp.					740	0.7
<i>Tetrahymena</i> sp.	1100	3.8	1500	4.5	8900	8.5
<i>Vorticella</i> sp.	210	0.8			220	0.2
総個体数(N・mgIL ⁻¹)	28450	100	33400	100	105260	100

入部において $8.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、下流では検出されなかった。一方 2 月では下流でも残存していた。さらに DOC 成分について、タンパク質由来の炭素化合物の割合が 8 月においては 0~26% と低かったのに対し、2 月では全流域において 22~31% と高いのが特徴的であった。

(2) 付着生物膜の組成に関して IL と T-N との比を検討した結果、8 月は IL : T-N が上流、中流、下流においてそれぞれ 35 : 1, 49 : 1, 68 : 1 と T-N 量が少なく、生物体の組成比とは大きく異なっていることが明らかであった。これに対して、2 月は IL : T-N が上流、中流、下流それぞれ 13 : 1, 9 : 1, 7 : 1, であり、8 月と比較して IL に対して T-N の割合が高かった。この違いは排水の組成に起因すると考え、各調査地点における排水の C/N 比を算出したところ、DOC/DO-N に関して 8 月は 2 月と比較して著しく高いのに対し、DOC/DI-N に関して 8 月と 2 月では大きな差が見られなかった。このことから、排水中の DO-N 濃度が、生物膜内の T-N 量および組成比に影響を及ぼすと考えられた。

(3) 形成された生物膜中の好気性従属栄養細菌数から、8 月は増殖速度が異なる細菌群が多数存在したのに対し、2 月は種数が少ないことが示唆された。また、排水中の DO-N が $0.19 \sim 0.43 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であった 8 月は、いずれの地点においても有機態窒素培地に生育した細菌数よりも無機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かった。一方 2 月は、上流では有機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かったが、中流、下流では無機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かった。中流、下流では $\text{NH}_4\text{-N}$ を利用して硝化を進行させる細菌が多く、その結果として排水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が上昇したと考えられた。これらのことから、窒素の資化性によって細菌相が異なることが明らかになった。

(4) 8 月の調査において、流入排水中の BOD といった有機物濃度が高い上流ほど、鞭毛虫類が優占的であった。また、IL、細菌数、微小動物数から、8 月の調査における生物膜には生物体以外の成分が多く含まれていることが示唆された。一方、2 月の調査においてはいずれの地点においても繊毛虫類の *Colpidium* sp. が総個体数の 88~95% であり、水温や付着生物膜の厚さの影響が示唆された。さらに、各調査地点において出現した *Colpidium* sp. の種が異なったことから食物源である細菌に着目したところ、窒素源の違う培地に生育した細菌数に大きな違いが見られたため、細菌種が *Colpidium* sp. の優占種を決定する要因の一つであると考えられた。

以上のように、8 月と 2 月の 2 回の調査から、水質は水路床部の付着生物膜の現存量や組成に影響を及ぼしており、生物膜中の細菌相は窒素資化性に違いがあることが明らかになり、水質、付着生物膜、細菌、微小動物間の相互関係が示された。本調査は夏冬各 1 回の報告であり測定回数が充分ではないため、さらに調査を行い、精度を高めた解析を行うことが今後の課題である。

謝辞

本研究は、新技術事業団の戦略的基礎研究推進事業「微生物の機能強化による水環境修復技術の確立のための戦略的基礎研」の「腐生連鎖を組み込んだ微生物群集の有機物分解機能強化」班として調査、研究した成果の一部をまとめたものである。水質分析において御協力を頂いた加藤明子氏ほか共同研究者の方に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 田中庸央, 田中進 : 流下に伴う河川水中有機物の化学組成の変化, 水処理技術, Vol.18, No.9, pp.53-59, 1977
- 2) 大久保卓也, 岡田光正, 村上昭彦 : 小水路における生活雑排水の浄化特性, 水環境学会誌, Vol.16, No.4, pp.261-269, 1993
- 3) 芳倉太郎, 石田祐三郎, 角田元 : 汚濁河川における好気性従属栄養細菌の動態, 微生物の生態 11, 学会出版センター, pp.3-13, 東京, 1983
- 4) 堀尾武一, 山下仁平 : タンパク質, 酵素の基礎実験法, 南江堂, pp.411-412, 東京, 1981
- 5) 微生物研究法懇談会編 : 細胞成分の抽出および定量法, 微生物実験法, 講談社, p.265, 東京, 1977
- 6) 日本下水道協会 : 「下水道試験法」, 1984 年版, 東京, 1984

- 7) 渡辺仁治, 山本裕美:人工水路における河川生珪藻被の繊維に伴う構造の変化, 「環境科学」研究報告集, pp.81-92, 1982
- 8) 大橋晶良, 原田秀樹, 桃井清至:生物膜の成長過程と剥離に関する実験的研究, 衛生工学研究論文集, Vol.25, pp.209-220, 1989
- 9) 海野肇, 橋本直樹, 明昌高司:好気性付着生物膜の形成過程, 水質汚濁研究, Vol.9, No.10, pp.643-651, 1986
- 10) 須藤隆一編:環境微生物実験法, p.175, 講談社, 東京, 1988
- 11) 立本英機, 安部郁夫, 藤代光雄, 原史郎, 石橋美幸:下水中の溶解性有機物の組成, 日本化学会誌, No.9, pp.1257-1259, 1986
- 12) R.Y.スタニエ, J.L.イングラム, M.L.ウィリス, P.R.ペインター(共著), 高橋甫, 斎藤日向, 手塚泰彦, 水島昭二, 山口英世(共訳):微生物の増殖に及ぼす環境の影響, pp.189-192, 微生物学(上)原書第5版, 培風館, 東京, 1995
- 13) 胡洪營, 藤江幸一, 浦野紘平:バイオフィルターにおける生物膜の形成と処理水性状に対する温度効果, 水環境学会誌, Vol.16, No.4, pp.270-277, 1993
- 14) 小倉紀雄, 阿部喜也, 小椋和子, 石渡良志, 水谷達夫, 佐藤泰鉄, 松島肇, 片瀬隆雄, 落合正宏, 田所孝生, 高田利彦, 杉原慶一, 中本信忠, 船越真樹, 半谷高久:多摩川水中の有機化合物の化学組成, Jap.J.Limnol., Vol.36, No.1, pp.23-30, 1975
- 15) 立本英機, 石橋美幸, 滝本千穂, 君島克憲, 相川正美, 徳永修三, 安部郁夫:溶解性有機物組成による河川水の評価, 水環境学会誌, Vol.10, pp.84-89, 1993
- 16) 渡辺義人, 西江敬一, 桜井正人:河川の付着微生物による有機物の生成, 用水と廃水, Vol.17, No.6, pp.685-692, 1975
- 17) 稲森悠平, 林紀男, 須藤隆一:水路における浄化とその意義, 国立公害研究所報告, No.97, pp.5-34, 1986
- 18) 千種薫:微生物による水質管理, 産業用水調査会, p.56, 東京, 1996
- 19) 橋治国, 森口明彦, 井上隆信, 木村直人, 大室敏, 河川生物膜の組成と水質浄化能, 衛生工学研究論文集, Vol.24, pp.1-12, 1989
- 20) 森川和子:多摩川中流域における細菌数の季節変動とその環境要因との関係について, Jpn.J.Limnol., Vol.54, No.4, pp.317-327, 1993
- 21) 服部勉, 服部泰子, 太田寛行, 塩田悠賀里:低栄養条件下の微生物, 微生物の生態6, 学会出版センター, pp.57-72, 東京, 1979
- 22) 須藤隆一, 稲森悠平:生物相からみた処理機能の診断, 産業用水調査会, 287pp., 東京, 1983
- 23) 稲森悠平, 林紀男, 須藤隆一:水路における生物相と水質浄化特性, pp.35-62 国立公害研究所報告, No.97, 1986
- 24) 須藤隆一, 廃水処理の生物学, 産業用水調査会, 265 pp., 東京, 1977

要旨

有機物といった水質要因と, 細菌, 原生動物, 後生動物といった微生物との相互関係に関する知見を得ることを目的として, 1996年8月と1997年2月に屋外の生活雑排水が流入する浄化水路において, 排水の流下に伴う質的变化を調査した。さらに, 上流, 中流, 下流の水路床部に付着板を設置して, 形成された生物膜中微生物に関して, とくに細菌の栄養資化性に着目して窒素源の異なる培地を作成して培養を行い, 水質と細菌相の関係について検討した。

排水水質を調べた結果, BOD, DOC, DO-N(溶存態有機態窒素), 溶存態タンパク質, 溶存態炭水化物といった有機物は流下距離に応じて量的に減少した。とくに有機態窒素である溶存態タンパク質は8月は流入部において $8.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であったが, 下流では検出されなかった。一方2月では下流でも残存していた。付着生物膜の組成に

関して IL と T-N との比を検討した結果、排水中の DO-N 濃度が生物膜内の T-N 量および組成比に影響を及ぼしたと考えられた。

排水中の DO-N 濃度が $0.19 \sim 0.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と低かった 8 月は、いずれの地点においても無機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かった。一方 2 月は上流では有機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かったが、中流、下流では無機態窒素培地に生育した細菌数の方が多かった。排水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が中流、下流で高かったことから、中流、下流では $\text{NH}_4\text{-N}$ を利用として硝化を進行させる細菌が多かったと考えられ、排水中の窒素源によって水路床部の生物膜中の細菌相が変化することが明らかとなった。

有機物濃度が高い上流ほど、鞭毛虫類が優占的であった。2 月の調査においてはいずれの地点においても繊毛虫類の *Colpidium* sp. が総個体数の 88～95% であったが、各調査地点において出現した種が異なり、その要因の一つとして食物源である細菌の窒素資化特性の違いが考えられた。

以上のことから、水質は水路床部の付着生物膜の現存量や組成に影響を及ぼしており、さらに生物膜中の細菌相は窒素資化性に違いがあることが明らかになり、水質、付着生物膜、細菌、微小動物間の相互関係が示された。