

東京大学大学院新領域創成科学研究科
社会文化環境学専攻

2020 年度
修 士 論 文

間欠接触酸化法による汚泥減量へのイトミミズの寄与の評価
の試み

An Attempt to Evaluate Contribution of Tubifex to the Reduction
of Sewage Sludge in Intermittent Contact Oxidation Process

2021 年 1 月 18 日提出
指導教員 佐藤 弘泰 教授

宋 翰祥
SONG Hanxiang

目次

1. はじめに.....	4
1.1. 研究背景.....	4
1.2. 研究目的.....	6
1.3. 論文の構成.....	7
2. 既往の知見.....	8
2.1. 下水汚泥処理について.....	8
2.1.1. 下水汚泥処理のプロセス.....	8
2.1.2. 汚泥の減容化について.....	10
2.2. 管路内浄化と間欠接触酸化法について.....	11
2.2.1. 管路内浄化技術について.....	11
2.2.2. 間欠接触酸化法の原理.....	12
2.2.3. 間欠接触酸化法を利用した方法とイトミミズ.....	13
2.2.4. 類似技術の紹介.....	14
2.3. イトミミズについて.....	15
2.3.1. ミミズの分類と特徴.....	15
2.3.2. イトミミズ.....	16
3. 実験について.....	18
3.1. 実験概要.....	19
3.1.1. 用語説明.....	19
3.1.2. 分析手法.....	20
3.1.3. 実験材料.....	20
3.2. イトミミズの室内飼育手法の検討.....	21
3.2.1. 実験目的.....	21
3.2.2. 一回目の飼育実験.....	21
3.2.3. 二回目の飼育実験.....	23
3.2.4. 三回目の飼育実験.....	24
3.3. イトミミズのスポンジ担体からの回収.....	27
3.3.1. 実験目的.....	27
3.3.2. 実験材料と器材.....	27

3.3.3.	実験方法	27
3.3.4.	実験結果及び考察	31
3.4.	イトミミズの定量手法の検討	33
3.4.1.	実験目的	34
3.4.2.	実験材料と器材	34
3.4.3.	実験方法	34
3.4.4.	実験結果及び考察	35
3.5.	イトミミズによる汚泥減量への効果の検討	36
3.5.1.	実験目的	36
3.5.2.	実験材料と器材	37
3.5.3.	実験方法	38
3.5.4.	実験結果及び考察	40
4.	終わりに	48
4.1.	まとめ	48
4.2.	今後の課題	48
5.	参考文献	50
6.	謝辞	52
	付録	53

1. はじめに

1.1. 研究の背景

下水処理プロセスからは必ず汚泥が発生する。そして、発生した汚泥は、適切に処理しなければならない。下水処理において発生する汚泥は主に二つの由来がある。一つは最初沈殿池で沈降した初沈汚泥、そしてもう一つは生物処理から発生する微生物成分がメインの余剰汚泥である。下水処理プロセスでは、水質を改善する水処理工程だけではなく、下水汚泥を処理する汚泥処理の工程を含む。汚泥は濃縮、消化、脱水焼却など一連の処理を経て資源として有効利用されたり、埋め立て処分されたりしている。

下水処理場からの汚泥発生量は下水道の普及につれて徐々に伸び、2000年度には年間400万 m^3 を超えた。また、平成27年度の下水道法改正により、下水汚泥の再生利用への努力が義務化されている。平成29年度においては、年間493万 m^3 超の発生量に達した¹⁾。同年の新下水道ビジョン加速戦略²⁾において、下水汚泥エネルギー化率を平成27年度末の16%から平成32年度末に30%の目標まで引き上げるとともに、概ね20年後には下水道事業における電力消費量の半減を目標とすることが提示された。本加速戦略に基づき、広域的かつ将来的視点を見据えた下水汚泥の処理計画であり、関係市町村で発生する下水汚泥をより広域的に連携し効率的に処理し、有効利用を推進することを目的として、「下水汚泥広域利活用検討マニュアル」³⁾が策定された。しかし、小さな下水処理場では設置できる汚泥処理機器は限られており、有効利用が進めにくい。一方、地方では人口減少に伴い、下水処理施設を利用する人口がさらに減少するとともに、施設の運営に必要な技術者も不足することなどが予測される。ゆえに、社会情勢の変化を踏まえた汚水処理システムの最適化への取組みが求められている。このような背景を踏まえ、施設や自治体の経営実態などにあわせた技術開発及びその導入を検討すべきである。

汚泥処理技術の方向性に関して、主に汚泥の有効利用と下水汚泥発生量の抑制の二つがある。前述した有効利用が困難な地域に対して、下水処理場から発生する余剰汚泥量をコントロールする技術、すなわち、汚泥減容化技術が各メーカ

一から開発されてきた。なお、本論文タイトルは「汚泥減量」としているのに対して、汚泥の量を削減する多くの研究は「汚泥減容」と表現している。どちらも同じような意味の言葉だが、多くの研究は汚泥処理コストを削減するために汚泥の体積を減らすことを中心的な課題としており、そのため「汚泥減容」を用いている。国土交通省では、新技術の研究開発及び実用化を加速することにより、平成 23 年度から下水道革新的技術実証事業（B-DASH プロジェクト）を実施しており、その中にも余剰汚泥を抑制する技術が検討されている。

一方、東京大学大学院新領域創成科学研究科の佐藤弘泰研究室では、管路内浄化技術の一つである間欠接触酸化法を用い、実用化へ向けて下水中の各環境負荷に対する処理効果を評価し研究を行なっている。間欠接触酸化法を用いた管路内浄化では、下水管路底部にスポンジ担体を設置する。スポンジ担体は下水の流量の多い時には有機物を含む下水と、また、流量が少なくなり水面上に露出すると空気中の酸素と相互に接触する。担体中に存在する微生物は下水に触れているときに下水中の有機物を摂取・蓄積し、また、水面上に露出すると空気中から酸素が供給され、蓄積した有機物を酸化分解し、下水を浄化する。間欠接触酸化法による下水浄化は、エネルギーの利用量削減など様々なメリットが期待されている。本研究室は下水処理場に実験室規模で下水処理装置を設置し、実下水の連続処理実験を行なっている。その成果の一部として、スポンジ担体に存在する微生物は水質改善に効果があるにもかかわらず、汚泥の量も目視で消えたとの報告があった。さらに、小林(2020)⁴⁾が間欠接触酸化法による汚泥減容の効果を確認・定量化した上で、汚泥減量装置として活用できる可能性があることを述べた。また、汚泥減量が好氣的に進行すること、そして、反応タンク内に高等動物であるイトミミズが出現したことを報告した。

生物による排水処理過程では、水質の浄化に伴い生物の増殖にともない汚泥が発生する。一連の浄化に寄与する微生物は細菌、菌類、原生動物、後生動物など多岐にわたり、複雑な生態系を形成している。排水中の有機成分を摂取するのが細菌類及び菌類で、これらを捕食するのが輪虫類や貧毛類などの微小動物である。このように、食物連鎖が形成して高次になるほど呼吸作用で損失するエネ

ルギーが多くなり、最終的にバイオマス量の減少に貢献する。この共存した安定状態を維持することで発生汚泥の減量化と水質浄化を効果的に行うことが可能であると考えられる。なお、このような食物連鎖による汚泥減容のメカニズムに基づいて開発された技術はすでに存在する。例えば、反応タンクの多段化と特殊繊維担体の利用により、余剰汚泥発生量を大幅に削減することで、汚泥処理設備のダウンサイジングが可能な水処理技術が報告されている。⁵⁾

小林(2020)⁴⁾の実験装置で確認できた汚泥減量現象については、微生物の自己酸化と食物連鎖によるものと考えられる。特にイトミミズが汚泥減量に大きな寄与を持っていた可能性がある。しかし、それは現時点では仮説に過ぎない。また、下水処理に出現するイトミミズと汚泥減量に関する研究は、非常に限られている。

1.2. 研究目的

1.1. で論述した背景を踏まえ、間欠接触酸化法を利用した管路内浄化装置で現れた汚泥減量と出現したイトミミズの関連性を明らかにしたい。そのため、イトミミズの汚泥減量への寄与とその定量化を本研究の目的とした。また、この目的を達成するためにはイトミミズの量を測定する必要がある。そこで、イトミミズの量を測定する方法の開発も行なった。なお、本研究の場合は汚泥の体積の減少ではなく汚泥の分解による質量の減少に着目するため、「減容」ではなく「減量」を用いることとする。

既存の汚泥減量の研究の中にはイトミミズを用いたものもあり、そうした研究ではイトミミズが定量され報告されている。しかし、それら研究で発生するイトミミズの量は大量である。一方、本研究では装置の都合上、大量のイトミミズを得ることが難しい。そこで、本研究において、小規模条件下でのイトミミズの定量化手法を提案することが一つの目的としている。一方、生物学的処理プロセスにおける余剰汚泥の生産原理によれば、汚泥減量への可能なアプローチは微生物の自己酸化作用、細胞溶解による強化された潜在的増殖力や微小動物の捕食などが挙げられる。活性汚泥処理法では、原生動物の密度が高いが、

分散した細菌のみ摂食するから、原生動物による汚泥の減量が顕著ではない。顕微鏡による活性汚泥の調査では観察されたイトミミズは食物連鎖の頂点に立つため、汚泥減量へ寄与する可能性が高い。本研究において、イトミミズの実験室飼育手法の検討及びスポンジ担体からのイトミミズ回収手法の検討などを含め、イトミミズの汚泥減量への寄与を評価することを試みる。

1.3. 本論文の構成

本研究の目的に基づき、本論文の構成は以下のようにした。

第1章では本研究の研究背景及び目的について述べた。第2章において、既存の汚泥処理技術を紹介した上で、間欠接触酸化法（ICOP）とそれを用いた汚泥減量およびイトミミズに関する既往の知見をまとめる。続いて、第3章ではイトミミズを中心に設計した四つの実験、すなわち、①イトミミズの室内飼育の実験、②イトミミズの担体からの回収実験、③イトミミズの定量化実験、④イトミミズによる汚泥減容への効果の実験、を報告するとともに、それら実験の結果について考察する。第4章では本研究を通じて得た結論をまとめ、また、今後の課題を述べる。

2. 既往の知見

本研究は下水処理の過程で生じる汚泥の減容に関するものである。そこで、この章では、2.1.において今日用いられている汚泥処理のプロセスと汚泥減容化の手法について述べる。また、本研究は間欠接触酸化法を利用して汚泥の減容をはかる技術のメカニズムに焦点を当てようというものである。そこで、節2.2では間欠接触酸化法及びそれを用いた・・・（小林君の研究はどこに入る？）管路内浄化技術を説明した上で類似技術を紹介する。最後に、イトミミズに関する知識を補充するとともに更なる認識が必要だと考え、節2.3でイトミミズに関する知見をまとめる。

2.1. 下水汚泥処理について

2.1.1. 汚泥処理のプロセス

一般的な下水処理は、次のように行われる。

下水処理場に流入する下水はスクリーンや沈砂池で大きなごみと砂を除去する。その後、最初沈殿池により下水に含まれる浮遊固形物を沈殿させて除去する。この段階で生じた汚泥は初沈汚泥という。最初沈殿池の上澄みは下水処理場に流入してきた下水よりはきれいだが、まだ環境に悪影響を与えずに放流できるほど清浄ではない。そこで生物処理に供する。代表的な生物処理は活性汚泥処理であり、今日の下水処理の核心プロセスとも言える。最初沈殿池に活性汚泥（下水を浄化する活性を持つ微生物が凝集したフロックが含まれる泥）を加え、生物反応槽において空気を送り込み酸素を供給する。下水に含まれる有機物の一部は微生物によって酸化分解され、CO₂と水になり、また、一部は微生物によって同化的に利用され、新たな微生物体となる。反応タンクにおいて処理された水は最終沈殿池へ流れ込み、活性汚泥を沈殿させ、清澄になった処理水を得る。処理水は塩素消毒され、放流される。一方、最終沈殿池で沈殿した汚泥の大部分は返送汚泥として生物反応槽に返送されるが、一部は余剰汚泥として除去され、汚泥処理に送られる。余剰汚泥は、生物処理において微生物が増殖した分を間引くものである。

以上のように、下水処理では汚泥が発生する。汚泥は最初沈殿池で沈殿分離された初沈汚泥と生物処理で発生する余剰汚泥からなる。初沈汚泥や余剰汚泥は99%以上は水分であり、固形物の濃度は1%にも満たない。そこで、汚泥処理の操作の大きな目的の一つは、水分を除去し、汚泥の体積を減らすこととなる。集まった下水汚泥はまず濃縮される。汚泥濃縮には重力濃縮と遠心濃縮の2種類がある。重力濃縮は沈殿池とよく似た装置で行われるが、沈殿よりも圧密によって濃縮する。一方、遠心濃縮は遠心分離の原理で汚泥の濃度を高める。この結果、汚泥の濃度は2%~3%程度になる。この後、処理場によっては濃縮された汚泥は、消化タンクに運ばれてメタン発酵により処理される。この消化段階で発生するメタンガスは、多くの場合消化タンク加温用の燃料として再利用され、また、処理場によっては発電に利用されている場合もある。濃縮汚泥や消化後の汚泥は脱水機によってさらに水分を除去する。脱水により、含水率は80%程度となる。脱水後の汚泥は、湿重量は脱水前の約1/7、容積ではおよそ1/5まで減量化されている。⁶⁾多くの場合脱水された汚泥は、そのまま、あるいは焼却を経て、セメント原料として活用されたり土木建設業の建設資材とされたりする。また、脱水汚泥をコンポスト化し、緑農地利用する場合もある。要するに、最終的に汚泥の資源化を図る。しかし、依然として埋め立て処分される部分もある。

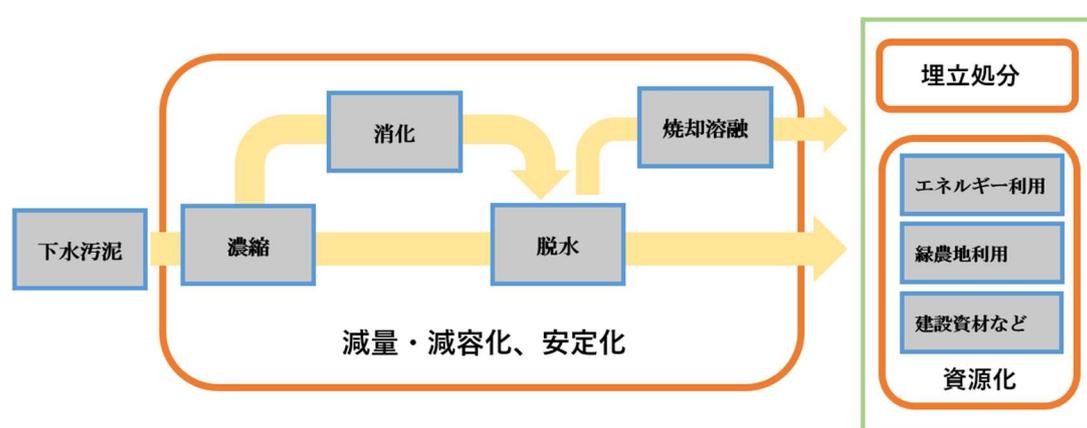


図1 一般的汚泥処理プロセス

汚泥処理は多くの工程を有し、そのため小さな下水処理場では汚泥処理装置の全てを持つことは難しい。そこで、脱水までは処理場で行い、脱水汚泥はト

ラックで汚泥処理施設を有する大きな下水処理場に搬送するという場合が少なくない。しかし、さらに小規模の処理場では脱水機器さえ設けない場合がある。その場合は発生した汚泥は一時的に貯留し、移動脱水車で定期的に脱水・回収するか、または、バキュームカーを用いて脱水処理のできる施設まで搬送することとなる。輸送すべき汚泥の量は大幅に削減できる反面、移動脱水車はそのものが高価である。一方、固形物濃度が数%程度の貯留汚泥をバキュームカーを用いて輸送するのは、輸送コストが高くなりがちである。従って、汚泥の発生量抑制技術の導入が望ましくなる。

2.1.2. 汚泥の減容化について

小規模の下水処理場では汚泥の発生量を少なくするため最初沈澱池を省略する場合が多い。その場合には、発生する下水汚泥は活性汚泥法由来の有機性汚泥が主体となる。余剰汚泥の発生量を抑制することができれば、下水汚泥の量も減少する。汚泥減容化技術が求められ、各メーカーからさまざまな技術が開発されている。これらは物理化学的手法、化学的手法、生物的手法などの一つまたは複数を組み合わせている。また、その中の多くは余剰汚泥として取り除いた微生物の細胞膜・細胞壁を破壊し、さらに破壊処理後の汚泥を生物反応タンクにもどし、活性汚泥反応槽の微生物の働きにより無機化することで汚泥を減容する方法である。各種汚泥減容技術の違いは主に余剰汚泥（微生物）の細胞膜・細胞壁を破壊する方法の違いである。また、タンパク質変性へ導く方法も開発された。生物的減容化法においては、微小動物の被食と捕食による汚泥減容効果が示唆されている。食物連鎖法は、いわゆる生態パラミッドといわれるように、一次生産から高次生産に至る食物連鎖の過程でバイオマス量が減少していくことを活かした方法である。多種多様な生物の存在によってさまざまなレベルでの食物連鎖が同時進行し、有機物が水と炭酸ガスにまで分解され、結果として汚泥が減容される。汚泥の減容化では、細菌類 - 原生動物 - 後生動物の健全な食物連鎖をつくることによって効率的な汚泥の減容化を図ろうとするものである。この原理を応用した減容化法として、二つの処理槽を直列に配

置し、第一槽で増殖した分散細菌群を、ワムシ類などのろ過摂食性の微小動物による凝集フロックを保持する第二槽に供給する方法がある。⁸⁾

表1 主な汚泥減容技術とその仕組み（松本（2007））⁷⁾

分類	方法	内容・キーワード
化学的減容化法	オゾン法	オゾンの酸化力
	酵素法	酵素の分泌による細胞壁の可溶化
	アルカリ法	アルカリによるタンパク質変性
物理化学的減容化法	機械的分解法	ビーズミルによる物理的破砕
	熱分解法	熱によるタンパク質変性
	電解酸化法	次亜塩素酸の酸化力
	水熱反応法	超臨界水、亜超臨界水の水熱反応
生物的減容化法	自己酸化法	長時間曝気による自己酸化分解
	食物連鎖法	異化代謝、微生物間の被食・捕食

2.2. 管路内浄化と間欠接触酸化法について

ここでは管路内浄化技術、およびそこで用いられる浄化メカニズムの一つである間欠接触酸化法について、特にイトミミズの発生との関連から概説する。また、類似の技術として、傾斜土槽法についても説明する。

2.2.1. 管路内浄化技術について

一般的に下水管に期待される役割は下水の輸送である。しかし、管路内では自浄作用もわずかだがはたらき、有機物の一部が酸化分解される。そこで、管路内の自浄作用を促進し、管内で有機物を酸化分解しようという研究が行われている。

松坂ら⁹⁾は下水管内に仕切りを設け、その下部に微生物担体となるスポンジを設置する二層構造の管を考案した。下水は仕切りの上から導入され、流量が多い時には仕切りに開けられた穴から下段に水が漏出する。これにより、下水が落下する時に管内空気中の酸素が下水に溶解するのが促進される。また、下水の流量が少ない時には下水は上段のみを流下するので下段に設置された微生

物担体は空気に晒される。そして、下水の流量が多くなり、上段から下段に下水が落下するようになると、微生物担体は下水と接触する。そのため、間欠接触酸化が起きることとなる。彼らは汚水処理場への流入下水を採取し回分実験を行って一定の時間間隔で循環水の水質を分析した。結果として、浄化管 1 m あたりの BOD 除去速度は 20 g/day 程度の処理効果があることを明らかにした。

微生物担体となるスポンジを管底に敷き、下水を間欠的に流下させることで下水の浄化を行おうという研究もなされている。Sotelo et al. (2018)は、間欠接触酸化法を用いて脂質を分解する際、酸素濃度の増加により分解速度が高まることを報告した。下水管の上流部においては、水流が小さくて水量の変動が大きい。間欠接触酸化法の応用にふさわしい条件が備えたため、Lyu (2019)¹¹⁾は下水道の上流部における間欠接触酸化の適応性について検討した。十分な干出時間があれば下水の流下時間が短くても有機物を安定的に除去できることを報告した。

これら研究から、管路内浄化を積極的に導入することで、家庭から排出される有機物汚濁負荷のかなりの部分（半分以上）を管路内浄化で除去できるとの試算がなされている。

2.2.2. 間欠接触酸化法の原理

本研究の背景の一つである間欠接触酸化法は、1章で述べたように、下水流量の変動に応じて、管路内に設置した微生物担体が下水と空気に交互に晒されることで、無曝気で下水中の有機成分を酸化分解し除去する方法である。前項で紹介した管路内浄化技術の開発の中から生まれてきた。間欠接触酸化法における有機物除去のメカニズムは、図2に示すように概ね次のように説明されると考えられている。

- 1、微生物担体が下水中に浸漬されている間、担体に付着している微生物が下水中に含まれる有機物を摂取する。
- 2、下水の水流が乏しい時、担体は空気に晒される。そのため担体には空気か

ら酸素が供給され、微生物はその酸素を用いて有機物を分解することによってエネルギーを獲得して増殖する。

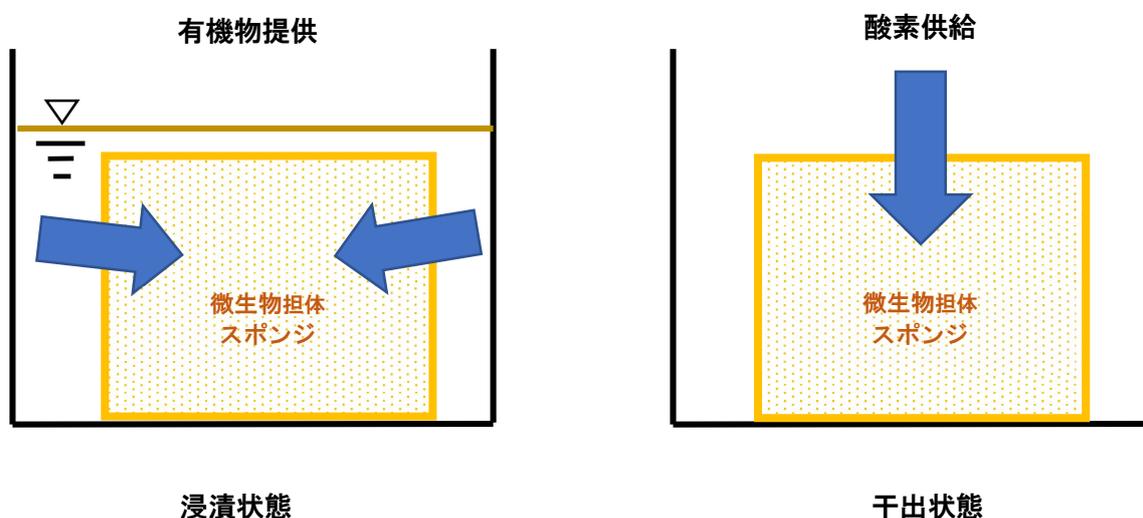


図 2 間欠接触酸化法の原理

2.2.3. 間欠接触酸化法を利用した方法とイトミミズ

松坂ら⁹⁾は管路内浄化実験装置の運転終了後、浄化管内のスポンジ担体を取り出して、内部の状況を確認したところ、担体には汚泥だけではなく、イトミミズが大量に発生したことがわかった。澤野井(2016)¹⁰⁾は松坂ら⁹⁾が用いた浄化管に発生したイトミミズを含む無脊椎動物の環境 DNA を用いた検出手法を提案した。小林(2019)⁴⁾は間欠接触酸化法を利用した下水処理装置(図3)から回収したスポンジ担体の内外にイトミミズを大量に見つけた。また、間欠接触酸化法により余剰汚泥を減量できるのではないかと考え、余剰汚泥を基質として間欠接触酸化装置を運転し、実際に汚泥が分解されることを確認した。また、その際にもイトミミズがスポンジ内に大量に発生したことを観察し、汚泥減量化に寄与している可能性があるとしたが、検証には至らなかった。

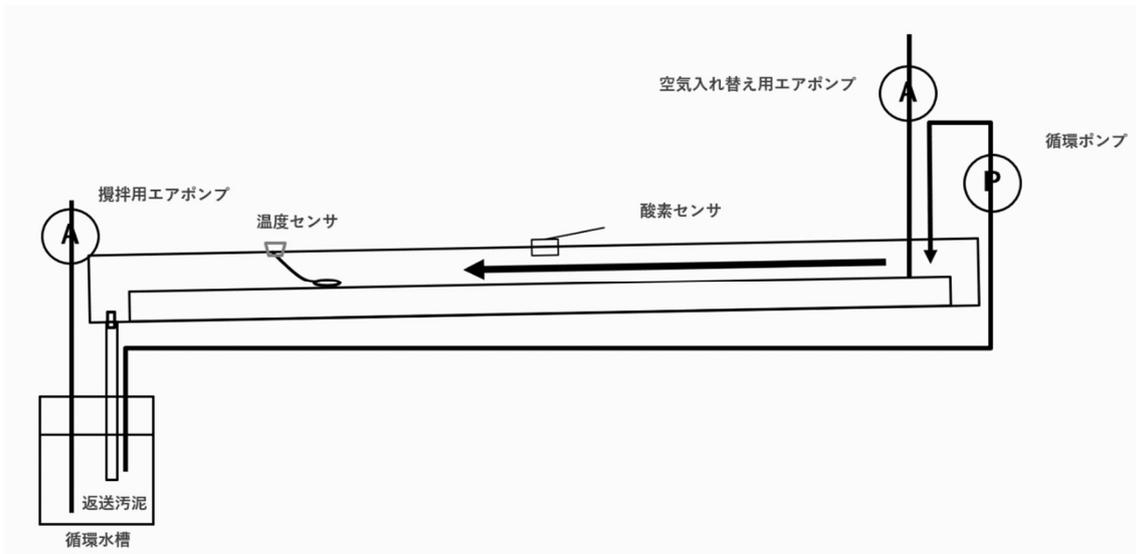


図3 間欠接触酸化法を用いた実験室規模装置概略図 (小林(2019))⁴⁾

2.2.4. 類似技術の紹介

生地¹²⁾が開発した傾斜土層法は底が傾斜する薄い箱型の容器に土壌を充填し、生活雑排水を土壌に浸透流下させて水質を浄化する方法である。土壌表面の微生物活性が高いと考え土壌を10cmに薄層化し、さらに、底部には遮水板を設置し、排水の滞留時間を確保した。遮水板は水流の偏流も防ぐ効果がある。処理効果を上げるために、傾斜土層は積み重ねて多段式にするのも特徴である。土壌はフィルターの効果をも有し、物理的なろ過作用と吸着作用が働く。土壌に存在する微生物や微小動物は汚濁物質を分解し、処理水の水質を改良できる。生地らの研究¹²⁾ではBODと窒素・リンが同時に浄化できることを報告した。間欠接触酸化を用いた処理方法との類似点は以下のようにまとめられる：

1) この方法における土壌の作用はスポンジ担体とほぼ同じで、特に微生物に生息環境を提供し、餌としての汚濁成分を吸着する機能である。また、水流の滞留時間に工夫したことも似る。

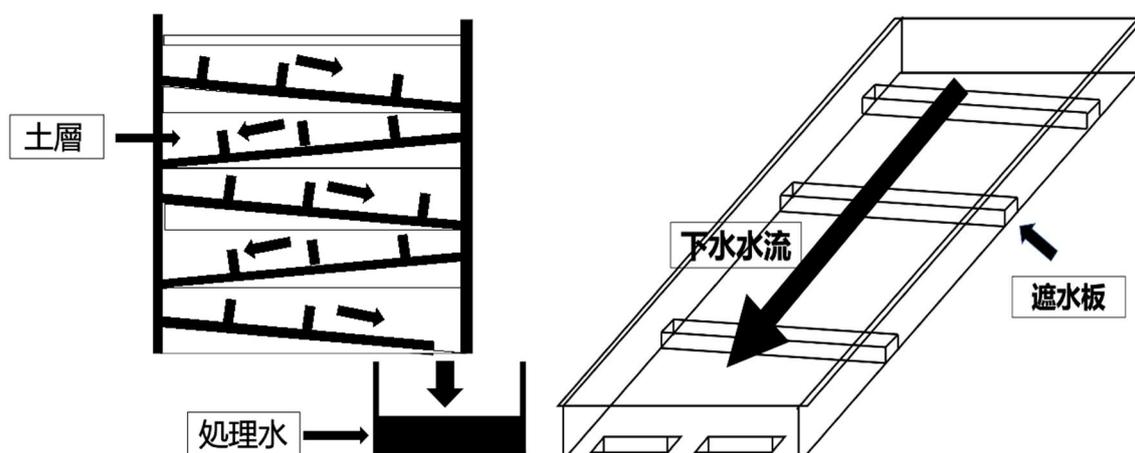


図4 傾斜土層法のイメージ図（生地）¹²⁾

2) 傾斜土層法も微生物の酸化分解能力を用いて、エアレーションに必要な電力が不要であり、運転コストが安価で、下水道の未整備もしくは事業体の経営実態が厳しい地域に対して、技術の実用化が期待される。

2.3. イトミミズについて

本節ではイトミミズに関する既往の知見をまとめた。渡辺¹³⁾や栗原¹⁴⁾が中心として研究した土壌中のミミズの分類や特徴などを含め、この節ではそれらを主に引用して述べる。

2.3.1. ミミズの分類と特徴

ミミズの分類や特徴については渡辺が著作した「ミミズ」¹³⁾に詳しくまとめられている。ここではその概要を述べる。

ミミズは無脊椎動物の中の環形動物門貧毛類に分類される。貧毛類の生息場所は水中、泥中または土壌や廃棄物中などである。ミミズは生息環境によって陸生ミミズと水生ミミズに分けられる。イトミミズは汚濁した湖沼、下水溝、排水処理施設の生物膜や活性汚泥中に棲み、その体長は数mmと小さい。一方、フトミミズはサイズが大きく、体長は30 cmに達するものもある。ミミズは地球上に数千種類存在し、全世界に分布している。ミミズは自分の体の中に砂嚢を持ち、食物を選んだり咀嚼したりする必要がない。そのため、口に入るサイ

ズのものであれば選ばずに食い込む。デンプン、糖類、タンパク質、脂肪などあらゆる種類の食物を摂取する。¹⁵⁾ 従って、ミミズがプロテアーゼやリパーゼなどの消化酵素を持っていることが知られている。また、ツリミミズは特にデンプンやセルロース等の炭水化物を積極的に摂取する傾向があり、強力な加水分解酵素を合成することが報告されている。¹⁵⁾ また、ミミズは家庭用コンポストなどの有機性廃棄物の処理に用いられて、身近なエコ活動に利用されている。生息環境について許容範囲が広い、回復力及び再生力が高くて入手しやすいなど、様々な特徴とメリットが示されている。

2.3.2. イトミミズ

イトミミズは分類学的に貧毛類 (Oligochaeta)、イトミミズ科 (Tubificidae) に属するミミズ類の総称である。日本に生息するイトミミズは、

- ① イトミミズ (*Tubifex hattai*)
- ② ユリミミズ (*Limnodrilus socialis*)
- ③ ウイリーイトミミズ (*L. willeyi*)
- ④ モトムライトミミズ (*L. motomurai*)
- ⑤ フトゲユリミミズ (*L. grandisetosus*)
- ⑥ シロイトミミズ (*Rhizodrilus limosus*)
- ⑦ エラミミズ (*Branchiura sowerbyi*)
- ⑧ カワムラミミズ (*Kawamura japonicus*)

の5属8種である。¹⁶⁾

また、イトミミズの生態的寿命は1~2年で、渇水期には水田30 cmの下層の砂質部に移動して塊をつくって生息する。なお、水田の泥部は生物の酸素呼吸により酸素が消費されるので、その下にある泥は著しく酸素不足になって黒灰色を現している。このような場所は還元層とも呼ばれ、イトミミズ以外の動植物はほとんど見つからない。イトミミズのいる水田ではEh (ORP: 酸化還元電位) は低下し、pHは上昇し、雑草などの生育を抑制する。

下水汚泥処理の応用において、平成 29 年に那賀浄化センターにてイトミミズを利用した汚泥減容化実証実験（パイル担体活性汚泥法と呼ばれる技術開発の検証実験）¹⁷⁾ が行われた。既設の活性汚泥槽にパイル担体を設置することで、イトミミズが多量に保持され、微生物の種が増えることにつれて多様な微生物による処理が行われることで排水処理の安定化につながり、また、活性汚泥槽内の食物連鎖が活性化され、発生する余剰汚泥を大幅に削減することができたと報告された。食品加工工場での実証実験の報告によると、約 83%の余剰汚泥削減効果があり、1000 万円以上のコスト削減効果があったとの良好な結果であった。¹⁷⁾ 第一章および 2.2.2 で述べたように、小林（2019）⁴⁾ の研究では、間欠接触酸化法を用いた汚泥減量プロセスにおいてイトミミズが大量に出現した。汚泥減量にスポンジ担体に出現したイトミミズの関係は明らかにされていないが、イトミミズが汚泥減量に寄与している可能性がある。

3. 実験について

イトミミズの汚泥減量への効果を明らかにするために、以下の四つの実験をおこなった。

実験1：イトミミズの室内飼育実験

実験2：イトミミズのスポンジからの回収実験

実験3：イトミミズの定量化実験

実験4：イトミミズの汚泥減量への効果の実験

まず、実験に用いるイトミミズの量を確保する必要がある。継続的にイトミミズの供給できる体制を確立したいため、**実験1**を設けた。また、本研究の目的の一つであるスポンジ担体に生息するイトミミズの定量化について、二つのステップに分けて考えた。まず、**実験2**はスポンジ担体中に存在するイトミミズをできる限り漏れなく回収するためのものである。また、**実験3**はイトミミズの量を定量化する手法を検討したものであり、スポンジから取り出した後のイトミミズの量を想定しておこなった。最後に、**実験4**は、イトミミズによる汚泥減量への効果を明らかにしようというものである。

四つの実験の関係を図5にしめした。

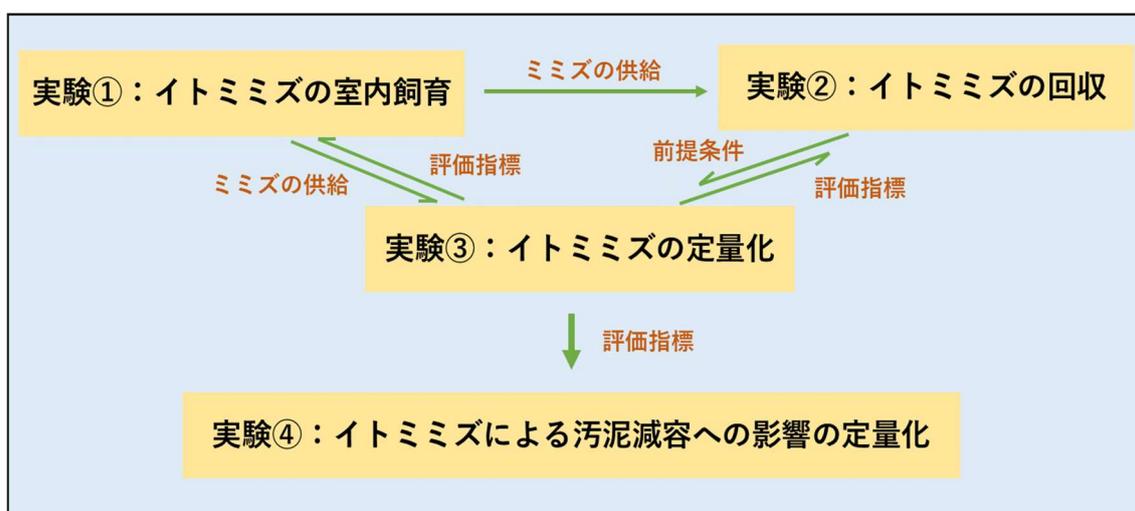


図5 本研究における各実験の内部関係

実験1は、実験2、実験3及び実験4で使用される実験材料としてのイトミミズを得ることを目的として実施した。しかし、結果的には培養条件を確立す

ることはできなかった。そのため、実験 2 の一部を除き、実験 2 以下の実験は市販のイトミミズを入手して実施した。

本章では、3.1 で全ての実験に共通する事項を、3.2 では実験①、3.3 では実験②、3.4 では実験③、そして 3.5 で実験④について、述べる。

3.1. 実験共通項目

本節では、実験①～④に共通する実験材料および測定法について述べる。また、用語についても説明する。

3.1.1. 用語説明

SS (懸濁物質)、MLSS (活性汚泥混合液懸濁物質)

SS (Suspended Solids) とは水中の懸濁している不溶解性物質のことをいい、場合によって呼び方が異なる。環境基準や排水基準では浮遊物質という。

MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids) は活性汚泥混合液中に存在する SS の略称である。

VSS (強熱減量)、MLVSS (活性汚泥混合液強熱減量)

VSS (Volatile Suspended Solids) は SS に含まれる強熱減量のことをいい、SS 測定後の蒸発残留物を 600°C で強熱したときに揮散する物質をいう。有機物質の含有量の指標である。MLVSS (Mixed Liquor Volatile Suspended Solids) は、活性汚泥混合液中に存在する VS のことである。

COD (化学的酸素要求量)

水中の有機物濃度を表す指標のひとつであり、試料中の有機物を化学酸化剤を用いて化学反応による酸素要求量で表すものである。酸化剤として、日本では過マンガン酸カリウムを用いる方法が公定法として用いられているが、本研究では世界的に広く用いられており酸化力が強く理論的酸素要求量に近い値が得られる重クロム酸を酸化剤とする COD を用いた。本実験での有機物量と添加した汚泥量は COD ベースで示すことがある。測定した VS の組成は活性汚泥の近似組成 ($C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$) とし、完全酸化を前提として COD に換算した。VS と COD の重量換算比例は約 1 : 1.45 である。

3.1.2 分析手法

汚泥濃度

本研究では汚泥濃度は VSS 濃度として測定した。測定方法は下水試験方法¹⁸⁾の活性汚泥試験を参考して行った。本研究では以下の手順で分析した。

1. 試料を 50ml 取って 50ml のチューブに入れる。遠心分離機で 3000rpm (g) で 10 分程遠心分離を行い、上澄み水を除去する。
2. 恒量 (a mg) 測定済みの蒸発皿に、1. の操作でチューブの底に残った沈殿物を少量の超純水で洗い入れ、105°C で 2 時間乾燥させる。その後デシケーターで放冷して質量を測る。乾燥後、乾燥した汚泥を含む蒸発皿の質量 (b mg) を測定し、下記の式で SS (mg/L) を算出する。

$$SS(mg/L) = (b - a) \times \frac{1000}{\text{試料 ml (50)}}$$

3. 操作 2 の乾燥皿を 600°C, 30 分の条件下で強熱灰化してから放冷する。その後、残った灰分を含む蒸発皿の質量 (c) を測定する。VSS 濃度は下記の式で求める。

$$VSS(mg/L) = (b - c) \times \frac{1000}{\text{試料 ml (50)}}$$

3.1.3. 実験材料

本研究で使用した汚泥は千葉県市川市菅野終末処理場から採取した返送汚泥である。返送汚泥の MLVSS 濃度は概ね 5 g/L 程度であった。

本研究で使用するイトミミズは主に以下の三種類である：(ア) 菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置のスポンジに生息するイトミミズ、(イ) キャンパス北部の側溝から獲得した自然のイトミミズ、(ウ) 市販のイトミミズ (フィッシュジャパン、国産イトミミズ)。なお、(ア) の装置は文献 4) に記載されているのとほぼ同じ条件で実下水を用いて運転されている装置である。

本研究で使ったスポンジは、アキレス株式会社製の連続気泡のポリウレタンスポンジBCD-2（空隙率96%、14セル/25mm）である。実験によって、新品を用いた場合、および、菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置から回収してきた汚泥が付着したミミズも生息しているスポンジを用いた場合、汚泥等が付着したスポンジを洗浄してから用いた場合がある。

3.2. イトミミズの室内飼育手法の検討

本節において、汚泥を用いてイトミミズの室内飼育手法を検討する。本節では三回の実験をおこなった。

3.2.1. 実験目的

後述する実験に必要な材料であるイトミミズを、余剰汚泥を用いて繁殖させ、以降の実験のために供することができるようにする。または、余剰汚泥を用いて実験室内でイトミミズを生産するための方法を検討する。

3.2.2. 一回目の飼育実験（7/7-7/16）

1) 実験材料と器材

本実験で用いたイトミミズ、スポンジ、および容器は以下の通りである。

a、イトミミズ：

菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置⁴⁾のスポンジに生息するイトミミズを用いた。

b、スポンジ：

菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置⁴⁾で使用されたスポンジを、以下のサイズに切断して使用した。

S1：70 mm×100 mm×10 mm（体積 70mL）、S2：70 mm×50 mm×10 mm（体積 35mL）

c. 容器：

ポリプロピレン製の72 mm（幅）×295 mm（長さ）×75 mm（高さ）の食品用タッパー（サナタ精工株式会社製）にb.のスポンジを入れ、培養器として用いた。なお、容器内部の酸素が不足することを避けるため、培養中、蓋はしなかった。

2) 実験方法

室温の状態です1およびS2を容器に入れ、静置して10日間ほど培養した。この間、一日おきに返送汚泥20mLの返送汚泥をいれた。この場合、スポンジ体積あたりの汚泥負荷は、0.476 mg/(ml・day)となる。なお、返送汚泥を添加するにあたって、容器内のスポンジ外にある水分(汚泥まじりの水分)を除去した。

3) 実験結果および考察

最初は匹数が増え、長さも伸びたように見えた。しかし、その後死ぬものが増え、最後にはすべて死んでしまった。なお、この時図6に示すようにスポンジ表面は灰褐色で汚泥が好気条件に保たれていたと思われたが、底層部は黒くなっており、嫌気になって硫化物が生成していたことが示唆された。

装置内部が嫌気になるのを避けるため、この実験では蓋をしなかったが、それでもスポンジ内部は嫌気になってしまった。培養が失敗した理由は、酸素不足で嫌気状態になったためであると考えた。酸素不足となった要因として、①汚泥の投与量が過剰だったこと、②容器を静置していたためスポンジの表面は酸素が供給され好氣的に保たれたが、スポンジ内部にはほとんど酸素が供給されなかった、の二つがあげられた。

一方、水分の蒸発を避けるために、また、ロショウバエの飛散を防ぐために、蓋をしたほうが良いとの指摘も受けた。そこで、2回目以降の飼育実験では蓋に小さな穴を開け、さらにその穴をキムワイプで覆うことで、通気性を保ちつつ水分の蒸発やロショウバエの飛散を防ぐことにした。

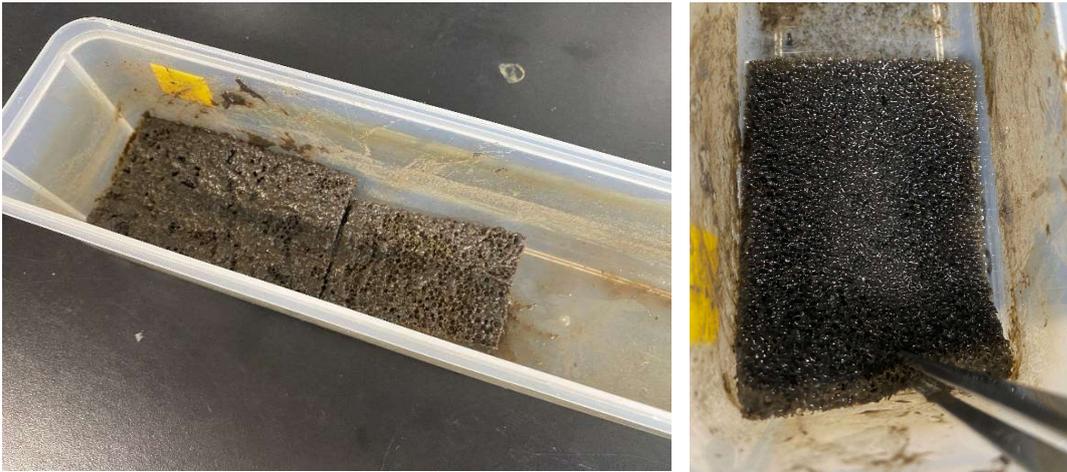


図6 一回目の実験 (7/7-7/16)

3.2.3. 二回目の飼育実験 (7/29-8/28)

一回目の実験を通じて、スポンジの底部における嫌気性が確認したため、本実験では添加する汚泥負荷量を減らすほか、シェーカーを用いてスポンジ底部酸素供給状況の改善を図った。本実験で用いたイトミミズ、スポンジ、および容器は以下の通りである。

1) 実験材料と器材

a、イトミミズ：

菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置⁴⁾のスポンジに生息するイトミミズ。

b、スポンジ：

新品のスポンジを以下のサイズに切断して用いた。

①スポンジ 6 枚： S1～S4 70 mm×100 mm×5 mm (底面積 7000 mm²)

S5、S6 70 mm×200 mm×5 mm (底面積 14000 mm²)

スポンジ総底面積：56000 mm²

②スポンジ 1 枚： P1 150 mm×200 mm×10 mm (底面積 30000 mm²)

スポンジ総底面積：30000 mm²

③スポンジ 12 枚： Q1～Q12 50 mm×50 mm×10 mm (底面積 2500 mm²)

スポンジ総底面積：30000 mm²

c. 容器：

以下のサイズの三つ容器（タッパー）を用いた。M1 にはスポンジ片 S1～S6 を、M2 にはスポンジ片 P1 を、M3 にはスポンジ片 Q1～Q12 を設置した。また、それぞれのタッパーの蓋には直径 2cm 程度の円形の穴を 4 箇所開け、また、穴にキムワイプで覆いをした。

容器 M1 (S1～S6) : 285 mm×355 mm×115 mm

容器 M2 (P1) : 193 mm×274 mm×63 mm

容器 M3 (Q1～Q12) : 193 mm×274 mm×63 mm

2) 実験方法

各容器中のスポンジを前処理した。それぞれに遠心分離を行った 200ml の返送汚泥をスポンジ枚数ごとに汚泥を敷いた。前処理ののち、M2 については次のように培養した。リアクター内のスポンジを取ってから容器 M2 の P1 に 24 時間置いて、イトミミズを P1 に植種した。実際、P1 に複数のイトミミズが移行したことを確認した。そして、蓋をして、20min⁻¹ のシェーカーに乗せ (25°C) で培養を行った。培養中、1 日あたり返送汚泥 20mL を添加した。汚泥負荷は 0.417 mg/(ml・day) に相当する。1 回目の培養時と同様、汚泥を新たに添加する前に、スポンジ外の余計な水分（汚泥を含む）を除去した。

一方 M1 および M3 はイトミミズの植種はせず、また、返送汚泥の添加もせず、そのまま 1 ヶ月ほど放置した。

3) 実験結果および考察

リアクター内のスポンジから移るイトミミズが本来は少なかった。最後、M2 にはイトミミズが発見していなく、死んでしまったと推測できる。しかし、8/18 から薄いほうのスポンジを入れた M1 からイトミミズの様子が見えた。イトミミズの移す作業を M1 で行われていないが、イトミミズが出現するのは汚泥中にイトミミズの卵胞が含まれていることが言える。また、スポンジ底部に嫌気化が進み、シェーカーによる底部の酸素供給状況が改善されていない。更なる流動性が必要。

3.2.4. 三回目の実験 (9/15-12/30)

二回目の実験からスポンジ底部における酸素供給の状況が改善できず、更なる工夫が必要であった。そこで三回目の実験では、一定の時間間隔で傾きをかえられるような装置を作成し、その上にスポンジを入れた容器を設置することで酸素供給の状況を改善しようとした。傾きが変わるとスポンジ内部を水が流れ、傾きの上になった側のスポンジ内部には空気が入る。また、傾きによってはスポンジ全体の水を抜くことも可能である。

1) 実験材料と器材

本実験では菅野終末処理場実験施設のイトミミズを得ることができなかったので、市販のイトミミズを使用した。(アマゾンで購入したイトミミズの生体) スポンジと容器については、二回目の飼育実験で使ったスポンジ P1 と容器 M2 を洗ってから使用した。

2) 実験方法

容器 M2 を図 7 のような定期的に傾きが変わる台の上に設置した。台はステップモーターに糸で結ばれている。モーターは 15 分に一度、ゆっくりと糸を巻き取り台の傾きを図 7 (b) のようになるまで持ち上げ、その後すぐにゆっくりと巻き取った糸をもとの状態 (図 7 (a)) までもどす。これにより、スポンジ内部を水が移動し、それに伴ってスポンジ内部に新鮮な空気が供給されると考えた。が駆動する度に支持台は水平面下 0.05π [rad] の位置から水平面上 0.05π [rad] の位置まで傾き元の位置に戻る。Arduino 制御によりモーターをコントロールし 15 分毎に 1 度この動作を繰り返す。室温状態で一日おきに MLVSS 濃度が $4990\text{mg}/1$ の返送汚泥を 25ml 入れた。添加する汚泥負荷は 2 回目の実験と同じ $0.417\text{mg}/(\text{ml}\cdot\text{day})$ とし、市販のイトミミズを 0.5mL ほど植種した。11/24 から、温度が低かったため、電気毛布でくるみ、温度を 24.5°C 前後に維持した。

3) 実験結果および考察

9 月 15 日の培養開始後、9 月下旬まで目視では明らかに増えたように見えた。

10月初旬からイトミミズの量は維持されたが、10月中旬からは減少した。11/13に一回市販のイトミミズをM2に追加投入したが、12月の実験において量は維持するだけであり、再び増加することはなかった。

培養開始当初イトミミズが増加したこと、また、11月13日以降1ヶ月以上にわたってスポンジ内にイトミミズが生存していたことから、市販のイトミミズも活性汚泥を栄養分として増殖できるものと考えられる。

しかし、本実験ではイトミミズが減少した時期もあった。減少の理由についてはわからない。

なお、1回目および2回目の培養実験と異なりスポンジ底部が嫌気化して黒くなることはなく、酸素を供給するという点では転倒型培養装置は効果を発揮したと考えられる。

ここで、3回培養実験をした結果から得た印象を以下にまとめる。

イトミミズを実験室規模で飼育するには、汚泥の投与量を適切な量とするのがポイントである。また、温度の低い冬よりも、夏のほうが育ちやすい。

また、本実験では、汚泥を投与するときに前回投与し残っていた浮遊汚泥（スポンジに付着している汚泥ではなく、水と混合している汚泥）を捨ててから、新しい汚泥を添加した。このとき、捨てた汚泥の量を記録しておくとうよかったかもしれないと思う。

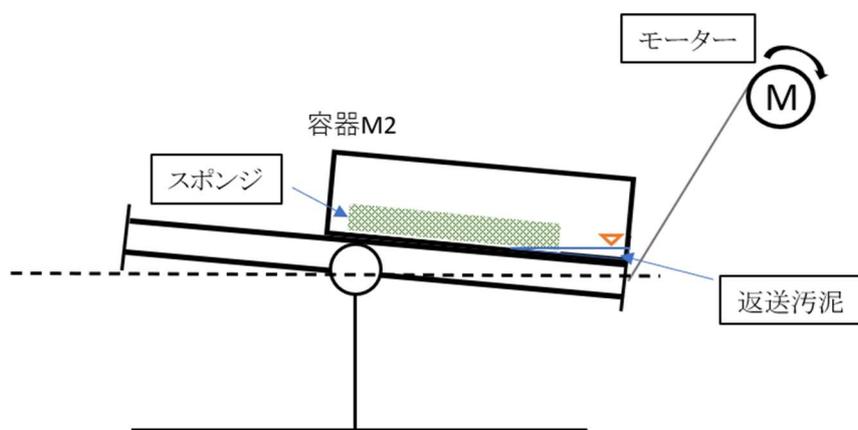


図7 支持台を制御するイメージ図

3.3. イトミミズのスポンジ担体からの回収

3.3.1. 実験目的

間欠接触酸化法において発生するイトミミズはスポンジ担体内に生息する。その量を把握したり、あるいはイトミミズを回収して様々な実験に利用するためには、イトミミズをスポンジ担体から回収する必要がある。ここではその手法を開発するための実験をおこなった。

3回の実験（A、B、C）を行った。イトミミズをスポンジから追い出すことができたとして、追い出されたスポンジを回収する必要がある。実験Aにおいて、スポンジの外部に存在するイトミミズを対象に非破壊的な回収手段を試した。実験Bでは、光を用いてスポンジからイトミミズを追い出される実験を設計した。実験Cにおいて、光によってイトミミズをスポンジから追い出し、非破壊的な回収手段によってイトミミズを回収し、回収率を検討した。その際、光の有無、イトミミズの添加量、照射時間、スポンジを支持する台の影響について検討した。

3.3.2. 実験材料と器材

1) 実験材料

スポンジは菅野終末処理場に設置された間欠接触酸化法実験装置⁴⁾で使用されていたスポンジを使用した。サイズは50 mm（幅）×70 mm（長さ）×10 mm（厚み）である。

イトミミズは東大柏キャンパス北部の水路から採取したものをを用いた。

3.3.3. 実験方法

実験A：穏和な回収手段の検討

ここではスポンジから追い出されたイトミミズを回収することを想定し、汚泥が混ざったイトミミズからイトミミズだけを回収する手段を検討した。いかに記すように、二つの方法を検討した。

1) 初めに考案した回収手段：

①汚泥とイトミミズが含まれているスポンジを50ml ビーカーに入れ、水道水

を加え、良く攪拌してスポンジを洗い、スポンジの表面や内部の汚泥とイトミミズを洗い出し、沈降させる。

②沈降したものを 500ml ビーカーに全部入れる。スポンジ上の残留物がほぼ無くなり、スポンジの隙間が綺麗に見えるまで操作①と操作②を繰り返す。

③500ml ビーカーに水道水を加え、汚泥やイトミミズを水に懸濁し、ゆっくりと傾きのある板（流しの表面）に流出させる。流出したイトミミズを目視で見分け、綿棒で回収する。

2) 非破壊性手段：

①篩の上にイトミミズを含む試料を拭く。

②塩素を中和処理した水道水を篩と接する水位まで入れる。

③12 時間静置させ、篩の下に移動し沈んだイトミミズを駒込ピペットで吸い上げ、水を切って回収する。

図 8 および図 9 に非破壊的手法での回収の様子を示す。



図 8 非破壊性イトミミズの回収方法



図9 イトミミズがバットに移動する

実験B：スポンジ内部にあるイトミミズを光で追い出す

実験Aの方法は、スポンジから取り出したイトミミズを回収するための方法である。スポンジ内部に生息するイトミミズを回収する方法を検討する必要がある。そこで、スポンジ内部に存在するイトミミズを追い出す方法を検討するため実験Bを設計した。

用いたスポンジとイトミミズ：

スポンジ片は菅野終末処理場で管路内浄化実験に用いられていたものを切断して用いた。また、その内部にはイトミミズが存在したが、さらにそこに市販のイトミミズを適量加えて実験に用いた。

実験手順は以下の通り：

- ①スタンド2台を40 cmの間隔で設置し、スタンド上の両開きクランプを実験台から20 cmの高さに調整し、線形LEDランプを実験台と平行してスタンドに架設する。
- ②スタンドの真ん中にスポンジの入れた容器Aを置く。
- ③イトミミズをスポンジの上にし、スポンジ担体底面にはイトミミズがないことを確認してから、LEDライトを点灯し、イトミミズの行動を観察する。

実験Bで用いた装置の写真を図10に示す。



図 10 LED ライト点灯によるイトミミズの移動の実験

実験 C：スポンジ担体からのイトミミズを回収する実験

実験 A で用いた非破壊性のイトミミズの回収法と実験 B で用いた LED ライトを用いた回収法を組み合わせ、実験 C を行った。

LED ライト照射の有無やイトミミズの入れる量、また、スポンジを保持する台（篩かワイヤー製の網か）を変えて、イトミミズの回収率を測定した。スポンジは菅野終末処理場で用いられていたスポンジを綺麗に洗浄して用いた。また、イトミミズは市販のものを用いた。イトミミズをスポンジに添加する前に、スポンジ内部にミミズがないことを確認した。設定した条件については実験結果の項で述べる。なお、器具として利用した試験管立はワイヤーで組まれた試験管立である。また、実験 C の概要を図 11 に示す。

実験中、概ね 1 時間に 1 回程度スポンジに残存するイトミミズの量を目視で確認し、スポンジ中に残存するイトミミズがほとんどいなくなったのち、バットに移動したイトミミズを回収した。回収したイトミミズは駒込ピペットを用いて試験管に回収し、回収されたイトミミズの量を 15mL プラスチック試験管に表示された目盛を用いて大まかに測った。

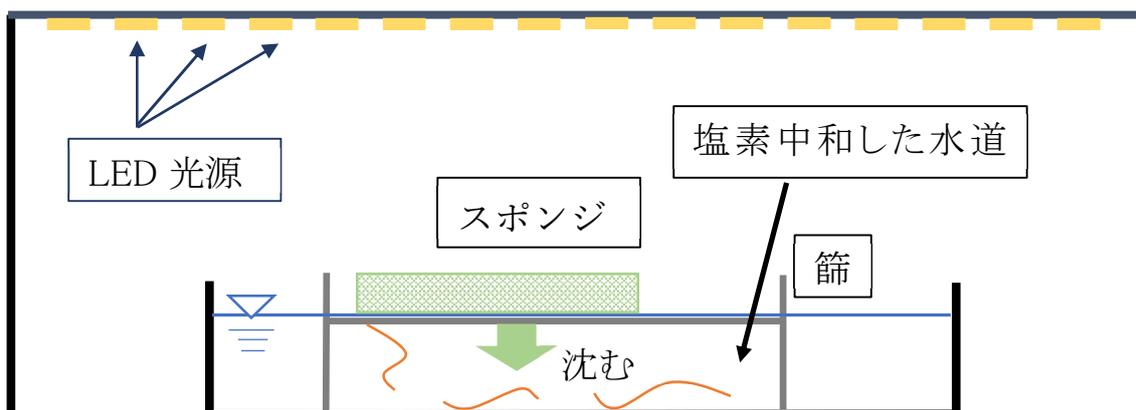


図 11 スポンジ担体からのイトミミズ回収実験

3.3.4. 実験結果及び考察

1) 実験 A の結果及び考察

本実験については、最初に考えた手法で 8 割くらい回収できるが、綿棒で死んでしまったイトミミズを回収することが難しい。穏やかな非破壊性手法で回収するのが簡単で、かつほぼ全部回収できたが、かかる時間は長い。回収する効率を検討する必要がある。実験 A における二つの方法はいずれも最終的にイトミミズを回収することができるが、非破壊性手段での回収率が高く、そして、イトミミズの生きている状態下の回収方法を検討するため、実験 C スポンジ担体からのイトミミズの回収実験では実験 A 中の非破壊性回収方法を採用した。

なお、実験 A のうち、破壊性回収法の実験では、以下のような問題があった。①破壊性回収する方法において、イトミミズと汚泥の混合液を板に流れさせる際に、板面上での流速をコントロールすることがポイントである。流速が速ければ、イトミミズが水流に流されてしまい回収できなくなる。板の傾きも水流の流速に影響を及ぼす。②洗浄槽の底面がステンレス製で、汚泥やイトミミズの色との差が鮮明であるため、光線の良い時は比較的に見つけやすい。③湿った綿棒で板上のイトミミズを回収する際に、ミミズがあまりにも細くすぎて切られてしまったので、最後死んでしまう。

以上の実験結果に基づいて、非破壊性回収法についてさらに手法の改善を行

う方向とした。

2) 実験 B の結果及び考察

光照射開始時にはイトミミズは主にスポンジの上に存在していたが、2 時間後に観察するところ、スポンジの上表面にはイトミミズが見えなくなり、図 12 が示すようにイトミミズは底面に集まっていた。イトミミズがスポンジ底面だけではなく、スポンジと接する容器壁面に移動するものもあることがわかった。

光で照射した結果、イトミミズは予想通り光に照らされたスポンジの上面から、暗い下面に移動した。しかし、この実験結果だけではイトミミズが移動したのは光による影響であると結論することはできない。重力の影響があったかもしれないからである。

いずれにせよ、上部から光を照射すると、光のためかどうかは十分に確認できていないが、イトミミズはスポンジの下の方に移動することがわかった。イトミミズが下の方に移動するということは、スポンジ下部にイトミミズを回収できるような仕組みを設置することで、スポンジ内部のイトミミズを回収するという目的を達成できることとなる。実験 C では、イトミミズを下に沈降させたいため、スポンジの周りに接するものなく設計した。



図 12 スポンジ担体の底面にイトミミズが集まる

3) 実験 C の結果及び考察

表 3 に、実験 C で設定した各条件と結果を示す。

表 3 実験 C 各組の実験結果

組	器具	LED ライト の照射	イトミミズ 添加量 (ml)	ミミズ回収量(ml)及び 所要時間) (h)
C-1	篩	無	0.5	0.4ml、12h
C-2	篩	有	0.5	0.4ml、2h
C-3	篩	有	1.0	1.1 ml、6h
C-4	棚	有	0.5	0.4ml、2h
C-5	棚	有	1.0	1.2ml、4h

C-1 と C-2 組は光照射の有無以外は同一条件で実施した。光照射なしの C-1 では数時間ではスポンジから出てきたイトミミズはごく僅かであり、ほぼ全量を回収するには 12 時間待つ必要があった。それに対し、LED ライトが点灯した場合の C-2 組では、わずか 2 時間でイトミミズのほぼ全量を回収することができた。

C-2 と C-3、C-4 と C-5 の結果からみると、保持器具の違いを問わず、イトミミズの量が増えるほど回収時間もかかることがわかった。

C-2 と C-4、C-3 と C-5 の結果を比較すると、イトミミズの量が少ない時には、目の開きの違いによるイトミミズの回収効率は大きく変わらないが、イトミミズの量が比較的が多い時には、目の開きが大きい試験管立のほうが効率良いことがわかった。

C-3 と C-5 の結果からみると、回収する量が入れる量を上回った。それはスポンジから汚泥が沈降する。イトミミズをピペットで回収する際に、汚泥はミミズと一緒に吸い上げられ、試験管に投入されてしまったと判断する。

3.4. イトミミズの定量化手法の検討

前節ではイトミミズをスポンジ担体から回収する手法を検討した。本節において、回収してきたイトミミズを対象と想定し、イトミミズの体積と湿重量の関係を築き、イトミミズの定量化手法を試みた。

3.4.1. 実験目的

少量のイトミミズを定量する手法を検討したいため、本実験を設計した。イトミミズの体積と湿重量の関係を明らかにし、体積を大まかに見積もることで湿重量を把握することができるよう検討した。

3.4.2. 実験材料および器材

1) 実験材料

本実験では市販のイトミミズ（ヤフーショッピング、フィッシュジャパン国産イトミミズ）を使用した。

2) 実験器具

a. 0.1ml 刻みの 1ml 注射器（テルモ株式会社製）：シリンジを取り出し、外筒だけ用いた。内径は約 4mm である。

b. 10ml 試験管：試験管の外側にテープを貼り、マイクロピペットで超純水を 0.1ml ずつ試験管に入れる。テープを用いて 0.1ml の刻みを手作業で表示した。内径は 10mm である。

c. ガラス製 0.05ml 刻みの 5ml メスピペット：ピペットの中央部を切断し、片側をシリコン充填剤で封じた。内径 5.5mm である。

3.4.3. 実験方法

実験の手順は以下のようにする

①市販のイトミミズを適量容器にとり、塩素中和した水道水を添加する。

②処理を行った三つの器材（a. 0.1ml 刻みの注射器、b. 試験管、c. ガラス製 0.05ml 刻みの駒込ピペット）でイトミミズを 0.1ml、0.2ml、0.3ml、0.4ml、0.5ml、0.6ml、0.8ml、1.0ml 取り、バランストレイ（質量測定用のプラスチック製の使い捨て容器）に入れ、湿重量を測った

③上記の手順をそれぞれの条件で三回行った

なお、器材 c. ガラス製 0.05ml 刻みのメスピペットは加工上の問題で、測定範囲が最大 0.8ml までしか測れなかった。図 13 は注射器でイトミミズの体積を測る際の写真である。取った後にバランストレイに入れて重量を測る。

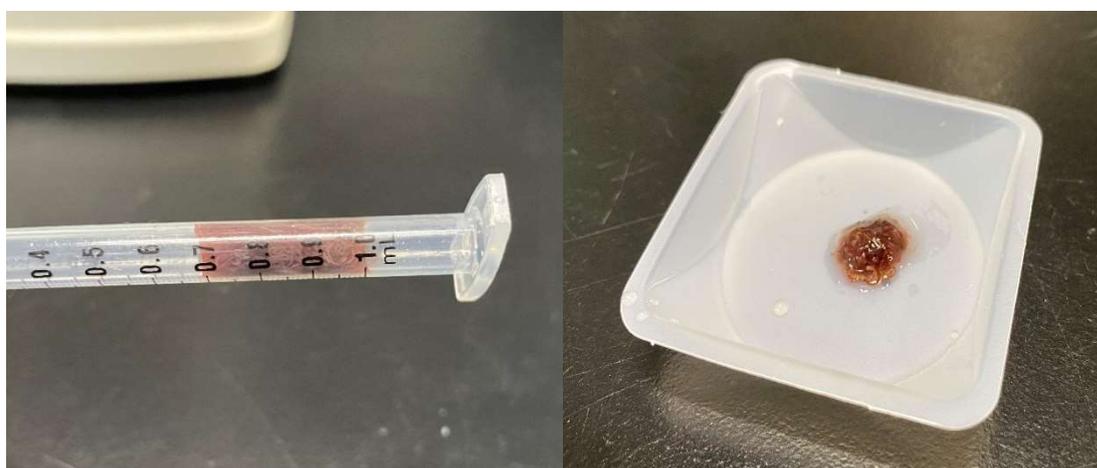


図 13 注射器の外筒でイトミミズを取る際の様子

3.4.4. 実験結果及び考察

表 4 および図 14 に本実験の結果を示す。

表 4 イトミミズの定量化実験の結果

重量(g) 体積(ml)	a1	a2	a3	a平均	b1	b2	b3	b平均	c1	c2	c3	c平均
0.1	0.092	0.085	0.08	0.086	0.18	0.165	0.193	0.179	0.103	0.097	0.087	0.096
0.2	0.205	0.197	0.186	0.196	0.205	0.237	0.256	0.233	0.217	0.192	0.199	0.203
0.3	0.328	0.308	0.306	0.314	0.31	0.331	0.313	0.318	0.325	0.311	0.301	0.312
0.4	0.473	0.446	0.439	0.453	0.473	0.462	0.452	0.462	0.446	0.442	0.462	0.450
0.5	0.586	0.573	0.545	0.568	0.547	0.573	0.581	0.567	0.575	0.548	0.56	0.561
0.6	0.703	0.691	0.654	0.683	0.691	0.702	0.667	0.687	0.685	0.677	0.643	0.668
0.8	0.857	0.927	1.073	0.952	0.978	0.933	0.983	0.965	0.963	0.946	0.954	0.954
1.0	1.254	1.236	1.135	1.208	1.023	1.121	1.105	1.083				

実験の結果からみると、a、b、c 三種類の器材はいずれもイトミミズの体積とその湿重量の線形関係を示す。

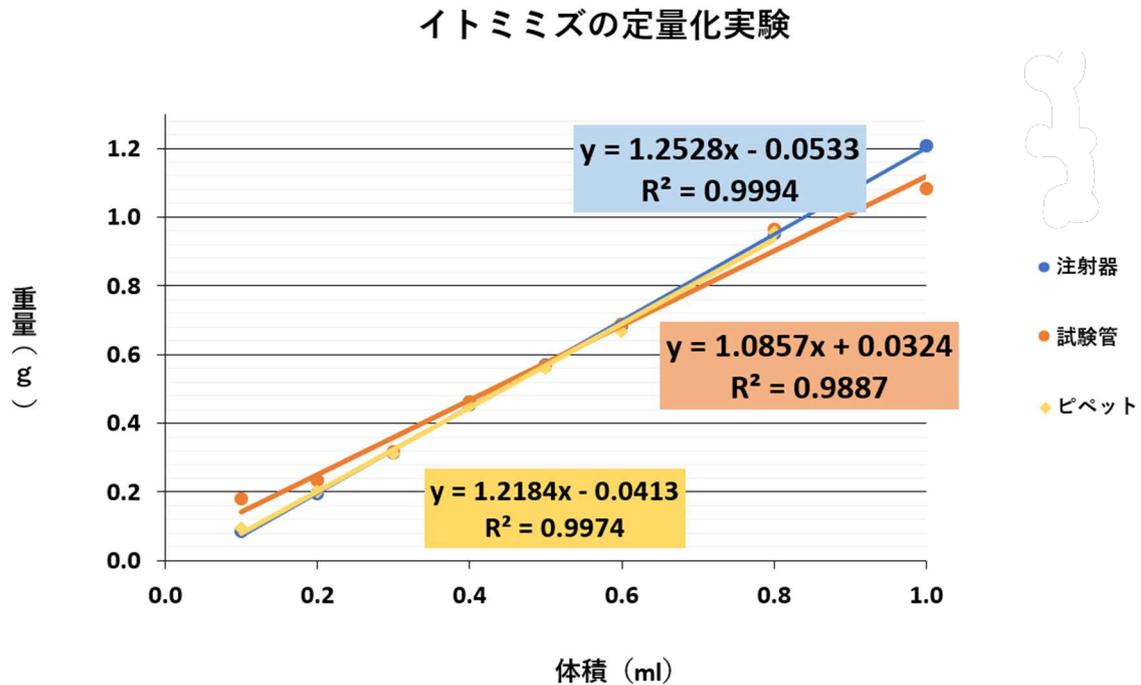


図 14 イトミミズの体積と重量の関係

考察：①器材の内径が小さければ小さいほど、操作上では難しくなる。試験管の内径が大きいが、精度は手動で刻みをつくったため、他の二つと比べて見劣る。②C-3 と C-5 の結果を C-2 と C-4 と比べて、イトミミズの量が多ければ多いほど、測定する際に誤差も大きくなる。その誤差は水の量とイトミミズのフンによるものだと考えられる。③操作上の難易度と精度から注射器外筒が最適な手段だと考える。

3.5. イトミミズによる汚泥減量への効果の検討

本節において、本研究の目的であるイトミミズによる汚泥減量への効果を測定するための実験を行なった。イトミミズが単独存在する場合、汚泥と共存する場合それぞれの酸素消費を測り、酸素消費速度を算出して評価した。

3.5.1. 実験目的

本研究の目的を達成するために、イトミミズによる汚泥分解の効果を明らかにする。

3.5.2. 実験材料と器材

1) 実験材料

本実験では市販のイトミミズ (ヤフーショッピング、フィッシュジャパン国産イトミミズ) を使用した。スポンジ担体について、新しいスポンジ (35mm (幅) × 40mm (長さ) × 5mm (厚み) × 8 枚、) を使うことにした。

2) 実験器具

a. Fibox3 酸素センサー (PreSens 社 ドイツ)

ファイバーの先端から発せられるレーザー光を酸素に感度を持つ蛍光染料をコートしたセンサーチップにあて、そこから発せられる蛍光エネルギーを測定するという光学的手法を利用している。酸素センサーから放たれる蛍光エネルギーは周りの酸素により抑制されるので、蛍光の強度と寿命を測定することにより測定部位の酸素量を知ることができる。

b. 反応容器 : 8 個

外寸 : 43mm (幅) × 48mm (長さ) × 28mm (高さ)

内寸 : 35mm (幅) × 40mm (長さ) × 20mm (高さ)

底面積 : 1400 mm²、容積 : 28000 mm³

ポリ塩化ビニル製クリア板をエポキシ樹脂と塩ビパイプ用接着剤で接着し、反応容器をつくる。そして、反応容器の内壁に Fibox3 用のセンサーチップを貼付した。

c. インキュベーターシェーカー

インキュベーターシェーカーはトーマス科学器械株式会社製の RS310 型ロータリーシェーカーを用いた。

酸素消費量

本研究で検討する酸素消費量は以下の式より算出する。

$$M(\text{mgO}) = (p' - p) \times V \times 0.278$$

p' (%) : 初期酸素分圧、 p (%) : 反応後の酸素分圧、 V (mL) : 容器内の気体の体積、1atm、20°Cの条件下の酸素濃度は 0.278mg/ml

3.5.3. 実験方法

実験の手順は以下のとおりである。

① 8 個の反応容器は 2 組に分けて、それぞれ A1、A2、A3、A4 と B1、B2、B3、B4 と表示した。8 枚のスポンジを八個の反応容器内にそれぞれ一枚ずつ設置した。

② 冬の温度が低いため、購入して納入されたばかりのイトミミズは活性が低く、実験に使用する前に活性化処理を行った。イトミミズを 10ml 程度容器に入れ、塩素中和した水道水を 50ml 入れる。インキュベーターシェーカーに置き (30°C, 20rpm)、3 時間ほど培養したのち、インキュベーターシェーカーから取り出した。活性化前後の様子は図 15 に示す。

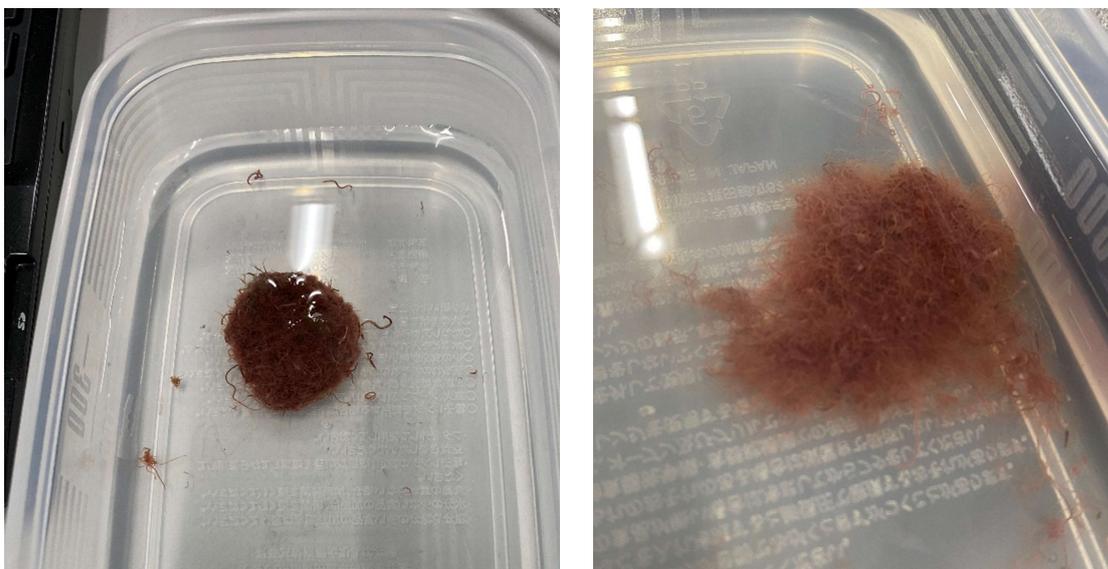


図 15 イトミミズを活性化処理する前後の比較

③ 汚泥とイトミミズを反応容器に入れる。入れた後の様子は図 16 のように示す。実験は 2 回行われ、それぞれの実験設計は表 5 と表 6 に表せる。

表 5 一回目実験設計条件 (22.5~31°C)

A1 : スポンジだけ	B1 : スポンジだけ
A2 : スポンジ+VSS 0.05 g の汚泥	B2 : スポンジ+VSS 0.10 g の汚泥

(汚泥の液量 12mL)	(汚泥の液量 12mL)
A3 : スポンジ+イトミミズ 0.5ml (水分なし)	B3 : スポンジ+イトミミズ 0.5ml
A4 : スポンジ+VSS 0.05g の汚泥+イトミミズ 0.5ml (汚泥の液量 12mL)	B4 : スポンジ+VSS 0.10g の汚泥+イトミミズ 0.5ml (汚泥の液量 12mL)

表 6 二回目実験設計条件 (30°C)

A1 : スポンジだけ	B1 : スポンジだけ
A2 : スポンジ+VSS 0.05g (汚泥の液量 5mL)	B2 : スポンジ+VSS 0.05g (汚泥の液量 5mL)
A3 : スポンジ+イトミミズ 0.5ml	B3 : スポンジ+イトミミズ 0.5ml
A4 : スポンジ+VSS 0.05g の汚泥+イトミミズ 0.5ml (汚泥の液量 5mL)	B4 : スポンジ+VSS 0.05g の汚泥+イトミミズ 0.5ml (汚泥の液量 5mL)

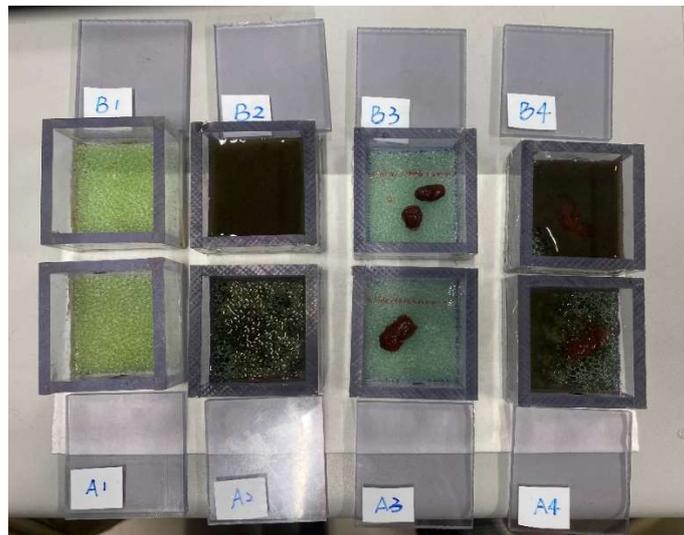


図 16 各反応容器を蓋で密封した前

④容器に蓋となる塩ビ板をのせた。その際、シリコングリースを用いて蓋と容器の隙間が密封されるようにした。すべての反応容器をステンレス製バットに置く。バットをインキュベーターシェーカーに入れた。振とう速度は 20rpm とし、1h ごとにインキュベーターシェーカーから取り出して酸素センサーを用いて容器内の酸素分圧を測定した。

なお、インキュベーターシェーカーの温度は、1 回目の実験では 27°C に設定したつもりだったが冷凍機の電源が入っておらず、そのために実験開始時は 22.5°C だったが、培養開始 5 時間後までに 31°C まで上昇した。その際に冷凍機

がオフになっていることに気が付き、以降は 27°C で培養を続けた。2 回目の実験では初めから 30°C に設定し、設定値通りの温度で培養できた。

3.5.4. 実験結果及び考察

一回目の結果：

実験結果を表 7 に示す。

表 7 各反応容器内の酸素分圧

時間(h)	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	T(°C)
0	23.5	23.3	24.0	23.5	23.5	23.2	23.2	22.7	22.5
1	25.0	24.3	24.0	23.6	25.1	24.4	23.4	22.6	27.5
2	25.4	24.7	24.0	23.8	24.8	24.7	23.3	22.2	29.7
3	25.8	25.0	23.7	24.0	25.3	25.1	23.4	22.2	30.2
4	26.1	25.1	22.7	23.8	25.9	25.4	23.3	22.2	30.9
5	26.5	25.7	22.2	24.1	26.3	25.8	23.2	22.2	31.6
6	24.5	23.7	19.5	22.6	23.6	24.1	21.5	21.0	25.0

インキュベーターシェーカーの温度を一定にするつもりだったが、操作上の誤りが存在し、温度が段々上昇した。表に示されている温度はインキュベーター内の温度である。室温が 22.5°C であったため、測定する時間が長くなると容器内部の温度が下がり、誤差が大きくなる。ゆえに、すべての反応容器の酸素分圧は 5 分以内で測定操作を完了するようにした。

温度が酸素分圧に与える影響を調べるため、表 7 のうち汚泥もミミズも入れていない A1 および B1 の酸素分圧測定値とそれに対応した絶対温度の関係をプロットした。その結果は図 17 のようになった。

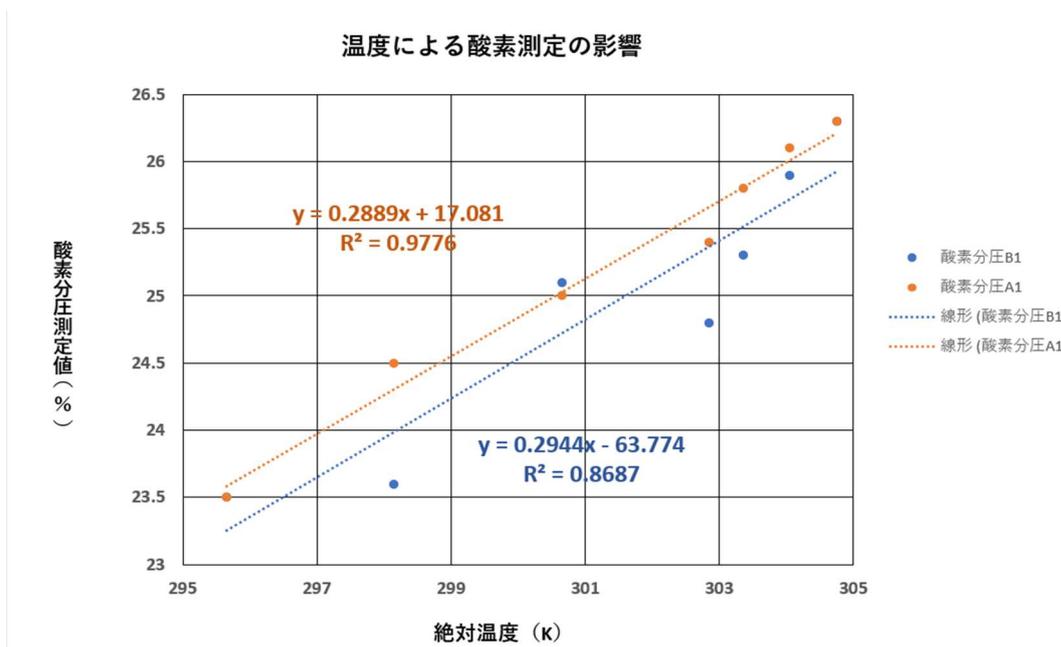


図 17 温度による酸素分圧測定値の影響

ところで理想気体の方程式に基づいて、

$$pV=nRT \dots \textcircled{1}$$

$$p=(nR/V) \cdot T \dots \textcircled{2}$$

p : 気体の圧力、T (K) : 絶対温度、R : モル気体定数、V (L) : 気体の体積、n (mol) : 気体の物質量

従って式②より、気体の分圧は温度に比例することがわかる。

図 17 を見ると、酸素の分圧は温度（絶対温度）の上昇につれて上がることがわかる。すなわち、式②から予想されることと一致する。

このことから、すべての酸素分圧測定値に対して、温度による影響を補正する処理をおこない、容器内の酸素消費量をもとめた。計算にあたっては、容器内の液量（水量）を考慮し、気相中と水中のそれぞれの酸素の消費量を算出しその和を出した。

その結果を図 18 と図 19 に示した。なお、図 18、図 19 において、酸素は概ね経過時間に比例して消費されたことがわかるが、6 時間目だけは異なる傾向を示していた。5 時間目からインキュベーターの温度制御操作をやり直したことが影響したと考えられる。そこで、図中の近似直線は 6 時間目のデータは

除外して算出した。

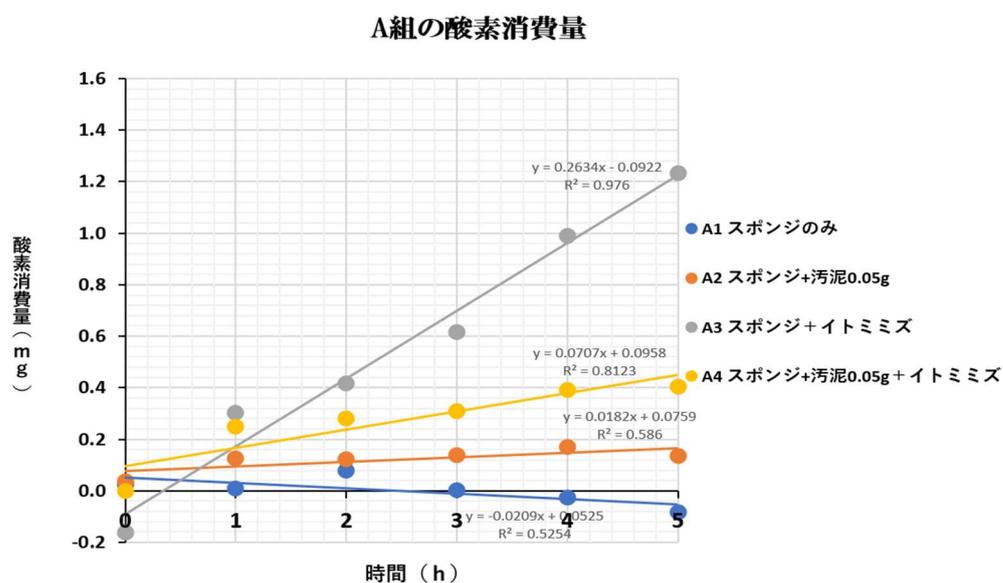


図 18 A 組各反応容器の酸素消費状況

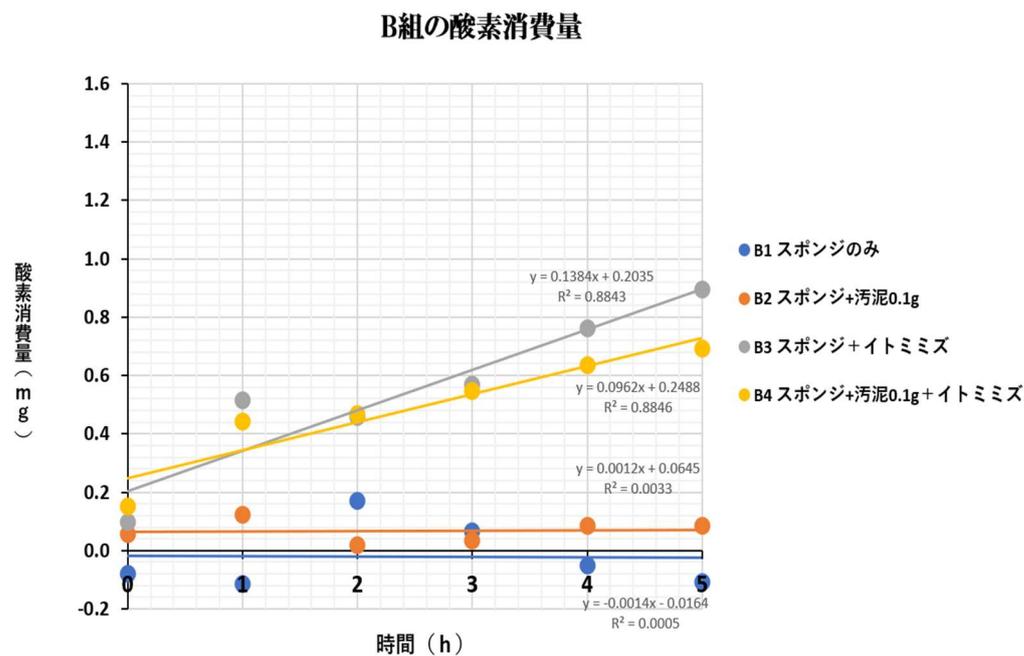


図 19 B 組各反応容器の酸素消費状況

二つのグラフとも近似線の傾きが酸素の消費速度を表す。傾きが大きくなるほど酸素消費速度が速いと意味している。

いずれの結果もイトミミズのみの場合の A3 と B3、酸素消費が一番大きいこと

がわかった。イトミミズと汚泥が共存した場合の A4, B4 は汚泥のみの A2, B2 より酸素消費が大きい。汚泥のみの時、酸素はごくわずかに消費された。青い線はスポンジのみの空白組の状況を表し、B1 は安定な状況を示した。しかし、A1 は予測と違い、減る傾向が見られる。それはセンサー自体の誤差によるものだと判断する。酸素センサーによる誤差とセンサーシールごとの違いに関する検証を後述する。

A3, B3 の結果から、湿重量約 0.5g のイトミミズの酸素消費速度はそれぞれ 5.90 (mgO) /day と 4.27 (mgO/day) であった。イトミミズ単位湿重量当たりの酸素消費速度は、A3 と B3 はそれぞれ 11.8 (gO/gwet · day)、8.54 (gO/gwet · day) である。

初期状態 (0h) は酸素が-0.2~0.2mg の範囲で変動する。それは誤差範囲だと考えられるが、傾きからみると、A3 は B3 の約 2 倍の酸素消費速度を示している。実験終了後の反応容器を観察し、イトミミズの移動距離による活動量の違いで生じた差だと考える。図 20 および図 21 が示すように、A3 容器の蓋周辺はイトミミズが見つかり、底面に一周回って全部イトミミズであったが、B3 容器にあるイトミミズはほぼスポンジの真ん中の辺に集まることがわかった。



図 20 実験終了後 A3 容器にあるイトミミズの分布

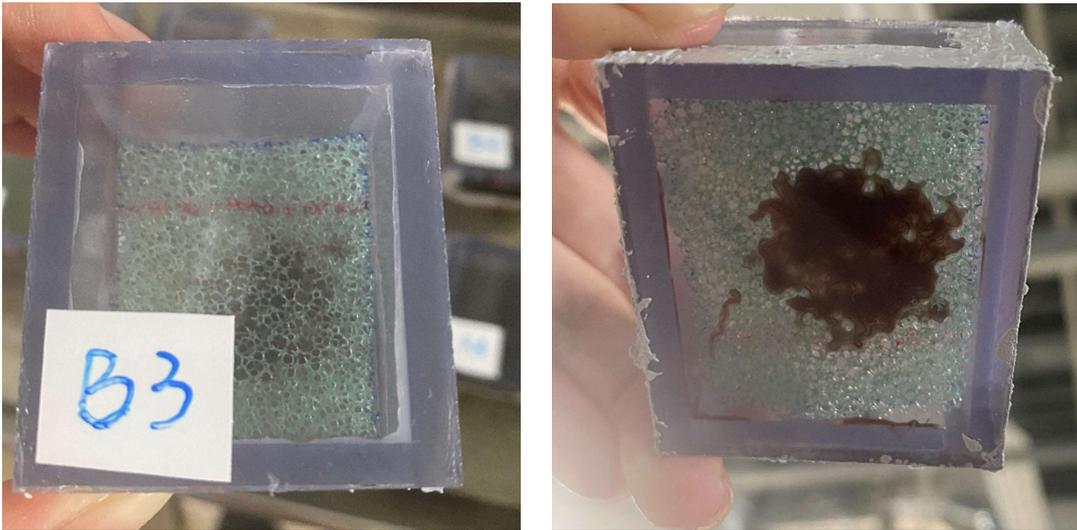


図 21 実験終了後 B3 容器にあるイトミミズの分布

二回目の結果：

2 回目の実験結果を表 9 に示す。1 回目は温度制御がうまくいかなかったが、2 回目の実験では温度を一定に保ち培養することができた。

表 9 各反応容器内の酸素分圧 (30°C)

時間(h)	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
0	25.8	25.6	26.2	25.7	25.3	25.4	25.3	24.6
1	25.7	25.4	25.2	24.8	25.3	25.3	24.5	23.5
2	25.8	25.3	24.4	23.7	25.4	25.1	23.6	22.7
3	25.7	25.2	23.4	22.5	25.2	25.0	22.9	21.6
4	25.7	25.1	22.6	21.7	25.3	24.8	21.9	20.5
5	25.8	24.9	21.7	20.7	25.4	24.7	20.6	19.6
6	25.9	24.8	20.6	19.5	25.3	24.6	19.9	18.7

A2～A4 および B2～B4 の結果を図 23 及び図 24 に表す。

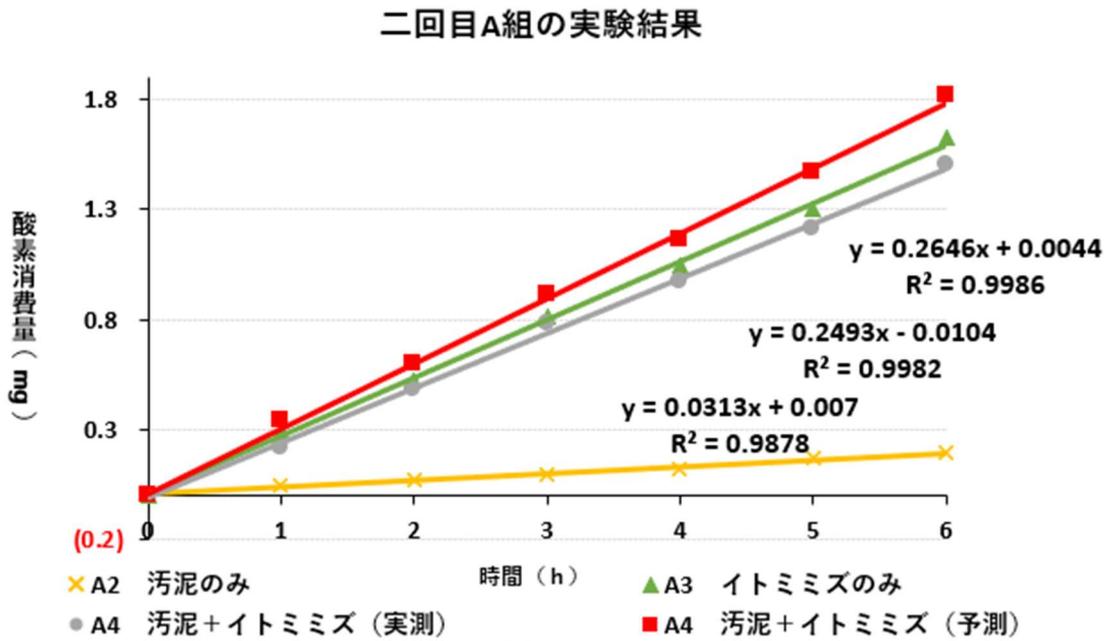


図 23 A 組の各反応容器における酸素消費量

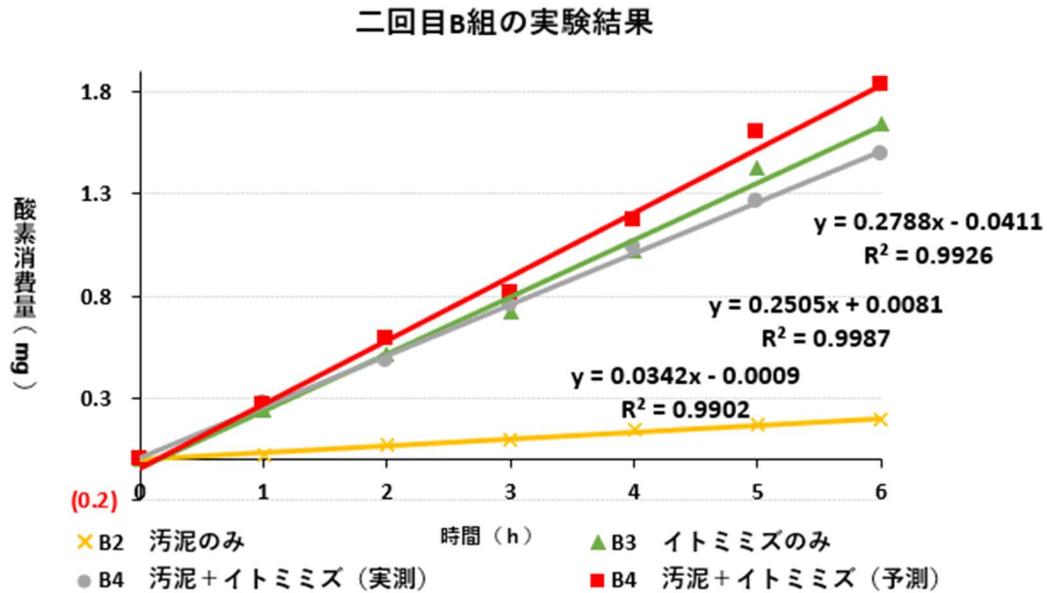


図 24 B 組の各反応容器における酸素消費量

グラフを見ると、A 組と B 組共に時間の経過に伴い、各容器内の酸素が比例に消費されたことがわかった。一回目と同じように、イトミミズのみの場合の酸素消費量は他の場合より大きいこと明らかにした。A3, B3 にある 0.5ml のイトミミズ

の酸素消費速度はそれぞれ 6.48 (mg-O) /day と 6.56 (mg-O/day) である。イトミミズが単独に存在する場合の単位面積当たりのスポンジの酸素消費速度は、A3 と B3 はそれぞれ 12.96 (gO/gwet・day)、13.12 (gO/gwet・day) である。汚泥だけの場合の酸素消費速度が一番低かった。この結果は一回目の実験と同じような傾向を表している。

A2 では汚泥のみ、A3 ではイトミミズのみを添加し、A4 では汚泥とイトミミズの両方を添加した。そのため、A4 の結果は A2 と A3 の酸素消費量の和になると予想できる。B2、B3、B4 についても同様である。そこで図には、A2 (B2) および A3 (B3) の酸素消費量の和を予測値として赤色で示した。一方、A4 および B4 の実測値はグレーの線で表した。グレーの線は赤色の線よりも下にあり、イトミミズに汚泥を加えると、それぞれが単独で存在する場合と比べて酸素消費速度が小さくなることがわかった。

汚泥だけの場合の酸素消費速度を R2、イトミミズだけ存在するときの酸素消費速度を R3、汚泥とイトミミズが共存するときの酸素消費速度を R4 とする。もしイトミミズが汚泥を餌として利用するのであれば、イトミミズに餌である汚泥を与えることで、イトミミズの活動が活発になり、それに伴って酸素の消費も増えるはずである。そのため、 $R4 > R2+R3$ となると予想できる。ところが、今回実験で得られた結果は、 $R4 < R2+R3$ であった。この結果は、イトミミズは汚泥を餌として利用しなかったと解釈すべきだろう。

一方、実験 1 では、汚泥しか餌として与えていないにもかかわらず、一時的にはイトミミズが増加し、また、増加しないまでも減少せずに長期間維持されていた。また、同じく実験 1 で、汚泥を入れたスポンジで、時間が経つとスポンジの地肌が見えるようになり、汚泥が減少したことを確認できた。こうした結果は、イトミミズが汚泥の分解に寄与していることを示している。

今回の実験 4 においては、その結果だけを見るとイトミミズは汚泥の分解に寄与していなかったということになるし、それは、小林⁴⁾や実験 1 での観察と矛盾する。その原因としては、汚泥ではない餌によって育成された市販のイトミミズを用いて実験したことが影響した可能性があると考えられる。すなわち、普

段食べ慣れていない餌を餌として認識しなかったのかもしれない。また、それまで置かれていた環境から新しい環境に移された直後に実験をしたので、それもイトミミズの摂食行動を抑制する原因になったのかもしれない。実験4は培養時間をより長くしていたら、あるいは、普段から汚泥を餌として培養されているイトミミズを用いていたら、今回とは異なる結果（予想したような結果）が得られたかもしれない。

4. 終わりに

本章においては、本研究を通じて得た結論を 4.1. にてまとめる。また、節 4.2. では今後の課題について述べる。

4.1. まとめ

本研究の四つの実験を通じて、以下のような結果が得られた。

- 1) イトミミズの下水汚泥を栄養分として培養する条件について検討した。残念ながらイトミミズを増殖させるという目的を達成することはできなかったが、長期にわたって維持することはできた。
- 2) スポンジ担体からイトミミズを回収する方法を確立した。また、LED 光源を利用しスポンジに光を照射することで、スポンジからイトミミズを追い出すことができ、回収効率を上げることができた。また、スポンジから追い出されたイトミミズを回収する方法も確立した。
- 3) イトミミズが少量の場合について、体積と重量の線形関係を構築し、取り扱いにくいイトミミズの定量化手法を確立した。
- 4) イトミミズの汚泥減量への寄与について実験 4 において検討した。(1) スポンジのみ、(2) スポンジ+汚泥、(3) スポンジ+イトミミズ、(4) スポンジ+汚泥+イトミミズの 4 つの条件について酸素消費速度を測定する手法を考案した。しかし、(4)の酸素消費速度の実測値は(2)と(3)の酸素消費速度の和よりも小さく、イトミミズが汚泥を餌として利用しているという結果は得られなかった。予想と異なる結果となった原因として、汚泥ではない餌を投与して育てられた市販のイトミミズを用いたことが原因だと考えられた。

4.2. 今後の課題

本節にて本研究の今後の課題について述べる。

まず、イトミミズの室内飼育手法に関しては、イトミミズの汚泥分解特性を把

握した上で、適切な汚泥添加量、酸素供給量及び温度制御を組み合わせる必要がある。イトミミズをスポンジ担体から回収する方法については、光照射が及ぼす影響を明らかにするとともに、熱などそれ以外の刺激による回収効率向上の可能性を探求できる。イトミミズの定量化に関して、湿重量ではなく乾燥重量も触れながら検討する必要がある。イトミミズが汚泥減量への効果がまだ不明であり、今後の実験において、実験装置のスケールと測定精度の向上に工夫すべきである。

なお、イトミミズの室内飼育手法を検討する際に、容器にはロショウバエが大量に出現した時期があった。ロショウバエも汚泥の分解に寄与すると考えられるので、イトミミズと同様にその汚泥分解への寄与を明らかにする必要がある。また、ロショウバエの成虫は飛翔し人目につきやすく、害虫とみなされることが多い。どちらかという、イトミミズによって汚泥を分解し、ロショウバエの繁殖は抑制できるとよい。観察した印象では、培養開始時最初にロショウバエが多く発生し、また、イトミミズが増えるとロショウバエが減少したように感じられた。ロショウバエとイトミミズの関係について、興味があるところである。

参考文献及び引用

- 1) 国土交通省 “資源・エネルギー循環の形成,”
https://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/crd_sewerage_tk_000124.html
(2020/1/17)
- 2) 新下水道ビジョン加速戦略検討会, 国土交通省 (2017) “新下水道ビジョン
加速戦略,” <https://www.mlit.go.jp/common/001197678.pdf>
(2020/1/18)
- 3) 下水汚泥利活用推進検討委員会, 国土交通省 (2019) “下水汚泥広域利用活
用検討マニュアル,” <https://www.mlit.go.jp/common/001286384.pdf>
(2020/1/17)
- 4) 小林駿(2019) “間欠接触酸化法を利用した汚泥減量技術の開発と小規模下
廃水処理施設への適用可能性”, 東京大学大学院新領域創成科学研究科社会文
化環境学専攻修士論文.
- 5) 松本智樹, 西川知宏, 川添英郎, 平山直, 糸川浩紀, 橋本敏一, 西原功, 田中博,
栗田貴宣 (2018) “特殊繊維担体を用いた余剰汚泥削減型水処理技術の長期実
証および導入効果の検証,” 第 55 回下水道研究発表会講演集 1016-1018.
- 6) タクマ環境技術研究会 (2015) 基礎からわかる水処理技術, オーム社 東
京都千代田区.
- 7) 松本貴久(2007) “汚泥減容化技術の行動調査について,” 下水道研究発表会
講演集 44, 日本下水道協会, 892-894.
- 8) 稲森悠平 (2008) 最新環境浄化のための微生物学, 講談社出版, 295-296.
- 9) 松坂勝雄、松原善治、佐藤弘泰、庄司仁 (2014) “管路内での間欠接触酸
化による下水処理技術の開発,” 第 51 回下水道研究発表会講演集, 646-648.
- 10) 澤野井隆之、佐藤弘泰、庄司仁、松坂勝雄、松原善治、玉木聡史 (2016)
“浄化機能付き下水管におけるミミズを含む無脊椎動物の環境 DNA を用いた検
出,” 環境工学研究フォーラム講演集
- 11) 呂日陶 (2019) “Exploring Intermittent Contact Oxidation Process for
Enhanced In-sewer Purification at Sewer Upstream” graduate program in

Sustainability Science Global Leadership Initiative Graduate School of
Frontier Sciences THE UNIVERSITY OF TOKYO”

- 12) 生地正人 (2002) “傾斜土槽法による生活雑排水処理” 環境技術,
vol. 31, No 12. 963-968.
- 13) 渡辺弘之 (2003) ミミズ—嫌われものの はたらきもの, 東海大学出版
会、神奈川県秦野市.
- 14) 栗原康 “イトミミズと雑草—水田生態系解析への試み,” 化学と生物,
vol. 21, No 4. 243-249.
- 15) 長岡工業高等専門学校微生物化学研究室 “ミミズについて,”
<http://www.nagaoka-ct.ac.jp/mb/akazawa/HP/mmzB.html> (2020/1/17)
- 16) 稲森悠平 (2008) 最新環境浄化のための微生物学, 講談社出版, 276-280.
- 17) 和歌山県工業技術センター “ESCAPE 法による排水処理技術,”
<http://ecowakayama.com/20180308.pdf> (2020/1/17)
- 18) 日本下水道協会 (2013) 下水道試験方法 (上巻), 日本下水道協会, 東京都
千代田区

謝辞

本論文の完成にあたり、この場を借りてご協力を頂いた皆様に心より深く感謝の気持ちを申し上げます。

まず、終始熱心なご助言と丁寧なご指導を頂いた佐藤弘泰教授に感謝の意を表します。研究の基礎からサンプルの採取や実験方法など、研究に関するすべてを親切に教えて頂きました。生活上においても、個人の問題で悩ませることが多いでしたが、理解してくださって本当にありがとうございました。この二年間、ご迷惑をお掛けして申し訳ありませんでした。細部にわたるご指導を頂き、感謝の気持ちは一杯です。

また、副指導教員である佐々木淳教授からは研究手法の改良や実験結果の考察について多大な助言を賜りました。深く感謝致します。

環境学の講義を担当する味埜俊特任教授からは研究の在り方や的確なアドバイスをいただき、本当にありがとうございます。

研究室の秘書だった服部さんには書類の申請などいろいろお世話になりました。ご迷惑をおかけして申し訳ありません。ありがとうございました。

市川市菅野終末処理所の職員の方々には、処理場での作業でご協力して頂きました。深く感謝いたします。

研究室のメンバーのおかげで、2年間いろいろ勉強できました。いつも研究会の際に、Tip からとても貴重な意見とアドバイスをいただきました。本当にありがとうございます。先輩の小林さんから研究の背景や実験手法などたくさん貴重な意見を頂きました。どうもありがとうございます。後輩の小野さんから、大変面白い話を聞かせていただきました。どうもありがとうございます。

またここまで私を支えてくれた家族の皆にも深く感謝いたします。

その他にも多くの方々に助けられ、本当にありがとうございます。

2020年1月18日

付録

酸素センサーの精度の確認

Fibox 3 酸素センサーの精度を確認した。8枚のセンサーチップ（ピンク色の蛍光色素を有するチップ）について、室温状態（22°C）と 30°Cのそれぞれ容器の酸素分圧を 4 回測った。なお、本実験ではシリコングリースを用いて蓋をして容器内部の空気を密封して測定した。結果は表 8 の通りであった。

表 8 実験装置による誤差の検証

22°C	チップ1	チップ2	チップ3	チップ4	チップ5	チップ6	チップ7	チップ8
1	23.5	23.4	24.0	23.5	23.4	23.2	23.3	22.7
2	23.5	23.3	23.9	23.5	23.5	23.3	23.3	22.6
3	23.4	23.3	24.0	23.6	23.5	23.2	23.2	22.7
4	23.5	23.3	23.9	23.5	23.5	23.2	23.3	22.6
30°C	チップ1	チップ2	チップ3	チップ4	チップ5	チップ6	チップ7	チップ8
1	25.8	25.6	26.3	25.8	25.3	25.2	25.3	24.6
2	25.9	25.6	26.3	25.7	25.2	25.2	25.2	24.5
3	25.8	25.5	26.3	25.8	25.1	25.1	25.2	24.6
4	25.7	25.5	26.4	25.7	25.2	25.0	25.3	24.5

この補足の実験によって、センサーチップごとに指示値が異なること、また、温度が高い方が、指示値が大きくなることがわかる。温度の影響は、3.5で述べたように温度が高くなると酸素の分圧が大きくなるためであると考えられる。また、同一のチップ・同一の温度条件ではセンサーによる誤差は小さいことが言える。