

宇宙ステーション向け長期水生生物飼育装置の開発

Water Purification System by Using Biofilter
for Long-Term Life Support of Aquatic Animals for International Space Station

技術本部 中村 宏*¹ 小川 尚樹*²
神戸造船所 内田 智子*³ 落合 俊昌*⁴
高 沖 宗 夫*⁵

当社は、宇宙ステーションでの水生生物飼育実験を可能にする90日間以上の水質維持システムを、バイオフィルタを用いたアンモニアの除去（硝化）と硝酸の除去（脱窒）を組合せることにより開発した。スペースシャトル搭載用のフィッシュパッケージを模擬した閉鎖系水生生物試験装置を用いて、(1)吸着除去、(2)生物硝化、(3)生物硝化+生物脱窒、の3種類の水質維持システムによる90日間のキンギョ飼育試験を実施した。その結果、生物硝化+生物脱窒システムにおいて全個体の90日間の飼育に成功し、宇宙ステーションでの生物実験の可能性を見いだした。本システムにより、更に長期間の飼育実験が可能になると考えられる。

We have developed a water purification system which enables long-term experiments with aquatic animals on a international space station for 90 days or more. We designed a system which combines a biofilter for ammonia removal (nitrification) with another for nitrate removal (denitrification). The experiment with goldfish was for 90 days using an aquatic animals examination device. The equipment consists of a fish tank, a filter module, pumps, and an artificial lung for gas exchange. The goldfish were kept in the tank without any water replacement throughout the experiment. When the filter module consists of adsorbents without bacteria, the concentration of the nitrite and ammonia begins to increase, so that the goldfish die. However, neither ammonia nor nitrite accumulated throughout this experiment, and the concentration of T-N was also maintained 30 ppm or less when the combined biofilter was used. Moreover, no fish died through the experimental period. The water purification system with a biofilter enable us to carry out life support tests for a longer term.

1. ま え が き

魚その他の水生生物は、宇宙生理学の研究材料として有用である。これまでもスカイラブジャパンやスペースシャトルミッションにおいて多くの実験が水生生物を用いて行われており、さらに今後も宇宙ステーションを利用した宇宙実験が計画中である。宇宙空間では、水生生物は限られた水量の閉鎖空間で飼育されることになる。

このような条件下では飼育水は連続的に循環され、浄化されて水質維持を行っている。魚を用いたライフサポート実験では、化学吸着法を用いて12日間（SL-J⁽¹⁾、FMPT）、生物硝化を用いて19日間（IML-2⁽²⁾）の実績がある。しかし、宇宙ステーションでの実験では最低90日間のライフサポートが必要であり、そのためにはより高度な処理システムの開発が必要である。

当社は、生物硝化と生物脱窒を組合せたコンバインドバイオフィルタシステムを備えた閉鎖循環系により、90日間の水質維持に成功した。

2. 実 験 方 法

2.1 試験装置

試験装置のブロックダイアグラムを図1に、仕様を表1に示す。循環水は全部で3l、循環水量は1l/minとした。また、系内への酸素供給は人工肺（テルモ Capiox II 08）を使用した。試験温度は23°Cに制御した。

また、脱窒の水素供与体としてグルコースをタイマ制御で添加した。

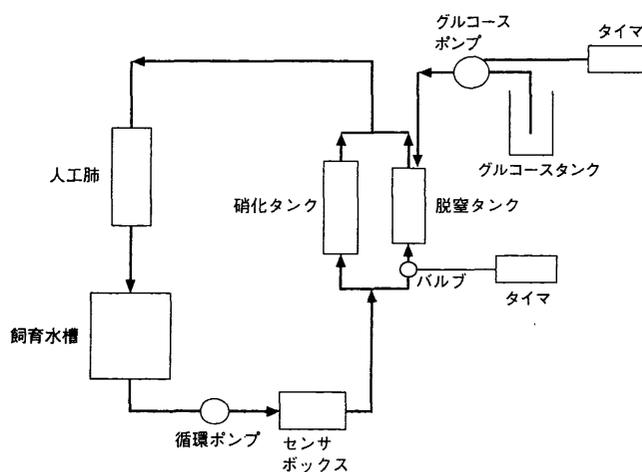


図1 実験装置のブロックダイアグラム 実験装置の構成品のフローを示す。
Block diagram of experiment apparatus device

表1 飼育試験条件

Specifications of experimental units

試験水	蒸留水
試験水量	3 l
試験温度	23°C
循環水量	1 l/min
給餌量	0.05~0.2 g/d
硝化菌カラム容量	600 ml
脱窒菌カラム容量	300 ml
試験期間	90 日間

*1 高砂研究所化学研究室主務 理博

*4 電子・宇宙技術部宇宙機器設計課

*2 高砂研究所化学研究室

*5 電子・宇宙技術部宇宙機器設計課主査 理博

*3 電子・宇宙技術部宇宙機器設計課主務

表2 飼育水浄化用充てん剤
Specifications of purification unit

浄化方法	化学処理法	生物硝化法	生物硝化脱窒法
ゼオライト	300 ml	—	—
硝化菌付着ビーズ	—	300 ml	300 ml
脱窒菌付着ビーズ	—	—	200 ml
活性炭	100 ml	100 ml	100 ml
サンゴ砂	—	100 ml	—
グルコース	—	—	適宜添加

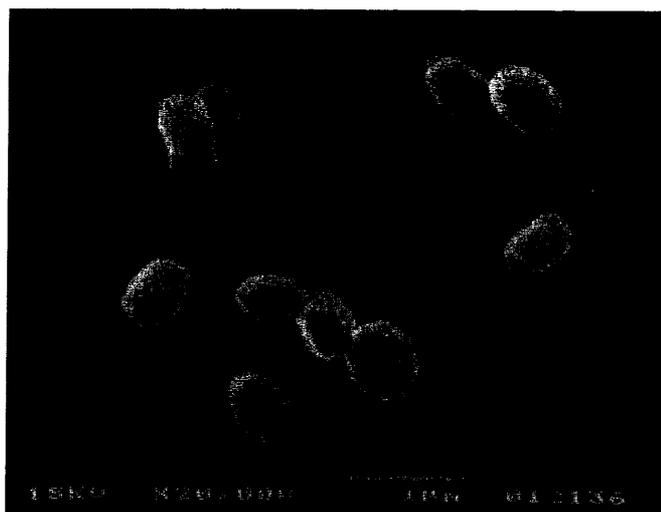


図2 *Nitrosomonas* sp.の走査型電子顕微鏡写真 当社基盤技術研究所単離登録株 (*Nitrosomonas* sp. FERM P-12555) の電子顕微鏡写真を示す。
Electron micrograph of *Nitrosomonas* sp. FERM P-12555

対照系として、ゼオライトカラムを用いた化学的処理と生物硝化のみの2系統を準備、3系統の装置を使用した。

化学的処理法では硝化タンク、脱窒タンクの替りにゼオライトカラムを設置、生物硝化のみでは脱窒タンク、グルコースポンプ、タイマを図1より除いた。

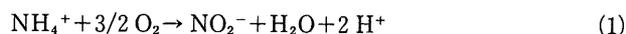
それぞれのユニットには表2に示すとおりゼオライト、硝化菌、脱窒菌、活性炭、サンゴ砂が充てんされている。

また、今回使用した硝化菌は当社基盤技術研究所で単離寄託登録された次の2株である⁽³⁾。

・ *Nitrosomonas* sp. FERM P-12555 (図2参照)

・ *Nitrobacter* sp. FERM P-12556

硝化菌は前記2種類の菌の相互作用により、キンギョが排せつするアンモニアを亜硝酸イオンを経て硝酸イオンにまで酸化する。その反応は次の式(1)、(2)で表される。

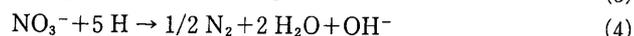
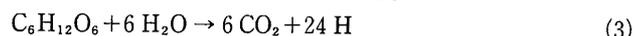


硝化反応ではアルカリであるアンモニアが酸である硝酸に酸化されるため、飼育水のpH低下が起る。そのため、サンゴ砂の炭酸カルシウム成分の溶出によるpH調整を行う。

脱窒菌は一般の硝化脱窒汚泥を嫌気性条件下で馴(じゅん)養した菌を用いた。脱窒菌は硝化菌が生成した硝酸イオンを窒素ガスに還元するが、この還元の際に水素供与体としての有機物が必要である。

脱窒反応は通常メタノールを有機物として使用するが、メタノールは飼育生物にとって毒性が高いため、毒性の低いグルコースを用いて脱窒反応を行わせた。

その反応式は式(3)、(4)のとおりである。



硝化菌及び脱窒菌はガラス素材 (Schott siporax) に付着させ、硝化性能を0.1 g/(l·d)以上に馴養したものを使用した。

2.2 供試生物

体長25~35 mm、体重1.2~1.7 gのキンギョ5匹を試験に使用した。試験中にキンギョが死亡した場合は死亡した個体を速やかに系外に取り出し、新個体に入替えた。

試験期間中は0.05~0.2 g/dの割合で給餌(じ)した。

2.3 水質分析

分析は1回/dの割合でサンプリングした液を用い、下記に示す方法で水質分析を行った。

アンモニア態窒素：インドフェノールブルー吸光光度法

亜硝酸態窒素：Griess-Romijn法

全窒素：全窒素濃度計

pH：電極法 (TOA 6194 L)

溶存酸素濃度：電極法 (TOA DO-25 A)

全有機炭素：TOC (Total Organic Carbon)
(Shimadzu TOC-5000)

溶存酸素濃度及びTOCはキンギョの飼育上の管理項目としてモニタした。すべての試験系、全期間においてほぼ飽和の溶存酸素濃度と数ppm以下のTOC濃度を維持しており、溶存酸素及びTOCによるキンギョの死亡はなかったものと考えられる。

3. 結果

3.1 化学処理法

化学処理法における飼育水のアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、全窒素、pHの経時変化を図3に示す。また、図中の×印はキンギョの死亡個体数を示している。

試験初期において13匹のキンギョが死亡しているが、これは試

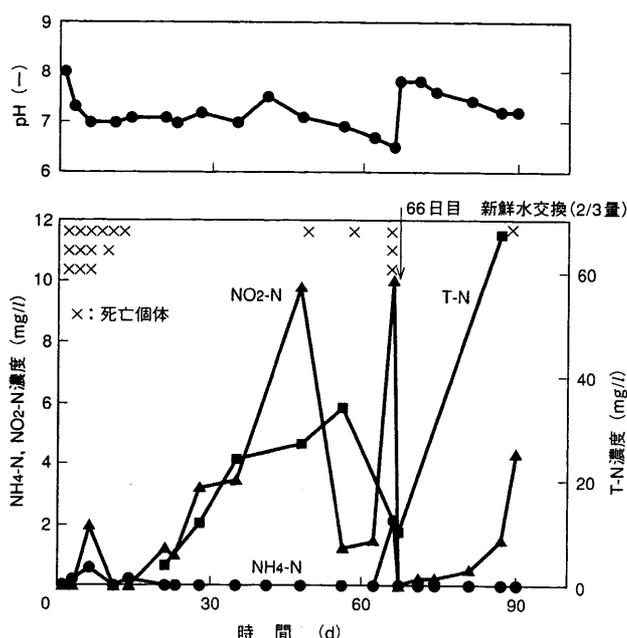


図3 化学処理法による飼育水質の経時変化 化学吸着法を用いた飼育水浄化における飼育水中のアンモニア、亜硝酸イオン、硝酸イオン及びpHの経時変化を示す。
Time course of $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, T-N concentrations and pH with chemical method

験に使用したキンギョの個体差によるところが大きいと考えられる。また、飼育水の急激な pH 変動によるストレスも一因であると推定される。

試験開始初期には、飼育水質は良好であった。これは、キンギョから排出されるアンモニアがゼオライトによって吸着されているためである。

しかし、試験中期になると、亜硝酸態窒素濃度が最大 10 ppm まで蓄積した。これは、ゼオライトに吸着したあるいはキンギョから発生したアンモニアが酸化されたためと考えられる。

亜硝酸態窒素はゼオライトには吸着しないため、水中に存在する。亜硝酸イオンはアンモニアと同等以上に毒性が高いため、亜硝酸イオンの蓄積は飼育生物を死亡させる可能性がある。また、亜硝酸イオンの蓄積は飼育水の pH を急激に低下させた。

本試験では亜硝酸イオンの蓄積により次々にキンギョが死亡したため、66 日目に飼育水の 2/3 を新鮮な水と交換した。

飼育水交換後、いったん亜硝酸イオンの蓄積は解消されたが、80 日目に再び亜硝酸イオンが生成し、急激に蓄積した。

すなわち、化学処理では飼育水の亜硝酸イオンの発生を抑えることができず、飼育水の pH 低下や全窒素濃度の上昇を招くと考えられる。

今回の試験では、亜硝酸の蓄積以降 6 匹のキンギョが死亡した。

3.2 生物硝化法

生物硝化のみを用いた飼育水質の経時変化を図 4 に示す。

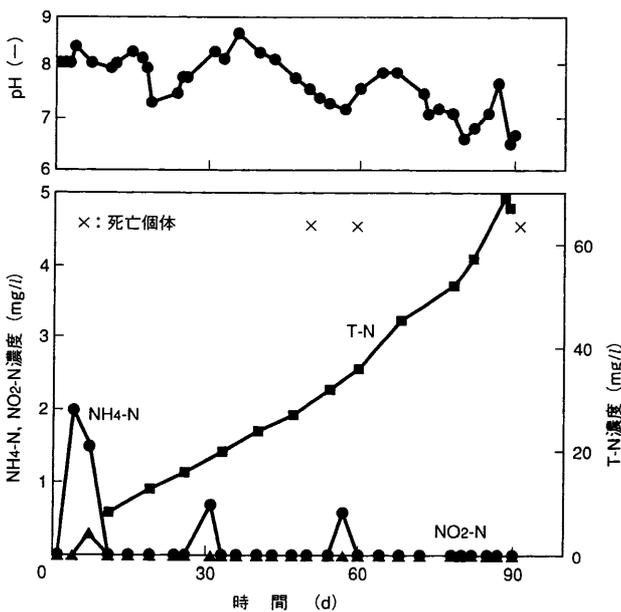


図 4 生物硝化法による飼育水質の経時変化 生物硝化法を用いた飼育水浄化における飼育水中のアンモニア、亜硝酸イオン、硝酸イオン及び pH の経時変化を示す。
Time course of $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, T-N concentrations and pH with simple biological method

本系では試験開始時を除き、全般を通してアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素共 1 ppm 以下を満足している。

これは、キンギョから排出されたアンモニアが硝化菌の働きにより亜硝酸イオンを経て、硝酸イオンにまで酸化されていることを示している。

しかし、一方、アンモニアの酸化に伴い、硝酸イオンが蓄積するため、全窒素濃度の上昇及び pH の低下が起った。

本系では 3 匹のキンギョが死亡した。

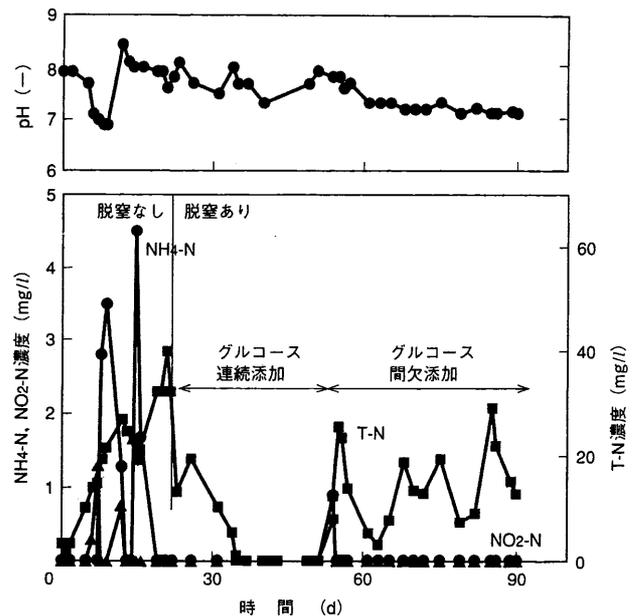


図 5 生物硝化脱窒法による飼育水質の経時変化 生物硝化脱窒法を用いた飼育水浄化における飼育水中のアンモニア、亜硝酸イオン、硝酸イオン及び pH の経時変化を示す。
Time course of $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, T-N concentrations and pH with combined biological method

3.3 生物硝化脱窒法

生物硝化+脱窒による飼育試験結果を図 5 に示す。

試験初期の 2 回のアンモニア態窒素の上昇は停電によるものであり、復旧後は速やかにアンモニアの蓄積が解消された。停電による蓄積を除き、試験期間中にアンモニア態窒素及び亜硝酸態窒素の蓄積はなかった。

脱窒を行わなかった試験初期 (~25 日目)には硝酸態窒素の蓄積が起り、全窒素濃度は 40 ppm まで上昇している。

その後、グルコース添加により脱窒反応を行わせ、飼育水中の全窒素濃度を 1 ppm 以下に抑えることができた (35 日目)。

全窒素濃度を 1 ppm 以下に保つためには、水素供与体であるグルコースを過剰に添加する必要があるため、雑菌が繁殖し飼育水の白濁が生じた。

硝酸態窒素の毒性はアンモニア、亜硝酸のそれに比べて 2 けた以上低いため、数十 ppm 程度の残存は飼育上、問題にならない。そこで、グルコースの添加量を制御して全窒素濃度 30 ppm 以下を維持するような運転に切換えた結果、飼育水の白濁も抑えられ、処理水質も良好であった。

本系では 90 日間 1 匹のキンギョも死亡しなかった。

4. 考 察

化学処理法では、試験中期以降に亜硝酸イオンの蓄積が起った。これは、キンギョなどの供試体に付着していた硝化菌 (亜硝酸菌) が活性を帯び、系内のアンモニア (ゼオライトに付着されたもの及び飼育水中に溶解しているもの) を酸化したためと推定される。

自然界で硝化菌は亜硝酸菌と硝酸菌との混合系でバランス良く存在しているため、亜硝酸イオンの蓄積は起らないが、今回の試験のように自然界の一部を隔離したようなシステムでは両菌のバランスが崩れ、亜硝酸イオンが蓄積する現象が発生する。

亜硝酸イオンはアンモニアと同等以上に毒性の高い物質であるため、亜硝酸イオンの蓄積は飼育システムにとって致命的である。また、アンモニアが亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンに酸化され

るため、飼育水の pH も急激に低下する。サンゴ砂による pH 緩衝能力を持たせてはいるが、pH 低下は避けられなかった。

生物硝化法では、化学処理法の欠点であった亜硝酸イオンの蓄積を防止するため、充てん材に硝化菌を高濃度に付着させている。

これにより、発生したアンモニアは速やかに亜硝酸イオンを経て硝酸イオンに酸化される。

硝酸イオンはアンモニア、亜硝酸イオンに比べて毒性が非常に低い。したがって、数十～百 ppm 程度の蓄積は飼育生物に影響を与えない。したがって、50 日間程度の飼育期間であれば、生物硝化法を用いることで水生生物の飼育が可能であると考えられる。

しかし、本法においてもアンモニアを硝酸イオンに酸化するため飼育水 pH の低下が起り、その結果、飼育生物に悪影響を与えると考えられる。

この場合も pH 緩衝材として投入したサンゴ砂の能力を超えて pH の低下が起っている。

本系でのキンギョの死亡は pH 低下によるものと推定される。

生物硝化脱窒素法では、前記 2 方式の欠点を補うべく、アンモニアの積極的な酸化と生成する硝酸イオンを脱窒し、pH 低下を抑制している。その結果、飼育水中のアンモニア、亜硝酸、硝酸の蓄積は起らず、かつ pH 緩衝用のサンゴ砂を加えていないにもかかわらず飼育水の pH 低下も少なかった。

一方、生物脱窒を行わせるためには水素供与体としての有機物を過剰に投与する必要があり、雑菌繁殖を引起す恐れがある。

実験では、グルコースを脱窒カラム入口で投与し、脱窒カラム内で完全に消費できるように制御したが、本法で実用化させるためには宇宙空間でのグルコース添加の自動制御方法や脱窒により生成した窒素ガスの除去方式などの開発が必要である。しかし、閉鎖循環系で水生生物を 90 日間の長期にわたり死亡させることなく飼育できたという意義は大きく、今後の宇宙実験の対象の幅を広げることができたと考えられる。

最後に閉鎖循環系の飼育水の浄化方法とライフサポート期間を表 3 にまとめた。表 3 から要求される試験期間によって、飼育水の浄化方法を選択することが望ましいといえる。

すなわち短期間（2 週間以内）であれば、維持管理が容易な化学処理法でアンモニアを吸着するだけでよい。また 2 週間以上になれば生物硝化法を適用し、毒性の低い硝酸イオンに酸化すれば十分である。本法において、50 日間程度であれば飼育可能であると考えられる。50 日間以上の飼育期間が必要な場合は、現在のところ、

表 3 長期飼育試験結果
Results of purification methods

浄化方法	化学処理法	生物硝化法	生物硝化脱窒法
死亡個体	19	3	0
NH ₄ -N (mg/l)	<1	<1	<1
NO ₂ -N (mg/l)	10	<1	<1
T-N (mg/l)	70	70	<30
pH	6.4	6.4	>7.0
健全飼育期間	約 14 日間	約 50 日間	90 日間以上

ころ、生物硝化+生物脱窒法が適している。

これにより、飼育水中のアンモニア、亜硝酸イオン、硝酸イオンの除去及び飼育水の pH 維持が可能となり、良好な水質を維持できると考えられる。

なお、本システムを用いた海水魚の飼育実験を行い、5 l の飼育水で 300 g の海水魚を 90 日間飼育した。ただし、飼育水浄化に使用する硝化菌、脱窒菌はキンギョ飼育に用いる菌を海中で馴致したものを用いた。飼育期間中の飼育水質及び魚の状態は良好であり、海水魚の長期飼育装置開発のめどを得ている。

5. ま と め

将来の宇宙ステーション向けの宇宙実験装置の一つとして、水生生物用長期実験装置内の飼育水浄化方法の検討を行い、長期飼育には生物硝化+生物脱窒の組合せシステムが有効であることを示した。

本システムにより、90 日間以上の飼育実験が可能となり、宇宙実験のすそ野が広がるかと期待される。

このような飼育水浄化システムは、地上では活魚蓄養槽や水族館の水浄化への適用が考えられるが、前記課題の解決とともに高度技術を維持しつつコストダウンを図ることが重要である。

参 考 文 献

- (1) Von Baumgarten, R. J., et al., Space Environ. Med.46 : 902-906 (1975)
- (2) Ijiri, K., The First Vertebrate Mating in Space-A Fish Story. RICUT, Tokyo (1995)
- (3) 中村ほか, 硝化菌の増殖と低温活性に関する研究, 三菱重工技報 Vol.28 No.6 (1991)