

下水汚泥の脱水濾液で藻類は増殖するか

北谷 光 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 石田 健一郎 (筑波大学 生命環境系)

【背景】

下水処理に用いられる活性汚泥法は、好気微生物を高密度で含む活性汚泥と排水を懸濁し曝気を加えることで汚濁物質の分解を行う手法である。活性汚泥法は処理に伴い余剰汚泥を廃棄物として大量に排出するが、この余剰汚泥は水分を多く含むためそのままでは処分が難しく、遠心操作を加えることで液体成分と固体成分に分離され処分される。この液体成分は脱水濾液と呼ばれる。

近年微細藻類による排水処理と微細藻類培養の並行化技術が、既存技術と比べ低コストかつ副産物として藻類バイオマスを得られるという点から注目されている。これに使用する排水として、藻類培養に必須な栄養素であるリン・窒素を豊富に含み、またコストも低い脱水濾液が注目を集めている。しかし、脱水濾液には非常に高濃度のアンモニア態窒素が含まれており、また貧硫黄であるため多くの藻類が増殖を阻害されることが知られている。そのため本研究では、自然環境中から脱水濾液内で生育可能である藻類を探索し、その脱水濾液中での増殖能力と栄養塩除去能力の評価を作成した培養株を用いて行うことを目的とし、実験をおこなった。

【方法】

<使用した藻類株・脱水濾液>

富栄養であるとみられる自然環境中から得たサンプルを脱水濾液中に微量添加し1か月培養をおこなった後、生存した藻類株をピペット洗浄法により単離し培養株とした。培養実験には朝来浄水センター敷地内のコンクリート壁漏出水から単離した単離株 (*Tetrademus* sp.: DWF001) を使用した。培地には朝来浄水センターから譲り受けた脱水濾液を使用した。

<培養実験>

培地には孔径 5 μm の濾紙により浮遊物を除いた脱水濾液と、孔径 0.7 μm ガラス繊維フィルターで濾過したのちにオートクレーブで 121°C・20 分加熱滅菌した脱水濾液を用い、また硫黄添加のためそれぞれに MgSO_4 を 30 mg/L となるように添加した培地も用いた。コントロールとして各種培地に藻類の添加をおこなわず培養をおこなった。各種培地を 300 mL ずつ 500 mL 三角フラスコに入れ、DWF001 株を $\lambda = 683 \text{ nm}$ で初期吸光度 0.1 Abs となるように接種し、温度 24.5 °C、光量子束密度 50~60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12:12、振とう速度 100 rpm で振とう培養をおこなった。培養期間中 2 日おきにサンプルを 5 mL 採取し、保存が必要な際は 4 °C の冷暗所で保存した。

<計測>

藻類の増殖量を測定するため、サンプルのクロロフィル a 吸光度を $\lambda = 683 \text{ nm}$ で紫外可視分光光度計(バックマン・コールター)を用いて測定した。また培地中のバイオマス量と栄養塩量の変化を測定するため、炭素濃度と窒素濃度を TOC-L 全有機炭素計(島津製作所)を用いて測定した。サンプルは遠心操作を加えた上清と遠心していないサンプルをそれぞれ測定し、炭素濃度の差をバイオマス量とみなした。また、遠心していないサンプルの窒素濃度

の値を溶存窒素量とした。リン濃度の測定は、サンプルを遠心したうえで、上清にモリブデンブルー法を用いて測定した。

【結果】

県内 40 か所から採取したサンプルを脱水濾液によりスクリーニングし、脱水濾液中で生存可能な藻類株を 5 株得た。これらを脱水濾液中で前培養し、最も増殖した株を 18SrRNA 遺伝子シーケンシングし系統樹を作成することで *Tetrademus* sp. であることを確認し、DWF001 株と命名した。

DWF001 株の増殖は、濾紙でのみ濾過した脱水濾液では培養 2 日目までに吸光度が初期の約 1.5~2 倍まで上昇し、その後も同水準を維持したのに対し、ガラス繊維フィルターで濾過・滅菌を加えた脱水濾液では培養期間を通して吸光度はほぼ変化しなかった。

バイオマス量は培地の種類によらず培養 2 日目~4 日目にかけ増加がみられたが、ガラス繊維フィルターで濾過・滅菌を加えた培地では培養終期に大きくバイオマス量が減少した。また、窒素濃度はコントロールを含め全サンプルで培養期間を通して緩やかに減少した。

リン濃度はガラス繊維フィルターにより濾過・滅菌した脱水濾液では培養開始時点から極めて低く、藻類を添加した培地は培養時間が経つにつれさらに減少した。これは、フィルター濾過による減少であると考えられる。濾紙でのみ濾過した脱水濾液に関しては、藻類を添加した培地では培養 2 日目までにリン濃度が急激に減少し、その後も緩やかに減少を続けた。それに対しコントロールでは培養 4 日目ほどまでにリン濃度が大きく上昇した。

【考察】

今回の実験で使用した DWF001 株は、濾紙でのみ濾過した脱水濾液の中で培養 2~4 日目にかけてクロロフィル a 量、バイオマス量を大きく増加させた。この DWF001 株は自然環境中から得た混合サンプルを脱水濾液中に少量添加し培養することで得た株である。多くの藻類種では脱水濾液中での生育が阻害されるが、今回の実験の結果 DWF001 株は原液に近い脱水濾液中で良好な増殖を見せた。このことから、本株は脱水濾液中での培養に適すると考えられる。また、同様の手法により更なる脱水濾液中で良好な生育を見せる株の探索も可能であると考えられる。

一方で、0.7 μm 孔径ガラス繊維フィルターで濾過をした脱水濾液のリン濃度が培養初期から大幅に減少していたのは、脱水濾液中でリンが不溶性のリン酸アンモニウムマグネシウムとして存在しており、微少孔径フィルターに捕集されているためであると考えられる。また、この脱水濾液でクロロフィル a 量、バイオマス量の増加が濾紙でのみ濾過した脱水濾液と比べわずかであったのは、この物理的なリン減少により増殖が制限されたためであると考えられる。

DWF001 は原液に近い条件の脱水濾液中で増殖阻害を受けず、リン濃度も減少させたが、窒素濃度はコントロールとほぼ変化がなかった。今後のスクリーニングにより更に良好な増殖能力や栄養素除去能力を持つ株が発見できる可能性がある。