

日本大学	学生会員	○宮坂 拓
日本大学		中村 和徳
日本大学	正会員	中野 和典
東北大学		滝沢 憲治
東北大学		多田 千佳

1. 研究背景

メタン発酵処理によって副次的に発生する発酵残渣であるメタン発酵消化液（消化液）は、窒素やリンの濃度が非常に高く、その処理には多大なコストやエネルギーを必要とする。そのため消化液に含まれる高濃度の栄養塩を液肥に利用することが出来れば理想的であり、藻類培地として消化液を利用するための様々な検討が行われてきた。また、消化液中の懸濁物質濃度は高く、藻類の光合成を阻害することが問題となる。さらに消化液の pH は 7.5~8.5 であり、多くの藻類の生育に最適な pH に比べて高く、藻類培地として用いるには希釈や pH 調整等の前処理が必要となる。本研究では、人工湿地による多段処理によって消化液中のアモンニア態窒素や塩濃度の低減及び懸濁物質の除去が可能であることに着目し、メタン発酵消化液を藻類培養に利用するための前処理としての人工湿地の有効性を評価することを目的とした。

2. 研究方法

2.1 供試藻類

本研究は国立環境研究所微生物系統保存施設から分譲された *Euglena gracilis* NIES-48 を用いて行った。*E. gracilis* は、至適 pH は酸性、増殖にアモンニア態窒素を利用するが硝酸・亜硝酸態窒素は全く利用できない、ビタミン B₁ と B₁₂ を必須微量元素とするといった特性を持つ。また一般名“ミドリムシ”でよく知られている藻類であり、脂質やサプリメントの生産に利用されている。

2.2 消化液の前処理

消化液は水産加工廃棄物を原料とする 100 m³ の小型メタン発酵槽の廃液であり、3 段の人工湿地により処理が行なわれている。本研究ではこれらの消化液と人工湿地処理水を藻類培養に供試した。消化液の *E. gracilis* の液肥としての有効性を評価するために、消化液原液、滅菌水で 10 倍に希釈した消化液、3000 rpm で 10 分間遠心分離し懸濁物質を除去した消化液、0.1 mol/L の HCl で pH を 6.4 に調整した消化液及び pH を 6.4 に調整後滅菌水で 10 倍に希釈した消化液を準備した。

2.3 *E. gracilis* を用いた藻類培養試験

藻類培養試験は、HUT 液体培地での前培養により対数増殖期に移行した *E. gracilis* NIES-48 培養液と供試液を 1:99 の割合で混合し、密栓した 300 mL 三角フラスコまたは試験管により行なった。培養試験は白色蛍光灯（光量子束密度 150 μmol/m²/s）を設置した 30℃ のインキュベータ内で振盪して行った。*E. gracilis* の増殖量は 600 nm の吸光度を測定して得られる濁度で評価した。

3. 結果と考察

3.1 消化液の *E. gracilis* の液肥としての有効性の評価

E. gracilis 培養用の液肥としての有効性を評価するために、消化液を液体培地として *E. gracilis* の培養を行った結果を図-1 に示す。消化液原液、消化液の 10 倍希釈液、遠心分離により懸濁物質を除去した消化液及び pH を 6.4 に調整した消化液では、*E. gracilis* の増殖は観察されなかった。pH 調整と希釈を組み合わせた消化液

キーワード 藻類培養、人工湿地、メタン発酵消化液、液肥、前処理、増殖阻害要因

連絡先 〒963-8642 福島県郡山市田村町徳定字中河原 1 番地 日本大学 工学部 環境生態工学研究室

では*E. gracilis*の増殖が見られたが、HUT培地やCM培地と比較して増殖量は明らかに少なく、消化液の液肥としての有効性は低いことが示唆された。

3.2 消化液の除菌処理としての人工湿地の有効性

液肥に目的藻類と競合する藻類や細菌が混入する場合には、ろ過滅菌等の前処理が必要となる。消化液の人工湿地処理水に目的藻類と競合する藻類等が混入しているか否かを確認するため、目的藻類である*E. gracilis*を接種した人工湿地処理水と接種を行なわなかった人工湿地処理水の6日後の濁度を比較した。その結果図-2に示すように*E. gracilis*の接種を行なわなかった場合でも濁度が増加し、特に1段目処理水では*E. gracilis*以外の藻類の増殖が認められた。2、3段目と処理が進むにつれて*E. gracilis*を接種していない処理水での濁度は低くなっており、人工湿地による多段処理に伴って処理水の除菌が進んでいることが明らかとなった。したがって、人工湿地は消化液の除菌処理を軽減する前処理として有効であることが示された。

3.3 *E. gracilis*の培養試験条件の検討

図-1に示すように*E. gracilis*の増殖量は、有機培地であるHUT培地と比較して無機培地であるCM培地で明らかに少なかった。人工湿地処理水の有機成分濃度は低いため、その液肥としての性質は無機培地に近く、その有効性の評価には無機培地であるCM培地が対照として適していると考えられる。図-3にHUT培地、CM培地及び人工湿地の3段目処理水による*E. gracilis*の増殖曲線を示す。この結果から人工湿地処理水の液肥としての有効性を評価するための培養時間としてCM培地で明らかな増殖が観察された16日前後の期間が必要であることが示された。

3.4 人工湿地処理水の液肥としての有効性の評価

人工湿地処理水の*E. gracilis*の培養の液肥としての有効性を評価するために、ろ過滅菌により除菌を行なうと共に希釈によって栄養塩濃度を变化させた各段の処理水を用いて*E. gracilis*を16日間培養した。図-4に示すように、1段目処理水は希釈無しでは*E. gracilis*の増殖が得られず、増殖阻害成分が含まれていることが示唆された。一方、2段目処理水では希釈無しでも*E. gracilis*の増殖が観察され、増殖阻害が低減されたことが示されたが、10倍希釈した処理水ではさらに高い増殖が得られ、増殖阻害成分の影響が残っていたことが考えられた。この10倍希釈液で得られた増殖量はCM培地の2.5倍であり、*E. gracilis*の液肥として充分に利用可能であることが明らかとなった。さらに希釈を行なった100倍希釈の処理水では増殖量が低減したことから、人工湿地処理水を液肥として利用するためには希釈率が重要な因子となることが示唆された。1及び2段目処理水と異なり、3段目処理水では希釈無しで最も高い*E. gracilis*の増殖が観察され、増殖阻害成分が十分に除去されていることが示された。しかし、同時に藻類の増殖に必要な栄養源も低減されていると考えられ、希釈液での*E. gracilis*の増殖量は低下する結果となった。

4. まとめ

*E. gracilis*を用いた培養試験より、消化液の液肥としての有効性は低いですが、これを人工湿地で処理することにより消化液の除菌処理を軽減できるだけでなく、無機培地として使用可能な液肥となることが明らかとなり、メタン発酵消化液を藻類培養に利用するための前処理としての人工湿地の有効性を示すことが出来た。

謝辞

本研究は文部科学省東北マリンサイエンス拠点形成事業の一環として実施した。ここに謝意を表する。

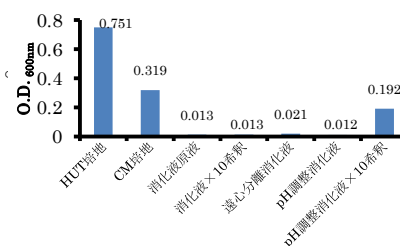


図-1 消化液の液肥としての有効性の評価

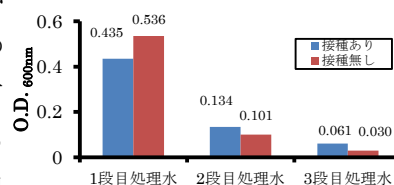


図-2 除菌処理としての人工湿地の有効性の評価

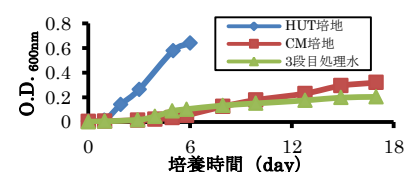


図-3 *E. gracilis*増殖曲線の比較

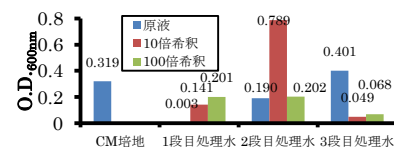


図-4 人工湿地処理水の液肥としての有効性の比較