

(60) 活性汚泥中の成分が細菌群集構造に及ぼす影響 のマイクロプレート培養法を用いた検討

佐藤 弘泰*・小川 旦・味埜 俊

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 (〒277-8563 千葉県柏市柏の葉5-1-5)

* E-mail: hiroyasu@k.u-tokyo.ac.jp

活性汚泥中の微生物群集構造に影響を与える因子として、活性汚泥中の微生物が生産する化学物質が考えられる。本研究ではまず活性汚泥から有機溶剤を用いて抽出成分を得た。ついで、別に用意した活性汚泥に人工下水と抽出成分を加え、5日間培養を行った。対照系として、活性汚泥に人工下水のみ加えた系、また、抽出成分のみを加えた系も培養した。培養はマイクロプレート上で行い、培養中の細菌の増殖状況を吸光度で評価した。また、培養後の細菌群集構造の違いを16SrRNA遺伝子の部分配列を対象としてPCR/T-RFLP法による解析を行い評価した。その結果、抽出液の添加の有無により、細菌群集構造に大きな違いが見られることがわかった。

Key Words : activated sludge, allelopathy, PCR/T-RFLP method,

1. はじめに

活性汚泥中微生物群集構造は、プロセスの構造や運転条件等様々な因子により変化する。また、著者らをはじめ一部の研究者は活性汚泥中の細菌群集の中にはその活性や群集構造に影響を与える成分を合成し放出するものが存在しているのではないかと考えている。特にそうした物質が存在することが疑われているのが生物学的リン除去活性汚泥プロセスである。リン除去に適した条件で実験室内において生物学的リン除去活性汚泥プロセスを運転すると、リン除去が良好な期間を経た後に、リン除去が突如悪化するようなケースが間々ある。そうした事例は論文としてはそれほど多くは報告されていないが、研究者間ではよく知られた話である。また、そうした事例が報告されている研究も少ないながら存在する¹⁾²⁾。

著者らの研究グループでは、リン除去活性の異なる汚泥を混合し、あるいは上澄を交換することが、汚泥のリン除去関連の代謝に与える影響を検討した³⁾⁴⁾。汚泥中に、あるいは上澄中に活性汚泥の代謝活性に影響を与える成分が存在すれば、その影響が汚泥の代謝活性に現れるであろうと予想したからである。しかし、実際にリン除去関連の代謝に統計的にも有意な影響が見られたケースもあったが、その影響はそれほど大きくないものではなかった。

一方、Tanaka et al.(2005)は、活性汚泥中の微生物が生産する物質によって *Catellibacterium nectariphilum* の増殖が著

しく促進されることを報告した⁵⁾。また、*Sphingomonas* 属の細菌群がそのような促進物質を生産することを報告している。活性汚泥中の微生物群集の構造が、そこに存在する微生物群集そのものによって影響をうけている可能性を明確に示した研究である。

本研究では、活性汚泥中の微生物群集構造に影響を及ぼすような化学物質が活性汚泥中に存在するのではないかと考え、次のような検討を行った。活性汚泥から得た抽出成分を活性汚泥に加え、増殖用基質とともに培養を行った。そうした化学物質の挙動（ブロック内・ブロック外の分配）は主に疎水性・親水性に関連すると考え、有機溶剤を用いて抽出した。対照系として、活性汚泥に人工下水のみ加えた系、また、抽出成分のみを加えた系も培養した。培養はマイクロプレート上で行い、培養中の細菌の増殖状況を吸光度で評価した。また、培養後の細菌群集構造の違いを16SrRNA遺伝子の部分配列を対象としてPCR/T-RFLP(Polymerase Chain Reaction/Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)法による解析を行い評価した。

2. 方法

(1) 供試汚泥

本研究で用いた活性汚泥は、実験室内において人工下水を用いて運転された嫌気好気回分式装置から得た。同

装置の有効容積は10Lであり、18℃～25℃の空調された室内に設置された。流入人工下水の組成は酢酸ナトリウム181mg/L、ペプトン80mg/L、酵母エキス16mg/L、塩化カリウム17.6mg/L、塩化カルシウム8.0mg/L、硫酸アンモニウム34.6mg/L、硫酸マグネシウム43mg/L、リン酸水素二カリウム28.8mg/Lであり、有機態炭素濃度は101mgC/L、リンは6.6mgP/Lである。また、装置は流入5分、嫌気60分、好気115分、沈殿45分、放流5分の4時間のサイクルで運転した。SRTは4日、また、HRTは8時間である。

同装置は2008年の8月中旬に実下水処理場から採取した活性汚泥を用いて運転を開始した。MLSSは1500mg/L～2000mg/L程度、また、嫌気でのリン酸の放出と有機物の摂取は9月中旬頃まで見られたが、その後悪化し、装置は10月20日ごろに汚泥を実処理場から採取した新鮮な汚泥と入れ替えた。汚泥入替後は1ヶ月ほどの間は良好なリン除去が見られたが、その後、リン除去が悪化した。

(2) 活性汚泥成分の抽出

活性汚泥中成分の抽出は、次のように行った。まず採取した活性汚泥混合液を遠心分離し、上澄を捨て、残った汚泥を凍結乾燥した。凍結乾燥した汚泥にもとの汚泥混合液と等量の有機溶剤（エタノール（和光純薬特級）、または酢酸エチル（和光純薬残留農薬試験用）、アセトン（キシダ化学特級））を加え数時間攪拌し、遠心分離により固形分を除去した。

(3) 培養実験

培養実験は、96穴マイクロプレート（BD Bioscience社、Microtest 96-well 370 μ L Clear Plate UV）を用いて行った。マイクロプレートは1枚のプラスチック板中に多数の穴（ウェル）が設けられた器具であり、再現性を確認するために同一の条件で複数の培養を行うために適している。

培養に先立って、マイクロプレートのウェルに300 μ Lの抽出液を加え、大気中室温（15℃～25℃）で溶剤を蒸発させた。同様の操作を1回、または3回繰り返した（抽出物添加系）。また、抽出物無添加系のウェルでは、ウェルに抽出液のかわりに有機溶剤そのものを加え、同様の操作を行った（溶剤対照系）。なお、今回用いたマイクロプレートはポリスチレン製であり、有機溶剤に対しては比較的弱いといわれている。しかし今回の実験では、溶剤を添加しただけでは異常は見られなかった。ただし、酢酸エチルを添加すると素材が膨潤し、ピペットチップの先でこするとしわができるような状況になった。

ウェルに抽出物を加え、溶剤を蒸発除去した後、活性汚泥混合液を30 μ L、また、人工下水と同じ組成で約60倍

の濃度に調整した濃厚基質を10 μ L（実際にはリン系の濃厚基質5 μ Lとその他の成分を含む濃厚基質5 μ Lをあわせたもの）、滅菌水を260 μ L加えた。加えた基質の濃度は、最終濃度として有機態炭素210mgC/Lおよびリン13.7mgP/Lである。通気性のあるマイクロプレート用フィルム（Abgene、型番AB-0718）を用いてウェル表面にふたをし、震盪機を用いて攪拌しつつ、室温で96時間培養した。また、培養中24時間ごとに濃厚基質10 μ Lを追加した。また、抽出物のみを基質として微生物が増殖する可能性があり得ると考え、抽出物は添加するが、濃厚基質は添加しない対照系（無基質系）も設けた。なお、培養用の活性汚泥は培養開始当日に採取し、添加に先立って穏和に超音波破碎し粗大なフロックを分散させた。

培養実験は2回行った。

1回目の培養実験では、抽出成分は9月13日に採取した活性汚泥からエタノール、酢酸エチル、またはアセトンを用いて抽出したものを、また、培養用活性汚泥は10月9日に採取したものをを用いた。主たる目的は、活性汚泥からの溶剤抽出液中に細菌群集構造に影響を与える物質が存在するかどうか、また、存在するとすればどの有機溶剤を用いて抽出するのが効果的か調べることである。

また、2回目の実験では9月13日の活性汚泥および10月15日の活性汚泥からそれぞれエタノールにより抽出した成分を用い、培養用活性汚泥は11月10日に採取したものをを用いた。活性汚泥の状態によって、抽出物の持つ微生物群集構造の影響に違いが見られないか検討することを目的とした。

(4) 微生物の増殖状況のモニタリング

マイクロプレートの各ウェル中の微生物量を大まかに把握するために、24時間ごとに紫外可視プレートリーダーSH-1000Lab（日立ハイテック社）を用いて380nmにおける吸光度を測定した。各ウェルについて3点での吸光度を測定し、平均した。

(5) 微生物群集構造解析

培養終了時の試料を微生物群集解析に供した。

PCR反応用の鋳型DNA試料は、超音波破碎・希釈法により調整した⁷⁾。超音波破碎機はBranson社Model 250DA Advanced Digital Sonifierに同社のスペシャルマイクロチップに装着したものをを用いた。1.5mLプラスチック製遠心チューブに各ウェルから採取した活性汚泥試料30 μ Lおよび超純水270 μ Lを加え、スペシャルマイクロチップをできるだけ奥の方まで挿入した。その後、Amplitude値70%で30秒間の破碎を2回繰り返した。その後、更に30倍または60倍に希釈し、PCR反応の鋳型とした。

PCR反応は、AmpliTaQ Gold（Applied Bioscience社）を

反応用酵素とし、T3 Thermal Cycler (Biometra社) を用いて行った。PCR反応液量は100 μ lとし、その組成は次の通り：10 $\times$ PCR Buffer 10 μ l、2mM dNTP 10 μ l、10pmol/ μ l 5'-FAM-27f プライマー (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) 2 μ l、10pmol/ μ l 519rプライマー (GWATTACGGGCKGCTG) 2 μ l、5U/ μ l AmpliTaq Gold 0.5 μ l、鋳型DNA溶液10 μ l、残り滅菌超純水。ここで用いたプライマーは、全細菌の群集構造解析のために用いられるユニバーサルプライマーである⁹。また、反応温度は95 $^{\circ}$ C 600秒の後、94 $^{\circ}$ C 30秒、55 $^{\circ}$ C 30秒、72 $^{\circ}$ C 30秒のサイクルを30回行い、最後に72 $^{\circ}$ Cで420秒保持した。

PCR反応産物をQIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したPCR反応産物を20 μ lの超純水を用いて回収した。

精製したPCR反応産物を、制限酵素HhaI (Takara社) を用いて消化した。2.5 μ lの精製済みPCR反応産物に0.5 μ lの10 $\times$ TA Buffer、10 $\times$ BSA、1.6unitのHhaIを加え、さらに滅菌超純水を用いて全量5 μ lとし、37 $^{\circ}$ Cで3時間消化し、その後65 $^{\circ}$ Cで加熱処理し酵素を失活させた。

制限酵素処理産物1.25 μ lに21 μ lのHiDi formamide (Applied Biosystems社) およびサイズマーカー GeneScan 500 ROX Size Standard (Applied Biosystem社) 0.25 μ lを加え、95 $^{\circ}$ Cで二分間加熱し、氷上で急冷することで、一本鎖化し、ABI310 を用いて制限酵素切断断片長を解析した。得られた電気泳動図をGeneMapperソフトウェア (Applied Biosystems社) を用いて解析し、T-RFLPプロファイルを得た。

3. 結果

(1) 1回目の培養実験の結果

各ウェルの吸光度の変化を図1に示す。培養開始時には0.1程度であったが、濃厚基質を与えたウェルではいずれも0.3～0.4程度にまで増加し、また、これらを与えなかったウェル（無基質系）では培養中吸光度はほぼ一定であった。ウェル間の吸光度のばらつきはかなり大きかったが、小さなウェル内にブロックができるとどうしてもこのようなことになってしまった。

図2に培養後の活性汚泥中の細菌群集構造をPCR/T-RFLP法により解析した結果のうち、エタノールを溶剤として1回添加した場合の結果を例として示す。PCR/T-RFLP法を用いて微生物群集構造を解析すると、同じ種の細菌であれば、基本的には同一の大きさのフラグメントを与えるので、細菌群集構造の変化をT-RFLPプロファイルの変化として捉えることができる。例えば、エタノール抽出物1回添加系およびその溶剤対照系に着目する。

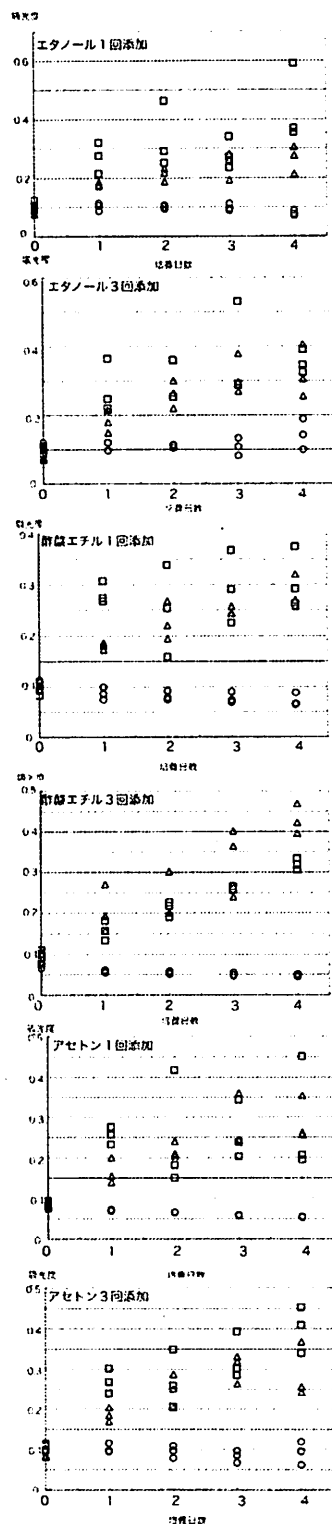


図1 1回目の培養実験における吸光度の変化
(Δ : 抽出物添加系、 $\square$: 溶剤対照系、 $\circ$ 無基質系)

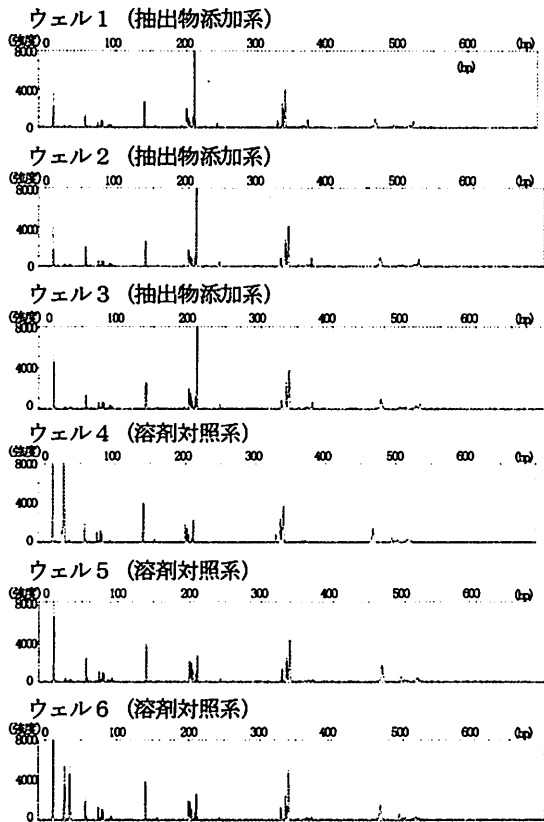


図2 1回目の培養実験結果のT-RFLP法による解析結果の例(エタノール1回添加)

抽出物添加系の方が211bpのピークが対照系のそれに比べて大きく見える。このことは、エタノール抽出物を添加することで、211bpのフラグメントを与える細菌種が活性汚泥中に相対的に増加したことを示している。

図3に観察された各フラグメントについて、相対強度(全ピーク強度の合計に対する当該ピークの強度の相対値)と活性汚泥抽出物の添加回数の関係を示す。なお、T-RFLP法でのフラグメントサイズの同定は、やや再現性に乏しいところがある。図3に示したフラグメントサイズは大まかなものである。また、86bp-92bp、198bp-205bpの区間はそれぞれ多数のピークが存在し、かつ、試料間でどのピークが一致するピークなのか、自信をもって判定することが難しかった。そこで、それぞれの区間にあるピーク強度の合計として扱った。

図3から添加回数を増やしたときの各フラグメントの相対強度の変化を見てみる。74bp、77bp、139bp、468bp、495bp、517bpでは、抽出物の添加回数を増やすにつれて減少相対ピーク強度は減少する傾向があるように見える。また、逆に211bp、243bp、372bp、523bpでは増加する傾向があるように見える。また、エタノールを添加した時

にそうした影響が顕著であった。また、340bpのように、エタノール抽出物を3回添加した場合にのみ影響が見られるケースがあった。

(2) 2回目の培養実験の結果

2回目の培養実験では、嫌気でのリンの吐き出しや好気でのリンの摂取がまだ顕著に見られた9月13日の活性汚泥試料、および、嫌気でのリンの吐き出しも好気でのリンの摂取もほとんど見られなくなった10月15日の活性汚泥試料から、エタノールを用いて成分を抽出した。また、培養した活性汚泥は汚泥を入れ替えてからの11月10日に採取したものである。

本実験では、培養開始時の各ウェルの吸光度は0.15-0.2程度であった。また、エタノール抽出物の添加回数1回およびその溶剤対照系で濃厚基質を与えたウェルの吸光度は4日間で0.6弱まで増加し、これらの間に明確な違いは見られなかった。一方、エタノール抽出物の添加回数3回およびその溶剤対照系では、10月15日の汚泥からの抽出物を添加した系では吸光度0.6程度まで増加したが、9月13日の汚泥からの抽出物を添加した系および溶剤対照系では0.4程度までの増加にとどまった。一方、抽出物1回添加、3回添加の場合とも、濃厚基質を与えない場合には吸光度は増加しなかった。

培養後の活性汚泥試料中の細菌群集構造をPCR/T-RFLP法により解析した結果(相対強度の変化)を図4に示す。図4においても図3の場合と同様に一部のフラグメントは一定の大きさの範囲のものをまとめて扱った。例えば87bp-96bpは、その区間のものをまとめて扱った。

80bp、141bp、320bp、336bp、338bp、469bpでは、抽出物を添加した系では添加しない系に比べて相対強度が低下し、一方、97-102bp、243bpでは増加する傾向があった。しかし、1回添加よりも3回添加の方が添加の効果が小さくなるように見えるケース(58bp、60bp、438bp)もあった。

9月13日抽出物と10月15日抽出物の効果の違いであるが、1回添加のケースではほとんどはっきりしない。3回添加のケースについて、上位3つが全て△(9/13の試料から抽出したケース)であったのは、58bp、60bp、87-96bp、243bp、438bp、497bpの場合であった。また、逆に下位3つが全て△であったのは、200-206bpと224bpの場合であった。243bpの場合、1回添加では下位に、逆に3回添加では上位に△が集まった。

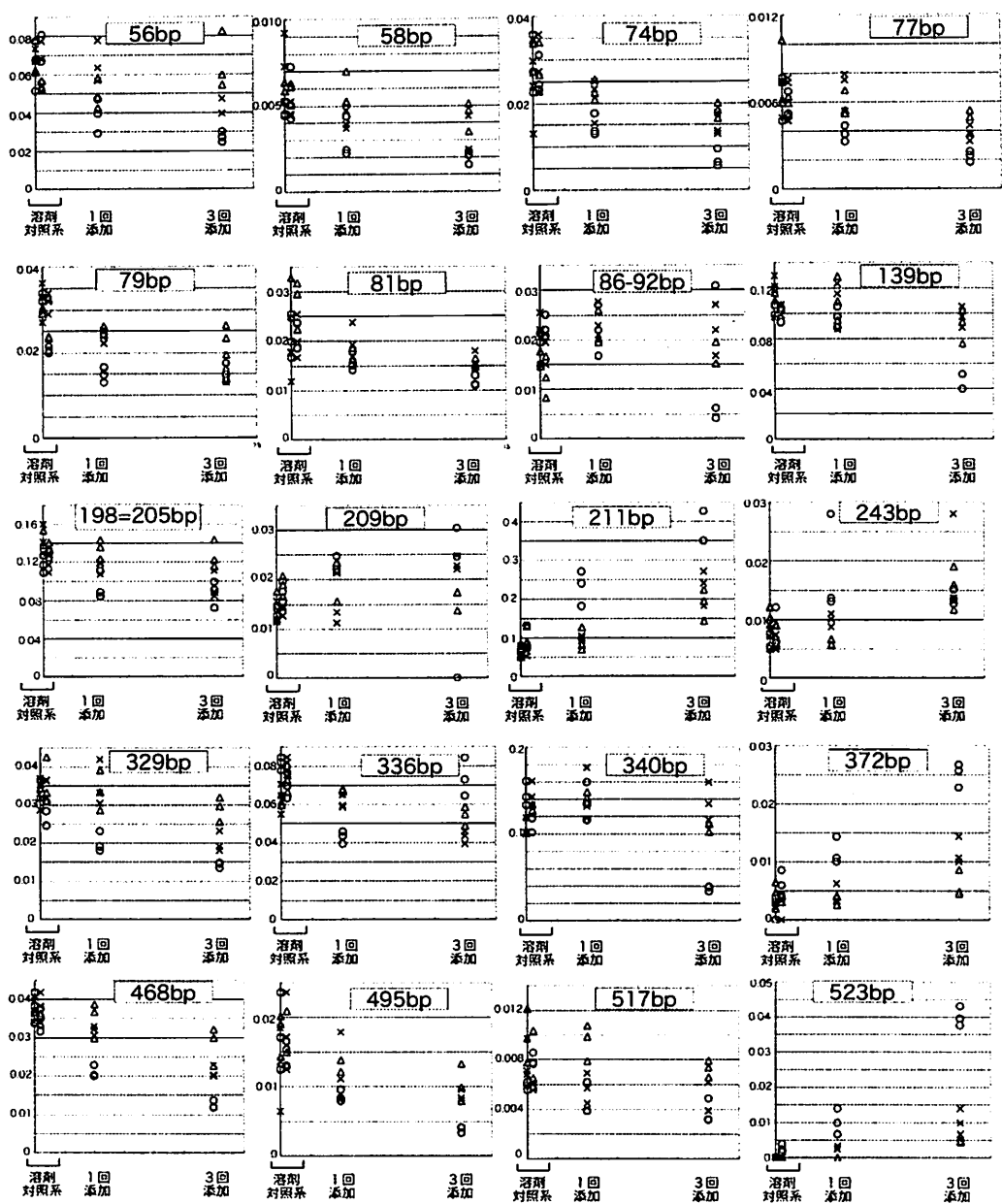


図3 1回目の培養実験におけるT-RFLP解析結果。縦軸は相対強度。○：エタノール、×：酢酸エチル、△：アセトン。

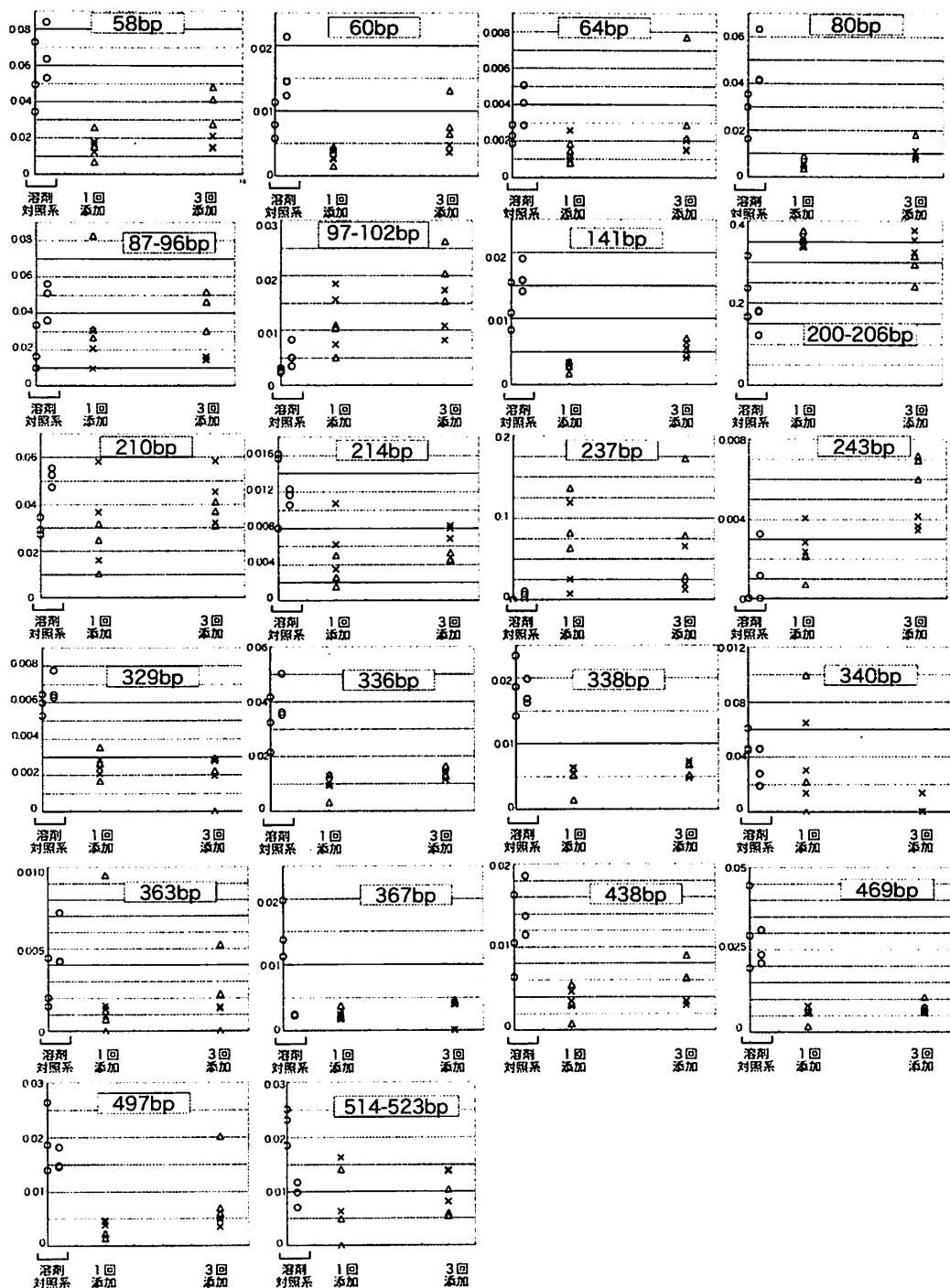


図4 2回目の培養実験におけるT-RFLP解析結果。縦軸は相対強度。○：溶媒対照、×：9/13日の汚泥からの抽出物、△：10/15日の汚泥からの抽出物。

4. 考察

本研究においては、用いた溶剤そのものに含まれて

いる成分が微生物群集構造に影響をあたえる可能性もあるかもしれないと考え、溶剤対象を設けた。抽出物添加系では、抽出された成分を含む溶剤がマイクロブ

レートウェルに添加・乾燥される。一方、溶剤対象では抽出された成分を含まない（すなわち薬品メーカーから購入したままの）溶剤を用いて同様の操作を行う。そこで、抽出物添加系と溶剤対照系を比べることで、活性汚泥からの抽出物の影響だけを見ることができると考えられる。

また、1回目の実験では抽出物は加えるが、基質は添加しないという対照系（無基質系）を導入した。活性汚泥から抽出された成分を基質として増殖する微生物が存在する可能性は否定できない。しかし、そのような微生物が仮に存在したとしても、無基質系における微生物の増殖状況から、そのような微生物の増殖が顕著にあったかどうかを確認することができる。1回目の実験において吸光度を測定することで微生物の増殖状況をモニターしたが、無基質系ではほとんど吸光度は増加していなかった。また、溶剤対照系、抽出物1回添加系、抽出物3回添加系の三つを比べても吸光度の増加傾向に大きな違いは見られず、そのことから、抽出された成分が増殖のための炭素源として用いられたことの影響は小さいと判断できた。

1回目の培養実験の結果から、溶剤を用いて活性汚泥から抽出した成分の中に細菌群集構造に影響を及ぼす因子が存在することが示された。特に、エタノールを用いて抽出した成分は、顕著な影響を示した。今回用いた溶剤の中で、エタノールはもっとも親水性であり、ついでアセトン、酢酸エチルと続く。すなわち、エタノールによって抽出されるような成分は、かなり親水性が強いといえる。また、エタノールを用いて抽出された成分を1回添加した場合と3回添加した場合を比べると、概して3回添加の方が影響が強く表れていた。エタノールを3回添加した系をt検定（両側、等分散、有意水準 $\alpha=0.01$ ）によって対照系と比較したところ、図2に示した20個のフラグメント（群）中、16個において対照系とくらべて有意な違いが見られた。有意水準 $\alpha=0.01$ で差がないとする帰無仮説を棄却することができなかったのは、86-92bp、198-205bp、209bp、336bpの四つであり、そのうち198-205bpについては有意水準 $\alpha=0.05$ では帰無仮説を棄却することができた。

また、抽出された成分が及ぼす影響として、T-RFLPプロファイルに現れるピークの相対強度を大きくする方向で働く場合と小さくする方向で働く場合があった。それぞれピークに対応する微生物の増殖を促進する効果、抑制する効果と捉えたい。しかし、特定の微生物が増殖を促進されたがために、他の微生物にとって利用可能な基質が足りなくなり、そのために増殖が抑制されるというようなケースがあり得る。すなわち

ピークの相対強度の減少がわずかであったケースは、化学物質によって増殖が抑制されたと判断することはできない。

2回目の実験においてはリン除去活性が残っている時期の活性汚泥、リン除去活性が悪化した時期の活性汚泥のそれぞれから汚泥中の成分をエタノールを用いて抽出した。リン除去の活性が異なる汚泥からは、異なる活性を持つ抽出物が得られるのではないかと期待した。微生物群集構造を解析した結果、抽出物を3回添加した場合において、一部のフラグメント（群）に違いが見られるような印象を受けた。そこで、t検定（両側、等分散）を行った。224bpおよび243bpについては有意水準 $\alpha=0.01$ で、また、58bp、87-96bp、438bpについて有意水準 $\alpha=0.05$ で、有意な差があった。汚泥によって、その含んでいる成分の微生物群集構造への影響は異なると言える。

なお、今回の実験では、もともとの汚泥混合液量10mLから溶剤10mLを用いて成分を抽出し、1回添加系ではその300 μ Lをウェルに添加し蒸発させ、そこに活性汚泥や基質を加えて液量300 μ Lとして培養した。すなわち、1回添加系ではほぼもとの活性汚泥混合液中に相当する濃度、また、3回添加系ではその3倍の濃度の抽出物を添加したことになる。そのことから考えて、活性汚泥中でも実際に今回抽出された成分が微生物群集構造に影響を与えている可能性は高いであろう。

また、今回のマイクロプレート上での培養条件は活性汚泥プロセスの運転条件とはだいぶ異なるものではあるが、同一の条件での繰り返し数を増やし、影響を確実に検出するという点では便利であった。また、DNA抽出に用いた超音波破碎・希釈法は、少ない試料からでも容易に作業でき、有効であった。

既に、活性汚泥中の成分が細菌の活性に影響を与えることはTanaka et al. (2005)に報告されている。しかし、その群集構造全体への影響の度合いを評価したのは本研究がはじめてではないかと考える。化学物質を介した異種生物間の相互作用はアレロパシーと呼ばれ、植物に関してはさまざまな事例が知られている⁹⁾。また、水環境の分野では、アオコの原因となる藻類についても知られている¹⁰⁾。活性汚泥についてもこれから解明が進んでいくものと期待したい。

群集構造に影響を与える成分を特定することができれば、ゆくゆくはその化学物質を使って群集構造を制御するようなことも考えられるであろう。そこから得られる知見は、恐らくは活性汚泥プロセスについてだけでなく、生物膜法、嫌気性プロセス、バイオレメディエーションなど、様々な場面にも活かされる知見となるであろう。

5. 結論

本研究では活性汚泥から有機溶剤を用いて抽出した成分とともに活性汚泥を培養することで、溶剤抽出成分が活性汚泥の細菌群集構造に与える影響を評価しようと試みた。3種類の有機溶剤を用いたが、エタノールを用いて抽出した成分がもっとも微生物群集構造に大きな影響を与えた。また、処理性能の異なる汚泥から抽出された成分は、微生物群集構造にも異なる影響を与えることが確認された。活性汚泥中の成分の中には細菌群集構造に影響を与えるものがあることが示されたといえる。

謝辞：本研究は科学研究費補助金基盤研究(A)(19206057)および財団法人鹿島学術振興財団「地球温暖化を考慮した水環境管理に関する総合研究」による補助を受けた。

参考文献

- 1) Okunuki, S., Kawaharasaki, M., Tanaka, H., Kanagawa, T. Changes in phosphorus removing performance and bacterial community structure in an enhanced biological phosphorus removal reactor. *Wat. Res.*, 38, 2433-2439. 2004.
- 2) Satoh, H., Ichihashi, O., Onuki, M., Mino, T. Deterioration patterns of laboratory activated sludge processes intended for enhanced biological phosphorus removal. *ARI The Bulletin of the Istanbul Technical University*. 55, 119-127. 2007.
- 3) 佐藤弘泰, 味埜俊, 太田智久, 松尾友矩 嫌気好気式活性汚泥法におけるアレロパシー作用の存在の可能性とその意味, 第36回環境工学研究フォーラム講演集, P43-45. (1999. 12. 1-3, 岡山市)
- 4) Ichihashi, O., Satoh, H., Mino, T. Sludge-sludge interaction in the enhanced biological phosphorus removal process. *Wat. Sci. Technol.*, 53(6), 1-6. 2006.
- 5) Ichihashi, O., Satoh, H., Mino, T. Effect of soluble microbial products on microbial metabolisms related to nutrient removal. *Wat. Res.*, 40, 1627-1633. 2006.
- 6) Tanaka, Y., Hanada, S., Tamaki, H., Nakamura, K., Kamagata, Y. Isolation and identification of bacterial strains producing diffusible growth factor(s) for *Catellibacterium nectarophilum* strain AST4^T. *Microbes and Environ.*, 20, 110-116. 2005.
- 7) 佐藤弘泰, 小貫元治, 味埜俊. 活性汚泥中微生物群集構造解析のための超音波破碎と希釈による新規DNA抽出手法の開発. 環境工学研究論文集. 45, 225-232. 2008.
- 8) Lane, D. J. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M, eds. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Chichester: John Wiley & Sons, 115-175. 1991.
- 9) E.L. Rice(1991) アレロパシー、八巻敏雄ら訳、学会出版センター。
- 10) 中井智司、井上豊、細見正明、村上昭彦、ホザキノフサモが放出したアレロパシー物質の藍藻類に対する複合作用及びアレロパシー効果の評価、水環境学会誌、Vol. 21, No. 10, 663-669. 1998.

(2009. 5. 22 受付)

Effect of Activated Sludge Extract on Microbial Population in Activated Sludge Screened by Incubation on Microplates

Hiroyasu SATOH, Akira OGAWA, Takashi MINO

Dept. of Socio-Cultural Environmental Studies, School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

Chemicals produced by activated sludge microorganisms might affect microbial population structure. In the present study, solvent extracts was obtained from activated sludge. Activated sludge was incubated in microplate wells with organic substrates and with the extract for 5 days. Controls without the addition of organic substrates or without extracts were also incubated. The growth of microorganisms were monitored by a microplate reader. After the incubation, microbial population was analyzed by the PCR/T-RFLP method. It was clearly demonstrated that the addition of extract caused significant difference in microbial population.