

○東京大学大学院工学系研究科 学生会員 伊津 恭子
 同上 学生会員 中島 典之
 東京大学環境安全研究センター 正会員 山本 和夫

1. 実験の目的

筆者らは、光合成細菌の一種である紅色非硫黄細菌を用いて有機性排水を嫌気・光照射下で処理し、生じた菌体を回収・有効利用するという、排水再資源化システムの開発を目的とした研究を行っている。今までは紅色非硫黄細菌の純菌系での基礎的研究を行ってきたが、実際の処理に適用するにあたっては他の微生物あるいはその代謝産物が紅色非硫黄細菌に与える影響についても考慮すべきである。

嫌気条件下で硫酸還元菌が存在すると硫酸塩を還元して硫化物を生成し、紅色非硫黄細菌の増殖が阻害されるといわれている¹⁾。しかし、どの程度の濃度で紅色非硫黄細菌の生育が抑制されるかは明らかではない。硫酸還元菌との共生系での紅色非硫黄細菌の増殖を予測する、あるいは前処理として酸生成槽を設けた際の紅色非硫黄細菌槽への影響を知るために、硫化物の影響を明らかにすることが必要である。ここでは、紅色非硫黄細菌の増殖と硫化物濃度の関係をバッチ実験により調べた結果を報告する。

2. 実験装置と実験方法

培養容器はジーエル・サイエンス社製標準蛍光セルF15（スクリーキャップ付、パイレックスガラス製、全面透明、容量約5ml）を用い、8～12時間ごとに吸光度を測定して増殖の経時変化をとった。ハロゲンランプを光源として用い、ライトボード（三菱レーヨン社製）によって平面光とした。培養は、ウォーターバス（30℃）内にライトボード（照度約6000 lux）を入れ、その上にセルを置いて、温度及び照度一定の条件下で行った。図1に実験装置の概要を示す。

用いた菌体は紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter sphaeroides* IFO12203（（財）醗酵研究所菌株）である。培地中基質成分は「微生物の分離法」²⁾に従った。ただし、酵母エキスは加えていない。炭素源は酢酸アンモニウムを濃度200mgC/lとして用いた。硫化物源として、硫化ナトリウム（9水和物）を用い、pHが6.8~7.0になるように塩酸で調整した。

紅色非硫黄細菌を接種したセルに硫化物濃度の異なる培地をセルの内部に気泡が入らないように加え、密閉し、培養した。また、残存している酸素を消費させるため、はじめに25時間ほど暗期をもうけて暗条件で（好氣的に）増殖させ、その後明条件で増殖させた。適宜吸光度を測定し、吸光度の変化により増殖速度を算出した。増殖前の培地中の硫化物濃度と硫酸濃度を測定した。増殖が止まったら培養を終了し、その時点の吸光度、硫化物濃度及び硫酸濃度を測定した。また、100時間程度培養しても増殖が認められないものについても培養を終了し、同様な測定を行った。

硫化物測定法はメチレンブルー吸光光度法（下水試験方法1984年度版(p.191)）によった。硫酸イオンは、孔径0.45 μ mの精密濾過膜で濾過し、さらにSep-Pakで蛋白除去した試料について、イオンクロマトグラフィーで測定した。

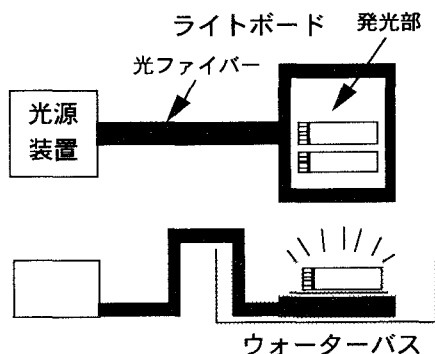


図1 実験装置の概要

また、比増殖速度は、吸光度（770nm）の時間変化を片対数目盛にとり、直線になっている部分を選び、そこに引いた直線の傾きから求めた。

3. 実験結果と考察

図2に初期硫化物濃度の違いによる増殖の影響を示す。硫化物を加えたものの中で増殖したものは硫化物を加えないものに比べて増殖が遅れ、ラグのようなものがみられた。そのほとんどは増殖速度が、増殖の前半部では小さく、増殖の後半部では大きいという結果がみられた。これから、硫化物の影響をうけて増殖速度が変化することが示唆される。しかし、このような増殖の後半部（ABS 0.1～0.7の部分）について直線の傾きをとると、硫化物を加えていない培地によるのものとの比増殖速度とほとんど差はなかった。図3に、初期硫化物濃度と比増殖速度の関係を示す。増殖したものについては初期硫化物濃度による比増殖速度の差はみられない。

また、硫化物濃度は培養開始時と増殖終了時とを比べると、全てのサンプルについて減少していた。図4に、増殖終了時硫化物濃度と比増殖速度の関係を示す。培地中の硫化物濃度が0でなくとも紅色非硫黄細菌の増殖が認められた。今回の実験では増殖終了時硫化物濃度8mgS/l以下では全てにおいて増殖が認められたが、逆に、増殖終了時硫化物濃度20mgS/l以上では増殖が認められなかった。増殖終了時硫化物濃度8～20mgS/lの範囲では増殖したものとししないものがあった。別に、筆者らが連続運転している酸生成槽内の硫化物濃度は3mgS/l程度であり、この酸生成槽において生成した低級脂肪酸を基質としても、紅色非硫黄細菌は問題なく増殖できるといえる。

図5に初期硫化物濃度26mgS/lの場合に増殖しなかったものと増殖したものについての硫黄分（硫化物態硫黄と硫酸態硫黄）の変化を示す。どちらも硫化物は減少している。硫化物態と硫酸態の硫黄分しか測定していないため、それ以外の形になった硫黄分があると考えられる。また、増殖したものの方が硫化物の減少量が大きかったが、その理由として増殖した菌体に取り込まれたとも考えられる。紅色非硫黄細菌が硫化物を酸化する、という報告は今までにされていないが、この実験結果からは、この可能性もある。なぜ紅色非硫黄細菌が硫化物を酸化するかについてであるが、PHBをつくるための還元力としている、二酸化炭素を固定する還元力として用いている、などが考えられる。

その他、硫化物の減少について、考えられる原因は以下の通りである。

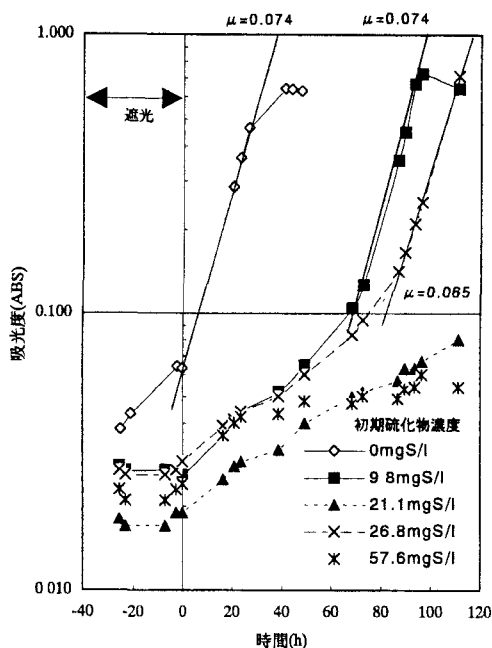


図2 初期硫化物濃度の違いによる増殖の影響

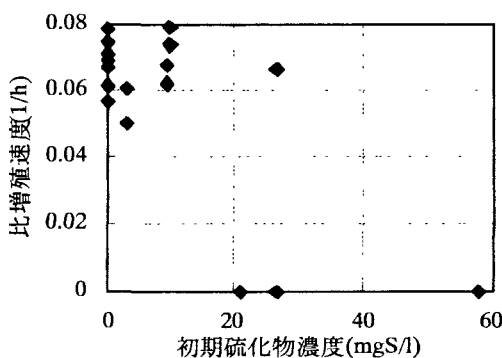


図3 初期硫化物濃度と比増殖速度の関係

- 1) 培地により、化学的に酸化された。
- 2) 菌体を植種する場合にともに加えられる培地成分（菌体以外の濾液成分）によって酸化された。
- 3) 培地中にあった酸素により酸化された。暗期の終了した時点（時間0の時）で、すでに吸光度にばらつきがあった。その理由として、硫化物を加えていないものは培地中にわずかにとけ込んだ酸素を用いて好氣的増殖をしているのに対し、硫化物を加えたものは、酸素が硫化物を酸化するのに使われているため、増殖できなかったということが考えられる。よって対数増殖期に入る前は、硫化物を加えたものも、硫化物濃度がかなり低くなっていることも考えられる。硫化物濃度がある程度まで減ってから増殖が始まるのか、それとも、増殖しながら硫化物が減っていくのかは、この実験からは不明である。

4. 結論

- 1) 紅色非硫黄細菌が増殖できる培地中の硫化物濃度の限界は、10～20 mgS/l の範囲にあると考えられる。
- 2) 硫化物を加えたものの中で増殖したものは硫化物を加えないものに比べて増殖が遅かったが、比増殖速度に大きな差はなかった。
- 3) 増殖したもののほうが硫化物の減少量が大きいことから、硫化物が菌体内に取り込まれた可能性がある。

参考文献

- 1) 建設省都市局下水道部, (社)土木学会, 下水の嫌気性処理に関する調査, 1989年 3月
- 2) 「微生物の分離法」, R & Dプランニング, 1986

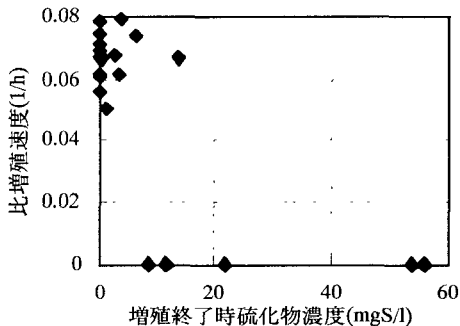


図4 増殖終了時硫化物濃度と比増殖速度の関係

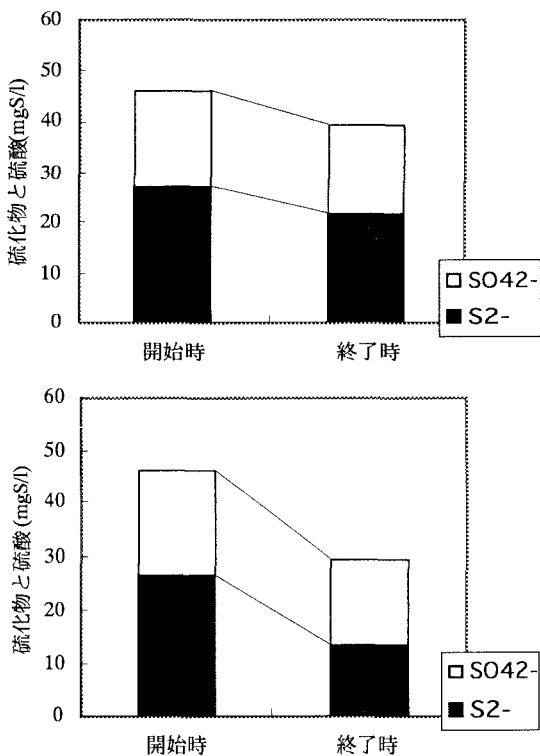


図5 増殖しなかったもの（上）と増殖したもの（下）についての硫黄分（硫化物態硫黄と硫酸態硫黄）の変化（初期硫化物濃度26mgS/lの場合）