

B-28 UASB 槽内の嫌気性原生動物の共生が 細菌叢に与える影響

○関由里絵¹・高橋良太¹・荒木信夫^{1*}・小野心也²・山口隆司²

¹長岡工業高等専門学校 環境都市工学専攻(〒940-8532新潟県長岡市西片貝町888番地)

²長岡技術科学大学大学院環境システム工学専攻(〒940-2188新潟県長岡市上富岡町1603-1番地)

*E-mail: araki@nagaoka-ct.ac.jp

1. はじめに

上昇流嫌気性汚泥床 Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) 法は, エアレーションが不要で省エネルギー, 余剰汚泥の発生量が少量, メタン回収が可能などの利点を有しており, 日本国内外で有機物濃度の高い産業廃水を処理する技術として広く用いられている。さらに近年では, 有機物濃度の低い都市下水でもUASB法による排水処理が可能であることが確認されたことから開発途上国における下水処理への適用が進められている⁽¹⁾。また, 日本を含む先進諸国における都市下水処理へのUASB法の適用事例は少ないが省エネ型の下水処理法は日本をはじめとした先進諸国にとっても今後必要となる技術であるためUASB法の下水処理適用実験が進められている⁽²⁾。都市下水処理を行っているUASB槽内の汚泥を微分干涉顕微鏡で観察したところ, 汚泥1mL中に $10^2 \sim 10^3$ レベルで嫌気性原生動物を確認した。処理プロセスにおいて, 嫌気性原生動物と嫌気性細菌が共生していないプロセスと比較して, それらが共生している場合に処理水質が良好となるという報告があった。しかし, 都市下水処理を行っているUASB槽の研究では捕食者である嫌気性原生動物が嫌気性細菌叢へ与える影響については全く明らかにされていない。そこで, 下水処理プロセス内の嫌気性原生動物の捕食特性について評価するためにグルコースを基質として, 嫌気性原生動物を共生させた系

と抗生物質により嫌気性原生動物を死滅させながら培養した系の中に構築された細菌叢を比較した。

2. 実験方法

(1) 汚泥サンプル

汚泥サンプルは, 長岡中央浄化センターの初沈越流水を長期間にわたって連続通水している下水処理UASB槽から2011年8月9日(27°C)にリアクター高さ0.5mの箇所より, 採取した保持汚泥を用いた。UASB槽は, 内径0.56m, 高さ4mのカラムにGSS(Gas-Solid Separator)を上部に備えた構造である。UASB槽の全容積は1148L(カラム部容積1022L, GSS126L), 高さは5.1m, HRTは8時間に設定し, 年間を通して外気温下(10~28°C)で運転した。

(2) 培養

a) 原生動物を共生させた系の培養

本研究ではラボスケールのUASB法において, 嫌気性原生動物と細菌を共生させた系の培養を行った。培養装置の概略図を図1に示す。培養装置は, 嫌気性原生動物の生育を阻害すると考えられる揮発性脂肪酸(VFA)等の代謝産物を抜き取ることが可能な構造と連続的に培地の供給を行える形式を備えたラボスケールの培養装置(容積47ml, 高さ110.5mm)を作成した。装置内にciliate mineral medium (CMV培地)32mlとUASB汚泥サンプル15mlを添加した。

CMV 培地⁽³⁾の組成を表 1 に示す. CMV 培地内に基質としてグルコース(1mg/L)添加した. また, 定量送液ポンプと内径 1mm のシリコンチューブを用いて培地をリアクター内に水理学的滞留時間 (HRT) 0.15 時間に設定し CMV 培地を供給した. その他の培養条件は, 暗所状態, 培養温度 25°C, 水素イオン濃度を 6M, HCl と 6M, NaOH を用いて pH7.20(±0.2)に調整した. 装置内を嫌気状態にするために窒素パージを行い, 培地供給源に還元指示薬として Resazurin sol. (1.0ml/L) を添加した. また, 嫌気状態を維持するために還元剤として Na₂S・9H₂O (0.012g/mL) とシステイン HCl (0.012g/mL) を CMV 培地に 25ml/L 添加した.

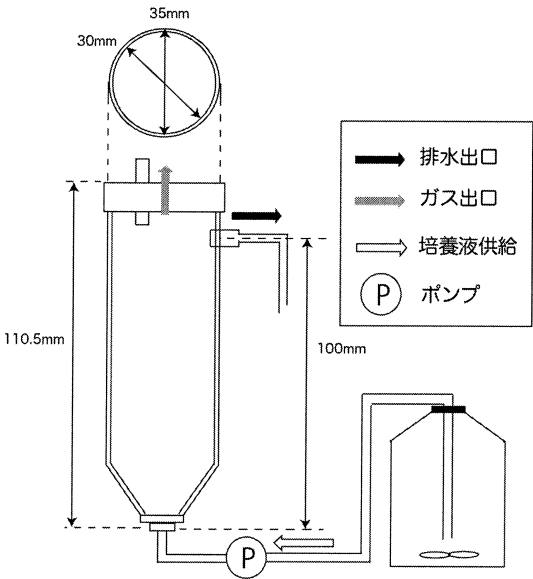


図 1 培養装置概略図

表 1 培地組成

CMV 培地	[mg/L]
K ₂ HPO ₄	12.5
NH ₄ Cl	2.5
NaCl	40
MgCl ₂	20
KCl	15
CaCl ₂ ・2H ₂ O	25

b) 抗生物質により原生動物を死滅させた系の培養
本研究ではラボスケールの UASB 法において, 嫌気性原生動物を死滅させた系の培養を行った. 培養装置及び培養条件は, 嫌気性原生動物を共生させた系の培養と同様にした. M.Priya ら⁽⁴⁾の報告に準拠し, 嫌気性原生動物の増殖を制御するために, 真核生物のタンパク質合成に阻害作用をもたらすシクロヘキシミドを CMV 培地に添加した.

(4) 原生動物の定量試験

培養を行っている嫌気性原生動物の定量は一定期間ごとに顕微鏡観察により行った. スライドガラス上に試料30μLを滴下し, 蛍光顕微鏡下 (OLYMPUS 社製 IX71) でカバーガラス全視野を観察し, 嫌気性原生動物の個体数を計測した. 上記の操作を5回行い平均値と標準偏差を算出した. なお, 本実験は目視による形態判別が可能である体長 20μm以上の*Metopus palaeformis*と*Metopus contortus*を測定対象とした.

3. 結果と考察

(1) 培養

a) 原生動物を共生させた系の培養

原生動物を共生させた系の培養の状況を図2に示す. 培養0日目には 3.5×10^2 cell/mlだった個体数が培養11日目には 3.4×10^3 cell/mlに増加し, 培養13日目に漸落した. その後は平均個体数が安定し 1.4×10^3 cell/mlとなった.

b) 抗生物質により原生動物を死滅させた系の培養

抗生物質により原生動物を死滅させた系の培養の培養状況を図3に示す. 培養11日目にシクロヘキシミドを250mg/L添加した. シクロヘキシミド添加後, 2日間で個体数が 4.1×10^3 cell/mlから 7.1×10^2 cell/mlに大幅に減少した. しかし, この現象は原生動物を共生させた系でも同じ時期に観測されたために, シクロヘキシミドの作用によるものではないと判断した. さらに, 培養27日目になると再び個体数の増加が確認出来た. そのため, 培養30日目に新たに作製したCMV培地内にシクロヘキシミドを1000mg/L添加し培養を行った. その結果, 培養35日目以降に行った定量試験では嫌気性原生動物の存在が確認されなかったため, 嫌気性原生動物を死滅させることに成功したと判断した.

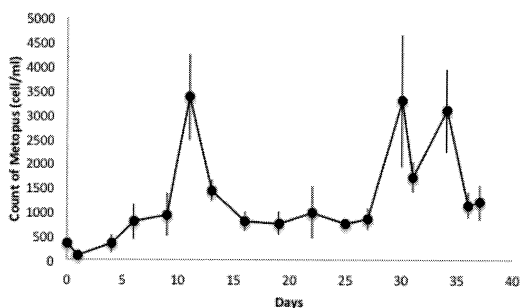


図2 原生動物を共生させた系の培養結果

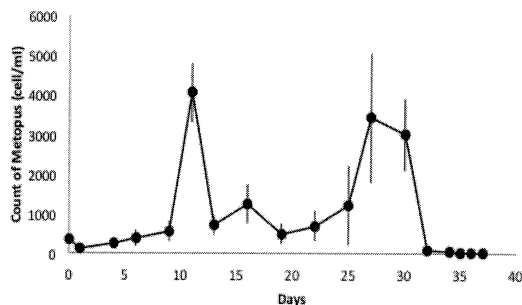


図3 抗生物質により原生動物を死滅させた系の培養結果

- (3) Nimi Narayanan, M.Priya, Ajit Haridas, V.B Manilal, 2006. Isolation and culturing of a most common anaerobic ciliate, *Metopus* sp. Anaerobe 13 14-20
- (4) M.Priya, Ajit Haridas, V.B Manilal, 2007. Involvement of protozoa in anaerobic wastewater treatment process WATER RESEARCH 41(2007) 4639-4645

3. まとめと今後の展望

本研究では、CMVグルコースを基質として、嫌気性原生動物を共生させた系の培養は成功した。一方、シクロヘキシミドにより原生動物を死滅させた系の培養は、嫌気性原生動物を死滅させることには成功した。しかし、度々原生動物の増加が確認されるため、引き続きシクロヘキシミドにより嫌気性原生動物を死滅させながら培養を行う。その後、嫌気性原生動物の増殖を完全に制御した状態で数十日間培養を行い、PCR-DGGE法、FISH法およびCloning法により細菌叢の特定を行う。

4. 参考文献

- (1) Monroy, O., Fama, G., Meraz, M., Montoya, L. and Macarie, H. (2002). Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: state of the technology, Wat. Sci. Technol., 34(6), 803-1816.
- (2) 大矢明子, 山口隆司, 原田秀樹: 下水処理 UASB リアクターの処理特性および保持汚泥性状評価, 環境工学研究論文集, Vol. 46, pp. 629-635, 2009.