

下水処理水中窒素濃度変化に対する土着藻類中有機物組成の時間的推移

鳥取大学	学生会員	○上村拓海
鳥取大学	正会員	高部祐剛
鳥取大学	学生会員	岡崎広典
鳥取大学	正会員	増田貴則
鳥取大学	正会員	星川淑子

1. 背景

2017年8月に策定された「新下水道ビジョン加速戦略」(国土交通省)でも謳われているとおり、人口減少等に伴う厳しい経営環境、また、将来の資源枯渇の懸念および地球温暖化防止を背景に、下水道施設では「排除・処理」から「活用・再生」への変換が求められている。そういった中で、下水道技術ビジョン(国土交通省, 2015)において、下水中の栄養塩(リン, 窒素)を活用した微細藻類培養・エネルギー化技術が、下水処理場のエネルギー供給拠点化実現に向けた中核技術として位置づけられている。

微細藻類をエネルギー利用する際には、微細藻類中の有機物(脂質, 炭水化物)をエネルギーに変換する。微細藻類をオイルに変換する際には微細藻類中の脂質を、また、バイオエタノールに変換する際には、炭水化物を用いるように、利用用途に応じて用いる有機物が異なる。このことから、下水で微細藻類を培養する際には有機物組成の把握が重要となる。既存研究において、培地中栄養塩濃度と微細藻類中脂質含有率の間に負の相関があることが報告されている¹⁾。一方で、栄養塩濃度変化に対する炭水化物を含む有機物組成変化の応答に関する知見は少ない。本研究では、実下水処理水を用いて土着藻類(与えられた環境で自然に増殖する微細藻類)を回分培養し、窒素濃度が減少した場合、また、上昇した場合の土着藻類中有機物の組成変化の把握を行った。

2. 実験方法

土着藻類の培養には、塩素消毒処理前の実下水処理水を用い、13日間培養を行った。培養は室温30℃の部屋で、高さ35cm、直径35cmの円柱型の容器に30Lの処理水を入れて行った。容器の周囲に光量子束密度160 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の蛍光灯を12本設置し、明暗周期を12時間に設定した。また、pH8を指標として、処理水にCO₂ガスを注入した。実験Iでは、毎日13時に採水を行い、懸濁物質(SS)、クロロフィルa、無機態窒素(IN), PO₄³⁻, 土着藻類中脂質含有率および炭水化物含有率を測定した。実験IIでは、窒素濃度を上昇させるために培養10日目にINを130 mg-N加えた上で、実験Iと同様の操作を行った。また、組成変化をより詳しく把握するため、実験IIでは採水を6時間ごとに行った。

3. 実験結果と考察

実験Iにおける、SS, IN, PO₄³⁻, 単位SSあたりのクロロフィルa量の変化を図1に表す。SSは、0.001 g/Lから上昇を始め、0.36 g/Lまで増加した。これにより培養による土着藻類の増殖が確認できた。一方で、培養8日目以降、SSの増加は停滞した。光合成活性を表す単位SSあたりのクロロフィルa量は培養3日目から上昇が開始し、培養5日目にかけて3.97 mg-Chl.a/gまで増加し、その日以降は減少し続けた。INは培養4日目に9.16 mg-N/Lから減少し始め、培養7日目に検出下限値以下に達し、その後、検出下限値以下を

キーワード 下水処理水, 土着藻類, 有機物

連絡先 〒680-8552 鳥取県鳥取市湖山町南4丁目101

鳥取大学 大学院持続性社会創生科学研究科 環境計画研究室

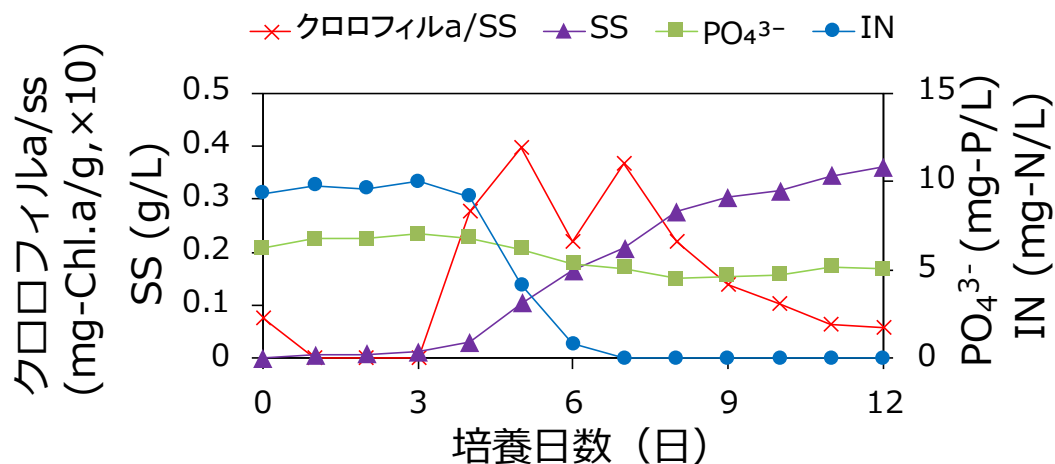


図1 実験ⅠのSS, PO₄³⁻, IN, 単位SSあたりのクロロフィルa量

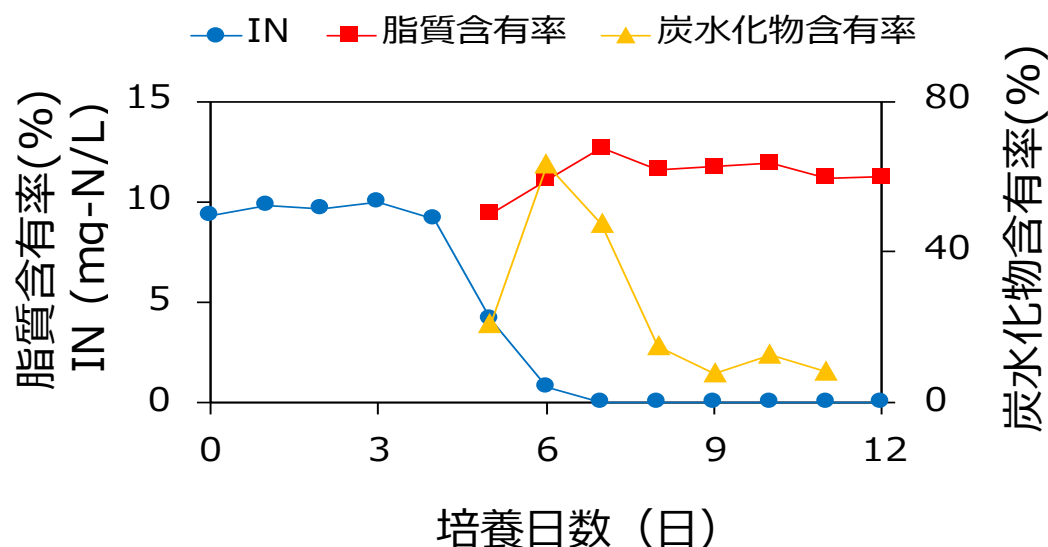


図2 実験Ⅰでの脂質含有率, 炭水化物含有率

推移した．一方で、PO₄³⁻は7.05mg-P/Lから4.53 mg-P/Lへと減少した．これらの結果から、培養8日目に土着藻類の増殖が停滞したことや、培養5日目以降に光合成活性が低下した原因として、INの枯渇が考えられる．

次に実験Ⅰでの脂質含有率と炭水化物含有率の変化を図2に示す．脂質含有率は、培養5日目から培養7日目にかけて9.40%から12.7%に上昇した後、変化が確認されなかった．炭水化物含有率は、培養5日目から培養6日目までにかけて21.0%から63.4%に上昇した後、培養9日目までに7.84%まで減少した．これらの結果から、INの枯渇に伴って炭水化物、脂質の順に蓄積されることが確認された．

INの枯渇に伴って、炭水化物、脂質の順に蓄積された原因として、土着藻類内細胞への活性酸素蓄積の抑制が考えられる．通常、土着藻類は光合成によって、水を分解して水素イオン、電子および酸素を得ている．水素イオンはATP合成の駆動力となっており、最終的には、水素イオンおよび光化学系、電子伝達系を通過した電子がNADP⁺を還元し、有機物合成に必要なNADPHを供給する．タンパク質の合成に必要なINが枯渇すると、タンパク質の合成が困難となるためNADPHの酸化が抑制され、NADP⁺の量が減少する²⁾．結果として、光合成により発生した電子の受容量が減少し、発生した電子の一部が電子伝達系からリークし、活性

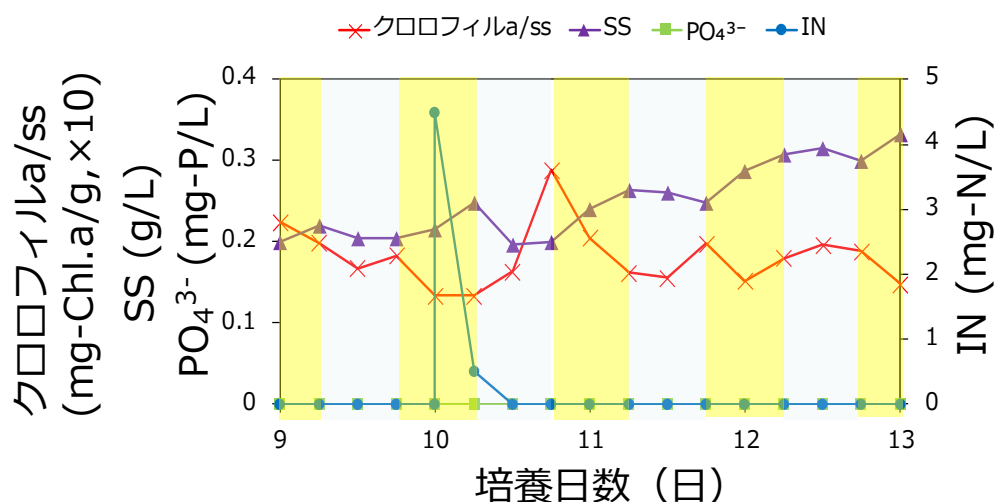


図3 実験ⅡでのSS, PO_4^{3-} , IN 単位 SS あたりのクロロフィル量 (黄色部は明条件を, 白色部は暗条件を示す)

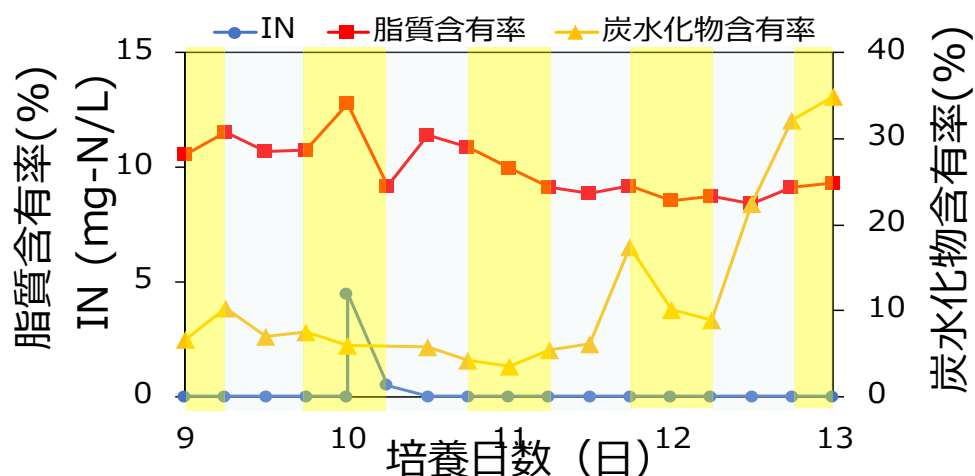


図4 実験Ⅱでの脂質含有率, 炭水化物含有率 (黄色部は明条件を, 白色部は暗条件を示す)

酸素を生成してしまう³⁾。実際、窒素が枯渇した状態で、微細藻類内での活性酸素量の増加が報告されている⁴⁾。この状態を回避し、NADPH/NADP⁺, また、ATP/ADP サイクルを稼働し続けるために、タンパク質合成の代わりに、炭素源/エネルギー源の一次貯蔵物として炭水化物を合成し、二次貯蔵物として脂質を合成していると考えられる。

次に実験ⅡにおけるSS, IN, PO_4^{3-} , 単位SSあたりのクロロフィルa量の変化を図3に, 脂質含有率, 炭水化物含有率の変化を図4に示す。SSはINを添加した10日目から13日目にかけて, 0.22 g/Lから0.33 g/Lに増加した。INは添加を行った10日目に4.49 mg-N/Lまで上昇した後, 添加後半日で検出下限値以下に達した。脂質含有率はIN添加日から12日目までにかけて, 12.8%から8.84%に減少し, その後, 大きな変化は見られなかった。炭水化物含有率は培養9日目から11日目までにかけては一定を推移し, 培養11日目から13日目までにかけては3.53%から34.9%まで上昇した。

このように, IN添加後にSSが再増殖し, その間に脂質含有率が減少し, 炭水化物含有率が一定を推移することが明らかとなった。SSが再増殖した原因として, INの添加に伴い, 土着藻類がタンパク質を再合成し

たことが考えられる。その間に脂質含有率が減少し、炭水化物含有率が一定を推移した原因としては、土着藻類がタンパク質の合成の際に、炭水化物ではなく脂質を炭素源／エネルギー源として分解したため、脂質含有率が減少し、炭水化物含有率は一定を推移したものと考えられる。一方で、脂質含有率の減少の終了と同時に炭水化物含有率が上昇する現象が見られた。炭水化物含有率が上昇したことに関しては IN 再枯渇によりタンパク質の合成が困難となり、土着藻類がエネルギー源／炭素源の一次貯蔵物として炭水化物を再合成したためであると推察される。

4. 結論

IN の減少に伴って、炭水化物、脂質の順に微細藻類細胞内に蓄積されることが明らかとなった。一方で、IN の増加に対して、二次貯蔵物である脂質がタンパク質の合成（再増殖）の際にエネルギー源／炭素源として分解されることが明らかとなった。

このような結果から、下水処理水を用いて土着藻類を培養する際には、IN の変動により土着藻類中有機物の組成が大きく変化するため、安定した有機物組成を有する土着藻類を培養するには、培養液中 IN 濃度の管理が重要であることが明らかとなった。

5. 謝辞

本研究は JSPS 科研費(16K18178)および公益信託下水道振興基金の助成を受けて実施しました。下水処理試料採取にご協力頂きました下水処理場の方々に感謝申し上げます。

6. 参考文献

- 1) Park, J.B.K., Craggs, R.J., 2011. Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. *Water Sci. Technol.* 63 (10), 2403-2410.
- 2) Fields, M.W., Hise, A., Lohman, E.J., Bell, T., Gardner, R.D., Corredor, L., Moll, K., Peyton, B.M., Characklis, G.W., Gerlach, R., 2014. Sources and resources: importance of nutrients, resource allocation, and ecology in microalgal cultivation for lipid accumulation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98 (11), 4805-4816.
- 3) Zheng, Z., Gao, S., He, Y., Li, Z., Li, Y., Cai, X., Gu, W., Wang, G., 2017. The enhancement of the oxidative pentose phosphate pathway maybe involved in resolving imbalance between photosystem I and II in *Dunaliella salina*. *Algal Res.* 26, 402-408.
- 4) Fan, J., Cui, Y., Wan, M., Li, Y., 2014. Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors. *Biotechnol. Biofuels* 7,17.