

論文の内容の要旨

論文題目 廃水処理における紅色非硫黄細菌の
選択的増殖に及ぼす諸因子の検討

氏名 伊津 恭子

光合成細菌の一種である紅色非硫黄細菌を用いた廃水処理は、BOD 数千 ppm から数万 ppm という高濃度の有機性廃水が無希釈で処理できるという利点を持つ。また、生じた菌体を餌料などに利用できるため汚泥の処理が不要であること、光エネルギーとして太陽光を用いればエネルギー消費の少ない処理法となることも特徴である。しかしながら、他の微生物が存在する中で、どのような条件ならば紅色非硫黄細菌が増殖し優占することができるのかに関しては不明な点が多く、知見の蓄積が望まれている。本研究では、廃水処理系における紅色非硫黄細菌の現存量と運転条件との関係を明らかにし、さまざまな微生物が存在する環境においても紅色非硫黄細菌が主役となる条件について定量的な知見を得た。また、紅色非硫黄細菌と共に廃水処理槽に存在する微生物についても定性的に記述し、それらとの相互作用について考察した。

微生物相の解析には PCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 法および FISH (Fluorescence in Situ Hybridization) 法を用いた。既存の FISH 用プローブに加えて、新たに紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter sphaeroides* (以下 *Rb. sphaeroides*) と、紅色非硫黄細菌 *Rhodospseudomonas palustris* (以下 *Rps. palustris*) に特異的なプローブを設計し、定量に用いた。紅色非硫黄細菌の存在比を FISH 法を用いて求めた研究は本研究が初である。

以下、条件を変えて行ったリアクター運転結果から得られた知見を示す。これらのリアクターに流入させた基質の炭素源は明記していないものについては酢酸のみである。

連続曝気、間欠曝気、窒素曝気と通気条件の異なる光照射型リアクターを連続運転した結果、紅色非硫黄細菌の増殖及び優占が確認されたのは、窒素曝気をした系列

であった。しかしながら、窒素曝気を行っていても酸素発生型微生物の増殖が見られた系列については紅色非硫黄細菌の割合が 40%と、酸素発生型微生物の増殖が見られなかった系列(80%)よりも低かった。これらの系列で最終的に増殖した紅色非硫黄細菌は *Rb. sphaeroides* と *Rps. palustris* であり、その他の紅色非硫黄細菌は確認されなかった。

照度を変化させた 3 系列の光バイオリアクターを運転した結果、以下のことが明らかとなった。紅色非硫黄細菌の割合はリアクター表面照度 260lux、650lux のときにどちらも 15%であった。表面照度 5800lux としたときは 10%以下であり、照度が低い方が紅色非硫黄細菌の割合が高かった。いずれの系列でも、最終的に増殖した紅色非硫黄細菌は *Rps. palustris* であった。しかしながら照度 260lux の場合は有機物除去率が低く、得られたバイオマスも少なかった。この結果から、この光量では紅色非硫黄細菌が十分増殖できないことが示されるとともに、酢酸を代謝できる他の微生物が少ないことが示された。照度を 5800lux としたときはシアノバクテリアが出現したことが原因で、紅色非硫黄細菌の割合が減少したと推察された。

照射する光の波長によっても紅色非硫黄細菌の存在比は異なった。蛍光灯を照射した場合、DGGE バンドのシーケンシング結果からは緑色硫黄細菌が最終的に出現することが確認された。この場合、FISH 法を用いて紅色非硫黄細菌の存在比を定量したところ、*Rb. sphaeroides* が全細菌の 20%を占めていた。赤外線フィルターを通した光を照射した場合、シアノバクテリアの増殖が抑制されることが確認された。紅色非硫黄細菌の存在比はフィルターのある場合が 40-50%、フィルターのない場合は 20%であり、フィルターのある場合に高く保たれた。従って、紅色非硫黄細菌の優占化には赤外線フィルターを通した光を照射することが有効であることが示された。その場合、紅色非硫黄細菌の優占種は *Rps. palustris* であった。

滞留時間の異なるリアクターを運転した結果からは、以下のことが明らかになった。滞留時間を 1.2 日とした系列では有機物除去率が安定していなかったが滞留時間を 2 日または 3 日とした系列では除去率はおおむね 90%以上であり、滞留時間が 2 日でも十分有機物除去ができることが示された。しかしながら、どの系列でも微生物相に大きな変化は見られなかった。全ての系列でシアノバクテリアの増殖が見られ、それらによる酸素供給が従属栄養細菌の好氣的増殖を促したことが推察された。従属栄養細菌が好氣的増殖を行うような環境では、紅色非硫黄細菌は増殖速度の上でそれらの細菌を上回れず、基質の競合に負けてウォッシュアウトしてしまうことが考えられる。

炭素源として酢酸、プロピオン酸、酪酸を炭素ベースで 5:3:2 の比率で混合した基

質を用いた実験では、いずれの炭素源もまんべんなく除去された。除去の担い手は FISH 法の結果から紅色非硫黄細菌 *Rps. palustris* であることが明らかになり、その存在比は最大 60% にも達した。また、酢酸のみを炭素源とした場合よりバイオマス生成量が大きかった。これから、紅色非硫黄細菌(主として *Rps. palustris*)を用いて、嫌気明条件で酢酸・プロピオン酸・酪酸を含む廃水の処理を行うことは、処理の面からもバイオマス生産の面からも有利であることが示された。

これらの結果を総括して、紅色非硫黄細菌の優占する条件について考察した。DGGE バンドをシーケンシングした結果、よく出現していた細菌は *Acinetobacter* 属、*Pseudomonas* 属、シトファーガ・フラボバクテリウム・バクテロイデス群に属するものであった。ごく普通の機能を持った通性嫌気性細菌が光バイオリクター内でも増殖すると言えるであろう。これらの比増殖速度は、好気条件下では紅色非硫黄細菌より大きい。これらの知見から、酢酸が炭素源である場合にはシアノバクテリアの増殖を抑制することによって通性嫌気性細菌の好氣的増殖はおこらず、紅色非硫黄細菌が優占すると推察された。したがって、紅色非硫黄細菌の優占する条件は、

- ・嫌気条件であること(目安の ORP: -200~-300mV)
- ・シアノバクテリアの増殖しない光照射方法であれば、照度は 800lux もあれば十分
- ・長波長(>800nm)の光を選択的に当てること
- ・低級脂肪酸を炭素源とすること

とまとめることができる。最終的に優占する紅色非硫黄細菌は、ほとんどの場合 *Rps. palustris* であり、それ以外の光合成細菌であることはほとんどなかった。*Rps. palustris* を多く含む菌体懸濁液ならば魚の餌料として適しているため、直接養殖池に流すことが有効である。また、滞留時間や照度が十分なときには有機物除去率は 90% 以上と良好であった。これは嫌気性廃水処理としては非常に高い数値である。

本研究で得られた知見から、紅色非硫黄細菌による廃水処理および菌体生産のシステムが実現する可能性があることが示された。この廃水処理法では紅色非硫黄細菌槽の屋外設置を想定し、この槽を赤外線フィルターで覆うことによってシアノバクテリアの増殖を抑制するものとした。生産された紅色非硫黄細菌は直接養殖池に投入され、魚の餌料として利用するものとする。槽の設置に際しては、光照射方向の深度を小さく保つ必要性から、浅型の槽を建設するための土地が必要となる。しかしながら、特別な装置は必要としないため建設コストは安価であろう。また、太陽光を光源とすることができ、省エネルギー型かつ維持管理の容易な処理法となるため、途上国向けの技術として実用化が期待される。