

## 生活廃水を用いた藻類低温培養プロセスの検討

日大生産工(学部) ○野田 翔流

日大生産工 矢木 修身 佐藤 敏幸 日秋 俊彦

## 【緒論】

近年、バイオマス燃料や栄養補助食品、医薬品といった幅広い分野で微細藻類が注目されているが、バイオマス生産性の低さが課題である。この課題への解決法として、生活廃水中に含まれるリンや窒素等の栄養源の有効活用が挙げられる。生活廃水を利用することで、培地調製コストを抑えつつ、放流水中の窒素やリン除去による河川富栄養化の抑制が期待できる。しかし、生活廃水による藻類培養では、細菌との共培養で藻体増殖の促進および栄養源除去能の向上が報告されているものの<sup>[1]</sup>、低温培養の報告例はない。そこで本研究では、寒帯での安定したバイオマス生産が可能な生活廃水を用いた藻類培養プロセスの実現を目的とする。

当研究室で継代培養されている *Scenedesmus* sp. は、低温性細菌に分類される代表的な細菌として挙げられる *Pseudomonas putida* との共培養による栄養源除去能の向上が既往研究としてあまり報告されていない。これらによる共培養での栄養源除去能率を測ると共に低温培養での知見を得た。

## 【実験】

培養条件として、単藻系培養、細菌との共培養を考えた。使用藻類は山形県霞城公園にて採取し、研究室にて継代培養された微細藻類 *Scenedesmus* sp. YK、細菌は製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター(NITE)より購入した細菌 *Pseudomonas putida* NBRC102090 を使用した。培養スケールは 500 mL 三角フラスコであり、前培養には Chu No.10 改変培地を使用し、廃水培養では菅野終末処理場(千葉県市川市)にて採取した二次処理生活廃水(以下、廃水)を使用した。培地または廃水 300 mL に藻体前培養液 3 mL および細菌前培養液 3 mL をそれぞれ植菌し、3 連での培養を行った。培養環境は 25 °C および 15 °C、植物培養用蛍光灯を用いた 12 時間周期の明暗条件下であり、20 日間にわたって 5 日毎に諸項目の除去速度を測定した。

JIS K0102<sup>[2]</sup>に基づいた栄養源の分析を行い、全リン、リン酸態リン、硝酸態窒素およびアンモニア態窒素を分析項目に設定した。藻体増殖は、分光光度

計(AS ONE 社製 ASV11D)を用いた吸光度(測定波長 680 nm)により評価した。乾燥藻体重量(DCW)は、4000 rpm, 3 min の遠心分離と減圧濾過によって回収し、一昼夜乾燥庫で乾燥させた後に測定した。

## 【結果および考察】

検量線を基に、採水してきた廃水の諸項目について初濃度を算出した。その初濃度を基にし、植菌後の濃度変化を観察した。

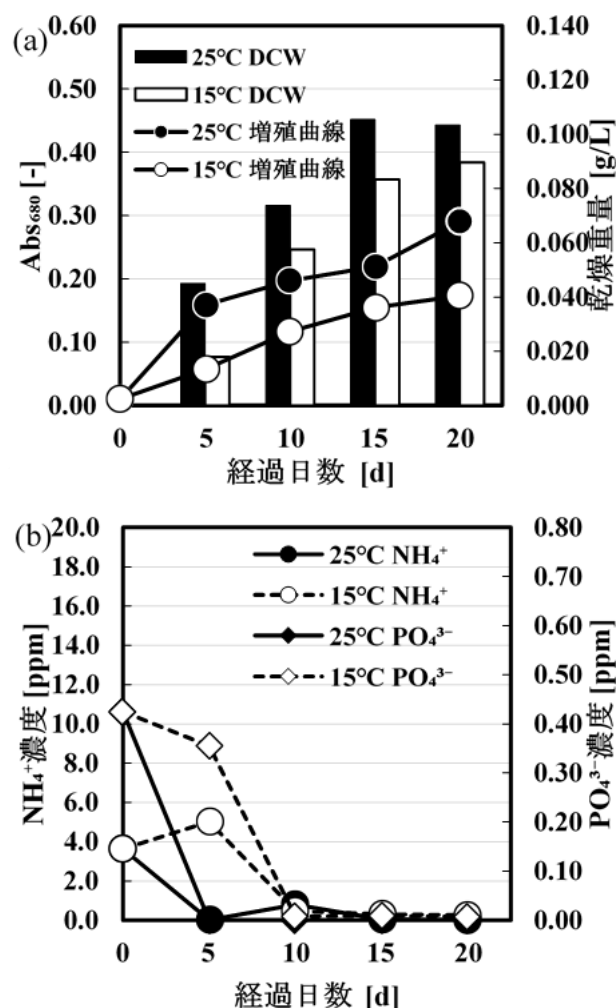


Fig.1 廃水を用いた単藻培養  
(a)DCW, 増殖曲線, (b) $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  の除去速度)

25℃および15℃の温度条件下での藻体増殖曲線を比較すると、両条件にて単藻、共培養による藻体増殖速度の差が確認できた(Fig.1(a), Fig.2(c)). 加えて、どちらの培養温度においても共培養は、単藻培養に比べて吸光度が大きくなるという結果を得た。しかし、細菌を添加したことによる濁度が吸光度への影響とも考えられるため、クロロフィル a 量<sup>[3]</sup>を測定し、藻類が増殖したことを確認する必要がある。

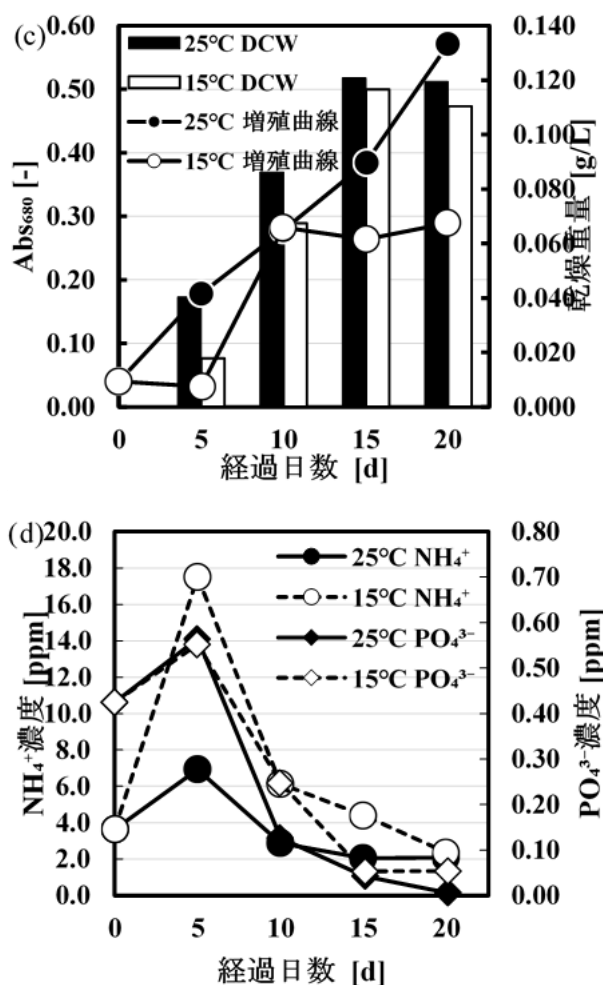


Fig.2 廃水を用いた共培養 ((c)DCW, 増殖曲線, (d)NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>の除去速度)

窒素、リン除去能率の測定では、硝酸態窒素および全リン分析において測定値の大幅なばらつきが起り、精確な測定を行うことができなかった。これらの栄養源は、藻類や細菌によって除去ができたとは言いがたい結果となった。25℃におけるアンモニア態窒素、リン酸態リンの除去能率測定では、それぞれ単藻の培養期間が5、10日程度までに検出下限に近い濃度までの除去が確認された(Fig.1(b), Fig.2(d)). 15℃でも同様に単藻培養では10、15日程度で除去が確認できた。共培養は単藻培養に比べて除去能率が低かった。

25℃におけるクロロフィル a 量を測定したところ、分光光度計による吸光度(波長 680 nm)と共にクロロフィル a 量が増えたことから藻体増殖が確認できた(Fig.3). 15℃培養におけるクロロフィル a 量は現在測定を行っている。細菌 *Pseudomonas putida* を前培養している培地には廃水にない過剰量の栄養素が含まれているため、廃水に植菌する際の初濃度が大きく変化している可能性がある。実際に今回の培養においても5日目で不自然な濃度の増加が確認できる(Fig. 2(c)). 従って、添加する細菌の濃度を減らすことも視野に入れておく。

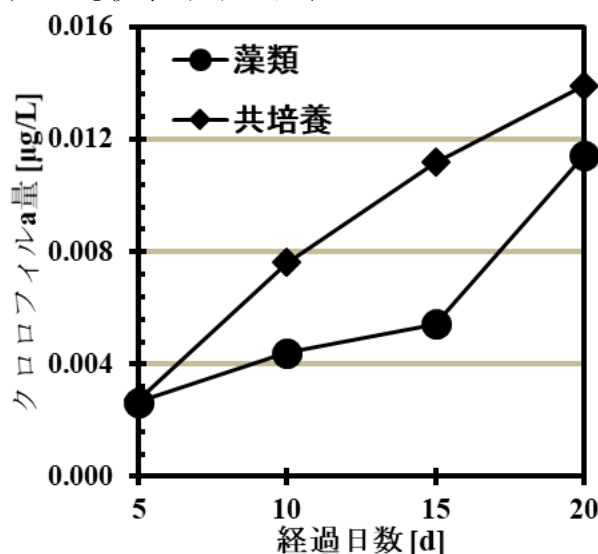


Fig.3 25℃におけるクロロフィル a 量

#### 【結論】

細菌 *Pseudomonas putida* と共培養の知見が得られていなかった微細藻類 *Scenedesmus* sp. YK は、25℃において藻体増殖がクロロフィル a 量から確認できた。低温側でも同様に確認を行う。しかし、共培養することによる栄養源の除去能率は25℃、15℃共に向上されなかった。微細藻類 *Scenedesmus* sp. YK は、細菌 *Pseudomonas putida* と共培養するよりも単藻培養の方が栄養源除去能に富むという結果を得られた。単藻培養はどちらの温度条件下でも栄養源除去能が向上された。

#### 【参考文献】

- [1] G. Mujtaba, et al., *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **2015**, 20, 1114-1122.
- [2] JIS K0102-2017 工業用水試験方式
- [3] Ji, X, Jiang, et al., *Bioresour. Technol.*, **2018**, 247, 44-50.