

# UASB 槽内から分離した嫌気性原生動物の増殖に及ぼす供給基質の影響

長岡技術科学大学大学院 ○阿久澤秀磨 平片悠河 渡利高大 幡本将史 山口隆司  
長岡工業高等専門学校 荒木信夫 押木守

## 1. はじめに

都市下水を処理する上昇流嫌気性汚泥床 (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket:UASB) 槽内には細菌・古細菌だけでなく、嫌気性原生動物が存在している。これらの嫌気性原生動物は UASB 槽内において、有機物分解に寄与しており、嫌気性原生動物数と有機物除去率は正の相関があることが報告されている<sup>1)</sup>。従って、UASB 槽内に嫌気性原生動物を高密度に維持することは、UASB 槽における処理性能の向上につながると考えられる。

一方で、これらの嫌気性原生動物の培養例は少なく、嫌気性原生動物の増殖を促進するうえで有効な供給基質は明らかになっていない。そこで、本研究では UASB 槽内から分離した嫌気性原生動物の増殖に及ぼす供給基質の影響を調査した。

## 2. 実験方法

### 2-1 培養方法

本実験で使用した汚泥サンプルは、長岡中央浄化センター内に設置されている UASB 槽内から採取した。原生動物の培地には、15 mL の CMV medium ( $K_2HPO_4$  0.125 g/L,  $NaHCO_3$  1.26 g/L,  $NH_4Cl$  0.025 g/L,  $NaCl$  0.4 g/L,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  0.2 g/L,  $KCl$  0.15 g/L,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0.25 g/L) を使用し pH 7.0 に調整した。培地には還元指示薬としてレザズリン 1 mg/L、還元剤として  $Na_2S \cdot 9H_2O$  0.06 g/L、システイン HCl 0.06 g/L を添加した。基質は米粉と *E.coli* を使用し、米粉は最終濃度 1.25 g/L になるように培地に添加し、*E.coli* は最終濃度  $1.2 \times 10^9$  cells/mL になるように接種した。また、*E.coli* を接種した培地には補助基質として酵母エキス 0.03 %、硫酸塩 1.4 g/L、オレイン酸+ステアリン酸 0.10 g/L、エルゴステロール+スティグマステロール 1.0 mg/L、脂肪酸 1.0 mg/L+脂質 0.10 g/L、を各培地に添加した。汚泥サンプルは各培地に 4 mL 添加した。原

生動物の培養は、培養温度 30 °C の嫌気性条件下で行った。

次に、基質として細菌は用いず、米粉を使用したときの嫌気性原生動物の推移を評価した。pH 7.0 に調整した 15 mL の CMV 培地に、米粉濃度が所定の濃度 (3.75 g/L, 2.50 g/L, 1.25 g/L, 0.50 g/L) になるように調整し、培養温度 30 °C の嫌気性条件下で培養を行った。

### 2-2 顕微鏡観察

原生動物の観察は光学顕微鏡 (オリンパス IX73) を使用して行った。培養液 30  $\mu$ l をスライドガラスに滴下し、カバーガラス全視野の原生動物の個体数を目視で計測した。計測はサンプルごとに 3 回行い、平均値を算出した。また、本実験では目視による形態判別が可能な体長 20  $\mu$ m 以上の原生動物を計測対象とした。

## 3. 結果と考察

図 1 に米粉および *E.coli* と補助基質を使用したときの嫌気性原生動物の推移を示す。供給基質として *E.coli* のみの系と *E.coli* の他に補助基質として、酵母エキス、硫酸塩、オレイン酸+ステアリン酸、エルゴステロール+スティグマステロール、脂肪酸+脂質を使用した培養では、嫌気性原生動物の個体数は減少し、10-15 日程度で死滅した。一方で、供給基質として米粉を使用した培養では、嫌気性原生動物の個体数が 194 cells/mL まで増加した。従って、米粉は嫌気性原生動物の増殖を促進するうえで有効であると判断した。また、UASB 槽内から採取した汚泥に、原生動物は *Metopus sp.*, *Cyclidium sp.*, *Caenomorpha sp.* が確認された。このうち米粉を基質とした培養実験において増殖が確認できたのは、*Metopus sp.*, *Cyclidium sp.* であり、*Caenomorpha sp.* は確認されなくなった。

次に米粉濃度を变化させた培地における嫌気性原生動物の推移を図2に示す。米粉濃度を2.50 g/L, 1.25 g/Lに調整した培養系において、培養開始から3日後に嫌気性原生動物の増殖が確認できた。このときの嫌気性原生動物の最大個体数は1461 cells/mLであり、4つの米粉濃度条件のなかで嫌気性原生動物の増殖が最も良好に行われた。また、この時点では *Cyclidium.sp.* が優占して存在していたが、培養開始から5日後には、*Cyclidium.sp.* の個体数は減少し、*Metopus.sp.* の個体数が増加した。培養開始から7日後には、*Metopus.sp.* の個体数が111 cells/mLまで増殖しており、培地内で優占して存在していた。従って、米粉濃度を2.50 g/Lに調整したCMV培地は *Metopus.sp.* の増殖を促進するうえでも有効であることが示唆された。培養開始から11日後、すべての米粉濃度の培地で嫌気性原生動物が確認できなくなったことから、培地内の嫌気性原生動物は死滅したと判断した。また、米粉濃度を3.75 g/L, 0.50 g/Lに調整したCMV培地では、嫌気性原生動物の増殖は確認できなかった。揮発性脂肪酸 (VFA) の増加によって嫌気性原生動物の増殖が阻害されたことが報告されている<sup>2)</sup>ことから、基質濃度が高い場合には、VFAが多く生成されたため、原生動物の増殖が阻害されたと考えられる。

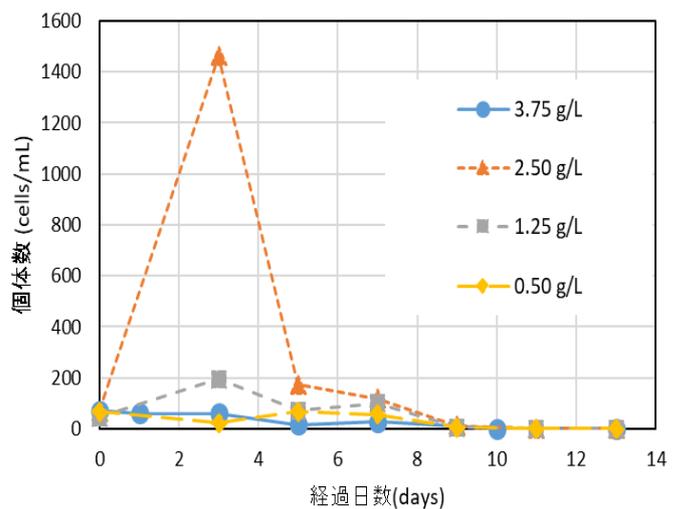


図2.米粉濃度を变化させた培地における嫌気性原生動物の推移

#### 4 まとめ

- 1) 供給基質として *E.coli* のみの系と *E.coli* の他に補助基質を使用した系では、嫌気性原生動物の増殖が確認できなかった。
- 2) 嫌気性原生動物の増殖を促進するうえで、米粉濃度を2.50 g/Lに調整したCMV培地における培養が最も有効であった。
- 3) 培養初期段階では *Cyclidium.sp.* が優占して存在しているが、その後 *Metopus.sp.* の個体数が増加し、培養後期は *Mrtopus.sp.* が優占して存在していた。

#### 5 今後の予定

本実験では、米粉、*E.coli*+補助基質を使用した場合における嫌気性原生動物の増殖を調査した。今後は、培養条件(温度・pH等)を変化させ、嫌気性原生動物の増殖に最適な培養条件を調査する。また、*E.coli*に限らず、様々な細菌を基質として使用し、嫌気性原生動物の培養するうえで最適な基質となる細菌を調査する。

#### 6 参考文献

- 1) M. Priya et al., (2007). *Water Research*, Vol.41, Issue20, pp.4639-4645
- 2) N.Narayanan et al., (2007). *Anaerobe*, Vol.13, Issue1, pp.14-20

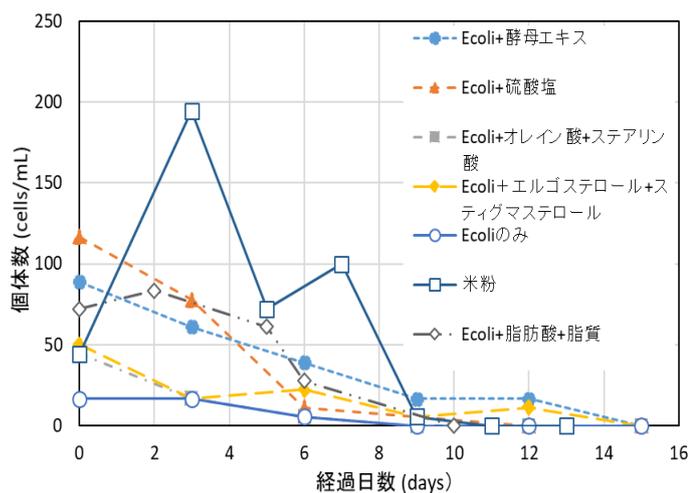


図1.米粉および *E.coli* と補助基質を使用したときの嫌気性原生動物の推移