

# 水産排水汚泥と海洋深層水を利用する藻類複合培養系の開発

静岡大学 学術院農学領域\*

長尾 遼

## 1. はじめに

排水処理は、家庭や工業施設から排出される水を処理し、自然環境や人間の健康に害を与えないようにするために非常に重要である。日本だけでも年間 280 億トン相当の排水が処理されている。排水処理は活性汚泥法が主流であり、これは日本だけでなく世界中で広く採用されている<sup>1)</sup>。活性汚泥法は排水中の有機物を水と CO<sub>2</sub> に分解する<sup>2)</sup>。1 m<sup>3</sup> あたり 6.6 kg の CO<sub>2</sub> が排出されると試算されている。つまり、日本では排水処理だけで年間 1,850 億 kg 相当の CO<sub>2</sub> が排出されていることになる<sup>3)</sup>。加えて、活性汚泥法では、排水処理の最終過程で汚泥が生じる。汚泥は産業廃棄物として処理される際に CO<sub>2</sub> を発生する。成人男性が 1 日あたり 1 kg の CO<sub>2</sub> を排出することから<sup>4)</sup>、排水処理による CO<sub>2</sub> 排出が膨大であると認識できる。また、年間 280 億トンの排水に対し、その処理費用や施設の維持費で、おおよそ数千億円の莫大なコストが掛かる<sup>5)</sup>。

産学官連携により微細藻類の利用開発が世界中で活発化している<sup>6)</sup>。歴史的には、藻類の光合成によって生産される有用物質を含むバイオマスに着目し、野生株や変異株（遺伝子組換え体）による目的物質の高発現系の開発が盛んに行われてきた。しかし、こうした研究のほとんどが社会実装に遠く、現状は企業によって 10 種類程度の限られた淡水性藻類の野生株の単一培養によって製品開発が行われている。地球上の水域のうち、約 97.5% が海水であること、一方で淡水が世界的に枯渇しつつあること、さらには日本が四方を海に囲まれていることから、豊富な海水を利用する微細藻類の研究開発は喫緊の課題である。淡水微細藻類は海水に適応することができるため、海水で培養可能な微細藻類の選択が重要である<sup>7)</sup>。

藻類の増殖には栄養塩として窒素分やリン酸が必要である。太陽光、海水、CO<sub>2</sub> は無尽蔵であるため、栄養塩さえ供給できれば微細藻類の培養は可能である。栄養塩の供給を目的とし、排水を利用する藻類バイオテクノロジーの研究開発が世界中で行われている<sup>7)</sup>。下水処理場や食品工場から排出される排水は特に環境への負荷が大きい。藻類の増殖に必要な窒素分やリン酸といった栄養塩や有機物を大量に含んでいる。例えば、兵庫県立大学では下水と海水を混合して藻類の培養に成功している<sup>8)</sup>。また、山形県では下水処理水で培養した藻類を鮎の餌とすることで養殖に成功している<sup>9)</sup>。これにより排水由来の栄養塩が微細藻類培養に効果的であることが実証されたが、排水由来の微生物の混入が避けられないため、藻類の死滅や目的物質の発現低下といった問題が起こりうる。

水産加工排水にも栄養塩は多く含まれている。静岡県は魚介類の水揚げ量が多く、水産加工場が駿河湾に面して立地しているため、加工時に出る排水原液を処理する施設が稼働している。この排水処理施設を視察したところ、処理層で緑色の藻が浮遊していることを見出した。実際に排水を採集し、海水と等量で混ぜた後、実験室にて培養したところ、複数の藻類と微生物が確認された。この視察と培養検証により、①水産加工排水処理施設には微生物の混入に強い藻類が存在する、②この藻類は海水に適応できる種である、③単一の藻類が生息しているの

ではなく複数種が生息する、④藻類と微生物が共存している、ということが判明した。この発見が端緒となり、企業で用いられている藻類の単一培養系ではなく、海水をベースとした複数の藻類と微生物が共存する複合培養系を開発することができれば、様々な外的要因からの影響を受けない強靱な微細藻類培養システムの構築につながると考えた。

本研究では、排水処理過程で生じる汚泥に着目した。これは、汚泥が産業廃棄物処理されているため、有効活用することによりコスト削減とCO<sub>2</sub>発生抑制を目指すためである。汚泥と無尽蔵な海水の混合培地による藻類微生物複合系の培養開発を目的とする。

## 2. 方法

### 藻類微生物複合系の培養

藻類微生物複合系は、水産加工排水処理施設の処理層から藻類試料を採集し、研究室にて人工海水に順化させた。人工海水はマリンアート SF-1（大阪薬研）とダイゴ IMK（富士フィルム和光）を混合し、ミリ Q で溶解後、オートクレーブした。海水に十分に適応した藻類微生物複合系を水産加工排水処理施設の汚泥と海水を等量で混ぜた培地（汚泥海水培地）で培養した。培養には、25 度、白色 LED で 30 μE、通気の条件を使用した。この条件は、一般的に藻類が増殖する条件である。

### DNA の調製

汚泥海水培地で生育させた藻類微生物複合系を ISOIL for Beads Beating（ニッポンジーン）で処理し、DNA を調製した。得られた DNA は、菌叢解析するまで -30 度で保存した。

### 菌叢解析

16S rRNA および 18S rRNA の遺伝子領域を対象に次世代シーケンシング解析を実施した。16S rRNA は細菌および古細菌、18S rRNA は真核生物の菌叢解析に用いた。特異的プライマーを用いて各遺伝子領域を PCR 増幅した後、高スループットシーケンスを行い、解析した。

## 3. 結果

藻類微生物複合系を汚泥海水培地にて培養した（図 1）。培養一日目では汚泥の色と魚介類特有の生臭さが強く残っていた。培養四日目になると、汚泥の色や生臭さが薄れる一方、緑色の藻類が付着するようになった。培養十日目では、汚泥の色が完全に無くなり緑色の藻が付着するようになった（図 1）。この時、生臭さも完全になくなっていた。このことは、藻類微生物複合系が汚泥を消費し、バイオマス生産していることを示している。

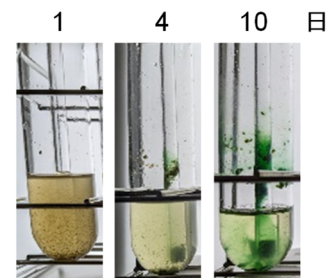


図 1. 汚泥海水培養の様子

本研究で使用した藻類微生物複合系に含まれている微生物組成を調べるために菌叢解析した。十日間培養した試料から DNA を抽出し、解析した結果、複数の藻類と微生物で

構成されていることが明らかになった。特に、Chlorophyta や Euglenozoa といった藻類に加え、Proteobacteria や Actinobacteriota が含まれていた。これらの微生物によって汚泥が消費されたと考えられる。

光合成や汚泥浄化に関する分析に移行する予定だったが問題が生じた。藻類微生物複合系によって、汚泥が消費されなくなり、図1にみられるような緑色が得られなくなってしまった。同条件で培養を繰り返しても、図1の一日目のような状態が続き、十日目になっても汚泥特有の生臭さが残るようになった。これは、汚泥海水培地で藻類微生物複合系を維持することにより、菌叢が変化したためと考えられる。以降、何度もサンプリングし、培養を試みたが、図1のような結果が生じる藻類微生物複合系は得られなかった。このことから、藻類微生物複合系を取り扱う場合、ある程度の菌叢が得られた段階で、安定な培地への植え継ぎが必須であると結論付けた。これは、汚泥海水培地だと、その中に含まれている有機物、無機物、あるいは微生物が、培地作成毎に異なるためである。このような不確定要素を排除するためにも、藻類微生物複合系を安定培地で維持し、汚泥海水培地を使用する際に安定培地から植菌するという方法を取るべきであった。また、人工海水で藻類微生物複合系を培養後、海洋深層水を試験する予定だったが、実現に至らなかった。

#### 4. 考察

菌叢の安定化が大きな課題であることが明らかになった。藻類微生物複合系では、藻類が微生物に対して栄養や光合成産物を提供し、微生物が藻類に必須栄養素や代謝物を供給するという相互依存関係が成立している。しかし、この関係は、培養条件や外部環境の変化によって容易に破綻する。例えば、光強度、温度、pH、溶存酸素濃度などの環境因子が少し変化するだけで、藻類や微生物の成長速度や代謝パターンが劇的に変化し、相互作用のバランスが崩れる可能性がある。さらに、複合系内の菌叢構成は多様であり、個々の微生物の役割が時間とともに変化する。特に、バクテリアや真菌のような微生物群は、培養条件の変化に応じて増減するため、藻類との相互作用が不安定になりやすい。加えて、外来微生物の侵入や優占種の突然変異が起こると、複合系の機能そのものが変質することもある。このような菌叢の動態は、系全体の安定性に影響を及ぼし、持続可能な利用を困難にしている。また、藻類が分泌する二次代謝物も、菌叢の安定化に影響を及ぼす。藻類はしばしば抗菌性物質や特定の微生物を選択的に抑制する物質を分泌するが、これらの物質の濃度や分布が変化すると、共存する微生物の種類や量が変わり、結果として複合系全体のダイナミクスが乱れる。一方で、微生物も藻類に対してストレスを与える化合物を生成することがあり、これが藻類の成長や代謝を抑制する要因となる。このような理由から、汚泥海水培地のような不安定な培地で維持すべきではないことがわかる。

もう一つの課題は、藻類と微生物の相互作用が培養容器や設備の条件にも依存していることである。例えば、人工的な攪拌やガス供給の方法が、微生物の分布や定着性に影響を与える。特定の微生物が容器内で優位になると、全体の生態系バランスが崩れることがある。また、藻類のバイオマス収量を高めるための培養条件が、必ずしも微生物の成長や共存に適していない場合もあり、相互作用の安定性が損なわれる。さらに、分子レベルで見ると、藻類と微生物の相互作用はシグナル伝達や遺伝子発現の調節によって媒介されている。しかし、これらのプロセスは動的であり、微生物の群集構造や代謝活動の変化によっ

て影響を受ける。具体的には、微生物が分泌する代謝物が藻類の遺伝子発現を変化させ、光合成効率や栄養素吸収能力に影響を及ぼすことが知られている。このような遺伝子レベルの相互作用が不安定になると、菌叢全体の構造が崩れる可能性がある。

以上のように、藻類微生物複合系における菌叢の安定化は、環境要因、生態学的ダイナミクス、分子レベルの相互作用が複雑に絡み合っているため、非常に難しい課題である。この複合系を安定化させるためには、まずは人工培地による菌叢の安定化が簡易的で試験し易いと考えられる。

## 5. まとめ

本研究では、藻類微生物複合系による汚泥利用を目的として、培養系の開発を試みた。実験を通じて、藻類微生物複合系による汚泥消費の実現可能性を示したが、菌叢の安定化が課題として残った。具体的な改善策としては、一度、菌叢を作成したら、安定な人工培地で維持することが重要である。

## 謝辞

本研究は挑戦的であるにもかかわらず、天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。

## 参考文献

- 1) 環境儀, 国立環境研究所の研究情報誌, vol. 35, 2010.
- 2) 日本下水道事業団技術開発部, いまさら訊けない下水道講座, 2010.
- 3) 大橋晶良, 省エネ型の下・排水処理は地球環境にやさしい?, 環境・エネルギー特集 Part 3 地球環境保護の取り組み, vol. 42, 2010.
- 4) 人は1日にどれくらいの二酸化炭素を排出している?, サステナブルスイッチ, 2023.
- 5) 環境省環境再生・資源循環局廃棄物適正処理推進課, 日本の廃棄物処理, 2023.
- 6) A. Barry, A. Wolfe, C. English, C. Ruddick, D. Lambert, 2016 National Algal Biofuels Technology Review, U.S. Department of Energy Office of Scientific and Technical Information, 2016.
- 7) A. Saravanan, P. Senthil Kumar, S. Varjani, S. Jeevanantham, P.R. Yaashikaa, P. Thamarai, B. Abirami, Cynthia Susan George, "A review on algal-bacterial symbiotic system for effective treatment of wastewater," Chemosphere, vol. 271, pp. 129540, 2021.
- 8) 菓子野康浩, 珪藻のフィジオロミクスに基づく褐色のエネルギー革命のためのパイロットプラントの完成, プレスリリース, 2018.
- 9) 山形県鶴岡市, 「つるおか BISTRO 鮎」の養殖の取組みについて, 2024.