

1. はじめに

アナモックス細菌は自然環境中に広く分布する嫌気性細菌であり、その機能を活用したアナモックス法は、コストが低いアンモニア処理法として注目されている。しかし、アナモックス細菌は倍加時間が長く、培養には時間と手間がかかる。このため、効率的に培養するには培養状況を正確に評価し、その結果を培養条件に反映させることが重要である。本研究では、培地のアンモニア等の濃度変化から窒素処理速度（NCR）を確認するとともに、デジタル PCR 装置を用いて、菌体量の増減を評価した。

2. 方法

アナモックス細菌の種菌は、山形県内事業場の排水処理施設から採取し、**図 1** の装置を用いて培養した。培養槽の担体には、浄化槽用の 5 mm 角スポンジを使用した。培地は**表 1** のとおり、期間 I には種菌を採取した事業場の排水中で馴致し、期間 II には 7 日ごとに培地の 4 分の 1 を模擬排水¹⁾に置換した。また、期間 II～IV には一定期間ごとにタンク内の培地を新しいものに交換した。

培養槽からは定期的に担体を採取し、DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。この抽出液をデジタル PCR 装置 (Bio-Rad) で測定し、担体 1 個あたりのコピー数 (以下、DNA 濃度) を計算した。PCR サイクリングは、95℃で 10 分間保持し、94℃(30sec)-60℃(3min)を 50 サイクルした後、98℃で 10 分間保持した。プライマーは Amx368f-Amx1480r、プローブは 1055f を用いた。

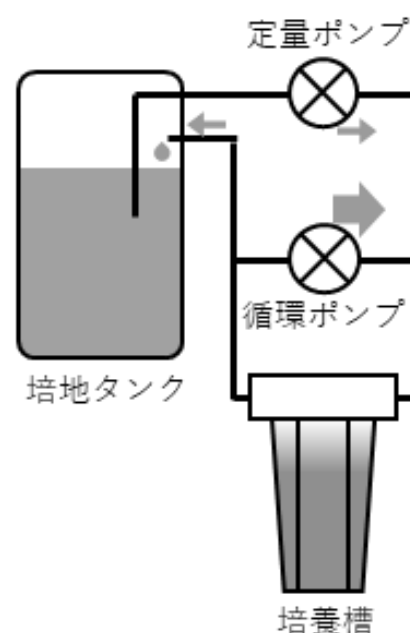


図 1 培養装置

表 1 培地の種類と交換頻度

期間	経過日数 (d)	培地	培地交換 頻度(d)
I	0-80	事業場排水	-
II	80-101	事業場排水 + 模擬排水	7
III	101-142	模擬排水	21
IV	142-304	模擬排水	14

3. 結果

タンク内の培地のアンモニア態窒素濃度、亜硝酸態窒素濃度、NCR 及び DNA 濃度を**図 2** に示す。NCR は培地交換後 7 日間のアンモニア、亜硝酸、硝酸の濃度変化から計算した。NCR は期間 II～III にかけて増加し、その後は横ばいに推移した。

一方、DNA 濃度は期間 I に減少し、期間 II に増加して以降は横ばいとなった。デジタル PCR による測定では、期間 I のようにアンモニア濃度等の変動のない期間であっても、DNA 濃度の減少が確認された。

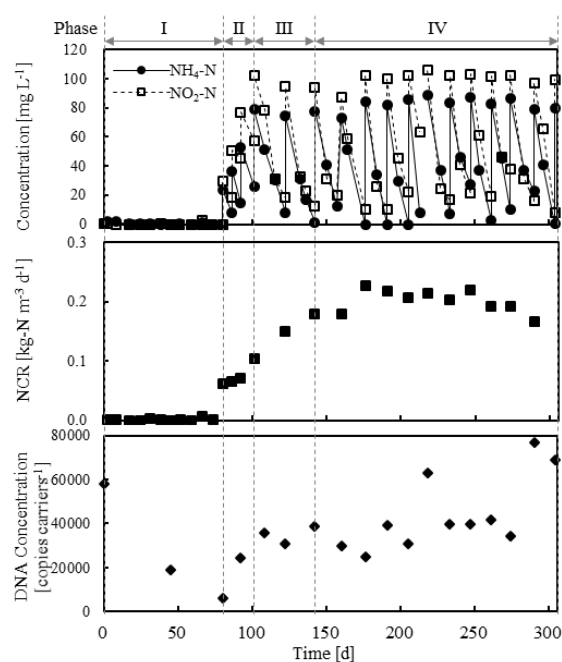


図 2 培地組成及び DNA 濃度の変化

4. 考察と結論

本研究では、アナモックス細菌の培養環境を構築する過程において、デジタル PCR 装置を用いて DNA 濃度を測定した。アンモニア等の濃度変化は細菌の活性と菌体量の両方から影響を受ける一方で、DNA 濃度は細菌の活性に依存せず、菌体量の増減を推測できる。このことから、培養状況を詳細に評価する上で、デジタル PCR の有用性が示唆された。

参考文献

- 1) 張ら, 2013. 土木学会論文集G(環境)69(7), 515-522.

第 59 回日本水環境学会年会（令和 7 年 3 月開催）発表要旨