

Ⅶ-170

下水高度処理における硝化生物膜の比活性と細菌叢の FISH 解析

長岡高専 ○荒木信夫*、樋口義丈、丸山和馬
三機工業 矢澤賢一郎、武田薬品工業 高井智丈

1. はじめに

水界の富栄養化現象を防止するために下水の高度処理の普及が急務である。微生物の働きを利用した硝化-脱窒法では好気槽における硝化反応の促進が律速段階となる場合が多く、これは硝化細菌の増殖速度が小さいためにウォッシュアウトされるためである。これを防止するには硝化槽に担体を投入し、生物膜を形成させる方法が有効である。本研究では、ポリウレタン担体を硝化槽に投入し、エアタン混合液中の残存アンモニアの硝化反応の促進を試みた。さらに、担体表面の生物膜の硝化能力の推移と遺伝子プローブの FISH 法で検出される硝化細菌について解析を行った。

2. 実験方法

実験に用いた装置の概要と担体の写真を図-1、図-2に示す。実下水処理場のエアタン後端部分より混合液を実験原水として採取し、これをスクリーンで除塵した後、実験装置に供給した。担体はウレタン素材で、外径4.0mm×内径2.5mm×高さ4mmの中空円筒状である。実験装置の運転条件を表-1に示す。

生物膜担体の硝化比活性(mg-N/L-Pellet/hr)は、1Lメスシリンダーを仮想リアクターとして用い、63mL(実容積)の担体を投入して20℃で行った。基質はアンモニアおよび亜硝酸塩を主成分とした人工排水を50mg-N/Lとなるように与え、それぞれの基質の初期(3~5hr)の酸化速度から評価した。

生物膜中の硝化細菌の検出は、まず担体表面に形成した生物膜を超音波により剥離し、剥離生物膜試料に遺伝子プローブの FISH 法を適用し検出を試みた。表-2に本研究で適用した遺伝子プローブとハイブリダイゼーション条件を示す。

表-1 実験装置の運転条件

リアクター容積	30 L (200 φ×1200H)			
担体投入量 (実容積)	3.75 L (12.5%)			
処理水量	Run 1	0-76 day	40L/hr	0.75 hr-HRT
	Run 2	77-127day	20L/hr	1.5hr-HRT

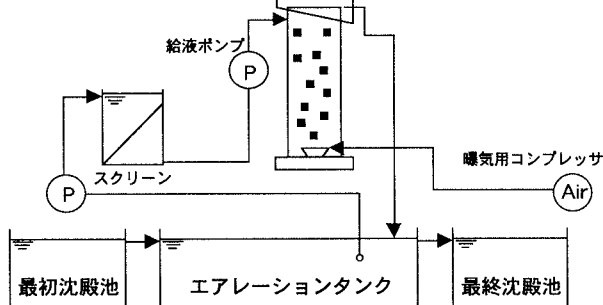


図-1 実験装置概要図

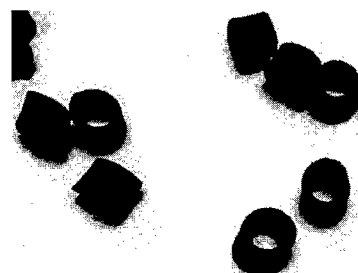


図-2 ポリウレタン担体

表-2 硝化細菌に検出に用いた DNA プローブと適用条件

Probe	Sequence (5'-3')	Specificity	FA%at46℃
Nmn657	TGGAATTCCTACTCCCCTCTG	Nitrosomonas europaea/eutropha/marina	40
Nso190	CGATCCCCTGCTTTTCTCC	ammonia-oxidizing beta-Proteobacteria	10
Nsv443	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	Nitrosospira spp.	30
NIT3	CCTGTGCTCCATGCTCCG	Nitrobacter spp.	0
Nb1000	TGCGACCGGTCATGG	Nitrobacter spp.	0
Ntspa1026	AGCACGCTGGTATTGCTA	Nitrospira moscoviensis	20
NSR1156	CCCGTTCTCCTGGGCAGT	Nitrospira spp.	30

FA: Folmamide concentration in Hybridization Buffers

Sewage Treatment; Nutrient Salt Removal; Fluorescent in-situ Hybridization; Nitrification; Biofilms

* 〒940-8532 長岡市西片貝町 888 Tel:0258-34-9281 Fax:0258-34-9284 E-mail:anaki@nagaoka-ct.ac.jp

3. 実験結果

図-3に担体を投入した硝化槽の窒素濃度変化を示す。実験期間を通じて流入アンモニア濃度は0.9~23.9mg-N/Lで変化しており、平均濃度は13.5mg-N/L、12月以降（43日目）はエアタン内での硝化反応の進行が低下したため平均16.5mg-N/Lに上昇した。硝化槽の流出水中のアンモニア濃度は平均6.2mg-N/Lに低下しており、アンモニア除去率は62%であった。また、混合液および硝化槽流出水中には亜硝酸は蓄積していなかった。

図-4に担体単位容積当たりのアンモニア酸化比活性と亜硝酸酸化比活性の経日変化を示す。担体は事前に活性汚泥による馴致を行っていたため、すでに硝化比活性を有していたが、硝化槽の運転によってアンモニア酸化比活性は59mg-N/L-Pellet/hr、亜硝酸酸化比活性は150mg-N/L-Pellet/hrに上昇し、以後低温期においてもその比活性を保持した。一方、エアタン内の活性汚泥は0-dayでアンモニア酸化と亜硝酸酸化比活性は、それぞれ2.2、2.8mg-N/g-SS/hrであった。また、127-dayでは、それぞれ1.08、2.0mg-N/g-SS/hrであった。127-dayにおける担体の中空部分に詰まった汚泥を除く生物膜量は1.33g-SS/L-Pelletであることから、エアタン内の活性汚泥に比較して生物膜はアンモニア酸化で44倍、亜硝酸酸化で56倍の活性を有していたことになる。

表-4は、運転0日、76日、127日におけるエアタン内の活性汚泥と担体表面に形成した生物膜に硝化細菌を検出するDNAプローブを適用した結果である。まず、活性汚泥中の硝化細菌は、いずれの測定においても検出することができなかった。FISH法で硝化細菌を検出できなかった原因は、硝化細菌の存在率が極めて小さかったものと考えられる。生物膜中にはFISH法により硝化細菌が確認された。アンモニア酸化細菌では β -subclassに属するアンモニア酸化細菌に特異的なNso190のシグナルが最も多く観察され、次にNmn657で検出される*Nitrosomonas*であった。一方、亜硝酸酸化細菌では*Nitrobacter*と*Nitrospira*のいずれも細菌も検出されたが、アンモニア酸化細菌に比較するとその存在率は小さかった。いずれの硝化細菌も10 μ m程度のクラスターを形成して存在していた。

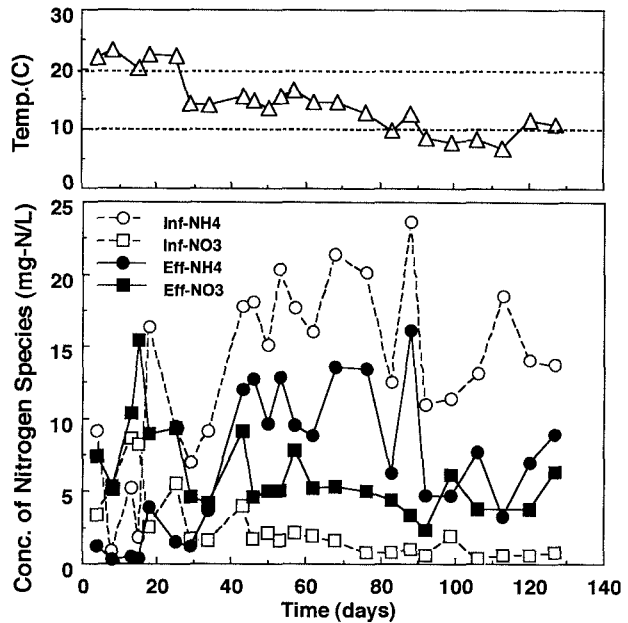


図-3 硝化槽の運転結果

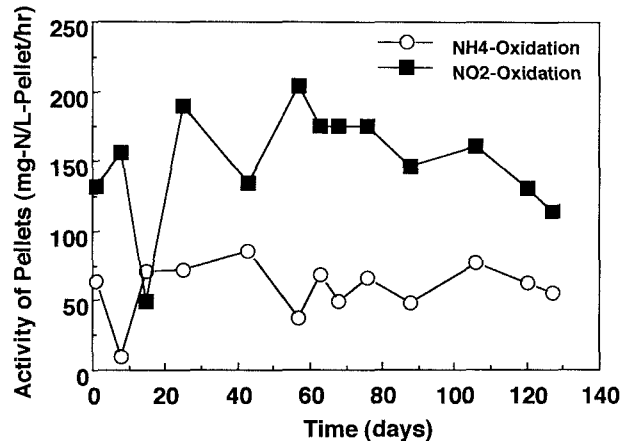


図-4 硝化槽内の担体のアンモニア酸化および亜硝酸酸化比活性の経日変化

表-4 エアタン内の活性汚泥および担体生物膜のFISH法の適用結果

	0-day	76-day		127-day	
	Sludge	Biofilm	Sludge	Biofilm	Sludge
Nmn657	×	○	×	△	×
Nso190	×	◎	×	○	×
Nsv443	×	×	×	×	×
NIT3	×	△	×	△	×
Nb1000	×	△	×	△	×
Ntspa1026	×	○	×	△	×
NSR1156	×	○	×	△	×