

バルキング活性汚泥中の硫酸塩還元細菌の FISH 法による検出

金沢大学工学部 正会員 小森友明 池本良子
金沢大学大学院 宮里直樹 山本広一郎 小笠原歩

1. はじめに

本研究室では、活性汚泥法において最も頻度の多い糸状性細菌 Type021N によるバルキング現象において、硫酸塩還元細菌と硫酸化細菌の相互作用が重要なファクターになっていることを報告している¹⁾。本研究では、室内実験により生成したバルキング活性汚泥に分子生物学的手法である FISH 法を適用し、硫酸塩還元細菌の存在形態を検討すると共に、糸状性細菌 Type021N との相互作用を検討した。

2. 実験方法

2-1 実験装置と運転運転方法

20℃の恒温実験室内に、図1に示す活性汚泥法連続処理装置を設置し、金沢市の下水処理場の返送汚泥に、同汚泥から嫌気条件で硫酸塩還元細菌を集積した汚泥を25%混合したものを種汚泥として投入した。ペプトンと酢酸を主体とする人工排水を用いて運転を開始し、運転開始23日後に曝気する空気量を4L/min(Run 1)から3L/min(Run 2)に変更した。週に2-3回 SVIC(希釈 SVI) 及び MLSS を測定するとともに、処理槽内の水質変化を測定した。生成した活性汚泥を用いて嫌気条件の回分実験を行い、硫酸塩還元活性を測定した。

2-2 FISH 法による微生物群集の観察

生成した活性汚泥に Amann らの方法²⁾を用いて FISH 法を適用した。実験に用いたプローブは硫酸塩還元細菌を特異的に検出できる RB385 と金川等³⁾が開発した 021N プローブ4種類である。

3. 実験結果と考察

3-1 処理装置の運転結果

MLSS、SVICの経日変化を図2に示す。運転開始から23日目に空気量を4L/min(Run1)から3L/min(Run 2)に落とし、嫌気ストレスを与えたところ急激に SVIC の上昇と、汚泥の流出による MLSS の減少が認められた。図3に処理槽内の水質変化の1例として運転開始から68日の結果を示す。溶解性の TOC 除去率は99%と高く、有機物除去は良好に行われていることが分かる。硫酸塩の変化はほとんど認められなかった。表3に生成した活性汚泥の糸状体長と硫酸塩還元細菌数および回分実験から得られた硫酸塩還元活性をまとめて示した。糸状体長が 10^3 cm/mgMLSS 以上になると沈降性が急激に悪化すること

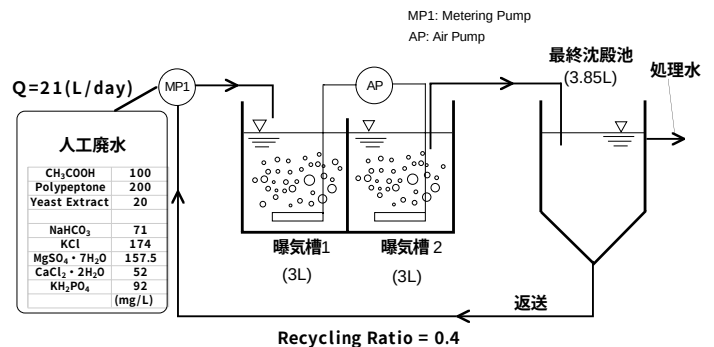


図1 実験装置の概要と人工排水の組成

表1 FISH 法に用いたプローブ

Probe name	Target group	Sequence(5' → 3')
SRB385	SRB	CGGCGTCGCTGCGTCAGG
G1B	021N group I	TGTGTTTCGATTCTTGC
G2M	021N group II	GCACCACCGACCCCTTAG
G3M	021N group III	CTCAGGGATTCTGCCAT
G123T	021N- Thiothrix	CCTCCGATCTCTATGCA

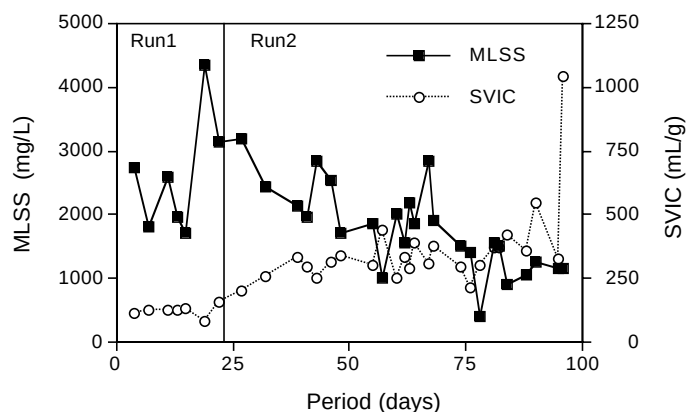


図2 MLSS、SVIC の経日変化

キーワード：糸状性バルキング、硫酸塩還元、Type 021N、硫酸化、FISH 法

〒920-8667 石川県金沢市小立野2-40-20 金大学工学部 (TEL)076-234-4641 (FAX)076-234-4644

が報告されており、本汚泥は糸状性バルキング状態にあったことがわかる。また、沈降性の良好な活性汚泥の硫酸塩還元細菌数は $10^6 \sim 10^7$ MPN/gMLSS程度、硫酸塩還元活性は $0.1 \sim 0.2$ mgSO₄/gMLSS・hrであると報告されており、本汚泥は硫酸塩還元細菌の活性が高いことが分かる。硫酸塩還元細菌が嫌気ストレスを与えることで増殖し、バルキングの原因となったと考えられる。

3-2 FISH 法による微生物群集の観察

運転開始から 84 日後の処理槽内汚泥を固定化し、FISH 法による観察を行った。SRB385 プローブを用いて活性汚泥内の硫酸塩還元細菌を観察した結果を写真 1 に示す。活性汚泥フロック周辺の糸状性細菌は、まったく蛍光を発していないにもかかわらず、フロック内に特異的な蛍光点存在していた。この事は、硫酸塩還元細菌が絶対嫌気性細菌であるにもかかわらず、曝気槽内のデッドスペースや巨大フロック内部の嫌気域に存在するのではなく、活性汚泥フロック内で生態学的適所を獲得して点存在していることを示している。

一方、糸状性細菌に関しては G1B, G3M プローブでは特異的な蛍光が検出されなかったが、G2M プローブでは写真 2 に示すような特異的な蛍光が検出できたことから、活性汚泥内に優先化した糸状性細菌は、Type021N group II であると判断された。この糸状性細菌は硫黄酸化能を持っており、フロック内に存在する硫酸塩還元細菌はこの糸状性硫黄酸化細菌との共存により生態学的適所を獲得したものと考えられる。

4. まとめ

1) ペプトンと酢酸を主体とする人工排水を用いて、標準活性汚泥法による室内処理実験を行った結果、嫌気ストレスを与えることが、硫酸塩還元細菌の増殖因子となり、糸状性バルキングが発生した。

2) 生成したバルキング汚泥に FISH 法を適用した結果、フロックから突出した Type021N group II を検出できた。硫酸塩還元細菌はフロック内に点存在していた。

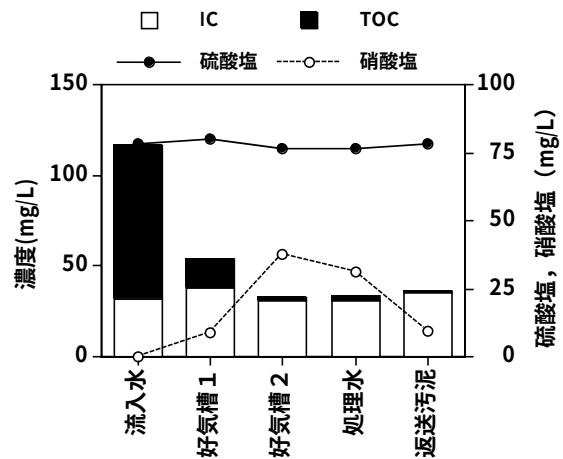


図3 実験装置内の水質変化(TOC)

表 3 糸状体長、硫酸塩還元菌数、硫酸塩還元活性

糸状体長(cm/mgMLSS)	2880
硫酸塩還元細菌数(MPN/gMLSS)	10.9×10^7
硫酸塩還元活性(mg/gMLSS・hr)	0.5

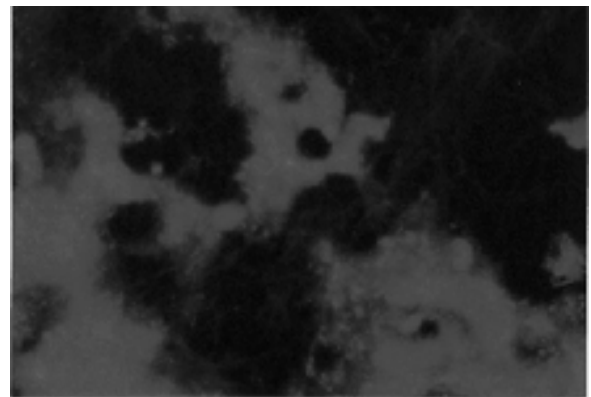


写真 1 SRB385probeをよる活性汚泥中の硫酸塩還元細菌の検出結果

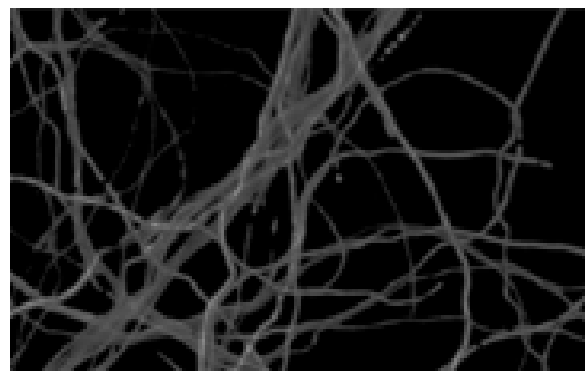


写真 2 021NG2M Probe による活性汚泥中の 021021NgroupII の検出

参考文献：1) Yanamoto-Ikemoto, R., Matui, S., Komori, T., T. and Bosuqu-Hamilton, E.J. (1998) Wat. Sci. Tech. Vol. 38, No 8-9, pp. 9-17. 2) Rudolf I. Amann. (1995). In situ identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. Molecular Microbial Ecology Manual 3.3.6: 1-15, 1995. 3) Knagawa, T., Kamagata, Y., Aruga, S., Kohno, T., Matthias, H. and Michael, W. (2000). Applied and Environmental Microbiology, Nov. 2000, pp. 5043-5052.