

嫌気ストレスによる活性汚泥中の硫酸塩還元細菌及び 糸状性硫黄酸化細菌の群集変化

金沢大学大学院 学生会員 宮里直樹
金沢大学大学院 宮里直樹 駒峯健治 池本良子

1. はじめに

本研究では、活性汚泥において最も頻度の多い糸状性細菌 Type021N によるバルキングは、硫酸塩還元細菌と硫黄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、嫌気ストレスがこれら細菌の増殖因子となっていることを報告している¹⁾。本研究では、嫌気ストレスによるバルキング発生時の群集変化について FISH 法を用いて検討した。

2. 実験方法

20 の恒温実験室内に、図1に示す活性汚泥連続処理装置を設置し、都市下水処理場の返送汚泥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 59 日目に曝気空気量を 4L/min(Run1)から 2L/min(Run2)に 6 日間変更し、65 日目から空気量をもとの 4L/min(Run3)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、位相差顕微鏡による観察を行った。Run1 及び Run3 において硫酸塩還元細菌数、糸状体長測定ならびに回分実験により硫酸塩還元活性と硫黄酸化活性を測定した。

さらに生成した活性汚泥に Amann²⁾らの方法を用いて FISH 法を経日的に適用した。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 SRB プローブ 6 種類と金川等³⁾が開発した 021N プローブ 4 種類である。(表 1)

3. 実験結果と考察

3-1, 沈降性と微生物活性の変化

MLSS、SVIC の経日変化を図2に示す。運転開始から 59 日目に曝気する空気量を 4L/min(Run1)から 2L/min(Run2)に 5 日間落とし、嫌気ストレスを与えたところ、SVI の上昇が認められた。表2に嫌気ストレス前後の糸状体長と硫酸塩還元細菌数及び硫酸塩還元活性、硫黄酸化活性を示した。硫酸塩還元細菌が嫌気ストレスの後 5 倍程度に増加し、糸状性細菌も増殖していることがわかる。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。

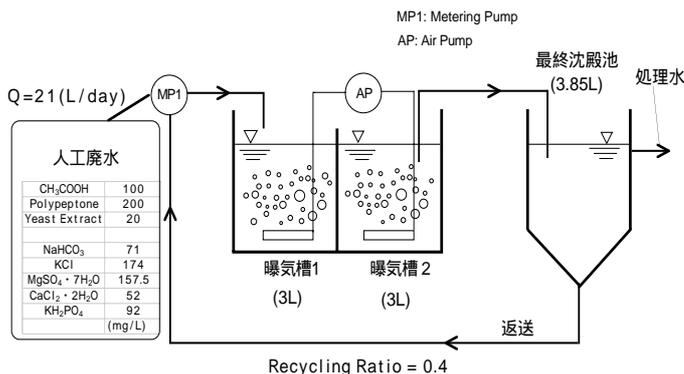


図1 実験装置の概要と人口排水の組成

表 1 FISH法に用いたプローブ

| Probe name | Target group | Sequence(5' - 3') |
|------------|------------------------|------------------------|
| SRB385 | SRB ^A | CGGCGTCGCTGCGTCAGG |
| SRB660 | Desulfobulbus | GAATCCCACTTCCCTCTG |
| SRB687 | Desulfobivrio | TACGGATTCACCTCT |
| SRB221 | Desulfobacteriu | TGCGCGGACTCATCTCAAA |
| SRB129 | Desulfobactor | CAGGCTTGAAGGCAGATT |
| SRB657 | Desulfonema | TTCCG(C/T)TTCCTCTCCATA |
| G1B | Type021Ngroup | TGTGTTTCGATTCCCTTC |
| G2M | Type021Ngroup | GCACCACCGACCCCTTAG |
| G3M | Type021Ngroup | CTCAGGGATTCTGCCAT |
| G123T | 021N- <i>Thiothrix</i> | CCTTCCGATCTCTATGCA |

^ASRB of the data proteobacteria plus several gram positive bacteria

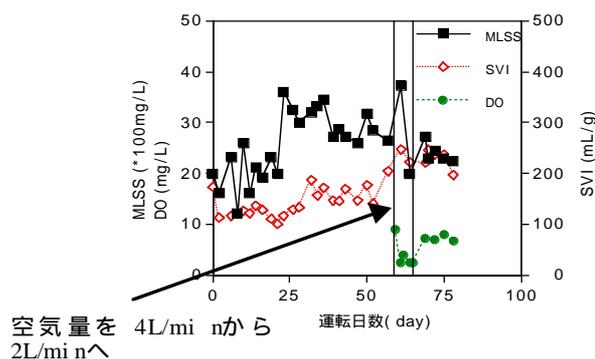


図2 MLSS,SVIC の経日変化

表 2 硫酸塩還元細菌数,糸状体長,硫酸塩還元活性

| | 硫酸塩還元細菌数 (MPN/gMLSS) | 糸状体長 (cm/mgMLSS) | 硫酸塩還元速度 (mg/gMLSS · hr) | 硫黄酸化速度 (mg/gMLSS · hr) |
|----------------|------------------------|------------------|-------------------------|------------------------|
| 嫌気ストレス前(a)47日目 | 1.65 × 10 ⁶ | 213 | 0.256 | 3.265 |
| 嫌気ストレス後(B)78日目 | 10.7 × 10 ⁶ | 826 | 1.021 | 3.117 |

キーワード：バルキング, 硫酸塩還元細菌, Type021N,

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

3-2, 微生物群集の変化

初期汚泥中には糸状性細菌はほとんど認められなかったが、43日目には糸状性細菌が多く観察された。このときのFISH法による観察結果を写真2に示す。汚泥中の糸状性細菌はG1B,G2M,G3M,G123Tどのプローブを用いても特異的な蛍光は認められず、糸状性細菌の形態からほとんどがSphearutilis natansであることがわかる。またSRB385プローブ(写真3)によりフロック内にSRBが点在していることがわかる。嫌気ストレス後5日目には、糸状性細菌の増殖が確認でき、その後汚泥フロックの巨大化が起こった(写真4)。嫌気ストレス後のFISH法による活性汚泥内の硫酸塩還元細菌及び硫黄酸化細菌 Type021Nを写真4,5に示す。Type021Ngroup「が多く観察され、SRB385プローブで観察できる硫酸塩還元細菌が増加していることがわかる。表2にType021NとSRBの群集変化を示す。運転開始当初の活性汚泥にはDesulfovibrio spやDesulfonema spが優占的に存在していた。嫌気ストレス後(運転開始70日目)の活性汚泥ではDesulfovibrio sp、Desulfonema spが増加し、G2Mプローブで特異的な蛍光が検出できたことから、活性汚泥内で優占化した糸状性細菌はType021Ngroup「である判断された。さらにその後(78日目)、Desulfobactor sp、Desulfobacterium spが局所的にクラスターを形成して増殖していることが観察されたが、これはフロックの巨大化によって内部に嫌気域が生成されたためと考えられる。

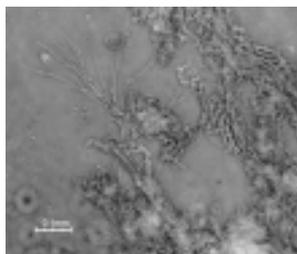


写真1 活性汚泥フロック (嫌気ストレス前,43日目)



図2 活性汚泥フロック (FISH法 G2Mprobe,嫌気ストレス前,51日目)

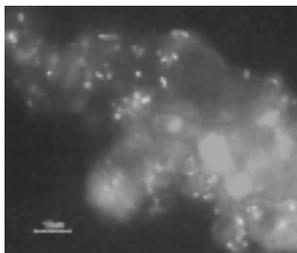


写真3 活性汚泥フロック (FISH法,嫌気ストレス前,SRB385probe,51日目)

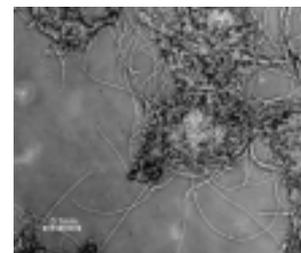


写真4 活性汚泥フロック (嫌気ストレス後,70日目)

表3 SRBprobeによる活性汚泥中の硫酸塩還元細菌の検出結果

| 運転日数 | SRB385 SRB ^A | SRB660 Desulfobulbus | SRB687 Desulfovibrio |
|------|-------------------------|----------------------|----------------------|
| 2 | ++ | + | ++ |
| 28 | ++ | + | ++ |
| 51 | ++ | + | ++ |
| 70 | +++ | + | +++ |
| 78 | +++ | + | +++ |

| 運転日数 | SRB221 Desulfobacterium | SRB129 Desulfobactor | SRB657 Desulfonema |
|------|-------------------------|----------------------|--------------------|
| 2 | - | - | ++ |
| 28 | - | - | ++ |
| 51 | - | - | ++ |
| 70 | - | - | +++ |
| 78 | + | + | +++ |

| 運転日数 | G1B Type021N group | G2M Type021N group | G2M Type021N group | 021N-Thiothrix |
|------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| 2 | - | - | - | - |
| 28 | - | - | - | - |
| 51 | - | - | - | - |
| 70 | - | +++ | - | + |
| 78 | - | +++ | + | +++ |

+++ = Major, ++ = Sub major, + = Minor, - = No detected

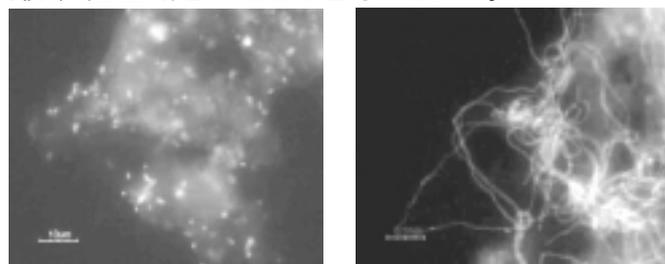


図4 SRB385probe021NG2Mprobeによる70日目の活性汚泥中の硫酸塩還元細菌(左)とType021Ngroup (右)

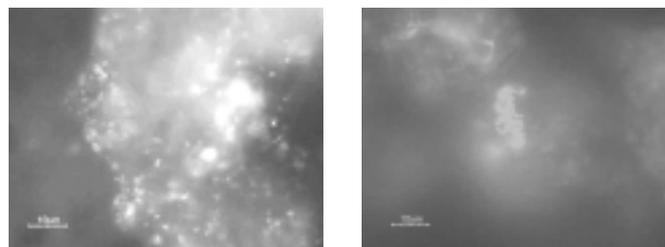


図5 SRB657probeとSRB129probeによる70日目の活性汚泥中のDesulfonema sp(左)と78日目の活性汚泥中のDesulfobactor sp(右)

4. まとめ

1)嫌気ストレスによりDesulfovibrio spとDesulfonema spの増加が認められ、Type021Ngroup「の増殖によるバルキングが発生した。Desulfobactor sp、Desulfobacterium spは、糸状性細菌の増殖によるフロックの巨大化の後に増殖した。

参考文献：1)Yanamoto-Ikemoto,R.,Matui,S.,Komori,T.,T,and Bosuqu-Hamilton,E.J.(1998)Wat.Sci.Tech.Vol.38,No8-9,pp.9-17. 2)Rudolf I.Amann.(1995). 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.