

嫌氣的硫黄酸化反応が発生した下水処理 UASB 槽内の微生物群集構造解析

長岡技術科学大学 学生会員 ○山本 将光, 学生会員 アイダ アズリナ アズミ
学生会員 大槻 洸太, 正会員 幡本 将史, 正会員 山口 隆司
東北大学 正会員 高橋 優信, 長岡高専 正会員 荒木 信夫, 高知高専 正会員 山崎 慎一

1. はじめに

嫌氣性排水処理法は低環境負荷であるという利点から広く用いられている。しかし、有機物分解の最終段階を担うメタン生成古細菌は低温環境下において活性が低下してしまう問題がある。一方、硫酸塩還元細菌の有機物分解能は、低温環境下でも活性の低下が比較的少ない。我々はこの点に着目し、硫黄の酸化還元サイクルを利用した低温環境下に適応可能な下水処理法の研究開発を進めてきた。近年、そのシステムの一部である上昇流嫌氣性汚泥床 (Upflow Anaerobic Sludge Blanket : UASB) リアクター内において、硫酸塩還元反応により生成した硫化物が嫌氣的条件下で硫酸塩に酸化されるという不可解な現象が確認された。この UASB リアクター内には、光や酸素および硝酸などの電子受容体が存在しないことから、この反応は従来から知られている硫黄酸化反応では証明ができない。このような電子受容体が不明な嫌氣的条件下での硫黄酸化反応についての報告例は、現在のところ確認されておらず、工学的・学術的にみても非常に興味深い現象であるといえる。これまでの研究結果より、嫌氣的硫黄酸化反応は流入下水水温が低い冬期に起こることがわかっている。そこで本研究では、UASB リアクター保持汚泥の分子生物学的アプローチにより、嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期および非発生時期での微生物群集を比較した。

2. 実験方法

2.1 UASB リアクター運転条件

実験には、長岡中央浄化センターに設置した実下水を処理する UASB リアクター (高さ : 4.7 m, カラム内径 : 0.56 m, 全容積 : 1178 L, 水理学的滞留時間 : 8 時間) を用い、無加温条件で運転を行った。UASB リアクター内において硫黄の酸化還元サイクルを再現するため、流入硫酸塩濃度が低い実下水に硫酸ナトリウム水溶液 (40-150 mg-S/L) を添加した。

実験期間内での UASB リアクターの COD_{cr} および SS 除去率はそれぞれ平均で 49%, 58% であり、有機物除去は安定的に行われていた。

2.2 UASB リアクター保持汚泥の微生物群集構造解析

嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期および非発生時期での微生物群集を比較するため、バクテリアおよびアーキアの 16S rRNA 遺伝子を標的としたクローン解析および Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 解析を行った。クローン解析には、採取時期の異なる 3 種 (2010/10/21, 2010/11/10, 2011/1/15), T-RFLP 解析には 4 種 (2010/11/10, 2011/2/21, 2011/6/22, 2011/9/1) の UASB リアクター保持汚泥を用いた。嫌氣的硫黄酸化反応は、2011/1/15 および 2011/2/21 の汚泥サンプル採取時期のみで発生していた。

3. 実験結果

3.1 クローン解析による嫌氣的硫黄酸化反応発生前後での微生物群集構造解析

バクテリアおよびアーキアの 16S rRNA 遺伝子を標的とした解析の結果、バクテリアでは、嫌氣的硫黄酸化反応の発生に関わらず、嫌氣的条件下で硫黄化合物を電子受容体として利用する *Caldiserica* 門^{1) 2)} に属するクローンが優占していた (表 1)。メタンチオールなどの含硫化合物を生成する *Holophaga* 属や硫酸塩還元細菌である *Desulforhabdus* 属に属するクローンの割合は、嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期に増加していた。アーキ

キーワード UASB 法, 硫黄酸化, 都市下水処理, 微生物群集構造解析

連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡 1603-1 長岡技術科学大学 環境・建設系 Tel 0258-47-1611

アでは、嫌氣的硫黄酸化反応の発生に関わらず、酢酸資化性のメタン生成古細菌である *Methanosaeta* 属に属するクローンが優占していた。

3.2 T-RFLP 法による嫌氣的硫黄酸化反応発生前後での微生物群集構造解析

クローン解析の結果と T-RFLP 解析の検出ピークを比較し、ピークに属する微生物を推定した。図1にバクテリアの T-RFLP 解析結果を示す。クローン解析と同様に、嫌氣的硫黄酸化反応の発生に関わらず、*Caldiserica* 門細菌のピーク (197 bp) が優占的に検出された。一方で、嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期には様々な *Deltaproteobacteria* 綱細菌のピーク (69 bp : *Desulfobulbus* 属, 163 bp : *Desulfotibacter* 属, 348 bp : *Desulfomicrobium* 属) の割合が増加していた (図1 (B))。アーキアでは、嫌氣的硫黄酸化反応の発生に関わらず、クローン解析結果と同様に *Methanosaeta* 属の検出ピークが優占していた。現在のところ、*Deltaproteobacteria* 綱細菌が硫黄の嫌氣的酸化反応に関与するといった報告はなされていないが、硫酸塩還元細菌が不均化反応により硫酸塩を生成する例は数件報告されている^{3) 4)}。したがって、UASB リアクター内において嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期のみ割合が増加していた硫酸塩還元細菌が、この反応に何らかの関与をしている可能性が考えられる。

4. まとめ

UASB リアクター保持汚泥の微生物群集構造解析により嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期および非発生時期での微生物群集を比較したところ、嫌氣的硫黄酸化反応の発生時期には、*Caldoserica* 門や *Deltaproteobacteria* 綱に属する様々な硫酸塩還元細菌の割合が増加していた。これらの解析結果や既報を踏まえると、UASB リアクターに存在する硫酸塩還元細菌が嫌氣的硫黄酸化反応に何らかの関与をしている可能性が考えられた。

今後は、16S rRNA 遺伝子の解析だけでなく、硫黄酸化や硫酸塩還元に関わる機能遺伝子の解析も行い、どのような微生物が嫌氣的硫黄酸化反応に関与しているかのより詳細な調査を試みる。

参考文献

- 1) Mori et al. (2008) *Applied and Environmental Microbiology*, 74, pp.6223-6229
- 2) Mori et al. (2009) *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, pp.2894-2898
- 3) Bak et al. (1987) *Archives of Microbiology*, 147, pp.184-189
- 4) Fuseler et al. (1996) *FEMS Microbiology Letters*, 144, pp.129-134

表1 クローン解析結果 (バクテリア)

細菌分類群 (門、属)	クローン数 (% 全クローン)		
	2010/10/21	2010/11/10	2011/1/15
嫌氣的硫黄酸化反応	非発生	非発生	発生
Bacteria			
<i>Acidobacteria</i>			
<i>Holophaga</i>	1 (1.1)	2 (2.2)	5 (5.9)
<i>Bacteroidetes</i>			
<i>Prolixibacter</i>	3 (3.3)	9 (9.7)	1 (1.2)
<i>Caldiserica</i>			
<i>Caldisericum</i>	6 (6.5)	14 (15.0)	13 (15.3)
<i>Firmicutes</i>			
<i>Acidaminobacter</i>	11 (12.0)	2 (2.2)	
<i>Anaerofustis</i>	5 (5.4)		2 (2.4)
<i>Proteobacteria</i>			
<i>Desulforhabdus</i>	1 (1.1)	2 (2.2)	5 (5.9)
<i>Smithella</i>	12 (13.0)	17 (18.2)	11 (12.9)
<i>Syntrophorhabdus</i>	1 (1.1)	3 (3.2)	4 (4.7)
Others	52 (56.5)	44 (47.3)	44 (51.7)
合計	92 (100)	93 (100)	85 (100)

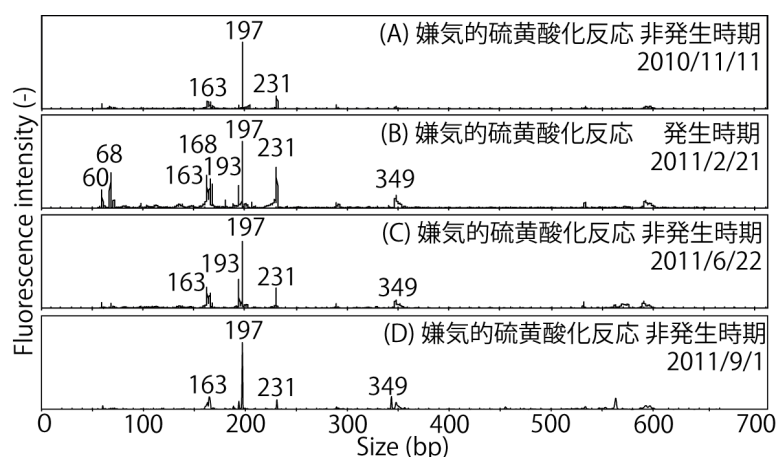


図1 T-RFLP 解析結果 (バクテリア)