

下水処理 DHS リアクター中の病原性細菌の定量

長岡技科大院・工 学生会員 ○高橋省悟, 黒田恭平, 非会員 Namita Maharajan
長岡技科大院・工 正会員 幡本将史, 山口隆司

1.はじめに

汚染水の使用を原因とした水系感染症は、途上国において依然として大きな問題として存在しており、対策の必要がある。水系感染症の対策を行う上で、原因となる病原性細菌の挙動を把握することは重要である。我々の研究グループでは、途上国に導入可能な下水処理技術として、低コストかつ省エネルギーな下降流懸垂型スポンジ (Down-flow Hanging Sponge: DHS) システムの開発を行っており、開発途上国において実証試験を進めている¹⁾。DHS システムは様々な研究報告があるが、水質の指標となる微生物の知見は、主に培養法に基づいた大腸菌・大腸菌群・大腸菌ファージの定量などにとどまっている。近年では培養法以外の手法として PCR 法を用いた水系の病原性細菌の定量技術が報告されている。そこで本研究では、培養法に加えて PCR 法を用いて、DHS リアクターにおける指標微生物、病原性細菌に関する定量を行った。

2.実験装置および実験方法

2.1 実験装置

実験装置の概要図を Fig.1 に示す。本実験に用いた実験装置は高さ 4 m、水理的滞留時間は 3.2 時間、容量は 857 L、スポンジ容積は 454 L (充填率: 約 53%) の DHS リアクターを用いた。供給下水は、スクリーン通過後の実下水を沈殿槽で一次処理した下水を用いた。また、実験期間中において装置は無加温状態 ($22.5 \pm 3.8^\circ\text{C}$) で運転を行った。

2.2 実験方法

分析サンプルは下水、沈殿槽処理水、DHS 処理水および、比較対照として塩素消毒前の活性汚泥処理水の分析も同時に行った。試料水は、遠心分離により微生物を回収し DNA 抽出を行った。病原性細菌の定量は、Ishii ら²⁾が報告したプライマーセットを用いた qPCR 法で検出した。DNA 抽出には、FastDNA SPIN Kit for Soil (MP biomedical 社) を用いた。本実験で標的とした細菌の遺伝子は、予備実験で PCR 増幅が確認された大腸菌 (*ftsZ*, *uidA*)、腸管出血性大腸菌 (*eaeA*)、ウエルシュ菌 (*plc*, *cpe*) の 5 個の遺伝子を標的とした。

水質分析項目は、全・溶解性 BOD 濃度、全・溶解性 COD 濃度、SS 濃度、TKN 濃度とし、指標微生物は大腸菌、大腸菌群とした。大腸菌数・大腸菌群数の定量は、特定酵素基質法である Colilert (IDEXX) を用いて行った。

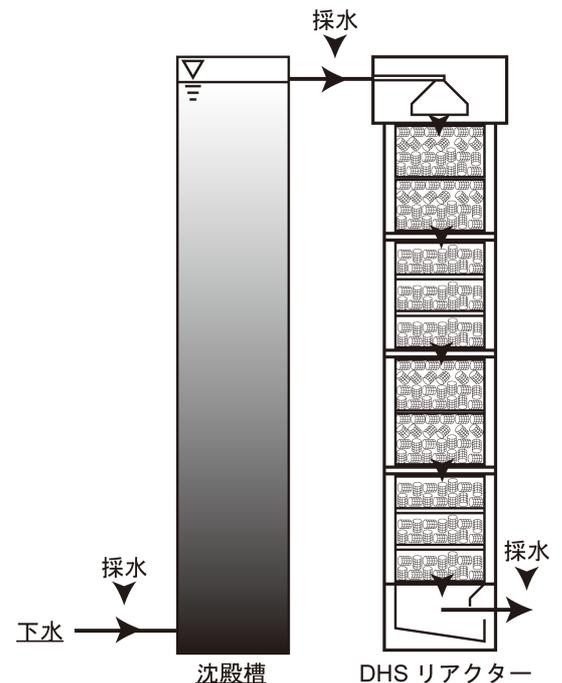


Fig.1 実験装置概要図

キーワード: DHS, 定量 PCR, 開発途上国, 下水処理, 大腸菌, 病原性細菌

連絡先: 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1 長岡技術科学大学 (0258-47-9612)

3.実験結果および考察

3.1 沈殿槽-DHS システムの処理性能

実験期間中における各水質分析項目の測定結果の経日変化を Fig.2 に示す. 沈殿槽-DHS システムは, 実験期間中において, 全 COD の除去率約 85 %, 溶解性 COD の除去率約 79 %, 全 BOD の除去率約 97 %, 溶解性 BOD の除去率約 96 % と良好な有機物除去能力を示した. また, SS の除去率約 98 %, TKN の除去率約 70 % と良好な SS 除去能と硝化性能を示した.

3.2 標的遺伝子及び微生物の定量結果

Fig.2 に大腸菌・大腸菌群数の経日変化を示す. DHS 処理水中の大腸菌数は, 10^3 - 10^4 MPN/100mL, 大腸菌群数は, 10^4 - 10^5 MPN/100mL のオーダーで安定した. 下水からの対数除去率は, 大腸菌・大腸菌群共に 2.2 Log と良好な除去能力を示しており, 活性汚泥法と同等の値を示した. 季節変動による水温低下は, 大腸菌数・大腸菌群数に影響を及ぼさなかった.

Fig.3 に 7 月 3 日~11 月 14 日までの標的遺伝子の平均値を示す. 下水からの対数除去率は, *ftsZ* 遺伝子で 2.4 Log, *uidA* 遺伝子で 3.6 Log, *eaeA* 遺伝子で 2.4 Log, *plc* 遺伝子で 1.1 Log, *cpe* 遺伝子で 1.8 Log を示し, DHS 処理水において標的遺伝子の減少が確認できた. また標的遺伝子の減少量は, DHS 法と活性汚泥法で大きな差は示されなかった.

また, 培養法と PCR 法の定量結果において一部のデータで差異が確認された. これは培養法が生菌数のみを示すのに対し, PCR 法では死菌も検出するためだと考えられる.

4.まとめおよび今後の展望

実験期間中において沈殿槽-DHS システムは, 良好な有機物除去能力・硝化性能および SS 除去能を示した.

沈殿槽-DHS システムによる標的細菌の除去は, 活性汚泥法と同程度を示した. 培養法と PCR 法による標的遺伝子の定量結果は, 一部のデータにおいて差異が確認され, 死菌・生菌の影響が示唆された. 今後は, 生菌のみを特異的に検出可能な PCR 法を用いて培養法と比較を行う予定である.

5.参考文献

- 1) 小野寺ら, 下水道協会誌, 4 (561), 106-116, 2010
- 2) Ishii et al., Appl Environ Microbio., 79 : 2891-2898, 2013.

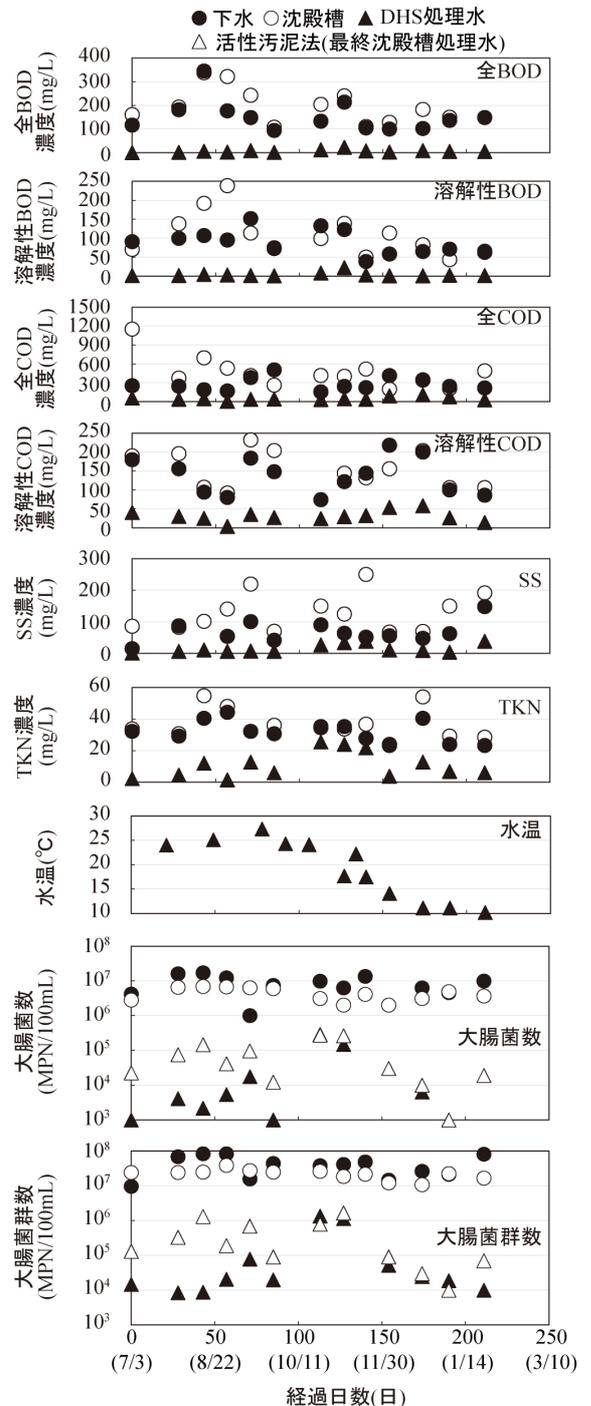


Fig.2 各水質分析項目の経日変化

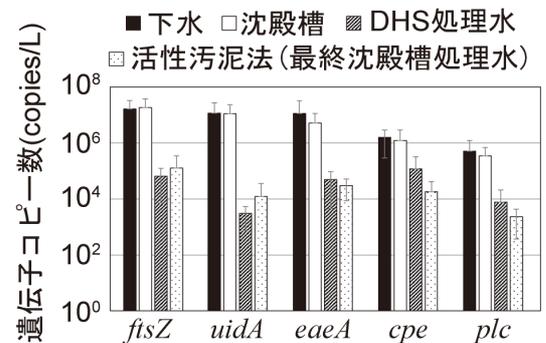


Fig.3 標的遺伝子の定量結果