

下水を有機源とした USB リアクターによるグラニューール形成と脱窒反応に関与する微生物の解析

長岡技術科学大学 学生会員 ○大峯 隆徳, 正会員 幡本 将史, 正会員 山口 隆司
長岡工業高等専門学校 正会員 荒木 信夫, 三機工業株式会社 賛助会員 三村 和久, 賛助会員 長野 晃弘

1. はじめに

USB (Upflow Sludge Blanket) リアクターは上昇流の無酸素反応器で, グラニューールを形成できる. また下水を処理する際, 好気処理後の硝化液を USB リアクターに循環し, 下水に含まれる有機源を利用することで脱窒が可能である¹⁾.

近年, USB リアクターにおいてプロピオン酸やメタノールを有機源とした脱窒グラニューール形成に関与する微生物について報告されている^{2),3)}. しかし実排水である下水を有機源とした脱窒グラニューール形成に関与する微生物の知見は乏しい. そこで本研究では, 下水に硝酸ナトリウムを加え, USB リアクター内で脱窒グラニューール形成を行い, その脱窒特性やグラニューール形成に関与する微生物種を評価した.

2. 実験方法

実験には有効容積 11.4 L, 内径 10 cm, 高さ 137 cm の USB リアクターを用いた. リアクター上部には掃除口を設置した. USB リアクターは上昇流速 $0.50 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$, HRT 2.9 時間, 無加温条件で運転を行った. 植種汚泥は長岡中央浄化センター内の返送汚泥を用い, リアクターに 43 gVSS (汚泥濃度 $7.5 \text{ gVSS} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{VSS}/\text{SS} = 0.84$) の汚泥を植種した. 供給基質は硝酸ナトリウムを添加した下水を使用した. 汚泥サンプルは運転開始から 14 日目まではリアクター底部から 7 cm のポート, 15 日目以降は底部から 140 cm の掃除口から採取した.

グラニューール汚泥の粒径別硝酸性窒素除去速度は運転 21 日目と 39 日目の汚泥をサンプルに行い, 21 日目はグラニューール汚泥をホモジナイザーで破碎し, 39 日目はグラニューールの状態で試験に供した. 実験は下水試験方法の脱窒速度試験に準拠して行った. 微生物群集構造は植種汚泥と 21, 39 日目の粒径 2 mm と 4 mm のグラニューール汚泥を 16S rRNA 遺伝子配列に基づき解析を行った.

3. 実験結果及び考察

40 日間の USB 運転実験から溶解性の流入水と流出水の COD 濃度は 119 ± 57 , $76 \pm 31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 硝酸と亜硝酸性窒素の和は 38.6 ± 13.9 , $14.9 \pm 10.8 \text{ mg-N} \cdot \text{L}^{-1}$ となりリアクター内で従属栄養細菌による脱窒反応が起きていたと推察された. 硝酸性窒素除去速度は植種汚泥, 5 日目と 12 日目の保持汚泥においてそれぞれ 9.7, 9.6, $43 \text{ mgNO}_3\text{-N} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ となり 12 日目に脱窒活性が大きく上昇した.

図 1 は汚泥写真を示し, グラニューール形成は運転 15 日目に確認された. 図 2 はグラニューール粒径別の硝酸性窒素除去速度を示し, 粒径増加に伴い除去速度が 21 日目では上昇傾向, 39 日目では減少傾向にあった. この結果, グラニューール状態であると基質が内部まで入り込まず, 粒径増加に伴い死活域が大きくなり硝酸性窒素除去速度が減少すると推察された.

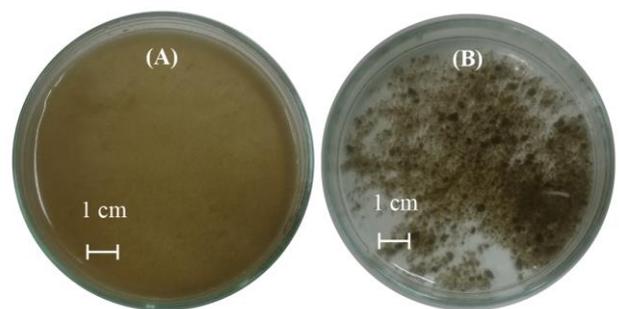


図 1 汚泥写真
(A) 植種汚泥 (B) USB 保持汚泥 (運転 15 日目)

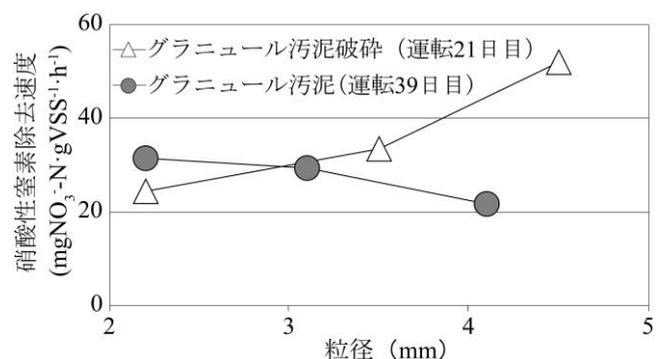


図 2 グラニューール粒径別硝酸性窒素除去速度

キーワード グラニューール, 脱窒, USB

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 水圏土壌環境研究 TEL0258-47-1611

図3は経日とグラニューール汚泥の粒径の違いによる網レベルの微生物群集構造解析を示す。この結果から、グラニューール汚泥では *Bacteroidia*, *Flavobacteria*, *Clostridia* 綱が特に優占しており、この3つの綱に属する微生物種が脱窒グラニューール形成に関与したと考えられた。特に *Bacteroidia* 綱は運転21日目と39日目においてグラニューールの粒径が大きいと存在割合が高くなる傾向を示した。またYangらはプロピオン酸を有機源とし、硝酸性窒素を添加することでグラニューール形成を促進した結果、グラニューール汚泥において *Betaproteobacteria*, *Bacteroidia* 綱の存在割合が高いことを報告している²⁾。よって下水を有機源とした場合においても、*Bacteroidia* 綱の微生物種が脱窒グラニューール形成に関与することが示唆された。属レベルの微生物群集構造解析の結果、植種汚泥、運転21日目の2mmと4mm、運転39日目の2mmと4mmのグラニューール汚泥において Extracellular Polymeric Substances (EPS) を多量に生成する *Cloacibacterium* 属⁴⁾がそれぞれ1.1, 13.4, 7.8, 10.1, 6.4%, プロピオン酸や酢酸を生成する *Paludibacter* 属⁵⁾がそれぞれ0.6, 7.2, 9.0, 8.1, 10.7%となり、この2つの微生物種がグラニューール汚泥において優占していた。表1は経日とグラニューール汚泥の粒径の違いによる脱窒菌の変化を示し、脱窒菌はグラニューール汚泥において *Acidovorax* 属や *Dechloromonas* 属など酢酸を資化する脱窒菌が優占種として検出された。またグラニューールの粒径が大きいほど脱窒菌の割合が高い傾向にあった。

これらの結果から下水を有機源とした脱窒グラニューール形成には EPS を多量に生成する *Cloacibacterium* 属が大きく関与し、*Paludibacter* 属が下水から酸を生成し、酢酸資化性脱窒細菌が働くことで脱窒反応が起きると考えられた。

4. まとめ

USBリアクターを用い、下水を有機源として脱窒グラニューールを形成した結果、グラニューールの粒径ごとに硝酸性窒素除去速度は異なることが示唆された。微生物群集構造解析の結果からは *Bacteroidia* 綱や *Cloacibacterium* 属に属する微生物がグラニューール形成に関与すると考えられた。また *Paludibacter* 属などによる酸生成と酢酸資化性脱窒細菌による働きで脱窒反応が起こると考えられた。

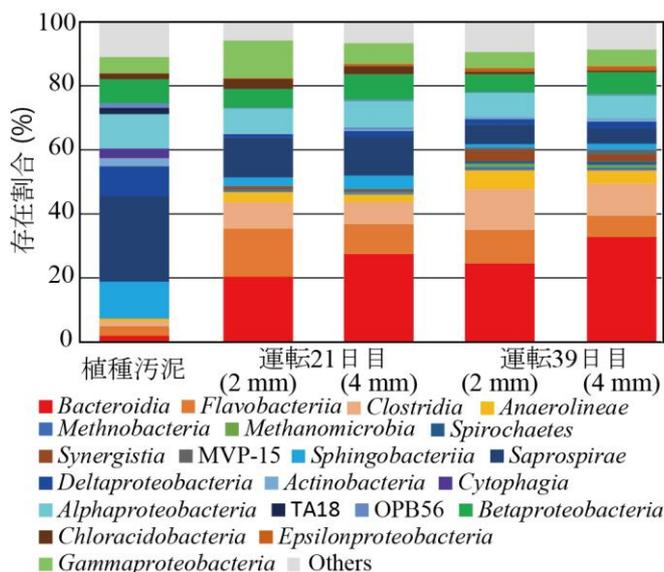


図3 経日と粒径の違いによる微生物群集構造の変化 (1%以上検出された網レベルの微生物種を記載)

表1 経日と粒径の違いによる脱窒菌の変化 (0.1%以上検出された微生物種を記載, N.D. 不検出, 単位: %)

微生物種 (属)	植種汚泥	運転21日目		運転39日目	
		2 mm	4 mm	2 mm	4 mm
<i>Acidovorax</i>	0.8	1.3	1.6	2.3	1.9
<i>Azospira</i>	0.1	1.3	1.1	0.2	0.7
<i>Arcobacter</i>	0.1	0.2	0.8	1.1	1.2
<i>Comamonas</i>	N.D.	0.1	0.3	0.1	0.1
<i>Dechloromonas</i>	0.1	0.6	1.3	0.2	0.6
<i>Denitratisoma</i>	N.D.	0.1	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Hyphomicrobium</i>	0.3	0.5	0.5	0.4	0.3
<i>Paracoccus</i>	N.D.	0.1	0.2	N.D.	0.1
<i>Pseudomonas</i>	N.D.	0.2	0.2	N.D.	N.D.
<i>Thauera</i>	N.D.	0.1	0.3	0.1	0.2
<i>Thiobacillus</i>	N.D.	N.D.	0.1	N.D.	0.1
合計	1.4	4.5	6.5	4.4	5.3

謝辞

本研究にあたり、長岡中央浄化センターから研究場所を提供して頂きました。ここに記して謝辞と致します。

参考文献

- 1) Jun, HB *et al.*, Water Sci. and Tech., Vol.49, Issue5-6, pp.191-197, 2004.
- 2) Yang, L *et al.*, Appl. Microbial. and Biotech., Vol.100, Issue7, pp.3313-3320, 2016.
- 3) Xue, Y *et al.*, Biochem. Eng. J., Vol.105, pp.136-143, 2016.
- 4) Nouha, K *et al.*, Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology, Vol. 7, Issue1, 2015.
- 5) Ueki A *et al.*, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., Vol.56, Issue1, pp.39-44, 2006