

食品系有機性廃水を処理するEGSBリアクターの新たな嫌気性バルキングの原因解明

豊橋技術科学大学 学生会員 ○原田淳、岡崎祐輝、正会員 山田剛史
 松江工業高等専門学校 正会員 山口剛士
 産業技術総合研究所 非会員 成廣隆
 住友重機械エンバイロメント株式会社 非会員 中野淳

1. はじめに

Expanded granular sludge bed (EGSB) リアクターは、食品製造廃水を中心とした中・高濃度の有機性廃水を処理する中核的な技術となっている。しかしながら、EGSB リアクターの普及や適用廃水の拡大に伴い、これまで確認されていなかった問題がEGSB リアクターの立ち上げ時や、処理過程においてしばしば発生している。それらの内、安定的なEGSB リアクターの運転に支障をきたす深刻な問題は、糸状性微生物の異常増殖によって、EGSB リアクター内部のグラニュール汚泥が突発的に浮上・流出する嫌気性バルキング現象である。ひとたび、嫌気性バルキング現象が発生した場合、設定した有機物負荷での運転が困難となり、EGSB リアクターの運転を停止し、グラニュール汚泥の交換が必要となる。廃水処理現場では、有機物負荷の操作や廃水処理システムの分割・統合により廃水成分を調整した廃水の供給が大きな対策の一つとなる。しかしながら、嫌気性バルキングが発生するメカニズムだけでなく、バルキング発生時に異常増殖するバルキング原因菌すら分かっていないため、適切な有機物負荷の操作や廃水組成の調整など、即効性の高い対策が立てられずにいる。本研究では、EGSB リアクターにおける嫌気性バルキングの効果的な対策法を確立するため、食品系有機性廃水を処理する実規模EGSBリアクターの立ち上げ期間において、ある種の糸状性微生物の異常増殖によって発生した嫌気性バルキングに焦点を当てた。本研究では、当該EGSBリアクターで発生した嫌気性バルキングの効果的な対策を確立するため、当該嫌気性バルキングに関与するバルキング原因微生物を同定するとともに、得られた微生物群集構造のデータセットを用いて、嫌気性バルキング現象の原因を推定することを目的とした。

2. 実験方法

糖を主成分とする高濃度食品系有機性廃水を処理する実規模の中温 (37 °C) EGSB リアクターより、嫌気性バルキング汚泥 (図 1) と採取時期の異なる健全なグラニュール汚泥をそれぞれ採取した。それぞれの汚泥より DNA を抽出した後、16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を行った。塩基配列情報を基にした既存の分子系統群への帰属は、Quantitative Insights Into Microbial Ecology パイプライン¹⁾を用いて行った。バルキング原因菌に特異的な DNA プローブは、ARB プログラムを用いて設計した。設計した DNA プローブの親和性および特異性は、mathematical-fluorescence *in situ* hybridization 法²⁾を用いて計算した。バルキング汚泥におけるバルキング原因微生物の形態観察は、バルキング原因微生物の 16S rRNA 遺伝子に特異的な DNA プローブを用いた *in situ* DNA-Hybridization Chain Reaction (HCR) 法³⁾を適用した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて行なった。さらに得られた微生物群の存在比を基に、Paleontological Statistics ソフトウェア⁴⁾を用いて、スピアマンの順位相関係数を算出し、相関関係は、Cytoscape ソフトウェア⁵⁾を用いて図示した。バルキング原因菌の空間分布は、健全なグラニュール汚泥切片に対する Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法により評価した。

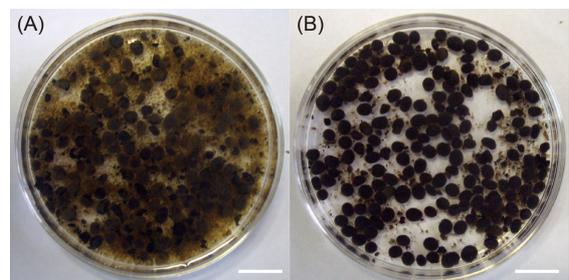


図1 EGSBリアクターに形成された(A)バルキング汚泥と(B)健全なグラニュール汚泥の写真 (Bar=1 cm)

キーワード EGSB リアクター、嫌気性バルキング、メタノサエタ属アーキア、クロロフレキシ門細菌

連絡先 〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘 1-1 豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 TEL:0532-44-6925

3. 実験結果・考察

健全なグラニューール汚泥と嫌気性バルキング汚泥内微生物に対する 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を行った。その結果、嫌気性バルキング汚泥において、健全なグラニューール汚泥に対して有意に増加していた微生物種は、ユリアーキオータ門 (2 種)、クロロフレキシ門 (2 種) およびプロテオバクテリア門 (3 種) に属する微生物種であった。次に、上述の微生物種の 16S rRNA に特異的な DNA プローブを設計した後、嫌気性バルキング汚泥に対して *in situ* DNA-HCR 法を適用した。その結果、ユリアーキオータ門に属するメタノサエタ属アーキアとクロロフレキシ門細菌が、バルキング原因菌として認められる糸状性の形態を示していた (図 2)。これらの結果は、この 3 種の糸状性微生物がバルキングに関与することを強く示唆していた。さらに、スピアマンの順位相関係数を用いて、バルキング汚泥内微生物群の相関関係を評価した結果、バルキング原因菌同士に強い正の相関が得られた (図 3)。また、バルキング原因微生物とバルキング時に増加が確認された他の形態を持つ微生物との間にも、強い正の相関が得られた。これらの結果は、バルキング原因微生物の異常増殖のみならず、他の構成微生物の異常増殖と複合的に発生していたことを示唆していた。最後に、健全なグラニューール汚泥におけるバルキング原因菌の空間分布を明らかにするために、メタノサエタ属アーキアとクロロフレキシ門細菌に特異的な DNA プローブを用いた FISH 法を適用した。クロロフレキシ門細菌の分布は精査が必要であるものの、メタノサエタ属アーキアは汚泥内部に全体的に存在することが分かった。

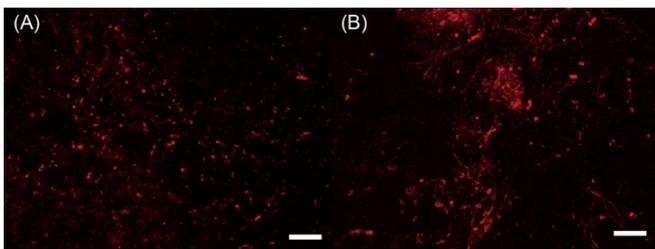


図 2 バルキング原因菌に特異的な DNA プローブを用いた *in situ* DNA-HCR 法を用いた嫌気性バルキング汚泥内のメタノサエタ属アーキア(A)およびクロロフレキシ門細菌(B)の蛍光染色写真 (Bar=10 μm)

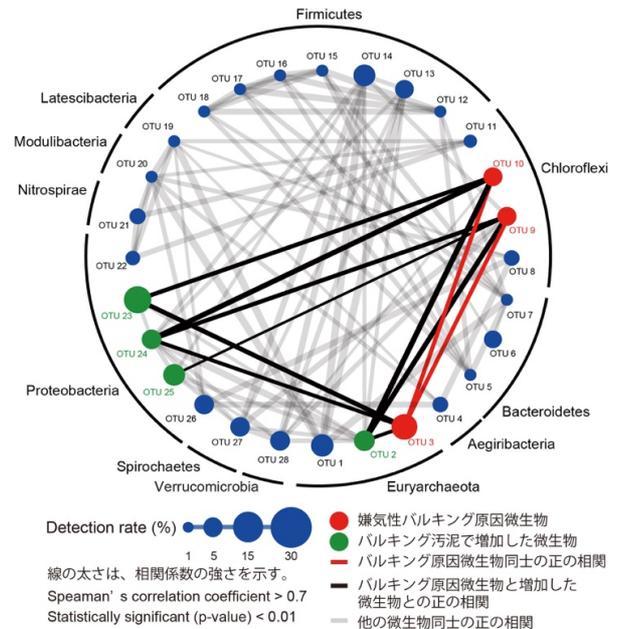


図 3 スピアマンの順位相関係数を用いた嫌気性バルキング原因微生物同士や他の構成微生物との相関関係の評価

4. まとめ

本研究では、EGSB リアクターで発生した嫌気性バルキングにおいて以下の点について明らかにした。

- (1)メタノサエタ属 (ユリアーキオータ門) とクロロフレキシ門に属する糸状性微生物が、嫌気性バルキングに関与している可能性が示唆された。
- (2) バルキング原因菌の異常増殖の要因は、同一の要因 (運転条件や環境要因の変化) によって発生したことを示唆していた。
- (3) バルキング原因菌の異常増殖のみならず、他の微生物の異常増殖によって複合的に発生したことを示唆していた。

謝 辞

本研究の一部は、科研費基盤研究 B (17H03333) および公益財団法人発酵研究所 2017 年度一般研究助成の助成により実施しました。ここに深謝致します。

参考文献

- 1) Caporaso, J. G. et al., Nature Methods 7, 335–336 (2010)
- 2) Yilmaz, L. S et al., Appl. Environ. Microbiol. 77(3): 1363-1371 (2004)
- 3) Yamaguchi, T. et al., Environ. Microbiol. 17(7): 2532-2541 (2015)
- 4) Hammer, et al., Palaeon. Elect. 4: 9 (2001)
- 5) Shannon, P. et al., Genome Res. 13: 2498-2504 (2003)