

下水処理 DHS リアクターのスタートアップ時における菌叢変化の解析

木更津工業高等専門学校 学生会員 ○魚返沙紀 中村亮太 大久保努 上村繁樹
 東北大学大学院 松林未理 島田祐輔 久保田健吾

1 まえがき

スポンジ担体における汚泥の増減には、上部からの排水の流入による微生物を含む浮遊物質 (SS) の供給、スポンジ内での微生物の増殖、SS の消化分解、微生物の自己消化、原生生物による細菌の捕食、SS と微生物の流出等の要因が考えられる。本研究では、DHS のスタートアップ時のスポンジ担体あたりの汚泥増殖と菌叢変化を把握することを目的とし、汚泥の原生生物と糸状性細菌の量とその変化を、従来の顕微鏡観察による定量と分子生物学的手法によって調査した結果を報告する。

2 実験方法

2.1 実験装置

実験装置の概要を図 1 に示す。スポンジ担体 G3.4 (体積=36.2cm³/個, 比表面積=2.71 cm²/cm³) を 5 個連結させたものを 1 セットとして、14 セット吊るし、それぞれに同量の初沈下水を供給した。初沈下水は、袖ヶ浦終末処理場より採水し、75 μ m のふるいによりろ過したものを使用した。これを担体 1 セット当たり 79.2mL/h の流量で供給した。(スポンジ体積当たりの HRT=2.3 時間) また、袖ヶ浦終末処理場より採取した活性汚泥を 75 μ m のふるいを用いてろ過したもの (MLSS 1220mg-MLSS/L) に、スポンジ担体を浸し、植種を行って実験を開始した。

2.2 分析方法

汚泥のサンプリングは、任意の経過日数ごとに、スポンジ担体を実験装置から取り外し、上部 (1 個目)、中部 (3 個目)、下部 (5 個目) のスポンジの汚泥を絞り出した。今回は、0, 11, 34, 83, 108, 137, 181, 228, 271, 298 日目のサンプルに対して各実験を行った。

2.3 原生生物計数の測定

スポンジから絞り出した汚泥 5 μ L をプレパラート

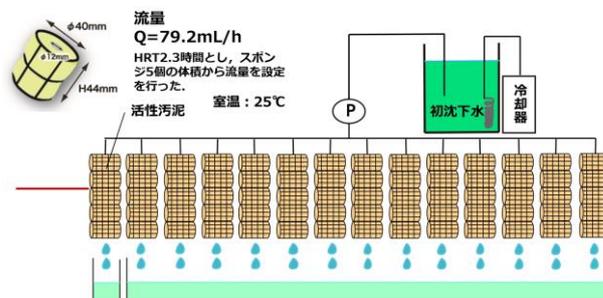


図 1 実験装置

に滴下し、顕微鏡を用いて、腹毛類、輪虫類、線虫類、繊毛虫類、鞭毛虫類、根足虫類について原生生物のカウントを行った。観測する原生生物のばらつきを減らすために最低 4 回 (20 μ L) 行った。

2.4 糸状性細菌の計測

糸状性細菌は、顕微鏡を用いて糸状性細菌を撮影し、画像解析ソフトである Photo Ruler¹⁾を用いて、糸状性細菌の体長として測定した。

2.5 分子生物学的手法による調査

分子生物学的手法として、定量 PCR とパイロシーケシング²⁾を行った。定量 PCR は Bacteria, Archaea, Eukarya の 3 ドメインについて行った。各ドメインに対して 3 回行い、顕微鏡観察で得られた結果と比較した。また、パイロシーケシングを用いて、各サンプル内の全細菌を網羅的に検出した。

3 結果と考察

3.1 顕微鏡観察による原生生物数と糸状性細菌の推移

各スポンジ体積当たりの糸状性細菌の長さで原生生物数を図 2 に示す。糸状性細菌が 137 日目で大幅に増加し、その後減少する傾向が見られた。その後、糸状性細菌の減少に伴い、原生生物数の増加が確認できた。このことから、糸状性細菌が突発的に増殖し、その後

キーワード DHS リアクター スタートアップ 原生生物 糸状性細菌

連絡先 〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1 木更津工業高等専門学校 TEL. 0438-30-4152 E-mail :

uemura@wangan.c.kisarazu.ac.jp

何らかの原生生物がそれを捕食し、増殖することが示唆された。

3.2 定量 PCR による Eukarya の定量

Eukarya の定量結果と、顕微鏡観察による原生生物数の推移を図 3 に示す。定量 PCR の結果では、108 日目まで急激に増加し、その後減少してから再び増加し、減少するという推移が見られた。この 2 回目のピークと、顕微鏡観察のピークが一致する結果となった。顕微鏡観察と Eukarya の結果が合わなかったのは、原生生物以外の水カビや酵母なども検出されたためであると考えられる。従って、より原生生物に着目した解析が今後必要である。

3.3 パイロシーケシングによる全細菌の検出結果

パイロシーケシングによる、各 Phylum における検出結果を図 4 に示す。全実験期間を通して、最も多かった種類は Proteobacteria であり、次いで Bacteroidetes であった。糸状性細菌 (Beggiatoa, Thiothrix など)³⁾ が所属する Phylum である Proteobacteria と糸状性細菌長をプロットした結果を図 5 に示す。ピークの時期はずれているが、顕微鏡観察の結果と同様、増加、減少する傾向が見られた。

4 まとめ

顕微鏡観察では、糸状性細菌の減少に伴って原生生物が増加している結果が得られたことから、原生生物が糸状性細菌を捕食していると推察された。しかしながら、生物学的手法の結果と比較すると、両者とも同様に増加、減少の傾向はみられたが、ピーク出現時に相違がみられた。今後はより詳細な菌叢レベルでの解析を進めていく必要がある。

参考文献

- 1) PhotoRuler : http://www.inocybe.info/_userdata/ruler/PhotoRuler.html
- 2) 中村和則・関口勇地：微生物相解析技術，米田出版，2009
- 3) ディック H. アイケルブーム著，安井英斉・深瀬哲郎・河野哲郎訳：顕微鏡観察による活性汚泥のプロセス管理，技法堂出版，2006

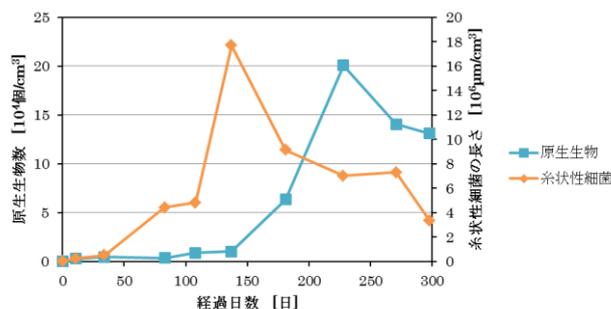


図 2 スポンジ体積当たりの糸状性細菌の長さ
原生生物数

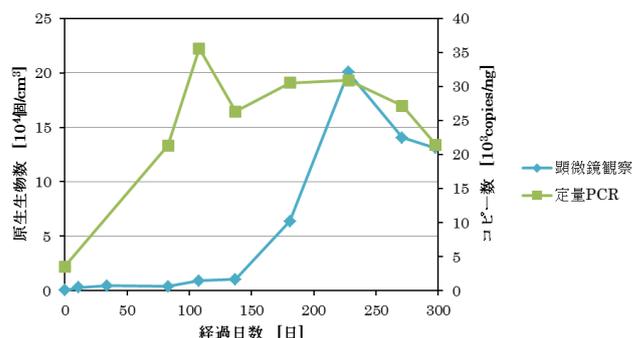


図 3 スポンジ体積当たりの原生生物数と定量 PCR
による Eukarya のコピー量

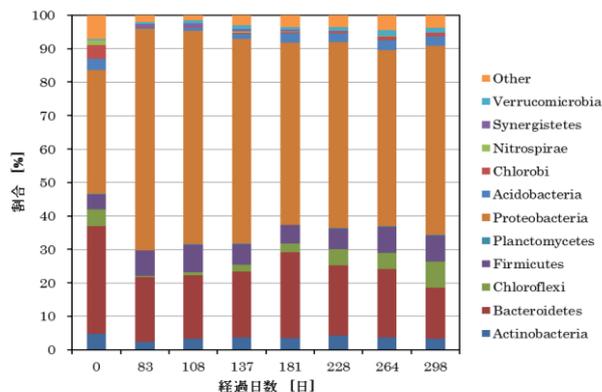


図 4 パイロシーケシング結果

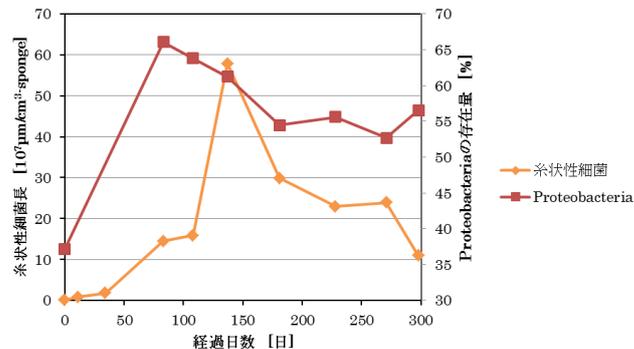


図 5 スポンジ体積当たりの糸状性細菌の長さ
Proteobacteria の存在量