

B-9

下水処理場活性汚泥中の硫酸塩還元細菌と Type021N の群集変化

金沢大学大学院自然科学研究科

○宮里直樹

金沢大学大学院自然科学研究科

高松さおり

金沢大学工学部

上實則子

金沢大学工学部

池本良子

1. 序論

下水の活性汚泥処理において、最も多く報告されている処理障害はバルキング現象である。これまで筆者らは硫酸塩還元細菌が糸状性硫黄酸化細菌 Type021 によるバルキングの一因であることを報告した。また FISH 法を用いて 6 種類の異なる活性汚泥の硫酸塩酸化還元細菌と硫黄酸化細菌を調査した結果、処理場に関係なく硫酸塩還元活性の高い汚泥は硫黄酸化活性が高い傾向があり、どの活性汚泥ブロック内にも硫酸塩還元細菌が観察されたが、硫黄酸化細菌 Type021Ngroup II が優先的に存在している活性汚泥では、*Desulfonema* sp や *Desulfobulbus* sp が存在した。そこで本研究では、糸状性細菌 Type021N が存在した 2 ヶ所の下水処理場の活性汚泥を用いて、硫酸塩還元細菌および糸状性硫黄酸化細菌の現存量と活性を調べるとともに、それぞれの活性汚泥中の硫酸塩還元細菌と糸状性硫黄酸化細菌について FISH 法を用いた群集の季節変動を調査した。

2. 実験方法

実験には Table1 に示した 2 ヶ所の実下水処理場活性汚泥を用いた。S 処理場は公共下水道の終末処理場、SL 処理場は流域下水道の終末下水処理場である。調査期間は 2002 年 5 月～2003 年 6 月である。曝気槽より活性汚泥を採取し、直ちに実験室に持ち帰り、MLSS, SVI, 硫酸塩還元細菌数、糸状体長を測定した。また嫌気条件の回分実験により硫酸塩還元活性を、好気条件の回分実験により硫黄酸化活性を求めた。さらにパラフォルムアルデヒドを用いて活性汚泥を固定化した後、Amann(1995)らの方法^①を用いて FISH 法による観察を行った。FISH 法に用いたプローブは、硫酸塩還元細菌を特異的に検出できる SRB プローブ 6 種類と金川ら^②が開発した Type021 プローブ 4 種類である。

3. 実験結果と考察

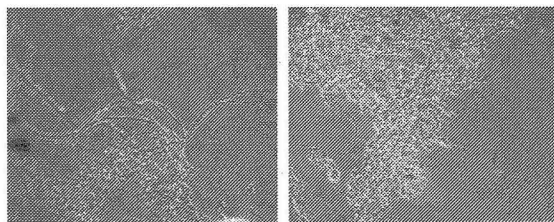
SVI 及び糸状体長の経日変化を図 1, 2 に示す。SL 処理場では 6 月、S 処理場では 10 月の SVI が高い値を示した。位相差顕微鏡による観察の結果、双方の活性汚泥にはブロックから伸びる糸状

表 1 調査した処理場の概要

	下水道の種類	最大日計画水量 (m ³ /日)	下水処理方式	排除方式
S	公共下水道	110,000	嫌気好気法 擬似嫌気好気法	完全分流式
SL	流域下水道	58,000	嫌気好気法	完全分流式

表 2 FISH 法に使用したプローブの概要

Probe name	Target group	Sequence(5'→3')
SRB385	SRB ⁺	CGCGCTCGCTGCGTCAGG
SRB660	<i>Desulfobulbus</i>	GAATTCCACTTTGCCCTCTG
SRB687	<i>Desulfobulbus</i>	TACGGATTTCACCTCT
SRB221	<i>Desulfobacterium</i>	TGCGCGGACTCATCTTCAAA
SRB129	<i>Desulfobacter</i>	CAGGCTTGAAGGCAGATT
SRB657	<i>Desulfonema</i>	TTCCG(C/T)TTCCCTCTCCATA
G1B	Type021Ngroup I	TGTGTTTCGATTCTTTCG
G2M	Type021Ngroup II	GCACCAACCGACCCCTTAG
B3M	Type021Ngroup III	CTCAGGGATTCTGTCAT

SRB⁺ of the data proteobacteria plus several gram positive bacteria

(a) S 処理場

(b) SL 処理場

写真 1 活性汚泥の位相差顕微鏡写真

性硫酸化細菌 *Typr021N* の存在が確認できた。

図3は嫌気条件の回分実験の典型例を示したものである。硫酸塩濃度の減少速度を硫酸塩還元活性として求めた。図4は好気条件の回分実験の典型例を示しており、硫酸塩の増加から硫酸化活性を求めた。硫酸塩還元活性と硫酸化活性の関係を図5に示す。硫酸塩還元活性の高い汚泥は硫酸化活性が高い傾向が認められることから、両者の間に共生関係が存在し、硫酸塩還元細菌の活性化が糸状性硫酸化細菌 *Type021N* の増殖の一因であると考えられる。

写真2はSL処理場に *Type021N* が出現した6月6日と、S処理場に出現した10月22日の両汚泥のG2Mプローブを用いたFISH法による観察結果を示したものである。S、SL処理場ともに沈降性の悪い活性汚泥では、G2Mプローブで特異的な蛍光が検出できたことから、*Type021N* group II の存在していることがわかる。

求められた糸状体長に占める糸状性細菌 *Type021N* の割合を図6に示す。S処理場では10月22日、SL処理場では6月6日の汚泥で検出された糸状性細菌のほとんどが *Type021N* group II であることがわかる。他の *Type021N* は非常に少なく観察された。

写真3は同時期の活性汚泥フロックのSRB385probeを用いて観察した結果である。両汚泥ともにSRB385probeにより特異的な蛍光が観察された。年間を通じて汚泥フロック中に硫酸塩還元細菌が常に存在していた。汚泥、季節に関係なく硫酸塩還元細菌が存在していることがわかったことから、糸状性細菌の増殖の原因となる硫酸塩還元細菌について検討した。

写真4は *Desulfobulbus* sp を特異的に検出できるSRB660probeを、初沈越流水と活性汚泥に摘要した結果を示している。 *Desulfobulbus* sp は活性汚泥フロック内ではなく液相部で観察された。 *Desulfobulbus* sp は流入下水中にも多く観察されたことから、流入し曝気槽を通り抜けていくと考えられる。すなわちこの細菌は *Type021N* の増殖に関与しないと考えられる。

一方フロック内には *Desulfobacterium* sp、*Desulfobactor* sp、*Desulfovibrio* sp、

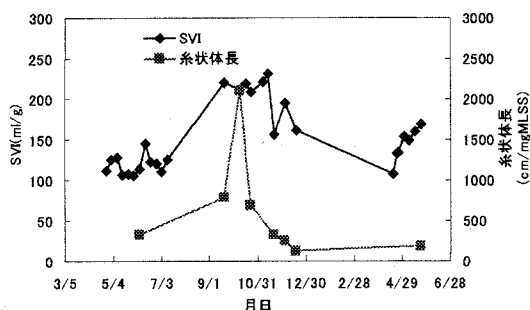


図1 沈降性と糸状体長の経日変化(S処理場)

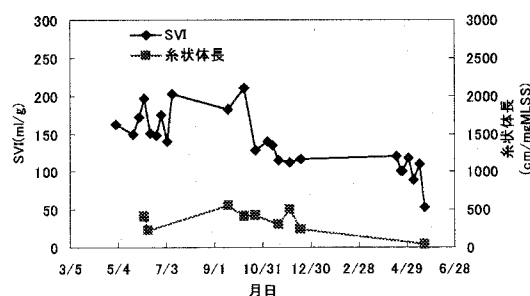


図2 沈降性と糸状体長の経日変化(SL処理場)

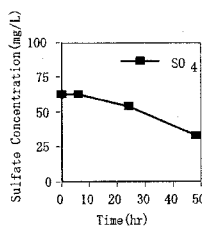


図3 嫌気条件の回分実験の典型例

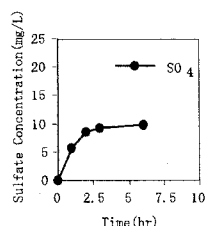


図4 好気条件の回分実験の典型例

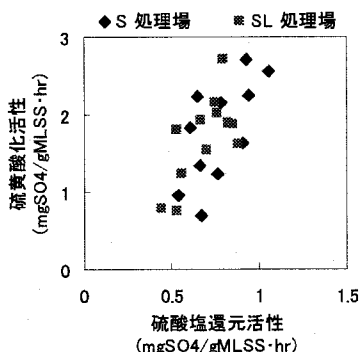


図5 硫酸塩還元活性と硫酸化活性の関係

Desulfonema sp が観察されたが、特に写真5に示すように沈降性の悪い時には *Desulfonema* sp の蛍光が多く観察された。図7に FISH 法により検出された硫酸塩還元細菌の種類と割合を示す。Type021N が存在した沈降性の悪い汚泥には *Desulfonema* sp の存在割合が高いことがわかる。

以上のことから糸状性硫黄酸化細菌 Type021N group II の増殖には *Desulfonema* sp が重要な役割を果たすと考えられる。

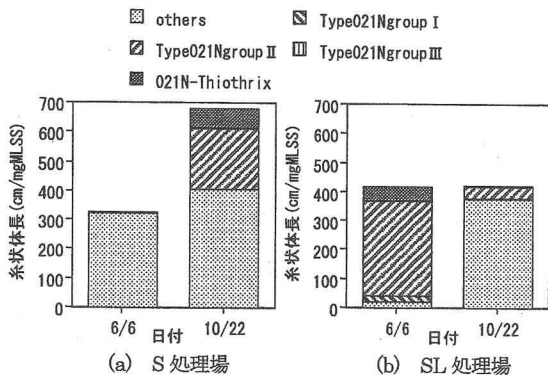


図6 糸状性細菌 Type021N の種類と現存量の変化 (糸状体長の Type021N の割合)

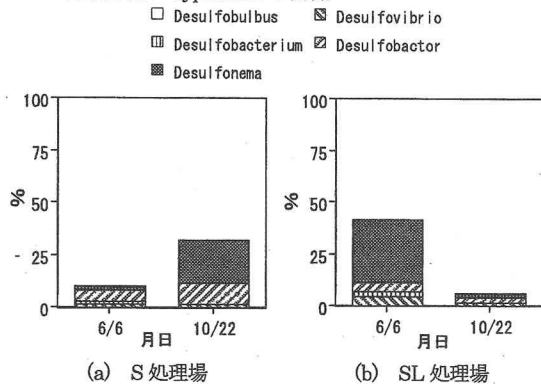


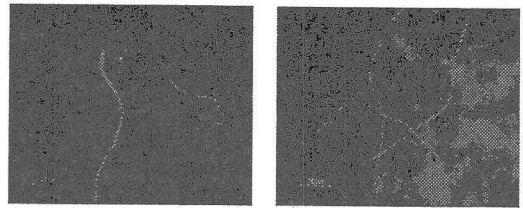
図7 硫酸塩還元細菌の種類と現存量の変化 (汚泥ブロック面積を 100 とした場合の割合)

4. まとめ

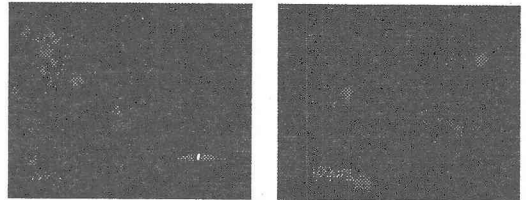
- ・処理場、季節によらず硫酸塩還元活性の高い汚泥は硫黄酸化活性も高い傾向があった。
- ・*Desulfobulbus* sp はブロック中ではなくブロック外に存在していたことから、Type021N group II の増殖には関与していないと推定された。
- ・糸状性硫黄酸化細菌 Type021N group II が存在していた沈降性の悪い汚泥には *Desulfonema* sp が優占的に存在していた。

参考文献

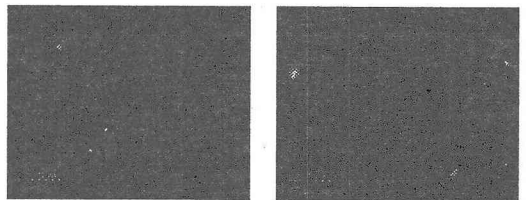
(1) Rudolf I. Amann In situ identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. Molecular Microbial Ecology Manual 3.3.6 1-15 1995 (2) Kanagawa, T., Kanagawa, Y., Aruga, S., Kohno, T., Matthias, H., Hand Michael, W. (2000). Appl Environ Microbiol, Nov. 2000, p. 5043-5052



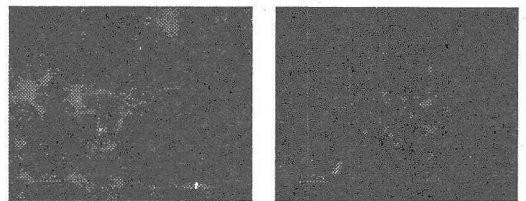
(a) S 処理場(10/22) (b) SL 処理場(6/6)
写真2 G2Mprobe を用いた FISH 法の結果



(a) S 処理場(10/22) (b) SL 処理場(6/6)
写真3 SRB385 を用いた FISH 法の結果



(a) S 処理場初沈越流水 (b) S 処理場曝気槽(10/22)
写真4 SRB660 を用いた FISH 法の結果



(a) S 処理場(10/22) (b) SL 処理場(6/6)
写真5 SRB657 を用いた FISH 法の結果