

## B-18 都市下水処理場活性汚泥中の硫黄の酸化還元微生物の群集変化と流入下水組成

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  
 アルスコンサルタンツ株式会社 城寶則子  
 金沢大学大学院自然科学研究科 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。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 *Thiothrix eikelboomii* 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 *Thiothrix eikelboomii* が存在した 2 ヶ所の下水処理場について、1 年半にわたり硫酸塩還元細菌および糸状性硫黄酸化細菌の群集変化について調査を行うとともに、流入排水組成との関連性について検討した。

## 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と最初沈殿池越流水を用いた。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 10 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)らの手順<sup>①</sup>に従い FISH 法を適用した。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<sup>②③</sup>が設計した Type021N プローブ 4 種類である。硫酸塩還元細菌の定量は、FISH 法で得られた蛍光画像と DAPI 染色で得られた蛍光画像から、画像解析ソフトにより全細菌に占める硫酸塩還元細菌の割合として求めた。糸状性細菌は、DAPI で検出された糸状性細菌の面積に対する FISH で得られた蛍光画像面積の比率を求め、別に測定した糸状体長からそれぞれの細菌の糸状体長に換算した。最初沈殿池越流水については、

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<br>(m <sup>3</sup> /日) | 下水処理方式           | 排除方式  |
|----|--------|--------------------------------|------------------|-------|
| S  | 公共下水道  | 110,000                        | 嫌気好気法<br>凝似嫌気好気法 | 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                              | CGGCGTCGCTGCCGTCAGG    |
| SRB660     | <i>Desulfobulbus</i>             | GAATTCACATTTCCTCTG     |
| SRB687     | <i>Desulfovibrio</i>             | TACGGATTTCACCTCT       |
| SRB221     | <i>Desulfobacterium</i>          | TGGCGGGAATCATCTTCAAA   |
| SRB129     | <i>Desulfobacter</i>             | CAGGCTTGAAGGCAGATT     |
| SRB657     | <i>Desulfonema</i>               | TTCCG(C/T)TTCCTCTCCCAT |
| G1B        | <i>Thiothrix discaiformis</i> sp | TGTGTTTCGATTTCCTTGC    |
| G2M        | <i>Thiothrix eikelboomii</i>     | GCACCACCGACCCCTTAG     |
| G3M        | <i>Thiothrix flexilis</i> sp     | CTCAGGGATTCTCTGCCAT    |
| G123T      | <i>Thiothrix nivea</i>           | CCTTCGGATCTGTATGCA     |

SRB<sup>④</sup> of the data proteobacteria plus several gram positive bacteria

有機酸、硫酸塩、硝酸塩、DOC の分析を行った。

## 3. 実験結果と考察

SVI、糸状体長及び硫酸塩還元細菌数の経日変化を図 1、2 に示す。SL 処理場では 2002 年の 6 月、S 処理場では 2002 年 10 月と 2003 年の 9 月の SVI が高い値を示した。双方の活性汚泥には、ブロックから伸びる糸状性硫黄酸化細菌 Type021N の存在が

確認できた。また Type021N の増減と連動して硫酸塩還元細菌数も変動する傾向があった。

図3は、硫酸塩還元活性と硫黄酸化活性の関係を示したものである。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認められる。これは活性汚泥ブロック内で硫酸塩還元細菌と硫黄酸化細菌の間に、硫黄の酸化還元サイクルが形成されている事を示している。硫酸塩還元細菌の活性化が糸状性硫黄酸化細菌 Type021N の増殖の一因であると考えられる。しかし、Type021N 以外の糸状性細菌も存在していたことから、糸状性細菌の現存量の指標である糸状体長と活性から明確な関連性は得られなかった。

図4にS及びSL処理場の初沈越流水中の硫酸濃度、有機酸濃度及びDOCの変化を示す。硫酸濃度は年間を通じて大きな変化は認められなかったが、Type021Nが増加したS処理場の秋季に酢酸及びプロピオン酸濃度の高い傾向が認められた。

図5は初沈越流水中の有機酸濃度と硫黄酸化活性および硫酸塩還元活性との関係を示したものである。流入水中の有機酸濃度が高いときに、硫酸塩還元活性や硫黄酸化活性が高くなる傾向が認められた。流入下水中には硫化物はほとんど存在せず、硫酸塩として流入する事から、有機酸の流入が硫酸塩還元細菌の増殖の一因である可能性が示唆された。

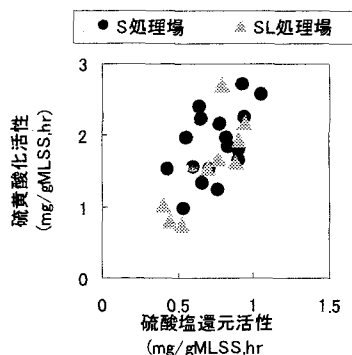


図3 硫酸塩還元活性と硫黄酸化活性の関係

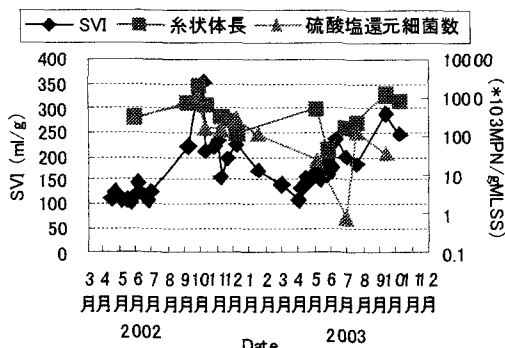


図1 沈降性と糸状体長の経日変化(S処理場)

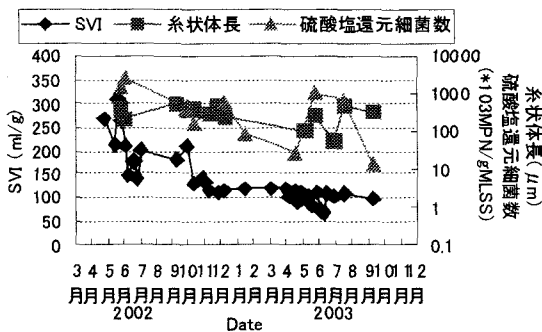


図2 沈降性と糸状体長の経日変化(SL処理場)

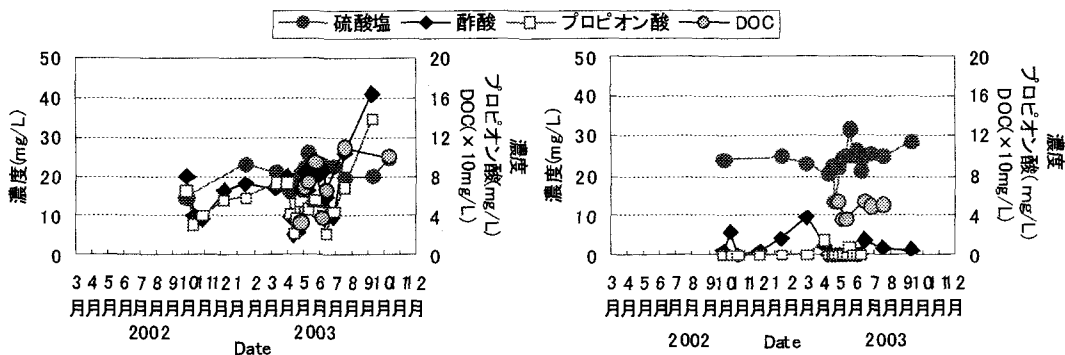


図4 硫酸塩、有機酸、DOCの季節変化

SL 処理場に Type021N が出現した 2002 年 6 月 6 日と、S 処理場に出現した 2002 年 10 月 22 日の汚泥の FISH 法による群集解析結果を図 6 および 7 に示す。S 処理場では 2002 年 10 月 22 日、SL 処理場では 2002 年 6 月 6 日に検出された糸状性細菌のほとんどが *Thiothrix eikelboomii* であった。一方、硫酸塩還元細菌は、いずれの活性汚泥中にも存在したが、*Thiothrix eikelboomii* が増殖した活性汚泥の *Desulfonema* sp の存在割合が高いことがわかる。以上のことから、*Desulfonema* sp の増殖が *Thiothrix eikelboomii* の増殖による糸状性バルキングの一因であることが示唆された。

*Desulfonema* sp は酢酸を利用する硫酸塩還元細菌であることから、酢酸の流入が *Desulfonema* sp の増殖をもたらすと考えられる。

#### 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ことから、活性汚泥ブロック内で硫黄の酸化還元サイクルが形成されていた。
- ・ 流入水中の有機酸濃度が高いときに硫酸塩還元活性と硫黄酸化活性が高い傾向が認められた。
- ・ *Thiothrix eikelboomii* の現存量の増大と *Desulfonema* sp の存在比の増加時期が一致していた。

以上のことから、*Desulfonema* sp のモニタリングがバルキングの予測に有効であると考えられる。また、処理槽への有機酸、特に酢酸の流入を抑制することがバルキングの抑制に有効であると考えられる。

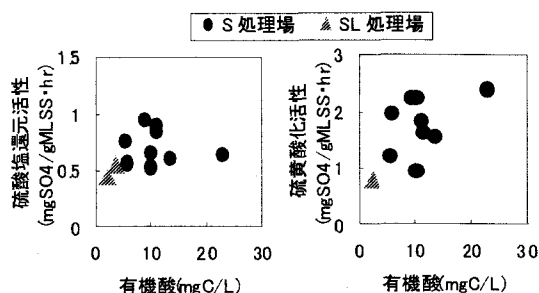


図5 有機酸濃度と硫酸塩還元活性・硫黄酸化活性の関係

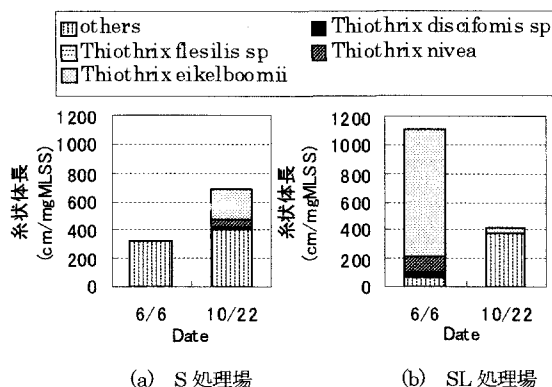


図6 糸状性細菌Type021Nの現存量の変化  
(糸状体長のType021Nの割合)

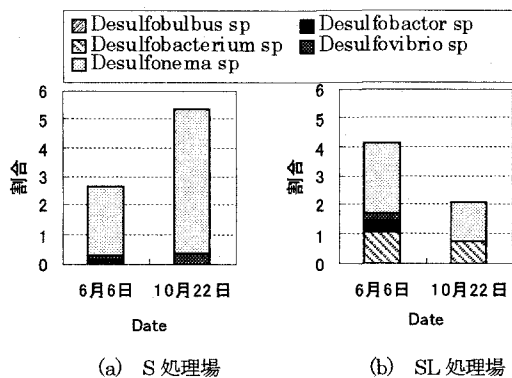


図7 硫酸塩還元細菌の種類と現存量の変化  
(汚泥ブロック面積を100とした場合の割合)

#### 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, Hand Michael, W. (2000). Phylogenetic analysis of abd oligonucleotide probe development for Eikelboom type021N filamentous bacteria isolated from bulking activated sludge *Appl Environ Microbiol*, Nov.2000, p.5043-5052 (3) Aruga, S., Kamagata, Y., Kohno, T., Hanada, S., Nakamura, K., Kanagawa, T. (2002) Characterization of filamentous Eikelboom type021N bacteria and description of *Thiothrix disciformis* sp. nov. and *Thiothrix flexilis* sp. nov. *Int J Sci Envolut Microbiol* 52, 1309-1316.