

B-4 廃棄物材料を用いた下水処理水からの 栄養塩除去装置の長期処理特性と微生物活性

○相川 晃平¹・山下 恭広¹・池本 良子^{1*}・櫻井 英二²

¹金沢大学大学院自然科学研究科 (〒920-1192 石川県金沢市角間町)

²スプリング・フィールド株式会社

* E-mail: rikemoto@t.kanazawa-u.ac.jp

1. はじめに

閉鎖性水域の水質改善のためには排水処理における窒素リンの除去が重要であり、筆者らは既存の小規模下水処理施設や浄化槽の後処理として廃棄物を用いた簡易な脱窒方法について検討を行ってきた。下水2次処理水のような有機物濃度が低い排水からの窒素除去には、硫黄脱窒が有効である。しかし、硫黄脱窒には電子供与体としての還元型硫黄の添加が必要である。そこで、廃棄物としてその利用用途の拡大が望まれている間伐材に着目した。筆者らは人工排水を用いた室内実験により、1) 杉やアスペン材を硫酸塩還元細菌の有機炭素源として用いることにより、硫酸塩還元細菌と硫黄脱窒細菌が共存し窒素除去が可能であること、2) 鉄材充填生物ろ床において硫酸塩還元細菌が鉄材の腐食を促進し、リンの除去が可能であること、3) 杉と鉄を併用することにより、窒素リンの同時除去が可能であることを報告している。

本研究では、下水処理場に間伐材と鉄を充填した生物ろ床装置を設置し、2次処理水を用いた処理実験を行うことにより、これらの長期処理特性を検討した。さらに、木質内に増殖した微生物の活性を求めるとともに、DNAを抽出し、16S rRNA遺伝子および亜硫酸塩還元酵素遺伝子を標的としたPCR-DGGE法による群集解析を試みた。

2. 実験方法

(1) 実験装置の概要と運転方法

図1に示す実験装置を、金沢市 A 都市下水処理場の最終沈殿池脇に設置し、最終沈殿池越流水を用いて処理実験を行なった。装置1はアンモニアの硝化のための散水

ろ床である。散水ろ床の微生物付着担体としては発泡セラミックスを5cm角にしたものを充填し、装置下部の循環槽からの水をポンプでくみ上げて装置上部から散水する循環方式とした。後段の実験装置2は、高さ50cm、容積40リットルのポリペールを2つ使い、装置下部から装置1の流出水を供給し上向流とした。装置2-1には、鉄鋼記号S 55 C鉄棒を厚さ0.1~0.2mm、幅0.5~1mmに削ったもの約1.6kgと、市販されている縦横10~30mmで厚さ約5mmの杉チップを約3.8kg充填した。装置2-2には、同量の鉄と、飲食店の使用済み割り箸（アスペン材）を洗浄し二つに切ったものを約3.8kg充填した。種汚泥として同処理場の返送汚泥を添加し、運転開始82日目までは硫酸塩還元細菌を集積するために、最終沈殿池越流水に K_2SO_4 を硫酸塩濃度で300mg/l添加した排水を1週間に一度、10リットル添加して馴養を行なった。HRTは、6-24時間の間で、夏季は段階的に短縮、冬季は延長した。

定期的に流入水である活性汚泥処理水とそれぞれの装置の流出水を採取し、水温、TOC、TN、リン酸態リン、有機酸、硫酸塩、亜硝酸塩および硝酸塩濃度を測定した。

運転開始593、784日目に装置2から木質担体の一部を取り出し、硫酸塩還元活性、脱窒活性、硫黄脱窒活性を回分実験より求めた。

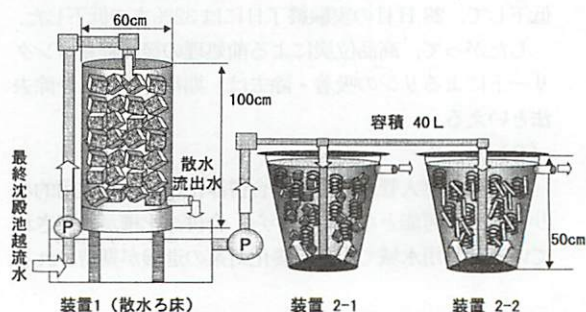


図1 実験装置の概要

表1 本研究で用いたPCR プライマー

Primer		Sequence (5' - 3') ^a	Reference
DSRmixF	DSR1F	ACS CAC TGG AAG CAC G	Wagner <i>et al.</i> 1998
	DSR1Fa	ACC CAY TGG AAA CAC G	Lov <i>et al.</i> 2004
	DSR1Fb	GGC CAC TGG AAG CAC G	Lov <i>et al.</i> 2004
DSRmixR	DSR4R	GTG TAG CAG TTA CCG CA	Wagner <i>et al.</i> 1998
	DSR4Ra	GTG TAA CAG TTT CCA CA	Lov <i>et al.</i> 2004
	DSR4Rb	GTG TAA CAG TTA CCG CA	Lov <i>et al.</i> 2004
	DSR4Rc	GTG TAG CAG TTK CCG CA	Lov <i>et al.</i> 2004
	DSRp2060F ^b	CAA CAT CGT YCA YAC CCA GGG	Geets <i>et al.</i> 2006
Primer2		ATT ACC GCG GCT GCT GG	Muyzer <i>et al.</i> 1993
Primer3 ^c		CCT ACG GGA GGC AGC AG	Muyzer <i>et al.</i> 1993

*Ambiguities: R(G or A); Y(C or T); K(G or T); M(A or C); S(G or C); W(A or T).

[illegible]

^cA 40-bp GC clamp was added to the 5' end (CGCGGCGCGCGCGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCAACGGGGGG) when the PCR product was used for DGGE analysis (Primer3-GC).

(2) 微生物群集解析

装置 2-1, 装置 2-2から杉, アスペンをそれぞれ0.2g採取し, 表面を削り取ってUltraClean Soil DNA kit (Mo Bio Laboratories, Inc., USA)を用いてDNA抽出を行なった。抽出したDNAを用い, 16S rRNA遺伝子をターゲットとしたPCR-DGGE法を適用した。さらに, 微量な硫酸塩還元微生物群集を把握するため, DSR遺伝子をターゲットとしたNested PCR-DGGE法による解析を試みた。PCR-DGGEはLoyら(2004)¹⁾とDalyら(2000)²⁾の方法に準拠し, Nested PCR-DGGEはMilettoら³⁾の方法に準拠した。表1に実験に用いたプライマーを示す。

3. 実験結果と考察

(1) 処理水質

図2にHRT、水温、TOC、TN、IC、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の経日変化を示す。実験装置 2-1、装置 2-2ともに、ICが流出水で増加していることから、無酸素ろ床内では、木質の分解が行なわれていたと考えられる。一方、TOCは実験装置 2-1、装置 2-2ともに流出水で増大することはなかったことから木質の分解によって溶解性の有機物が流出することはないことが確認された。

全窒素およびリン酸濃度も実験装置2-1、2-2で低下が認められた。活性汚泥処理水中の窒素、リン濃度の変動が大きく、特に窒素濃度が夏季に大きく低下した。そのため、実験装置の流出水中の窒素、リン濃度の変動が大きかったことから、窒素およびリンの減少量とHRTから比窒素除去速度および比リン酸除去速度を求めて図3に示した。窒素およびリンの比除去速度の変動はよく似た傾向を示しており、温度依存性が高いことがわかる。脱窒に伴う鉄の腐食が進行し、リン除去が行われていたと推定される。さらに、杉材を充てんした装置2-1では、500日程度までは窒素リン除去が進行したが、その後は除去速度が極めて低下したのに対し、アスペン材を充填した装置2-2の方は、除去速度が冬季に減少するものの、1100日間窒素リン除去が進行していた。

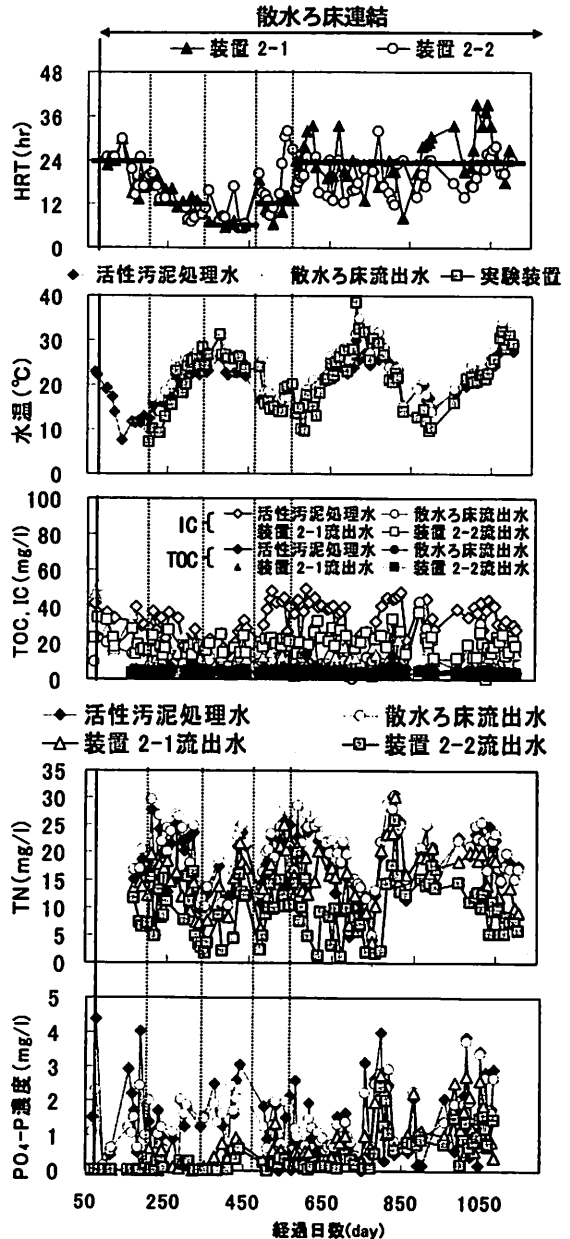


図2 処理水質の経日変化

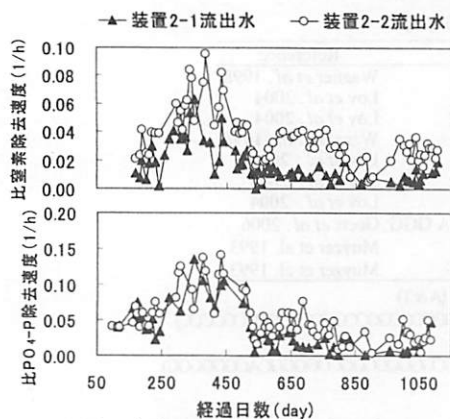


図3 窒素リン除去速度の経日変化

(2) 微生物活性

表2に回分実験により硫酸塩還元活性、脱窒活性、硫酸脱窒活性を求めた結果を示す。装置2-1の杉チップを用いた条件では、硫酸塩還元、脱窒活性ともにほとんど認められなかった。杉チップの表面が茶色の沈殿物に覆われていたことから、鉄の沈殿物の付着により木質の分解が妨げられたものと推定される。装置2-2のアスペン材を用いた条件では、硫酸塩還元活性と硫酸脱窒活性がともに高かった。また、装置から取り出したアスペン材は黒ずみやわらかくなっており、空隙が増加していることが観察された。以上のことより、室内実験と同様、木質内部に硫酸塩還元細菌と硫酸脱窒細菌による硫酸の酸化還元サイクルが形成され、木質の分解に関与していたと考えられる。また、593日目と784日目と比較すると硫酸塩還元活性は水温に大きく依存しないが、脱窒活性は水温が低いと活性も低下した。

表2 水温と比窒素除去速度の関係

装置No.		活性(mg COD/mg dry weight wood・hr)		
		硫酸塩還元	脱窒	硫酸脱窒
07.3.27 (593日目)	装置2-2	34.2	38.3	18.4
	水温:17.5℃	0.8	1.2	5.0
07.10.4 (784日目)	装置2-2	21.9	50.3	37.8
	水温:26.5℃	1.8	3.2	1.6

(3) 微生物群集解析

窒素、リンの除去速度が遅い冬季の519日目、および除去速度が速い夏季の749日目に取り出した杉およびアスペン材からDNAを抽出し、16S rRNA遺伝子をターゲットとしたPCR-DGGE法を適用した結果を図4に示す。冬季の519日目では、杉材とアスペン材でバンドパターンに大きな差が認められなかったが、夏季の749日目には、両木質内ともにバンドパターンが多様化するとともに、両者の間に差異が認められた。これらのことから、木質内の微生物は季節によって優先種が変動すること、木質によって優先種が異なることが示唆される。

一方、亜硫酸塩還元酵素をコードしたDSRmixF-DSRmixRを用いたNested PCR-DGGE法を夏季の749日目に

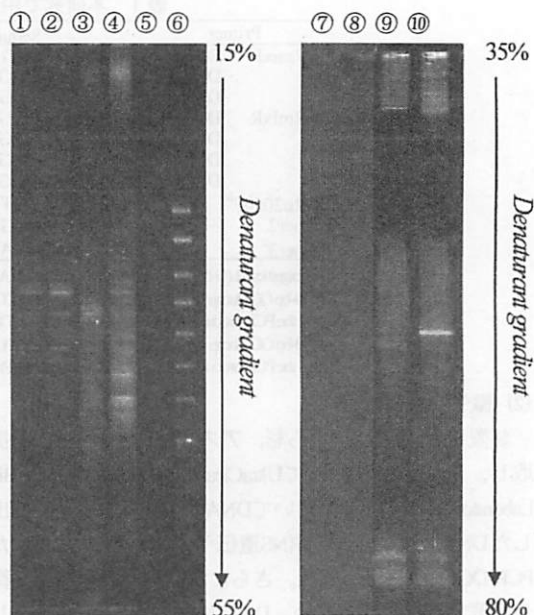


図4 電気泳動写真 左:16s rRNA, 右: DSR

①装置 2-1 杉 07.1.12 (519 日目), ②装置 2-2 アスペン 07.1.12 (519 日目), ③⑩装置 2-1 杉 07.8.30 (749 日目), ④⑨装置 2-2 アスペン 07.8.30 (749 日目), ⑤⑧コントロール, ⑥⑦マーカー

抽出したDNAに適用した結果、明らかに異なるバンドが検出された。そこで、検出されたバンドを切り出し、シーケンスを行った結果、装置2-1の杉材には*Desulfacinum infernum*もしくは*Desulfovibrio burkinensis*に近縁の硫酸塩還元細菌が、装置2-2のアスペン材には*Syntrophobacter fumaroxidans*に近縁種の硫酸塩還元細菌が検出された。

4. まとめ

無酸素ろ床内では木質の分解が行なわれていたが溶解性の有機物が流出することはなかった。窒素除去速度はアスペン材を充填した装置の方が高く、温度に依存していた。装置内のアスペン材の内部に高い硫酸塩還元活性と硫酸脱窒活性が認められた。DSR遺伝子を標的としたNested PCR-DGGE法により、木質内に亜硫酸塩還元酵素を有する微生物群集を検出できた。

参考文献

- 1) Loy, A et al. (2004) Appl. Environ. Microbiol., 70 (12), 6998-7009.
- 2) Daly, K et al. (2000) 146, 1693-1705.
- 3) Gerard Muyzer et al. (1993) Appl. Environ. Microbiol., 59 (3), 695-700.