

B-7 都市下水の嫌気処理における 有機物分解特性の評価

○杉江 恒彦¹・窪田 恵一¹・Wilasinee Yoochatchaval^{2,3}
對馬 育夫³・草野 真一¹・山口 隆司^{1,2}・米山 豊⁴・珠坪 一晃^{3*}

¹長岡技術科学大学大学院 環境システム工学専攻 (〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1)

²長岡技術科学大学大学院 エネルギー・環境工学専攻 (〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1)

³(独) 国立環境研究所 水士圏環境研究領域 (〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2)

⁴(株) 荏原製作所 (〒144-8510 東京都大田区羽田旭町11-1)

*E-mail: stubo@nies.go.jp

1. はじめに

我々の人間活動から排出される生活排水は、主に好気性微生物(活性汚泥法)による処理が行われている。しかし、活性汚泥法は曝気に多大な電力を消費し、更に、産業廃棄物である余剰汚泥を多量に発生する。そこで現在、下水処理に嫌気性処理法を適用しようという気運が高まっている。UASB(Up-flow Anaerobic Sludge Blanket)法等の嫌気性処理法の特長として、好気性処理と比較し、1) エアレーションが不要、2) 余剰汚泥の発生量が少ない、3) 生成したメタンの利用などが挙げられる。

しかしながら、嫌気性処理の下水への適用は主に熱帯・亜熱帯地域に限られており、寒冷な地域での実施例は非常に少ない。また、下水中の有機固形物のCODはセルロースとたんぱく質で50~60%を占めており、常温条件下の嫌気性処理において、その加水分解が律速になりやすい。冬季には下水由来固形有機物(セルロースやたんぱく質等)がUASBリアクター内に蓄積し、夏季に分解されることが報告されている。

本研究は、実規模下水処理UASBリアクター内の下水由来固形有機物の嫌気分解特性評価を目的とし、UASBリアクター汚泥のメタン生成活性評価とDGGE(Denaturant Gradient Gel Electrophoresis)法による菌叢解析を行った。また、UASBリアクター内で固形有機物(セルロース)の分解に関わる細菌の同定を目的とし、集積培養(希釈培養を含む)と培養体の菌叢解析を行った。

2. 実験方法

2.1 メタン生成活性試験

活性測定への供試汚泥は鹿児島県霧島市国分単人クリーンセンター内に設置した都市下水処理UASBリアクター(容積 20 m³, HRT 9.6時間, 以下、鹿児島UASBと称す)から定期的に採取したものをを用いた(表1)。活性測定はH₂/CO₂ (80:20[v/v], 1.4 atm), 酢酸(2 gCOD/L), プロピオン酸(1 gCOD/L), セルロース(2 gCOD/L), コントロール(基質なし)とした。試験温度は20℃, 35℃とした。また、長岡中央浄化センター内に設置しているパイロットスケールUASBリアクター(容積 1148 L, HRT 8時間, 以下、長岡UASBと称す)汚泥の活性値と比較を行った。

2.2 UASB保持汚泥のDGGE法による菌叢解析

下水処理UASB立ち上げ期間及び、季節による温度変化等が保持汚泥の菌叢に及ぼす変化をDGGE法により解析した。UASB保持汚泥からのDNA抽出、古細菌の16S rDNAに特異的なプライマーを用いたPCR増幅を行い、その増幅産物をDGGE法により、細菌DNA配列の違いによる分離・パターン化を行った。その後、バンドの塩基配列の決定を行い、BLASTによる近縁塩基配列の相同性検索を行った。本解析には2007年5月30日、8月24日、11月2日の汚泥を用いた。

表 1 汚泥採取日とそのリアクター温度

Date	2007/5/30	2007/7/24	2007/8/24	2007/11/2	2008/2/1	2008/5/9	2008/2/24
Day	0	55	86	156	247	345	632
Reactor Temp.	-	(28-30)	28.9	24.7	16.7	23.4	Approx. 10
Note	恒種	汚泥再投入	高水温期		低水温期		長岡

2.3 セルロース集積培養体の菌叢解析(1)

本培養における植種汚泥は長岡下水処理場消化汚泥とラボスケール UASB グラニュール汚泥を混合して用い、20℃でセルロースによる集積培養を行った。2.2 と同様、前処理を行い、真性細菌の 16S rDNA 増幅産物に対し DGGE 法による菌叢解析を行った。本解析には 24, 48, 59, 72, 85, 126 日目の回分培養体のサンプルを用いた。

2.4 下水SS集積培養体の菌叢解析(2)

本培養での植種汚泥は、長岡市、A市、B市の各下水処理場消化汚泥とラボスケールUASBグラニュール汚泥を混合して用い、20℃で培養した。基質は長岡市の下水処理場の最初沈殿池に蓄積した汚泥（以下、下水SSと称す）を用い、解析は2.3と同様に行った。本解析は0, 28, 77, 120 日目の回分培養体のサンプルを用いた。

2.5 セルロース希釈培養体の菌叢解析(3)

予め、セルロース濃度を 2 gCOD/L に調整した培地を用い、 $10^{-1} \sim 10^{-10}$ まで10段階の希釈系列の希釈培養試験体を作成し20℃で静置培養を行った。植種汚泥は下水の固形成分（初沈汚泥）を基質として集積培養した菌液（2.4 で示した植種汚泥の異なる集積体）を用いた。菌叢解析は、77日目の試料の希釈培養体に対し2.3の方法で行った。

3. 実験結果及び考察

3.1 保持汚泥のメタン生成活性

図1に各試験基質、各試験温度における鹿児島UASB汚泥と長岡UASB汚泥のメタン生成活性を示す。

鹿児島UASB汚泥の活性値は、酢酸基質の35℃の条件下において、運転日数を経過するにつれ8月24日までは上昇したものの、それ以降は水温低下に伴い、活性が減少傾向にあることが判明した。また、35℃での11月2日、2月1日の汚泥の活性は酢酸、プロピオン酸、セルロース、コントロール共に殆ど変わらなかった。また、8月24日の20℃での活性値は水素基質では0.02 gCOD/gVSS/day であったが、11月2日には0.031~0.055 gCOD/gVSS/dayと上昇した。従って、水素化性メタン菌は20℃に馴化、又は低温で活性のある菌が増殖したものと推測される。

全体を通して、20℃より35℃での活性が高いが、2月1日の汚泥は水素基質を除き 35℃の活性値は 0.005 gCOD/gVSS/day 程度で20℃の活性値と同等となった。正月期間中 UASB 保持汚泥の流出が確認されており、活性のある菌体が流出した可能性もある。

長岡UASB汚泥の活性は鹿児島UASB汚泥と比較すると35℃の水素基質では約5倍高く、酢酸基質では約10倍高かった。また、長岡UASB内の保持汚泥濃度は鹿児島UASB内のそれより約3倍高く保持されており、この優れた汚泥保持能が活性増加の要因と考えられる。

セルロース基質のメタン生成活性値は35℃、20℃共にコントロール系とそれは殆ど変わらず、セルロース分解能が低いことが判明した。

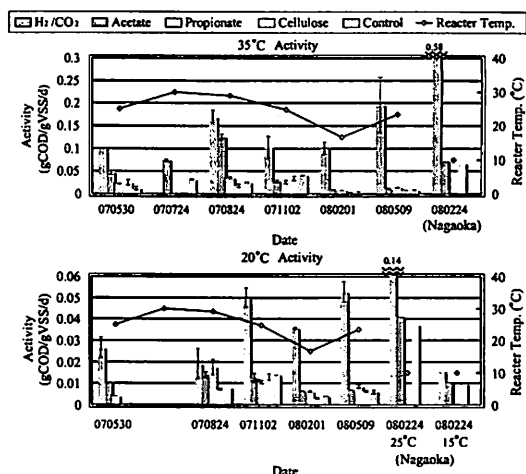


図1 下水処理UASB保持汚泥のメタン生成活性

3.2 DGGE法による鹿児島汚泥の菌叢解析

図2に鹿児島UASB汚泥のメタン生成古細菌の菌叢変化の様相を示す。比較対象として長岡UASB汚泥の解析も同時に行った。図中には検出された主要バンドより得たDNA断片の近縁同源性検索結果を示した。

5月30日と8月24日の試料では主要バンドに変化はなく、11月2日のサンプルではゲル上部にバンドが出現した（バンド1）。酢酸化性メタン菌として、バンド4の *Methanosaeta*、水素化性メタン菌としてバンド2, 3の *M. bacterium* に近縁のバンドが検出された。また鹿児島UASBの汚泥からは高塩環境から採取された未培養のクローンに近縁の菌が検出された（バンド5）。

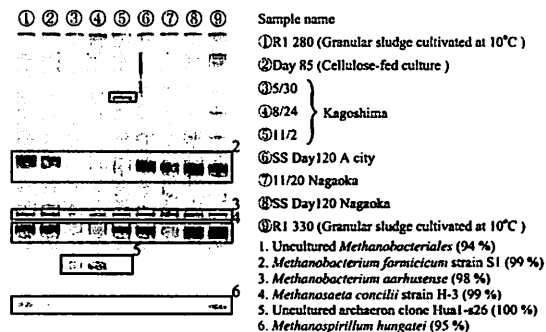


図2 鹿児島UASB汚泥の菌相解析結果（古細菌）

3.3 セルロース集積培養体の菌叢解析(1)

図3にセルロースによる20℃での回分培養の菌叢変化を示す。培養期間が長くなるにつれ、黒枠で囲ったバンドに集約された。したがって、このバンドはセルロースの分解に関与する細菌由来と考えられる（Uncultured

Bacteroidales bacterium clone: MgMjR-018. AB234405 175/189 (92%)

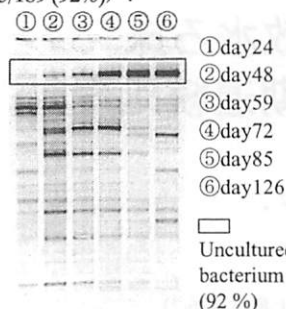


図3 セルロースを用いた回分培養による菌叢変化

3.4 下水SS集積培養体の菌叢解析(2)

図4に植種汚泥の違いによる初沈汚泥を用いた回分培養の菌叢変化を示す。実験当初、セルロース集積培養で確認された*Bacteroidales*に近縁なバンドが出現すると予想したが、3.3で述べた集約したバンド、それに近縁のバンドならびに既知のセルロース分解菌のバンドは延べ120日にわたる回分培養実験からは得られなかった。これは初沈汚泥中の易分解性有機固形物を分解する細菌が優占的に増殖したため、あるいは、3.3で同定されたバンドの細菌の存在量が少ないためと考えられる。

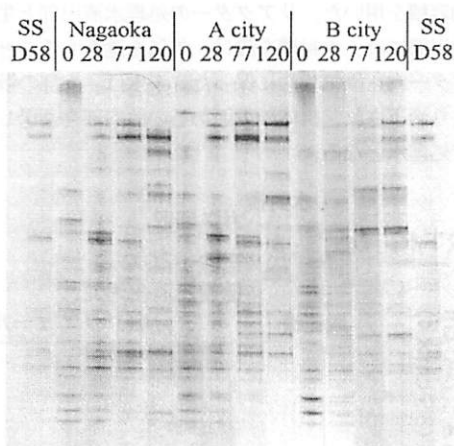


図4 初沈汚泥を用いた回分培養体の菌叢変化

3.5 セルロース希釈培養体の菌叢解析(3)

図5に希釈培養体の77日目の菌叢を示す。バンド3は*Eubacterium*, *Bacteroides*に近縁であった。バンド4は*Bacteroides*, バンド5は*Spirochaeta*と近縁であった。バンド6は*Fibrobacter*に近縁で主に牛のルーメン内から検出

された。*Fibrobacter intestinalis* strain DR7や*Fibrobacter succinogenes*等はセルロース分解菌としての報告がある。バンド8は3.3で集約したセルロース分解に関わるとされるバンド (Uncultured *Bacteroidales* bacterium clone: MgMjR-018. AB234405 175/189 (92%)) の塩基配列と同じ塩基配列であった。本解析より、これらの新規の細菌群がセルロースの分解に関わっている可能性が示唆された。

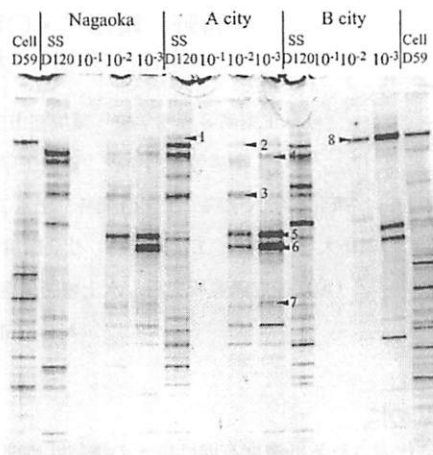


図5 セルロースを用いた希釈培養体の菌叢の様相

4. まとめ

実証規模鹿児島UASB汚泥の活性は冬季の水温低下に伴い徐々に低下したが、水質はある程度維持できていた(データ不提示)。なお保持汚泥のDGGE解析の結果、バンドの濃度は薄いものの、水素資化性、酢酸資化性メタン生成古細菌共に存在が確認された。

汚泥の物性については、長岡UASB汚泥よりも沈降性などが劣るため、安定運転のための基礎知見として保持汚泥の微生物学的な特性評価に加え、SRTや汚泥・下水の無機塩組成分析等の物理的性状の解析を進める。

常温下でセルロース分解に関わる細菌の同定を行うための集積・希釈培養体の菌叢解析では、バンドが集約化しセルロース分解菌と思われるバンドが検出されたものの、下水SS集積培養体、B市を除くセルロース希釈培養体からは検出できなかった。今後は、同位体を用いた集積培養などによりセルロース分解細菌の同定を目指す。

5. 参考文献

Ikuo Tsushima *et al.*, Identification and Detection of Psychrotolerant Cellulose-degrading Bacteria, 21st COE Program The 8th International Symposium on Green Energy Revolution, pp.123, 2007

謝辞: 本研究はNEDO 技術開発機構の研究開発プロジェクト「無曝気・省エネルギー型次世代水資源循環技術の開発」の支援を受けて行われたものである。