

FISH法による嫌気性廃水処理リアクター内の微生物生態の解析

呉高専 学○西川静江, 正 山口隆司, 正 市坪 誠
高知高専 正 山崎慎一 長岡技科大 正 原田秀樹

1. はじめに

嫌気性生物処理方法の一つであるUASB（Upflow Anaerobic Sludge Blanket）法は付着担体を使用せず、嫌気性細菌群の持つ自己固定化能力を利用して、反応器内微生物（污泥）の高濃度保持を実現し、廃水の高速処理を可能にした廃水処理技術である。本法はこれまで中高濃度の産業廃水処理分野で普及している。

しかしながら、都市下水のような低濃度排水処理を対象としたUASB反応器内の微生物の生態についての知見は乏しい状況にある。そこで本研究では、都市下水を処理するUASB反応器を運転し、活性試験およびFISH（fluorescence in situ hybridization）法を用いて、反応器内保持微生物の生態特性を評価した。

2. 実験方法

2.1 植種污泥とその培養方法

本システムは、前段処理装置であるUASB反応器と、後段処理装置である好気性カラム2本とで構成した。前段のUASB反応器は、全容積12.5 l（有効容積部7.0 l）の塩化ビニール製である。後段のカラム1、カラム2は、いずれも全容積1.7 l（有効容積部1.5 l）で、共に塩化ビニール繊維濾過材を充填した。カラム1ではUASBからの処理水をカラムに満たし、エアポンプにより常時空曝を行った。また、カラム2では上部からカラム2を通過した処理水を自然流下させた。供給下水は、下水処理センターの流入スクリーン通過後の下水を原水槽に1日1回ポンプアップして用いた。なお、本システムは、広島県呉市の下水処理センターの屋外に設置し、温度制御フリーで運転した。また、UASB反応器の植種污泥は、長期間煮豆工場廃水で馴致されたUASB実装置から採取したグラニュール污泥を投入した。

2.2 保持微生物活性評価試験

UASB反応器保持污泥のメタン生成活性と硫酸塩還元活性を評価した。いずれもCOD換算として $\text{gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 単位で求めた。まず、污泥を活性試験用培地内（リン酸緩衝液、レサズリン、無機塩類を含む）で分散処理し、バイアル瓶に分注後、テスト基質（ H_2/CO_2 、酢酸）を投入した。次いでバイアル内のpHを6.9～7.1に調整して、35℃振とう培養環境下で経時的にガス量、ガス組成、硫酸塩濃度を測定して活性を求めた。なお、メタン生成活性は、植種污泥（0日目）、21日目、100日目における保持污泥について評価した。また、硫酸塩還元活性は、100日目における保持污泥について評価した（メタン生成細菌の活性を阻害するために、クロロホルムを $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 添加した）。各基質につき2本ずつ測定を行った。

2.3 FISH法

UASB反応器保持微生物を採取し、全古細菌を検出のターゲットとするプローブARC915（プローブシーケンス： $5'\text{GTGCTCCCCGCCAATTCCT}$ ）、および全菌を検出するDAPIを用いて全菌に占めるメタン生成細菌の存在割合を評価した。

3. 実験結果・考察

反応器の運転は、11月中旬に開始した。その結果、秋冬季間の運転において水理学的滞留時間4時間（容積負荷 $2 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ ）で、全COD除去率71%、溶解性COD除去率87%を達成した。

Fig.1は、UASB反応器内の酸化還元電位（ORP）の経日変化を示す。ORPレベルは運転期間を通して -400 mV 以下（平均 -466 mV ）で

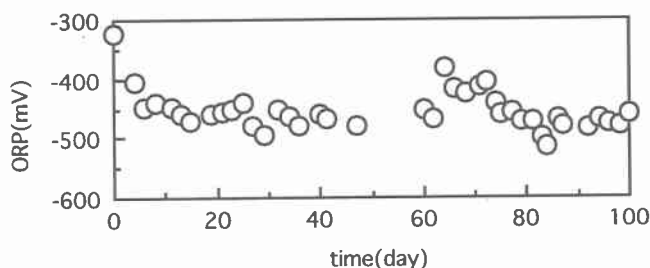


Fig.1 Change in ORP

あり、UASB反応器が嫌氣的に保たれていたことがわかる。通常、UASB法を都市下水処理に適用した場合、ORP値は-200～-300 mVというレベルで報告されているが、本研究で得られたレベルはこれよりも低い。これは、UASB反応器内で硫酸塩が還元されていることに起因していると考えられる。

Fig.2は、流入・流出硫酸塩濃度を示す。図中のバーは標準偏差を表す。流入硫酸塩濃度は平均で $165 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。流入硫酸塩はUASB反応器を介して $30 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度にまで還元された。

Fig.3は、反応器運転100日目における酢酸、水素基質に対する硫酸塩還元活性を示す。硫酸塩還元活性は、酢酸、水素基質に対して高いレベルであり、これらの基質分解に硫酸塩還元細菌が寄与していることがわかった。また、一般に酢酸基質に対して硫酸塩還元細菌の増殖は、メタン生成細菌の増殖と比較して動力学的特性から難しいとされている。しかし、都市下水のような低濃度有機性排水を微生物集塊によって処理する場合では、硫酸塩還元細菌は、メタン生成細菌の1/2程度の酢酸分解ポテンシャルを有して増殖することがわかった。

Fig.4は、酢酸および H_2/CO_2 に対するメタン生成活性を示す。保持汚泥の水素資化性メタン生成活性は、スタートアップ後21日という短期間で種汚泥の9倍のレベル($1.28 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$)に、100日後には30倍のレベル(4.19)にまで高まった。これは、Fig.1, 2, 3の結果から、硫酸塩還元細菌の増殖により反応器内のORPが低下し、メタン生成細菌の増殖が助長されたためと考えられる。

FISH法については、UASB保持微生物について、プローブ5'末端には蛍光標識であるテトラメチルローダミンを付加し、DAPIとの二重染色により同一視野での全菌数、および対象微生物との同時検出を可能にし、存在率を解析中である。

4. まとめ

温度制御フリーのUASB反応器を主体とした都市下水処理システムを、11月上旬にスタートアップし、3月まで運転した。UASB反応器内保持微生物を評価した結果、以下の知見が得られた。

- (1) 流入硫酸塩濃度が本システム($165 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{l}^{-1}$)のように高い場合、UASB反応器内にはメタン生成細菌に加え、水素資化性、酢酸資化性の硫酸塩還元細菌が増殖する。
- (2) 硫酸塩還元反応によってUASB反応槽内の酸化還元電位が低下することにより、メタン生成細菌の増殖が助長されることが示唆された。

【謝辞】 研究の場を与えてくださいました呉市建設局下水道部および関係各位の皆様に深く感謝いたします。

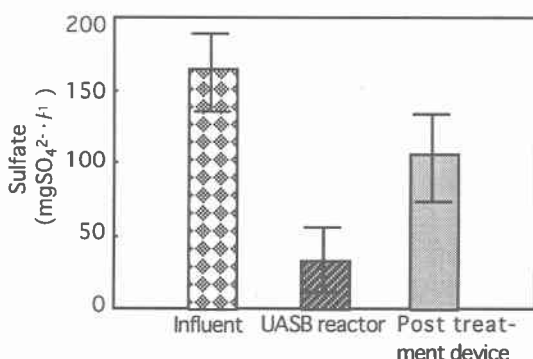


Fig.2 Influent and effluent sulfate concentration

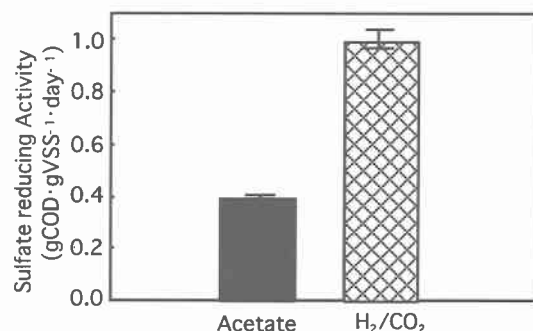


Fig.3 Sulfate-reducing activity using acetate and hydrogen as test substrate

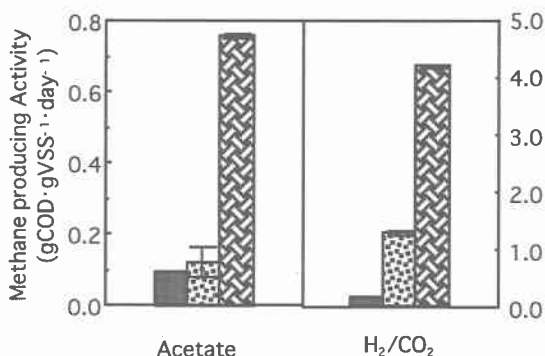


Fig.4 Methan-producing activity using acetate and H_2/CO_2 as test substrate

■: seeding ▨: day 21 ▩: day 100