

## VII-9 オゾン添加活性汚泥法における硝化細菌群の動態解析に関する研究

愛媛大学大学院

○上住僚, 岡田由希子

愛媛大学工学部

西村文武

高知大学農学部

藤原拓

### 1. はじめに

近年、下水汚泥に直接オゾンを添加することにより、汚泥の沈降性・濃縮性の改善、スカム抑制、余剰汚泥の削減等の効果があることが分かり、それらの下水処理システムへの適用が試みられている<sup>1)2)3)</sup>。しかし、オゾンを活性汚泥へ直接添加することによる微生物活性への阻害が懸念されている。

そこで、本研究ではオゾン添加が硝化活性に及ぼす影響を定量的に評価するため、半回分式実験によりオゾン添加による硝化活性への影響を硝化速度試験、脱水素酵素活性試験について実験的検討を行い、FISH法を用いてオゾン添加による活性汚泥中の硝化細菌数を計数した。

### 2. 実験方法

図-1に半回分式オゾン接触実験の概要を模式的に示す。図-2に硝化速度試験の概要を模式的に示す。表-1に半回分式オゾン接触実験条件を示す。表-2に培地組成を示す。オゾン接触試験は半回分式で行った。標準活性汚泥法で運転されているM市都市下水処理場の返送汚泥を2000(mgML-SS/L)に調製し、有効容積1Lの反応器にこれを投入後、注入オゾン濃度13(mgO<sub>3</sub>/L)、ガス流量0.3(L/min)でオゾン接触を開始した。汚泥へ溶解しなかった排ガスを2(w/v%)ヨウ化カリウム溶液によって還元・無害化を施し、注入オゾン量からの収支より汚泥への吸収・反応オゾン量とした。採取した試料は、脱水素酵素活性試験、硝化速度試験、及びFISH法にそれぞれ供した。脱水素酵素活性試験及び硝化速度試験は下水試験方法<sup>4)</sup>に準拠して行った。使用したプローブの概要を表-3に示す。FISH法は採取した試料を直ちに4%パラホルムアルデヒドで4°C、2hr固定し、PBSバッファーで3回洗浄した後、PBSとエタノールが1対1のバッファーを添加し、-20°Cで保存した。ハイブリダイゼーションは46°C、2時間で行った。アンモニア酸化細菌である $\beta$ -proteobacteria属亜硝酸酸化細菌であるNitrobacter属蛍光観察は、落射蛍光装置(OLYMPUS、BX-FLA)が付加された顕微鏡(OLYMPUS、BX-50)を用いて行った。

表-1 実験条件

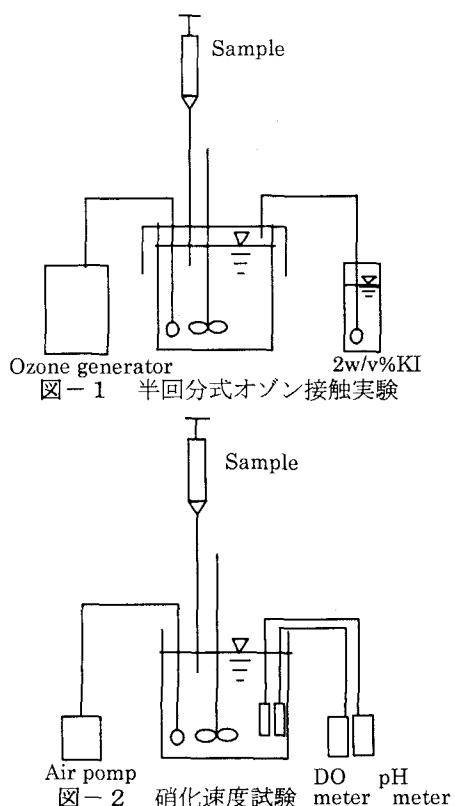
有効容積(L)	1.0
注入オゾン濃度(mgO <sub>3</sub> /L)	5-13
ガス流量(L/min)	0.3
オゾン吸収率(mgO <sub>3</sub> /gSS)	0-84

表-2 培地組成

NH <sub>4</sub> Cl(mgN/L)	30
NaHCO <sub>3</sub> (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	300
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mgP/L)	1.2
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O(mgMg/L)	3.0

表-3 各プローブの概要

プローブ名	塩基配列	標的配列 rRNA position	ホルムアミド (%)	NaCl (mM)	対象細菌	細菌の種類
Nso190	5'-GCTGCCTCCGTAGGAGT-3'	16S, 190-208	55	20	$\beta$ -proteobacteria	アンモニア酸化細菌
NIT3	5'-CCTGTGCTCCACTGCTCCG-3'	16S, 1035-1048	40	56	Nitrobacter	亜硝酸酸化細菌



### 3. 結果及び考察

図-3に脱水素酵素活性変化を示す。注入オゾン濃度が5(mgO<sub>3</sub>/L)でオゾン接触を試みたとき、オゾン吸収率が70(mgO<sub>3</sub>/gSS)以上を示しても、脱水素酵素活性は約6(μgTF/gSS)と、オゾン未接触時の半分以上を示した。注入オゾン濃度が9(mgO<sub>3</sub>/L)でオゾン接触を試みたときはオゾン吸収率が70(mgO<sub>3</sub>/gSS)以上を示したところで、注入オゾン濃度が13(mgO<sub>3</sub>/L)でオゾン接触を試みたときはオゾン吸収率が40(mgO<sub>3</sub>/gSS)以上を示したところで、脱水素酵素活性は共に約0(μgTF/gSS)を示した。また、オゾン吸収率が20(mgO<sub>3</sub>/gSS)前後のときは注入オゾン濃度が5-13(mgO<sub>3</sub>/L)の間であれば、濃度に関わらず脱水素酵素活性が8(μgTF/gSS)前後を示した。すなわち、オゾン注入濃度に関わらず活性を維持する範囲が存在することが示唆された。

図-4にFISH法によるアンモニア酸化細菌の検出数を示す。注入オゾン濃度が5及び9(mgO<sub>3</sub>/L)でオゾン接触を試みたとき、オゾン吸収率が40(mgO<sub>3</sub>/gSS)まではオゾン未接触時と同程度のアンモニア酸化細菌の活性が示された。また、注入オゾン濃度が13(mgO<sub>3</sub>/L)でオゾン接触を試みたとき、オゾン吸収率が40(mgO<sub>3</sub>/gSS)以上を示すと、オゾン未接触時と比較して、1オーダー程度アンモニア酸化細菌の検出数が減少することが示され、このとき、硝化速度はオゾン未接触時の約1.7(mgN/gSS·hr)から約0.5(mgN/gSS·hr)まで減少した。さらに、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Nの蓄積も認められなかった。

これらのことから、オゾン接触によってアンモニア酸化細菌の硝化活性が阻害され、これによって硝化速度が低下したと考えられる。

### 4. まとめ

- 活性汚泥中の有機化合物の生物学的酸化に関する微生物の活性は、オゾン接触によって活性阻害を受けるものの、注入オゾン濃度が5-13(mgO<sub>3</sub>/L)の間であれば、濃度に関わらず活性を維持する範囲が存在することが示唆された。
- 注入オゾン濃度が5及び9(mgO<sub>3</sub>/L)でのオゾン接触は、オゾン吸収率40(mgO<sub>3</sub>/gSS)以下の範囲では、オゾン接触による硝化活性阻害に関する顕著な影響は認められなかった。
- 注入オゾン濃度が13(mgO<sub>3</sub>/L)でのオゾン接触は、オゾン吸収率40(mgO<sub>3</sub>/gSS)以上でアンモニア酸化細菌の検出数が1オーダー以上の減少を示し、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Nの蓄積が認められず、硝化速度が1/3以上の減少が認められたことから、オゾン添加による硝化活性への阻害は、アンモニア酸化細菌への活性阻害が特に顕著であったためと考えられる。

### 謝辞

本研究の一部は、科学研究費(若手研究B 課題番号16760444)ならびに平成16年度愛媛大学研究開発支援経費(萌芽的研究)の補助を得て実施されました。ここに記して謝意を表します。

### 引用・参考文献

- 金暎蘭、宗宮功：オゾン処理による活性汚泥の糸状性バルキングの抑制効果の定量化、環境技術、vol.27, No.8, pp.590-597, 1998.
- H.Yasui, et al : An innovative approach to reduce excess sludge process, Wat.Sci.Tech.vol.30, No9, pp.11-20, 1994.
- H.Yasui, et al : A full-scale operation of a novel activated sludge production, Wat. Sci. Tech. vol.34, No.3-4, pp.395-404, 1996.
- 日本下水道協会：下水試験方法 1997年版

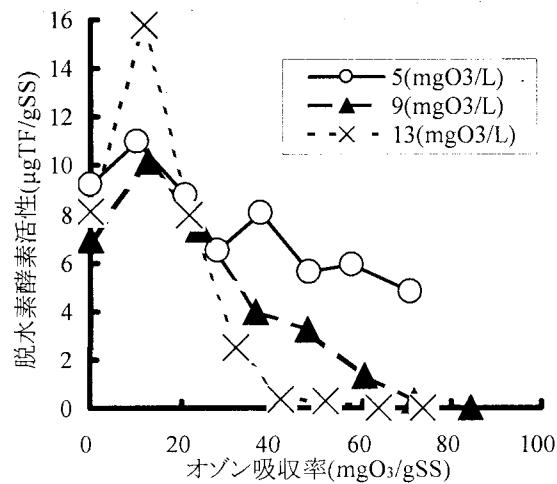


図-3 脱水素酵素活性

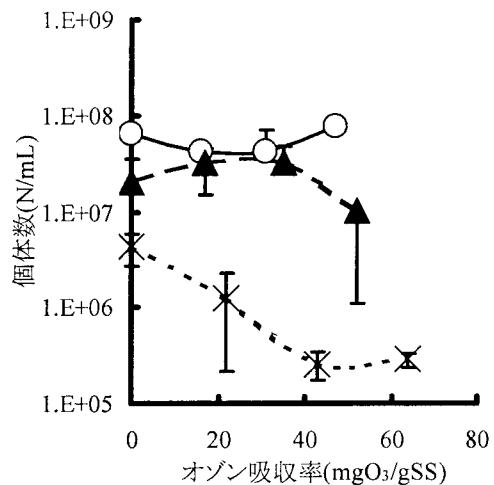


図-4 アンモニア酸化細菌検出数