

超省エネ都市下水処理の安定性の強化にむけた嫌気性原生動物データベース(PD2)の整備

Protozoan Diagnostic Database (PD2): A web-based database for assessment of treatment performance of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors

長岡工業高等専門学校環境都市工学科 准教授 押木 守

(研究計画ないし研究手法の概略)

本研究の目的は、都市下水のような常温低濃度有機性排水を処理する嫌気性処理装置、特に上昇流嫌気性汚泥床(Up-flow Anaerobic Sludge Blanket、UASB)内に出現する原生動物の種類および量をデータベース化し、運転管理指標として用いることで、都市下水処理時の安定性を強化することにある。そこで、都市下水処理UASBの処理性能と出現する原生動物の種類および量の関係を明らかにするため、長岡中央浄化センターに32L容積のUASBリアクター(内径202 mm、高さ1 m)(図1)を設置し、初沈越流水を連続通水させながら160日間の連続運転を行なった。リアクターは外気温下で運転し、水理的滞留時間(HRT)は18時間とした。下水中の全CODが300 mg/Lを下回るよう場合には、有機物負荷の不足を生ずることが予想されたため、培養112日目にHRTを12時間へ変更した。培養64日目からは、リアクター上部から循環ホースを伸ばし、下水が通水している流入ホースに合流させ排水を循環させることで、槽内の線流速を調節した。線流速は培養64日目に4 m/dayに、培養117日目に8 m/dayとした。処理性能を評価するため、運転期間を通じて、流入水、流出水をおおよそ週3回の頻度で採取し、各サンプルの化学的酸素要求量(COD)、浮遊物質(SS)を測定した。また、運転期間に出現する嫌気性原生動物の個体数および種を同定することで、処理性能に対応して出現する嫌気性原生動物に関する知見を収集した。

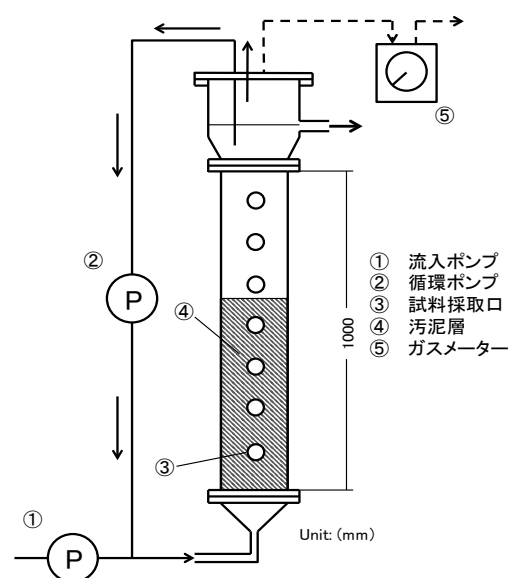


図1. 本研究で運転したUASBリアクター

(実験調査によって得られた新しい知見)

本研究で160日間運転したUASBリアクターにおけるCOD濃度の遷移を図2に示した。運転期間における全CODは流入水で 670 ± 530 mg/L(図2左)、流出水で 116 ± 30 mg/L、溶解性CODは流入水で 242 ± 87 mg/L、流出水で 79 ± 15 mg/Lであった。初期の流入水全CODは高い値となっているが、これは下水貯留タンク内に溜まった高濃度のSSを採取してしまったことが原因である。流出水の全CODは初期こそ安定しないがそれ以降は70 mg/Lから160 mg/Lの間で、溶解性CODは一部を除き60 mg/Lから100 mg/Lの間で安定していた。溶解性COD除去率は40~80%の間にその値を留め、運転期間を通して大きな変化は無かった(図2右)。

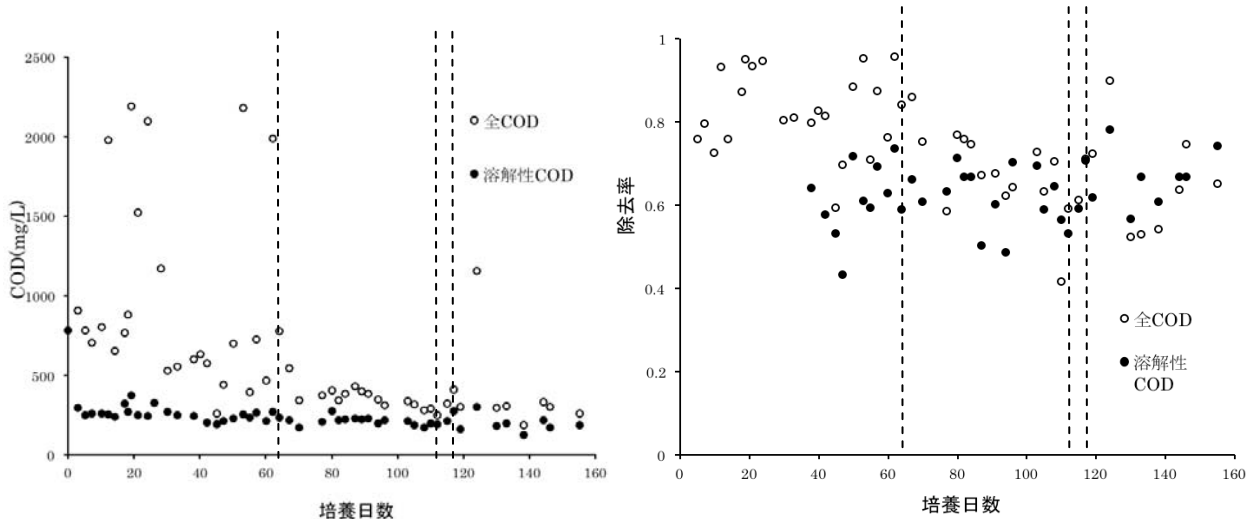


図2. 運転期間における流入COD濃度(左)およびCOD除去率(右)

続いて、UASBリアクター運転期間中に出現した嫌気性原生動物の個体数の計数および細菌種の同定を行った。個体数の計数は顕微鏡観察によって行った。UASBリアクターから汚泥を採取し、試料30 μ Lをスライドガラス上に滴下し、顕微鏡下でカバーガラス全視野を観察し、嫌気性原生動物の個体数を計測した。これを5回行ない、種類別に細胞数の平均値を算出した。なお、本研究では目視による形態判別が可能な*Metopus palaeformis*、*Metopus contortus*、*Caenomorpha sp.*の3種を計測対象とした。嫌気性原生動物の個体数の遷移を図3に示した。培養7日目にて*Metopus palaeformis*のみが急激に増殖し、その後増減を繰り返しながら培養30日目にて1200 cells/mLもの細胞数が確認され、その後急激に減少した。培養64日目にてUASBリアクター内部において処理水の循環操作を開始し、上昇線流速を上昇させたところ、激減していた*Metopus palaeformis*が再び増殖し、最高時には750 cells/mLまで増殖した。更に、*Caenomorpha sp.*が徐々に増え始め、最高時には800 cells/mLまで増殖した。一方、*Metopus contortus*は他の2種と比べるとあまり増殖せず、その細胞数を100 cells/mL程に保ちながら250 cells/mLまで増殖した。しかし、培養112日目にて培養装置にトラブルがあり最高時では1600 cells/mLまでであった3種の細胞数は150 cells/mLまで減少した。また同日にHRTを12時間に設定したがその後も増殖が確認できなかったため、培養117日目に上昇線流速を8 m/dayまで上昇させた。すると、これまであまり増殖していなかった*Metopus contortus*が増え始め600 cells/mLまで増殖し、しばらくして*Caenomorpha sp.*が増殖し始め、750 cells/mLまで増殖した。一方、*Metopus palaeformis*は再増殖することはなかった。

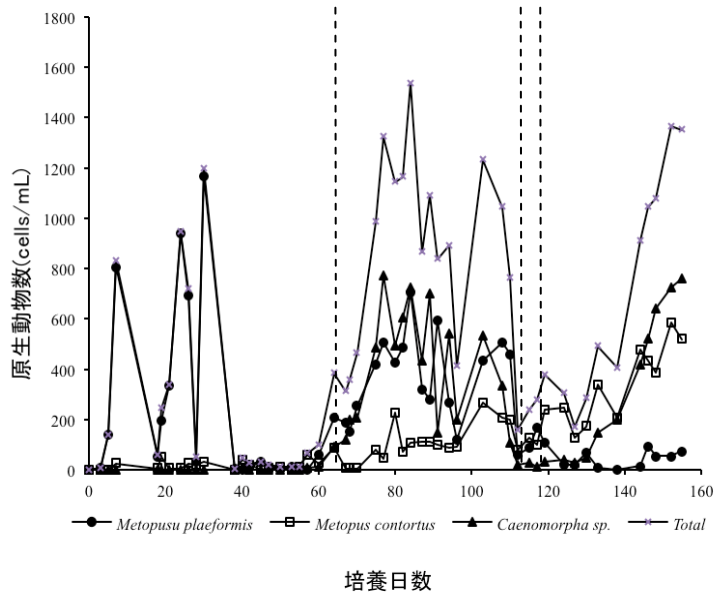


図3. 嫌気性原生動物の個体数の遷移

嫌気性原生動物の微生物種を明らかにするため遺伝子解析を実施した。培養30日目と53日目に採取したサンプルからDNAを抽出し、18S rRNA遺伝子を対象にPCR増幅させた。その後、次世代シーケンサーMiSeqにより解析を行い、DNA配列を解読し、相同性検索を行った。遺伝子解析の結果を図4に示す。繊毛虫と鞭毛虫の割合は培養30日目の汚泥沈降前のサンプルでは繊毛虫が86%、鞭毛虫が3%、その他11%、53日目の汚泥沈降後のサンプルでは繊毛虫が46%、鞭毛虫が11%、その他43%という結果になった。従って、繊毛虫の割合は汚泥の沈降により大幅に減少したが、鞭毛虫は汚泥の圧密の影響を受けていないと考えられる。

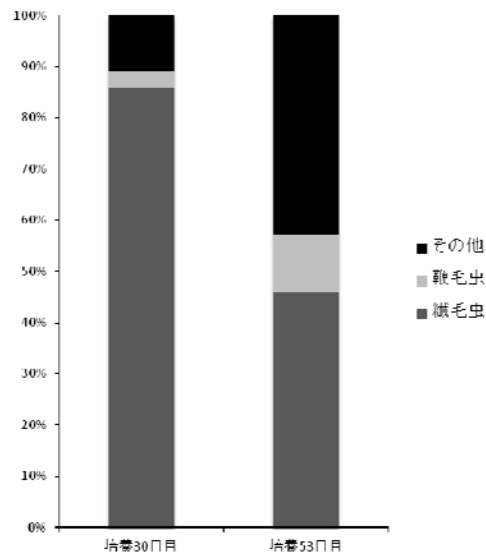


図4. 18S rRNA遺伝子配列に基づく嫌気性原生動物の群集構造解析

本研究ではUASBリアクターを160日間運転し、嫌気性原生動物の個体数のモニタリングおよび18S rRNA遺伝子にもとづく微生物種の同定を行った。その結果から、UASBリアクター内で個体数はダイナミックに変動するものの、処理性能(COD除去性能)とは必ずしも連動しないことが明らかとなった。UASBリアクター内においてCOD除去を主に担うのはバクテリアおよび古細菌であるため、嫌気性原生動物のCOD除去への寄与は小さいものと考えられる。一方、

嫌気性原生動物は補食作用によってUASBリアクター内での汚泥発生量の抑制に寄与していることが考えられ、今後、定量的な評価が期待される。また、嫌気性原生動物の微生物種を遺伝子解析によって詳細に調査した結果、顕微鏡観察で捉えられる原生動物(*Metopus palaeformis*, *Metopus contortus*, *Caenomorpha sp.*)以外の嫌気性原生動物がUASBグラニュール内ではむしろ優占していることが明らかとなった。すなわち、図4に示す通り、顕微鏡観察で計数対象外とした繊毛虫は*Metopus*、*Caenomorpha*属の鞭毛虫類の嫌気性原生動物よりもむしろ優占している。繊毛虫類の嫌気性原生動物は大きさが数 μm と小さく、繊毛虫類と細菌類を区別しながら顕微鏡観察することは困難である。したがって、今後は繊毛虫類を特異的に定量できる遺伝子定量技術を開発し、UASBリアクター内での動態を解明する必要がある。本研究では処理性能に対応して出現する嫌気性原生動物を報告するデータベースの構築を目指し、その基礎的知見を集積することに成功した。一方、UASBリアクターではこれまで見過ごされてきた繊毛虫類の嫌気性原生動物が優占していることが初めて明らかとなった。繊毛虫類の微生物に関する微生物学的知見は極めて乏しく、繊毛虫類の微生物とUASBリアクターの処理性能との関連を今後明らかにする必要がある。

(発 表 論 文)

Hirakata, Y., Oshiki, M., Kuroda, K., Hatamoto, M., Kubota, K., Yamaguchi, T., Harada, H. and Araki, N. (2015) Identification and detection of prokaryotic symbionts in the ciliate *Metopus* from anaerobic granular sludge. *Microbes Environ.* 30:335-338.

平片悠河、黒田恭平、幡本将史、山口隆司、押木守、荒木信夫 (2015) 都市下水処理UASB槽の処理性能および微生物叢に及ぼす嫌気性原生動物の影響、第18回日本水環境学会シンポジウム。講演要旨集P181-182.

Y. HIRAKATA, M. OSHIKI, K. KURODA, M. HATAMOTO, K. KUBOTA, T. YAMAGUCHI, H. HARADA and N. ARAKI (2015) Impacts of protist bacterivory by anaerobic ciliates on prokaryotic community function and structure in anaerobic granular sludge of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Water and Environment Technology (WET) Conference 2015* (講演番号1A-12), 講演要旨集P6,