

廃水処理プラント内担体付着生物膜の *in situ* 活性及び微生物相の解析

やまかわ たけし おかべ さとし わたなべ よしまさ
 ○山川 岳志 岡部 聡 渡辺 義公

北海道大学大学院 工学研究科

【はじめに】本研究では廃水処理プロセスの高効率化や安定化を視野に入れ、窒素除去に携わる細菌に主眼をおいて、分子生物学的手法を用いてプラント内の担体付着生物膜を解析した。*in situ* の活性を測定するために微小電極を、微生物相を把握するために 16S rDNA に基づく系統解析を、細菌の量及び空間分布を把握するために FISH 法を用いた。

【実験方法】対象としたのは、窒素除去を主な目的とした工場廃水処理プラント内で用いられている担体付着生物膜である。このプラントは、第一脱窒槽、硝化槽、第二脱窒槽及び再曝気槽から構成されており、第二脱窒槽には有機源としてメタノールが添加されている。この内、第一脱窒槽(DO=0mg/l、ORP=-50mV)、硝化槽及び第二脱窒槽(DO=0mg/l、ORP=-200mV)から担体付着生物膜を採取し、微小電極による測定、16S rDNA に基づく系統解析および FISH 法に供した。微小電極による測定は、 NH_4^+ 、 NO_3^- 及び DO 測定用の微小電極を用いて行った。系統解析には真正細菌に特異的なプライマー GM3F&GM4R と Proteobacteria β -subclass に属するアンモニア酸化細菌に特異的なプライマー CTO を用いた。FISH 法は、Proteobacteria β -subclass に属するアンモニア酸化細菌に特異的な Nso190、亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira moscoviensis* に特異的な Ntspa1026 と Ntspa454 及び *Hyphomicrobium* に特異的な Hypho1241 を用いて行った。

【結果】微小電極による測定より、硝化槽では膜表層で NH_4^+ の減少が見られ、それに伴って NO_3^- が増加、第一脱窒槽では NH_4^+ の減少は見られず、膜表層での NO_3^- の増加が観察されたが、これは NO_2^- の酸化によるものだと考えられる。第二脱窒槽では膜表層から NO_3^- が減少しており、脱窒反応が生じていた。次に、各槽の微生物相を把握するためにプライマー GM3F&GM4R を用いて系統解析を行った結果、全ての槽から脱窒菌(*Hyphomicrobium* 属等)に近縁な菌が検出され、第一脱窒槽からは *Nitrospira* に近縁な菌が検出された。プライマー CTO を用いた場合、硝化槽では *Nitrosomonas europaea* (クローン検出頻度: 26/26) に近縁な菌のみが検出されたが、第一脱窒槽では 3/22 が、第二脱窒槽では 24/25 が *Nitrosomonas marina* に近縁な菌であった。これは、槽内の DO 及び ORP の影響によるものだと考えられる。FISH 法を用いてアンモニア及び亜硝酸酸化細菌の存在を確認したところ、硝化槽、第一脱窒槽ともに存在が確認されたが、硝化槽の方が両細菌とも多く存在しており、先の微小電極の測定結果と一致した。第二脱窒槽ではプラント環境を反映して、*Hyphomicrobium* が優先種であることが FISH 法によって確認され、第二脱窒槽での脱窒に大きな役割を果たしていると考えられる。