

B-20

Nitrite reductase 遺伝子を標的とした 製鉄所排水硝化脱窒処理プロセスの群集構造解析

にったみただし やまざきえみ さとうひろやす みのたかし いたうきみお みきおさむ
○新田見匡¹⁾, 山崎恵美¹⁾, 佐藤弘泰¹⁾, 味埜俊¹⁾, 伊藤公夫²⁾, 三木理²⁾

¹⁾東京大学大学院 環境学専攻, ²⁾新日鐵(株) 先端技術研究所

【目的】製鉄所排水(安水)は、高濃度のフェノール、チオ硫酸、チオシアン、アンモニアを含み、処理の難しい廃水の一つである。活性汚泥法(硝化脱窒プロセス)による安水処理では、脱窒が主要な反応の一つになるので、我々は活性汚泥中の脱窒細菌の群集構造の変化をプラントの処理水質と照合することで、処理効率に影響を与える微生物の情報を得たいと考えた。脱窒細菌は NO_2 を NO に還元する酵素“亜硝酸還元酵素(NIR)”を保有するが、NIR をコードする遺伝子には *nirS*, *nirK* の 2 種類がある。この 2 つの遺伝子は同種に共存しないといわれる。今回は *nirS* 保有の脱窒細菌にターゲットを絞り、*nirS* をターゲットとした PCR-DGGE 法を行い、群集構造を解析した。

【方法】製鉄所に設置された硝化脱窒プロセスのパイロットプラントおよび同排水を標準活性汚泥法により処理する既存のプラント(実プラント)から活性汚泥を採取し、Fast DNA kit for soil により DNA を抽出した。得られた DNA から *nirS* 断片を PCR 法により特異的に増幅した。PCR のプライマーには、Braker らによりデザインされた *Pseudomonas stutzeri* Zobell の *nirS*(855-1019)をターゲットとした *nirS*2F-3R に GC クランプを付けたものを使用した。PCR 産物は、アガロースゲル電気泳動によりバンドが 1 本となることを確認された後、ゲルの変性剤濃度勾配を 40-70%とした DGGE で 130V, 5 時間泳動され、再びバンドパターンとして確認された。

【結果・考察】実プラントおよびパイロットプラントから採取した活性汚泥中の脱窒細菌の群集構造は、下水処理場のものとは非常に単純であった。これは処理する排水の性質が下水と異なり極めて単純であることが原因だと考えられる。しかしながら実プラントの汚泥を種汚泥としたパイロットプラントでは、その運転開始から硝化脱窒処理が安定するまでの期間で、群集構造が完全に変化する様子が見られた。また硝化脱窒処理が安定するにつれ、ある決まったバンドパターンになる傾向も確認された。以上より、パイロットプラント内で実際に脱窒反応を担っているのは、限られた細菌種である可能性が高いと言える。