

排水処理設備の遺伝子診断技術

Genetic Diagnosis for Biological Wastewater Treatment Plant



技術開発本部
水汚泥技術開発部汚泥処理室
山下 哲生
Tetsuo Yamashita
赤 司 昭
Akira Akashi
(医学博士)

排水処理設備の維持管理手法について、従来の経験と勘に頼る汚泥濃度管理に代わり、指標細菌を管理することで精度よく水質を管理する手法を開発した。火力発電所から排出される窒素含有排水を処理する硝化脱窒処理設備の活性汚泥中に含まれる微生物をモニタリングした結果、脱窒槽に含まれる亜硝酸還元細菌の細菌数と処理水質との間に非常に高い相関性があることが判明した。これにより亜硝酸還元細菌あたりにかかる窒素負荷を管理することにより精度の高い水質管理、および窒素負荷に対する処理水質の予測が可能になった。

A diagnostic process using indicator organism was developed for biological wastewater treatment plant. Monitoring made on the behavior of some bacteria contributing to removal of nitrogen contained in the activated sludge of the plant of a thermal power station observed a high correlation between the count of nitrite-reducing bacteria and treated water quality. The process is composed of periodical determination of bacterial counts followed by adequate control of inlet nitrogen load as well as methanol injection as organic source. This will assure prompt and optimum operation and forecast the quality of treated water by inputting forecast inlet.

Key Words :

分子生物学的手法
c-PCR
指 標 細 菌

Molecular biological technique
Competitive polymerase chain reaction
Indicator bacteria

まえがき

生活排水や工場等からの排水は、活性汚泥法等の微生物処理が広く実施されている。通常、微生物による排水処理設備を維持管理する場合は、流入する排水の負荷に対して適切な微生物量、たとえば活性汚泥量を処理設備内に保持することが重要とされている。活性汚泥の濃度は主に浮遊性物質（SS）として管理され、活性汚泥に含まれる様々な微生物群を一塊の固形分として取扱っている。排水処理設備にかかる負荷の変動や水温低下などの阻害要因により排水処理状態が悪化した場合、汚泥に含まれる細菌の種類や菌数に変化が起きることは一般的に知られている。しかしながら活性汚泥量の管理からはその変化を情報として伝えることは困難である。そのた

め、処理状態が悪化した場合の運転管理は過去の経験や勘などを元に精通した管理者の頭脳に頼らざるをえないのが実情であった。その問題点の一つとしては、微生物による排水処理設備を管理するための明確な管理指標が無かったことが挙げられる。

近年、定量 PCR 法や T-RFLP 法などの微生物の分子生物学的手法に基づく解析技術の向上により、特定の細菌の種類、菌数を迅速かつ精度良く把握することが可能になった。¹⁾ 従来からも培養法や顕微鏡観察により細菌の種類や菌数を測定することは可能であったが、長い時間を要することやさらなる専門知識と熟練を要することから、日々変化する排水処理設備の管理指標として適用することは困難であった。

本開発では排水処理設備の運転状況をオペレータが客観的に評価できる管理指標を確立するため、排水処理設備に存在する微生物の遺伝子情報をモニタリングし、その情報に基づいて生物処理を維持管理するシステムの確立を目的としている。それにより処理性能に寄与する「指標細菌」を明確にし、指標細菌の菌数・体調を維持管理してオペレータの作業負担を軽減する次世代型水処理管理システムの確立を目指す。本稿では火力発電所における生物学的硝化脱窒処理設備にてシステムを検討した例について報告する。

1. 方 法

1.1 排水処理設備の概要

火力発電所排水処理設備のフローシートを図1に

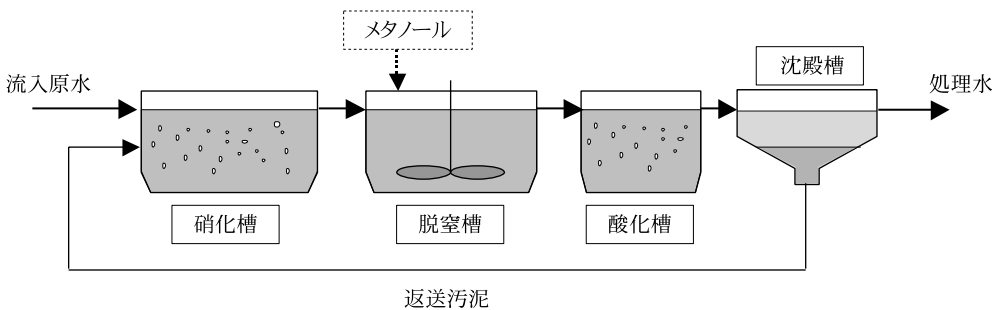


図1 火力発電所排水処理設備のフロー

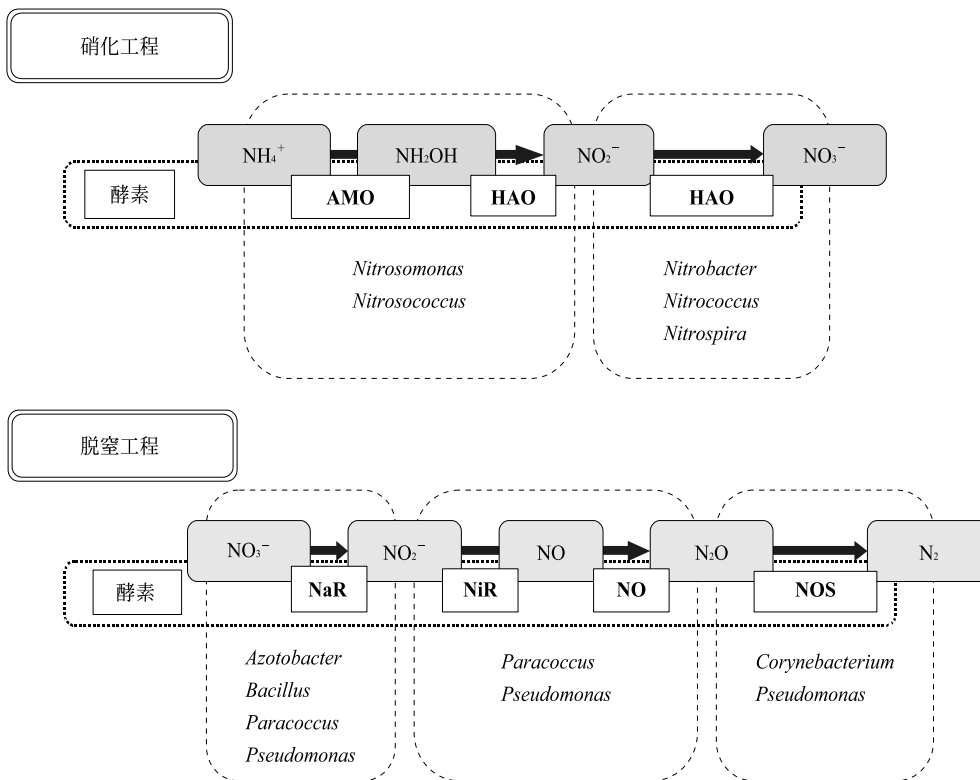


図2 窒素除去工程と硝化・脱窒に寄与する微生物

示す。排水は主に石炭を燃焼させたボイラ排気の脱硫排水や復水脱塩装置の再生排水より発生し、主にアンモニアや硝酸が含まれる窒素含有排水であり、これらを生物学的硝化脱窒法により除去をおこなっている。窒素含有排水はまず硝化槽へ流入し、アンモニアが硝酸態の窒素に酸化される。次に脱窒槽で窒素ガスに還元され、脱窒槽で残存した有機物は後段の酸化槽で除去される。その後沈殿槽で固液分離した後、窒素成分を除去した処理水は後段の物理化学処理工程に送られる。

1.2 硝化脱窒工程

生物学的硝化脱窒法の硝化脱窒工程は図2に示したとおり、アンモニアが酸化される硝化工程と硝酸態の窒素が還元される脱窒工程が単一の細菌でなく

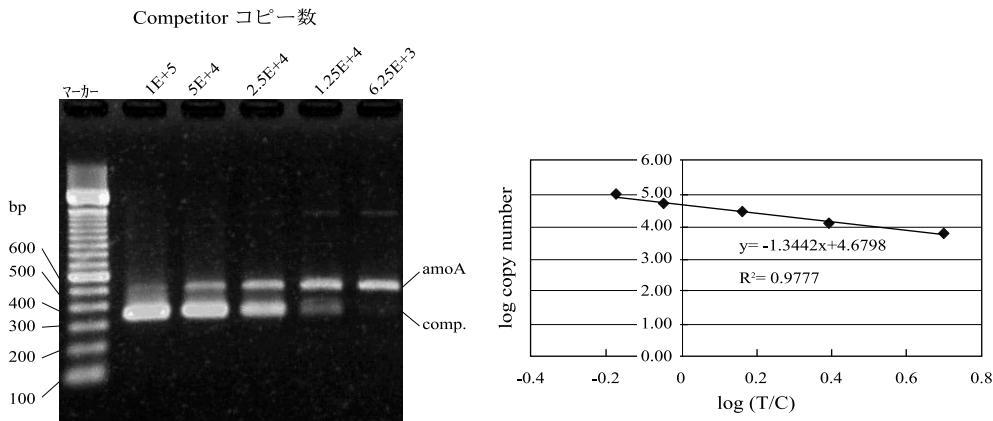


図3 c-PCR法によるアンモニア酸化細菌数計測の実施例

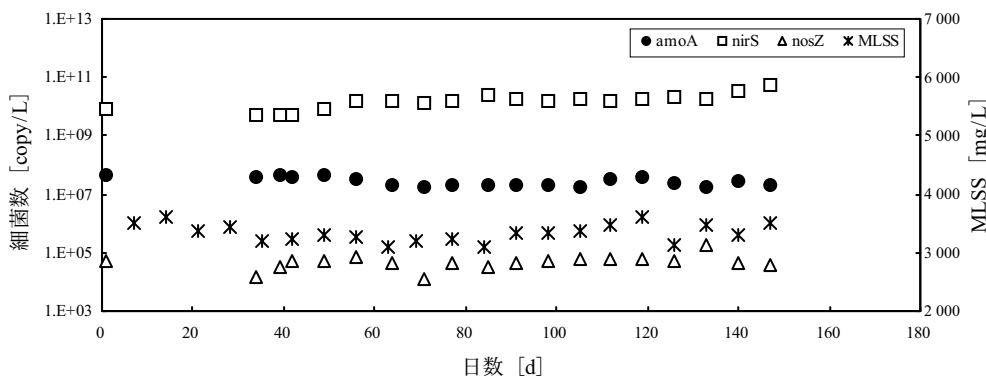


図4 各細菌数とMLSS濃度の推移

活性汚泥に存在する複数の細菌の働きで処理がおこなわれている。硝化工程の中ではアンモニアを亜硝酸まで酸化する *Nitrosomonas* や *Nitrosococcus* 等のアンモニア酸化細菌が硝化工程を司る重要な細菌であることが知られている。また脱窒工程では反応条件により起こりうる亜硝酸型硝化脱窒においても必ず経由する亜硝酸を一酸化窒素に還元する *Paracoccus* や *Pseudomonas* などの亜硝酸還元細菌、および最終的に窒素まで還元をおこなう *Corynebacterium* 等の亜酸化窒素還元細菌が重要細菌と考えられる。そこで本稿ではアンモニア酸化細菌、亜硝酸還元細菌および亜酸化窒素還元細菌について調査をおこなった。

1.3 細菌の定量方法

細菌の定量は c-PCR (競合 PCR: competitive PCR) 法によりおこない、アンモニア酸化細菌は *amoA* 遺伝子²⁾、亜硝酸還元細菌は *nirS* 遺伝子³⁾、亜硝酸還元細菌は *nosZ* 遺伝子⁴⁾ 数を測定した。サンプルはアンモニア酸化細菌の定量には硝化槽の汚泥を、亜硝酸還元細菌および亜酸化窒素還元細菌の定量には脱窒槽より汚泥を収集し、市販の DNA 抽出キットにより活性汚泥に含まれる全細菌の DNA

を抽出・精製した。精製した DNA にターゲット遺伝子を検出するために設計された塩基配列を有するプライマーをもちいて PCR 法により増幅し、それと同時にコピー数が既知の competitor を同時に増幅させた。これらの増幅した DNA をゲル上で電気泳動させた後エチジウムブロマイド染色をおこない、電気泳動ゲル撮影から蛍光強度を測定してターゲット遺伝子と遺伝指数が既知の competitor を比較して目的細菌の定量をおこなった。図3にアンモニア酸化細菌 (*amoA*) をターゲットにした c-PCR の実施例を示す。

2. 結果および考察

2.1 細菌数の挙動

調査対象の排水処理設備における管理指標となる細菌を検討するために、アンモニア酸化細菌、亜硝酸還元細菌、亜酸化窒素還元細菌の菌数を5カ月間継続的にモニタリングした。図4に細菌数および排水処理設備の MLSS 濃度の推移を示す。調査をおこなった期間ではアンモニア酸化細菌数および亜酸化窒素還元細菌数はほぼ横ばいであったが、亜硝酸還元細菌数は活性汚泥 1 L あたり 10^9 copies から 10^{10} copies オーダーへと約 1 オーダー増加する傾向

にあった。なお調査期間中の MLSS 濃度はほぼ横ばいで、汚泥濃度はほぼ一定であった。

2.2 細菌数と処理水質との相関

通常の排水処理設備での維持管理では活性汚泥あたりにかかる負荷により実施されることが多いが、ここでは個別の細菌数の測定結果をもちいて、それぞれの細菌の菌数あたりにかかる窒素負荷を算出した。図5～7にアンモニア酸化細菌、亜硝酸還元細菌および亜酸化窒素還元細菌 1 copy あたりにかかる全窒素負荷 (mg-T-N/copy・d) と処理水の T-N の相関を示す。通常は排水処理にかかる負荷が高くなるほど処理水の T-N は上昇する傾向にあるが、図6に示す亜硝酸還元細菌の菌数あたりの窒素負荷が上昇した際に処理水の T-N が上昇する相関性ももっとも高かった。これは図5、7に示したアンモニア酸化細菌や亜酸化窒素還元細菌は流入の窒素負荷との相関がまったくない訳ではないが、現状の窒素負荷であれば十分な細菌数が排水処理設備内に存在しているか、もしくは負荷の変動に細菌の増殖が十分に追従していると考えられる。しかし、図6に示した亜硝酸還元細菌は、負荷が増加するに従い処理水の T-N が上昇する傾向にあることから、亜硝酸から一酸化窒素への還元工程が本排水処理設備において律速段階にあると考えられた。つまり亜硝酸還元細菌の菌数や活性を適切に維持管理することにより、本排水処理設備を安定して運営管理することが可能になると考えられた。

3. 排水処理設備の生物診断システム

3.1 生物診断システムの作業フロー

調査結果から排水処理設備に存在する多くの種類の細菌の中で、処理性能を左右するキーとなる管理指標細菌の存在が明らかになった。この管理指標細菌の挙動を追跡することにより排水処理設備を容易に維持管理できる生物診断システムを以下に提案する。生物診断システムの一連の作業フローを図8に示し、調査をおこなった火力発電所排水処理設備を例に解説する。

① 定期診断

排水処理設備の汚泥をサンプリングして c-PCR 法等により管理指標である亜硝酸還元細菌の菌数を測定する。分析機関より菌数の測定結果を受け取り菌数を把握する。管理者側の手間はサンプリングして結果を受け取るだけなので従来の汚泥濃度 (SS) を管理する場合と同様である。また結果も2日程度で受け取ることが可能であり従来と同様のタイムラグで維持管理が可能である。

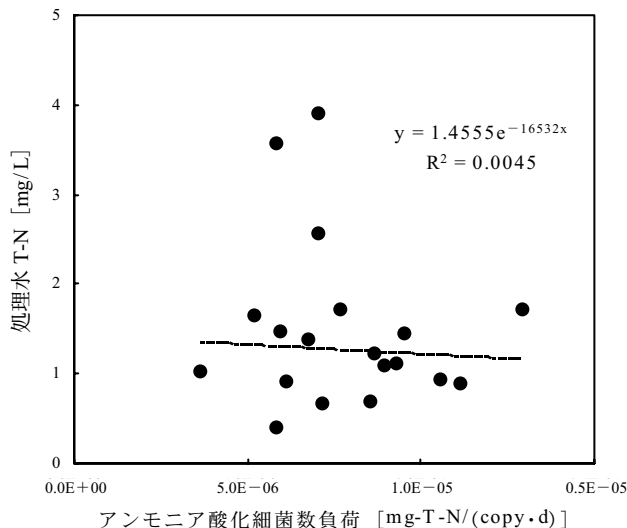


図5 アンモニア酸化細菌数負荷と処理水質の相関

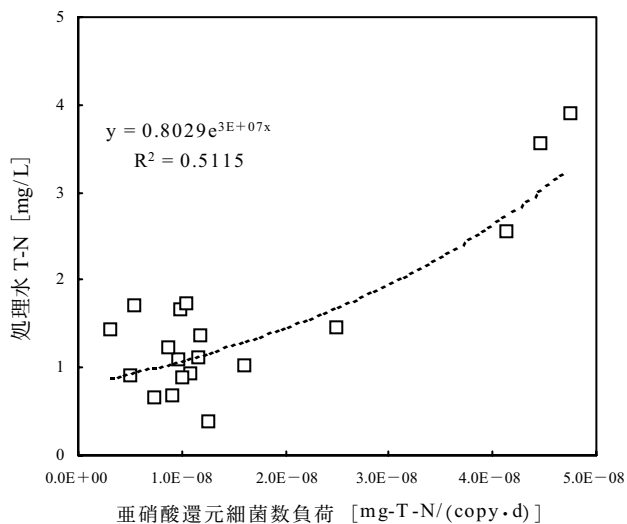


図6 亜硝酸還元細菌数負荷と処理水質の相関

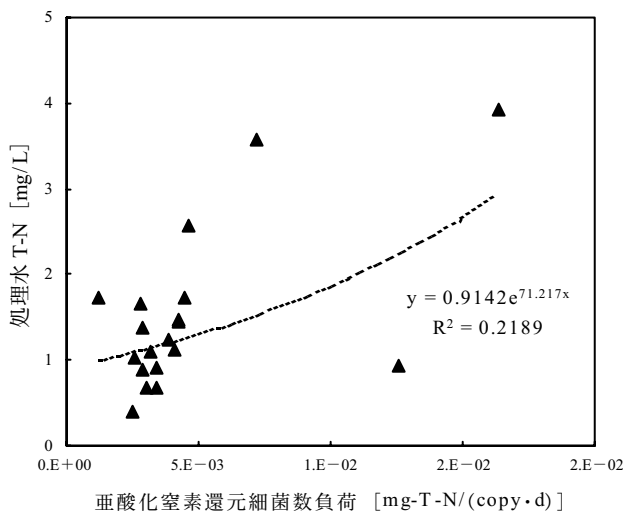


図7 亜酸化窒素還元細菌数負荷と処理水質の相関

② 負荷の管理

亜硝酸還元細菌数の測定結果から、現状の流入負荷に対する菌数あたりの負荷を算出する。図6との比較をおこない、現在の菌数負荷での運転でえられる処理水質を確認する。菌数負荷という客観的指標に基づいて管理をおこない、負荷に余裕があればそのまま運転を継続する。

③ 運転調整

図6より確認した処理水質が期待する水質に対して余裕がない場合は、亜硝酸還元細菌を増殖させて菌数負荷が小さくなるように運転調整をおこなう。調整方法は排水処理設備により異なるが、本排水処理設備における管理指標の亜硝酸還元細菌は従属栄養細菌に属するため有機源となるメタノールの添加量を調整することにより菌数を増加させることが一例としてあげられる。

3.2 生物診断システムのメリット

① 迅速な運転管理

汚泥中に含まれる特定の管理指標細菌の数が減少しても汚泥濃度にはほとんど反映されないか、もしくは反映されるまでに相当の遅れが発生する。しかし、管理指標細菌を直接管理することで、排水処理性能が悪化する前に運転調整をおこない水質の悪化を回避することが可能である。

② 水質の予測が可能に

図8に示したとおり、現状の負荷や管理指標細菌数から状況把握が可能であるが、今後予測される負荷を入力することにより、現状の運転状況で達成できる水質をあらかじめ予測することが可能になる。

③ 運転方法の最適化

排水処理の運転状況に非常に余裕がある場合、処理水質は安定する反面、管理指標細菌を維持するためのコストが高くなる。生物診断システムでは必要十分な管理指標細菌をモニタリングしながら、それを維持するための栄養やエネルギーを加えればランニングコストの低減が図れる。

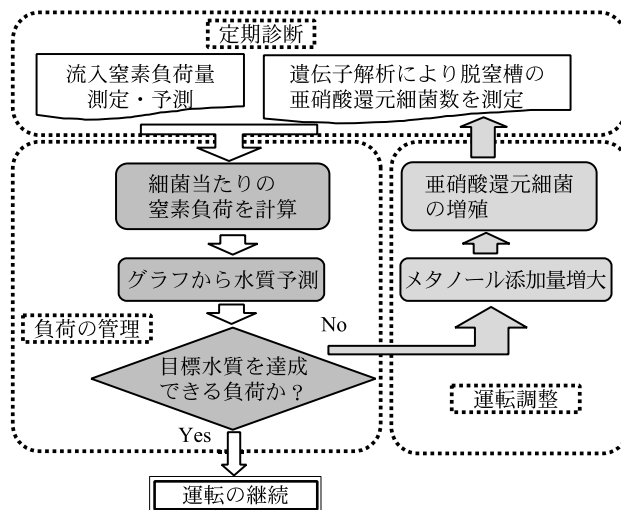


図8 生物診断システムの作業フロー

むすび

従来の排水処理設備の維持管理ではオペレータが状況を客観的に判断できる情報が少なく、経験に頼らざるをえなかった。しかしながら遺伝子診断システムを適用すれば、解析精度の高い微生物遺伝子情報をベースとして細菌数負荷という客観的な管理指標を基に管理できることから経験の少ないオペレータでも排水処理の維持管理が可能になる。また遺伝子診断技術も高速化・高精度化が日々進んでおり、より多くの種類の微生物を管理することも容易になるであろう。今後は排水性状に対する有用微生物のデータベースを蓄積するとともに、排水処理のみならずメタン発酵プロセスやバイオレメディエーションによる汚染土壌浄化技術などの環境微生物による処理プロセス全般への展開を図る。

[参考文献]

- 1) 赤司昭, 神鋼パンテック技報 Vol.45, No.2 (2001), p.10
- 2) Appl. Environ. Microbiol. 63 (1997), p.4 704
- 3) Appl. Environ. Microbiol. 64 (1998), p.3 769
- 4) FEMS Microbiol. Lett. 162 (1998), p.61