

下水処理プロセスにおける細菌群集構造と処理水質状況の 関連性に関する調査

長寄 真・石井淑大・重村浩之

1. はじめに

下水処理プロセスは無数の微生物によって構成される活性汚泥による生物処理が根幹を担っており、これによって公共用水域の水質保全に寄与している。現状の運転管理は活性汚泥濃度(MLSS)等の指標を用いており活性汚泥を一様なものとして扱っている場合が多いが、より安定的な運転を行うための新たな試みとして細菌群集構造データ(どのような機能を有する細菌がどれくらいの割合で存在しているのか)の活用が考えられる。これまで下水処理プロセスを担う微生物に関する様々な研究が行われてきたが(例えば山崎ら¹⁾)、活性汚泥において機能や役割が明らかとなっている微生物群はごく一部でしかなく、ほとんどの微生物群の生理・生態学的機能の全貌は明らかになっていない。将来の維持管理や処理水質の安定及び向上を実現させるためには、個々の微生物に関する生態学的な知見の蓄積・活用が重要である。

本研究では、活性汚泥中の細菌群集構造と処理水質状況の関連性を把握するため、複数の下水処理場から流入水、処理水、活性汚泥を採取し、炭水化物やタンパク質等の有機物や窒素等の濃度を測定するとともに、次世代シーケンサーによる活性汚泥の細菌群集構造解析を行った。

2. 研究方法

2.1 試料採取

3ヶ所の下水処理場において試料採取を行った。A処理場は標準活性汚泥法(標準法)、嫌気無酸素好気法(A2O法)、修正Bardenpho法(修正法)、循環式硝化脱窒法(循環法)の計4種類の処理方式を採用している。B処理場は標準活性汚泥法を採用し、C処理場は標準活性汚泥法、A2O法、嫌気好気活性汚泥法(AO法)、ステップ流入式多段硝化脱窒法(ステップ法)の計4種類の処



写真-1 採水の様子

理方式を採用している。標準法以外は、窒素もしくはリン、または両方を除去する処理方法である。

各系列最初沈殿池に分配前の流入水及びそれぞれの処理方式の反応タンク内の活性汚泥、最終沈殿池において処理水の採水を行った(写真-1)。採取時期、回数はA、B処理場においては2021年8月～12月の各月1回の計5回、C処理場においては2021年7月、12月、2022年1月の計3回である。

2.2 測定項目・測定方法

測定項目は、水温、pH、酸化還元電位(ORP)、電気伝導度、DO濃度、溶存有機炭素(DOC)、炭水化物、タンパク質、各態窒素(アンモニア態窒素(NH₄-N)、亜硝酸態窒素(NO₃-N)、硝酸態窒素(NO₂-N))、リン酸態リン(PO₄-P)、細菌群集構造である。細菌群集構造以外の項目については、流入水、処理水をGF/Bろ紙でろ過したものを分析した。細菌群集構造については活性汚泥を分析した。

測定方法は、水温、pH、ORP、電気伝導度、DO濃度については、ポータブル水質計で測定し



写真-2 次世代シーケンサー

た。DOCについてはTOC計にて測定した。炭水化物はフェノール硫酸法²⁾、タンパク質はローリー・フォリン法²⁾、NH₄-N、NO₃-N、NO₂-N、PO₄-Pは、自動比色分析機により測定を行った。細菌群集構造については16SrRNA遺伝子を標的としてPCR増幅を行った後に次世代シーケンサー（写真-2）で塩基配列を取得し、得られた結果を解析して細菌（Bacteria）、古細菌（Archaea）の同定を行った。

3. 結果・考察

3.1 有機物除去特性

有機物（DOC、炭水化物、タンパク質（全てmg/l））について各処理場の各処理方式毎の平均値を表-1に示す。炭水化物、タンパク質は文献³⁾を参考に下水に含まれている主要な有機物質であると考えられるため測定を行った。各試料名について、流入水は「処理場名_流入」とし、処理水については「処理場名_処理方式（略称）」で示す。DOCについて、除去率（（流入DOC－処理DOC）/流入DOC×100（%））を算出するとA処理場は処理方式に関わらず、約84~85%であった。B処理場は約77%であった。C処理場についても、処理方式に関わらず、67~70%の範囲であった。処理場間の除去率に違いは見られたが、A、C処理場内の処理方式毎の違いは見られなかった。

表-2に有機物組成（DOCに対する炭水化物またはタンパク質の割合）を示す。炭水化物につい

表-1 有機物（DOC、炭水化物、タンパク質）の測定結果（mg/L）

試料名	DOC	炭水化物	タンパク質
A_流入	25.64	3.09	8.14
A_標準	3.88	1.31	1.54
A_A2O	4.05	1.29	1.82
A_修正	4.09	1.19	1.58
A_循環	3.80	1.35	1.42
B_流入	33.04	4.33	15.01
B_標準	7.43	1.29	3.24
C_流入	12.29	2.17	5.63
C_標準	3.66	1.25	1.79
C_A2O	4.00	1.02	1.97
C_AO	3.79	1.25	1.94
C_ステップ	3.63	1.03	2.03

表-2 有機物組成

	炭水化物	タンパク質
A_流入	13.8%	35.8%
A_標準	34.1%	40.2%
A_A2O	31.8%	45.4%
A_修正	29.1%	39.0%
A_循環	35.5%	37.7%
B_流入	13.8%	48.9%
B_標準	18.8%	43.2%
C_流入	17.7%	44.9%
C_標準	34.0%	48.7%
C_A2O	25.2%	48.7%
C_AO	32.5%	50.5%
C_ステップ	28.4%	55.5%

て、流入水では、どの処理場も10%台であった。処理水について、B処理場は18.8%であったが、A、C処理場については、概ね30%前後であった。タンパク質について、流入水はA処理場が35.8%であり、B、C処理場は40%台であった。処理水はA、B処理場については、40%前後であり、C処理場は50%前後であった。

細菌群集構造との関連性について、本研究ではMiDAS Field Guide⁴⁾を活用した。MiDAS Field Guideでは活性汚泥等から検出される微生物の種類ごとに、微生物が持つ機能について知ることができる。炭水化物、タンパク質の除去についてMiDAS Field Guideから糖、タンパク質の代謝機能を持つ細菌を抽出した。MiDAS Field Guideには糖、タンパク質分解細菌がそれぞれ345属、198属登録されており本研究の試料からはそれぞれ78~140属、72~138属検出された。各試料の細菌群集構造の解析結果から、検出された全ての糖分解細菌、タンパク質分解細菌の各属の存在割合をそれぞれ足し合わせることで、全体の存在割合を算出した。算出結果を表-3に示す。

炭水化物のA処理場の処理方式毎の除去率は58~62%の範囲であり、違いがみられなかった。これは、糖分解細菌の存在割合が12.7~18.3%の範囲であり、大きな違いがなかったことによるものと考えられる。C処理場についても、処理方式毎の除去率は42.1~53.0%の範囲であり、大きな違いがみられなかった。同様に糖分解細菌の存在割合に着目すると16.6~20.9%の範囲であり、大きな違いがなかったことによるものと考えられる。

表-3 各有機物質の除去率及び糖、タンパク質分解細菌存在割合

試料名	炭水化物		タンパク質	
	除去率(%)	分解細菌存在割合(%)	除去率(%)	分解細菌存在割合(%)
A_標準	58.4	18.3	80.0	13.7
A_A2O	58.8	13.4	76.7	10.6
A_修正	61.6	12.7	79.6	9.4
A_循環	58.0	16.4	81.4	11.3
B_標準	67.8	28.3	78.1	17.5
C_標準	42.1	19.0	66.4	15.4
C_A2O	53.0	20.9	63.6	13.2
C_AO	43.2	20.6	63.9	12.8
C_ステップ	52.1	16.6	61.5	14.7

B処理場の糖分解細菌はA、C処理場よりも多く存在しており、除去率もやや高い。一方でA、C処理場について、糖分解細菌がC処理場の方がやや高い存在割合なのに対し、除去率がC処理場の方が低くなっており、処理場間で除去率と細菌の存在割合の関係は見出すことはできなかった。

タンパク質についてもA、C処理場ではそれぞれの処理場内の処理方式に関わらず、除去率に違いが出ないのは分解細菌の存在割合に大きな違いが出なかったからだと考えられる。炭水化物同様、A、C処理場について、タンパク質分解細菌がC処理場の方がやや高い存在割合なのに対し、除去率がC処理場の方が低くなっており、処理場間で除去率と細菌の存在割合の関係は見出すことはできなかったため、他の要因を含め検討する必要があると考えられる。

3.2 窒素除去

NH₄-N、NO₃-N、NO₂-Nの測定結果を図-1に示す。A処理場については修正Bardenpho法の窒素の除去率（表-4）が他の処理方式に比べやや高

いことが分かる。

B処理場については窒素がほとんど除去されていない。C処理場についてはステップ流入式多段硝化脱窒法が他の処理方式に比べ除去率はやや高いことが分かる。MiDAS Field Guideより、アン

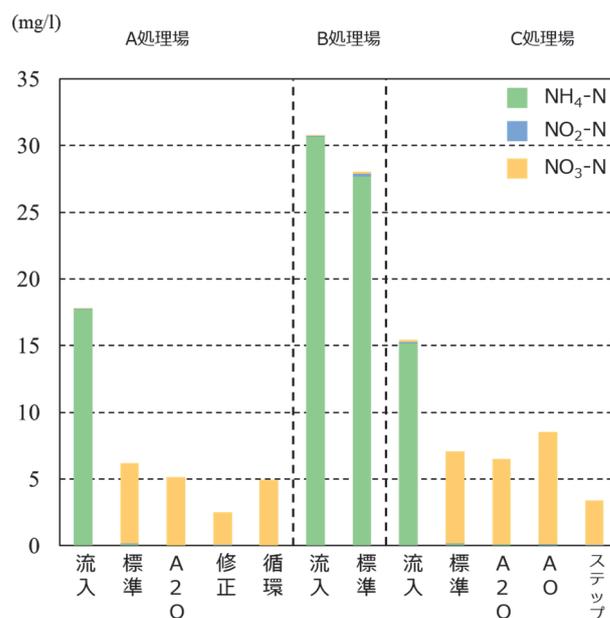


図-1 各態窒素濃度

表-4 窒素除去率及び窒素除去に関する細菌の存在割合 (%)

試料名	窒素除去率	アンモニア酸化細菌	亜硝酸酸化細菌	硝酸塩還元細菌
A_標準	65.1	0.97	0.21	3.96
A_A2O	70.9	1.22	0.18	3.63
A_修正	85.9	1.17	0.10	3.52
A_循環	72.2	1.12	0.25	4.23
B_標準	8.9	0.00	0.00	2.45
C_標準	54.2	1.4	0.13	7.46
C_A2O	57.7	1.7	0.16	5.98
C_AO	44.6	1.1	0.13	5.98
C_ステップ	78.0	1.6	0.06	10.85

表-5 硝酸塩還元細菌 (A処理場)

	<i>Anaerolinea</i> 属	<i>Acidovorax</i> 属	<i>Denitratisoma</i> 属	<i>Sulfuritalea</i> 属
標準	0.00%	0.06%	0.05%	0.20%
A2O	0.00%	0.03%	0.01%	0.06%
修正	0.03%	0.10%	0.13%	0.27%
循環	0.00%	0.07%	0.00%	0.14%

モニア酸化細菌 (NH₄-NをNO₂-Nに酸化する細菌)、亜硝酸酸化細菌 (NO₂-NをNO₃-Nに酸化する細菌)、硝酸塩還元細菌 (NO₃-Nを窒素ガスに還元する細菌) の抽出を行い、存在割合を表-4に示す。A、C処理場ではアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌ともに処理方式毎の違いがみられなかった。一方で、B処理場については、アンモニア酸化細菌が存在しなかったため、アンモニアが酸化されず、処理水において、流入水からほとんど窒素が除去されなかったと考えられる。硝酸塩還元細菌に着目すると、C処理場については、ステップ流入式多段硝化脱窒法において、他の処理方式よりも多く存在していることが確認されたため、窒素除去率が高かったと示唆される。一方でA処理場では処理方式毎の違いは見られなかったが、*Anaerolinea* 属、*Acidovorax* 属、*Denitratisoma*属、*Sulfuritalea*属については修正Bardenpho法に多く存在していることが分かり (表-5)、合計の存在割合だけでなく、個々の微生物が除去プロセスに関与する程度についても今後、検討の余地があると考えられる。

4. まとめ

本研究では、活性汚泥中の細菌群集構造と処理水質状況の関連性を把握するため、複数の下水処理場から流入水、処理水を採水し炭水化物やタンパク質等の有機物や窒素等の濃度を測定するとともに、活性汚泥の細菌集構造解析を行った。得られた知見を以下に示す。

- A、C処理場の処理方式毎の炭水化物、タンパク質の除去率に違いは出なかった。糖、タンパク質分解細菌の存在割合が同程度ならば処理方式によらず除去率は同程度になる可能性がある。一方で、処理場間の除去率と細菌の存在割合の関係は見出すことはできなかったため、他の要因を含め検討する必要があると考えられる。
- 窒素除去について、硝酸塩還元細菌に着目したところ、除去率の高かったステップ流入式多段硝化脱窒法では他の処理方式より、多く存在していることが確認された。一方で、個々の微生物が除去プロセスに関与する程度についても今後、検討の余地があると考えられる。

活性汚泥濃度等の水処理微生物量の総体だけでなく、活性汚泥中の個々の微生物の機能に着目することで、今後も、良好な下水処理水質を確保し、持続的に公共用水域の水質保全に貢献していきたいと考えている。

謝辞

本研究の実施にあたり、下水試料及び関連情報をご提供下さった関係者に深く感謝致します。

参考文献

- 1) 山崎廉予、出口 浩、5か所の下水処理場における活性汚泥内細菌叢の分類比較、日本水処理生物学会誌 第49巻 第4号 p.123~132、2013
- 2) 小山忠四郎、半田暢彦、杉村行勇、湖水・海水の分析 第7版、講談社サイエンティフィク、1982
- 3) 立本英機、安部郁夫、藤代光雄、原史郎、石橋美幸、下水中の溶解性有機物の組成、日本化学会誌、1986
- 4) MiDAS Field Guide、
<https://www.midasfieldguide.org/guide/search>

長 寄 真



国土交通省国土技術政策総合研究所
下水道研究部下水処理研究室 研究官
NAGASAKI Shin

石井 淑大



国土交通省国土技術政策総合研究所
下水道研究部下水処理研究室 研究官、
博士 (工学)
Dr. ISHII Yoshihiro

重村 浩之



国土交通省国土技術政策総合研究所
下水道研究部 下水処理研究室長
SHIGEMURA Hiroyuki