

サブテーマ名：D 高速分子進化の環境応用

小テーマ名：D2 低曝気活性汚泥法の原理の解明と最適化

フェーズ I<3-2-b>

[概要]

(1) 低曝気活性汚泥法の原理の解明と最適化

従来の曝気型活性汚泥システムを低曝気運転すると汚泥生成が抑制され臭気の発生も軽減される。浄化槽の主役はバクテリアなので、推定される機構は、バクテリアの呼吸が酸素呼吸から硝酸などを使った呼吸に変化し、有機物分解能が維持されているにもかかわらず、呼吸によるエネルギー生成量が抑制され、汚泥発生量が低減することである。これを実証するために、大型浄化槽で曝気量を下げた活性汚泥法を実施し、浄化槽中のバクテリア集団のメタゲノム解析を行うとともに、各種浄化槽パラメータの測定を行い、物質収支の推定を行う。

浄化槽サンプルから DNA を抽出し、どのバクテリアゲノムにも存在するリボソーム遺伝子を解析することによって、バクテリアの種類と数を推定する方法が賢明である。これをメタゲノム解析と言う。詳しくは PCR 増幅して得られた 16S リボソーム DNA をプラスミドにクローン化し、5' 末端側または 3' 末端側をシークエンスし、浄化槽中のバクテリアの分類を行うものである。クローン数は単純に浄化槽サンプル中のバクテリア数を反映しており、クローン数の多いものほど、実在のバクテリアが多いものと考えられる。

(2) 低曝気活性汚泥法により醸成する生理活性を持つ処理水の機能解析と応用

低曝気活性汚泥法では流入調整槽及び反応槽へ処理水を戻し、家畜屎尿の場合は家畜屎尿堆肥作成の過程で処理水を散布する。

家畜屎尿を低曝気回分式浄化槽で処理すると 2 週間で悪臭（硫化水素とメチルメルカプトン）がなくなる。この上澄みを堆肥作成過程に散布する。1 ヶ月で出来上がった堆肥は堆肥としての特性を備えていて、臭気が少ない。乳牛畜舎 2 カ所、養豚畜舎 1 カ所、畜産研究所（牛と豚）1 カ所に低曝気回分式浄化槽を設置して消臭効果を確認した。

[フェーズ I の研究成果]

(1) 低曝気活性汚泥法の原理の解明と最適化

1. 食品加工工場浄化施設では低曝気にして 3 ヶ月経つと全体の 20% を占めた *Anaerolineacea* が消失し、未分類 *Comamonadaceae* が全体の 50% を占めるようになった。後者は硝酸還元・脱窒近縁菌である。低曝気法の予想原理を支持する結果であった。ちなみに流入汚水中の目立った (30%) バクテリアは *Comamonadaceae* に属する *Brachymonas* であった。驚くことに、低曝気運転した冷凍食品加工工場浄化槽汚泥の組成がミュンヘン都市下水浄化施設の汚泥組成とよく似ていたことである。

2. 低曝気運転して 2 年間にわたり汚泥の搬出がなかった大型レジャー施設の浄化施設汚泥に際立った主力菌の偏りはみられなかった。主力菌種群は半数がプロテオバクテリアで、アクチノバクテリア、バクテロイデテスが目立った。プロテオバクテリアのうちでは突出したクラスがなかった。

3. 家庭生ゴミを投入し続けて、3 ヶ月を要してスターターとなる汚泥なしに立ち上げた 600 規模の低曝気運転実験槽の主力菌はフラボバクテリウムで、生ゴミ自身がこのバクテリアに汚染されていた。台所でポリ袋に捨てられる生ゴミを粉砕して DNA 解析した結果である。フラボバクテリウムは脱窒能をもつバクテリア群である。この汚泥システムに牛乳排水を投与すると数週間で主力菌種が *Betaproteobacteria* に入れ替わった。この主力菌群では食品加工工場の場合に見られた偏り (*Burkholderiales*) は見られなかった。なお、生ゴミ処理時の大学実験槽に古細菌を検出した。古細菌には現在 4 つの門があり、検出されたものは

Euryarchaeota(ユリアーキオータ)門に属する *Methanomicrobia* であった。古細菌は我々の周辺にいる。真核細胞(カビや原生生物)も検出された。

[フェーズⅡの研究成果]:

(1) 低曝気活性汚泥法の原理の解明と最適化^[海外論文 54]

4. ミルクステーションでは生乳を運搬したタンクローリーの洗浄水を低曝気処理するシステムを新設し、実証実験を行い、汚泥転換率が活性汚泥法に比べ非常に低くなることが確認された。汚泥微生物の組成は *Betaproteobacteria* が目立ったが食品加工工場のような偏りはなかった。

5. 下水道実験施設では実際の都市下水について、従来の活性汚泥法運転と低曝気運転を併用して実施し、低曝気運転では汚泥転換率が小さくなることを確認している。汚泥微生物の組成は *Proteobacteria* が目立ったが食品加工工場の場合のような偏りはなかったが、低曝気汚泥消化槽では際立って *Gammaproteobacteria* が目立った。

このように、複数の浄化施設で低曝気運転の有効性が確認されつつある。DNAによる汚泥微生物の分布の推定からわかったことは、酸素分圧を下げた結果として硝酸などを呼吸に使う細菌が主力菌群として登場することである。これは食品廃水の場合に顕著であった。酸素分圧にまず呼応するのは遺伝子発現をへた呼吸系の変化であり、この変化の方が主力菌個体群密度の変化より早い。汚泥量の増加抑制と臭気の抑制が見られるのは複合効果で、発酵過程も含んだ呼吸形態の変化に起因するものと思われる。この原理は液体系であっても固形系であっても適用出来るはずで、牛糞堆肥作成過程に適用出来ることも不思議なことではない。世上言われるような特殊な細菌を必要としないこともこの改良法の特徴である。人為的にコントロールされた浄化槽などと言っても機能している微生物(細菌)は自然界由来のものであり多種多様なもので構成されている。また、少し時間をかければ、スターターなしに浄化槽汚泥は出来上がる。

(2) 低曝気活性汚泥法により醸成する生理活性を持つ処理水の機能解析と応用:

乳牛尿尿の低曝気回分式処理では3ヶ月の処理で、*Betaproteobacteria*が10%から32%に増え(*Burkholderiales*が8%から30%)、*Firmicutes*が50%から10%へ(*Clostridiales*が48%から6%)減った。上澄み水の組成分析は未完であるが、pH, BOD, COD, SS, N-hexan, P, SO₄, NO₃, 多糖(高分子、低分子)、タンパク質(高分子、低分子)、金属(Na, Si, Cu, B, S, Mg, Ca, K, P, Fe)、400種程のメタボライトを解析した。

この処理上澄みを尿尿堆肥に散布し、作成に必要な1ヶ月に渡る堆肥中の細菌組成を解析したところ、低曝気回分処理に見られた変化はなく、ほぼ一定した組成が示された。堆肥としての特性は遜色なく、しかも消臭効果が現れた。

家畜尿尿処理槽と家畜糞尿堆肥: 畜産排水処理の例として乳牛の尿尿を回分式浄化槽で低曝気処理し消臭化した処理水を、牛糞堆肥の消臭化に応用した。尿尿を低曝気処理すると2週間ほどで悪臭が消える。この間の汚泥微生物のメタゲノム解析を2ヶ月にわたって解析した。この間、汚泥の増加は見られなかった。顕著なこととしては、*Clostridiales*が大幅に減少し、*Betaproteobacteria*の*Burkholderiales*が顕著に増加した。後者は食品加工工場浄化槽汚泥の主力菌として観察された細菌群と近縁菌であるので、低曝気活性汚泥法の予想通りに、汚泥増加の抑制と臭気の軽減が確認された。このようにして得られた乳牛尿尿処理水を、1ヶ月にわたり堆肥(木屑と藁を含んだ牛糞)に散布し、攪拌した。出来上がった堆肥はC/N比が20ほどであり、臭気がなくなった。堆肥作成の1ヶ月の過程で、メタゲノム解析によって分かったことは、微生物の分布はあまり変化しなかったことである。ことに回分式尿尿処理で減少した*Clostridiales*は主力菌であり分布頻度には変化が見られなかった。臭気のなくなった堆肥は引き合いが増加し始めた。豚の尿尿処理も同じ方法で開始した。

[今後の展開] :

- (1) 低曝気活性汚泥法の原理の解明と最適化 :
 - ・ 大型・中規模浄化施設の改良工事
- (2) 低曝気活性汚泥法により醸成する生理活性を持つ処理水の機能解析と応用
 - ・ 埼玉県畜産研究所との共同研究で科学的な解明