

汚泥マイクロバイーム解析による 廃水処理技術高度化への研究展開

成廣 隆 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生命工学領域研究戦略部 企画主幹, (兼)生物プロセス研究部門 主任研究員

発表概要

廃水処理プロセスの内部では多種多様な微生物が汚泥に含まれる有機物・無機物の分解・除去を担っているが、それら微生物群の生理・生化学的機能の全貌は明らかになっていない。我々の研究グループでは、廃水処理に関連する微生物群のゲノム情報を詳細に調べることで、処理効率の安定化、各種化学物質の浄化処理へ向けた機能性の向上に資する新規微生物機能を発掘することを目指しており、そのいくつかの研究事例について報告する。

都市下水処理の現場においては、施設の定期点検や突発的な補修工事に伴い、各種運転条件を一時的に変える必要がある。このような変動的な運転条件下においては、何らかの原因により処理水質の低下が引き起こされる可能性が内在している。ひとつの事例として、国内都市下水処理施設における一部の最終沈殿池の運転停止に伴い、前段の反応タンクへの流入下水量を一時的に上昇し、その後、通常負荷に戻すという変動的な運転が実施された。その間、処理水質は概ね良好な状態を保ったが、通常負荷に戻した後にアンモニア濃度の一時的な上昇が観測された。このような実規模都市下水処理施設における反応タンクへの流入下水負荷の上昇が、活性汚泥を構成する微生物群の組成や存在量に及ぼす影響を調べた事例はほとんど報告されていない。そこで本研究では、当該期間中の活性汚泥試料を採取して16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を実施し、流入下水負荷の上昇が微生物群集構造に及ぼす影響を解析した。

1-4系反応タンクへの流入下水量はほぼ均等

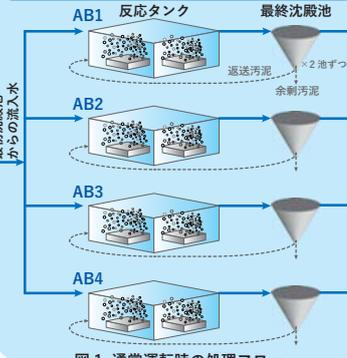


図1. 通常運転時の処理フロー

1-3系反応タンクへの流入下水量が增加

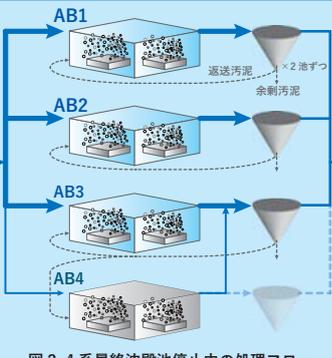


図2. 4系最終沈殿池停止中の処理フロー

16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析の流れ



データ処理の概要

- ・ペアエンドリードのアセンブル¹⁾
- ・低品質リードの除去^{1,2)}
- ・相同性97%カットオフに基づく作業単位 operational taxonomic unit (OTU) の抽出²⁾
- ・キメラ配列の除去²⁾
- ・PyNAST アライメント²⁾
- ・BLASTによる taxonomy assignment^{2),3)}
- ・UniFracに基づく多変量解析²⁾

表1. 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンシングの結果概要

年月	種数	OTU数	平均OTU数	OTU数/1g	
1系	2016.12.7	84,919	4,476	47.6%	9,374
	2016.12.14	88,319	5,773	47.6%	10,511
	2016.12.21	74,963	4,492	47.2%	9,339
	2017.1.8	71,413	3,677	46.1%	8,999
	2017.1.15	74,629	4,213	46.5%	11,487
	2017.1.22	85,381	4,614	47.2%	10,596
2系	2016.12.7	88,473	3,773	47.2%	9,384
	2016.12.14	87,267	4,428	47.2%	10,596
	2016.12.21	78,044	3,863	46.6%	9,861
	2017.1.8	78,044	3,863	47.2%	10,596
	2017.1.15	88,473	4,428	47.2%	10,596
	2017.1.22	88,473	4,428	47.2%	10,596

- 各汚泥から7万-10万リードのデータを取得した
- 3500-4400種の微生物から構成されていることが示唆された

流入下水増加に伴うNH₄/NO₃の蓄積と微生物群集構造に及ぼす影響

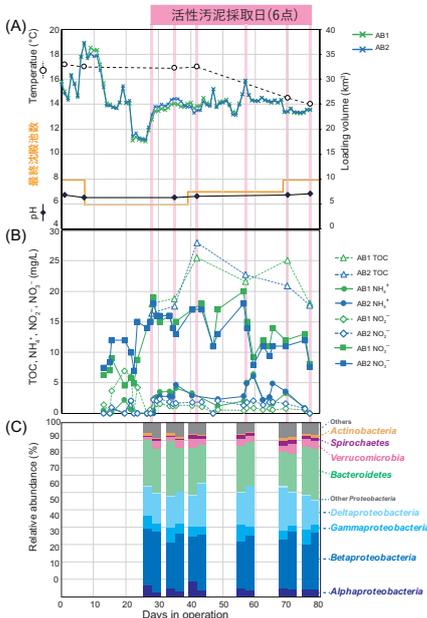


図3. モニタリング期間における(A)流入下水pH、温度、(B)全有機炭素量、アンモニア、硝酸、亜硝酸、(C)微生物群集構造の変化

- 工事に伴い使用可能な最終沈殿池数が減ったため、約1週間、1系・2系反応タンクへの流入下水負荷を上昇した
- 流入下水量の負荷を元に戻した後、反応タンク内に硝酸・アンモニア等が蓄積する傾向にあった
- Betaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Bacteroidetesに属する微生物が優占して存在していることが示された。
- 流入下水量が可及的に上昇した際、最終沈殿池が6-7池しか稼働していなかった期間(28-57日目)は1系・2系で微生物群集構造が大きく異なっていたが、8池に戻った後(70日目以降)は比較的類似した

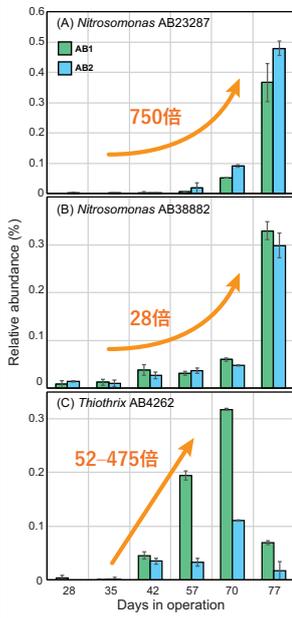
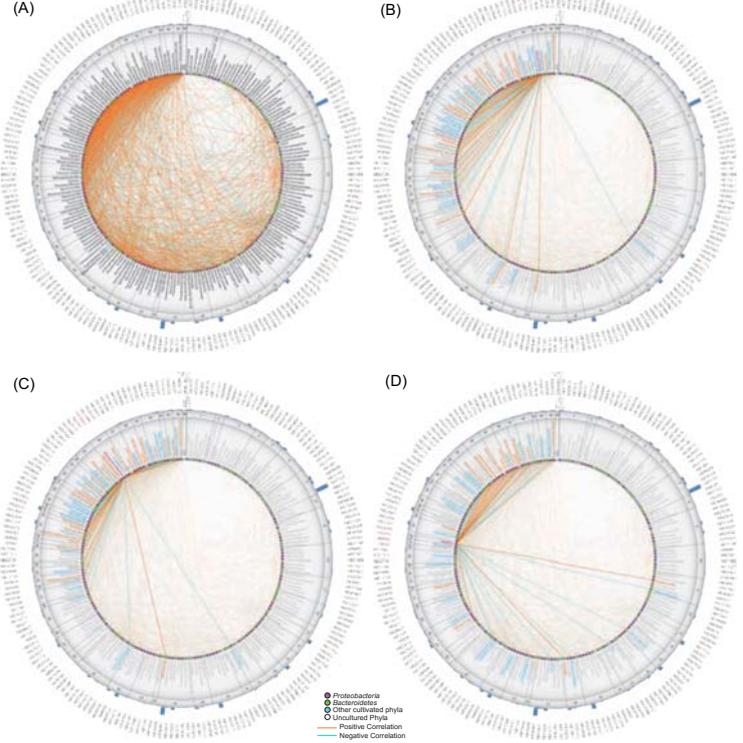


図4. (A) Nitrosomonas 属細菌 AB23287, (B) Nitrosomonas 属細菌 AB38882, (C) Thiothrix 属細菌 AB4262 の存在量の変化

- アンモニア酸化能を有する Nitrosomonas 属細菌に近縁の OTU の存在量は、8池になった後に急激に回復する傾向にあったことから、処理効率の回復と密接にリンクしていることが示唆された
- 工事期間が長引き、処理水質の負荷を通常よりも高くし続けた場合、Thiothrix 属細菌の存在量が増加しバクテリアを引き起こす可能性が示唆された



- 全微生物群集構造データセットの上位200位(約80%を占める)までの主要微生物を対象とし、各サンプル中での存在量に基づきピアソンの順位相関係数を算出。統計学的に有意($p < 0.05$, $p < 0.001$)な正の相関と負の相関を、それぞれ青色と黄色の線で結んだものである。全部で2509個(正の相関が1252個、負の相関が1257個)の相関が見出された。
- 円の外周には、各微生物の微生物群集構造データセットにおける相対存在量(%)を棒グラフで示す。
- アンモニア酸化を担う Nitrosomonas 属細菌 AB23287, AB38882 は、それぞれ63種、56種の相関関係を有し、様々な微生物と相関していることが示唆された。
- Nitrosomonas 属細菌 AB23287 と正の相関関係にある微生物のうち、Myxococcales 目に属する粘性細菌が Myxochelin や Nannochelin といった siderophores を生産する能力があることが報告されており、これらの粘性細菌、およびその代謝産物がアンモニア酸化面の存在量に影響していることが示唆された。
- 糸状性バクテリア関連種として知られる Thiothrix 属細菌 AB4262 も、42個という比較的多数の相関関係を持っているが、既報において、0.19%以上の Thiothrix 属細菌が検出されると SS が顕著に上昇し、バクテリアを引き起こしたという報告があり、今回の解析期間では最大0.32%まで存在量が増加した。
- また、アンモニアイオン濃度が Thiothrix 属細菌の生育に関与していることも示唆されている。
- Thiothrix 属細菌 AB4262 は、AOB および Myxococcales 目の4つの OTU と正の相関関係があった。
- 流入下水負荷の上昇は AOB や粘性細菌だけでなくバクテリア原因菌にも影響していることが示唆された。

まとめ

国内都市下水処理施設の活性汚泥を対象とした微生物群集構造解析の結果、流入下水負荷の上昇がアンモニア酸化細菌の存在量の低下を引き起こし、処理水質の悪化に関連していることが示唆された。また、流入下水負荷の上昇は糸状性バクテリア原因微生物の増加にも関与しており、反応タンクへの流入下水負荷を高く維持する期間が長引くとバクテリアを引き起こす可能性が示唆された。運転条件変更期間中の活性汚泥微生物群集構造を詳細に解析した今回の結果は、反応タンクへの流入下水負荷を上昇しても良い期間を正確に把握するための情報源となり得ると考えられる。