

活性汚泥の菌叢解析による生物学的排水処理の高度化



住友化学株式会社 バイオサイエンス研究所
朝 子 弘 之

はじめに

近年、世界人口の急激な増加により、発展途上国を中心に飲用に適した水の確保が喫緊の課題となっている¹⁾。産業活動、特に化学工業や鉄鋼業などにおいては大量の工業用水を必要とするため、工業排水をヒトや環境生物に与える影響を十分に低下させた状態で自然環境に戻すことは、製造事業者として当然果たすべき重要な社会的責任である。また、地球環境保全に対する意識の高まりや法規制のみならず、社内においても、新製品の高機能化・化学構造の複雑化により、少量多品種マルチ生産型工場では排水に含まれる難分解性化合物のライフサイクルマネジメントが求められている。従って、従来にも増して確実かつ安定的に排水を自然界に還元可能なレベルまで浄化できる処理、とりわけ複合微生物系である“活性汚泥”を用いた生物学的処理を支援できるシステムの開発が強く求められている。

当社では、活性汚泥を構成する数万種類におよぶ微生物の群集構造（菌叢）を網羅的に解析する技術を土台にして、分子生物学的手法に基づく特定微生物のモニタリング技術や当社独自の活性汚泥微生物固定化技術などを駆使し、社内の具体的課題の解決を目指した研究を展開してきた。本稿では、当社工場における活性汚泥を用いた生物学的排水処理の高度化のために開発した「菌叢解析技術を用いた活性汚泥診断システム」と、無機微粒子担体と微生物とを凝集造粒化した「微生物製剤を用いた難分解性化合物含有排水の生物学的処理法」について概説する。

菌叢解析技術を用いた活性汚泥診断システムの開発

下水処理や工場排水処理などに利用されている生物学的排水処理プロセスは、通常、排水中の“汚れ”（主に有機化合物）を活性汚泥によって分解するための曝気槽、活性汚泥と処理水を分離する沈殿槽で構成される（Fig. 1）。活性汚泥は、主に有機化合物を分解する細菌、酵母やカビのような真核微生物、細菌を捕食す

る原生動物や微小後生動物など、多様な微生物で構成されている。活性汚泥における従来の菌叢解析法として、①固体培地上で微生物を培養し解析する方法、②クローンライブラリー法などのPCR（Polymerase chain reaction）を利用する方法、③FISH（Fluorescent *In Situ* Hybridization）法などの直接観察法が挙げられる。ただし、①では難培養微生物や共生細菌などが培養不能で網羅的な解析が困難である点、また②や③でも網羅的な解析は難しく、加えて解析に時間とコストの掛かる点が課題であった。一方、ゲノム（遺伝情報）を圧倒的に低コスト・短時間で解析可能な次世代シーケンサーと呼ばれる機器が2000年代半ばに米国で開発され、微生物を培養することなくゲノム情報を網羅的に解析することが可能となった。当社では、細菌が共通に保有し菌種によってその配列が異なる16S rRNA遺伝子に着目し、当社各工場の活性汚泥に含まれる菌叢を次世代シーケンサーにより経時的に解析することとした。

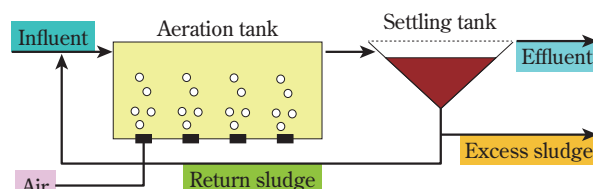


Fig. 1 Diagram of an activated sludge system

まず、当社工場の活性汚泥中の微生物からDNAを抽出し、16S rRNA遺伝子部分を増幅させ（16Sアンプリコン）、その配列情報と増幅量データから菌叢解析を実施し、各菌叢を生物分類学上の上位階級である「門」レベルで比較解析した。その結果、活性汚泥中の菌叢は、処理施設ごとに大きく異なることが明らかになった（Fig. 2）。また、特定の処理施設から活性汚泥を経時的にサンプリングし、菌叢解析後、優占細菌種の存在割合をグラフ化した結果、同一施設であっても個別の構成細菌の出現割合は時々刻々と変化することが明

らかとなった (Fig. 3)。さらに、当社各処理施設における数年分の菌叢解析データからサンプル間の細菌群集類似度指数を遺伝子情報の類似性を加味して算出した結果、処理施設ごとに細菌群集間の類似度が高いことが明らかとなった (Fig. 4)。

以上の結果から、各処理施設の活性汚泥の菌叢は、排水中の化合物種などの影響により経時的に優占菌種は大きく変動するものの、構成細菌種は年間を通じて維持されていることが明らかとなった。すなわち、各処理施設において安定的な排水処理が可能であるのは、

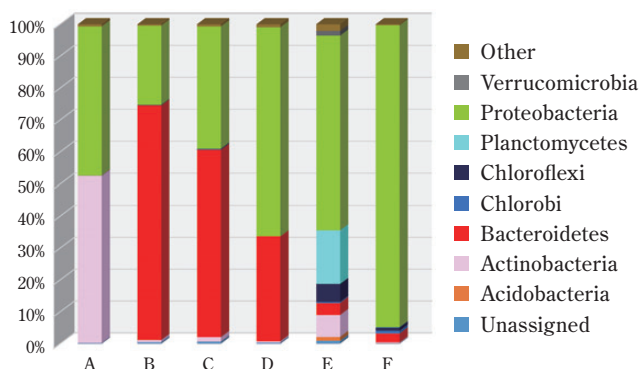
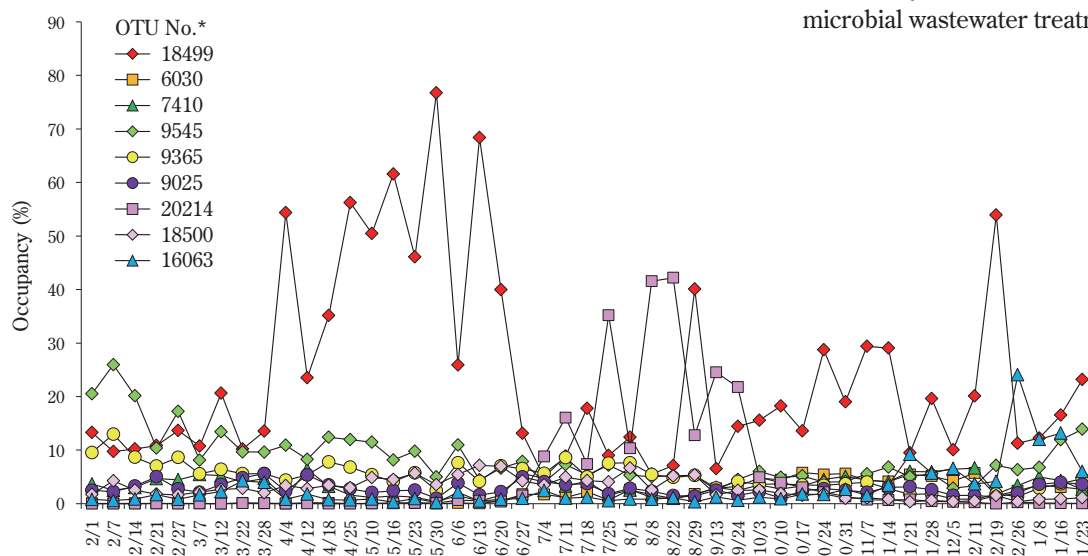


Fig. 2 Bacterial community composition at a phylum level in the activated sludge of SCC's microbial wastewater treatment plants A-F
SCC: Sumitomo Chemical Co., Ltd.

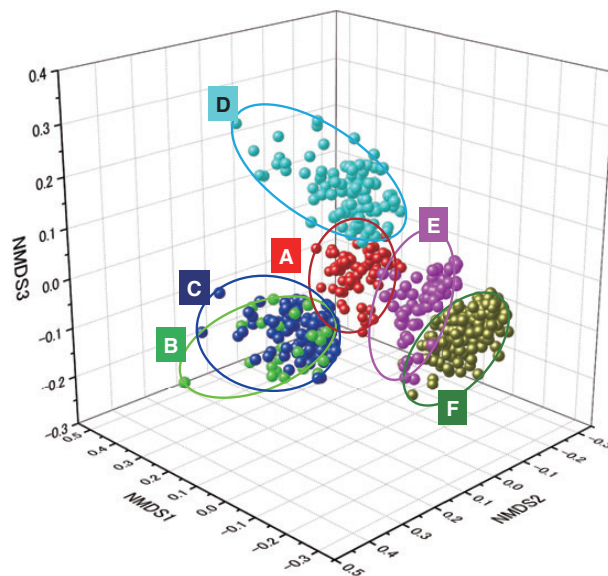


*OTU (operational taxonomic unit) number represents the individual bacterial species.

Fig. 3 Annual trends of dominant bacteria in an activated sludge

活性汚泥中の菌叢がある程度一定に維持されているためであると考えられた。

この仮説を検証するために、処理施設で維持されている活性汚泥の菌叢を人為的に変化させた汚泥サンプルを調製し、その排水処理能力を調べた。具体的には、



*UniFrac: a β -diversity measure used for comparing biological communities

Fig. 4 Non-metric distance scaling (NMDS) analysis of the unweighted UniFrac* distance indices of the bacterial community at OTU level in SCC's microbial wastewater treatment plants A-F

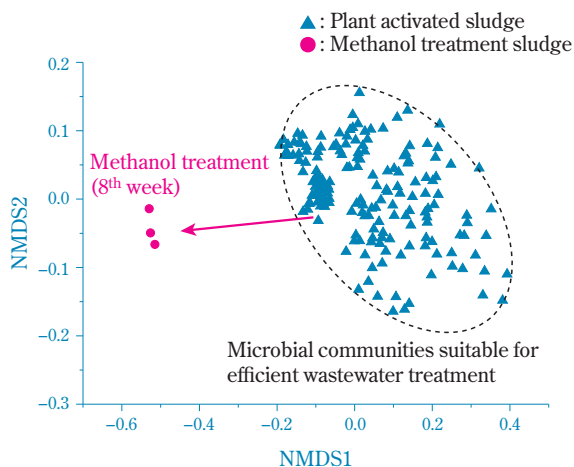


Fig. 5 NMDS plot of the unweighted UniFrac distance of the bacterial community

処理施設から採取した活性汚泥を用いてメタノールのみを有機化合物として含む人工排水を約8週間処理した後、菌叢解析した。その結果、処理後8週目の汚泥の菌叢は、元の汚泥の菌叢から大きく変化していることが確認された (Fig. 5)。また、(S)-2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutanoic acid (以下、CPMBと略す) の分解能力を菌叢変化前後の汚泥で比較した結果、菌叢変化前の汚泥では処理開始直後から90%以上の分解率を示したのに対し、菌叢変化後の汚泥では処理開始から6日経過後も60%程度と低い分解率であった。

このようなデータを基に、活性汚泥の菌叢状態を診断・監視する管理システムを開発した。すなわち、Fig. 5のように菌叢解析データを視覚化すると共に各データに排水処理能力データを付与することにより、排水基準を満たす処理能力を有する菌叢の範囲を統計的に設定することに成功し、その範囲から逸脱した場合に警告を発する診断・監視システムを開発することができた。本システムにより、活性汚泥の状態を把握できるだけでなく、新規化合物が含まれる排水が活性汚泥に

与える影響や、排水処理運転条件変更が活性汚泥に与える菌叢変化の程度などを事前の小スケール検討結果から予測することが可能になった。

微生物製剤を用いた難分解性化合物含有排水の生物学的処理法の開発

生物学的排水処理現場では、生産計画などにより排水中の有機化合物成分が変化した場合に、その対象排水を低濃度で曝気槽に添加し、徐々に濃度を高めていくことにより、活性汚泥中の対象化合物分解微生物を増やし、分解能力を高める“馴養”と呼ばれる方法で安定的な排水処理に対応している。しかし、馴養法は、分解に寄与する特定微生物を増加させる必要があるため微生物固有の増殖速度に依存し、長時間を要する。これを解決する手段として、微生物を無機微粒子担体に高密度に凝集造粒化して製造した微生物製剤を添加する方法が報告されている²⁾ (Fig. 6)。本微生物製剤は特定の機能をもつ有用菌が高密度化されているだけでなく、曝気槽内で流動性を保持しつつ、沈殿槽では良好な沈降性を示すため、高い活性汚泥濃度が保持されることで効率的な生物学的排水処理を実施可能な点が特徴である。

本微生物製剤は、無機微粒子担体と活性汚泥とを混合し、これに経時的に負荷量を上げながら対象化合物を含む排水を連続的に与えて対象化合物分解微生物を優占化していくという手法で製造する。本微生物製剤はさまざまな分解微生物に適用可能であるが、これまで窒素除去に関わる硝化菌しか報告例がなかった。そこで、上記と同様にCPMBを含む排水を用いて活性汚泥中のCPMB分解微生物を優占化させ、微生物製剤を調製した後、優占化したCPMB分解菌叢を次世代シーケンサーにより解析した。加えてCPMB分解微生物を特定・単離し、CPMB分解能力を確認した。前項で示したメタノールにて人為的に菌叢を変化させた活性汚泥 (CPMB分解能力が低下した菌叢) に、CPMB分解

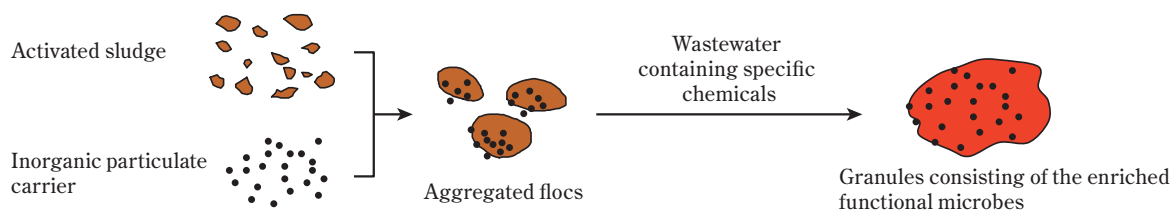


Fig. 6 Development of microorganism formulation

微生物製剤を添加し、CPMBの分解能力を比較した結果、微生物製剤の添加により処理開始直後から分解率が概ね100%となり、非常に効率的にCPMBを分解可能であることが示された。

おわりに

本稿では、これまで困難であった活性汚泥の菌叢を経時的かつ網羅的に解析し、生産品目などによらず安定的かつ効率的に排水を処理できる運転管理システムおよび微生物製剤を用いた難分解性化合物含有排水の生物学的処理法の開発について概説した。現在、開発技術は当社内処理施設に適用され、検証が進められている。また、環境省との「エコ・ファーストの約束」に沿って研究を展開し、社外での適用拡大も視野に入れ

て進めていきたい。すべての生命の源であり、かけがえのない貴重な資源である水を無駄なく使用し、きれいにして戻すという責任を確実に果たすため、菌叢解析技術を用いた排水処理の安定化や高度化を積極的に推進し、持続可能な社会の発展に貢献していきたい。

引用文献

- 1) E. Corcoran *et al.* (eds.), “Sick Water? The central role of wastewater management in sustainable development. A Rapid Response Assessment.”, United Nations Environment Programme, UN-HABITAT, GRID-Arendal, (2010).
- 2) 中村 洋介・青井 正廣, 住友化学, **2003-II**, 19 (2003).