

2-2-1 活性汚泥中の細菌叢に関する基礎検討調査

計画調整部 技術開発課

濱本 亜希 佐藤 浩一 富田 雅昭

1. はじめに

下水の活性汚泥処理は、微生物（細菌）のはたらきを利用して有機物や窒素、りん等を除去する生物処理であるが、生物活動は温度の影響を受けるため、水温が低下する冬季は処理性能が低下する。なかでも窒素処理に関わる硝化細菌は他の従属栄養細菌と比べて酸化・増殖速度が遅いうえに、水温低下の影響を受けやすいため、冬季に硝化が十分に進まず放流水の窒素濃度が高くなる傾向がある。

そのため、都内の水再生センター（下水の終末処理場、以降、「センター」という）では、最終沈殿池から汚泥流出しない範囲で活性汚泥浮遊物質（MLSS）濃度を高めたり、溶存酸素（DO）濃度に基づく風量制御を行っている場合は DO 設定値を高くした運転を行うことで、硝化細菌の系外への流出を抑えて硝化促進を図っている。

しかし、流入負荷やその時間変動が大きいセンターや流入水の汚泥転換率が高いセンター等では、流入負荷が低くなる時間帯等に余剰汚泥の引抜に伴って硝化細菌が系外にウォッシュアウトされ、冬季に反応槽末端でアンモニアや亜硝酸が残存することがある。

対策としては、流入負荷やその時間変動を小さくするための貯留池の整備や、担体添加活性汚泥法の導入があるが、整備や導入には時間を要する。そこで、短期的なアプローチとして、硝化能力の高い細菌を投入して保持すること等により処理能力を高める方法について検討を行った。その中で、活性汚泥の硝化能力および細菌叢について寒冷地と都内センターで比較を行ったので、以下にその結果と流入水が細菌叢に及ぼす影響について報告する。

2. A-SRT と硝化率の関係

完全硝化に必要な硝化細菌を反応槽内に保持させるためには、硝化細菌の増殖速度に見合った A-SRT を確保した運転管理を行う必要がある。

「下水道施設計画・設計指針（2009 年版）」では、この硝化に必要な A-SRT（必要 A-SRT）を標準活性汚泥法の下水処理場において各水温でケルダール窒素除去率が 80%以上となる A-SRT の下限値を表す式として、式①を設定している。

式①の妥当性については別途検証する必要があるが、今回、都内 8センター10 処理系列を対象とし、毎月の A-SRT の実績値（式②で算出）の必要 A-SRT に対する比（以降「必要 A-SRT 比」という）と反応槽における硝化率（式③で算出）との関係を図 1 に整理した。その結果、必要 A-SRT 比が 1 以上の系列については、一部のセンターを除き硝化率がほぼ 90%以上であった。一方 A-SRT 比が 1 を下回る処理系列については、多くの系列で硝化率が低下した。

また、図 2 に都内 J・Kセンターと寒冷地にある 2つの処理場（寒冷地 A・B 処理場）について、必要 A-SRT 比と硝化率の関係を示す。寒冷地 B 処理場では、必要 A-SRT 比が 1 を下回り、A-SRT の実績値が必要値を満たしていなかったが、都内 Jセンターと異なり、硝化率は年間を通じて 90%以上であった。理由として硝化細菌叢（多様な硝化細菌の集合）が異なることが考えられたため、当該寒冷地処理場と都内センターにおいて、活性汚泥の

比較を行った。

表 1 A-SRT・硝化率の算出式

項目	内容
必要 A-SRT	必要 A-SRT= $20.65 \times \exp(-0.0639 \times \text{水温})$ ……式① ※必要 A-SRT= $11.0 \times \exp(-0.0525 \times \text{水温})$ (好気槽前半の DO \geq 1.0) ……式①'
A-SRT	$A-SRT = \text{好気槽比率} \times \frac{MLSS \text{ 濃度} \times \text{反応槽容量}}{\text{余剰汚泥濃度} \times \text{余剰汚泥引抜量}}$ ……式②

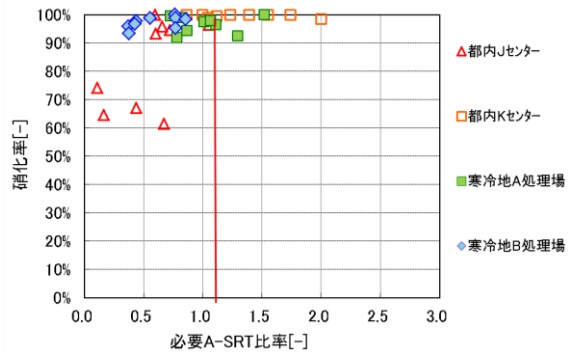
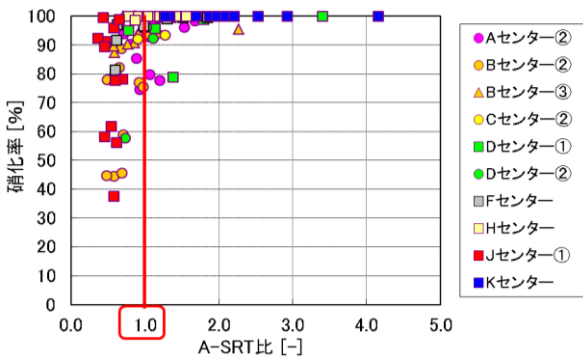


図 1 A-SRT 比と硝化率の関係 (22 年度)

図 2 A-SRT 比と硝化率の関係 (24 年度)

硝化率	$\text{硝化率} [\%] = \frac{NH_4 - N, in - NH_4 - N, eff}{NH_4 - N, in} \times 100$ <p>……式③</p> <p>NH₄-N, in : 一沈流出水の NH₄-N 濃度、NH₄-N, eff : 反応槽末端の NH₄-N 濃度</p>
-----	--

3. 東京都および寒冷地における活性汚泥中の硝化細菌数および硝化能力の比較

前項寒冷地処理場について、運転条件や水質状況に関する情報収集を行うとともに、活性汚泥中の硝化細菌数（アンモニア酸化細菌（AOB）・亜硝酸酸化細菌（NOB））や硝化速度（アンモニア酸化速度・亜硝酸酸化速度）を測定して、都内センターの場合と比較した。硝化細菌数の測定は、東京理科大学の御協力をいただき、FISH 法により、Amman らの方法¹⁾に準じて行った。

3.1 調査対象施設の処理方式と運転・水質状況

平成 24 年 7 月から平成 28 年 3 月までの都内センターおよび寒冷地処理場における運転条件および水質状況を表 2 に示す。

調査対象とした寒冷地処理場の処理方式は、A 処理場については、反応槽全 4 回路のうち第 1 回路が擬似嫌気槽の擬似 A0 法(11~4 月は第 3 回路にステップ流入させるステップ A0 法)、B 処理場については、反応槽に隔壁はないが好気槽前段 20%を粗大気泡で曝気する擬似 A0 法である。一方、都内で調査対象とした J センターは反応槽全 4 回路のうち第 1 回路を制限曝気とした擬似 A0 法であり、K センターは A₂O 法である。また、風量制御方法としては、都内センターが DO 一定制御であるのに対し、寒冷地 A・B 処理場では、1 日の負荷変動と DO 濃度に応じてブローの運転台数を調整するパターン制御である。そのため寒冷地処理場では槽内の DO 濃度が高く、平均 6.6、5.6 mg/L と非常に好気的な環境となっていた。

処理状況については、寒冷地処理場では水温が最低 14℃と都内センターより 3~5℃低か

ったが、寒冷地 B 処理場については、処理水 NH₄-N 濃度が最大で 1.0~1.6mgN/L、NO₂-N 濃度は最大 0.4 ~0.5 mgN/L 未満で、硝化は良好であった。一方、都内 Jセンターについては、NH₄-N 濃度が最大で 7.1 mgN/L、NO₂-N 濃度は 3.2 mgN/L となり硝化率が低下することがあった。寒冷地処理場において、硝化が安定していた理由の一つとしては、流入水温 10℃を下回ると硝化能力に応じて処理水量を調整した運転も影響していると考えられた。

表 2 調査対象施設の処理方式と運転・水質状況（平成 24 年 7 月～平成 25 年 3 月）

施設名称	東京都							寒冷地						
	Jセンター			Kセンター				A処理場			B処理場			
	擬似AO法			A ₂ O法				①ステップAO法(4月～11月) ②擬似AO法(11月～4月)			擬似AO法			
調査対象系列 処理方式	平均	(最小)	(最大)	平均	(最小)	(最大)	平均	(最小)	(最大)	平均	(最小)	(最大)		
運転	HRT	hr	9.1	7.0	12.3	17.8	15.2	19.6	9.4	6.6	11.5	7.5	5.6	10.0
	実A-HRT	hr	5.4	4.1	6.9	4.1	3.8	4.3	4.2	2.9	5.4	3.8	2.8	5.0
	MLSS	mg/L	1,300	1,000	1,600	1,900	1,700	2,100	1,500	1,100	2,300	1,800	1,300	2,800
	送風倍率	-	4.1	1.4	5.7	4.8	3.5	6.0	5.5	3.2	6.7	3.6	2.6	4.4
	槽末端DO		2.1	1.0	4.1	2.9	2.6	3.2	6.6	5.3	9.6	5.6	0.3	9.8
	必要A-SRT比	-	0.56	0.11	1.06	1.32	0.95	1.91	0.60	0.38	0.86	1.03	0.73	1.53
水質	採取時水温	℃	23.7	17.2	32.1	24.6	19.1	30.4	17.9	14.0	24.8	18.0	13.8	25.2
	BOD _{in}	mg/L	112	72	160	120	78	140	129	67	190	141	83	200
	T-N _{in}	mg/L	24.4	16.3	32.4	35.5	29.3	43.5	23.0	11.0	35.0	26.6	18.0	35.0
	NH ₄ -N _{in} 負荷	mgN/gSS・hr	2.5	1.2	4.4	3.2	2.9	3.9	3.2	1.4	5.4	2.4	1.5	3.7
	NH ₄ -N _{eff}	mg/L	2.0	<0.1	7.1	0.2	0.0	0.4	0.4	0.0	1.0	0.6	0.0	1.6
	NO ₃ -N _{eff}	mg/L	8.1	2.3	12.2	9.3	8.3	12.1	8.8	3.2	14.0	9.1	5.8	12.0
	NO ₂ -N _{eff}	mg/L	0.8	<0.1	3.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.4	0.2	0.0	0.5
	硝化率	%	83.1	61.5	100.0	99.7	98.6	100.0	97.2	93.3	100.0	96.6	92.0	100.0

黄色部分：調査当日データより整 青色部分：調査日付近の水質試験日におけるデータより整理

BOD_{in}：一沈流出水BOD濃度 T-N_{in}：一沈流出水全窒素濃度 NH₄-N_{eff}：反応槽末端アンモニア性窒素濃度

NO₂-N_{eff}：反応槽末端亜硝酸性窒素濃度 NO₃-N_{eff}：反応槽末端硝酸性窒素濃度 実A-HRT：返送污泥等を考慮した好気的水理学的滞留時間

$$NH_4-N_{in}負荷 = \frac{NH_4 - N_{in}}{MLSS \times 実A - HRT}$$

3.2 東京都と寒冷地における硝化細菌数と硝化能力の比較

特定の菌群・菌種に特異的な蛍光標識プローブを利用して分子生物学的に染色し、検出・定量する検出法に、FISH法 (fluorescence *in situ* hybridization) という方法がある。都内および寒冷地における活性汚泥中の硝化細菌数を比較するため、同検出法を用いて、代表的なアンモニア酸化細菌 (AOB) である *Nitrosospira* 属・*Nitrosomonas* 属の細菌数を測定した (図 3)。

その結果、AOB 細菌数は、都内、寒冷地いずれの施設においても冬季に減少する傾向が認められたが、単位水量あたりの細菌数としては、10⁶ オーダー (桁数) で同程度に存在していた。都内 Jセンターについては冬季に細菌数が大きく減少しており、硝化率が低下した原因の一つと考えられた。また、アンモニア酸化細菌のうち *Nitrosomonas* 属については、細菌数と硝化速度に関係が認められ細菌数が多くなるほど硝化速度が速くなる傾向が認められた。

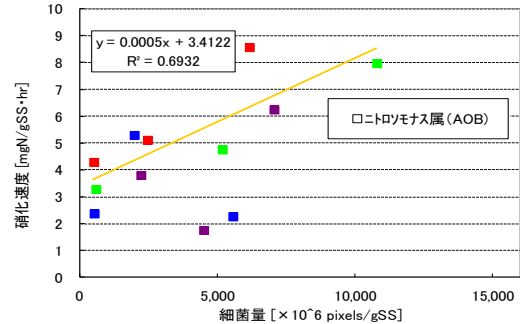
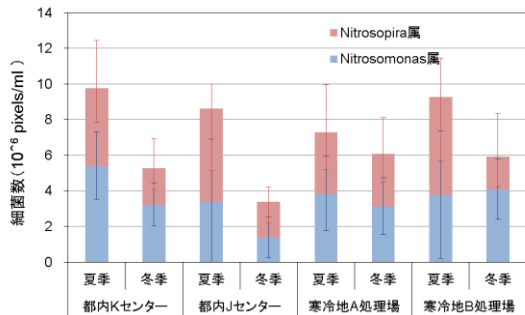


図3 都内・寒冷地処理場のアンモニア酸化細菌数 (Nitrosospira属・Nitrosomonas属) 図4 Nitrosomonas属の細菌数と硝化速度

4. 東京都と寒冷地における硝化速度および硝化速度の水温依存性の比較

寒冷地の活性汚泥が水温低下の影響を受けにくいかどうかを定量的に評価することを目的として、都内Jセンターと寒冷地B下水処理場の活性汚泥を採取し、異なる水温条件(10℃、20℃、25℃)でアンモニア酸化速度と亜硝酸酸化速度の測定を行った。

アンモニア酸化速度試験は下水試験方法に準拠して行い、NH₄-Nが20mg/LとなるようにNH₄Clを、添加後濃度が240mg/LとなるようにNaHCO₃を、試験開始時に添加した。

また、亜硝酸酸化速度試験では、NO₂-Nが10mg/LとなるようにNaNO₂を、添加後の濃度が10mg/L、240mg/LとなるようにそれぞれATU、NaHCO₃を試験開始時に添加した。

さらに、試験に用いた活性汚泥について、表3に示すプライマーを用いて、アンモニア酸化酵素をコードする遺伝子 ammonium monooxygenase (amoA)をリアルタイムPCR法で定量することにより、アンモニア酸化細菌群を一括定量した。また亜硝酸酸化細菌については、代表的な Nitrobacter属と Nitrospira属の2種類について定量を行った。

表3 AOBおよびNOBの分析に用いるプライマー

	Target	Primer/Probe
1	アンモニア酸化細菌 amoA	amoA1f(GGG GTT TCT ACT GGT GGT) amoA2r(CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC)
2	Nitrobacter属 norB	NxrB 1F (ACGTGGAGACCAAGCCGGG) NxrB 1R (CCGTGCTGTTGAYCTCGTTGA)
3	Nitrospira属 16S	NSR1113f (CCTGCTTTCAGTTGCTACCG) NSR1264r (GTTTGCAGCGCTTTGTACCG)

4.1 東京都と寒冷地における硝化速度の比較

都内センターJおよび寒冷地B処理場の活性汚泥の水温別の硝化速度は表5のようになり、いずれの施設においても水温低下に伴い硝化速度が低下する水温依存性が認められた。

硝化速度と硝化細菌数の関係をみると、SSあたりの硝化速度に経月的な傾向はみられなかったが、SSあたりの硝化細菌数は経月的に減少した影響で、細菌数あたりの硝化速度は都内、寒冷地ともに経月的に高くなった。細菌数あたりの硝化速度(硝化活性)は、運転状況等によって変化すると考えられた。

同水温における単位MLSSあたりの硝化速度を比較すると、図5・6に示すように、アンモニア酸化速度については東京都よりも寒冷地の方が高い傾向にあったが、亜硝酸酸化速度については、東京都と寒冷地で同程度であった。また、硝化速度に影響を与える因子として、水温やDO濃度のほかに流入NH₄-N負荷が考えられた。そこで、単位細菌数あたりの流入NH₄-N負荷と硝化速度の関係を整理すると、amoA(AOB)あたりのNH₄-N負荷とamoA(AOB)

あたりのアンモニア酸化速度には正の相関がみられ、負荷の増減と硝化速度が対応していた。

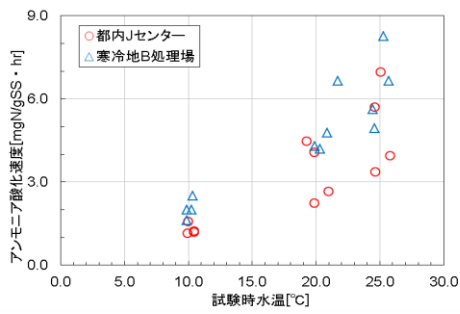


図 5 水温とアンモニア酸化速度との関係

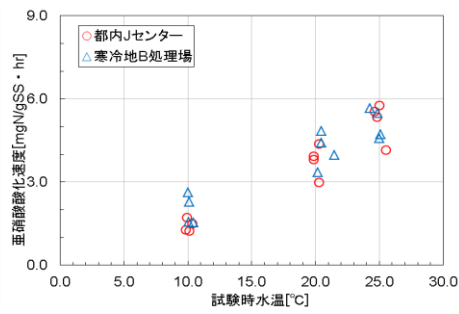


図 6 水温と亜硝酸酸化速度との関係

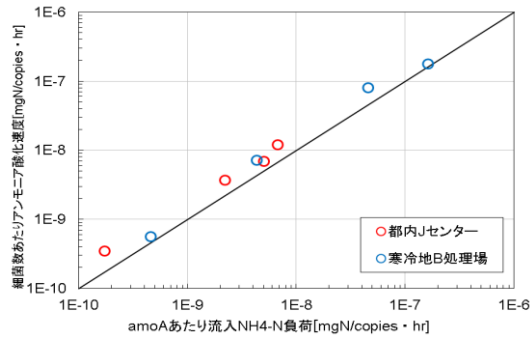


図 7 流入 NH₄-N 負荷と硝化速度の関係

表 4 水温別の硝化速度および硝化細菌数

項目		単位	都内Jセンター			寒冷地B処理場			
			H25.12	H26.1	H26.2	H25.12	H26.1	H26.2	
活性汚泥濃度	MLSS	[mg/L]	1,300	2,000	1,100	1,700	1,700	2,400	
硝化速度	アンモニア酸化速度	10°C	[mgN/gSS・hr]	1.2	1.2	1.6	2.5	2.0	1.6
		20°C	[mgN/gSS・hr]	2.7	2.2	4.1	4.3	4.8	4.2
		25°C	[mgN/gSS・hr]	3.9	3.4	5.7	4.9	6.6	5.6
	亜硝酸酸化速度	10°C	[mgN/gSS・hr]	1.2	1.7	1.3	1.6	2.3	2.6
		20°C	[mgN/gSS・hr]	3.0	3.8	3.9	3.4	4.4	4.8
		25°C	[mgN/gSS・hr]	4.2	5.5	5.3	4.7	5.5	5.7
細菌数	AOB(amoA)	[copies/mL]	1.3E+06	6.3E+05	2.3E+05	7.5E+05	5.9E+04	3.3E+04	
	NOB(Nitrospira)	[copies/mL]	8.3E+07	6.8E+07	2.6E+07	9.9E+07	8.8E+07	5.1E+07	
	NOB(Nitrobacter)	[copies/mL]	定量下限以下	定量下限以下	定量下限以下	7.4E+03	定量下限以下	定量下限以下	
	AOB(amoA)	[copies/gSS]	1.0E+09	3.2E+08	2.1E+08	4.4E+08	3.5E+07	1.4E+07	
	NOB(Nitrospira)	[copies/gSS]	6.3E+10	3.4E+10	2.4E+10	5.8E+10	5.2E+10	2.1E+10	
	NOB(Nitrobacter)	[copies/gSS]	定量下限以下	定量下限以下	定量下限以下	4.4E+06	定量下限以下	定量下限以下	
細菌数あたり硝化速度	アンモニア酸化速度	10°C	[mgN/copies・hr]	1.2E-09	3.7E-09	7.7E-09	5.7E-09	5.7E-08	1.2E-07
		20°C	[mgN/copies・hr]	2.6E-09	7.1E-09	2.0E-08	9.7E-09	1.4E-07	3.0E-07
		25°C	[mgN/copies・hr]	3.8E-09	1.1E-08	2.8E-08	1.1E-08	1.9E-07	4.0E-07
	亜硝酸酸化速度	10°C	[mgN/copies・hr]	1.9E-11	5.1E-11	5.3E-11	2.7E-11	4.4E-11	1.2E-10
		20°C	[mgN/copies・hr]	4.7E-11	1.1E-10	1.6E-10	5.7E-11	8.5E-11	2.3E-10
		25°C	[mgN/copies・hr]	6.5E-11	1.6E-10	2.2E-10	8.0E-11	1.1E-10	2.6E-10

4.2 活性汚泥の硝化能力の水温依存性比較

活性汚泥モデルでは、生物反応の速度を温度補正係数 a を用いて a^{T-20} のように指数式により補正しており、硝化反応では温度補正係数 a は 1.12 程度とされている。

そこで異なる水温条件で測定したアンモニア速度試験・亜硝酸酸化速度試験の結果を用いて、都内 J センターおよび寒冷地 B 処理場における温度補正係数を求めた。下式のとおり、「各水温における硝化速度の自然対数： Kx_T 」は水温 T を用いた線形式で表すことができる。このときの傾き「 $\ln(a)$ 」より温度補正係数 a を求めた。

$$Kx_T = Kx_{20} \times a^{T-20} \Rightarrow \ln(Kx_T) = T \times \ln a + \ln Kx_{20} - 20 \times \ln a$$

T [°C] : 硝化速度試験時における平均水温 a [-] : 温度補正係数

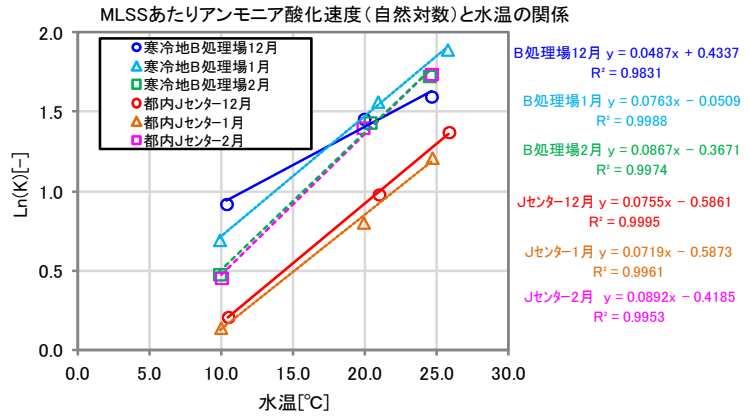
Kx_T [mgN/gSS・hr] : T °C におけるアンモニア酸化速度もしくは亜硝酸酸化速度

Kx_{20} [mgN/gSS・hr] : 20°C におけるアンモニア酸化速度もしくは亜硝酸酸化速度

温度補正係数の計算結果を図 8 に示す。アンモニア酸化速度については、温度補正係数 (a_{A0B}) は 1.05~1.09 程度であり、活性汚泥モデルにおける 1.12 程度よりは小さい値となったが、寒冷地 B 処理場と都内 J センターで水温依存性に違いはみられなかった。またいずれの施設においても 2 月に高い値となったが、SRT が小さく細菌が水温変化に対する感度が高くなっていたためと推察された。一方、亜硝酸酸化速度については、温度補正係数 (a_{N0B}) は 1.05~1.10 程度であり、寒冷地 B 処理場の活性汚泥の方が、都内 J センターの活性汚泥よりも水温依存性が低く、水温低下の影響を受けにくい傾向が認められた。

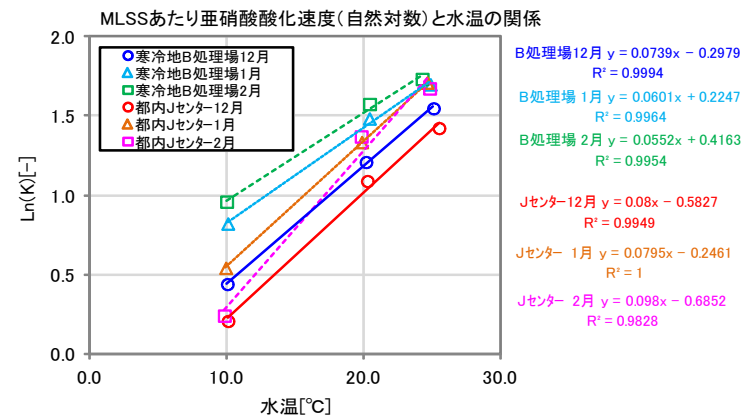
○アンモニア酸化速度 (MLSSあたり)

月	設定水温 [°C]	都内Jセンター		寒冷地B処理場	
		試験時水温 [°C]	Ln(K) [-]	試験時水温 [°C]	Ln(K) [-]
12月	10	10.5	0.21	10.3	0.92
	20	21.0	0.98	19.9	1.46
	25	25.8	1.37	24.6	1.60
	Ln(a)	0.0755	-	0.0487	-
a	1.078	-	1.050	-	
1月	10	9.9	0.14	9.9	0.69
	20	19.9	0.80	20.9	1.57
	25	24.7	1.21	25.7	1.89
	Ln(a)	0.0719	-	0.0763	-
a	1.075	-	1.079	-	
2月	10	10.0	0.45	9.9	0.48
	20	19.8	1.40	20.3	1.43
	25	24.6	1.74	24.5	1.73
	Ln(a)	0.0892	-	0.0867	-
a	1.093	-	1.091	-	



○亜硝酸酸化速度 (MLSSあたり)

月	設定水温 [°C]	都内Jセンター		寒冷地B処理場	
		試験時水温 [°C]	Ln(K) [-]	試験時水温 [°C]	Ln(K) [-]
12月	10	10.1	0.21	10.1	0.44
	20	20.3	1.09	20.2	1.21
	25	25.5	1.42	25.1	1.55
	Ln(a)	0.080	-	0.0739	-
a	1.083	-	1.077	-	
1月	10	9.9	0.54	10.1	0.82
	20	19.9	1.34	20.4	1.48
	25	24.7	1.71	24.9	1.70
	Ln(a)	0.0795	-	0.0601	-
a	1.083	-	1.062	-	
2月	10	9.8	0.24	10.0	0.96
	20	19.8	1.37	20.5	1.58
	25	24.8	1.67	24.3	1.73
	Ln(a)	0.098	-	0.0552	-
a	1.103	-	1.057	-	



○硝化速度のa値比較

月	アンモニア酸化速度		亜硝酸酸化速度	
	砂町 [-]	手稲 [-]	砂町 [-]	手稲 [-]
12月	1.078	1.050	1.083	1.077
1月	1.075	1.079	1.083	1.062
2月	1.093	1.091	1.103	1.057
平均	1.082	1.073	1.090	1.065

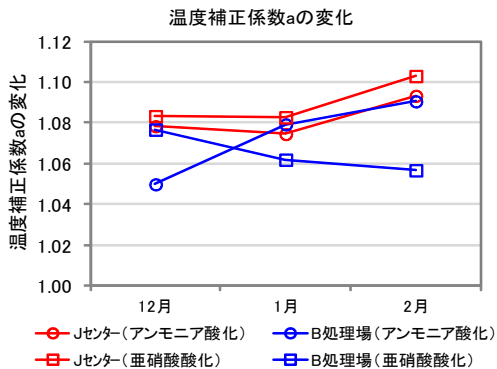


図8 温度補正係数 a の算出結果

5. 東京都と寒冷地における活性汚泥の硝化細菌叢比較

細菌叢解析の手法として、同定できないものの遺伝子の塩基配列の違いから、細菌叢を構成している細菌の種類多様性を評価できる T-RFLP 解析 (terminal restriction fragment length polymorphism) がある。細菌叢を構成する全細菌の DNA を抽出して蛍光標識したプライマーで PCR 増幅させた後、特定の塩基配列を切断する制限酵素を作用させると、細菌種毎に蛍光標識された長さの異なる遺伝子断片ができる。これらを断片長毎に分離・検出することで細菌種の多様性を把握できる。

東京都 J センター、F センターと寒冷地 B 処理場における活性汚泥について、Fukushima

ら（2013）の方法により *Nitrosomonas* 属の T-RFLP 解析を行い、アンモニア酸化細菌叢を比較した結果を図 9 に示す。寒冷地の活性汚泥で T-RF441 および（断片長が 441bp となるアンモニア酸化細菌の種類を示す。以下も同様）T-RF491 が東京都に比べて明らかに多いが、東京都の活性汚泥では T-RF206 が多く検出された。

図 10 に示した検出波形をみても、東京都もしくは寒冷地に特有のピークが認められ、アンモニア酸化細菌を構成する細菌叢が東京都と寒冷地の活性汚泥で異なることがわかった。

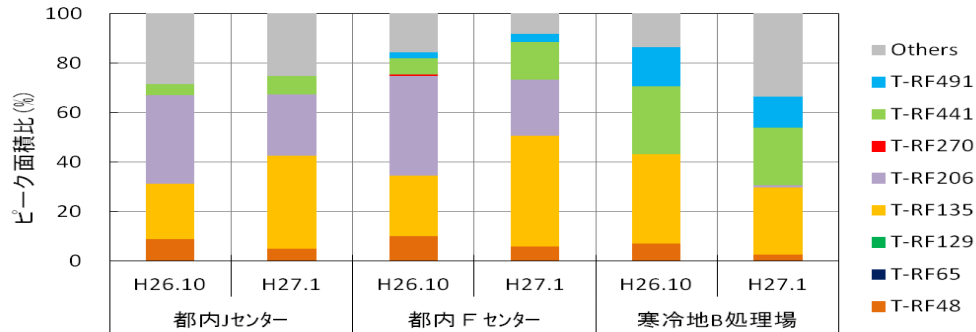


図 9 東京都と寒冷地の硝化細菌叢解析結果（T-RFLP 解析）

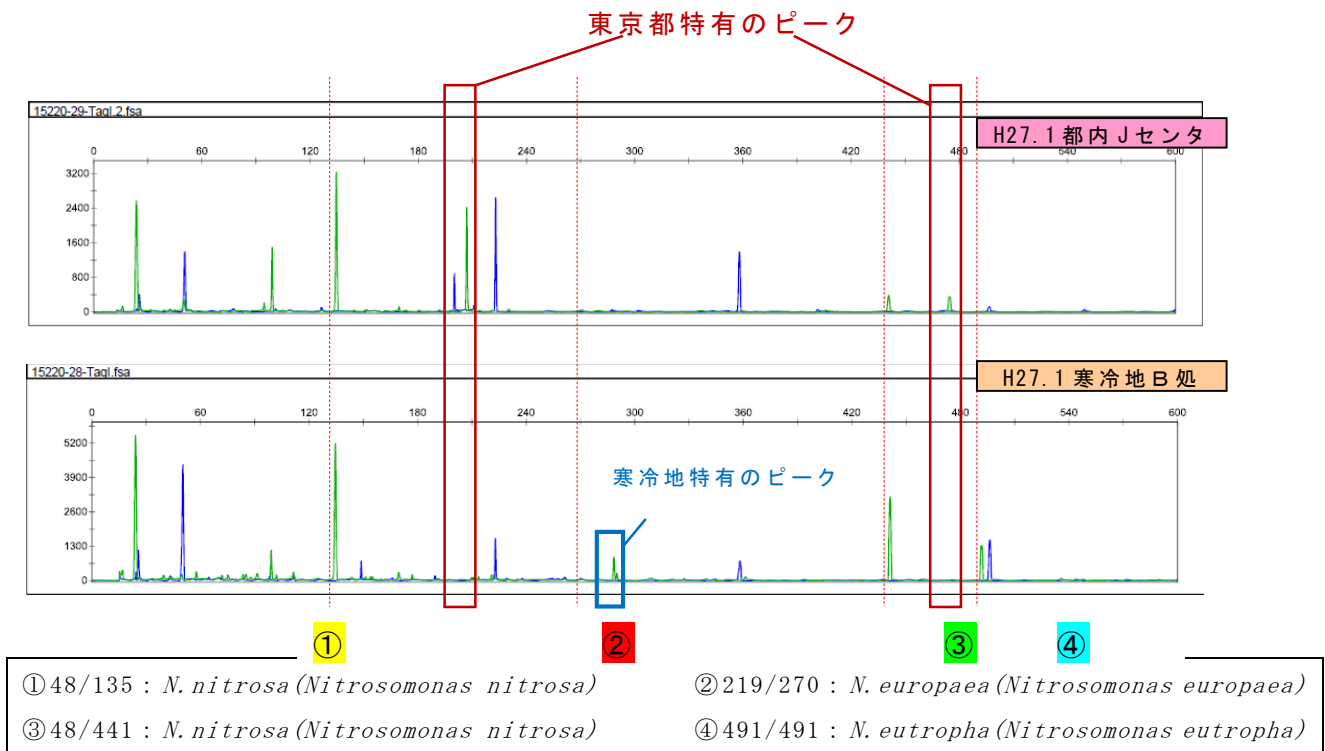


図 10 T-RFLP 解析結果（断片長のピーク）

6. 流入下水が活性汚泥を構成する細菌叢に及ぼす影響

6.1 調査概要

寒冷地の活性汚泥で東京都の流入下水を処理させた場合に、細菌叢を維持できるかどうかを確認するため、図 11 に示すような連続式の処理実験装置を 2 式作成し、各装置に都内 J センターおよび寒冷地 B 処理場の活性汚泥を投入し、都内 J センターの反応槽流入水を連続流入させて、処理実験を行った。処理期間は 4 週間/回とし、水温条件を変えて 2 回試験を行った。週 1 回、曝気槽内の MLSS 濃度および原水、処理水の各態窒素濃度 ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$) を測定し、処理状況を確認した。

連続処理調査における活性汚泥を用いて、調査（培養）開始時、終了時（第 4 週目）の 2 回、硝化速度試験（アンモニア酸化速度、亜硝酸酸化速度）を実施した。また活性汚泥および流入下水について、週 1 回、リアルタイム PCR 法および T-RFLP 法によりアンモニア酸化細菌と亜硝酸酸化細菌の細菌叢解析を行った。

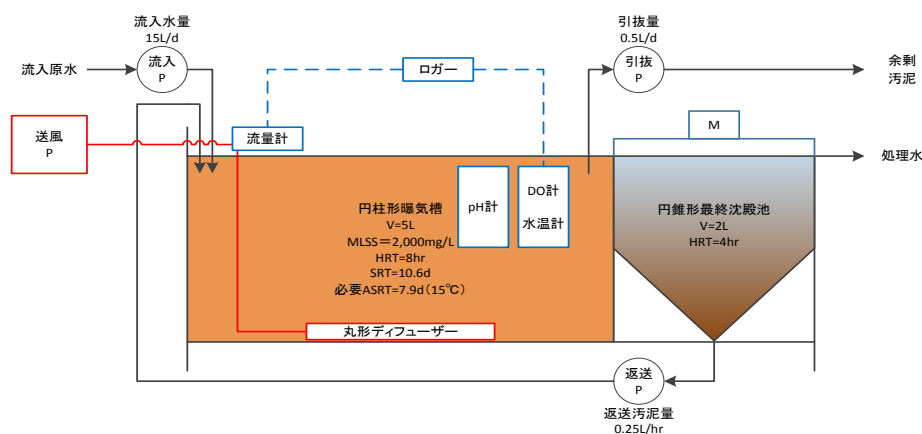


図 11 連続処理装置

6.2 調査結果

(1) 運転・水処理状況

培養期間中はほぼ完全硝化であった。活性汚泥の固形物が循環する回数を求めると、概ね培養 3 週間程度で両系列ともに一巡する傾向にあった。

(2) 硝化速度

培養開始時は寒冷地の活性汚泥を投入した系列の方がアンモニア酸化速度・亜硝酸酸化速度ともに高くなっていたが、培養 4 週間後では両系列の速度が同程度となり、異なる細菌叢・硝化速度をもつ汚泥であっても、4 週間同じ流入水で培養することで同程度の硝化能力になることが分かった。

(3) 細菌解析結果

図 12 にリアルタイム PCR 法による硝化細菌数の結果を示す。流入水では *amoA*、*Nitrospira*、*Nitrobacter* のそれぞれが、活性汚泥に比べて 10^4 から 10^6 オーダー程度低く、流入水の細菌種が活性汚泥の細菌種の構成に与える影響は軽微であるといえた。

T-RFLP 解析の結果を図 13 に示す。寒冷地の活性汚泥を投入した系列の細菌叢について、培養開始時は T-RF491 や T-RF441 が都内 J センターより明らかに多かったが、4 週間培養するにつれて徐々に減少し、代わりに東京都系列に特徴的で多く占められていた T-RF206 が出現、増加し、東京都系列の細菌叢に近づく様子が観察された。

以上の結果から、寒冷地の活性汚泥を都内センターに投入したとしても、都内センターの流入水を処理することによって都内センターの活性汚泥の細菌叢に近づくことがわかった。ただし、流入水において、東京都の活性汚泥に特有の T-RF206 が殆ど検出されていないことから、東京都の活性汚泥で同ピークが特有である理由は、原水由来ではなく、馴致環境由来（例：流入負荷（窒素、塩化物イオン濃度）、水温、運転上条の因子、阻害物質等）の増殖であると考えられた。

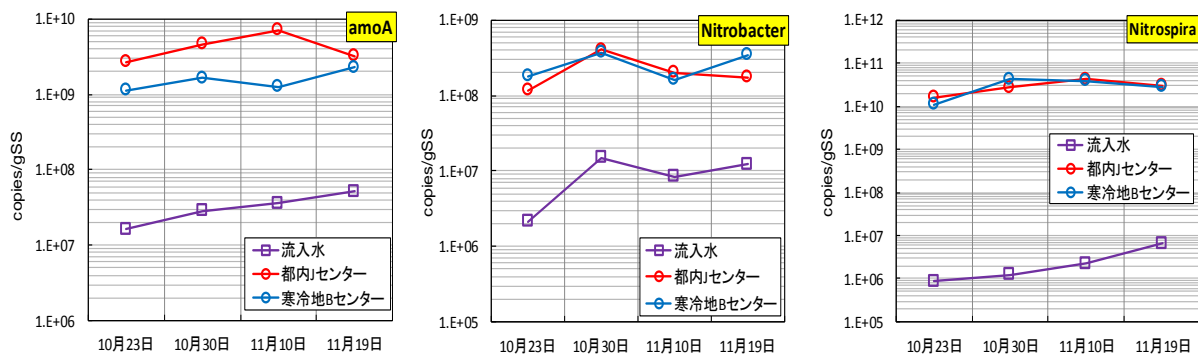


図 12 培養実験における硝化細菌数の変遷(リアルタイム PCR 法)

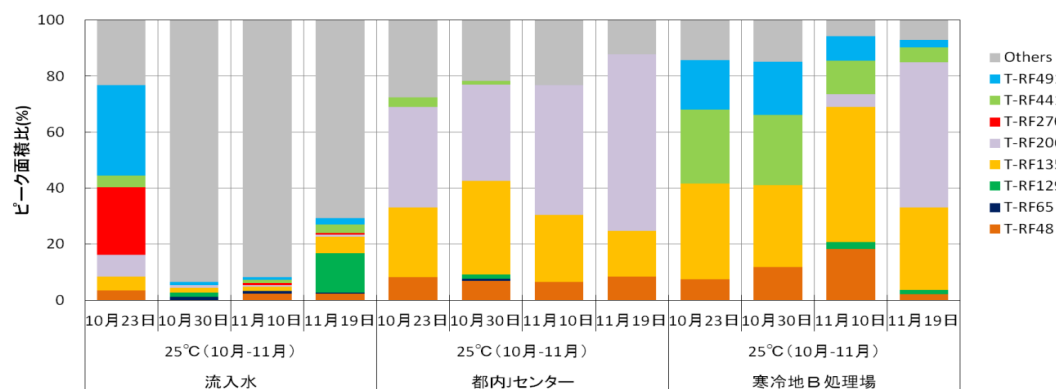


図 13 培養実験におけるアンモニア酸化細菌叢の変遷 (T-RFLP 解析)

7. まとめ

- ・東京都、寒冷地の活性汚泥について硝化速度の水温依存性を比較した結果、アンモニア酸化速度については寒冷地の活性汚泥も東京都と同程度に水温の影響を受けることがわかった。ただし、亜硝酸酸化速度については、寒冷地の方が東京都と比較して水温依存性が小さく水温低下の影響を受けにくい性質をもっていた。
- ・寒冷地の活性汚泥を用いて東京都の下水を処理させると、寒冷地の活性汚泥の細菌叢が徐々に東京都の活性汚泥の細菌叢に近づく結果となり、活性汚泥の細菌叢は処理環境の影響を大きく受けると考えられた。
- ・そのため、特定の細菌を反応槽内に定着させる場合には、定期的な投入もしくは、担体化を検討する必要がある。

参考文献

- 1) Amann, R. I. : *In situ* identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes, In Molecular microbiol ecology manual, 1-15 (1995)
- 2) Fukushima *et.al.* : Nitrifying bacterial community structures and their nitrification performance under sufficient and limited inorganic carbon conditions, Appl Microbiol Biotechnol (2013) 97:6513-6523.