

II-469 嫌気好気式活性汚泥法の細菌相に関する 2、3の考察

東京大学工学部 学生員 都筑良明 正会員 味埜俊 正会員 松尾友矩

1. はじめに

筆者らは前報^{(1)・(2)}において、嫌気好気式活性汚泥法のリン除去と細菌相との関係をAPIシステムとクラスター分析を用いて検討した。その結果、嫌気好気式活性汚泥法の特徴を示さない汚泥の細菌相は、良好なリン除去を示す活性汚泥の細菌相と異なるという結論を得た。今回は、ポリリン酸染色、PHB染色の陽性となった細菌、APIシステムの活性汚泥細菌に対する有効性について検討し、若干の知見を得たので報告する。前報⁽²⁾までに得られた回分槽の汚泥のデータの他に、連続槽で嫌気好気培養した汚泥の細菌相を調べたので、これらのデータを併せて検討した。

2. 実験方法

まず初めに、新しく細菌相を調べた2系列の連続槽L, Rは、嫌気槽 2.5 L、好気槽 6.0 L、沈殿池 5.3 Lで、酢酸、ペプトン、酵母エキスを主体とした培地を用い、SRTは嫌気槽・好気槽に対して10日とした。マグネシウム欠乏等の変動を与えながら実験を行った。

単離手法は前報⁽¹⁾によった。寒天培地は、Trypticase Soy Agar (TSA (BBL)) 10%を使用した。前報^{(1)・(2)}ではペプトン、酵母エキス、酢酸、グルコースを有機基質とした培地 (T1培地) 使用したので、比較のためにRのサンプルR1ではこの培地を使用した。このサンプルをR1-1、TSA 10%を使用したものをR1-2とする。

単離細菌の同定には、前報^{(1)・(2)}同様、グラム陰性桿菌同定用システムのAPI 20E、API 20NEを使用した。これらに加えて、ポリリン酸（異染顆粒）染色、PHB（脂肪球）染色等を行った。細菌の染色は、単離した細菌を約2mlの Trypticase Soy Broth (TSB)、または、T1.broth で1-7日間振盪培養（好気）した試料について行った。

3. 結果と考察

3-1. リン除去とポリリン酸染色陽性の細菌の割合との関係

リン除去の程度を表す指標として、活性汚泥のMLSS当りのリン含有率を採用した。リン含有率とポリリン酸染色陽性の細菌の割合との関係を図1に示す。ポリリン酸染色の結果は、+、+/-、-の3段階で判定した。図の●は+の細菌の割合を、○は+、+/-の細菌の割合の合計を示す。サンプリング時にリン含有率を測定していないものについては、その前後のリン含有率を矢印付きの線文で示した。

+の細菌の割合は、0-24%の範囲にあった。リン含有率と+の細菌との間には明確な相関関係は見られなかった。また、+、+/-の細菌の割合の合計は22-86%の範囲にあった。この値とリン含有率

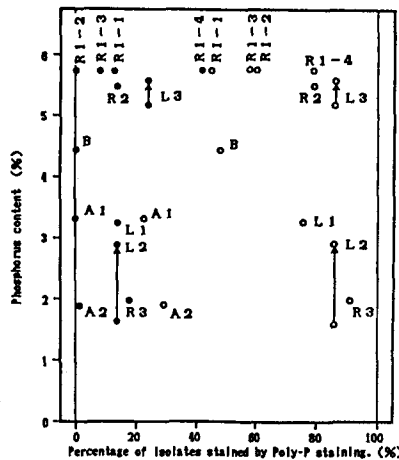


図1. リン含有率とポリリン酸染色陽性の細菌の割合との関係

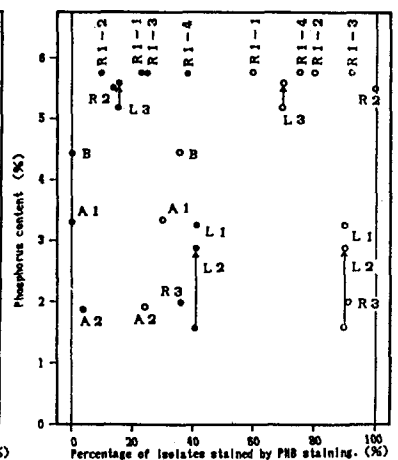


図2. リン含有率とPHB染色陽性の細菌の割合との関係

との間にも、明確な相関関係は見られなかった。リン除去能力の大きい汚泥サンプルではポリリン酸陽性の細菌の割合も大きくなることを予測したが、そのような単純な結果は得られなかった。+／-の判定となった細菌も含めると、活性汚泥中にはリン含有率に関わらずポリリン酸蓄積能力を持った細菌がかなりの程度存在するという結果が得られ、このことからポリリン酸蓄積細菌の割合により嫌気好気運転下での汚泥のリン除去能力が決まるのではないことがわかった。ただし、以下のような点を今後の検討事項として挙げておく。

- ① ポリリン酸染色の手法の妥当性
- ② 染色試料の培養方法
- ③ 各単離細菌群の活性汚泥サンプルとの相同性

3-2. リン除去とPHB染色陽性の細菌の割合との関係

PHB染色について、3-1と同様に検討した。リン含有率とPHB染色陽性の細菌の割合との関係を図2に示す。●と○は図1と同様に、それぞれ、+、+／-の細菌の割合を示す。前者は、0-41%、後者は24-100%の範囲に分布した。これらの値とリン含有率との間には明確な相関関係は見られなかった。このことから、PHB蓄積細菌の割合も嫌気好気運転下での汚泥のリン除去能力を決定するものとなっていないことがわかった。ただし、ここでも3-1で述べたような3点について考慮する必要があると考える。特に、第2点の染色試料の培養方法については、嫌気好気式活性汚泥法ではPHB蓄積が嫌気過程で起こる点を併せて検討する必要があるだろう。

3-3. APIシステムの活性汚泥細菌に対する有効性

API20E、API20NEを用いて得られた同定結果のレベルを3段階に分けた結果を表1に示す。“Very Good”、“Good”、“Acceptable”のレベルで同定できた細菌は、20Eで38%、20NEで25%と少なかった。

また、表2にはAPI20EとAPI20NEとの同定結果がどの程度一致したかを調べた結果を示した。腸内細菌は、20NEには含まれていないため、20Eの同定結果に腸内細菌が含まれる結果は対象外とした。APIの各テスト項目で判定の不明確なものがあつたので、単離細菌によっては2つの同定結果が得られたものもある。両システムの同定結果が1つ以上一致したのは、248個の単離細菌のうちわずか2%の6個のみだった。“Acceptable”以上の同定結果の場合には1つの細菌名が得られ、他の不明確な同定結果の場合には複数の細菌名が得られる。これらの一部が属名のレベルで一致したものについては、一致の程度に応じて①、②の2つに分けてある。両システムの同定結果が属名のレベルで一致するものがある細菌の合計は、全体の74%と多かった。ただし、両システムの同定結果に共通して *Acinetobacter*、*Pseudomonas* が含まれているというように複数の属名が一致している場合も多く、属名のレベルで共通した1つの同定結果を得ることは稀だった。また、一致する属名のなかった細菌は、全体の26%を占めていた。このことは、活性汚泥にはAPIシステムの方、または、両方で適当な同定結果の得られない細菌がある程度の割合で存在することを示している。

以上のことから、細菌名を得る目的で活性汚泥細菌の同定にAPIシステムを使うことには、限界があることがわかった。

(1) 都筑ら(1988):土木学会第43回年講 (2) 都筑ら(1989):衛生工学研究論文集

表1. APIシステムによる活性汚泥細菌の同定結果のレベル別頻度分布

		細菌数 (割合%)
API20E	VG, G, A	95 (38)
	L	30 (12)
	U, D	125 (50)
	合計	250 (100)
API20NE	VG, G, A	64 (25)
	L	23 (9)
	U, D	134 (66)
	合計	251 (100)

表2. API20EとAPI20NEとによる活性汚泥細菌の同定結果が一致する程度

		単離細菌数 (割合%)
同定結果の一致したもの		6 (2)
一部一致したもの ①	108	(44)
一部一致したもの ②	69	(28)
一致しなかったもの	65	(26)
合計	248	(100)