

養豚排水の長期間曝気処理における微生物の動態に関する一考察

宮崎大学（正）高階卓哉, 増田純雄

宮崎大学農学部 佐伯雄一 鹿工専（正）山内正仁

1. はじめに

一般的に養豚排水は、活性汚泥法により処理¹⁾が行われているが、維持管理、コスト等の問題があるため、中小規模養豚農家に適用できる維持管理が容易で高効率の処理技術の開発が必要である。このため、本研究では、6種類の混合微生物群（乳酸菌群、光合成細菌、酵母、グラム陽性放線菌、発酵系糸状菌、その他）をM2菌（Mixed-Microorganisms）と称し、M2菌を用いた養豚排水処理の実験を回分式及び連続式実験装置を用いて行い、M2菌の添加量及び曝気量とT-NやNH₄-N等との関係についての考察を行ってきた。その結果、M2菌の添加率は処理効率に無関係であることを明らかにした²⁾。本研究では養豚排水にM2菌を添加後、回分式及び連続式で長期間曝気を行い、その槽内の水質と菌の優占種の同定について若干の知見が得られたので報告する。

2. 実験装置

図-1、2に実験装置を示す。回分装置は、曝気槽（内径9.2cm、高さ21cmの亚克力円筒）と曝気により養豚排水から飛散したアンモニアガスを捕集する槽から構成されている。実験は曝気槽へ空気を供給し、曝気槽内のガラスボールフィルター（球径15mm、気泡粒径40~50μm）で養豚排水の曝気を行った。また、曝気により飛散するアンモニアガスを捕集槽（ほう酸溶液5g/L）で捕集した。連続式装置は基本的に同じ構造であり、回分式装置を連結したものである。

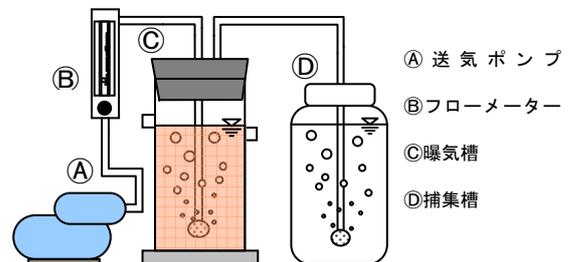


図-1 回分式実験装置

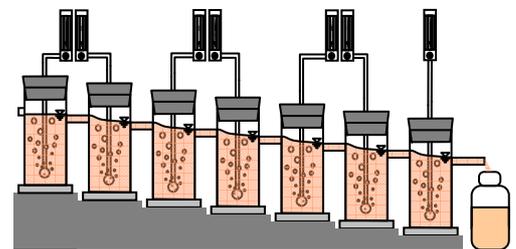


図-2 連続式実験装置

3. 実験条件と分析方法

実験は、曝気槽内にあらかじめ10日間馴致培養しておいたM2菌を15ml用意し、養豚排水を985ml加え計1Lとした後、曝気量：0.3L/minで行った。サンプリングは1回当たり50mlを採水し、採水後は発散量の補正のため50~200mlの養豚排水を追加した。

連続式実験では第1槽目には馴致培養しておいたM2菌15mlを養豚排水985mlに加え、曝気量1.0L/minとし、毎日250mlを第1槽のみに加える。採水した試料水はpH, SS, NO₃-N, TOCを水の分析³⁾に従い多項目迅速水質分析器（DR/2500 HACH社）で測定した。また、槽内の菌種の同定は、処理液からDNAを抽出し、16S rDNAのユニバーサルプライマーを用いて16S rDNA領域をPCR増幅して一次増幅産物を得た。そして、それらを変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（DGGE）法により菌種ごとに分離し、得られたバンドから単一菌種のPCR産物を抽出した。次に、これをテンプレートとしてnested PCRを行い、得られたPCR産物を1%アガロースゲル電気泳動後にゲルの切り出しによって精製した。こうして得られた単一菌種のPCR産物の精製物を用いてダイレクトシーケンシングを行い、DNAシーケンサーを用いて、塩基配列を解析し属レベルでの菌同定を行った。

4 実験結果と考察

図-3に回分式の場合のTOC、SSの関係を示す。初期のTOCは1370mg/Lであるが、5日目までに70%以上が除去され、その後は穏やかに減少していき、30日では約

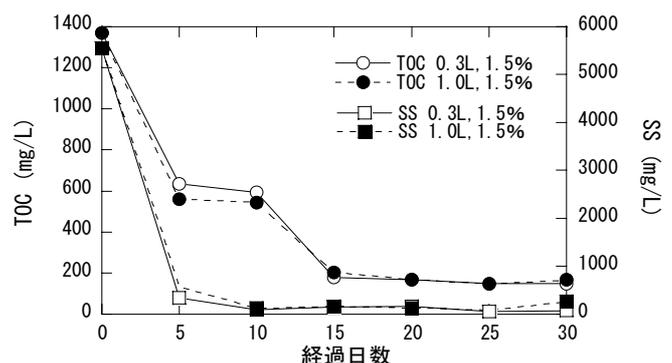


図-3 回分式のTOC及びSSの経日変化

90%が除去された。連続式においても、最終的には91%が除去され、回分式と連続式ではほとんど同じ結果が得られた。また、曝気量0.3L/minの条件では、初期のSSは5500mg/Lであるが、5日目までに急激に減少し90%以上が除去され、10日目の時点では排水基準を満たすことができた。これは、排水中のSS成分が沈澱したものと考えられる。曝気量1.0L/minでは、SSが若干高い値で推移し、最終的には滞留時間30日で排水基準値を達成できなかった。これは、曝気により沈殿汚泥が巻きあがったためであり、曝気量の検討が必要である。

図-4、5に回分実験によるNH₄-N、T-N濃度の経日変化を示す。図-4はNH₄-N濃度変化を示したものであり、曝気量0.3、1L/minでは15、20日まで直線的に減少している。その時点でのNH₄-N除去率はそれぞれ79.95%となっている。放流水域である大淀川は、県公害防止条例の排水基準によるとNH₄-N濃度は200mg/Lである。この基準を達成するためには曝気量0.3、1.0L/minでそれぞれ20、15日以上滞留時間を取れば良いことが分かる。

図-5は連続式の場合であり、T-N濃度変化を示す。曝気量0.3L/minでは20日まで、曝気量1.0L/minは15日まで直線的に減少し、その後安定した。排水基準はないが、閉鎖された流域に放流する基準として、宮崎県北部の尾末湾流域での排水基準(120mg/L)と比較すると、曝気量0.3L/minは滞留時間20日で達成したのに対し、曝気量1.0L/minでは滞留時間15日で達成した。滞留時間20日以降は曝気量による差がなくなり、どちらも約93%の除去率を得た。

図-6は、回分式装置(1.5%, 0.3L/min)の処理液を週ごとに採水し、それに含まれる細菌のDNAを抽出し、PCR反応によって16S領域を増幅したものを、DGGE法によって菌種ごとに分離したものである。泳動条件は変性剤濃度25~55%で130V, 8時間である。このとき、そのレーンにおいてバンドが濃いものが、該当する週での優占種である。そして、得られたバンドの塩基配列解析を行った結果、*Alcaligenes*属、*Comamonas*属、*Bordetella*属、*Shingobacterium*属、*Bacterium Ellin*等が含まれていた。また、図-7は連続式装置の各槽に含まれる菌種を、図-6と同様にDGGE法によって菌種ごとに分離したものである。このとき、バンドの分離能を改善するため泳動条件の検討も行い、変性剤濃度25~60%で65V, 18時間で泳動したものが良い結果を得られた。得られたバンドの塩基配列解析を行った結果、*Alcaligenes*属、*Comamonas*属、*Rhizobium*属、*Roseomonas*属等が含まれていた。これらの属の中で*Alcaligenes*属及び*Comamonas*属は回分式からも得られており、特に*Alcaligenes*属は脱窒菌としても知られている。このため、今後さらにバンド解析を進めるとともに、これらの菌が養豚排水中でどのような作用をしているのかを検討していく予定である。

5. おわりに

本研究では、養豚排水の長期間曝気処理の実験を回分式と連続式で行い、以下のような知見が得られた。

1) NH₄-Nは曝気量0.3、1.0L/minとも滞留時間20日で県の排水基準が達成できた。2) 連続式のNH₄-Nは第5槽(約20日)で県の基準を達成できる。3) 同定の結果、*Alcaligenes*属、*Comamonas*属、*Bordetella*属、*Shingobacterium*属、*Rhizobium*属、*Roseomonas*属、*Bacterium Ellin*が検出され、*Alcaligenes*属と*Comamonas*属細菌は回分式と連続式の両方に検出された。

【参考文献】1) 亀岡俊則：豚舎汚水の活性汚泥処理システムの特徴，養豚の友，日本畜産振興会，pp.58-60(2002)，2) 金子，高階，増田，佐伯：養豚排水の長期間曝気処理に関する研究，17年度西部支部後援概要集，2006.3

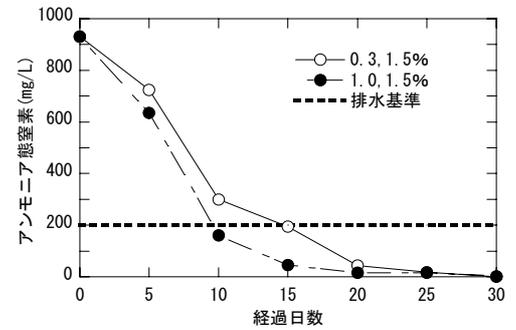


図-4 アンモニア態窒素の経日変化

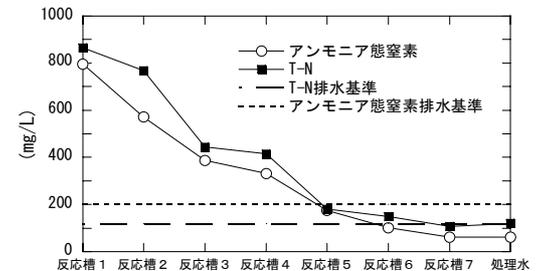


図-5 連続流実験値

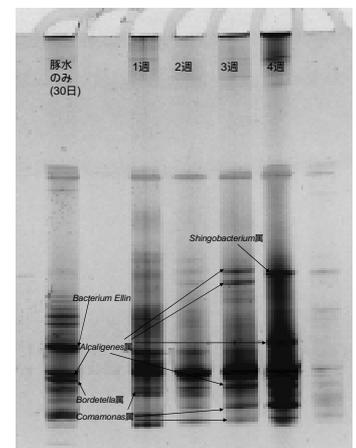


図-6 DGGEバンドパターン(回分式)

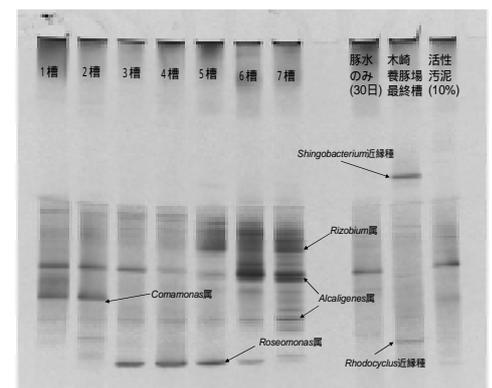


図-7 DGGEバンドパターン(連続式)