

し尿処理場活性汚泥における有用枯草菌と硫酸塩還元細菌の調査

群馬工業高等専門学校 学生会員 ○寺 島 駿
群馬工業高等専門学校 学生会員 町田舟津輝
群馬工業高等専門学校 学生会員 金 澤 推
群馬工業高等専門学校 正会員 宮里 直樹

1. はじめに

1. 1. 背景

現在、下水道施設では、コンクリート製の施設が腐食し、ひどい時には破壊に至るという問題が起こっている。これは下水中や堆積した汚泥内で硫酸塩還元菌の作用により、硫化水素(H_2S)が生成されることが原因であると考えられている。壁面の結露と反応し硫酸(H_2SO_4)となり、硫酸とコンクリート製の施設の水酸化カルシウム($\text{Ca}(\text{OH})_2$)が反応し、二水石膏やエトリンガイトなどのほとんど強度のないものに変質させ、コンクリート製の施設の強度が保たれないことが原因である。特にコンクリート製の下水管は埋設後、管理することは難しい。現在腐食への対策として、最も多く採用されているのは、樹脂による防食被覆工法である。これはコンクリートの表面を耐酸性の樹脂で被覆し、硫酸が直接コンクリートに接しないようにする方法である。しかし、ピンホールができてしまうことや、加工が困難であるなどの理由により防食被覆工法の耐用年数は 10 年程度が限界と考えられている。まだまだコンクリート管腐食問題に対する完全な対策ができていないのが現状である。

一方で生方ら²⁾は、し尿処理場活性汚泥中の有用枯草菌(*Bacillus* 属細菌)と大腸菌の挙動を調べたところ、*Bacillus* 属細菌優占化の起きている汚泥中での大腸菌の減少が確認されたと報告している。さらにし尿処理や下水処理などの生活排水処理施設でバチルス菌が優占種となると、臭気発生が抑えられられると言われている。この臭気は硫酸塩還元細菌が生成する H_2S も原因の 1 つであることが知られている。これらのことより *Bacillus* 属細菌が他の微生物に影響を与えている可能性が考えられる。

1. 2. 目的

そこで本研究では、コンクリートの腐食問題について微生物を用いた対策を検討するため、し尿処理場の活性汚泥を用いて、*Bacillus* 属細菌と H_2S を生成する硫酸塩還元菌の関係を調査することを目的とする。

2. 対象とした微生物

2. 1. 枯草菌(*Bacillus subtilis*)

枯草菌は自然界では、枯草、稲藁、落ち葉、堆肥などに多く存在している。水分が 20%で、酸素があり、20~50℃の温度で栄養分となる有機物があるという状態において、有機物を分解しながら 50 分前後で個体数が 2 倍になる極めて速い速度で増殖するという微生物である。

Bacillus 属細菌の一種である *Bacillus subtilis* は枯草菌と呼ばれている。この枯草菌が増殖すると

きに分解される有機物には、他の微生物、病原菌を含むため、家畜等の腸内環境改善、土壌中の有害微生物の殺菌に利用されている。

2. 2. 硫酸塩還元細菌(Sulfate Reducing Bacteria)

硫酸塩還元細菌(以下 SRB)は一般に、低分子の有機物を電子供与体に、そして硫酸塩を電子受容体として異化的還元を行う偏性嫌気性菌である。硫酸塩は還元され硫化水素(H_2S)として排出される。SRB の生育に適する pH は 6~9 程度で、温度は 28~30℃付近が適温とされている。硫酸塩還元菌は通常、水田の土壌、川の底土、腸内容物などの嫌気的な環境に生息し、排出する硫化水素により悪臭の原因になったり、硫酸となって悪影響を及ぼしたりしている。

3. 調査対象・実験方法

3. 1. 対象とした試料

Bacillus 属細菌と SRB の相互作用を調べるために、2ヶ所 (A し尿処理場と B し尿処理場) のし尿処理場の活性汚泥を実験対象とした。

3. 1. 1. A 処理場

A 処理場では、し尿と浄化槽汚泥を主に処理している。汚水の処理方法は、好気活性汚泥法と膜分離脱窒素処理方式を採用している。処理能力は、35 m³/日である。

3. 1. 2. B 処理場

B 処理場の処理対象廃棄物は、し尿と浄化槽汚泥である。汚水の処理方法は、標準脱窒素処理方式を採用している。標準脱窒素処理方式は好気性処理法として開発された方式であり、5~10 倍程度に希釈して、MLSS は 6000 程度で運転し、原則として加温はしないという特徴がある。処理能力は、120 m³/日である。

3. 2. MLSS 測定

実験に用いる活性汚泥の濃度について調べるため浮遊物質(Mixed Liquor Suspended Solids : MLSS)を測定した。計測は 110℃の乾燥炉で 2 時間以上乾燥させたフィルター(ガラス繊維ろ紙)の質量を計測し、フィルターの上に試料を流した。水分をすべて透過させて、乾燥炉に入れ 24 時間以上乾燥させた。その後フィルターを含む浮遊物質の乾燥質量という手順で行った。

3. 3. *Bacillus* 属細菌の培養

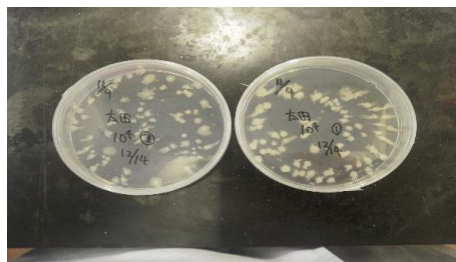
表-1 に記載されている薬品の各成分採取量を量り取り、寒天培地を作成し、シャーレに培地を作る。この培地を冷蔵庫で 2 日以上保管し、培地を固め接種を行った。

また、分析する試料については、液体試料を

20ml 共栓試験管に 20ml 採取し、ホモジナイザーで 10 秒撹拌して分散させ、滅菌した生理食塩水で逐次希釈した。4.5ml に分注された希釈水に、サンプルを 0.5ml 入れることにより 10 倍希釈サンプルを作成し、この作業繰り返すことによって最適な希釈倍率まで試料を希釈する。滅菌され固まった平板培地に、希釈されたサンプルを 0.1ml 滴下し、コンラージ棒で表面が乾くまで塗り広げた。検定のためにブランク試験を行うが、これには生理食塩水を用いた。このシャーレを 32℃ の恒温槽で 2 日培養し、その後、培地にあるコロニーの形状から細菌種を判断してカウントした。

表-1 *Bacillus* 属細菌培養に用いた培地の組成

組成	濃度[g/l]
ニュートリエントブロス	8
グルコース	8
塩化ナトリウム	6
寒天	17
溶解性デンプン	10

図-3 培養した *Bacillus* 属細菌のコロニー

3. 4. 硫酸塩還元細菌数の計測

使用器具はホモジナイザー、オートクレーブ、ビーカー、ピペット、ガスバーナー、振とう器、滅菌した試験管とアルミキャップである。

表-2 に示す組成で硫酸塩還元細菌測定用の培地を作成した。

表-2 硫酸塩還元細菌数測定用培地 (m-ISA 培地)

組成	濃度[g/l]
トリプトン	10.0
乳酸ナトリウム溶液(70%)	5.0
亜硫酸ナトリウム	0.5
硫酸マグネシウム7水和物	2.0
硫酸第二鉄7水和物	0.5
クエン酸鉄アンモニウム	0.5

測定には、最確値(Most Probably Number : MPN)法を用いた。

Bacillus 属細菌培養と同様に試料を希釈し、計数培地を各試験管に 4.5ml ずつ入れておき、そこに各試料から 0.5ml ずつ採り、試験管を各希釈段階につき 5 本ずつ作成した。また検査対照として生理食塩水でブランクも一組用意した。寒天をオートクレーブで滅菌後、固化直前まで冷却させ、小試験管内液体培地の上部に穏やかに流し込み、固化させて空気を遮断し嫌気状態を保った。37℃の

温度に設定された孵卵器中で約 7 日間から 10 日間培養する。2 日に 1 回のペースで観察し、試験管すべてについて黒変の有無を観察した。記録結果より最確値を用いて 100ml 中の菌を計数した。

4. 実験結果

今回の結果を表-3 に示す。

表-3 実験結果

	<i>Bacillus</i> 属細菌 コロニー 数[個 /gMLSS]	硫酸塩還 元細菌数 [MPN 個 /gMLSS]	MLSS [mg/l]	臭気
A処理場	7.18E+08	4.45E+06	10960	なし
B処理場	5.00E+09	9.20E+07	10000	なし

結果は、A 処理場では MLSS が 10,960mg/l であり、*Bacillus* 属細菌が 10^8 個/gMLSS 程度、硫酸塩還元細菌が 10^6 MPN 個/gMLSS 程度となった。B 処理場では MLSS が 10,000mg/l となり、*Bacillus* 属細菌が 10^9 個/gMLSS 程度、硫酸塩還元細菌が 10^7 MPN 個/gMLSS 程度となった。どちらの処理場においても、*Bacillus* 属細菌が 10^8 個/g 以上ととても多く存在していると推察された。また汚泥からは硫黄を起因とする臭いは感じられなかった。

5. まとめ

今回調査を行った 2 つの処理場においては、*Bacillus* 属細菌が優占化しており、硫酸塩還元細菌の生成する H_2S を起因とする悪臭は、確認できなかった。そのため、*Bacillus* 属細菌が硫酸塩還元細菌に対し、何らかの影響を与え、活動を抑制しているという可能性が考えられる。しかし、今回の調査は細菌数のみであり、また試料数も少ないため、断定には至らず、継続した調査が必要であると考ええる。

参考文献

- 1) 須賀雄一，稲毛克俊：下水処理施設におけるコンクリート腐食対策への取り組みについて，衛生工学シンポジウム論文集，vol.12，pp.93-96 (2004)
- 2) 生方明日香，荻野修大，宮里直樹，青井透：パチルス菌優占化活性汚泥反応槽でのパチルス菌と糞便性大腸菌の挙動，第 47 回環境工学研究フォーラム講演集，vol.47，pp.88-90 (2010)
- 3) 土壤微生物研究会：新編 土壤微生物実験法 (1992)
- 4) 社団法人日本下水道協会：下水試験方法 上巻 -1997 年版- (1997)
- 5) 宮里直樹，池本良子，高松さおり：活性汚泥の硫酸化還元特性と関連微生物の変動特性，土木学会論文集，No.807/VII-37，pp.93-100 (2005)
- 6) 長 祥隆：環境微生物工学環境法 (1993)
- 7) 大澤良実：連作障害抑止型改良材における *Bacillus* 属細菌群集調査，平成 19 年度群馬高専卒業研究 (2008)
- 8) 長田真輝：*Bacillus* 属細菌優占化活性汚泥中の細菌群集調査，平成 19 年度群馬高専卒業研究 (2008)