活性汚泥における有用枯草菌と硫酸塩還元菌の調査

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 寺島 駿
 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った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。生成された H_2S が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($Ca(OH)_2$)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¹⁾。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、臭いの発生が抑えられられると言われている。この臭い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、*Bacillus* 属細菌と H_2S を生成する硫酸塩還元菌の関係を調査し、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ことを目的とした。本研究室では、すでにし尿処理場の *Bacillus* 属細菌と硫酸塩還元菌について、結果を得た。しかし、都市下水処理場や養豚廃水処理場の活性汚泥については、結果が得られていない。そこで今回は、高崎市の A 処理場、養豚廃水処理場の活性汚泥について調査を行った。

2. 対象とした微生物

2. 1. 枯草菌 (*Bacillus subtilis*)

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. 硫酸塩還元菌(Sulfate Reducing Bacteria)

硫酸塩還元菌(SRB)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。SRB が生育に適する pH は 6-9 程度で、温度は 28~30°C 付近が適温とされている。

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、A 処理場の A 系(標準活性汚泥法)および B 系(嫌気好機活性汚泥法)から得た汚泥養豚排水処理施設の汚泥の計 3 種類を実験対象とした。

3. 1. 1. 高崎市の A 処理場

高崎市の A 処理場は、おもに高崎市の都市下水を処理している下水処理場である。汚水の処理方法は、標準活性汚泥法(A 系)と嫌気好気活性汚泥法(B 系)を用いている。処理能力は、A 系は 45,900 m^3 /日で、B 系は 29,500 m^3 /日である。

3. 1. 2. 養豚廃水処理場

対象とした養豚廃水処理場の、汚水の処理方法は、回分式活性汚泥法である(複合ラグーン)。回分式活性汚泥法とは、一つの槽で好気・嫌気処理をする方法である。嫌気好気活性汚泥法より窒素やリンの除去ができる、一つの槽で処理を行うので、コストが安く済むという特徴がある、小規模処理施設で利用されている。

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 MLSS(Mixed Liquor Suspended Solids)を測定した。MLSS とは活性汚泥浮遊物質のことである。計測の方法は 110°C 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:GFP)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を計測した。

表-1 に記載されている薬品の各成分採取量を量

り取り、1l ビーカーに入れガスコンロで沸騰させる。その後オートクレーブで滅菌する。滅菌後熱いうちにガラス瓶を取り出し、寒天培地 20ml を迅速にシャーレに注入し、全体的に行きわたらせ培地を作る。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。予め必要数の 20ml 共栓試験管や、希釈操作に使用するピペット・デジフィット用チップ等を滅菌しておいた。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り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、これに希釈試料の代わりに、生理食塩水を 0.1ml 滴下した。このシャーレを 32℃ の恒温槽で 2 日培養した。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
溶性デンプン	10

3. 4. 硫酸塩還元細菌数の計測

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

相対的な指標として最確値 (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。滅菌処理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. 実験結果と考察

今回の結果を表-3 に示す。

表-3 実験結果

		Bacillus属細菌コロニー数[個/g]	硫酸塩還元菌数 [MPN個/g]	MLSS [mg/l]	臭気
A処理場	標準	3.37E+05	1.13E+07	976	あり
	嫌気	1.78E+05	8.90E+06	1459	あり
	養豚廃水処理場	8.79E+06	3.64E+05	6600	あり

高崎市の A 処理場の Bacillus 属細菌は 10⁵ 個/g 程度で、SRB は 10⁶~10⁷MPN 個/g であった。MLSS は 1000~1500mg/l 程度の値であった。養豚廃水処理施設の Bacillus 属細菌は 10⁶ 個/g 程度で、SRB は 10⁵MPN 個/g、MLSS は 6600mg/l だった。Bacillus 属細菌数は少なかったが、処理場によって SRB の多く存在している活性汚泥もあった。

5. まとめ

今回は 2 つの活性汚泥試料について実験を行った。実験結果より、都市下水処理場や、養豚廃水では Bacillus 属細菌が少なく、硫酸塩還元細菌数がやや多く存在している活性汚泥もあった。だが菌数からのみでは両者の相互作用はよく判断できなかった。また、臭気を確認してみると Bacillus 属細菌の少ない汚泥では強烈な臭気があった。

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, 12:93-96 (2004)
- 2) 生方明日香, 荻野修大, 宮里直樹, 青井透: バチルス菌優占化活性汚泥反応槽でのバ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 2010 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 (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(2008)