

活性汚泥中の有用枯草菌と硫酸塩還元細菌の相互作用の検討

群馬工業高等専門学校 学生会員 ○野口直希, 野沢和穂
 群馬工業高等専門学校 学生会員 金澤推, 町田舟津輝
 群馬工業高等専門学校 正会員 青井透, 宮里直樹

1. はじめに

1.1. 研究背景

現在, コンクリート製下水道管の硫酸劣化が深刻な問題となってきた。国土交通省によると, 全国の下水道管の延長は約 45 万 km である¹⁾。そのうち, 供用開始から耐用年数である 50 年を越えたものは約 1 万 km であり, 今後, 大幅に増えることになる。また, 硫酸劣化によって耐用年数に達する前に, 早い場合には供用開始から 15 年程で既に鉄筋まで腐食している下水管も報告されている²⁾。下水道管の腐食劣化は機能障害を引き起こすだけでなく, 道路陥没などによって日常生活や社会活動に重大な影響を及ぼすことも考えられる。実際に, 平成 24 年には, 下水道管の老朽化に起因した道路陥没が約 3,900 箇所報告されている。

コンクリート製下水道管の腐食劣化の過程は, まず, 嫌気条件下で硫酸イオンが硫酸塩還元細菌によって還元され硫化水素となり, 気中に拡散する。次に, 硫化水素が結露中に取り込まれ, 硫黄硝酸細菌により硫酸に変化する。そして, 硫酸がコンクリート中の水硝酸カルシウムと化学反応を起こし, 腐食が発生する。一般的な腐食対策としては, 表面被覆工法が用いられているが, 腐食因子を完全に遮断することができないため, 現在, より効果の高い腐食対策の開発が求められている。

私達の研究室では, 有用枯草菌 (以下 *Bacillus* 属細菌) が優占化した活性汚泥の特徴について調査している。これまでの研究結果⁴⁾³⁾から, *Bacillus* 属細菌が優占化した活性汚泥では, ①バルキングが抑制されている, ②汚泥特有の硫化水素臭が抑えられている, ③硫酸塩還元細菌数が 1/5~1/3 程度である, ということを報告している。一方で, 硫酸塩還元細菌は, 汚泥の悪臭の原因である硫化水素を生成することに加え, 糸状性バルキングの重要因子の一つである。また, 生方らが *Bacillus* 属細菌有占化曝気槽での *Bacillus* 属細菌による大腸菌の抑止効果について研究した結果⁶⁾, *Bacillus* 属細菌優占化活性汚泥では大腸菌数が少なく, 「*Bacillus* 属細菌が生産した抗生物質が大腸菌の増殖を抑えた」と考えられた。

Bacillus 属細菌の増殖した汚泥では硫化水素臭がな

いということから, 私達は, *Bacillus* 属細菌が硫酸塩還元細菌にも何らかの影響を及ぼしているのではないかと考えた。

そこで, 本研究では, *Bacillus* 属細菌と硫酸塩還元細菌の相互作用を検討するため, 群馬県内の処理場の活性汚泥を採取し, 両細菌数の比較を行った。

1.2. *Bacillus* 属細菌

Bacillus 属細菌は, 細胞形状が棒状で, 芽胞を形成し, 好気性または通性嫌気性で, 生菌は主にグラム陽性菌である。水中や土壌中に存在するだけでなく空中にも飛散し, 自然界に広く分布している。

Bacillus 属細菌の一種である *Bacillus subtilis* は枯草菌と呼ばれている。枯草菌は, 有機物に対する分解力の強さから, 農業や生活の中で, 有害な微生物の殺滅や分解に利用されるようになってきている。*Bacillus* 属細菌には多くの種類があるが, 詳しく分類されていない細菌群であるものを *B.sp.R3* とした。本研究では, 特に *B.subtilis* の増殖を目的とした。*B.subtilis* 及び *B.sp.R3* のコロニー形状を図-1 に示す。



図-1 コロニー形状 (*B. subtilis* (左), *B.sp.R3* (右))

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

硫酸塩還元細菌は, 低分子の有機物を電子供与体とし, 硫酸塩を電子授与体として異化的硫酸塩還元を行う偏性嫌気性細菌である。通常, 水田の土壌, 川の底土などの嫌気的な環境に生息する。硫酸塩還元細菌により硫酸塩は硫化水素に還元されるので, 自然界の硫黄サイクルの重要な経路の一つを担っている。硫酸塩還元細菌の生育に適する pH は 6 から 9 程度であり, 最適温度は 28 から 30℃付近とされている。

キーワード *Bacillus* 属細菌 硫酸塩還元細菌 下水管腐食 活性汚泥

連絡先 〒371-8530 群馬県前橋市鳥羽町 580 番地 群馬工業高等専門学校 TEL. 027-254-9000 E-mail : nmiyazato@evl.gunma-ct.ac.jp

2. 実験概要

2.1. 各処理場の *Bacillus* 属細菌数, 硫酸塩還元細菌数の計測

表-1に示す県内下水処理施設の活性汚泥を用いて *Bacillus* 属細菌数と硫酸塩還元細菌数の測定を行い, また, 活性汚泥の硫化水素臭の有無を, 活性汚泥を直接嗅ぐことによって調べた。

表-1 汚泥を採取した県内下水処理施設一覧

施設	処理対象物	汚水処理	処理能力(kl/日)
A	都市下水	標準活性汚泥法	45900
B	都市下水	嫌気好気活性汚泥法	29500
C	養豚排水	回分式活性汚泥法	—
D	し尿 浄化槽汚泥	標準脱窒素処理方式	120
E	し尿 浄化槽汚泥	好気活性汚泥法 膜分離脱窒素処理方式	35

2.2. 分析方法

Bacillus 属細菌のコロニー数は, 活性汚泥中の *Bacillus* 属細菌を培養して計測した。液体培地(組成は表-2に示す)をオートクレーブにて滅菌し, これをシャーレに各 20ml 注入して冷蔵庫で 2 日間以上保管し, 寒天平板培地(以下, 培地と記す)を作成した。10² 倍希釈した試料水をハンドホモジナイザーで 2 分間攪拌し, その後クリーンブースで, 滅菌した生理食塩水(0.85%塩化ナトリウム溶液)で 10³, 10⁴, 10⁵, 倍の希釈試料水を作った。培地に希釈試料水を 0.1ml 滴下し, コンラージ棒で表面に均等に塗り広げ, 一つの希釈試料水に対して 2 枚ずつ培地を作成した。32℃に設定した恒温槽で 48 時間培養後, 培地上に現れたコロニーを観察した。東京農業大学工学部細見研究室での DNA 解析により現在明らかになっている *Bacillus* 属細菌のコロニー形状と種名の関係から各コロニーを区分し, *B.subtilis* と *B.sp.R3* のコロニー数を測定した。

表-2 *Bacillus* 属細菌培養に用いた培地の組成

組成	濃度[g/l]
ニューエントリプロス	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

硫酸塩還元細菌数(MPN 個)の測定には, 下水道試験法の MPN 法を用いた。培地は Mara と Williams の改編 ISA 培地を使用した。試料を 10³ から 10⁷ ままで希釈したものを用いて, 硫酸塩還元細菌を培養した。10 日後に黒変したものを数え, MPN 法によって硫酸塩還元細菌数を求めた。

3. 結果・考察

各処理場の活性汚泥における *Bacillus* 属細菌数, 硫酸塩還元細菌数を表-3に示す。

D 処理施設や E 処理施設の *Bacillus* 属細菌数はそれぞれ 7.18×10⁸ 個/g, 5.00×10⁸ 個/g と多かったが, 硫酸塩還元細菌数も 4.55×10⁸MPN 個/g, 9.20×10⁹MPN 個/g と, 少ないとは言えなかった。しかし, これらの活性汚泥では硫化水素臭が確認できなかったため, 両者の相互作用については菌数以外にも検討する余地があると考えられる。

表-3 活性汚泥中の菌数測定結果

施設	<i>Bacillus</i> 属細菌 コロニー数(個/g)	硫酸塩還元細菌数 (MPN 個/g)	MLSS(mg/l)	硫化水素臭
A	3.37 × 10 ⁷	1.13 × 10 ⁹	976	有
B	1.78 × 10 ⁷	8.90 × 10 ⁸	1459	有
C	8.79 × 10 ⁶	3.64 × 10 ⁷	6600	有
D	7.18 × 10 ⁸	4.45 × 10 ⁸	10960	無
E	5.00 × 10 ⁸	9.20 × 10 ⁹	10000	無

4. まとめ

本研究では各処理場の活性汚泥の *Bacillus* 属細菌と硫酸塩還元細菌を計測し, 両細菌の関係を調べた。*Bacillus* 属細菌が多くても硫酸塩還元細菌が増えていたり, 硫酸塩還元細菌が多くても硫化水素臭がなかったりしたため, 菌数以外の観点からも *Bacillus* 属細菌と硫酸塩還元細菌の関係を検討することが必要であると考えられる。

参考文献

- 1) 国土交通省「下水道・計画的な改築・維持管理」
(http://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/crd_sewerage_tk_000135.html)
(2013年10月14日)
- 2) 須賀雄一, 稲毛克俊(2004):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, pp.93-96
- 3) 河野亮太, 齋田圭太(2006):し尿処理場と下水処理場でのミネラル投入によるバチルス菌優占化試験,卒業研究発表予稿集,pp.49-52
- 4) 黒岩和貴(2008):バチルス菌と触媒を併用した脱臭方法の検討,卒業研究発表予稿集,pp.53-54
- 5) 大澤良実, 長田真輝(2007):有用枯草菌優占化活性汚泥中の微生物群調査,卒業研究発表予稿集,37-pp.38
- 6) 生方明日香, 荻野修大, 宮里直樹, 青井透(2010):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,pp.88-90