

活性汚泥濃度が大腸菌の吸着と死滅に与える影響

木更津工業高等専門学校 学生会員 ○笹生慶希, 正会員 上村繁樹, 大久保努
近畿大学工業高等専門学校 正会員 安井宣仁

1. はじめに

近年, 抗生物質耐性菌の感染による健康被害が問題となっている。耐性菌とは, 抗生物質の多量な使用や遺伝子変異により抗生物質に耐性を持つ細菌のことである。耐性菌を保有するヒトや家畜の排泄物として環境中に排出され, 下水や公共用水域で検出されている。現在も国内外での被害が報告されており^{1),2)}, このまま耐性菌の出現・蔓延が続くと 2050 年には年間死者が 1,000 万人にも及ぶ³⁾とされている。耐性菌の動態を明らかにし, 拡散を抑制するための方策が喫緊に求められている。一般的に, 健常者の糞便試料の 80.5% に耐性菌が存在しており, そのうち 98% が抗生物質耐性大腸菌 (以下, 耐性大腸菌) と報告されている⁴⁾。日本の下水道利用人口は約 9,500 万人であり, 高濃度の耐性大腸菌が日常的に下水処理場に流入していると考えられる。

これまでの研究では, 国内の下水の 97% を処理する活性汚泥法と, 途上国で実用化に向け実証研究が続けられている下向流懸垂スポンジ (Down-flow Hanging Sponge : DHS) 法を対象に, 同一の下水を処理した際の処理過程における多剤耐性大腸菌の存在割合を比較した。抗生物質はカナマイシン, セフジニル, アンピシリンの 3 種類を対象とした。その結果, 汚泥濃度は活性汚泥法が 1.5 g-MLVSS/L, DHS 汚泥が 14.0 g-MLVSS/L-sponge と濃度差が大きい特徴を持つ中, 耐性大腸菌は活性汚泥法では処理水中に多く含む一方で, DHS 法では処理水よりも汚泥中に多く存在⁵⁾したことから, 汚泥濃度が大きく異なることで大腸菌の死滅や汚泥への吸着に影響を受けることが考えられた。

そこで異なる汚泥濃度での大腸菌の動態を評価するため, 同一の活性汚泥の濃度を段階的に設定し, それぞれ分離された液分と汚泥分における大腸菌の減少速度から, 汚泥濃度が大腸菌の死滅と吸着特性に与える影響を比較・評価した。

2. 実験方法

2. 1 実験諸条件

実験には木更津高専浄化槽の活性汚泥を用いた。同汚泥の濃度を 3 段階に設定し実験に供した。1 つ目は一般的な活性汚泥法の濃度である 1~2 g-MLVSS/L (以下, 低濃度汚泥), 2 つ目は一般的な浄化槽の濃度である 4~6 g-MLVSS/L (以下, 中濃度汚泥), 3 つ目は DHS 保持汚泥を想定した 10~20 g-MLVSS/L (以下, 高濃度汚泥) である。木更津高専浄化槽の汚泥濃度は 4~6 g-MLVSS/L であるため, 低濃度汚泥は 0.9% 生理食塩水にて希釈し, 高濃度汚泥については静置沈殿にて上澄み液を除くことで濃縮した。

また, 同浄化槽の初沈下水をクロモカルトコリフオーーム寒天培地 (Merck Millipore) で 35℃ で 24 時間培養し, 形成された大腸菌コロニー 3 個を白金耳にて釣菌した。その後トリプトソイブイオン培地 (日水製薬 (株)) に接種し, 35℃ で 3 時間培養 (30 分毎に攪拌) し, 高濃度大腸菌溶液を作成した。

2. 2 各試料の大腸菌数の測定

低濃度汚泥, 中濃度汚泥, 高濃度汚泥それぞれについて, 汚泥のみの系 (以下, Blank 試料) と汚泥に高濃度大腸菌溶液を投入した系 (以下, E. coli 試料) を用意した。それぞれビーカー内で攪拌曝気し, 0h (高濃度大腸菌溶液投入 30 秒後), 1h, 2h, 3h, 6h, 24h 経過毎に試料を採取した。30 分間の静置沈殿後の液分と汚泥分を 0.1% ペプトン水で希釈し, コンパクトドライ EC (日水製薬 (株)) を用いて, 35℃ で 24 時間培養し大腸菌数を測定した。

各汚泥濃度の実験はそれぞれ別日に実施し, 0.9% 生理食塩水による希釈や静置沈殿による濃縮を経るため, 汚泥中の初期大腸菌数の統一を図ることができなかった。そこで, 投入した大腸菌数を算出するため, E. coli 試料から Blank 試料を差し引いた値を, 投入した高濃度大腸菌溶液における大腸菌数と仮定し, 実験結果の議論に取り扱った。

3. 実験結果

調整した低濃度汚泥, 中濃度汚泥, 高濃度汚泥それぞれの E. coli 試料, 0h (高濃度大腸菌溶液投入 30 秒後) の汚泥濃度は 1.1 g-MLVSS/L, 4.0 g-MLVSS/L, 12.4 g-MLVSS/L であった。また, 攪拌時間 0h で示した初期大腸菌数は低濃度汚泥で 8.35×10^3 個/mL, 中濃度汚泥で 4.43×10^5 個/mL, 高濃度汚泥で 4.18×10^5 個/mL であった。低濃度汚泥, 高濃度汚泥の液分と汚泥分における大腸菌数の動態をそれぞれ図 1, 図 2 に示す。それぞれ攪拌時間と共に大腸菌数は減少している中, 汚泥中に存在する大腸菌の割合に着目すると, 低濃度汚泥では, 0h で 12% から少しずつ割合を増やし, 24h で 35% となった。一方高濃度汚泥では, 0h, 1h, 2h では 30% 程度で, 3h, 6h, 24h では 60% 程度となり, 2h から 3h の間に急激に割合が高くなり, 3 種の汚泥で唯一 50% を上回る割合となった。高濃度汚泥は, より大腸菌を吸着しやすい性質・機能を持つことが示唆された。

液分と汚泥分の各汚泥濃度における大腸菌数の減少率の対数について直線近似できる範囲に対して一次反応式をあてはめることができると考えた。各汚泥試料の高濃度大腸菌溶液を投入してからの攪拌時間における液分中と汚泥分中の大腸菌数の一次反応式をそれぞれ図 3, 図 4 に示す。

キーワード 下水処理 活性汚泥濃度 大腸菌 汚泥への吸着

連絡先 〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1 木更津高専 TEL : 0438-30-4165 E-mail : okubo@c.kisarazu.ac.jp

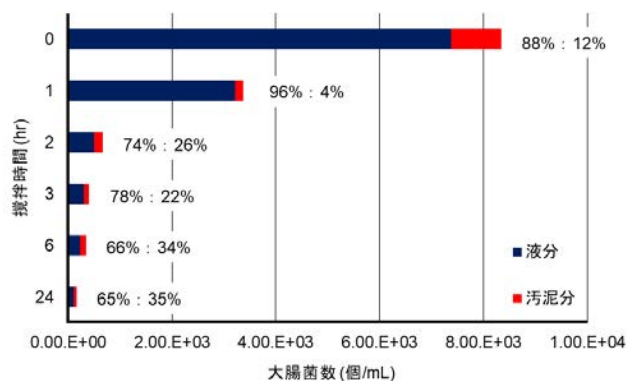


図1 低濃度汚泥中の大腸菌数の存在割合

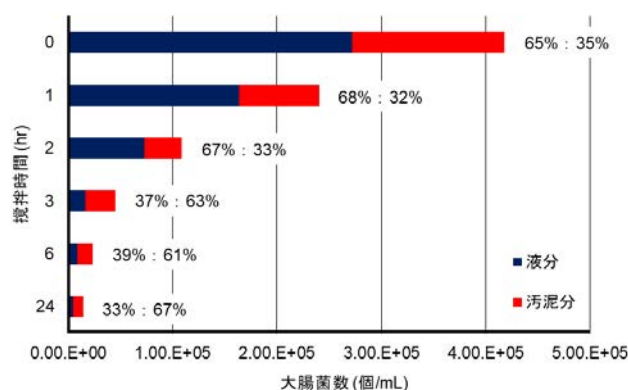


図2 高濃度汚泥中の大腸菌数の存在割合

各試料の直線近似できる範囲は、液分の低濃度汚泥 0~2 hr, 中濃度汚泥 0~2 hr, 高濃度汚泥 0~3 hr, 汚泥分の低濃度汚泥 0~1 hr, 中濃度汚泥 0~2 hr, 高濃度汚泥 0~2 hr とし、図中に実線で示した。これらの範囲から算出した減少速度（傾き）を図中に示した。各汚泥濃度における液分と汚泥分それぞれの大腸菌減少速度を比較すると、液分においては汚泥濃度による大きな差異はなかった。一方、汚泥分では、低濃度汚泥で最も速く 1.869 /hr, 中濃度汚泥 1.150 /hr, 高濃度汚泥で 0.695 /hr となった。図2に示した結果からも混合後直ぐに投入した大腸菌の3割は汚泥に吸着されているため、見かけの減少速度は遅くなったと考えられた。また汚泥分について、図4の破線で示した吸着後の大腸菌の減少速度に目を向けると、中濃度汚泥 0.331 /hr, 高濃度汚泥 0.234 /hr であり、低濃度汚泥 0.064 /hr と比較して速かった。

以上より、濃度が高い汚泥は一般的な活性汚泥の濃度と比較して大腸菌をより吸着しやすく、大腸菌を捕食する絨毛虫類がより多く存在することから、吸着後の減少速度が速くなることが示唆された。

参考文献

- 1) U.S.Department of Health and Human ServicesAntibiotic resistance threats in the United States, 2013.
- 2) 産経ニュース, (<http://www.sankei.com/west/news/180802/wst1808020095-n1.html>), 閲覧日 2020年1月17日.
- 3) Jim O' Neill, Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, 2014.
- 4) Korzeniewska, E., Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants-a review, Front Bioscience (Schol Ed), 3(2), 393-407, 2011.
- 5) 笹生ら, 異なる下水処理方式における多剤耐性大腸菌の存在割合の比較, 第46回土木学会関東支部技術研究発表会, 2019年.

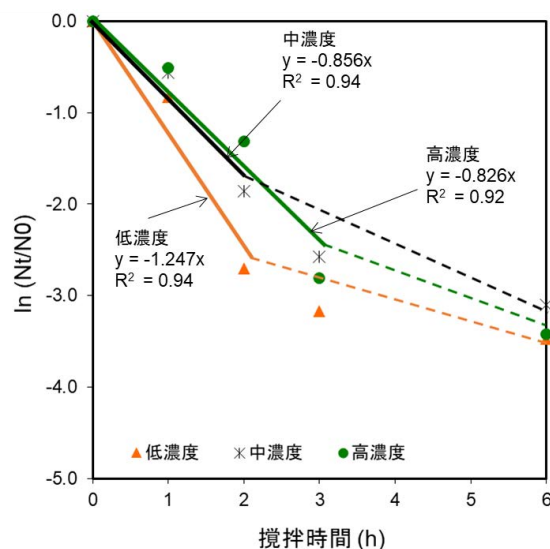


図3 液分中の大腸菌減少速度

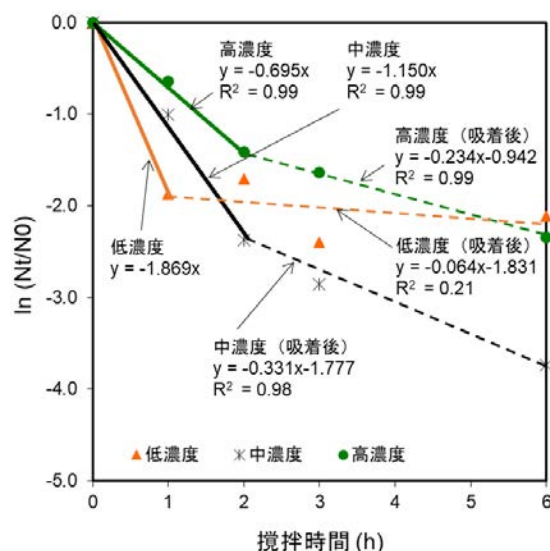


図4 汚泥分中の大腸菌減少速度

4. まとめ

本研究では、より高濃度に汚泥を保持する DHS 法は処理過程において、汚泥中に耐性大腸菌が多く存在し、汚泥濃度が大腸菌の死滅や汚泥への吸着に影響を受けることが考えられたため、同一の活性汚泥の濃度を段階的に設定し、DHS 保持汚泥を想定した高濃度の汚泥が大腸菌の死滅と吸着特性に与える影響を比較・評価した。分離された液分と汚泥分それぞれの減少速度から大腸菌の汚泥への吸着特性を評価したところ、濃度が高い汚泥では、大腸菌が汚泥に吸着しやすく、吸着後も一定速度で減少する傾向が示された。