

(22) SRT制御に伴う活性汚泥細菌相の構成変化

STUDY ON THE CHANGE OF BACTERIAL POPULATION IN ACTIVATED SLUDGE PROCESS CONTROLLED BY SRT

橋 本 奨*, 藤 田 正 憲*

Susumu HASHIMOTO*, Masanori FUJITA* and

池 道 彦*

Michihiko IKE*

ABSTRACT; The characteristics of activated sludge and the process performance were investigated as the function of sludge retention time (SRT, expressed as ts), using the continuous treatment process with synthetic wastewater. Then, numbers of dominant bacteria were isolated and identified at SRTs of 2-day, 5-day, 10-day and 15-day, and the constitutional ratio of isolates was discussed. Consequently, the following results were obtained;

- (1) *Pseudomonas* sp. or *Alcaligenes* sp., *Flavobacterium* sp., Coryne-form bacteria including *Arthrobacter* sp. were isolated as dominant bacteria of activated sludge. A few *Micrococcus* sp. and *Bacillus* sp. were also isolated. However, some few isolated ones, including both gram-negative and gram-positive bacteria could not be identified.
- (2) Bacterial population was changed with the SRT. Most of bacteria were classified as *Pseudomonas* sp. or *Alcaligenes* sp. with 2-day and 5-day SRT, and the ratio of *Flavobacterium* sp. and Coryne-form bacteria increased with the increase of SRT.
- (3) It was found that the characteristic of activated sludge and the process performance were closely related to the constitutional ratio of dominant bacteria in activated sludge.

KEYWORDS; activated sludge, change of bacterial population, isolation of dominant bacteria, sludge retention time (SRT)

1. はじめに

活性汚泥法は微生物の代謝活動を利用して、下・廃水中の有機物を分解・除去する生物処理法の一つである。活性汚泥処理に関与する微生物は、細菌、真菌類、原生動物、後生動物等多種多様で、これらが複雑な相互作用を及ぼしあう混合培養系を構成している。この微生物相は、処理施設の操作条件や処理状況を総合的に反映しており、活性汚泥を効率の良い状態に保つことは、この微生物群を適正な状態に維持する事にかかっている。これまで活性汚泥法の制御には、この微生物相の生態挙動を詳細に把握することなく、処理成績の解析に基いた経験的手法が採られてきた。しかし、水処理のより一層の効率化、高度化が望まれる中で、近年特に注目されている微生物の固定化や分子育種等のバイオテクノロジー技術の活用^{1,2)}が期待され、このため活性汚泥微生物の動態を汚泥の持つ諸機能と対比させて、より詳細に解明する事が必要となっている。

本研究では、活性汚泥法の最も重要な操作因子である平均活性汚泥滞留時間 (SRT) を種々変化させ、それに伴う活性汚泥中の細菌相の構成変化を調べた結果について報告する。

* 大阪大学工学部環境工学科 (Dept. of Environmental Eng., Osaka University)

2. 実験材料並びに方法

2.1 活性汚泥の調製

長期間 fill-and-draw 方式で合成下水に馴養した活性汚泥を種汚泥として用い、Fig.1 に示した連続式活性汚泥処理装置を運転した。流入水はペプトン 300mg, 肉エキス 200mg, NaCl 15mg, KCl 7mg, CaCl_2 7mg, MgSO_4 5mg, NaHCO_3 105mg を 1 l の水道水に溶かした合成下水を用いた。その水質は $\text{TOC} = 157 \text{ mg/l}$, $\text{COD}_{\text{cr}} = 500 \text{ mg/l}$ で、これを定量ポンプで 10 l/day となるように連続的に供給した。従って、全実験を通じ曝気槽（容量は 6 l）への負荷量は 5.0 g $\text{COD}_{\text{cr}}/\text{day}$ に保たれていた。又、通気速度は $0.60 \text{ l/l} \cdot \text{day}$ 、処理温度は 25°C を採用した。SRT (t_s と略す) 値は次式で定義され、本研究では 2 日, 5 日, 10 日, 15 日の 4 段階について実験された。

$$t_s = \frac{V \cdot S}{Q_w S + (Q_s - Q_w) S_e}$$

上式で、V は曝気槽容量 (l), Q_s は流入下水量 (l/day), Q_w は引き抜き汚泥量 (l/day), S は曝気槽内活性汚泥濃度 (mg/l), S_e は処理水 SS 濃度 (mg/l) を示す。ここで t_s 2 日では定常状態期間を含めて 2 週間以上培養し、 t_s が長くなるにつれて培養期間を長くしていった。従って、 t_s 15 日では 1.5 ヶ月以上の培養期間となった。また定常状態の水質や汚泥性状はすこしばらついていたので、各 t_s について定常状態期間中の 1 週間程度の平均値で表わした。一方、細菌分離に用いた活性汚泥は定常状態期間中の一時期にサンプリングしたもので、その時の汚泥性状を記載している。

Fig.1 から明らかなように、処理装置の固液分離はフィルター・セパレーター（住友スリーエム製、工業用パッド・タイプ A ベリーファイン）にて行ったので、処理水 SS 濃度は極めて低かった。そこで $S_e \ll S$ と仮定し、 t_s を次のように簡略化して表わすことにした。

$$t_s = V/Q_w \quad \text{または} \quad Q_w = V/t_s$$

従って、 Q_w 値を変化させる事により t_s 値を種々変化させる事が可能となる。

ここで、MLSS 及び水質の分析は下水試験方法に準じて行った。

2.2 活性汚泥細菌の分離

各種 t_s で調製された活性汚泥試料を、Fig.2 に示した手順でフロック破碎を行い、それを適宜希釈した後、カシトン 5 g, グリセロール 5 g, 酵母エキス 1g, 寒天 14g を蒸留水 1 l に溶かした CGY 培地にて平板培養した。活性汚泥から細菌を分離する場合、汚泥フロックを十分に破碎し個々の細菌を十分に分散させる方法や、すべての構成細菌を成長させることの出来る培地や培養条件を選択することが大切であり、多くの方法が提案されている³⁻⁶⁾。Fig.2 に示した方法は、著者等が活性汚泥細菌の生菌数測定の最適方法として選択した方法である⁷⁾。フロックの破碎方法としては、ホモゲナイザー及び超音波発振機（いずれも日本精機製作所製）による処理を時間を変えて比較し、Table 1 の成績が得られたの

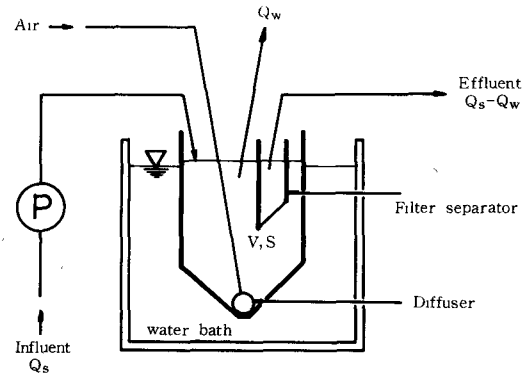


Fig.1 Schematic representation of activated sludge process.

V: Volume of aeration tank (=6 l)
 Q_s : Influent flow rate (=10 l/day)
 Q_w : Withdrawal rate of excess sludge (l/day)
 S: MLSS concentration (mg/l)
 S_e : Effluent SS concentration (mg/l)

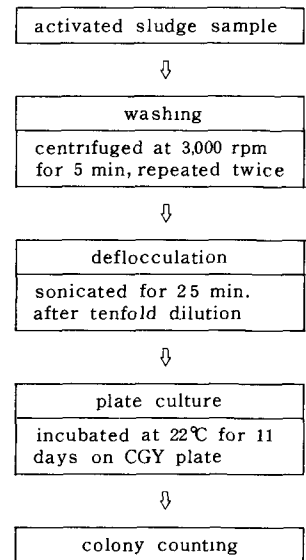


Fig.2 Enumerating method of activated sludge bacteria.

で、超音波発振機による 2.5 分間の処理を活性汚泥フロック破砕の最適条件として採用した。ただし、本実験は最適培養温度決定前に行われたので、30℃、8 日培養と比較した。細菌の計数・分離用培地として採用した CGY は、Pike et al³⁾ により推奨された培地で、著者等も普通寒天培地と比較して、培養温度の影響をうけにくく、しかも高い生菌数が得られることを確認した。本培地では培養温度は 22℃ が最適であり、出現コロニー数は培養期間 10～12 日で最大となった。これらの最適条件の組み合わせ（超音波処理 2.5 分、22℃、10～12 日培養）によって得られた生菌数は、 $9.2 \times 10^{11}/\text{g MLSS}$ となり、Pike & Carrington⁸⁾ が報告した値の約 10 倍以上となった。従ってこの方法によれば活性汚泥中の大部分の細菌についてコロニーを形成させる事ができると考えられる。次に 10^6 倍希釈の平板培養中の任意の 1 枚に出現したコロニーのうち、よく隔たって現れ、他と隣接或は混在していない全コロニーを釣菌し、その各々を CGY 液体培地にて 2 回植え継いだ後適宜希釈し、再び CGY 平板上にコロニーを形成させ、活性汚泥細菌の分離株を得た。この時点で異なったコロニーが出現した場合は、その各々を分離株とした。ここで破砕したフロックの再凝集を防止するため、希釈水として分散効果のすぐれているトリポリリン酸ソーダ水溶液（5mg/l:121℃、15 分殺菌）を用いた³⁾。また CGY 液体培地は上記の組成より寒天を除いて調製した。

2.3 活性汚泥細菌の同定

各種 t_s 活性汚泥からの分離細菌について、グラム染色、オキシダーゼ、カタラーゼ等の生理学的試験並びに細胞形態、運動性、コロニーの形状等の形態学的試験を行い、その結果を基に Steel & Cowan の第 1 次鑑別表⁹⁾や Bergey's Manual 第 8 版¹⁰⁾に従って、およそ属までの同定を行なった。

3. 実験結果並びに考察

3.1 各種 t_s 活性汚泥の性状

t_s を 2 日、5 日、10 日、15 日の 4 段階に設定して調製された各種 t_s 活性汚泥の、定常状態期間中の約一週間の平均的な性状を Table 2 に示した。 t_s の増加に伴って曝気槽内の MLSS 濃度はほぼ直線的に増大した。一方、SVI は t_s 2 日、10 日の活性汚泥では、各々 195、107 と高く沈降性が悪かったが、 t_s 5 日、15 日では各々 65、56 と低い

値を示し沈降性も良好であった。Table 2 に示したように、 t_s の変化に伴って活性汚泥の性状が変化したことから、活性汚泥中の細菌相にも何らかの相違がある事が推察された。

3.2 各種 t_s 活性汚泥の処理性能

各種 t_s での定常状態における連続式活性汚泥処理装置の処理成績を Table 3 に示した。また、この成績から求めた TOC、TKN 並びに T-N の各除去率を t_s に対してプロットすると Fig. 3 のようになる。 t_s の増加に伴って処理水質は良好となったが、 t_s 5 日以上では TOC、TKN 濃度はそれぞれ 6.5～7.6 mg/l、5.4～8.7

Table 1 Enumeration of bacterial numbers using various deflocculating methods.

Deflocculating Method	Treatment Time (min)	Viable Counts (cell/g MLSS)
Sonicator (200μA)	0.5	5.5×10^{11}
	1.0	6.6×10^{11}
	2.5	7.5×10^{11}
	5.0	6.2×10^{11}
	10.0	2.5×10^{11}
Homogenizer (10,000 rpm)	10.0	2.6×10^{11}
	20.0	4.3×10^{11}

Incubated at 30℃ for eight days with CGY medium.

Table 2 Characteristics of activated sludge with various SRTs.

Item \ SRT	2-day	5-day	10-day	15-day
MLSS, mg/l	309	784	1078	1473
SVI, ml/g	195	65	107	56
Color *1	light brown	yellowish brown	brown	dark brown
SS of Eff. *2	much	fairly much	trace	trace
Characteristics of floc	filamentous, compressed poorly	small floc, poor sedimentation	mix. of spherical and filamentous floc	spherical and compressive floc

*1: Color of activated sludge floc.

*2: Supernatant of mixed liquor after sedimentation for 30 minutes.

mg/l の値で安定した。TOC 除去率は t_s 2～15日を通じて 90 % 以上と高く保たれていたが、TKN 除去率は t_s 5 日以上で 80 % 以上と高い値を示したのに対し、 t_s 2 日では 44 % と低かった。一方、T-N 除去率は 40 % から 15 % へ t_s の増加と共に減少した。 t_s の増加と共に $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は増大し、T-N 除去率が減少していることから、本実験の範囲内では T-N 除去率は硝化－脱窒によるよりも、むしろ活性汚泥への取込みと汚泥引抜きによる効果の方が比重が大きいことが推測された。

活性汚泥性状から見て、各種 t_s 活性汚泥の細菌相は、各々異なると推測されたが、その TOC 除去能が t_s の変化に影響をうけなかった事は興味深い。 t_s 5～15 日に比べ t_s 2 日で TKN 除去率が低かったのは、曝気槽から硝化菌が流出し $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が増加しなかったためと推測される。これは t_s 制御によって一部の細菌が重要な選択を受けることを示唆している。従って一般的には活性汚泥の処理性能は汚泥細菌により異なると考えられる。

3.3 各種 t_s 活性汚泥細菌の分離

各種 t_s 活性汚泥の試料を CGY 平板にて培養し、出現したコロニー数から生菌数を求め、これを t_s について比較すると Table 4 のようになった。ここで Table 2 と Table 4 の MLSS 濃度にずれがみられるのは、前者では定常状態の平均値を表わしているのに対し、後者ではサンプリング時の MLSS を表わしていることに起因する。MLSS 1g 当りの生菌数は t_s 5 日以上ではほぼ一定となったが、 t_s 2 日では他の t_s の生菌数の 2～3 倍と高くなった。しかし活性汚泥混合液 1ml 当りの生菌数は、MLSS 濃度と同様に t_s が大きくなるにつれて増加した。

各種 t_s 活性汚泥の 10^6 倍希釈試料 0.1ml を表面塗抹した CGY 平板上には 30～200 のコロニーが出現し、コロニー同志が離れて分離に適當であったので、この希釈段階の平板から任意に 1 枚を選び細菌の分離に供した。平板上でコロニー相互を区別できたものは、平板上の全コロニーの約 70～90 % で、これらを全て釣菌し、純粋菌とした。この分離状況を Table 5 にまとめた。分離の過程で増殖しなかったコロニーや、2 種の細菌から構成されていた混成コロ

Table 3 Performance of activated sludge process with various SRTs.

Item t_s	Influent, mg/l		Effluent, mg/l					
	TOC	TKN	TOC	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	Org. N	TKN	T-N
2-day	157	43	120	158	2.6	82	240	266
5-day	157	43	74	61	17.1	26	87	258
10-day	157	43	76	78	23.9	0.4	8.2	321
15-day	157	43	65	47	31.0	0.7	5.4	364

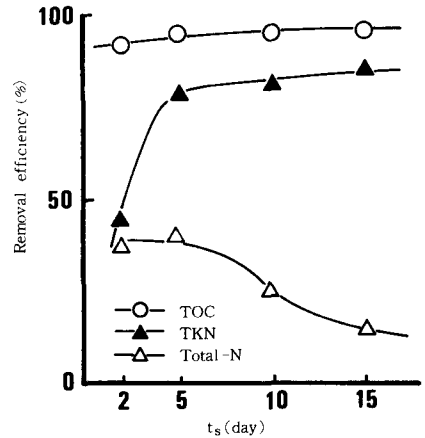


Fig.3 Effect of SRT on treatment efficiencies of TOC, TKN and Total-N.

Table 4 Viable counts of various SRT-activated sludges.

t_s	MLSS conc. (mg/l)	Viable count	
		cell/ml	cell/g MLSS
2-day	262	4.9×10^8	2.0×10^{12}
5-day	866	6.6×10^8	7.6×10^{11}
10-day	846	8.2×10^8	9.7×10^{11}
15-day	1300	1.1×10^9	8.6×10^{11}

Table 5 Isolation of activated sludge bacteria.

Item	t_s (day)			
	2	5	10	15
Numbers of total colonies on the plate used as an isolating source	48	65	89	125
Numbers of colonies picked up from the plate as isolated colonies	34	59	66	85
Numbers of colonies to lose an ability of growth during subculture	0	3	1	0
Numbers of colonies including more than two isolates	2	4	3	5
Final numbers of pure isolates	36	60	68	90

ニーが若干認められた。

3.4 各種 t_s 活性汚泥細菌の同定

先に分離された各種 t_s 活性汚泥細菌を、各種生理並びに形態試験の成績から分類すると Table 6 のようになる。分離株の多くは OF テスト 培地¹¹⁾ では増殖が見られなかったので、培地に酵母エキスを加えるなどの改良を行ったがやはり増殖が悪かった。従って Table 6 には OF テストの結果を記載していないが、結果の出た株については分類に際し参考にした。Dias & Bhat¹²⁾ は、多くの活性汚泥細菌を調べ、グルコースから酸を生成する細菌は全体の約 10% 以下にすぎなかったと報告している。本研究においても分離株の中に嫌氣的にグルコースより酸を生成する株はみられず、また全体の 10~15% のみが好氣的に酸を生成したにすぎず、Dias & Bhat¹²⁾ の結果と近似していた。以上より、各種 t_s 活性汚泥細菌を生理的、形態的特徴から、Bergey's Manual 第 8 版に基づいて分類した。

Table 6 Classification of various SRT-activated sludge bacteria.

Gram stain	Shape	Motility	Spore*	Color of colony	Oxidase	Catalase	Numbers of strain					No.
							t_s 2-day	t_s 5-day	t_s 10-day	t_s 15-day	Sub-total	
+	spherical	-	-	A	+	+				1	1	I
				R	-	+			1		1	II
				A	-	-	1		4		5	III
	rod	+	+	W	+	+		1	1	1	3	IV
		-	-	Y	-	+			2		2	V
				W	-	+		6		17	23	VI
				W	-	-	4	3	10	1	18	VII
-	rod	+	-	Y	+	+	3	5	3		11	VIII
		-	-	W	+	+	24	43	38	42	147	IX
				Y	+	+	3	1	9	28	41	X
				W	+	+	1	1			2	XI

+: positive, -: negative, *+: spore formed, -: spore not formed
A: amber, R: red, Y: yellow, W: white

Table 6 において、分類 I, II はグラム陽性球菌で Micrococcus 属に同定されたが、分類 III は Micrococcaeae に該当する属がなく、また OF テストの結果がうまく得られなかったので、Streptococcaceae に入ることができず、未同定菌とした。分類 IV は孢子を形成するグラム陽性桿菌であることから Bacillus 属と同定した。また分類 V, VI, VII はグラム陽性の不規則な桿菌で、形態的特徴から Coryneform 群の細菌と推測された。このうち半数以上は培養が古くなるにつれて球形に変化するため、Arthrobacter 属に分類されると考えられる。分類 VIII, IX は運動性を有するグラム陰性桿菌でオキシダーゼ、カタラーゼ活性陽性であることから、Pseudomonas 属あるいは Alcaligenes 属に分類される。しかし、この二属の区別はより詳細な同定試験を要するため、ここでは Pseudomonas 属群として一つにまとめて取扱った。グラム陰性桿菌で運動性がなかったもののうち、黄色のコロニーを形成した分類 X は Flavobacterium 属と同定した。分類 XI は Acinetobacter 属または Moraxella 属の類縁属と思われるが、二つを区別できなかった。これをまとめると Table 7 のようになる。

Table 7 Identification of various SRT-activated sludge bacteria.

genus	t_s (day)			
	2	5	10	15
Micrococcus	0	0	1	1
Bacillus	0	1	1	1
Coryneform group	4	9	12	18
Pseudomonas	27	48	41	42
Flavobacterium	3	1	9	28
unidentified gram p.	1	0	4	0
unidentified gram n.	1	1	0	0
total numbers	36	60	68	90

p.: positive bacteria, n.: negative bacteria

活性汚泥中の細菌の大部分は *Pseudomonas* 属或は *Alcaligenes* 属, *Flavobacterium* 属, *Arthrobacter* 属を中心とする *Coryneform* 群に属していた。また少数ながら *Bacillus* 属, *Micrococcus* 属の細菌の存在が認められた。

3.5 各種 t_s 活性汚泥の細菌構成

Table 7 より各種 t_s 別に活性汚泥細菌の構成比率を求め、図示すると Fig.4 のようになった。*Pseudomonas* 属群と *Flavobacterium* 属をあわせたグラム陰性桿菌が全体の 73~83% とほとんどを占めたが、*Coryneform* 群を中心とするグラム陽性細菌も t_s にかかわらず 14~27% の割合で認められた。

Allen¹³⁾ は活性汚泥細菌の大部分は *Pseudomonas* 属, *Flavobacterium* 属等のグラム陰性桿菌であると報告し、他の研究者等も *Alcaligenes* 属を含め、グラム陰性桿菌は種々の活性汚泥からかなりの高頻度で分離しており^{8,12,14)}、著者等の結果はこれらの報告とよく一致していた。一方、*Coryneform* 群のようなグラム陽性菌は、活性汚泥中の優先菌となることは

少ないが、本研究では *Arthrobacter* 属等の *Coryneform* 群の細菌が比較的多く認められた。Gils¹⁴⁾ はグルコースと硫酸アンモニウムを含む合成下水で培養した活性汚泥から分離した細菌のうち 24% がグラム陽性の *Micrococcus* 属であったと報告している。これらの知見は、Bacterial flora の決定要因が下水組成や操作因子など多数の要因に支配されていることを示唆しており、今後の研究課題となる。Fig. 4 から明らかのように、 t_s により活性汚泥細菌相がかなり変化している。即ち、 t_s 2 日、5 日の活性汚泥中では *Pseudomonas* 属群が全細菌の各々 75%, 80% と極めて高い割合を占めていたが、 t_s の増加

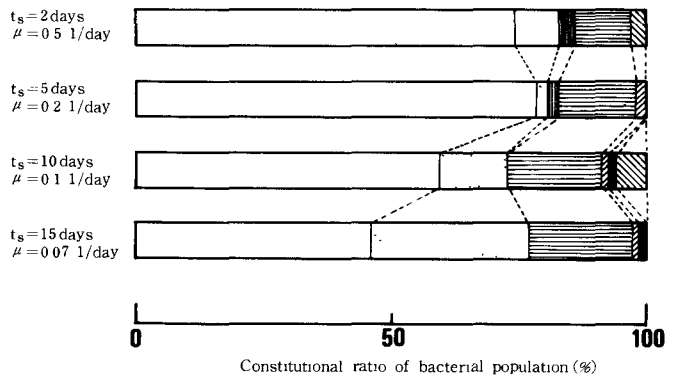


Fig.4 Effect of SRT on the constitutional ratio of bacterial population.

Gram-negative
 □ *Pseudomonas*
 □ *Flavobacterium*
 ▨ unidentified
 Gram-positive
 ■ *Micrococcus*
 ▩ *Bacillus*
 ▨ *Coryne-form*
 ▩ unidentified

に伴って *Flavobacterium* 属, *Coryneform* 群の割合が増し、*Pseudomonas* 属群は 47% にまで減少した。 t_s 値の逆数は活性汚泥の比増殖速度 μ を表わすので、 t_s 制御により曝気槽内の細菌の内 $1/t_s$ 以下の μ を持つ細菌を引き抜き汚泥として槽外に排出していることになる。従って、 t_s 2 日活性汚泥中に見られる細菌は、 μ が 0.5 (1/day) 以上の細菌に限られる事になり、 t_s 15 日活性汚泥中には、 μ が 0.07 (1/day) 程度の増殖速度の低い細菌も含まれている事になる。この様な比増殖速度による選択により、 t_s の増加と共に比較的小さな μ を持つ細菌までが槽内に保持され、構成細菌の多様性が増すものと考えられる。

t_s による細菌構成比率の変化を更に詳細に検討するため、活性汚泥混合液 1ml 或いは MLSS 1g 当りの生菌数と各種構成細菌の割合から、 t_s と活性汚泥中の各種構成細菌数の関係を図示した所、Fig. 5 及び Fig. 6 が得られた。Fig. 5 から明らかのように、 t_s の増加に伴って混合液 1ml 当りの全細菌数は増加するのに対し、*Pseudomonas* 属群は t_s 5 日以上ではほとんど増加せず一定に保たれていた。一方、*Flavobacterium* 属の細菌は t_s 10 日から 15 日の間で著しく増加し、*Coryneform* 群の細菌数は t_s の増加と共にほぼ一定の割合で増加した。従って、 t_s の増加に伴う *Pseudomonas* 属群の構成比率の減少は、*Pseudomonas* 属群の細菌数の減少ではなく、他の細菌の増加に起因することがわかった。また Fig. 6 から明らかのように、 t_s 5 日以上では MLSS 1g 当りの *Pseudomonas* 属群は減少し、*Flavobacterium* 属がそれを補うように増加して、全細菌数が一定に保たれていた。一方、*Coryneform* 群は t_s にかかわらず MLSS 1g 当りでは一定

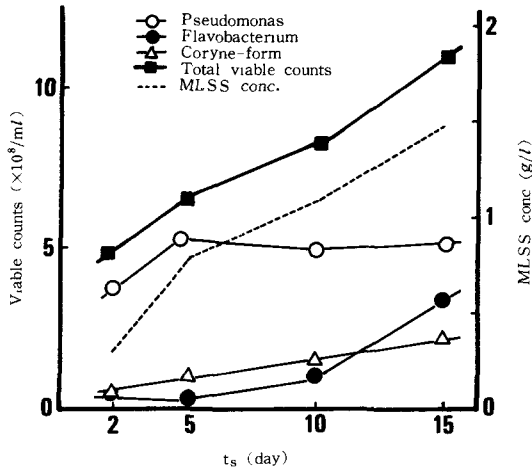


Fig.5 Effect of SRT on dominant bacterial genera of activated sludge floc (expressed as cell/ml of mixed liquor).

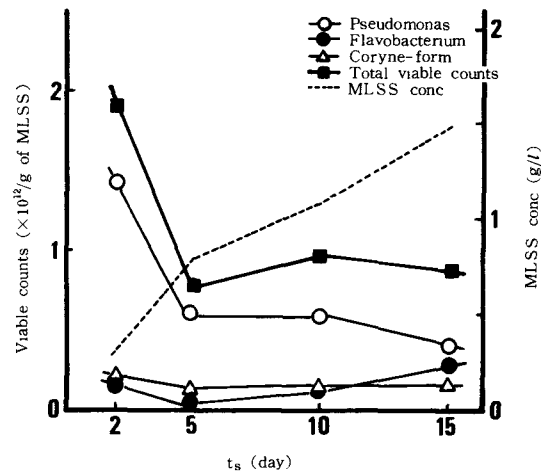


Fig.6 Effect of SRT on dominant bacterial genera of activated sludge floc (expressed as cell/g of MLSS).

数を示した。

t_sの変化に伴って、このような細菌構成比率の変化が認められたが、先に述べた活性汚泥の性状や処理性能との間には明確な関連は見られなかった。しかし、活性汚泥細菌の分離・同定・構成比率の変化等の観察を通じて、次のような知見が得られた。

分離された254株について、COD_{Cr} 500 mg/lの合成下水を基質としたL字管による振盪培養(25~28℃, 80 rpm)にてフロック形成能を調べたところ、多くの株がフロック形成能を示した。特にt_s 15日の活性汚泥から分離されたFlavobacterium属の多くは、他の細菌に比べて粘着性に富み、壁面に旺盛な成長を示した。この知見とt_s 15日の活性汚泥のSVI値が低く、沈降性が極めて良好であったことは、直接的には相関する根拠はみられないが、このようなフロック形成能を持った細菌が優勢であったことは活性汚泥の性状に何らかの影響を及ぼしていることを示唆していると言える。

また、分離した各種t_s活性汚泥細菌から各々数株を選択し硝酸塩の還元能を試験した所、t_s 2日、5日の大部分の株は硝酸塩を亜硝酸塩にまで還元し、更に脱窒を行う株も確認されたが、t_s 10日、15日の株では脱窒能を示す株は見られず、亜硝酸塩までの還元を行う株も少数であった。このこととt_sの増加と共にNO₃-Nが増加し、逆にT-N除去率が減少することを考慮すれば、本実験の範囲内では活性汚泥フロック内での脱窒による窒素除去よりも、汚泥引き抜きによる窒素除去の比重の方が高いと推察される。

一方、t_sが2日から15日へと増加するに伴って、活性汚泥混合液1ml当りの生菌数は約2倍に増加したにもかかわらず、活性汚泥によるTOC容積除去量はt_sの影響を受けず0.24~0.25 g/l·dayとほぼ一定であった。単純に考えれば生菌数が2倍になればTOC容積除去量も2倍になるはずであるが、そうならなかった。勿論基質濃度が低いことによる基準律速も考えられるが、細菌の構成変化も一因であろう。即ち、t_s 15日の活性汚泥中には比増殖速度の遅い細菌も多数存在し、これらがバランス良く基質を利用しているのに対し、t_sの減少に伴って活性汚泥混合液中の細菌数は減少するが、その代り比増殖速度の早い細菌が優先となることで、TOC容積除去量を高く保っていたと推測される。このことは負荷を増大させると、活性汚泥は多様性を減少させることでそれに対応することを示している。活性汚泥法のきめ細かな制御を行う上で、ここで示したような構成細菌の比増殖速度と基質除去速度やその構成比率などの微生物レベルでの解析が、今後益々必要になってくると思われる。

4. 要 約

合成下水を用いて t_s 2日, 5日, 10日, 15日 で連続式活性汚泥処理装置を運転し, 活性汚泥性状や処理性能を調べると共に, これらの活性汚泥から細菌を純粋分離・同定し, t_s と構成細菌の比率を検討した。

- (1) TOC除去率は t_s にかかわらず約 90%以上に保たれていた。一方, TKN除去率は t_s の増加と共に増大し, 逆に T-N除去率は減少した。
- (2) 各種 t_s 活性汚泥の優先種として *Pseudomonas* 属或いは *Alcaligenes* 属, *Flavobacterium* 属及び *Arthrobacter* 属を中心とする *Coryneform* 群の細菌が分離された。また, 少数ではあるが *Micrococcus* 属, *Bacillus* 属及び未同定のグラム陽性球菌, グラム陰性桿菌も分離された。
- (3) t_s 制御に伴って, 活性汚泥中の細菌構成が変化した。 t_s 2日及び t_s 5日では大部分が *Pseudomonas* 属或は *Alcaligenes* 属の細菌であったが, t_s 10日及び 15日では *Flavobacterium* 属, *Coryneform* 群の細菌の比率が増加した。
- (4) 各種 t_s 活性汚泥の細菌構成や分離菌の性質と汚泥性状・処理性能について検討し, 若干の興味ある知見が得られた。

尚, 本研究を進めるに当り, 実験に多大の御協力をいただいた卒論学生阿武秀治, 中村文治の両君に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 橋本・古川・濱: "活性汚泥の固定化とその浄化機能に関する研究" 下水協, **22**, (253), pp. 42-50 (1985)
- 2) 橋本・藤田: "分子育種技術の廃水処理への応用—遺伝子工学からの視点" 水処理技術, **24**, pp. 697-713 (1983)
- 3) Pike, E.B., Carrington, E.G. & Ashburner, P.A.: "An Evaluation of Procedures for Enumerating Bacteria in Activated Sludge" J. appl. Bact., **35**, pp. 309-321 (1972)
- 4) Williams, A. R., Stafford, D.A., Galley, A.G. & Hughes, D. E.: "Ultrasonic Dispersal of Activated Sludge Flocs" J. appl. Bact., **33**, pp. 656-663 (1970)
- 5) Parakasam, T. B. S. & Dondero, N. C.: "Aerobic Heterotrophic Bacterial Populations of Sewage and Activated Sludge, I. Enumeration" Appl. Microbiol. **15**, pp. 461-467 (1967)
- 6) 倉石: "活性汚泥の微生物学的技法の問題点" 微生物の生態 1, 方法論をめぐって, 学会出版センター, pp. 107-128 (1974)
- 7) 橋本・藤田・池・阿武: "活性汚泥の菌数測定と菌株の分離・同定について" 第22回下水道研究発表会講演集, pp. 420-422 (1985)
- 8) Pike, E. B. & Carrington, E. G.: "Recent Development in the Study of Bacteria in the Activated Sludge Process" Water Pollution Control, **71**, pp. 583-600 (1972)
- 9) Cowan, S. T. & Steel, K. J.: "Manual for the Identification of Medical Bacteria (2nd Ed.)" Cambridge Univ. Press (1973)
- 10) Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E.: "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th Ed.)" Williams and Wilkins Co., (1974)
- 11) 長谷川 (編): "微生物の分類と同定" 学会出版センター, pp. 236-237 (1975)
- 12) Dias, F. F. & Bhat, J. V.: "Microbial Ecology of Activated Sludge I. Dominant Bacteria" Appl. Microbiol., **12**, pp. 412-417 (1964)
- 13) Allen, L. A.: "The Bacteriology of Activated Sludge" F. Hyge., **43**, pp. 424-431 (1944)
- 14) Gils, Jr., H. W. (須藤監訳): "活性汚泥の細菌学" 産業用水調査会 (1974)