

B-54 し尿処理場における 有用枯草菌と硫酸塩還元細菌の調査

○金澤 推¹・町田 舟津輝¹・中島 眞太郎¹
堀尾明宏²・宮里 直樹^{2*}・青井 透²

¹群馬工業高等専門学校専攻科・環境工学専攻（〒371-0845 群馬県前橋市鳥羽町580番地）

²群馬工業高等専門学校・環境都市工学科（〒371-0845 群馬県前橋市鳥羽町580番地）

* E-mail: nmiyazato@civil.gunma-ct.ac.jp

1. はじめに

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いる。汚水中に浮遊している硫酸塩還元細菌により硫化水素が生成された後、硫黄酸化細菌によって硫化水素が硫酸に変化し、この硫酸によってコンクリートや鉄筋の腐食が起こる。全国の下水道管で耐用年数を超えたものは1万kmあり、これから高度経済成長期に敷設された下水道管が相次いで更新時期を迎える¹⁾。国土交通省²⁾によれば、平成23年度の下水道管の老朽化に起因した道路陥没は約4,700件報告されている。大規模な下水道管の腐食劣化は下水道本来の機能停止だけでなく、交通網の寸断など社会的に大きな影響を与えると考えられる。下水道管の腐食対策としては、防食被覆工法が一般的であるが、施工が難しく、腐食因子を完全に遮断することはできない。したがって、既存の対策よりも効果の高い腐食防止技術の開発が求められている。

本研究室では、有用枯草菌（以下、*Bacillus*属細菌と呼ぶ）が優占化した活性汚泥の性質について調査している。これまでの結果³⁾から、*Bacillus*属細菌が優占化した活性汚泥では、①沈降性がよい、②硫酸塩還元細菌が1/3～1/5程度に減少する、③活性汚泥特有の臭気が抑えられている、ことが示唆されている。このことから、*Bacillus*属細菌が硫酸塩還元細菌に対して何かしらの影響を与えていると考えた。以上より、本研究では*Bacillus*属細菌優占化活性汚泥における2つの細菌の相互作用を明らかにすることを目的とし、コンクリート製下水道管の腐食防止技術を開発することを最終目標とした。そこで、まず、*Bacillus*属細菌優占化の条件を調べるため、市販の優占化剤の成分をもとに活性汚泥にミネラルを添加し、両細菌数を測定したので報告する。

2. 実験方法

(1) 活性汚泥のミネラル投入実験

予備実験として、MLSS濃度を1000 mg/l に設定した活性汚泥にミネラルを添加し、菌数を測定した。

実験概要を図-1に示す。①活性汚泥のMLSS濃度を測定し、遠心分離機にかけ上澄み水を捨てた。②残った汚泥に人工廃水を投入し、MLSS濃度が1000 mg/l になるように調整した。③②の溶液にシリカ、硫酸マグネシウム（以後 Si、Mg と示す）を濃度30 mg/l になるように添加した。対照実験として、活性汚泥に人工廃水のみを投入したもの（ブランク）を用意した。④30℃に設定した恒温槽で攪拌しながら培養し、3日後、7日後の*Bacillus*属細菌数、硫酸塩還元細菌数を測定した。

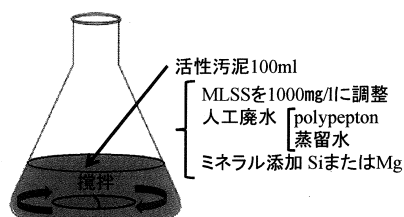


図-1 活性汚泥のミネラル投入実験概要

活性汚泥は群馬県高崎市にあるA水処理センターの返送汚泥を用いた。人工廃水は polypepton を濃度 200mg/l になるように蒸留水と混合したものである。MLSS濃度は、下水道試験方法⁴⁾のガラス繊維ろ紙法と遠心分離法に従って測定した。ミネラルは表-1に示す水処理微生物培養資剤（商品名：ブルーミネラルBM-B）の成分⁵⁾を参考に、*Bacillus*属細菌の芽胞を作るのに必要とされているSiと、成長に必要とされているMgを投入した。

表-1 ブルーミネラルの成分

含有物質	含有率(wet%)
Ti	0.53
Mn	0.72
Fe	30.94
Zn	0.15
Rb	0.07
Sr	0.16
Zr	0.05
P	3.16
Sr	7.22
K	4.23
Ca	25.72
Mg	0.61
Al	6.21
Si	20.23

*Bacillus*属細菌数の測定には、活性汚泥中の*Bacillus*属細菌を培養し、コロニー数を計測した。培地の組成は、蒸留水にニュートリエントブロス(Oxid-CM-1)8%、グルコース8%、塩化ナトリウム6%、寒天17%、水溶性デンプン1.0%である。培養手順は、まず、シャーレに20mlの培地を入れ、2日間冷蔵庫で固化させた。次に培養に必要な希釈試料を作成し、培地に0.1ml 滴下した後、コンラージ棒で培地の表面を均等に塗り広げ、その後32℃に設定した恒温槽で培養した。2日後、培地上に現れたコロニー数を数え、活性汚泥中に存在する*Bacillus*属細菌数を求めた。

硫酸塩還元細菌数の測定には、下水道試験法の MPN 法を一部改良した活性汚泥中の硫酸塩還元細菌の有無及びその数を調べる方法である MPN 乳酸法を用いた。培地は Mara と Williams の改編 ISA 培地を使用した。試料を 10^3 から 10^7 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。

(2) 回分法を用いたミネラル投入実験

回分法を用いてミネラル投入実験を行った。実験概要を図-2に示す。2.1の予備実験と比較して手順はほぼ同じであるが、異なる点は次の4点である。

- 回分法を用いて毎日上澄み水 250 ml とミネラルを添加した人工廃水を交換した。
- 添加するミネラルを塩化第二鉄、ケイ酸ナトリウム、硝酸カリウム(以後、Fe、Si、Kと示す)に変更した。
- エアープンプを設置し曝気を行った。
- 一週間毎に細菌数を測定し、同時に顕微鏡で活性汚泥の状態を観察した。

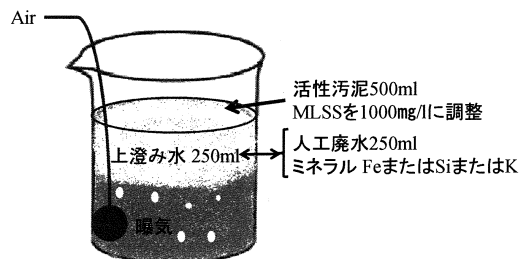


図-2 回分法を用いたミネラル投入実験の概要

3. 結果と考察

(1) 活性汚泥のミネラル投入実験

実験開始から、3日後、7日後の細菌数を表-2に示す。*Bacillus*属細菌数はブランク、Si 添加、Mg 添加の全ての活性汚泥で、実験開始から約 10^7 個/g・MLSS前後で変化がみられなかった。また、硫酸塩還元細菌数はブランクやSiを添加した活性汚泥には多少の増減が見られたものの、約 $10^5 \sim 10^6$ MPN個/g・MLSSであり、大きな変化は確認できなかった。これは、ミネラルや人工廃水の投入を実験開始時にしか行わなかったため、両細菌にとって生息環境が悪化し、増殖できなかったからだと考えられる。

表-2 活性汚泥のミネラル投入実験における細菌数の変化

	測定日	ブランク	Si添加	Mg添加
<i>Bacillus</i> 属細菌数 (個/g・MLSS)	実験開始	7.65×10^7		
	3日目	2.65×10^7	7.5×10^7	4.2×10^7
	7日目	4.6×10^7	4.4×10^7	5×10^7
硫酸塩還元細菌数 (MPN個/g・MLSS)	実験開始	1.20×10^6		
	3日目	7.9×10^6	2.3×10^5	3.3×10^5
	7日目	2.4×10^5	2.4×10^6	2.4×10^5

(2) 回分法を用いた活性汚泥のミネラル投入実験

顕微鏡で活性汚泥を観察した様子を写真-1に示す。

SiやKを添加した活性汚泥は、糸状性細菌が多く見られたが、Feを添加した活性汚泥では確認できなかった。Fe 添加の活性汚泥は赤茶色をしており、これは酸化鉄の影響だと考えられる。実験開始から2週間は活性汚泥に大きな変化は見られなかったが、3週間目になるとゼリー状になり、性状が変わってしまったため、実験を中止した。この時Fe、Si、Kを添加した活性汚泥では、実験開始時には見られなかったゾウリムシなどの原生動物が比較的多く確認できたことから、生物相が変化したと考えられる。

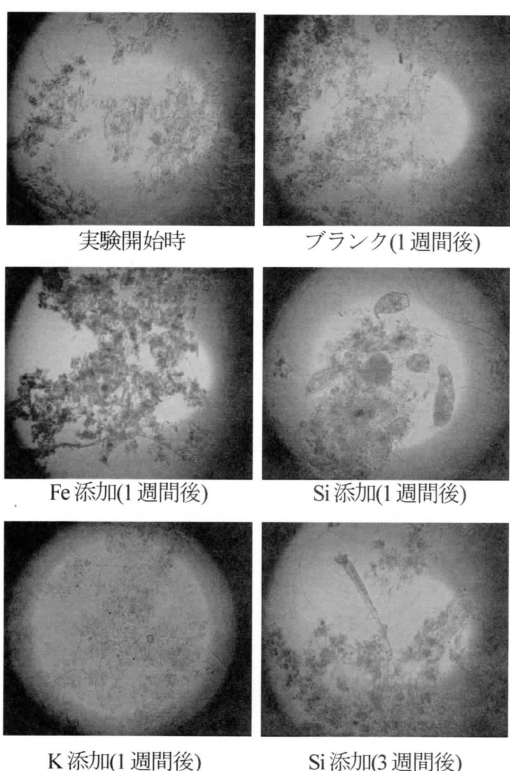


写真-1 活性汚泥の状態(倍率 150 倍)

一週間毎の菌数の変化を表-3に示す。

*Bacillus*属細菌数は、Feを添加した活性汚泥で最も菌数が増え、2週間後も 9.00×10^7 個/g・MLSSを維持していた。7日目は予想以上に菌数が多く、培地上でのコロニーが正確に確認できなかったため、計測ができなかった。その他のSi、Kを添加した活性汚泥は約 10^7 MPN個/g・MLSS前後で、ブランクと変わらず大きな変化は見られなかった。硫酸塩還元細菌は、Feを添加した活性汚泥に注目すると、他のミネラルを添加した汚泥が約 10^5 MPN個/g・MLSS前後であったのに対し、実験開始から約 10^4 MPN個/g・MLSS前後と少なく、増殖は認められなかった。

表-3 回分法を用いたミネラル投入における細菌数の変化

	測定日	ブランク	Fe添加	Si添加	K添加
<i>Bacillus</i> 属細菌数 (個/g・MLSS)	実験開始		1.08×10^7		
	7日目	4.10×10^7	計測不可	2.10×10^7	3.40×10^7
	14日目	1.80×10^7	9.00×10^7	2.90×10^7	1.20×10^7
硫酸塩還元細菌数 (MPN個/g・MLSS)	実験開始		2.30×10^4		
	7日目	1.70×10^5	3.30×10^4	9.20×10^5	1.30×10^5
	14日目	7.00×10^4	7.90×10^4	9.40×10^4	2.40×10^5

4. まとめ

本実験では、*Bacillus*属細菌の優占化条件を把握するため、ミネラルを活性汚泥に添加し、*Bacillus*属細菌数と硫酸塩還元細菌数の測定及び、活性汚泥の観察を行った。そこから、以下の結果が得られた。

- 1) Feを添加した活性汚泥は*Bacillus*属細菌の若干の増殖が確認できたが、 10^7 個/g・MLSSより数は増えず、優占化には至らなかった。この活性汚泥での状態を確認すると、糸状性細菌は見られなかった。
- 2) Si、Feを添加した活性汚泥では菌数に大きな変化は確認できなかった。

また、今後の課題として、以下の3つが挙げられる。

- a) 今回の実験では活性汚泥に一種類のミネラルを添加したが、*Bacillus*属細菌の優占化には至らなかったことから、複数のミネラルの添加が必要であると考えられる。今後は、都市下水処理場の小型模型で同様の実験を行うことを予定している。
- b) 活性汚泥における*Bacillus*属細菌と硫酸塩還元細菌の状態を明らかにするため、PCR、FISH法を用いた群集解析を行うことを考えている。
- c) 水道管を模した中空モルタルを用いて、*Bacillus*属細菌優占化活性汚泥と標準活性汚泥のそれぞれに浸漬させ、両者の腐食進行を比較していることを検討している。

謝辞

本研究を行うにあたり、活性汚泥のサンプリングにご協力頂きました高崎市の職員の方々、研究室の皆様にも厚く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 『日本経済新聞』(2012/7/12)「老朽下水管、改修急げ 耐用年数超え1万キロ、自治体財政に負担」
- 2) 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>(2013/9/20 アクセス)
- 3) 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年度群馬高専環境都市工科卒業研究発表予稿集 pp.49-50
- 4) 社団法人日本下水道協会「下水試験法 上巻-1997年度版」(1997)
- 5) 河野亮太・齋田圭太「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」平成18年度群馬高専環境都市工科卒業研究発表予稿集 pp.45-48