

海水活性汚泥の微生物相，とくに従来法による常在微生物相について

著者	田邊 幾之助，上村 幸広，吉井 右，木佐木 博，藤井 正範
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	31
ページ	33-39
別言語のタイトル	On the Microflora of the Sea-Water-Activated Sludge, Especially on the Resident Microflora Investigated through a Conventional Method
URL	http://hdl.handle.net/10232/1985

海水活性汚泥の微生物相, とくに従来法による常在微生物相について

田邊幾之助・上村幸広・吉井右・木佐木博・藤井正範

(応用微生物学研究室)

昭和55年8月10日 受理

On the Microflora of the Sea-Water-Activated Sludge, Especially on the Resident Microflora Investigated through a Conventional Method

Ikunosuke TANABE, Yukihiro KAMIMURA, Susumu YOSHII,

Hiroshi KISAKI and Masanori FUJII

(Laboratory of Applied Microbiology)

緒 言

南九州の主要な地場産業の一つである旧式焼酎は単式蒸溜機による蒸溜酒で、アルコール1部に対し5~8部の濃厚な蒸溜廃液を排出する。ところが、この蒸溜廃液は生物化学的酸素要求量(BOD)が3万から7万ppmと高く、最も一般的な廃水処理方式である活性汚泥法で処理するには稀釈用水で10倍以上に薄めて使用しなくてはならない。ここで、稀釈用水として競合の多い淡水の使用を避けるため海水活性汚泥法を採用することを提案して来た^{12,14)}。

海水活性汚泥は海水に、処理したい廃水をフィード(feed)しながら曝気を続けることによって海水中の常在微生物相から形成されるものである^{12,14)}。一般に活性汚泥法の成否は分散系の微生物塊の集合体である活性汚泥がいかにその機能を発揮するかにある。そのためには、活性汚泥がどのような微生物相をもつか、又、それがどのような微生物種バランスに依存して機能しているかをよく見きわめた上で、それに適した微生物管理を行わなくてはならない。この報告では、この中、従来法によって海水活性汚泥の微生物相を明らかにしている。

材料と方法

海水活性汚泥は錦江湾の三地点、竜ヶ水、磯海水浴場および蛸山で採水した海水を等量混合したものに、COD 負荷量 $0.3\text{kg}/\text{m}^3/\text{day}$ となるよう、焼酎蒸溜廃液上清を半連続的に加え、通気を行って形成させた。更に、 $0.1\text{kg}/\text{m}^3/\text{week}$ のポリペプトンを、又、 $0.1\text{kg}/$

m^3/month のリン酸二カリをそれぞれ投入して活性汚泥の増殖・安定をはかった。

同様の方法で、大学構内玉利池の水から出発して形成させた普通の活性汚泥を対照として使用した。これらは蒸溜廃液の稀釈に水道水を使用したもので、以後、水道水活性汚泥と呼ぶことにした^{12,14)}。

試料の調製方法は図1に示した。まず、試料①：混合液の30分間静置した上清、試料②と③：滅菌水で洗浄し、30分間静置した上清(洗浄液)、試料④：洗浄汚泥そのまま、および試料⑤：洗浄汚泥をワーリングブレンダーで15分間処理したもの、として実験に供した(写真1, 2)。

分離培地は表1に示したものをを用いた。分離方法については、細菌は稀釈平板法で、酵母、糸状菌および藻類は最小稀釈法で、それぞれ計数分離した。又、分離菌株の維持はそれぞれの分離培地を使用した。

分離菌株の同定については、細菌には主に BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed.¹⁾ を用い、必要に応じて J. BRISOU の Microbiologie du Milieu Marin²⁾ と ZOBELL and UPHAM の記載¹⁵⁾ を参考にした。酵母は The Yeasts, A Taxonomic Study (1952, 1970)^{6,7)}、糸状菌は A Manual of Soil Fungi, 2nd ed. (1957)⁵⁾ を、又藻類については C.J. SOEDER の記載¹⁰⁾、日本淡水プランクトン図鑑(1964)⁸⁾ 等を用いて同定した。

結果および考察

試料の調製について、試料①、②および③で得られる微生物相は、活性汚泥の微生物中、単に汚泥表面に附着しているだけの一過性微生物群 transient microorganisms か、或は、構成的ではあるが、洗浄によ

* この研究は日農化関西支部・西日本支部合同大会(那覇市、昭和49年1月10日)で口演した。講演要旨集 p. 21-22.

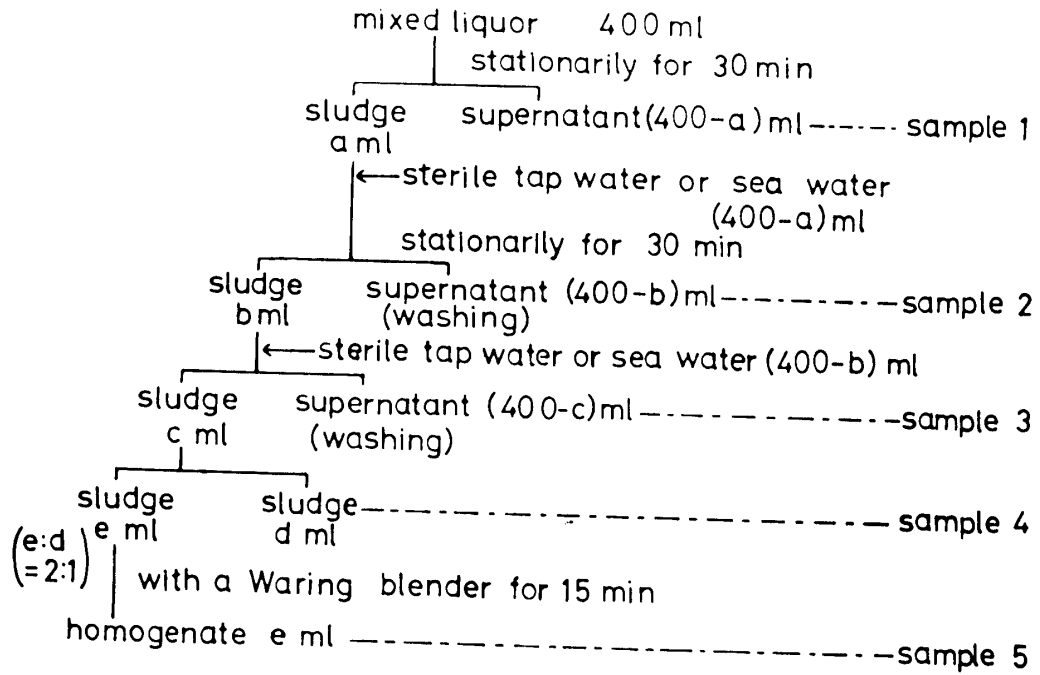


Fig. 1. Preparation of the activated sludge-samples for isolation of micro-organisms.

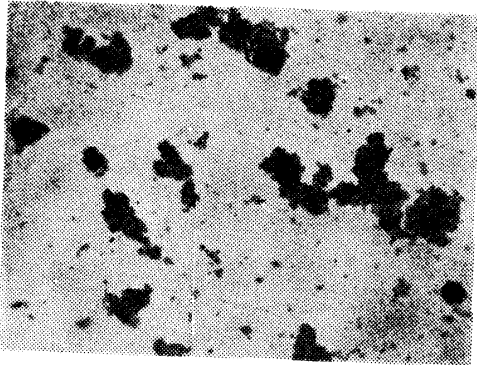


Photo 1. Sea-water-activated sludge-sample, sample ④ photo-micrographed.



Photo 2. Homogenate of the sea-water-activated sludge-sample with a Waring blender for 15 min., sample ⑤ photo-micrographed.

02. mm
|——|

Table 1. The culture-media for isolation of micro-organisms

1) the medium for bacteria

glucose	1g
polypepton	3g
slops-supernatant, dil. 1:4*1	500ml
basal solution*2	500ml

pH 7.2 for fresh water-forms,
pH 7.6 to 7.8 for sea-water-forms.

2) the medium for yeasts

glucose	20g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2g
basal solution*2	1l
aureomycin	2mg
streptomycin	30mg
ethanol	50ml

pH 7.0

3) the medium for molds

glucose	20g
NaNO ₃	2g
basal solution* ²	1l
aureomycin	2mg
streptomycin	30mg
rose bengal	35mg

pH 7.0

4) the medium for microalgae

NaNO ₃	2g
basal solution** ²	1l

pH 7.0

*¹ Slops-supernatant was diluted 1:4, with tap-water for fresh water-forms, and with sea-water for sea-water-forms.

*² a) basal solution for fresh water-forms: K₂HPO₄, 1g; MgSO₄, 0.5g; tap-water, 800ml; tap-water-activated sludge-supernatant, 200ml. b) basal solution for sea-water-forms: 75% sea-water, 800ml; sea-water-activated sludge-supernatant, 200ml.

Table 2. The bacterial flora of the sea-water-activated sludge

/ml

sample-No.	1	2	3	4	5
<i>Flavobacterium diffusum</i>			2.5 × 10 ⁵		8.0 × 10 ⁸
<i>Flav. xanthochrus</i>	1.3 × 10 ⁶	1.2 × 10 ⁶	9.5 × 10 ⁵	4.4 × 10 ⁷	2.5 × 10 ¹⁰
<i>Flav. sp.</i>	4.5 × 10 ²	1.5 × 10 ³	5.0 × 10 ²	1.5 × 10 ³	1.0 × 10 ⁵
<i>Pseudomonas azotogena</i>					
<i>Achromobacter sp.</i>	3.4 × 10 ⁶	2.1 × 10 ⁶	1.5 × 10 ⁶	5.4 × 10 ⁷	2.4 × 10 ⁹
<i>Flav. diffusum</i>					
<i>Corynebacterium roseum</i>			4.0 × 10 ⁴	1.0 × 10 ⁶	1.0 × 10 ⁹
<i>Arthrobacter sp.</i>		1.5 × 10 ⁵			

Table 3. The bacterial flora of the tap-water-activated sludge

/ml

sample-No.	1	2	3	4	5
<i>Alcaligenes faecalis</i>	5.0 × 10 ²	5.0 × 10 ²	3.0 × 10 ³	7.0 × 10 ⁶	1.6 × 10 ⁷
<i>Bacillus cereus</i>	5.5 × 10 ³	4.0 × 10 ²	2.0 × 10 ³	1.4 × 10 ⁶	5.0 × 10 ⁵
<i>Bacillus megaterium</i>	5.0 × 10 ³	1.2 × 10 ³	2.0 × 10 ³	1.8 × 10 ⁷	1.1 × 10 ⁷
<i>Pseudomonas sp.</i>	4.2 × 10 ²		6.5 × 10 ³	5.0 × 10 ⁵	
<i>Flavobacterium sp.</i>	1.0 × 10 ³	3.0 × 10 ²			

て活性汚泥から容易に離脱する微生物からなる。一方、試料④および⑤は主に汚泥の構成微生物群 constitutive microorganisms で、活性汚泥の常在微生物相 resident microflora の主体である。更に、試料⑤/試料④比が大きければそれだけワーリングブレンダーによる汚泥フロックの切剥効果が大きく、又、そのような微生物は汚泥フロック微生物中、より構成的であることを示す(写真 1, 2)。ここで、各試料毎に得られた細菌相について見ると、海水活性汚泥では *flavobacteria*, *Achromobacter* および *Pseudomonas azotogena* の 3 群の組合せであるが、これは海洋ではかなり普遍的な組合せであると思われる¹¹⁾。又、これに加

えて、*Corynebacterium roseum* は試料③、④および⑤の順に増加する点、これも汚泥フロックの重要な構成員であることを示すものである。ここにあげた細菌群はいずれも試料⑤/試料④比が 10²~10³ であることから非常に構成的であると判断出来る(表 2)。一方、対照として形成させた水道水活性汚泥では *Alcaligenes-Pseudomonas* と *Bacillus* の組合せが軸になっており、活性汚泥形成の種に用いた水の起源よりも、その後の懸濁媒の影響の方が大きいと思われる(表 3)。ここで注目してよいと思われることは、水道水活性汚泥の微生物相と淡水を懸濁媒とする通常の活性汚泥、例えば、家庭下水処理の活性汚泥の細菌類の

Table 4. Properties of the bacterial isolates from the activated sludges

strains	properties		Gram shape	width (μ m)	endospore motility flagella	NO ₃ -reduction O/F-test milk proteolysis H ₂ S-production indole-production acetoin-production MR-test	sugar-utilization							growth-temp.	salt-tolerance					oxidase catalase urease p-OH-benzoate benzoate chromogensis	species							
	glucose galactose sucrose lactose mannitol salicin xylose arabinose	20° 25° 30° 35° 40° 45°					0% 1% 3% 6% 12%	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			+	+	+	+			
Tap-water-strains																												
T-1, 2, 5, 6	+R	1.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Bacillus cereus</i>
T-10, 11, 14, 15, 16, 24	+R	1.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. megaterium</i>
T-8, 9; 7	-R	0.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Alcaligenes faecalis</i>
T-12	-R	0.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
T-17, 18	-R	0.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
T-3, 4	-R	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
Sea-water-strains																												
S-101, 102	-R	0.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas azotogena</i>
S-103, 104	-R	0.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
S-105, 106	-R	0.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Achromobacter</i> sp.
S-109, 110	-R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Flavobacterium diffusum</i>	
S-111	-R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	
S-116, 117, 118	-R	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Flav. xanthochrus</i>	
S-121, 122, 123, 124	-R	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"	
S-119, 120	-R	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Flav. sp.</i>	
S-126	+R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Arthrobacter</i> sp.	
S-127, 128	+R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Corynebacterium roseum</i>	

* R: rods. L: lateral. P: polar. p: polar and lateral. A: alkaline. o: oxidative. w: white. br: pale brown. y: yellow. yr: reddish yellow. dy: dark yellow-orange. r: light reddish orange.

Table 5. The fungal flora of the activated sludges

sample-No.	1	2	3	4	5
Sea-water-forms					
<i>Geotrichum candidum</i>	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Cephalosporium curtipes</i>	10 ⁴	10 ⁴	—	—	10 ⁶
sample-No.	1	2	3	4	5
Tap-water-forms					
<i>Geotrichum candidum</i>	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁶
<i>Rhodotorula glutinis</i>	10 ³	—	—	—	—

主要なものとして *Zoogloea ramigera*³⁾ *Commamonas* sp.⁴⁾ 等が報告されているが、この細菌相の差は廃液と家庭下水の組成の差によるものと思われる。又、海水活性汚泥ではパラオキシン安息香酸と安息香酸ナトリウムをそれぞれ唯一の炭素源として利用出来るものかなりの比重を占めるのは処理実験の結果と符合する¹³⁾(表4)。更に、食塩濃度に対する生育レスポンスの面で特徴的で、当然のことながら、やはり処理実験の懸濁媒交換で認められたショックを裏づけるものである²⁾。次に菌類の場合では *Geotrichum candidum* が海水および水道水の両活性汚泥で多数見出された(表5)。*G. candidum* は一般にはバルキング時に多く発見されるとする報告があって、その原因微生物の一つとする説もあるが⁹⁾、汚泥容量指標 (Sludge volume index, SVI) も正常であったし、両汚泥共順調な半連続処理経過であったので^{1,2)}、この場合は両活性汚泥のいずれにとってもマイナスと断言は出来ない。*G. candidum* の分類については分生子の項で記載には「両端截形の樽型分生子 conidia, cask-shaped with truncate ends」とあるが、分離菌株の分生子は両端円形 with rounded ends のものが混在した(写真

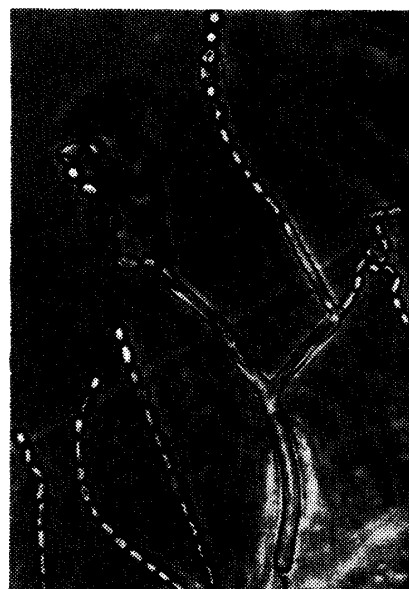
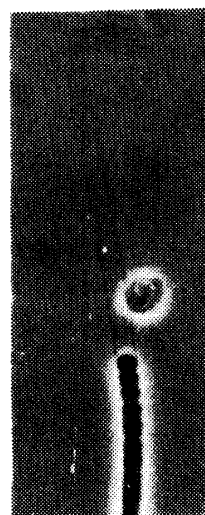
Photo 3. Conidia of *Geotrichum candidum*.Photo 4. Erect phore of *G. candidum*.Photo 5. Sheath of *Lyngbya* sp.

Table 6. The algal flora of the activated sludges

sample-No.	1	2	3	4	5
Sea-water-forms					
<i>Chlorella</i>	10 ³	10 ³	10 ²	10 ⁴	10 ⁴
<i>Anabaena, Lyngbya</i>	10	10 ²	10	10 ⁴	10 ⁴
sample-No.	1	2	3	4	5
Tap-water-forms					
<i>Chlorella</i>	10	10 ³	10 ²	10 ⁷	10 ⁷
<i>Oscillatoria</i>	—	—	—	10 ³	10 ³
diatoms	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁶	10 ⁶

4). しかし、スライド培養 slide culture ではっきりと直立した分生子柄 erect phore が確認出来たので、

G. candidum と同定した (写真5)。又、藻類の計数分離は最小稀釈法で生育の認められた稀釈の試験管から塊をとり、検鏡、計数した (表6)。特に、海水活性汚泥では *Chlorella* の他 *Anabaena*, 鞘を有する *Lyngbya* が認められたのに対し、水道水活性汚泥では珪藻類 diatoms の比重が大きい点が特徴的であった (写真6)。これらはいずれも分離培地と同組成の寒天培地に画線又は散布したが、*Chlorella* 以外は藻株として分離することは出来なかった。

要 約

海水の常在微生物相から旧式焼酎蒸溜廃液を加えながら形成させた海水活性汚泥による処理は良好であったが、この海水活性汚泥法の的確な微生物管理のためには微生物相を十分に把握する必要がある。このため、先ず、通常の方法で微生物相を明らかにした。微生物相は混合液を洗浄液、洗浄汚泥 (試料④) およびワーリングブレンダーでホモゲナイズした洗浄汚泥 (試料⑤) について明らかにしたが、海水活性汚泥の場合は主として、*flavobacteria*, *Achromobacter-Pseudomonas* 群および *Corynebacterium roseum* から成立し、しかも、これらはいずれも⑤/④比が 10^3 と高く、汚泥フロクの構成的な細菌であることが証明出来た。菌類としては *Geotrichum candidum*, 藻類としては *Chlorella* および藍藻が目立った。

文 献

1) Breed, R.S.: BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed., the Williams and Wilkins Co., Baltimore (1957)

2) Brisou, J.: Microbiologie du Milieu Marin, Editions Médicales Flammarion (1955)

3) Crabtree, K., E. McCoy, W.C. Boyle, and G.A. Rohlich: Isolation, Identification, and Metabolic Role of the Sulfophilic Granules of *Zoogloea ramigera*, *Appl. Microbiol.* **13**, 218-216 (1965)

4) Dias, F.F. and J.V. Bhat: Microbial Ecology of Activated Sludge, I. Dominant Bacteria, *Appl. Microbiol.* **12**, 412-417 (1964)

5) Gilman, J.C.: A Manual of Soil Fungi, 2nd ed., the Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, U.S.A. (1957)

6) Lodder, J. (editor): The Yeasts, A Taxonomic Study, North Holland Pub. Co., Amsterdam-London (1971)

7) Lodder, J. and Kreger-van Rij, N.J.W.: The Yeasts, A Taxonomic Study, Amsterdam (1952)

8) 水野寿彦: 日本淡水プランクトン図鑑, 保育社 (1964)

9) Smit, J.: Bulking of Activated Sludge, 2. On the Causative Organisms, *Sewage Works J.*, **6**, 1041 (1934)

10) Soeder, C.J.: Microalgae and Photosynthetic Bacteria, p. 21-34 (1963)

11) Tanabe, I.: Heterotrophic Bacteria in the Surface Sea Water of the Indian Ocean, *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **7**(1) 65-68 (1969)

12) Tanabe, I., M. Fujii, Y. Kamimura, S. Yoshii, H. Kuboyama, T. Nagata-Maehara, H. Kawaji, and T. Sonoda: Studies on the Biological Treatment of the Shôchû-distiller's Slops by the Sea-water Activated Sludge, *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **15**, 131-143 (1979)

13) 田邊幾之助, 上村幸広, 吉井右, 久保山宏, 前原哲勝, 大林晃: 旧式焼酎蒸溜廃液の海水活性汚泥による処理について, 日農化関西・西日本合同大会要旨集, 21-22 (1974)

14) 田邊幾之助・田実博美・真角孝則・上村幸広・吉井右・久保山宏・前原哲勝・大林晃: 旧式焼酎醸造の微生物学的研究 (第4報) 蒸溜廃液の処理について, 鹿大農学術報告 **No. 24**, 171-180 (1974)

15) ZoBell, C.E. and Upham, H.C.: *Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography of Univ. Calif.*, **5** (2), 239-292 (1944)

Summary

With the use of the sea-water-activated sludge produced from a resident microflora in sea-water by means of feeding of the slops to sea-water, a treatment of the Shôchû-distiller's slops was carried out successfully. Before the sea-water-activated sludge could be placed under an exact microbiological-control, the acquisition of a working information on the microflora of the sea-water-activated sludge was considered to be indispensable. Accordingly, the microflora was put under investigation by means of a conventional isolation-method.

The fractionation of the sea-water-activated sludge was carried out on the following three fractions, namely washings, washed sludge (sample ④) and the homogenate of the sludge obtained by means of a Waring blender (sample ⑤).

The microflora of the sea-water-activated sludge was ascertained to be consisting of *flavobacteria*, *Achromobacter-Pseudomonas*, and *Corynebacterium roseum*. The confirmation of them as the consti-

tutive members of the microflora was indicated by the ⑤/④ ratios of these micro-organisms, which were counted to be 10^3 . In the sea-water-activated sludge, a dominant fungus was fixed to be *Geotrichum candidum* and the prevailing algae, *Chlorella* and blue-green algae.