

## 旧式焼酎（米麴米/生白糠仕込）蒸溜廃液の海水活性汚泥による連続処理

田邊幾之助・永山純孝・中山孝志

（応用微生物学研究室）

昭和57年8月10日 受理

### Continuous Treatment of Shôchû-Distiller's Slops (Rice-Koji-Rice/Raw Shironuka-Shikomi) with the Sea-Water-Activated Sludge

Ikunosuke TANABE, Sumitaka NAGAYAMA and Takashi NAKAYAMA

(Laboratory of Applied Microbiology)

#### 緒 言

旧式焼酎醸造にともなう排出する濃厚な蒸溜廃液はその利用方法の検討とともに、最近とみに厳しくなった規制と焼酎人気による生産の増大のために廃液処理方法の確立が望まれている。このため、われわれはすでに、蒸溜廃液処理方式として海水活性汚泥法が可能な方法であることを明らかにし、その方式にともなう種々の微生物学的研究も併せ行って来た<sup>2, 3, 5-10)</sup>。

今回は簡単ではあるが効率のよい完全混合型の処理槽を作成し実験室レベルの連続処理を検討した。とくに、この連続処理にともなう汚泥の増殖量、焼酎醪由来のクエン酸、リン酸の処理などに重点を置いて研究を進めた。また、微生物管理の面から処理条件に対応すると考えられる活性汚泥微生物相についても検討を行った。

#### 材 料 と 方 法

##### 1. 試料

蒸溜廃液は小正醸造有限会社日置工場の米麴米仕込または米麴生白糠仕込によるものを使用した。試料の調製などは前報<sup>6, 10)</sup>と同様に行った。

##### 2. 分析

試料の分析は前報と同様<sup>6, 10)</sup>、日本工業規格「工場排水試験方法 JIS K 0102-1971」(日本規格協会)に従って行った。このうち、処理水中のリン酸は「海洋

\* この研究は文部省科学研究費特定研究の研究補助金を受けて行ったものの一部で、「汚染防除技術における微生物の生態」シンポジウム(東京大学農学部, 昭和55年1月8日, 研究報告 p. 109~123)でその一部として講演した。また、この研究は昭和55年度日本農芸化学会西日本支部大会(愛媛大学農学部, 松山市, 昭和55年10月4日)で講演した。講演要旨集 p. 8。

観測指針」(日本海洋学会編 1955)で定量した。また、クエン酸の定量は前報<sup>9)</sup>同様 Boehringer-Mannheim の酵素キットを用いて行った。

##### 3. 連続処理装置

Photo 1 および 2 に示したアクリル製完全混合型曝気槽をつくり実験を行った。有効容は 5.2 l であった。

##### 4. 微生物の分離と同定

前報<sup>7, 8)</sup>と同様にスポット寒天法により純粋分離した 30°C で分離した菌株の代表株 32 株と 20°C で分離した菌株の代表株 32 株を選び同定に供した。同定は常法により、Bergey's Manual に基づいて行った。Table 1 の 5 種類の倍地に対する生育レスポンスと 14 日生育後の菌体の沈降性、すなわち上清の分離能を、振盪懸濁した時の濁度 (Klett-Summerson の読み) に対する一晩静置した時の上清の濁度の比で表した。数値の低いものほど上清の分離能が良好とした (Photo 3)。

#### 結 果 と 考 察

##### 1. 完全混合型曝気槽による連続処理について

実験に供した海水稀釈廃液の COD はそれぞれ 287 ppm, 362 ppm であった。これらの BOD 値はほぼ (BOD)  $\approx 2.0 \times (\text{COD})$  となるので稀釈したとはいえないかなりの高濃度廃液といえることができる。結果は Table 2 に示したが、287 ppm の稀釈廃液の場合、COD 負荷量 0.149-0.471 kg/m<sup>3</sup>/day (水量負荷 0.542-1.811 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/day), また 362 ppm の場合は COD 負荷量 0.230-0.647 kg/m<sup>3</sup>/day (水量負荷 0.662-1.855 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/day) の範囲で COD 除去率が 90% を越えた。なお、この際、曝気槽の有効容を 5.2 l として汚泥増殖量 JS を求めたが、結果は Fig. 1 のとうりであった。多少のばらつきは認められたが、これから求めた JS (g/day) = 0.76 L<sub>COD</sub> (g/day) - 0.03 S (g) の式で推



Photo 1. Sludge-trouble in continuous treatment of Shôchû-distiller's slops with sea-water-activated sludge.

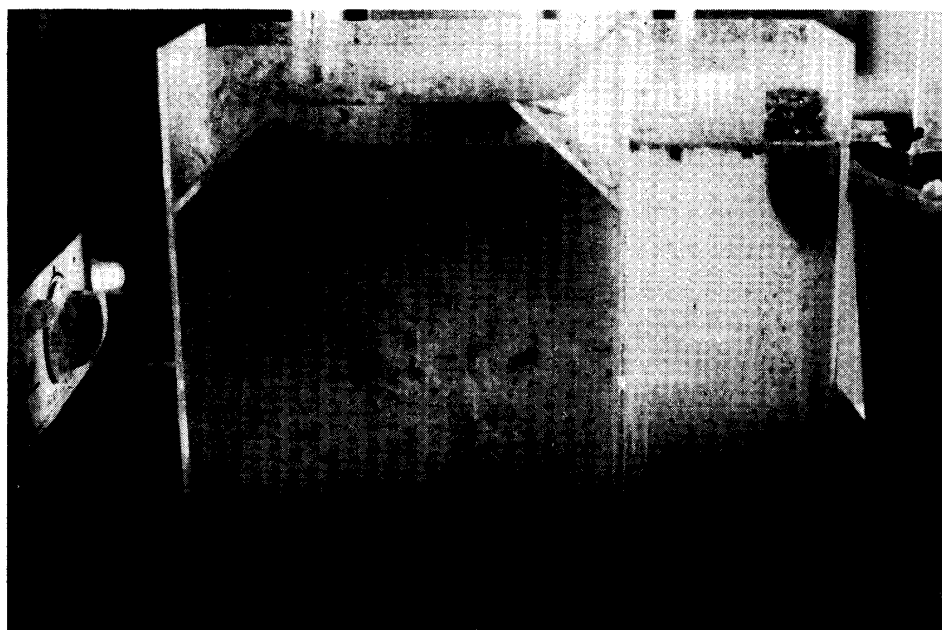


Photo 2. An acryl laboratory-equipment of complete-mixing-type for continuous treatment of Shôchû-distiller's slops.

した値が以後の実験でも汚泥増殖量の推定値として妥当であった。この式は他種の廃液処理における汚泥増殖量と比較しても非常に一般的なものであると思われる。

一方、米麴生白糠仕込焼酎の蒸溜廃液中の穀類由来のリン酸および白麴菌の生産したクエン酸の動向については、Table 3 のとおりで60倍稀釈した廃液中に全リン酸 21.0 ppm、クエン酸 4.7 ppm であったが、処

理の過程でそれぞれ除去率 70-80% であったのでかなり良好と判断出来た。

## 2. 長期間連続処理中の微生物相<sup>8)</sup>

ここで処理条件を操作することによって、その変化がどのように微生物相にあらわれるか、また、その変化した状態がどのように安定化して行くか、とくに、この間の微生物相の対応に法則性があるかどうかを検討する目的の一端として、長期間連続処理中の微生物

Table 1. The test media for investigation of the nutritional ability of isolates

Ingredients	Culture Media				for isolation
	A	B	C	D	
Basal sea-water medium, l	1	1	1	1	
Glucose, g	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Glycerol, g	0.5	0.5	0.5	0.5	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , g	0.5				
Polypepton, g		1		1	1.5
Beef extract, g			1	1	
Yeast extract, g				1	
Shôchû-distiller's slops-supernatant, l					0.1
Sea-water activated sludge supernatant, l					0.1
75% sea-water, l					0.8

\* Basal sea-water medium: sea water, 1 l; Na-glycerophosphate, 140 mg; Fe-EDTA, 10 mg; pH 7.6-7.8.

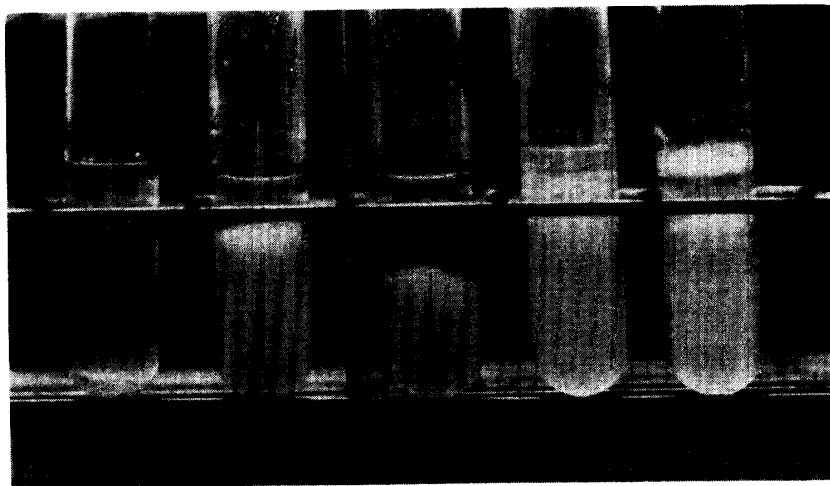


Photo 3. Settling ability of pure culture strain from sea-water activated sludge, bulking-type.

Table 2. Continuous treatment of the distiller's slops by the sea-water activated sludge, COD removal

COD of the influents (ppm) (BOD, ppm)	Amount of flow (l/day)	Hydraulic loading (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> /day)	Removed COD (g/day)	COD loading (kg/m <sup>3</sup> /day)	Remaining COD (ppm)	COD removal (%)
287 (534)	2.87	0.542	0.792	0.149	11	96
	5.63	1.062	1.526	0.288	16	94
	7.07	1.334	1.951	0.368	11	96
	8.27	1.560	2.307	0.435	8	97
	9.60	1.811	2.496	0.471	27	91
					37	87
	14.10	2.660	3.525	0.665		
362 (605)	3.51	0.662	1.218	0.230	15	96
	4.86	0.917	1.720	0.325	8	98
	6.82	1.287	2.278	0.430	28	92
	6.95	1.311	2.474	0.467	6	98
	7.14	1.347	2.406	0.454	25	93
	9.83	1.855	3.341	0.647	13	96
	16.75	3.160	5.729	1.081	20	94
4 (Sea water)	6.37	1.202			2	

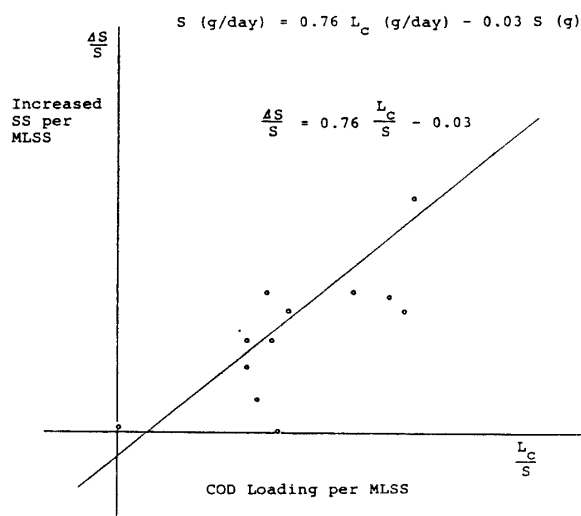


Fig. 1. Increase of the sea-water activated sludge.

相をスポット寒天法により明らかにした。

この実験では、実験条件としてもっとも制御しやすい温度条件をかえてその影響がどのようにあらわれるかを観察した。連続処理経過を示すと Table 4 のとうりであった。3 週間の飢餓培養を行った海水活性汚泥を実験に供したが、負荷をかけながら連続処理開始から 5 日目、9 日目、12 日目、18 日目に処理能および微生物相を調べた。

曝気槽に連続的に稀釈廃液を流した当初は、汚泥の粘性性高く、とくに沈殿槽では激しい脱室により塊となって活性汚泥が浮上した (Photo 1)。また、この間

の処理能も 60~70% と低く満足すべき状態ではなかった。しかし、このような状態を数日続けて 1 週間もすると活性汚泥は正常化し、連続処理も順調に進行した。正常化した活性汚泥は 20°C の連続処理では淡褐色、powdery でこまかなフロックの通常よく見かける状態であった。一方、30°C の連続処理ではにぶだいたい (鈍橙) 色でフロックは大きく生長した。これらの処理能および沈降性はいずれも良好で、とくに 30°C では SVI が 200 を越えて常識的にはバルキングの状態であるが安定で処理水の分離も良好であった。

このことは重要で、生活廃水などでの通念である「SVI 200 以上はバルキング」という考え方が常に成立するとは限らないことを示している。

活性汚泥を直接検鏡すると 30°C 汚泥では甲殻類 *hypotrich* がほとんど認められなかったが 20°C 汚泥では *hypotrich* がフロックに群がり、フロックを蚕食しているのが観察された (Photo 4)。また、グラム染色をするとグラム陽性のらん藻と放線菌と推定される糸状微生物が多数認められ、30°C 汚泥ではこれが圧倒的に多くのグラム陰性細菌のマイクロコロニーにつつままれていた。連続処理中のこれら活性汚泥の変化にともなう微生物相を明らかにするため連続処理 5 日目、9 日目、12 日目および 18 日目の汚泥をスポット寒天法で分離、それぞれの微生物相を明らかにした。結果は Table 5 と Table 6 に示した。Table 5 は微生物の分離温度を 30°C としたもので、Table 6 は 20°C で分離を行ったものである。表中の数字はスポット中の当

Table 3. Elimination of the phosphate (total) and citric acid in the Shōchū-distiller's slops by the sea-water activated sludge

(Elimination of phosphate, total)

Treatment	COD of the influents (ppm)	Remaining COD (ppm)	COD removal (%)	Total phosphate of the influents (ppm)	Remaining phosphate (ppm)	Phosphate elimination (%)
1)	362	6	98	21.0	4.7	78
2)		20	94		5.0	76
3)		25	93		5.7	73
4)		15	96		4.0	81

(Elimination of citric acid)

Treatment	COD of the influents (ppm)	Remaining COD (ppm)	COD removal (%)	Citric acid of the influents (ppm)	Remaining citric acid (ppm)	Citric acid elimination (%)
5)	287	27	91	4.7	0.9	81
6)		8	97		0.9	81
7)		11	96		0.4	91
8)		11	96		1.4	70

Table 4. Continuous treatment of the distiller's slops by the sea-water activated sludge, and qualitative analyses of the bacterial flora of the activated sludge

Incubation time (day)	Temperature of the mixed liquor (°C)	Amount of flow (l/day)	MLSS (ppm)	SVI	COD loading (kg/m <sup>3</sup> /day)	Remaining COD (ppm)	COD removal (%)
Start (S)	R: 30.9 L: 20.0		831	84	0.191		
R-series							
1		3.62			0.191	84.8	69.7
2		4.34			0.229		
5 (R)	27.1	5.01	1675	101	0.265	29.2	89.6
6	28.0	7.23			0.382	23.2	91.7
7	27.6	7.83			0.414	28.8	89.7
9 (2R)		8.24	1043	211	0.435	21.6	92.3
11	28.0	4.05			0.214	27.2	90.3
12 (3R)		5.52	1203	216	0.292	30.9	89.0
15		3.91			0.207	30.0	89.3
18 (4R)		2.61	1013	212	0.138	29.6	89.4
L-series							
1		1.80			0.095	107.2	61.7
2		4.09			0.216		
5 (L)	20.0	30.1	1297	123	0.159	42.8	84.7
6	19.5	7.67			0.405	28.0	90.0
7	20.5	8.42			0.445	26.4	90.6
9 (2L)		10.68	1038	58	0.564	29.6	89.4
11	20.0	4.05			0.214	28.9	89.7
12 (3L)		6.41	811	80	0.339	30.8	89.0
15		4.11			0.217	23.2	91.7
19 (4L)		3.43	860	70	0.181	24.8	91.1

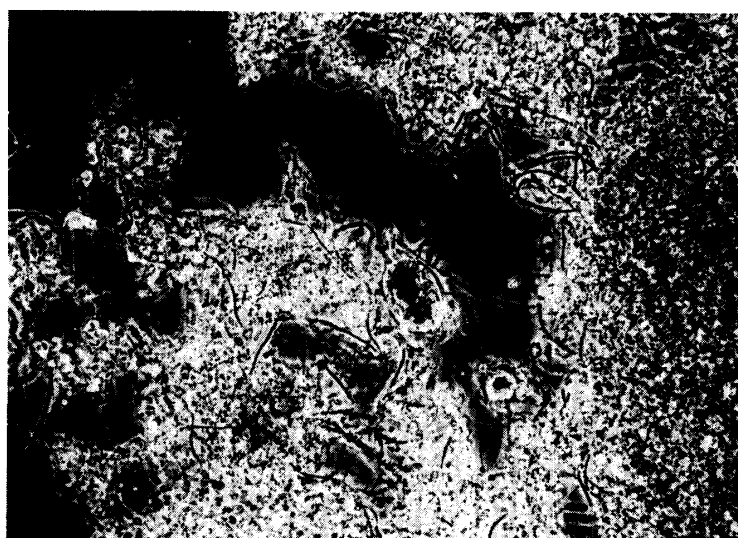
Photo 4. *Hypotrich*, eating greedily sea water activated sludge.

Table 5. Frequency of occurrence of the sludge microorganisms in the sea-water activated sludge in the course of treatment

Type of colony		Gram* +		<i>spirilla</i>		<i>Ser.*</i>		<i>flavobacteria</i>			a-1	d-3b'	d-3	a-2	a-2b	b-9	y-9
Isolation	(days after the treatment started)	r-1	y-1	r-3	r-2	r-5	y-2	y-4	y-3								
0 (S)		51	49		49		67	69	44	96			58	100			
5 (R)		89	56	2			87	60	84	96	4	49	49			84	
9 (2R)			44						16	85	71	64	44			36	
12 (3R)				100					49	100		98	98	47	26		
18 (4R)				18			11		7	22	4	71	87				7
5 (L)		36	18	9			9	36	9	100		9	82				
9 (2L)								2	82	98	82	18				82	
12 (3L)				12		24	76		93	93		47	18	27		15	
19 (4L)				27			76		40	51	27	71	16			7	13
Typical isolates		40 41	37	28		45			56	15 16	14 19	9 51	76				

Type of colony		b-2		b-7	b-18	b-8	b-12	b-16	agaro- lytic. b-14	d-5	d-2	d-6	d-6b	d-6c	d-7	<i>Str.*</i> c-1
Isolation	(days after the treatment started)															
0 (S)		100	9					9							7	40
5 (R)		89	84	91				84	31		80				58	
9 (2R)		98	64	98	18	18	29								29	
12 (3R)			23	98	2	49				51	26	77			51	
18 (4R)				98	11		89	11	7	7		2				
5 (L)				36	9		18			9	36				27	
9 (2L)		100	2	82	2		2								20	
12 (3L)			3	100		23		23	62			3	15			
19 (4L)			18	5	56		27	27	27					2		
Typical isolates		7 8	70	5 54 71 72	65		26			1 31	10				22	

\* Gram+: gram-positive bacteria. Ser.: *Serratia* sp. Str.: *streptomycetes*.

該微生物の出現頻度 (%) を示しており、大きな数字ほど出現頻度が高いことを意味している。これで分離温度別に微生物相をみると 30°C 分離の場合、コロニー型が a-1 型のグラム陰性細菌 *Aeromonas punctata*, a-2 型の *Pseudomonas* sp., d-3 型の *Vibrio fischeri*, b-2 型の *Spirillum* sp., と種的内容は不均一だが *Alcaligenes* sp. を代表株とする b-18 型が常在性があるようで出現頻度は非常に高い。一方、連続処理経過中の汚泥の状態に対応すると推定される現象として処理実験初期のバルキング状態の汚泥では c-1 型の放線菌類が大きな比重を台めていることが読みとれるし、30°C 汚泥の色は多分よく似た色調の r-3 型 *Spirillum serpens* の出現頻度が高まることと関連があるのでは

ないと思われる。Table 6 の 20°C での分離を見ると、とくに 30°C 分離で比重の高いものが少なく、30°C での増殖速度は必ずしも高くはないが低い温度でもよく生育する *flavobacteria* の y-r 型群の比重が同じくらい高くなる傾向がある。これらは 30°C 分離の際には、スポット寒天法では増殖の速い微生物に圧倒されて出現頻度が低くしか出なかったものであろう。多分 20°C および 30°C 両汚泥に共通した常在微生物群と思われる。とくに 20°C 処理の汚泥の基本の色調にはこの微生物が大きな関係をもっているものと思われる。30°C 処理 (R シリーズ), と 20°C 処理 (L シリーズ) の 30°C で分離した時の微生物相と 20°C で分離した時の微生物相には両処理温度によっておきる

Table 6. Frequency of occurrence of the sludge microorganisms in the sea-water activated sludge in the course of treatment

Isolation (days after the treatment started)	Type of colony r-1	r-3	r-2	y-2	y-3	r-6	r-7	a-1	d-3	a-2	a-2b	y-9
5 (R)	9	37	9	29	69	57		48	28		19	28
9 (2R)	11	20		8	48	51	5	26	45		13	
12 (3R)	12	25		15	47	17		4	30	12	12	
18 (4R)	7			2	11	2		4	27	43		34
5 (L)		27		20	76	96	25	38			11	
9 (2L)		4		11	72	35	4	28	4	22		18
12 (3L)			2		44	73		95		30	20	
19 (4L)					51	58	29	47	40			
Typical isolates (20-No.)	1	8 9	2	4 12	5	6 7			20	22		

Isolation (days after the treatment started)	Type of colony b-2	b-7	b-18	b-6	b-16	b-14	d-5	d-5y	d-6c	b-2f	d-4	c-1
5 (R)	19	18	71	19			46	18		28	13	40
9 (2R)		24	60			16	47	44	11	11	8	29
12 (3R)	22	17	87		6	6	3	3	32	5		
18 (4R)		25	73		18	23	32		7			
5 (L)	13	42	54		52		33	11				11
9 (2L)		44	38		6	31	35	46		46	4	
12 (3L)	2	49	45		4	46	71					
19 (4L)		58	93		44	18	40			7	4	
Typical isolates (20-No.)		21	24 28 25 26	13	23		10	14		18 19		

微生物相変化がかなりよくあらわれていると判断できる。

### 3. 分離した微生物の分類と2-3の特性

30°C 分離の微生物の代表株は Table 7 に 20°C 分離の微生物の代表株は Table 8 に示した。とくに目立った特徴は Hugh-Leifson 試験で発酵型 (F) を示す微生物群が多い。従来、海水中の常在性のある微生物相は 20°C 分離の Table 6 に示した y-r 群の *flavobacteria*, b-2 型の *Pseudomonas* sp., および d-3 型の *Alcaligenes* sp. の 3 群からなっている<sup>1,4)</sup>。ところが上記の事実は蒸溜廃液の投入によって微生物相におけるかなり大きな変動がおきたことを示しているといえよう。

つぎに廃液と微生物相の関係を示すものとして、分離細菌の蒸溜廃液依存性、温度的性質および沈降性に

ついて検討したが、結果は Table 9 と Table 10 に示した。主要な微生物、たとえば *Aeromonas punctata* 15a-1 や 16d-1 などには有機窒素要求が認められるし、12b-6, 61b-6c, 72b-18b°, 20-16 および 20-24b-18 などは廃液依存性を示してさえいる。

沈降性についても興味ある結果が示されている。沈降性が B と印した菌株 d-3, b-6c などとはとくに SVI が高い生育を示した。これらは 30°C 分離の 30°C 汚泥にのみ出現する細菌で、30°C 汚泥のフロックを大きく生長させ SVI を高めるのに関係があったのではないかと思われる。これらを顕微鏡下観察すると個々の細菌がまわりに粘質物 (capsule) をもち互にはなれている (Photo 5)。一方、他の多くの細菌は菌塊 (clod) となっても細菌が直接くっつき compact で振ると碎けて分散する型のものであった。

Table 7. Characteristics of the bacteria isolated at 30°C from the sea-water activated sludge under a continuous treatment

Isolates (colony form)	Gram	motility	flagella*	glucose	Lp-sealed	O-F test*	lactose	saccharose	maltose	mannitol	salicin	ribose	oxidase	catalase	urease	nitrate red.	H <sub>2</sub> S prod.	Indole prod.	methyl red	Voges Proskauer	starch hydr.	gelatin hydr.	litmus milk*	citrate	gluconate	p-OH-benzoate	
1. d-5	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
5. b-18	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
7. b-2	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Spirillum</i> sp.
8. b-2c	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
9. d-3	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
10. d-2c	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Aeromonas punctata</i>
12. b-6	-	-	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Alcaligenes</i> sp.
14. d-3b	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Alcaligenes faecalis</i>
15. a-1	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Aeromonas punctata</i>
16. d-1	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
19. d-3b'	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
22. d-7	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
26. b-16	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Spirillum serpens</i>
28. r-3	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>flavobacteria</i>
29. y-5b	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Vibrio</i> sp.
30. y-7	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
31. d-2	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>flavobacteria</i>
34. y-6b	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
37. y-1	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>coryne-form</i>
40. r-1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia</i> sp.
41. r-1	+	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Vibrio fischeri</i>
45. r-5	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Aeromonas punctata</i>
51. d-3	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>flavobacteria</i>
54. b-18b	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Alcaligenes faecalis</i>
56. y-3b	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Vibrio fischeri</i>
57. d-3b	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
61. b-6c	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>coryne-form</i>
65. b-8	-	+	P	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
70. b-7	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>coryne-form</i>
71. b-18	-	+	pe	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
72. b-18b'	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>coryne-form</i>
76. a-2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.

\* P: polar flagellation. p: subpolar, or lateral flagellation. pe: peritrichous flagellation. F: fermentative. O: oxidative. A: alkaline.



Table 8. Characteristics of the bacteria isolated at 20°C from the sea-water activated sludge under a continuous treatment

Isolates (colony form)	Gram	motility	flagella*	glucose	Lp-sealed	O-F test*	lactose	saccharose	maltose	mannitol	salicin	ribose	oxidase	catalase	urease	nitrate red.	H <sub>2</sub> S prod.	Indole prod.	methyl red	Voges Proskauer	starch hydr.	gelatin hydr.	litmus milk*	citrate	gluconate	p-OH-benzoate	
20-1 r-1	-	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Spirillum</i> sp.
20-2 r-2	+	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
20-3 p-2	+	+	-	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Micrococcus roseus</i>
20-4 y-2	-	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>flavobacteria</i>
20-5 y-3	-	+	P	+	+	F	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Virio</i> sp.
20-6 r-6	-	+	P	+	-	O	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>flavobacteria</i>
20-7 r-6	+	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>flavobacteria</i>
20-8 r-3	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>flavobacteria</i>
20-9 r-3'	-	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Alcaligenes</i> sp.
20-10 d-3	-	+	pe	-	-		-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-11 d-3	-	+	pe	-	-		-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-12 y-2	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Vibrio</i> sp.
20-13 b-6b	-	+	P	+	+	F	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-14 b-6b	-	+	P	+	+	F	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Alcaligenes</i> sp.
20-15 b-18	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-16 b-18	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-17 b-18	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-18 b-2f	-	+	P	-	-		-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas</i> sp. ( <i>Achromobacter</i> )
20-19 b-2f	-	+	pe	+	-	O	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	( <i>Achromobacter</i> )
20-20 b-6	-	-	-	-	-		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Aeromonas</i> sp.
20-21 b-7	-	+	pe	+	-	O	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-22 a-2	-	+	P	-	+	F	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-23 a-2	-	+	P	-	+	F	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-24 b-18	-	+	pe	-	-		-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
20-25 b-18'	-	+	P	-	-		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-26 t-1	-	+	P	±	-	O	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Alcaligenes</i> sp.
20-27 d-4	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-28 d-4	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-29 d-4	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-30 y-2	-	+	pe	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
20-31 b-18	-	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	"
20-32 d-3	+	+	P	-	-		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	

\* P: polar flagellation. p: subpolar, or lateral flagellation. pe: peritrichous flagellation. F: fermentative. O: oxidative. A: alkaline.

Table 9. Growth temperature, nutritional ability, and settling ability of the bacterial isolates from the sea-water activated sludge

Colony form	Strains	Temperature*					Culture media					Settling* ability %
		20	30	37	41	45	A	B	C	D	isolation	
r-1	40	+	A	A	+	+	—	—	—	—	—	3
	41	+	+	A	A	+	—	+	+	+	+	2
y-1	37	+	A	+	—	—	—	—	—	+	+	58
r-3	28	+	A	A	+	—	—	—	—	+	+	18
r-5	45	+	+	A	A	—	—	—	—	+	+	35
y-3b	56	+	+	+	A	+	—	+	+	+	+	53
y-5b	29	A	A	—	—	—	—	—	—	+	+	0
y-6b	34	+	A	A	+	—	—	—	—	+	+	37
y-7	30	+	A	A	—	—	—	+	+	+	+	40
a-1, d-1	15, 16	+	+	A	+	—	—	+	+	+	+	25, 36
d-3	9	A	A	A	A	—	—	+	+	+	+	22
	51	+	+	+	A	—	—	—	—	+	+	B
d-3b	14	+	A	+	+	—	—	—	—	+	+	72
	57	+	A	A	+	—	—	—	+	+	+	69
d-3b'	19	+	+	A	+	—	—	—	+	+	+	12
a-2	76	+	+	+	A	—	—	+	+	+	+	35
b-2	7	+	A	+	+	+	—	—	+	+	+	40
b-2c	8	+	+	A	+	—	—	—	+	+	+	24
b-6	12	+	+	A	+	—	—	—	—	—	+	75
b-6c	61	+	A	A	+	—	—	—	—	—	+	B
b-7	70	+	+	A	A	—	—	—	+	+	+	37
b-8	65	+	+	A	A	—	—	—	—	+	+	16
b-18	5, 71	+	+	A	—	—	—	—	—	+	+	34, 28
b-18b	54	+	+	A	—	—	—	+	+	+	+	36
b-18b°	72	+	+	A	+	—	—	—	—	—	+	56
b-16	26	+	+	+	A	—	—	+	+	+	+	0
d-5	1	+	+	A	—	—	—	—	—	—	+	23
d-2	31	+	A	A	A	A	—	—	—	—	+	104
d-2c	10	+	A	—	—	—	—	+	+	+	+	57
d-7	22	+	+	A	+	—	—	+	+	+	+	1

\* A: abundant growth. B: bulking-like growth.

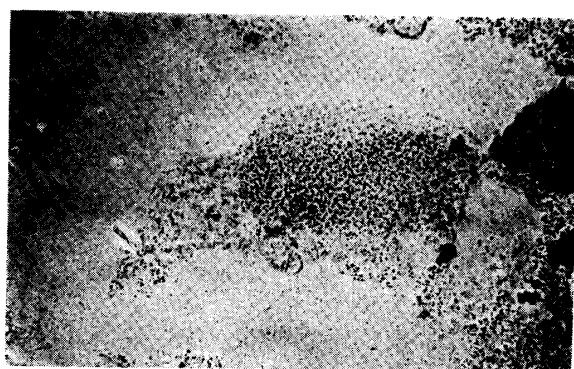


Photo 5a. Floc of pure culture strain of bulking-type.

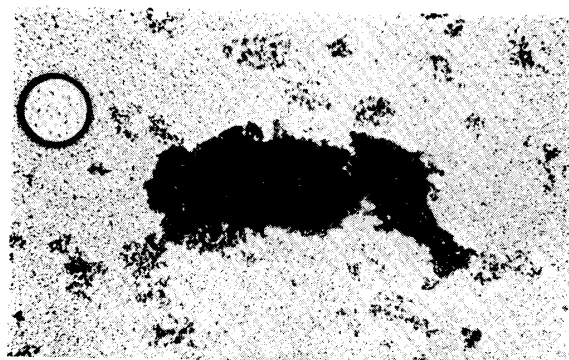


Photo 5b. Normal floc of pure culture strain.

Table 10. Growth temperature, nutritional ability, and settling ability of the bacterial isolates from the sea-water activated sludge

Colony form	Strains	Temperature*					Culture media				Settling* ability %
		20	30	37	41	45	A	B	C	D isolation	
r-1	20-1	+	+	A	A	+	—	—	+	+	6
r-3	20-8	+	A	A	—	—	—	—	—	+	8
r-3'	20-9	+	A	A	A	+	—	—	—	+	50
r-2	20-2	A	+	—	—	—	—	—	—	—	0
p-2	20-3	+	+	A	A	+	—	+	+	+	8
y-2	20-4, 20-12	A	A	A	—	—	—	—	—	+	65, 42
	20-30	+	A	A	+	—	—	—	+	+	99
y-3	20-5	A	A	A	—	—	—	—	—	+	93
r-6	20-6	A	A	—	—	—	—	—	—	+	75
	20-7	+	+	A	A	+	—	—	+	+	12
d-3	20-10, 20-11	+	A	A	—	—	—	—	+	+	64, 72
a-2	20-22	+	A	A	A	+	—	—	+	+	39
	20-23	+	A	A	A	—	—	+	+	+	29
b-18	20-15, 20-17	+	A	A	+	—	—	—	+	+	52, 47
	20-31	+	A	A	+	+	—	+	—	+	43
	20-16	+	A	A	+	—	—	—	—	+	68
	20-24	A	+	—	—	—	—	—	—	+	38
b-18'	20-25	+	+	A	+	—	—	+	+	+	36
b-6	20-20	+	A	A	+	+	—	—	—	+	17
b-6b	20-13, 20-14	+	+	+	A	+	—	+	+	+	71, 62
b-7	20-21	+	+	A	+	—	—	+	+	+	12
b-2f	20-18, 20-19	+	A	A	A	+	—	+	+	+	1,0
t-1	20-26	+	A	A	—	—	—	—	—	+	58
d-4	20-27, 20-28	+	A	A	A	—	—	—	+	+	12, 20
	20-29	+	A	A	+	+	—	—	+	+	53

A: abundant growth. B: bulking-like growth.

## 要 約

海水活性汚泥による旧式焼酎蒸溜廃液の連続処理をアクリル製完全混合型曝気槽によって行った。廃液は海水で60倍に希釈して処理したが、COD 負荷量0.15～1.08 kg/m<sup>3</sup>/day の範囲でいずれも除去率90%が得られた。また廃液中のリン酸、およびクエン酸は70～80%の除去率でかなり良好な処理状況であることが明らかになった。連続処理による汚泥の増殖量については有効容 5.2 l の曝気槽について汚泥増殖量  $4S$  (g/day) =  $0.76 L_{\text{COD}}$  (g/day) -  $0.03 S$  (g) の式が得られた。

3週間飢餓培養を行い続く3週間負荷をかけながら海水活性汚泥の処理能、沈降性および微生物相を調べ、活性汚泥が正常化するのを観察した。海水活性汚泥が正常化するとともに、20°C 連続処理では通常の汚泥と変りなかった。30°C 連続処理ではフロックが大きく育ち、SVI も200をこえたが、処理能、処理水分離はいずれも良好であった。同時に連続処理中の海水活性汚泥からスポット寒天法で分離した細菌を同定した結

果 30°C 連続処理の場合の主要なものは *Aeromonas punctata*, *Alcaligenes* sp., *Pseudomonas* sp., *Vibrio fischeri*, *Spirillum serpens*, *flavobacteria* であった。20°C で連続処理中の汚泥とは決定的な違いはとくにないが *Spirillum serpens* が 30°C 汚泥でだけ分離された。微生物相ではとくに安定化にともなって放線菌が分離されなくなった。

## 文 献

- 1) Tanabe, I.: Heterotrophic bacteria in the surface sea water of the Indian Ocean. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **7** (1) 65-68 (1969)
- 2) 田邊幾之助: 旧式焼酎蒸溜廃液の海水活性汚泥による処理とその微生物生態学的局面. 「環境科学」研究報告, 環境汚染物質の生物変換・汚染防除技術における微生物の生態, 109-123 (1980)
- 3) Tanabe, I.: Microbiological studies of the sea water activated sludge. *Microbiology for Environment Cleaning*, Scientific Reports of the Research Project, "Environment Cleaning by Microorganisms, 1974-1977", 74-86 (1978)
- 4) Tanabe, I.: Microflora of the Sea to the East of Japan in the Pacific Ocean. *Mem. Fac. Agr. Kago-*

- shima Univ., **7** (1) 55-64 (1969)
- 5) Tanabe, I., Fujii, M., Kamimura, Y., Yoshii, S., Kuboyama, H., Nagata-Machara, H. and Sonoda, T.: 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)
  - 6) 田邊幾之助・上村幸広・吉井 石・木佐木博・藤井正範: 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. 鹿大農学術報告, **No. 31**, 33-39 (1981)
  - 7) 田邊幾之助・木佐木 博・原田元弘・川路博志: 海水活性汚泥の微生物相, とくにフロックの構造性について. 鹿大農学術報告, **No. 32**, 87-94 (1982)
  - 8) 田邊幾之助・木佐木 博・原田元弘・川路博志: 海水海性汚泥中, 微生物の局存性の検討. 鹿大農学術報告, **No. 32**, 95-100 (1982)
  - 9) 田邊幾之助・音地龍夫・二石真智子・迫間敬子・志々日義紀: 甘藷焼酎醸造における酒母, 醪中の乳酸菌について. 鹿大農学術報告, **No. 32**, 69-77 (1982)
  - 10) 田邊幾之助・田実博美・真角孝則・上村幸広・吉井石・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)

### Summary

Continuous treatment of Shôchû-distiller's slops in an acryl-laboratory-equipment of complete-mixing-type with sea-water activated sludge was carried out, successfully. Sixty-times dilution of distiller's slops was employed for the experiment, and COD removal at more than 90% was obtained in the range of COD loading fixed at 0.15 to 1.08 kg/m<sup>3</sup>/day. Removals of phosphate and of citric acid from distiller's slops were 70 to 80%.

In the aerating laboratory-equipment having significant volume of 5.2 l in the course of continuous treatment, multiplication of activated sludge,  $\Delta S$ , follows the following equation:

$$\Delta S \text{ (g/day)} = 0.76 L_{\text{COD}} \text{ (g/day)} - 0.03 S \text{ (g)}$$

$L_{\text{COD}}$  and  $S$  are the removed COD and the mixed liquor suspended solid, respectively.

During the subsequent 3 weeks of loading after 3 weeks of starvation, successful stabilization of the sea-water activated sludge was carried out, with the observation of their treating and settling abilities, and their microflora. In the case of continuous treatment at 30°C, a floc grew and SVI-value came to be exceeded into 200 along with an increasing stabilization of the sea-water activated sludge, but comparatively excellent treating and settling abilities were obtained.

Presentatives of bacterial isolates from the sea-water activated sludge during the continuous treatment of distiller's slops were employed for the determination, and were identified as follows: *Aeromonas punctata*, *Alcaligenes* sp, *Pseudomonas* sp., *Vibrio fischeri*, *Spirillum serpens*, and *flavobacteria* in the case of the treatment at 30°C. No large difference between microflorae at 30°C and that at 20°C was recognized, but *Spirillum serpens* was found only from the activated sludge at 30°C. *Actinomyces* tapered along with the increasing stabilization of the sea-water activated sludge, and then would vanish.