

〔醸酵工学 第62巻 第2号 77-80, 1984〕

ノ ー ト

活性汚泥中の低栄養細菌

高橋 力也・亀山 孝雄・鈴木 昌治・米山 平

東京農業大学醸造科

Oligotrophic organisms in sewage activated sludge. —Note— RIKIYA TAKAHASHI, TAKAO KAMEYAMA, MASAHARU SUZUKI, and HITOSHI YONEYAMA (*Department of Brewing and Fermentation, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan*) *Hakkokogaku* 62: 77-80. 1984.

Activated sludge was found to contain a large number of oligotrophic organisms, so-called diluted nutrient broth (DNB) organisms, with the standard agar medium of Japanese Industrial Standard and its 100-fold dilution.

Total viable cells in the activated sludge were estimated as 2.8×10^7 cells/ml of mixed liquor or 3.0×10^{10} cells/g-MLSS with the diluted standard agar medium, showing good agreement with previous estimates. As the number of viable cells observed with 100-fold diluted medium was 2-4 times higher than that with full-strength standard agar medium, DNB organisms in the activated sludge were estimated to number at least 1.4×10^7 cells/ml or 1.5×10^{10} cells/g-MLSS. Activated sludge was thus thought to be a typical habitat for extremely high concentrations of DNB organisms.

排水処理に広く用いられている活性汚泥法は適切な BOD 負荷で運転すれば、ほとんどの場合 BOD が 20 mg/l 以下の処理水を得ることができる。その汚濁浄化能力の主要な部分は活性汚泥中の細菌群が担うと考えられているにもかかわらず、細菌群の内容についてはほとんど明らかにされていない。

曝気槽内が完全混合に近い混合状態であるとすれば、これらの細菌はきわめて低い基質濃度に適応している可能性がある。そこで、排水の一般細菌数の計測に用いられる合成培地と、それを希釈して濃度を極端に低くした培地を用いて生菌数を計測することにより、低基質濃度に特異的な菌の存在を調査した。

活性汚泥試料は小規模下水処理場の1つである東京都下町田市鶴川下水処理場から採取した。この処理場の処理方式は平均流入水量が 6,300 m³/日規模の標準活性汚泥法である。およそ 170 mg/l の流入水 BOD を曝気槽滞留時間約 5 時間で 20 mg/l 以下に処理できているので、この活性汚泥は正常の浄化能力をもった微生物で構成されているものと考えられる。

活性汚泥中の生菌数は平板塗抹法により計測した。

曝気槽の入口付近または出口近くから採取した活性汚泥試料を直ちにホモナイザー(池本理化, RKI-1076)で 1,000~1,300 rpm, 10 分間処理することにより細分化した後、滅菌生理食塩水または滅菌蒸留水で適宜希釈し、その 0.1 ml を標準寒天培地¹⁾(Table 1), TY 培地(トリプチカーゼ 0.4%, 酵母エキス 0.1%, 粉末寒天 1.5%, pH 7.0) および、それらの希釈寒天培地にそれぞれ塗抹し、30°C で 7 日間以上培養した。出現したコロニーを経時的に計数し、生菌数とした。生菌数がそれ以上ほとんど増加しなくなるまで、約 2 週間培養を継続した。生菌数は 1 希釈試料について 3~4 枚のシャーレを用いて計測し、シャーレ 1 枚当たりのコロニー数が 30~300 個の範囲のものの平均値を曝気槽混合液当たり、または MLSS (mixed liquor suspended solids) 当たりで示した。

曝気槽の入口付近で採取した活性汚泥を蒸留水で適宜希釈し、標準寒天培地と 100 分の 1 標準寒天培地で生菌数をみた結果を Fig. 1 に示した。培養開始後 24 時間で両者ともに約 2×10^9 個/g-MLSS のコロニーが現れ、その後もコロニー数が急速に増加した。2 日間

Table 1. Composition of standard agar medium.

Peptone	5.0 g
Yeast extract	2.5 g
Glucose	1.0 g
Agar	15.0 g
Distilled water	1000 ml
pH	7.0
COD _{Mn} *	2700 mg/l

*COD_{Mn} was analyzed by the method of JIS K0102.

は両者にほとんど差がみとめられないが、標準寒天培地ではまもなく最大値に達したのに対し、希釈培地ではその後もコロニー数が増加しつづけ、培養7日で標準寒天培地のほぼ2倍に達した。標準寒天培地でコロニーを生じた菌がすべて希釈培地で生育するか否かは今のところ明らかではないが、この事実は低濃度培地で生育でき高濃度培地では生育できない、いわゆる低栄養細菌が標準寒天培地で生育できる菌と少なくともほぼ同数存在することを示す。培養7日以後は両者と

もコロニー数の増加がわずかにみとめられるに過ぎず、ほぼ最大値に達したことを示している。

試料活性汚泥の MLSS は 900 mg/l であるので、培養14日後の生菌数は曝気槽混合液当たり標準寒天培地で 1.5×10^7 個/ml, 100倍希釈培地で 2.8×10^7 個/ml である。これらの数値は地田ら³⁾, および伊藤³⁾, Austin ら⁴⁾の結果とほぼ一致する。低栄養細菌はしたがって、少なくとも 1.4×10^7 個/ml, あるいは 1.5×10^{10} 個/g-MLSS 存在するものと推定される。すなわち、この活性汚泥は低栄養細菌がきわめて高濃度で存在する生態系の1つと考えられる。

標準寒天培地の代わりに TY 培地を用いた場合の結果を Fig. 2 に示した。活性汚泥試料は Fig. 1 と同一のものである。培地以外の実験条件は Fig. 1 と同様である。経時的なコロニー数出現の様子は標準寒天培地の場合と似ているが、培養14日後の希釈培地のコロニー数 (A) と無希釈培地のコロニー数 (B) の比 ($R=A/B$) は標準寒天培地の場合に比べ、かなり小さいことがわかった。5月～7月に行った同様の7回の実験での

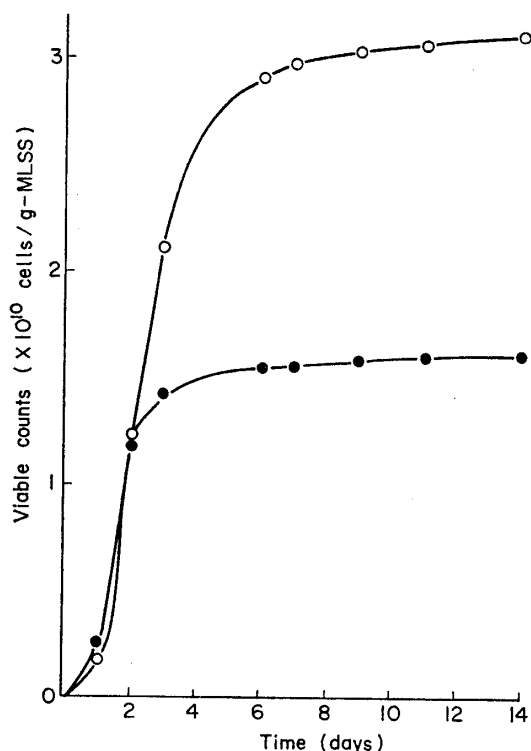


Fig. 1. Differences in viable counts on 100-fold dilution and full-strength standard agar medium. The activated sludge sample was obtained from an aeration tank near the inlet of sewage. The sample was diluted with distilled water. MLSS = 900 mg/l.
○, 100-fold diluted medium.
●, full-strength medium.

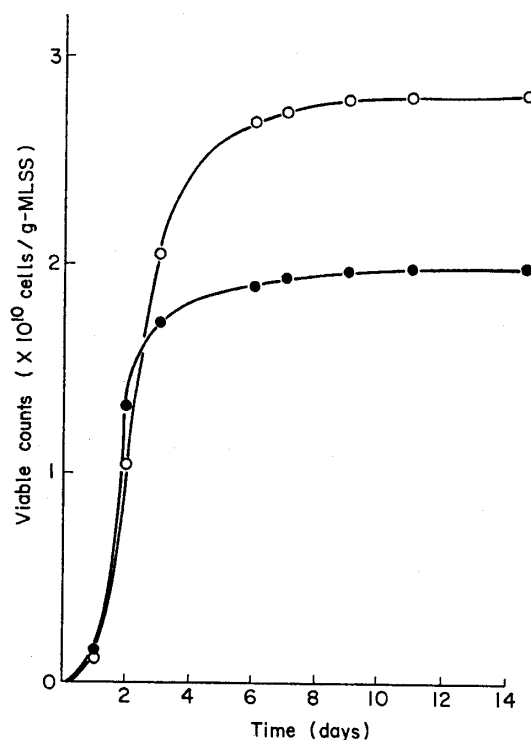


Fig. 2. Viable counts of the activated sludge with TY medium. The activated sludge sample was obtained from an aeration tank near the inlet of sewage. The sample was diluted with distilled water. MLSS = 900 mg/l.
○, 100-fold dilution of TY medium.
●, full-strength TY medium.

標準寒天培地による R 値の平均は 2.4 であったのに対し, TY 培地による 5 回の実験の R 値の平均は 1.5 であった. 伊藤²⁾は TY 培地を用いた調査で, 活性汚泥中に低栄養細菌はほとんど認められないと報告しているが, ここでも TY 培地では標準寒天培地に比べ培地の希釈効果が現れにくいことがわかった. また, TY 培地よりもペプトン等の窒素含有成分濃度が高い標準寒天培地が, 培地の希釈効果を顕著に示す事実は, 服部ら⁵⁾が土壤微生物中の低栄養細菌のほとんどが肉エキスおよびペプトン濃度に感受性であるとしていることと見かけ上一致する.

したがって, 以下の実験は標準寒天培地およびその希釈培地を用いて行った.

Fig. 3 に活性汚泥試料の希釈水として生理食塩水を用いた場合と蒸留水を用いた場合の生菌数の違いを示

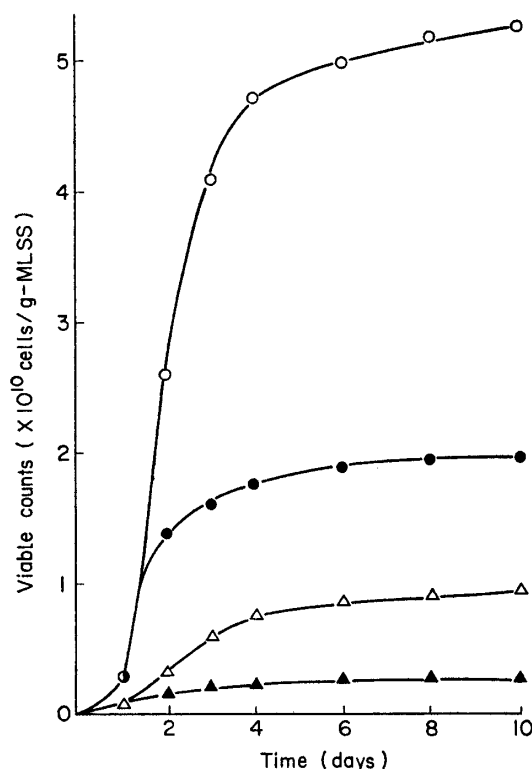


Fig. 3. Suppression of viable counts by physiological saline solution.

The activated sludge sample was diluted with physiological saline solution or distilled water before plating.

○, Distilled water, 100-fold diluted standard agar medium.

●, Distilled water, full-strength medium.

△, Physiological saline solution, 100-fold dilution of standard agar medium.

▲, Physiological saline solution, full-strength medium.

した. 希釈水に生理食塩水を用いると生菌数が著しく少ないことがわかった. 標準寒天培地および希釈培地いずれの場合も生理食塩水を用いると生菌数がかなり少なくなることは, 食塩水への感受性は必ずしも低栄養細菌に特異的な現象ではないことを示す.

これらの知見は活性汚泥中の生菌数計測に際し, 生理食塩水による試料の希釈, 培地濃度, 培養時間を吟味する必要があることを示している.

これまでのところ, 曝気槽からの試料採取日および曝気槽の試料採取位置の違いにより, 生菌数にかなりの変動がみられたが, 標準寒天培地の希釈培地の方で常に約 2 倍以上の生菌数が計測された. すなわち, 排水が常時供給される入口付近と下水の汚濁質のほとんどが浄化された出口付近の活性汚泥はともに R 値が約 2 以上で, 活性汚泥の低栄養細菌構成比がほとんど変わらないものと考えられる. Fig. 1 は曝気槽入口付近の活性汚泥, Fig. 3 は曝気槽出口付近からの活性汚泥を試料とした結果である.

これまでの調査は希釈培地として 1/100 濃度の培地を用いたが, 次に最適培地濃度について検討した. その結果を Fig. 4 に示した. 50~500 倍希釈の範囲の希釈培地で, いずれも標準培地よりかなり多くの生菌

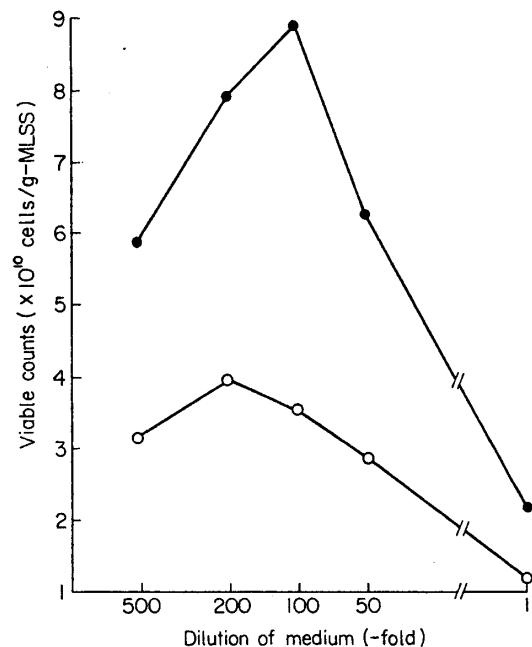


Fig. 4. Effect of dilution of standard agar medium on viable counts.

Activated sludge samples were obtained from an aeration tank near the outlet on 20th July (○), MLSS=900 mg/l, and on 27th September (●), MLSS=1,080 mg/l.

数が計測された。最適濃度は100~200倍希釈であると推定される。標準培地の COD_{Mn} は 2,700 mg/l であり (Table 1), その 100~200 倍希釈では 14~27 mg/l となるので試料活性汚泥採取位置の曝気槽内 COD_{Mn} 73 mg/l より低い濃度である。

以上の結果, 小規模下水の活性汚泥中に低栄養細菌がきわめて高密度で存在し, これらが活性汚泥を構成すること, また活性汚泥中には 8,500 mg/l の生理食塩水に感受性の細菌が多数含まれていることを明らかにした。がわかった。これらの知見は活性汚泥を構成する菌群の解析の手懸りになるものと考えられる。

要 約

小規模下水の活性汚泥中に低栄養細菌がきわめて高密度で存在することを, 標準寒天培地とその希釈培地を用いることにより明らかにした。希釈培地による活性汚泥中の生菌数は, 2.8×10^7 個/ml または 3.0×10^{10} 個/g-MLSS であった。生菌数が希釈培地で, 標準寒天培地の 2~4 倍計測されるので, 低栄養細菌は活性

汚泥を構成する菌群の相当部分を占めると考えられ, 活性汚泥中に少なくとも 1.4×10^7 個/ml または 1.5×10^{10} 個/g-MLSS 存在することが推定された。また, この活性汚泥中に, 8,500mg/l の生理食塩水に感受性の細菌が多数含まれていることがわかった。

文 献

- 1) 日本工業標準論査会：工場排水試験方法 JIS K 0102, 日本規格協会, p. 213 (1981).
- 2) 地田, 渡辺, 石田, 吉野, 萩原, 安田：日本水処理生物学会誌, 6, No. 2, 11 (1971).
- 3) 伊藤：日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 92 (1983).
- 4) Austin, B.L., Forster, C.F.: *Water Waste Treatment J.*, 208 (1969).
- 5) Hattori, R., Hattori, T.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 26, 1 (1980).
- 6) 服部：微生物の生態(微生物生態研究会編), 6, 57, 学会出版センター, 東京 (1979).

(昭58.10.31受付)