



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	海面埋立地内高率酸化池の微生物学的汚濁海水処理機構
Author(s)	河合, 啓一; 板津, 育子; 堀津, 浩章; 高見沢, 一裕; 井上, 善介
Citation	[岐阜大学農学部研究報告 = Research bulletin of the Faculty College of Agriculture Gifu University] no.[53] p.[283]-[289]
Issue Date	1988-12-25
Rights	
Version	岐阜大学農学部生物資源利用学科 (FACULTY OF AGRICULTURE GIFU UNIVERSITY, Department of Biotechnology) / 大阪市立環境科学研究所 (Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences)
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5653

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

海面埋立地内高率酸化池の微生物学的汚濁海水処理機構

河合啓一¹⁾・板津育子¹⁾・堀津浩章¹⁾・高見沢一裕²⁾・井上善介²⁾

1) 生物機能工学講座

2) 大阪市立環境科学研究所

(1988年8月1日受理)

Treatment of Filthy Sea Water by Dominant Bacteria in an Aerated Lagoon at a Sea-based Solid Waste Disposal Site

Keiichi KAWAI¹⁾, Ikuko ITAZU¹⁾, Hiroyuki HORITSU¹⁾
Kazuhiro TAKAMIZAWA²⁾ and Zensuke INOUE²⁾

1) Department of Biotechnology

2) Osaka City Institute of Public Health and
Environmental Sciences

(Received August 1, 1988)

SUMMARY

We examined some physiological properties of bacteria present in an aerated lagoon at a sea-based solid waste disposal site. The treatments of filthy sea water by dominant bacteria were also studied. Most bacteria in aerated lagoon could not use glucose aerobically. On the other hand, although some seasonal changes were observed, certain bacteria which could use glucose anaerobically were more numerous in summer than in winter time. On the contrary, the ratio of nitrate-reducing bacteria to total ones increased in winter time.

Treatment studies of filthy sea water by dominant genera (*Micrococcus*, *Paracoccus*, *Acinetobacter*, *Aerococcus* and *Moraxella*) revealed that COD, total nitrogen or NH_4 -nitrogen was reduced in 10% to 25% by the isolates of these bacteria from an aerated lagoon, when they were cultured at 30°C for a week.

The nitrifying bacteria were rapidly increased in summer time, but in winter time they were decreased, suggesting that nitrification occurred actively by nitrifying bacteria and then denitrification by some denitrifying bacteria such as *Micrococcus* and *Paracoccus* proceeded in summer time.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (53) : 283—289, 1988.

要 約

海面埋立廃棄物処分地内に設けられている汚濁海水処理施設である高率酸化池に生息している細菌群の生理機能の把握と高率酸化池の汚水処理機能との関連を明らかにするとともに、優占菌による汚濁海水の浄化能について検討を加えた。高率酸化池には好気条件でブドウ糖などの糖質を利用できる菌群はほとんど認められなかった。一方、嫌気条件下でブドウ糖を利用する菌群は季節変動が観察され夏季に多くなる傾向を示した。硝酸還元能を有する菌群の存在比率も季節変動がみられ、冬季に増加することを認めた。高率酸化池から分離した優占菌 (*Micrococcus*, *Paracoccus*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aerococcus* などの

各属)による汚濁海水浄化能を解析するため、TOC、COD、有機窒素、アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素および硝酸性窒素の除去率について調べた。30℃、一週間の好氣的処理を行なった結果、COD、有機窒素あるいはアンモニア性窒素などが10~25%程度減少し、優占菌種により汚濁海水が浄化されることが示された。しかしその汚水浄化能は属による差はみられず、各株に特有な機能と考えられた。微生物学的脱窒作用に関しては夏季に硝化細菌による硝酸化成作用が行なわれ、優占菌種である *Micrococcus* 属や *Paracoccus* 属などの脱窒菌により硝酸からの脱窒反応が活発に行われていることが示された。一方、冬季には硝化細菌数が激減し硝酸化成作用がほとんど行なわれていないことが明らかになった。

結 論

近年、大都市では内陸部に都市ゴミ廃棄物（焼却残滓、活性汚泥、不燃性ゴミなど）の投棄場所の確保が困難になり、海面埋立方式による都市ゴミ廃棄物処理が行われるようになってきている。しかしこの方式では投棄物から汚濁物質が海水中に浸出溶解するため大量の汚濁海水が発生する。大阪市の北港廃棄物処分地では、この汚濁海水の浄化処理法として生物学的処理法の一つである安定化池と高率酸化池からなる酸化池方式を採用している。

前報¹⁾において、これら酸化池における微生物生態学的研究を行ない食中毒や化膿性疾患を引き起こすような病原性細菌がほとんど存在しないこと、また安定化池では微生物作用により高分子有機化合物の分解や低分子化が行われ高率酸化池では低分子有機化合物やアンモニアなどの分解利用あるいは酸化反応が進行していることを指摘した。本研究では前報に引き続き、とくに高率酸化池の汚水浄化処理における微生物機能の解析を行なうため、高率酸化池に生息している細菌群の動態を明らかにするとともにこれら細菌群の汚濁海水浄化能について解析を加えた。

実験材料および方法

1. 高率酸化池

高率酸化池の概略については前報¹⁾に記載した。本研究では試料採取場所は安定化池からの汚水流入口 (Ba) と高率酸化池からの処理水放出口 (Bd) とし、表層水を採取した。

2. 培地および培養

平板培地として Table 1 に示す普通寒天培地およびキング A 培地を使用した。培養は30℃で3日から一週間行ない菌数の計測および優占菌の単離に用いた。

3. 優占菌の同定

優占菌の同定は CowanとSteel²⁾が考案した検索表に基づいて行ない、他の分類同定書^{3~5)}も参考にして属のレベルで行なった。

4. 水質分析

全有機炭素 (TOC) は工場排水試験方法⁶⁾に準じ島津製作所製 TOC-10B を使用して測定した。化学的酸素要求量 (COD) の測定は100℃における過マンガン酸カリウムによる酸化法⁶⁾により行なった。有機窒

Table 1. Composition of media

A) Nutrient agar		B) King medium A	
Component	%	Component	%
Meat extract	0.5	Glycerol	1.0
Peptone	1.0	Peptone	2.0
NaCl	0.5	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0
Agar	1.5	MgCl ₂	0.14
		Agar	1.5

pH 7.0

pH 7.2

素はケルダール還元法⁷⁾により測定した。アンモニア性窒素はフェノール次亜塩素酸法⁸⁾、亜硝酸性窒素はナフチルエチレンジアミンスルファニルアミド法⁸⁾および硝酸性窒素はカドミウム-銅カラム法^{8,9)}を用いてそれぞれ定量した。

5. 汚水浄化能解析用汚濁海水の調製

安定化池からの汚水流入口 (Ba) 近辺の汚濁海水を採取し、遠心分離により浮遊物質を除去した後、その上澄液をメンブランフィルター (0.22 μ) にて除菌濾過した。この濾液100 ml を500-ml 容振盪フラスコに入れ、30 $^{\circ}$ Cで一週間培養した。

結果および考察

1. 高率酸化池における細菌数の季節変動

高率酸化池における細菌群の動態を把握するため、汚水流入口 (Ba) と放流口 (Bd) の両採水点における細菌数の変動を調べた。結果を Table 2 に示す。前報¹⁾で高率酸化池内の病原性細菌の存否を調査した際、化膿性疾患の原因菌である *Pseudomonas aeruginosa* の色素産生テストに用いられるキング A 培地を使用したところ多数の細菌がコロニーを形成することを認めたので、今回は普通寒天培地とキング A 培地の両培地を用いて細菌数の計測を行なった。その結果、Table 2 から明らかなように普通寒天培地に比較してキング A 培地の方が高い計数値を与える傾向がみられた。とくに3月に採取した試料では Ba 点および Bd 点ともその計数値に著しい差がみられた。普通寒天培地は日本工業規格による水質検査における一般細菌数の計数に用いられるものであり肉エキス、ペプトンを主成分とする栄養学的に豊富な培地で、これらの有機物を利用できる細菌群がコロニーを形成する。一方、キング A 培地はグリセロールとペプトンからなる培地で、主要炭素源としてグリセロールを含有しているため、高率酸化池内の細菌群が本培地に多数増殖できることはこれらの細菌群の炭素源利用性との関係で興味深い。そこで今回は普通寒天培地およびキング A 培地に増殖した細菌群についてその生理機能の解析を行なった。

2. 高率酸化池内生息細菌の生理機能

i) ブドウ糖利用試験

普通寒天培地およびキング A 培地からそれぞれコロニーを分離し、各分離菌株のブドウ糖利用様式について比較した結果を Fig. 1 に示す。年間を通じて好気および嫌気の両条件下ともブドウ糖を利用できない菌群が大半を占めていた。一方、好気条件下でのみブドウ糖を利用できる酸化型の菌は両培地ともほとんどみられず、7月と10月に採取した試料の普通寒天培地上に増殖した菌に10~15%の割合で出現したのにすぎない。また嫌気条件下ではブドウ糖を利用できる菌群は、普通寒天培地上に増殖した菌では総増殖菌数の40~60%を占め、またキング A 培地の場合には20~70%となり季節変動が観察された。高率酸化池ではフローティングエアレーターで通気攪拌が行われているためかなり好気度の高い酸化池であるにもかかわらず、好気条件下ではブドウ糖を代謝利用できない菌群が優占的に活動していることが伺われた。

ii) 硝酸還元能

Fig. 2 に硝酸還元能を有する硝酸還元菌数とその比率の季節変動を示す。硝酸還元菌の占める割合は季節による変動が著しく現れている。すなわち3月に採取した試料では両培地とも硝酸還元菌は総増殖菌数のほぼ半分を占めていたが7月ではその割合が激減していた。この夏季における無機窒素化合物の形態別

Table 2. Changes of bacterial cell number at sampling points Ba and Bd in the aerated lagoon. The media used for counting were nutrient agar and King medium A.

Medium	1984					
	March 16		July 19		October 18	
	Ba	Bd	Ba	Bd	Ba	Bd
Nutrient agar	4.7×10^4	8.5×10^3	5.3×10^5	2.7×10^6	1.1×10^5	7.0×10^4
King medium A	2.5×10^6	8.0×10^4	6.2×10^5	4.0×10^6	1.5×10^5	1.9×10^5

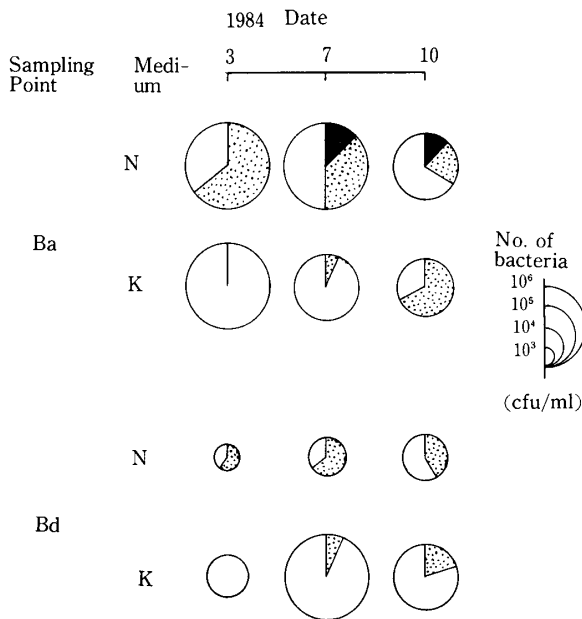


Fig. 1. Glucose utilization by bacteria isolated from the aerated lagoon. The width of the circle shows the number of bacteria. The media used for isolation and counting were nutrient agar (N) and King medium A (K). □; fermentation, ■; oxidation, □; nonfermentation.

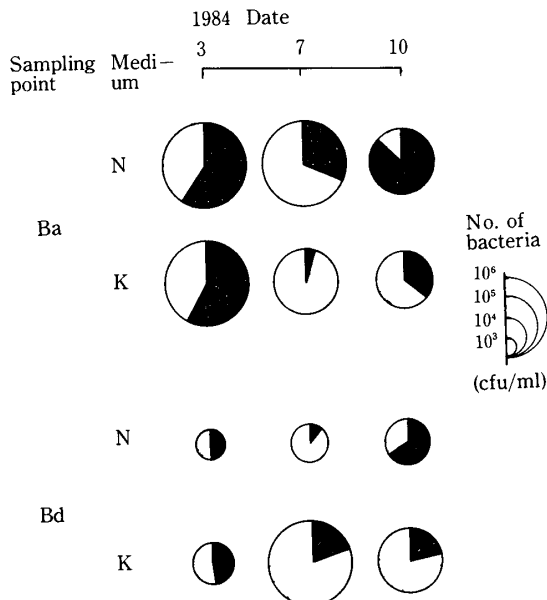


Fig. 2. Incidence of nitrate-reducing bacteria isolated from the aerated lagoon. The media used were nutrient agar (N) and King medium A (K). The width of the circle shows the number of bacteria and the painted portion represents the number of nitrate-reducing bacteria.

分布をみると、アンモニア性窒素が0.15~0.2 mg/lと少なく、亜硝酸性窒素および硝酸性窒素が30~40 mg/l程度含まれており、いわゆる硝酸型の酸化池になっている。しかし10月の採取試料では再び硝酸還元菌の占める割合が増加する傾向を示し、この時期の無機窒素化合物の形態別濃度はアンモニア性窒素が12~13 mg/lと大幅に増加しており、亜硝酸性窒素および硝酸性窒素はそれぞれ3 mg/lおよび14~15 mg/lとなっており亜硝酸や硝酸の濃度が低下していた。これらの結果から、夏季では硝酸還元作用よりむしろ硝酸化成作用が進行し、冬季では硝酸化成作用が低下するとともに硝酸還元作用が行われるため無機窒素化合物の大部分がアンモニア性窒素として存在している¹⁾ものと推察される。

3. 優占菌種の季節変動

Ba および Bd の両採水点における優占菌種の消長をそれぞれ Fig. 3 および Fig. 4 に示す。普通寒天培地を使用した場合には優占菌種としてBa点では *Aerococcus*, *Paracoccus*, *Micrococcus* のほか、*Moraxella*, *Acinetobacter* および *Corynebacterium* などの各属の細菌が認められた。一方、Bd点では上記の各優占菌種の菌数の減少とともに *Moraxella* と *Corynebacterium* の2属が検出されず、Ba点に比べBd点では優占菌の種類も少なくなっていた。またキングA培地を使用した場合には、Bd点において夏季に多数出現した *Corynebacterium* 属を除き、Ba, Bdの両採水点とも普通寒天培地とほぼ同様の優占菌種の構成と季節変動を示した。*Corynebacterium* 属が夏季にキングA培地にのみ出現した原因としては当然培地組成の違いが影響しているものと考えられるが、本属が編入されているコリネ型細菌についてはその栄養要求性など栄養生理学的にも不明な点が多くまた分類学的にも多くの問題点が提起されており、コリネ型細菌の分類体系に関しては再検討を必要としている¹⁰⁾。この点については1986年に *Bergey* の細菌分類手引書¹¹⁾が再改定され、その分類体系が大幅に改正されたのに伴ない、*Corynebacterium* 属に関しても化学的分類法が導入されたためかなりの修正が加えられている。

高率酸化池に年間通じて *Micrococcus* 属および *Paracoccus* 属が優占菌として確認されたが、これら両属は耐塩性を有しておりかつその生育可能温度は0~35℃と広範で最適増殖温度は20~30℃近辺にあり、さらに硝酸塩を水素受容体として利用し活発な脱窒能を有する菌種である。これら両属の菌群が高

率酸化池における汚水浄化に大きく関与していることが推定された。

4. 高率酸化池より単離された細菌による汚濁海水の浄化

汚濁海水浄化能の指標として TOC, COD, 有機窒素, アンモニア性窒素, 亜硝酸性窒素および硝酸性窒素などの除去能を調べ, 単離菌の汚水浄化能を評価した。なお培養条件は30℃, 一週間振盪培養し, 培養前後の水質を比較した。冬季(1984年2月16日, 水温4.1℃)に採取した試料より単離した細菌の汚水浄化能を調べた結果を Table 3 に示す。 *Paracoccus* sp. を除き, 供試した菌株はいずれも10倍から1,000倍程度の菌の増殖がみられた。COD 除去に関しては *Micrococcus* sp. および *Paracoccus* sp. が20~30%程度減少させた。有機窒素については *Alcaligenes* sp. と *Paracoccus* sp. が若干低下させた。またアンモニア性窒素では *Aerococcus* sp. が25%程度減少させたのが注目される。一方, 夏季(1984年7月19日, 水温27~28℃)に採取した試料から単離した優占菌の汚水浄化能について調べた結果を Table 4 に示す。 *Paracoccus* 属の中には COD を約20%程度低下させた菌株がみられた一方で, 逆に COD を増加させる菌

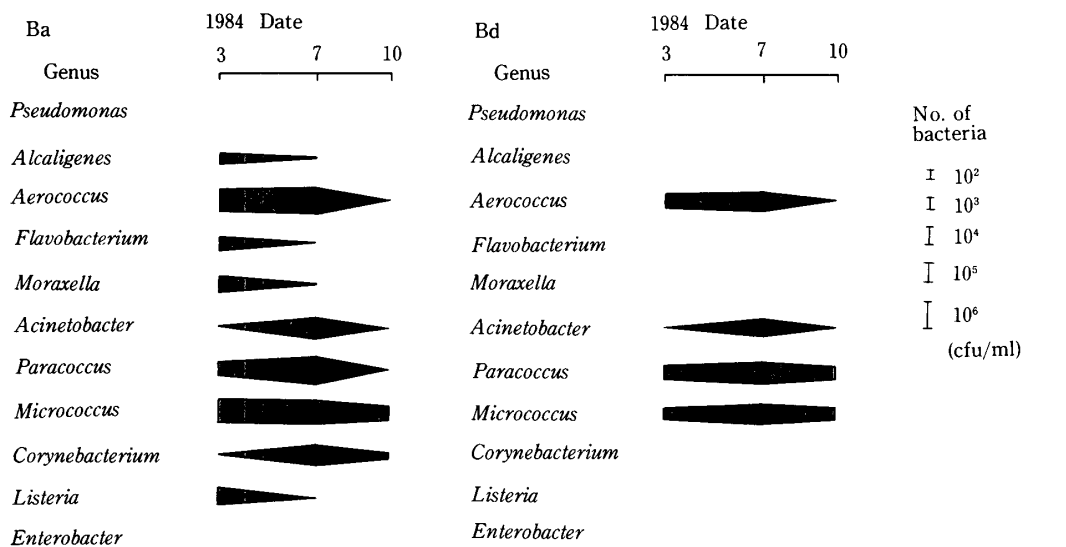


Fig. 3. Dominant bacteria changes at sampling points Ba and Bd in the aerated lagoon. The medium used was nutrient agar.

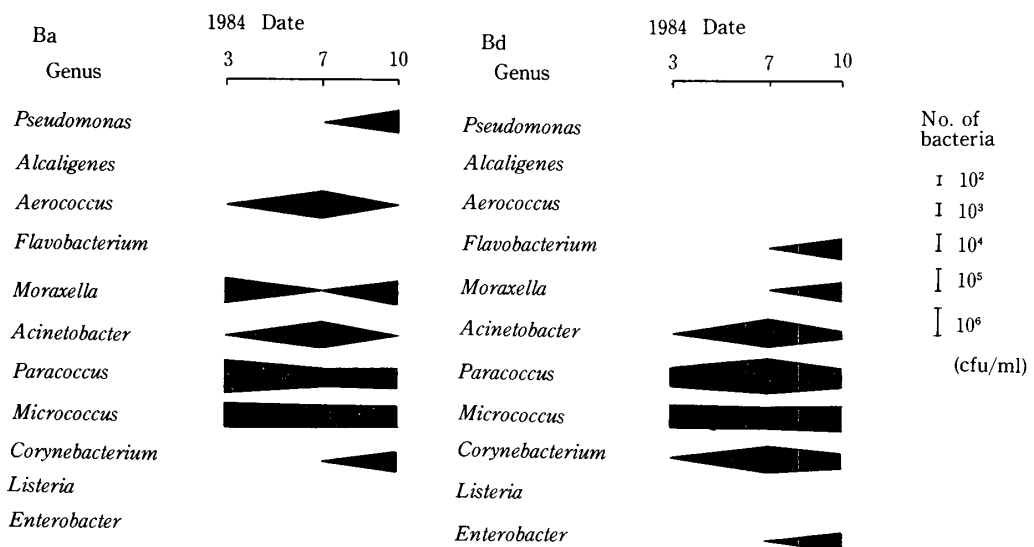


Fig. 4. Dominant bacteria changes at sampling points Ba and Bd in the aerated lagoon. The medium used was King medium A.

Table 3. Treatment of filthy sea water by dominant bacteria isolated from the aerated lagoon in winter (Feb. 26, 1984)

Bacterium	Treated sea water(mg/l)						cell number (cells/ml)	
	TOC	COD	Organic nitrogen	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Initial	Final
	Filthy sea water before treatment	43	92.5	74.2	62.4	6.5	25.1	
<i>Alcaligenes</i>	65	101.6	51.8	52.8	7.1	23.4	7.6×10 ⁵	1.6×10 ⁸
<i>Flavobacterium</i>	49	99.6	72.8	57.6	7.3	23.7	3.6×10 ⁴	1.2×10 ⁷
Filthy sea water before treatment	56	118.0	120.8	70.0	5.8	15.9		
<i>Micrococcus</i>	55	136.0	104.7	67.0	6.3	15.6	8.4×10 ⁴	5.2×10 ⁶
<i>Paracoccus</i>	70	130.4	89.3	67.0	6.1	20.9	2.5×10 ⁶	1.2×10 ⁶
Filthy sea water before treatment	46	88.8	77.0	74.0	6.4	21.2		
<i>Aerococcus</i>	59	65.0	66.6	54.8	6.6	24.0	8.0×10 ⁵	6.8×10 ⁷
<i>Moraxella</i>	64	90.2	65.5	66.4	6.5	25.2	4.0×10 ⁵	3.6×10 ⁶

Table 4. Treatment of filthy sea water by dominant bacteria isolated from the aerated lagoon in summer (July 19, 1984)

Bacterium	Treated sea water(mg/l)						cell number (cells/ml)	
	TOC	COD	Organic nitrogen	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Initial	Final
	Filthy sea water before treatment	76	82.4	98.0	58.6	1.6	28.2	
<i>Paracoccus</i>	63	96.0	100.8	65.2	0.9	27.7	3.0×10 ⁵	2.4×10 ⁷
<i>Acinetobacter</i>	63	101.0	107.3	65.2	0.9	27.0	6.6×10 ⁵	9.2×10 ⁶
<i>Paracoccus</i>	71	66.0	107.3	71.0	0.9	28.0	7.2×10 ⁵	1.0×10 ⁷
Filthy sea water before treatment	67	66.0	95.2	72.8	1.6	29.0		
<i>Acinetobacter</i>	64	72.0	87.0	63.0	1.5	28.4	8.4×10 ⁵	1.6×10 ⁸
<i>Micrococcus</i>	69	75.0	85.1	61.0	1.5	29.0	1.7×10 ⁵	2.0×10 ⁸
<i>Paracoccus</i>	67	77.0	100.2	61.8	1.5	29.0	1.1×10 ⁵	6.4×10 ⁷

株の存在も認められた。夏季に特に優占菌として出現した *Acinetobacter* では有機窒素とアンモニア性窒素を15~20%近くも減少させ、また菌の増殖も顕著な菌株も観察された。また *Micrococcus* sp. においてもこれらの窒素分を10~15%程度減少させることを認めた。以上単離菌を用いた一連の汚水浄化能についての実験結果から、高率酸化池に生息している細菌による汚水浄化能は同一の属として同定された菌株でもその汚水浄化能にはかなりの差がみられ、浄化能は各菌株に特有な機能であることが明らかになった。

引用文献

- 1) Kawai, K., Horitsu, H., Takamizawa, K. & Inoue, Z. : Environ. Technol. Lett. **9** : 677-688, 1988.
- 2) Cowan, S. T. & Steel, K. J. : Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press. London, 1974.
- 3) 駒形和男 : '細菌の分類と同定 (1) 好気性細菌', 長谷川武治編著 "微生物の分類と同定" 東京 : 東京大学出版会 203-245, 1975.

- 4) Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E. : "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 8th ed. Baltimore : The Williams & Wilkins Company, 1974.
- 5) 微生物研究法懇談会 : "微生物実験法", 東京 : 講談社 358-413, 1975.
- 6) 日本工業規格 : "工場排水試験方法, K 0102", 東京 : 日本規格協会, 1983.
- 7) "下水道試験方法, 1974年版", 東京 : 日本下水道協会, 1974.
- 8) 厚生省環境衛生局水道環境部監修 : "上水道試験方法, 1978年版", 東京 : 日本水道協会, 1978.
- 9) 気象庁編 : "海洋観測指針, 1970年版", 東京 : 日本気象協会, 1978.
- 10) Goodfellow, M. & Minnikin, D. E. : 'Introduction to the Coryneform Bacteria', in "The Prokaryote, Vol. 2", Starr, M. P., Stolp, H., Trüper, H. G., Balows, A. & Schlegel, H. G. ed. Berlin • Heidelberg • New York : Springer-Verlag, 1811-1826, 1981.
- 11) Jones, D. & Collins, M. D. : 'Irregular, Nonsporing Gram-Positive Rods', in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.2", Sneath, P.H.A. ed. Baltimore • London • Los Angeles • Sydney : Williams & Willkins, 1261-1283, 1986.