

い込んだ空気が途中で止まり、エアークッションのような影響が生じて吸引できなくなる場合もある。

高橋らが活性汚泥の比重を測定した結果では、汚泥濃度と比重には高い相関が示され、そのデータから相関式を求めると次の結果が得られる。

$$\text{比重} = 4.2 \times 10^{-7} \times \text{汚泥濃度} + 1.0007 \quad (\text{相関係数} = 0.998)$$

報告では、10,150 mg/L の濃度で比重 1.0049 が示されている。汚泥濃縮貯留槽の堆積汚泥を考慮すると 30,000~50,000 mg/L 程度となる。ある密度を持った粒子が濃縮されるとすれば汚泥濃度の増加に伴い比重も増加する。したがって、上式に高濃度条件を代入してみると、汚泥濃度 30,000 mg/L の比重は 1.013、汚泥濃度 50,000 mg/L の比重は 1.022 となり、重量で 1~2% 程度の増加となることが予測される。

このことは、下水処理場の汚泥について調査された結果に近似している。

したがって、比重の増加よりは揚程の差による影響の方が大きいことがわかる。

以上の結果は、濃縮機の導入にあたって、汚泥搬出計画をあわせて検討する必要のあることを示唆している。

#### 1. 4 浄化槽汚泥の分解促進方法

浄化槽汚泥量が急激に増加していることに対し、その減量化を目的として前述した濃縮方法に加え、汚泥転換率を低下する方法が検討されている。これまでの汚泥転換率は、活性汚泥法では 50~70% 程度、生物膜法で 30~50% といわれ、また、負荷条件によって影響されたが、少なからず汚泥は発生していた。

これに対し、汚泥の減量化対策に、汚泥自体を分解する方法が注目されている。

污水処理における余剰汚泥の発生率すなわち汚泥転換率は、処理方式や負荷条件等によって異なることが示されてきた。一般に、活性汚泥法より生物膜法の汚泥転換率は小さく、食物連鎖すなわち生物相の影響といわれる。そのため、接触材を工夫した生物膜法の開発、生物膜法と活性汚泥法の併用法の開発がなされる等が進められてきた。

一方、生物処理は水温の影響をうけることは周知の事実であり、水温を高めることによる汚泥転換率の減少が期待される。しかしながら、加温に係る費用増加から経済的ではないため、適用される例は少なかった。これに対し、近年、好熱性細菌を用いた汚泥の減量化が検討されている。その減量化は微生物によって産生される酵素によって、汚泥が可溶化されるものである。人工下水を用いた実験により、プロテアーゼ産生性と汚泥可溶化能に優れた菌株が分離され、*Bacillus stearothermophilus* と同定された。実際の処理においては、汚泥濃縮貯留部分を汚泥可溶化槽とし、可溶化した汚泥を流入部またはばっ気槽へ循環返送するシステムとしている。人工下水および実廃水を用いた実験結果では、見かけの汚泥転換率は、従来法に比べ大幅に減少することを明らかにしている。ただし、処理水質への影響については、従来法に比べ BOD はほとんど変わらないが、TOC および COD は

やや高い傾向を示し、分解の結果、難分解性物質または生物反応代謝産物が生成した影響があるものと考えられた。

一方、生物処理に対し、物理化学的処理として余剰汚泥をオゾンにより酸化分解を行う方法が実用化されている。処理施設内に設置したオゾン発生器により発生したオゾンと汚泥濃縮貯留部または返送部において余剰汚泥と反応させることによって、汚泥を分解することを目的としている。すでに実用化され、実験的検討が継続されており、オゾン注入率、滞留時間等の操作因子を適切に行うことによって、汚泥発生量を極めて軽減できることが報告されている。なお、前述した好熱細菌を用いた方式と同様に、処理水の TOC および COD はやや高くなる傾向を示した。また、本方式の場合、廃オゾンの処理と処理コストに関する考慮が必要と考えられた。

#### 参考文献

- 1) 葛城義久：液体の輸送車両, 月刊浄化槽, No.230, pp.14-18(1995)
- 2) 渡辺孝雄, 加藤裕之, 矢橋 毅, 戸塚等, 伊藤和卓：浄化槽汚泥の搬出作業に及ぼす汚泥性状の影響について, 月刊浄化槽, No.247, pp.18-21(1996)
- 3) 高橋俊三, 加藤三千夫, 才木孝：活性汚泥の生物学(1), 水処理技術, Vol.10, No.1, p.5-12(1969)
- 4) 高橋哲也, 西暢人：生物膜処理と活性汚泥法のハイブリッドシステムにおける余剰汚泥の減量化, 日本水環境学会年会講演集, 452(1996)
- 5) 富田実, 高橋哲也, 川端雅博：高度効率型接触材充填浸清ろ床生物膜法による処理性能向上と汚泥減量化, 日本水環境学会年会講演集, 501(1997)
- 6) 楊瑜芳, 山口恭右, 内藤正明：高温好気処理法の熱収支解析による下水汚泥の分解性評価, 日本水環境学会年会講演集, 272(1999)
- 7) 赤司昭, 三浦雅彦, 桂健治, 福井孝博, 長谷川進：好熱性細菌を利用した余剰汚泥減容化法, 日本水環境学会年会講演集, 145(1998)
- 8) 三浦雅彦, 北岡義久, 芳賀潤二, 足立成人, 浅原一彦, アント トリ スギアルト, 佐藤正之：余剰汚泥の発生しない水処理プロセスのための効率的汚泥可溶化方法の検討, 日本水環境学会年会講演集, 359(1999)
- 9) 桂健治, 三浦雅彦, 長谷川進：好熱性微生物による前処理を組み込んだ嫌気性汚泥消化の検討, 日本水環境学会年会講演集, 488(1997)
- 10) 長谷川進, 三浦雅彦, 桂健治：好熱性微生物による有機性汚泥の可溶化, 下水道協会誌 vol.34 No.408, 77-82(1997)
- 11) 桂健治, 三浦雅彦, 長谷川進：好熱性微生物を利用した余剰汚泥が発生しない活性汚泥プロセス, 水環境学会誌 第21巻 第6号, 360-366(1997)

- 12) 今岡務,井上雄三,岡田光正,波多野啓史：オゾン酸化処理による浄化槽汚泥の可溶化, 日本水環境学会年会講演集,430(1997)
- 13) 荒川清美,佐久間博司：オゾンを用いた汚泥減容化の検討, 日本水環境学会年会講演集,344(1999)
- 14) 青柳重夫,清水公一,吉野徳正,佐藤茂雄：オゾンによる濃縮性改善技術の開発, 日本水環境学会年会講演集,415(1998)

## 第2章 汚泥処理過程及び再生物の 衛生的安全性の評価に関する検討

### 2.1 研究目的

浄化槽汚泥等の各種汚泥を再生し利用する際には、し尿に由来する微生物やウイルスに対して再生作業従事者ならびに再生物利用者の安全を図る必要がある。特にポリオウイルス等、糞便中に多量に排出される腸管ウイルスは、浄化槽汚泥を汚染し、汚泥を再生利用する際に大きな障害となる。これまでに、分担者は極めて大量のウイルスが汚泥に吸着可能であること、吸着によりウイルスの感染力が安定化することを報告した。しかし、この現象の物理化学的側面は未だ検討されていない。そこで、今年度はウイルスの吸着モデルを作製し、塩濃度及び pH 変動によるウイルスの遊離性について検討した。さらに実際の野外浄化施設採取汚泥を用いて吸着モデルとの相関性を検討した。

### 2.2 研究材料

#### 2.2.1 ウイルスと細胞

指標ウイルスとして、ポリオウイルス Sabin 1 型株（弱毒株）を Vero 細胞（アフリカミドリザル腎由来）で増殖させたものを用い、ウイルス定量には Vero 細胞によるプラーク形成法を用いた。

### 2.3 研究方法及び研究結果と考察

#### 2.3.1 ウイルス吸着モデル

##### (1) イオン交換樹脂へのウイルス吸着率測定

ウイルスが汚泥に吸着する機序は不明であるが、溶出可能であることから静電的な結合と考えられる。そこで陽イオン交換樹脂（DOWEX 50W-X8, 100-200mesh）または陰イオン交換樹脂（DOWEX 1-8, 100-200mesh）（ともに Dow Chemical）を吸着素材に選択し、そのウイルス吸着率を測定した。各樹脂を PBS（pH7.2, 塩濃度 0.8%）に添加し高圧蒸気滅菌した。これをベッドボリューム 1.5ml 相当量とりガラスウール付き 5ml シリンジに充填した（以下陽イオンカラム、陰イオンカラム）。PBS で洗浄後ウイルス  $10^5$ PFU/0.1ml を添加し pH7.2, 塩濃度 0.8%の条件下で 5 分静置した。カラムを PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルス量を測定した。樹脂吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定しウイルス吸着率を求めた。この結果、陽イオンカラムは添加ウイルス量のほとんど（98.9%）を吸着したが、これに対し、陰イオンカラムは 19.4%と低い値であった（表 2-1）。従って、ウイルスの吸着モデルとして陽イオンカラムが有用と判断されたので、以下は陽イオンカラムについて検討した。

表 2 - 1 イオン交換樹脂への吸着率

ウイルス吸着率	(吸着量/添加量)
陽イオン交換樹脂	98.9 %
陰イオン交換樹脂	19.4 %

イオン交換樹脂 1.5ml をカラムに充填し PBS(pH7.2、塩濃度 0.8%)で洗浄後、ウイルス  $10^6$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。樹脂吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。

### 2. 3. 2 吸着モデルでの塩濃度上昇によるウイルスの遊離

通常、陽イオンカラムに結合した物質の溶出には高塩濃度溶液を用いるが、ウイルスを吸着させた陽イオンカラムも高塩濃度溶液による溶出現象が考えられる。そこで吸着モデルからウイルスが塩濃度上昇によりどのように放出されるかを塩濃度及び溶出液温度を変えて検討した。

陽イオンカラムにウイルス  $10^6$ PFU を添加 5 分静置して吸着させ、塩濃度の異なる溶出液 (1.7%、3.1%、6.2%、12.5%) 5ml を段階的に添加し、その各溶出液中のウイルス量を測定した。この結果溶出液の塩濃度上昇にともない 1.7%から 3.1%まで急激にウイルスが遊離した。さらにこの溶出現象は溶出液の温度を 28.5°Cから 37.3°Cに上昇させると溶出量が明らかに増加し最大 72%のウイルスが遊離した (図 2 - 1)。したがって陽イオンカラムの吸着モデルではわずかな塩濃度上昇 (0.8%→1.7%→3.1%) によりウイルスが遊離すること、温度に依存してその遊離の量が増加することが明らかになった。

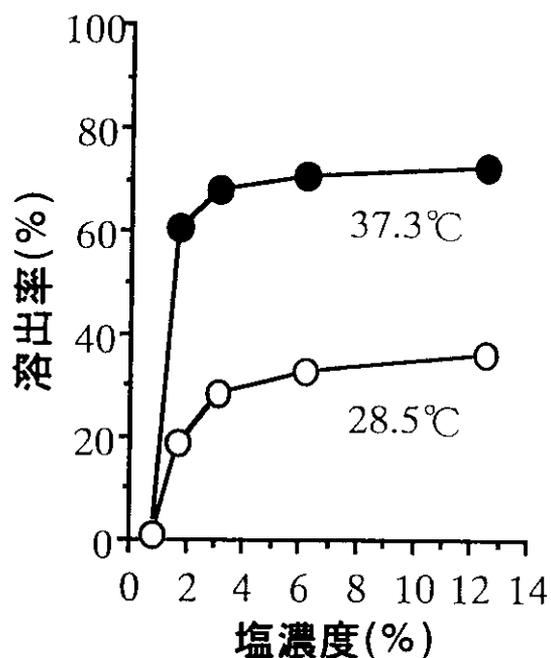


図 2 - 1 陽イオン交換樹脂からの塩濃度上昇によるウイルス溶出率 (積算)

イオン交換樹脂 1.5ml をカラムに充填し PBS(pH7.2、塩濃度 0.8%)で洗浄後  $10^5$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。樹脂吸着ウイルス量は、未吸着ウイルス量から算定した。このカラムに各塩濃度 (0.8, 1.7, 3.1, 6.2 及び 12.5%、pH7.2) の PBS 5ml を加え溶出ウイルスを回収測定した。

### 2. 3. 3 吸着モデルへの pH の影響

通常、陽イオンカラムへの物質結合には pH の影響を受けるが、ウイルス吸着モデルでの pH の影響について検討した。

各 pH (pH4.3, 7.2, 7.5, 8.0, 8.5, 8.9) で平衡化した陽イオンカラムにウイルス  $10^5$ PFU を添加 5 分静置して吸着させ、未吸着ウイルス量を測定した。この結果、吸着液の pH 上昇にともない pH7.5 から pH8.0 まで急激にウイルス吸着が抑制された (図 2 - 2)。pH7.2 で吸着させたウイルスを pH 上昇により遊離させる実験は行っていないが、陽イオンカラムの吸着モデルではわずかな pH 上昇 (pH7.2 から pH7.5) によりウイルスが遊離することが示唆された。

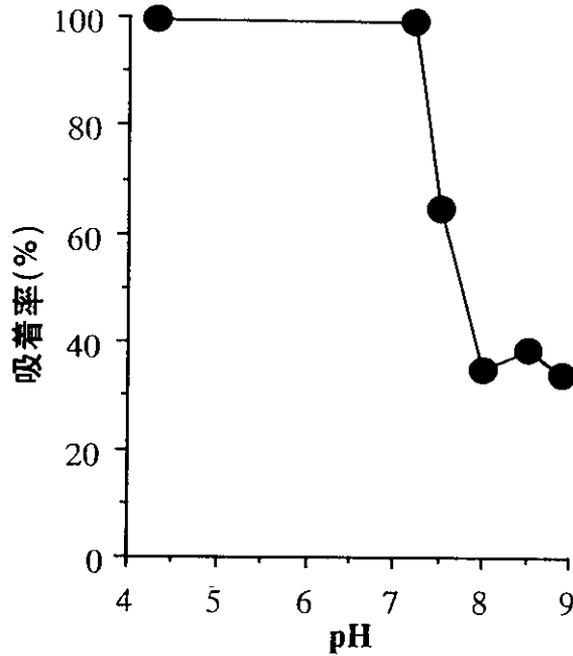


図 2-2 陽イオン交換カラム吸着率への pH の影響

イオン交換樹脂 1.5ml をカラムに充填し各 pH(4.3, 7.2, 7.5, 8.0, 8.5 及び 8.9、塩濃度 0.8%) の PBS で洗浄後、ウイルス  $10^6$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。各 pH の PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。樹脂吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。

#### 2. 3. 4 汚泥での塩濃度上昇によるウイルスの遊離

前々項の陽イオンカラムの吸着モデルではわずかな塩濃度上昇によりウイルスが遊離することを明らかにした。しかし、塩濃度上昇によるウイルスの遊離はあくまで均質なモデル系での結果であり、複雑な構成成分からなる汚泥にこのような現象が存在するかは不明である。また、pH 上昇によるウイルスの遊離現象も示唆されたので、実際の浄化施設汚泥 5 検体 (A~E) について塩濃度上昇と pH 上昇によるウイルスの遊離性を検討した。

##### (1) 浄化施設採取汚泥

採取汚泥には以下施設からの採取汚泥を検体とした。

- A : 大岩藤浄化センター
- B : 鬼怒川上流浄化センター
- C : 県央浄化センター
- D : 北羽須浄化センター
- E : 巴波川浄化センター

## (2) ウイルスの吸着と放出量の測定

汚泥検体を遠心分離して得た分離汚泥に、ウイルス  $10^5$ PFU を含む PBS(塩濃度 0.8%, pH 7.2) を添加 5 分吸着後、汚泥を遠心分離 (1500 rpm, 5 分) した。遠心上清中の未吸着ウイルス量を測定し吸着ウイルス量を算定した。遠心後の汚泥に溶出液 (塩濃度 1.7%, 3.1%, 6.2%, 12.5% または pH4.3, 7.2, 7.5, 8.0, 8.5, 8.9) 5ml を添加 5 分振とうし、遠心 (1500rpm, 5 分) し溶出液を回収した。用いた汚泥 A から E は添加ウイルス量の 38-75% (図 2-3 の■) を吸着し、1.7%塩濃度溶出液により添加ウイルス量の 36.8-74.2% (吸着ウイルス量の 10-36.3%; 図 2-3 の□) が溶出された (図 2-3)。

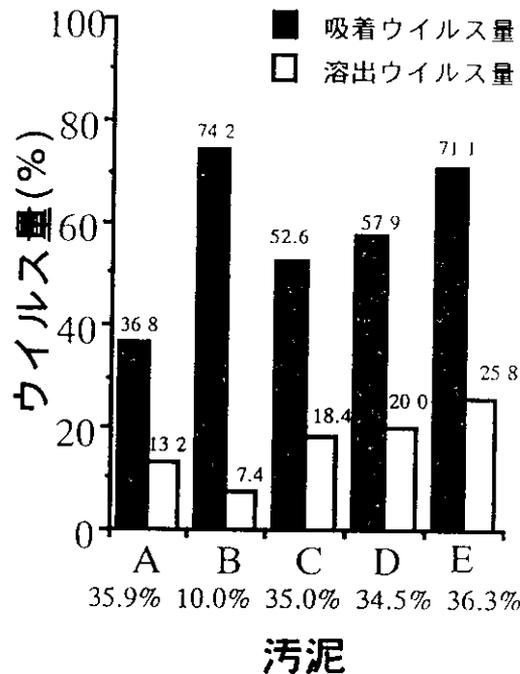


図 2-3 浄化施設汚泥からの塩濃度上昇 (0.8%から 1.7%) によるウイルス溶出率

汚泥 1.5ml をカラムに充填し PBS(pH7.2、塩濃度 0.8%) で洗浄後、 $10^5$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。また汚泥に塩濃度 (1.7%、pH7.2) の PBS 5ml を添加し塩濃度上昇 (0.8→1.7%) による溶出ウイルス量を測定した。

これら汚泥のうち比較的吸着量の多い汚泥 B、D 及び E について塩濃度上昇 (塩濃度 1.7%, 3.1%, 6.2%, 12.5%)、pH 上昇 (pH4.3, 7.2, 7.5, 8.0, 8.5, 8.9) による積算遊離ウイルス量を測定した。塩濃度上昇実験では 1.7% で溶出させた汚泥を 3.1%、6.2% 及び 12.5% で溶出し各濃度間で放出されたウイルス量を測定し積算表示した。pH 上昇実験では pH4.2 で溶出させた汚泥を pH7.2、pH7.5、pH8.0、pH8.5 及び pH8.9 で溶出し各 pH 間で遊離したウイルス量を測定し積算表示した。汚泥 B は△、D は□、E は○で表示した。この結果、塩濃度上昇及び pH 上昇に伴いウイルスの遊離量が増加する傾向が認められた (図 2-4、

2-5)。また、塩濃度上昇、pH 上昇によるウイルスの遊離現象は比較的相関性が認められウイルスと汚泥の静電的結合が示唆された(図2-6)。実際の汚泥で観察された塩濃度上昇によるウイルスの遊離(図2-4)は陽イオンカラムの放出傾向(図2-1、28.5°Cの積算値)と近似し陽イオンカラムが汚泥のウイルス吸着モデルになりうると考えられる。

以上より、実際の汚泥にも塩濃度上昇、pH 上昇によるウイルス遊離現象が確認され、且つ、陽イオンカラムが汚泥のウイルス吸着モデルとして極めて有効であることが明らかになった。

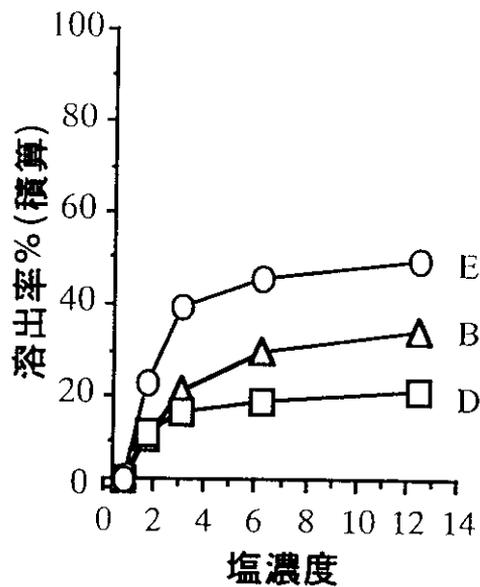


図2-4 浄化施設汚泥からの塩濃度上昇(0.8%から12.5%)によるウイルス溶出率(積算)

汚泥1.5mlをカラムに充填しPBS(pH7.2、塩濃度0.8%)で洗浄後、 $10^5$ PFU/0.1mlを添加、5分間静置してウイルスを吸着させた。PBS5mlで洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。また汚泥に各塩濃度(0.8、1.7、3.1、6.2及び12.5%、pH7.2)のPBS5mlを添加し塩濃度上昇(0.8→12.5%)による溶出ウイルス量を測定した。

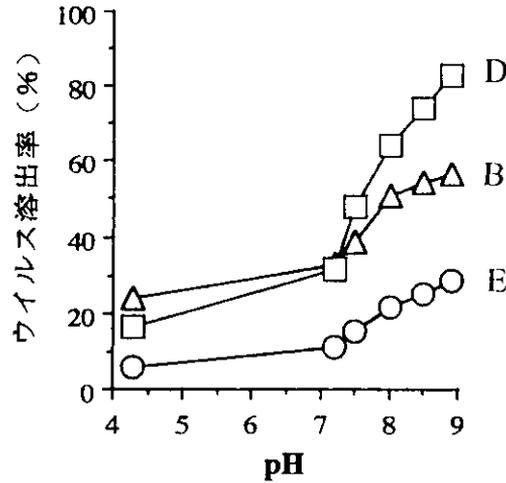


図 2-5 浄化施設汚泥からの pH 上昇 (pH4.3 から pH8.9) によるウイルス溶出率 (積算)

汚泥 1.5ml をカラムに充填し PBS(pH7.2、塩濃度 0.8%)で洗浄後、 $10^5$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。また汚泥に各 pH(4.3, 7.2, 7.5, 8.0, 8.5 及び 8.9、塩濃度 0.8%)の PBS 5ml を添加し pH 上昇(4.3→8.9%)による溶出ウイルス量を測定した。

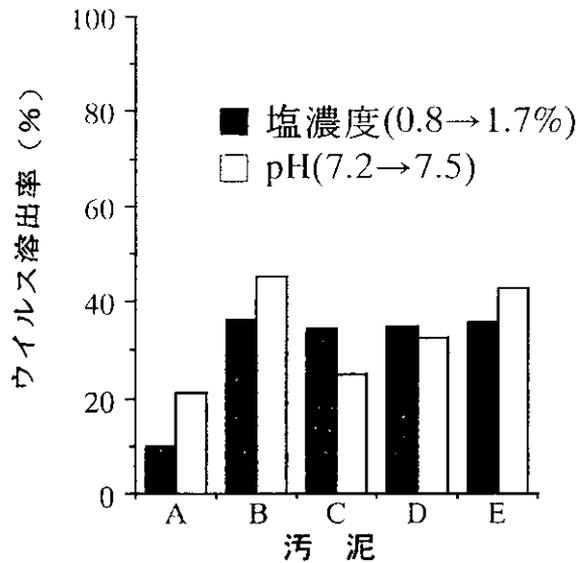


図 2-6 塩濃度上昇と pH 上昇の相関性

汚泥 1.5ml をカラムに充填し PBS(pH7.2、塩濃度 0.8%)で洗浄後、 $10^5$ PFU/0.1ml を添加、5 分間静置してウイルスを吸着させた。PBS 5ml で洗浄し、洗浄液中の未吸着ウイルスを測定した。吸着ウイルス量を未吸着ウイルス量から算定した。また汚泥に塩濃度 1.7%または、pH7.5 の PBS 5ml を添加し塩濃度上昇(0.8→1.7%、図の■)及び pH 上昇(7.2→7.5、図の□)による溶出ウイルス量を測定した。

## 2. 4 結論

ウイルスの汚泥吸着モデルとしてイオン交換樹脂について検討し、ポリオウイルスを指標ウイルスとしてウイルス吸着性を測定した。陽イオンカラムは添加ウイルスの 98.9%を吸着し、汚泥のモデルとして有用と考えられた。陽イオンカラムに塩濃度 0.8%で吸着したウイルスは、塩濃度 1.7%で急激に遊離し、この傾向は塩濃度 10.5%まで認められ、この溶出率は溶出液の温度に依存していた。また、モデルでのウイルスの吸着は pH7.5 以上で阻害され、汚泥での pH 上昇によるウイルスの遊離が示唆された。

吸着モデルでの実験から、汚泥でも塩濃度上昇によるウイルスの遊離が予想されたので、実際の浄化施設汚泥 5 検体について溶出塩濃度上昇と溶出 pH 上昇の影響を検討した。

その結果、実際の汚泥にも塩濃度上昇、pH 上昇によるウイルス放出現象が存在し、塩濃度上昇の傾向は陽イオンカラムに近似し陽イオンカラムが汚泥のウイルス吸着モデルとして極めて有効であることが明らかになった。

ウイルスは、100 粒子でヒトへの感染が成立するとされる。流入してくるウイルスが希薄な量であっても、それが処理槽等の汚泥に吸着し、高濃度に濃縮されそれが容易に遊離する可能性が示されたことから、その取り扱いには十分な対応が必要であると考えられる。

## 2. 5 今後の計画

上下水は先進的設備や技術により処理されるようになってきたが、一方において、大腸菌 0-157、*Helicobacter pylori*、*Cryptosporidium*、及び腸内ウイルスや A 型肝炎ウイルス等病原微生物やウイルスによる汚染が報告され、上下水の安全性確保のための方策の確立が急がれている。従来、微生物汚染に関する水質の評価は、大腸菌をマーカーとして行われており、上記のような病原微生物に対する評価のための手法は確立されていない。

病原微生物、特に腸内ウイルスはヒトへの二次感染源となることから、環境中での動態を把握することは公衆衛生上極めて重要である。また、腸内ウイルスは汚泥に吸着・濃縮され安定化する現象があり汚泥はウイルスの汚染源となりうる。今回分担者が作製した陽イオンカラムによる吸着モデルは実際の汚泥と相関性があり汚泥へのウイルス吸着現象を解明する上で有用と考えられる。

また、このモデルでみられた塩濃度上昇によるウイルスの遊離は実際の浄化槽汚泥でも認められたことから、浄化施設流入水の塩濃度上昇あるいは温度上昇等の影響により、ウイルスの遊離が起きることが考えられ、実際に野外での調査を行う必要がある。

野外でのウイルス分離のための溶出液には、今回用いた PBS ではなく 1% NaCl 添加 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 10) が経験的に用いられているが、今後は pH、特にアルカリ側でのウイルスの遊離に着目し、ウイルス粒子の荷電測定またはウイルス粒子の荷電が中和される等電点前後でのウイルス吸着・遊離の物理化学的解明を目指したい。またウイルスは汚泥

は汚泥に吸着することにより安定性が増加するが、この生物学的現象と今回行った物理化学的現象の関連を明らかにしていきたい。

これらの知見が得られれば、ウイルスを初めとする病原微生物の浄化槽汚泥への吸着・安定化現象が解明され、浄化槽汚泥の評価基準ひいては生活環境における上下水の汚染防止に役立つことが考えられる。

#### 参考文献

中嶋睦安, 上床和弘, 小林謙介, 砂入道夫: 汚泥吸着によるウイルス安定性の増加, 土木学会第53回年次学術講演会講演概要集 第7部, 130-131, (1998)

### 第3章 汚水処理及びコンポスト化過程における 微生物叢検索及び分離菌の性状解析に関する研究

#### 3.1 はじめに

汚水の処理及び汚泥などのコンポスト化は微生物学的処理として扱われているが、微生物の動態及び微生物の機能に関しては不明な点も多い。本研究では、汚泥の性状を知る意味も含めて、汚水処理過程における微生物叢の変化、とくに汚水中の窒素循環に関わる微生物群の消長を解析した。また、汚泥などのコンポスト化では悪臭の発生が問題となるため、コンポスト化過程での悪臭物質の消長及び悪臭物質分解微生物の検索を行った。

#### 3.2 沈殿池（ラグーン）における微生物動態

畜産農家の汚水処理を目的としたラグーンを対象に水質と微生物の検索を6月(Sp)、8月(Su)、10月(Au)、12月(Wi)に行った。図3-1に示す処理池から採水し、定法により菌数及び成分分析を行った。

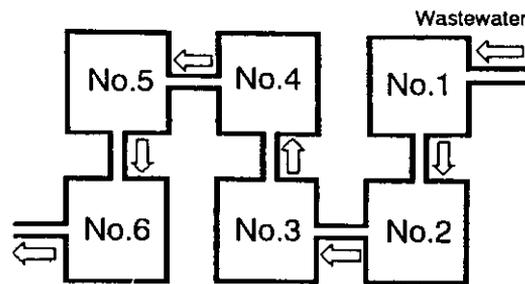


図3-1 ラグーンシステム概略図

##### (1) ラグーン処理水の化学成分

ラグーン処理によってBOD、SS及び全窒素は減少し、処理水の水質はほぼ水質汚濁防止法の許容限度（BOD 160, COD 160, SS 200, T-N 120, P 16 mg/l, 大腸菌群 3,000 個/ml）以下であった（表3-1～3-4）。アンモニア態窒素に減少が認められたが、ラグーン内の亜硝酸及び硝酸濃度はすべて低値であった（表3-3）。

表3-1 ラグーンの温度（℃）及びpH

Basin	Water temperature				pH			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	17.9	22.6	15.5	5.9	7.0	7.1	7.2	7.0
No. 2	18.6	22.2	14.7	6.3	7.2	7.1	7.4	6.9
No. 6	17.0	20.7	11.8	3.0	7.6	7.3	7.6	7.0

表 3-2 ラグーンの水質 BOD、COD 及び SS (mg/l)

Basin	BOD				COD				SS			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	576	110	42	388	850	230	143	402	36	80	66	405
No. 2	70	110	29	302	388	280	113	376	8	113	43	204
No. 6	58	120	7	93	288	210	60	169	33	72	20	53

表 3-3 ラグーンの水質 全窒素、アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素及び硝酸態窒素 (mg/l)

Basin	T-N				NH <sub>4</sub> -N				NO <sub>2</sub> -N				NO <sub>3</sub> -N			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	100.0	56.3	76.7	113.0	10.7	52.5	60.8	68.7	0.03	0.03	0.03	0.21	0.11	0.38	0.00	0.32
No. 2	76.8	70.1	74.4	86.0	14.1	67.0	63.2	49.7	0.02	0.03	0.02	0.21	0.02	0.15	0.01	0.55
No. 6	38.8	19.9	20.2	47.9	10.4	13.5	14.7	29.2	0.05	0.04	0.04	0.17	0.03	0.10	0.03	0.45

表 3-4 ラグーンの水質 全リン及びリン酸 (mg/l)

Basin	T-P				PO <sub>4</sub> -P			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	20.1	29.2	13.5	19.4	2.7	9.5	10.1	14.2
No. 2	15.1	31.2	13.4	16.8	2.5	9.0	9.8	13.3
No. 6	11.6	19.8	8.1	12.4	2.1	7.7	5.9	10.4

(2) ラグーン処理水の菌数(表 3-5 ~ 3-8)

好気及び嫌気条件での総菌数は処理によって減少する傾向があったが、各処理池の菌数は年間を通じて安定していた。*bacilli* 及び *clostridia* などの芽胞菌が比較的多数検出された。*enterobacteriaceae* 及び *streptococci* に減少が認められ、糞便由来菌がラグーン処理で排除されることが示唆された。真菌及び放線菌は少数であった。アンモニア酸化細菌及び亜硝酸酸化細菌は検出限界値付近またはそれ以下であった。

処理過程の汚水に亜硝酸及び硝酸がほとんど検出されなかったことを考え合わせると、本ラグーン中の硝化はわずかで、汚水中のアンモニアの多くは硝化ではなく微生物の同化によって除去されていることが示唆された。

アンモニアを同化した微生物の一部は沈殿するものと思われ、このような微生物が汚泥の重要な構成要素となると考えられた。

表 3-5 ラグーンの好気性菌、嫌気性菌及び真菌 (log CFU/ml)

Basin	Aerobes				Anaerobes				Fungi			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	6.7	5.7	5.9	6.3	6.7	5.8	5.8	5.4	2.5	2.0	2.2	3.0
No. 2	6.4	5.6	5.8	5.9	6.4	5.8	5.3	4.7	1.3	2.7	1.9	3.0
No. 6	5.9	4.9	4.5	5.1	5.9	4.6	4.7	5.3	1.3	2.3	1.8	2.7

表 3-6 ラグーンの放線菌、bacilli 及び pseudomonads (log CFU/ml)

Basin	Actinomycetes				Bacilli				Pseudomonads			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	3.6	4.2	<3.3	4.1	4.2	3.4	3.8	4.7	3.9	2.8	2.5	2.3
No. 2	<3.3	4.1	<3.3	4.3	4.1	4.3	3.9	4.2	3.1	3.0	2.6	3.0
No. 6	<3.3	4.0	3.7	3.8	4.0	3.8	4.5	4.2	2.0	2.3	1.9	2.6

表 3-7 ラグーンの enterobacteriaceae, streptococci 及び clostridia (log CFU/ml)

Basin	Enterobacteriaceae				Streptococci				Clostridia			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	4.8	3.9	4.2	4.5	5.3	4.6	3.7	4.8	2.0	4.0	5.3	4.5
No. 2	5.2	4.2	4.7	3.4	4.5	4.1	3.1	4.1	1.6	4.1	4.4	4.5
No. 6	4.6	1.6	3.0	3.7	4.1	3.4	1.3	3.4	1.8	3.6	4.4	3.8

表 3-8 ラグーンの硝化細菌 (log MPN/ml)

Basin	Ammonium oxidizing microbes				Nitrite oxidizing microbes			
	Sp	Su	Au	Wi	Sp	Su	Au	Wi
No. 1	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	2.2	<0.4	<0.4	<0.4
No. 2	0.5	<0.4	0.4	<0.4	1.5	<0.4	<0.4	<0.4
No. 6	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	0.7

### 3.3 コンポスト化過程における悪臭物質分解微生物の検索

われわれは悪臭物質の中でもとくにスカトール及びインドールに注目して研究を進めている。これまでにこれらの物質を嫌氣的に分解する微生物を分離し、分離微生物はスカトール及びインドールをイサチンにまで分解して無臭化すること、イサチンを分解する微生物もコンポスト化過程には多数存在することを観察し、嫌氣的条件化で複数の微生物が関与してこれらの悪臭物質を分解することを明らかにした。コンポスト化は好気条件下で行われると一般的に考えられているため、好氣的にこれらの物質を分解する微生物の検索を行った。

#### (1) コンポスト化過程におけるスカトール及びインドールの消長 (図3-2)

鶏糞及び豚糞のコンポスト化過程を対象に検索を行った。スカトールはコンポスト化によって減少が認められた。インドールは豚糞コンポストでは大きく減少したが、鶏糞コンポストではほとんど変化がなかった。

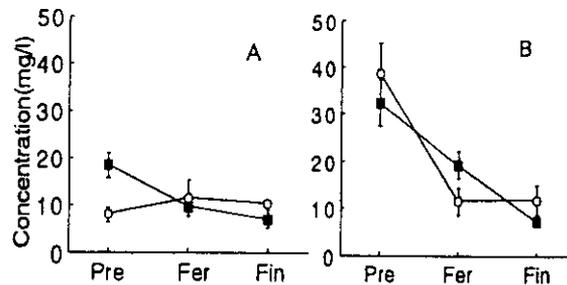


図3-2 鶏糞(A)及び豚糞(B)のコンポスト化過程におけるスカトール及びインドール濃度

サンプルは発酵前 (Pre)、発酵時 (Fer) 及び製品 (Fin) から採取した。

#### (2) スカトール及びインドール好気性分解細菌の消長

図3-3, 3-4に各菌型の生菌数として試料1gあたりの logCFU の平均値を示した。スカトール及びインドール好気分解菌数は総好気性細菌数と同様にコンポスト化過程の発酵期に減少し、発酵終了後に再び増加した。

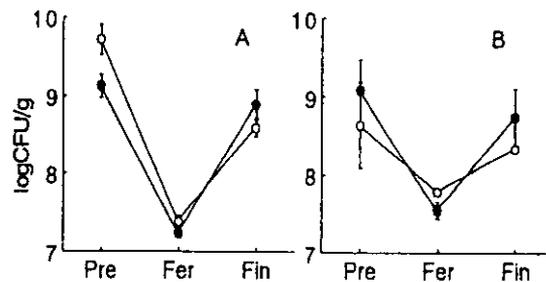


図3-3 鶏糞(A)及び豚糞(B)のコンポスト化過程における好気性菌数

培養は室温 (25-30°C : ●) 及び 37°C (○) で行った。

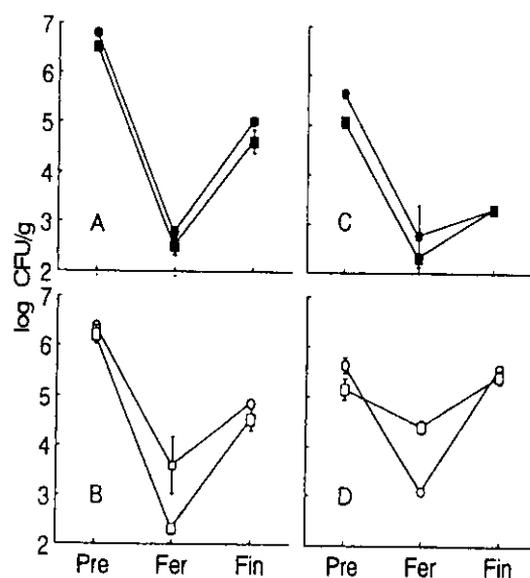


図 3-4 鶏糞(A、B)及び豚糞(C、D)のコンポスト化過程における好氣的スカトール分解菌(■、□)及び好氣的インドール分解菌(●、○)  
 培養は室温(25-30°C: ■、●)及び37°C(□、○)で行った。

(3) スカトール及びインドール好気性分解細菌の構成(表3-9, 3-10)

鶏糞コンポスト処理の発酵前及び発酵期では、通性嫌気性グラム陽性球菌が多く、発酵終了後では好気性グラム陽性球菌が多かった。豚糞コンポスト処理では、全ステージを通じて通性嫌気性グラム陽性球菌が優勢であった。

表 3-9 鶏糞のコンポスト化過程における好氣的スカトール及びインドール分解菌の分布

Types of microbes	Pretreatment stage		Fermentation stage		Finishing stage	
	Number	%	Number	%	Number	%
<b>Skatole-degrading microbes</b>						
FPC	5.90	48.3	2.10	62.5	4.05	32.8
APC	5.50	19.0	1.40	12.5	4.35	67.2
FPER	5.74	32.8	1.70	25.0	3.23	5.0
<b>Indole-degrading microbes</b>						
FPC	6.25	74.1	3.56	95.0	4.25	25.0
APER	5.86	28.6	2.28	5.0	4.73	75.0

表 3 - 1 0 豚糞のコンポスト化過程における好气的スカトール及び  
インドール分解菌の分布

Types of microbes	Pretreatment stage		Fermentation stage		Finishing stage	
	Number	%	Number	%	Number	%
<b>Skatole-degrading microbes</b>						
FPC	4.78	42.4	4.34	88.1	5.34	88.0
APC	4.49	21.8	2.94	3.5	4.40	10.0
FPER	4.70	35.4	3.32	8.4	3.70	2.0
<b>Indole-degrading microbes</b>						
FPC	5.30	46.3	3.01	84.7	5.31	54.5
APC	4.81	14.9	0	0	0	0
APER	5.22	38.8	2.26	15.3	5.23	45.5

(4) 分離細菌の酵素活性 (表 3 - 1 1)

スカトール分解細菌及びインドール分解細菌の培養液から調製した粗酵素液をスカトール及びインドールに作用させたところ、明らかな分解活性を示した。

以上の結果、コンポスト化過程の悪臭物質であるスカトール及びインドールの分解には微生物が関与すること、とくに通性嫌気性細菌が重要な役割を果たすことが明らかとなった。以前の研究において、コンポスト中の偏性嫌気性細菌がスカトール及びインドール分解能を有することが観察されており、これらの偏性嫌気性細菌及び今回の研究で明らかにされた通性嫌気性細菌がコンポストの団粒構造の粒子内微小環境の嫌気条件下においてスカトールやインドールの分解を行っているものと考えられた。

表 3 - 1 1 分離菌の培養液粗抽出物中の酵素活性

Isolate	Substrate	Substrate degradation rate (%)
SC-54	Skatole	11.7
SP-06	Skatole	20.4
SC-53	Skatole	9.0
IC-55	Indole	34.1
IP-03	Indole	19.6
IC-53	Indole	20.7

### 3.4 まとめ

汚水中の窒素循環に関わる微生物群を解析するため、ラグーン内における水質及び微生物の分析を試みた結果、以下に示すことが明らかとなった。

- ・ラグーン処理により、BOD、SS、T-Nが水質汚濁防止法の許容限度以下まで低下する。
- ・アンモニア性窒素が減少する一方で、亜硝酸性窒素、及び硝酸性窒素は上昇しない。
- ・ラグーン内総菌数は各処理池ごとに年間を通じて安定しており、処理の進行と共に、特に糞便由来菌が減少する。
- ・ラグーン内にはほとんど硝化細菌が存在しない。

以上のことから、ラグーン内のアンモニアは硝化を経ずに、硝化細菌とは異なる微生物によって同化されている可能性が強く示唆された。

次に、コンポスト化の過程において問題となる悪臭物質、スカトール、インドールの消長の追跡、及びスカトール、インドール分解微生物の検索を試みた結果、以下に示すことが明らかとなった。

- ・コンポスト化処理により、スカトールは豚糞、鶏糞において減少し、インドールは豚糞では減少するが、鶏糞では特に変化しない。
- ・豚糞における優占種はコンポスト処理前、処理中、処理後を通して通性嫌気性グラム陽性球菌である。
- ・鶏糞における優占種はコンポスト処理前、処理中では通性嫌気性グラム陽性球菌、処理後では好気性グラム陽性球菌である。
- ・過去に単離された悪臭物質分解菌の培養液から調製された粗酵素液により、スカトール、インドールが分解される。

以上のことから、コンポスト化過程の悪臭物質であるスカトール及びインドールの分解には微生物、特に通性嫌気性細菌が深く関与している可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1)Y.Nakai,T.Nino,T.Ando,C.Kohda:Microorganisms aerobically degrading skatole or indole in composting processes.;Animal Science Journal 70(1),32-37,1999
- 2)Y.Nakai,T.Abe,C.Kohda,T.Ando:Water characteristics and microbial flora in a lagoon system for wastewater from a paddock of dairy cattle.; Animal Science Journal 70(1),38-42,1999

## 第4章 汚泥と化学肥料による栽培比較及び

### 栽培に用いるための形態に関する研究

#### 4.1 研究目的

浄化槽汚泥を用いた有機栽培を効率的に行うため、浄化槽汚泥から作成した苗ポットに化学肥料や堆肥を混合することにより、作物の要求及び農業従事者の要求に応えられる新しい肥料の形態を模索することを目的とした。

#### 4.2 浄化槽汚泥を肥料として用いるための条件

汚水処理に伴い発生する汚泥は、肥料としてカリウムの欠乏、及び脱水ケーキや濃縮汚泥ではC/N比が高いことによる窒素飢餓が生じる等の性質を持つため、コンポスト化処理やバイオリクターの適用が必要となる場合が多い。また、即効性の化学肥料と同等の肥効を発現させるためには、脱水ケーキや濃縮汚泥の形態を、微生物が利用しやすい微粉状に調節する必要がある。

##### 4.2.1 現在の環境汚染型農業に対する提言

現在の畑地での農業は、肥料を畑の全体にまき散らす全層施肥が基本である。この施肥法は苗や種を植えた初期の段階でも、苗の根圏域で肥料がとぎれないよう、多めに施さねばならない。つまり、作物が必要としている量の数倍から数十倍の施肥が必要であり、さらに追肥という形態で生育途上にも施肥を行っているのが現状である。

この施肥の形態は、土壌が畑作に必要とする硝酸性の窒素を吸着保持する能力を欠いているためであり、肥料効果、作業性等から化学肥料の多投が行われてきた。一方、有機物が土壌の保水性や物理性、保肥性を高めていることは周知の事実であるが、有機物資源の可搬性や臭気の問題から使用が敬遠されてきたのが現状である。

これまで、化学肥料が多く用いられたため、畑地の劣化や表土の流出をまねいている。特に、保水性や保肥力の悪い地域や、沖縄のように地温が高く有機物の分解が早く進行する地域では、全層施肥は未利用の肥料成分、とりわけ硝酸性窒素による環境汚染を進行させる。このことは、今や水道水源の硝酸性窒素の増加に伴う取水制限、プランクトンの異常増殖、珊瑚礁の死滅などに到っているとして、周知の事実であるが、農業形態の改善までは到達しておらず、自然環境保全を踏まえた農業形態が望まれる。

##### 4.2.2 有機物資源の偏在

環境保全型農業の開発には、根圏域局所施肥法の実現が重要な課題である。しかしながら、根圏域に施肥を直接行う場合における施肥の手間は、全層施肥に比べて多大な時間がかかるだけでなく、肥料の撒きムラにより作物生育の差を生じ、収穫時の手間を更に増大