

し尿処理に関する研究 (第7報)¹⁾無希釈し尿の好気性処理施設からの浄化細菌の分離とそのアミノ酸分解能²⁾

石川哲也, 福山丈二*, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦

(岐阜薬科大学環境衛生学教室)

Studies on the Treatment of Night Soil. VII.¹⁾Identification of Bacteria isolated from Aerobic Treatment Plant of Undiluted Night Soil and Amino Acids Utilization by these Bacteria²⁾

TETSUYA ISHIKAWA, JOJI FUKUYAMA, YOUKI OSE and TAKAHIKO SATO.

Department of Environmental Hygien, Gifu College of Pharmacy

(Received September. 5, 1977)

1. Some bacteria were isolated from aerobic treatment plant of undiluted night soil. *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* var. *communior* and *Staphylococcus epidermidis* were identified.
2. The utilization of amino acids by these bacteria were studied. L-alanine was well utilized by *B. megaterium*, *E. coli* var. *communior* but L-methionine and L-cystine, sulfur-containing amino acid, were not utilized by any isolated bacteria.

緒 言

し尿処理法は嫌気性処理法と好気性処理法に大別される。さきに著者らは無希釈し尿の好気性処理施設を設置し、その浄化メカニズムにつき報告した。^{1) 3)}

現在このような型式の処理施設が増加し、岐阜県下では、し尿処理場の約3分の1をしめ、またこれと原理的に類似した型式を含めれば約半分にも達する。

これに関する研究としては、児玉らがし尿に嫌気性消化汚泥を添加し、曝気処理を行ったもの、および橋本がし尿をフラスコ中で振盪曝気したものがあるが、いずれも実験室的な規模でのものである。著者らは実際プラントでの研究を行い、本施設では第1消化槽のBOD除去率は83%と高い値を示し、消化槽内温度は冬期においても30°付近で悪臭もなく、浄化効果も良いことを報告した。しかし、本施設の第1消化槽では完全なフロックを形成せず、浄化にあずかる微生物はバクテリアのみで、処理水を静置しても上澄液には10⁸個/ml程度の細菌が浮遊し、その細菌がかなりの浄化作用をもっていることを示した。⁶⁾

本報ではこの第1消化槽より浄化作用の本体となるべき細菌の分離を試み数種の菌株につき同定した。またし尿分解への寄与を明らかにするためし尿中に含有することが知られるアミノ酸につきワールブルグ検圧計による酸素吸収量を測定し、分解能に関する研究を行った。⁷⁾

* : 現大阪市環境科学研究所

実験材料および方法

1. 処理施設の概要

フローシートを Fig. 1 に示す。

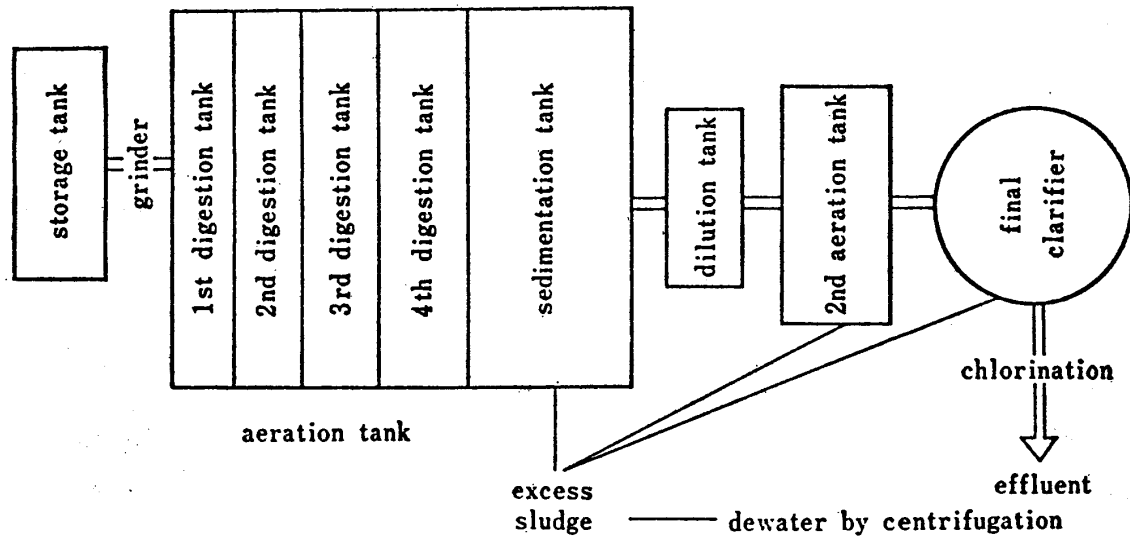


Fig. 1. Process of Aerobic Treatment Plant for Undiluted Night Soil

くみ取りし尿は貯留槽をへて4槽からなる好気性消化槽で15日間曝気処理したのち，沈殿処理し，谷水で20倍希釈後，活性汚泥法により二次処理し，さらに最終沈殿槽をへて塩素滅菌，放流される。

くみ取りし尿の投入量は 20kl/日で第1消化槽の BOD 負荷は 2.5kg-BOD/日/m³ である。

2. 試料

試料は第1消化槽の汚泥混液を採取し，氷で冷却し，研究室へ持ち帰った。

3. 細菌分離

第1消化槽，汚泥混液から一白金耳をとり，普通寒天（栄研社製）平板培地に画線法により塗布した。37°，24時間培養後，生育したコロニーを釣菌分離した。釣菌をくり返し，外觀および顕微鏡観察により，単一菌であるコロニーを8個得た。

4. 細菌の同定

細菌の生物学的試験を行い，その結果にもとずいて Bergy's Manual of Determinative Bacteriology^{8) 9)} に従って同定を行った。

5. アミノ酸の酸化分解能

分離菌によるアミノ酸の酸化分解率は酸素吸収量から求めた。酸素吸収量はワールブルグ検圧計を用い測定した。主室には滅菌生理食塩水に溶解したアミノ酸 500ppm 溶液 1.5ml，側室に細菌懸濁液 0.5ml 副室には 20%KOH 0.3ml を入れ槽温30°で培養した。

アミノ酸としては協和醸酵工業KK製のL型アミノ酸を用いた。

細菌はトリプトソイブイオン培地（栄研社製）で三角フラスコを用い24時間振盪培養し，これを滅菌生理食塩水で遠心洗浄する操作を3回くり返し，再び滅菌生理食塩水に懸濁して用いた。

酸化分解率は次のように計算した。

酸化分解率 = $\frac{\text{酸素吸収量が明らかに減少し、基質がなくなったと考えられる時の酸素吸収量} - \text{自家呼吸による酸素吸収量}}{\text{基質が CO}_2 \text{ と H}_2\text{O, NH}_3 \text{ に完全分解したときに必要とする理論酸素吸収量}}$

実験結果

1. 分離菌株の同定

無希釈し尿の好気性処理施設、第1消化槽より採取、培養した8個の菌株を同定したところ、I、II、III、IVの4種となった。結果を Table I に示す。

Table I Characterizing Test of Isolated Bacteria from Aerobic Treatment Plant of Undiluted Night Soil

Test	I	II	III
1 Colonial tests			
Color	White	White	White
Edge	Other	Entier	Entier
Surface	Other	Convex	Convex
2 Broth and Cellular Morphology			
Growth	Rapid	Rapid	Slow
Cell Shape	Rod (1×2u)	Rod (0.5×1u)	Cocci (0.8×0.8u)
Gram Stain	+	-	+
Motility	+	+	+
Spore	+	-	+
3 Biochemical and Physiological tests			
1) Acid produced and Gas produced from :			
Glucose	+	+G	+
Mannitol	+	+G	-
Inositol	+	--	-
Lactose	-	+G	+
Maltose	-	+G	+
Galactose	-	+G	+
Sucrose	+	+G	+
Salicin	-	-	-
Dulcitol	-	+G	-
2) Multipoint Inoculation tests			
Indol from Tryptophane	-	+	-
Voges-Proskauer	-	-	-
Methyl Red	-	+	+
H ₂ S Production	-	-	-
Growth on Citrate	+	-	-
Gelatin Hydrolysis	+	-	-
Litmus Milk	Digestion	Acid Coagulation	Acid
Nitrites Production from Nitrates	+	+	-
Urease	-	-	-
Catalase	+	+	-

8個のうち3個はIに属し、*Bacillus megaterium* と同定した。他の2個はIIに属し、*Escherichia coli var. communior*, 他の2個はIIIに属し、*Staphylococcus epidermidis* と同定した。残りの1種は同定できなかった。

2. アミノ酸の分解能

分離した *B. megaterium*, *E. coli var. communior*, *Staphylococcus epidermidis* につきワールブルグ検圧計を用いアミノ酸の酸素吸収量を測定した結果を Table II に示した。

Table II Percentage Oxidation and Utilization of Amino Acids by Bacteria

Amino Acids	Utilization and Percentage Oxidation	
	<i>B. megaterium</i>	<i>E. coli var. communior</i>
L-Alanine	75.2%	64.7%
L-Valine	+	-
L-Leucine	+	-
L-Methionine	-	-
L-Cystine	-	-
L-Aspartic acid	+	+
L-Glutamic acid	+	+
L-Lysine HCl	-	+

+ : O₂-uptake was detected but Percentage Oxidation could not be calculated.

- : O₂-uptake was not detected.

L-alanine では急速に酸素吸収がおり, *B. megaterium* による酸化分解率は 75.2%, *E. coli var. communior* では 64.7%であった。

B. megaterium の場合 L-alanine の他に L-valine, L-leucine, L-aspartic acid, L-glutamic acid に基質無添加の場合に比べ酸素吸収の増加がみられた。L-methionine, L-lysine, L-cystine では酸素吸収の増加は認められなかった。

E. coli var. communior の場合は L-alanine の他に L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-lysine に酸素吸収の増加がみられ, L-valine, L-leucine, L-methionine, L-cystine に酸素吸収増加が認められなかった。

Staphylococcus epidermidis ではすべてのアミノ酸について酸素吸収の増加が認められなかった。

考 察

下水活性汚泥の細菌学的な研究は Butterfield¹¹⁾ が *Zoogloea ramigera* を発表して以来 floc 形成菌として *Zoogloea ramigera* が認められると共に他の細菌の研究も行なわれ, 数多くの細菌が分離されてきた。

し尿の好気性処理を行ったものとしては児玉らがし尿に嫌気性消化汚泥を添加し, 曝気処理した時の菌相を調査し, *Bacillus cerus var. mycoides* を優占種と認め, その他 *Clostridium tertium*, *E. coli* [a, *E. coli* II a, *Staphylococcus citreus* を同定している。また橋本⁵⁾はし尿をフラコ中で振盪曝気し, 優占種として *Streptococcus sp.* を報告している。これらはいずれも小規模な装置での実験である。

著者らはプラントより *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli var. communior*, *Staphylococcus epidermidis* を分離同定した。

アミノ酸の分解に関しては著者らの一人佐藤¹²⁾らが下水活性汚泥につき行っており, ワールブルグ検圧計による酸素吸収パターンにより 5 群に分けている。著者らはこれらのパターンを参考にし, I 型: 酸素吸収が急速に起こり, 基質の完全消失時期の明白なもの, II 型: 酸素吸収が緩慢であり, 基質の完全消失時期の明白でないもの。III 型: 全く

酸素吸収のないものに分類した。

B. megaterium によるアミノ酸の分解パターンは、Ⅰ型は、L-alanine, Ⅱ型は、L-valine, L-aspartic acid, L-leucine, L-glutamic acid, Ⅲ型は L-methionine, L-cystine, L-lysine である。*E. coli var. communior* ではⅠ型は L-alanine, Ⅱ型は L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-lysine, Ⅲ型は L-cystine, L-valine, L-leucine, L-methionine であった。佐藤らは下水活性汚泥では cystine, methionine 等の含硫アミノ酸は分解されにくいとしており、著者らの結果と一致する。¹³⁾

B. megaterium は L-valine, L-leucine を分解するが *E. coli var. communior* はこれらを分解できない。また、*E. coli var. communior* は L-lysine を分解できるが *B. megatium* は分解できない等、好気性消化槽に生存している細菌において、その基質の分解能が異なり、これらの細菌の総合的な働きにより分解が進行すると考えられる。

結 論

無希釈し尿の好気性処理場第1消化槽より浄化細菌を分離同定し、アミノ酸の酸化分解能を検討し、下記の結果を得た。

- 1) 第1消化槽から分離した細菌は、*Bacillus megaterium*, *Escherichia coli var. communior*, *Staphyrococcus epidemidis* および他の1種であった。
- 2) *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli var. communior* 共に L-alanine をよく酸化分解する。
- 3) 含硫アミノ酸である L-methionine, L-cystine はどの細菌も酸化分解しない。
- 4) 種々の細菌の基質分解能が異なり、これらの細菌の総合力により、基質の分解が行なわれるものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 第6報, 石川哲也, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦, 衛生化学, 19, 277 (1973)
- 2) 福山丈二, 小瀬洋喜, 石川哲也, 船坂鏝三, 加藤哲太, 道下孝子, 井戸郷子, 日本薬学会第90年会, 札幌, 1970年7月
- 3) 小瀬洋喜, 石川哲也, 佐藤孝彦, 生稻保二, 河野通成, 山田昭夫, 渡辺周一, 谷志郎, 衛生化学, 19, 188 (1973)
- 4) 児玉威, 武藤暢夫, 矢込堅太郎, 大野茂, 重田芳広, 松本彦夫, 神奈川県衛研年報, 9, 111 (1959)
- 5) 橋本奨, 用水と廃水, 4, 511 (1962)
- 6) Ishikawa T., Ose Y., Sato T., : Water Research 投稿中。
- 7) 小瀬洋喜, 中室克彦, 杉浦衛, 衛生化学, 19, 264 (1973)
- 8) 東京大学医学研究所学友会, “細菌学実習提要” 丸善, 東京, pp 1—150 (1968)
- 9) 栄研化学社編, “栄研マニュアル” 第6版, 栄研化学株式会社, 東京, pp 1—121 (1969)
- 10) Buchanan R. E. and Gibbons, N. E. : “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,” 7th Ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore pp1—955 (1957)
- 11) Butterfield, C. T. : US. Publ. Helth Rep., Wash., 50, 671 (1935)
- 12) 秋山高, 佐藤孝彦, 水道協会雑誌, 330, 61 (1962)