



| | |
|------------------|---|
| Title | 低温下における廃水処理の微生物学的研究：（第1報）澱粉廃水処理における微生物相 |
| Author(s) | 高尾, 彰一; 吉田, 忠; 渡部, 宏臣 |
| Citation | 北海道大学農学部邦文紀要, 10(4), 261-271 |
| Issue Date | 1977-09-30 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/11897 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 10(4)_p261-271.pdf |



[Instructions for use](#)

低温下における廃水処理の微生物学的研究

(第1報) 澱粉廃水処理における微生物相

高尾 彰一・吉田 忠・渡部 宏臣*

(北海道大学農学部農芸化学科応用菌学講座)

(昭和51年11月9日受理)

Microbiological studies on waste water treatment at low temperature

(I) Microflora for treatment of potato starch waste water

Shoichi TAKAO, Tadashi YOSHIDA and Hiroomi WATABE*

(Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

(Received November 9, 1976)

緒 言

産業廃水のうちでも特に食品工場からの廃水は有機物を多く含むために河川汚濁の主因とされている。このような廃水の処理には、微生物の活性を利用した活性汚泥法が極めて有効であるが、低温においては、その活性が著しく低下するので適用が難しく、ことに北海道のような寒冷地において冬期間集中的に加工を行う澱粉製造などでは、工程にほとんど熱源をもたないこともあって、低温下での廃水処理は非常に困難とされ、効果的な処理法の確立が強く望まれている。

一方、廃水処理に関するこれまでの研究は、微生物的処理法についても工学的見地からのものが大部分で、その主体をなす微生物について、特に生態学的な研究は国の内外を通じてほとんど行われておらず、低温下の廃水処理に関する有用な知見も見られない。たとえば澱粉廃水の微生物的処理については、太宰ら¹²⁾、寺井ら^{22-24, 26, 27)}が活性汚泥法、あるいは曝気法の適用を試みているが、15°Cないし10°Cの低温では活性が著しく低下すると報告しているにとどまっている。

そこでこの研究では、低温下における各種廃水の効果的な処理法を確立する基礎として、まず澱粉廃水を取りあげ、その処理に有用な微生物群を明らかにするため、活性汚泥を低温下で澱粉廃水に馴養し、その間の微生物

相の変化から、有効菌群を検索した上、これらを用いて低温でも有効な活性汚泥を育成しようとした。ここではその馴養結果と微生物相の変化について報告する。

実験材料および方法

1. 活性汚泥：この実験で馴養に用いた活性汚泥は、札幌市下水処理場の返送汚泥で、この沈降性(SV₃₀)は約40%、浮遊物質(MLSS)は約3,500 ppm、pH約5.4であった。
2. 澱粉廃水：馬鈴薯の搾汁を静置沈澱した上澄液を澱粉廃水として用いた。この廃水の有機物濃度は約8,000 ppm(COD)で、pH約6.0であった。

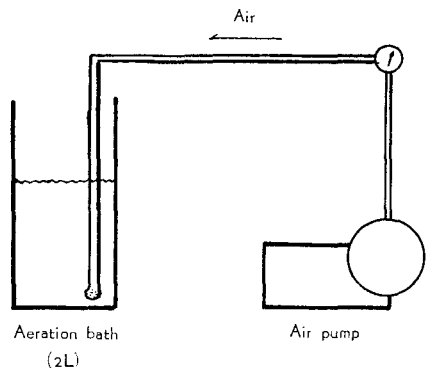


Fig. 1. Aeration system of activated sludge.

* 現勤務先：明治製菓株式会社中央研究所
Central Research Laboratories, Meiji Seika Kaisha Ltd., Yokohama, Japan.

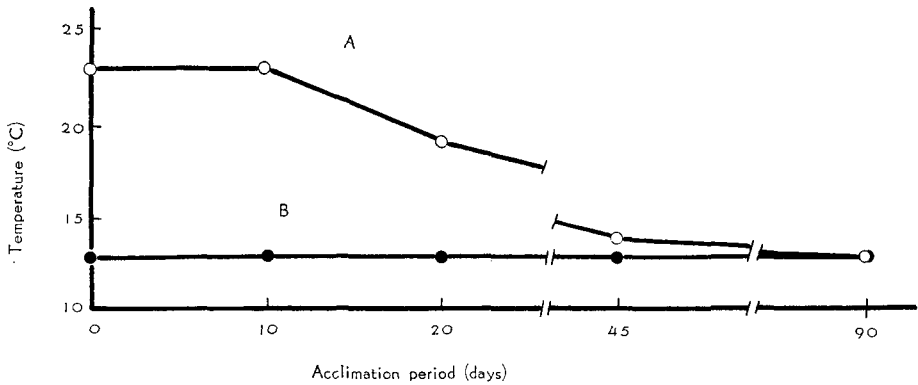


Fig. 2. Temperature change of activated sludges during acclimation.

3. 馴養: 馴養には, Fig. 1 に示す装置を用い, 直径 13 cm, 高さ 35 cm のガラス円筒の曝気槽に, 活性汚泥と澱粉廃水とを入れて総量 2ℓとし, ポンプからの空気を毎分 2ℓの割合で細かい気泡として送りこみ, 通気, 攪拌を行った。一定時間経過後, 通気を止めて静置し, 汚泥の沈降をまって, 上澄液を捨て, 澱粉廃水と水を加えて一定量に戻し, 再び通気するという操作を毎日繰り返し, はじめ室温 (23°C) から次第に低温 (13°C) に下げて馴養した (System A とする) (Fig. 2-A)。また, はじめから 13°C の低温で澱粉廃水に馴養する方法もとった (System B とする) (Fig. 2-B)。

澱粉廃水添加量は, COD 値で約 200 ppm とした。

4. 有機物除去能: 活性汚泥の有機物除去能は, JIS 規格による COD 測定法¹⁷⁾ に従い, COD 除去率として示した。

5. 沈降性: 活性汚泥の沈降性は, 30 分間静置後に占める汚泥の体積の割合を % (沈降率) で示した。

6. 生菌数測定: 曝気槽内の汚泥を充分攪拌してその 10 ml を滅菌試験管にとり, これを充分振盪攪拌したのち, 細菌には肉汁寒天, かびおよび酵母には乳酸酸性とした葡萄糖馬鈴薯寒天を, それぞれ用いた稀釈平板培養を行い, 27°C で培養後, 出現したコロニーを計数し, 生菌数を算出した。

7. 菌の分離および分類: 生菌数測定後, 適当稀釈度の平板を選び, この寒天平板上のコロニー全部を釣菌し, 同培地による平板培養を繰り返して純粋分離を行った。

純粋分離した菌株について, 細菌は BREED ら⁸⁾ および BUCHANAN ら⁹⁾ を, 酵母は LODDER ら¹⁵⁾ および LODDER¹⁶⁾ を, かびは THOM ら²⁵⁾, RAPER ら²⁰⁾, BESSEY⁷⁾, GILMAN¹⁴⁾, BARRON⁴⁾, AINSWORTH ら²⁾ などを参考として, それぞれ分類学的位置の検索を行った。

結果および考察

A. 活性汚泥の馴養経過

1. 馴養前活性汚泥の澱粉廃水処理能

馴養前の活性汚泥について, 室温 (23°C) および低温 (13°C) における澱粉廃水処理能を, COD 除去率によって測定した結果を Fig. 3 に示した。すなわち, 室温では

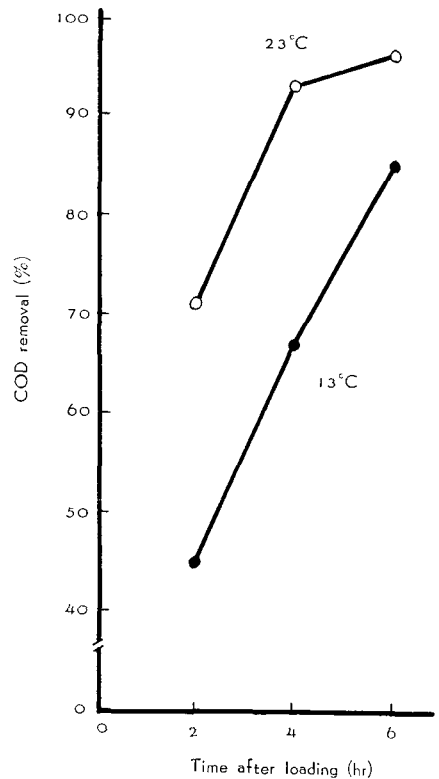


Fig. 3. COD removal by activated sludge.

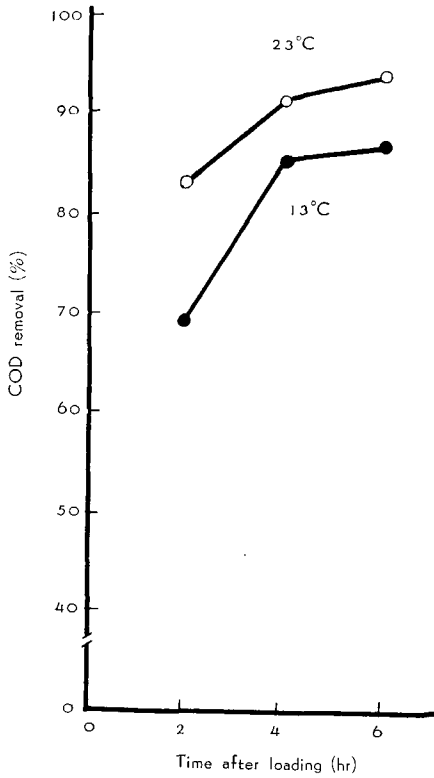


Fig. 4. COD removal by activated sludge after 10 days' acclimation.

負荷2時間後、約70%の除去率であったが、4時間後には90%、6時間後には96%に達した。したがって、馴養前の活性汚泥でも、室温の場合には、負荷後充分の時間があれば、かなり処理し得ると考えられ、馴養によ

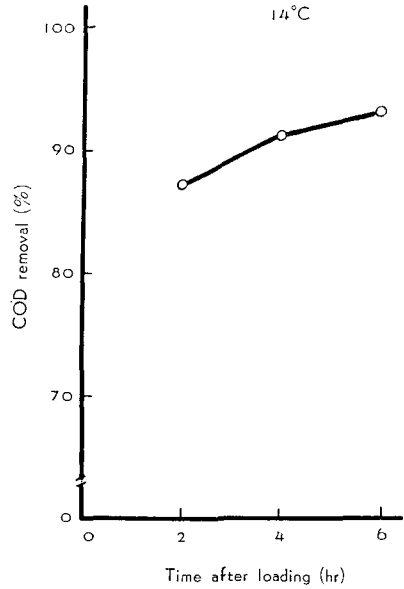


Fig. 6. COD removal by activated sludge after 45 days' acclimation.

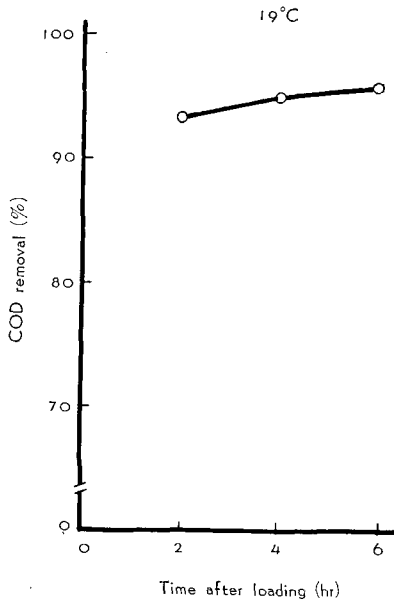


Fig. 5. COD removal by activated sludge after 20 days' acclimation.

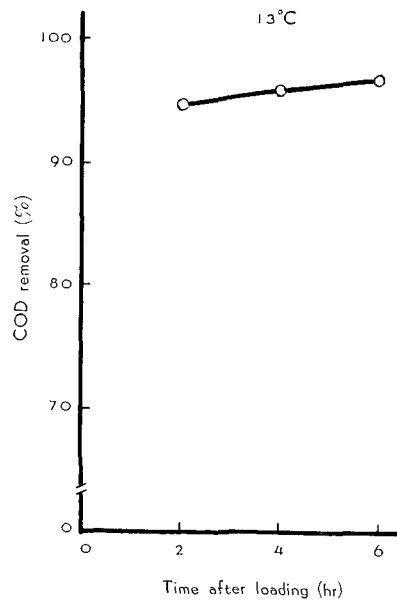


Fig. 7. COD removal by activated sludge after 90 days' acclimation.

てさらにその処理能が高まるものと期待された。

一方、低温での除去率は、負荷2時間後では44%と著しく悪く、4時間後66%、6時間後でも85%に過ぎず、低温の影響を強く受けることが明らかとなった。

2. 室温における馴養

上記の活性汚泥を、室温で澱粉廃水に10日間馴養した結果 (Fig. 4)、室温での除去率が負荷2時間後ですでに83%を示し、馴養による初期処理能の増大が認められた。また同時に、この汚泥の低温での除去能を見たところ、室温における場合にくらべて10%程度低い値となったに過ぎず、室温馴養の活性汚泥が低温でもかなり活用できることを示した。

3. 室温から低温への馴養

室温で高い処理能をもつようになった活性汚泥を、さらに澱粉廃水に馴養しながら次第に温度を下げて低温への馴養を行ったところ、馴養20日後、温度19°C (Fig. 5) では、室温馴養10日後 (Fig. 4) におけるよりもむしろ高い除去率を示し、澱粉廃水に対する馴養がさらに進ん

だものと見られる。

さらに低温の14°Cとした馴養45日後 (Fig. 6)、除去能は一時低下したが、再び回復し、90日後、13°C (Fig. 7)、負荷2時間後のCOD除去率が94%の高い値を示すようになり、この活性汚泥が、低温下で澱粉廃水に充分馴養され、高い除去能を有する有効な汚泥となったことが認められた。

馴養期間中の沈降性の変化を Fig. 8 (O—O) に示したが、馴養2週間頃からバルキングと思われる現象が起きて沈降性は著しく悪化したが、その後次第に回復して、13°CでもSV₃₀が約40%の良好な汚泥となった。

4. 低温下での馴養

活性汚泥をはじめから13°Cの低温で澱粉廃水に馴養した場合の同廃水処理能の変化 (Fig. 9) を見ると、馴養前、著しく低かったCOD除去能が同温度で馴養を続けることによって次第に高まり、20日後には負荷2時間後、90%近くの高い値を示す汚泥となり、その後も活性を増す傾向が認められ、安定した除去能を有する活性汚

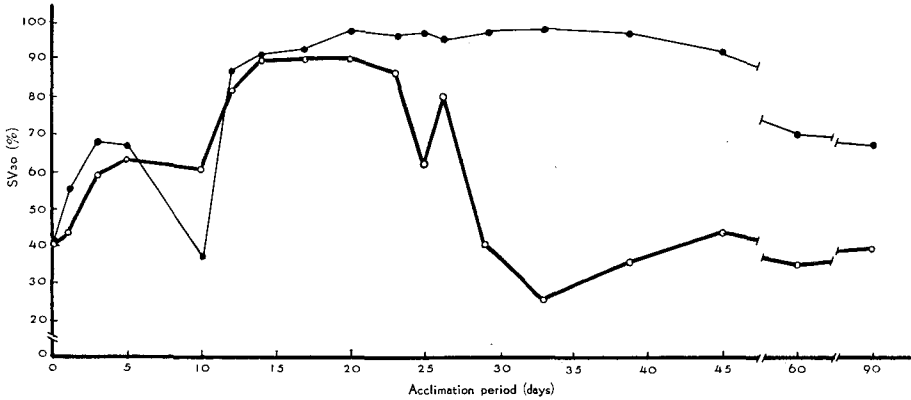


Fig. 8. Change of SV₃₀ during acclimation.

○—○: Acclimated from 23°C to 13°C. ●—●: Acclimated to 13°C.

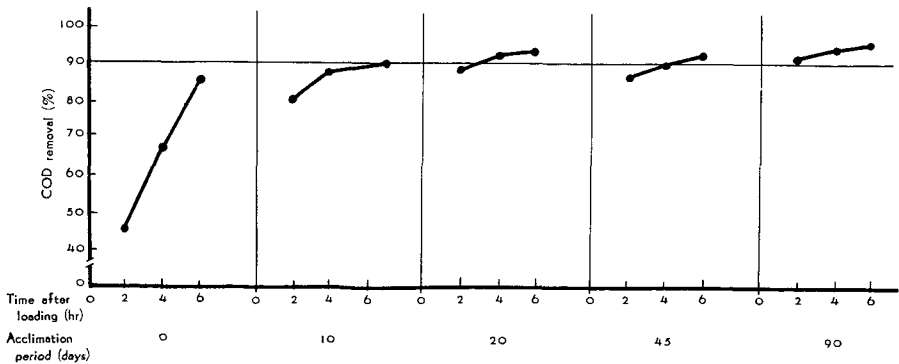


Fig. 9. Change of COD removal by activated sludge during acclimation at 13°C.

泥となった。

しかし、この場合の沈降性 (Fig. 8, ●—●) は、2週間前後にバルキング状態となった後の回復が悪く、高い除去能をもつ安定した汚泥となつてからでも、SV₃₀が70%程度であり、室温から低温に順次移して馴養した汚泥にくらべて、この点で劣っていた。したがって、低温下での澱粉廃水処理には、活性汚泥を、はじめ室温で澱粉廃水に馴養し、その後さらに低温に馴養するのが良いと思われるが、馴養にかなりの期間を要するので、今後この点の改善が必要であらう。

5. 顕微鏡観察

馴養期間中、適宜、顕微鏡下で活性汚泥のフロックを直接観察したが、馴養によって、微生物相にかなりの変化がみられ、かび、細菌、酵母、原生動物などからなる馴養前の活性汚泥のフロックが、馴養されるにしたがい酵母を中心とするフロックへと移行し、フロックの中に多数の酵母がかたまつて存在する場合の多いことが認められ、酵母細胞の周囲に細菌細胞が密に付着している状態も観察された。このことは、細菌細胞が酵母と共棲的に存在していることを意味しており、馴養後には、この酵母が中心となつてフロックを形成するものと推測される。

この酵母は、顕微鏡下で単離、培養し、諸性質を調べた結果、*Trichosporon cutaneum* (DE BEURMANN, GOUGEROT et VAUCHER) OTA であることが判明した。

B. 微生物の分離

馴養前 (I) および、はじめ室温から次第に低温として計90日間澱粉廃水に馴養した System A の活性汚泥 (II) の両試料から稀釈平板培養後、その適当稀釈度の平板を選んで全コロニーを分離した。純粋分離して得た菌株数を Table 1 に示した。

平板培養の稀釈度から概算すると、両試料活性汚泥乾燥重量 1g 当りの細菌数は 10¹⁰、酵母は 10⁷ 程度となる。この値は、活性汚泥をホモゲナイズして分離した PRA-KASAM ら¹⁹⁾ および COOKE ら¹¹⁾ の結果にくらべて幾

Table 1. Number of microorganisms isolated from activated sludges.

| Activated sludge | Microorganisms isolated | | |
|--------------------|-------------------------|--------|-------|
| | Bacteria | Yeasts | Fungi |
| Not acclimated (I) | 45 | 41 | 4 |
| Acclimated (II) | 72 | 48 | 8 |

Table 2. Key to the genera of bacteria isolated from activated sludges.

- Gram negative rods.
 - Motile by means of polar flagella. Colonies almost colorless or pale yellow. May produce water soluble green or brown pigment. Nitrite produced from nitrate. Starch not hydrolyzed. Genus *Pseudomonas*
 - Motile by means of peritrichous flagella or non motile. Colonies almost colorless or yellow.
 - Glucose fermented feebly or not at all.
 - Colonies almost colorless.
 - Litmus milk alkaline. No acid from glucose. Genus *Alcaligenes*
 - Litmus milk almost unchanged. May ferment glucose feebly. Genus *Achromobacter*
 - Colonies yellow. Proteolytic. Genus *Flavobacterium*
 - Glucose and lactose fermented with acid and gas. Litmus milk acidified and curdled. Acetylmethylcarbinol produced. Methyl red test negative. Genus *Enterobacter* (*Aerobacter*)
- Gram positive rods.
 - Non-motile. Endospores not formed. Colonies almost colorless. Cells are coccoid to filamentous form, lose gram stain easily in old culture. Acetylmethylcarbinol not produced. Genus *Arthrobacter*
 - Motile by means of peritrichous flagella. Endospores formed. Colonies white. Litmus milk peptonized. Aerobic. Catalase positive. Genus *Bacillus*

Table 3. Characters of yeasts isolated from activated sludges.

| Species | Cells | | Growth | | True mycelium* | Pseudo-mycelium* | Ascospores* | Fermen-tation* | Assimilation | Spitting of arbutin | KNO ₃ As-similation | Starch formation | Growth temperature** | | | | |
|---|---------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------------------|----------------|------------------|-------------|----------------|---|---------------------|--------------------------------|------------------|----------------------|----|----|----|----|
| | shape | size | Malt ex. | Malt agar | | | | | | | | | °C | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | 5 | 15 | 27 | 37 | 45 |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> (Zopf) L. et K. van Rij | Globose-oval | (3-5)×(3-6)μ | Dry, dull, pellicle | Grayish white-yellow, dull shining | - | - | + | - | G Ga S M Cb T R In St X Rb Et Gy Mn Gl Mg LA CA | + | - | | - | + | # | + | - |
| <i>Torulopsis aeria</i> (Saito) Lodder | Globose | (3-7.5)μ | Ring | Yellowish gray | - | - | - | - | G Ga S M Cb T L A Rh Gl Mg SA | + | + | - | - | + | # | - | - |
| <i>Candida rugosa</i> Anderson Diddens et Lodder | Oval-long oval | (2.5-4.5)×(2.5-5.5)μ | Islet, pellicle | White-grayish yellow, dull shining | - | + | - | - | G Ga X A Et Gy Mn SA | - | - | | + | + | # | - | - |
| <i>C. intermedia</i> (Cif. et Ashf.) Langeron et Guerra | " | (2.5-5)×(2.8-6)μ | Pellicle | White-cream color, dull shining | - | + | - | G Ga S M | G Ga So S M Cb T L R In X Et Gy Rb Gal Mn Gl Mg SA CA | + | - | | - | + | # | + | - |
| <i>C. glabosa</i> Komagata et Nakase | " | (2.5-5)×(2.5-7)μ | Islet | White, dull shining | - | + | - | - | G Ga So S M T L R In St X A Rh Et Gy Rb Gal Mn Gl Mg SA CA | + | - | | - | + | # | + | - |
| <i>C. krusei</i> (Castel.) Berkhout | " | (2-4)×(2.3-8)μ | Creeping pellicle | Grayish yellow, dull shining | - | + | - | G | G Et LA SA | - | - | | - | + | # | + | - |
| <i>C. parapsilosis</i> (Ashf.) Langeron et Talice | " | (2-5)×(2.5-7)μ | " | Creamy yellow | - | + | - | G Ga | G Ga So S M T X Et Gy Rb Mn Gl Mg LA SA CA | + | - | | - | + | # | - | - |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> (Fres.) Harrison | Oval-ellipsoidal | (2.3-5)×(4-10)μ | Ring | Salmon-red, mucous | - | - | - | - | G Ga So S M Cb T R In X A Ri Rh Et Gy Rb Mn SA CA | - | + | | - | # | # | + | - |
| <i>Rh. minuta</i> (Saito) Harrison | " | (2.3-4.5)×(3.5-6.5)μ | " | Pink mucous | - | - | - | - | G Ga So S T R In X A Ri Et Gy SA CA | + | - | | - | # | # | + | - |
| <i>Rh. rubra</i> (Demme) Lodder | " | (2-5.5)×(2.5-6.5)μ | " | Dark pink, mucous | - | - | - | - | G Ga So S M Cb T R In X A Ri Et Gy Rb Mn Gl SA CA | + | - | | - | # | # | + | - |
| <i>Trichosporon cutaneum</i> (De Burman, Gougerot et Vaucher) Ota | Globose, oval ellipsoidal | (5-8)×(7-15)μ | Cream color thick mat | Yellow-cream, leathery | + | + | - | - | G Ga So S M Cb T L In St X A Ri Rh Et Gy Rb Gal Gl Mg SA Ino | + | - | | - | + | # | - | - |

* +: Positive, -: Negative G: Glucose, Ga: Galactose, S: Sucrose, M: Maltose, So: Sorbose, Cb: Cellobiose, T: Trehalose, R: Raffinose, L: Lactose, In: Inulin, St: Starch, X: Xylose, A: 1-Arabinose, Ri: Ribose, Rh: Rhamnose, Et: Ethanol, Gy: Glycerol, Rb: Ribitol, Gal: Galactitol, Mn: Mannitol, Gl: Glucitol, Mg: α-Methyl glucoside, LA: Lactic acid, SA: Succinic acid, CA: Citric acid, Ino: Inositol, -: not clear ** -: No growth, +: Growth, #: Better growth, #: Excellent growth

分低い。また、馴養前後における生菌数は、細菌、酵母、かびのいずれにおいても大差はなく、環境条件にしたがい内容的に微生物相の変化はあっても菌数はほぼ安定しているものと見ることができる。

C. 微生物の分類

1. 細菌

純粋分離によって得た試料 I の 45 株および試料 II の 72 株について諸性質をしらべ、分類学的位置を検索した結果、これらは *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter* (Bergey's Manual 第 7 版の *Aerobacter* に相当), *Arthrobacter* および *Bacillus* の 7 属に属することが判明した。これについて諸性質の記載は省略するが、各属までの分類検索表を Table 2 に示した。

これら各属細菌は、いずれも自然界に広く分布するもので、多くは土および水に由来し、活性汚泥からの分離例も多い。

活性汚泥中の主要な細菌とされている *Zoogloea* はこの実験の試料からは分離されなかった。*Zoogloea* 属細菌は寒天培地では増殖しにくいとされており、良好な増殖には液体培地での通気が必要ともされているので、本実験における方法では分離に不適當であったかも知れない。しかし、直接検鏡によっても *Zoogloea* は認められておらず、BENEDICT および CARLSON⁶⁾ も活性汚泥中に *Zoogloea* 属菌は存在していなかったと報告しており、必ずしも汚泥の主体をなすものとは言えない。

2. 酵母

試料 I の 41 株および試料 II の 48 株は諸性質を検討した結果、Table 3 に示す 5 属 11 種に分類された。また、これらの酵母についての分類検索表を Table 4 に示した。

これらの酵母はいずれも自然界に広く分布しており、*Candida* 属各種は *Rhodotorula* とともに活性汚泥からも分離されている^{5,10,11)}。*Trichosporon cutaneum* は、

Table 4. Key to the species of yeasts isolated from activated sludges.

| | |
|---|------------------------------|
| -Orange to pinkish carotenoid pigments are not produced. | |
| -One ascospore is formed in an ascus. Glucose is not fermented. | |
| Glucose, sucrose, maltose are assimilated. | |
| KNO ₃ is not assimilated. | <i>Debaryomyces hansenii</i> |
| -Ascospore is not formed. | |
| -True mycelium and pseudomycelium is not formed. | |
| Cells are round. No fermentation. | |
| Starch-like compounds are not formed. | |
| Inositol is not assimilated. | <i>Torulopsis aeria</i> |
| -Pseudomycelium is formed. True mycelium not formed. | |
| -Glucose, galactose, sucrose, and maltose are fermented. | <i>Candida intermedia</i> |
| -Glucose and galactose are fermented. | <i>Candida parapsilosis</i> |
| -Glucose is fermented. | <i>Candida krusei</i> |
| -No fermentation of glucose. | |
| -Glucose, galactose, sucrose and maltose are assimilated. | <i>Candida glabrosa</i> |
| -Glucose and galactose are assimilated. | <i>Candida rugosa</i> |
| -True mycelium, pseudomycelium and arthrospores are formed. | |
| No fermentation of glucose. | <i>Trichosporon cutaneum</i> |
| -Orange to pinkish carotenoid pigments are produced. | |
| True mycelium, pseudomycelium and blastospores are not formed. | |
| -KNO ₃ is assimilated. Arbutin is not hydrolyzed. | <i>Rhodotorula glutinis</i> |
| -KNO ₃ is not assimilated. Arbutin is hydrolyzed. | |
| -Maltose, cellobiose, ribitol, mannitol and glucitol are assimilated. | <i>Rhodotorula rubra</i> |
| -Maltose, cellobiose, ribitol, mannitol and glucitol are not assimilated. | <i>Rhodotorula minuta</i> |

これまで人体に由来するもののほか、木パルプや植物、果実表皮などからも分離され、廃水処理場の活性汚泥からの分離例もあるが、廃水の浄化に何らかの有効な作用をもっと推測されているに過ぎない^{10,11)}。

なお、今回分離した酵母のうちで、子嚢胞子をつくらず、真菌糸、偽菌糸も形成せず、醗酵性も示さない、細胞がほぼ球形の *Torulopsis* に属するものがあり LODDER ら (1952) の *T. aeria* に一致することがわかった。この種は LODDER の 1970 年版では、イノシトールの利用性があるとして *Cryptococcus albidus* に入れられ、澱粉様物質をつくらないなどの理由で *Cr. albidus* var. *aerius* とされている。しかし、ここで分離した菌株は、定められた条件で澱粉様物質をつくらないばかりでなく、重要な特性であるイノシトールの利用性もないことから、

Cryptococcus と認めるわけに行かず、1952 年版によって *Torulopsis aeria* (SAITO) LODDER に同定した。

3. か ひ

分離各菌株の諸性質の記載は省略するが、試料 I の 4 株のうち、3 株は *Geotrichum candidum* に同定、1 株は *Fusarium* に属するものとした。また、試料 II の 8 株のうち 4 株は *G. candidum* に、2 株は *Aspergillus versicolor* に、他の 2 株は *Penicillium funiculosum* および *P. citrinum* にそれぞれ同定した。これらの分類検索表を Table 5 に示した。いずれも土壌中に広く分布するかびで、活性汚泥中に存在することも報告されている。特に *G. candidum* は汚泥中に多いとされている^{5,11)} がバルキングの原因となる微生物ともいわれている¹⁸⁾。

Table 5. Key to the species of fungi isolated from activated sludges.

- Colonies white, spreading.
 - Hyphae septate. Conidiophores short and septate, producing conidia in chains at their apices. Conidia short, cylindrical, truncate at both ends, or slightly rounded. *Geotrichum candidum*
- Colonies white, felty. Reverse in red color.
 - Conidia sickle-shaped, one to three celled. *Fusarium* sp.
- Colonies orange-yellow or yellowish green. Reverse in dark red.
 - Conidiophores broadening at the apices into globose fertile vesicle with radiating phialides in two series. Conidia globose or oval, delicately roughened, borne in loosely radiating chains. *Aspergillus versicolor*
- Colonies green. Penicillus formed on the conidiophores.
 - Penicilli biverticillate and symmetrical.
 - Colonies appearing funiculose. *Penicillium funiculosum*
 - Penicilli once- or twice-branched below the level of the sterigmata, asymmetrical.
 - Colonies velvety, in olive color. Reverse in yellow. *Penicillium citrinum*

D. 馴養による微生物相の変化

1. 細菌

馴養前後の両活性汚泥における細菌の分布を Table 6 に示したが、馴養前後の細菌相には明らかな変化が認められる。すなわち、馴養によって *Enterobacter* 属菌が消失したほか、*Pseudomonas* 属菌が激減し、代って *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* など *Achromobacteraceae* 科の各属および *Arthrobacter* 属細菌が顕著に増加した。

Pseudomonas 属菌は多くの研究者^{1,3,13,21)} により、活性汚泥細菌の優占種とされており、この実験に用いた馴養前活性汚泥でも、細菌総数の約 45% を占めていたが、馴養後は約 4% に過ぎず、*Enterobacter* とともに馴養によって淘汰されたものと言える。

Table 6. Number of bacteria isolated from activated sludges.

| Genus | Activated sludge | |
|--|------------------|----|
| | I | II |
| <i>Pseudomonas</i> | 20 | 3 |
| <i>Alcaligenes</i> | 2 | 5 |
| <i>Achromobacter</i> | 8 | 39 |
| <i>Flavobacterium</i> | 3 | 10 |
| <i>Enterobacter</i> (<i>Aerobacter</i>) | 6 | 0 |
| <i>Arthrobacter</i> | 3 | 11 |
| <i>Bacillus</i> | 3 | 4 |
| | 45 | 72 |

I: Not acclimated II: Acclimated

Achromobacteraceae 科の細菌は *Arthrobacter* 属菌とともに馴養によって増加する傾向を示したが、特に *Achromobacter* 属菌の増加が顕著で、この細菌が低温下での澱粉廃水浄化に重要な役割を果たし得るものと考えられる。

2. 酵 母

馴養前後の活性汚泥中における酵母の分布を Table 7 に示した。馴養の前後で著しい変化が認められ、馴養前の活性汚泥中に存在した *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula* 各属酵母は、馴養によってほとんどが淘汰され、わずかに *C. krusei*, *Rh. rubra* を残すのみとなった。

Debaryomyces hansenii および *Trichosporon cuta-*

Table 7. Number of yeasts isolated from activated sludges.

| Species | Activated sludge | |
|------------------------------|------------------|----|
| | I | II |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> | 1 | 5 |
| <i>Torulopsis aerea</i> | 1 | 0 |
| <i>Candida rugosa</i> | 1 | 0 |
| <i>C. intermedia</i> | 4 | 0 |
| <i>C. glaebosa</i> | 5 | 0 |
| <i>C. krusei</i> | 8 | 2 |
| <i>C. parapsilosis</i> | 2 | 0 |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> | 2 | 0 |
| <i>Rh. minuta</i> | 1 | 0 |
| <i>Rh. rubra</i> | 4 | 5 |
| <i>Trichosporon cutaneum</i> | 12 | 36 |
| | 41 | 48 |

I: Not acclimated II: Acclimated

Table 8. Number of fungi isolated from activated sludges.

| Species | Activated sludge | |
|--------------------------------|------------------|----|
| | I | II |
| <i>Geotrichum candidum</i> | 3 | 4 |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | 0 | 2 |
| <i>Penicillium funiculosum</i> | 0 | 1 |
| <i>P. citrinum</i> | 0 | 1 |
| <i>Fusarium</i> sp. | 1 | 0 |
| | 4 | 8 |

I: Not acclimated II: Acclimated

neum は馴養によって増加し、特に *Tr. cutaneum* の菌数は著しく多く、分離菌数の約 80% を占め、分離計数用の平板培養で、そのほとんどがこの酵母であったことさえあり、低温における生育もよく、各種糖類などの分解力も強く、菌糸状にも発育し、かつ、粘性を有することなどを考え合わせて、低温における澱粉廃水処理には、生理的にも物理的にも最も重要な役割を果たし得ると思われる。

このことは、さきに活性汚泥の顕微鏡観察により、この酵母がフロックの中心として浄化の主役となり得るとした推測を強く支持するものといえるが、従来、*Tr. cutaneum* について、このような例は全く報告されていない。

3. か び

馴養前後の活性汚泥におけるかびの分布を Table 8 に示した。

Geotrichum candidum が馴養前後ではほとんど変わらずに分離されたが、このかびは自然界での分布が広く、また水中での発育が旺盛で、しばしば河川汚濁をひきおこし、また、活性汚泥のバルキングの原因ともされている。

このほか *Fusarium* に属する 1 種が馴養によって淘汰され、*Aspergillus versicolor*, *Penicillium funiculosum*, *P. citrinum* の 3 種が馴養後の活性汚泥からのみ認められたが、これらは馴養中の二次汚染によるものと考えられる。総じてかびは活性汚泥中の菌数が極めて少ないことから、澱粉廃水浄化に特に意味をもつとは思われない。

以上の結果から、低温において澱粉廃水に馴養した活性汚泥中、最も重要と見られるものは、酵母 *Trichosporon cutaneum* で、この酵母の活用が低温における同廃水処理の要点となる。また、*Achromobacter* 属細菌にも注目すべきであり *Tr. cutaneum* を中心とし、これらの細菌を含めた活性汚泥によって効果的に処理することが可能と考えられる。

要 約

低温での澱粉廃水処理に効果的な活性汚泥を育成する基礎として、下水処理場の活性汚泥を、はじめ室温 (23°C) で澱粉廃水に馴養し、次第に低温 (13°C) に適応させ、あるいは、はじめから低温下で澱粉廃水に馴養する方法をとって、その間の活性汚泥による COD 除去率、沈降性の変化を見、さらに顕微鏡観察および培養法により活性汚泥中の微生物相の変化を追跡した。その結果、次の諸点が明らかとなった。

1. 馴養前の活性汚泥は、室温において、澱粉廃水負荷2時間後約70%、4時間後約90%の高いCOD除去率を示したが、低温における除去率は著しく低く、負荷2時間後44%、4時間後66%にすぎなかった。

2. 室温で澱粉廃水に10日間馴養した活性汚泥は高い除去能を示すようになり、室温での廃水処理には充分利用できることがわかった。また、この汚泥の低温における処理能は、室温におけるそれにくらべて約10%低かった。

3. 室温馴養の活性汚泥を順次、低温に下げて澱粉廃水への馴養を続けたところ、一時、沈降性は悪化したのがその後、次第に回復して安定し、高い除去能を有する沈降性のよい有効な活性汚泥となった。

4. はじめから低温で澱粉廃水に馴養した活性汚泥も室温馴養の場合とほぼ同様の経過をとって馴養され、高い活性をもつ安定した汚泥となったが、沈降性が悪く、室温から馴養したものにくらべてこの点で劣った。

5. 馴養中の活性汚泥を顕微鏡観察した結果、この微生物相は馴養によって変化し、はじめ、細菌、酵母、かび、原生動物などからなる微生物相が、馴養後には酵母(*Trichosporon cutaneum*)を主体とするフロックへと変る傾向が認められた。

6. 馴養前の活性汚泥および、これを低温で澱粉廃水に馴養したあとの活性汚泥の微生物相を比較したところ馴養前の活性汚泥からは細菌7属、酵母5属11種、かび2属2種が得られたが、馴養後には、細菌では *Enterobacter* (*Aerobacter*)、酵母では *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula* のほとんどが淘汰され、代って *Achromobacteraceae* 科の細菌 (特に *Achromobacter* 属菌) および酵母 *Trichosporon cutaneum* の増加が顕著に認められた。

これらの結果から、低温における澱粉廃水処理には *Tr. cutaneum* が特に重要な役割を果たすものと推測され、この酵母を中心とし、*Achromobacteraceae* 科の細菌をも含めて育成した活性汚泥が効果的と考えられた。

終りにのぞみ、本研究費の一部は昭和49年度文部省科学研究費、特定研究「微生物による環境浄化」によることを付記し、感謝の意を表する。

参考文献

- 1) ADAMSE, A. D.: *Water Research*, **2**, 665 (1968).
- 2) AINSWORTH, G. C., F. K. SPARROW and A. S. SUSSMAN: *The Fungi, An advanced Treatise*, **IV A**, Acad. Press, New York, N. Y. (1973).
- 3) ANDERSON, R. and E. MCCOY: *Bacteriol. Proceedings*, p. 162, RT 8 (1963).
- 4) BARRON, G. L.: *The Genera of Hyphomycetes from Soil*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland (1968).
- 5) BECKER, J. G. and C. G. Shaw: *Appl. Microbiol.*, **3**, 173 (1955).
- 6) BENEDICT, R. G. and D. A. CARLSON: *Water Research*, **5**, 1023 (1971).
- 7) BESSEY, E. A.: *Morphology and Taxonomy of Fungi*, Blakiston Co., Philadelphia (1952).
- 8) BREED, R. S., E. G. D. Murray and N. R. SMITH: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore (1957).
- 9) BUCHANAN, R. E. and N. E. GIBBONS: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore (1974).
- 10) COOKE, W. B., H. J. PHAFF, M. W. MILLER, M. SHIFRINE and E. P. KNAPP: *Mycologia*, **52**, 210 (1960).
- 11) COOKE, W. B. and W. O. PIPES: *Mycopath. et Mycol. Applicata*, **40**, 249 (1970).
- 12) 太宰宙郎, 小川 誠, 小野英男: *醸工誌*, **43**, 409 (1965).
- 13) DIAS, F. F. and J. V. BHATT: *Appl. Microbiol.*, **12**, 412 (1964).
- 14) GILMAN, J. C.: *A Manual of Soil Fungi*, Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa (1959).
- 15) LODDER, J. and N. J. W. KREGER van RIJ: *The Yeasts, A taxonomic study*, North-Holland Pub. Co., Amsterdam (1952).
- 16) LODDER, J.: *The Yeasts, A taxonomic study*, 2nd Ed., North-Holland Pub. Co., Amsterdam (1970).
- 17) 日本工業標準調査会: *工場排水試験方法*, 日本規格協会 (1964).
- 18) PIPES, W. O.: *Advances in Applied Microbiology*, **9**, 185 (1967).
- 19) PRAKASAM, T. B. S. and N. C. DONDERO: *Appl. Microbiol.*, **15**, 461 (1967).
- 20) RAPER, K. B. and C. THOM: *A Manual of the Penicillia*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland (1949).
- 21) ROGOVSKAYA, Z. I. and M. F. LAZAREVA: *Microbiologia*, **28**, 530 (1959).
- 22) 寺井悌三, 山田康郎, 吉町晃一, 篠田 清, 長谷川吉郎: *醸工誌*, **43**, 387 (1965).

- 23) 寺井悌三, 山田康郎, 篠田 清: 醗工誌, 45, 653 (1967).
 24) 寺井悌三, 山田康郎, 山田順一, 下村義昭, 篠田 清: 醗工誌, 46, 802 (1968).
 25) THOM, C. and K. B. RAPER: A Manual of the Aspergilli, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland (1945).
 26) 山田康郎, 寺井悌三: 醗工誌, 45, 649 (1967).
 27) 山田康郎, 寺井悌三: 醗工誌, 45, 658 (1967).

Summary

Ecological studies were made to develop an activated sludge which would be adapted to the treatment of waste waters from potato starch plants.

Starch waste, as a model, was prepared by grinding white potato with water and removing solids by decantation.

Raw activated sludge from a domestic sewage-treatment plant was adapted to the starch waste at low temperature in two ways. In system A, the raw activated sludge was adapted to the starch waste by feeding it daily in an aeration bath at room temperature (23°C) first, and then gradually acclimated to low temperature (13°C). In system B, this adaptation was done at low temperature (13°C) during the whole time.

Lowering of chemical oxygen demand (COD) of the raw activated sludge was about 70% (2 hrs after loading) and 90% (4 hrs) at 23°C, and 45% and 65% respectively at these intervals at 13°C.

The adaptation to the starch waste, in both systems, was nearly completed during first 10 days, when the systems showed high rates of COD removals (more than 90% after 4 hrs).

These activities were maintained for 3 months when their acclimations to the low temperature had been completed.

After completion, better purified effluent and more favorable sedimentation of floc were observed in system A than in system B.

During adaptation the microorganisms in the flocs changed from bacteria, yeasts, molds and protozoa characteristic of the raw activated sludges to mostly yeast consisting primarily of *Trichosporon cutaneum*.

Isolates from raw activated sludge (sample I) and acclimated sludge from the system A (sample II), were compared.

In sample I, 7 genera of bacteria, 5 genera and

11 species of yeasts, and 2 genera and 2 species of fungi were recognized as follows:

- Bacteria *Pseudomonas*
Alcaligenes
Achromobacter
Flavobacterium
Enterobacter (Aerobacter)
Arthrobacter
Bacillus
- Yeasts *Debaryomyces hansenii*
Torulopsis aeria
Candida rugosa
Candida intermedia
Candida glabrata
Candida krusei
Candida parapsilosis
Rhodotorula glutinis
Rhodotorula minuta
Rhodotorula rubra
Trichosporon cutaneum
- Fungi *Geotrichum candidum*
Fusarium sp.

In sample II, 6 genera of bacteria, 4 genera and 4 species of yeasts, and 3 genera and 4 species of fungi were recognized as follows:

- Bacteria *Pseudomonas*
Alcaligenes
Achromobacter
Flavobacterium
Arthrobacter
Bacillus
- Yeasts *Debaryomyces hansenii*
Candida krusei
Rhodotorula rubra
Trichosporon cutaneum
- Fungi *Geotrichum candidum*
Aspergillus versicolor
Penicillium funiculosum
Penicillium citrinum

The comparison of microflora revealed that through acclimation the bacteria belonging to the genus *Enterobacter (Aerobacter)* and the yeasts of *Torulopsis*, *Candida*, and *Rhodotorula*, had mostly disappeared, and the bacteria of the family *Achromobacteraceae* (especially, of the genus *Achromobacter*) and the yeast of *Trichosporon cutaneum* increased their numbers markedly. This supports the microscopic predominance of *Tr. cutaneum* in acclimated sludge.

Therefore, it appears that this species of yeast may play an important role in the treatment of starch waste at low temperature, either alone or used species of *Achromobacteraceae*.