

段階的高度処理方法による衛生微生物の除去

日本大学生物資源科学研究科

高橋善人

2021

目 次

序 章

第 1 節	研究背景と目的	1
第 2 節	本論文の構成	5
第 3 節	用語の解説	6
第 4 節	小括	10

第 1 章 研究対象施設と処理実態

第 1 節	緒言	11
第 2 節	方法	12
第 3 節	結果と考察	12
第 4 節	小括	24

第 2 章 衛生微生物の選定と検出培地の性能評価

第 1 節	緒言	25
第 2 節	方法	26
第 3 節	結果と考察	31
第 4 節	小括	48

第 3 章 標準活性汚泥法による衛生微生物の除去

第 1 節	緒言	50
第 2 節	方法	51
第 3 節	結果と考察	
第 1 項	衛生微生物(細菌指標)の除去	59
第 2 項	衛生微生物(ウイルス指標)の除去	72
第 3 項	衛生微生物(病原性指標)の除去	82

第 4 項	反応タンクにおける衛生微生物の除去-----	92
第 4 節	小括-----	105
第 4 章	段階的な高度処理方法による衛生微生物の除去	
第 1 節	緒言-----	108
第 2 節	方法-----	110
第 3 節	結果と考察	
第 1 項	段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の 処理性能比較-----	119
第 2 項	段階的な高度処理方法への運用変更による 衛生微生物の除去-----	137
第 3 項	未導入処理場への導入効果に関する シミュレーション-----	152
第 4 節	小括-----	161
第 5 章	総括と結論-----	163
引用文献	-----	170
謝 辞	-----	178

序 章

第 1 節 研究背景と目的

下水道は街を清潔にし、浸水や、身近な環境を守り、エネルギー・資源を作るための社会基盤であり、日本の総人口に占める下水道利用率は 79.7%(2019)¹⁾ である。

人々の社会活動や都市活動に伴い発生した糞便を含む生活排水や産業排水は、浮遊物質(Suspended Solids : SS)や生物化学的酸素要求量(Biochemical Oxygen Demand:BOD)に代表される汚濁物質だけでなく、病原性を有する細菌・原虫・ウイルスや、洗剤・塗料・医薬品などの化学物質を含む、いわゆる健康リスクの原因となる微生物や微量物質と共に、下水道管渠網により下水処理場に運ばれたのち、沈殿処理・生物処理・消毒処理を経て公共用水域に放流されている。

下水道整備の進展に伴って、放流先の公共用水域のうち、河川においては、水質改善が進展している。一方で、湖沼や海域の沿岸部にある閉鎖性水域においては、水質の富栄養化に起因する赤潮の発生が散見されている²⁾。特に、遊泳場の設定スポットが数多くある東京湾水域においては、下水処理場由来の富栄養化起因物質である窒素とリンの流入量(濃度×排水量、汚濁負荷量と定義)の割合が、全体のそれぞれ 65.4%および 60.1%と高くなっており、下水処理における窒素・リンの削減が社会的要請になっている²⁾。東京湾の上流域に位置する埼玉県内の河川は、その大多数が、下流の東京都を經由して東京湾に流入する河川であり、このうち、荒川、元荒川、新河岸川、中川、古利根川は、埼玉県内の下水処理場の放流先水域であり、窒素とリンを除去する高度処理の取組が求められる重要な水域である。このため、東京湾の閉鎖性水域における窒素とリンの

削減のためには、埼玉県内の下水処理場における高度処理の取組が重要である。

下水の生物処理方法は、浮遊生物処理法と固定生物処理法に大別され、前者の場合は活性汚泥法、後者の場合は生物膜処理法が普及している 3)。2018 年度末における日本全国の処理場施設数は 2,146 施設であり、水処理方式別処理場数に占める活性汚泥法の処理施設は 92%、その中で標準活性汚泥法施設は 31%を占めている。また、処理規模が 10,000m³/d 以上の処理施設は、処理方式の 90%以上が標準活性汚泥法である 4)。このように、下水処理の主流である標準活性汚泥法のほか、循環式硝化脱窒法、嫌気好気活性汚泥法、嫌気無酸素好気法などの複数の処理方法が存在する 4)。標準活性汚泥法は、SS や BOD の除去を主な目的としており、窒素・リンの除去は、その好氣的処理条件が律速となり、必ずしも効率的ではない。

一方、循環式硝化脱窒法、嫌気好気活性汚泥法、嫌気無酸素好気法などの方法は、窒素・リン除去型の、いわゆる高度処理方法であるが、標準活性汚泥法に比べて、建設費や維持管理費が高額になるという欠点を併せ持っている。閉鎖性水域の富栄養化の原因となる窒素・リンの除去を目的とした高度処理の導入は全国の自治体で進めているものの、既存施設の耐用年数や増改築にかかる費用等から、高度処理の導入は難しい現状がある。さらに、近年の人口減少や建設主体の自治体における財政状況を反映して、標準活性汚泥法からの改築や、新規の建設が手控えられる傾向があり、進捗状況は鈍化している。しかし、閉鎖性水域の汚濁負荷が滞留しやすいという特徴を踏まえると、施設の改築更新時まで待つのではなく、早期に汚濁負荷を削減する方策を講じていく必要がある。このような状況を踏まえて、2008 年 6 月には、国土交通省事務連絡、「処理方式の考え

方について」により、段階的に高度処理化する方法も、高度処理と同様の処理原理と性能を有することを実証できた場合には、高度処理方法として取扱うことが可能になった 5)。さらに、このような状況下、2013年9月には、東京オリンピック 2020 の開催が決定し、東京湾に競技会場が設定されたこともあり、東京湾の早期の水質改善が望まれた。

本研究において著者は、2013年10月から埼玉県内において、標準活性汚泥法による広域処理を行っている処理場を選定して段階的に高度処理化する実証実験を行い、運転および水質項目の変化について詳細に調べた。また、この実証実験結果に基づいて、埼玉県内の他処理場に対して、この段階的な高度処理化方法の水平展開を進めることを目的とした。

国土交通省では、著者らの研究結果や国の専門家会議の討議を経て、2015年7月に閉鎖性水域の早期水質改善に向けて、既存の標準活性汚泥法施設の一部改造や運転管理の工夫により段階的に高度処理化を図るための普及ガイドラインを取りまとめた 5)。

他方、東京オリンピック 2020 競技会場の一つとして、東京湾のお台場海浜公園エリアが選定されたこともあり、競技会場水域における微生物汚染に対する関心も高まっている 6)7)。また、2018年度における日本全体の下水処理水の再利用水量は $2.26 \times 10^9 \text{m}^3$ に拡大しており 4)、再利用形態として、河川維持用水、修景用水、融雪用水の割合が高いが、水洗トイレ用水や親水用水の利用形態としての親水公園の拡大に伴い、住民が直接接触する可能性の高い利用形態も増えている。このような背景のため、下水および処理水に対する衛生的安全性の確保は下水処理を行う上での重要な課題であると考えた。

下水道における微生物除去の法的要件は、直接的な病原微生物については規定されておらず、これらの代替指標としての衛生微生物を対象として規定され、現在に至っている。消毒済みの放流水に対しては、水質汚濁防止法および下水道法により、大腸菌群数が規定されており、放流水の利活用に係る再利用水の要件として、親水用水における大腸菌や修景用水における大腸菌群数が規定されている。一方、下水道に流入する流入下水については、微生物に関する規定はないものの、人々の日常生活や社会活動から下水道に排出された多種類の微生物が存在し、また、近年の輸入感染症の拡大とともに、これらの下水道への病原微生物の混在が容易に予想される。このため、流入下水およびその処理過程における病原微生物の除去実態に対する調査研究が始まっている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。しかし、国内において、放流水に対する法規制項目の大腸菌群を除いて、その他の衛生微生物については、実際の下水試料を用いての定量性に関する検証事例は少なく、さらに、流入下水や下水処理における存在実態や挙動、衛生微生物相互の関連性などについては、いまだに不明な点が多いのも実情である。

このように、下水処理水に対する社会的要請は、放流水域の富栄養化の改善対策だけでなく、衛生学的安全性の面からも高まっている。このため、本研究では、段階的な高度処理化に伴う衛生微生物の除去についても研究を行った。

以上の背景により、本研究では、標準活性汚泥法の運用変更による段階的な高度処理方法を確立し、得られたデータに基づいて、他の処理施設を早期に高度処理化する技術基盤を確立することを目的とした。

第 2 節 本論文の構成

本論文は、以下に示すとおり全編 5 章で構成されている。

序章では、本研究の背景と目的、本論文の構成、論文の理解のために必要な用語の定義および適用範囲について示した。

第 1 章では、まず、研究対象に埼玉県を選定した根拠について示した。すなわち、東京湾流域を構成する自治体(埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県)の下水処理施設を調査対象として処理実態を調査した。次に、東京湾流域の上流部に位置する埼玉県内において、標準活性汚泥法を主体とし、広域的な下水処理を行っているために早期の窒素とリンの削減が望まれている 5 処理場を対象として、流入下水および放流水における大腸菌群および主要な水質項目の濃度実態と、運転項目の運用実績を調査・解析した。その結果を踏まえて、段階的な高度処理化の方法に係る実証実験施設を選定した。

第 2 章では、下水道関連法や先行研究における知見を基にして選定した複数の衛生微生物について、各処理過程における採取水から寒天平板培養法を用いて衛生微生物の検出・鑑別を行うとともに、典型コロニーを生化学的性状により同定して検出可能な細菌叢を明らかにした。

第 3 章では、段階的処理方法の導入効果を評価するために、その基本処理方式である標準活性汚泥法について、処理規模および反応タンクの運用方法の異なる下水処理場の処理過程における衛生微生物の現存量、除去性、衛生微生物相互の濃度関係を明らかにした。次に、生物処理工程の反応タンクにおける衛生微生物の挙動に関して、大腸菌群、糞便性大腸菌群と大腸菌ファージを対象として、現存量、除去性を明らかにするとともに、これらの除去機構について考察した。

第4章では、標準活性汚泥法を運用変更することによって処理水の窒素とリンの除去効率を高度処理方法の水準に引き上げる段階的な高度処理方法を研究対象として、段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の平行運用による実証実験を行うことで、衛生微生物や水質項目の処理性能を比較した。また、衛生微生物の対数除去率と運転項目、水質項目、活性汚泥生物との関連性を明らかにした。次に、標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更の処理過程における衛生微生物および水質項目の除去性の変遷を明らかにするとともに、標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更手順を検証した。さらに、実証実験で得られた結果を基にして、研究対象の全箇所について段階的な高度処理方法に運用変更した場合の処理水質と衛生微生物に係る汚濁負荷量を試算し、標準活性汚泥法の場合との削減量を比較することで、段階的な高度処理方法の優位性を検証した。

第5章では、第1章から4章までに得られた結果を総括し、段階的な高度処理方法による衛生微生物の除去について取りまとめた。

第3節 用語解説

本論文には、下水道および下水処理特有の用語を用いて記述している個所が相当数あるために、主な用語について解説した。

第1項 おもな下水道関連用語の定義と適用範囲 11)

- ①流入下水：下水処理場に流入する生下水をいう。
- ②一次処理および一次処理水：一次処理とは、下水中の夾雑物や浮遊物質を、最初沈殿池で主に重力沈降の作用により除去することをいい、一次処理水とは、一次処理した後の流出水もしくは反応タンク流入水をいう。

- ③反応タンクおよび反応タンク流出水：反応タンクとは、下水中の有機物、窒素などを生物学的に処理するための施設であり、この施設からの活性汚泥を含む流出水を反応タンク流出水という。
- ④二次処理および二次処理水：二次処理とは、一次処理した下水を標準活性汚泥法等により微生物反応を利用して生物学的に有機物の除去を行うことであり、二次処理水とは、二次処理をした水で、反応タンク流出水に含まれる活性汚泥を最終沈殿池で重力沈降した後の上澄みの流出水をいう。
- ⑤消毒：消毒とは、病原性微生物の感染力をなくし、放流水の衛生的な安全性を高めることで、消毒処理は、この目的を達成するための処理をいう。
- ⑥放流水：消毒処理した後の二次処理水を放流水といい、公共水域に放流される。また、放流水の水質に法的規制が課せられている。
- ⑦活性汚泥および活性汚泥浮遊物質：下水に空気を吹き込み攪拌すると種々の微生物が繁殖し、凝集性のあるフロックを形成する。これを活性汚泥といい、有機物の吸着能や酸化能に優れ、また、沈降性もきわめて高く下水の生物学的処理に用いられる。活性汚泥浮遊物質は、**mixed liquor suspended solids** のことであり、**MLSS** と表記される。
- ⑧活性汚泥法：活性汚泥と呼ばれる微生物の集合体を用いた下水の生物処理法をいう。下水は反応タンク中で活性汚泥と混合・エアレーションされ、微生物の代謝作用により有機物が除去される。その後、最終沈殿池で混合液から汚泥を沈殿分離し、上澄み液が処理水となる。分離された汚泥の一部は返送汚泥として反応タンクに送られ、残りは余剰汚泥として処理処分される。運転操作条件の違いにより、各種の活性汚泥法が用いられており、目的に応じて、下水中の有機物のほか、窒素およびリンの除去に用いられる。

⑨返送汚泥および返送汚泥量：活性汚泥法において、反応タンク内の MLSS 濃度を一定の水準に維持するために、最終沈殿池から引抜いて反応タンクに返送し、循環使用する活性汚泥のことを返送汚泥という。また、最終沈殿池に堆積した汚泥をポンプ等で反応タンクに送る量のことを返送汚泥量という。返送方法には、流入水流量に対して返送比率を一定とする方法や返送量を一定とする方法がある。

⑩活性汚泥生物：活性汚泥中に出現し、下水や一次処理水の浄化に関与する原生動物、微小後生動物の総称をいう。

⑪維持管理項目：下水処理に係る運転項目(活性汚泥濃度、溶存酸素濃度の調整に関連する流入下水量、送風倍率、汚泥返送率、汚泥日令、汚泥滞留時間、汚泥容量指標)と処理水質を評価して運転管理に生かすための水質項目(pH、浮遊物質、COD、BOD、全窒素、全リン、形態別窒素、溶存酸素濃度、酸化還元電位)をいう。

その他の維持管理項目については、次章以降の該当箇所で具体的に記載した。

⑫標準活性汚泥法：反応タンク内で下水と活性汚泥をエアレーションによって数時間にわたり混合後、最終沈殿池内で活性汚泥を沈殿分離し、上澄み液を処理水として流出させる方法である。分離された活性汚泥の一部は再び反応タンクに返送され、残りは余剰汚泥として系外へ排出される。

⑬高度処理および高度処理方法：下水処理において、浮遊物質や BOD などの有機物除去を主とした標準活性汚泥法の二次処理で得られる処理水質以上の水質を得る目的で行う処理および目的を達成するための方法をいう。除去対象物質は浮遊物質、有機物、栄養塩類、等があり、各々の除去対象物質に対して様々な処理方式が存在する。

⑭生物学的窒素除去法：微生物によって下水中の窒素を除去する方法をいう。これは、アンモニアを亜硝酸および硝酸へと生物学的に酸化する硝化工程と、さらに、それらを生物学的に窒素ガスに還元する脱窒工程とからなる。

⑮生物学的リン除去法：微生物によって下水中のリンを除去する方法を示す用語であるが、狭義には、嫌気-好気活性汚泥法のように活性汚泥中にポリリン酸蓄積細菌を集積し、汚泥のリン含有率を高めることにより高度なリン除去を達成する方法のことを指す。標準的な活性汚泥法では、汚泥中に 1.5～2.5%のリンが微生物のリン脂質や核酸等として含まれるため、それに相当する量のリンが余剰汚泥として下水から除去される。このため、標準活性汚泥法でもある程度のリン除去は行われる。

第 2 項 本論文で定義した用語

①段階的・高度処理方法：標準活性汚泥法(浮遊物質や BOD の除去)の施設を運用変更することにより、高度処理方法(浮遊物質、BOD、窒素、リンの除去)に準じる水質を得るための方法と定義する。

②衛生微生物：下水および処理水における糞便由来の病原微生物に対する指標微生物、および食品、医療廃棄物由来の病原微生物に対する指標微生物のうち、培養法により検出される細菌を衛生微生物(細菌指標および病原性指標)と定義する。また、大腸菌ファージを衛生微生物(ウイルス指標)と定義する。また、これらの衛生微生物を総称して、図表の表記に際しては、Hygienically Relevant Microbes の意味合いを与えて HRM と略称する。

第4節 小括

第1節では、研究の背景と目的について示した。すなわち、著者らは、東京湾の早期の水質改善に資するため、2013年10月から埼玉県内において、標準活性汚泥法による広域処理を行っている処理場を選定して段階的に高度処理化する実証実験を行い、運転および水質項目の変化について詳細に調べた。また、この実証実験結果に基づいて、埼玉県内の他処理場に対して、この処理方法の水平展開を進めることを目的とした。更に、閉鎖性水域内に遊泳場が設定されていること、また親水公園などの親水用水域の拡大に伴って、住民が直接処理水に接触する機会も増えていることから、下水処理水に対する衛生学的安全性の確保が課題となっている。このため、衛生微生物の除去についても重点的に研究を行った。以上の知見により、標準活性汚泥法の運用変更による段階的な高度処理方法を確立し、得られたデータに基づいて、他の処理施設を早期に高度処理化する技術基盤を確立することを目的とした。

第2節では、本論文の構成について示した。

第3節では、本論文で用いる主な用語の定義と適用範囲について示した。

第1章 研究対象施設と処理実態

第1節 緒言

日本国内における閉鎖性海域の中でも、東京湾は、三浦半島の剣崎と房総半島の洲崎を結ぶ線より北側の海域を指し、流域面積は9,076km²、流域人口は約3,100万人で、国土面積の約2%に、全人口の約24%を擁しており、わが国を牽引する膨大な都市・産業機能が集積し流入汚濁負荷量が非常に大きく、閉鎖性水域のため汚濁物質が蓄積し易いという特徴をもっており、富栄養化に伴う赤潮や有機汚濁による貧酸素水塊や青潮などが依然として発生しているために、更なる水質改善に向けた取組みが求められている(12)。

東京湾流入の汚濁負荷量(流入水量×物質濃度)に占める下水処理場由来の窒素およびリンに係る汚濁負荷量の割合は、それぞれ65.4%、60.1%とされていることから(2)、閉鎖性水域の水環境の改善のためには、下水処理場での高度処理の推進が必要不可欠である。

東京湾に流入する河川を放流先水域としている東京湾流域自治体における下水処理場施設数は、本研究を始める前の2012年現在で、埼玉県が40施設、千葉県が43施設、東京都が50施設、神奈川県が66施設であった(13)。この中で、東京湾から最も上流に位置する埼玉県内の下水処理場と放流河川は、いわゆる東京都民の水がめ的な地政学的位置関係にあることから、水質改善の重要な対象であると考えた。そこで、研究対象地域として、埼玉県を選定する根拠を、4都県の下水処理場における処理実態を調査して示した。この上で、研究対象の埼玉県内の下水処理場における処理実態を調査した。この結果を根拠として、実証実験を行う処理場を選定した。

すなわち、本章では、処理場による通年の既存データを解析することで、段階的に高度処理化する下水処理場および実証実験対象の

下水処理場を選定することを目的とした。

第 2 節 方法

第 1 項 東京湾流域自治体における処理実態

東京湾流域を構成する自治体(埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県)の下水処理施設を調査対象として、段階的な高度処理方法に係る実証実験開始前の 2012 年度の下水道統計 13) に基づいて、下水処理能力、流入下水および放流水における衛生微生物と主な水質項目の濃度実態を解析し自治体間を比較した。

第 2 項 埼玉県内の下水処理場における処理実態

段階的な高度処理方法に係る実証実験開始前の 2007 年～2012 年における 6 年間の下水道統計 13) に基づき、研究対象の 5 処理場における運転項目や水質項目の実態を解析して、実証実験を行う施設を選定するための根拠とした。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 東京湾流域自治体における処理実態

1.1 東京湾流域の下水処理施設における処理能力

東京湾流域の下水処理施設数、および処理水量を下水処理方式別の割合で Table 1-1 に示した。4 都県の下水処理施設数は、40～66 箇所であり、埼玉県が最も少なかった。この中で、高度処理施設数は 3～17 施設であり、埼玉県が最も少なかった。また、4 都県の処理施設における標準活性汚泥法による処理水量(m^3)は、 $1.6 \times 10^6 \sim 5.6 \times 10^6$ 、割合は 75～84%であった。埼玉県が最も高い割合であったことから、埼玉県内の下水処理場は、高度処理の導入が最も遅れているために早期の高度処理化が望まれると考えた。

Table 1-1. Treatment capacity in sewage treatment facilities in the Tokyo Bay basin.

Treatment capacity	Saitama	Chiba	Tokyo	Kanagawa
Number of processing facilities items (N)	40	43	50	66
Standard activated sludge method	26	28	30	50
Advanced processing method	3	12	17	13
others	11	3	3	3
Actual amount of treated water (m ³ /d) items (%)	2.0E+06	1.6E+06	5.6E+06	4.1E+06
Standard activated sludge method	84	75	78	78
Advanced processing method	15	24	21	19
others	1.0	1.0	1.0	3.0

1.2 東京湾流域の下水処理施設における水質項目の実態

流入下水および放流水に係る水質実態について、Table 1-2 に示した。

大腸菌群(CFU/mL)は、流入下水が $10^5 \sim 10^6$ 、放流水が $10^1 \sim 10^2$ であり、対数除去率は 3.1~4.3 であった。

SS(mg/L)は、流入下水が 120~170、放流水が 2.2~3.2 であり、対数除去率は 1.7~1.9 であった。

BOD(mg/L)は、流入下水が 150~190、放流水が 3.2~4.1 であり、対数除去率は 1.6~1.8 であった。

COD(mg/L)は、流入下水が 88~100、放流水が 8.4~9.3 であり、対数除去率は 1.0~1.1 であった。

TN(mg/L)は、流入下水が 30~41、放流水が 10~11 であり、対数除去率は 0.45~0.59 であった。

TP(mg/L)は、流入下水が 3.3~4.9、放流水が 0.79~1.1 であり、対数除去率は 0.55~0.77 であった。

水質項目の除去状況に関して、埼玉県の大腸菌群数が他に比べて 1 桁高いこと、4 都県ともに大腸菌群、SS、BOD に比べて、TN と TP の対数除去率は低く、特に TN の除去は進んでいないことがわかった。COD の場合は、水質項目の中で中間的な対数除去率であった。

1.1 と 1.2 の解析結果より、本研究を埼玉県内の下水処理場で実施するための根拠とした。

Table 1-2. Results of water quality items at sewage treatment plants in the Tokyo Bay basin.

Item	Sample name	Saitama	Chiba	Tokyo	Kanagawa
	Number of samples	27	32	36	48
Coliforms (CFU/mL)	Inflow sewage	1.0E+06	2.6.E+05	2.2E+05	2.3E+05
	Discharged water	4.8E+01	1.E+02	1.6E+02	7.2E+01
	Logarithmic removal ratio	4.3	3.3	3.1	3.5
SS (mg/L)	Inflow sewage	150	170	120	170
	Discharged water	2.8	3.2	2.2	2.4
	Logarithmic removal ratio	1.7	1.7	1.7	1.9
BOD (mg/L)	Inflow sewage	180	190	150	180
	Discharged water	3.4	3.2	4.1	3.5
	Logarithmic removal ratio	1.7	1.8	1.6	1.7
COD (mg/L)	Inflow sewage	96	100	88	100
	Discharged water	9.3	8.9	8.4	8.4
	Logarithmic removal ratio	1.0	1.0	1.0	1.1
TN (mg/L)	Inflow sewage	33	41	30	30
	Discharged water	11	11	11	10
	Logarithmic removal ratio	0.46	0.59	0.45	0.49
TP (mg/L)	Inflow sewage	4.0	4.9	3.3	3.8
	Discharged water	1.1	0.83	0.79	1.1
	Logarithmic removal ratio	0.57	0.77	0.62	0.55

第 2 項 埼玉県内の下水処理場における処理実績

埼玉県内の下水処理場施設は実証実験開始前の 2012 年における下水道統計 13)によると、標準活性汚泥法施設が 26 施設、高度処理施設が 3 施設、その他の処理施設が 11 施設であり、標準活性汚泥法施設が過半数を占めている。

そこで、標準活性汚泥法が処理施設の主体であり、広域的に下水を処理して公共水域への放流量が多いために、早期の高度処理が望まれている 5 箇所を対象として、2007～2012 年までの 6 年間における主要な運転項目および衛生微生物の大腸菌群数を含む水質項目について統計処理を実施した。

2.1 運転項目

運転項目の実績値(平均値)を Table 1-3 に示すとともに、処理場の特徴を比較した。

2.1.1 流入下水量

各処理場の全体流入下水量に対する標準活性汚泥法の割合は、A 処理場が 84%、M 処理場が 88%、S 処理場が 84%、N 処理場が 66%、F 処理場が 100%であった。ここで、段階的な高度処理方法への運用変更に際しては、標準活性汚泥法の割合が小さいほど、その導入効果を処理場として期待できるという利点があると考えるので、この観点からは、N 処理場が実証実験対象施設として望ましいと考えた。

2.1.2 送風倍率(Air-to-flow-ratio)

送風倍率は、流入下水量($Q\text{m}^3/\text{h}$)と反応タンクに送入する空気量($V\text{m}^3/\text{h}$)の比率であり、 Q/V で計算する。標準活性汚泥法の送風倍率は、3～7 倍程度 14)とされており、いずれもこの範囲内であった。

2.1.3 MLSS (Mixed liquor suspended solids)

MLSS は、反応タンク内混合液の活性汚泥濃度を mg/L で表したもので、反応タンクの管理指標として用いられる。標準活性汚泥法の MLSS は 1,500~2,000mg/L とされており 15)、いずれの処理場も標準濃度の下限域付近からそれ以上の濃度で運用されていた。窒素およびリンの除去を進めるための MLSS 濃度は高めが望ましいことを考慮すると、N 処理場は 1,700mg/L と最も高濃度で運用されているために、段階的な高度処理方法の実証実験対象候補と考えた。

2.1.4 汚泥返送率(Return sudge ratio(%))

汚泥返送率は、活性汚泥法における最終沈殿池からの汚泥返送流量と反応タンク流入下水量の比を%表示したものである。標準活性汚泥法の汚泥返送率は 20~30% とされている 14)が、A 処理場を除いて、標準値を上回る返送率で運用されていた。一般に、汚泥返送率を高めに設定する方が、窒素除去に対して有利であるとされている。

2.1.5 SRT (Sludge retention time)

SRT は、反応タンクと最終沈殿池一返送汚泥系に存在する活性汚泥が、それら系内に滞在している期間を意味する。標準活性汚泥法の SRT は 3~6 日 15)とされており、N 処理場は最も長かった。一般に SRT が長い方が、窒素除去に対しては有利であり、段階的な高度処理実証実験のためには有利である。

2.1.6 HRT (Hydraulic retention time)

HRT は、水理的滞留時間のことで、水や汚泥が池や槽に滞留する平均的な時間を表す。 $HRT(h)=\text{流入下水量}(Q \text{ m}^3/h)/\text{池や槽の容量}(V \text{ m}^3)$ で得られる。標準活性汚泥法の HRT は 6~8 時間とされているが 15)、いずれの処理場も標準範囲より長めで運用されていた。これは、下水道施設の設計上、実績の流入下水量に比べて将来における流入

下水量の増加を予測して、処理能力に余裕を持たせる仕様として建設しているためである。

2.1.7 SVI (Sludge Volume Index)

SVIは活性汚泥の沈降性を表す指標であり100～200が良好な状態とされているが、汚水を処理する分流式下水道では、汚水と雨水と一緒に処理することで流入下水中の無機物の割合が高くなる合流式下水道に比べて、数値が高めになる傾向があり200～300が通常の範囲となっている(15)。S、Nの両処理場は分流式下水道として整備されているために、SVIが他の処理場に比べて高めであったが、通常の処理に影響を与えないことを、運転実績において確認している。

2.1.8 BOD-SS 負荷(BOD-SS loading)

BOD-SS 負荷は反応タンク内の単位 MLSS 量あたり、1日に流入する BOD 量 $\text{kgBOD}/(\text{kgMLSS} \cdot \text{日})$ のことである。これは、反応タンクに流入する有機栄養物を BOD で、活性汚泥微生物を MLSS で代表させたもので、反応タンクの設計および運転管理の指標に広く用いられる。標準活性汚泥法の BOD-SS 負荷は 0.2～0.4 とされている(15)が、A、M 処理場は下限域に、S、N、F 処理場は、それ以下で運用されていた。標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更の際には、標準範囲をやや下回る水準での運用が有利となる。このため、A、M 処理場は研究対象候補から外れる。

5つの処理場の運転実績を比較した結果、段階的な高度処理方法による実証実験は、消去法により S または N 処理場が適していると考えた。

Table 1-3. Results of operation items at the sewage treatment plant targeted for research (2007-2012).

Plant	A	M	S	N	F
Total treated water(m3/d)	935,000	223,750	700,860	524,800	75,000
Standard method (m3/d)	790,000	197,000	590,000	348,000	50,000
Occupancy ratio%	84	88	84	66	100
Inflow sewage(m3/d)	642,000	135,000	473,000	388,000	42,000
Air-to-flow-ratio (magnification)	5.2	4.3	5.3	5.3	6.5
Standard value※1 p.98			3-7		
Return sudge ratio (%)	23	39	40	36	46
Standard value※1 p.98			20-30		
MLSS(mg/L)	1,300	1,400	1,600	1,700	1,200
Standard value※2 p.28			1,500-2,000		
SRT(d)	5.6	9.3	11	11	8.0
Standard value※2 p.28			3-6		
HRT(hr)	9.5	9.2	12	12	14
Standard value※2 p.28			6-8		
SVI	140	150	300	300	180
Standard value※2 p.57			200-300		
BOD-SS load (kgBOD/kgMLSS·d)	0.24	0.25	0.17	0.17	0.14
Standard value※2 p.28			0.2-0.4		

※1 Sewerage practical course 15-1.

※2 Sewerage maintenance guidelines 2014.

2.2 水質項目

水質項目の実績値(平均値)を Table 1-4 に示すとともに、処理場の特徴を比較した。

2.2.1 大腸菌群(TC: Total Coliforms)

流入下水の大腸菌群数(CFU/mL)は、5 処理場共に 10^5 のオーダーであった。

放流水の場合は、共に 10^1 のオーダーであり、いずれも、規制値の 3,000CFU/mL を満たしており、5 処理場は概ね安定した処理をしていたと考える。対数除去率は 3.6~4.4 であった。

2.2.2 SS (Suspended Solids)

流入下水の SS(mg/L)は 99~200 であり、処理場間の差は最大 2 倍であった。特に、S 処理場は他の処理場に比べて 2 倍近く高い濃度であった。一方、放流水の場合は A 処理場が 5.2 の他は 1.9~2.4 であり規制値 40mg/L の 1/20 以下であった。なお、S 処理場が他の処理場に比べて 2 倍以上の数値を示した。対数除去率は 1.4~2.0 であった。

2.2.3 BOD (Biochemical Oxygen Demand)

流入下水の BOD(mg/L)は 120~200 であり、処理場間の差は 2 倍程度であった。一方、放流水の場合は、A 処理場が 6.8 の他は 3.7~4.2 であり、いずれも規制値 15mg/L を満たしており、A 処理場が 1/2、その他が 1/3 程度の濃度レベルであった。対数除去率は 1.3~1.7 であり概ね同様の除去率であった。

2.2.4 COD(Chemical Oxygen Demand)

流入下水の COD(mg/L)は 81~120 であった。放流水の場合は A 処理場が 15 を超えたが、その他は 10~12 であった。水質総量規制に係る下水道業の指定濃度である 20mg/L との比較では、A 処理場を除いて、概ね 1/2 濃度であった。対数除去率は 0.79~1.0 であった。

2.2.5 全窒素(TN:Total Nitrogen)

全窒素は、有機性窒素と無機性窒素の総称であり、TN と表記する。

流入下水の TN(mg/L)は 23～31 であった。一方、放流水の場合は A 処理場が 19 で最も高く、その他が 11～15 であった。また、いずれも総量規制基準濃度 30 mg/L を満たしており、A 処理場を除いて 1/2 濃度以下であった。対数除去率は 0.15～0.35 であり、他の項目に比べて、対数除去率は低かった。

2.2.6 全リン(TP : Total Phosphorus)

全リンは、水中のリン化合物の総量をリンの量で表したものであり、TP と表記する。

流入下水の TP(mg/L)は 2.5～3.9 であった。一方、放流水の場合は F 処理場が 1.4 と最も高く、その他は 0.63～0.85 であった。また、いずれの処理場も総量規制基準濃度 3.0mg/L の 1/2 濃度以下であった。対数除去率は 0.26～0.69 であった。

5 処理場の流入水質を比較すると、S 処理場が他の処理場に比べて、全ての項目について高いことがわかった。放流水質は、A 処理場が、SS、BOD、COD、TN について、他の処理場より高い数値を示した。

水質項目の除去率は大腸菌群 > SS > BOD > COD > TP > TN であった。

研究対象の 5 処理場は、標準活性汚泥法の処理施設割合が過半数を超えていることから、窒素、リンの除去率は他の項目より低かったと考える。また、5 処理場共に、段階的な高度処理方法の導入による早期の窒素とリンの削減が必要であることがわかった。

段階的・高度処理方法による実証実験の対象施設としては、5 処理場の水質実績を比較した結果、流入下水の水質項目が最も高い S 処理場および、放流水の水質項目が高めの A 処理場は、それぞれ、実験

期間中における流入水質変動が大きくなることによる処理性能の変動、および現行の処理方法を運用変更することに伴う放流水質の変動が予想されたため、共に、第一候補からは外れると考えた。

Table 1-4. Results of water quality items for sewage treatment plants that treat sewage from multiple local governments in Saitama Prefecture.

(Survey target: 2007~2012)

Item	Sample name	Abbreviation for sewage treatment plant				
		A	M	S	N	F
Coliforms (CFU/mL)	Inflow sewage	3.3E+05	4.5E+05	5.1E+05	3.5E+05	1.1E+05
	Discharged water	7.0E+01	2.5E+01	2.2E+01	6.5E+01	2.8E+01
	Regulation value※1			3.0E+03		
	Logarithmic removal ratio	3.7	4.3	4.4	3.7	3.6
SS (mg/L)	Inflow sewage	130	120	200	140	99
	Discharged water	5.2	2.4	2.2	1.9	2.0
	Regulation value※1			40		
	Logarithmic removal ratio	1.4	1.7	2.0	1.9	1.7
BOD (mg/L)	Inflow sewage	140	120	200	160	130
	Discharged water	6.8	3.7	4.1	4.2	3.9
	Regulation value※1			15		
	Logarithmic removal ratio	1.3	1.5	1.7	1.6	1.5
COD (mg/L)	Inflow sewage	91	81	120	110	88
	Discharged water	15	11	11	12	10
	Regulation value※2			20		
	Logarithmic removal ratio	0.79	0.87	1.0	0.95	0.95
TN (mg/L)	Inflow sewage	26	25	31	30	23
	Discharged water	19	11	15	14	15
	Regulation value※2			30		
	Logarithmic removal ratio	0.15	0.34	0.33	0.35	0.19
TP (mg/L)	Inflow sewage	3.2	2.8	3.9	3.6	2.5
	Discharged water	0.80	0.63	0.85	0.73	1.4
	Regulation value※2			3.0		
	Logarithmic removal ratio	0.61	0.64	0.67	0.69	0.26

※1 Article 8 of the Sewerage Law, Article 6 of the Enforcement Ordinance.

※2 Total amount regulation standard concentration based on Article 4-5 of the Water-Pollution Control Law (in the case of the standard activated sludge method).

2-3 実験施設の選定

5 処理場の運転項目および水質項目の実績値、さらに地政学的立地条件として、東京湾河口までの流下距離が短い程、放流水質の影響が河口水域に影響するために、段階的に高度処理による放流水質改善効果を期待しやすいこと、現行における全処理能力に対する標準活性汚泥法による処理能力割合が最も小さいことで段階的に高度処理する方法の導入に係る効果測定の容易さの観点を考慮して、河口までの流下距離が 20km 未満の N 処理場を対象として段階的に高度処理する実証実験を行うことに決定した。

第 4 節 小括

第 1 項では、東京湾流域の 4 都県における標準活性汚泥法施設について、流入下水と放流水の水質実態を調査した。その結果、項目により都県間のばらつきの程度は異なるが、いずれの自治体も、窒素とリンの削減率が、他の水質項目に比べて低いことから、窒素とリン除去型の高度処理施設の導入が必要であることがわかった。特に、埼玉県は県内の全処理施設数に占める高度処理施設の割合が最も少ないこと、標準活性汚泥法による処理水量の全体に対する割合は、埼玉県が最も高い割合であったことから、4 都県の中で、最も早期に高度処理を推進する必要があると考えられた。

第 2 項では、埼玉県内において、下水の広域的な処理を行っている下水処理場の 5 か所を対象として、2007～2012 年までの 6 年間のデータについて統計処理を行い、運転項目および水質項目の実績値をもとにして、段階的・高度処理方法による実証実験を N 処理場で行うことに決定した。

第2章 衛生微生物の選定と検出培地の性能評価

第1節 緒言

我が国の下水処理放流水に係る衛生微生物の下水道法における規制項目は、現在のところ、大腸菌群数である。しかし、近年の研究によれば、大腸菌群には土壌由来の細菌種の存在や環境水中における増殖の可能性があるため、糞便汚染指標としての価値が議論されている。この間、水道法による飲料水の基準項目は大腸菌群から大腸菌に変更されており、環境基本法における環境基準についても、令和3年10月7日付けで、公共用水域の水質汚濁に係る環境基準の改正について告示され、生活環境の保全に関する環境基準のうち、大腸菌群数を新たな衛生微生物としての大腸菌数へ見直されることになり、令和4年4月1日から施行されることになった(16)。このため、今後の早い時期に、関連法令の水質汚濁防止法における排水基準、下水道法における放流水の基準項目も大腸菌群から大腸菌に変更されることになる。下水道は社会的基盤として、生活排水・産業排水と共に多種多様な病原微生物を合わせて処理していることから、下水処理水の衛生学的安全性を現行の大腸菌群数だけで担保するのは限界がある。

一般に下水処理場の流入下水には人畜及び環境由来の多種多様の微生物が存在しており、病原微生物の混在の可能性も高い。しかし、その濃度は希薄であるため、各種の病原微生物の挙動に対応する衛生微生物の選定および要件が提案されている(17)(18)。

本章では、浄化対象となる衛生微生物とその検出培地を、下水道関連法における糞便汚染指標や先行研究を参考にして選定した。すなわち、糞便汚染指標として、環境基準(19)や排水基準(20)に指定されている大腸菌群、下水処理水の再利用に関する水質基準(21)に規定

されている大腸菌、水浴場における水質判定基準 22)に規定されている糞便性大腸菌群、米国や EU 諸国の排水基準項目として選定されている糞便性連鎖球菌や腸球菌 23)に加えて、病原性指標として *Salmonella* sp.17)、汚水指標として *Citrobacter* sp. 17)を含む硫化水素産生細菌群、病原性指標および消毒抵抗性指標として *Pseudomonas* sp.および *Staphylococcus* sp. 17)を選定した。また、衛生微生物の包括的な量を把握するため、一般細菌を選定した。また、ウイルス指標として大腸菌ファージ 17)を選定した。本研究では、これらの対象細菌と大腸菌ファージを総称して、衛生微生物と定義した。次に、実下水を研究材料として、検出培地の性能を分離したコロニーを鑑別することにより評価した。特に、下水試料に対する適用例の少ない培地の検出性能は、生化学的試験を用いる同定試験により検証した。

第 2 節 材料と方法

第 1 項 下水試料及び衛生微生物

本研究は BSL2 同等以上の専用試験室を備えた S 処理場で実施した。検出培地の性能評価に用いる下水試料は、流入下水、二次処理水および放流水とした。これらの試料は冷温保存して持ち帰り、ただちに実験に供した。

第 2 項 衛生微生物と検出条件

大腸菌群、糞便性大腸菌群はデスオキシコーレイト寒天培地(栄研)、腸球菌は EF 寒天培地(日水)、硫化水素産生菌群は MLCB 寒天培地(日水)、緑膿菌群(*Pseudomonas* sp.)は NAC 寒天培地(栄研)、ブドウ球菌群(*Staphylococcus* sp.)はマンニット食塩寒天培地(栄研)に卵黄乳液(オキシイド)を 16%濃度になるように添加して調製した。また、衛生微

生物の保存培地及びカタラーゼ試験培地は普通寒天培地(栄研)を使用した。Table 2-1 に衛生微生物と検出条件を示した。

Table 2-1. Selection of hygienically relevant microbes and Detection conditions.

○Types of indicators species	symbol	Incubation condition		Detection medium
		temperature (°C)	time (hr)	
○Fecal pollution index				
Total <i>coliform</i>	TC	37	24	Desoxycholate agar medium
<i>Escherichia coli</i>	EC	37	24	Specific enzyme substrate agar medium
Fecal <i>coliforms</i>	FC	45	24	Desoxycholate agar medium
Fecal <i>streptococcus</i>	FS	37	24	Aesculin agar medium
<i>Enterococcus</i> sp.	EF	37	48	EF agar medium, KFagar medium
○Pathogenicity index				
<i>Salmonella</i> sp.	HS	37	24	MLCB agar medium
○Sewage pollution index				
<i>Citrobacter</i> sp.	HS	37	24	MLCB agar medium
○Pathogenicity, disinfection resistance index				
<i>Pseudomonas</i> sp.	PS	37	24	NAC agar medium
<i>Staphylococcus</i> sp.	SA	37	36	Egg yolk mannitol salt agar medium
○Comprehensive amount of hygienically relevant microbes				
Standard plate count	SPC	37	24	Standard agar medium
○Virus index				
Phage hosted by <i>Escherichia coli</i>	φ	37	16	Peptone agar medium

第 3 項 衛生微生物の鑑別用培地及び試薬

糞便性大腸菌群の鑑別は、主に食品の微生物検査で用いられている特定酵素基質培地法による *Escherichia coli* の検出培地である X-GAL 及び MUG 添加ラウリル硫酸ブイヨン 24)(MT-30,エルメック)を用いた。腸球菌の鑑別は、EF 寒天培地を用いた。硫化水素産生菌群の鑑別は、腸内細菌鑑別培地である TSI 寒天培地(栄研)、LIM 寒天培地(栄研)、SIM 寒天培地(栄研)を用いた。*Pseudomonas sp.*の鑑別は NAC 寒天培地(栄研)を用いた。*Staphylococcus sp.*の鑑別は GF 寒天培地(日水)を用いた。また、グラム染色用試薬、インドール試験及びカタラーゼ試験用試薬は、市販品を用いた。

第 4 項 衛生微生物の細菌種同定キット

衛生微生物の細菌種同定は、臨床検査用の簡易同定キットを用いた。すなわち、硫化水素産生菌群は腸内細菌及びその類似菌の同定キット(パイルチューブ No1、栄研)、*Pseudomonas sp.*はブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の同定キット(パイルチューブ No2、栄研)、*Staphylococcus sp.*はブドウ球菌同定キット(SP18、日水)を使用した。

第 5 項 衛生微生物の検出方法

下水試料 10mL を中試験管に分取し、試験管ミキサーを用いて 10 秒間攪拌して分散処理をおこなった。下水試料の希釈は滅菌生理食塩水を用いた。希釈倍率は、一般細菌が 10^{-3} ~ 10^{-6} 、糞便性大腸菌群が 10^{-2} ~ 10^{-4} 、腸球菌が 10^{-1} ~ 10^{-3} 、硫化水素産生細菌群が 10^0 ~ 10^{-2} 、*Pseudomonas sp.*が 10^0 ~ 10^{-2} 、*Staphylococcus sp.*が 10^0 ~ 10^{-1} とした。定量に際しては、原則として、試料の 10 倍希釈列を 3 オーダーにわたって調製し、一希釈段階につき 0.1mL ずつ 2 枚の平板培地に接種・塗抹した。二次処理水および放流水のように衛生細菌の現存量が希薄であると予想される検体は、希釈せずに 0.1mL ごとに 10 枚の平板

培地に接種・塗抹した。下水試料接種後の寒天プレートは、それぞれの定量条件により培養し、釣菌可能なコロニー数(原則として 30～300 CFU/プレート)の希釈段階のプレートを検出に用いた。

第 6 項 平板培養法による衛生微生物の鑑別及び同定方法

6.1 鑑別・同定供試菌株の調製及び保存方法

同一の寒天プレートに出現した典型コロニーを可能な限り釣菌し、同一の新たな寒天プレートに画線培養する操作を 2 回繰り返した。次にその一部を普通寒天スラントに一白金耳量接種して 24 時間培養し、グラム染色法により、*Staphylococcus sp.*はグラム陽性球菌であることを、その他の衛生微生物はグラム陰性桿菌であることを光学顕微鏡下で確認して供試菌株及び保存菌株とした。保存温度は室温とし、菌株の植え継ぎは、原則として 2 か月毎に行った。

6.2 *E.coli* の鑑別方法

E.coli の鑑別は、供試菌株をラウリル硫酸ブイヨン培地に 1 白金耳量接種し、37°C24 時間培養後の培養液の青変、紫外線(366nm)存在下における培養液の蛍光発色性及びインドール試験により行った。

6.3 腸球菌の鑑別方法

腸球菌の鑑別は、EF 寒天培地上に出現したコロニーの色調を鑑別計数することにより行った。すなわち、茶色コロニーは、*Enterococcus faecalis*、黄色コロニーは *E.faecum* である。

6.4 硫化水素産生菌群の鑑別方法

硫化水素産生菌群の鑑別は、供試菌株を TSI 寒天スラント、LIM 高層スラント、SIM 高層スラントにそれぞれ接種し、37°C24 時間培養後の培養所見及びインドール試験により行った。

6.5 *Pseudomonas sp.*の鑑別方法

*Pseudomonas sp.*の鑑別は、供試菌株を NAC 寒天スラントに接種

し、37°C 24 時間培養後の黄緑または青色色素の産生、紫外線(366nm)存在下における蛍光発色性の有無により行った。蛍光発色のみ陰性の供試菌は、前述の TSI 寒天スラントに接種し、腸内細菌特有のスラント色調(ブドウ糖発酵性、高層黄色)の有無を確認した。

6.6 *Staphylococcus* sp.の鑑別方法

Staphylococcus sp.の鑑別は、供試菌株を GF 寒天培地の高層スラントに接種し、37°C培養後 5 日以内の培地の黄変から判定した。また、カタラーゼ試験は、定法により行った。

6.7 鑑別した細菌種の同定

それぞれの選択培地から分離鑑別された細菌種毎に無作為に 5 株を選択して供試菌株とした。供試菌株の同定は、簡易同定キットによる生化学的試験の結果を解析プロファイル 25)26)と照合することにより行った。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 下水処理過程から分離した衛生微生物の鑑別

1.1 糞便性大腸菌群の場合

糞便性大腸菌群に占める *E.coli* の存在比率を、流入下水及び二次処理水を検体として、特定酵素基質培地法を用いて調べ Fig. 2-1 に示した。コロニーの検出に適した希釈倍率は、流入下水について、37°C 培養が 10^{-4} 、44.5°C 培養が 10^{-3} であり、放流水について 37°C 培養が 10^{-1} 、44.5°C 培養が 10^0 であった。

E.coli の存在比率は、流入下水の場合、37°C 培養のとき 50% および 48% のものが、44.5°C 培養により 80% および 94% に高まることがわかった。二次処理水については、69% および 74% のものが、共に 100% となった。ここで、非発色性の *E.coli* が流入下水分離株中に 5

～15%、二次処理水分離株中に9～13%検出された。非発色性の *E.coli* には、腸管出血性 *E.coli* O157 が含まれている (24)。しかし、O157 株と同定するには志賀毒素検出のための詳細な検査を必要とするため、病原性の検討は実施しなかった。なお、真性の O157 株は 44.5°C 培養では生育が抑制されると言われている (27) ことから、分離した *E.coli* は単に非発色性すなわち、 β -グルコニダーゼ⁺ 欠損株であったものと推察される。

従来の高温培養法に特定酵素基質培地法を併用することにより、病原性 *E.coli* の存在を推定できる可能性があり、*E.coli* の衛生細菌としての価値を高めることができると考えられる。

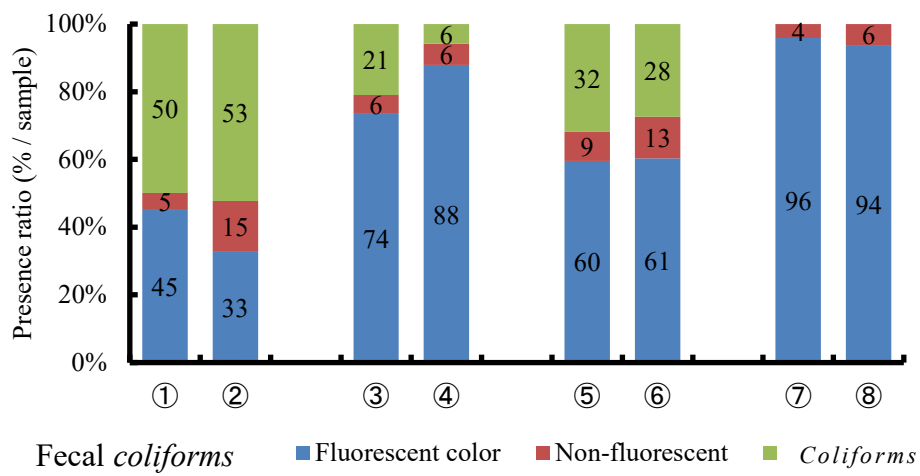


Fig. 2-1. Presence ratio of bacterial species in fecal *coliforms*.

①,②: Inflow sewage (separation temperature: 37°C)

③,④: Inflow sewage (separation temperature:45°C)

⑤,⑥: Secondary treated water (separation temperature: 37 °C)

⑦,⑧: Secondary treated water (separation temperature: 45°C)

1.2 腸球菌の場合

流入下水から 5 回、二次処理水から 5 回の頻度で腸球菌を検出し、鑑別試験を行い、腸球菌の菌種構成比率を Fig. 2-2 に示した。

コロニーの検出に適した希釈倍率は、流入下水では 10^{-3} 、二次処理水では 10^{-2} 、放流水では 10^{-1} であった。

下水処理過程における *Enterococcus faecalis*/*E.faecium* 比は、平均値ベースで比較すると、流入下水では 1.3、二次処理水では 1.0 であり、*E.faecalis* が優占しているのに対して、放流水では 0.4 と *E.faecium* が優占していることがわかった。

国府島 28)は、河川水及び海水などの環境水から分離した腸球菌 100 株について菌種分類を行い、*E.faecium* が全菌株の 57%を占めていたと報告している。この報告と今回の結果を考え合わせると、*E.faecium* は、自然環境の物理化学的要因に対してだけでなく、塩素消毒処理に対しても抵抗性を持つものと推察される。*E.faecalis* については、昆虫及び植物由来の菌種の存在を指摘する報告 29)もあることから、糞便汚染指標として *E.faecium* の方が優れていると考えられる。

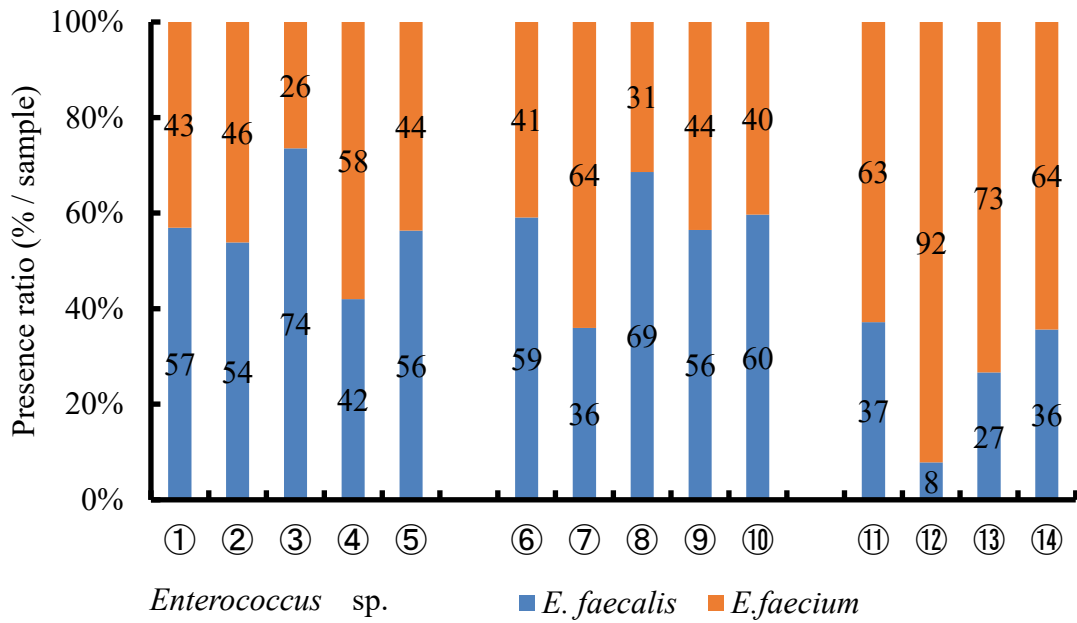


Fig. 2-2. Presence ratio of bacterial species in *Enterococcus* sp.

① ~ ⑤: Inflow sewage

⑥ ~ ⑩: Secondary treated water

⑪ ~ ⑭: Discharged water

1.3 硫化水素産生細菌群の場合

流入下水から 3 回、二次処理水から 5 回の頻度で硫化水素産生細菌群を検出し、鑑別試験を行った。コロニーの検出に適した希釈倍率は、流入下水では 10^{-2} 、二次処理水では 10^{-0} であった。

Fig.2-3 に示すとおり、流入下水から分離された 57 株のうち、*Citrobacter sp.* が 53 株で試験毎の存在比率は 87~96% と高く、比率の変動は少なかった。*Proteus sp.* は 4 株及び 4~13% であり、*Salmonella sp.* は検体をあらかじめ希釈していることもあり検出されなかった。二次処理水から分離された 68 株については、*Citrobacter sp.* が 45 株で試験毎の存在比率は 42~90% であった。*Proteus sp.* は 18 株および 10~58% であった。また、2 株および 5~8% が *Salmonella sp.* と鑑別された。この *Salmonella sp.* は、検出に用いた MLCB 寒天培地の特性からチフス症原因菌の可能性はないものと考えられた (30)。*Salmonella sp.* が、流入下水では検出されず、二次処理水で検出されたことについて、試料の希釈倍率の相違が影響していることが考えられる。すなわち、寒天平板プレートによるコロニーの検出は 30~300CFU 程度であるとされているが、流入下水試料は、二次処理水に比べて希釈倍率を高く設定している。このため、存在量が、希釈倍率のオーダーより少ない場合は検出されないことになる。そこで、流入下水から *Salmonella sp.* を検出・定量するためには、増菌用の選択培地を用いる MPN 法の適用が必要であると考えられる。*Salmonella sp.* が、試料の希釈倍率が流入下水に比べて 2 オーダー低い二次処理水で検出されたことから、流入下水中の存在量によっては、必ずしも二次処理ができない場合が想定された。硫化水素産生細菌群における細菌種の現存量は、流入下水及び二次処理水ともに、*Citrobacter sp.* > *Proteus sp.* > *Salmonella sp.* の順であるものと判断される。

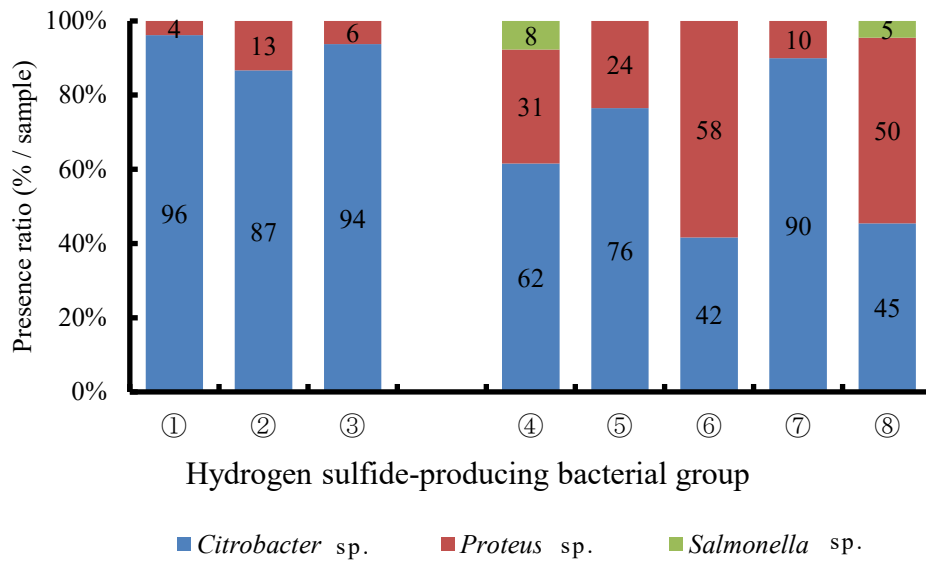


Fig. 2-3. Presence ratio of bacterial species in the hydrogen sulfide-producing bacterial group.

① ~ ③: Inflow sewage , ④ ~ ⑧: Secondary treated water

1.4 *Pseudomonas sp.*の場合

流入下水から4回、二次処理水から3回の頻度で *Pseudomonas sp.* を検出し鑑別試験を行った。

コロニーの検出に適した希釈倍率は、流入下水では 10^{-2} 、二次処理水では 10^{-1} であった。

Fig.2-4 に示すとおり、流入下水から分離された119株のうち96株が *Pseudomonas sp.* と鑑別され、試験毎の存在比率は67~90%であった。二次処理水から分離された80株のうち30株が *Pseudomonas sp.* と鑑別され、試験毎の存在比率は25~41%であった。二次処理水分離株に占める *Pseudomonas sp.* の割合が流入下水分離株に比べ減少していた理由として、活性汚泥中の原生動物や微小後生動物による捕食や *Pseudomonas sp.* の活性汚泥への定着による除去が推察される。

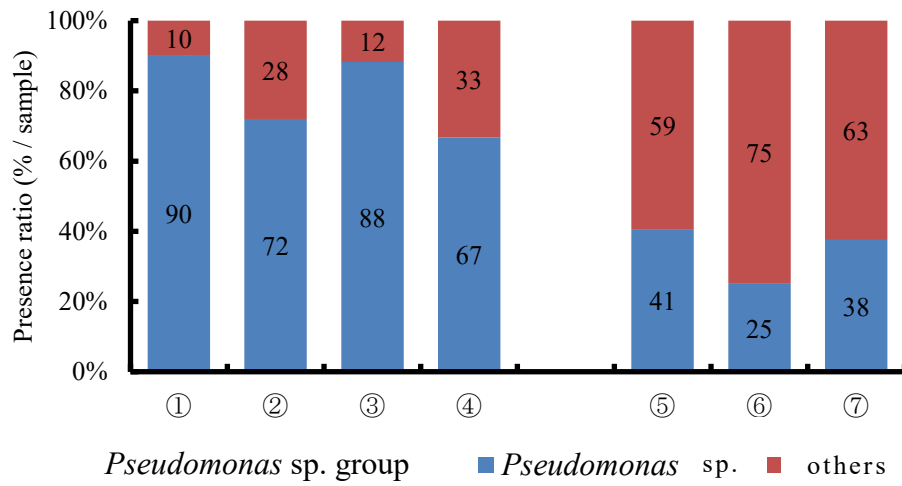


Fig. 2-4. Presence ratio of bacterial species in the *Pseudomonas* sp.

① ~ ④: Inflow sewage , ⑤ ~ ⑦: Secondary treated water

1.5 *Staphylococcus* sp.の場合

流入下水由来株について 10 回の鑑別試験を行い、Fig. 2-5 に示した。卵黄反応陽性菌は、5 株すべてが *Staphylococcus* sp.と鑑別され、存在比率は 100%であった。また、卵黄反応陰性菌 133 株のうち 10 株が卵黄反応陰性の *Staphylococcus* sp.として鑑別され、残りの類似菌は、GF 培地によるブドウ糖発酵性試験結果が陰性であるという鑑別所見から *Micrococcus* sp.の可能性が考えられた 30)。実験毎の卵黄反応陰性 *Staphylococcus* sp.の存在比率は 0~14%であった。これらの結果から、流入下水中に混入している *Staphylococcus* sp.の存在量は、大腸菌を主体とする腸内細菌や緑膿菌にくらべ極めて少なく、下水処理過程における平板培養法を用いた *Staphylococcus* sp.の検出の可能性は低いと判断された。

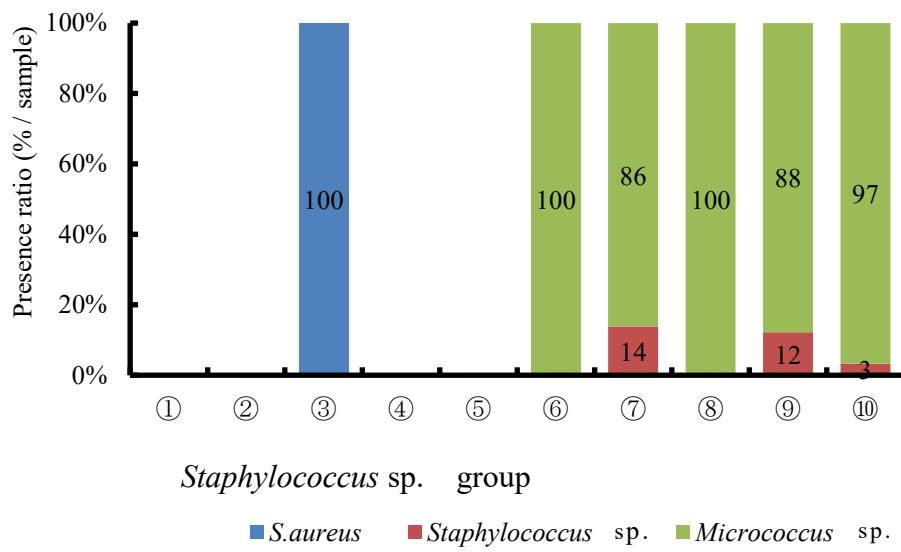


Fig. 2-5. Presence ratio of bacterial species in the *Staphylococcus* sp.

① ~ ⑤ : Egg yolk reaction positive

⑥ ~ ⑩ : Egg yolk reaction negative

第 2 項 鑑別した細菌種の同定

2.1 硫化水素産生細菌群の場合

二次処理水由来の供試菌株を対象として、鑑別試験により分類された細菌種毎に同定を行い Table 2-2 に示した。*Citrobacter* sp. の 5 株は、生化学的性状が異なるものの共に *Citobacter freundii* と同定された。*Proteus* sp. の 5 株のうち 2 株が *P. vulgaris*、3 株が *P. mirabilis* と同定された。また同一菌種でも生化学的性状はそれぞれ部分的に異なっていた。*Salmonella* sp. として 2 株が同定され、法定伝染病原因菌の可能性は否定された。今回鑑別・同定された *Citrobacter* sp. 及び *Proteus* sp. は、日和見病原菌としても知られている (31)。また、*Salmonella* sp. の中には食中毒原因菌も含まれている (32)。ここで、デスオキシコーレイト寒天培地に出現するコロニーの中で *Citrobacter* sp. は真性の *E. coli* と区別がつかないこと、*Proteus* sp. 及び *Salmonella* sp. は赤色を呈さないため計測されないことから、*E. coli* が優占する下水試料を定量対象として *Citrobacter* sp. や *Proteus* sp. および *Salmonella* sp. の存在量を把握する場合には、*E. coli* の生育抑制効果が高く、これら 3 菌種の硫化水素産生能をマーカーとしてコロニーの判別が容易な MLCB 寒天培地が適していた。

Table 2-2. Properties and identification of colonies separated and differentiated using MLCB agar medium.

Identified bacterial species	<i>Salmonella</i> sp.		<i>Citrobacter</i> sp.		<i>Proteus</i> sp.				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Property pattern	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Number of applicable strains	1	1	3	2	1	1	1	1	1
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea decomposition	-	-	-	-	-	-	+	+	+
IPA reaction	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfide production	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose fermentation	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysine decarboxylation	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Ornithine decarboxylation	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Motility	+	+	+	-	+	-	-	+	+
Indole production	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Utilization of citrate	+	+	-	+	+	+	+	-	+
VP reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Nucleic acid degradation	-	-	-	-	-	-	-	+	-

+ : Positive, - : Negative

Property pattern	Bacterial species
A,B	<i>Salmonella</i> sp.
C,D	<i>Citrobacter freundii</i>
E,F	<i>Proteus vulgaris</i>
G,H,I	<i>Proteus mirabilis</i>

2.2 *Pseudomonas* sp.の場合

二次処理水由来の供試菌株を対象として *Pseudomonas* sp.とその他の分離株の同定を行い、Table 2-3 に示した。*Pseudomonas* sp.と鑑別された供試菌株は *Pseudomonas aeruginosa* や、同属の *Ps.putida* 及び *Ps.fluorescens* と同定された。その他の分離株は、*Acinetobacter calcoaceticus*、*Alcaligenes xyloxydans* と同定された。これらの細菌株は流入下水由来菌だけでなく、活性汚泥構成細菌としても検出されている (33)ことから、二次処理水中への流出の可能性を裏付けるものである。なお *Pseudomonas* sp.と鑑別されなかった細菌株の中に *Ps.putida* と同定されたものがあつた。*Pseudomonas* sp.の検出及び定量に用いた NAC 寒天培地は、その成分として ナリジキシン酸やセトリマイドを添加しているため、腸内細菌の生育を抑制する効果が高い (34)。このことは、すべての分離株が腸内細菌特有のブドウ糖発酵性を示さなかつたことから裏付けられる。以上の結果から、本培地は腸内細菌の優占する下水試料からの *Pseudomonas* sp.の定量培地として有用であつた。*Pseudomonas* sp.の細菌種が衛生細菌の *P.aeruginosa* の他に 2種類同定され見かけの *P.aeruginosa* 数を過大評価することになるが、衛生学的見地からは安全側となるため支障ないと考える。今回同定された 3種類の *Pseudomonas* sp.は共に日和見感染症原因菌として注目されている細菌種であり (31)、下水処理水の衛生学的安全性を確保するうえで、病原微生物そのものの指標としての価値が期待される。

Table 2-3. Properties and identification of colonies separated and differentiated using NAC agar medium.

Identified bacterial species	<i>Pseudomonas</i> sp.					others				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Number of applicable strains	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose fermentation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase reaction	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
Utilization of citrate	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol oxidation	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Xylose oxidation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
Nucleic acid degradation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decomposition of acetamide	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-

+ : Positive, - : Negative

Property pattern	Bacterial species
A,B,C	<i>Pseudomonas putida</i>
D	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
E	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
F	<i>Pseudomonas putida</i>
G,H	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
I,J	<i>Alcaligenes xyloxydans</i>

2.3 *Staphylococcus* sp.の場合

卵黄反応陽性菌と陰性菌について同定試験を行い Table 2-4 に示した。卵黄反応陽性の *Staphylococcus* sp.は、それぞれ部分的に生化学的性状が異なっているものの、すべて *St. aureus* と同定された。ここで、*St. aureus* の検出マーカーのひとつである マンニット分解能を欠損した *St.aureus* の存在が明らかとなったことから、*St.aureus* の検出・定量に際しては、卵黄反応の有無が有力な存在指標であった。

ここで、卵黄反応陰性の *Staphylococcus* sp.は 1 株が *St.hyicus*、1 株が *St.caprae* B、残りの 3 株が *St.sciuri* と同定された。ここで、卵黄反応陰性 *Staphylococcus* sp.は日和見感染症原因菌としての可能性が注目されている 18)。また、*St. aureus* が検出されない検体からも卵黄反応陰性 *Staphylococcus* sp.がわずかながら検出されている。しかし、定量に用いた培地はその特性から多数の類似菌の生育を許すため、平板培養法だけで卵黄反応陰性ブドウ球菌の存在を確認できない。そこで、検出性能を高めるためには、より選択性のすぐれた *Staphylococcus* sp.の検出・定量用培地の開発が望まれる 35)。

Table 2-4. Properties and identification of colonies separated and differentiated using egg yolk-added mannitol salt agar medium.

Identified bacterial species	<i>S.aureus</i>			<i>Staphylococcus</i> sp.				
	Egg yolk reaction positive bacteria			Egg yolk reaction negative bacteria				
Property pattern	A	B	C	D	E	F	G	H
Number of applicable strains	1	3	1	1	1	1	1	1
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose fermentation	+	+	-	+	+	-	+	-
Trehalose fermentation	+	+	-	+	+	+	-	-
Maltose fermentation	+	+	+	-	+	+	+	+
Sucrose fermentation	+	+	+	-	+	+	+	+
Raffinose fermentation	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose / arabinose fermentation	-	-	-	-	+	+	+	+
Turanose fermentation	+	+	+	-	+	+	+	+
N-Acetylglucosamine fermentation	+	+	+	-	+	+	+	+
Nucleic acid degradation	+	-	+	-	-	+	+	+
Mannitol oxidation	-	+	+	-	+	+	+	+
Fructose fermentation	+	+	+	+	+	+	+	+
Phosphatase activity	+	+	+	+	+	+	+	-
VP reaction	+	+	+	-	+	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+
Urea production	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine dehydrogenation	+	+	+	+	+	+	+	+
β -galactosidase production	-	-	-	+	+	-	-	-

+ : Positive, - : Negative

Property pattern	Bacterial species
A,B,C	<i>Staphylococc aureus</i>
D	<i>Staphylococc hyicus</i>
E	<i>Stapyloccu caprae B</i>
F,G,H	<i>Stapyloccu sciuri</i>

第4節 小括

研究対象の衛生微生物を、下水道関連法や先行研究、並びに海外における排水基準項目を参考に選定した。検出培地の性能は、検出したコロニーを純化したのちに鑑別する手法により評価した。下水試料に対する適用例が少ない培地については、鑑別した細菌種を生化学的性状に基づき同定する手法により詳細に検証した。

ここで得られた知見は次のとおりである。

- (1)糞便性大腸菌群に占める大腸菌の存在比率は、特定酵素基質培地法による鑑別試験の結果、流入下水由来菌株で79～94%、二次処理水由来菌株で100%であった。
- (2)EF寒天培地で分離した腸球菌の優占菌種は、流入下水、二次処理水では *E.faecalis* であったが、放流水では *E.faecium* であった。
- (3)MLCB寒天培地で分離した硫化水素産生菌群の鑑別及び同定を行った。流入下水由来菌株の87～96%、二次処理水由来菌株の42～83%が汚水指標の *Citrobacter* sp.と鑑別され、菌種として *Citrobacter freundii* が同定された。同様に流入下水由来菌株の4～13%、二次処理水由来菌株の8～58%が病原性指標の *Proteus* sp.と鑑別され、菌種として *Proteus vulgaris* 及び *Proteus mirabilis* が同定された。また、二次処理水から分離・鑑別された *Salmonella* sp.は病原性指標の *Salmonella* sp.と同定された。
- (4)NAC寒天培地で分離した緑膿菌群の鑑別及び同定を行った。流入下水由来菌株の60～90%、二次処理水由来菌株の25～41%が病原性および消毒抵抗性指標の緑膿菌と鑑別され、菌種として *Pseudomonas aeruginosa*、*Ps. putida*、*Ps. fluorescens* が同定された。また、類似菌株はすべて、ブドウ糖非発酵性であり、菌種として *Acinetobacter calcoaceticus*、*Alcaligenes xyloxydans* が同定された。なお、これらの

細菌種は、いずれも活性汚泥構成細菌として検出されている細菌種であった。

(5)卵黄加マンニット食塩寒天培地で分離した *Staphylococcus* sp.の鑑別・同定を行った。流入下水由来の卵黄反応陽性菌はすべて *Staphylococcus aureus* と鑑別・同定された。卵黄反応陰性菌の3~14%が *Staphylococcus* sp.と鑑別され、菌種として *St. hyicus*、*St. caprae* B、*St. sciuri* が同定された。また、類似菌株は *Microoccus* sp.と鑑別された。このように、ブドウ球菌用培地に加えた卵黄反応の有無により *Staphylococcus* sp.の検出を簡便化することができた。

第3章 標準活性汚泥法による衛生微生物の除去

第1節 緒言

大腸菌群数は糞便汚染の指標として、我が国では長年にわたり評価されており、下水処理場からの放流水に対する排水基準も大腸菌群数 $\leq 3,000$ CFU/mLと定められている。しかし、近年、大腸菌群数は土壌由来の細菌種の存在や、原虫・ウイルスのように消毒耐性が大腸菌群とは異なる病原微生物による水系汚染、薬剤耐性の大腸菌、腸球菌、黄色ブドウ球菌のような医療廃棄物と共に下水道に混入する微生物、サルモネラやビブリオのように、食品廃棄物、食肉や魚介類のような輸入産物に付随して我が国に持ち込まれ、流通過程を経て最終的に廃棄物に付随して下水道に混入する微生物が下水処理過程をすり抜けて公共水域を汚染することが懸念されており、PCR法による網羅的分析などが、研究機関において始まっている(36)(37)。しかし、行政検査項目としての大腸菌群数を除くと、下水処理過程における衛生微生物の挙動に関して、複数種の同時測定による除去実態についての先行研究は少ない(38)(39)。

標準活性汚泥法の処理施設における現行の運用形態は、浮遊物質(SS)やBODの除去に加えて、放流水BODの上昇を抑制するために、反応タンクにおけるアンモニア態窒素の除去を積極的に進める、いわゆる硝化促進型の運転と、硝化反応自体を抑制する、いわゆる硝化抑制型の運転を行っている。2つの方法は、いずれも、硝化細菌による硝化反応の促進又は抑制のために、反応タンクのSRT(固形物滞留時間)やDO(溶存酸素量)、MLSS(活性汚泥濃度)の調整が運転管理上のポイントとなっている(15)。また、これらの運転項目は、次章で述べる段階的・高度処理方法の運転項目にもなっている。

ここで、段階的な高度処理方法の導入効果を評価するためには、

導入前の標準活性汚泥法による衛生微生物の除去実態について明らかにする必要がある。そこで、硝化抑制型と硝化促進型の運用を行っている処理場を研究対象として、段階的な高度処理方法の基本処理方式である標準活性汚泥法の下水処理過程における衛生微生物の挙動に着目して、次の除去実態を明らかにすることを目的とした。

(1)衛生微生物(細菌指標)の除去、(2)衛生微生物(ウイルス指標)の除去、(3)衛生微生物(病原性指標)の除去、(4)反応タンク活性汚泥による衛生微生物の除去

第 2 節 材料と方法

第 1 項 衛生微生物（細菌指標）の除去

1.1 対象施設

調査は、M および S 処理場で実施した。両処理場は、①分流式下水道(生活排水の処理を主体とする下水道)として整備されていること、②反応タンクの運転が硝化促進型(M 処理場)と、硝化抑制型(S 処理場)で異なること、③県内の北部地域(M 処理場)と南部地域(S 処理場)の中核処理場であり、県内の広域的な処理を行う下水道の処理状況の把握に適していると判断したために、選定した。

1.2 調査項目

本調査は 1994 年 6 月から 10 月まで、月 1 回の頻度で実施した。

調査項目は衛生微生物の定量試験、水質項目の SS 測定、および放流水について pH、透視度、SS、COD、残留塩素の測定を行った。その他の下水処理運転管理データは、各処理場から提供されたものである。

1.3 試料採取

試料採取は同一日の午前 10 時に S 処理場、午後 2 時に M 処理場で行い、試料は、衛生微生物の検査機材が整っている F 処理場に持

ち込んで、当日中に衛生微生物と水質項目の分析を実施した。

下水試料は、M および S 処理場の流入下水、一次処理流入水、一次処理水、二次処理水、および放流水を対象に採取し検体とした。細菌検査用の検体は、100mL 滅菌ポリビンおよび消毒済み放流水についてはチオ硫酸ナトリウム添加済み滅菌ポリビン(ともに栄研)に採取し、一般水質項目の分析用検体は 500mL 容ポリビンに採取した。これらの検体は冷暗保存して持ち帰り、ただちに実験に供した。

1.4 衛生微生物

調査対象の衛生微生物は、第 1 章で選定した細菌種から一般細菌、糞便性大腸菌群、腸球菌、硫化水素産生菌群、緑膿菌群 (*Pseudomonas* sp.を含む)、ブドウ球菌群 (*Staphylococcus* sp.を含む) を選定した。

1.5 定量培地

衛生微生物の定量培地は、第 1 章で選定した培地の中から、下水処理の現場において入手容易で培地の調製が簡素な市販品を使用した。すなわち、一般細菌は標準寒天培地(栄研)、糞便性大腸菌群はデスオキシコーレイト寒天培地(栄研)、腸球菌は EF 寒天培地(日水)、硫化水素産生菌群は MLCB 寒天培地(日水)、緑膿菌群は NAC 寒天培地(栄研)、ブドウ球菌群はマンニット食塩寒天培地(栄研)に卵黄乳液(オキシイド)を 16% 添加して調製したものである。

1.6 定量方法

検体 10mL を中試験管に分取し、試験管ミキサーを用いて 10 秒間攪拌して分散処理を行った。検体の希釈は滅菌生理食塩水を用いた。希釈倍率は、一般細菌が $10^{-3} \sim 10^{-6}$ 、糞便性大腸菌群が $10^{-2} \sim 10^{-4}$ 、腸球菌が $10^{-1} \sim 10^{-3}$ 、硫化水素産生細菌群が $10^0 \sim 10^{-2}$ 、緑膿菌群が $10^0 \sim 10^{-2}$ 、ブドウ球菌群が $10^0 \sim 10^{-1}$ とした。定量に際しては、一希釈段階につき 0.1mL ずつ 2 枚の平板培地に接種・塗抹した。出現し

たコロニーは定法にしたがってデータ処理して試料 1mL 当たりの CFU を算出した。二次処理水および放流水のように衛生細菌の現存量が希薄であると予想される検体は、希釈せずに 0.1mL ごとに 10 枚の平板培地に接種・塗抹し、出現コロニーの合計数より mL あたりの CFU をもとめた。衛生細菌の定量条件は Table 2-1 のとおりである。

第 2 項 衛生微生物(ウイルス指標)の除去

2.1 対象施設

調査対象施設は、硝化抑制運転の A、S、N 処理場の 3 箇所と、硝化促進運転の M、F 処理場の 2 箇所し、それぞれ異なる期間で実施した。なお、S と M 処理場における調査は、衛生微生物(細菌指標)との関係についても調査するため、第 1 項の調査と同時に実施した。

2.2 試料採取

対象試料は、流入下水、一次処理水、二次処理水、放流水の各処理過程水と、反応タンクの流下方向における各区画の活性汚泥とその上澄み水とした。試料採取は原則として毎月 1 回以上、朝 10 時に実施した。

2.3 調査項目

衛生微生物(ウイルス指標)の大腸菌ファージ(*E.coli* K-12、IAM1264 および *E.coli* B、IAM1268 を、それぞれの宿主とする DNA ファージ)を選定した。一般水質項目は、浮遊物質(SS)とした。

なお、S と M 処理場については、衛生微生物(細菌指標)の量的関係を調査するために、第 1 項の衛生微生物(細菌指標)に関する研究と同時に実施した。

2.4 衛生微生物の定量方法

衛生微生物(ウイルス指標)の定量方法は、先行研究 40) に従った。

すなわち、下水試料における大腸菌ファージの定量に際しては、下水試料からのファージの回収率を優先するために、下水試料に共存する汚濁物質や細菌類の除去操作(ろ過処理)は行わずに、その 0.1mL を寒天プレートに接種し、併せて大腸菌培養液(対数増殖期)の 0.1mL を宿主菌として接種したのち、上層寒天培地(寒天濃度 0.6%)の 4mL を重層した。寒天プレートが固化したのち、37°C16 時間培養後の出現プラークをすべて計数してファージ量(PFU/mL)を求めた。この時の定量下限は 10PFU/mL である。また、二次処理水や放流水のように、ファージ濃度が重層法による定量下限未満であると予想される試料に対しては、直接定量法を適用した。すなわち、試料の 100mL に大腸菌の一次培養液(定常期)を 5mL 添加したのち、2 倍濃度の上層寒天培地の 100mL を加え、合計量の 205mL を角型シャーレの複数枚に分注し固化させた。その後、重層法と同様の培養条件でファージを定量した。この時の定量下限は、0.01 PFU/mL である。なお、今回の調査では、下水中に浮遊しているファージ、および浮遊物質に付着もしくは吸着しているファージのなかで定量操作により離脱もしくは遊出したファージを対象として定量し、溶原化したファージに対する物理化学的刺激による誘発処理は実施しなかった。

2.5 処理過程における現存量と除去率

衛生微生物(ウイルス指標)の現存量は、県内 5 箇所処理場において実施した。処理過程における衛生微生物の除去率は、一次処理過程は流入下水ベース、二次処理過程は一次処理水ベース、消毒処理を含む総合除去率は流入下水ベースとして、対数除去率を算出した。

2.6 大腸菌ファージと衛生微生物(細菌指標)との濃度相互関係

調査は、第 1 節同様、M および S 処理場で実施した。すなわち、試料の採取は月 1 回の頻度で 5 か月間実施した。試料採取は同一日

の午前 10 時に S 処理場、午後 2 時に M 処理場で行い、試料は、衛生微生物(ウイルス指標および細菌指標)の定量機材が整っている F 処理場に持ち込んで当日中に、衛生微生物(ウイルス指標および細菌指標)の定量と水質項目として浮遊物質 (SS) の分析を実施した。

第 3 項 衛生微生物(病原性指標)の除去

3.1 調査箇所

調査は、F 処理場で実施した。この理由は、流入下水量が 5 処理場の中で最も少なく、病原性指標のサルモネラが流入した場合の下水による希釈影響を最小限とすることで、検出の可能性を高めることを考慮したものである。

3.2 サルモネラの分離源

下水試料として流入下水、一次処理水、二次処理水を用いた。下水を処理する過程で発生する汚泥の試料として、一次処理に伴う沈殿汚泥、二次処理に伴う余剰汚泥、これらの汚泥をまとめて濃縮した後の濃縮汚泥、濃縮汚泥を嫌氣的硝化处理した後の消化汚泥を用いた。これらの試料は、調査当日の原則として午前 9 時に採取して BSL2 同等以上の専用試験室で直ちに実験に供した。

3.3 抗生物質

低中高の 3 段階濃度を含むディスクからなる 3 濃度ディスク(栄研化学)を用いた。すなわち、ペニシリン系のベンジルペニシリン(PC;0.5,2,10u)、アンピシリン(PcA;2,5,20 μ g)、カルベニスリン(PcB;5,20,50 μ g)、アミドグリコシド系のカナマイシン(KM;5,10,30 μ g)、テトラサイクリン系のテトラサイクリン(TC;5,20,30 μ g)、クロラムフェニコール系のクロラムフェニコール(CM;5,10,30 μ g)、キノロン系のナリジクス酸(NA;2,5,15 μ g)である。

3.4 サルモネラの検出方法

3.4.1 下水試料の場合

流入下水または一次処理水の 10mL を亜セレン酸添加の 2 倍濃度 SBG 増菌培地 10mL に接種し 43°C で 24 時間培養した。次に培養液の一白金耳量を MLCB 寒天培地および DHL 寒天培地(共に栄研化学)のそれぞれ 2 枚に画線し 37°C で 24 時間培養した。そして出現した疑わしい黒色集落をプレート当たり数個釣菌し、TSI 寒天培地、LIM 及び SIM 寒天培地(共に栄研化学)で鑑別試験を行った。この試験でサルモネラと鑑別されたコロニーについて、サルモネラ O 診断用免疫血清(デンカ生研: O 多価、O 1 多価)によるスライド上凝集反応試験を行い、陽性のものをサルモネラと判定した。

サルモネラの定量は下水試料の接種量 10、1、0.1mL の 3 本立ての Most Probable Number method(MPN 法)により行った。このときの定量下限は 3 MPN/100mL である。

二次処理水からのサルモネラの検出は国府島の方法 41)に準じて行った。すなわち二次処理水 100mL を滅菌メンブランフィルター(0.45 μ m)で吸引濾過した後、亜セレン酸添加 SBG 増菌培地の 10mL にフィルターを浸漬し 43°C で 24 時間培養した。その後の操作は前述のとおりである。

3.4.2 汚泥試料の場合

汚泥試料を湿潤状態のまま 3,000rpm で 10 分間遠心処理した後の汚泥ペレットの 1.0g を亜セレン酸添加 SBG 増菌培地 10mL に投入し 43°C で 24 時間培養した。その後の操作は前述のとおりである。

3.4.3 サルモネラ亜種の同定方法

サルモネラ亜種の同定は、簡易同定キット(日水製薬、EB-20)を用いての生化学的検査結果を解析プロファイル 42)と照合すること

により行った。

3.4.4 薬剤耐性試験方法

下水及び汚泥試料から分離・同定されたサルモネラの保存菌株を感受性ブイヨン培地(栄研化学) 5mL に一白金耳量接種し 37°Cで 20 時間培養した。この 0.15mL をあらかじめ角シャーレ 1 号(栄研化学) に分注して調製したミュラーヒントン S 寒天平板(栄研化学)に滅菌ステックを用いて均一に塗抹した。次に、3 濃度ディスクを水平に置き、軽くおさえた後に 37°Cで 24 時間培養した。培養後のディスクの対角線上の辺縁から 1 mm 以上の阻止円ができた場合を阻止円+とし、各濃度の阻止円の有無の組み合わせから耐性の程度を判定した。すなわち、高中低濃度の順に+--及び---を耐性株とした。

3.4.5 ファージ感受性試験方法

サルモネラファージの感受性試験は、大腸菌ファージの試験方法 40)に準じて行った。すなわち、感受性ブイヨン培地で調製した菌液の 0.2mL と、除菌処理(0.45 μ m)した流入下水の 0.2mL をペプトン下層寒天培地に接種し、併せてペプトン上層寒天培地の 4mL を重層した。このプレートを 37°C 24 時間培養したのち、プレート上のプラークの有無及び数を計測して、感受性の有無を判定した。このときの定量下限は 5 PFU/mL である。

第 4 項 反応タンク活性汚泥による衛生微生物の除去

4.1 調査箇所

反応タンクにおける衛生微生物の除去に関する調査は、F 処理場で月 1 回の頻度で、Run 1 ~ 6 の 6 回実施した。

反応タンクにおける採取個所は、反応タンク流入部および全長 240 m の槽内を原則として流下方向に 6 等分したポイントと

した。ここで、F処理場の反応タンクは、処理の開始から終了までの全区間が覆蓋されていないため、反応タンク入口から出口までの下水の流下方向における測定ポイントを任意に設定でき、研究目的に適しているために選定したものである。なお現在は、防臭や安全上の理由から覆蓋されている。

4.2 衛生微生物の定量方法

大腸菌ファージの定量は重層寒天定量法及び直接定量法(宿主菌*E.coli* K-12 IAM1264株)とし、定量条件等は先行研究40)のとおりとした。大腸菌群、糞便性大腸菌群及び一般水質項目の定量は下水試験方法に従った。

4.3 水相及び固相試料の調製方法

反応タンク流下方向にそって各ポイントで活性汚泥を採取し検体とした。水相試料は、検体を濾紙5Aで濾過した濾液とした。固相試料は、検体10mLを滅菌スピッツに分取し、3,000rpm、15分間の遠心処理の後に上澄みをデカントし、底部に残ったもの(汚泥ペレット)とした。

4.4 固相試料からの大腸菌ファージの誘出操作

固相試料からの大腸菌ファージの誘出操作は先行研究43)のとおりとした。すなわち、汚泥ペレットに誘出液として肉エキス溶液(3%, pH7.0)の10mLを加え、試験管ミキサーを用いて分散処理した後、室温で20分間振盪しながら大腸菌ファージを誘出させた。次に3,000rpm、15分間の遠心処理を行い、上澄み液を全量回収して固相中の大腸菌ファージの定量用誘出液とした。

ここで、遊出液に対するメンブレンフィルターをもちいての除菌操作は、この操作に伴うファージ回収量の低下に配慮して実施しなかった。なお、ファージの溶菌プラークを計数する際

の妨害となる細菌類については、直前の遠心分離操作により抽出残渣とともに除菌されていると推察され、定量時間内では影響が認められなかった。

第3節 結果及び考察

第1項 衛生微生物(細菌指標)の除去

3.1 調査ごとの下水処理状況

調査当日の下水処理状況を Table 3-1 に示した。流入水温は、22～28℃であり、中～高温期に該当していた。流入下水量は平均値で 300,000m³/日(S 理場、以下(S)と略す。) および 95,000 m³/日 (M 処理場、以下 (M) と略す。) であった。

流入下水量ベースの水理的生物処理時間は 9.4 時間(S)および 8.4 時間(M)であり、ほぼ等しかった。活性汚泥濃度は、1,100 mg/L (S) および 2,000 mg/L (M) であった。放流水質は、透視度 80 以上(S) および 100 (M) であり、他の項目も全般的に良好な数値を示した。以上のように、両処理場共に調査期間中安定した下水処理状況であったと判断される。

Table 3-1. Sewage treatment status by survey date.

1994		Reaction tank					Discharged water			
Run	Plant	Inflow	temp.	HRT	MLSS	SRT	pH	SS	COD	Residual chlorine
date		(m ³ /d)	(°C)	(hr)	(mg/L)	(d)		(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
Run1	S	302,000	23	9.3	1,000	6.1	7.1	3.4	10	0.05
6/21	M	88,000	22	9.1	1,900	11	6.8	1.4	6.8	0.05
Run2	S	332,000	26	8.5	990	6.6	7.2	4.2	12	0.2
7/12	M	93,000	25	8.6	2,000	9.0	7.1	2.6	8.9	0.1
Run3	S	280,000	28	10	1,300	7.3	7.2	2.4	11	0.2
8/9	M	90,000	26	8.8	2,200	8.0	7.0	1.7	7.9	0.1
Run4	S	289,000	27	9.8	1,100	4.9	7.2	4.5	10	0.1
9/27	M	108,000	24	7.4	2,000	7.0	6.9	1.1	5.7	0.1
Run5	S	300,000	25	9.4	1,300	4.0	7.3	2.7	11	0.2
10/18	M	97,000	22	8.2	1,900	7.0	6.9	1.1	5.7	0.1
Average	S	300,000	26	9.4	1,100	5.8	7.2	3.4	11	0.15
	M	95,000	24	8.4	2,000	8.4	6.9	1.5	6.9	0.09

3.2 衛生微生物の現存量

下水処理過程における衛生微生物の現存量を算術平均値として Table 3-2 に示した。流入下水中の現存量(CFU/mL)は、一般細菌が 10^6 から 10^7 、糞便性大腸菌群が 10^5 、腸球菌が 10^4 、硫化水素産生細菌群が 10^3 、緑膿菌群が 10^2 、ブドウ球菌群が 10^1 であった。

一次処理流入水については、細菌種を限定して濃度を調べたところ、両処理場共に、流入下水中の現存量と同等以上のオーダーであることがわかった。この一因として、2 処理場の余剰汚泥は、一次処理の流入部に間欠的に返送され、初沈汚泥と共に系外に引き抜かれるシステムになっているためと考えられる。すなわち、余剰汚泥中に残存する衛生微生物の持ち込みにより、一次処理過程におけるそれらの濃度が増加するため(38)と考える。

一次処理水中ではオーダーの変化はなく、二次処理水中で 1~2 オーダー、消毒処理水中で最大 1 オーダー程度の減少量であった。

ブドウ球菌群は 2 処理場共にスポット的な検出のため、下水中に常在している可能性は低いと推察されるものの、本細菌を同定したところ真正の黄色ブドウ球菌であった(35)。

一次処理水の衛生微生物量は流入下水と近似していたが、一次処理水と放流水の濃度レベルを比較すると、硝化促進運転の M 処理場が、抑制運転の S 処理場よりも衛生微生物量が 1.0Log 以上低減していることが判明した。

ここで、国内 8 か所の下水処理場における先行研究(39)によると、流入下水の現存量は、平均(最小-最大)の(CFU/mL)として、大腸菌群が 10^5 (10^3 - 10^6)、糞便性大腸菌群が 10^4 (10^3 - 10^6)、大腸菌が 10^5 (10^4 - 10^5)、糞便性連鎖球菌が 10^4 (10^4 - 10^5)、腸球菌が 10^4 (10^3 - 10^4)、であった。二次処理水の現存量は、大腸菌群が 10^2 (10^1 - 10^3)、

糞便性大腸菌群が $10^2 (10^1 - 10^2)$ 、大腸菌が $10^2 (10^1 - 10^2)$ 、糞便性連鎖球菌が $10^2 (10^1 - 10^2)$ 、腸球菌が $10^1 (10^0 - 10^2)$ 、であった。これらの結果を今回の結果と比較すると、流入下水および二次処理における衛生微生物量は、先行研究と概ね等しい水準であることがわかった。

Table 3-2. Concentration of HRM in the sewage treatment process.

Species	Plant	Inflow sewage	Primary treatment		Secondary treatment	Disinfection treatment
			Inflow	Outflow	treated water	Discharged water
SPC	S	1.1E+07	1.4E+07	6.5E+06	1.7E+05	1.8E+05
	M	4.9E+06	5.8E+06	5.7E+06	3.5E+04	3.5E+03
FC	S	2.4E+05	3.1E+05	1.9E+05	4.9E+03	1.3E+03
	M	1.5E+05	1.3E+05	1.1E+05	7.6E+02	7.5E+01
EF	S	2.5E+04	1.9E+04	1.7E+04	8.2E+02	9.3E+01
	M	1.7E+04	1.6E+04	1.6E+04	6.6E+01	6.0E+00
HS	S	7.0E+03	-	6.5E+03	1.7E+02	1.7E+01
	M	8.6E+03	-	5.8E+03	4.4E+01	1.4E+01
PS	S	9.6E+02	-	4.4E+02	7.0E+00	6.0E+00
	M	3.2E+02	-	2.2E+02	2.0E+00	2.0E+00
SA	S	2.3E+01	-	1.6E+01	N.D.	N.D.
	M	1.5E+01	-	9.0E+00	N.D.	N.D.

—, Not tested; N.D., Not detected; Unit, CFU / mL.

SPC, Standard Plate Count; FC, Fecal *coliforms*; EF, *Enterococcus* sp. ;

HS, Hydrogen sulfide producing bacterial group; PS, *Pseudomonas* sp. group.

SA, *Staphylococcus* sp. group.

3.3 下水処理過程における衛生微生物の除去率

各処理過程における衛生細菌の対数除去率を Table 3-3 に示した。なお、黄色ブドウ球菌はスポット的な検出であったため、除去率の算出から除いた。

3.3.1 一次処理過程

流入下水ベースの一次処理過程における衛生微生物の対数除去率は両処理場共に、いずれの衛生微生物も $-0.09 \sim 0.43$ の範囲であった。また、衛生微生物毎に、処理場間の平均除去率を検定したところ、 p 値は $0.55 \sim 0.62$ で有意差は認められなかった。標準活性汚泥法の一次処理過程における浮遊物質の除去率は $40 \sim 60\%$ 程度³⁾とされていることを考え合わせると、一般細菌、糞便性大腸菌群、腸球菌、硫化水素産生細菌群は浮遊物質と同等レベル以下、緑膿菌群は同等レベルの除去率であることがわかった。除去率の変動要因としては、前述のとおり、余剰汚泥の持込影響が考えられた。一次処理過程における衛生細菌の除去率は $0 \sim 0.3 \text{Log}$ 程度であるという報告³⁸⁾を考慮すると、今回の調査結果は妥当な除去率のレベルにあると考えられる。

3.3.2 二次処理過程

一次処理水ベースの二次処理過程における衛生微生物の対数除去率は、S 処理場の場合は $1.3 \sim 1.7$ 、M 処理場の場合は $2.0 \sim 2.6$ であり、総じて M 処理場の除去率が高かった。M 処理場の反応タンクは、硝化促進型の運転をしていることから、この運転条件が衛生微生物の対数除去率を S 処理場に比べて押し上げていることが考えられる。第 4 章で述べる段階的な高度処理方法の反応タンクは、窒素除去を目指すために硝化促進運転とすることから、標準活性汚泥法の硝化

促進運転を超えるレベルでの衛生微生物の除去率の向上を期待する。

次に、処理場間の平均除去率を検定したところ、p値は腸球菌が0.1以下、硫化水素産生細菌群が0.05以下で有意であった。一方、一般細菌、糞便性大腸菌群は2.1以上、緑膿菌群は0.6であり有意ではなかった。この結果は、二次処理過程における衛生細菌は2.0Log前後またはそれ以上の除去であったという報告(38)とほぼ一致した。

3.3.3 総合除去率

消毒処理過程を含む、流入下水ベースの総合除去率は、S処理場の場合、一般細菌が1.8であったが、他は2.4~2.7であった。M処理場の場合、一般細菌、糞便性細菌群、腸球菌、硫化水素産生細菌群は3.4~3.9であり、S処理場に比べて1ポイント高かった。一方、緑膿菌群は2.1であり、S処理場と同等レベルであった。処理場間の平均除去率は一般細菌のp値が0.05以下で有意となった。緑膿菌群の除去率は、二次処理の除去率との差がなかった。この一因として、緑膿菌群は、他の衛生微生物に比べて消毒処理に対する抵抗性が大きかったため(44)と考える。

消毒処理過程を含めた総合除去率に関して、一般細菌は4.0~4.1Log、糞便性細菌群は5Log以上、腸球菌は4.8Logの除去であったという報告(45)を今回の結果と比較すると、S処理場が2オーダー、M処理場が1オーダー低いレベルの場合に該当していた。

Table 3-3. Logarithmic removal ratio of HRM in sewage treatment process and comparison between treatment plants.

Species	Plant	Primary processing	Secondary processing	Total removal
SPC	S	-0.089	1.7	1.8
	M	0.18	2.1	3.5
p-value		0.62	0.33	* 0.037
FC	S	0.10	1.6	2.5
	M	0.26	2.2	3.8
p-value		0.64	0.22	0.052
EF	S	0.13	1.3	2.4
	M	0.045	2.6	3.4
p-value		0.55	* 0.022	0.10
HS	S	-0.091	1.6	2.7
	M	-0.003	2.4	3.2
p-value		0.63	** 0.0080	0.19
PS	S	0.43	1.7	2.2
	M	0.36	2.0	2.1
p-value		0.62	0.60	0.67

* :p<0.05 , ** :p<0.01

SPC, Standard plate count; FC, Fecal *coliforms*;

EF, *Enterococcus* sp. ; HS, Hydrogen sulfide-

producing bacterial group; PS, *Pseudomonas* sp.group.

3.4 衛生微生物と水質指標との相互関係

下水処理過程における衛生微生物の現存量と水質指標のSSとの相互関係を散布図として Fig. 3-1 に示した。また、細菌種毎にSSとの近似式のあてはめを行い、近似線を図中に破線で示した。その結果、両方の処理場共に、いずれの衛生微生物も、累乗近似の時に最も寄与率 (R^2) が高いことがわかった。衛生微生物毎の寄与率は S 処理場が 0.49~0.67、M 処理場が 0.48~0.64 であった。このなかで、S 処理場の FS が 0.49、M 処理場の PS が 0.48 であり、それぞれ他の衛生微生物に比べて、若干、寄与率が低かった。

SS と衛生微生物との寄与率が、それほど高くない一因として、流入下水から放流水に至る処理過程水のSS濃度が一桁近く異なるために、衛生微生物の存在形態が下水試料により異なっている可能性が考えられる。例えば、衛生微生物がSSへの付着・埋没によって、単独細胞から懸濁粒子化した状態へ存在形態をかえている場合 (46) や、SS に付着した状態で存在している場合が推察される。

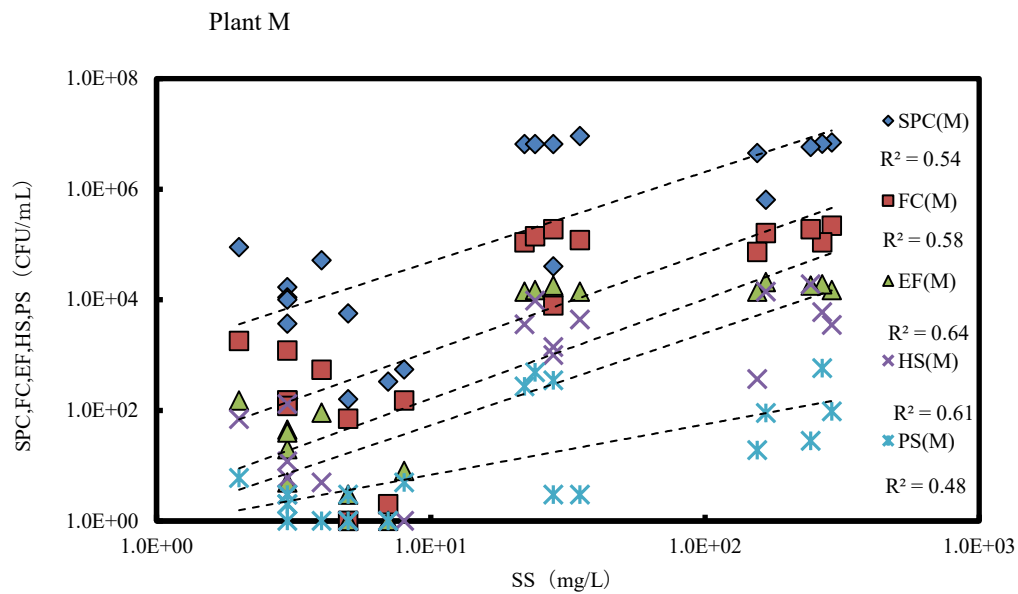
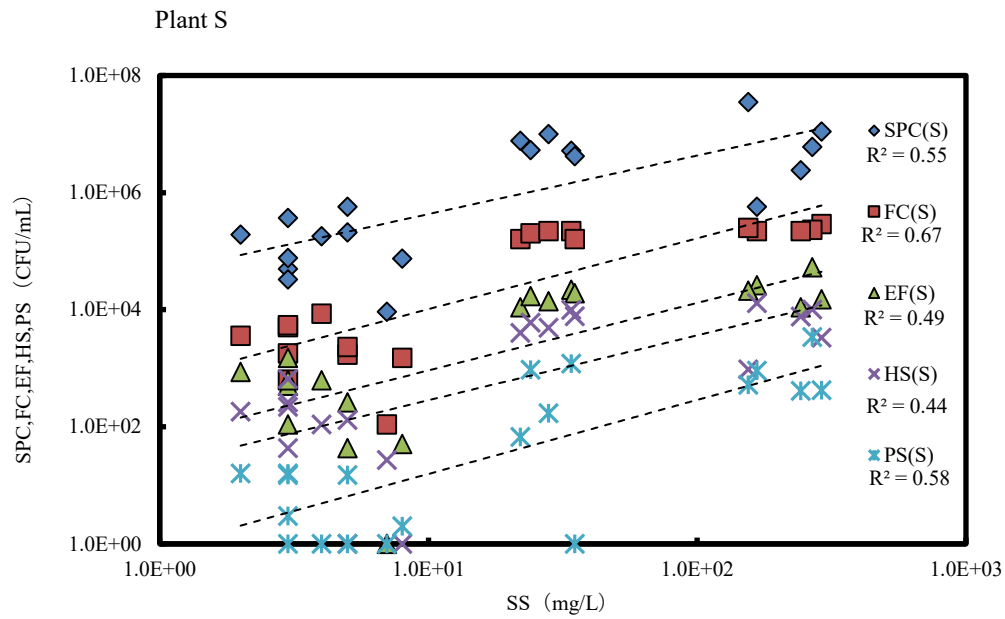


Fig. 3-1. Relationship between suspended solids and HRM concentration.

SPC, Standard Plate Count; FC, Fecal *coliforms*; EF, *Enterococcus* sp. ;

HS, Hydrogen sulfide producing bacterial group; PS, *Pseudomonas* sp. group.

3.6 衛生微生物の濃度相互関係

衛生微生物相互の濃度分布特性を、下水処理過程における現存量の多い、一般細菌、糞便性大腸菌群、腸球菌をそれぞれ説明変数(X、CFU/mL)、その他の衛生細菌を目的変数(Y、CFU/mL)とする散布図を描き Fig. 3-2 に示した。

(1) 一般細菌を説明変数とした場合

一般細菌 (S)が 10,000 CFU/mL 未満のとき、および一般細菌 (M)が 200 CFU/mL 未満のとき、他の衛生細菌は定量下限(1 CFU/mL)となった。

(2) 糞便性大腸菌群を説明変数とした場合

糞便性大腸菌群(S)が 100 CFU/mL 未満のとき硫化水素産生細菌群や緑膿菌群は定量下限となった。糞便性大腸菌群(M)が定量下限のとき、硫化水素産生細菌群と緑膿菌群は定量下限となった。

(3) 腸球菌を説明変数とした場合

腸球菌(S)が 50 CFU/mL 未満のとき硫化水素産生細菌群は定量下限以下となるものの、緑膿菌群は検出されることがあった。腸球菌(M)が 5 CFU/mL 未満のとき硫化水素産生細菌群は定量下限以下となるものの、緑膿菌群は検出されることがあった。

ここで、下水処理場放流水の衛生学的水質基準は大腸菌群数 3,000 CFU/mL とされているが、今回の調査結果を考慮すると、基準値の境界付近では、硫化水素産生細菌群や緑膿菌群のような衛生微生物(病原性指標)が残存している可能性も否定できない。また、糞便性大腸菌群、腸球菌、硫化水素産生細菌群、緑膿菌群が残存しない状態であっても、一般細菌が相当数残存している場合のあることは、消毒効果の評価指標の観点から注目に値する。

流入下水および二次処理水に関しては、多種類の病原性指標およ

びその近縁の細菌の存在が確認されている 35) ことから、下水処理水の再利用が活発化するのに伴い、供給源の放流水に対しては、その用途に応じて、より衛生学的に厳しい水質基準の設定や、消毒効果を判定する指標微生物種の選定、などの対応策が必要と考える。

今回の調査結果を下水放流水の活用による親水用水の衛生学的安全性に反映させる場合、残存する衛生微生物濃度は一般細菌が 200 CFU/mL 未満、糞便性大腸菌群および腸球菌は共に不検出を目標とし、基準を安全側に確保するためには、これらの衛生微生物を同時にモニタリングして総合的に評価することが必要であると考えられる。

今回の結果から、衛生微生物の包括量指標としての一般細菌量と他の衛生微生物の各検出量は、相関関係にあることが判明した。このことから、下水処理過程の存在量が、調査対象の衛生微生物の中で最も多く、かつ糞便汚染指標や病原性指標、消毒指標の衛生微生物の包括量の指標としての一般細菌量を調査することで、各種の選択培地を用いての衛生微生物量を予測することが可能であることが分かった。

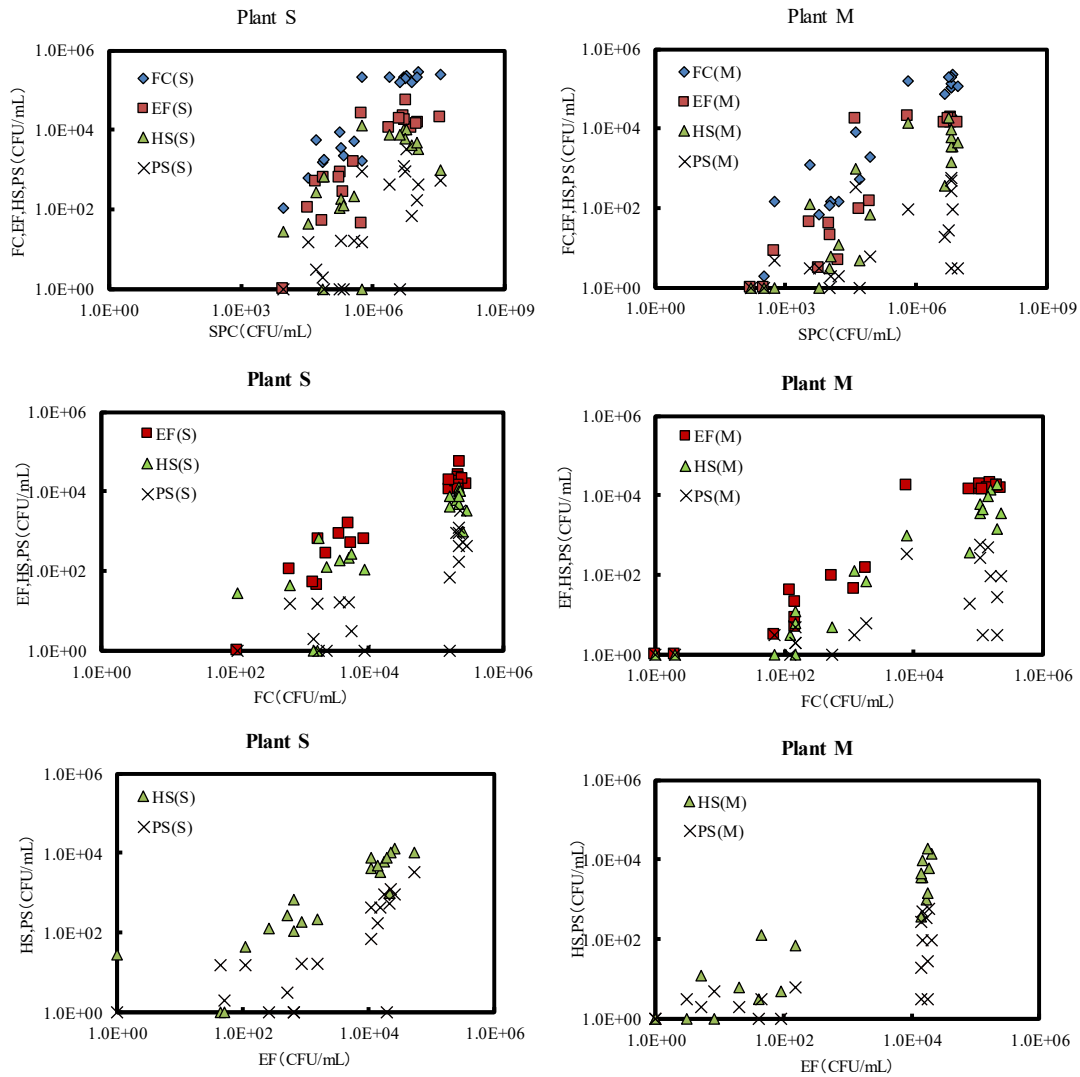


Fig. 3-2. Concentration distribution characteristics of each HRM.

SPC, Standard plate count; FC, Fecal coliforms; EF, *Enterococcus* sp.; HS, Hydrogen sulfide-producing bacterial group; PS, *Pseudomonas* sp. group.

第 2 項 衛生微生物(ウイルス指標)の除去

2.1 調査期間における維持管理状況

調査期間における運転項目の状況を Table 3-4 に示した。

各処理場の運転項目は、標準活性汚泥法の標準的な範囲との比較において、A 処理場は、MLSS と SRT が標準範囲を上回っていた。M 処理場は、MLSS と HRT が標準範囲を上回った。S 処理場は、MLSS が標準範囲を下回っていた。N 処理場は、いずれの項目も標準範囲であった。F 処理場は、MLSS が下回り、HRT、SRT が上回っており、送風倍率は標準範囲の上限値を上回っていた。このことから、F 処理場の反応タンクは、他の処理場に比べて硝化促進状態であったと考える。

Table 3-4. Sewage treatment status during the survey period of the experimental facility.

Plant	Inflow sewage volume(m ³ /d)	Reaction tank operation status			
		MLSS (mg/L)	HRT (hr)	SRT (d)	Air -to- flow- ratio (magnification)
A	322,000	2,700	6.2	12	5.2
M	95,000	2,100	10	8.4	3.8
S	300,000	1,300	8.4	5.8	4.7
N	114,000	1,700	7.4	3.8	4.7
F	50,000	1,200	15	9.2	8.2

2.2 処理過程における現存量

処理過程におけるファージ量（算術平均）を Table 3-5 に示した。

ファージの現存量(PFU/mL)は、流入下水の $10^2 \sim 10^3$ 、二次処理水の $10^{-2} \sim 10^1$ 、消毒済み放流水の $10^{-2} \sim 10^0$ であった。二次処理水中の現存量は処理場間で差が大きく、反応タンク HRT が調査施設の中で最も長い F 処理場において最小値を示した。ここで、大腸菌 K12 株を宿主とするファージは、流入下水が 5.3×10^3 、一次処理水が 5.8×10^3 、二次処理水が 1.8×10^1 、活性汚泥混合液が 5.5×10^3 という報告 47)がある。また、流入下水のファージ濃度に関して、大腸菌 C 株を宿主とするファージは $1.9 \times 10^3 \sim 8.9 \times 10^3$ であり 48)、大腸菌 K12 株を宿主とするファージは $6.7 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^4$ であったという 49)。また、反応タンク上澄み液におけるファージは $3.4 \times 10^2 \sim 1.3 \times 10^3$ であったという 49)。今回の実験結果を先行研究と比較すると、流入下水におけるファージ濃度の変動幅は、1桁程度低めであった。一方、活性汚泥上澄み水≒二次処理水とすると、先行研究より 3～4桁も低減していた。

硝化抑制運転の標準活性汚泥法に比べて、段階的な高度処理方法による反応タンクの運転は、硝化促進型および、HRT が延長する運用となっていることから、段階的な高度処理方法を導入した場合には、ウイルスの除去効果も期待される。

2.3 処理過程における除去率

処理過程における対数除去率を Table 3-5 に示した。流入下水ベースの一次処理除去率は 0.5Log 未満であり、マイナスのケースもあった。一次処理水ベースの二次処理除去率は 1.6～3.0Log で処理場間の差が 1.4Log に広がった。流入下水ベースの消毒処理過程を含めた総合除去率は、2.5～4.0Log であり、その差は二次処理過程の除去率に準じていた。これらの結果は、処理過程における大腸菌ファージの

除去率について、一次処理では除去されず、二次処理において 2Log の除去であったという先行研究 47) と同様の結果であった。

また F 処理場におけるファージ除去率が、他の処理場に比べて二次処理および総合除去率で最大となった。この理由は、F 処理場が他に比べて反応タンク HRT が延長しており、硝化促進型の運転となっていたためと考えられる。すなわち、衛生微生物(ウイルス指標)の除去に関しては、反応タンクの HRT が長く、かつ硝化促進型の運用が、硝化抑制型に比べて勝っていると考える。

Table 3-5. Amount of *E. coli* phage and log removal ratio in sewage treatment process.

Plant (Number of surveys)	Inflow sewage	Primary treatment		Secondary treatment	Disinfection treatment
		inflow water	treated water (※1)	treated water (※2)	Discharged water (※3)
A (36)	8.2E+02	-	7.8E+02 (0.035)	1.8E+01 (1.6)	- -
M (5)	3.8E+02	4.4E+02	5.7E+02 (-0.16)	2.1E+00 (2.4)	7.4E-02 (3.9)
S (5)	8.6E+02	8.3E+02	6.8E+02 (0.11)	6.1E+00 (2.1)	2.8E+00 (2.5)
N (36)	1.0E+03	-	8.9E+02 (0.062)	1.5E+01 (1.7)	- -
F (12)	5.9E+02	2.8E+02	2.8E+02 (0.36)	7.0E-01 (3.0)	2.2E-01 (4.0)

Unit (PFU / mL)

※1 : Inflow-based primary treatment log removal ratio

※2 : Primary treated water-based secondary treated logarithmic removal ratio

※3 : Inflow-based final treatment log removal ratio

2.4 ファージ濃度と浮遊物質との相関関係

A および N 処理場については、大腸菌 K12 株を宿主とするファージ、M および S 処理場については、K12 株および B 株を宿主とするファージについて、SS 濃度との関係を Fig. 3-3 に示すとともに、近似式のあてはめをおこなった。その結果、いずれの場合も累乗近似の時、寄与率が最大となった。また、宿主菌の種類によらず、SS 濃度域に対応するファージ濃度域は類似していた。SS と細菌指標との関係と比べてみると、ファージの方が SS との寄与率が高いことがわかった。

大腸菌ファージの存在状態に関して、流入下水や一次処理水(SS 濃度が概ね 50~100mg/L では 78%~82%が水相に存在しているが、活性汚泥混合液では 99%以上が固相(活性汚泥)に存在していたという先行研究 47) は、今回の結果を裏付けるものである。

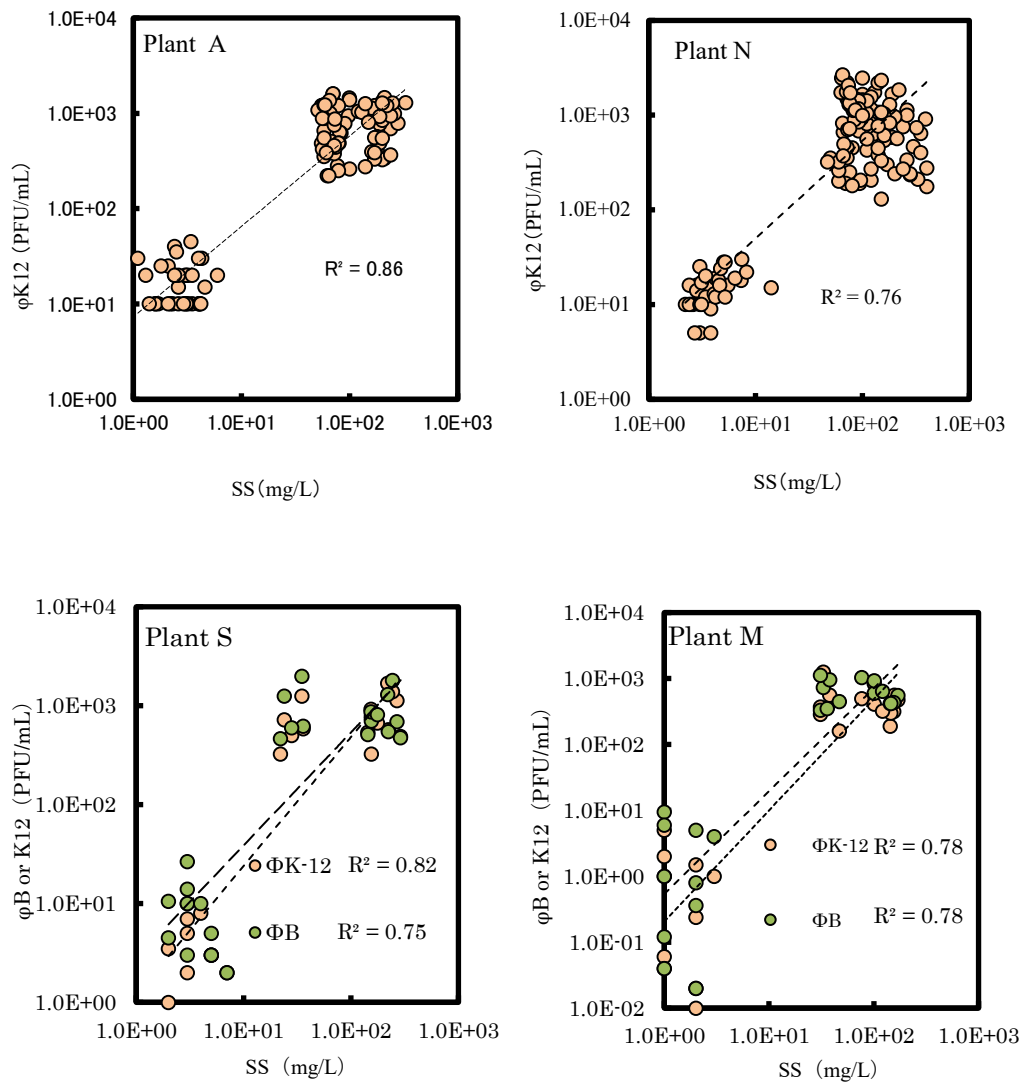


Fig. 3-3. Relationship between suspended solids and phage concentration in the sewage treatment process.

2.5 大腸菌ファージと衛生微生物(細菌指標)の濃度相互関係

M 処理場および S 処理場における取得データを用いて、Fig. 3-4 に大腸菌ファージと HRM との相関関係の散布図を描き、また、Table 3-6 に大腸菌ファージと HRM との累乗近似の回帰式を示した。K12 ファージと B ファージともに、一般細菌、糞便性大腸菌群、腸球菌、硫化水素産生細菌群との濃度相互関係が、累乗近似の寄与率としてそれぞれ $0.8 \geq$ 、 $0.9 \geq$ 、 $0.9 \geq$ 、 $0.8 \geq$ と良好であった。ファージとの寄与率が良好な細菌種は、いずれも糞便汚染指標の腸内細菌科の衛生微生物であった。一方、緑膿菌との寄与率は S 処理場が $0.52 \sim 0.61$ 、M 処理場が $0.39 \sim 0.45$ であり、共に他の細菌種より低かった。

このことから、大腸菌ファージは、糞便汚染指標の衛生微生物との濃度相関関係が強いため、これらの挙動推定の手段としての利用価値が期待される。

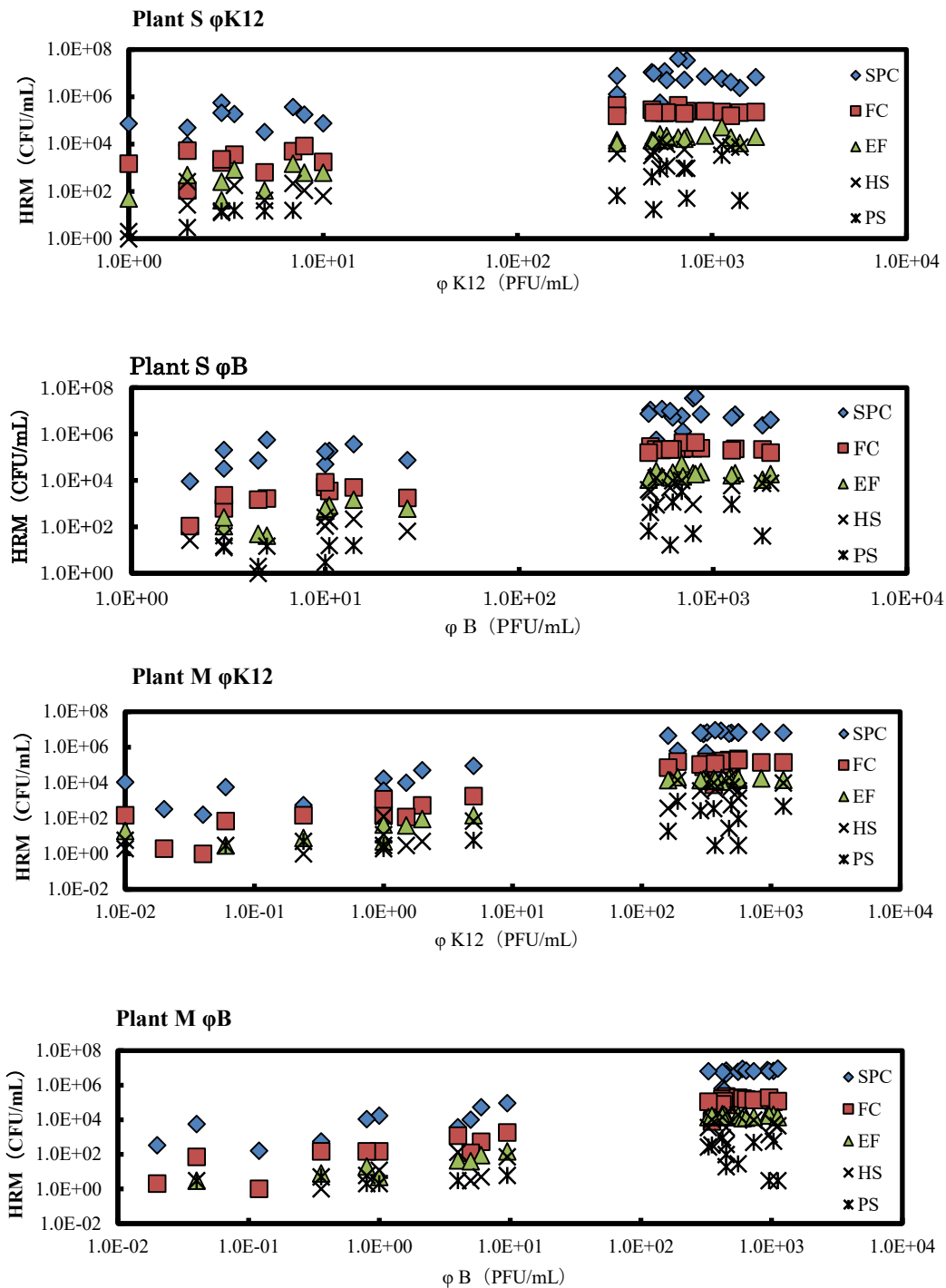


Fig. 3-4. Scatter plot of quantitative correlation between *E. coli* phage and HRM.

SPC, Standard plate count; FC, Fecal *coliform*; EF, *Enterococcus* sp.; HS, Hydrogen sulfide-producing bacterial group; PS, *Pseudomonas* sp. group.

Table 3-6. Regression equation for quantitative exponentiation of *E. coli* phage and HRM.

Quantitative regression equation between <i>E. coli</i> phage K12 and HRM			
Relationship between <i>E. coli</i> phage and HRM	Survey plant	Regression equation for exponentiation	Contribution ratio (R ²)
φK12-SPC	S	$y = 41,400x^{0.76}$	0.77
	M	$y = 17,100x^{0.87}$	0.83
φK12-FC	S	$y = 672x^{0.89}$	0.89
	M	$y = 373x^{0.94}$	0.90
φK12-EF	S	$y = 102x^{0.79}$	0.90
	M	$y = 61.8x^{0.90}$	0.91
φK12-HS	S	$y = 13.9x^{0.92}$	0.84
	M	$y = 20.7x^{0.87}$	0.81
φK12-PS	S	$y = 3.95x^{0.64}$	0.61
	M	$y = 6.32x^{0.41}$	0.45

Quantitative regression equation between <i>E. coli</i> phageB and HRM			
Relationship between <i>E. coli</i> phage and HRM	Survey plant	Regression equation for exponentiation	Contribution ratio
φB-SPC	S	$y = 23,700x^{0.83}$	0.76
	M	$y = 7,340x^{0.95}$	0.86
φB-FC	S	$y = 314x^{0.99}$	0.92
	M	$y = 150x^{1.03}$	0.92
φB-EF	S	$y = 50.9x^{0.88}$	0.90
	M	$y = 19.7x^{1.03}$	0.96
φB-HS	S	$y = 7.27x^{0.99}$	0.82
	M	$y = 4.65x^{1.07}$	0.85
φB-PS	S	$y = 2.51x^{0.69}$	0.52
	M	$y = 4.56x^{0.42}$	0.39

第3項 衛生微生物(病原性指標)の除去

衛生微生物(病原性指標)として、前章の二次処理水に関する調査で検出・鑑別・同定されたサルモネラを選定して、細菌種と諸性状について調べた。この理由は、他の衛生微生物に比べて、下水処理場への流入量と除去の程度によっては、下水処理場と放流水域における衛生学的安全性の確保が求められることを懸念したためである。

3.1 対象施設の処理状況

調査期間中の平均流入下水量は、27,000 m³/日であった。平均水質は、流入下水が BOD:170 mg/L、SS:140 mg/L、放流水が BOD:10 mg/L、SS:4.7 mg/L であった。

3.2 サルモネラ流入状況及び処理過程における消長

3.2.1 週間変動調査

流入下水中のサルモネラは、Table 3-7 に示すとおり < 3～110 MPN/100mL の範囲で定量され、週の中頃に増加し、週末に減少していた。ここで、同時測定した理化学試験項目の値は、週の中頃から週末に高めとなっており、サルモネラの濃度変化との関連は明確ではなかった。

Table 3-7. Densities of *Salmonellae* and water quality in weekly fluctuation.

	Sampling date(1994/12)					
	Mon.	Tues.	Wed.	Thur.	Fri.	Sat.
1st. week	5	6	7	8	9	10
<i>Salmonellae</i>	<3	<3	110	110	30	<3
SS	100	160	170	130	150	170
BOD	180	-	200	120	130	210
2st. week	5	6	7	8	9	10
<i>Salmonellae</i>	30	<3	94	73	30	<3
SS	96	110	190	110	150	170
BOD	150	-	220	190	160	190

unit : *Salmonellae* (MPN/100mL) , SS (mg/L), BOD (mg/L)

—: not tested

3.2.2 時間変動調査

流入下水中のサルモネラを 4 時間毎に定量し、また、処理過程水中のサルモネラの検出状況をそれぞれ Table 3-8 に示した。流入下水中のサルモネラは、午前 9 時と翌日の午前 1 時に濃度ピークが認められ、それぞれ 110 MPN/100mL、73 MPN/100mL であった。なお、同時測定した理化学試験項目とサルモネラの濃度ピークとの関連は認められなかった。また、流入下水からサルモネラの濃度ピークが出現してから約 4 時間後に一次処理水から、約 20 時間後に二次処理水からサルモネラが検出された。これらの処理過程でサルモネラが検出されるまでの時間遅れは、それぞれの処理に係わる水理学的滞留時間にほぼ等しかった。ここで、サルモネラの検出に係わる接種量は二次処理水の場合、流入下水の 10 倍量であることを考慮すると、流入下水中のサルモネラは下水処理過程で除去されるものの、その除去率は生物処理によっても 100% とならず系外に流出する可能性が考えられる。放流水への混入により公共水域に流出している可能性は否定できないが、サルモネラの自然水での生存は大腸菌と同程度でそれほど長くなく、また、塩素剤等による消毒抵抗性も大腸菌同様に認められていない 17) ことから、大腸菌群数を管理指標とする現行の消毒処理を十分に行うことで、放流水の衛生学的安全性は保つことができるかと期待する。

Table 3-8. Densities and occurrence of *Salmonellae* in daily fluctuation.

	Sampling time(o,clock)					
	9	13	17	21	1	5
Raw wastewater <i>Salmonellae</i>	110	30	<3	<3	73	<3
SS	160	99	150	130	99	55
COD	130	97	90	98	72	54
Primary treated effluent	—	+	+	—	—	—
Secondary treated effluent	—	—	—	—	—	+

unit : *Salmonellae* (MPN/100mL), SS (mg/L), BOD (mg/L) —: not tested

3.3 下水及び汚泥試料から分離したサルモネラ亜種の同定

3.1 の調査において分離された細菌株から試料 1 検体当たり 1 株を無作為に選択して同定作業を行い、生化学的性状パターンから同定できた 29 株のサルモネラ(下水由来 21 株中 19 株、汚泥由来 12 株中 10 株)について、その結果を Table 3-9 に示した。同定できた菌株のうち 12 株(41%)が BGI、16 株(55%)が BGIV、1 株(4%)が BGVであった。また、BGI及び BGIVの生化学的性状は、いずれもアルギニン脱水素酵素活性の有無により 2 パターンに区別された。次に菌株の分離源に着目すると、下水由来 19 株のうち BGIは 11 株(58%)、BGIVは 8 株(42%)であるのに対して、汚泥由来の 10 株のうち、BGIは 1 株(10%)、BGIVは 8 株(80%)、BGVは 1 株(10%)であった。BGIと BGIVとの存在比率は、下水由来株の場合、11:8 と小さいにもかかわらず、汚泥由来株の場合は 1:8 と大きく、BGIVが優占亜種であった。下水由来株と汚泥由来株で亜種の存在比率が変化している一因として、下水処理過程におけるサルモネラの生残性に対する時間的要因が考えられる。すなわち下水由来株は下水処理場までの到達時間(約 1 日)、汚泥由来株は下水処理過程及び汚泥処理過程(消化処理の手前で約 2 日)を経て分離されていることを考慮すると、BGIVが BGIより下水環境での生残性に勝っている可能性が推察される。

Table 3-9. Properties and identification of *Salmonellae* separated from sewage and sludge samples.

Type Source	BG I			BGIV				BGV
	W		S	W		S		S
Number	1	10	1	1	7	7	1	1
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+
ESC	-	-	-	-	-	-	-	-
PPA	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	+	+	+	+	+	+	+	+
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	-	+	+	-	+	-	+	+
ODC	+	+	+	+	+	+	+	+
ONPG	-	-	-	-	-	-	-	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	+
MALO	-	-	-	-	-	-	-	-
ADO	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	+	+	+	-	-	-	-	-
RAFF	+	+	+	+	+	+	+	+
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	+	+	+	+	+	+	+	+
SUC	-	-	-	-	-	-	-	-
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	+	+	+	+	+	+	+	+

+, positive; -, negative; W, wastewater; S, sludge

H₂S, Hydrogen sulfide formation; ESC, Esculin decomposition;

PPA, Phenylalanine deaminase; IND, Indole production;

VP, VP-reaction; CIT, Citrate; LDC, Lysine decarboxyrase;

ADH, Arginine dehydrogenase; ODC, Ornithine decarboxyrase;

ONPG, β-galactosidase production; URE, Urease production;

MALO, Malonate utilization; ADO, Adonitol fermentation;

INO, Inositol fermentation; RAFF, Raffinose fermentation;

RHA, Rhamnose fermentation; SOR, Sorbitol fermentation;

SUC, Sucrose fermentation; MAN, Mannitol fermentation;

ARA, Arabinose fermentation;

3.4 下水及び汚泥試料から分離したサルモネラの薬剤耐性およびファージ感受性

亜種の同定に供した 29 株について薬剤耐性およびファージ感受性試験を行い、菌株ごとに Table 3-10 に示した。ここで、ファージ感受性の場合には検出されたプラーク数を PFU/mL で示した。

3.4.1 サルモネラ亜種別の薬剤耐性

BGI、BGIV共に PC の単剤耐性株が最も多く、存在比率はそれぞれ 5 株(42%)及び 10 株(62%)であった。

二剤以上の耐性株は、BGIが 2 株(17%)、BGIVが 2 株(12%)及び BGV が 1 株(100%)であった。

下水及び汚泥試料から分離した薬剤耐性株の合計は 20 株(69%)であった。また、分離源についてまとめると、下水由来株の 13 株(68%)、汚泥由来株の 7 株(70%)が耐性株であった。

2 剤以上の多剤耐性株が人由来とされる BGI(50)と、下水由来とされる BGIV、BGV(50)および汚泥由来株から共に分離され、生活環境から下水環境へのサルモネラの移行および下水環境への薬剤耐性能の伝達の可能性が推察される。また、この耐性能がプラスミド由来の場合は食中毒起因菌の BGIから伝達された可能性も否定できない。また、下水由来株の薬剤耐性率は人由来株と同様に近年増加傾向にあるという(51)。ここで BGIVおよび BGVは、爬虫類、食品、下水および河川からの分離株とされ(50)、人に対する病原的意義は低いと推察するが、今後、下水および汚泥試料から分離されたサルモネラについても、薬剤耐性能の獲得と病原性の発現との関係について注目してゆく必要がある(52)と考える。なお、PC 以外の薬剤耐性能は単独では存在しなかったことから、PC を添加した培地を用いることにより、下水および汚泥試料中の薬剤耐性サルモネラを効率よくスク

リーニングできる 52)と期待する。

3.4.2 サルモネラ亜種別のファージ感受性

下水および汚泥試料から分離した 29 株をそれぞれ宿主菌として、採取時期の異なる流入下水中のファージの検索および感受性を 4 回にわたり調査した。検出されたプラーク数は菌株および調査毎に 5 ~550 PFU/mL の範囲で変化していた。同一細菌株を宿主としても流入下水試料によってはプラークが検出されない場合や、No.8,25 株のような多剤耐性株および No.6, 9, 17 株を宿主とした場合は一度も検出されなかった。

4 回の調査のうち、ファージを 1 回以上検出した感受性株の割合は、サルモネラ亜種別に集計すると、BGIが 9 株(75%)、BGIVが 15 株(94%)、BGVが 0%であった。

ここで、サルモネラ亜種の分類指標として用いられる O1 ファージに対して、BGIは 90%以上、BGVは 11~80%が感受性であり、BGIVは 90%以上が耐性であるという 52)。しかし、今回 BGIVと同定された菌株の大部分がファージ感受性であったことから、検出されたファージは O1 ファージとは宿主域が異なるタイプであると推察される。

今後、サルモネラファージとサルモネラとの宿主域および濃度相互関係を明らかにすることによって、下水環境中のサルモネラの動態を短時間のうちに推定できることが期待される。

今回の調査期間中における、流入下水中のサルモネラとそのファージの存在比率の範囲は、それぞれの定量下限および調査結果から試算すると、サルモネラ：サルモネラファージ=3 MPN/100mL:5 PFU/mL~110 MPN/100mL:550 PFU/mL すなわち、1:170~1:500 であった。ここで、同一処理場において行われた他の研究により、糞便性大腸菌群：大腸菌ファージ(IAM-1264 株を宿主とする)≒100:1 であ

った 53)ことを考え合わせると、下水環境において、サルモネラファージは宿主菌より粒子数が 2 桁も多いことから、大腸菌ファージに比べ、宿主菌の増殖に対してより抑制的に関与している可能性が推察される 52)。

下水処理過程におけるサルモネラの挙動と諸性状について研究したところ、二次処理水における存在量は第 2 章の知見から想定された程は検出されなかった。すなわち、試料採取量 100mL とする増菌培養により検出される水準であることがわかった。しかし、下水処理過程を通過して公共水域に流出する可能性も否定できないことから、従前からの大腸菌群数を指標とする塩素消毒の管理が重要であると考えられる。

Table 3-10. Drug resistance and phage sensitivities of *Salmonellae*.

Strain No	Type	Source	Drug resistance	Phage sensitivities(PFU/ml)			
				Samplig date (1995/1)			
				11	18	25	31
1	BGIV	W	PC-TC	35	20	-	25
2	BG I	W	PC	-	-	150	-
3	BGIV	W	PC-TC	40	-	-	-
4	BG I	W	PC-TC	-	-	280	315
5	BG I	W	PC	5	5	-	10
6	BG I	W	PC	-	-	-	-
7	BGIV	W	PC	45	-	350	-
8	BG I	W	PC-PcA-PcB-KM-CM-TC	-	-	-	-
9	BGIV	W		-	-	-	-
10	BG I	W	PC	10	10	-	-
11	BG I	W	PC	5	5	160	95
12	BGIV	W		-	-	-	10
13	BGIV	W	PC	-	-	95	-
14	BGIV	W	PC	10	10	300	-
15	BG I	W		25	-	-	-
16	BG I	W		-	-	-	140
17	BG I	W		-	-	-	-
18	BGIV	W	PC	50	30	215	-
19	BG I	W		-	-	-	5
20	BGIV	S	PC	5	5	75	-
21	BGIV	S	PC	15	25	-	-
22	BGIV	S		35	20	-	-
23	BG I	S		35	-	450	-
24	BGIV	S	PC	220	220	250	35
25	BGV	S	PC-TC-NA-CM	-	-	-	-
26	BGIV	S		100	100	550	10
27	BGIV	S	PC	25	-	-	-
28	BGIV	S	PC	20	-	-	-
29	BGIV	S	PC	55	55	535	70

W:wastewater, S:sludge, -not detected,

第4項 反応タンク活性汚泥における衛生微生物の除去

4.1 調査期間における各Runの運転状況

各Runの運転状況および処理水質をTable 3-11に示した。調査期間中の流入下水量は、平均量の87～120%で推移しており、下水処理場の流入下水量としては、一般的な変動範囲であった。また、調査期間を通して各Run共に硝化促進型の運転管理をしており、処理水質は良好だった。反応タンクの運転条件としては、各Run共に、送風倍率が 9.0 ± 1.0 倍、HRTが 12 ± 2 hrと標準活性汚泥法に比べて高めの値であること、および放流水質のpHが7.0未満、二次処理水の硝化率が90%を超えていることから、硝化促進運転の状態になっていたと考える。

Table 3-11. Operating status in each Run.

Run No	date	Inflow (m ³ /d)	Air (Flow ratio)	HRT (hr)	MLSS (mg/L)	pH	SS (mg/L)	Nitrification (%)
1	4/21	33,000	10	14	1,300	6.6	3.7	93
2	5/12	40,000	8.0	11	1,200	6.7	4.2	98
3	6/2	35,000	8.0	13	1,300	6.6	2.7	94
4	6/19	36,000	10	13	1,300	6.7	2.0	93
5	7/22	44,000	8.0	10	1,300	6.9	3.7	93
6	8/17	37,000	8.0	12	1,100	6.9	1.9	95
average		38,000	9.0	12	1,200	6.7	3.0	94

4.2 水相中細菌類の挙動

各Runにおける衛生微生物のうち、大腸菌群と糞便性大腸菌群は流下方向にそってほぼ直線的に減少しており、それらの存在比率は採水ポイント毎の平均で約1:0.8であった(53)。一方、大腸菌ファージは、反応タンク流入部で初期のLagの後に、5時間程の処理時間では急速的、反応タンクの間中部以降、すなわち、処理時間の5時間以降～反応タンク処理が終了するまでの時間は減速的に減少し、反応タンクの後段で最小濃度(6×10^{-2} ～ 1.8×10^{-1} PFU/mL)となった(Fig. 3-5)。

減少過程が2種類存在する理由として、浮遊状態の大腸菌ファージの存在割合が大腸菌群や糞便性大腸菌群に比べて高い可能性、または大腸菌ファージ特有の現象であると推察される。後者であると仮定すると、卓上実験により活性汚泥中のヒト腸管系ウイルス感染価の減少過程が2段階に存在したという報告(54)と現象がほぼ一致していることから、大腸菌ファージのウイルス指標としての価値を高めることになると期待される。なお、初期のLagは、流入下水と活性汚泥との完全混合が生じるまでの時間遅れに起因するものと考えられる。

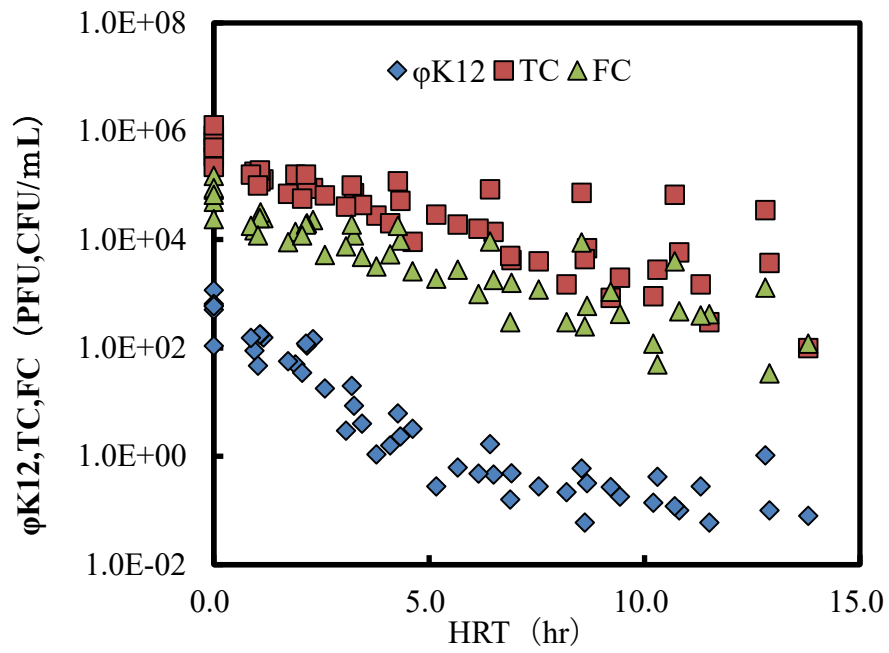


Fig. 3-5. Reduction process of HRM concentration in the reaction tank.

4.3 反応タンク流下方向における衛生微生物の生存率

各Runにおける衛生指標微生物の生存率を流入部の濃度をベースとして計算してFig. 3-6に示した。大腸菌ファージは、反応タンク全処理時間の1/3までにおける生存率が、大腸菌群および大腸菌に比べて明らかに小さくなった。その後の生存率の低下は緩慢になってゆき、処理時間の終了までに概ね平衡状態に達した。一方、大腸菌群および糞便性大腸菌は、大腸菌ファージと異なり、概ね直線的に減少した。

各Runにおける生存率の変動幅は、大腸菌ファージが約15倍、大腸菌群が約59倍、糞便性大腸菌群が約28倍であった。また大腸菌ファージの生存率は大腸菌群および糞便性大腸菌群より常に小さかった。これらの結果は、活性汚泥処理により、大腸菌ファージは大腸菌群および糞便性大腸菌群より安定的に効率よく除去されることを示している。

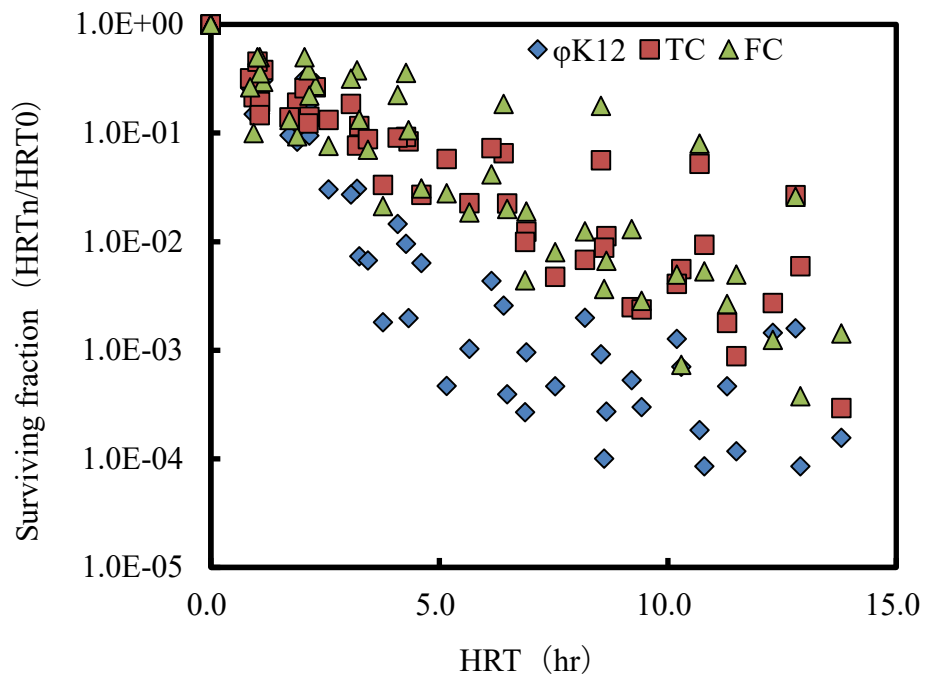


Fig. 3-6. Surviving fraction of HRM in the reaction tank.

4.4 固相中の大腸菌ファージ濃度変化

Run4,5,6において、流下方向における固相中の大腸菌ファージを定量し、その濃度変化をFig. 3-7に示した。大腸菌ファージは、初発濃度によらず、流下方向にそって漸次減少することが確認された。固相試料からの誘出効率が全段で一定であるとすると、活性汚泥に吸着した大腸菌ファージは、そのまま安定的にフロックに保持されているのではなく、固相中で不活性化してゆくものと推察される。

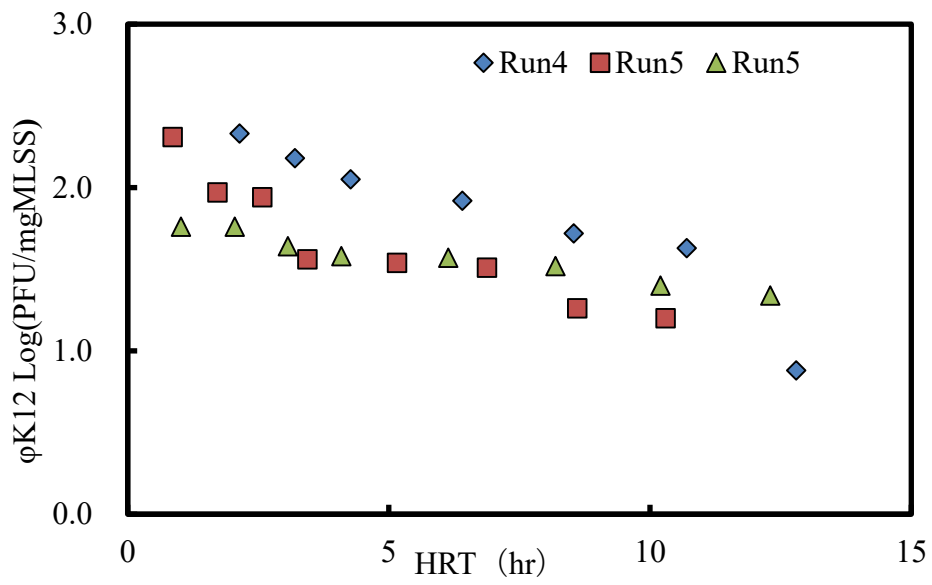


Fig. 3-7. Changes in *E. coli* phage in activated sludge.

4.5 衛生微生物相互の定量関係

反応タンクにおける衛生指標微生物相互の定量関係を、大腸菌ファージをベースとして散布図に示した(Fig.3-8)。

大腸菌群および糞便性大腸菌群の散布図の形状は共に類似し、寄与率0.7以上のよい相関が認められた。なお、大腸菌ファージの低濃度域における細菌群のバラツキは、先に示した両者の挙動の相違に起因するものである。流入下水中において大腸菌ファージは大腸菌群よりも糞便性大腸菌群との濃度相関関係がよいという報告(55)があるが、反応タンクにおいては、大腸菌群と糞便性大腸菌群の存在比率が一定だったことから、共に類似の相関関係が得られたものとする。大腸菌ファージの定量時間が大腸菌群の2/3であることを考慮すると、反応タンク内の活性汚泥による大腸菌群数の除去過程を迅速に推定できる、すなわち大腸菌群をはじめとする糞便汚染指標の衛生微生物のモニタリング指標としての価値を高めるものである。

大腸菌ファージと大腸菌群および糞便性大腸菌群との濃度相関が高いことから、大腸菌ファージの濃度から大腸菌群と糞便性大腸菌群濃度を推定することが可能であると示唆された。

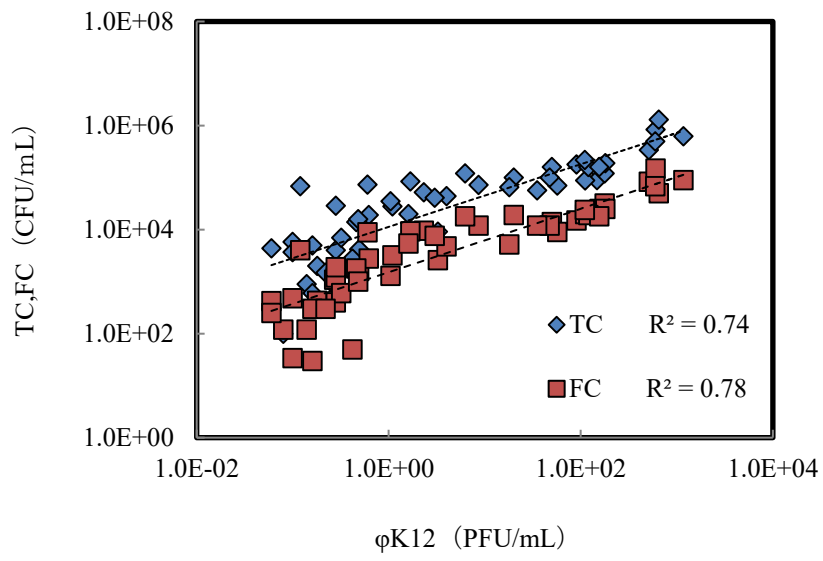


Fig. 3-8. Concentration correlation between phage and HRM.

4.6 活性汚泥に対する衛生微生物の吸着特性

衛生微生物の挙動をシミュレーションするために大腸菌群、糞便性大腸菌群および大腸菌ファージ量とその活性汚泥に対する吸着量を調査した。すなわち、衛生微生物の下水(水相)からの除去は、主に活性汚泥に対する吸着によると仮定して、各採水ポイントにおいて残存する衛生微生物濃度から平衡吸着量 $q(10^6\text{PFU}/\text{kgMLSS}\cdot\text{min})$ を求め、 q と残存する衛生微生物濃度との関係を両対数グラフにプロットしたところFig. 3-9のとおり吸着等温線が得られ、活性汚泥と衛生微生物との間にフロイントリッヒの吸着等温式($q = kC^{1/n}$, k ;定数, C ;残存する大腸菌ファージ濃度, $1/n$;吸着指数)が成立することが分ったのでグラフから吸着指数を求めた(Table 3-12)。吸着等温線のパターンは、大腸菌ファージの場合は折れ曲がり、細菌群の場合は直線となった。大腸菌ファージにおける折れ曲りの理由として、定量操作に用いた宿主菌が複数種類のファージの吸着を許すことが知られている(56)ことから、吸着特性の異なる大腸菌ファージの存在が考えられる。一般に、吸着指数($1/n$)が0.1~0.5のとき吸着性が高いこと、2を超えるときは吸着しにくいとされていることから(57)、大腸菌ファージは活性汚泥に対する吸着性が高いことが分かった。なお、折れ曲り吸着等温線が得られた理由として、先に述べた吸着特性の異なる大腸菌ファージの存在の他、大腸菌ファージ特有の挙動が考えられる。

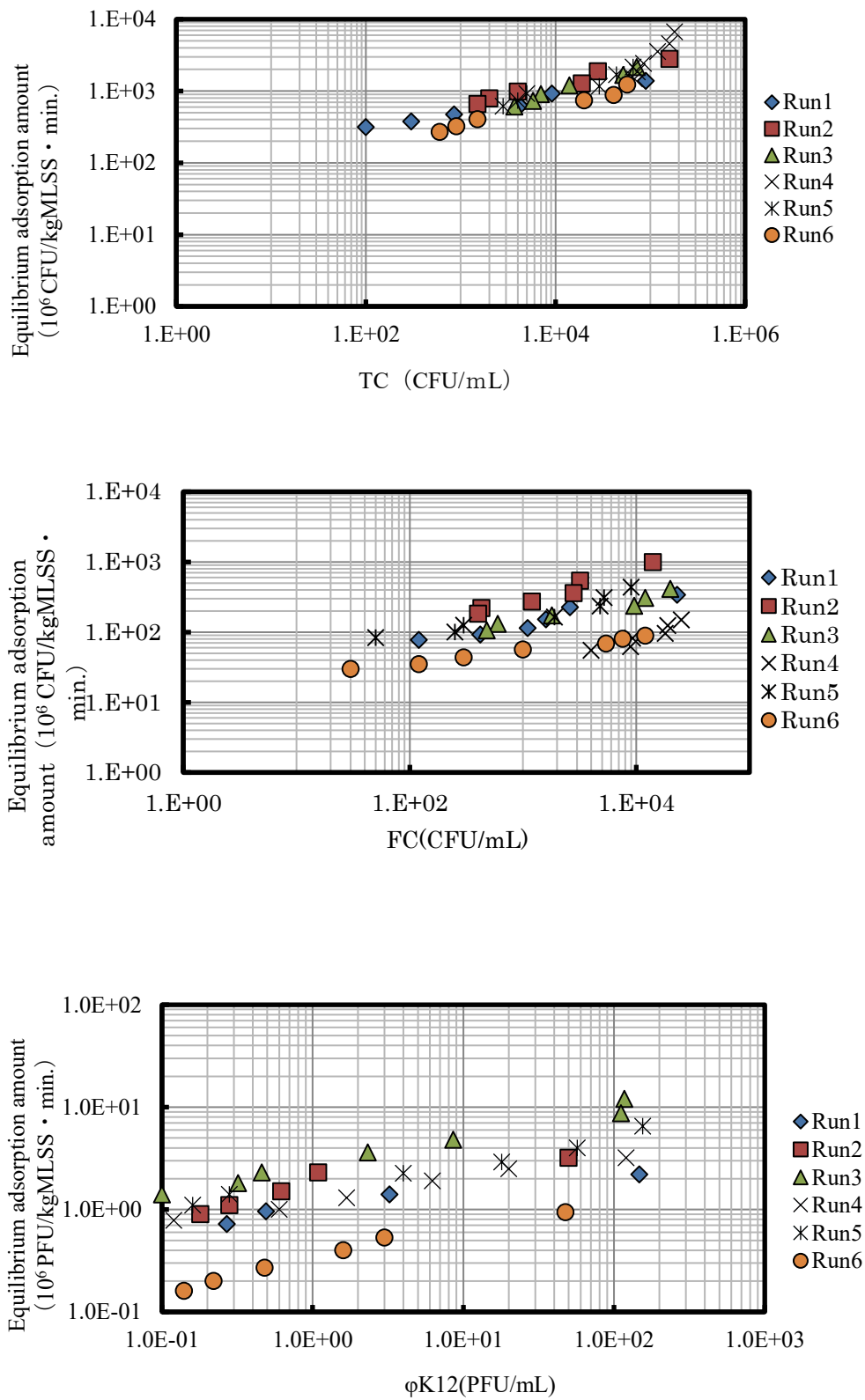


Fig. 3-9. HRM adsorption characteristics for activated sludge.

Table 3-12. Adsorption index of HRM to activated sludg in the sewage treatment process.

Run No	Decrease process	Adsorption index		
		ϕ K12	TC	FC
1	Rapid	0.4	-	-
	Linear	-	0.5	0.5
	Slow down	1.5	-	-
2	Rapid	0.7	-	-
	Linear	-	0.5	0.6
	Slow down	6.0	-	-
3	Rapid	0.7	-	-
	Linear	-	0.7	0.6
	Slow down	3.7	-	-
4	Rapid	0.5	-	-
	Linear	-	0.7	0.4
	Slow down	0.9	-	-
5	Rapid	0.8	-	-
	Linear	-	0.6	0.6
	Slow down	0.8	-	-
6	Rapid	0.3	-	-
	Linear	-	0.5	0.4
	Slow down	1.2	-	-
Average	Rapid	0.6	-	-
	Linear	-	0.6	0.5
	Slow down	2.4	-	-

Rapid: 0~ 5hr, Linear: 0~ 15hr, Slow down: 5~ 15hr

第4節 小括

第1項 衛生微生物（細菌指標）の除去

段階的・高度処理方法の基本処理方式である標準活性汚泥法の処理過程における衛生指標微生物の除去性を調査したところ、次の知見が得られた。

(1) 流入下水中の衛生微生物量(算術平均 CFU/mL)は、一般細菌が $10^6 \sim 10^7$ 、糞便性大腸菌群が 10^5 、腸球菌が 10^4 、硫化水素産生細菌群が 10^3 、緑膿菌群(*Pseudomonas sp.*)が 10^2 、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)が 10^1 であった。

(2) 一次処理水の衛生微生物量は流入下水と近似していたが、一次処理から放流水に至る処理過程において、硝化促進運転処理場の衛生微生物量が抑制運転処理場のそれに比べて低減した。

(3) 衛生微生物の対数除去率は、一次処理過程で $-0.09 \sim 0.36$ 、二次処理過程で $1.3 \sim 2.6$ となり、処理場間の比較で腸球菌と硫化水素産生細菌群が有意となった。流入下水ベースの総合除去率は $1.8 \sim 3.8$ となり、処理場間の比較で一般細菌が有意となった。

(4) 下水処理過程における衛生微生物と浮遊物質との濃度相互関係は、硝化抑制および硝化促進運転によらず、累乗近似の寄与率が $0.5 \sim 0.7$ の相関関係にあった。

(5) 一般細菌と衛生微生物の各検出量を比較解析したところ、一般細菌量と衛生微生物量は相関関係にあることが判明した。このことから、一般細菌量を調査することで各種の選択培地における衛生微生物量を予測することが可能であることが分かった。

第2項 衛生微生物(ウイルス指標)の除去

(1) ファージの現存量(PFU/mL)は、流入下水が $10^2 \sim 10^3$ 、二次処理水

が $10^{-2} \sim 10^1$ 、消毒済み放流水が $10^{-2} \sim 10^0$ であった。二次処理水中の現存量は処理場間で差が大きく、反応タンクの水理的滞留時間 (HRT) が長いほど少ない傾向を示した。

(2) 下水処理過程におけるファージの対数除去率は、流入下水ベースの対数除去率として、1次処理後が $-0.16 \sim 0.36$ 、二次処理後が $1.7 \sim 3.3$ 、流入下水ベースの総合除去率が $2.5 \sim 3.9$ であった。

(3) 下水処理過程におけるファージと衛生細菌の濃度相関関係は、累乗近似式で寄与率 $0.45 \sim 0.91$ ($\Phi K-12$) および $0.39 \sim 0.94$ ($\Phi-B$) であった。また、寄与率の高い順に糞便性大腸菌群、腸球菌 > 硫化水素産生細菌群 > 緑膿菌群であり、一般細菌は処理場により糞便性大腸菌群、腸球菌に次いで高い場合と、硫化水素産生細菌群より低い場合があった。

第3項 衛生微生物(病原性指標)の除去

(1) 下水処理場に流入するサルモネラの現存量は、時間変動及び週間変動を示し、調査期間における最大濃度は $110 \text{ MPN}/100\text{mL}$ であった。

(2) 下水および汚泥試料から分離した 29 株のサルモネラのうち、BGI は 41%、BGIV は 55%、BGV は 4% であった。

(3) 下水および汚泥試料から分離したサルモネラの 69% が薬剤耐性株であり、BGI の 42%、BGIV の 62% が PC の単剤耐性株であった。また、BGI の 17%、BGIV の 12%、BGV の 100% が二剤以上の耐性株であった。

(4) 下水および汚泥試料から分離したサルモネラを宿主として流入下水中のファージの検索を行ったところ、BGI の 75%、BGIV の 94% がファージ感受性であり、最大検出プラーク数は $550 \text{ PFU}/\text{mL}$ であった。

第4項 反応タンク活性汚泥による衛生微生物の除去

(1)反応タンクの処理時間に伴って、大腸菌群、糞便性大腸菌群は直線的に減少した。

(2)大腸菌ファージは大腸菌群、糞便性大腸菌群と比較してさらに減少傾向を示した。

(3)活性汚泥中の大腸菌ファージは反応タンク処理時間の経過とともに減少した。したがって、大腸菌ファージは活性汚泥中にて除去されていることが予想された。

(4)大腸菌ファージと大腸菌群および糞便性大腸菌群との間に、寄与率 0.7 以上の濃度相関関係が認められた。

(5)衛生微生物の挙動をシミュレーションするために大腸菌群、糞便性大腸菌群および大腸菌ファージ量とその活性汚泥に対する吸着量を調査した。その結果、反応タンクにおける衛生微生物濃度と活性汚泥との間に、フロイントリッヒの吸着等温式が成立したことから、反応タンクにおける衛生微生物の挙動をシミュレーションすることが可能となった。

第4章 段階的高度処理方法による衛生微生物の除去

第1節 緒言

国土交通省では、標準活性汚泥法等の施設について部分的な施設および設備の改造を行う場合や運用改善により高度処理に準じる処理水質を得る方法を「段階的高度処理」、その手法により運転を行っている状態を「段階的高度処理運転」と定義した⁵⁾。

「段階的高度処理運転」のうち、嫌気好気活性汚泥法と「同様の処理原理」(生物学的リン除去)により主としてリン除去を目的とする運転を「段階的高度処理(リン除去)」、循環式硝化脱窒法と「同様の処理原理」(硝化・脱窒)により主として窒素除去を目的とする運転を「段階的高度処理運転(窒素除去)」と称して、その普及を図っている⁵⁾。本研究では、段階的高度処理および段階的高度処理運転を包括して段階的高度処理方法と称する。

目標水質を得るための方策として、①施設の部分的改造を行う場合、②運用変更に限定した運用改善を行う場合、③施設の部分的改造と運用変更を同時に行う場合の3パターンが示されており、段階的高度処理方法の目標水質としては、①窒素除去、②リン除去、③窒素とリンの同時除去の3パターンが示されている⁵⁾。

ここで、研究対象のN処理場における通年の下水処理状況について、例年の台風シーズンや近年のゲリラ豪雨時には、日最大処理能力を超える下水が流入する場合の簡易放流対応(沈殿処理と消毒処理)が複数回発生している。このため、施設の部分的改造のために施設の一部を停止することは、公共施設としての危機管理の観点から回避する必要があり、運用変更のみの対応による実験とした。

目標水質については、反応タンクが隔壁で仕切られており、送風量調整のための端末バルブが流下方向に多数設置されているために、

必要に応じて区画ごとの風量調整が可能であることから生物学的リン除去は実現可能と考えられた。また、従前は、放流水 BOD の基準順守のための硝化抑制運転により窒素の除去レベルは低かった。しかし、第 1 章における N 処理場の運転項目の運用実態から、従前の硝化抑制運転を硝化促進運転に運用変更することが可能と考えられた。そこで、生物学的窒素除去も目標とした。

標準活性汚泥法で運用されている施設を段階的高度処理方法で運用した場合の目標水質(mg/L)は、 $BOD \leq 15$ 、 $TP \leq 3.0$ 、または $TN \leq 20$ と設定されており、1 年間の運用実績が目標水質を充足した場合は、高度処理施設と見なされることになる 5)。

段階的高度処理方法の運用について、反応タンク内の隔壁の有無 58)、汚泥処理返流水 59)、降雨 60)、による処理影響については、すでに検討されている。一方、第 1 章、第 2 章で記述したように、下水処理水の衛生学的安全性に関しては、日本国内では下水処理放流水に対する大腸菌群数の規制はされているが 61)、他の衛生微生物については、測定義務がないために、1 年を超える期間における調査報告例は見当たらない。

そこで、次の 3 項目について研究を実施し、得られた結果に基づいて標準活性汚泥法の運用変更による段階的な高度処理方法を確立すること。さらに、得られたデータに基づいて、他の処理施設を早期に高度処理化する技術基盤を確立することを目的とした。

(1)段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の処理性能比較

運用変更の手法を用いて BOD、リン、窒素を除去する段階的な高度処理方法の施設と、従前からの標準活性汚泥法の施設を平行的に 14 か月間運用して、衛生微生物と BOD、TN、TP などの水質項目の除去性能を評価する。次に、二次処理過程における衛生微生物の除

去率と、運転項目、水質項目、活性汚泥生物相の関連性を明らかにする。

(2) 段階的な高度処理方法への運用変更による衛生微生物の除去

標準活性汚泥法を段階的な高度処理方法に運用変更する過程における、運転項目、水質項目および衛生微生物の経過を観測し評価することで、段階的な高度処理方法への切り替え過程を明らかにする。

(3) 未導入処理場への導入効果に関するシミュレーション

段階的な高度処理方法を未導入の処理場に対する導入効果を、N処理場の実証実験結果に基づいて、水質項目と衛生微生物における汚濁負荷量を算出する手法を用いてシミュレーションし、評価する。

第2節 材料と方法

第1項 段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の処理性能比較

1.1 実験施設

N処理場において、2013年11月から2014年12月末までの14ヶ月間にわたり段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の同時運用による並行処理の実証実験を実施した。

処理能力は、処理施設 No.1～8 の合計で 628,770 m³/日である。この中で、No.5～6 は実験系(能力、65,200m³/日×2 系列)、No.3～4 は対照系(65,200m³/日×2 系列)とした。

1.2 施設の運用条件

運用条件は以下のとおりとした

(1) 実験系と対照系の毎日の流入下水量は、段階的処理方法の要件に従って、設計容量の半分以上に設定した(5)。

(2) 流入下水に基づく汚泥返送率は、実験系で汚泥返送ポンプ能力最大の約 45%、対照系で従来の管理値である約 30%とした。

(3)実験系では、活性汚泥濃度(MLSS)を反応タンクの嫌気・好気操作の標準値に準じて 1,500 mg/L 以上に設定した 3)。一方、対照系では、従来の本処理場の管理値である 1,000 mg/L 以上とした。

(4)実験系では、嫌気槽(反応タンクの 1/4 区画)の端末送風バルブの開度を約 10%に絞って、嫌気調整を行った。2/4～4/4 区画の送風倍率は、実験系での硝化反応を促進するため、溶存酸素(DO)を 0.5～1.0 mg/L 以上に維持することに努めた。一方、対照系は硝化反応を抑制する現行の運用を維持した。

なお、実験系および対照系は、実験開始の 2 か月前までには、上記の(1)から(4)の運転条件を整えたことから、実験開始に際しては、段階的な高度処理方法および標準活性汚泥法で運用されていた。

1.3 実験方法

1.3.1 試料採取と段階的な高度処理方法の原理

Fig. 4-1 に処理フローと採水ポイントおよび処理原理を示した。

下水試料は、原則として、午前 10 時から採取の単一試料とし、月あたり 2～4 回の頻度で採取した。採取試料は、流入下水、一次処理水、反応タンク活性汚泥、二次処理水、放流水とした。

処理原理に関して、流入下水は、沈砂池 ㉑ で土砂や粗大な夾雑物を除去したのち、最初沈殿池 ㉒ で流入下水に含まれる浮遊物質(SS)の 30%程度が重力沈降の原理により除去されて、一次処理水となる。次に反応タンク ㉓ において、標準活性汚泥法の活性汚泥、または、段階的な高度処理方法の活性汚泥による汚濁物質の除去が行われる。ここで、標準活性汚泥法の反応タンクの 1/4～4/4 区画は好气的条件、一方、段階的な高度処理方法の場合は、1/4 区画が嫌气的条件、2/4～4/4 区画がより好气的条件で運用している。活性汚泥は、1/4 区画～4/4 区画において段階的に汚濁物質の吸着や下水に含まれる有機

物を吸収しての同化作用等により凝集性や比重が高まってゆく。4/4区画の流出部における活性汚泥は、汚濁物質が除かれて透明感が増した処理水との混合液状態で最終沈殿池④に流入する。ここで、重力沈降の原理による固液分離が行われて、二次処理水となる。二次処理水は、塩素消毒施設⑤において、次亜塩素酸ナトリウム等の塩素剤により消毒し、衛生微生物量を基準値の範囲内に収めてから放流水として、公共水域に放流されている。

段階的な高度処理方法におけるリンの除去に関しては、標準活性汚泥法の反応タンクの1/4区画の送風量を減じて嫌気的条件を整えることで、2/4～4/4区画の好気的条件との溶存酸素濃度の差を拡大する。この結果、1/4区画における活性汚泥における生物学的なリンの放出現象と、2/4～4/4区画の好気的条件下、活性汚泥によるリンの過剰吸収現象を利用して、リンを余剰汚泥と共に系外に除去するという原理である。窒素の除去に関しては、反応タンクにおける活性汚泥濃度を増加するとともに、反応タンクの2/4～4/4区画の送風量を増加することで、硝化細菌の活性度を増加して生物学的硝化反応を促進する。この上で、返送汚泥量を増加することで、汚泥返送ライン⑥の内部および1/4区画の嫌気的条件により、生物学的窒素除去反応により窒素を除去するという原理である。

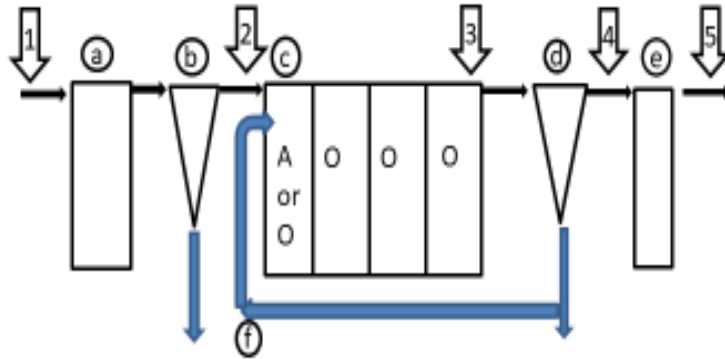


Fig. 4-1. Process flow and sampling points in the experimental subject facility.

Ⓐ , Grit chamber; Ⓑ ,First settling basin; Ⓒ ,Reaction tank: experimental or control, where A and O represent anaerobic and aerobic, respectively; Ⓓ , Final settling basin; Ⓔ , Discharge tank; Ⓕ , Sludge return line (experimental or control).

1, Crude sewage; 2, first settling basin outflow water; 3, activated sludge (experimental or control); 4, final treated water (experimental or control); 5, discharged water.

1.3.2 現場測定

現場測定は、反応タンク 1/4 区画出口で酸化還元電位(Oxidation-reduction potential:ORP)を、4/4 区画出口で溶存酸素濃度(Dissolved oxygen : DO)を測定した。DO は隔膜電極法 62)(ガルバニ電池式、YSI Pro20 ロングプローブ型、YSI Nanotech Co.Ltd.、神奈川)、ORP は白金電極法 62)を使用して測定した(カロメル比較電極、RM-30P、ロングプローブタイプ、東亜 DKK 株式会社、東京)。それぞれの測定値は、検出ユニットを水面下 1.0 m に約 10 分間浸して指示値が安定したときに読み取った。

流入下水量、流入下水量ベースの送風倍率、汚泥返送率は現場据付の計器による連続測定値の一日当たりの平均値を採用した。

1.3.3 水質分析

採取した下水および活性汚泥試料は直ちに試験室に持込み、水質試験を実施した。

下水試料について、pH、SS、BOD、COD、TN、および TP は化学分析、アンモニア性窒素(NH₄-N)は、試料を 1.0 および 0.2 μ m のメンブレンフィルターでサンプルを連続的にろ過した後、イオンクロマトグラフィーで分析した。

活性汚泥試料について、活性汚泥濃度(MLSS)、返送汚泥濃度、および汚泥沈降沈殿率(Sludge volume:SV)は下水試験方法により分析し、汚泥容量指標(Sludge volume index: SVI)、好氣的汚泥滞留時間(Aerobic sludge retention time: A-SRT)、および汚泥日令(Sludge age: SA)は、水質分析結果に基づいて計算で求めた。

1.3.4 衛生微生物の定量

研究対象の衛生微生物として、糞便汚染の細菌指標としての大腸菌群数、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌を選定した。選定に際し

では、第 2 章、第 3 章の知見を根拠とした。すなわち、黄色ブドウ球菌は、流入下水における検出頻度が、他の衛生微生物に比べて極端に低く、下水処理過程の二次処理水で検出されなかったこと。緑膿菌群は、活性汚泥を構成する微生物種に含まれており、また、窒素除去能力を有する細菌種が多いため、窒素除去を目的として運用する本研究の場合は、衛生微生物としての挙動解析になじまないこと。硫化水素産生細菌群に関しては、その構成細菌の大部分が *Citrobacter* sp.であったが、この細菌種は大腸菌群としても定量されていることから、その量的な把握は、大腸菌群で包括されること。以上を判断して除外した。

衛生微生物の定量に関しては、大腸菌群はデオキシコール酸寒天培地(栄研)を使用しての重層法により 37°Cで 24 時間培養し、大腸菌は、特定酵素基質寒天培地(ELMEX)を使用しての混釈法により 37°Cで 24 時間培養した。糞便性連鎖球菌は Escherin-agar(Oxoid)を使用しての混釈法により 37°Cで 24 時間培養し、腸球菌は KF-寒天 (Oxoid)を使用しての混釈法により 37°Cで 48 時間培養した。この時の定量下限は 1.0 CFU/mL である。

1.3.5 活性汚泥生物の同定と定量

反応槽の 4/4 区画の活性汚泥を採取し、その 0.05mL を分析に使用した。生物種は光学顕微鏡を使用して下水試験方法 2012 (62)の写真やイラストと比較することで識別・同定し計数した。また、活性汚泥生物の定量結果を用いて、次式により Shannon-Wiener の多様性指数を算出した (62)。

1.3.6 主な指標の計算方法

処理過程における対数除去率、硝化率(%）、脱窒率(%）、脱リン率(%）、生物多様性指数の算出は、次のとおり実施した。

(1)対数除去率 = $\text{Log}(\text{処理前濃度}(\text{CFU/mL}) - \text{Log}(\text{処理後濃度}(\text{CFU/mL}))$

(2)硝化率(%) = $((\text{二次処理水の NO}_3\text{-N} + (\text{一次処理水 TN} - \text{二次処理水 TN})) / \text{一次処理水の TN}) \times 100$

(3)脱窒率(%) = $((\text{一次処理水 TN} - \text{二次処理水 TN}) / \text{一次処理水 TN}) \times 100$

(4)脱リン率(%) = $((\text{一次処理水 TP} - \text{二次処理水 TP}) / \text{一次処理水 TP}) \times 100$

(5)生物多様性指数: Shannon-Wiener index $H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$

S: 活性汚泥における個々の生物種の個体数(N/mL)

Pi: 活性汚泥における生物種の総数に対する個々の生物種の割合(N/mL)

1.3.7 ピアソンの積率相関分析

各処理過程の衛生微生物濃度と対数除去率は箱ひげ図で比較した。実験系と対照系で F 検定(棄却率 5%)を実行して、分析項目の分散が等しいかどうかを判断した後、実験系と対照系の各項目について、スチューデントの t 検定(棄却率 5%)またはウェルチの t 検定(棄却率 5%)により母平均の差の検定を行った。その結果、 $p < 0.05$ の場合を統計的に有意であると見なした。衛生微生物の対数除去率と運転項目、水質項目、および活性汚泥生物の関係を、ピアソンの積率相関係数と $|r|$ を使用して分析し、 $|r| \geq 0.4$ 以上を相関ありと判断した。

1.3.8 階層的変数クラスター分析

衛生微生物の対数除去率と、運転項目、水質項目、および活性汚泥生物について、相関性のある項目間の関係を調べるために、階層的変数クラスター分析を行った。すなわち、合併後の距離計算方法としてワード法を用いて、合併後の距離から各項目を構成要素と

する樹形図を作成し、類似項目のクラスターを比較した。

第 2 項 運用変更過程における衛生微生物の除去

2.1 実験対象

第 1 節において段階的・高度処理法の性能実験を行った N 処理場を実験対象箇所として、2015 年 1 月～12 月末までの連続した 1 年間にわたり、運用変更処理系列(実験系)と段階的な高度処理系列(対照系)を平行的に運用した。すなわち、実験施設は、標準法系列(65,200m³・系列/日)のうち、第 3 および第 4 系列を段階法への運用変更系列(以下、実験系という)とした。また、2013 年より段階的な高度処理方法の運用を継続している第 5 および第 6 系列を段階的な高度処理系列(以下、対照系列という。)とした。

2.2 運用変更手順

運用変更手順は次のとおりとした。

- (1)流入下水量は、実験系と対照系共に同量とし、段階的・高度処理方法の要件 5) に従って、設計容量の半分以上に設定した。
- (2)送風倍率(流入水量ベース)は、実験系の処理水 NH₄-N 濃度 ≤ 5mg/L となるように対照系のレベルまで段階的に増やした。
- (3)活性汚泥濃度(MLSS)は、対照系と同等レベルになるように実験系の余剰汚泥引抜量を調整した。
- (4)汚泥返送率(流入下水量ベース)は、実験系の硝化促進状態を確認したのちに、対照系のレベルまで段階的に増加した。
- (5)実験系の汚泥返送率が対照系の運用値に達した後に、反応タンクの 1/4 区画における端末送風バルブを約 10%に絞ることで微曝気条件として、変更操作を終了し、段階的・高度処理方法による運転に移行した。

2.3 実験方法

実験方法は、第4章第1節第2項の方法と同一とした。

第3項 段階的な高度処理方法の導入効果のシミュレーション

N 処理場における実証実験結果に基づいて、未導入の4処理場における段階的な高度処理方法の導入効果をシミュレーションして評価した。

3.1 対象の汚濁物質

水質項目については、段階的処理方法の目標水質である BOD、TN、TP と、法律に基づく総量規制物質の COD をシミュレーションの対象項目とした。

衛生微生物については、糞便汚染指標の大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌をシミュレーションの対象項目とした。

3.2 汚濁負荷量の算出に用いる処理場の統計データ

各処理場の流入下水量、流入下水の BOD、COD、TN、TP、および大腸菌群数は、2007 年～2017 年までの 11 年間分の下水道統計データ 13) を統計解析して算出した算術平均値(統計値)を使用した。

3.3 水質項目に係る汚濁負荷量の算出

汚濁負荷量の算出は N 処理場における実験結果を他処理場で得られたデータに適用して計算で求めた。

すなわち、該当する処理場の流入下水の水質(統計値)に第4章第1節で示した N 処理場の実験系または対照系における二次処理除去率を乗じて、段階法に変更した場合または変更しない場合の二次処理水質(g/m^3)を算出した。次に、3.2 で得られた各処理場の流入下水量統計値(m^3/day) $\times 10^{-6}$ を乗じることで、二次処理水における各水質項目の汚濁負荷量(ton/day)を算出した。

3.4 衛生微生物に係る汚濁負荷量の算出

大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌の汚濁負荷量の算出は、N 処理場における実験結果を他処理場で得られたデータに適用して計算で求めた。すなわち、N 処理場における流入下水の大腸菌群濃度を説明変数、他の衛生微生物濃度を目的変数として回帰式を導いた。この回帰式を 3.2 で得られた各処理場の大腸菌群濃度統計値に適用して、流入下水の各微生物量(CFU/mL)を計算で求めた。次に、流入下水の各微生物量に第 4 章第 1 節で示した N 処理場の実験系または対照系における二次処理除去率を乗じて、段階法に変更した場合または変更しない場合の二次処理微生物量(CFU×10⁶/m³)×10⁻⁶を算出した。この値に 3.2 で得られた各処理場の流入下水量統計値(m³/day)を乗じることで、他処理場における二次処理水における衛生微生物の汚濁負荷量(CFU/day)を算出した。

第 3 節 結果と考察

第 1 項 段階的高度処理方法と標準活性汚泥法の処理性能比較

3.1.1 運用項目の状況

実験期間中の運用項目の実績値を Table 4-1 に示した。

1 日あたりの下水量は、段階法の目標値と比較して、実験系が $\geq 59\%$ 、対照系が $\geq 60\%$ であった。対照系と比較して実験系で増加が見られた項目は、送風倍率(0.6 倍)、汚泥返送率(14%)、MLSS(700mg/L)、返送汚泥濃度(300mg/L)、DO(1.7mg/L)、ASRT(3.6 d)、SA(8 d)、脱窒率(28%)、および脱リン率(12%)であった。一方、減少した項目は SVI(100 ポイント)、ORP(20 mV)、および BOD/SS 負荷(0.06 ポイント)であった。

実験系の汚泥返送率、MLSS、および送風倍率は、前述した段階的

方法の操作条件を満たしていた。実験系の送風倍率は 5.0 倍であり、先行研究の半分であった 58)、59)。これは、反応タンクが隔壁で 4 分割されているために、隔壁が無い場合に比べて嫌気性/好気性ゾーン間で異なる DO 濃度を維持することができたこと、および汚泥処理からの返流水の流入による DO 消費の影響が最小限に抑えられたため、送風量を先行研究より低めに抑えることができ、その結果、送風倍率が減少したと考える。

実験系の汚泥返送率は 44% であり、先行研究 58)、59) よりも約 6% 低くなっている。これは、実験系の汚泥返送ポンプの能力が律速しているためである。しかし、脱窒率が対照系に比べて 28% 向上していることから、段階的高度処理方法の処理原理である汚泥返送ラインでの脱窒反応が十分に機能していると判断した。

脱リン率は両方のシステムで 80% 以上であり、わずかな違いしか示さなかった。この主な理由は、反応槽の 1/4 区画は、沈殿処理したあとの有機物の割合が多い一次処理水が流入する箇所であることから、実験系、対照系を問わず、溶存酸素の消費が多くなっている。このため、対照系においても実験系と同様に、1/4 区画でのリンの再放出と 2/4~4/4 区画の好气的条件によるリンの再吸収が効率よく起きていることで、脱リン率に関して、実験系と対照系の差が認められなかったと考える。先行研究では、汚泥返送率を増加させすぎると、好気状態の返送汚泥の持込により、リンの除去が不安定になることが報告されている 59) 60) が、本実験では、反応槽各部の ORP と DO の分布バランスがリン除去率の向上に寄与していると考えられ、リンの除去性能は安定していた。実験・対照系での BOD/SS 負荷の最大値は 0.2~0.3 であり、活性汚泥生物・繊毛虫類が増殖する範囲であった 62)。

Table 4-1. Operational parameters.

Items	Unit	Experimental system	Control system
Flow of influent	Q/d/max volume (%)	73 (59–93)	74 (60–100)
Air-to-flow ratio	Flow ratio	5.0 (4.3–5.8)	4.4 (2.7–6.7)
Sludge return ratio	Rs (%)	44 (20–47)	30 (21–38)
Mixed liquor suspended solids	MLSS(mg/L)	1,900 (1,700–2,300)	1,200 (920–1,800)
Returned sludge concentration	RSSS(mg/L)	6,100 (4,700-8,400)	5,800 (3,700-9,100)
Sludge volume index	SVI	160 (100–270)	260 (150-430)
ORP (1/4 section of the reaction tank)	(mV)	-140 (-46–-220)	-120 (-6–-190)
DO (4/4 section of the reaction tank)	(mg/L)	3.0 (1.5–5.0)	1.3 (0.6–2.7)
Aerobic-solids retention time	A-SRT (d)	7.7 (5.2–9.8)	4.1(2.6–5.6)
Sludge age	SA(d)	22 (9.0–32)	14 (8.5-26)
Hydraulic retention time	HRT (hr)	11 (7.1–13)	11 (8.0–13)
BOD-SS loading	kg BOD/kg MLSS × d	0.11 (0.03–0.20)	0.17 (0.09–0.22)
Denitrification ratio	(%)	52 (40–62)	24 (4.5–33)
Dephosphorization ratio	(%)	94 (87–98)	82 (46-96)

Note: n = 49; mean (minimum - maximum)

3.1.2 処理水質の状況

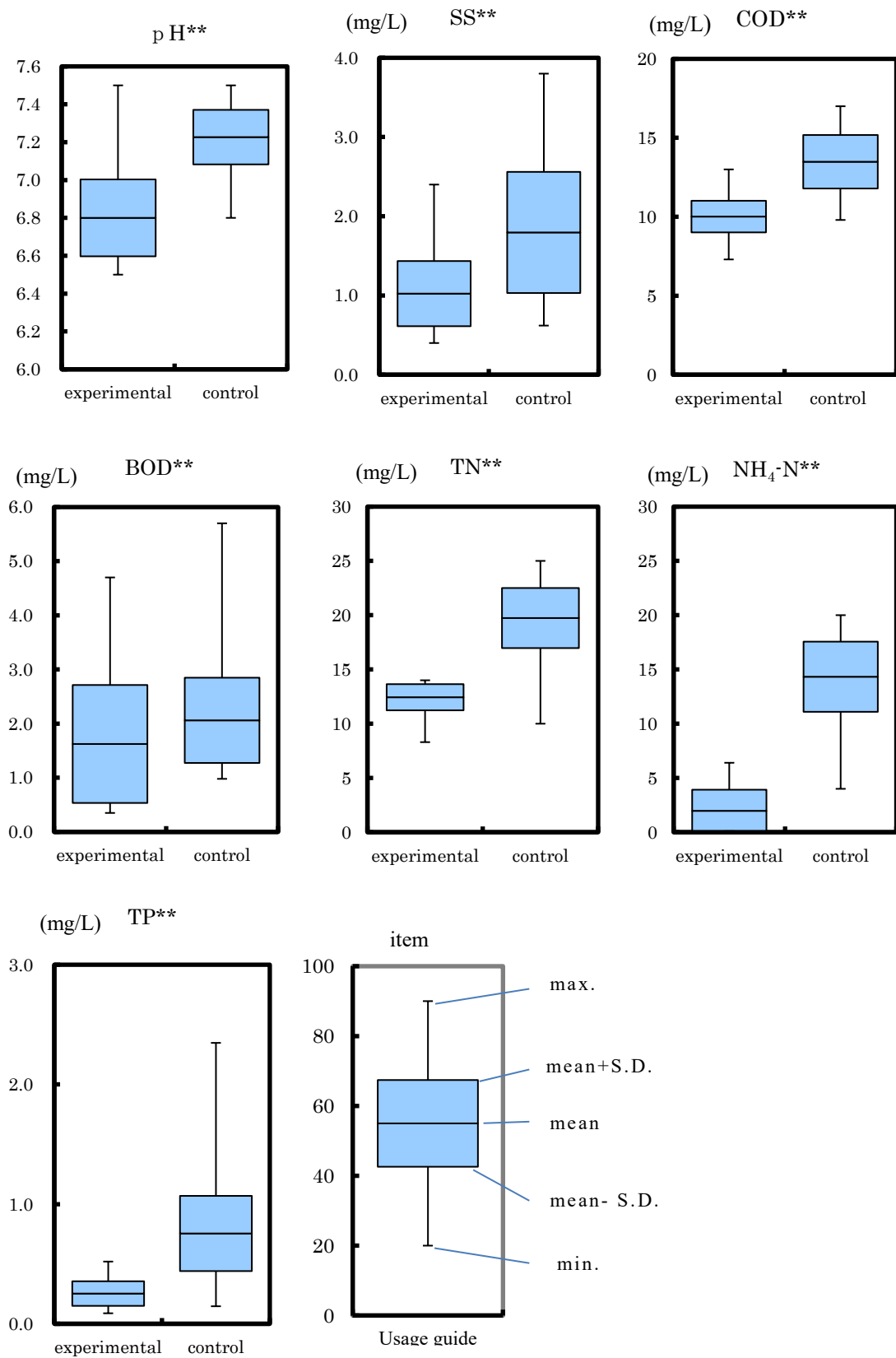
処理水質は、箱ひげ図を使用して比較した (Fig. 4-2)。

実験系の最大値(mg/L)は BOD で 4.7、TN で 14、TP で 0.5 であり、標準活性汚泥法施設の運用変更により段階的高度処理方法として認められる処理水質目標値の $BOD \leq 15$ 、 $TP \leq 3.0$ 、 $TN \leq 20$ を十分に満たした。12 か月間を超える期間中、段階的高度処理方法の目標水質を満たしたことから、実験系列については、高度処理方法による運用と見なされることになる。

実験系の pH は 6.8(6.5~7.5)、BOD(mg/L)は 1.6(0.5~4.7) であり、変動範囲は対照系のそれよりも大きかった。これは、硝化反応の進行に伴うアルカリ度の消費と残留 NH_4-N が原因であると考えられる。

TN と TP の変動範囲は、段階的方法の処理原理に基づいて送風倍率を調整することによって小幅に抑えることが出来た。

実験系と対照系の処理水質について、t 検定を行った結果、実験結果は対照系と比較して、pH、SS、COD、BOD、 NH_4-N 、TN、および TP で有意に勝っており ($p < 0.001$)、標準活性汚泥法に比べて、段階的高度処理方法の処理水質性能が勝っていることを検証することができた。



** p < 0.01, samples: 49 samples each.

Fig. 4-2. Performance comparison of secondary treated water quality.

3.1.3 流入下水および処理過程水の衛生微生物濃度

下水処理過程における衛生微生物濃度(CFU/mL)は、箱ひげ図を使用して比較し Fig. 4-3 に示した。

(1) 流入下水と一次処理水

流入水および一次処理水における衛生微生物濃度(CFU/mL)のオーダーは共に等しかった。すなわち、大腸菌群および糞便性連鎖球菌は 10^5 、大腸菌および腸球菌は 10^4 であった。流入下水に関する先行研究(41)では、大腸菌群が $10^5 \sim 10^6$ 、大腸菌が 10^5 、糞便性連鎖球菌が 10^4 、腸球菌が 10^4 であった。実験結果と先行研究を比較すると、大腸菌群と糞便性連鎖球菌の順位が異なっていることがわかった。この理由として、糞便中の連鎖球菌は糞便性大腸菌群より豊富であり、また、環境水での生存率は、糞便性大腸菌群より勝っているという報告(63)があることから、この違いは下水中における両者の生存率の違いによるものと推察する。

(2) 二次処理水

実験系の大腸菌群、大腸菌、および糞便性連鎖球菌(CFU/mL)は 10^2 、腸球菌は 10^1 であった。一方、対照系では、大腸菌群と糞便性連鎖球菌は 10^3 、大腸菌と腸球菌は 10^2 であった。したがって、実験系の衛生微生物は、対照系と比較して約1桁少なく、また、t検定により、対照系に比べて有意に減少していることがわかった($p < 0.001$)。この理由は、段階的高度処理方法の運用により、活性汚泥の固液分離性能(SVI)が向上し、後述するように、活性汚泥生物の衛生微生物に対する捕食・摂食による除去性能が向上したためと考える。さらに、実験系の大腸菌群数は消毒処理前にもかかわらず、下水処理場放流水の基準値である大腸菌群数 3,000 CFU/mL 以下(61)を満たしていた。これにより、消毒剤の使用量の削減や、放流先水域の水生生

物に対する消毒剤の影響を低減することができると期待される。硝化促進型の標準活性汚泥法施設の処理水は、消毒前でも大腸菌群数の排水基準を満たしている場合がある 14) が、段階的高度処理方法は、BOD、TN、および TP の除去だけでなく、大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌の削減にも有利であることが検証された。高度処理の下水処理場 8 か所において、大腸菌群が 10^2 、大腸菌が 10^1 、糞便性連鎖球菌が 10^2 、腸球菌が 10^1 、であったという報告 41) もあり、高度処理方法と遜色のない性能であった。

(3) 放流水

放流水中の大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌は、共に 10^1 CFU/mL であり、先行研究と同等レベルであった 39)。

ここで、放流水の衛生微生物量は、調査期間中に定量下限以下で検出されない場合があり、平均値および最小値が箱ひげ図に反映されなかつた。このため、図中に計算結果を挿入して示した。

放流水における衛生微生物濃度は、他の工程水に比べて変動が大きかった。この一因として、実験施設では、間欠式の薬液注入方式のため、薬液の注入量は、処理水量や水質の変動に必ずしも追従しない。このため、消毒に必要な接触時間と消毒剤濃度の違いにより、衛生微生物に対する消毒効果が変化している可能性が考えられる。糞便性連鎖球菌は大腸菌群に比べて、次亜塩素酸ナトリウムに対する抵抗性が高いこと 64) も濃度変動の要因と推察される。

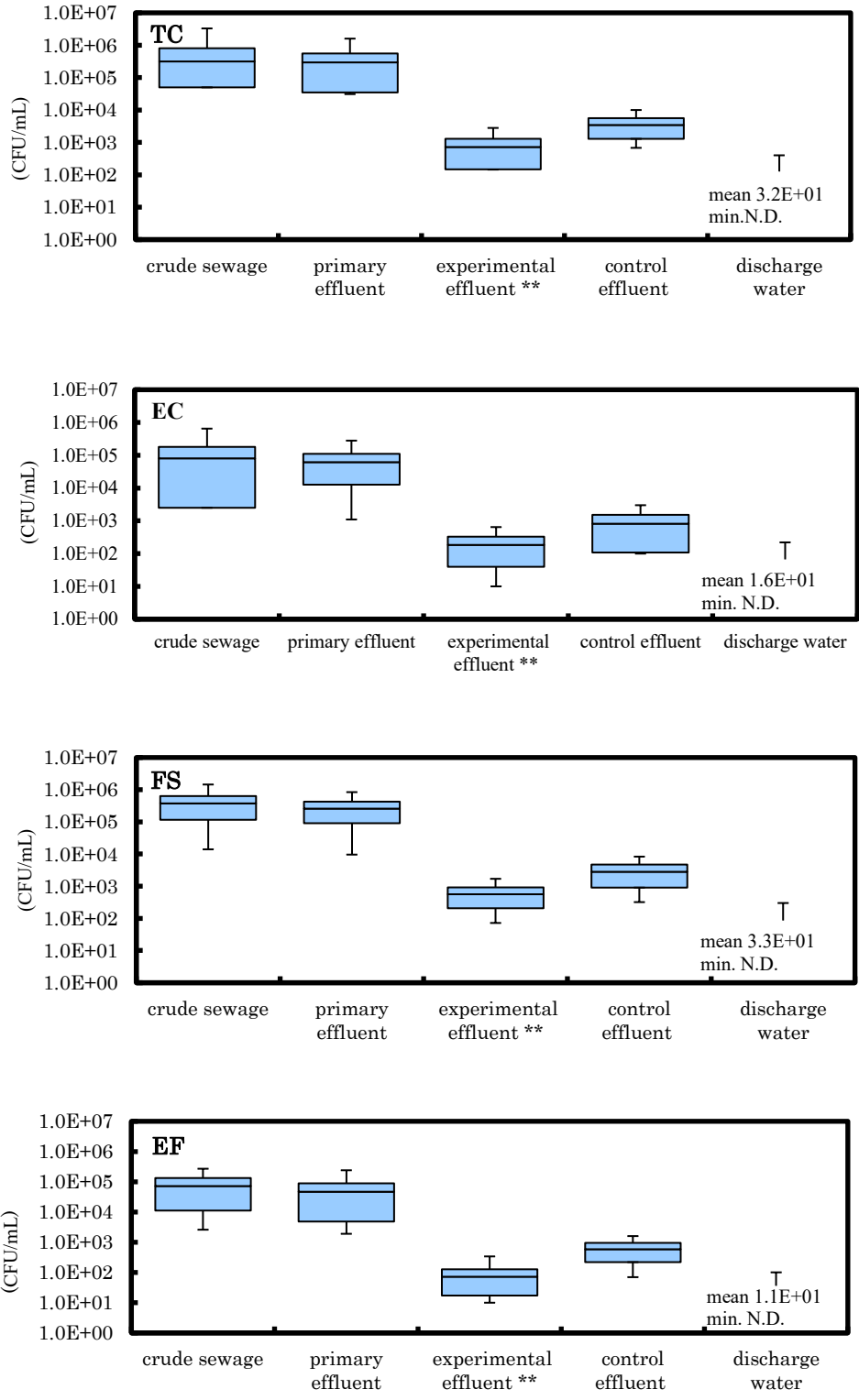


Fig. 4-3. HRM removal performance in each water treatment process.

TC, Total *coliform*; EC, *Escherichia coli*; FS, *Fecal streptococcus*;

EF, *Enterococcus sp.*

3.1.4 処理過程における衛生微生物の対数除去率

一次処理、二次処理、および消毒処理を含めた総合除去率を、処理過程毎に Fig. 4-4 に示した。

(1) 一次処理

流入下水ベースの対数除去率は、大腸菌群の $\leq -0.1 \text{ Log}$ から腸球菌の 0.21 Log の範囲であった。余剰汚泥が一次処理過程に戻している場合は、除去率が負の値を示す場合がある (45)。しかし、実験施設における余剰汚泥は、汚泥処理過程に直送される仕組みのため、実験中の流入水と一次処理水の濃度レベルを考慮すると、一次処理過程における衛生微生物の除去率そのものが低いと判断される。この理由として、衛生微生物は浮遊物質に吸着して沈殿除去される場合、水中に浮遊したまま一次処理水と共に流出する場合、および浮遊物質と共に沈殿した後に最初沈殿池の溶存酸素の低い環境下で離脱して再度浮遊することで一次処理水と共に流出する場合は考えられる。

(2) 二次処理

一次処理水ベースの対数除去率は、実験系で $2.5 \sim 2.7 \text{ Log}$ 、対照系では $1.8 \sim 2.0 \text{ Log}$ であった。高度処理施設を含む全国 8 カ所の調査によると、二次処理過程での衛生微生物の対数除去率は $2 \sim 3 \text{ Log}$ (39) であったことから、実験系の除去率は文献値の範囲内であり、高度処理施設と同等のレベルであったと考えられる。また、二次処理における衛生微生物の対数除去率は、実験系が対照系よりも有意に高いことがわかった (t 検定、 $p < 0.001$)。

(3) 流入下水ベースの総合除去率

消毒処理を含む全体的な対数除去率は大腸菌群が 4.59 で最も高く、糞便性連鎖球菌が 4.30 、大腸菌が 3.98 、腸球菌が 3.66 の順であった。また、全ての衛生微生物における最大除去率は 5 Log を超えた。

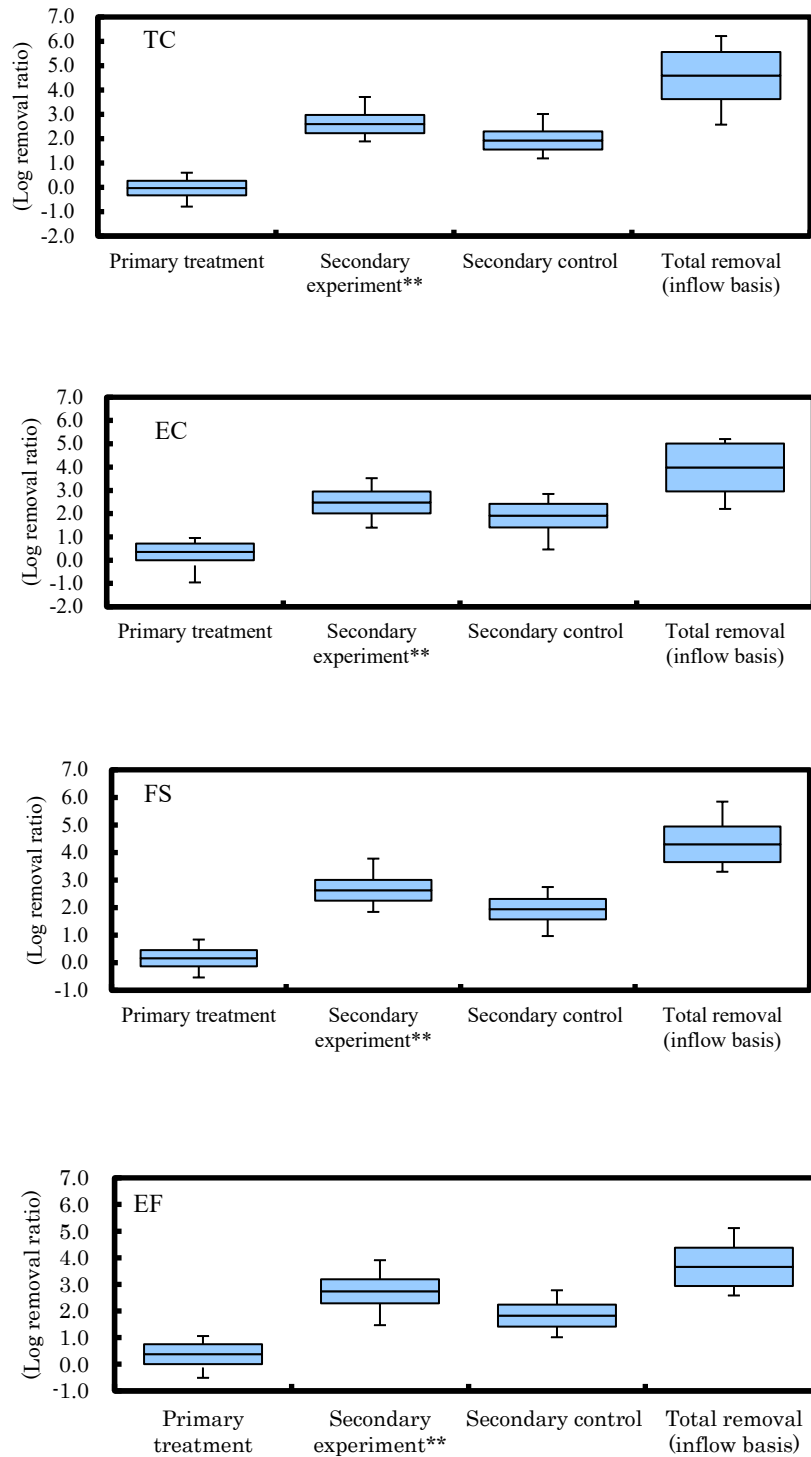


Fig.4-4. HRM removal ratio for each treatment process.

TC, Total coliform; EC, *Escherichia coli*; FS, *Fecal streptococcus*;

EF, *Enterococcus* sp. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, samples: 49 samples each.

3.1.5 活性汚泥の生物相と生物種

流入下水の衛生微生物は、二次処理過程で2桁以上除去された。ここで、処理水質(衛生微生物を含む)の向上に対して、原生動物の繊毛虫類や後生動物の輪虫類の役割が大きいことが知られている(65)。そこで、実験系と対照系で活性汚泥生物相を比較し、活性汚泥生物相と衛生微生物の除去との関係を検討した。

実験期間中における活性汚泥生物の構成比率(%)と主要種、並びに活性汚泥生物相の生物多様性指数を Table 4-2 に示した。

活性汚泥生物相の優占種は、実験系では繊毛虫(54%)、対照系では鞭毛虫(51%)であった。合計数と範囲は実験系と対照系でほぼ同一であると見なされたが、構成種の比率は大幅に異なり、生物多様性指数を t 検定した結果、 $p < 0.001$ で有意となった。実験系と対照系の反応槽に流入する一次処理水量と水質がほぼ同等であったため、有意差の理由は、実験系と対照系の運転条件の違いによると考えた。実験系で特徴的に出現したのが、繊毛虫類(固着性)の *Vaginicola sp.*、後生動物の *Macrobiotus sp.* および *Diplogaster sp.* であった。一方、対照系ではべん毛虫類の *Entosiphon sp.* であった。鞭毛虫類は、繊毛虫類と比較して低 DO に抵抗性を有する能力が高いため、対照系で優占種になった可能性が考えられる(66)。

餌としての細菌種に対する活性汚泥生物の選択的食習慣に関する先行研究によると、繊毛虫類の *Vorticella sp.* は食域が狭く、特定のグラム陰性菌と陽性菌を摂食すること(67)、後生動物の *Rotaria sp.* は、グラム陰性菌を給餌したときに増殖が良好となること(68)、さらに、複数の細菌種を給餌すると、ほとんどの繊毛虫の数が増加した(69)という。

実験結果と先行研究の結果を考え合わせると、二次処理過程にお

ける衛生微生物の除去率を高めるために、異なる食域を持つ多種類の活性汚泥生物を増やすことにより、活性汚泥生物相を多様化する必要があることがわかった。したがって、衛生微生物の除去率を高めるためには、段階的高度処理方法の運用条件は、標準活性汚泥法よりも適していることがわかった。また、段階的高度処理方法の活性汚泥は、細菌の捕食能力の高い原生動物の繊毛虫類が優占していたことから、衛生微生物の除去性能の指標として繊毛虫類の個体数観察の有用性が示唆された。

Table 4-2. Activated sludge biota and main microbial species.

Classification	Appearance ratio of activated sludge organisms (%)				
	Experimental system		Control system		
Flagellates		12 (1-43)	<i>Peranema sp.</i> <i>Monas sp.</i>	51 (16-86)	<i>Peranema sp.</i> <i>Monas sp.</i> <i>Entosiphon sp.</i>
	(sessile)	28 (3-66)	<i>Epistylis sp.</i> <i>Opercularia sp.</i> <i>Vorticella sp.</i> <i>Vaginicola sp.</i>	10 (0-35)	<i>Epistylis sp.</i> <i>Vorticella sp.</i> <i>Opercularia sp.</i>
	Ciliates				
	(floating)	13 (0-71)	<i>Aspidisca sp.</i>	9 (0-21)	<i>Aspidisca sp.</i>
	(swimming)	13 (1-51)	<i>Paramecium sp.</i> <i>Litonotus sp.</i>	14 (2-47)	<i>Paramecium sp.</i> <i>Litonotus sp.</i>
Rhizopods		28 (8-54)	<i>Arcella sp.</i>	14 (0-51)	<i>Arcella sp.</i>
Metazoans			<i>Rotaria sp.</i>		<i>Rotaria sp.</i>
		6 (0-19)	<i>Lecane sp.</i> <i>Chaetonotus sp.</i> <i>Macrobotus sp.</i> <i>Diplogaster sp.</i>	2 (0-14)	<i>Lecane sp.</i> <i>Chaetonotus sp.</i>
	Activated sludge organism population (N/mL)		4,600 (1,800-9,500)	4,300 (1,100-8,000)	
	Shannon-Wiener index (H')		2.1 (1.4-2.5)**	1.8 (0.8-2.4)	

Note 1: n = 49; mean (), range of appearance ratio for the species during the experiment.

Note 2: n = 49; mean (), range of population or Shannon-Wiener index (H') value

Note 3: Shannon-Wiener index (H')

Note 4: Student's t-tests. (Asterisk indicates the significant difference between experimental/control system, * p < 0.05; ** p < 0.01)

3.1.6 相関分析

実験系と対照系における衛生微生物の対数除去率と、反応タンク運転項目、2次処理水質、および活性汚泥生物数との関係を、ピアソンの積立相関分析により解析して Table 4-3 に示した。

衛生微生物の対数除去率との相関関係を示す操作項目 ($|r| \geq 0.4$)のうち、正相関変数は MLSS、A-SRT、脱窒率、DO、SA、送風倍率、脱リン率であった。各変数の増加は、段階的高度処理の反応タンクにおける硝化・脱窒反応の促進を示している。一方、負の相関変数には SVI と BOD-SS 負荷が含まれていた。SVI が小さいほど活性汚泥の固液分離性能が向上していることを示している (15)。また、硝化・脱窒反応の促進時における BOD-SS 負荷は、標準活性汚泥法に比べて小さいことが知られている (3)。このように、段階的高度処理方法により実行された運転操作は、衛生微生物除去率の向上に貢献した。

二次処理水質項目は、衛生微生物の対数除去率と負の相関関係であった。この中で、NH₄-N、pH、および TN は、他の水質項目よりも高い相関を示した。NH₄-N と pH の減少は硝化反応の促進を反映し、TN のそれは脱窒反応を反映している。

衛生微生物の対数除去率と活性汚泥生物相、すなわち、後生動物、根足虫類、繊毛虫類の多様化における生物数の増減との相関関係は正の相関を示し、鞭毛虫類は負の相関を示した。ここで、根足虫類 (*Arcella* sp.) は硝化細菌を捕食し、その個体数の増加は、反応タンクにおける硝化活性が高いことを示唆している (70)。

Table 4-3. Correlation between operation items, water quality items, biota, and logarithmic removal ratio of the hygienically relevant microbes.

	TC	EC	FS	EF	average
MLSS	0.66 **	0.53 **	0.65 **	0.73 **	0.64
A-SRT	0.67 **	0.51 **	0.62 **	0.69 **	0.62
Denitrification ratio	0.63 **	0.49 **	0.66 **	0.71 **	0.62
DO (4/4section)	0.59 **	0.55 **	0.54 **	0.56 **	0.56
Sludge age	0.57 **	0.50 **	0.49 **	0.52 **	0.52
Air-to-flow ratio	0.50 **	0.44 **	0.47 **	0.51 **	0.48
Dephosphorization ratio	0.52 **	0.36 **	0.47 **	0.51 **	0.47
RSSS	0.22 *	0.22 *	0.21 *	0.27 **	0.23
HRT	0.19	0.20	0.20 *	0.18	0.19
Influent flow	-0.19	-0.36 **	-0.17	-0.09	-0.20
ORP (1/4section)	-0.19	-0.17	-0.24 *	-0.22 *	-0.20
BOD-SS Loading	-0.56 **	-0.41 **	-0.59 **	-0.65 **	-0.55
SVI	-0.64 **	-0.54 **	-0.59 **	-0.58 **	-0.59
BOD	-0.33 **	-0.50 **	-0.40 **	-0.42 **	-0.41
TP	-0.50 **	-0.33 **	-0.43 **	-0.47 **	-0.43
SS	-0.44 **	-0.39 **	-0.58 **	-0.52 **	-0.48
TN	-0.62 **	-0.45 **	-0.65 **	-0.70 **	-0.60
COD	-0.64 **	-0.46 **	-0.66 **	-0.69 **	-0.61
pH	-0.70 **	-0.57 **	-0.65 **	-0.72 **	-0.66
NH ₄ -N	-0.71 **	-0.56 **	-0.72 **	-0.76 **	-0.69
Metazoa	0.42 **	0.28 **	0.49 **	0.48 **	0.42
Rhizopoda	0.44 **	0.35 **	0.40 **	0.41 **	0.40
Ciliate (sessile)	0.38 **	0.34 **	0.39 **	0.41 **	0.38
Ciliate (floating)	0.16	-0.01	0.16	0.24 *	0.14
Ciliate (swimming)	-0.01	-0.05	0.01	-0.02	-0.02
Flagellate	-0.48 **	-0.34 **	-0.44 **	-0.47 **	-0.43

Note 1; Correlation matrix; The single correlation coefficient between the two variables of the HRM removal ratio and operation items, water quality items, and activated sludge organisms is summarized for each item. Note 2; Uncorrelated test of population correlation coefficient, the null hypothesis that "the correlation coefficient is 0" was tested; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, $n = 98$

3.1.7 クラスタ分析

衛生微生物の対数除去率と相関する項目 ($|r| \geq 0.4$) について、相互関係の強さをクラスタ分析によりグループ分けし、樹状図で示した (Fig. 4-4)。

衛生微生物のクラスタにおける合併計算後の距離は 0.90 であり、他のクラスタは、この数値に近い値ほど強い関係を示している。すなわち、0.91 は最初のクラスタ（衛生微生物の対数除去率を含む段階法の操作項目）に分類され、1.0 は 2 番目のクラスタ（負の相関項目）に分類され、1.25 は 3 番目のクラスタ（活性汚泥生物相と空気倍率）に分類された。4 番目のクラスタは 1.45 であり、3 番目までのクラスタより数値が大きくなった。この理由は、処理水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ が原因で BOD に正の誤差が含まれる場合のあることを反映していると考えられる。

上述したように、第 1 クラスタから第 3 クラスタまでの距離は短かった。したがって、段階的高度処理方法で衛生微生物の除去率を向上させるには、操作項目、水質項目、活性汚泥生物相の相関関係を改善する必要があり、MLSS は衛生微生物の対数除去率と最も近い関係にあることがわかった。

段階的高度処理方法の実験系は、BOD だけでなく窒素とリンを除去するために MLSS 濃度は対照系の約 1.5 倍であった。さらに、好気状態を維持するための DO 濃度と送風倍率も増加している。また、SRT と SA を対照系より高く保つことで硝化反応を促進している。さらに、対照系よりも汚泥返送率を高く維持することにより、脱窒率を促進している。反応槽におけるこれらの運転操作により、活性汚泥フロックの成熟が促進され、最終沈殿池での固液分離性能が向上し、処理水質が向上してゆくと考える。

活性汚泥生物については、活性汚泥フロックの安定化と生物相の多様化により、グラム陰性菌と陽性菌の衛生微生物に対する捕食作用が向上すると考える。さらに、原生動物だけでなく、微小後生動物の *Philodina* sp. は分散性細菌を捕食し、*Aeolosoma* sp. は凝集性細菌を捕食する 71)。このように、活性汚泥生物相の多様化は、グラム陰性菌や陽性菌の存在形態に応じた広い捕食範囲を支え、衛生微生物の除去率向上につながる 72) と考える。

本研究では、段階的高度処理方法の運転操作項目が活性汚泥生物相の多様化を促進する要因としても機能していることを見出した。

総合すると、段階的高度処理方法は、標準活性汚泥法に比べて、衛生微生物の除去効果が有意に高く、水環境の富栄養化を抑制する方法としてだけでなく、水域の衛生状態を改善する方法としても広く利用されることが期待される。

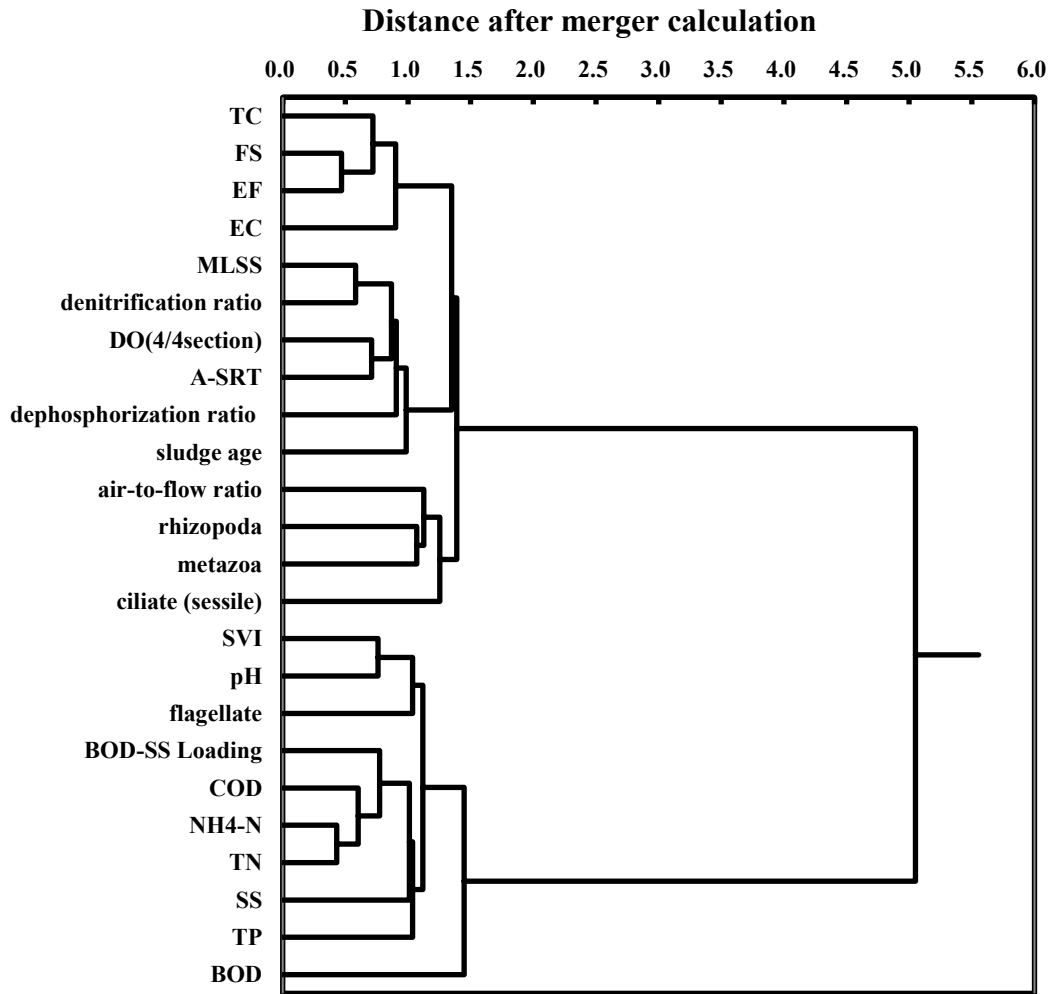


Fig. 4-4. Cluster analysis of HRM removal ratio and reaction tank. Operation items, secondary treated water quality items, and activated sludge biota (samples: 49 samples each).

第 2 項 段階的な高度処理方法への運用変更による衛生微生物の除去

2.1 運用変更項目と経過

標準法から段階法への運用変更に伴う運転項目の経過を Fig. 4-5 に示した。

2.1.1 反応タンク全体の送風量

実験期間の送風倍率(流入下水量ベース)は、実験系が対照系に比べて 1.0 倍程度多く、平均倍率は実験系が 5.8 倍、対照系が 4.8 倍であった。なお、6 月下旬、9 月初旬、11 月中旬の低下は、降雨影響による揚水量の増加に伴い、送風量が頭打ちになったためである。

実験系は、処理水の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が 1mg/L 以下の硝化促進状態を確認した後の 7 月中旬(7 月 16 日)に、反応タンク 1/4 区画のライザー管元バルブ開度を 10%の微ばつき(嫌気状態)とし、段階的な高度処理方法としての変更操作を完了した。

2.1.2 反応タンク 1/4 区画の ORP

1/4 区画の嫌気状態は、ORP 計による酸化還元電位(mV)を測定することで評価した。実験系の ORP は、9 月当初に対照系と同等レベルに達した。実験期間の平均は、実験系が -164 、対照系が -206 であった。なお、実験系と対照系における 9 月初旬の上昇は、降雨影響による揚水量の増加に伴い、反応タンク 1/4 区画への溶存酸素の持込濃度が高くなって嫌気状態を保てなかったためである。

2.1.3 反応タンク 4/4 区画の溶存酸素濃度

4/4 区画の送風量は、DO 濃度により評価した。実験系は、標準活性汚泥法における硝化抑制運転から段階的・高度処理方法における硝化促進運転への変更過程と、硝化反応を維持するため、実験期間を通じて対照系に比べて DO 濃度(mg/L)が高かった。この理由は、実験

系の活性汚泥における硝化細菌の定着と濃縮に日数がかかったためと考える。DO 濃度(mg/L)は実験系が 3.5、対照系が 2.3 であった。

2.1.4 反応タンクの活性汚泥濃度

反応タンク活性汚泥濃度は、余剰汚泥引抜量の微調整により制御した。実験系は、1 月より MLSS 濃度を 1,300 mg/L から段階的に増加させ、3 月初旬に、一旦、1,900 mg/L に至った。その後は、余剰汚泥量の調整により、5 月初旬にかけて対照系の濃度レベルに至った後、概ね対照系と同様の濃度変化を示し、共に 1,600 mg/L であった。

2.1.5 汚泥返送率

実験系の汚泥返送率は、反応タンクにおける硝化促進状態の目安として処理水 NH₄-N 濃度が 5 mg/L 以下に低下を始めた 6 月初旬から 30% から 45% まで 5%/週ずつ増加させ、7 月末には、対照系と同じレベルに達した。実験期間の平均は、実験系が 36%、対照系が 44% であった。

2.1.6 SVI

実験系は、7 月下旬に最大 300 を超えて変動したが、その後は低下傾向を示しながら、11 月以降に対照系と同等のレベルで安定した。実験系における SVI の変動期間は、活性汚泥の対数増殖初期に相当すると仮定すると、分散性の活性汚泥が凝集性の活性汚泥の割合を上回っていたと推察する。一方、対照系は、段階的・高度処理方法による運用期間がすでに 14 か月以上に及んでいることから、対数増殖後期の凝集性のよい活性汚泥の割合が高かったと考える。活性汚泥 SVI の変動は、処理水質の不安定化の要因であることから、標準活性汚泥法から段階的・高度処理方法への変更に際しては、SVI の制御が重要なポイントの一つと考えた。実験系の SVI が対照系と同等レベルに到達するのに 10 か月を要した。

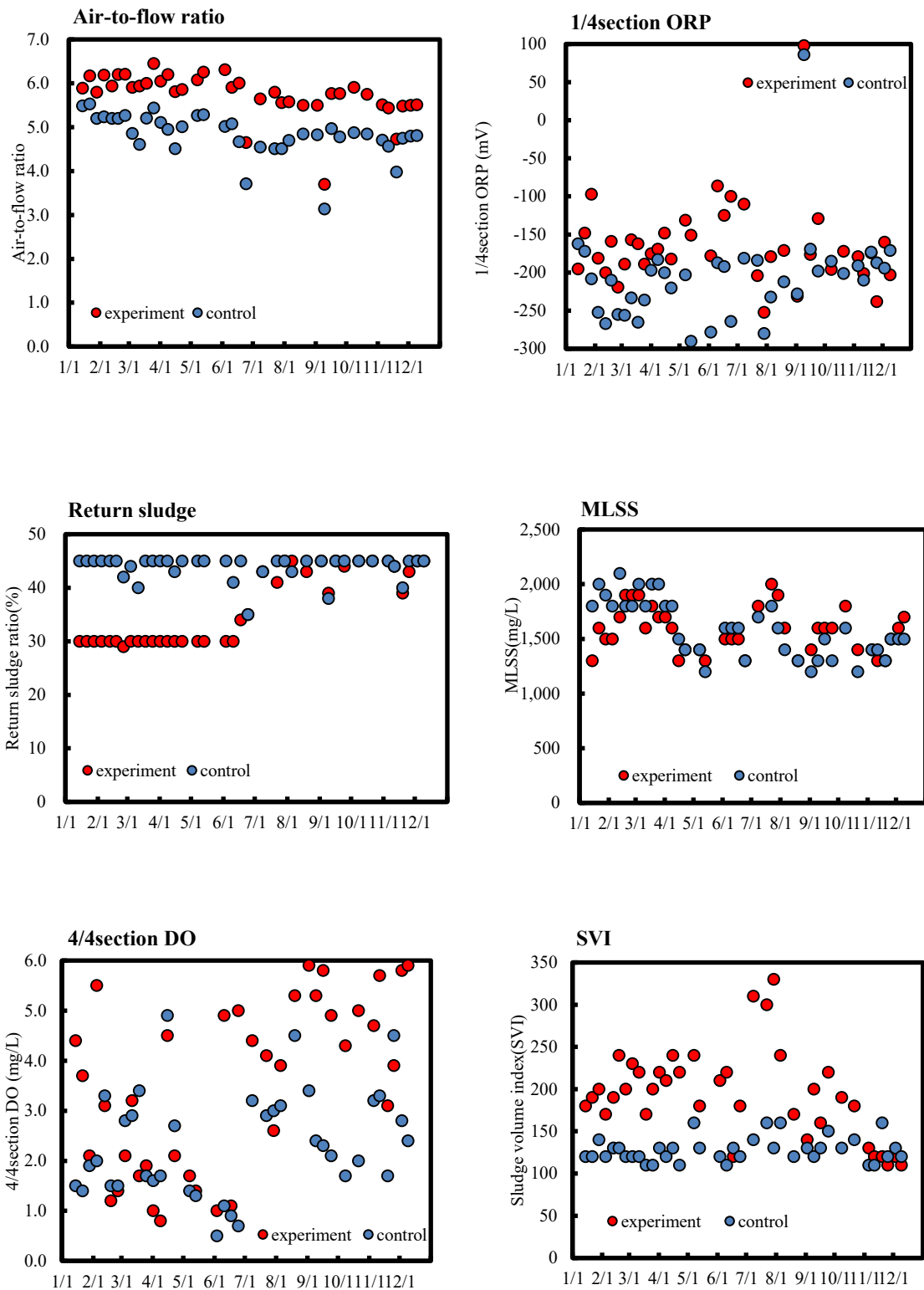


Fig. 4-5. Operation change items and their progress.

2.2 処理水の水質状況

実験系処理水、対照系処理水の水質の経過を Fig. 4-6 に示した。なお、実験期間中、処理場からの放流水質は安定しており、実験に伴う放流水質影響は認められなかった。

2.2.1 浮遊物質(SS)

SS 濃度(mg/L)の平均値と範囲に関して、反応タンク流入下水は 37(21~60) 実験系処理水は 1.3 (0.4~2.7)、対照系処理水は 1.4 (0.3~3.9) であった。実験系は 2 月当初には対照系と同等レベルに達した後は、実験系と対照系ともに同様の濃度変動を示した。また、11~12 月における上昇は、降雨に伴う流入水量増加のため最終沈殿池の沈殿時間が短縮した影響と考える。

2.2.2 BOD

BOD 濃度(mg/L)の平均値と範囲に関して、反応タンク流入下水は 99(32~160)実験系処理水は 3.0 (0.7~9.2)、対照系処理水は 3.4 (0.7~9.4) であった。また、変更操作中も処理目標は下回っており、段階的・高度処理方法に移行後の 9 月以降、それまでの 1/3 程度の濃度レベルで良好な処理が行われていた。

実験系は、3 月末には対照系と同等レベルに達した後も変動したが、運用変更完了の 7 月末以降は、概ね安定して対照系同等以上の濃度レベルを維持した。

ここで、1~7 月における濃度上昇の理由は、反応タンクにおける硝化反応が促進するのに伴う処理水の NO_x-N の増加によって、BOD 測定に際してのフラン瓶中の硝化反応による酸素消費に起因すると考える。一方、対照系の場合は、硝化促進運転が長期に及ぶことによる微細フロックの増加の影響と考えられる。

2.2.3 全窒素 (TN)

TN 濃度(mg/L)の平均値と範囲に関して、反応タンク流入下水は 25(4.9~32)、実験系処理水は 14 (5.3~20)、対照系処理水は 13 (4.2~16)であった。実験系は 6 月当初には対照系と同等レベルに達し、運用変更完了の 7 月末以降は、実験系と対照系ともに同様の濃度変動を示した。なお、9 月の一時的な濃度低下は、降雨に伴う流入水質の希釈影響が顕在化したためと考える。

2.2.4 全リン (TP)

TP 濃度(mg/L)の平均値と範囲に関して、反応タンク流入下水は 3.7(2.7~5.1)、実験系処理水は 0.51(0.12~2.5)、対照系処理水は 0.37(0.13~1.5)であった。実験系は 6 月当初には対照系と同等レベルに達し、運用変更完了後の 7 月末以降は、実験系と対照系ともに同様の濃度変動を示した。なお、実験期間における一時的増加は、降雨影響によって、一時的に生物学的脱リン反応が影響されたものと推察される。しかし、その影響により目標水質を逸脱することはなかった。

実験系の処理水質が対照系と同等レベルに最初に達した時期は、実験開始から、SS と BOD が 2 か月後、TN が 3 か月後、TP が 4 か月後、であった。しかし、実験系の処理水質は、その後の変動があり、最終的に対照系の高度処理水と同等レベルに至るのは、運用変更操作終了以降の実験開始から 8 か月後であった。

なお、実験系は 12 か月間、段階的処理方法の目標水質である $BOD \leq 15$ 、 $TP \leq 3.0$ 、 $TN \leq 20$ を満たしたことから、実験系における変更手順は概ね適正であったと考えられる。

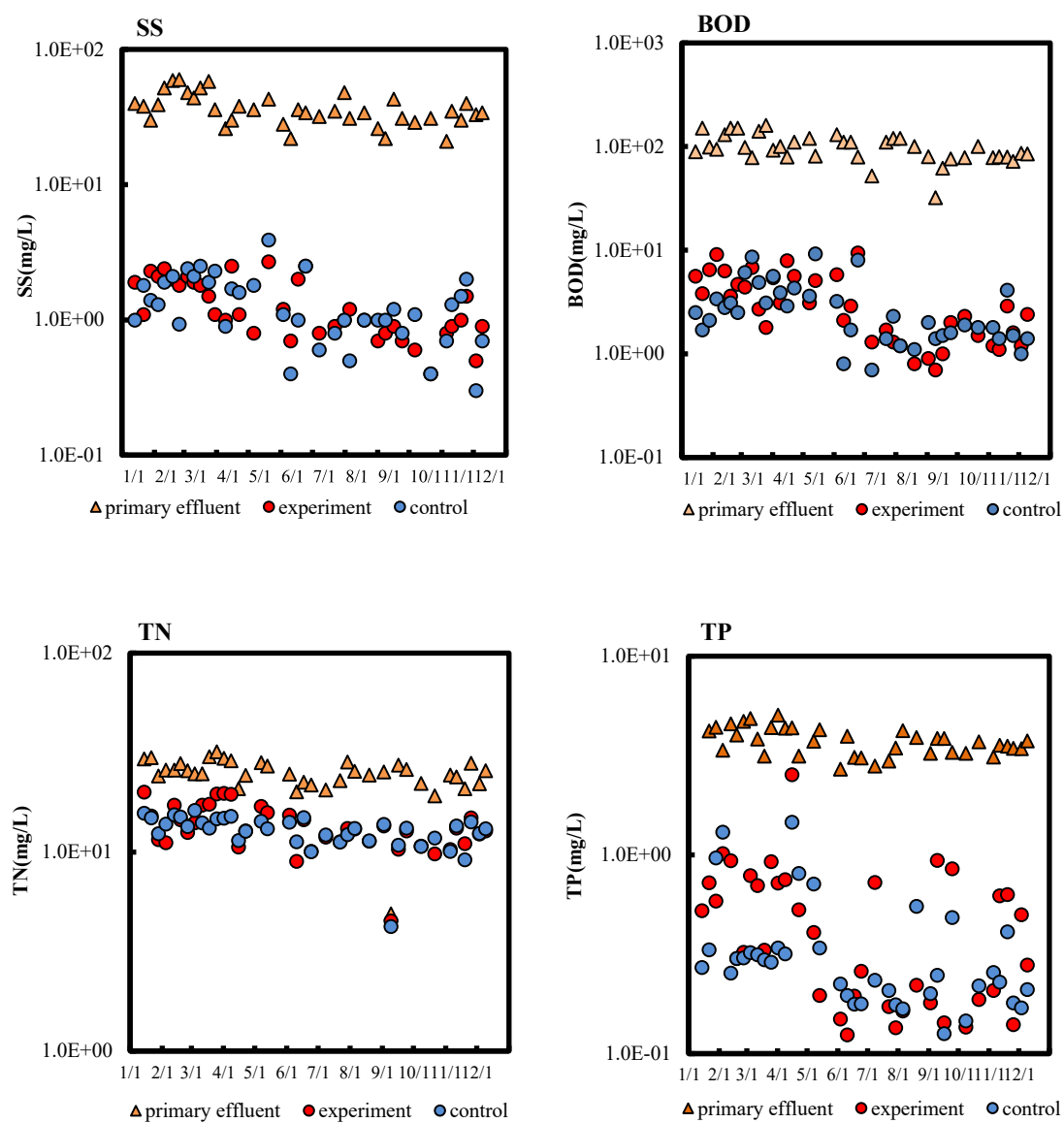


Fig. 4-6. Fluctuations in water quality in secondary treated water.

2.3 衛生微生物の消長

一次処理水、実験系処理水、対照系処理水における濃度の経過を Fig. 4-7 に示した。

2.3.1 大腸菌群数

実験期間中の一次処理水における大腸菌群の濃度と範囲(CFU/mL)は、 2.7×10^5 ($5.0 \times 10^4 \sim 5.6 \times 10^5$)であった。二次処理水の実験系は、MLSS濃度を段階的に増加させた1月～4月当初に大きく変動した。その後は、1,000CFU/mLのオーダーで推移した。7～9月にかけて $2,000$ CFU/mLの範囲で変動した後、9月以降は対照系と同等の濃度レベルで推移した。

2.3.2 大腸菌

実験期間中の一次処理水における大腸菌の濃度と範囲(CFU/mL)は、 6.5×10^4 ($1.0 \times 10^4 \sim 2.8 \times 10^5$)であった。実験系は、1～7月にかけて対照系と同等の濃度レベルで推移した後、8～10月にかけて、最大 7.0×10^2 CFU/mLの範囲で大きく変動した。10月以降は、対照系と同等の濃度レベルで推移した。

2.3.3 糞便性連鎖球菌

実験期間中の一次処理水における糞便性連鎖球菌の濃度と範囲(CFU/mL)は、 3.1×10^5 ($3.9 \times 10^4 \sim 9.0 \times 10^5$)であった。実験系は、1月以降、段階的的高度処理方法に移行した後の7月末以降は 10^1 まで減少した。その後は $10^2 \sim 10^3$ で推移し、実験終了時まで対照系を上回る濃度レベルで推移した。

2.3.4 腸球菌

実験期間中の一次処理水における腸球菌の濃度と範囲(CFU/mL)は、 6.6×10^4 ($8.1 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^5$)であった。実験系は、1月末に 7.7×10^2 CFU/mLと上昇したが、その後は、段階的的高度処理方法に移

行した7月末と10月初旬に 10^1 に減少したほかは、実験終了時まで、対照系を上回って推移した。

実験系の処理水質が対照系と同等レベルに最初に達した時期は、大腸菌群が5か月、大腸菌が3か月後であったが、最終的に実験終了の12か月までには、高度処理水準に達した。一方、糞便性連鎖球菌と腸球菌は実験開始の当初より濃度レベルは低下したが、対照系のそれを下回ることにはなかった。このように、実験系の水質項目は、標準活性汚泥法から段階的・高度処理方法への変更期間中の8か月以内に対照系と同等レベル以上に達したが、衛生微生物の濃度レベルは、細菌種により到達期間が異なっていた。また、後に述べるように、変更完了時には、生物多様性指数も最大値に達していた。活性汚泥生物は、その種類により、細菌の捕食に関して、グラム陰性およびグラム陽性菌に対する嗜好性が異なるという(68) 71)。このことを考え合わせると、実験終了時点で26か月間の段階法運転をしている対照系に比べて、変更後4か月間の運用をしている実験系では、グラム陽性菌に対して嗜好性を持つ活性汚泥生物種の割合が少なかった可能性が推察される。

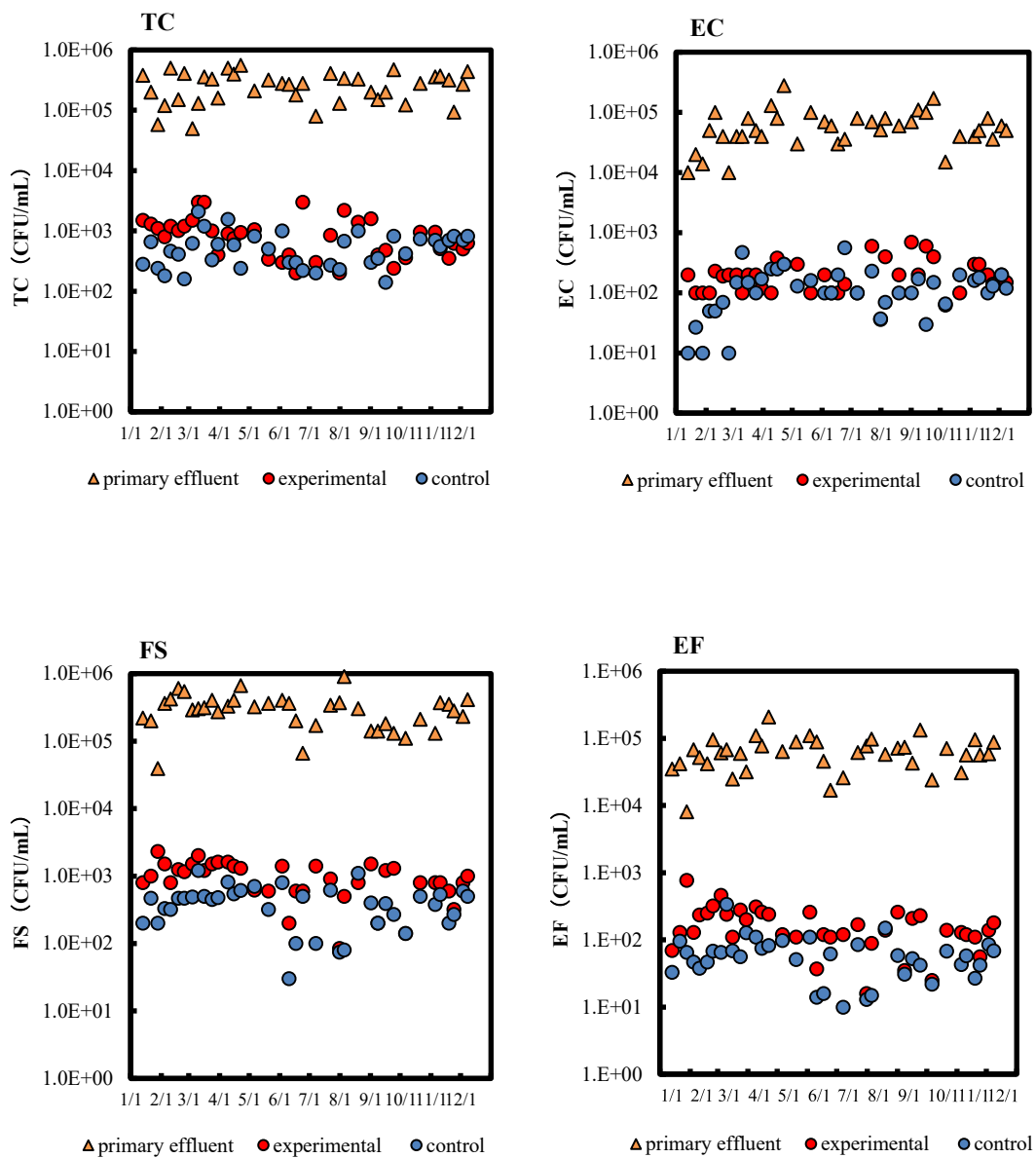


Fig. 4-7. Progress of HRM concentration in the secondary treatment process.

TC, *Total coliform*; EC, *Escherichia coli*; FS, *Fecal streptococcus*;

EF, *Enterococcus sp.*

2.4 衛生微生物の除去状況

実験系処理過程、対照系処理過程における対数除去率の経過を Fig. 4-8 に示した。

2.4.1 大腸菌群

実験系の大腸菌群は、1月～3月当初にかけて 2.4 から 1.5Log に減少したが、その後は、6月当初にかけて 3.0Log まで上昇した。段階的高度処理に移行した後の 7月末以降は、対照系の除去率を概ね上回っていた。

2.4.2 大腸菌

実験系の大腸菌は、1～3月当初に 1.7～2.7Log の範囲で変動した。その後は、段階的高度処理に移行した後の 8月当初に 3.1Log に達した後、2.0～2.8 Log の変動を経て、11月中旬以降の除去率は対照系の除去率を概ね上回っていた。

2.4.3 糞便性連鎖球菌

実験系の糞便性連鎖球菌は、1～3月にかけて、1.2～2.7Log と変動した。4月以降は、変動しつつ上昇傾向を示し、段階的高度処理に移行した後の 7月末に 3.7Log に達した。その後は、2Log のオーダーで推移したが、対照系の除去率を上回ることはなかった。

2.4.4 腸球菌

実験系の腸球菌は糞便性連鎖球菌と同様の経過であった。すなわち、1～3月にかけて、1.0～2.7Log と変動した。4月以降は、徐々に上昇し、段階的高度処理に移行した後の 7月末に 3.8Log に達した。その後は、2Log のオーダーで推移したが、対照系の除去率を上回ることはなかった。

このように、衛生微生物の除去率は、実験系の TC は 9 か月、EC は 10 か月以降、実験終了の 12 月までには、対照系の高度処理水の

水準に達した。しかし、実験系の FS と EF は実験期間終了時までに対照系の除去率を上回らなかった。

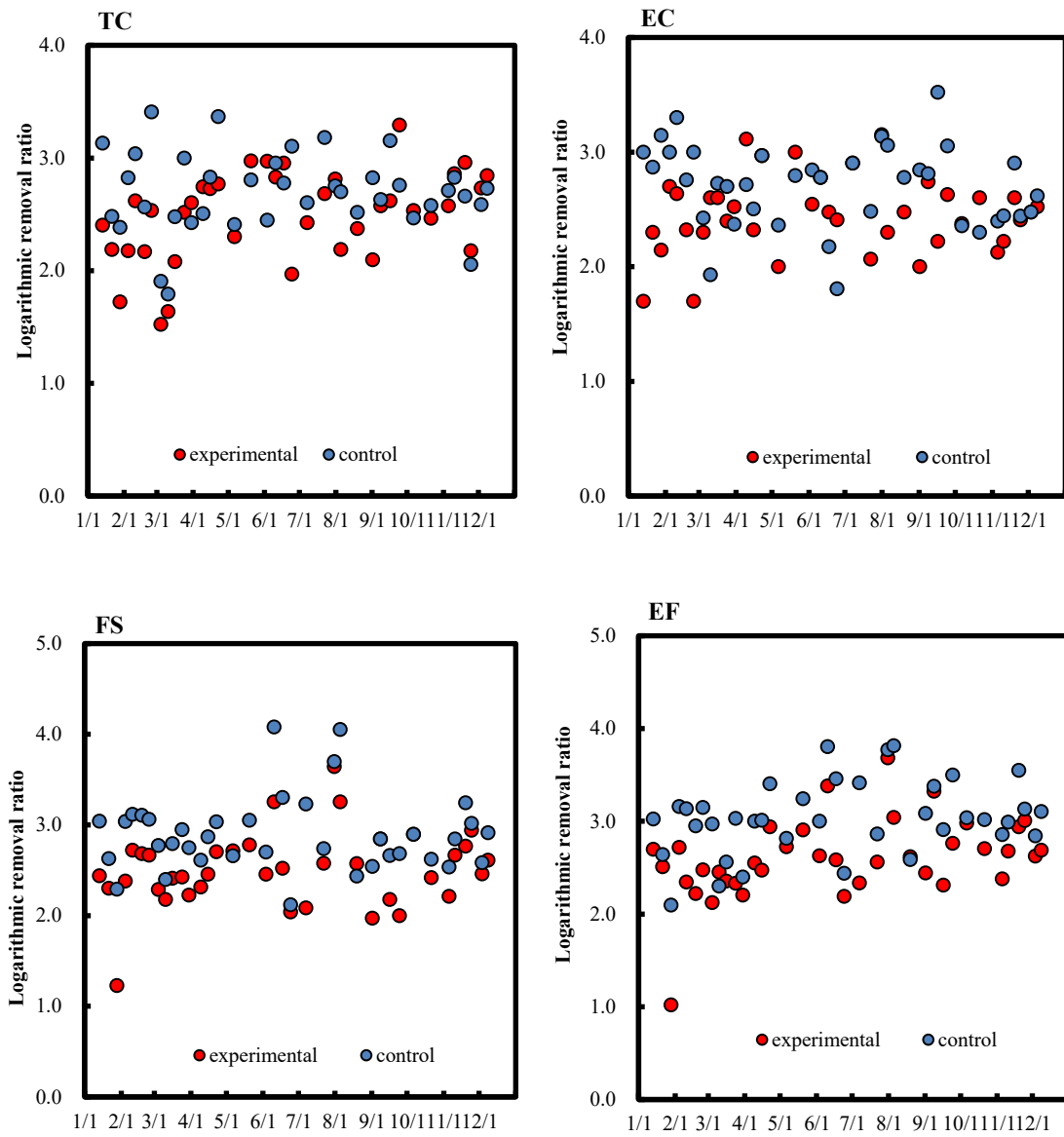


Fig. 4-8. Progress of HRM logarithmic removal ratio in secondary process.

TC, Total *coliform*; EC, *Escherichia coli*; FS, Fecal *streptococcus*;

EF, *Enterococcus* sp.

2.5 運用変更過程のモニタリング指標

標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更過程における進捗状況のモニタリング指標として、二次処理過程の硝化率を選定した。また、硝化率の増減は、硝化細菌などの微生物活性に依存するため、反応タンク水温の経過も観測した。併せて、人為的に変更する運転項目として、返送汚泥率の推移も図中に併記することで、適用性を検証した。水温、硝化率、返送汚泥率の各推移状況は、Fig. 4-9 にまとめて示した。

2.5.1 反応タンク水温

実験系と対照系の反応タンク水温に温度差は認められず、両系共に実験開始の1月は20°Cであり、4月末以降に硝化反応の上昇が始まるとされている22°Cを超え(73)、8月当初に30°Cに達した。その後は、実験終了時には24°Cまで低下した。

2.5.2 二次処理過程の硝化率

実験系については、送風倍率とMLSS濃度を順次増加する過程の1~4月は20~60%、5~8月は40~100%で推移し、9月以降も80%以上を維持することができた。一方、対照系は、段階的高度処理運転を継続していることもあり、5月の一時的低下を除き、概ね80%以上を維持した。

実験系と対照系の硝化率については、実験系の変更期間(1~7月末、 $n = 24$)、および8月から12月までの運用期間($n = 14$)、共に $p < 0.01$ で有意であった。

2.5.3 運転項目の人為的操作による推移状況と硝化率の経過

図より、反応タンク水温と実験系の硝化率は、概ね同時期の8月当初に最大値を示した。この時期は、返送汚泥率を従前の30%から人為的操作により段階的に増加させて、目標の45%に達した時期と

概ね一致した。このように、運用変更期間における運転項目の推移状況は、二次処理水における硝化率の経過と連動していた。また、衛生微生物の実験系除去率が、対照系除去率に追従して上昇する過程の時期に相当していた。このことから、二次処理過程の硝化率は、運転項目の推移状況の経過と連動していた。すなわち、運用変更過程は二次処理過程の硝化率で評価できた。

また、運用変更の開始から終了までの期間は、今回の実験のように水温上昇期間内に実施する方が、水温の上昇と低下を含む期間、または水温の低下期間に比べて、処理水質や衛生微生物の除去率向上の面で勝っていると考える。

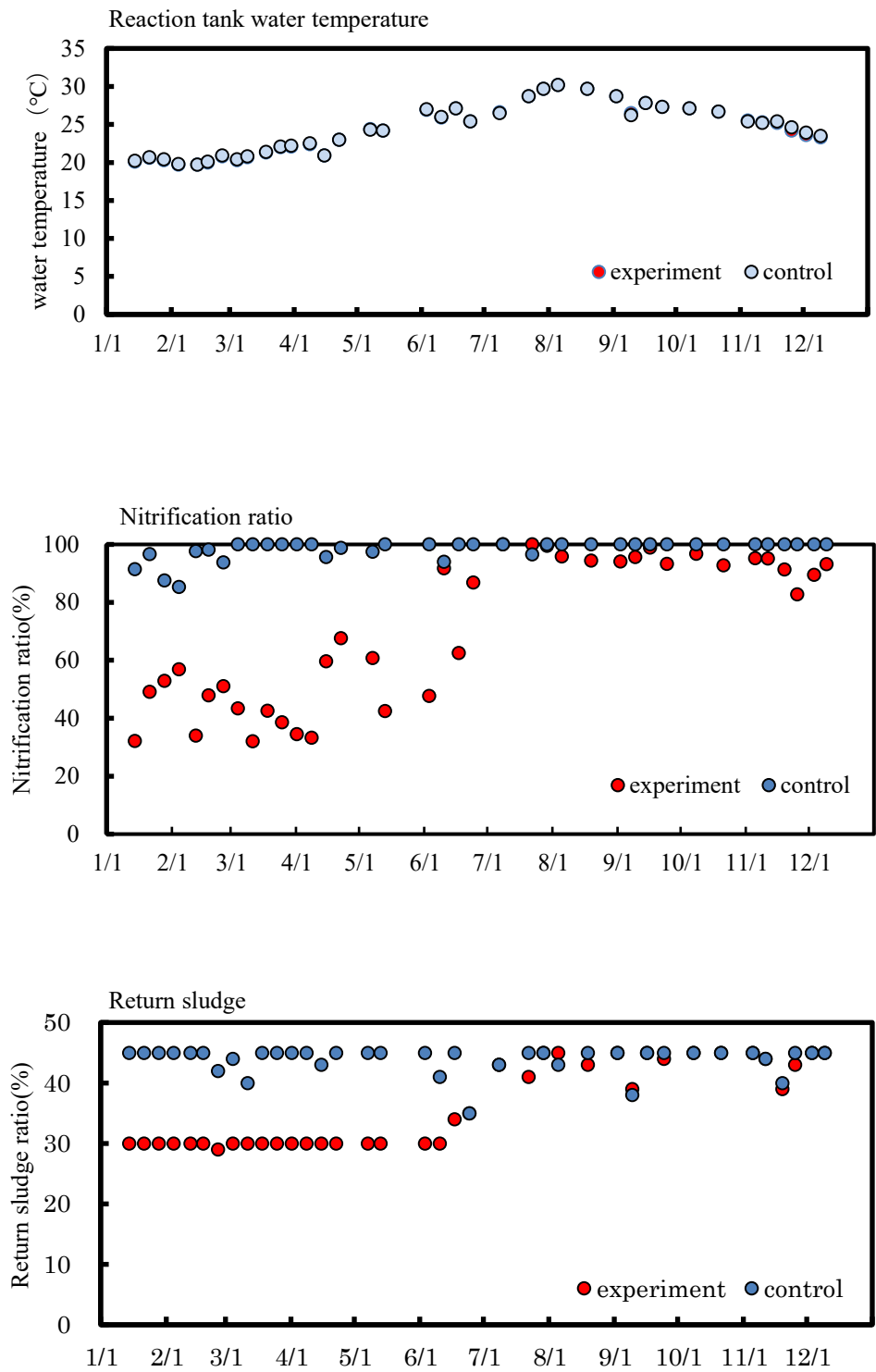


Fig. 4-9. Changes in reaction tank water temperature, nitrification ratio, and biodiversity index.

第3項 未導入処理場への導入効果に関するシミュレーション

N 処理場の実証実験結果に基づく未導入処理場への導入効果に関するシミュレーションを実施した。

3.1 二次処理水における試算濃度

各処理場の二次処理水に係る水質濃度を試算して、Table 4-4 に示した。

3.1.1 BOD

段階的高度処理方法の場合は 1.0～2.0mg/L、標準活性汚泥法の場合は 1.5～3.0mg/L となり、共に、段階的高度処理方法の目標基準である 15 mg/L に対して最大 1/15 濃度となった。

3.1.2 COD

段階的高度処理方法の場合は 7.4～11mg/L、標準活性汚泥法の場合は 9.9～15 mg/L となった。

3.1.3 TN

段階的高度処理方法の場合は 11～13mg/L、標準活性汚泥法の場合は 17～21mg/L となり、段階的高度処理方法を用いることにより、その目標基準である 20 mg/L 以内に収めることができた。

3.1.4 TP

段階的高度処理方法の場合は 0.17～0.23mg/L、標準活性汚泥法の場合は 0.50～0.70mg/L となり、共に、段階的高度処理方法の目標基準である 3.0 mg/L に対して最大 1/20 濃度となった。

Table 4-4. Trial calculation results of effluent quality by stepwise advanced treatment method at each treatment plant.

Plant	Inflow sewage (m ³ /d)	Inflow water quality		Treated water quality	
				SM	CM
A	653,000	BOD	140	1.2	1.8
		COD	90	8.3	11
		TN	27	11	18
		TP	3.2	0.20	0.60
M	140,000	BOD	120	1.0	1.5
		COD	80	7.4	9.9
		TN	28	12	19
		TP	2.8	0.17	0.53
S	497,000	BOD	22	2	3
		COD	120	11	15
		TN	31	13	21
		TP	3.7	0.23	0.69
N	397,000	BOD	160	1.4	2.1
		COD	110	10	14
		TN	31	13	21
		TP	3.7	0.23	0.70
F	42,000	BOD	130	1.2	1.7
		COD	86	8	11
		TN	25	11	17
		TP	2.7	0.17	0.50

Unit : (mg/L)

SM, Stepwise method; CM, Standard method (conventional method) .

A, M, S, N, F: Sewage treatment plant estimated by trial calculation of concentration.

3.2 汚濁物質の負荷量

研究対象処理場における汚濁負荷量の試算結果を Fig. 4-10 に示した。

水質項目の汚濁負荷量は、段階的な高度処理方法が標準活性汚泥法に比べて、処理場平均の削減率として、BOD が 31%、COD が 26%、TN が 38%、TP が 67%であり、明らかな導入効果が見込まれた。

また、硝化抑制運転の A、S、N 処理場は、TP の汚濁負荷量の削減率が、他の処理場に比べて大きかった。

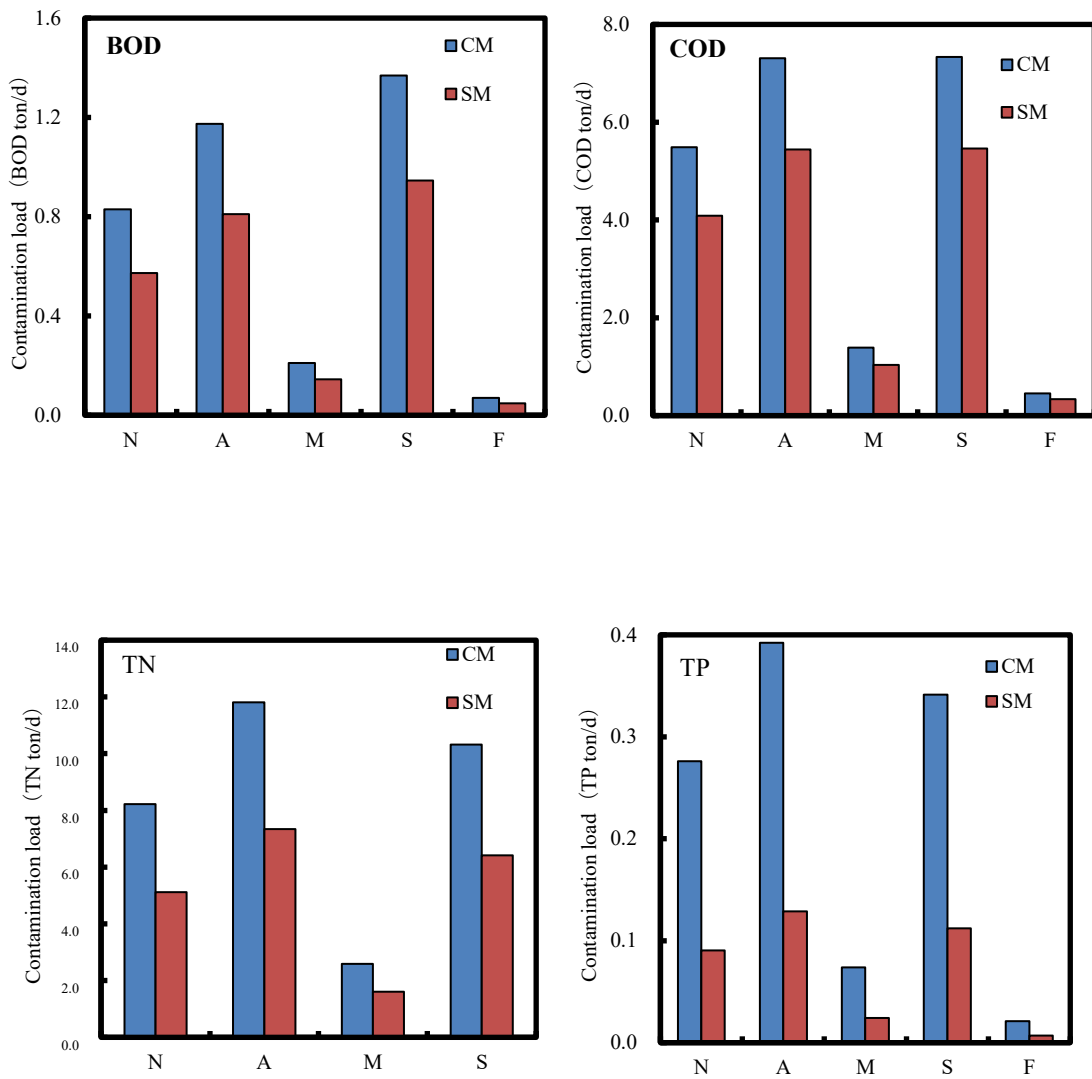


Fig. 4-10. Estimated result of contamination load at the treatment plant.

3.4 衛生微生物の汚濁負荷量に関するシミュレーション

二次処理水における衛生微生物の濃度を試算して Table 4-5 に示した。

3.4.1 大腸菌群

段階的高度処理方法による処理水(CFU/mL)は、S 処理場が 10^3 、それ以外が 10^2 であったが、共に、消毒処理前に下水道法に基づく排水基準(大腸菌群数として 3,000CFU/mL 以下)を満たした。標準活性汚泥法の場合は、F 処理場以外は基準を満たさなかった。

3.4.2 大腸菌

段階的高度処理方法及び標準活性汚泥法共に、5 か所の処理場処理水(CFU/mL)が 10^2 であった。

3.4.3 糞便性連鎖球菌

5 か所の処理場共に、段階的高度処理方法の場合は 10^2 、標準活性汚泥法の場合は 10^3 であった。

3.4.4 腸球菌

段階的高度処理方法の場合は、S、N 処理場が 10^2 、それ以外が 10^1 であった。標準活性汚泥法の場合は、5 か所共に 10^2 であった。

Table 4-5. Trial calculation results of HRM concentration of treated water by stepwise advanced treatment at the treatment plant.

Plant	Inflow sewage (m ³ /d)	HRM(CFU/mL)			
			Inflow water	Treated water	
				SM	CM
A	653,000	TC	2.9E+05	7.7E+02	3.6E+03
		EC	7.5E+04	2.0E+02	7.3E+02
		FS	3.6E+05	5.8E+02	2.8E+03
		EF	7.4E+04	8.4E+01	6.9E+02
M	140,000	TC	3.4E+05	9.0E+02	4.2E+03
		EC	8.4E+04	2.2E+02	8.2E+02
		FS	3.8E+05	1.0E+02	3.0E+03
		EF	8.2E+04	9.3E+01	7.6E+02
S	497,000	TC	4.2E+05	1.1E+03	5.3E+03
		EC	1.0E+05	2.7E+02	9.8E+02
		FS	4.1E+05	6.6E+02	3.2E+03
		EF	9.4E+04	1.1E+02	8.7E+02
N	397,000	TC	3.0E+05	8.1E+02	3.8E+03
		EC	7.7E+04	2.1E+02	7.6E+02
		FS	3.7E+05	5.9E+02	2.9E+03
		EF	7.7E+04	8.7E+01	7.1E+02
F	42,000	TC	1.2E+05	3.1E+02	1.5E+03
		EC	4.4E+04	1.2E+02	4.3E+02
		FS	3.1E+05	4.9E+02	2.4E+03
		EF	4.8E+04	5.4E+01	4.4E+02

SM, Stepwise method; CM, Standard method (conventional method).

A, M, S, N, F: Sewage treatment plant estimated by trial calculation of concentration.

TC, Total *coliform*; EC, *Escherichia coli*; FS, Fecal *streptococcus*;

EF, *Enterococcus* sp.

3.5 衛生微生物の汚濁負荷量

段階的・高度処理方法と標準活性汚泥法の二次処理水における衛生微生物濃度と各処理場の1日当たりの平均流入下水量(統計値)から、汚濁負荷量を計算して、Fig. 4-11に示した。消毒処理前の二次処理水における負荷量を試算することで、活性汚泥法の両方法による衛生微生物の除去レベルの相違を明らかにすることと、二次処理水の状態で放流するケースとして消毒設備の不具合(薬液注入ポンプの故障や震災等による注入設備の被災)により、薬液注入量が規定値を下回るか注入できない場合における衛生微生物の除去レベルを想定したものである。

(1) 大腸菌群

処理場毎の汚濁負荷量のオーダー(CFU/d)は、標準活性汚泥法の場合、A、S、Nが 10^{15} 、Mが 10^{14} 、Fが 10^{13} 、であった。一方、段階的・高度処理方法の場合は、A、M、S、Nが 10^{14} 、Fが 10^{13} 、であった。

(2) 大腸菌

処理場毎の汚濁負荷量のオーダー(CFU/d)は、標準活性汚泥法の場合、A、M、S、Nが 10^{14} 、Fが 10^{13} 、であった。一方、段階的・高度処理方法の場合は、A、Sが 10^{14} 、M、Nが 10^{13} 、Fが 10^{12} であった。

(3) 糞便性連鎖球菌

処理場毎の汚濁負荷量のオーダー(CFU/d)は、標準活性汚泥法の場合、A、S、Nが 10^{15} 、Mが 10^{14} 、Fが 10^{13} 、であった。一方、段階的・高度処理方法の場合は、A、S、Nが 10^{14} 、M、Fが 10^{13} であった。

(4) 腸球菌

処理場毎の汚濁負荷量のオーダー(CFU/d)は、標準活性汚泥法の場合、A、M、S、Nが 10^{14} 、Fが 10^{13} 、であった。一方、段階的・高度処

理方法の場合は、A、M、S、N が 10^{13} 、F が 10^{12} であった。

処理場間における負荷量の変動幅は、標準活性汚泥法の場合は、大腸菌群と糞便性連鎖球菌が 2 桁、大腸菌と腸球菌が 1 桁であった。一方、段階的高度処理方法の場合は、大腸菌群と糞便性連鎖球菌、および腸球菌が 1 桁、大腸菌が 2 桁であった。

標準活性汚泥法を段階的高度処理方法に運用変更した場合の二次処理水の削減率は、大腸菌群が 79%、大腸菌が 73%、糞便性連鎖球菌が 83%、腸球菌が 88%、と試算され、明らかな導入効果が期待された。

また、硝化促進運転の M 処理場は糞便性連鎖球菌が、同じく F 処理場は、腸球菌の削減率が、他処理場に比べて顕著であった。

前述のように環境基準が大腸菌に変更され、水質汚濁防止法と下水道法も連動して変更されるため、下水処理における衛生微生物の対数除去率が、標準活性汚泥法に比べて 1Log 程度勝っている段階的な高度処理法は、新たな基準への対応策として有望であると考えられる。また、二次処理過程における衛生微生物の濃度レベルを標準活性汚泥法に比べて 1Log 以上低減することで、消毒薬剤の使用量の削減と、放流水域における残留塩素による水生生物の影響を低減できるものと期待する。

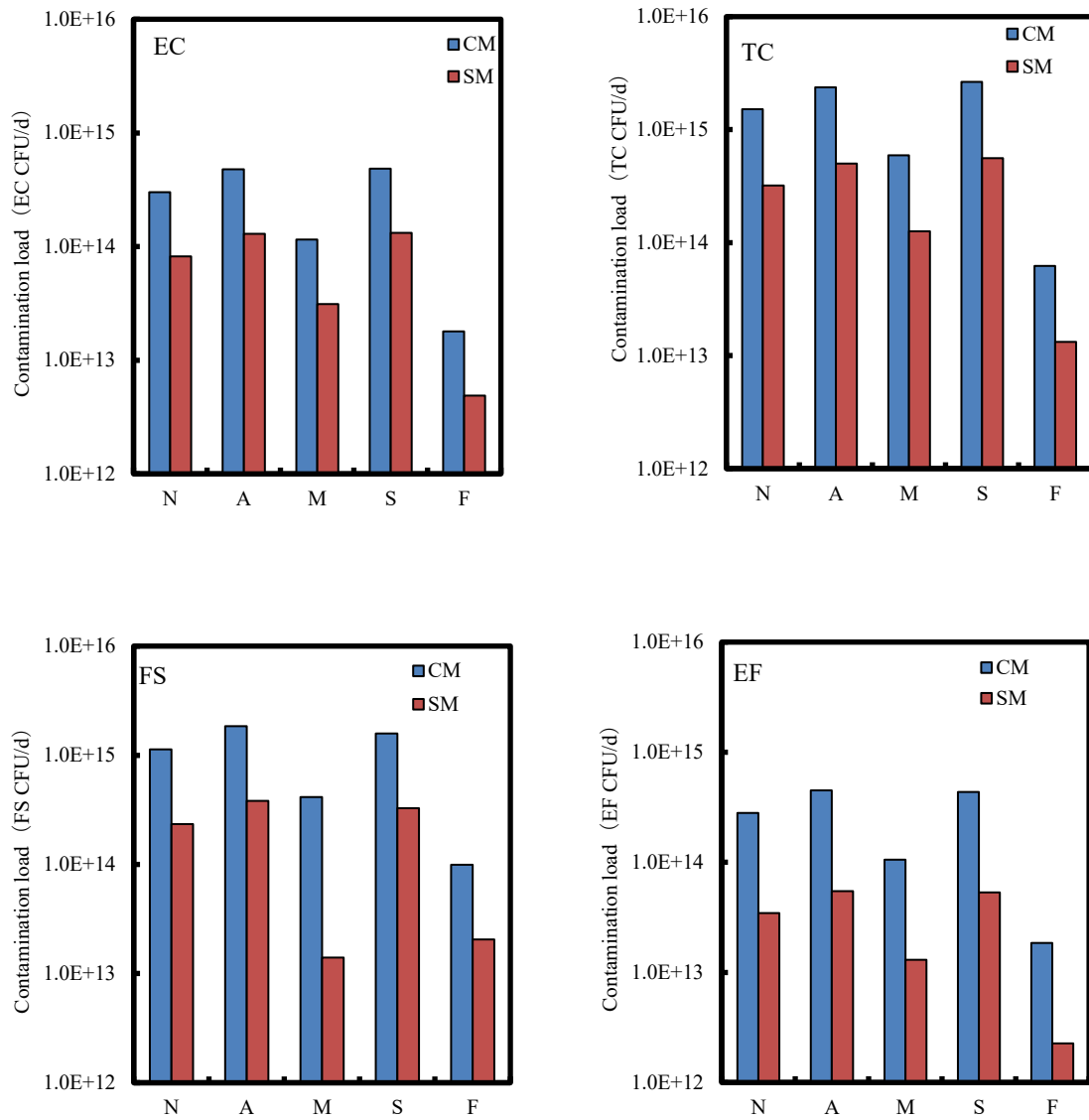


Fig. 4-11. Trial calculation result of HRM load amount when disinfection treatment is not performed at the treatment plant.

CM, Conventional method (standard method); SM, Stepwise method.

A, M, S, N, F, Sewage treatment plant estimated by trial calculation of load.

TC, Total coliform; EC, *Escherichia coli*; FS, *Fecal streptococcus*;

EF, *Enterococcus sp.*

第4節 小括

(1) 段階的・高度処理方法と標準活性汚泥法の処理性能比較

二次処理水の BOD、TN、TP、および衛生微生物の除去性能と運転項目、水質項目、および活性汚泥生物相との関係を段階的・高度処理方法と標準活性汚泥法を用いて、並行的に 14 か月間調査した。段階的・高度処理方法は、MLSS、送風倍率、および汚泥返送率を標準活性汚泥法と比較して増加させた。その結果、段階的・高度処理方法の処理水質(目標 mg/L)は、BOD で 6.6(≤ 15)、TN で 14(≤ 20)、TP で 0.5(≤ 3.0)であり、段階的・高度処理法の処理水質目標値を満たした。二次処理水の衛生微生物濃度(CFU/mL)は、大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌で 10^2 、腸球菌で 10^1 であった。二次処理過程における衛生微生物の対数除去率は、2.5~2.7 Log であった。

処理水質、衛生微生物濃度、衛生微生物除去率は標準活性汚泥法に比べて大幅に改善された。特に、大腸菌群は消毒前であっても排水基準($\leq 3,00$ CFU/mL)を満たした。

段階的・高度処理方法による衛生微生物除去率の改善は、MLSS、A-SRT、SA、DO、送風倍率および活性汚泥生物相の複合効果によるものと考えた。すなわち、段階的・高度処理方法の運用条件は、衛生微生物を含む細菌を餌とする活性汚泥生物の多様化と濃縮を促すように機能していたことで、衛生微生物の除去の向上に寄与したと考えた。

(2) 段階的・高度処理方法への運用変更による衛生微生物の除去

実験系の運転目標値が対照系と同等レベル以上に達するまでの期間は、1/4 区画 ORP が 8 か月、MLSS が 5 か月、汚泥返送率が 7 か月、活性汚泥の沈降性指標の SVI は 10 か月であった。実験系の処理水質は、段階的・高度処理方法による目標水質の上限を、運用変更の当

初から満たしたことから、変更手順は概ね適正であったと考える。実験系の処理水質は、実験開始から 8 か月目には、対照系と同等の水質レベルに達した。一方、実験系の衛生微生物の対数除去率は、移行後の運用期間において大腸菌群と大腸菌は対照系と同等レベルに達したが、糞便性連鎖球菌と腸球菌は達しなかった。また、運用変更の開始から終了までの運転項目の推移状況は、二次処理過程における硝化率の経過を観測することで推定可能であった。

(3) 未導入処理場への導入効果に関するシミュレーション

N 処理場の実証実験結果に基づく未導入処理場への導入効果に関するシミュレーションを実施した。

段階的の高度処理方法による放流水域に対する汚濁負量の削減を水質項目と衛生微生物を対象として試算し、標準活性汚泥法の場合と比較することで、段階的な高度処理方法への運用変更の有利性を明らかにした。

まず、第 4 章第 1 節の実験結果と下水道統計資料に基づく既存データを用いて、未導入の 4 処理場への段階的な高度処理方法の導入効果をシミュレーションして評価した。その結果、全ての処理場に導入効果が期待された。すなわち、実験対象の 5 か所の下水処理場における段階的な高度処理運転の有無による放流水中の水質項目である BOD、COD、TN、TP と、衛生微生物の大腸菌群、大腸菌、糞便性連鎖球菌、腸球菌、の各濃度を試算した。この値に、各処理場の流入下水量を乗じて、それぞれの汚濁負荷量を試算した。その結果、試算対象の項目について、明らかな導入効果が期待された。

第5章 総括と結論

本論文について次のとおり総括した。

序論では、研究の背景、目的について記述した。

下水道整備に伴って、放流先の公共用水域のうち、河川の水質は改善している。一方で、閉鎖性水域において、富栄養化に起因する赤潮が散見されている。特に、東京湾水域は、下水処理場由来の窒素とリンの流入量の割合が高いため、下水処理における窒素・リンの削減が課題となっている。また東京湾の上流域に位置する埼玉県内を流れる河川は、高度処理の取組が求められる重要な水域である。

下水処理方法は、標準活性汚泥法、循環式硝化脱窒法、嫌気好気活性汚泥法、嫌気無酸素好気法などの複数の処理方法が存在する。標準活性汚泥法は、下水処理の主流であり、下水中の浮遊物質や生物化学的酸素要求量(BOD)の除去を主な目的としているが、窒素やリンの除去は、その好氣的処理条件が律速となり、必ずしも効率的でない。また、他の方法は高度処理方法であるが、施設規模が同程度である標準活性汚泥法に比べて建設費用や維持管理費用が高いという欠点がある。

富栄養化の原因となる窒素・リンの除去を目的とした高度処理の導入を進めているものの、既存施設の耐用年数や増改築にかかる費用等から、高度処理の導入は難しい現状がある。また、2020年東京オリンピック開催に伴う東京湾の早期の水質改善が望まれた。国土交通省では、2015年7月に閉鎖性水域の早期水質改善に向けて、既存の標準活性汚泥法施設の一部改造や運転管理の工夫により段階的に高度処理化を図るための普及ガイドラインが取りまとめられた。

これらに先駆けて、著者らは、2013年10月から埼玉県内において、標準活性汚泥法による広域処理を行っている処理場を選定して段階

的に高度処理化する実証実験を行い、運転および水質項目の変化について詳細に調べた。また、この実証実験結果に基づいて、埼玉県内の他処理場に対して、この処理方法の水平展開を進めることを目的とした。更に、閉鎖性水域内に遊泳場が設定されていること、また親水公園などの親水用水域の拡大に伴って、住民が直接処理水に接触する機会も増えていることから、下水処理水に対する衛生学的安全性の確保が課題となっている。このため、衛生微生物の除去についても重点的に研究を行った。以上の知見により、標準活性汚泥法の運用変更による段階的な高度処理方法を確立し、得られたデータに基づいて、他の処理施設を早期に高度処理化する技術基盤を確立することを目的とした。

第1章では、研究対象施設と処理実態について調査した。

本章では、処理場による通年の既存データを解析することで、段階的に高度処理化する下水処理場および実証実験対象の下水処理場を選定することを目的とした。

研究対象施設は、埼玉県において、早期に窒素とリンの処理が望まれている5処理場とした。

実証実験施設は、放流水の東京湾河口域までの到達距離、標準活性汚泥法施設の割合、処理場間の各運転項目、水質項目の比較解析により、N処理場に決定した。

第2章では、第3章、第4章の下水試料を対象とした研究目的に資するため、衛生微生物の選定と検出培地の性能評価を実施した。

すなわち、本章では、浄化対象となる衛生微生物とその検出培地の選定、および下水試料に対する適用例の少ない培地の検出性能を

検証した。

衛生微生物は、糞便汚染指標として大腸菌群、大腸菌、糞便性大腸菌群、糞便性連鎖球菌や腸球菌、病原性指標として *Salmonella* sp.、汚水指標として *Citrobacter* sp.を含む硫化水素産生細菌群、病原性指標および消毒抵抗性指標として *Pseudomonas* sp.および *Staphylococcus* sp.を選定した。また、衛生微生物の包括的な量を把握するため、一般細菌を選定した。また、ウイルス指標として大腸菌ファージを選定した。本研究では、これらの対象細菌と大腸菌ファージを総称して、衛生微生物と定義した。

検出培地の性能は、出現コロニーを鑑別・同定することにより評価した。その結果、硫化水素産生細菌群用培地により病原性指標の *Salmonella* sp.や *Proteus* sp.および汚水指標の *Citrobacter* sp.を検出した。また、緑膿菌群用培地により、病原性指標および消毒抵抗性指標の *Pseudomonas* sp.を検出した。ブドウ球菌群用培地に加えた卵黄反応の有無により *Staphylococcus* sp.の検出を簡便化した。

第3章では、段階的な高度処理方法の基本処理方式である標準活性汚泥法における衛生微生物の除去について研究した。

すなわち、本章では、段階的な高度処理方法を導入することによる衛生微生物の除去効果を評価するために、まず、標準活性汚泥法の処理過程における衛生微生物の除去性能を評価した。

標準活性汚泥法処理施設において放流水 BOD の安定化のために反応タンクの硝化反応は促進的または抑制的に運用されている。このため本研究では硝化促進運転処理場並びに抑制運転処理場を対象とした。この結果、両処理場の流入下水における衛生微生物量(CFU/mL または PFU/mL)は、一般細菌が $10^6 \sim 10^7$ 、糞便性大腸菌群が 10^5 、腸

球菌が 10^4 、硫化水素産生細菌群が 10^3 、緑膿菌群が 10^2 、ブドウ球菌群が 10^1 、大腸菌ファージが $10^2 \sim 10^3$ であった。一次処理水の衛生微生物量は流入下水と近似していたが、一次処理から放流水に至る処理過程において、硝化促進運転の処理場が抑制運転の処理場に比べて低減した。このように、標準活性汚泥法では、硝化促進運転が、抑制運転よりも衛生微生物の除去効率が高いことが判明した。

一般細菌と衛生微生物の各検出量を比較解析したところ、一般細菌量と衛生微生物量は相関関係にあることが判明した。このことから、一般細菌量を調査することで各種の選択培地における衛生微生物量を予測することが可能であることが分かった。

反応タンクにおける衛生微生物の除去特性を検討したところ、処理時間に伴って、大腸菌群、糞便性大腸菌群は直線的に減少した。また、大腸菌ファージは大腸菌群、糞便性大腸菌群と比較してさらに減少傾向を示した。また、活性汚泥中の大腸菌ファージは反応タンク処理時間の経過とともに減少した。したがって、大腸菌ファージは活性汚泥中にて除去されていることが予想された。

衛生微生物の挙動をシミュレーションするために大腸菌群、糞便性大腸菌群および大腸菌ファージ量とその活性汚泥に対する吸着量を調査した。その結果、反応タンクにおける衛生微生物濃度と活性汚泥との間に、フロイントリッヒの吸着等温式が成立した。この結果、反応タンクにおける衛生微生物の挙動をシミュレーションすることが可能となった。

第 4 章では、段階的な高度処理方法による衛生微生物の除去について研究した。

すなわち、本章では、段階的な高度処理方法と標準活性汚泥法の

並行運転による処理性能の比較、標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更に伴う衛生微生物の除去の経過、運用変更対象の処理場に段階的な高度処理方法を導入した場合の効果、について評価した。

段階的な高度処理方法(段階法)と標準活性汚泥法(標準法)の並行実証実験を14ヶ月にわたり行った。その結果、段階法はBOD、TN、TPの目標水質を十分に満たした。同時に、二次処理水における大腸菌群(TC)、大腸菌(EC)、糞便性連鎖球菌(FS)、腸球菌(EF)の量は、1.0 Log以上の有意差により減少した。次に、衛生微生物量、運転項目、水質項目、活性汚泥生物量をWard's methodによる階層的クラスタ分析により評価した。その結果、二次処理過程における衛生微生物の対数除去率を改善するには、運転項目、水質項目、活性汚泥生物との相関関係の改善が重要であることが判明した。また、段階法の活性汚泥は、細菌の捕食能力の高い原生動物の繊毛虫類が優占していた。このことから、衛生微生物の除去性能の指標として繊毛虫類の個体数観察が有用であると示唆された。

標準活性汚泥法から段階的な高度処理方法への運用変更実験を12か月行った。運用変更処理水の水質項目は実験開始から8か月後、TCとECは実験終了時の12月末までに段階的な高度処理水の水準に達したが、FS、EFは未達成であった。運用変更期間における運転項目の推移状況は、二次処理水における硝化率の経過と連動していた。

N処理場における実証実験結果に基づいて、未導入の4処理場における段階的な高度処理方法の導入効果をシミュレーションして評価した。その結果、4ヶ所の処理場に段階的な高度処理方法を適用した場合、全て処理場において明らかな導入効果が期待された。2020年度までに上記5処理施設は段階的の高度処理施設として運用を開始

した。

以上について、次のとおり要約した。

- 1) 実験対象とした 5 処理場における既存データを解析し、実証実験対象として N 処理場を選定した。
- 2) 糞便汚染指標、汚水指標、病原性指標や消毒抵抗性指標に係る衛生微生物を研究対象として選定した。また、下水試料に対する適用例の少ない、病原性指標および消毒抵抗性指標、汚水指標微生物について再評価した。その結果、硫化水素産生細菌群、緑膿菌群およびブドウ球菌群の各検出用培地は病原性指標および消毒抵抗性指標、汚水指標微生物を検出できることを確認した。
- 3) 標準活性汚泥法では、硝化促進運転が、抑制運転よりも衛生微生物の除去効率が高いことが判明した。また、一般細菌量と衛生微生物量は相関関係にあることが判明した。

反応タンクにおいて、大腸菌ファージは大腸菌群、糞便性大腸菌群より減少傾向を示した。また活性汚泥中で時間経過とともに減少した。また、反応タンクにおける衛生微生物濃度と活性汚泥との間に、フロイントリッヒの吸着等温式が成立した。この結果、反応タンクにおける衛生微生物の挙動をシミュレーションすることが可能となった。

- 4) 段階的な高度処理方法は、BOD、窒素、リンの目標水質を充足した。また、衛生微生物量を 1.0 Log 以上に削減した。
- 5) 段階的な高度処理方法へ運用変更した処理水の水質項目および、大腸菌群と大腸菌は 12 か月までに段階的処理方法の目標水質水準に達した。また、運用変更過程は二次処理過程の硝化率で評価できた。
- 6) 実証実験の結果から、新たに段階的処理方法を導入する場合

の予測ツールを構築した。

7) 2020 年度までに 5 処理場は段階的高度処理施設として運用を開始した。

本研究により、段階的高度処理方法は、標準活性汚泥法に比べて処理水の BOD、浮遊物質、窒素、リンの削減効果に加えて、規制項目としての大腸菌群だけでなく、複数の衛生微生物に対しても削減効果が高いことが実証された。このことから、段階的高度処理方法の導入により、本来の目的である下水処理水の BOD、全窒素、全リンの削減に加えて、下水処理水の衛生微生物量を標準活性汚泥法に比べて有意に削減することができるため、放流先水域における衛生的安全性の向上に貢献することがわかった。さらに、二次処理過程における衛生微生物の濃度レベルを標準活性汚泥法に比べて 1 桁以上低減することで、消毒薬剤の使用量の削減と、放流水域における残留塩素による水生生物の影響を低減できるものと期待する。

高度処理施設の新たな建設・稼働に係る期間と費用を考慮すれば、標準活性汚泥法から段階的高度処理方法への運用変更に係る期間と費用とその処理性能から、段階的高度処理導入の利点は明白であり、今後の全国展開が望まれる。

引用文献

- 1) 国土交通省：都道府県別汚水処理及び下水道処理人口普及率
： <https://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/content/001379532>
(2021/12/20).
- 2) 田嶋 淳：水環境の改善に向けた高度処理の推進，下水道協会誌，
44(4)534, 4-8(2007).
- 3) 下水道施設計画・設計指針と解説(2009年版)，日本下水道協会，
第4章水処理施設，pp.12-13, 64, 79-81 (2009).
- 4) 日本下水道協会：平成30年度版下水道統計第75号，pp.92-93, 103，
日本下水道協会(2020).
- 5) 国土交通省：既存施設を活用した段階的高度処理の普及ガイドラ
(案),pp.1-114:<https://www.mlit.go.jp/common/001097916.pdf>(2021/12/2
0).
- 6) 鯉淵幸生，小野澤恵一，中村格之，原本英二，片山浩之，古米 弘
明，佐藤慎司，岡安章夫，磯部雅彦：東京湾お台場海浜公園における
雨天時合流式下水道越流水の影響調査，土木学会海岸工学論文集，52，
886-890(2005).
- 7) 和波一夫，竹内 健，三島寿一，森岡浩然：親水性水域の大腸菌群
数等の測定結果，東京都環境科学研究所年報 154-156(2007).
- 8) 尾崎正明，諏訪 守，陶山明子：病原性微生物の同定方法および
挙動に関する研究，平成16年度下水道関係調査研究年次報告書集，
国総研資料 263, 161-166(2005):
<http://www.nilim.go.jp/lab/bcg/siryou/tnn/tnn0263pdf/ks0263035.pdf>
(2021/12/20).
- 9) 尾崎正明，諏訪 守：水環境中における薬剤耐性菌の実態に関する
研究，平成16年度下水道関係調査研究年次報告書集，国総研資料

263, 193-198 (2005):

<http://www.nilim.go.jp/lab/bcg/siryuu/tnn/tnn0263pdf/ks0263040.pdf>(2021/12/20).

10) 鈴木 穰, 諏訪 守: 環境中に排出される病原性微生物の制御と管理, モダンメディア, 52(11), 18-24(2006):

https://www.eiken.co.jp/uploads/modern_media/literature/MM0611-03.pdf (2021/12/20).

11) 下水道用語集 2000 年版: 社団法人日本下水道協会, pp.16-405,(2000).

12) 伊勢智幸: 東京湾再生推進会議の取組み, 下水道協会誌 57(690), 23-25(2020).

13) 平成 19～29 年度版 下水道統計資料集, 日本下水道協会(2007～2017).

14) 藤井秀夫: 処理場の維持管理(上), 下水道実務講座 15-1, 株式会社山海堂, pp.98-99,134-135,201 (1982).

15) 下水道維持管理指針 2014: 維持管理実務の基本, pp.518-523 540-557, 日本下水道協会(2014).

16) 環境省 HP: 水質汚濁に係る水質環境基準の見直しについて(概要) 2021.10: <http://www.env.go.jp/press/files/jp/116882.pdf> (2021/12/20).

17) 金子光美: 水質保全と - 微生物指標, 水質汚濁研究, 13(8), 2-8(1990).

18) 河村清史: 水環境における微生物指標, 水質汚濁研究, 13(8), 23-28(1990).

19) 水質汚濁に係る環境基準: 環境省 HP:

<http://www.env.go.jp/kijun/mizu.htm> (2021/12/20).

20) 水・土壌・地盤・海洋環境の保全: 一般排水基準、環境省 HP

<http://www.env.go.jp/water/impure/haisui.html>(2021/12/20).

21) 下水処理水の再利用水質基準等マニュアル：国土交通省都市・地域整備局下水道部,国土交通省国土技術政策総合研究所,平成17年4月 pp.12-13 : <https://www.mlit.go.jp/kisha/kisha05/04/040422/05.pdf> (2021/12/20).

22) 「水浴場の水質の判定基準」の改正と「快適な水浴場のためのガイドラインの策定について、環境省：

<http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=442>, (2021/08/01).

23) 山田 欣司：海外における大腸菌関連の基準について，下水道協会誌，50(604)，70-72(2013).

24) 坂崎利一：細菌分類学と食品微生物学，日本食品微生物学会雑誌，11(1)，1-7,(1994).

25) 土屋俊夫：臨床材料より分離されるグラム陰性桿菌同定への手引 (GNR コード)改訂第四版，栄研化学株式会社，(1991).

26) N-ID テスト・SP-18 解析プロファイル，第4版，日水製薬株式会社 (1993).

27) 尾藤 朋子，北原 節子：環境水域からの病原性大腸菌 (O157:H7)検出法の検討，日本水処理生物学会誌，28(2)，89-93(1992).

28) 国府島 泉：水質汚染指標としての腸球菌の菌種分類，日本水処理生物学会誌，27(1)，107-110(1991).

29) 堀江 進：汚染指標としての大腸菌群と腸球菌の解説，コールドチェーン研究，5(2)，27-34(1979).

30) 坂崎利一編：細菌・真菌・原虫用培地「ニッスイ」マニュアル第4版，日水製薬株式会社，p.58,108(1987).

31) 北川常廣，小山泰正 編：薬科微生物学，丸善株式会社，pp.77-79(1993).

- 32) 石井 営次:注目すべき食中毒菌 2.サルモネラ,生活衛生,36(5), 11-20(1992).
- 33)竹田 茂: 活性汚泥細菌同定のための簡易試験法の比較検討,日本水処理生物学会誌, 31(3), 161-167(1995).
- 34)栄研化学株式会社編: 栄研マニュアル第 9 版, 栄研化学株式会社 pp.147-148(1977).
- 35) 高橋善人: 下水処理過程における衛生微生物の細菌相, 下水道協会誌論文集, 34(41), 64-75(1997).
- 36) 尾崎 正明, 諏訪 守, 陶山 明子: 排水処理と病原微生物:<http://www.21water.jp/k1/ken05/setuozaki.pdf>(2021/12/20).
- 37) 岡本誠一郎, 諏訪 守, 桜井健介: 水環境中における病原微生物の消長に関する研究: 国土交通省国土政策技術総合研究所報, <https://www.pwri.go.jp/jpn/results/report/report-project/2010/pdf/pro-8-3.pdf>(2021/12/20).
- 38) 平田 強, 江指正彦, 原田 薫, 田口 真, 川村清史, 田口勝久: 下水及び屎尿処理過程における指標細菌の除去, 水質汚濁研究, 10(4), 243-250(1987).
- 39) 処理水再生水の衛生学的水質検討プロジェクト活動報告書:国土政策技術総合研究所資料第 460 号, pp.3-20(2008).
- 40) 高橋善人:大腸菌フェージの試験方法に関する基礎的研究-下水試料を対象とした場合-, 下水道協会誌, 31(366), 48-55(1994).
- 41) 国府島 泉:河川水、海水中のサルモネラと水質汚染指標菌の関連, 日本水処理生物学会誌, 25(1), 1-6 (1989).
- 42) ID・EB-20 テスト 解析プロファイル 第 5 版:日水製薬株式会社,東京 (1993).
- 43) 高橋善人:大腸菌フェージの試験方法に関する基礎的研究

II(活性汚泥試料を対象とした場合), 下水道協会誌, 32(384), 62-68,(1995).

44) 高橋善人: 下水処理過程における衛生微生物の消長: 下水道協会誌論文集,35(425), 130-139(1998).

45) Omura, T., Onuma, M., Aizawa, J., Umita and Yagi T.: Removal Efficiencies of Indicator Micro-organisms in Sewage Treatment Plants, *Water Science and Technology*, 21(3), 119-124(1989).

46) 中村宗一郎: 塩素、オゾン及び紫外線処理による懸濁粒子化した糞便性大腸菌群不活性化の定量化, 下水道協会誌論文集, 28(324), 40-46(1991).

47) 梨田 実, 木村尚也, 寺師政廣: 下水の処理過程における大腸菌フェージの動向, 第 30 回下水道研究発表会講演集, 332-334, 日本下水道協会 (1993).

48) 神子直之, 山本和夫, 大垣眞一郎: 大腸菌フェージを用いた水のウイルス的安全性の管理手法, 環境工学研究論文集, 31, 327-336 (1994).

49) Awrapin Ketratanakul and Shinichiro Ohgaki : Indigenous Coliphages and RNA-F-specific coliphages Associated with Suspended Solids in the Activated Sludge Process, *Water Science and Technology*, 21(3), 73-78 (1989).

50) 微生物検査必携 細菌・真菌検査 第 3 版:(財)日本公衆衛生協会, D43-D54, 東京(1987).

51) 倉園貴至, 砂押克彦, 大関瑤子, 奥山雄介: 埼玉県内で分離されたヒト及び環境由来サルモネラの血清型と薬剤耐性(1988), 埼玉県衛生研究所報,(22), 116-118 (1988).

52) 高橋 善人: 下水処理過程から分離したサルモネラの同定、薬剤耐性及びフェージ感受性,33(4), 199-205(1997).

- 53) 高橋善人:エアレーションタンクにおけるコリファージの挙動について,第 31 回下水道研究発表会講演集,(社)日本下水道協会, 334-336 (1994).
- 54) 金 台東, 本多裕之, 白神直弘, 矢野一好, 海野 肇:活性汚泥混合液中でのウイルス感染価の低減について, 水環境学会誌, 16(5), 339-345(1993).
- 55) Mahboob A.Qureshi et al: Efficiency of Removal of coliforms, faecal coliforms and coliphages in the tubli Sewage treatment plant, BahRain: *Wat.Res.* 24(12), 1459-1461 (1990).
- 56) 古川秀比古, 水島 昭二: バクテリオファージ感染の生化学, 化学と生物, 20(10), 663-672(1962).
- 57)水処理実験法: 社団法人 日本工業用水協会編 コロナ社, pp. 426-431,435(1971).
- 58) 鈴木 穰, 後藤雅子, 小吉 省吾, 中園 翔太: センサー等を活用した段階的高度処理に関する調査研究, 2016 年度下水道新技術研究所年報, 151-156 (2016).:
https://www.jiwet.or.jp/wp/wp-content/uploads/2017/01/2016_1_26.pdf
(2021/12/20).
- 59) 中島英一郎, 小塚 俊秀, 小吉 省吾, 中園 翔太: 水域の早期水質改善に向けた段階的高度処理推進(導入効果)に関する調査研究, 2015 年度下水道新技術研究所年報, 133-138(2015).:
https://www.jiwet.or.jp/wp/wp-content/uploads/2018/08/2015_1_23.pdf
(2021/12/20).
- 60) 鈴木 穰, 後藤雅子, 小吉 省吾, 中園 翔太: 洛南浄化センターにおける段階的高度処理実証実験と省エネ評価に関する研究, 2016 年度下水道新技術研究所年報, 145-150(2016).:

https://www.jiwet.or.jp/wp/wp-content/uploads/2017/01/2016_1_25.pdf
(2021/12/20).

61) 下水道法施行令第6条 国土交通省

https://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/mizukokudo_sewerage_tk_000470.html, (2020/5/16).

62) 下水試験方法：日本下水道協会(2012).

63) 国府島 泉, 金谷誠久, 口分田 晃, 野田泰子, 福原明宏, 森 徳子, 金政泰弘：腸球菌および糞便性大腸菌の水質汚染指標性に関する検討, 岡山医学会雑誌, 96(3-4), 377-384(1984).

64) 須藤隆一：廃水処理の生物学, 産業用水調査会, p.466, 東京(1977).

65) 須藤隆一：水環境保全のための生物学, 産業用水調査会, p.73, 東京(2004).

66) 半田 隆, 古屋 昇, 富士元英二, 稲森悠平：活性汚泥生物に及ぼす DO の 影響, 日本水処理生物学会誌, 16(1,2), 1-10(1980).

67) 林 紀男, 大内山高広, 藤本尚志, 稲盛悠平：原生動物緑毛類の増殖に及ぼす環境因子の影響：日本水処理生物学会誌, 35(4), 271-278(1999).

68) 林 紀男, 国安克彦, 稲森悠平, 須藤隆一：袋形動物輪虫類の増殖に及ぼす環境因子の影響, 日本水処理生物学会誌, 34(3), 205-213(1998).

69) 前田昌調：水圏生態系における原生動物繊毛虫の役割, 日本海水学会誌, 39(3), 175-181(1985).

70) 李 先寧, 小浜暁子, 金 主鉉, 千葉信男, 西村 修, 須藤隆一：有殻葉状仮足虫類 *Arcella vulgaris* の硝化指標性およびその機構, 環境工学研究論文集, (37), 41-49(2000).

71) 稲森悠平, 国安祐子, 須藤隆一: 生物処理における微小後生動物の役割に関する研究, 日本水処理生物学会誌, 23(2), 15-23(1987).

72) Yoshihito Takahashi and Jun Ogihara: Removal of Microbes from Raw Sewage by Stepwise Advanced Treatment, Japanese Journal of Water Treatment Biology, 56 (4), 79-90(2020).

73) 高橋善人, 松本英行, 高橋 務: 中川水循環センターにおける段階的
高度処理方法による処理水質改善について, 日本下水道協会誌,
55(666), 13-15(2018).

謝 辞

大学院研究生としての在籍期間、論文の作成に際しては、本論文の主査をお願い致しました日本大学大学院生物資源科学研究科 生物資源利用科学専攻教授 荻原 淳 先生ならびに本論文の副査をお願い致しました日本大学大学院生物資源科学研究科 生物資源利用科学専攻教授 高橋令二 先生、同、教授 中川達功 先生の終始熱心な御指導と御鞭撻の下に行われたものであり、深甚なる謝意を表します。

日本大学大学院生物資源科学研究科 生物資源利用科学専攻 准教授 渡邊泰祐 先生には、色々な場面で有益な御助言を賜りました。深謝申し上げます。

日本大学大学院 生物資源科学研究科 生物資源生産科学専攻 特任教授 隅田裕明 先生には終始、御恩情を賜りました。深謝申し上げます。

多くの御指導を賜りました日本大学生物資源科学部生命化学科および日本大学大学院生物資源科学研究科の先生方に厚く御礼申し上げます。

特殊法人 理化学研究所放射線生物学研究室研究員（当時）理学博士 谷田貝文夫 先生に、大腸菌とそのファージに関する卒業研究を熱心に御指導賜ったことが、その後の研究の端緒となりました。

大学院生および研究生として在籍した旧農芸化学科、発酵化学研究室において、日本大学名誉教授 故 室岡治義 先生、同、名誉教授 故 中嶋睦安 先生から、就職後の長きにわたり薫陶を賜りました。また、研究テーマの放線菌ファージを検索するために、東京都下水道局管内の下水処理場の複数個所を来訪して下水を採取したことが、現在の仕事に就く契機になりました。

東北大学大学院工学研究科元教授であり埼玉県環境科学国際センター初代総長 理学博士 故 須藤隆一 先生には、著者の埼玉県下水道公社在職中、折に触れて有益な助言と激励を賜りました。株式会社まぎーずはーと 味覚の学校 校長 農学博士 浜野光年 先生には、学位取得への目標を示して頂きました。

この場をお借りして諸先生に深謝申し上げます。

本論文は、著者が公益財団法人埼玉県下水道公社在職中に実施した自主的研究を含む各種の研究成果をまとめたものであり、職場の同僚、先輩、上司の皆様方には、色々な面の御支援を賜りました。また、長きにわたり生命化学科発酵化学研究室に大学院研究生として在籍させて頂き、研究室の学生ならびに大学院生の皆様には温かく見守って頂きました。皆様に心から御礼申し上げます。

最後になりますが、定年退職後の勉学を秋田の地から応援してくれた母の墓前に供えたいと思います。