

微生物製剤の利用技術に関する研究

佐々木雄真，浅野 孝幸，三津橋浩行，鎌田 樹志

Study on Technology for Utilization of Microorganism Formulation

Takema SASAKI, Takayuki ASANO, Hiroyuki MITSUHASHI, Tatsuyuki KAMADA

抄 録

近年，有機性の排水および廃棄物の微生物処理において，処理性を高める目的で微生物製剤が利用されることが多くなってきている。しかし，その効果については不明な点も残されている。そこで本研究では，微生物製剤の基礎的な機能評価を行い，さらに効率的な利用技術について検討した。

ビーカースケールで試験を行った結果，製剤の種類や添加量，温度などの環境条件により，分解特性が大きく異なることが分かった。また，微生物を担体に固定化することにより，高効率で安定な処理が可能となることが推察された。

キーワード：微生物製剤，機能評価，利用技術，分解，担体

Abstract

In recent years the use of microorganism formulation is on the increase in order to carry out biological treatment of organic drain and garbage more effectively. But the effect of formulation is not confirmed decidedly yet. So in this investigation, the fundamental function of microorganism formulation was evaluated and the effective application technology was examined for practical use.

In beaker scale examination, the decomposition characteristics of organic compounds by formulation varied notably with the experimental condition such as formulation kind, addition dosage, temperature and so on. Highly effective and stabilized performance was obtained by fixing microorganism in carrier.

KEY-WORDS：microorganism formulation, function evaluation, application technology, decomposition, carrier

1．はじめに

近年，有機性の排水および廃棄物の処理において，微生物を利用した浄化，減量化が注目されている。微生物処理は環境に優しく低コストという利点はあるが，分解速度が遅く処理が不安定になりやすいといった欠点もある。これらの問題を解決するため，微生物製剤が用いられるようになってきており，様々な種類の商品が多数市販されている。しかし，その

効果については具体的な評価が十分になされていない¹⁾。そこで本研究では，微生物製剤の基礎的な機能評価を行い，効率的な利用技術に関して検討した。

2．微生物製剤

2.1 種 類

微生物製剤とは，有用な微生物群を多量に含む粉末あるいは液体の総称で，特定の物質の分解に優れたものや，特異な条件下でも高い活性を持つものなど，機能別に様々な種類がある。

事業名：一般試験研究

課題名：微生物製剤の機能評価と応用技術に関する研究

今回使用したのは市販の微生物製剤5種類で、以下、汎用2種を「A」「B」、油分分解用2種を「C」「D」、低温用1種を「E」とする。「A」「B」および「C」「D」は、それぞれ用途は同じであるが製造元が異なる。図1は製剤「A」「B」の写真で、他の3種類についてもこれらと同様の白色または茶色の粉末であった。

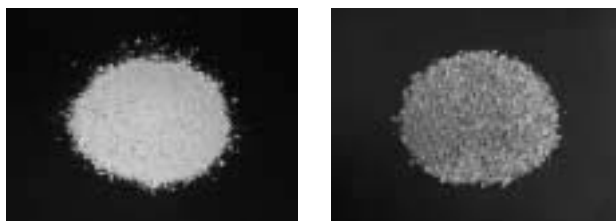


図1 微生物製剤「A」(左),「B」(右)

2.2 細菌数の測定

製剤中の細菌数を測定するため、製剤0.5gを水1lに入れ、2~3hr程度ばっ気し、上澄み液を適当に希釈したものについて、簡易型の一般細菌数測定用培地(日水製薬(株)製、コンパクトドライ TC)を用い36℃で48hr培養した後、コロニー数をカウントした。その結果、製剤1g当たりの細菌数は表1のとおりであった。

表1 製剤1g当たりの細菌数

製剤	用途	細菌数(CFU/g)
A	汎用	1×10^8
B	汎用	8×10^8
C	油分分解用	8×10^7
D	油分分解用	4×10^9
E	低温用	1×10^9

3. 機能評価試験

3.1 評価方法

好気性の微生物は、有機物を分解する際、酸素を消費し二酸化炭素を放出する。そこで、製剤中の微生物による基質の分解状況を調べるため、BODテスター(タイテック(株)製、BODテスター 200F)を用い、酸素消費量の経時変化を測定した。図2は装置の概要である。

以下にBODテスターの原理について説明する。試料水中で微生物が有機物を分解すると、溶存酸素が消費され、代わって二酸化炭素が放出されるが、それは水酸化ナトリウム溶液(吸収剤)に取り込まれる。液中の溶存酸素の消費に伴い、気相部より酸素が補給され、気相部の酸素分圧は低下する。気相部は常に一定の相対圧を保とうとする作用のため、ビューレットの下端より水を吸入する。したがって、吸入水量

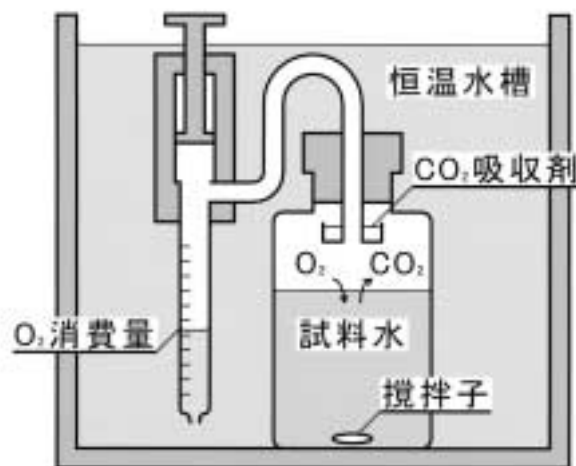


図2 BODテスター

は消費された酸素容量と等しくなる²⁾。ただし、大気圧や温度の微小な変化によっても吸入水量は異なるため、ブランクとの差をもって酸素消費量とする。

3.2 試験結果と考察

3.2.1 サラダ油の分解

製剤「A」「B」(汎用),「C」「D」(油分分解用)について、サラダ油(植物油)の分解試験を行った。製剤の添加量は各150mg/lとした。サラダ油はホモジナイザーで水に分散させたものを使用し、濃度は140~150mg/lとした。温度は20℃に設定した。また、BOD測定の際に使用する無機塩溶液(リン酸緩衝液,硫酸マグネシウム溶液,塩化カルシウム溶液,塩化第二鉄溶液)を、以後全ての試験において添加している。なお、使用したサラダ油のケン化価は190,ヨウ素価は118であった。

結果を図3に示す。分解が最も速かったのは「C」で、「A」は分解が始まるまでに時間を要したが、3日目以降は速やかに分解が進んだ。「D」は油分分解用でありながら、この試験条件においては分解が遅かった。製剤中の細菌数は表1よりD>B>A>Cであるのに対し、分解速度はC>A>B>Dとなったことから、製剤中の分解速度を支配しているのは細菌の総数ではなく種類であることが分かった。

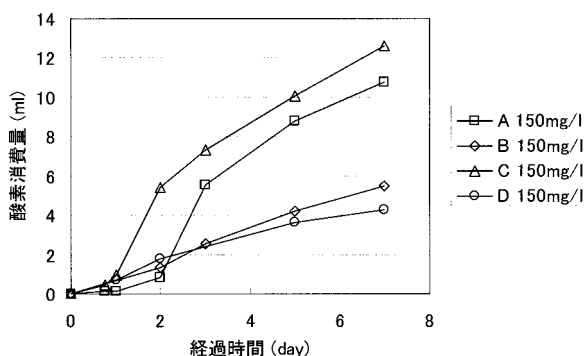


図3 サラダ油の分解試験

3.2.2 イワシ油の分解

サラダ油の分解に優れていた製剤「C」(油分分解用)について、イワシ油(動物油)の分解試験を行った。製剤の添加量は200mg/lまたは20mg/lとした。イワシ油はホモジナイザーで水に分散させたものを使用し、濃度は220mg/lまたは440mg/lとした。温度は20℃に設定した。イワシ油のケン化価は189, ヨウ素価は131であった。

結果を図4に示す。サラダ油の試験と製剤および基質の濃度は異なるが、条件の近い「C 200mg/l, イワシ油 220mg/l」の系と試験3.2.1の「C 150mg/l」の系を比較すると、酸素消費量の時間推移はほぼ同じ傾向を示しており、動物油についても植物油と同様に分解できることが分かった。また、製剤の添加量が多い方が分解は速かったが、製剤濃度が10倍になっても分解速度は2倍程度であり、この傾向は基質の濃度が違って同じであった。

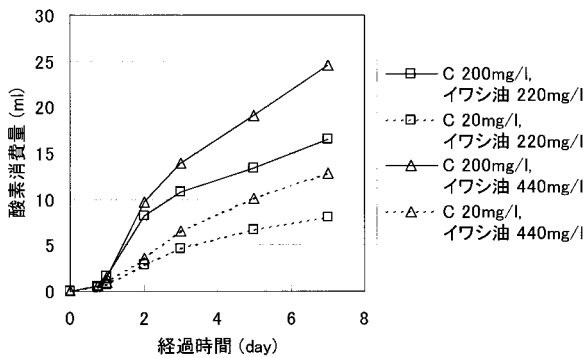


図4 イワシ油の分解試験

3.2.3 無機塩類の効果

製剤「C」(油分分解用)について、製剤添加量20mg/l, サラダ油320mg/l, 温度20℃で分解試験を行っていたところ、未分解の油が残っているにもかかわらず分解速度が低下してきたため、14日目に無機塩溶液を試験開始時と同じ量だけ添加した。すると、図5のとおりその直後から再び分解速度が上昇した。微生物の代謝には無機塩が必要であり、この試験結果から、特に製剤の濃度に対して基質の負荷の高い条件下においては、無機塩類の添加は有効と思われる。

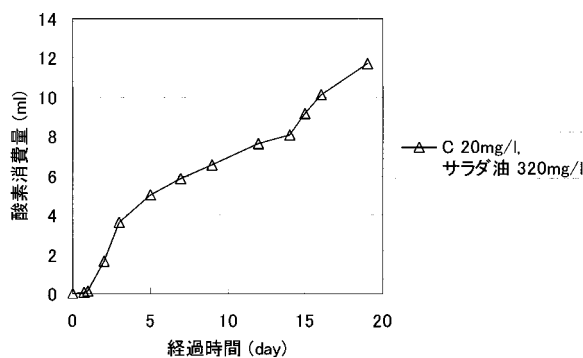


図5 無機塩類の添加試験

3.2.4 ペプトン, グルコースの分解

製剤「A」(汎用)について、易分解性のペプトンおよび比較的難分解性のグルコースを基質とした分解試験を行った。製剤の添加量は10mg/lまたは100mg/lで、基質の濃度は各100mg/lとした。温度は20℃に設定した。

結果を図6に示す。基質の比較では、ペプトンの方がグルコースより分解が速かった。製剤添加量の比較では、ペプトンを基質としたものでは100mg/lと10mg/lであまり差がなかったのに対し、グルコースを基質としたものでは分解速度に大きな差が見られた。このことにより、基質が難分解性の場合、分解速度は製剤の添加量に大きく依存することが明らかとなった。なお、酸素消費量が8ml程度に達したあたりから増加が鈍くなっているのは、分解により基質の残量が少なくなってきたためと思われる。

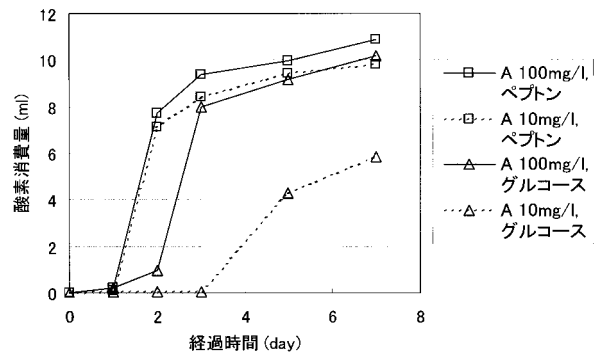


図6 ペプトン, グルコースの分解試験

次に同様の条件下における細菌数の経時変化を測定した。サンプリングを容易にするため、試験は振とう培養器で行った。100mg/lのペプトンまたはグルコース溶液100mlを200ml三角フラスコに入れ、製剤「A」を100mg/lまたは10mg/lとなるように加えシリコ栓をし、20℃の培養器内で120rpmで振とうした。一定時間毎に培養液を一部採取し、適宜希釈したものについて、簡易型の一般生菌数測定用培地を用い36℃で48hr培養し、そのコロニー数から細菌数を算出した。

結果を図7に示す。ペプトンを基質としたものの方が細菌の増殖が速かった点、および「A 10mg/l, グルコース」の系では細菌の増殖が特に遅かった点、分解試験の結果とよく似ていることが分かった。また、どの系においても、基質の分解が急速に進んだ時期と、細菌の増殖速度が大きい時期が一致していた。試験3.2.1で分解速度は微生物の総数ではなく種類に依存することが分かっており、以上のことから、製剤中に多数含まれている微生物の種類のうち、条件に適したものが存在すれば、それが優占種となり増殖する過程において、基質の分解が進行すると推測される。

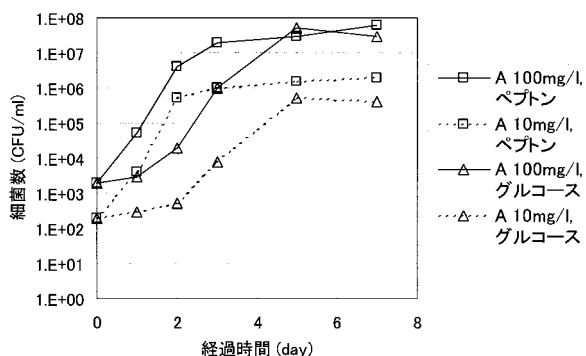


図7 細菌数の経日変化

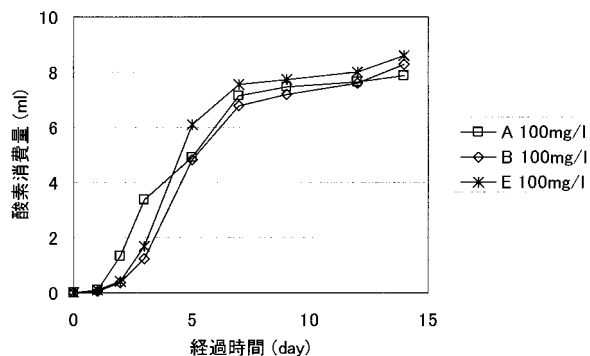


図9 低温馴化後の分解試験

3.2.5 低温条件下での分解

製剤「A」「B」(汎用)、「E」(低温用)について、低温条件下における分解試験を行った。製剤の添加量は各100mg/l、基質にはペプトンを用い濃度は100mg/lとした。温度は10℃に設定した。

結果を図8に示す。3種類とも分解速度が遅く、特に分解が始まるまでに時間がかかった。例えば「A」について、温度を20℃とした実験3.2.4の「A 100mg/l、ペプトン」の系と比較すると、分解開始までに要した時間は20℃の場合は1日間であるのに対し、10℃では5日間であった。また、「E」は低温用であるが、汎用の製剤との差はほとんど確認できなかった。

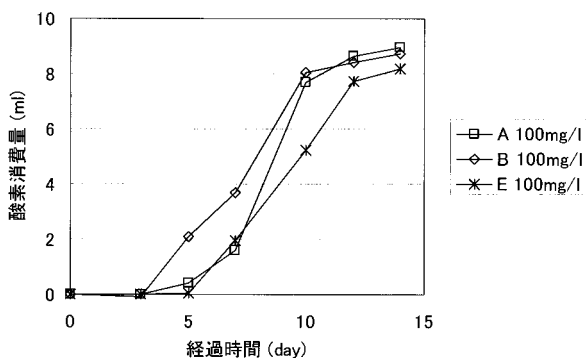


図8 低温条件下での分解試験

次に、あらかじめ10℃で馴化したものについて同様の試験をした。馴化は、ペプトン溶液に微生物製剤を加え、10℃で数日間培養することで行い、試験にはその培養液を用いた。馴化中に微生物が増殖するため、培養後の細菌数を測定し、培養液の添加量は各製剤の100mg/lにおける細菌数と同程度となるようにした。

結果を図9に示す。馴化しなかった場合に比べ3種類とも分解が速く進んだ。特に分解速度が上がるまでの時間が短縮され、馴化の効果があることが分かった。また、馴化しない場合と同様、製剤の種類による差は見られなかった。

3.3 機能評価試験のまとめ

汎用、油分分解用、低温用の3タイプ5種類について、様々な条件を設定し、BODテスターにより基礎的な機能評価試験を行った。その結果を以下にまとめる。

- 1) 製剤の種類によって分解特性が大きく異なり、分解速度は製剤中の細菌の総数ではなく種類に依存することが分かった。
- 2) 製剤の添加量については、多く添加した方が分解速度は速くなり、特に基質が難分解性である場合は、添加量による差が大きいことが分かった。また、この時の酸素消費量と、細菌の増殖の時間推移は一致していた。
- 3) 製剤濃度に対して基質の負荷が高い場合は、無機塩類の添加が有効であると推測された。
- 4) 低温条件下では分解が遅くなるが、あらかじめ馴化させることにより、分解速度を上げられることが分かった。

4. 利用技術の検討

微生物による処理では、担体を用いることにより、槽内の菌体濃度を高くすることができ、処理速度が向上する³⁾ことが報告されている。また、固定化微生物法は、活性汚泥法に比較して緩衝能力があるので、大きい負荷変動がある場合でも対応が可能であり、生物反応を阻害する物質に対しても耐性が高い⁴⁾とされている。

そこで、微生物製剤をより効率的に利用するため、微生物を担体に固定化することを試みた。製剤は評価試験においてどの条件下でも比較的高い分解特性を示した「A」(汎用タイプ)を使用した。

4.1 微生物担体

担体は、微生物を表面に固定するタイプ(以下「表面固定型」)(日立金属(株)製, Bio-Tube)と、内部に固定するタイプ(以下「内部固定型」)((株)クラレ製, クラゲール)の2種類(図10)を用いた。表面固定型は、ポリプロピレン製、表面に微小な凹凸のある中空円筒状の固体で、大きさは外径4mm

×内径 3 mm ×長さ 5 mm であった。内部固定型は、ポリビニルアルコール製、微細孔の網目状構造からなる球状のゲルで、直径 4 mm であった。

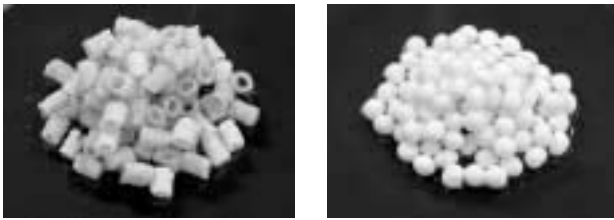


図10 表面固定型担体（左）、内部固定型担体（右）

4.2 固定化方法

固定化の方法としては、担体の表面あるいは細孔の内部に微生物が自然に付着あるいは吸着して増殖することを利用する結合固定化法⁵⁾を適用した。

三角フラスコに無機塩溶液を加えたペプトン溶液を入れ、そこへ微生物製剤および担体を投入し、スターラーで攪拌しながら室温で数日～数十日間培養した。ペプトンは定期的に追加した。

図11は、固定化後の表面固定型担体を流水で軽く洗浄し、自然乾燥させた後、電子顕微鏡で観察したものである。1 μm 程度の微生物が付着しているのが分かる。

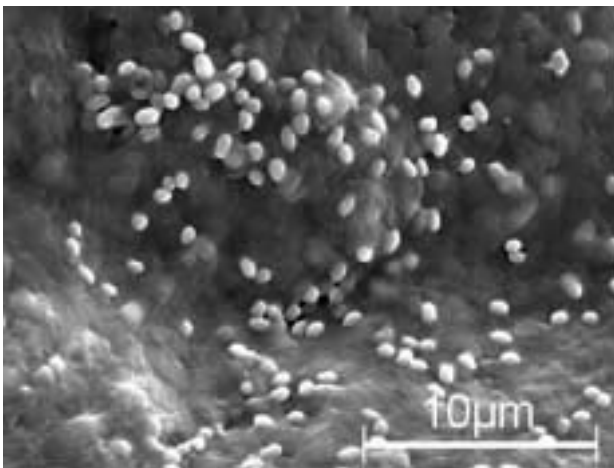


図11 固定化微生物

4.3 試験結果と考察

4.3.1 ペプトンの分解

微生物固定化担体について、BOD テスターを用いて、機能評価試験と同様にペプトンの分解試験を行った。2種の固定化担体30粒ずつを入れ、基質の濃度は100mg/lとした。温度は20℃に設定した。また、対照として担体なしのものについても試験を行った。これは、担体の代わりに固定化の際の培養液を使用し、液量は担体30粒の見かけの容積とほぼ等量の2 mlとした。

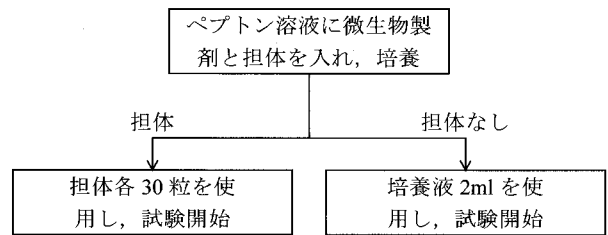


図12 ペプトン分解試験のフロー

結果を図13に示す。固定化担体による分解は2種類とも担体なしより速く、固定化が有効であることが分かった。担体の種類による差は見られなかった。

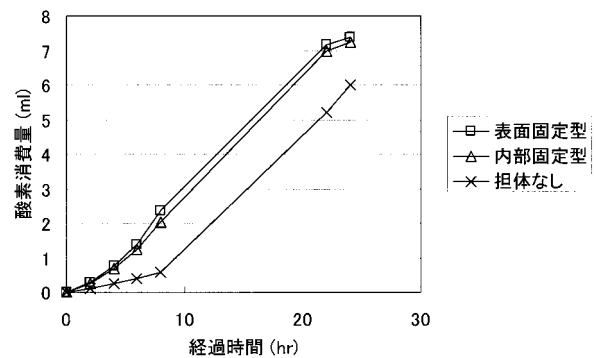


図13 ペプトン分解試験

4.3.2 グルコースの分解

ペプトンで培養を続けてきた担体について、グルコースの分解試験を行った。固定化担体2種を30粒ずつ入れ、基質はグルコースとし濃度は100mg/lとした。温度は20℃に設定した。担体なしのものは培養液2 mlとした。

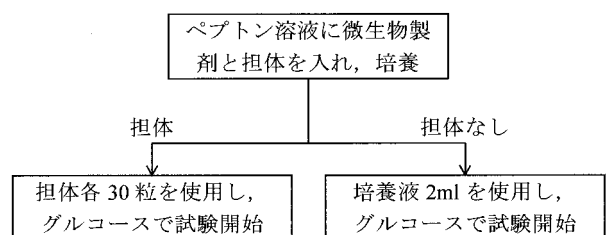


図14 グルコース分解試験のフロー

結果を図15に示す。ペプトンに比べ全体的に分解が遅くなったが、固定化担体による分解は2種類とも担体なしより速く、特に分解が始まるまでの時間が、担体を用いたものの方が短かった。このことから、基質が難分解性の場合には特に固定化が有効であると思われる。また、担体の比較では表面固定型の方がわずかに速かった。

4.3.3 温度変化試験

温度変化がある場合の分解状況を調べるため、室温で培養

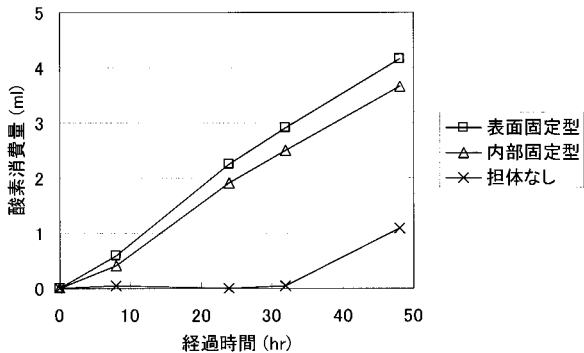


図15 グルコース分解試験

を続けてきた担体について 低温条件下で分解試験を行った。固定化担体 2 種を30粒ずつ入れ、基質はペプトンとし濃度は100mg/lとした。温度は10℃に設定した。担体なしのものは培養液 2 mlとした。

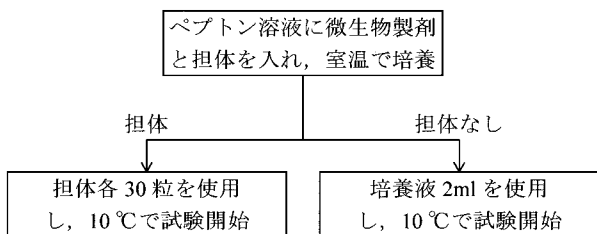


図16 温度変化試験のフロー

結果を図17に示す。20℃の試験4.3.1に比べると全体的に分解が遅くなったが、担体を用いたものと担体なしとの差が大きくなり、温度変化に対して固定化が有効であることが確認された。担体の比較では内部固定型の方が分解が少し速かった。

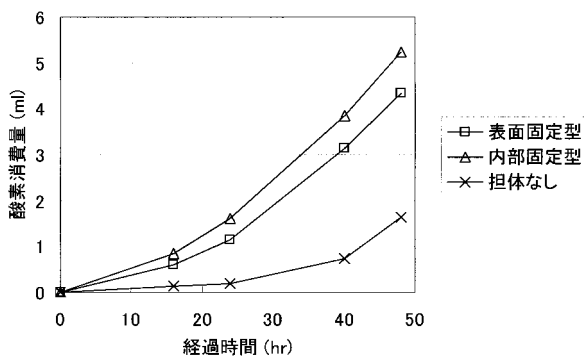


図17 温度変化試験

4.3.4 pH変動試験

pH変動を与えた後の復帰状況を調べるため、中性で培養を続けてきた担体について、一時的にpHを2に低下させ、その後再び中性に戻し分解試験を行った。固定化担体2種を30粒ずつ入れ、基質はペプトンとし濃度は100mg/lとした。

温度は20℃に設定した。担体なしのものは培養液 2 mlとした。

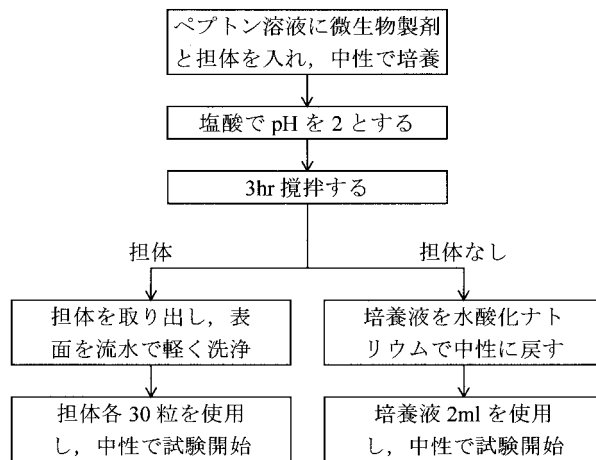


図18 pH変動試験のフロー

結果を図19に示す。担体を用いたものの方が分解が速く、特に分解が始まるのは内部固定型が速かった。これは、担体内部の微生物が水質変動の影響を受けにくかったためと推測される。

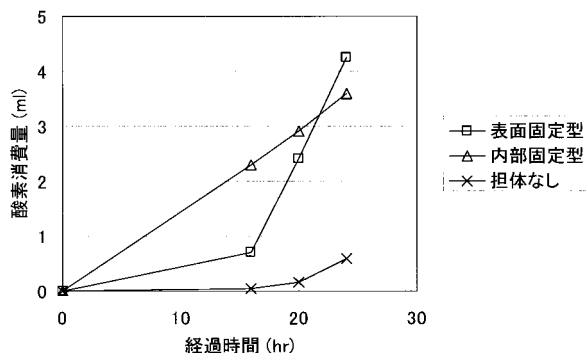


図19 pH変動試験

4.4 微生物担体を用いた試験結果のまとめ

製剤中の微生物を固定化した担体を用い、様々な条件下で試験を行った。その結果を以下にまとめる。

- 1) 担体に固定化することにより、微生物を高濃度で保持することができ、分解速度が上昇した。特に基質が難分解性の場合は、固定化の効果が大きいことが分かった。
- 2) 温度変化がある場合は、変化がない場合と比較して、固定化の効果がより大きいことが分かった。
- 3) pH変動がある場合は、変動がない場合と比較して、固定化の効果がより大きいことが分かった。特に内部固定型の復帰が早かったのは、担体内部の微生物は水質変動の影響を受けにくいためと推測される。

5 . おわりに

微生物製剤は、種類や添加量、環境条件によって分解特性が大きく異なるため、使用する際は目的にあったものを選び、なるべくその微生物に適した条件を整えてやることが重要と考えられる。

担体に固定化することにより、微生物を高濃度で保持することができ、効率的な処理が可能となった。さらに、水質変動に対しても比較的安定な処理ができたことから、特に微生物にとって厳しい条件下において、固定化が有効であることが推察された。

本報告の内容はビーカースケールでのバッチ処理試験によるものだが、今後は実際の処理施設における連続運転での試験を行いたいと考えている。

引用文献

- 1) 藤井邦彦 他：有用微生物及び微生物製剤の水質浄化に対する効果とその評価，第29回 日本水環境学会年会講演集，p.381，(1995)
- 2) タイテック(株)：BOD Tester 技術資料，p.4
- 3) 須藤隆一 編著：微生物固定化法による排水処理，産業用水調査会，pp.26-31，(1988)
- 4)，5) 滝沢 智：微生物固定化法の特徴と技術課題への対応，微生物固定化法による水処理，NTS，pp.90-91，(2000)