

J-11

マイクロバブルと微生物活性剤を用いた堆積汚泥の循環型浄化システム における微生物の特定

Identification of Microorganism in Purification system on Circulation Type for Ocean Sludge by Using Micro-Bubble and Activating Microorganisms

○曾根孝亮¹, 山下和浩¹, 岡本強一²*Takaaki SONE¹, Kazuhiro YAMASHITA¹, Kyoichi OKAMOTO²

Ocean Sludge gives the environmental load to sludge at coastal zone. Here, we paid my attention to Micro-Bubble technology for Purification of ocean sludge. The important point of this technology is to activate the microorganisms in aerobic state by micro-bubble. So, the purification system on circulating type was developed by using micro-bubble and activating microorganisms in our laboratory. In this study, our object is to identify some kinds of microorganisms in the purification process by this system.

1. 諸言

河川・海域等の閉鎖性水域において、堆積汚泥の浄化は改善すべき問題となっている。本研究室では周辺環境に影響の少ない微生物による分解処理を行なう方法として、マイクロバブルと微生物活性剤を用いた循環型浄化システムを開発した。¹⁾微生物活性剤として酵素成分が浄化性能を高めているとの考えから、入手が容易な酵素含有の衣料用洗剤を用いて実験が行なわれ、浄化に有効であることが示された。²⁾

さて、これまで循環型浄化システムを用いた堆積汚泥の浄化実験が行われたが、浄化過程にはどのような微生物が存在したか分かっていなかった。そこで、循環型浄化システムにおける浄化過程にはどのような微生物が関わっているのか特定することを目的とする。

2. 浄化実験

2.1 循環型浄化システム

実験装置として、Figure 1 のように 2 つの水槽を用い、1 つには海水と汚泥を入れ、もう一方には海水とマイクロバブル発生装置を設置し、マイクロバブル発生水槽とする。これら 2 つの水槽を循環させる循環型浄化システムである。なお、海水 30ℓ、汚泥 1kg を用い、海水温度を一定(30℃)に保つために水槽用クーラーをマイクロバブル発生水槽側に設置する。そこで、マイクロバブルを発生・循環させて 6 時間後に微生物活性

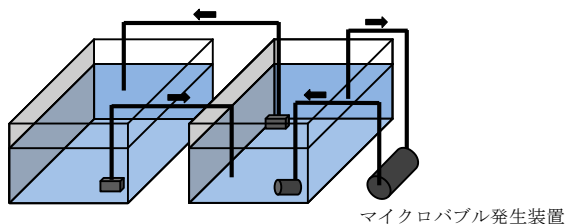


Figure 1 循環型浄化システム

剤を入れ、120 時間まで実験を行なう。実験条件は、Case1 では微生物活性剤及びマイクロバブルあり、Case2 では微生物活性剤及びマイクロバブルなしとした。微生物活性剤については、衣料用洗剤の標準添加量(30ℓに対し10g)の4倍である40g(13ppm)を投与した。

2.2 実験結果及び考察

(1) 水温, DO, pH (Figure2,3,4) 水温は、約 29℃で一定であるが、マイクロバブルがない Case2 では約 26℃で一定と低かった。DO は、Case2 は酸素供給がないため 18 時間まで低かったと考えられ、24 時間以降は増加し、一定となった。pH は、ほぼ一定を示した。

(2) H₂S (Figure5) 酸素供給をしていない Case2 では実験開始から低く、120 時間まで測定下限値であった。Case1 はマイクロバブルの酸素供給により減少したが、発生した泡により測定不能や 24 時間から増加を示したと考えられる。

(4) T-N, T-P (Figure6,7) T-N は、Case1,2 とも実験開始 48 時間で測定下限値まで減少したが、72~84 時間以降は増加した。T-P は、Case1,2 とも 24~36 時間で測定下限値まで減少したが、Case1 のみ 72 時間後から増加した。T-N, T-P とも衣料用洗剤に含有される酵素以外の成分によって増加を示したのではないかと考えられる。

3. 微生物解析

循環型浄化システムの浄化過程に関わる微生物の特定を行うため、単離培養法によって微生物解析を行った。すなわち、実験海水をサンプリングし、培地で培養・単離を繰り返したコロニーから DNA を抽出し、塩基配列から微生物を特定しようとした。ここで、実験海水のサンプリングは Case1,2 の 0 及び 120 時間の海水とした。

3.1 微生物解析の手順

- 1) 培地に入れたサンプルを全体に広げる. (Figure 8) 培地のコロニーを 1 種類になるまで分離をする.
- 2) 分離を繰り返したコロニーから DNA を抽出する.
- 3) DNA 濃度に合わせて試薬を混ぜ、サーマルサイクラー (Thermal cycler : 混合液の温度を変化させる装置) にかけて DNA サンプルの増幅, 複製を行う.
- 4) Marker (DNA の塩基数を確認する指標) 及び DNA サンプルと Loading Buffer (DNA サンプルの拡散を防ぎ, 電気泳動時の DNA サンプルの移動の目安となる試薬) を混ぜた溶液を入れたゲルを電気泳動にかけた後, SYBR Green (UV を当てることで DNA 断片を可視化させる染色液) で染色したゲルのバンドを UV 画像撮影装置で確認する. (Figure 9)
- 5) サーマルサイクラーを用いて, DNA サンプルのシーケンス反応を行い, 次にシーケンス解析で DNA の塩基配列を調べる.
- 6) データベースから塩基配列の同定を行い, 同定確率の高い微生物を特定とした.

3.2 微生物の特定結果

解析の結果, 微生物は Table 2 のような結果となった. Bacillus Subtilis や Bacillus Clausii, Bacillus licheniformis はプロテアーゼやアミラーゼ等の酵素を生産する性質, Bacillus Pumilus はタンパク質に対する易分解性, Alcaligenes Faecalis は脱窒素を行い窒素ガスに変換する

性質などを持つため, 酵素成分が浄化性能を高めているという考えから, これらの微生物の性質は浄化実験において有効ではないかと考えられる.

Table 2 微生物解析の結果

	0時間	120時間
Case 1	Bacillus Clausii	Bacillus Subtilis
	Bacillus licheniformis	Alcaligenes Faecalis
Case 2	Bacillus Clausii	Bacillus Subtilis
		Bacillus Pumilus
		Alcaligenes Faecalis

4. 結言

マイクロバブルと微生物活性剤を用いた浄化実験において微生物解析を行った結果, Table 2 のような 5 種類の微生物が特定された. これらの微生物はそれぞれ病原性のない菌であった.

今後, これらの微生物の性質を利用し, 増殖・直接投与による浄化実験を行う予定である.

参考文献

- 1) K.Okamoto & K.Hotta :Purification System of Ocean Sludge by Using Coagulants & Activating Microorganisms, International Journal of GEOMATE (Geotec., Const. Mat. & Env.), 2013, Vol.4, No.2, pp. 574-579
- 2) 笹原, 森田, 岡本, 堀田, 他 :「マイクロバブルと微生物活性剤による堆積汚泥の浄化 -酵素含有洗剤を用いた場合-, 日本大学理工学部学術講演会論文 2011

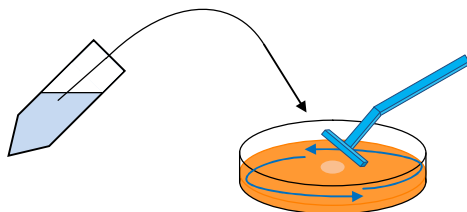


Figure 8 サンプル培地作成



Figure 9 電気泳動結果のゲル 模式図と写真

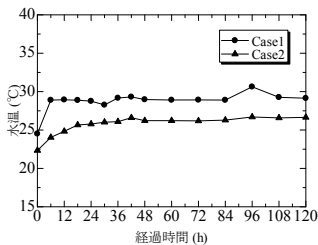


Figure 2 水温の経時変化

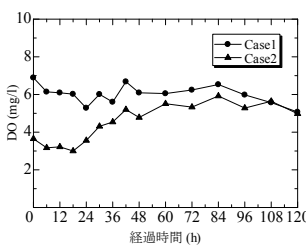


Figure 3 DO の経時変化

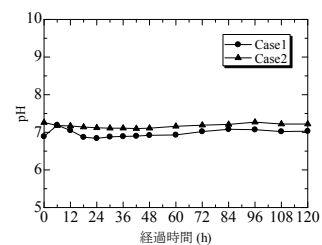


Figure 4 pH の経時変化

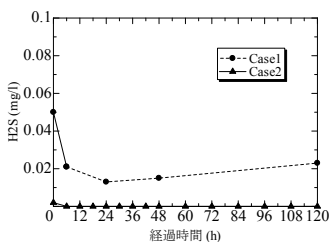


Figure 5 H₂S の経時変化

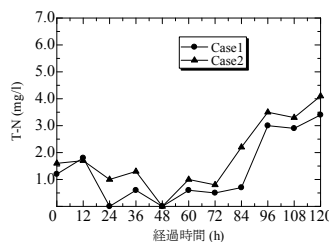


Figure 6 T-N の経時変化

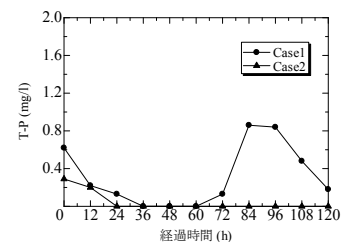


Figure 7 T-P の経時変化