

様々な環境規制物質を分解する微生物粉末製剤の開発

山本 哲史*¹・日下 潤*²・斎藤 祐二*¹・服部 新吾*³・山里 明弘*³

Keywords : biological treatment, industrial wastewater, bioremediation, microbial formulation

生物学的処理, 工場排水, バイオレメディエーション, 微生物製剤

1. はじめに

経済活動に伴って発生する産業排水などの汚水の処理には、微生物の分解能力を活性化した「活性汚泥法」が広く採用されてきた。しかしながら、微生物分解が困難な難分解性化学物質が含まれている排水に対しては、活性汚泥法では十分な浄化効果を期待できない。そのため、強力な酸化剤を用いた化学的分解や、蒸留・分離後に産業廃棄物として処分する物理化学的手法が提案・適用されている¹。しかし、これらの手法は化石燃料や電力の大量消費を伴い、処理コストの増加や温室効果ガスの排出など、新たな環境負荷を引き起こす可能性がある。そのため、低コストかつ環境低負荷な水処理技術の開発が求められている。

筆者らは、近年新たな規制対象となった 1,4-ジオキサン (DX) を分解する N23 株を発見し、その処理能力を評価した結果、N23 株は 1,4-ジオキサン以外の様々な規制物質をも分解できることを確認している。そこで、難分解性化学物質を含む排水の処理技術を社会実装すべく、N23 株の粉末製剤化を検討したので報告する。

2. 環境規制物質を分解する N23 株

2.1 N23 株について

N23 株は、1,4-ジオキサン分解菌として国内の環境試料から単離された微生物である (写真-1)。生理学的特性及び系統分類学的解析により *Pseudonocardia* 属に属することが明らかとされており、DX 分解試験から DX を単一炭素源で増殖可能な資化菌である²⁾。さらに、N23 株の DX 分解速度は、これまでの報告されている

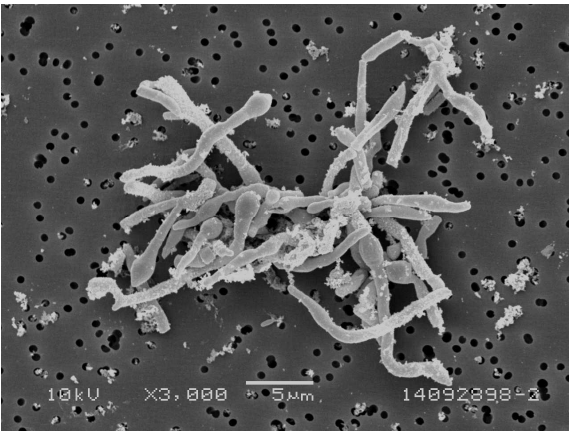


写真-1 N23 株の SEM 画像

Photo. 1 SEM micrograph of strain N23

表-1 N23 株が分解可能な化学物質の例
Table 1 Examples of chemical substances degradable by strain N23

化学物質名
1,1,2-トリクロロエタン
1,3-ジクロロプロペン
トリクロロエチレン
1,1-ジクロロエチレン
1,2-ジクロロエチレン
1,2-ジクロロエタン
ジクロロメタン
クロロエチレン
ベンゼン
1,4-ジオキサン

* 1 技術センター 先進技術開発部 新領域技術開発室
* 2 エンジニアリング本部 エンジニアリング第 6 部
* 3 ケイ・アイ化成 (株)

DX 分解菌よりも高く、トップレベルの DX 分解能力を有している¹⁾。この N23 株の優れた DX 分解能力を活用して、DX 含有排水の生物学的処理プロセスを開発し³⁾、現在、社会実装を目指している。

2.2 N23 株が分解可能な化学物質

N23 株は、DX に加え、難分解性の環状エーテル物質を分解することが明らかとなっている⁴⁾。そこで、N23 株における様々な難分解性物質に対する分解能力を評価することを目的として、国内の規制対象となっている様々な化学物質に対して N23 による分解性を評価した。その結果、環境基準や一律排水基準に設定されている規制物質だけでなく（表-1）、要監視項目や第一種指定化学物質に指定されている様々な化学物質を分解できることが明らかした⁵⁾。この能力は、難分解性物質を含む産業排水、汚染土壌・地下水などの浄化できる可能性を示唆するものである。難分解化学物質を処理するサイトへ N23 株を提供するには、制御された環境での液体培養にて N23 株を大量培養する必要がある。しかしながら、大量培養が完了するまでに長期間を要するだけでなく、サイトへの移送費が高くなる等、実用上の課題が考えられる。そこで、これらの課題を克服すべく、N23 株の粉末製剤化を検討した。

3. N23 株の粉末製剤化

3.1 流動層乾燥による N23 株の粉末製剤化

3.1.1 実験方法

① 流動層乾燥

ラボ用の流動層乾燥装置（パルビスミニベッド、ヤマト科学株式会社製）を用いて N23 株の粉末製剤の作製を行った。乾燥装置のチャンバーに N23 株を担持させる基材を投入した後、系内を攪拌しながら、N23 株菌体濃縮液を添加するとともに、下部より温風を吹き付けて乾燥を 2 時間行った（図-2）。基材としては、コーンスターチ、大豆タンパク、セルロース、珪藻土及び活性白土を用い、各基材で作製した粉末製剤の DX 分解活性を調査した。

② DX 分解活性の測定

作製した粉末製剤を用いて DX 分解活性を測定した。分解試験では、DX を含む無機塩培地に菌体濃度が 200mg-dry cell/L になるように粉末製剤を添加し、溶液中の DX 濃度を適宜測定した。また、比較として、粉末製剤に用いた濃縮液を用いて同様の試験を実施した。

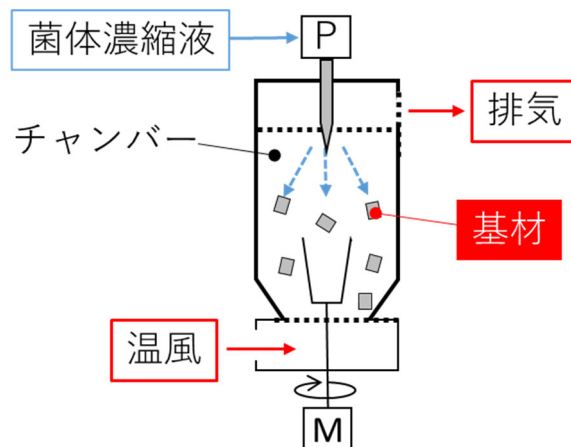


図-2 流動層乾燥装置

Fig. 2 System of fluidized bed dryer

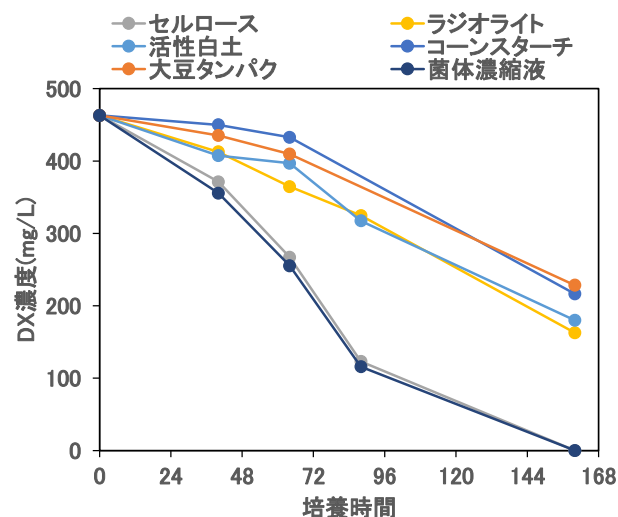


図-3 各種粉末製剤による DX 分解

Fig. 3 DX degradation by various powder formulations



図-4 商業スケールの流動層乾燥装置の外観

Fig. 4 Appearance of a commercial-scale fluidized bed dryer

3.1.2 実験結果

図-3 に各種基材を用いて作製した N23 株粉末製剤による DX 分解試験の結果を示した。全ての実験系において緩やかな DX 分解が認められたが、セルロースを用いて作製した粉末製剤の系では、濃縮菌体を用いた実験系と同等の DX 分解挙動が確認された。以上のことから、N23 株の粉末製剤に用いる基材としては、セルロースが適していることが明らかとなった。

3.2 商業スケールでの N23 株粉末製剤の作製

3.2.1 実験方法

① 流動層乾燥

商業スケールでの製剤検討を行うため、1 回あたり 200kg の粉末製剤の製造が可能な流動層乾燥装置（フロイント産業社製の FLO-200 型）を用いて N23 株粉末製剤の作製を行った（図-4）。本試験では、約 50kg の粉末セルロースを流動層乾燥装置のチャンバーに添加し、系内を攪拌しながら、N23 株菌体濃縮液を添加するとともに、下部より温風を吹き付けて乾燥を行った。本装置の運転中では、製剤の含水率を把握しながら、培養液の吹き付けを実施した。乾燥後の粉末製剤の性能を評価するために、DX 分解試験を 3.1.1 の②に準じて行った。

② 粉末製剤の保存

乾燥後の粉末製剤は、アルミラミネートの梱包材に封入し（図-5）、5℃にて保管した。その後、適宜、粉末製剤を分取し、3.1.1 の②に準じて DX 分解活性を測定した。

DX 分解試験中に DX 濃度が直線的に低減している期間から DX 分解速度を算出した。DX 分解活性では、保管期間開始直前の DX 分解速度を 100%として、相対値として算出した。なお、比較として、菌体濃縮液を用いた DX 分解試験も同様の手順で実施した。

3.2.2 実験結果

① 粉末製剤の DX 分解能力の評価

図-6 に今回作製した粉末製剤の DX 分解試験の結果を示す。その結果、今回製造した粉末製剤の実験系では、時間の経過とともに DX 濃度が低下し、その傾向は菌体濃縮液の系と同程度であることが確認された。以上のことから、商業スケールの乾燥装置を用いて N23 株の粉末製剤を大量に製造できることが明らかとなった。

② 粉末製剤における長期保存性の評価

粉末製剤における長期保存性を評価するために、5℃にて保管した粉末製剤を適宜、分取し、DX 分解活性を測定した。その結果、粉末製剤における DX 分解活性



図 5 粉末製剤を保管する梱包材の外観
Fig.5 Appearance of packaging material for powder formulations

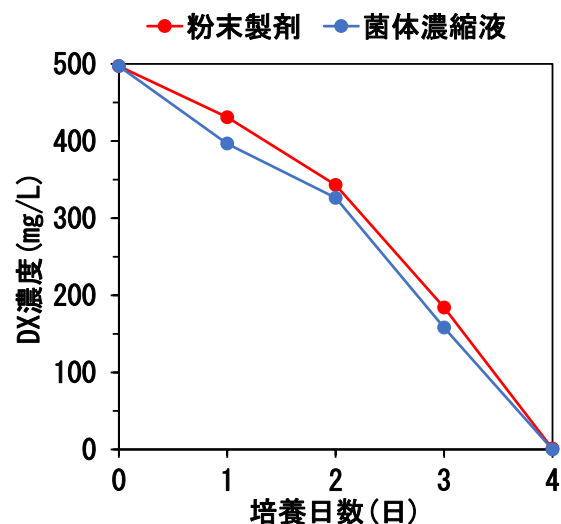
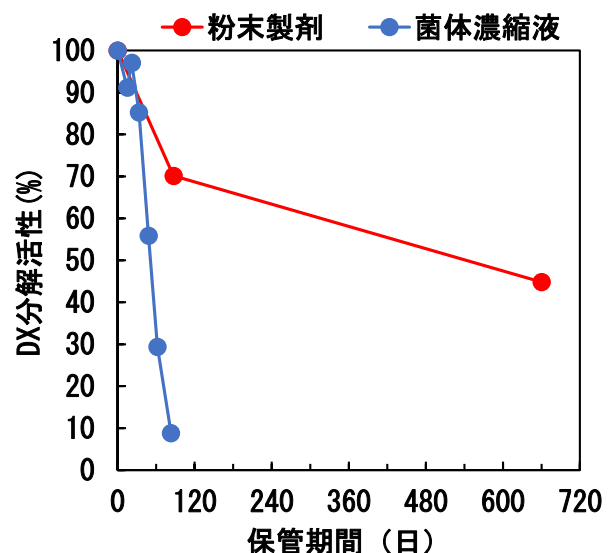


図-6 商業スケールの装置で製造した粉末製剤の DX 分解

Fig. 6 DX degradation of powder formulations manufactured using commercial-scale equipment.



は、保管開始から 87 日経過後に 70%まで低減したものの、660 日経過後においては 45%の活性を維持していることが明らかとなった。一方で、比較として実施した菌体濃縮液の DX 分解活性は、時間の経過とともに低下する傾向が確認され、保管開始から 83 日後には、約 9%まで低減した。以上のことから、製造した粉末製剤を 5℃にて保管することで、およそ 2 年間に渡りに DX 分解活性を維持できることが明らかとなった。

4. おわりに

本稿では、N23 株を用いた新たな水処理技術を社会実装すべく、N23 株の粉末製剤化を検討し、N23 株の粉末製剤化及び、長期的に化学物質の分解活性を持続できる保管条件を見出した。前述のとおり、N23 株は DX だけでなく、地下水汚染物質である塩素系有機化合物も分解できる能力を有しており、排水処理にとどまらず、埋立最終処分場や土壌地下水浄化への応用も期待される。また、これまでの研究から、N23 株は、毒性物質を生産する遺伝子を有していないことが確認さ

れており²⁾、人や環境への安全性も高いと考えられる。今後は、排水や地下水などの水質浄化に課題を抱える事業所への適用を推進していく予定である。

参考文献

- 1) 山本哲史, 井上大介, 斎藤祐二, 池道彦: 1,4-ジオキサン含有排水処理における従来技術の課題と生物学的処理適用の可能性, 日本水処理生物学会誌, 55(1), 1-13, 2019.
- 2) Yamamoto, N., Saito, Y., Inoue, D., Sei, K. and Ike, M.: Characterization of newly isolated *Pseudonocardia* sp. N23 with high 1,4-dioxane-degrading ability, J. Biosci. Bioeng., 125, 552-558, 2018.
- 3) 山本哲史, 日下潤, 渡邊亮哉, 井上大介, 黒田真史, 瀧寛則, 斎藤祐二, 清和成, 池道彦: 高効率 1,4-ジオキサン分解菌の特徴とその排水処理への応用, 大成建設技術センター報, 51, 40-1-40-6, 2018
- 4) 山本哲史, 井上大介, 黒田真史, 瀧寛則, 清和成, 斎藤祐二, 池道彦: 1,4-ジオキサン分解菌 *Pseudonocardia* sp. N23 を用いた化成品製造工業排水処理システムの開発, 用水と廃水, 60(2), pp.139-150, 2018.
- 5) 渡邊亮哉, 山本哲史, 斎藤祐二: *Pseudonocardia* sp. N23 による塩素化エチレン類分解に関する研究, 大成建設技術センター報, 52, 47-1-47-7, 2019