

工業洗浄廃水中の有機化合物分解菌の検索及び分解能の評価

幅 靖志*¹

Screening of Microorganisms Which Decompose Organic Components in Industrial Washing Wastewater

Yasushi HABA*¹

Industrial Technology Division, AITEC*¹

洗浄廃水に特徴的な有機物として界面活性剤及び不凍液に含まれるエチレングリコールを対象とし、各有機物存在下での微生物の増殖を検討した。1%、0.1%の界面活性剤存在下でグルコースを加えた培地において、生育する菌が見つかった。しかし、分離した微生物には界面活性剤の分解能はほとんど見られなかった。一方、1%エチレングリコール存在下の制限培地中では、生育する菌が見つかった。ただ、生育速度が遅いため、微生物の生育に必要な炭素源としてグルコースを加えたところ、5%エチレングリコール存在下で生育する菌が見つかった。しかし、検索した菌のエチレングリコール分解能はわずかであった。

1. はじめに

洗浄廃水は、水に有機溶剤等が混入したものであり、有機溶剤等の回収が困難であり、工業廃水として処理を余儀なくさせられている。今後は環境の面からも廃油、廃溶剤と同様に専門処理業者で処理し、リサイクルする方向に向かっているが、自社で廃水中から有機溶剤等の回収を行うことはコスト面で困難であり、またリサイクルするためには専門処理業者まで運搬しなければならず、運搬コストの問題がある。

そこで、有機溶剤等の有機物を微生物により分解処理することによって、一般下水へ排出できれば、環境負荷低減はもちろんのこと、前述コストの削減が行える。

今回、洗浄廃水で特徴的な有機物（界面活性剤、エチレングリコール）を対象に、生育能の高い微生物を検索し、その分解能を検討した。

2. 実験方法

2.1 使用菌株

食品工業技術センターで保有している細菌9種類（*Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* sp. natto, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter aceti*, *Streptococcus faecalis*, *Zymomonas mobilis*）、酵母6種類（*Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*（清酒酵母）、*Saccharomyces cerevisiae*（パン酵母）、*Pichia anomala*, *Hansenula saturnus*,

Candida utilis）、カビ5種類（*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sojae*, *Neurospora crassa*, *Penicillium chrysogenum*）、担子菌4種類（*Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Agrocybe cylindraceae*）並びに排水溝から分離した微生物4種類を実験に供した。

2.2 使用培地

使用培地の組成は以下のとおりである¹⁾。

カビ、担子菌：ツアペックドックス培地

NaNO ₃	0.2%
K ₂ HPO ₄	0.1%
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.05%
KCl	0.05%
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	0.001%
Sucrose	3%

pH 6.0

酵母：合成最小培地

Yeast Nitrogen Base	0.67%
Glucose	2%

pH 5.5 ~ 6.0

細菌：Nutrient broth

肉エキス	1%
ペプトン	1%
NaCl	0.5%
(Glucose	0.1%)

pH 7.0

*¹ 工業技術部 材料技術室

なお、それぞれの培地組成から炭素源（スクロースやグルコース）を除いたものを制限培地と表記した。

2.3 生育試験

前述の培地に分解除去対象有機物を 0.1～1%の範囲で加えた溶液 20ml を入れた 100ml 容三角フラスコで微生物を培養し、生育能を観察した。分解除去対象有機物として、ポリオキシエチレン-n-ドデシルエーテル（非イオン界面活性剤）、1-ドデセン LAS（陰イオン界面活性剤）、エチレングリコール（廃ラジエーター水の主成分）を選択した。一次スクリーニングとして試験管による菌量の増加並びに液の性状を目視で観察した。

2.4 分解、除去試験

有機物添加培地を 200ml にスケールアップし、前培養した微生物を投入し、3 日間振とう培養後、非イオン界面活性剤はコバルトチオシアン酸アンモニウムと形成する複合体をベンゼンで抽出したものを、陰イオン界面活性剤量はメチレンブルーと形成する複合体をクロロホルムで抽出したものを吸光度法（332nm、650nm）により測定した²⁾。また、エチレングリコールはガスクロマトグラフにより測定した。

3. 実験結果及び考察

3.1 界面活性剤に対する生育能

当初は炭素源として有機物を用いる目的で使用培地から糖を抜いたものを一次スクリーニング用培地として用いたところ、すべて生育が見られなかったため、2.2 に示した培地で一次スクリーニングを行った。その結果、非イオン界面活性剤に対しては 1%濃度で *Bacillus subtilis*（枯草菌）、分離微生物 C（*Bacillus* 様）に、0.5%濃度で *Pichia anomala*（産膜酵母）、0.1%濃度で *Aspergillus niger*（黒麹カビ）、分離微生物 A（カビ様）にも生育が見られた。陰イオン界面活性剤に対しては 0.1%濃度で *Pichia anomala*、分離微生物 C に生育が見られた。油の処理微生物の仲間である *Candida utilis* はいずれの条件にも生育が見られなかった。

B. subtilis、*P. anomala* は 200ml に培地を増やし同様の試験を行ったところ、生育が悪く、菌体量も増えなかったことから、前培養して十分な菌体量を得たのち、非イオン界面活性剤を加えた培地へ移し、24時間振とう培養後、非イオン界面活性剤量を測定しようと試みた。しかし、非イオン界面活性剤量の減少量に再現性が見られなかった。

これは、界面活性剤が有する抗菌性により、細菌はほとんどが死滅してしまうためであり、より低濃度の界面活性剤が入った培地からの馴養培養も試みたが、界面活

性剤の分解能は発現しなかった。

3.2 高濃度エチレングリコール存在下での生育能

1%のエチレングリコール存在下の制限培地中で、*Bacillus subtilis*、*Pichia anomala*、*Aspergillus niger*、*Aspergillus sojae*（しょう油麹カビ）、*Pleurotus ostreatus*（ヒラタケ）分離微生物 A、分離微生物 C が生育し、*Aspergillus sojae* および分離微生物 A はエチレングリコールを資化していたが、5%エチレングリコール存在下ではいずれも生育しなかった。そこで炭素源（グルコースあるいはメタノール）を加えた培地において、グルコース存在下では分離微生物 A（カビ様）が生育した（メタノールではいずれの菌も生育しなかった）ただし、検索された微生物のエチレングリコールの分解能を検討したところ、エチレングリコールはわずかな減少しか見られなかった。

炭素源がエチレングリコールのみの培地では微生物はエチレングリコールを代謝しているようだが、菌体量は少なく、その代謝量、速度とも低いものになった。しかし、他の炭素源（グルコース）の存在では、菌体量は増加するが、エチレングリコール分解能は発現しなかった。

4. 結び

陰イオン界面活性剤については 0.1%の濃度で *Pichia anomala*、分離微生物 C が生育したが、培養液に泡立ちが残っていた。また、0.5%ではいずれの微生物も生育が見られなかった。非イオン界面活性剤については 0.5%の濃度で *Bacillus subtilis*、*Pichia anomala*、分離微生物 C が、0.1%で分離微生物 A、*Aspergillus niger* が生育したが、培養液に泡立ちが残っていた。また、前培養をして菌体量を増やし、非イオン界面活性剤の減少量を測定したが、非イオン界面活性剤量の減少量に再現性が見られなかった。

一方、1%のエチレングリコール存在下の制限培地中で、育成速度が遅いが生育する菌が見つかった。5%エチレングリコール存在下に炭素源（グルコースあるいはメタノール）を加えた培地において、グルコース存在下では順調に生育したがエチレングリコールの分解能はわずかであった。

文献

- 1) 日本生化学会：新生化学実験講座 第 17 巻 微生物実験法，p434-446(1992)，東京化学同人
- 2) 日本規格協会：日本工業規格 K3363 合成洗剤の生分解度試験方法，p3-7(1990)，日本規格協会