

油脂分解菌の検索及び分解能の評価

幅 靖志*¹

Screening of Lipid-degrading Microorganisms and Estimation of Its Lipid-degrading Ability

Yasushi HABA*¹

Industrial Technology Division, AITEC*¹

厨房排水中の油脂の微生物分解を目的とし、油脂分解能を有する微生物の検索、確認を行った。継代培養と単コロニー分離を繰り返し、*Pseudomonas putida* から高い油脂分解能を有する株を分離した。分解能および分解の連続性は、5 回の回分処理で活性がほぼ消失した。次に、PVA (ポリビニルアルコール) により微生物を包括させた PVA ゲルを作製し、その油脂分解活性を調べた。菌体包括ゲルの油脂分解活性は 2 ヶ月経過後も当初の 80% を維持していた。

1. はじめに

小規模事業所排水 (食品工場排水や厨房排水) の処理に関しては、油分の除去が特に大きな課題となっている。これまで有機系排水の処理法として、活性汚泥法や接触ばっ気法などの微生物処理法が広く用いられているが、設備スペースが大、運用資金が高額、管理が困難などの理由から小規模事業所への導入は難しい。そのため現状の排水処理装置では、グリストラップと呼ばれる単位装置の付加や、油脂分解菌を定期投入している場合が多い。しかし、グリストラップはエマルジョン化した油分には効果がない。また、油脂分解菌添加方式は処理能力の低下が著しく、ランニングコストの増加を招き、十分とはいえない。

そこで本研究では、高い油脂分解能を有する微生物を担体に包括させることにより処理能力の維持を図り、油脂分解微生物担持担体を用いた油脂高含有排水の処理システムを構築するため、油脂分解菌の検索および分解能を評価した。

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 8 種類 (*Alcaligenes xylosoxidans*, *Arthrobacter globiformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus subtilis* IFO3009, *Micrococcus luteus*, *Nocardioides simplex*, *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas putida*) 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⁾。

油脂分解菌選択培地

| | |
|------|-----------|
| 肉エキス | 1%(w/v) |
| ペプトン | 1%(w/v) |
| NaCl | 0.5%(w/v) |
| 油脂 | 1%(v/v) |
| pH | 7.0 |

油脂：大豆油、サラダ油、オリーブ油

単コロニー分離 (Single Colony Isolation) 用平板培地

油脂分解菌選択培地

+

6mg/L bromocresol purple

Agar 1.5%(w/v)

pH 7.0

培地は、pH7.0 では紫色であるが、油脂が分解され脂肪酸ができると、pH が下がり黄色になる。

2.3 油脂分解能試験

前述の培地に油脂を 1~3vol% の範囲で加えた溶液 5mL を入れた試験管で振とう培養し、菌量の増加並びに油脂の減少量を目視で観察したものを一次スクリーニングとした。

油脂分解能は、選択培地の油脂を 3wt%、5wt% にしたものの 100mL に一白金耳植菌し、35、3 日間培養後 JIS K 0102 の工業排水試験方法²⁾にしたがってヘキサンで残存油脂の抽出を行い、油脂量を測定した。

*¹ 工業技術部 材料技術室 (現食品工業技術センター 加工技術室)

2.4 微生物包括ゲルの作製法および油脂分解試験

30wt%PVA 水溶液 (けん化度 100%) : 約 50g/L 菌濃縮液 = 1 : 1 の割合になるように混合したものをトレイに移して、-20 で1日凍結、ゲル化したものを5~7mm角の立方体状に裁断・成形した。試験排水として1/10油脂分解能検定培地 + 3wt%サラダ油 1L 中にPVA油脂分解菌包括ゲル 200mL を投入し、1L/min で空気供給をし、油脂分解試験をした。

3. 実験結果及び考察

3.1 油脂分解能を有する微生物の検索

1vol%油脂を含む Nutrient broth 5mL を検索培地とし、各油脂分解能を確認した結果を表に示す。*Bacillus subtilis* IFO3009 はサラダ油に、*Micrococcus luteus* は大豆油、サラダ油に、*Pseudomonas putida* は大豆油、サラダ油、オリーブ油に対して、油脂分解能が確認できた。そこで、継代培養と単コロニー分離を繰り返し、*Pseudomonas putida* のうち高い油脂分解能を有する株を分離し、Pp-OD-1 と命名した。

3.2 分離した油脂分解微生物の性質

表 試験に供した微生物と各有機物存在下での生育

| 菌種 | 大豆油 | オリーブ油 | サラダ油 |
|----------------------------------|-----|-------|------|
| <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> | × | × | × |
| <i>Arthrobacter globiformis</i> | × | × | × |
| <i>Bacillus atrophaeus</i> | × | × | × |
| <i>Bacillus subtilis</i> IFO3009 | × | × | |
| <i>Micrococcus luteus</i> | | × | |
| <i>Nocardioides simplex</i> | × | × | × |
| <i>Paracoccus denitrificans</i> | × | × | × |
| <i>Pseudomonas putida</i> | | | |

(油脂 1 vol% 選択培地 5mL で 37、3日間振とう培養し、培地表面の油滴の有無を目視によって確認した。)

菌体による分解能および分解の連続性を確認したところ、図1に示すように、5回の回分処理で活性がほぼ消失した。3回目から生菌数が減少しており、油脂の存在が菌の増殖を抑制しており、油脂の分解は微生物の生育

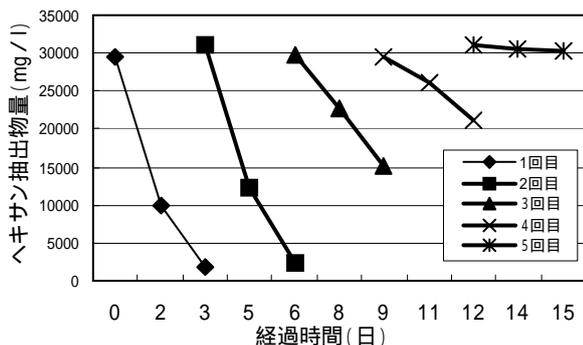


図1 Pp-OD-1 の連続処理による油脂分解能の連続性

に關与していない反応と考えられる。

3.3 微生物包括ゲルの作製および油脂分解能確認試験

油脂分解活性を持続させるため、微生物の活性が熱失活しないよう低温でポリマー化するため、微生物を包括させたPVAゲルを作製し、菌体包括ゲルの油脂分解活性持続能を確認した。フラスコによる回分処理を行った結果を図2に示す。その結果、分解活性は2ヶ月で80%維持された。

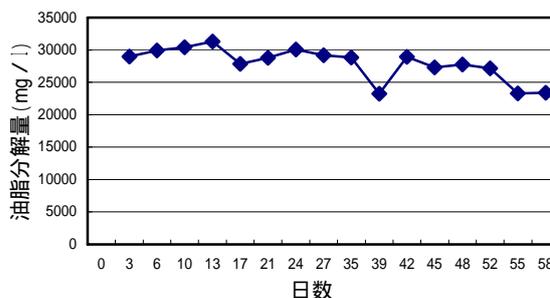


図2 Pp-OD-1 包括ゲルによる油脂分解量と経過日数との関係

また、ゲルはかなり融解しており、包括しているゲルの融解に合わせて浮遊微生物が増殖していることから、菌体量の増加が、分解活性の維持に寄与していると考えられる。

4. 結び

高油脂分解能を有する微生物を検索、選択を行った結果、*Pseudomonas putida* から高い油脂分解能を有する株 Pp-OD-1 を分離した。

菌体のみでの油脂分解能は、5回の回分処理で活性がほぼ消失した。一方、油脂分解微生物を包括したPVAゲルによる回分処理を行った結果、分解活性は2ヶ月で80%維持された。

これまで使用されていた油脂分解微生物よりも油脂分解能が持続し、固定化することによって油脂分解能はさらに持続する微生物が分離できたので、今後は油脂含有排水処理システムにいかに組み込むかを検討していく。

文献

- 1) 日本生化学会：新生物化学実験講座 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：JIS K 0102 工業排水試験方法, P60-64 (1998), 日本規格協会