

竹粉を利用した排水処理材の開発

溝添 暁子^{*1}, 竹田 智和^{*1}, 里岡 嘉宏^{*1}, 西原 基樹^{*2}, 中田 一則^{*1}

Development of Wastewater Treatment Material which Utilized Powder of Bamboo

Akiko MIZOZOE, Tomokazu TAKEDA, Yoshihiro SATOOKA,
Motoki NISHIHARA and Kazunori NAKATA

前報¹⁾及び前々報²⁾において、竹粉の高い硝酸除去(脱窒)効果は、竹粉由来の微生物群によるものであることを種々の試験により明らかにし、検出された微生物の遺伝子解析による分類同定を行ったことを報告した。本研究では、引き続き竹粉由来の微生物について遺伝子解析を行い、さらに竹粉による微生物への影響を調査した。

キーワード：脱窒、竹、微生物、養液栽培

1 はじめに

竹は、成長が早いことから注目される資源であるが、全国的に放置竹林が問題になっており、県内にも多数存在することからその有効利用が求められている。一方、農業における施肥成分の一つである硝酸態窒素が農業系外に排出され環境に負荷を与えており、また、畜産排水処理においても硝酸態窒素低減化が急務になっている現状がある。本研究では、県内未利用資源である竹資源を活用し、より安価で効率の良い硝酸除去(脱窒)効果の高い排水処理材等を開発することを目指して、当県の総合農業試験場及び林業技術センターと共同で研究を実施しているが、今回は、当県畜産試験場川南支場(以下畜産試験場)にも協力を得た。

2 実験方法

2-1 竹粉試料

当県林業技術センターにて、伐採、破碎処理し、さらに県総合農業試験場において、乾燥されたものを竹粉試料とした。伐採後の乾燥時間、破碎処理法、竹粉乾燥時間は、毎回一定条件のもとで行い、月一度の割合で竹粉製造を行った。

2-2 脱窒菌のスクリーニング

2-2-1 養液栽培廃水処理実証試験

総合農業試験場の協力の元、養液栽培(トマト)の排水処理を竹粉により行うためにハウス外にタンクを設置した(写真1)。排水管より養液排水をタンクに引き込み、竹粉による処理を行った。排出口の目詰まりを防ぐため、竹粉は編み目の細かい布で覆い、タンク内に入れた。



(写真1)



(写真2)

実証試験は平成20年11月～平成21年6月にかけて行った。冬季は、外気温により排水温度が低くなることから、断熱材、ヒーター等を用いて排水液温を一定に保った(タンク2)。また、定期的に排水原水、竹粉で処理した排水のサンプリングを行い、硝酸濃度および亜硝酸濃度を測定した。

2-2-2 養液排水処理水よりの菌の分離

竹粉により処理した養液排水(平成20年5～6月)から菌の分離を行い、遺伝子解析による分類・同定を行った。分離用の培地には、普通寒天培地に

* 竹粉を利用した排水処理材の開発(第3報)

*1 資源環境部

*2 元：宮崎県総合農業試験場、現：宮崎県北諸県農林振興局

硝酸カリウムを添加したもの、あるいは排水原水に寒天を加えたものを用いた。得られた菌株は、普通寒天培地にて継体培養し、純粋分離を行った。

2-2-3 分離菌による硝酸除去(脱窒)試験

分離した菌を用いて、硝酸除去試験をそれぞれ行い、脱窒能を確認した。菌を生理食塩水に混濁させたものを2ml硝酸カリウム溶液(1,000mg/l)100mlに添加し、経時的にイオンクロマトグラフ(ダイオネクス社製:DX-500)で硝酸イオンおよび亜硝酸イオン濃度を測定した。硝酸イオンおよび亜硝酸イオンともに消失を確認できたものについて、脱窒菌とし、後の遺伝子解析の試料とした。

2-3 分解菌の同定

2-3-1 DNAの抽出

純粋分離した分解菌株において、InstaGene DNAPurification Matrix (BIO-RAD社製)を用い、プロトコールに従ってDNAを抽出した。得られた抽出物をDNA試料とし、後述のPCR用鋳型とした。

2-3-2 PCR及びシーケンス

純粋分離した微生物の同定を行うために、菌体から抽出したDNAを鋳型としたPCR(Primer 5F, 531Rを使用)によって16S rDNAを増幅し、塩基配列を解析した。PCR、シーケンス反応及び微生物の同定には、Microseq 500 16S rDNA Bacterial Sequencing kit (PE Applied Biosystems社)、ABI Prism 310 Genetic Analyzerにより解析した。また、微生物の同定には、同社製の解析ソフトMicroSeq Analysis Softwareを使用した。あわせてMicroSeq 16S rDNA Sequence Databases及びインターネット上データベースによる検索を行った。

2-4 畜産排水への応用

2-4-1 畜産排水

畜産試験場は、養鶏・養豚を行っており、養豚に関わる排水は宮崎方式低コスト浄化処理施設で処理されている。宮崎式は、回分式活性汚泥法でこの方法は、曝気槽で「曝気」「沈殿」「排出」「投入」の4つの工程を一定時間に行うシステムである。今回の試料排水は、曝気中(原水)を提供していただいた。さらに一般畜産家の排水3種(いずれも宮崎式)を用いて、竹粉による処理試験を行った。実験にあたり畜産排水の硝酸イオン

濃度を前もって計測し、硝酸濃度が不足している場合には、硝酸カリウム溶液を適宜添加しそれぞれ同濃度になるように調整した。

2-4-2 畜産排水処理試験

硝酸濃度を調整した畜産排水に竹粉、滅菌した竹粉をそれぞれ添加し、硝酸除去試験を行った。試料200mlに竹粉2gを浸漬させ経時的に硝酸イオンおよび亜硝酸イオン濃度を測定した。活性汚泥菌の影響を考慮し、竹粉を添加しないBlank区を設け比較の対照とした。

2-5 竹粉成分抽出及び添加試験

2-5-1 振とう抽出

サンプルボトルに竹粉、蒸留水を同体積量加え、1時間ほど振とうした後、ろ過して得られたものを振とう抽出液とし、硝酸除去試験に用いた。

2-5-2 熱水抽出

丸底フラスコに蒸留水300mlと竹粉100mlを加え、マントルヒーターにて3時間加熱した。その後、ろ過して得られた抽出水を熱水抽出液とし、振とう抽出液同様、硝酸除去試験に用いた。

2-5-3 竹粉成分添加試験

竹粉抽出液2種を濃度調整した養液排水(6/16採取)に添加し、その効果を比較した。

3 結果及び考察

3-1 実証試験結果

実証試験の結果を図1, 図2に示す。

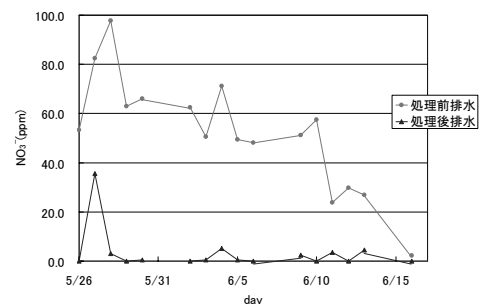


図1 実証試験中の硝酸イオンの変化1

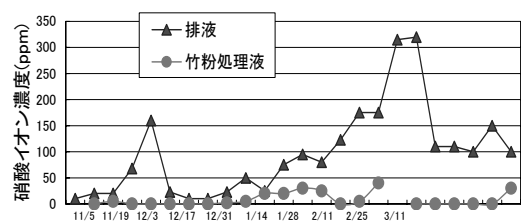


図2 実証試験中の硝酸イオンの変化

図1は平成20年5/26～6/15の期間、図2は平成21年11/5～3/23の期間中の硝酸イオン濃度の変化を示したものである。養液栽培において、液肥は植物の成長に伴い、量、配合割合も変化し、毎日一定ではない。春から初夏にかけての排水の硝酸イオン濃度は高くても100ppm前後であり、冬季から春にかけては300ppmを超えることもあった。しかし、竹粉処理をすることで、排水中の硝酸濃度は20ppm以下に保持することができた。また、3月11日に装置のトラブルにより、竹粉を入れ替えることがあったが、その後も問題なく排水を処理できた。以上の実験により、竹粉は養液排水処理に有効であり、竹粉も5ヶ月以上連続使用できることが明らかになった。

3-2 分離菌スクリーニング結果

竹粉により処理した養液排水から単離した菌について、それぞれ硝酸除去試験を行い、脱窒能を示した菌株を脱窒菌とした。最終的には48菌株を得ることができた。

3-3 シーケンス結果

48菌株の内、無作為に選んだ19菌株同定結果を表1に示す。

表1 同定結果

シーケンス結果(500bp)	シーケンス結果(500bp)
1 <i>Klebsiella. sp</i>	11 <i>Pseudomonas. sp</i>
2 <i>Klebsiella. sp</i>	12 <i>Klebsiella. sp</i>
3 <i>Klebsiella. sp or Enterobacter sp</i>	13 <i>Pseudomonas. sp</i>
4 <i>Klebsiella. sp</i>	14 <i>Klebsiella. sp</i>
5 <i>Klebsiella. sp</i>	15 <i>Klebsiella. sp</i>
6 <i>Klebsiella. sp</i>	16 <i>Klebsiella. sp</i>
7 <i>Klebsiella. sp</i>	17 <i>Klebsiella. sp</i>
8 <i>Pseudomonas. sp</i>	18 <i>Klebsiella. sp</i>
9 <i>Klebsiella. sp</i>	19 <i>Klebsiella. sp or Enterobacter sp</i>
10 <i>Klebsiella. sp</i>	

19菌株のほとんどは*Klebsiella. sp.*であり、優占種であると考えられた。前報において、竹粉より優占種の一つとして*Ochrobacterium. sp.*が検出されたが、今回は見られなかった。

3-4 畜産排水への応用

図3～6は、畜産試験場排水(原水)、一般畜産家排水3種を用いて、竹粉による硝酸除去試験を行った結果である。いずれも3～4日後には約1000ppmの硝酸イオンが消失しており、発生した亜硝酸イオンも減少しつつある。また、竹粉に付着している菌による脱窒を想定し、竹粉を滅菌して同様に試験を行ったが、竹粉添加時と同様の結果が得られた。

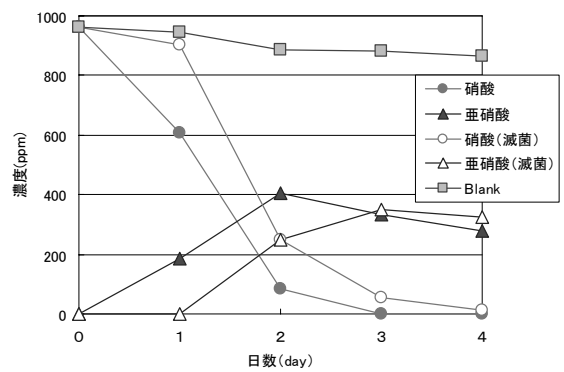


図3 畜産試験場排水(原水)

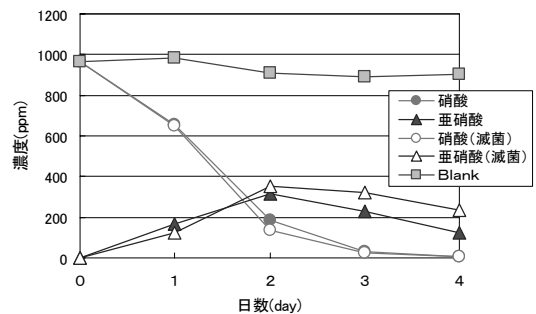


図4 畜産排水

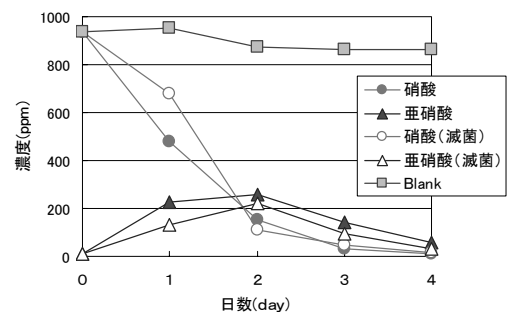


図5 畜産排水

畜産排水 については、滅菌した竹粉を添加した方が硝酸分解については良い結果が得られたが、亜硝酸分解については、同等の結果であった。

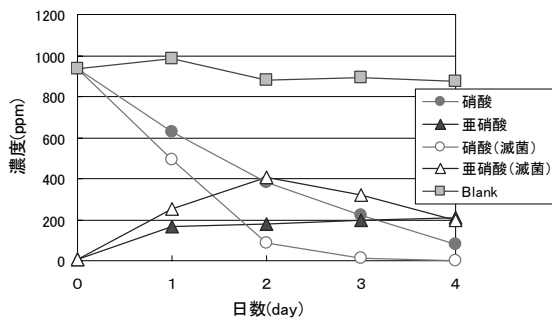


図6 畜産排水

これらの実験により、竹粉を利用した畜産排水処理は有効であるが、畜産排水は量も多く、絶えず投入されるものであるため、さらに効率を高める検討が必要であると考えられた。

3-5 竹粉抽出液添加試験

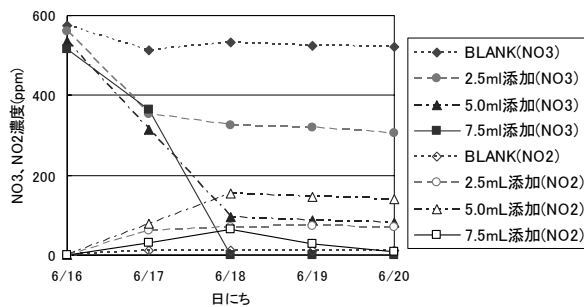


図7 竹粉抽出液による影響

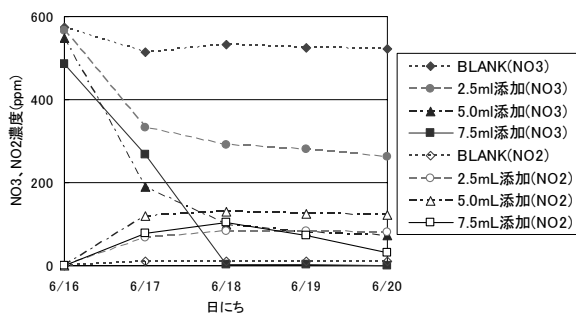


図8 竹粉熱水抽出液による影響

竹粉抽出液2種を量を変えてそれぞれ添加し、脱窒能の変化を調査した。その結果を図7, 8に示す。養液排水に硝酸溶液を添加し、濃度を調整し、それをBlankとした。また、振とう抽出液は抽出液に含まれる微生物の影響を考慮し、オートクレーブ滅菌をした後試験に供した。抽出液はそれぞれ2.5ml, 5.0ml, 7.5ml添加し、その効果を比較した。図7, 8いずれのグラフも抽出液の添加量が多くなるほど、硝酸イオン、亜硝酸イオンの分解速度が速くなっており、脱窒能は抽出液の添加量に比例することが明らかになった。また、抽出法による大きな差は見られなかった。

4 まとめ

- (1) 養液栽培農家において、竹粉を利用した排水処理の実証試験を行った結果、養液排水中の硝酸態窒素を20ppm以下に保持し、5ヶ月以上その効果は持続した。
- (2) 養液排水より分離した菌株のうち、19株について遺伝子解析を行った結果、そのほとんどが *Klebsiella. sp.* であり、優占種と推測された。
- (3) 養液排水より検出された菌の優占種に前回検出された菌が検出されなかったが、処理能力は変わらなかった。
- (4) 畜産排水に竹粉を添加することは、活性汚泥菌に何らかの影響を与え、脱窒能を活性化させることが示唆されたので、より詳細な検討が必要である。
- (5) 竹粉抽出液を添加することにより、脱窒能が促進された。

5 参考文献

- 1) 溝添暁子, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 51, 3-7 (2006)
- 2) 溝添暁子, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 52, 3-5 (2007)