

## 資源循環型社会に則したインフラ施設における有機・無機的要因の現象解明と改善

日大生産工 大木 宜章 日大生産工 保坂 成司  
日大生産工 高橋 岩仁 河海大学 朱 偉  
日大生産工(P.D.) 木科 大介

### はじめに

本グループは主題に則してグループ独自の研究と他グループとの境界領域を含む研究に分類される。

○先ず、本グループ資源循環社会でのインフラ施設における有機・無機の現象解明と改善の独自研究は以下の通りである。

#### 1. 高精度レーザー測定器によるコンクリート腐食現象の長期変位解析

下水道施設において、これまで  $H_2S$  雰囲気下における硫黄酸化細菌が生成する  $H_2SO_4$  と下水中で精製される有機酸、これら酸による腐食現象を解明してきた。

本年度は実験条件を更に下水道管内の環境に近づけると共に、菌がコンクリートに与える影響を解明することを目的として、硫化水素、人工下水および硫黄酸化細菌による腐食現象の解析を行った。

#### 2. 下水道施設におけるコンクリートの劣化層推定に関する研究

早期老朽化の対策として補修、再構築の箇所を抽出すべく、下水道管の腐食調査は頻繁に行われている。

本年度は供用中である構造物に損傷を与えることなく内部調査が行える非破壊検査として超音波法を用い、腐食による劣化層の推定が可能であるか検討を行った。

#### 3. 太湖アオコの団粒形成メカニズムの検証

中国では急速な下水道普及による膨大な発生汚泥の処理が問題となっている。本研究グループは中国河海大学 朱偉 教授

との共同研究により中国における環境問題に取り組んでいる。

本年度は、中国における太湖の富栄養化問題を取り上げ、太湖において発生するアオコの団粒化形成メカニズムの解明による研究結果を報告する。

○また、他グループとの境界領域での研究は以下の通りである。

#### 4. 廃棄物を用いたシックハウス症候群抑制に関する研究

近年の省エネ対策重視の機密性の高い住居、学校施設などでは、逃げ場を失った化学物質が拡散し、人体に悪影響を与えるシックハウスもしくはシックスクール症候群などといった問題を引き起こす。

現在、各企業や研究施設においてF☆☆☆☆（エフフォースター：ホルムアルデヒド発生の抑制制度を示す）製品、原因物質を取り除く商品の開発など対応が進められているが、未だ解決には至っていない。

本研究では、シックハウス症候群の抑制を観点に置き、上水汚泥、建設廃材などの廃棄物を脱臭材として用いるべく検討を行った。なお、臭気の分析は、機器分析であるにも係らず、官能試験に類似した測定が可能であるにおい識別装置を用いた。

#### 5. 廃棄物利用による屋上緑化基盤材の配合比比較実験

近年、都市化の進行に伴い、ヒートアイランド現象など熱環境に対する問題が大きく取り上げられている。この対策として

緑化が注目されており、特にわが国の都市部のような緑化可能面積が少ない地域では、屋上緑化は有効な手段である。

本研究では、廃棄物の有効利用を観点に置き、第3グループとの協同によって行なわれている。本年度は、上水汚泥、コンポスト汚泥、炭を混合した屋上緑化基盤材の検討を行った。特に配合比を変化させ、今回用いた試料での最適配合を求めた。

#### 6. メタン発酵における効率的酸生成菌株の分離培養

メタン発酵は、有機性廃棄物を嫌気性細菌の活動により分解しメタン ( $\text{CH}_4$ ) を生産する生物化学変換技術の一つである。

近年、化石燃料に起因する地球温暖化、また生活レベルの向上に伴う廃棄物量の増加等の環境問題に対し、メタン発酵によるバイオマス資源の積極的なエネルギー化は資源循環型社会に即した新エネルギーとして注目されている。

本研究は、第1グループとの共同研究により、生物化学的実験手法を用いメタン発酵に関与する効率的菌株の特定を行っている。

以上の本グループの研究概要を記載する。

#### 1. 高精度レーザー測定器によるコンクリート腐食現象の長期変位解析

本年度は実験条件を更に下水道管内の環境に近づけると共に、菌がコンクリートに与える影響を解明することを目的として、硫化水素、人工下水および硫黄酸化細菌による腐食現象について、高精度レーザー変位計と解析ソフトを用いて、供試体表面の形状変化を数値化し腐食現象の解析を行った。

図-1 に実験概略図を示す。実験は、密閉容器内にコンクリート供試体（形状  $40 \times 40 \times 80 \text{mm}$ ）を静置し、供試体が半分まで人工下水に浸した状態で行った。

また、下水道管の内部環境を再現する

ため、さらに供試体上部に菌体を増殖させたスポンジを乗せて行った。さらに、上部に接続したサンプリングバッグにより容器内部に  $\text{H}_2\text{S}$  を注入し気温を  $25^\circ\text{C}$  に保った恒温槽内で行った。測定項目は供試体重量、レーザー変位計による供試体気中部、喫水部、水中部の形状変化および光学顕微鏡による視的観察、さらに人工下水の pH とした。

図-2 に供試体の重量減少率の経時変化を示す。実験初期段階、供試体重量は増加傾向を示した。これは、コンクリート内部の水酸化カルシウム ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) と硫化水素 ( $\text{H}_2\text{S}$ ) の酸化により生成された硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) の反応により二水石膏 ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) が生成され、これがモノサルフェート ( $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{CaSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) および未反応のアルミン酸カルシウム ( $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ ) と反応し、エトリンガイト ( $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{CaSO}_4 \cdot 32\text{H}_2\text{O}$ ) などを生成した

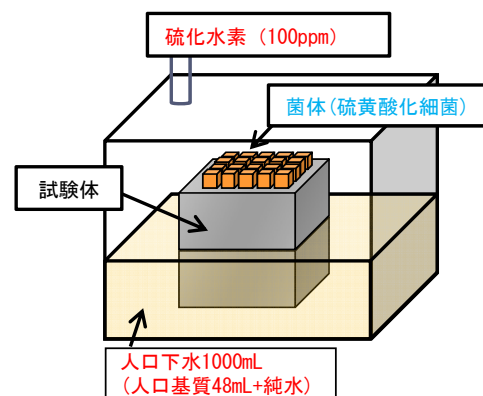


図-1 実験概略図

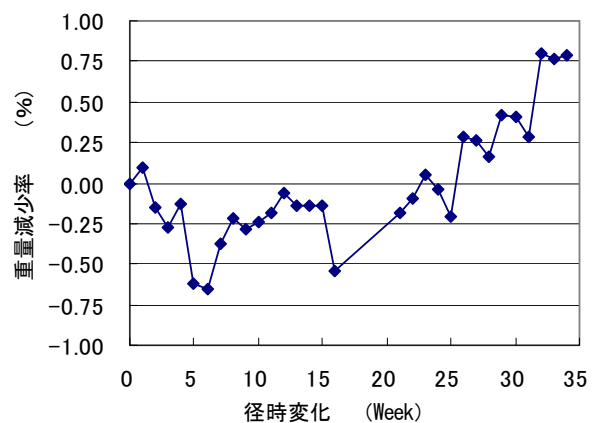


図-2 供試体の重量減少率の経時変化

といえる。なお、7週目以降は結晶の生成に伴う重量増加と生成物の崩落が繰り返し行われ、徐々に減少傾向を示した。

図-3に、LK-Gによる断面形状の推移(喫水部)を示す。LK-Gによる測定は気中部(上面)、喫水面(側面)、水中部(下面)で行なった。その結果、腐食は気中部より水中部の方に目立ってみられた。したがって、今回の実験条件による腐食は、人工下水の酸化により生成された有機酸および気中の $H_2S$ に由来する硫酸が主な要因であるといえる。また、試料上面には腐食がみられなかったことから、硫黄酸化細菌による $H_2S$ からの硫酸生成はなかったといえる。このことから、硫黄酸化細菌の活動に不適な条件であったと推測される。グラフより、0週目、23週目および35週目を比較すると、水中部でも特に喫水部分の腐食が目立っており、最も減少の激しかった部分では35週目において約 $400\mu m$ の減少がみられた。また、この腐食現象についてはLK-Gによる画像においても明確に表すことができた(図-4)。以上のことから、下水管内における腐食現象は、高精度レーザー変位計(LK-G, L-T)で視覚的および数値的に表すことができることから、腐食メカニズムの解明に寄与したものといえる。

## 2. 下水道施設におけるコンクリートの劣化層推定に関する研究

早期老朽化の対策として補修、再構築の箇所を抽出すべく、下水道管の腐食調査は頻繁に行われている。この調査において管径 $800mm$ 以下では、管内調査カメラの映像による目視調査であるため、内部評価など構造物の健全性に関わる調査を行えないのが実状である。

本研究では供用中である構造物に損傷を与えることなく内部調査が行える超音波法を用い、腐食による劣化層の推定が可能であるか検討を行った。

図-5に超音波実験装置を示す。実験装置

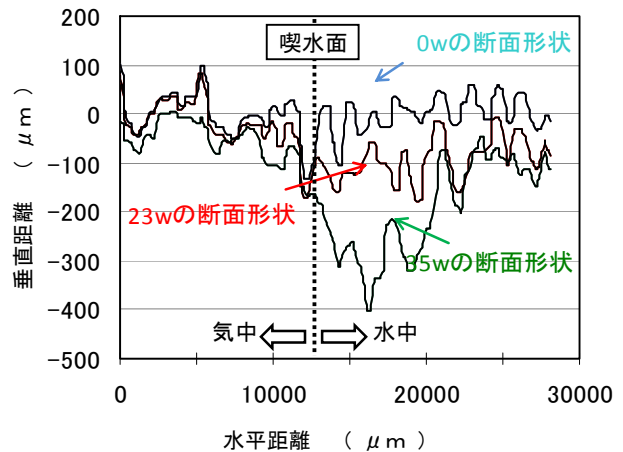
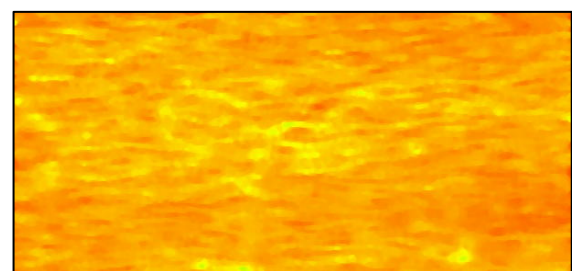
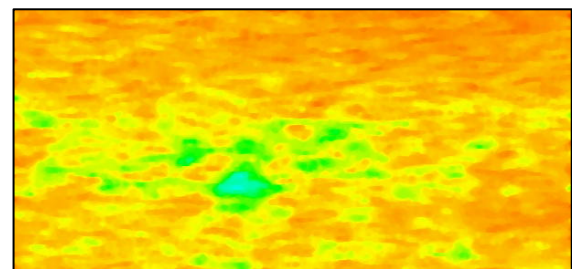


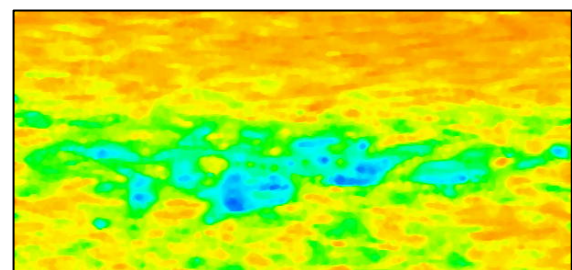
図-3 LK-Gによる断面形状の推移(喫水部)



0 週目



23 週目



35 週目

図-4 LK-Gによる断面形状画像(喫水部)

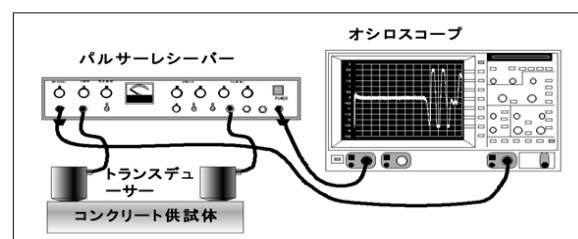


図-5 超音波実験装置

は「パルサーレシーバー」「トランスデューサー」「オシロスコープ」で構成されている。

図-6 に供試体平面図および断面図を示す。微生物による腐食を受けたコンクリートの主成分は二水石膏であることから、本研究では、内部反射の影響が少ない300mm×300mm×50mmのコンクリート平板の表面に劣化層に見立てた石膏層を作成したものを供試体とし実験を行った。

今回使用する試験体はコンクリートと石膏の複合体であり、コンクリートと石膏では超音波の伝播速度に違いが生ずる。よって今回の伝播時間の計算は次の式を用いた。なお、コンクリートと石膏の伝播速度は測定の結果、4100m/s、および1900m/sであった。

$$T = \frac{L_G}{V_G} + \frac{L_C}{V_C} \dots \textcircled{1}$$

$L_G$ ...石膏における伝播距離 (m)

$L_C$ ...コンクリートにおける伝播距離 (m)

$V_G$ ...石膏における伝播速度 (m/s)

$V_C$ ...コンクリートにおける伝播速度 (m/s)

$T$ ...伝播時間 (s)

図-7 に伝播経路の模式図を示す。これまでの研究で、超音波が供試体を伝播する経路として石膏を透過したのち、コンクリート表面を伝播する経路が有力であることがわかった。したがって、実測伝播時間より式①を用いてコンクリート伝播距離の計算を行った。図-8 にトランスデューサー間隔に対するコンクリート伝播距離の関係を示す。グラフより、トランスデューサーの中心間隔と伝播距離の関係は一次式で示された。

$$L' = 1.0067x - 16.103 \dots \textcircled{2}$$

この式の傾きはほぼ1でありトランスデューサー間隔と推定コンクリート伝播距離の変化量とほぼ一致する。切片はトランスデューサー間隔と推定コンクリート伝播

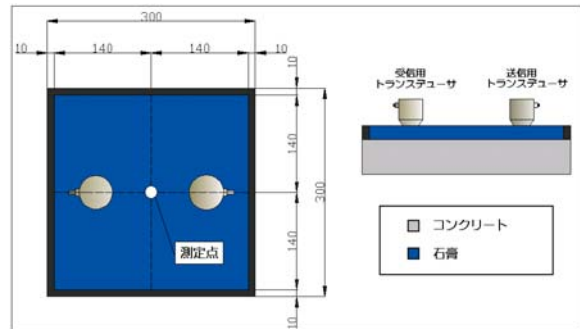


図-6 供試体平面図および断面図

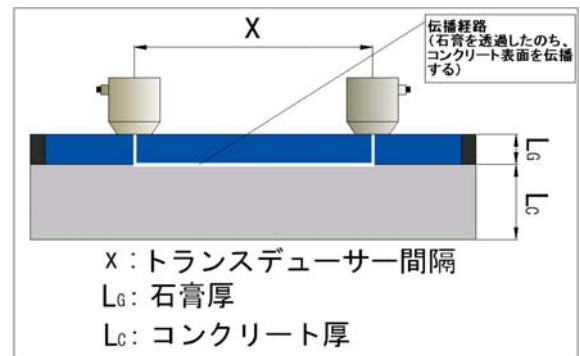


図-7 伝播経路模式図

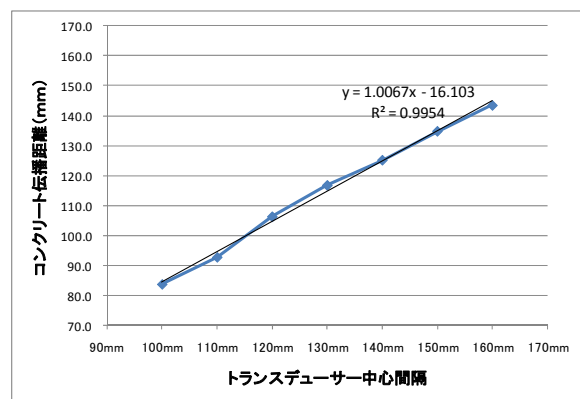


図-8 トランスデューサー間隔に対するコンクリート伝播距離の関係

距離との誤差はトランスデューサーにおける送信・受信の位置の違いであると考えられる。

次にここで求めた式②を式①の $L_C$ に代入すると石膏厚予測式は次式となる。

$$L_G = \frac{(T \times V_C') V_G}{V_G} \dots \textcircled{3}$$

ここで表面走査法による測定値を推定式に代入し実証試験を行った。表-1 に実証試験結果を示す。③式を用いた推定石膏厚は表-1 に示すように誤差は僅かであった。

### 3. 太湖アオコの団粒形成メカニズムの検証

中国の太湖は裕福である江南地帯中心部にあり、昔から“魚米の郷”と呼ばれてきた。しかし、流域の開発に伴って富栄養化が急速に進み、2007年にアオコが大規模に発生して、飲料水の取水にまで影響を及ぼし深刻な環境問題となってきた。

これまでの研究から、富栄養化によるアオコ発生メカニズムは、湖水中のNおよびPに起因するとした。しかし、湖によっては、N、P濃度は一概に藍藻の細胞密度に関係があるものの、必ずしもアオコの発生に関連性を持つものではない。例えば、太湖に比べN、Pの濃度の高い湖であってもアオコの発生が見られない事例もある。したがって、湖におけるアオコ発生はN、Pの濃度以外にも影響する要因が考えられる。

太湖においてアオコが発生する時期の調査によると、優先種である *Microcystis spp* が団粒を形成することにより、細胞数が億/Lレベルに達している。これは、他の湖にでも見る現象で、団粒化により繁殖が速く、しかも数が多くなることから、団粒化の形成がアオコ発生に伴う現象であるといえる。したがって、その形成メカニズムの解明が重要と考えられる。

調査対象は中国における太湖とした。図-9にサンプリング地点を示す。事前の調査により、アオコの発生は梅梁湖および貢湖で多くみられた。

室内における培養装置として、図-10のような装置を開発した。本装置は一般的な培養試験と異なり、環状水槽の中流速が調節できるようにしている。この装置で温度、光強、N、Pそして流速を一定にして試験を行った。

現場で採集したサンプルによれば *Microcystis spp* が写真-1(a)のように沢山の細胞が団粒を作っている状態である。しかし、今までの室内培養における団粒化試

表-1 石膏厚の推定結果

実石膏厚 (mm)	伝播時間 ( $\mu s$ )	推定石膏厚 (mm)	誤差 (mm)
5	39.0	4	-1
10	48.0	12	2
15	51.0	15	$\pm 0$
20	54.6	19	-1

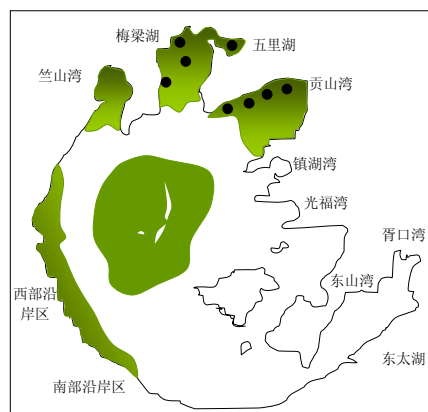


図-9 サンプリング地点

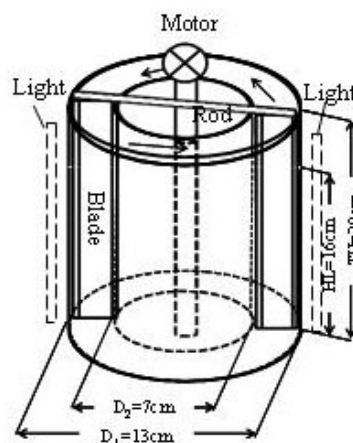


図-10 流速コントロール型培養装置

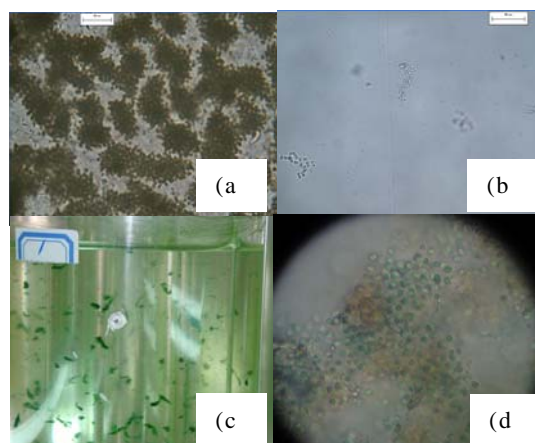


写真-1 団粒化現象の写真

験ではほとんど団粒が見られなかった(写真-1(b))。今回の試験では流速を与えることで装置の中ではっきりと団粒が見られた(写真-1(c))、顕微鏡の観察では現場と近い現象が見られた(写真-1(d))。このことから、本培養装置により現場に近いアオコの団粒化再現することが可能である。

培養試験では、流速が変わることで、*Microcystis spp* の細胞密度に違いが見られ(図-11)、適切な流速で *Microcystis spp* が繁殖しやすいことがわかる。

細胞密度が増えると同時に、団粒という形の細胞が占める割合が増える(図-12)。したがって、流速と団粒の形成に何らかの関係があると推測される。また、ひとつの団粒を構成する細胞数も流速と関係があるといえる(図-13)。

さらに異なる N,P 濃度の試験では、低濃度の場合には細胞のほとんどが団粒の形で構成されている(図-14)。一方、高濃度の場合には分散する細胞が増える(図-15)。以上のことから栄養、流速がともに *Microcystis spp* の繁殖方式が影響している。さらに、団粒化は栄養の利用率が高いと考えられる。

アオコ発生するメカニズムが世界的な難問でもある。今回の研究では、アオコの団粒形成が流速と何らかの関係を持つことがわかった。団粒を形成することで大量の細胞繁殖が行われ、アオコ発生に至るこ

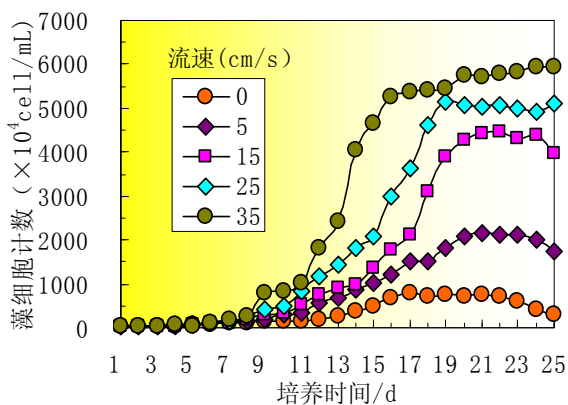


図-11 細胞数と流速の関係

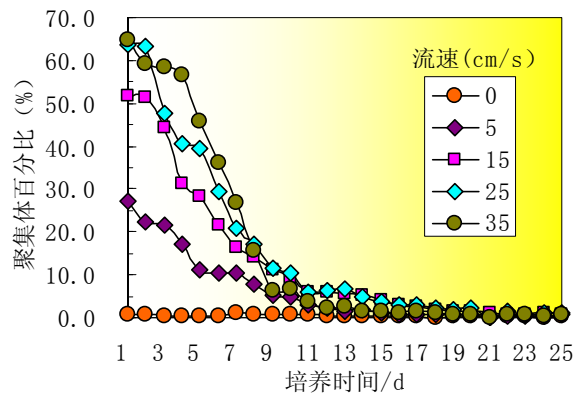


図-12 団粒と流速の関係

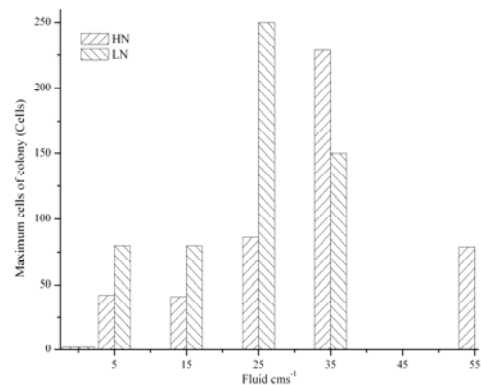


図-13 団粒の細胞数と流速の関係

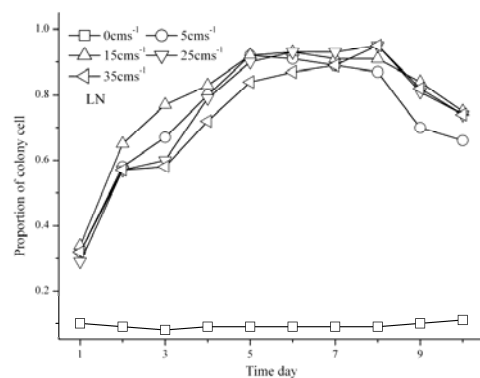


図-14 団粒細胞数と流速の関係

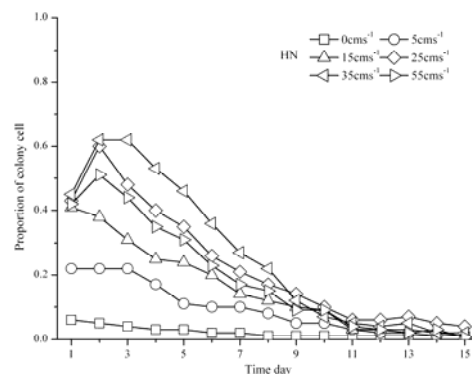


図-15 団粒細胞数と流速の関係

とも推測できる。また、団粒化することで、栄養の使い方に何らかの変化が起こり、細胞を持続繁殖できるようになったことも示唆している。これからの研究は流速、団粒、栄養の循環をキーポイントにしてアオコ発生のメカニズムを探索していきたい。

### 3. 廃棄物を用いたシックハウス症候群抑制に関する研究

本研究では、シックハウス症候群の抑制を観点に置き、上水汚泥、建設廃材などの廃棄物を脱臭材として用いるべく検討を行った。なお、臭気の実験は、機器分析であるにも係らず、官能試験に類似した測定が可能であるにおい識別装置（写真-2）を用いた。

図-16 にバッチ脱臭実験装置を示す。実験方法は、900ml の容器に試料を各 30g 入れ、その中に 10ppm のホルムアルデヒドを 2l 注入した後、容器内の臭気をにおい識別装置およびガス検知管により測定した。

使用試料は、廃棄物の有効利用を観点に置き、上水汚泥、木材チップ、炭、竹チップ、杉皮を用いた。なお、上水汚泥および炭については、乾燥させ含水率0%として用いた。

図-17ににおい識別装置で測定した各使用試料およびエアーのみの臭気指数、図-18に類似度を示す。なお、測定は各試料とも2回行い、誤差が臭気指数1以内、類似度5%以内であったため、その平均値で表示している。

図-17より、竹チップ、杉皮の臭気指数が21強と高く、上水汚泥は15弱と低い値を示した。木材チップはその中間の値を示し、また、炭は8.5と今回使用した試料の中で最も低く、エアーのみ（臭気指数8）とほぼ同様の値であった。これは、竹チップ、杉皮チップはその特有の香りが臭気として検出され、上水汚泥、木材チップに比べて高くなったと考えられる。この各試料を図-18



写真-2 におい識別装置

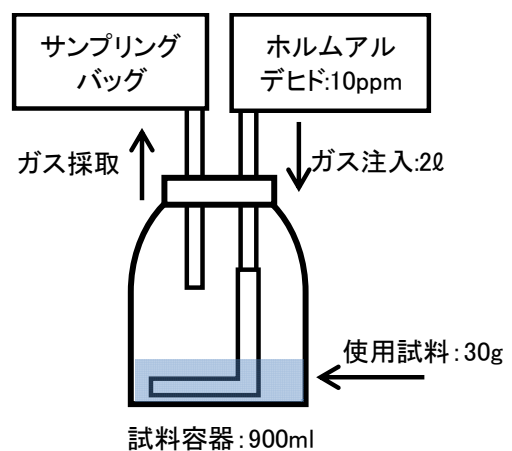


図-16 バッチ脱臭実験装置

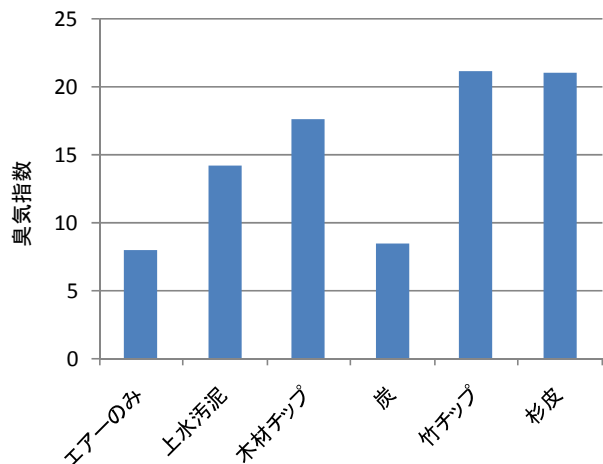


図-17 各使用試料の臭気指数

の類似度で見ると、竹チップ、杉皮が9種基準ガスに対する類似度の割合が高く、図-17の臭気指数値とも一致する。また、炭以外の試料では、エステル系、アルデヒド系、有機酸系の類似度が高く、特に、アルデヒド系が高いと新たなシックハウス症候群の

要因となる恐れがある。このため、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドが測定可能な検知管を用い、採取したガス中の臭気を測定したところ、検知されなかった。

この試料の吸着効果を確認するため、各試料の中に10ppmのホルムアルデヒドを2ℓ注入し、同様の測定を行った。図-19にホルムアルデヒド注入後の臭気指数、図-20に類似度を示す。結果から、臭気指数、類似度ともに、各試料の値はほとんど変化が見られなかった。また、ホルムアルデヒドのみの臭気指数は17、類似度は当然のことながらアルデヒド系が高かった。なお、ホルムアルデヒドの物質濃度10ppmは、臭気強度と物質濃度との関係式((2)式)から、理論的にも妥当であるといえる。

$$\text{臭気強度} = 1.53 \times \log_{10}(\text{物質濃度}) + 1.59 \dots (2)$$

これより、注入後もホルムアルデヒドには影響されず、各試料から発生する臭気のみを検知したものと見え、ホルムアルデヒドが脱臭されたと推測される。

そこで、各容器内のホルムアルデヒドの物質濃度を検知管により測定した。その結果、上水汚泥と竹チップが混入されている容器からはホルムアルデヒドが微小

(0.05ppm以下) 検知されたが、その他の試料からは検知されなかった。なお、ホルムアルデヒドの物質濃度0.05ppmとは、(2)式で計算するとマイナスの値となり、規制値よりもかなり低い。

これより、今回用いた試料のホルムアルデヒドの吸着性能が確認された。しかし、竹チップ、杉皮は特有の香りがあるため、その用途に関しては個人の趣向を加味する必要があるといえる。

以上の結果より、上水汚泥、建設廃材などの安全な廃棄物を生活環境下における臭気の脱臭材として有効利用できる可能性を示した。しかし、それにはホルムアルデヒド以外の臭気でも実証する必要がある、また、さらなる脱臭の効率化を図るべ

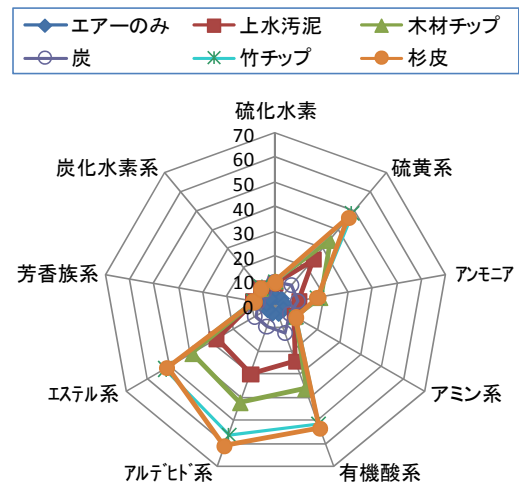


図-18 各使用試料の類似度

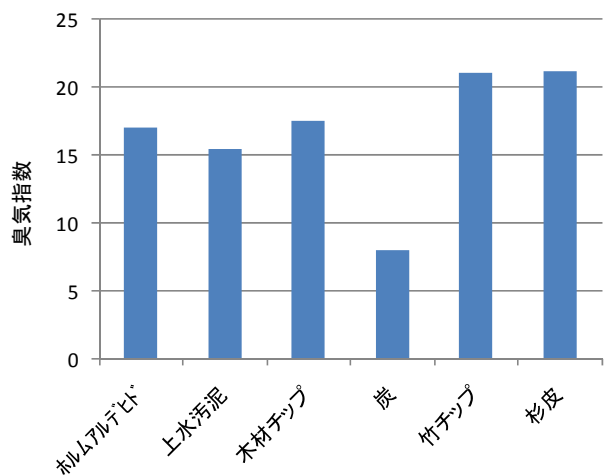


図-19 ホルムアルデヒド注入後の臭気指数

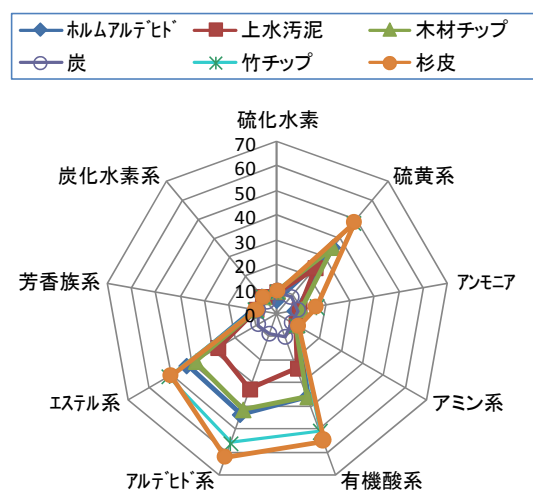


図-20 ホルムアルデヒド注入後の類似度



く、用途に合わせた試料の混合、またその方法などを検討していく必要があるといえる。

#### 4. 廃棄物利用による屋上緑化基盤材の配合比比較実験

本研究では、廃棄物の有効利用を観点に置き、上水汚泥、コンポスト汚泥、炭を混合した屋上緑化基盤材の検討を行った。特に配合比を変化させ、今回用いた試料での最適配合を求めた。

今回屋上緑化の基盤材として用いた試料は、廃棄物の有効利用に観点を置き、上水汚泥とコンポスト汚泥(以後、コンポストと称す)を主材料とし、それに土壤改良材として炭を配合した。表-2に今回比較検討した5Caseの基盤材の配合比を示す。

施工方法は、2009年5月21日に9mm厚の木枠に100mm厚の基盤材を入れ、その上に高麗芝を芝付けした。木枠の底部には水はけ用の孔(φ20mm)を72個/m<sup>2</sup>開け、さらに、水はけを良好にするために、アスファルト面と木枠設置部分の間にヤシ殻マットを敷いた。なお、灌水は芝が根付き安定状態となる3週間は毎日散水し、その後は降雨のみとした。

実験は、各Caseの視的観測、降雨実験および土壤密度の測定を行った。視的観測は、季節変化に伴う植生状態を定期的に観測し、植生に適した土壤改良材を検討した。降雨実験は、集中豪雨を想定し時間降雨量80mm/hの水を5l降らせ、基盤材を通った水を100ml間隔で透水量1000mlまで透水時間を測定し、保水性、疎水性の検討を行った。さらに、透水した水の水質測定(pH, SS, 濁度)を行い、排水への影響も検討した。土壤密度の測定は、土壤の乾燥密度と湿潤密度を測定し軽量化について検討した。

写真-3に各Caseの植生経日変化状況を示す。施工した5月21日から30日目の6月には、全Caseとも良好な植生状態であり、各Caseの差は見られなかった。7月

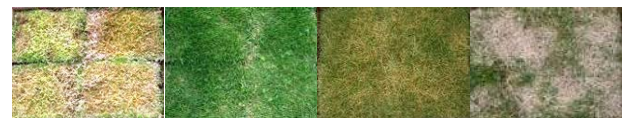
には、猛暑の影響により降雨量が少なかったことから枯れ始めた。その後、一時的な降雨により、回復を見せたが、9月には、全Caseとも枯れてしまった。しかし、気温低下と降雨により、10月初旬ころから、Case1,4に再び植生状態が戻ってきたが、他のCaseは植生状態が戻らなかった。この要因として、Case2は、コンポストを入れなかったことによる養分不足とCase3,5は、Case2と対称的に上水を入れなかったことにより遅効的な養分供給が出来なかったためといえる。このことから、今回用

表-2 基盤材の配合比

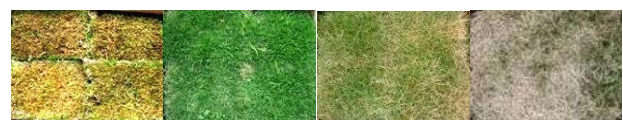
	上水	コンポ	炭
Case1	4	4	2
Case2	8	0	2
Case3	0	8	2
Case4	2	4	4
Case5	2	6	2



(CASE1)



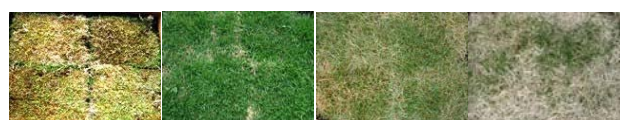
(CASE2)



(CASE3)



(CASE4)



(CASE4)

写真-3 植生経日変化の写真  
(左から5月21日, 6月, 7月, 10月)

いた配合比の中では、Case1,4の植生が良好であるといえる。

9月7日に行った透水時間測定結果を図-21、透水後の水質検査を表-3に示す。まず、透水時間測定結果より、ほとんど差が見られず、最終的に300~350secで1000ml透水した。次に水質検査の結果より、Case2の濁度、SSが最も低く、その次にCase1が低かった。このことから、水質はコンポストの影響を受けていると考えられるが、全Caseとも水質汚濁防止法の基準値を十分満足しており、問題ないといえる。

図-22に各Caseの土壤乾燥密度と飽和湿潤密度の結果を示す。結果から、両密度ともCase2が高く、Case3が低かった。これより上水の混入率が高いほど密度が高くなるといえる。なお、芝などによる平面的緑化では、上載荷重が40kgf/m<sup>3</sup>以下が望ましいといわれており、今回の結果から最大荷重12kgf/m<sup>3</sup>付近であり、十分この条件を達成している。

以上の結果より、今回検討した配合比の中で最も植生が良好であったのはCase1であり、上水とコンポストのバランスが重要であることがいえる。

## 5. メタン発酵における効率的酸生成菌株の分離培養

これまでの研究では、2段階メタン発酵の1段階目である消化工程から酸生成菌株を分離培養し、分離菌株の増殖能力および代謝による有機酸生成特性から有用菌株(*Clostridium bifermentans*)の特定を行った。しかし、有用菌株の導入によるメタン発酵システムの稼働実験においては、有用菌株による効率化が図られなかった。この要因として、培養条件とメタン発酵システムの環境が異なり有用菌株の持つ代謝能力が見られなかったといえる。

そこで本研究は、模擬生ごみと成分を合わせた生ごみ培地を作製し、菌株の分離培

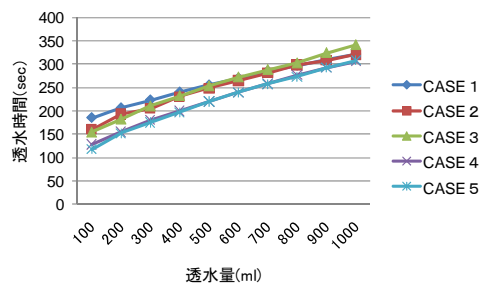


図-21 透水時間測定 (9月7日)

表-3 各Caseの水質検査 (9月7日)

水質検査			
	pH	濁度	SS
Case1	6.998	11	18
Case2	6.934	6	11
Case3	6.761	15	33
Case4	6.823	16	27
Case5	6.869	15	20

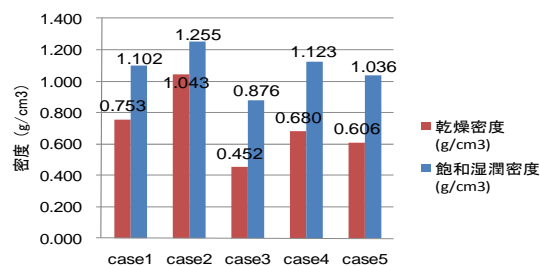


図-22 各Caseの密度

養を行なった。さらに、分離培養により得られた各菌株を純培養し、消化工程(pH4)の環境下における増殖能力および代謝による有機酸生成特性の比較から、効率的酸生成菌の特定を行った。

本実験は、酸生成菌が多く生息している消化工程の種汚泥を分離培養の試料とした。分離培養に使用した培地は、模擬生ごみと成分を合わせた生ごみ培地(pH4, 7)およびGAMブイヨン培地(pH4)とした。表-4に使用した培地組成を示す。なお、培地は2%寒天によりシャーレに固定化し、これを寒天プレート培地として使用した。分離培養の手順として、まず試料を寒天プレート培地に塗布し、36°Cで3, 4日間培

養した。なお、培養は通性好気および通性嫌気の2方法で行った。次に、コロニーの形態的特徴から菌株を選別し分離培養を行った。この作業を3~4回繰り返し、菌株を分離した。

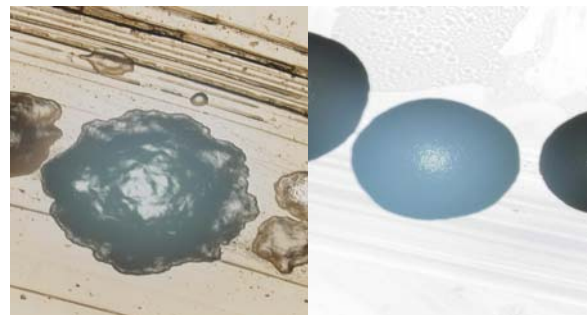
分離培養により得られた菌株は、増殖能力および有機酸生成特性を比較検討すべくバッチ実験を行った。バッチ実験には消化工程を想定し、生ごみ液体培地(pH4)を用いた。測定は、各菌株の継代時を0時間目として、適時培養液をサンプリングし、分光光度計により吸光度およびHPLCにより有機酸濃度の測定を行った。

写真-4に分離培養後のコロニーおよび菌形の顕微鏡写真を示す。消化工程における種汚泥を試料とし培養を行なったところ、培養4日目には培地表面に菌が増殖しコロニーの形成が確認できた。表-5に示すとおり、コロニーの形態的特徴は様々なものがみられた。形態的特徴として、コロニーは白色、淡黄色および茶色等であり透明性のあるものが確認できた。形状も辺縁、断面、大きさ等に個体差があり、分離培養前の段階では複数種の菌株の存在が確認できた。そこで、コロニーの形態的特徴から菌株を選別し、分離培養を行なった。

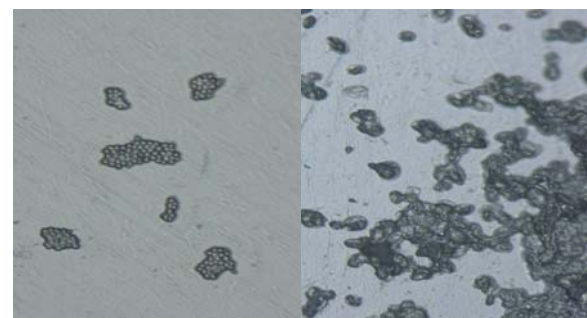
図-23にバッチ実験における分離菌株の増殖度合の経時変化を示す。なお、バッチ実験は分離培養で得られた38株およびを用いたが、グラフには増殖がみられた菌株および*C.bifermentans*を示している。バッチ実験の結果、38の菌株中で増殖がみられたのは12株であった。ここで、表-5にバッチ実験により増殖がみられた分離菌株の培養条件および形態的特徴を示す。今回の条件で増殖がみられた菌株は生ごみ培地で分離培養されたものが多く、GAM培地で培養したものはNo.19の1株であった。また、生ごみ(pH7)培地で分離培養した菌株にも増殖がみられたことから、酸生成菌はpHの変化に対する対応能力を持っていることが分かる。なお、

表-4 使用した培地組成

GAMブイオン培地(g/L)	生ごみ培地(g/L)
Pepton	グルコース 24.9
大豆 Pepton	ペプトン 10.7
ブテオースPepton	脂肪酸グリセリンエステル 3.16
消化血清末	
Yeast extract	
Meat extract	
肝臓エキス末	
グルコース	
リン酸二水素ナトリウム	
NaCl	
可溶性でんぷん	
L-システイン塩酸塩	
チオグリコール酸ナトリウム	



コロニーの形状



菌の形状

写真-4 コロニーおよび菌形の顕微鏡写真

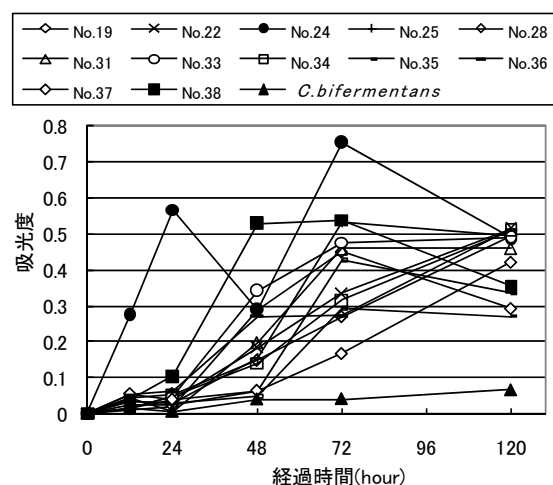


図-23 バッチ実験による分離菌株の増殖度合の経時変化

表-5 バッチ実験により増殖のみられた分離菌株の培養条件および形態的特徴

分離No.	培養条件			コロニーの形態的特徴							菌の形態的特徴	
	培地	pH	好気・嫌気	大きさ	色	透明性	辺縁	光沢	断面	芯	大きさ	形状
19	GAM	4	嫌気	極小	淡黄茶	無	波状	無	平面	無	小	球
22	生ごみ	7	好気	中	淡黄	無	なめらか	有	凸状	無	大	球
23				大	淡黄茶	無	波状	無	凸状	無	大	長球
24				小	淡黄	無	なめらか	有	平面	無	小	球
25			小	淡黄	無	なめらか	有	凸状	無	小	球	
28			嫌気	極小	茶	有	葉状	無	平面	無	小	球
31				極小	茶	有	葉状	無	平面	無	大	球
33		4	好気	小	淡黄茶	無	波状	有	平面	無	小	球
34				小	淡黄茶	無	波状	無	凸状	無	小	球
35				小	淡黄茶	無	なめらか	有	凸状	無	大	球
36				小	淡黄茶	無	なめらか	無	凸状	無	大	球
37				極小	茶	無	なめらか	無	平面	無	小	球
38				小	淡黄茶	無	なめらか	無	凸状	無	小	球

表-6 バッチ実験による分離菌株培養 120 時間後の有機酸濃度

	No.19	No.22	No.24	No.25	No.28	No.31	No.33	No.34	No.35	No.36	No.37	No.38
コハク酸	0.00	1.74	3.90	0.67	0.12	0.57	3.90	0.68	0.67	0.43	0.12	0.94
乳酸	3.83	4.28	0.00	3.36	4.23	1.83	0.00	2.06	1.94	2.41	1.21	2.45
酢酸	2.97	7.31	5.86	7.11	8.98	5.71	5.86	4.57	7.11	4.11	3.50	5.71
プロピオン酸	4.40	2.10	1.65	0.82	3.12	0.99	1.65	1.22	0.82	0.64	0.35	1.72
酪酸	1.08	0.78	0.34	0.09	0.58	0.58	0.34	0.47	0.09	0.13	0.20	0.26
総量	12.28	16.21	11.75	12.05	17.03	9.68	11.75	9.00	10.63	7.72	5.38	11.08

(mmol/L)

*C. bif fermentans* はこれまでの実験で最も増殖能力および代謝能力に優れた菌株であるが、今回行った pH4 の環境下では増殖がみられなかった。グラフより、pH4 の環境下における増殖能力は各菌株により差異が生じた。増殖期への移行が最も早かった菌株は No.24 であった。No.24 は培養 12 時間後には増殖がみられ、72 時間目にピークとなった。他の菌株は平均的に 48 時間目に増殖期へ移行し、培養 120 時間目においても増殖は続いた。また、No.37 は最も遅く 72 時間目に移行がみられた。

表-6 に分離菌培養 120 時間後の有機酸濃度を示す。なお、消化工程は有機酸を生成する過程であり、ここでは有機酸生成量の多い菌株が有用であるといえる。表より、各菌株の有機酸の生成量および生成割合

には差異がみられた。特に、No.28 の菌株は 17.03mmol/L と他の菌株に比し最も高い値であった。また、生成された有機酸種はコハク酸、乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸が挙げられるが、酢酸が 52% と最も高い割合であった。酢酸は有機酸の中でも低分子であり、発酵工程において分解し易いとされている。一方、増殖能力に優れた No.24 の有機酸生成量は 11.75mmol/L と平均的なものであった。

以上、バッチ実験による増殖能力および代謝による有機酸生成能力の検討から、分離 No.24 および No.28 の菌株が増殖能力および有機酸生成能力と生成特性において他の菌株に比し優れていることから、消化工程における効率的有用菌株となり得ることが確認された。