

乳酸菌を用いた硝酸態窒素除去法に関する基礎的研究

東海大学大学院 学生会員 ○松村 悠平
 豊橋技術科学大学大学院 非会員 Zahura Chowdhury
 東海大学 非会員 今井 大和
 東海大学 正会員 寺田 一美
 東海大学 非会員 木下 英樹

1. 背景及び目的

近年、地下水における硝酸態窒素(NO₃)汚染が問題視されており、その対策として肥効調整肥料を用いた水域への窒素流出低減策や¹⁾、イオン交換膜、生物処理、吸着剤等を利用した NO₃ 除去策が講じられている²⁾。一方で、乳酸菌(Lactic Acid Bacteria: LAB)がカドミウムなどの水中有毒物質を吸着する特性を持つことが確認されており³⁾、水質浄化法の一つとして注目されている。そこで本研究では、安価で安全な NO₃ 除去法の開発を念頭に、NO₃ 除去に適応可能な LAB 株の特定および培養条件の検証を行った。

2. 研究方法

NO₃ 除去能力を持つ LAB を特定するため、植物などから単離した異なる LAB 25 菌株を用いて NO₃ 除去実験を行った。サンプル水には予備実験で高 NO₃ 濃度が確認された東海大学熊本キャンパス内の水道水を、121 °C で 15 分高熱滅菌処理したものを用いた。LAB を MRS 培地で培養し、遠心洗浄 (5800×g, 5 min, 4 °C) を 2 回行ったものを培地量と等量のサンプル水に懸濁し、表-1 の条件下で下記の 3 種の NO₃ 除去実験を行った。Exp 1 は LAB 14 菌株、サンプル水量 40 ml, 温度 37 °C, 日数 7 日, Exp 2 は LAB 13 菌株、サンプル水量 14 ml, 温度 37 °C, 日数 7 日で実施した。Exp 3 は、LAB の回収を考慮し、写真-1 に示すような 1% LAB (*Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m : 以下, TOKAI 759m 株) を混合した 1% アルギン酸カルシウム (人工イクラ) を作製し、メッシュの袋に 25 g ずつ入れた後、225 mL の滅菌水道水を注ぎ、温度 37 °C ならびに 15 °C, 7 日間で静置した。上澄み水をろ過し、凍結させ NO₃ 分析に用いた。NO₃ は吸光光度計(HACH DR/890 ; HACH 社製)を用いて

キーワード NO₃-N, 乳酸菌, 水質浄化, 窒素除去率

連絡先 〒259-1201 神奈川県平塚市北金目 4-1-1 東海大学 建築都市学部 土木工学科 TEL : 0463-58-1211 E-mail : kazumi@tokai-u.ac.jp

表-1 LAB による水中の NO₃-N 除去実験概要

Exp	LAB株番号	静置温度 [°C]	サンプル水量 V [ml]	サンプル数	添加法	静置日数 [日]
Exp 1	TOKAI 5,7,11,13, 17,23,25,27, 35,36,37,53, 118,759m	37	40	n = 5	菌体をそのまま	7
Exp 2	TOKAI 7,17,52,53, 54,59,60,61, 62,63,65,74, 759m	37	14	n = 5	菌体をそのまま	7
Exp 3	TOKAI 759m	15, 37	40	n = 4	アルギン酸Na +CaCl ₂ (人工イクラ)	7



写真-1 Exp 3 で用いたアルギン酸 Na + CaCl₂ を用いた LAB 入り人工イクラ

分析し、硝酸態窒素除去率(NRE)を式(1)にて計算した。(C₀:初期濃度, C_s:サンプル濃度)

$$NRE [\%] = \frac{C_0 - C_s}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

3. NO₃-N 吸着 LAB の選定結果

図-1 に LAB 株ごとの NO₃ 濃度変化(黒)と NRE(橙)の平均値を示す。培養温度を 37 °C にて実験した Exp 1 (図-1 (a)) では、14 菌株の内、9 菌株で 50% 以上の NRE が確認され (TOKAI 5, 7, 11, 17, 25, 27, 35, 36, 759m 株), TOKAI 7 株で最高 96% と高い窒素除去率が得られた。続いて、サンプル水量を 40 mL から 14 mL に減少させた Exp 2 (図-1 (b)) では 13 菌

株の内、8 菌株 (TOKAI 7, 59, 60, 61, 62, 63, 74, 759m 株) で NRE が 50 % を超え、最高 89 % (TOKAI 759m 株) が得られた。Exp 1 と Exp 2 の結果を比較すると、両実験ともに用いた TOKAI 7, 17, 53, 759m 株の NRE はいずれも Exp 1 が高い、もしくは同等で、静置時のサンプル水量は 40 mL の方がより適している可能性が示唆された。

TOKAI 759m 株は両実験ともに高い NRE を示し (Exp 1 で 88 %, Exp 2 で 89 %), 安定した窒素除去能が確認された。そこで、この TOKAI 759m 株を用いて、実験後の LAB の回収のため、アルギン酸カルシウム (人工イクラ) を用いて LAB を添加した試行実験を行った。

4. アルギン酸カルシウムを用いた試行実験結果

TOKAI 759m 株を 1 % 添加したアルギン酸カルシウムをサンプル水 225 mL に添加し、15 °C および 37 °C で 7 日間静置した結果を図-2 に示す。アルギン酸カルシウムのサンプル水への影響を検証するため、Control 1 にはサンプル水のみ、Control 2 にはサンプル水にアルギン酸カルシウム (LAB 無し) を添加したものをを用いた。15 °C の実験結果 (図-2 (a)) では、TOKAI 759m 株を添加した Sample は 1.57 mg/L と Control に対し減少し、NRE は 39 % が得られた。一方、培養温度 37 °C では、Sample は 0.05 mg/L を示し、NRE は 98 % となり高い NO₃ 除去能が確認された。以上の結果から培養温度は 37 °C が適していること、またアルギン酸カルシウムを使用した状態でも LAB による除去効果が期待されることが示唆された。

5. 結論

本研究では新たな硝酸態窒素除去法の開発を目的に、LAB を用いた試行実験を行った。その結果、LAB 25 菌株のうち、11 菌株で NO₃-N 濃度の減少が確認され、窒素除去率は最高 98 % が得られ、LAB を用いた窒素除去が可能であることが示唆された。また、静置温度、サンプル水量を変えて実験を行ったところ、37 °C で 40 mL の実験条件がより高い NRE を示すことが判明した。アルギン酸カルシウムを用いた培養でも LAB による NO₃ 減少が確認されたが、アルギン酸カルシウム添加によりサンプル水の NO₃ 濃度が変動するなど、引き続き材質、実験条件等に検討が必要であることも示唆された。

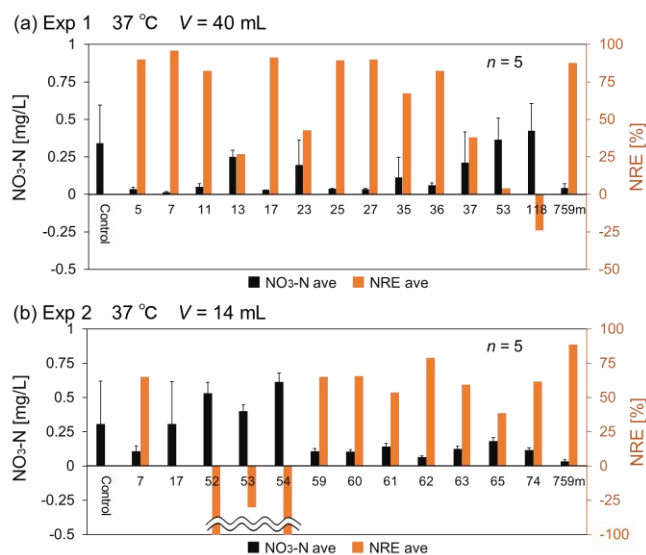


図-1 Exp 1, 2 における NO₃-N 除去実験結果 (NO₃-N 濃度変化 (黒) と NRE (橙))

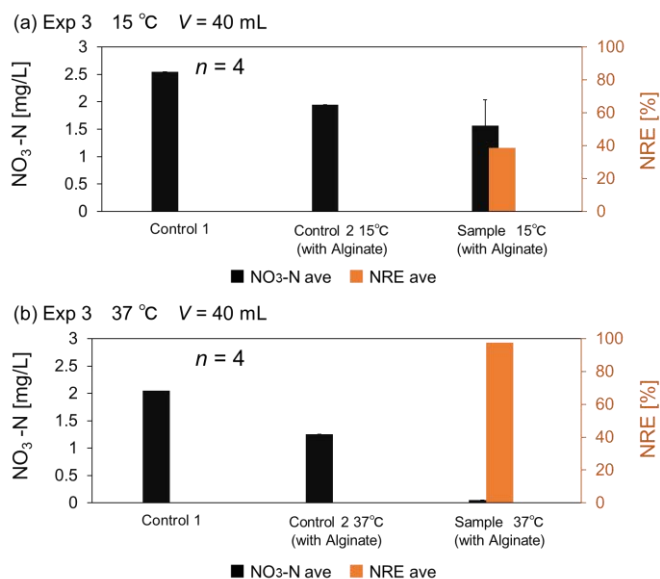


図-2 アルギン酸カルシウムを用いた NO₃-N 除去実験結果 (15 °C (上図)、37 °C (下図))

参考文献

- 1) 環境省水・大気環境局土壌環境課地下水・地盤環境室, 硝酸態窒素等地域総合対策ガイドライン, 硝酸態窒素等対策の手引, 2021年3月, p.1-8
- 2) 和嶋隆昌, にがりを活用した硝酸性窒素除去材の開発, 日本海水学会誌, 72巻4号, 2018年, p.218-224
- 3) Kinoshita H., Jumonji M., Yasuda S., and Igoshi K., Protection of human intestinal epithelial cells from oxidative stress caused by mercury using lactic acid bacteria, Biosci Microbiota Food Health, 39(3), 183-187, 2020