



宮崎大学学術情報リポジトリ

University of Miyazaki Academic Repository

連結球状細孔を有する高強度マイクロカプセルを用いた微生物環境浄化プロセスの開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2020-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 塩盛, 弘一郎, 清山, 史朗, 武井, 孝行, 吉田, 昌弘 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10458/5640

連結球状細孔を有する高強度マイクロカプセルを用いた 微生物環境浄化プロセスの開発

Development of Microorganism Environmental Cleanup Process using High Strength Microcapsules with Interconnected Spherical Pores

代表研究者 宮崎大学工学教育研究部 准教授 塩盛弘一郎
共同研究者 都城工業高等専門学校 教授 清山 史朗
共同研究者 鹿児島大学大学院理工学研究科 准教授 武井 孝行
共同研究者 鹿児島大学大学院理工学研究科 教授 吉田 昌弘

Microcapsules with interconnected-spherical pores were prepared by *in situ* polymerization in a W/O/W emulsion system. Divinylbenzene and trimethylolpropane trimethacrylate were used as the wall material to prepare high strength microcapsules. The pore size and the diameter of the microcapsules increased with increasing NaCl concentration in the inner aqueous phase. The denitrification bacteria, *Paracoccus denitrificans* NBRC13301, was successfully immobilized in the porous microcapsule by a cocultivation of the bacteria and the microcapsules together. The denitrification bacteria immobilized in the porous microcapsule were able to decompose completely nitric acid and nitrous acid by a successive reaction.

1. 緒言

環境浄化に微生物を利用する場合、微生物を環境中に放出しないために微生物を担体へ固定化¹⁾、分離膜による隔離およびゲルへの包括固定化²⁾などが行われる。このような微生物を含む材料では、長期間の安定性が要求される。また、材料によっては、微生物増殖の阻害や反応基質の微生物への拡散・到達が遅く反応効率が低下する場合もあり、最適な微生物の固定化担体や固定化方法を開発する必要がある。

近年、硝酸性窒素による地下水汚染が世界中で報告されている。現在、硝酸性窒素処理には物理学的処理法が用いられており、処理後の濃縮液や再生廃液中の高濃度溶液の後処理が問題となっている。一方、脱窒細菌を用い、余剰汚泥や残存有機物による水質汚染がない独立栄養性脱窒法が開発されている。しかし、脱窒細菌の取扱いは困難なために、二次的環境汚染を引き起こす可能性があり、浄水処理に利用するには脱窒細菌の使用方法を開発する必要がある。

我々は、W/O/Wエマルションを出発状態として有機相中に溶解したモノマーを*in situ*重合することにより内水相を鑄型として表面から内部まで連結した球状細孔を有する多孔質マイクロカプセル(MC)を開発した¹⁾。この多孔質MCは、表面から内部まで比較的大きな細孔が連結して形成しているため、表面からMC内部へ水や有機溶媒が容易に浸入出来るという特徴を有している。カプセル壁に金属イオンと相互作用して分離する有機

分子(抽出剤)を固定化すると、金属イオンの分離操作を迅速に行えることを確認している^{5,6)}。

本研究では、脱窒細菌をこの多孔質MCに固定化する技術を開発し、脱窒反応が効率良く行えることを実証した。連続操作を可能にするため、強度の高いカプセル壁を形成するジビニルベンゼン(DVB)及びトリメタクリル酸トリメチロールプロパン(TRIM)を用いて多孔質MCを調製した。また、塩化ナトリウム(NaCl)水溶液による内水相と外水相の間での浸透圧効果を利用して細孔径の制御を行った。調製した多孔質MCを添加して脱窒細菌*Paracoccus denitrificans* NBRC13301を培養することにより多孔質MC内部に脱窒細菌のバイオフィルムを形成させ、固定化した。浄水処理における回分脱窒反応試験では、脱窒細菌のエネルギー源として水素ガスと無機炭素(NaHCO₃)を組み合わせることで、処理能力の向上及び反応系の改善を図った⁷⁾。

2. 結果および考察

2.1 多孔質MCの調製におよぼす内水相NaCl濃度の影響

内水相に添加するNaClの濃度を変化させて多孔質MCの構造および特性への影響を明らかにした。調製スキームを図1、表1に内水相NaCl濃度、MC回収率およびMCの平均粒子径を示す。調製した多孔質MCの表面および断面をSEM観察した結果を図2に示す。得られたMCは表面および内部に球状に細孔を有し、NaCl濃度が高くなると

小さな細孔が少なくなり大きな細孔が多く見られた。また、MCの平均粒子径も内水相NaCl濃度の増加と共に大きくなった。内水相のNaCl濃度が高くなると、浸透圧差により外水相から有機相を透過して内水相へ水が移動し、内水相滴が大きくなるために有機相液滴が膨潤して大きくなり、そのままの状態では重合が進行してMCの粒子径が大きくなったと考えられる⁸⁾。多孔質MCの比表面積に及ぼすNaCl濃度の影響を図3に示す。実測比表面積(=実測比表面積/外表面基準比表面積)は、内水相NaCl濃度の増加と共に増加した。内部に細孔が無い場合、平均粒子径の小さなものほど比表面積は大きくなる。内水相NaCl濃度の増加により内水相滴へ水の移動がより多く起こり、MC内部の多孔度が増加したためと考えられる。そのため、平均粒子径の大きなMCでも平均粒子径の小さなMCと同等の比表面積を有していたと考えられる。調製した多孔質MCの圧縮強度を測定した(図4)。圧縮強度は、内水相NaCl濃度の増加により低下した。これは、内水相NaCl濃度の増加によりMC内部の細孔が大きくなり多孔度が増したことによりMCの壁が薄くなり強度が低下したためと考えられる。

2.2 脱窒細菌のMCへの固定化および回分脱窒試験

脱窒細菌の固定化には、比表面積が同じで最も強度が高い内水相NaCl濃度が1.5mol/Lで調製した多孔質MCを用いた。脱窒細菌は*Paracoccus denitrificans* NBRC13301を用い、培養液5mL中で前培養(30°C,150rpm, 24h)を行った。その後、調製したMCを加えた前培養時の4倍濃度の培養液100mL中に前培養液を加え、本培養(30°C,150rpm, 24h)を行った。培養終了後、0.9wt%(w/w)生理食塩水でMCを洗浄した。この脱窒細菌固定化多孔質MCを、硝酸性窒素濃度20ppmに調整した模擬汚染水300mLに無機炭素源として炭酸水素ナトリウムを0.3g添加し、電子供与体として使用する水素ガスで飽和させたリアクター内に入れ、攪拌(30°C,100rpm)しながら、脱窒反応を行った。模擬汚染水を経時的にサンプリングし、硝酸性及び亜硝酸性窒素濃度をイオンクロマトグラフにて定量した。脱窒反応の硝酸性窒素および亜硝酸性窒素の濃度変化を図5に示す。反応時間と共に硝酸性窒素濃度が低下し、亜硝酸性窒素が上昇した。硝酸性窒素が無くなると、亜硝酸性窒素濃度が低下し完全に除去することが出来た。これより、多孔質MCに固定化した脱窒細菌は、脱窒機能を有していることが確認できた。

反応開始後96h経過後に新しい模擬汚染水に入れ替えて、連続回分脱窒試験を行った。連続回分脱窒試験における全窒素濃度の経時変化を図6に示す。連続回分脱窒反応試験2回目で、硝酸性及び亜硝酸性窒素の処理時間が速くなった。これは、脱窒細菌が硝酸性及び亜硝酸性窒素の存在下に適応したためだと考えられる。しかし、脱窒反応の回を重ねるごとに活性が低下し、4回目で汚染物質を処理できなくなった。その後、脱窒菌固定化MCを再び培養液中で培養(30°C,150rpm, 24h)することで、活性が復活し硝酸性及び亜硝酸性窒素を還元することができた。また、これらの繰り返し使用後に脱窒菌固定化MCを観察したが、MCの破壊などは全く観察されず、繰り返し使用に十分な強度を有していることが確認出来た。

3. まとめ

内水相にNaClを添加することで連結球状細孔を有する多孔質MCの調製に成功した。また、内水相NaCl濃度上昇により、平均粒子径および内部細孔径の増加及び圧縮強度の低下が確認された。脱窒反応試験において、無機炭素の併用により、従来の反応に比べ、迅速な汚染物質の処理が可能となった。さらに、失活した脱窒細菌を再培養することで、活性の復活が確認できた。

本研究で調製した脱窒細菌固定化MCは、優れた強度および再利用性に富むことから、浄水処理における連続使用に適していると推測される。

引用文献

- 1) M. Yoshida *et al.*, *J. Applied Polym. Sci.*, Vol. 89, pp. 1966-1975 (2003)
- 2) D. Tenokuchi *et al.*, *Polym. Bull.*, Vol. 56, pp. 275-284 (2006)
- 3) T. Takei *et al.*, *Polym. Bull.*, Vol. 63, pp. 599-607 (2009)
- 4) 伊地知ら、化学工学論文集、Vol. 23, pp. 303-306 (1997)
- 5) A. Matsushita *et al.*, *Solvent Extr. Res. Dev., Jpn.*, Vol. 18, pp. 123-135 (2011)
- 6) T. Kitabayashi *et al.*, *Solvent Extr. Res. Dev., Jpn.*, Vol. 20, pp. 137-147 (2013)
- 7) S. Ghafari *et al.*, *Bioresour Technol.*, Vol. 101, pp. 2236-2242 (2010)
- 8) S. Kiyoyama *et al.*, *Ars Separatoria Acta.*, Vol. 7, pp. 49-60 (2009)

表1 調製条件および調製結果

調製条件	A	B	C	D
内水相 NaCl 濃度[mol/L]	1.5	3.0	4.5	6.0
回収率 [%]	86.8	86.1	87.0	90.1
平均粒子径[μm]	200	257	370	452

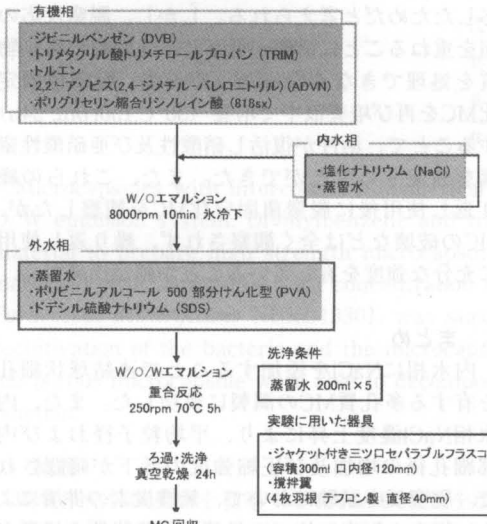


図1 多孔質MCの調製スキーム

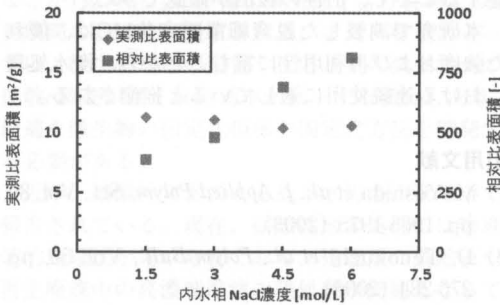


図3 比表面積に及ぼす内水相NaCl濃度の影響

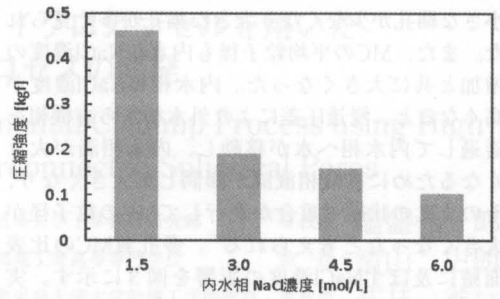


図4 圧縮強度に及ぼす内水相NaCl濃度の影響

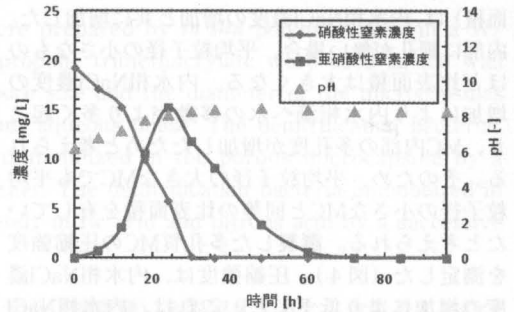


図5 脱窒細菌を固定化した多孔質MCによる回分脱窒反応における硝酸性窒素と亜硝酸性窒素の濃度経時変化

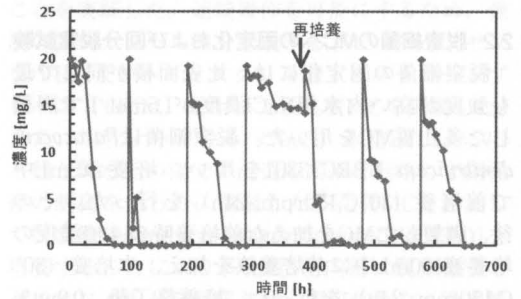


図6 脱窒細菌を固定化した多孔質MCによる連続回分脱窒反応における全窒素濃度の経時変化

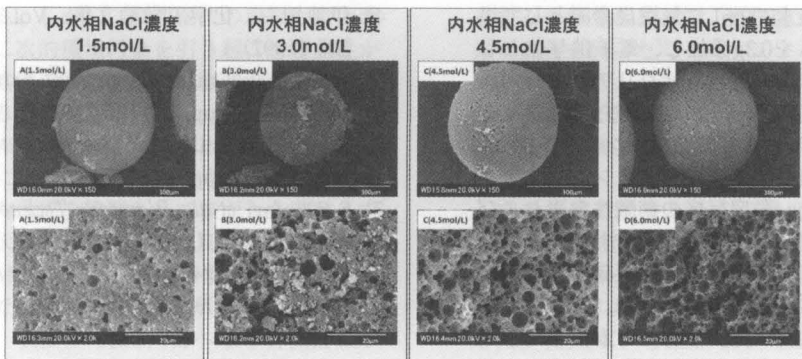


図2 内水相NaCl濃度を変化させて調製した多孔質MCのSEM写真
上段：表面、下段：断面