

6. 微生物培養液「マイエンザ」による水質浄化

静岡県立浜松北高等学校地学部
2年 大石奈美 村越あやか 他2名

1 研究動機

本校の近くにある佐鳴湖は、日本で最も汚い湖沼のひとつである。私たちは、佐鳴湖の水質浄化方法を探す過程でマイエンザというものを知った。マイエンザによる水質浄化のメカニズムは、まだ科学的に解明されていない。そこで、そのメカニズムを私たちの手で明らかにし、佐鳴湖の水質浄化に役立てたいと思い、研究を始めた。

2 マイエンザについて

(1) マイエンザとは

マイエンザとは、元財団法人えひめ産業復興財団中小企業部長の曾我部義明氏が開発したもので、水質浄化を促進させるはたらきがある。マイエンザ自体に水質浄化能力はなく、原生動物に働きかけ、それを活性化させるため「原生動物の栄養ドリンク」と言われている。

マイエンザは、以前はえひめAI という名称だったが、曾我部氏の意向によりマイエンザと改名された。

(2) マイエンザ（1L）の作り方

ア タッパーに水道水を1L加える。

イ 納豆（2粒）・ヨーグルト（50g）・ドライイースト（4g）・砂糖（50g）をタッパーの中に加え、よくかき混ぜる。

ウ 熱帯魚用のヒーターで約35℃に保ち、24時間培養する。培養している間は、かき混ぜない。

エ 培養液（マイエンザ）のpHが3～4になっていることを確認し、冷暗所で保存する。

3 過去の研究の要旨

過去の研究で、下記のことが判明している。

- ① マイエンザは、原生動物の個体数を増加させる。
- ② マイエンザは、原生動物の呼吸量を増加させる。
- ③ マイエンザには、18種類のアミノ酸が含まれている。
- ④ マイエンザ中のアミノ酸を、原生動物が取り込んでいる。
- ⑤ 酸素が多い環境では、原生動物は、リンを吸収するはたらきがある。
- ⑥ マイエンザは、マイエンザの材料である納豆・ヨーグルト・ドライイーストの一種培養液よりも、多くのリンを減少させるはたらきがある。
- ⑦ マイエンザは、マイエンザの材料である納豆・ヨーグルト・ドライイーストの二種培養液よりも、多くのリンを減少させるはたらきがある。

4 今年度の研究

(1) マイエンザによる浄化実験

ア 実験目的

マイエンザには水質浄化を促進させるはたらきがあるが、その効果を水質汚濁の原因となるリンに着目して実際に調査をする。また、マイエンザ自体に水質浄化能力はなく、マイエンザによって原生動物が活性化することで、水質が浄化されることを確かめる。

イ 実験方法

(ア) 佐鳴湖の湖水を濾過し、リン酸二水素カリウムを湖水の0.1%だけ添加したものを基本資料とする。湖水を濾過するのは、湖水中のプランクトンの影響をなくするためである。以下の4つの資料を用意する。

(A) 基本資料 1,000mL + 活性汚泥 500mL

(B) 基本資料 1,000mL + 活性汚泥 500mL + マイエンザ 0.5%(7.5mL)

(A') 基本資料 1,000ml

(B') 基本資料 1,000ml + マイエンザ 0.5%(5.0mL)

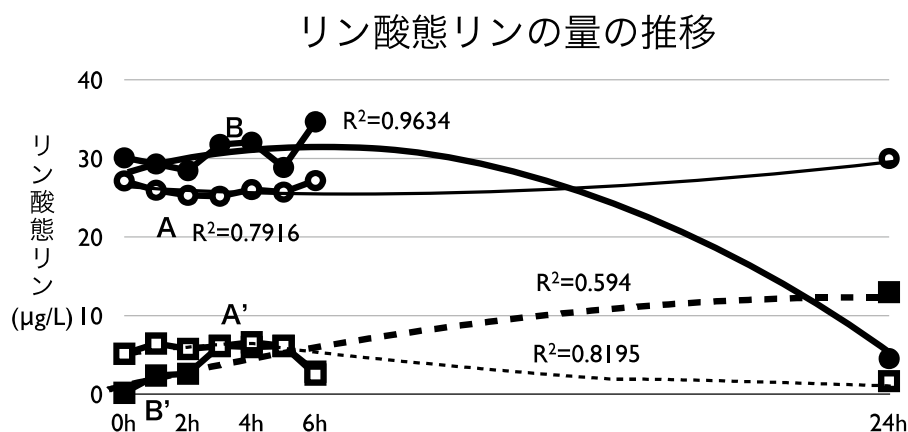
(イ) 上記の4つの資料に、常にエアレーションで空気を送る。

(ウ) 4つの資料を用意した直後を開始とし、開始から6時間後まで1時間ごとと1日後に、4つの資料からそれぞれ50mLずつ採水する。

(エ) モリブデン青（アスコルビン酸還元）吸光光度法で、リン酸態リン（リンの一種）の値を測定する。

※活性汚泥は、下水処理に利用され、原生動物が多く含まれている汚泥である。

ウ 実験結果



h は hour (時間) の頭文字である。

マイエンザと原生動物が入っている B の資料は、リン酸態リンの量が大きく減少している。一方で、マイエンザのみを加えた B' の資料は、リン酸態リンの量が増加している。

エ 考察

B と B' の資料を比較すると、マイエンザ自体に水質浄化能力はなく、原生動物がいることによって、初めてリンを減少させることが分かる。過去の研究の①②⑤より、マイエンザは原生動物の個体数と呼吸量を増加させ、原生動物のリンを吸収するはたらきを促進しているのだと考えられる。

また、B の資料から、開始から6時間後まではリンの量はほとんど変化せず、6時間後から24時間後にかけて大きく減少していることが読み取れる。このことから、マイエンザが原生動物の個体数と呼吸量を増加させ、リンの量を減少させるまでに24時間かかることが判明

した。

活性汚泥を加えた A と B の資料で開始時のリンの値が高いのは、活性汚泥そのものに 25.1 $\mu\text{g/L}$ のリンが含まれているからである。

(2) 水道水中の雑菌がマイエンザに与える影響

ア 実験目的

水道水中に含まれる雑菌が、マイエンザの培養にどのような影響を与えるのかを pH の観点から探る。

イ 実験方法

(ア) 以下の 4 つの資料を用意し、マイエンザと同様に培養する。

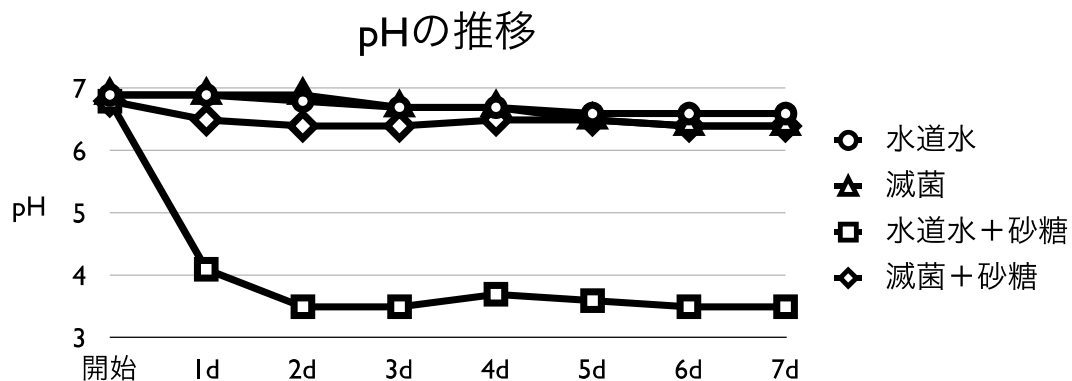
- i) 水道水 500mL (以後、水道水)
- ii) 滅菌水道水 500mL (以後、滅菌)
- iii) 水道水 500mL + 砂糖 25g (以後、水道水 + 砂糖)
- iv) 滅菌水道水 500mL + 砂糖 25g (以後、滅菌 + 砂糖)

(イ) 上記の 4 つの資料の pH を培養開始から 1 週間後まで毎日測定する。

※雑菌が増えることで、pH は下がる。

※滅菌水道水とは、水道水をオートクレーブで 121 $^{\circ}\text{C}$ ・15 分で滅菌したものである。

ウ 実験結果



d は day (日) の頭文字である。

グラフより、水道水・滅菌・滅菌 + 砂糖の資料では、中性で安定している。一方で、水道水 + 砂糖の資料は、培養開始から 1 日後にかけて pH は大きく下がり、酸性で安定した。また、水道水 + 砂糖の資料では、水面に白い菌のようなものが浮かんでいた。

エ 考察

水道水 + 砂糖の資料で pH が大きく下がったのは、水道水中の雑菌が砂糖を栄養源として、大量繁殖したためだと考えられる。

マイエンザが作られる過程でも、水道水中の雑菌が大量繁殖している可能性がある。

(3) 納豆菌・乳酸菌・酵母菌の菌数の推移

ア 実験目的

過去の研究⑥⑦より、マイエンザの水質浄化能力はマイエンザの材料である納豆・ヨーグルト・ドライイーストすなわち納豆菌・乳酸菌・酵母菌の相互作用から生じることが推測できる。そこで、それぞれの菌の数の推移を調べ、相互作用を明らかにする。

イ 実験方法

(ア) マイエンザを5L作り、培養をしている容器の上層・中層・下層から下記の時間に1mLずつ採水する。

材料を入れた直後、2・4・6時間後、マイエンザ培養後である1日後から1週間後までと2週間後、4週間後

(イ) (ア) をスライドガラスに白金耳で2か所に塗り、火炎固定をする。

同時に、バクテリア計算盤で1mm³中の上層・中層・下層の菌の総数をそれぞれ求める。

(ウ) 火炎固定をしたスライドガラスをグラム染色で染色する。

(エ) 顕微鏡の1視野(1,000倍)中の納豆菌・乳酸菌・酵母菌の数をそれぞれ5か所で数える。つまり、上層・中層・下層のおのおのについて、スライドガラスの2か所×顕微鏡の視野5か所の計10か所の値が得られる。これらの値の最大値と最小値を除いた8か所の平均値をそれぞれの菌の数とした。

<バクテリア計算盤について>

スライドガラス上の1mm²区間を400マスに等分したものを底盤という。

i) 底盤能重にカバーガラスを置く。(底盤からカバーガラスまでの距離は0.02mm。)

ii) 底盤とカバーガラスとの間に溶液を流し入れ、菌の数を数える。(溶液の体積は0.02mm³となる。)

0.02mm³中の溶液に存在する菌の数を求め、その値を50倍することにより、1mm³中の菌の数を正確に求めることができる。

ウ 1mm³あたりの納豆菌・乳酸菌・酵母菌の数を求める計算方法

実験で得られる納豆菌・乳酸菌・酵母菌の数は、あくまで顕微鏡の1視野あたりのものであって、その面積を求めることは難しい。そこで、バクテリア計算盤で求めた1mm³あたりの菌の総数を用いて、1mm³あたりの納豆菌・乳酸菌・酵母菌の数を下記の式で求めた。

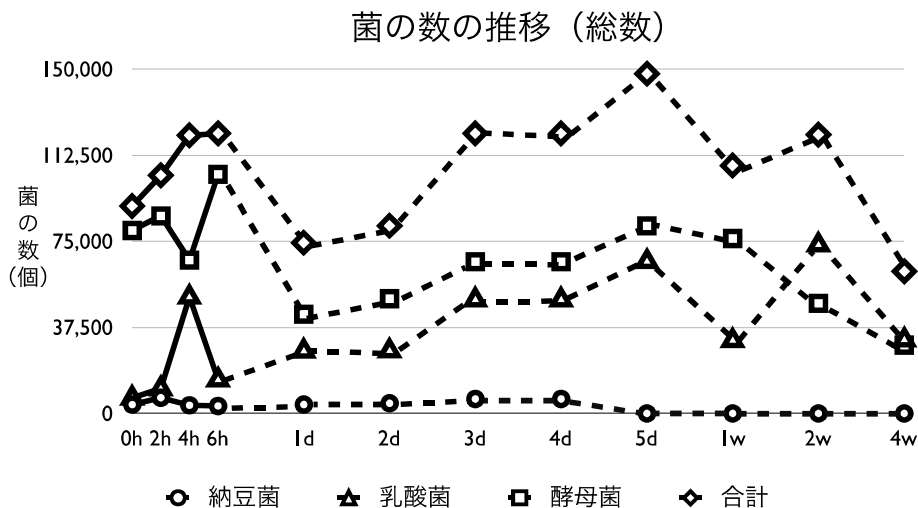
$$\text{〇〇菌} = \frac{\text{1視野あたりの〇〇菌の数}}{\text{1視野あたりの菌の総数}} \times \text{1mm}^3\text{あたりの菌の総数}$$

※〇〇菌には、納豆菌・乳酸菌・酵母菌のいずれかが入る。

エ 実験結果

hはhour(時間)、dはday(日)の、wはweek(週)の頭文字である。

横軸の目盛りが一定でない所は、破線でつないだ。



納豆菌が、培養開始から2時間後にかけて増加し、その後、酵母菌・乳酸菌の順で増加する。また、乳酸菌・酵母菌に比べ納豆菌の数は少なく、最終的に0となった。酵母菌と乳酸菌の数は、培養開始から3日ほど経つと安定してくる。また、溶液の溶存酸素量は常に0だったため、酸素が少ない嫌気的環境であったといえる。

オ 考察

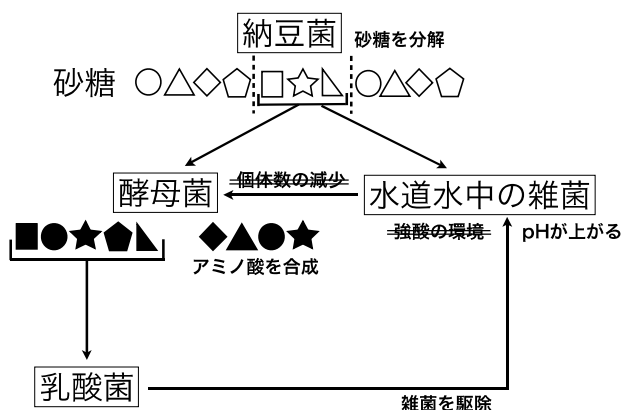
(ア) 納豆菌・酵母菌・乳酸菌の順に増加する要因

納豆菌・酵母菌・乳酸菌の順に増加する要因には、溶存酸素量と pH の2つが挙げられる。納豆菌は、酸素を好む好気性菌で最適 pH は 6.6~7.4 なので、酸素が多く pH も高い時、つまり培養開始から2時間後にかけて増加する。菌の量が増加すると、呼吸量の総和は大きくなるので酸素は少なくなる。また、(2)の実験で雑菌が繁殖すると pH は下がることが判明したので、時間が経つにつれマイエンザの溶存酸素量は減少し、pH は下がっていく。ゆえに、納豆菌は早い段階で死滅する。納豆菌の次に増加する酵母菌は、酸素がなくても生存できる通性嫌気性菌で、最適 pH は 4.0~4.5 である。そして、最後に増加する乳酸菌は、酸素を嫌う嫌気性菌で、最適 pH は 3.0 以下である。つまり、納豆菌・酵母菌・乳酸菌の順に増加するのは、溶存酸素量と pH が要因だと考えられる。

(イ) 納豆菌・乳酸菌・酵母菌の相互作用

まず、納豆菌は炭水化物などを分解するはたらきがあるので、マイエンザ中の砂糖を細かく分解する。次に、酵母菌は、納豆菌が分解した砂糖を使ってアミノ酸を合成する。

同時に、水道水中の雑菌が、納豆菌が分解した砂糖を利用して増殖する。(2)の実験で雑菌が繁殖すると



pH は下がることが明らかになったので、マイエンザの溶液は強い酸性の状態になると考えられる。そのため、最適 pH が 4.0~4.5 の酵母菌の個体数は減少する。

酵母菌に代わって、強い酸性の環境を好む乳酸菌が、酵母菌が合成したアミノ酸を利用して増殖する。乳酸菌は、殺菌力のある乳酸を産出するため、水道水中の雑菌を駆除する。これにより、pH が再び上がり、酵母菌の最適 pH になる。また、酵母菌は真核生物であるため、乳酸の影響で死滅することはない。このように、納豆菌・乳酸菌・酵母菌が相互的に作用し合うことで、酵母菌が多くのアミノ酸を合成することができ、原生動物の活性化、そしてリンの減少につながるのだと考察できる。

5 参考文献

- ・合同出版「日本の淡水プランクトン：図解ハンドブック」
監修 滋賀県立衛生環境センター 一瀬論・岩林徹哉
- ・秀文堂「新課程 生物図説」
- ・第一学社「高等学校 生物」
- ・環境分析化学実験 <http://www.shse.u-hyogo.ac.jp/kumagai/eac/eac00.htm>
- ・有機微生物について <http://rosepoem.fc2web.com/hiryoubiseibutsu.htm>