

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12240

研究課題名(和文)好塩古細菌による排水中からのカリウムの回収

研究課題名(英文)Potassium recovery from wastewater using halophilic archaea

研究代表者

高橋 正宏 (Takahashi, Masahiro)

北海道大学・工学研究院・特任教授

研究者番号：80355932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：好塩古細菌を用いた排水中からの新しいカリウム回収方法を提案した。方法は、ゼオライトによる排水中からのカリウム濃縮とNaCl溶液による高濃度カリウム溶液の回収、安価な有機物源を用いた高濃度カリウム溶液から好塩古細菌によるカリウムの生物濃縮、菌体焼却灰からのKCl結晶の回収という3つのプロセスからなる。

ゼオライトによる排水からのカリウム濃縮では、実下水を用いたパイロットプラント実験を行い確認した。好塩古細菌*H. mediterranei* を、活性汚泥を基質とする高濃度NaClで培養し、菌体当たり20%のカリウムを生物濃縮することに成功した。濃縮されたカリウムは、溶解結晶法でKClを選択的に回収できた。

研究成果の概要(英文)：We proposed a new potassium recovery method from wastewater using halophilic archaea. The method consists of concentrating potassium in wastewater with zeolite and recovering high potassium solution with NaCl solution, bioaccumulation of potassium from a potassium solution of high concentration using a cheap organic source such as waste activated sludge, and recovery of potassium chloride crystals from incinerated ash of the cells.

For potassium concentration from wastewater with zeolite, a pilot plant experiment using real treated domestic wastewater was conducted and confirmed. We succeeded in bioaccumulation of 20% potassium per bacterial cell by culturing the halophilic archaea *H. mediterranei* with highly concentrated NaCl using activated sludge as a substrate. After bioaccumulation of potassium in *H. mediterranei* cells, it was possible to selectively recover KCl crystal by melt crystallization method from incinerated ash of the cells.

研究分野：水環境

キーワード：好塩古細菌 カリウム ゼオライト 生物濃縮 溶解結晶法

### 1. 研究開始当初の背景

世界経済の発展や途上国における人口増加により、農作物の需要は今後も急増すると考えられている。それに伴い肥料の三大要素としての N,P,K の需要も高まり、資源量の制約や価格の高騰が懸念されている。肥料としてのカリウムは、地下千メートル以深の鉱脈から塩化ナトリウムとともに産出されるものが大部分である。カリウムの資源量はカナダ、ロシア、ベラルーシ、ドイツの4か国で93%を占めており、独占的な生産会社が世界の貿易を支配している。日本は年間約70万トンの塩化カリウム全量を輸入に頼っており輸入価格は2010年～2011年の間に塩化カリウムトン当たり、6～9万円と高値で変動している。(2010年以前はトン当たり3～4万円) ちなみに、下水からの回収が広く試みられているリン酸カルシウムが主体のリン鉱石の輸入価格は、同時期トン当たり2～3万円であり、輸入量は約50万トンであった。

カリウムは水溶性が高く、土壌や植物体にも残存し難いため、必要量を常に畑地に供給する必要があり、供給された分が水域に流出し、地表で再び利用されることはない。図-1は日本におけるカリウムのマテリアルフローであり、カリウムの輸入食品中に含まれるものを含めほぼ全量を輸入に頼っている。輸入されたカリウムの1/3は食料を介して、排水中に排出され排水処理施設で除去されずそのまま水域に排出される。残りのカリウムは一旦、土壌や農作物残渣などに残留するが、リンのように土壌に吸着することなく、比較的短時間で水によって流出する。このため、カリウムはわが国で農業が営まれる限り、永続的に輸入する必要がある資源である。

一方、水中に流出したカリウムは、最終的に海洋に流入する。海水中には390mg/Lのカリウムが含まれており<sup>2)</sup>、その現存量

は $5.42 \times 10^{14}$ トンである。世界のカリウム鉱山の埋蔵量 $1 \sim 1.5 \times 10^{10}$ トンがすべて海水に流入したとしても影響はほとんどない。しかし、淡水中のカリウムの平均濃度は1.5mg/Lであり<sup>3)</sup>、下水処理水中のカリウム平均濃度10mg/Lで淡水に放流された場合、生態系への影響が懸念される。

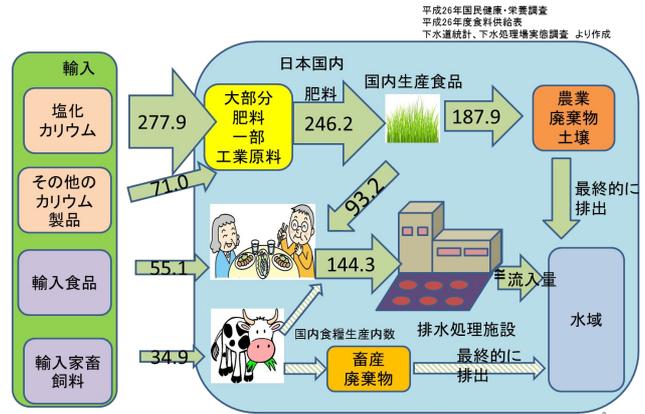


図-1 日本におけるカリウムのマテリアルフロー 単位 千トン-K/年

### 2. 研究の目的

本研究は我が国を含む世界中の地域でカリウムを生産できる技術の開発を目指し、カリウムの安定供給につなげるとともに、水域に放出されているカリウムを削減することを目指すものである。

### 3. 研究の方法

下水処理水等のカリウム濃度が相対的に低い水溶液からの回収は図2に示すようなシステムを想定している。本システムではカリウムの回収で下水中のカリウムを効率的に吸着し、2.7M程度の高濃度の塩化ナトリウムでカリウムを溶脱させる。通常のゼオライト吸脱着では海水と同程度の0.6Mの塩化ナトリウムを用いるが、好塩古細菌の最適塩濃度を考慮し、より高濃度の塩を用いる。カリウムの生物濃縮では、塩化ナトリウム溶液に溶脱したカリウムを、下水汚泥を炭素源基質として好気的条件下で好塩古細菌に生物濃縮させる。下水汚泥中には細菌、原生動物などが生息す

るが、2.7M の高濃度塩水中では浸透圧の関係で瞬時に細胞内の物質は塩水中に溶出し好塩古細菌の炭素源となる。

汚泥中に生息する微生物は海水の 5 倍という高濃度の塩水中では死滅するため、汚泥に起因する微生物のコンタミネーションを低減することが可能で、好塩古細菌を優占種として維持することができる。

カリウムを濃縮した菌体は通常の沈殿濃縮操作の後引き抜き、下水処理場に設置されている脱水機で脱水したのち、処理場の焼却炉で無機化し、カリウムを回収することができる。なお、ゼオライトの吸着能は塩化ナトリウムにより再生するため、繰り返し使用することが可能であると思われる。

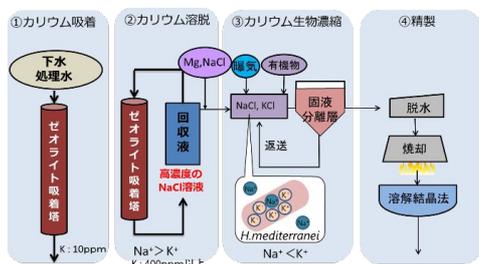


図-2 想定するカリウム回収システム

カリウムは溶解性が高いため、大部分が溶存態として存在し、これを水中から効率的に回収する技術はほとんど無かったが、好塩古細菌がカリウムを濃縮すること、ゼオライトの再生に好塩古細菌の好む塩化ナトリウムが用いられていることに着目した本研究は、既存の知見、技術を新たな視点で再構築した斬新な研究と言える。

好塩古細菌とは、3.4～5.1M の高濃度なNaCl 環境下を好む従属栄養細菌であり、桿菌、球菌、皿状、三角、更には四角の形状を示す、赤紫の古細菌である。近年、2つの科と 30 以上の属に運類することが提唱されている。更に培養できない極小の形態(0.8 μm)を示す科も見つかっている。多くの種は 1～1.5M 以下の塩分濃度で細

胞の溶解が起こる。ちなみに、海水の塩分濃度は約 0.6M であるため、いかに過酷な環境であるかということが理解できる。地球上においてこのような環境は、イスラエルの死海のような塩湖、塩田等であり、これらの好塩古細菌もこのようなところで見出されている。

好塩古細菌は通常赤色から黄色の色が付いていることが多い。こうした好塩古細菌の細胞表面にはカロテノイド系の赤色素が含まれていて、その内側にバクテリオ・ロドプシンという紫色の色素を含む膜があり、嫌気状態では特有の光合成を行っている。

ここで、本研究において使用する好塩古細菌の主な特徴について記す。使用する好塩古細菌(*Haloferax mediterranei*) (図-4) は、最適生育 NaCl 濃度が 2.7M (156g/L) で増殖速度が 0.12/h となっており、NaCl 濃度が 0.52M (30g/L) 以下になると浸透圧により細胞の形が保てなくなり溶解する。また、硝酸イオンも水素受容体とするが、主に酸素呼吸を行い、でんぷん、カゼイン(タンパク質)の加水分解酵素を持つなど好塩性古細菌としては広範囲の基質を利用可能である。最適塩濃度付近ではカロテノイドによりピンクに呈色し、生育温度範囲は 10～40℃ である。*Haloferax mediterranei* は塩分だけではなく Mg の要求性も高く 0.02～0.04M 必要である<sup>4)</sup>。

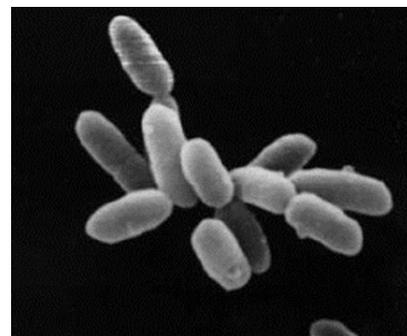




図-4 好塩古細菌 (*Haloferax mediterranei*)<sup>5)</sup>

#### 4. 研究成果

好塩古細菌 *Haloferax mediterranei* を用いたカリウム回収システム構築のため、以下に示す検討を行った。

(1) *H. mediterranei* は下水汚泥を基質して増殖することを示した。濃縮した余剰汚泥を 2.7M NaCl に 12 時間、浸漬、撈拌することにより、汚泥から基質となる溶解性 BOD を抽出できた。

(2) *H. mediterranei* はマグネシウム要求性があり、下限値は 30mM, Mg であった。海水中には 53mM の Mg が含まれていることから、海水に NaCl を添加して 2.7M, NaCl とした培養液を用いれば、Mg の添加は不要となる。

(3) カリウムを濃縮した *H. mediterranei* の菌体から塩化カリウムの結晶を得るには、溶解結晶法が適用でき、菌体中の K/Na 比が 3 以上で効率的に純度の高い KCl 結晶を得ることができる。よって、菌体中の K/Na 比を以上とする培養条件を求めることを目標として定めた。

(4) 汚泥から抽出した基質を用いて *H. mediterranei* を連続培養することに成功した。培養条件は HRT = SRT 日間、水温 37℃、溶存酸素 4mg/L、無機塩類、最適生育培地と同じ、であった。

(5) カリウムを効率的に回収するためには、通水速度 549m<sup>3</sup>/日では早すぎ、184m<sup>3</sup>/日が適当であった。カリウム回収率を上げるためには CV 2000 程度で通水を打ち切ることが望ましい。

ゼオライトへの通水回数 12 回で、必要なカリウム吸着能力は確保されていた。塩化ナトリウム水溶液によるゼオライトからのカリウムの溶脱は押し出し流れ方式で平均 80% のカリウムを回収できた。

(6) 連続培養によるカリウムの生物濃縮汚泥由来基質で培養した菌叢から平板培地で 3 種類の菌株を単離し、1 株は同定されたが 1 株は培養不能となり、他の 1 株は真正細菌用プライマーでは同定されなかった。

*H. mediterranei* と培養可能であった *N. halophile*、不明株の増殖速度を回分培養で測定し 38℃ では、それぞれ 1.93、1.32、0.77 1/h の増殖速度を示し *H. mediterranei* が最も増殖速度が速かった。

ケモスタットリアクター運転による除去 COD 当たりのカリウム回収率 (mg/mg) は、リアクター A (*H. mediterranei* 接種) 以外のリアクターでは HRT2 日が最もカリウムの収率が高かった。HRT2 日の運転条件では、どのリアクター内培養液も *H. mediterranei* 特有のピンク色を呈しており、*H. mediterranei* が優占種となったために、カリウム収率が高くなったと思われる。

次世代シーケンス解析で HRT6 日で検出された菌株は *Haloferax* sp を除いてすべて好塩性の真正細菌であり、*Haloferax* sp は接種したリアクター A でも 0.98% の占有率であった。HRT6 日では、雑多な細菌が増殖する可能性があった。

*H. mediterranei* を摂取していないリアクター B, C でも *H. mediterranei* はごく微量検出され、HRT2 日では、3 つのリアクターとも培養液がピンク色を呈したため、優占種となったと考えられる。

(7) リアクターのコンタミネーション制御法  
創成川水再生プラザ返送汚泥を 2.7M NaCl で処理した抽出液には、好塩細菌である *Halomonas taeanensis*、*Idiomarina loihiensis* などが増殖しており、下水中に

芽胞などの形で存在しているものと思われる。

下水由来の好塩細菌は、純菌で回分培養した場合の K 含有率は *H. mediterranei* の 29 ~ 41% と明らかに小さかったが、38 日、HRT6 日で連続培養した場合はほとんど同じであった、しかし、純粋菌株を混合した場合は含有率が低下した。

*H. mediterranei* を優占化するために SRT や培養温度を変化させ、好適条件を探ったが、優占化は困難であった。*H. mediterranei* の純菌をリアクターに連続添加する方法で、菌体の K 含有率を *H. mediterranei* 純菌株の場合とほぼ等しく保つことができた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

下水処理水中カリウムの回収に向けた好塩古細菌の動力学的解析、楊自然、森 康弘、中川晴菜、高橋正宏、佐藤久、深澤達矢、第 53 回下水道研究発表会講演集 959-961 2016 年 7 月

カリウム回収に利用する好塩古細菌の増殖に及ぼす余剰汚泥と Mg 添加の影響、中川晴菜、森康弘、高橋正宏、佐藤久、深澤達矢 第 5 2 回下水道研究発表会講演集 452-454 2015 年 7 月

カリウム回収の仕上げ工程としての塩化物混合物からの塩化カリウムの分離、中山翔太、高橋正宏、佐藤久、深澤達矢、中川晴菜 第 5 2 回下水道研究発表会講演集 449-451 2015 年 7 月

好塩古細菌 (*Haloferax mediterranei*) を利用した下水処理水からのカリウム回収、森康弘、中川晴菜、高橋正宏、第 49 回日本水環境学会年会講演集 361-361 2015 年 3 月

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

高橋正宏 (Masahiro Takahashi )  
北海道大学大学院・工学研究院・特任教授  
研究者番号 : 80355932

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :

##### (4) 研究協力者

( )