

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14683

研究課題名(和文) 脱窒処理の効率化をもたらす微生物代謝の電極電位による制御

研究課題名(英文) Electrochemical metabolic control of bacteria for nitrogen removal

研究代表者

星野 貴行 (HOSHINO, Takayuki)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：80219170

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)：本研究では、電極へ印加する電位によって微生物の脱窒および硝化活性を向上させることを目指した。脱窒能・硝化能を有するモデル微生物を培養し、電位が印加された培養液中の脱窒・硝化に関連する物質の濃度変化を測定したところ、Ag/AgCl電極に対して-0.2 V程度の電位で脱窒が、+0.5 V程度の電位で硝化がそれぞれ促進されたことを示唆する結果が得られた。加えて、アントラキノン系化合物による電極修飾が脱窒の促進に有用であることが示された。また、湖沼堆積物から調製した微生物叢を用いても同様の結果が得られた。環境由来の複合微生物系における有効性は、廃水処理への応用を視野に入れた際に重要な要素である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to improve the activities of bacterial nitrification and denitrification by an electrode potential. Denitrification activity was increased by applying a potential of -0.2 V (vs. Ag/AgCl reference electrode) to the electrode. And also nitrification activity was increased by applying a potential of +0.57 V to the electrode. Electrode modification with 1-aminoanthraquinone further improved the activity of denitrification. This electrochemical metabolic control method was also effective in pure cultures and environmental microflora.

研究分野：応用微生物学

キーワード：代謝制御 水処理 電気化学

1. 研究開始当初の背景

下水等に含まれる過剰な窒素分は、水圏の富栄養化などの環境問題を引き起こす。この窒素分を除去するため、各種微生物を利用した生物学的浄化法が下水処理場にて多用されている。アンモニウムイオンを硝酸イオンへと変換する硝化作用と、硝酸イオンを窒素ガス等に変換して水中から取り除く脱窒作用が、生物学的浄化法の主軸となっている。

現在のところ、廃水処理能力の向上を図った脱窒や硝化の促進は、それぞれに必要な栄養源などを投入することによって行われている。既存の脱窒促進技術としては、メタノールの添加が最も広く行われている。これは、多くの場合に脱窒を担う従属栄養微生物の炭素源を供給し、その代謝を促進することを意図したものである。しかしながら、この方法論では処理量に応じた分の資源を継続的に投入する必要がある。加えて、硝化には酸素が必要であるが脱窒には酸素が阻害的に作用することも効率的な処理を妨げる一因である。このため、資源の投入量を抑えられ、様々な条件に適用できる代謝制御法が望まれている。

2. 研究の目的

硝化や脱窒の活性は培養系の酸化還元電位の影響を強く受け、硝化は酸化還元電位が高い環境で、脱窒はそれが低い環境で、それぞれ進行しやすい。この事実は、硝化と脱窒が微生物の周囲の環境を介して制御できる可能性を示していると考え、硝化と脱窒の電気化学的制御の着想を得た。本研究では、電極電位によって培養環境の酸化還元電位を調整し、これによる硝化と脱窒を促進する新たな水処理方法の開発を目的とした。

本研究の特徴は、外界からの刺激に対する微生物自身の応答を利用して脱窒・硝化の促進を図る点にある。現行の脱窒や硝化の促進技術は、必要な栄養源などを培養系へ投入す

ることを基本としたものであるため、処理能力を増大させたければ、それに見合うだけの資源のインプットが要求される。それに対して本手法は、電極電位によって微生物を制御するという独自の試みによって、その枠組みに捉われない新たな方向性の脱窒・硝化の促進技術を目指した。また、本手法は同一の設備によって脱窒・硝化を共に促進するという点においても既往の方法とは異なる。

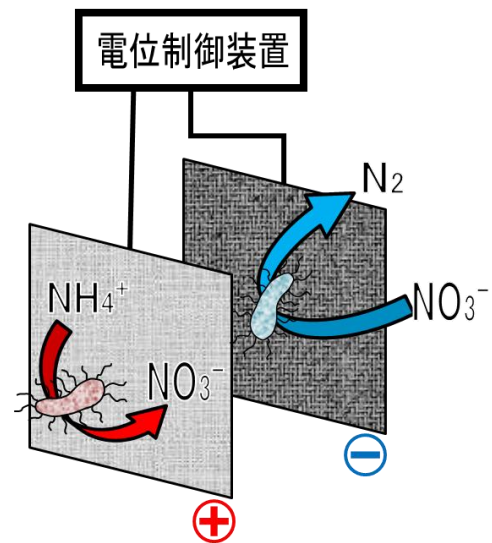


図1 本研究のコンセプト

3. 研究の方法

(1) 脱窒能や硝化能を有するモデル微生物への電位印加実験

培養器に微生物への電位印加のためのポテンショスタット制御による3電極系を設けた装置を実験に用いた。作用電極として炭素電極を使用し、参照電極と対極にはAg/AgCl電極と白金線をそれぞれ用いた。作用電極を培地に浸漬した状態で培養し、電極表面に微生物を付着させたのち、電位印加を行った。印加する電位は大気中に置かれた培地の酸化還元電位を測定し、ここから正または負に振った値とした。硝酸ナトリウムおよび塩化アンモニウムを含む液体培地中で電位を印加しつつ培養し、培地中の硝酸イオン、亜硝酸イオン、アンモニウムイオンの濃度変化を測定した。脱窒に関しては *Pseudomonas*

aeruginosa PAO1 を、硝化に関しては *Alcaligenes faecalis* NBRC13111 をそれぞれ用いた。

(2)環境微生物叢への電位印加実験

湖沼堆積物を培養装置内の培地に接種し、実際の水処理の状況に近い雑多な微生物叢を用いて実験を行った。印加電位や培地組成はモデル微生物を用いた場合に準じた。いずれの実験でも培養中の培地への空気曝気を行った。

(3)化学修飾による電極の改良

電位による代謝制御をより効果的なものとするため、電子メディエータ機能をもつアントラキノン系化合物を共有結合させることで炭素電極を修飾した。修飾された炭素電極を作用電極として、モデル微生物および環境微生物叢への電位印加実験を行った。

4. 研究成果

(1)脱窒能や硝化能を有するモデル微生物への電位印加実験

大気中に置かれた培地の酸化還元電位が +0.2~+0.3 V であることから、この値の±数百 mV の電位の範囲について影響を検討した。その結果、*P. aeruginosa* の培養系に対して -0.2 V の電位を印加することで、電位を印加しない場合と比較して硝酸イオンの減少速度が 30%程度向上した。この際、亜硝酸イオンやアンモニウムイオンの蓄積はみられなかったことから、電位印加によって脱窒が促進されたと考えられる。*A. faecalis* に対して +0.57 V の電位を印加した場合は、アンモニウムイオンの減少速度が 15%向上したが、硝酸イオンの蓄積量はアンモニウムイオンの減少量よりも小さかったため、硝化以外の現象も生じたと考えられる。

(2)環境微生物叢への電位印加実験

モデル微生物の場合と同様に電位を印加したところ、+0.57 V の印加によってアンモニウムイオンの減少速度が印加無しに対し

て約 1.5 倍に向上した。このときも硝酸イオンの蓄積は見られなかった。-0.2 V を印加した際は、硝酸イオンの減少速度が約 5 倍に向上し、一時的なアンモニウムイオンの蓄積がみられた。この実験では培地中へ絶えず空気曝気しているため、電位を印加しない場合は培地の酸化還元電位が高く、脱窒活性が阻害されるために硝酸イオンの減少速度に大きな差が生じたと考えられる。雑多な微生物集団に対しても代謝促進の効果がみられることは、実際の水処理への適用を想定する際に重要である。

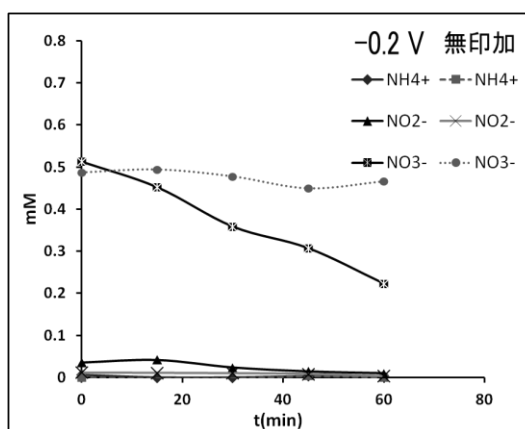


図 2 負電位の印加による硝酸イオンの減少の促進

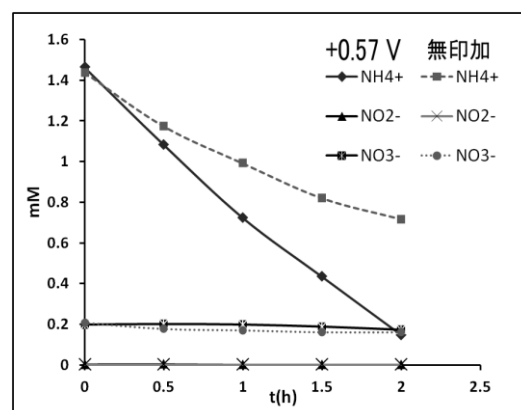


図 3 正電位の印加によるアンモニウムイオンの減少の促進

(3)化学修飾による電極の改良

1-アミノアントラキノンを経アゾ化したのち電解還元によって炭素電極へ共有結合させた修飾電極を作製した。サイクリックボルタンメトリーによって、電子メディエータと

して重要な可逆的な酸化還元が行えることと、電極表面に固定化されていることを確認した。この修飾電極を用いて電位印加を行ったところ、 -0.2 V が印加された *P. aeruginosa* および環境微生物叢において、無修飾電極を用いた場合と比較して硝酸イオンの減少速度が 15%程度向上した。同様に *A. faecalis* と環境微生物叢に $+0.57\text{ V}$ を印加したが、アンモニウムイオンの減少速度が 5%程度向上するにとどまった。

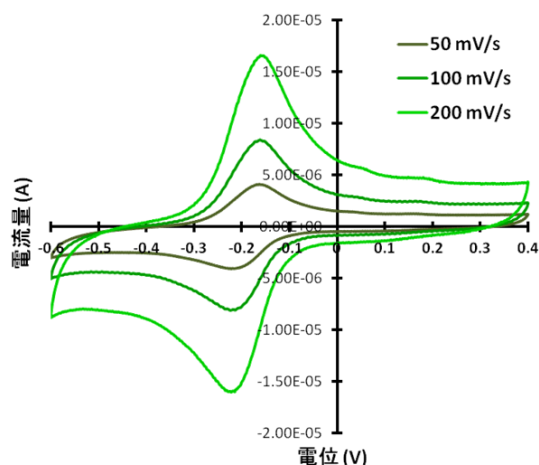


図 4 修飾電極のサイクリックボルタモグラム

本研究では、電気化学的に培養系へ電位を印加することで、硝化と脱窒という水処理において重要な代謝の活性を向上しうることを示せた。また、電極を化学修飾して改良することによって更に効果的な代謝制御が可能になることを期待させる結果が得られた。実際の水処理への応用のためには、より大規模な培養スケールでの実験が望まれる。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

星野 貴行 (HOSHINO, Takayuki)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：80219170