

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K18884

研究課題名(和文)近赤外線を利用する光合成アンモニア酸化微生物の獲得と革新的排水処理プロセスの構築

研究課題名(英文) Cultivation of photosynthetic ammonia-oxidizing microorganisms using near infrared light and development of an innovative wastewater treatment process

研究代表者

金田一 智規 (Kindaichi, Tomonori)

広島大学・先進理工系科学研究科(工)・准教授

研究者番号：10379901

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では無酸素で光エネルギーを利用(光合成)するアンモニア酸化反応を担う微生物の培養を行い、革新的な排水処理プロセスの開発することを目的とする。培養は通常の光合成微生物が増殖しないように、可視光をカットした近赤外線を照射し、光合成アンモニア酸化微生物が保有するバクテリオクロロフィルにのみ光エネルギーが吸収されるように工夫した。近赤外線をリアクターに照射した結果、一部緑変したバイオマス中には通常のクロロフィルを持つシアノバクテリアが40-50%を占める結果となったが、リアクターの窒素収支から僅かながら窒素除去が行われており、光合成アンモニア酸化微生物がわずかに存在する可能性も示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水(酸素発生型)や硫化水素(非酸素発生型)と光エネルギーを用いてCO₂を同化する光合成微生物はよく知られている。一方、本研究で対象とするアンモニアと光エネルギーを用いてCO₂を同化する光合成微生物はこれまでに発見されておらず、その微生物の発見・培養 自体が極めて探索的性質の強い研究である。アンモニア光合成微生物の培養ができれば、植物工場で使用されている近赤外線LEDによる光照射を組み合わせることで、大量の酸素消費と低効率が問題となっていた排水処理の硝化プロセスを大きく転換させる革新的水処理プロセスとなり得る。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop an innovative wastewater treatment process by culturing microorganisms responsible for anaerobic photosynthetic ammonia oxidation. During the cultivation, near-infrared light that cuts visible light was irradiated to the reactor to prevent the growth of common photosynthetic microorganisms. As a result of irradiation of near infrared light, cyanobacteria possessed chlorophyll accounted for 40-50% of the total bacteria in a partially greened biomass, although ammonia was slightly removed from the reactor, suggesting the cultivation of microorganisms responsible for anaerobic photosynthetic ammonia oxidation.

研究分野：排水処理工学

キーワード：アナモックス 光合成

1. 研究開始当初の背景

下水や産業廃水の排水処理法は100年ほど前に確立された活性汚泥法が未だに主流であり、有機物および栄養塩である窒素・リンの除去を目的としている。活性汚泥法では酸素を必要とする好気性微生物の活性を維持するために曝気(エアレーション)が不可欠であり、特に排水中の窒素の主要成分であるアンモニアの酸化(硝化)は処理効率が悪く、大きな反応容積が必要なことが課題である。要求される処理性能を維持した上でこの莫大な酸素供給エネルギーを削減する唯一の方法は、酸素を必要としない嫌気性微生物を活用することである。

嫌気性微生物を利用した有機物処理技術としてはメタン発酵が確立されており、産業排水処理で積極的に利用されている。栄養塩であるリンに関しては、微生物による変換は難しいため、吸着などの物理化学的処理法が主流である。窒素に関しては、20年前に酸素の代わりに亜硝酸を用いて嫌氣的にアンモニアを酸化する嫌気性アンモニア酸化(アナモックス)を行う細菌が発見され、省エネルギー型の窒素排水処理技術として注目されている。しかし、排水中の窒素はアンモニアの形態で存在しているため、アンモニアの半量を亜硝酸へと酸化し、アナモックス細菌が利用(式1: $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\uparrow + 2\text{H}_2\text{O}$)できるようにする部分硝化プロセスが必要であるが、プロセスが不安定なこと、アナモックス細菌の増殖が遅いことが普及の妨げとなっている。

アナモックス反応は1990年代にオランダの下水処理場で偶然発見されたものであるが、1977年に理論物理学者 Broda が存在を示唆する論文を発表している。その論文には熱力学的に存在し得る2つの反応が記されており、一つはアナモックス、もう一つは光エネルギー(光合成)を用いてアンモニアを酸化(式2: $\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ \rightarrow [\text{CH}_2\text{O}]_{\text{菌体}} + 0.5\text{N}_2\uparrow + \text{H}_2\text{O}$)する反応である。式2の反応を担う微生物の存在が明らかとなれば、アナモックスを超える効率化・省エネルギー化が達成でき、革新的な窒素処理技術となるが、そのような微生物は発見されておらず、微生物種の特定はおろか、実験室・実環境いずれにおいても、その反応すら確認されていない。

2. 研究の目的

本研究は、酸素を全く使わずに水中のアンモニアを光エネルギーにより直接 N_2 ガスへと変換(式2: $\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ \rightarrow [\text{CH}_2\text{O}]_{\text{菌体}} + 0.5\text{N}_2\uparrow + \text{H}_2\text{O}$)できる新規光合成アンモニア酸化微生物を探し、革新的な生物学的窒素除去プロセスの開発を目的とする。

3. 研究の方法

微生物の集積培養を成功させるには、適切な植種源と培養条件の選定が重要である。特に本研究では照射する光の波長が特に重要な鍵となる。本研究で対象とする光合成微生物が持つバクテリオクロロフィルの最大吸収波長は750-800 nm であり、通常の植物や藍藻(シアノバクテリア)のクロロフィルの最大吸収波長(680-700 nm 付近)とは明確に異なる(図-1)。本研究では、この吸収波長の差を利用し、700 nm 以上の近赤外線を照射した。また、アンモニアを唯一の電子供与体、 CO_2 を唯一の炭素源とした無地培地を用いることにより、アンモニアを酸化する光合成しかエネルギーが得られない環境を創出し、対象とする微生物以外は増殖し得ない環境条件で、不織布を微生物担体とした上向流カラムリアクター(図-2)により集積培養を行った。嫌気条件を保ち、30°Cに設定した恒温器内にカラムリアクターを設置し、アンモニア濃度および溶存酸素濃度をモニタリングした。近赤外線の照射はハロゲン光源に紫外・可視光カットフィルターを用いて行った。目的とする微生物反応が確認された後はDNA塩基配列情報をもとに微生物の特定を行った。さらにメタゲノム解析を行うことにより目的微生物の機能推定やバクテリオクロロフィルに関する情報が得られ、集積培養効率を飛躍的に向上させることができる。

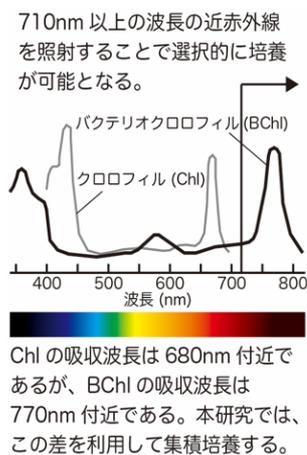


図-1 吸収波長の違い

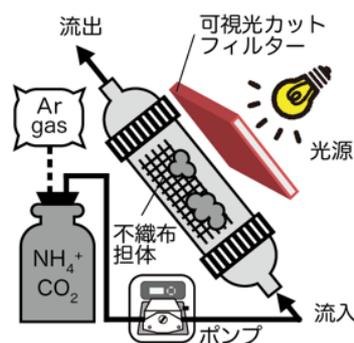


図-2 カラムリアクター

4. 研究成果

(1) 700 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養

700 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターおよびハロゲン光源を用いた上向流カラムリアクターを構築し、不織布を微生物担体とした集積培養を開始した。用いたバイオマスは都市下水処理場の活性汚泥と研究室で集積培養されているアナモックス細菌群集を用いた。無機合成培地はアナモックス細菌の集積培養で実績のある基質から亜硝酸を添加しない組成とした。73 日間連続培養を行った結果を図-3 に示す。一部流入のアンモニアと比べて 40% 前後の除去率を示す点が観察されたが、安定して続かなかった。光が照射された不織布部分が茶色から薄緑に変化したため、カラムリアクター内のバイオマスを採取し、DNA 抽出を行い、次世代シーケンサーによる微生物叢解析を行った。その結果、光の照射により緑変したバイオマスでは通常のクロロフィルを持つシアノバクテリアが 40-50% を占める結果となり (図-4)、本研究で目的とするバクテリオクロフィルを持つ微生物の培養はできていないと考えられたが、カラムリアクターの窒素収支からわずかながら窒素除去が行われており、本研究で目的とする微生物がわずかに存在する可能性も示唆された。

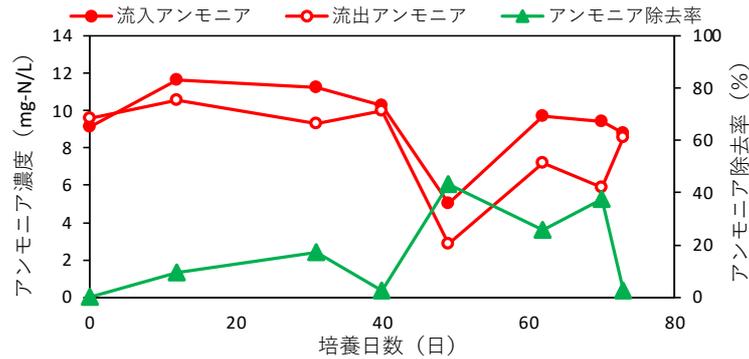


図-3 カラムリアクターのアンモニア除去

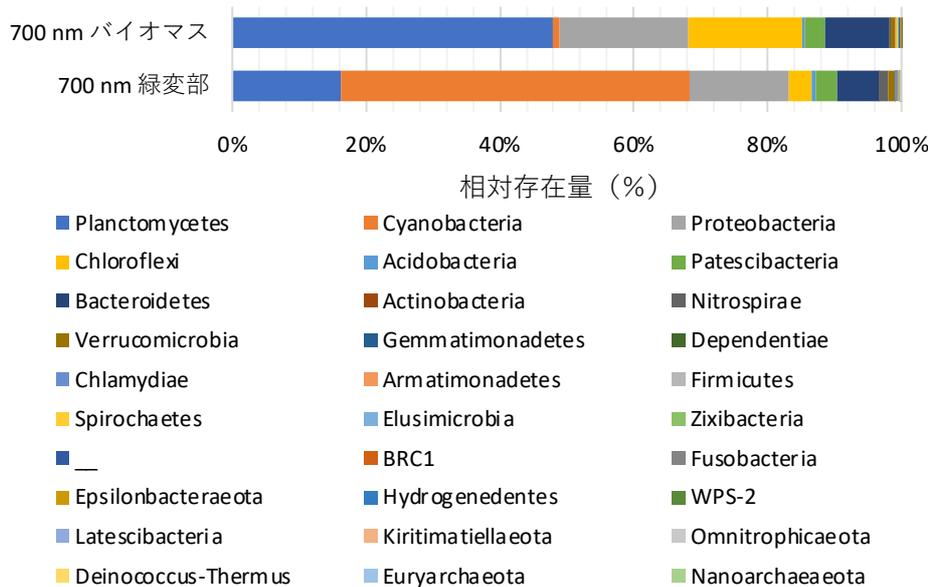


図-4 カラムリアクターの細菌叢

(2) 750 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養

700 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養では通常のクロロフィルを持つシアノバクテリアが優占化していた。そこで 750 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養を行った。リアクターは同じ物を使用し、植種源として研究室で集積培養されているアナモックス細菌群集を用いた。102 日間連続培養を行った結果を図-5 に示す。前回と比べてアンモニアの減少量は少なく、除去率も低いままで推移した。カラムリアクター内のバイオマスを採取し、DNA 抽出を行い、次世代シーケンサーによる微生物叢解析を行った。その結果、光の照射により緑変したバイオマスでは通常のクロロフィルを持つシアノバクテリアが 40-50% を占める結果となり、前回と同様の結果であった (図-6)。

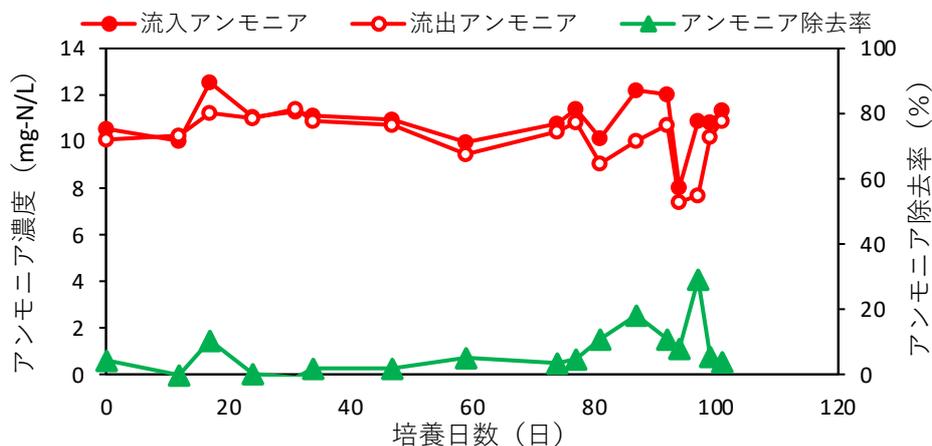


図-5 カラムリアクターのアンモニア除去

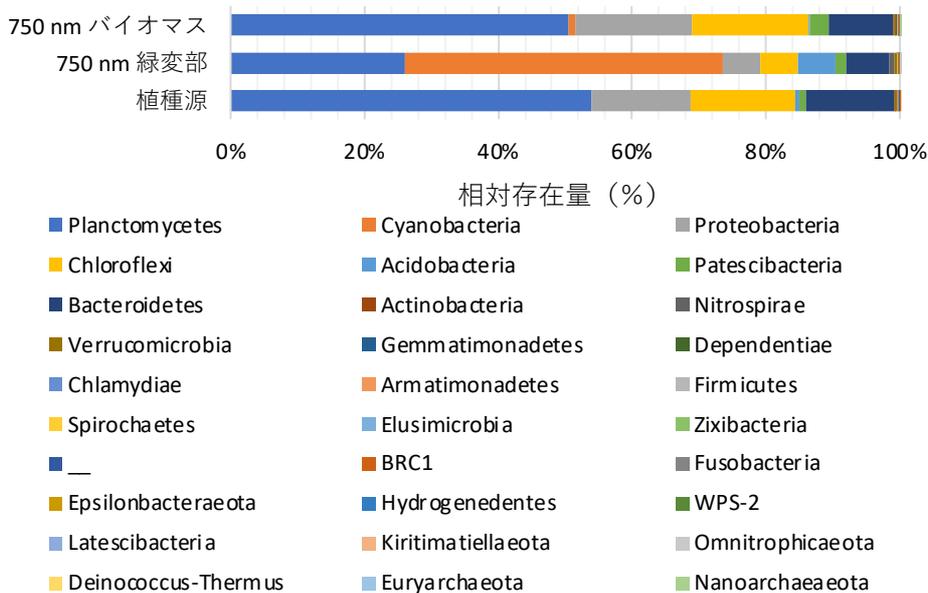


図-6 カラムリアクターの細菌叢

(3) 800 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養

700 nm 以下および 750 nm 以下の波長をカットできるロングパスフィルターを用いた集積培養では通常のクロロフィルを持つシアノバクテリアが優占化していた。そこでより近赤外側の 800 nm 以下をカットできるロングパスフィルターを用いて培養を行った。リアクター構成や植種源は同じものを用いた。その結果、図-7 に示すようにアンモニアの減少はわずかしか、見られなかったため、細菌叢解析は実施しなかった。今後は培養温度や植種源を変えて実験を行うことで新規光合成アンモニア酸化微生物の培養につながると考えられる。

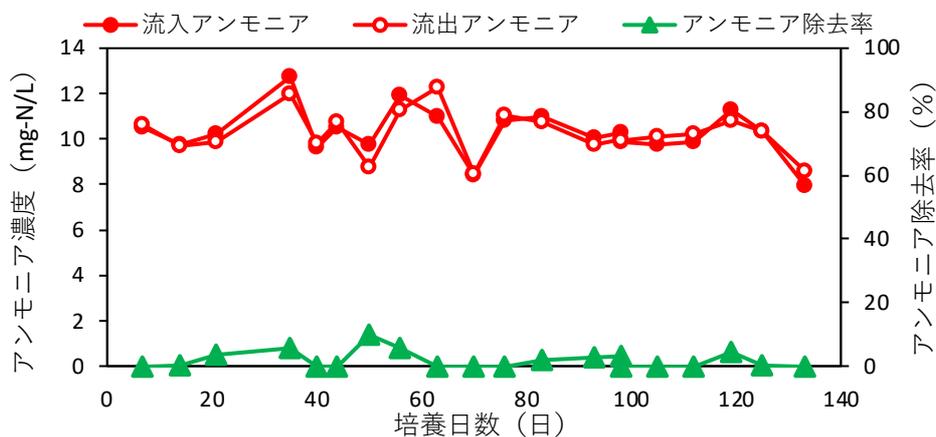


図-7 カラムリアクターのアンモニア除去

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------