

「環境低負荷型の社会システム」  
平成7年度採択研究代表者

前川 孝昭

(筑波大学農林工学系 教授)

## 「微生物機能強化による水環境修復技術の確立」

### 1. 研究実施の概要

本研究は生物圏を取り巻く水環境の中でも、特に湖沼、河川、地下水などの水域の窒素汚染問題に絞って、汚染水域の水環境修復を微生物の持つ機能の強化によって達成することを目的としている。

微生物機能強化の手段として、微生物の増殖に必要とされる栄養塩、微量金属を常に微生物に供給できる栄養塩抱括固定担体および担体をリアクタ内に効率的に保持し、処理水の処理効率を向上できる磁性担体を開発した。これら担体表面に微生物が高密度に生息できる環境を作り、汚染物質の分解性が高められるかを検討した。これらのアイデアについて特許申請を国内外に出している。窒素処理に関わる脱窒工程では有効な結果を得つつあり、炭素源の分解にも有効であった。また、微生物群集の有機物分解機能を腐生連鎖の側面から検討し、栄養塩の強化や微小動物の強化が混合培養系における微生物の有機物分解機能の強化に有効であることが分かった。

本プロジェクト研究は5年目を迎え、この最終年度に、これらの研究成果が水環境修復に実用性をもたらすかを検証する。

### 2. 研究実施内容

研究の実施にあたり、研究内容を3つのグループに分け、各々のグループ内に4研究課題を置き、相互の関係が緊密になるようにした。各グループの研究実施内容は以下の通りである。図1に本研究のねらいと概要について示した。

#### (1) 微生物機能強化のための誘導手法とその遺伝的固定化

低温メタン菌によるメタン発酵では、ベンチスケールでの実験結果から、微量金属の添加や担体の使用により増殖速度やガス発生速度が増加できることが示された。微生物は微量金属が不足すると増殖が停止するので、菌体を抱括する替りに栄養塩を抱括することによって増殖の継続性を保ち、かつ代謝副産物による担体の物理的破壊やガスの内蔵による浮上を防止する機能を担体に付与することができた(栄養塩抱括固定担体)。これは嫌気発酵であるメタン発酵や硝化・脱窒工程に有用となった。パイロットスケールへ規模を拡大し実証試験

を行った。また、寒冷地（北海道）における実用規模2相式メタン発酵システムの実証試験を行った。低温メタン発酵の難点であるプロピオン酸の分解にバンコマイシン添加の効果も検討した。菌の活性と直接関連する冷温に馴養したメタン菌の膜脂質の組成も調べた。

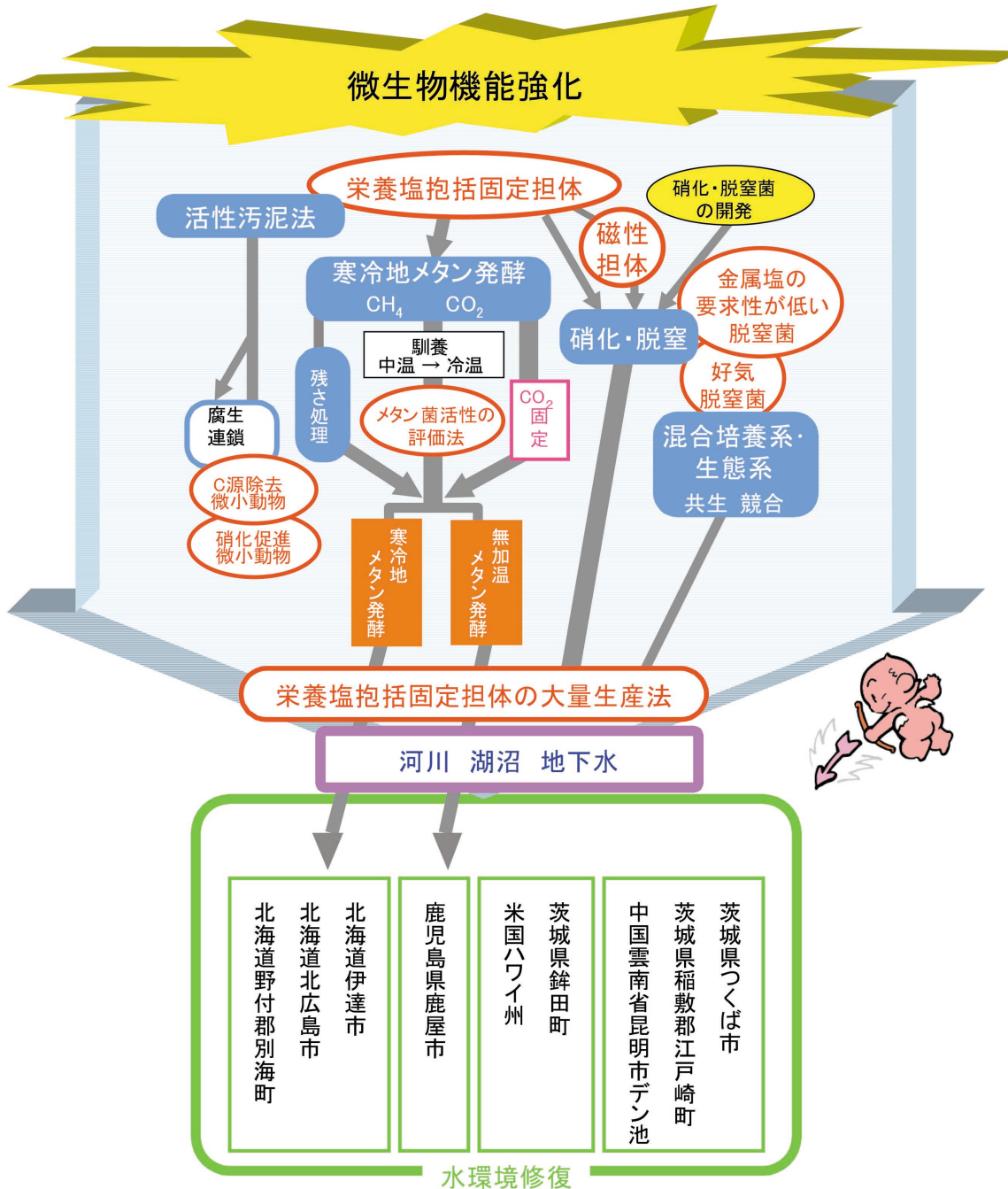


図1 研究のねらいと概要

メタン菌の高密度培養による新規ビタミンB12生産法について研究を行った。ビタミンB12の光分解しやすい性質および低濃度に対して、特殊な定量分

析法を確立した。また、1 g のメタン菌に 5 mg 以上のビタミン B12 の含有量を確認し、試験管培養で 110 mg/L のビタミン B12 を得た。この研究によって、未利用資源の再利用時にビタミン B12 生産システム及び石炭ガスの改質の 2 システムの開発が期待される。水素資化性メタン菌からのビタミン B12 の新規生産法を特許出願した（特願 2000-24490）。微生物登録は平成 12 年度に行う。

輪虫類による廃水の処理では、汚濁物質の分解、水の透明化がえられ、また大量培養のための手法（低コストの基質、輪虫の貯蔵法）が確立された。11 年度には実験室レベルで得られた結果をスケールアップするための検討を行った。今後、大量培養された輪虫類の乾燥保存、生存率と定着率を検討する。また、凝縮錠剤化した増殖因子とさまざまな担体の添加効果を検討していく。

硝化・脱窒については、セルロース分解菌と脱窒菌の共生により、セルロース担体を炭素源とする脱窒が行える可能性が示された。11 年度には低温で両者の共生培養による脱窒効果が確認した。12 年度には、本実験で取得した低温性脱窒菌と低温性セルロース分解菌をセルロース担体に固定して地下水に投入し、セルロースを消費しながら硝酸態窒素を除去できるか、実用レベルで検討していく。さらに、セルロース分解酵素遺伝子の脱窒菌への導入について検討を行う。

## (2) 点源汚染の微生物による水環境修復技術の確立

リアクターによる海水の硝化・脱窒は、淡水の硝化の最大速度の 3 分の 1 と低かったが、ポリエステル起毛担体を用いることにより海水でも淡水と同程度の性能が得られた。また地下水の浄化について検討を行い、菌体の固定化および炭素源となる生分解性プラスチックを用いた菌体の固定化担体により、4 の低温での脱窒に成功した。11 年度には、地下水の直接浄化について、菌体固定化担体として有効な生分解性プラスチック探索を行った。さらに従来硝酸の脱窒は嫌気下で代謝が進行する脱窒菌が多かったが、スクリーニングを徹底したところ、亜硝酸脱窒を代謝系にもつ脱窒菌を発見し、現在その同定を行っている。

腐生連鎖を組み込んだ有機物分解機能強化では、肉食性原生動物 *Dileptus anser* が有機物分解機能の強化に、また *Arcella vulgaris* が硝化機能の強化に有効である事が示された。すなわち活性汚泥法では微生物および微小動物が分解産物を中心とした食物連鎖の中で好気分解が進行している関係（腐生連鎖）のなかで、栄養塩の強化や微小動物の強化によって硝化が促進されることが判ってきた。11 年度には、(1) 肉食性原生動物 *Dileptus anser* の生理及び捕食特性を明らかにした。(2) 腐生連鎖において *Dileptus anser* は有機物分解機能の強化に寄与することを明らかにした。12 年度には、有機物分解機能の高い微生物群集の特徴

を明らかにし、これらを組み込んだ微生物群集の効果的な創出手法の開発を行う。

光合成細胞による窒素およびリンの吸収では、異なる3種類の光合成細胞の組合せを制御することにより、処理水の水質の変動に対応できることが示唆された。また系内の光条件を最適化することにより、残留する窒素およびリンを除去できる可能性が示された。

11年度には、低級脂肪酸、窒素と磷を含む家畜尿尿の高速度処理のために、人工的に緑藻と光合成細菌を組み合わせた混合培養システムⅠと自然の緑藻と微生物の共生系を利用した混合培養システムⅡを開発した。そして、2種類の混合培養システムに微生物固定化の応用の有効性について検討を行った。12年度にこれらの研究結果を踏まえて、システムの実用化の検証を行う。

(3) 生物間競争を利用した水環境修復技術

開発されたメンブランフィルター型混合培養装置により酵母と細胞、および緑藻と細菌間の相互作用の解析が可能となった。2種類の混合培養システムを開発したが、今後は緑藻と細菌の相互関係の解明、および家畜尿尿廃水連続処理に最適運転条件の確立を行う。

アオコ発生メカニズムを解明するために、*Microcystis novacekii* および *Scenedesmus quadricauda* の競争についてシミュレーションを行い、この結果が実験室規模での実験結果とよく対応し、またアオコが夏の水の停滞する水域で優先する現象ともよく対応している。11年度には、栄養塩添加の速度や連続性の違いによる競争や各種環境パラメータの違いによる競争について、シミュレーションで得られた予測の検証を行った。12年度は、混合連続培養実験による競争機構の解明、様々な環境要因を複合した場合の競争機構への影響の検討と農業用水系でのアオコ制御の実際と理論的解明などを行う。

各種廃水浄化施設の付設による生活排水路での廃水浄化では、小河川の硝化・脱窒の促進を目的として、積層網状体、多孔性コンクリートブロックおよび栄養塩を抱括したポリビニルアルコール（PVA）担体を用いた河川構造物による水質浄化機能について検討した。2年間の実験から、硝酸および亜硝酸の除去効果が認められた。また、ここで除去されなかったアンモニアおよびリン酸については、物理・化学的方法や電気化学的方法によりアンモニアおよびリン酸が除去されることが実験室規模で示された。11年度には、実験排水路最下流部にソーラーバッテリーを利用した散気ブLOWER装置を設置し、BOD、COD等の有機成分除去率の向上の実験を行った。

磁性担体を用いた嫌気性廃水処理では、原水と担体の接触効率を保持するために開発したマグネタイトを含む脱窒菌固定化担体によりリアクターの閉塞を

防止し、固定床として安定し、原水の流速を増加させることができた。これにより処理能力の向上と装置のコンパクト化が可能となった。また硝酸態窒素濃度14～43mg/l/hの低中負荷条件で窒素除去率99.5～100%、93～162mg/l/hrの高負荷条件では窒素除去率70～80%が得られた。11年度には、栄養塩包括担体と磁性スラッジを用いて硝化工程の効率化と硫酸化細菌を用いた廃水の脱窒を行った。12年度に電気分解併用型高効率脱窒装置による地下水の脱窒素実験を行う予定である。

水環境修復をテーマに類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけとしては、地下水汚染防止を視野においた研究が最近立ち上がってきている。特に我国をはじめ東南アジアおよび米国などでは汚染が進行している地域で、この環境修復に関する応用研究の実施要請が多くなっている。

(例として、中国雲南省昆明市デン池、フィリピン国ラグナ湖、ラオス国メコン川中流域の水質改善問題、米国ハワイ州の地下水水質改善問題、北海道や鹿児島県などの酪農地域での家畜糞尿処理問題など。)

### 3. 主な研究成果の発表(論文発表)

前川 孝昭、新屋 文隆(1999) Effect of Novel Entrapped Carriers Contained Inorganic and Trace Elements for a Psychrophilic Biogas Reactor II ISAD-SW(II International symposium on anaerobic digestion of solid waste)

張 振亜、張 燕生、前川 孝昭(1999) Effects of Trace Metals on CSTR of Mesophilic Methane Fermentation II ISAD-SW(II International symposium on anaerobic digestion of solid waste)

李 文奇、張 振亜、前川 孝昭(1999) Effects of Ammonia on Anaerobic Digestion of Dairy Waste in Methanogenic Reactor Packed Rock Wool as Fixed-Bed II ISAD-SW( International symposium on anaerobic digestion of solid waste)

張 振亜、何 曉雁、前川 孝昭(1999) 懸濁培養における硫酸化細菌による脱窒の最適条件、1999年度農業施設学会大会講演要旨：C-23

何 曉雁、張 振亜、前川 孝昭(1999) 硫酸化細菌の固定化による脱窒、1999年度農業施設学会大会講演要旨：C-20

魏 斌、張 振亜、前川 孝昭(1999) メタンのプロパン及びブタンに対する溶解特性、1999年度農業施設学会大会講演要旨：C-25

丁 国際(1999) Habrotorcha sp. の捕食特性の解明と大量培養培地の開発 第7回生物利用新技術研究シンポジウム及び環境ホルモンセッション論文集

藤井 邦彦、稲森 悠平、杉浦 則夫、松村 正利、徐 開欽(2000) 輪虫類 *Philodina erythrophthalma* の卵産能向上のための環境条件 日本水処理生物学会雑誌

- Fildel Rey P. Nayve Jr., Kazunori Nakano and Masatoshi Matsumura ( 1999 ) Starch degrading denitrifiers for bioremediation of nitrate containing groundwater using disposable loose fill packing materials as carbon sources *Water Research*
- 小浜暁子、金主 鉉、山田一裕、西村 修、須藤 隆一 ( 1999 ) 腐生連鎖における *Dileptus anser* による有機生物分解機能強化 *日本水処理生物学会誌別巻*、Vol.19, p 49 , 1999
- 小浜暁子、金主 鉉、山田一裕、西村 修、須藤 隆一、稲森 悠平 ( 1999 ) 肉食性原生動物 *Dileptus anser* の増殖特性 *土木学会環境工学研究論文集*、Vol.36, pp.263-270, 1999
- 李 先寧、金主 鉉、山田一裕、西村 修、須藤 隆一 ( 1999 ) 活性污泥ら分離した有殻葉状仮足虫類 *Arcella Vulgaris* の増殖・捕食特性による硝化指標性の評価 *日本水処理生物学会雑誌別巻* Vol.19, p.83, 1999
- J.C.Ogbonna T.Soejima H.Tanaka ( 1999 ) An integrated solar and artificial light illumination system for internal illumination of photobioreactors *Journal of Biotechnology* 1999
- Fumitaka Nagao and Tatsuo Miyazaki ( 1999 ) A modified  $^{15}\text{N}$  tracer method and new calculation for estimating release of dissolved organic nitrogen by freshwater planktonic algae *Aquatic Microbial Ecology* 16, 309-314