

研 究 成 果

サブテーマ名： - 1 干潟・藻場の造成と高機能化 小テーマ名： ・ (D) 有用微生物による有機物分解技術の開発
サブテマリーダー 三重大学大学院生物資源学研究科 教授 前川行幸 研究従事者 三重大学大学院生物資源学研究科 教授 栗冠和郎、前田広人 教授 菅原庸、准教授、木村哲哉、木村俊夫、学術研究員、栗冠真紀子 (財)三重県産業支援センター 雇用研究員 徐孝珍、中野みよ、今井大蔵 JFEホールディングス(株) 岡本幸彦、辻猛志、淵上浩司
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>研究の概要</p> <p>海域から選抜した脱窒・硝化細菌群衆や光合成細菌群衆等を利用して、微生物作用による海域浄化を図るために、最適な微生物担体の選択と大量培養法を確立して、実海域への適用を図る。</p> <p>また、底泥中の有機物の分解に最適なキャビテーション発生装置を選定し、効率的かつ効果的な処理条件を明確にする。</p> <p>研究の独自性・新規性</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 緑色光合成細菌の海水中での硫化水素酸化能力は、現在までに知見は得られていない。硫化水素酸化能力の高い光合成細菌を大量に増殖させて英虞湾底質海域に定着させれば、海域の硫化水素濃度が低くなり、様々な微生物の生育が可能になる ・ 海洋性アナモックス細菌について、連続培養槽を用いて培養に成功した報告はなく、海洋性アナモックス細菌の集積培養に成功し、海水に含まれる過剰な無機態窒素を取り除くことができれば、海水の浄化が可能になる。 ・ 硝化細菌と脱窒細菌はそれぞれ異なる代謝系を有することから、それぞれの細菌を個別に分離し、異なる反応系に基づいて硝化と脱窒反応を行うところであるが、本研究において現場海域より、それぞれ異なる2ステップの長期にわたるバッチ培養を経て、アンモニア酸化および脱窒細菌を含む細菌群集を同時に獲得する。 ・ 底質改善剤と微生物の併用による底質改善は新規の取り組みである。 <p>研究の目標(フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に)</p> <p>フェーズ</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 英虞湾底質から硫化水素を酸化除去する菌叢を集積培養の手法で構築する。また、高濃度の硫化水素に耐性で、かつ暗条件下で有機物を分解できる光合成細菌を海水で馴養する。 ・ 英虞湾底質、海水および一般廃水処理施設の活性汚泥からアナモックス細菌を探索し、発酵槽を用いて集積培養する。 ・ 英虞湾底泥サンプルを用いて硝化細菌・脱窒細菌群集の獲得を目指して培養する。 ・ キャビテーション発生装置の選定と製作を行う。 <p>フェーズ</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 硫化水素酸化細菌を単離し、底質中に含まれる硫化水素の酸化力を測定する。これら細菌を担体に吸着させ大量培養を行い、付着した担体を現場海域に沈め、硫化水素の変化を測定する。 ・ アナモックス細菌による脱窒の最適な条件を決定する。 ・ アンモニア酸化・脱窒細菌群集から脱窒細菌の分離を行う。また、培養の結果、得られたアンモニア酸化および脱窒細菌群衆を用いて英虞湾海域にて散布試験を行った。 ・ 底質改善剤と微生物の併用による底質改善手法の確立と微生物相の解析にDGC法を確立する。 <p>研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 硫化水素に耐性があり、かつ嫌気暗条件下で多種類の有機物を分解する紅色光合成細菌は、食塩濃度が4.2%でも増殖でき、また、英虞湾底質に含まれる有機物の標準物質としてのフミン酸を海水中で分解することが判明した。一方、硫化水素を含む培地で生育できる嫌気性の緑色光合成細菌を用いて、底質中に含まれる硫化水素の酸化力を調べたところ、底質に含まれる硫化水素は海水中で完全に酸化された。緑色光合成細菌を大量に培養し、これを網に入れて人工干潟に投入したところ、わずかではあるが底質中の全硫化物濃度の上昇を抑えることができた。 2 英虞湾海底に不織布を沈め、3ヶ月後にこれを嫌氣的に回収し、6ヶ月の集積培養の結果、海水から亜硝酸およびアンモニアを嫌氣的に除去することが可能になった。この集積培養槽に英虞湾の海水を連続的に流入させる実験を行った結果、亜硝酸態窒素および硝酸態窒素を除去するこ

とができた。英虞湾にはアナモックス細菌が存在していることがわかった。

- 3 英虞湾底泥サンプルを用いて、硝化細菌・脱窒細菌群集の両者を含む細菌群集が確認された。ポリ乳酸の生分解性シートに微生物を培養・付着させ、人工干潟を実験場として敷設実験を行ったところ、分解・消失が確認された。
- 4 室内およびモデル現場実験において有機物の分解活性の測定法を確立した。硫化水素の測定精度向上に成功した。微生物相の解析にD G G E法を確立した。
- 5 英虞湾の海底表層近傍のヘドロを用いて、処理時間5分以内で浚渫泥のSOD（好気臭濁状態における酸素摂取量）の50%以上の分解能を持つキャビテーション装置を製作し、検証を終えた。

主な成果

具体的な成果内容

- 1 ．紅色光合成細菌を用いてフミン酸の分解を海水中で試みたところ、4日で約3分の1まで分解することができた。一方、英虞湾底質から単離した緑色光合成細菌を用いて、英虞湾底質に含まれる硫化水素の酸化除去能力を調べたところ、底質中の硫化水素はほとんど酸化除去することができた。
- 2 ．英虞湾からアナモックス細菌を集積することに成功した。集積した細菌は新規のアナモックス細菌であることがDNA解析の結果により判明した。
アナモックス細菌の集積培養槽に英虞湾の海水を通水し、嫌気的条件下で滞留時間24時間の条件下で海水に含まれる硝酸態窒素、亜硝酸態窒素の除去に成功した。

特許件数： 1 論文数： 1 口頭発表件数： 6

研究成果に関する評価

- 1 国内外における水準との対比
 - ・海域でも緑色光合成細菌が底質に含まれる硫化水素を酸化除去することが示された。
 - ・培養槽を用いた海洋性アナモックス細菌の集積培養に世界で初めて成功した。
 - ・窒素除去を目的として、硝化と脱窒細菌を一連のバッチ方式の培養法に基づいて分離・培養を行う例はない。
 - ・底質改善に伴っておこる微生物相の把握はどこも成功していない。
- 2 実用化に向けた波及効果
 - ・海洋からアナモックス細菌を集積する技術を用いて、大型の海洋性アナモックス細菌培養槽を現場に設置することにより、貧酸素条件の海水から短時間で脱窒することが可能になる。

残された課題と対応方針について

- 1 ．海域に緑色光合成細菌を長期に定着させる必要がある。そのためには波による担体の流出をふせぎ、またシルトが担体表面に堆積しにくい大型の担体が必要となる。
- 2 ．室内実験レベルにおいては、窒素除去能も確認されており、利用可能と考えられたが、現場海域への導入試験においては良好な結果を得ることが出来なかった。担体1cm³あたりの微生物の付着生菌数をいかに増やし（微生物付着工程）、それらの活性を維持できるような環境の整備（微生物付着工程および現場環境の整備も含めて）についての検討が必要と考えられる。

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	
人件費	-	13,568	12,685	13,927	8,166	6,004	54,350	-	-	-	-	-	-	-	54,350
設備費	-	13,200	-	-	848	-	14,048	-	-	-	-	-	-	-	14,048
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	-	10,407	6,300	4,890	7,266	3,276	32,139	-	-	-	-	-	-	-	32,139
旅費	-	291	189	293	689	172	1,634	-	-	-	-	-	-	-	1,634
その他	-	-	-	196	342	536	1,074	-	-	-	-	-	-	-	1,074
小 計	-	37,466	19,174	19,306	17,311	9,988	103,245	-	-	-	-	-	-	-	103,245

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T 負担による設備：全有機炭素分析装置 (TOC-VCPh)、ポータブル簡易全窒素・全リン計 (T N P-10)、全自動元素分析装置 (vario MAX CNS)、他

地域負担による設備：