

嫌気性アンモニア酸化（アナモクス）活性を阻害する物質の影響評価法確立に関する研究

研究代表者 諏訪 裕一 研究員

1) 研究目的: 嫌気性アンモニア酸化反応(アナモクス)は1990年代後半に発見された水圏のアンモニアと亜硝酸を窒素ガスに変換する微生物反応であり、従来知られていた窒素循環を短絡する経路である(図1)。アナモクスは省エネ型廃水処理技術開発の革新的なシーズである。当研究グループは世界に先駆けてアナモクスの活性を簡便・迅速かつ高感度に測定する技術確立したが、アナモクスを中心とした窒素循環にかかわる微生物反応の環境条件への応答を測定する手法の確立を目指している。本研究のゴールは無機および有機化合物のアナモクス活性への阻害効果を定量的に測定する方法～すなわち ecotoxicology～の確立であり、アナモクス廃水処理技術の適用範囲を描き出すことにある。

2) 研究計画: 次の2つの課題を実施する。

課題1. 影響評価用活性測定法の確立; 新設の当学科に於いて四重極質量分析計でのアナモクス活性測定法を確立する。活性阻害試験を行うことは、すなわち阻害によって低められた活性を精密に測ることである。そのため、高感度・高精度な分析系とそれを可能にするアッセイ系を確立する。

課題2. 阻害要因の影響評価系の確立; アナモクスなどの窒素循環に関わる微生物反応を阻害する物質等の影響を定量評価する実験系を課題1. の成果を利用して確立する。阻害要因となりうる物質は金属、塩類、pH、溶存酸素、硫化物、有害化学物質などがあるが、これまで定量的な研究は少ない。プロセス応用を視野に置き、阻害効果が可逆的か不可逆的かを判定する方法の確立も検討する。

3) 研究の経過: 初年度(2009年度)は、本学に於いてアナモクス活性の高感度測定システムを確立することを目標とした。

アナモクス活性測定の原理: アナモクスの化学量論は次に示すように1モルのアンモニアと1モルの亜硝酸から N_2 と H_2O を1モルずつ生じる。基質がいずれも環境汚染物質で、生産物はまったく無害な物質である。

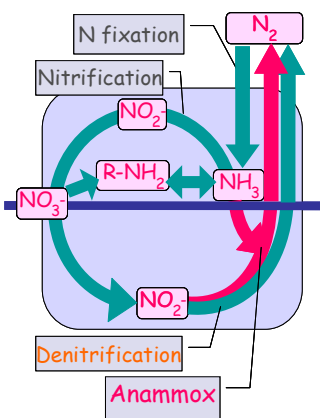
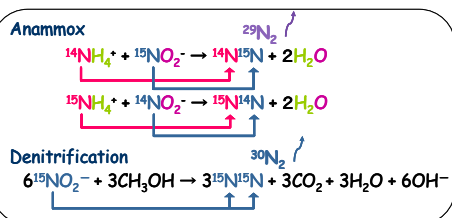


図1. 地球化学的窒素循環



安定同位体である ^{15}N で標識したアンモニアをある環境試料に添加し、嫌気条件下で培養したばあい、アナモクスが存在するときに限って、 $^{29}N_2$ が発生する。一方、 ^{15}N -亜硝酸を添加した場合、アナモクスは同じく $^{29}N_2$ を、また脱窒からは $^{30}N_2$ が生じる。したがって、この実験系では脱窒反応も検出できる。

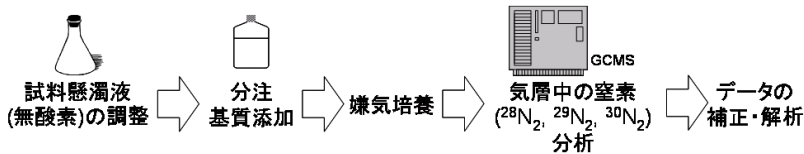


図2. アナモクス活性測定作業のながれ

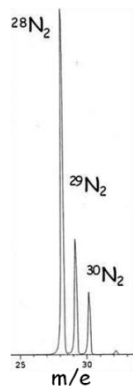


図3. 四重極質量分析計による $^{28}N_2$, $^{29}N_2$, $^{30}N_2$ の分離

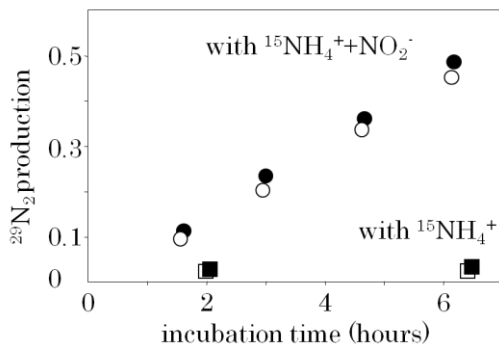


図4. 淡水湖沼堆積物の嫌気培養からのアナモクス由来の $^{29}N_2$ の生成

アナモクス活性の測定には主に4つのステップが含まれる。すなわち、i) 無酸素環境試料スラリーの調整、ii) 嫌気的な試料の取り扱いと培養、iii) 気相中窒素ガスの同位体ごとの定量法の確立、およびiv) データの補正と解析法の確立である。(図2)。2009年度は本学においていずれも適切に実施できるシステムを確立した。本方法では気体の分離定量に四重極型の質量分析計を用いるが、それをm/eが1だけ違う分子ごとでも分離定量できるように調整した(図3)。また、高い活性が検出されている淡水湖沼の堆積物を使ってアナモクス検出を試み、成功した(図4)。

その他、特に本学敷地内のいくつかの地点から試料を採取してアナモクス活性の検出を試みたが、いずれからも検出することができなかった。

アナモクス活性を測定できる研究教育機関は国内では本学だけである。これを今後の研究展開に活用する。