

## 平成21年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術開発部

## 1. 件名：

プログラム名 環境安心イノベーションプログラム／エネルギーイノベーションプログラム・  
(大項目) 微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発  
(中項目) 微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発

## 2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第1号ハ

## 3. 背景及び目的・目標

## (1) 背景及び目的

「生物機能活用型循環産業システム創造プログラム」は、工業プロセスや環境関連分野へのバイオテクノロジーの利用を促進することにより、生物機能を活用した高度モノ作り社会の構築を図りつつ、廃棄物、汚染物質等の生分解・処理技術の高度化を通じ、環境に調和した循環型産業システムの創造を図るものである。本プロジェクトは上記プログラムの一環として、「微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発/微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術」を開発する。

我が国が取り組むべき火急の課題である、環境負荷の低減と省エネルギー化の促進による循環型産業社会の構築には、物質生産プロセス（モノ作り）とその後処理の両面における技術開発が必要である。後処理においては、第3期科学技術基本計画（平成18年3月制定）における重点推進4分野の一つであるライフサイエンス分野において、「生物機能を活用した環境対応技術開発」が重要な研究開発課題として位置付けられる等、生物機能を活用した廃水、廃棄物の処理技術の高効率・高度化が求められている。

従来の産業における廃水・廃棄物処理技術は、①エネルギー多消費・廃棄物多排出、②低処理能力・対象廃棄物限定等といった課題を抱えている。例えば、①については、現行の廃水処理方法において、活性汚泥法が全体の約8割を占めており、その曝気に必要な電力量を石油換算エネルギーとして換算すると日本全体のエネルギー需要量の少なくとも約1.9%を占め、エネルギー消費量が多い。また、現在の廃水処理から発生する余剰汚泥や未利用有機性廃棄物の焼却・埋立処分に係るエネルギー・コストも相当なものになっている。現状のメタン発酵法においても、適用困難なものも含め年間発生する有機性廃棄物の総量約3億トンのうち、適用困難な対象の未利用食品廃棄物は年間約1,760万トンに上っている状況である。②については、産業が多様化する中、多種多様な産業廃水・廃棄物（高濃度廃水や難分解性物質を含む）に適用可能な処理技術の開発が必要とされている。

これまで、このような課題に対し様々な工学的アプローチによる高度化はなされてきたものの、微生物群自体については、依然としてブラックボックスのままであり、自然の摂理の域を出ていなかった。近年になり、我が国の関連研究開発プロジェクトをはじめ国内外において、廃水、廃棄物

の処理における主要な微生物群の分離、同定、機能解明及び主要微生物群のモニタリング技術等の開発が進められ、知見が集積されつつある。

そこで、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下、「NEDO技術開発機構」という。）は特定有用微生物（群）の人為的な安定的導入・維持技術、また空間配置・優占化技術（これらの技術を以下、「デザイン化技術」という）等を開発することにより微生物群の処理効率を大幅に向上させるなど、処理技術の課題を克服することを目指して本プロジェクトを実施する。

本プロジェクトでは、我が国の有する知見を活かしつつ、微生物群のデザイン化技術等を開発することにより、省エネルギーで余剰汚泥を大幅に削減し、コンパクトでメンテナンスが容易であり、あるいは多様な廃水・廃棄物への適用が可能になる高効率型廃水、廃棄物処理（主として活性汚泥法・メタン発酵法を対象）の基盤技術を確立し、微生物機能を活用した環境調和型産業システムの創造に資する技術を開発することを目的とし、以下の検討項目に従い研究開発を推進する。

#### ①微生物構成の最適化

構成微生物群に対し、その相互関係の解析・把握に基づき、特定有用微生物（群）を安定的に導入し優先化・維持する技術、例えば、電気エネルギーを消費する曝気（エアレーション）が少なくなる様な内生呼吸低減微生物（群）を導入・優先化する技術の開発。

#### ②微生物の空間配置の最適化

微生物と固体表面との相互作用及び微生物間の相互作用の解析により、集団を構成する案定有用微生物群を空間配置させ安定的に維持・優占化する固定化担体、DHSリアクター等を開発するとともに、これに伴う維持・優占化のための手法（固定化法、電気制御等）の開発。

#### ③高機能微生物の利用

有用石油（多環芳香族）分解菌、芳香族塩素化合物を完全分解する嫌気性分解菌、高効率窒素除去用 Anammox（アナモックス）菌の利用。

#### ④環境浄化微生物に関する計算科学的アプローチ

システム論的アプローチによる微生物コミュニティデザイン、微生物反応解析シミュレーション解析と浄化予測技術の開発。

## (2) 目標

中間目標（平成21年度）

### ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

- ・ 特定有用微生物（群）を選抜・評価し、それらを集団を構成する微生物群に人為的に安定導入・維持するための技術面での見通しが確実に得られていること。
- ・ また、以上の開発された技術とその機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の成果とを合わせて、従来の標準活性汚泥法の曝気処理プロセスの約3倍の高効率化を図る見通しが確実に得られていること。

### ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

- ・ 特定有用微生物群を選抜・評価し、それらを、集団を構成する微生物群内において人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術面での見通しが確実に得られていること。
- ・ また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング

技術を開発し、その成果を組み合わせ、従来のメタン発酵槽に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現する見通しが得られていること。

- ・ 従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大の見通しが確実に得られていること。

#### 最終目標（平成23年度）

##### ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

- ・ 特定有用微生物（群）を、人為的に安定導入・維持するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価する技術が開発されていること。
- ・ また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせることにより、従来の標準活性汚泥法の曝気処理プロセスの約3倍の高効率化を図ること。これにより、従来の標準活性汚泥法の曝気処理プロセスでのエネルギー使用量の約2/3の削減を図ること。
- ・ さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

##### ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

- ・ 特定有用微生物（群）を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価するための技術が開発されていること。
- ・ また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせることにより、従来のメタン発酵プロセスの約3倍の高効率化を図ること。
- ・ これにより、従来のメタン発酵槽容積に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現するとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大を可能とすること。
- ・ さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

#### 4. 実施内容及び進捗（達成）状況

高知工業高等専門学校 藤田 正憲 校長（大阪大学名誉教授）をプロジェクトリーダーとし、以下の研究開発を実施した。プロジェクトも2年目に入り着実に成果が具現化し、プロジェクトは順調に推移している。研究開発検討会議を平成20年度、2回実施した他、プロジェクトリーダー、NEDO担当主研および主査、経済産業省生物化学産業課の担当者で研究現場を訪問し、研究開発の進捗（達成）の確認、研究内容に関し助言、指摘などを行った。

##### 4. 1 平成20年度（委託）事業内容

##### ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

曝気エネルギー量低減のための内生呼吸を低減した微生物や外食厨房排水の油脂分解能力を示す微生物等の候補菌株の選抜を完了した。内生呼吸低減菌の評価法および装置や候補菌株の安全性の確認など特性評価も併せて進めた。

また、集団を構成する微生物群へ特定有用微生物（群）を安定的に導入する技術として、包括固定高分子ゲルの利用や高性能の各種担体の候補を選定でき、これらの候補菌株、例えば油脂分解能力を示す微生物の安定的な優占化・維持の評価の検討を開始した。

さらに “微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術の開発/好気性活性汚泥に使用される内生呼吸低減菌の開発” の加速化予算を執行し、内生呼吸低減菌の包括固定化担体の研究を推進した。

[実施体制：株式会社日立プラントテクノロジー（再委託：中央大学）、名古屋工業大学大学院工学研究科（共同実施：愛知県産業技術研究所）、広島大学大学院工学研究科、日本大学生物資源科学部、北海道大学工学研究科、北海道大学大学院地球環境科学研究院、早稲田大学ナノ理工学研究機構]

② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

高効率処理を実現するために、優占的かつ安定的に維持すべき微生物群として、有機性廃棄物処理用のメタン菌（古細菌）や嫌気性の有機塩素化合物分解菌などの嫌気性分解微生物群の候補の集積を完了した。これら嫌気性菌の有機物の負荷の影響や獲得した微生物の組み合わせの効果、安全性など特性評価にも着手した。

また “微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術の開発/アナモックス細菌のゲノム解析による増殖因子などの有用遺伝子の特定・検証試験” の加速化予算を執行し、新規な嫌気性アンモニア酸化菌 (ANAMMOX) アナモックス細菌の増殖研究を推進した。また、有用微生物の特性に応じ炭素繊維通電担体等の各種担体利用の検討により、有機性廃棄物の分解速度の向上や有用微生物単独で分解困難な有機性廃棄物の分解等に寄与するような材質・形状の傾向を見出し、特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術開発の目途を得た。

[実施体制：電力中央研究所（共同実施：東京大学）、名古屋大学エコトピア科学研究所（再委託：基礎地盤コンサルタンツ）、北海道大学工学研究科、北海道大学大学院地球環境科学研究院、早稲田大学ナノ理工学研究機構]

4. 2 実績推移

	Fy19年度	Fy20年度	Fy 21年度	Fy 22年度	Fy 23年度	合計
実績額推移 需給勘定(百万円)	188	192				380
特許出願件数	1	5				6
論文発表数	6	9				15
フォーラム等(件)	28	52				80

予算実績額；加速予算も含む。

5. 事業内容

高知工業高等専門学校 藤田 正憲 校長（大阪大学名誉教授）をプロジェクトリーダーとし、以下の研究開発を実施する。実施体制については、別紙を参照のこと。

5. 1 平成21年度（委託）事業内容

省エネルギー効果が大きく高効率の廃水・廃棄物等処理を目指し、微生物群の構成や配置等を人為的に制御する技術等を開発するため、以下の技術開発を行う。

- ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

下記研究開発テーマ：1）、2）、3）、4）及び7）、8）、9）が該当する。

- ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

下記研究開発テーマ：5）、6）及び7）、8）、9）が該当する。

- 1) 内生呼吸低減菌等の有用微生物群による高効率好気水処理技術の研究開発

平成20年度加速研究費で中央大学の安全設備が充実し、これによりさらに菌の分離を加速させた。広範囲の廃水に適用できる菌を探索するために、①高分子化合物に対して広い基質特異性を持つとともに分解能力が優れ、②活性汚泥中での適用が可能で（すなわち活性汚泥中で優先種であり）、かつ、③内生呼吸が低い菌の分離を試みる。トレーサを用い内生呼吸低減量を測定し、メカニズムを解明する。同時に、平成20年度末の加速研究費で購入したDO制御反応装置を用いて酸素収支を解析し、内生呼吸低減量を明確にする。平成20年度コンタミ防止策として「担体のアルカリ処理法」を提案し、安定性を確認した。このアルカリ処理での長期安定性や経済性を評価検討し、内生呼吸低減菌の固定化担体を処理運転のイニシャルコストおよびランニングコストの点から評価し、平成22年度での実廃水試験実施を目指す。

[実施体制：株式会社日立プラントテクノロジー（再委託：中央大学）]

- 2) 厨房廃水処理用油脂分解バイオフィームの高機能化・安定化のための微生物製剤導入技術の研究開発

平成19～20年度にかけ単離した共生関係にある油脂分解微生物2種の混合培養によって、油脂分解を飛躍的に加速させる技術を開発した。このことは研究室レベルだけではなく、グリーストラップ環境下においても確認できた。加えて、rDNAを標的としたDGGE解析により、上記2種微生物が実際のグリーストラップ内に定着していることを確認した。上述の成果は、本課題の目標である、高油脂分解微生物の単離と、その微生物を環境下に定着させ、更にその動向を追跡する技術の開発をほぼ達成したことを示すものである。しかしながら、気温の下がる冬季においては、まだ解決すべき課題が存在する。グリーストラップへ微生物製剤を投入することにより、廃油脂の加水分解を進行させることに成功したものの、その加水分解産物である脂肪酸のうち、比較的低融点であるパルミチン酸などが凝固物として蓄積された。この凝固物の分解反応性は極めて遅く、これをグリーストラップ内に蓄積させずに消滅させることが新たな課題として浮かび上がった。平成21年度は、上述の新規課題を解決することに重点をおき、2種微生物の共存系および油脂分解活性を阻害せずに、蓄積産物パルミチン酸やオレイン酸を優先的に資化する微生物と、脂肪酸を可溶化する効果の高いバイオサーファクタント生産する微生物を単離し、これらを含む混合微生物製剤の開発を目指す。それと並行して、分子生物学的手法の導入により、個々の微生物を標的とした簡便な検出方法を開発する。また、微生物製剤の凍結乾燥技術により、半年間以上活性を維持することを目指す。

[実施体制：名古屋工業大学大学院工学研究科（共同実施：愛知県産業技術研究所）]

- 3) 高濃度微生物保持DHSリアクターによる溶存メタン・亜酸化窒素温室効果ガスの処理およびリン回収技術の開発

下記3項目について実施する。

- a. 溶存メタンの大気放散を防ぐラボスケールの密閉型DHSリアクターを用い、酢酸含有模擬

処理水に対して、溶存メタンの除去特性を調べる。

b.  $N_2O$ ガス生物分解においては、好気又は嫌気下で分解する回分培養汚泥の微生物群集解析を行い、密閉型DHSリアクターによる $N_2O$ ガスの分解特性を把握する。

c. リン回収においては、チューブリアクターで最適であった嫌気・好気時間でのサンプル汚泥の菌叢解析を行い、またリン回収DHSリアクターによるリン回収特性を調べる。

[実施体制：広島大学大学院工学研究科]

#### 4) 有用石油分解菌*Cycloclasticus*のデザイン化に関する研究開発

平成20年度の検討において、ショットガンプロテオームの高効率化およびS-2 EPSの改変が完了したことにより、これらを用いて下記より詳細な検討を加える。

a. 基質分解のための各種補助因子の獲得では、S-2 EPSおよび還元S-2 EPSを用いて鉄イオンとの親和性を検討し、さらに、それらが同菌の生育、PAHsの分解に与える影響を検討する。また、ショットガンプロテオームなどにより鉄の取り込みに関与するタンパク質を検討する。

b. 基質への吸着と安定した生育の場の確保では、S-2 EPSおよび還元S-2 EPSを用いて複合培養系における同菌の優占化およびPAHsとの相互作用をPCR-DGGE、ショットガンプロテオームなどにより検討する。

上記検討により、平成22年度から開始する安定・維持技術の開発(デザイン化するために必要なEPSの代替手段の開発)に必要な情報、すなわち、EPS分子内のカルボキシル基が*Cycloclasticus*に与える影響の理解を目指す。

[実施体制：日本大学生物資源科学部]

#### 5) デザイン化微生物群を用いた高効率固定床メタン発酵の研究開発

平成20年度に作成したデザイン化微生物群担体を用いて、種々の電位でメタン発酵槽の通電培養を行い、廃棄物の分解とメタン生成の観点からメタン発酵槽の性能について評価する。また、対象物を変えて溶液系で通電培養を行い、種々の電位が基質の分解とメタン生成に及ぼす影響を検討する。通電時の微生物群集については、TRFLP法により解析を行い、通電が微生物群集構造に及ぼす影響を明らかにする。

[実施体制：電力中央研究所（共同実施：東京大学）]

#### 6) 嫌気性微生物群のデザイン化による芳香族塩素化合物の嫌気性完全分解技術の開発

比較的水溶性の芳香族塩素化合物を対象に、平成20年度までに得られた還元的脱塩素微生物群と嫌氣的酸化分解微生物群を共存させる反応系を、多孔性無機資材を用いてデザイン化し、嫌氣的な一次元流動場での芳香族塩素化合物の完全分解・無害化を達成する。この反応速度を高める多孔性無機資材の特性および微生物養分を検討する。また、その現象を説明するシミュレーションモデルを作成する。疎水性の高い芳香族塩素化合物を対象にした場合の反応系を構築するための微生物群を集積する。

[実施体制：名古屋大学エコトピア科学研究所（再委託：基礎地盤コンサルタンツ）]

#### 7) 嫌気性アンモニア酸化(ANAMMOX)プロセスを軸とした高効率窒素除去システムの開発

部分硝化リアクターとANAMMOXリアクターの個々の最大窒素除去速度、最適DO濃度を検討し、部分硝化—ANAMMOX並列型リアクターの最適化を図る。ANAMMOXグラニュールリアクターを構築し、ANAMMOX活性に及ぼす阻害物質の影響を検討する。各種分子生物学的手法およびマイクロセンサーを用いて、DOや運転因子がANAMMOX細菌群集構造に与える影響を解析する。平成20年度に解析されるANAMMOX細菌のメタゲノム解析の結果(ドラフト配列データ)を解

析し、ANAMMOX リアクターの効率化・安定化を図る。

[実施体制：北海道大学工学研究科]

8) バイオフィルム工学による微生物のデザイン化の研究開発

アンモニア酸化細菌と正あるいは負の相互作用をもつ細菌を活性汚泥から取得し、その作用に係る機能分子について解析する。アンモニア酸化細菌バイオフィルムの観察を行う。ANAMMOX 菌の膜表層に高発現しているタンパク質を特定しその遺伝子を取得する。炭化水素類など環境水廃棄物分解細菌のスクリーニングとそのバイオフィルム化および水生植物根への付着による処理技術の効率化を実証する。またその効率化の機構について遺伝子レベルで解析する。

[実施体制：北海道大学大学院地球環境科学研究院]

9) システム論的アプローチによる微生物コミュニティデザインの研究開発

平成20年度に構築した2種類のモデル、すなわち①リアクタースケールで形成初期段階にあるグラニュールの成長・流出・個数・活性などを表現したモデル（マクロモデル）および、②微生物の増殖・死滅等に加え微生物間の相互作用やグラニュール内での複数の微生物種の空間分布を考慮したモデル（マイクロモデル）の実際的な応用を見据えたブラッシュアップを行う。さらに、これら2種類のモデルを結合させた統合モデルを構築する。また平成20年度に構築した微生物グラニュールによる窒素・リン同時除去型リアクター（実験室スケール）を用いて、様々な条件における排水処理能力および形成グラニュール内微生物生態構造等の実験データを蓄積する。そしてモデルデータと実験データの比較解析を行い、モデルの精度を高めていく。

[実施体制：早稲田大学ナノ理工学研究機構]

5. 2 平成21年度事業規模

委託事業

需給勘定 114百万円（継続）

（注）事業規模については、変動があり得る。

6. その他の重要事項

6. 1 評価の方法

NEDO 技術開発機構は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成21年6月に実施する。

6. 2 運営・管理

研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルを最大限に活用して効率的に研究開発を推進する観点から、研究体制には、研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を置き、その下に研究者を可能な限り結集して効果的な研究開発を実施する。

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省、プロジェクトリーダー及び実施者の責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、研究開発

検討会議を年2回程度実施し、運営管理に反映させる。

6. 3 複数年度契約の実施

平成19～21年度の複数年度契約を行う。

7. スケジュール

7. 1 本年度のスケジュール

平成21年6月下旬・・・中間評価分科会開催

11月下旬・・・第4回研究開発検討会議開催

平成22年2月中旬・・・第5回研究開発検討会議開催（次年度研究計画検討会）

8. 実施方針の改定履歴

(1) 3月5日、制定

(別紙) 本事業の実施体制図

「微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発」実施体制

