

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H04386

研究課題名（和文）乳酸発酵および光合成微生物による小規模地域内の資源・エネルギー循環の促進

研究課題名（英文）Regional resource and energy circulation by lactate fermentation and photosynthetic bacteria

研究代表者

日高 平（Hidaka, Taira）

京都大学・工学研究科・准教授

研究者番号：30346093

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：浄化槽汚泥や生ごみなどの有機性廃棄物は、エネルギー化・肥料化に活用しうるバイオマス資源である。拠点となる施設での集約メタン発酵を核として、バイオガス回収・メタン発酵汚泥の直接肥料利用などを組み合わせることで、地域内の資源・エネルギー循環が促進される。その中で新たな微生物活用手法として、乳酸発酵を活用した浄化槽汚泥と生ごみの回収一体化、および光合成微生物によるメタン発酵汚泥の肥料価値向上について、現場調査および実験室規模の実験を行いながら、その実現に向けた微生物反応の基礎的特性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活排水汚泥からのエネルギー回収の促進に向けて、乳酸発酵条件を活用する浄化槽汚泥および模擬生ごみの貯蔵実験により、メタン発酵によるエネルギー回収効率が向上することが示された。メタン発酵汚泥の肥料利用の促進に向けて、光合成微生物をメタン発酵汚泥に含まれる栄養塩を用いて培養できることや有機物が生産されることが、微生物の増殖特性のモデル化や遺伝子解析を含めて示された。地域で発生する排水・廃棄物に含まれる資源・エネルギーの循環を促進する新たな技術が提示され、脱炭素社会の構築に向けた技術につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：Organic wastes such as septic sludge and kitchen garbage are biomass resources that can be utilized as energy and fertilizer sources. The combination of biogas recovery by co-digestion and direct utilization of methane fermentation sludge as fertilizer can promote the circulation of energy and nutrient resources within the region. As novel methods of utilizing microorganisms, simultaneous collection of septic sludge and kitchen garbage using lactic acid fermentation and the improvement of the fertilizer value of methane fermentation sludge using photosynthetic microorganisms are proposed. Field surveys and laboratory-scale experiments are conducted to clarify the basic characteristics of these microbial reactions.

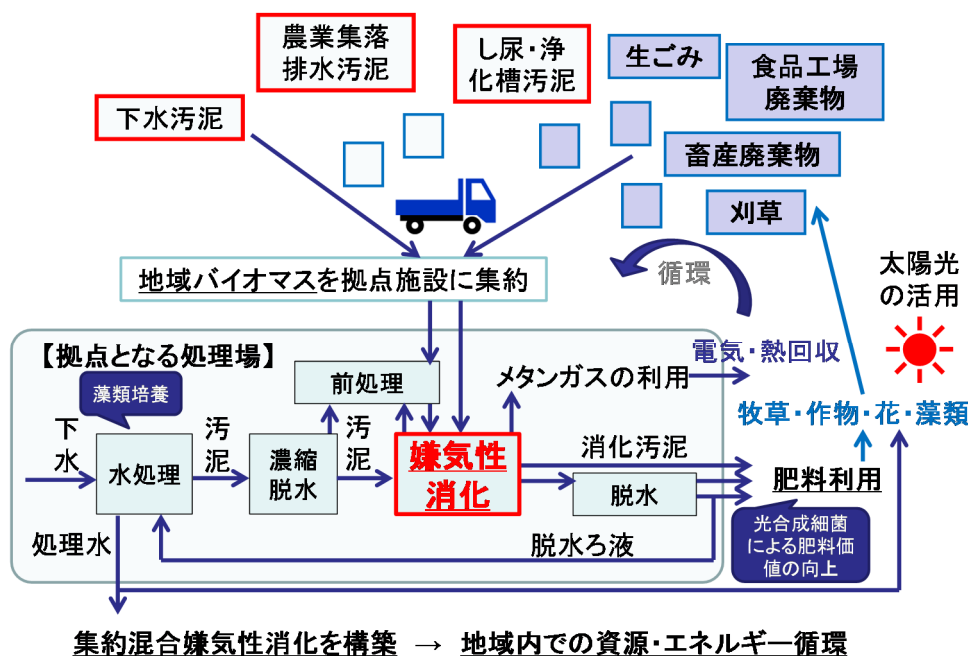
研究分野：環境工学

キーワード：メタン発酵 バイオマス 浄化槽汚泥 生ごみ 光照射培養 栽培試験 バイオガス 下水汚泥

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活排水汚泥は、地域内におけるエネルギー化・肥料化が推進されているバイオマス資源のひとつである。都市部の下水汚泥の多くはこれまで焼却・埋め立てなどにより処分されていたものの、今後の人口減少に伴い生じる下水処理場の余裕能力を活用し、生ごみなども含めた地域バイオマスを集約する取り組みが導入されつつある。オキシデーションディッチ法を用いている規模の小さな下水処理場や、各家庭に設置されている浄化槽から発生する汚泥も、拠点となる施設の嫌気性消化槽に集約することで、効率的なエネルギー・資源利用が可能になるとともに、地域の資源循環を生み出し、電力・農業分野などとの連携による地域活性化が期待される(図1)。



集約混合嫌気性消化を構築 → 地域内での資源・エネルギー循環

図1 嫌気性消化槽を核とした地域の資源エネルギー循環の例

家庭排水を処理する合併処理浄化槽では、年1回の汚泥引抜きが義務づけられている。汚泥再生処理センターでメタン発酵によりエネルギー回収されている例があるものの、1年間貯留されていた汚泥は腐敗が進んでおり、実質的にはメタンへ転換されうる有機物分がほとんど残存していない。また家庭生ごみは週2回程度収集され焼却処分される例が多いものの、含水率が高く焼却ではエネルギーロスが大きい。より含水率が高い排水処理汚泥とあわせて、気体としてエネルギー源を分離回収できるメタン発酵による対応が望ましい。台所にディスポーザーを導入し、破碎生ごみを分別して適切に収集すれば、そのままメタン発酵を適用しやすい。浄化槽汚泥の回収と一体化できれば、従来型の生ごみ収集が不要となり生活環境向上につながる。本研究では、浄化槽普及地域に着目し、ディスポーザー破碎生ごみを浄化槽に貯留し、破碎生ごみと浄化槽汚泥の回収の一体化を提案する。引抜き頻度は1~3ヶ月毎程度が想定されるものの、生ごみを浄化槽内に貯留して回収するには腐敗による悪臭の発生やエネルギー価値の減少が課題となる。そこで破碎生ごみの乳酸発酵により腐敗を防止しながら、浄化槽内に貯留し、浄化槽汚泥の回収と一体化して、メタン発酵に供することを試みることにした。

生活排水汚泥は成分のおよび量的に肥料原料としての利用価値が高い。農地で活用した後、農業系の廃棄物が再び嫌気性消化槽に戻ることで、地域内での資源循環が実現する。ただし、嫌気性消化汚泥の肥料利用の事例は限られている。排水・廃棄物由来の肥料は市民に認識されつつあるものの、汚泥由来の農作物への心理的抵抗感も尠めず、コンポスト化の廃止、回収リン結晶の廃棄、府県外の遠方での肥料化など、適切な地域内循環とは言えない現場の事例も多い。メタン発酵汚泥を近隣農地で直接液肥として利用すれば、エネルギー利用と肥料資源利用が同時に達成される。メタン発酵汚泥の肥料価値を高めることで、積極的な肥料利用の拡大につながると考えられる。本研究では、肥料としての高品質化に向けて光合成微生物(藻類と異なり酸素を発生しない紅色非硫黄細菌など)の活用を試みることにした。

2. 研究の目的

地方の小規模施設を対象に生活排水および廃棄物(生ごみなど)の個別処理システムの仕組みを抜本的に見直し、「集約メタン発酵を核としてバイオガス回収・メタン発酵汚泥の直接肥料利用などを組み合わせた地域内の資源・エネルギー循環システム」の実現を目指す。その導入促進のための新たな微生物活用手法として、乳酸発酵を活用した浄化槽汚泥と生ごみの回収一体化、および光合成微生物によるメタン発酵汚泥の肥料価値向上について、現場調査および実験室規

模の実験を行いながら基礎的特性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 乳酸発酵を活用した浄化槽汚泥と生ごみの回収一体化

回分式実験として、模擬生ごみの貯蔵実験として、乳酸菌の植種や貯蔵温度を変化させた条件を比較した。そして、貯蔵した生ごみの嫌気性消化実験を行った。次に、模擬生ごみの連続的に投入する貯蔵実験を、乳酸発酵と競合する反応を引き起こす恐れのある他の細菌源として浄化槽汚泥を添加する条件も含めて行い、乳酸発酵環境の安定性を検証した。

生ごみの乳酸発酵による浄化槽内貯留および前処理手法の開発に関連して、浄化槽内の微生物反応を管理する指標としての酸化還元電位(ORP)の意義について調査した。メタン発酵が進行する環境下ではORPが低くなるのに対して、好気条件下では酸化還元電位が高まる。本研究では、浄化槽内での貯留段階ではメタン生成を抑制することを想定しており、そのためのORPの指標としての意義を確認した。実験室規模の反応器に、ドッグフードおよび硝酸カリウムを、それぞれ生ごみを含む浄化槽汚泥および電子受容体である酸素の代替として投入する貯蔵実験を行った。

(2) 光合成微生物によるメタン発酵汚泥の肥料価値向上

光合成微生物の培養実験として、*Rhodospirillum* 属近縁種が優占している集積培養液を植種して、下水汚泥試料との混合培養を試み、肥料価値をコマツナ栽培試験で評価した。また、光合成微生物である紅色細菌の定量に用いられる *pufM* 遺伝子測定の適用性を、他の測定項目と比較しながら確認した。

人工培地や実際の下水由来試料を用いる培養実験を人工気象器内で行いながら、特に対数増殖相に着目して、実下水試料の性状や混在物質が比増殖速度に及ぼす影響を考察した。定期的に基質を交換する連続培養実験では、異なる基質濃度条件を設定した。そして、連続培養時の基質濃度および水理学的滞留時間の影響を考察するために、モデル式を構築した。

下水処理場での混合嫌気性消化汚泥の脱水分離液では、アンモニア性窒素濃度が通常 1~4 gN/L 程度であり、光合成微生物の増殖を阻害する懸念がある。そこで、アンモニア性窒素濃度が光合成微生物の増殖および高付加価値物質生成に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、人工培地および実下水試料での培養実験を行った。

4. 研究成果

(1) 乳酸発酵を活用した浄化槽汚泥と生ごみの回収一体化

非滅菌模擬生ごみに対して乳酸菌の植種を行わない場合は、酢酸、酪酸などの有機酸に加えて、バイオガスの発生が確認され、乳酸発酵が安定しなかった(図2)。嫌気性消化実験では、それに応じてバイオガス発生率が2割程度まで低下する場合があった。事前に模擬生ごみ由来の乳酸菌を培養して、貯蔵実験開始時に植種した場合、貯蔵温度 13~30 および貯蔵期間 1~4 週間で、乳酸発酵を安定させることができた。嫌気性消化実験では、それに応じてバイオガス発生率を8割程度以上維持することができた。生ごみ貯蔵時に進行する乳酸発酵により、有機物の分解が抑制され、バイオガス生成ポテンシャルの低下が抑制されることが示された。

連続投入実験では、反応器内のpHが3.5前後に低下し、微生物による固形性有機物の分解が抑制された。生成された有機酸として乳酸が大半を占めており、酢酸はわずかであった。これより、乳酸発酵と競合して有機物の分解を引き起こす懸念のある浄化槽内の他の細菌源と競合しても、安定して乳酸発酵環境が維持されていたと考えられた。嫌気性消化実験にて、溶解性成分を除いた乳酸発酵後の模擬生ごみからのバイオガス発生量は、乳酸発酵前の模擬生ごみからの量に対して8割程度以上であった。

ORP についての実験では、ORP が -350 ~ -450 mV 程度でメタン生成が抑制されることが示された(図3)。これより、ORP は浄化槽におけるメタン生成状況を把握するためのモニタリング指標として活用できることが示された。

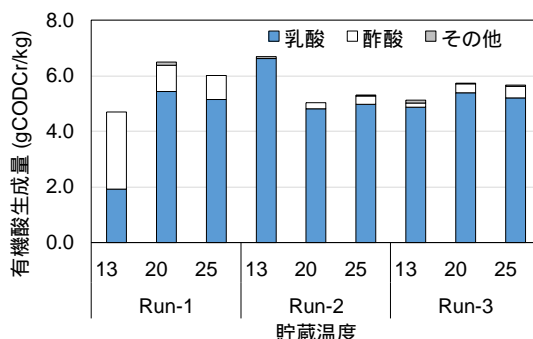


図2 貯蔵実験における有機酸生成結果の例

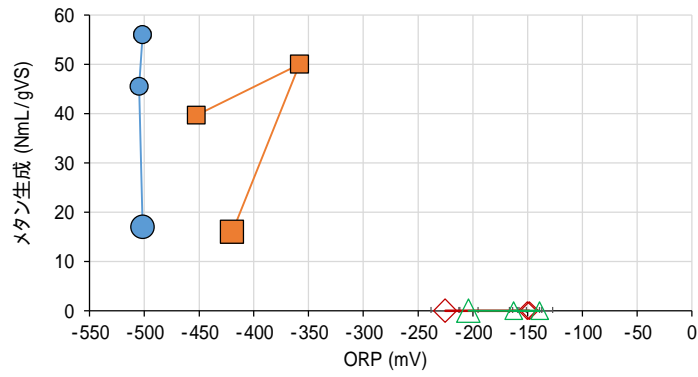


図3 貯蔵実験における ORP 変化とメタン生成の関係例

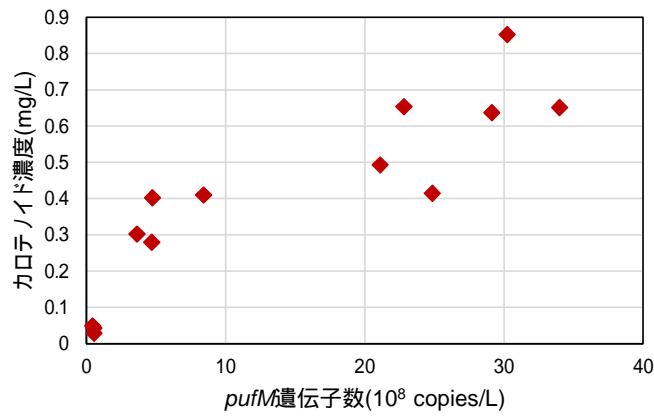


図4 *pufM* 遺伝子数とカロテノイドの関係

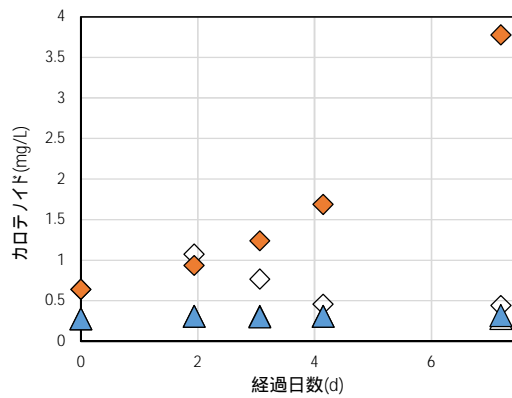


図5 混合消化脱離液を基質とした培養によるカロテノイドの経日変化例

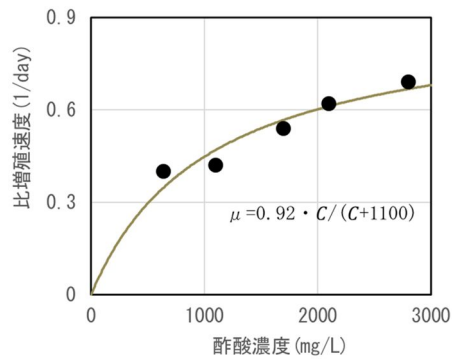


図6 酢酸濃度と比増殖速度の関係

(2) 光合成微生物によるメタン発酵汚泥の肥料価値向上
 菌叢解析による *Rhodospirillaceae* 科の構成率 (%) と真正細菌遺伝子数に対する *pufM* 遺伝子

数の関係を比較したところ、両者の間の関係は概ね一定であった。また *pufM* 遺伝子数とカロテノイドの測定結果が関連していた(図4)。下水汚泥試料との混合培養における *Rhodospirillaceae* 科の光照射条件下での挙動は、*pufM* 遺伝子数やカロテノイドの分析で把握可能であると考えられた(図5)。

基質である酢酸濃度と比増殖速度の関係を解析したところ、酢酸濃度に関する半飽和定数は 1.1 g/L であった(図6)。求めた値を当てはめたモデル計算により(図7) 光合成微生物の増殖に関する実験結果を概ね再現でき、安定した増殖には水理学的滞留時間 4.7 日以上が必要であることが示された。

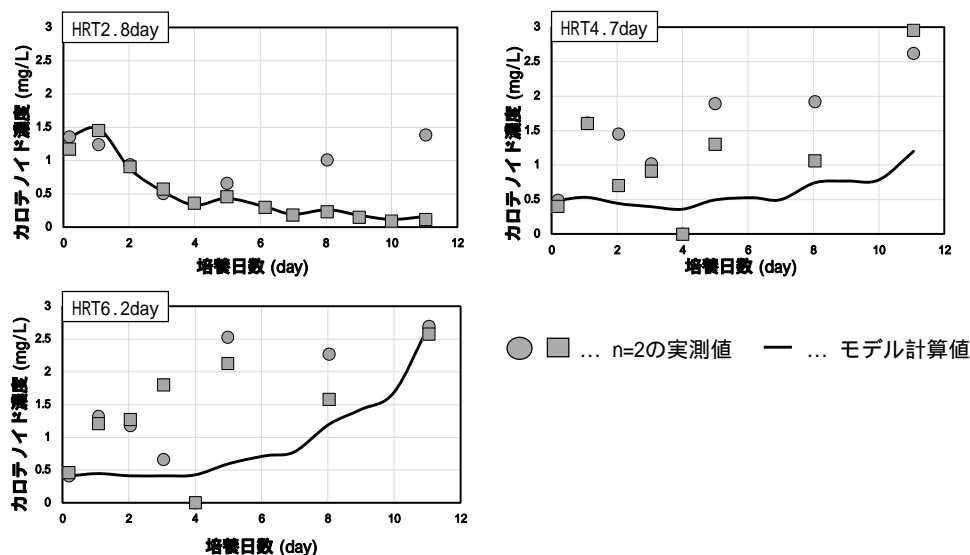


図7 モデル式での増殖予測例

人工培地を用いた実験にてアンモニア性窒素濃度が比増殖速度に及ぼす影響を解析した結果、阻害濃度を表す定数は 0.7~1.6 gN/L 程度であった(図8)。実下水試料を用いた実験にて、光合成微生物の増殖に対応して高付加価値物質であるカロテノイド濃度の増加が、アンモニア性窒素濃度 2.0 gN/L 程度で確認された。培養後にカロテノイド濃度は 0.66 ± 0.01 mg/L 程度であった。これらの結果より、下水処理場での脱水分離液を用いた光合成微生物の培養による高付加価値液肥の生産が可能であると考えられた。

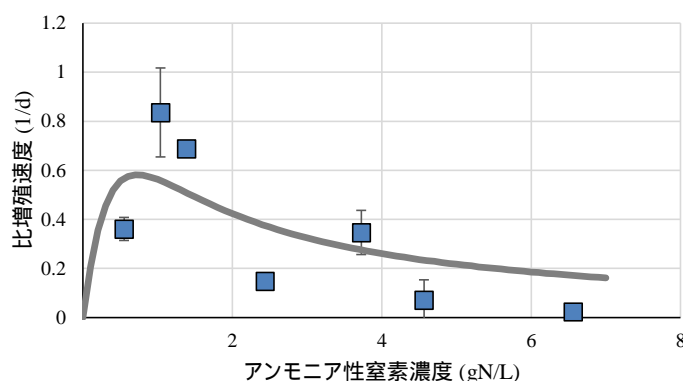


図8 アンモニア性窒素濃度が光合成微生物の比増殖速度に及ぼす影響

嫌気性消化脱水分離液に、最初のみ集積培養液を添加して光照射培養を継続した場合、集積培養液を添加しない場合と比較して、栽培試験では、新鮮重量、葉緑素含量およびカロテノイド含有量で有意に高い値が得られた。一方嫌気性消化汚泥に対して同様の比較を行ったところ、有意な差は見られなかった。嫌気性消化脱水分離液への光照射培養による肥料価値の向上の可能性が考えられた。また、農地に施用された汚泥の有機物形態の評価のため、土壌からのリン酸緩衝液抽出や加温抽出などの方法論の検討を行った。

(3) まとめ

これらの結果より、生活排水および廃棄物を対象とした集約メタン発酵を核としてバイオガス回収・メタン発酵汚泥の直接肥料利用などを組み合わせた地域内の資源・エネルギー循環システムの実現に向けた基礎的知見が得られた。今後地域毎に異なる実排水・廃棄物の性状に応じた設計操作因子として一般化することが課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 KAWABATA Ryota, HIDAKA Taira, NOMURA Youhei, FUJIWARA Taku	4. 巻 79
2. 論文標題 廃水中での光合成細菌培養による高付加価値物質生産に及ぼすアンモニアの影響	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of JSCE	6. 最初と最後の頁 23-25033
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2208/jscej.23-25033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Horikoshi Shoichiro, Hidaka Taira, Nishimura Fumitake, Kishimoto Naoyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Development of separation and recovery technology of cultured <i>Euglena gracilis</i> using activated sludge for anaerobic digestion	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioresource Technology Reports	6. 最初と最後の頁 101790 ~ 101790
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biteb.2024.101790	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hidaka Taira, Nakamura Masato, Oritate Fumiko, Nishimura Fumitake	4. 巻 307
2. 論文標題 Comparative anaerobic digestion of sewage sludge at different temperatures with and without heat pre-treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 135808 ~ 135808
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2022.135808	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hidaka Taira, Suzuki Satoshi, Nishimura Fumitake	4. 巻 13
2. 論文標題 Growth Characteristics of Photosynthetic Bacteria Cultured in Anaerobic Digestate of Sewage Sludge to be Used as Fertilizer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Waste and Biomass Valorization	6. 最初と最後の頁 1579 ~ 1588
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12649-021-01598-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 玉置 将吾, 日高 平, 西村 文武	4. 巻 76
2. 論文標題 メタン発酵を目的とした破碎生ごみの浄化槽における乳酸発酵貯蔵技術の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 111_491-111_501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/jscej.76.7_111_491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木 慧, 日高 平, 佐野 修司, 吉田 弦, 西村 文武	4. 巻 44
2. 論文標題 肥料価値向上を目的とした下水汚泥の嫌気性消化脱水分離液の光照射培養	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 27-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2965/jswe.44.27	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shogo Tamaki, Taira Hidaka, Fumitake Nishimura	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of using lactic acid bacteria in the storage and subsequent anaerobic co-digestion of crushed kitchen garbage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioresource Technology Reports	6. 最初と最後の頁 100640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biteb.2021.100640	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Taira HIDAKA
2. 発表標題 Regional Resource and Energy Circulation by Anaerobic Digestion of Sewage Sludge: Current Status in Japan and Research Challenges
3. 学会等名 2023 International Symposium on Agricultural Net-Zero Carbon Technology and Management Innovation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 日高平, 西村文武
2. 発表標題 光合成細菌を含む下水の嫌気性消化汚泥の微生物解析
3. 学会等名 第26回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 AA Tiareti, M Matsumura, T Hidaka, F Nishimura, Y Nomura, T Fujiwara
2. 発表標題 Effect of oxidation reduction potential on methane emission from anaerobic septic systems
3. 学会等名 11th IWA International Symposium on Waste Management Problems in Agro Industry, Gdask, Poland (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Areke Alexander TIARETI, Megumi MATSUMURA, Taira HIDAKA, Fumitake NISHIMURA, Yohei NOMURA, Taku FUJIWARA
2. 発表標題 Evaluation of Oxidation Reduction Potential for the Mitigation of Methane Emissions from Septic Systems
3. 学会等名 The Water and Environment Technology Conference Online 2022 (WET2022-online) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日高平, 西村文武, 中村真人, 折立文子
2. 発表標題 熱処理を組み合わせた下水汚泥の無加温嫌気性消化特性
3. 学会等名 第24回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taira Hidaka, Masato Nakamura, Fumiko Oritate, Fumitake Nishimura
2. 発表標題 Comparative anaerobic digestion of sewage sludge at different temperatures with or without heat pretreatment
3. 学会等名 The 14th Annual Conference on the Challenges in Environmental Science and Engineering (CESE-2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川端涼太, 日高平, 西村文武
2. 発表標題 廃水中での光合成細菌の増殖特性に及ぼす基質濃度の影響
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松村萌実, 日高平, 西村文武
2. 発表標題 乳酸発酵を利用した破砕生ごみの貯蔵における生活廃水中のセルロースの分解特性
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taira Hidaka, Taketo Togari, Masato Nakamura, Masaru Yamaoka, Gen Yoshida, Shuji Sano
2. 発表標題 Regional Resource and Energy Circulation By Anaerobic Digestion of Organic Wastes with Lactic Acid and Photosynthetic Bacteria
3. 学会等名 2nd Sustainable Waste Management Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taira Hidaka
2. 発表標題 Regional Resource and Energy Circulation by Anaerobic Co-digestion of Wastewater Sludge and Organic Wastes
3. 学会等名 Kyoto University International ONLINE Symposium 2020 on Education and Research in Global Environmental Studies in Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>微生物で小規模地域内での循環、捨てるものを無くしたい。 https://seeds.t.kyoto-u.ac.jp/seeds/hidaka/</p>

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
研究分担者	戸苅 丈仁 (Togari Taketo) (60803830)	公立鳥取環境大学・環境学部・准教授 (25101)	
研究分担者	中村 真人 (Nakamura Masato) (60414463)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農村工 学研究部門・上級研究員 (82111)	
研究分担者	山岡 賢 (Yamaoka Masaru) (70373222)	琉球大学・農学部・教授 (18001)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	吉田 弦 (Yoshida Gen) (60729789)	神戸大学・農学研究科・助教 (14501)	
研究分担者	佐野 修司 (Sano Shuji) (00443523)	摂南大学・農学部・准教授 (34428)	

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