

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：23303

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17909

研究課題名(和文)牛ルーメン微生物共生機構の解明に基づく難分解性バイオマスのメタン発酵の実現

研究課題名(英文)Methane Fermentation of Persistent Biomass Based on Elucidation of Rumen Microbial Symbiosis Mechanism

研究代表者

馬場 保徳 (Yasunori, Baba)

石川県立大学・生物資源環境学部・講師

研究者番号：70747823

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文): 私たちは、牛第一胃(ルーメン)液のリグノセルロース分解菌を用いて、植物バイオマスを可溶化したのち、メタン発酵に供することで、メタン発酵効率を向上させてきた。しかし、ルーメン液のリグノセルロース分解菌は、牛体外へ出されると、リグノセルロース分解能を著しく低下させる。ルーメン微生物を用いたメタン発酵法を実用化するためには、リグノセルロース分解性ルーメン微生物が、牛体外の環境(リアクター内)でも増殖や酵素生産を維持する条件の確立が必要である。私たちは、培養条件を最適化し、一年以上にわたり、リアクター内でセルラーゼの生産に成功した。現在その作用機序について、解明を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2013年に私たちが論文投稿(Bioresource Technology 128: 94-99)して以来、世界中で牛ルーメン微生物を用いたメタン発酵前処理に関する研究が行われ始めた。しかし、これまでに、ルーメン微生物の連続培養に成功し、実用化した事例は私たちの知る限りない。本研究は、一年以上にわたり、セルラーゼ活性を維持したままルーメン微生物の連続培養に成功した。さらに、パイロットプラントを、スーパーマーケットに設置し、世界ではじめて実証試験を開始した。本研究は、これまでメタン発酵困難であった植物系バイオマスを利用可能にするとともに、震災時には雑草発電により地域のエネルギー自給にも資する。

研究成果の概要(英文): We have improved the efficiency of methane fermentation by using lignocellulolytic bacteria in bovine rumen fluid to solubilize plant biomass, which is then used for methane fermentation. However, lignocellulolytic bacteria in rumen fluid significantly reduce lignocellulose degradation once they are released outside the cattle body. In order to put the methane fermentation method using rumen microbes into practical use, it is necessary to establish conditions under which lignocellulolytic rumen microbes can maintain growth and enzyme production even in an environment outside the cattle body (inside the reactor). We have optimized the culture conditions and successfully produced cellulases in the reactor for more than one year.

研究分野：環境微生物

キーワード：ルーメン微生物 リグノセルロース 酵素活性 リアルタイムPCR RNA-seq

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リグノセルロースは、地球上の炭素源として最も大量に存在する天然高分子であり、エネルギー化合物（メタン）への変換は、人類が実用化を求める最重要課題の一つである。しかし、リグニンおよびセルロースは、メタン発酵において難分解であり、有効な前処理法が求められている。従来、アルカリ法 (Lin et al., 2009)、マイクロ波法 (Jackowiak et al., 2011) などが試みられてきたが、廃液処理や電気エネルギーのコスト面から実用化に至っていない。そこで申請者らは、と畜場の廃棄物であり、リグノセルロース分解微生物を豊富に含む牛のルーメン（第一胃）内容物に着目し、メタン発酵前処理法を開発してきた（図1）。しかし、これらルーメン処理のリグノセルロース分解酵素は、処理開始24時間ほどでその活性を失うため、新鮮なルーメン液を添加し続けなければならない問題があった。現状のままでは、と畜場から離れた場所では実用化できないことに加え、莫大なバイオマス賦存量に対してルーメン液の絶対量が足りない。よって、連続使用できる技術開発が必要である

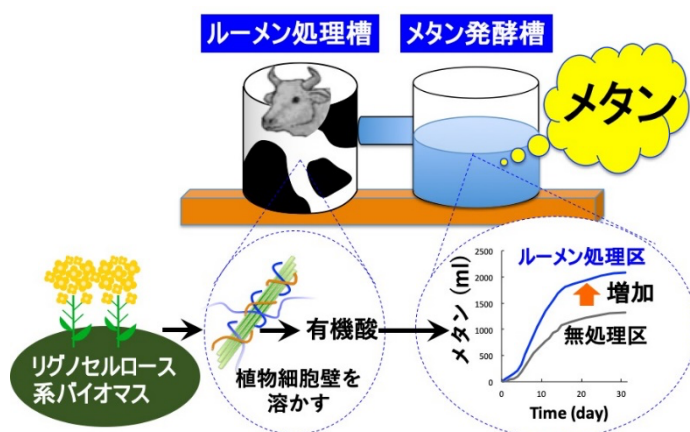


図1 ルーメンハイブリッド型メタン発酵システム
(牛ルーメン液の入ったルーメン処理槽を、
メタン発酵槽に接続した新規メタン発酵システム)

2. 研究の目的

ルーメン液（ルーメン微生物）を、牛の体内から取り出し、人工的なリアクター内にうつしても、リグノセルロース分解酵素の生産能を維持した連続培養を可能にすること。

3. 研究の方法

条件検討を繰り返し、連続培養が達成される条件を見出す。この培養液に対し、リグノセルロース分解酵素活性が発現されるメカニズムを代謝産物、酵素生産、および遺伝子発現の面から明らかにする。これによりルーメン処理の安定した連続運転を確立し、高効率メタン発酵システムを構築する。

4. 研究成果

2013年に私たちが論文投稿 (Bioresource Technology 128. 94-99) して以来、世界中で牛ルーメン微生物を用いたメタン発酵前処理に関する研究が行われ始めた。しかし、これまでに、ルーメン微生物の連続培養に成功し、実用化した事例は私たちの知る限りない。本研究では、一年以上にわたり、セルラーゼ活性を維持したままルーメン微生物の連続培養に成功した。この機序を明らかにするために、qPCRとメタトランスクリプトーム解析を実施した。現在、RNA配列データを得て、データ解析を実施している（特許および事業化を想定しているため詳細データを省略）。

これまでのラボ試験では、単一の草本類を用いてルーメン微生物による可溶化処理およびメタン発酵をしてきた。しかし、実用化時には、スーパーマーケットから廃棄される野菜クズ等が原料の候補になる。このような野菜クズは、日により組成が変動するため、ルーメン微生物の増殖が不安定化し、セルロース分解能（野菜クズ分解能）への影響が懸念される。そのため、このような状況でも、ルーメン微生物処理は有効であるか明らかにするため、パイロットプラントをスーパーマーケットに設置し、実際の野菜クズを用いた実証試験を開始した（図2）。図2に示したように、ルーメン微生物が入っているリアクターをGEPソリューションと名づけた。

実証試験開始 1 ヶ月間のメタン生産量を図3に、酵素活性を図4に示す。pHは安定し、メタンガスは生産され続けている。まだ安定していないものの、ルーメン微生物が培養されているGEPソリューション内の発酵液からは約8 unit/Lのセルラーゼ活性が検出された。一方で、メタン発酵槽のセルラーゼ活性は0 unit/Lであった。すなわち、メタン発酵槽ではほとんどセルロースは分解されず、GEPソリューション内においてセルロースが分解されていることが示唆された。

以上に記したようなパイロットプラントを用いたルーメンハイブリッド型メタン発酵装置の実証試験は、わたしたちのグループが世界に先駆けて実施した。本研究が実用化されたあかつきには、これまでメタン発酵困難であった植物系バイオマス（農作物残さなど）が利用可能になる。また、震災時には雑草からメタン発電ができることで、地域のエネルギー自給に貢献する防災インフラが構築されるとともに、途上国の無電化地域に資する技術である。

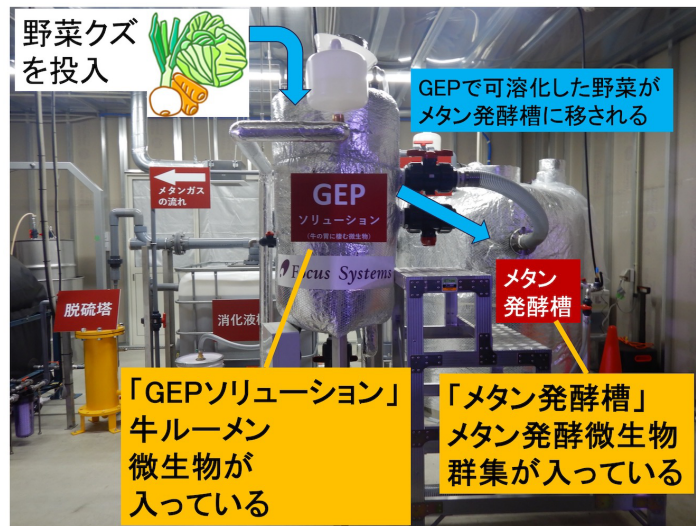


図2 スーパーマーケットに設置された実証装置

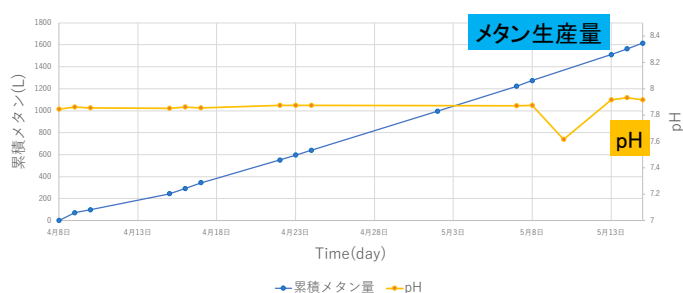


図3 実証装置におけるメタン生産量とpH

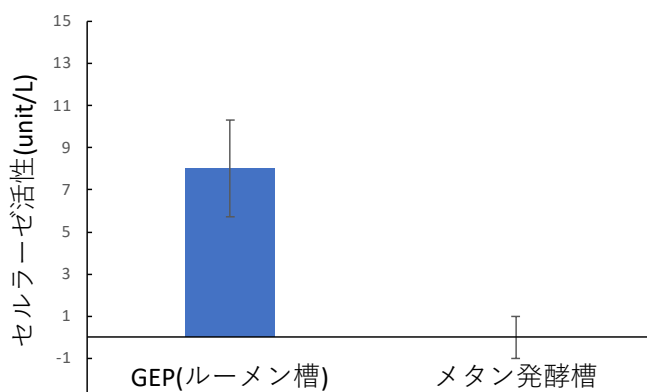


図4 GEP(ルーメン槽)とメタン発酵槽におけるセルラーゼ活性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Takizawa Shuhei, Asano Ryoki, Abe Kenichi, Fukuda Yasuhiro, Baba Yasunori, Sakurai Riku, Tada Chika, Nakai Yutaka	4. 巻 38
2. 論文標題 Relationship Between Rumen Microbial Composition and Fibrolytic Isozyme Activity During the Biodegradation of Rice Straw Powder Using Rumen Fluid	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 n/a ~ n/a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1264/jsme2.ME23041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Seiichiro, Yumioka Junya, Kachi Seishu, Baba Yasunori, Kawai Shigeyuki	4. 巻 17
2. 論文標題 Bacterial and fungal gut microbiota of supralittoral talitrid amphipods feeding on brown macroalgae and paper	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0279834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0279834	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 馬場保徳	4. 巻 18(9)
2. 論文標題 災害時にも平常時にも役立つ「牛ルーメン微生物を用いた雑草メタンガス発電」と「防災ビール」	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JST産学官連携ジャーナル	6. 最初と最後の頁 4-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyake Katsuhide, Baba Yasunori	4. 巻 192
2. 論文標題 De novo transcriptome assembly of the midgut glands of herbivorous land crabs, <i>Chiromantes haematocheir</i> , and identification of laccase genes involved in lignin degradation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Physiology B	6. 最初と最後の頁 247 ~ 261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00360-021-01424-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nomura Ryo, Tsuzuki Sho, Kojima Takaaki, Nagasawa Mao, Sato Yusuke, Uefune Masayoshi, Baba Yasunori, Hayashi Toshiya, Nakano Hideo, Kato Masashi, Shimizu Motoyuki	4. 巻 4
2. 論文標題 Administration of Aspergillus oryzae suppresses DSS-induced colitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Chemistry: Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 100063 ~ 100063
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fochms.2021.100063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takizawa Shuhei, Asano Ryoki, Fukuda Yasuhiro, Baba Yasunori, Tada Chika, Nakai Yutaka	4. 巻 0
2. 論文標題 Shifts in xylanases and the microbial community associated with xylan biodegradation during treatment with rumen fluid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbial Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1751-7915.13988	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takizawa Shuhei, Asano Ryoki, Fukuda Yasuhiro, Baba Yasunori, Tada Chika, Nakai Yutaka	4. 巻 92
2. 論文標題 Characteristics of various fibrolytic isozyme activities in the rumen microbial communities of Japanese Black and Holstein Friesian cattle under different conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 e13653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13653	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 立運転可能なルーメンハイブリッド型メタン発酵システムによる植物バイオマスからのエネルギー生産 - 平時には顧客の廃棄物処理コスト削減に貢献し、災害時には地域住民の防災拠点として機能する -
3. 学会等名 2023年度日本生物工学会中部支部例会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 ディーテックの集合体で考える災害マネジメント
3. 学会等名 リバネス超異分野学会東京大会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 眞田歩佳, 山中麻帆, 馬場保徳, 林英明, 平山琢二
2. 発表標題 ルーメン内メタン生成に与える市販褐藻飼料添加の影響
3. 学会等名 日本畜産学会第130回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 雑草や食品ゴミから都市ガスと電気を生み出す「牛の胃の微生物を使用した 再生可能メタン発酵システム」
3. 学会等名 超異分野学会豊橋フォーラム2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 雑草や食品ゴミから都市ガスと電気を生み出す「牛の胃の微生物を使用した再生可能メタン発酵システム」
3. 学会等名 石川テックプラングランプリ（主催：株式会社リバネス）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 雑草や食品ごみから都市ガスと電気を生み出す『再生可能メタン発酵システム』
3. 学会等名 金沢市先端ものづくり技術交流セミナー（主催：金沢市）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳 他
2. 発表標題 新・エネルギー地産地消システムを構想する（パネルディスカッション）
3. 学会等名 超異分野学会 北海道フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 植物系残さを分解する小規模型メタン発酵システム
3. 学会等名 エコテックグランプリ（主催：株式会社リバネス）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場保徳
2. 発表標題 牛の胃の微生物を使用した再生可能メタン発酵システム×防災ビール
3. 学会等名 いしかわ環境フェア2022（主催：石川県）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平山 琢二、須田 義人	4. 発行年 2022年
2. 出版社 サンライズ出版	5. 総ページ数 100
3. 書名 新 家畜生産学入門	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>雑草エネルギーで災害に備える / 馬場保徳 (石川県立大学 講師) (テレビ東京) https://www.tv-tokyo.co.jp/tankyunokaidan/backnumber/index.html?trgt=20240307 【雑草を“エネルギー”に】奔走する研究者の原点は東日本大震災 (テレビ金沢) https://www.youtube.com/watch?v=tQ7dqeX8Tks 廃棄野菜からガス・電気をつくる実証実験の開始式を行いました https://www.ishikawa-pu.ac.jp/staff/achievement/2122/ エコテックグランプリ2022で入賞しました https://www.ishikawa-pu.ac.jp/news/?p=9424 生物資源工学研究所馬場講師が、いしかわエコデザイン賞2022金賞を受賞 https://www.ishikawa-pu.ac.jp/news/?p=9488 循環型社会を目指しパワーアップ！メタン発酵の研究 https://www.ishikawa-pu.ac.jp/staff/achievement/1982/ 農林水産省webマガジンaff「発掘！凄モノ情報局 大学農系学部に潜入！」 https://www.maff.go.jp/j/pr/aff/2203/univ02.html 雑草で発電？驚きの研究に秘められた思い 2021.11.11放送 (北陸朝日放送) https://www.youtube.com/watch?v=yhqTY7wYBXU 防災に役立つ雑草発電 石川県立大学の馬場保徳さん (日経新聞) https://www.nikkei.com/article/DGXZQ0CC145P30U2A110C2000000/ 「雑草で発電を」花開く 震災体験を糧 小型装置開発 県立大講師 馬場さん (北陸中日新聞) https://www.chunichi.co.jp/article/332937 防災ビール エコな味 「ごみから災害時エネ」 県立大・馬場講師 (北陸中日新聞) https://www.chunichi.co.jp/article/301422?rct=k_ishikawa</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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------