

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02875

研究課題名(和文)硝化-脱窒を伴わない自家熱型高温好気消化プロセスの解明と応用

研究課題名(英文)Evaluation of unique autothermal thermophilic digestion process showing no nitrification and denitrification

研究代表者

酒井 謙二 (SAKAI, KENJI)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：50205704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々は特徴的な温度と細菌群集構造変化に加え高い窒素含量を実現するユニークなヒトし尿のATADプロセスについてメカニズムと制御因子の解明を目指した。群集構造変化の特徴は、優勢菌群の増殖・溶菌を伴う相互作用遺伝子群の存在比増減から、また、有機物および窒素成分の変化は代謝遺伝子と対応細菌群の存在から説明できた。さらにラボスケール実験系の確立により、細菌群集構造変化、迅速なC/N減少、と高窒素維持などはシステムの総括酸素移動容量係数の他に剪断力が重要な因子で、最適設計と制御が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、し尿から衛生的で高窒素含量の有機液肥を製造する際の制御因子とそのユニークさの理由が明らかになった。学術的には複合微生物工学を呼称できる好例と考える。これにより、プロセスのパフォーマンス最大化と使用エネルギー・コストの最小化を目指すことができ、畜産し尿処理-リサイクル法としての開発、国内外の適地への導入促進を行う技術的素地ができた。普及により、資源循環型農業生産が広がり、持続社会の創成、SDGsの推進に大いに貢献することを期待したい。

研究成果の概要(英文)：A unique autothermal thermophilic aerobic digestion (ATAD), showing distinctive bacterial community transitions and producing high-nitrogen content and pathogen-free organic liquid fertilizer was investigated. Investigation of a lab-scale gas-inducing system suggested that shear stress and oxygen supply system would affected the ATAD performances. Among 28 gene categories obtained by shotgun metagenomic analyses, abundance of four gene categories changed. A decrease in the phage-related gene category and the presence of bacteriolysis factors in secondary metabolism may explain the drastic change in bacterial community structure. A potential increase in the gene category in sporulation would be correlated with the deterioration of growth conditions and stabilization processes. In addition, unusually stable accumulation of ammonia throughout the process can be explained by the presence/absence of related metabolic genes belonging to the respective predominant bacterial families.

研究分野：環境微生物学

キーワード：自家熱型高温好気消化(ATAD)法 複合微生物工学 液肥 し尿処理 SDGs 総括酸素移動容量係数(KL a) 剪断力 細菌群集構造変化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景自家熱型高温好気消化 (Autothermal Thermophilic Aerobic Digestion: ATAD) プロセスは酸素を供給しながら高温 ($\geq 45^{\circ}\text{C}$) で実施される複合微生物プロセスであり、常温で実施され活性汚泥法とは異なる。ATAD 法の特徴として、(I) 微生物による好気分解に伴う消化熱および空気供給装置による機械熱などにより、加温装置を使用せずに高温を維持できる、(II) 高い分解処理能力により、処理時間を短縮できる、(III) 消化中に温度、pH および溶解酸素 (DO) を調整する必要がないため、設備を簡略できる、(IV) 高温によりスラッジ中の病原性微生物を死滅できる、および (V) 消化液を肥料として直接用いることができるため、二次処理プロセスが不要で、SDGs に資する技術として期待される。ところが、酸素供給に伴う高い電力コストが本法の利用拡大の障壁となっており、日本では、現在 10 程度の自治体で ATAD プロセスによる実機が稼働しているものの関連論文も 100 報程度と研究開発も進んでいない。

2. 研究の目的

福岡県築上町 (人口は約 17,500 人) では町内で回収したし尿および浄化槽汚泥を酸素供給方式としてベンチュリ効果を利用したエアレーターを採用し 3~4 週間の ATAD プロセスに供し、消化液を有機液肥として町内の農地に還元利用する取り組みを行っている。本 ATAD プロセスは先行研究と比較して、(I) 大きく 3 段階のフェーズで推移すること、(II) アンモニア態窒素が安定的に維持されること、(III) 硝化および脱窒反応が観察されないこと、(IV) 未分離細菌を含めて他の ATAD プロセスと異なる細菌叢が形成されること、(V) 上記の現象には、エアレーターが起因すること、などユニークな特徴を示すことを既に我々は明らかにしていた。しかしながら極めて動的であるにもかかわらず再現性のあるユニークな複合微生物系プロセスが、なぜ可能なかを明らかにし、広範な普及に必要な運転制御法の確立につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

上記を明らかにするために、稼働している実機の ATAD プロセスの理化学特性 [温度、DO、ORP、pH、有機酸、アンモニア態窒素、亜硝酸・硝酸態窒素など] および細菌叢の劇的な変化をもたらす要因と機構を、複合微生物系を構成している機能性遺伝子群の変化を各フェーズのメタゲノム解析により明らかにすることを試みた。

また、実機での ATAD プロセスを実験室レベルで再現し、ユニークな特徴に起因する因子の特定と制御技術の開発を試みた。市販の一般バイオリアクターで採用される通気・攪拌は、通常、コンプレッサーによる陽圧下で、圧縮空気 (酸素) が通気口より送られ、Diskturbine 攪拌機による細泡化と均一化により酸素が供給される (以下 DT システム)。一方、自給式エアレーターでは、攪拌翼の回転によるベンチュリ効果、すなわち減圧 (陰圧) 下で外部より空気 (酸素) が自発的に吸気される (以下 GI システム)。まず、実機での ATAD プロセスを実験室レベルで再現し、ユニークな特徴に起因する因子の特定と制御技術の開発を目的とした。当初行ったフラスコによる各種マイクロコズム実験では、実機の示す理化学的特性と細菌群集構造の変化は一部しか再現できなかった。そこで、独自にラボスケールの GI システムを設計し、攪拌速度と通気量の関係を明らかにしたのち、実汚泥の処理プロセスを検討した。

4. 研究成果設計した GI システムの基本性能を DT システムと比較しながら検討した結果、GI システムでは 450 rpm より吸気が開始され、攪拌速度の増加とともに、吸気量および KLa は増加し、DT システムにおける高通気量の挙動と類似した。本システムを装着したリアクターにおいて加温装置および温度上昇プログラムを使用することで、実機の温度変化を忠実に再現できる ATAD システムを実現した。これを用いて同一の KLa 下、幾つかの回転速度で実際にし尿汚泥を処理することで、DT システムでは得られないユニークな特性が得られることがわかった。そこで、GI システムにおけるせん断応力および酸素供給方式の影響を調べるために、 KLa を一定とし、GI システムで攪拌速度を変化させて汚泥の理化学性、細菌群集構造変化を実機と比較した。その結果、GI システムを用い、高い剪断応力を設定した場合に DO、ORP、pH、有機酸濃度などの理化学特性変化が実機の場合と一致することがわかった。また、亜硝酸・硝酸態窒素はほぼ無視できる濃度で推移し、アンモニア態窒素は GI システムの高い剪断力下のみで安定であった。これらは、細菌群集の多様性の遷移の類似性からも矛盾なく説明できた。

さらに、実機汚泥の各フェーズ試料のメタゲノム解析の結果を相互作用遺伝子群の存在比増減として整理した結果、細菌群集構造変化の特徴は優勢菌群の増殖・溶菌を伴う相互作用遺伝子群の増減から、また、有機物および窒素成分の変化は代謝遺伝子と対応細菌群の存在から、そしてシステムの安定化は高温、高 pH、COD 低下などと関連する増殖環境因子群の悪化と関連する孢子形成関連遺伝子群の上昇によって説明できた。

本研究の結果、し尿から衛生的で高窒素含量の有機液肥を製造する際の制御因子とそのユニークさの理由が明らかになった。具体的にはシステムの総括酸素移動容量係数の他に剪断力が重要な因子であるという発見につながり、我々が提唱している学術的には複合微生物工学を呼称できる好例と考えられる。これにより、プロセスのパフォーマンス最大化と

使用エネルギー・コストの最小化を目指すことができ、畜産し尿処理-リサイクル法としての開発、国内外の適地への導入促進を行う技術的素地ができたので、システムの深化と普及により、資源循環型農業生産法の拡大、持続社会の創成、SDGsの推進に大いに貢献することを期待したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ming Zhang, Yukihiro Tashiro, Yuya Asakura, Natsumi Ishida, Kota Watanabe, Siyuan Yue, Akiko Maruyama-Nashita, Kenji Sakai	4. 巻 132
2. 論文標題 Lab-scale autothermal thermophilic aerobic digestion can maintain and remove nitrogen by controlling shear stress and oxygen supply system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 293-301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.05.008	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 該当する
1. 著者名 Sakai Kenji, Hassan Mohd Ali, Vairappan Charles Santhanaraju, Shirai Yoshihito	4. 巻 133
2. 論文標題 Promotion of a green economy with the palm oil industry for biodiversity conservation: A touchstone toward a sustainable bioindustry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 414-424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2022.01.001	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 該当する
1. 著者名 Natsumi Ishida, Yoshihisa Kawano, Ryo Fukui, Min Zhang, Yukihiro Tashiro, Kenji Sakai	4. 巻 10
2. 論文標題 Clarification of the Dynamic Autothermal Thermophilic Aerobic Digestion Process using Metagenomic Analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2022.154187	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 該当する
1. 著者名 Tao Zhao, 安田健人, 田代幸寛, Rizki Fitria Darmayanti, 酒井謙二, 園元謙二	4. 巻 278
2. 論文標題 Semi-hydrolysate of paper pulp without pretreatment enables a consolidated fermentation system with in situ product recovery for the production of butanol	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 57-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2019.01.043	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 該当する

1. 著者名 Diana Mohd-Nor, Norhayati Ramli, Siti Suhailah Sharuddin, Mohd Ali Hassan, Nurul Asyifah Mustapha, Hidayah Ariffin, 酒井謙二、田代幸寛、白井義人、前田憲成	4. 巻 34
2. 論文標題 Dynamics of microbial populations responsible for biodegradation during the full-scale treatment of palm oil mill effluent	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 121-128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1264/jsme2.ME18104	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 該当する

1. 著者名 渡辺康太, 西英二, 田代幸寛, 酒井謙二	4. 巻 34
2. 論文標題 Mode and structure of the bacterial community on human scalp hair	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 252-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1264/jsme2.ME19018	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 木原隆寛, 野口拓也, 田代幸寛, 酒井謙二, 園元謙二	4. 巻 7
2. 論文標題 Highly efficient continuous acetone-butanol-ethanol production from mixed sugars without carbon catabolite repression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioresource Technology Reports	6. 最初と最後の頁 100185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biteb.2019.03.017	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 Kulwadee Khotchanalekha, Weerasak Saksirirat, Supat Isarangkool, Na Ayutthaya, 酒井謙二, 田代幸寛、奥川友紀、Saowanit Tongpim	4. 巻 47
2. 論文標題 Isolation and selection of plant growth promoting endophytic bacteria associated with healthy hevea brasiliensis for use as plant growth promoters in rubber seedlings under salinity stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chiang Mai Journal of Science	6. 最初と最後の頁 39-48
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 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 該当する

1. 著者名 Hui Zou, Ming Gao, Miao Yu, Wenyu Zhang, Shuang Zhang, Chuanfu Wu, 田代幸寛, 酒井謙二, Qunhui Wang	4. 巻 297
2. 論文標題 Methane production from food waste via mesophilic anaerobic digestion with ethanol pre-fermentation: Methanogenic pathway and microbial community analyses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 122450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2019.122450	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 該当する

1. 著者名 田代幸寛、酒井謙二	4. 巻 99
2. 論文標題 複合微生物プロセスの積極的な設計と制御 -複合微生物工学創成を目指す研究アプローチ-	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 627-635
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3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Ming Zhang
2. 発表標題 Investigation of Two Aeration Systems in the Dynamics of Physicochemical and Bacterial Characteristics in the ATAD Process
3. 学会等名 The 10th China-Japan Joint Conference on Material Recycling and Waste Management (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 酒井謙二、田代幸寛
2. 発表標題 自家熱型高温好気消化-液肥製造法制御のための複合微生物工学からのアプローチ
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Min Zhang, Yukihiro Tashiro, Yuya Asakura, Natsumi Ishida, Kota Watanabe, Siyuan Yue, Kenji Sakai,
2. 発表標題 Lab-scale autothermal thermophilic aerobic digestion can maintain/remove nitrogen content by controlling shear stress & air supply system
3. 学会等名 World Microbe Forum (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 有機廃液中の窒素濃度の制御方法及び有機廃液の処理システム	発明者 酒井謙二、田代幸寛	権利者 九州大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-142542	出願年 2021年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 METHOD OF CONTROLLING NITROGEN CONCENTRATION IN ORGANIC WASTE LIQUID	発明者 Kenji Sakai, Yukihiro Tashiro	権利者 Kyushu University
産業財産権の種類、番号 特許、63194184	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

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	田代 幸寛 (Tashiro Yukihiro) (90448481)	九州大学・農学研究院・准教授 (17102)	

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