

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15939

研究課題名（和文）堆肥化臭気を栄養源とすると共に脱臭可能な微細藻類培養システムの開発

研究課題名（英文）Microalgae culture system for nutrient absorption from the odor of composting

研究代表者

古橋 賢一（Furuhashi, Kenichi）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・助教

研究者番号：10779739

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：家畜排せつ物の堆肥化過程からは、高濃度のアンモニアおよび二酸化炭素を含む強烈な臭気が発生する。本研究では、堆肥化から発生する臭気を、バイオ燃料を生産する新規資源作物として注目されている光独立栄養型微細藻類（*Botryococcus braunii*）の培養槽に通気することで、臭気中のアンモニア及び二酸化炭素を効率的に栄養源として利用すると共に、臭気低減する技術の開発を行った。アンモニア通気による増殖阻害抑制技術を開発すると共にアンモニア通気における窒素固定量増大効果を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アンモニア供給による窒素固定量の上昇は、藻体のN含有率の変化のみで全て説明することはできず、藻体の分泌物や共生菌中の有機体窒素として固定された可能性がある。今後、培養系としての窒素吸収メカニズム解明がより重要となる。また、アンモニアによる増殖阻害抑制技術の開発ならびに窒素固定量上昇により、微細藻類培養系へのアンモニア供給量の設計値は3倍程度高くなった。また、過剰供給になった場合でも、すぐに死滅することはなく、アンモニアの系外放出も防げることが明らかとなった。本システムを実証化していく上で、制御プロセスの大幅な簡略化が可能であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The composting process of livestock manure produces a strong odor containing high concentrations of ammonia and carbon dioxide. In this study, we developed a technology to efficiently utilize the ammonia and carbon dioxide in the odor as a nutrient source and to reduce the odor by aerating the odor generated from the composting process into a culture tank of microalgae (*Botryococcus braunii*), which is attracting attention as a new resource crop that produces biofuel. The technology was developed. We developed a technology to inhibit growth inhibition by ammonia aeration and discovered the effect of ammonia supply to increase nitrogen fixation.

研究分野：生物環境工学

キーワード：微細藻類 堆肥化 臭気低減 連続培養 家畜排せつ物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂質生産性微細藻類の一種である緑藻 *Botryococcus braunii* (以下、*B. braunii*) は、藻体重量に対して 25-75% という高い割合で酸素を含まない炭化水素を生産し、個々の細胞を繋ぐ細胞外マトリックスに分泌し蓄積する。一方で他藻種が生産する脂質は油脂や脂肪酸で細胞内に蓄積する。そのため、本藻種は細胞破碎を経ない炭化水素回収および燃料変換プロセスでの投入エネルギー・コスト削減が期待されており、バイオ燃料の原料として有望視されている。EPR 向上および生産コスト削減のためには、栄養塩を化学肥料ではなく、廃棄物由来で代替する技術開発が重要である。二次処理水等で微細藻類を培養した事例は国内外である。しかしながら、それらの栄養源を用いると、光透過度が低下すると共に、残存する有機物を原因としたコンタミリスクが増大する。そのため、コンタミが発生しづらい化学肥料代替の栄養源を用いた新たな培養方法を開発することが必要である。

2. 研究の目的

家畜排せつ物の堆肥化過程からは、高濃度のアンモニアおよび二酸化炭素を含む強烈な臭気が発生する。本研究では、堆肥化から発生する臭気を、バイオ燃料を生産する新規資源作物として注目されている光独立栄養型微細藻類 (*Botryococcus braunii*) の培養槽に通気することで、臭気中のアンモニア及び二酸化炭素を効率的に栄養源として利用すると共に、臭気を低減する技術を開発することを目的とする

3. 研究の方法

乳牛ふん尿を原料としたパイロットスケール堆肥化装置からの発生臭気濃度の測定

積高さ 1.8m、有効容積 1.8m³ の強制通気式堆肥化装置を作成し、オガクズを用いて水分率約 73% に調整した乳牛ふん尿の堆肥化試験を 4 週間 (28 日間) 行った。切り返しは 7 日に一度、堆肥化装置から全量排出後、ホイールローダーおよび回転式攪拌機を用いて、完全混合し再度試験装置に堆積させた。排気口から排出される二酸化炭素濃度およびアンモニアを経時測定した。通気量は排出口の二酸化炭素濃度が 3.5% となるように制御を行った。

アンモニア態窒素での増殖阻害回避

有効容積 1.2 L のルー氏瓶を用いて、緑藻 *Botryococcus braunii* のバッチ培養試験を行った。二酸化炭素濃度 1.0vol% の空気を培養瓶底部より通気することで、二酸化炭素供給および攪拌を行った。硝酸態窒素と同濃度となるように、アンモニア態窒素を調整した培地を用意した。培地は、改変 Chu13 培地、Chu13 培地の同察の窒素濃度となるように硝酸カリウムを硫酸で置き換えた培地、それぞれに、炭酸カルシウムを添加した培地を用意した。

堆肥化模擬臭気を通気した微細藻類の半連続培養

有効容積 3L のアクリル製培養装置を作成し、得られたデータおよび予備試験での本装置における最大藻体増殖量から理論的に導出した窒素要求量から、二酸化炭素および窒素 (気体アンモニアもしくは硝酸態窒素) を供給した (図 1)。硝酸態窒素区では (硝酸カリウム KNO_3) を含む改変 Chu13 培地を使用した。アンモニア通気区では、Chu13 改変培地に含まれる窒素を除き、K を Chu13 改変培地と同濃度となるように塩化カリウム KCl で代替した。

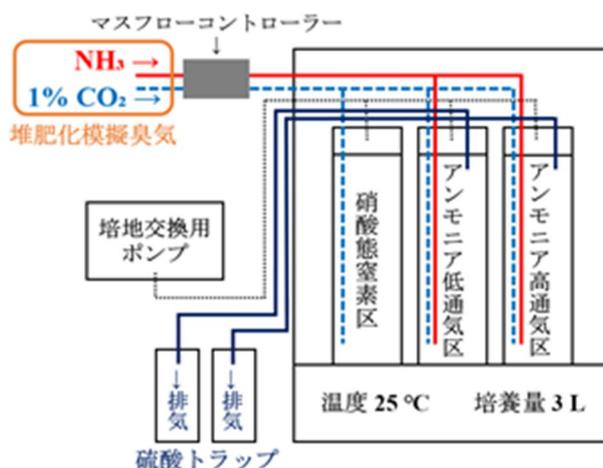


図 1 連続培養装置の概要

4. 研究成果

乳牛ふん尿を原料としたパイロットスケール堆肥化装置からの発生臭気濃度の測定

パイロットスケールの試験を2回行った。アンモニア発生濃度の経時変化を図2に示す。28日経過後のVS分解率は26~31%であった。また、各週で平均化した通気量は、1,2,3,4週目でそれぞれ約68, 36, 28, 26 L/minであった。

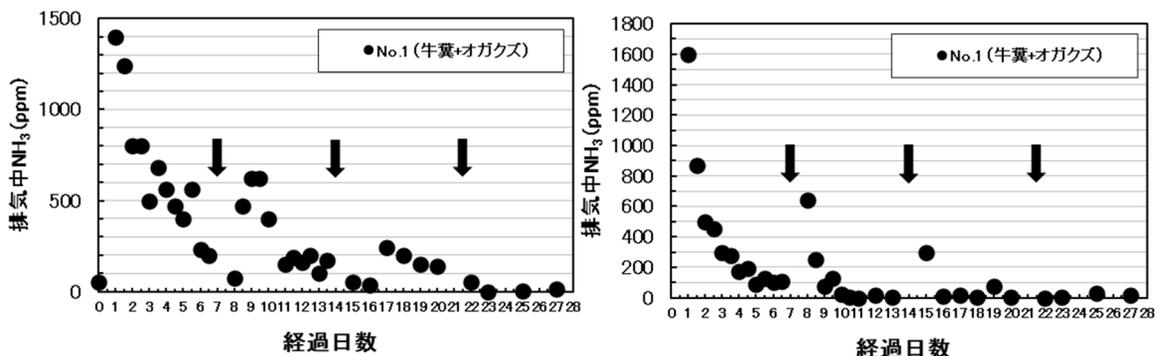
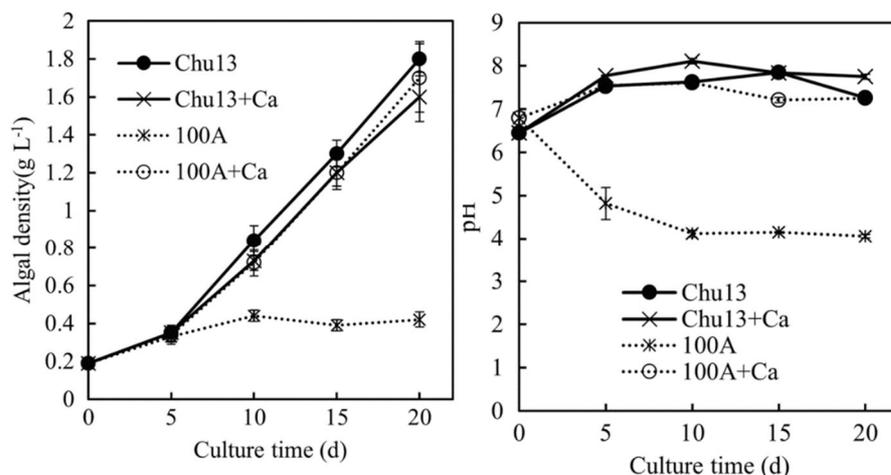


図2 アンモニア発生濃度の経時変化(左, 1回目; 右, 2回目)
黒矢印は切り返しを表す。

アンモニア態窒素での増殖阻害回避

アンモニア態窒素では、アンモニア態吸収に伴う pH 低下による増殖阻害が見られたが、培地に炭酸カルシウムを導入するという簡便な方法で、阻害を回避することが可能であった。完全に増殖が阻害された炭酸カルシウムを導入しなかったアンモニア態窒素培地を除いて、他3種類の培地では、炭化水素の組成や含有率に差異は見られなかった。



堆肥化模擬臭気を通気した微細藻類の半連続培養

硝酸態窒素培地を用いた予備実験で、本装置における1週間での藻体増殖量が1.0 g/L、窒素含有率が2%程度であり、1週間あたり20 mg-N/Lが最低限の必要窒素量(以下、規定量)であった。硝酸態窒素を規定量の2倍導入すると、培養液中への蓄積が見られた。一方で、アンモニア通気で窒素供給を行うと、2倍量窒素を通気しても培養液中への蓄積がみられず、また排気にも検出されなかった。4週間ほどは、3倍量でも培地中への蓄積が確認されなかった。窒素の大部分が有機態として固定されたと考えられる。一方で、藻体増殖量と窒素含有率から求めた実窒素吸収量は、導入窒素量の約半分程度であったため、藻体からの分泌物もしくは共生菌中の有機態窒素として固定されたことが示唆された。また、4倍量をアンモニアで供給すると、当初は他の施用区と同等の増殖を示していたが、培養8週目において培養液中のアンモニア態窒素濃度(TAN, Total ammonium nitrogen)が120 mg/L程度で増殖阻害がみられた。

以上の結果から得られた、アンモニアによる増殖阻害抑制技術の開発ならびに窒素固定量上昇により、微細藻類培養系へのアンモニア供給量の設計値は3倍程度高くなった。また、過剰供給になった場合でも、溶存アンモニア濃度の閾値までは、すぐに死滅することではなく、アンモニアの系外放出も防げることも明らかとなった。本システムを実証化していく上で、制御プロセスの大幅な簡略化が可能であることが示唆された。一方で、アンモニア供給による窒素固定量の上昇は、藻体のN含有率の変化のみで全て説明することはできず、藻体の分泌物や共生菌中の有機態窒素として固定された可能性がある。今後として、培養系としての窒素吸収メカニズムの解明が求められる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 古橋賢一, 田中章浩, 黒田和孝, 福重直輝	4. 巻 51
2. 論文標題 堆肥化とメタン発酵の複合処理を想定した半固形状乳牛ふん尿の固液分離による堆肥化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 農業施設	6. 最初と最後の頁 21-19
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 -

1. 著者名 Furuhashi, K., Hasegawa, F., Yamauchi, M., Kaizu, Y., Imou, K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Improving energy balance of hydrocarbon production using an inclined solid-liquid separator with a wedge-wire screen and easy hydrocarbon recovery from <i>Botryococcus braunii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Energies	6. 最初と最後の頁 4139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/en13164139	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 Miura Ryoji, Furuhashi Kenichi, Hasegawa Fumio, Kaizu Yutaka, Imou Kenji	4. 巻 34
2. 論文標題 Calcium carbonate prevents <i>Botryococcus braunii</i> growth inhibition caused by medium acidification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Phycology	6. 最初と最後の頁 177 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10811-021-02622-w	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9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 本山夏子, 古橋賢一, 長谷川文生, 海津裕, 芋生憲司
2. 発表標題 堆肥化過程から生じるアンモニアの微細藻への施肥利用
3. 学会等名 第16回日本エネルギー学会バイオマス科学会議
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 古橋賢一, 長谷川文生, 海津裕, 芋生憲司
2. 発表標題 微細藻のコロナー形態変化と傾斜式固液分離が炭化水素生産プロセスに与える影響
3. 学会等名 2020年度関東農業食料工学会 WEB特別大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 長谷川文生, 古橋賢一, 海津裕, 芋生憲司
2. 発表標題 窒素源の異なる培地での微細藻 <i>Botryococcus braunii</i> の増殖特性
3. 学会等名 第16回日本エネルギー学会バイオマス科学会議
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 古橋賢一, 田中章浩, 黒田和孝, 福重直輝
2. 発表標題 発酵管理および後段処理によるメタン発酵消化液の臭気対策
3. 学会等名 第16回日本エネルギー学会バイオマス科学会議
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 古橋賢一, 田中章浩, 黒田和孝, 福重直輝
2. 発表標題 堆肥化・メタン発酵複合処理システムを活用した乳牛ふん尿の堆肥化処理過程における臭気発生の抑制
3. 学会等名 2019年農業食料工学会・農業施設学会・国際農業工学会第6部会合同国際大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 古橋賢一、田中章浩、黒田和孝、福重直輝
2. 発表標題 オガクズ混合乳牛ふん尿の湿式メタン発酵適用による資源循環システムの開発
3. 学会等名 第15回日本エネルギー学会バイオマス科学会議
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 本山夏子、古橋賢一、長谷川文生、海津裕、芋生憲司
2. 発表標題 微細藻による堆肥化発生アンモニアの除去・資化
3. 学会等名 第79回農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 本山夏子、古橋賢一、長谷川文生、海津裕、芋生憲司
2. 発表標題 微細藻によるアンモニア臭気除去のための基礎的検討
3. 学会等名 第17回バイオマス科学会議
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 本山夏子、古橋賢一、長谷川文生、海津裕、芋生憲司
2. 発表標題 Botryococcus brauniiによる堆肥化発生アンモニアの施肥利用
3. 学会等名 2021年度関東農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 古橋賢一（分担）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 情報機構	5. 総ページ数 7
3. 書名 藻類培養技術	

〔産業財産権〕

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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