

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20474

研究課題名(和文)メタン生成とアンモニアストリッピングを同一槽内で両立する新規メタン発酵

研究課題名(英文) Novel anaerobic digestion for simultaneous methane production and ammonia removal

研究代表者

小山 光彦 (Koyama, Mitsuhiko)

東京工業大学・環境・社会理工学院・助教

研究者番号：50794038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：食品廃棄物や家畜糞などのメタン発酵処理では、アンモニアが発酵槽内に蓄積して微生物を阻害する。本研究は、アンモニアを発酵槽内で“メタン発酵微生物を阻害せずに”ストリッピング除去する新規メタン発酵プロセスを研究開発した。CO₂を分離除去したバイオガスをメタン発酵槽に曝気して溶存CO₂を除去して高pH環境にすることでアンモニアを揮発・除去し、直後にCO₂を返送・溶解させることにより速やかにpHを低下させた。本プロセスは、微生物を阻害する高pH環境を短時間化することにより、発酵槽内を短時間だけ高pH環境にして発酵槽内のアンモニア低減とメタン発酵微生物の活性維持ができることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、メタン発酵槽内に短時間の高pH環境を作り出すことにより発酵阻害物を除去する世界で初めての研究となる。本研究により、アンモニアをメタン発酵槽内で高効率除去可能になり、有機態窒素を豊富に含む原料を安定してメタン発酵できるようになる。高温メタン発酵は従来の中温発酵と比べて原料分解速度が約2倍速いが、アンモニアの蓄積速度も速いためにプロセスが不安定化しやすく、これまで実用化が進んでこなかった。本研究により、高温メタン発酵の実用性が大きく向上し、有機性廃棄物のメタン発酵処理を格段に高速化できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In anaerobic digestion of food waste and manure, ammonia accumulates in the digester and inhibits microorganisms. In this study, a novel anaerobic digestion process was developed to remove ammonia in the digester "without inhibiting methanogenic microorganisms". Stripping of CO₂-free biogas removed the dissolved CO₂ and create a high pH environment, resulted in ammonia volatilization. Immediately after the stripping, the digester pH is quickly lowered by re-dissolving the removed CO₂. This process was shown to reduce ammonia in the digester and maintain the methanogenic activity of the microorganisms by shortening the duration of the high pH environment that inhibits anaerobic digestion microorganisms.

研究分野：環境生物学、微生物工学、廃棄物処理工学、バイオインフォマティクス

キーワード：メタン発酵 アンモニア低減 発酵阻害 微生物叢

1. 研究開始当初の背景

メタン発酵は有機性廃棄物を分解・バイオガス化してエネルギー変換する生物処理プロセスであり、循環型社会の形成に資する技術として大きな期待が寄せられている。食品廃棄物や家畜糞、下水汚泥などの原料は窒素を豊富に含有するため、有機態窒素の分解物であるアンモニアが発酵槽内に 2000 mg/L 以上の高濃度に蓄積してメタン発酵を阻害する。そのため、アンモニア除去技術の確立がメタン発酵プロセスの高効率化に重要な課題である。アンモニアはアルカリ性条件下で遊離させて 50℃以上の高温条件で揮発させるストリッピング法により除去できる。先行研究では、メタン発酵槽内の一部をストリッピング槽に移してアンモニア除去したのち発酵槽内に返送しているが、槽内容物の一部を少しずつしか処理できないため、アンモニア濃度の半減に約 100 日間を要する^[1]。アンモニア生成が起きる発酵槽内でアンモニアを除去しないと十分な効果があがらないが、発酵槽内をストリッピング除去に必要な高温(50℃以上)かつ高 pH 条件(9 以上)に維持すると微生物が阻害されるため、メタン発酵を維持したまま発酵槽内でアンモニアストリッピングする技術はこれまで確立されていない。

2. 研究の目的

本研究は、アンモニアが遊離しやすい温度(55℃以上)の高温メタン発酵において発酵槽内でストリッピング除去するプロセスの開発に取り組む。pH を微生物が阻害を受けない程度に短い時間だけ高い値にすることが考えられるが、短時間の高 pH 環境がメタン発酵微生物に及ぼす影響は先行研究では全く検討されていない。本研究は、アンモニアを発酵槽内で“メタン発酵微生物を阻害せずに”ストリッピング除去する新規メタン発酵プロセスを研究開発した。高温メタン発酵においてメタン発酵代謝物の生産と除去のタイミングを制御することにより、発酵槽内を短時間だけ高 pH 環境にして発酵槽内のアンモニア低減と微生物の維持を可能にすることを目指した。

3. 研究の方法

種汚泥としては、一般的な高温メタン発酵の温度条件(55℃)で約 100 日間馴養し、メタン生成が安定したメタン発酵汚泥を使用した。有効容積 300mL の円筒型の完全混合型リアクターを、アンモニアストリッピング処理およびメタン発酵の実験に使用した。アンモニアストリッピング処理は円形 PTFE バブラーから模擬バイオガスを供給して曝気した。汚泥温度を維持するため、模擬バイオガスはエアヒーターで 60℃に加温して曝気した。汚泥中の溶存 CO₂ を除去して汚泥 pH を上昇させてアンモニアを揮発させるため、CO₂ を分離除去したバイオガスを曝気することとした。系外からメタンを含む実バイオガスを加えると、メタン発酵微生物のメタン生成能を過大評価する可能性があるため、本研究では窒素ガスを模擬バイオガスとして使用した。模擬バイオガスの曝気速度は 3 L-N₂/L-汚泥/min とした。

はじめに、55℃のメタン発酵汚泥に短時間(120 min)のアンモニアストリッピング処理をおこない、アンモニア除去効果ならびにメタン生成微生物への影響を調べた。アンモニアストリッピング処理直後の汚泥に模擬厨芥(ドッグフード) 2 g-COD/L を基質として添加して回分メタン発酵実験を実施した。続いて、アンモニアが蓄積し続けるメタン発酵プロセスにおけるアンモニアストリッピング処理の繰り返しメタン微生物群に及ぼす影響を明らかにするため、模擬厨芥(ドッグフード)を 1 日 1 回供給(有機物負荷速度 2 g-VS/L/day)する半連続メタン発酵実験(汚泥滞留時間 30 日)を実施した。高濃度のアンモニアに対するメタン発酵微生物の影響を評価するために、模擬厨芥に炭酸水素アンモニウム溶液を加え、段階的にその濃度を増加させた。アンモニアストリッピング操作を 10 日に 1 回実施した。経時的に採取した汚泥試料から DNA を抽出して 16S rRNA 領域の全長を PCR により増幅し、ナノポアシーケンサー MinION を用いてメタン発酵に関与する細菌叢の変化を解析した。

4. 研究成果

アンモニア濃度 1254 mg-N/L の高温メタン発酵汚泥にアンモニアストリッピング処理を実施した結果、溶存 CO₂ の除去に伴い pH が速やかに 9.5 まで上昇して遊離アンモニアの割合が増大し、汚泥中のアンモニアが 120 min の窒素曝気で 43%除去されることを明らかにした。アンモニアストリッピング処理後の汚泥はアルカリ性になるため、速やかに微生物の至適 pH 範囲(pH7-8)に戻す必要がある。そこで、汚泥から分離した CO₂ を返送することを想定して、ストリッピング処理直後に CO₂ガスを供給して pH7.5 に再調整して模擬厨芥の回分メタン発酵実験をおこなった。累積メタン生成量は無処理区と比較して 24%高い値を示し、メタン発酵が促進されることが明らかとなった。遊離アンモニアによる発酵阻害は多くの先行研究で報告されているが、いずれもメタン発酵微生物が数日～数十日もの長期間にわたって遊離アンモニアに暴露され続けた場合の結果である。一方で本研究の成果から、高 pH 環境(=高遊離アンモニア濃度環境)が短時間であれば、アンモニアストリッピングにより汚泥からアンモニアを効率的に除去するとともに、メタン発酵微生物は阻害を受けないことが明らかとなった。微生物への毒性が高いとされる遊離アンモニア濃度は、ストリッピング処理により一時的に急激に上昇するが、ストリッピング処理の直後に CO₂ を汚泥に返送・溶解させることによりわずか 10-15 min で速やかに pH を低下させて汚泥内のアンモニアを毒性の弱いアンモニウムイオンにすることができることがわかった。当初はメタン発酵の中間代謝物である有機酸を加水分解により生じさせて汚泥を速やかに中和させることにより遊離アンモニア濃度を低下させることを想定していたが、アンモニアストリッピングで汚泥から除去された CO₂ を選択的に回収してアンモニア除去後に汚泥に返送することで、メタン発酵

を阻害しない短時間の発酵槽内ストリッピング処理が可能であることが示された。

続いて、アンモニアストリッピング処理の繰り返しを模擬厨芥の半連続メタン発酵プロセスに及ぼす影響を評価した (Fig. 1)。運転 10 日目ならびに 20 日目のアンモニアストリッピング処理では、メタン生成能はストリッピング処理後 1 日で回復した。10 日目には 60 min のストリッピング処理を試みたがアンモニア除去率は 18% と低く、処理時間が不十分であることが示唆された。20 日目にはストリッピング処理を 120 min 実施したところアンモニアは 33% 除去された。遊離アンモニア濃度が 500-1500 mg-N/L 以上に達するとメタン生成が阻害されることが先行研究で報告されている [2]。本研究では遊離アンモニア濃度は一時的に 1500 mg-N/L を超過したにもかかわらず、メタン発酵が破綻しなかったのは、高濃度の遊離アンモニアへの暴露時間が短いためであると考えられ、本提案プロセスの有効性が示された。一方、30 日目付近からメタン生成の低下が観察され、これは微生物を阻害する濃度のアンモニアに微生物が長時間暴露したためであると考えられる。30 日目にはストリッピング処理を 120 min 実施したがアンモニア除去率は 27% と減少した。これは、メタン生成活性の低下に伴って有機酸が蓄積したために、ストリッピング処理中の pH 上昇が抑制されたことがアンモニア除去率を低下させた原因と考えられた。これらの結果から、有機酸が蓄積する前にアンモニアストリッピング処理をおこなって槽内アンモニア濃度をメタン発酵微生物の適正範囲に維持すれば、窒素リッチな原料のメタン発酵プロセスにおいてアンモニアによる発酵阻害を回避できることが示唆された。

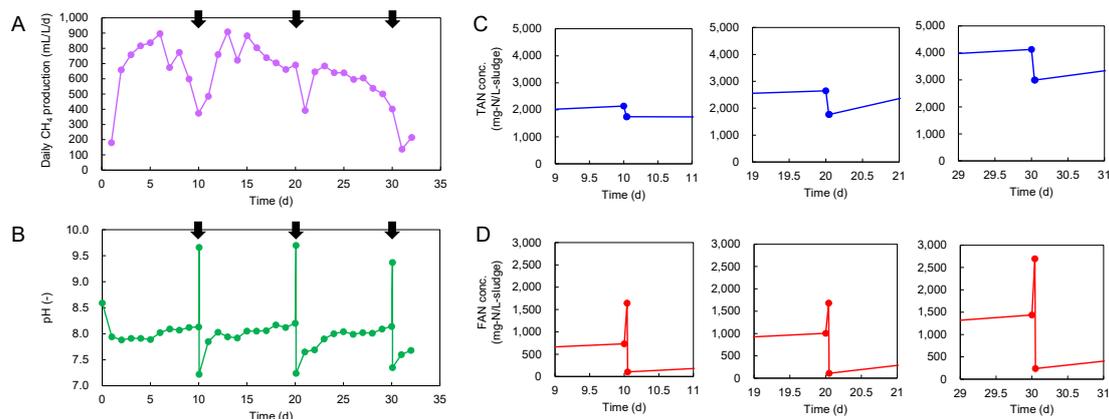


Fig. 1. Effect of repeated short ammonia stripping on fed-batch anaerobic digestion process. A) Daily methane production rate. B) pH. C) total ammonia nitrogen (TAN). D) free ammonia nitrogen (FAN). Arrows on the figures show the time ammonia stripping was applied.

半連続メタン発酵プロセスにおいて細菌叢の遷移を解析した結果、アンモニアストリッピング処理の前後で細菌叢の明瞭な短期的変化は見られなかった (Fig. 2)。実験期間を通して、酢酸と水素の生産を担う *Acetivibrio* が最も優占しており、開始直後から 16 日目まで増加したが、20 日目以降は相対存在度が減少した。*Acetivibrio* は 2200 mg-TAN/L もしくは 700 mg-FAN/L 程度までは馴化することができるが、それ以上の高濃度のアンモニアに対しては耐性が無い可能性がある。一方で、*Caldicoprobacter* ならびに *Tepidanaerobacter*, *Tepidimicrobium*, *Paenibacillus* の相対存在度は 20 日目以降に増加し、高濃度のアンモニアに耐性を有する細菌群である可能性が考えられた。

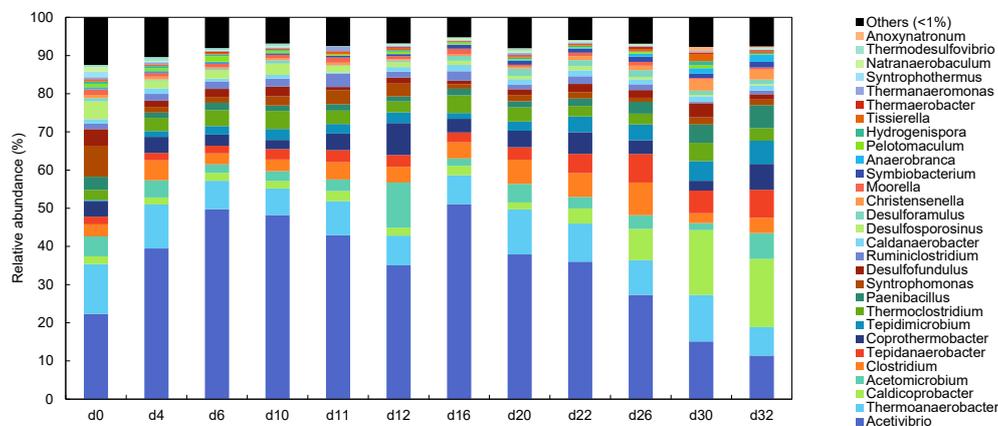


Fig. 2. Bacterial community succession (genus level, maximum relative abundance 1% or larger).

引用文献: [1] Serna-Maza et al. (2014). *Bioresour. Technol.* 152, 307-315. [2] Siles et al. (2010). *Bioresour. technol.* 101(23), 9040-9048.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------