

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06350

研究課題名（和文）微細藻類を介して行うメタン発酵消化液を用いた資源循環的タンパク質生産

研究課題名（英文）Circular protein production via microalgae cultured with digestate derived from methane fermentation

研究代表者

遠藤 良輔（Endo, Ryosuke）

大阪公立大学・大学院農学研究科・講師

研究者番号：10409146

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）：本研究では、有機性廃棄物から効率的にタンパク質を生産する手法を調べるために、食品残渣由来のメタン発酵消化液を改質した資源再生培養液を用いて微細藻類スピルリナの培養を行った。スピルリナの培養速度が高かった窒素形態は硝酸態窒素であり、食品残渣中の窒素をメタン発酵ならびに生物酸化で硝酸態窒素に転換することが重要であるとわかった。炭素供給法は炭酸水素ナトリウムの培養液投入が適しており、食品残渣の分解で生じた二酸化炭素を炭酸水素ナトリウムに転換して利用することが有用であると考えられた。化学肥料培養液に比べて、資源再生培養液を用いたスピルリナ培養では増殖速度は低下するが、タンパク質の割合は高くなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、食品残渣からの資源循環型タンパク質生産における、微生物処理がその後の微細藻類の培養速度やタンパク質生産量に様々な影響を及ぼすことが明らかとなった。これは、食品残渣からの効率的な資源回収方法を確立する上で重要な学術的知見であり、同時に、化学肥料や化石燃料への依存度を抑えた持続的食料生産システムの実現に向けた貢献という社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：In this study, in order to investigate an efficient protein production method from organic wastes, we cultured microalgae *Spirulina* using a resource recovery culture modified from methane fermentation digestate derived from food residues. The nitrogen form with the highest cultivation rate was nitrate nitrogen, indicating that it is important to convert nitrogen in food residues to nitrate nitrogen by methane fermentation and biological oxidation. Sodium bicarbonate culture medium is suitable as a carbon supply method, and the conversion of carbon dioxide generated by the decomposition of food residues into sodium bicarbonate is considered to be a useful method for utilization. Compared to the chemical fertilizer culture medium, the *Spirulina* culture using the resource recovery culture medium showed a lower growth rate but a higher percentage of protein.

研究分野：農業環境工学

キーワード：バイオマス利用 資源循環 食料生産 環境調節 微生物利用 サステナビリティ

1. 研究開始当初の背景

メタン発酵は資源循環技術のひとつで、有機性廃棄物からエネルギーとしてメタンを、また、液肥となる消化液を回収することができる。これまで、メタン発酵消化液は、植物生産のための肥料として利用するという考え方が一般的であり、畑地や水田、さらには養液栽培に対する導入が試みられてきた。

一方で、メタン発酵で処理される有機性廃棄物には動物性成分が多く含まれるのに対し、これまでメタン発酵消化液を肥料として用いて生産する対象とされてきたものは植物のみであるというアンバランスが生じていた(図1)。動物のタンパク質含有量は植物よりもずっと大きいことから、消化液を利用して高速度にタンパク質を生産できれば、廃棄物中のタンパク質に多く含まれる窒素を始めとする元素がより有効に循環利用できることが期待される。

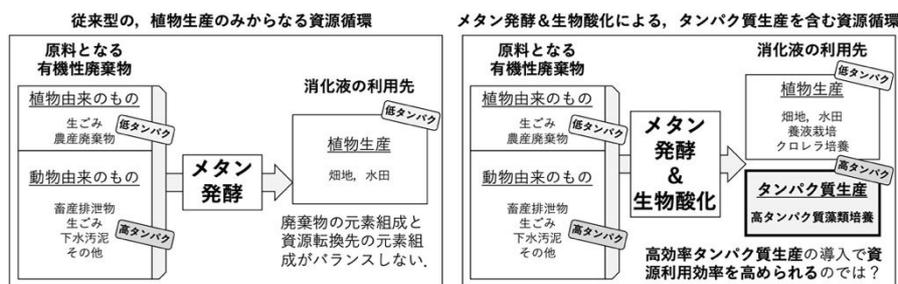


図1 本研究で想定する資源循環型タンパク質生産

スピルリナ培養によるタンパク質生産

近年の世界のタンパク質需要の増加は穀物生産速度の増加を超えており、従来にない高い速度でタンパク質を生産する方法が求められている。本研究では、アフリカ原産のシアノバクテリアであるスピルリナに注目した。スピルリナの乾物重に対するタンパク質含有量はダイズ(含有率31%)よりも遥かに高く(同70%超)、地球上で最も高タンパク質の生物である。さらに、環境条件を制御することで、微小藻類は植物よりも高い成長速度で増殖できる可能性がある。しかしながら、これまでスピルリナをメタン発酵消化液だけで培養できた例はない。本研究では、有機性廃棄物から本技術で得られる資源の対象の本質はスピルリナではなくタンパク質であると捉え、スピルリナに含まれるタンパク質を解析の主対象とした。

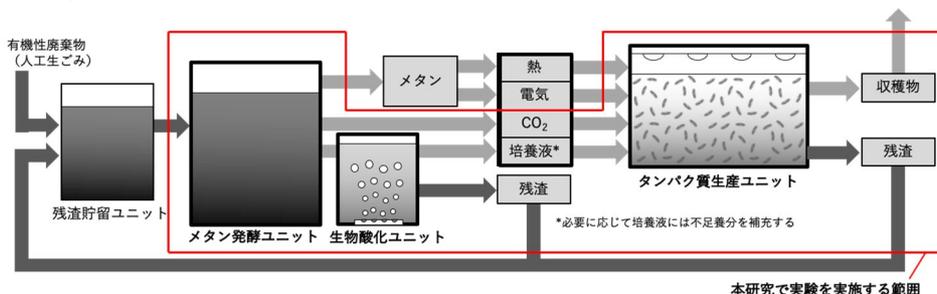
2. 研究の目的

本研究では、メタン発酵消化液を用いた微細藻類の培養を介してタンパク質を生産する手法を検討し、それが廃棄物を資源に転換する効率の向上に及ぼす寄与について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

生物酸化消化液を用いたスピルリナ培養システムの構築

消化液中のアンモニウム態窒素を硝酸態窒素に転換する生物酸化反応を組み込んだ、メタン発酵消化液を用いた培養システムを構築した(図2)。本装置を用いて、窒素形態が主にアンモニウム態窒素からなるメタン発酵消化液をろ過した培養液、硝酸態窒素からなる生物酸化したメタン発酵消化液をろ過した培養液などを作製して、スピルリナ培養に用いた。さらに、炭素の供給法として炭酸水素ナトリウムの培養液の添加もしくは空気の通気を組み合わせることで培養に用いた。また、化学肥料培養液に比べて不足する元素についても調べ、その添加が増殖に及ぼす影響を評価した。



本研究で実験を実施する範囲

図2 生物酸化消化液を用いたスピルリナ培養システム

スピルリナ培養実験

実験は人工気象器内で行い、培養槽にはプラスチック試験管を用いた(Fig.1)。実験開始時の培養液の pH は 8.4~8.9 とした。光源は蛍光灯とし、培養槽の側面から照射した。共通の育成条件は水温 30℃、培養槽側面の光合成有効光量子束密度 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明期 24 h d^{-1} とした。培養槽への通気空気の流量は約 0.1 L min^{-1} に調整し、培養槽内を十分に攪拌した。実験時の培養液には、消化液($\text{NH}_4^+\text{-N } 149 \text{ mg L}^{-1}$)あるいは酸化消化液 ($\text{NO}_3^-\text{-N } 202 \text{ mg L}^{-1}$)をろ過して用いた。培養液への炭素の供給方法は、 NaHCO_3 の添加の有無、ならびに通気空気に含まれる大気 CO_2 の有無を組み合わせた。各試験区のサンプル数は 5 とした。実験開始時から 24 時間ごとに吸光度および pH を計測した。

4. 研究成果

スピルリナ培養

消化液を生物酸化せずに培養した場合、炭素供給の有無に関わらず、スピルリナが死滅した。この原因は、高 pH 環境下での遊離アンモニアの毒性である可能性が高い。このことから無機態窒素がアンモニウム態窒素のみである消化液は、スピルリナの培養に適さないことがわかった。酸化消化液で培養した場合、炭素供給があるとスピルリナが増殖した。炭素供給方法の違いによって藻体濃度の経時変化は異なり、 NaHCO_3 の添加と大気 CO_2 を含む通気を併用したときにスピルリナが増殖が最大となった(表 1)。 NaHCO_3 を添加し、 CO_2 を含まない大気で通気した場合には、藻体濃度の上昇が実験 2 日目までに顕著にみられた。2 日目以降の増殖速度はほぼ 0 となった。このことから、 NaHCO_3 の培養液への投入は、実験初期のスピルリナを増殖を大きく促進させることがわかった。大気 CO_2 を含む通気のみで炭素を培養液に供給した場合には、 NaHCO_3 のみの炭素供給に比べて初期の増殖が小さかったものの、藻体濃度の上昇が実験最終日までみられた。 NaHCO_3 を添加し、 CO_2 を含まない大気で通気した場合には、2 日目以降から藻体濃度の上昇はみられなくなった。前述の育成条件では 2 日目以降から実験終了日まで pH が 11 以上で推移した。スピルリナ培養液の至適 pH は 8.5~11.0 であることから、液中の高い pH がスピルリナを増殖を抑制したと考えられる。これに対し、大気 CO_2 を含む通気で培養した場合には、 NaHCO_3 の添加の有無に関わらず、実験期間中 pH は培養至適範囲内で推移し、藻体濃度の大きな低下はみられなかった(表 1)。以上の結果から、大気 CO_2 を含む空気の通気は、培養槽内の攪拌や炭素供給としてだけでなく、pH 管理の点でも有効であると示された。

表 1 実験終了時のスピルリナ濃度と培養液 pH。生物酸化消化液に対する異なる炭素源供給がスピルリナに及ぼす影響を調べた。

Carbon sources		Spirulina concentration (g L ⁻¹)	pH
NaHCO ₃ into the reactor	CO ₂ in aeration gas		
+	+	4.05 ± 0.20a	10.2 ± 0.10b
	-	1.10 ± 0.04b	11.0 ± 0.05a
-	+	1.40 ± 0.27b	9.58 ± 0.38b
	-	0.30 ± 0.03b	11.0 ± 0.04a
P-value	NaHCO ₃	<0.001	0.064
	CO ₂	<0.001	<0.001
	NaHCO ₃ × CO ₂	<0.001	0.996

P-value was calculated by two ways factorial analysis of variance. The different alphabets mean significant differences due to the Tukey-Kramer's test (n = 5).

不足栄養素の影響

K_2HPO_4 の添加はスピルリナを増殖を促進した一方で、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ の添加は増殖を阻害した。これは Fe^{2+} が他の栄養素と結合し沈殿してしまい、スピルリナを増殖が抑制された可能性がある。微量栄養素の添加は増殖をほとんど促進しなかった。これらから K_2HPO_4 の添加が酸化消化液を用いたスピルリナ培養に有効であると考えられた。

再生した資源を用いたスピルリナ培養システムにおける炭素および窒素の物質収支

生ごみ中の炭素は、約 80%が最終的に CO_2 となった。生ごみ中の窒素は、約 45%がメタン発酵および生物酸化によってアンモニウム態窒素を経て硝酸態窒素に転換され、培養液に供給された。スピルリナの炭素/窒素比は、生物酸化消化液が化学肥料培養液の 1/2 程度となり、タンパク質の割合が大きくなることがわかった。資源再生培養液の炭素/窒素比が低くなった原因は炭素の吸収が低下したことが原因であり増殖速度も低下していたことから、今後この要因を明らかにすることが重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Satoru Sakuma, Ryosuke Endo, Toshio Shibuya	4. 巻 22
2. 論文標題 Acidophilic nitrification of biogas digestates accelerates sustainable hydroponics by enhancing phosphorus dissolution	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioresource Technology Reports	6. 最初と最後の頁 0-0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biortech.2023.101391	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13件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Ryosuke ENDO
2. 発表標題 Development of technologies for resource regeneration enabling circular food production in space and on the ground
3. 学会等名 The XX CIGR World Congress 2022（国際学会）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 遠藤良輔
2. 発表標題 地域で発生する有機性廃棄物の施設栽培に向けた資源化
3. 学会等名 公開シンポジウム「施設園芸のグリーン化に向けた課題と展望」 日本学術会議
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 遠藤良輔
2. 発表標題 宇宙および地上における循環的食料生産の基盤技術としての嫌気性処理
3. 学会等名 第 25 回日本水環境学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Ryosuke ENDO
2. 発表標題 Microbial functions required for resource regeneration in space agriculture
3. 学会等名 Eco-Engineering International ONLINE-symposium 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 里井誉, 遠藤良輔, 渋谷俊夫
2. 発表標題 有機性廃棄物からの再生資源を用いたスピルリナ培養
3. 学会等名 2021日本生物環境工学会 オンライン次世代研究発表会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 遠藤良輔
2. 発表標題 宇宙居住での物質循環において求められる微生物機能
3. 学会等名 第65回宇宙科学技術連合講演会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Ryosuke ENDO
2. 発表標題 Development of circular bio-based hydroponics for space and urban agriculture
3. 学会等名 Eco-Engineering International ONLINE-symposium 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 篠原和輝, 遠藤良輔, 中村俊輔, 廣部杏輔, 渋谷俊夫, 北宅善昭
2. 発表標題 キュウリ個葉画像から生育環境を推定する深層学習モデルにおける注目領域の可視化
3. 学会等名 農業情報学会2020年度年次大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 里井誉, 遠藤良輔, 渋谷俊夫, 北宅善昭
2. 発表標題 生物酸化処理したメタン発酵消化液を用いたスピルリナ培養 -炭素供給方法の検討-
3. 学会等名 生態工学会2020年次大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 廣部杏輔, 遠藤良輔, 篠原和輝, 中村俊輔
2. 発表標題 植物個葉画像から水分環境履歴を推定する深層学習-微細な形態的特徴の可視化
3. 学会等名 日本生物環境工学会2020年度東海・西日本・中四国支部合同大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 遠藤良輔
2. 発表標題 閉鎖システムでの資源循環型食料生産を制限する要因についての考察
3. 学会等名 第64回宇宙科学技術連合講演会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 遠藤 良輔・清水 啓太・渋谷 俊夫・北宅 善昭
2. 発表標題 励起蛍光マトリクスを用いた微細藻類のストレス診断手法の検討
3. 学会等名 日本農業気象学会2021年全国大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 遠藤良輔
2. 発表標題 都市農業における資源循環や効率的なエネルギー利用
3. 学会等名 日本学術会議公開シンポジウム（農学委員会農業生産環境工学分科会）
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 河野 重行ら	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 102
3. 書名 アグリバイオ 2021年9月号	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>生物環境調節学研究グループ https://www.omu.ac.jp/agri/bioenv/</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
---------	---------