

## 2.4 嫌気性アンモニア酸化プロセスを軸とした高効率窒素除去システムの開発

(北海道大学工学研究院 岡部聡)

### 2.4.1 Anammoxプロセスの最適条件の検討

嫌気性アンモニア酸化 (anammox) プロセスは、嫌気条件下でアンモニアと亜硝酸から直接窒素ガスに変換する生物反応である。anammox プロセスは、従来の窒素除去プロセスである硝化脱窒法と比較して、酸素及び有機物の供給が不要、さらにこれらを供給するための電力、薬品、また有機物から発生する余剰汚泥量の低減などの特長を有しており、大幅なランニングコストの削減が期待されている。しかし、anammox 細菌は難培養性の絶対嫌気性細菌であり、増殖速度が極めて遅く集積培養が非常に困難であるため、anammox 細菌の生理・生態に関する知見は極めて少ない。

これまでに著者らは、real-time PCR 法を用いた anammox 細菌の迅速な定量方法・検出方法を開発し、植種汚泥として最も適した汚泥を選択することを可能とした<sup>1)</sup>。さらに、選択した適切な汚泥を不織布を生物膜担体とした上向流カラムリアクターに植種し連続運転を行うことにより、anammox 細菌の効率的な集積培養に成功した<sup>2)</sup>。上向流カラムリアクター全体として、高い窒素除去速度は達成できたが、リアクター後半部では anammox 細菌が十分に存在するにもかかわらず、anammox 反応がほとんど生じていないことが明らかになった<sup>3)</sup>。この理由として、anammox 細菌は pH の上昇により活性阻害を受ける可能性があることが指摘されていることより、著者らのリアクターにおいても、リアクター後半部に存在する anammox 細菌は pH の上昇により阻害を受けた可能性が考えられる。

そこで本研究では、anammox リアクター内に廃水の流れ方向に棲み分けする微生物群集構造 (空間的配置) や活性をモニタリングし、リアクターを最適化することを目的とした。具体的には、リアクターへの基質流入方式を二段ステップ流入方式に切り替え、HRT を短縮することにより、リアクター後半部における pH 上昇の抑制を試みた。リアクター後半部における pH の上昇を抑制し、リアクター後半部における anammox 活性を高く維持することにより、リアクター全体としての処理能力の向上を図ることを目的とした。

#### 2.4.1.1 Anammoxリアクターの処理効率の評価

本研究では、植種汚泥として本研究室で運転を行っている上向流型anammoxリアクター内のバイオマスを使用し、図1に示すようにポリエステル製の不織布を生物膜担体として充填した内径 26 mm、全長280 mm、容積150 mLのガラス製カラム型リアクターに人工無機培地を上向流にて連続供給した。約300日間運転を行い、anammox細菌の馴養を行った後、実験を開始した。本研究におけるanammoxリアクターの運転条件及び人工無機培地の構成を表 1に示す。本研究では、Phase 3、4、5、6において、基質流入管をリアクター中間部に挿入 (図 1) することにより、リアクタ

一前半部の流入口より流入する基質と同濃度、同流量の基質を二段ステップ方式で流入させ運転を行った。また、リアクター各部位での処理水を採取し、リアクターの各区間 (Zone A-Zone D) での処理性を評価した。anammox反応による窒素ガス生成時に生物膜担体からバイオマスが剥離することを最小限に抑制する目的でリアクターを45度斜めに設置した。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 及びNO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N濃度はNH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N : NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N = 1.2 : 1、KHCO<sub>3</sub>濃度は500 mg/L、流入水pHは7.2±0.1 (塩酸により調整)、培養温度は37°Cに設定した。さらに、流出NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N濃度が50 mg/L、pHは流出水のpHが最適pHの上限である8.3以下になるようにそれぞれ調整した。また、培地作成時に窒素ガスで曝気し、溶存酸素 (DO) をDO計 (DO-5Z, KRK) で測定することにより0.1 mg/L以下にし、ヘッドスペースへ窒素ガスを約5分間置換することで培地を無酸素状態に保った。また、水理的滞留時間 (HRT) を0.1-1.6 hに設定した。リアクターの流入部及び流出部にはテフロン目皿を設置し、培地の容器にはガラス製で茶褐色細口共栓試薬瓶 (容積11 L, 23 L) を使い、気体の不透過性に優れているバイトン栓により蓋をした。さらに、窒素ガスを充填したアルミニウムバックを設置することで、培地が減少することにより生じるヘッドスペースへの酸素の混入を防いだ。チューブには気体の不透過性に優れているファーマドチューブ (PharMed BPT Tubing, MASTERFLEX, Illinois U.S.A) を使用し、培地交換時に毎回超音波洗浄を行った。

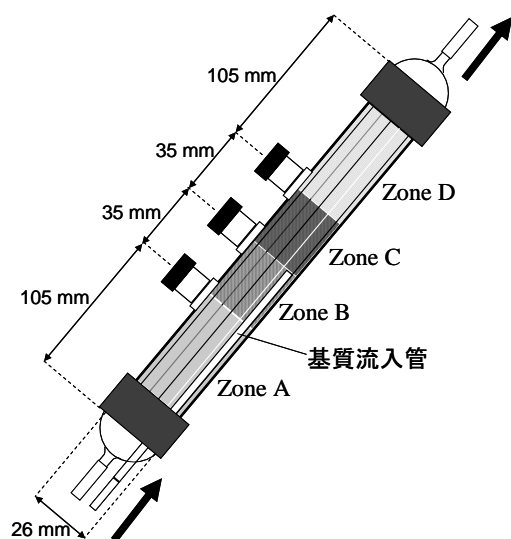


図1 本研究で用いたガラス製カラム型リアクター

表1 anammoxリアクターの運転条件

	運転期間 (day)	HRT (h)
Phase 1	35	0.8
Phase 2	9	1.6
Phase 3	40	前半部; 1.6 後半部; 0.8 (ステップ流入)
Phase 4	15	前半部; 0.8 後半部; 0.4 (ステップ流入)
Phase 5	9	前半部; 0.4 後半部; 0.2 (ステップ流入)
Phase 6	16	前半部; 0.2 後半部; 0.1 (ステップ流入)
無機合成培地	[mg/L]	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	140-420	
NaNO <sub>2</sub>	120-410	
KHCO <sub>3</sub>	500	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27	
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	300	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	180	
微量金属元素 (TES I, TES II)		
培養温度	37°C	
DO	0.1 mg/L以下	
流入pH	7.2±0.1	
リアクター容積	150 mL	

TES(Trace Element Solution) I

EDTA	15 [g/L]
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	9.14

TES(Trace Element Solution) II

EDTA	15 [g/L]
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.43
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.24
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.99
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.25
Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.22
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.19
Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	0.21
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.0014

上向流カラムリアクターの処理性を評価するために、サンプルを 0.2  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルター (DISMIC-13CP, ADVANTEC) で濾過後、イオンクロマトグラフ (DIONEX D-100、陽イオンカラム : IonPac CS3, DIONEX、陰イオンカラム : IonPac AS9-HC, DIONEX) を用いてリアクターの培地及び流出水の  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  及び  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  濃度を測定した。また、pH 計 (B-212, HORIBA) を用いてサンプルの pH を測定した。

### (1) ステップ流入運転前における処理性

各Phaseにおける流入水中の平均 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度、及びHRTを図 2に、また、流入窒素負荷、窒素除去速度、及びHRTの経日変化、ならびに各Phaseにおけるリアクター各区間での平均窒素除去速度及び窒素除去に対する寄与率を図3に示す。さらに、流入水中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$  及び  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度は、anammox活性が良好な $\text{NH}_4^+\text{-N} : \text{NO}_2^-\text{-N} = 1.2 : 1$ になるように設定した。また、各Phaseにおける流入水中の基質濃度は、基質の枯渇を防ぐ目的で、流出水中の $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が50 mg/L付近になるように計算して決定した。Phase 1においてHRTを0.8 hに固定し運転を行ったところ、窒素除去速度は安定的に推移し、平均窒素除去速度は $10.2 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  (平均窒素負荷;  $17.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ) であり、各区間における窒素除去への寄与率はそれぞれ73% (Zone A)、10% (Zone B)、3% (Zone C)、14% (Zone D) であった。これはリアクター体積比の38%に相当するZone Aにおいて7割以上の窒素が除去され、それ以降の部分では、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  及び $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度が十分であったにも関わらずリアクターのパフォーマンスが著しく低下していることを示している。HRTを1.6 hに延長し流入窒素負荷を低下させたPhase 2では、平均窒素除去速度は $6.7 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  (平均窒素負荷;  $10.3 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ) とPhase 1に比べて減少した。

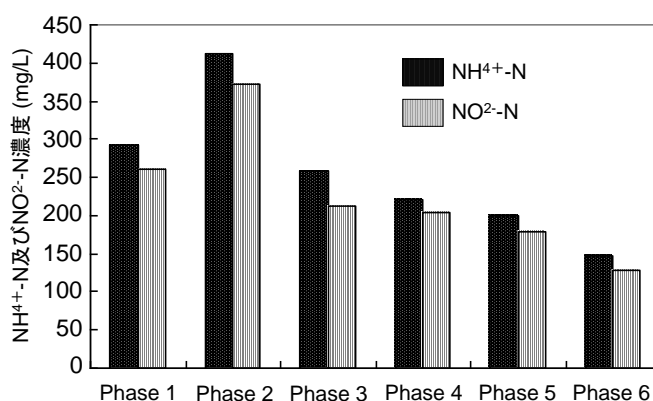


図 2 各Phaseにおける流入水中の平均 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 濃度

### (2) ステップ流入運転後における処理性

リアクターの運転開始 44 日目に、リアクターを二段ステップ流入方式に切り替え運転を行った。Phase 3 (前半部 HRT; 1.6 h、後半部 HRT; 0.8 h) でステップ流入方式導入後、HRT を段階的に

短縮していった。その結果、Phase 5 (前半部 HRT; 0.4 h、後半部 HRT; 0.2 h) では、リアクター後半部の anammox 活性が上昇し、それに伴いリアクター全体の平均窒素除去速度が  $26.8 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  まで増加した(図 3)。また、Phase 5 においては、リアクター後半部 (Zone C + Zone D) はリアクター全体の窒素除去の 5 割以上に寄与していた。さらに HRT を短縮し窒素負荷を増加した Phase 6 において、窒素除去速度が最大の  $31.2 \text{ kg/m}^3/\text{day}$  を記録した。しかしながら、運転を継続するに伴い流出水中の  $\text{NO}_2\text{-N}$  濃度の上昇が確認され、窒素除去速度はこれ以上増加せず、リアクター全体の平均窒素除去速度は Phase 5 と同程度 ( $26.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ) であった。このことより、Phase 6 においてリアクター前半部及び後半部それぞれにおいて窒素除去速度は最大に達したと考えられる。

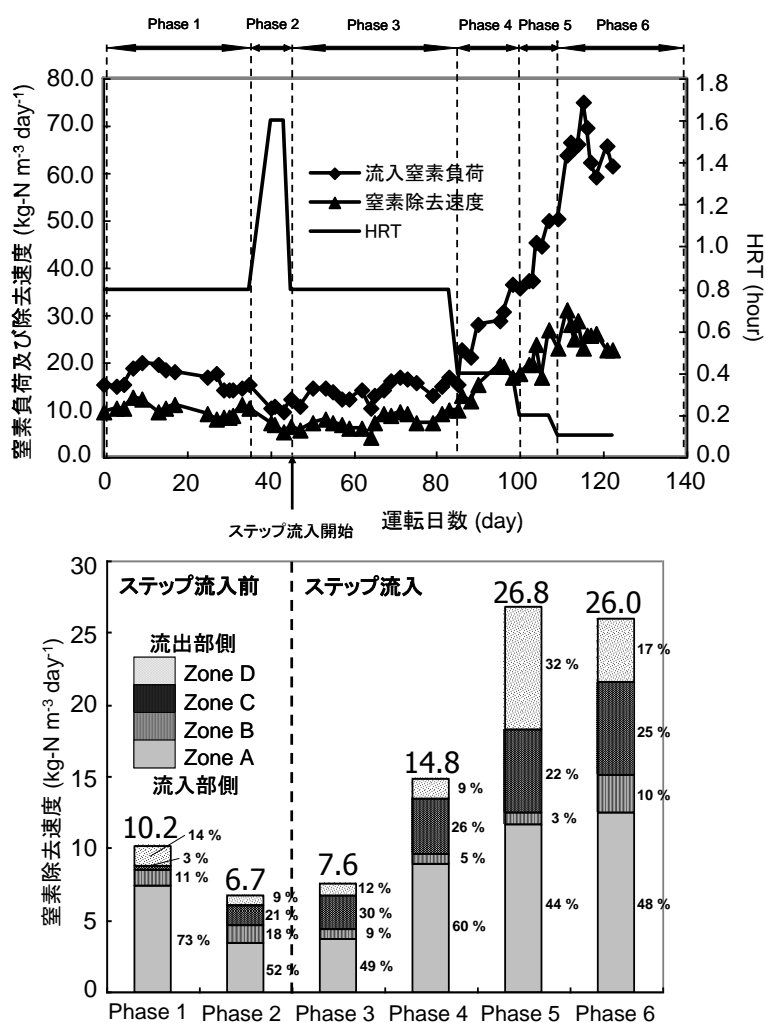


図 3 流入窒素負荷、窒素除去速度、及びHRTの経日変化、ならびに各Phaseにおけるリアクター各区間での平均窒素除去速度及び窒素除去に対する寄与率

### (3) 流出水中の pH の変化

流入水のpHを $7.2 \pm 0.1$ に設定した場合の各Phaseにおける流出水の平均pHを図4に示す。ステップ流入を導入しHRTを段階的に短縮していくことによって、流出水の平均pHは減少していった。Phase 1において流出水の平均pHは8.2であったのに対し、リアクター前半部及び後半部のanammox活性の上昇が停滞したPhase 5以降では、流出水の平均pHは7.9 (Phase 5)、7.7 (Phase 6) に低下していた。既往の研究により、anammox細菌の活性はpH8.3以上で阻害されるという報告がある<sup>4)</sup>。著者らの既往の研究において、微小電極を用いて生物膜内のpH分布を測定した結果によると、anammox活性により生物膜内では最大0.5 pHユニット程度液本体よりも高いことが確認されている<sup>4)</sup>。従って、ステップ流入導入前のPhase 1及びPhase 2における生物膜内部においては、pHがanammox細菌の最適培養条件 (pH = 6.7 - 8.3) の上限値を大幅に上回っている可能性がある。以上より、流出水のpHの上昇が8.0以下に抑制されたことにより、リアクター後半部のanammox活性が上昇したと考えられる。

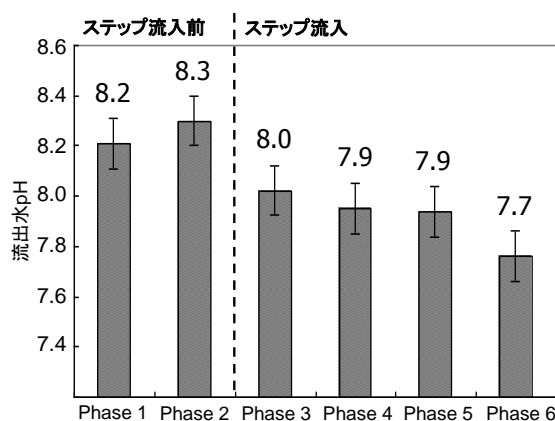


図4 流入水のpHを $7.2 \pm 0.1$ に設定した場合の各Phaseにおける流出水の平均pH

### (4) 各区間におけるAnammox細菌の存在割合

バイオフィルムの切片化およびFISH法の手順は、Amann, 1995<sup>5)</sup>、Okabe et al., 1999<sup>6)</sup>の方法に準拠した。FISH法に用いた蛍光オリゴヌクレオチドプローブは、全細菌に特異的なEUB338<sup>7)</sup>及び*Candidatus Brocadia anammoxidans* 特異的なAMX820<sup>8)</sup>の2種類である。本研究で用いたプローブは最新の16S rRNA sequencing databaseに基づくARB software package (<http://www.arb-home.de/>) のPROBE\_DESIGN toolにより設計した。また、プローブの特異性はARB database により確認し、ハイブリダイゼーションの最適条件は実験により決定した。プローブはfluorescein isothiocyanate (FITC) またはtetramethylrhodamine 5-isothiocyanate (TRITC) で標識されたものを用いた。ハイブリダイゼーションは46°Cで3時間行い、その後48°Cで20分間洗浄を行った。ハイブリダイゼーションしたサンプルは、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM510, Zeiss) を用いて、波長488 nm (Arレーザー) と543 nm (HeNeレーザー) のレーザーでスキャンを行い観察した。

Phase 1 (リアクターの運転開始 5 日目) において、リアクター前半部 (Zone A)、中間部 (Zone B + Zone C)、及び後半部 (Zone D) のそれぞれの区間よりバイオマスを採取し FISH 法を行った。全細菌に特異的な配列を持つプローブ EUB338 及び *Candidatus Brocadia anammoxidans* に特異的な配列を持つプローブ AMX820 により蛍光標識し、EUB338 で標識された全細菌に占める AMX820 で標識された anammox 細菌の存在割合を算出した。その結果、ANAMMOX 細菌のリアクターの各区間での存在割合は、Zone A では 95%、Zone B 及び C では 94%、Zone D では 90% であり、anammox 細菌はどの区間においても極めて高い存在比で存在していた。

さらに、Phase 1 (リアクターの運転開始 5 日目) において、リアクター前半部 (Zone A) 及び後半部 (Zone D) のバイオマスを対象として、anammox 細菌に特異的なプライマーセット Pla46f 及び Univ1387r を用いて 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行った。16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行うために、上向流カラムリアクターの前半部 (Zone A)、中間部 (Zone B + Zone C)、及び後半部 (Zone D) からそれぞれバイオマスサンプルを 3 つずつ採取し (前半部; 3.5 mL、中間部 2.0 mL、後半部 2.5 mL)、DNA 抽出を行うまで -80°C で冷凍保存した。その後、採取したサンプル 200  $\mu$ L を Fast DNA Spin Kit (BIO101) を用いて DNA 抽出を行った。抽出された DNA は、Hofer DyNA Quant 200 (Amersham) を用いて濃度 (ng/ $\mu$ L) を測定した。抽出された DNA は -20°C で保存した。抽出された DNA を Sigma の *Taq* DNA polymerase と *Planctomycetals* 目及び全細菌に特異的なプライマーセット Pla46f<sup>9)</sup> 及び Univ1387r<sup>10)</sup> を用いて PCR 増幅を行った。PCR プログラムは初期変性が 94°C で 5 min、[94°C: 90 sec、62°C: 90sec、72°C : 1 min]  $\times$  25 サイクル、最後に 72°C で 4 min とした。得られた PCR 産物は 1% アガロース電気泳動で確認した。PCR 増幅断片は、Wizard PCR Minipreps DNA purification system (promega) を用いて精製後、pGEM-T vector cloning system (promega) を用いてトランスフォーメーションを行った。プラスミド DNA は Wizard Plus Minipreps DNA purification system (promega) を用いて回収・精製し、ほぼ 16S の全領域の塩基配列は ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) で決定した。得られた塩基配列は、BLAST を用いて相同性を比較した。また、CLUSTAL W パッケージを用いて Neighbour-Joining 法により系統樹を作成した。

系統解析の結果に基づいて作成した系統樹を **図 5** に示す。その結果、リアクター前半部及び後半部において、それぞれ検出頻度 73%、96% の割合で同種の anammox 細菌のクローンが検出された。また、検出された anammox 細菌のクローンは *Candidatus Brocadia anammoxidans* に対して約 92~96% の相同性を有しており、新種の anammox 細菌である可能性が示唆された。以上より、本リアクター内には単一種の anammox 細菌が一様に存在していることが示唆された。

以上の様に、本研究では、上向流型 anammox リアクターの窒素除去性能の評価を行った。リアクターを二段ステップ流入方式とし、HRT を適宜短縮して連続運転を行うことにより、リアクター後半部の pH 上昇を抑制し、anammox リアクター後半部の ANAMMOX 活性を上昇・維持させることにより、anammox リアクター全体として、最大窒素除去速度 31.2 kg-N/m<sup>3</sup>/day を達成した。

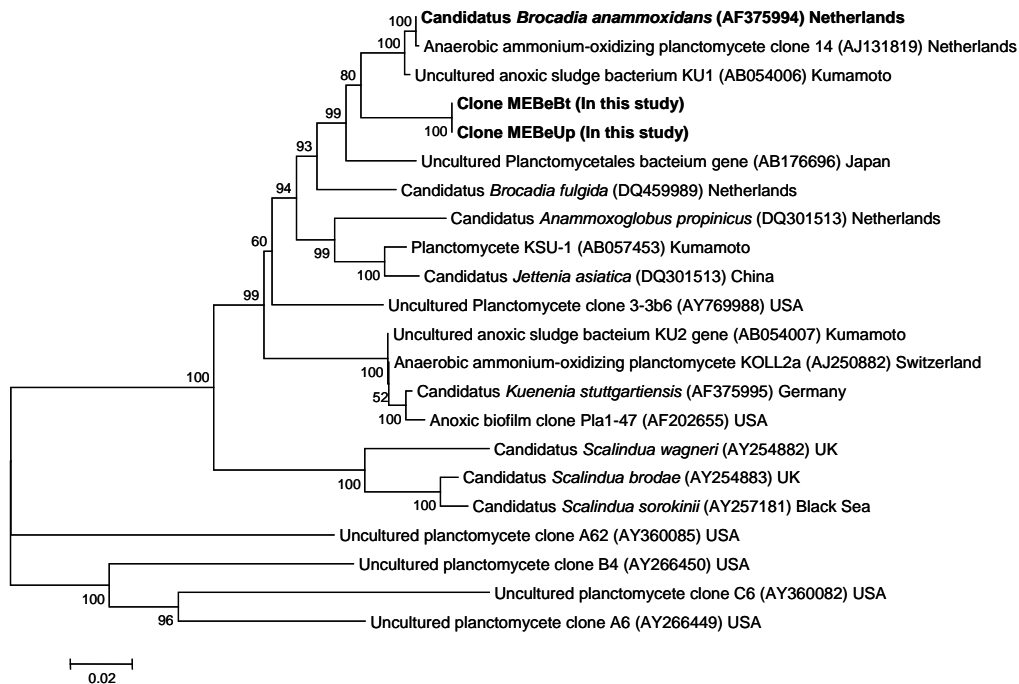
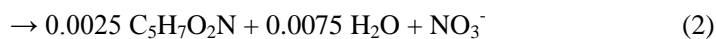
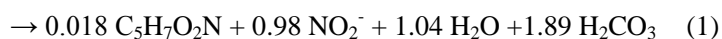
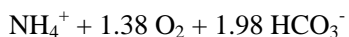


図 5 16S rDNA 遺伝子に基づく系統解析による anammox 細菌の系統樹(1438 bp)

## 2. 4. 2 部分硝化プロセスの最適条件を検討

新規の窒素除去プロセスである anammox プロセスの導入においては、前段において亜硝酸性窒素の生産を行う部分硝化プロセスの確立が必要である。

部分硝化反応（アンモニア酸化反応）はアンモニア酸化細菌（AOB）によって担われ (1) に示す化学量論式で示されるが、生成した亜硝酸は直ちに亜硝酸酸化細菌（NOB）によって硝酸にまで酸化される (2)。



本研究では、ヒドロキシルアミン (NH<sub>2</sub>OH) を系内に添加することにより、部分硝化反応の迅速な安定化及び性能向上を図ることを目的とし、anammox プロセスに応用可能な部分硝化プロセスの構築を目指すものである。また、DO 濃度など部分硝化プロセスの最適条件を検討した。

### 2. 4. 2. 1 部分消化リアクターの処理効率

本研究では、植種汚泥として創成川下水処理場の曝気槽内の活性汚泥を使用した。汚泥を約 20 日間馴養させた後、ポリエステル製の不織布を生物膜担体として充填した（充填率：1%）内

径 45 mm、全長 500 mm、容積 800 mL のガラス製固定床型リアクター内に汚泥を植種した。人工無機培地及び空気をリアクター下部より連続供給することにより連続運転を行った。部分硝化リアクター内に供給した人工無機培地の構成及び培養条件を表 2 に示す。人工無機培地内には亜硝酸酸化細菌 (NOB) の活性を抑制すると報告されている<sup>11)</sup> ヒドロキシルアミン (NH<sub>2</sub>OH) を、250 μM となるように添加した。また、重炭酸添加量は (1) に示したアンモニア酸化細菌 (AOB) の化学量論式にならない、供給するアンモニア性窒素濃度に応じて変化させた。流入及び流出水中の各窒素態濃度は、イオンクロマトグラフィーにより測定した。さらに、リアクター内よりバイオマスを採取しリアクター内の菌体重量 (VSS) を測定した。

表 2 人工無機培地の構成及び培養条件

Synthetic Medium		[mg/L]	Running Condition	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		30-280	Temperature	38°C
KHCO <sub>3</sub>		430-3140	Influent pH	7.8±0.1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		27	HRT	4 h
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O		300	Air flow rate	100 - 200 mL/min
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O		180	Volume	800 mL
Trace Element Solution (TES I ,TES II)				
NH <sub>2</sub> OH	(250 μM)	0.017		

### (1) 処理性の経日変化

窒素負荷量、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及び曝気量の経日変化を図 6 に示す。部分硝化リアクターの運転開始後、曝気量を 100 ml/min 程度、HRT を 4 h に固定した状態で窒素負荷量のみを増加させた結果、リアクターの運転開始後 80 日間で 0.61 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> の亜硝酸生成速度に到達した。また、硝酸生成速度は 0.03 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> 以下で安定的に推移し、良好な部分硝化反応が確認された。次に、窒素負荷量を急激に低下 (1.1→0.2 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup>) させたところ、亜硝酸生成速度の低下とともに硝酸生成速度が急激に上昇し、完全硝化の進行が確認された。ここで、完全硝化確認前の状態を Phase 1、完全硝化確認後の状態を Phase 2 と定義することにする。

さらに、Phase 2 において完全硝化から部分硝化への回復が確認された後、系内へのヒドロキシルアミン (NH<sub>2</sub>OH) の添加を取り止めた状態でリアクターの運転を行った結果、Phase 2 における部分硝化回復時と同様の状態を維持することが可能であった。このヒドロキシルアミン (NH<sub>2</sub>OH) の添加を取り止めた後の状態を Phase 3 として定義する。また、ヒドロキシルアミン (NH<sub>2</sub>OH) の添加を取り止めた後、曝気量を 200 ml/min 程度に増加させた状態を Phase 4 として定義する。



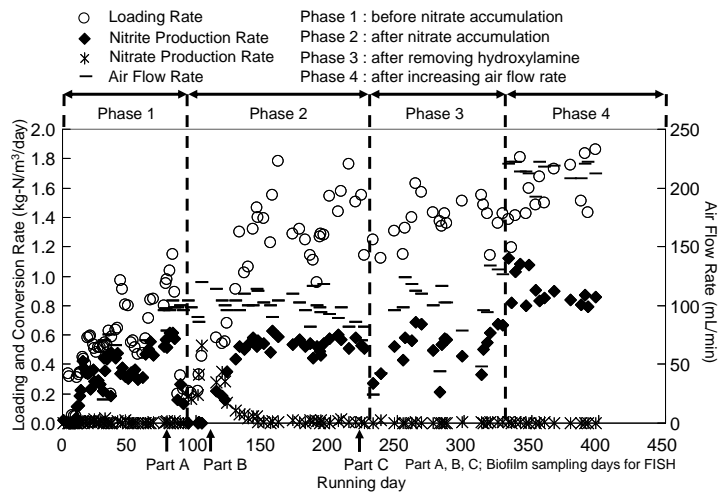


図 6 窒素負荷量、亜硝酸生成速度、及び硝酸生成速度の経日変化

### (2) 完全硝化確認前 (Phase 1) における比アンモニア酸化活性

Phase 1 における亜硝酸生成速度が最大に達した後、亜硝酸生成速度を単位菌体重量 (g-VSS) あたりの値に変換した比アンモニア酸化活性の値を算出した結果  $0.27 \text{ g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$  であった。ここで、既往の報告における最大比アンモニア酸化活性の値を表 3 に示す。本研究における比アンモニア酸化活性の値は  $0.27 \text{ g-N g-VSS}^{-1} \text{ day}^{-1}$  であったが、この値は生物膜系による培養を行った報告より 2 倍以上高い値であった。これは、ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) により NOB の活性を抑制し、AOB のみを選択的かつ効率的に活性化することができたためであると考えられる。

表 3 既往の報告における最大比アンモニア酸化活性

Specific ammonium oxidizing activity (g-N g-VSS <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	System	Reference
0.17-0.29	Suspended	Tokutomi, 2004 <sup>12)</sup> Yang et al., 2003 <sup>13)</sup>
0.08-0.10	Biofilm	Garrido et al., 1997 <sup>14)</sup> Yun and Kim, 2003 <sup>15)</sup>
0.12	Biofilm	Chung et al., 2007 <sup>16)</sup>
<b>0.27</b>	<b>Biofilm</b>	<b>In this study</b>

### (3) 完全硝化確認後 (Phase 2) における処理性

Phase 2 における各窒素負荷量に応じたアンモニア消費速度、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及びフリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度を図 7 に示す。低負荷領域 ( $< 0.5 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ) において

は、完全硝化が確認されたが、窒素負荷量を増加させることにより、硝酸生成速度の低下とともに亜硝酸生成速度が次第に上昇していった。窒素負荷量が  $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  程度以上となった後は、亜硝酸生成速度及び硝酸生成速度は Phase 1 と同程度に推移し、部分硝化の回復が確認された。また、流出水中のフリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度の増加に伴い、部分硝化反応が回復する傾向が確認された。Anthonisen らは、フリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度が  $0.1 \text{ mg/L}$  以上となった時に NOB の活性が抑制されたと報告<sup>17)</sup>しており、本実験においては、フリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度が  $0.4 \text{ mg-N/L}$  程度となった時に硝酸生成速度の低下が確認されたことより、フリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度が NOB の活性抑制に寄与している可能性は高いと考えられる。

以上より、窒素負荷量を高負荷側に設定することにより、部分硝化反応を安定化させることができる可能性が示唆された。

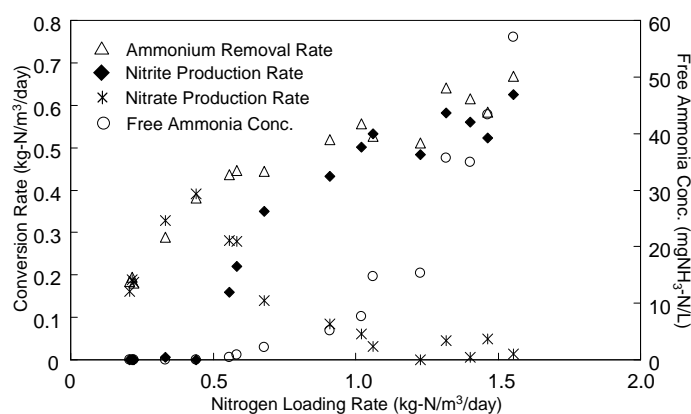


図 7 各窒素負荷量に応じたアンモニア消費速度、亜硝酸生成速度、硝酸生成速度、及びフリーアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) 濃度

#### (4) ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) 添加停止後 (Phase 3) における処理性

窒素負荷量を  $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  以上の高負荷に保った状態でヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) の添加を取り止めた後 (Phase 3) においても、亜硝酸生成速度は Phase 2 と同程度 ( $0.6 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  付近) に推移した。このことから、ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) の系内への添加は、リアクターのスタートアップ時のみで十分であることが示唆された。また、ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) の系内への添加により部分硝化反応が安定した後は、ヒドロキシルアミン無添加の状態においても、窒素負荷量を  $1.0 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  以上の高負荷に設定することにより、部分硝化反応を安定的に維持できる可能性が示唆された。

#### (5) 曝気量増加後 (Phase 4) における処理性

ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) の添加停止後において曝気量を  $200 \text{ ml/min}$  程度に増加させた (Phase 4) 結果、最大亜硝酸生成速度  $1.1 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  を達成したが、その後速度の低下が確認され、亜硝酸生成速度は  $0.9 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  程度で推移した。この速度の低下は曝気量の増加

による生物膜の剥離及び流出が原因であると考えられる。

曝気量と亜硝酸性速度との相関を図 8 に示す。図 8 より曝気量と亜硝酸生成速度との間には高い正の相関 ( $R^2 = 0.84$ ) が認められ、このことから本研究における部分硝化反応の律速因子は電子受容体である溶存酸素量である可能性が示唆された。

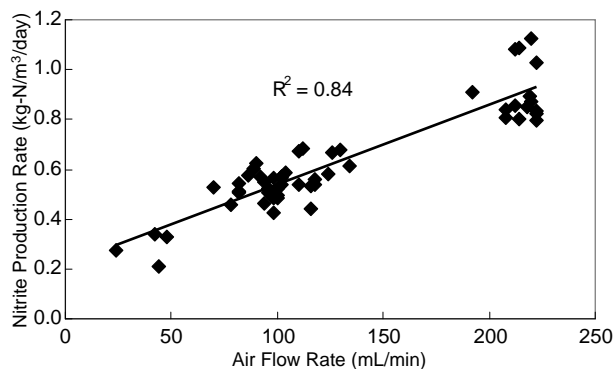


図 8 曝気量と亜硝酸生成速度との相関関係

#### (6) FISH 法による完全硝化確認前後における菌相解析

部分硝化確認時の Phase 1、完全硝化確認時の Phase 2、及び部分硝化回復時の Phase 3 において、リアクター内よりバイオマスを採取し FISH 法を行い、各硝化細菌の存在割合を算出した。FISH 法に用いた蛍光オリゴヌクレオチドプローブは、*Nitrosomonas* spp. (AOB) に特異的な NEU (5'-CCCCTCTGCTGCACTCTA-3')、Phylum *Nitrospira* (NOB) に特異的な Ntspa712 (5'-CGCCTTCGCCACCGGCCTTCC-3')、及び *Nitrobacter* spp. (NOB) に特異的な NIT3 (5'-CCTGTGCTCCATCCG-3') の 3 種である。完全硝化確認前の Phase 1 (Part A) においては、*Nitrosomonas* spp. に特異的な NEU の蛍光が確認されたが、Phylum *Nitrospira* 及び *Nitrobacter* spp. に特異的な Ntspa712 及び NIT3 の蛍光は確認されなかった。次に Phase 2 で完全硝化確認後の状態 (Part B) においては、NEU 及び Ntspa712 の蛍光がそれぞれ確認された。さらに、Phase 2 で部分硝化回復後の状態 (Part C) においては、NEU の蛍光が顕著に見られたが、Ntspa712 の蛍光もごく僅かに確認された。しかし、Part B 及び Part C においても Part A 同様 NIT3 の蛍光は確認されなかった。また、各 Part における各硝化細菌 (*Nitrosomonas* spp., Phylum *Nitrospira*, *Nitrobacter* spp.) の存在割合を算出した結果、*Nitrosomonas* spp. は Part A では 34%、Part B では 9%、Part C では 47% 存在しており、完全硝化確認時における存在割合の低下、及び部分硝化回復時における存在割合の増加が確認された。また、Phylum *Nitrospira* は Part A では 0%、Part B では 4%、Part C では 2% 存在しており、完全硝化確認時において存在が確認され、部分硝化回復時においてもごく僅かの存在が確認された。

以上の結果をまとめると、

- ・ ヒドロキシルアミン ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) を  $250 \mu\text{M}$  となるように系内に添加することで、迅速な部分硝化リアクターのスタートアップに成功し、運転開始後 80 日間で  $0.61 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  ( $0.27 \text{ g-N}$

g-VSS<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) の亜硝酸生成速度に到達し、また、運転開始後 333 日目には最大亜硝酸生成速度 1.1 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> を達成した。

- ・ 窒素負荷量を 1.0 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> 以上の高負荷に設定することによって、完全型硝化反応から部分硝化反応への回復及び安定化が可能なが示唆された。
- ・ 高負荷運転に伴うフリーアンモニア (NH<sub>3</sub>) 濃度の上昇が亜硝酸酸化細菌 (NOB) の活性を抑制している可能性が示唆された。

さらに、部分硝化プロセスの安定化、高効率化を図るために、1)多量のバイオマスを保持できることから高速処理が可能となる、2)阻害物質に対する耐性が高まる、3)汚泥の固液分離が容易になる、等の利点を有するグラニュール汚泥を用いた廃水処理プロセスに着目した。現在、グラニュール汚泥を用いたプロセスとして UASB 法は広く普及しており、その他にも硝化脱窒プロセス、リン除去プロセスとして応用に成功した事例が報告されている。しかしながら、部分硝化-anammox プロセスの前段(部分硝化プロセス)に、好気性グラニュール汚泥を用いた報告は無い。

本研究では、好気性グラニュール汚泥を用いた部分硝化リアクターの立ち上げを目指し、活性汚泥を種汚泥としてグラニュール汚泥の育成を行った。また、曝気量を制限することによって部分硝化反応の安定化を目指した。

リアクター概要および運転条件として、上向流エアリフト型リアクター(外筒: 高さ 80cm、直径 7cm、内筒 高さ 33cm、直径 4cm、アクリル製)を用い逐次回分的に運転した。リアクター容積は 2.5L で、種汚泥として札幌市創成川水処理センターで運転されているパイロットスケール MBR の汚泥混合液を投入した。リアクター運転時のタイムシーケンスは以下の通りとした; 人工基質供給 5 分、好気処理 220 分、沈殿 10 分、排出 5 分、計 240 分。好気処理条件ではリアクター底部よりエアポンプによる曝気(0.5~1 L min<sup>-1</sup>)を行った。人工基質は以下の組成で調整した: (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.36 g L<sup>-1</sup>、CH<sub>3</sub>COONa 0.64 g L<sup>-1</sup>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 28 mg L<sup>-1</sup>、KHCO<sub>3</sub> 4.7 g L<sup>-1</sup>。運転 0 日目から 23 日目までは容積負荷 0.6 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> で運転し、24 日目以降は 1.2 kg-N m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> で運転した。リアクターの設定 HRT は 8 時間とし、余剰汚泥引き抜きによる SRT の制御は行わなかった。本リアクターは温度制御無しで運転し、運転期間における室温は 8~20°C だった。

運転期間において、グラニュール汚泥がリアクター内で育成される様子が観察された。種汚泥では大きさ 200 μm 程度の活性汚泥フロックであったが、運転 30 日目には約 3 mm 程度のグラニュールまで成長した。この際の SVI<sub>30</sub> は 50 mL g<sup>-1</sup> 以下であり、良好な沈降性を示した。本リアクターは部分硝化能として亜硝酸生成速度 1.25 kgN m<sup>-3</sup> day<sup>-1</sup> (亜硝酸への転換率約 50%) を達成したのみならず、90% 以上の安定した TOC 除去能を持ち、anammox プロセスの前段に設けるリアクターとして期待される性能を示した。部分硝化-anammox プロセスの前段(部分硝化プロセス)に、好気性グラニュール汚泥を用いた報告は無く、極めて新規な部分硝化嫌気性グラニュールリアクターを構築できた。

#### 2. 4. 3 人工廃水を処理する部分硝化-Anammox 並列リアクターの開発

2. 4. 1で開発した anammox リアクターと2. 4. 2で開発した部分硝化リアクターを結合した、部分硝化-Anammox 並列型リアクターを作成し、人工廃水を用いて長期連続運転を行った。この実験により、流入基質としてアンモニア性窒素のみを部分硝化リアクターに供給し、窒素ガス ( $N_2$ )まで直接変換することを試みた。部分硝化-Anammox 並列型リアクターを作成した。この時の ANAMMOX リアクターの最大窒素除去速度  $15.0 \text{ Kg-TN m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  を達成した。本研究の最終目標であった最大窒素除去速度  $12.0 \text{ Kg-TN m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  を達成できた。

#### 2. 4. 4 分子生物学的手法およびマイクロセンサーによる微生物群集解析

本研究で構築した部分硝化-Anammox プロセスにおける  $N_2O$  の発生割合を調査した結果、プロセス全体に流入する全窒素量に対して、部分硝化リアクター気相中では 4.0 %、液相中では 0.003 %であり、また、Anammox リアクター気相中では 0.08 %、液相中では 0.02 %であった。Anammox グラニュールからの  $N_2O$  の発生量は pH に依存することが示唆された。部分硝化-Anammox プロセスからの  $N_2O$  生成を低減するためには、部分硝化グラニュールおよび Anammox グラニュールからの  $N_2O$  生成メカニズムを解明する必要がある。そこで、微小電極を用いて部分硝化および Anammox グラニュール内の NO および  $N_2O$  を測定し、発生メカニズムを解析した。容積 2L のアクリル容器に部分硝化グラニュールを充填し、半回分型部分硝化リアクターとした。タイムシーケンスは、人工基質供給 2 分、好気処理 233 分、沈殿 3 分、排出 2 分(計 240 分)とした。アンモニア ( $NH_4^+$ ) 負荷を  $1.0\text{g-N/L/day}$  とし、HRT は 8 h とした。80 日間リアクターを運転したところ、運転開始時から部分硝化反応が見られた。亜硝酸 ( $NO_2^-$ ) 変換率は 40% から 60% であった。ヘッドスペース中の  $N_2O$  を測定した結果、 $N_2O$  濃度は 30 ppm から 70 ppm、 $N_2O$  発生速度は 30 から 70  $\mu\text{mol/L-グラニュール/day}$ 、 $NO_2^-$  生成速度に対する  $N_2O$  発生速度の比は 0.84% であることが明らかとなった。

半回分式運転の 1 サイクルにおける、 $NH_4^+$ 、 $NO_2^-$ 、 $NO_3^-$ 、DO、pH、 $N_2O$  を詳細に測定した。 $NH_4^+$  は運転時間に比例して減少し、化学量論的に正しい量の  $NO_2^-$  が生成した。エアレーションをしない人工基質供給期間には、 $N_2O$  は約 1 ppm であった。好気処理開始時にエアレーションを開始したところ、急激に  $N_2O$  が増大し、5 分後には最大(約 100 ppm)となった。その後、基質供給から約 60 分後までに  $N_2O$  は約 50 ppm まで減少した。その後も  $N_2O$  は減少したが、減少速度は小さかった。沈殿のためにエアレーションを止めたところ、 $N_2O$  は 4 分程度で約 1 ppm まで低下した。微小電極を用いて PN および Anammox グラニュール内の NO および  $N_2O$  を測定した。PN および Anammox グラニュールともに、表面から深さ 100  $\mu\text{m}$  の地点に NO のピークが観察された。ピークの濃度は、PN グラニュールでは 0.8  $\mu\text{M}$  であったのに対し、Anammox グラニュールでは 2.0  $\mu\text{M}$  であった。 $N_2O$  は、部分硝化および Anammox グラニュールともに、表面からグラニュール中心に向かって(グラニュール中心を原点とする)放物線を描いて増大した。中心での  $N_2O$  は、PN グラニュールでは 15  $\mu\text{M}$ 、Anammox グラニュールでは 20  $\mu\text{M}$  であった。

#### 2. 4. 5 Anammox 細菌のメタゲノム解析

Anammox 細菌は増殖速度が極めて遅く(倍化時間約 1-2 週間)、有機物や酸素曝露により活性の阻害を受けるため集積培養は非常に困難である。このような理由からこれまでに、経験に基づく試行錯誤的な方法で集積培養に成功した事例は少なく、anammox 細菌は、未だ単離培養されておらず、生理・生態に関する知見も少なく最適培養条件も未知な点が多い。このような難培養性の細菌を活用するためには、ゲノム情報から基礎的な生理・菌学的特長の違い、進化系統の違いなどの検討を行う必要がある。また、排水処理への適用を考えた場合においても、リアクターの立ち上げ、負荷変動への対応、酸素阻害、など最適運転条件を、ゲノム情報に基づき検討する必要がある。本研究では、*Ca. 'B. sinica'*の代謝特性を網羅的に理解する事をめざし、メタゲノム解析によって *Ca. 'B. sinica'*の全ゲノム配列の決定を試みた。

*Ca. 'B. sinica'*の集積培養系を構築するため、嫌気槽から活性汚泥を採取し、ガラス製上向床型カラムリアクターへ殖種した。リアクターへ基質としてアンモニア、亜硝酸( $50\sim 200\text{mgN L}^{-1}$ )を含む無機栄養塩培地を連続通水し、嫌気条件を維持しながら  $37^{\circ}\text{C}$ において 100 日以上連続培養を行なった。リアクター内における anammox 活性を水質モニタリングによって確認した後、集積培養系における *Ca. 'B. sinica'*の優占度を調査した。Anammox 菌特異的な蛍光遺伝子プローブを用いた FISH 法および 16S rRNA 遺伝子配列のダイレクトシーケンスを行なった結果、我々が獲得した集積培養系において、1) anammox 菌が全バイオマス中の 9 割以上を占めていること、2) *Ca. 'B. sinica'*が単一種として存在することが明らかとなった。これらの結果から、メタゲノム解析に適した試料を得る事に成功したと判断し、ゲノム DNA の抽出および高速シーケンス解析を行なった。高速シーケンス解析では、GS FLX Titanium (Roche)を用い、1/2 プレートのシーケンス解析をフラグメント解析および 3kb のペアエンド解析について実施した。得られた配列を GS *de novo assembler*によってアセンブルし、scaffold 配列を得た。さらに、scaffold 間に存在する未知リンクを解析するため、フォスミドライブラリ(インサート長: 30-40kb)を作成し、scaffold 末端配列に特異的な PCR プライマーを用いて、フォスミドクローン(1000 クローン)をスクリーニングした。最終的に得られた scaffold 内に存在するギャップ領域について、プライマーウォーキング法によって塩基配列を決定し、contig 配列とした。Contig 配列に対する遺伝子予測として、CDS 予測は Glimmer 2 および CRITICA、rRNA 予測は Blastn、tRNA 予測は tRNA-Scan-SE を用いて行なった。

メタゲノム解析の結果、4.0Mbp (GC 含量 41%)の 1 contig からなるゲノム配列の再構築に成功した。保存遺伝子の有無に基づき、本 contig のゲノムカバー率を予測した結果、ゲノム全体の少なくとも 98%をカバーする配列であることが明らかとなった。Anammox 菌についてこれまでに 2 件のメタゲノム解析結果が報告されているが、それらは 5 または 7662 contigs からなる断片的なゲノム情報を提示しているにすぎず、本研究において極めて完成度の高いゲノム配列を決定することができた。こうした完成度の高いゲノム配列は、代謝特性を網羅的に理解するために必須であり、本研究においてこの目的を達成することができた。

遺伝子予測解析の結果、*Ca. 'B. sinica'*のゲノム上からは 3900 個の遺伝子が見いだされた。窒素代謝関連遺伝子について、anammox 細菌の一種である *Ca. 'Kuenenia stuttgartiensis'*と比較

したところ、anammox 反応における亜硝酸還元を担うと考えられていた *nirS* 遺伝子が *Ca. 'B. sinica'* のゲノム上から見いだされなかった。従属栄養性脱窒菌または anammox 菌の *nirS* 遺伝子に特異的な PCR プライマーを用いて *nirS* 遺伝子の有無をさらに調べたが、こちらの解析においても *nirS* 遺伝子は *Ca. 'B. sinica'* のゲノム上からは見いだされなかった。この発見は *Ca. 'B. sinica'* が *Ca. 'K. stuttgartiensis'* とは異なる経路で anammox 反応を行なっていることを示唆している。*Ca. 'B. sinica'* が持つ高い増殖速度( $m_{max}=0.0041 \text{ h}^{-1}$ )はこうした代謝経路の違いによって生み出されている可能性があり、代謝経路の詳細な解明および関連遺伝子群の同定が今後望まれる。

#### 2. 4. 6 実廃水を用いた実証試験 (Anammox プロセスのみ)

消化汚泥脱離液を部分硝化リアクター処理にて処理し、その処理水を anammox リアクターへ連続的に供給しながら約 120 日間の運転を行なった。各態窒素濃度、窒素負荷および除去率の経日変化をそれぞれ図 9 および図 10 に示す。運転 40 日目までの Phase 1 では、流入水を約 3 倍に希釈し、anammox リアクターへ導入した。Phase 1 において、流入水中のアンモニアおよび亜硝酸が同時に除去され、容積当り窒素負荷  $8\sim 10 \text{ kgN m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  に対して、窒素除去率  $8\sim 9$  割を達成した。この結果から、消化汚泥脱離液を部分硝化リアクターで処理した廃水について、anammox プロセスにおいて連続処理が可能であることが明らかとなった。なお、TOC 濃度は流入水、処理水で明瞭な差は無く、anammox リアクターにおける顕著な有機物除去は確認されなかった。

システム全体のコンパクト化を目指すため、流入原水の希釈率を 4 から 3 に低下させ、phase 2 の運転を行なった。Phase 2 開始直後において、窒素除去率が 6 割まで低下した。この際、処理水 pH が 8.7 付近まで上昇しており、高 pH が原因となり、anammox 活性の阻害が生じた可能性が考えられた。そこで、50 日目より重炭酸カリウムの添加(終濃度  $500 \text{ mg/L}$ )を開始し、pH を 7.5~8 付近で調整した。この操作によって、窒素除去率が  $8\sim 9$  割まで一時的に回復したものの、効果は一時的であり、70 日目以降から再び窒素除去率が低下傾向を示した。

Phase 3 では、窒素除去率を phase 1 相当まで回復させる目的で、設定 HRT を 1.7h から 3.5h に延長し、運転を行なった。その結果、窒素除去率は 9 割まで回復し、良好な処理性能を示した。Phase 2 における窒素除去率の低下の原因として、流入水に含まれる高濃度の  $\text{NO}_2^-$  ( $300 \text{ mg/L}$ ) による anammox 活性の阻害が考えられ<sup>18)</sup>、流入水の希釈率を高めるといった対策も考えられたが、phase 3 では HRT を延長するという単純な操作により窒素除去性能を回復させることができた。

Phase 4 では、phase 2 と同じく、HRT を 1.5h まで短縮し、容積負荷は  $6 \text{ kgN m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  とした。Phase 4 以降直後から窒素除去率が顕著に低下し、最終的に anammox 活性が消失した。Phase 4 における活性低下の原因は明らかでないが、設定窒素負荷を低下させた後、再度上昇させる場合には anammox 活性の消失に細心の注意を払う必要があると言える。

消化脱離液を対象とした、anammox プロセスによる実廃水の窒素除去性能について、連続 120 日間の運転を行なったところ、適切な条件下では容積負荷  $8 \text{ kgN m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  の条件下でも安定した窒素除去を達成することができた。一方、1) 高濃度原水の供給、2) 高 pH は anammox リアクターにおける

窒素除去性能の低下を招く事が明らかとなった。これまでに報告がなされている部分硝化リアクターの最大窒素負荷は  $3 \text{ kgN m}^{-3} \text{ day}^{-1}$  であり<sup>19)</sup>、これは本研究で達成した anammox リアクターの窒素除去速度の約 1/2 にすぎない。従って、Anammox リアクターの容積は部分硝化リアクターの約半分以下で十分であり、コンパクトな施設で窒素除去を達成できると考えられる。

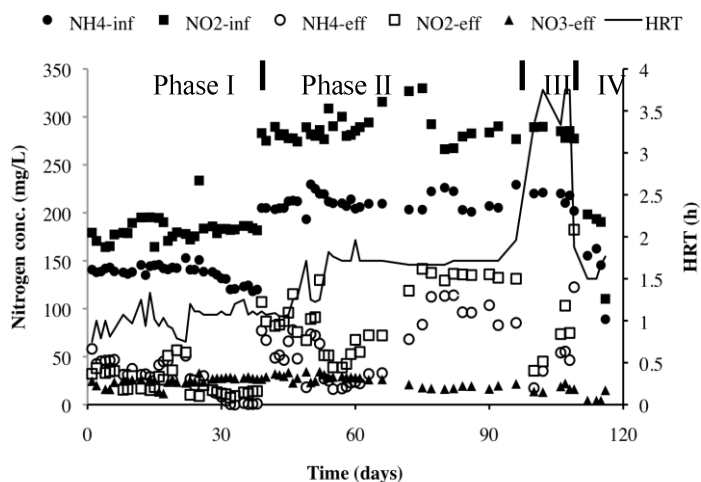


図 9 Anammox リアクター流入水および処理水における各態窒素濃

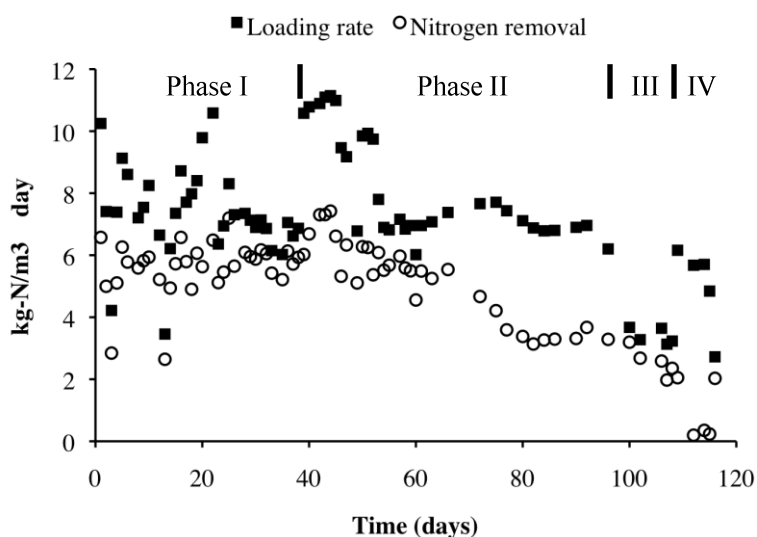


図 10 Anammox リアクターの容積窒素負荷および窒素除去率の経日変化



## 参考文献

- 1) **Tsushima, I., T. Kindaichi, and S. Okabe.** Quantification of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in enrichment cultures by real-time PCR. *Water Research*, Vol. 41, pp. 785-794, 2007.
- 2) **Tsushima, I., Y. Ogasawara, T. Kindaichi, and S. Okabe.** Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors. *Water Research*, Vol. 41, pp. 1623-1634, 2007.
- 3) **Kindaichi, T., I. Tsushima, Y. Ogasawara, M. Shimokawa, N. Ozaki, H. Satoh, and S. Okabe.** *In situ* Activity and Spatial Organization of Anammox Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 73 (15), Pp. 4931-4939.
- 4) **Jetten, M. S. M., M. Strous, K. T. van de Pas-Schoonen, J. Schalk, U. G. J. M. van Dongen, A. A. van de Graaf, S. Logemann, G. Muyzer, M. C. M. van Loosdrecht, and J. G. Kuenen.** The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology reviews*, Vol. 22, pp. 421-437, 1999.
- 5) **Amann, R. I.,** *In situ* identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes, p. 1-15. In A. D. L. Akkerman, J. D. van Elsas, and F. J. de Bruijn (ed.). *Molecular microbial ecology manual*. Kluwer Academic publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995.
- 6) **Okabe S., Satoh H., and Watanabe Y.** (1999) *In situ* analysis of nitrifying biofilms as determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.65 (7), Pp. 3182-3191.
- 7) **Daims, H., A. Bruhl, R. Amann, K. H. Schleifer, and M. Wagner.** The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Systematic and Applied Microbiology*, Vol. 22, pp. 434-444, 1999.
- 8) **Schmid, M., S. Schmitz-Esser, M. S. M. Jetten, and M. Wagner.** 16S-23S rDNA intergenic spacer and 23S rDNA of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: implications for phylogeny and *in situ* detection. *Environmental Microbiology*, Vol. 3, pp. 450-459, 2001.
- 9) **Neef, A., R. Amann, H. Schlesner, and K. H. Schleifer.** Monitoring a widespread bacterial group *in situ* detection of planctomycetes with 16S rRNA-targeted probes. *Microbiology*, Vol. 144, pp. 3257-3266, 1998.
- 10) **Weisberg, W., S. Barns, D. Pelletier, and D. Lane.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *The Journal of Bacteriology*, Vol. 173, pp. 697-703, 1991.
- 11) **Kindaichi, T., S. Okabe, H. Satoh, and Y. Watanabe.** Effects of hydroxylamine on microbial community structure and function of autotrophic nitrifying biofilms determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Water Science and Technology*, Vol. 49, pp. 61-68, 2004.
- 12) **Tokutomi, T.** Operation of a nitrite-type airlift reactor at low DO concentration. *Water Science and Technology*, Vol. 49, pp. 81-88, 2004.
- 13) **Yang, W., J. Vllertsen and T. Hvitved-Jacobsen.** Nitrite accumulation in the treatment of wastewaters with high ammonia concentration. *Water Science and Technology*, Vol. 48, pp. 135-141, 2003.
- 14) **Garride, J. M., W. A. J. van Benthum, M. C. M. van Loosdrecht and J. J. Heijnen.** Influence of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 53, pp. 168-178, 1997.
- 15) **Yun, H. J. and D. J. Kim.** Nitrite accumulation characteristics of high strength ammonia wastewater in an autotrophic nitrifying biofilm reactor. *Journal of Chemistry, Technology and Biotechnology*. Vol. 78, pp. 373-383, 2003.
- 16) **Chuang, H. P., A. Ohashi, H. Imachi, M. Tandukar and H. Harada.** Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition. *Water Research*, Vol. 41, pp. 295-302, 2007.
- 17) **Anthonisen, J. E., R. C. Loehr, T. B. S. Prakasam, and E. G. Srinath.** Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal WPCF*, Vol. 48, pp. 835-852, 1976.
- 18) **Oshiki, M., M. Shimokawa, N. Fujii, H. Satoh and S. Okabe.** 2011. Physiological Characteristics of the Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacterium 'Candidatus Brocadia Sinica'. *Microbiology*. Vol.157, pp.1706-1713.
- 19) **Chen, J., P. Zheng, Y. Yu, Q. Mahmood and C. Tang.** 2010. Enrichment of High Activity Nitrifiers to Enhance Partial Nitrification Process. *Bioresource Technology*. Vol.101(19), pp.7293-7298.

年度毎の特許、論文、外部発表（件数）

北海道大学工学研究院

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	特許出願			論文		その他外部発表 （プレス発表等）
	国内	外国	PCT※出願	査読付き	その他	
平成19年	0件	0件	0件	1件	1件	0件
平成20年	0件	0件	0件	0件	1件	0件
平成21年	0件	0件	0件	0件	0件	0件
平成22年	0件	0件	0件	1件	0件	0件
平成23年	0件	0件	0件	4件	5件	0件

（※Patent Cooperation Treaty：特許協力条約）

## 2.5 デザイン化微生物群を用いた高効率固定床メタン発酵の研究開発

(財団法人 電力中央研究所、共同実施先：東京大学)

はじめに

本研究開発では、廃棄物処理の一つであるメタン発酵において、メタン発酵プロセスの3倍の効率化を図ることにより、従来のメタン発酵槽に比べて約50%のコンパクト化を実現し、固形分を多く含む有機性廃棄物への適用拡大を可能とすることを目指した。このような目標達成のために、メタン発酵のプロセスにおいて高い負荷量でもメタン発酵に有用な微生物群及び処理能力を安定的に維持できる技術を開発し、高負荷運転(短い滞留時間)でメタン発酵処理を可能とする基盤技術の開発を進めた。必要とされる基盤技術の開発として、高負荷時でも有用な微生物群(デザイン化微生物群)を維持する担体の選定、及び発酵槽内への通電による微生物群・メタン発酵の制御・安定化技術に関して検討し、さらにそれらの成果を組み合わせる微生物群担体の機能を最大限発揮させるアプローチをとった。すなわち、本研究開発では、研究対象の基本を固定床メタン発酵とし、次の5項目について実施した。まず、(1)有機系固形廃棄物の処理に適したメタン発酵に有用な微生物群を取得した。(2)取得した有用微生物群を効率的に保持させる担体について、処理性能などの観点から選定した。(3)メタン発酵槽に設置した電極を電位制御することで、メタン発酵の処理能力を高負荷時に安定的に維持する技術を確立した。(4)デザイン化微生物群担体のためのバイオエンジニアリング技術の開発として、上述の成果を組合せ、固定化担体への電位制御による安定化を行い、メタン発酵の効率化及びメタン発酵槽のコンパクト化の可能性を評価した。最後に、(5)デザイン化微生物群担体を用いた固定床メタン発酵による技術の立証として、実廃棄物を用いて通電型固定床メタン発酵槽の性能を評価した。

各項目においてメタン発酵の技術開発は電力中央研究所が実施し、発酵槽内の微生物群集の解析は共同実施先である東京大学が実施した。

### 2.5.1 デザイン化の素材となる有用微生物群の取得と特性・機能評価

#### 2.5.1.1 有用微生物群の取得と維持

本研究の処理対象は、生ごみなどの固形分を主体とする有機性廃棄物である。処理を行うための有用な微生物群の取得を実施するにあたり、取り扱いやすさや実験の再現性の観点から、使用する模擬廃棄物(模擬生ごみ)としてドッグフードを選択した。デザイン化微生物群の素材として、模擬廃棄物の分解に適した微生物群を取得するため、湖沼の底泥を種菌として2%ドッグフードスラリーを55℃で嫌氣的に維持した。その結果、模擬廃棄物分解による安定的なガス発生を確認し、模擬廃棄物の高温メタン発酵に適応した微生物群を取得することに成功した。取得した有用微生物群については、2.0L容量の発酵槽を使用し連続運転することによって微生物群を維持し、本研究の2.5.3以降のメタン発酵の種汚泥として用いた。ただし、本研究の2.5.2のうち

2.5.2.1 及び 2.5.2.2 については、種汚泥取得までに時間が掛かることが想定されたため、鹿島建設株式会社より提供されたメタン発酵槽の発酵液を種汚泥として用いた。

#### 2.5.1.2 有用微生物群の特性

デザイン化の素材となる有用微生物群に関して、その特性を把握するために、末端制限断片長多型(T-RFLP)解析及びクローン解析により検討を行った。その結果、微生物群を集積したことにより、細菌についてはタンパク質分解菌やセルロース分解菌として報告されている菌に近縁な細菌が特異的に見られ、古細菌については、高温メタン発酵で頻繁に検出される水素資化性メタン菌である *Methanothermobacter* 属や *Methanobacterium* 属、また酢酸資化性メタン菌である *Methanosarcina* 属のメタン菌などが存在していることを明らかにした。

### 2.5.2 有用微生物群を用いた微生物群担体の効果

#### 2.5.2.1 固定床メタン発酵における担体の種類による処理能力への影響評価

固定床メタン発酵において、模擬廃棄物のメタン発酵に有用な微生物群を効果的に保持するための担体を選定する目的で、担体の種類がメタン発酵に及ぼす影響、特に負荷量に対するメタン発酵の安定性を中心に検討した。担体としては、板状で親水性のガラス板(GS)及び疎水性のポリエチレン板(PES)と炭素板(グラッシーカーボン板)(CS)、繊維状のガラス繊維(空隙率 25%)(GF)、ポリエチレン繊維(空隙率 98%)(PEF)および炭素繊維(空隙率 98%)(CFT)の特性が異なる 6 種類を用いた。メタン発酵槽の運転では 2%ドッグフードスラリーを模擬廃棄物とし、担体なし(control)または各担体(2.3×7.0×0.3 cm、2 枚)を設置した容量 200ml の発酵槽を 55℃で最長 73 日間継続運転した。運転の期間中、負荷量に対する各発酵槽の安定性を評価するために、図 1 に示すように水理的学的滞留時間(HRT)を段階的に短くするとともに、HRT3.1 日ではドッグフードスラリー濃度を 2%から 4%に変更し、発酵槽への有機物負荷量(OLR)を段階的に増加した。

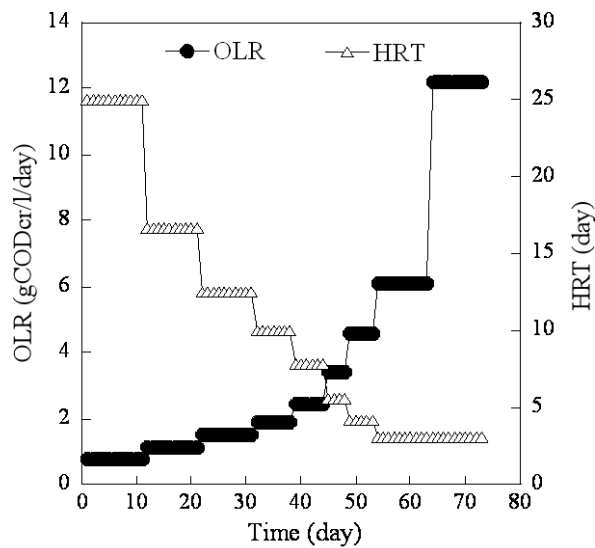


図1 有機物負荷量(OLR)と水理的学的滞留時間(HRT)の経時変化

各担体を用いてメタン発酵を実施した結果は、図 2 及び図 3 に示すとおりである。担体なし(control)及びガラス板(GS)、ポリエチレン板(PES)、炭素板(グラッシーカーボン板)(CS)を設置した発酵槽では、45日目以降においてガス生成速度の低下、メタン含有率の低下、及びVFA濃度の増大が見られた(図2)。また、COD除去率及びSS除去率(それぞれ29-35%、22-33%)からも発酵不良と判断され(図3)、板状の担体の設置は、メタン発酵の有機物負荷に対する安定化に顕著な効果がないという結果を得た。このときのOLRは4.6gCODcr/L/日であり、この負荷条件以下が、対照区である担体なし(control)を含めガラス板(GS)、ポリエチレン板(PES)、炭素板(グラッシーカーボン板)(CS)を設置した発酵槽における安定したメタン生成が可能な範囲であった。一方、繊維状の担体を設置したメタン発酵槽のうち担体としてガラス繊維(GF)を設置した発酵槽では、64日目以降ガス生成速度の低下などが見られ、負荷上限はOLR 6.1gCODcr/L/日であった。ポリエチレン繊維(PEF)及び炭素繊維(CFT)を設置した発酵槽では、さらに高いOLR(12.2gCODcr/L/日)の条件においても、VFAの蓄積する傾向は見られるものの、安定したガス生成を確認した(図2)。COD除去率及びSS除去率もそれぞれ50%以上、40%以上を維持しており(図3)、高い有機物負荷に対してこれらの担体の設置がメタン発酵の安定化に寄与するという結果を得た。従って、本試験で使用した6種類の担体においては、空隙率の高い繊維状の担体の設置が、高負荷時のメタン発酵槽の安定化に有効であった。

以上の結果、メタン発酵槽への適切な担体の設置が、高い有機物負荷時におけるメタン発酵槽の安定化に寄与する可能性を見いだした。設置する担体としては、空隙率の高い繊維状の担体が適していると考えられた。

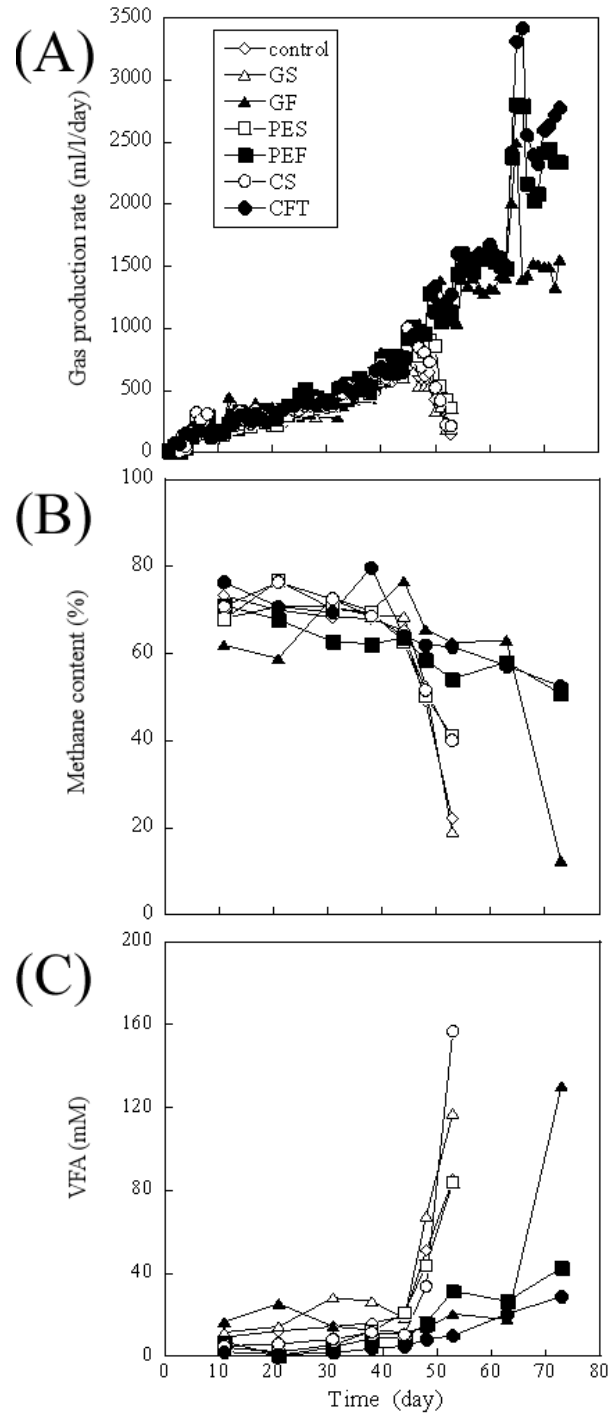


図2 (A)ガス生成速度、(B)メタン含有率、及び(C)低級脂肪酸濃度(VFA)の経時変化  
担体なし(control)、ガラス板(GS)、ガラス繊維(GF)、ポリエチレン板(PES)、ポリエチレン繊維(PEF)、  
炭素板(グラッシーカーボン板)(CS)、炭素繊維(CFT)

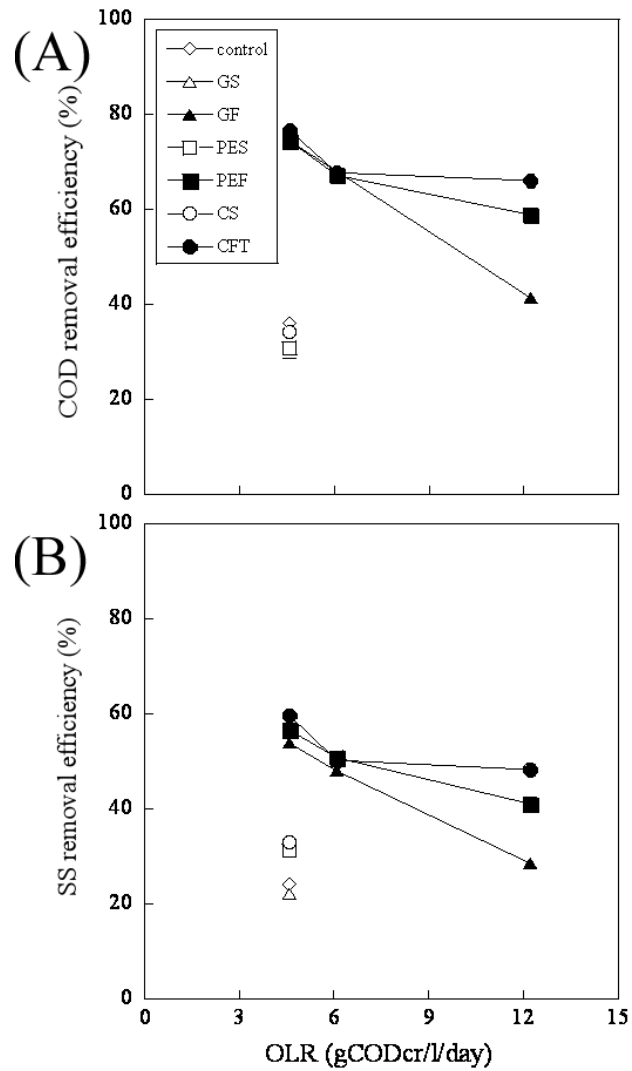


図3 有機物負荷量(OLR)と(A)化学的酸素要求量(COD)除去率及び(B)浮遊固形分(SS)除去率との関係

担体なし(control)、ガラス板(GS)、ガラス繊維(GF)、ポリエチレン板(PES)、ポリエチレン繊維(PEF)、炭素板(グラッシーカーボン板)(CS)、炭素繊維(CFT)

### 2.5.2.2 発酵槽内の微生物群集の解析

各発酵槽内の微生物量を評価するために、担体上と発酵液中のDNAを定量化した。運転 53 日目 (OLR 4.6gCODcr/L/日) または 73 日目 (OLR 12.2gCODcr/L/日) における各発酵槽内の担体上と発酵液中からDNAを抽出し、全菌のDNA量、メタン菌(メタン生成に関与)のDNA量を定量 PCR (リアルタイム PCR) によって定量化した。その結果、運転 53 日目の 5 種類の発酵槽において発酵液中の全菌およびメタン菌のDNA量は同程度であったのに対して、炭素繊維 (CFT) を用いた場合、担体なし (control) 及び板状の担体 (GS、PES、CS) と比較して担体上の全菌及びメタン菌のDNA量が最大 3 桁程度大きく、顕著な差を確認した (表1)。また、担体上において全菌に対するメタン菌の割合が 22.3~37.4% と発酵液中と比較して高い傾向があるという興味深い結果も得た。次に、繊維状の担体を比較した場合 (表2)、同程度の空隙率であるポリエチレン繊維及び炭素繊維 (PEF、CFT) では、発酵液中及び担体上の微生物量は同程度であった。負荷量が低い運転時 (OLR 4.6gCODcr/L/日) の炭素繊維 (CFT) と比較しても顕著な差は無かった。以上の結果から、いずれの担体を用いても発酵液中の全菌、メタン菌の菌体量に差はないが、担体上の菌体量はポリエチレン繊維及び炭素繊維 (PEF、CFT) を設置した場合に大きくなる傾向があり、発酵槽中の微生物を高密度化できることを明らかにした。また、全菌のDNA量に対するメタン菌のDNA量の割合は担体上で大きくなる傾向があり、担体の設置は特にメタン菌の維持に効果的であると考えられた。

表1 各発酵槽内の担体上と発酵液中の全菌のDNA量、メタン菌のDNA量、及び全菌のDNA量に対するメタン菌のDNA量の割合

(運転 53 日目、有機物負荷速度 4.6gCOD/L/日、水理学的滞留時間 4.2 日)

充填した担体	画分	全菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌/全菌 (%)
control	浮遊	$(1.9 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$(1.3 \pm 0.1) \times 10^{11}$	$6.9 \pm 0.2$
GS	浮遊	$(1.8 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{11}$	$5.5 \pm 0.2$
PES	浮遊	$(6.1 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$(1.8 \pm 0.1) \times 10^{11}$	$2.9 \pm 0.1$
CS	浮遊	$(4.2 \pm 0.4) \times 10^{12}$	$(2.1 \pm 0.9) \times 10^{11}$	$5.1 \pm 1.9$
CFT	浮遊	$(3.2 \pm 0.2) \times 10^{12}$	$(2.2 \pm 0.6) \times 10^{11}$	$6.8 \pm 1.6$
GS	付着	$(3.3 \pm 0.1) \times 10^9$	$(1.2 \pm 0.1) \times 10^9$	$36.8 \pm 0.9$
PES	付着	$(1.1 \pm 0.1) \times 10^{10}$	$(2.4 \pm 0.3) \times 10^9$	$22.3 \pm 2.2$
CS	付着	$(6.7 \pm 0.1) \times 10^9$	$(1.8 \pm 0.1) \times 10^9$	$27.0 \pm 0.5$
CFT	付着	$(1.8 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$37.4 \pm 2.7$



表2 各発酵槽内の担体上と発酵液中の全菌のDNA量、メタン菌のDNA量、及び全菌のDNA量に対するメタン菌のDNA量の割合

(運転 73 日目、有機物負荷速度 12.2gCOD/L/日、水理的滞留時間 3.1 日)

充填した担体	画分	全菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌/全菌 (%)
GF	浮遊	$(2.4 \pm 0.1) \times 10^{12}$	$(1.7 \pm 0.4) \times 10^{11}$	7.2 ± 1.8
PEF	浮遊	$(3.5 \pm 0.4) \times 10^{12}$	$(3.2 \pm 1.3) \times 10^{11}$	9.3 ± 3.4
CFT	浮遊	$(6.2 \pm 0.7) \times 10^{12}$	$(6.7 \pm 1.6) \times 10^{11}$	11.0 ± 2.6
GF	付着	$(5.0 \pm 0.6) \times 10^{11}$	$(5.1 \pm 0.5) \times 10^{10}$	10.4 ± 1.3
PEF	付着	$(1.7 \pm 0.2) \times 10^{12}$	$(3.8 \pm 0.3) \times 10^{11}$	22.0 ± 2.8
CFT	付着	$(4.3 \pm 0.8) \times 10^{12}$	$(1.5 \pm 0.1) \times 10^{12}$	35.6 ± 6.5

次に、各発酵槽の微生物群集の構造と微生物種を発酵槽の処理能力と合わせて評価するため、T-RFLP 解析及びクローン解析を行った。運転 53 日目 (OLR 4.6gCOD<sub>cr</sub>/L/日) または運転 73 日目 (OLR 12.2gCOD<sub>cr</sub>/L/日) における各発酵槽 (担体なしを含む) の発酵液画分、担体付着画分から抽出した DNA を用い、細菌および古細菌の 16S rRNA 遺伝子を標的とした T-RFLP 解析を行った (図4)。また、T-RFLP 解析で検出された制限断片 (T-RF) を同定するため、OLR 4.6gCOD<sub>cr</sub>/L/日の炭素繊維 (CFT) 付着画分から抽出した DNA について、TA クローニング法により 16S rRNA 遺伝子のライブラリを作成し、得られた配列の系統学的解析を行った。運転 53 日目における、担体なし (control)、ガラス板 (GS)、ポリエチレン板 (PES)、炭素板 (CS) 及び炭素繊維 (CFT) の発酵液及び担体上の細菌群集の T-RFLP 解析では、多種類の T-RF が検出され、複雑な細菌群集が形成されていることが明らかとなった。しかしながら、いずれの担体においてもこれらの T-RF の多くが検出されており、担体の種類による明確な傾向は判断できなかった。一方、古細菌の群集構造は、細菌と比べて単純であり、3つの T-RF を検出した。比較した担体のなかでも、特に炭素繊維 (CFT) の担体上において 186bp の T-RF の割合が顕著に大きいことが明らかとなった。16S rRNA 遺伝子のクローン解析では、T-RF が 186bp と推定されるクローンを主に得ており (表3)、このクローンは酢酸資化性メタン菌である *Methanosarcina thermophila* に近縁であると推定した。次に、運転 73 日目の繊維状の担体 (GF、PEF、CFT) の T-RFLP の結果では、発酵液及び担体上の細菌群集は、ポリエチレン繊維 (PEF) と炭素繊維 (CFT) において類似している傾向が見られた。ただし、ガラス繊維 (GF) においても、ポリエチレン繊維 (PEF) と炭素繊維 (CFT) で検出された細菌の多くを検出しており、明確な傾向の差を判断することはできなかった。一方、古細菌の群集構造については、ポリエチレン繊維 (PEF) と炭素繊維 (CFT) を用いた場合において、明らかに 186bp の酢酸資化性メタン菌の割合が高い傾向を確認した (図4)。これは、発酵液よりも特に担体上でより顕著であり、低負荷運転時 (運転 53 日目) の炭素繊維 (CFT) と同様の結果を得た。以上の微生物群集の構造解析から、メタン発酵槽への担体の設置、特に繊維

状の担体の設置により、発酵槽内に特定のメタン菌を維持できる可能性を見いだした。

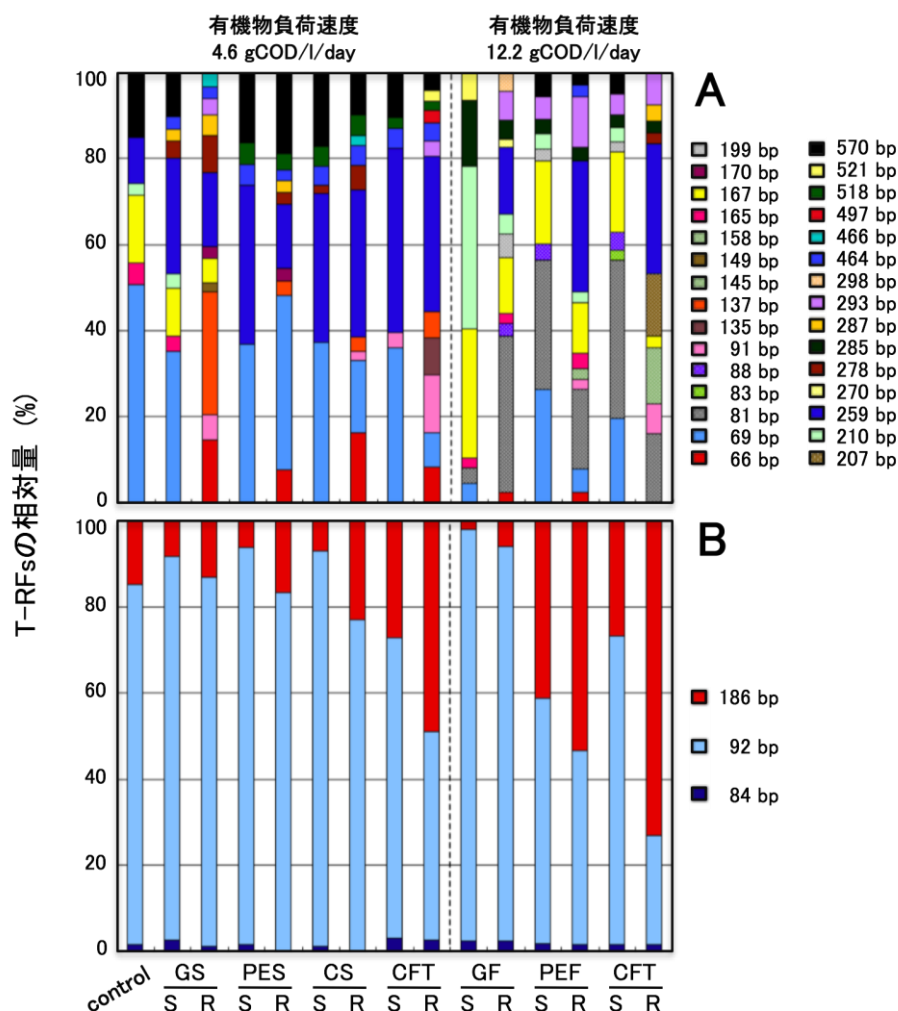


図4 T-RFLP 解析による細菌(A)および古細菌(B)の群集構造

53 日目 (4.6gCODer/L/日) の担体なし(control)、ガラス板(GS)、ポリエチレン板(PES)、炭素板(CS)、炭素繊維(CFT)と 73 日目(12.2gCODer/L/日)のガラス繊維(GF)、ポリエチレン繊維(PEF)、炭素繊維(CFT)における、発酵液画分(S)と担体付着画分(R)の T-RFLP 結果。解析によって得られた各プロファイルの T-RFs を相対値化して示した。

表3 炭素繊維画分 (OLR 4.6gCOD/L/day) から取得したクローンの数と系統学的特徴付け

分類単位 <sup>a</sup>	獲得数	制限断片長 (bp)	最も近縁な分離菌株	相同性 (%)
A1	21	186	<i>Methanosarcina thermophila</i> (M59140)	98
A2	1	186	<i>Methanosarcina thermophila</i> (M59140)	93
A3	4	92	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i> (EF100758)	100
A4	4	92	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i> (AE00066)	100
合計	30			

<sup>a</sup> 得られたクローンの配列どうしの相同性が 99.5%以上のものは同じ分類単位とした。

### 2.5.2.3 アンモニアがメタン発酵に及ぼす影響と担体設置の効果

処理対象物によっては発酵槽内に阻害物質(アンモニア)が蓄積し、メタン発酵に悪影響を及ぼす。そこで、処理対象物中にアンモニアが存在することを想定し、アンモニアがメタン発酵に及ぼす影響を把握するために、炭素繊維を担体として設置した固定床発酵槽と担体のない発酵槽を連続的に運転して比較検討した。その結果、固定床式発酵槽では、アンモニア濃度が 3,080mg-N/L まではメタンガス生成はほとんど影響を受けなかったが、アンモニア濃度を 6,070mg-N/L にした場合、ガス生成速度は急激に減少すると共に、ガス中のメタンガス含有率も低下し、アンモニアによってメタン発酵は強く阻害された。

一方、担体のない発酵槽では、アンモニア濃度が 380mg-N/L まではメタンガス量は同程度であったが、アンモニア濃度 850mg-N/L 以上において、VFA の蓄積量が増加すると共に、ガス生成速度とメタンガス含有率の急激な減少が見られ、固定床発酵槽よりもアンモニアによる阻害の影響が大きかった。

以上の結果、担体を設置することにより、アンモニアがメタン発酵に及ぼす影響を軽減できることを示した。

### 2.5.2.4 固定床メタン発酵槽に及ぼす担体の効果のまとめ

担体を発酵槽に設置した場合、その担体の種類によっては、高負荷時のメタン発酵の安定性に寄与することを明らかにした。特に空隙率の高い繊維状の担体でその効果が大きい傾向があった。発酵槽内の微生物群集の解析成果から、(1)繊維状の担体の微生物量が大きく、発酵槽内の微生物濃度が大きくなること、(2)担体上のメタン菌量の割合が高い傾向があること、(3)繊維状の担体では古細菌のなかで特に酢酸資化性メタン菌の優占率が高い傾向があることを明らかにした。担体設置によって発酵槽内の微生物量が大きくなることは、短い HRT における有用微生物群の系外への流出に対して有効である。また、担体上のメタン菌量の割合が高くなることは、特に増殖の遅いメタン菌の発酵槽内での維持に効果があり、さらに、担体上で酢酸資化性メタン菌

など特定のメタン菌の優占化は、メタン発酵で酸敗をもたらす酢酸の蓄積低減に寄与する可能性がある。従って、適切な担体の発酵槽への設置は、廃棄物のメタン発酵処理に有効な微生物群（すなわちデザイン化微生物群）の維持に有効であり、高負荷時における発酵槽の安定化に効果的であることを見いだした。また、発酵液中に高濃度のアンモニアが存在する場合、メタン発酵が阻害されることが知られている。本研究では、炭素繊維を担体として設置することにより、担体を設置していない発酵槽と比較してより高い濃度のアンモニアが存在してもメタン発酵が可能であることを示し、メタン発酵に対する担体の効果として、メタン発酵の阻害物質であるアンモニアの影響軽減の可能性を示した。

## 2.5.3 微生物群の電気制御による安定化技術の開発

### 2.5.3.1 通電がメタン菌のメタン生成活性に及ぼす影響

微生物の培養において、発酵槽や培養槽に電極を設置し電極に通電することにより、微生物の増殖量、増殖速度または酵素活性が影響を受けることが、いくつかの微生物で確認されている。これらの効果に対する電極への通電の機構は明らかとなっていないが、メディエータを介しての電子（エネルギー）の授受、または発酵液や培養液中の微生物に適した酸化還元状態の調整などが考えられている。ここでは、メタン発酵における発酵槽への通電による制御・安定化の可能性を検討するために、メタン発酵においてメタン生成という重要な役割を果たすメタン菌に着目し、代表的な純粋菌株（水素資化性メタン菌 *Methanothermobacter thermautotrophicus* 及び酢酸資化性メタン菌 *Methanosarcina thermophila*）を用いて通電の効果を検討した。

水素資化性メタン菌を用いた検討では、電極として炭素板を設置した発酵槽を用い、培養液として 200ml 容量の *Mt. thermautotrophicus* 用培地 (DSMZ medium 119) にメディエータとして 0.5mM anthraquinone 2,6-disulfonate (AQDS) を添加したものをを用いた。電流値が安定するまで培地中の電極に通電し、その後濃縮した *Mt. thermautotrophicus* 懸濁液を接種し、通電を継続しながら、55°C でメタン生成量を測定した。電極の設定電位は、通電なし（硫化ナトリウム及びシステインを添加により約 -0.45V に調整）及び +0.4V、-0.1V、-0.4V、-0.8V の計 5 つの条件 (vs Ag/AgCl、以下同様) で行い、設定電位が *Mt. thermautotrophicus* のメタン生成活性に及ぼす影響を比較した。その結果、図5のメタン生成の相対活性の電位依存性に示すように、設定電位を -0.8V とした場合に他の条件と比べてメタン生成活性が高く、通電なしの場合と比較して 3.4 倍向上することを確認した。一方、設定電位を -0.4V とした場合、メタン生成活性は通電なしの場合の 6 割程度となり、さらに設定電位を +0.4V 及び -0.1V とした場合、メタン生成活性はほとんど見られなくなり、対照区である通電なしと比較してメタン生成活性は抑制される傾向を確認した。これらの結果は、発酵槽に設置した電極への通電が *Mt. thermautotrophicus* のメタン生成に影響することを示し、設定電位によってはメタン菌の活性を向上させることが可能であることを意味している。なお、設定電位を -0.8V とした場合、菌の接種後、電極に流れた電流の絶対値は 1mA 以下と低く維持されていたことから、メタン菌に対する通電の効果に関しては、メディエータを介しての微生

物への電子の供給による可能性は低く、培養槽内の酸化還元状態の調整による可能性が高いと考えられた。以上の結果より、純粋培養したメタン菌 *Mt. thermautotrophicus* について、培養槽に設置した電極の設定電位を制御することにより、メタン生成活性が増大することを明らかにし、メタン発酵に対する通電効果の可能性を見いだした。

一方、*Ms. thermophila* を用いた検討においては、通電なし、設定電位+0.0V、-0.3V、-0.6V および-0.8V の条件で実施したが、同じ条件での培養においてもガス発生量にばらつきが大きく、通電の効果の有無を明確に評価できる結果は得られなかった。

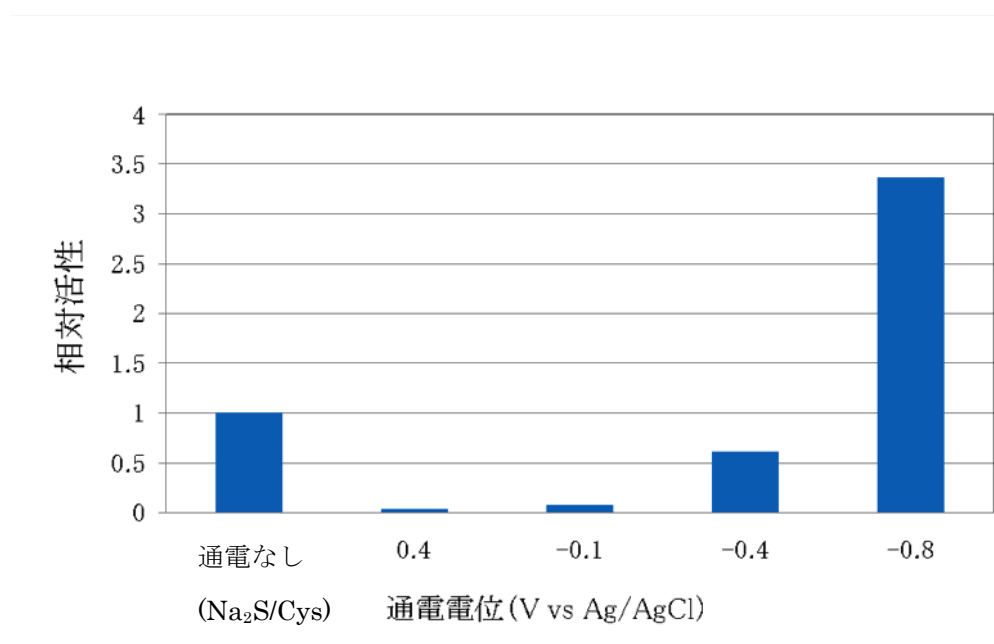


図5 メタン生成活性の電位依存性

### 2.5.3.2 メタン発酵における通電による処理能力への影響評価

2.5.3.1 において、1 種類ではあるもののメタン生成を担うメタン菌を用いて、発酵槽に設置した電極への通電の効果の可能性を示した。そこで、複合微生物系であるメタン発酵において通電効果を検討するために、発酵槽に電極を設置したH型の2槽式の通電型メタン発酵槽(図6)を用いて運転を行った。通電型メタン発酵槽は、メタン発酵を行う発酵槽内に作用極として炭素板、さらに参照電極として銀塩化銀電極を設置し、陽イオン交換膜を介した反対側の槽には塩化ナトリウム溶液を入れ、対極として炭素板を設置している(図6)。メディエータとして 0.2mM AQDS を添加した10%ドッグフードスラリーを模擬廃棄物とし、1日1回HRTに応じた適当量を交換しながら、55°Cで連続運転を行った。OLRを段階的に増加するために、HRTを段階的に短くして最大72日間運転した(図7)。電極への通電条件は、対照区である通電なし(control)及び設定電位を+0.0V、-0.3V、-0.6V、-0.8Vとした計5条件とし、負荷量に対する安定性を比較した。なお、通電

なし(control)における発酵槽内に設置した炭素板電極の電位は-0.47Vであったため、設定電位を+0.0V、-0.3Vとして通電した場合、作用極はアノードとして作用しており、設定電位を-0.6V、-0.8Vとした場合、逆にカソードとして作用していた。

各発酵槽のガス生成速度(図8)から、運転開始後40日目(OLR 20.0gCODcr/L/日)までは、いずれの条件においてもガス生成速度に大きな差は見られず、安定した処理が行われていたことが確認された(図8)。しかし、OLRを26.9gCODcr/L/日に増加すると、通電なし(control)、設定電位+0.0V及び-0.3Vでは、酢酸を中心とするVFAの蓄積(216~546mM)が見られ、ガス生成速度の急激な減少が見られた。一方、設定電位-0.6V及び-0.8Vでは、この負荷量でも安定したガス生成が見られ、さらにOLRを31.8gCODcr/L/日に増大しても、滞留時間の3倍以上の期間(14日間)、ガス生成速度はほぼ一定の値(平均値:7,650 ml/L/日)で推移した。このとき、生成ガス中のメタン含有率、COD除去率及びSS除去率もそれぞれ55-57%、58-59%及び40-45%とほぼ一定に維持されており、メタン発酵が安定していたことを示す結果を得た。従って、発酵槽に設置した電極への設定電位-0.6V及び-0.8Vの通電が、メタン発酵の高負荷時の安定化に寄与することを見いだした。なお、設定電位-0.6V及び-0.8Vで通電した場合、OLRによっても変動するものの、作用極への電流の絶対値は、1日の平均で約250 $\mu$ Aであり、メタン菌の純粋菌株を用いた検討(2.5.3.1)と同様に電極間の電流値は小さい値であった。仮に電極に流れた電流がすべてメタン生成に関与したと仮定して、 $\text{CO}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ から発生するメタン量を試算すると約2.5mL/L/日となる。この値は、ガス生成速度とメタン含有率から試算される生成メタン量と比較して極めて少ないことから、電極への通電の効果が発酵液の酸化還元状態の調整による効果である可能性を支持する。

以上より、設定電位+0.0V及び-0.3Vにした場合、通電なしの場合と同様にOLR 26.9gCODcr/L/日において、メタンガス生成速度と有機物分解速度の低下が見られたため、発酵槽に設置した電極に通電する効果はないと判断された。これに対して、設定電位-0.6V及び-0.8Vでは、OLR 31.8gCODcr/L/日の高負荷条件においても安定的なメタンガス生成を確認し、メタン発酵槽の安定した運転が可能であることを見いだした。

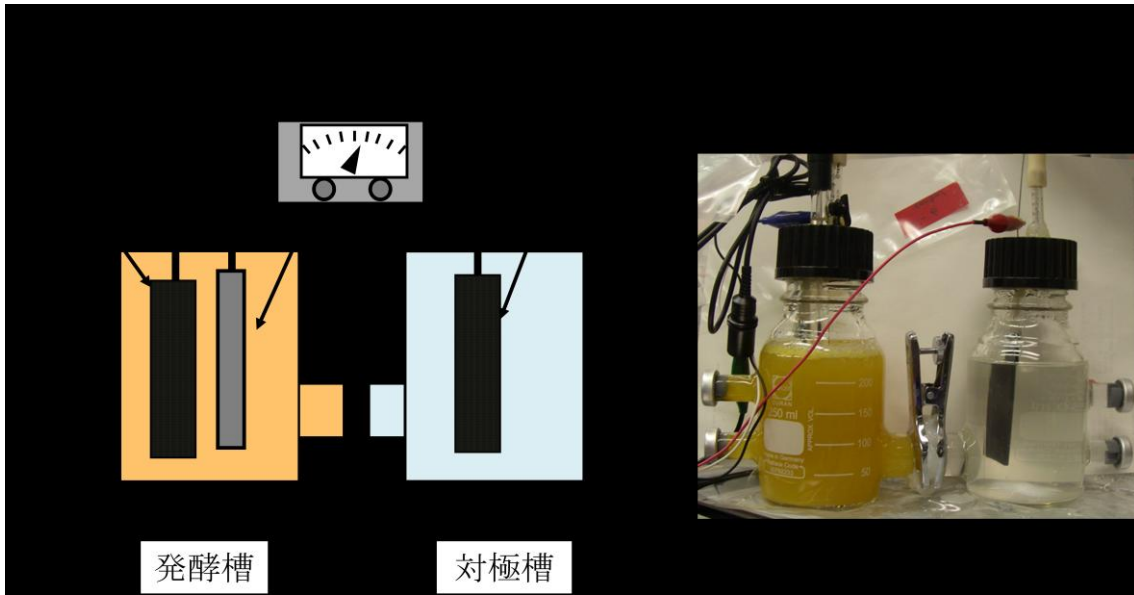


図6 実験装置の(A)模式図及び(B)写真

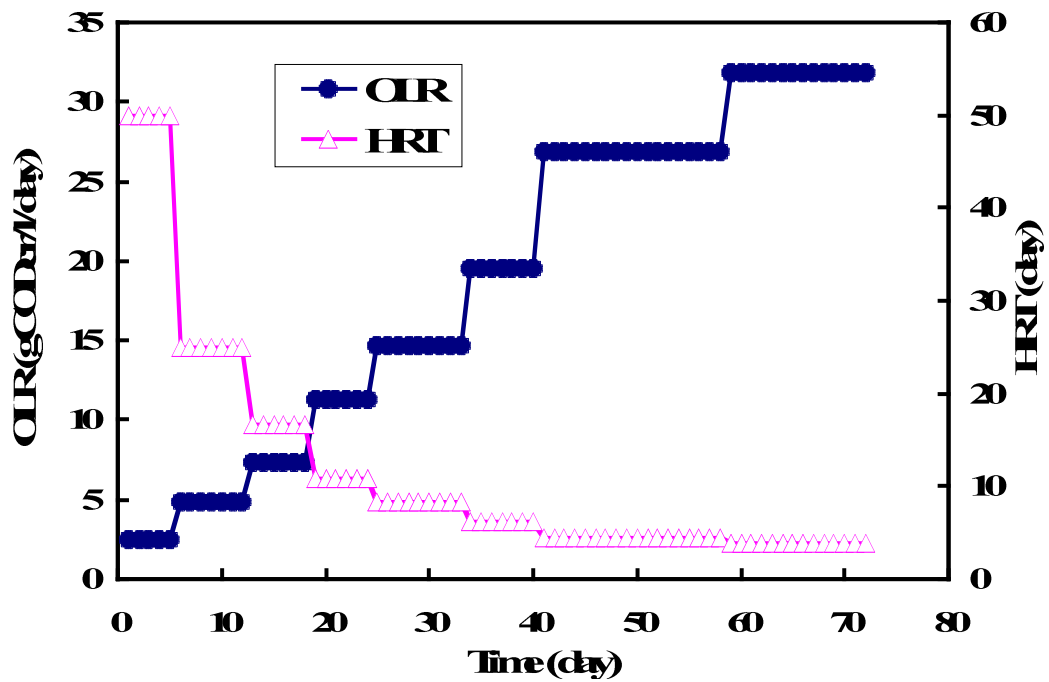


図7 有機物負荷量(OLR)と水理的学的滞留時間(HRT)の経時変化

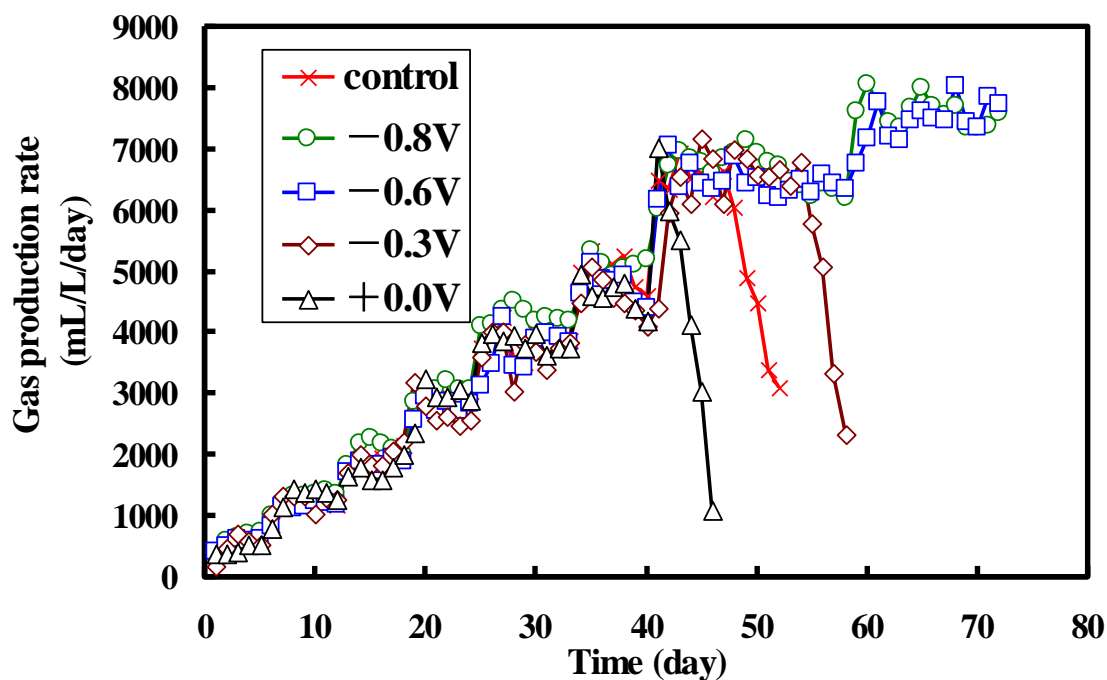


図8 ガス生成速度の経時変化

#### 2.5.3.4 発酵槽内の微生物群集の解析

各発酵槽内の発酵液中と電極上の微生物量を評価するために、OLR 26.9gCOD<sub>cr</sub>/L/日の条件の発酵液及び電極上の微生物について、DNAを抽出しDNA量の定量を行った。なお、実験途中でガス生成速度の急激な減少が見られた実験区については、実験終了時の試料を対象とした。その結果、発酵液中画分については、すべての条件で、全菌及びメタン菌のDNA量は同程度であることが明らかとなった(表4)。一方、電極上における全菌及びメタン菌のDNA量は、設定電位を-0.6V 及び-0.8 V にした場合、通電なし(control) 及び設定電位を-0.3V にした場合と比較して、電極上において全菌及びメタン菌(メタン生成に関与)のDNA量が多い傾向があった。しかしながら、発酵液中の微生物量と比較すると電極上の微生物量は低く、メタン発酵への関与は小さいと判断した(表4)。なお、設定電位を-0.6V 及び-0.8V にした場合については、OLR 31.8gCOD<sub>cr</sub>/L/日(HRT 3.8 日)で運転した試料についても検討を行ったが、電極上と発酵液中の全菌及びメタン菌のDNA量は、OLR 26.9gCOD<sub>cr</sub>/L/日で運転した場合と同程度に維持されていた。



表4 各発酵槽内の電極上と発酵液中の全菌のDNA量、メタン菌のDNA量、及び全菌のDNA量に対するメタン菌のDNA量の割合

(有機物負荷量 26.9gCODcr/L/日、水理学的滞留時間 4.5 日)

設定電位 (V)	画分	全菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌 (コピー数/発酵槽)	メタン菌/全菌 (%)
control	浮遊	$(1.2 \pm 0.1) \times 10^{13}$	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{12}$	9.2 ± 0.9
-0.8	浮遊	$(5.0 \pm 0.4) \times 10^{12}$	$(5.1 \pm 0.3) \times 10^{11}$	10.1 ± 0.9
-0.6	浮遊	$(1.7 \pm 0.2) \times 10^{13}$	$(2.9 \pm 0.1) \times 10^{12}$	17.4 ± 1.6
-0.3	浮遊	$(9.7 \pm 0.7) \times 10^{12}$	$(1.3 \pm 0.1) \times 10^{12}$	13.7 ± 1.0
control	付着	$(5.2 \pm 0.7) \times 10^8$	$(5.2 \pm 0.4) \times 10^7$	10.1 ± 1.2
-0.8	付着	$(9.3 \pm 0.2) \times 10^{10}$	$(6.6 \pm 0.2) \times 10^9$	7.1 ± 0.3
-0.6	付着	$(4.5 \pm 0.5) \times 10^{10}$	$(3.1 \pm 0.2) \times 10^9$	6.9 ± 0.7
-0.3	付着	$(6.0 \pm 0.4) \times 10^9$	$(5.3 \pm 0.3) \times 10^7$	8.8 ± 0.7

次に、通電および通電していない発酵槽の微生物群集構造を電極の設定電位や発酵槽の処理能力と合わせて評価するため、抽出したDNA試料に関して、細菌及び古細菌の 16S rRNA 遺伝子を標的として、T-RFLP 解析 (図9) およびクローン解析 (表5、表6) を行った。T-RFLP 解析から、すべての発酵槽の電極上と発酵液中の細菌及び古細菌の菌叢パターンは類似しているという結果を得た。細菌においては、主要な T-RF は 262bp であり、細菌のクローン解析 (49 クローン) においても、T-RF が同一と予想されるクローンが高頻度 (約 60%) に得られた。このクローンは、チオ硫酸還元能を有し様々な資化能を持つとされる Thermotogae 門内の細菌に、最も高い相同性を示した。古細菌の T-RFLP のパターンは細菌の群集構造に比べて単純であり、全ての発酵槽の電極上と発酵液中において、群集は4種の T-RF から構成された。これらの構成種を明らかにするために、クローン解析 (40 クローン) を行ったところ、4 種のクローンが検出され、そのうち 3 つが水素資化性メタン菌である *Methanobacterium formicicum*、*Methanothermobacter thermautotrophicus*、*Methanoculleus thermophilus* に高い相同性を示し、1 つが酢酸資化性のメタン菌である *Methanosarcina thermophila* に近縁なものとして検出された。なお、得られたクローンの相対的な割合は、T-RFLP の結果と同様の傾向を示した。

以上の結果、発酵液中及び電極上の細菌と古細菌の群集構造は、構成種の割合に差は見られるものの、通電の有無、および設定電位によって顕著な差は無いことが明らかとなった。特に古細菌 (メタン菌) においては、いずれの条件のメタン発酵槽でも 4 種類の優占種が検出され、同様の群集構造であったと判断された。

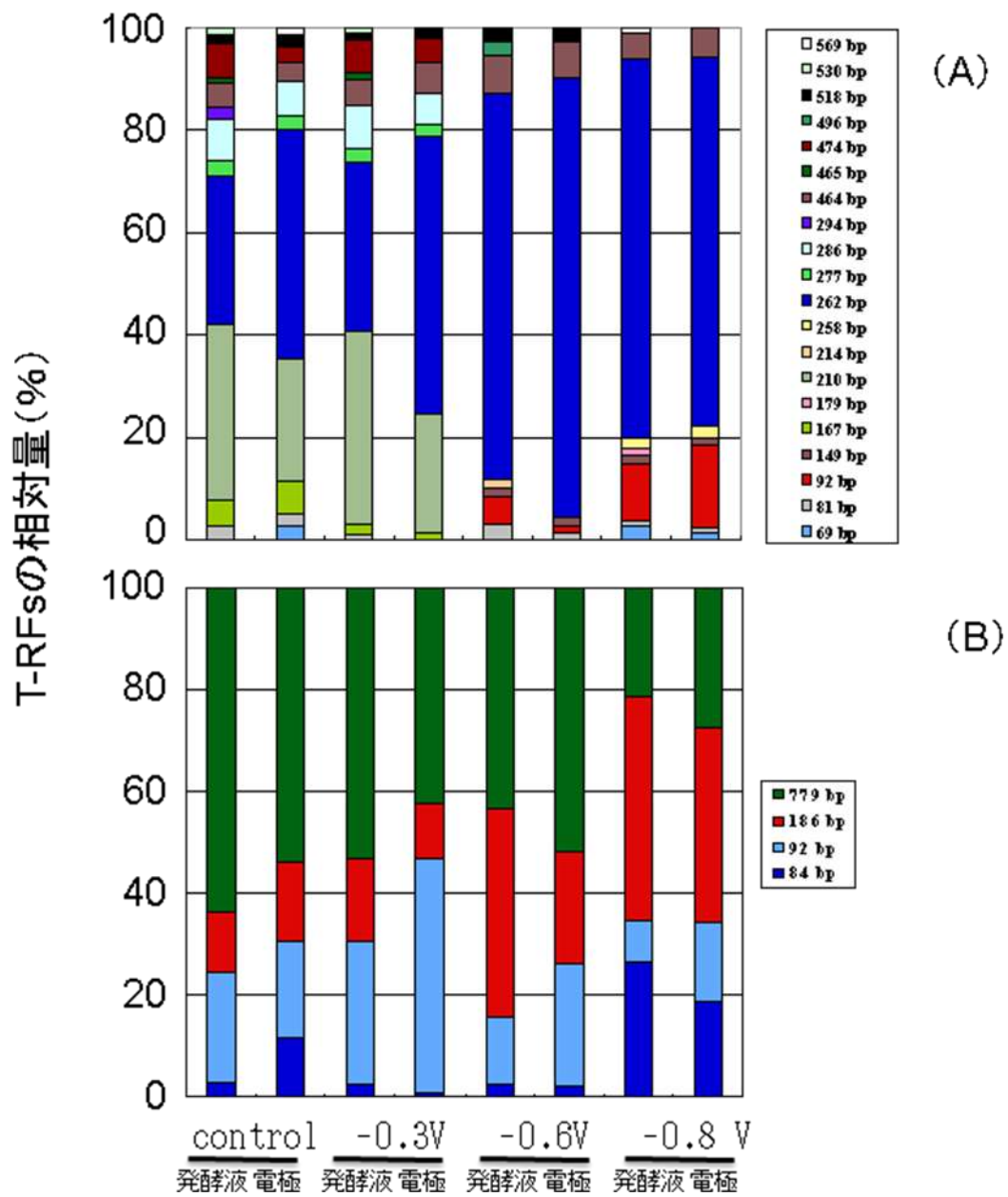


図9 T-RFLP 解析による細菌(A)および古細菌(B)の群集構造  
 通電なし(control)と-0.3V~-0.8Vに通電した発酵液と電極上の T-RFLP 結果。解析によって得られた各プロファイルの T-RFs を相対値化して示した。

表5 電極(-0.6V)から取得した細菌クローンの数と系統学的特徴付け

分類単位 <sup>a</sup>	獲得数	制限断片長 (bp)	最も近縁な分離菌株もしくは未培養細菌	系統学的分類	相同性 (%)
B1	29	262	uncultured Thermotogae bacterium (EU639270)	Thermotogae	99
B2	9	95	uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium (EU638999)	Bacteroides	91
B3	6	150	uncultured bacterium (AB428539) [MSW cluster]	Firmicutes	99
B4	4	311	uncultured bacterium (AB286973) [MSW cluster]	Firmicutes	99
B5	1	286	<i>Anaerobaculum mobile</i> (AJ243189)	Synergistetes	99
合計	49				

<sup>a</sup> 得られたクローンの配列どうしの相同性が99.5%以上のものは同じ分類単位とした。

表6 電極(-0.6V)から取得した古細菌クローンの数と系統学的特徴付け

分類単位 <sup>a</sup>	獲得数	制限断片長 (bp)	最も近縁な分離菌株もしくは未培養細菌	系統学的分類	相同性 (%)
A1	21	779	<i>Methanobacterium formicicum</i> (DQ649309)	<i>Methanobacteriales</i>	98
A2	10	92	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i> (EF100758)	<i>Methanobacteriales</i>	100
A3	7	186	<i>Methanosarcina thermophila</i> (M59140)	<i>Methanosarcinales</i>	100
A4	2	84	<i>Methanoculleus thermophilus</i> (EF118904)	<i>Methanomicrobiales</i>	98
合計	40				

<sup>a</sup> 得られたクローンの配列どうしの相同性が99.5%以上のものは同じ分類単位とした。

#### 2.5.3.4 通電による発酵槽の性能及び微生物群集への効果のまとめ

メタン発酵槽内の微生物群集に対して、電極の設定電位を通電なしのメタン発酵槽内の酸化還元電位よりも負に制御することにより、高負荷条件においても安定したメタンガス生成、高い有機物除去能、VFAの蓄積が少ない等、発酵槽の能力として優れた性能を発揮し、メタン発酵槽の安定化に対して効果があることが明らかとなった。その際の発酵槽内の微生物群集を調べたところ、発酵液中の微生物量及びその群集構造に関して、通電の有無、設定電位による顕著な傾向は確認できなかった。これらの結果から、発酵槽に設置した電極への通電は、メタン発酵に関わる微生物群にとって適した環境への調整に関与し、高い有機物負荷においても発酵槽内の有用微生物群を維持することで、安定したメタン発酵を可能にしたものと推測する。このように、発酵槽に設置した電極に対して適切な電位制御を行うことで、発酵槽内の有用微生物群の維持を可能とし、高負荷条件での安定化技術の開発に成功した。

## 2.5.4 デザイン化微生物群担体のためのバイオエンジニアリング技術の開発

### 2.5.4.1 通電型固定床メタン発酵槽の形状の検討

2.5.2 及び 2.5.3 では、微生物群担体の設置と通電による制御によって、メタン発酵の高負荷運転の安定化に寄与するという結果を得た。本章では、より高負荷での運転の安定化のために、微生物群担体と電気制御を組み合わせた通電型固定床メタン発酵槽を開発し、その性能評価を行った。通電型固定床メタン発酵槽では、有用な微生物群の保持と通電可能な電気化学的性質の両方を考慮した担体が必要である。2.5.2 において、微生物群の保持には炭素繊維などの空隙率の高い繊維状の担体が適しているという結果を得ている。しかし、電気化学的性質という観点では、材質的に通電が可能である炭素繊維でもわずかな電流しか流れない。そこで、炭素繊維に炭素板を接触させ、炭素繊維上に固定化された有用微生物群に隣接した炭素板電極を介して通電する微生物群担体を構築し、通電型固定床メタン発酵槽の実証に供試した。一方、2.5.3 で検討した通電型のメタン発酵槽は、陽イオン交換膜を介してメタン発酵を行う発酵槽と対極槽が繋がった H 型の構造をしている (図6)。このような構造では、対極槽の容積や設置面積やリアクター容積が大きくなるため、今後のスケールアップや本研究の目的であるメタン発酵槽のコンパクト化の妨げとなる。そこで、発酵槽の形状を単純化するために、図10に示すように、メタン発酵槽中心部に陽イオン交換膜を介した対極槽を設置する構造とし、発酵槽に対して対極槽の容積を小さくすることで、発酵槽容積及び設置面積が小さくなるようにした。なお、本研究では、従来のメタン発酵槽より約 3 倍の高い有機物負荷量において廃棄物を安定処理することで、発酵槽の 50% コンパクト化を目指している。ここでは、生ごみ処理を主体とした従来のメタン発酵設備の負荷量を平均で約 8.5gCOD<sub>cr</sub>/L/日と想定し、その 3 倍の負荷量である約 25.5gCOD<sub>cr</sub>/L/日以上安定処理を通電型固定床メタン発酵槽の目標とした。

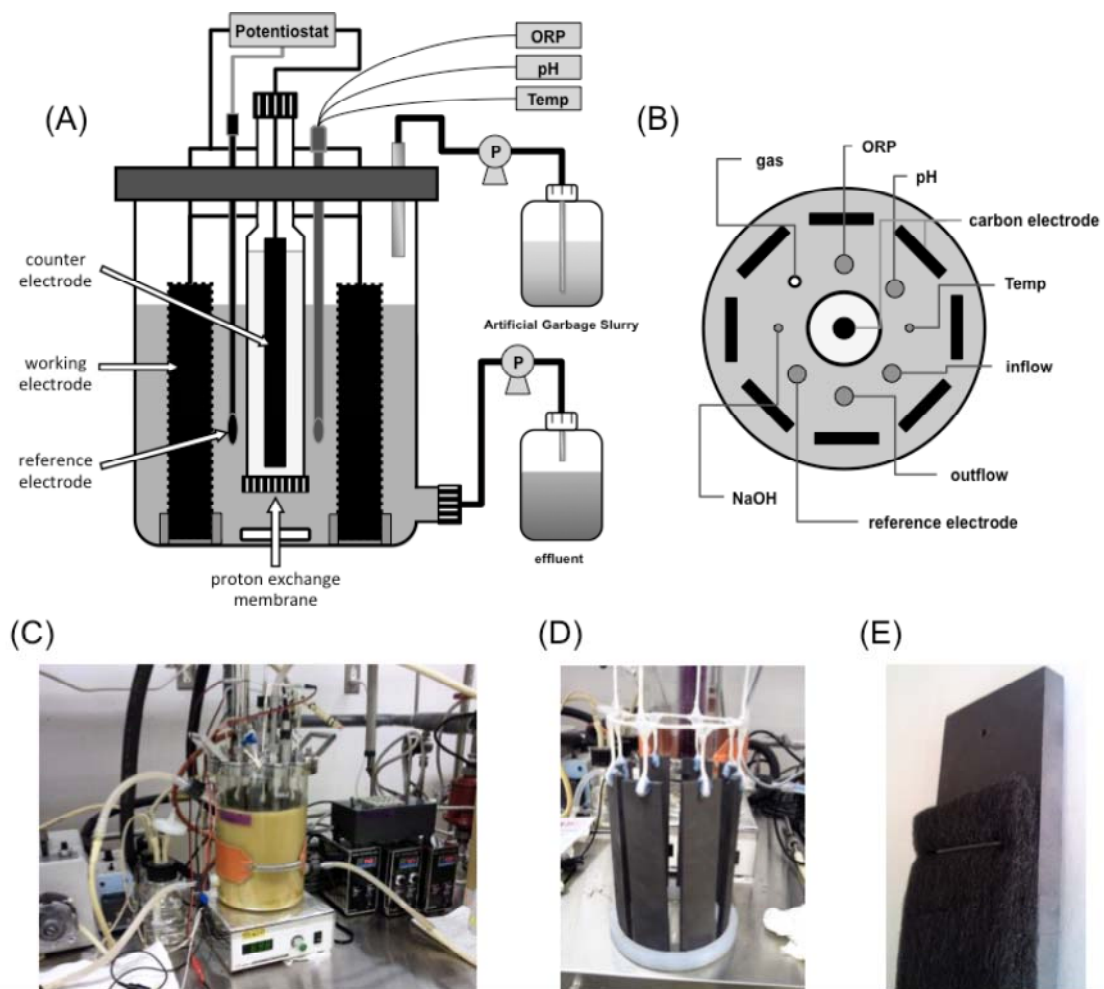


図 10 通電型固定床メタン発酵槽の(A) 模式図、(B) 配置図、(C) 装置全体の写真、(D) 作用電極の全体写真、(E) 炭素繊維と電極を接触させた微生物群担体の拡大写真

#### 2.5.4.2 通電型固定床メタン発酵槽の処理能力の評価

図10に示した形状の 4 .0L 容量の通電型固定床メタン発酵槽 (bioelectrochemical packed-bed reactor; BPR) を作成し、その処理性能を評価するために模擬廃棄物 (模擬生ごみ) として 10 % ドッグフードスラリー (AQDS 未添加) を用いて、55 °C、設定電位-0.8 V を印加しながら連続運転を行った。また、処理性能を比較するために、電極として炭素板のみを設置した発酵槽 (通電型メタン発酵槽 bioelectrochemical reactor: BR) に対して設定電位-0.8 V を印加した試験も実施した。運転時における有機物の負荷は、一定流量に設定されたポンプとタイマーを用いて流入/流出するドッグフードスラリー/発酵液の量を調整することで行い、OLR 13.4 gCOD<sub>cr</sub>/L/日 (HRT 10 日) から最終的には OLR 89.3 gCOD<sub>cr</sub>/L/日 (HRT 1.5 日) まで段階的に上げた (図11)。BR に

おいては、OLR 33.5 gCOD/L/日 (HRT 4.0 日)までの有機物負荷の運転において、安定したガス発生速度(約 10 L/L/日)、COD 除去率(65%)、SS 除去率(50%)及びガス組成(メタンガス 60%)を確認した(図12)。しかし、OLR 38.3 gCODcr/L/日にした場合、ガス発生量が減少する傾向がみられたため、BR において安定したメタン発酵は OLR 33.5 gCODcr/L/日までと判断した。一方、BPR においては、さらに高い OLR(最大 89.3 gCODcr/L/日)に対しても安定したガス生成を確認し、より高い有機物負荷運転におけるメタン発酵の安定化に成功した。このとき、COD 除去率、SS 除去率は低い OLR のときと比べて低下する傾向はあるものの、それぞれ 62.5%及び 54.6%と高い値が維持されていた。また、BPR においては BR に比べて運転期間全般に VFA が低く維持されるという傾向がみられた。BPR では、最も OLR が高い場合における HRT は 1.5 日であり、固形の有機物の処理を目的としたメタン発酵としては極めて短い HRT での安定した処理が可能となることを見いだした。微生物群担体と対極間を流れた電流値は平均約 6.3mA/reactor で、微生物群担体と対極間の電位差は有機物負荷量によって大きな変動はなく、約 1.8V であった。2.5.3.2 で計算したように、電極に流れた電流がすべてメタン生成に関与したと仮定して、電極(微生物群担体)から発生するメタン量を試算すると約 6.6mL/L/日となり、実際に HRT1.5 日で発生したメタン量(9.4L/L/日)に比べて非常に小さいことが確認された。

以上の結果から、炭素繊維を担体としその担体に接触させた炭素板を電極として印加することで有用微生物群担体に対する通電の効果を期待した BPR は、発酵槽に設置した電極に通電した BR と比較して、より高負荷での安定した運転が可能であることを明らかにし、最大で OLR 89.3 gCODcr/L/日 (HRT 1.5 日)という高負荷運転に成功した。

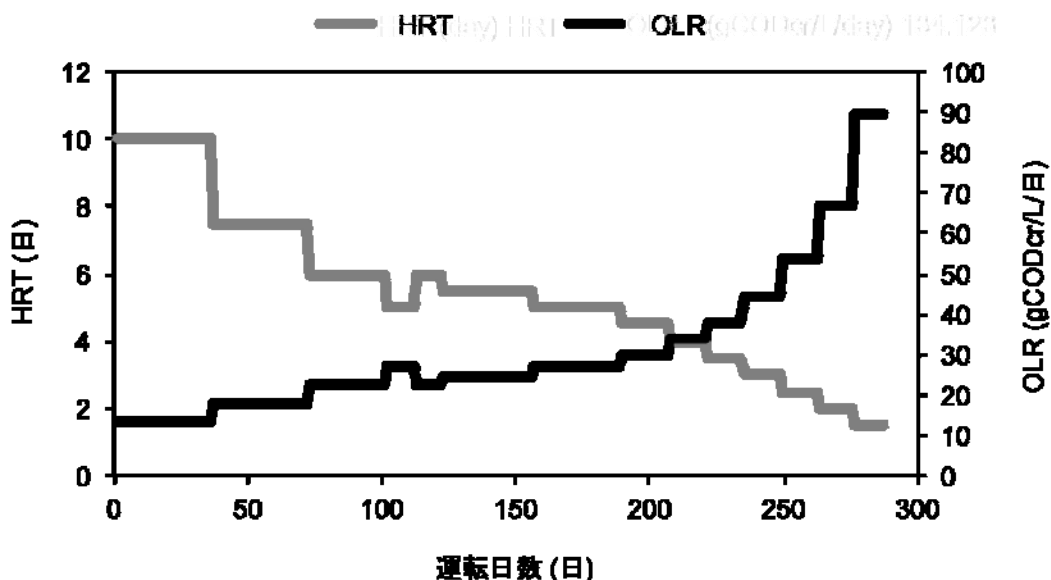


図 11 有機物負荷量 (OLR) と水理的滞留時間 (HRT) の経時変化

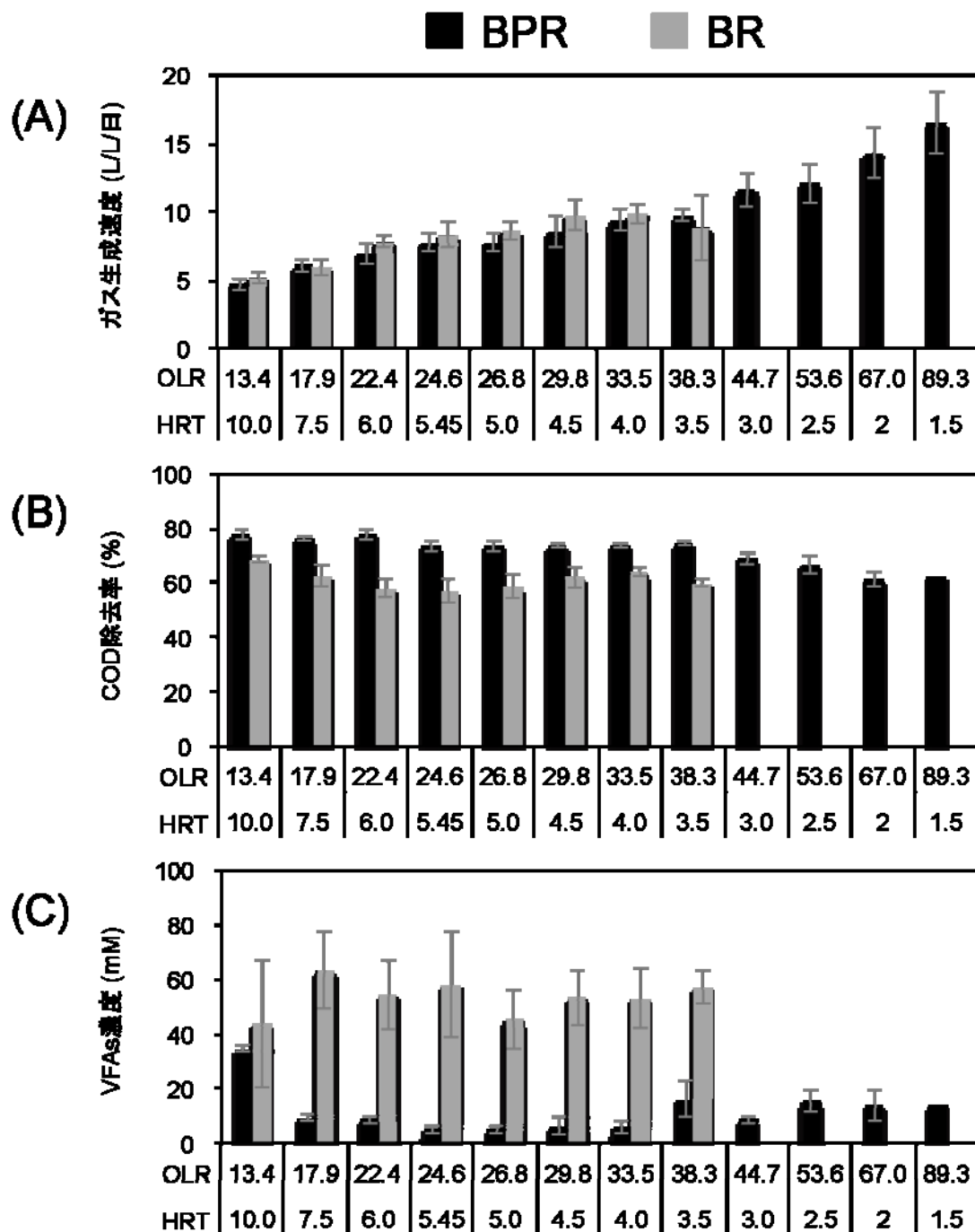


図 12 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)、通電型メタン発酵(BR)の各 HRT における(A)ガス生成速度、(B)COD 除去率、(C)VFAs 濃度の平均値

#### 2.5.4.3 通電型固定床メタン発酵槽内の微生物群集の解析

BPR 及び BR の発酵槽内の微生物量を評価するために、代表的な HRT(10 日、4.0 日、3.5 日、2.5 日及び 2.0 日)についての発酵液及び HRT2.0 日(通電型固定床メタン発酵槽)の担体上の微生物を対象に DNA を抽出し全菌及びメタン菌の DNA 量の定量を行った。その結果、いずれ

の発酵槽においても、HRT に関係なく発酵液中の微生物量(全菌及びメタン菌)は同程度であり、HRT2.0 日(通電型メタン発酵槽では3.5 日)においても一定量の微生物が維持されていた(表7)。また、BPR の担体上の全菌は発酵槽あたり  $3.4 \times 10^{12}$ copies であり、HRT2 日の発酵液( $1.5 \times 10^{13}$ copies)と比較すると若干低いものの、高密度で担体に維持されていたといえる。また、担体上のメタン菌量は全菌に対して同じオーダーで検出されており、2.5.2 で得られた結果と同様に担体上でメタン菌の割合が高くなるという結果を得た。

次に4.0L 容量のBPR およびBR の微生物群集の構造を調べるため、発酵液からゲノムDNA を抽出し、細菌と古細菌それぞれの16S rRNA 遺伝子を標的としたT-RFLP 解析を行った(図13)。細菌のT-RFLP 解析の結果、258 bp などのT-RF が検出され、発酵液中の細菌の優占種として確認された。また、古細菌については、92、186bp などのT-RF が優占種として検出され、これまでのクローン解析の結果から、古細菌では酢酸資化性メタン生成古細菌である *Methanosarcina* 属や水素資化性メタン生成古細菌 *Methanothermobacter* 属などの存在を確認した。BPR の発酵液中の細菌および古細菌は、その割合に変動はあるものの、OLR を段階的に変化させた運転中、常に優占種として検出された。これは、HRT が短くなくても、発酵液中の微生物群集構造は安定して維持されていたことを示す。また、この結果はBR においても同様であり、ガス発生量の低下が見られたHRT3.5 日を通して、微生物群集の構造に顕著な変化はなかった。

以上の結果、構成比や多様性に若干の違いがあるものの、BPR 及びBR においては有機物の負荷量による発酵槽中の微生物構造に大きな差はなく、比較的負荷の低い場合と同様の微生物群集を維持していることが明らかとなった。

表7 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)、通電型メタン発酵槽(BR)の各HRT における全菌のDNA 量、メタン菌のDNA 量  
担体付着画分は、BPR のHRT2.0 日における解析結果を示した。

全菌	HRT 10d	HRT 4.0d	HRT 3.5d	HRT 2.5d	HRT 2.0d	担体付着画分
	(copies/発酵槽)					(copies/発酵槽)
BPR	$9.6 \pm 0.4 \times 10^{12}$	$8.7 \pm 0.8 \times 10^{13}$	$1.3 \pm 0.1 \times 10^{13}$	$1.2 \pm 0.2 \times 10^{13}$	$1.5 \pm 0.1 \times 10^{13}$	$3.4 \pm 0.5 \times 10^{12}$
BR	$1.5 \pm 0.2 \times 10^{13}$	$2.4 \pm 0.4 \times 10^{12}$	$2.3 \pm 0.1 \times 10^{12}$			
メタン菌	HRT 10d	HRT 4.0d	HRT 3.5d	HRT 2.5d	HRT 2.0d	担体付着画分
	(copies/発酵槽)					(copies/発酵槽)
BPR	$2.3 \pm 0.3 \times 10^{12}$	$2.6 \pm 0.1 \times 10^{12}$	$4.0 \pm 0.5 \times 10^{12}$	$3.2 \pm 0.2 \times 10^{12}$	$4.7 \pm 0.1 \times 10^{12}$	$1.8 \pm 0.1 \times 10^{12}$
BR	$3.8 \pm 0.1 \times 10^{12}$	$5.8 \pm 0.4 \times 10^{12}$	$5.6 \pm 0.4 \times 10^{12}$			



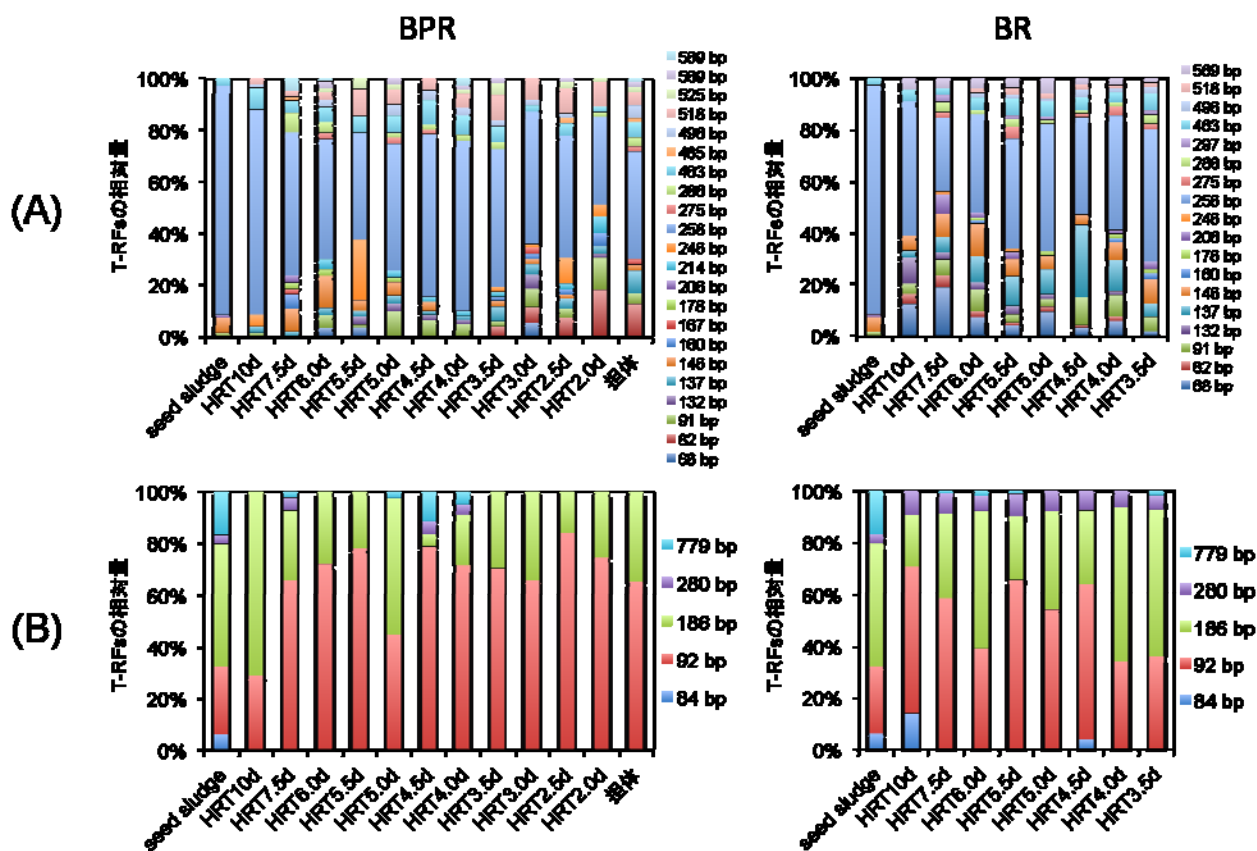


図 13 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)と通電型メタン発酵(BR)における(A)細菌群集と(B)古細菌群集の T-RFLP 結果解析

得られた各プロファイルの T-RFs を相対値化して示した。

#### 2.5.4.4 通電型固定床メタン発酵槽の性能及び微生物群集への効果のまとめ

BPR では、微生物を高密度に維持できる炭素繊維を担体とし、その担体に接触させた炭素板を電極として適切な設定電位(-0.8V)に印加することで、担体に対して通電の効果を期待し、高負荷運転におけるメタン発酵の安定化を図った。その結果、最大 OLR 89.3 gCODcr/L/日 (HRT 1.5 日) という高負荷での安定した運転に成功した。BPR では、短い HRT においても処理が安定しており、発酵槽をよりコンパクトにすることが可能である。この負荷量は、本研究における通電型固定床メタン発酵の処理目標の負荷量(25.5 gCODcr/L/日)を大きく越えており、発酵槽の処理能力としては目標負荷量以上での安定したメタン発酵の運転を達成した。

発酵液中の微生物量及び微生物群集の解析から、BPR 及び BR においては有機物の負荷によって微生物量及び微生物群集の構造に顕著な違いは見られないことが明らかとなった。一方で、BPR では、微生物群担体上には高密度の微生物群が確認された。有機物負荷量に対する安定

性に関するBPRとBRの差は、この担体上の高密度の微生物群の影響であると思われる。通電型固定床メタン発酵槽では、発酵槽に固定床を設置し、さらに固定床への通電による制御を行ったが、これらの組み合わせはメタン発酵の処理の効率化に対して相乗効果があるといえる。なお、微生物群担体への通電による制御によって電極間に流れた電流値は非常に小さいことが確認され、微生物群担体への通電の効果は、微生物群担体の酸化還元電位の調整によるものであると推測された。

## 2.5.5 デザイン化微生物群担体を用いた固定床メタン発酵による技術立証

### 2.5.5.1 メタン発酵の技術を立証するための実廃棄物の選定

2.5.4 までに、メタン発酵に有用な微生物群が維持された担体(デザイン化微生物群担体)に通電による電位制御を行うことで、高負荷時にも安定的に模擬廃棄物を処理できることを示し、メタン発酵槽における電気によるデザイン化微生物群担体の制御技術を実証した。ここでは、実廃棄物による通電型固定床メタン発酵の有効性を検証することを目的とし、対象となる実廃棄物の選定を行った。実廃棄物の候補として、3箇所のメタン発酵槽(消化槽)を有する処理場の消化槽流入濃縮下水汚泥を検討した。それぞれの試料についてSS、揮発性浮遊物質量(VSS)などを分析し、有機物濃度の点から適否を評価した。各試料のSSおよびVSSの分析結果は、それぞれ8.6, 53.2, 35.2 g/L および8.6, 41.3, 18.2 g/L となり、供試された実廃棄物によって含有する有機物濃度が大きく異なっていた。通電型固定床メタン発酵は、高いOLRでの安定的な運転が長所であるため、有機物濃度が高い濃縮下水汚泥(Y市北部汚泥資源化センター提供)を選定した。

### 2.5.5.2 実廃棄物を用いた通電型固定床メタン発酵槽の運転

廃棄物による通電型固定床メタン発酵の有効性を検証するために、選定を行った実廃棄物(濃縮下水汚泥)を用い、4.0L容量の通電型固定床メタン発酵槽の性能評価を行った。処理性能の評価のため、図14に示すようにメタン発酵槽に対して実廃棄物の負荷量を段階的に増大しながら、温度55℃で最大185日間の連続運転を行った。発酵槽としては担体及び電極を設置しない攪拌混合型メタン発酵槽(stirred tank reactor; STR)と、2.5.4で確立した通電型固定床メタン発酵槽を用いた。通電型固定床メタン発酵槽においては、設置した微生物群担体への通電の設定電位を-0.8Vとした条件(BPR)と通電を行わない条件(packed-bed reactor; PR)で運転を行い、処理能力を比較した。各OLRにおけるガス生成量は、OLR 3.6 gCODcr/L/日(HRT 20日)においては3種類の発酵槽で差はないが、OLRを段階的に大きくするとガス生成量に顕著な差が生じた(図15)。まず、STRでは、負荷量を大きくしてもガス発生量が増加しなかった。通電を行っていないPRでは、負荷量の増加に伴いガス発生量は増加する傾向は見られるが、その値は全体的にBPRよりも低く、さらにOLRが14.4 gCODcr/L/日以上では減少した。これらに対し、設定電位を-0.8VとしたBPRでは、OLRを3.6 gCODcr/L/日から段階的に18.0 gCODcr/L/日(HRT 4日)まで増大させても、VFAの極端な蓄積もなく(運転中30mM以下に維持)、ガス生成速度も増

大し、この負荷量まで酸敗などの発酵不良は発生せず実廃棄物が安定的に処理されていた。このとき、微生物群担体と対極間を流れた電流値は平均約 8.3mA/reactor、微生物群担体と対極間の電位差は約 1.8V で、模擬廃棄物を用いた場合と大きな違いはなかった。

以上の結果より、実廃棄物である濃縮下水汚泥においても、高負荷時に安定して実廃棄物を処理できることを示す結果を得た。

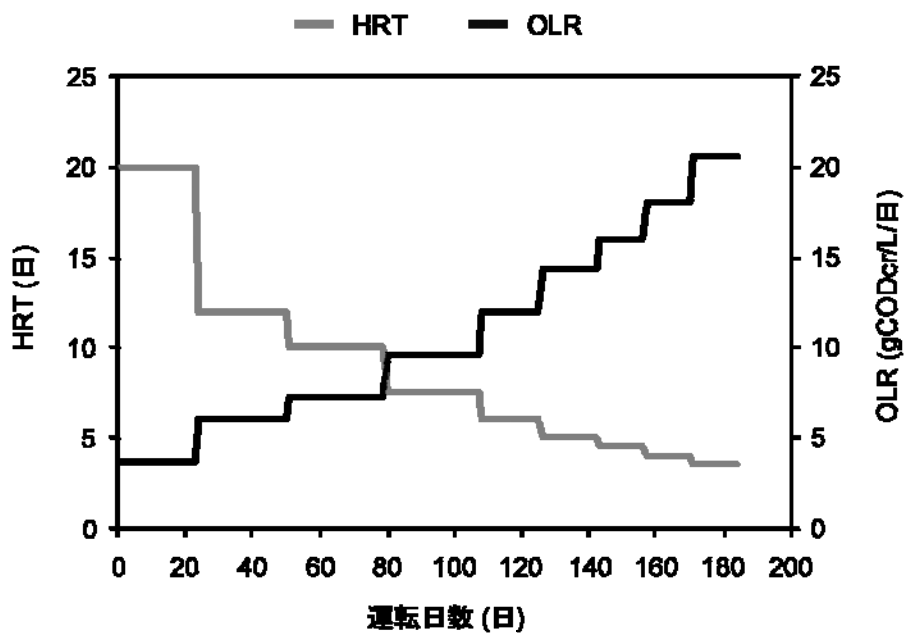


図 14 有機物負荷量(OLR)と水理的滞留時間(HRT)の経時変化

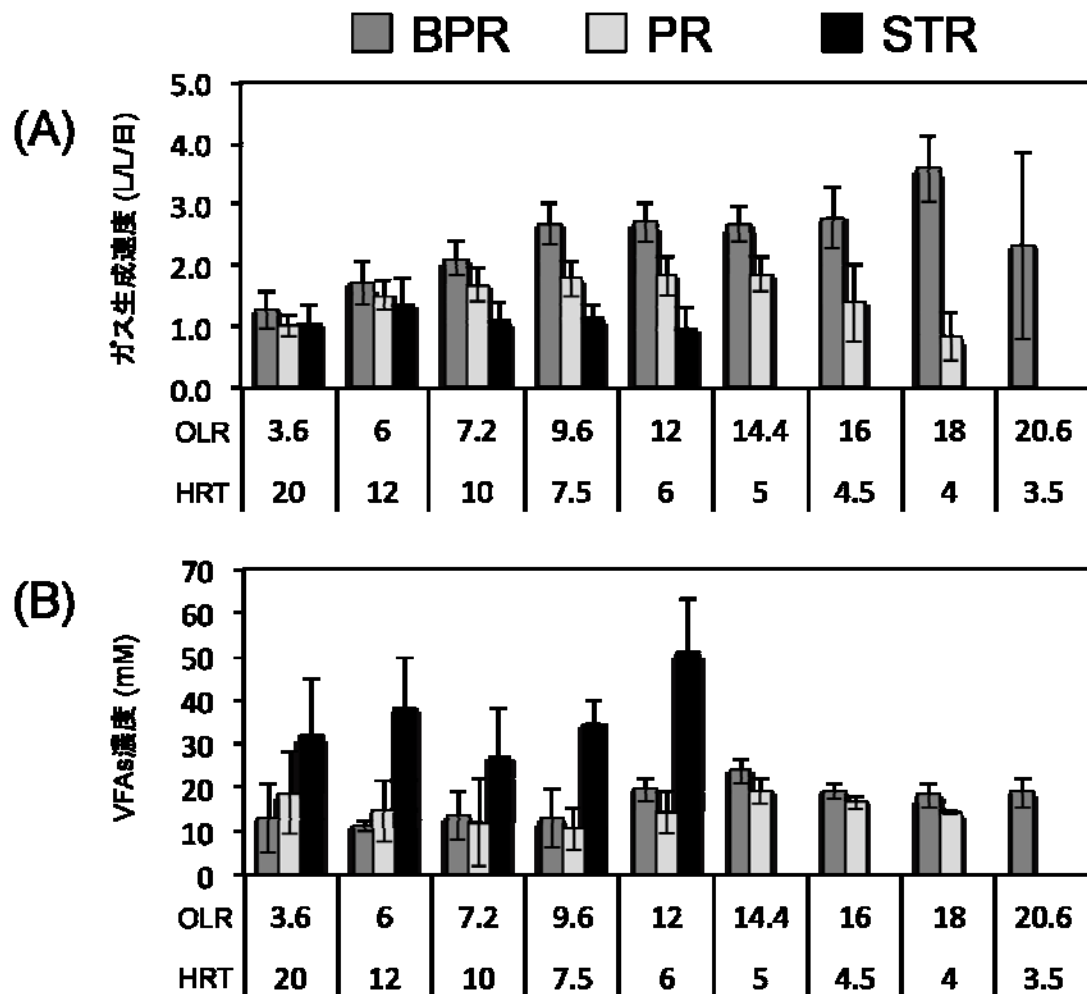


図 15 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)、固定床メタン発酵槽(PR)、攪拌混合型メタン発酵槽 (STR)の各 HRT における(A)ガス生成速度、(B)VFAs 濃度の平均値

### 2.5.5.3 通電型固定床メタン発酵槽内の微生物群集の解析

実廃棄物のメタン発酵における微生物群担体への通電が与える微生物群への影響を評価するために、発酵液から抽出したゲノム DNA を鋳型とし、細菌および古細菌の 16S rRNA 遺伝子を標的とした T-RFLP 解析(図16)と同領域におけるクローン解析を実施した。その結果、発酵液中の細菌および古細菌を含む微生物群集は、構成割合には差が見られたが、多くの優占種は3種類の発酵槽(BPR, PR, STR)で検出された(図16)。設定電位を-0.8 VとしたBPRの古細菌の解析では、*Methanoculleus* 属や *Methanothermobacter* 属、*Methanobacterium* 属などの水素資化性メタン菌及び酢酸資化性メタン菌である *Methanosarcina* 属が優占的に確認された。特に担体上では酢酸資化性メタン菌の割合が高い傾向がみられ、2.5.2の繊維状の担体上で見られた特徴と同様の結果を得た。*Methanoculleus* 属が優占種として大きな割合を占めており、模擬廃棄物を用い

た実験結果と異なっているが、処理した廃棄物の性状が異なることに起因するものと考えられた。また、OLRを増大しても、ほとんどの優占種は検出され、OLRの変化に対して微生物群の構造は安定していたという2.5.4と同様の結果も得た。

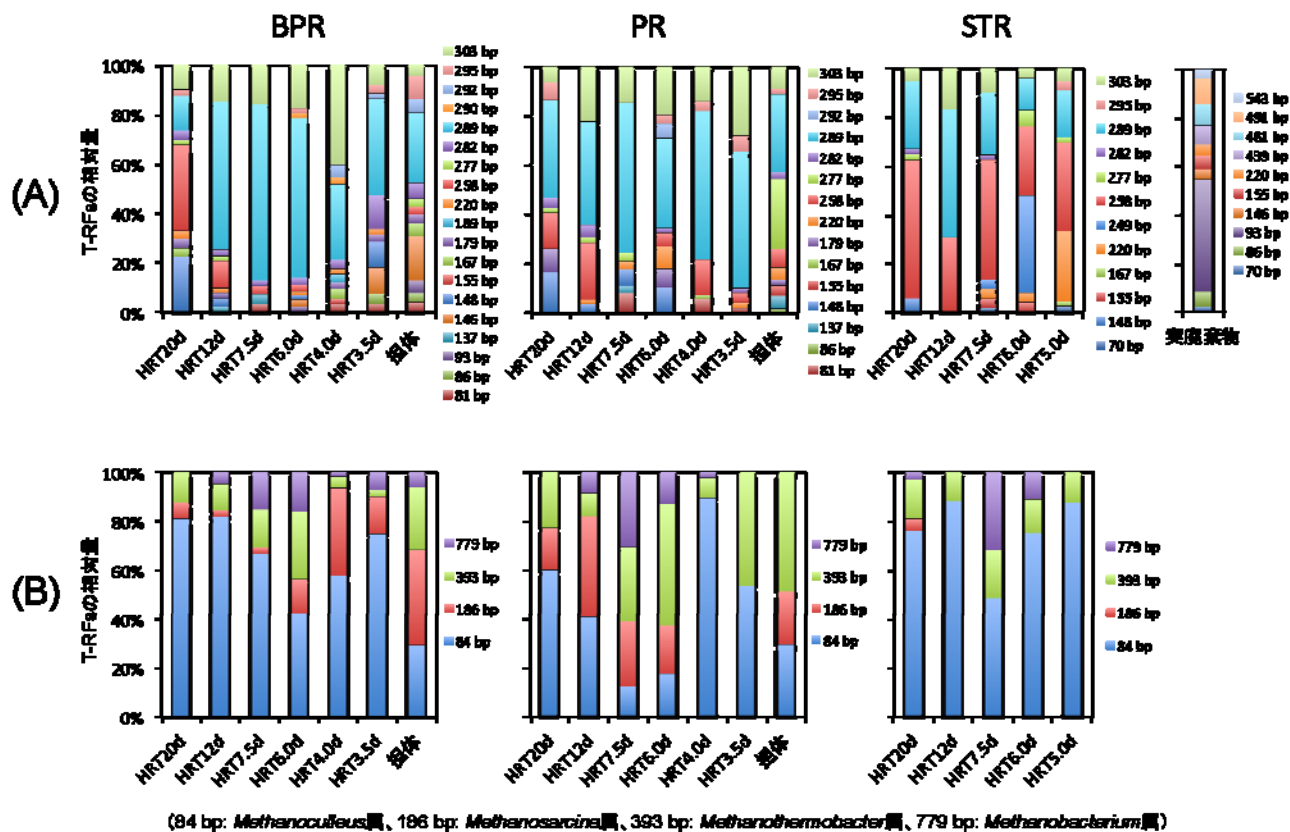


図 16 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)、固定床メタン発酵(PR)、攪拌混合型メタン発酵槽 (STR)における(A)細菌群集と(B)古細菌群集の T-RFLP 結果

解析によって得られた各プロファイルの T-RFs を相対値化して示した。担体付着画分の T-RFLP は、HRT4.0 日における結果を担体として示した。「実廃棄物」として、濃縮下水汚泥の細菌の T-RFLP 結果を示した。なお、「実廃棄物」中の古細菌は検出限界以下であった。また、古細菌のクローン解析から予想された T-RF 長に対応する菌名を(B)の下に記載した。

#### 2.5.5.4 実廃棄物による通電型固定床メタン発酵槽の性能評価

本研究で得られた結果と実際の処理施設(実機)における運転実績を比較するために、負荷した実廃棄物の容量あたりのガス生成量(ガス発生倍率)を算出し、文献値と比較した。その結果、設定電位を-0.8 VとしたBPRにおいては、実廃棄物の負荷量が9.6 gCODcr/L/日(HRT 7.5 日)まで、ガス発生倍率はほぼ一定(25.4±6.3~20.1±2.6L/L)であり(図17)、実廃棄物の提供元

設備の文献値(23.3L/L)と同レベルであった。しかし、それ以上の負荷量では、BPRにおけるガス発生倍率は漸減する傾向が見られた。そのため、ガス発生倍率を基準とした場合、BPRにおける実機と同レベルまでのガス生成量を維持できる最大負荷量は 9.6 gCOD<sub>cr</sub>/L/日 (HRT7.5 日)までとした。なお、55°Cで実施した STR では、HRT20 日までが実機と同レベルのガス発生倍率(21.4±5.9L/L)であった。このとき、負荷した実廃棄物の体積あたりガス発生倍率、COD 除去率、SS 除去率および発酵ろ液中のアンモニア濃度を比較したところ(表8)、実機と同程度またはそれ以上であることが確認された。BPR 及び STR において、COD 除去率及び SS 除去率が高い傾向がみられるが、これは発酵槽内で確認されたスカムの影響と思われる。微生物群担体と対極間に流れた電流値および電極間電位から、微生物群担体を-0.8V に維持するのに要する電力は発酵槽 1Lあたり約 6.2mW(年間電力量約 54Wh/年)と求められた。通電型メタン発酵槽の容積を単純に大きくした場合、発酵槽容積 1000m<sup>3</sup>で約 6.2kWと試算される。通電による制御に必要な電力などは、通電型メタン発酵槽のスケールアップに際して微生物群担体の形状(設置法)や必要量などと共に今後の検討により最適化される余地がある。

以上の結果を踏まえ、BPR の処理能力を評価するために、単純に実機と BPR の HRT を比較すると、BPR では実機に対して約 4 倍の有機物負荷量で処理可能との結果となる。また、発酵温度を考慮して BPR と STR を比較しても、約 2.7 倍の有機物負荷量で処理可能であるとの結果を得た。発酵槽の設置面積を実機に比べて約 50%にコンパクト化するためには、有機物負荷量を実機の約 3 倍にする必要があるが、BPRは十分対応できる処理能力であることが示された。これらの結果から、実廃棄物においても、通電型固定床メタン発酵槽によって高い OLR(短い HRT)で処理が可能であることを実証し、メタン発酵槽を 50%以下にコンパクト化できる技術を立証した。

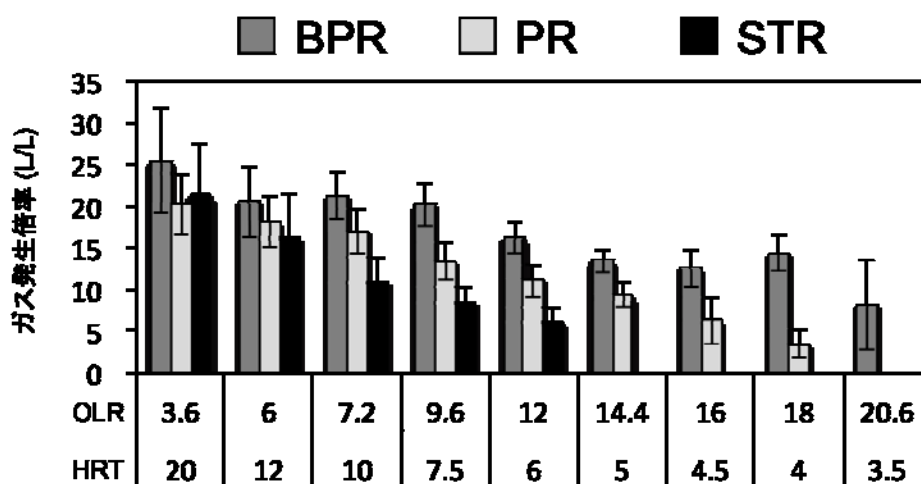


図 17 通電型固定床メタン発酵槽(BPR)、固定床メタン発酵槽(PR)、攪拌混合型メタン発酵槽(STR)の各 HRT におけるガス発生倍率の平均値  
HRT 毎に、実廃棄物の容量あたりのガス生成量をガス発生倍率として算出した。

表 8 通電型固定床メタン発酵槽 (BPR)、攪拌混合型メタン発酵槽 (STR) と実機との運転条件と処理性能の比較

	運転条件			処理性能			
	発酵温度 (°C)	HRT (日)	OLR (gCOD <sub>cr</sub> /L/日)	ガス発生倍率 (L/L)	COD 除去率 (%)	SS 除去率 (%)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 濃度 (mg-N/L)
通電型固定床メタン発酵槽 (BPR)	55	7.5	9.6	20.1±2.6	75.2	72.9	1813
混合攪拌型メタン発酵槽 (STR)	55	20	3.6	21.4±5.9	64.6	52.8	1804
実機 (年平均)*	36	30	2.1	23.3	60.0	42.7	1060

\* 文献 (李玉友ら、ECO INDUSTRY, 9(9):15-29, 2004) からの参考値

#### 成果のまとめ

各研究項目に関する研究成果の概略と達成度を下記に記載する。

##### (1) デザイン化の素材となる有用微生物群の取得と特性・機能評価

模擬固形廃棄物を用いて固形廃棄物の分解に適した有用微生物群の取得とその維持に成功し、デザイン化担体の素材としての有用微生物群を取得した。

##### (2) 有用微生物群を用いた微生物群担体の効果

担体の特性が固定床メタン発酵に及ぼす影響を検討した結果、担体の種類によっては、担体上の高い微生物量と特定のメタン菌の増大が観察され、高負荷時のメタン生成維持に効果をもたらすことを明らかにした。本研究開発では、高負荷時の安定性に寄与するという観点から、繊維状の担体が適当であるという結果を得た。

##### (3) 微生物群の電気制御による安定化技術の開発

メタン発酵に対して通電の効果を検討するために、発酵槽に電極を設置して設定電位の制御を行った結果、高負荷条件においても安定したメタンガス生成、低級脂肪酸の蓄積が少ない等、発酵槽の能力として優れた性能を発揮できることを示した。発酵槽に設置した電極に対して適切な電位制御を行うことで、メタン発酵の処理能力向上に効果があることを明らかにし、高負荷条件での安定化技術の可能性を見いだした。

##### (4) デザイン化微生物群担体のためのバイオエンジニアリング技術の開発

デザイン化微生物群担体を通電によって電位制御しながらメタン発酵を行う通電型固定床メタン発酵槽の形状を検討し、その性能を定量的に評価した。その結果、発酵槽に電極を設置して電位制御した通電型メタン発酵槽よりも、さらに高い有機物負荷量において安定した処理が可能であることを見だし、一定の廃棄物を処理するための発酵槽をよりコンパクトにすることが可能となった。目標とした負荷量以上での安定したメタン発酵を実現しており、メタン発酵の効率化及び発酵槽のコンパ

ト化に関しては当初の目標を達成した。

(5) デザイン化微生物群担体を用いた固定床メタン発酵による技術立証

実廃棄物として濃縮下水汚泥を用いて通電型固定床メタン発酵槽の性能を評価したところ、汚泥提供元処理設備に比べて通電型固定床メタン発酵槽において高い有機物負荷量で処理が可能であることを示し、メタン発酵槽のコンパクト化に貢献できる技術を立証した。

以上より、メタン発酵のプロセスにおいて高い負荷量でもメタン発酵に有用な微生物群及び処理能力を安定的に維持できる技術を開発し、高負荷運転(短い滞留時間)でメタン発酵処理を可能とする基盤技術の確立に成功した。その結果、通電型固定床メタン発酵槽では、従来のメタン発酵槽に比べ 50%以上のコンパクト化を実現した。



年度毎の特許、論文、外部発表等（件数）

電力中央研究所

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	特許出願			論文		学会発表等 （プレス発表等）
	国内	外国	PCT <sup>※</sup> 出願	査読付 き	その他	
H19FY	0件	0件	0件	0件	0件	1件（0件）
H20FY	1件	0件	0件	0件	0件	2件（0件）
H21FY	2件	0件	0件	1件	0件	2件（1件）
H22FY	2件	0件	0件	3件	0件	5件（2件）
H23FY	0件	0件	0件	4件	1件	2件（0件）

（※Patent Cooperation Treaty：特許協力条約）

#### IV. 実用化の見通しについて

##### 1.1 (実用化の見通し 株式会社 日立プラントテクノロジー)

日立プラントテクノロジーではこれまで包括固定化担体を 7,000m<sup>3</sup> 生産し、下水処理場や産業廃水処理場に納入し稼働している。硝化細菌を固定化した包括固定化担体で、古いものでは 18 年間稼働している。今回、内生呼吸低減菌を見出し、また亜硝酸型硝化の手法を見出した。これらの技術はこれまで納入し稼働している施設での活用が可能であり、曝気量を大幅に低減できる。22, 23 年度での実証試験を踏まえ、実用化できると判断する。

本技術は食品廃水、機械廃水、化学廃水、電子部品廃水、発酵廃水、下水、電力廃水など生物処理が可能なあらゆる廃水に利用でき、曝気エネルギー低減を達成できる見通しである。具体的には新設、既設に対応でき、特に既設設備については現在稼働している担体投入型循環変法の硝化槽に本開発担体を投入し、担体引き抜きアルカリ処理装置を備えれば曝気エネルギー低減を達成できる。(図1)

#### 機能化技術[1]

#### 包括固定化担体を用いたコンタミ防止維持システム開発

担体の表面をアルカリ処理しコンタミによるバイオフィルムの形成防止

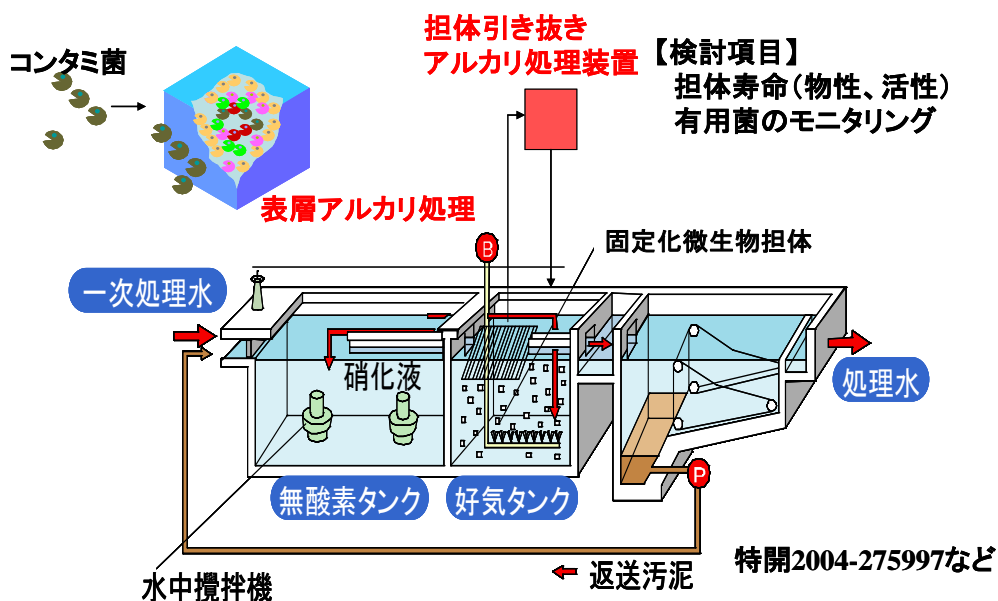


図1 包括固定化担体を用いた実用化概念図

## 2.1 (実用化の見通し 広島大学)

嫌気性処理水に溶存しているメタン放散に防止においては、溶存メタン・有機物・硫黄・アンモニアを含む模擬排水を用いた場合でも、密閉型 DHS リアクターにより、90%以上の溶存メタン除去率を HRT 2 時間で達成できることから、実排水においても同程度の除去性能が期待でき、溶存メタン放散防止は直ちに実用化できる見通しである。

DHS リアクターによる亜酸化窒素ガス分解については、酸化分解やメタンを用いた還元とともに継続的に除去されることは確認できたが、除去率 90%にはまだ至っていない。また、反応に関与する微生物群についても一部しか解明できていない。実用化に向けては、亜酸化窒素分解微生物の至適環境条件の調査が必要である。

密閉型 DHS リアクターによる下水からのリン除去・濃縮回収技術については、浄化センターに設置したパイロットプラントを用いて、実下水からのリン回収試験を行い、運転・操作方法を確立した。しかし、リン濃度を 10 倍以上に濃縮できることは実証できたが、実用化の目安となる  $100 \text{ mg-P} \cdot \text{L}^{-1}$  以上のリン濃縮液の回収までには至っておらず、実用化に向けてはパイロットプラントの運転を継続して、これを実証する必要がある。

なお、本技術の基礎となっている好気性 DHS リアクターの性能は、インドや国内の下水処理場で既に実証・公表されていることから、DHS リアクターを用いることに関して何ら問題は生じないと考えられる。

## 2.2 (波及効果 広島大学)

従来 of 下水・排水処理技術に温室効果ガス処理・リン回収 DHS リアクターを組み合わせる事で、21 世紀型排水処理システムとして日本の技術を世界に向けて発信することができる。特に温室効果ガス排出削減は世界的な課題である事から、温室効果ガス処理 DHS リアクターを組み込んだ排水処理装置は世界的にも注目を浴びるものと期待できる。

### 3.1 (実用化の見通し 北海道大学地球環境科学研究所)

項目3について、以下の2つの可能性が考えられる。

#### ケース1：省エネルギー型高効率栄養塩除去システム

従来の嫌気好気的二槽式活性汚泥法では1立米あたりの電気などのエネルギー消費量は約800ワット時であるが、その後段処理の50%相当分を項目3で開発した植物-根圏細菌群デザイン化システム(新植生浄化ユニット)で置き換えた場合、同程度の水処理に要するエネルギーは300ワット時程度まで削減できると試算できる。さらに余剰植物体からのバイオエタノール生産で生成されるエネルギーはおよそ60ワット時と見積もる事ができ、これを併せると極めて経済性の高い水処理法が提供できるものと考えられる。ただし、その実現までには、新植生浄化ユニットの野外実証試験に加えて、植生浄化ユニットの構築および最適運転条件の策定あるいは既存排水処理施設の改造などが必要である。

#### ケース2：二次処理水の水質安定化

近年、ノニルフェノールやビスフェノールなどの内分泌攪乱物質やさまざまな難分解性化合物(POPs)が工場廃水に混入するリスクが増えている。すなわち、今後二次処理が必要な廃水は増えることが予想されその処理の必要性は高まるであろう。現在はオゾン処理などコストの嵩む方法が高度処理技術として用いられているが、項目3をさらに発展させてPOPsに対応できる新植生浄化ユニットが開発できれば、省エネ型の高度処理技術が提供できる可能性がある。

### 4.1 (実用化の見通し 北海道大学工学研究所)

研究開発項目毎の実用化の見通しは以下のとおりである。

アンモニア性窒素の亜硝酸までの部分硝化およびANAMMOX細菌の増殖促進を図るために微量のヒドロキシルアミン( $\text{NH}_2\text{OH}$ )添加を行うというアイデアはオリジナルであり、本研究でその有用性が確認されれば、運転操作も容易でありかつヒドロキシルアミンは比較的安価であることから実用化が十分可能である。また、本研究で用いたanammox細菌、*Ca. Brocadia sinica*は、②ヒドロキシルアミンを中間代謝物として生成、利用することが可能である。

Anammoxリアクターはすでに十分な窒素除去能力を達成しており実用化が見えている。今後、本

研究で得られたデータを基に、スケールアップを行い、実廃水（例えば、製鉄所廃水（安水）や嫌気性消化廃水など）に適用し実践的な検討を行うことにより、より安定的なリアクターを構築できる。

これまでの研究から得られた基礎的な情報は、論文発表などを通して、微生物応用利用分野および水処理工学分野で情報発信を積極的に行っている。英文論文は 5 報、和文論文は 1 報発表済み、英文論文 2 報投準備中である。また、国際学会において 7 編口頭およびポスター発表を行った。

#### 4.2 波及効果（北海道大学地球環境科学研究所）

本事業の研究開発の成果から、以下のような波及効果が期待できる。

- (1) このプロセスの開発導入により、従来の活性汚泥法を用いた硝化―脱窒法と比較して、15 倍以上の窒素除去速度（30 Kg-TN/m<sup>3</sup>/day）が得られる。また、理論的には 50%以上のトータルランニングコストの削減、余剰汚泥の発生量を 70%以下に削減が可能であり、高効率・省エネルギー、低コスト型の窒素除去システムを構築可能となる。これは、持続型社会の構築に大きく貢献する。
- (2) 公共用水域の富栄養化問題は長年の課題となっており、特に閉鎖性水域へ排出される排水の窒素・リンについては、今後さらに規制はさらに強化される。このような現状にあって、新規に導入される高度廃水処理プロセスは、十分な処理性能だけでなく省資源・省エネルギー・低コスト性が要求される。このような社会的情勢は、提案する部分硝化―Anammox プロセスの実廃水処理への導入のインセンティブとなり、早期実用化を加速すると考える。
- (3) Anammox 関連の研究開発において、日本は欧州の後塵を拝する状況にあるが、欧州においても、未だ高効率・安定的な Anammox リアクターの構築・運転技術は確立していない。この段階で、日本が英知を結集させ技術開発を積極的に推進すれば、必ず、欧州の技術に勝る「Anammox プロセス」が開発され、水処理（窒素除去）の市場を獲得できると確信している。

#### 5.1 （実用化の見通し 電力中央研究所）

NEDOの基本計画では、生ごみ等を主な対象として稼動している現行のメタン発酵処理施設における日平均容積効率を 8.5gCOD/L/日と想定し、その 3 倍の効率を達成することで、メタン発酵槽の約 50%コンパクト化を実現することを目標とした。本研究開発では、微生物群を保持した担体と担体への通電による微生物制御技術を組み合わせたメタン発酵槽により、数 L レ

ベルの実験室規模ではあるが、メタン発酵の高負荷運転での安定処理を確認し、模擬生ごみで目標以上の効率化を実証した。また、実廃棄物である下水汚泥を対象にしても効率向上および発酵槽のコンパクト化が可能なことを明らかとし、当初対象の食品廃棄物以外においても本技術の有効性を示しており、その実用が期待される。本技術の実用化を図るには、まずは5年程度で段階的なスケールアップの検討を行い、その規模における担体等の構造や耐久性等の実証やコストおよびエネルギー収支の評価が必要である。装置の規模の増加にあたっては、エンジニアリングの要素が大きくなるため、プラントメーカーとの連携が必須であり、プラントメーカーとの共同開発について検討していく。

## 5.2 (波及効果 電力中央研究所)

本研究開発では、メタン発酵において発酵槽内の微生物群濃度と微生物活性を維持し、処理プロセスの効率化を図るために、担体と担体への通電による制御を組み合わせた微生物群の制御技術に関して検討を行った。スケールアップなどの検討によって実規模での実証が行われ、本技術の有効性が示された場合には、エネルギー回収の観点からは有利ではあるものの施設の設置場所や初期コストなどから採用されなかったメタン発酵処理の適用拡大が期待される。また、微生物群を制御する技術は、反応系に適した電位調整などの制御が可能であることから、メタン発酵に限ることではなく、微生物群としての機能を利用するバイオプロセスに共通の技術となり得るため、応用的汎用性があると考えられる。また、本技術はメタン発酵のような微生物群の反応系以外に純粋培養系にも適用が可能と考えられ、広い範囲の発酵系の応用も期待される。従って、本事業において本技術の有用性を実証した知見は、メタン発酵のみならず将来的にはバイオエタノール生産、発酵生産、医薬品生産など様々なバイオプロセスへ適用できると考える。

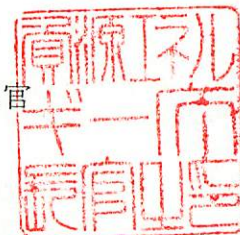
経済産業省

平成20・03・25産局第5号  
平成20年4月1日

経済産業省産業技術環境局長



経済産業省資源エネルギー庁長官



エネルギーイノベーションプログラム基本計画の制定について

上記の件について、イノベーションプログラム実施要領（平成16・07・27産局第1号）第4条第1項の規定に基づき、別添のとおり制定する。

## エネルギーイノベーションプログラム基本計画

### 1. 目的

資源に乏しい我が国が、将来にわたり持続的発展を達成するためには、革新的なエネルギー技術の開発、導入・普及によって、各国に先んじて次世代型のエネルギー利用社会の構築に取り組んでいくことが不可欠である。他方、エネルギー技術開発は、長期間を要するとともに大規模投資を伴う一方で将来の不確実性が大きいことから、民間企業が持続的な取組を行うことは必ずしも容易ではない。このため、政府が長期を見据えた将来の技術進展の方向性を示し、官民双方がこの方向性を共有することで、将来の不確実性に対する懸念が緩和され、官民において長期にわたり軸のぶれない取組の実施が可能となる。以下に 5 つの政策の柱毎に目的を示す。

#### 1 - . 総合エネルギー効率の向上

1970年代以来、官民をあげて省エネルギーに取り組み、産業構造の転換や新たな製造技術の導入、民生機器の効率改善等により世界最高水準の省エネルギーを達成している。今後、「新・国家エネルギー戦略」に掲げる、2030年までにGDPあたりのエネルギー利用効率を約30%向上を実現していくためには、産業部門はもとより、全部門において、総合エネルギー効率の向上に資する技術開発とその成果の導入を促進する。

#### 1 - . 運輸部門の燃料多様化

ほぼ100%を石油に依存する運輸部門は、我が国エネルギー需給構造上、最も脆弱性が高く、その需給構造の次世代化は、将来に向けた早急な対策が不可欠な課題となっている。

「新・国家エネルギー戦略」に掲げる目標（2030年に向け、運輸部門の石油依存度が80%程度となることを目指す）の実現のためにも、官民が中長期的な展望・方向性を共有しつつ、技術開発と関連施策を推進する。

#### 1 - . 新エネルギー等の開発・導入促進

太陽光、風力、バイオマスなどの新エネルギーは、エネルギー源の多様化や地球温暖化対策の観点から重要である。しかし、現時点では経済性や出力安定性といった普及へ向けての課題が存在する。

そのため、これらの課題解決に向けた技術開発の推進及び新エネルギーの導入促進のための関連施策の実施により、更なる新エネルギーの普及を推進する。

#### 1 - . 原子力等利用の推進とその大前提となる安全の確保

原子力発電は供給安定性に優れ、運用時にCO<sub>2</sub>を排出しないクリーンなエネルギー源である。安全確保を大前提に核燃料サイクルを含む原子力発電を着実に推進する。

#### 1 - . 化石燃料の安定供給確保と有効かつクリーンな利用

化石燃料資源の大宗を輸入に依存する我が国にとって、その安定供給の確保は国家安全保障に直結する課題である。このため、石油・天然ガス等の安定供給確保を目指し、我が国企業による資源国における資源開発等に対する支援等の施策を進めるとともに、その有効かつクリーンな利用を図る。



( 8 ) 微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発

i) 微生物機能を活用した高度製造基盤技術開発 ( 運営費交付金 )

概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、省エネルギーかつ環境負荷が少ないといった特徴を有する微生物機能を活用した有用物質の革新的な生産プロセス ( モノ作り ) の技術を構築するため、産業用途に必要な機能既知遺伝子で構成されたゲノムを持ち、物質生産性向上につながる性能を備えた高性能宿主細胞の創製や、微生物反応の多様化・高機能化技術を開発するとともに、バイオマスを原料として有用物質を体系的かつ効率的に生産する ( バイオリファイナリー ) ための基盤技術を開発する。

技術目標及び達成時期

2010年度までに、物質生産性向上につながる性能を備えた高性能宿主細胞を創製するとともに、バイオプロセスの実用化適用範囲の拡大のための微生物反応の多様化・高機能化技術の開発を行う。バイオリファイナリー技術については、バイオマスを高効率で糖化し、糖から高効率で各種化成品の基幹物質を生産するバイオプロセス体系を構築する。

研究開発期間

2006年度～2010年度

ii) 微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発 ( 運営費交付金 )

概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、従来エネルギー多消費・廃棄物多排出型であった廃水・廃棄物処理において、微生物群の構成及び配置等を人為的に制御 ( デザイン化 ) することで、その処理効率を大幅に向上させ、省エネルギーで廃棄物も少ない高効率型廃水、廃棄物処理の基盤技術を確立する。

技術目標及び達成時期

2011年度までに、特定有用微生物群を人為的に安定導入・維持もしくは人為的に空間配置・優先化させる等のデザイン化技術を開発し、従来の廃水、廃棄物処理に比べより高効率で省エネルギーな処理技術を開発するとともに、実用化に資するための実証可能なテストプラント規模にて評価する。

研究開発期間

2007年度～2011年度

( 9 ) 省エネルギー型化学技術創成研究開発補助事業

概要

化学産業はそれ自身が裾野の広い産業というだけでなく、自動車、IT機器等の川下製品の部材として産業界・国民生活の様々な分野に深く関連している。従って化学業界において、省エネポテンシャルの大きい有望な技術シーズがありながら民間だけでは十分な研究開発投資が行われていない技術について、戦略的な研究開発支援を実施することにより、化学産業のみならず、各種最終製品、他産業においてエネルギー効率の改善を促進する。

# 経済産業省

平成20・03・25産局第7号  
平成20年4月1日

経済産業省産業技術環境局長



経済産業省製造産業局長



環境安心イノベーションプログラム基本計画の制定について

上記の件について、イノベーションプログラム実施要領（平成16・07・27産局第1号）第4条第1項の規定に基づき、別添のとおり制定する。

## 環境安心イノベーションプログラム基本計画

### 1. 目的

資源制約を克服し、環境と調和した持続的な経済・社会の実現と、安全・安心な国民生活を実現するため、革新的な技術の開発等を通じた地球全体での温室効果ガスの排出削減、廃棄物の発生抑制（リデュース）、製品や部品の再使用（リユース）、原材料としての再利用（リサイクル）推進による循環型社会の形成、バイオテクノロジーを活用した環境に優しい製造プロセスや循環型産業システムの創造、化学物質のリスクの総合的な評価及びリスクを適切に管理する社会システムの構築を推進する。

### 2. 政策的位置付け

第3期科学技術基本計画（2006年3月閣議決定）及び分野別推進戦略（2006年3月総合科学技術会議）における国家的・社会的課題に対応した研究開発の重点推進分野である環境分野及び国の存立にとって基盤的であり国として取り組むことが不可欠な研究開発の推進分野であるエネルギー分野に位置付けられるものであるほか、次のとおりである。

「地球温暖化対策技術研究開発の推進について」（2003年4月総合科学技術会議）

総合科学技術会議重点分野推進戦略専門委員会に設置された温暖化対策技術プロジェクトチームでまとめられた上記報告書における研究開発推進戦略に対応するものである。

Cool Earth - エネルギー革新技术計画（2008年3月経産省公表）

重点的に取り組むべきエネルギー革新技术「21」を含むものである。

京都議定書目標達成計画（2005年4月閣議決定）

目標達成のための対策と施策のうち地球温暖化対策技術開発の推進に位置づけられるものである。

イノベーション25（2007年6月閣議決定）

イノベーション立国に向けた政策ロードマップ - 技術革新戦略ロードマップ「世界的課題解決に貢献する社会 ものづくり技術分野」の中で「3R型設計・生産・メンテナンス技術、製品の設計・製造段階でのリサイクル阻害物質の使用排除を可能とする技術、製品中の有用・有害物質管理技術の開発・標準化」が資源を有効利用し、環境に配慮したものづくり技術として位置づけられている。

21世紀環境立国戦略（2007年6月閣議決定）

今後1、2年で重点的に着手すべき八つの戦略の中で「3R関連法制度等の充実や技術開発の支援を通じて、製品のライフサイクル全体での天然資源投入量の最小化や再生資源の高付加価値製品への利用を促進し、資源生産性の更なる向上と環境負荷の低減を図る」との方針が示されている。

経済成長戦略大綱（2006年7月財政・経済一体改革会議）

「環境と経済の両立を図るため、金融面からの環境配慮を進めるとともに、環境技

(2) 微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発(再掲)

( ) 微生物機能を活用した高度製造基盤技術開発(運営費交付金)

概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、省エネルギーかつ環境負荷が少ないといった特徴を有する微生物機能を活用した有用物質の革新的な生産プロセス(モノ作り)の技術を構築するため、産業用途に必要な機能既知遺伝子で構成されたゲノムを持ち、物質生産性向上につながる性能を備えた高性能宿主細胞の創製や、微生物反応の多様化・高機能化技術を開発するとともに、バイオマスを原料として有用物質を体系的かつ効率的に生産する(バイオリファイナリー)ための基盤技術を開発する。

技術目標及び達成時期

2010年度までに、物質生産性向上につながる性能を備えた高性能宿主細胞を創製するとともに、バイオプロセスの実用化適用範囲の拡大のための微生物反応の多様化・高機能化技術の開発を行う。バイオリファイナリー技術については、バイオマスを高効率で糖化し、糖から高効率で各種化成品の基幹物質を生産するバイオプロセス体系を構築する。

研究開発期間

2006年度～2010年度

(ii) 微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発(運営費交付金)

概要

エネルギー需給構造の高度化を図る観点から行うものであり、従来エネルギー多消費・廃棄物多排出型であった廃水・廃棄物処理において、微生物群の構成及び配置等を人為的に制御(デザイン化)することで、その処理効率を大幅に向上させ、省エネルギーで廃棄物も少ない高効率型廃水、廃棄物処理の基盤技術を確立する。

技術目標及び達成時期

2011年度までに、特定有用微生物群を人為的に安定導入・維持もしくは人為的に空間配置・優先化させる等のデザイン化技術を開発し、従来の廃水、廃棄物処理に比べより高効率で省エネルギーな処理技術を開発するとともに、実用化に資するための実証可能なテストプラント規模にて評価する。

研究開発期間

2007年度～2011年度

(3) バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発(再掲)

概要

バイオマスに関する燃料分野と化成品分野の融合・連携を図り、食料と競合しないセルロース系原料から、より低コストで高効率なエネルギー化を可能にする先進的・革新的な新技術の確立を目指すとともに、バイオ燃料の製造のみならず、プロパノール、ブタノール製造、化学品の製造の実用化を目指した技術開発を行う。

技術目標及び達成時期

2012年度までに、セルロース系バイオマスを原料とし、バイオ燃料製造の従来技術に比べて画期的に優れた効率や低コスト化を可能とする糖化・発酵等の基盤

年度毎の特許、論文、外部発表等

株式会社 日立プラントテクノロジー

(1) 研究論文 1件 講演 8件

番号	発表者	所属(筆頭者)	タイトル	発表誌名, ページ番号	査読	発表年
1	生田 創 角野 立夫	(株)日立プラントテクノロジー	廃水処理の曝気量低減に向けた基礎的検討	第43回日本水環境学会 年会講演集,2009,69	—	2009年
2	生田 創 角野 立夫 原山 重明 諏訪 裕一	(株)日立プラントテクノロジー	Reducing Aeration requirement for Biological Wastewater Treatment	The 3rd IWA-ASPIRE Conference & Exhibition 2009(Taipei),150	—	2009年
3	生田 創 角野 立夫 原山 重明 諏訪 裕一	(株)日立プラントテクノロジー	pH ショック法を用いた亜 硝酸型硝化技術の検討	日本水処理生物学会 第46回大会(高知大会) 日本水処理生物学会誌 別巻第29号,2009,56	—	2009年
4	KEYA Chaman Ara 諏訪裕一 原山重明 生田 創 角野立夫	中央大学	活性汚泥構成菌の内生 呼吸	日本水処理生物学会 第46回大会(高知大会) 日本水処理生物学会誌 別巻第29号,2009,63	—	2009年
5	生田 創 角野立夫 原山 重明 諏訪 裕一ら	(株)日立プラントテクノロジー	pH ショック法による亜硝 酸型硝化システムの評価	第44回日本水環境学会 年会講演集,2010,503	—	2010年
6	原山 重明 諏訪 裕一ら	中央大学	A simple and rapid GC/MS method for the simultaneous determination of gaseous metabolites.	Journal of Microbiological Methods (2011) 84; 46-51.	有	2011年
7	生田 創 諏訪 裕一 勝山 知恵 原山 重明ら	(株)日立プラントテクノロジー	亜硝酸酸化活性に及ぼ す遊離アンモニアの影響 評価	第45回日本水環境学会 年会講演集,2011,36	—	2011年
8	勝山 知恵 諏訪 裕一 原山 重明 生田 創ら	中央大学	亜硝酸型硝化プロセスに おける亜酸化窒素発生抑 制条件の検討	第45回日本水環境学会 年会講演集,2012,37	—	2011年
9	勝山 知恵 諏訪 裕一 原山 重明 生田 創ら	中央大学	亜硝酸型硝化処理にお ける亜酸化窒素発生の 評価	第46回日本水環境学会 年会講演集,2012,42	—	2012年

(2) 特許等 なし

(3) 受賞実績 なし

年度毎の特許、論文、外部発表等リスト

広島大学

【特許】

番号	出願者	出願番号	国内 外国 PCT	出願日	状態	名 称	発明者
1	広島大学	特願 2009-44797	国内	2009/02/26	公開	リンの回収方法及び回収装置	大橋晶良 他

(※Patent Cooperation Treaty :特許協力条約)

【論文】

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	小寺博也 他	広島大学	密閉型 DHS リアクターによるリン含有水の高濃度化回収	第 46 回環境工学研究フォーラム環境工学研究論文集	有	2008
2	幡本将史 他	広島大学	DHS リアクターによる溶存メタンの生物学的酸化分解処理	第 46 回環境工学研究フォーラム環境工学研究論文集	有	2008
3	M. Hatamoto et al.	広島大学	Biological oxidation of dissolved methane in effluents from anaerobic reactors using a down-flow hanging sponge reactor	Water Research, Vol.44, pp.1409-1418	有	2010
4	M. Hatamoto et al.	広島大学	Dissolved methane oxidation and competition for oxygen in down-flow hanging sponge reactor for post-treatment of anaerobic wastewater treatment	Bioresource Technology, Vol.102 pp.10299-10304	有	2011

【著書】

番号	執筆者	所属	タイトル	書籍名	発表年
1	大橋晶良 他 (分担執筆)	広島大学	「DHS リアクターシステムを用いたリン回収」	リン資源の回収と有効利用、サイエンス&テクノロジー	2009

【外部発表】

番号	発表者	所属	タイトル	発表学会	発表年
1	小寺博也 他	広島大学	生物学的リン回収に及ぼす嫌気・好気サイクルの影響	第60回土木学会中国支部研究発表会	2008
2	阿部憲一 他	広島大学	微生物による亜酸化窒素 (N <sub>2</sub> O) 酸化分解能の調査	第60回土木学会中国支部研究発表会	2008
3	小寺博也 他	広島大学	生物学的リン回収における嫌気・好気時間の影響	土木学会 年次学術講演会	2008
4	H. Kodera et al.	広島大学	EFFECT OF ANAEROBIC/AEROBIC INTERVAL ON ENHANCED BIOLOGICAL PHOSPHORUS REMOVAL USING TUBULAR BIOFILM REACTOR	International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICCEE-2008)	2008
5	阿部憲一 他	広島大学	窒素除去プロセスにおける亜酸化窒素の発生	第43回水環境学会年会	2009
6	ツォン ホエイピン 他	広島大学	Investigation of Nitrous Oxide Degradation by Biological Oxidation	第43回水環境学会年会	2009
7	山本崇寛 他	広島大学	嫌気メタン酸化と脱窒の共役を利用した温室効果ガスの生物学的除去プロセスの開発	第43回水環境学会年会	2009
8	幡本将史 他	広島大学	溶存メタン処理リアクターにおいてメタンの分解に関与する微生物群集	第43回水環境学会年会	2009
9	幡本将史 他	広島大学	DHS リアクターを用いた溶存メタンの生物学的酸化分解処理	第43回水環境学会年会	2009
10	小寺博也 他	広島大学	DHS リアクターを用いた新しいリン回収技術	第43回水環境学会年会	2009
11	H. Kodera et al.	広島大学	Investigation of the optimum time for EBPR with tubular reactor	International Symposium on Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia	2009
12	M. Hatamoto et al.	広島大学	Biological dissolved methane treatment using closed DHS reactor	International Symposium on Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia	2009
13	M. Hatamoto et al.	広島大学	Methane oxidizing bacteria in closed DHS reactor treating dissolved methane in anaerobic wastewater treatment effluent	Specialised Conference on Microbial Population Dynamics in Biological Wastewater Treatment	2009
14	小寺博也 他	広島大学	生物膜型リアクターによる下水からのリン回収	第64回土木学会年次学術講演会	2009
15	小寺博也 他	広島大学	ポリリン酸蓄積細菌が優占的に増殖する嫌気・好気時間	第12回日本水環境学会シンポジウム	2009
16	H. Kodera et al.	広島大学	Recovery of High-Concentrated Phosphorus Solution Using a DHS Reactor	International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICCEE-2009)	2009
17	山本崇寛 他	広島大学	温室効果ガス・メタンと亜酸化窒素の嫌気的生物学的同時処理	第44回水環境学会年会	2010
18	宮内智 他	広島大学	溶存メタン含有嫌気性処理水の生物学的後段処理	第44回水環境学会年会	2010
19	小寺博也 他	広島大学	リン除去性能に及ぼす多様なポリリン酸蓄積細菌の存在	第44回水環境学会年会	2010
20	小寺博也 他	広島大学	嫌気・好気 DHS リアクターを用いた廃水処理水からのリン回収	第62回土木学会中国支部研究発表会	2010
21	H. Kodera et al.	広島大学	Recovery of Phosphorus as Highly Concentrated Solution Using an Anaerobic-Oxic DHS Reactor	Water and Environment Technology Conference International Forum for Scientists and Engineers	2010
22	H. Kodera et al.	広島大学	Effects of anaerobic-aerobic period on the microbial community structure of polyphosphate accumulating organisms	13th International Symposium on Microbial Ecology [ISME-13]	2010
23	小寺博也 他	広島大学	生物膜型リアクターを用いたリン回収と微生物群集構造の解析	第65回土木学会全国大会年次学術講演会	2010
24	山本崇寛 他	広島大学	メタンを炭素源とした亜酸化窒素の脱窒	第47回環境工学研究フォーラム	2010
25	幡本将史 他	広島大学	嫌気性処理水の生物学的後段処理における溶存メタンの酸化分解	第47回環境工学研究フォーラム	2010
26	小寺博也 他	広島大学	生物膜型リアクターを用いたリン濃縮液回収技術	第45回日本水環境学会年会	2011
27	間口暢之 他	広島	高濃度塩分・嫌気/好気環境下に生息するポリリン	第45回日本水環境学会年会	2011

		大学	酸蓄積細菌の探索		
28	山本崇寛 他	広島大学	DHS リアクターを用いたメタン・亜酸化窒素の同時処理	第 45 回日本水環境学会年会	2011
29	H. Kodera et al.	広島大学	Phosphorus recovery as condensed liquid using an anaerobic-oxic DHS reactor	International Conference on Civil and Environmental Engineering [ICCEE] 2010	2011
30	間口暢之 他	広島大学	高濃度塩分環境下に生息するポリリン酸蓄積細菌の集積培養	第 63 回土木学会中国支部大会	2011
31	間口暢之 他	広島大学	高濃度塩分環境下に生息するポリリン酸蓄積細菌	第 27 回日本微生物生態学会大会	2011
32	間口暢之 他	広島大学	DHS リアクターを用いた海洋性ポリリン酸蓄積細菌の集積培養	第 46 回日本水環境学会年会	2012
33	竹縄温 他	広島大学	UASB-好気 DHS-リン回収 DHS による高濃度硫酸イオン含有実下水処理	第 46 回日本水環境学会年会	2012
34	小寺博也 他	広島大学	ポリリン酸蓄積細菌の多様性	第 46 回日本水環境学会年会	2012



年度毎の特許、論文、外部発表等リスト

北海道大学地球環境科学研究所

平成 19 年度

【特許】なし

【論文】3件

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Ito H, Hosokawa R, Morikawa M, Okuyama H.	北海道大学大学院地球環境科学研究所	A turbine oil-degrading bacterial consortium from soils of oil fields and its characteristics.	<i>Int Biodeter Biodegr</i> , <b>61</b> , 223-232	有	2007
2	森川正章	北海道大学大学院地球環境科学研究所	バイオレメディエーション	北海道大学大学院環境科学院編「環境修復の科学と技術」第4章3節 pp150-186	無	2007
3	森川正章	北海道大学大学院地球環境科学研究所	バイオフィルム	山根恒夫編「ナノバイオ大事典」pp 420-423	無	2007

【外部発表】5件

番号	発表者	学会名等	発表タイトル	発表場所	発表年月日
1	森川正章, 相原 悠, 山崎和彦, 鷺尾健司	生化学会北海道支部シンポジウム	環境微生物の生存戦略ーバイオフィルムー	北海道大学	2007. 7. 6.
2	大木海平, 松井大悟, 平田善彦, 鷺尾健司, 森川正章	日本農芸化学会 2008 年度大会	小便器内壁から単離した細菌のバイオフィルム形成能	名城大学	2008. 3. 27-29.
3	嶋田恒平, 片岡剛文, 鷺尾健司, 森川正章	日本農芸化学会 2008 年度大会	<i>Pseudomonas stutzeri</i> バイオフィルムのナフタレン分解活性と土壌安定性	名城大学	2008. 3. 27-29.
4	東條ふゆみ, 佐藤 禅, 鷺尾健司, 森川正章	日本農芸化学会 2008 年度大会	食中毒原因細菌のバイオフィルムと浮遊細胞の加熱処理耐性比較	名城大学	2008. 3. 27-29.
5	阿形朋子, 松見理恵, 鷺尾健司, 金井保, 跡見晴幸, 今中忠行, 森川正章	日本農芸化学会 2008 年度大会	超好熱性アーキア <i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1 の浮遊細胞とコロニー細胞を用いたプロテオーム解析	名城大学	2008. 3. 27-29.

平成 20 年度

【特許】1件

番号	出願者	出願番号	国内外国 PCT	出願日	状態	名称	発明者
1	国立大学法人 北海道大学	特願 2008-099213 号	国内	2008 年 4 月 7 日	公開	新規水草根圏微生物	森川正章, 鷺尾健司, 山賀文子

(※Patent Cooperation Treaty :特許協力条約)

【論文】8件

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Takei D, Washio K, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究所	Identification of alkane hydroxylase genes in <i>Rhodococcus</i> sp. strain TMP2 that degrades a branched alkane.	<i>Biotechnol Lett</i> , <b>30</b> , 1447-1452	有	2008

2	Thaniyavarn J, Chianguthai T, Sangvanich P, Roongsawang N, Washio K, Morikawa M, Thaniyavarn S.	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	Production of sophorolipid biosurfactant by <i>Pichia anomala</i> .	<i>Biosci Biotechnol Biochem</i> , <b>72</b> , 2061-2068	有	2008
3	Kato T, Miyanaga A, Kanaya S, Morikawa M.	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	Alkane inducible proteins in <i>Geobacillus thermoleovorans</i> B23.	<i>BMC Microbiology</i> , <b>9</b> , 60	有	2009
4	Lim SP, Roongsawang N, Washio K, Morikawa M.	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	Flexible exportation mechanisms of arthrofactin in <i>Pseudomonas</i> sp. MIS38.	<i>J Appl Microbiol</i> , in press	有	2009
5	Iijima S, Washio K, Okahara R, Morikawa M.	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	Biofilm formation and proteolytic activities of <i>Pseudoalteromonas</i> bacteria that were isolated from fish farm sediments.	<i>Microbial Biotechnol</i> , in press	有	2009
6	山賀文子, 鷺尾健司, 森川正章	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	持続的環境浄化技術を拓くウキクサと根圏微生物の共生系	化学と生物, <b>46</b> , 682-688	無	2008
7	森川正章	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	将来展望 バイオフィームがもたらすブレイクスルーの可能性	ブッカーズ編「バイオフィームの基礎と制御」 pp 389-399	無	2008
8	鷺尾健司, 森川正章	北海道大学 大学院地球環境 科学研究院	バイオサーファクタントを利用したバイオフィームの形成と阻害	ブッカーズ編「バイオフィームの基礎と制御」 pp 278-287	無	2008

【外部発表】 15件

番号	発表者	学会名等	発表タイトル	発表場所	発表年月日
1	Volta R. T. Gurning, 鷺尾健司, 森川正章	環境バイオテクノロジー学会 H20 年度大会	新規アゾ染料分解脱色細菌の探索	つくば市文部科学省研究交流センター	2008. 6. 25-26.
2	森川正章	日本微生物生態学会 20 年度大会	バイオフィームを利用した持続的環境浄化技術の基盤開発	北海道大学 (招待講演)	2008. 11. 26-27.
3	大木海平、松井大悟、 平田善彦、鷺尾健司、 森川正章	日本分子生物学会・ 日本生化学会合同 大会 (BMB2008)	<i>Staphylococcus</i> 属細菌のバイオフィーム形成における尿素分解酵素 (ウレアーゼ) の役割	神戸国際会議場	2008. 12. 9-12.
4	鷺尾健司、リムシューピン、 ルーンサワンニラン、 森川正章	日本分子生物学会・ 日本生化学会合同 大会 (BMB2008)	環状リポペプチド、アルスロファクチンの産生を制御する (p)ppGpp 合成代謝酵素、SpoT の機能解析	神戸国際会議場	2008. 12. 9-12.
5	東條ふゆみ、伊東義兼、 鷺尾健司、岡部聡、 森川正章	日本農芸化学会 2009 年度大会	Anammox 細菌のグラニューール形成に関するプロテオミク解析	福岡国際会議場	2009. 3. 27-29.
6	山崎和彦、相原悠、大胡 康、鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2009 年度大会	枯草菌バイオフィームによるメナキノン菌体外生産	福岡国際会議場	2009. 3. 27-29.
7	羽山亨、山賀文子、 鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2009 年度大会	根圏細菌 <i>Acinetobacter</i> sp. P23 株のバイオフィーム形成遺伝子の探索	福岡国際会議場	2009. 3. 27-29.
8	高橋康徳、嶋田恒平、 鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2009 年度大会	バイオフィーム形成能の高いアルカン分解細菌の探索	福岡国際会議場	2009. 3. 27-29.
9	森川正章	日本農芸化学会 2009 年度大会	バイオフィームの利用と将来展望 (シンポジウム企画と講演)	福岡国際会議場	2009. 3. 27-29.
10	M.Morikawa, K,Shimada, K. Washio.	iBIO2008	Efficacy of biofilm formation by naphthalene degrading <i>Pseudomonas stutzeri</i> T102 toward bioremediation technology.	中国杭州 (招待講演)	2008. 5. 19.
11	H. Aibara, K. Washio, M. Morikawa.	ASM108th	Biofilm formation by <i>Bacillus subtilis</i> 168, incompatible function of sfp.	米国ボストン	2008. 6. 1-5.
12	K. Shimada, K. Washio, M. Morikawa.	ASM108th	Efficacy of biofilm formation by naphthalene degrading <i>Pseudomonas stutzeri</i> T102 toward bioremediation technology.	米国ボストン	2008. 6. 1-5.
13	M. Morikawa	East China University of Science and Technology Seminar	A lipopeptide biosurfactant produced by <i>Pseudomonas</i> sp. MIS38, characterization and functional analyses of the synthetase gene.	中国上海 (招待講演)	2008. 5. 20

添付資料

14	M. Morikawa	ARO (Army Research Office) workshop	Advances in Biofilm Research to Inhibit Biocorrosion.	米国テキサス (招待講演)	2008. 9 22
15	森川正章	プレス発表	細菌使い土壌浄化	日本経済新聞 地方経済面	2008. 7.29

平成 21 年度

【特許】なし

【論文】5 件

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Hosokawa R, Nagai M, Morikawa M, Okuyama H.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Autochthonous bioaugmentation and its possible application to oil spills.	<i>World J Microbiol Biotechnol</i> , <b>25</b> , 1519-1528	有	2009
2	Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Development of bioremediation by utilizing biofilms.	<i>IJO Res Commun</i> , <b>23</b> , 99-115	有	2009
3	Kato T, Miyanaga A, Kanaya S, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Gene cloning and characterization of an aldehyde dehydrogenase from long-chain alkane degrading <i>Geobacillus thermoleovorans</i> B23.	<i>Extremophiles</i> , <b>14</b> , 33-39	有	2010
4	Oki K, Washio K, Matsui D, Kato S, Hirata Y, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	The Role of Urease Activity on Biofilm Formation by <i>Staphylococcus</i> sp. T-02 Isolated from the Toilet Bowl.	<i>Biosci Biotechnol Biochem</i> , <b>74</b> , 583-589	有	2010
5	森川正章	北海道大学大学院地球環境科学研究科	バイオフィルム—微生物の生存戦略を生かす	福井作蔵・秦野琢之編「微生物増殖学の現在・未来」pp 444-454	無	2009

【外部発表】13 件

番号	発表者	学会名等	発表タイトル	発表場所	発表年月日
1	森川正章	日本化粧品技術者会	微生物から見た界面の世界・バイオサーファクタントとバイオフィルム	薬業年金会館 (招待講演)	2009. 4. 17.
2	菅田曜、岩崎一弘、大川恵、森川正章、宮崎英男、坂間至朗	環境バイオテクノロジー学会 H21 年度大会	微生物によるジクロロメタン分解に関する研究	東京大学弥生講堂	2009. 6. 23.
3	嶋田恒平、鷺尾健司、森川正章	環境バイオテクノロジー学会 H21 年度大会	バイオフィルムに見られるナフトレン分解活性遅延の理由	東京大学弥生講堂	2009. 6. 23.
4	阿形朋子、鷺尾健司、金井保、跡見晴幸、今中忠行、森川正章	第 82 回日本生化学会大会	超好熱性アーキア <i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1 由来細胞表在タンパク質 Slp の機能解析	神戸ポートアイランド	2009. 10. 22-24.
5	石川絵理奈、伊東義兼、鷺尾健司、松本光史、森川正章	第 82 回日本生化学会大会	火力発電所硝化槽より単離した新規メタノール産生細菌の諸特性解析	神戸ポートアイランド	2009. 10. 22-24.
6	森川正章	日本水処理生物学会第 46 回大会	ウキクサと根圏細胞の相利共生作用による汚染浄化法	高知市文化プラザかるぼーと (招待講演)	2009. 11. 12.
7	森川正章	北海道大学シンポジウム『北大の研究者達がつむぐ微生物の世界』	<i>Pseudomonas</i> 属細菌の環状リポペプチド生産制御機構	北海道大学 (招待講演)	2009.12.18.
8	鈴木和也、山賀文子、鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2010 年度大会	ウキクサから単離したアルカン分解根圏細菌の評価	東京大学駒場キャンパス	2010.3.28-3.29.

添付資料

9	伊東義兼、松本光史、鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2010年度大会	フロックを形成するアンモニア酸化細菌の単離ならびにその諸性質	東京大学駒場キャンパス	2010.3.28-3.29.
10	鷺尾健司、Siew Ping Lim、Niran Roongsawang、森川正章	日本農芸化学会 2010年度大会	(p)ppGpp の合成・代謝酵素 SpoT による環状リポペプチドの生産制御	東京大学駒場キャンパス	2010.3.28-3.29.
11	坂上景子、伊東義兼、松本光史、鷺尾健司、森川正章	日本農芸化学会 2010年度大会	<i>Nitrosomonas europaea</i> のアンモニア酸化活性に影響を与える従属栄養細菌	東京大学駒場キャンパス	2010.3.28-3.29.
12	M. Morikawa	Biosurfactant workshop 2009	Genetic analysis of synthetic regulation and transportation of lipopeptide type biosurfactant.	ベトナム・ハノイ (招待講演)	2009.4.28-29
13	K. Washio, M. Morikawa	Japan-Argentina Workshop	Biofilm formation and effective production of menaquinone-7 (Vitamin K2) by <i>Bacillus subtilis</i> : Lost of the world in environmental bacteria.	アルゼンチン ブエノスアイレス	2009. 8. 3

## 平成 22 年度

【特許】なし

【論文】4 件

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Yamaga F, Washio K, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Sustainable biodegradation of phenol by <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> P23 isolated from the rhizosphere of duckweed <i>Lemna aoukikusa</i> .	<i>Environ Sci Technol</i> , <b>44</b> , 6470-6474	有	2010
2	Washio K, Lim SP, Roongsawang N, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Identification and characterization of the genes responsible for the production of the cyclic lipopeptide arthrofactin by <i>Pseudomonas</i> sp. MIS38.	<i>Biosci Biotechnol Biochem</i> , <b>74</b> , 992-999	有	2010
3	坂口直史, Taha, A. I. B. H. M., 牧 秀明, 濱田誠一, 森川正章, 奥山英登志.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	サハリン油田開発に伴う原油汚染事故を想定したバイオレメディエーション技術の可能性.	生物工学会誌, <b>88</b> , 150-157	有	2010
4	Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Dioxygen activation responsible for oxidation of aliphatic and aromatic hydrocarbon compounds: current state and variants. (Mini-review)	<i>Appl Microbiol Biotechnol</i> , <b>87</b> , 1596-1603	有	2010

【外部発表】15 件

番号	発表者	学会名等	発表タイトル	発表場所	発表年月日
1	伊東義兼、坂上景子、松本光史、鷺尾健司、森川正章	生化学会北海道支部例会	耐熱性を有する新規アンモニア酸化細菌の単離ならびにその諸性質	北海道大学	2010.7.23.
2	坂上景子、伊東義兼、松本光史、鷺尾健司、森川正章	生化学会北海道支部例会	アンモニア酸化細菌のアンモニア酸化活性に影響を与える従属栄養細菌	北海道大学	2010.7.23.
3	漆畑 亘、阿形朋子、金井 保、跡見晴幸、今中忠行、森川正章	第 83 回日本生化学会大会	超好熱始原菌 <i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1 由来細胞表層タンパク質 Slp を発現する細菌の凝集性およびバイオフィーム形成能の評価	神戸ポートアイランド	2010. 12. 7-10.

4	村上 峻、 グルニング ボルタ、 伊東義兼、森川正章	第83回日本生化学会大会	難分解性アゾ染料Orange Gを分解する細菌およびその還元酵素の精製	神戸ポートアイランド	2010. 12. 7-10.
5	伊東義兼、松本光史、 森川正章	日本農芸化学会 2011 年大会	耐熱性を有する新規アンモニア酸化細菌の単離ならびに諸性質	京都女子大学	2011. 3. 25-28.
6	高橋康徳、チャニター ブーンマク、森川正章	日本農芸化学会 2011 年大会	好熱性アルカン分解細菌 <i>Geobacillus thremoleovorans</i> B23 由来 <i>alkB</i> 遺伝子の多様性解析	京都女子大学	2011. 3. 25-28.
7	深野透、高橋康徳、 五味満裕、大崎幸彦、 森川正章	日本農芸化学会 2011 年大会	便器表面初期付着細菌群の菌叢解析とバイオフィルム形成	京都女子大学	2011. 3. 25-28.
8	F. Yamaga, K. Washio, M. Morikawa.	米国微生物学会大会 ASM110th	Sustainable biodegradation of phenol by a symbiotic <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> P23 that was isolated from the rhizosphere of duckweed <i>Lemna aoukikusa</i> .	米国サンディエゴ	2010. 5. 24.
9	M. Morikawa, K. Yamazaki, H. Aibara, K. Washio.	BIT's 3 <sup>rd</sup> Annual World Congress of Industrial Biotechnology	Enhanced production of vitamin K2 by <i>Bacillus subtilis</i> natto biofilms	中国大連 (招待講演)	2010. 7. 25.
10	M. Morikawa.	BIT's 1 <sup>st</sup> Annual World Congress of Petromicrobiology	Origin of peroxisomal beta-oxidation pathway suggested by extremely thermophilic alkane degrading bacteria.	中国大連 (招待講演)	2010. 7. 26.
11	K. Oki, K. Washio, D. Matsui, Y. Hirata, M. Morikawa	国際バイオテクノロジー シンポジウム IBS2010	The role of urease activity on biofilm and urolith formation by <i>Staphylococcus</i> sp. T-02 that was isolated from a toilet bowl.	イタリアリミニ	2010. 9. 15-19.
12	M. Morikawa.	China-Japan Workshop on Novel Remediation Technologies for Wastewater Environment Conservation	Biofilm formation on the duckweed roots expands substrate specificity of alkane degrading rhizobacteria	中国北京 (招待講演)	2010. 10.14
13	森川正章	広島大学理学部生物 科学科セミナー	バイオフィルム工学—基礎研究から物質生産と環境技術への展開—	広島大学 (招待講演)	2010. 9. 30.
14	森川正章	北海道バイオ産業 技術シーズ講演会	ウキクサ根圏細菌を利用した持続的水質浄化技術	札幌アスペン ホテル (招待講演)	2010. 10. 21.
15	森川正章	北海道大学大学院 農学研究院寄付分 野講演会	根圏作用を高度利用した光駆動型バイオ環境浄化技術の開発	北海道大学	2010. 12. 1.

【受賞実績】 1 件

番号	受賞者	学会名等	受賞名	受賞年月
1	森川正章	日本農芸化学会	第8回農芸化学研究企画賞	2011.3

平成 23 年度

【特許】なし

【論文】5 件

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Roongsawang N, Washio K, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境 科学研究院	Diversity of nonribosomal peptide synthetases involved in the biosynthesis of lipopeptide biosurfactants.	<i>Int. J. Mol. Sci.</i> <b>12</b> (1), 141-172	有	2011
2	Washio K, Lim SP, Roongsawang N, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境 科学研究院	A truncated form of SpoT, including the ACT domain, inhibits the production of cyclic lipopeptide	<i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i> <b>75</b> (10), 1880-1888	有	2011



			arthrofactin, and is associated with moderate elevation of guanosine 3',5'-bispyrophosphate level in <i>Pseudomonas</i> sp. MIS38.			
3	Tojo F, Itoh Y, Okabe S, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Analyses of three dominant membrane proteins from anammox planctomycete <i>Candidatus 'Brocadia sinica.'</i>	<i>J. Environ. Biotechnol.</i> 11(1-2), 77-81	有	2011
4	Shimada K, Itoh Y, Washio K, Morikawa M.	北海道大学大学院地球環境科学研究科	Efficacy of forming biofilms by naphthalene degrading <i>Pseudomonas stutzeri</i> T102 toward bioremediation technology and its molecular mechanisms.	<i>Chemosphere</i> 87, 226-233	有	2012
5	森川正章	北海道大学大学院地球環境科学研究科	第4章3節 RGR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) の環境保全・修復への利用	池 道彦、平田収正監修「植物機能のポテンシャルを活かした環境保全・浄化技術」 pp 169-176	無	2011

### 【外部発表】 23件

番号	発表者	学会名等	発表タイトル	発表場所	発表年月日
1	森川正章、高橋康德	環境バイオテクノロジー学会 2011年度大会	原油汚染土壌修復技術へのバイオフィルムの適用	東京大学	2011.6.20-21.
2	森川正章、栄木悠、 柞木田なつみ、 鷺尾健司	第63回日本生物工学会大会	<i>Marinobacter</i> 属細菌と共存する親属海洋細菌の混合バイオフィルム形成	東京農工大学	2011.9.26-28.
3	C. Boonmak, Y. Takahashi, M. Morikawa.	第63回日本生物工学会大会	Analysis of LadA-related long-chain alkane monooxygenase in an extremely thermophilic <i>Geobacillus thermoleovorans</i> B23.	東京農工大学	2011.9.26-28.
4	漆畑亘、船山哲、 森川正章	第12回極限環境生物学会	海底油田から単離した高度好熱菌 <i>Coprothermobacter</i> sp. PM9-2 株の諸特性解析	長崎大学	2011.11.27-28.
5	F. Tojo, Y. Itoh, S. Okabe, M. Morikawa.	第一回国際アナムモックスシンポジウム	Analysis of the granule formation by Anammox bacteria.	熊本大学	2011.5.19-20
6	Y. Itoh, M. Matsumoto, M. Morikawa.	111 <sup>th</sup> ASM General Meeting	Isolation of a Novel Thermotolerant Ammonia-Oxidizing Bacterium, <i>Nitrosomonas thermotolerans</i> JPCCT2, from Activated Sludge in a Thermal Power Station in Japan.	米国ニューオーリンズ	2011.5.21-24.
7	M. Morikawa.	FEMS 2011 4 <sup>th</sup> Congress of European Microbiologists	Co-beneficial biofilms on the duckweed roots.	スイス ジュネーブ	2011.6.26-30.
8	S. Chida, M. Morikawa.	IUMS2011	Identification of novel plant-growth promoting factor produced by <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> P23, a rhizobacterium of <i>Lemna aoukikusa</i> .	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.
9	T. Fukano, Y. Takahashi, M. Gomi, Y. Osaki, M. Morikawa.	IUMS2011	Isolation and characterization of <i>Rhizobium</i> sp. R8 that forms biofilms on a toilet bowl.	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.
10	Y. Itoh, M. Matsumoto, M. Morikawa.	IUMS2011	A novel thermotolerant ammonia-oxidizing bacterium, <i>Nitrosomonas thermotolerans</i> JPCCT2, was isolated from activated sludge in a thermal power station in Japan.	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.
11	C. Boonmak, Y. Takahashi, M. Morikawa.	IUMS2011	Analysis of multiple <i>alkB</i> genes from <i>Geobacillus thermoleovorans</i> B23.	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.
12	S. Murakami, V. Gurning, Y. Itoh,	IUMS2011	Purification of azoreductase from a bacterium strain that degrades Orange G	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.

	M. Morikawa.		dye.	ー	
13	K. Sakagami, Y. Itoh, M. Matsumoto, M. Morikawa.	IUMS2011	Isolation of an aerobic chemoheterotroph that positively affects the activity of ammonia-oxidizing bacteria.	札幌コンベンションセンター	2011.9.6-10.
14	T. Agata, W. Urushibata, T. Kanai, H. Atomi, T. Imanaka, M. Morikawa.	Thermophiles	Functional characterization of <i>Thermococcus kodakaraensis</i> s-layer protein in <i>E. coli</i> .	米国モンタナ州	2011.9.11-9.16.
15	W. Urushibata, T. Funayama, M. Morikawa.	国際長期生体学研究ネットワーク (ILTER) 年次会議 2011	An extremely thermophilic bacterium, <i>Coprothermobacter</i> sp. PM9-2, isolated from an offshore petroleum reservoir in the South China Sea.	北海道大学	2011.9.5-9.9.
16	M. Morikawa.	China-Japan Workshop on Novel Remediation Technologies for Wastewater Environment Conservation	Enhancement of water purification activity by reconstructing rhizobacterial community.	中国上海	2011.10.27-30
17	森川正章	農芸化学会研究企画賞受賞講演	根圏作用を高度利用した次世代型環境浄化技術の開発	京都会館 (招待講演)	2011.3.25.
18	森川正章	室蘭工業大学セミナー	生物界面活性剤と微生物膜	室蘭工業大学 (招待講演)	2011.7.14.
19	森川正章	歯科保存学会シンポジウム	有益なバイオフィルムの環境技術への利用	大阪国際交流センター (招待講演)	2011.10.20.
20	森川正章	バイオミメティクス研究会シンポジウム	バイオフィルムの形成～微生物の優れた生存戦略	北海道大学 (招待講演)	2011.12.7.
21	坂上景子、伊東義兼、生田 創、三輪京子、松本光史、森川正章	日本農芸化学会 2012 年大会	<i>Nitrosomonas europaea</i> IF014298 のアンモニア酸化活性を向上させる作用メカニズムの解析	京都女子大学	2012.3.24
22	倉科光紀、三輪京子、森川正章	日本農芸化学会 2012 年大会	さまざまなプラスチック表面における細菌バイオフィルム形成量の比較	京都女子大学	2012.3.25
23	深野 透、高橋康徳、五味満裕、大崎幸彦、三輪京子、森川正章	日本農芸化学会 2012 年大会	便器表面より単離した <i>Rhizobium</i> 属細菌 R8 株のバイオフィルム形成に関する生体分子	京都女子大学	2012.3.25

年度毎の特許、論文、外部発表等リスト

北海道大学工学研究院

【論文】  
2011 年

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
1	Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, Y., and Satoh, H.	北海道大学大学 院工学研究院	N <sub>2</sub> O emission from a partial nitrification-anammox process and identification of a key biological process of N <sub>2</sub> O emission from anammox granules.	Water Research, <b>45</b> (19), 6461-6470.	有	2011 年
2	Oshiki, M., Shimokawa, M., Fujii, N., Satoh, H., and Okabe, S.	北海道大学大学 院工学研究院	Physiological characteristics of the anaerobic ammonium-oxidizing bacterium ' <i>Candidatus Brocadia Sinica</i> '	Microbiology, <b>157</b> , 1706-1713.	有	2011 年
3	Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, K., and Satoh, H.	北海道大学大学 院工学研究院	Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process.	Bioresource Technology, <b>102</b> (13), 6801-6807.	有	2011 年
4	Cho, S., Fujii, N., Lee, T., and Okabe, S.	北海道大学大学 院工学研究院	Development of a simultaneous partial nitrification and anaerobic ammonia oxidation process in a single reactor.	Bioresource Technology, <b>102</b> (2), 652-659.	有	2011 年

2010 年

5	Cho, S., Takahashi, Y., Fujii, N., Yamada, Y., Satoh, H., and Okabe, S.	北海道大学大学 院工学研究院	Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor.	Chemosphere, <b>78</b> , 1129-1135.	有	2010 年
---	---	-------------------	---	-------------------------------------	---	--------

2007 年

6	高橋 慶考、 對馬 育夫、 下川 正貴、 岡部 聡	北海道大学大学 院工学研究院	二段ステップ流入式上向流型 ANAMMOX リアクターにおける処理性の評価	環境工学論文集, 44, 201-206	有	2007 年
---	------------------------------------	-------------------	---------------------------------------	----------------------	---	--------



年度毎の特許、論文、外部発表等

電力中央研究所

【特許】

番号	出願者	公開番号	国内 外国 PCT	出願日	状態	名 称	発明者
1	(財)電力中央研究所	特開 2010-207193	国内	2009/03/12	公開	電気培養方法及び電気培養装置	平野伸一他
3	(財)電力中央研究所	特開 2011-177618	国内	2010/02/26	公開	メタン発酵処理方法	森田仁彦他
2	(財)電力中央研究所	特開 2011-062195	国内	2010/03/31	公開	微生物群担持担体の作製方法並びに微生物を利用した物質処理方法及び物質生産方法	森田仁彦他
4	(財)電力中央研究所	特開 2011-223895	国内	2010/04/15	公開	水素資化性メタン菌のメタン生成活性制御方法	平野伸一他
5	(財)電力中央研究所	特開 2011-223988	国内	2011/03/03	公開	発酵処理装置	森田仁彦他

(※Patent Cooperation Treaty :特許協力条約)

【論文】

番号	発表者	タイトル	発表誌名、ページ 番号	査読	発表 年
1	Kengo Sasaki, Masahiko Morita, Shin-ichi Hirano, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Effect of adding carbon fiber textiles to methanogenic bioreactors used to treat an artificial garbage slurry	J. Biosci. Bioeng., 108: 130-135	有	2009
2	Kengo Sasaki, Daisuke Sasaki, Masahiko Morita, Shin-ichi Hirano, Norio Matsumoto, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Efficient treatment of garbage slurry in methanogenic bioreactor packed by fibrous sponge with high porosity	Appl. Microbiol. Biotechnol., 86: 1573-1583	有	2010
3	Kengo Sasaki, Daisuke Sasaki, Masahiko Morita, Shin-ichi Hirano, Norio Matsumoto, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Bioelectrochemical system stabilizes methane fermentation from garbage slurry	Bioresource Technol., 101: 3415-3422	有	2010
4	Kengo Sasaki, Masahiko Morita, Shin-ichi Hirano, Daisuke Sasaki, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Efficient degradation of rice straw in the reactors packed by carbon fiber textiles	Appl. Microbiol. Biotechnol., 87: 1579-1586	有	2010
5	Kengo Sasaki, Masahiko Morita, Daisuke Sasaki, Shin-ichi Hirano, Norio Matsumoto, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Methanogenic communities on the electrodes of bioelectrochemical reactors without membranes	J. Biosci. Bioeng., 111: 47-49	有	2011
6	Kengo Sasaki, Shin-ichi Hirano, Masahiko Morita, Daisuke Sasaki, Norio Matsumoto, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Bioelectrochemical system accelerates microbial growth and degradation of filter paper	Appl. Microbiol. Biotechnol., 89: 449-455	有	2011
7	Kengo Sasaki, Masahiko Morita, Shin-ichi Hirano, Naoya Ohmura and Yasuo Igarashi	Decreasing ammonia inhibition in thermophilic methanogenic bioreactors using carbon fiber textiles	Appl. Microbiol. Biotechnol., 90: 1555-1561	有	2011
8	Kengo Sasaki, Masahiko Morita, Daisuke Sasaki, Shin-ichi Hirano, Norio Matsumoto, Atsushi Watanabe, Naoya Ohmura, and Yasuo Igarashi	A bioelectrochemical reactor containing carbon fiber textiles enables efficient methane fermentation from garbage slurry	Bioresource Technol., 102: 6837-6842	有	2011
9	松本伯夫, 平野伸一	電気培養	バイオ電池の最新動向, 第7章:188-211	無	2011

【学会発表等】

番号	発表者	タイトル	学会名	発表年
1	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、堀知行、春田伸、五十嵐泰夫	固定床式メタン発酵槽における担体充填の効果	日本農芸化学会 2008年度大会	2008
2	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、佐々木大介、春田伸、五十嵐泰夫	担体の表面性質が固定床式メタン発酵に及ぼす影響	日本生物工学会 2008年度大会	2008
3	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、佐々木大介、春田伸、五十嵐泰夫	三次元構造を持つ担体が固定床式メタン発酵に及ぼす影響	日本農芸化学会 2009年度大会	2009
4	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、佐々木大介、五十嵐泰夫	担体への通電が固定床式メタン発酵に及ぼす効果	日本生物工学会 2009年度大会	2009
5	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、渡邊淳、植本弘明、大村直也、佐々木大介、五十嵐泰夫	固形性廃棄物からのメタン発酵に対する定電位電解の効果	日本農芸化学会 2010年度大会	2010
6	Shin-ichi Hirano, Norio Matsumoto and Naoya Ohmura	Regulation of growth and respiratory activity of anaerobes by electrolysis	110th General Meeting of the American Society for Microbiology	2010
7	佐々木建吾、森田仁彦、平野伸一、佐々木大介、渡邊淳、松本伯夫、植本弘明、大村直也、五十嵐泰夫	固定床式メタン発酵のアンモニア耐性	日本生物工学会 2010年度大会	2010
8	平野伸一、松本伯夫、佐々木建吾、大村直也	電気をを用いて微生物の生育を制御する培養方法および培養装置	日本生物工学会 2010年度大会	2010
9	平野伸一、松本伯夫、大村直也	メタン発酵に関わる微生物の電気培養	日本生物工学会 2010年度大会	2010
10	佐々木大介、佐々木建吾、渡邊淳、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、五十嵐泰夫	有機性廃棄物を処理する通電型高温メタン発酵槽の性能評価	日本農芸化学会 2011年度大会	2011
11	佐々木建吾、森田仁彦、渡邊淳、石井正治、五十嵐泰夫	有機性廃棄物からの水素・メタン発酵	第11回東京大学生命科学シンポジウム	2011
12	佐々木大介、佐々木建吾、渡邊淳、森田仁彦、平野伸一、松本伯夫、植本弘明、大村直也、五十嵐泰夫	実廃棄物を用いた通電型固定床高温メタン発酵の性能評価	日本生物工学会 2011年度大会	2011

**【その他公表】**

番号	タイトル	新聞・雑誌等	発表年月日
1	微生物を効率培養	日経産業新聞	2009/10/26
2	電圧加え処理能力3倍	日経産業新聞	2010/10/6
3	電力中央研究所、生ごみからメタンガスを回収	環境エネルギー産業情報, No.42 p17	2010/11

(環境安心イノベーションプログラム・エネルギーイノベーションプログラム)  
「微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術部

## 1. 研究開発の目的・目標・内容

### (1) 研究開発の目的

「環境安心イノベーションプログラム」は、資源制約を克服し、環境と調和した持続的な経済・社会の実現と、安全・安心な国民生活を実現するため、革新的な技術の開発等を通じた地球全体での温室効果ガスの排出削減、廃棄物の発生抑制（リデュース）、製品や部品の再使用（リユース）、原材料としての再利用（リサイクル）推進による循環型社会の形成、バイオテクノロジーを活用した環境に優しい製造プロセスや循環型産業システムの創造、化学物質のリスクの総合的な評価及びリスクを適切に管理する社会システムの構築を推進するものである。本プロジェクトは上記プログラムの一環として、「微生物機能を活用した環境調和型製造基盤技術開発/微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術」を開発する。

我が国が取り組むべき火急の課題である、環境負荷の低減と省エネルギー化の促進による循環型産業社会の構築には、物質生産プロセス（モノ作り）とその後処理の両面における技術開発が必要である。後処理においては、第3期科学技術基本計画（平成18年3月制定）における重点推進4分野の一つであるライフサイエンス分野において、「生物機能を活用した環境対応技術開発」が重要な研究開発課題として位置付けられる等、生物機能を活用した廃水、廃棄物の処理技術の高効率・高度化が求められている。

従来の産業における廃水・廃棄物処理技術は、①エネルギー多消費・廃棄物多排出、②低処理能力・対象廃棄物限定等といった課題を抱えている。例えば、①については、現行の廃水処理方法において、活性汚泥法が全体の約8割を占めており、その曝気に必要な電力量を石油換算エネルギーとして換算すると日本全体のエネルギー需要量の少なくとも約1.9%を占め、エネルギー消費量が多い。また、現在の廃水処理から発生する余剰汚泥や未利用有機性廃棄物の焼却・埋立処分に係るエネルギー・コストも相当なものになっている。現状のメタン発酵法においても、適用困難なものも含め年間発生する有機性廃棄物の総量約3億トンのうち、適用困難な対象の未利用食品廃棄物は年間約1,760万トンに上っている状況である。②については、産業が多様化する中、多種多様な産業廃水・廃棄物（高濃度廃水や難分解性物質を含む）に適用可能な処理技術の開発が必要とされている。

これまで、このような課題に対し様々な工学的アプローチによる高度化はなされてきたものの、微生物群自体については、依然としてブラックボックスのままであり、自然の摂理の域を出ていなかった。近年になり、我が国の関連研究開発プロジェクトをはじめ国内外において、廃水、廃棄物の処理における主要な微生物群の分離、同定、機能解明及び主要微生物群のモニタリング技術等の開発が進められ、知見が集積されつつある。

そこで、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下、「NEDO」という。）は特定有用微生物（群）の人為的な安定的導入・維持技術、また空間配置・優占化技術（これらの技術を以下、「デザイン化技術」と呼ぶ）等を開発することにより微生物群の処理効率を大幅に向上させるなど、処理技術の課題を克服することを目指して本プロジェクトを実施する。

本プロジェクトでは、我が国の有する知見を活かしつつ、微生物群のデザイン化技術等を開発することにより、省エネルギーで余剰汚泥を大幅に削減し、コンパクトでメンテナンスが容易であり、あるいは多様な廃水・廃棄物への適用が可能になる高効率型廃水、廃棄物処理（主として活性汚泥法・メタン発酵法を対象）の基盤技術を確立し、微生物機能を活用した環境調和型産業システムの創造に資する技術を開発することを目的とする。

## (2) 研究開発の目標

最終目標（平成23年度末）

- ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

特定有用微生物（群）を、人為的に安定導入・維持するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価する技術が開発されていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせることにより、従来の標準活性汚泥法の処理プロセスの約3倍の高効率化を図ること。これにより、従来の標準活性汚泥法の処理プロセスでのエネルギー使用量の約2/3の削減を図ること。

さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

- ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

特定有用微生物（群）を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価するための技術が開発されていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせることにより、従来のメタン発酵プロセスの約3倍の高効率化を図ること。これにより、従来のメタン発酵槽容積に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現するとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大を可能とすること。

さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

中間目標（平成21年度末）

- ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

特定有用微生物（群）を選抜・評価し、それらを集団を構成する微生物群に人為的に安定導入・維持するための技術面での見通しが確実に得られていること。また、以上の開発された技術とその機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の成果とを合わせて、約3倍の高効率化の見通しが確実に得られていること。

- ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

特定有用微生物群を選抜・評価し、それらを集団を構成する微生物群内において人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術面での見通しが確実に得られていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせ、従来のメタン発酵槽に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現する見通しが得られていることとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大の見通しが確実に得られていること。

## (3) 研究開発の内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を委託により実施する。

- ① 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発
- ② 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

## 2. 研究開発の実施方式

### (1) 研究開発実施体制

本研究開発は、NEDOが公募により選定し、研究を委託する、原則、本邦の企業、研究組合、公益法人、独立行政法人、大学等の研究機関（原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない。）が、NEDOが指名した研究開発責任者（プロジェクトリーダー）の下で、それぞれの研究テーマの達成目標を実現すべく研究開発を実施する方式を採用する。

この場合において、各委託先は、企業、研究組合、公益法人、独立行政法人、大学等の単位であることを原則とする（以下、「企業単位等」という）。ただし、複数の企業単位等が結集して研究体を構成し、集中的な管理体制を構築する場合も、当該研究体を委託先として認めるものとする。

### (2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDOに設置する技術審議委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けること等を行う。

## 3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成19年度から平成23年度までの5年間とする。

## 4. 評価に関する事項

NEDOは、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義ならびに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成21年度、事後評価を平成24年度に実施する。また、中間評価結果を踏まえ必要に応じてプロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

## 5. その他重要事項

### (1) 研究開発成果の取扱い

#### ① 共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発のうち、下記共通基盤技術に係る成果については、NEDO、実施者とも普及に努めるものとする。

- ・ 好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）の人為的な安定的導入・維持するための技術の開発並びに開発された技術とデザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の開発
- ・ 嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発並びに開発された技術とデザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の開発

#### ② 知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備または標準化等との連携を図るため、データベースへのデータの提供、標準情報（TR）制度への提案等を積極的に行う。

#### ③ 知的財産権の所属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、

すべて受託者に帰属させることとする。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、内外の研究開発動向、産業技術政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) プロジェクトの根拠法

本プロジェクトは、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第一号ニに基づき実施する。

6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成19年3月、制定。

(2) 平成20年7月、イノベーションプログラム基本計画の制定により、「(1) 研究開発の目的」の記載を改訂。

(3) 平成22年3月、実用化開発を集中的に進めるため、研究開発の目標を改訂。

(4) 平成23年7月7日、非化石エネルギーの開発及び導入の促進に関する法律の施行により、根拠法を改定。



(別紙) 研究開発計画

研究開発項目①好気性微生物処理技術における特定有用微生物（群）を人為的に安定的導入・維持するための技術の開発

1. 研究開発の必要性

処理効率が頭打ち状態にある従来の好氣的産業廃水処理技術の飛躍的な処理効率向上を実現するためには、産業廃水等の処理に最適な機能を持つ微生物群を人為的に制御することが必要である。そのためには、特定有用微生物（群）を人為的に安定導入・維持するための技術や、必要に応じて処理にとってマイナス要因となる微生物（群）を排除する技術等の基盤を開発することにより、高効率処理を可能とする微生物群をデザイン化するとともに、この微生物群の機能を処理プロセスで最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発することが必要である。

2. 研究開発の具体的内容

(1) 特定有用微生物（群）の選抜と特性評価

集団を構成する微生物群に導入、維持するための特定有用微生物（群）を選抜、特定し、これらの特性評価を行う。

(2) 特定有用微生物（群）の安定的導入・維持技術の開発

集団を構成する微生物群へ特定有用微生物（群）を安定的に導入する技術、特定有用微生物（群）を安定的に優占化・維持するための技術、また、必要に応じて、処理にとってマイナス要因となる微生物（群）を排除する技術を開発する。

(3) 集団を構成する微生物群の処理機能の技術的有効性評価

デザイン化技術により得られた集団を構成する微生物（群）について、構成微生物のモニタリングや機能解析、処理効率を調べることにより、有効性を評価する。

(4) バイオエンジニアリング技術の開発

(2) で開発した技術により得られた微生物群の機能を最大限発揮させるための総合的なバイオエンジニアリング技術を開発する。

(5) デザイン化された微生物群の総合評価

特定有用微生物（群）を安定的に導入・維持するための技術の開発によってデザイン化された微生物群に(4)で開発したバイオエンジニアリング技術を適用し、処理効率等を評価する。

また、研究開発項目②で得られる微生物群を組み合わせた場合の処理効率等も調べることにより、実用化の可能性を総合的に評価する。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成23年度末）

特定有用微生物（群）を、人為的に安定導入・維持するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価する技術が開発されていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果と組み合わせることにより、従来の標準活性汚泥法の処理プロセスの約3倍の高効率化を図ること。これにより、従来の標準活性汚泥法の処理プロセスでのエネルギー使用量の約2/3の削減を図ること。

さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

(2) 中間目標（平成21年度末）

特定有用微生物（群）を選抜・評価し、それらを集団を構成する微生物群に人為的に安定導入・維持するための技術面での見通しが確実に得られていること。また、以上の開発された技術とその機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の成果とを合わせて、約3倍の高効率化の見通しが確実に得られていること。

研究開発項目②嫌気性微生物処理技術における特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術の開発

### 1. 研究開発の必要性

処理効率が頭打ち状態にある従来の嫌氣的産業廃水・廃棄物処理技術の飛躍的な処理効率向上を実現するためには、廃水・廃棄物等の処理に最適な機能を持つ微生物群を人為的に制御することが必要である。そのためには、微生物と固体表面との相互作用及び微生物間の相互作用の解析・把握に基づき、特定有用微生物群を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術等の基盤を開発することにより、高効率処理を可能とする微生物群をデザイン化するとともに、この微生物群の機能を処理プロセスで最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発することが必要である。

### 2. 研究開発の具体的内容

#### (1) 特定有用微生物群の特性・機能評価

高効率処理を実現するために、優占的かつ安定的に維持すべき微生物群を特定し、それらの機能や特性を評価する。

#### (2) 特定有用微生物群のデザイン化技術の開発

特定した有用微生物と固体表面との相互作用及び微生物間の相互作用を解析・把握することより、集団を構成する微生物群内において特定有用微生物群を空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術を開発する。

#### (3) 集団を構成する微生物群処理機能の技術的有効性評価

デザイン化技術により得られた集団を構成する微生物群について、構成微生物のモニタリングや機能解析、処理効率を調べることにより、有効性を評価する。

#### (4) バイオエンジニアリング技術の開発

(2) で開発した技術により、集団を構成する微生物群内において特定有用微生物群を空間的に配置し、その機能を最大限発揮させるための総合的なバイオエンジニアリング技術を開発する。

#### (5) デザイン化された微生物群の総合評価

特定有用微生物群を優先的かつ安定的に維持・空間配置する技術の開発によってデザイン化された微生物群に(4)で開発したバイオエンジニアリング技術を適用し、処理効率等(発酵槽容積のコンパクト化、滞留時間など)を評価する。

また、研究開発項目①で得られる微生物群を組み合わせた場合の処理効率等も調べることにより、実用化の可能性を総合的に評価する。

### 3. 達成目標

#### (1) 最終目標 (平成23年度末)

特定有用微生物(群)を人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するデザイン化技術が開発されており、微生物群の処理機能の技術的有効性を評価するための技術が開発されていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術を開発し、その成果を組み合わせることにより、従来のメタン発酵プロセスの約3倍の高効率化を図ること。これにより、従来のメタン発酵槽容積に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現するとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大を可能とすること。

さらに、実用化に資するための検証可能なテストプラント規模にて評価を行うこと。

#### (2) 中間目標 (平成21年度末)

特定有用微生物群を選抜・評価し、それらを、集団を構成する微生物群内において人為的に空間配置させ安定的に維持・優占化するための技術面での見通しが確実に得られていること。また、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の開発

での成果とを合わせ、従来のメタン発酵槽に比べて約50%のコンパクト化によりシステム効率の向上を実現する見通しが得られているとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物の種類への適用拡大の見通しが確実に得られていること。

## 事前評価書

		作成日	平成18年11月2日
1. 事業名称 (コード番号)	微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発		
2. 推進部署名	バイオテクノロジー・医療技術開発部		
3. 事業概要	<p>(1) 概要：従来の化学・食品産業等における活性汚泥法等の産業廃水・廃棄物等処理技術は、エネルギー多消費型・廃棄物多排出型であり、これまで省エネルギー等の効率化を追究すべく様々な工学的アプローチがなされてきたものの、頭打ち状態である。これは、微生物群の処理メカニズムについては、依然としてブラックボックスのままであり、自然の摂理の域を出ていないことによる。そこで、本プロジェクトでは、活性汚泥法、メタン発酵法等の抜本的な改善を図るべく、我が国の微生物のゲノム解析技術や複合微生物系研究開発等の進展を踏まえ、微生物群の機能を最大限発揮するため、微生物群の構成や配置等を人為的に制御する技術を開発することにより、省エネルギー効果が大きく、廃棄物を大幅に削減する高効率型廃水・廃棄物等処理の基盤技術を開発する。本技術の最終目標は以下の通りとする。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・平成23年度において、活性汚泥法、メタン発酵等の各処理技術における処理効率を従来型の標準的な廃水・廃棄物処理効率の3倍程度向上。</li> <li>・処理効率が3倍程度向上することより、そのエネルギー消費量を約70%、汚泥の発生量を約70%削減。</li> </ul> <p>(2) 事業規模：総事業費（国費分） 10億円（100%委託）  (3) 事業期間：平成19年度～23年度（5年間）</p>		
4. 評価の検討状況	<p>(1) 事業の位置付け・必要性</p> <p>環境負荷の低減と省エネルギー化の促進による循環型産業社会の構築は、我が国が取り組むべき火急の課題である。そのためには物質生産プロセスとその後処理の両面における技術開発が必要であり、後処理においては、第3期科学技術基本計画（平成18年3月制定）における重点推進4分野の一つであるライフサイエンス分野において、「生物機能を活用した環境対応技術開発」が重要な研究開発課題として位置付けられる等、生物機能を活用した廃水、廃棄物等の処理技術の高効率・高度化が求められている。</p> <p>従来の廃水・廃棄物等処理技術は、エネルギー多消費型・廃棄物多排出型であって、これまで様々な工学的アプローチによる高度化はなされてきたものの、微生物群自体については、依然としてブラックボックスのまま扱われてきた。本プロジェクトでは、廃水、廃棄物や汚染物質等の処理等のいわゆる静脈産業においても、最新のバイオテクノロジーを応用し、技術的革新を創出することで、高効率処理技術を開発し、省エネルギーで廃棄物を大幅に削減する環境調和型の静脈産業の創出を図る。</p> <p>グリーンバイオ分野の技術戦略マップにおいて「生物機能を活用した環境維持・修復技術」の中で排出源での効率的な処理における「微生物間相互作用の検出・応用技術」、「高効率微生物集団デザイン化技術」等に位置付けられている。</p>		

## (2) 研究開発目標の妥当性

(目標)

- ① 従来の標準的廃水処理やメタン発酵プロセスの3倍程度の超高効率化を図る。
- ② 処理プロセスでのエネルギー使用量の約70%削減。
- ③ 汚泥の発生量の約70%削減。

(妥当性)

- ① 集団を構成する微生物群の機能が効率的に発現するためのデザイン化技術を次の通り開発することにより、従来の廃水処理やメタン発酵プロセスの3倍程度の高効率化を図る。また、海外では現在、微生物群のデザイン化技術の開発に取り組んでおらず、日本発のオリジナル技術の開発となり得る。
  - ・ 構成微生物群に対し、その相互関係の解析・把握に基づき、特定有用微生物を安定的に導入・強化する技術、特定有害微生物を除去する技術の開発。
  - ・ 微生物と固体表面との相互作用及び微生物間の相互作用の解析・把握に基づき、特定有用微生物群を安定的に維持・空間的に配置する技術の開発。
  - ・ さらに、デザイン化された微生物群の機能を最大限発揮させるためのバイオエンジニアリング技術の開発。
- ② 従来の活性汚泥法の3倍程度の処理効率化を図ることにより、処理プロセスでのエネルギー使用量の約70%の削減、並びに汚泥の発生量の約70%削減を図る。
- ③ 従来のメタン発酵法の3倍程度の超高効率化を図ることにより、リアクタの大幅なコンパクト化等システム効率の向上を実現するとともに、従来のメタン発酵法では対応が困難であった性状・組成の有機性廃棄物種への適用を可能とする。

## (3) 研究開発マネジメント

公募を行い最適な研究体制を構築する。各研究開発課題は密接に連携を取る。プロジェクト開始後3年目に中間評価を予定しており、その評価結果を踏まえて事業全体について見直しを行うことを想定している。

また、NEDOにおいては環境技術開発部など関連する推進部のプロジェクトとの成果の共有や相互活用、さらには相乗効果を計るため、プロジェクト関係者や各種委員会の外部有識者が相互に委員会参加等の連携も検討する。

## (4) 研究開発成果

国内の廃水処理施設の多くは、ここ10年の内に一斉に耐用年数に達し、更新の時期に当たるとされる。現在、廃水処理市場は、1.5兆円の規模であるが、今後、拡大が期待される。本事業の研究開発成果により革新的技術が創出されれば、この技術が導入される可能性が極めて高く、さらなる市場の発展が期待される。

また、本技術により、省エネ効果が期待される。例えば活性汚泥法を例にとれば、2030年で石油換算20.5万k l/年(各成功率10%を乗じた値)が見込まれる。これは我が国の活性汚泥法に使用される電力量は、日本全体の一般の電力需要の約1.9%をも占めるためであり、本技術開発による省エネ効果(約70%)のインパクトは極めて大きい。

メタン発酵についても、未利用食品残さ1,760万トン<sup>\*1</sup>を対象とした場合、現行の焼却法に比して、高効率メタン発酵を適用すれば石油換算17.8万k l/年(各成功率10%を乗じた値)の省エネ効果が見込まれる。

(5) 実用化・事業化の見通し

開発する技術は主に、有機物濃度の低い廃水から、有機物が高濃度に含まれ難分解性物質も含有する産業(工場)廃水等を適用対象とする。このように開発する技術は、前述のように、例えば、廃水・廃棄物処理施設に導入可能であり、産業廃水処理、廃棄物処理としての新規なコア技術として事業化が可能である。

(6) その他特記事項

5. 総合評価

本事業は、従来ブラックボックスとして取り扱われてきた各種微生物群(活性汚泥、メタン発酵汚泥等)に対し、その構成及びその空間配置を人為的に制御・設計することにより、集団としての機能を高めることで、廃水・廃棄物等の新規な高効率処理技術体系を構築するという、世界でもこれまでに組みのない日本発のオリジナル技術開発である。

処理対象や開発すべき各種要素技術が多岐に亘り、産学官連携体制での実施が望まれることから、NEDO主導で実施すべき事業である。

(注) 事業の全体像がわかる図表を添付すること。

※1 出典『バイオマス・ニッポン総合戦略』2006年3月閣議決定より