

## ■ 研究課題名

# 温室効果ガス抑止のための窒素バイオマス再生・浄化システムの構築

## ■ 研究項目と実施体制（◎は技術コーディネーター）

- ① N<sub>2</sub>O 抑止型廃水脱窒素システムの開発と超好熱発酵における微生物の役割の解明  
（◎祥雲 弘文(H17-20)、若木 高善(H21)／国立大学法人東京大学）
- ② 家畜糞尿等窒素バイオマスの超好熱即成コンポスト生産技術の開発  
（上田 裕一／有限会社日本ライフセンター）
- ③ 廃水脱窒素システム／家畜糞尿処理システムの設計、実証プラントの設計・管理  
（渡辺 昭／荏原エンジニアリングサービス株式会社）
- ④ 好気脱窒素システムおよび超好熱発酵における微生物群集の動態解析  
（遠藤 銀朗／学校法人東北学院東北学院大学）

## ■ 研究の目的

廃水処理や堆肥造りからは強力な温室ガスである N<sub>2</sub>O が発生し、地球温暖化に一役買っている。とくに窒素含量の多い家畜排泄物処理では大量の N<sub>2</sub>O 発生が予想される。本プロジェクト研究では、養豚場の排泄物および廃水の処理をモデルとして、廃水処理および堆肥化からの N<sub>2</sub>O 発生を抑止し、地球温暖化防止に貢献する技術開発を目的とした。そのために廃水処理では N<sub>2</sub>O 発生が少ない好気性脱窒菌（バイオオーグメンテーション）、豚糞堆肥化では急速昇温が可能な攪拌式発酵機（りぼん）の機能をそれぞれ最大限に利用するための研究を行った。

## ■ 主要な成果

- ① 好気脱窒細菌 *Pseudomonas stutzeri* TR2 株の脱窒特性の解明：廃水処理槽に純粋培養した高性能脱窒細菌（TR2 株）を添加し、活性汚泥の脱窒素能力（N<sub>2</sub>O を発生しない）を向上させる試み（バイオオーグメンテーション）を行なった。そのためにまず、TR2 株の脱窒特性の解明を行った。多くの脱窒細菌が亜硝酸を脱窒基質とした脱窒が苦手であるのに対し、TR2 株は脱窒活性が高く、誘導期間も短く、また亜硝酸の脱窒も硝酸と同程度の活性を示した。N<sub>2</sub>O 発生抑止の鍵酵素は N<sub>2</sub>O 還元酵素であるが、TR2 株の酵素は酸素耐性で、またその遺伝子（*nosZ*）は好気条件でも構成的に発現していた。これらの結果から TR2 株は、N<sub>2</sub>O を発生しない高活性の脱窒菌であり、予想通りオーグメンテーションに使用可能であると判定された。
- ② 脱窒細菌 *Ralstonia pickkettii* K50 株のアレロパシー（他感作用）現象の解明：K50 株と放線菌 *Streptomyces griceus* の共培養により、K50 株の脱窒活性が約 100 倍上昇する他感作用を見出し、そのシグナル伝達がアミノ酸のヒスチジンにより介在されることを明らかにした。脱窒活性が脱窒基質（硝酸、亜硝酸など）以外の物質で促進される現象は初めての発見で、この成果は Biosci. Biotechnol. Biochem. 誌に掲載され、本誌の 2008 年度論文賞に選ばれた。
- ③ TR2 株のオーグメンテーション達成のための条件検討とその実際：上記目的を達成するために豚糞由来の廃水処理液で馴養した活性汚泥と TR2 株を共存させ、TR2 株の生残条件や脱窒に与える影響を、試験管・フラスコレベルからベンチスケール（膜分離リアクター；MBR；30 L/50 L）、実証試験レベル（5 m<sup>3</sup>）まで調べた。その結果、実証試験装置は硝化と脱窒処理を分離する二槽式の亜硝酸型脱窒システムが最適との結論を得た。微生物群集解析の結果から、添加する TR2 株は原生生物の補食により消滅することが示唆された。亜硝酸型脱窒を実現するための熱処理（40-42℃）は原生生物の活動を抑えるた

めに有効と考えられた。これら結果に基づき実証試験運転を行ない、TR2株の生残性を向上させることに成功した。

- ④ 廃水処理の好気・硝化工程で $N_2O$ の発生することは古くから知られていたが、その機構は長年の間不明であった。この $N_2O$ 発生が硝化過程の前半を担うアンモニア酸化細菌の脱窒によるものであることを、世界で初めて証明した。また簡単な $N_2O$ 発生防止策を示した。この発見は今後の廃水処理の新技术開発に大きな影響を与える成果である。
- ⑤ りぼん型発酵機による家畜糞尿の超高温（90-100℃）一次処理は公衆衛生学的安全性に優れ、なおかつ好熱菌や好気性細菌、真菌（カビ）などの微生物の活動を活発化させることなどにより堆肥化二次発酵の速度を上昇させる効果のあることが示された。すなわち堆肥化開始の際のりぼん処理は、家畜糞尿の堆肥化前処理としてきわめて優れた方法であることが示された。
- ⑥ 養豚場では搾汁により豚糞尿は残渣と搾汁液に分離され、別々に処分されるが、その処分は大きな負担となっている。搾汁液はメタン発酵ののち廃水処理を受け外部に放流される。ここで生じる汚泥と搾汁残渣を混合し、りぼん前処理を施したのち堆肥化を行なう新たなシステムを構築した。堆肥化過程では $N_2O$ が発生するが、汚泥との混合により $N_2O$ 発生は大きく軽減された。さらに生ゴミを混ぜることにより $N_2O$ 発生はほとんど抑えられた。これにより本プロジェクト研究の二大柱である廃水処理と堆肥造りが養豚場にて連携する、窒素バイオマスリサイクル・浄化システムの完成を見た。

#### ■ 公表した主な特許と論文

- ① 公開番号 2009-234855：有機廃棄物の堆肥化方法：有限会社 日本ライフセンター
- ② Kim, S., *et al.*, Nitrous oxide emission from nitrifying activated sludge dependent on denitrification by ammonia-oxidizing bacteria. *Biores. Technol.* (in press)
- ③ Yamada, T., *et al.*, Successions of bacterial community in composting cow dung wastes with or without hyperthermophilic pre-treatment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 81, 771-781 (2008)
- ④ Takaki, K., *et al.*, *Streptomyces griseus* enhances denitrification by *Ralstonia pickettii* K50, which is possibly mediated by histidine produced during co-culture. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 163-170 (2008)

#### ■ 今後の展開方向

- ① 亜硝酸型脱窒素法は汚泥減容、炭素源節約などの効果により炭酸ガス放出削減に貢献できるが、さらにその欠点である $N_2O$ 発生の抑止技術開発により、全温室ガス抑止型廃水処理システム構築のための一つの有力な技術になり得る。
- ② 硝化工程における $N_2O$ 発生機構のさらなる解明によりその抑止技術を開発し、硝化・脱窒両工程から温室ガスを放出しない完全な水処理技術を完成させる。
- ③ りぼん型発酵機の前処理による、 $N_2O$ 抑止型家畜糞尿即成堆肥化技術を完成させる。

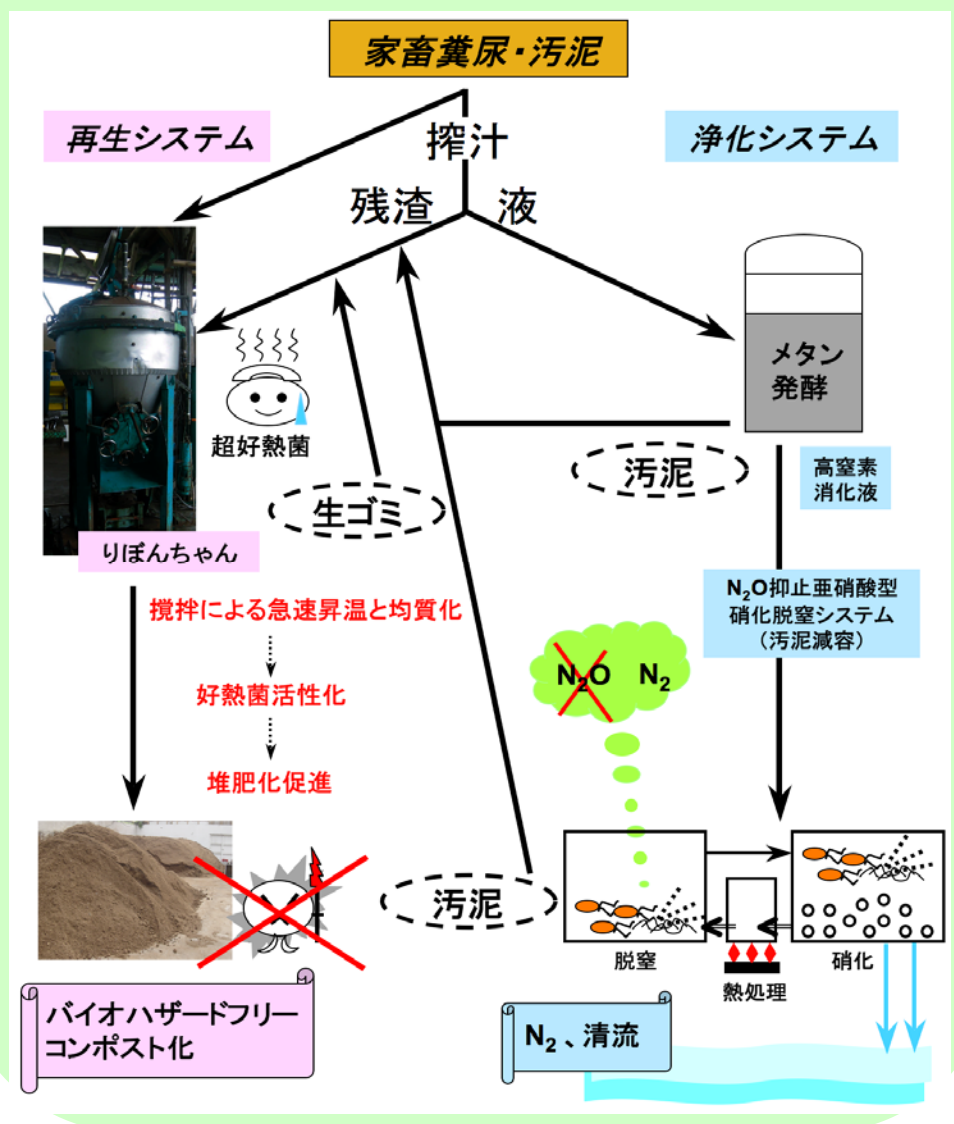
#### ■ 問い合わせ先

- ① 亜硝酸型脱窒による $N_2O$ 抑止型廃水処理システムの構築：荏原エンジニアリングサービス株式会社・経営企画（03-6275-8227）
- ② 硝化工程における $N_2O$ 抑止技術の開発：東京大学農学生命科学研究科酵素学研究室（03-5841-5148）
- ③ 家畜糞尿即成堆肥化技術：日本ライフセンター（03-5428-0767）

■ 研究成果の具体的図表

窒素バイオマスリサイクルシステム

図1 窒素バイオマスリサイクルシステムの二大柱、再生システム・浄化システム



硝化工程における  $N_2O$  発生は硝化菌（アンモニア酸化細菌；AOB）が担っていた!!!  
 緑のベルトは、AOBによるアンモニアから  $N_2O$  までの道筋

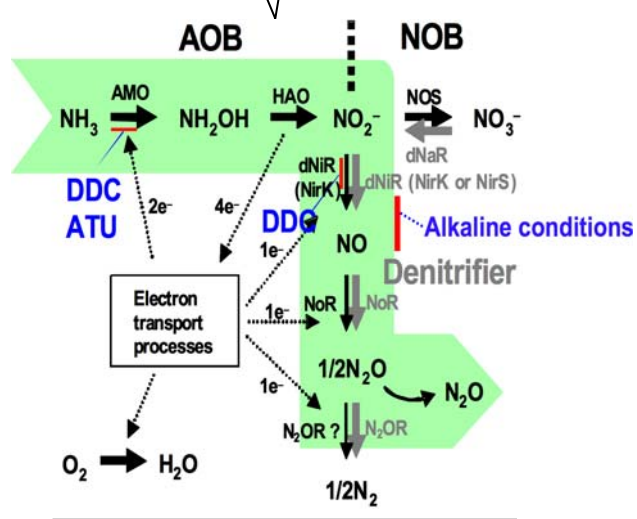


図2 アンモニア酸化細菌による硝化・脱窒経路

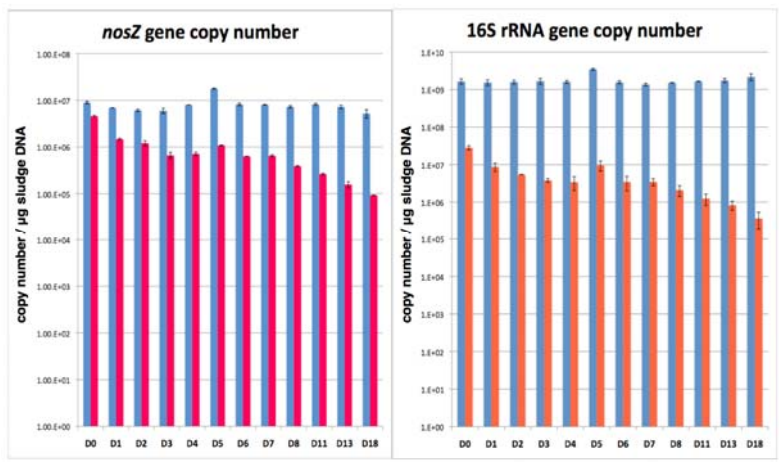


図3 実証試験におけるTR2株生残性  
 全バクテリア：青色、TR2株：左図：赤色・右図：オレンジ色  
 添加後18日目まで生存していることが *nosZ* 遺伝子（左）、*16SrRNA* 遺伝子（右）により示された。

廃水脱窒素(活性汚泥)・家畜糞尿(搾汁残渣)処理工程



図4 ①②③④⑤構築した実験プラント  
搾汁残渣と廃水処理汚泥の混合は、 $N_2O$ 発生を防ぎ、堆肥化期間を2週間という短さに短縮した。

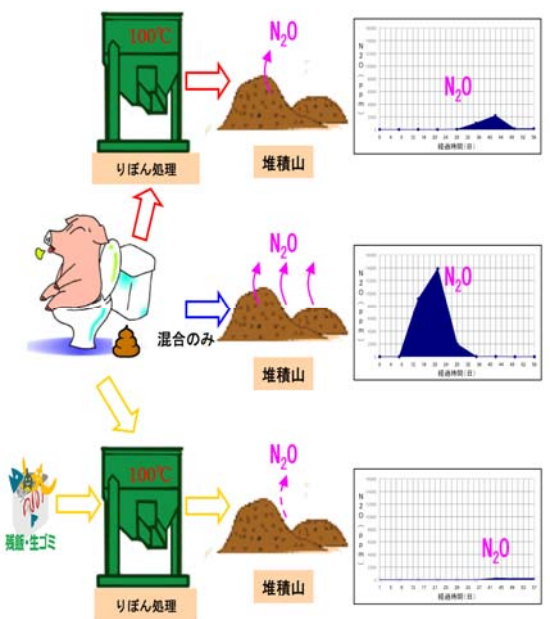


図5 豚糞堆肥化で発生する $N_2O$   
水処理実験プラントより出る豚糞搾汁残渣・活性汚泥の堆肥化で発生する $N_2O$ の量は、通常の堆肥化(中段)が多くりぼん処理すると1/7となる(上段)。調理ゴミ・食品残渣を加えると発生はさらに減弱する(下段)。

①100℃種菌あり ②5分攪拌種菌あり ③100℃種菌なし ④5分攪拌種菌なし  
2週間目堆肥使用の発芽状態

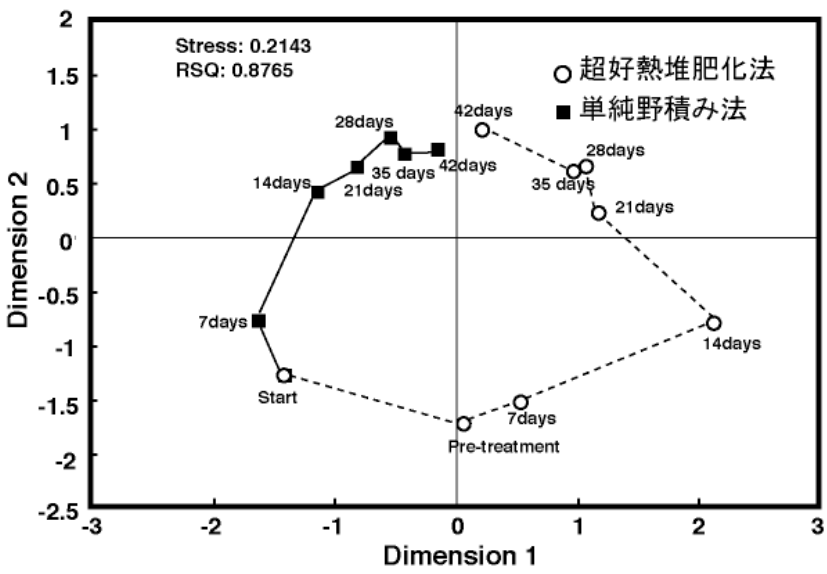


図6 多次元尺度法によるりぼん処理(白)、非処理(黒)間の真正細菌群集構造の遷移の評価  
りぼん処理と非処理で途中経過が大きく異なる。りぼん処理の方が好気性細菌が多い。