



| | |
|--------------|---|
| Title | Mitigation of ammonia and/or salt inhibition in anaerobic digestion process through bioaugmentation with tolerant microbial community |
| Author(s) | 李, 子言 |
| Citation | 大阪大学, 2024, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.18910/101446 |
| rights | |
| Note | |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (李子言)

| | |
|-------|--|
| Title | Mitigation of ammonia and/or salt inhibition in anaerobic digestion process through bioaugmentation with tolerant microbial community (耐性微生物群を用いたバイオオーゲンテーションによる嫌気性消化へのアンモニアおよび塩分阻害の緩和) |
|-------|--|

Abstract of Thesis

Anaerobic digestion (AD) is a promising technology for simultaneous pollution control and bioenergy (methane (CH₄)) production from organic wastes and wastewater. However, efficient CH₄ production through a series of anaerobic reactions, including hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis, and methanogenesis, is hindered by inhibitory factors, such as ammonia and salt. Bioaugmentation with microbial consortia tolerant to ammonia or salt is a promising method in mitigating such inhibition effects in AD process. Successful attempts of applying bioaugmentation on mitigating ammonia inhibition in AD process have been reported in previous studies, whereas no attempt was reported for mitigating salt inhibition in AD process. Moreover, bioaugmentation regimes (i.e., dosage, repetition, and timing) also need to be optimized to ensure its effectiveness, as well as to reduce its cost. Thus, the objectives of this study are (1) to investigate the feasibility of applying bioaugmentation on mitigating salt inhibition in AD process and (2) to optimize bioaugmentation regimes in both ammonia- and salt-inhibited conditions.

In Chapter 1, as the background of this study, the principles and current status of AD process, inhibition of efficient CH₄ production in AD process by ammonia and salt, and technologies to mitigate the inhibitions are summarized based on the comprehensive literature review. Besides, previous knowledge on bioaugmentation with tolerant microbial consortia in AD process is summarized to ensure the limitations and research gaps, and to fix the objectives of this study.

In Chapter 2, the feasibility of applying bioaugmentation on mitigating salt inhibition in AD process was investigated using marine sediment-derived microbial consortia (MSCs) as bioaugmentation inocula under NaCl stress (30 g/L), as well as under NH₄⁺ stress (5 gNH₄-N/L). The results suggested that bioaugmentation with pre-acclimated MSCs can successfully mitigate the inhibition of CH₄ production under NH₄⁺ or NaCl stress. Besides, the underlying mechanisms for relieving inhibition and enhancing CH₄ production under the stresses were elucidated based on the comprehensive microbial community analyses. Specifically, the complement of syntrophic propionate oxidizing bacteria, interspecies electron transfers, and *Methanoculleus*, a hydrogenotrophic methanogen, through bioaugmentation with MSCs was regarded to allow efficient propionate degradation and CH₄ production.

In Chapter 3, the effectiveness of different bioaugmentation regimes in both ammonia- and salt-inhibited conditions were investigated using repeated-batch mode AD reactors. The results suggested that positive correlation between reactor performance and inoculum dosages is temporary and the mitigating effect gradually diminish during the repeated introduction of inoculum. It was also indicated that a balanced and diversified microbial community is key for active CH₄ production, which was difficult to acquire in repeated batch mode. Thus, maintaining the microbial community in a transition state by periodically discharging the fermentation bulk liquid and introducing bioaugmentation inoculum may be ideal for maintaining high system performance.

In Chapter 4, the summary and conclusions of this study are given. Besides, based on the knowledge obtained in this study, future perspectives toward the practical application of bioaugmentation in AD process are proposed.

論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏名 (李子言) | | |
|----------|--------|------|
| 論文審査担当者 | (職) | 氏名 |
| | 主査 教授 | 池道彦 |
| | 副査 教授 | 東海明宏 |
| | 副査 准教授 | 井上大介 |

論文審査の結果の要旨

嫌気性消化 (Anaerobic digestion ; AD) は、有機性排水・廃棄物に含まれる有機汚濁物質を分解して環境汚染の発生を防止するとともに、バイオエネルギーとして利用できるメタン (CH_4) を生産することのできる有望な技術である。AD プロセスは加水分解、酸生成、酢酸生成、 CH_4 生成を含む多段階の嫌気性反応の連携により構成されているが、高濃度のアンモニアや塩分などの存在により CH_4 生産が阻害されることが知られている。他方、アンモニアや塩分に耐性を有する微生物群を導入するバイオオーゲメンテーションは、AD プロセスにおける高濃度のアンモニアや塩分などによる阻害を緩和する有望な手法として注目されている。しかし、既往研究では、アンモニア阻害の緩和に有効であることは実験的に確認されているが、塩分による阻害の緩和に適用した事例はみられず、その有効性を検証する必要がある。また、バイオオーゲメンテーションによる阻害緩和効果には耐性微生物群を投入する量や回数、タイミングが影響すると考えられるが、それらについては十分な知見が得られていない。

以上の背景を踏まえ、本論文では、AD プロセスにおける塩分阻害の緩和に対する耐性微生物群を用いたバイオオーゲメンテーションの適用可能性を明らかにするとともに、アンモニアおよび塩分阻害を緩和するバイオオーゲメンテーションの最適条件を探索することを目的とした一連の研究成果について取りまとめており、緒論である第 1 章、本論となる第 2 章および第 3 章、結論である第 4 章から構成されている。

緒論である第 1 章では、本研究の背景として、AD プロセスの原理と現状、AD プロセスにおける重大な課題であるアンモニアや塩分による CH_4 生産阻害、およびその阻害を緩和する技術に関する既往の知見を包括的に整理したうえで、耐性微生物群を用いたバイオオーゲメンテーションに関する既往研究をとりまとめ、現状の課題を把握することで本研究の目的と位置づけを明確化している。

第 2 章では、 CH_4 生産を阻害する高濃度の NaCl (30 g/L) および NH_4^+ (5 g $\text{NH}_4\text{-N/L}$) の存在下において、海洋底泥由来の耐性微生物群 (MSC) を植種源として用いたバイオオーゲメンテーション実験を行い、AD プロセスにおける塩分阻害の緩和へのバイオオーゲメンテーションの適用可能性について検討している。一連の検討の結果から、予め高濃度の NaCl および NH_4^+ に馴化させた MSC を用いることで、高濃度 NH_4^+ による阻害と同様に、高濃度 NaCl による CH_4 生産阻害に対しても緩和効果を発揮できることを示している。さらに、微生物群集解析の結果から、MSC を用いたバイオオーゲメンテーションによりプロピオン酸酸化共生細菌、種間電子伝達、および水素利用性メタン生成菌 *Methanoculleus* が補完されて効率的なプロピオン酸分解と CH_4 生産が可能になることを見出し、バイオオーゲメンテーションによる CH_4 生産の阻害緩和のメカニズムを明らかにしている。

第 3 章では、連続回分式 AD リアクターを用いて、アンモニアおよび塩分阻害条件下における様々なバイオオーゲメンテーション手法の効果について調査している。耐性微生物群を投入する量や回数、タイミングを変更して実施したバ

イオオーグメンテーション実験の結果から、AD リアクターの性能と耐性微生物群の投入量の間に正の相関がみられるものの、その相関は一過的なものであり、投入を繰り返すことで阻害緩和効果が徐々に低下していくことが示されている。また、活発な CH₄ 生産には、バランスのとれた多様な微生物群集が重要であるが、連続回分式の運転方法ではそれを維持することが困難であることも示され、効率的な CH₄ 生産性能を維持するためには、定期的に発酵液を排出し、耐性微生物群を投入することにより、微生物群集を一定の状態に維持することが重要であることを示唆している。

第 4 章では、一連の研究の成果を整理し総括したうえで、耐性微生物群を用いたバイオオーグメンテーションが高濃度のアンモニアおよび塩分による CH₄ 生産阻害の緩和技術として有望であることを結論付けるとともに、AD プロセスにおけるバイオオーグメンテーションの実用化に向けた課題や展望について述べている。

以上のように、本論文は、AD プロセスにおける様々な阻害因子の存在下での効率的な CH₄ 生産を可能にするバイオオーグメンテーション技術の発展に寄与する重要な知見を導出している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。