

機関番号：12601

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21760682

研究課題名 (和文) 藻場再生技術へのバイオマス資源の有効利用に関する研究

研究課題名 (英文) Study on Effective Utilization of Biomass Resources for Restoration of Seaweed Beds

研究代表者

山本 光夫 (YAMAMOTO MITSUO)

東京大学・教養学部・特任准教授

研究者番号：30361512

研究成果の概要 (和文)：本研究では、製鋼スラグと腐植物質を用いた藻場再生技術における更なる鉄供給効果促進と未利用資源の有効利用を目指し、農村地域で得られるバイオマス資源の堆肥化 (腐植化) 実験と得られた腐植物質の鉄(II)との錯形成能評価、そして構造解析を行った。アカシア、カラマツ、リンゴ、稲わらの4種類のバイオマス試料について検討を行った結果、種類によって腐植化と錯形成能、構造の関係性に特徴があることが示され、藻場再生技術への有効利用に向けて有用な基礎的知見を得ることができた。

研究成果の概要 (英文)：The relationship between the binding ability of several humic substances (HSs) to iron(II) and their structural characterization was evaluated in this study. The objective is to utilize biomass resources for restoring seaweed beds in coastal area by using steel slag and HSs. Four kinds of biomass resources (acacia, larch, apple, and rice straw) as sources of HSs were evaluated. It was found that humification rate and the binding ability of HSs to Fe(II) depended on the kinds of biomass resources and their structural characterization.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：総合工学・リサイクル工学

キーワード：未利用バイオマス、藻場再生、堆肥、腐植物質-鉄錯体、錯形成能、鉄溶出特性

1. 研究開始当初の背景

日本や世界各地の沿岸海域において海藻群落が衰退・消失する磯焼けの現象が生じており、ウニやアワビをはじめとする漁獲高の減少など深刻な問題を引き起こしている。磯焼けの原因としては、地球温暖化等による水温上昇、ウニやアイゴなどの植食性魚類による食害のほか、海水中の溶存鉄や栄養塩の不足などが発生要因として挙げられている。

この磯焼けへの対策技術として、研究代表者らは海藻の成長に必要な海水中の溶存鉄

の不足に着目し、製鋼スラグと腐植物質 (腐植土) を用いた磯焼け回復技術 (藻場再生技術) についての研究・開発を行ってきた。鉄の供給源としては産業副産物である製鋼スラグを、腐植物質の生成源には間伐材などの木材チップを利用 (嫌気性発酵させて腐植化) しており、環境問題解決と同時にリサイクル問題の解決が可能であることに特長がある。

研究開発にあたっては、これまで基礎研究と共に北海道増毛町の実際の磯焼け海域において藻場再生実証試験が行われ、磯焼けし

た海域にコンブをはじめとした大型海藻が再生・繁茂することが確認され、顕著な磯焼け回復効果があることが示された（山本ら、日本エネルギー学会誌、2006）。

2. 研究の目的

本藻場再生技術の実用化のためには効果の更なる促進が必要となっている。その方法の一つとしては、腐植物質と鉄の錯形成量の増加により海水への鉄供給量を増やすことが考えられる。そのためには、藻場再生技術における最適な腐植物質についての指標を更に得ることが重要であり、原料の異なる堆肥試料（腐植物質）の鉄との錯形成能、そして構造解析の評価を行って、その特性に関する知見を蓄積する必要がある。一方で未利用バイオマス資源由来の堆肥試料の藻場再生技術への利用可能性を検討することで、各地域のバイオマス資源の有効利用・リサイクルへとつながることも期待できる。広葉樹や針葉樹のほかに、稲わらやりんごなどの果樹栽培から出る樹木の剪定枝等を利用できる可能性が示されれば、農業廃棄物の有効利用へとつなげることも可能となる。

以上のことから本研究では、製鋼スラグと腐植物質を用いた藻場再生技術における更なる鉄供給効果促進と未利用資源の有効利用に向けた基礎的知見を得ることを目的とする。様々なバイオマス資源から生成する堆肥試料の腐植化過程と、その腐植物質の鉄との錯形成能評価や、構造解析を行い、藻場再生技術への利用可能性を検討するとともに、最適な腐植物質に関する指標を得ることを目指す。

3. 研究の方法

堆肥の原料として、農村地域で得られる数種類のバイオマスを利用して堆肥化実験を行い、得られた堆肥試料中の腐植物質量や腐植物質の鉄(II)との錯形成能、そして構造について評価を行うこととした。ここでは行った検討結果のうち3項目について示す。

(1) 各堆肥試料中の腐植物質量評価

青森県鯨ヶ沢町にて、(有)白神アグリサービスの協力を受け、この地域における木質系バイオマスを用いて堆肥化（腐植物質生成）実験を行った。腐植物質の原料としては、アカシア（広葉樹）、カラマツ（針葉樹）、りんご（剪定枝）の3種類を用いた。

堆肥作製については、チップ化したそれぞれの試料に堆肥化促進剤（バクヤーゼ K、(株)ミズホ）ならびに鶏糞（はまなす有機、日本ホワイトファーム(株)）を加えて、定期的に切り返しを行った。そして堆肥中に含まれる腐植物質量（フルボ酸、フミン酸、非腐植物質成分）の変化を定期的にモニタリングし、試料の種類による腐植化の違いを評価した。腐

植物質量は、各堆肥試料を IHSS 法に準拠して分画を行い、全有機炭素計（Shimadzu 製）を用いて評価した。

(2) 腐植物質の鉄(II)との錯形成能評価

(1)の方法で分画したフルボ酸・フミン酸試料のうち、ここではフミン酸を用いることとし、精製を行った。錯形成能の評価方法としては、10mg/Lの濃度に調製したフミン酸溶液に鉄(II)を加えてサンプル調製し、初期鉄濃度の条件を振って、調製後の鉄濃度分析を行った。分析方法としては比色（フェロジン）法を用いた。得られた鉄濃度から、以下の(I)の関係性を用いて錯形成能 (K_b : 条件錯形成定数、 C_L : 腐植物質中の全配位子濃度) を評価した。

$$\Sigma[\text{Fe(II)} - L_i] = \frac{C_L K_b [\text{Fe}^{2+}]}{1 + K_b [\text{Fe}^{2+}]} \quad (\text{I})$$

ここで L_i は腐植物質を指し、 C_L は全腐植物質（配位子）濃度を示す。

(3) 腐植物質の構造解析

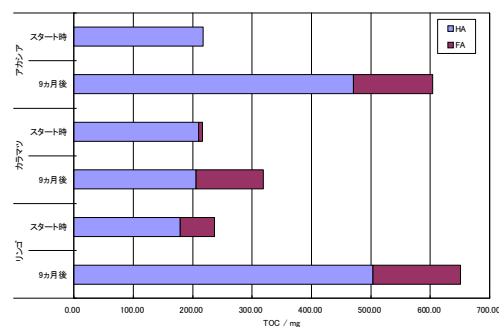
構造解析については、元素分析（C, H, N, O, S, Ash）、分子量測定、官能基分析（フーリエ変換赤外分光光度法（FT-IR））、紫外可視分光スペクトル測定を行った。そして、構造解析結果と(2)の結果を合わせて、鉄との錯形成能と腐植物質の構造との関係性について考察を行った。なお、この構造解析は、元素分析以外は北海道大学の福嶋正巳准教授の協力により北大にて行った。

4. 研究成果

(1) 各堆肥試料中の腐植物質量

腐植物質量のモニタリングを1ヶ月ごとに行った結果、傾向としてはどの試料も腐植物質量が増加し、非腐植物質分画は減少することが示された。Table 1 は、アカシア、カラマツ、リンゴにおけるスタート時点と9ヵ月後の試料 10g 中の全有機炭素量（TOC）を示した表である。全ての試料で腐植物質量は増加した。アカシアの試験開始時のフルボ酸（FA）量は微量であるが、どの試料において

Table 1 Variation of the amount of humic substances in each sample



も FA よりフミン酸 (HA) 量が大部分を占めることが示された。腐植物質量の増加割合としては、アカシアが 2.8 倍、カラマツが 1.5 倍、リンゴが 2.8 倍となり、アカシアとリンゴに比べ、カラマツは腐植化しにくいことが示唆された。フルボ酸量は全ての試料で増加しているが、堆肥中の腐植物質の鉄錯形成への利用という観点では、アカシアやリンゴに比べてカラマツは優位性が低いことが示された。

(2) 腐植物質の鉄(II)との錯形成能

この実験においては、3 種類の木質系バイオマスから得られた HA とともに、比較として草本系の稲わらを原料とした堆肥からの HA についても評価した。なお、ここで使用した稲わら由来の堆肥は、他の 3 種類と同様の堆肥化促進剤と鶏糞を用いて作製されたが、原料の初期重量等の条件が異なるものである。また、ここでの HA 試料は、堆肥化実験開始から 11 ヶ月後の堆肥より得られたものを用いている。

Fig. 1 は、初期鉄(II)濃度 0.018, 0.027, 0.036, 0.041, 0.043, 0.045 $\mu\text{mol/L}$ となるように HA 溶液を調製した際の各試料中の鉄(II) (Fe^{2+}) と錯体鉄(II) (HA-Fe(II)) の関係性を示したグラフである。

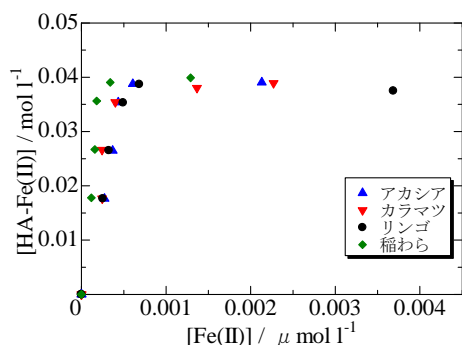


Fig.1 Dissociation kinetic curve of HA-Fe(II) complex

Fig.1 より、4 種類のバイオマス原料から生成された HA は、 $[\text{Fe(II)}]$ と $[\text{HA-Fe(II)}]$ の関係は同様の傾向性を示していることがわかる。実際に (I) 式へのフィッティングを行い、 K_b と C_L を比較してみると、 C_L については若干の差はあるものの、ほぼ同程度の値を示すことが示された。一方で K_b については、アカシア、カラマツ、リンゴの値に顕著な差はみられなかったが、稲わらに関しては他の 3 試料に比べて大きな値を示すことが確認された。以上の各試料の錯形成能の違いに関して、構造的特徴から理解するために行った解析のうち、以下では元素分析、平均分子量、官能基分析の結果を示す。

(3) 腐植物質の構造解析

① 元素分析

Table 2 に (2) で用いた 4 種類の HA 試料の元素分析結果を示す。O 含有量については稲わらが他の試料に比べて少なく、酸性官能基の含有量の指標となる O/C についても稲わらが小さいことが確認された。一方で、稲わらは S 含有量が多く、N 含有量についても同様に多いことが示された。灰分 (Ash) については、リンゴが多いことが確認できた。このように、アカシア、カラマツ、リンゴと比較して、O/C の値と S や N の含有量に違いがあることが示された。これらの特徴が稲わらの K_b が他の試料の K_b に比べて大きい要因である可能性が示唆される。

Table 2 Elemental composition of HA

Samples	%C	%H	%N	%O	%S	Ash	O/C
アカシア	54.16	5.13	5.47	33.52	0.82	0.90	0.62
カラマツ	53.34	5.63	4.36	33.60	0.65	0.42	0.67
リンゴ	53.31	4.95	4.79	34.48	0.73	1.74	0.65
稲わら	55.68	5.58	5.72	30.79	1.16	1.07	0.55

② 平均分子量

Table 3 に 4 種類の HA 試料について求めた重量平均分子量 (Mw) と数平均分子量 (Mn) の結果を示す。Mw は、稲わらが最も大きく、リンゴ、カラマツ、アカシアの順で小さくなることが確認できた。一方で、Mw/Mn は稲わらが最も大きく、カラマツが最も小さいことが確認された。このことから、稲わらは平均分子量が大きいとともに、分子量分布 (分散) も大きいことが示唆された。

Table 3 Mean molecular weights of HAs

	Mw	Mn	Mw/Mn
アカシア	12,699	2,299	5.55
カラマツ	13,763	2,342	5.90
リンゴ	14,656	2,746	5.35
稲わら	15,990	2,426	6.63

③ 官能基分析

Table 4 に官能基分析として行った FT-IR スペクトルのピークの帰属を示す。4 試料ともに得られたスペクトルのピークについて、ほぼ同じ帰属が見られ、鉄(II)との錯形成に関与するカルボキシル基や水酸基に起因するピークが得られている。一方で、各試料に特徴的なピークとしては、カルボキシル基の C=O 伸縮振動 (稲わら)、COO⁻ の対称伸縮およびフェノール性水酸基の C-O 伸縮振動 (カラマツとリンゴ) が確認された。より定量的な評価を行うためには、滴定による酸性官能基分析などを行う必要があるが、FT-IR 分析によって腐植物質の構造的特徴と錯形成能

の関係性を評価する上で有用なデータを得ることができた。

Table 4 Comparison of the FTIR spectra of the HA samples

	アカシア	カラマツ	リンゴ	稲わら
OH stretching and NH stretching	3392	3370	3426	3376
Aliphatic stretching (symmetric stretching of CH ₂ ,CH ₃)	2927	2923	2927	2921
Aliphatic CH ₃ and CH ₂ bending	1455	1452	1452	1455
C=O stretching of COOH		1698	1711	
CO stretching and COH deformation of COOH and phenolic group	1215	1213	1214	1216
COO ⁻ symmetric stretching (and stretching of aromatic C=C)	1647	1648	1649	1649
Amide I (N-H stretch)	1511	1509	1510	1507
COO ⁻ symmetric stretching (and CH deformation, CO stretching of phenolic OH)				1363
COH bending, CO stretching of alcohols and ethers	1024	1025	1024	1028
CH out-of-plane deformation of hydrocarbons	860	880	879	856

(4) まとめ

本研究では、農村地域で得られる4種類のバイオマス試料の堆肥化（腐植化）実験と得られた腐植物質（フミン酸）の鉄(II)との錯形成能評価、そして構造解析を行った。その結果、同条件で腐植化を行った場合、カラマツよりアカシア、リンゴが腐植物質量は多いことが示された。一方で同条件での腐植化ではないが、稲わらはカラマツよりは腐植物質量が多く、アカシア、リンゴよりは少ないことが示されている。これらの腐植物質中のフミン酸については、錯形成定数は稲わらが大きいことが示されたが、錯形成能は大きな差はないことが示唆された。錯形成能にはカルボキシル基やフェノール性水酸基などの含有量が関係することが考えられるが、元素分析結果からはNやSの含有量が多いことが示されたため、これらが鉄(II)との錯形成能に影響を与えている可能性が考えられる。

一方で本報告書には詳細を記載していないが、上記の研究結果を踏まえて、実際の海水への鉄溶出試験も行っている。この鉄溶出実験においては、藻場再生技術への利用を視野に入れ、製鋼スラグと堆肥試料を混合して、今回得られた4試料とこれまでの実証試験で用いられてきた腐植物質（バーク堆肥）について溶出特性の違いを検討した。その結果、堆肥とスラグを1:1で混合した試料では、バーク堆肥からの鉄溶出量が多いことが示されたが、稲わらに関してはそれに近い溶出量も得られた。

以上のように本研究では、未利用バイオマス資源由来の堆肥の藻場再生技術への利用

可能性を検討する上で有用な基礎的知見を得ることができた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計1件）

- ① Mitsuo Yamamoto, Atsuh Nishida, Keishi Otsuka, Takeshi Komai, and Masami Fukushima, “Evaluation of the Binding of Iron(II) to Humic Substances Derived from a Compost Sample by a Colorimetric Method using Ferroziine”, *Bioresource Technology*, **101** (2010) 4456-4460, 査読有.

〔学会発表〕（計6件）

- ① 山本光夫、福嶋正巳「木質系バイオマス堆肥化由来の腐植物質における構造特性と鉄錯体形成能との関係性」*化学工学会第43回秋季大会*、2011年9月、名古屋工業大学（予定）.
- ② 山本光夫、木之下彩子、木村才樹、福嶋正巳「木質系バイオマスの堆肥化による腐植物質生成と鉄との錯形成能評価」*化学工学会第76年会*、2011年3月24日.
- ③ Mitsuo Yamamoto, Masami Fukushima, Keishi Otsuka, Takeshi Komai, Dan Liu, “Restoration of Seaweed Beds by Supplying Iron-Humate from Steel Slag and Humus Materials”, *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010)*, December 18, 2010, Hawaii Convention Center.
- ④ 山本光夫「鉄分供給による海洋環境改善」*鉄鋼スラグ海城利用に関するシンポジウム*、2010年12月6日、東京大学.
- ⑤ 山本光夫、木之下彩子、木村才樹、福嶋正巳「木質系バイオマスの腐植化と鉄との錯形成能評価」*日本腐植物質学会第26回講演会*、2010年11月29日、筑波大学.
- ⑥ Mitsuo Yamamoto, Dan Liu, “Restoration of Seaweed Beds in Coastal Area of Barren Ground by Steel Slag and Humus Materials”, *The 13th Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress*, 2010年10月7日, Howard International House (台湾・台北).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 光夫 (YAMAMOTO MITSUO)
 東京大学・教養学部・特任准教授
 研究者番号：30361512