

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2014～2016

課題番号：26520311

研究課題名(和文) 生物酸化したメタン発酵消化液の養液利用が植物の窒素吸収利用効率に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文) The effect on utilization of bio-oxidized anaerobic digestate as nutrient solution for hydroponics on the use efficiency of nitrogen absorption in higher plants

研究代表者

遠藤 良輔 (Endo, Ryosuke)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

研究者番号：10409146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、養液栽培における培養液としてメタン発酵消化液(以下、消化液)を利用することを目的として、消化液を生物酸化してアンモニウムイオンを硝酸イオンに転換する改質処理を行い、このことが植物成長に及ぼす影響を調べた。生物酸化処理では、消化液中のアンモニウム態窒素の最大85%が硝酸態窒素に転換された。トマト、レタス、キュウリについて、市販培養液と同等のアンモニウムイオン：硝酸イオン比の生物酸化消化液を培養液として用いて養液栽培を行った結果、植物成長・窒素吸収率の双方が著しく改善されたが、市販培養液よりは劣った結果となった。これは、他の栄養塩の過剰・欠乏が要因として考えられた。

研究成果の概要(英文)：The effect on utilization of bio-oxidized anaerobic digestate as nutrient solution for hydroponics on the use efficiency of nitrogen absorption in higher plants was evaluated.

Up to 85% ammonium ion in digestate was transferred to nitrate ion by bio-oxidization process.

Tomato, lettuce and cucumber plants were grown hydroponically in an environment-controlled chamber with oxidized digestate, in which the ratio of ammonium to nitrate is controlled to as same as the ratio in commercial nutrient solution. Experimental results revealed that the growth and nitrogen absorption were modified by oxidizing digestate in all kinds of plants. On the other hands, largest growth and highest absorption were observed in that with commercial solution. This may be caused by excess and/or deficient nutrients in oxidized digestate.

研究分野：生物環境調節学

キーワード：メタン発酵 養液栽培 施設園芸 資源循環 持続可能性 微生物反応

1. 研究開始当初の背景

近年、化石燃料や化学肥料の使用による環境問題が顕在化する中で、循環的・持続的社会的構築が急速に求められており、バイオマス利活用が積極的に推進されている。メタン発酵は生物学的バイオマス変換技術で、有機性廃棄物からエネルギーとしてメタンを、マテリアルとして液肥となる消化液を回収することができる。埋立地の限界や、化学肥料、とりわけリン価格高騰が問題となっている我が国にとっては、有機性廃棄物を資源化するメタン発酵技術は循環型社会構築の基幹を担うものであり、早急にその普及が求められている。しかしながら我が国では、液肥となるメタン発酵消化液の食料生産現場への利用が進んでおらず、欧米に比べ普及が大幅に遅れている。

しかし、メタン発酵消化液は元々植物由来であるバイオマスから生成されたものであり、植物の成長に必要な基本的な無機養分をほとんどすべて有している。そのため、土耕においては、従来用いられてきた肥料を用いた場合と遜色ない収量が報告されており、欧米を中心に液肥利用が完全に実用化されている。ところで、メタン発酵は嫌氣的雰囲気で行うため、内部の反応は還元的である。そのため、植物の主要栄養素である窒素は、タンパク質の分解によりアンモニア態としてメタン発酵消化液中に存在する。土耕においては、アンモニアは土壤微生物によってすみやかに硝酸に転換され、植物に吸収される。しかし、土壤の存在しない水耕・ロックウール耕その他の養液栽培形態においては、メタン発酵消化液中の高濃度アンモニアは、根部における養分吸収の阻害、植物体内における代謝阻害を引き起こし、植物の成長を抑制する。また、高い pH も成長抑制の一因となる。そのため、従来メタン発酵消化液の水耕・養液栽培利用は不可能とされてきた。

一方最近の農業現場では、養液栽培による閉鎖型植物生産施設の普及が急速に進んでいる。これらの施設では、生産する作物に合わせた物理環境条件(光・気温・湿度など)を人工的に作り出すことができ、植物の能力を最大限に発揮させた生産が行われつつある。

メタン発酵消化液のもつ、養液栽培に不利な条件を解決することができれば、消化液の利用可能性を向上させ、メタン発酵技術普及の一助とできるだけでなく、メタン発酵由来の培養液を用いた資源循環型の閉鎖型植物生産を新しく提案することができる。また、消化液利用は、化学肥料輸入削減による富栄養化の緩和・化石燃料使用の削減の観点からも好ましい。そこで本研究では、メタン発酵消化液の植物成長抑制要因である高アンモニアおよび高 pH の問題を解決して、窒素をはじめとする植物養分の回収・吸収・利用効

率を向上させる、新しい資源循環型養液栽培法について検討した。

2. 研究の目的

本研究の準備にあたって、申請者が得た知見は以下のとおりである。

1. メタン発酵消化液は、植物が成長するのに必要な無機栄養分を含むが、メタン発酵消化液は高濃度のアンモニアを含んでおり、また pH が弱アルカリ性のため、そのままでは養液栽培のための培養液としては適さない。
2. メタン発酵消化液を硝酸菌により回分処理で生物酸化したところ、アンモニア濃度が低下し、硝酸濃度が増加した。また、pH も培養液に至適な 6.0 程度まで低下した。
3. この処理消化液を膜で固液分離して培養液として用いたところ、成長阻害が劇的に緩和された。

これらの知見を元として、本研究では以下の2点のメカニズム解明を目的とした。

1. 生物酸化処理がメタン発酵消化液の窒素形態変化に及ぼす影響
2. 生物酸化された消化液中の窒素形態の変化が養液栽培における植物成長に及ぼす影響

加えて、メタン発酵消化液の利用可能性を飛躍的に向上させる本プロセスの確立および、本技術が資源循環的植物栽培に及ぼす効果について定量的評価を試みた。

本研究では、以下のプロセスが資源循環効率を向上させると仮説を立てた。

メタン発酵プロセスが原料バイオマスからの養分(資源)回収率を向上させる
生物酸化による消化液中のアンモニア濃度：硝酸濃度比の適切な制御が植物の養分吸収利用効率を向上させる

この仮説について、後述する連続式バイオリアクターを用いた微生物反応実験、ならびにキュウリ、トマトならびにレタスを用いた養液栽培実験による検証を行った。

3. 研究の方法

H26年度において、メタン発酵および発酵消化液の生物酸化が連続的に行える実験システムを構築し(図3)、微生物反応が液中の窒素形態変化に及ぼす影響について解析した。H27年度は、生物酸化プロセスの安定性ならびに窒素転換率を高める手法を開発した。H28年度は、本プロセスにより作製した消化液由来の培養液を用いて水耕栽培を行い、植物の成長ならびに窒素吸収量を解析した。これらの結果をもとに、メタン発酵プロセスに投入したバイオマスから回収・吸収・利用できる窒素量について調べて、資源循環性について解析した。

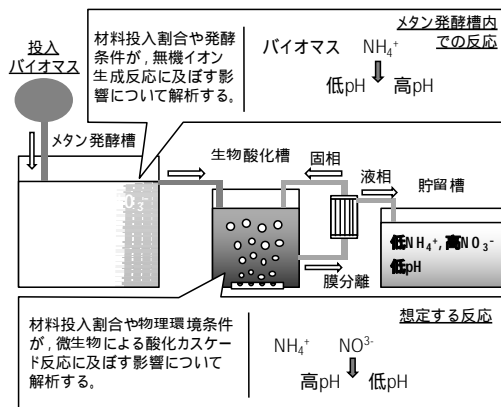


図3 メタン発酵・生物酸化プロセスの概要

【メタン発酵・生物酸化連続反応システムの構築】

メタン発酵：投入材料には、メタン発酵研究で主に用いられるモデル生ごみを使用し、中温メタン発酵条件で連続発酵を立ち上げた。メタン発酵槽は有効容積 240 L のものを用い、水理学的滞留時間は 50 日程度とした。生物酸化：メタン発酵で生じた消化液中のアンモニア態窒素を、硝化細菌により硝酸に酸化することで、アンモニア濃度の低下および肥効成分である硝酸濃度の増加、さらには、pH の低下を図った。生物酸化反応槽は有効容積 150L のものを用い、水理学的滞留時間は 10 日程度とした。さらに、実験室に 2L 規模の連続反応システムを 3 つ構築し、240L メタン発酵槽から採取した消化液を用いて、投入負荷が生物酸化に及ぼす影響を検証する実験を行った。

【生物酸化反応の高効率化・安定化】

pH 緩衝作用を持つ炭酸カルシウム (CaCO_3) の投入が、メタン発酵消化液の連続的生物酸化に及ぼす効果について検証した。 CaCO_3 は安価で豊富に存在することに加え、pH 緩衝においては必要量のみが溶存してそれ以外は不活性な沈殿物として存在する。沈澱が生じる程度の量の CaCO_3 を生物酸化槽に投入して、消化液の半連続生物酸化実験を行った。

メタン発酵・酸化プロセスにより得た消化液（改質消化液）を用いて水耕栽培を行い、形態学的・生理学的手法によって養分の吸収および利用特性について解析した。

【植物成長・窒素吸収の評価】

生物酸化前後の消化液をそれぞれ培養液として用いた場合の植物の成長量について、キュウリ、トマトおよびレタスを用いて養液栽培実験を行い評価した。実験は人工気象器を用いて行った。光源は白色蛍光灯を用い、明暗周期は 16h/8h とし、明期の光合成有効量子速度は $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした。気温は 28 (キュウリ)、25 (トマト) ならびに 21 (レタス) とし、相対湿度はいずれも 60% から 70% 程度とした。キュウリ、レタスは水耕栽培装置を用いて、また、トマトはロックウ

ールキューブを用いてそれぞれ養液栽培を行った。培養液として消化液、生物酸化消化液、大塚 A 処方標準培養液を用意し、それぞれの溶存窒素濃度が等しくなるように消化液ならびに生物酸化消化液をイオン交換水で希釈して供試した。実験終了前後の植物体乾物重ならびに培養液中の窒素濃度の差から、植物成長ならびに窒素吸収量について評価した。システム全体の窒素収支について明らかにするため、メタン発酵プロセス、生物酸化プロセス、栽培プロセスのそれぞれの入力物質ならびに出力物質に対して元素分析計を用いて窒素量を求めた。

4. 研究成果

生物酸化槽における窒素形態の動態

T-N、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ および有機態 N (Org-N) について、消化液を生物酸化槽に投入した直後の濃度、一日後の濃度およびその間の増加量を表 1 に示す。生物酸化槽では、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が $25 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ 減少し、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ が $24 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ 増加した。また、一日後に減少した T-N は、当初濃度の 0.5% 程度であり、窒素分の大気中への揮散等は僅かであった。Org-N の減少量は 0.7% 程度であり、Org-N が $\text{NH}_4^+\text{-N}$ に無機化され、さらに $\text{NO}_3^-\text{-N}$ へ硝化されたものも僅かであった。これらのことから、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の減少とほぼその濃度に等しい $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度の増加は、主に $\text{NH}_4^+\text{-N}$ が $\text{NO}_3^-\text{-N}$ へ転換されたことによるものと考えられた。

表 1 生物酸化槽における T-N、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ および Org-N の動態

	T-N	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$	Org-N
希釈消化液投入直後の濃度 (mg L ⁻¹)	578	79	227	272
24h 後の濃度 (mg L ⁻¹)	575	54	251	270
増加量 (mg L ⁻¹ day ⁻¹)	-3	-25	24	-2

生物酸化反応の高効率化・安定化

生物酸化消化液の $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度は、いずれの HRT においても CaCO_3 区が対照区に比べて高かった (図 2A)。両試験区とも HRT が小さくなるにつれて $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度が低下した。 CaCO_3 区では対照区に比べてより小さい HRT でも $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度が高く維持された。 CaCO_3 区の $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 転換速度は対照区に比べて高く、HRT が小さくなるにつれて上昇する傾向を示した (図 2B)。

CaCO_3 区の pH は HRT3 日を除いて対照区と比べて高かった (図 3)。このことから、 CaCO_3 区で $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 転換速度が高かったのは、 CaCO_3 の緩衝作用によって pH が高く維持されたことが要因として考えられた。これらから、高い投入負荷 (小さい HRT) でも CaCO_3 区で $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度が対照区に比べて高く維持された

のは、CaCO₃によって pH が高く維持され、NO₃⁻ 転換速度が高く維持されたことが理由として考えられた。

CaCO₃ 区の NO₃⁻ 比は生物酸化による NH₄⁺ から NO₃⁻ への転換が促進されたことで、対照区に比べて高くなった。投入負荷が大きくなるにつれて NO₃⁻ 比は減少した。市販培養液の NO₃⁻ 比 (91.0%) に近い値を示したのは、CaCO₃ を投入して HRT7 日で運転した条件であった。

以上より、CaCO₃ の投入によって、高い投入負荷でも消化液中の NH₄⁺ から NO₃⁻ への転換が促進され、養液栽培用培養液としての利用可能性が大きく向上することが明らかになった。

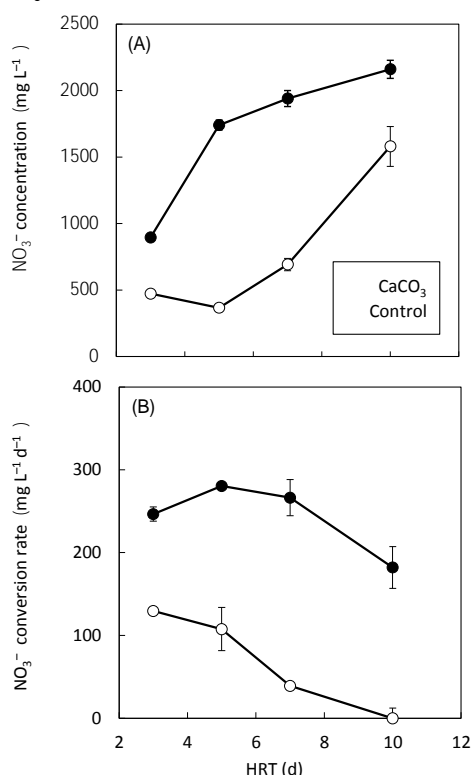


Figure 2. Effect of hydraulic retention time with and without CaCO₃ on NO₃⁻ concentration (A) or NO₃⁻ conversion rate (B). Mean ± SE (n = 5).

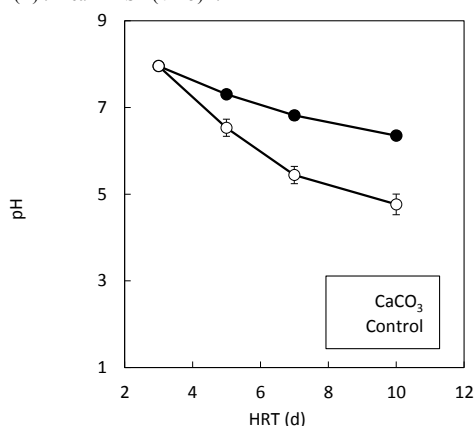


Figure 3. Effect of hydraulic retention time with and without CaCO₃ on pH. Mean ± SE (n = 5).

植物成長・窒素吸収の評価

メタン発酵消化液 (消化液) および消化液を

生物酸化した液 (改質消化液) をキュウリ養液栽培の培養液に用いて、第一本葉展開後 1 週間の成長解析を行った。消化液および改質消化液は窒素濃度を基準としてそれぞれ希釈した。キュウリの相対成長速度 (RGR) は、改質消化液を用いたものが消化液を用いたものに比べて 3.72 倍大きかった。純同化速度 (NAR)、葉重あたりの葉面積 (SLA)、葉重量比 (LWR) はそれぞれ 1.83 倍、1.31 倍、0.85 倍であった。化学肥料を用いて育成したキュウリと比較すると、改質消化液を用いたものの RGR、NAR、SLA、LWR はそれぞれ 0.84 倍、0.88 倍、0.98 倍、0.99 倍だった。以上のことから、消化液による高アンモニア濃度障害が生物酸化によって大きく緩和された結果、葉の光合成能力、葉へのバイオマス分配ならびに展葉能力が回復したことから、ならびに成長をさらに高めるためには光合成能力の向上が課題であることがわかった。改質消化液は化学肥料に比べて鉄イオンの濃度が低かったことから、鉄イオンの添加が成長向上に有効である可能性がある。

本技術が資源循環的植物栽培に及ぼす効果

消化液の生物酸化処理によって、養液栽培における培養液としての消化液の利用可能性がどのくらい向上するか定量的に評価した。メタン発酵プロセスではモデル生ごみが消化液に分解され、モデル生ごみに含まれる有機態窒素の約 70% が消化液中の無機態窒素のアンモニウム態窒素に転換された。同じ無機態窒素である硝酸態窒素は検出されなかった。続く生物酸化処理プロセスでは、好気条件下で消化液が硝化作用を受けて改質され、消化液中のアンモニウム態窒素の約 85% が改質消化液中の硝酸態窒素に転換された。トマトを対象とした湛水型ロックウール耕栽培実験では、消化液を培養液とした場合には生育初期に植物個体が枯死した一方、生物酸化した改質消化液の場合には、果実収穫まで植物が生育した。栽培中、改質消化液区の培養液中のアンモニウム態窒素ならびに硝酸態窒素濃度はそれぞれ 0 mg L⁻¹ 付近まで低下した。このことは、肥培管理を適切に行うことで、投入バイオマス中に含まれる窒素の約 70% が養液栽培における植物の窒素源として利用できることを示している。以上のことから、メタン発酵消化液を養液栽培で利用するにあたって、消化液の生物酸化処理は、窒素の循環利用性を飛躍的に向上させると結論づけられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

1. Effects of the interaction between vapor-pressure deficit and salinity on growth and photosynthesis of *Cucumis sativus* seedlings under different CO₂ concentrations.

- Shibuya, T., Kano, K., Endo, R., Kitaya, Y. *Photosynthetica*. in press. 2017. (査読有)
2. A comparative study on growth and morphology of wasabi plantlets under the influence of the micro-environment in shoot and root zones during photoautotrophic and photomixotrophic micropropagation.
Hoang, N.N., Kitaya, Y., Morishita, T., Endo, R., Shibuya, T. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. in press. 2017. (査読有)
 3. Light competition within dense plant stands and their subsequent growth under illumination with different red:far-red ratios.
Shibuya, T., Kishigami, S., Takahashi, S., Endo, R., Kitaya, Y. *Scientia Horticulturae* 213: 49-54. 2016. (査読有)
 4. Photosynthetic properties and response to drought in cucumber seedlings acclimatized to different vapor-pressure-deficit levels.
Shibuya, T., Kano, K., Endo, R., Kitaya, Y. *The Horticulture Journal*. in press. 2016. (査読有)
 5. Modifications of concentrations of plant macronutrient ions in digestate from anaerobic digestion during nitrification processes.
Takemura, K., Endo, R., Shibuya, T., Kitaya, Y. *Journal of Residuals Science & Technology* 13: 207-214. 2016. (査読有)
 6. Growth analysis and photosynthesis measurements of cucumber seedlings grown under light with different red to far-red ratios.
Shibuya, T., Hayashi, S., Endo, R., Kitaya, Y. *HortScience* 51(7):843-846. 2016. (査読有)
 7. Use of methane fermentation digestate for hydroponic culture: analysis of potential inhibitors in digestate to cucumber seedling.
Endo, R., Yamashita, K., Shibuya, T., Kitaya, Y. *Eco-engineering* 28(3):67-72. 2016. (査読有)
 8. Early development of powdery mildew on cucumber leaves acclimatized to illumination with different red-to-far-red ratios.
Itagaki, K., Shibuya, T., Tojo, M., Endo, R., Kitaya, Y. *HortScience* 51(5):530-536. 2016. (査読有)
 9. Atmospheric humidity influences on oviposition rate of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) through morphological responses of host *Cucumis sativus* leaves.
Shibuya, T., Itagaki, K., Ueyama, S., Hirai, N., Endo, R. *Journal of Economic Entomology* 109 (1): 255-258. 2016. (査読有)
 10. Development of powdery mildew fungus on cucumber leaves acclimatized to different CO₂ concentrations.
Itagaki, K., Shibuya, T., Tojo, M., Endo, R., Kitaya, Y. *HortScience* 50 (11):1662-1665. 2015. (査読有)
 11. Grafting transiently suppresses development of powdery mildew colonies, probably through a quantitative change in water relations of the host cucumber scions during graft healing.
Shibuya, T., Itagaki, K., Wang, Y., Endo, R. *Sci. Hortric.* 192:197-199. 2015. (査読有)
 12. Ground based study on culturing garlic as a source of vegetable food and medicine in space – Growth and ajoene accumulation in garlic plants cultured with different CO₂ regimes.
Naznin, M. T., Kitaya, Y., Shibuya, T., Endo, R., Hirai, H., Lefsrud M. G. *Biological Sciences in Space* 29: 1-7. 2015. (査読有)
 13. Microalgae culture with digestate from methane fermentation –Effects of digestate concentrations and pH on the growth of *Euglena gracilis*.
Khanh, N., Kitaya, Y., Xiao, L., Endo, R., Shibuya, T., *Eco-Engineering* 27 (1):7-11. 2015. (査読有)
 14. The photosynthetic parameters of cucumber as affected by irradiances with different red:far-red ratios.
Shibuya T., Endo, R., Yuba, T., Kitaya, Y. *Biol. Plantarum* 59 (1): 198-200. 2015. (査読有)
 15. Effects of soil water content on the growth

of sweet potato grown in sandy soil.
Siqinbatu, Kitaya, Y., Hirai, H., Endo, R.,
Shibuya, T.
Eco-Engineering 26 (3), 75-80. 2014.(査読
有)

遠藤 良輔 (ENDO, Ryosuke)
大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教
研究者番号：10409146

〔学会発表〕(計4件)

1. メタン発酵消化液を養液栽培に適用するための改質処理の検討 - 炭酸カルシウム投入によるアンモニアの硝化促進 -
遠藤良輔, 前田全敏, 武村憲二, 渋谷俊夫, 北宅善昭
生態工学会 2016 年次大会, 宮崎県宮崎市宮崎グリーンスフィア壱番館,
2016-06-24 - 2016-06-26
2. メタン発酵を導入した資源循環型トマト養液栽培の検討 エネルギー・物質の収支および LCCO₂ の解析
福嶋 志隆, 遠藤良輔, 武村憲二, 渋谷俊夫, 北宅善昭
日本農業気象学会 2016 年全国大会, 岡山県岡山市岡山大学, 2016-03-14 -
2016-03-17
3. トマト養液栽培で発生する植物残渣のメタン発酵による再資源化の検討,
遠藤良輔, 福嶋志隆, 武村憲二, 渋谷俊夫, 北宅善昭,
2015 生態工学会年次大会, 神奈川県川崎市明治大学, 2015-06-27 - 2015-06-28
4. Supplemental Macronutrients Improve the Effectiveness of Oxidized Anaerobic Digestate for Using as Nutrient Solution in Hydroponics ,
Ryosuke Endo, Kenji Takemura, Toshio Shibuya, Yoshiaki Kitaya ,
International Horticultural Conference 2014 , Brisbane, Australia , 2014-08-17 -
2014-08-22

〔図書〕(計1件)

閉鎖生態系・生態工学ハンドブック
大政 謙次(編集代表者) 遠藤 良輔他 51 名,
アドスリー 総ページ数 447(304 - 310), 2015
年 9 月

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

6. 研究組織

(1) 研究代表者