

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12430

研究課題名(和文) 海産バイオマス由来のメタン発酵残渣の海域利用に向けた新たな展開

研究課題名(英文) Utilization of biogas digestate for seaweed (nori) cultivation

研究代表者

黒田 桂菜 (Kuroda, Kana)

大阪府立大学・人間社会システム科学研究科・准教授

研究者番号：70708023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：メタン発酵残渣の色落ちノリへの有効性を明らかにすることを目的として、連続メタン発酵実験・ノリ培養実験を行った。その結果、混合メタン発酵によってメタン生成量や残渣成分が安定し、重金属類の濃度を制御できること、アオサ由来の残渣(液相)にはノリの色落ち解消となる微量金属成分が他のバイオマスに比べ多く含まれること、混合メタン発酵残渣を用いて培養したノリは、顕著な色回復を示すとともに、重金属の影響も小さいことがわかった。一方、微量金属が多い残渣(固相)の活用や実スケールを鑑みた残渣の使用方法などの技術的な課題に加えて、混合メタン発酵を実現させるための未活用バイオマスの収集シナリオについて課題が残った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、メタン発酵残渣を制御・管理し、海域で利用する可能性が具体的に示された。色落ちノリは喫緊の課題であり、メタン発酵残渣により化学肥料の施肥削減につながる。また、栄養塩の偏在の解消につながることも、栄養塩の適正管理に向けた新たな活路が見出されたといえる。加えて、メタン発酵残渣の処理が課題の一つであるメタン発酵技術の普及にもつながる。次に、アオサ由来の発酵残渣の特異な特徴を活かすことで、未価値同然の海産バイオマスの付加価値が向上し、未活用海産バイオマスに新たなインパクトを与えるものである。最後に、海を介した物質循環の健全化につながり、海陸一体型物質循環型社会の礎となる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to find valuable means of digestate by applying the digestate to decolored nori. Laboratory-scale experiments of continuous anaerobic digestion using three biomass (*Ulva* sp., vegetable and fishery waste) were conducted. The main findings from the continuous anaerobic digestion and nori cultivation with the digestate are as follows. Liquid phase produced from digestate of all the biomass contributed to a quick recovery from decolored conditions. From the safety viewpoints, the concentration of heavy metal (As and Hb) of cultured nori was lower than natural nori, and Cd and Hg were not detected. These results can contribute to a biogas society at proposing a circular economy with a marine viewpoint.

研究分野：海洋環境学

キーワード：メタン発酵残渣 色落ちノリ 栄養塩の偏在 海産バイオマス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大都市が隣接する閉鎖性海域である大阪湾では、過栄養状態に起因する緑藻類の爆発的な増殖によって海域環境に深刻なダメージが起きているとともに、南西部では本来黒色であるノリが茶褐色になるノリの色落ちが生じるなど貧栄養状態となり、いわゆる「栄養塩の偏在」が生じている。

若手研究(B)海産バイオマス由来のメタン発酵残渣のカスケード的利用に向けた試み(2016~2019)において、海産バイオマス由来のメタン発酵残渣を用いることで、ノリの色回復が顕著であること、人工海水に比べノリの色回復に大きく寄与することから、貧栄養海域における海洋肥沃化効果が十分見込めるとともに、海産バイオマスのユニークな特徴を海域で発展的に利用できる可能性が見出された。

本研究では、室内培養実験および実海域を模擬した水槽実験を通して、海産バイオマス由来のメタン発酵残渣の海域利用の有効性を明らかにする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、海産バイオマス由来のメタン発酵残渣の海域利用の有効性を明らかにすることである。そのため、海産バイオマス由来のメタン発酵残渣の特徴を踏まえた色落ちノリの回復に及ぼす効果・リスクについて、実海域を模擬した実験を通して明らかにする。さらに、未活用海産・陸産バイオマスを複合的に組み合わせ、色落ちノリの回復に向けた最大の効果が見込める発酵残渣の条件を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 残渣成分の特性の把握

連続メタン発酵実験

発酵方式は湿式中温発酵とし、種汚泥はメタン発酵プラントから採取した消化汚泥をジャーファーマンタ(35)で馴養した後、2週間飢餓状態にしたものを使用した。3つ口平底フラスコ(1L)に種汚泥780mlを入れ、1回の投入につき各試料の有機物濃度が3.0g-VS/L汚泥となるように投入した後、窒素置換を行った。試料投入時は、同量の汚泥を抜き取った。フラスコ内の汚泥の温度が38となるように温度調節した恒温槽内にスターラーを設置(130rpm)し発酵を行った。バイオガス(メタン、二酸化炭素)のガス分析は、ガスクロマトグラフ(GC-8A)を用いて行った。試料は、アオサ、漁業系廃棄物を模擬した魚、食品ゴミを模擬した野菜およびこれらの混合試料を用いた。

残渣成分分析

前処理として遠沈分離の後、0.45 μ mフィルターを用いて吸引ろ過を行い、液相と固相に分けて分析を行った。液相のアンモニア態窒素とリン酸態リン濃度は1000倍希釈した後、デジタルパケットテスト(共立理化学研究所,DPM-MT)を用いて各3回の測定を行い、平均値を算出した。残渣中の金属成分は液相と固相の両方について外部機関に分析を依頼した。分析項目は、海苔の肥料成分とされる微量金属Mg/Fe/Mnと重金属Hg/Pb/Cd/Asである。

(2) 発酵残渣を用いたノリ培養実験

液相添加実験

(1)の連続メタン発酵で得られた汚泥から遠沈分離と吸引ろ過によって得られた液相および硝酸態窒素を含む人工海水を培地として、色落ちさせたノリ(直径1cm)を投入した。培養液はすべてオートクレープで加熱殺菌(121,22分)したものを使用した。また、実験は人工気象器内で行い、照度4600lux、明暗周期は11L13D、温度は15で設定した。色調は分光測色計(KONICA MINOLTA, CM-700d)を用いて2日に1回測定し、3検体の平均をL*a*b*表色系で比較した。海苔の色調において最も重視されるL*値は73以上が色落ちの目安とされ、60付近で色落ちの初期的兆候であるとみなされる。また、a*値は-0.90以下が望ましいとされている。

水槽実験

60×30×36cmの水槽において、色落ちノリに混合試料由来のメタン発酵残渣を添加した。照明は水槽用3色LED(GEX)を使用した。明暗周期は11L13D、水温は室温としたが、海苔の養殖が行われる23以下の環境を維持した。換水は1週間に1回のペースで行い、色調測定も同時に行った。測定は葉長10cm以上の葉体を3枚選定し、葉元と葉先の2か所で測定を行った。摘採後の海苔の重金属含量について、外部組織に分析を委託した。

4. 研究成果

(1) 残渣成分の特性の把握

連続メタン発酵実験

発酵特性として、魚はバイオガス発生量が圧倒的に多いものの（図 1）、連続発酵ではアンモニア態窒素の蓄積によって阻害が発生する可能性が高いことがわかった。また、野菜は安定的にバイオガスを発生させるものの、メタン発生量は魚と比較して大幅に少ないという結果になった。アオサについて、野菜とほぼ同量のバイオガスが得られたが、発酵に時間を要することから、単体でのメタン発酵には不向きであることを確認した。一方、混合試料を用いた連続メタン発酵実験では、全体としてガス発生速度が速いことが明らかになった。このことから、アオサなど分解に時間がかかる試料も野菜や魚などの試料と混合することにより効率的に発酵を進められる可能性が示唆された。

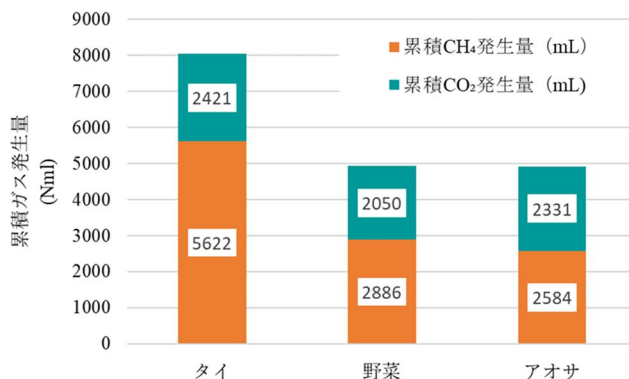


図 1 各単体試料の累積バイオガス発生量

残渣成分分析

魚を用いた残渣はアンモニア態窒素濃度が非常に高い点が特徴的であり、リン酸態リン濃度も上昇傾向にあることがわかった。アンモニア態窒素は、高濃度になるとメタン発酵を阻害するため、魚単体でのメタン発酵では希釈などの対策を講じなければならないことがわかった。一方、野菜の残渣では栄養塩濃度が低下していることがわかった。野菜は含水率が高く、試料の連続投入による汚泥の希釈が栄養塩濃度の低下を招いた原因であると考えられる。また、同じく水分が多いアオサではリン酸態リン濃度について若干の低下がみられることがわかった。混合試料において、アンモニア態窒素濃度は緩やかに増加しており、リン酸態リン濃度はほぼ横ばいで推移していることがわかった。このことから、肥料成分として一定の栄養塩濃度を保持しながら、長期的にメタン発酵の安定性を保つことが期待できる。

残渣中の微量元素および重金属について、ともに固相に多く存在することがわかった。魚は連続発酵を終えた時点でマグネシウムや鉄について顕著な増加が確認できた。アオサについては鉄が減少しているものの、マグネシウムとマンガンの濃度が高い点が特徴的であり、この両者については液相にも溶出が確認できた。一方、野菜については鉄やマンガンの値が試料投入無しのサンプルよりも低い結果となった。これは野菜の含水率が非常に高いため、試料投入を繰り返すことで汚泥が希釈され、汚泥中に最初から存在する微量元素濃度が低下してしまったことが原因であると推測される。また、試料を混合することによって、各残渣の短所を補うことができ、残渣成分が肥料利用に適した比率を保つことが明らかになった。そのため、複数のバイオマスの構成によって残渣中の肥料成分と重金属の含有量を制御できる可能性があると考えられる。

(2) 発酵残渣を用いたノリ培養実験

液相添加実験

(1) 残渣を添加した全ての培地で人工海水 (MESAW-A) と同等以上の色調回復が確認され、残渣が海苔の色落ちに対し薬品以上の施肥効果を発揮することが示された (図 2)。また、アオサ培地は PO₄-P 濃度が最も低いものの、人工海水と同程度まで色調が回復しており、アオサの液相に検出された微量元素が色調回復に関与していると考えられる。さらに、魚や野菜は液相中の微量元素は検出限界以下であったが、結果として人工海水培地以上の色調回復が確認できた。

アンモニア態窒素濃度を一定に揃えて施肥する場合、魚はアンモニア態窒素濃度が高く施肥量が少なく済む点は大きな利点であるが、液相中の N/P 比が高く、リン酸態リンの供給量が少なくなることがわかった。野菜は N/P 比が低く、栄養塩を同時に一定量供給できるが、施肥量が多くなるという欠点がある。このように栄養塩の含有量だけでなく、N/P 比を利用し海域で不足する栄養塩に合わせて施肥を行うことも一つの方法として有効であると考えられる。

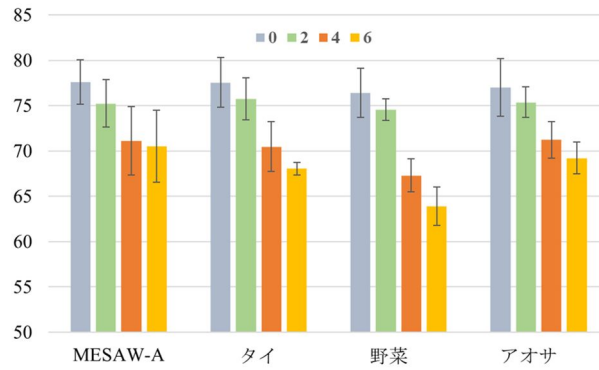


図2 液相添加実験におけるL*値の推移

水槽実験

水槽培養開始から摘採される2週間後までのL*値とa*値の結果から、L*値とa*値の両方で実験開始から7日までに目覚ましい色調回復効果が確認された(図3)。また、L*値では葉先と葉元で傾向に差がなかった一方、a*値では葉先でより赤みが強くなっていることがわかった。この結果から、海苔の葉先と葉元では色素の含有比率が異なっていると考えられ、葉先では赤色を呈するフィコエリスリンが多く増加し、葉元では緑色を呈するクロロフィルが多く増加したと推測される。また、海域で養殖されているノリ以上の重金属量は検出されなかったことから、残渣に含まれる重金属による影響は非常に小さいことがわかった。



図3 水槽培養における海苔の種紐の様子

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 K. Kuroda and R. Nishikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of digestate from methane fermentation using <i>Ulva</i> sp. and food waste for cultivation of decolorized <i>Pyropia yezoensis</i> (edible laver seaweed)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Sustainable Development Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.29333/ejosdr/8209	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 K. Higashio and K. Kuroda	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of anaerobic digestate for improving decolorized laver seaweed (Nori)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 9th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 S. Ito and K. Kuroda	4. 巻 -
2. 論文標題 Fundamental experiments about the effect of iron addition on methane fermentation: Focus on changes in microbial communities	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 9th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 K. Kuroda and K. Higashio	4. 巻 -
2. 論文標題 Utilization of biogas digestate for seaweed (nori) cultivation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of progress in biogas V	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Nakano and K. Kuroda	4. 巻 -
2. 論文標題 Effects of oyster shells on anaerobic digestion of fish wastes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the 10th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 L.A. Villalobos Robles and K. Kuroda	4. 巻 -
2. 論文標題 Biogas production from Sargassum ilicifolium: Solution for the golden tides in Quintana Roo, Mexico.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the 10th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 K. Higashio and K. Kuroda
2. 発表標題 Effect of anaerobic digestate for improving decolored laver seaweed (Nori)
3. 学会等名 9th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Ito and K. Kuroda
2. 発表標題 Fundamental experiments about the effect of iron addition on methane fermentation: Focus on changes in microbial communities
3. 学会等名 9th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Kuroda and K. Higashio
2. 発表標題 Utilization of biogas digestate for seaweed (nori) cultivation
3. 学会等名 Progress in Biogas V International online conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 L.A. Villalobos Robles and K. Kuroda
2. 発表標題 Biogas production from Sargassum ilicifolium: Solution for the golden tides in Quintana Roo, Mexico.
3. 学会等名 10th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Nakano and K. Kuroda
2. 発表標題 Effects of oyster shells on anaerobic digestion of fish wastes
3. 学会等名 10th East Asian Workshop for Marine Environment and Energy (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	伊藤 早希 (Ito Saki)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	東尾 華那 (Higashio Kana)		
研究協力者	中野 太嗣 (Nakano Taishi)		
研究協力者	ヴィラロボス ロブレス ルイス アントニオ (Villalobos Robles Luis Antonio)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関