

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06321

研究課題名(和文) 畜産系バイオマスの嫌気性膜分離プロセス構築と消化液の複合的機能創出

研究課題名(英文) Construction of anaerobic membrane process for livestock biomass and creation of multiple functions of digestate

研究代表者

吉田 弦 (Yoshida, Gen)

神戸大学・農学研究科・助教

研究者番号：60729789

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：メタン発酵の発酵速度の遅さに起因した発酵設備の巨大さと、消化液利用を解決するために、液体畜産バイオマスの嫌気性膜分離プロセス(嫌気性MBR)を構築することを目的とした。乳牛糞尿の液分を含む酪農廃水を基質として実験を行った。バイオガス収率はHRTが短くなるにつれて低下したが、メタン濃度は60%以上を維持した。嫌気性MBR消化液を利用した微細藻類の培養試験を実施し、消化液の利用可能性を評価した。嫌気性MBRの希釈倍率が2倍および10倍で最大の細胞増殖が観察された。以上から、嫌気性MBRによる液体畜産バイオマスのメタン発酵の高速化と、消化液の利用性の向上が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築の可能性が示されたプロセスにより、乳牛糞尿のバイオガス化に要する期間が大幅に短縮されることで発酵槽が小型化し、導入コストの低下が期待できる。また、消化液の性状や外観、安全性が向上することで複合的機能が創出され、利用可能性が拡大する。これらにより、畜産系バイオマスの新しいマテリアルフローを創出し、地域内資源循環の促進に貢献する。乳牛糞尿を固液分離して液分のみをメタン発酵に用いる研究がすで実証されているが、現状では大規模な酪農家を想定したものになっている。本研究では小規模の酪農家でも導入可能な小型のバイオガス化装置の開発を主目的としており、既報の研究を補完しうるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The objective was to construct an anaerobic membrane separation process (Anaerobic Membrane Bioreactor) for liquid livestock biomass in order to solve the problem of using digestate and the huge size of fermentation equipment due to the slow fermentation rate of methane fermentation. Experiments were conducted using dairy wastewater containing the liquid component of cow manure as substrate. Biogas yield decreased with shorter HRT, but methane concentration remained above 60%. A culture test of microalgae using AnMBR digestate was carried out to evaluate the usability of the digestate. Maximum cell proliferation was observed at 2-fold and 10-fold dilutions of anaerobic MBR. From the above, it was suggested that AnMBR accelerates the methane fermentation of liquid livestock biomass and improves the availability of digestate.

研究分野：農業環境工学

キーワード：嫌気性MBR メタン発酵 畜産バイオマス 乳牛糞尿 消化液利用 微細藻類

### 1. 研究開始当初の背景

畜産業、特に酪農においては乳牛糞尿を固液分離した液体分の処理にメタン発酵を導入して、エネルギーとしてバイオガスを回収して利用する事例が増加している。しかしながら、メタン発酵は滞留時間の長さ起因して巨大な発酵槽を必要とすることから、導入コストが高い。また、地域によっては発酵後の残渣である消化液の利用が困難である。消化液を圃場散布する以外に施設栽培や藻類培養に用いるという需要があるが、懸濁成分(SS)や雑菌の除去といった前処理が必要であり、直接利用は難しい。そのためメタン発酵設備の普及は限定的である。そこで本研究ではメタン発酵槽の小型化と消化液の高品質化を両立するため、液体乳牛糞尿のバイオガス化に膜分離型メタン発酵プロセス(嫌気性 MBR: Membrane Bioreactor)を適用する。嫌気性 MBR は、発酵槽にろ過膜を設置することで、微生物のウォッシュアウトを抑制し滞留時間を短縮することが可能である<sup>(1)</sup>。また排出される消化液は膜ろ過されており、懸濁成分や菌体が除去されていることから、通常の圃場散布以外にも藻類培養や施設栽培への適用など、利用範囲の拡大が期待できる。本研究では、液体畜産系バイオマスの膜分離型メタン発酵プロセスを構築することで、特に小規模な酪農施設でのコンパクトなバイオガスエネルギー回収と高品質消化液の利活用による、新たなマテリアルフローの創出を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究では液体畜産系バイオマスとして固液分離後の乳牛糞尿の液分を主体とする酪農廃水を対象とした。まず嫌気性 MBR における発酵槽を小型化できるような運転条件、すなわち水理学的滞留時間(HRT)を従来の嫌気性消化よりも短くして、バイオガス化を達成しうる運転方法を提示することを目的とした。さらに得られた消化液品質を科学的、生物学的に評価した。膜ろ過消化液(嫌気性 MBR 廃液)を用いた微細藻類培養特性を評価することで、嫌気性 MBR が消化液の利用可能性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 嫌気性 MBR による液体畜産バイオマスのメタン発酵

図1に嫌気性 MBR の概要を示す。嫌気性 MBR は、ジャーファーマンタを使用した消化槽と外付型のチューブラ型膜モジュールから構成される。膜モジュール内には、孔径 0.2 μm の中空糸膜を設置した。リアクタ全体の有効容積は 3 L とした。消化槽は 37°C に維持し、攪拌を常時行った。投入原料は送液ポンプを用いて毎日投入した。投入原料には、関西地区の牧場で採取した酪農廃水を水道水で希釈して用いた。投入原料の性状を表1に示す。チューブラ型膜モジュールの膜面に対して、槽内液をポンプにより循環させた平行な流れにより、膜表面へせん断力を与えることで膜ろ過を行った。また、リアクタ内の汚泥と膜ろ過液の排出は、送液ポンプを用いて毎日行った。リアクタに設置したガスバッグによりバイオガスを捕集し、回収後のバイオガス量の測定を湿式ガスメータにより行った。Run0 から Run4 の間、HRT を変えながら嫌気性 MBR の連続運転を行った。なお、Run0 は、馴養期間(HRT20日)とした。以降のRunでは原料の投入量を増やすことにより、HRTを20日、10日、8日および5日と短縮して運転を実施した。

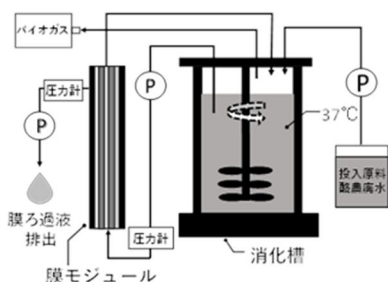


図1 嫌気性 MBR 概要

表1 投入原料の性状

TS (mg/L)	20,000
VS (mg/L)	14,000
SS (mg/L)	8,000
COD (mg/L)	24,000

#### (2) 微細藻類培養による嫌気性 MBR 廃液の品質評価

上記(1)より回収した嫌気性 MBR 廃液の品質評価を微細藻類の培養により実施した。最適な嫌気性 MBR 廃液の希釈倍率を明らかにするための培養試験を行った。嫌気性 MBR 廃液を採取し、人工海水で希釈した。希釈倍率は2倍、10倍、20倍、50倍の4パターンとし、ポジティブコントロールとして IMK 培地を採用した。供試藻類として脂質生産性に優れた海産性微細藻類である *Nannochloropsis oculata* (NIES-2145) を使用した<sup>(2)</sup>。各培地 19 mL に藻類を含む培養液を 1 mL 添加し、初期細胞数が  $3.0 \times 10^5$  cells/mL になるように調整した。25 °C、光量 115 μmol/m<sup>2</sup>/s、LED24 時間連続照射条件下、15 日間の培養を行った。藻類の成長特性を調査するため 2~3 日ごとに

各培地を顕微鏡で観察し、細胞数をカウントし細胞密度 (cells/mL) を算出した。また、培養前後の培地中のリン酸イオン濃度を測定した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 嫌気性 MBR による液体畜産バイオマスのメタン発酵

図 2 に嫌気性 MBR の連続運転におけるメタン濃度およびバイオガス収率の経時変化を示す。平均メタン濃度は、Run1 および Run2 でそれぞれ 68%、71% であり、いずれの期間においてもメタン発酵が正常に行われていることが示された。また、メタン発酵における有機物のバイオガスへの変換効率を示すバイオガス収率は、それぞれの期間を平均して、Run1 で  $0.43 \text{ m}^3/\text{kg-VS}$ 、Run2 で  $0.40 \text{ m}^3/\text{kg-VS}$  であった。Run3、Run4 それぞれで HRT8 日と HRT5 日で運転を継続したところ、メタン濃度はそれぞれ 73%、73% となり、メタン発酵状態を維持した。一方でバイオガス収率は、それぞれ  $0.30 \text{ m}^3/\text{kg-VS}$ 、 $0.22 \text{ m}^3/\text{kg-VS}$  となり低下した。槽内の汚泥性状を調査すると、HRT が短くなるにつれて TS に対する SS の比率が増加した。これは SS の分解率の低下、すなわち可溶性性能が低下していることを示唆した。また、槽内微生物相の解析を実施したところ、特にセルロースの分解に関与する細菌の存在割合が低下していた。以上から、液体畜産バイオマスの嫌気性 MBR によるメタン発酵において、HRT の短縮により、加水分解性能の低下に伴うバイオガス収率の減少が起こることが示された。しかしながら、有機酸の蓄積や pH の低下などメタン発酵の破綻に繋がることはなく、結果的に HRT5 日という高速運転を達成することが可能であった。

また、連続運転時の膜の目詰まりを評価するために、膜フラックスをモニタリングした。フラックスはいずれの運転条件においても  $0.10 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{d}$  から  $0.20 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{d}$  の間で推移しており低下することはなかった。このことから運転中に顕著なファウリングが発生していないことが示された。

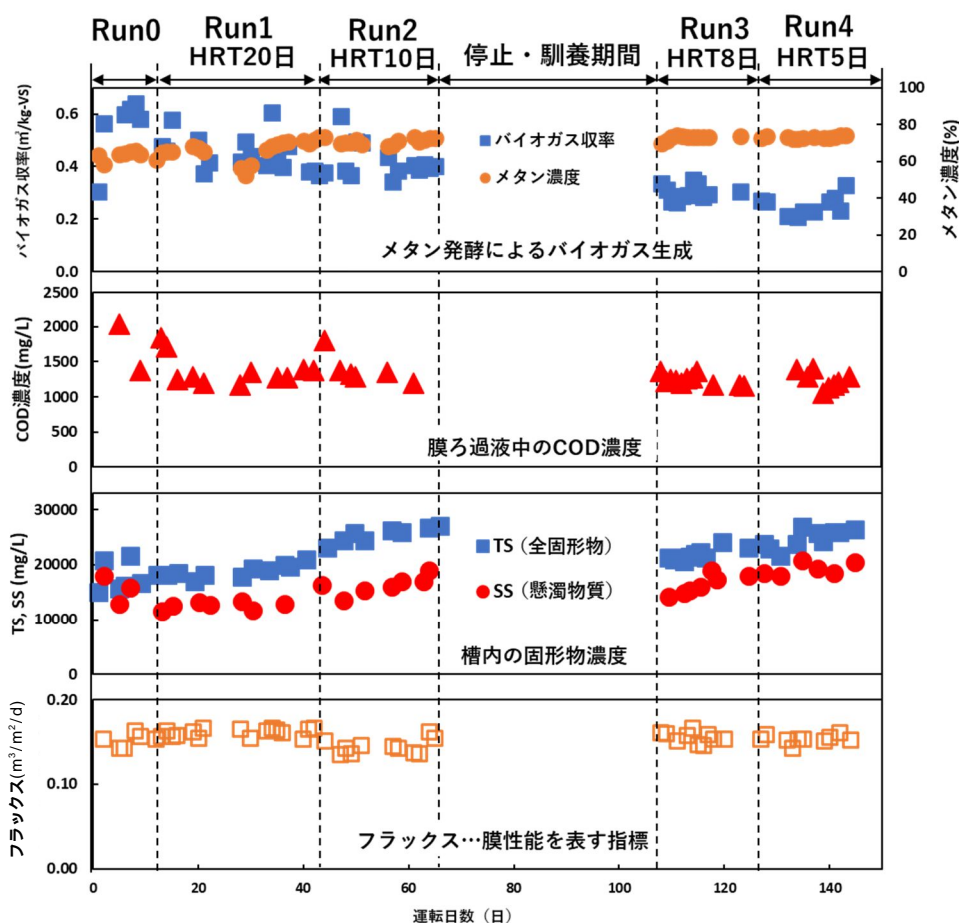


図 2 嫌気性 MBR による酪農廃水のメタン発酵における運転性能

##### (2) 微細藻類培養による嫌気性 MBR 廃液の品質評価

図 3 に嫌気性 MBR 廃液を利用した微細藻類 *Nannochloropsis Oculata* の増殖曲線を示す。また、図 4 には培養における培地中のリン酸除去率、表 2 には用いた培地の性状を、表 3 には藻類培養における比増殖速度  $\mu$  を示す。2 倍および 10 倍希釈嫌気性 MBR 廃液培地においてポジティ

ブコントロールである IMK 培地と同等の増殖を示した。従って 2-10 倍希釈の嫌気性 MBR 廃液には *Nannochloropsis Oculata* の増殖のために十分な栄養塩が含まれているとともに、成長を阻害するような物質が含有していない可能性が示された。一方で希釈倍率を 20 倍以上にすると培地中の栄養塩濃度が低くなり、増殖が制限される可能性が示唆された。特に、20 倍以上の希釈倍率では、ポジティブコントロールである IMK や良好な成長がみられた 2 倍および 10 倍希釈嫌気性 MBR 廃液と比較すると、窒素源、リン源ともに少ないことが示された。

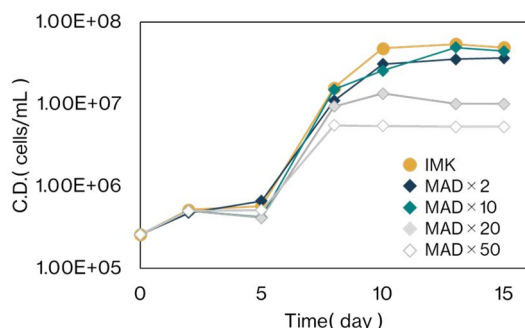


図 3 微細藻類の増殖曲線

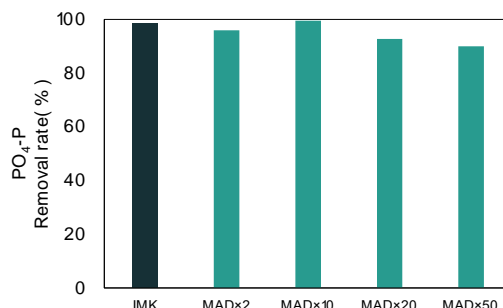


図 4 微細藻類培養におけるリン酸除去

表 2 藻類培養培地の性状

培地	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)
IMK	2.08	33.34	0.66
x 2 AnMBR	131.0	0.15	5.65
x 10 AnMBR	26.20	0.03	1.13
x 20 AnMBR	13.10	0.02	0.57
x 50 AnMBR	5.24	0.01	0.23

表 3 藻類培養における比増殖速度

培地	$\mu(\text{day}^{-1})$
IMK	0.63
x 2 AnMBR	0.57
x 10 AnMBR	0.58
x 20 AnMBR	0.49
x 50 AnMBR	0.36

以上より、嫌気性 MBR を用いることで、液体畜産バイオマス（酪農廃水）を原料としたメタン発酵を高速化できる可能性が示された。また、嫌気性 MBR 廃液を用いて脂質生産性藻類である *Nannochloropsis* の培養が可能であることが示された。これらにより、炭素源だけでなく栄養塩も含めた、畜産分野における新たな資源循環のためのマテリアルフローを構築できる可能性が示唆された。

#### 参考文献

- (1) Jaeho Ho, Shihwu Sung (2010): Methanogenic activities in anaerobic membrane bioreactors (AnMBR) treating synthetic municipal wastewater, *Bioresource Technology*, 101, 2191-2196.
- (2) Rodolfilla L., Zittelli C., Grazie et al. (2003) : Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. mass cultivation, *Biomolecular Engineering* 20 (4-6) , 243-248.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 吉田弦	4. 巻 9
2. 論文標題 AnMBRを利用した畜産バイオマスの資源循環プロセスの構築	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 86-88
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 吉田弦	4. 巻 2
2. 論文標題 メタン発酵の高速化のための二相式AnMBR-UASBプロセスの開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 84-86
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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲垣恵太, 吉田弦, Andriamanohiarisoamanana Fetra J, 井原一高
2. 発表標題 嫌気性MBR廃液を利用した微細藻類培養技術の開発
3. 学会等名 第79回農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田文仁, 森川聡太, 吉田弦, 井原一高
2. 発表標題 液体畜産バイオマスの循環利用のための嫌気性膜分離リアクタの開発 固液分離によるメタン発酵の高速化
3. 学会等名 関西農業食料工学会第147回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲垣恵太, 吉田弦, 井原一高
2. 発表標題 膜ろ過とpH 調整による藻類培養のためのメタン発酵消化液の改質
3. 学会等名 2021年農業施設学会学生・若手研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村田百花, 吉田弦, 井原一高
2. 発表標題 嫌気性MBRによる液体畜産バイオマスのメタン発酵高速化
3. 学会等名 関西農業食料工学会第145回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲垣恵太, 吉田弦, 井原一高
2. 発表標題 藻類培養に適したメタン発酵消化液の前処理方法の開発
3. 学会等名 関西農業食料工学会第145回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田文仁、吉田弦、Fetra J.Adriamanohiarisoamanana、井原一高
2. 発表標題 嫌気性MBRによる液体畜産バイオマスのメタン発酵特性の評価
3. 学会等名 2022年度農業施設学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲垣恵太, 池田文仁, 吉田弦, 井原一高
2. 発表標題 膜分離型メタン発酵消化液を利用した微細藻類の培養
3. 学会等名 第80回農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田弦, 稲垣恵太, 池田文仁, ANDRIA Fetra, 井原一高
2. 発表標題 嫌気性MBRと藻類培養による畜産バイオマスの循環利用
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------