

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21380149

研究課題名（和文）エタノール発酵廃液の農地施用が土壤環境に及ぼす影響評価に関する研究

研究課題名（英文）Effects of vinasse application on the soil environment

## 研究代表者

宮本 輝仁（MIYAMOTO TERUHITO）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・農村工学研究所・農地基盤工学研究領域・主任研究員

研究者番号：40343983

研究成果の概要（和文）：バイオエタノールの製造過程で排出されるエタノール発酵廃液の農地施用が土壤環境に及ぼす影響について、微生物の増殖、透水性の低下、乾燥時の撥水性の発現やエタノール発酵廃液に含まれる溶存有機物の移動特性などの点から評価した。エタノール発酵廃液に含まれる栄養分により増殖した微生物の土粒子への付着や懸濁物による間隙の閉塞が水・物質移動に大きく関わっていることが確認された。エタノール発酵廃液の適切な農地還元方法を確立するためには、土壤物理特性の変化を考慮する必要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Up to 20 L of vinasse can be generated for every 1 L of bioethanol produced. Therefore, it has become important to establish a sustainable system for recycling vinasse that includes its application to land. To better understand the effect of vinasse application on soil environment, we investigated growth of microorganisms because it is rich in nutrients, reduction in hydraulic conductivity due to physical clogging of soil pores by suspended solids and biological components, soil water repellency due to microbial activity, and transport property of dissolved organic matter from sugarcane-molasses ethanol vinasse in soils. Our study suggested that soil physical properties should be considered in order to develop an appropriate method for application of vinasse to land.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2011年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2012年度	2,000,000	600,000	2,600,000
総計	11,700,000	3,510,000	15,210,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学、農業土木学・農村計画学

キーワード：土壤環境・物質循環・バイオエタノール・農地還元・バイオマス

## 1. 研究開始当初の背景

化石燃料の代替エネルギーとしてバイオエタノールが注目され、その製造・利用に関する研究・実用化技術の開発が盛んに行われている。しかし、1リットルのバイオエタノ

ールを製造するに当たり10～20リットル前後の廃液が排出されるといわれており、エタノール発酵廃液の処理は、バイオエタノールを含め、バイオマス資源を有効活用して循環型社会を構築していくための重要な

課題である。

エタノール発酵廃液に含まれる化学成分は原材料によって異なるが、窒素、リン酸、カリウムなどの肥料成分も含まれる。例えば、サトウキビやテンサイ由来のエタノール発酵廃液は、カリウムが他の成分に比べて高く、木材などのセルロース系のエタノール発酵廃液は窒素を多く含む。このようにエタノール発酵廃液には肥料成分も含まれるため、農地に還元して作物栽培で有効利用することが検討されている。研究代表者たちも参画している農林水産省委託プロジェクト研究「地域活性化のためのバイオマス利用技術の開発」においても、バイオマスを有効に利活用して循環型社会を構築していくため、エタノール発酵廃液の作物栽培への利活用の可能性が検討されている。

しかし、これまでのエタノール発酵廃液の農地還元に関する研究は作物生育の側面からのアプローチが多く、土壌環境の側面からの研究アプローチは少ない。人為的に農耕地環境内に新たな物質を導入する際には、作物に害がないかを確認することは重要であるが、新たな物質を有効利用して持続的な農業を展開していくためには、農耕地環境への影響についても併せて解明を進めることが必要不可欠である。

研究代表者たちはエタノール発酵廃液の農地土壌への影響を観察するためにエタノール発酵廃液を島尻マージ土壌に供与する予備試験を実施したところ、エタノール発酵廃液中の懸濁物質による目詰まりや土壌分散による透水性の低下、土壌乾燥時の撥水性、微生物の繁殖等が観察された。これらの観察結果はエタノール発酵廃液の農地施用により土壌劣化を引き起こすことを示唆している。そのため、エタノール発酵廃液の農地還元を考える場合、農地土壌中におけるエタノール発酵廃液の動態および農地施用による土壌環境の変化の両方の側面から追究を行なっていくことが必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、エタノール発酵廃液の農地還元による土壌劣化メカニズムを解明するとともに、エタノール発酵廃液の連用が土壌環境に及ぼす影響を評価することを目的とする。特に、エタノール発酵廃液の農地還元による物質移動特性への影響を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) エタノール発酵廃液の農地還元が農地土壌環境におよぼす影響のレビュー

これまで行われたエタノール発酵廃液の作物栽培への利用のための試験研究に加え、エタノール発酵廃液の農地還元による土壌の物理性、化学性、微生物特性の変化と不飽

和土層内での窒素・炭素の動態に関する研究についてレビューを行った。

## (2) 用いたエタノール発酵廃液について

本研究では、エタノール発酵廃液の試料として、さとうきび廃糖蜜のエタノール生産過程から排出された廃液を用いた。エタノール発酵廃液の一般的な性質は表1に示す。

表1 本研究で用いたエタノール発酵廃液の一般的な性質

Color	Dark brown
Specific gravity	1.05
pH	4.06
EC (S m <sup>-1</sup> )	10.5
Losses on ignition (g g <sup>-1</sup> )	0.58
TOC (mg L <sup>-1</sup> )	33,000
TN (mg L <sup>-1</sup> )	1,150
PO <sub>4</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	375
Cl (mg L <sup>-1</sup> )	9,560
Na (mg L <sup>-1</sup> )	528
K (mg L <sup>-1</sup> )	13,700
Ca (mg L <sup>-1</sup> )	1,990
Mg (mg L <sup>-1</sup> )	1,240
COD <sub>mn</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	43,600
BOD (mg L <sup>-1</sup> )	21,700
Total solid (mg L <sup>-1</sup> )	93,800
Suspended solid (mg L <sup>-1</sup> )	
> 8 μm	1,532
1.2 μm < and < 8 μm	1,726
0.45 μm < and < 1.2 μm	445
0.22 μm < and < 0.45 μm	130

## (3) エタノール発酵廃液の投与による土壌の培養試験

黒ボク土にエタノール発酵廃液、γ線による滅菌処理をしたエタノール発酵廃液、脱イオン水をそれぞれ圃場容水量の60%添加した土壌試料を準備し、25℃で1週間培養した後、希釈平板法で細菌と菌類を計数した。

## (4) エタノール発酵廃液の投与による透水係数の測定

### ①飽和透水係数

2mm篩いを通過させた黒ボク土を100cm<sup>3</sup>サンプラーに充填し、飽和透水係数は変水位法により求めた。初期の飽和透水係数は脱イオン水で測定し、その後、エタノール発酵廃液で測定した。測定は3反復行い、測定後、土壌試料は飽和したまま25℃で1日静置した後、再びエタノール発酵廃液で飽和透水係数を測定した。これを9日間繰り返した。

### ②不飽和透水係数

内径6cm、高さ40cmのアクリルカラムに2mm篩いを通過させた黒ボク土を充填し、フラックス制御法により不飽和透水係数を測

定した。

初めに脱イオン水で-3~-8kPaのマトリックポテンシャル範囲の不飽和透水係数を測定した。

次にエタノール発酵廃液に切り替えて測定した。実験初期の表層から2.5、7.5、12.5cmのマトリックポテンシャルが-3kPa、-6kPa、-8kPaでほぼ一定となるようにフラックスを制御した（それぞれ、高、中、低フラックス条件と呼ぶ）。

3種類のフラックス条件下で表層から2.5、7.5、12.5、17.5、22.5、27.5、32.5、37.5cmの8深度でマトリックポテンシャルをテンシオメータで測定するとともに排水量を経時的に測定した。測定はカラム表面が微生物で覆われ、浸透が大きく抑制されるまで続けた。

#### (5) エタノール発酵廃液に含まれる溶存有機物の移動特性

エタノール発酵廃液の溶存成分のみを抽出するため、0.22 $\mu$ m フィルターを通過した試料を実験に使用した（表1）。エタノール廃液の溶存有機炭素（DOC）濃度は、6万ppm以上で、非常に多量の有機物を含んでいる。また、土壌試料として、2mm篩いを通過させた島尻マーヅ、黒ボク土、豊浦砂を用いた。

エタノール廃液に含まれる溶存有機物の土壌中での分解速度を調べるため、濾過廃液2mLを島尻マーヅ土壌（乾土10g相当）に添加して25 $^{\circ}$ Cの恒温室で静置培養し、微生物分解により発生する二酸化炭素量を測定した。操作は、3連で行った。

溶存有機物の吸着量の測定は、バッチ試験により行った。まず、濾過廃液を希釈し（1:500-1:10）、各土壌2gと希釈された蒸留廃液40mLを遠沈管に入れ、25 $^{\circ}$ Cの室内条件で24時間遠沈管を振とうした。振とう終了後、遠心分離し、上澄み液を約30mL採取した。そして、上澄み液のTOCとpHを測定し、浸とう前後のTOC濃度の差から、DOC吸着量を計算した。

内径7cm、高さ10cmのアクリルカラムに各土壌を充填し、土壌カラムを作成した。希釈した濾過廃液（1:100）を一定流量でカラム上端から供給し、下端から排出される溶脱液を採取した。そして、採取液のpH、TOC濃度を測定した。

#### (5) エタノール発酵廃液の添加による土壌の撥水性の発現

島尻マーヅ土壌にエタノール廃液を異なる希釈率で添加し、乾燥させた試料（風乾マーヅ試料）の撥水性強度を測定した。この際、撥水性発現における微生物の影響を明らかにするため、廃液を添加した試料を、空気は通すが微生物は通さない材料でできたパッ

クに入れて乾燥させた試料（パック内風乾マーヅ試料）、及びパックに入れた後ガンマ線照射して滅菌し、パック内で乾燥させた試料（滅菌マーヅ試料）についても撥水性強度を測定した。

#### (6) エタノール発酵廃液の投与による拡散係数の測定

2mm篩いを通過させた黒ボク土を100cm<sup>3</sup> サンプラーに充填し、脱イオン水で飽和させた後、3ポアボリューム相当のエタノール発酵廃液を浸透させて脱イオン水と置換した。25 $^{\circ}$ Cの恒温室で7日間静置培養した後、加圧板法で所定のマトリックポテンシャルで平衡させた。多孔質体ガス拡散測定装置により拡散係数を測定し、気相率と拡散係数の関係を脱イオン水の場合と比較した。

### 4. 研究成果

#### (1) エタノール発酵廃液の農地還元が農地土壌環境におよぼす影響のレビュー

エタノール発酵廃液には肥料成分が含まれるため、処理方法の一つとして農地還元が挙げられる。しかし、pHが低いことや電気伝導度が高いこと、溶存有機物を多く含むことなど、多量に農地還元された場合、農地土壌環境へ大きなインパクトを与えることが懸念される。そこで、作物栽培への利用のための試験研究に加え、エタノール発酵廃液の農地還元による土壌の物理性、化学性、微生物特性の変化と不飽和土層内での窒素・炭素の動態に関する研究成果のレビューを行った。その結果、エタノール発酵廃液の投与により土壌微生物活動が活発となり、土壌水分保持特性、土の濡れ性、土壌中の物質移動現象に大きく影響を及ぼすことが示唆される研究成果が散見されたが、それぞれの現象は今後、更なる研究が求められる状況であることを確認した。

#### (2) エタノール発酵廃液の投与による土壌微生物の増加

希釈平板法により計数された、脱イオン水を投与したときの細菌数は $2.5 \times 10^7$  cfuであり、菌類数は $3.0 \times 10^5$  cfuであった。これに対して、エタノール発酵廃液を投与した土壌では細菌数は $1.6 \times 10^8$  cfu、菌類数は $4.0 \times 10^8$  cfuであった。 $\gamma$ 線で滅菌処理したエタノール発酵廃液を投与した土壌では細菌数は $1.3 \times 10^8$  cfu、菌類数は $2.6 \times 10^8$  cfuであった。滅菌処理の有無による差は有意なものではなかった。これらの結果の比較からエタノール発酵廃液自体には微生物はほとんど含まれておらず、エタノール発酵廃液に含まれる栄養分が土壌への投与により土壌微生物を増殖させることが考えられた。

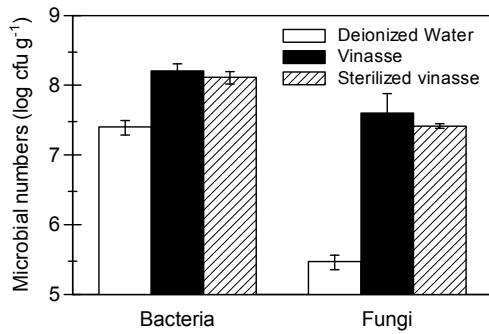


図1 エタノール発酵廃液の投与による微生物の増殖

### (3) エタノール発酵廃液の投与による透水性の低下

#### ①飽和透水係数

エタノール発酵廃液を用いて飽和透水係数を測定したところ、急激な飽和透水係数の低下が4日後までに観察された。その後5日間は2オーダー低下したままで推移した。

また、1回の測定で3反復する間にも飽和透水係数は低下した。そのため、飽和透水係数の低下には、エタノール発酵廃液中に含まれる懸濁物質による間隙の閉塞と微生物の増殖による間隙の閉塞の両方が考えられた。3反復中の低下を懸濁物質によるもの、ある日の3回目の測定値と1日培養後の測定値の差を微生物の増殖によるものと仮定すると、飽和透水係数の低下の73~92%は懸濁物質によることを見積もられ、エタノール発酵廃液の投与による短期間での飽和透水係数の低下要因として、懸濁物質による間隙の閉塞が大きく寄与していることが確認された。

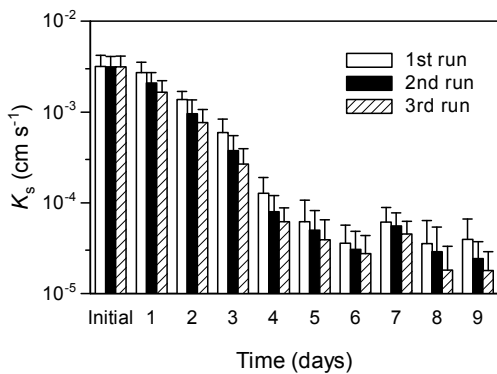


図2 エタノール発酵廃液投与による飽和透水係数の経時変化

#### ②不飽和透水係数

エタノール発酵廃液を投与すると、表層付近のマトリックポテンシャルが増加することが確認された。高フラックス条件下では、4日後には表層2.5 cm深さのマトリックポ

テンシャルは-2 kPaを超えた。中、低フラックス条件下では6日後に、マトリックポテンシャルが-2 kPaを超えた。エタノール発酵廃液の投与の影響は、高フラックス条件では12.5 cm深さまで、中フラックス条件では7.5 cm深さまで、低フラックス条件では2.5 cm深さまで顕著に表れた。エタノール発酵廃液の投与による物理的閉塞と生物的閉塞の両方が生じることにより、表層付近でのマトリックポテンシャル値の急激な増加が起こったと考えられた。

マトリックポテンシャルの変化とは対照的にカラム実験中の排水速度はあまり変化しなかった。平均排水速度は高フラックス条件で  $5.7 \times 10^{-5}$  cm/s、中フラックス条件で  $2.25 \times 10^{-5}$  cm/s、低フラックス条件では  $1.07 \times 10^{-5}$  cm/s であり、定常フラックス条件となっていた。エタノール発酵廃液投与後の不飽和透水係数を脱イオン水を用いて測定した不飽和透水係数で除した値の経時変化を図3に示す。高フラックス条件では1日後に急激に減少したが表層2.5-7.5 cmでは再び増加し、7.5-12.5 cmでは低下したままで推移した。中、低フラックス条件では、表層2.5-7.5 cmの不飽和透水係数は4日後まで減少し、その後はほぼ一定で推移した。減少幅は1オーダー以内であった。

不飽和透水係数は時間の他にマトリックポテンシャルの関数でもある。エタノール発酵廃液を投与し続けるとマトリックポテンシャルは増加するが、排水量はあまり変化がなかった。そのため、算定された不飽和透水係数は、同一のマトリックポテンシャル値で見ると実験終了時には2オーダー低下したことになる。この低下はエタノール発酵廃液を投与することにより、生物的閉塞と懸濁物質による物理的閉塞の両方が生じ、間隙分布を変化させたことに起因すると考えられた。

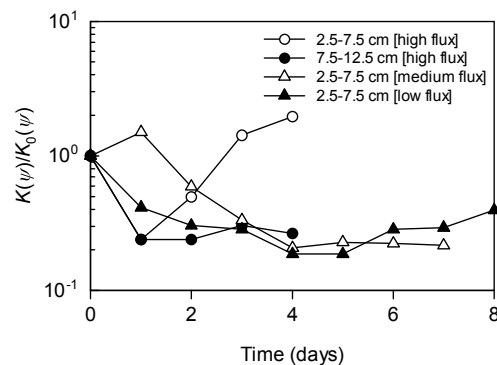


図3 エタノール発酵廃液投与による不飽和透水係数の経時変化

### (4) エタノール発酵廃液に含まれる溶存有機物の移動特性

エタノール発酵廃液に含まれる DOC は、7

日目までに急激に分解が進み、7日目から28日目までは、緩やかに分解が進んだ。培養4日目までの分解率は49%であり、培養28日目までの分解率は59%であった。このため、廃液に含まれるDOCは、農地施用後1ヶ月以内に6割前後が分解されることが示唆された。

DOC初期濃度が630 mg L<sup>-1</sup>の場合、添加されたDOCに対して、島尻マージは28%、黒ボク土は30%、豊浦砂は0%吸着された。豊浦砂は、粘土分を含まないため、DOCは吸着しなかった。また、島尻マージのDOC吸着量は、黒ボク土よりも若干小さかった。

土壌カラム浸透実験の結果から、吸着特性の結果と同様に、豊浦砂、島尻マージ、黒ボク土の順にDOCの移動が遅延することが示された(図4)。また、島尻マージと黒ボク土では、吸着に加えて微生物分解の影響により、溶脱液の最大DOC濃度は添加溶液のDOC濃度まで上昇しなかった。一方、豊浦砂では、微生物分解が殆ど生じないため、添加した廃液のDOC濃度と同等まで溶脱液のDOC濃度が上昇したと考えられた。

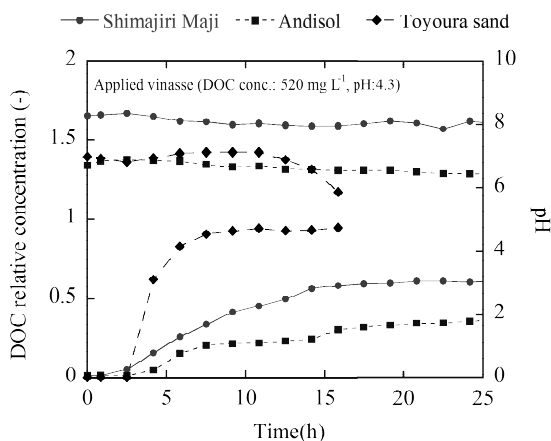


図4 カラム実験における溶脱液のDOC濃度とpH

#### (5) エタノール発酵廃液の添加による土壌の撥水性の発現

風乾マージ試料では撥水性が発現したが、パック内風乾マージ試料、滅菌マージ試料では、撥水性が現れなかった(図5)。ガンマ線を照射して滅菌すると撥水性が発現しないことから、対象試料の撥水性は、廃液中に多量に含まれる有機物に疎水性を示す成分が含まれているためではなく、微生物の作用によりもたらされていると考えられた。風乾マージ試料の撥水性は、添加量が多いほど強かったが、添加量を0.5 g/gに増加させた際には弱まった。これは、添加量が多く液相中の廃液濃度が高すぎて、微生物が繁殖出来ないためと推察された。

廃液試料の<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを測定したところ、エタノール由来と考えられるピーク

が卓越する他、アルキル錯由来のピークも認められたが、その強度は低く、発酵廃液自体は乾燥しても撥水性をもたらさないと考えられる。滅菌していないマージ試料でも、微生物を通さないパック内で乾燥させると撥水性が発現しないことから、乾燥が進む過程で空気に触れることで粒子表面にもたらされる微生物の作用が主となって撥水性が生じていることが推察された。そのような微生物としては、空气中に孢子の状態で存在し、土粒子に付着すると廃液中の有機物等を栄養源として増殖する糸状菌の関与が想定された。

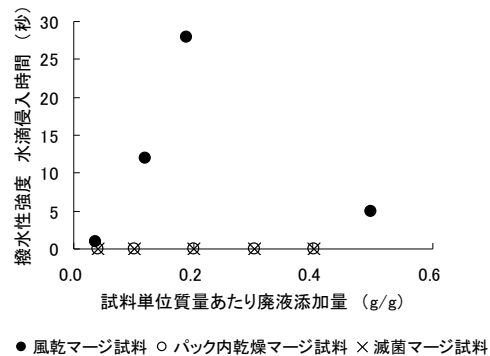


図5 各試料の廃液添加量と撥水性強度の関係

#### (6) エタノール発酵廃液の投与による拡散係数の低下

エタノール発酵廃液の投与が土壌中のガス移動特性に与える影響を評価するために気相率と拡散係数の関係を求めたところ、エタノール発酵廃液の投与は土壌内のガス拡散を阻害すること、その要因は表層の閉塞によることが確認された。この検討は研究期間の途中から追加的に実施したものであったため、詳細な検討については今後の課題である。

#### 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6件)

① Miyamoto, T., K. Kameyama, and T. Nakajima Reduction in saturated and unsaturated hydraulic conductivities of an Andisol by vinasse application. Soil Sci. Soc. Am J., 査読有り, 77, 1-7, 2013. doi:10.2136/sssaj2012.0079

② Miyamoto, T., K. Fukami, and J. Chikushi Simultaneous measurement of

soil water and soil hardness using a modified time domain reflectometry probe and a conventional cone penetrometer. Soil Use and Management, 査読有り, 28, 240-248, 2012. doi: 10.1111/j.1475-2743.2012.00391.x

- ③ 宮本輝仁、亀山幸司、小林政広、陳嬌、塩野隆弘 エタノール廃液の農地還元が農地土壌環境におよぼす影響. 土壌の物理性、査読有り、116、19-25、2010.  
<http://www.iai.ga.a.u-tokyo.ac.jp/jssp/>

[学会発表] (計6件)

- ① 亀山幸司・宮本輝仁・塩野隆弘、バイオエタノール廃液に含まれる溶存有機物の土壌内移動特性、土壌物理学大会 (平成24年11月2日)、帯広市
- ② 小林政広・宮本輝仁・亀山幸司、エタノール廃液の添加による島尻マーグ土壌の撥水性、土壌物理学大会 (平成23年10月23日)、札幌市
- ③ Kameyama, K., T. Miyamoto, and T. Nakajima, Leaching of dissolved organic matter and chemical components with vinasse application to a calcareous soil. Japan Geoscience Union Meeting 2011 (May 27, 2011), Makuhari, Chiba.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮本 輝仁 (MIYAMOTO TERUHITO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・農村工学研究所・農地基盤工学研究領域・主任研究員

研究者番号：40343983

### (2) 研究分担者

小林 政広 (KOBAYASHI MASAHIRO)

独立行政法人森林総合研究所・立地環境研究領域・チーム長

研究者番号：50353686

亀山 幸司 (KAMEYAMA KOJI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・農村工学研究所・農地基盤工学研究領域・主任研究員

研究者番号：90414432

中村 真人 (NAKAMURA MASATO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・農村工学研究所・資源循環工学研究領域・主任研究員

研究者番号：60414463