

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 4月30日現在

機関番号：27101

研究種目：挑戦的萌芽

研究期間：2011～2012

課題番号：23658278

研究課題名（和文）耐塩性嫌気性細菌と好塩性植物を利用した塩害土壌のハイブリッド修復

研究課題名（英文）Anaerobic digestion for halophyte biomass utilization to remediate agricultural land

研究代表者

安井 英斉 (YASUI HIDENARI)

北九州市立大学・国際環境工学部・教授

研究者番号：70515329

研究成果の概要（和文）：粉碎したギニアグラスに食塩を添加した試料(158 g-COD/kg-wet biomass, 70g-NaCl/kg-wet biomass)を模擬好塩性植物バイオマスとし、中温条件(35度)の連続実験を200日以上に亘って実施した。槽負荷を一時的に上昇させた時期を除き、約2.0kg/m<sup>3</sup>/dの典型的な槽負荷条件下であっても槽内の低級脂肪酸濃度は15mg/COD/L程度に留まり、約50%の植物COD成分がメタン分解された。このことから、海水の2倍ほどの高塩濃度条件下でも嫌気性微生物群は実用化に十分な速度で低級脂肪酸から酢酸や水素を経由してメタンを生成できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：An artificial holophyte biomass was prepared using *Panicum* sp. with NaCl salt (158 g-COD/kg-wet biomass, 70g-NaCl/kg-wet biomass) for the contentious anaerobic digestion test under mesophilic condition at 35 degree Celsius that was composed of a digester and solid liquid separation module to extend the biological reaction time. About 50% of the influent COD fraction was successfully converted to methane gas under volumetric COD loading rate of 2.0 kg/m<sup>3</sup>/d with trace accumulation of volatile fatty acids. Based on the dynamic response of the reactor for over 200 days, the biogas production, sludge concentration in the reactor and effluent COD concentration were simulated by modifying existing process model (ADM1). In order to reproduce these responses, a definition of an additional state variable (lignin) and differentiation of disintegration kinetics over the influent organics (slowly and readily) were needed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：土木環境システム

科研費の分科・細目：環境農学

キーワード：耐塩メタン発酵、中央アジア、塩害土壌修復、塩類蓄積性植物

## 1. 研究開始当初の背景

ウズベキスタンをはじめとする中央アジアでは、気候変動や不適切な灌漑に起因する土壌の塩害により、耕作可能農地の減少が深刻化している。その解決案の一つとして、体内に塩を蓄積する性質を有している好塩性植物を利用する生物学的脱塩法を考えた。これは、

野生あるいは品種改良した好塩性植物を塩害を受けた農地で意図的に栽培することで土壌の塩分を取り除くものである(図-1)。このような植物は農業で扱われた例はほとんど無いが、このシステムが実用化できれば、土壌の塩分濃度制御、塩害農地の修復、そして中央アジアにおける農業生産力の回復に重要な役

割を果たすことが期待できる。

一方、嫌気性消化プロセスは固形廃棄物中の有機物に分解で最も広く実施されている処理方法であり、バイオマス中の有機物を分解することで下水汚泥や、生ごみ、家畜飼料などの廃棄物を減量・安定化し、また、メタンガスを有用な副産物として回収できる特長がある。このプロセスの特性を考えると、好塩性植物もメタンガスへ分解し、バイオマス中の塩類を上澄みへ抽出することも原理的には可能である。その後、上澄みを別の場所で隔離し、天日乾燥によって濃縮すれば、塩分を土壌から完全に分離させることができるはずである。しかしながら、好塩性植物は海水の2倍(70 g-NaCl/kg-wet biomass)に相当する塩分を含むことを考慮しなければならない。

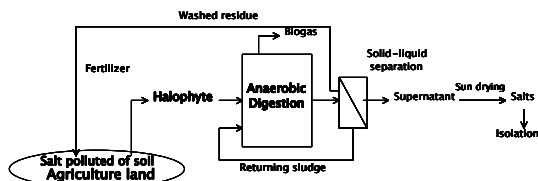


図-1 耐塩性嫌気性細菌と好塩性植物を利用した塩害土壌のハイブリッド修復

## 2. 研究の目的

本研究では、嫌気性消化プロセスにおける耐塩性微生物群の馴化を進めるとともに、好塩性植物の嫌気性消化によるメタン転換の中温(35°C)での連続実験を行った。また、今後のプロセス効率向上を検討するために、IWAのタスクグループが過年度に作成した ADM1 を基本骨格とした反応モデルも作成した(図-2)。

植物は主にセルロース、ヘミセルロースなどの炭水化物、またフェノール化合物であるリグニン、蛋白質、脂質で構成されており、特にリグニンは難分解性成分であることが知られている。また、植物中にリグニン含有率は15-20%を占めていることから、嫌気性消化処理を行うと、かなりの割合が槽内に残存すると予想される。このことを考慮し、本研究では、ADM1モデルの骨格に新たにリグニンの分解過程を加えた。好塩性植物の嫌気性消化における有機物の分解過程は大きく分けて4過程に分けることができる。はじめに、植物バイオマス( $X_c$ )を炭水化物( $X_{ch}$ )、蛋白質( $X_{pr}$ )、脂質( $X_{li}$ )、リグニン( $X_{li_g}$ )、溶解性のリグニン( $S_{li_g}$ )、固形不活性成分( $X_i$ )に分解する微細化過程である。次に、それぞれの固形物有機物から単糖( $S_{su}$ )、アミノ酸( $S_{aa}$ )、高級脂肪酸( $S_{fa}$ )、溶解性リグニン( $S_{li_g}$ )を生成する可溶化・加水分解過程である。これについて新しく作成したモデルでは、原料の生物分解されやすさの違いを考慮して炭水化物、蛋白質、脂質のそれぞれに易分解成分と遅分解成分を新たに定義した。次に、加水分解産物で

あるモノマーからプロピオン酸( $S_{pro}$ )、酢酸( $S_{ac}$ )や水素( $S_{h_2}$ )を生成し、それと同時に単糖分解細菌( $X_{su}$ )、アミノ酸分解細菌( $X_{aa}$ )、脂肪酸分解細菌( $X_{fa}$ )が増殖する酸生成過程ならびに、酢酸資化性メタン生成細菌と水素資化性メタン生成細菌により、水素と酢酸からメタン( $S_{ch_4}$ )を生成する、メタン生成過程は現行の ADM1 をそのまま用いた。

## 3. 研究の方法

細かく粉碎した乾燥牧草(Coloured guinea grass, *Panicum* sp.)に、好塩性植物の塩濃度に合わせた NaCl とメタン生成古細菌の必須元素である微量元素(Ni, Co)を水道水に加え試料を調製した。この試料 158 g-COD/kg-wet biomass を模擬好塩性植物として、35°C、4Lのジャーファーメンターへ投入した。種汚泥に日明下水処理場(北九州)の嫌気性消化施設で採取した消化汚泥(20 g-TS/L)を使用し、4.0 kg-COD/m<sup>3</sup>/d を最大として、運転状況を判断しながら適宜変化させ、メタンの生成を測定した。槽内汚泥濃度、溶解性 TOC、VFA濃度や生成メタン等の分析結果を ADM1 にリグニン成分の微細化(可溶化)を含めた反応モデルを用いてダイナミックシミュレーションを行い、対応の状態変数濃度、化学量論パラメータ、動力学パラメータを得た。

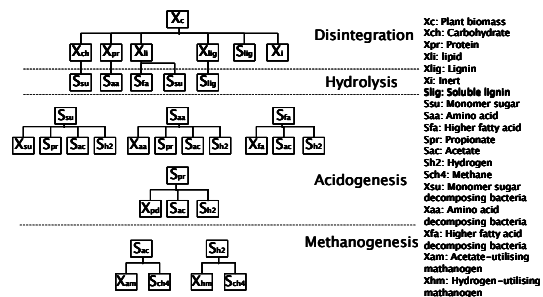


図-2 ADM1 を改変した反応マップ

## 4. 研究成果

### (1) 連続実験

運転開始から47日までの phase1 では、適宜運転状況を判断しながら槽負荷 4.0 kg-COD/m<sup>3</sup>/d の比較的高負荷で運転をした。48日から168日の phase2 では、槽負荷を最適化するため、槽負荷を 0-1.2 kg-COD/m<sup>3</sup>/d の低負荷で運転を開始した。169日から280日までの phase3 では、2.0 kg-COD/m<sup>3</sup>/d に槽負荷を上げて運転を開始し、メタン生成速度の向上をはかった(図-3)。槽内汚泥濃度は、槽負荷に対応して徐々に上昇し、45,000 mg-COD/L まで達した。

投入された植物バイオマスの組成は、炭水化物 59%、リグニン 23%、蛋白質 13%であったことに對し、汚泥の組成は、炭水化物

51%、リグニン 29%、蛋白質 17%であった。このことから、炭水化物や蛋白質の内、比較的分解されやすい成分は素早く反応が進行してメタンに転換される一方で、残りの遅分解成分はかなりの量が残存していると考えた。なお、バイオマスにわずかに含まれるはずの脂質の分析は実施しなかったため、この成分の分解挙動は不明である。

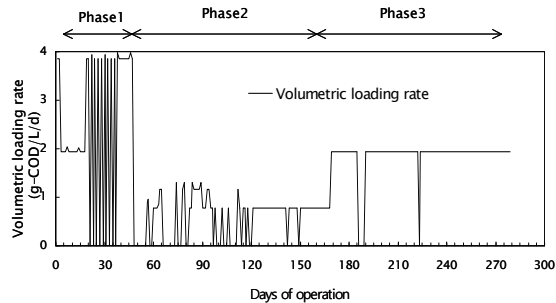


図-3 槽内の VSS 濃度ならびに溶解性リグニン濃度

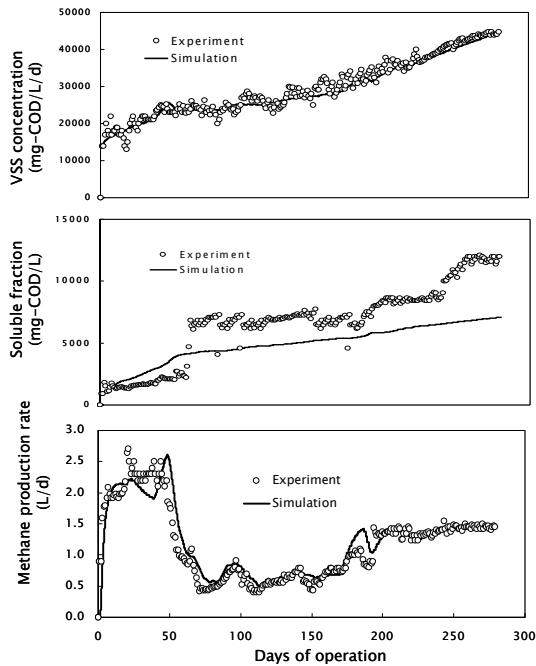


図-4 槽内 VSS 成分, 溶解性 COD 成分とメタン生成ならびにそれらのシミュレーション

槽内の溶解性成分は、運転の経過とともに、徐々に上昇し、12,000 mg-COD/L まで達した。上澄みの成分は、炭水化物 56%、溶解性リグニン 36%、蛋白質 15%、であった。運転開始 60 日後で溶解性成分濃度が急激に上昇した原因は、加水分解産物から酸生成、酸生成からメタン生成のそれぞれの段階に与する微生物の反応速度が十分ではなかったためと考えられる。酢酸も同じ時期に一旦 350mg-COD/L 程度上昇したが、30 日後には 15mg-COD/L まで減少し、その後は検出されな

かった。

メタン生成量も槽負荷に対応して増減し、槽負荷 4.0 kg-COD/m<sup>3</sup>/d のときメタン生成速度は、最大で 1.75 kg-COD/m<sup>3</sup>/d まで達した。メタン生成細菌活性の明らかな阻害による、メタン生成量の減少は観察されなかった(図-4)。

## (2) 物質収支

COD 基準の物質収支によれば、投入した植物バイオマスのおよそ 72%は本プロセスによってメタンに転換されていた。槽内に残存している固形性有機物は生物学的に不活性あるいは極めて分解が遅い成分であり、リグニンはその 29%を占めていた。また溶解性成分として残存していた物質は原料 COD の 8%相当であった(図-5, 図-6)。

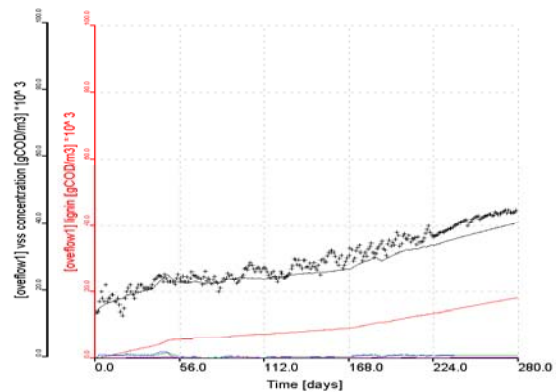


図-5 槽内の VSS 濃度ならびに溶解性リグニン濃度

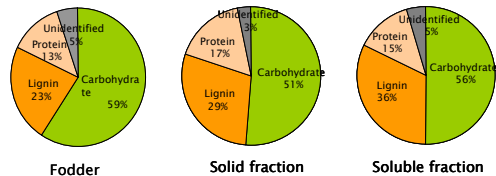


図-6 試料有機物の組成

(左:原料, 中:污泥 VSS 成分, 右: 污泥溶解性成分)

## (3) ダイナミックシミュレーション

本プロセスでのそれぞれの物質がシステムで受ける反応をまとめた(表-1, 表-2)。これらは、19 種の状態変数と 20 種類の素プロセスから成り立つ。280 日に亘る実験期間のプロセス応答を計算したところメタン生成は精度良く再現できたものの、実験後半の槽内 VSS 濃度は実測値よりもやや低くなった。これは、計算で仮定した各成分の COD/VSS 比が実際と多少ずれていることが原因の一つに考えられる。また、溶解性のリグニンが主体と考えられる溶解性 COD 成分は適切に実測値を再現できなかった。リグニンはセルロースやヘミセルロースなどと強く結びついており、基質分解の過程で一部が溶解性リグニンとし

て液中に放出される。本研究ではリグニン成分の微細化を一種類に簡略化したことが、シミュレーション結果と実測が乖離した原因と思われる。そのため、複数の種類で反応が成り立つモデルを新たに検討することが今後の課題の一つになる。得られた状態変数濃度、化学量論パラメータ、動力学パラメータから、各固体有機物成分における易分解成分、遅分解成分比率はおよそ 8:2 の割合で存在するようであった。また易分解成分の分解速度はそれぞれ、高負荷の中温条件の ADM1 の一般値と等しくし、0.25、0.2、0.1 d<sup>-1</sup>であり、遅分解成分の分解速度はいずれも 0.01 d<sup>-1</sup>とすることで、メタン生成と VSS 成分の残存を一定の精度でシミュレーションすることが可能であった。

(4) 好塩性植物のメタン発酵評価

連続実験とダイナミックシミュレーションによって、得られた知見は以下のようであった。

- ① 槽内に蓄積した汚泥には、リグニンをはじめとする難分解性の成分がかなりの割合で残存していると考えられた。
- ② 試料に用いた植物バイオマス固形有機物中の易分解、遅分解成分の存在比率を 8 : 2 とすることで、槽内の挙動を一定の精度で再現することができた。
- ③ 海水の 2 倍程度の塩濃度条件でもメタン発酵プロセスは進行し、牧草 (Coloured guinea grass) の COD は 71%メタンに転換することを実験的に確認した。
- ④ シミュレーション精度を向上させるためには、バイオマスの微細化反応における溶解性リグニンの生成反応を更に詳しく検討する必要がある。

表-1 反応の Petersen matrix

	Xc	Xch	Xpr	Xni	Xliq	Slig	Ssu	Saa	Sra	Spr	Shz	Sac	Xi	Xsu	Xaa	Xfa	Xpd	Xam	Xim	反応速度式
r1 微細化反応	-1	fca	fpr	fni	flig	fslig								fxi						First-order type
r2 リグニンの加水分解					-1	fslig														First-order type
r3 易分解性炭水化物の加水分解			-1				1													First-order type
r4 遅分解性炭水化物の加水分解			-1				1													First-order type
r5 易分解性蛋白質の加水分解				-1				1												First-order type
r6 遅分解性蛋白質の加水分解				-1				1												First-order type
r7 易分解性脂質の加水分解					-1		1-fslir	fslir												First-order type
r8 遅分解性脂質の加水分解					-1		1-fslis	fslis												First-order type
r9 単糖の取り込み							-1			(1-ymd)*fps	(1-ymd)*fap	(1-ymd)*fhp	ymd							Monod-type
r10 アミノ酸の取り込み							-1			(1-ymd)*fpm	(1-ymd)*faam	(1-ymd)*fham	yamd							Monod-type
r11 高級脂肪酸の取り込み								-1		(1-yhfa)*fahfa	(1-yhfa)*fahfa	(1-yhfa)*fhhfa		yahfa						Monod-type
r12 プロピオン酸の取り込み									-1	(1-ypd)*fapd	(1-ypd)*fapd	(1-ypd)*fhpd			ypd					Monod-type
r13 酢酸の取り込み											-1						ym			Monod-type
r14 水素の取り込み												-1						yhm		Monod-type
r15 単糖分解菌の死滅	1-fu												fu	-1						First-order type
r16 アミノ酸分解菌の死滅	1-fu												fu		-1					First-order type
r17 脂肪酸分解菌の死滅	1-fu												fu			-1				First-order type
r18 プロピオン酸分解菌の死滅	1-fu												fu				-1			First-order type
r19 酢酸質性メタン生成菌の死滅	1-fu												fu					-1		First-order type
r20 水素質性メタン生成菌の死滅	1-fu												fu						-1	First-order type

fca:炭水化物の生成比率 fpr:蛋白質の生成比率 fni:脂質の生成比率 flig:リグニンの生成比率 fslig:溶解性リグニンの生成比率 fslir:リグニンからの溶解性リグニンの生成比率 fxi:不活性成分の生成比率  
 fsli:易分解脂質からの高級脂肪酸生成比率 fsli:遅分解脂質からの高級脂肪酸生成比率 fps:単糖からプロピオン酸の生成比率 fap:単糖から酢酸の生成比率 fhp:単糖から水素の生成比率  
 fpm:アミノ酸からプロピオン酸の生成比率 faam:アミノ酸から酢酸の生成比率 fham:アミノ酸から水素の生成比率 fahfa:高級脂肪酸から水素の生成比率 fham:高級脂肪酸からの酢酸の生成比率  
 ymd:単糖分解菌の収率 yamd:アミノ酸分解菌の収率 yahfa:脂肪酸分解菌の収率 ypd:プロピオン酸分解菌の収率 ym:酢酸質性メタン生成菌の収率 yhm:水素質性メタン生成菌の収率  
 fu:不活性成分の生成比率

表-2 反応の動力学パラメータと化学量論パラメータ

Item	Default	Symbol	Unit	Item	Default	Unit
Stoichiometry				Kinetic		
production of acetate-utilising methanogens	0.09	ym	gCOD/gCOD disintegration rate		0.4	1/d
production of monomer sugar decomposing bacterium	0.07	ymd	gCOD/gCOD hydrolysis rate of readily biodegradable carbohydrate		0.25	1/d
production of amino acid decomposing bacterium	0.08	yamd	gCOD/gCOD hydrolysis rate of slowly biodegradable carbohydrate		0.01	1/d
production of higher fatty acid decomposing bacterium	0.06	yhfa	gCOD/gCOD hydrolysis rate of readily biodegradable protein		0.2	1/d
production of propionate decomposing bacterium	0.04	ypd	gCOD/gCOD hydrolysis rate of slowly biodegradable protein		0.01	1/d
production of hydrogen-utilising methanogens	0.07	yhm	gCOD/gCOD hydrolysis rate of readily biodegradable lipid		0.1	1/d
ratio of carbohydrate from solid organic matter	0.5	fch	gCOD/gCOD hydrolysis rate of slowly biodegradable lipid		0.01	1/d
ratio of protein from solid organic matter	0.11	fpr	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of readily biodegradable monomer sugar		1	1/d
ratio of lipid from solid organic matter	0.01	fl	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of readily biodegradable monomer sugar		0.5	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of lignin from solid organic matter	0.25	flig	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of readily biodegradable amino acid degrader		0.09	1/d
ratio of soluble lignin from solid organic matter	0.1	fslig	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of readily biodegradable amino acid degrader		0.5	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of inert fraction from solid organic matter	0.03	fxi	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of readily biodegradable fatty degrader		0.4	1/d
ratio of monomer sugar from readily biodegradable lipid	0.04	fslir	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of readily biodegradable fatty degrader		0.5	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of monomer sugar from slowly biodegradable lipid	0.95	fslis	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of propionate degrader		1	1/d
ratio of propionate in monomer sugar decomposition	0.3	fps	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of propionate degrader		0.1	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of hydrogen in monomer sugar decomposition	0.3	fap	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of acetate-utilising bacteria		0.67	1/d
ratio of acetate in monomer sugar decomposition	0.4	fhp	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of acetate-utilising bacteria		15	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of propionate in amino acid decomposition	0.2	fpm	gCOD/gCOD maximum specific growth rate of hydrogen-utilising bacteria		0.4	1/d
ratio of hydrogen in amino acid decomposition	0.3	faam	gCOD/gCOD half-saturation coefficient on growth of hydrogen-utilising bacteria		0.1	gCOD/m <sup>3</sup>
ratio of acetate in amino acid decomposition	0.5	fham	gCOD/gCOD specific decay rate of acetate-utilising methanogens		0.001	1/d
ratio of hydrogen in higher fatty acid decomposition	0.3	fahfa	gCOD/gCOD specific decay rate of propionate fermenter		0.02	1/d
ratio of acetate in higher fatty acid decomposition	0.7	fthfa	gCOD/gCOD specific decay rate of acetate fermenter		0.02	1/d
ratio of hydrogen in propionate degradation	0.43	fapd	gCOD/gCOD specific decay rate of amino acid degrader		0.02	1/d
ratio of acetate in propionate degradation	0.57	fhpd	gCOD/gCOD specific decay rate of higher fatty acid degrader		0.02	1/d
Inert fraction	0.08	fu	gCOD/gCOD specific decay rate of propionate degrader		0.02	1/d
			specific decay rate of hydrogen-utilising methanogens		0.055	1/d

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Akinshna, N., Naka, D., Toderich, K., Azizov, A. and Yasui, H., Anaerobic

Degradation of Halophyte Biomass for Biogas Production. Journal of Arid Land Studies, 査読無, Vol. 22-1, 2012, 227-230.

〔学会発表〕（計 3 件）

1. Saidislomkhon Usmanov, Hidenari Yasui, Estimating Evatranspiration Process of Chirchik River Basin, Uzbekistan by Using Remotely Sensed Data, 2012 年度日本水環境学会九州支部研究発表会, p. 64, 16/Feb/2013, 北九州.
2. 松尾香織, 安井英斉, 塩生植物の嫌気性消化プロセスと反応モデルの開発, 2012 年度日本水環境学会九州支部研究発表会, p. 32, 16/Feb/2013, 北九州.
3. Kaori Matsuo, Hidenari Yasui, Anaerobic digestion for halophyte biomass utilization for remediating saline agricultural land, The 15th Symposium of Japan Society on Water Environment, 10-11/Sept/2012, Saga, Japan.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.env.kitakyu-u.ac.jp/ja/kenkyuka/yasui/index.html>

## 6. 研究組織

研究代表者

安井 英斉 (YASUI HIDENARI)

研究者番号：70515329

北九州市立大学・国際環境工学部・教授