

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26740051

研究課題名(和文) 有機物由来培養液を用いた養液栽培の実用化に関する研究

研究課題名(英文) Research on utilization of hydroponics using organic nutrient sources

研究代表者

霧村 雅昭 (KIRIMURA, Masaaki)

宮崎大学・農学部・助教

研究者番号：40433065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：焼酎粕由来メタン発酵消化液の脱水ろ液と膜透過液、豚糞尿浄化排水を有機物由来培養液原料として、pHの調整と変動抑制処理、成分組成の調整により作成した培養液をコマツナの水耕栽培に用いたところ、原料を直接またはpHとECの調整後に用いた場合よりもコマツナの生育が改善されたことから、これらの技術を用いることで農林畜産廃棄物等の未利用資源は水耕培養液の原料としての利用促進が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this research, organic nutrient solutions were created for the purpose of resource circulation. The materials of the organic nutrient solution were dehydration filtrate and liquid treated by MBR processing from methane fermentation digested slurry of distilled spirit lees, and purified liquid of pig feces and urine. Those organic nutrient solutions were prepared by adjusting pH and component balance of those materials, and were used for the hydroponics of spinach mustard. As the result, the adjusted organic nutrient solutions were suitable for growth of spinach mustard in hydroponics rather than the original materials.

研究分野：施設園芸学

キーワード：物質循環システム 持続可能性 メタン発酵 未利用資源 有機物 水耕栽培 施設園芸

## 1. 研究開始当初の背景

養液栽培における培養液管理は作物の収量や品質に大きな影響を与えるため重要であり、植物工場における基幹技術である。その最適管理には培養液の組成・濃度を作物の種類・生育段階に応じ調整する必要があるが、肥料塩混合の計算と手間が煩雑すぎ、既成の全国一律の標準処方を栽培時期に関係なく採用しているのが現状である。そのため、培養液の成分バランスと植物体による各成分の吸収量のずれから培養液の組成や pH が変動し、生育遅延や生理障害が引き起こされることから、培養液を廃棄して更新せざるを得なくなる。多量の廃培養液は資源の浪費であり、含まれる  $\text{NO}_3$  や  $\text{PO}_4$  イオンによる湖沼や河川、地下水の汚染という問題を引き起こす。これは肥料の原料となる資源の枯渇や高騰、肥料コストの増大などの原因となる。

一方で、家畜排泄物や焼酎粕などの農林畜産廃棄物の処理は費用や資源循環の観点から問題となっている。また処理方法として有望なメタン発酵においても発酵後残渣である消化液の処理が課題となっている。

そこで、未利用であったメタン発酵消化液に含まれる成分を水耕栽培の培養液に利用することで、資源の有効利用と肥料コスト削減が期待できる。また土壌と隔離された水耕栽培であれば、培養液を閉鎖的に管理することで土壌や地下水への汚染も防止できる。

しかし、消化液の成分組成は一般的な培養液処方とは差があり、pH もアルカリ性であることから、そのまま使用すれば生育阻害を引き起こす。したがって、消化液の水耕培養液への利用における課題は、植物の生育に適した成分組成と pH になるように調整管理することである。

## 2. 研究の目的

申請者は、これまでに成分組成の調整方法として、培養液の各要素の濃度を明らかにさえすれば直ちに「補充すべき肥料の種類と量」を回答する“イオン濃度調整プログラム (IonAdjuster)”を開発し、それに基づくイオン濃度制御法を考案した。その結果、培養液の各要素の濃度制御が可能となり、EC 制御法に比べ廃培養液の低減、増収が可能となった。

また、消化液を培養液原料に用い、培養液処方の成分組成としての不足分を他の有機物由来液や化学肥料で補うことで、消化液単体を培養液として用いた場合よりも生育を改善できることを明らかにした。さらに、消化液を膜分離活性汚泥法 (MBR) により有機物やアンモニアの含量を低減した液 (膜透過液) にすることで生育をさらに改善することが可能であった。

しかし、消化液や膜透過液を含む培養液は pH が 8 程度と高く、pH を 5~7 に調整しても数日内に再上昇し、化学肥料のみで調製した培養液よりも生育が劣った。

そこで、本研究では消化液等の有機物を原料に加えた有機物由来培養液の pH 変動の原因解明および安定化、さらに数種有機物由来培養液原料を用いた生育改善および培養液調製コスト削減について検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 有機物由来培養液の pH 変動の原因解明

芋焼酎粕のメタン発酵消化液を固液分離した液体 (脱水ろ液) と脱水ろ液を MBR で処理した液体 (膜透過液) をもとに調製した有機物由来培養液を用いたコマツナ水耕の栽培実験を実施した。有機物由来培養液は pH が高いため、pH を既存の培養液と同等まで低下させたが、10 日程度で pH 無調整の培養液とほぼ同等まで上昇した。これらの培養液には有機物が含まれているため、微生物の影響を受けたと考えられた。

そこで、微生物活性と高い相関を示す ATP 濃度を指標として培養液の pH 変動に対する微生物活性の影響について調査、検討した。

#### 微生物活性評価法の検討

##### バッファの比較

ATP 分析の低コスト化を目的として、ATP 発光試薬等の希釈に用いる緩衝液を検討した。ATP 標準液を用いてリン酸バッファ (pH7.0) とトリス酢酸バッファ (pH7.7) を発光量 (Relative Light Unit, 以下 RLU) 検量線範囲および試薬の凍結融解に対する安定性により比較した。測定にはマイクロプレートリーダー (Varioskan Flash, Thermo Fisher SCIENTIFIC 製) を用いた。

##### 発光試薬の比較

ATP 発光試薬の菌士郎®ATP 発光キット LL-100-1 (東洋ビーネット) と BacTiter-Glo™ (Promega) をトリス酢酸バッファで希釈し、RLU により比較した。ATP 発光試薬の菌士郎®ATP 発光キットは遊離 ATP を、BacTiter-Glo™ は微生物中の ATP を含む全 ATP を検出できる。

培養液中の微生物活性と pH 変化の関係性予備試験として、化学肥料のみで調製した園試処方培養液を用いたコマツナ‘夏楽天’とイチゴ‘みやざきなつはるか’の水耕栽培を人工気象室内にて実施し、培養液の ATP 濃度と pH の経時変化を調査し、培養液中の微生物活性と pH 変化の関係性を検討した。コマツナは気温 20 と 25 の 2 水準にて蛍光灯 (PFD250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) を用いて栽培し、イチゴは 20 にて LED 照明と蛍光灯 (PFD200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) を用いた栽培した。

### (2) 有機物由来培養液の pH の安定化

#### 微生物除去による培養液の pH 変動抑制

微生物除去による培養液の pH 変動抑制を目的として、MF 膜を用いた微生物の除去方法を検討した。イチゴの水耕栽培に使用した培養液を、孔径 0.45 $\mu\text{m}$  と 0.1 $\mu\text{m}$  の MF 膜を

用いてる過し、ろ液中の ATP 濃度を調査した。

#### ORP を指標とした pH の安定化

有機物由来培養液原料である膜透過液と脱水ろ液の pH と EC は 1 週間の連続曝気により安定した。その後、硫酸を用いて pH を低下させ、さらに曝気を行い、経時変化を調査し、ORP と DO についても調査した。硫酸の添加回数は膜透過液では 3 回、脱水ろ液では 4 回であった。

さらに、連続曝気の前処理として各液を MF ろ過と加熱処理した後に連続曝気と硫酸を添加し、同様に調査した。

また、各液に対して UV 照射、オゾン曝気および UV 照射とオゾン曝気を同時に処理する AOP 処理を 13 日間実施し、pH や ORP に及ぼす影響について調査した。

#### (3) 有機物由来培養液によるコマツナ水耕

有機物由来培養液原料として焼酎粕由来の脱水ろ液と膜透過液、豚糞尿浄化排水を用いて、それぞれの液をオゾン曝気処理による脱色後、0.45 $\mu\text{m}$ MF によるろ過を行い、さらに硝酸添加により pH3 まで低下させ、12 時間程度の空気曝気後に水酸化カリウム添加により pH5.5 に調整した。その後 EC が 2.4dS  $\text{m}^{-1}$  となるよう純水を加えた (pH・EC 区)。さらに、pH 調整した各液の成分組成をイオンクロマトグラフにより分析し、成分組成が園試処方に近似するように必要に応じて純水で希釈し、化学肥料を添加した (成分調整区)。また、pH 調整後の 3 つの原料を組み合わせ、さらに化学肥料を添加して成分調整した培養液も調製した (MIX 区)。これらの有機物由来培養液を用いてコマツナ水耕による育苗と定植後の生育を調査した。対照区は化学肥料で調整した園試処方培養液とした。栽培条件は気温 25 $^{\circ}\text{C}$ 、二酸化炭素濃度 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、光量子 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、24 時間日長とし、人工気象室内にて蛍光灯を用いて栽培した。培養液は 1 時間に 15 分曝気し、EC が初期値である 2.4dS  $\text{m}^{-1}$  よりも高くなった場合は純水を追加して調整した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 有機物由来培養液の pH 変動の原因解明

###### 微生物活性評価法の検討

###### バッファの比較

RLU はリン酸バッファよりトリス酢酸バッファで大きかった。また、リン酸バッファは凍結融解後の測定で標準液の RLU が小さく、ブランクの RLU が大きかったため十分な精度の検量線が得られなかった。したがって、サンプルや発光試薬の希釈にはトリス酢酸バッファを採用した。

###### 発光試薬の比較

RLU は菌士郎®ATP 発光キットより BacTiter-Glo™ で大きく、検量線の範囲と精度に大きな差はなかったことから

BacTiter-Glo™ を採用した。

培養液中の微生物活性と pH 変化の関係性 pH の変動前に ATP 濃度が上昇する現象が確認されたことから、培養液の ATP 濃度の増加と pH 変動の間に関係性があることが示唆された (図 1、2)。

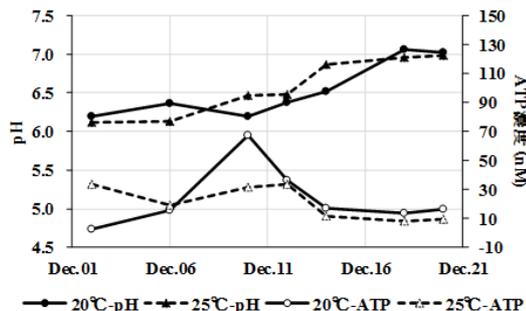


図 1 コマツナ水耕栽培における培養液の ATP 濃度と pH の変化

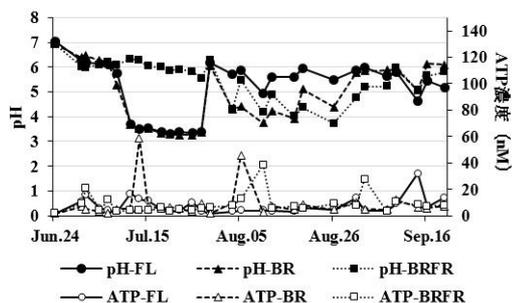


図 2 イチゴ水耕栽培における培養液の ATP 濃度と pH の変化

##### (2) 有機物由来培養液の pH の安定化

###### 微生物除去による培養液の pH 変動抑制

培養液中の ATP 濃度はろ過処理により減少した。また、菌士郎®ATP 発光キットで測定した無ろ過培養液中の遊離 ATP 濃度と BacTiter-Glo™ で測定したろ過処理後の培養液中の全 ATP 濃度が同等であったため、孔径 0.45 $\mu\text{m}$  程度のフィルターによるろ過であっても微生物の多くが除去できたことが示唆された (図 3)。

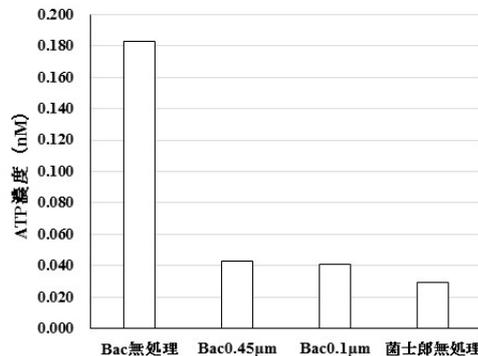


図 3 培養液ろ過が ATP 濃度に及ぼす影響

###### ORP を指標とした pH の安定化

脱水ろ液と膜透過液に硫酸を添加すると、pH は低下し、ORP が上昇したが、pH は翌日

には9程度まで再上昇した(図4、5)。さらに硫酸を添加し、ORPが140mV程度になるとpHの急激な再上昇はみられなかった。pH4以下まで低下させることでpHの再上昇を防げると考えられる。また連続曝気の前処理として実施したMFろ過と加熱処理によるpH再上昇抑制効果は認められなかった。

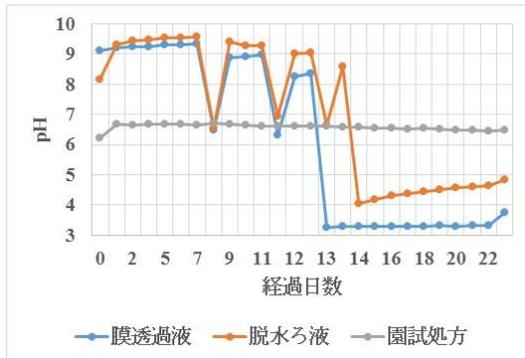


図4 連続曝気と硫酸添加によるpHの変化

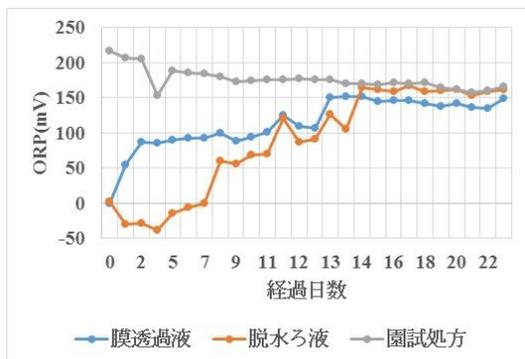


図5 連続曝気と硫酸添加によるORPの変化

UV照射のみでは各液ともpHとORPに変化はみられなかった。オゾン曝気とAOP処理では膜透過液のpHはそれぞれ、2と3程度まで低下し(図6)、ORPは両処理とも750mVまで上昇した(図7)。反応速度はオゾン曝気よりもAOPが早かった。一方で脱水ろ液は各処理ともpHやORPは大きな変化は認められなかった。

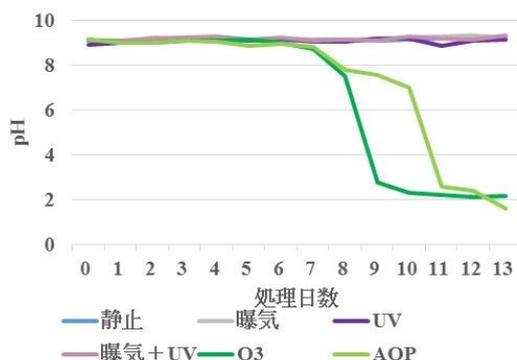


図6 UV照射とオゾン曝気による膜透過液のpHの変化

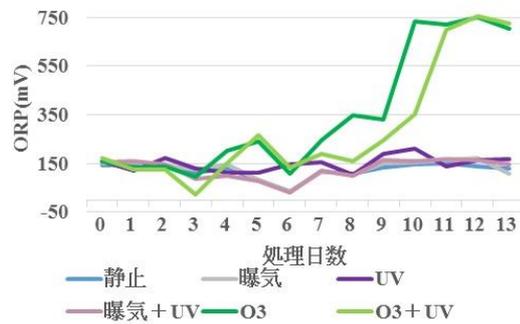


図7 UV照射とオゾン曝気による膜透過液のORPの変化

オゾン処理による膜透過液のpH低下とORP上昇の原因を調査した結果、空気を原料にオゾンを生産させると副産物として硝酸が生じることが確認された。酸素ガスを原料にオゾンを生産させると硝酸は発生せず、酸素ガス由来オゾンの曝気によるpHとORPに大きな変化は認められなかった。AOP処理については未確認である。

膜透過液に硝酸を添加し、pHを8から3まで6段階に調整後、空気による連続曝気をおこなうと、pH5以上では大きく上昇し、pHはpH6まで上昇後安定し、pH3では上昇しなかった。

膜透過液は硝酸添加によりpH3に調整し、12時間程度の空気曝気後に水酸化カリウムの添加によりpH5.5に調整することで、その後空気曝気をおこなっても再上昇は認められなかった。

### (3) 有機物由来培養液によるコマツナ水耕

播種10日後の育苗調査の結果、焼酎粕由来の脱水ろ液と膜透過液、豚糞尿浄化排水を原液のまま施用した区では生育が大きく阻害された(図8)。特に脱水ろ液原液では発芽しなかった。また原液を用いた区よりもpH・EC区の生体重は大きく、成分調整区はさらに大きかった。原料種の比較では膜透過液で生育が良く、膜透過液の成分調整区(膜・pH・成分)は化学肥料と同等であった。

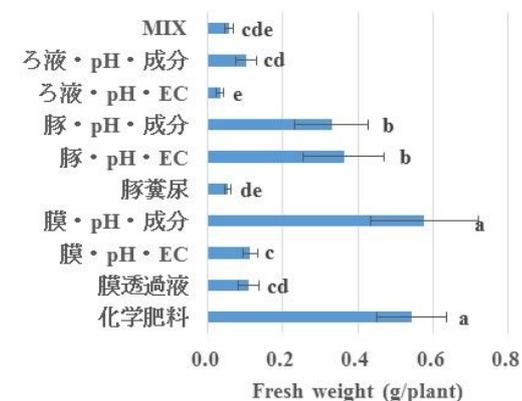


図8 播種10日後のコマツナ苗の生体重  
図中の異なる文字間に有意差あり  
Tukey-Kramer test, P<0.05, Mean±SD

成分調整済みの有機物由来培養液で水耕栽培した播種 22 日後の収穫調査の結果、生体重は化学肥料区が最大となり、有機物由来培養液では膜透過液の成分調整区が最大となった(図 9)。膜透過液区の生体重は化学肥料区の 73%に留まった。両区の培養液の pH と EC はほぼ同様に推移したことから、これらの要素が原因ではないと考えられる。膜透過液には塩素や亜硝酸が含まれており、また成分調整後の硝酸態窒素の補正率が 94%であったことが、生育阻害や生育遅延の原因になったと考えられる。豚糞尿浄化廃液は膜透過液よりも塩素と亜硝酸を多く含んでいたことから、これらの成分による生育阻害が生じたと推察される。MIX 区は成分調整に使用する化学肥料量を 1/4 に低減できたが、脱水ろ液の原液は EC が高い割に成分調整の対象とした無機成分の含有率が低く、未調査の成分が生育阻害として影響したためか、脱水ろ液区の生体重は化学肥料区の 5%であった。

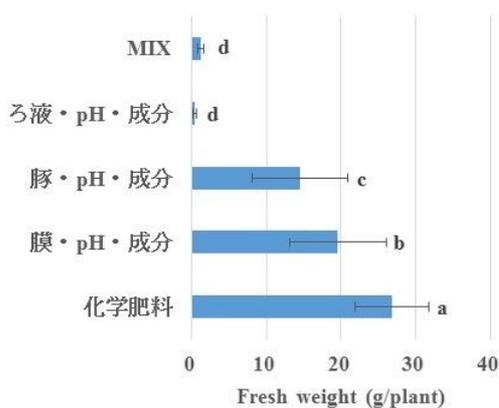


図 9 播種 22 日後のコマツナの生体重  
図中の異なる文字間に有意差あり  
Tukey-Kramer test,  $P < 0.05$ , Mean $\pm$ SD

本研究の結果、焼酎粕由来メタン発酵消化液の脱水ろ液と膜透過液、豚糞尿浄化排水を有機物由来培養液原料として、pH の調整と変動抑制処理、成分組成の調整により作成した培養液をコマツナの水耕栽培に用いたところ、原料を直接または pH と EC の調整後に用いた場合よりもコマツナの生育が改善されたことから、これらの技術を用いることで農林畜産廃棄物等の未利用資源は水耕培養液の原料としての利用促進が期待できる。

しかし、有機物由来培養液に含まれる塩素や亜硝酸などの生育阻害物質の除去方法、定植後の培養液組成や微生物活性の推移などの調査は不十分であることから、これらの点については今後明らかにする必要がある。

##### 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 1 件)

1. Tobisa, M., Uchida, Y., Iwasa, S., Tsukiyama,

T., Asano, Y., Kirimura, M., Sugimoto, Y., 2017. Effect of digested slurry on the dry matter production and arbuscular mycorrhizal colonization of two genotypes of Zoysia grass. The Journal of Agricultural Science, 1-12. DOI: 10.1017/S0021859617000703

(査読あり)

[学会発表](計 3 件)

1. 霧村雅昭、栩原裕也、有機物由来培養液の原料の違いが水耕コマツナの生育に及ぼす影響、日本生物環境工学会 2018 年東京大会、2018

2. 栩原裕也、霧村雅昭、オゾン曝気処理による有機物由来培養液の pH 安定化の検討、日本生物環境工学会 2018 年東京大会、2018

3. 栩原裕也、霧村雅昭、水耕栽培における培養液の ATP 濃度と pH の変化、園芸学会平成 29 年度秋季大会、2017

##### 6. 研究組織

(1)研究代表者

霧村 雅昭 (KIRIMURA, Masaaki)

宮崎大学・農学部・助教

研究者番号：40433065