

|         |   |       |
|---------|---|-------|
| 称号及び氏名  | 博士（緑地環境科学）  | 武村 憲二 |
| 学位授与の日付 | 平成30年8月31日  |       |
| 論文名     | <b>Studies on conversion of biogas digestate derived from food waste to a liquid fertilizer for soilless culture</b><br>（食品廃棄物のメタン発酵で生じた消化液の養液栽培用培養液への変換に関する研究） |       |
| 論文審査委員  | 主査  | 北宅 善昭 |
|         | 副査  | 堀野 治彦 |
|         | 副査  | 東條 元昭 |
|         | 副査  | 渋谷 俊夫 |

## 論文要旨

### 第1章 研究の背景および目的

近年、大都市圏で大量に発生している食品廃棄物の排出抑制、再利用や再生利用が推進されている。メタン発酵は、食品廃棄物を再生利用するための有望な技術である。この技術では有機物は嫌氣的に生分解され、再生エネルギーであるバイオガスに変換される。同時に発酵後の残渣（メタン発酵消化液）は窒素、リン等を含み、肥料や土壌改良剤として利用することができる。しかしながら、大都市に設置されたメタン発酵施設で発生したメタン発酵消化液は、利用するための農地が近傍に少ないこと、そのままの液状で遠隔地の農地で利用するには運搬コストがかかりすぎることで、需要に季節変動があり大規模な貯留施設が必要であること等から農地や緑地での利用が制限されている。その結果、肥料として有効利用されず、一般的には固液分離され、固相分は焼却、液相分は処理後に放流されている。加えて、窒素肥料は、製造過程で多大なエネルギーを消費し、リン、カリウム等の天然肥料原料は枯渇が懸念されている。そこで、メタン発酵消化液を養液栽培用培養液として利用することに着目し本研究をおこなった。施設型農業での普及が進む養液栽培は、水や肥料の効率的な利用、土壌汚染地での農業生産が可能であることなどから、都市圏農業としての広がりが期待されている。

### 第2章 メタン発酵消化液の硝化に伴う多量要素濃度の変化

メタン発酵消化液を養液栽培用培養液として利用する場合、多量に含まれるアンモニウムイオンが問題となる。一般に植物の根にとって、高濃度アンモニウムイオンは有害であり、植物は窒素肥料成分として、アンモニウムイオンより硝酸イオンを好む。また、硝酸イオンの同時施用がアンモニウム障害を緩和するとの報告もある。そこで、養液栽培に利用する前に硝化細菌を用いてメタン発酵消化液中のアンモニウムを硝酸に酸化（硝化）する必要がある。また硝化によるアンモニウムや硝酸イオン濃度の変動のみならず、メタン発酵消化液中の他の無機栄養素濃度について、硝化による pH 低下などに伴う変動を把握する必要があるが、その先行研究は見当たらない。そこで、生ごみのメタン発酵消化液を硝化した場合の多量要素濃度の変動について調べた。その結果、メタン発酵消化液の硝化に伴い、液中のリン酸とカルシウムイオンの濃度が増加することがわかった。これは、硝化過程での pH の低下（5.9-6.1 から 4.0-4.2）による懸濁物質等からの両イオンの溶出速度が、他の反応（微生物による摂取、吸着等）の速度に比べて大きいことが原因と考えられる。硝化したメタン発酵消化液を更なるろ過した後の液（ろ過硝化メタン発酵消化液）中の多量要素濃度はマグネシウムを除き養液栽培用標準培養液（園試処方）と同程度であり、マグネシウム濃度は園試処方濃度を下回っていた。加えて、ろ過硝化メタン発酵消化液の pH を通常の養液栽培用培養液の範囲内に上昇させても、液中の多量要素濃度はマグネシウムを除き園試処方と同程度であった。また、微量元素の濃度について養液栽培用の商用標準培養液（OAT Agrio-A）と比較すると、鉄とマンガンのみが不足していた。以上、メタン発酵消化液を養液栽培用培養液として利用するためには、硝化は窒素成分のみならず、他の無機成分も有効利用できる前処理方法である。

### 第3章 ろ過硝化メタン発酵消化液を培養液として用いたキクのロックウール養液栽培

前章の研究から、生ごみ由来のろ過硝化メタン発酵消化液中の無機栄養素濃度は、標準培養液と比較してマグネシウム、鉄およびマンガンが不足していることがわかった。一方、先行研究では、酸によりロックウールから鉄やマンガンが溶出したこと、バラ、キュウリ等を鉄イオン濃度ゼロの培養液を用いてロックウール栽培した場合に鉄障害を示さなかったことが報告されている。これらから、メタン発酵消化液を硝化およびろ過し、さらにマグネシウムイオンを補充すれば、ロックウール栽培の培養液として利用できるとの仮説を立てた。そこで、ろ過硝化メタン発酵消化液中に浸漬したロックウールからのマグネシウム、鉄およびマンガンの溶出について調べた。また、マグネシウムを補充したろ過硝化メタン発酵消化液および補充していないろ過硝化メタン発酵消化液を用いてキクのロックウール栽培を行い、その成長特性を解析した。

その結果、ろ過硝化メタン発酵消化液中に浸漬したロックウールからは、鉄およびマンガンが溶出し、マグネシウムの溶出は認められなかった。ろ過硝化メタン発酵消化液で育成したキクは商用の標準培養液である OAT Agrio-A で育成したものに比べて、草丈、葉の葉緑素濃度、開花日数および最大花径では有意差を示さなかったが、地上部生体重および花数では 33% および 35% 低下した。これに対して、マグネシウムを補充したろ過硝化メタン発酵消化液を用いた場合のキクの成長は、OAT Agrio-A と有意差を示さなかった。以上から、ろ過硝化メタン発酵消化液はマグネシウムを補充すればロックウール栽培の培養液とし

て使用できることが実証できた。また、ロックウールからの溶出が、鉄およびマンガンの不足を部分的に補ったと考察した。

#### 第4章 ろ過硝化メタン発酵消化液を用いた微細藻類ユーグレナの培養

第2章の研究から、メタン発酵消化液は硝化に伴い濃度が減少するものの、なお商用標準培養液に比べ約4倍の濃度のアンモニウムイオンを含んでいることがわかった。一方、先行研究では、ユーグレナは希釈されたメタン発酵消化液で増殖可能であり、低pH条件下(pH3.4)でも高い増殖速度を維持し、増殖のためにアンモニウムイオンを利用するが硝酸イオンは利用できないことが報告されている。また、淡水藻類では一般に、増殖に最適な培地内無機態リンに対する無機態窒素の重量比は6.8-10であるとされている。これらから、本章では、ろ過硝化メタン発酵消化液を用いてユーグレナを培養し、ユーグレナ収穫後の残液を用いて植物を養液栽培で育成するシステム(ユーグレナと植物の直列生産システム)の構築を目標とした。このシステムは養液栽培で育成された植物に加え、商用的価値の高い機能性物質を含むユーグレナを生産でき、またアンモニウムイオンをユーグレナの吸収により減少させ、その後の植物生産性を向上させられる可能性がある。そこで、ろ過硝化メタン発酵消化液を用いてユーグレナを培養し、その増殖速度、およびろ過硝化メタン発酵消化液中の多量要素濃度の変化を調べた。

希釈したろ過硝化メタン発酵消化液(ろ過硝化メタン発酵消化液の含有率が10%から75%)および無希釈のろ過硝化メタン発酵消化液で培養したユーグレナの比増殖速度に有意差はなく、 $0.925 \pm 0.033 \text{ d}^{-1}$ (平均  $\pm$  標準誤差)であった。この値は、標準培養液(Cramer-Myers 培養液)を用いて独立栄養培養した時の比増殖速度と同等であった。また、この結果はろ過硝化メタン発酵消化液中には、ユーグレナの生育に必須なビタミンB1とビタミンB12が含まれていることを示している。ユーグレナを減速増殖期(培養開始後6日、細胞密度 $1.9 \times 10^5 \text{ 個 mL}^{-1}$ )まで増殖させた後のろ過硝化メタン発酵消化液中に含まれる硝酸、カルシウム、マグネシウム、カリウムおよびリン酸の各イオン濃度は、培養開始前と同程度であった。アンモニウムイオン濃度は10.5%減少したが、なお商用標準培養液の濃度を上回っていた。以上の知見から、メタン発酵消化液を用いたユーグレナと植物の直列生産システムを提案した。

#### 第5章 ろ過硝化メタン発酵消化液を用いたユーグレナとレタスの同時生産の可能性

前章の結果に基づき、ろ過硝化メタン発酵消化液を用いたユーグレナとレタスの同時生産の可能性について検討した。同時生産システムは前章の直列生産システムに比べて、育成に要する時間や空間を削減できる。ここでは、模擬ろ過硝化メタン発酵消化液を用いて湛液水耕したレタス根域培地中でユーグレナを育成し、それぞれを単独で育成した場合と比較した。模擬ろ過硝化メタン発酵消化液として、商用標準培養液(OAT Agrio-A)に、ろ過硝化メタン発酵消化液と同じ濃度になるようにアンモニウムイオンを追加し、Cramer-Myers 培養液と同じ濃度になるようにビタミンB1とB12を補充したものをを用いた。

同時育成した時のユーグレナの細胞密度は、単独で育成した時とほぼ同様に推移し、比増殖速度も同等であった。同時育成した時のレタスの生体重および乾物重、相対成長速度および葉の葉緑素濃度は、単独育成した時と同等であっ

た。以上の知見から、メタン発酵消化液を用いたユウグレナとレタスの同時生産システムを提案した。

## 第6章 結論

本研究では、(1) 食品廃棄物由来のメタン発酵消化液は硝化に伴いリン酸およびカルシウムイオン濃度が増加し、ろ過硝化メタン発酵消化液は、養液栽培用の標準培養液に比べて無機栄養素としてマグネシウム、鉄およびマンガンのみが不足していること、(2) ろ過硝化メタン発酵消化液をロックウール養液栽培での培養液として利用する場合、ロックウールから溶出する鉄およびマンガンが、不足するこれらイオンを補うため、マグネシウムのみを補充すればよいこと、(3) ユウグレナをろ過硝化メタン発酵消化液で培養することができ、培養液のアンモニウムイオン濃度を効率的に低下させることができることを明らかにした。さらに、ユウグレナとレタスの直列生産システムおよび同時生産システムを、メタン発酵消化液を有効利用できる新規農業生産技術として提案した。

## 審査結果の要旨

メタン発酵は、大都市圏で日々大量に発生する食品系廃棄物を再利用するための有望な技術であり、有機物は嫌氣的に生分解され、再生エネルギーであるメタンガスに変換される。また発酵後の残渣（発酵消化液）は窒素化合物等を含み、肥料や土壌改良剤として利用できる。しかし我が国の大都市近傍では農地が少ないこと、遠隔農地で利用するには運搬コストがかかりすぎることで、需要に季節変動があり大規模貯留施設が必要となること等から、農地や緑地での利用は制限されている。そのため、一般には固液分離され、固相分は焼却、液相分は処理後に放流される。他方、窒素肥料は製造過程で多大なエネルギーを消費し、P、K等の天然肥料原料は枯渇が懸念されている。そこで本研究では、発酵消化液を養液栽培の培養液として利用することに着目した。近年、施設型農業での普及が進む養液栽培は、水や肥料の効率的な利用、土壌汚染などで栽培が不適な土地での農業生産が可能であることなどから、都市圏農業としての広がりが期待できる。

発酵消化液を植物栽培に利用する場合、多量に含まれる  $\text{NH}_4^+$  の有害性が問題となる。そこで、事前に硝化細菌を用いて発酵消化液中のアンモニアを硝酸に酸化（硝化）する必要がある。また硝化による pH 低下等に伴う発酵消化液中の他の無機栄養塩の挙動について把握する必要があるが、その先行研究は見当たらない。そこで、生ごみの発酵消化液を硝化した場合の多量要素濃度の変動について精査した。

その結果、発酵消化液の硝化に伴い pH が 6 から 4 に低下すると懸濁物質等か

ら肥料多量要素であるリン酸と Ca が溶出した。硝化した発酵消化液をさらにろ過した液（ろ過硝化発酵消化液）中の多量要素濃度は、Mg を除き養液栽培用標準培養液（園試処方）とほぼ同等であった。加えて、ろ過硝化発酵消化液の pH を商用標準培養液の推奨範囲（5～6）内に上昇させても、液中の多量要素濃度は Mg を除き市販培養液と同程度であった。また、微量元素については、Fe と Mn のみが不足していた。以上、硝化は窒素成分のみならず、他の多くの無機成分も肥料として利用できる有効な前処理方法であった。

次に、Fe や Mn は、硝酸により溶液栽培用ロックウール培地から溶出すると考え、硝化ろ過後の発酵消化液に Mg を補充すれば、ロックウール耕の培養液となり得るとの仮説を立て、溶出実験およびキク栽培の実証実験を行った。その結果、ろ過硝化発酵消化液中に浸漬したロックウールからは、Fe および Mn が溶出し、Mg を補充したろ過硝化発酵消化液のみを用いたロックウール耕でキクの栽培ができることを実証した。

発酵消化液は硝化に伴い  $\text{NH}_4^+$ 濃度が減少するものの、まだ商用標準培養液に比べ約 4 倍の濃度の  $\text{NH}_4^+$ を含んでいた。そこで、 $\text{NH}_4^+$ 吸収効率の高いユーグレナをろ過硝化発酵消化液で培養し、 $\text{NH}_4^+$ 濃度を低下させた残液を用いて植物を養液栽培するシステム構築を目的として、一連の実験を行った。

その結果、ろ過硝化発酵消化液でユーグレナは高い比増殖速度 ( $0.925 \text{ d}^{-1}$ ) を示した。ユーグレナ培養により、 $\text{NH}_4^+$ 濃度は約 1 割低下したが、硝酸、Ca、Mg、K およびリン酸濃度の低下は小さく、レタス栽培の肥料成分として十分量を残していた。また、ろ過硝化発酵消化液中には、ユーグレナの生育に必須なビタミン B1 とビタミン B12 が含まれていることが判明した。以上の知見から、発酵消化液を用いた植物の養液栽培生産に加え、商用的価値の高いユーグレナを同時生産できるシステムを提案した。

以上、本研究では新規知見として、(1)発酵消化液は硝化に伴いリン酸および Ca 濃度が増加するが、商用標準培養液に比べて無機栄養素として Mg、Fe および Mn が不足していること、(2) ろ過硝化発酵消化液をロックウール養液栽培での培養液として利用する場合、ロックウールから Fe および Mn が溶出するため、不足する Mg のみの補充でよいこと、および(3) ユーグレナをろ過硝化発酵消化液で培養でき、培養液の  $\text{NH}_4^+$ 濃度を効率的に低下させることができることを明らかにした。さらに、ユーグレナとレタスの同時生産システムを、発酵消化液有効利用のための新規農業生産技術として提案した。

これら一連の研究成果は、持続可能な社会の構築、さらには農学の発展に大きく貢献すると考えられ、本論文の審査ならびに最終試験の結果とあわせて、博士(緑地環境科学)の学位を授与することを適当と認める。