

平成 30 年 6 月 23 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2015～2017

課題番号：15KT0117

研究課題名(和文) バイオマス発酵ガスが植物の成長に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Influence of gases produced from aerobic fermentation of biomass on plant growth

研究代表者

高橋 伸英 (TAKAHASHI, Nobuhide)

信州大学・学術研究院繊維学系・教授

研究者番号：40377651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はバイオマスを微生物により好気的に発酵させ、生成する二酸化炭素やその他の揮発成分をハウス等の施設栽培で植物に供給し、作物収量の著しい増大を実現できる栽培技術の確立を目指している。カラマツに発酵鶏糞と微生物供給剤を混合し酸素存在下で発酵させ、発酵ガスをシロイヌナズナに供給することにより、成長が著しく促進することを見出した。また、その効果は微生物の種類により異なり、CO₂以外の揮発成分が成長促進に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aims at establishment of technology for greatly promoting plant growth in greenhouses by supplying gases including CO₂ and other volatile substances produced from aerobic fermentation of biomass. This study demonstrated that the growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings was significantly promoted by the gases produced from aerobic fermentation of Larch shavings mixed with the fermented chicken manure and some microorganism sources. Also, it has been found that the growth-promoting effect depends upon the kind of microorganism source used, and it was indicated that volatile substances other than CO₂ contributed to the plant growth promotion.

研究分野：環境工学, 化学工学

キーワード：バイオマスの好気性発酵 発酵ガスによる植物成長促進 発酵ガス中のアンモニア抑制

1. 研究開始当初の背景

世界人口の増加に伴い食料不足が危惧されている。日本においても、食料自給の観点から、食料を効率よく生産するシステムを確立することが求められている。特に日本は国土が狭く、その中でも中山間地は広い耕地の確保が困難である。また、冬季の収量低下等の問題を抱えており、狭い農地でも周年で収量を劇的に増大する画期的な技術が求められている。

その手段として、寒冷地における暖房を使用したハウス栽培が代表的である。しかし、ハウス暖房の熱源には石油系燃料が一般的に用いられており、燃料コストが生産コストに占める割合が大きく、農家の経営を圧迫している。また、高度に環境条件を制御した施設栽培技術も研究・開発されているが、高度な環境制御技術は生産コストをさらに押し上げることが予想される。また、二酸化炭素を高濃度化し植物成長を促進するいわゆるCO₂施肥についても近年広く知られ、実際の栽培にも使用されており、化石燃料の燃焼やボンベからの供給が行われているが、前者は環境問題につながり、後者は高コストという課題がある。

そこで、本研究代表者は再生可能資源であるバイオマス微生物により好氣的に発酵させ、発酵熱および生成するCO₂をハウス栽培に利用することを提案し、研究を行ってきた。発酵に注目した理由は、バイオマスを燃焼させる際に必須となる乾燥工程が不要であること、発酵の長期持続性、発酵後の残渣は堆肥として利用可能である、など、多くの利点が期待できるためである。

発酵速度はバイオマス原料の性質に大きく依存する。日本には未利用の木質系バイオマスが多く存在するため、これまでの研究では主に木質系バイオマスを対象としてきた。しかし、炭素/窒素比(以降、C/N比)が高く微生物の増殖に必要な窒素が不足している。そのため、別途高窒素含有量の副資材を添加する必要がある。

一方、野菜栽培後の非可食部残渣の処理コストの削減、有効利用が求められている。本研究では野菜栽培残渣を発酵原料として利用することも提案する。しかし、野菜栽培残渣は木質系バイオマスとは異なり、元来C/N比が小さく、別途窒素供給源を添加する必要はないが、窒素が過剰にあるため、発酵時に植物に有害なアンモニアが生成する可能性がある。さらに、含水率が高く嫌氣的になる傾向があるため、含水率調整用におがくずや籾殻など低含水率の副資材と混合する必要がある。このように、異なるバイオマス種類の発酵挙動を把握し、それぞれに適した副資材の添加、処理が必要である。

さらに、近年、CO₂以外に微生物発酵により生成されるアセトイン、2,3-ブタンジオールなどの揮発成分が植物の成長を促進するという報告もある。CO₂施肥に加え、これら

の揮発成分を人為的に施用できるようにすれば、さらなる作物収量の増大が可能になると期待される。しかし、木質バイオマスからそれらの揮発成分が生成したという報告はない。バイオマスの種類や微生物と生成する揮発成分の関係、および、その植物への影響についてはまだ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究はバイオマス資源循環型の食料生産システムの中核技術として、廃棄物系バイオマスから、微生物発酵により熱と二酸化炭素、あるいはその他の有用成分を取り出し、それらをハウス等の施設栽培で利用し、作物収量の著しい増大を実現できる栽培技術の確立を目指している。その中でも、特に、バイオマスの発酵により生じる二酸化炭素を含む発酵生成ガスの供給が植物の成長に与える影響を明らかにすることを研究目的として掲げる。

上記の目的を達成するために、具体的には以下の項目を調査、検討する。

1) 木質バイオマスの好気性発酵において、最適な窒素源を明らかにするとともに、木質バイオマスの発酵挙動を把握する。

2) 野菜栽培残渣の発酵挙動および発酵生成ガスの組成を把握する。アンモニアの生成が認められる場合には、その発生抑制、除去技術を探索する。

3) バイオマスの発酵による生成ガスが植物の成長に与える影響を明らかにする。微生物の種類による成長促進効果への影響を明らかにする。生成ガス中の成分を明らかにし、特に、CO₂以外の揮発成分の成長促進効果の有無について調査する。

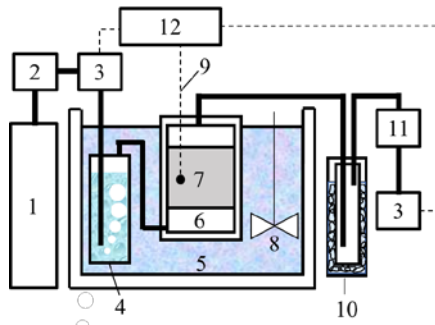
3. 研究の方法

(1) 木質バイオマスの発酵挙動と窒素供給源の探索

木質バイオマス原料として長野県に豊富に存在するカラマツを対象とした。微生物発酵に適したC/N比に調整するためには窒素供給源の添加が必要である。そこで複数の窒素供給源を用いて発酵実験を行い、最適な窒素供給源を探索した。本研究では、窒素供給源として発酵鶏糞、硫酸アンモニウム、尿素を使用した。

図1に発酵実験装置の概略を示す。2Lのアルミ製反応容器内にカラマツのかんなくず、窒素供給源、および、微生物供給剤を混合し充填した。C/N比が16となるように各窒素源の添加量を調整した。発酵槽内の試料含水率は60%(湿量基準)に調整した。また、微生物供給剤としてカビや酵母、バチルス菌を含むVS34(ブイエス科工)を添加した。

反応器内の試料温度が40°Cとなるよう恒温水槽温度を制御した。空気ボンベから反応



1. Air cylinder 2. Mass flow controller 3. Oxygen sensor
4. Vapor saturation unit 5. Thermostatic water bath
6. Reactor 7. Fermentation material 8. Stirrer
9. Thermocouple 10. Ice trap 11. Gas drier 12. Datalogger

図1 発酵実験装置

器内へ空気を所定の流量で供給し、好氣的に発酵させる。反応器通過前後のガス中酸素濃度を酸素センサーで測定し、それらとガス流量から酸素消費速度を求め、発酵速度とした。また、最下流部でガスバグにてガスを採集し、ガスクロで O_2 、 CO_2 濃度を分析した。

(2) 野菜残渣の発酵挙動、アンモニア生成挙動の把握およびアンモニア発生抑制技術の確立

野菜残渣としてトマトの茎や葉などの栽培残渣を用いた。トマトの栽培残渣は C/N 比が 10-20 と木質系バイオマスに比べて低いため、窒素源を添加する必要はないが、一方で、アンモニアが生成しやすい。また、含水率が高い (80%以上) ため、含水率を調整するための副資材の添加が必要になる。本研究では、農作物の非可食部残渣として有効利用が望まれている籾殻を副資材として使用した。

実験には図 1 と同じ装置を使用し、まず、栽培残渣単独で発酵実験を行い、発酵速度の測定、および、発酵生成ガスの成分分析を行った。発酵ガス中のアンモニア濃度については、反応器直後、および、アイストラップ通過後でガス検知管により測定した。次に、籾殻を添加し、添加量と発酵速度、および、生成ガス組成の関係を調査した。

(3) 木質バイオマスの発酵ガスの組成と植物の成長に与える影響の解明

CO_2 を含む発酵ガスを直接植物の栽培に供給し植物成長への影響を調査した。使用した発酵および栽培実験装置の概略を図 2 に示す。

発酵原料としてカラマツを用い、窒素源と

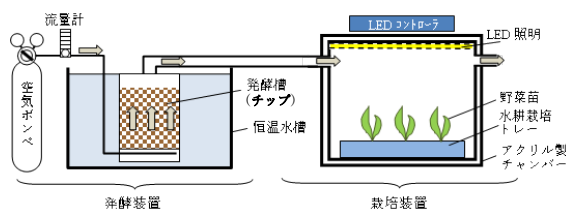


図2 発酵-栽培実験装置

して発酵鶏糞を、微生物資材として VS34 を使用し、前述と同様の方法で好気性発酵させ、反応器を通過した空気を植物栽培装置に導入した。栽培装置には 8.2 L の容積を持つ透明プラスチック製水槽を用いた。栽培装置内の CO_2 濃度が植物成長を促進するのに十分高くなるよう、本研究では発酵装置を 2 セット用意し、それぞれの反応器からのガスを合流させ、栽培装置に供給した。また、時間とともに発酵速度が低下し CO_2 濃度も低下するため、この実験では発酵開始 1 週間後に発酵反応器内の試料を新しいものに入れ替えた。

栽培植物はシロイヌナズナを使用した。別途ロックウールに播種し、栽培に適した大きさになった時点で栽培実験に使用する。栽培は水耕栽培で行い、養液を満たした栽培トレーに植物の苗 6 個体を置く。栽培装置には光源として LED 照明が設置され、栽培面で $60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$ の光子束になるよう調整し、点灯 16 時間、消灯 8 時間で光を照射した。栽培装置内にはファンが取り付けられ、装置内の空気を攪拌し、温湿度・ CO_2 センサーにより環境条件をモニタリングした。また、比較対照として、 CO_2 濃度が約 400 ppm の室内空気を供給した栽培装置を用意し、同様の条件でシロイヌナズナを栽培した。2 週間栽培した後、それぞれの栽培装置内の苗の葉の面積、生・乾重量などを測定した。この VS34 を用いた実験を実験 1 とした。

また、微生物供給剤を VS34 から、セルロース分解に有効な *Trichoderma* 属の菌を含む微生物資材 VS トリコ (ブイエス科工) に変えて同様に発酵実験を行った (実験 2)。また、VS トリコを用いて 1 週間発酵を行った後、試料を入れ替えずにバチルス属の菌種を含む微生物資材リペア・プラス (サバンナプラン) を追加した場合についても実験を行った (実験 3)。これは、トリコデルマ属の菌によりバイオマス中のセルロースを分解し糖化した後、その糖を利用してバチルス菌が植物成長促進効果のあるアセトインや 2,3-ブタンジオールを生成することを狙ったものである。

さらに、実験 1 において発酵ガスを栽培装置に供給したところ、栽培装置内の CO_2 濃度は平均で 1400ppm になり、苗の成長が大幅に促進することが確認された。そこで、これが CO_2 のみの効果であるか、他の揮発成分の影響かを検討するために、 CO_2 ガスボンベから CO_2 を栽培装置内に平均 1400ppm になるよう供給し栽培実験を行った (実験 4)。

また、実験 1~3 については、発酵反応器から排出されたガス中の化合物を固相マイクロ抽出法で採取し、GC-MS で分析した。

4. 研究成果

(1) 木質バイオマスの発酵挙動と窒素供給源の探索

本研究では窒素源として発酵鶏糞、硫酸、尿素を使用した。まず、尿素および硫酸を窒

素源とした場合は、最大酸素消費速度は硫酸の方が少し大きくなり、硫酸は約1日で最大となり、尿素は少し遅れて2日目で最大となった。これは、硫酸は NH_4^+ を含む速効性の窒素であり、尿素は遅効性の窒素であるためだと考えられる。両者とも、最大値をとった後は速やかに発酵速度が低下した。

そこで、速効性の硫酸と遅効性の尿素を混合することで発酵速度の向上と持続を試みた。図3に硫酸と尿素を混合した場合の酸素消費速度の時間変化を示す。硫酸と尿素を混合することで2つのピークが現れた。1つ目のピークが硫酸、2つ目のピークが尿素によるものであると考えられる。単独のときよりも酸素消費速度の低下が緩やかになった。

一方、発酵鶏糞を用いた場合の酸素消費速度も図3に示した。硫酸や尿素、および、それらを混合した場合に比べて酸素消費速度のピークは著しく大きく、低下も緩やかであった。この理由として、発酵鶏糞には窒素以外にリンとカリウムが含まれているからであると考えた。そこで、硫酸と尿素の混合物にさらに KH_2PO_4 を発酵鶏糞のリンの量と同等になるように添加した。その結果、最大酸素消費速度は発酵鶏糞と同等の値となった。しかし、発酵鶏糞のような発酵速度の緩やかな低下は見られず、急激に低下した。この理由として、発酵鶏糞の方がpHが微生物の増殖に好適な中性付近にある、発酵鶏糞に多量に含まれるカルシウムなど他の成分の寄与、または発酵鶏糞が微生物単体として適しているなどが考えられたが、詳細は不明である。以上の結果より、本研究で調査した窒素源の中では発酵鶏糞が最も適していることが分かった。

また、発酵鶏糞の場合では、 CO_2 濃度の最大値は約50000 ppmに達し、10000 ppm以上の濃度が約4週間継続した。これより、栽培に十分な CO_2 濃度のガスを十分な期間供給できることが明らかとなった。

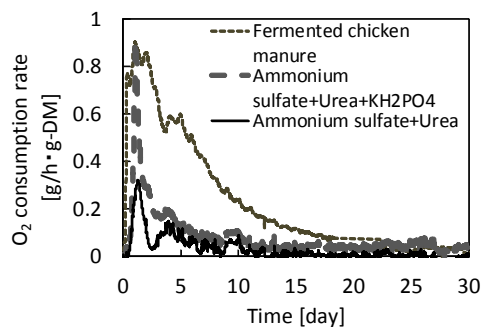
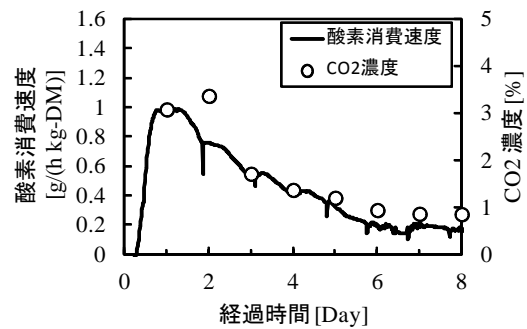


図3 酸素消費速度の時間変化 (カラマツ)

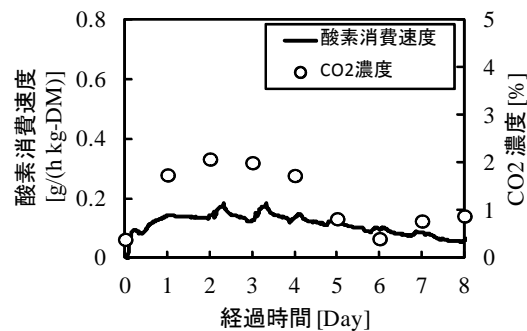
(2) 野菜残渣の発酵挙動、アンモニア生成挙動の把握およびアンモニア発生抑制技術の確立

栽培残渣単独の場合の酸素消費速度の時間変化を図4(a)に示す。酸素消費速度は実験

開始直後から急激に上昇し、その後徐々に低下し、6日目以降はほぼ一定となった。

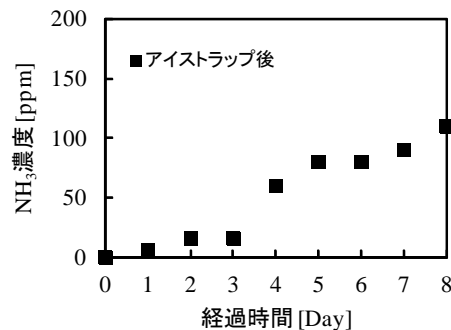


(a) トマト残渣単独の場合

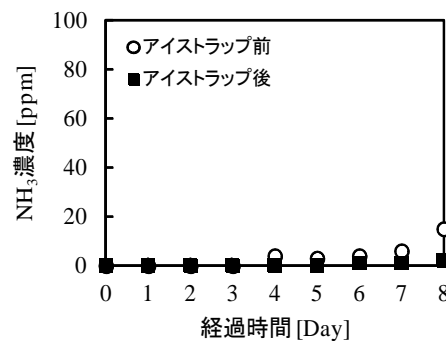


(b) トマト残渣と粃殻を1:3で混合した場合

図4 トマト栽培残渣の発酵実験結果



(a) トマト残渣単独の場合



(b) トマト残渣と粃殻を1:3で混合した場合

図5 トマト栽培残渣の発酵実験におけるアンモニア生成挙動

C/N 比は前述のカラマツの場合と同等であるが、酸素消費速度はそれよりもやや高くなった。

次に、栽培残渣と籾殻を乾燥重量比 1:1、1:2、1:3 で混合し、発酵実験を行った。1:3 の場合の酸素消費速度の結果のみ図 4(b) に示すが、籾殻の混合比の増加に伴い酸素消費速度、つまり、発酵速度は低下した。一方、図中には排ガス中の CO₂ 濃度の時間変化も示した。CO₂ 濃度は酸素消費速度と同様の挙動を示した。これより、有機物の好気性発酵が起こっていることが確認された。

また、トマト栽培残渣の炭素/窒素比 (C/N 比) は 12~13 であるのに対し、籾殻の C/N 比は 141~149 であった。C/N 比が小さい方が微生物の栄養となる窒素源が多いため、発酵速度は高くなる。したがって、C/N 比の大きな籾殻をトマト残渣に添加したため、混合試料量当たりの酸素消費速度 (発酵速度) は低下したと考えられる。

図 5(a) に栽培残渣単独の場合の排ガス中のアンモニア濃度の時間変化を示す。これはアイストラップ通過後の濃度である。図より、時間の経過とともにアンモニア濃度が増大し、8 日目には 100 ppm を超えるアンモニア濃度が観測された。ただし、アイストラップによるアンモニアの吸収の可能性が考えられたため、これ以降はトラップ前後で濃度を測定した。

図 5(b) に、栽培残渣と籾殻の混合比 1:3 の場合のアンモニア濃度を示す。図示はしていないが、籾殻の混合比の増大に伴い、トラップ前後ともにアンモニア濃度が全体的に低下した。アイストラップ通過前の方が高いアンモニア濃度を示したことから、アイストラップで凝縮した水とともにアンモニアが一部除去されていることが明らかとなった。混合比 1:3 の場合では、トラップ前のアンモニア濃度は時間の経過とともに増大するものの、最初の 1 週間では 5 ppm 以下の濃度であった。また、トラップ後の濃度は同じ期間で 1 ppm 未満であった。籾殻の添加によりアンモニアの発生が著しく抑制されることが明らかとなった。

籾殻混合によるアンモニア生成抑制の理由としては、一つは籾殻を混合することにより C/N 比が高くなり、相対的に窒素が少なくなることでアンモニアが発生しにくくなったことが考えられる。もう一つの理由として、籾殻によるアンモニアの吸着が考えられる。別途行った籾殻によるアンモニアの吸着試験では、籾殻にアンモニア吸着能があることが確認された。籾殻を混合したことによる酸素消費速度の低下の割合よりもアンモニア濃度低下の割合の方が大きいことから考えると、単に窒素が相対的に少なくなることによる発生抑制だけでなく、吸着の寄与も大きいと推測される。

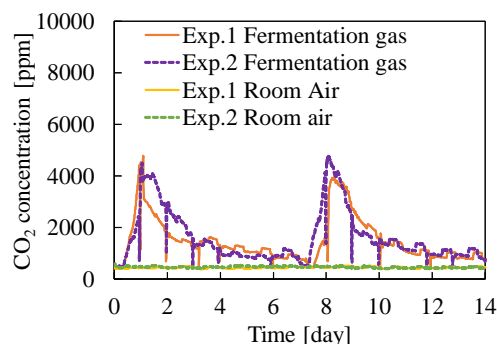
(3) 木質バイオマスの発酵ガスの組成と植物

の成長に与える影響の解明

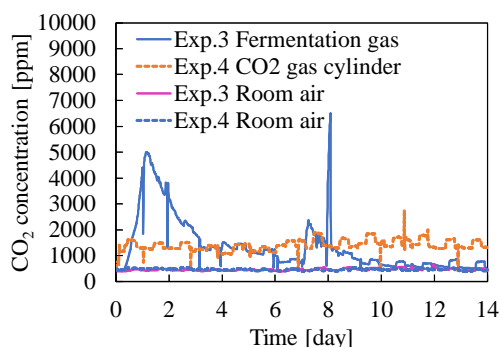
図 6 に各実験における栽培装置内の CO₂ 濃度の時間変化を示す。発酵ガスを供給した装置と室内空気を供給した装置のそれぞれについて示した。いずれの実験においても室内空気供給栽培装置内の CO₂ 濃度は約 450 ppm でほぼ一定であった。

実験 1、2 では、発酵ガス供給装置内の CO₂ 濃度が 1、8 日目ではほぼ同等の極大値を示した。これは、前述した通り、発酵実験開始後 1 週間で試料を新しいものに取り替えることにより発酵速度が上昇し、高濃度の CO₂ ガスが供給されたためである。実験 3 では発酵試料の取り替えを行っていないが、7 日目に微生物資材リペア・プラスを追加したことにより新たに分解が進み、CO₂ 濃度が上昇したものと推測される。実験 4 はボンベから CO₂ を供給したが、概ね 1400 ppm でほぼ一定に制御できたことが分かる。実験 1~4 の 2 週間の栽培期間の平均 CO₂ 濃度はそれぞれ 1487、1612、1364、1395 ppm であった。

各実験において、室内空気供給で栽培した植物重量に対する、発酵ガスまたはボンベからの CO₂ 供給で栽培した植物重量の比を生重量と乾重量について表 1 に示す。実験 1 では



(a) 実験 1、2 の場合



(b) 実験 3、4 の場合

図 6 栽培装置内の CO₂ 濃度の時間変化
表 1 発酵ガスによる植物成長促進効果

実験番号	1	2	3	4
微生物源	VS34	VS Tricho	VS Tricho Repair・plus	-
生重比	1.4	1.6	1.8	1.4
乾重比	1.3	1.4	1.6	1.4

対照実験に対して 1.4 倍の生重量となった。微生物資材を VS トリコに変えた実験 2 では 1.6 倍となった。さらに、2 種類の微生物資材を使用した実験 3 では、実験 1、2 よりも平均 CO₂ 濃度は低かったものの、生重比は 1.8 倍と最大であった。このことより、微生物の種類により植物成長に差が生じることが明らかとなった。また、実験 2、3 ではボンベから CO₂ 供給を行った実験 4 の生重比 1.4 倍よりも大きく、CO₂ 以外の何らかの植物成長促進要因があると推測された。

発酵ガスの GC-MS 分析により、実験 1~3 のいずれにおいても、アセトインと 2,3-ブタンジオールの生成は確認できなかった。しかし、他の植物成長促進物質であるピネンが確認された。これはマツ科の植物の特徴であると考えられる。一方、実験 2、3 ではピネンに加え、植物の成長を促進すると報告のあるアセトフェノンの生成が確認された。両実験とも VS トリコを用いており、Trichoderma 属の微生物を用いることによりアセトフェノンが生成したと推測された。実験 2、3 では発酵ガス中にピネンに加えアセトフェノンが含まれており、それにより植物成長が他の実験に比べて促進された可能性がある。

以上より、木質バイオマスを好氣的に発酵させ、生成したガスを植物に供給することにより、植物の成長を促進できることが示された。また、その効果は使用する微生物の種類によって異なり、発酵ガス中に含まれる CO₂ 以外の揮発物質による成長促進効果も期待できることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

①高橋伸英, 望月俊, 増田顕澄, 嶋田五百里, 長田光正, 福長博, 木質バイオマスの好気性発酵速度に及ぼす温度、含水率、C/N 比の影響, 化学工学論文集, 43(4), 231-237 (2017) 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

① Kento Masuda, Iori Shimada, Osada Mitsumasa, Hiroshi Fukunaga, Nobuhide Takahashi, Plant growth promotion by product gases from aerobic fermentation of woody biomass, The 5th Asian Conference on Biomass Science (2018) ポスター発表

② 増田顕澄, 嶋田五百里, 長田光正, 福長博, 高橋伸英, 木質バイオマスの好気性発酵ガスによる植物生長促進, 第 13 回バイオマス科学会議, P-39 (2018)

③ 増田顕澄, 高橋伸英, 福長博, 長田光正, 嶋田五百里, 木質バイオマスの好気性発酵ガスによる植物生長への影響, 化学工学会第 49 回秋季大会, CA303 (2017) 口頭発表

④ Kento Masuda, Nur Shahiza Binti Mohd

Aizzuddin, Iori Shimada, Osada Mitsumasa, Hiroshi Fukunaga, Nobuhide Takahashi, Influence of the effluent gas from aerobic fermentation of biomass materials on plant growth, The 17th Congress of the Asian-Pacific Confederation of Chemical Engineering, Food-Bio-P6 (2017) ポスター発表

⑤ 増田顕澄, 嶋田五百里, 長田光正, 福長博, 高橋伸英, 木質バイオマスの好気性発酵速度に及ぼす窒素源の影響, 第 25 回日本エネルギー学会大会, 3-5-3 (2016) 口頭発表

⑥ 増田顕澄, 嶋田五百里, 長田光正, 福長博, 高橋伸英, 木質バイオマスの好気性発酵における発酵促進剤の影響, 化学工学会第 18 回学生発表会 (浜松大会) (2016) 口頭発表

⑦ Yoshiaki Tanuma, Yasutaka Ono, Mitsumasa Osada, Iori Shimada, Hiroshi Fukunaga, Nobuhide Takahashi, Development of a technology for supplying carbon dioxide to a greenhouse by utilizing fermentation of agricultural residue, Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering (APCCHE) Congress 2015, 3133095 (2015) ポスター発表

⑧ 田沼佳明, 小野靖貴, 嶋田五百里, 長田光正, 福長博, 高橋伸英, トマト栽培残渣の好気性発酵を利用した二酸化炭素供給技術の確立, 化学工学会第 47 回秋季大会, I109 (2015) 口頭発表

〔その他〕

研究室ホームページ,
<http://www.fiber.shinshu-u.ac.jp/novhide-lab/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

高橋 伸英 (TAKAHASHI, Nobuhide)
信州大学・学術研究院繊維学系・教授
研究者番号: 4 0 3 7 7 6 5 1