

土着微細藻類培養のための精密ろ過膜を用いた 牛ふんメタン発酵消化液の色成分と栄養塩の 分離に関する研究

中島 拓海¹・佐藤 昌宏²・落合 知³・石井 一英⁴

¹ 非会員 北海道大学修士課程 大学院工学院 (〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目)

E-mail: imorin-newt@eis.hokudai.ac.jp

² 正会員 北海道大学助教 大学院工学研究院 (〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目)

E-mail: satomasahiro@eis.hokudai.ac.jp

³ 正会員 北海道大学助教授 大学院工学院 (〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目)

E-mail: ochiai.satoru@eng.hokudai.ac.jp

⁴ 正会員 北海道大学教授 大学院工学研究院 (〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目)

E-mail: k-ishii@eis.hokudai.ac.jp

消化液貯留槽と微細藻類培養槽を膜で隔てることで濃度差を駆動力とした栄養塩供給を行うシステムの構築のため、消化液の光の透過を阻害する色成分と、MF 膜による消化液からの栄養塩分離挙動の解明を目的とした。活性炭添加による着色物質 (0.45 μm 未満) 除去よりも、ろ過による懸濁物質除去のほうが、光の透過率の向上が大きく、光の透過阻害に関わるのは粒径 0.45 μm 以上の懸濁粒子だとわかった。そこで栄養塩分離実験では保持径 0.45 μm の MF 膜を用いた。結果、培養液から消化液に水分が移動するものの NH_4^+ 分離挙動への影響は小さく、濃度差を駆動力として NH_4^+ は分離された。 NH_4^+ フラックスは膜間濃度差に比例した。着色物質の移動によって培養液の光の透過率が低下するものの、微細藻類培養は可能であると考えられた。

Key Words: *natural microalgae, nutrients, digestate from cow manure, color substance, microfiltration membrane*

1. 研究背景と目的

近年、畜産分野において家畜ふん尿のメタン発酵処理の導入が広がっている。副産物であるメタン発酵消化液には栄養塩類が豊富に含まれており液肥として有効利用される。しかし散布可能な農地が確保できない場合は、水処理が必要となり維持管理コストが増大する。そのため、新たな低コスト処理や散布に代わる有効利用の方法が必要である。微細藻類は窒素等の栄養塩を利用して光合成により増殖し、従来の植物系バイオマスと比べて土地面積あたりの収率が高く、食品・医薬品・オイルなど様々な製品への加工が期待されている。そこで本研究で

は、微細藻類培養に牛ふんメタン発酵消化液 (以下、消化液) を用いることに着目した。

消化液は黒褐色を呈しており、Marcilhac ら²⁾によると、消化液の色成分は全てのスペクトルで高い吸光度を示し、培養液として用いた場合は微細藻類の生育を制限する。また、高濃度の NH_4^+ は、遊離アンモニア濃度が高くなり、微細藻類の増殖に影響を及ぼす³⁾。これらの消化液を微細藻類の培地として利用する課題に対して、消化液を希釈し、光の透過率や NH_4^+ 濃度を調整する方法や、凝集剤を添加し色成分を除去する方法が検討されている。光の透過率を改善し、微細藻類の増殖が可能と

なるには 50 倍もの希釈が必要⁴⁾と言われており、希釈水の確保や凝集剤の使用によるコスト増が課題と考えられる。一方、できるだけ消化液のまま利用する方法として、ろ紙を消化液に浸し、その表面で微細藻類を培養する方法⁵⁾や照射光の強度を強くする方法²⁾が提示されている。前者では、ろ紙からの回収方法や、培養液量増大による高い回収量が見込めないこと、後者では、太陽光では強度が限られ、照射設備が必要となることが課題と考えられる。本研究では、太陽光での培養システムを想定し、膜を用いた栄養塩と色成分の分離を検討することとした。

膜を用いた分離については、排水処理や排水からの有用物回収のための研究が数多く実施されている。糖質アルコール発酵廃液の限外ろ過 (UF) では 48.9~81.7% の色度低減効果がある⁶⁾一方で、河川水の UF 膜やナノろ過 (NF) 膜では色成分によって膜閉塞が起こる⁶⁾ことが報告されており、閉塞を改善するための逆洗や薬品洗浄、最終的には膜の交換が必要となる。これらの水処理においては、基本的に処理液を加圧して膜を透過させ、清浄な処理液が得られる。加圧により膜目より小さい物質が、膜表面に積層、膜の孔に捕捉されることで、閉塞を加速させると考えられる。土着微細藻類の培養においては、ある程度、光の透過率を改善できれば、培養が可能であることがわかっており、光の透過率を阻害する物質 (色成分) と NH_4^+ などのイオンなどを分離できれば良い。また、色成分の粒径がイオンより十分大きければ、適切な膜孔径を選択することで、加圧しなくてもイオンが消化液から処理液側に濃度拡散により移動すると考えられる。

消化液に関する光の透過率を阻害する物質 (色成分) については、研究の例が少なく、畜産汚水の着色は、フミン質やメラノイジン、ビリルビンが原因物質として示唆されているのみである。また、色成分の粒度と光の透過率の関係についても不明である。

そこで本研究では色成分の粒子径に着目し、精密ろ過 (MF) 膜を用いて色成分と栄養塩を分離し、微細藻類培養に利用する方法を確立する。この培養法では、圧力をかけず膜間の濃度勾配によって栄養塩が移動すると考えられ、膜閉塞が起こりづらく薬剤の使用や機械的な駆動力が不要となると期待される。一方で、MF 膜の孔径によっては、栄養塩と同時に色成分も移動するために、光の透過性が著しく低下すると微細藻類の増殖に影響すると懸念される。そこで、

- ①光の透過阻害に関わる消化液中色成分の特定
- ②MF 膜を用いた拡散駆動による栄養塩・色成分の分離挙動を明らかにすることを目的とした。

表 1 消化液の栄養塩濃度

NH_4^+	2481.45 [mg/L]
K^+	3075.95 [mg/L]
PO_4^-	30.00 [mg/L]

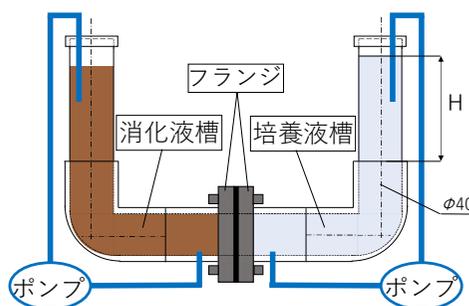


図 2 膜分離の実験装置

2. 実験方法

(1) 消化液の性状

本研究では、牛ふん尿を処理するバイオガスプラントで消化液を採取した。この消化液は、プラントにてスクリープレスにより脱水された液であり、貯留槽にたまるものである。採取した消化液を遠心分離し、その上澄みを保持径 $0.45 \mu\text{m}$ のフィルターでろ過した後、イオンクロマトグラフィー (陽イオン: DIONEX DX-120, Thermo Fisher Scientific K.K. 陰イオン: IC-2010, TOSOH) によって測定した (表 1)。

(2) 消化液のろ過・活性炭添加実験

消化液中の色成分を懸濁粒子 ($0.45 \mu\text{m}$ 以上) と着色物質 ($0.45 \mu\text{m}$ 以下) と定義した。懸濁粒子と着色物質による光の透過阻害を調べるため、消化液と粒状活性炭を添加した消化液 ($\text{L/S}=50[\text{L/g}]$ 、振とう強度 = 200 rpm 、振とう時間 = $0.5 \sim 3.0 [\text{h}]$) をそれぞれ保持径 $1 \mu\text{m}$ のガラスフィルター、 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過し、前後で光の透過率を測定した。分光光度計 (HITACHI, U-5100 Spectrophotometer) を用い、藻類培養に有効とされる⁷⁾ 赤色光域 684 nm を測定波長として、 1 cm 石英セルの純水の光の透過率を 100% とした (以降では同様の分析条件で測定)。

(3) 栄養塩の膜分離実験

膜分離実験には図 2 に示す装置を用いた。透明塩ビ管とフランジをエルボでつなぎ、塩ビ管が地面と垂直になるよう装置を固定し、同じ構造のもう一組を対にして連結する。連結部のゴムパッキンで膜を挟んで固定し、装置内部を中央で分断する。片方の槽に消化液、もう片方には培養液 (初期は蒸留水) を 600 mL ずつ入れた。この

際、同じ液量を注いで初期液面高さを揃えることで、水頭差による溶液への加圧を無くした。液面からの蒸発を減らすため、塩ビ管の先端にはキャップを被せてエアコン工用パテで固め、シーリングした。ポンプ（400mL/min）につないだチューブを、フランジに開けた穴とキャップに開けた穴へ通し、同一槽内の液を循環させることで濃度を均一にした。消化液へのろ過・活性炭添加実験の結果をもとに、栄養塩分離の実験には保持径 0.45 μm のMF（精密ろ過）膜を用いた。

計 7 日間、消化液槽と培養液槽の液面高さ (H) を記録し、各槽から定期的に 5mL ずつ採水して、サンプル毎の光の透過率と K^+ 、 NH_4^+ 濃度を測定した。H の値より各時間の槽内液量を算出し、濃度を乗じてイオン量を求め、その時間差分を膜面積で除して NH_4^+ フラックスを算出した。また、消化液と培養液を膜で隔てると、浸透圧差によって培養液側から消化液側へ水分が移動し、それに伴って栄養塩類も移動すると考えられた。この移動量を解析するために、両槽の水頭差の時間変化から水の移動量を算出し、培養液側の栄養塩濃度を乗ずることで栄養塩の移動量を解析した。

3. 実験結果

(1) 消化液色成分の透過率への影響

活性炭・ろ過処理を組み合わせた消化液の光の透過率を表 2 に示す。活性炭を添加しなかった消化液について、未ろ過の原液と保持径 1 μm フィルターのろ液では、ともに光の透過率は変化しなかったが、0.45 μm フィルターを用いたろ液の光の透過率は向上した。活性炭を添加した消化液については、添加しなかった系と同様に未ろ過の原液、1 μm フィルターろ液の光の透過率は 0%と変化しなかったものの、0.45 μm フィルターろ液の光の透過率は、活性炭を添加しなかった系のものより向上した。0.45 μm フィルターろ液では、活性炭を添加した系でより光の透過率が高いことから活性炭により粒径 0.45 μm 以下の着色物質は吸着されることがわかった。しかし、活性炭添加した原液及び 1 μm フィルターろ液での光の透過率が改善していないことから、粒径 0.45 μm 以上の懸濁物質が存在する場合は光の透過率は改善しないと言える。すなわち、消化液の光の透過阻害に関わるのは粒径 0.45 μm 以上の懸濁物質であると考えられる。

表 2 処理条件ごとの光の透過率

	活性炭添加	
	なし	あり
原液	0%	0%
1.00 μm ろ液	0%	0%
0.45 μm ろ液	40.57%	72.4~86.8%

(2) 色成分・栄養塩の膜分離挙動

a) 培養液の光の透過率低下

栄養塩の MF 膜分離実験における培養液の光の透過率の推移を図 3 に示す。光の透過率は時間経過に伴って減少し、実験開始から 168 時間で最低値 68.78%程度と、ほぼ一定となった。消化液中の 0.45 μm 以下の着色物質が光の透過を妨げるため、保持径 0.45 μm の MF 膜分離では、それらが培養液に移動して光の透過率を下げたと考えられる。目視でも培養液の色が暗茶色に変化するのを確認した。図に示した 40.57%は、保持径 0.45 μm の MF 膜を用いた消化液ろ液の光の透過率である。蒸留水を用いることによる希釈効果も踏まえると、膜分離で得られる培養液の光の透過率がこの値を下回することは無いと考えられる。このように光の透過率は減少したものの、微細藻類が培養可能であった 50 倍希釈消化液培地の光の透過率の 34.9%⁴⁾より高かった。ただしこの値は、0.45 μm 以上の粒子を含んでいる溶液のものである。0.45 μm 以下の着色物質による光の透過率の減少がどのように培養に影響するかは今後明らかにする必要がある。

b) 培養液の栄養塩濃度

培養液の NH_4^+ 濃度、 K^+ 濃度の時間変化を図 4 に示す。時間経過に伴って培養液の栄養塩濃度は上昇したが、やがて変化は緩やかになっていった。山本らが示したように、培養液の遊離アンモニア濃度が高くなると微細藻類の成長阻害を引き起こすが、このように NH_4^+ が漸進的

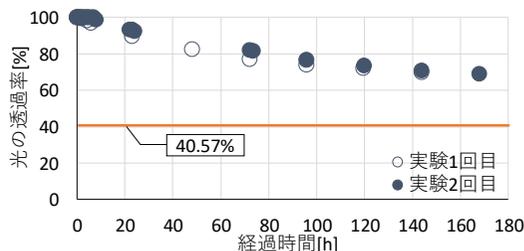


図 3 培養液の光の透過率の推移

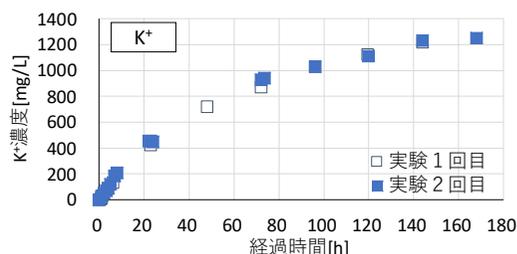
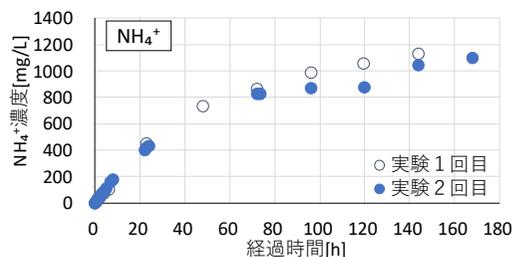


図 4 培養液の栄養塩濃度変化

に培養液へ流入し、低濃度のうちに微細藻類が NH_4^+ を消費するシステムを構築できれば成長阻害にはつながらないと考えられる。

c) 各槽の NH_4^+ 量で見るマスバランス

図 5 に各槽の NH_4^+ 量の変化を示す。消化液の NH_4^+ 量は時間とともに低下し、培養液の NH_4^+ 量は増加した。消化液側と培養液側の量を足し合わせると概ね初期の量と同程度であり、マスバランスはとれていた。どちらの液でも変化は徐々に緩やかになった。実験期間内では、最終的に全 NH_4^+ 量のうち約 4 割が消化液側から分離され、培養液側へ移動した。

d) 浸透圧差による水移動の影響

図 6 に消化液側から培養液側の水頭差の時間変化を示す。実験期間において消化液側の水位が高く、水位差は時間とともに増大し、最大で 4.4cm 程度となった。これは消化液と培養液の間の浸透圧差によって、培養液側の水が消化液側に移動したことを示す。この水移動に伴う栄養塩の移動フラックスについて e) に示す。

e) NH_4^+ フラックスと膜間濃度差

図 7 に算出した NH_4^+ フラックスと膜間濃度差との関係を示す。

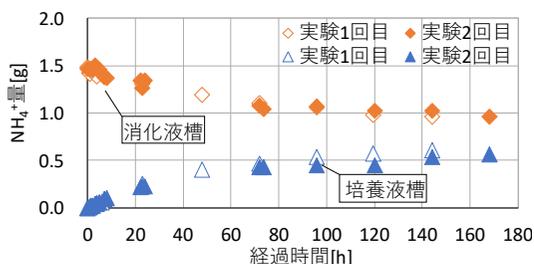


図 5 各槽内の NH_4^+ 量

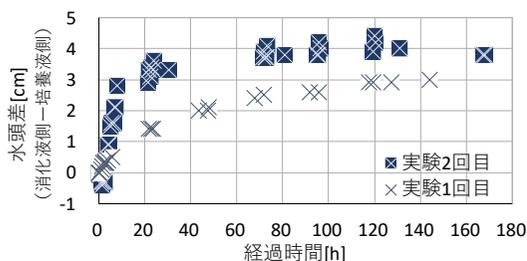


図 6 両槽の水頭差の時間変化

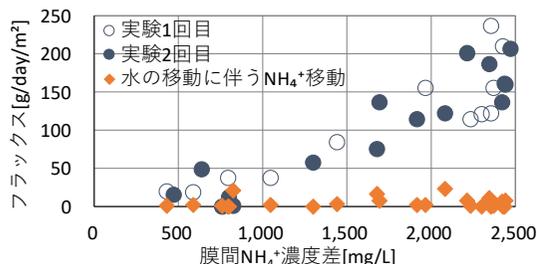


図 7 NH_4^+ フラックスと膜間濃度差の関係

浸透圧差による水移動に伴う NH_4^+ フラックス (培養液から消化液) は 0.75~23.72g/day/m² であり、消化液側から培養液への NH_4^+ フラックスよりも小さかった。二槽の濃度差と消化液から培養液への NH_4^+ フラックスは、多少ばらつくものの直線関係が見られた。従って、MF 膜による NH_4^+ の分離では浸透圧差による水分移動の影響は小さく、消化液から培養液への濃度拡散が支配的であると考えられる。

4. 結論

消化液のろ過・活性炭添加実験及び MF 膜を用いた消化液からの栄養塩分離実験を行った結果、以下のことがわかった。

- ・消化液の光の透過率障害は、0.45 μm 以上の懸濁物質による影響が大きかった。
- ・MF 膜では着色物質が消化液から培養液に移動し光の透過率が低下するが、光の透過率はほぼ一定となった。
- ・消化液と培養液の浸透圧差により水が移動するが、MF 膜により栄養塩分離は可能であり、 NH_4^+ フラックスの大きさは両液の濃度差によって決まる。(得られた NH_4^+ フラックスは、2,400[mg/L]程度の膜間濃度差で 122~237[g/day/m²]となった)

土着微細藻類が NH_4^+ を消費することで膜間濃度差が維持できれば、消化液から培養液への無加圧で受動的な NH_4^+ 供給が可能になると期待される。今後、同装置で土着微細藻類の培養を行う。

参考文献

- 1) Cyril Marcilhac : Digestate color and light intensity affect nutrient removal and composition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem, , 2014 年
- 2) 山本縁,大島義徳,千野裕之,小川幸正 : 微細藻類の培養に関する基礎的研究, 大林組技術研究所報 No.78, 2014
- 3) 佐藤ら : 牛ふんメタン発酵消化液を用いた土着微細藻類の培養条件に関する基礎的研究—栄養塩添加と pH の比増殖速度への影響, 第 30 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演集, p255-256 (2019).
- 4) 平良直秀 : 黒色色素の膜分離等に関する研究開発, 沖縄県工業技術センター研究報告書, 第 8 号, p.25-31, 2006 年
- 5) 井齋拓也 : 有機色度成分によるナノろ過膜の閉塞特性, 衛生工学シンポジウム論文集, 7, 237-241p, 1999 年
- 6) Yongjun Zhao: Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process, Bioresource Technology, 136, p461-468 (2013).

(Received June 19,2020)

STUDY ON SEPARATION OF COLOR SUBSTANCE AND NUTRIENTS IN DIGESTATE FROM COW MANURE USING A MICROFILTRATION MEMBRANE FOR CULTIVATION OF NATURAL MICROALGAE

Takumi NAKASHIMA, Masahiro SATO, Satoru OCHIAI and Kazuei ISHII

This study aims to clarify the color components that inhibit light penetration of the digestate and the behavior of nutrient separation from the digestate by Micro filtration (MF) which lead the development of micro algae cultivation system by using digestate. The improvement in light transmission was more significant due to the removal of suspended solids by filtration than the absorption of colored matter ($<0.45\mu\text{m}$) on activated carbon. This meant that the suspended particles ($>0.45\mu\text{m}$) were responsible for inhibiting light transmission. Therefore, MF filter with a retention diameter of $0.45\mu\text{m}$ was used in the separation experiments of nutrients in digestate. The results showed that water moved from the culture to the digestate, however that was small effect to NH_4 migration. Moreover, The NH_4^+ flux was proportional to the NH_4^+ concentration difference between the digestate and the culture. It was concluded that the NH_4^+ migration from the digestate to the culture was driven by the diffusion. Although transmittance of the culture medium was reduced over time due to migration of colored material, showed the possibility of microalgae cultivation.