

中温メタン発酵技術を用いた有機性廃棄物の有効利用

前川明弘*, 久保智子*, 松浦真也*, 橋本典嗣**, 川岡孝督***, 神寄康之***

Effective Utilization of Organic Wastes Using the Mesophilic Methane Fermentation Technology

Akihiro MAEGAWA, Tomoko KUBO, Shinya MATSUURA, Noritsugu HASHIMOTO, Takayoshi KAWAOKA and Yasuyuki KANZAKI

Methane fermentation is the technology with which biogas is generated from organic wastes: the biogas can be used as renewable energy. Since July 2018, the authors have started the operation of a biogas plant with the aim of reducing waste and recovering energy. For the stable operation and management of the plant, it is necessary to control the amount and components of biogas, and the state of digestive fluid and so on. In this study, we experimented on the amount of biogas generated from the mixture of various wastes and digestive fluid, and the qualitative changes in the digestive fluid after five months of operation, etc. As a result, it was revealed that the different amount of biogas were generated by different types of waste, while no large change was observed in the diversity of bacterial flora between the digestive fluids before and after the operation.

Key words: Organic Waste, Mesophilic Methane Fermentation, Digestive Liquid, Biomass Power Generation, Bacterial Flora, 16S rRNA

1. はじめに

近年、循環型社会や低炭素社会の構築を目的とした「地域循環圏」という言葉が提唱され、地域の特性や規模に応じ、循環可能な資源はなるべく地域で循環させるという取組みが推進されている¹⁾。これらに関し、生ごみや家畜排せつ物などの有機性廃棄物と発酵液（以下、消化液とする）を混合し、メタン発酵法によりエネルギーを回収・利用する手法が評価を受け、高い関心が寄せられている²⁻⁴⁾。メタン発酵法とは、消化液中に存在する嫌気性細菌の働きにより有機性廃棄物を加水分解し、最終的に、電力源などとして利用できるメタンガスを生成させる技

術である⁵⁻⁹⁾。

著者らは、主に、三重県内から発生する食品系廃棄物を活用したメタン発酵技術に関する検討を進め¹⁰⁻¹⁴⁾、平成30年7月にバイオガス発電施設（図1参照）を稼働させた。本施設では、湿式中温発酵方式により年間約400万kWhの発電量を想定しており、1日当たり最大で60トン程度の有機性廃棄物の処理が可能である。施設の立ち上げに際しては、メタン発酵槽に1200m³の消化液を投入する必要があったが、その入手は容易ではなく、最終的に、食品系ではなく畜産系消化液（家畜糞尿を用いたバイオガス発電施設から排出）を用いることになった。メタン発酵では、使用する原料や消化液の種類などの条件により反応が異なり、特に、操業開始時における消化液の変化などを把握しておくことは重要な課題となる。そこで本研究では、安定操業に向け、食

* ものづくり研究課

** 窯業研究室

*** 株式会社大栄工業



図1 バイオガス発電施設



a) 食残ペースト

b) 活性炭

図2 食残ペーストおよび活性炭

品系廃棄物と消化液との反応性を示すデータなどを数多く蓄積するために、稼働前後における消化液の菌叢の変化や、各種廃棄物と消化液との反応性を確認する実験を実施した。その結果、使用する廃棄物によりバイオガス生成量が異なることや施設稼働前後における消化液の菌種に大きな変化はないことなどが確認できた。

表1 各サンプルの固形分量

サンプル名	固形分量 (g/100g)
食残ペースト	9.7
ガムシロップ	48.8
活性炭	44.4

2. 実験方法

2.1 使用材料

各種廃棄物と消化液との反応性確認を目的としたメタン発酵試験では、バイオガス発電施設の稼働4ヶ月後に排出された消化液を用いた。有機性廃棄物には、発酵槽に原料として投入しているペースト状に加工した食品残渣（野菜、魚などを一定割合で混合し作製。以下、食残ペースト）と、今後、廃棄物の受入れを検討しているガムシロップ（固体浮遊物あり）を選定した。また、有機性ではないが、同じく受入れを検討している酒の製造工程で排出される活性炭（酢酸を含有）についても試験対象とした。食残ペーストおよび活性炭の外観を図2に、各サンプルの固形分量を表1に示す。なお、固形分量につ

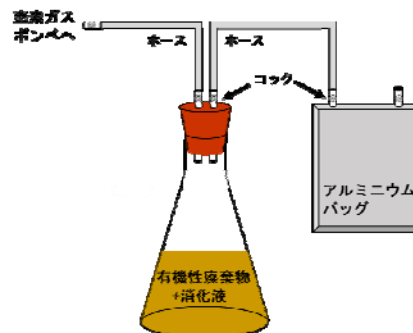


図3 メタン発酵実験の概要図

いては、常圧加熱乾燥法などの手法¹⁵⁾により測定した水分量から算出した。

2.2 メタン発酵試験

メタン発酵法で用いる消化液の温度には、低温消

化帯 (15~20 °C), 中温消化帯 (30~37 °C), 高温消化帯 (50~55 °C) の設定があるが, 本研究は他の温度帯に比べ管理しやすいということから中温で行い, 消化液は全て実験開始前に 37 °C で 24 時間保持した。

まず, 表 1 に示した固形分量から, 各サンプルの絶乾質量が 16 g となるよう計量した後, 400 mL になるまで加水した。これに, 全量が 1600 mL となるまで消化液を加え, 得られた混合液を 3 L の三角フラスコに投入し, 嫌気状態で反応させることによりメタン発酵試験を実施した。フラスコに投入した混合液の上部は, コック付きのガラス管を 2 本取り付けたゴム栓で塞ぎ, さらにシール材で密封した。ガラス管の一方には容量 5 L の二ロアルミニウム製ガスバッグを接続し, もう片方の管から窒素ガスを流入した。窒素ガスはフラスコ内部を通過させ, ガスバッグを通し排出させることで, 内部を嫌気性雰囲気に変化させた(図 3 参照)。窒素ガスの置換終了後, フラスコとアルミニウムバッグの接続部にある 2 箇所のコック以外をすべて閉じ, 37 °C の乾燥器内に静置することでメタン発酵を進め, 発生したガスをガスバッグに捕集した。またブランクとして, 廃棄物を加えず, 水 400 mL に消化液を 1600 mL まで加えた混合液を用いた実験も実施した。

2. 3 分析評価

2. 3. 1 ガス発生量および成分分析

混合液から発生したガスはアルミニウムバッグで捕集し, その容積 (ガス発生量) を計測した。さらに, ガスクロマトグラフ (島津製作所製 GC-2014) を用いて, ガス成分を分析した。また, メタン発酵では, ガスの生成におよぼす消化液の pH の影響が大きいことから, 発酵前後の pH を測定し, その変化を確認した。

2. 3. 2 化学的酸素要求量 (COD_{Cr}) を用いた有機物の可溶化に関する評価

メタン発酵プロセスでは, ニクロム酸カリウムを用いて測定した化学的酸素要求量 (COD_{Cr}) はメタンガスの元素組成から算出した理論的酸素要求量 (COD) により近似できる。したがって, 理論的酸素要求量 (COD) は実際メタンガス生成量にほぼ等しくなることから, 発酵前後における COD_{Cr} の測定値から実際メタンガス生成量を推定できることが知られている⁵⁾。この全 COD_{Cr} の測定値は個体 COD_{Cr} と溶解性 COD_{Cr} に分けられ, これらを測定

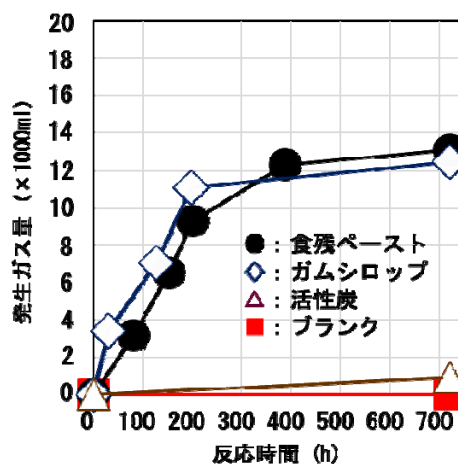


図 4 各廃棄物から発生するガス量と反応時間との関係

することによりメタン発酵の発酵効率を把握することができる。

そこで, JIS K0102 に準拠し, 各試料に一定量の硫酸, ニクロム酸カリウム, 硫酸水銀 (II), 硫酸銀を加え, 2 時間煮沸後に消費したニクロム酸カリウム量を酸素量に換算して COD_{Cr} の値を求めた。得られた数値から, 廃棄物が有する有機物の可溶化について評価し, ガス生成との関係について確認した。測定試料は, 廃棄物単体および発酵後の混合液とし, 試料ごとに適量を取り, 蒸留水を加え 100 mL に調整した。加水後, 攪拌することにより得られた懸濁液を全 COD_{Cr} 測定用試料に, 遠心分離により固形物を沈殿させた上清を溶解性 COD_{Cr} 測定用試料として用い, それぞれ適量 (ニクロム酸カリウム溶液の約 1/2 を消費する量) を採取し, 測定に供した。

2. 3. 3 菌叢解析

発酵施設稼働前後および廃棄物投入前後における消化液の菌叢解析¹⁶⁾を行うことにより, その変化を確認した。測定では, まず, 各消化液に対して遠心分離, 加熱, 薬品処理などを行い, 菌の溶出・溶解を促すことで DNA を抽出した。続いて, 抽出した DNA を鋳型とし, PCR Thermal Cycler Dice (PCR: Polymerase Chain Reaction, Takara-Bio) による処理を行うことで DNA を増幅し, その断片に Agencourt AMPure XP (Beckman) を加えて精製した。ここでは, 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を含む 460 塩基対を標的 DNA 配列とした。精製した DNA 断片は, Nextera Index kit を使用して DNA に塩基配列 (Index) を付加し, 再度, Agencourt

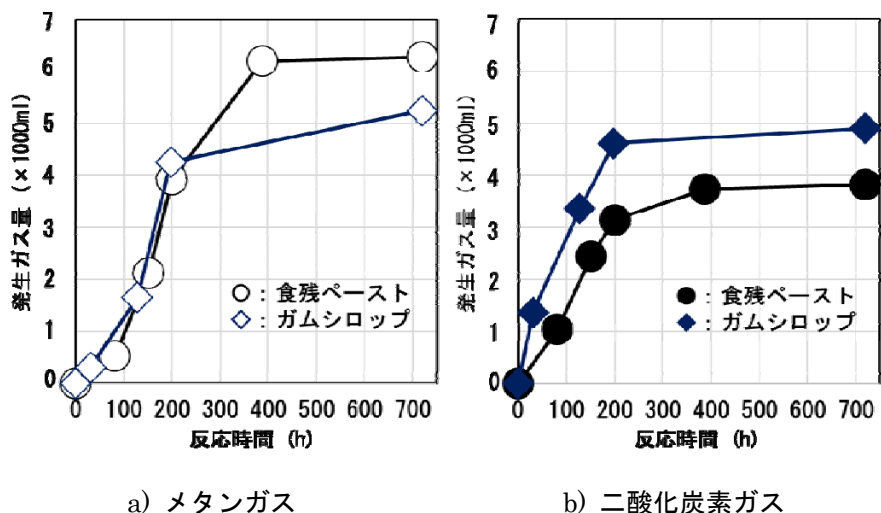


図5 各廃棄物から発生するメタンおよび二酸化炭素ガス量

AMPure XP で精製した。最後に、次世代シーケンサーMiseq (Illumina) を用いて微生物叢の塩基配列を解析し、MacQIIME により微生物群集解析 (菌種の同定, 構成割合など) を行った。

3. 実験結果および考察

3. 1 発生したガス量および成分

各種廃棄物を用いた混合液から発生したガス量と反応時間との関係を図4に示す。ここで、発生ガス量の数値は、嫌気性環境にするために導入した窒素ガスやガスバッグ交換時に漏洩した可能性のあるガス量などについては考慮していない。同図より、食残ペーストとガムシロップの場合には、混合開始後、200時間までに10L程度のガスが発生し、その後、720時間までのガス量は12L程度となった。活性炭の場合には、ガスの生成が良好とは言えず、720時間までのガス量は1L程度と僅かであった。

図4で用いた食残ペーストとガムシロップから捕集した各ガスバッグのメタンガスおよび二酸化炭素ガス濃度をガスクロマトグラフにより分析し、得られた数値と図4に示した各点の数値の積から各ガス量を算出した。図5に、各廃棄物から発生するメタンガスおよび二酸化炭素ガス量を示す。ここで、導入した窒素ガスの影響が最も少ない4バッグ目のガスクロマトグラフによる分析結果は、食残ペースト (387時間) がメタン: 75.63%, 二酸化炭素: 19.651%, 窒素: 3.626%, 酸素: 1.094%, ガムシロップ (720時間) がメタン: 75.533%, 二酸化炭

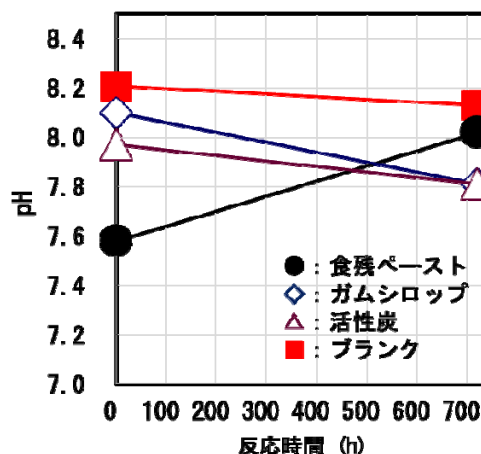


図6 メタン発酵前後における消化液のpHと反応時間との関係

素: 20.968%, 窒素: 5.259%, 酸素: 1.240%となり、両者ともメタンガスが良好に生成することが確認できた。

また、メタン発酵前後における混合液のpHの変化を図6に示す。同図より、ガムシロップ、活性炭、ブランクのpHは発酵後に小さくなったが、食残ペーストでは大きくなった。しかしながら、これらの数値は全て7.6~8.2の範囲で変化しており、メタンガスの生成を阻害する酸敗が生じる恐れのある6.5を下回ることはなく、特に問題がないといえる。

3. 2 各種廃棄物に含まれる有機物の可溶化特性

各種廃棄物を用いた混合液の発酵前後における

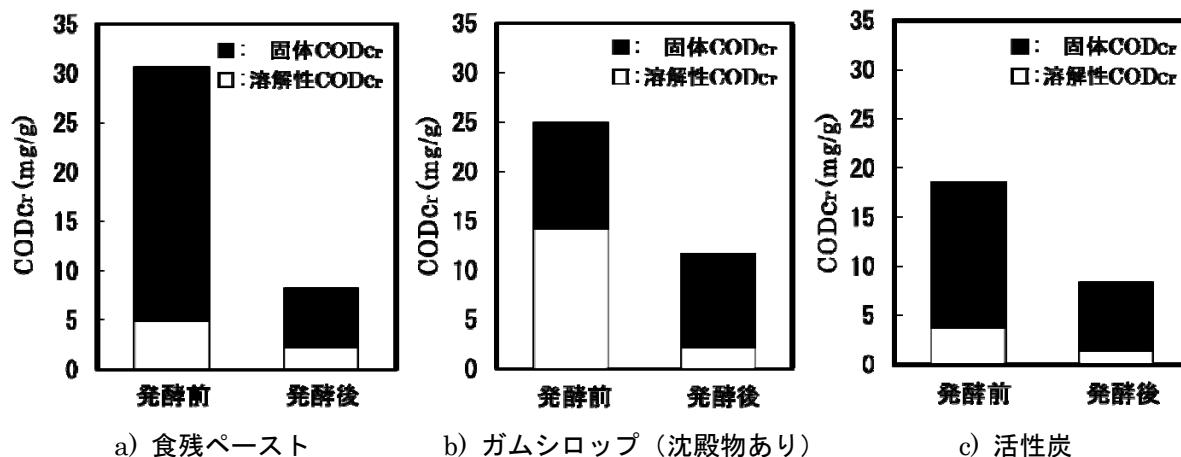
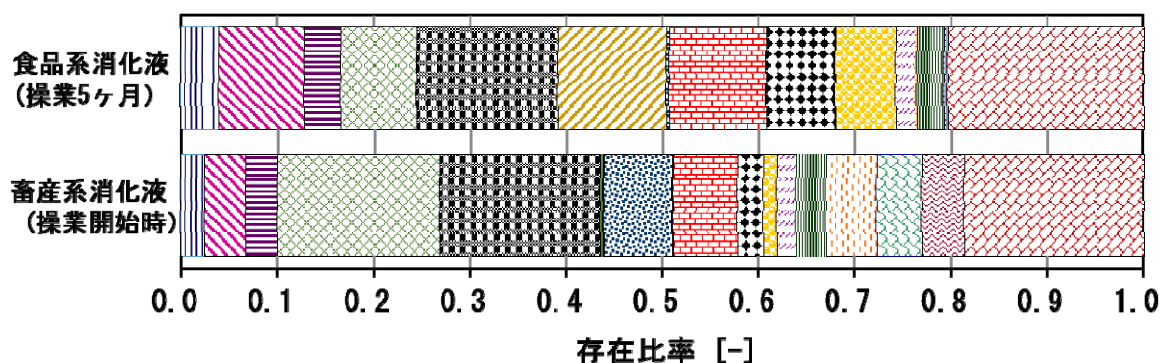
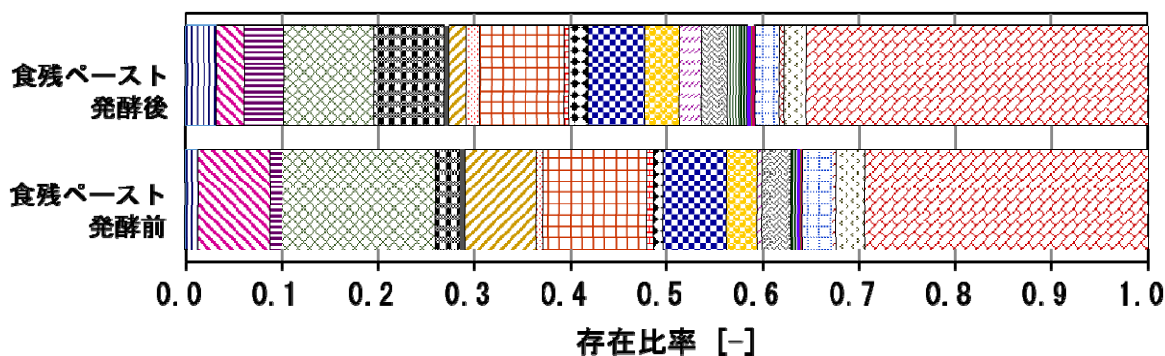


図7 メタン発酵前後における COD_{Cr} の分析結果

Porphyromonadaceae,
 Bacteroidaceae,
 Bacteroidales,
 Tissierellaceae,
 Clostridiaceae,
 Cloacamonaceae,
 Lactobacillaceae,
 Thermotogaceae,
 Streptococcaceae,
 Lachnospiraceae,
 Peptostreptococcaceae,
 Coriobacteriaceae,
 Turicibacteraceae,
 other



a) 施設稼働前後の消化液



b) 食残ペーストを用いた発酵前後の消化液

図8 菌叢解析結果

COD_{Cr} の分析結果を図7に示す。図7a)より、食残ペーストに含まれる有機物の可溶化は良好で、特に、

固体 COD_{Cr} (固体有機物) の数値が発酵後に大きく減少した。このことは、図5に示したメタンガス生

成量の結果にも一致している。図 7b)に示したガムシロップの場合では、溶解性 COD_{Cr}の数値は大きく減少したものの、固体 COD_{Cr}の数値は大きく変化せず、固体有機物の可溶化は良好ではなかった。これはガムシロップの沈殿物による影響であるものと推察される。図 7c)に示した活性炭の場合では、固体有機物の可溶化は良好であったものの、図 4に示したようにバイオガスの生成量自体が少なく、固体有機物の可溶化とバイオガスの生成量の結果は一致していない。これらの理由については、現時点では明らかにできておらず今後の課題となる。

また、既往の研究^{5,17)}によれば、生ごみを用いたメタン発酵では、物質収支計算によるメタンガスの理論値と実際に発生するメタンガスの生成量(実験値)がほぼ一致するとの報告があり、式(1)により示されている。

$$y=0.35Ax \quad (1)$$

ここで、y:メタンガス発生量(L), A:発酵前後の全 COD_{Cr}分析値の差分(g/g), x:投入量(g), 0.35:COD_{Cr}分析値からメタンガス量への変換係数(L/g)

本研究では、上式を用いて、投入した廃棄物が完全に分解したと仮定した場合におけるメタンガス発生量の理論値を算出した。その結果、食残ペーパが 12.5 L, ガムシロップが 7.5 L, 活性炭が 5.7 L となり、実測値(順に、6.2 L, 5.4 L, ガス生成量が少なく測定不能)が理論値を大きく下回った。これは、ガスバッグ交換時におけるガスの漏洩など、実験条件に起因するものである可能性が高い。しかしながら、図 5の結果から、メタンガスと二酸化炭素ガスは発生しており、食残ペーパとガムシロップはメタン発酵により消化され、メタンガスに変換されることが確認できた。

3. 3 菌叢解析

次世代シーケンサーを用いた菌叢解析の結果を図 8に示す。同図の横軸は相対比を示しており、図の上部には解析により得られた細菌名を記載した。

図 8a)より、施設稼働前と稼働 5ヶ月後の消化液を比較したところ、稼働前の畜産系消化液からは Lachnospiraceae 科, Peptostreptococcaceae 科, Coriobacteriaceae 科, Turicibacteraceae 科の細菌^{18,19)}が検出されたが、これらは稼働後にはほぼ消滅

した。しかしながら、Bacteroidaceae 科, Bacteroidales 目, Clostridiaceae 科, Cloacamonaceae 科などは稼働後にも存在しており、全体の 60%程度は同一菌種である事が明らかとなった。操業 5ヶ月の間、メタンガスは良好に生成していたことから、菌叢に大きな変化は生じておらず、施設の立ち上げは順調であったと言える。図 8b)より、食残ペーパを原料としたメタン発酵前後における消化液の菌叢を比較したところ、Bacteroidaceae 科, Bacteroidales 目, Thermotogaceae 科などの菌種は減少した一方で、Porphyromonadaceae 科, Tissierellaceae 科, Clostridiaceae 科などは増加した。しかしながら、菌種に大きな差は認められず、野菜や魚などのブレンド割合はメタン発酵の条件として適切な範囲に収まっていることが確認できた。

また、メタン発酵に必要な不可欠となるメタン生成菌は、嫌気条件でメタンを合成する Archaea(古細菌)の総称であり、消化液中には Archaea が存在すると考えられる。本解析に用いた全ての試料では、Archaea は 1~2.5%程度で、Bacteria(細菌)が優占していた。本実験の中温メタン生成菌に関しては、その含有割合が小さく図示できなかったが、施設稼働前後における消化液では、共に酢酸資化性メタン生成菌である Methanosarcina 属は増加し、Methanosaeta 属は減少していた。一方、食残ペーパを原料としたメタン発酵前後における消化液では、水素資化性メタン生成菌である Methanoculleus 属は増加し、Methanosarcina 属は減少したことなどは確認できた。なお、既述した細菌は、メタン発酵終了後に急激に減少するため、今後、メタンガスが発生している状態で採取した消化液の解析結果を用いた議論を要する。

4. まとめ

本研究により、以下の知見が得られた。

- (1)食残ペーパおよびガムシロップを用いた混合液に含まれる有機物はメタン発酵により消化され、メタンガスが生成した。しかしながら、活性炭を用いた場合には、発酵前後における COD_{Cr}の数値が低下したものの、メタンガスは良好に生成しなかった。
- (2)施設稼働前後における消化液の菌叢解析の結果から、畜産系消化液に含有する 60%程度の菌種は稼働 5ヶ月後においても残存し、菌叢に

大きな変化は生じなかった。このことから、操業開始後からメタン発酵槽内は安定した状態が維持されていたことが確認できた。

(3)食残ペーストを原料としたメタン発酵試験前後における消化液の菌叢解析の結果から、消化液の菌種に大きな変化は認められず、野菜や魚などの混合割合はメタン発酵条件として適切であることが確認できた。

ただし、得られた結果は本実験条件に限定されたものであり、投入する廃棄物などの条件により、槽内の pH 低下に伴う酸敗などが発生する可能性も有している。したがって、今後、メタン発酵槽における不測の事態に対し速やかに対応するためには、数多くのデータを蓄積しておくことが重要となる。

謝辞

本研究の実施にあたり、甲斐穂高 博士(鈴鹿工業高等専門学校)には、メタン発酵技術に関するご指導を頂きました。また、徳本勇人 博士(大阪府立大学)には、菌叢解析に関するご助言、ご協力を頂きました。付記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 環境省 廃棄物・リサイクル対策部 企画課 循環型社会推進室：“地域循環圏形成の手引き～地域内にある循環資源の利用拡大に向けて～”。(2016)
- 2) 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構：“NEDO 再生可能エネルギー技術白書第 2 版 第 4 章バイオマスエネルギー”。(2014)
- 3) 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構：“乾式メタン発酵技術における主要機器の低コスト化並びに効率的なバイオガス精製技術及びガス利用システムの実用化に関する研究開発成果報告書”。(2013)
- 4) 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構：“新エネルギー等地域集中実証研究京都エコエネルギープロジェクト 平成 15～平成 19 年度成果報告書”。(2008)
- 5) 野池達也ほか：“メタン発酵”。技法堂出版 (2009)
- 6) 松井三郎ほか：“産業排水処理のための嫌気性バイオテクノロジー”。技法堂出版 (1999)
- 7) 上木勝司ほか：“嫌気微生物学”。養賢堂 (1993)
- 8) 甲斐穂高ほか：“メタン発酵高効率化のための微生物可溶化能力の評価”。第 29 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演原稿 2018, p255-256 (2018)
- 9) 長谷川剛史ほか：“メタン発酵の微生物叢解析と主成分分析を用いた酸敗の予見に関する研究”。第 29 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演原稿 2018, p257-258 (2018)
- 10) 西川奈緒美ほか：“中温メタン発酵技術を用いた食品廃棄物の有効利用に関する基礎的研究”。日本化学会第 98 春季年会, 2B5-14 (2018)
- 11) 久保智子ほか：“中温メタン発酵技術を用いた食品系廃棄物の有効利用に関する基礎的研究”。第 29 回廃棄物資源循環学会研究発表会, p263-264 (2018)
- 12) 久保智子ほか：“メタン生成菌固定化のため担体に関する基礎的研究”。日本化学会第 99 春季年会, 3G2-11 (2019)
- 13) 前川明弘ほか：“有機系廃棄物を利用したメタン発酵に関する基礎的研究”。三重県工業研究所研究報告, 41, p54-59 (2017)
- 14) 久保智子ほか：“有機系廃棄物を利用したメタン発酵に関する基礎的研究(第 2 報)”。三重県工業研究所研究報告, 42, p79-83 (2018)
- 15) 文部科学省：“日本食品成分表 2015 年版分析マニュアル”。p1-3 (2015)
- 16) 服部正平ほか：“メタゲノム解析実験プロトコール”。羊土社 (2016)
- 17) 李ほか：“生ごみの高温メタン発酵に及ぼす投入濃度の影響”。環境工学研究論文集, 第 35 巻, p29-39 (1998)
- 18) 上木勝司ほか：“嫌気微生物学”。養賢堂 (1993)
- 19) 松井三郎ほか：“産業排水処理のための嫌気性バイオテクノロジー”。技法堂出版 (1999)

(本研究は、産業廃棄物抑制型産官共同事業において実施し、産業廃棄物税を財源としています。)