

回分式バイアル実験による炭水化物系基質からの メタン生成特性の評価

松本 明人, 岩月 宏祐
信州大学工学部

Evaluation of Methane Formation Characteristics from Carbohydrate-based Substrates in Batch Experiments Using Serum Vials

A. Matsumoto and K. Iwatsuki
Faculty of Engineering, Shinshu University

キーワード：メタン発酵，BMP 試験，炭水化物，一次反応式

Keywords: Methane Fermentation, BMP Test, Carbohydrate, First Order Reaction Equation

1. はじめに

メタン発酵はカーボンニュートラルの特性を有し、下水汚泥や生ごみをはじめとする廃棄物系バイオマスの安定化・減量化とともに、バイオガスエネルギーを生産できる処理方法である¹⁾。そしてメタン発酵の適用可能性を検討する際、広く用いられている方法に回分培養でメタン生成量を経時的に積算するBMP試験 (Biochemical Methane Production Test) がある²⁾。BMP試験をはじめとする回分実験では様々な条件を短期間で検討できるといったメリットを有する一方、たとえば阻害物質の効果を調べる場合には汚泥側の条件 (植種する汚泥の種類・濃度など) の影響をうけるため、植種する汚泥が阻害物質に対して馴致をおこなっていない場合には連続実験に比べ、低い濃度で阻害がおきるケースが多いとされる³⁾。また同じ回分実験であってもメタン生成量に基づくBMP試験よりメタン生成速度を測定する反応速度試験のほうが詳細な分析が可能とする考えもある²⁾。このように留意すべき事項や得られる情報量の大小はあるものの、BMP試験は簡便なこともあり、汚泥のメタン生成活性の評価^{4), 5)}などをはじめ、広く利用されている。

本研究では反応槽としてバイアル瓶を利用し、基質としてメタン発酵に適した炭水化物系物質であるグルコース、マルトース、でんぷん、セルロースを用い、BMP試験を実施する。そして遅滞時間を考慮した一次反応式で近似し、反応速度定数、メタン生成ポテンシャル、そして遅滞時間

を求め、基質ごとのメタン生成特性を把握した。そして求められた三つのメタン生成特性値とそれぞれの炭水化物系基質の性質をふまえ、考察することを通じ、BMP試験の解析における留意点について、検討した。

2. 方法

2.1 実験試料および方法

本実験で使用した種汚泥には長野県にある流域下水道終末処理場の中温嫌気性消化槽より採取した消化汚泥を用いた。

実験に使用した基質は4種類で、炭素源として単糖類のD(+)-グルコース (和光純薬工業, 試薬特級)、二糖類のD(+)-マルトース一水和物 (和光純薬工業, 和光特級)、多糖類であるでんぷん (溶性) (和光純薬工業, 和光一級)、そして多糖類のセルロースとして濾紙粉末A (東洋濾紙, メッシュ100~200) のいずれかを10000 mg/Lになるよう調整し、さらに緩衝剤と栄養塩を添加した。それぞれの基質の組成を表1に示す。なおでんぷんに関しては40℃で蒸留水に溶解した基質と60℃で溶解した基質の二種類を用いた。これはでんぷんがおよそ50℃~65℃の温水中で糊化 (α 化) し、消化しやすい α でんぷんになることから、その影響を調べるためである。

このようにして作製した基質10 mLと種汚泥30 mLを容積120 mLのバイアル瓶内で混合し、窒素ガスで気相を置換後、ブチルゴム栓とアルミシールで密栓した。そして恒温振とう槽 (振幅: 4.0 cm, 振

表 1 基質組成

炭素源	(mg/L)	栄養塩	(mg/L)
グルコース	10000	(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
マルトース一水和物	10000	KCl	750
でんぷん(溶性)	10000	NH ₄ Cl	830
濾紙粉末	10000	MgCl ₂ ・6H ₂ O	815
上記のいずれかを添加		MgSO ₄ ・7H ₂ O	246
緩衝剤	(mg/L)	FeCl ₃ ・6H ₂ O	416
NaHCO ₃	1000	CoCl ₂ ・6H ₂ O	18
K ₂ HPO ₄	100	NiCl ₂ ・6H ₂ O	18

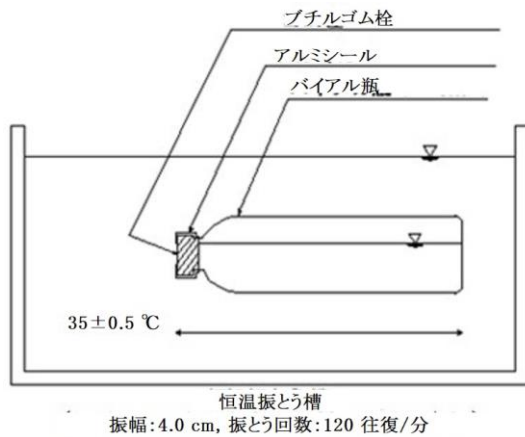


図 1 実験装置

とう回数：120 往復/分) に設置，回分試験を行った。運転温度は 35 °C である。なおブランク試験として基質の代わりに蒸留水 10 mL を添加した実験もおこなった。実験はブランク試験も含め，各系二本ずつのバイアル瓶でおこない，その平均値を実験値として採用した。図 1 に実験装置の概要を示す。

2.2 分析方法

ガス生成量はガラスシリンジで計量し，同時にガス組成 (TCD 式ガスクロマトグラフ法) を測定した。ガス生成量および組成はグルコース，マルトースの実験では実験開始時，実験開始後 0.2, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12 日に測定した。一方，可溶性デンプンおよびセルロースの実験では実験開始時，実験開始後 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 16 日に測定した。なお実験開始時には，種汚泥に基質を添加し，その混合液の pH (ガラス電極法) が中性付近 (pH 7.2~7.5) であることを確認した。また種汚泥と実験終了後のバイアル瓶内容液の VSS も測定した。VSS 測定は遠心分離法 (回転数 8000 rpm, 回転時間 10 分) でおこなった。

2.3 解析方法

回分実験で得られた基質ごとの累積メタン生成量から，並行しておこなったブランク試験での累積メタン生成量を差し引いたものを基質ごとの正味の累積メタン生成量とした。そして正味の累積メタン生成量の経日変化を (1) 式に示す一次反応式で近似し，一次反応速度定数，メタン生成ポテンシャルおよびメタン生成が始まるまでの遅滞時間を求めた。なお本研究ではメタン生成量を化学的酸素要求量 (以下，COD と略記) に換算したデータで解析した。解析には Microsoft Excel の解析ツールであるソルバーアドインを使用した。ソルバーにより準ニュートン法の 100 回繰り返し計算をおこない，実験値と回帰値との差の二乗値の総和が最小とする値を最適値とした⁶⁾。

$$P=Y[1-\exp\{-k(t-\lambda)\}] \quad (1)$$

ここで， P は t 日後までの累積メタン生成量 (mgCOD/L)， Y はメタン生成ポテンシャル (mgCOD/L)， k は一次反応速度定数 (d⁻¹)， t は経過日数 (d)， λ は遅滞時間 (d) である。

3. 結果と考察

各基質の正味の累積メタン生成量の経日変化を図 2 に示す。図より明らかなように運転開始直後はグルコース，マルトース，でんぷんからのメタン生成量の差は少なかったが，運転開始 2 日目以降になるとグルコースおよびマルトースからのメタン生成量はでんぷんより多かった。そしてマルトース，グル

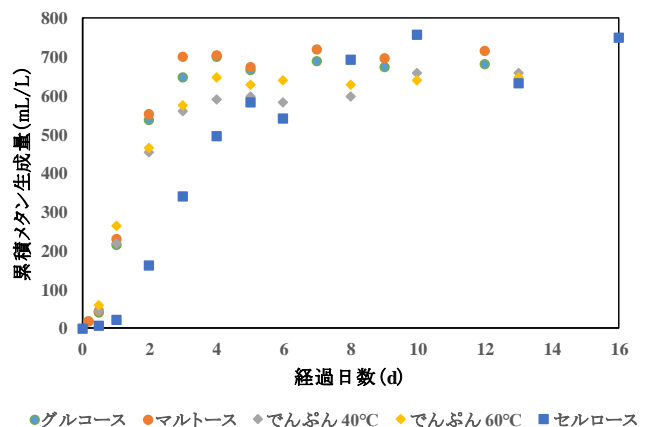


図 2 累積メタン生成量の経日変化

表 2 各基質のメタン生成ポテンシャル，一次反応速度定数，遅滞時間

基質	メタン生成ポテンシャル (mgCOD/L)	一次反応速度定数 (d ⁻¹)	遅滞時間 (d)
グルコース	1980	0.92	0.48
マルトース	2050	0.93	0.47
でんぷん 40 °C	1800	0.78	0.42
でんぷん 60 °C	1850	0.85	0.39
セルロース	2060	0.41	1.39

コース，でんぷん 40 °Cは3日日以降，でんぷん 60 °Cは4日日以降，累積メタン生成量の増大はゆるやかになった。一方，セルロースの場合は他の基質より緩やかに立ち上がり，運転開始10日日以降，横ばいになった。そして基質ごとの最終的な累積メタン生成量はグルコース 680 mL/L，マルトース 720 mL/L，続いてでんぷんでは40 °Cが660 mL/Lで，60 °Cは650 mL/Lであった。そしてセルロースは750 mL/Lであった。さらに投入された基質のメタンへの転換率をCODベースで計算したところ，グルコース73%，マルトース77%，続いてでんぷんでは40 °Cが64%，60 °Cの系は62%であった。そしてセルロースでは72%であった。

つぎに正味の累積メタン生成量の曲線を一次反応式で近似し，求めたメタン生成ポテンシャル，一次反応速度定数，遅滞時間を表2に示す。一次反応速度定数はグルコースとマルトースの値がほぼ同じで最も大きく，つづいてでんぷんの60 °C，その次がでんぷんの40 °C，そしてもっとも小さいのがセルロースという結果であった。一方，メタン生成ポテンシャルはセルロースとマルトース，そしてグルコースがほぼ同じ値で高く，でんぷんの値が若干，低かった。なおでんぷんでは60 °Cと40 °Cの差は小さかった。さらに遅滞時間に関しては，でんぷんのほうがグルコースやマルトースに対し，わずかであるが小さいという結果であり，セルロースは他のものと比べ，遅滞時間は大きかった。

以上のように，水溶性が高い単糖類であるグルコースと二糖類であるマルトースは速度定数およびメタン生成ポテンシャルに差は見られなかった。一方，でんぷん（溶性）に関しては，速度定数はグルコース等より若干，低くなった。なお溶解する際の温水の温度の影響に関してはわずかであるが60 °Cのほうが，40 °Cより高くなった。これはでんぷんの糊化（ α 化）が60 °Cでおこりやすいため，消化しやすい

α でんぷんが生成したためと考えられる。ただし温度の影響はメタン生成ポテンシャルには見られなかった。興味深いことにでんぷんのメタン生成ポテンシャルはグルコースやマルトース，そしてセルロースよりも低かった。今回，バイアル実験終了時の発酵液の有機物濃度を分析していないため，原因の特定はできないが，でんぷんはメタンではなく有機酸や菌体に変換された割合が高いことも考えられる。セルロースの速度定数はもっとも低くなっているが，理由としてセルロースはグルコースが β -1,4-グルコシド結合をした多糖類であり，不溶性で化学的に安定し加水分解しにくいといった性質を有しているためと考えられる。ただしメタン生成ポテンシャルは高く，グルコースやマルトースと同等であった。

遅滞時間に関しては難分解性のセルロースでもっとも大きかったが，グルコースやマルトースの遅滞時間はでんぷんより大きかった。運転開始後0.2日後でもグルコースやマルトースではメタン生成が観察されたことを考えると遅滞時間を求める解析方法に検討の余地があると考えられる。

4. 結論

本研究ではグルコース，マルトース，でんぷん，セルロースを基質とし，BMP試験を実施し，遅滞時間を考慮した一次反応式で近似し，メタン生成の特性値を求めた。その結果，単糖類のグルコースと二糖類であるマルトースではほぼ同じ一次反応速度定数が得られ，グルコースの重合体で多糖類であるでんぷんではおよそ1割小さな値に，セルロースでは半分以下の値となった。一方，メタン生成ポテンシャルに関してはグルコース，マルトース，セルロースではほぼ同じであったが，でんぷんでは1割程度，低い値となった。

なお遅滞時間に関しては単糖のグルコースと二糖類のマルトースで解析値と実験値に乖離が見られた。

一次反応式での近似による解析手法について、さらなる検討が必要と考えられた。

謝辞

データ解析に際しては、信州大学工学部土木工学科 所 雄貴 氏（現：世紀東急工業株式会社）の卒業研究によるところが大きい。また実験にあたり、信州大学工学部土木工学科 渡邊 颯太 氏の協力を得た。ここに記して謝意を表す。

【参考文献】

1. 野池達也編著，2009. メタン発酵. 283p., 技報堂出版，東京.
2. 安井英斉，2009. 付B-2.4 パラメータの把握. 野池達也編著，メタン発酵. 技報堂出版，東京，pp. 242-246.
3. 花木啓祐，1993. B-1 5. 嫌気性処理における各種物質による阻害とその分解. 土木学会衛生工学委員会編，環境微生物工学研究法. 技報堂出版，東京，pp. 161-164.
4. 古米弘明，1993. B-1 4. 嫌気性混合培養系におけるメタン生成菌の活性量. 土木学会衛生工学委員会編，環境微生物工学研究法. 技報堂出版，東京，pp. 157-160.
5. 原田秀樹，桃井清至，1993. B-2 5. UASBリアクターによる廃水处理. 土木学会衛生工学委員会編，環境微生物工学研究法. 技報堂出版，東京，pp.181-184.
6. 堆洋平，李玉友，2007. 廃棄物系バイオマスからの非意図的水素生成ポテンシャルとその安全管理. 廃棄物学会論文集，18(5)，335-343.

(原稿受付 2019. 3. 4)