

食品廃棄物を対象とした無加水中温メタン発酵におけるアンモニア蓄積回避技術の検討

環境システム工学専攻 水圏土壤環境制御研究室

深代早苗

1. はじめに

近年、環境に対する負荷の軽減、資源循環型社会の構築に向けて食品廃棄物の減量化、再資源化が世界各地で進められている。現在食品産業および家庭から排出される食品廃棄物は年間約2,000万トン以上である。そのうち約半分を家庭系食品廃棄物が占めているが、再生利用率が低く、未だ約98%が焼却・埋め立てによって処理されている。そこで、飼料、肥料化等の再利用法よりも厳密な分別を必要としない、廃棄物からエネルギーを回収する方法としてメタン発酵法が注目されている。

現在メタン発酵の主流方法は湿式発酵法である。この手法は、原料を2~4倍量の希釈水を用いて希釈することによって流動性を高め、メタン発酵に障害を与える物質の濃度を低減させることが可能である。しかし、希釈水の添加によって大量の処理排水量が発生し、設備容積の増加および後段処理が拡大するといった問題がある。一方、一切の希釈を行わない無加水発酵法は、湿式発酵法と比較すると処理排水量の削減および設備容積のコンパクト化を可能とする。しかし、メタン発酵に障害を与える物質が高濃度に蓄積する危険性が高い。特に、窒素濃度の高い食品廃棄物を処理する際、分解の過程で生じるアンモニアが高濃度に蓄積し、メタン発酵が障害される。

そこで、本研究では食品廃棄物を対象とした無加水メタン発酵法技術の確立を目指し、アンモニア蓄積の回避を目的としたアンモニア・メタン2相式発酵の基礎研究を行った。まず、第一段階であるアンモニア生成に着目し、アンモニア生成に対するpHの影響評価を目的としたリアクターの連続運転を行った。また、食品廃棄物の可溶化およびアンモニア生成を高いpHで行う微生物についての知見を得るため、連続運転と並行して16SrDNAによる微生物系統解析を行った。

2. 実験方法

2.1 アンモニア生成槽連続運転

Fig.1 にアンモニア生成槽の概要図を示す。アンモニア生成槽は全容積が15L、有効容積が6Lの完全混合型リアクター (CSTR:Continuously Stirred Tank Reactor) を用い、30°Cの恒温室内に設置した。基質は槽の上部から投入し、汚泥引き抜きは下部から行った。槽内pHは自動pH制御した(6N NaOH 使用)。同条件の槽を3台用い、一台をpH7で制御し、その他2台は槽にアンモニア除去装置(槽内気相部を槽の上部から下部へ循環させる間に、ガス中に含まれるアンモニア分を硫酸溶液に吸収させる)を設置し、pHを8および9に設定した。運転期間は、前培養期間、pH制御期間に分けた。前培養期間では初期投入有機物として魚アラ(ペースト状)を充填し、pH制御、基質投入を行わずに運転した。pH制御期間では、pH制御、基質投入およびアンモニアストリッピングを行い運転した。Table1 に基質の性状を示す。基質は長岡技術科学大学の学生食堂から排出される生ゴミを粉砕したものをを用いた。基質投入は回分式とし、投入時に水酸化カルシウムによってあらかじめpHを調整した。滞留時間は5日とした。前培養期間からpH制御期間への切り替えは、前培養期間においてアンモニア転換率が70%に達することで行った。

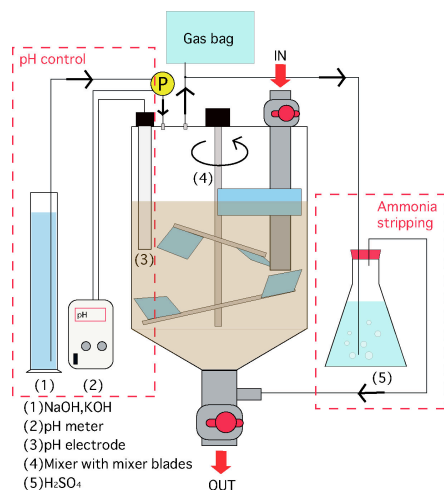


Fig.1 アンモニア生成槽概要

Table1 基質性状

pH		4.21
TS	% (g/g-w.w.)	19.8
VS	% (g/g-w.w.)	18.7
CODcr-total	gCOD/kg-w.w.	320
CODcr-soluble	gCOD/kg-w.w.	91
TKN	mgN/kg-w.w.	7245
NH ₄ ⁺ -N	mgN/kg-w.w.	44

w.w. : wet weight

2.2 16SrDNA による微生物系統解析

微生物系統解析に用いるサンプルは、前培養期間終了時と、pH 制御期間終了時の pH7、8、9 系の槽内汚泥とした。DNA 抽出は ISOIL for Beads Beading ((株)ニッポンジーン)により行い、DNA サンプルを用いて 16SrDNA を PCR 法によって増幅させた。増幅にはバクテリアを標的とした EUB8F と、バクテリアとアーキアを標的とした UNIV1500R のプライマーセットを用いた。PCR 産物は、MinElute (QIAGEN)を用いて濃縮、精製を行った。その後、100bp DNA ladder merker (TAKARA) を指標に用いて濃度を測定した。クローニングには TOPO TA Cloning Kit (invitrogen)を用いた。採取クローン数は各サンプルそれぞれ 96 クローンとした。得られた塩基配列は BLAST により同一塩基の調査を行った。
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)。

3. 実験結果および考察

Fig.2 に pH7、8、9 系アンモニア生成槽の槽の上部と下部の pH、基質投入 10 分後の pH を示す。前培養期間では初期投入有機物の pH が 6.08 であり、徐々に pH が上昇し、中性を維持した。これはアンモニア生成によるものと考えられる。pH 制御期間では、全ての pH 系で pH の上昇がおり、pH9 系では一時 pH が 12 以上まで高まった。これによって槽内に生育する微生物が失活したおそれがある。

Fig.3 に各 pH 系アンモニア生成槽でのアンモニア転換率 (アンモニア[mgN] / 総ケルダール性窒素[mgN]) を示す。前培養期間において、実験開始 27 日目に全ての pH 系のアンモニア転換率が 70% を越えたことを確認した。その後、28 日目から pH 制御期間条件で運転した結果、全ての系でアンモニア転換率は低下した。アンモニア転換率低下の理由は、タンパク質を豊富に含む魚アラが充填されていた前培養期間と比べ、pH 制御期間は炭水化物も多く含む生ゴミを投入したためである。また、槽内が高 pH にさらされたことで、アンモニア生成微生物がダメージを受け、アンモニア転換率の低下をすすめたと予想される。他にも、pH9 系は投入基質の pH 調整を行う際にアンモニアが気散したおそれがある。

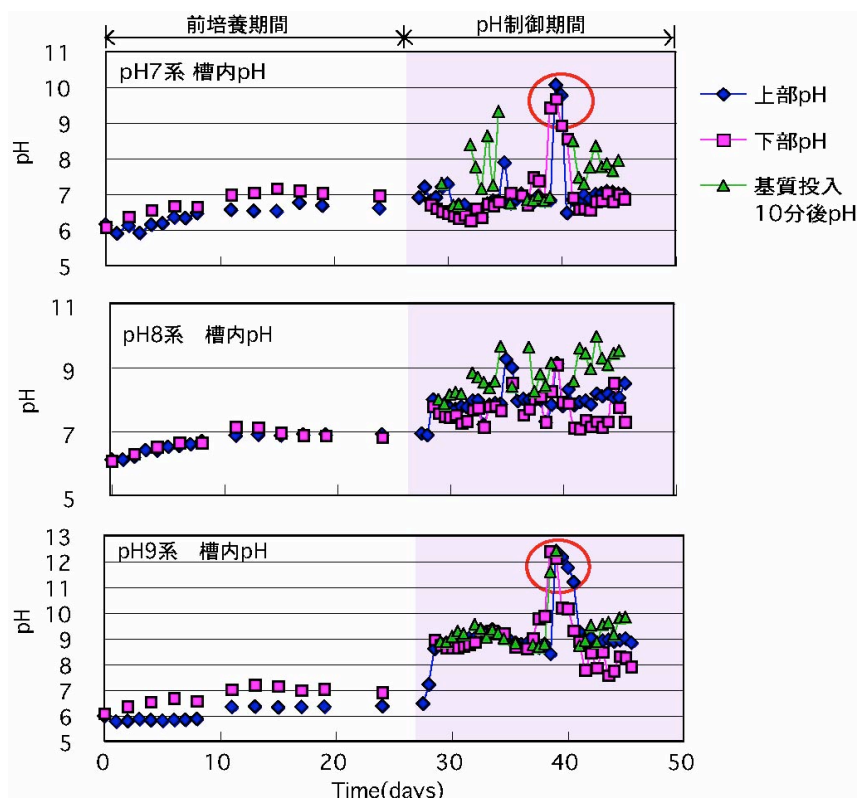


Fig.2 各 pH 系のアンモニア生成槽内 pH の経日変化

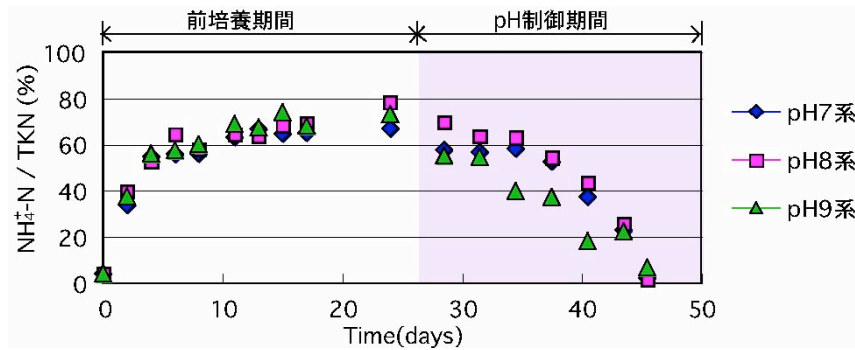


Fig.3 各 pH 系のアンモニア転換率

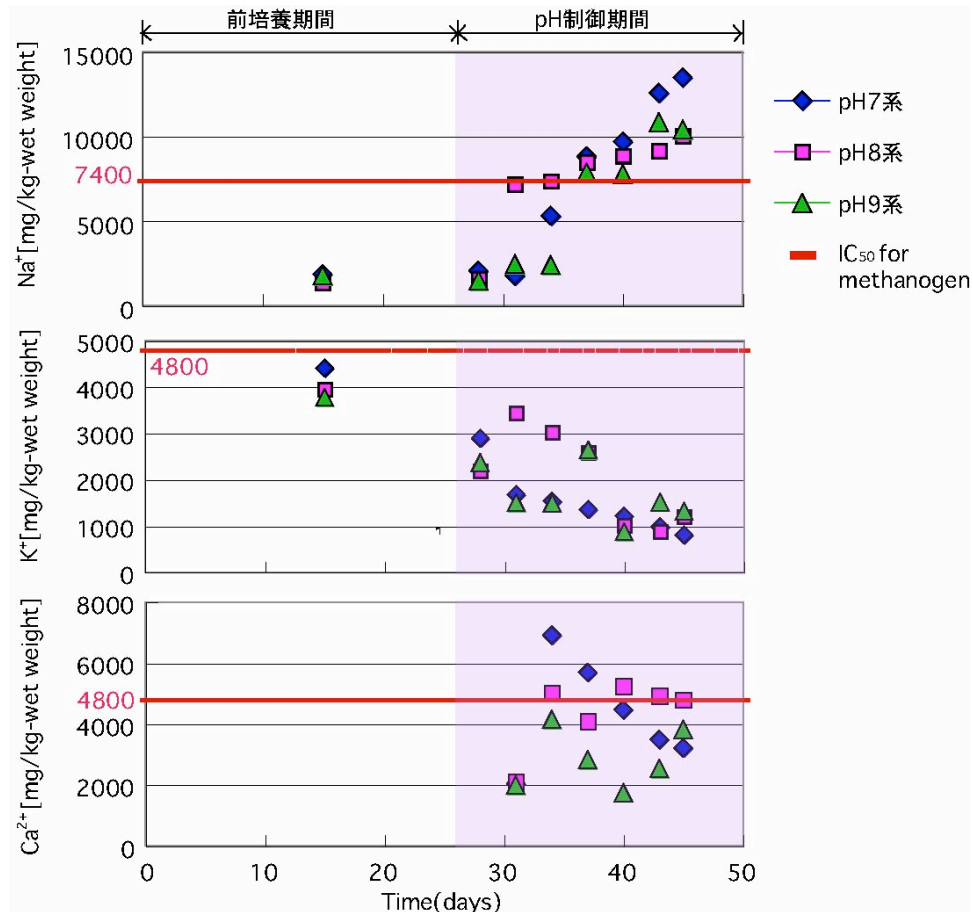


Fig.4 各 pH 系のナトリウム,カリウム,カルシウムイオン濃度

Fig.4 は各 pH 系のアンモニア生成槽内陽イオン濃度を示す。メタン生成古細菌に対する 50%活性低下濃度 IC50 は、ナトリウムイオンが 7,400 [mg/kg-wet weight]、カリウムイオンとカルシウムイオンが 4,800 [mg/kg-wet weight] である (中温下)。pH の微調整用に用いた水酸化ナトリウムの添加によってナトリウムイオンの濃度は阻害レベルを越えた。カリウムイオン濃度は阻害レベル以下となった。カルシウムイオン濃度は阻害レベルと同等かそれ以下となった。よって、アンモニア生成・除去後のメタン発酵段階での陽イオン阻害を回避するためには、用いるアルカリ剤の選択、添加量、添加方法を更に検討する必要がある。

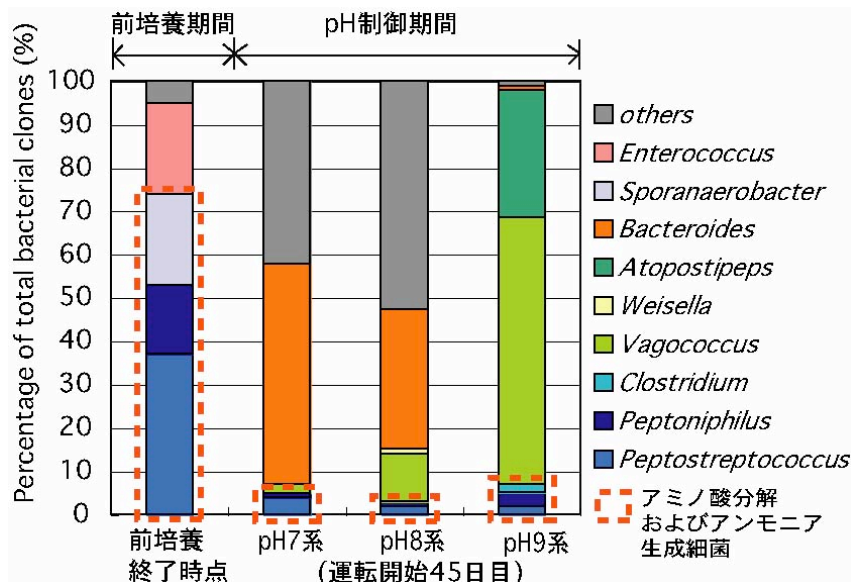


Fig.5 前培養期間終了時、pH 制御期間終了時の各系の槽内汚泥を対象とした微生物解析結果(属レベル)

Fig.5 は前培養期間終了時 (27 日目)、pH 制御期間終了時 (45 日目) の各 pH 系アンモニア生成槽内汚泥の微生物系統解析結果を属レベルで示す。前培養期間終了時はアミノ酸分解及びアンモニア生成に関与する *Peptostreptococcus* 属が最も優先していた (37%)。また、アミノ酸分解に関わる *Sporanaerobacter* 属 (21%)、*Peptoniphilus* 属 (16%) も存在した。pH 制御期間終了時では、全ての pH 系で *Peptostreptococcus* 属、*Peptoniphilus* 属が検出された。よって pH が 9 の条件下でもアンモニア生成微生物が存在するということが確認された。各 pH 系で優先した属は pH7、8 系は *Bacteroides* 属 (51%、32%)、pH9 系は *Vagococcus* 属 (62%) となった。糖を分解し乳酸を生成する性質を持つ *Vagococcus* 属は、全ての pH 系に存在し、pH が高くなるにつれて存在率が増加する傾向が見られた (2%、11%、62%)。また、pH の上昇に伴い、生育する微生物の多様性が狭まるという傾向がみられた。

4. まとめ

安定した pH 制御を行うことができず、アンモニア生成に対する pH の影響評価および至適 pH を判断することは難しい。厳密な pH 制御、十分な攪拌力を持つための攪拌翼の改造、投入基質の pH 調整時にアンモニアの気散を防ぐ方法の検討、陽イオン阻害を回避するためのアルカリ剤の選択および添加方法の工夫等が求められる。

微生物系統解析の結果、pH が 9 の条件下でもアンモニア生成微生物 *Peptostreptococcus*、*Peptoniphilus*、*Clostridium* 属が存在することを確認した。また、pH が高い系では糖を分解する微生物 *Vagococcus* 属の占める割合が増加するという傾向がみられた。

pH9 系に存在した *Peptostreptococcus* 属、*Clostridium* 属は、アミノ酸分解至適 pH が 8.0~9.0 との報告があることから、pH を 9 に制御し、アンモニア生成・除去を単槽で行えることが期待できる。