

# 琉球大学学術リポジトリ

## 甘藷芋アルコール蒸留廃液のメタン発酵：第1報 小型容器を用いた発酵(農芸化学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 当山, 清善, 石原, 昌信, 大久保, 勉, 与那覇, 和雄, Toyama, Seizen, Ishihara, Masanobu, Ohkubo, Tsutomu, Yonaha, Kazuo メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3938">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3938</a>

# 甘藷芋アルコール蒸留廃液のメタン発酵<sup>†</sup>

## 第1報 小型容器を用いた発酵

当山清善\*・石原昌信\*・大久保勉\*\*・与那覇和雄\*

Seizen TOYAMA\*, Masanobu ISHIHARA\*, Tsutomu OHKUBO\*\*  
and Kazuo YONAHARA\* : Methane fermentation of alcohol stillage  
derived from sweet potato tubers  
(I) Small-scale methane fermentation

### Summary

The alcohol stillage derived from raw sweet potato tubers which were fermented by using enzymes without cooking was subjected to methane fermentation. The methane fermentation was carried out at 37°C and 7.5 of pH in a 200-ml syringe containing the sludge which was previously acclimated to the stillage, and the evolutions and composition of the gas produced, volatile acids and pH were followed.

High yield of gas generation with a methane ratio of 60% was obtained in the fermentation at 37°C for 10 days with 1.3 – 1.5% organic matter of the stillage. The amount of gas evolved in the fermentation with 20% of sludge increased with an increased in the amount of the stillage.

The most favorable temperature and pH for the fermentation were 37°C and 7.0 to 9.0, respectively. The total gas evolved from the stillage in 10 days fermentation was 698 ml per g of organic matter, and the methane content was 62%. Acetic, propionic and butyric acids accumulated in the mash after 3 days of fermentation and decreased gradually as the fermentation progressed. When fermentation was carried out by the addition of the stillage at 5-day intervals, the total gas evolved was 792 ml per g of organic matter with a methane content of 58%.

### 緒 言

従来、甘藷いも及びキャッサバ等のいも類を原料とするアルコール発酵においては、原料に加水して

<sup>†</sup> 農産廃棄物を原料とするメタン発酵に関する研究 (第3報)

\* 琉球大学農学部農芸化学科

\*\* 西南総合開発(株)

琉球大学農学部学術報告 32: 55~62 (1985)

高温で蒸煮したのち、糖化及び発酵を行なうエネルギー消費型の発酵が行われてきたが、省エネルギーによるアルコール生産方式<sup>1, 8, 10, 13)</sup>の確立が要請されている。いも類を原料としたアルコール生産においては、アルコールへの転換エネルギーの節減と所要エネルギーを確保することによりエネルギー収支の改善を図る必要がある。

本研究では、甘藷いもを原料としたアルコール生産において、より効率的なアルコールへの転換技術を確立するとともに、甘藷茎葉及びアルコール蒸留廃液等を原料としたメタン発酵により生産されるメタンガスをアルコール発酵の所要熱源として利用するための基礎研究を実施中である<sup>7, 9, 11, 12)</sup>。今回、甘藷いもを無蒸煮で、無加水のまま酵素剤により液状化及び糖化したのちアルコール発酵を行ない、発酵液の蒸留廃液を原料としたメタン発酵を実施するに当たっての基礎的条件を設置するために、小型発酵容器を用いたメタン発酵における発酵条件及びガス発生経過等について検討したので報告する。

## 実 験 方 法

(1) 生甘藷いもを原料としたアルコール蒸留廃液：実験に供したアルコール蒸留廃液は、生甘藷いも100 kgから得られる磨砕物をペクチナーゼ剤及びアミラーゼ剤により液状化および糖化处理したのち、150 L容発酵装置で酵母によるアルコール発酵を行ない、発酵液を150 L容蒸留装置（ポットスチル）を用いてアルコール蒸留して得られる廃液である。アルコール発酵歩合及び蒸留歩合はそれぞれ86%及び96%であった。蒸留廃液の組成（湿重）は水分84.3%、有機物13.7%及び全糖9.5%であった。廃液のpHは4.3で、発酵には所定のpHに調節して用いた。

(2) メタン発酵用種スラッジとその馴養：供試スラッジは松下電器産業電化研究所で調製され、メタン生成速度が高いメタン菌（メタノバクテリウム カドメンシス ST 23）と酸生成菌を集殖・馴養したものである。蒸留廃液のメタン発酵用スラッジとして使用するに際しては、上記スラッジ液（pH 8.0）1 Lに蒸留廃液1 mlを加えて30℃で放置し、60日間馴養した。スラッジ液を遠心分離して得られる沈澱物（スラッジ量）は26.4%で、乾物量として15.1%である。

(3) メタン発酵と発生ガス量：発酵は大井らの方法<sup>5)</sup>に準じ、200 ml容注射筒を用い、pH 7.5、37℃で5～60日間静置して行なった。発酵液の混液は馴養スラッジ5～40%（湿重）及び蒸留廃液0.1～0.3 g（有機物、湿重）で、総量を50 mlとした。発生ガスの容量は生成されたガスによって押し上げられた注射筒のピストンの変化を目盛りで読み取り、全ガス発生量（ml）及び発酵1日当りの発生ガス量（ml/day）で表示した。

(4) 発生ガスの分析：発生ガスの分析は、前報<sup>11)</sup>に準じて島津 GC-4C型ガスクロマトグラフィーを用いて行なった。発生ガス中のメタン含量は、標準ガス分析値から算出し、%で示した。発酵液中に蓄積された揮発性有機酸は、発酵液から酸性下でエーテル抽出により分別したのち前報<sup>11)</sup>に準じガスクロマトグラフィーを用いて定量し、mg/mlで示した。発酵液中の全糖量は、フェノール硫酸法により定量し、グルコースmg/mlで示した。

## 実 験 結 果

### 1. ガス発生量に及ぼす蒸留廃液量の影響

Fig. 1は、ガス発生に及ぼす基質濃度の影響について調べるために、馴養したスラッジ（20%、湿重）に蒸留廃液を有機物として0.8～3.2%加え、初発pH 7.5、37℃で10日間注射筒を用いて発酵を行ない、発生ガス量、メタンガス濃度、pHの変化及び発酵液中の揮発性有機酸量を測定した結果である。

Fig. 1に示したように、発生ガス量及びメタンガス濃度からみた発酵液中の蒸留廃液濃度は有機物として1.3～1.5%が最適で、メタン含量60%のガスが発生し、発酵液中のpHの変動もみられなかった。

## 当山ほか：アルコール蒸留廃液のメタン発酵

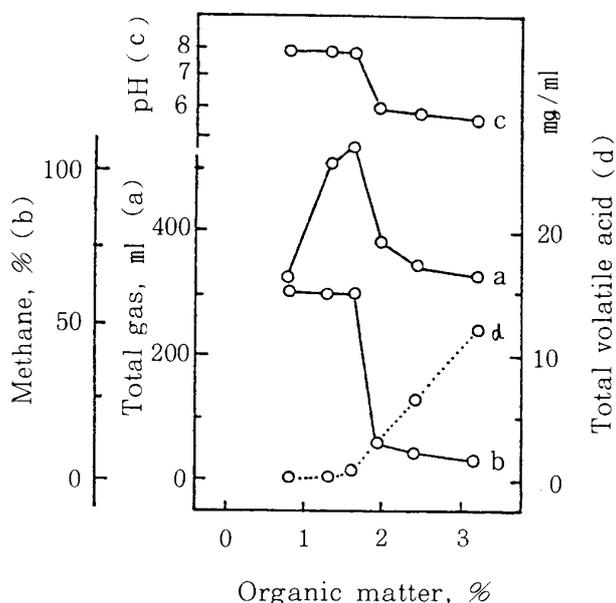


Fig.1 Effect of substrate concentration on the gas production in the methane fermentation

The alcohol stillage derived from raw sweet potato tubers which were fermented by using enzymes without cooking was used directly for methane fermentation. The sludge used was previously acclimated to the stillage. Methane fermentation was carried out at 37°C for 10 days in a 200 ml syringe containing 10 ml of the acclimated sludge and 4 to 10 g of organic matter of the stillage in a final volume of 50 ml. The pH of the mash was adjusted to 7.5. After fermentation, the volume of gas evolved and the pH of the mash were determined. The gas composition and volatile acids in the mash were analyzed using a gas chromatography.

有機物を2%以上添加した発酵では、発酵液中に有機酸の生成・蓄積とpHの低下に伴ない、ガス発生量が急減し、発生ガス中のメタン含量も10%に低下した。また、ガス発生量と発酵液中のスラッジ濃度及び蒸留廃液濃度とガス発生量との関係について調べた結果、廃液添加量はスラッジ量に依存し、スラッジ濃度20%(湿重)まではスラッジ濃度と廃液量との間に直線関係が得られた。

## 2. ガス発生量に及ぼす発酵温度の影響

ガス発生における最適スラッジ濃度及び蒸留廃液濃度がわかったので、次に発酵温度とメタンガス発生量との関係について調べるため、馴養スラッジ(16%)に蒸留廃液を有機物として0.236g加え各温度で10日間注射筒を用いて発酵を行なった。結果をFig.2に示した。メタンガスの発生量は発酵温度の上昇に伴ない増加し、37°Cで最も高い発生量が得られ、発酵液中への揮発性有機酸の蓄積もみられなかった。発酵温度40°C以上における発酵では、メタンガス発生量が急減し、有機酸の生成・蓄積が増大した。有機酸の蓄積量は50°Cで最も高く、有機酸の組成は酢酸：プロピオン酸：酪酸(5:1:4)であった。

## 3. ガス発生量に及ぼす発酵液の初発pHの影響

Fig.3は、発酵液の初発pHとガス発生量との関係について調べるため、馴養スラッジ(11%)に蒸留廃液(0.315g,有機物)を加え、注射筒を用い各種初発pHで、37°C,10日間発酵試験を行ないガス発生量等について調べた結果である。

初発pH7~9の発酵でガス発生量及びメタン濃度ともに高い値を示し、発酵液中への有機酸の蓄積もみられないことがわかった。また、初発pHが6及び10の発酵では、有機酸の蓄積がみられ、ガス発生量が少なく、メタン含量も低下した。

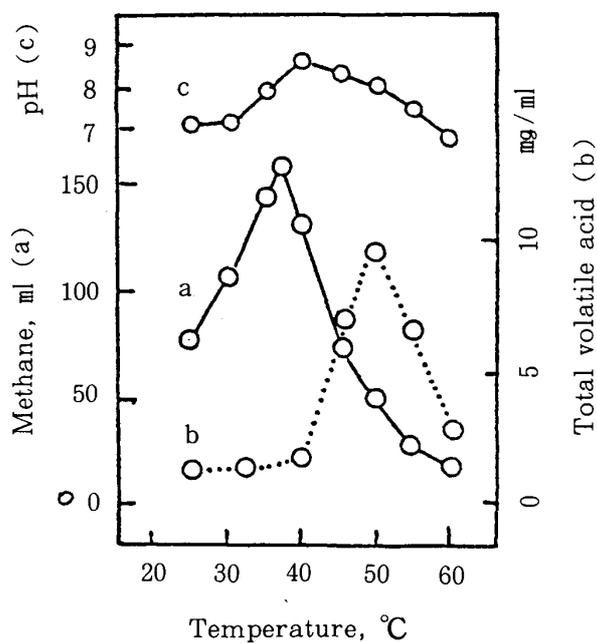


Fig. 2 Effect of fermentation temperature on the production of methane and volatile fatty acid

Methane fermentation was carried out at indicated temperatures for 10 days in a 200 ml syringe containing 8 ml of the acclimated sludge and 0.236 g of organic matter of the stillage in a final volume of 50 ml. Other conditions were stated in the legend to Fig. 1.

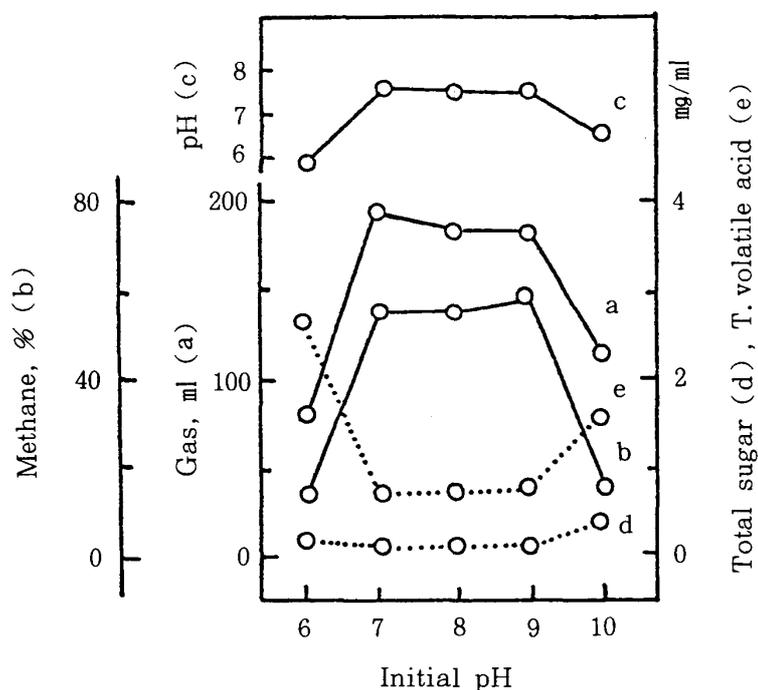


Fig. 3 Effect of pH on the gas production in the methane fermentation

Methane fermentation was carried out at indicated pH for 10 days in a 200 ml syringe containing 5.5 ml of acclimated sludge and 0.315 g of organic matter of the stillage in a final volume of 50 ml. The total sugar in the mash was determined by phenol- $H_2SO_4$  method. Other conditions were stated in the legend to Fig. 1.

## 当山ほか：アルコール蒸留廃液のメタン発酵

## 4. 生甘藷を原料としたアルコール蒸留廃液の回分メタン発酵

馴養スラッジ (16%) に蒸留廃液 (0.315 g, 有機物) を加え, 注射筒を用い初発 pH 7.5, 37°C で 10日間回分発酵を行ない, 発酵過程におけるガス発生経過及び揮発性有機酸の生成経過等を調べた結果を Fig. 4 に示した。

発酵開始とともにガス発生がみられ, 全ガス発生量は発酵 7日目まで直線的に増加し, 10日目にはガス発生が停止した。1日当りのガス発生量のピークが発酵 1日目と 5日目にみられ, 発酵初期にはメタン含量の低いガスが発生した。発酵

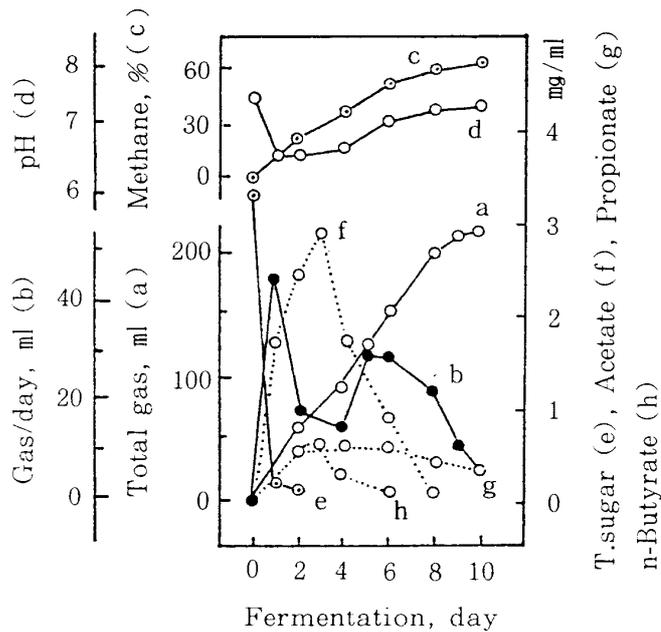


Fig. 4 Methane fermentation of sweet potato distillery waste by batch method

Methane fermentation was carried out at 37°C 10 days in a 200 ml syringe containing 8 ml of acclimated sludge and 0.315 g of organic matter of the stillage in a final volume of 50 ml. Other conditions were stated in the legend to Fig. 1.

につれ発酵が安定化し, ガス発生速度も早くなり, 発酵日数が短縮され, 発生ガス中のメタン含量も増加した。廃液を 5日毎に添加する半連続発酵で有機物 g 当りのガス発生量は 792 ml で, メタン含量は 58%であった。

液中の全糖量は, 発酵 1日目に完全に消化されて揮発性有機酸が生成・蓄積された。発酵 3日目に有機酸の蓄積量が最高値に達し, その組成は酢酸:プロピオン酸:酪酸 (71:15:14) であった。有機酸の蓄積に伴なって発酵液の pH が低下した。発酵 4日目以後有機酸の減少とともに発生ガス中のメタン含量が高くなり, 発酵液の pH が上昇した。10日間の回分発酵で, 蒸留廃液中の有機物 g 当りのガス発生量は 698 ml で, メタン含量は 62%であった。

## 5. 生甘藷を原料としたアルコール蒸留廃液の半連続メタン発酵

蒸留廃液の仕込み回数とガス発生量との関係について調べるため, 蒸留廃液を一定量半連続的に添加した発酵におけるガス発生経過を追跡した。発酵は, 馴養スラッジ (16%) に廃液 (0.473 g, 有機物) を加え, pH 7.5, 37°C で注射筒を用い 65日間行なった。結果を Fig. 5 に示した。

廃液添加は 4日目までは 10日毎に, 5回目以後は 5日毎に行なった。廃液添加 (仕込み) 回数を増す

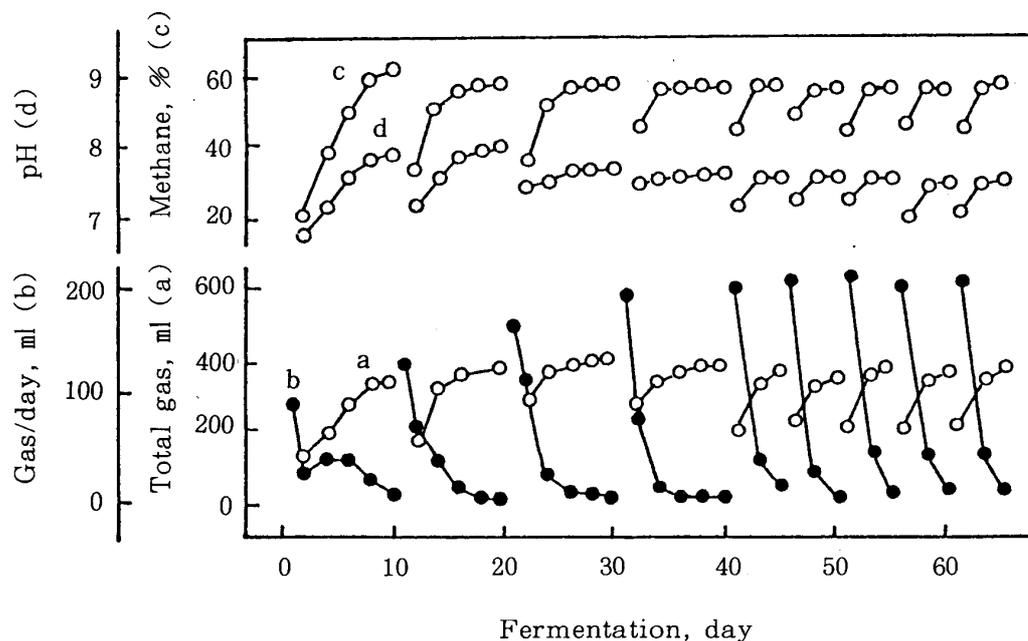


Fig. 5 Semicontinuous methane fermentation of sweet potato distillery waste

Methane fermentation was carried out at 37°C for 60 days with an addition of 0.473 g of organic matter of the stillage at 5 day intervals, and then 10 day intervals. Other conditions stated in the legend to Fig. 1.

## 考 察

メタン発酵は、酸生成菌群とメタン細菌群の協同作用により高分子物質が加水分解され低級脂肪酸を経てメタンと炭酸ガスまで分解される嫌氣的発酵である。近年、各種バイオマス資源から燃料用アルコールおよびメタンガス等へのエネルギー変換に関する研究が注目されるようになり、従来の有機系廃棄物の処理方法としてのメタン発酵に加えて、石油代替燃料生産の手段として各種有機系廃棄物（農・畜産廃棄物、都市ゴミ等）からのエネルギー回収と利用についての研究が推進されている<sup>2,3,4,6,14,15,16</sup>。

著者らは、主に熱帯及び亜熱帯地域で生産される農産物の廃棄物やその加工廃棄物を原料としたメタン発酵の可能性について検討中であるが、本報では生甘藷を原料とした無蒸煮アルコール発酵において発酵液を蒸留して得られる蒸留液のメタン発酵を行ない、ガス生成過程等について調べた。

注射筒を用いて、発酵液中の廃液量とメタンガス生成量との関係について調べた結果、発生ガス量及びメタンガス濃度からみた発酵液中の基質濃度はスラッジ量20%（湿重）のとき有機物として1.3～1.5%が最適であった。有機物濃度を2.0%以上添加した発酵では、発酵液中に有機酸が蓄積するに伴ないpHが低下し、ガス発生量も急減した。これは、酸生成菌がメタン細菌より増殖速度が速いために過剰な有機酸が蓄積されたことによりメタン細菌の増殖が阻害され、ガス発生量及びメタン生成量が低下したものと考えられる。

発酵温度とメタンガス発生量との関係について調べた結果、メタンガスの発生量は37°Cで最も高いことからスラッジ中のメタン生成菌は主に中温メタン細菌であることが確認された。発酵温度40°C以上においてメタンガス発生量は減少し、有機酸（酢酸、プロピオン酸および酪酸）の蓄積が増大した。有機酸の蓄積量は50°Cで最も高く、55°C以上では減少した。高温での発酵においてはメタン生成菌の

### 当山ほか：アルコール蒸留廃液のメタン発酵

増殖が極めて低いことから、酸生成菌によって生成された有機酸がメタンガスへ変換されないまま発酵液中へ蓄積されるものと考えられる。次に、発酵液の初発 pH とガス発生量について調べた結果、初発 pH 7～9 の発酵でガス発生量及びメタンガス濃度ともに高い値を示し、発酵液中への有機酸の蓄積もみられなかった。初発 pH が 6 及び 10 の発酵では、有機酸の蓄積がみられ、ガス発生量が少なくメタン含量も低下した。

以上の結果に基づいて、蒸留廃液の回分メタン発酵を行ない発酵過程におけるガス発生経過及び有機酸の生成経過等について調べた。ガス発生は発酵 7 日目までは直線的に増加し、10 日目には停止した。1 日当りのガス発生量は発酵 1 日目と 5 日目にピークがみられた。発酵初期では生成ガス中のメタン含量は低く、発酵経過とともにメタン含量も高くなった。発酵 3 日目に有機酸の蓄積量が最高となり、有機酸の蓄積に伴って発酵液の pH が低下した。発酵 4 日目以後、有機酸の減少とともに発生ガス中のメタン含量も高くなり、pH も上昇した。これは、生成された有機酸がメタン細菌によって資化され順調にメタン発酵が行なわれていることを示している。蒸留廃液を一定量半連続的に添加して仕込み回数とガス発生量との関係について調べた結果、廃液添加回数を増すにつれて発酵が安定化し、ガス発生速度も早くなり、発酵日数も短縮された。有機物  $g$  当りのガス発生量は回分発酵法より半連続添加法による発酵で高いことがわかった。

今回は小型発酵容器による生甘藷を原料としたアルコール蒸留廃液のメタン発酵を行ない発酵条件について調べた。本報で得られた発酵条件に基づき大型発酵槽（600 リットル容）による発酵を実施中であり、その結果については別に報告する予定である。

## 要 約

生甘藷を原料としたアルコール蒸留廃液を馴養したスラッジと混合し pH 7.5, 37°C でメタン発酵を 200 ml 容注射筒を用いて行ない、ガス生成過程、発生ガス量及び発生ガス中のメタン含量等について調べた。

発酵液（20% スラッジ、湿重）中の蒸留廃液濃度は有機物として 1.3～1.5% が最適で、60% のメタンを含むガスが発生した。ガス発生量は、スラッジ濃度が 20% までは廃液量とスラッジ濃度との間に直線関係が得られた。最適発酵温度は 37°C で、最適発酵 pH は 7～9 付近であった。

蒸留廃液を 10 日間メタン発酵して得られる総発生ガス量は蒸留廃液中の有機物  $g$  当り 698 ml で、メタン含量は 62% であった。発酵 3 日目に有機酸の蓄積量が最高値に達し、その組成は酢酸：プロピオン酸：酪酸（71：15：14）であった。また、蒸留廃液を 10 日毎および 5 日毎、半連続的に添加した発酵で発生したガス量は有機物  $g$  当り 792 ml で、メタン含量は 58% であった。

本研究を実施するに当りメタンスラッジを恵与下さった松下電器産業(株)電化研究所、注射筒を用いた発酵法等について御指導下さった大阪市立大学理学部大井進教授及び山本武彦教授に感謝します。

なお、本研究の費用の一部は昭和 59 年度文部省科学研究費補助金、エネルギー特別研究によるもので謝意を表します。

## 引 用 文 献

1. 石原昌信, 与那覇和雄, 当山清善 1982 微生物起源酵素剤による甘藷生澱粉および生甘藷の分解について, 琉大農学報 29: 39～45
2. Fouth, G. L., Graddy, J. L. 1981 Culture studies on the conversion of corn stover to methane, Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 11, 249～262

3. Laube, V.M., Martin S. M. 1981 Conversion of cellulose to methane and carbon dioxide by triculture of *Acetivibrio cellulolyticus*, *Desulfovibrio* sp., and *Methanosarcina barker*, Appl. Environ. Microbiol. **42**: 413 ~ 420
4. Mountfort, D. O., Asher, R. A., Bauchop, T. 1982 Fermentation of cellulose and carbon dioxide by a rumen anerobic fungus in a triculture with *Methanobrevibacter* sp. strain RAI and *Methanosarcina barkeri*, Appl. Environ. Microbiol, **44**: 128 ~ 134
5. Oi, S., Yamanaka, H., Yamamoto, T. 1980 Methane fermentation of bagasse and some factors to improve the fermentation, J. Ferment. Technol. **58**: 367 ~ 372
6. Shelef, G., Kimchie, S., Grynberg, H. 1980 High-rate thermophilic digestion of agricultural wastes, Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 10, 341 ~ 351
7. 当山清善, 大久保勉, 石原昌信, 与那覇和雄 1983 甘藷茎葉のメタン発酵 第1報 小型容器を用いた発酵, 琉大農学報 **30**: 177 ~ 183
8. 当山清善, 石原昌信, 与那覇和雄, 大久保勉 1983 生甘藷の酵素による糖化とアルコール発酵, 琉大農学報 **30**: 185 ~ 192
9. 当山清善, 大久保勉, 石原昌信, 与那覇和雄 1983 甘藷を原料とするメタン発酵, 日本農芸化学会 昭和58年度西日本支部・関西支部合同大会要旨集 p. 29
10. 当山清善, 石原昌信, 与那覇和雄, 大久保勉 1984 酵素剤利用による甘藷芋からのエタノール生産, 琉大農学報 **31**: 35 ~ 42
11. 当山清善, 大久保勉, 石原昌信, 与那覇和雄 1984 甘藷茎葉のメタン発酵 第2報 大型発酵槽を用いた発酵, 琉大農学報 **31**: 29 ~ 34
12. 当山清善 1984 甘藷いもを原料としたアルコール蒸留廃液のメタン発酵・発酵条件の検討, 文部省科学研究費, エネルギー特別研究 “生物エネルギーの利用と開発” 昭和59年度研究成果報告, p. 175 ~ 180
13. Toyama, S., Yonaha, K., Ishihara, M. 1984 Enzymatic processes of raw sweet potato tubers for ethanol fermentation, “Reserch on energy from biomass”, SPEY 7, p. 163 ~ 165
14. Yamamoto, T., Oi, S., Toyama S. 1982 Methane fermentation of leaf and stem of sweet potato to supply energy for production of alcohol and fertilizer for cultivation of the crop. EC. 2nd conference on energy from biomasse, Berlin
15. Yamamoto, T., Oi, S., Toyama, S., Miyasato, K. 1984 The anaerobic digestion of leaf and stem of sweet potato to save energy for production of alcohol from the potato, “Research on energy from biomasse”, SPEY 7, p. 197 ~ 199
16. Y. K. Cho 1983 Performance of a two-stage methane digester for alcohol stillage derived from sugar cane molasses. Biotechnology. Letters. **5**: 555 ~ 560