

# 琉球大学学術リポジトリ

## 甘藷茎葉のメタン発酵：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, 大久保, 勉, 石原, 昌信, 与那覇, 和雄, Toyama, Seizen, Ohkubo, Tsutomu, Ishihara, Masanobu, Yonaha, Kazuo メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3990">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3990</a>

## 甘藷茎葉のメタン発酵

## 第1報 小型容器を用いた発酵

当山清善\*・大久保勉\*\*・石原昌信\*・与那覇和雄\*

Seizen TOYAMA, Tsutomu OHKUBO, Masanobu ISHIHARA,  
and Kazuo YONAHARA : Methane fermentation of sweet  
potato stalks and leaves (I) Small-scale methane  
fermentation

## Summary

Methane fermentation using sweet potato stalks and leaves as the substrate was carried out at 37°C in a 200-ml syringe containing the sludge which was previously acclimated to the same substrate, and the following results were obtained.

The total gas evolved from fresh stalks and leaves was 347 ml per dry g of the substrate with a methane ratio of 58% in 15 days of fermentation. About 88% of the total gas was evolved in 8 days. At the early stage of fermentation, the pH of the mash and the methane content of the gas evolved were low, and rose gradually during the fermentation process. When fermentation was carried out by the addition of fresh stalks and leaves at 8-day intervals, the total gas evolved was 533 ml per dry g of the substrate with a methane ratio of 60%.

The total gas evolved from dry stalks and leaves in 10 days fermentation was 393 ml per g of the substrate with a methane ratio of 63%. About 80% of the total volume of gas evolved in 6 days. Acetic and propionic acids accumulated in the mash after 4 days of fermentation and decreased gradually during the fermentation process. When fermentation was carried out by the addition of dry stalks and leaves at 4-days intervals, the total gas evolved was 422 ml per g of the substrate with a methane ratio of 62%. This gas production per day of fermentation was 1.3 times higher than that from fresh stalks and leaves.

---

\* 琉球大学農学部農芸化学科

\*\* 新東交易株式会社

琉球大学農学部学術報告 30 : 177 ~ 184 (1983)

## 緒 言

石油資源の涸渇が予期されて以来、バイオマス変換エネルギーの研究開発が推進され、特にバイオマス資源からの液体(エタノール)及び気体(メタン)燃料の生産のための技術確立が望まれている。バイオマスエネルギーの生産原料として各種のバイオマス資源が検討されつつあるが、アルコール(エタノール)への転換技術などから糖質(砂糖きび等)及び澱粉質(いも類)の栽培作物が有利な資源と考えられている。熱帯性いも類のなかでは、甘藷がキャッサバとともにエネルギー変換効率の高い澱粉作物で生産量も多く、エネルギー変換技術を確立することにより重要なバイオマス資源となり得る作物である<sup>4)</sup>。しかし、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。

著者ら<sup>1,13,14)</sup>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転換技術を確立するための基礎研究を行なうとともに、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研究を行っている。本報では、甘藷茎葉を原料とした大型発酵槽によるメタン発酵を実施するに当たっての基礎的知見を得るために、小型発酵容器(注射筒)を用いたメタン発酵における発酵条件、発生ガス量及び発生ガスの組成等について検討した結果を報告する。

## 実 験 方 法

(1) 甘藷茎葉と茎葉の処理： 実験に供した茎葉は沖縄県読谷村及び本学農学部附属農場で栽培された収穫時の甘藷(宮農36号及び照間)から採取したものである。メタン発酵には、採取直後の茎葉をタナカ式飼料用破砕機(MB型)で粗破砕したのち、小型ミキサーで微破砕してジュース状にしたものを生茎葉とし、また、粗破砕茎葉を天日乾燥したのちさらに粉砕機で微粉砕したものを乾燥茎葉として用いた。供試甘藷茎葉の成分は水分85.3%、全糖21.7%及びセルロース18.5%で、炭素及び窒素含量はそれぞれ45.1%及び4.8%で、C/N比は9.4である。

(2) メタン発酵用種スラッジとその馴養： 使用したスラッジは松下電器産業(株)電化研究所で調製されたもので、本スラッジはメタン生成速度が高く、耐酸素性のある中温メタン発酵菌と酸発酵菌を集殖・馴養したものである。甘藷茎葉のメタン発酵用スラッジとして使用するために、上記スラッジ液(pH8.0)に乾燥茎葉粉末(スラッジ液1.0リットル当り1.0g)を加えて30°Cで放置し、スラッジ液のpHが7.5~8.0に上昇しガス発生が中止した時点でさらに茎葉粉末を添加する操作を数回繰返して馴養を行った。発酵にはガス発生が中止した馴養スラッジ液を用いた。スラッジ液を遠心分離(10,000rpm, 10分)して得られた沈澱(スラッジ量)の容量は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Oira<sup>5)</sup>の方法に準じて行った。発酵液の混液は、馴養スラッジ液20mlまたは30mlを200ml容注射筒に採り、所定量の甘藷茎葉及び水を加えて全量を50mlとした。この時の50ml中のスラッジ濃度は湿重11%(20ml)または16%(30ml)である。次に、pHを7.5に調節したのち脱気を行ない、37°Cで4~15日間静置して発酵を行った。発生ガスの容量は注射筒の目盛りを読み取り、全ガス発生量(ml)及び発酵1日当りの発生ガス量(ml/day)で表わした。

(4) 発生ガスの分析とガス組成： 発生ガスの分析は島津GC-4C型ガスクロマトグラフィーを用いた条件で行った。カラム：活性炭30/60mesh, 3mmφ×2mステンレス、カラム温度：40°C、気化室温度：40°C、検出器温度：100°C、キャリアガス：He 60ml/min、検出器：TCD、電流値：125mA、レンジ：256mV、チャートスピード：2.5mm/min。発生ガス中のメタン及び炭酸ガス含量は標準ガス試料の分析値から算出し、%で示した。

(5) 揮発性有機酸の分析と有機酸組成： 発酵液からの揮発性有機酸の分別は、遠心分離後の発酵液

を酸性としたのちエーテル抽出により行った。有機酸の分析は上記ガスクロマトグラフィーを用い次の条件で行った。カラム：Reoplex 400 on AW DMCS クロモソブ -W 80/100mesh, 3mmφ×2m ガラス, カラム温度：150℃, 気化室温度：170℃, 検出器温度：190℃, キャリアガス：He 60ml/min, 検出器：FID, レンジ：512V, 感度：10<sup>3</sup>MΩ, チャートスピード：5.0mm/min, 有機酸含量は標準有機酸の分析値から算出し, mg/ml で示した。

(6) 全糖の分析：発酵液中の全糖量はフェノール硫酸法<sup>2)</sup>により定量し, グルコースmg/ml で示した。

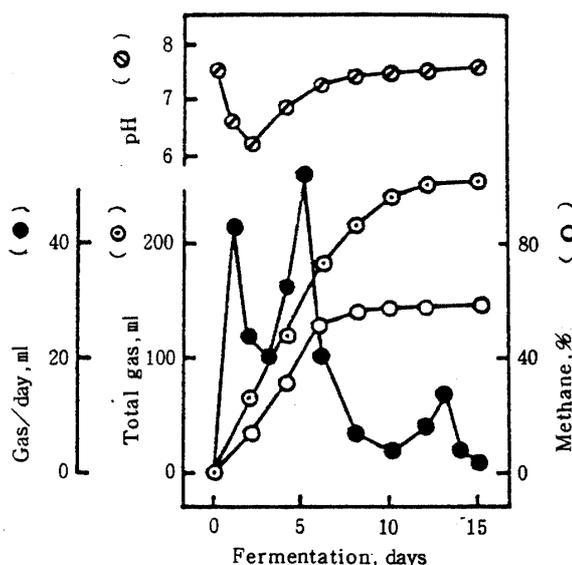
## 実験結果

### 1. 生茎葉を基質としたメタン発酵

甘藷茎葉を粗破碎したのち, さらに微破碎してジュース状にした生茎葉を基質としてメタン発酵を行ない, 発酵過程における発生ガス量等について調べた。Fig 1 は, 馴養したメタンスラッジ液20ml (湿

Fig. 1. Methane fermentation of fresh stalks and leaves of sweet potato by batch method

The substrate used was the fresh stalks and leaves which were chopped to pieces. The sludge used was previously acclimated to the same substrate. Methane fermentation was carried out at 37°C for 15 days in a 200-ml syringe containing 20ml of the acclimated sludge and 5g (0.735g, dry basis) of the chopped substrate in a final volume of 50 ml. The pH of the mash was adjusted to 7.5. The volume of gas evolved and the pH of the mash were determined daily. The gas composition was analyzed using gas chromatography.



重11%) に生茎葉 5.0g (乾燥重量 0.735g) を加えて, 初発 pH 7.5, 37°C で15日間発酵を行ない, 経時的に全発生ガス量, 1日当りの発生ガス量, 発生ガス中のメタン含量及び発酵液の pH を調べた結果である。図から明らかなように, 発酵開始とともにガス発生がみられ, 発生ガス量は発酵8日目まで直線的に増加し, 15日目にはガス発生が停止し発酵は終了する。発酵1日当りのガス発生量は発酵1日目に第1のピークがあり, 2日目には低下したのち4日目に最も高い第2のピークがみられ, 6日目からは再び低下し, 12日目には低い第3のピークがある。発生ガス中のメタン含量は発酵初期では極めて低く, 発酵の進行に伴い増加し, 発酵8日目以後一定となり 58.6% に達した。発酵液の pH は発酵開始後2日目まで低下するが, その後上昇に転じ8日目以後 pH 7.5 で一定となった。生茎葉 5.0g から発生した総ガス量は 255 ml であった。

生茎葉を基質としてメタン発酵では総ガス量の88%が発酵8日間で発生することが明らかになったので, 次に半連続的に生茎葉を添加して発酵を行った。馴養スラッジ液20ml に生茎葉 5.0g を8日間毎に5回連続して加えて発酵を行った結果が Fig. 2 である。茎葉添加1回目は所期の発生ガス量が得られず, 発生ガス中のメタン含量も低い。茎葉添加2回目には発生ガス量も急増し, メタン含量も高くなり, 発

酵液の pH 上昇もみられ、供試スラッジが生茎葉に対して馴養されていることを示している。茎葉添加 3~5 回目は発生ガス量、メタン含量及び発酵液の pH とともに安定し良好な発酵状態を示したが、発酵液中に非発酵性の固形物が多くなり、さらに茎葉を添加して発酵を行なうことは困難であった。3~5 回の茎葉添加 (15 g) での全発生ガス量は 1.176 ml であった。

2. 乾燥茎葉を基質としたメタン発酵

甘藷茎葉を粗破碎したのち天日乾燥を行ない、さらに微粉碎したものをメタン発酵の基質として用い、発酵過程における発生ガス量及び発酵液中の揮発性有機酸等について調べた。Fig.3 は、馴養スラッジ液 30 ml (湿重 16%) に乾燥茎葉 0.4g を加え、初発 pH 7.5, 37°C で 10 日間発酵を行ない、発生ガス量、メタン含量、発酵液の全糖量、有機酸量及び pH を経時的に調べた結果である。発酵経過とともに全発生ガス量は直線的に増加し、発酵 10 日目にはガス発生が停止する。1 日当りのガス発生量の第 1 のピークが発酵 2 日目にあり、発生ガス中のメタン含量は低い。発酵 5 日目にメタン含量の高いガス発生量の第 2 のピークがみられる。発酵液中の全糖量は発酵 1 日目で急激に減少し酢酸及びプロピオン酸が生成蓄積される。発酵液中の両有機酸の蓄積は発酵 3 日目で最も高く、4 日目以後は減少に転じ 8 日目には完全に消失する。有機酸の減少に伴って発生ガス中のメタン含量が高くなり、発酵液の pH は上昇する。乾燥茎葉 0.4g からの全発生ガス量は発酵 10 日間で 157 ml, メタン含量は 63.5%, 発酵液の最終 pH は 7.55 であった。

乾燥茎葉を基質としたメタン発酵で生産されるガス量の 80% は発酵 6 日目までに発生することがわかったので (Fig.3), 次に乾燥茎葉を 8 回に分けて半連続的に添加して発酵を行った結果が Fig.4 である。発酵は馴養スラッジ液 30 ml に乾燥茎葉 0.2 g を加えて行ない、添加 2 回目までは 8 日毎に、添加 3 回目以後は 4 日毎に行った。図から明らかのように、茎葉添加 1 回目の発酵では良好なガス発生はみられるが、1 日当りの発生ガス量からみると発酵終了には 8 日間を要した。茎葉添加 2 回目ではガス発生は 6 日間で終了し、メタン

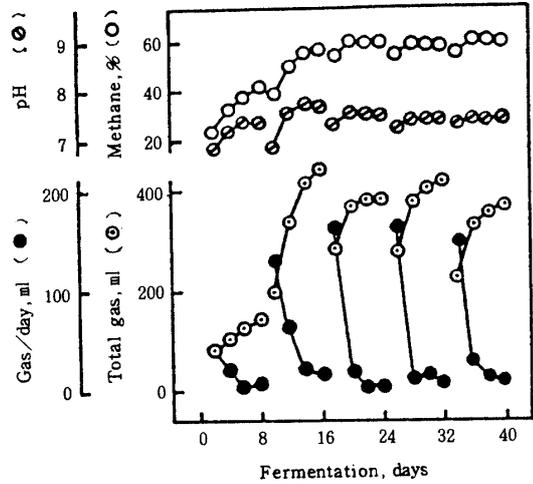


Fig. 2 Semicontinuous methane fermentation of fresh stalks and leaves of sweet potato

Methane fermentation was carried out for 40 days by the addition of 5g of fresh stalks and leaves at 8-day intervals. Other conditions are the same as Fig. 1.

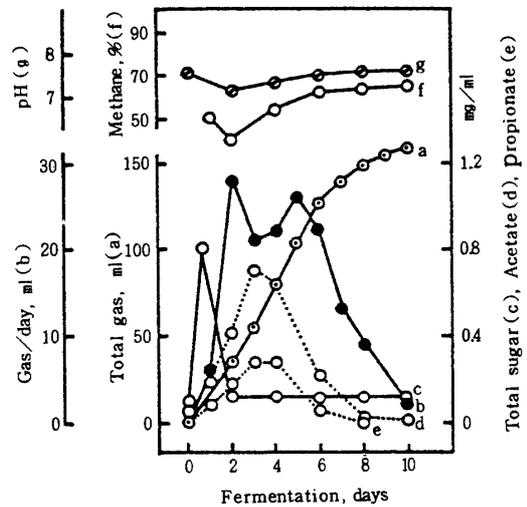


Fig. 3 Methane fermentation of dry stalks and leaves of sweet potato by batchwise method

Fresh stalks and leaves were chopped, dried and ground to 40 mesh for the fermentation. Methane fermentation was carried out at 37°C for 10 days in a 200-ml syringe containing 30ml of the acclimated sludge and 0.4g of the dry substrate in a final volume of 50ml. Volatile acids in the mash were analyzed using gas chromatography. Other conditions are the same as Fig. 1.

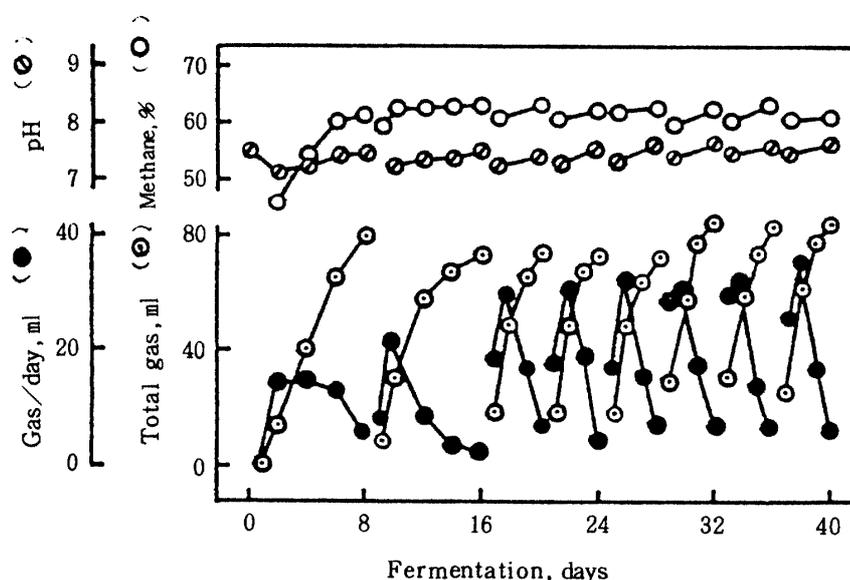


Fig. 4. Semicontinuous methane fermentation of dry stalks and leaves of sweet potato

Methane fermentation was carried out for 40 days by the addition of 0.2g of dry stalks and leaves at 8-day intervals, and then 4-day intervals. Other conditions are the same as Fig. 1.

含量及び発酵液の pH とともにほぼ一定となり発酵が安定化した。茎葉添加 3 回目以後はガス発生速度も高くなり、発酵は 4 日間で終了した。特に、茎葉添加 6 回目以後は、添加後のガス発生速度はさらに早くなりガス発生量も増加した。このように、乾燥茎葉を半連続的に添加することにより発酵が順調に進行し、良好なガス発生がみられることがわかった。乾燥茎葉 0.2g 当りの全ガス発生量は平均 84 ml で、メタン含量は 62.1%であった。

本研究で注射筒を発酵容器として用い、甘藷の生茎葉及び乾燥茎葉を基質としたメタン発酵を行った結果、同基質で馴養したスラッジを使用することにより良好な発酵が行われることがわかった (Fig. 1 ~ 4)。半連続的に基質を添加して発酵することにより発酵期間 (滞留日数) が短縮され、発生ガス量も増大する。基質の半連続添加による生茎葉からのガス発生量は回分法の約 1.5 倍に達し、発生ガス中のメタン含量も増加した。乾燥茎葉では半連続添加によるガス発生量は回分法の約 1.1 倍で、メタン含量には差異がみられない。半連続添加による発酵 1 日当りの発生ガス量は、乾燥茎葉では生茎葉より約 1.3 倍高い値が得られる。

## 考 察

メタン発酵法は、有機系廃棄物中の有機物を嫌気性細菌の発酵作用によりメタンガスと炭酸ガスに分解処理することを目的として、下水汚泥や尿及び工場廃水等を処理する方法として古くから知られている。近年、メタン発酵法を単なる各種有機廃棄物の処理法としてだけでなく、石油代替燃料生産の手段として都市ごみ、家畜廃棄物及び産業廃棄物等からのエネルギーの回収と利用を図るための研究が行われつつある。<sup>9, 11, 12)</sup> また、各種農産廃棄物をメタン発酵の原料として利用するための研究も行われ、効率的なメタンガスの生産条件が設定されつつある。<sup>3, 6, 8, 9, 10, 15)</sup> 農産廃棄物には、農業で生産される各種農産物の収穫後に副生する廃棄物と農産物の加工過程で副生する加工廃棄物が存在するが、多量に副

生ずる廃棄物がエネルギーの回収と利用を目的としたメタン発酵の原料となり得る。著者らは、熱帯及び亜熱帯地域で生産される主要な農産物の廃棄物及び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、本報では甘藷の茎葉を原料としたメタン発酵を行ないガス生成経過等について調べた。

茎葉で馴養したスラッジを用いて発酵を行った結果、生及び乾燥茎葉から良好なガス発生がみられたが、ガス発生経過、発生ガス量及び発生ガス中のメタン含量は供試スラッジの馴養の程度及び茎葉の添加量等の条件により異なる。有機物からのメタン発酵によるガス生成過程は生酸菌群による酸生成過程とメタン菌群によるガス生成過程から成ることが知られている。<sup>7, 12, 15)</sup> 茎葉の発酵でも発酵初期に茎葉中の各種成分の加水分解が進行して酸生成が行われ、それに伴う多量の炭酸ガスの発生と発酵液のpH低下がみられる(Fig. 1, 2)。酸生成の結果、発酵液中に揮発性有機酸(酢酸及びプロピオン酸)の蓄積がみられるが、メタン発酵の進行に伴ってこれらの有機酸は減少する。有機酸の減少に伴い発酵液のpHは上昇して発酵初発pH(7.5)にまで回復し、発生ガス中のメタン含量の増加がみられ発酵後期には58~61%に達する。生茎葉と乾燥茎葉では、1日当りの発生ガス量からみたガス生成経過が異なり、ガス発生は生茎葉を基質とした方が早い。しかし、総発生ガス量からみた発酵期間は乾燥茎葉が6日間で、生茎葉が8日間であった。

スラッジに茎葉を8日毎に添加する方法、すなわち半連続的に添加して発酵を行ないガス発生経過を調べた結果、発酵は順調に進行し発生ガス量及びメタン含量ともに高い値が得られた(Fig. 2, 4)。茎葉を半連続的に添加することにより発酵期間が4~6日間に短縮される。発酵期間はスラッジ量及び茎葉添加量等によっても異なるが、乾燥茎葉の発酵が生茎葉より短く、添加回数を多くした発酵でも発生ガス量の低下はみられない。このことは微粉碎された乾燥茎葉は分解・発酵されやすく、発酵液中への未分解固形物の蓄積が少ないことを示している。茎葉g当りの総ガス発生量は回分法(バッチ法)より半連続添加法による発酵で高く、1日当りの発生ガス量は生茎葉より乾燥茎葉による発酵で高い。今回、甘藷茎葉を基質としたメタン発酵条件を設定するために小型発酵容器を用いて発酵を行ったのであるが、得られた発酵条件に基づき大型発酵槽(600リットル容)による発酵を実施し、発酵のための諸条件を検討中である。<sup>13, 14)</sup>

## 要 約

甘藷茎葉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、ガス生成経過、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。

生茎葉を15日間メタン発酵して得られる総発生ガス量は乾重g当り347 mlで、その88%は発酵8日間で発生した。発生ガス中のメタン含量は58%であった。発酵初期には発酵液のpH及び発生ガス中のメタン含量は低いですが、発酵の進行に伴い上昇した。生茎葉を8日毎、半連続的に添加したメタン発酵での総発生ガス量は乾重g当り533 mlで、メタン含量は60%であった。

乾燥茎葉を10日間メタン発酵して得られる総ガス発生量は乾重g当り393 mlで、その80%は発酵6日間で発生した。発生ガス中のメタン含量は63%であった。発酵3日目に酢酸及びプロピオン酸の発酵液への蓄積がみられたが、発酵4日目以後は減少した。乾燥茎葉を4日毎、半連続的に添加した発酵で発生する総ガス量は乾重g当り422 mlで、メタン含量は62%であった。乾燥茎葉からの1日当りの発生ガス量は生茎葉の約1.3倍高い値が得られた。

本研究の実施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、また実験に協力された本学卒業生福山光浩君に感謝します。

なお、本研究の費用の一部は昭和56年度文部省科学研究費補助金エネルギー特別研究（課題番号5604501）によった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. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, E. A., Smith, F. 1956 Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Anal. Chem., 28 : 350~356
3. Fouth, G. L., Gaddy, J. L. 1981 Culture studies on the conversion of cornstover to methane, Biotechnol. Bioeng. Symp., No11 : 249~262
4. 藤瀬一馬 1983 高エネルギー植物の研究：世界のいも類作物のエネルギー生産力調査(2) サツマイモの収量について, 文部省科研費 エネルギー特別研究 “生物エネルギーの利用と開発” 調査報告 p. 1~114
5. Oi, S., Matsui, Y., Iizuka, M., Yamamoto, T. 1977 The effect of hemicellulolytic enzymes on mesophilic methane fermentation, J. Ferment. Technol., 55 : 114~121
6. Oi, S., Yamanaka, H., Yamamoto, T. 1980 Methane fermentation of bagasse and some factors to improve the fermentation, J. Ferment. Technol., 58 : 367~372
7. 大井進 1981 メタン発酵の工学的諸問題, 化学工学 45 : 29~32
8. Oi, S., Tanaka, T., Yamamoto, T. 1981 Methane fermentation of coffee grounds and some factors to improve the fermentation, Agric. Biol. Chem., 45 : 871~878
9. Robbins, J. B., Arnold, M. T., Lacher, S. L. 1979 Methane production from cattle waste and delignified straw, Appl. Environ. Microbiol., 38 : 175~177
10. Shelef, G., Kimachie, S., Grynberg, H. 1980 High-rate thermophilic anaerobic digestion of agricultural wastes, Biotechnol. Bioeng. Symp., No.10, 341~351
11. 園田頼和 1976 メタン発酵による有機系廃棄物の処理と燃料ガス生産, 発酵と工業 34 : 248~256
12. 園田頼和 1980 「嫌気性処理法」, 廃水の生物処理(高原義昌編) p. 167~215 地球社
13. 当山清善, 宮里清松 1983 甘藷いもの無蒸煮仕込みアルコール発酵, 甘藷茎葉のメタン発酵及びメタン発酵汚泥の肥効試験, 文部省科研費 エネルギー特別研究 “生物エネルギーの利用と開発” 昭和57年度研究成果報告 p. 171~174
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 Biomass, Berlin
15. 山沢新吾, 前川孝昭, 山口智治 1983 農産廃棄物の2相式メタン発酵, 文部省科研費 エネルギー特別研究 “生物エネルギーの利用と開発” 昭和57年度研究成果報告 p. 243~248