



Title	メタン発酵によるバガスからのバイオガスの生産(農芸化学科)
Author(s)	石原, 昌信; 当山, 清善; 与那覇, 和雄
Citation	琉球大学農学部学術報告 = The Science Bulletin of the Faculty of Agriculture. University of the Ryukyus(35): 45-51
Issue Date	1988-12-05
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3890
Rights	

メタン発酵によるバガスからのバイオガスの生産

石原昌信*・当山清善*・与那覇和雄*

Masanobu ISHIHARA, Seizen TOYAMA and Kazuo YONAHA :
Biogas production from methane fermentation of sugarcane
bagasse

Summary

Methane fermentation of sugarcane bagasse was carried out at 37°C and 7.5 of pH in the 200-ml syringes containing the sludge which was previously acclimated to the same substrate.

Alkaline pretreatment of the substrate improved the gas evolution from bagasse. The most favorable concentration of NaOH solution and loading of treated bagasse were 0.5(w/v) and 0.5g(dry wet.), respectively.

The gas production from the alkaline-treated bagasse was 1.8 times higher than that from the untreated bagasse. The total gas evolution from alkaline-treated bagasse was 540 ml per g of dry substrate with a methane ratio of 63% in 10 days of fermentation. Acetic, propionic and butyric acids accumulated in the mash after 4 days of fermentation and the decreased gradually during further fermentation. The gas evolution from 5%-NaClO₂-treated bagasse was 2.1 times higher than that from the untreated bagasse and methane content was 69%. The whole gas evolved from the bagasse components, bagasse holocellulose, -hemicellulose and -cellulose was 560-600 ml per g of dry substrate with a methane ratio of 63-67% in 10 days of fermentation.

緒言

著者らは、農産廃棄セルロース物質、特に、バガス及びサトウキビ葉、梢頭部を微生物処理及び酵素処理を行なうことにより付加価値の高い物質へ転換するための基礎的研究を行なっている^{6,7,18}。セルロース物質の有効利用化については、国内外で関心が高まり、飼料化^{4,15,16}コンポスト化^{3,5}及び燃料化^{1,11,12,19}（エタノール、メタンガス等）に関する研究が盛んに行われている。セルロース物質の微生物あるいは酵素分解において、分解性を高めるために各種の物理化学的及び微生物的前処理法が開発されている^{10,17}。前処理法で、アルカリ溶液による処理が比較的安価で、操作が簡単であることから効果的な前処理法とし知られており、処理条件等について詳しく検討されている⁹。セルロース物質の嫌気性菌群による分解においても基質の前処理の効果が確かめられている¹⁷。

農産廃棄物を原料とするメタン発酵に関する研究（第5報）

* 琉球大学農学部農芸化学科

琉球大学農学部学術報告 35: 45~51 (1988)

大井^{2,13)}らは、バガス等の農産廃棄セルロース物質を基質としたメタン発酵を行ない、各種前処理とガス化条件等について報告している。しかし、バガスのアルカリ処理とガス発生量との関係について詳細には検討されていない。そこで、本研究ではバガスの嫌気発酵において、ガス発生に及ぼす前処理の影響について調べるため、各種前処理バガスの嫌気発酵を行ない発生ガス量を測定するとともに、アルカリ処理バガスを基質とした発酵におけるメタンガス生成条件等について調べた。

実験方法

- (1) **バガスとバガスの前処理**：製糖工程で得られたバガスを水洗、乾燥後ウィレー氏粉碎機を用いて粉碎し、40メッシュの篩を通して実験に供した。粉碎バガスの化学的前処理は水酸化ナトリウム(NaOH)及び次亜塩素酸ナトリウム(NaClO₂)溶液をバガス重量の20倍量添加し、120°C、20分間オートクレーブ処理して行ない、洗浄、乾燥して使用した。バガスホロセルロース、ヘミセルロース及びセルロースは、前報⁷⁾の方法に従って調製した。
- (2) **メタンスラッジの調製**：メタン発酵用種スラッジは、溜池から採取した汚泥に粉碎バガス及び無機栄養を加えて30°Cに保つことにより調製した。菌群の馴養は、ガス発生量がほぼ一定となるまで上記操作を数回繰り返すことにより行なった。発酵には、ガス発生が中止した馴養スラッジを用いた。
- (3) **メタン発酵と発生ガス量**：発酵液の組成は、注射筒(200ml容)に馴養スラッジ10ml又は20mlを採り、これに所定量の基質と無機栄養を添加し、pHを調節した後水道水で全量を50mlとした。発酵は37°Cで10~15日間静置して行なった。発生ガス量は注射筒の目盛りで測定し、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**：発生ガスの分析は島津ガスクロマトグラフィーGC4CPTF型を用いて行なった。分析条件は前報⁹⁾のとおりである。発生ガスの中のメタン及び二酸化炭素量は標準ガス試料を用いて同一条件下で分析した値から求め、%で表した。
- (5) **揮発性有機酸の分析**：揮発性有機酸の抽出は、遠心分離後の発酵液を硫酸で酸性としたものにエーテルを加えて行なった。有機酸の分析は、ガスクロマトグラフィーにより前報⁹⁾に従って行なった。有機酸量は標準有機酸の分析値から算出し、mg/mlで示した。

実験結果

1. ガス発生量に及ぼす前処理の影響

バガスを基質としたメタン発酵において、基質を前処理することによりガス発生量が高められるかどうかを調べるため、無処理、熱水処理及びアルカリ処理バガスを基質とした中温メタン発酵を行ない、ガス発生経過について調べた(Fig 1)。図に示したように、無処理及び熱水処理バガスを基質とした発酵では、発酵3日目からガス発生がみられ、発酵時間の経過に伴ないガス発生量は増加した。他方、0.5% NaOH処理バガスを基質とした発酵では、ガス発生量は発酵初期から中期にかけて著しく増加した。基質をアルカリ処理すると無処理及び熱水処理に比べて約1.8倍高いガス発生量を示した。1日当りのガス発生量は、アルカリ処理バガスでは発酵4日目、無処理及び熱水処理バガスでは発酵4日目と8日目にピークがみられた。

2. ガス発生量に及ぼすアルカリ処理の影響

バガスは無処理のままメタン発酵に供するよりもアルカリ溶液で前処理した後発酵を行なった方がガス発生量は多く、発酵期間も短縮されることがわかったので、次に、ガス発生量に及ぼすアルカリ濃度の影響について調べた(Fig 2)。前処理は、バガスに各種濃度のNaOH溶液を加え、120°Cで20分間保

って行なった。発酵は種スラッジに各処理バガスを混合し、常法通り、pH7.5, 37°Cで12日間行なった。その結果、ガス発生量及びメタン含量からみた最適なアルカリ処理濃度は0.5%付近であることが明らかになった。発生ガス中のメタン含量(55~57%)及び発酵液のpH(8.5)は各処理バガスを加えた発酵で差異はみられなかった。

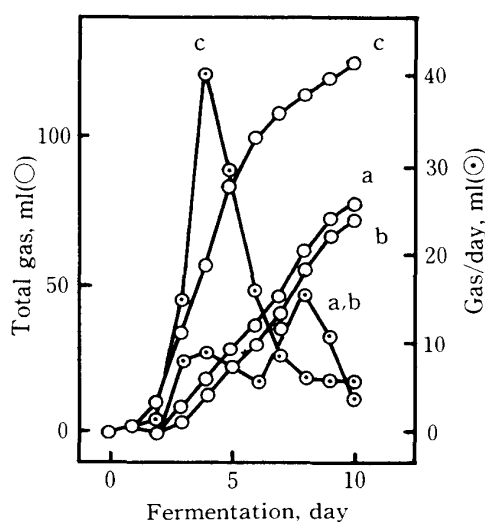


Fig. 1. Methane fermentation of untreated, steam-pressure-treated and alkaline-treated residue of sugarcane bagasse

Bagasse was ground in a whyley mill to 40 mesh(untreated bagasse). The ground bagasse was treated with water and 0.5% sodium hydroxide solution (liquid : bagasse, 20 : 1) at 120°C for 20 min. The treated bagasse was recovered by filtration, washed and dried(steam-pressure-treated bagasse, alkaline-treated bagasse). The sludge was previously acclimated to the same substrate. Methane fermentation was carried out at 37°C for 10 days in a 200-ml syringe containing 10 ml of the acclimated sludge and 0.25 g of the substrate in a final volume of 50 ml. The volume of gas evolved and pH of the mash were determined. The gas composition was analyzed using a gas chromatography. (a) untreated (b) steam pressure treated (c) alkaline treated.

3. ガス発生量に及ぼす基質濃度の影響

次に、アルカリ処理バガスを基質とした発酵におけるガス発生量と加える基質量(負荷量)との関係について調べたのが Fig 3 である。負荷量が

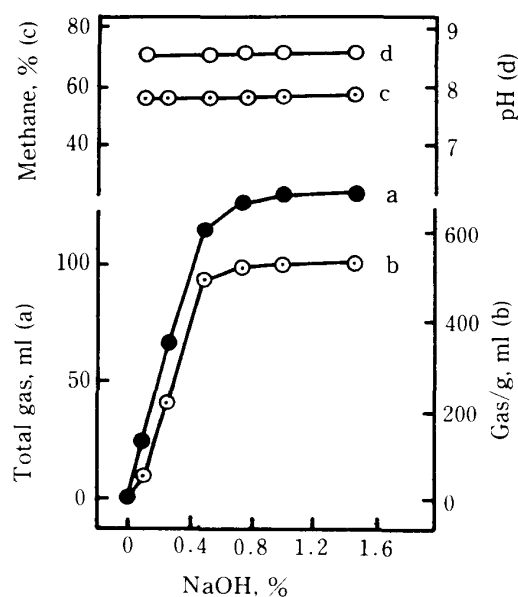


Fig. 2. Effect of alkaline-treatment on the gas production in the methane fermentation.

Bagasse was treated with various concentrations of NaOH solution (liquid : bagasse, 20 : 1) at 120°C for 20 min. Other conditions are stated in the legend to Fig. 1.

0.5 g までは、ガス発生量は基質量の増加に伴ない比例的に増加したが、1.0 g 以上添加した場合には、ガス発生量は減少することがわかった。また、発生ガス中のメタン含量及び発酵液の pH も同様に基質を 1.0 g 以上加えた発酵では著しく低下した。基質 1 g 当りのガス発生量は、負荷量が少ない程高い傾向を示し、基質量 1.0 g 以上では極めて低い値であった。これらの結果から、ガス発生量及びメタン含量からみた最高負荷量は 0.5 g 付近であった。

4. アルカリ処理バガスを基質とした回分式メタン発酵

アルカリ処理バガスを基質としたメタン発酵を行ない、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 4)。発酵は、馴養スラッジ 10 ml (乾重 1.0 g) に 0.5% NaOH 処理バガス 0.25 g を加え、pH 7.5, 37°C で 10 日間行ない、発生ガス量、メタン含量、発酵液の有機酸量及び pH を経時的に調べた。発酵 2 日目からガス発生がみられ、発酵経過とともに全発生ガス量は直線的に増加し、発酵 8 日目から 10 日目にかけて一定となった。発酵 3 日目に 1 日当りの

ガス発生量のピークがみられたが、発生ガス中のメタン含量は低く、二酸化炭素含量が高かった。発生ガス中のメタン含量は発酵の進行とともに高くなり、発酵10日目には約63%に達した。発酵液中の有機酸は、ガス発生量の少ない発酵初期に生成、蓄積され、発生ガス量の増加とともに徐々に減少した。発酵液のpHは有機酸の生成、蓄積に伴ない低下したが、有機酸の減少とともに上昇した。バガス0.25gから発生したガス量は発酵10日間で135ml(メタン含量63%)であり、発酵液のpHは6.85であった。

5. ガス発生量に及ぼす各種前処理の影響

各種化学薬品で処理したバガスを基質としたメタン発酵を行ない、発生ガス量とメタン含量について調べた結果をまとめたのが Table 1 である。バガスの前処理は前述の操作で行ない、発酵は馴養スラッジに各前処理バガス(0.25g)を加え、pH7.5、37°Cで10日間行なった。無処理及び熱水処理バガスを基質とした発酵で生成したガス量は、基質1g当たり約300mlであり、約70%がメタンガスであった。0.5% NaOH 処理バガスは無処理バガスと比べてガス発生量は約1.8倍高く、メタン含量は63%であった。また、次亜塩素酸ナトリウム処理バガスからは無処理バガスの約2.1倍のガス発生がみられ、メタン含量は69%であった。バガスから調製したバガスホロセルロース、ヘミセルロース及びセルロースからのガス発生量は、基質1g当たり560~600mlであり、メタン含量は63~67%であった。これらの結果から、無処理バガスは嫌気性菌群によって分解し難く、分解性を高めるためにはアルカリ処理等の前処理が効果的であることがわかった。

考 察

メタン発酵における有機物の分解過程は、酸生成工程とガス生成工程に分けて考えられ、有機物は最終的にメタンガスと二酸化炭素にまで分解される。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って発酵が終了するが、易分解物を過度に添加した発酵では

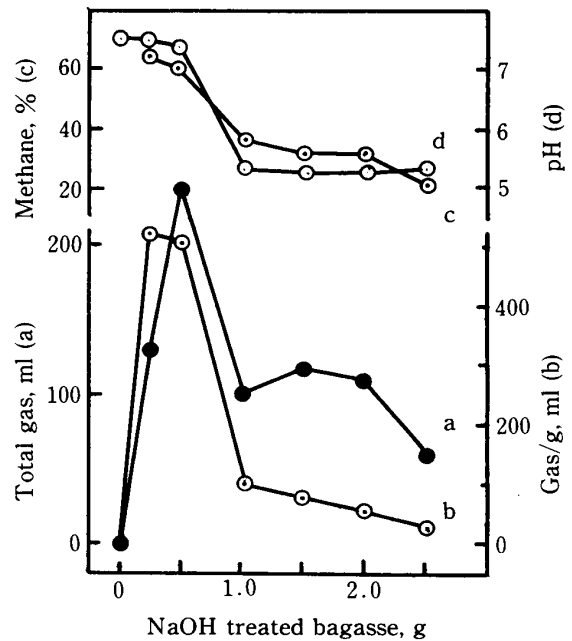


Fig. 3. Effect of substrate concentration on the gas production in the methane fermentation.

Methane fermentation was carried out at 37°C for 10 days by the addition of various concentrations of 0.5%-NaOH-treated bagasse. Other conditions are stated in the legend to Fig.1.

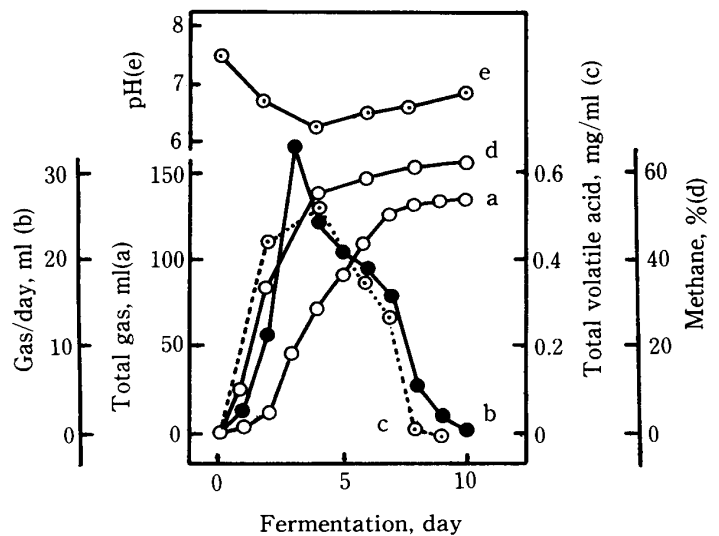


Fig. 4. Methane fermentation of alkaline-treated bagasse by batch method

Methane fermentation was carried out at 37°C for 10 days in a 200-ml syringe containing 10 ml of the acclimated sludgs and 0.25 g of 0.5%-NaOH-treated bagasse in a final volume of 50 ml. Volatile fatty acids in the mash were analyzed using a gas chromatography. Other conditions are stated in the legend to Fig. 1.

Table 1. Methane fermentation of bagasse treated with chemicals.

Prteratment & substrate	Gas produced	
	(ml/g)	Methane (%) (ml/g)
Untreated	298	70 208
Steam pressure(120°C, 20 min)	296	72 207
0.5% NaOH(120°C, 20 min)	540	63 340
5% NaClO ₂ (120°C, 20 min)	640	69 442
Bagasse-holocellulose	584	63 368
Bagasse-cellulose	600	67 384
Bagasse-hemicellulose	560	64 375

Bagasse was treated with chemical agents at indicated conditions. The bagasse holocellulose, -hemicellulose and -cellulose were prepared as following : the untreated bagasse was treated with hot aqueous 80% methanol for 2 hr and the residue was washed with distilled water. The wet residue was steeped in sodium chlorite solution (liquid : bagasse, 20 : 1) and heated at 75°C for 5 hr to eliminate the lignin. The residue was washed with distilled water and dried (bagasse holocellulose). The bagasse holocellulose was treated with 10 % -NaOH solution at 25°C for 4 hr and filtered. The resedue was again treated with 10% -NaOH solution at 80°C to 90°C for 3 hr, filtered, washed and dried (bagasse cellulose). The both alkali-extracts obtained in the preparation of cellulose from holocelullose were combined and acidified to pH 4.0. To this solution, four volume of 99% ethanol was added to presipitate the soluble himicellulose. The presipitate was washed with ethanol and diethyl ether and dried(bagasse hemicellulose). Other conditions are stated in the legend to Fig.1

発酵液中に過剰の揮発性有機酸の生成・蓄積がみられ、pH は低下し、ガス発生は停止する。従って、大型規模での発酵条件を設定するに当り、小型容器を用いて最高負荷量やガス発生条件等について基礎的知見を得ることは重要である。本報では、バガスの有効利用化を図る目的で、小型容器を用いて各種前処理バガスのメタン発酵を行ないガス発生量を調べるとともに、アルカリ処理バガスを基質とした発酵におけるメタンガス生成条件について検討した。

粉碎バガス(無処理)、熱水処理バガス及び0.5% NaOH 処理バガスを基質としたメタン発酵を37°Cで10日間行ないガス発生量について調べた結果、粉碎バガス及び熱水処理バガスからもガス生成はみられたが、0.5% NaOH 溶液で処理したバガスからは粉碎バガス及び熱水処理バガスの約1.8倍のガス発生量を示した。各種濃度のアルカリ溶液で処理したバガスを基質に用い、発酵で生成したガス量を調べた結果、前処理液の濃度の増加とともにガス発生量は増加したが、処理液濃度が0.5%以上ではほぼ一定となった。これらの結果より、無処理バガスは馴養スラッジ中の酸生成菌群にとって極めて分解し難く、バガス中のセルロースが分解されるには長時間を要するものと推測された。しかし、バガスを0.5% NaOH 溶液で前処理を行なうと分解性が高められ、発酵期間が短縮されることから、省エネルギー的な前処理法を設定する必要がある。Dhavises²⁾らは、稲ワラを基質としたメタン発酵において、基質をアルカリ溶液で前処理するとガス発生量が著しく増大し、メタン含量も高いことを報告している。また、大井³⁾らは、バガスの前処理とガス発生量との関係について調べ、バガスをジオキサラン、ジオキサラン及び酵素等で前処理するとガス発生が促進されることを明らかにしているが、アルカリ処理とガス発生条件については検討されていない。本報で、アルカリ処理条件とガス発生量の関係について調べた結果、ガス発生量及びメタン含量からみた最適アルカリ濃度は0.5% (W/V) であり、最高負荷量は0.5 gであることがわ

かった。アルカリ処理バガスを基質とした回分式メタン発酵を行なった結果、0.5% NaOH バガス 1 g 当り 540ml のガス生成量がみられ、メタン含量は63%に達した。アルカリ処理稲ワラを基質とした発酵でもほぼ同量のガス発生量であることが報告されている。各種化学薬品処理したバガスについて発酵で生成するガス量を調べた結果、次亜塩素酸ナトリウム処理バガスからは無処理バガスの約2.1倍のガス発生量がみられ、基質 1 g 当りのガス発生量は640ml であり、メタン含量は69%であった。また、バガスホロセルロース、ヘミセルロース及びセルロースを基質とした発酵では、基質 1 g 当り約500~600ml のガス発生量を示し、メタン含量は63~67%であった。以上のように、バガスを各種化学薬品で前処理するとガス発生が促進され、発生ガスの中のメタン含量も高いことが明らかになった。

要 約

各種前処理バガスの嫌気発酵を行ない、ガス発生量について調べるとともに、アルカリ処理バガスを基質とした発酵におけるメタンガス発生条件等について調べた。

無処理、熱水処理及びアルカリ処理バガスを基質としたメタン発酵を行なった結果、アルカリ処理バガスを基質とした発酵では、無処理及び熱水処理バガスの約1.8倍のガス発生量を示した。ガス発生量からみた最適アルカリ処理濃度は0.5% (W/V) であり、0.5% NaOH 処理バガス 1 g 当りのガス発生量は発酵10日間で540ml であり、メタン含量は63%であった。5%次亜塩素酸ナトリウム処理バガスを基質とした発酵では、無処理バガスの約2.1倍のガス発生量がみられ、メタン含量は69%であった。バガスから調製したバガスホロセルロース、ヘミセルロース及びセルロースを基質とした発酵では、基質 1 g 当り 560~600ml のガス発生量がみられ、メタン含量は63~67%であった。

本研究の実施に協力された金城正直君及び水野信幸君に感謝します。

引用文献

1. Dhavises. G., Oi. S., Yamamoto. T., Sugi. j. 1983 Methane fermentation of mangrove viviparous buds. J. Ferment. Technol. 61 : 521-526
2. Dhavises. G., Sviprasertsak. P., Tanaka. T., Taniguchi. M., Oi. S. 1985 Mesophilic and thermophilic methane fermentation of agro-wastes and grasses. J. Ferment. Technol. 63 : 45-49
3. Fujio. Y., Kume. S., Ueda. S. 1986 Correlation between physical and chemical changes of rice straw as a major constituent under composting. J. Ferment. Technol. 64 : 351-354
4. Garg. S. K., Neelakantan. S. 1982 Production of SCP and cellulase by *Aspergillus terreus* from bagasse substrate. Biotechnol. Bioeng. 24 : 2407-2417
5. Gómez. R. H. C., Park. Y. K. 1983 Conversion of cane bagasse to compost and its chemical characteristics. J. Ferment. Technol. 61 : 329-332
6. 石原昌信, 与那覇和雄, 当山清善 1983 バガスの前処理とバガスセルロースの酵素分解 琉大農学報 30 : 193-200
7. 石原昌信, 当山清善, 与那覇和雄 1985 セルラーゼ標品によるバガス成分の酵素的分解 琉大農学報 32 : 63-71
8. 石原昌信, 大久保勉, 与那覇和雄, 当山清善 1986 甘藷芋アルコール蒸留廃液のメタン発酵 第2報 大型発酵槽を用いた発酵 琉大農学報 33 : 95-102
9. José cond.A.C., Otero. M.A. 1981 Prediction of the degradation of sugarcane cellulosic residues

- by indirect methods. *Biotechnol. Bioeng.* **23** : 2737-2745
10. Kling. S. H., Neto. C.C., Ferrara. M.A., Torres. J.C.R., Magalhaes. D.B., Ryu. D.D.Y. 1987 Enhancement of enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse by steam explosion pretreatment. *Biotechnol. Bioeng.* **29** : 1035-1039
 11. Mountfort. D. O., Asher. R.A., Bauchop. T. 1982 Fermentation of cellulose to methane and carbone dioxide by a rumen anaerobic fungus in a triculture with *methanobrevibacter* sp. strain RAI and *methanosarcina barkeri*. *Appl. Environ. Microbiol.* **44** : 128-134
 12. 西尾尚道 1987 メタン生成細菌による有用物質生産 農化 **61** : 1337-1340
 13. Oi. S., Yamanaka. K., Yamamoto. T. 1980 Methane fermentation of bagasse and some factors to improve the fermentation. *J. Ferment. Technol.* **58** : 367-372
 14. Oi. S., Tamura. S., Nakai. K., Tanaka. T., Taniguchi. M. 1982 Hydrogen and methane fermentation of rice straw and kitchen leftovers *J. Ferment. Technol.* **60** : 509-515
 15. 当山清善, 与那覇和雄, 上原初枝 1977 バガスを炭素源とする泡盛麹菌の培養 琉大農学報 **24** : 253-261
 16. Toyama. S., Yonaha. K., Ishihara. M. 1981 Degradation of bagasse cellulose by *Acremonium* sp. 琉大農学報 **28** : 89-100
 17. Taya. M., Honma. K., Ohmiya. K., Kobayashi. T., Shimizu. S. 1981 Pretreatment of cellulosic materials for digestion by *Rumino coccus albus*. *J. Chem. Engineer. Japan.* **14** : 330-335
 18. 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
 19. 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