

## セルロース系バイオマスのメタン発酵特性評価

長岡技術科学大学 (学) ○宮内大樹, (正) 中村明靖  
(正) 高橋優信, (正) 幡本将史  
小笠原渉, (正) 山口隆司  
国際石油開発帝石(株) 原田亮, 若山樹, 今田美郎

## 1. はじめに

近年, セルロース系バイオマス資源は食料と競合しないバイオマス資源としての有効利用が注目されており, 糖化酵素を用いてエタノール発酵を行う研究開発が盛んに実施されている。酵素糖化後に発生する残渣は, 多くの未糖化多糖類および再利用可能な酵素を多く含んでいる。糖化残渣の有効利用法にはメタン発酵や堆肥化などが挙げられ, エネルギー収支の観点からこれらを組み入れたプロセス提案が求められている。しかし, 糖化残渣をメタン発酵した知見は少なく, セルロース系バイオマス単独でのメタン発酵も実用化されていない。従って, セルロース系バイオマスの酵素糖化を前処理として位置付け, 残渣をメタン発酵する新規プロセスの実用化はセルロース系バイオマス資源のエネルギー利用の多角化に対して大きな意義を有している。本研究では, まずセルロース系バイオマスにおいてセルロースおよびリグニンなど構成成分が異なる基質を選択し, 基質単独でのメタン発酵可能性の検討を行った。各基質の嫌気性生分解性の把握を行った後, その結果を基に酵素糖化による前処理について検討を行い, メタン発酵特性の把握を目的とした。嫌気性生分解性試験は, 酵素処理等の前処理を行わない条件における各基質の生分解性を評価した。また, 酵素糖化試験は, 市販の酵素製剤を用いて各基質の酵素糖化特性を評価した。

## 2. 実験方法

## 2.1 供試バイオマス及び植種汚泥

本実験に供する基質は, Merck KGaA 社の微結晶セルロース (コントロール基質), 本学の廃棄紙をシュレッター処理した古紙, もみ殻, きのこと廃菌床 (以下, 廃菌床) の4種類を用いた。各基質は, 非食品系バイオマスと定義可能であり, 各々セルロースの含有率が高いが構成成分や構造が異なるものを選択した (表 1)。各基質の分析は, COD<sub>Cr</sub> (以下, COD) および TS, VS について下水道試験法に準じて測定した。また, セルロースおよびヘミセルロース, リグニン, 灰分の測定は, 日本食品分析センターに委託した。セルロースおよびヘミセルロース, リグニンは, D. A. T. Southgate らの方法に準じて測定された。灰分は, 直接灰化法により測定された。植種汚泥には, 新潟県長岡市の下水処理場から採取した下水消化汚泥を使用した。

## 2.2 嫌気性生分解性試験

嫌気性生分解性試験は, 容量 720 mL のバイアル瓶を用いた。以下の全ての操作は, 酸素を除いた窒素気流下において行った。培地には, 重炭酸ナトリウム (バイアル内最終濃度 1,000 mg/L), 酸化還元指示薬としてレザズリン酸ナトリウム (バイアル内最終濃度 1 mg/L), 無機塩類, 微量元素類を用いた。植種汚泥は, 分散処理, 脱酸素処理した 25mM のリン酸緩衝液 (pH 7.0) による洗浄を施した後で用いた。試験基質は, バイアル内の COD 濃度が 3,000 mg-COD/L となるようにした。最後に, ゴム栓とアルミシールで密閉後, 気相部を窒素ガスでパージし, 還元剤 (Na<sub>2</sub>S・9H<sub>2</sub>O) を加えた (バイアル内最終濃度 250 mg/L)。各培地の初期 pH は, 1N の HCl もしくは NaOH を用いて, 全て 7.0±0.1 に調整した。バイアル瓶は 35°C の恒温槽に設置し, 約 100 strokes/min で振とうさせ, ガス発生量とガス組成を毎日測定した。また, バイアル内の pH および VFA 濃度は, 試験開始 1 日目から 11 日目まで 2 日毎に測定した。

## 2.3 酵素糖化試験

酵素糖化試験は, 容量 122 mL のセラムバイアル瓶を用いた。酵素糖化試験には, (株) 明治の酵素 (セルラーゼ) 製剤 (Meiselas) を用いた。酵素濃度は, 系内において 0, 3, 15 g/L となるように添加した。各基質濃度は, 実験系内において 2.5 g-VS/L (5% (w/v)) になるように設定した。実験系内は, 50mM 酢酸緩衝液 (pH 5.0) と蒸留水で液量を調整した。ゴム栓とアルミシールで密閉後, 初期 pH は, 1N の HCl もしくは NaOH を用いて, 全て 5.0 に調整した。バイアル瓶は 50 °C の恒温槽に設置し, 約 150 strokes/min で振とうさせ, 48 時間反応を行った。反応後, 反応液はガラス繊維ろ紙を用いてろ過し, 得られた上清中の溶解性全糖濃度をフェノール・硫酸法を用いて測定した。糖収率は, 基質中のセルロースおよびヘミセルロースから, 酵素製剤によって溶出したろ過液中の全糖量を酵素糖化分として算出した。

表 1 供試バイオマス組成

項目	単位	微結晶セルロース	古紙	もみ殻	廃菌床
TS	% (w/w)	98	96	87	41
VS	% (w/w)	98	88	66	40
VS/TS 比	% (w/w)	100	91.7	76.4	98.3
COD <sub>Cr</sub>	mg-COD/kg-w.w.	914,000	1,080,000	808,000	533,000
	mg-COD/g-VS	933	1,220	1,220	1,330
セルロース	% (w/w)	98.0	76.2	31.6	17.3
ヘミセルロース	% (w/w)	0	8.8	16.5	8.6
リグニン	% (w/w)	0	3.4	17.0	5.0
灰分	% (w/w)	0	8.4	21.9	0.7

キーワード メタン発酵, 酵素糖化, バイオマス, 資源化処理

連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1 長岡技術科学大学 工学研究科

水圏土壌環境制御工学研究室 TEL 0258-47-1611 (内線 6466) E-mail : dmiyauti@stn.nagaokaut.ac.jp

### 3. 実験結果及び考察

#### 3.1 嫌気性生分解性試験

各基質の最終メタン転換率 (% input mg-COD) は、微結晶セルロース (90.2 %), 古紙 (65.1 %), 廃菌床 (26.1 %), もみ殻 (8.1 %) となった (図 1)。微結晶セルロースおよび古紙は、セルロースを中心とした基質で構成されているため、他の基質に比べメタン発酵が進行しやすかったことが示唆された (表 1)。また、各基質のメタン発酵過程における VFA 生成は、微結晶セルロースの VFA (VFA 濃度 812 mg-COD/L, プロピオン酸 95.3 %) が開始 5 日目で他の基質と比較して高濃度に生成しており (図 1), pH が 6.4 まで低下した。蓄積した VFA は、最終的に分解が行われていた (VFA 濃度 2 mg-COD/L)。古紙は、微結晶セルロースに比べ、VFA 生成およびメタン生成の増加が遅れて確認されたことから、加水分解および酸生成の過程が律速段階になっていたことが示唆された。また、もみ殻および廃菌床は、試験期間を通して VFA 生成が見られず (VFA 濃度 0~2 mg-COD/L), 加水分解・酸生成が困難であったことが示唆された。これは、もみ殻および廃菌床中の多糖類がメタン発酵の困難なリグニンと結合していることが考えられた。従って、メタン転換可能なセルロース、ヘミセルロースを如何にリグニンから解砕して、溶解性 COD (単糖類) まで加水分解するかがメタン生成の効率化に対して重要となる。このため、もみ殻および廃菌床は、前処理を施して加水分解を促進する必要があることが示唆された。

#### 3.2 酵素糖化試験

各基質の糖収率 (g-溶解性全糖/g-基質中のセルロースおよびヘミセルロース) は、添加酵素濃度が上昇するに従って、増加する傾向が見られた (図 2)。酵素無添加系 (0 g/L) は、各基質において糖収率が低かったが、酵素添加濃度の増加に伴って、糖収率も増加した。特に、古紙では、添加濃度 15 g/L において糖収率 72.3 %を得たため、古紙は酵素糖化のための前処理の必要性が無いことが確認された。これは、紙の製造過程において脱リグニン処理 (アルカリ処理) が行われているため、リグニンの結合が解消されているためであると考えられた。紙は、種類によってリグニン含有率も異なり、高くても新聞紙の約 17 %であるため、今回用いたシュレッダー処理したオフィス発生古紙 (リグニン含有率 3.4 %) の場合は、酵素糖化にリグニンの影響が小さく糖収率の高い酵素糖化が行えたと考えられる。

もみ殻および廃菌床も、添加濃度の増加に伴って、糖収率の増加が見られたが、古紙ほどの収率は得られなかった (酵素濃度 15 g/L において 17.4 %および 22.7 %)。これは、嫌気性生分解性試験と同様に、両基質がリグニンと多糖類の結合によるものであると考えられた。従って、さらなる糖収率の向上には、リグニンの解砕を目的とした前処理導入の検討が必要であることが示唆された。

### 4. まとめ

(1) セルロースやリグニンなどの構成成分や構造が異なるバイオマスを用いて嫌気性生分解性試験を行った結果、メタン転換率は最大で微結晶セルロースが 90.2 %, 最低でもみ殻が 8.1 %となった。セルロースおよび古紙は、メタン発酵の過程でプロピオン酸を主とした VFA の生成が見られたが、最終的に分解された。また、メタン転換率の低いもみ殻および廃菌床は、VFA の生成も見られず、加水分解・酸生成が困難になっていることが示唆された。

(2) 酵素製剤による酵素糖化試験を行った結果、古紙は 72.3 %の高い糖収率を示したが、もみ殻および廃菌床は、高い糖収率が得られなかった (25.8 %および 22.8 %)。これらは、リグニンとの結合により構造が強固になっているためであると考えられた。従って、もみ殻および廃菌床の更なるメタン発酵の効率化のためには、酵素糖化だけでなく、前処理導入の検討が必要であると示唆された。

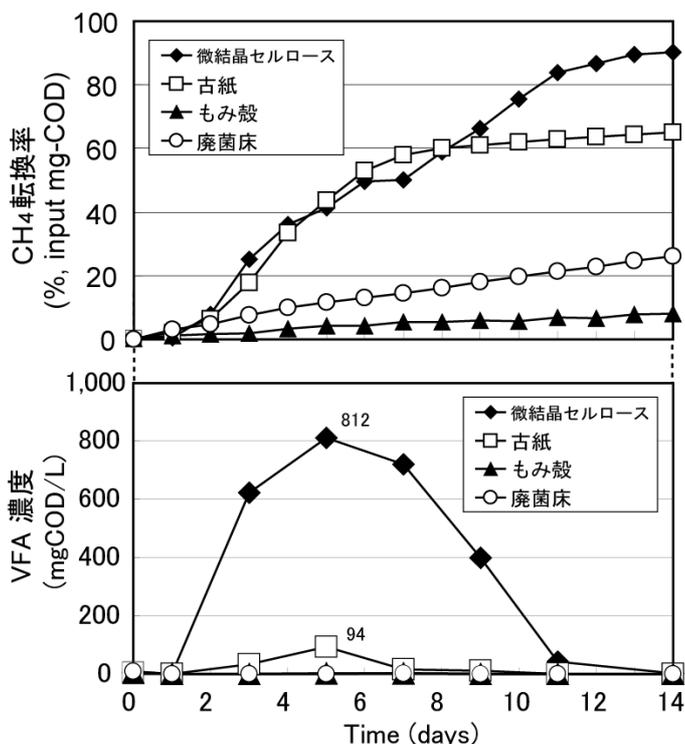


図 1 嫌気性生分解性試験結果

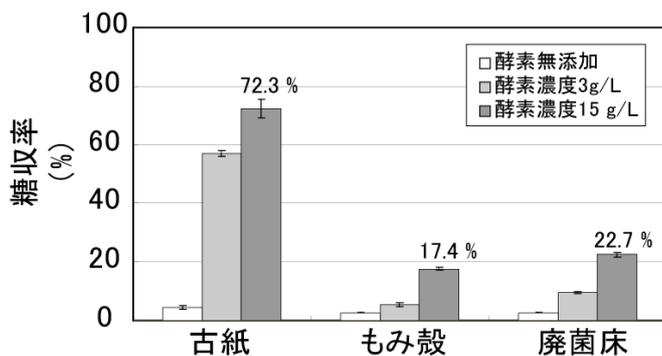


図 2 酵素糖化試験結果