

(8) 食品廃棄物を対象とした単槽型無加水高温メタン発酵槽の微量金属添加効果および微生物群集構造解析

宮内 大樹^{1*}・上村 基成¹・帆秋 利洋²・中村 明靖¹
川上 周司^{1,3}・幡本 将史¹・高橋 優信¹・山口 隆司^{1*}

¹長岡技術科学大学 環境・建設系 (〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1)

²大成建設株式会社 環境本部 (〒163-0606 東京都新宿区西新宿一丁目25番1号)

³阿南工業高等専門学校 建設システム工学科 (〒774-0017 徳島県阿南市見能林町青木265)

* E-mail: ecoya@vos.nagaokaut.ac.jp

食品廃棄物を対象とした単槽型無加水高温メタン発酵槽の連続処理実験において、運転条件の変化および微量金属類添加影響による微生物叢の変動を解析した。本メタン発酵槽は、アンモニア生成とFeCl₂、NiCl₂、CoCl₂の添加による硫化物の沈殿および微量金属の供給を組み合わせることで、VFAの残存無しにHRTを最大30日まで短縮させた運転が可能であった。しかし、NiCl₂とCoCl₂の添加停止により、プロピオン酸をはじめとしたVFAの蓄積によるpHの低下とバイオガス生成速度の低下が引き起こされた。この時のメタン生成古細菌群集では、*Methanoculleus*属をはじめとする水素酸化性メタン生成古細菌群集の存在割合が低下していた。無加水での高温メタン発酵を安定的に行うためには、微量金属の継続的な供給が重要であることが示唆された。

Key Words : municipal solid waste, thermophilic methane fermentation, single-stage process, non-dilution.

1. はじめに

2006年に策定された「バイオマスニッポン総合戦略」はエネルギー資源の乏しい日本にとって未利用バイオマスの有効利用を促す重要な政策である¹⁾。数あるバイオマス資源の中でも、食品廃棄物は平成19年度で年間約2,000万トンが排出されているが、再利用率は約27%に留まっており、低コストかつ効率的な再資源化技術の開発が求められている。

バイオマスの再利用方法の一つとしてメタン発酵によるバイオガス化が挙げられる。特に食品廃棄物は、有機物濃度が高いことから単位容積当たりのメタン回収量が多くなることが期待できる。またメタン発酵は、衛生面の安全性が求められる飼料化などと比べて分別の必要が無く煩雑さを回避できるため、様々な有機物が混在している食品廃棄物に適している。しかし、食品廃棄物は発酵過程において含有するタンパク質からアンモニアが生成されメタン発酵を阻害することが知られている²⁾。そ

のため、現状では食品廃棄物に加水することで処理量当たりの窒素濃度を下げ、アンモニア阻害を回避する湿式メタン発酵法(投入Total solid; TS濃度15%以下)や、紙類投入によるCN比の調整を行う乾式メタン発酵法(投入TS濃度25%以下)が広く研究・実用化されている。しかしながら、これらの方法では希釈水や紙類等の添加による発酵残渣の発生量及び設置容積の増加といった問題が指摘されている^{3,4)}。希釈しない場合には前段に酸生成槽などを設けることでメタン発酵阻害を抑制するシステムが報告されている⁴⁾。酸生成槽などを用いた場合は、メタン発酵槽に投入前にメタン発酵に適したpHに戻すためのpH調整が必要なことや多槽式になるためにシステムが複雑化することなどの問題があり普及に向けての課題となっている。

一方で、高温メタン発酵は中温メタン発酵に比べて、最大有機物負荷及びメタンガス生成速度などが2倍程度という利点を有する⁵⁾。しかし、環境変動やアンモニア阻害に対して脆弱という欠点を有している。そこで、我々は食品廃棄物のバイオガス化の現状を踏まえ、現行

法よりも運転管理が簡略であり、省スペース及び省コストの実現が可能な単槽式無加水高温メタン発酵槽を用いた食品廃棄物の連続処理実験を行い、運転条件変更による処理性能について評価した。また、現在までにメタン発酵における $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ 添加の効果とその要求性が報告されており⁹⁻¹¹⁾、本連続処理実験においても FeCl_2 、 NiCl_2 、 CoCl_2 の微量金属類添加を行い評価した。さらに槽内の汚泥を採取し 16S rRNA 遺伝子に基づくクローニング解析により反応槽内の微生物叢と処理性能の関連性について調査した。

2. 実験方法

(1) 実験装置および運転条件

図1に無加水高温メタン発酵システムの概略図を示す。発酵槽の反応容積を 7.5L、温度を 55°C に設定し、バイオガス循環により下部からガス攪拌を行う完全混合形式の反応槽とした。バイオガス循環ラインの途中に 0.5 M 硫酸溶液を入れたアンモニア除去塔を設置することで、バイオガス中のアンモニアを除去した。アンモニア除去塔の前段には発酵槽からの水の流入を防止するためのウォータートラップおよび硫化水素除去を目的とした脱硫塔を設けた。実験期間中のバイオガス循環流量は $2\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ で一定とした。基質は 1 日 1 回発酵槽上部から投入した。汚泥容積は 7.5 L で一定とし、超過した量は余剰汚泥として下部より引き抜いた。引き抜いた汚泥は発酵槽へ返送させないため、発酵槽の水理学的滞留時間 (Hydraulic retention time: HRT) は汚泥滞留時間 (Solid retention time: SRT) と等しい。植種汚泥は中温消化汚泥と焼酎蒸留廃水処理を行っていた高温 UASB グラニュール汚泥を混合したものを用いた。

発酵槽中の硫化物の沈殿と微生物に微量金属を供給する目的で、投入基質内濃度で FeCl_2 を $1,000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ wet weight¹ (以下 $\text{kg} \cdot \text{w} \cdot \text{w}^{-1}$)、 NiCl_2 と CoCl_2 をそれぞれ $100\text{ mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{w} \cdot \text{w}^{-1}$ になるように投入基質に添加した¹⁰⁻¹³⁾。 NiCl_2 と CoCl_2 成分の添加停止による処理性能の変化を調査するために、連続処理実験の途中の 2 つの期間で NiCl_2 と CoCl_2 の添加を停止した (171 日目～194 日目, 200 日目～248 日目)。供給基質は長岡技術科学大学の学生食堂から排出された食品廃棄物をミキサーを用いてペースト状にし、複数日分をまとめて調整した後、所定量に小分けした物を冷凍保存し、供給量として必要な分を解凍して供給を行った。微量金属は基質を発酵槽に投入する直前に混和した。

(2) 分析方法

発酵槽内の汚泥は発酵槽下部から適量採取して、適宜希釈した後に各種測定に用いた。pH の測定はガラス電極 pH メーター (HM-30R, TOA DKK 社) を用いた。全

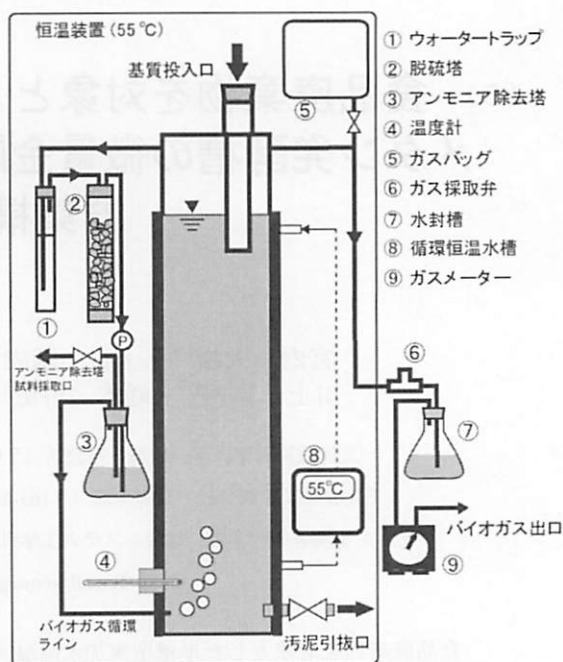


図1 無加水高温メタン発酵槽の概略図

COD_{Cr}, 溶解性 COD_{Cr}, TKN は比色測定法 (DR/2000, HACH 社) を用いて分析を行った。バイオガスの組成分析は TCD 型検出器ガスクロマトグラフィー (GC-8A, Shimadzu 社) を、揮発性脂肪酸 (VFA) の組成分析は FID 型検出器ガスクロマトグラフィー (GC-1700, Shimadzu 社) を用いて行った。 $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ の測定はイオンクロマトグラフィー (SCL-10A vp, Shim-pack IC-C4 カラム, Shimadzu 社) を用いて行った。

(3) 微生物群集構造解析

Ni と Co 成分の添加停止前後の発酵槽内の微生物群集構造を比較するために、運転開始から 125 日目と 248 日目の汚泥を用いて 16S rRNA 遺伝子を標的としたクローニング解析を行った。汚泥からの DNA 抽出は ISOIL for Beads Beating (NIPPON GENE) を用いた。その後、GENE CLEAN Turbo KIT (MP Biomedicals) を用いて DNA の精製を行った。Polymerase Chain Reaction (PCR) はバクテリアの 16S rRNA 遺伝子を標的としたプライマーペア Bac8F/UNIV1500R とアーキアの 16S rRNA 遺伝子を標的としたプライマーペア Arc109F/UNIV1500R を用いて行った。得られた PCR 産物は GENE CLEAN Turbo KIT (MP Biomedicals) を用いて精製を行い、TOPO TA Cloning kit (Invitrogen) を用いてクローニングライブラリーを作成した。その後、クローニングを無作為に選択し、UNIV907R プライマーを用いてクローニングの塩基配列の一部を決定した (ドラゴンジェノミクスセンター, タカラバイオ社)。得られたクローニングの塩基配列は Ribosomal Database Project の Classifier (相同性: 95%以

上)を用いて近縁種の特定および分類を行った。

3. 結果と考察

(1) 高温メタン発酵槽の処理性能

図2に運転開始126日目(HRT:30日, OLR: 9.6 kgCOD・m³・day⁻¹)以降の無加水高温メタン発酵槽を用いた食品廃棄物の連続処理結果を示す。126日までに本発酵槽は、HRTを75, 50, 37.5日と徐々に短縮させ、微量金属の添加を継続しながら安定状態を保った(データ未掲載)。126日目以降は、HRT: 30日, OLR: 9.6 kgCOD・m³・day⁻¹, pH7.14から7.86, COD除去率51.9から69.1%の範囲で推移した。

171~194日目および200~248日目の期間は、微量金属であるNiCl₂とCoCl₂の添加効果を確認するために発酵槽への添加を停止した。160日目に少量の汚泥流出があり基質供給を停止したが、すぐに回復したため添加停止実験を開始した。NiCl₂とCoCl₂の添加を停止した結果、171日目~194日目では、それまで検出されなかった水素がバイオガス中から検出された(約0.002%)。添加前から蓄積していたプロピオン酸は一旦減少傾向を示したが、添加を停止して約20日後(191日目)から再びプロピオン酸の蓄積が確認され、最大で約6,000 mgCOD・kg-w.w.⁻¹に達した。195日目からNiCl₂とCoCl₂の添加を再開したところ、バイオガス中の水素の割合が0.003%から0%(検出限界以下)に減少した(図2)。それに伴って、プロピオン酸濃度は約10日後(205日目)に減少傾向を示し、216日目に約600 mgCOD・kg-w.w.⁻¹まで低下した。このプロピオン酸の急激な分解に伴い、バイオガス生成速度は221日目から増加を示した。

200日目~248日目における2回目のNiCl₂とCoCl₂の添加停止期間では、バイオガス中の水素割合が224日目から増加して237日目で最大となった。プロピオン酸も停止後20日(220日目)から再び蓄積し、40日(240日目)からはイソ酪酸とイソ吉草酸の蓄積も確認された。

メタン発酵を阻害するプロピオン酸の分解は、生成される水素が水素資化性細菌によって消費されることで進行する。プロピオン酸蓄積による阻害は高温処理を行う時の主要原因となる¹⁵⁾。また、プロピオン酸酸化細菌は硫化物の毒性に対する脆弱性を有しており¹⁶⁾、槽内に蓄積する硫化物との関係からメタン発酵システムに影響を及ぼすと報告されているが、硫化物は微量金属と結合して不溶性の硫化金属を形成すると報告されている^{17,18)}。このことより、さらなる負荷上昇、プロピオン酸を蓄積させないためには、FeCl₂, NiCl₂, CoCl₂といった微量金属を基質に添加して硫化物濃度の低減¹⁹⁾を行う必要があると考えられた。微量金属の添加停止により、水素資化性細菌の活性が低下し⁹⁻⁹⁾水素除去が進まなくなったこともプロピオン酸蓄積の一因であると考えられた。

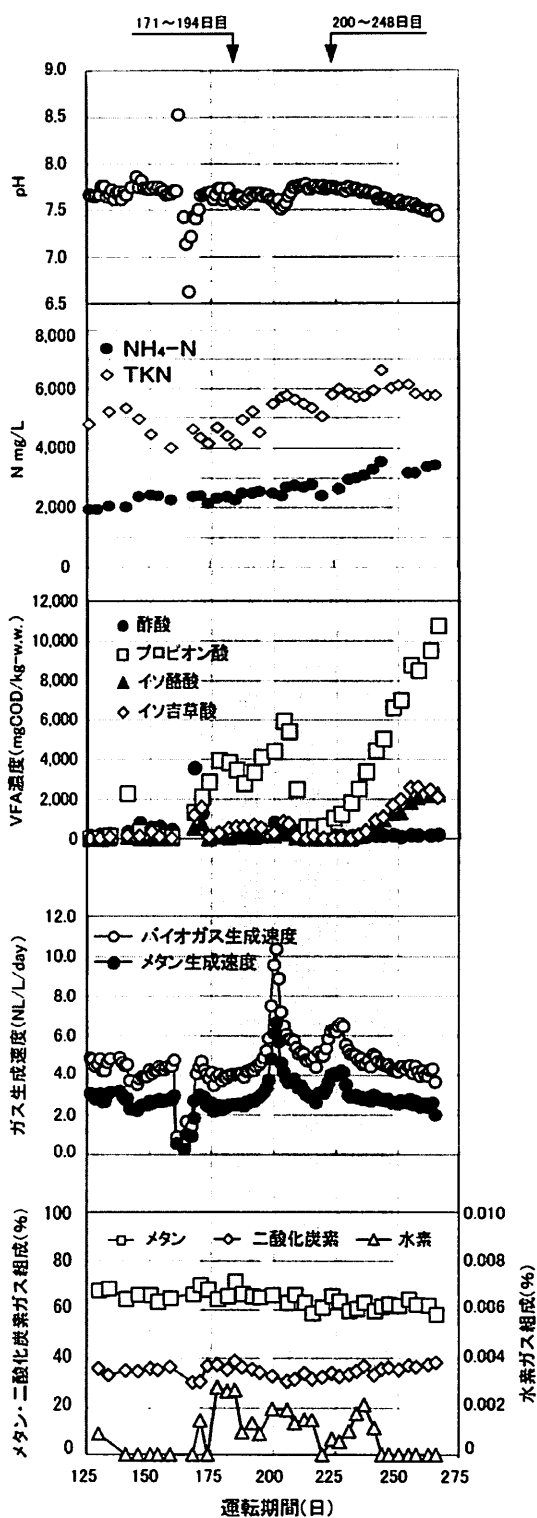


図2 無加水高温メタン発酵の連続処理結果
(図中の色付きの期間(171~194日目, 200~248日目)は
NiCl₂とCoCl₂の添加を停止した)

249 日目から NiCl_2 と CoCl_2 の添加を再開したが、しばらくは VFA の蓄積が続く傾向であった。プロピオン酸は最大で $11,000 \text{ mgCOD} \cdot \text{kg-w.w.}^{-1}$ まで蓄積し、pH は約 7.4 に低下した。添加プロピオン酸のバイオガス生成速度は約 $3.7 \text{ NL} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ に低下し、添加時の最大値と比較して約 25 % 減少した。バイオガス中のメタンの割合は約 60% を維持した。その後、263 日目よりイソ酪酸とイソ吉草酸が減少し始め、275 日目以降にプロピオン酸の減少も確認された（データ未掲載）。このことより、微量金属の添加停止による影響には、ある程度の時間を要すると考えられた。

また、槽内のアンモニア濃度は運転開始から徐々に上昇していき、191 日目で高温メタン発酵における一般的なアンモニア性窒素の安全濃度上限値である $2,500 \text{ mg/L}^{10}$ を超えた ($2,520 \text{ mg/L}$)。アンモニア濃度はその後も上昇を続け、244 日目で $3,500 \text{ mg/L}$ に達したことにより、メタン生成が抑制された。しかし、アンモニア除去塔を設置していたことでこれ以上のアンモニアの急激な蓄積を抑制できた。この結果、メタン生成速度は、微量金属添加停止実験前の水準で落ち着き、 $3,500 \text{ mg/L}$ を超えるアンモニア窒素濃度下でも運転が可能であった。その後は HRT を 25 日に短縮させ ($\text{OLR: } 9.7 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$)、322 日まで連続運転を行ったが保持汚泥量の流出により最終的に破綻した（データ未掲載）。

以上の結果から、 NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止により、バイオガス中の水素濃度が上昇し、発酵槽内でのプロピオン酸蓄積を誘引すると推察され、安定的に処理を行うには NiCl_2 と CoCl_2 の供給を継続的に行う必要があると示唆された。また、アンモニア除去等を設置する事で、アンモニアの蓄積を押さえる事が可能であった（図 2）。

(2) 微量金属添加停止による微生物群集への影響

NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止による微生物群集の影響を調査するために、運転開始 125 日目と 248 日目の汚泥に対してクローニング解析を行った。結果を表 1 に示す。 NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止前の細菌群集では、タンパク質分解酢酸生成水素生成細菌である *Coprothermobacter* 属²⁰ に近縁なクローンが 24/96 クローン検出され、最も優占していた。しかし NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止後には、優占していた *Coprothermobacter* 属に近縁なクローン数が 2/96 クローンと大きく減少した。一方で、酢酸生成水素生成細菌の *Acetivibrio* 属やタンパク質分解プロピオン酸生成細菌が属している *Porphyromonadaceae* 科に近縁なクローンはそれぞれ 2/96 クローンから 10/96 クローン、1/96 クローンから 14/96 クローンに増加した。また、脂肪酸分解共生細菌が属している *Syntrophomonadaceae* 科に近縁なクローンは NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止前で 7/96 クローンが検出されたが、添加停止後では検出されなかった。これは後述する水素資化性メタン生成古細菌群の存在割合が低下したため、水素資化性メタン生成古細菌と

表 1 NiCl_2 と CoCl_2 添加停止前後の微生物群集

	125日目	248日目
NiCl_2 , CoCl_2 の添加	+	-
Bacteria		
<i>Firmicutes</i>		
<i>Coprothermobacter</i> sp.	24	2
<i>Acetivibrio</i> sp.	2	10
<i>Sporanaerobacter</i> sp.	1	1
<i>Thermacetogenium</i> sp.	1	2
<i>Tepidanaerobacter</i> sp.	3	1
<i>Lactococcus</i> sp.	2	0
<i>Syntrophomonadaceae</i>	7	0
Uncultured <i>Firmicutes</i>	23	46
<i>Bacteroidetes</i>		
<i>Porphyromonadaceae</i>	1	14
<i>Synergistetes</i>		
<i>Anaerobaculum</i> sp.	1	0
Uncultured Bacteria	31	20
全クローン数	96	96
Archaea		
<i>Methanoculleus</i> sp.	27	11
<i>Methanosarcina</i> sp.	0	3
<i>Methanobacteriaceae</i>	0	4
Uncultured Archaea	0	2
全クローン数	27	20

共生関係にある *Syntrophomonadaceae* 科に近縁なクローンの生育が阻害された結果と考えられる。 NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止により、特にタンパク質分解を担う優占種が *Coprothermobacter* 属から *Porphyromonadaceae* 科へと変遷したと考えられる。

食品廃棄物を処理する高温メタン発酵ではメタン生成古細菌として *Methanoculleus* 属や *Methanosarcina* 属が優占種として存在していると報告されている²⁰⁻²⁴。本システムのメタン生成古細菌群も他の高温メタン発酵と同様な群集構造を構築していた。古細菌の微生物群集では、 NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止前で水素資化性メタン生成古細菌である *Methanoculleus* 属に近縁なクローンのみが検出され、槽内では水素資化性のメタン生成が優占的に行われていたと示唆された。 NiCl_2 と CoCl_2 の添加停止後では *Methanoculleus* 属に近縁なクローン数が 11/20 クローンに減少した一方で、同じく水素資化性メタン生成古細菌である *Methanobacteriaceae* 科に近縁なクローンが検出された (4/20 クローン)。さらに、酢酸資化性メタン生成古細菌である *Methanosarcina* 属に近縁なクローンも検出された (3/20 クローン)、メタン生成古細菌の種類の増加がみられた。メタン生成古細菌の種類の増加は NiCl_2 , CoCl_2 の不足によって細菌群集の均衡が崩れたために引き起こされたと推察される。このため水素資化性メタン生成古細菌の存在割合が低下し、メタン発酵槽内において水素が

資化されずに残存する環境となり、バイオガス中の水素の割合の増加とプロピオン酸の蓄積につながったと推察される。

NiCl_2 、 CoCl_2 の添加停止はメタン発酵槽内の微生物群集に影響を与え、真正細菌ではタンパク質分解を担う優占種がプロピオン酸生成細菌である *Porphyromonadaceae* 科へと変化した。古細菌では水素資化性メタン生成古細菌の優占度が低下し、メタン生成古細菌の種類が増加した。中温無加水メタン発酵の研究においても、プロピオン酸蓄積が発生する際には、水素資化性メタン生成古細菌の割合が低下することが確認されている²⁹⁾。これら知見および微生物群集解析の結果から、 NiCl_2 、 CoCl_2 の添加停止によるプロピオン酸の蓄積は、プロピオン酸生成細菌の優占化と水素資化性メタン生成古細菌の存在割合の低下による水素の蓄積という2つの要因により引き起こされたものと考えられた。プロピオン酸の蓄積は pH の低下を引き起こし、最終的にはプロセスを破綻させてしまう可能性がある。従って無加水での高温メタン発酵を安定的に行うためには、プロピオン酸生成細菌の優占化の回避と水素資化性の代謝系を構築することが重要であると示唆された。これらの微生物群集の構築を図る上で、 $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ の添加は有効な手段であった。

4. まとめ

単槽型のメタン発酵槽を用いて、アンモニア生成と無加水高温メタン発酵の同時進行による食品廃棄物の連続処理実験を行い、運転条件変更による処理性能および FeCl_2 、 NiCl_2 、 CoCl_2 等の微量金属類添加について評価および槽内汚泥の微生物群集の解析を行った。得られた結果を以下にまとめる。

- 1) 単槽型無加水高温メタン発酵槽はアンモニア除去塔の設置によるアンモニアの除去と槽内へ FeCl_2 、 NiCl_2 、 CoCl_2 を添加して硫化物の沈殿と微量金属の供給を行うことで、HRT を最大で 30 日まで短縮した運転下 (OLR: $9.6 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$) において運転が可能であった。
- 2) $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ 添加停止前後で VFA の蓄積に影響 (プロピオン酸濃度: $11,000 \text{ mgCOD} \cdot \text{kg-w.w.}^{-1}$) が現れたため、食品廃棄物を対象とした無加水高温メタン発酵には $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ の継続的な添加が必要であることが示唆された。
- 3) $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ の添加停止はメタン発酵槽内の微生物群集に影響を与え、真正細菌ではタンパク質分解を担う優占種がプロピオン酸生成細菌である *Porphyromonadaceae* 科へと変化した。古細菌では水素資化性メタン生成古細菌の優占度が低下し、メタン生成古細菌の種類が増加した。これら微生物群集解析の結果から、 $\text{NiCl}_2 \cdot \text{CoCl}_2$ の添加停止によるプロピオン

酸の蓄積は、プロピオン酸生成細菌の優占化と水素資化性メタン生成古細菌の存在割合の低下による水素の蓄積という2つの要因により引き起こされたものと考えられた。

参考文献

- 1) バイオマス・ニッポン総合戦略, 閣議決定資料, 平成 18 年 3 月 31 日
- 2) 西尾尚道, 中島田豊: バイオガスの最新技術, シーエムシー出版, 2008.
- 3) 谷川大輔, 片平智仁, 宮崎大, 帆秋利洋, 井町寛之, 大橋晶良, 原田秀樹: 中温メタン発酵槽を用いた食品廃棄物の無加水メタン発酵の処理特性, 第 43 回環境工学研究フォーラム講演集, 2006.
- 4) 水野修, 李玉友, 奥野芳男, 関廣二, 一瀬正秋: 二相循環式メタン発酵プロセスによる食品加工廃棄物の無希釈処理, 環境工学研究論文集, Vol.41, pp.9-17, 2004.
- 5) 片岡直明, 宮品子: 生ゴミの中温及び高温メタン発酵における生ゴミ組成の影響と動力学的解析, エバラ時報, Vol.191, pp.33-42, 2001.
- 6) Gonzalez-Gill, G., Kleerebezem, R. and Lettinga, G.: Effects of Nickel and Cobalt on Kinetics of Methanol Conversion by Methanogenic Sludge as Assessed by On-Line CH_4 Monitoring, Appl. Environ. Microbiol., Vol.65, No.4, pp.1789-1793, 1999.
- 7) Paulo, P. L., Jiang, B., Cysneiros, D., Stams, A. J. M. and Lettinga, G.: Effect of Cobalt on the Anaerobic Thermophilic Conversion of Methanol, Biotech. Bioeng., Vol.85, No.4, pp.434-441, 2004.
- 8) Zandvoort, M. H., Geerts, R., Lettinga, G. and Lens, P. N. L.: Methanol degradation in granular sludge reactors at sub-optimal metal concentrations: role of iron, nickel and cobalt, Enzyme and Microbial Tech., Vol.33, pp.190-198, 2003.
- 9) Femoso, F. G., Bartoock, J., Jansen, S. and Lens, P. N. L.: Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interactions to full-scale application, Science of the Total Environ., Vol.407, pp.3652-3667, 2009.
- 10) 李玉友, 佐々木宏, 奥野芳男, 関廣二, 上垣内郁夫: 生ごみの高濃度メタン発酵に及ぼす投入濃度の影響, 環境工学研究論文集, Vol.35, pp.29-39, 1998.
- 11) 佐々木宏, 李玉友, 関廣二, 上垣内郁夫: 生ごみの高温・高濃度メタン発酵に及ぼす滞留時間と負荷の影響, 水環境学会誌, Vol.22, No.12, pp.983-989, 1999.
- 12) 李玉友, 佐々木宏, 関廣二, 上垣内郁夫: 有機性廃棄物の高濃度メタン発酵におけるアンモニア阻害の解析, 第 34 回日本水環境学会年会講演集, pp.189, 2000.
- 13) 李玉友, 水野修, 船石圭介, 山下耕司: 二相循環方式高濃度メタン発酵プロセスを用いた生ごみの高速メタン化処理, 環境工学研究論文集, Vol.40, pp.321-331, 2003.
- 14) Li Y. Y., Ko I. B., Noike T., Furushita K. and Sasaki H.: "Comparison of

- Ammonia Inhibition between the Methophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion of Municipal Solid Wastes", Proc. of 10th World Congress on Anaerobic Digestion, Volume 1, pp. 507-514, 29/Aug-2/Sep/2004, Montreal, Canada, 2004.
- 15) Hiroyuki Imachi, Yuji Sekiguchi, Yoichi Kamagata, Akiyoshi Ohashi, Hideki Harada: Cultivation and In Situ Detection of a Thermophilic Bacterium, Capable of Oxidizing Propionate in Syntrophic Association with Hydrogenotrophic Methanogens in a Thermophilic Methanogenic Granular Sludge, Vol.66, pp. 3608-3615, 2000.
- 16) Maillacheruvu, K, Y. and G. F. Parkin, "Kinetics of Growth, Substrate Utilization and Sulfide Toxicity for Propionate, Acetate, and Hydrogen Utilizer in Anaerobic Systems," Water Environment Research, Vol. 68, p. 1099-1106, 1996
- 17) Lawrence, A.W. and McCarty, P.L: The role of sulfide in preventing heavy metal toxicity on anaerobic treatment, J. Water Pollut. Control Fed., Vol.37, pp.392-405, 1965.
- 18) Mosey, F.E, Swanwick, J.D. and Hughes, D.A: Factors affecting the availability of heavy metals to inhibit anaerobic digestion, Water Pollut. Control, Vol.70, pp.668-679, 1971.
- 19) Hansen, K.H, Angelidaki, I. and Albring, B.K: Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure, Water Res., Vol.33, pp.1805-1810, 1999.
- 20) Etchebehere, C., M.E. Pavan, J. Zorzopulos, M. Soubes and L. Muxi: Coprothermobacter platensis sp. Nov., a new anaerobic proteolytic thermophilic bacterium isolated from an anaerobic mesophilic sludge. Int. J. Syst. Bacteriol. 48: 1297-1304, 1998.
- 21) 大羽美香, Sangsan TEEPYOBON, 安納幸子, 李玉友, 野池達也: PCR-DGGE 法を用いた廃棄物系バイオマスのメタン発酵槽における微生物群集構造の解析, 土木学会論文集, No.804/VII-37, pp.33-42, 2005.
- 22) Hori, T., Shin, H., Ueno, Y., Ishii, M. and Igarashi, Y.: Dynamic Transition of a Methanogenic Population in Response to the Concentration of Volatile Fatty Acids in a Thermophilic Anaerobic Digester, Appl. Environ. Microbiol., Vol.72, No.2, pp.1623-1630, 2006.
- 23) Park, Y., Hong, F., Cheon, J., Hidaka, T. and Tsuno, H.: Comparison of Thermophilic Anaerobic Digestion Characteristics between Single-Run and Two-Run Systems for Kitchen Garbage Treatment, J. Biosci. Bioeng., Vol.105, No.1, pp.48-54, 2008.
- 24) 立澤知子, 郝凌云, 菖蒲昌平, 片岡直明, 宮晶子: セルロース含有廃棄物の高温メタン発酵処理系における微生物群集の挙動解析, エバラ時報, No.223, pp.20-25, 2009.
- 25) 中村明靖, 浅海博基, 泡淵宏美, 佐藤緑, 長谷部千人, 帆秋利洋: 事業系食品廃棄物を対象とした中温無加水メタン発酵槽の微生物群集構造解析, 第 47 回環境工学研究論文集, Vol.47, pp.377-382, 2010
- 26) 中村明靖, 帆秋利洋, 谷川大輔, 片平智仁, 山口隆司, 井町寛之, 大橋晶良, 原田秀樹: 微生物群集構造解析から診た無加水メタン発酵の阻害メカニズムに関する一考察, 廃棄物資源循環学会論文誌, Vol.21, No.1, pp.10-18, 2010

(2011.5.30受付)

Microbial Community Analysis in the Non-Dilution Thermophilic Methane Fermentation Reactor for Food Waste

Daiki MIYAUCHI¹, Motonari KAMIMURA¹, Toshihiro HOAKI², Akinobu NAKAMURA¹, Shuji KAWAKAMI^{1,3}, Masashi HATAMOTO¹, Masanobu TAKAHASHI¹ and Takashi YAMAGUCHI¹

¹Dept. of Environmental Engineering, Nagaoka University of Technology

²TAISEI Co. Environmental division

³Civil Engineering, Anan National College of Technology

In this study, we continuously operated the single-stage thermophilic fermentation tank without adding water in order to treat food waste and determined the effect of microbial community due to the changes of operational conditions and addition of trace elements. The methane fermentation process could shorten the HRT to 30 days without the presence of VFA by combining the formation of ammonia and the addition of FeCl₂, NiCl₂, and CoCl₂ for the purpose of sulfide precipitation and the contribution of the essential trace metals. However, decreasing of pH and biogas production rate, resulted from accumulation of propionate by stopping the addition of NiCl₂ and CoCl₂, were observed. At this time, the existence ratio of hydrogenotrophic methanogens belonging to Methanoculleus has decreased in the methanogenic archaeobacterium community. Our data strongly suggested for a steady operation of thermophilic methane fermentation that the addition of trace metals could avoid the propionate generating bacteria to become a dominant species, and support the hydrogenotrophic methanogen to be formed in the metabolic system.