

## 〈研究発表〉

### 担体投入型メタン発酵における乳酸処理特性

松林未理<sup>1)</sup>, 高時元汰<sup>1)</sup>, 小林琢也<sup>1)</sup>  
新庄尚史<sup>1)</sup>, 蒲池一将<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 水ing(株)

(〒251-8502 神奈川県藤沢市本藤沢4-2-1 E-mail: matsubayashi.miri@swing-w.com)

#### 概要

嫌気性処理において乳酸はグラニュール汚泥の維持に課題があるとされ、分解経路の知見も多くはない。そこで人工廃水を用いた攪拌方式の異なる担体投入型反応槽により連続試験を実施した。COD<sub>Cr</sub>容積負荷 21 kg/(m<sup>3</sup>・d)において、機械攪拌式では立ち上げから183日後にCOD<sub>Cr</sub>除去率は60%、ガス攪拌式では立ち上げから50日後にCOD<sub>Cr</sub>除去率は80%と、ガス攪拌式の方が高いCOD<sub>Cr</sub>除去率を得られた。ガス攪拌式連続試験は槽内の攪拌や流動を最適化することで、早期の立ち上げ、処理能力の向上に繋がったと推察する。

キーワード：メタン発酵、嫌気性消化モデル、産業排水、酸発酵

原稿受付 2022.6.30

EICA: 27(2・3) 49-53

## 1. はじめに

### 1.1 乳酸

乳酸はヨーグルト、チーズ、漬物、日本酒などの発酵食品や加工食品に多く含まれ、分子式 CH<sub>3</sub>CH(OH)COOH、モル質量 90.08 g/mol の有機化合物でカルボン酸の1種である。

乳酸菌は至適 pH (5.0-8.0) や至適温度 (25℃-37℃) の条件下で乳糖から乳酸を生成し、食品工業や化粧品工業などで応用されている。

乳酸を重合したポリ乳酸は生分解性プラスチックとして近年注目されている。

### 1.2 乳酸の嫌気処理

乳酸は嫌気性処理においても重要な中間代謝物であり、酢酸、プロピオン酸、蟻酸、水素を分解経路とする<sup>1)</sup>。プロピオン酸から酢酸への酸化反応は自由エネルギーの観点から進行しにくい、生成される水素を水素資化性メタン発酵菌によりメタンへと分解し、水素分圧が下がることでプロピオン酸の分解反応は進行する<sup>2)</sup>。乳酸を対象としたメタン発酵処理に関する知見は多くはない。

生ゴミを原料とした2相式の嫌気性処理プロセスに馴致後、グルコースもしくは乳酸を基質として供給すると乳酸を供給した系列では流入の乳酸負荷に応じて処理水のプロピオン酸濃度の増加が確認された<sup>3)</sup>。培養装置において水素、窒素、二酸化炭素の比率を変えて乳酸の分解経路を確認したところ、1:2の比率で

酢酸とプロピオン酸の生成を確認した<sup>4)</sup>。IWA から提唱されている ADM1 (Anaerobic Digestion Model No.1) では、乳酸が組み込まれておらず、生ごみのメタン発酵プロセスなどで導入が試みられている<sup>5)</sup>。

食品製造工場排水向けでは、グラニュール汚泥を用いた UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) の導入が進んでいるが、乳酸系排水に対しては、グラニュール汚泥の維持に課題があるとされている<sup>6)</sup>。

本報では、乳酸を基質とした人工排水を対象とし、担体を投入したメタン発酵連続試験を実施し、処理能力と分解経路を確認した。試験結果および試験結果を用いた ADM1 実施結果について報告する。

## 2. 目的

本試験の目的としては、乳酸を基質とした人工排水を対象とし、微生物を保持するために担体を投入した「機械攪拌式メタン発酵」および「ガス攪拌式メタン発酵」の処理試験により、処理能力、分解経路、担体汚泥付着、菌叢を確認した。

## 3. 試験装置および試験方法

### 3.1 原水

試験原水は乳酸ナトリウム試薬を用いて、COD<sub>Cr</sub>が 5,000 mg/L 程度になるように調整した。栄養塩として窒素、リンの他に、鉄を中心とした微量元素を添加した。

### 3.2 試験装置および方法

試験は酸発酵槽とメタン発酵槽の二相式で行った。はじめに機械攪拌式メタン発酵槽を用い、次にガス攪拌式メタン発酵槽を用いた。

#### 3.2.1 連続試験

##### (1) 機械攪拌式連続試験

Fig. 1には機械攪拌装置の処理フローを示す。装置は酸発酵槽、メタン発酵槽により構成され、それぞれ機械攪拌により槽内を混合した。有効容積は酸発酵槽で1.0L、メタン発酵槽で1.0Lとし、メタン発酵槽は担体を投入した。

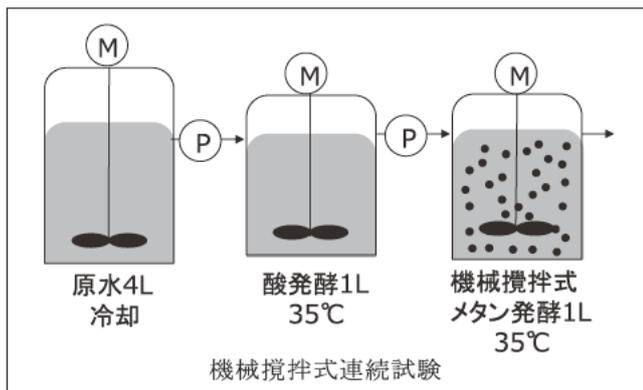


Fig. 1 Treatment Flow Diagram (mechanical stirring)

##### (2) ガス攪拌式連続試験

Fig. 2にはガス攪拌装置の処理フローを示す。装置は酸発酵槽、メタン発酵槽により構成され、酸発酵槽は機械攪拌、メタン発酵槽は、検討時にコンピュータによる流体解析 (CFD) を行い、固液分離の設置による担体分離性能を高めた上で、ガスコレクターによるガス攪拌の促進を図った (Fig. 2)。メタン発酵槽は循環ラインを設けることで、より槽内の攪拌を促進した。Fig. 3にCFDを用いた水の水速度ベクトル、ガスの体積分率の結果を示す。水の水速度ベクトルは0～0.2 m/sの範囲で、中央部は上向流、外周部は下降流が形成されていた。また、ガスの体積分率は0～1%

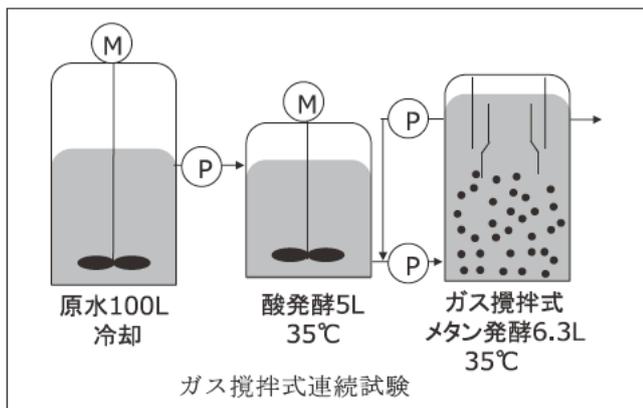


Fig. 2 Treatment Flow Diagram (gas stirring)

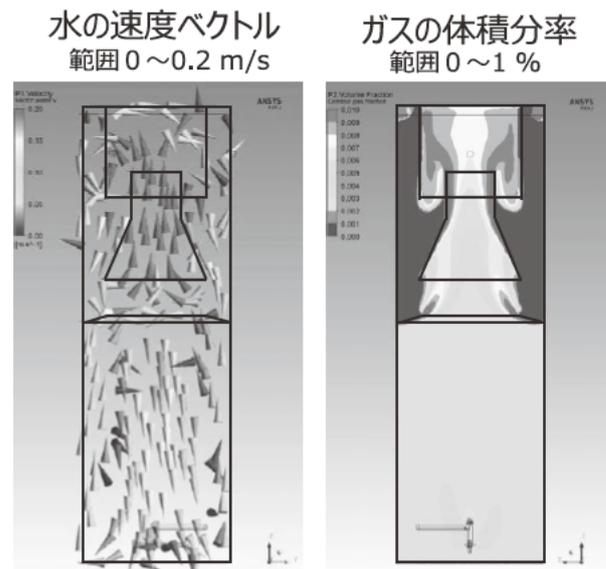


Fig. 3 Water Velocity Vector and Gas Volume Fraction of CFD results

の範囲で、固液分離部にガスはなく、担体とガスが分離できることを確認したことから、担体が流出しにくい最適な構造を選択した。三次元流速計により、CFDの結果は実機の流動状態に対し、相違ないことを確認した。

有効容積は酸発酵槽で5.0L、メタン発酵槽で6.3Lとし、メタン発酵槽は担体を投入した。

##### (3) 試験条件

機械攪拌、ガス攪拌の両試験で酸発酵槽、メタン発酵槽の水温が35°Cで一定となるように恒温槽に浸漬もしくはウォータージャケットによる加温を実施した。

処理水の有機酸濃度が1,000 mg/L以下を目安に投入負荷を段階的に増加した。

#### 3.2.2 回分試験

機械攪拌式連続試験 (試験開始から183日後に採取) とガス攪拌式連続試験 (試験開始から157日後に採取) の担体を用いて、乳酸、酢酸、ギ酸、プロピオン酸の基質がそれぞれ初期COD<sub>Cr</sub> 5,000 mg/Lとなるように添加し、35°Cの条件下でメタン生成速度から活性度を算出した。

#### 3.2.3 菌叢解析

機械攪拌式連続試験とガス攪拌式連続試験において、酸発酵槽の汚泥および担体に付着している菌叢をアンプリコン解析により確認した。

## 4. 試験結果および考察

### 4.1 連続試験結果

#### (1) 機械攪拌式連続試験

Fig. 4に各COD<sub>Cr</sub>容積負荷17, 19, 21, 23 kg/(m<sup>3</sup>・d)における酸発酵槽の有機酸、メタン発酵槽

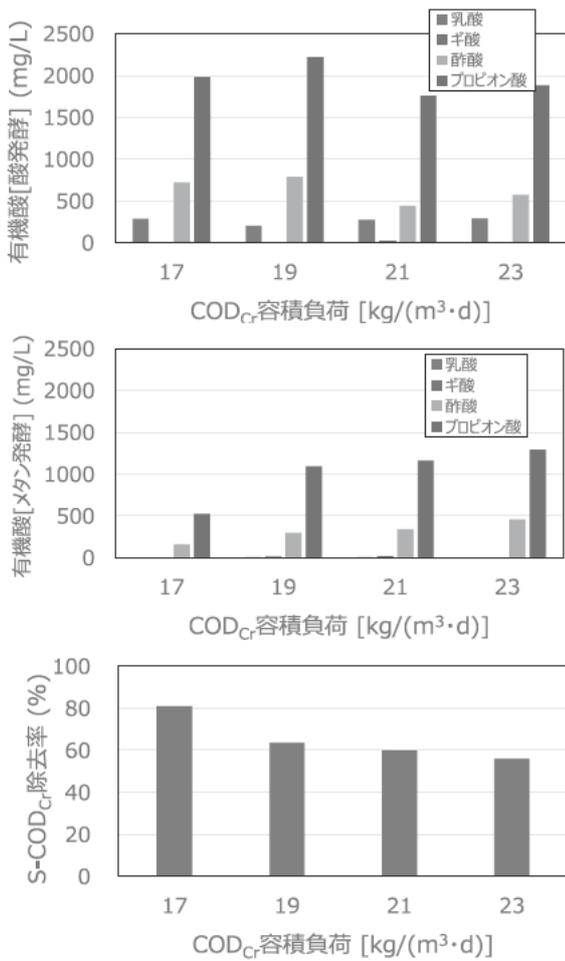


Fig. 4 Volatile Fatty Acids of acid fermentation and treatment water, COD<sub>Cr</sub> Removal Rate of treatment water (mechanical stirring)

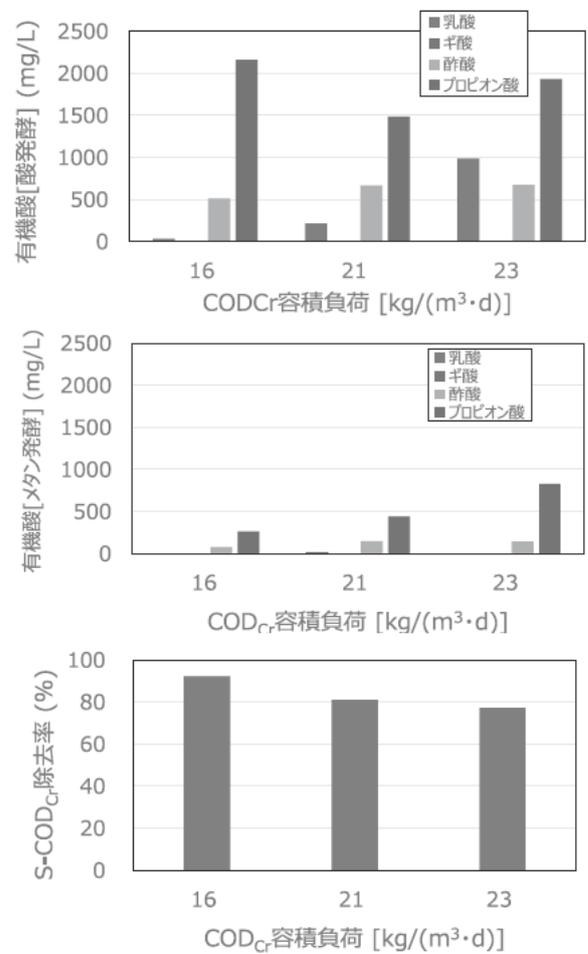


Fig. 5 Volatile Fatty Acids of acid fermentation and treatment water, COD<sub>Cr</sub> Removal Rate of treatment water (gas stirring)

の有機酸, COD<sub>Cr</sub> 除去率の平均値を示す。酸発酵槽における乳酸は 205 ~ 290 mg/L, ギ酸は 100 mg/L 未満とほぼ一定であった。酢酸は 442 ~ 788 mg/L, プロピオン酸は 1,760 ~ 2,220 mg/L で, 物質量における Δプロピオン酸 / Δ酢酸は理論値の 2 に対して平均 2.6 であった。メタン発酵槽における乳酸とギ酸は 100 mg/L 未満, 酢酸は 159, 296, 341, 458 mg/L, プロピオン酸は 524, 1,090, 1,160, 1,290 mg/L と COD<sub>Cr</sub> 容積負荷の増加に伴い残留した。S-COD<sub>Cr</sub> 除去率は COD<sub>Cr</sub> 容積負荷の増加にあわせて低減し, 81, 64, 60, 56% となり, 立ち上げに 183 日を要した。

(2) ガス攪拌式連続試験

Fig. 5 に各 COD<sub>Cr</sub> 容積負荷 16, 21, 23 kg/(m<sup>3</sup>·d) における酸発酵槽の有機酸, メタン発酵槽の有機酸, COD<sub>Cr</sub> 除去率の平均値を示す。酸発酵槽における乳酸は, ギ酸は 100mg/L 未満とほぼ一定であった。酢酸は 510 ~ 675 mg/L, プロピオン酸は 1,480 ~ 2,160 mg/L で, 物質量における Δプロピオン酸 / Δ酢酸は理論値の 2 に対して平均 2.5 であった。

両試験系ともに理論値の 2 以上であったことから, 酸発酵槽において酢酸が一部メタン発酵している可能

性が示唆された。

メタン発酵槽における乳酸とギ酸は 100 mg/L 未満, 酢酸は 100 mg/L 未満 ~ 149 mg/L ではほぼ残留していなかった。プロピオン酸は COD<sub>Cr</sub> 容積負荷に従い増加し, 23 kg/(m<sup>3</sup>·d) において 826 mg/L となった。S-COD<sub>Cr</sub> 除去率は COD<sub>Cr</sub> 容積負荷の増加にあわせて低減し, 92, 81, 77% となり, 立ち上げに 50 日を要した。

COD<sub>Cr</sub> 容積負荷 21 kg/(m<sup>3</sup>·d) における COD<sub>Cr</sub> 除去率は機械攪拌式連続試験で 60%, ガス攪拌式連続試験で 81% とガス攪拌式連続試験の処理能力が高かった。ガス攪拌式連続試験は固液分離部を設けることで槽内の攪拌や流動を最適化し, 早期の立ち上げが可能となり, COD<sub>Cr</sub> 除去率 80% 程度を維持できたと考える。

4.2 回分試験結果

Table 1 に機械攪拌式連続試験とガス攪拌式連続試験の担体におけるメタン生成活性度を示す。

機械攪拌式連続試験において, 乳酸, 酢酸, ギ酸, プロピオン酸でそれぞれ 0.80, 1.03, 2.76,

**Table 1** Methane Production Activity (mechanical stirring and gas stirring)

	乳酸	酢酸	ギ酸	プロピオン酸
	g-COD <sub>Cr</sub> /(g-VSS · d)			
機械攪拌式	0.80	1.03	2.76	0.75
ガス攪拌式	1.55	1.78	4.51	1.12

0.75 g-COD<sub>Cr</sub>/(g-VSS · d), ガス攪拌式連続試験において、乳酸、酢酸、ギ酸、プロピオン酸でそれぞれ 1.55, 1.78, 4.51, 1.12 g-COD<sub>Cr</sub>/(g-VSS · d) の担体活性度が得られた。

機械攪拌式連続試験と比較してガス攪拌式連続試験の方が全ての基質において活性度は高かった。両試験系でギ酸のメタン生成速度が最も高く、乳酸、酢酸、プロピオン酸は同程度の活性度であった。

#### 4.3 菌叢解析結果

Fig. 6 にアンプリコン解析による担体菌叢の経日変化を示す。

機械攪拌式連続試験では、*Methanobacterium* 属、*Methanosarcina* 属、*Syntrophobacter* 属、*Syntrophomonas* 属、*Pelotomaculum* 属が主要な菌叢であり、その中でも *Methanobacterium* 属が 50% 程度優占していた。

ガス攪拌式連続試験では、*Methanobacterium* 属が 35% 程度と最も優占し、*Methanosarcina* 属、*Syntrophobacter* 属、*Pelotomaculum* 属、*Syntrophomonas* 属も機械攪拌式連続試験と同様に検出された。*Smithella* 属は機械攪拌式連続試験では殆ど検出されなかったが、ガス攪拌式連続試験では 10% 程度検出された。この

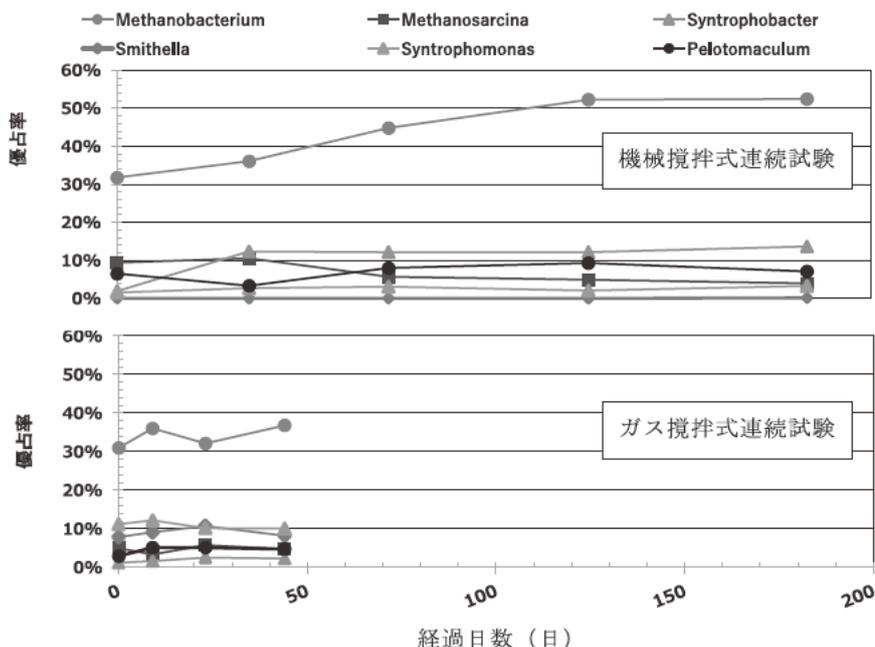
ことからガス攪拌式連続試験では *Smithella* 属がプロピオン酸の分解促進に寄与している可能性が示唆された。このように菌叢解析の結果は、前記の回分試験で得られた担体の活性の結果と整合性の取れる結果であった。

*Pelotomaculum* 属、*Syntrophobacter* 属はメタン菌との共生下で乳酸、プロピオン酸を分解する。これらの微生物は他の原料を基質としたときの担体やグラニュール汚泥でも優占化することが確認されていることから、嫌気性のバイオフィームで普遍的に優占化する種であると考えられる。

Fig. 7 にアンプリコン解析による酸発酵菌叢の経日変化を示す。

機械攪拌式連続試験では、乳酸を分解する一般的な酸発酵微生物である *Clostridium* 属、Fe<sup>3+</sup> の添加により増殖速度が速くなる乳酸酸化細菌の *Anaeromusa* 属、硫酸を利用して乳酸を酸化分解する *Desulfovibrio* 属、乳酸から酪酸を生成する *Pseudoflavonifractor* 属が検出され、負荷の増加に伴い、*Pseudoflavonifractor* 属は 30% 程度優占していた。生成された酪酸は担体上の *Syntrophomonas* 属により酢酸や水素に分解される。

ガス攪拌式連続試験では、機械攪拌式連続試験と同様に *Clostridium* 属、*Anaeromusa* 属、*Desulfovibrio* 属、*Pseudoflavonifractor* 属が検出された。両試験系において、酸発酵と担体で異なる菌の優占が確認された。

**Fig. 6** Dominant species by NGS

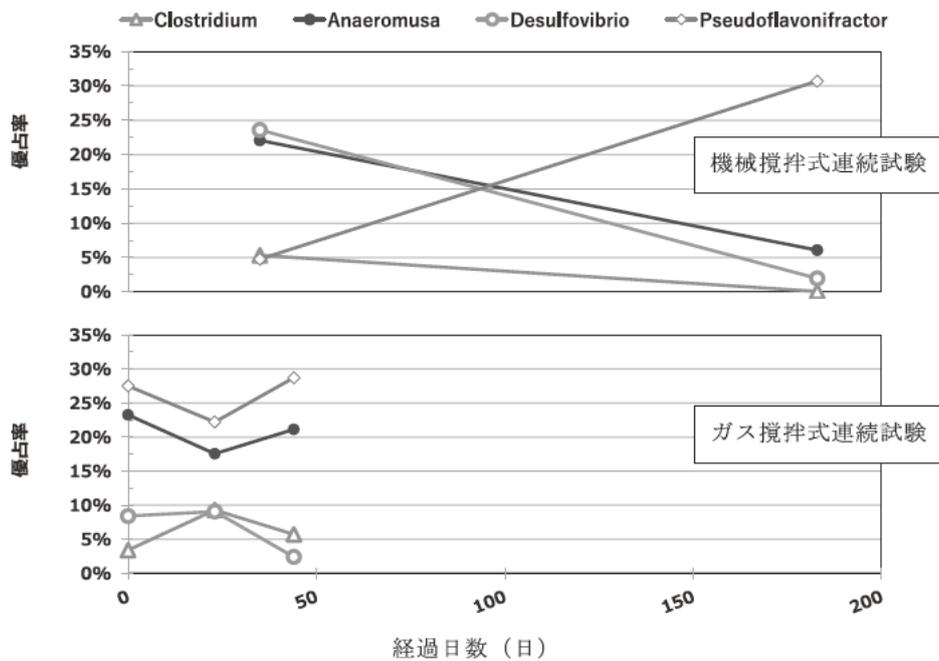


Fig. 7 Dominant species by NGS

## 5. ま と め

乳酸を基質とした人工排水を対象とし、2種類の反応槽に微生物を保持するための担体を投入し、メタン発酵連続試験を実施した結果、菌叢に大きな違いはみられなかったが、ガス攪拌式連続試験の方が担体への汚泥付着は良好であり、立ち上げにかかる時間は機械攪拌式連続試験で183日、ガス攪拌式連続試験では50日であった。

COD<sub>Cr</sub>容積負荷 21 kg/(m<sup>3</sup>・d)におけるCOD<sub>Cr</sub>除去率は機械攪拌式連続試験で60%、ガス攪拌式連続試験で81%とガス攪拌式連続試験の処理能力が高かったことから、ガス攪拌式連続試験は槽内の攪拌や流動を最適化することで、早期の立ち上げ、処理能力の向上に繋がったと推察する。馴致担体を用いた回分試験結果と菌叢解析の結果に整合性が認められたことから、乳酸を基質とした連続試験の処理性能は、酢酸からメタンを生成する反応が律速になっている可能性が考えられた。メタン発酵槽から採取した担体には、微量ながら酢酸を水素に分解する *Geobacter* 属が存在することから、酢酸資化性の *Methanosarcina* 属や *Geobacter* 属が優占化することで今後さらなる処理性能向上が期待できる。

## 参 考 文 献

- 1) Anna Detman, Damian Mielecki, Łukasz Pleśniak, Michał Bucha, Marek Janiga, Irena Matyasik, Aleksandra Chojnacka, Mariusz-Orion Jędrysek, Mieczysław K. Błaszczyk and Anna Sikora: Methan-yielding microbial communities processing lactate-rich substrates: a piece of the anaerobic digestion puzzle, *Biotechnology for Biofuels*, Vol.11, No.116 (2018)
- 2) 重松亨, 湯岳琴, 木田建次: メタン発酵プロセスに関与する微生物群集, *生物工学会誌*, Vol.87, No.12, pp. 570-596 (2009)
- 3) ZHANG Bo, CAI Wei-min and HE Pin-jing: Influence of lactic acid on the two-phase anaerobic digestion of kitchen, *Journal of Environmental Sciences*, Vol.19, pp. 244-249 (2007)
- 4) Sabine Seeliger, Peter H.Janssen and Bernhard Schink: Energetics and kinetics of lactate fermentation to acetate and propionate via methylmalonyl-CoA or acrylyl-CoA, *FEMS Microbiology Letters* Vol.211, pp. 65-70 (2002)
- 5) 日高平, 洪鋒, 津野洋: 数理モデルによる高温嫌気性消化の検討, 第44回下水道研究発表会, pp. 118-120 (2007)
- 6) S.Fukuzaki, Y-J Chang, N. Nishio and S. Nagai: Characteristics of granular methanogenic sludge grown on lactate in a UASB reactor. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized reactor, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol.16, No.3, pp. 465-472 (1991)