

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K04664

研究課題名(和文)細菌の空間的すみ分けを組み込んだセルロース系バイオマス用高効率メタン発酵槽の開発

研究課題名(英文)Development of a highly efficient methane fermentation reactor for cellulosic biomass incorporating spatial segregation of bacteria

研究代表者

松本 明人(Matsumoto, Akito)

信州大学・学術研究院工学系・准教授

研究者番号：30252068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：セルロース系バイオマスを高効率にメタンへ変換するために、槽内を緩速攪拌(攪拌子回転速度：10 rpm)し、セルロースとその分解菌を反応槽底部に沈降させる反応槽において、pHやセルロース容積負荷を変動させ、最適運転条件や処理限界を求めた。

その結果、pH 6.6でメタン転換率は74%と最も高く、pH 6.0ではセルロースが蓄積した。またpH 6.6においてセルロース容積負荷2.0 kg/m<sup>3</sup>・dではメタン転換もセルロース除去も良好であったが、セルロース容積負荷3.1 kg/m<sup>3</sup>・dではセルロースは蓄積した。酸生成細菌の菌叢は、pHやセルロース容積負荷により変化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緩速攪拌(攪拌子回転速度：10 rpm)条件下でのセルロースのメタン発酵において、至適pHが6.6であることや、pH 6.6でのセルロース容積負荷が2.0 kg/(m<sup>3</sup>・d)までは良好なメタン発酵が可能であることは、プロセスの運転に必要な情報であり、工学的に意義のある情報である。また、発酵槽内の酸生成細菌の菌叢が、pHやセルロース容積負荷により変化することは微生物生態学的に興味深い結果である。

さらにメタン発酵の効率化のために本研究でおこなった緩速攪拌やpHの制御はいずれも操作が容易であり、既存の発酵槽にも直ちに適用可能と考えられ、社会実装の面で有利である。

研究成果の概要(英文)：In order to convert cellulosic biomass to methane with high efficiency in methane fermentation, the inside of the reactor is slowly stirred (rotational speed of stirrer: 10 rpm), and cellulose and its decomposing bacteria settle to the bottom of the reactor. Optimal operating conditions and processing limits were determined by varying pH and cellulose volume loading.

The results showed that methane conversion was highest (74%) at pH 6.6, and cellulose accumulated at pH 6.0. At pH 6.6, both methane conversion and cellulose removal were good at a cellulose volume loading of 2.0 kg/m<sup>3</sup>-d, but cellulose accumulated at a cellulose volume loading of 3.1 kg/m<sup>3</sup>-d. The flora of acid-producing bacteria varied with pH and cellulose volume loading.

研究分野：土木環境システム

キーワード：メタン発酵 セルロース 緩速攪拌 最適pH セルロース容積負荷 メタン転換率 細菌叢解析

## 1. 研究開始当初の背景

バイオマス・エネルギーは再生可能なエネルギーのひとつであり、地球温暖化防止や化石燃料枯渇の面から注目されている。ただし、バイオマス・エネルギーは化石燃料に比べエネルギー密度が低く、収集にエネルギーがかかるという欠点も有している。そこで局所的に大量発生し、しかも発生源に近いところでエネルギーへの変換可能なバイオマスが求められている。そのような条件を満たすバイオマスとして、稲わらなど農作物の非食用部がある。農作物非食用部は賦存量が多いものの、含水率が高い。そこで古くから湿潤系バイオマスの処理に利用されてきたメタン発酵の適用が考えられる。しかも、メタン発酵は小規模施設にも適用でき、発生源の近くに設置することも可能である。ただし、農作物非食用部の主成分であるセルロースは、生物による分解が容易でないことが知られている。そこで当研究室では、ウシ、ヒツジなど反芻動物が有する反芻胃(以下、ルーメンと略す)での高いセルロース分解(ルーメン内での繊維質分解率: 50~80%、人間での分解率: 5%程度)に着目し、しばしば検討されてきたルーメン微生物ではなく、セルロース分解槽としてのルーメンをモデルとしたメタン発酵システム構築を目指し、平成27年度より研究を開始した。

当研究室では人工ルーメン成立のポイントである① 発酵槽内の攪拌が緩やかなことで、分解の進んだ古い餌と分解を受けていない新しい餌が共存していること、② 古い餌のかたまりのような微生物の棲み処(人為的に添加したスポンジ片で代替可能)が存在すること(栗原康: 共生の生態学、岩波新書、1998年)を参考に、セルロースのメタン発酵槽における槽内攪拌速度の影響および浮上性の微生物付着用担体投入の効果を調べた(基盤研究 C H27~29年度)。実験の結果、緩速攪拌条件下(槽内攪拌速度 10 rpm)ではセルロースとセルロース分解細菌(酸生成細菌)は発酵槽底部に沈殿しており、完全混合状態の場合(槽内攪拌速度 100 rpm)に比べ、反応槽からのメタン生成量は 1.4 倍に増大することがわかった。ただしセルロース容積負荷  $1.3 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  が良好な処理の限界で、セルロース容積負荷  $2.0 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では過負荷になり、分解されなかったセルロースが蓄積することも明らかになった。一方、緩速攪拌条件下での担体投入によるメタン生成の増大は見られなかった。

以上のように、反応槽内を緩速攪拌(10 rpm)することが、セルロースのメタン発酵に有効であることがわかった。

## 2. 研究の目的

セルロース系バイオマスのメタン発酵槽として、槽内を緩速攪拌(10 rpm)することによりセルロースとセルロース分解菌を反応槽底部に沈降・接触させ、セルロース分解およびメタンへの変換を促進する発酵槽における最適運転条件として最適 pH を求めること、さらに最適 pH における処理限界を確定することを研究の目的とした。なお、最適 pH における処理限界を求めるため、水理学的滞留時間(以下、HRT と略記)を制御し、セルロース容積負荷を変動させた。また、処理性能の指標としてはメタン転換率(投入されたセルロースからメタンに変換された割合を COD ベースで算出したもの)を用い、メタン転換率の目標値として、反芻胃での繊維質の分解率が 50~80% と報告されていることから、67% とした。処理限界となるセルロース容積負荷に関しては、前回の科学研究費の実験で過負荷とされたセルロース容積負荷  $2 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  で運転できることを目標とした。その他、固定物滞留時間(以下、SRT と略記)がセルロース分解とメタンへの変換に及ぼす影響や回分式バイアル試験によるセルロースからのメタン生成特性の把握や他の有機物を添加することによるメタン生成特性の改善を検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 連続実験

本研究では pH がセルロース分解およびメタン生成に及ぼす影響、そして最適 pH でのセルロース容積負荷の変動による未分解セルロースの蓄積やメタン生成の阻害がおきる処理限界の検討、さらに SRT がセルロース分解やメタン生成に及ぼす影響を連続実験で調べた。

連続実験では反応槽として市販の 1 L スピナーフラスコを用い、攪拌子の回転速度は 10 rpm とした。運転温度は 35 °C である。基質にはセルロース(ろ紙粉末)に、緩衝剤、無機塩、pH 調整剤(塩酸および水酸化ナトリウム)を添加し、セルロース濃度  $10000 \text{ mg/L}$  に調整したものを使用した。そして基質投入および反応槽内容液の引き抜きは一日一回おこない、投入量および引き抜き量を変え、HRT およびセルロース容積負荷を変えた。また pH の調整は添加する塩酸や水酸化ナトリウムの量でおこなった。

pH 変動実験では HRT を 8.0 日に設定し、pH 7.0 から pH 6.5、そして pH 6.0 まで低下させたのち、pH 7.0 に戻し、それから再度 pH 6.5 にした。そして、pH がセルロース分解およびメタン生成に及ぼす影響を調べた。

続いてメタン発酵の最適 pH と判断された pH 6.6 で、HRT を 8.0 日、5.0 日、3.2 日と変化

させ、セルロース容積負荷を  $1.3 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$ 、 $2.0 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$ 、 $3.1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  と増大させ、セルロース容積負荷がセルロース分解およびメタン生成に及ぼす影響を調べ、処理限界を求めた。

また当初の実験計画にはなかったが、SRT がセルロース分解およびメタン生成に及ぼす影響を調べるため、反応槽の上層、中層、下層にあるサンプリングポートからの反応槽内容液の引き抜き量を変化させ、SRT の制御を試みた。すなわち水質分析日には上層、中層、下層にあるサンプリングポートからおよそ  $40 \text{ mL}$  ずつ(合計で  $125 \text{ mL}$  になるように)サンプリングするが、水質分析日以外は中層のサンプリングポートのみから  $125 \text{ mL}$  引き抜く(pH 測定の試料を兼ねる)方法から、SRT 制御実験では中層のサンプリングポートから  $110 \text{ mL}$  (pH 測定の試料を兼ねる)、下層のサンプリングポートから  $15 \text{ mL}$  引き抜くことにより、SRT を 10 日から 15 日に制御し、SRT がセルロース分解およびメタン生成に及ぼす影響について調べることを試みた。なお、槽内 pH は 7.0 付近にたもち、HRT は 8.0 日とした。

一方、当初の実験計画では反応槽上部に浮上性の微生物附着用担体を投入し、担体上に形成された生物膜内の pH 勾配(生物膜内でのメタン生成菌による揮発性脂肪酸の消費でその濃度が低下し、pH が上昇する)を利用したメタン発酵の効率化を試みる予定であったが、想定していた pH 6.0 付近でのセルロース分解能の向上と pH 6.0 付近でのメタン生成の阻害が起きなかったため、微生物附着用担体の投入と生物膜内で形成される pH 勾配を利用したメタン発酵の効率化の実験は実施しなかった。

なお、すべての連続実験で、反応槽内容液の pH、COD(反応槽内容液およびその上澄み液)、残存糖濃度(セルロース濃度)、SS、VSS、そして、ガス組成とガス生成速度を測定した。また各条件での実験データの採取期間最後に反応槽内容液をサンプリングし、細菌数および古細菌数、そして細菌叢解析の試料とした。解析方法は 3.(3)にて述べる。

## (2) 回分式バイアル試験

当初の実験計画にはなかったが、セルロースからのメタン生成特性を把握するため、回分式バイアル試験を実施した。基質としてはセルロースの他、グルコース、アミロペクチン、デキストリン、でんぷんを用いた。なおいずれの実験でもバイアル瓶内の基質濃度は  $2500 \text{ mg/L}$  とした。

セルロースのメタンへの変換を促進する実験では、セルロースにペプトンやグルコースを添加し、セルロースからのメタン生成特性が変化するかを確認した。セルロースとグルコースの混合基質(セルロース、グルコース濃度はそれぞれ  $1250 \text{ mg/L}$ )、セルロースとペプトンの混合基質 1(セルロース、ペプトン濃度はそれぞれ  $1250 \text{ mg/L}$ )、セルロースとペプトンの混合基質 2(セルロース濃度  $2250 \text{ mg/L}$ 、ペプトン濃度  $250 \text{ mg/L}$ )を用い、セルロース濃度  $2500 \text{ mg/L}$  の基質からのメタン生成特性と比較し、混合によるメタン生成量や生成速度の増大を調べた。

回分式バイアル試験は基質  $10 \text{ ml}$  と種汚泥  $30 \text{ ml}$  を容積  $120 \text{ ml}$  のバイアル瓶内で混合し、 $35^\circ\text{C}$  に設定した恒温振とう槽に設置し、BMP 試験(Biochemical Methane Production Test)をおこなった。種汚泥には下水道終末処理場の中温嫌気性消化槽より採取した消化汚泥を用いた。BMP 試験で得られた基質ごとの累積メタン生成量から、ブランク試験で求めた種汚泥からの累積メタン生成量を差し引いたものを基質ごとの正味の累積メタン生成量とした。そして累積メタン生成量の経日変化を(1)式に示す一次反応式で近似し、一次反応速度定数、メタン生成ポテンシャルを求めた。また、回帰曲線において誘導期を表現するために遅滞時間を導入し、その値を求めた。なお本研究ではメタン生成量を COD に換算し、データ解析した。

$$P = Y[1 - \exp\{-k(t - \lambda)\}] \quad (1)$$

ここで P は試験開始から t 日後までの累積メタン生成量 ( $\text{mgCOD/L}$ )、Y はメタン生成ポテンシャル ( $\text{mgCOD/L}$ )、k は一次反応速度定数 ( $\text{d}^{-1}$ )、t は経過日数 (d)、 $\lambda$  は遅滞時間 (d) である。

## (3) 細菌叢解析

各条件の実験データ採取期間の終わりに採取した反応槽内容液で、細菌数および古細菌数、そして細菌叢を解析した。細菌数、古細菌数に関しては、試料を低速遠心分離 ( $800 \text{ rpm}$ 、 $10 \text{ 分}$ ) して回収した沈殿物から微生物 DNA を抽出、リアルタイム PCR で定量した。一方、細菌叢構成に関しては、抽出 DNA を用いて、16S rRNA 遺伝子 V4 領域対象に次世代シーケンシングにより解析した。菌数測定や細菌叢解析は研究分担者である本学農学部 上野 豊 准教授がおこなった。

## 4. 研究成果

### (1) pH の影響

pH 変動実験に関しては、pH 7.0 および pH 6.5 のデータをそれぞれ二期間にわたり、pH 6.0 のデータを一期間で採取したが、最も安定したデータが取れた期間(二期間ではいずれも二回目の実験期間)の結果について述べる。ただし pH 6.0 に関しては、安定したデータはとれず、実験期間の後ろから 5 回分の水質分析データを用いた。

実験の結果、pH 7.1 でのメタン生成速度は平均で  $290 \text{ mL/L} \cdot \text{d}$  ( $260 \text{ mL/L} \cdot \text{d} \sim 320 \text{ mL/L} \cdot \text{d}$ ) であり、メタン転換率は平均で  $55\%$  ( $50\% \sim 61\%$ ) であった。pH 6.6 でのメタン生成速度は平均で  $380 \text{ mL/L} \cdot \text{d}$  ( $360 \text{ mL/L} \cdot \text{d} \sim 400 \text{ mL/L} \cdot \text{d}$ ) であり、メタン転換率は平均で  $74\%$  ( $69\% \sim 77\%$ ) であった。

一方、pH 6.0でのメタン生成速度は平均で220 mL/L・d(140 mL/L・d~300 mL/L・d)であり、メタン転換率は平均で43%(28%~59)であった。以上のように、pH 6.6でのメタン生成速度やメタン転換率が最も高く、ついでpH 7.1でのメタン生成速度やメタン転換率が高かった。一方、pH 6.0ではpHの変動が大きく、メタン生成速度やメタン転換率の変動も大きかった。ただし、pH 6.0でもメタン生成が停止することはなかった。

反応槽内におけるセルロースの分解に関連して、反応槽下層におけるセルロース除去率を利用した。pH 7.1での下層におけるセルロース除去率は平均62%(28%~83)であり、pH 6.6での下層におけるセルロース除去率は平均65%(50%~72)であった。一方、pH 6.0での下層におけるセルロース除去率は平均5%(2%~9)となり、セルロースは下層に蓄積していた。ただし、pH 6.0でもある程度、メタン生成はおこっていたことを考えると、セルロースの分解がほとんどおこらないということではなく、セルロースの分解量以上にセルロースが投入されたため、下層のサンプリングポート付近までセルロースが蓄積してきたことを示している。以上のことから、下層におけるセルロース除去率のみでは反応槽全体でのセルロース除去を判断できないことに注意が必要である。

## (2) セルロース容積負荷の影響

槽内pHを最適pHと考えられるpH 6.6付近にたもち、HRTを8.0日、5.0日、3.2日と変化させることで、セルロース容積負荷を1.3 kg/m<sup>3</sup>・d、2.0 kg/m<sup>3</sup>・d、3.1 kg/m<sup>3</sup>・dと増大させた。セルロース容積負荷1.3 kg/m<sup>3</sup>・dでのメタン生成速度は平均で380 mL/L・d(360 mL/L・d~400 mL/L・d)であり、メタン転換率は平均で74%(69%~77)であった。セルロース容積負荷2.0 kg/m<sup>3</sup>・dでのメタン生成速度は平均で620 mL/L・d(550 mL/L・d~640 mL/L・d)であり、メタン転換率は平均で74%(67%~77)であった。そして、セルロース容積負荷3.1 kg/m<sup>3</sup>・dでのメタン生成速度は平均で970 mL/L・d(920 mL/L・d~1000 mL/L・d)であり、メタン転換率は平均で73%(69%~76)であった。以上のように、メタン生成速度はセルロース容積負荷の上昇に伴い増大し、メタン転換率はセルロース容積負荷に関係なくほぼ74%と一定であった。

一方、セルロース除去に関しては、セルロース容積負荷1.3 kg/m<sup>3</sup>・dでの下層におけるセルロース除去率は平均65%(50%~72)であり、セルロース容積負荷2.0 kg/m<sup>3</sup>・dでの下層におけるセルロース除去率は平均55%(34%~73)であった。しかし、セルロース容積負荷3.1 kg/m<sup>3</sup>・dになると、下層におけるセルロース除去率は平均19%(-31%~60)となった。ただし、セルロース容積負荷3.1 kg/m<sup>3</sup>・dの場合でもメタン生成は良好におこなわれていることから、セルロースの分解がおこらないのではなく、セルロースの分解量以上にセルロースが投入されたため、下層にセルロースが蓄積したことを示している。以上のことから、セルロースはセルロース容積負荷2.0 kg/m<sup>3</sup>・dまではメタン生成は良好で、セルロースの蓄積もすくないが、セルロース容積負荷3.1 kg/m<sup>3</sup>・dになると、メタン生成は良好なもの、セルロースが反応槽下層にかなり蓄積しており、処理限界を超えているとした。

## (3) SRTの影響

実験の結果、SRTは最終的に平均8.0日(7.9日~8.2日)になり、今回実施した反応槽内容液の引き抜き方法ではSRTを想定した10日から15日に制御できなかった。最終的なデータとしては、実験期間の後ろから5回分の水質分析データを使用し、そこに至る過渡期のデータとしては実験期間の最終6回目から10回目のデータを使用した。

SRT8.0日でのメタン生成速度は平均で190 mL/L・d(130 mL/L・d~240 mL/L・d)、メタン転換率は平均で36%(25%~46)であった。一方、SRTが最終的に平均8.0日になる直前の過渡期のデータでは平均SRTは9.2日(7.8日~10.1日)で、メタン生成速度は平均で250 mL/L・d(210 mL/L・d~300 mL/L・d)、メタン転換率は平均で48%(41%~57)であった。

一方、下層におけるセルロース除去率に関しては、SRT8.0日での除去率は平均66%(62%~76)で、SRTが平均8.0日になる直前の過渡期のデータでは、平均69%(62%~73)となった。ただし、SRT制御実験での下層におけるセルロースの除去率は下層からの反応槽内容液の引き抜きの際、セルロースも引き抜かれることの影響も大きい。

以上のように、SRTの制御は困難で、得られたSRTは8.0日前後に限られており、しかもメタン生成速度が大きくばらつき、下層からのセルロースの引き抜きの影響もあるため、SRTとメタン生成およびセルロース分解の関係は求められなかった。

## (4) 回分式バイアル試験によるセルロースのメタン生成特性

セルロースをはじめ、グルコースやでんぷん(溶性)など、各種炭水化物のメタン生成特性を調べたところ、メタン生成ポテンシャルはセルロースでは2060 mgCOD/L~2390 mgCOD/L、グルコースでは1700 mgCOD/L~2650 mgCOD/L、アミロペクチンでは1940 mgCOD/L~2140 mgCOD/L、デキストリンでは1830 mgCOD/L~2030 mgCOD/L、でんぷん(溶性)では2010 mgCOD/L~2070 mgCOD/Lであった。ややばらつきはあるものの、メタン生成ポテンシャルはセルロースでもその他の基質でも概ね2000 mgCOD/L程度であり、大きな差はなかった。一方、一次反応速度定数は実験ごとで得られる値にばらつきがあり、セルロースでは0.4 d<sup>-1</sup>~0.6 d<sup>-1</sup>、グルコースでは0.3 d<sup>-1</sup>~1.0 d<sup>-1</sup>、アミロペクチンでは0.5 d<sup>-1</sup>~0.7 d<sup>-1</sup>、デキストリンやでんぷん(溶性)では0.5 d<sup>-1</sup>~0.9 d<sup>-1</sup>であった。一方、遅滞時間に関してはセルロースでは1.4 d~3.3 d、グルコースで

は0.1 d~0.5 d、アミロペクチンでは0.2 d~0.6 d、デキストリンやでんぷん（溶性）では0.2 d~0.4 dであり、セルロースの遅滞時間が他の基質に比べ、かなり大きな値であった。

以上の結果より、セルロースからのメタン生成特性は、遅滞時間に関しては他の基質より大きい、メタン生成ポテンシャルに関しては、大きな違いはなく、処理が開始するまでの時間は他の炭水化物より長くなるが、最終的に生成するメタンの量はかわらないことがわかった。

#### (5) 回分式バイアル試験によるセルロースからのメタン生成に及ぼすでんぷんおよびペプトン添加の影響

メタン生成ポテンシャルに関しては、セルロースに等量のグルコースを添加した場合も、セルロースに等量のペプトンを添加した場合も、セルロースに 1/9 量のペプトンを添加した場合もそれぞれの混合比とそれぞれの基質のメタン生成ポテンシャルから計算される値にほぼ一致し、グルコースやペプトン添加によるポテンシャルの増大は見られなかった。一次反応速度定数に関してはセルロースに等量のグルコースを添加した場合とセルロースに 1/9 量のペプトンを添加した場合はそれぞれの混合比から予想された値と近い値になったが、セルロースに等量のペプトンを添加した場合は、混合比から計算される値だけでなく、セルロースとペプトンそれぞれの速度定数の値より低い値になった。理由は不明であるが、反応速度を加速するといった効果は見られなかった。遅滞時間に関しては、セルロースに等量のグルコースやペプトンを添加した場合は遅滞時間が短いグルコースやペプトンの値に一致し、セルロースに 1/9 量のペプトンを添加した場合はペプトンの添加量が少ないため、セルロースの値に近くなった。

以上のようにセルロースにグルコースやペプトンを添加することによるメタン生成量の増大や生成速度を上げる効果は見られなかった。

#### (6) 細菌叢解析

細菌数や古細菌数、そして細菌叢に関しては上層、中層、下層から採取したサンプルについてそれぞれ解析したが、細菌やセルロースは基本的に反応槽底部に沈降し、そこで細菌による分解およびメタンへの変換がおきていると考えられたため、底部に近い下層から採取されたサンプルの測定結果について述べる。

pHの影響について述べる。pH 7.0 や pH 6.5 の菌叢解析用サンプルは二回採取しているが、安定したデータとして(1)で説明した二回目の期間に得られた結果について述べる。pH 7.1 でのサンプルにおける細菌数は  $1.4 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $7.9 \times 10^5$  copies/g、pH 6.6 における細菌数は  $3.4 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $2.4 \times 10^6$  copies/g、pH 6.0 では細菌数は  $4.6 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $1.8 \times 10^6$  copies/g であった。

細菌叢に関してはいずれの pH でも、*Bacillota*、*Bacteroidota*、*Spirochaetota* がよく見られ、その割合は pH 7.1 では *Bacillota* (21 %)、*Bacteroidota* (52 %)、*Spirochaetota* (13 %)、pH 6.6 では *Bacillota* (38 %)、*Bacteroidota* (31 %)、*Spirochaetota* (16 %)、pH 6.0 では、*Bacillota* (15 %)、*Bacteroidota* (53 %)、*Spirochaetota* (16 %) となり、pH 6.0 と pH 7.1 では *Bacteroidota* が半分以上で、pH 6.6 では *Bacillota* が 4 割、*Bacteroidota* が 3 割であった。

セルロース容積負荷の影響について述べる。いずれも pH 6.6 の条件下でおこなったサンプルである。セルロース容積負荷  $1.3 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  のサンプルにおける細菌数は  $3.4 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $2.4 \times 10^6$  copies/g、セルロース容積負荷  $2.0 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では細菌数は  $4.8 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $2.1 \times 10^6$  copies/g、セルロース容積負荷  $3.1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では細菌数は  $6.3 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $5.4 \times 10^6$  copies/g であった。

細菌叢に関してはいずれのセルロース容積負荷でも、*Bacillota*、*Bacteroidota*、*Spirochaetota* がよく見られ、割合はセルロース容積負荷  $1.3 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では *Bacillota* (38 %)、*Bacteroidota* (31 %)、*Spirochaetota* (16 %)、セルロース容積負荷  $2.0 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では *Bacillota* (40 %)、*Bacteroidota* (32 %)、*Spirochaetota* (18 %)、セルロース容積負荷  $3.1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  では、*Bacillota* (54 %)、*Bacteroidota* (22 %)、*Spirochaetota* (16 %) となり、セルロース容積負荷  $3.1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$  になると、*Bacillota* の占める割合が高くなった。

SRTの影響の結果について述べる。pH 7.0 付近で SRT が 8.0 日付近であった反応槽からのサンプルにおける細菌数は  $3.2 \times 10^7$  copies/g、古細菌数は  $3.9 \times 10^6$  copies/g であった。SRT 8.0 日では細菌数に対する古細菌数の割合は高かった。

細菌叢に関しては SRT 8 日でも *Bacillota*、*Bacteroidota*、*Spirochaetota* がよく見られ、割合は *Bacillota* (11 %)、*Bacteroidota* (67 %)、*Spirochaetota* (13 %) となり、*Bacteroidota* の占める割合が高かった。なお、SRTの影響に関してはさらなるデータの蓄積が必要である。

以上のように、細菌叢に関しては *Bacillota*、*Bacteroidota*、*Spirochaetota* がよく見られ、その割合は pH やセルロース容積負荷 (HRT) の影響をうけることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊 颯太、松本 明人
2. 発表標題 低撹拌条件下でのセルロースのメタン発酵に及ぼす pHの影響
3. 学会等名 令和2年度土木学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩月 宏祐、松本 明人
2. 発表標題 炭水化物系基質のBMP 試験におけるメタン生成特性の評価
3. 学会等名 第55回日本水環境学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川端 優太、松本 明人
2. 発表標題 低撹拌条件下でのセルロースのメタン発酵に及ぼすpHと水理学的滞留時間の影響
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	上野 豊  (Uyeno Yutaka)  (00542911)	信州大学・学術研究院農学系・准教授    (13601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------