

令和 5 年 5 月 5 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K04764

研究課題名（和文）脂肪酸結晶と生物膜の複合凝集物を利用した廃油脂混合オンサイトメタン化システム改善

研究課題名（英文）Upgrading on-site bio methanation system using composites of crystalline fatty acid and biofilm

研究代表者

小林 拓朗（Kobayashi, Takuro）

国立研究開発法人国立環境研究所・資源循環領域・主幹研究員

研究者番号：10583172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：小規模分散型のバイオマスエネルギー化処理において、現地で手に入るさまざまな原料を活用して混合処理することが必要とされる。限られた原料の利用可能性から、油脂は有望な原料である。高油分原料のメタン発酵処理において高級脂肪酸の阻害がプロセスを不安定化させる。本研究では、中温及び高温の阻害特性を明らかにし、微生物濃度を高めることで安定的かつエネルギー収率の高い処理が可能となることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既に実装されているオンサイトでの食品廃棄物メタン発酵処理システムのさらなる普及のため、利用できる原料の制約を緩和し、現地で手に入るバイオマス原料を最大限に利用することで導入に必要な規模を縮小することが可能になる。このことは、依然として進まない外食産業の食品廃棄物リサイクル率を底上げすることに貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Co-digestion of various feedstocks available on-site is needed for decentralized biomass utilization system. To overcome the limited biomass feedstock availability, use of fat, oil and grease waste is a promising way. In the co-digestion of oily organic wastes, an inhibition by long-chain fatty acids can destabilize the process. In this study, we clarified the inhibitory properties of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion, and showed that increasing the concentration of microorganisms enables stable and high-energy-yield treatment.

研究分野：資源循環技術

キーワード：オンサイトバイオマス利用 油脂 メタン発酵

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

食品廃棄物のうち外食産業から発生するその再生利用率は依然として4割程度と低い。外食産業からは、食品廃棄物の他にも廃油脂(使用済み廃食油+排水油脂)、厨房排水阻集器堆積汚泥といった有機性残渣が発生するが、有効利用はさほど進んでいない。このような未利用バイオマスは全国で年間300万トン程度存在すると推定されている。食品等有機性廃棄物のリサイクル方法としては、現在は堆肥化やメタン発酵が一般的であるが、処理コストにはスケールメリットが強く働き、事業採算性の点では一定程度の規模を確保することが望ましいとされている。処理原料発生源としての個別飲食店舗は小規模かつ分散的であり、合理的な回収・処理システムの構築は困難だとされてきた。近年では、大規模商業施設を対象としてディスプレイを利用した回収システム、地下・屋外に設置したコンパクトな処理設備及び既存の排水処理設備を残渣の処理に活用したオンサイト型のメタン発酵システムが導入され始めている。しかしながら、そうしたシステムにおいても投入原料が大きい方が有利で、適正規模は1t/日程度とされる。日間1t程度の食品廃棄物を回収するには、例えば商業施設では4万m<sup>2</sup>の敷地面積が必要であり、それだけの面積を有するのは全国に存在する店舗の2割にも満たない。しかしながら、施設内で発生する食品廃棄物だけでなく、阻集器にトラップされた排水油脂や油脂が豊富である厨房排水中の有機分まで含めて利用できれば、必要な敷地面積の規模は半分程度まで下げることが可能である。油脂はメタンポテンシャルが大きく、エネルギー効率を高めることには有利であるが、中間生成物である脂肪酸の阻害性が処理性能を不安定化させることが課題であった。

### 2. 研究の目的

近年、多様な原料を混合して処理することの利点を鑑み、混合メタン発酵に関する研究が盛んに取り組みされており、油脂を含めた混合発酵特性の研究もこの10年で急激に増加している。これまでに阻害を生じさせない油脂の混合比率や阻害を緩和する添加物としてのカルシウム、ベントナイト、活性炭等を併用した処理方法に関する検討が進められてきている。しかし、そのような方向性の対策は、上述のオンサイトシステムでは実現が難しい面がある。前者に関しては、施設内で供給できる原料種に制約があり、投入原料中の有機物に対する油脂濃度を十分に下げることが難しく、後者に関しては処理後に既存の排水処理設備を使いつつ後処理を行い、下水道へ放流することから固形物分が処理水に残留することが望ましくない。本研究では、オンサイト処理システムにあった油脂対策を考案することを目的として、油脂の嫌気性分解由来の中間代謝物である高級脂肪酸の阻害特性を中温発酵及び高温発酵それぞれの方式で明らかにするとともに、得られた知見を下に汲み上げた処理装置で、油脂を含む原料の連続処理実験による安定性の改善の検証を行った。

### 3. 研究の方法

#### 3.1. 発酵阻害に対する高級脂肪酸濃度および微生物濃度影響の検討

実験室内で中温条件(35°C)および高温条件(55°C)それぞれで食堂残飯を連続処理する完全混合型メタン発酵槽から採取した汚泥を実験に使用した。微生物群集は汚泥から抽出したDNAを用いて16S rRNA遺伝子を標的としたアンプリコンシーケンス解析(MiSeq)によって把握した。高級脂肪酸としては排水油脂を構成する脂肪酸として最も比率の高い<sup>1)</sup>オレイン酸を用いた。0~3 mMの範囲のオレイン酸濃度下における酢酸及び水素メタン生成活性と、汚泥濃度2~10 g/Lの範囲でのオレイン酸0.5 mMの一定濃度下での酢酸及び水素メタン生成活性をバッチ実験によってそれぞれテストした。

#### 3.2. 生物膜式のバイオリアクターを用いた高油分原料の連続メタン発酵実験

中温条件(35°C)および高温条件(55°C)の完全混合反応槽と、高温条件(55°C)の完全混合槽に嵩容積30%(実容積約10%)を占めるポリプロピレン製のキャリアを加えた反応槽の合計3台を並行して実験を行った。原料は大型商業施設地下に設置された油脂阻集器に蓄積した浮上油脂スカムと食堂残飯とを油脂濃度/VS濃度が約32%となるように混合し、加水してVS濃度70 g/L程度になるよう調整したものを使用した。このVS濃度は実際のオンサイトシステムに対する投入原料濃度を参考にした。有機物容積負荷率が1.15~7.41 g COD/L/dの範囲で変化するよう、水理学的滞留時間(HRT)を変更しながら最短で20日になるまで実験を行った。

### 4. 研究成果

#### 4.1. 油脂に起因する発酵阻害に対する影響因子

バッチ実験の種汚泥から抽出した16S rRNA遺伝子のシーケンス解析から得られた古細菌に関する属レベルでの構成を表1に示す。高温発酵汚泥からは、水素資化性メタン生成菌のDNAのみが検出された。一般に酢酸資化性メタン生成菌は阻害物質に敏感で、高アンモニア濃度などのストレス下で連続運転されているメタン発酵槽では、酢酸資化性メタン生成菌の存在が確認されず、共生酢酸酸化細菌と水素資化性メタン生成菌による水素を経由した酢酸からのメタン生成の経路がとられることが観察されている。図1のa~cにはオレイン酸濃度を変化させた条件の

表 1 16S rRNA 遺伝子に基づく中温及び高温汚泥内の古細菌構成

温度	Genus	Number of OTU	Percentage (%)
中温	<i>Methanosaeta</i>	1928	50.00
	<i>Methanospirillum</i>	1583	41.05
	<i>Methanobacterium</i>	226	5.86
	<i>Methanoculleus</i>	72	1.87
	<i>Methanomassiliicoccaceae</i>	26	0.67
	<i>Others</i>	21	0.54
高温	<i>Methanoculleus</i>	1529	86.92
	<i>Methanothermobacter</i>	179	10.18
	<i>Methanobacterium</i>	25	1.42
	<i>Others</i>	26	1.48

下での酢酸および水素メタン生成活性をまとめた。ここで、高温汚泥の酢酸メタン活性は非常に低く、活性を定義することが難しかった。得られた結果から、メタン生成活性が50%低下する濃度 IC50 (mM)は中温酢酸で0.42 mM、中温水素で1.57 mM、高温水素で1.66 mMであった。この結果から、酢酸資化性よりも水素資化性メタン生成菌の方が、オレイン酸に対する阻害に対して強靱であり、中温と高温の水素資化性メタン生成菌の間にはさほどの差がないことが示唆された。VS 濃度すなわち微生物濃度を变化させた場合のオレイン酸に対する阻害に関して、図 1d に高温水素活性の結果を例示している。中温で酢酸の場合、単位汚泥量あたりの活性は VS 濃度によらなかった。水素に関しては、オレイン酸有の条件において VS 濃度の影響は、活性に対して有意な影響を及ぼした。すなわち、VS 濃度 6 g/L 以上ではオレイン酸なしの場合と遜色ない活性を示すことがわかった。従って、汚泥濃度を高めることによる高級脂肪酸阻害の軽減効果が存在する可能性が示唆された。

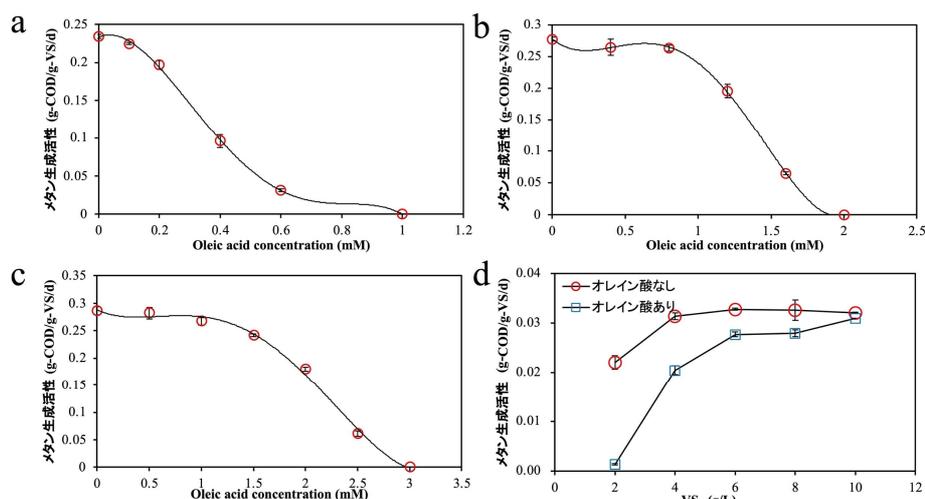


図 1 バッチ実験におけるオレイン酸濃度に応じた中温酢酸資化性 (a)、中温水素資化性 (b)、高温水素資化性 (c)メタン生成活性の変化および異なる汚泥濃度に応じた水素資化性メタン生成活性 (d)

#### 4.2. 高油分含有廃棄物の連続メタン発酵性能評価

バッチ実験での結果をもとに、汚泥濃度を高めるための生物膜リアクターによる高級脂肪酸阻害の軽減効果を検討した。中温と高温の完全混合槽に加え、現在稼働しているオンサイトシステムが高温発酵であることを踏まえて高温発酵の生物膜方式の完全混合槽をそれぞれ連続実験に用いた。HRTを123日から20日まで短縮するにつれて、有機物容積負荷は1.15~7.41 g COD/L/dまで上昇した。表2には、連続実験の各条件における発酵槽の代表的な性能指標の平均値をまとめた。連続運転を開始した直後から、高温生物膜の装置は極めて低い高級脂肪酸(LCFA)濃度が維

持されていたので、HRT62日からより短期間でHRTの短縮を進めた。HRT123～45日の条件では、いずれの装置もVFA濃度は200 mg/L未満で、十分低い濃度が維持された。LCFA濃度は中温発酵槽で200-600 mg/Lで、1～2 mM程度に相当した。上述のバッチ実験から、このようなLCFA濃度はメタン生成菌に対して毒性をもつ可能性がある。一方高温生物膜の装置では30 mg/L程度以下で十分低い水準であった。HRT123～45日の条件では明らかに高温生物膜でより安全な条件が維持され、メタン生成速度およびCOD減量化率も完全混合槽よりも優れた数値を示した。

HRTを30～20日まで短縮した高負荷の条件では、中温と高温でLCFA濃度が逆転し、高温で2mM程度のLCFA濃度と1500～2000 mg/L程度のVFA濃度が確認された。LCFA、VFAともに阻害を及ぼす可能性がある水準である。バッチ実験ではVS濃度の影響が確認されたが、連続実験では高温条件でVSの分解がより進行するため、発酵槽内のVS濃度は低下しやすい。HRT20日の条件では、中温においてVS濃度14～16 g/Lであるのに対し、高温においてVS濃度13～14 g/Lであった。このとき高温ではCOD減量化率は80%を下回るほど顕著に減少し、中温よりも有意に低い性能を示した。高温の完全混合装置に性能低下が顕著となった条件においても、高温生物膜の装置は低いVFA及びLCFA濃度と高いCOD減量化率が維持された。とくにLCFA濃度が60 mg/L以下で他の完全混合装置と比較して、濃度の差が顕著であった。COD減量化率の点でも、高温生物膜は、高温のみならず中温よりも高い水準を記録した。以上のことから、高温生物膜の装置は、高負荷においてもより安全な条件が維持され、結果として処理性能が高まることがわかった。

以上の実験で確認された結果より、中温発酵と高温発酵では単位VS量あたりの阻害に対する強靭さには大きな差異はないが、連続実験でVS濃度が高い中温発酵の方が有利であると考えられる。生物膜にVSを付着できる生物膜方式は、高級脂肪酸の阻害に対する安定性を上昇させることに貢献し、より高い性能を発揮できることが明らかになった。

表2 高油分含有食品廃棄物の連続実験における代表的な処理性能の平均値

リアクター	HRT (d)	Methane production (L/L/d)	VFA (mg/L)	LCFA (mg/L)	COD 減量化 率 (%)
中温	123	0.20	42.02	212.31	84.40
	62	0.48	70.84	608.92	85.79
	45	0.75	134.66	363.29	85.44
	30	1.10	484.42	217.96	85.41
	20	1.62	826.15	116.37	82.18
高温	123	0.23	121.54	122.80	84.16
	62	0.53	108.00	99.69	84.10
	45	0.79	187.66	164.74	82.15
	30	1.11	1913.19	287.78	78.52
	20	1.84	1501.39	205.90	75.51
高温生物膜	62	0.61	102.99	11.15	91.33
	45	0.83	122.23	31.20	92.62
	30	1.15	465.95	43.44	88.68
	20	1.89	573.79	62.61	83.96

#### 参考文献

- 1) Kobayashi T., Kuramochi H., Xu K-Q. (2017) Variable oil properties and biogas methane production of grease trap waste derived from different resources. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 273-281

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hu Yong, Shi Chen, Ma Haiyuan, Wu Jiang, Kobayashi Takuro, Xu Kai-Qin.	4. 巻 9
2. 論文標題 Biofilm formation enhancement in anaerobic treatment of high salinity wastewater: Effect of biochar/Fe addition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 105603
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jece.2021.105603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 小林拓朗, 横尾祐輔, 倉持秀敏, 田崎智宏, 稲葉陸太, 河井紘輔	4. 巻 63(4)
2. 論文標題 含油汚泥と厨芥のオンサイト混合メタン発酵がCO2排出量削減と廃棄物循環利用に及ぼす効果	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 用水と廃水	6. 最初と最後の頁 298-305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hu Yong, Shi Chen, Ma Haiyuan, Wu Jiang, Kobayashi Takuro, Xu Kai-Qin	4. 巻 9
2. 論文標題 Biofilm formation enhancement in anaerobic treatment of high salinity wastewater: Effect of biochar/Fe addition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 105603 ~ 105603
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jece.2021.105603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------