

温州みかん搾汁果皮を用いたメタン発酵における 酸生成相に対するpHの影響

花田祐策*・山岡邦雄*・柏木享**

Effect of pH on an Acidogenic Fermentation in Methane Fermentation from Citrus Unshu Peel

Yusaku HANADA, Kunio YAMAOKA, Susumu KASHIWAGI

Abstract

An effect of pH on an acidogenic fermentation in methane fermentation from citrus unshu peel was studied. As the result, a difference between pH7 and pH8 medium was found in a change with passage of time of amount of production of acids.

We presumed as follows by measurements of amount of glucose and acids in medium at 1 hour after addition of new medium.

- 1) In the case of pH8 medium, pectin is easy to decompose.
- 2) In the case of pH7 medium, glucose is easy to decompose.

1. はじめに

メタン発酵は高分子物質より酸生成を担う酸生成菌群（酸生成相）と、生成された低級脂肪酸よりメタンを生成するメタン生成菌群（メタン生成相）からなる¹⁻³⁾が、単槽式の場合、環境因子に対する反応および生理学的特性が異なる相が同一槽内に混在するため、大きな発酵槽が必要となる。このためメタン発酵の効率化、高速化を計るために、酸生成相とメタン生成相を分離した多段発酵型が提案されている³⁾⁶⁾。

一方、温州みかんは全国的に多量に生産され、そのまま果物として消費される以外に、果汁、缶詰に加工されている。このうち果汁の廃棄物として排出される搾汁果皮は、一部そのまま家畜用飼料として使用されているが、大部分は焼却処理されている。この温州みかん搾汁果皮中には糖質が多量に含まれており（乾物80%⁷⁾）、アルコール発酵、メタン発酵の基質として利用できる。

酸生成相の最適pHは、5~6という報告⁸⁻¹⁰⁾があり、一般的に酸性側に存在している。しかし、みかん陳皮¹¹⁾、温州みかん搾汁果皮¹²⁾を基質とした場合は最適pHが8であると報告されている。

本研究は、温州みかん搾汁果皮を基質とした酸生成相に対するpHのおよぼす影響を調べた。

2. 実験方法

2.1 基質

山口県経済連萩加工場より排出された温州みかん搾汁果皮（以後みかん果皮と略す）を凍結保存したものを解凍、ミートチョッパー（平賀工作所、プレート目サイズ3.1 mm）で粉碎したものを基質として使用した。

なお、みかん果皮の成分分析および元素分析の結果を表1および表2に示す。

2.2 使用汚泥および酸生成相の馴養

宇部市下水処理場メタン発酵処理プラントの消化汚泥を、前述した方法で調製したみかん果皮を基質とした馴

*宇部工業高等専門学校工業化学科

**山口県工業技術センター

養培地（表3）で、約二ヶ月間馴養（35℃）したものを初発汚泥として用いた。

また、酸生成相の馴養は初発汚泥を各々目的のpHに5mol/L水酸化ナトリウム水溶液で制御しながら35℃で培養し、1日に1～2回、一定量を引き抜き、直ちに馴養培地を添加する半連続法で馴養した。培地の基質濃度（表4）、引き抜き量、引き抜き回数を徐々に増加させて約二ヶ月間馴養を続け、メタン菌を排除し、酸生成相とした。

以上、使用汚泥、酸生成相の馴養においては、山口県工業技術センターにて完了済みの酸生成相を本実験に用いた。

2.3 酸生成相培養条件

酸生成相の培養は、1L容三角フラスコ（実容量1L）を用い、培養液をマグネチックスターラーを用いてかくはんしながら行った。装置の概略を図1に示す。培養液のpHはpHコントローラー（富士化学計測、EF-520およびEF-600）を用い、5mol/L水酸化ナトリウム水溶液を滴下して連続的に制御した。

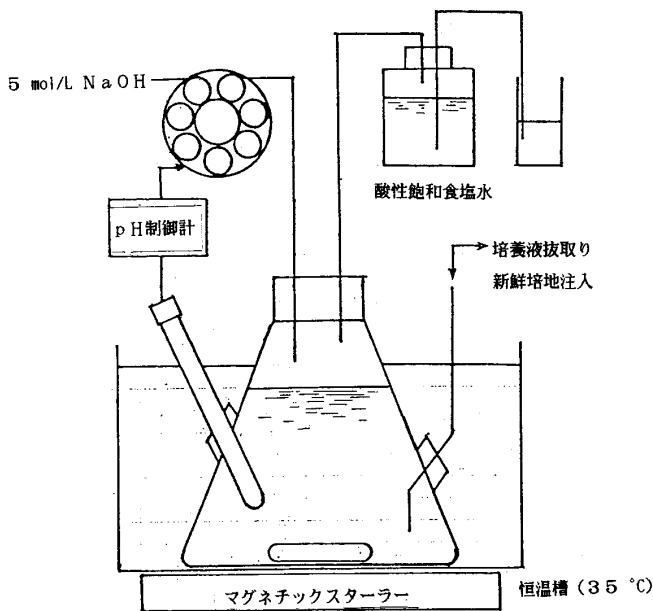


図1 培養装置

また、培養は一定時間毎に培養液を浣腸器（200mL容）で残量が500mLになるまで抜き取り、その直後に表4に示す新鮮培地（みかん果皮の成分分析、元素分析とPirtら¹³⁾の組成を参考にし、C/N比を11とした）を注入し、全量が1Lとした後、槽内の嫌気性を維持するために窒素ガスを通気させた。なお、培養液は35℃に保った。

培養を滞留日数の3倍以上経過後、定常状態を確認して、測定を行った。

2-4. 分析方法

酸生成相にて生成した低級脂肪酸は、培養液を遠心分離（10000rpm, 15min）した後の上清について、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸について以下に述べる方法にて分析を行った。

ギ酸についてはLangら¹⁴⁾の方法を用いて、分光光度計（NOVASPEC LKB-4049）にて波長515nmで吸光度を測定し、前もって作成した検量線よりギ酸濃度を求めた。

また、酢酸、プロピオン酸、酪酸の場合については、上清を塩酸でpH3.0に調整した後、カラム充填剤としてPorapak QSを用いたガスクロマトグラフィー（島津製作所、GC-8A）で各濃度を測定した

表1 乾燥温州みかん搾汁果皮の成分分析

糖質*	80.7%
粗蛋白	6.2
粗脂肪	1.3
粗繊維	8.8
灰分	3.0

*可溶性無窒素物

表2 温州みかん搾汁果皮の元素分析

C	44.75%
H	6.02
O	45.13
N	0.88
Ash	3.22

*理化学研究所有機微量分析室調べ

表3 酸性成相馴養培地組成

みかん果皮*	20.0 g/L
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	1.5 g/L
KH ₂ PO ₄	1.4 g/L
NH ₄ Cl	0.5 g/L
水道水	980 mL

pH 7 *乾物基準

表4 新鮮培地組成

みかん果皮*	27.0 g/L
NH ₄ Cl	3.0 g/L
KH ₂ PO ₄	1.0 g/L
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.3 g/L

*乾物基準

3. 結果および考察

希釈率0.5~3.0day⁻¹について、培養液のpHを7および8に制御して培養を行った。

滞留日数の3倍以上培養(希釈率1 day⁻¹)した後の水酸化ナトリウム消費量の時間変化を図. 2に示す。

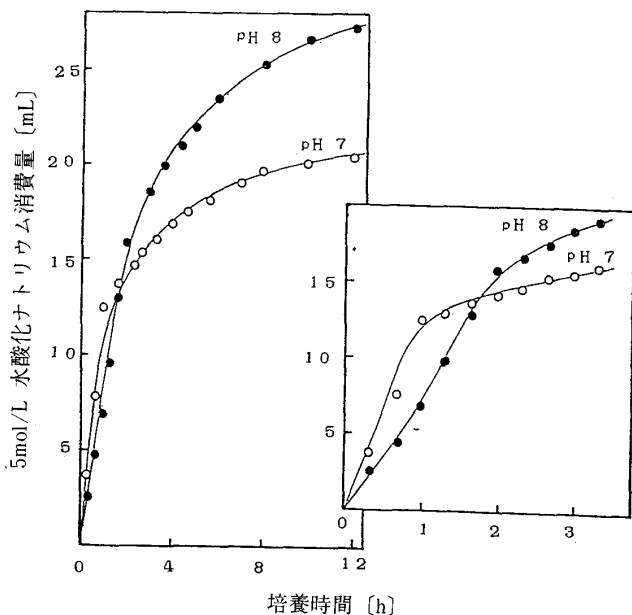


図2 水酸化ナトリウム消費量の経時変化 (D = 1 day⁻¹)

新鮮培地を注入した直後は、pH 7の場合の方が水酸化ナトリウム消費量が大きいですが、新鮮培地注入後約2時間後に逆転し、最終的にはpH 7の場合の消費量20.5mLに対し、pH 8の場合の消費量27.3mLと大きくなった。同様の現象が他の希釈率においても見受けられ、新鮮培地注入後2時間前後で水酸化ナトリウム消費量が逆転した。

また、希釈率1 day⁻¹において、新鮮培地注入直後、1時間後および採取時の培養液中の酢酸、プロピオン酸、酪酸およびグルコースの濃度を測定した。その結果を表. 3に示す。

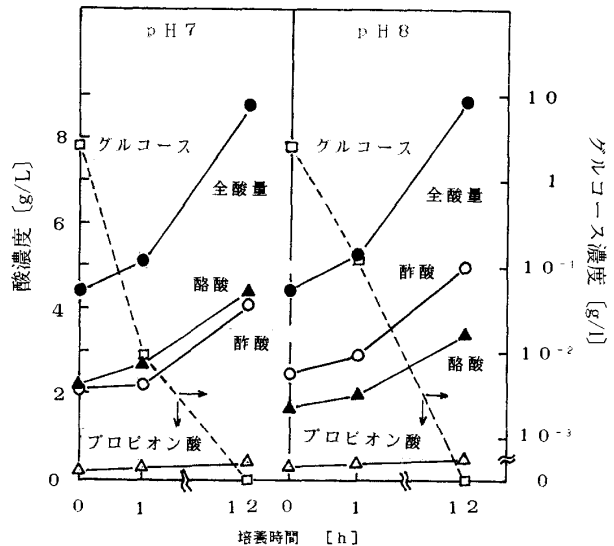


図3 培養中の有機酸およびグルコースの経時変化

なお、培地注入直後の酸濃度は採取培地中の酸濃度の1/2とし、培地注入直後のグルコース濃度は新鮮培地中のグルコース濃度の1/2とした。その結果、新鮮培地注入後は、pH 7および8ともに、醋酸を除いた有機酸量は0.8~0.9g/Lと低く、グルコースの分解が主であるが、pH 7の場合のグルコース濃度はpH 8の場合のそれと比較すると10倍以上希薄であった。このことと前述した水酸化ナトリウム消費量の経時変化より、pH 7で制御した場合と比較して、pH 8で制御した場合の酸生成相の培養においてはグルコースの分解とともにそれ以外の物質(みかんに多量に含まれているペクチンなど)の分解、可溶化が同時に進行し、分析した有機酸以外の有機酸をより多く生成していると推測される。このことより、温州みかん搾汁果皮を基質とした酸生成相の最適pHが8である一因と考えられる。しかしながら、ペクチンなどを基質とした場合の酸生成相の培養実験、新鮮培地注入後の有機酸生成量およびグルコース消費量の経時変化などを検討する必要がある。

しかしながら、柏木らの報告¹²⁾と比較すると、生成した有機酸量および希釈率による影響が異なった。これは柏木らの場合、培養液全量が1800mLに対して採取量が600mLであったのに対し、本実験においては培養液全量が1000mLに対して採取量が500mLと採取割合が大きかったために、酸生成相にとって環境の変動が大きく、酸生成菌がダメージを受けたためと考えられ、より小さな採取割合で培養を行う必要がある。

4. まとめ

温州みかん搾汁果皮を基質とした酸生成相の培養における実験を行ったところ、次の結果が得られた。

- 1) 水酸化ナトリウム消費量の経時変化より、pH 7とpH 8に差があり、特に新鮮培地注入直後の消費速度と最終的な消費量が異なった。
- 2) 新鮮培地注入して1時間後の培地組成の分析結果より、最適pHが8と言われている理由として、グルコース以外の物質、例えばペクチンなどの可溶化が行われていることが推測できた。

5. 謝辞

本実験に協力していただいた本校卒業生岡崎弘、福浦普章両氏に深謝いたします。

6. 参考文献

- 1) C.N.Sawyer, P.L.McCarty : Chemistry for Sanitary Engineers (2nd ed) McGraw-Hill (1967)
- 2) W.E.Treveyan : Tropical Sci., 17, 193 (1975)
- 3) H.O.Buhr, J.F.Andrews : Water Res., 11, 129 (1977)
- 4) F.G.Pohland, S.Ghosh : Biotechnol. Bioeng. Symo., 2, 85 (1977)
- 5) P.G.Thiel, D.F.Toerien, W.H.L.Hatting : Water Res., 2, 391 (1968)
- 6) S.Ghosh, F.G.Pohland : J. Water Pollut. Contr. Fed., 46, 748 (1974)
- 7) 柏木 亨, 木村精二, 有村一雄, 諸木保彦: 山口県商工指導センター研究報告, 14, 83 (1982)
- 8) S.Ghosh, J.R.Conrad, D.L.Klass : J. Water Pollut. Contr. Fed., 47, 1, 30 (1975)
- 9) 遠藤銀朗, 野池達也, 松本順一郎: 土木学会論文報告集, 325, 81 (1982)
- 10) L.Torre, G.Goma : Biotechnol. Bioeng., 23, 185 (1981)
- 11) N.Nishio, S.Kitaura, S.Nagai : J. Ferment. Technol., 50, 423 (1982)
- 12) 柏木 亨, 椎木幹夫, 佐伯明比古, 有富和生, 有村一雄, 友永文昭, 木村精二, 矢野太陸, 諸木保彦: 山口県商工指導センター研究報告, 15, 44 (1983)
- 13) S.J.Pirt : Principle of Microbe and Cellcultivation, 134, Blackweii Scientific Publ., Oxford London (1975)
- 14) E.Lang, H.Lang : Z. Anal. Chem., 260, 8 (1972)
(昭和63年9月20日受理)