

## 都市が産出する固形有機性廃棄物の総合管理と 水素発酵を利用した資源回収

### Recovery of Resource from Organic Fraction of Municipal Solid Waste using Hydrogen Fermentation and its Management

○野池達也\*, 宮原高志\*, 水野 修\*, 熊谷幸博\*\*, 海田輝之\*\*\*, 中村玄正\*\*\*\*

○Tatsuya NOIKE, Takashi MIYAHARA, Osamu MIZUNO,  
Yukihiro KUMAGAI, Teruyuki UMITA, Michimasa NAKAMURA

\*東北大学大学院工学研究科, \*\*東北大学工学部,

\*\*\*岩手大学工学部, \*\*\*\*日本大学工学部

Tohoku University, Iwate University and Nihon University

Although carbohydrate was rapidly consumed during hydrogen fermentation, no decomposition of soluble protein was observed. Hydrogen-producing microflora easily decomposed soluble carbohydrate of 46,000 molecular weight. Hydrogen yields of bean curd manufacturing waste, rice bran and wheat bran were 2.54, 1.29 and 1.73 mol H<sub>2</sub>/mol hexose, respectively. Volatile fatty acids and alcohols were produced as the by-products from decomposition of substrate. Acetate, butyrate, ethanol, 2-propanol and 2-pentanol were the main substances. The optimum conditions for hydrogen production rate were pH of 5.0, HRT of 12 hour, COD loading rate of 26.2kgCOD/m<sup>3</sup>/day. It was confirmed that the indigenous iron-oxidizing bacteria existed in anaerobically digested sewage sludge. The oxidation activities of ferrous iron of the indigenous iron-oxidizing bacteria and the pure species, *Thiobacillus ferrooxidans*, were nearly equal. The inoculation of the iron-oxidizing bacteria accelerated the elution rate of Cu from copper sulfide and sewage sludge. It was concluded that the indigenous iron-oxidizing bacteria existing in sewage sludge has an important role to remove heavy metals from the sludge effectively.

#### 1. 研究目的

近年、廃棄物処分場の不足から都市活動で発生する全ての廃棄物に対して減量化・再資源化が求められており、その中でも産業廃棄物の約5割を占めている汚泥は人間の活動に伴って必ず発生するものであることから、その減量化法および再資源化法を確立することによる全廃棄物発生量の減量に与える効果は計り知れない。

1970年代、世界経済がエネルギー危機に直面した結果、水素ガス（以後水素と略す）は化石燃料に替わるエネルギーとして注目され、その利用研究が盛んになった[1]。当時は、水素を燃料とした場合には大気汚染物質が発生しないという点が評価された。1990年代になると新たに地球温暖化の問題が浮上してきたため、燃焼の際に二酸化炭素を発生しない水素は、理想的なエネルギー源であるとして再び脚光を浴びるようになった。水素は将来における化石燃料の代替エネルギーとしての選択のひとつであると言える。しかし、現状では、生産費用の低い水素を安定して供給するシステムは十分に確立されていない。水素を使用する燃料電池自動車など利用側の技術のみが急速に発展しているが、供給側の技術が遅れ気味になっていると思われる。

水素は水の電気分解によって生成されるが、微生物の代謝過程から回収することも可能である。この

方法では、水素生産に大きなエネルギーを必要としないため、経済的な方法のひとつとして研究が進められている。その中でも嫌気性非光合成細菌は増殖に光を必要としないため、水素の連続生産が行えるという利点を持っている。

微生物を用いた水素生成に関する研究は、純粹培養細菌およびグルコースなどの純物質を用いた研究が進められてきた。Clostridium 属の細菌を用いた場合、水素は従来のアセトン-ブタノール発酵の代謝産物のひとつとして回収することになるが、水素回収を目的とするため、アセトン-ブタノール発酵とは逆に、溶媒生成経路を停止させ、水素生成経路を優先させる必要がある。このような視点から、pH、温度、滞留時間などの培養条件に関して研究が進められている[2]。最近では、実廃水および有機性廃棄物からの水素回収も研究されるようになってきた。Roychowdhuryらは、混合培養細菌および純粹培養細菌を用いて、いくつかの有機性廃棄物からの水素回収を報告している[3]。水野らは、豆腐製造工程から大量に発生する「おから」の分解過程から水素を回収することが可能であると報告している[4]。以上のように有機性廃棄物からの水素回収が可能であることが明らかになってきているが混合培養系での研究は少ない。これは一般に嫌気性消化法の最終生成物がメタンであり、水素発酵法を担

う細菌は嫌気性消化法を担う細菌と同様に嫌気性細菌であることから、通常の運転方法で行った場合、メタンも生成することになり水素のみを選択的に生成させることが困難となるためである。

現在、下水汚泥の30%程度が建設資材や肥料として再利用されているが、安全性や経済性の問題からその利用は停滞しているのが現状である。本研究で想定している水素発酵プロセスから排出される汚泥も下水汚泥に極めて類似した性状であり、有機物や窒素、リン等を含むことから、その肥料化による再利用法が確立されることは廃棄物の減量化という観点からも極めて意義がある。しかし、下水汚泥と同様に重金属を含有するであろうことが利用の妨げになると予想される。従って、緑農地への水素発酵汚泥投入による土壌や地下水の重金属汚染を未然に防ぐために、水素発酵汚泥中の重金属濃度を低減させる必要がある。

下水汚泥からの重金属の除去方法として、酸、酸化剤またはキレート剤を添加して重金属を溶出させる化学的方法や、鉄酸化細菌あるいは硫黄酸化細菌を利用した生物学的的方法 [5] が提案されており、下水汚泥中の Cd、Ni 及び Zn は汚泥の pH を 2 程度まで低下させることにより比較的高い溶出率が得られるが、Cu の大部分は硫化物態で存在し、pH を低下させただけでは溶出しにくく、鉄酸化細菌の利用によって溶出が促進されることが明らかになっている [5]。

以上のことから本研究では、水素発酵法を利用して廃棄物から水素を直接生成することで、燃料電池を利用した廃棄物からの新しいエネルギー回収方法の確立を目指すものであり、そこでの副生成物である汚泥は、重金属を鉄酸化細菌を用いて溶出・除去することで肥料として資源化する有機性廃棄物の高効率利用プロセスの検討を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 水素発酵における有機性廃棄物の分解特性

実験に用いた水素生成汚泥は、水素爆発を起こした大豆サイロ) から採取してスクロース (18g/L) と栄養塩で嫌気培養したものである。回分実験時の水素生成汚泥のバイオマス濃度は 1630mg/L であった。連続培養においてメタンは検出されなかった。実験に用いたおから、米糠および小麦ふすまの含水率はそれぞれ 77%, 11%, 12% であった。回分実験に用いた懸濁液は、VS 量で 210g の有機性廃棄物に蒸留水を加えて 4L として十分に攪拌し、濾布で濾して短時間で分解されない粗大成分を除去して調整した。炭水化物/蛋白質比で比較すると、おからでは蛋白質の割合が高いが、米糠および小麦ふすまでは炭水化物の割合が高くなっている。回分実験には反応槽として容量 1200mL のバイアルを用いた。ブチルゴム栓部に液体サンプリングチューブ、ガスサンプリングチューブおよびガスコレクターを接続

した。発生したガスは、酸性飽和食塩水による水上置換で捕集した。以上のような反応槽に、前述の懸濁液 750mL、水素生成汚泥 250mL および  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  142mg を酸素を除いた窒素の気流下において嫌気的に封入した。回分反応槽は、35℃の恒温槽内に設置して培養した。

### 2.2 酸生成細菌の阻害方法—水素発酵に及ぼす pH および HRT の影響について

種汚泥は M 乳業工業より提供して頂いた活性汚泥に複合基質を半連続的に投与し、35±1℃、HRT2.2 日で約 3 ヶ月間培養を行い、その後ケモスタット型反応槽に移し複合基質を HRT1.0 日で約 1 ヶ月間投入したものである。pH の影響では、反応槽の pH を 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 の 5 段階に設定し、水理学的滞留時間(HRT)は、メタン生成菌の限界滞留時間である 10 時間に設定した。また、HRT の影響では、反応槽の HRT を 8、10、12、16、24hour の 6 段階に設定した。

### 2.3 下水汚泥中に生息する鉄酸化細菌による下水汚泥からの重金属の除去

下水汚泥から分離した鉄酸化活性を持つ細菌と、*Thiobacillus ferrooxidans* について鉄酸化活性の比較を行った。以降、前者を細菌 A、後者を細菌 B と称する。それぞれの細菌を 9K 培地に植種した後、Fe(II)濃度を経日的に測定し、Fe(II)濃度が 100mg/l 以下になった時点で培養を止め、それぞれの細菌懸濁液 500ml をろ紙 No.1 でろ過し、ろ液を細菌植種液とした。9K 培地の栄養塩のみを含む液を Fe(II)濃度として 50、100、200、400、800、1600mg/l となるように調整し、さらに初期 pH を 2 に調整した。乾熱滅菌した振とうフラスコにこの培地を 400ml ずつ分取し、細菌 A 及び B の植種液を 25ml ずつ添加し、25℃、120 回/分で振とう培養した。

次に乾熱滅菌した振とうフラスコを用いて、9K 培地の栄養塩を 1/10 の濃度で含む溶液に、Run1~6 では金属硫化物の試薬 (CuS、CdS、ZnS) をそれぞれ 200mg/l となるように添加した。Run1、3、5 には鉄酸化細菌による硫黄酸化の阻害剤として NEM (N-エチルマレイミド) を  $10^{-3}\text{M}$  となるように添加し、Run2、4、6 には下水汚泥から分離した鉄酸化細菌の植種液を 20ml ずつ植種した。NEM あるいは植種液を添加後、25℃の恒温室内において 120 回/分で振とうを行った。実験期間中 pH は 3.00 ± 0.05 に保たれた。

次に乾熱滅菌した振とうフラスコに、固形物濃度が 2% になるように蒸留水と下水消化脱水汚泥を添加した。Run1 には鉄酸化細菌の阻害剤として NEM を  $10^{-3}\text{M}$  となるように添加し、Run2~6 には下水汚泥から分離した鉄酸化細菌を植種した。また、Run3~6 には、硫酸第一鉄を Fe の濃度としてそれぞれ 0.5、1.0、2.0、5.0g/l となるように添加し、

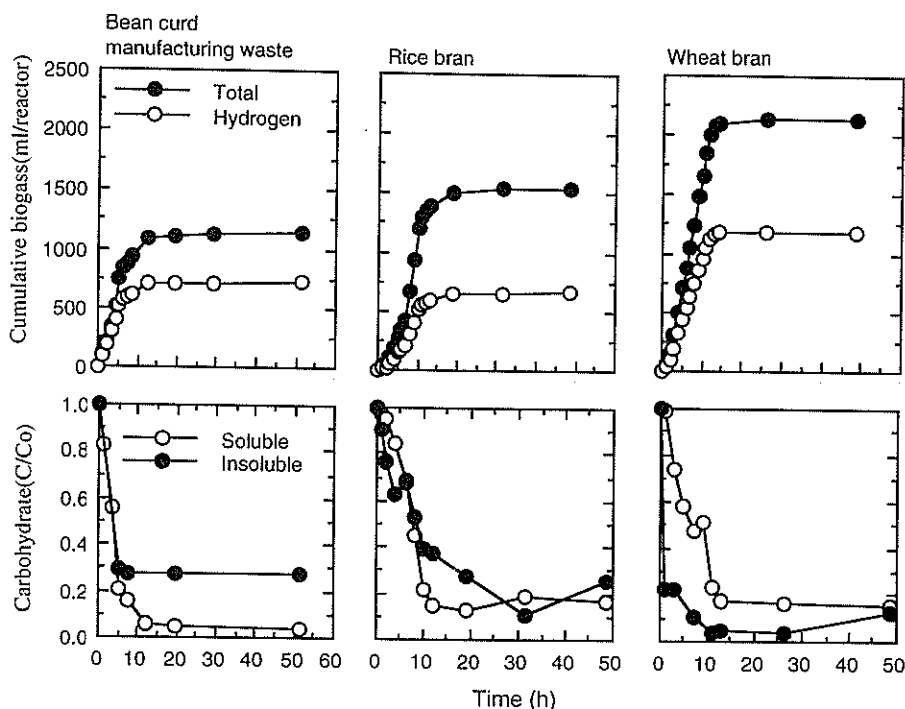


図1 各種廃棄物の水素生成特性および炭水化物分解特性

Run1 及び Run2 には硫酸第一鉄を添加しなかった。25℃の恒温室内において120回/分で振とうを行い、硫酸または水酸化ナトリウムを用いて、pHを実験期間中3に保った。

### 3. 研究成果

図1に各懸濁液からの累積ガスおよび累積水素生成量、全炭水化物および溶解性炭水化物の濃度変化を示す。いずれの懸濁液においても、実験開始直後から水素の生成が観察された。生成ガス中の水素の割合は、培養終了の時点において、おから(63%)、米糠(44%)および小麦ふすま(54%)であった。生成したガスは水素と二酸化炭素であり、メタンは検出されなかった。非溶解性および溶解性炭水化物の分解は速やかに進み、いずれの懸濁液においても実験開始から10時間程度で分解が終了した。炭水化物の消費が停止すると、ほぼ同時にガスおよび水素生成も停止した。培養終了時のpHは、おから(4.4)、米糠(4.7)、小麦ふすま(4.5)であった。

いずれの懸濁液においても、水素生成の主な有機物質は炭水化物であった。溶解性蛋白質はほとんど分解されず、水素生成の基質として利用されなかったと考えられる。水素収率は、消費された炭水化物をヘキソースに換算して算出した場合、おから(2.54 mol H<sub>2</sub>/mol hexose)、米糠(1.29 mol H<sub>2</sub>/mol hexose)および小麦ふすま(1.73 mol H<sub>2</sub>/mol hexose)であり、おからの水素収率が高かった。溶

解性炭水化物の分子量は、いずれの懸濁液においても約46,000であった。本研究で用いた水素生成汚泥は、分子量の大きな炭水化物であっても速やかに分解して水素を生成することが明らかになった。有機物質の分解から生成する代謝産物は、懸濁液によって異なっていた。揮発性脂肪酸では、酢酸およびn-酪酸が主な代謝産物であり、プロピオン酸およびi-酪酸はいずれの懸濁液においても低濃度であった。おからおよび米糠ではエタノールが、小麦ふすまでは2-ペンタノールが大量に生成した。

図2に各pHにおける水素収率を示す。pH4.5~6.5において水素収率はpH5.0で最大であった。図3は水素収率およびHRTの影響を示す。水素ガス割合は、HRT8,10hourでやや低く40%前後であり、HRT6,12~24hourで45.5~46.8%であった。この水素ガス割合から水素収率を計算した結果、HRT12hourで最大値を示した。また、CODcr容積負荷が26.2kgCODcr/m<sup>3</sup>·dayのとき比水素生成速度が最も高い値を示した。

溶液中のFe(II)の減少量が、細菌によるFe(III)の生成量と等しいものとして、それぞれの細菌について各S<sub>0</sub>に対するFe(III)の初期比生成速度 $\nu$ を求めた。S<sub>0</sub>の逆数と $\nu$ の逆数をLineweaver-Burkプロットした。これより細菌A及びBの鉄酸化活性はMichaelis-Menten型に従い、細菌Aについては、K<sub>m</sub> = 193 (mg/l) 及び V<sub>max</sub> = 3.236 × 10<sup>-10</sup> (mgFe(III)/hr/cell)、同様に細菌Bについては、

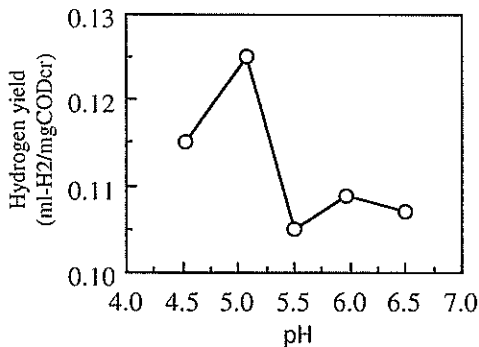
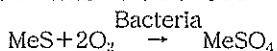


図2 水素収率に及ぼすpHの影響

$K_m = 181$  (mg/l) 及び  $V_{max} = 3.390 \times 10^{-10}$  (mgFe(III)/hr/cell) となった。両細菌の Michaelis 定数  $K_m$  及び最大反応速度  $V_{max}$  の値が近いことから、両細菌はほぼ同等の鉄酸化活性を持つことが分かった。

Run1, Run2 共に実験開始直後に約 30mg/l の Cu の溶出が見られたが、接種液を添加しない Run1 ではその後 Cu の溶出は見られなかった。しかし、接種液を添加した Run2 では徐々に Cu が溶出した。これは、添加した細菌が直接に CuS を酸化したためと考えられる。鉄酸化細菌による金属硫化物の直接的な酸化は、次式で表される。



Cd では Run3, Run4 共に溶出は見られず、細菌が CdS に対して酸化活性を持たないことが明らかになった。また、ZnS では接種液を添加した Run6 のみ溶出が見られた。

下水汚泥を用いた実験においては、Fe(II)を添加せず鉄酸化細菌のみを添加した Run2 が、両方を添加しない Run1 よりも Cu 溶出率が高くなった。これは、(1)添加した細菌が下水汚泥中に硫化物として存在する Cu を直接的に酸化したため、(2)添加した細菌が汚泥から溶出した Fe(II)を酸化し、それに伴い生じた Fe(III)が酸化剤として働いたため、という 2 つの機構が考えられる。この 2 つの機構を明確に分離することは難しいが、鉄酸化細菌の添加のみで Cu が効果的に溶出することが示された。一方、Fe(II)を添加した Run3~6 ではさらに溶出率が高くなったが、Run4, 5, 6 では Cu の溶出率が殆ど変わらないことから、pH が 3 の場合は Fe(II)の添加量は 1.0g/l で十分であることが示された。

#### 4. 今後の課題と展望

本研究で用いた水素生成汚泥を使用して、炭水化物および蛋白質を含んだ廃水から水素を回収する場合、炭水化物は分解されて水素、有機酸およびアルコールが生成するが、蛋白質はほとんど利用されずに流出水中に残留することが予想される。水素生成汚泥は混合培養であるが、得られた結果を考慮する

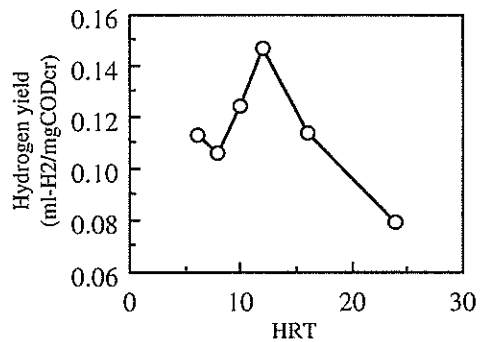


図3 水素収率に及ぼすHRTの影響

と、炭水化物だけでなく蛋白質を含んだ廃水から水素を回収する場合には、蛋白質を分解する細菌も共生させることが廃水処理と言う観点から必要であると考えられる。また、メタン生成細菌による生成した水素の消費を防ぐため本研究ではメタン生成細菌の存在しない微生物群を種汚泥として選んだが、最も大量に入手できる嫌気性微生物群は嫌気性消化槽の汚泥であることから、今後、そのような汚泥からのメタン生成細菌の効果的な除去方法についての研究を行っていく予定である。

#### 参考文献

- [1] Bockris, J.O`M.: Hydrogen economy, Science, 176, 1323, 1972.
- [2] 神戸宏, 中村玄正, 松本順一郎: 嫌気性処理におけるグルコースの酸生成分解過程と細菌群に関する基礎的研究-温度の影響, 下水道協会誌論文集, 29, 22-30, 1992.
- [3] Roychowdhury, S., Cox, D. and Levandowsky, M.: Production of hydrogen by microbial fermentation, International Journal of Hydrogen Energy, 13, 407-410, 1988.
- [4] 水野修, 大原健史, 野池達也: 嫌気性細菌による食品加工廃棄物からの水素生成, 土木学会論文集, No.552/VII-1, 33-41, 1997.
- [5] 伊藤歩, 海田輝之, 相沢治郎, 斎藤紀子, 大村達夫, 下水汚泥からの重金属の溶出除去に関する研究-汚泥滞留時間の影響及び Cu の溶出機構-環境工学研究論文集, Vol. 33, pp. 1-9, 1996. 発表論文リスト
- [6] 水野修, 大原健史, 新谷真史, 野池達也: 水素発酵における有機性廃棄物の分解特性, 環境工学研究論文集, Vol. 36, 印刷中, 1999.
- [7] 北田久美子, 伊藤歩, 相澤治郎, 海田輝之: 下水汚泥中に生息する鉄酸化細菌による下水汚泥からの重金属の除去, 環境工学研究論文集, Vol. 36, 印刷中, 1999.