

日本土壤肥料学会2014年度東京大会

2-1-8

2014 9/9 11:00～ D

乾式および湿式メタン発酵による 乳牛ふん尿の分解過程における 脂肪酸組成の変化

筒木 潔 (帯広畜産大学)

保井聖一 廣永行亮 河原畑正也 塩飽宏輔 (株式会社ズコーシャ)

研究発表の経過

- * バイオガスおよび揮発性脂肪酸の生成量

日本土壌肥料学会2013年度名古屋大会

- * 第2報：近似分析および元素分析

日本土壌肥料学会北海道支部2013年度秋季大会

- * 第3報：腐植組成

日本腐植物質学会2013年度佐賀大会

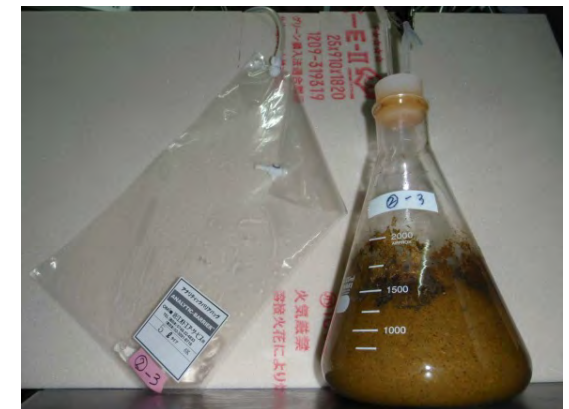
試験方法

1. 試験区 (3反復: バッチ式)

試験区	発酵温度	原料水分
① 中温・湿式	38°C	>90%
② 中温・乾式	38°C	<85%
③ 高温・湿式	55°C	>90%
④ 高温・乾式	55°C	<85%

2. 原料投入割合

乳牛ふん尿8 : 種汚泥(消化液)2



3. サンプルング

試験開始: 平成24年9月24日

試料採取: 0、3、5、8、15、30、45、60、90日後

脂質画分エーテル抽出の方法

メタン発酵残渣（凍結乾燥後）1 g

エーテル 30 mL
室温で24時間抽出

ガラスフィルター(G2)で
ろ過

エーテル 15 mLで
2回洗浄

残渣

抽出液

乾燥・秤量

濃縮・乾固 秤量
クロロホルム:メタノールで10 mLに
定容

近似分析:
熱水抽出、リグニン成分、
ヘミセルロース、セルロース

脂肪酸分析

エーテル抽出画分のメチル化法

- * **脂質画分抽出液** 10mLから1mLを窒素ガスで乾固。
 - トルエン 0.2 mL 添加
 - メタノール 1 mL 添加
 - ヘプタデカン(nC17)酸(内部標準) 10 μ g 添加
 - 1 N HCl メタノール 0.6 mL 添加
- * 密栓し、オーブン中**45 °C**で**18時間保温静置**
 - 水1mLとエーテル2mLを添加、密栓して混合
 - 上部のエーテル相を採取し、エーテル2mLで再抽出
 - エーテル抽出部を窒素ガスで乾固
- * **ヘキサン**100 μ Lに溶解
 - 1 μ Lを**キャピラリーガスクロ分析**

メタン発酵残渣の直接メチル化法

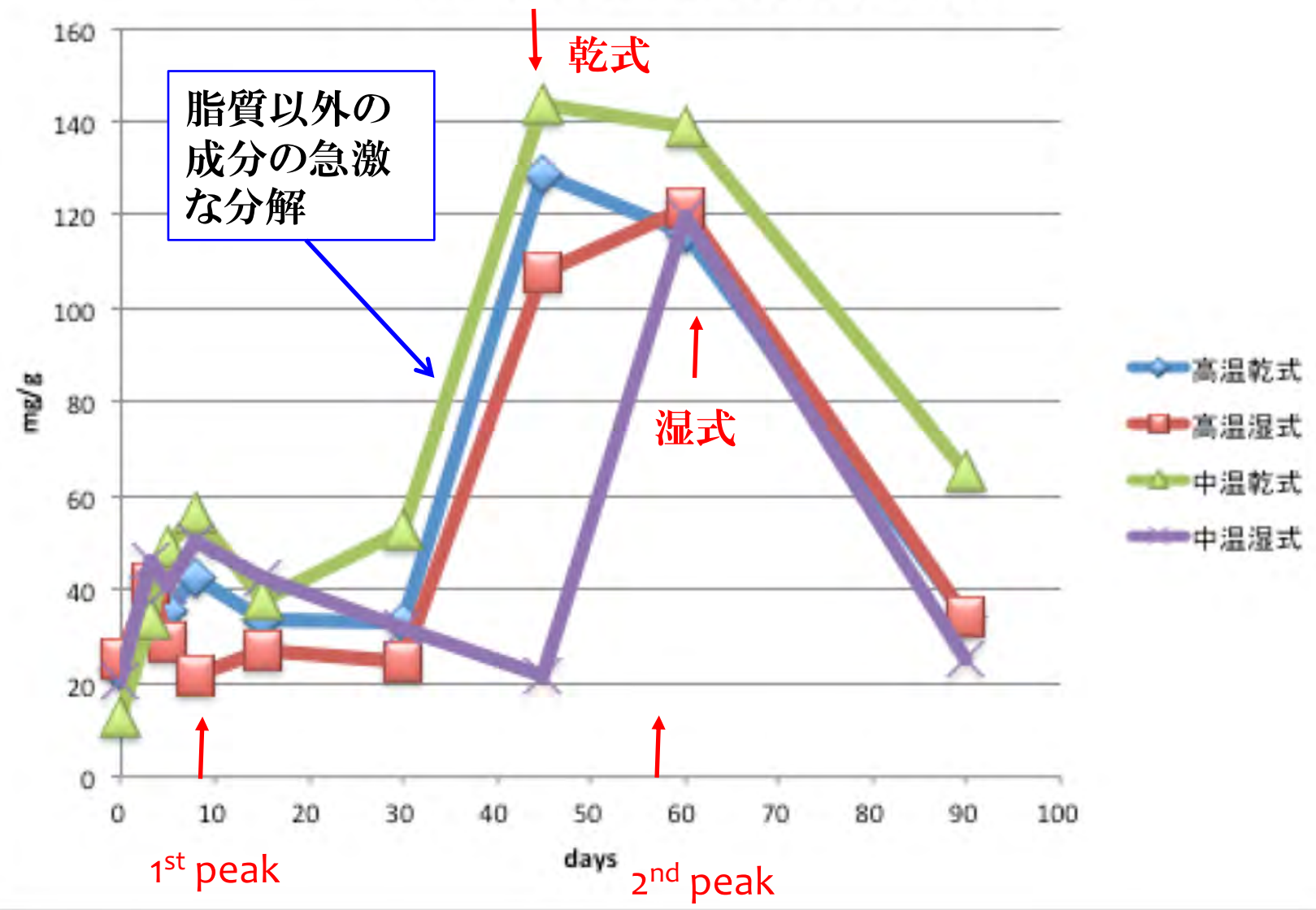
- * **メタン発酵残渣(凍結乾燥物)** 100 mgをとる。
 - トルエン 0.2 mL
 - メタノール 1.0 mL
 - ヘプタデカン(nC₁₇)酸(内部標準) 10 µg 添加
 - 1 N HCl メタノール 1.0 mL 添加
- * 密栓し、オーブン中**45 °C**で**18時間保温静置**
 - 水1mLと**ヘキサン**2mLを添加し、遠心分離
 - 上澄み 2mLをパスツールピペットで採取
 - 窒素ガスで**乾固**
- * **ヘキサン**100µl に溶解
 - 1 µLを**キャピラリーガスクロ分析**

キャピラリーガスクロの方法

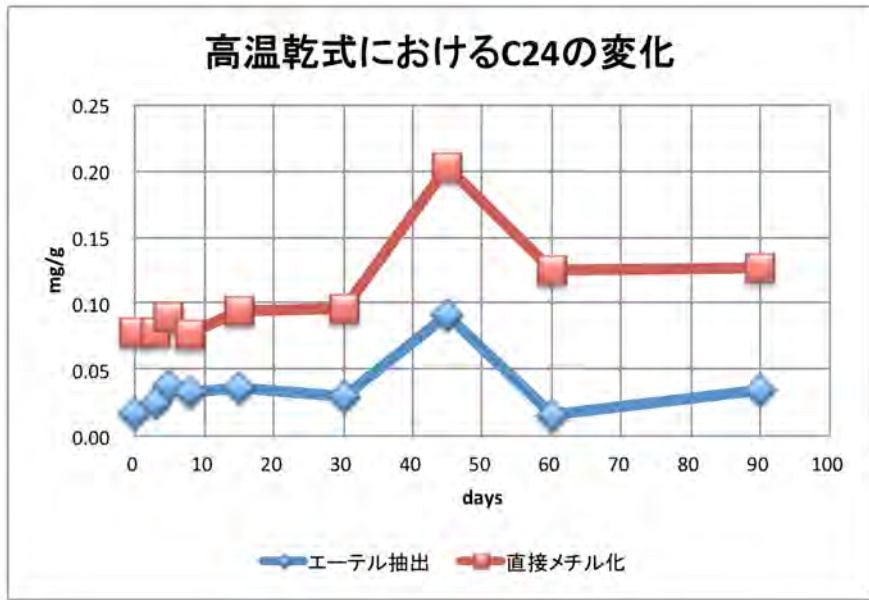
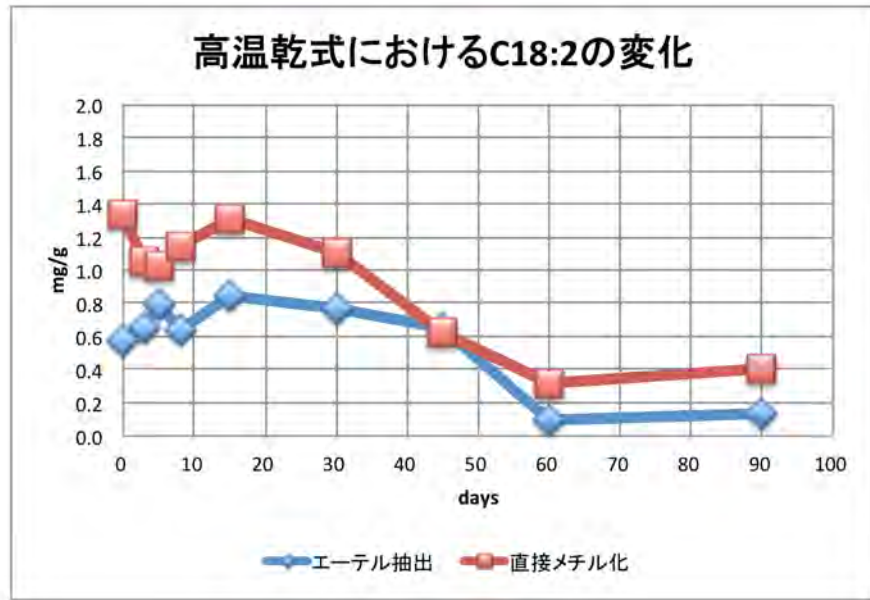
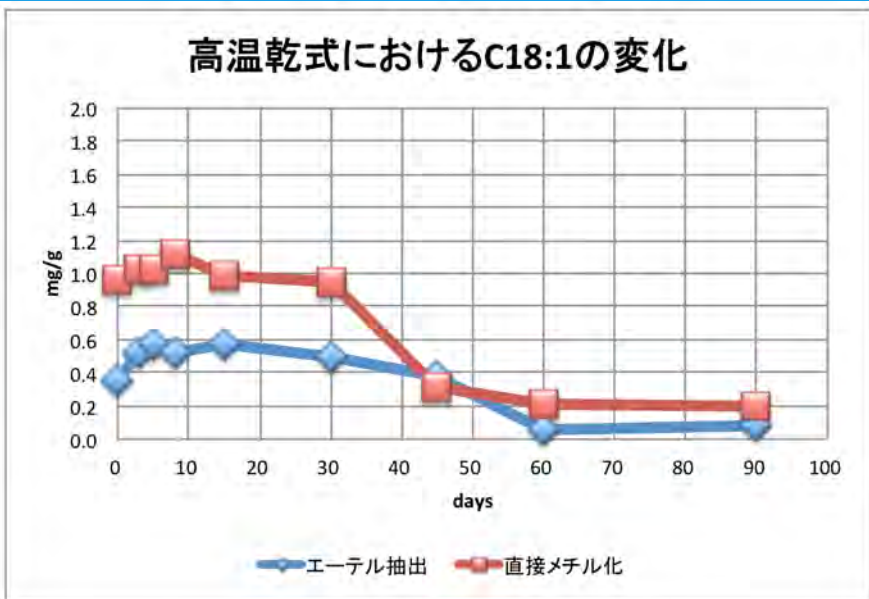
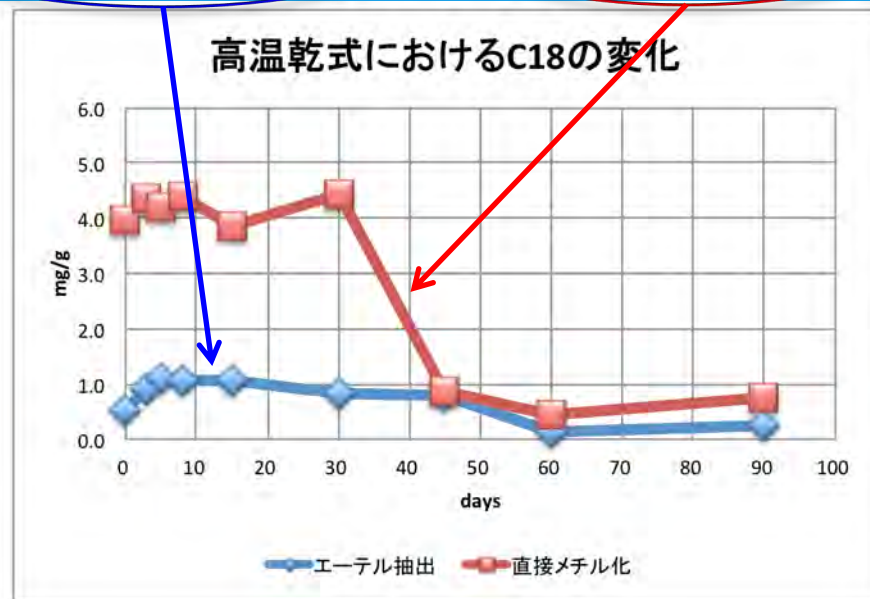
- * カラム: ULBON HR-SS-10 (信和化工)
内径0.25mm × 50m
- * カラム温度: 150°C → 220°C (3°C/min)
- * Injector, Detector温度: 250 °C
- * キャリヤーガス: ヘリウム
- * 注入口圧力: 250 kPa



エーテル抽出脂質含有率 (mg/g)



エーテル抽出法と直接メチル化法における各種脂肪酸収量の変化



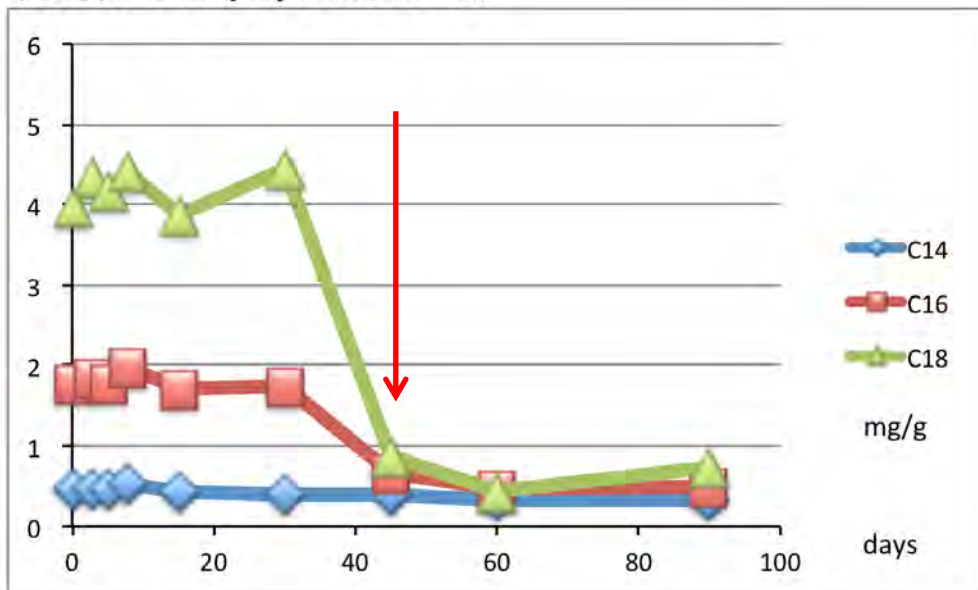
高温乾式発酵における比較

脂質および脂肪酸の収率

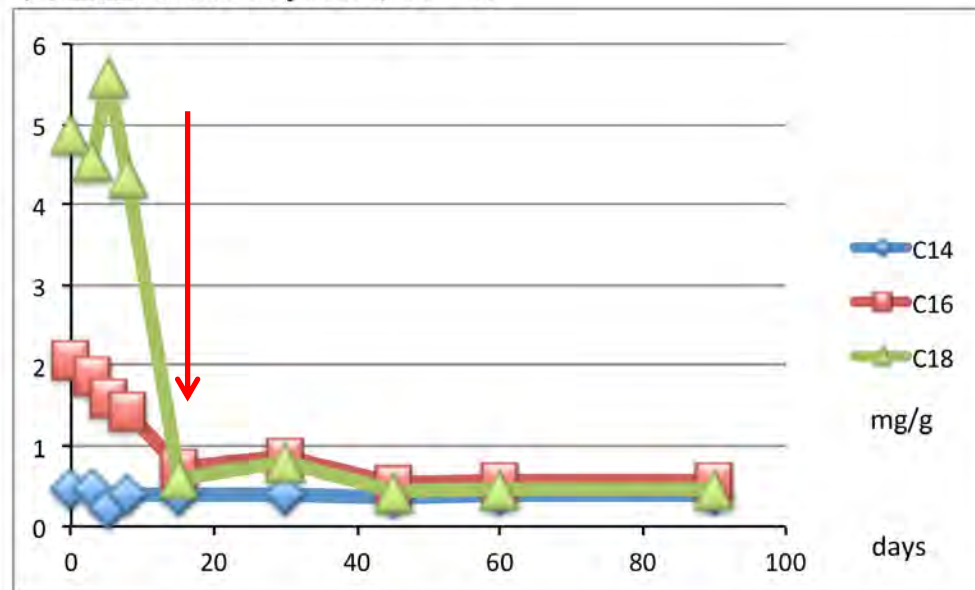
- * **エーテル抽出脂質**は45～60日目にピークに達した。乾式の方が湿式よりも早かった。
- * 発酵初期と後半に**2つの生成ピーク**が認められ、易分解性と難分解性植物成分の分解を反映した。
- * **直接メチル化とエーテル抽出メチル化**の場合で脂肪酸の消長パターンは良く似ていたが、脂肪酸の検出量は、直接メチル化の方が著しく高かった。

C14-C18 飽和脂肪酸の変化

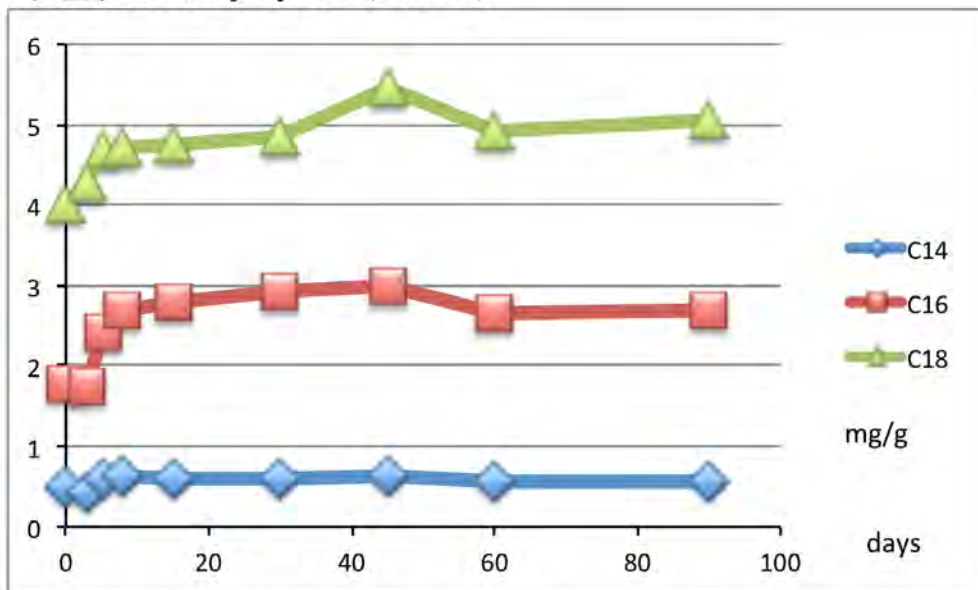
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



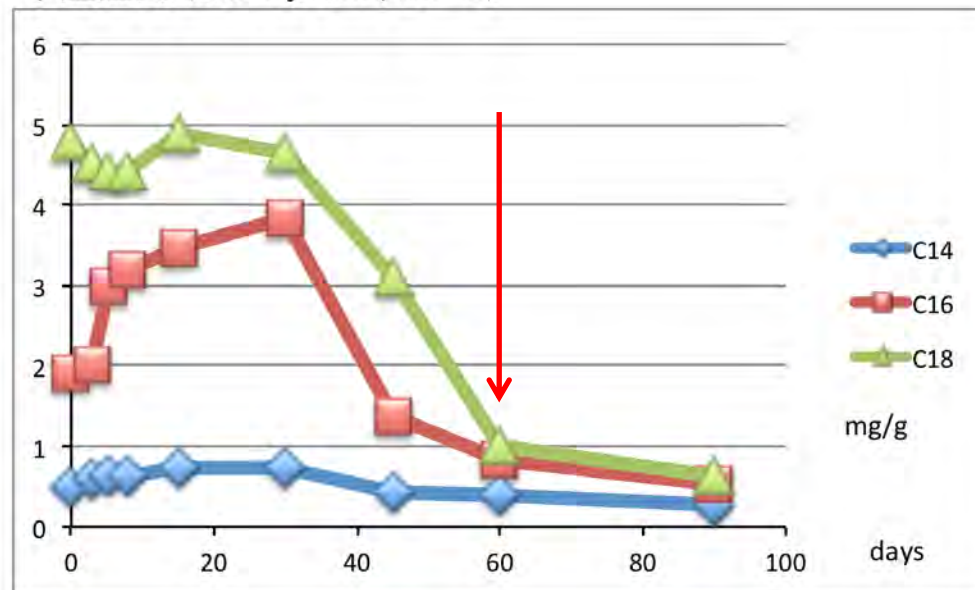
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



中温湿式 (Wet system, 38 °C)



各種バイオガス発酵様式におけるC14-18飽和脂肪酸の経時変化(直接メチル化法)

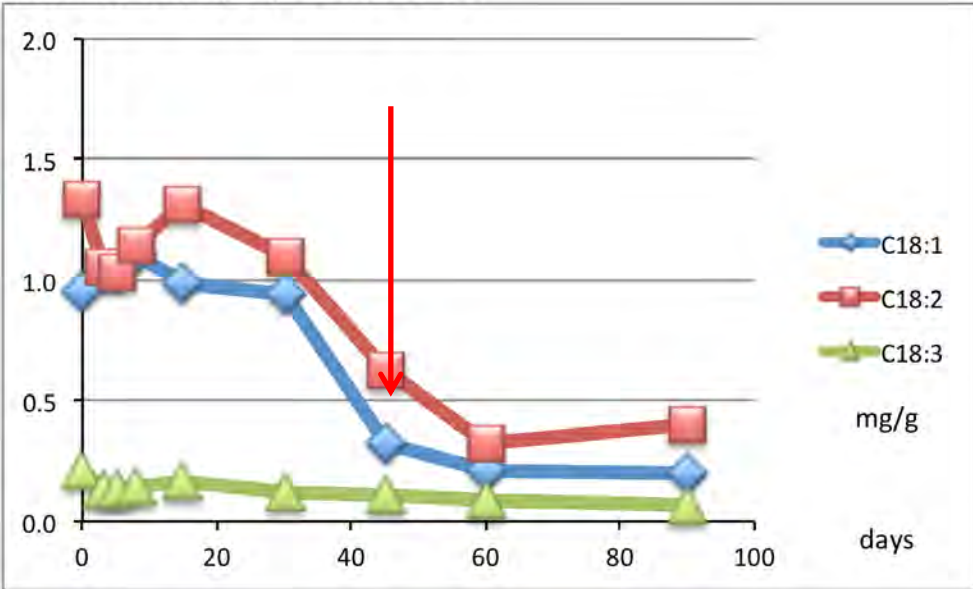
直接メチル化法

C14～18飽和脂肪酸の消長

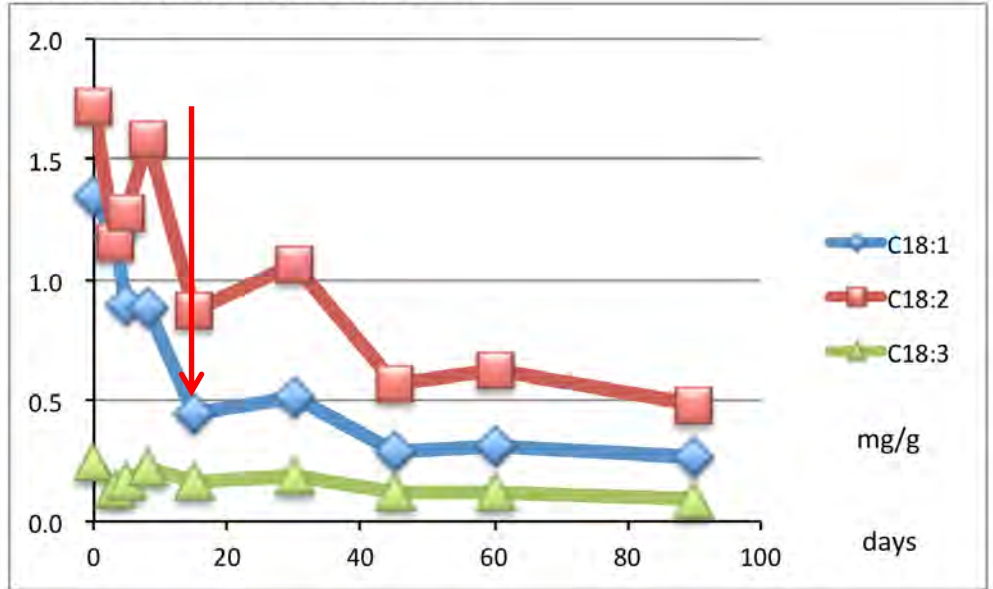
- * C14～18飽和脂肪酸は発酵過程の前半に多く、発酵中頃に急激に減少した。
- * 発酵様式別では、高温湿式＞高温乾式＞中温湿式の順に早く減少した。
- * 中温乾式ではC14～18飽和脂肪酸は最後(90日目)まで高い濃度が維持された。

C18 不飽和脂肪酸の変化

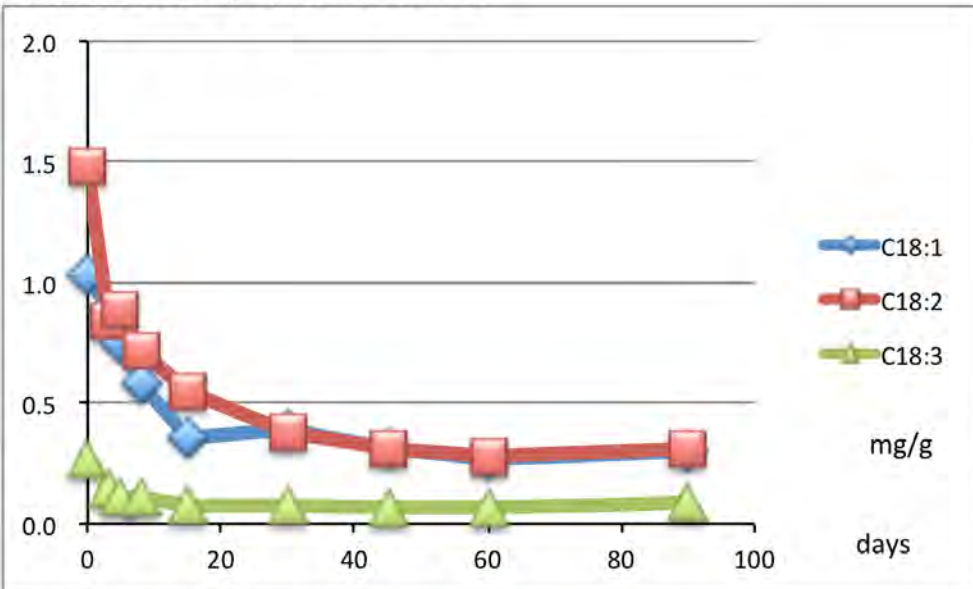
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



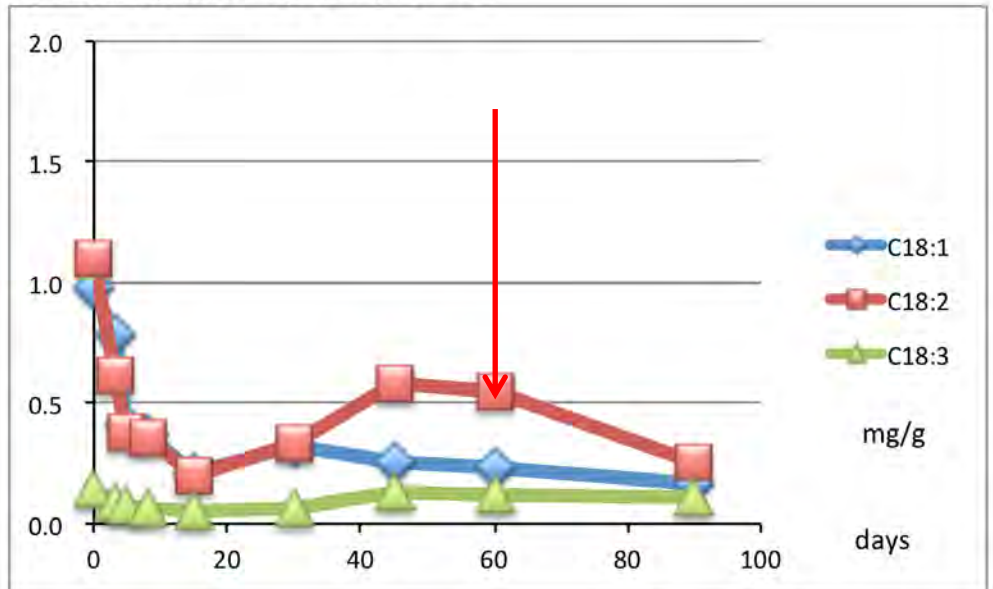
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



中温湿式 (Wet system, 38 °C)



各種バイオガス発酵様式におけるC18不飽和脂肪酸の経時変化(直接メチル化法)

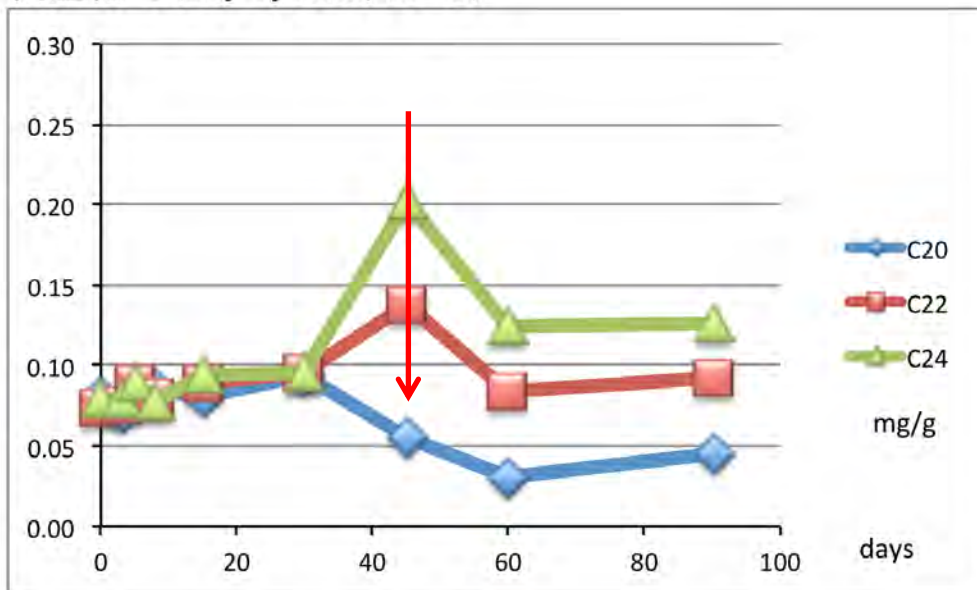
直接メチル化法

C18不飽和脂肪酸の消長

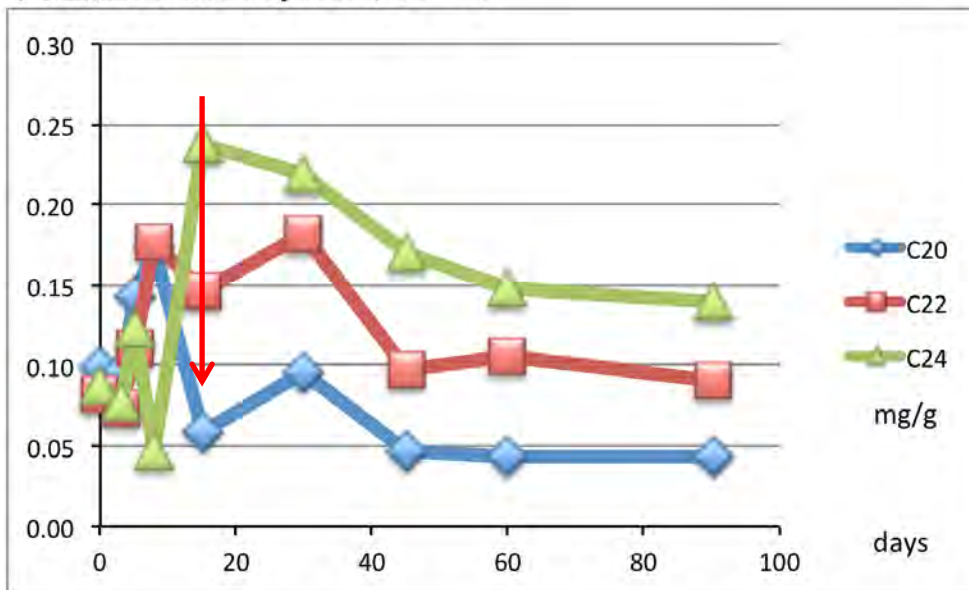
- * **C18不飽和脂肪酸**は、C18飽和脂肪酸と同様に発酵過程の前半に多かったが、中頃から後半で再び増加する場合があった。
- * **C18不飽和脂肪酸**は、C14-C18飽和脂肪酸の分解が停滞した中温乾式においても単調に減少した。

C20-C24 飽和長鎖飽和脂肪酸の変化

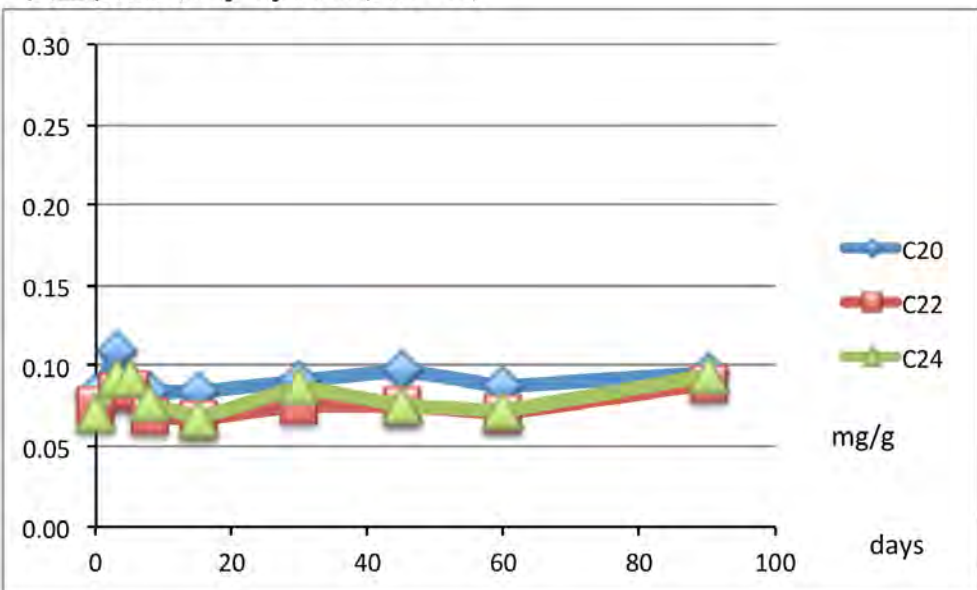
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



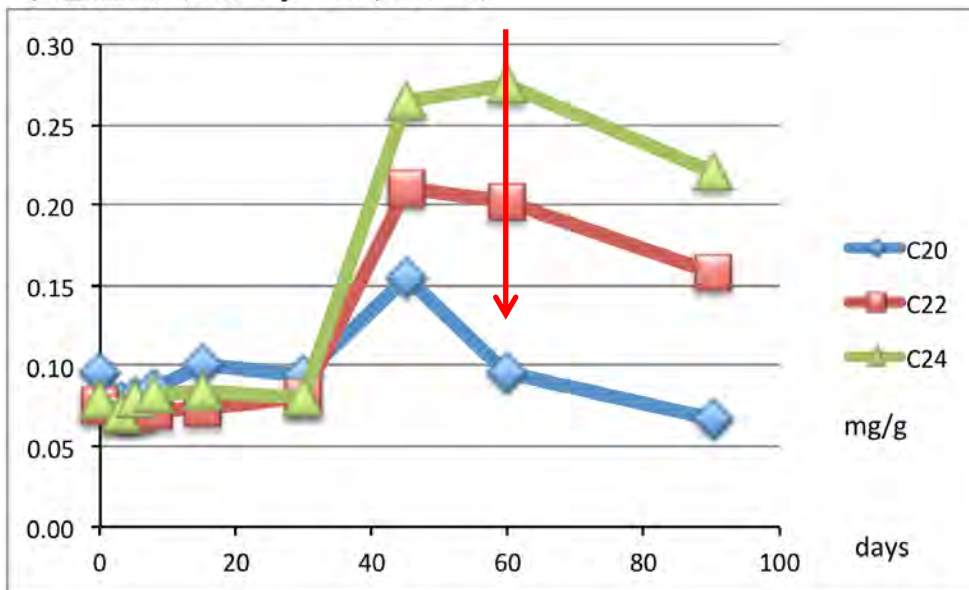
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



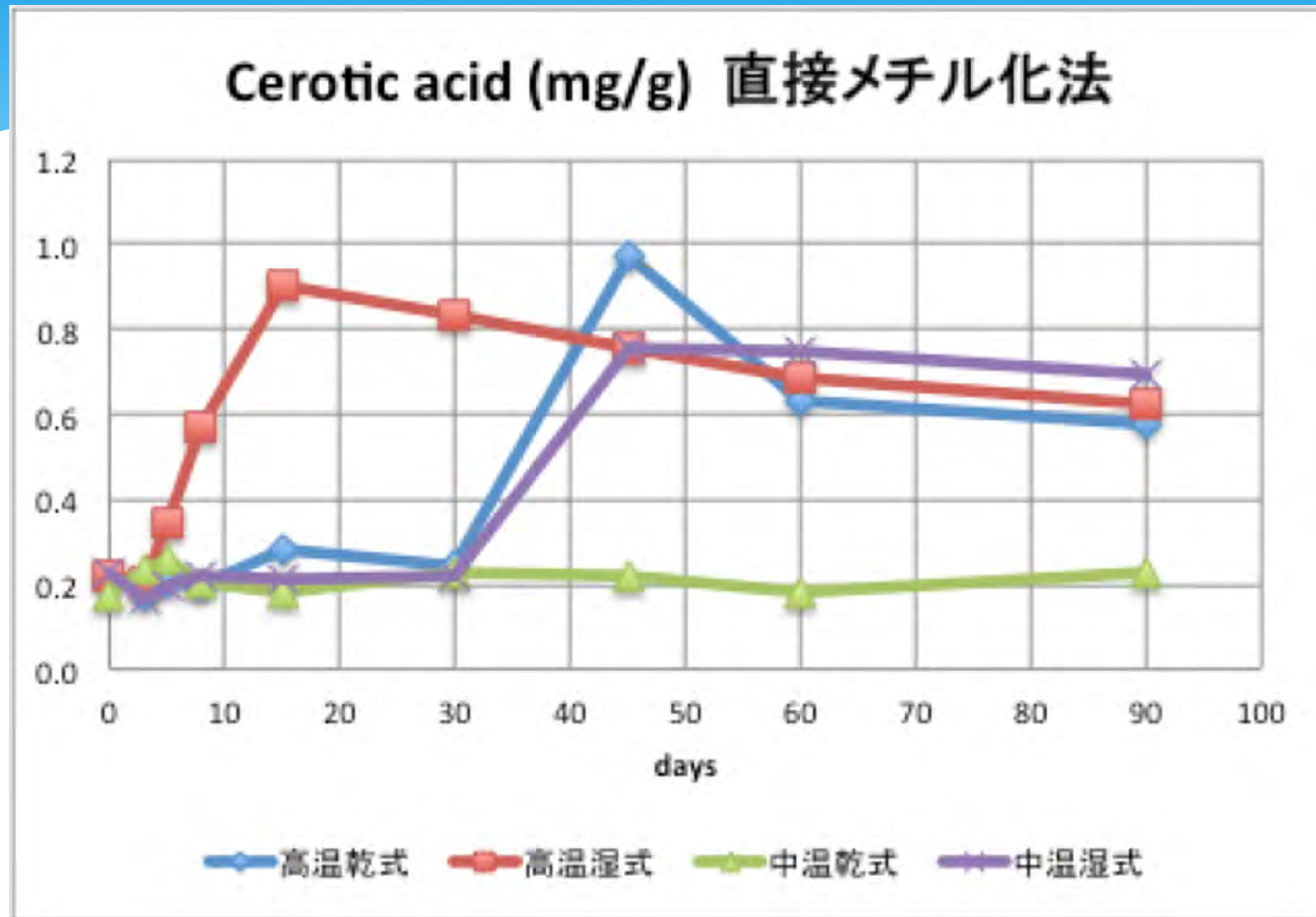
中温湿式 (Wet system, 38 °C)



各種バイオガス発酵様式におけるC20-24飽和脂肪酸の経時変化(直接メチル化法)

直接メチル化法

各種発酵過程におけるセロチン酸 (nC26) の変化



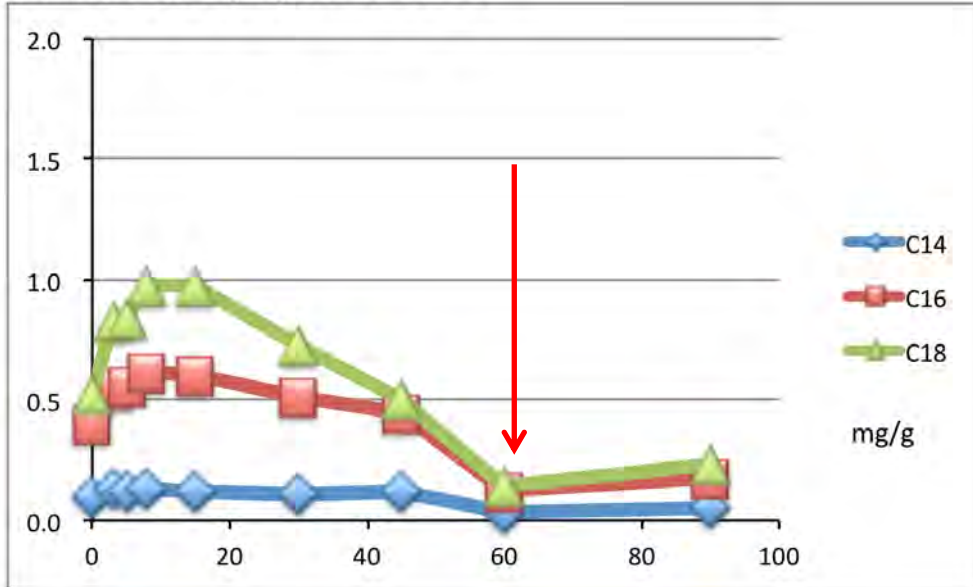
直接メチル化法

C20-26長鎖飽和脂肪酸の消長

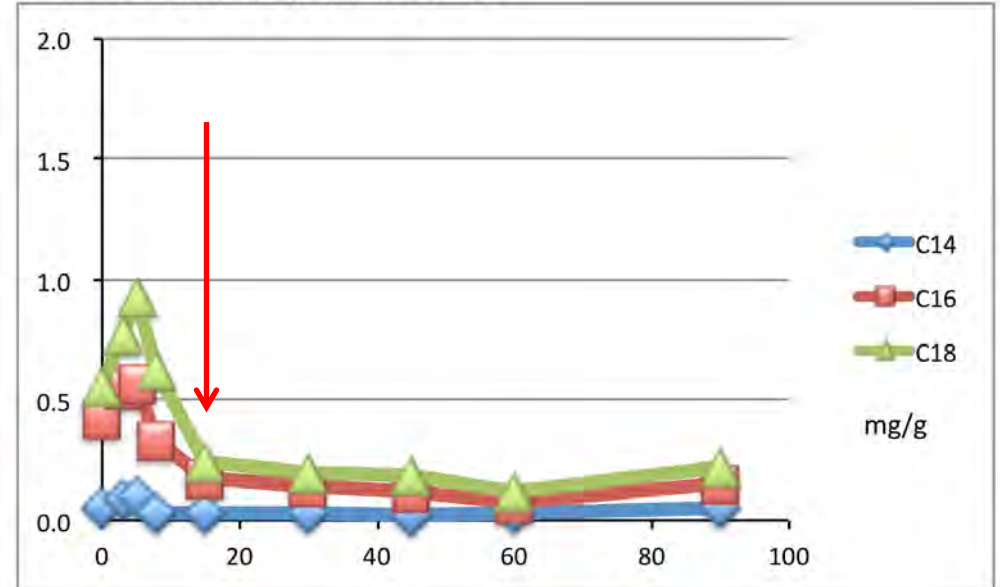
- * エーテル抽出メチル化法ではC20以上の長鎖飽和脂肪酸の検出量が著しく低かったが、直接メチル化により多量に検出された。
- * C20以上の長鎖飽和脂肪酸は、C14-18脂肪酸の減少と入れ替わって発酵後期に増大した。特にセロチン酸(nC26)における傾向が顕著であった。
- * 中温乾式過程では長鎖飽和脂肪酸が増加しなかった。

C14-C18 飽和脂肪酸の変化

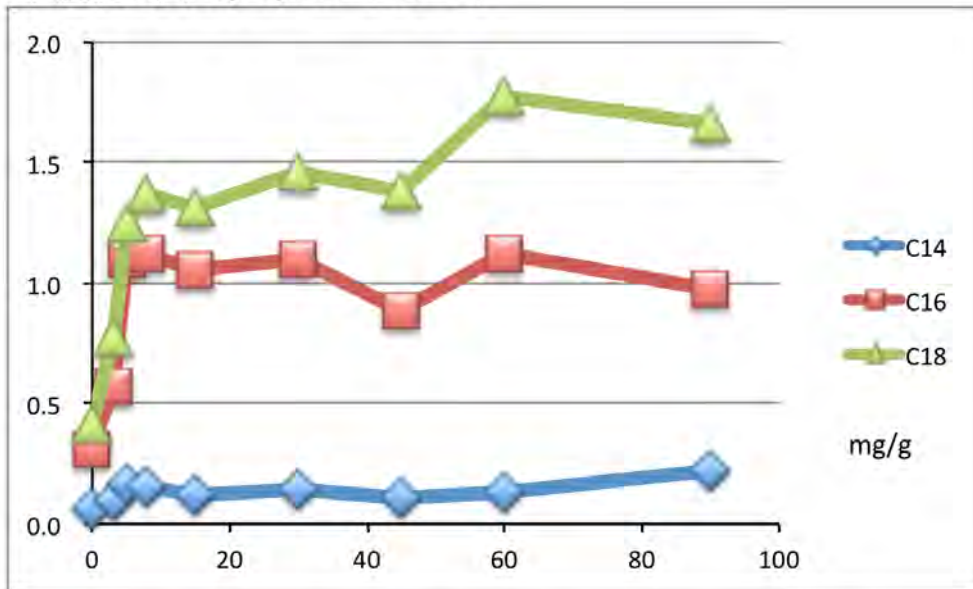
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



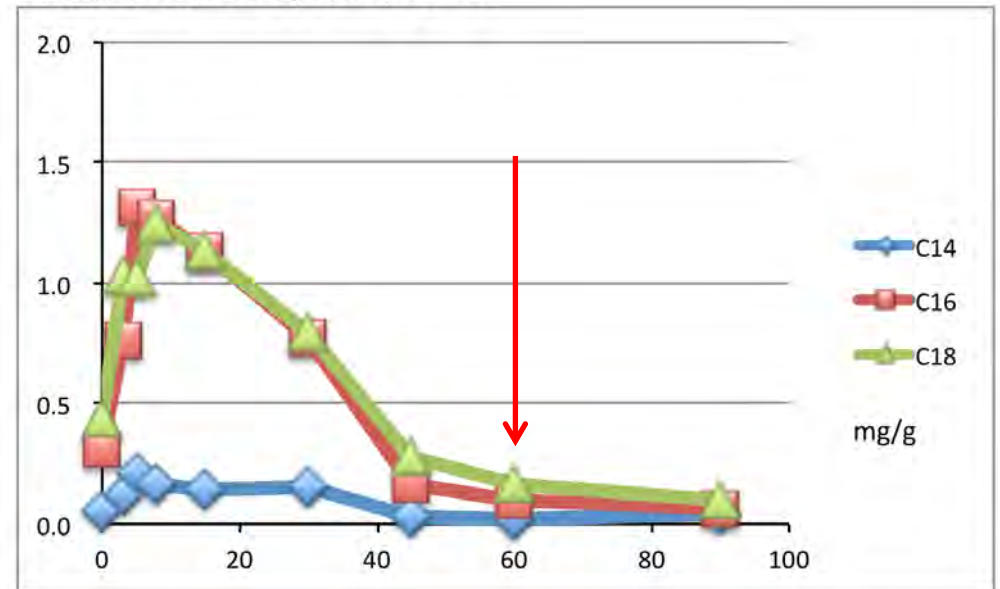
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



中温湿式 (Wet system, 38 °C)

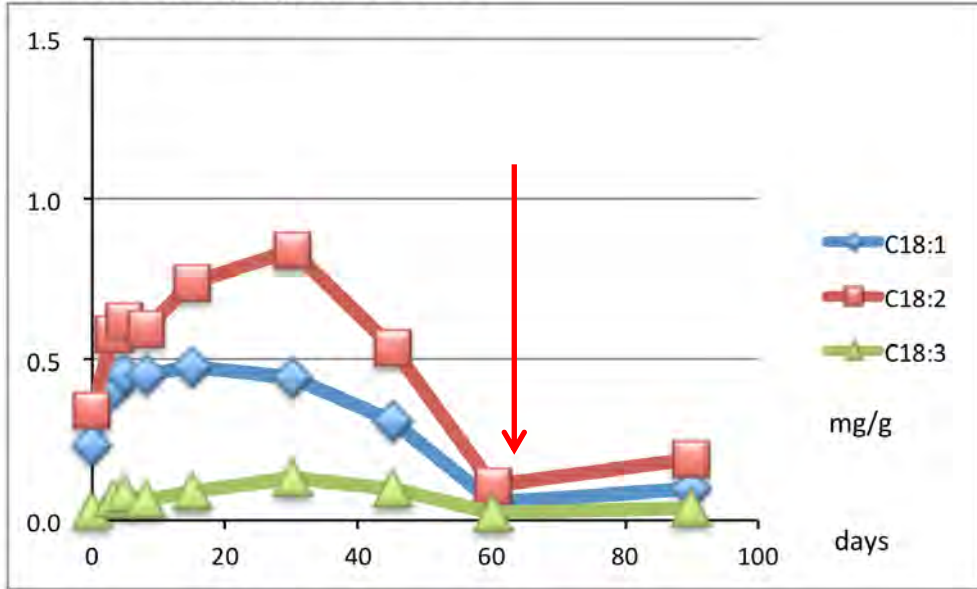


各種バイオガス発酵様式におけるC14-18飽和脂肪酸の経時変化(エーテル抽出メチル化法)

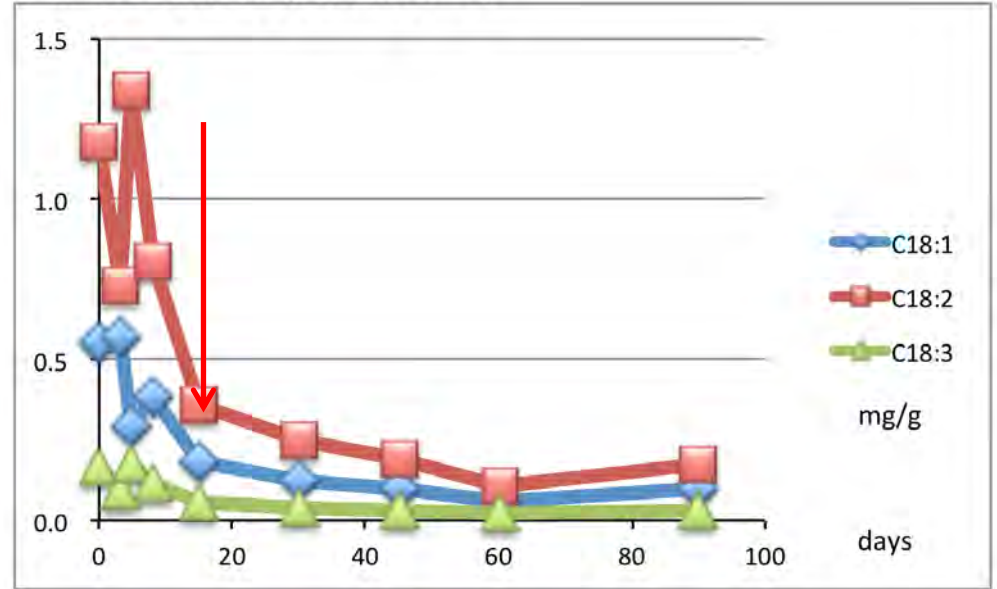
エーテル抽出メチル化法

C18 不飽和脂肪酸の変化

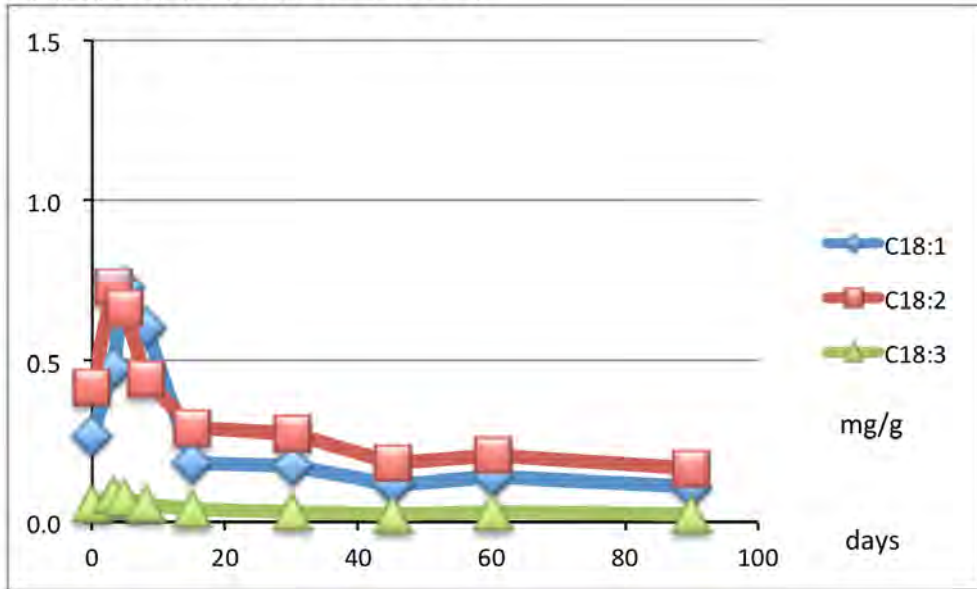
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



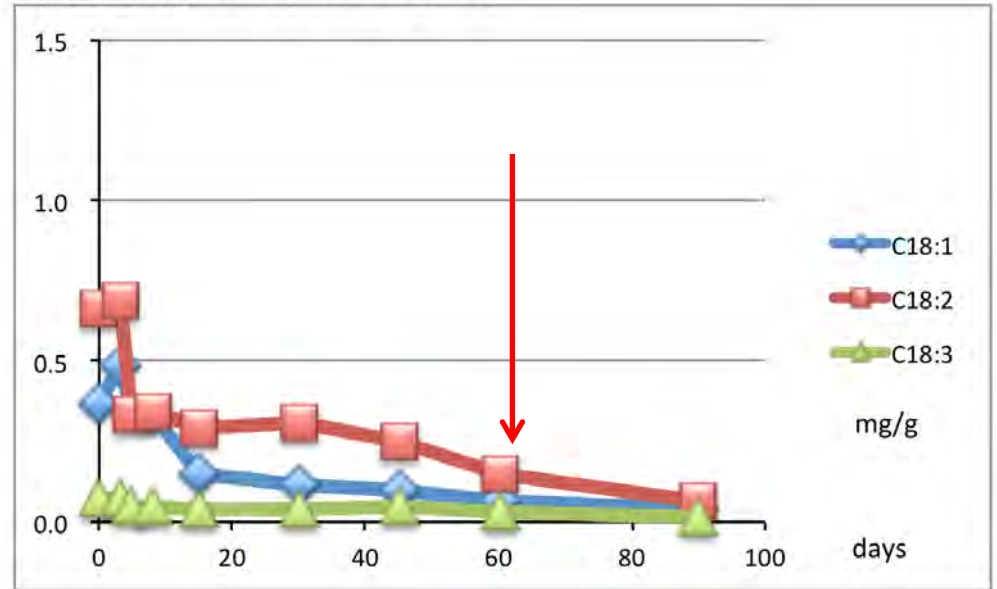
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



中温湿式 (Wet system, 38 °C)

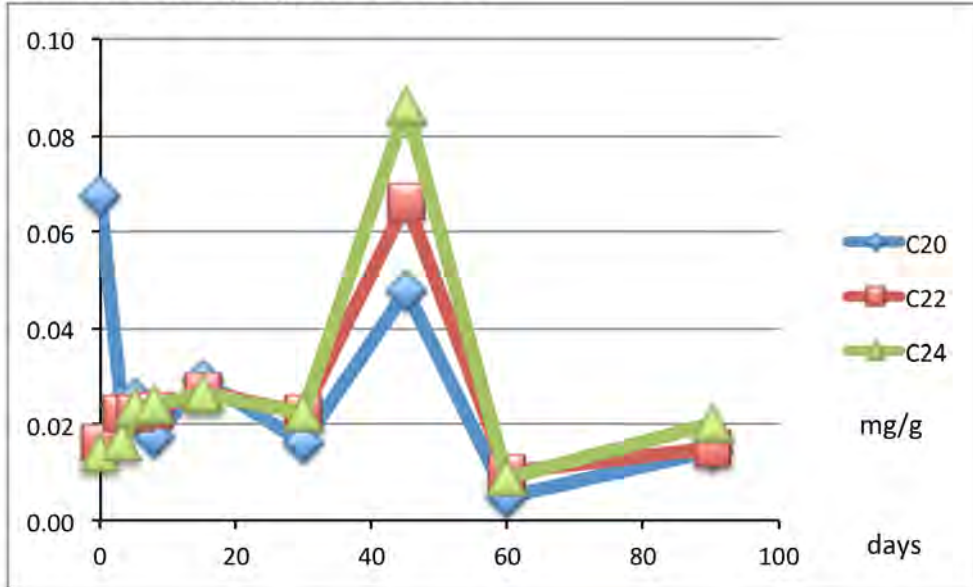


各種バイオガス発酵様式におけるC18不飽和脂肪酸の経時変化(エーテル抽出メチル化法)

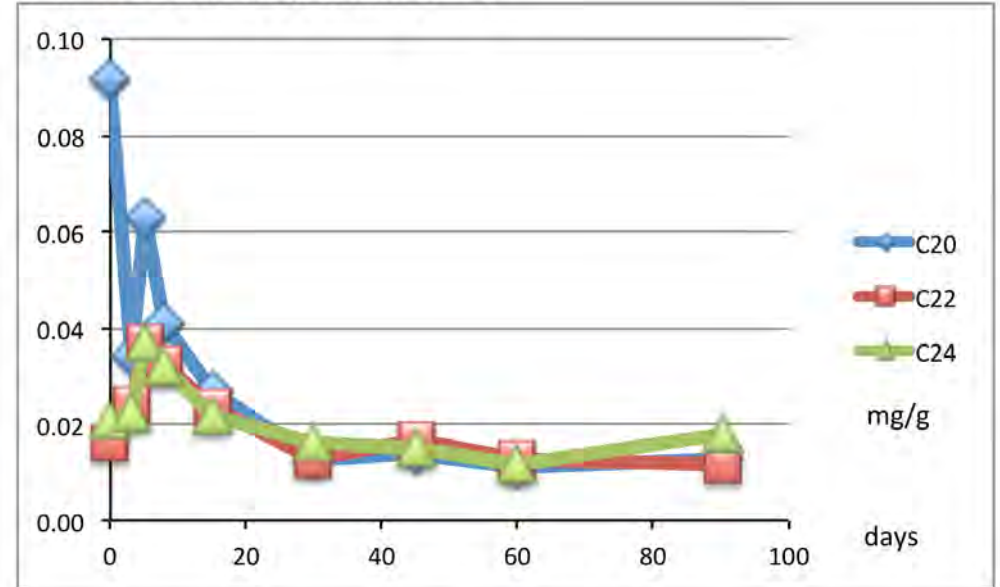
エーテル抽出メチル化法

C20-C24 飽和長鎖飽和脂肪酸の変化

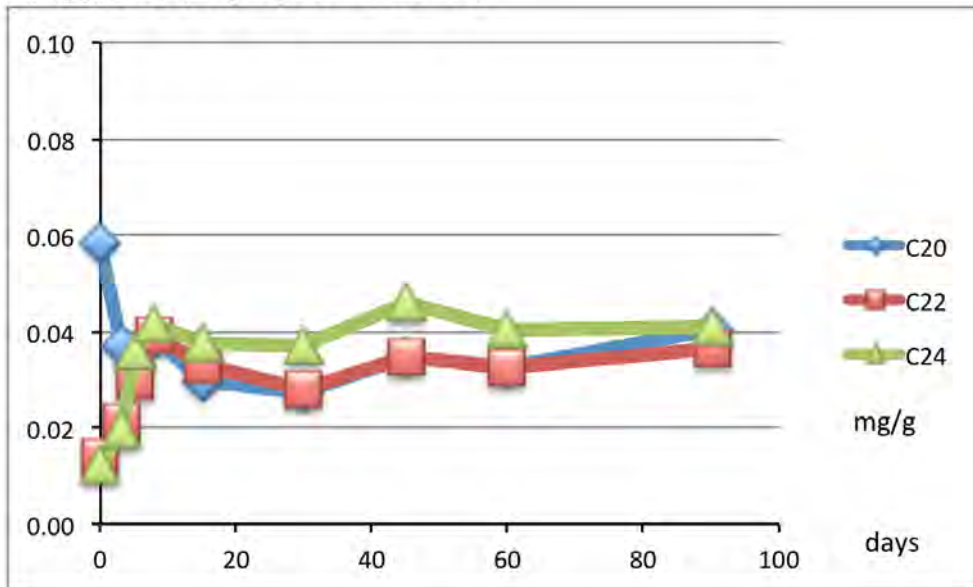
高温乾式 (Dry system, 55 °C)



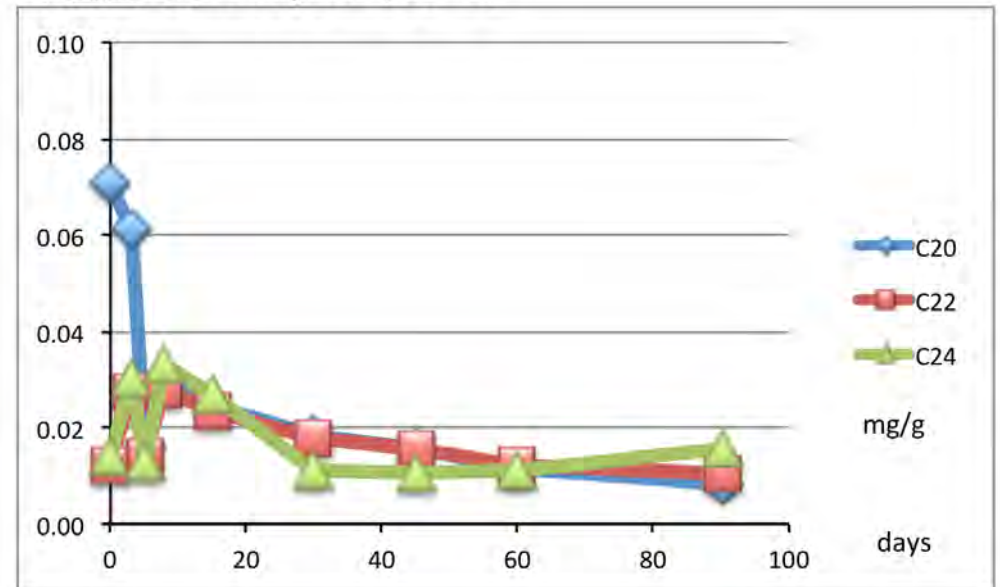
高温湿式 (Wet system, 55 °C)



中温乾式 (Dry system, 38 °C)



中温湿式 (Wet system, 38 °C)



各種バイオガス発酵様式におけるC20-24飽和脂肪酸の経時変化(エーテル抽出メチル化法)

エーテル抽出メチル化法

まとめ

- * 脂肪酸組成からも、高温乾式過程では、現在もっとも普及している中温湿式過程に劣らず活発な有機物分解の進行が示された。
- * 中温乾式過程では、脂質の分解が遅れる傾向を示した。
- * C14-18飽和脂肪酸、C18不飽和脂肪酸、C20-26長鎖飽和脂肪酸はそれぞれ発酵原料中の異なる成分に由来した。