

有機性廃棄物の嫌気性微生物処理にふれる学生実験プログラムの実施事例

新潟食料農業大学 正会員 阿部 憲一

1. はじめに

食品産業では、製造工程において食品残さや排水、汚泥など多様な廃棄物が発生し、その適正処理と資源循環が重要な課題となっている。食品産業に携わる人材には、食品の製造技術や品質管理に関する知識だけでなく、製造工程に伴って発生する廃棄物の種類や性状、処理方法および資源としての利用可能性について理解することも求められる。一方、食品系に興味関心が持つ学生が、日常的に消費する食品の製造過程でどのような廃棄物が、どのような状態で発生し、処理・利用されているのかを具体的に学ぶ機会は必ずしも多くない。

本学の食品系の実験実習では、食品製造工場の見学を通じて製造工程と廃棄物の発生状況を学ぶとともに、食品工業団地の用水供給施設や排水処理施設を見学し、排水処理や汚泥処理の実際について理解を深める機会を設けている。これらの学習に加え、廃棄物の処理・資源化技術を実験によって体験することは、食品製造から廃棄物処理までの一連の流れを理解し、資源循環について考えるうえで有意義である。

嫌気性消化は、有機性廃棄物を微生物の働きによって分解し、メタンを含むバイオガスとしてエネルギーを回収する技術の一つである。この処理過程では、微生物による有機物分解とガス生成が進行し、その結果をガス発生量やガス組成の変化、微生物群集の構成などから捉えることができる。また、実験条件による結果の違いを比較し、統計解析や微生物群集解析を通じてその要因を考察することは、科学的なデータの取得・分析・解釈を一連の研究プロセスとして経験する機会にもなる。

本実験実習では、学生自身が食したバナナやコーヒーに由来する食品残さを基質としたメタン発酵試験を実施し、身近な食品残さの処理・資源化について考える機会を設けた。また、ガス発生量の継続測定、ガス組成分析、統計解析および微生物群集解析を組み合わせ、実験結果の解釈までを一連の学習活動として構成した。本報告では、食品系学部生を対象とした本実験実習の実施内容と特徴を紹介するとともに、実験および演習の各工程で明らかになった運用上の課題と、その解決に向けた改善案について報告する。

2. 実験方法（実施内容）

2.1 メタン発酵試験の仕込み

V-100 バイアル瓶を用い、基質としてバナナ皮またはコーヒー滓を含水重量で 5.00 g、発酵液を約 80 mL 添加した。また、添加物として使用済みカイロ由来の顆粒物を 3.00 g 添加する条件と、添加しない条件を設定した。実験条件は、培養温度 2 条件（31℃、25℃）、基質 2 条件（バナナ皮、コーヒー滓）、顆粒物添加の有無 2 条件を組み合わせた計 8 試験区とした。1~4 班は 31℃、5~8 班は 25℃を担当し、各班は基質と顆粒物添加の有無を組み合わせた 4 試験区について、それぞれバイアル瓶 4 本を用いて試験を行った。なお、実験初期には、顆粒物の正体および添加目的を学生に明示せず、実験結果を踏まえて考察する構成とした。

2.2 ガス量の測定と採取

ガス発生量の測定は、9 月下旬から 1 月上旬まで実施した。12 月上旬までは学生が主体となり、週 1~2 回、ガラス製シリンジを用いて発生ガス量を測定し、教員と各班で共有する Excel シートに記録した。記録状況は教員が確認し、測定記録が一定期間ない班には個別に声掛けを行うことで、測定の継続を促した。12 月上旬以降は、教員および学生有志が測定頻度を下げながら、1 月上旬まで測定を継続した。また、採取したガスはアルミニウム製ガスバッグに移して保存し、ガス組成分析に用いた。

2.3 ガス組成の分析

12 月以降、それまでにアルミニウム製ガスバッグに採取・保存したガスを対象に、熱伝導度検出器付きガスクロマトグラフ（GC-TCD）を用いて、メタン（CH₄）および二酸化炭素（CO₂）の濃度を分析した。分析は教員を中心に実施し、希望する学生には分析操作を体験する機会を設けた。

2.4 ガス発生量とガス組成データの統計処理とグラフ化

ガス発生量の測定結果は Excel に集約し、経過日数を横軸、累積ガス発生量を縦軸とする散布図を作成して、ガス発生量の経時変化を可視化した。また、実験終了時の累積ガス発生量と、ガス組成分析で得られた CH₄ および CO₂ の濃度から算出した各成分の生成量（mmol/vial）について、平均値を棒グラフで示し、不偏標準偏差をエラーバーとして表示した。さらに、統計解析には Excel および EZR を用い、バナナ皮とコーヒー滓をそれぞれ分け、各基質について温度（25℃、31℃）と添加物の有無を組み合わせた 4 試験区間で一元配置分散分析および Tukey の多重比較を行った。有意水準は 5% とし、解析結果に基づいて有意差の有無をグラフ上に明記した。各試験区のデータ数は最大 4（N=4）とした。学生は作成したグラフと統計解析結果をもとに、実験条件による差異について考察した。

2.5 微生物種の推定

微生物群集解析には、バナナ皮を基質とした 31℃条件のうち、添加物ありおよび添加物なしの 2 試験区（各

N=4) のアンプリコンシーケンスデータを用いた。解析データは教員が整理・調整したうえで各班に共有した。学生は、相対存在量の多い ASV を抽出し、その塩基配列を BLAST 検索することで近縁微生物の分類群を推定した。配列相同性 97% 以上を属レベルの推定の目安とし、推定された微生物について文献を調査し、嫌気性消化における役割を考察した。さらに、添加物の有無によるガス発生量および微生物群集の違いを比較し、発酵液中の固形分量などの実験条件も踏まえて、観察された結果の要因を考察した。

2.6 プレゼン資料の形態でのレポート作成

実験実習の総括として、PowerPoint によるプレゼンテーション資料形式のレポート課題を課した。教員がスライドの枚数の目安と各スライドに掲載すべき内容を提示し、背景・目的、実験方法および実験結果については、グループ内で作成した資料の流用を認めた。一方、考察については、各自が設定した仮説と実際の実験結果を照らし合わせ、その解釈を個人でまとめることを必須とした。これにより、共通の実験データを基に、学生が自身の仮説と結果を関連づけ、実験条件による差異やその要因について考察する機会を設けた。なお、資料は提出のみとし、口頭発表は実施しなかった。

3. 実験結果と考察（実施と課題・改善点）

3.1 家庭生ごみを処理したメタン発酵微生物に下水処理脱水汚泥を供した回分試験（1回目）結果

発酵液の添加時に十分な攪拌が行われず、各バイアル瓶に投入された固形分量に偏りが生じた。この偏りは仕込み終了後に判明したため、試験開始前に修正することができなかった。作業中には口頭で攪拌を促していたものの、実験テキストには具体的な操作手順が明記されていなかった。今後は、発酵液を各バイアル瓶に分注する前に、容器の蓋を閉めて3回上下反転させるなど、攪拌操作を具体的な手順として実験テキストに明記し、試験区間のばらつきの低減を図る。

3.2 ガス量の測定と採取

ガス量の測定では、ガラス製シリンジの操作方法を文字情報のみで伝えることが難しかったため、教員が実演し、その様子を学生が動画で記録する方法を取り入れた。一方、班によっては測定作業の担当者が明確でなく、ガスの採取・測定が滞ることがあった。今後は、操作手順を動画等で共有する取り組みを継続するとともに、班内の担当者や測定の実施日を明確にし、継続的な測定を促す仕組みを整える必要がある。

3.3 ガス組成分析

ガス組成分析では、発酵不良によりガス発生量が著しく少なかった試験区や、累積ガス発生量に対してガスバッグ内のガス量が明らかに少なく、 N_2 の割合が高い傾向を示した試料が認められた。これらの試料については分析を行ったものの、データの信頼性を考慮し、統計処理の対象から除外した。ガスの採取・保存に伴う試料回収量の不足が課題となったことから、今年度はバイアル瓶内の発酵液および基質の量を減らして気相部を大きく確保し、週1回の採取でも分析に必要なガス量を確保できるよう、実験条件の改善を進めている。

3.4 ガス発生量とガス組成データの統計処理とグラフ化

統計処理では、各学生が自身の PC に自治医科大学が開発・提供する EZR をダウンロードし、班ごとに分散分析および多重比較に取り組んだ。班単位では作業が概ね円滑に進んだ一方、作業中に操作が進んでいない学生も見られ、統計解析の理解度やソフトウェアの操作への習熟度には個人差があることがうかがわれた。

3.5 微生物種の推定

微生物種の推定では、ほぼ全ての学生が初めて BLAST 解析を経験したことが、簡単なアンケートから確認された。BLAST の検索結果を Excel シートに整理する作業では、記入する項目と列の対応を誤った班があり、解析結果を適切に記録・整理するための支援が必要であることが示された。今後は、記入例や各列の説明をシート内に明示するなど、初学者にも分かりやすい記録様式への改善を図る。

3.6 プレゼン資料の形態でのレポート課題のまとめ

実習の総括として、PowerPoint によるプレゼンテーション資料形式のレポート課題を課した。背景・目的、実験方法および結果については班で作成した資料の流用を認める一方、考察については、各自の仮説と実験結果を関連づけて個別にまとめるよう指示した。しかし、提出物には考察の深さに大きな個人差が見られ、個人での考察を行わず、班で作成した結果のみを掲載した学生も複数名認められた。こうした事例は、班内のコミュニケーションが十分でない場合に見られる傾向があった。そこで今年度は、学生からペアやグループの希望を聞き、可能な範囲で互いに関係性のある学生同士で班を編成することとした。今後は、班内の協働と個人の考察を両立できるよう、班編成や課題の提示方法を工夫するとともに、その効果を検証する必要がある。

4. まとめ

本実習では、食品廃棄物を対象としたメタン発酵試験を通じて、仕込みからガス分析、統計処理、微生物種の推定、結果の考察まで、一連の研究プロセスを体験する機会を設けた。一方、実験操作やデータ整理、統計解析、個人考察への取り組みなどに課題が認められた。実験手順の明確化や作業方法の共有、学生の理解度を把握する機会の充実を図るとともに、班内の協働を促す班編成や学習成果の評価方法の検討が必要である。