

セルロースを資化する嫌気性水素発酵細菌の探索と集積に関する研究

熊本大学工学部 学生会員 辺野喜麻衣子
 熊本大学工学部 正会員 川越保徳
 熊本大学工学部 正会員 古川憲治

1.はじめに

地球温暖化が問題視されている中、化石燃料に替わるエネルギー源として、燃焼時に二酸化炭素を生成しない水素ガスが注目されている。水素ガスの生成方法には、水の電気分解や化学的な抽出、また微生物発酵によるものなどがある。この中で、廃棄物処理の問題が取り沙汰されている現在、有機性廃水や実廃棄物をエネルギー源として有効利用する技術が検討されており、その一つとして微生物を利用した水素生成に期待が寄せられている。

本研究では、セルロースを主成分として含む植物性バイオマスや廃棄物を原料とした水素発酵技術の確立を目的とした。本報では、セルロースパウダーを用い、各種種からセルロースを資化して水素発酵を行う細菌の探索と集積について検討するとともに、水素発酵条件についての基礎検討を行い、知見を得たので報告する。

2.実験方法

2.1 培地

種源としては、下水処理場の消化汚泥、好気性コンポスト、動物系試料として牛糞、豚糞、馬糞、羊糞の計6種類を用いた。また、炭素源として2gのセルロースパウダーを用い、その他の成分は表-1に示した。

表-1 培地組成

構成要素	濃度(mg/l)
NH_4HCO_3	251
K_2HPO_4	125
Na_2CO_3	2000
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	15
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.125
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25

2.2 回分実験方法

図-1に実験装置を示す。100ml容の三角フラスコに培地と各々5gづつの種源を入れ、全量が100mlになるように調整した。フラスコ内をpH6.5に調整し、Arガスで2分間曝気した後、試料を攪拌しながら、35℃で水素発酵反応を行った。発生したガスは水上置換法によって回収した。

計6種類の種源について1~2週間培養を行い、水素生成の様子をみた。その後、培地の全量を遠心分離し、回収した汚泥を新鮮な培地に移して再び培養を開始した。この操作を繰り返し(継代培養)、各種種源における水素生成量や生成有機酸について比較検討した。

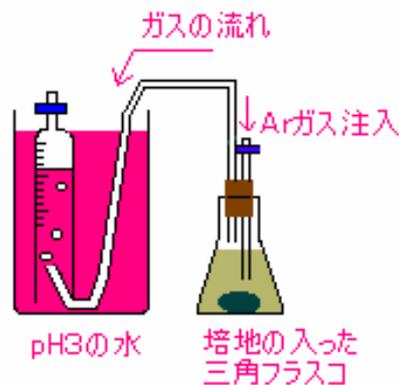


図-1 水素発酵回分実験方法

2.3 分析方法

発生ガス量は、シリンジの目盛で測定し、水素ガス濃度はガスクロマトグラフ (SHIMADZU GC-14 B) で、生成有機酸は液体クロマトグラフ (SHIMADZU CTO-10 AS) にてそれぞれ測定した。

3.実験結果

3.1 ガス生成量と水素生成量

図-2に各種種源における累積ガス生成量、図-3に累積水素生成量の結果を示す。馬糞以外の動物系種源では、ガスは発生しているが、水素ガスはほとんど生成されなかった。この理由として、豚については雑食性であるため、セルロースを分解する能力が低いことがあげられる。また、牛や羊については、メタンガス

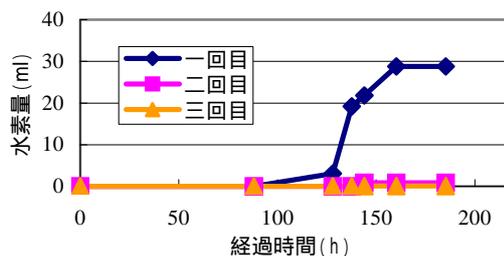
が発生していたことから、培地中の水素資化性のメタン生成細菌による水素の消費が考えられる。

消化汚泥の一回目とコンポストの二、三回目および馬の三回目で高い水素生成量が得られた。しかし、消化汚泥の三回目では水素ガスが発生せず、メタンガスの発生が認められたことから、メタン生成細菌の影響が示唆された。

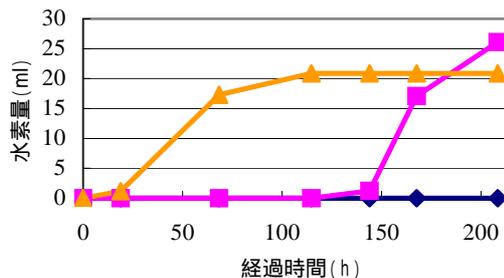
3.2 累積水素生成量の時系列変化

図-4 に、主に水素生成量の著しかった消化汚泥とコンポストについて、累積水素生成量の経時変化を示す。消化汚泥については、いずれの試験でも培養開始から100 時間後に水素生成がみられた。

一方、コンポストの場合は、二回目までは100 時間以降に水素ガスが発生したが、三回目では約 20 時間後の早い時期から水素生成がみられた。



(a)消化汚泥



(b)コンポスト

図-4 累積水素生成量の時系列変化

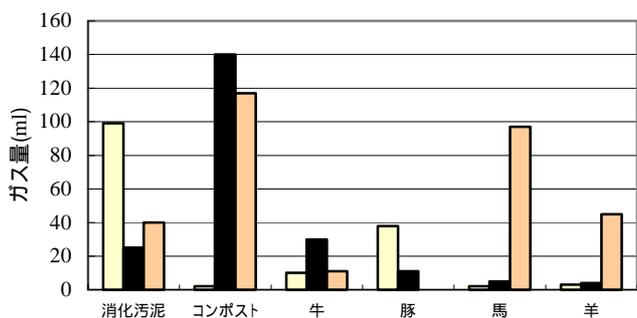


図-2 累積ガス量

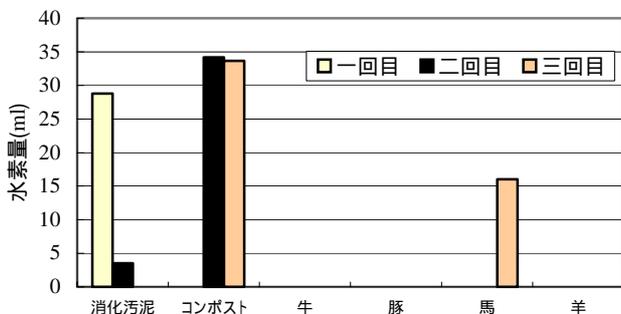


図-3 累積水素量

3.3 有機酸生成

図-5 に各種種における生成有機酸濃度を示す。測定対象とした7種類の有機酸のうち酢酸とプロピオン酸が高濃度で検出され、水素生成と深く関係していることが判った。

4.まとめ

セルロースを炭素源とし、消化汚泥、コンポスト、牛、豚、馬、羊の糞、6 種類を種種源として回分培養を行った。その結果、消化汚泥とコンポストと馬糞で水素生成がみられた。セルロースの水素発酵に伴って酢酸、プロピオン酸などの有機酸の生成が認められ、水素発酵反応との関係が示唆された。

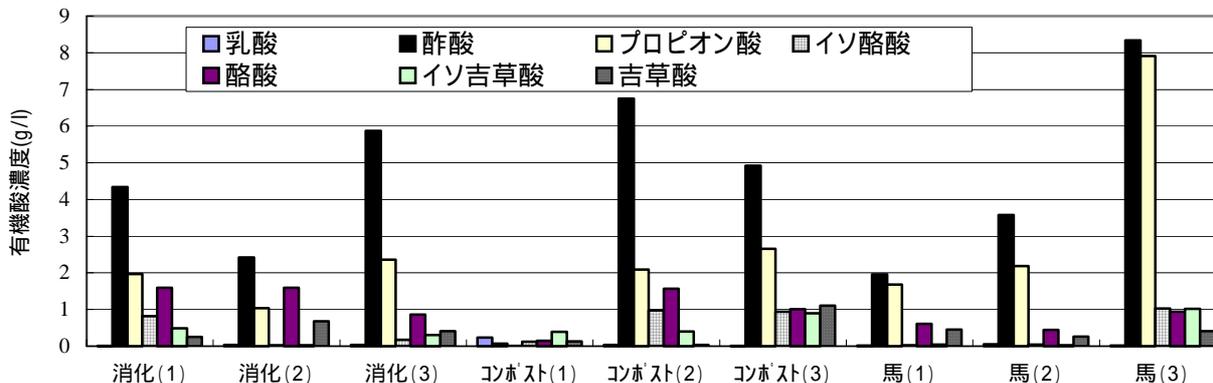


図-5 生成有機酸濃度