

回転床型リアクタを用いたでんぷんからの水素発酵における最適 pH に関する研究

熊本大学工学部 学生会員 横山直輝
 熊本大学大学院 非会員 油井啓徳
 熊本大学工学部 非会員 藤本 綾
 熊本大学大学院 正会員 川越保徳

1. はじめに

現在の主なエネルギー源である化石燃料は、燃焼時に温室効果ガスである CO_2 を発生する。また、需要増加による価格の上昇などが問題となっている。化石燃料の代替エネルギーの 1 つに水素ガスがあり、燃焼時に CO_2 を排出しないクリーンなエネルギーとして注目されている。水素ガスを生成する方法には、水の電気分解や天然ガス改質などの化学的水素生成法と、嫌気性水素発酵や光合成水素発酵といった生物学的水素生成法が知られている。生物学的水素生成法では、低コストで、カーボンニュートラルなバイオマス資源を原料とできるため、環境負荷が少ないといったメリットがあるが、一般に、水素ガス生成速度は遅く、また不安定といった課題もある。

我々の研究室では現在、嫌気性水素発酵に関し、水素ガス生成の高速・安定化に関する研究を進めている。本研究では、でんぷんを基質に、不織布を微生物付着担体とする回転床型リアクタによる連続嫌気性水素発酵に関する検討を行い、知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1 植種源

植種源には下水処理場の消化汚泥、沖縄の牛糞から作成したコンポスト、中温発酵のコンポスト、造園系廃棄物のコンポストをそれぞれ 1g/L (合計 4g/L) 混ぜ合わせたものを使用した。メタン細菌などの水素発酵阻害細菌の不活化のため、植種源をあらかじめ pH3.0、50 度で 24 時間静置するといった前処理を施した。

2.2 連続嫌気性水素発酵

図-1 に連続実験方法の概要を示す。本実験では、炭素源として、でんぷんを 18g/L (グルコース換算で糖量 20g/L) になるように添加した嫌気性水素発酵用培地を用いた。容量 2L のガラスリアクタに培地を 1.6L 投入し、アルゴンガスにて 10 分間曝気し、嫌気状態とした。

また、図-1 に示すように、不織布を回転軸の周りに取り付け、攪拌速度 100 rpm で緩やかに回転させた。温度は 35℃ に一定制御し、ORP については制御しなかった。

連続実験を開始する前に、植種源と培地を投入し、スタートアップとして回分培養による水素発酵を繰り返して行った。ここで 2 回目以降の回分培養では、培地のみを入れ替え、不織布に付着した細菌を種菌とした。また、回分実験では、初期 pH を 6.7 に設定し、培養中の pH 制御は行わなかった。計 5 回の回分実験にて水素生成が確認された後、水理学的滞留時間 (HRT) が 24h になるように培地を連続的に流入、流出させ、連続実験を開始した。また、本実験では、最適 pH 条件の検討のため、pH を 4.0~6.0 まで、段階的に変化させた。そして、実験終了後に細菌叢解析を行う。細菌叢解析は、16SrRNA をターゲットとする細菌用ユニバーサルプライマーを用いた PCR-DGGE 法と DNA 配列の相同性比較により行った。

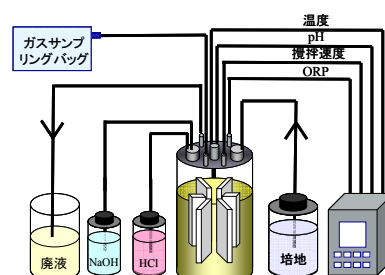


図-1 連続実験方法の概要

2.3 分析方法

生成ガスはガスサンプリングバッグで捕集し、ガスメーターによりガス量を測定した。培地中の糖 (グルコース) 濃度はフェノール硫酸法により測定した。生成ガス中の成分については、熱伝導度検出器付ガスクロマトグラフ (GC-TCD) にて測定し、揮発性有機酸 (VFA s) 濃度は UV 検出器付の高速液体クロマトグラフ (HPLC) により測定した。

また、16S rRNA を対象とする PCR-DGGE 法による細菌叢解析を実施した。プライマーには細菌用ユニバ

ーサルプライマー、GM5f、DS907r を使い、一連の操作および DNA 配列相同性解析等は既報¹⁾に準じて行った。

3. 実験結果

3.1 水素収率、糖消費率および VFAs の経時変化

培地に使用するでんぷんに含まれる糖の量をグルコースに換算し、グルコース 1mol あたりの水素生成量 (mol) を水素収率 (mol-H₂/mol-glucose) として算出した。図-2 に、水素収率、糖消費率および、発酵副生成物である VFAs (揮発性有機酸) 濃度の経時変化を示す。

回分実験終了後、pH を 4.0 に一定制御して連続実験を開始した。しかし、水素生成が認められなかったため、pH を段階的に上げていったところ、pH5.0 にて水素の発生と VFAs の濃度上昇が認められ、水素収率は最高 2.02 (mol-H₂/mol-glucose) に達した。しかしその後、さらに pH を 5.5 に上げた結果、今度は水素収率が下がる傾向が見られた。(図-2 の区間 1)。

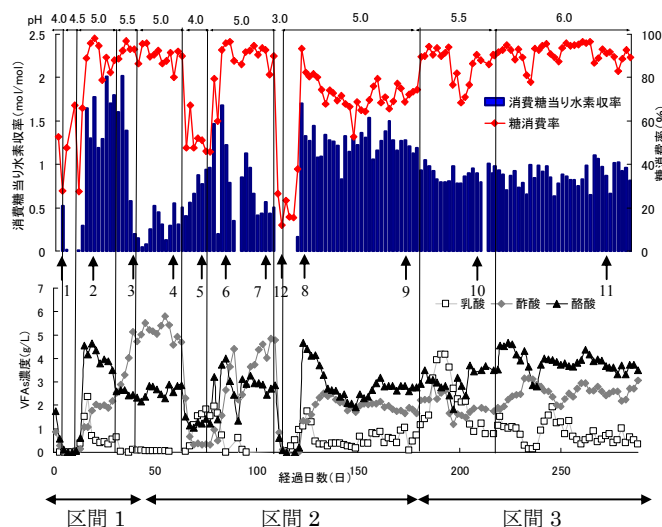


図-2 水素収率、糖消費率および VFAs 濃度の推移

そこで、pH を pH5.0 に戻して収率の向上を試みたが、この時の水素収率は低く、酢酸濃度の上昇が認められた。これらの結果から、酢酸生成菌による水素生成阻害がその原因として推定されたため、酢酸生成菌の活動抑制を目的に、pH をさらに 4.0 にまで下げた後、pH5.0 に戻した。

しかしながら、pH4.0 の条件下においても、酢酸濃度の上昇と水素収率の低下傾向が続いたため、前処理条件と同様に pH を 3.0 とした後に pH5.0 に戻した。これ

により、水素収率は 1.2 (mol-H₂/mol-glucose) でほぼ安定に維持された (区間 2)。さらに、pH を 5.5、6.0 へと再び上昇させ、pH による水素収率への影響について再現性を確認したところ、やはり水素収率は低下し、0.9 (mol-H₂/mol-glucose) 程度で推移した。ただし、糖消費率は pH5.0 のときよりも高い値を示した (区間 3)。

3.2 細菌叢解析結果

図-2 中に矢印で示した点において培養液試料を採取し、PCR-DGGE 法による細菌叢解析を行った。結果を図-3 に示す。1,2,3 の 3 つのバンドが水素発酵の主要な菌である *Clostridium* 属細菌と推定された。1 のバンドは *Clostridium acetobutylicum* (98% identity)、2 のバンドは *Clostridium pasterianum* (97% identity)、3 のバンドは *Clostridium kluyveri* (97% identity) と高い 16S rRNA 配列の相同性を示した。*C. acetobutylicum* は pH3.0~6.0 まで幅広い範囲で存在が確認された。*C. pasterianum* も実験期間を通じて存在が確認され、特に、*C. pasterianum* が認められる場合には水素収率が高い傾向が見られた。*C. kluyveri* は *C. acetobutylicum* と同時に存在していることが多いが、水素収率との関係は認められなかった。一方、4 のバンドは乳酸菌の *Sporolactobacillus laevolacticus* (99% identity) と推定され、水素収率の低い条件下でこれら乳酸菌の存在がみられたことから、乳酸菌による水素発酵阻害が推測された。

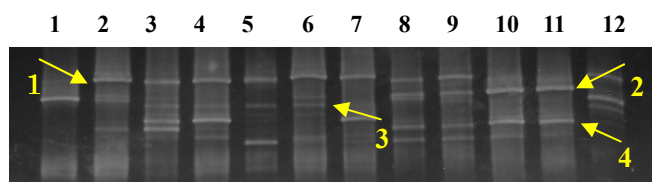


図-3 PCR-DGGE 解析結果

4. まとめ

- ・不織布を担体に用いた回転床型水素発酵における至適 pH は 5.0 であった。
- ・水素の生成が高いときには酪酸濃度が高くなる傾向が見られた。
- ・本研究における主要な水素発酵細菌は *Clostridium acetobutylicum*、および *Clostridium pasterianum* の近縁種であると推定された。

引用文献

- 1) Kawagoshi Y. et al., J. Biosci. Bioeng., 100, 524-530, (2005)