

回転床型リアクタを用いた水素発酵性能に与える滞留時間の影響

熊本大学工学部 学生会員 秋山邦彦 熊本大学大学院 非会員 佐藤宇紘、油井啓徳
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、燃焼時に生じる温室効果ガスや将来的な不足、枯渇といった問題を抱えている。一方、燃焼時に CO_2 を排出しないクリーンなエネルギーである水素は化石燃料に変わる代替エネルギーとして注目されている。水素の生成方法には、微生物の代謝作用を利用して有機物から水素を回収する生物学的水素生成法と、天然ガス改質などの化学的水素生成法がある。生物学的水素生成法では、カーボンニュートラルなバイオマス資源や有機性の廃棄物を原料にできるため、環境負荷が少ないといったメリットがあるが、一方で、一般に水素生成速度は遅く不安定といった課題がある。

我々の研究室では、生物学的水素生成法の一つである嫌気性水素発酵について、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水素生成の高速・安定化に関する研究を進めている。本研究では、デンプンからの水素生成能と発酵槽内細菌叢に及ぼす滞留時間の影響を明らかにした。

2. 実験方法

2.1 植種源

植種源には、下水処理場消化汚泥、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。前処理として、植種源をあらかじめ pH3.0、50 度で 24 時間静置し、メタン細菌などの水素発酵阻害細菌を不活化した。

2.2 実験条件

図-1 に連続実験装置の概要を示す。本実験では、基質として、でんぷんを 18g/L (ヘキソース換算で糖量 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 15 分間曝気して溶存酸素を除いた。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 にて緩やかに回転させ、回転型ろ床とした。温度は 35°C、pH は 5.0 に一定制御

し、酸化還元電位(ORP)については連続測定を行った。

連続実験の開始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を繰り返し行った。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植種源とした。計 3 回の回分培養後、水理学的滞留時間 (HRT) を 24 時間に設定し、連続実験を開始した。

本実験では、HRT の水素発酵能に及ぼす影響を調べるため、HRT を 24,18,12,8,4 時間と段階的に変化させた。HRT を変更する際には回分培養の時と同様にリアクタ内の培養液を捨てて、新鮮な培地に入れ替えた。各 HRT にでの実験終了後に培養液を採取し、細菌叢解析を行った。

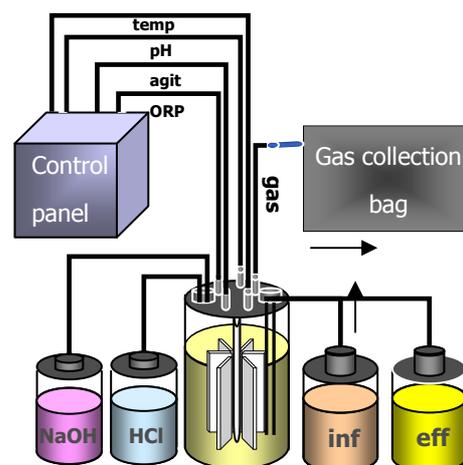


図-1 連続実験リアクタ模式図

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、ガスマーターによりガス量を測定した。生成ガス中の成分同定および濃度の測定は、熱伝導度検出器付ガスクロマトグラフ (GC-TCD) にて行った。糖 (ヘキソース) 濃度はフェノール硫酸法により測定した。低級脂肪酸 (SFAs) 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 法による細菌群集構造解析を実施した。プライマーには細菌用ユニバーサルプライマー、GM5f、DS907r を用い、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 水素収率と糖消費率および SFAs 濃度

でんぷんの量を糖 (ヘキソース) 量に換算し、投入した糖 1mol あたりの水素生成量(mol)を水素収率 (mol-H₂/mol-hexose)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 SFAs 濃度の経時変化を示す。

水素収率は HRT24 時間で約 0.9 (mol-H₂/mol-hexose) で、HRT を短くするにしたがって低下し、HRT4 時間では約 0.3(mol-H₂/mol-hexose)となった。また、糖消費率も HRT24 時間では 80%を維持できたのに対し、4 時間では平均 44%にまで低下し、HRT を短くするにしたがって低下傾向が認められた。

SFAs 濃度については、HRT を短くするにしたがって酪酸濃度の低下が見られ、HRT24 時間と HRT4 時間では約 3 倍の濃度差となった。一方、酢酸濃度についてはほとんど変化が見られなかった。

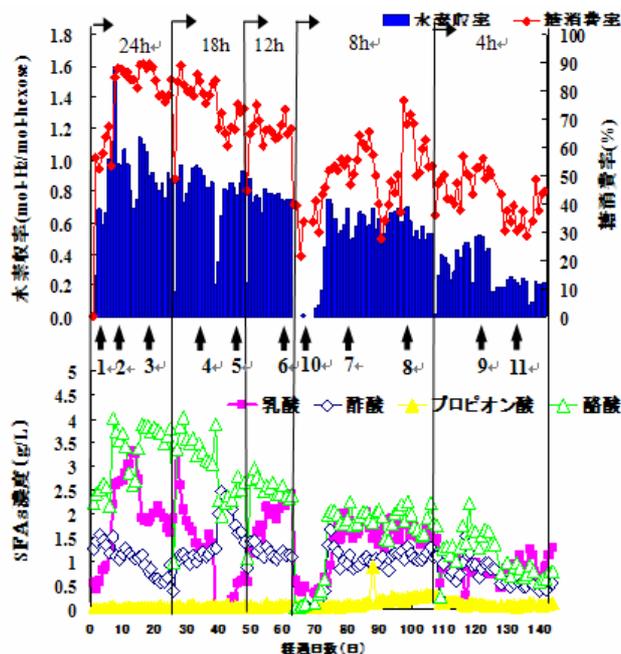


図 2.水素収率、糖消費率および SFAs 濃度の経日変化

3.2 細菌群集構造解析結果

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 法による細菌群集構造解析を行った。結果を図-3 に示す。a と b の 2 つのバンドが水素発酵に寄与する *Clostridium* 属細菌と推定された。a のバンドは *Clostridium acetobutylicum* (98.9% identity)、b のバンドは *Clostridium pasterianum*(99.8% identity)と高い 16S

rRNA 配列相同性を示した。バンド a の配列と相同性の高い *C. acetobutylicum* は水素発酵細菌として知られている。バンド a は、水素収率の比較的高かった HRT24 時間と 18 時間の条件下では確認されたものの、HRT12~4 時間においては目視、および写真では確認できなかった。このことから HRT12~4 時間では、バンド a を有する細菌が washout された可能性が推測される。バンド b と高い配列相同性が得られた *C.pasterianum* も水素発酵能が報告されており、バンド b は実験期間を通じて存在が確認されたことから、本実験においては主にバンド b を有する細菌が水素発酵に寄与していたものと推定される。一方、バンド c は乳酸菌の一種である *Sporolactobacillus. laevolacticus* の近縁細菌と推定され、スタートアップ時以外の全ての実験期間で存在が確認された。特に、水素収率の低下した HRT12~4 時間の条件下ではバンド a が消失し、バンド b と c のみ存在したことから、乳酸菌による水素発酵阻害、あるいは *C.acetobutylicum* の washout による水素発酵能の低下が推測される。

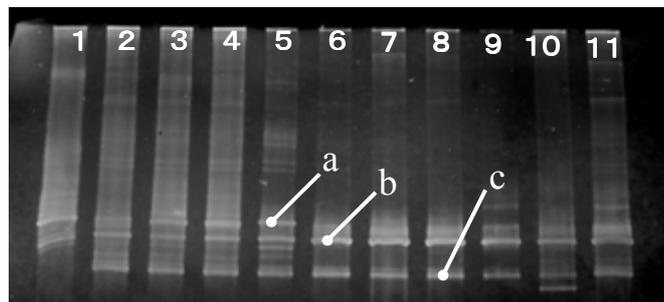


図 3. DGGE-PCR 法による菌叢解析結果

4. まとめ

- ・ HRT の減少に伴う水素収率の低下が認められた。
- ・ HRT を短くするにしたがって糖消費率は低下し、HRT24 時間では糖消費率を 80%以上に維持できたのに対し、HRT4 時間では 44%程度まで低下した。
- ・ HRT の減少に伴う酪酸濃度の低下が見られた。一方、酢酸濃度には、ほとんど変化が見られなかった
- ・ PCR-DGGE の結果から、水素発酵細菌として知られる *C. acetobutylicum* と *C.pasterianum* の近縁細菌による水素発酵への寄与と芽胞生成能を有する乳酸菌 *S. laevolacticus* 近縁細菌による水素生成への阻害影響が推定された。

5. 参考文献

- 1) Kawagoshi Y. et.al., J.Biosc.Bioeng.,100, pp.524 (2005)