

(37)

膜分離型反応槽を用いた連続的水素発酵

The Characteristics of Continuous Hydrogen Fermentation with Membrane Bioreactor

李東烈*、野池達也*

Dong-Yeol LEE*, Tatsuya NOIKE*

ABSTRACT; This study investigated the characteristics of continuous hydrogen fermentation with a membrane bioreactor (MBR) under mesophilic condition of 35°C. A continuous flow chemostat-type reactor (CTR) was also operated at the same condition for a comparison. The stable hydrogen fermentation without methane production was successfully achieved for 35 days in the both reactors at the hydraulic retention time of 9 hrs. The following stoichiometric equation was obtained for the stable hydrogen fermentation in the MBR : $\text{Glucose} \rightarrow 0.86\text{H}_2 + 0.34\text{CO}_2 + 0.1\text{formate} + 0.04\text{succinate} + 0.25\text{acetate} + 0.16\text{lactate} + 0.19\text{propionate} + 0.5\text{butyrate} + 0.035\text{biomass}(\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_3\text{N})$. The hydrogen production rate in the MBR was 2.45~2.56 l/day, which was higher by around 2.25 times than 0.95~0.97 l/day in the CTR. The specific hydrogen and VFAs production rates in the MBR were very lower than that of CTR, indicating that the MBR has more loading capacity. For the MBR, the membrane fouling was found after a continuous operation of 35 days. Based on the results of the batch filtration test and the measurement of extracellular polymer substances (EPS), it could be considered that the decrease of permeate flux was mainly caused by the deposition of EPS on the membrane surface.

KEYWORD; hydrogen fermentation, membrane bioreactor, hydrogen yield, extracellular polymer substances, membrane fouling

1. はじめに

近年、化石燃料の枯渇に対するエネルギー危機やこの使用による酸性雨、或いはCO₂による地球温暖化等の環境問題が深刻な問題になっている。そのため、地球環境汚染やエネルギー危機を乗り越えるために代替エネルギー源の開発に関する研究が盛んである。この中で、水素は化石燃料に代わるグリーンエネルギーとして注目されている。水素の製造方法は水の電気分解、化石燃料の改質の他に、微生物の代謝能力を用いた有機物からの水素発酵は「Bio-Hydrogen」として位置づけられ、バイオマスの応用と関連して注目を集めている。特に水素生成能の高い微生物を用いた有機性排水・廃棄物からの水素発酵は環境浄化だけでなく、有価資源である水素の生産にも貢献できるので、今後「バイオマス・ニッポン総合戦略」や有機性廃棄物のリサイクル処理を推進する上で注目すべき魅力のある技術の一つであると考えられる。

水素発酵能を有する微生物は、生育に必要なエネルギーを有機物に依存する嫌気性発酵微生物と、光に依存する光合成微生物に大別される。嫌気性微生物を用いた水素発酵においては、水素の他に有機酸やアルコールなどの代謝産物も同時に生成するので、水素生成収率の向上およびその他の代謝産物の処理が課題となる。そこで水素発酵の研究はこれまで二つの方向で進められてきた。一つは嫌気性水素発酵における水素の収率を高めるための「嫌気性水素発酵プロセスの改善研究」である。もう一つは光合成細菌を用いて嫌気性

* 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻 (Department of Civil Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University)

水素発酵の代謝産物である有機酸を水素まで分解させることで、「(1) 嫌気性細菌による水素発酵・酸生成+(2) 光合成細菌による有機酸からの水素発酵」という2相式プロセスの研究である¹⁾。

嫌気性水素発酵プロセスの改善に関する研究では、水素発生能の高い細菌の発見、水素収率を維持するための混合培養系の工夫などの微生物学的研究の他に、装置的工夫も検討されてきた²⁻⁶⁾。水素生成細菌の濃度を高める方法として、水素発酵槽に膜分離を導入するプロセスが考えられる。嫌気性水素発酵プロセスに膜分離を導入することにより次のような利点が考えられる。1) 発酵装置のコンパクト化が可能。2) 発酵槽内に菌体を高濃度に維持できる。3) 有機酸などの水素生成阻害物質を除去できる。4) 低い F/M ratio による余剰汚泥の発生量の減少が期待できる。5) 滞留時間を増大することによる複雑な有機物の分解が向上する。6) 二相式水素発酵において、酸生成相からの SS が膜分離からろ過されるため、後続の光合成水素生成槽における光透過性を改選できるので二相式水素発酵の全段階における水素生成向上が期待される。一方、水素発酵槽に膜分離を導入すると、次のような問題点も考えられる。1) SRT が長くなるためメタン生成細菌が増殖しやすくなる⁷⁾。安定的水素発酵が可能かどうか。2) 各水素発酵条件では EPS(extracellular polymer substances)⁷⁻¹⁰⁾の生成量が予想され、膜のファウリング¹¹⁾や濃度分極¹²⁾による膜透過流速の低下が起こりやすい。

本研究では膜分離を導入した嫌気性水素発酵プロセスを検討するため、連続実験を通して次の事項について検討を行った。

- 1) 膜分離型発酵槽を用いた連続的水素生成の可能性
- 2) 水素発酵特性におけるケモスタット型水素発酵槽と膜分離型反応槽の比較
- 3) 膜分離型水素発酵槽内における EPS の挙動及び膜性能

2. 実験材料および方法

2.1 種汚泥の培養

膜分離型反応槽を用いた連続的な水素発酵プロセスを構築するためには、長い固形物滞留時間によるメタンガス生成可能性を防ぐことが必要である¹³⁾。本研究に用いた種汚泥は下水処理場の嫌気性消化槽から採取した消化汚泥をまず熱処理(80℃、20分間)により胞子形成能を持たないメタン生成細菌(特に水素資化性メタン生成細菌)を死滅・不活性させて¹⁴⁻¹⁶⁾、胞子形成を有する水素生成細菌のみを優点させた。それから表1に示す基質で1ヶ月間連続的に馴致を行った。

馴致条件において、HRTを12時間とpH及び培養温度はそれぞれ 5.5 ± 0.05 及び $35^\circ\text{C} \pm 0.5$ に設定した。馴致期間中ガス組成において水素が58%であり、二酸化炭素が41%であった。また、メタンガスは1ヶ月の馴致期間において全く検出されなかった。

2.2 実験装置及び運転条件

Fig.1 に対照系になるケモスタット型水素発酵槽(CTR)及び膜分離型水素発酵槽(MBR)の概略を示す。反応槽はEylea社のMBF-ME typeを用いた反応器である。膜分離型水素発酵槽の有効容積は4.5Lであり、水素発酵槽(3.0L)及び浸漬型膜分離装置(1.5L)により構成されている。また対照系のケモスタット型水素発酵槽の有効容積は3.0Lであった。

炭素源は膜分離型水素発酵槽の連続的水素生成可能性を把握するために基礎的な研究として、グルコース合成培地($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)を用い、窒素源として塩化アンモニウム(NH_4Cl)を添加した。Table 1 に実験で用いた基質の組成を示す。微量元素溶液の濃度は $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:0.5g/l、 H_3BO_4 :0.5g/l、 $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:0.5g/l、 $\text{MnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:2.5g/l、 KI :2.5g/l、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:2.5g/lとした。

膜分離型反応槽およびケモスタット型反応槽のHRTは従来の連続的水素発酵において水素収率が最大であ

った9時間と設定し^{17),18)}、培養温度は $35^{\circ}\text{C}\pm 0.5$ とした。実験開始時の菌体濃度については、CTRでは菌体が流出されることを考慮して初期菌体濃度を増やした後に連続実験を行い、MBRでは膜により流出されないことを考慮して初期菌体濃度は低くした。また膜分離反応槽は分析サンプリングの以外に汚泥の引き抜きなしで連続運転を行った。反応槽内の攪拌は攪拌機により200rpmの速度で行った。pHは水素収率が最大と報告されている 5.5 ± 0.05 に設定し¹⁹⁾、水酸化ナトリウム溶液を自動的に投入することで維持した。基質は、約 4°C 以下に冷却した基質タンクから連続的に水素発酵槽に投入した。

2.3 ろ過膜モジュール

膜分離は浸漬式平型の精密ろ過膜 [(株)クボタの平膜型、有効膜面積は 0.1m^2 、膜孔径は $0.45\mu\text{m}$ 、材質はポリオレフィン]を用いた。ろ過形式は膜モジュールを膜分離装置に浸漬させ、膜の下から水素発酵反応槽で生成した上部のガスを循環させることにより $5.0\pm 0.2/\text{min}$ で曝気しながら膜ろ過を行った。また、長時間における安定的なろ過運転を図るために間欠的な吸引ろ過方式^{20),21)}を採用し、吸引ポンプを7分間運転及び3分間停止で行った。混合液を循環ポンプにより水素発酵槽から浸漬型膜分離反応槽に通ることで循環させた。運転期間中における膜分離装置の維持管理は、膜透過流速が初期透過流速の10%程度減少した時、分離膜を膜分離装置から外しアルコール(3%)で再生した新しい分離膜に交換して連続実験を行った。

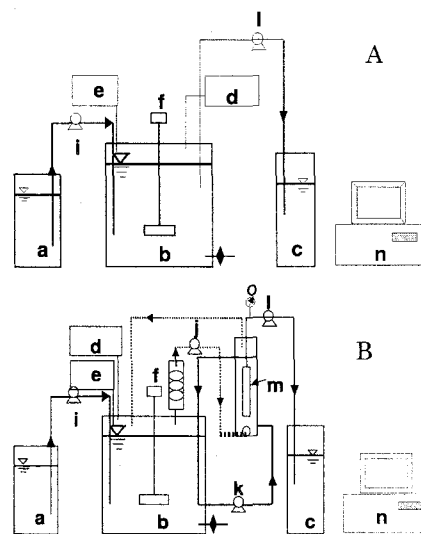
2.4 分析方法

生成ガス中の水素ガスの割合は、TCD-ガスクロマトグラフ(Shimadzu GC-8A、1.5m ステンレスカラム、試料導入部温度 100°C 、カラム温度 70°C 、窒素キャリアガス $1.4\text{kgf}/\text{cm}^2$)により測定した。窒素、メタン及び二酸化炭素ガスの割合はTCD-ガスクロマトグラフ(1.5m ステンレスカラム、活性炭充填、ヘリウムキャリアガス)により測定した。MLSSとMLVSS濃度は下水試験方法²²⁾により測定した。グルコース濃度はGOD(グルコースオキシダーゼ)法²³⁾により定量した。揮発性脂肪酸濃度の定量にはキャピラリー電気泳動分析(CAPI-3200 Photol, I.D $75\mu\text{m}\times 805\text{mm}$ 、UV detector 220nm)を用いた。菌体外ポリマー量(EPS)はNaOH抽出法^{24),25)}により試料から抽出し、TOC濃度として定量した。溶解性全炭素(Soluble TOC)はTOC分析機(TOC-500A、Shimadzu)により分析した。EPSの分画分子量はゲルクロマトグラフ(トヨパール HW-55F、東ソー)で行った。

3. 結果及び考察

Table 1 Composition of synthetic substrate

Constituent	Concentration
Glucose	8,250mg/l
NH_4Cl	1,500mg/l
KH_2PO_4	250mg/l
$\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	250mg/l
$\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5mg/l
Mineral salt solution	1ml/l



a : substrate tank, b: reactor, c: effluent tank, d: gas meter, e: pH controller, f: impeller, i: feed pump, j: air pump, k: peristaltic pump, l: suction pump, m: MF module, n: system controller, o: suction pressure gauge

Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus for chemostat type reactor (A) and membrane bioreactor (B)

3.1 連続的水素発酵の可能性

Fig. 2 にケモスタット型水素発酵槽と膜分離型水素発酵槽の連続運転における水素生成速度、菌体濃度、グルコース分解率及び揮発性脂肪酸濃度の経時的变化を示す。ケモスタット型水素発酵槽では、水素生成速度は運転開始後急激に増加したが、2日目から安定しており、0.97~1.2 l/day の範囲にあった。生成したガスの組成として水素が58%であり、二酸化炭素が31%であった。菌体濃度は運転初期に約 1,315mgSS/l であったが、3日目から約 310mgSS/l で安定した。揮発性脂肪酸の濃度は運転開始後減少し、3日目から安定した。代謝産物としての有機酸は酪酸が主成分であり、その他の有機酸の濃度は乳酸>プロピオン酸>酢酸>蟻酸の順であった。グルコース分解率は最大 50%を示しており、定常状態では約 30~40%と低かった。

一方、膜分離型水素発酵槽では水素生成速度は運転開始後急激に増加し、5日目から安定して 2.45~2.56 l/day を示した。生成したガスの組成として水素が51%であり、二酸化炭素が41%であった。運転初期の菌体濃度は 78mgSS/l から膜分離により徐々に蓄積され、運転 35日後で約 10,340mgSS/l と高くなった。グルコース分解率は運転開始後、徐々に増加して3日目から 99.6%以上になった。代謝産物である有機酸は酪酸が主成分であり、その他はプロピオン酸、酢酸、乳酸>コハク酸>蟻酸の順で生成した。またメタン生成については35日間の連続運転においてメタンガスがまったく検出されなかった。

小木曾ら²⁶⁾は普通の嫌気性消化汚泥を用いたグルコースからの水素発酵において、いずれの基質濃度の条件においても VSS 濃度は 200mgVSS/l 以下で低く、基質分解率も 45%以下で低いため水素回収が期待出来なかったと報告している。また、神戸ら²⁷⁾は嫌気性消化汚泥を用いた酸生成相に関する研究において、グルコース分解からの水素生成に及ぼす汚泥の滞留時間に関する研究を行い、SRT 8~10hr において基質分解率は 45~62% となり、水素生成割合が 9%程度で低かったと報告している。これは、SRT 8hr 以上の条件において水素資化性メタン細菌が増殖し、菌種間の水素伝達により水素が速やかに消費されたためであると考察されている。一方、沈ら¹⁷⁾は嫌気性消化以外の水素生成混合微生物系（大豆粕よりを培養したもの）ケモスタット型反応槽で連続的水素発酵を行った結果、1.52mol-H₂/mol-glucose の高い水素収率を安定的に得ることができたと報告している。

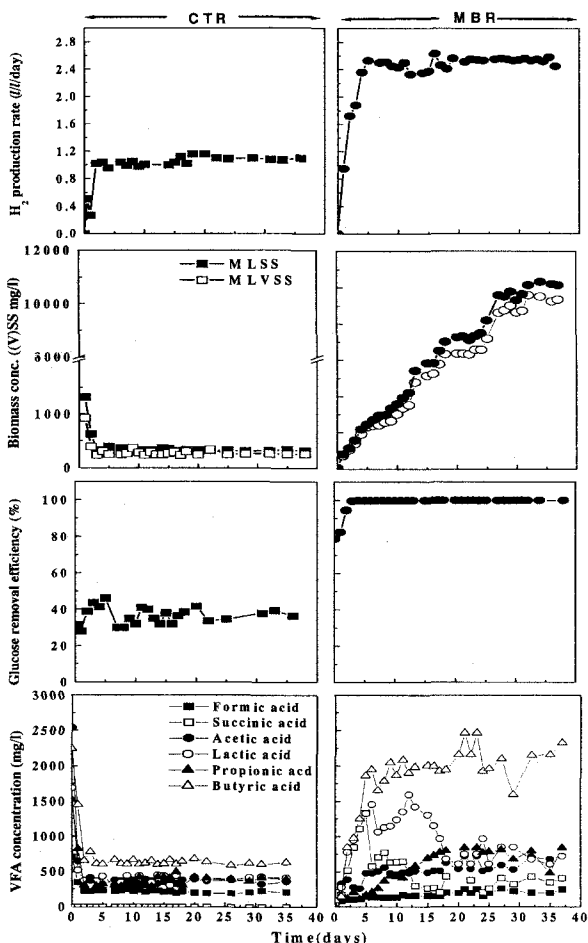


Fig. 2 The time course of hydrogen production rate, biomass concentration (ML(V)SS), glucose removal efficiency and VFA concentration in the CTR and MBR

本研究では嫌気性消化の種汚泥を用いながら、膜分離型水素発酵槽において長い菌体滞留時間を保持したにも関わらずメタン生成がまったく検出されず、安定的に水素発酵を実現できた。これは、①種汚泥を予め80℃で熱処理したので非孢子形成細菌であるメタン生成細菌が死滅させたことと、②発酵槽の混合液を5.5±0.05に制限したためメタン生成細菌の増殖が抑制されたことによるものであると考えられる。本研究結果は膜分離型反応槽を用いた水素発酵では、種汚泥の選択と操作条件を工夫することで、安定的水素発酵の実現が可能であることを示唆している。

3.2 水素発酵の化学量論的検討と物質収支

(1) 水素の転換率

有機物の分解から代謝産物への水素の流れを把握するために、水素収支を検討する必要がある。Table 2にケモスタット型反応槽(CTR)および膜分離型反応槽(MBR)の定常的水素発酵(25日以後)における水素の流れ(物質収支)を示す。ここで、各代謝産物への水素転換率は消費したグルコースの水素を100%とし、ケモスタット型水素発酵槽及び膜分離型水素発酵槽の流出を水素や有機酸などの代謝産物、残存グルコースおよび菌体増殖に分けてそれぞれ計算した。菌体量の計算では嫌気性細菌VSSの擬似分子式 $C_5H_9O_3N^{28)}$ を用いた。また有機物からの水素発酵において、水素生成細菌による加水分解反応で H_2O から水素が取り込まれるため、水素収支率は100%を超える場合もある。

Table 2にまとめた通り、膜分離型反応槽において投入された基質グルコースがほぼ全量分解されて、基質中の水素の16.0%が H_2 ガスとなった。有機酸の流出は酪酸>酢酸>プロピオン酸=乳酸>コハク酸>ギ酸の順で、酪酸が39%と圧倒的に多かった。菌体増殖に利用された水素はわずか1.5%しかなかった。これに対してケモスタット型反応槽はグルコース分解率が低く、64%ほど残存した。発酵生成物として酪酸生成が最も多かった。

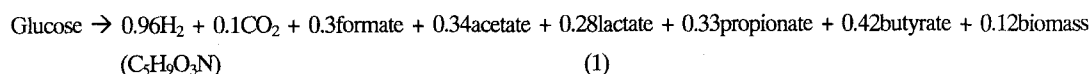
Table 2 Hydrogen conversion flow (mass balance) in the reactors

Hydrogen fermentor type	Bio-gas		Hydrogen conversion flow mass balance in the reactors (%)								Remained glucose (%)	Recovery (%)
	H ₂	CH ₄	Formate	Succinate	Acetate	Lactate	Propionate	Butyrate	VSS	Others		
CTR	4.7	-	1.73	-	4.14	5.1	5.0	11.3	3.4	1.8	64	98.8
MBR	16.0	-	1.59	3.6	8.4	7.8	7.8	39.1	3.1	6.14	-	93.7

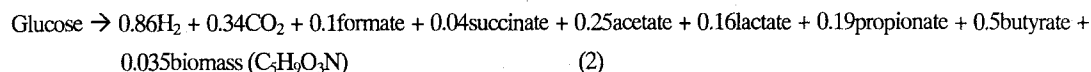
(2) 水素発酵反応の化学量論的検討

定常状態における代謝産物の生成量に基づいて消費したグルコース($C_6H_{12}O_6$)からの水素発酵反応を化学量論式で計算すると、ケモスタット型反応槽及び膜分離型反応槽における水素発酵反応式はそれぞれ次の(1)式及び(2)式となる。

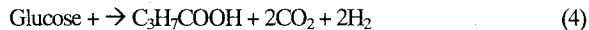
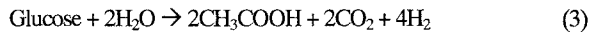
ケモスタット型水素発酵槽



膜分離型水素発酵槽



このように膜分離型水素発酵槽での水素収率は 0.86mol/mol-グルコースであり、ケモスタット型水素発酵槽の 0.96mol/mol-グルコースより若干低いものの、大差がなかった。嫌気性水素生成細菌による水素発酵において、1mol のグルコースが全て酢酸と水素に変換されると、理論的に(3)式のように 4mol の水素が得られる。また 1mol のグルコースが全て酪酸と水素に変換されると、理論的に(4)式のように 2mol の水素が得られる。



しかし、これらの単純な反応を行う微生物は発見されておらず、むしろほとんどの嫌気性酸発酵細菌は酢酸、酪酸以外に、蟻酸、乳酸、プロピオン酸、エタノールなども生成するため、水素への転換率は 4mol どころか 2mol よりも低くなる²⁹⁾。これまで実験的に得られた水素収率はグルコース 1mol あたり最大で 1~2 mol の範囲にあり、連続実験では 1~1.5mol 程度である^{5,30,31)}。これらの文献値の結果と比較して本研究での水素収率 0.86mol は若干低いものの、混合培養の連続実験としては比較的良好な結果と言える。

(3) 反応槽処理性能の比較

同じ HRT 条件におけるケモスタット型反応槽(CTR)と膜分離型水素発酵槽(MBR)の処理性能を比較するため、本実験より得られたグルコース分解率、水素と VFA 収率および菌体あたりの水素と VFA 生成速度を Table 3 にまとめた。グルコースの分解率で評価するとケモスタット型反応槽の 36%に対して MBR の方は 100%に近い分解率が得られ、分解能力が明らかに高かった。一方水素及び VFAs 生成収率において、膜分離型水素発酵槽はケモスタット型水素発酵槽と比べて余り差がなかった。また反応槽内における菌体の代謝活性を見ると、ケモスタット型反応槽の方は膜分離型反応槽と比べて 15 倍ほど高かった。この結果より膜分離型反応槽ではもっと高い分解ポテンシャルがあり、処理負荷をさらに上げられることが推察される。

Table 3 Comparison hydrogen fermentation performance comparison between the CTR and MBR

Hydrogen fermentor type	Degradation efficiency of glucose	Yield		Metabolic activity	
		H ₂ yield	VFAs yield	specific H ₂ production rate	Specific VFAs production rate
		(mol H ₂ mol ⁻¹ glucose)	(mg TOC _{VFA} mg ⁻¹ TOC _{glucose})	(l H ₂ g ⁻¹ VSS day ⁻¹)	(mg TOC _{VFA} mg ⁻¹ VSS day ⁻¹)
CTR	36%	0.96	0.32	0.42	3.93
MBR	> 99.6%	0.86	0.302	0.027	0.27

3.3 膜分離型水素発酵槽における膜運転性能の解析

(1) 膜透過流速、吸引圧力および発酵槽内の EPS 濃度の経時的変化

Fig. 3 に全運転期間における膜透過流速、吸引圧力変化及び発酵槽内の EPS 濃度の経時的変化を示す。膜分離は運転開始後から 29 日まで約 5.0L/m²/hr の膜透過流速で安定的に運転できた。吸引圧力は運転開始から 28 日目まで緩やかな上昇が見られたが、29 日目以後は急激に上昇した。30 日目以後に膜透過流速が減少したため、膜分離を洗浄して 3 回交換して運転を試みたものの、吸引圧力の急激な増加と膜透過流速の減少を改善できず連続運転を維持できなかった。また、膜分離反応槽内の EPS 濃度は運転開始直後に 2.0mgTOC/l 以下であったが、20 日目以後急激に増加し、運転終末の 35 日目では約 235mgTOC/l まで蓄積した。

一方、ケモスタット型水素発酵槽においてはEPSの検出はあったが、反応槽内のEPS蓄積は見られなかった。Nagaoka ら⁷⁾は膜分離を導入した活性汚泥処理において、反応槽内のEPS蓄積は粘度を増加させ、膜抵抗増加と共に膜透過流速を低下させると報告している。また、Cho ら¹⁰⁾はMBRシステムにおいて膜分離運転初期の操作圧力の増加は、膜面にEPSの目詰まりによって徐々に上昇し、このような目詰まり抵抗層形成後に菌体の目詰まりによる操作圧力の急激な増加があると報告している。本研究では水素発酵プロセスにおいても同じような傾向があることを確認した。

(2) EPS蓄積と膜透過性能との関係

膜分離型水素発酵槽の連続処理期間中、EPS蓄積濃度による膜透過性能への影響を評価するため、定期的に混合液を採取し別途回分ろ過実験を行った。この回分ろ過実験では連続実験と同じ膜を用いて操作圧力・70kPaで30分間回分ろ過を行い、Relative flux(J/J_0)を求めた。Relative fluxの定義としては、回分ろ過開始前における純粋水による膜透過流速 J_0 に対し、各EPS含有サンプルを30分回分ろ過後の膜透過流速を J にして、その比(J/J_0)をrelative fluxとした。Fig. 4に連続実験の反応槽内に蓄積したEPS濃度および対応しているrelative fluxの変化を示す。Fig. 4に示すように、EPS濃度が運転時間経過と共に徐々に高くなり、35日目では約235mgTOC/lまで蓄積した。それに伴い、relative fluxは0.92から0.028まで大きく低下した。この結果はEPSが膜透過流速の低下に大きく関与していることを示唆するものである。またこの回分ろ過実験を通して、本研究の連続処理における膜透過流速の低下はEPSの蓄積によるものと推察される。

(3) EPSの分画分子量分布に関する解析

Fig. 5に膜分離型反応槽の異なる運転期間におけるEPSの分画分子量分布を示す。運転初期におけるEPSの分画分子量は約1,300ダルトンであったが、運転時間の経過と共に分画分子量の割合が増え、運転35日目では約40,000ダルトンのものが多かった。この分画分子量の分析結果により、運転初期におけるEPSは低分子物質で構成しているが、膜面にEPS及び付着物質の付着によって膜孔径が小さくなるため、一部分のEPSが膜を透過せず徐々に反応槽内に蓄積されることが考えられる。これはEPSがcarboxylates, hydroxyls, amines, sulfhydrylates などのような官能基を持つため、金属イオン或いは陽イオン複合体と結合の可能性があるためで

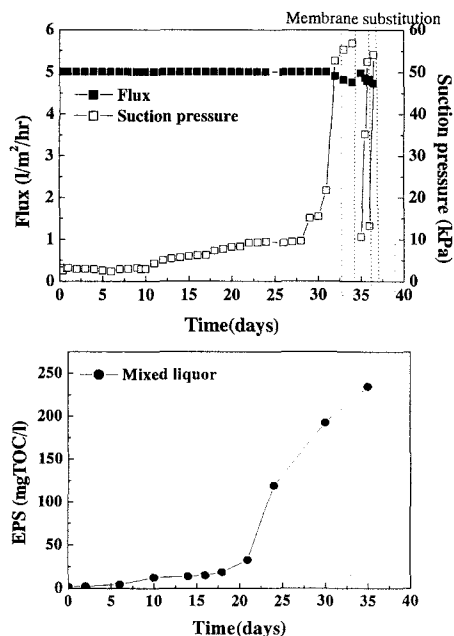


Fig. 3 Time course of flux, suction pressure and EPS concentration in the continuous operation of MBR

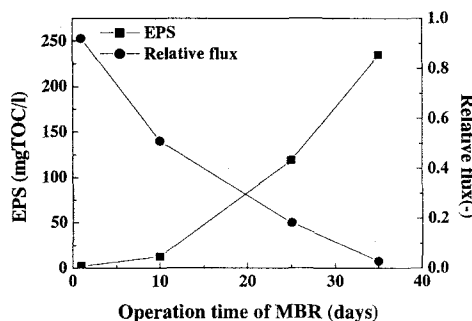


Fig. 4 Relationship between relative flux and EPS concentration at different operation time of MBR

ある。このように EPS は微生物の代謝から生成された他の代謝ポリマーと結合し EPS-ligand-metal を形成⁸⁾、³²⁾するが、分離膜型では濃縮された菌体の代謝から生成される EPS 生成量が多く、分離膜の目詰まりが始まる点から低分子を含む代謝ポリマーの結合がさらに多くなるため、高分子のものへ速やかに転換したと考えられる。

以上解析したように、膜分離型水素発酵反応槽において約 1 ヶ月の連続運転により高分子の EPS が大量に蓄積した。その結果、膜透過流速の低下および吸引圧の上昇を招き、膜運転に支障をもたらしたと考えられる。今後膜洗浄の方法や頻度についてさらに検討する必要がある。

4. 結論

本研究ではケモスタット型水素発酵槽と膜分離型反応槽を用いて混合培養系で水素発酵を行った結果、次の結論が得られた。

- 1) 消化汚泥を予め 80℃ で熱処理して非孢子形成細菌であるメタン生成細菌が死滅されたことと、発酵槽混合液の pH を 5.5 ± 0.05 に制限したことによって、膜分離型反応槽を用いた混合培養系でも安定的連続的水素発酵が可能であった。また膜分離型水素発酵槽におけるグルコースからの水素発酵反応は次式の通りであった。 $\text{Glucose} \rightarrow 0.86\text{H}_2 + 0.34\text{CO}_2 + 0.1\text{formate} + 0.04\text{succinate} + 0.25\text{acetate} + 0.16\text{lactate} + 0.19\text{propionate} + 0.5\text{butyrate} + 0.035\text{biomass (C}_5\text{H}_9\text{O}_3\text{N)}$ 。
- 2) ケモスタット型水素発酵槽と膜分離型水素発酵槽における水素生成反応に大差がないが、分解能力や水素生成速度において膜分離型水素発酵槽の方が大きな利点があることが確認できた。
- 3) ケモスタット型反応槽において EPS の蓄積が見られなかったのに対して、膜分離型水素発酵反応槽においては約 1 ヶ月の連続運転により 40,000 ダルトンの高分子 EPS が 235mgTOC/l まで蓄積した。その結果、膜透過流速の低下および吸引圧の上昇を招き、膜運転に支障をもたらした。今後膜洗浄の方法や頻度についてさらに検討する必要がある。
- 4) 膜分離型反応槽の混合液を用いた回分ろ過実験を通して、relative flux は反応槽内に蓄積 EPS 濃度と相関していることが分かった。膜の連続運転における膜透過流速の低下は、EPS の膜面付着によるものと推察された。

5. 参考文献

- 1) 片岡直明、宮晶子、桐山光市 (1999) 微生物による水素生産システムに関する研究、エバラ時報、No. 183、38~45.
- 2) Rachman, M.A., Nakashimada, Y., Kakizono, T and Nishio, N (1998) Hydrogen production with high yield and high evolution rate by self-flocculated cells of *Enterobacter aerogenes* in a packed-bed reactor, *App. Micro. Biotech.*, **49**, 450~454.
- 3) Chang, J.S., Lee, K.S and Lin, P.P (2002) Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors, *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 1167~1174.
- 4) Liang, T.M, Cheng, S.S and Wu, K.L (2002) Behavioral study on hydrogen fermentation reactor installed with silicone

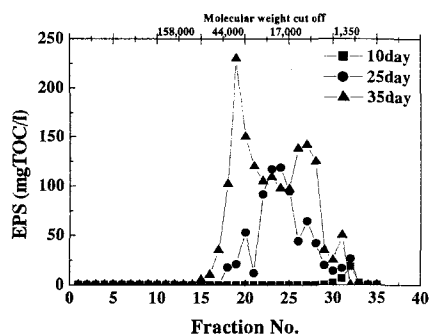


Fig. 5 The distribution of molecular weight cut off distribution of EPS

- rubber membrane, *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 1157~1165.
- 5) Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L and Noike, T (2000) Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging, *Biore. Technol*, **73**, 59~65.
 - 6) 松井三郎、石黒敬史、Bulent Inanc、井手井司 (1992)、嫌気性処理プロセスからの水素エネルギー回収を目的とした基礎的検討、環境工学研究論文集、第29巻、247~253.
 - 7) Nagoaka, H., Ueda, S and Miya, A Influence of bacterial extracellular polymers on the membrane separation activated sludge process, *Wat.Sci.Tech* **34**(9), 165~172.
 - 8) Rudd, T., Sterrit, R.M and Lester, J.N (1984) Complexation of heavy metals by extracellular polymers in the activated sludge process, *J. Wat. Poll. Control. Fed*, **56**(12), 1260~1268.
 - 9) Nagaoka, H. Yamanishi, S and Miya, A (1998) Modeling of biofouling by extracellular polymers in a membrane separation activated sludge system, *Wat. Sci. Tech*, **38**(4~5), 497~504.
 - 10) Cho, B.D and Fane, A.G (2002) Fouling transients in nominally sub-critical flux operation of a membrane bioreactor, *J.Mem.Sci*, **209**, 391~403.
 - 11) Fane, A.G, Beatson, P and Li, H (2000) Membrane fouling and its control in environmental applications, *Wat. Sci. Tech*, **41**(10~11), 303~308.
 - 12) Carrere, H., Blaszkowa, F and Balmann, H.R (2002) Modelling the microfiltration of lactic acid fermentation broths and comparison of operating modes, *desalination*, **145**, 201~206.
 - 13) 小松 敏広、野池 達也 (1992)、膜分離の酸生成相への影響及びその処理特性変化、下水道協会誌論文集、**29**(345)、31~40.
 - 14) Lay, J.J and Noike, T (1999) Hydrogen production and degradation of cellulose by anaerobic digested sludge, *J.Environ. Syst. And Eng.*, JSCE, **No. 636**, VII-13, 97~104.
 - 15) Kihm, D.J and Johnson, E. A (1990) Hydrogen gas accelerates thermal inactivation of *Clostridium botulinum* 113B spores, *Appl. Micro. Biotech*, **33**, 705~708.
 - 16) 五明紀春、品川弘子、吉田企世子、古我可一 (1995)、食品加工学—加工貯蔵の理論と実際、学文社
 - 17) 沈健権、李玉友、野池達也 (1996) 嫌気性水素発酵法による糖類排水の水素発酵特性の比較、土木学会論文集、**552**(VII-1)、23~31.
 - 18) Chen, C.C. and Lin, C.Y. (2003) Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor, *Advan. In. Environ. Res*, **7**, 695~699.
 - 19) Fang, H.H.P. and Liu, Hong. (2002) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Biores. Technol*, **82**, 87~93.
 - 20) Yamamoto, K., Hiasa, M., Mahmood, T. and Matsuo, T. (1989) Direct solid-liquid separation using hollow fiber membrane in an activated sludge aeration tank, *Wat. Sci. Technol*, **21**, 43~54.
 - 21) Lee, D.Y., Cha, G.C., Shim, J.K., Lee, Y.M., Yoo, I.K. and Ann, S.H. (2000) Treatment of food wastewater using submerged membrane separation activated sludge process, *J.KSWQ*, **16**(2), 243~253.
 - 22) 日本下水道協会(1984)、下水試験方法.
 - 23) Trinder, P. (1959) Determination of blood glucose using 4-aminophenazone as oxygen carrier acceptor. *J. Clin. Path*, **22**, 246.
 - 24) Sutherland, I. W. and Wilkinson, J.F (1971) Chemical extraction methods of microbial cells, *Methods in Microbiology*, **5B**, Chap.5. Academic Press, London.
 - 25) Brown, M. J. and Lester, J. N. Comparison of bacterial extracellular polymer extraction methods. *Appl. Environ.*

Microbiol. **40**(2), 179~185.

- 26) 小木曾直行、中村玄正、松本順一郎 (1994)、嫌気性酸生成相における水素生成に及ぼす基質濃度の影響、環境工学論文集、第 31 巻、47~55.
- 27) 神戸宏、中村玄正、松本順一郎(1992)、嫌気性処理におけるグルコースの酸生成分解過程と細菌群に関する基礎的研究－滞留時間の影響－、下水道協会誌論文集、**29**(339)、12~21.
- 28) Speece, R. E. and McCarty, P.L. (1964) Nutrient requirements and biological solids accumulation in anaerobic digestion, *Advances in Wat. Pollut. Res.*, **2**, 305~322.
- 29) Hawkes, F.R, Dinsdale, R, Hawkes, D.L and Hussy, I (2002) Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization, *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 1339~1347.
- 30) Yokoi, J., Ohkawa, T., Hirose, J., Hayashi, S., Takasaki, Y. (1995) Characteristics of hydrogen production by aciduric *Enterobacter aerogen* strain HO-39, *J. Ferment. Bioengin.*, **80**, 571~574.
- 31) Tanisho, S and Ishiwata, Y (1994) Continuous hydrogen production from molasses by the bacterium *Enterobacter aerogenes*, *Int. J. Hydrogen Energy*, **19**(10), 807~812.
- 32) Wingender, J., Neu, T.R and Flemming, H.C (1999) Microbial extracellular polymeric substance: characterization, structures and function. Heidelberg: Springerverlag.