

	かわの たかし
氏 名	河野 孝志
授与学位	博士(工学)
学位授与年月日	平成17年3月9日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第2項
最終学歴	平成9年3月 北海道大学大学院工学研究科衛生工学専攻博士課程前期課程修了
学位論文題目	水素生成細菌群による複合基質の水素発酵特性に関する研究
論文審査委員	主査 東北大学教授 野池達也 東北大学教授 西野徳三 東北大学教授 西村 修 東北大学助教授 李 玉友

論文内容要旨

我国においては、石油を始めとするエネルギー資源の大部分が海外に依存しているため、エネルギー安定供給の確保は重要な課題である。また、近年、化石燃料の大量利用に伴って生じる地球温暖化問題が広く認識され、温室効果ガスの削減がますます重要な課題となってきた。

水素は燃焼すると水しか発生せず、化石燃料の場合のように地球温暖化の原因とされる二酸化炭素の排出がないため、地球環境の保全の観点からも理想的な燃料と言える。水素の製造にはコークス製造時の複製ガス、炭化水素の部分酸化、メタンの水蒸気改質、水の電気分解の方法が用いられている。前者3つはいずれも化石燃料に依存したものであり、製造工程まで考えると、いずれも温室効果を発生させるものである。水の電気分解による水素の製造は、もし電気分解に必要な電力として太陽光、風力などの自然エネルギーにより得た電気を用いるならば、温室効果ガスが発生しないため、持続可能な方法となる。

一方、地表上の二酸化炭素を固定化したバイオマスも再生可能エネルギーであり、「バイオマス・ニッポン総合戦略」によりその利活用を促進している。バイオマスから微生物によって、メタン発酵、エタノール発酵によりメタン、エタノールが回収できることが知られているが、水素を生産することもできる。水素を発生する細菌は、主に嫌気性光合成細菌及び嫌気性非光合成細菌である。特に、嫌気性非光合成細菌は増殖速度が早く、増殖に光を必要としないために連続的な水素の生産(水素発酵)が可能であり、近年注目されている。

第2章では、既往研究を調査し、知見の整理を行った。まず、嫌気性水素発酵の原理を述べ、それに係わる水素生成細菌の種類、及び、それらの水素生成細菌を用いた水素発酵に関する研究について文献調査を行った。現状は、水素生成細菌である *Clostridium* 属、*Enterobacter* 属の単離細菌を用いた水素発酵特性に関する研究が多く、比較的高い水素収率が得られている。また、下水汚泥、メタン発酵汚泥などの種汚泥から水素生成細菌群を優占化させ、その水素発酵の研究も進められている。しかし、それらの研究に用いられている基質はほとんど炭水化物であり、実際のバイオマスに関する研究はほとんどない。また、水素発酵特性に言及されているものが多く、プロセスとして研究されている例が少なかった。

第3章では、水素生成細菌群による複合基質の水素発酵に及ぼす pH および TS 濃度の影響を検討するため、炭水化物、タンパク質などが混在するドッグフードを基質として選び、高温メタン発酵汚泥から培養した種菌を用いて、35℃の条件下で pH を一定制御した一連の回分実験を行った。基質の TS 濃度を 2%、5%、10%と変化させ、また、pH を 4.0 から 7.5 まで変化させて実験的検討を行った。ガス発生量が最大となる最適 pH は TS 濃度により異なり、TS2%では 4.5~5.5、TS5%では 5.5、TS10%では 6.5 であり、TS が高くなると最適 pH が高くなる傾向が見られた。しかし、最大水素発生量は 93.9~108mL/g VS の範囲にあり大きな差が見られなかった。この結果は pH を制御することにより TS10%のような高い基質濃度条件でも効率的水素発酵が可能であることを示唆している。また、発酵の代謝パターンは基質濃度と pH により変化しており、pH が低い条件では乳酸生成が優勢であり、水素生成量が少なかったが、最適 pH では n-酪酸と酢酸が主な代謝産物であった。一方、pH が 7.0 に近づくと n-酪酸の生成量は減少し、酢酸、エタノール、ギ酸、プロピオン酸を含む複雑な代謝産物が生成し、水素生成量は低下した。最適 pH 条件において基質に含まれる炭水化物の分解率は 80~90%と高く、また、投入炭水化物あたりの水素収率は最大 1.80mol H₂/mol glucose であった。

第4章では、有機性廃棄物の水素発酵に及ぼす有機酸濃度の影響を検討するため、炭水化物、タンパク質などが混在するドッグフードを基質として選び、メタン発酵汚泥から培養した水素生成細菌群を用いて、35℃の条件下で pH を 5.5 と 6.5 に一定制御した回分実験を行った。基質の固形物濃度を 2%とし、初期の酢酸、酪酸濃度を 0~10,000mg/L で変化させ、ガス発生ポテンシャル、基質分解特性、分解生成物に及ぼす影響を確認した。その結果、ガス発生ポテンシャル、ガス発生速度、水素ガス濃度は有機酸濃度の増加により減少した。その阻害影響は、同じ有機酸濃度でも pH を 6.5 で制御したよりも 5.5 で制御した方が大きく、酢酸よりも酪酸の方が大きかった。また、非解離有機酸による水素発酵の強い影響が見られ、200mg/L 以上の濃度ではガス発生ポテンシャル、ガス発生速度がいずれも濃度の増加にしたがい低下した。

第5章では、炭水化物、タンパク質などを含む複合基質の連続的水素発酵特性を検討するため、TS10%の高濃度ドッグフードを基質として pH6.5、温度 35℃の条件で水素発酵の連続実験を行った。HRT6.4~34.5 時間の範囲において 101 日間の長期間にわたり安定的で連続的な水素発生が見られた。最大水素ガス発生速度は 12.8 時間で得られ、1.18L/L/d であった。一方、連続実験より得られた最大水素収率は 0.24 mol H₂/mol glucose であり、回分実験の収率を大きく下回った。また、炭水化物の分解率が高く、水素の発生に寄与したものの、タンパク質はほとんど分解されなかった。水素発酵条件における酸生成率は HRT の増大とともに増大し、HRT34.5 時間の条件では約 40%であった。酸生成の主な代謝産物は酢酸と酪酸であったが、プロピオン酸とエタノールの生成も見られた。水素収率と酸生成率の結果よりドッグフードのような複合基質では、水素生成と酸生成のための最適 HRT は長くする必要があり、本研究では 34.5 時間が最適であった。

第6章では、水素発酵残さのメタン発酵特性を把握するために、ドッグフードを用いて TS10%に調整した基質と、TS10%、pH6.5、35℃、HRT12.8 時間で連続的に運転を行った水素発酵残さ基質を用いてそれぞれ高温メタン発酵の連続実験を行った。メタンガス濃度はメタン発酵単独で 53.9~

57.9%, 水素発酵残さでは 60.9~62.9%と上昇したが、反応槽あたりのガス発生量は水素発酵残さメタン発酵で 80.6~93.2%となった。水素発酵残さメタン発酵では、HRT の短縮により有機酸が残存しメタンガスへの COD 転換率が低下した。しかし、十分な HRT ではメタン発酵単独と同等の COD 分解率であった。水素+メタン発酵プロセスでのエネルギー回収量は、現状の連続的水素発酵の水素収率結果では 1%減少したが、回分実験の水素収率が得られれば 6%上昇する。

第 7 章では本論文に関する総括を行った。そして、次の点が明らかとなった。

水素発酵に及ぼす TS 濃度と pH の影響

1) 水素生成細菌群によって、ドッグフードの TS 濃度が 2~10%の範囲で、pH を一定に制御することで、どの濃度でもほぼ等しい 93.9~108mL/g VS の水素生成ポテンシャルが得られ、TS 濃度 10%の高濃度の基質でも水素発酵可能であることが確認できた。

2) TS 濃度に応じて、ガス発生ポテンシャルが最大となる最適 pH が存在し、TS2%では pH4.5~5.5, TS5%では pH5.5, TS10%では pH6.5 であった。また、TS 濃度が高くなると最適 pH は中性側へと遷移する傾向が見られた。このことから水素発酵では pH を制御することが重要であることを示唆している。

3) 各 TS 濃度の最適 pH より低い pH では、pH と生成有機酸による炭水化物分解率の低下と乳酸との基質競合により水素生成ポテンシャルは低下し、最適 pH より高い pH では、プロピオン酸などの水素吸収代謝により水素生成ポテンシャルは低下した。また、TS 濃度に応じて最適 pH が遷移したのは、水素生成時に有機酸が生成し、その生成量は TS 濃度の上昇により増加したことから、有機酸自身により影響を受けたことと、pH, TS 濃度に影響を受け乳酸生成との基質の競合によるものと考えられる。

4) 水素生成には炭水化物の分解が寄与し、タンパク質は寄与しなかった。pH の低下、有機酸濃度の増加により水素生成量が減少するとともに炭水化物分解率は低下するが、タンパク質の分解率は pH, 有機酸濃度により影響を受けなかった。

5) 水素発酵の代謝パターンは各 TS 濃度において、最適 pH 前後で変化した。最適 pH より低い条件では、乳酸生成が見られ、水素生成量が低下した。最適 pH では n-酪酸と酢酸が主な代謝産物であり、それ以上の pH では n-酪酸の生成量は減少し、酢酸、エタノール、ギ酸、プロピオン酸を含む複雑な代謝産物が生成し、水素生成量は低下した。

高濃度連続的水素発酵特性

1) TS 濃度 10%と高濃度であっても、35℃, pH6.5 制御で、HRT6.4~34.5 時間の範囲で連続的水素生成が可能であった。

2) 得られたガス成分は水素ガス濃度が 15~29%であり、残りは二酸化炭素とメタンガスも検出された。メタンガス濃度は HRT の短縮により増加し 1.9%~9.7%であった。高濃度の水素発酵では最適 pH は中性側であるが、その pH ではメタン生成細菌が活動し、水素発酵には不利となる可能性がある。

3) 反応槽あたりの水素ガス発生速度は 12.8 時間で最大の 1.18L/L-digester/d であり、投入量あたりの水素ガス発生量は 34.5 時間で最大の 1.25L/L-input/d となり、連続的水素生成には最適な HRT が存在した。しかし、回分実験による水素生成ポテンシャルと比較して連続実験で得られたガス量は約 10 分の 1 程度となった。

メタン発酵単独と水素+メタン発酵プロセスの比較

1) ドッグフードを基質として用いた場合、メタン発酵単独と水素+メタン発酵プロセスでの炭水化物の分解率は約 90%で同程度となった。一方、タンパク質の分解率は水素+メタン発酵プロセスで約 5%向上した。

2) 水素発酵残さは水素発酵で一部の COD が除去されたことからガス量は 80.6~93.2%低下するが、その残さ成分はタンパク質、脂質、有機酸であることからメタン発酵単独に比べメタンガス濃度が 5~7%高くなった。

3) 連続的水素発酵実験から得られた水素収率では水素+メタン発酵プロセスでのエネルギー回収量はメタン発酵単独に比べ 1%減少する。しかし、回分実験並みの水素収率が得られれば、エネルギー回収量は 6%向上し、水素発酵は全体エネルギー量の 14.2%寄与することになる。

論文審査結果の要旨

水素生成能の高い微生物を用いた有機性廃棄物からの水素生産は、有価資源の回収にも貢献できる生物学的プロセスとして注目されている。本論文は、実際の有機性廃棄物からの水素+メタン発酵プロセスの開発を目的として、それぞれの発酵プロセスの特性を回分および連続実験によって検討したもので全編7章からなる。

第1章は序論であり、本研究の背景および目的について述べている。

第2章では、水素発酵の担い手である水素生成細菌およびバイオマスの水素発酵に関する基礎的知見、および水素+メタン発酵に関する既往の研究について文献調査を行い、研究課題の整理を行っている。

第3章では、複合基質としてドッグフードを用い、水素生成細菌群を植種し、35℃でpHを一定に制御した回分実験により、ガス発生量が最大となる最適pHはTS濃度により異なること、また、最適pHにおいて、炭水化物の分解率は80~90%と高い値が得られた。これらは新しい知見である。

第4章では、35℃でpHを5.5と6.5に一定制御し、TS濃度を変化させた回分実験を行い、初期の有機酸濃度を増大することによりガス発生が阻害されるが、同一の有機酸濃度においても、pHを6.5で制御した場合よりも、5.5で制御した場合の方が、ガス発生速度および水素ガス濃度についての阻害の度合いが大であり、酢酸よりも酪酸の方が強い阻害を示した。これらも新しい知見である。

第5章では、TS10%に調整した基質を用いて、pH6.5、温度35℃、HRT6.4~34.5時間において、101日の長期間にわたる連続的水素発酵を安定的に行い、最大水素ガス発生速度は、HRT12.8時間において得られた。しかし、ドッグフードのような複合基質では、酸生成を考慮したHRTは34.5時間とすることが適切である。これらは有用な知見である。

第6章では、35℃で連続的水素発酵による残渣を基質として、高温メタン発酵連続実験を行い、水素+メタン発酵プロセスでのエネルギー回収量は、水素収率を向上させることにより、メタン発酵単独の場合より増大することが示された。

第7章は結論である。

以上要するに本論文は、水素+メタン発酵プロセスの開発のために、水素生成細菌群による複合基質の水素発酵およびメタン発酵実験を行い、それぞれの発酵プロセスの特性を明らかにしたもので、環境工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって本論文は、博士(工学)の学位論文として合格と認める。