

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03080

研究課題名(和文) 微生物の電子伝達制御機構を付加する環境傾度型バイオガス生産システム

研究課題名(英文) Gradient environment-type biogas production system with an electron transfer control mechanism for microorganisms

研究代表者

東城 清秀 (TOJO, SEISHU)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40155495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：有機性廃棄物を原料とするバイオガス生産において、水素発酵とメタン発酵に関わる微生物群集と至適pHの接続性を改善するため二つの環境傾度型発酵槽について検討した。比較的低い基質濃度の場合、暗期と明期を周期的に変化させる水素二相発酵により、安定したpH帯で水素生産を継続できることが示された。基質濃度が高い場合は、水素-メタン二段発酵が有効で、水素発酵からメタン発酵への移行過程で微生物電解セルの機能を用いることで化学薬品によらないpH調節ができる見通しが得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境傾度型発酵槽は、光や温度の環境条件を人為的に変化させることで水素やメタン等のバイオガス生産に関わる発酵の高速化と高効率化を目指す発酵システムである。発酵の高速化が可能な水素発酵では、明発酵と暗発酵を周期的に組み合わせた水素二相発酵が有効との結果が示された。高濃度原料に有用な水素-メタン二段発酵では、そのpH調節に電子伝達制御機能を有する微生物電解セルが利用できることが示され、化学薬品に依存しないバイオガス生産システムの運用の見通しが得られた。

研究成果の概要(英文)： In the biogas production using organic waste as a raw material, two different gradient environment-type fermenters were investigated to improve the connectivity between the microbial communities involved in hydrogen fermentation and methane fermentation and their optimum pH ranges. For relatively low concentration substrates, two-phase hydrogen fermentation, which periodically changes the dark period and light period conditions, can continue hydrogen production with stable pH range. For high concentration substrate, hydrogen-methane two-stage fermentation is effective, and the optimum pH gap in the transition process from hydrogen fermentation to methane fermentation can be adjusted by using the electron transfer control of the microbial electrolysis cell.

研究分野：農業環境工学

キーワード：環境傾度型発酵槽 水素発酵 メタン発酵 pHギャップ 微生物電解セル 光合成水素生成菌 加圧熱水処理 COD

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタン発酵は高含水率有機性廃棄物の処理技術として普及しているが、処理に多くの日数が必要で、設備が大型になることが問題である。近年は発酵過程を水素発酵とメタン発酵に分離して高速化する手法が開発されてきた。水素 - メタン二段発酵は、前段に原料の加水分解によって水素と有機酸を生成する水素発酵(酸発酵)過程と、後段に有機酸をメタンにまで分解するメタン発酵過程を設けたものである。水素発酵とメタン発酵に関わる菌群の至適 pH 帯が異なるため、水素発酵後に排出される発酵液(以降、水素発酵消化液)の pH を薬品により調節する必要がある。本研究では、水素発酵とメタン発酵を新たな概念に基づく環境傾度型発酵槽を利用して連続的に行い、かつ、pH 調節に関して電気化学的手法を用いることで化学薬品を使わない環境負荷の小さなバイオマス変換システムの開発に焦点を当てた。環境傾度型発酵槽は水素発酵とメタン発酵に関わる多様な微生物が共生できるように、連続的に変化する環境条件を人工的に調節して作り出す発酵空間であり、高速なバイオマスの分解と高効率なエネルギー抽出を可能とするものである。

2. 研究の目的

本研究では、発酵の至適 pH への調節に化学薬品を用いない手法の開発に主眼を置き、次の 2 方法の効果を検証するとともに、実用化に向けた課題を整理した。当初の開発目標とした環境傾度型発酵槽では、水素生成菌群とメタン発酵菌群を同一発酵槽内に人為的に環境条件を変化させることで棲み分けることを想定していたが、結果的に同一発酵槽内でこれを実現することは困難と判断し、異なる 2 つの発酵槽で行うこととした。

(1) 光・温度条件を周期的に変化させる環境傾度型水素二相発酵

原料の加水分解の高速化と発酵液 pH の安定化を目指して、異なる水素発酵を組み合わせた新たな水素二相発酵技術の確立を検討した。暗黒下で活性化する嫌気性水素生成菌群(以下、暗発酵)と光照射条件下で活性化する光合成水素生成菌群(以下、明発酵)が共生する発酵空間を創出し、原料の分解性と発酵の安定化を実現する環境傾度型発酵槽の開発を目的とした。

(2) 原料前処理と微生物電解セルを利用する環境傾度型水素・メタン発酵

従来から研究されてきた水素 - メタン二段発酵を基礎にして、新たに原料の分解性と発酵の高速化を目指して、原料の加圧熱水前処理を検討した。また、水素発酵からメタン発酵に移行する過程で水素発酵消化液 pH を調節するため、電気化学的手法による pH 調節技術の導入を検討した。水素 - メタン二段発酵では、メタン発酵槽から排出されるメタン発酵消化液の一部を水素発酵槽に環流させて原料の希釈水として利用する。本研究では、環流するメタン発酵消化液に加圧熱水処理を施して、水素生成能の高い水素生成菌群を優占化し(引用文献 1)、これを水素生成菌として追加的に投入する技術を開発した。本研究では、原料にも加圧熱水処理を加えることで原料の分解性を高め、高効率な発酵を実現するため、適切な加圧熱水処理条件を明らかにすることを目的とした。既往研究では、水素発酵で低下する水素発酵消化液 pH をメタン発酵の至適 pH まで上昇させるため、アルカリ性の化学薬品が使われている。本研究では化学薬品を使わない pH 調節法として、微生物電解セル(MEC)を利用した pH 調節技術の効果を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

3.1 光・温度条件を周期的に調節する環境傾度型水素二相発酵

インキュベータを利用して水素発酵装置を構成し、暗発酵と明発酵の水素生成菌群が共生する環境条件について検討した。暗発酵の種菌源は、三浦バイオガスプラントで採取したメタン発酵消化液に酒粕を加えて培養したものに、温度 150、圧力 0.5 MPa、保持時間 30 分で加圧熱水処理を施して優占化した。また、明発酵の種菌源は、附属農場の水田から採取した土壌に有機酸を加えて培養し、優占化した。120 mL 容リアクタの回分実験により、暗発酵と明発酵の水素生成菌群の初期構成割合については、容積比で暗発酵菌：明発酵菌が 1:2 で適当との結果が得られた。これを基に 200 mL 容リアクタを用いて、光と温度の環境条件を周期的に変化させる連続発酵実験を行い、基質濃度が発酵液の pH 変動と有機酸蓄積に及ぼす影響を調べた。グルコースを基質として、基質濃度 1.5 g/L、3.0 g/L、4.5 g/L、6.0 g/L の実験区を設けた。発酵槽の環境条件として、暗発酵：12 時間、温度 37、照度 0 lx、明発酵：36 時間、温度 30、照度 4000 lx とした。

3.2 原料前処理と微生物電解セルを利用する環境傾度型水素・メタン発酵

原料基質濃度が高くなると水素発酵だけでは有機酸の蓄積が避けられないことから、水素発酵後にメタン発酵を設ける従来型の水素 - メタン二段発酵の改善策を検討した。本研究では、加圧熱水処理による原料の前処理と微生物電解セルによる水素発酵消化液の pH 調節について検討した。

3.2.1 加圧熱水処理による原料の前処理

原料として市販の酒粕を供試した。原料の前処理として 120 mL 容リアクタを用いた回分式水素発酵実験により、温度 130 °C、圧力 0.5 MPa、保持時間 15 分の加圧熱水処理が適切であることが分かった。これを基に、原料の加圧熱水前処理が水素 - メタン二段発酵に及ぼす影響を検討した。二段発酵システムは水素発酵槽 4 L、メタン発酵槽 20 L で構成し、各発酵槽の温度は 37 °C とした。水素発酵の HRT 2~3 日、メタン発酵の HRT 15 日とした。発酵槽間の発酵溶液の移動はチューブポンプを用いて手動で操作した。

3.2.2 微生物電解セルを用いた水素発酵消化液の pH 調節

原料の基質濃度が高くなると水素発酵消化液 pH が大きく低下することから、微生物電解セルによる pH 調節について検討した。微生物電解セルは陽イオン交換膜の隔膜で仕切られたリアクタ、カーボクロス製対極とステンレス製作用極にポテンショスタットを接続して構成し、アノード槽に水素発酵消化液をカソード槽に純水を入れて実験を行った。容積 26 mL と 300 mL のリアクタを供試して、アンポロメトリ法で電圧 0.6 V を印可して、生起する電流と溶液 pH の経時変化を調べた。

4 研究成果

4.1 光・温度条件を周期的に調節する環境傾度型水素二相発酵

発酵環境としては、嫌気性水素生成細菌群に対しては暗黒化で 37 °C の温度帯で、光合成水素生成細菌群に対しては照度 4000 lx の照明下で 30 °C の環境に切り替えることで暗発酵と明発酵が持続的に推移することが分かった。また、基質濃度を低くすることで嫌気性水素生成菌による急激な pH 低下を抑制でき、明期を暗期の 3 倍に設定することで pH 変動が安定することが分かった (図 1)。また、基質濃度が高い場合は、水素発酵だけでは酢酸や酪酸などの有機酸の蓄積を回避できないことが判明した (図 2)。水素生成収率は基質濃度 6.0 g/L の実験区が最大で、0.97 mol/mol glucose であった。

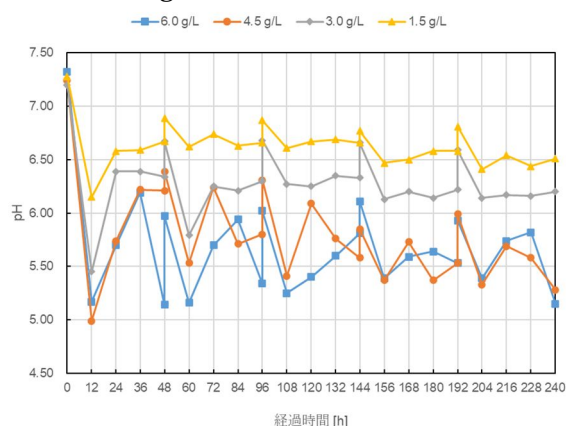


図 1：光・温度条件を周期的に調節する環境傾度型水素二相発酵の pH 変動

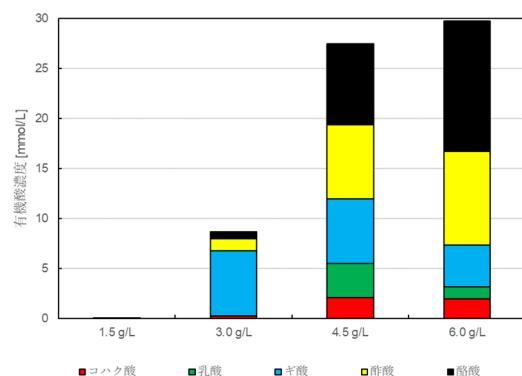


図 2：実験終了後の水素発酵消化液の有機酸濃度

4.2 原料前処理と微生物電解セルを利用する環境傾度型水素・メタン発酵

4.2.1 原料前処理が水素・メタン発酵に及ぼす影響

原料を加圧熱水前処理した場合のバイオガス生産効率率は、水素発酵 502 J/mg COD で、メタン発酵 1281 J/mg COD であったが、前処理しない場合は、水素発酵 372 J/mg COD で、メタン発酵 1309 J/mg COD となり、バイオガス全体では原料を前処理した場合が前処理しない場合に比べて 13% 高くなった (図 3)。原料を前処理することで水素発酵の生産効率は高くなるもの

の、逆にメタン発酵では前処理しない場合より低くなることが分かった。有機酸の蓄積については、原料を前処理した場合が前処理しない場合より、わずかに高い結果であったが、明確な差は認められなかった。

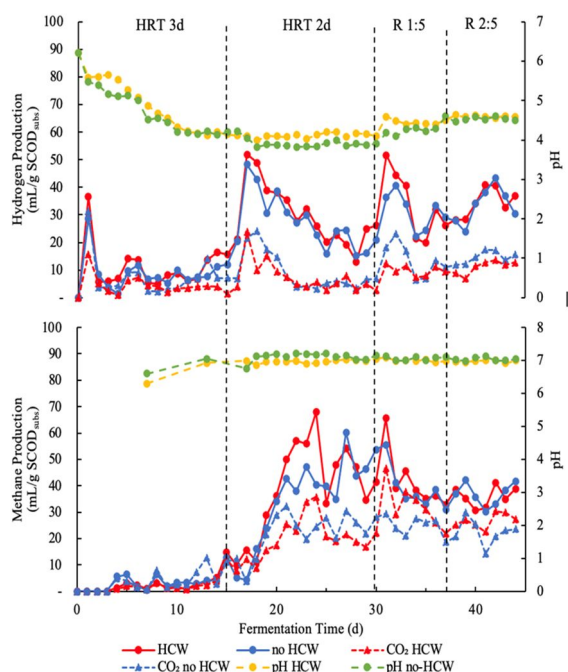


図 3：原料を加圧熱水前処理した水素・メタン発酵

4.2.2 微生物電解セルによる水素発酵消化液の pH 調節

容積 26mL リアクタでは、アノード槽から急激な電子の移動があり、初期 pH4 の水素発酵消化液が 12 時間後に pH8 を超える変化が観察された (図 4)。一方で、容積 300 mL リアクタでは、初期 pH4.8 の消化液は 3 日後に pH6.0 であり、電子の移動も緩慢であった。

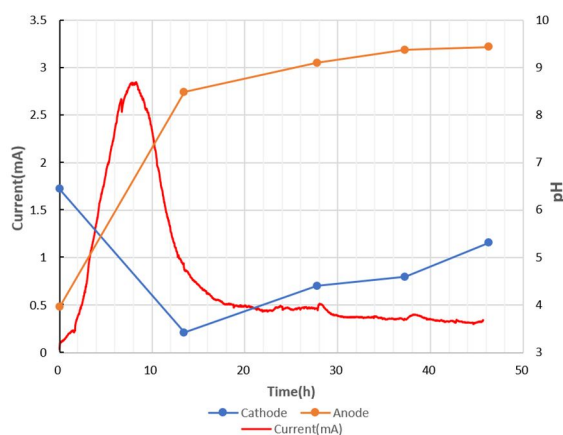


図 4：微生物電解セルによる水素発酵消化液の pH 調節

4.3 まとめ

環境傾度型発酵槽による水素生産は、原料の基質濃度が比較的低く、小規模な実験系では有機酸の蓄積が抑制されて、連続的な運転が可能であることが示された。しかし、原料濃度が高い場合は、発酵過程で蓄積する有機酸を分解させるためにメタン発酵のプロセスが必要であり、本研究では水素とメタンの生産を両立させる同一槽での環境傾度型発酵槽は未達成で終了となった。

引用文献

- 1) Kuribayashi M, Tojo S, Chosa T (2017) Developing a new technology for the two-phase methane fermentation sludge recirculation process. Chemical Engineering Transactions, 58: 475-480. DOI:10.3303/CET1758080.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miftahul Choiron, Seishu Tojo, Tadashi Chosa	4. 巻 45
2. 論文標題 Biohydrogen Production Improvement using Hot Compressed Water Pretreatment on Sake Brewery Waste	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Hydrogen Energy	6. 最初と最後の頁 17220-17232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijhydene.2020.04.199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Megumi Ueda, Seishu Tojo, Tadashi Chosa, Manzo Uchigasaki	4. 巻 47
2. 論文標題 Decomposition characteristics of propionate when changing the electrode material, external resistance and reactor temperature of microbial fuel cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hydrogen Energy	6. 最初と最後の頁 2783-2793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijhydene.2021.10.200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yite Liu, Megumi Ueda, Tadashi Chosa, Seishu Tojo
2. 発表標題 Electricity Production from Xylose in Microbial Fuel Cells Started with Three Different Inoculum Sources
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM and SASJ, and 13th CIGR VI Technical Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Seishu Tojo	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 240
3. 書名 Recycle Based Organic Agriculture in a City	

1. 著者名 渡辺一哉	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シー・エム・シー出版	5. 総ページ数 254
3. 書名 微生物を用いた発電および水素生産	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	帖佐 直 (CHOSA TADASHI) (10355597)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授 (12605)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山内 康平 (YAMAUCHI KOHEI)	東京農工大学・農学部 (12605)	
研究協力者	ホイロン ミフタフル (CHOIRON MIFTAHUL)	東京農工大学・連合農学研究科 (12605)	
研究協力者	上田 恵 (UEDA MEGUMI)	東京農工大学・連合農学研究科 (12605)	
研究協力者	中森 菜奈 (NAKAMORI KANNA)	東京農工大学・農学部 (12605)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------