

シヨ糖の水素発酵における硫酸塩の影響*

—回分実験—

浅野憲哉** 長谷川大*** 松本明人**** 野池達也*****

Effect of Sulfate on Hydrogen Fermentation of Sucrose
— In Case of Batch Test —

Kenya ASANO, Dai HASEGAWA, Akito MATSUMOTO and Tatsuya NOIKE

English abstract : The effect of SO_4^{2-} on hydrogen fermentation of sucrose was investigated using batch experiments at 35°C in this study. The hydrogen producing micro flora was isolated from soybeans, sake lees and yogurt. Sucrose was provided at 18000 mg/l (20000 ppm as oxygen demand) as carbon source. The concentration of SO_4^{2-} was changed from 100 to 10000 ppm. The hydrogen production was not affected in SO_4^{2-} range of 100 to 1700 ppm but 3000 to 10000 ppm. The VFA production and COD removal was affected clearly in SO_4^{2-} range of 5000 to 10000 ppm.

キーワード : 水素発酵, 硫酸塩, 回分実験, ミクロフローラ

1. 序 論

近年, 地球温暖化対策や化石燃料消費量節約の技術開発の必要性が深刻になってきている. 水素は燃焼に際して二酸化炭素を排出せずクリーンなエネルギー源であるほか, そのまま燃料電池に利用できるなどの利点がある¹⁾. このため, 水素の生産方法, 分離方法および貯蔵方法として, さまざまな研究が行われている¹⁾²⁾.

水素の微生物による生産方法には, 光合成細菌によるものと非光合成細菌によるものがある. 非光合成細菌群による方法には, 連続した水素生産が可能であるという利点がある. 嫌気性非光合成細菌細菌群はシロアリ, 大豆, 消化汚泥および汚泥コンポストなどから分離されており³⁾, それらを用いた水素発酵は, グルコース, シュクロース (シヨ糖), セルロースなどを対象に研究されている. 有機性廃棄物である「おから」や, 製麺工場排水などから水素

生成が確認された研究報告もあるが⁴⁾, そうした基質には一般に硫酸塩が大量に含まれる. 廃水中に硫酸塩が高濃度に含まれる場合, 水素資化性硫酸塩還元細菌の働きにより水素生成が阻害される可能性がある.

硫酸塩還元細菌は, 水素や酢酸をめくりメタン生成細菌と競合するが, 炭水化物をめくり酸生成細菌とも競合する.⁵⁾また, 硫酸塩の還元により生成される硫化水素は, 流出水の水質の悪化, 設備の腐食および細菌の活性阻害などを引き起こすことが知られている. しかし, 水素発酵における硫酸塩還元細菌の影響については今のところあまり研究がなされていない. 本研究では, 水素発酵における硫酸塩還元細菌の影響を回分実験により調査した.

2. 実験方法

2-1 水素生成細菌叢の分離方法

回分実験の種汚泥には, 著者らが食品等より分離した水素生成細菌叢を用いた. 細菌叢の分離方法の概念図を, 図1に示す. まず, 大豆, 酒かすおよびヨーグルトをペースト状にした後混合し, グルコースを 10000mg/l 含む水道水を添加して再度混合し,

* 平成 13 年度土木学会中部支部研究発表会にて一部発表

** 環境都市工学科助手

*** 信州大学大学院工学研究科学生

**** 信州大学工学部助教授

***** 東北大学工学部教授

原稿受付 2002 年 5 月 17 日

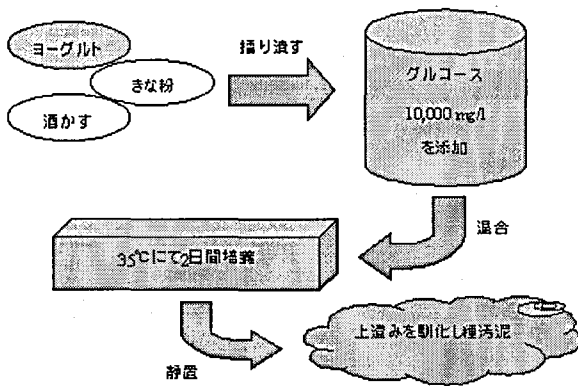


図1 水素生成細菌叢の分離方法

35°Cにて数日間培養し、大きな沈殿物を取り除いたものを水素生成細菌叢の溶液とした。

2-2 種汚泥の馴養方法

前項で述べた手法で得た水素生成細菌叢を、図2に示す連続反応槽で馴化し、回分実験の種汚泥とした。馴化に用いた基質の組成を表1に示す。馴化は、反応槽温度 35°C、流入水の流量をマイクロチューブポンプにより調整し水理学的滞留時間(以下 HRT)10時間とし、ガス循環攪拌方式による完全混合型の条件で行った。

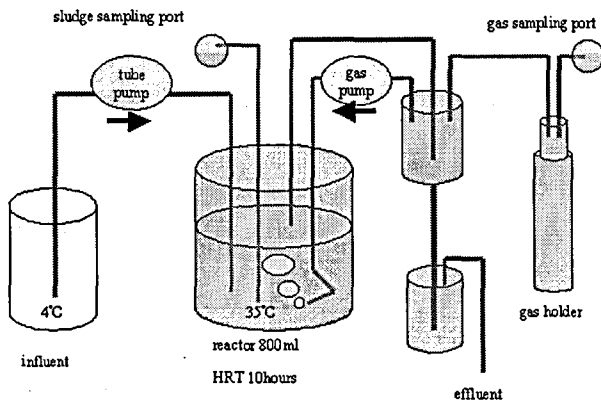


図2 種汚泥馴化用連続反応槽

発生したガスは、メスシリンダーを逆にしたガスホルダーへ水上置換法により採取し、毎日ガス発生速度を測定して定常状態を確認した。液相部は、反応槽に取り付けたガラス管より採取した。このとき、反応槽内の pH は 5.0-5.5、発生した全てのガス(以下全ガス)中の水素濃度 40-45%、水素生成速度は約 230ml/h \cdot l であり、基質ショ糖モル数当りの水素収率は、約 2.1mol H₂/mol sucrose であった。

2-3 回分実験の方法

2-3-1 回分実験の準備

まず、容積約 124ml のガラス製採血管びん(以下バイアル)に水上置換法によりアルゴンガスを充填し、

表1 基質組成

試薬名	濃度(mg/l)
Sucrose	18000
NH ₄ HCO ₃	3800
K ₂ HPO ₄	130
MgCl ₂ ·6H ₂ O	100
FeSO ₄ ·7H ₂ O	282
Na ₂ CO ₃ ·10H ₂ O	2500
KI	2.5×10 ⁻³
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2.5×10 ⁻³
MnCl ₂ ·4H ₂ O	2.5×10 ⁻³
ZnCl ₂	0.5×10 ⁻³
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.5×10 ⁻³
H ₃ BO ₃	0.5×10 ⁻³
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.5×10 ⁻³

完全に空気を追い出しブチルゴム栓およびアルミシールキャップで密栓した。そこへ、定常状態にある種汚泥 40ml を、バイアル中を大気圧に保ちながら、ガラスシリンジにより注入した。種汚泥中のショ糖を完全に消費するために、35°Cの恒温槽で攪拌しながら随時ガラスシリンジにより発生したガスを引き抜き、ガス発生が停止するまで培養した。その後、種汚泥の馴化に用いた培地へ硫酸カリウムを添加した基質 40ml と、pH の急激な低下を防ぐための 1N NaOH 1.2ml を注入し、再度恒温水槽へ配置し回分実験開始とした。

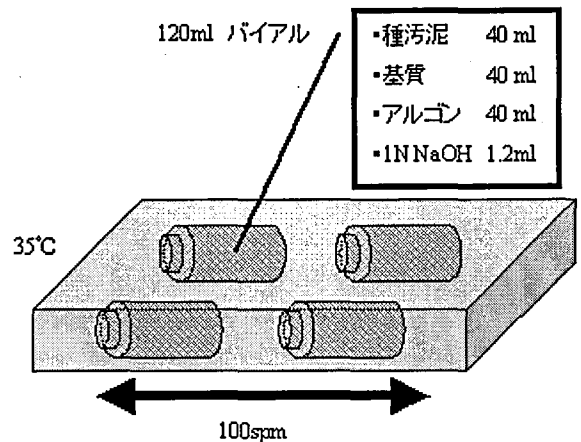


図3 回分実験概念図

回分実験の概念図を図3に示す。なお、回分実験は3回に分けて行い、硫酸カリウムの添加量はそのつど変化させた。試験開始直後のバイアル内液相部の SO₄²⁻濃度は、低濃度の実験で 100, 700, 1200 および 1700 ppm, 中濃度の実験で 100, 2000 および 3000 ppm, 高濃度の実験で 100, 5000 および 10000 ppm とした。

ここで、100ppm の濃度が全ての試験区に含まれるが、これは対照区として設けた。なお、各試験区のサンプル数は、一つの濃度当り3本用意した。

2-3-2 分析項目および分析方法

全ガス生成量および全ガス中の水素濃度は、低濃度、中濃度および高濃度の実験で随時測定した。液相部は、中濃度および高濃度の実験で、実験開始直後、ガス生成の増加が見られる時点、ガス生成が極めて大きい時点、ガス生成が概ね減少した時点および実験終了後の5段階に分けて測定した。

ガス発生量はガラスシリンジを用いて測定した。また、水素ガス濃度は、TCD (Thermal Conductivity Detector)・ガスクロマトグラフ法 (Shimadzu GC-8A型, Shimadzu C-R1A クロマトパック, カラム: ステンレスカラム, 担体: Molecular Sieve 5A, キャリアガス: アルゴンガス, キャリアガス圧力: 1 気圧, カラム温度: 70℃, 注入および検出温度: 100℃, 検出電流: 80mA) により測定した。液層部は、重クロム酸カリウムによる化学的酸素要求量(以下 COD: HACH 社製 COD 分析試薬による吸光度法), 揮発性脂肪酸(以下 VFA: FID-ガスクロマトグラフ法), 水素イオン濃度(以下 pH: ガラス電極法)および浮遊物質の強熱減量(以下 VSS: 遠心分離法)を測定した⁹⁾。COD は、採取した元の COD と、ろ紙(孔径 0.45 μm)を通過した溶存 COD とを分析した。

3. 結果と考察

3-1 SO₄²⁻が低濃度の実験

低濃度の実験においてバイアル1本から発生した、全ガスおよび水素ガスの平均累積体積の結果を図4および図5に示す。いずれの試験区でも、ガス体積は全ガスで 320-340 ml/vial, 水素ガスで 160-180 ml/vial 程度であり、ガス生成開始時間、最大ガス生成速度共に変化が見られず、ガス生成は硫酸イオンによる影響をほとんど受けなかった。

3-2 SO₄²⁻が中濃度の実験

中濃度のバイアル1本当り全ガスおよび水素ガスの平均累積体積の結果を、図6および図7に示す。ガス体積は全ガスでは対照区の約 180ml/vial と比べ SO₄ を 2000 および 3000ppm 添加したもので 1 割程度少なめの 160ml/vial 前後となっており、水素ガスでは対照区の約 85ml/vial に対して 70ml/vial 程度となっている。しかし、ガス生成開始時間および最大ガス生成速度には顕著な変化が見られなかった。これより、ガス生成量が硫酸イオンによる影響を受け

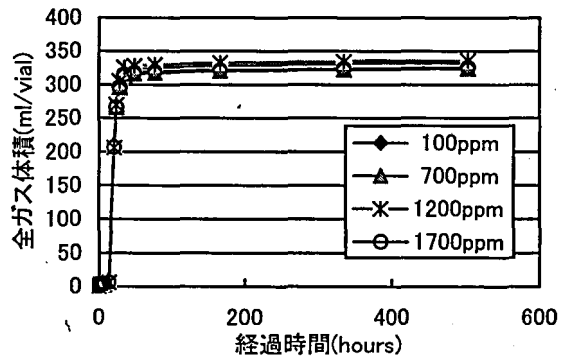


図4 硫酸イオン濃度と全ガス生成量(低濃度)

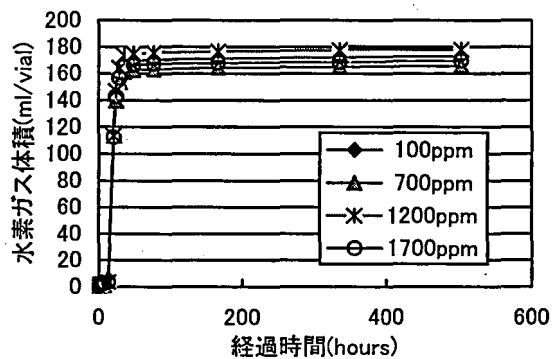


図5 硫酸イオン濃度と水素ガス生成量(低濃度)

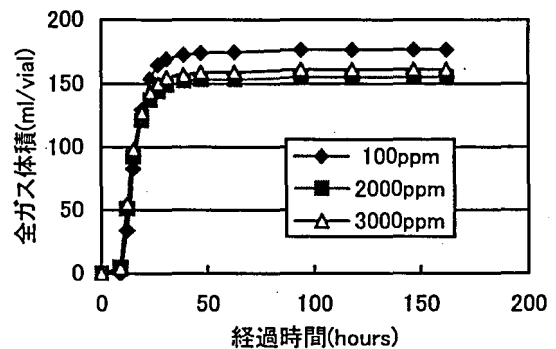


図6 硫酸イオン濃度と全ガス生成量(中濃度)

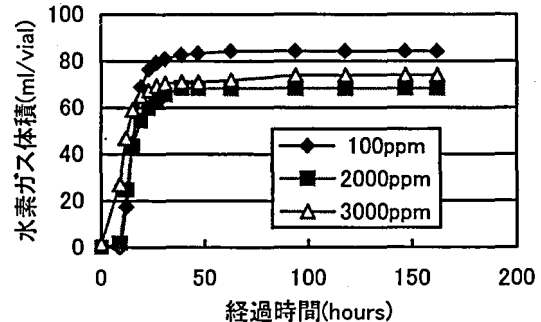


図7 硫酸イオン濃度と水素ガス生成量(中濃度)
たことが分かった。

中濃度の実験における液相部 pH の経時変化を図 8 に示す。図 6(ガス)と比較するとガス発生速度は、いずれの試験区でも水素発酵の最適 pH である 5.0-5.5 の辺りで最大を示し、ガス発生停止後も緩やかに低下していた。硫酸イオン濃度の違いによる pH の変化は見られなかった。

中濃度の実験における VFA の経時変化を、図 9 および図 10 に示す。プロピオン酸および iso-酪酸の発生量は極微量であったため、酢酸と n-酪酸（以下酪酸）のみ図示した。一般に単糖類や二糖類を基質とした水素発酵では、副産物として酢酸あるいは酪酸が生成されるが、酪酸型の水素発酵のほうが水素収率がよい。本実験では、ガス生成速度が最大の時間に酢酸よりも酪酸が多く発生しているため、効率よく発酵が行われていることがわかる。また、ガス発生停止後も酢酸発酵が起きていた。

図 11 に VSS の経時変化を示す。本研究で用いた基質には溶解性の有機物しか含まれていないため、VSS は菌体量とみなすことができる。VSS はいずれの試験区でもガス発生開始時が最大となり、その後徐々に減少している。

COD 濃度および溶存 COD 濃度の経時変化を図 12 および図 13 に示す。両者ともに、いずれの試験区でもガス生成とともに減少し、その後ほとんど変化が見られなかった。また、両者ともに 15%程度除去された。

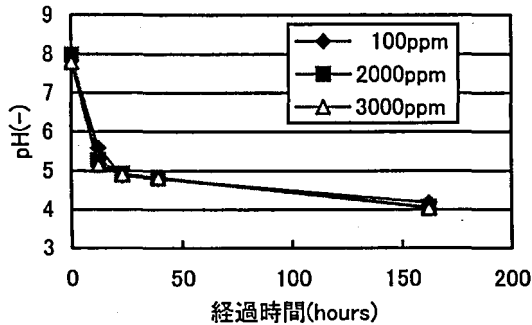


図 8 硫酸イオン濃度と液相 pH(中濃度)

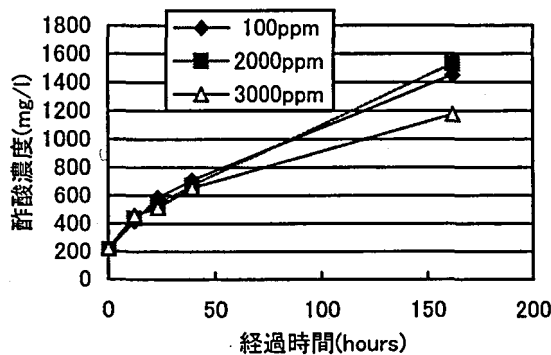


図 9 硫酸イオン濃度と酢酸生成量(中濃度)

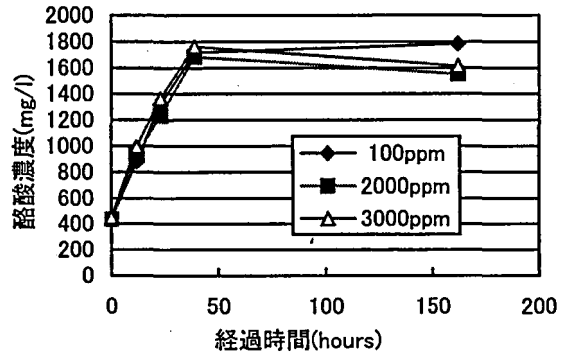


図 10 硫酸イオン濃度と酢酸生成量(中濃度)

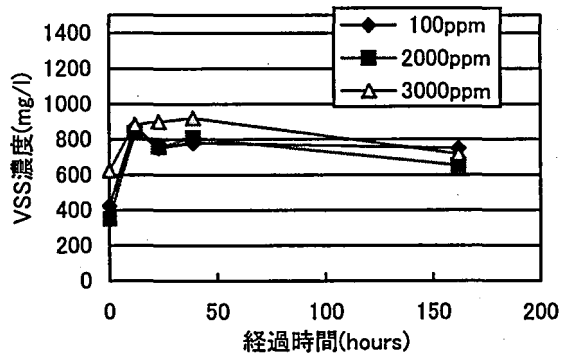


図 11 硫酸イオン濃度と VSS 濃度(中濃度)

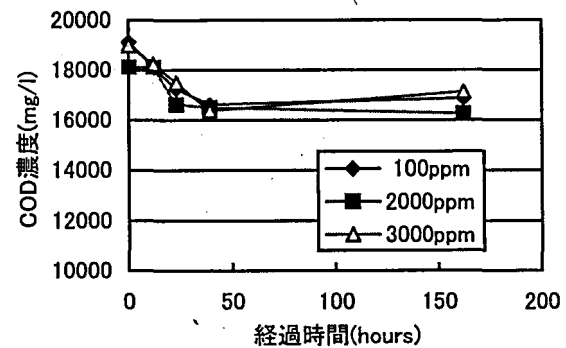


図 12 硫酸イオン濃度と COD 濃度(中濃度)

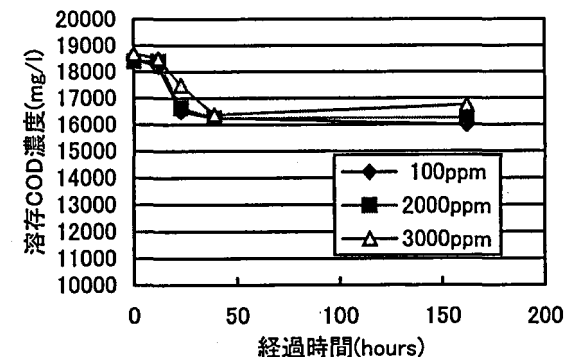


図 13 硫酸イオン濃度と溶存 COD 濃度(中濃度)

中濃度の実験では、ガス生成量は硫酸イオンによる影響が多少見られたものの、液相部には顕著な違いが見られなかった。また、発生ガス中の硫化水素

濃度は測定することができなかったが、腐乱臭が確認されたため硫化水素が多少発生していたことがわかる。

3-3 SO₄²⁻が高濃度の実験

高濃度の実験の、全ガスおよび水素ガスの平均累積体積の結果を図14および図15に示す。対照区では、ガス体積が約250 ml/vial、水素ガスが約130 ml/vialであったのに対し、硫酸イオンを5000または10000 ppm含む試験区では全ガスが210 ml/vial前後、水素ガスが100 ml/vial前後であり、水素発酵が硫酸イオンによる阻害を受けていることがわかる。また、ガス生成開始時間および最大ガス生成速度は、対照区と比較して硫酸イオン添加区で遅延および低下が起きた。

高濃度実験のpHの経時変化を図16に示す。中濃度実験と同様にガス発生速度は、いずれの試験区でも水素発酵の最適pHである5.0-5.5の辺りで最大を示し、ガス発生停止後も緩やかに低下した。しかし、硫酸イオン添加区でpHの低下が抑制された。

高濃度の実験におけるVFAの経時変化を、図17および図18に示す。中濃度と同様に、ガス生成速度が最大の時間に酢酸よりも酪酸生成が卓越しているため、効率よく発酵が行われていることがわかる。しかし、ガス発生停止後の酢酸発酵が、硫酸イオン添加区では著しく阻害されていた。

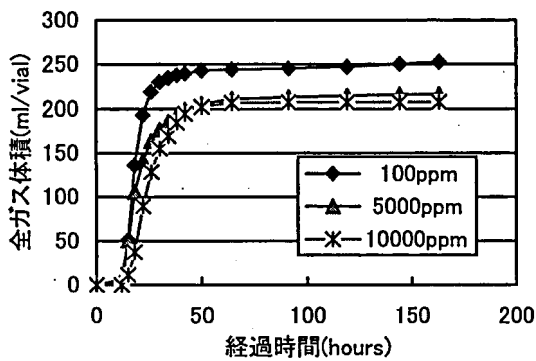


図14 硫酸イオン濃度と全ガス生成量(高濃度)

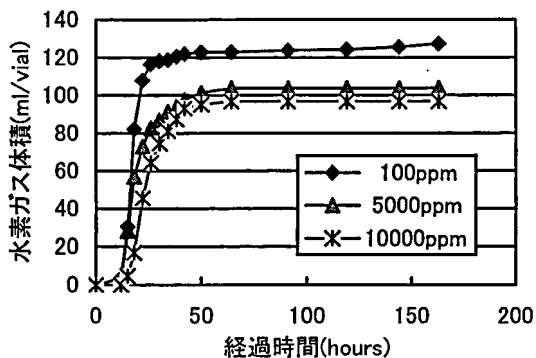


図15 硫酸イオン濃度と水素ガス生成量(高濃度)

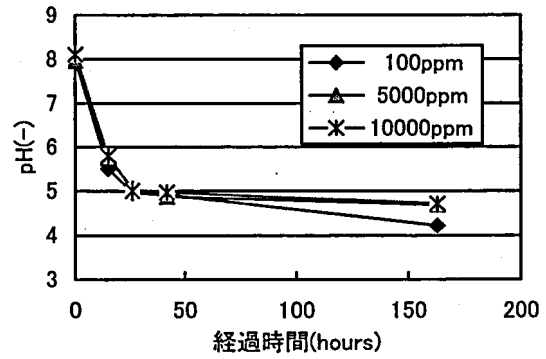


図16 硫酸イオン濃度と液相pH(高濃度)

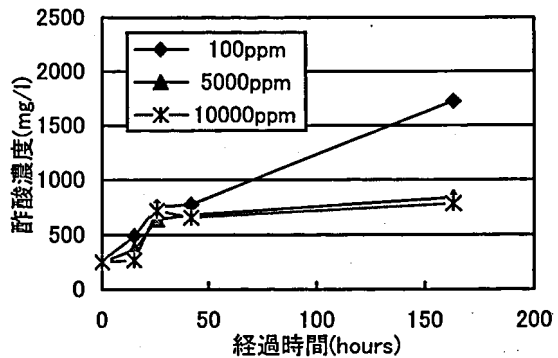


図17 硫酸イオン濃度と酢酸生成量(高濃度)

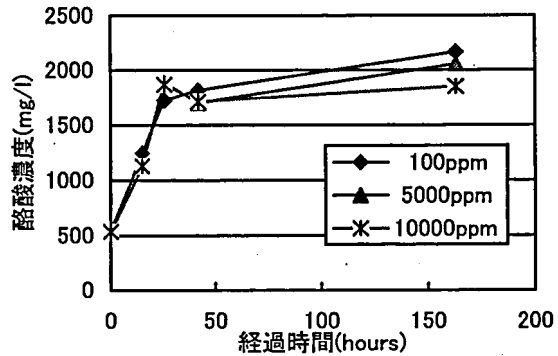


図18 硫酸イオン濃度と酪酸生成量(高濃度)

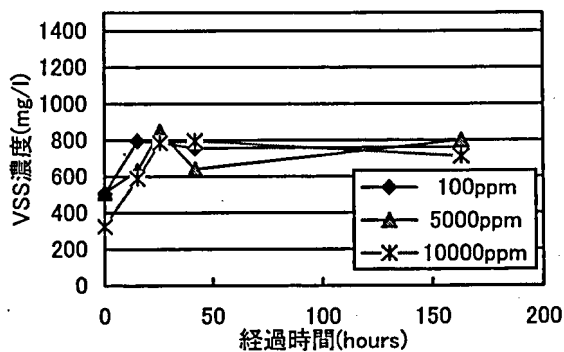


図19 硫酸イオン濃度とVSS濃度(高濃度)

図19にVSSの経時変化を示す。VSSは中濃度と同様に、ガス発生開始時が最大となり、その後徐々に減少したことがわかる。

COD 濃度および溶存 COD 濃度の経時変化を図 20 および図 21 に示す。中濃度の場合と異なり、対照区との差が顕著に表れた。また、COD の除去率は両者ともに 10%程度であった。

高濃度の実験では、ガス生成量と液相部で共に硫酸イオンによる影響が顕著に現れた。しかし、この場合は電解質を高濃度に含むため、水素発酵の阻害の原因が硫酸塩還元によるもののみならず、浸透圧も少なからず影響していたと考えられる。

参考文献

- 1) 太田時男監修：「水素エネルギー最先端技術」，エヌ・ティー・エス，(1995)
- 2) 藤原勝幸，笠松義隆：GdFe₂ の磁性への水素吸収の影響，長野工業高等専門学校紀要，第 35 号，(2001)81-84
- 3) Taguchi,F, Chang ,J.D. :Isolation of a hydrogen-producing bacterium *Clostridium beijerinckii* strain AM21B form termites. *Can.J.Microbiol.*,39,(1993)726-730.
- 4) 水野修，新谷真史，鈴木清彦，矢口淳一，野池達也：製麺工場排水からの水素生成に及ぼす pH の影響，環境工学論文集，第 37 巻，(2000) 97-106
- 5) 水野修，李玉友，野池達也：スクロースの酸発酵に及ぼす硫酸塩還元の影響，水環境学会誌，第 18 巻，第 11 号，(1995)894-900
- 6) 建設省都市局下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部監修：「下水試験方法上巻」，日本下水道協会，1997

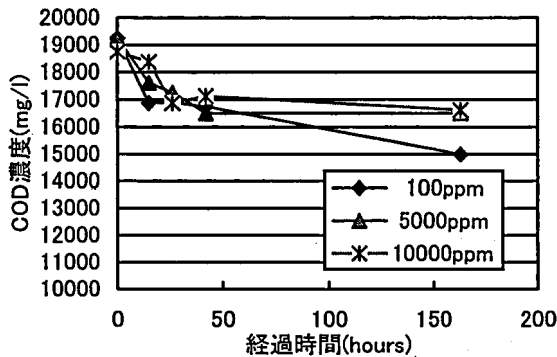


図 20 硫酸イオン濃度と COD 濃度(高濃度)

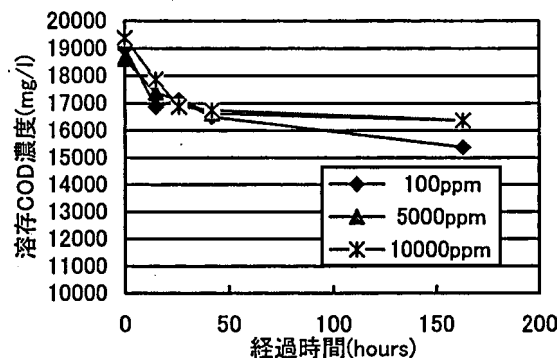


図 21 硫酸イオン濃度と溶存 COD 濃度(高濃度)