

第6章 総括

本研究は CO_2 と H_2 の混合ガスを基質とする馴養メタン菌の高密度化を図ることによって、メタン発酵の高効率化を達成の同時にメタン菌によるビタミン B_{12} 生産システムを確立し、さらに、石炭ガスの改質(H_2 , CO , CO_2 の混合ガスである石炭ガスから高密度の CH_4 への変換)の同時にビタミン B_{12} 生産システムの構築を目的として行ったものである。

この目的を実現するために、メタン菌発酵液からビタミン B_{12} の抽出と精製、ビタミン B_{12} の定量分析、または、メタン菌菌体活性とビタミン B_{12} の含量の相関関係、さらに二酸化炭素と水素を基質ガスとした高効率メタン発酵におけるビタミン B_{12} の生産に関する研究を行った。その結果、 CO_2 と H_2 の混合ガスを基質とする馴養メタン菌の高密度化を図ることによって、メタン発酵の高効率化を達成の同時にメタン菌によるビタミン B_{12} 生産を検討し、実用化の可能性が確認された。

第1章では、本研究の目的を述べた。

第2章では、1) ビタミン B_{12} について、2) コリノイド (ビタミン B_{12}) の生産、3) メタン生成細菌によるコリノイドの生産、4) メタン発酵液からビタミン B_{12} の抽出と精製、5) メタン発酵液からビタミン B_{12} の定量分析に関する既往の

研究を展望し、本研究の意義を明らかにした。

第3章は、 H_2 / CO_2 資化性メタン菌を用い、加圧試験管回分培養を行った。このメタン菌培養液をサンプルとして、ビタミン B_{12} の精製と定量分析について検討した。本章の結果から以下の知見が得られた。

- 1) 佐藤らなど様々の方法を検討し、改良した結果、図 3-2 のように、 H_2 / CO_2 資化性メタン菌に対して、最適な抽出と精製方法が求められた。
- 2) XAD-2 樹脂を充填したカラムの上部からポンプを徐々に圧力かけ、液体の流速を速めることによって、迅速かつ簡単にビタミン B_{12} を分離と精製することができた。
- 3) 明暗条件とビタミン B_{12} との関係が大きいのため、ビタミン B_{12} の生産を目的とするメタン菌培養では、光の遮断を必要とすることが明らかになった。
- 4) 菌体内に蓄積されたビタミン B_{12} を全部出すため、ビタミン B_{12} 抽出・精製する前、菌体液は冷凍・解凍また超音波破碎などの処理は必要である。

第4章では、メタン菌は CO_2 / H_2 資化性馴養メタン菌を用いた。接種サイズは 20%、加圧培養試験管を用いて 37°C の振蕩培養槽 (130 回往復/min) より行った。一定の時間間隔でサンプルを採集し、メタン生成量、メタン菌体密度及びビタミン B_{12} の含有量の測定を行った。その結果、メタン菌の活性は一番活発した対数増殖期間で、ビタミン B_{12} 含有濃度が最も高いことが確認で

きた。これによって、高効率ビタミン B₁₂ を生成するため、メタン発酵の操作条件の一つ重要な知見を得た。今後、メタン生成菌からビタミン B₁₂ の生産に関するメタン生成菌の代謝のメカニズムを解明する研究について、さらに進めるべきだろう。

第 5 章では、ヘチマを担体として、CO₂ と H₂ (20/80、v/v) 混合ガスを連続供給基質とするメタン発酵を、最適硫源と微量金属濃度を用い、2.8L のジャーファーメンタで、メタン菌培養を行った。それより高いメタン菌体密度及びビタミン B₁₂ が得られた。本章の結果から以下の知見が得られた。

1) 微量金属不足するとシステムが不安定で、微量金属はメタン生成細菌に対して、活性促進作用が明らかになった。本システムに対して、適切な微量金属塩濃度 10mg/L である。

2) 適切な HRT の選択はシステムの安定性、メタン菌の活性、またビタミン B₁₂ の生産に大きいな影響があることが明確になった。本研究を調べた結果、HRT = 6 day は最適であることが判った。

3) 固定床発酵槽を用い実験の結果、菌体密度及びビタミン B₁₂ の含量はそれぞれ 42.5 g/L 及び 37.5 mg/L に達した。これらの結果は従来の培養の報告結果と比べ、かなり大きい。ヘチマを担体として発酵槽に充填することで増殖の遅いメタン菌を発酵槽に集積し、より高効率ビタミン B₁₂ 生産の実現が

期待できる。

4) ヘチマを固定化材料として、基質ガス供給に伴う pH の低下に対して、高い抵抗力を持つことがあった。

最後に、本研究に得られた成果より、CO₂ と H₂ の混合ガスを基質とする馴養メタン菌の高密度化を図ることによって、メタン発酵の高効率化を達成の同時にメタン菌によるビタミン B₁₂ の生産が達成された。これによって、CO₂ の固定・有効利用、石炭ガスの改質、エネルギー密度高い消化ガスの製造及びビタミン B₁₂ のような有用物質の生産に関する基礎研究を実用化に向けて発展させた。今後、メタン生成菌からビタミン B₁₂ の生産に関するメタン生成菌の代謝のメカニズムを解明することにより、または石炭ガスの改質(H₂, CO, CO₂ の混合ガスである石炭ガスから高密度の CH₄ への変換)の同時にビタミン B₁₂ 生産システムを構築することができ、実用面の利用が期待される。