

氏名	ZHAO CHENYU		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 9 2 8 6 号		
学位授与年月日	令和元年 9 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Development of Fixed-bed Bioreactor for Higher Bio-hydrogen Production (高効率バイオ水素生産促進のための固定床バイオリアクターの開発)		
主査	筑波大学教授	博士 (生物工学)	楊 英男
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	北村 豊
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

本審査対象論文は、バイオ水素生産促進のための固定床バイオリアクターの研究開発に関するものである。

第 1 章で著者は、バイオエネルギー生産において、バイオ水素は再生可能なクリーンエネルギーとしての利用が期待されていると述べている。しかしながら、従来の水素発酵の方法では、水素生産菌の活性と濃度が低いため、水素生産の効率が十分とはいえない。一方、微生物を固定化するための固定床リアクターの開発は主にメタン発酵を対象とし、水素発酵リアクターの研究開発は少ないのが現状である。そこで本研究では、著者の所属研究室の先行研究で固定床材料として有用であることが見出されている 3 種類の材料 (CPE, PN と LS) を用いて、水素発酵に最適な固定床材料を初めて検討している。これらの固定床材料をバイオリアクターに装填することはバイオ水素の生産促進にとって重要であるが、長期間の連続バイオ水素生産のため、固定床材料とともに微生物成長に必要な栄養元素を提供できる材料 (A-3 ゼオライト Zeolite) と組み合わせたハイブリッド固定床リアクターに関する研究は未だに行われていない。また、水素生産菌に必要な酵素である Hydrogenase を活性化するため、鉄で修飾したゼオライトのハイブリッド固定床リアクターの開発が必要である。そこで著者は、まずバイオリアクターに装填する最適な固定床材料を突き止めた。さらに、上記の固定床バイオリアクターを用いて、ゼオライトと鉄修飾ゼオライトをそれぞれ加えたハイブリッド固定床リアクターの水素生産の効果を互いに比較し、高効率なバイオ水素生産促進バイオリアクターの開発を行った。

第 2 章で著者は、固定床材料として有効かつ安価な材料 (CPE, PN と LS) をそれぞれ用いて固定床水素リアクターを作製した。固定床なしのリアクターをコントロールとして用い、水素生産促進効果を検討した。その結果、固定床ありのリアクターの水素濃度及びガス生産量は、固定床なしリアクターに比べ有意に高くなり、その中でも特に CPE 固定床リアクターのガス生産量はコントロールと比べ 60 倍も高いことが分かった。また、各リアクターにおける微生物の ATP 測定及び SEM 観察の結果、CPE リアクターが最も高い微生物活性を持ち、より多くの微生物が固定化されていたことが明らかになった。さらに、本 CPE リアクターを用いて、高濃度基質 (25, 35 g/L) 投入に対する許容量をコントロールリアクターの場合と比較した。その結果、35 g/L 投入容量のコントロールリアクターでは、水素発酵が起こらなかったのに対し、CPE 固定床リアクターでは継続的に水素発酵が行われた。したがって、上記の固定床材料を用いた固定床リアクターを水素発酵に適用することは十分可能であり、水素発酵の効率化の工夫をもとに、低コスト高効率の水素生産

システムの提案が可能になる。

第3章で著者は、前章で明らかにした最適な固定床材料である CPE を用いて、CPE、CPE+Zeolite (ハイブリッド)、Zeolite と固定床なしのバイオリアクター4 種類をそれぞれ用いてバッチ条件におけるバイオ水素発酵を行っている。その結果、CPE+Zeolite (ハイブリッド) リアクターが CPE、Zeolite と固定床なしの場合に比べ、それぞれ 1.2 倍、3.5 倍、54 倍高い水素生産量が得られ、CPE+Zeolite (ハイブリッド) リアクターが最も効果的であることを明らかにした。また、上記 4 種類のバイオリアクターを用いて 50 日間半連続水素発酵を行った。その結果、CPE+Zeolite (ハイブリッド) リアクターのみが安定かつ継続的に高い水素生産が可能になった。そこで著者は連続発酵前後のバイオリアクターにおける Zeolite に含まれる元素量の変化を分析し、発酵終了後のハイブリッドリアクターの Zeolite において、微生物の成長に必要とされる Na^+ や Ca^{2+} が最も減少したことを明らかにした。したがって、安定かつ継続的に高い水素生産得られるため、微生物が必要とされる微量金属元素の提供が不可欠であることを突き止めた。

第4章で著者は、水素生成の関連酵素にかかわる最も重要な金属元素 Fe で修飾した Fe-Zeolite 材料を製作し、CPE+Fe-Zeolite、CPE+Zeolite、固定床なしのバイオリアクター3 種類をそれぞれ用いて 72 日間の半連続水素発酵を試みている。CPE+Fe-Zeolite が実験終了までの 72 日間、安定して水素を生産したのに対し、CPE+Zeolite では 48 日目、固定床なしリアクターでは 13 日目に水素生産が停止した。ここで、Fe 修飾 Zeolite リアクターの水素生成促進メカニズムを解明するため、各リアクターの有機酸濃度を分析した。その結果、水素変換に有利な酢酸とブチル酸が CPE+Fe-Zeolite リアクターのみの場合で高い値を示し、CPE+Fe-Zeolite リアクターは高効率バイオ水素生産に適していることが明らかになった。Fe は水素生産菌に重要な役割を果たす Ferredoxin と Ferredoxin タンパク質の構成及びタンパク質間の電子移動に必要不可欠な元素であり、また、水素生成酵素である Hydrogenase にも Fe が含まれている。Fe で修飾した Zeolite のバイオリアクターに添加することによって、水素生成に必要な Fe 元素を供給でき、その結果、水素生産が促進された。Fe で修飾した Zeolite 材料を構築した水素発酵バイオリアクターを用いて、高効率バイオ水素生産促進が実現可能であることを示した。

以上を総括すると、著者は、長期間にわたって安定かつ高効率なバイオ水素生産促進システムの開発を進め、これらの知見により、バイオエネルギー生産促進が可能となり、今後、環境・エネルギー分野への貢献が期待できる。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、水素発酵高効率化のため、リアクターに固定床を装填することが有効であることを明らかにした。また、最適な固定化材料と Fe で修飾した Zeolite をハイブリッド化したバイオリアクターを用い、それらのバイオ水素の生産促進効果を初めて検討した。その結果、バイオ水素変換のメカニズムを解明し、適切な固定床及び栄養元素を提供できる材料を装填した高効率固定床水素発酵システムの構築が期待できる。

得られた知見に基づき、バイオ水素生産促進のための固定床バイオリアクターに関する重要な学術的知見を見出した。これらは、長期間安定かつ高効率バイオ水素生産方法の学術的発展に大きく貢献するとともに、さらなる高効率水素発酵システムの可能性が広げ、エネルギー・環境分野等への応用にも寄与するものと評価できる。

令和元年7月29日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。