

氏名(国籍)	張 振 壘 (中 国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第1,339号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	二酸化炭素と水素の混合ガスを基質とする馴養メタン菌によるメタン発酵の動力学と高効率化
主査	筑波大学教授 農学博士 前川孝昭
副査	筑波大学教授 農学博士 富田文一郎
副査	筑波大学教授 工学博士 田中秀夫
副査	筑波大学助教授 農学博士 木村俊範

論 文 の 要 旨

本研究は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、高速度化の達成を目的として行ったものである。メタン菌の比増殖速度は小さいため滞留時間を長くする必要があり、リアクタの体積は大きくなる欠点があった。この問題を克服するために、発酵槽内の菌体を高密度に滞留させ、メタン生成速度を高めることが重要となる。これによって生産性と経済性が高まるので、CO₂の固定・有効利用、石炭ガスの改質、エネルギー密度の高い消化ガスの製造及び有用化学物質の合成装置の実用化が可能となる。メタン菌の高密度化によるメタン発酵の高効率化を図るために、メタン発酵の動力学的検討、メタン菌培養の窒素、硫黄源等の栄養源、さらに無機塩類及び微量金属に関する資料の収集と総合化が必要であるが、基礎的研究から得られる知見は限られていた。本研究は、これらの問題を克服するために検討を進めたものである。その結果、馴養メタン菌による高菌体密度・高効率メタン発酵が達成され、実用化の可能性が切り拓かれた。以下にその概要を述べる。

1. 馴養メタン菌の最大比増殖速度 μ_{max} と最大比基質吸収速度 q_{max} はそれぞれ0.064 (h⁻¹)及び104.8 (mmol/g・h)であった。馴養したメタン菌はH₂資化性のメタン菌が優占種であり、純粋メタン菌に近い特性をもち、さらに、動力学的手法による評価法も妥当であると考えられた。また、馴養メタン菌の基質飽和係数(K_p)及び基質阻害係数(K_p')はそれぞれ3.54 kPa及び0.57 kPaであり、非常に小さい値であった。即ち、発酵の進行に伴いメタン菌は溶存水素濃度の非常に低い場合を除き、ほとんど最大比増殖速度で増殖しているので、DH₂濃度は馴養メタン菌の比基質吸収速度を律速していないと考えられた。

2. メタン菌に対する重要な硫黄源物質を検討した結果は下記の通りである。

1) 実験に用いた元素硫黄, チオ硫酸塩, 硫酸塩, 亜硫酸塩, システイン, グルタチオン等の10種類の硫黄源は S-methyl-cysteine と dimethyl disulfide を除いて, これらは馴養メタン菌の増殖における硫黄源として, 従来利用されていた硫化ナトリウムに代替できる。

2) 硫酸塩, 亜硫酸塩等を単独硫黄源とする場合に, 硫化物への還元はその大部分が優占種である馴養メタン菌と共生した硫化物生産菌によるものと考えられた。抗生物質を添加して硫化物生産菌を阻害させた場合, 馴養メタン菌自身の硫酸塩還元酵素により獲得した僅かな硫化物で痕跡程度のメタン菌増殖及びメタン生成が認められた。

3. 硫酸塩はメタン発酵槽内に共生している硫酸還元菌によって還元され, 生成した硫化物はメタン菌の硫黄源となった。このことにより硫酸還元菌は硫酸塩を硫黄源とする CO_2 と H_2 を資化する馴養メタン菌の増殖に必要な不可欠な要素であると考えられた。また, メタン発酵槽内に抗生物質を添加することにより, 硫酸還元菌の生育は阻害され, 硫酸塩の還元が不可能となった。一方, 馴養メタン菌は硫酸塩の還元力を持たないため, 硫酸還元菌が阻害されていない場合と比べ, 馴養メタン菌の増殖およびメタン生成が減少した。

4. 窒素源, 硫黄源及びリアクタ内基質ガスの物質移動係数が十分に大きい操作条件において, メタンの生成速度および馴養メタン菌の増殖は, 培地の微量金属濃度のみに依存することを明らかにした。培地の微量金属濃度を高く改変した HC 培地による実験では, 菌体密度及びメタン生成速度は各々 26 g/L 及び 21.5 L/L \cdot h に達した。これらの結果は純粋 H_2 資化性の高・中温メタン菌, あるいは酢酸資化性の混合メタン菌の CSTR 及びメタン菌固定化リアクタによる発酵における従来の報告結果と比べて格段に高い値である。

5. 培養液を直接低電圧電機分解して H_2 供給を行うメタン発酵が可能となった。陰極には H_2 が発生し易く, 陽極には O_2 の発生量の低い炭素棒電極を選択した。この時の最適条件は, 電圧 3000 mV, 電流 30 mA であった。

審 査 の 要 旨

水素と二酸化炭素の混合ガスを基質とする馴養メタン菌による高効率メタン発酵において, 第一の問題点は馴養メタン菌の特性を示す比増殖速度や基質飽和定数等の定量化によるメタン発酵の動力学的検討とリアクタ性能を評価する方法の確立を必要とし, 第二に高菌体密度を達成するために, メタン菌の硫黄源, 窒素源, 無機塩類及び微量金属等の最適濃度を明らかにする必要がある。本研究はこれらの問題を克服するために馴養メタン菌に関して動力学ならびに培養工学的検討を進めたものである。

まず, 自然界にあるメタン菌群を採取し, これを種菌として馴養したメタン菌を使って回分及び連続培養について Vega ら (1989) によって開発された微小溶解性ガス及び揮発性基質の発酵の動力学的手法を援用して, 動力学的解析を実施した。この結果とテフロンチューブ法で直接測定した DH_2 の

データに基づく動力的解析結果は互いによく一致した。また、これらの研究成果はリアクタ性能の評価方法の確立、馴養メタン菌のメタン発酵速度及び菌体密度の最大化を図るための重要な資料となる。

さらに、栄養要求性の複雑なメタン菌の硫黄源、窒素源、無機塩類及び微量金属の要求特性について検討を行うと共にメタン菌と硫酸還元菌の共生関係を調べた。これらの研究結果は馴養メタン菌の最適培養条件を明確にし、この結果に基づいた高い菌体密度の確保は高効率メタン発酵を達成している。

続いて、培養液を低電圧電機分解し、陰極より得られた H_2 に CO_2 を混合したガスを基質とするメタン発酵を実施した。これは太陽エネルギーと CO_2 からメタンを合成するプロセスと見なすことができる。

本研究は、 H_2 資化性メタン菌により、 CO_2 の固定、有効利用、石炭ガスの微生物的改質、水素の添加による高純度な嫌気性メタン発酵、及び有用物質の生成の実用化の可能性を切り拓いた優れた研究であると認めることができる。さらに得られた新しい知見は多く、基礎・応用の面から高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。