

生物学的脱硫を核とした低コスト型新規バイオメタン生成システムの開発

著者	小林 拓朗
号	54
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	工博第4334号
URL	http://hdl.handle.net/10097/61891

氏名	こばやし たくろう 小林 拓朗
授与学位	博士(工学)
学位授与年月日	平成22年 3月25日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科(博士課程) 土木工学専攻
学位論文題目	生物学的脱硫を核とした低コスト型新規バイオメタン生成システムの開発
指導教員	東北大学教授 原田 秀樹
論文審査委員	主査 東北大学教授 原田 秀樹 東北大学教授 大村 達夫 東北大学教授 西村 修 東北大学准教授 李 玉友

論文内容要旨

本論文は、8章から構成される。以下に各章の内容をまとめる。

第1章 総論

持続社会な社会形成への取り組みの一環として、バイオマス利活用の推進が図られている。近年、バイオ燃料への関心が高い。試算によると、国内で年間に発生する代表的な廃棄物系バイオマス(家畜排泄物, 生ごみ, 下水汚泥)を全てメタン発酵してメタンガスを回収すれば、バイオ気体燃料として原油換算で395万kL/年ものエネルギーが得られると言われる。従って、メタン発酵技術はバイオ燃料生産手段として有力な技術である。わが国では、廃棄物系バイオマスをメタン発酵で処理するバイオガスプラントの普及が図られているが、その障害となっているのは運転コストの高さである。とくに一般農家を対象とした小規模分散型のプラントは、処理コストが割高であり運営が困難である。運転コストの中では、バイオガス脱硫経費と操業委託の人件費の占める割合が大きいことが報告されている。本論文では、運転コストを低減する新規なメタン発酵システムの開発を目的とした研究を行った。システムの主要な要素は次に述べる3つである: (1) 生物学的脱硫, (2) 無動力攪拌方式の新規メタン発酵リアクター, (3) 外来植種源を要しない安定したスタートアップ戦略。これらの各要素に関して高効率化の基礎となる原理解明を主眼とする研究を行い、統合システムの枠組みを構築することを目指す。

第2章 生物脱硫に関する研究現況および研究課題

本論文では、上に挙げた3要素のうち特に生物脱硫に重点を置いた研究を行った。本章では生物脱硫に関する既往の研究をまとめた。バイオガスの生物脱硫法は低コストかつ管理容易な方法として注目されており、わが国においてもいくつかのバイオガスプラントで導入が始まっている。生物脱硫装置は次の4つの形式に分類できる。(i) 発酵槽一体型気相部空気吹込方式, (ii) 発酵槽一体型発酵液空気吹込方式, (iii) 分離型生物膜培養方式, (iv) 分離型浮遊培養方式が存在する。わが国で、バイオガスの生物脱硫装置として採用されているのは(i)と(iii)の方式である。一方で、これまで研究の対象となってきたのは専ら(iv)の方式である。(i)の方式は簡素で小規模プラントでも導入しやすく、低コストかつ管理容易という本論文でのコンセプトに適合しているが、十分な脱硫性能を得られない点が特に問題となっている。その理由として、(i)方式には適切な装置デザインや運転方法の指針がないことが挙げられる。また、それらの基礎となる装置内部の反応機構に関する学術的な研究がない。従って、脱硫装置高効率化のためには、(i)方式の内部反応機構を解明し、それに基づいた適切な装置デザインを提唱する必要がある。

近年、硫黄酸化細菌を用いた硫化水素からの硫黄生成および回収が、研究キーワードの一つとなっている。硫化水素は、一般的には硫黄酸化細菌によって硫酸まで酸化されるが、特定の環境条件下のもとで硫黄への部分酸化でストップ

することが知られている。硫黄生成反応の利点として、次の3点が挙げられる：(1) H^+ ではなく OH^- 生成を伴うのでpH低下による硫化水素溶解性の低下と設備の腐食を回避できる、(2) 硫黄生成反応は、硫酸生成反応と比較して酸素要求量が小さい、(3) 回収した硫黄を再利用できる。こうした反応を意図的に引き起こすため、環境条件の制御が必要である。制御因子として注目されているのは硫黄酸化細菌に対する供給 O_2/H_2S 比である。供給 O_2/H_2S 比 >1 では硫酸への変換が優勢となり、供給 O_2/H_2S 比 <1 では硫黄への変換が優勢となる。このような研究は、上で述べた浮遊培養系の (iv) 方式でのみ研究が行われている。(i) 方式のような生物膜培養系の生物脱硫において、反応メカニズムや関与する微生物群は未知であり、反応制御のための戦略が欠如している。故に本研究では、(i) 方式における硫黄生成を誘発する因子の解明と反応制御戦略を提案する。

第3章 硫黄酸化細菌を利用したメタン発酵槽の微好気環境下におけるバイオガス脱硫

本章では、200頭分の乳牛ふん尿を処理するメタン発酵実証プラントに設置された発酵槽一体型気相部空気吹込方式の生物脱硫の連続実験を扱った。脱硫は、中温メタン発酵槽 (35°C) の気相部に対しバイオガス生成速度の5%の割合で連続的に空気を吹き込むことで行っている。本章では以下の3点に焦点をあてた解析を行った：(1) 連続実験結果に基づく生物脱硫性能の評価と乾式脱硫と比較した場合の生物脱硫の経済性評価、(2) 生物脱硫によって発酵槽内部に形成された脱硫に寄与する生物膜 (硫黄マット) の生物・化学的な特性評価、(3) 硫黄生成反応を誘発する硫黄マット内の反応環境の解析。

連続実験の結果、生物脱硫開始前の定常運転期間において平均 3520 ppm の濃度であったバイオガス中の硫化水素は、生物脱硫開始後平均約 70%程度が低減され、生物脱硫の効果が明らかであった。しかし、バイオガス中の酸素の残留が脱硫剤の発熱を引き起こし、脱硫剤の交換期間を早める結果となった。このことは生物脱硫の経済性を損なう要因となり得る。脱硫活性試験の結果、天井付近から多く採取される白い層の発達が進行したマットよりも、菌床から多く採取される水分含量の多い白い層が薄いマットの方が約2倍大きな脱硫活性を持っていた。発酵槽気相部に形成された硫黄マットの白い層は、TS比40~90%程度の高濃度の S^0 を蓄積しており、硫化水素から S^0 への優先的な反応経路が取られていることがわかった。図1に示す微小電極測定の結果から、マット内では O_2 と比較して S^{2-}_{tot} が常に高い濃度で分布しており、マットの微生物への供給 O_2/S^{2-}_{tot} 比は0.45となった。このことから、マット内硫黄酸化細菌は硫黄形成に適した反応環境で生育していたと考えられる。この結果は、生物脱硫においても、浮遊培養リアクターと同様に液相ベースでの供給 O_2/S^{2-}_{tot} 比の制御によって硫黄形成を誘発できることを示唆している。

以上のことから、次の条件を満たす脱硫ゾーンのデザインが必要であると考えた。生物脱硫がコスト低減効果を発揮するため、乾式脱硫を必要としない高効率な脱硫性能。脱硫に寄与する微生物の活性を向上させるため、それらに対して栄養供給が安定的に行われること。硫化水素の硫黄への変換を誘発するために、発生硫化水素濃度に応じて空気吹き込み量を変化させ、液相において供給 O_2/S^{2-}_{tot} 比が1以下になるようにする。

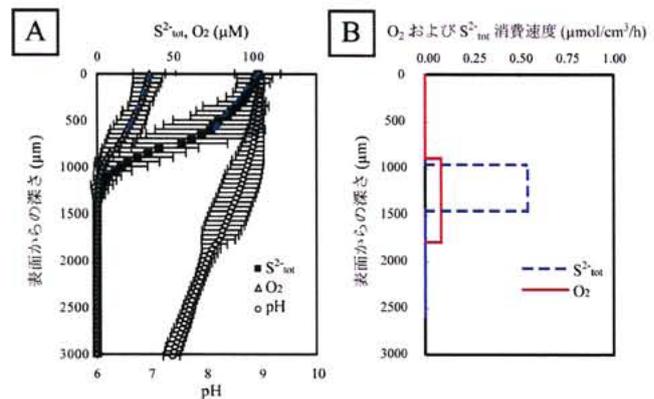


図1 (A)：微小電極による硫黄マットの S^{2-}_{tot} , O_2 , pH プロファイル, (B)：一次元基質拡散モデルから算出した活性領域

第4章 バイオガスの生物脱硫に寄与する硫黄マットの微生物群構造とその変化

本章では、上記の実証プラントにおいて形成された硫黄マットの微生物群集構造の解析を行った。解析の焦点は以下のようなものである：(1) マット内の微生物群集構造の把握、(2) 硫黄マットの発達場所、採取日時、白い層の発達状況の各条件での微生物群集構造の違いの把握、(3) 硫黄マット内における主要な硫黄酸化細菌の分布。

硫黄マット内では、硫黄酸化細菌である *H.neapolitanus* に近縁な細菌 (OTU WSM1) と *S.denitrificans* に近縁な

細菌 (OTU WSM2) が優勢である。CARD-FISH セルカウントの結果、薄いマットと厚いマットの両方において、アクティブなセルとして OTU WSM2 が優勢であり (図 2), 生物脱硫に大きく寄与している硫黄酸化細菌は OTU WSM2 であると推察された。硫黄マットは、発酵液由来の黒い層が栄養源となっている。マットは白い層と黒い層の繰り返しによって構成されるが、発達場所によって白い層の厚さが異なる、即ち栄養供給の間隔が異なっている。より高活性な白い層が薄いマットは、それが厚いマットよりも OTU WSM2 のセル濃度が 2 オーダ程度大きかった。また、厚いマットでは OTU WSM1 が構成比の上で増大することが示された。このことから、栄養供給の機会が乏しい場所に生育するマットは、発達に伴い脱硫活性と硫黄酸化菌濃度の減少および微生物相の変化が生じていることが明らかとなった。こうしたことは、硫黄マットの活性を維持するためには、定期的な栄養供給の仕組みが必要であることを示唆している。

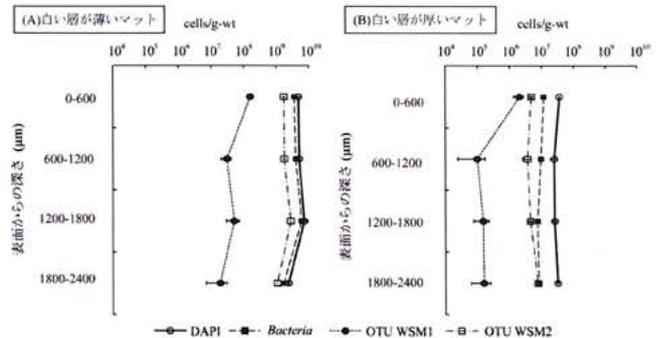


図 2 CARD-FISH セルカウントによる主要な硫黄酸化細菌のポピュレーション

第 5 章 バイオガスの生物脱硫を行うメタン発酵槽に生息する新規フィラメント硫黄生成細菌

上記実証プラントから採取された硫黄マットは、フィラメント状の硫黄によって構成されていた (図 3)。フィラメント硫黄生成は、近年深海海底熱水噴出口で発見された特殊な現象として注目を集めている。この発見は、非海洋以外ではじめてのフィラメント硫黄生成現象であり、それに関与する微生物も異なっている可能性が高い。本章では、実証プラントにおいて形成された硫黄マットの解析および H₂S リッチなモデルリアクターを用いた培養による生物脱硫のキープレーヤーかつフィラメント硫黄を生成する細菌の特定および生息環境の理解を目的とした研究を行った。マット内では非海洋性の *S.denitrificans* に近縁な OTU がアクティブな硫黄酸化細菌として優勢であり、フィラメント硫黄を形成している可能性が高いと考えられた。この細菌は、既知のフィラメント硫黄生成細菌を含む *Epsilonproteobacteria* の硫黄酸化細菌と同様、硫化水素と酸素の濃度勾配がある領域で生息し、10 μM-O₂ 以下の微好気的環境で高い活性を示すことが示唆された。O₂ と H₂S の条件が既報のフィラメント硫黄形成環境と類似する発酵槽とモデルリアクターで、既報と異なる細菌によりフィラメント形成が行われたことから、この現象が多様な環境で起こりうることを示された。

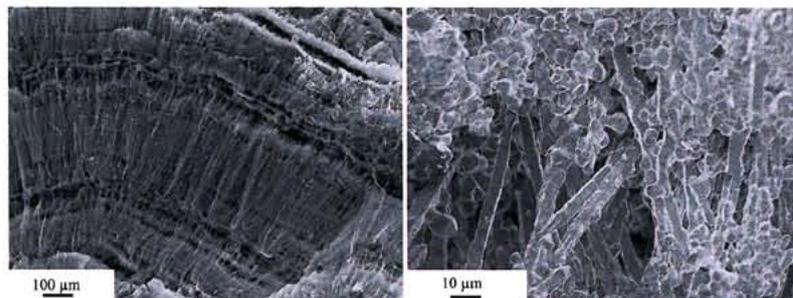


図 3 硫黄マット鉛直断面の走査型電子顕微鏡写真

第 6 章 余剰汚泥自己分解によるメタン発酵スタートアップ性能評価と古細菌群集構造の変化

本章では、実験室内での余剰汚泥からのメタン発酵スタートアップの連続実験において、運転状況と微生物群集の変化のモニタリングを行い、適切なスタートアップ戦略の検討を行った。植種源の TS 濃度調整とバッチ培養による余剰汚泥の自己分解からのメタン発酵スタートアップを行ったところ、深刻な VFA 蓄積および pH 調整なしでの安定した

運転が可能であった。本研究のスタートアップにおいては、プロピオン酸の分解が律速段階となっていた。古細菌群集の解析からは、自己分解期間において *Methanosarcina* 属のポピュレーション増大と酢酸分解の進行、水素資化性メタン生成古細菌のポピュレーション増大と酪酸・吉草酸の分解進行とがそれぞれ対応関係にあることが示唆された。

第7章 無動力攪拌・生物脱硫機能を備えた新規メタン発酵リアクターの開発

本章では、高効率な生物脱硫と無動力の攪拌機構を実現するためにデザインした新規メタン発酵リアクターの実験室内での連続運転を行い、性能評価を行った。目標として、攪拌動力ありのメタン発酵リアクターと同等以上の処理性能と乾式脱硫の併用なしで済む十分な生物脱硫の実現、および硫黄生成反応の誘発の3つを設けた。連続運転は、有効容量43Lの中温(35°C)に設定したリアクターを用いて行った。模擬生ごみを基質としてCOD_{Cr}容積負荷約5kg/m³/dおよび10kg/m³/dでの連続運転を行った。攪拌動力ありの中温および高温メタン発酵リアクターを用いた同負荷の運転と比較して、COD_{Cr}減量化率、バイオガス生成収率、流出液のVFA濃度の点で、同等あるいは優れた処理性能を示した。生物脱硫においては、バイオガス中の残留硫化水素濃度は平均10ppm以下であり十分な脱硫が達成できた。半分の空気注入率で脱硫速度は実証プラントのそれを上回り、かつ硫黄生成が認められた。以上の結果から、本論文で提案した新規リアクターは、攪拌動力ありのリアクターに匹敵するメタン発酵性能と乾式脱硫の併用が不要な高い生物脱硫性能が実現できた。

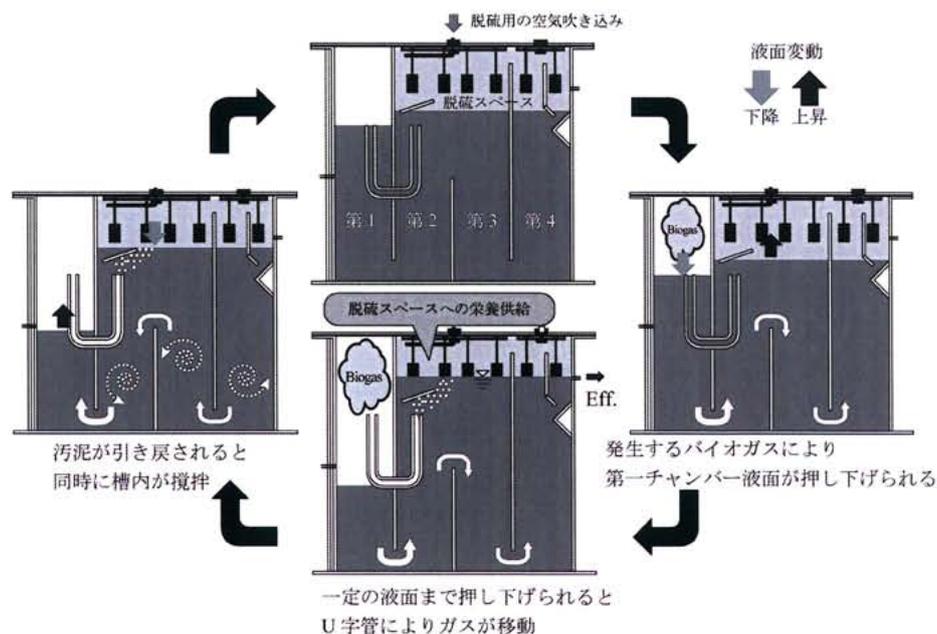


図4 新規メタン発酵リアクターの動作原理

第8章 総括

本章では、本論文の総括と今後の研究課題をまとめた。

論文審査結果の要旨

メタン発酵技術は、廃棄物系バイオマスからのバイオ燃料生産手段として最も有力な方法の一つである。わが国ではバイオマス利活用推進事業の一環として廃棄物系バイオマスをメタン発酵処理するバイオガスプラントの普及が図られている。しかしながら、従来技術のもつ高コスト体質はその普及の障害となっている。本論文では、メタン発酵技術のコスト低減化を達するシステムを開発すべく、生物脱硫技術のメカニズム解明と高効率化および統合システムの開発を核とした検討を行ったもので、全文8章からなる。

第1章は総論であり、本研究の背景を延べ、研究意義と目的についてまとめている。

第2章「生物脱硫に関する研究現況および研究課題」では生物脱硫の既往研究についてまとめ、研究課題の整理を行っている。

第3章「硫酸化細菌を利用したメタン発酵槽の微好気環境下におけるバイオガス脱硫」では、実規模のメタン発酵槽における発酵槽気相部空気吹込の生物脱硫実証プラントを対象として、連続実験結果の評価と装置内の反応メカニズムに関する解析を行った。連続実験結果より、バイオガス中の硫化水素は平均約70%が除去されその効果は明らかであることを実証した。装置内では硫化水素が硫黄へと変換される反応が生じており、その反応の制御因子を解明したほか、硫酸化細菌への栄養供給の必要性を示唆した。ここで得られた知見は、生物脱硫装置のデザインの基礎となるものである。

第4章「バイオガスの生物脱硫に寄与する硫黄マットの微生物群構造とその変化」では、分子生物学的アプローチを用いて、上述の硫黄マット内に存在する微生物群集構造を解析した。生物脱硫のキープレーヤーは微好気性の *Sulfurimonas denitrificans* に近縁な硫酸化細菌であることを示した。栄養供給の不足は、硫黄マットの活性低下を引き起こすと共に、微生物群構造の変化をも生じさせることを明らかにした。

第5章「バイオガスの生物脱硫を行うメタン発酵槽に生息する新規フィラメント硫黄生成細菌」では、硫黄マットがフィラメント状の硫黄（フィラメント硫黄）によって構成され、*S.denitrificans* に近縁な細菌がそれを生成している可能性が高いことを示した。この細菌はこれまで報告されてきたフィラメント硫黄細菌とは系統的に異なり、生息環境も、非海洋、硫化水素と酸素の順濃度勾配内、気相-液相の界面という点で既報とは異なっていた。これは重要な知見である。

第6章「余剰汚泥自己分解によるメタン発酵スタートアップ性能評価と古細菌群集構造の変化」では、外来の植種源なしでのスタートアップ方法を評価すると共に、運転状況の変化とそれに対応する微生物群集の変化との関係を解析した。自己分解期間においては、*Methanosarcina* 属のポピュレーション増大と酢酸分解の進行、水素資化性メタン生成古細菌のポピュレーション増大と酪酸・吉草酸の分解進行との対応関係を示し、これらの微生物の増殖が、スタートアップのキーであることを示した。一連の実験結果に基づき、メタン発酵の新しいスタートアップ方法が提示された。

第7章「無動力攪拌・生物脱硫機能を備えた新規メタン発酵リアクターの開発」では、高効率な生物脱硫と無動力の攪拌機構を有するリアクターでの高効率メタン発酵を達すべく新たにデザインしたメタン発酵リアクターを用いて、連続運転による性能評価を行った。生物脱硫においては、99%以上の硫化水素除去率と残留硫化水素濃度10 ppm以下の十分な脱硫性能を達成することができた。メタン発酵においては、COD_{Cr}減量化率、バイオガス生成倍率、VFA濃度の点で、従来の攪拌動力ありのメタン発酵リアクターと同等の性能が得られた。

第8章「総括」では、本論文の総括および今後の研究課題を述べている。

以上のように、本論文は、これまで未解明であった生物脱硫のメカニズムを明らかにし、それを基にした高効率な装置の開発に成功したこと、外来の植種源からのスタートアップのメカニズムを解明し、適切な運転方法を開発したこと、新たな発想から無動力攪拌方式のメタン発酵リアクターをデザインし、その良好な性能を実証したこと、これら3点において、メタン発酵技術のコスト低減化を実現するシステムの構築に成功したと言える。これらの研究成果は、小規模分散型のメタン発酵技術の普及に貢献でき、環境工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。