

バイオガスの含酸素化合物変換に関する研究

北口 敏弘, 三津橋浩行, 山越 幸康, 岡 喜秋, 上出 光志

Study on Direct Conversion of Biogas to Oxygenates

Toshihiro KITAGUCHI, Hiroyuki MITSUHASHI
Yukiyasu YAMAKOSHI, Yoshiaki OKA, Mitsushi KAMIDE

抄 録

乳牛糞尿などを嫌気発酵処理した際に発生する余剰バイオガスを有効利用するためにバイオガス(メタンガス)をホルムアルデヒドやメタノールなどの含酸素化合物に変換する検討を(1)シリカ担持リン酸セリウムおよびピロリン酸スズ触媒を用いた方法と(2)微生物のメタン資化機能を利用する方法によって行った。

固体触媒を用いた方法では、生成物はホルムアルデヒドが大部分であり、メタノールはほとんど得られなかった。リン酸セリウム、ピロリン酸スズ共に水蒸気の添加によってホルムアルデヒド選択率が水蒸気を添加しないときと比較して最大で約5倍増加した。一方、メタン転換率に関してはリン酸セリウムは水蒸気添加率の増加による影響は見られなかったが、ピロリン酸スズは水蒸気添加率の増加と共に減少した。リン酸セリウムを用いた最良の条件でメタン転換率約6%、ホルムアルデヒド選択率約50%を得た。

微生物のメタン資化機能を利用する方法では、道内で採取した試料から好熱性あるいは高温耐性メタン資化細菌を探索および培養し、メタン資化能を検討した。その結果、メタノール資化細菌が、低中温環境下の温泉水試料および水田土壌から検出され、菌体増殖とメタンを炭素源とする二酸化炭素生成が認められたことから、メタン資化細菌の存在が確認された。メタン資化細菌によるメタン資化では、メタン-水-菌体間の接触面積確保が重要であり、メタンから二酸化炭素への転換速度は、担体容積基準で 31.1 g-C/d/m^3 であった。

キーワード：バイオガス、メタン、部分酸化、ホルムアルデヒド、メタノール、触媒、水蒸気、メタン資化細菌

Abstract

Direct conversion of biogas (methane) to oxygenates such as formaldehyde and methanol, (1) using silica supported CePO_4 , $\text{Sn}_2\text{P}_2\text{O}_7$ catalysts and (2) using methane oxidation bacteria (methanotroph) was studied to utilize excess biogas.

As for the reaction of catalysts, the main product of the reaction was formaldehyde. The selectivity to formaldehyde when adding steam reached about 5 times as compared with the case when not adding steam. On the other hand, the methane conversion over silica supported CePO_4 in the increasing the rate of steam maintained the initial value, that over silica supported $\text{Sn}_2\text{P}_2\text{O}_7$ decreased. The methane conversion of about 6% and the selectivity to formaldehyde of about 50% at the best condition was observed.

As for the utilizing microorganism, some thermophilic methanotrophs were isolated from soil and hot spring samples in middle or low temperature environment in Hokkaido. It was very important to secure the contact area among methane, water and microorganism for methanotrophs to oxidize methane. The conversion rate of $31.1 \text{ g-carbon/d/m}^3$ -support volume from methane to carbon dioxide was obtained.

KEY-WORDS : biogas, methane, partial oxidation, formaldehyde, methanol, catalyst, steam, methane oxidation bacteria(methanotroph)

1. はじめに

近年、北海道内の酪農家は乳牛の飼養頭数の増加や集団化などの規模拡大によって牛乳生産の低コスト化を図ってきている。このような規模の拡大は排出される糞尿の増加をもたらす、地下水、河川、湖沼などの環境汚染を招くケースも見られる。そのため、北海道の酪農家の中には乳牛糞尿を農地還元する前に悪臭を軽減し、易分解性有機物の分解を行うために糞尿の嫌気発酵処理を行うとともに発生したバイオガスを利用して発電や温水の供給を行う施設を導入するケースが増えてきた。これらの施設で発電した電気や得られた温水は所内で消費するとともに余剰電力については売電することが望ましいが、酪農家の所内で消費する電力量および熱の使用量は発生するバイオガスのポテンシャルに対して少ないことと併せて、売電するにしてもその設備投資額を回収することが難しいのが現状である。その結果、発生する余剰バイオガスは熱を回収することなく焼却され二酸化炭素として大気へ放出されているのがほとんどであり、場合によってはメタンガスのまま放出されていることもある。乳牛糞尿の適正処理の促進と併せて二酸化炭素やメタンガスの排出による地球温暖化防止対策の観点からも余剰バイオガスの有効利用方法の検討が望まれている。

このようなことから、本研究では発生した余剰バイオガスを貯蔵や輸送に適した、また化学原料として有望なメタノールやホルムアルデヒドに変換するために、(1)リン酸セリウムおよびピロリン酸スズをシリカに担持した触媒を用いた方法および(2)微生物のメタン資化機能を利用した方法について検討したので以下に報告する。

2. 触媒による検討

2.1 概要

メタンからメタノールやホルムアルデヒドなどの含酸素化合物を大気圧下のようなマイルドな条件で直接得ることは、従来の水素と一酸化炭素からなる合成ガスを経由する合成方法と比較して経済的に非常に有利であるために、これまで多くの研究者によって試みられてきた。これまで試みられた手法としてメタンと酸素の混合ガスに少量の窒素酸化物を添加する気相反応¹⁾、シリカやアルミナに担持した酸化モリブデン、酸化バナジウムや他の酸化物などの固体触媒による気固反応²⁾、窒素酸化物と固体触媒による反応³⁾、プラズマ⁴⁾やオゾン⁵⁾を利用した反応などがある。これらの報告例ではメタノールとホルムアルデヒドを合わせた収率は窒素酸化物を添加する気相反応で約7%弱¹⁾、固体触媒による反応で4%弱²⁾、プラズマを利用した反応で約10%⁴⁾が得られている。収率が7~10%以上あれば実用化検討レベルと言われている⁶⁾が、窒素酸化物がニトロメタンとして消費され

たり、プラズマやオゾンの利用では入力エネルギーが大きいなどの懸念がある。

このようなことから本研究では触媒の消費が少なく投入エネルギーの比較的小さい固体触媒による気固反応に関してリン酸セリウムおよびピロリン酸スズについて基礎的な検討を行った。

2.2 触媒調製

リン酸セリウムおよびピロリン酸スズを含浸法によってシリカゲル(SIGMA-ALDRICH: 750 m²/g)に担持した触媒を調製した。リン酸セリウム触媒については他の2種類のシリカゲル(SIGMA-ALDRICH: 550, 300 m²/g)についても調製した。それぞれの触媒の調製方法を以下に示す。

2.2.1 リン酸セリウム

所定量のリン酸水溶液とシリカをビーカーに入れ、50 湯浴振蕩によって乾燥し、シリカ表面にリン酸を担持させた。次にリン酸を担持したシリカに所定量の硝酸セリウムを溶かした水溶液を混合し、再び50 の湯浴振蕩によって乾燥した。最後に乾燥物を600 ℃、約3時間焼成して触媒を調製した。

2.2.2 ピロリン酸スズ

所定量のピロリン酸スズと濃度28%のアンモニア水、シリカを混合し、ロータリーエバポレーター(80 ℃)によって減圧乾燥した。乾燥物を600 ℃、約3時間焼成して触媒を調製した。

2.3 試験装置および試験方法

2.3.1 試験装置

試験装置の概要を図1に示す。内径 10mm、長さ300mmの石英管中央部に触媒を入れ、その両端を石英ウールで固定し、長さ250mmの円筒型電気炉の中央に配置した。ガスは各種ガスボンベから供給し、流量調節バルブ、流量計によって流量を調節後、加湿装置、ガス混合器、反応装置を経て、2台のガスクロマトグラフへ導入した。供給ガスへの水蒸気の添加は、水蒸気添加率が10~40%程度の比較的低い範囲で

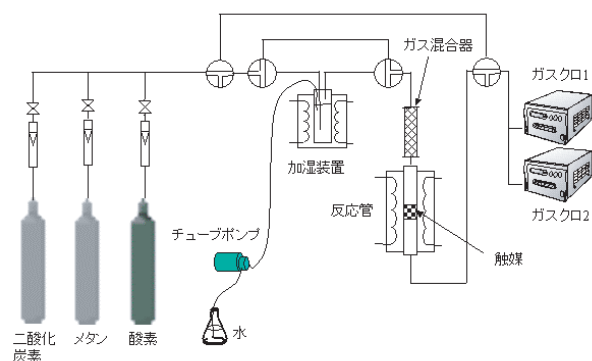


図1 試験装置概要

は加湿装置を添加量に見合った飽和温度に設定しバブリングによって、水蒸気添加率が40～75%の比較的高い範囲では加湿装置を200 に設定しチューブポンプによって所定量の水を供給した。加湿装置からガスクロマトグラフまでの配管は水蒸気や反応生成物の凝縮を防止するためヒータによって加熱した。配管経路は加湿装置あるいは加湿装置と反応器をバイパスできるような構成した。

2台のガスクロマトグラフのうちの1台は島津製作所製GC-6AMを使用し、APS-201カラムとGaskuroPack54カラムをシリーズにつなげ、FIDにて主にメタン、ホルムアルデヒド、メタノールを計測した。FID検出器はホルムアルデヒドに対して感度があまり良くないので、カラム通過後のガスをメタナイザーによってメタン化した後、分析した。もう1台のガスクロマトグラフはヒューレットパッカード社製P200を使用し、MS-5AキャピラリーカラムおよびPoraPackQキャピラリーカラムを用いてTCDにより主に酸素、メタン、一酸化炭素、二酸化炭素、エタン、エチレン、プロパンを計測した。それぞれのガスクロマトグラフの分析条件を表1に示す。

表1 ガスクロ分析条件

GC装置	島津製作所製GC-6AM	ヒューレットパッカード社製P200
カラム種類	パックドカラム	キャピラリーカラム
カラム充填材	APS-201+GaskuroPack54	MS-5A, PoraPackQ
カラム温度	120℃	80℃, 70℃
試料気化温度	280℃	-
検出器	FID	TCD
キャリアーガス	窒素ガス, 40mL/min	ヘリウムガス(25psi, 20psi)

2.3.2 試験条件

表2に試験条件をまとめて示す。リン酸セリウムについては反応温度500～650 の範囲で試験を行ったが、ピロリン酸スズについてはTG, DTA熱分析の結果から620 で溶解することが判明したため500～600 の温度範囲とした。シリカ担体に担持した触媒の担持量はシリカに対して重量比で2, 5, 10%の3種類とした。ただし、ピロリン酸スズについては触媒担持量5%のみとした。水蒸気は固定したガス供給量に対して0～75%の範囲で添加した。

表2 試験条件

項目	条件(リン酸セリウム)	条件(ピロリン酸スズ)
反応温度(℃)	500～650	500～600
触媒充填量(g)	0.25～1.5	1.0
触媒担持率(%)	2, 5, 10	5
担体比表面積(m ² /g)	300, 550, 750	750
ガス供給量(L/(h·g-cat.))	3.0～12.0	3.0
メタン/酸素比	0.3～4.0(25/75～80/20)	4.0(80/20)
水蒸気添加率(%)	0～75	0～75

2.3.3 メタン転換率, 生成物選択率, 収率について

メタン転換率は供給したメタンに対してメタンがホルムアルデヒド, 一酸化炭素, 二酸化炭素などの他の物質に転換した割合であり, 生成物選択率はメタンが転換した全ての生成

物に対する特定の生成物の割合である。従って収率はメタン転換率と選択率を掛けた数値となる。これらを式で表すと以下のようになる。

$$\text{メタン転換率} = (\text{生成物濃度}) / \text{供給メタン濃度} \times 100$$

$$\text{選択率} = \text{特定生成物濃度} / (\text{生成物濃度}) \times 100$$

$$\text{収率} = \text{メタン転換率} \times \text{選択率} / 100$$

2.4 試験結果および考察

2.4.1 生成物質

図2および図3に比表面積750 m²/gのシリカゲルに5%リン酸セリウムを担持した触媒と同シリカゲルに5%ピロリン酸スズを担持した触媒について, メタン転換率と生成物選択率をそれぞれ示す。

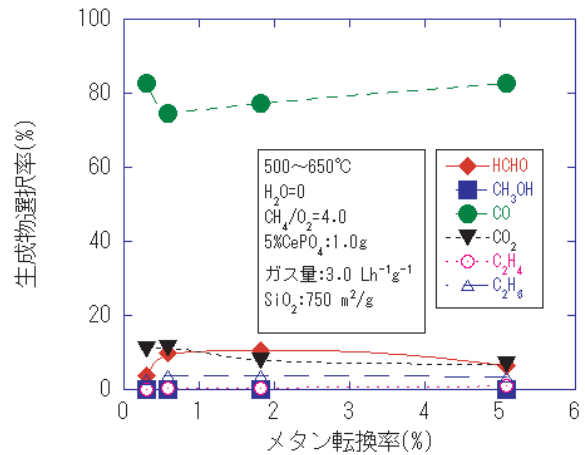


図2 生成物選択率(5%CePO4)

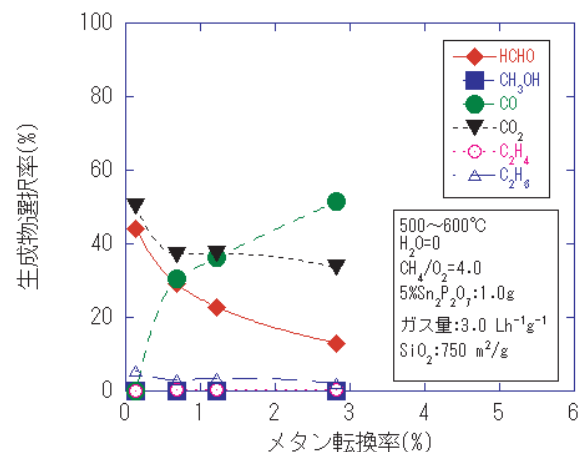


図3 生成物選択率(5%Sn2P2O7)

主な生成物はホルムアルデヒド, 一酸化炭素, 二酸化炭素, エチレン, エタンであり, 図に示す条件ではメタノールはほとんど検出されなかった。リン酸セリウム触媒を用いたとき, メタン転換率の最大値は約5%で, そのときの温度は650であった。また, 生成物は一酸化炭素がどのメタン転換率においても80%前後と大部分を占めており, 選択率はホルムア

ルデヒドおよび二酸化炭素がそれぞれ約10%弱であった。一方、ピロリン酸スズ触媒の場合、反応温度の上限が600 であったこともありメタン転換率は3%以下となった。メタン転換率が低い領域ではホルムアルデヒドと二酸化炭素がそれぞれ約45,50%と支配的であり、メタン転換率が大きくなるに従ってそれらの選択率が減少した。また、一酸化炭素についてはメタン転換率が低いときに選択率が低く、メタン転換率が高くなると選択率が上昇した。ホルムアルデヒドが触媒上で一酸化炭素に酸化され、さらに一酸化炭素が酸化されて二酸化炭素が生成すると考えると、二酸化炭素は一酸化炭素と同様にメタン転換率が低い領域では選択率が低く、メタン転換率が高くなるに従って選択率が上昇しなければならない。しかし、二酸化炭素濃度はメタン転換率が低い領域で高い値となった。これらのことから、ピロリン酸スズ触媒上での二酸化炭素の生成はホルムアルデヒド、一酸化炭素を経由せずに別のルートで生成していると考えられる。

2.4.2 水蒸気添加

供給ガスへの水蒸気の添加によってモリブデン酸化物やリン酸鉄をシリカに担持させた触媒でホルムアルデヒド選択率が上昇したとの報告例がある。そこでリン酸セリウム触媒、ピロリン酸スズ触媒のホルムアルデヒド選択率、メタン転換率に対する水蒸気添加の影響について検討を行った。その結果を図4および図5に示す。

ホルムアルデヒド選択率は水蒸気添加率が上昇するとリン酸セリウム触媒、ピロリン酸スズ触媒ともに上昇し、水蒸気を添加しないときと比較して最大約5倍に達した。また、リン酸セリウム触媒の場合、水蒸気添加率を上昇させてもメタン転換率に変化はみられなかったが、ピロリン酸スズ触媒では水蒸気添加率の上昇とともにメタン転換率が減少した。一方、リン酸セリウム触媒で水蒸気を添加しない場合の一酸化炭素の選択率は約80%であった(図2参照)が、水蒸気を添加すると一酸化炭素の選択率が下がった分、ホルムアルデヒドの選択率が上昇しているのを確認した。一般的にシリカ担持酸化モリブデン触媒やシリカ担持酸化バナジウム触媒上では、まずメタンが触媒上に吸着、酸化され、ホルムアルデヒドとして触媒から脱離した後、ホルムアルデヒドが触媒に再び吸着し、一酸化炭素に酸化されることが考えられている。これをリン酸セリウムやピロリン酸スズ触媒に適用すると、供給ガス中に水蒸気が存在すれば極性の強い水は触媒に吸着され易く、吸着した水が生成したホルムアルデヒドの酸化を抑制したため、ホルムアルデヒド選択率が上昇したと考えられる。また、ピロリン酸スズ触媒は供給ガス中の水蒸気添加率が增加するに従ってメタン転換率が低下したが、リン酸セリウム触媒では低下がみられなかった。これはピロリン酸スズ触媒の場合は表面全体に水蒸気が吸着し、リン酸セリウム触媒の場合はホルムアルデヒドの吸着しやすいと思われる表面の一

部に水蒸気が吸着することによって起こると考えると上記現象を説明できるが、検証が必要である。以上より、リン酸セリウム触媒に水蒸気を添加するとホルムアルデヒドの収率が飛躍的に上昇することが分かったため、リン酸セリウム触媒について検討を進めることとした。

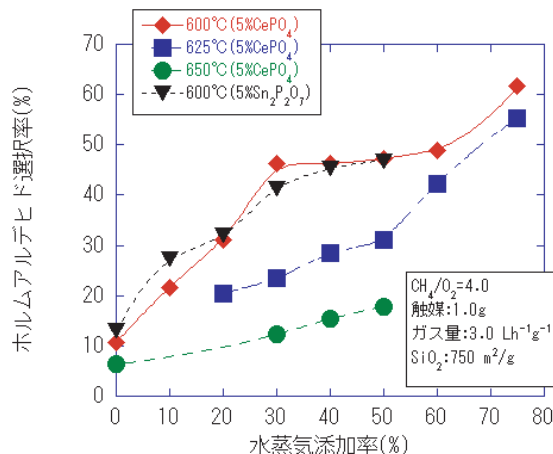


図4 水蒸気添加率～ホルムアルデヒド選択率

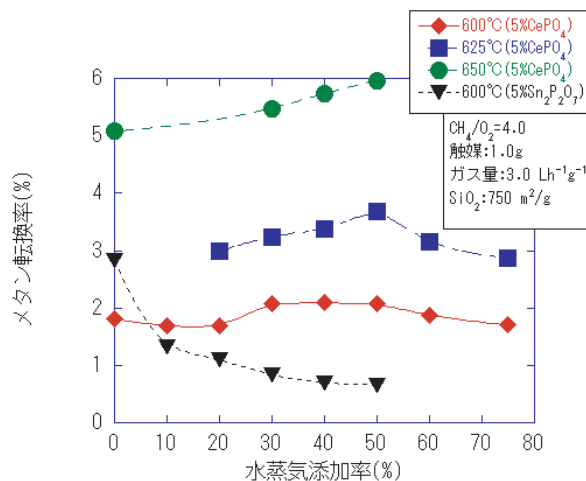


図5 水蒸気添加率～メタン転換率

2.4.3 メタン酸素比

5%リン酸セリウムを比表面積750 m²/gのシリカゲルに担持した触媒を用いてメタン酸素比を4.0 (= 80/20)から0.3 (= 25/75)まで変化させたときのメタン転換率とホルムアルデヒド選択率を図6に示す。

メタン酸素比が小さくなるに従ってメタン転換率は上昇し、ホルムアルデヒド選択率はやや減少した。メタン酸素比を小さくすると酸素分圧が上がり、反応が進行しやすくなり、メタン転換率が上昇したと思われる。一方、メタン転換率が上がったとしても、極端なホルムアルデヒド選択率の低下がみられなかった。これは前項で説明した水蒸気添加の効果によるものと思われる。試験の結果、メタン酸素比0.5においてメタン転換率約6%、ホルムアルデヒド選択率約50%を得た。

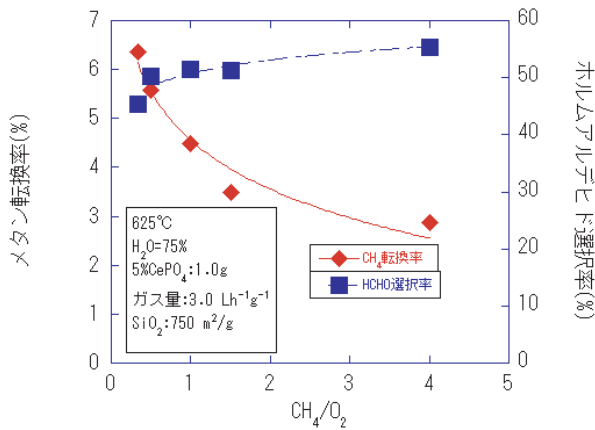


図6 メタン酸素比の効果

2.4.4 触媒充填量あたりのガス流量

比表面積750 m²/gのシリカゲルに5%リン酸セリウムを担持した触媒を用いて供給ガス流量を3.0L/(h・g-cat.)に固定し、触媒充填量を0.25gから1.5gまで変化させたとき、すなわち触媒充填量あたりのガス流量を2.0L/(h・g-cat.)から12.0L/(h・g-cat.)まで変換させたときのメタン転換率、ホルムアルデヒド選択率の関係を図7に示す。

メタン転換率は触媒充填量あたりのガス流量が多いときは低く、触媒充填量あたりのガス流量が少なくなるに従って徐々に大きくなり、3.0L/(h・g-cat.)より少なくなると急激に上昇した。一方、ホルムアルデヒド選択率は触媒充填量あたりのガス流量が3.0~12.0L/(h・g-cat.)の範囲ではガス量が少なくなると徐々に減少し、3.0L/(h・g-cat.)より少なくなると急激に減少した。これらから最も収率の良い触媒充填量あたりのガス流量は3.0L/(h・g-cat.)であることがわかった。

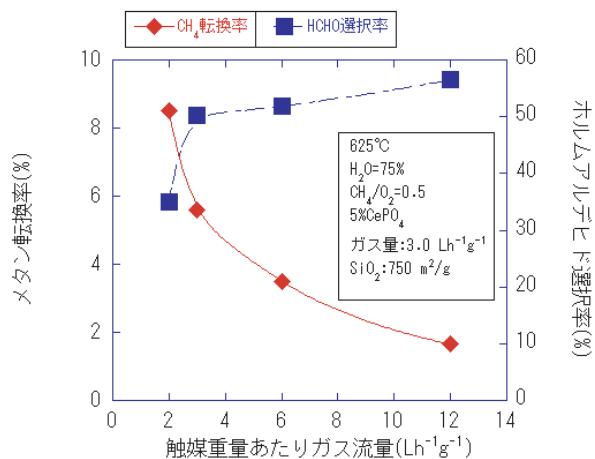


図7 触媒重量あたりガス流量の影響

2.4.5 触媒担持量

比表面積750 m²/gのシリカゲルに重量比で2, 5, 10%リン酸セリウムを担持した触媒を用いてメタン酸素比率を4.0 (= 80/20)から0.5 (= 33/67)まで変化させたときのメタン転換率とホルムアルデヒド選択率の関係を図8に示す。

リン酸セリウムの担持率が低くなるに従ってホルムアルデヒド選択率が高くなっているのが分かる。図中各曲線の右端はメタン酸素比=0.5(33/67)の数値であり、最も反応が進みやすい点である。その点が担持率が低くなるに従って左側に移動していることから、担持率が低いと十分なメタン転換率が得られないことが分かる。また、メタン転換率が大きくなるとホルムアルデヒド選択率がやや減少した。

X線回折の結果、リン酸セリウムの結晶構造は単斜晶系のモナザイトであることが確認された。格子定数等は a = 0.679nm, b = 0.704nm, c = 0.647nm, β = 104.4degで単位格子内にリン酸セリウムが4分子含まれる。これらから5%のリン酸セリウムの占める面積を計算すると約14m²/g-Silicaとなる。この値はシリカゲルの比表面積に対してかなり小さい値であり、シリカゲル上にリン酸セリウムが均一に担持されたと仮定すれば、今回の試験の範囲ではどの担持量においてもシリカゲル上に2層になることなくリン酸セリウムが担持され、有意な結果が得られたと思われる。

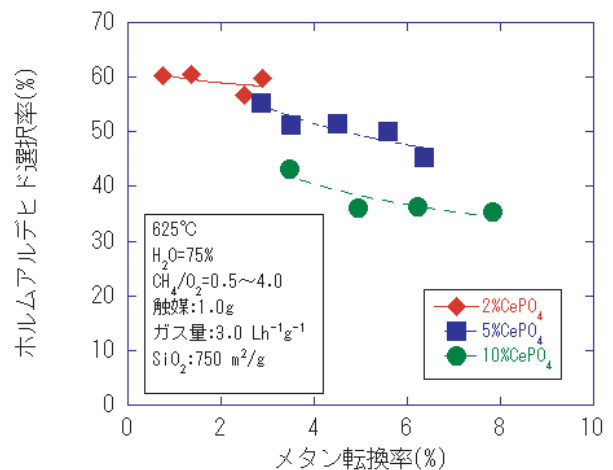


図8 触媒担持量の効果

2.4.6 比表面積

リン酸セリウムのシリカへの担持量を5%一定としてシリカゲルの比表面積を300, 550, 750 m²/gとしたときのメタン転換率とホルムアルデヒド選択率の関係を図9に示す。

シリカゲルの比表面積が大きくなるほどホルムアルデヒド選択率が上昇した。一般に担体の比表面積が増加すると触媒の活性点が増えるため転換率は増大するが、増えた活性点によるラジカルの過反応によって選択率は低下するといわれている¹⁾。これはシリカゲルの比表面積が大きくなると触媒の活性点が増加し、メタンからホルムアルデヒドが生成するが、それ以降の反応が2.4.2項で示した水蒸気の添加による効果によって抑制されたためと考えられる。

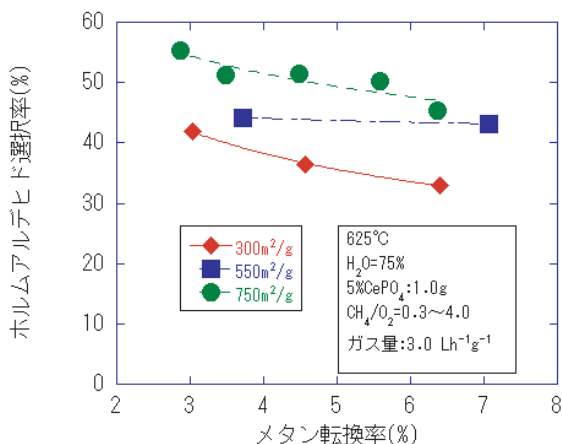


図9 触媒比表面積の効果

2.4.7 二酸化炭素

バイオガスの組成はメタン約60%，二酸化炭素約40%である。メタンと酸素の混合ガスに二酸化炭素を混ぜたときの影響を確認するため、メタン5%，二酸化炭素35%，酸素13%の混合ガス(メタン/二酸化炭素=60/40, メタン/酸素=80/20)と、二酸化炭素の代わりにヘリウムガスで置換したメタン52%，ヘリウム35%，酸素13%の混合ガスについて試験を行った結果を表3に示す。

メタン転換率はヘリウム混合、二酸化炭素混合でそれぞれ0.8%, 0.7%, ホルムアルデヒド選択率はヘリウム混合、二酸化炭素混合でそれぞれ52%, 46%であり、二酸化炭素を混合してもほぼ同様の結果が得られることがわかった。

表3 二酸化炭素の影響

ガス組成	CH ₄ 転換率(%)	HCHO選択率(%)
CH ₄ :52%, He:35%, O ₂ :13%	0.8	52
CH ₄ :52%, CO ₂ :35%, O ₂ :13%	0.7	46

条件: 600°C, 5%CePO₄/SiO₂-750m²g⁻¹; 1.0g, H₂O:0%,
 ガス流量:3.0Lh⁻¹g⁻¹

2.5 触媒による検討のまとめ

余剰バイオガスを有効利用するためにメタンからホルムアルデヒドなどの有用物質をマイルドな条件で得る方法としてリン酸セリウムやピロリン酸スズ触媒を用いて検討した結果、以下のことが明らかとなった。

- (1) リン酸セリウム、ピロリン酸スズはメタンのホルムアルデヒド変換に活性を示すことが分かった。
- (2) リン酸セリウム、ピロリン酸スズ触媒ともに水蒸気の添加によってホルムアルデヒド選択率は最大で約5倍となった。メタン転換率はリン酸セリウムの場合水蒸気の影響を受けなかったが、ピロリン酸スズの場合水蒸気添加率の上昇と共に低下した。これらは触媒上で水が吸着する様子の違いによるものと推測された。

- (3) リン酸セリウム触媒について最適な条件を把握することができた。その条件でのメタン転換率は約6%，ホルムアルデヒド選択率は約50%を得た。

3. メタン資化細菌によるメタン酸化

3.1 メタン資化細菌の概要

地球上の炭素循環系において、メタン生成菌のように炭素化合物からメタンを生成する微生物が存在する一方で、メタンを炭素源やエネルギー源として増殖する微生物が存在する。後者はメタン資化細菌と呼ばれ、図10に示すようにメタンをメタノール、ホルムアルデヒドと酸化し、ホルムアルデヒドの一部を同化し、残りのホルムアルデヒドをギ酸、二酸化炭素まで酸化する過程でエネルギーを得る。酸化過程で生成するメタノールやホルムアルデヒドは工業原料として利用価値の高い物質であり、メタン資化細菌の機能を工業的に利用できれば穏和な条件下でメタンから変換することが可能である。

メタン資化細菌はメタンを唯一の炭素源とする。メタンは自然環境下では天然ガスのほか、河川、湖沼、畑地、水田においてメタン生成細菌により生成しており、メタン資化細菌もこれら水圏や土壌に生息している。一部のメタン資化細菌は高温環境下でも生育することが知られており、竹口等¹⁾は雑菌の繁殖防止や生成メタノール分離の面から、高温でメタノール生成する好熱性メタン資化細菌の探索方法を確立し、主に温泉水等の高温環境下にある試料から探索を行っている。

本研究ではメタン資化細菌によるメタンの変換技術に関する基礎検討として、道内で採取した温泉水および土壌から好熱性あるいは高温耐性メタン資化細菌を探索および培養し、メタン資化能を検討した。

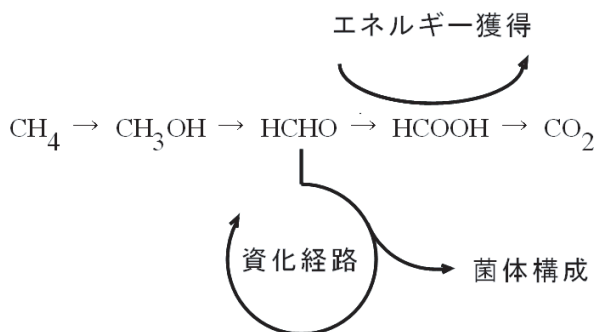


図10 メタン資化細菌のメタン酸化経路

3.2 試験方法

試験方法は竹口等¹⁾の手法を参考にした。図11に示すフローにしたがい、採取した試料を50 のメタノール培養によってスクリーニングし、継代による集積培養の後、メタン培養を行ってメタン資化細菌を探索した。次にメタン資化細菌を含

む培養液にメタンおよび酸素混合ガスを接触させ、生成する二酸化炭素量を測定してメタン資化能を検討した。

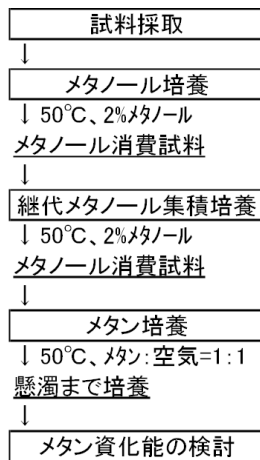


図11 試験フロー

3.2.1 試料採取

メタン資化細菌生息の可能性がある試料として、表4に示す温泉水5点、水田土壌2点を採取した。温泉では源泉より噴出する温泉水を採取し、採取時の水温を泉温として表記した。水田土壌は7月下旬に水抜き後の表層土壌を採取した。

表4 採取試料

試料No.	採取場所	採取物	泉温	泉質
1	温泉ASA	温泉水	20°C	ナトリウム-塩化物泉
2	温泉TOY	温泉水	45°C	ナトリウム-塩化物泉、石油および天然ガス同噴
3	温泉YUN	温泉水	15°C	ナトリウム-炭酸水素塩・塩化物泉
4	温泉YUP	温泉水	46°C	ナトリウム・カルシウム-塩化物強塩泉
5	温泉TES	温泉水	30°C	ナトリウム-塩化物強塩泉
6	水田KAT	土壌		
7	水田KIT	土壌		

3.2.2 メタノール培養方法

メタン資化細菌は図10でも示したようにメタノールを資化する細菌でもある。メタノールはメタンに比較して、非常に水溶性が高く培養液の炭素濃度を高くすることが可能であり、メタン資化細菌増殖速度を高められる。そこで、採取試料からメタン資化細菌を含む試料のスクリーニングは、メタノール添加液体培地での培養により行った。

200mL三角フラスコに表5に示す硝酸無機培地50mLを入れ、シリコ栓を付けた後、高圧蒸気滅菌装置にて120、15分間滅菌した。常温まで冷却後、メタノール1mLおよび試料2mLをクリーンベンチ内で加えて培養液を作成し、回転振とう培養器にて50、120rpmの条件で約1ヶ月間メタノール培養した。培養後、培養液中のメタノール濃度をガスクロマトグラフにて表6に示す分析条件で測定し、初期メタノール濃度からメタノール消費率を算出した。

さらに、メタノール消費率が高い培養液を新しいメタノール添加硝酸無機培地に接種して継代によるメタノール資化細菌の集積培養を行った。集積培養ではメタノールの蒸発を防

ぐため、液攪拌はマグネチックスターラーにより行った。

表5 硝酸無機培地組成

硝酸ナトリウム	850 mg/L
リン酸二水素カリウム	530 mg/L
リン酸水素二ナトリウム12水和物	2710 mg/L
硫酸カリウム	170 mg/L
硫酸マグネシウム7水和物	37 mg/L
塩化カルシウム2水和物	7 mg/L
EDTAアンモニウム鉄	40 mg/L
微量金属塩溶液	2 mL/L
硫酸亜鉛水和物	288 mg/L
硫酸マンガン4水和物	223 mg/L
ホウ酸	62 mg/L
モリブデン酸ナトリウム2水和物	48 mg/L
塩化コバルト6水和物	48 mg/L
ヨウ化カリウム	83 mg/L

表6 メタノール濃度分析条件

GC装置	島津製作所GC-6AM
カラム充填剤	APS-201
カラム温度	90°C
試料気化温度	100°C
検出器	TCD
検出器温度	120°C
キャリアーガス	ヘリウムガス、30mL/min

3.2.3 メタン培養方法

ジャーファーマンタ装置を使用し、5Lジャーに表7に示した組成からビタミン溶液および硫酸銅溶液を除く培地3Lを入れ、高圧蒸気滅菌装置にて120、15minで滅菌した。常温まで冷却後、ビタミン溶液および硫酸銅溶液を濾過滅菌にて添加し、ビタミン含有硝酸無機培地を調製した。この培地にメタノール集積培養液50mLをクリーンベンチ内で加えてメタン培養液を作成した。50、100~350rpmで攪拌しながら40Lのメタン-空気当容混合ガスを培養液下部より1L/minで循環通気してメタン培養を行った。定期的に培養液濁度を濁度計で測定して菌体増殖状況を確認したほか、ジャー気相のメタン、酸素、二酸化炭素濃度をガスクロマトグラフにて表8に示す分析条件で測定し、メタン-空気当容条件の管理およびメタン資化に伴う二酸化炭素の生成を確認した。

3.2.4 メタン資化試験方法

図12に示すように最大容量62.5mLガスクロバイアル瓶に、3.2.3と同様に調製したビタミン含有硝酸無機培地をを入れ、メタン培養液1mLをクリーンベンチ内で加えて培養液を作成した。表9に示す微生物担体を投入後、プチルゴム栓にて密封した。さらにガスクロバイアル瓶内気相の空気20mLを注射器を用いてメタンガス20mLと置換後、往復振とう器にて50、120rpmの条件で振とうした。開始後、1時間~4日間毎にガスクロバイアル瓶内気相のメタン、酸素、窒素、二酸化炭素分圧をガスクロマトグラフにて測定し、主にメタンの二酸化炭素への転換率によりメタン資化能を検討した。

表7 ビタミン含有硝酸無機培地組成

硫酸マグネシウム7水和物	1000 mg/L
塩化カルシウム2水和物	130 mg/L
EDTA鉄	4 mg/L
硝酸カリウム	1000 mg/L
リン酸二水素カリウム	272 mg/L
リン酸水素二ナトリウム12水和物	717 mg/L
微量金属塩溶液	5 mL/L
EDTA	500 mg/L
硫酸第一鉄7水和物	200 mg/L
硫酸亜鉛水和物	10 mg/L
塩化マンガン4水和物	3 mg/L
ホウ酸	30 mg/L
塩化コバルト6水和物	20 mg/L
塩化カルシウム2水和物	1 mg/L
塩化ニッケル6水和物	2 mg/L
モリブデン酸ナトリウム2水和物	3 mg/L
ビタミン溶液	1 mL/L
D-ビオチン結晶	20 mg/L
葉酸(プテロイルグルタミン酸)	20 mg/L
ピリドキシン(ビタミンB6)塩酸塩	100 mg/L
チアミン(ビタミンB1)塩酸塩	50 mg/L
リボフラビン(ビタミンB2)	50 mg/L
ニコチン酸(ナイアシン)	50 mg/L
DL-パントテン酸カルシウム	50 mg/L
シアノコバラミン(ビタミンB12)	1 mg/L
p-アミノ安息香酸	50 mg/L
リボ酸	50 mg/L
硫酸銅5水和物	0.25 mg/L

表8 メタン、酸素、二酸化炭素濃度分析条件

GC装置	島津製作所GC-8AT
カラム充填剤	MS-5AおよびPorapakQ
カラム温度	80°C
試料気化温度	100°C
検出器	TCD
検出器温度	100°C
キャリアーガス	ヘリウムガス、40mL/min



図12 メタン産生試験容器

表9 使用微生物担体

担体名	S-D10
材質	PVA
サイズ	10x10x10mm
気孔径	80 μm
投入個数	10
見かけ表面積	60cm ²
見かけ容積	10cm ³

3.3 試験結果

3.3.1 メタン産生細菌の探索

(1) メタノール培養によるスクリーニング

採取した試料をメタノール培養し、26日間培養後のメタノール減少率を図13に示した。試料を加えない「植種なし」で41%であったが、これは蒸発によるものと考えられる。減少率41%以上の減少分をメタン産生細菌などの微生物によるメタノール消費と判断すると、試料「温泉ASA」および「温泉YUN」、「温泉TES」、「水田KIT」は減少率60%程度であり、差引20%程度に相当するメタノールが微生物により消費されたと考えられる。水温が45 前後の「温泉TOY」および「温泉YUP」は高温環境であることから、試料中に好熱性メタン産生細菌の存在が期待されたが、低いメタノール消費であった。

採取試料7点からメタン産生細菌が存在する可能性がある試料として、メタノール減少率が高い上位3点(「温泉YUN」、「温泉TES」、「水田KIT」)を選択し、そのメタノール培養液を用い、継代による集積培養を行った。継代で18日間メタノール培養後のメタノール減少率を図14に示した。「水田KIT」で著しいメタノール消費が見られ、「植種なし」との差引83%相当のメタノールが微生物により消費されている。

以上のメタノール培養によるスクリーニングから、「水田KIT」から培養されたメタノール産生細菌が最もメタノール産生能が高く、メタン産生能も高いことが期待される。そこ

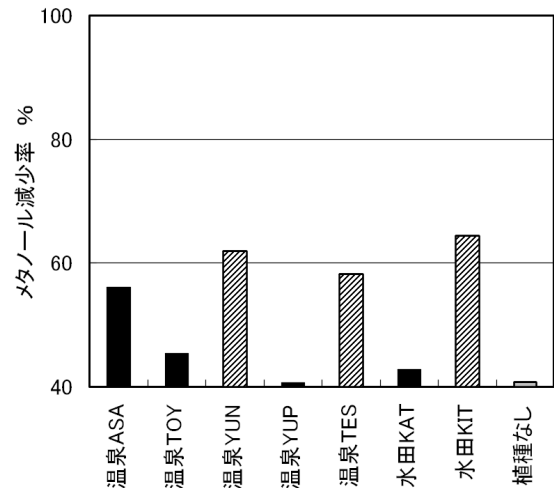


図13 メタノール培養によるスクリーニング

で「水田KIT」培養液からメタノール資化細菌を分離するため、さらに2回継代してメタノール集積培養を行った。

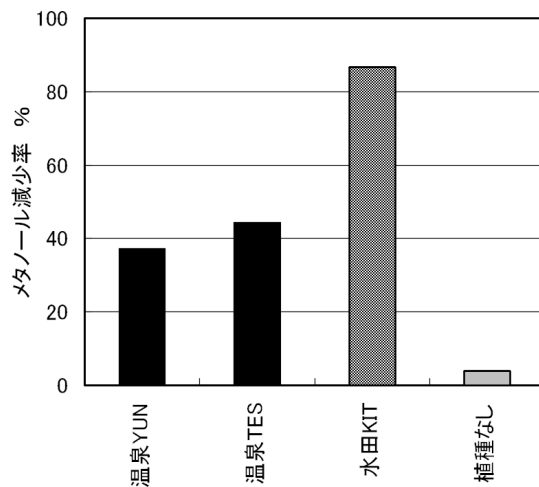


図14 継代メタノール培養によるスクリーニング

(2) メタン培養

「水田KIT」から集積培養したメタノール資化細菌中のメタン資化細菌を探索するため、メタン培養を行った。培養中の培養液濁度の経日変化を図15に示した。50日目までは濁度が増加し、菌体増殖が確認された。50日以降に濁度の低下が見られるが、図16に示すようにに攪拌羽根および軸部にクリーム色の凝集物が付着しており、菌体凝集に伴う濁度の低下と考えられる。100日目に攪拌回転数を100から350rpmへ増加すると、付着物の一部が羽根より剥離、分散し、濁度が増加した。排気中の二酸化炭素濃度は、菌体増殖、菌体凝集および分散による濁度の増加または低下と同時に増加、低下した。

培養液中の炭素量は培地と植種したメタノール集積培養液中の炭素を含めて0.8mg-C以下であるが、二酸化炭素生成量は50日目まで約15mg-Cと計算されるほか菌体中の炭素を含めるとさらに多くの炭素が消費されている。メタン以外に炭素源がないことから、メタンを炭素源として二酸化炭素生成および菌体合成したと考えられ、「水田KIT」から集積培養したメタノール資化細菌中にメタン資化細菌の存在が確認された。

また、菌体の分散・凝集が二酸化炭素生成に影響したと思われる、メタン資化細菌によるメタン資化では菌体量だけではなく菌体の分散による菌体とメタンとの接触面積の確保が重要であると思われる。しかし、攪拌羽根で分散するには高速回転が必要であり非効率である。さらにメタンの水に対する溶解度は50 でBunsen吸収係数が0.0213であり、酸素(0.0209)と同様に低い。メタン資化細菌は溶存メタンを利用するため、メタン-水-菌体間それぞれの接触面積を確保することが重要であると考えられる。

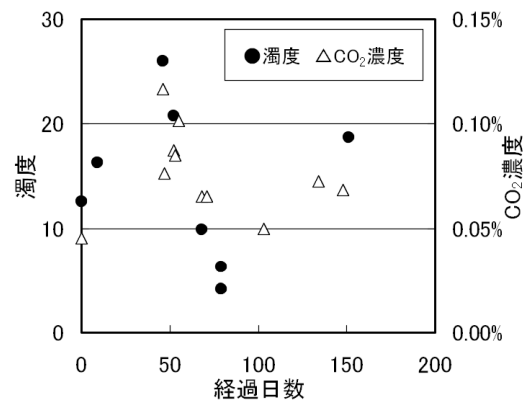


図15 メタン培養液における菌体増殖



図16 攪拌羽根への菌体付着

3.3.2 培養メタン資化細菌のメタン資化能

「水田KIT」から培養したメタン資化細菌のメタン資化能を検討するため、メタン培養150日目の培養液を用いてメタン資化試験を行った。試験は、培養液の液面を超える量の微生物担体を投入して行った。これによりメタン-水間の接触面積および担体表面上での菌体と溶存メタンとの接触面積が確保できる。

メタン資化試験での初期メタン気相分圧および二酸化炭素気相分圧から算出したメタン転換率を図17に示した。初期より二酸化炭素が生成したが、担体投入系では72時間より転換率が高くなり、193時間後には初期メタンの16%が二酸化炭素に転換し、担体なしに比較して高い転換率を得た。193時間以降で転換率が変化しないが、この時の酸素気相分圧は0.008atmであり、酸素不足により二酸化炭素へ転換しなかったと考えられる。

ガスクロバイアル瓶の気相容積は42.5mLであり、72から193時間目までのメタンから二酸化炭素への転換速度を気相分圧から算出すると、培養液容積基準で15.5 g-C/d/m³、担体容積基準で31.1 g-C/d/m³である。竹口等¹⁾の研究ではプ

ラント設計の前提条件で、メタノール生成速度がリアクター容積基準で23 kg-C/d/m³としている。今回の試験で、メタンから二酸化炭素への酸化過程で生成するメタノールを全量抽出したと仮定しても、これに及ばないため集積培養についてさらに検討が必要であることが分かった。

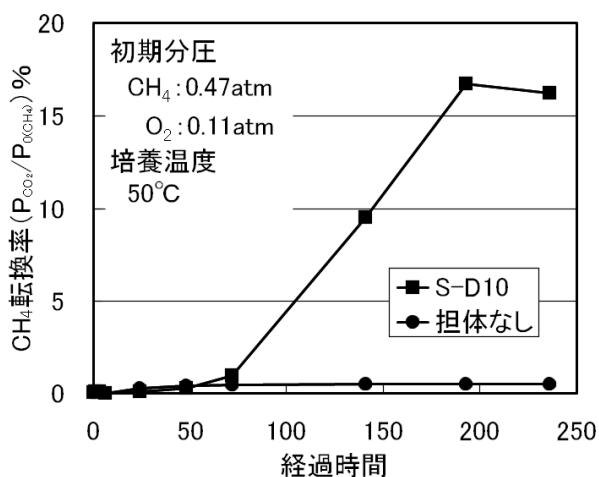


図17 メタン資化試験でのメタン転換率

3.4 メタン資化細菌に関するまとめ

メタン資化細菌によるメタンの変換技術に関する基礎検討として、道内で採取した試料から好熱性あるいは高温耐性メタン資化細菌を探索および培養し、メタン資化能を検討して以下の知見を得た。

- (1) 道内より温泉水、水田土壌試料を採取し、メタノール培養によりスクリーニングした。メタン資化細菌が存在する可能性のあるメタノール資化細菌が、低中温環境下の温泉水試料および水田土壌から検出され、継代による集積培養を行った。
- (2) メタノール資化能の最も高い「水田KIT」から分離されたメタノール資化細菌を用いてメタン培養を行い、菌体増殖とメタンを炭素源とする二酸化炭素生成を確認し、メタン資化細菌が探索できた。
- (3) メタン資化細菌によるメタン資化では、メタン-水-菌体間の接触面積確保が重要であり、微生物担体を投入してこれらを確保したメタン資化試験により、メタン資化能が格段に向上した。
- (4) 本試験で得たメタンから二酸化炭素への転換速度は、担体容積基準で31.1 g-C/d/m³であり、実用レベルには至っていない。メタン資化細菌を利用したメタンからのメタノール、ホルムアルデヒド生成には菌体の高密度化や反応方法等、検討がさらに必要である。

謝辞

研究の遂行にあたり北海道大学大学院工学研究科下川部助

教授には試験装置や触媒探索に関して多大な助言を賜りました。また、日本新金属株式会社様、同和ハイテック株式会社様、北興化学工業株式会社様には薬品に関する詳細な情報を提供して頂きました。ここに心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 北海道バイオガス研究会監修：バイオガスシステムによる家畜ふん尿の有効活用，酪農学園大学エクステンションセンター，218PP.，(2002)
- 2) Yonghong Teng・Hiroaki Sakurai・Kenji Tabata・Eiji Suzuki：Methanol formation from methane partial oxidation in CH₄-O₂-NO gaseous phase at atmospheric pressure, Applied Catalysis A：General, 190, pp.283-289, (2000)
- 3) S. Irusta・E. A. Lambardo・E. E. Miro：Effects of NO and solids on the oxidation of methane to formaldehyde, Catalysis Letters, 29, pp.339-348, (1994)
- 4) Tetsuya Takemoto・Kenji Tabata・Yonghong Teng・Shuiliang Yao・Akira Nakayama・Eiji Suzuki：Optimization of C1-Oxygenates for the Selective Oxidation of Methane in a Gas-Phase Reaction of CH₄-O₂-NO at Atmospheric Pressure, Energy and Fuels, 15, pp.44-51, (2001)
- 5) Kiyoshi Otsuka・Ryo Takahashi・Ichiro Yamanaka：Oxygenates from Light Alkanes Catalyzed by NO_x in the Gas Phase, Journal of Catalysis, 185, pp.182-191, (1999)
- 6) 岩本正和監修：環境触媒ハンドブック，エヌ・ティー・エス，976PP.，(2001)
- 7) Kiyoshi Otsuka・Masaharu Hatano：The Catalysis for the Synthesis of Formaldehyde by Partial Oxidation of Methane, Journal of Catalysis, 108, pp.252-255, (1987)
- 8) Miguel A. Banares・Luis J. Alemany・Francisco Martin-Jimenez・J. Miguel Blasco・Manuel Lopez Granados・Miguel A. Pena・L. G. Fierro：Partial Oxidation of Methane on Low-Surface-Area SiO₂-Si-Supported Vanadia Catalysts, ACS Symp. Ser. (Am. Chem. Soc.), 638, pp.78-94, (1996)
- 9) Gokhan O. Alptekin・Andrew M. Herring・D.L. Williamson・Tim R. Ohno・Robert L. McCormick：Methane Partial Oxidation by Unsupported and Silica Supported Iron Phosphate Catalysis, Journal of Catalysis, 181, 104-112, (2000)
- 10) Nicholas D. Spencer・Carmo J. Pereira・Robert K. Grasselli：The Effect of Sodium on the MoO₃-SiO₂-