

平成27年度成果報告書

新エネルギーベンチャー技術革新事業/

新エネルギーベンチャー技術革新事業（バイオマス）/

バイオマスからの水素発生菌による高速水素変換技術開発

平成28年3月

国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

（代表委託先）バイオ水素株式会社

（委託先）独立行政法人国立高等専門学校機構沖縄工業高等専門学校

目次

要約（日本語）	4
要約（英文）	5
はじめに	6
1．新規水素発生菌の培養条件の研究開発および同定	6
1.1．培養条件の研究開発	6
(1) 半回分連続操作の HRT（Hydraulic Retention Time、平均滞留時間）の影響	6
(2) 培地 pH の変化と代謝産物の変化	11
(3) 菌叢と現象の再現性	14
(4) 発酵と培地温度上昇	15
1.2. 新規水素発生菌の同定	16
2．沖縄工業高等専門学校での検討	
まえがき	17
2.1. 序論	18
(1) 水素エネルギーの利用について	18
(2) バイオプロセスでの水素生産	18
(3) 廃糖蜜を用いた水素発酵生産	18
(4) メタゲノム解析	19
(5) 次世代シーケンサー	19
(6) 研究開発の目的	20
(7) 研究体制	20
2.2. 材料と方法	21
(1) 使用菌株及び菌叢	21
(2) 16SrRNA 遺伝子の確認	21
(3) 16SrRNA 遺伝子 V4 領域の増幅	22
(4) Index 配列の付加	22
(5) ライブラリ調製	23
(6) Miseq による次世代シーケンサー	23
2.3. 結果	24
(1) 種菌叢の細菌組成	24
(2) Clostridiumu 属 HN001 発酵槽内の細菌組成遷移	24
(3) 新規菌叢 IN19 発酵槽内の細菌組成遷移	25
2.4. 考察	27
2.5. 結論	27
2.6. 参考文献	28

3 . バイオガスの直接燃料電池送入による発電	29
4 . ビジネスプランの作成	29
4.1. 損益の試算	29
(1) 糖蜜から発酵で水素生産するためのコスト計算に使用した諸データと仮定値	29
(2) 糖蜜から生産した水素による電力が固定価格で買入れられた時の利益試算	30
(3) プラント償却費・保守費など支出の試算と水素生産による利益の増加可能性試算	30
(4) 10m ³ 発酵装置を基準とする建設費と減価償却費の推定値	32
(5) 売電価格に依存する損益の評価と 1m ³ の水素生産に掛かるコスト試算	32
4.2. 水素の需要について	33
4.3. 実用化・事業化へ向けたプラン	33
まとめ	34
5 . 研究発表・講演、文献、特許等の状況（共同研究、再委託研究も含む。）	35

要約

発酵槽容積 200L の小型パイロットプラントで、糖蜜を原料にした発酵水素生産を行った。糖濃度約 2%で全量 160L の発酵液の半量 80L を定期的に入れ替える半回分方式で行った。新規発見した菌叢を発酵菌に使用し、HRT (Hydraulic Retention Time) 6hr、12hr、24hr で水素生産性を調べたところ、バイオガスの発生速度とガス収率は、6hr の時約 100L/h、3.5mol -gas/mol -hexose、12hr の時約 75L/h、4.7 mol -gas/mol -hexose、24hr の時約 60L/h、6.6 mol -gas/mol -hexose を得た。また、この性能は再現性があることを確かめた。ただ、3L ベンチスケール実験では 52%であった水素分率が、攪拌が弱かった所為かまたは菌叢であるためか、水素分率が約 30%と CO₂ の多い混合ガスであった。

本研究は、フェーズA (フィージビリティ・スタディ) で「バイオマスからの水素発生菌による高速水素変換技術開発」を分担実施した。特に本研究では、水素発酵槽内の菌叢の変化を次世代シーケンサーによる 16SrRNA メタゲノム解析によって追跡し、pH や水素生産量のデータと照らし合わせることで発酵槽内の菌叢が水素生産に及ぼす影響を明らかにし、更なる水素生産効率の向上に役立てることを目的とした。実際にラボスケールあるいはプラントスケールで、グルコース及び廃糖蜜を基質として新規水素発生菌叢による水素生産を行った。経時的にその発酵液をサンプリングし、発酵液中の菌叢変化をメタゲノム解析により追跡した。発酵槽内における微生物菌叢の大部分は M 属で占められていた。M 属は嫌気発酵細菌であり、水素生産はこの細菌が行っていると考えられる。また、それ以外では B 属で占められている。これは原料である廃糖蜜から混入したものと考えられる。M 属細菌が水素を産生しながら、B 属細菌と共存または菌叢淘汰の状態にあり、互いの代謝産物の取り込みや代謝産物同士での中和反応などで発酵液の pH が一定に保たれていると考えられる。安定した水素生産には B 属が約 1 割存在する菌叢を維持する必要があると考えられる。

Summary

Hydrogen was produced from molasses by a small pilot plant equipped with 200L volume of fermenter. The fermenter contained 160L fermentation liquid and 80L was exchanged periodically with new feed. A newly found microflora was used as the organisms of the hydrogen fermentation. The hydrogen productivity of the microflora was examined under three kinds of hydraulic retention time of the feed such as 6, 12 and 24hours. Biogas production rate and the yield of biogas were ca. 100L/h and ca. 3.5mol -biogas/mol -hexose at 6hr HRT, ca. 75L/h and ca. 4.6mol -biogas/mol -hexose at 12hr HRT, and 60L/h and ca. 6.6 mol -biogas/mol -hexose at 24hr HRT. The reproducibility of the phenomena and the productivity was proved by new operations. The only thing however was that the biogas consisted of H₂ and CO₂ contained hydrogen only ca. 30% while 52% at 3L bench scale fermenter experiment. However, since the hydrogen yield at HRT 24hr became ca. 2.0mol -H₂/mol -hexose, the flora will be a hopeful microflora. The possible reasons for the low H₂ concentration are now reviewed by further experiments.

We shared "the development of high-speed hydrogen conversion technology with bacteria producing hydrogen from biomass" in phase A (feasibility study) and carried out . In this study, we chased a change of microflora in the hydrogen fermenter by the 16SrRNA meta genome analysis with the next generation sequencer . Our purpose is to clarify the influence of pH and microflora in the fermenter to hydrogen production efficiency.

Hydrogen production from molasses by a pilot plant or a laboratory scale was operated . Various samples of fermentation liquid were collected over time. The 16S metagenomics of these microflora was carried out with next generation sequencer. Each microflora consisted of two genera, "M" and "B". Because it is during patent application preparations, we do not state the correct generic name clearly. The M genus was anaerobic bacteria, as for the hydrogen production. In addition, the other was occupied by the B genus. It was thought that the B genus was contaminated from the waste molasses. While M genus bacteria produce hydrogen, B genus bacteria would be in a state of coexistence or the microflora selection. These two genus would fix each other's metabolism products or would neutralize between metabolism products , and would keep pH of the fermentation liquid. It is thought that the B genus has to exist approximately 10% in microflora for stable hydrogen production.

はじめに

本開発は沖縄の糖蜜を水素生産の原料に使用して経済性を持つ発酵水素生産技術を目指すもので、新規水素発生菌の糖蜜などからの水素生産性能をラボスケールおよびパイロットプラントスケールで確認、検証し、細菌の同定を行った。また、高速生産であることは重要であるが、これまでの我々の研究から、最も経済性に影響を及ぼすファクターは、水素生産に適した培地 pH を保つために加える薬品の、使用量にあることが判明しているため、苛性ソーダの使用量を減らすことに力を注いだ技術開発を行った。新規水素発生菌の獲得はこの観点から行い、有望な菌を掘り出すことに成功したことを報告する。

1．新規水素発生菌の培養条件の研究開発および同定

1.1． 培養条件の研究開発

(1) 半回分連続操作の HRT（Hydraulic Retention Time、平均滞留時間）の影響

いくつかの新規菌叢の水素発生能力を ABCM 半流動培地で検査し、ラボスケールでは目標の $60\text{mmol/L} \cdot \text{h}$ 以上の速度で水素を発生することを確かめた。また、ABCM 半流動培地はグルコースを 3.0g/L 、可溶性デンプンを 5.0g/L 含んでいるので、 $2.3\text{mol} \cdot \text{H}_2/\text{mol} \cdot \text{substrate}$ 以上の目標水素収率に対して、IN12 菌叢は、図 1 に示すように、グルコースからだけガス発生しているとするれば $3.7\text{mol} \cdot \text{H}_2/\text{mol} \cdot \text{sub.}$ 、デンプンも使用したとすると $1.4\text{mol} \cdot \text{H}_2/\text{mol} \cdot \text{sub.}$ の収率で水素発生することを確かめた。また、80L 入れ替えの糖蜜・魚粉培地で半回分操作したパイロットスケールでも、図 2 に示すように、1日という短時間ではあるが速度目標を達成できることが分かった。

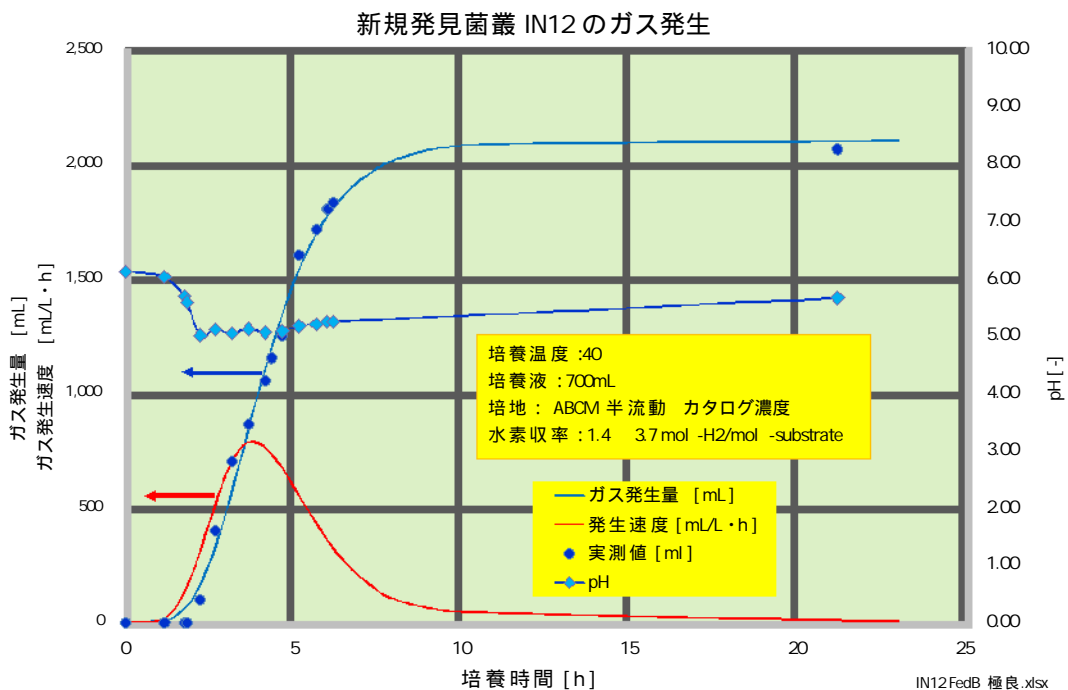


図 1．新規菌叢 IN12 の ABCM 半流動培地におけるガス発生量とガス発生速度

NEDOの達成目標
60 mmol-H ₂ /L · h
= 1.3 L-H ₂ /L · h
= 215 L-gas/80L · h

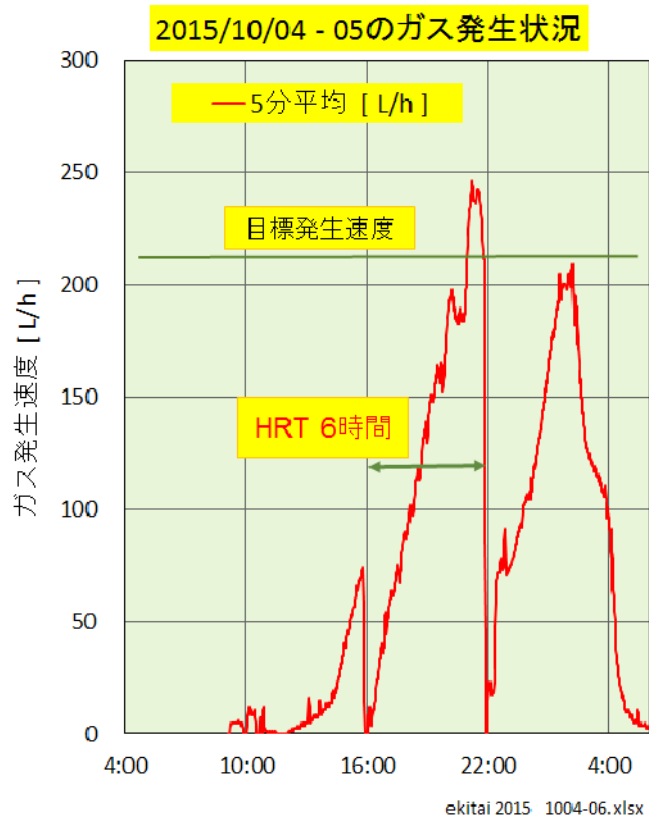


図2. パイロットプラントでの水素生産速度の達成目標値と
糖蜜・魚粉培地で達成したことを示す実験データ

図2は、パイロットプラントで、発酵液総量160L、置換率50%の条件で種々HRT条件による半回分連続水素生産を約1カ月に亘って行った次ページ図3に示す操作結果のある1日を拡大したものである。水素生産目標値は60mmol/L · hであり、発生ガスの水素濃度は約50%であるから、80Lの培養液を入れ替えたパイロットプラントからのガス発生速度246 L-bio gas/hは、菌が目標値を達成する能力を持つことを示している。操作では、この目標値を維持することよりも、代謝反応で生産する酸の中和に使用する苛性ソーダの使用量を減らすことに主目標を置いたので、図3に見られるように、その後の操作ではこの速度を維持できていない。

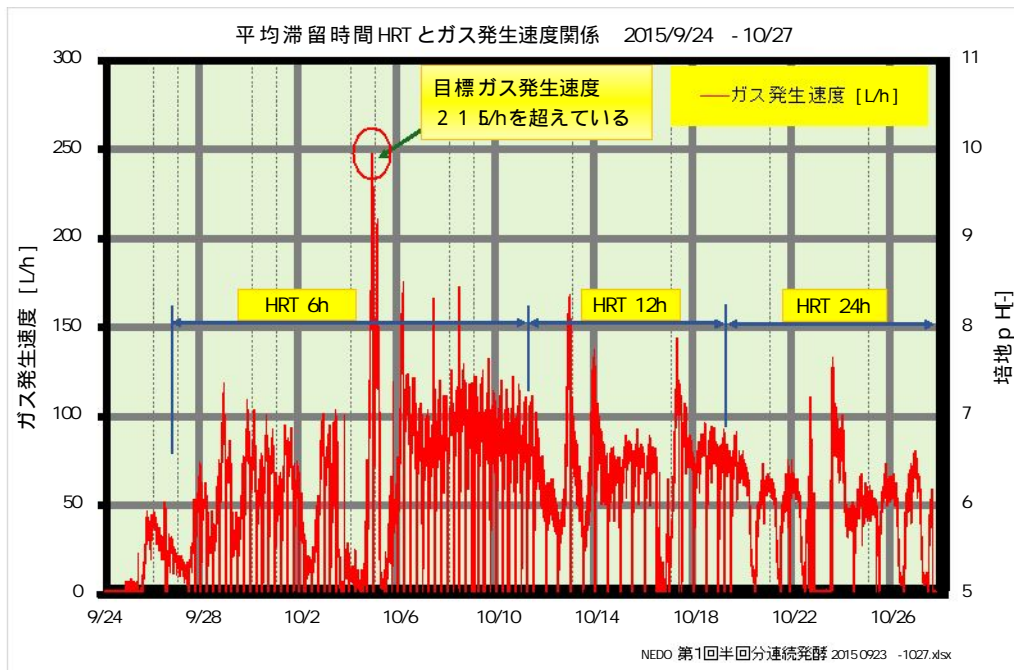


図3．パイロットプラントでの糖蜜・魚粉培地における水素生産速度に及ぼす HRT の影響

表1．パイロットプラント操作における平均滞留時間と発生ガス量、発生速度の状況

発酵操作期間：2015/09/23	10/28	HRT	発生ガス量	平均発生速度
糖蜜糖濃度：40%		[h]	[L/80L]	[L/h]
発酵糖濃度：2%		6	500	91
発酵液置換率：50%		12	810	70
発酵液置換量：80L		24	1100	47

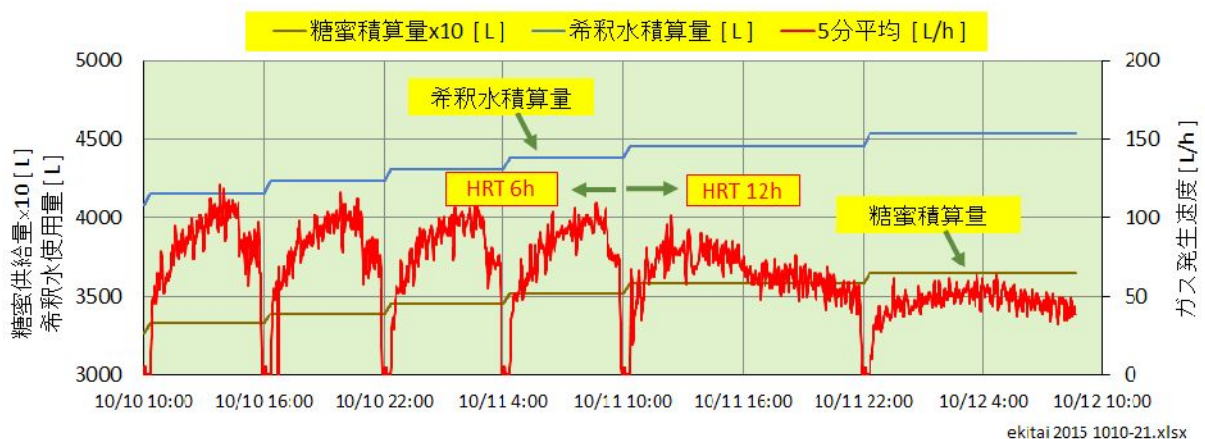


図4．HRT 6 時間と 12 時間の半回分操作による原料供給状況とガス発生状況

9月24日にスタートし10月27日に終了した半回分連続操作では、表1にまとめられたように、HRT が長いほどガス発生量は多く、HRT が短いほど発生速度は速かった。投入した糖蜜量は、図4に見られるように、HRT とは無関係に一定量であったから、糖の消費率が HRT 6 時間では 12 時間より少なかったと考えられる。

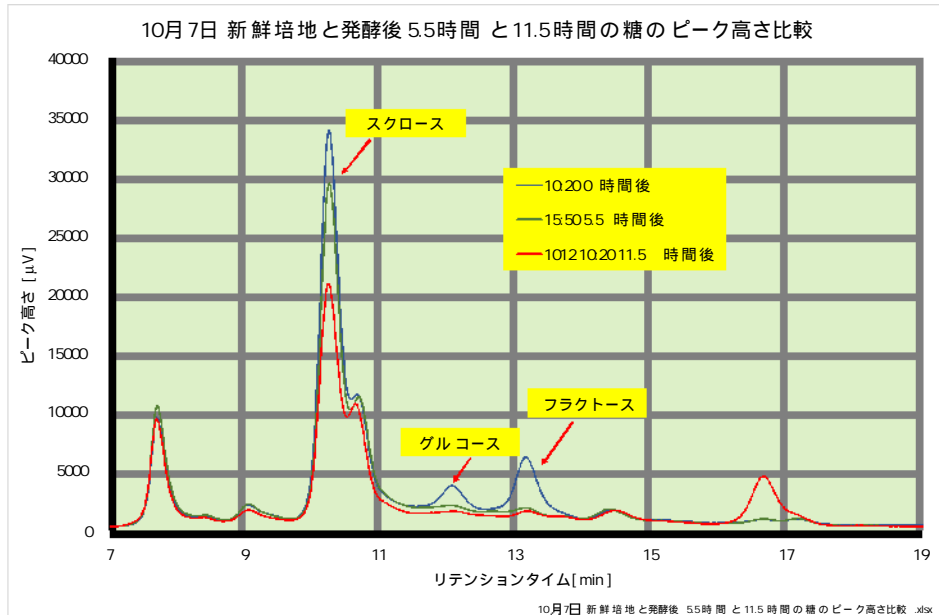


図 5 . 発酵原料液入れ替え 0、5.5、11.5 時間後の糖消費状況

糖の消費状況を図 5 に示した。ここには発酵原料の入れ替え直後、HRT 6 時間操作の 5.5 時間後、HRT 12 時間操作の 11.5 時間後に採取した発酵液の液クロ分析結果を重ねて示している。5.5 時間後ではグルコースとフラクトースはほとんど消費されてピークが無くなっているが、スクロースのピークはわずかに低くなっただけで消費量はすくないことが分かる。一方、11.5 時間後では、スクロースもかなり消費されているが、しかしまだ未消化のまま残っていることが見て取れる。

図 6 には HRT 6 時間と 12 時間のガス発生速度を上下に並べて示した。このグラフによると、原料を入れ替えて約 5 時間ほどはガス発生速度が上昇しているが、その後急に発生速度が遅くなり、新しい原料の入れ替えまで遅い速度で 1 時間または 7 時間発生が続くというサイクルが繰り返されることが分かる。図 5 の糖消費状況と比較すると、これは、先ず単糖のグルコースとフラクトースが 5 時間程度で消費され、その後二糖のスクロースの消費に移るが、その消費スピードは二糖を単糖に分解するステップが加わるため遅くなった、と考えれば説明が付く。HRT 24 時間操作では、ここに示していないが、スクロースのピークもほぼ消滅しており、この糖消費状況が、表 1 の発生ガス量に見られる HRT が長いほどガス発生量も多い結果に現れた。

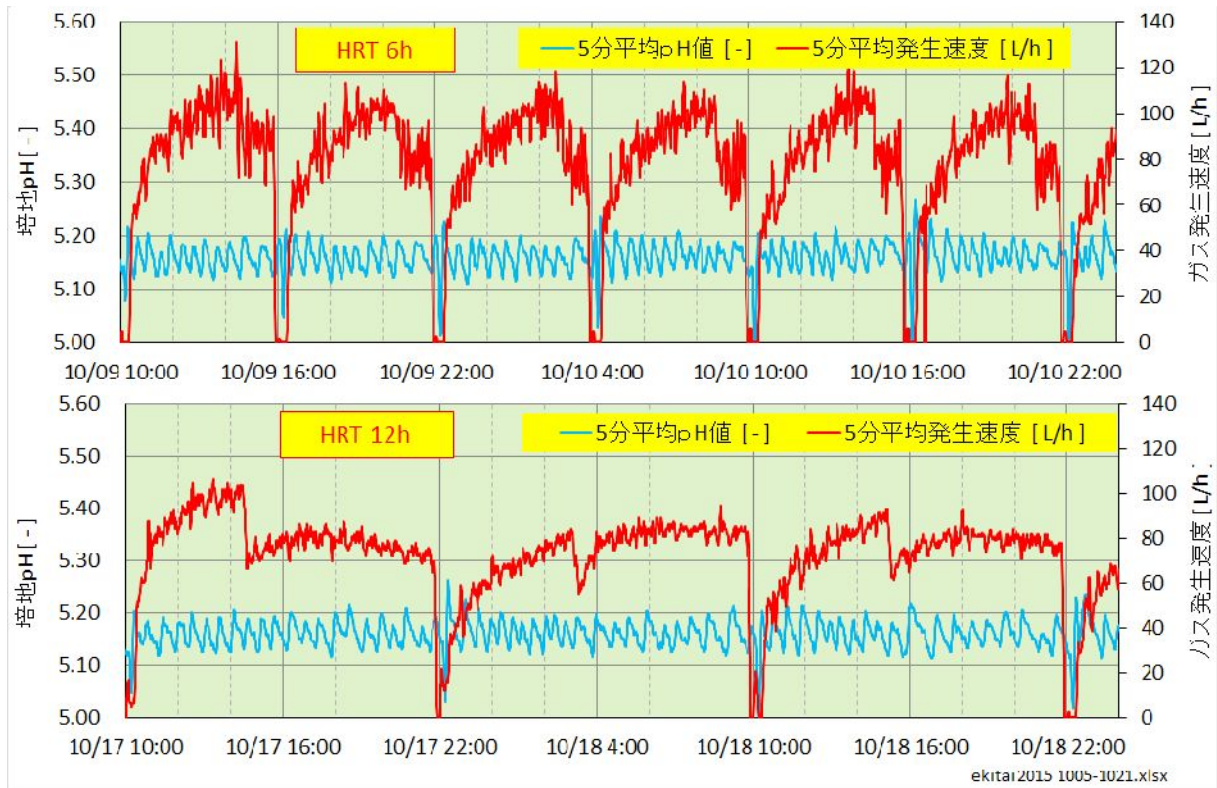


図6 . 糖類の消費とガス発生速度の関係

しかし、菌体濃度が同じ程度なら、原料入れ替え直後からグルコースとフラクトースが消費されるまでのガス発生速度はほぼ同じと考えられるにもかかわらず、HRT が長くなるにつれ発生速度が遅くなった理由についてはまだ判明していない。

(2) 培地 pH の変化と代謝産物の変化

図7は、10月29日にスタートし11月15日に終了したパイロットプラントによる半回分操作の培地 pH とガス発生速度、それに液クロ分析など作業記録を示したものである。この半回分発酵操作では、発酵サイクルの途中から培地の pH が上昇し、培地の pH が酸代謝で酸性化することを防ぐために加えていた NaOH の消費量が少なくなった。図中 で示した10月29日から30日のデータを拡大すると、図8(a)のガス発生速度の変化は図6と同じであるが、糖を分解しガス発生が続いているので酸も代謝生産しているにもかかわらず、培地 pH が制御範囲の5.10~5.15を超えて5.36まで上昇している。pH の制御範囲を超えた高い pH 領域では、図8(b)に示したように、NaOH を使用していないのでアルカリ槽の液面は変化していない。

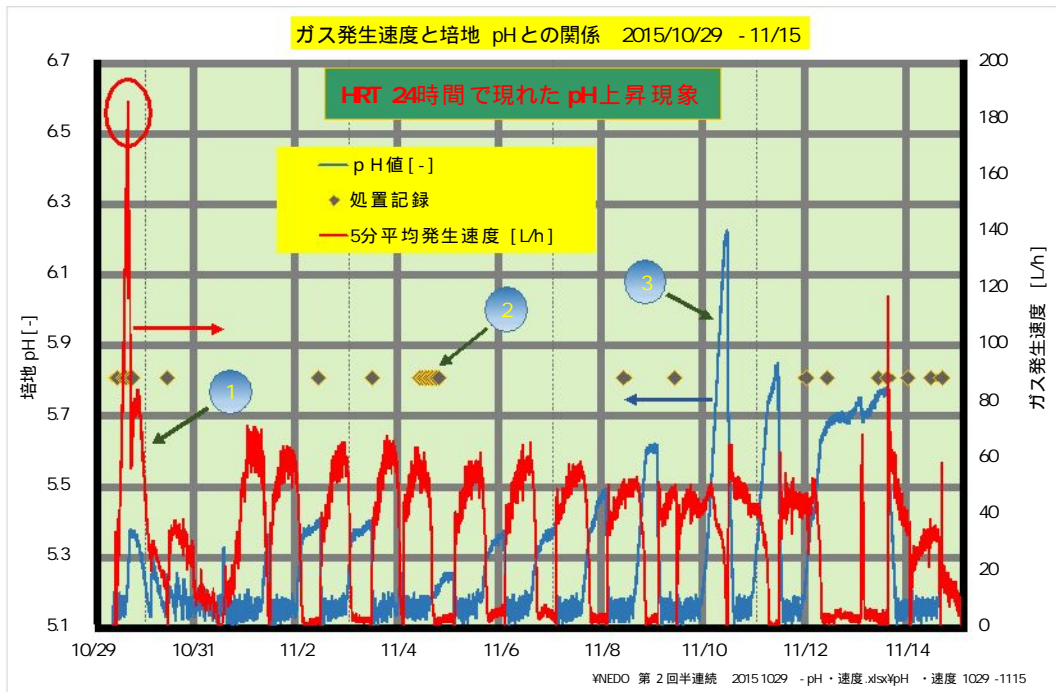
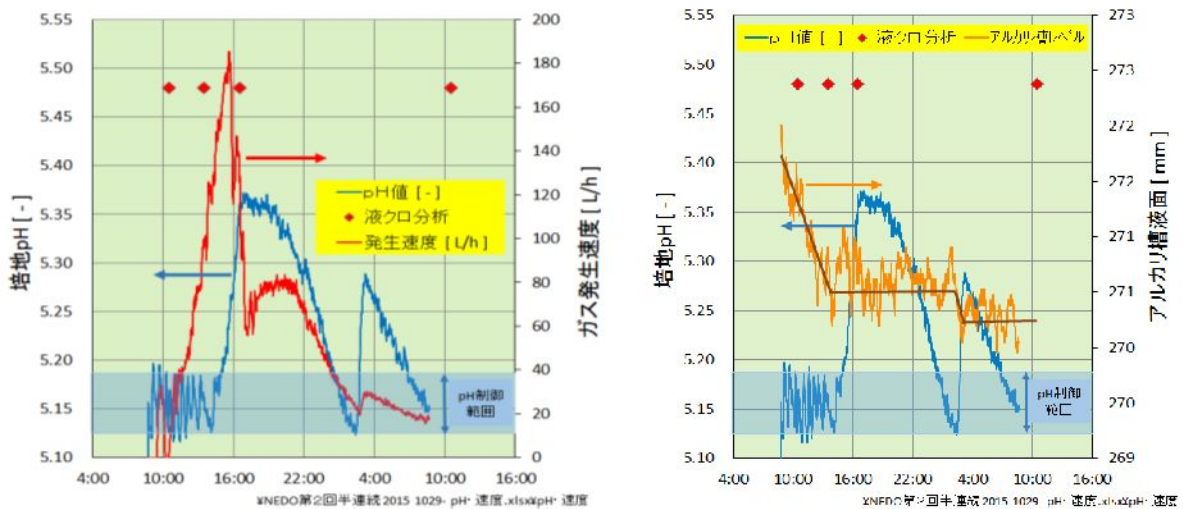


図7 . 10月29日から11月15日まで運転した半回分水素生産のガス発生速度と培地 pH の変化



(a) ガス発生速度と培地 pH の変化

(b) 培地 pH と pH 調節用 NaOH 槽の変化

図8 . 10月29日から30日にかけてのガス発生速度、培地 pH、アルカリ槽液面変化

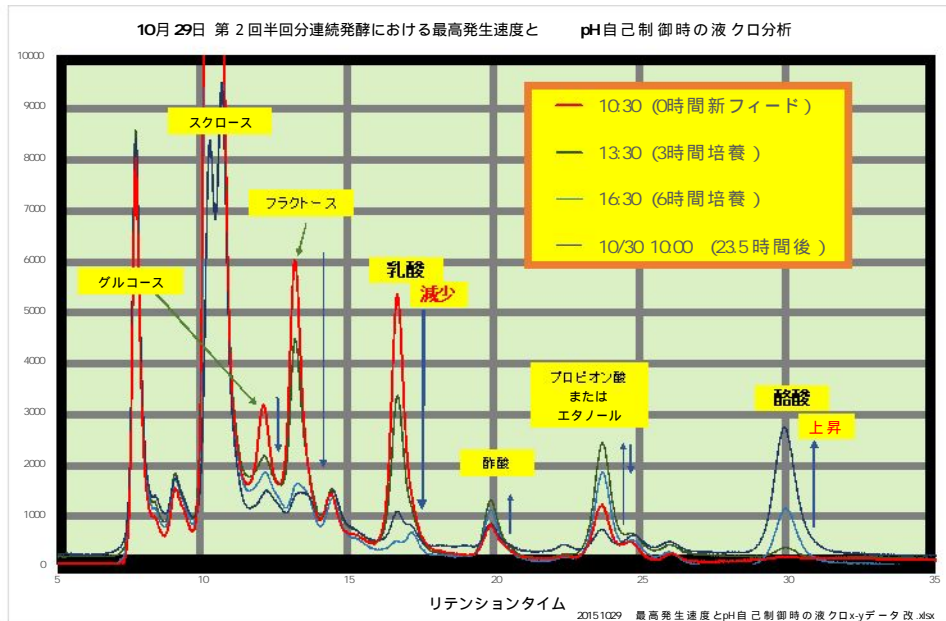


図 9 . 培地 pH 上昇時の発酵槽内代謝産物の変化

この回分発酵操作中に採取した代謝産物の分析結果を図 9 に示したが、発酵液入れ替え時に多量に存在していた乳酸が、24 時間の回分培養の間にほとんど消失し、酪酸が増加するというこれまでとは異なった変異を示していた。これは、乳酸を中和するために使用した NaOH が乳酸の消滅によって不要になり、生成した酪酸を中和するために利用されても、乳酸の pK 値 (3.86) は酪酸の pK 値 (4.82) より低いのでその利用量は乳酸より少ないから、余った NaOH で培地 pH が上昇し、中和に必要な NaOH 使用量が少なくなったと考えられる。

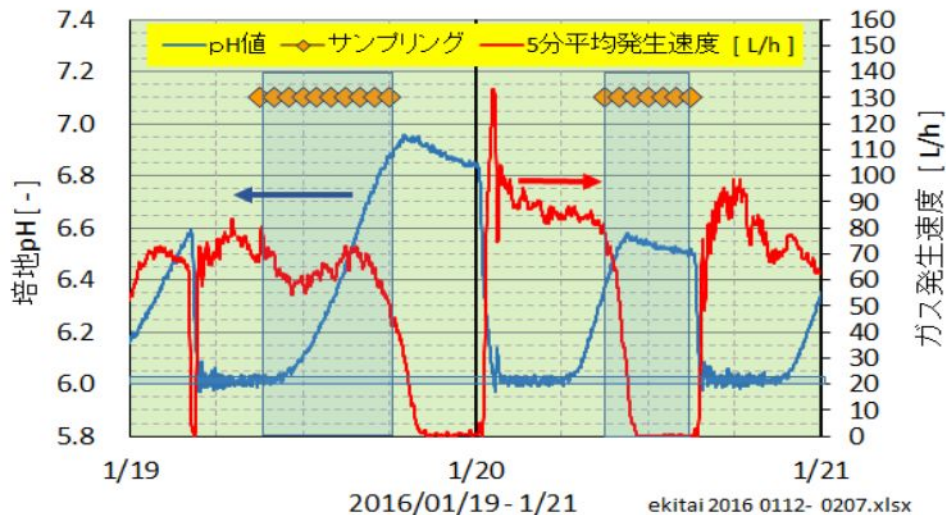
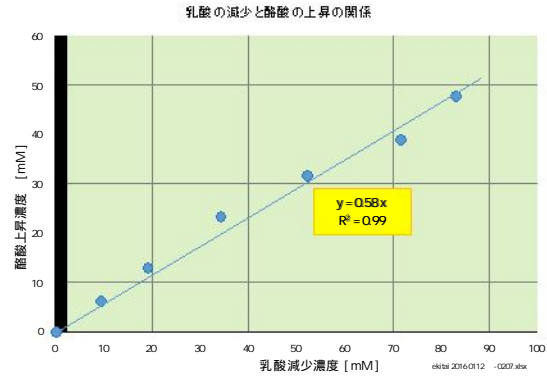
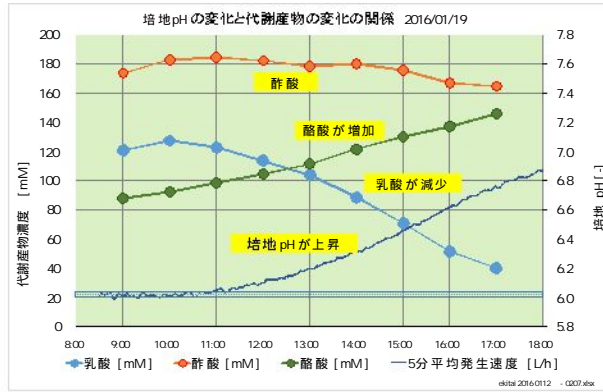


図 10 . 1 月 19 日と 20 日に行った 1 時間毎のサンプリングと pH およびガス発生速度の状況

この論考を確かめるため、図 7 に示した 11 月 4 日および、図 10 に示した 2016 年 1 月 19、20 日の 3 度 1 時間おきに発酵液のサンプリングを行い、代謝産物の分析を行って酸濃度の変化を調べたところ、図 11 に示すように、乳酸濃度の減少と酪酸濃度の上昇には非常に高い相関関係がみられる。

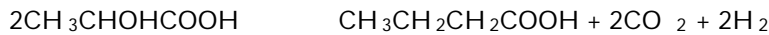


(a) 代謝産物濃度変化と培地 pH の変化

(b) 乳酸の減少と酪酸の増加の関係

図 11 . 1 時間毎の代謝産物濃度変化と培地 pH の変化の関係

乳酸と酪酸の間には、次式の反応が可能であるから、図 11(b) は良くこの関係を表しているといえる。このことから、培地 pH の上昇は、乳酸が資化され酪酸が代謝されたためであることが判明した。



このような現象は、菌叢の変化に由来すると考えられるので、1 時間おきに採取した発酵液サンプルは、液クロ分析と同時にメタゲノム解析を行って菌叢の変化を調べた。菌叢解析の成果については次節 1.2 で説明する。

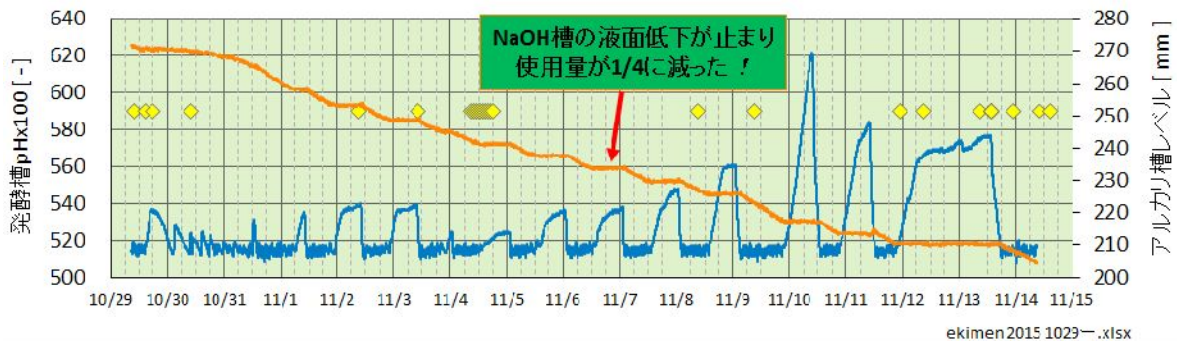


図 12 . 新規菌叢の半回分連続操作で現れた pH 上昇現象と NaOH 槽の液面変化

(3) 菌叢と現象の再現性

培地 pH の菌叢による自己調節は、保存している菌を使用すると再現が可能であることが図 13 に示すように明らかになった。このことから、新規菌叢は水素生産に有力な種として知財化を図っている。

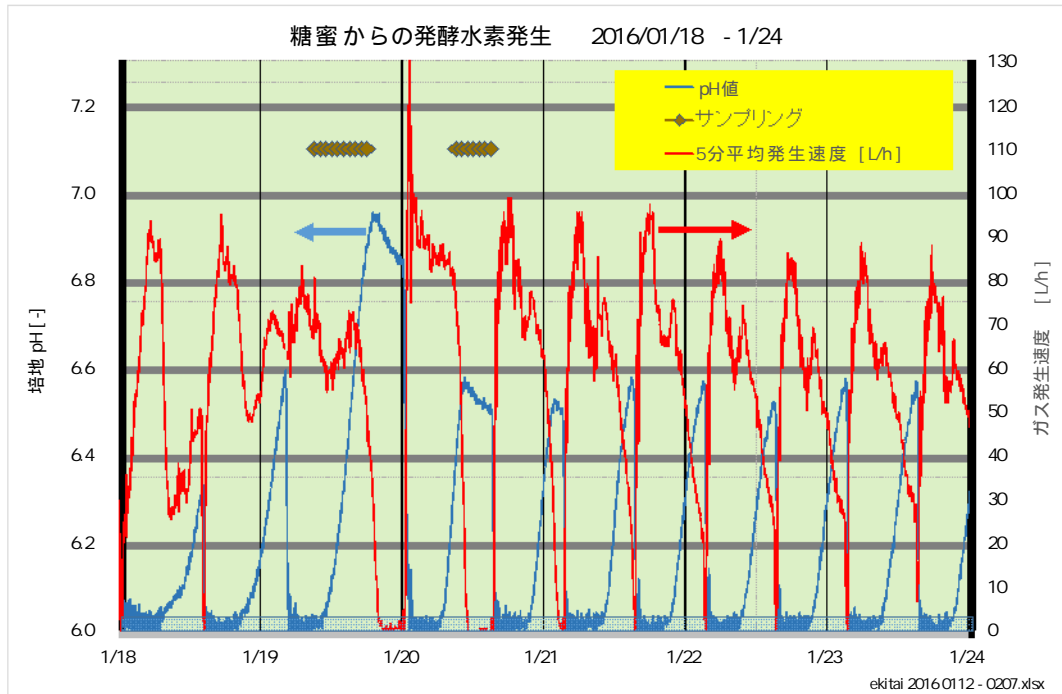


図 13 . 新規菌叢の再現性試験

(4) 発酵と培地温度上昇

これまでベンチスケール水素発酵実験では、培養中に発酵液の温度上昇を観測したことはなかったが、パイロットプラントでの実験では、図 14 に示したように、発酵液の温度が不定期に設定温度より高くなるデータが現れた。図に見られるように、必ずしもガスを活発に発生しているときに液温が上がるとは言えず、理由はまだ判然としない。しかし、温度上昇の理由が判明すれば、発酵槽の加温に必要なエネルギーを少なくすることができるので、コスト削減に寄与する可能性がある。今後の課題である。

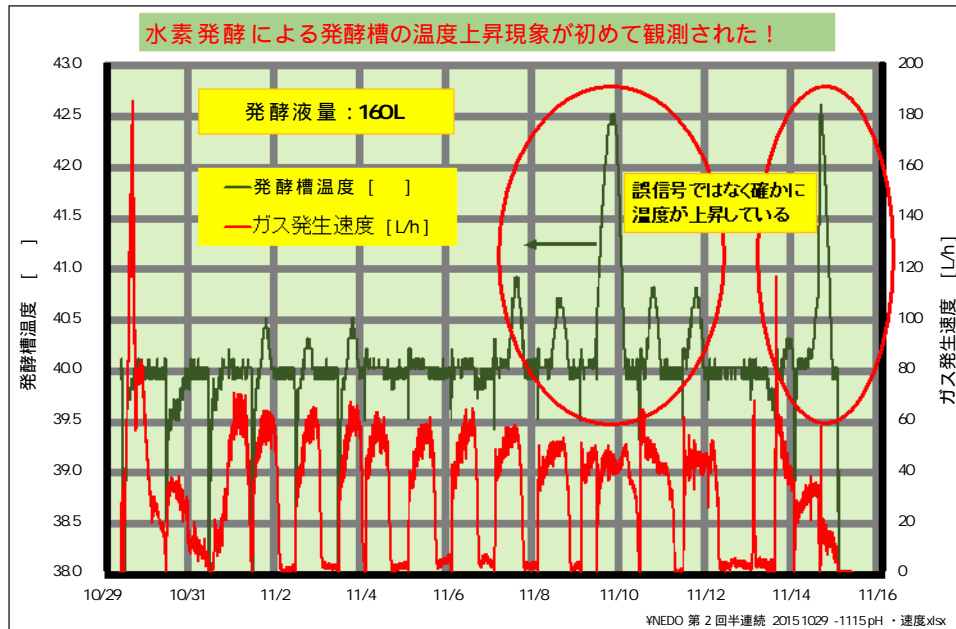


図 14. 半回分連続操作で現れた発酵槽の温度上昇現象

1.2 . 新規水素発生菌の同定

(1) 培地 pH の変化と菌叢変化の関係

筆者らは、有望な新規水素発生菌叢をいくつか所有している。それらの菌叢の内、培地 pH の調節に使用する苛性ソーダ量が少なくて済む菌叢について、バイオ水素社がパイロットプラントで連続水素生産実験中にサンプルを採取し、連名申請者の沖縄工業高等専門学校生物資源工学科田邊俊朗准教授がメタゲノム解析を行って同定を試みた。

前出の図7の中、で示した日時に1時間置きに発酵液を採取し、菌叢解析と代謝産物分析を行った。その結果、図15に示すように、菌叢は主にM属とB属の2属で構成されていることが明らかになった。さらに、培地 pH が制御範囲を越えて上昇をするときは、この2属の構成比率が変化しており、構成比率が重要な原因になることが分かった。しかし、このメタゲノム解析では、試料菌叢の各菌から切り出すゲノムの長さが300前後と短いので、属の決定はできたが、種の同定まではできなかった。

これまで菌叢による発酵では、数種から数十種が互いに勢力を競い合っていると想像していたが、わずか2属だけで発酵状況が左右されるこの結果から、人工的発酵操作で pH 制御が可能になる道が見えた。

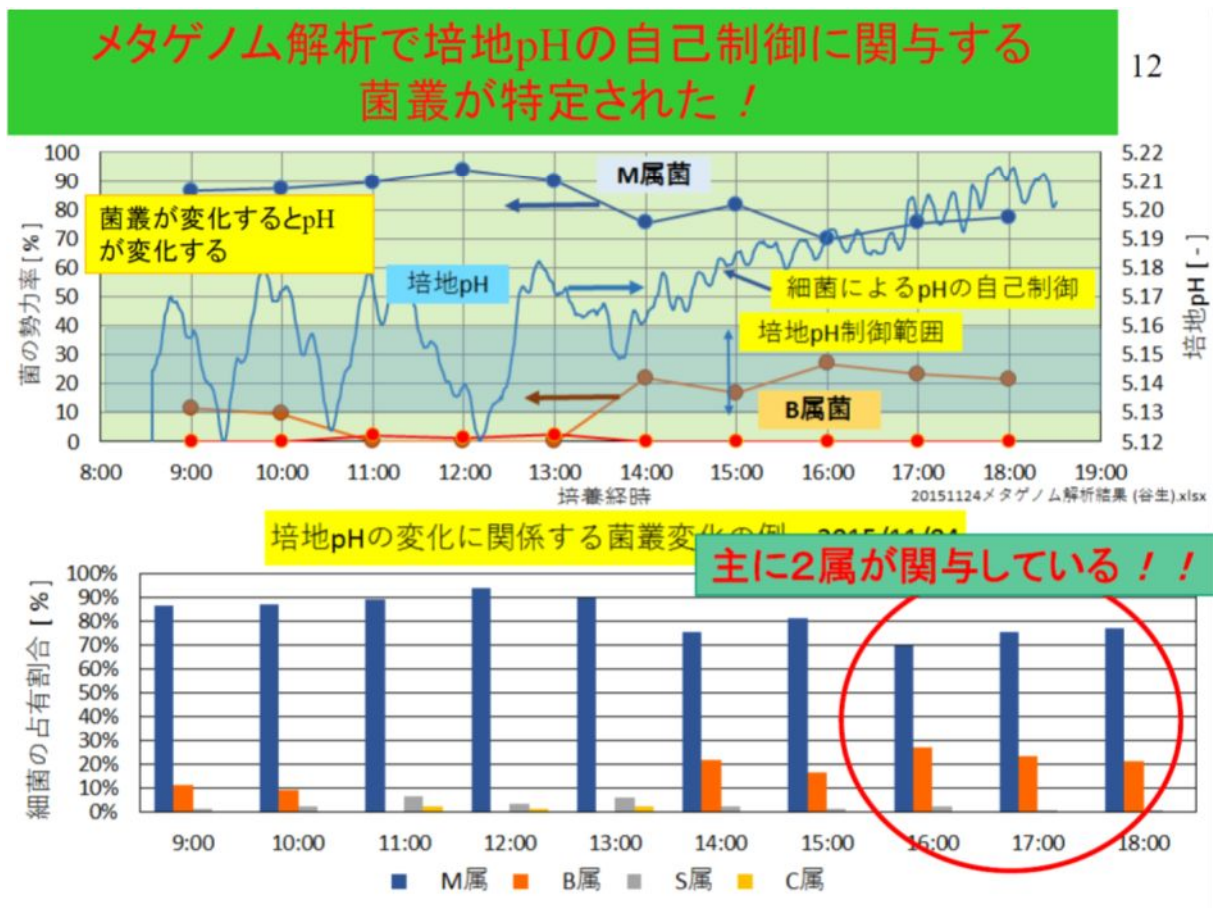


図15 . 発酵液の pH 上昇に寄与する菌叢の変化

2. 沖縄工業高等専門学校での検討

まえがき

本報告書は、国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）からの委託によって、沖縄工業高等専門学校で実施した平成 27 年度「新エネルギーベンチャー技術革新事業 / 新エネルギーベンチャー技術革新事業（バイオマス）/ バイオマスからの水素発生菌による高速水素変換技術開発」フェーズ A（フィージビリティ・スタディ）の成果をまとめたものである。

再生産が可能かつ環境負荷の小さい新エネルギー資源として水素が注目されている。水素はバイオマスなどの資源や水から生産が可能であり、石油などの化石燃料などと比較して二酸化炭素排出量が非常に少なく、次世代のエネルギーとしての利用が期待される。水素の製造技術として本研究開発では微生物を用いた水素発酵に注目した。大量の水素を生産できる新規の微生物の探索や培養プロセスの開発が必要となるが、特に課題となるのが、水素発酵中にどのような細菌類が増殖し、水素生産と発酵液の pH へどのような影響を及ぼすかを明らかにすることである。本研究開発では、次世代シーケンス技術を用いたメタゲノム解析により、水素発酵中の菌組成遷移を追跡し、低コストで効率よく水素発酵生産を行うための基礎的な知見を得るため、技術開発を実施した。

2.1 序論

(1) 水素のエネルギー利用について

現在のエネルギー資源は石油や石炭などの化石燃料の利用が主流となっているが、これらの資源は後 100 年程度で枯渇するといわれている。また燃焼した際に発生する窒素酸化物や硫黄酸化物が酸性雨に代表されるような公害を引き起こすほか、二酸化炭素などの温室効果ガスが地球温暖化の一因になるなど環境負荷も大きい。従って再生産が可能かつ環境負荷の小さいエネルギー資源が必要となってくる。上記の条件を満たすエネルギー資源として水素が注目されている。水素とは、原子番号 1 の元素で元素記号は H であり、通常、原子が 2 つ結びついた水素分子(H₂)の形をとる。宇宙で最も豊富にある元素であり、地球上にも他の元素との化合物の形で大量に存在している。バイオマスなどの資源や水から生産が可能であり、石油などの化石燃料などと比較しても二酸化炭素排出量が非常に少なく、次世代のエネルギーとしての利用が期待される。

(2) バイオプロセスでの水素生産

水素の製造技術としては水の電気分解や化石燃料改質、光触媒やバイオマスのガス化などがあるがその中でも微生物を用いた水素発酵による生産がある。クロストリジウム属に代表される嫌気性細菌には糖類などを代謝し、水素を生産する能力があるためこれを利用して水素生産を行う。その他にもシアノバクテリア（藍藻類）は光合成プロセスの一環として水素を生産するためそれを利用して水素を作る技術がある。しかしながらこれらの技術は未だに基礎研究段階であり、大量の水素を生産できる新規の微生物の探索や培養プロセスの開発が必要となってくる。

(3) 廃糖蜜を用いた水素発酵生産

代表委託先であるバイオ水素株式会社ではサトウキビから砂糖を生産する際の廃棄物である廃糖蜜を原料とした水素発酵生産プラント（図 16）を沖縄県糸満市に建造し、その運転結果¹⁾ について報告してきた。プラントサイズの水素発酵生産では、連続発酵時の pH 調整に係るコスト削減が課題であり、pH を自己調整できる水素生産菌叢の馴養と発見が必要であった。そこで、バイオ水素株式会社ではアルカリによる中和を必要としない新規のコスト低減型発酵菌叢²⁾ についても報告してきた（図 17）。



図 16．糸満市で稼働中の水素発酵プラント

この中和を必要としない水素発酵技術を確認できれば低コストでの水素生産が可能となる。しかしながら、水素生産を行う際に発酵槽内には種菌として水素生産菌を投入するが、原料である廃糖蜜に含まれる微生物叢からどのような細菌類が増殖し、水素生産と発酵液の pH へどのような影響を及ぼすかは明らかでなかった。

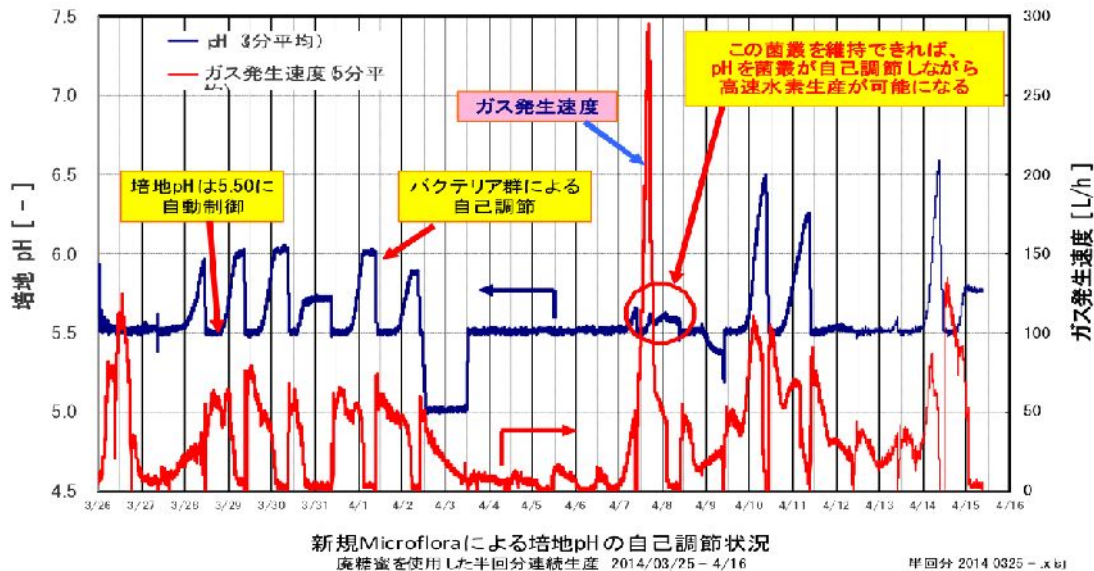


図 17 . pH を自己調節できる水素発酵菌叢

(4) メタゲノム解析

環境中や培養液内における菌叢を調べる際、従来の方法では対象サンプルの菌液を培地に塗布し、コロニーの種類や数から菌叢を推測する簡易的な手法やサンプルをコロニーごとに分離・培養を行い得られた菌体からゲノムを抽出しシーケンシングすることで菌叢の解析を行ってきた。しかしながら、この手法では人工的な培地での生育が困難な難培養性の微生物に関しては情報が得られず正しい菌叢を把握することは非常に困難であった。そこでシーケンサーの性能の向上と共に新たな手法としてサンプルから直接ゲノム DNA を抽出して解析を行うメタゲノム解析が開発された。メタゲノム解析では 16SrRNA 遺伝子をシーケンシングすることで微生物の同定を行う。16SrRNA 遺伝子は 1.6 kbp 程度とゲノムに比べて比較的短く扱いやすいサイズであると共に、生物種内において保存性が高い。その一方で異なる種内においては 16SrRNA 遺伝子の可変部に変化が見られるために全ゲノム解析を行うよりも簡易的に微生物の同定を行うことが可能となる。この技術によって難培養性の微生物の情報を得ることが可能となり、正確な菌叢が把握できるようになった。

(5) 次世代シーケンサー

従来のジデオキシ法を用いたキャピラリー型シーケンサーでは 1 サンプルずつ泳動して読み取る原理上、一度に処理することのできるサンプル数とデータ量に限界があった。次世代シーケンサーではこれとは違った新たな手法で解析を行い、今回使用した Illumina 社の Miseq では SBS(Sequencing By Synthesis) 法を用いている。これは伸長反応の材料に用いる dNTP にそれぞれの塩基に対応させた蛍光を標識しておき、伸長反応の際に取り込んだ dNTP をレーザー光によって励起させる。この時に起こる発光を写真データとして記録・解析することで塩基配列を決定する。これによって一度に大量のサンプルを並列処理で解析することが可能になる。この解析能力の高さから医療での腸内フローラ解析や、環境工学での土壌中微生物叢解析など、微生物を集団で解析するメタゲノム解析への応用が広がっている

(6) 研究開発の目的

本研究は発酵槽内の菌叢の変化を、次世代シーケンサーによる 16SrRNA メタゲノム解析によって追跡し、pH や水素生産量のデータと照らし合わせることで発酵槽内の菌叢が水素生産に及ぼす影響を明らかにし、更なる水素生産効率の向上に役立てることを目的とした。

(7) 研究体制

本研究は、NEDO よりバイオ水素株式会社が代表委託を受け、さらに沖縄工業高等専門学校が委託を受け、実施した(図 18)。沖縄工業高等専門学校は特に遺伝子解析の観点から研究を行った。

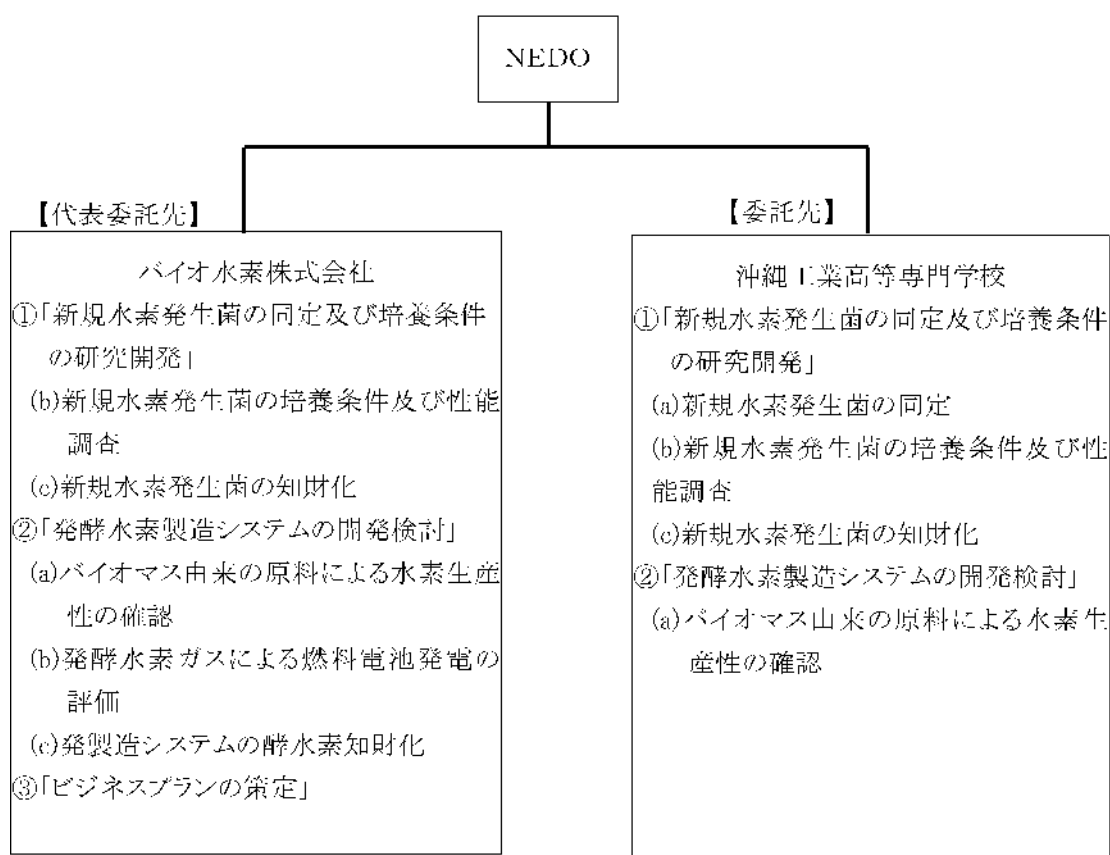


図 18 . 研究実施体制

2.2 材料と方法

(1) 使用菌株及び菌叢


水素発酵種菌には谷生らが2004年に発見した高速水素発酵バクテリア Clostridium 属 HN001 株³⁾および沖縄県内から見いだした新規水素発生菌叢を使用した。次世代シーケンサーに供する菌叢サンプルは、沖縄県糸満市に設置されている水素発酵生産パイロットプラントで半回分培養中に発酵槽から抜き取った発酵液を用いた。発酵液は遠心分離し、得られた菌体から NucleoSpin Tissue(タカラバイオ株式会社)を用いて DNA 抽出を行った。

(2) 16SrRNA 遺伝子の確認

各発酵液から抽出した DNA を鋳型として PCR を行い、16SrRNA 遺伝子の有無の確認を行った。ユニバーサルな細菌 16SrRNA 遺伝子増幅用フォワードプライマーとして 27F(AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) を、リバースプライマーとして 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) を用いた。増幅には LA Taq(タカラバイオ株式会社)を用いた。反応液の組成を以下に示す。

LA Taq	0.5 μ l
2 \times GC Buffer	12.5 μ l
dNTP	4 μ l
Template	100ng
1 μ M Fw primer	1 μ l
1 μ M Rv primer	1 μ l
DW	up to 25 μ l
<hr/>	
Total 25 μ l	

また、反応条件は以下の通りである

98	1min		
98	30sec		
49	30sec		
72	3min		
72	5min		
4	8		

アガロースゲル電気泳動にて増幅産物を泳動したところ、サイズ 1.5 kbp 付近にバンドが確認できた。16SrRNA 遺伝子領域は約 1600 bp であるため、確認できたバンドは 16SrRNA 遺伝子を増幅させたバンドと判断し、抽出した DNA には 16SrRNA 遺伝子領域が存在し、メタゲノム解析が可能であることが確認できた。

(3) 16SrRNA 遺伝子 V4 領域の増幅

今回のメタゲノム解析は、16SrRNA 遺伝子の V4 領域を標的として増幅を行った。増幅には ExTaq HS(タカラバイオ株式会社)を用いた。V4 領域を対象としたプライマー 515F(5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGCCAGCMGCCGCGGTAA3') および、806R(5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGG TATCTAATCC3') を使用し、以下のサイクルで PCR を行った。反応液の組成を以下に示す

Ex taq buffer	2.5μl
dNTP	2.0μl
Template	100ng
1μM 515F	5.0μl
1μM 806F	5.0μl
Ex Taq HS	0.13μl
DW	up to 25μl
<hr/>	
Total 25μl	

また、反応条件は以下の通りである。

95	3min	} ×23cycle
95	30sec	
55	30sec	
72	30sec	
72	5min	
4	8	

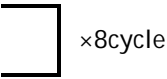
アガロースゲル電気泳動にて目的の領域が増幅されていることを確認し、AMPure XP ビーズ (日本ジェネティクス株式会社) を用いて増幅産物の精製を行った。

(4) Index 配列の付加

AMPure XP ビーズ (日本ジェネティクス株式会社) にて精製した増幅産物を鋳型として Index PCR を行った。増幅には ExTaq HS(タカラバイオ株式会社)を用いた。反応液の組成を以下に示す

Ex Taq Buffer	5.0μl
dNTP	4.0μl
Template	5.0μl
1μM 1_2 premix Index primer	10.0μl
Ex Taq HS	0.25μl
DW	25.75μl
<hr/>	
Total	50μl

また、反応条件は以下の通りである。

95	3min	
95	30sec	
55	30sec	
72	30sec	
72	5min	

4

PCR によって得られた増幅産物を AMPure XP ビーズ（日本ジェネティクス株式会社）を用いて精製した。

（ 5 ） ライブラリ調製

精製した PCR 産物を Qubit [®] 2.0Fluorometer （ ThermoFisher SCIENTIFIC 社）を用いて核酸濃度測定し、それぞれの核酸が 20ng ずつとなるように混合してライブラリとした。また、調製したライブラリを 2100 バイオアナライザ(Agilent 社)を用いて目的の領域が増幅されているかの確認を行った。リアルタイム PCR によってライブラリに含まれる核酸の正確なモル濃度を測定し、20pM の濃度に調製した。調製したライブラリを 20pM の PhiX と混合し、水酸化ナトリウムで変性させて最終的なライブラリとした。

（ 6 ） **Miseq** による次世代シーケンシング

次世代シーケンシングには、Illumina 製次世代シーケンサーMiSeq を用いた。シーケンス用試薬には、MiSeq Reagent Kit v2 を使用した。シーケンス用プライマーには、Read1: 5' - TATGGTAATT GT GTGCCAGCMGCCGCGGTAA -3'、 Read2: 5' - AGTCAGTCAG CC GGACTACHVGGGTWTCTAAT -3'、 Index: 5'- ATTAGAWACCCBDGTAGTCC GG CTGACTGACT -3'を使用した。詳細な手順は Illumina 社メーカーマニュアルに従った。シーケンシングして得られたデータは Apple 製 MacbookAir にインストールした MacQIIME(1.9.1) にて解析を行った。

2.3 結果

(1) 種菌叢の細菌組成

沖縄県内から新規に見いだされた水素生産菌叢 IN23、IN24、IN19 について、保存・維持されている種菌叢を科レベルでメタゲノム解析した。図 19 のように、いずれの新規菌叢でも、Clostridiaceae 科および Peptostreptococcaceae 科で主要な菌組成が占められていた。



図 19 . 新規水素生産菌叢のメタゲノム解析結果

(2) Clostridium 属 HN001 発酵槽内の細菌組成遷移

高速水素発酵バクテリア Clostridium 属 HN001 発酵槽内の pH と水素生産量の変化を追跡したところ、図 20 のグラフのような変化を示した。その中でも◇で示した時点の発酵液を抜き取ってサンプルとした。

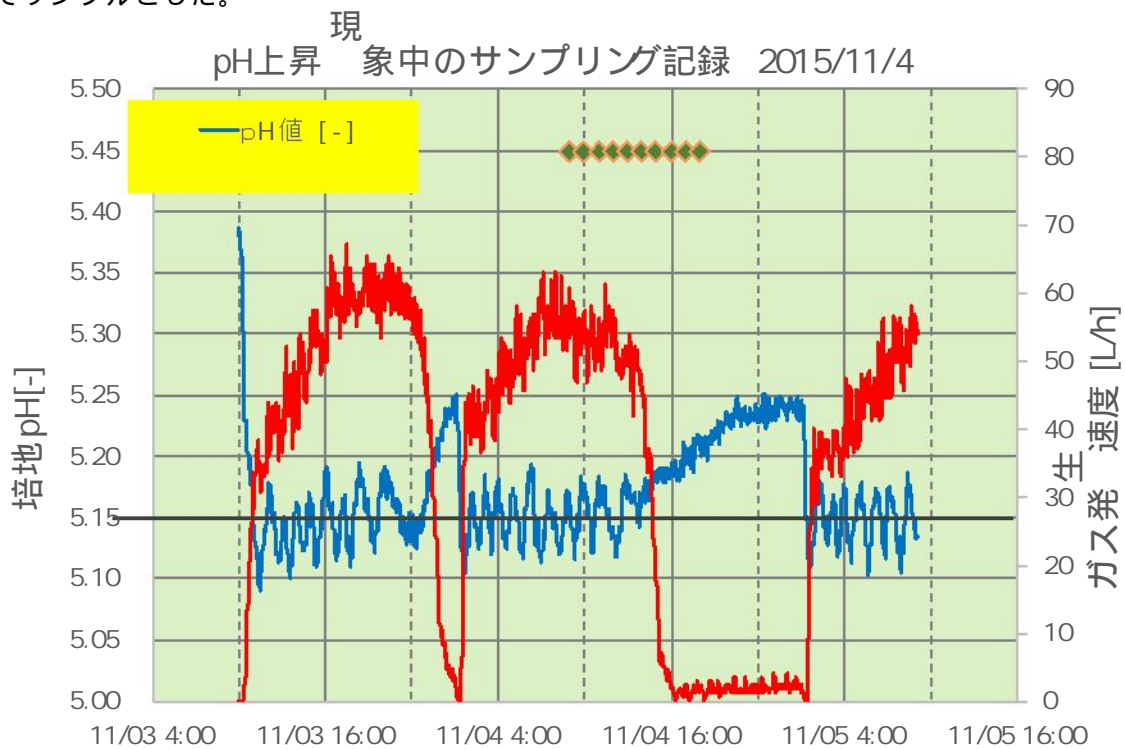


図 20 . Clostridium 属 HN001 発酵槽内の pH と水素生産量の変化

HN001株プラント菌叢経時変化

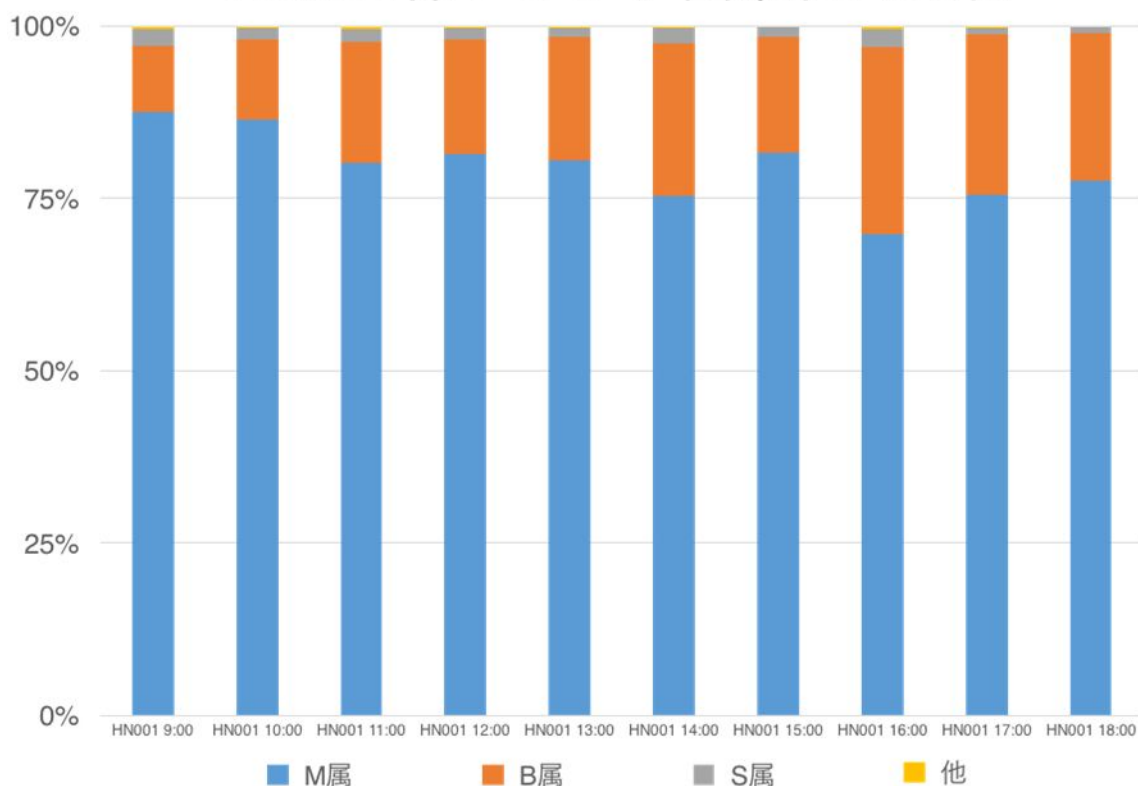


図 21 . HN001 株発酵槽内菌叢

図 21 に示すとおり、今回の菌叢解析の結果では、HN001 株発酵槽内における微生物菌叢の大部分は M 属で占められていた。M 属は嫌気発酵細菌であり、水素生産はこの細菌が行っていると考えられる。また、それ以外では B 属で占められている。これは原料である廃糖蜜から混入したものと考えられる。また、発酵槽内で pH が急激に上昇し水素生産量が極端に減少した付近のデータと菌叢解析の結果を比較してみると、水素生産量が減少した時の菌叢では B 属の割合が上昇し、M 属の割合が減少している。

(3) 新規菌叢 IN19 発酵槽内の細菌組成遷移

HN001 株と同様に、新規菌叢 IN19 発酵槽内の pH と水素生産量の変化を追跡したところ、図 22 のグラフのような変化を示した。その中でも◇で示した時点の発酵液を抜き取ってサンプルとした。

新規菌叢IN19のpH自己調整

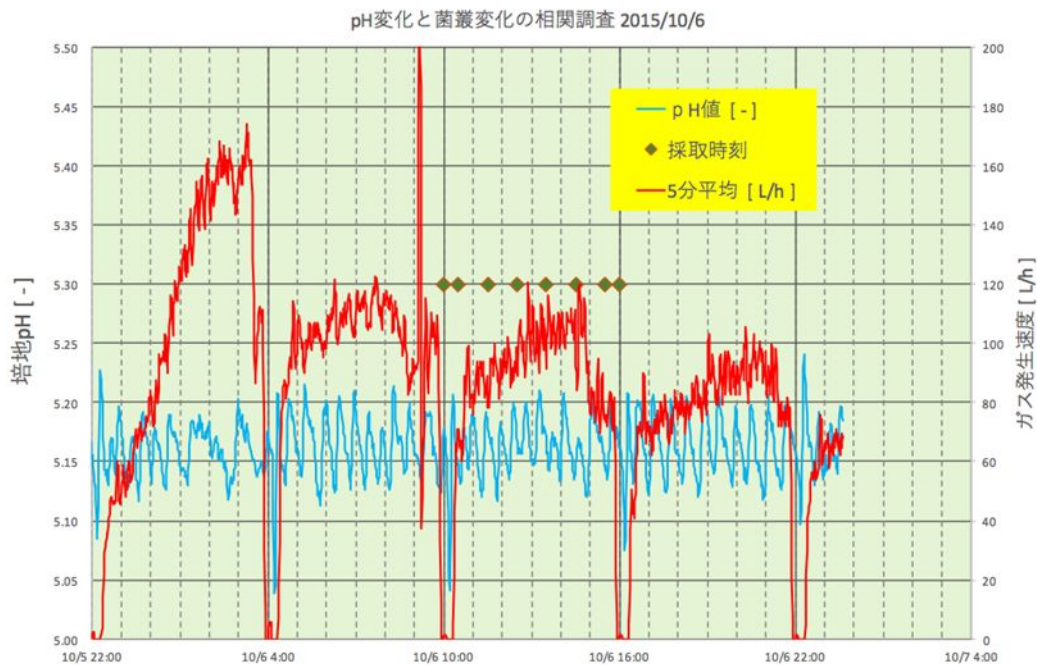


図 22. 新規水素発酵菌叢 IN19 発酵槽内の pH と水素生産量の変化

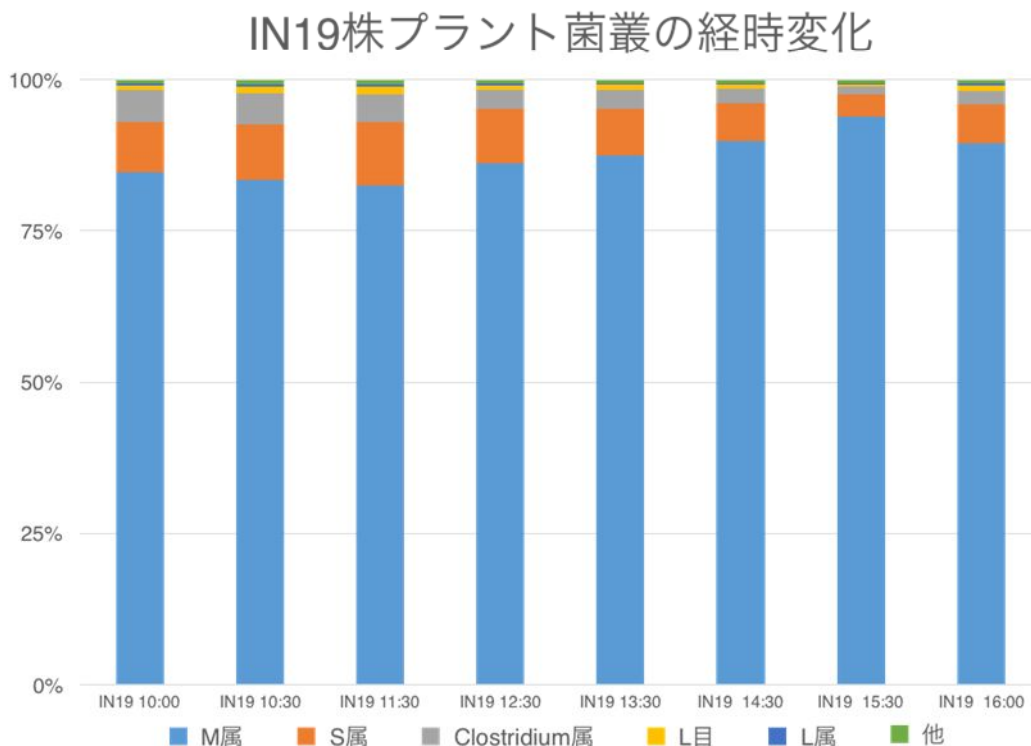


図 23. 新規水素発酵菌叢 IN19 発酵槽内の菌叢経時変化

図 23 に示すとおり、今回の菌叢解析の結果では、IN19 発酵槽内における微生物菌叢の大部分は M 属で占められていた。これは、図 21 で示した HN001 株発酵槽の結果と類似していた。し

かし、B 属が検出されず、それ以外では S 属および Clostridium 属で占められている点が異なっていた。順調に発酵液の pH が自己調節されながら水素生産できているときの菌叢は、M 属が 85% 以上であり、S 属が 8 から 9%、および Clostridium 属が 3% を占めていた。ところが、水素生産量が減少した時の菌叢では M 属の割合が 94% まで上昇し、S 属および Clostridium 属を合わせても 5% 未満まで割合が減少していた。

2.4 考察

高速水素生産菌 Clostridium 属 HN001 株を種菌として、糸満に建設されたプラントを水素発酵槽として用い、水素発酵を行った。その発酵中の菌叢遷移を次世代シーケンスによるメタゲノム解析で追跡したところ、75% から 86% の M 属と 9% から 22% の B 属で占められていることが明らかになった。今回解析した 2015 年の菌叢は、単一な HN001 株を種菌として使用しているにも関わらず、M 属と B 属で占められている。これら M 属と B 属は、原料である廃糖蜜から混入した微生物ではないかと考えられる。同じプラントで運転された 2014 年の菌叢（データは示していない）は、E 属と Clostridium 属で占められており、種菌として投入した Clostridium 属 HN001 株が発酵槽内で維持されていたと考えられる。2014 年と 2015 年で菌叢の状態が大きく変わってしまっていたが、この 2 つの年度の菌叢は水素生産量に関しては大きな差はなかった。そこで本プラントで廃糖蜜を原料とし、Clostridium 属 HN001 株を種菌として投入する場合、安定した水素生産を行うには、Clostridium 属と E 属が共存する 2014 年度型菌叢を再現するか、もしくは M 属が 85% 以上を占め、B 属が約 1 割存在するような菌叢を維持する必要があると考えられる。

新規水素生産菌叢 IN19 を種菌槽として用いた場合、順調に発酵液の pH が自己調節されながら水素生産するには、M 属が 85% 以上であり、S 属が 8 から 9%、および Clostridium 属が 3% を占める菌叢を維持する必要がある。

このような理想的な pH 自己調節型水素発酵菌叢の菌組成を、水素生産中に発酵槽内で維持するには、水素産生速度のモニタリングおよびセンサーによる発酵液 pH のモニタリングと、これらのデータから原料廃糖蜜を自動添加するタイミングを判断するためのソフトウェア開発が有効ではないかと考えられる。

2.5. 結論

本研究において pH を自己調節する水素発酵槽内の菌叢を明らかにすることができた。発酵液 pH の自己調節には発酵菌叢中の主要な細菌が互いに代謝産物を取り込み中和し合うことが必要である。そこで本研究の成果である理想的な pH 自己調節型水素発酵菌叢の菌組成を維持できるようなモニタリングと原料投入の自動化システム開発が必要である。

2.6. 参考文献

- 1) バイオ水素株式会社、沖縄県産業振興公社 平成 25 年度成果報告書、2014.3
- 2) 谷生重晴，第 33 回水素エネルギー協会大会予稿集(2013)
- 3) 谷生重晴，第 140 回水素エネルギー協会定例研究会予稿集(2013)
- 4) 谷生重晴ら、第 34 回水素エネルギー協会大会予稿集(2014)
- 5) 谷生重晴、西山大樹、特許第 5403612 号 (P5403612)、米国特許登録番号、 US8241882
- 6) 谷生重晴、“海藻バイオマスを使用した水素生産とCO2 排出量削減評価”、CMC 出版
バイオ水素とキャリアー開発の現状、植田充美監修 (2015)

3. バイオガスの直接燃料電池送入による発電

水素発酵の発生バイオガスは H₂ と CO₂ の含有比率がほぼ 1 : 1 で CO₂ 濃度が 50% と高濃度であるが、水素で発電した電力単価が非常に安価なので、CO₂ の分離に掛かるコストをなくし H₂ の使用率を高くするために、バイオガスを直接燃料電池に送入して発電することを試みた。CO は電極の被毒に強く関与するが CO₂ は毒性が少ないとの情報を得ていたので、バイオガス直接送入で点灯試験をした後、あまり電極の養生に気を払わず 2 か月ほど放置し、再度発電試験をしたところ、負荷による出力電圧の低下が甚だしく、点灯しなかった。

水素電極上の結露に CO₂ が溶解し、放置していた間に電極が被毒し劣化したと考えられるが、今後機会があれば原因を調べたい。

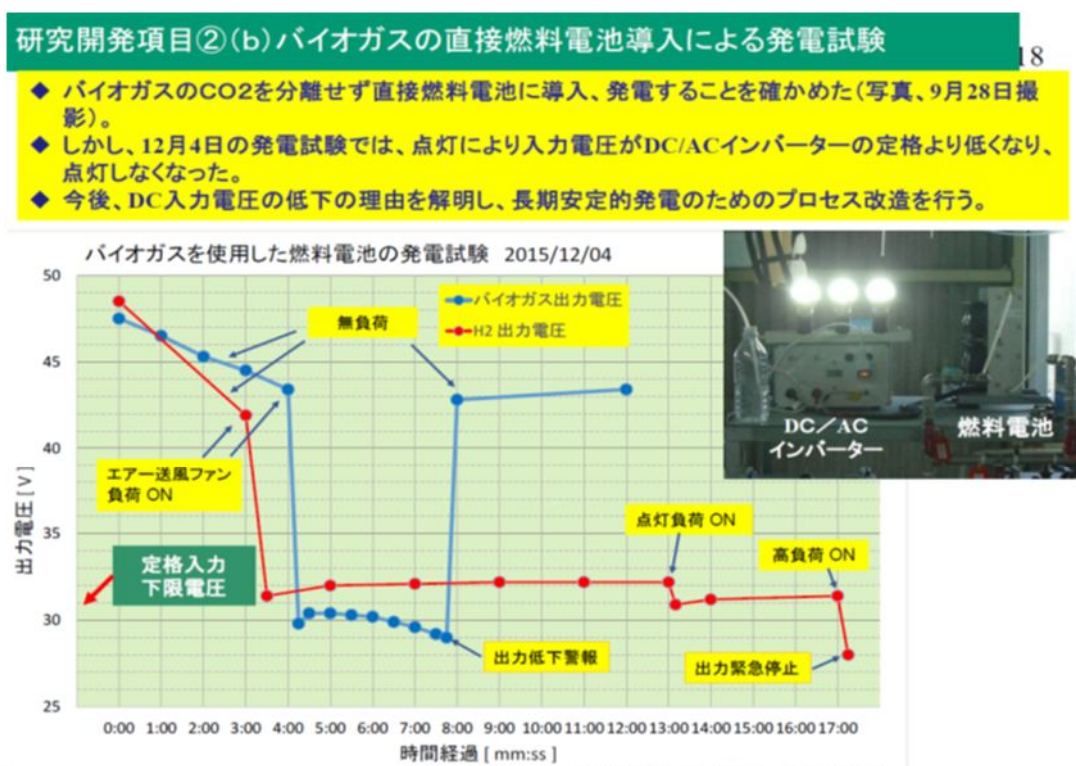


図 24. 燃料電池の出力試験の結果

4. ビジネスプランの作成

4.1. 損益の試算

糖蜜を原料にした水素生産が、分蜜糖製糖会社にとって採用に足る魅力のある提案になるか、不備もあるがいくつかの設定および仮定の下に利益を試算した。

(1) 糖蜜から発酵で水素生産するためのコスト計算に使用した諸データと仮定値

利益計算にあたって沖縄県農林水産部発表の製糖工業に関するデータを使用した。記載されている製糖会社の内、大東糖業株式会社、沖縄製糖株式会社、石垣島製糖株式会社の 3 社について、各社の糖蜜生産量全量を水素生産に使用するとして試算した。大東糖業社については、1日の処理量は同じで、表 2 の青色セルに示す発酵液糖濃度と平均滞留時間 (HRT) を変数として

損益への影響を調べた。表左端の列に振った通し番号は、項目ラベルで丸囲み数字で示した計算の、参照元項目番号になっている。

損益は、生産した水素で発電し、固定買い取り価格で売電したとして計算している。

表 2 . 試算に使用した諸データおよび仮定データ

保守費を建設費の3%として計上。		糖蜜に関するデータは沖縄県農林水産部資料の糖蜜生産量による					
2014/15 年期糖蜜の場合		大東糖業A	大東糖業B	大東糖業C	沖縄製糖	石垣島製糖	
1	糖蜜生産量	1,763	1,763	1,763	4,270	2,702	ton/yr
2	操業日数	300	300	300	300	300	day
3	糖蜜1日処理量 /	6	6	6	14	9	ton/d
4	含糖率(仮定)	40	40	40	40	40	%
5	発酵液糖濃度(仮定)	2	2	3	3	3	%
6	発酵液体積 x /	118	118	78	190	120	m3/d
7	平均滞留時間 HRT	4	6	12	4	4	hr
8	発酵槽体積 /	20	30	40	32	21	m3
9	水素収率(グルコース)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	mol/mol
10	燃料電池出力(LHV50%)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	kWh/m3-H2
11	自家消費動力(仮定)	20	20	20	20	20	kWh/m3-fermenter
12	売電価格(FIT)	39	39	39	39	39	¥/kWh
13	水素価格 x	59	59	59	59	59	¥/m3-H2

(2) 糖蜜から生産した水素による電力が固定価格で買入れられた時の利益試算

表 3 は売電と CO2 クレジットによる収入試算である。クレジットは 1,500 円/トンで計算した。糖濃度を濃くすると発酵槽を小型化できるが、固定化などで菌体濃度を高くする必要がある。HRT が長くなると、攪拌動力など自家消費電力が多くなり、売電収入が少なくなって収益を圧迫する。

表 3 . 固定買い取り価格 FIT で売電した時の収入試算

		大東糖業A	大東糖業B	大東糖業C	沖縄製糖	石垣島製糖	
14	水素生産量 x x	731	731	731	1,771	1,121	m3/ d
15	発電量 x	1,097	1,097	1,097	2,657	1,681	kWh/ d
16	必要な燃料電池出力	46	46	46	111	70	kW
17	消費動力 x	400	600	800	640	420	kWh/d
18	売電可能量 (-)x	209,093	149,093	89,093	605,067	378,373	kWh/yr
19	売電収入 x	8,155	5,815	3,475	23,598	14,757	k¥/yr
20	CO2削減量 ②x⑮x⑭	282	282	282	684	433	ton-CO2/yr
21	クレジット収入 ⑳x㉕	424	424	424	1,026	649	k¥/yr
22	総収入 ⑲+㉑	8,578	6,238	3,898	24,623	15,406	k¥/yr

(3) プラント償却費・保守費など支出の試算と水素生産による利益の増加可能性試算

プラントの償却は 10 年均等償却都市、保守費は毎年建設費の 3 % 必要と仮定した。発酵槽の規模が大きくても 40m³ (直径 3.5m、槽高約 5m) 程度の比較的小さい発酵槽で、日々の労力は僅かだから、作業員は他の仕事との掛け持ちが可能だから、人件費は 300 万円と見積もった。糖蜜は自社で生産したものを使用するので、購入費は計上しなかった。このように仮定すると、総支出は、27 行のように試算される。

総収入 (22 行) から総支出を差し引くと、糖蜜生産量の少ない大東糖業社では利益を生むことができないが、生産量の多い沖縄製糖社、石垣島製糖社では建設費の償却費を負担しても利益

が生じる。しかし、建設費を補助金などで賄うことができ償却費が要らないなら、大東糖業社でも 29 行のように条件によっては利益を生むことができる。

30 行は沖縄県資料に基づく各社の糖蜜の販売価格で、各社が糖蜜を水素に変換することなく直接販売して得る利益を 31 行に示した。水素生産による利益と糖蜜販売による利益の比較を 33 行に示したが、償却費を考慮しないなら、大東糖業社の利益は 4.5 倍を期待でき、他社も 2.6 倍～3 倍の増加を期待できる。

表 4 . 総支出試算と利益増加率

		大東糖業A	大東糖業B	大東糖業C	沖縄製糖	石垣島製糖	
23	建設費償却費(10年均等)	5,305	6,766	8,041	7,033	5,463	k\yr
24	保守費(建設費の3%)	1,592	2,030	2,412	2,110	1,639	k\yr
25	プラント人件費	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	k\yr
26	糖蜜購入費	0	0	0	0	0	k\yr
27	総支出	9,897	11,796	13,453	12,143	10,101	k\yr
28	利益(償却費を含む) ⑳-㉓	-1,742	-5,981	-9,979	11,454	4,655	k\yr
29	利益(償却費を含まない) ㉓-㉓+㉔	3,987	1,208	(1,514)	19,513	10,767	k\yr
30	糖蜜販売価格	500	500	500	1,750	1,300	\ton
31	糖蜜販売益 ㉔×㉑	882	882	882	7,473	3,513	k\yr
32	水素販売による利益増加 ㉓-㉑	3,105	327	(2,396)	12,041	7,254	k\yr
33	利益増加率 ㉔/㉑	352	37	(272)	161	207	%
34	沖縄電力CO2発生係数	0.858	kg-CO2/kWh	2013年度	2014-15 年期糖蜜生産量と水素生産量 改.xlsx		
35	炭素クレジット	1,500	\ton なら	CO2かCか?			

(4) 10m³発酵装置を基準とする建設費と減価償却費の推定値

上記試算では、10m³のプラント建設費を3,500万円と仮定し、スケールアップによる建設費増加は、10m³を基準として、プラント規模の増加の0.6乗に比例するとした。水素発酵では硫化水素の発生がPPBのオーダーで非常にわずかであるから、建設費の脱硫装置は不要になると思われるが、とりあえず計上している。

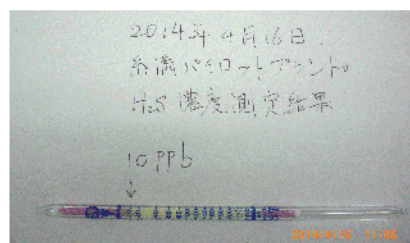


写真1. ガス検知管によるパイロットプラントのH₂S測定結果

表5. プラント建設費の仮定

建設費と減価償却			
発酵槽規模	10	100	m ³
発酵装置(10m ³)	30,000	119,432	k\
脱硫、租精製装置	1,000	3,981	k\
燃料電池(100kW)	4,000	15,924	k\
建設費*	35,000	139,338	k\
稼働日数	300	300	day
償却費(10年)	3,500	13,934	k\yr

*建設費の増加は基準建設費(10t/d)の0.6乗に比例するとした。

(5) 売電価格に依存する損益の評価と1m³の水素生産に掛かるコスト試算

電力の固定買い取り価格は政策によって変動するので、買い取り価格がどれくらい安くなるまでプラント建設が糖蜜販売より得策か、表6に試算結果を示した。プラント償却費を負担しなくて良い場合には、25円/kWh程度の買い取り価格でもプラント建設が得策と考えられるが、ここまでの試算では使用薬品のコストを組み込んでいないので、今後の技術開発に依るところが大きい。因みに、水素1m³の製造コストを、維持コストと原料コストに分けて試算した結果も40~42行に示した。

表6. 糖蜜売却と比した売電価格の損益分岐点(但しプラント償却費含まず)と水素製造コスト

売電価格 [V/kWh]	大東糖業A	大東糖業B	大東糖業C	沖縄製糖	石垣島製糖		
36	14	-1,624	-3,207	8,017	3,578	k\yr	
37	1,059	-879	-2,761	11,043	5,470	k\yr	
38	3,987	1,208	-1,514	19,513	10,767	k\yr	
39	糖蜜販売益 (30)×(1)	882	882	882	7,473	3,513	k\yr
40	水素機材コスト (24)+(25)+(7)	42	55	67	24	28	Vm ³ -H ₂
41	原料糖蜜コスト (30)/(14)/(3)	4	4	4	14	10	Vm ³ -H ₂
42	コスト(原料費含む)	46	59	71	38	39	Vm ³ -H ₂

4.2. 水素の需要について

- (1) 水素は、アンモニアの合成、石油の改質、マーガリンなど食品添加、冷却媒体など原材料として利用される。
- (2) 昨今は、CO₂ を排出しないクリーンなエネルギーとして燃料電池自動車の燃料に使用される。2020 年東京オリンピックまでに 4 万台程度、2030 年頃には 80 万台の普及を目指して水素ステーション建設が進んでいる。
- (3) トヨタ、ホンダの燃料電池車 FCV は出力 100kW の燃料電池を搭載しており、現在でも車の価格が 500 万円であるから燃料電池も 500 万円程度で入手可能で、将来 FCV の普及が進めば、さらに安価な発電機として利用できる。
- (4) 日本の一般家庭の電力消費量は 10kWh/d 程度である。したがって、水素があれば、1 台の燃料電池で 200 軒を超える家庭に電力を供給できる。発展途上国なら 500 軒以上の家庭に供給できるであろう。
- (5) 廃棄物を原料にした水素製造では、原料が少ないので大量生産ができず、発電所で生産した電力があまりにも安価であるから、採算をとるのが難しい。資源を無駄にしないという観点からのみ国内では価値を持つといえる。
- (6) 日本のエネルギー源として水素を製造するためには、大型海藻バイオマスの海洋での大量栽培で原料を確保する必要がある。
- (7) 一方、東南アジア諸国では、パームオイル工場廃液が 2 億トン以上排出されており、廃液の BOD 低減を兼ねた簡便な電力供給設備として発酵水素生産が利用できる。
- (8) 開発途上国では、多量のバイオマス廃棄物を排出しながらも電力供給を受けていない広大な地域があり、そのような地域で発酵水素生産すれば、地産地消の電力を供給できる。
- (9) そのような地域での水素生産プラントは、JAICA などによる経済協力で建設されるだろう。

4.3. 実用化・事業化へ向けたプラン

- (1) 分蜜糖工場の協力を得て実証プラントを建設し、薬品使用量の減量化とともに前出の収益計算の確度を高める。
- (2) 損益の計算が可能なデータを提供し、エネルギー利用、廃液の予備処理などクライアントに運用価値の評価を委ねる。
- (3) 糖蜜および東南アジアのバイオマス廃液は、「地産地消のエネルギー利用」をキャッチフレーズにプラント建設ビジネスを図る。
- (4) 国内では、メタン発酵設備を建設できるほど用地に余裕のない企業の「廃液処理に寄与」することを強調したプラント建設ビジネスを図る。
- (5) これらのプラントで使用する菌および菌叢の販売、使用にライセンス契約を結び安定収入源とする。
- (6) プラントの定期保守・点検などの契約を結び、安定収入源とする。

まとめ

- ・ラボスケールでは新規菌叢で 60mmol/L・h 以上の水素発生速度は達成。パイロットスケールでも、1 日という短時間なら速度目標を達成した。2.3mol/mol 以上の目標水素収率に対して現状はラボスケールで約 2.1mol/mol であった。
- ・新規菌叢の同定はおおむね完了したが、メタゲノム解析で使用する遺伝子の長さが短いので、現在の同定結果は暫定的である。培養試験を継続し、菌を単離して長鎖の遺伝子による同定を行う必要がある。その結果で権利化申請する。
- ・廃糖蜜のほかにラボスケールで味噌原料の煮汁廃液から水素の生産を確認できた。ガスの組成はラボスケールでは H₂ が 52% だった。
- ・活発な水素発生には栄養源の供給が不可欠であることが味噌原料煮汁の実験で明確になった。魚粉が安価で良い栄養源になるが、ポンプの耐久性のために固形分の濾過などの処理装置が必要である。
- ・H₂,CO₂ 混合ガスの燃料電池出力への影響を計測したが、コンバーターの入力仕様が範囲外で、長時間のデータの取得が現時点では出来なかった。
- ・希釈水の脱気に発生バイオガスを通じると、バイオガスの組成が CO₂ リッチになるので、低コスト脱気法の検討が必要であることが分かった。
- ・周辺プロセス及び菌の担体固定などの応用技術のデータ情報を解析中であり、発酵水素製造システムの基本設計に関する特許は出願を検討中である。

謝辞

本技術開発で使用したパイロットプラントは、沖縄県産業振興公社の補助で株式会社バイオ水素技術研究所が沖縄県糸満市西崎町に建設した 200L 容水素発酵プラントである。約 7 か月の使用について、快く許可を頂いた産業振興公社と株式会社バイオ水素技術研究所に謝意を表する。

参考文献

- 1) バイオ水素株式会社、沖縄県産業振興公社 平成 25 年度成果報告書、2014.3
- 2) 谷生重晴ら、第 32 回水素エネルギー協会大会予稿集(2012)
- 3) 谷生重晴、第 33 回水素エネルギー協会大会予稿集(2013)
- 4) 谷生重晴、第 140 回水素エネルギー協会定例研究会予稿集(2013)
- 5) 谷生重晴ら、第 34 回水素エネルギー協会大会予稿集(2014)
- 6) 谷生重晴、"海藻バイオマスを使用した水素生産と CO₂ 排出量削減評価"、CMC 出版 バイオ水素とキャリアー開発の現状、植田充美監修(2015)

5. 研究発表・講演、文献、特許等の状況（共同研究、再委託研究も含む。）

(1) 研究発表・講演

1) 沖縄糖蜜の発酵水素生産パイロットプラント運転報告Ⅲ、佐久本太一、田邊俊朗、谷生重晴、第 35 回水素エネルギー協会大会（HESS 大会）ポスター発表、東京（2015 年 12 月 3 日）

2) 沖縄糖蜜を用いた発酵水素生産とその菌叢解析、佐久本太一、田邊俊朗、谷生重晴、日本農芸化学会 2016 年度大会（札幌）ポスター発表、札幌（2016 年 3 月 29 日）

(2) 文献

なし

(3) 特許等

申請検討中

(4) その他の公表（プレス発表等）

無し

契約管理番号	1 5 1 0 0 8 9 2 - 0
	1 5 1 0 0 8 9 3 - 0