

光合成細菌による糖廃液からの水素生産

日大生産工(院) ○市石 卓

日大・理工 浅田 泰男 日大生産工 神野 英毅

【緒言】

21世紀のエネルギー源として実用化が目前に迫っているのが水素エネルギーである。水素は、CO₂フリー、SO_xフリー、純酸素下で燃焼させれば NO_xフリーが可能なクリーンエネルギーである¹⁾。また化石燃料による水素生産よりも微生物による水素生産は環境調和性に優れており、有機廃棄物の処理を兼ねることができるという利点がある。これまでに、Miyakeらは、発酵菌として *Clostridium butyricum* と光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV(以下RV)との混合培養によってグルコースを効率良く水素に変換することを報告している²⁾。RVは乳酸、酢酸を好んで資化する。発酵菌として偏性嫌気性菌を使用すると、培養が難しく、RVが資化することができない有機酸類も生成する場合もあり、RVとの混合培養に用いる発酵菌について、さらに検討の余地がある。

そこで我々は、発酵菌が水素を発生しなくともRVのみで水素生産できると考え、本研究では発酵菌として偏性嫌気性菌よりも培養が容易であり乳酸発酵を行うカビの一種である *Rhizopus oryzae* NBRC5384(以下 *R.oryzae*)とRVとの混合培養を行い、水素生産の培養条件の検討を行った。

【目的】

家庭や工場から排出される有機廃棄物の基本物質であるグルコースを原料とし、高収率で水素を回収し、得られた水素を燃料電池として使用できるような環境調和型水素生産プロセスの構築を目的とする。

【実験方法】

①前培養、集菌、懸濁

RVはaSy培地(Ammonium sulfate, Sodium succinate, Yeast extract)でハロゲンランプ(10000lux)照射下嫌気培養、*R.oryzae*はPDB(Potato Dextrose Broth)またはPS培地(Potato-sucrose)で好気培養した。前培養した菌体は遠心分離(4℃, 15min, 9000r.p.m.)し、Basal培地(RV用無機塩培地)²⁾のリン酸塩濃度を10倍に強化したもので懸濁した。

②寒天固定化

懸濁した二種の菌体をルー瓶に寒天で Fig.1 のように固定化した。(寒天 30ml 2%、空隙 180ml)

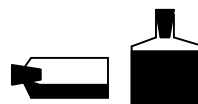


Fig.1 Co-immobilization of the microorganisms in Roux bottle.

③前培養1および2

*R.oryzae*の活性化をするために上記ルー瓶空隙にPDB培地またはPS培地を加えて2日間培養し、次に光合成細菌のニトロゲナーゼ系を誘導するためにgL(glutamate1.75mM, Lactate75mM)培地で24時間培養した。

④水素発生実験

gG培地(glucose25mM, Glutamate10mM)を用いて水素発生させ、H₂は水上置換法により回収した。

廃糖蜜はそのままでは粘性や着色があるため、水素発生培地として使用できないため蒸留水で適宜希釈した。

次いで、フェノール硫酸法³⁾により水素発生培地中の糖濃度がグルコース換算で 4.5g/l となるように調製した

⑤ 分析

回収した気体は GC で気体の純度分析を、培養液中の有機酸などは HPLC によりそれぞれ分析を行った。

【結果および考察】

R.oryzae と *Rh.sphaeroides* RV の混合培養による廃糖蜜からの水素生産

これまでに行ってきた glucose からの混合培養による水素生産では *R.oryzae* と RV の菌体濃度 O.D 比が 0.3:1.5、前培養 1 の培養時間が 2 日間、前培養 1 の培地の濃度が 1 倍のときが最適条件であり対糖収率 8 モルが得られた。その結果を Fig.2 および Fig.3 に示す。

廃糖蜜とは、砂糖作物原料の絞り汁を濃縮し砂糖を晶析分離した後の母液のことをいい HPLC の分析によると廃糖蜜の主な糖分はスクロースであることが確認された。初めに、*R.oryzae* を PDB 培地で増殖させたものを RV と混合培養し廃糖蜜からの水素生産を行ったところ、水素は発生しなかった。この原因として、*R.oryzae* はグルコースに比べてスクロースは良く代謝できなかったため乳酸発酵が行われなかったと考えられる。このため、*R.oryzae* を PDB 培地ではなく Potato-sucrose 培地で培養したものを混合培養に使用した。その結果を Fig.4 に示す。

ここでは窒素源としてグルタミン酸を添加したものの添加しない条件で水素生産を行ったが、グルタミン酸を添加したことで水素発生量はグルコースからの水素発生量に比べ低下してしまった。これらの現象はよく分かっていないが本来グルタミン酸自身はニトロゲナーゼを阻害しないが廃糖蜜由来のグルタミン酸やその他の窒素により阻害されたものと考えられる。

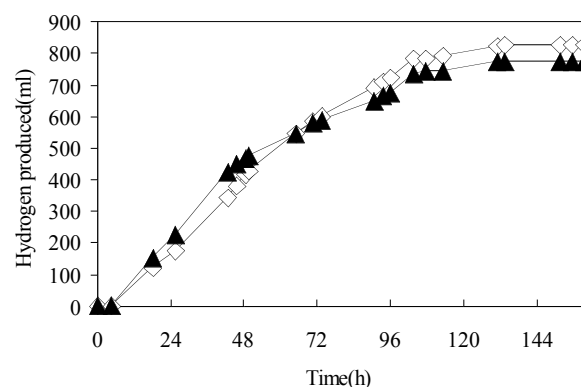


Fig.2 Time course of hydrogen produced in gG medium

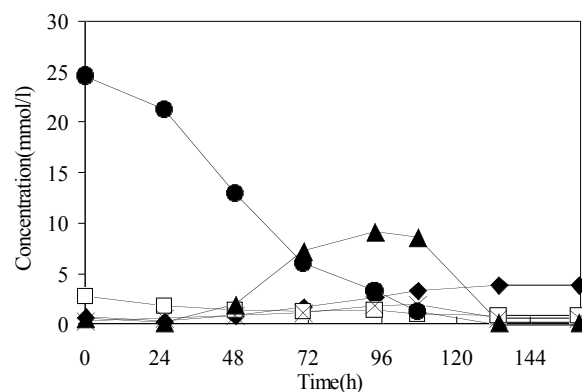


Fig.3 Time course of metabolized organic acid in gG medium

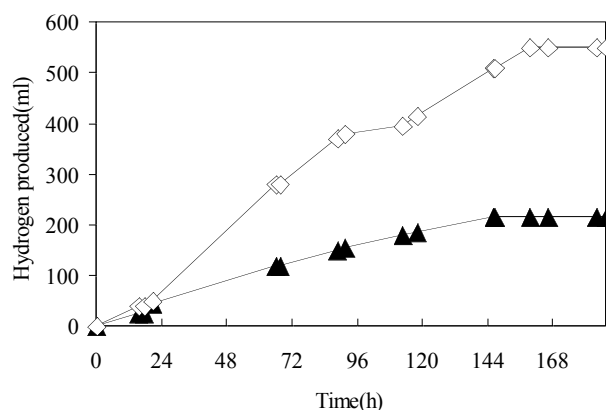


Fig.4 Time course of hydrogen produced in molasses medium

【参考文献】

- 1) バイオマスハンドブック (社)日本エネルギー学会 編(2002) p.190
- 2) Miyake, J. et al.: J. Ferment. Technol., 62, 531-53 (1984)
- 3) Hodge, J. E. and Hofreiter, B. T. Method in Carbohydrate chemistry 1.338 (1962)