

水素生産を目的とした環境微生物からの
有用菌の分離・同定及びその生物活性に関する研究

日大生産工(院)

○小林 淳平

日大生産工

吉宗 一晃

小森谷 友絵

神野 英毅

1. 緒言

水素は燃焼による炭酸ガスの発生が無い、クリーンエネルギーとして注目されているだけでなく、ここ数十年の急速な燃料電池の発展と共にその重要性も増してきている。しかし、水素は化石燃料等とは異なり、一次エネルギーではないため、何らかの方法で生産する必要がある。現在の工業的な水素生産法では原料に化石燃料が用いられているが、このような生産法は経済面での恩恵が大きい反面、天然資源を生産に用いているため、化石燃料の代替物としての観点から考えた場合、大きく矛盾しているといえる。

一方、微生物を用いた生物学的水素生産が近年のエネルギー研究で重要な分野として認識されるようになってきている。このような水素生産は現在の工業的生産法に比べて環境面での利点が多い。しかし、生産に時間がかかり大量生産が難しいという点において改良・改善の余地がある。

微生物を用いた水素生産では *Enterobacter aerogenes* や *Clostridium butyricum* などの嫌気暗条件下で水素生産を行う微生物と光合成細菌の共発酵もしくは二段階発酵が行われてきた。このような発酵では主な1段階目の副生成物として乳酸や酢酸が生成されるため、これらの有機酸を高収率で水素に変換できる光合成細菌を得ることは非常に重要である。

しかし、従来用いられてきた *Rhodobacter sphaeroides* RV 株は乳酸からの高収率な水素生産を行うが、酢酸を基質とした場合の収率は低いため、RV 株と同等以上の乳酸からの水素収率を示し、且つ酢酸からの高収率を示す光合成細菌を得ることを目的とした。

2. 実験方法

使用菌株

以前の研究において乳酸を基質とした水素生産で高い水素生産能を示した5つの株とRVをaSy培地(コハク酸 36 mM, 硫酸アンモニウム 9.5 mM, Yeast extract 1 g/L)を用いて30℃、3日間の前培養を行い、水素生産実験に用いた。

水素生産実験

分離した菌体を3日ごとに順次拡大培養し、遠心分離にかけて集菌した(9000 rpm × 15 min)。その後上清を捨て、Basal mediumで再懸濁させ、分光光度計を用いて波長600 nm時の濁度からODを1.5、全量15 mlに調整した。ルー型培養瓶に懸濁液と、寒天を4%溶解させたBasal medium 15ml¹⁾を加え、固まるまで約10分間静置する。その後、外液として水素生産用培地(25, 50, 75, 100, 125, 150 mMの乳酸および酢酸、グルタミン酸 2mM)を加え、恒温水槽(30℃)に静置し、ハロゲンランプを用いた光照射下(10,000 lux)で生成された水素を水上

Isolation and identification of useful microorganisms for bio-hydrogen production from
environmental microorganisms

Jyumpei KOBAYASHI and Hideki KOHNO

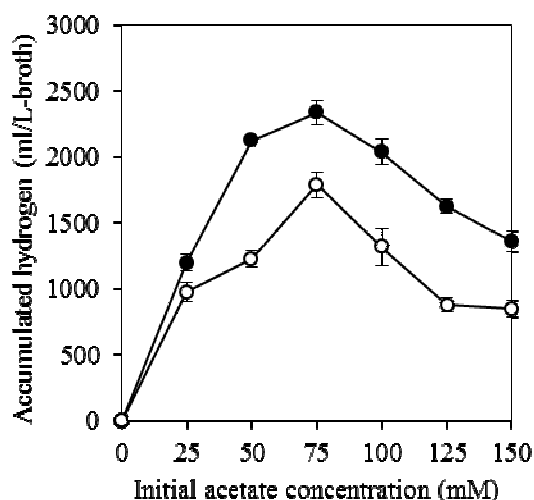
置換法で捕集した。全ての水素生産を同様の条件で3回行い、その平均を値として用いた。

3. 結果

各濃度の酢酸(25, 50, 75, 100, 125, 150 mM)を基質とした120 hの水素生産をFig. 1に示した。この表から、測定した全ての濃度において分離株 *R. sphaeroides* HJ 株はRV 株よりも高い水素生産を示すことが分かった。またFig. 2より、同120 hにおける水素収率(mol-H₂/mol-substrate)においてもHJ 株がRV 株よりも高い値を示した。また同様に乳酸基質の場合の水素生産をFig. 2に示した。この図からHJ 株はRV 株とほぼ同等程度の水素生産能を持っていることが分かった。

4. 結論

本研究において光合成細菌 *R. sphaeroides* RV 株よりも高い水素生産能を有するHJ 株の分離に成功した。今後HJ 株を用いた二段階および供発酵の条件検討を進めるとともに、二株間の相違を探ることにより、光合成細菌の酢酸代謝向上に関する発見が期待される。



1. Hydrogen production of HJ and RV strains in different acetate concentrations at 120 h. The HJ (closed circles) and RV (open circles) strains were cultured at 30°C under illumination of 14.6 W/m².

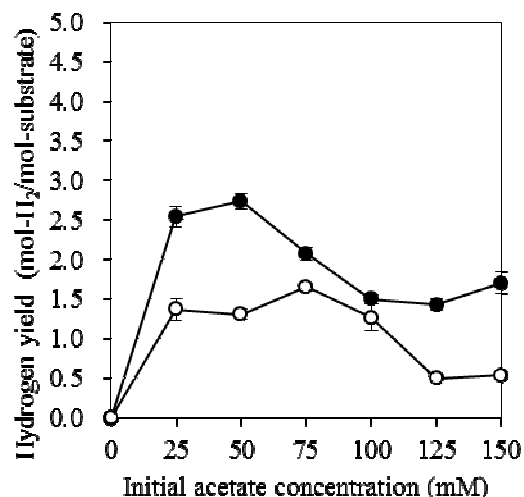


Fig. 2. Hydrogen yields of HJ and RV strains in different acetate concentrations at 120 h. The HJ (closed circles) and RV (open circles) strains were cultured at 30°C under illumination of 14.6 W/m².

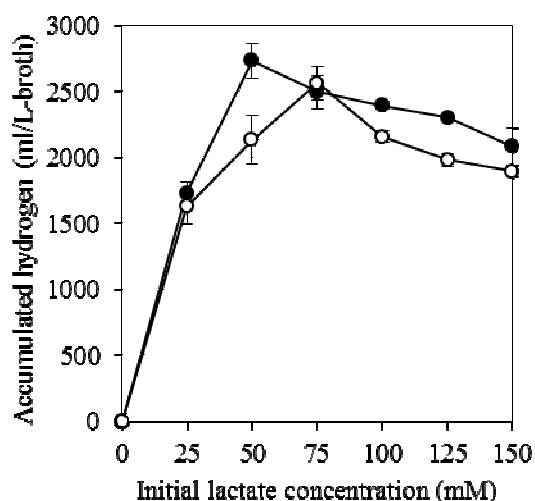


Fig. 3. Hydrogen production of HJ and RV strains in different lactate concentrations at 120 h. The HJ (closed circles) and RV (open circles) strains were cultured at 30°C under illumination of 14.6 W/m².

「参考文献」

- 1) Kobayashi, J. Yoshimune, K. Komoriya, T. and Kohno, H.: Efficient hydrogen production from acetate through isolated *Rhodobacter sphaeroides*, J. Biosci. Bioeng., 112, (2011).