

生命・生物流体の輸送・混合過程に関する研究

山崎 博司 (機械工学科)

1. 序説

生命科学分野における近年の革新的な進展を広く人類に貢献させていくには、生命物質の生産およびそれらの輸送技術の確立とともに、生命活動の有効利用が考えられる。光合成は光エネルギーを用いた化学物質の分解、合成であり、細菌内にそれらの機能を有するものを光合成細菌と称する。光合成細菌の中には有機物を分解し、水素を生産するものがある。水素は酸化反応によって二酸化炭素を排出しないことから、化石燃料の代替として新世代内燃機関、燃料電池など、次期移動体動力源などの主力として注目されている。しかしながら生産コストおよび運用面での困難さから常用燃料として用いられるには至っておらず、現在これらの課題を克服すべく取り組みがなされ、今後はさまざまな場面において水素発生源の必要性が増してくるものと考えられる。一方、人類の生命活動や社会活動ではさまざまな側面で有機物が発生しており、資源循環型社会の確立にはエネルギー問題への対応のみではなく、有機物転換をエネルギー問題に関連させる観点の有効な方法とひとつと考えられる。

本研究は生命工学的見地から水素生産に寄与しようとするものであるとともに、資源循環型エネルギー源の開発に着目したものである。ここでは嫌気性光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を利用して有機物質より水素を生産することにより、上記資源循環に寄与し、その実用化を目的としたものである。現在、培養環境制御のための混合培養実験など<sup>1, 2)</sup>が行われているが、有機物質を多量に含む培養液では、粘性などが大きく変化している可能性が高い。光合成培養環境では、その温度環境制御や光到達量は重要な要素のひとつであるにもかかわらず、熱伝達特性や光透過性などの物理的性質について着目して検討された事例は見当たらない。本年度は、培養槽の温度環境制御に関する基礎データとして、培養攪拌環境における培養液の伝熱特性を測定するとともに、嫌気性光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を含む液体培地を用いた回分培養水素生産実験と、培養液の光透過性について定量的検討を行った。

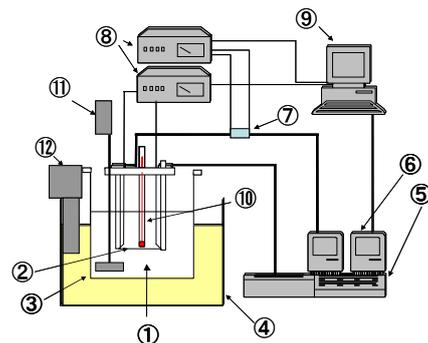
2. 実験装置および方法

2.1 熱伝達率測定

伝熱実験は開放型液槽内に浸漬された水平細線について行った。図 1 に実験装置の概略を示す。実験装置は、培養槽を模した実験液槽、伝熱面、電流供給系、計測系、および温度制御系で構成される。実験液槽は、パイレックスガラス製円筒型容器 (内径 85 mm, 深さ 80 mm) であり、上部は大気に開放して使用した。容器上部にはデジタル

式攪拌機を設置し、翼直径 40 mm の 3 枚攪拌翼を容器底面より約 20 mm の位置に設置した。伝熱面には外径 0.1 mm, 長さ 35 mm の Pt 細線を使用した。電極は銅製であり、先端部を除いて断熱、絶縁されている。伝熱面は定電流回路により直接電気加熱された。伝熱面位置は培養液液面下 30 mm の位置とした。電流供給系は直流安定化電源、パワーサプライコントローラで構成し、パーソナルコンピュータによって GP-IB 制御されている。電源装置にはシャント・ユニットおよびシャントを付加して補償するとともに、それらのリードバック値を計測することによって電流値を求めた。また細線温度は伝熱細線の抵抗変化から決定し、その抵抗値は細線間の電圧・電流値から求めた。計測系はデジタルマルチメータで構成し、電源系とともにパーソナルコンピュータによって GP-IB 制御されている。液槽内温度は恒温水槽を用いて一定に保持した。恒温水槽には、ヒータ、かくはん装置、温度制御装置で構成された恒温装置が設置されており、液槽内温度は光合成細菌の培養環境である 36.1 °C に保持した。実験時の温度変動は ±0.2 K 以内であった。

供試流体には、*Rhodobacter sphaeroides* RV 株の水素生産培養実験に用いられるグルコース水溶液を用いた。グルコース濃度は高濃度条件である 1.0 wt% とした。また寒天培地を用いた固定混合培養実験に使用した培養液 (以後、培養後水溶液) を使用した。培養後水溶液の初期グルコース濃度は 1 wt% であり、90 時間の培養実験後、培地を除去した培養残液を採取した。培養後水溶液は褐色の懸濁液で



- |                         |                       |
|-------------------------|-----------------------|
| ① Test Fluids           | ② Test Wire           |
| ③ Pyrex Glass Container | ④ Water Bath          |
| ⑤ DC Power Supply       | ⑥ Controller          |
| ⑦ Shunt                 | ⑧ Digital Multi-meter |
| ⑨ Personal Computer     | ⑩ Thermometer         |
| ⑪ Digital Stirrer       | ⑫ Temp. Controller    |

Fig.1 Schematics of experimental apparatus.

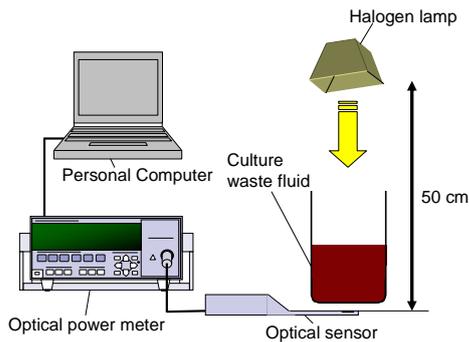


Fig.2 Measurement of radiant energy in culturing medium.

あり、48 時間静置し、沈殿物を除いた上澄み液を実験に供した。

実験は、電流値を変化させて行った。電圧測定は 6 s 間隔で 60 s 間について行い、測定終了後、電流値を変化させて実験を繰り返した。培養環境では高温加熱源が使用されないことを配慮し、 $q=2 \times 10^6 \text{ W/m}^2$  以下の熱流束範囲において行った。伝熱面の雰囲気温度からの温度差は 40 K 以下であった。グルコース水溶液、培養実験後水溶液および純水について、攪拌翼回転数を変化させて伝熱実験を行い、雰囲気温度と伝熱面との温度差  $\Delta T_w$  (K) と熱流束  $q$  ( $\text{W/m}^2$ ) および熱伝達率  $h$  ( $\text{W/m}^2$ ) の関係を明らかにした。

## 2.2 光吸収量測定

実験対象とする培養液について液体中への光エネルギー到達量測定を行った。実験装置の概略を図 2 に示す。実験装置は光源のハロゲンランプ、光センサ、計測装置、およびパーソナルコンピュータから構成される。ハロゲンランプと光センサの距離は 50 cm とした。ハロゲンランプと光センサの間に、フラスコに入れた培養液を静置し、その液深を変化させることで光エネルギーの透過量変化を測定した。測定波長範囲は 390 nm から 1090 nm について 20 nm ごととした。各波長帯について 10 s の測定を 5 回行い、その算術平均値を代表値とした。

## 2.3 培養実験

培養実験装置の概略を図 3 に示す。実験装置は培養槽、恒温水槽、ガス捕集装置、光源、および真空系によって構成される。培養槽は内径 120 mm、容量 1000 ml のセパラブルフラスコを使用した。培養槽温度は光合成細菌の培養最適環境である 36.1 °C に保持するため、恒温水槽温度を 35.3 °C に設定した。実験時の温度変動は  $\pm 0.2$  K 以内であった。容器上部にはデジタル式攪拌機を設置し、翼直径 40 mm の 3 枚攪拌翼を容器底面より約 10 mm の位置に設置し、充填時の均一化に使用した。光合成細菌培養培地および基礎培養培地の組成成分を表 1 に示す。使用菌体である *Rhodobacter*

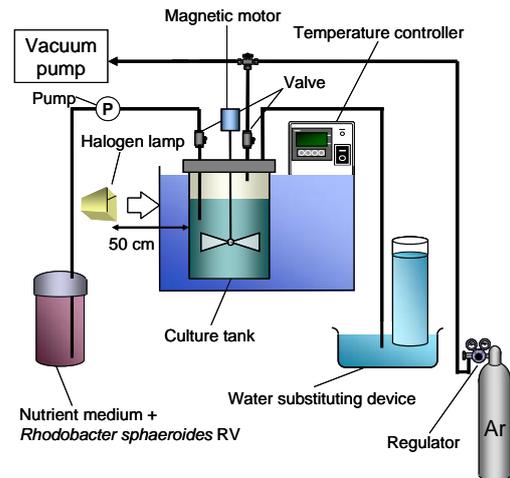


Fig.3 Schematics of experimental apparatus of batch culture experiment.

Table.1 Composition of applied medium and maintenance media.

Composition of basal medium		Composition of inorganic solution	
reagent	wt(g)	reagent	wt(g)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.066	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.18
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.733	Boric acid	0.28
MgSO <sub>4</sub>	0.201	MnSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.227
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.099	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.075
Vitamin solution	10ml	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.024
Inorganic solution	10ml	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.004
distilled water	1000ml	EDTA(2Na)	2.0
		distilled water	1000ml

Composition of Vitamin solution		Composition of GL medium	
reagent	wt(g)	reagent	wt(g)
Biotin	0.005	D,L Lactate	6.76
Thiamin Hydrochloride	5	Glutamate	0.333
p-aminobenzoic acid	0.00015	distilled Basal medium	1000ml
Nicotinic acid	5		
Nicotinamide	0.00015	Composition of aSy medium	
distilled water	1000ml	reagent	wt(g)
		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.25
		Disodium Succinate	9.8
		Yeast extract	1
		MgSO <sub>4</sub>	0.099
		CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.099
		Basal medium	1000ml

*sphaeroides* RV株はニトロゲナーゼ系を有する紅色非硫黄性光合成細菌であり、有機酸類を電子供与体として用いることで水素を発生させる能力を持つ。培養溶液は褐色の懸濁液である。溶液総量は 1000 ml とし、光合成細菌培養培地を 250 ml、基礎培養培地を 750 ml の割合で混合した。培養槽より発生する水素は導管を介し、計測用メスシリンダーに導き水上置換し、捕集量を測定した。光源には 500 W ハロゲンランプを用い、照射距離は 50 cm とした。実験手順として、まず全ての配管および器具を設置して水槽を恒温に保つ。次に完全密閉した培養槽内を真空ポンプにて減圧した後、槽内にアルゴンを注入し充満させて培養槽内を嫌気状態にした。基礎培地と光合成細菌を混合した培養液を送液ポンプで培養槽内に注入し、水素の捕集ライン以外のラインの弁を閉鎖して培養を開始する。培養時間は 120 時間とし、各時刻における水素蓄積量を測定した。

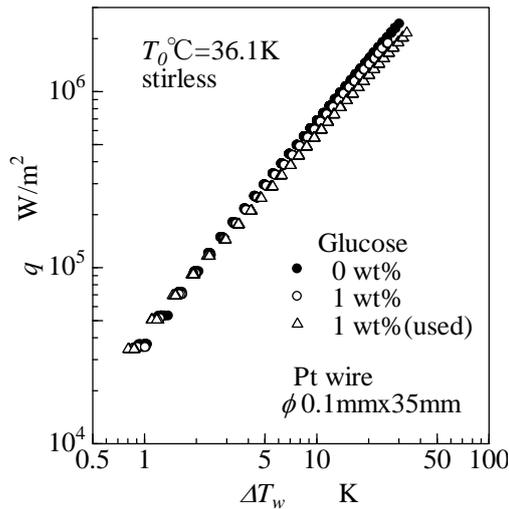


Fig.4 Heat transfer characteristics of glucose solutions and water in culturing conditions.

### 3. 実験結果および考察

図4に、光合成細菌培養環境における伝熱実験結果の一例を示す。横軸は雰囲気温度(36.1 °C)と伝熱面(細線)との温度差 $\Delta T_w$ 、縦軸は熱流束 $q_w$ であり、グルコース水溶液、純水、培養後水溶液について、攪拌しない場合の結果が示されている。図から、低温度差領域においては差異が小さいものの、 $\Delta T_w = 5$  K以上の温度差領域でグルコース水溶液で熱流束の低下が確認できる。また培養後水溶液における熱流束低下は、グルコース水溶液よりも大きいものとなっている。 $\Delta T_w = 20$  Kの場合、グルコース水溶液では熱流束の低下は8%、培養後水溶液では20%であり、高熱流束条件の場合に大きく影響していることがわかる。図5に熱伝達特性に対する攪拌翼回転数の影響を示す。横軸、縦軸は図4と同様であり、グルコース水溶液について、60 rpm、240 rpmとした場合の結果である。図から、60 rpmの弱攪拌によっても、熱流束は格段に上昇していることがわかる。一方で強攪拌240 rpmとした場合、熱流束は向上しているものの、その増加割合は小さくなっている。すなわち熱伝達の促進には弱攪拌は効果的であるものの、攪拌を強くしてもその強度に応じた熱流束の増加は期待できないことがわかる。以上の結果は120 rpm、180 rpmにおいても同様であった。図6は、攪拌翼回転数60 rpmとした場合の水、グルコース水溶液および培養後水溶液の熱伝達率と温度差 $\Delta T_w$ との関係を示したものである。図から60 rpmにおいても水に比してグルコース水溶液の熱伝達率は低くなっていることがわかる。また温度差が大きくなるに従い、熱伝達率は低くなる傾向にあり、これらはグルコース水溶液と水ではほぼ同様な傾向である。これらの結果は図4の場合と同様であることがいえる。一方、培養後水溶液は前2者と比して熱伝達率

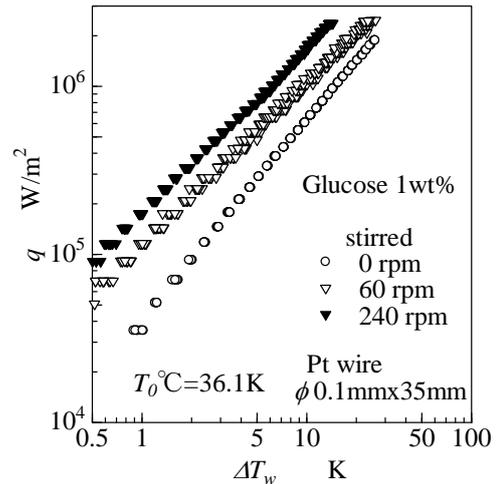


Fig.5 Effect of stirring conditions on heat transfer of glucose solutions.

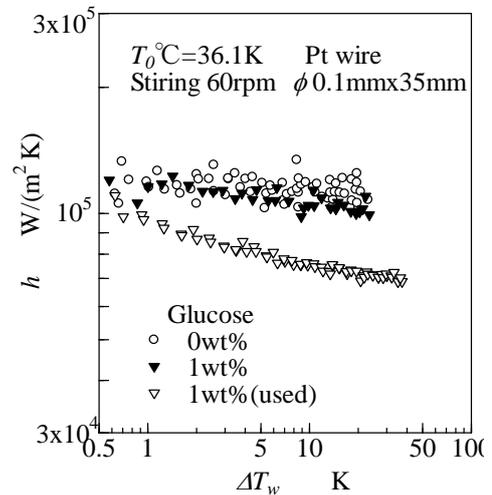


Fig.6 Heat transfer rate of glucose solutions.

が大幅に低下しており、かつ高温温度差領域での低下が顕著である。これら、グルコース水溶液との差異は主として流動特性の変化に起因したものであると考えられ、細菌培養時の生物起源物質によるものと推測できる。懸濁物質の特定および粘性係数測定、およびニュートン性の確認などが今後の課題と考えられる。

図7は各波長帯における光放射エネルギーの測定結果の例である。横軸は波長、縦軸は光エネルギーであり、図には培養実験後に採取した培養残液についての結果が示されている。図から、受光した光エネルギーに対し、全ての波長帯で同様な減衰が見られる。その差分が培養液に吸収された部分であり、吸収された光エネルギーの一部が光合成に寄与する。培養液10 mmの位置において光到達量は約70%に減ぜられることがわかる。また、本実験で使用した培養槽半径が60 mmであることから、槽中心位置への光到達量は5%未

満であり、槽中心部は全く寄与が期待できないことがわかる。図 8 に光エネルギー減衰量に対する培養液厚さの影響を示す。横軸は培養液厚さ $d_m$ 、縦軸は $d_m = 0$  mmにおける光エネルギー $E_0$ で規格化した比エネルギー $(E/E_0)$ であり、図中には比較のため水におけるエネルギーが示されている。図から比エネルギーは片対数グラフ上でほぼ直線的減少することがわかる。一方 $d_m$ が 80 mm以上の領域においては直線上にはなっていない。これは測定分解能に起因したものであり、測定値が微小であるために生じた誤差と考えられる。図中には有意な比エネルギー測定値を直線で近似した近似直線が示されており、本培養液では液厚さに対するエネルギー到達量の予測式として(1)式が得られる。

$$E = E_0 \exp(-A d_m) \quad (1)$$

(1)式においてAは実験定数であり、液体の懸濁度等に依存する。

図 9 に回文培養水素生産実験の結果を示す。図中には、Ar置換した場合について無攪拌、弱攪拌の結果の結果とともに、窒素置換の結果が示されている。無攪拌の場合、嫌気封入静置後、20 時間後から水素発生が開始しており、その後発生量は漸増する。また 72 時間後より徐々に発生量は少なくなり、約 100 時間でほぼ終了していることがわかる。本条件での水素発生総量は 696 mlであった。一方、弱攪拌の場合には水素発生時刻および発生量が格段に向上していることがわかる。無攪拌の場合の観察結果では、水素生産過程においては水素と思われる微気泡が発生し、その上昇に伴う、弱い対流は見られた。しかしながら、それらは培養槽内を均一化に寄与できるほどのかくはん力を有していないことが確認できる。本実験においては、槽中心部の培養液は水素生産に寄与していないことが推測できる。より効率的な培養槽として、攪拌・混合するのみでなく、光源に曝露させることが高効率な水素生産培養槽の必須条件であることが明らかになった。

#### 4. 展望

以上の検討結果から、無攪拌および弱攪拌状態での培養液の熱伝達率に関する基礎データを確定し、弱攪拌時において培養後水溶液の熱伝達率はグルコース水溶液に比べ大きく低下し、その傾向は高温差領域において顕著であることなどの知見を得た。また光合成細菌培養液の懸濁による光エネルギーの減衰を定量的に評価することにより、高効率培養槽設計に必要な実験式を決定するとともに、回分培養水素生産実験時における混合の有効性および培養時間などの基礎的な知見を明らかにした。

これらの知見を踏まえて、今後は、より高効率な混合性能を備えたバイオリアクタなど、ハードウェア設計が可能になる。一方で、発生気体の処理や PHB 生産条件における混合性の影響などについては未検討な点も多く、更なる検討が必要と

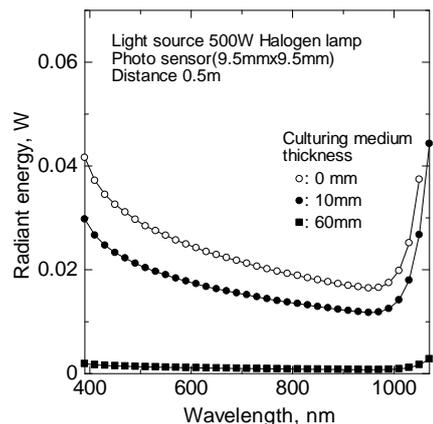


Fig.7 Relationship between wavelength and radiant energy.

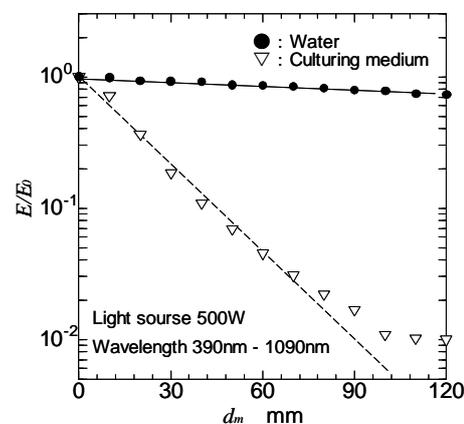


Fig.8 Light energy decrement on culture medium.

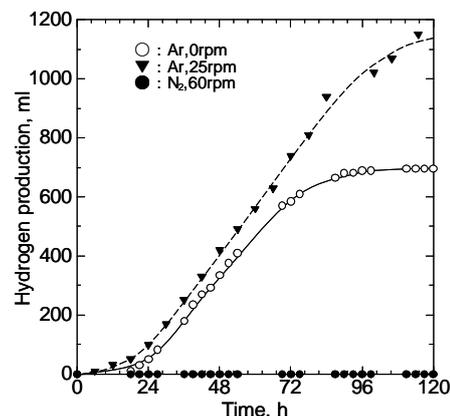


Fig.9 Time histories of hydrogen production.

考えられる。

#### 参考文献

- 1) 徳本大, ほか 5 名, 通性嫌気性菌と光合成細菌の混合培養による水素生産, 分離技術会 分離技術 第 36 巻 第 1 号 (2006) 59-66
- 2) Jeong Ok Kim, ほか 5 名, Immobilization methods for continuous hydrogen gas production biofilm formation versus granulation, Process Biochemistry 40 (2005) 1331-1337