

通性嫌気性菌と光合成細菌の混合培養によるH₂生産

日大生産工（院）○徳本 大

日大・理工 浅田 泰男 日大生産工 神野 英毅

【緒論】

水素は燃焼によって温暖化ガスの原因とされるCO₂を生じないためクリーンであり、1次エネルギーである熱、電気、光などによって再生可能なエネルギーキャリアーである。

¹⁾ 本研究では、食品廃棄物中に含まれる基本物質として挙げられるグルコースを通性嫌気性菌と光合成細菌の混合培養により、効率的にH₂に変換することを目的とする。すでに、Miyakeらにより、偏性嫌気性菌の*Clostridium*と光合成細菌の*Rhodobacter sphaeroides* RVによる混合培養で、7.0 mol H₂ / mol glucose と高い収率を得ることに成功している。²⁾ ここで、我々は通性嫌気性菌である *Enterobacter aerogenes* HU-101 ³⁾ または *Lactobacillus delbrueckii* と光合成細菌の *Rhodobacter sphaeroides* RV・*Rhodobacter sphaeroides* No.7 ⁴⁾ を用いて混合培養を行った。まず、我々は *E.aerogenes* と *Rh.sphaeroides* RV の混合系を検討し、その問題点を解決するため、*E.aerogenes* と *Rh.sphaeroides* RV, *Rh.sphaeroides* No.7 の3種混合系または、*Lb.delbrueckii* と *Rh.sphaeroides* RV の混合系を検討した。我々は効率的な水素生産系開発のため、様々な混合系を検討し、基本的培養条件および固定化などによる水素生産条件の基礎的検討を行った。

【操作】

1) 前培養

E.aerogenes はLB培地で *Lb.delbrueckii* はGYP培地で12時間好気培養し、*Rh.sphaeroides* RVはaSy培地で48～72時間嫌気培養した。培養はすべて30℃、pH 7.0で行った。

2) 集菌・懸濁

集菌は前培養した菌体を遠心分離(9000r.p.m., 4℃, 15分)し、上澄みを捨てた後、Basal培地(リン酸buffer 0.1M)で懸濁した。

3) 混合固定化

培養液を交換しやすくするため、図1のように全容量300mlのルー瓶に菌体を寒天で混合固定化した。寒天の体積は60ml、寒天濃度は2%で行った。通性嫌気性菌は最終濃度がO.D.=0.3で *Rh.sphaeroides* RVはO.D.=1.5になるように調節した。



Fig. 1 固定化の状態

4) 前培養1段階目

ここでは、*E.aerogenes* のヒドロゲナーゼ系を活性化するために、1/10 LB培地(tryptone 0.4%, yeast extract 0.2%, glucose 0.4%)で12時間培養した。*Lb.delbrueckii* は1/5GYP培地(peptone 0.2%, yeast extract 0.2%, glucose 0.2%)で48時間培養した。

5) 前培養 2 段階目

さらに、光合成細菌のニトロゲナーゼ系を活性化するため、GL 培地 (lactate 75mM ,glutamate 1.75mM)で 24 時間培養した。

6) 水素発生実験

GG培地を用いてH₂発生させ、H₂は水上置換により回収した。

7) 分析

回収した気体は GC で、液体は HPLC により分析を行った。

【結果および考察】

*E.aerogenes*と*Rh.sphaeroides* RVの混合系では対糖収率 3.15mol/mol glucoseと低収率であった。その原因として、RVが分解できない 2,3-butanediol, formate, ethanolの生成に偏ってしまった為であると考えられ、これらをすべてH₂に変換することができれば、12mol/mol glucoseの理論収率に近づくことができると考えられる。そこで、*Rh.sphaeroides*.No.7 を投入し、3 種混合系を検討した。(Fig. 2) さらに、通性嫌気性菌を副生成物がほとんどなく、1molのglucoseから 2molの乳酸を生成できる乳酸菌に変え、*Lb.delblueckii*と*Rh.sphaeroides* RVの混合系についても検討した。(Fig. 3)

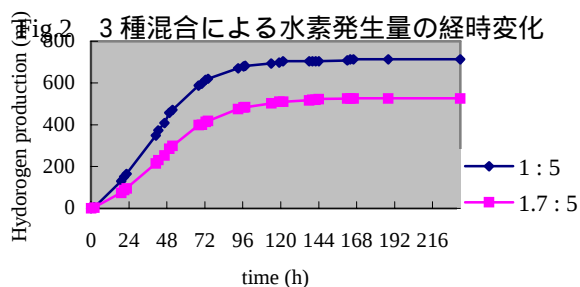
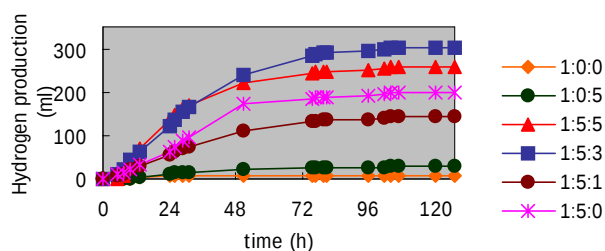


Fig.3 *Lb.delblueckii* と *Rh.sphaeroides* RV
の混合培養による水素発生

3 種混合系では対糖収率は最高で3.01mol/mol glucose となり、2 種の時よりも収率が落ちてしまった。これは、No.7 の混合割合が多いほど収率が落ちていることから、光合成細菌同士が競合を起こし、No.7 が酢酸や乳酸を消費してしまう為、全体として水素発生量は2 種混合の時とあまり変わらない結果となったと考えられる。乳酸菌の混合系では対糖収率 7.08mol/mol glucose を達成し、高収率の水素を得ることができた。これは、狙いどおり副産物の生成が少なく乳酸菌とのバランスが非常によかったためであると考えられる。

【今後の展望】

現在は、*Rizopus oryzae* (クモノスカビ) の乳酸発酵に注目し、これと *Rh.sphaeroides* RV との混合系を検討中である。さらには、これらの基礎実験を元に、生ゴミや廃糖蜜などの有機廃液から、これらの固定化法を用いた水素生産も検討中である。

【参考文献】

- 1)Asada, Y. & Miyake, J.: J. Biosci. Bioeng., **88**, 1-6 (1999).
- 2) Miyake ,J. et al.:J.Ferment. Technol.,**62**,531-535 (1984).
- 3)Rachman M.A. et al.:J.Ferment & Bioengineering.,**83**, 358-363 (1997).
- 4)Fujii, T. et al.:Agric. Biol.Chem., **47**, 2747-2753 (1983)