

# 乳酸発酵菌と光合成細菌の混合培養による水素生産のプロセス研究

日大生産工(院)〇市石 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、CO<sub>2</sub>フリー、SO<sub>x</sub>フリー、純酸素かで燃焼させればNO<sub>x</sub>フリーが可能なクリーンエネルギーである<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。RVは乳酸、酢酸を好んで資化するため、発酵菌として偏性嫌気性菌を使用することは、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耐酸性を有する乳酸菌 3株またはカビの一種である *Rhizopus oryzae*<sup>3)</sup> と光合成細菌(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】

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、耐酸性乳酸菌は GYP 培地(Glucose, Yeast extract, Pepton)で嫌気培養、*R. oryzae* は PDB(Potato Dextrose Broth)で好気培養した。前培養した菌体は遠心分離(9000r.p.m.)し、0.1M Basal 培地(RV用無機塩培地)で懸濁した。

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 4%、空隙 180ml)

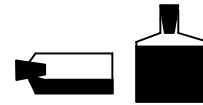


Fig.1 固定化の状態

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 培地を加えて 4 日間培養し、次に光合成細菌のニトロゲナーゼを誘導するために gL(glutamate 1.75mM, Lactate 75mM)培地で 24 時間培養した。

水素発生実験

gG 培地 (glucose 25mM, Glutamate 10mM) を用いて水素発生させ、H<sub>2</sub>は水上置換法により回収した。

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。

---

Hydrogen production by the process of Co-culturing method using Lactic acid fermentation and Photosynthetic bacteria

Suguru ICHIISHI, Yasuo ASADA and Hideki KOHNO

## 【結果および考察】

### 結果 1 *R.oryzae* と *Rh.sphaeroides* RV の 混合培養

初めに *R.oryzae* と RV の菌体比を 1:5 に固定し前培養 1 の培養時間の検討を行った。その結果を Fig.2 に示す。4 日間培養したものが最も水素発生量は多く水素は約 10 日間で 900ml の水素が発生し対糖収率は  $8.86 \text{ mol H}_2/\text{mol glucose}$  が得られ、これまでの混合培養系で最も高い収率となった。次に、RV の菌体濃度を 1.5 に固定し、*R.oryzae* の菌体濃度を変えて混合培養を行った。結果を Fig.3 に示す。ここでは菌体比が 2:5 の時最も水素発生量が多く対糖収率  $8.51 \text{ mol H}_2/\text{mol glucose}$  が得られた。サンプリングした培養液を HPLC で分析してみると、乳酸、酢酸、ギ酸、コハク酸などの有機酸が確認できた。前回の結果よりも低収率となってしまった原因としては RV の活性が悪く乳酸と酢酸を完全に資化できなかったことや RV が資化することができないギ酸が生成したためと考えられる。

### 結果 2 耐酸性乳酸菌と *Rh.sphaeroides* RV の 混合培養

それぞれ乳酸菌と RV の菌体比を 1:5 に固定し混合培養を行った。その結果を Fig.4 に示す。水素は約 7 日間で 500ml 弱発生し、対糖収率  $4.63 \text{ mol H}_2/\text{mol glucose}$  が得られた。このように低収率となってしまった原因は乳酸菌がヘテロ発酵を行ってしまうため、乳酸以外に酢酸やエタノールなどのアルコール類が生成したため低収率となってしまったと考えられる。今後さらに、培養条件の検討を行う予定である。

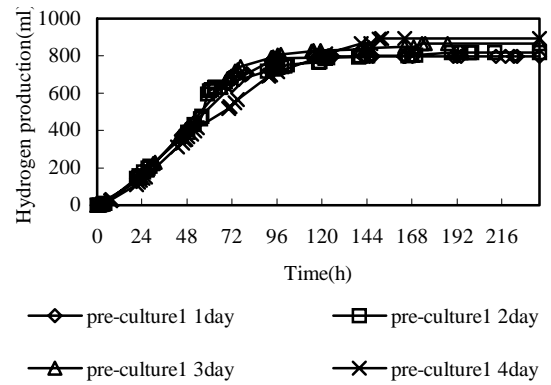


Fig.2 水素発生量の経時変化(結果 1-1)

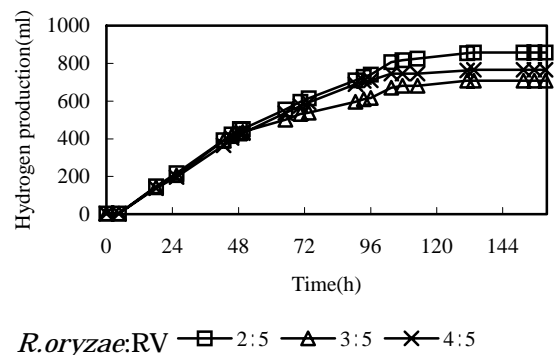


Fig.3 水素発生量の経時変化(結果 1-2)

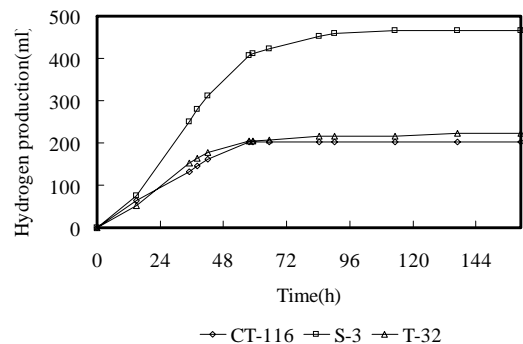


Fig.4 水素発生量の経時変化(結果 2)

## 【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**, 531-535 (1984)
- 3)Oda, Y. et al.: Food Microbiology **20**., 371-375 (2002)