

# 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、純酸素下で燃焼させれば NO<sub>x</sub> フリーが可能なクリーンエネルギーである。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>1)</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)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。

### ②寒天固定化

懸濁した二種の菌体を光照射効率を上昇させるためにルー瓶の片面に寒天で Fig.1 のように固定化した。(寒天 30ml 2%、空隙 180ml)



Fig.1 固定化の状態

(黒色の部分は固定化された菌体を示す)

### 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(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、H<sub>2</sub> 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<sup>2)</sup>により水素発生培地中の糖濃度が 25mM となるように調製した。

---

Hydrogen production by the process of Co-culturing method using  
Lactic acid fermentation and Photosynthetic bacteria  
Suguru ICHIISHI, Yasuo ASADA and Hideki KOHNO

## 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】

### 結果 1 *R.oryzae* と *Rh.sphaeroides* RV の混合

培養によるグルコースからの水素生産

初めに、*R.oryzae* と RV の菌体濃度比(O.D)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 *R.oryzae* と *Rh.sphaeroides* RV の混合

培養による廃糖蜜からの水素生産

廃糖蜜を適宜希釈し *R.oryzae* と *Rh.sphaeroides* RV の混合培養を行った時の水素発生量の経時変化を示す。水素は 5 日間で約 100ml 発生した。グルコースからの水素発生と比較してこのように低い発生量となってしまった原因としては廃糖蜜中の糖濃度がかなり薄かったことや、光合成細菌による水素発生に影響を与える有機性窒素源(主にタンパク質)が含まれているのではないかと考えられる。

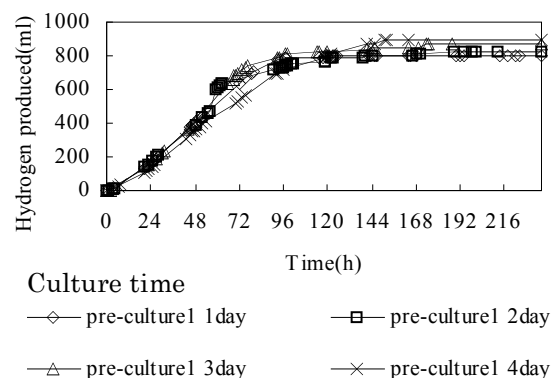


Fig.2 基礎培地として glucose を基質とした時の水素発生量の経時変化(結果 1-1)

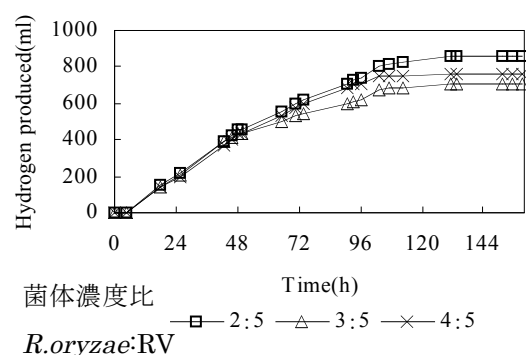


Fig.3 *R.oryzae* と RV glucose を基質とした時の水素発生量の経時変化(結果 1-2)

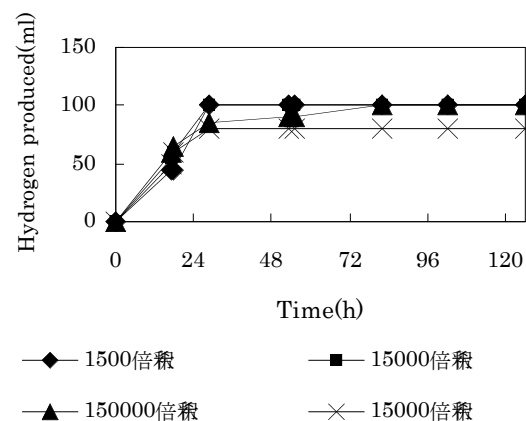


Fig.4 有機廃液である廃糖蜜を基質とした時の水素発生量の経時変化(結果 2)

## 【参考文献】

- 1) Miyake, J. et al.: J. Ferment. Technol., 62, 531-535 (1984)
- 2) Hodge, J.E and Hofreiter, B.T Method in Carbohydrate chemistry 1.338 (1962)