

光合成細菌を利用した水素生産 (回分培養実験と培養液条件)

日大生産工 ○山 崎 博 司
日大生産工 (院) 市 石 卓
日大生産工 小森谷 友 絵

1. 緒言

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り、ここでは特に嫌気性光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を利用して有機物質より水素を生産し、その実用化を目途としたものである。現在、培養環境制御のための混合培養実験など^{1, 2)}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、その温度環境や光到達量は重要な要素のひとつであるにかかわらず、熱伝達率、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。第1段階として、既報では培養槽の温度環境制御に着目して、光合成細菌培養に用いられるグルコース水溶液および培養実験後の水溶液について伝熱実験を行い、その結果について報告した。本報はその次段階として嫌気性光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を含む液体培地を用いて、回分培養水素生産実験を行うとともに、そこでの培養液の光透過性について定量的検討を行ったので、その結果について報告する。

2. 実験装置および方法

2.1 光吸収量測定

培養実験に先だち、実験対象とする培養液において光エネルギー到達量の測定を行った。実験装置の概略を図1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390nmから1090nmについて20nmごととした。各波長帯について10sの測定を5回を行い、その算術平均値を代表値とした。

2.2 培養実験

培養実験装置の概略を図2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、恒温槽温度を35.3 °Cに設定した。実験時の温度変動は±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 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、光照射の距離は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填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

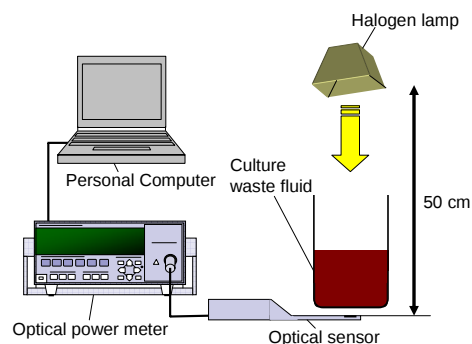


Fig.1 Measurement of radiant energy in culturing medium.

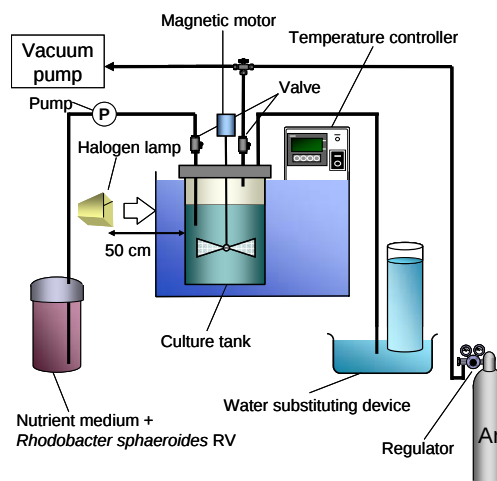


Fig.2 Schematics of experimental apparatus of batch culture experiment.

120 時間とし、各時刻における水素蓄積量を測定した。

Table.1 Composition of applied medium and maintenance media.

Composition of basal medium		Composition of inorganic solution	
reagent	wt(g)	reagent	wt(g)
KH ₂ PO ₄	0.866	FeSO ₄ ·7H ₂ O	1.18
K ₂ HPO ₄	0.733	Boric acid	0.28
MgSO ₄	0.201	MnSO ₄ ·5H ₂ O	0.227
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.099	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.076
Vitamin solution	10ml	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.024
Inorganic solution	10ml	Cu(NO ₃) ₂ ·3H ₂ 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		
distilled water	1000ml		

Composition of aSy medium	
reagent	wt(g)
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.26
Disodium Succinate	9.8
Yeast extract	1
MgSO ₄	0.099
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.099
Basal medium	1000ml

3. 実験結果および考察

図 3 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 10mm 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 4 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) である。図には波長 970nm の場合に結果が示されているが、測定した他の全ての波長帯においても同一の比エネルギー値であった。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 80mm 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。ここで B は負定数であり、流体の濁度等に依存する。

$$E = E_0 \exp(B d_m) \quad (1)$$

図 5 に回文培養水素生産実験の結果を示す。かくはん装置は作動させず、無攪拌で行った結果である。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。観察結果より、水素生産過程では水素と思われる微小泡が発生し、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

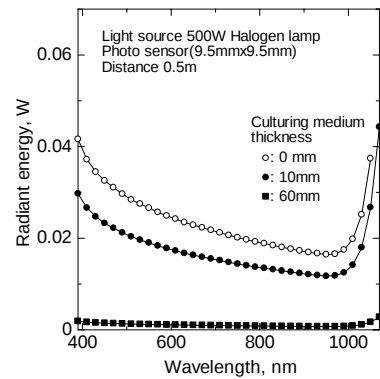


Fig.3 Relationship between wavelength and radiant energy.

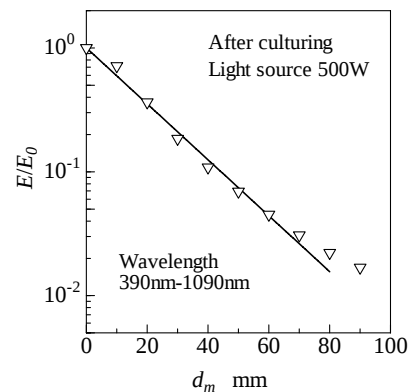


Fig.4 Light energy decrement on culture medium

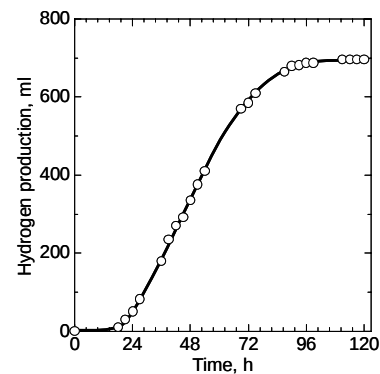


Fig.5 Time histories of hydrogen production

あることが明らかになった。

4. 結言

1. 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した。
2. 回分培養水素生産実験を行い、その自混合性、培養時間などの基礎的な知見を得た。

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.