

水素生産を目的とした環境微生物からの 有用菌の分離・同定及びその活性に関する研究

日大生産工(院) ○小林 淳平

日大生産工 神野 英毅

1. 緒言

水素は燃焼による炭酸ガスの発生が無い
ためクリーンエネルギーとして注目
されているだけでなく、ここ十数年
の急速な燃料電池の発展と共にその
重要性も増してきている。しかし、
水素は化石燃料などとは異なり一次
エネルギーではないため、何らかの
方法で生産する必要がある。今現在
の工業的な水素生産法では原料に、
天然ガス、石炭や重炭化水素が用い
られているが、このような生産法は
経済面での恩恵が大きい反面天然資
源を生産に用いているため、化石燃
料の代替物としての観点から考えた
場合、大きく矛盾しているといえる。
また、これらの方法は副産物として
二酸化炭素を排出することから、環
境面でも問題を抱えているといえる。

一方、微生物を用いた生物学的水素
生産が近年のエネルギー研究で重要
な分野として認識されるようになって
きている。このような水素生産は化
石燃料を使用しない点、二酸化炭素
の排出が少ない、またはほとんどな
い点、有機廃棄物の処理も兼ねてい
る点など、現在の工業的生産法に比
べて環境面での利点が多い。しかし、
生産に時間がかかり大量生産が難し
いという点において改良・改善の余
地がある。

これまで新規光合成細菌の探索を行
い、従来用いられてきた光合成細菌
Rhodobacter sphaeroides RV よりも
高い水素生産能を示す菌株を得るこ
とに成功した。

そこで、実質的な水素生産を視野に
入れ、実際の有機廃棄物の多くを占
めるセルロースの高分解性菌の探索
を行うこととした。

2. 実験方法

2.1 有用菌株における培養条件の検討

前回までの研究において、最もよい
結果を示した菌株を用いてさらなる
培養条件の検討を行った。その際、
5% 小麦ふすま溶液(pH 6)にグル
タミン酸ナトリウム 5.0 g/L、
KH₂PO₄ 5.0 g/L、MgSO₄・7H₂O
1.0 g/L、NaCl 2.0 g/L、Yeast
Extract 5.0 g/L、(NH₄)₂SO₄ 1.4
g/L、NaNO₃ 1.0 g/L、KNO₃ 1.0
g/L Urea 1.0 g/L、Peptone 1.0
g/L、Casamino Acid 1.0 g/L、
MgSO₄・7H₂O 1.0 g/L、CaCl₂・2H₂O
0.4 g/L、Tween80 1.0 g/Lをそれ
ぞれ一種類ずつ添加したものを
用い、好気条件、5日間、30℃で
しんとう培養を行い、生成した糖の
濃度を硫酸フェノール法を用いて
測定した。また、pHによる影響を
調べるために、pH 4.0~12.0まで
0.5ずつ変化させた5%小麦ふす
ま溶液を調製し、同様に培養と糖
濃度の測定を行った。

2.2 有用菌株を用いた長期間培養実験

結果及び考察 3.1 で決定した培地
を用いて、好気条件、30日間、30℃
でしんとう培養を行い、糖濃度の
変化を調べた。また、培養液を遠
心分離にかけた際の沈殿物の質量
を比較した。

Isolation and identification of useful microorganisms for bio-hydrogen production from
environmental microorganisms

Jyumpei KOBAYASHI and Hideki KOHNO

3. 結果及び考察

3.1 有用菌株における培養条件の検討

最も高い活性を示した 13-14 株を用いてさらなる培養条件の検討を行った結果、Urea をのぞく全ての添加物に対して収率の向上が見られた。Sodium Glutamate, Urea, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 , KNO_3 , は無機窒素源として、Yeast Extract, Peptone, Casamino Acid, は培地中で有機窒素源として機能しているものと考えられ、中でも KNO_3 と Yeast Extract が最もよい結果を示した。その他 Tween80 を除く添加物は無機塩として利用されているものと考えられ、それぞれに収率の向上が見られた。また、pH による影響を調べた結果、pH 7.0 のときに最もよい収率を示した。

以上の結果から、本菌株では、小麦ふすま 50 g/L, KNO_3 1.0g/L, Yeast Extract 1.0g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g/L, KH_2PO_4 5.0 g/L, Tween 80 1.0 g/L, pH7.0 に調製した培地を今後の研究で用いることとした。

3.2 有用菌株を用いた長期間培養実験

結果及び考察 3.1 で決定した培地を用いた 30 日間の培養結果を図 1 に示した。この図から、3 日目をピークに糖濃度が減少し始めていることが分かる。最初期における糖濃度の増加は、フェノール硫酸法では全ての中性糖が検出されてしまうため、菌株が培地中に元から存在していた多糖を単糖に分解したことによって、見かけの糖濃度が増加しているためであると考えられる。以降の糖濃度の減少については菌株そのものの増殖及び生育のために、生成した単糖を分解、消費しているためであると考えられる。ただし、培養液を遠心分離にかけた際の沈殿物は、十分に乾燥させた状態で、30 日間で 40.74 g/L から 15.40 g/L へと減少しており、培養液中の不溶性成分であるセルロース分を約 62% 分解

している。このことから、実際にはセルロースの分解は進んでいたものの、それにより生じた糖の分解が予想以上に速く進んでいたことが分かった。

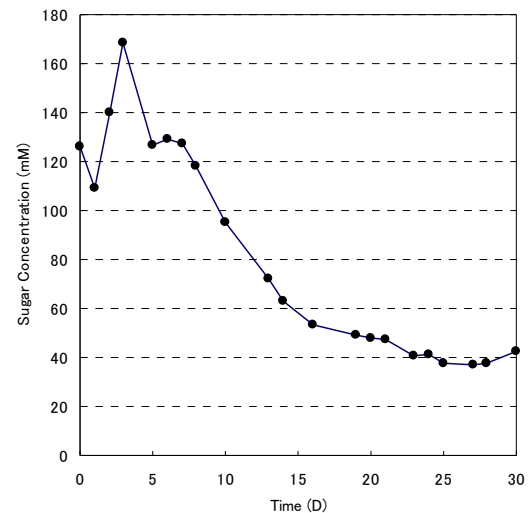


図 1 13-14 株を用いた 30 日間培養

4. 結論

高セルロース分解能を有する微生物の分離に成功し、それらの更なる培養条件の検討を行い、最適と思われる培養条件を決定した。また、この結果を用いて 30 日間の培養実験を行ったが、3 日目をピークに糖濃度が減少し始め、最終的には、予想されていた収率を大きく下回る結果になってしまった。そのため今後、本菌株と乳酸発酵を行う菌との混合培養を行うことで、早い段階から糖を乳酸まで分解させ、培養液中の糖を菌株の増殖及び生育に用いさせない培養方法の検討を行っていくつもりである。

5. 参考文献

- 1) Sawao Murao, Jinshu Kanamoto, and Motoo Arai. Isolation and Identification of a Cellulolytic Enzyme Producing Microorganism. J Ferment Technol 1979;57:151-156