

VII-25

## 非純粋条件での光合成細菌による水素生産 —閉鎖・開放培養系の比較—

東北大工学部

佐藤弘和

東北大大学院工学研究科

尾形晋治

東北大大学院工学研究科 正会員

水野 修

東北大大学院工学研究科 フェロー ○野池達也

### 1.はじめに

今日の化石エネルギー大量使用によって温暖化をはじめとする地球規模での様々な環境問題が顕在化し、その悪化が危惧されている。活性汚泥法などの既存生物利用廃水処理技術にはエネルギー消費型プロセスが多く、エネルギー消費量抑制の観点から廃水処理にもエネルギー回収という側面を積極的に取り入れることが望まれる。光合成細菌が光エネルギーを利用して各種有機酸から水素を生成することは古くから知られている<sup>1)</sup>。この代謝能力を利用した光合成細菌による含有機酸廃水からの水素回収型処理プロセスの実現に向けた研究が行われている。光水素生成の原理は、光合成細菌の持つ窒素固定酵素ニトロゲナーゼによるATP依存型のプロトン還元反応であると考えられており、ニトロゲナーゼの性質上この反応は光エネルギー供給のある窒素制限という極めて限定された条件でのみ起こる反応である。光合成細菌による水素回収の研究はこれまでほとんどその全てが純粋培養によって行われてきた<sup>2)</sup>という背景があり、純粋培養での処理は処理コストおよびエネルギー収支を悪化させることに繋がるため、非純粋培養での処理の可能性について検討しなければならないと考えられる。本研究では非純粋培養の純粋系との相違や問題点についての知見を得るべく、乳酸を基質として長期間の連続培養を行った。

### 2.実験方法

#### 2.1 実験装置および条件

図.1に示す1.7L容のルーバー瓶を用いた反応槽で、L-乳酸Na(30mM)およびNH<sub>4</sub>Cl(5mM)それぞれ炭素源・窒素源とした模擬廃水で、表.1に示す条件で3系統の連続培養を行った。培養はHRT72時間、pH7、30℃、供給光エネルギー強度約0.4kW·m<sup>-2</sup>(約6000lux)の条件で行い、約1700時間にわたり水素生成の挙動をモニタリングした。なお、*Rhodobacter sphaeroides* RVは工業技術院生命工学工業技術研究所より分株を受けた。

#### 2.2 分析項目および方法

全ガスおよび水素ガス生成量は水上置換により捕集されたガス量とTCDガスクロマトグラフで測定したH<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>濃度から求めた。硫化水素濃度はガス検知管で測定した。ニトロゲナーゼの活性はアセチレン還元法、水素取り込みヒドロゲナーゼ活性はメチレンブルー還元法で測定した。乳酸およびアンモニア性窒素濃度はキャピラリー電気泳動分析器で、揮発性脂肪酸濃度はFIDガスクロマトグラフでそれぞれ測定した。

#### 3.結果と考察

純粋培養を行ったRUN1では安定した水素生成が継続した。図.2にRUN2における水素生成活性の推移を示す。培養400時間過ぎから水素生成速度、ニトロゲナーゼ活性とともに減少傾向が見られた。

表.1 各系列の実験条件

系列	接種微生物	流入水滅菌処理
RUN1(閉鎖系)	<i>Rb. sphaeroides</i> RV	+
RUN2(開放系)	<i>Rb. sphaeroides</i> RV	-
RUN3(混合培養系)	市販混合光合成細菌	-

実験期間 2000.9.20～11.30

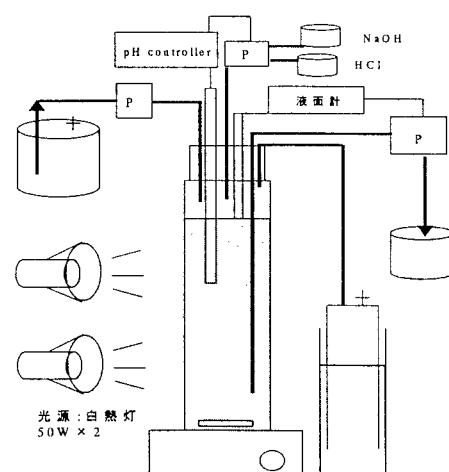


図.1 反応槽の概略図

一ゼ活性とともに急激に低下した。この時点から培養液中に *Chlorella* sp. 様の緑藻の増殖が確認された。光合成細菌は嫌気条件で光合成を行うが、酸素により光合成系に阻害作用を受けることが報告されており、この水素生成の低下は主に反応槽内での緑藻の酸素発生型光合成による、光合成細菌の光合成と水素生成阻害によるものと考えられる。また、その他の細菌群の流入による窒素競合も光合成細菌の優占度を低下させ、水素生成活性を低下させる一因となっていたと考えられる。

図.3 に RUN3 での水素生成活性の経過を示す。培養開始直後から水素生成は低下し、1000 時間を過ぎから吸収に転じた。発生ガス中には 800ppm 前後の硫化水素が検出され、硫酸塩還元細菌等<sup>2)</sup>により酢酸が蓄積し、乳酸はほぼ消費されていた。硫化水素による光合成細菌の増殖阻害が報告<sup>3)</sup>されており、本研究でも別途確認された。また 1300 時間からモリブデン酸を添加して硫酸塩還元細菌の増殖を抑えたところ、水素生成に回復が見られた。複雑な競合/阻害機構の中で、硫化水素による光合成細菌数の減少と基質競合が水素生成低下の主因であると考えられた。また取り込み活性の高まりから、水素消費細菌群の増加も示唆された。

#### 4.まとめ

- 1) 長期間の純粋培養と非純粋培養との間には水素生産性に有意差が見られた(図.4)。非純粋培養により発生する問題点の中で、特に緑藻による酸素発生、硫酸塩還元細菌による硫化水素生成と基質競合、その他雜菌群による窒素競合、水素消費などと見られる影響が確認された(図.5)。
- 2) 本研究の知見は極めて限定された実験条件でのものであるため、今後様々な条件についても検討していく必要がある。
- 3) 光合成細菌の優占を維持するための工学的手法についても検討する必要がある。

#### 5.参考文献

- 1) Gest H, Kamen MD: Photoproduction of molecular hydrogen by *Rhodospirillum rubrum*, *Science*, 109, 558-559, 1949
- 2) Segers L, Verstraete W: Selective inhibitors for continuous non-axenic hydrogen production by *Rhodobacter capsulatus*, *J. Applied Bacteriology*, 61, 547-557, 1986
- 3) 伊津 恵子、中島 典之、山本 和夫: 紅色非硫黄細菌を用いた排水再資源化における微生物共生系を用いた硫化物阻害の緩和に関する検討、環境工学研究論文集、第 35 卷、439-446, 1998

謝辞 This work has been supported by CREST of JST(Japan Science and Technology)

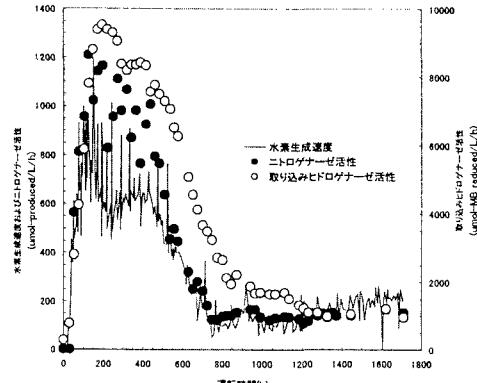


図.2 RUN2における水素生成活性の経過

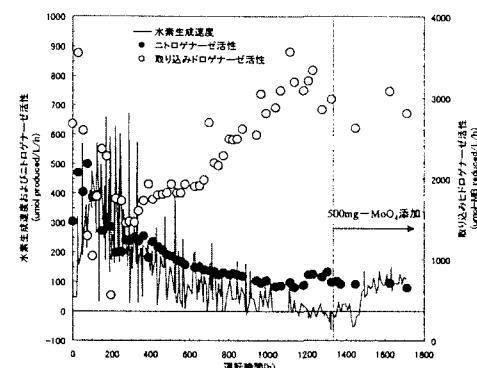


図.3 RUN3における水素生成活性の経過

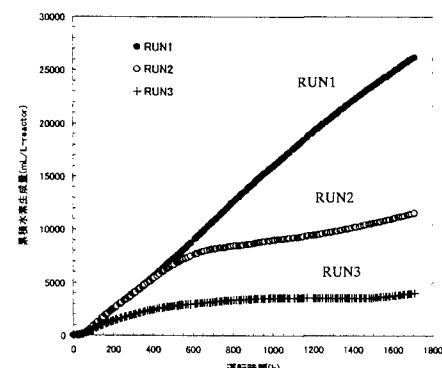


図.4 各RUNの累積水素生成量

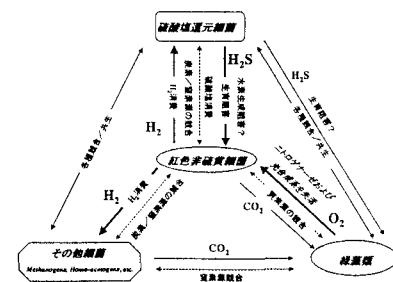


図.5 微生物間相互作用模式図