

VII-17

光合成細菌の水素生成における青色光照射による藻類増殖の抑制

東北大学工学部 ○富田洋平

東北大学工学研究科 高 仁範

東北大学工学研究科 正会員 高島寛生

東北大学工学研究科 フェロー 野池達也

1. 序論

光合成細菌による水素生成は有機物を基質として水素を生成するので、廃水からの水素エネルギーの回収の点で注目されている。近年、紅色非硫黄細菌による水素生成に関する研究が数多く報告されている¹⁾³⁾。しかし、これらの大部分は純粋培養系を用いて人工基質からの水素生成に関する研究である。しかし、実排水および廃棄物からの水素生成の場合、雑菌混入による汚染などのために実用化の面で多くの課題を残している。そのため非純粋培養系における水素生成に関する研究が必要となってきた。紅色非硫黄細菌を用いた水素生成における重要な問題の一つは、同時に増殖する酸素発生型微生物(藻類など)による水素生成阻害である。藻類の増殖を抑制する方法として、増殖抑制剤を利用する方法²⁾や光源の赤外領域を選択的に照射する方法⁴⁾などが報告されているが、未だ実用化に至っていない。

本研究では、青色光照射によって藻類増殖に必要な光の波長を制御し、これが水素生成量および藻類増殖に与える影響について検討した。

2. 実験材料および方法

2.1 植種菌の前培養

本研究に用いた紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter. sphaeroides* RV を光合成細菌の植種菌として用いた。*R. sphaeroides* は、工業技術院生命工学工業技術研究所から分譲されたものを三日間前培養してから種菌として用いた。培地条件は以下の通りである。Miyakeら⁵⁾の基本培地1Lに、窒素源として、グルタミン酸ナトリウム 0.5gを、炭素源として、コハク酸ナトリウム 1.0g、リンゴ酸 1.0g、ビルビン酸ナトリウム 1.0gを添加したものを培地として用いた。この基質15mlバイアル瓶に入れ、*R. sphaeroides* を接種し、気相部をアルゴンガスで5分間置換した後、振とう培養器(30℃, 60stroke/min)にて培養した。光源には白熱灯(レフランプ100W, 6個)を用いた。

藻類は、尾形ら⁶⁾の *R. sphaeroides* RV を用いた乳酸からの水素生成に関する連続実験において、開放系で現れたものを表1に示した基本培地1Lに、炭素源として、炭酸水素ナトリウム 3.21gを、窒素源として、塩化アンモニウム0.27gを添加して培養した。培養における他の条件は *R. sphaeroides* RV の前培養と同一である。

2.2 回分実験

回分実験は4系列行った。RUN1とRUN2では白熱灯を、RUN3とRUN4では青色光を照射した。また、RUN1,3は *R. sphaeroides* RV のみ、RUN2,4は *R. sphaeroides* RV と藻類を接種した。実験は容量31mLのバイアルを用いて、基本培地(表1)に炭素源(揮発性脂肪酸)として酢酸1,000mg/L、プロピオン酸500mg/L、酪酸1,000mg/Lを投与した。窒素源として NH_4Cl を用い、濃度が3mM (42mg $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N/L}$) を添加した後、pHを6.8に調節した。培養における他

表1 基本培地の組成

Components	Concentration(mg/L)
KH_2PO_4	800
K_2HPO_4	700
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	400
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50
EDTA(sodium salt)	20
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30
H_3BO_3	3
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.24
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.04
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.1
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.02
Biotin, thiamin, p-aminobenzoic acid, Nicotinic acidamide	0.00015

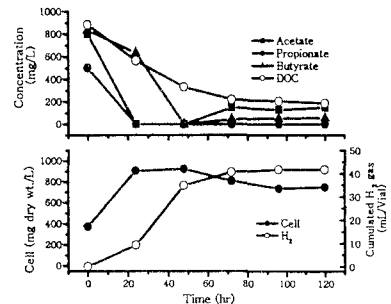


図1 RUN1における菌体、VFA、DOC濃度の経時変化および累積水素生成量

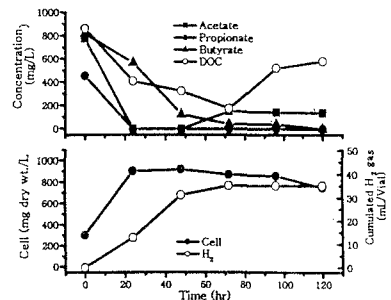


図2 RUN2における菌体、VFA、DOC濃度の経時変化および累積水素生成量

の条件は *R. sphaeroides* RV の前培養と同一である。

3. 実験結果及び考察

図1～4にそれぞれ RUN1～4 における菌体、VFA、DOC 濃度の経時変化および累積水素生成量を図5に各 RUN におけるクロロフィル a の濃度を示す。菌体増殖は 24 時間で停止した。水素は菌体増殖時より菌体増殖後の方が顕著であった。酢酸・プロピオン酸は、培養 24 時間で枯渇し、その後酪酸が消費される傾向が観察された。脂肪酸が枯渇すると、水素生成は停止した。以上のような傾向は全ての RUN において共通であり、青色光照射および藻類共存の影響は確認されなかった。しかし、RUN1～4 における累積水素生成量は、それぞれ、41、35、44、40 ml/vial であり、白熱光照射かつ藻類共存の系列 (RUN2) が最も少なかった。

図5に各条件におけるクロロフィル a の濃度を示す。クロロフィル a は藻類のみが有している物質である。藻類を接種していない RUN1,3 ではクロロフィル a は検出されなかった。白熱光を照射した RUN2 では顕著なクロロフィル a 濃度の増加が観察されたのに対し、青色光を照射した RUN4 ではクロロフィル a 濃度の変化は観察されなかった。これは、RUN2 では藻類が増殖したことを示唆している。

以上の結果より、藻類の増殖によって水素生成が阻害されることが、藻類増殖を抑制する手段として青色光の照射が有効であることが示唆された。

4. 結論

紅色非硫黄細菌 *R. sphaeroides* RV と藻類を共培養し、また光照射の波長を制御した実験を行った結果、次のような結論が得られた。

- 1) 藻類の増殖により紅色非硫黄細菌 *R. sphaeroides* RV の水素生成は阻害された。
- 2) 青色光照射により藻類の増殖が抑制された。

参考文献

- 1) Miyake J., Mao X. X., and Kawamura S. (1984) Photoproduction of hydrogen from Glucose by a co-culture of a photosynthetic bacterium and *Clostridium butyricum*, *J. Ferment. Technol.*, **62**, 531-535
- 2) 佐々木 健, 竹野 健次, 江本 美昭 (1996) 光合成細菌による有機酸、揮発性脂肪酸の消費と水素生産, 水環境学会誌, **19**, 63 - 70
- 3) Kim J. S., Ito K., and Takahashi H. (1981) Production of Molecular Hydrogen by *Rhodospseudomonas* sp., *J. Ferment. Technol.*, **59**, 185 - 190
- 4) Sasikala K., Ramana CH. V., Rao P. R., and Kovacs K. L. (1993) Anoxygenic phototrophic bacteria : physiology and advances in hydrogen production technology, *Advances in Applied Microbiology*, **38**, 211-295
- 5) Liessens J. and Verstraete W. (1986) Selective inhibitors for continuous non-axenic hydrogen production by *Rhodobacter capsulatus*, *J. Appl. Bacteriol.*, **61**, 547-557
- 6) 尾形 晋治, 佐藤 弘和, 水野 修, 野池 達也 (2001) 非純粋培養条件下での光合成細菌による連続水素生産の可能性, 日本水環境学会年会講演集, **35**, 540

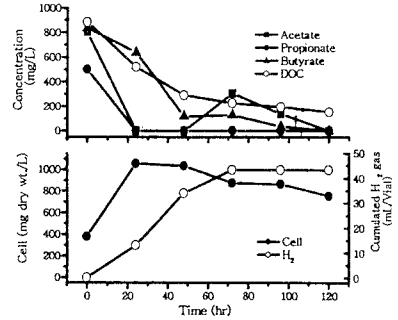


図3 RUN3における菌体、VFA、DOC濃度の経時変化および累積水素生成量

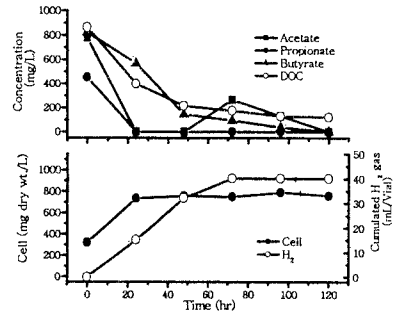


図4 RUN4における菌体、VFA、DOC濃度の経時変化および累積水素生成量

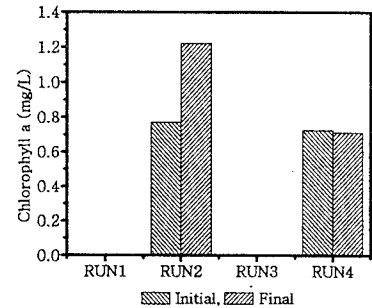


図5 各条件におけるクロロフィル a の濃度