The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	緑藻の嫌気代謝を基礎とする水素生産システムに関する研究
Author(s)	太田, 壮一
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/35349
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【2】

氏名・(本籍)	太田壮一（おおたそういち）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 7702 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**緑藻の嫌気代謝を基礎とする水素生産システムに関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 三浦 喜温 (副査) 教授 近藤 雅臣　教授 岩田平太郎　教授 田口 久治

論文内容の要旨

将来のエネルギー資源不足，石炭，石油等の化石燃料の大量消費に伴う環境破壊など，エネルギー供給に関連した問題が世界的に深刻化している。したがって，化石燃料などのエネルギー資源に代わる新しい無公害エネルギー資源の開発が切望されている。特に，水素は，クリーンなエネルギー源として，将来多くの分野で利用されると期待されており，これを安価かつ大量に生産するシステムの開発が試みられている。

生物は生体内で極めて複雑かつ効率的な化学反応を安定に進行させながら，生命活動を行っている。近年，生物体の優れた機能を利用して，食品，医薬品，エネルギーを生産しようとする研究が注目されている。緑藻は，太陽エネルギーを効率よく利用して増殖し，暗嫌気条件下において，明期に蓄積したデンプンを分解し水素を発生することができる。

本研究は，緑藻を用いた，効率のよい，安定な水素生産システムの開発を目的とし，その主要な問題点について検討を加えたものである。

第1章では，自然界より高水素発生能を有する緑藻の検索を行い，その水素発生能および増殖能について検討を加えた。その結果，近畿地区数ケ所の沿岸より，分離された167株の微細藻の中から，高水素発生能を有する海産性緑藻Chlamydomonas MGA 161株が分離された。この株は新たに調製した合成培地にて良好な増殖（$0.1hr^{-1}$）を示し，また高い暗水素発生（0.2 μmol／mg dry wt／hr）が観察された。

第2章では，MGA 161株の暗水素発生をさらに向上させるために，この株のデンプン蓄積量，ヒドロゲナーゼ活性発現，デンプンから水素への変換率，デンプン分解速度について検討を加えた。デンプ

ン蓄積量に関しては，窒素制限，高塩濃度，低温条件下で倍養することによって，その蓄積量を増加させることが可能であった。しかしながら，デンプン蓄積量の増加に見合った水素発生量の増加は認められなかった。また，ヒドロゼナーゼに関しては，タンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミドの添加によるヒドロゲナーゼ活性の顕著な抑制作用にもかかわらず，この株の暗水素発生は，全く阻害されなかった。したがって，ヒドロゲナーゼ活性が，MGA 161株の暗水素発生において律速因子となっていないことが明らかになった。さらに，デンプンから水素への変換率に関しては，MGA 161株は，1モルのグルコースから2モルの水素を生成しており，現在までに報告されている緑藻の変換率の最高値0.43（mol H_2／mol glucose）と比較して，[1]この株は非常に高い水素への変換能を有していることが認められた。しかしながら，MGA 161株は，12時間の水素発生の後でも，まだかなりの未分解のデンプンを細胞内に残存させており，この株のデンプン分解速度に関しては，まだ改善の必要性があることがわかった。

第3章では，MGA 161株が，高水素発生能を有する理由を解明する目的でこの株および他の緑藻の発酵現象の特徴を把握することを試みた。使用株としては，MGA 161株の他に，東大応微研より譲り受けたChlamydomonas reinhardtii, Chlorella pyrenoidosa, Chlorococcum minutumを用い，暗嫌気条件下，これら緑藻が培地中に放出する発酵生産物を定量した。

MGA 161株の主な発酵生産物は，水素，炭酸ガス，酢酸，エタノールであり，ギ酸，乳酸，グリセロールは，わずかしか検出されなかった。それに対して，Chlamydomonas reinhardtiiは，デンプン分解活性が最も高く，水素よりも，ギ酸，酢酸，エタノールを，それぞれ2：2：1の比率で大量に生成していた。Chlorella pyrenoidosaでは，全体的に発酵速度が低いものの，Chlamydomonas reinhardtiiと非常に良く似た分布を示した。また，Chlorococcum minutumは主に，炭酸ガス，酢酸，グリセロールを生成し，水素，ギ酸，エタノールは，ほとんど検出されなかった。デンプン分解過程で生成した還元力は，グリセロール，水素，エタノールを生成することによって消費される。したがって，試験した緑藻が，何を還元力消費産物とするかによって，3つの発酵形式に分類できることが示された。すなわち，MGA 161株では水素，Chlamydomonas reinhardtiiおよびChlorella pyrenoidosaではエタノール，Chlorococcum minutumではグリセロールを生成することで消費し，それぞれの細胞内の酸化還元バランスを保っていることが示唆された。

第4章では，水素生産性の向上を計るために，別の角度からのアプローチとして，緑藻－光合成細菌の混合培養による水素生産システムについても検討を加えた。緑藻は，昼間，細胞内に蓄積したデンプンを，夜間，嫌気条件下で発酵し，水素以外にも酢酸，エタノール，ギ酸などの有機物を生成できることが，第3章において示された。それに対して，一般に，光合成細菌は，有機物を外部基質として水素を発生できることが知られている。[2,3]混合培養系の実験に対して，緑藻は，水素発生活性においてMGA 161株に劣るものの，デンプン分解活性は非常に高く，ギ酸，酢酸，エタノールなどの有機物を最も大量に生成していたChlamydomonas reinhardtiiを用い，一方，光合成細菌は，NCIBより譲り受けた，紅色非硫黄細菌の一種であるRhodospirillum rubrumを用いた。緑藻と光合成細菌を，8：2に混合した系において，緑藻単独系の水素発生量と比較して，約4倍の水素発生量が認められた。この水素発

生増大効果は，緑藻Chlamydmonas reinhardtiiが水素と同時に生成したギ酸を，Rhodospirilum rubrumがFormate hydorogen-lyase系を介して水素に変換しているためであると考察した。そして，この混合培養系は，明暗サイクルに同調しながら，一週間にわたって安定に水素を発生していた。

引用文献

(1) R. P. Gfeller and M. Gibbs, Plant Pysiol., 75, 212 (1984).

(2) T. Matsunaga and A. Mitsui, Biotechnol. Bioeng. Symp., №12, 441 (1982).

(3) J. S. Kim, K. Ito, and H. Takahashi, Agric. Biol. Chem., 46, 937 (1982).

論文の審査結果の要旨

本研究においては先ず近畿地区数カ所の沿岸より分離された167株の緑藻より高水素発生能を有する海産性緑藻Chlamydomonas MGA161が選抜され，その特性を調べられた結果，本緑藻は生成した還元力を主に水素発生によって消費しているという非常にユニークな性質を持っていることが明らかとなった。さらにC. MGA 161の他にChlamydomonas reinhardtii, Chlorella pyrenoidosa及びChlorococcum minutumの醗酵特性を調べ，緑藻はその還元力消費形式によって水素発生型，エタノール生成型，グリセロール生成形の3タイプに分類できることを明らかにした。

またC. reinhardtiiと光合成細菌Rhodospirillum rubrumを混合培養することによって緑藻単独培養の場合より，水素発生量及びデンプンから水素への変換率共に飛躍的に向上することが認められた。以上の成果により本論文は充分博士論文に価すると認められた。