

## CO<sub>2</sub>を化成品原料へ再資源化するための革新的な微生物電気合成システムの開発

代表研究者 金沢大学新学術創成研究機構 教授 仁宮一章

### 〔研究の概要〕

本研究では、化石資源由来 CO<sub>2</sub>の再資源化を目指し、微生物電気合成による CO<sub>2</sub>から化成品原料（エタノール）への連続・高速変換のための技術開発を行った。*Clostridium ragsdalei* DSM 15248 株、YT 培地（主に Yeast extract, Tryptone からなる培地）を用いて微生物電気合成を行った。電圧をかけない場合の微生物電気合成では、菌体濃度の低下が確認され、また、酢酸、エタノール濃度の増加は見られなかった。一方、電圧 0.8 V の微生物電気合成では、電流が約 5 mA 流れていること、そして、菌体濃度が維持されていることが確認でき、また、酢酸濃度、エタノール濃度の上昇がみられた。培養 3 day における酢酸濃度は 3 g/L、エタノール濃度は 1 g/L であった。この値は、YTF 培地（主に Yeast extract, Tryptone, Fructose からなる培地）を用いた *C. ragsdalei* DSM 15248 株の従属栄養培養での値を超えるものであった。

### 〔緒言〕

CO<sub>2</sub>は温暖化の原因として、排出削減や回収・貯留について技術開発が行われてきた。近年、逆に CO<sub>2</sub>の再資源化を図る挑戦的な研究開発が進展している。

CO<sub>2</sub>を炭素源として利用できる微生物には光独立栄養と化学独立栄養に大別される。そのうち、化学独立栄養細菌とは、炭素源として CO<sub>2</sub>、エネルギー源として H<sub>2</sub>や酸化鉄 (II) などの電子供与体を利用して生育する細菌である。特に、エネルギー源として H<sub>2</sub>を電子供与体として生育する細菌を、水素酸化細菌という。また、水素酸化細菌のうち、絶対嫌気性で主な代謝産物が酢酸である微生物をアセトジェンという（図 1）。

一方、2010 年、アセトジェンを用いた微生物電気合成 (Microbial ElectroSynthesis) の最初の論文が発表された。微生物電気合成とは、水の電気分解（アノード電極における H<sub>2</sub>O の酸化による O<sub>2</sub> 発生、そして、カソード電極側における H<sup>+</sup>の還元による H<sub>2</sub> 発生）と、カソード電極側での水素酸化細菌の培養を組み合わせたものである。これにより、炭素源として CO<sub>2</sub>、エネルギー源として電気を用いることによって、水素酸化細菌に有機物（酢酸）を生産させることが実証された。（ここで、微生物電気合成に用いる電気は、太陽光をはじめ風力・水力・地熱など様々な自然エネルギー由来の電力が利用可能である。）

しかしながら、現状では、(1) アセトジェンを用いた微生物電気合成で生産される物質は酢酸であり、それ自身の付加価値が極めて低い、そして、(2) 微生物電気合成における生産速度が極めて遅い、という質的・量的な問題がある。これらが解決されれば、微生物電気合成による CO<sub>2</sub>の再資源化が実用に近づくのではと考えた。

そこで、本研究では、化石資源由来 CO<sub>2</sub>の再資源化を目指し、微生物電気合成による CO<sub>2</sub>から化成品原料（エタノール）への連続・高速変換のための技術開発を行った。

### 〔実験方法と結果〕

エタノール生産性のアセトジェン株として、*Clostridium ragsdalei* DSM 15248 株を用いた。本 *C. ragsdalei* DSM 15248 株は、CO/CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>の混合ガスを用いた従属栄養培養（CO と CO<sub>2</sub>が炭素源、CO と H<sub>2</sub>がエネルギー源）に用いられてきた株であり、微生物電気合成の報告はない。

まず、電気培養を行う前に、YTF 培地（主に Yeast extract, Tryptone, Fructose からなる天然培地）を用いた *C. ragsdalei* DSM 15248 株の従属栄養培養を行った。炭素源（C 源）かつエネルギー源としてフルクトース 5 g/L を加えた。初期菌体濃度は 0.06 g/L に設定した。図 2 に従属栄養培養の結果を示す。5 g/L のフルクトースは 2 day までに消費され、そして、菌体濃度、酢酸濃度、エタノール濃度の上昇がみられた。培養 3 day における最終的な菌体濃度は 0.9 g/L、酢酸濃度は 0.5 g/L、エタノール濃度は 0.4 g/L であった（図 2 赤）。Negative control として YTF 培地から炭素源であるフルクトースを除去した YT 培地を用いた培養も行った。菌体濃度、酢酸濃度、エタノール濃度の上昇は見られなかった（図 2 青）。

次に、上述の炭素源を含まない YT 培地を用いて微生物電気合成を行った（図 3, 4）。炭素源（C 源）として 100%CO<sub>2</sub>ガスを 1 vvm (50 mL 培地に対して CO<sub>2</sub>ガス流量 50 mL/min)で供給した。エネルギー源としては、一定の電圧 0.8 V をポテンショスタットでかけた。初期菌体濃度は 0.6 g/L に設定した。図 5 に微生物電気合成による独立栄養培養の結果を示す。まず Negative control として電圧をかけない場合の微生物電気合成を行った。その結果、電流が流れていないこと、そして菌体濃度の低下が確認された。また、ギ酸、酢酸、エタノール濃度の増加は見られなかった（図 5 青）。一方、電圧 0.8 V を掛けた場合の微生物電気合成では、電流が約 5 mA 流れていること、そして、菌体濃度が維持されていることが確認できた。また、酢酸濃度、エタノール濃度の上昇が

みられた。培養 3 day における酢酸濃度は 3 g/L、エタノール濃度は 1 g/L であった(図 5 赤)。この値は、図 2 赤に示した YTF 培地を用いた従属栄養培養での値を超えるものであった。しかしながら、培養 3 day 以降は、炭素源である 100%CO<sub>2</sub> およびエネルギー源である電流が供給され続けているにもかかわらず、酢酸濃度とエタノール濃度は頭打ちとなった。YT 培地中のアミノ酸やビタミン、微量元素の何かがショートしている可能性が考えられる。明確な原因は不明である。

以上の微生物電気合成の実験では、YT 培地(主に Yeast extract, Tryptone からなる天然培地)を用いて行った。そこで、培地のシンプル化を図るため、アセトジェンの培養で用いられる合成培地である PETC 培地(主に無機塩、微量元素、ビタミン群と 0.1%の酵母エキスからなる準合成培地)を用いて、同様の微生物電気合成を行った。しかしながら、菌体濃度は低下し、酢酸濃度やエタノール濃度の上昇は全く見られなかった。YT 培地には含まれているが、PETC 培地に含まれていないものとして、アミノ酸があり、これが律速になっていたと考えられる。

YT 培地の構成成分である Yeast extract, Tryptone は、それぞれ酵母熱水抽出物(ビタミン源)、乳タンパク質加水分解物(アミノ酸源)である試薬である。そこで、農業副産物である、コーンステーパーリカーに置き換えた検討も必要であると考えられる。

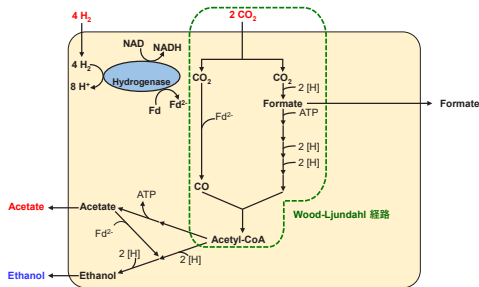


図 1. アセトジェンの化学独立栄養培養時の代謝経路の概要

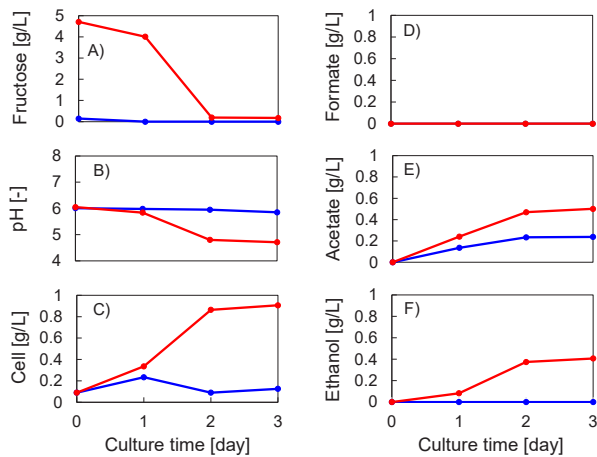


図 2. アセトジェンの従属栄養培養の挙動

[発表論文]

1. 任敏、仁宮一章; CO<sub>2</sub> conversion to acetate and ethanol by microbial electrosynthesis using *Clostridium ragsdalei*, 第73回 生物工学会大会、2021年10月
2. 任敏、仁宮一章; PHB production from CO<sub>2</sub>-derived acetate via acetogen, 第74回 生物工学会大会、2022年10月

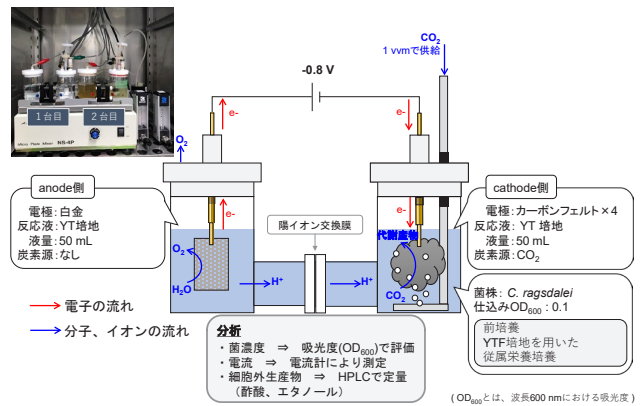


図 3. アセトジェンの微生物電気化学合成における化学独立栄養培養のセットアップ

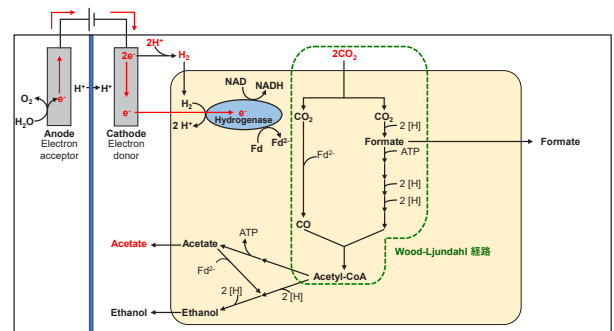


図 4. アセトジェンの微生物電気化学合成における化学独立栄養培養時の代謝経路の概要

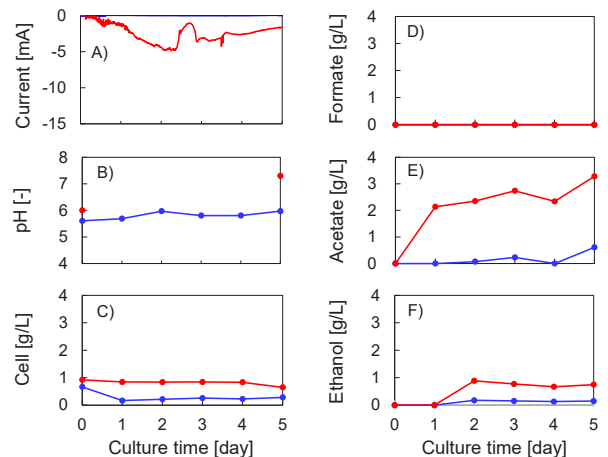


図 5. アセトジェンの微生物電気化学合成における化学独立栄養培養の挙動