

有機廃液・廃物の浄化処理と資源化 — バイオマスによる水素生産の研究 —

神野英毅（応用分子化学科）

1. はじめに

近年、人間の生活に費やされるエネルギーは、大きく増加し、生活におけるエネルギー消費は、米国、日本、ヨーロッパ諸国、さらには、中国、東欧等の生活環境から排出される CO₂ ガスにより大気汚染と地球温暖化の最大の原因になっている。先進国における化石燃料より排出される CO₂ ガスは、自動車台数の増加や火力発電等による排出量はもはや最大限に達し、廃ガス成分によりもたらされる酸性雨現象は南米に熱帯雨林の面積消滅を加速していると考えられる。このように先進工業国は多くの犠牲を払いながらその生活の高エネルギー化を促進している。CO₂ ガスはその化石燃料から排出量が莫大に多いため、本来ならば植物の光合成能により CO₂ は吸収され、O₂ を出して、地球上の気体成分を酸素で満たし、これはほぼ一定の値として考えられていた。しかし、上述のように多くの CO₂ が排出されると当然の結果 CO₂ 濃度は上がり、地球の温暖化は進む一方である。このような状況において、我々はもはや化石燃料を遠ざけ、環境に配慮したメカニズムで燃料をえなければならない。

このように CO₂ を排出しないでエネルギーを

とる方法は H₂ ガスを使った燃料電池の普及が叫ばれている。では、ここまで述べて来た H₂ ガスはどこに多くあるのか。

そこで、我々はバイオマスの手法を使って生活環境から排出される生ゴミを安全に分解し水素を安価に発生させ、その資源化をはかり生活環境よ

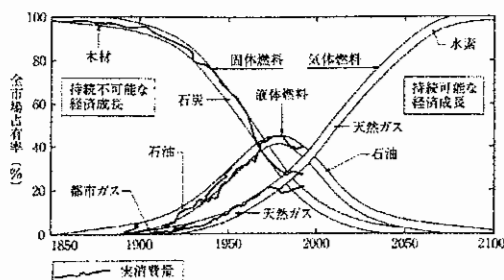


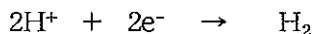
Fig.1 資源エネルギーの推移
(1999 The GHK Company より)

り排出される有機廃棄物を分解し、安価な水素を得る方法の研究、すなわち環境廃棄物の処理とクリーンエネルギーである水素を安価に生産し、環境順応型の environmentally sustainable energy circulation の検討を行ったので報告をする。

2. バイオマスによる水素発生のメカニズム

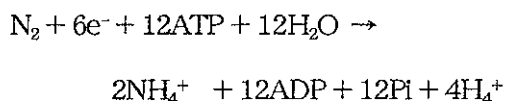
水素発生のメカニズムは、その多くが光合成細胞として、水圏微生物である緑色硫黄細菌、紅色硫黄細菌、紅色非硫黄細菌および滑走糸状緑色硫黄細菌がある。特にこの中でよく研究されている

のが紅色硫黄性の光合成細菌の水素吸収反応について報告したものが初めてである。1937年に、Nakamuraらは*Rhodospseudomonas palustris*について報告し¹⁾、続いて嫌気-明条件において電子供与体存在下で光エネルギーに依存した水素発生菌を1979年 Gest と Kamen により発見されている²⁾。*Rhodospirillum rubrum* は、暗条件で CO₂、明条件で H₂ ガスを放出することが知られており、いずれにしても H₂ の発生は光合成細菌には共通の性質である。水素発生に関わる酵素は、光合成細菌内の Hydrogenase が主たる酵素である。その発生式は、



となる。

さらに、*Rhodobacter palustris* は、nitrogenase による水素ガス発生がある。nitrogenase は、本来窒素固定に関する反応を行う酵素であるが、nitrogenase の基質特異性の中で、窒素以外に水素イオンにも電子伝達されて、水素発生がおこると知られている。そこでその発生は



となる³⁾。

3. 水素発生実験における使用菌について

本研究にあたり、当研究室で従来より培養している光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を使用して、明反応状態において水素を発生検討した。光合成細菌の水素発生機構は前章で述べた通りであるが、我々は、従来より *Rhodobacter*

をルーフラスコにて培養し、水素発生量を測定し比較検討した。比較する菌として、今回多くの検討の結果、新しく偏性嫌気性菌の利用法として、*Clostridium butyricum* を用いて嫌気条件における水素発生の速度を検討した。今回用いた *C. butyricum* は *Rhodobacter sphaeroides* と異なり偏性嫌気性菌としての代謝系を持ち、セルロースを良く分解し、有機酸とし、その水素発生能力は、非常に興味深いものであり、今後の都市生活廃棄物の分解反応や分解工程より発生する水素はバイオマスにおける有力な菌の利用法と考えられる。

4. バイオマスによる水素生産菌の培養法

1) *Rhodobacter sphaeroides* RV 株

Rhodobacter sphaeroides RV 株の菌体保存用培地には aSy 培地を使用した。

aSy 培地は各種無機塩やビタミンを含む Basal medium に硫酸アンモニウム ((NH₄)₂SO₄)、コハク酸ナトリウム、酵母エキス (east extract) を加えたものである。菌体保存のためには、植え継ぎを繰り返す。これらの培養成分で各種有機酸を加えた改良 aSy へ移し変える。このようにして培地中の培地変更をしながら培養条件を変える。このようにして、*Rhodobacter sphaeroides* RV 株を培養し、ルーフラスコ中で光源を照射し、明反応にてその水素発生能を測定した。

2) *Clostridium butyricum*

本研究では、理化学研究所生物基盤研究所微生物系統保存施設 (JCM) に保管されている

Clostridium butyricum Prazmowsky 1880 株を使用した。培養法としては、*C. butyricum* は偏性嫌気性菌なので当然のことながら anaerobic condition にて培養する。偏性嫌気性菌は、微量の酸素存在でも生育阻害されるため、存在酸素のチェックのため Resazurin Sodium Salt によって確認しながら嫌気培養を行う。培地に CO₂ を 20 分間送り込み、O₂ と置換し、無酸素状態でオートクレープしたものを使用した。

3) 乳酸菌と嫌気性菌の混合培養法

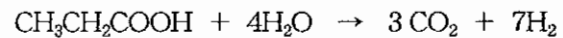
嫌気性菌は、有機酸の強力な分解能力を持っている。光合成細菌である *Rhodobacter* のごとくシアノバクテリア類とは異なり、その生物学的特徴は、古細菌類に属し、通気は必要でなく、液体培養においても下面にて生育することが出来、廃水等の大型のタンク培養処理には、好適な菌と考えられる。しかし、代謝的に有機酸の分解が完全でなく、有機酸の蓄積をする欠点をもつため、何らかの改良が必要である。これらの嫌気性菌の弱点を補うためまず、発酵の初期段階で強力な乳酸菌で乳酸発酵をし、生成される乳酸を発酵原料として *C. butyricum* を培養することでより効率良く水素発酵できると考えた。これらの仮定に立ち、今回は前段で *Lactobacillus plantarum* で最も生ゴミ等の有機物を乳酸発酵させ、後段で *C. butyricum* でもって嫌気発酵し、生ゴミ等の有機廃棄物より効率よく水素を発生させることを検討した。

さらに、実験的には、*C. butyricum* の有機酸発

酵能を利用し、前段で *C. butyricum* により生ゴミ等の有機廃棄物を有機酸発酵させた後に *Rhodobacter sphaeroides* RV 株によって明反応にて有機酸分解し、水素を発生させるパイオマス法を検討した。

5. 水素生産における有機酸・消費 Glucose・発生水素の定量

1) 嫌気性菌や光合成細菌の有機酸代謝は一般的に表すと、次のごとくなる。その代表例としてプロピオン酸の分解反応を示す。



この式に従って発生ガスを水上置換により捕集する。上の式にあるごとく二酸化炭素を発生するため発生ガスを NaOH 水溶液を通して CO₂ を除去しながら H₂ ガスの発生を測定した。

水素発生を行う培養は光合成の場合は 500ml ルー flasコ中で 60W タングステンランプ(10,000 lux)で照射しながら培養を行う。

2) 有機酸の定量

有機酸の定量は、培養上清を HPLC(Shimadzu) を用いて分離カラム (ULUTRON PS-80H, TOHSO) で分離した。

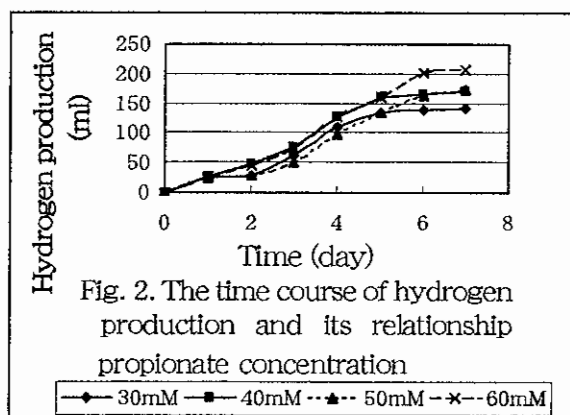
3) グルコースの定量

グルコース濃度は、Glucose oxydase 法によるグルコース CII-テストワコー (和光純薬工業) を用いて測定した。Glucose oxydase 法は、oxydase による基質発色後、UV-160A (505nm, Shimadzu) で得られた検量線にて算出した。

6. 水素発生量における基質の種類と濃度および経時変化

1) 実験例1

Rhodobacter sphaeroides RV 株による水素発生実験を示す (Fig. 2)。



有機酸として最も水素発生量の多かったプロピオン酸を基質として水素発生量の経時変化とグラフに示す。このグラフからも分かるように、プロピオン酸の濃度依存性と6日間の培養によってほぼ発生量の最大値があると推定される。

2) 実験例2

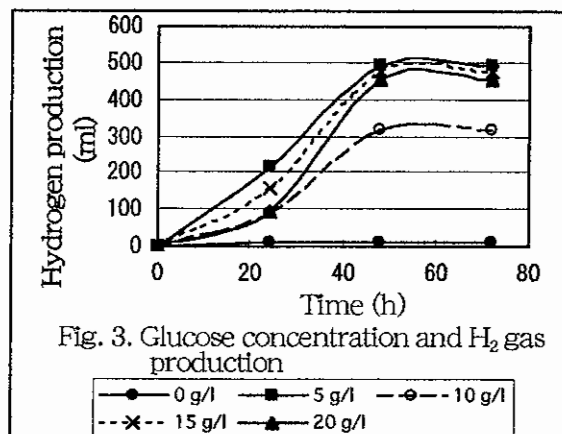
実験例1と同様な実験として

水素発生実験に *C.butyricum* を用いた実験を示す。

本実験では、*C.butyricum* を発酵菌として種々のグルコース基質による水素発生能をグラフに示す。SC-E1 培地において80時間の嫌気培養を行い、その発生量を観ると50時間においてその最大値を観察した。50時間以降は、ほぼ水素発生量は plateau に達していた。その結果を Fig. 3 に示す。

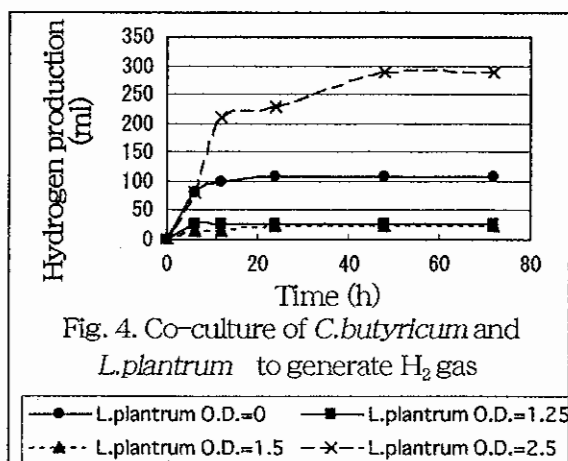
グルコースの濃度依存性は5 g/lにおいて最大で

あり、20 g/l でも同じであった。これは *C.butyricum* によるグルコース代謝における Feed back control 系が存在すると考えられる。



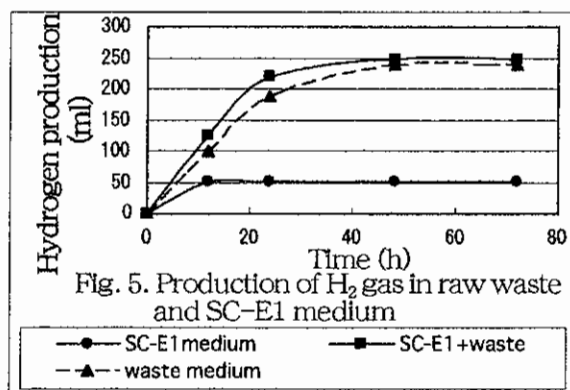
3) 実験例3

乳酸菌との混合培養による水素発生量の経時変化のグラフを示す。本実験は、*Lactbatllus plantarum* と *C.butyricum* の混合培養を行った。その目的は、*C.butyricum* の水素発生において Glucose→有機酸としての乳酸→有機酸分解による水素発生の代謝経路が考えられるからである。このような例では *C.butyricum* と *Streptococcus faecalis* との混合培養例が挙げられる。その時の実験結果を Fig. 4 に示す。



7. 生ゴミ分解による水素発生の検討

以上の結果を充分検討し、生ゴミを生分解することによる生ゴミ消滅法とその際生じる水素の発生量の経時変化を観察した。この実験の際に検討する点として生ゴミの排出される量とその成分の問題がある。統計によると日本国内において年間排出されるゴミは約 5000 万トンであり、その約 4割 2000 万トンが生ゴミとされている。さらに、その成分比は標準的なものとして乾燥重量あたり 40%がセルロースを含む糖質である。Glucose に換算すると直接還元糖は 12.5%含まれる。その他生ゴミには、タンパク質成分、脂質成分、ビタミン類も存在し、*C.butyricum* のごとく嫌気性菌には生ゴミは良好な基質となることが考えられる。



このことから *C.butyricum* のような嫌気性菌を培養し、バイオマス作用させることにより生ゴミの完全消滅を将来的な有用燃料と考えられる水素を得て水素をエネルギー源として完全循環型リサイクル社会が構築されると考えられる。その概念図を Fig. 6 に示す。

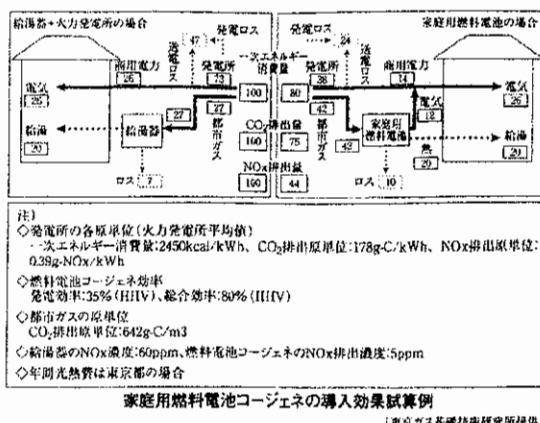


Fig.6. 完全循環型リサイクル社会の概念

8. 結論

本研究室では、偏性嫌気性細菌 *C.butyricum* さらに *Lactbatilus plantrum* と *C.butyricum* の混合培養を用いて有機酸や生ゴミと基質としてクリーンエネルギー源である水素生産の検討を行った。

基質にグルコースを使用した最適な培地 (SC-E1 培地) で水素発生したときは、48 時間で約 500ml の水素を得られた。この時、最終生成物は酢酸と酪酸であった。生ゴミの培地では、48 時間で約 250ml の水素を得た。この時の基質は、生ゴミ中の主たる栄養源であるセルロースやデンプンであると考えられ、有機酸としての最終生成物はプロピオン酸と酢酸であった。特筆すべきは *C.butyricum* はセルロースの分解能が非常に良いことが確認でき、従来から大きな社会問題となっている製紙工場の廃液などの分解処理も可能であると考えられる。また本研究により新たに解明されたことは、*C.butyricum* を使うことにより、生ゴミから有機酸発酵をすることなく 1 ステップで水素の持っていけることも示された。

これにより、水素発生する際の前処理は不要であり、時間とコストを減らすことが可能であることが分かった。本実験により *C.butyricum* は *Rhodobacter* よりも水素の生産速度が非常に速いことも確認できたが、その欠点としては 48 時間位で失活してしまい。その水素発生能が長く続かないので、この点はプロセスや菌体の性質を改良しなければならない点と考えられる。また、脂質等によって菌体の活性が低下してしまう傾向があることから、生ゴミを資源として有効活用する場合には、生ゴミ培地の組成によって使用する菌体を選択し、水素発生や PHB 蓄積に持っていくことが必要なのではないかと考えられる。

菌体を利用した生ゴミやその生ゴミをスラリー化した有機廃液からの水素生産は廃棄物の有効資源化であり、廃液の浄化の作用も有しているため、環境保全に役立つ技術である。

本研究に基づき、この技術の工業的な実用化は可能であり、これからのクリーンなエネルギーである水素生産の一端を担って行けるものであるということや生ゴミのゼロエミッションサイクルの完全循環型社会がバイオマスのよって可能であると考えられる。

参考文献

- 1) Nakajmura, H : Act phytochem., 10, (1937) p. 211-218
- 2) Gest, H., et al ; Science, 109, (1949) p.558-559

- 3) White. A and Handler. P ; Principles of Biochemistry 6th edition, (1979) p.648-650
- 4) 神野 英 毅 ; The Japanese journal of Infection Control, Vol.10 (3), (2001) p.8-52
- 5) Nobuo I., Hiroyuki A., Katsuya U., Hideki K.; Annals of Neurology, Vol.50(2), (2001) p.150-156
- 6) 伊藤陽一郎, 森理恵, 森山理子, 神野英毅 ; JARMAN, Vol.21(1), (2001) p.9-13
- 7) 神野英毅 特許願「磁性粒子」
特願 2001-313974
- 8) 鈴木雄亮, 中島隆平, 小森谷友絵, 神野英毅 ; 第 15 回臨床微生物迅速診断研究会総会講演抄録集, (2002) p.28
- 9) H.Ushijima, H.Kohno, YM. Zhou, DTP. Lan, S.Peerakome, N.Maneekarn, S.Okisu, O.Nishio ; RECENT TREND OF ROTAVIRUS INFECTION IN JAPAN, THAILAND AND VIETNAM, XII th International Congress of Virology, (2002) p.470
- 10) 杉浦広和, 杉山晋一, 中島隆平, 神野英毅 ; 日本農芸化学会 2002 年度大会講演要旨集, (2002), p.91
- 11) 小森谷友絵, 吉川浩司, 鈴木雄亮, 寺本奈津子, 神野英毅 ; 日本農芸化学会 2002 年度大会講演要旨集, (2002), p.298