

微生物共生系を利用した廃バイオマスの再資源化

原田 和生, 平田 收正*

産業革命以来, 大量生産, 大量廃棄型の社会が形成され, 地球温暖化や水質汚染などのさまざまな環境問題が引き起こされ, 人類の生存基盤が脅かされている. 今後, 人類は環境保全と経済発展に一定のバランスを保つ, 持続可能な発展を実現していかなければならない. 持続可能な発展を実現する手段として, リサイクルを取り入れた産業体系の確立が挙げられる. 特に食物の可食部分を取り除いた後, 廃棄される余剰バイオマスの有効利用技術の開発は急務である.

微生物共生系による水素生産

2007年本誌においても紹介したが¹⁾, 筆者らは, デンプンの有機酸醗酵が可能な細菌と有機酸を基質とした水素生産を行うことができる光合成細菌の共生系を構築し, 微細藻類バイオマスを原料とする水素生産に取り組んできた. 最初にし尿処理場の活性汚泥から, デンプンを原料とした水素生産が可能な共生系を単離した. この共生系の構成細菌については, 16S rRNA 配列に基づく相同性検索から, 通性嫌気性菌 *Vibrio fluvialis*, 光合成細菌 *Rhodobium marinum* および遊走菌 *Proteus vulgaris* であることが明らかになった. このうち, *V. fluvialis* T-522 株と *R. marinum* A-501 株からなる共生系を用いて, 代表的な淡水性緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* および海産性緑藻 *Dunaliella tertiolecta* を原料とし, 水素生産を行ったところ, それぞれ理論収率 (グルコース 1 mol から理論上 12 mol の水素が生成する.) の 52, 22% に相当する水素を得ることができた²⁾.

しかしながら, T-522 株が生成する酢酸やエタノールは, 水素生産の基質としては乳酸やリンゴ酸などに劣るため, A-501 株の有する水素生産活性を引き出せていないことが推測された. そのため, デンプンを光合成細菌の最も良好な水素生産基質である乳酸に変換する菌を探索したところ, 乳酸菌 *Lactobacillus amylovorus* がその候補に挙げられた. 当該乳酸菌を上述の緑藻に添加すると, 乳酸菌が藻細胞の内部まで侵入してデンプンを分解し, 乳酸に変換することが可能であった. 藻細胞を予め凍結

処理により破壊しておく, 当該乳酸菌はデンプンをほぼ 100% 乳酸に変換し, また, 生細胞のまま用いた場合でも 60~80% 程度の変換率を達成した³⁾.

L. amylovorus による乳酸発酵と A-501 株による水素生産についてさまざまな条件検討を行った結果, これらを同時に進行させる人工的な共生系によって, *D. tertiolecta* バイオマス由来のデンプンから理論値の 61% に相当する水素生産が達成された⁴⁾. また, *D. tertiolecta* バイオマスを原料とした場合, 同濃度の可溶性デンプン溶液に比べ, 光合成細菌において水素生産を担うニトロゲナーゼ活性がより早く上昇, 長時間維持されることが確認されており, 水素生産に利用するバイオマスとして有用であることが示された.

以上は, 微細藻類バイオマスを水素に変換する手法について焦点を当てて研究を行った成果である. しかし, 生物による水素生産能力を最大限に引き出せたととしても, 現状ではバイオ水素の生産コストは化石燃料由来の水素に比べ高くなることが問題となる. そこで, 筆者らは原料を生産コストがまったくかからない食品廃棄物に代え, 廃棄物処理と水素生産を同時に行うことで, コスト削減, 環境保全技術の提供を目指した.

米粉工場排水からの水素生産

米は日本国内で自給可能な数少ない農産物である. 国民一人当たりの消費量は激減しているが, バイオ燃料原料としての需要増大などを背景に, 穀物の国際相場は高騰しているため, 小麦粉代替品として日本国産の「米粉」が脚光を浴び, 農林水産省は 2009 年に米穀の新用途への利用促進に関する法律を成立させるなど, 米粉の増産支援に乗り出している. したがって, 今後, 米粉の生産量が增大することが予想されるが, その生産工程で生成する廃棄物も有効利用できれば, 米粉製造業者にとって新規収入源の創製となり, また周辺環境の保全, 循環型社会形成に貢献することができる.

米粉製造工程から高濃度のデンプン, 窒素, リンを含む排水が生成する. 当該排水のデンプン量は, 上述

*著者紹介 大阪大学大学院薬学研究科 (教授) E-mail: hirata@phs.osaka-u.ac.jp

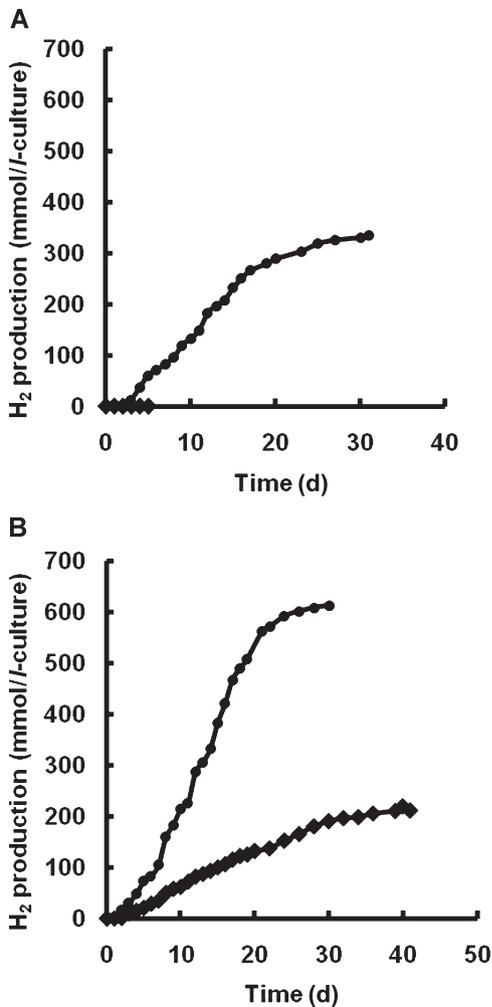


図1. *L. amylovorus* と *R. marinum* から構成される人工共生系による標準デンプン溶液および米粉工場排水を原料とした水素生産。A：水素生産促進因子（グルタミン酸、酵母エキス）を添加しなかった場合、B：水素生産促進因子を添加した場合。

した人工共生系、つまり *L. amylovorus* と *R. marinum* を用いた水素生産システムにおける最適値に近い1%前後のデンプンを含んでおり、未減菌、未希釈の排水から水素生産を行うことができる。実際に、当該人工共生系を用いて水素生産を行ったところ、排水のみで350 mmol/lの水素を生成することができた(図1)。デンプンに対する収率は30%であった。水素生産を促進する効果のある成分を添加すると、短期間で収率60%を達成することができた。さらに、培養後排水の生物化学的酸素要求量(BOD)、総炭素量(TOC)、総窒素量(TN)を測定した結果、元の排水に含まれる含量の8、10、10%まで低下していた(表1)。一方、総リン量(TP)は62%残存しており、環境基準(10 mg/l以下)もクリアできて

表1. *L. amylovorus* と *R. marinum* から構成される人工共生系を用いた米粉工場排水処理結果

	Concentration (before, mg/l)	Concentration (after, mg/l)	Removal rate (%)
BOD	17600	1325	92
TOC	7600	775	90
Total nitrogen	280	27.5	90
Total phosphorus	146	90	38

いなかった。リン除去率を向上させるために、*R. marinum* を連続的に添加し、菌体を回収する連続培養系を用いたところ、水素生産はさほど大きく向上しなかったが、リン除去率は93%まで向上し、排水処理手法としては有効な手段であると捉えることができる⁹⁾。また、生産した水素を工場内で使用するエネルギーとして再利用すれば、直接消費電力の削減につながる。しかし、水素生産速度のさらなる向上を達成できなければ、完全な循環型システムの実現は困難であると思われる。

光合成細菌の脂溶性抗酸化物質

有機酸から水素を生成する光合成細菌の多くは、光捕集系としてカロテノイドを豊富に含む。また、電子伝達に必要なキノン類、細胞膜に存在する脂質を光酸化から保護するトコフェロール類を高濃度に蓄積する菌も多数存在する。ちなみに、筆者らが微細藻類バイオマスの水素変換に用いた *R. marinum* は、サプリメントであるコエンザイム Q₁₀ (CoQ₁₀) の製造原料として利用されている光合成細菌である。したがって、これらの脂溶性抗酸化物質が水素生産の副産物として培養物から得られることになる。これらの物質を有効利用することができれば、水素生産に係るコストを削減することが可能となる。

まず、有機酸から効率的に水素を生成する代表的な光合成細菌に含まれるキノン類、トコフェロール類の含量、そして、細胞抽出物の抗酸化活性を、通常の継代条件下と水素生産条件下で培養した菌体を用いて比較した。試験に供した光合成細菌は *R. marinum*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodobacter capsulatus* である。その結果を図2に示す。いずれの菌においても水素生産条件下において、CoQ₁₀ 含量、 α -トコフェロール含量、抗酸化活性は有意に上昇した。この結果は、水素生産条件下での脂溶性抗酸化物質生産の有用性を示している。光合成細菌が水素生産を行う生理的意義は、余剰還元力の消費と考えられてい

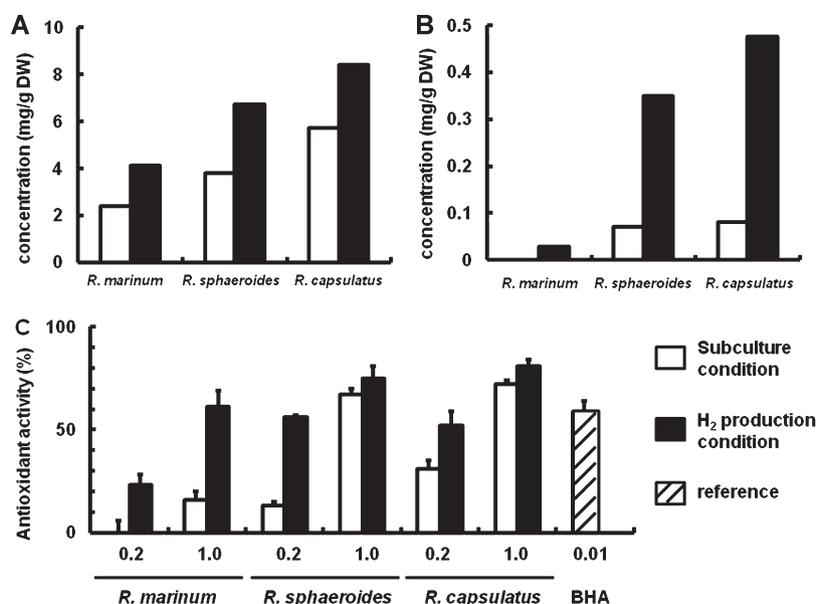


図2. 水素生産条件と非生産条件の光合成細菌の脂溶性抗酸化物質含量と抗酸化活性。(A) ubiquinone 含量, (B) α-tocopherol 含量, (C) β-carotene 退色法測定結果(添加したβ-caroteneが120分後, 全く退色しない場合を100%とした).

表2. 人工共生系を用いた米粉工場排水処理で回収されるバイオマス

	<i>R. sphaeroides</i> NR-3	<i>R. marinum</i> A-501
Bacterial biomass (gDW/l)	2.06	1.13
CoQ ₁₀ (mg/gDW)	0.672	0.153
Antioxidant activity (%)*	43.3	21.2

*β-carotene 退色法により測定. 120分後, 添加したβ-caroteneが全く退色しない場合を100%とした.

る. そのような状態にある細胞では, 他の酸化ストレス耐性機構も亢進し, 結果, 脂溶性抗酸化物質の含量が上昇すると考えられる.

米粉工場排水処理と脂溶性抗酸化物質の生産

R. marinum は乳酸からの水素生産には適しているが, 図2に示す通り, 当該細菌より CoQ₁₀, α-tocopherol 含量が高い光合成細菌が多数存在する. そこで, CoQ₁₀ 含量が高く, さらに増殖速度, リン除去能も高い *R. sphaeroides* NR-3 株を広島国際学院大学佐々木健教授から譲渡して頂き, 同様の試験を実施した. まず初めに, 米粉工場排水を *L. amylovorus* により乳酸発酵させた液を用いて NR-3 株を培養した. その結果, 水素発生は認められなかったが, 菌体量, 抗酸化活性, CoQ₁₀ 量は非常に高い値となった(表2). さらに BOD, 総炭素量, 総窒素量,

総リン量の除去率も高く, 排水処理としての能力も非常に高いことが示された. また, 当該システムではすべての処理を3日で完了することができ, 前述の水素生産システムに比べ, 非常に短期間で排水処理, 再資源化が可能であることが示された⁶⁾. しかしながら, 本菌株を *L. amylovorus* と共培養したところ, 予想に反して, NR-3 株はほとんど増殖せず, デンプンから乳酸への変換のみ進行した. 上述の二段培養系では NR-3 株を植菌する段階で, 乳酸生成により低下した pH を 5 付近に調整する必要があった. NR-3 株の植菌量を増やせば, 生成した乳酸を即座にバイオマスに変換することが可能と考えられるが, 現在のところ, それは達成できていない.

今後の展開

以上, 筆者らが行ってきた発酵細菌と光合成細菌の共

生系による廃バイオマスの再資源化システムについて紹介した。今後は、排水処理システムとしてのさらなる効率化、多種多様な食品加工工場廃棄物への対応、培養生成物の付加価値の評価、あるいは他の高付加価値物質への変換などが課題となる。

多種多様な食品加工工場廃棄物への対応については、デンプンをターゲットとするだけでも、国内外でさまざまな需要がある。近年は讃岐うどんが全国的にブームとなったが、このゆで汁の処理も問題となっている。このゆで汁には高濃度の塩も含まれており、筆者らが用いてきた *L. amylovorus* では処理が難しい。東南アジアではキャッサバ、サゴヤシ、タピオカなどから生成する廃棄物も問題となっている。これらの廃棄物を筆者らのシステムで処理することは可能であるが、原料ごとに培養法の最適化が必要になってくる。

他の高付加価値物質への変換については、本稿で述べた脂溶性抗酸化物質の他に、5-aminolevulinateなどは農作物の生長促進作用があり、魅力的なターゲットである。さらに近年は発展途上国において、家畜、養殖魚介類への抗生物質乱用が問題となっている。特に使用する必要のない抗生物質を多用することにより、残留薬品が

人体に影響を及ぼすことが懸念されるほか、耐性菌が出現し、家畜、魚介類、さらには人に蔓延する可能性が指摘されている。家畜、養殖魚介類の免疫活性を向上させる物質を産生する光合成細菌を育種すれば、これらの問題に貢献できる機能性飼料、餌料の開発が可能となる。飼料、餌料は環境中に放出することになるので、遺伝子工学的手法による分子育種は現状不可能であるが、今日までに収集されてきた光合成細菌のライブラリーを用いたスクリーニングなどは可能である。動物細胞の免疫賦活化活性を指標にしたスクリーニングなど、獣医学、農学分野との連携により、排水処理と同時に高付加価値機能性飼料、餌料の開発が進展するのではないだろうか？

文 献

- 1) 平田収正ら：生物工学, **85**, 212 (2007).
- 2) Ike, A. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **88**, 72 (1999).
- 3) Ike, A. *et al.*: *J. Ferment. Bioeng.*, **84**, 428 (1997).
- 4) Kawaguchi, H. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **91**, 277 (2001).
- 5) 山本庸介ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 24 (2007).
- 6) 館下麻由美ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p.329 (2009).
- 7) 原田和生, 平田収正：日本生物工学会大会講演要旨集, p.279 (2009).