

研 究 成 果

<p>サブテーマ名：1-2-4 固形残渣の再利用技術の研究開発 小テーマ名：1-2-4① 固形残渣の再利用技術 1-2-4② 遺伝子組換え技術に関する基礎的研究</p>
<p>サブテマリーダー：産業技術総合研究所中部センター 鈴木憲司（現名古屋大学） 研究従事者：三重大学 大宮邦雄 産業技術総合研究所中部センター 鈴木憲司（現名古屋大学） (財)科学技術交流財団 森本兼司、ベル スプラマニ</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要</p> <p>本研究における主目的は、家庭から排出される生ゴミをディスポーザーで破砕し固液分離によって得る固体分（固形残渣）を微生物処理により可溶化し、発生するガスをエネルギー源として利用することにある。</p> <p>処理方法としてはメタン発酵法を選択する。メタン発酵法は、実用化されている例もあるが、問題点もいくつか挙げられる。中でも処理時間が膨大に要することから迅速なメタン発酵法の確立が求められている。メタン発酵処理では発酵槽を二槽用いることにする。第一発酵槽では、水素生産菌叢で生ゴミを分解して発酵させ、水素や有機酸（酢酸など）を主に生産する。生ゴミ投入時の水素発酵槽の pH は 5～6 であるが、発酵が進むと 4 前後に低下する。第二発酵槽では、第一発酵槽で得られるメタン発酵にとって良い基質を含む液をメタン発酵菌叢で処理してメタンを生産する。この発酵槽では、pH は 7～8 に維持される。二槽に分離する理由としては、メタン発酵菌槽に固形残渣を直接投入すると増殖の早い水素発酵菌叢が主要菌叢となり上記の pH 変化のためにメタン発酵菌叢が激減するからである。またメタン発酵後の廃液を水素発酵槽へ戻すことで、発酵槽の pH 調整を行うことができ、さらに持ち込まれるメタン発酵菌叢中の水素生産菌が優勢となるため水素発酵が進行するという利点がある。一般に、水素・メタン発酵は長時間を要するので、関与する主要菌株（水素生産菌）に遺伝子を導入して固形残渣分解機能や水素生産その他の機能を高め、エネルギー物質への変換反応を促進することも研究目的に含まれる。また生産したメタンガスは有機廃棄物の再資源化技術の研究開発 WG の高温ガス化へ供給する。</p> <p>生ゴミ固形残渣のメタン発酵により得られるガス（メタン、二酸化炭素）を出発原料として水素を製造する反応及び触媒を決定する。具体的には、メタンの二酸化炭素リフォーミング反応用触媒、同時に副生する一酸化炭素の水性ガスシフト反応用触媒、メタンの直接分解により水素を製造する触媒及び同時に副生する炭素を出発原料として水素を製造する触媒の開発を実施する。しかしながら、水素製造触媒開発は、有機廃棄物の再資源化技術の研究開発 WG との連携を考慮し、メタンガスを供給することが良いとの判断から平成 12 年度をもって中止した。</p> <p>②研究の独自性・新規性</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 遺伝子組換え菌株を水素・メタン発酵菌叢の両方に添加することでメタン発酵を促進させる例は現在のところ見当たらない。 2. メタン発酵槽（第二発酵槽）から抜き取った廃液を水素-有機酸発酵槽（第一発酵槽）に戻すことにより、第一発酵槽の pH を調整するとともに、廃液量を減らす工夫は他に見当たらない。 <p>③研究の目標（各フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に）</p> <p>生ゴミ中の固形残渣をメタン発酵により減少させエネルギー回収を促進させる技術を開発する。</p> <p><最終目標> メタンガス発生量：既存技術の 10%増（1.1L-gas/L-culture/d） 固形残渣処理能力：既存技術の 10%増</p> <p><u>フェーズⅠでの目標</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・水素生産菌及びメタン発酵菌叢の探索を行う。 ・発酵条件を検討し、固形残渣の分解時間の短縮化を図る。 ・遺伝子組換えした水素発酵菌の作出とその育種を行う。 ・組換え菌を含む水素発酵菌叢とメタン発酵菌叢との混合培養法を確立する。 <p><u>フェーズⅡでの目標</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・効率的なメタン発酵を実現するメタン発酵システムを構築する。
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・水素生産菌及びメタン発酵菌叢の探索 水素生産菌及びメタン発酵菌叢のスクリーニングを行い、発酵能の大きい微生物を選定する。（達成度 100%） ・発酵条件の検討と分解時間の短縮化 生ゴミの固形残渣から効率よくメタンガスを生産するための発酵条件を決定する。また、固形残渣の分解時間を短縮することが可能なシステムの確立を行う。（達成度 80%） ・遺伝子組換えした水素発酵菌の育種 水素発酵を促進させた水素発酵菌の遺伝子組換え体を作出し、その水素生産能を確認する。（達成度 100%） ・組換え菌を含む水素発酵菌叢とメタン発酵菌叢との混合培養法の確立 ・遺伝子組換え水素発酵菌を水素発酵槽及びメタン発酵槽に添加し、効率的なメタン発酵が可能となる培養条件を確立する。（達成度100%）

- メタン発酵システムの構築
上記の様々な検討から得られる結果を基にして効率的なメタン発酵を可能とするメタン発酵システムを構築する。(達成度80%)

主な成果

具体的な成果内容：

- 水素生産菌及びメタン発酵菌叢の探索
水素生産菌及びメタン発酵菌叢をそれぞれ探索し、水素生産能が高いクロストリジウム パラプトリフィカム (*Clostridium paraputrificum*)を分離した。本菌は、1モルのN-アセチルグルコサミン (炭素源)あたり約2.0モルの水素を生産できる。メタン発酵菌叢は、既存技術とほぼ同レベルの1Lのメタン発酵槽から1000mlのガスを発生できることが判明した。キチン分解能の高い水素生産菌の利用法について特許を1件出願し、4報の論文を発表した。
- 発酵条件の検討と分解時間の短縮化
メタン発酵菌叢に固形残渣を直接投入すると増殖の早い水素発酵菌叢が主体となり、メタン発酵が停止した。そこで、水素発酵後にメタン発酵させるシステムに変更したところ、効率的なメタンガスの生産が可能となった。水素発酵後の処理液をメタン発酵槽 (例：1L)の体積の10-15%程度 (例：100-150mL)になるようにメタン発酵槽に添加すると約1日で処理が可能である。また、水素発酵とメタン発酵を組み合わせることで水素発酵単独に比べ固形残渣を減少させることができた。
- 遺伝子組換えした水素発酵菌の育種
メタン発酵を促進させるために遺伝子組換え技術を用いて水素発酵菌クロストリジウム パラプトリフィカム (*Clostridium paraputrificum*)の水素生産能を約1.8倍に増加することに成功した。水素発酵菌への遺伝子組換え方法及び遺伝子組換えによる水素生産能を向上させた水素発酵菌に関する特許2件を出願した。
- 組換え菌を含む水素発酵菌叢とメタン発酵菌叢との混合培養法の確立
遺伝子組換え水素発酵菌を水素発酵槽及びメタン発酵槽へそれぞれ添加することによりメタン発酵の立ち上げ時にメタンガス濃度が向上し、ガス生産量が増加する傾向が見られた。
- メタン発酵システムの構築
発酵槽を水素発酵槽とメタン発酵槽の二槽にし、メタン発酵後の廃液を水素発酵槽へ戻す二槽分離循環システムを構築した。これにより廃液を大幅に減少させることができ、また効率的なメタン発酵を実現することができた。
特許件数：5件 論文数：11件 口頭発表件数：10件

研究成果に関する評価

1. 国内外における水準との対比

- 探索した水素・メタン発酵菌叢は既知の菌叢と比較して見劣りしないレベルの能力を有している。
- 水素発酵槽のpHをメタン発酵槽の発酵液を添加することにより既存技術と同じ6~8に調整でき、発酵速度を高く維持できる点も新規性が高い。
- 水素発酵及びメタン発酵を二段階で処理する考えは、よく知られている技術であるが、メタン発酵槽からの廃液を水素発酵槽に戻して循環させる考えは発表されていない。
- 遺伝子組換え技術によって作出した水素高発生菌は既知のレベルと比較すると格段に水素発生量が高い。
- 既存の技術では、メタン発生効率 $1.0L\text{-gas}/L\text{-culture}/d$ 程度であり、固形残渣もかなり残る状態である。本技術では、これらの点を著しく改良できた。この点に関しては、既存のレベルを上回っていると自己評価している。

2. 実用化に向けた波及効果

- 探索した水素生産菌であるクロストリジウム パラプトリフィカム (*Clostridium paraputrificum*)は、キチンをよく分解する。これを用いてキチンを主成分とするエビ・カニなどの殻を利用して水素発酵させエネルギーの回収することが可能であり、同時にゴミを減少させることに応用できる。
- 水素生産菌の遺伝子導入方法は、同菌に様々な遺伝子を導入させることが可能であるため実用化に向けて目的に応じた遺伝子を強化し応用することができる。

残された課題と対応方針について

本研究は、ラボレベルでの十分な結果が得られたとの判断により平成14年度で研究を終了した。

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H11	H12	H13	H14	H15	H16	小計	H11	H12	H13	H14	H15	H16	小計	
人件費	3038	10471	7111	7245			27,865	11072	14796	4430	2550			32,848	60,713
設備費	6514	8343	3774	459			19,090	1330	2000	0	0			3,330	22,420
その他研究費	3150	3461	3722	2614			12,947	7685	2072	4483	3000			17,240	30,187
旅費	208	219	287	101			815	0	0	0	0			0	815
その他	41	288	624	1162			2,115	0	0	0	0			0	2,115
小計	12951	22782	15518	11581			62,832	20087	18868	8913	5550			53,418	116,250

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T負担による設備：二槽分離循環型メタン発酵システム、液体クロマトグラフィー、嫌気性チャンバー
地域負担による設備：なし