

総 説 (特集)

超好熱菌による廃棄バイオマスからの連続水素生産

Continuous Hydrogen Production by the Hyperthermophile *Thermococcus kodakaraensis* KOD1

今中 忠行
TADAYUKI IMANAKA

生命館大学生命科学部 〒525-8577 滋賀県草津市野路東1-1-1
TEL: 077-561-5811 FAX: 077-561-5811
E-mail: imanaka@sk.ritsumeikai.ac.jp

Department of Biotechnology, College of Life Sciences, Ritsumeikan University, 1-1-1 Noji-Higashi, Kusatsu, Shiga 525-8577, Japan

キーワード: バイオマス, バイオガス, 水素生産, 超好熱菌, 連続培養, 遺伝的改良

Key words: biomass, biogas, hydrogen production, hyperthermophile, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1, continuous culture, genetic improvement

(原稿受付 2009年10月8日 / 原稿受理 2009年11月2日)

1. はじめに

世界人口の急激な増加により、食料、エネルギーに加えて環境問題が重要な人類の課題になっている。毎年日本では約5億トンの廃棄物が出ているが(図1)(環境省環境白書)、そのうち食品加工工場から廃棄されているバイオマスは年間約1,136万トンであり、1トンの処理費用は約25,000円であるから約4,300億円の費用がかかっている。食品関連産業における廃棄物の再資源化については2000年に「循環型社会形成推進基本法」が、2001年には「食品リサイクル法」が制定・施行された。またバイオマスの利活用を発展させることと、地球温暖化防止のため、2002年に「バイオマス・ニッポン総合戦略」が閣議決定され、2005年には「京都議定書」が発効した。これらは地球温暖化の防止と循環型社会の形成に向け、貢献するものと思われる。本稿では、超好熱

菌を利用することにより、この廃棄バイオマスからクリーンエネルギーである水素を効率的に生産することが可能になってきた事例を紹介したい。

2. 微生物による水素生産の試み

水素ガスは、①単位重量あたり高い燃焼エネルギー(29,000 kcal/kg)を発生し、②燃焼によりCO₂、NO_x、SO_xを排出しないクリーンエネルギーであり、③燃料電池の動力源であり直接かつ高効率に電気エネルギーへ変換可能である。水素ガス製造の現状は天然ガスの水蒸気改質法であり、このような化石燃料の使用は地球温暖化につながる。これに対し、持続可能な将来のためには、再生可能なエネルギー源を利用した水素生産法の開発が急務である。その要請に応えるのが微生物による水素生産である(図2)。具体的には、光合成水素生産と

食品廃棄物処理の現状

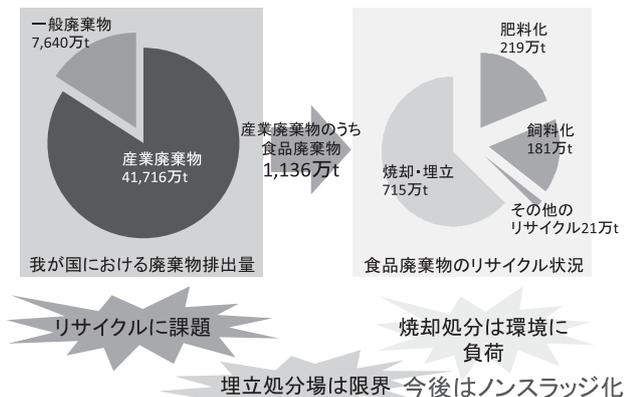


図1

微生物水素生産

光合成水素生産

生物種: 光合成細菌(紅色細菌および緑色細菌), シアノバクテリア, 藻類
特徴: 同時に炭酸固定を行う(紅色細菌を除く)
水素生産量は受光面積に比例 → 大量生産には大面積が必要

発酵水素生産

生物種: (通性)嫌気性細菌
... Clostridium 属, Enterobacter 属
特徴: 光合成水素生産と比較して高い水素生産速度をもつ
昼夜・天候に関係なく水素の連続生産が可能
未利用バイオマスや有機性廃棄物を水素生成に利用可能

図2

発酵水素生産の2つが考えられる。光合成水素生産には光合成細菌や藍藻などが考えられるが、水素生産量は受光面積に比例するため大量生産には大面積が必要になりスケールアップが困難である。さらに夜間や雨天では十分に機能しないのが欠点である。これに対し、発酵水素生産には *Clostridium* 属、*Enterobacter* 属などの(通性)嫌気性細菌の使用が考えられる。これらは光合成微生物と比較して高い水素生産速度を有しており、昼夜・天候には関係なく水素の連続生産が可能であり、未利用バイオマスや有機性廃棄物を水素生産に利用可能である。しかし、常温菌を利用しようとしても廃棄物中の雑菌に汚染されうまくいかないのが現状である。そこで超好熱菌が水素生産の候補と考えられるのである。

3. 超好熱菌

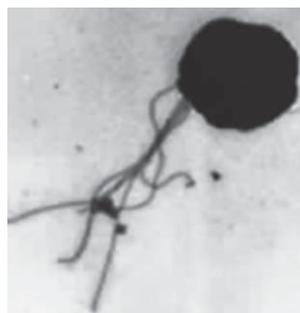
私たちは1993年に鹿児島県小宝島の温泉から超好熱始原菌(*Thermococcus kodakaraensis* KOD1株)を分離した(図3)¹⁾。本菌は60~100°Cで生育する嫌気性菌であり、細胞は直径が約1μmの不定球菌で複数の鞭毛を有している始原菌であった。このゲノムサイズは20,880,737塩基対(大腸菌染色体の半以下)であり、2,300個程度の遺伝子をコードしていることも判明した²⁾。DNAチップを用いたトランスクリプトーム解析や、特異的遺伝子破壊法を開発するなどにより、多くの新しい酵素や代謝経路を発見することができた。その結果、比較的簡単な代謝経路を利用して、水素を生産することもわかった(図4)³⁾。すなわち、デンプン(グルコース1モル=180g)から2モルのピルビン酸を生成する過程で2モルの水素を生産し、さらにピルビン酸から2モルの酢酸を生成する過程でさらに2モルの水素を生産するので、計4モル(約90リットル)の水素生産が可能である。炭素源としてピルビン酸を与えた場合には、酢酸への酸化過程で等モルの水素が生産できる。さらに本菌は遺伝子破壊(交換)系が確立しているので⁴⁾、水素を消費する還元的代謝系を破壊することにより、さらに効率的な水素生産も期待できる⁵⁾。

嫌気性超好熱菌

嫌気性超好熱菌の利用:

- 高温(60 - 100°C)での培養
- 発酵による水素生産

↑
常温菌による水素生産は、
廃水処理現場では不可能
であるため、メタン発酵が
行われている。



Thermococcus kodakaraensis
KOD1

図3

4. 超好熱菌による水素生産

食品加工工場の廃棄ジャガイモデンプンを利用する場合、85°Cでの高温培養のメリットとして、①雑菌汚染の予防、②デンプンの糊化(クッキング)、③燃料電池への導入が効率的であること、などが挙げられる。さらに培養の開始時には加熱して85°Cにしなければならないが、いったん培養が定常になると発酵熱が出るのと自然放熱のため、冷却水がほとんど不要であるのも利点である。

実際に、基本培地[MT-YT](3)にデンプンを添加して85°C(増殖最適温度)で回分培養した場合、デンプンの消費とともに菌体量が増加し、水素と炭酸ガスが2:1の割合で発生した(図5)。得られたバイオガスを燃料電池に導入すれば発電できる(図6)。一般に微生物の代謝産物は、増殖と密接に連動した代謝により得られる1次代謝産物と、微生物増殖とは直接連動しない2次代謝産物に大別されるが、ここで得られる水素は、菌体増殖と連動しているため一次代謝産物であることがわかる。それならば、水素の連続生産のためには、常に微生物が増殖し続けている連続培養が適当であろうということになる(図7)。すなわち新鮮培地を連続的に培養槽内に供給し、同速度で培養液を引き抜くと、一定の比

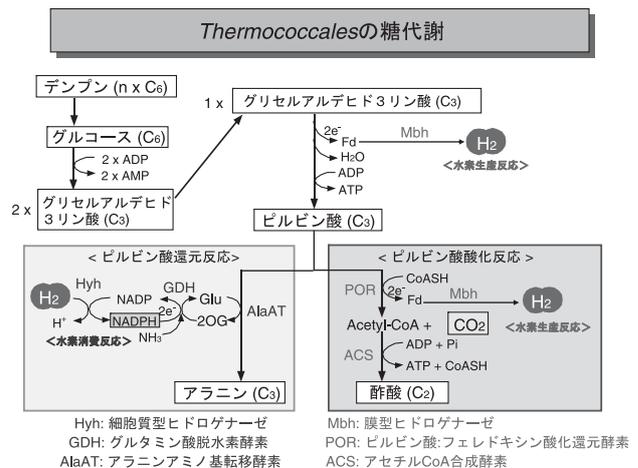


図4

*T. kodakaraensis*の回分培養 (MT-YT + デンプン)

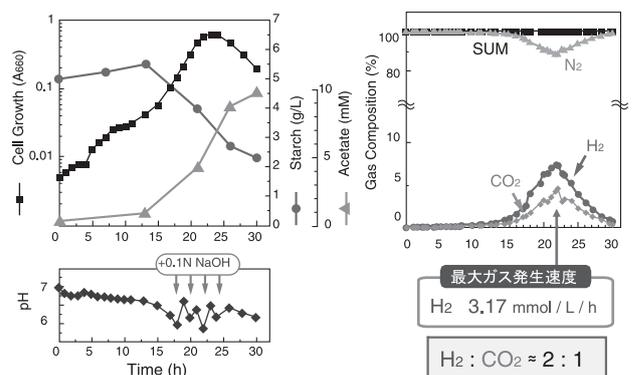


図5

増殖速度を維持することができるのである。希釈率 (D) = 液供給速度 (F) ÷ 培養液量 (V), で定義されるから、希釈率 = 1~2 h⁻¹ であれば、平均滞留時間はそれぞれ 1~0.5 時間となる。なお一定の希釈率で連続培養を続けると、やがてすべての変数が一定になるいわゆる定常状態が得られる。この場合、希釈率 (D) = 比増殖速度 [$\mu = (1/X) \cdot (dX/dt)$] となるのが理論的に導ける。したがって、希釈率を変えることにより、微生物の増殖活性を制御できるという利点もある。通常、あまりにも液供給速度を大きくすると微生物の増殖が追いつかず、やがて微生物が洗い流されてしまうことになり、この現象を wash out という。なお本菌の場合の wash out point は D=0.9 h⁻¹ であった。

5. 水素の連続生産

本菌を長期間にわたって連続培養した結果を図 8 に示す。希釈率 0.2 h⁻¹ を出発点として、徐々に流量を上げて定常状態での水素生産速度を比較したデータであるが、希釈率 D=2.3 h⁻¹ で最大値を示した。本菌の wash out point が D=0.9 h⁻¹ であったから、比較的早く実験が終了するだろうと思っていたが、希釈率を高めていって

もなかなか wash out しなかった。培養終了後、発酵槽を開いたところ、バイオフィームを形成した菌の固まりが認められた (図 8)。本菌は比較的バイオフィームを形成しやすい特徴を有しているため、担体 (スポンジ) を培養槽に設置し、微生物濃度を高く維持することを試みた。担体に形成されたバイオフィームの電子顕微鏡観察結果を図 9 に示す。小さな微粒子が超好熱菌である。担体の有無による水素連続生産量を比較したのが図 10 である。担体の効果が顕著であることが分かる。最大の水素生産速度は、毎時、培養液 1 L 当たり 0.7 L (約 35 m mol) であった。さらに最適の培養条件を設定したところ、水素生産量がさらに向上し、毎時、培養液 1 L 当たり 1.1 L (約 50 m mol) の水素を生産し続けることが可能となった。このニュースは読売新聞でも報道された (図 11)。

6. メタン発酵よりはるかに高効率で安価

従来の廃棄物からのエネルギー回収法では、通常メタン発酵法が採用されてきた。それは常温では水素生産微生物が雑菌により淘汰されてしまい、安定に培養するこ

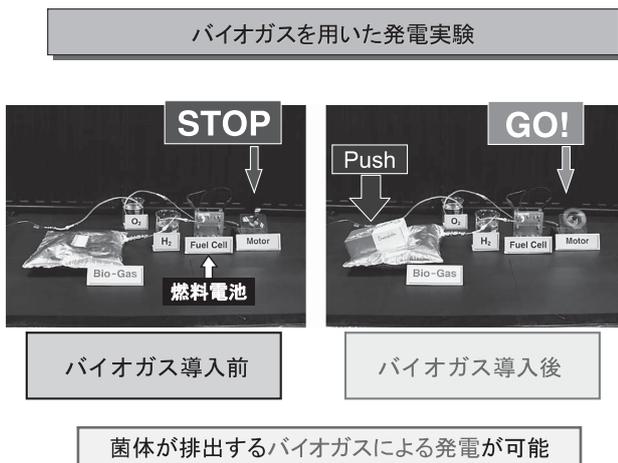


図 6

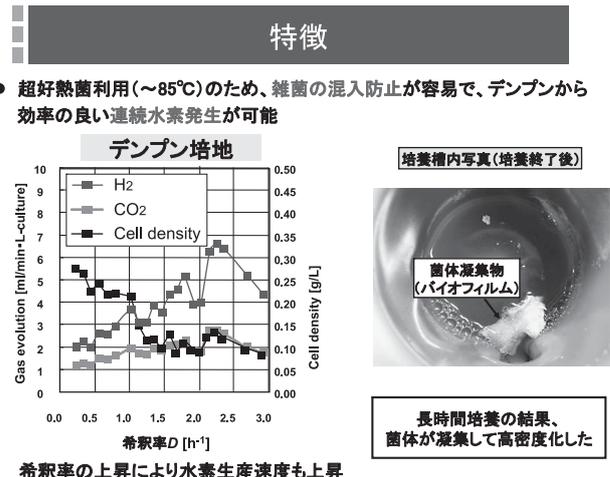


図 8

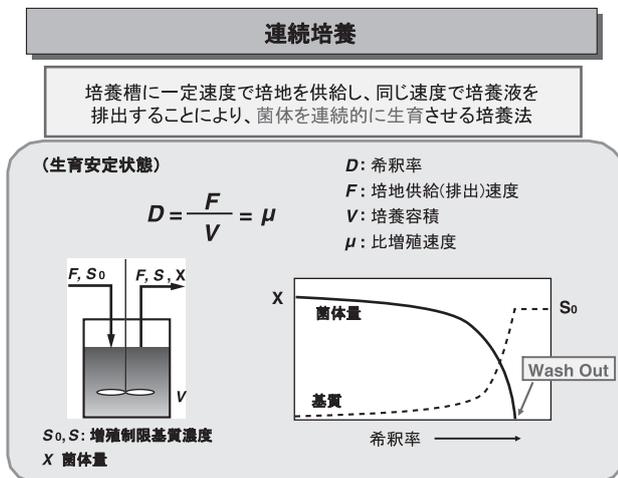


図 7

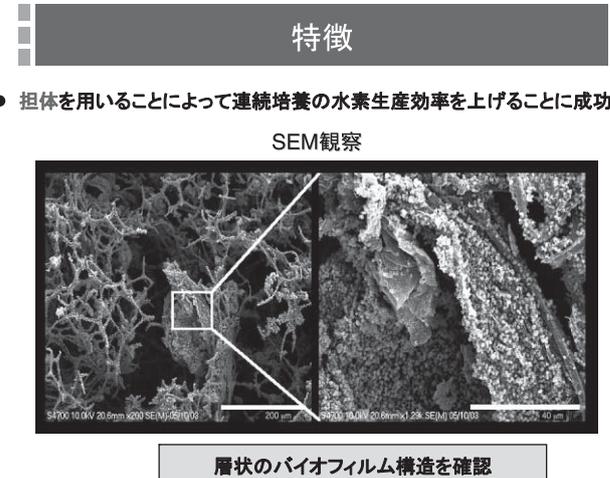


図 9

とができず結局メタン発酵しか連続的に安定運転することができなかつたためである。メタン発酵の平均滞留時間は約30日であるのに対し、超好熱菌連続培養の希釈率が1~2h⁻¹であるから平均滞留時間は1時間から30分間になり、われわれが行ってきた水素生産発酵法の方が約700~1,400倍の高効率になる。したがって発酵装置も約千分の一になるため初期投資額が大幅に減額される。またメタン発酵法で得られたメタンは別のプロセスを使って水素に変換しなくてはならないから無駄なエネルギーを使っていることにもなる。メタンから変換された水素中には硫化水素・一酸化炭素・アンモニアなどが含まれているので、燃料電池に導入するに際してこれら

の不純物を除去しなくてはならないから、高価なものにならざるを得ない。これに対し、超好熱菌により生産されるガスは水素2；炭酸ガス1の割合であるから簡単に炭酸ガスを除去できるし、不純物は混在しないので燃料電池も比較的安価になると考えられる。ここで示したように、処理費用がかかっていた廃棄デンプンからの効率的な水素生産は、環境問題とエネルギー問題を同時に解決する一石二鳥の方法であり、未来の新エネルギー開発の期待を担っている。

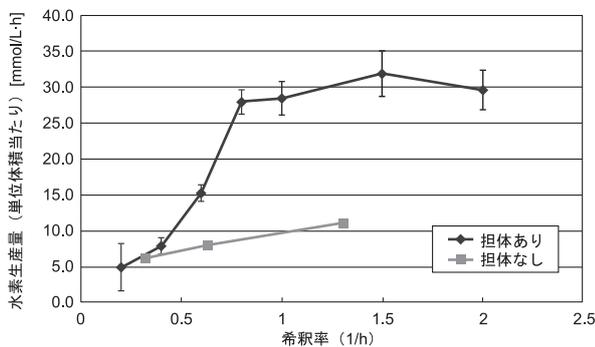
7. おわりに

食品工場からの廃棄物を有効な炭素源として利用し水素を生産する試みは興味深いものである。またノンスラッジ排水処理と併用すれば、その効果はさらに大きくなると予想される。その場合の試算によれば、コストは約1/5にまで低減するという。また炭酸ガスの排出枠売買(CO₂削減価格)が1トン当たり約1200円になると試算(環境省, 2007年10月)されている。国内での食品系廃棄物(1,136万トン)は毎年約4,300億円を支払っているの、その4/5である3,440億円が削減されることになり、約2億8,670万トンのCO₂減に相当することになる。

文 献

- 1) Atomi, H., T. Fukui, T. Kanai, M. Morikawa, and T. Imanaka. 2004. Description of *Thermococcus kodakaraensis* sp. nov., a well studied hyperthermophilic archaeon previously reported as *Pyrococcus* sp. KOD1. *Archaea*. 1: 263-267.
- 2) Fukui, T., H. Atomi, T. Kanai, R. Matsumi, S. Fujiwara, and T. Imanaka. 2005. Complete genome sequence of the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 and comparison with *Pyrococcus* Genomes. *Genome Res.* 15: 352-363.
- 3) Kanai, T., H. Imanaka, A. Nakajima, K. Uwamori, Y. Omori, T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka. 2005. Continuous hydrogen production by the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. *J. Biotechnol.* 116: 271-282.
- 4) Sato, T., T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka. 2003. Targeted gene disruption by homologous recombination in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. *J. Bacteriol.* 185: 210-220.
- 5) 跡見晴幸, 金井保, 今中忠行. 2008. 超好熱菌育種技術の開発と水素生産能の向上. *バイオインダストリー*. 25 (8): 29-36.

担体の有無による単位体積あたりの水素生産量の比較



水素生産量: 毎時 0.7 L(H₂) / L(培地) 現在までの最大値: 毎時 1.1 L(H₂) / L(培地)

図 10

2008年(平成20年)3月10日(月曜日) 読 書 楽 園

微生物使い、水素生産

京都大 今中教授が開発

セ氏85度前後の高熱条件下で生育する微生物を使い、食品工場の排水から効率的に水素を生産する新技術を、京都大工学研究科の今中忠行教授(生物工学)が開発した。生産した水素は、今後の需要拡大が見込まれる燃料電池への用途が期待されている。今中教授は、鹿児島県・ト

カラ列島の小宝島にある温泉近くのガスを噴出する硫黄孔で熱を好む微生物「サーモコッカス・コダカラエンスシスKOD1」(体長約1μm)を発見。でんぷんなどの有機物を食べると活発に水素を出す能力を持つことに着目し、細かく切ったスポンジで菌を高密度に保つ方法を考案し、培

養液1リットルあたり毎時1.1リットルの水素を生産に成功した。排水からの水素製造方法としては、分離したメタンを改質器で水素に変換する方法があるが、新方式は処理速度が約1000倍も高く、高温培養のため雑菌混入の心配がないというメリットもある。

今中教授は、下水や食品工場の排水処理過程で生じる汚泥を従来の5%程度に減らす新処理方式も考案。一「汚泥低減」「水素生産」の二つの技術を合わせた新しい排水処理システムを確立したいと話す。

サーモコッカス・コダカラエンスシスKOD1の電子顕微鏡写真(今中教授提供)

ご意見、情報は科学部へ。06・6366・1649、oykagaku@yomiuri.com

図 11 2008年3月10日 読売新聞