

バイオマスからの水素製造技術

三重大学 生物資源学部 栗冠和郎・木村哲哉・成田尚宣・栗冠真紀子
名城大学 農学部農学ハイテクリサーチセンター 大宮邦雄

1. はじめに—バイオマスと廃棄物処理

バイオマスとは地球上における、太陽エネルギーを利用して無機物から生合成された有機体が再び無機化される物質循環の過程で現れる全ての生物有機体(植物・動物・微生物)の総称である。すなわち、太陽エネルギーを直接利用して生育する植物体は地球上で最も大量に存在するバイオマスであり、太陽エネルギーの宝庫といえる。植物バイオマスは、食物連鎖により草食動物に摂取され、それらの乳肉を食糧として人類が摂取するという、物質とエネルギーの食物連鎖により我々は生命活動を維持している。換言すれば、他の生物の「いのち」を犠牲にして人類の「いのち」は保たれていることになる。したがって、人類もこの食物連鎖の環の一員であることを認識し、バイオマス(生物資源)を無駄なく有効に利用するための努力をする必要がある。しかし、利便性を追求するあまり、資源浪費型社会の定着を容認してきた先進国では、食糧を始めとする大量の資源が浪費され廃棄されている。このために、自ら作り出した廃棄物による生活環境の悪化が、問題となっている。エネルギー源にしても、何億年もかけて植物体を凝縮することにより形成された化石燃料は近い将来に枯渇することが危惧されている。それ以上に、燃焼により生ずる二酸化炭素による地球温暖化が21世紀に解決すべき最大の問題となっている。

ところで、地球上に降り注がれる太陽エネルギーは 2^{14} kw/年と計算されており、そのわずか0.02%がバイオマスに蓄積されるに過ぎないが、バイオマスとして地球上に蓄積されている量は 10^{12} トンといわれており、その10%が光合成により毎年生産されている。この数値は世界中の年間エネルギー消費量の10倍以上に相当するといわれている¹⁾。この膨大なバイオマスに含まれるエネルギーのわずか10%が

現在利用されているにすぎない。これを有効利用することにより、エネルギー不足および地球温暖化の問題解決の一助となると考えられる。

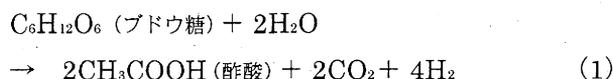
一方、都市における生ゴミ処理や畜糞など農林業水産業由来の廃棄物処理問題はますます深刻になりつつある。これらのゴミもバイオマスの一種である。ゴミの量を削減することは勿論、ゴミの中に残留しているエネルギーを高効率で回収する方法を開発することは重要な課題である²⁾。ここでは、バイオマスから水素ガスを回収することに焦点を絞り、バイオマスからの水素ガス生成のメカニズムや研究の現状などについて概説する。

2. 微生物による

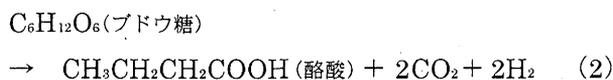
バイオマスからの水素ガスの生成

水素ガス(H_2)は重さの割に燃焼熱(酸化による熱の発生量)が大きく、かつ燃焼によって炭酸ガスを作らず NO_x の発生もないので、もっともクリーンなエネルギー物質とみなされている。水素ガスは燃料電池により高効率で電気エネルギーに変換できる。燃料電池は低公害性であり、騒音もなく、しかも排熱も利用できるので、総合効率が非常に高い。本当の実用化にはまだ時間がかかると予想されるものの、燃料電池で動く自動車も既に開発されている。水素ガスは工業的には、炭化水素を酸素または空気や水蒸気などと高温で反応させて作られることが多いが、水性ガスからの分離、炭化水素の熱分解、塩水の電気分解なども利用される。これらの方法は、いずれも基本的には化石エネルギーに頼っているため、水素ガスそのものはクリーンではあるが、化石エネルギー使用の低減にはつながらない。最近、このクリーンエネルギーガスを廃棄物から取り出そうとする試みが盛んになってきた。

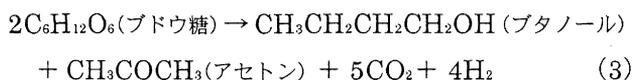
微生物がバイオマスから水素ガスを生成するメカニズムを簡単に見ておこう。微生物がさまざまな発酵産物・代謝産物を生産することはよく知られている。代表的な発酵には、アルコール発酵や乳酸発酵があり、その発酵産物が酒やヨーグルトとして我々の食生活を豊かにしてくれている。また、酢酸や酪酸などの酸類のほかアセトンやブタノールなどの溶媒も微生物の発酵産物として生成される。一般にはあまり知られていないが、水素ガスも微生物による発酵産物の一つである。次に、ブドウ糖から水素ガスが生成するときの化学反応式を示す³⁾。



この化学反応式は、微生物が嫌氣的条件下(酸素のない状態)でブドウ糖1分子を水2分子で酸化したときに、2分子の酢酸が生じるほか、2分子の二酸化炭素と4分子の水素ガスが生成することを示している。

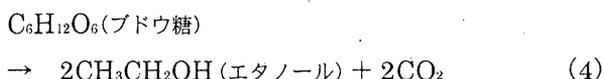


酪酸が発酵産物の場合には、1分子のブドウ糖から1分子の酪酸が生じるが、その際に生成する水素ガスは2分子である。



この反応は、アセトン-ブタノール発酵の反応をまとめたものである。2分子のブドウ糖から1分子のブタノールと1分子のアセトンが生じるが、その際、4分子の水素ガスが生じる。1分子のブドウ糖からは2分子の水素ガスが生成する効率となる。

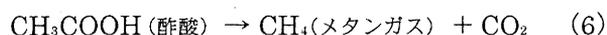
必ずしもブドウ糖の発酵により水素ガスを生成するわけではない。代表的な発酵として挙げたアルコール発酵や乳酸発酵においては、次式から分かるように水素ガスは生じない。



しかし、多くの微生物は酸を生じるとともに水素ガスも生成する。大腸菌なども嫌気条件下で生育するときには水素ガスを生じる。式(1)~(3)から分かるように、一般的に酢酸を多量に生成する時に水素ガスの生成量も多くなる。化学反応式で示した1分子のブドウ糖から生じる水素ガスの分子数は、ブドウ糖が完全に酸化されたときの理論値であり、実際にはブドウ糖の一部は菌体成分の合成などに使われるので、実際の水素ガス収量は低くなる。

水素ガスが酸や溶媒とともに生成するということは、水素ガスのみに着目した場合には、それ以外の物質は副産物であり、不要の産物である。純粋な基質を用いて単一微生物による発酵を行った場合には、副産物の組成は比較的均一であるため、それを精製し利用することも可能である。水素ガスは他の発酵産物に比較して安価なため、水素ガスを目的として純粋な基質を用いて生産することは考えられない。

一方、生ゴミや畜糞など複雑な組成を持つ廃棄物から水素ガスを生産させる場合には、水素ガス以外の副産物の分離回収は困難である。生ゴミなどを微生物処理する場合には、廃棄物処理を目的とするため、最終的には、有機物は全て無機化する(二酸化炭素や水などになる)ことが理想的である。微生物により生産される水素ガスをエネルギーとして利用することは、有機物を完全に無機化(酸化)する過程で発生する水素ガスを一時トラップし、そのエネルギーを利用することである。既に述べたように、水素ガスを生成する反応では、必ず酢酸や酪酸などの副産物が生ずる。これらの副産物を無機化してはじめて廃棄物処理は完結する。好氣的微生物を用いて有機酸を酸化すれば二酸化炭素と水になるが、この場合には、その過程で生ずるエネルギーを利用できない。一方、これらの有機酸を嫌気条件下におき、メタン発酵させればメタンガスを回収でき、さらにエネルギーの利用効率は良くなる。



微生物が有機物から水素ガスを生成することは古くから知られていたが、廃棄物由来の水素ガスエネルギーを利用するという考えは、比較的新しく、研究例もあまり多くない。以下に、我々の研究例を紹介する。

3. 微生物による

エビ殻の分解と水素ガスの生成

多糖類の一種であるキチンを主成分とするエビ殻を分解する微生物を探索・単離したところ、偶然にも水素ガスを多量に生成する嫌気性細菌であった。この菌を用いて、キチン分解酵素とその遺伝子、水素ガス生成条件の検討、組換えDNA技術を用いた水素ガス生成能の向上などの一連の研究を行っており、その一部を紹介する⁴⁾。

A. キチン分解性嫌気性菌の分離同定

伊勢湾に面している三重大学キャンパス内の土壌から、嫌気性で孢子形成桿状の細菌でキチン分解能を有するM-21株を単離した。形態観察、発酵試験、16SrDNAの塩基配列解析などの結果、本菌を*Clostridium paraputrificum*と同定した。エビ殻の主成分であるキチンのほかに、キチンを構成する単糖であるN-アセチルグルコサミンを良く資化できるほか、澱粉、グルコースやセルロースモデル化合物も分解できる基質特異性が比較的広い特性を持つ細菌である。このことは多種類の成分を分解利用できることを意味し、生ゴミ処理にも使える可能性を示唆している。図1に*Clostridium paraputrificum*の電子顕微鏡写真を示す。

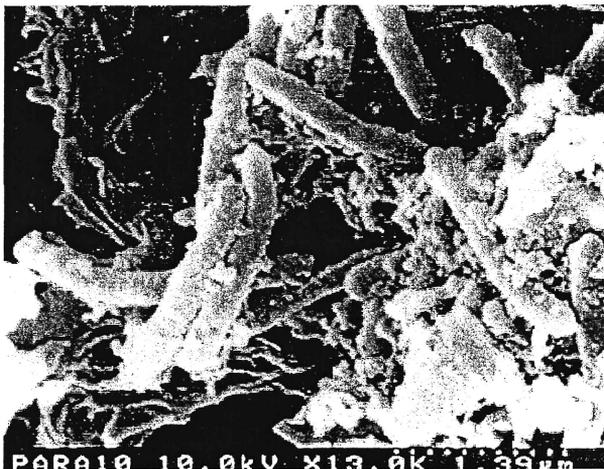


図1 *Clostridium paraputrificum* の電子顕微鏡写真

B. 培養の最適条件の設定と水素ガス生産

C. paraputrificum M-21株は45℃、pH6.5で最適の生育を示し、多量のガスを生産することが判明した。N-アセチルグルコサミン(10g/l)を基質にしたときには、3時間でこの炭素源をほぼ完全に消費し、

30分に1回の速度で細胞数が倍増する高い増殖力を持っていた。生成ガスの組成は水素：炭酸ガス=2：1と水素ガスが多く、クリーンなエネルギー生産能力に優れていることが示唆された。完全に密封した耐圧ビンを用いてM-21株を培養するとガスが蓄積される。ガスを細管に導き、その先端で燃焼させると青白い炎として水素ガスの存在を確認することができた(図2)。最適の培養条件下でこのガスは炭素源10gからおよそ2リットル生成され、これまでに報告されている微生物生産量としては世界のトップレベルである。

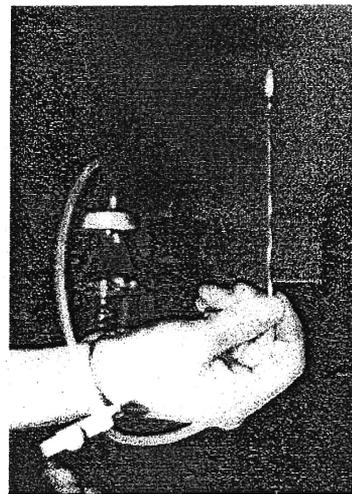


図2 発生ガスの燃焼風景

キチン分解酵素遺伝子のクローニングと遺伝子産物の特性

キチンを代謝して水素ガスを生成するためには、まず、キチンを分解する必要がある、この段階が律速になっている。したがって、キチンから効率的に水素ガスを生産するためにはキチン分解酵素(キチナーゼ)の研究が必須である。*C. paraputrificum* M-21株からキチナーゼの遺伝子をクローニングした。2種類のキチナーゼ(キチナーゼAおよびB)はそれぞれ832及び831アミノ酸から成る酵素で、二つの遺伝子は染色体DNA上にタンデムに並んで存在していた。両者の相同性は高く、いずれもファミリー18に属する触媒領域をN-末端側に持つほか、C-末端側にはキチンに吸着できるタンパク領域を保持していた。この領域の存在が不溶性のキチン上に酵素タンパク質を引き寄せ、分解力を高めていることが判明した。両酵素の温度・pH特性はM-21株のそれと一致していた。また、両酵素はキチンの存在により合成が促進される誘導酵素であることが判明した。

C. 遺伝子工学技術を用いた水素ガス生産能の改良

難分解性のバイオマスを分解利用する際に律速となる要因は、可溶化速度である。*C. paraputrificum* M-21株はキチン(1%)を資化するのに5日間を要するが、N-アセチルグルコサミンの場合は5時間で消費することができる。この事実からも、不溶性高分子を微生物分解するためには、その分解酵素を補填する必要がある。組換え技術によりキチナーゼ遺伝子の元菌での発現量を高めるために、さきに分離したキチナーゼ遺伝子を組込むことを考えた。このために、M-21株に利用できる新規な宿主-ベクター系の構築が必要となる。まず、M-21株の薬剤耐性を調べ、エリスロマイシンとクロラムフェニコールとに元菌が非耐性であることを確認し、これらに対する耐制遺伝子を持つプラスミドをエレクトロポレーション法で導入した。1 μ gのプラスミド当たり10 \sim 10³個の形質転換株(プラスミドが導入された株)が得られ、プラスミドが形質転換株中で増幅していることを確認した。ついでこの形質転換系の有用性を確認するために、*C. paraputrificum* M-21株

が保有しないキシラナーゼ遺伝子の導入を試みた結果、M-21株にキシラナーゼ活性が発現し、ベクターの有用性が確かめられた。

このホスト-ベクター系を使って、水素発生の代謝系の末端に位置するヒドロゲナーゼの遺伝子をM-21株から単離し、高コピー数のプラスミドに連結した後、元菌に戻して高発現させることにより、水素生産性を高めることを試みた。図3に遺伝子組換えによる代謝系の補強の戦略の概念図を示す。実験の結果、ヒドロゲナーゼ遺伝子を導入した株では、水素ガス生成量がおおよそ50%増大していた。その時の培養液に含まれる酸の種類と量を測定したところ、水素ガス生成と関連の深い酢酸は増加する一方、水素ガス生成と関連のない乳酸は劇的に減少しており、ヒドロゲナーゼ遺伝子を導入することにより、代謝系が変化していることが裏付けられた。このように、遺伝子工学的に水素ガスを効率的に生産する微生物を育種することが可能であることを、研究室レベルで示すことができた。

しかし、現在組換え生物に対する風当たりは強く、

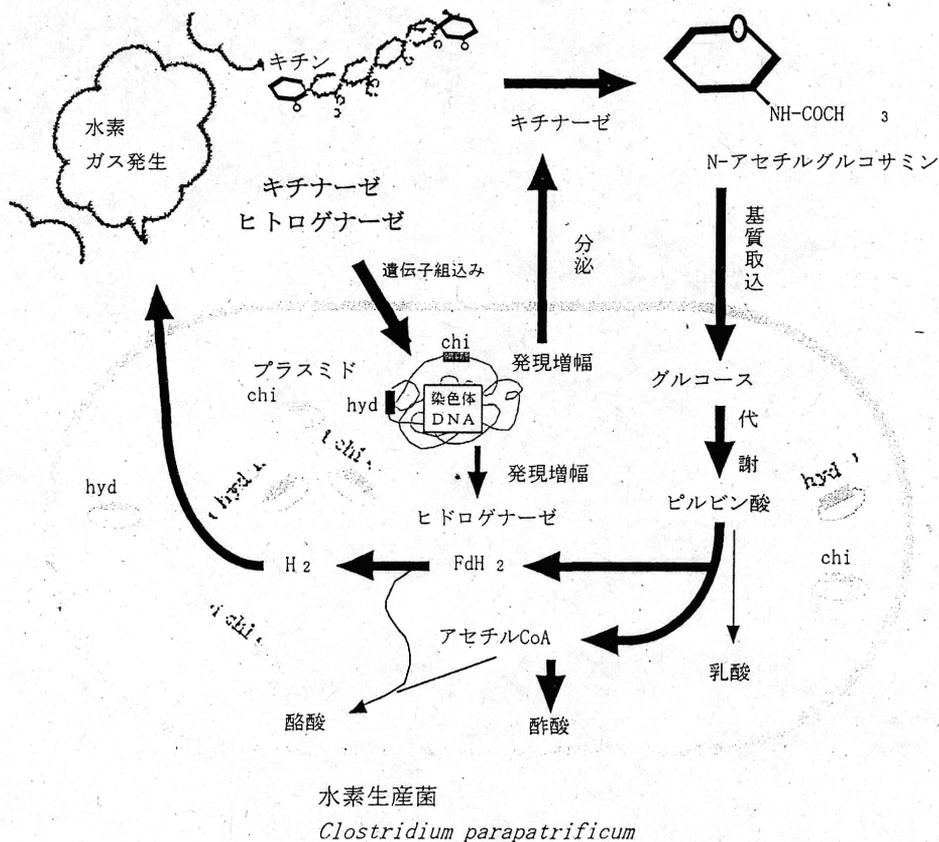
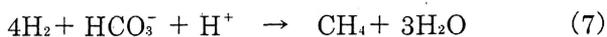


図3 遺伝子組換えによる代謝系変換の概念図

ここで述べたような組換え生物を、近い将来野外における廃棄物処理に利用できる可能性は少ない。また、生ゴミのような複雑で、日々の変化がある基質を分解することは、1種類の微生物では不可能であり、微生物の集団(複合微生物あるいは菌叢などと呼ばれる)による処理が必要である。次に、菌叢を用いたセルロースからの水素ガス生成の研究について少し述べる。

4. 複合微生物系による セルロースからの水素ガス生成

廃棄物処理を考える場合に、水素ガスを得るための発酵だけでは不十分で、メタン発酵などと組み合わせる必要があることは既に述べた。畜糞や食品廃棄物の処理のためのメタン発酵プラントについては既に実用化されており、全国に設置されている。メタン発酵においては、有機物の炭素は全てメタンガスと二酸化炭素に変換され、残渣は残らない。実は、メタン発酵槽の中には酸と水素ガスを生成する細菌と酸をメタンガスに変換する細菌が多数共生しており、前段階の発酵で生じた酸がメタンに変換される反応が一つの槽で行われているのである。また、前段階で生じた水素ガスと二酸化炭素もメタン細菌により、メタンガスに変換される。



しかし、1モル (9×10^{23} 分子) のメタンガスの燃焼熱が890kJであるのに対し、4モルの水素ガスを燃焼したときの1144kJであり、水素ガスをそのまま使用する方が効率が良い。また、水素ガス生成の段階とメタンガス生成の段階を別々に分けることによって、廃棄物の分解速度を高めることができるとの期待がある。このような状況の中で、独立法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の研究開発プロジェクト「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発」の1テーマとして「有機性廃棄物の高効率水素・メタン醗酵を中心とした二段醗酵技術研究開発」が行われている。このプロジェクトには、西原環境テクノロジーなどの企業その他、研究所、大学が参画しており、筆者らは、セルロースを60℃で分解し水素ガスを生成する菌叢を構築した。この菌叢は、セル

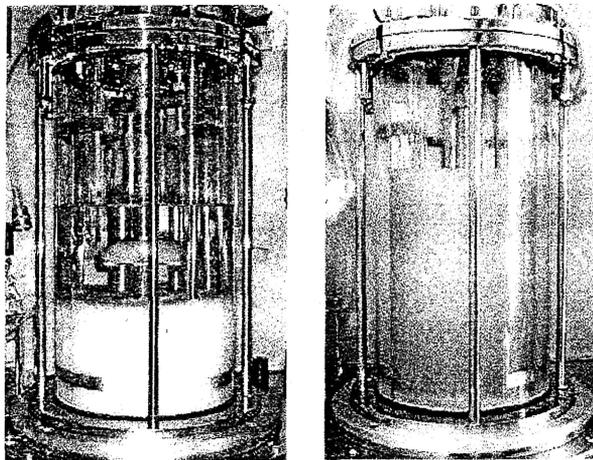


図4 水素ガス生産性菌叢によるセルロースパウダーの分解もその研究の一部を担っている

ロースパウダーを効率的に分解し、水素ガスを生産し、メタンガスは生成しなかった。培養液には主として酢酸と酪酸が含まれており、水素ガスを生成する条件に合致していた。これらの研究成果はNEDOのホームページ上で報告書の全文が公開されているので、興味ある方は参照していただきたい。

4. おわりに

化石燃料の枯渇や地球温暖化の問題を抱えている現在、未利用バイオマスや廃棄物の活用方法の開発は緊急の課題である。水素ガスのみを目標とするのは、本文で述べたように合理的ではないが、メタン発酵などと組み合わせることにより有効な方法となる。水素ガスと同時に生成される酸を光合成細菌の基質として用いて、さらに水素ガスを生産することも考えられる。課題は多いものの、可能性も大きいといえよう。

<参考文献>

- 1) バイオインダストリー協会編：“バイオ・テク便覧”、通産資料調査会(1991)
- 2) (株)産業技術会議編：“地球環境とリサイクル”、産業技術会議(2003)
- 3) 上木・永井編著：“嫌気微生物学”、養賢堂(1993)
- 4) K. Ohmiya, K. Sakka, T. Kimura, and K. Morimoto: “Application of microbial genes to recalcitrant biomass utilization and environmental conservation”, J. Biosci. Bioeng., 95, 549-561 (2003)