

環境とバイオテクノロジー

Environment and Biotechnology

藤原 信明* 山元 和彦* 増井 昭彦*
 Nobuaki Fujiwara Kazuhiko Yamamoto Akihiko Masui

(1997年11月5日受理)

キーワード：環境，バイオテクノロジー，ライフサイエンス，地球環境保全，酵素，微生物，廃棄物，微生物制御

1. はじめに

新素材や新機能性素子とともに次世代の新しい技術として期待されているバイオテクノロジーは、図1で示すように自然破壊・公害への反省から1970年代に生まれた「ライフサイエンス」にその起源を辿ることができる。理念である「ライフサイエンス」を具体化した技術がバイオテクノロジーであり、生物体および生物体の持つ機能を解明し、その成果を保健医療、環境保全、農林水産業、化学工業等に役立てようとする技術の総称として、健康で豊かな国民生活の実現に大きく寄与するものと期待されている。技術そのものは味噌・醤油の製造に昔から利用されている古い歴史を持つが、近年、特に注目されるようになったのは、1970年代初め、BoyerとCohenによって開発された遺伝子操作技術により、その応用範囲が飛躍的に拡大したことによる。バイオテクノロジーは既に多くの分野で活用されているが、最近特に注目されているのは、環境保全への利用である。近年、地球を取り巻く環境は、オゾン層の破壊、炭酸ガスの増加による地球温暖化、あるいは廃棄物の増加など厳しいものがあり、それらの問題解決のために行政的には種々の規制あるいは保護・保全を促進するための法律が施行されているが、それ自身が環境に優しい技術であるバイオテクノロジーに大きな期待が寄せられている。

われわれの研究グループは、微生物あるいは微生物が生産する酵素の工業的な利用など、いわゆるバイオテクノロジーについての研究を行っているが、本稿ではそれらの中から環境保全への活用事例について紹介すると

もに、今後、企業がバイオテクノロジーを導入あるいは活用する方法についても述べることにする。

2. 厨芥処理への利用

国民生活の向上に伴い、排出される廃棄物も増加の一途をたどり、大きな社会問題となっている。その対策には、Reduce(減量)、Recycle(再利用)、Reuse(再使用)の3つのRが有効とされ、特に、リサイクルについては、1991年にリサイクル法が、そして、1996年には容器リサイクル法の2つの法案が施行されている。それらの法案には、企業あるいは行政についてリサイクル促進への責務が明記されているが、個人的なレベルでの3Rへの努力も、足元からの環境保全への試みとして重要である。

	社会現象	科学技術	具体的な技術
↓			・国防工業
1970年	自然破壊・公害などの表面化	ライフサイエンス (第1段階)	・公害防止技術 ・人間工学 ・医療工学 ・福祉工学
	73年 オイルショック 72-73年 遺伝子操作技術	バイオテクノロジー (第2段階)	・バイオエレクトロニクス ・バイオメカニクス ・バイオマテリアル ・ケミカルバイオニクス
1980年		ニューバイオテクノロジー (第3段階)	・量産化技術 ・新規物質の創出 ・固定化技術

図1 バイオテクノロジーの進展

こうした社会的な背景から、台所から排出される厨芥(生ごみ)を家庭で簡単に処理できれば、廃棄物の減量化に寄与できるとして、処理装置の開発を企業と共同して行うことになった。当研究所では、厨芥の微生物分解について基礎的な検討を担当し、これらの結果を基にして

* 材料技術部酵素応用グループ

処理装置が製作され、さらに、その装置を用いて実証化実験を行った。当時、家庭用の厨芥処理装置としては、プラスチックの容器を土中に埋めた装置が農村部で散見されていた。それらは上部から厨芥を投入し蓋をして醗酵させるバッチ型の装置であるが、醗酵が遅いことや、蛆や蠅の発生、あるいは悪臭などの問題を抱え、広く普及するまでには至っていなかった。こうした現状を踏まえ、処理速度を促進させ、悪臭の発生を抑えるには好気的な醗酵方法が適しているとして、攪拌により酸素を供給する小型の家庭用厨芥処理装置を開発の目標とした。

醗酵実験には、実験の再現性と、実際の処理に即すことから、大阪市と箕面市が行った市中のごみ分析を参考にして、畜肉、魚肉、米飯、パン、野菜による厨芥のモデル系を調製して用いた。水分、温度、pHなどの醗酵条件を変えて処理実験を行ったところ、分解は図2で示すように特に水分含量に大きく影響され、水分過多の場合は通気不良から嫌気醗酵となり悪臭が生じ、良好な処理には65~70%の水分を保持することが必要であった。微生物によるモデル厨芥の分解経過を図3に示すと、主醗酵は約5日で終了した。これらの基礎データを基にして、容量120リットルの小型処理装置を設計・製作した。使用に際しては発生した厨芥を水切りした後、装置に投入し、数回攪拌するだけでよい。標準世帯の1日の排出量である厨芥1kgを毎日、処理装置に投入しても、約3ヶ月間、醗酵残渣を取り出すことなく連続して使用できる。醗酵残渣は重金属の含有量、摂取による安全性、植物への生育阻害など特に問題もなく、土壌改良剤として園芸などに利用できる。

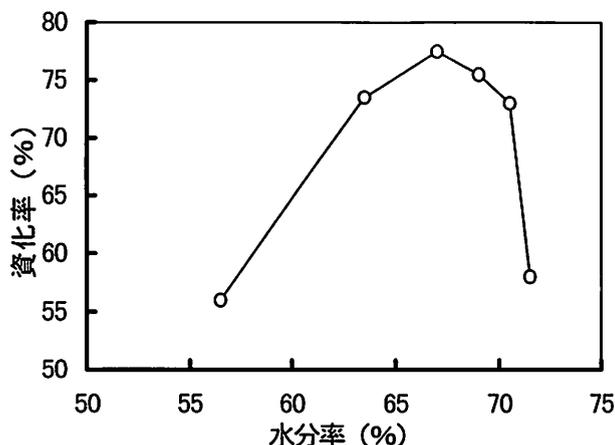


図2 厨芥の微生物分解に及ぼす水分の影響

本装置は日本で初めて量販された家庭用厨芥処理装置となり、現在では、家庭用の小型厨芥処理機が家電メーカーを始め多くの企業により開発・販売されている。当時は、コスト面でバッチ型処理装置に対抗するために、

装置の機構は手動による攪拌とし、温度制御も微生物自身による醗酵熱だけで特に加温もしなかったが、今では、自動攪拌で温度制御機構を持つのが一般的であり、今後、システムキッチンへの組み込みなどにより大きな普及が予測されている。また、家庭用小型装置がスケールアップされ、学校や給食センターなどの大規模施設に設置されるようになり、この学校現場への厨芥処理装置の設置は、処理による廃棄物減量の効果だけでなく、廃棄物を身近な問題として考え、微生物の不思議な力を身をもって体験し、科学する心を育てる教育的な効果も持っている。

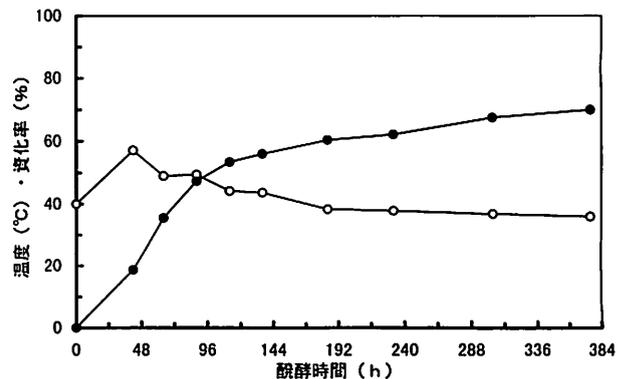


図3 厨芥の微生物分解の経時変化
○；温度，●；資化率

3. 繊維糊剤PVA分解への利用

ポリビニルアルコール(PVA)は弾性や耐摩耗性などの物理的性質に優れていることから、繊維加工用の経糸糊剤として多量に使用されている。しかしながら、PVAは合成高分子一般に言えることであるが、天然高分子に比べて難分解性であり、短時間で分解することはできず、必ずしも効率の良い廃水処理が行われているとは言えない。微生物によるPVA分解は、いくつかの研究例があるが、何れも共生系の微生物群によるものであり、PVA分解は酸化・脱水素酵素活性を持った菌と加水分解酵素を持った菌の菌叢によって大きく左右される。こうした背景から、PVAの効率的な分解を目指して、新しい分解菌の検索を試みた。図4に集積培養におけるPVA分解の経時変化を示すが、分解には約1週間が必要である。従来報告されている菌が何れも*Pseudomonas*に属する菌であるのに対し、本研究で分離した菌は*Alcaligenes*に属する新しい菌であった。本菌は、従来のPVA分解が共生する微生物による相互扶助によるのに対して、単独でPVAを分解できる。ただ、その微生物の酵素生産はわずかであり、工業的に使用するには、突然変異や遺伝子操作技術により酵素生産能力の大幅な増強が必要で

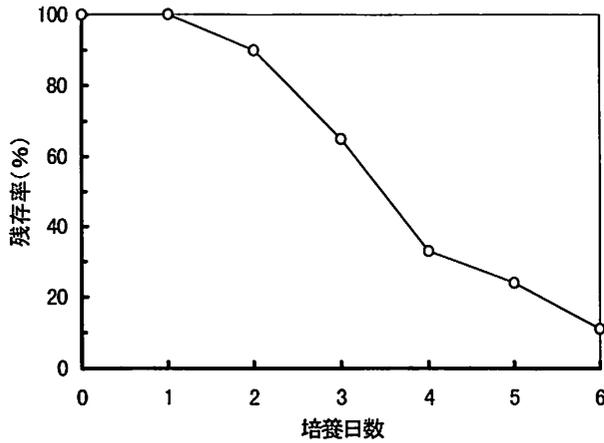


図4 PVAの集積培養

あり、今後の課題である。本酵素の分子量はSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析(SDS-PAGE)から約4.1万であり、PVA分子の内部を大まかに切断するEndo型の酵素であった。また、本分解菌は核外遺伝子であるプラスミドを持ち、そのPVA分解能力は図5で示すような形質転換の実験から、プラスミドに依存していることがわかった。自然界に存在する微生物が合成高分子を分解できる能力を進化の過程で獲得したことも考えられ、今後、酵素遺伝子について研究を行う予定である。

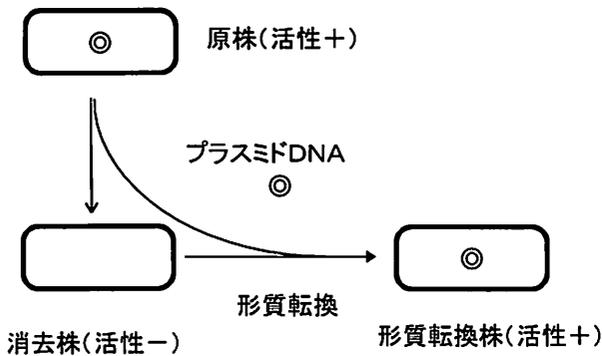


図5 *Alcaligenes* sp.No.6のプラスミド消去、形質転換実験によるPVA分解活性の変化

4. 写真フィルムのリサイクルへの利用

医療技術の進歩あるいは情報化社会の進展に伴い、医療用直接撮影X線フィルムや印刷製版フィルムの使用量は、当初の予測に反してむしろ増加している。医療用直接撮影X線フィルムは図6のように厚さ175 μ mのポリエステル(PET)ベースの上に非常に薄い下塗り層が塗布され、次いで感光材である銀を含む乳剤層、そして最上部に保護層が両面に塗布された構造を持つ。印刷製版用フィルムはPETの厚さが100 μ mと薄く、かつ片面だけ

に塗布されている点異なるだけで、基本的には医療用直接撮影X線フィルムと同じ構造である。フィルムの乳剤層および保護層の支持体はいずれもゼラチンと呼ばれるタンパク質であり、感光材の銀はこの乳剤層中に医療用直接撮影X線フィルムの場合約1.2~1.5%、印刷製版用フィルムの場合約1%含まれる。ただし、最近では省銀技術の進歩により、その含有量は低くなっている。

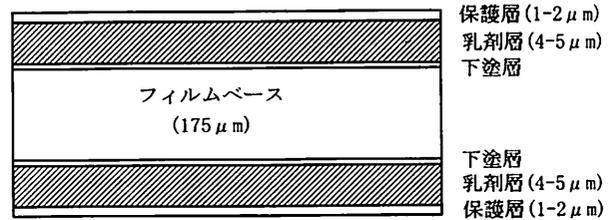


図6 X線フィルムの構造

写真フィルムのリサイクルは、現在、医療用X線フィルムから銀だけを対象に回収が行われているだけであり、印刷製版用フィルムの場合は銀含量が低いことから廃棄物として焼却あるいは埋め立てにより処分されている。写真フィルムから銀あるいはPETの回収方法を表1に示すが、現在行われているのは燃焼による方法である。この方法は簡便ではあるものの、炭酸ガスの排出あるいはダイオキシン発生の恐れなど地球環境の点から多くの問題を抱え、特にPETの回収が不可能であることからリサイクル社会に適合した技術ではない。酵素を用いる方法そのものは既に数十年前から知られていたが、酵素使用によるランニングコストの高さや、分解力などの問題から広く普及するまでに至らなかった。

表1 写真フィルムから銀とPETの回収方法

方法	原理	特徴
焼却法	フィルムベースであるPETの自然を利用して焼却し、灰の中から銀を回収する	<ul style="list-style-type: none"> 手軽に回収できる 悪臭・粉塵対策が必要である 炉の維持費が高い PETの再利用が不可能である 銀の回収率、純度が低い
化学法	カセイソーダ、ヒドラジン、次亜塩素酸ソーダなどでゼラチン膜を剥離し、銀を回収する	<ul style="list-style-type: none"> 刺激臭が発生する 劇薬への安全対策が必要である 薬品が高い PETの再利用が不可能である(ただし、品質は劣化している)
酵素法	ゼラチン膜を酵素(プロテアーゼ)で分解し、処理液から銀を回収する	<ul style="list-style-type: none"> 悪臭、粉塵対策が要らない 排水処理が必要である PETの再利用が可能である 反応液のpH、温度管理が必要である 酵素が高価である

こうした背景から、ランニングコストの軽減化には酵素を繰り返して使用でき、しかも、連続して処理できることが有利であると考え、銀とPETの連続分別回収システムの開発を試みた。まず、連続的な処理に必要なゼラ

表2 開発酵素(B21-2)と市販酵素とのゼラチン膜分解の比較

酵素	起源	分解所要時間
プロレザー	<i>Bacillus</i> sp.	>20分
プロチンA	<i>Bacillus subtilis</i>	17分
ピオプラーゼ	<i>Bacillus subtilis</i>	>20分
B21-2	<i>Bacillus</i> sp.	7分

カゼイン分解活性を 100 U/ml (pH10.5, 40 °C)として、pH 10.5, 40 °Cの条件で行なった。

チン膜の分解にすぐれたプロテアーゼを開発したところ、得られた酵素は表2で示すように、非常に早くゼラチン膜を分解することができた。このことはゼラチン膜分解反応において滞留時間を短くでき、コンパクトなシステム設計が可能であることを示している。フィルム上のゼラチン膜分解について、pH、酵素濃度、温度などの反応条件を詳細に検討したところ、pHは10から11の間で最も高いゼラチン膜分解活性を示し、酵素濃度と温度の影響は図7で示すように、分解に要する時間は酵素濃度の増加に伴って短くなり、また、反応温度が高くなるほど短くなった。ただ、反応温度を上げると反応速度は大きくなるが、酵素は熱により失活することから、反応温度は40°Cぐらいが適当であり、この場合、酵素濃度は約11mg/l(酵素活性にして100U/ml)が適当であった。これらの結果をもとに、共同研究者である企業によって図8のような連続処理装置が設計・製作され、工業化された。現在、これらの成果を踏まえて、印刷製版フィルムについて完全な再利用を可能にする新規な処理システム

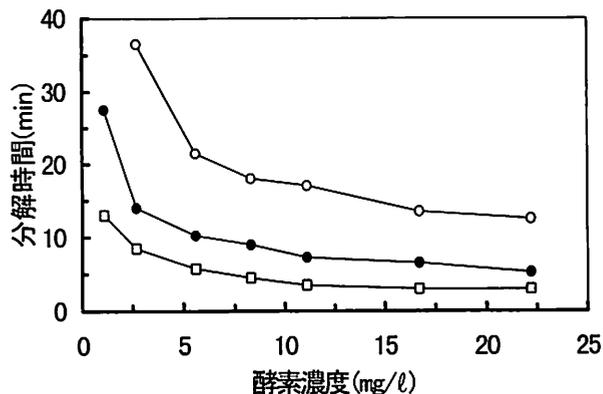
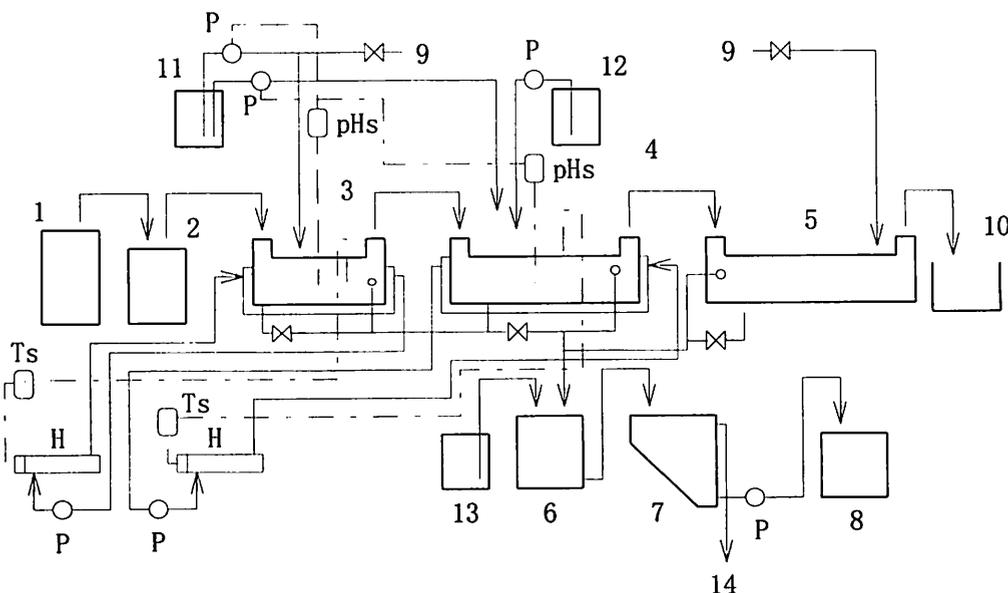


図7 ゼラチン膜分解への酵素濃度と温度の影響
○ ; 30°C, ● ; 40°C, □ ; 50°C

の開発研究を、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)・中小企業事業団から委託されて、平成9年度から3ヶ年の計画で企業と大学とで共同して行っている。医療用直接撮影X線フィルムには年間500トン、印刷製版用フィルムには年間250トンの銀が使用されていることから、新しい処理システムの完成により、多量の銀が印刷製版フィルムから新たに回収されることになる。もちろん、PETも医療用直接撮影X線フィルムと印刷製版用フィルムの両方から新たに回収されることになり、特に、印刷製版用フィルムの場合は透明であることから、X線フィルムの青色のPETに比べると付加価値が高く、リサイクルはさらに有利となる。



1 : フィーダー, 2 : シュレッダー, 3 : アルカリ槽, 4 : リアクター, 5 : 洗浄槽, 6 : 中和槽
7 : 凝集沈澱・沈降槽, 8 : スラッジ排出, 9 : 市水, 10 : PET排出, 11 : カゼインソーダ, 12 : 酵素液, 13 : 塩酸,
14 : 排水, pHs : pHセンサ, Ts : 温度センサ, P : ポンプ, H : ヒータ

図8 連続処理装置の構成

5. 殺菌剤としての利用

微生物の制御には正と負がある。正の制御は、微生物をできるだけ多く培養し、醗酵生産物を多く得るための技術あり、負の制御は静菌、殺菌など微生物をできるだけ生育させない技術である。負の制御は、病原性大腸菌 O-157 のように衛生面だけでなく、産業界においても食品製造物の腐敗や金属材料の腐食など品質管理の面で重要な課題である。殺菌は加熱のような物理的な殺菌と殺菌剤を用いる化学的な殺菌に大別され、後者の場合、第4級アンモニウム塩など化学合成された薬剤を用いるのが一般的であるが、人体への影響など労働衛生の面、あるいは地球環境への配慮から、その使用をできるだけ少なくするか、あるいはそれらに代わる環境に優しい新規な殺菌方法の開発が期待されている。その一つとして、植物や微生物が生産する抗菌物質の利用あるいはリゾチムのような溶菌酵素による殺菌などがある。バイオテクノロジーの活用による殺菌の実用化の例は少ないが、今後、期待されている技術分野である。

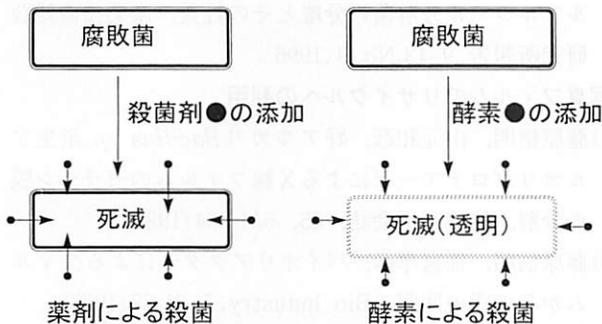


図9 薬剤による殺菌と酵素による殺菌の違い

われわれは特定の腐敗菌を酵素によって溶菌させ殺菌することを目標に、溶菌酵素の新たな開発を試みた。薬剤による殺菌と酵素による殺菌の違いを図9に示すが、薬剤による殺菌は、薬剤が菌体の細胞壁を透過してタンパク合成系、あるいは膜透過を阻害することにより菌を死滅させるのに対し、酵素の添加は腐敗菌の細胞壁を溶解させ死滅させる点で大きく異なる。酵素による腐敗菌の溶解を図10に示すが、酵素作用により菌の細胞壁は分解され白濁していた溶液は完全に透明になる。現在、実用化に向けて、酵素生産性の増大を図っており、また、酵素活性が安定して長期間維持できるように、酵素を固定化させたり、あるいはマイクロカプセルに封じ込め徐放性を持たせるなど利用形態について検討している。

6. 水道管腐食の微生物制御

バイオテクノロジーの活用には、上記のような微生物の

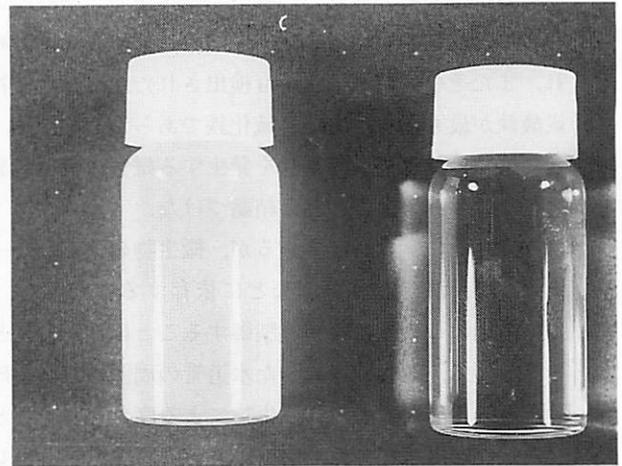


図10 酵素による腐敗菌の溶菌
左：酵素処理なし、右：酵素処理あり

持つ機能を利用するだけでなく、微生物そのものを制御する技術も含めることができる。大阪府企業局は千里ニュータウンに続き、泉北ニュータウンの開発を行ったが、建設事業の完成に伴い、道路、公園、上下水道などの公共施設は、大阪府からおのおのの地元自治体に引き継ぐことになっていた。しかしながら、上水道施設については昭和52年頃から水道管の破損やそれによる漏水などの事故が相次いで発生し、自治体への引継ぎの妨げになっていた。そこで、大学、大阪府、企業からなるプロジェクトチームが組織され、現地で掘削調査を行うとともに、腐食部の各種分析あるいは土壌分析などから、水道管の腐食原因を解明することになった。

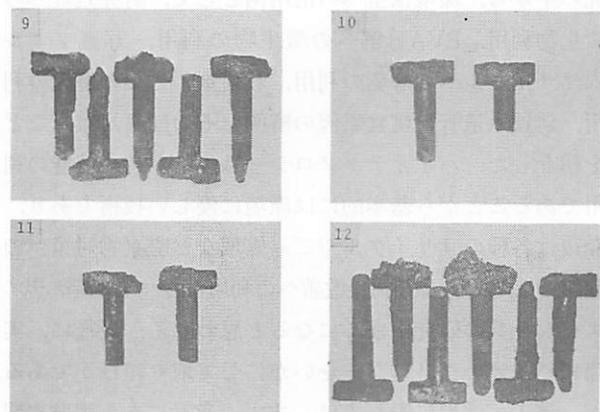


図11 腐食した水道管

水道管の接合部のボルトおよびナットは、図11で示すように、腐食し、原形をとどめないものもあり、腐食の進行が異常に早く起きていたことを示していた。採取土壌による強制酸化の腐食試験は、海水中での腐食と同等かそれ以下であり、したがって、現場での大きな腐食速度には、その他の要因の関与、例えば微生物学的な腐食

による促進が考えられた。採取した土壌から一般に金属の微生物腐食の原因とされる硫酸還元菌の存在が認められ、またその他の嫌気性菌も検出された。腐食生成物は炭酸鉄が最も多く、次いで硫化鉄であったことから、腐食は酸化に加えて炭酸ガスを発生する嫌気性菌と硫酸還元菌により、促進されたと結論づけた。

さて、その腐食対策であるが、微生物の生育は、一般に栄養源、温度、水、pHなどに依存することから、腐食の防止はこれらの因子を制御することにより可能となる。そこで、新しく埋設した水道管の周囲の土壌を砂に置き換えることにより、微生物による腐食を防ぐことにした。なお、現在では、水道管そのものをポリエチレン樹脂でコーティングすることにより微生物の接触を防いだり、更により抜本的な防錆の対策として水道管の鋳鉄そのものが腐食されにくい材料にするなどの研究も行われ、当研究所でよい成果が得られている。

7. おわりに

わが国においては、昭和46年に科学技術会議がライフサイエンス振興の重要性を答申で指摘して以来、その基本計画に基づき、着実な推進が図られ、当研究所においても昭和54年以降、バイオテクノロジーの広範囲な活用を目指して、酵素の新規開発やその利用あるいは微生物そのものの利用などの研究を行ってきた。現在では、こうした微生物、酵素の開発・利用とともに、遺伝子操作を用いたタンパク工学的手法による工業用酵素の耐熱性の向上や作用最適pHの変換など、酵素の改変も行っている。本稿では当研究所で行ったバイオテクノロジー研究の中から、環境保全への活用例として、厨芥処理への微生物利用、PVA分解への微生物の利用、写真フィルムリサイクルへの酵素の利用、殺菌剤としての酵素の利用、鋳鉄水道管の腐食原因の解明とその防腐対策、などを紹介した。バイオテクノロジーは生物が持つ機能の利用であることから基本的には環境に優しい技術であり、今後は各種のリサイクルやごみ処理など廃棄物対策への利用とともに、環境汚染改善への利用などバイオレメディエーションの研究が盛んになると思われる。最後に、実際にバイオテクノロジーをいかにして取り組むかであるが、導入・活用に際しては、まず、身近にある課題や問題の解決にバイオテクノロジーの利用・適用を考えてみ

るのがよく、その方が成功の可能性も大きくなる。また、バイオテクノロジーを導入するまでに至らなくても、それらに関する知識を持つことにより、従来とは違った視点・観点で事柄を眺めることが可能となり、新しい問題解決の糸口を探し出せるかもしれない。バイオテクノロジーについての基礎技術習得のために、研究所では技術講習会、研修生制度、ORTなど種々の研修を行っており、これらの積極的な利用を勧めたい。

参考文献

厨芥処理への微生物の利用

- 1) 受託研究報告「厨芥の微生物処理に関する研究」(昭和63年)
- 2) 受託研究報告「微生物による厨芥組成物の分解と効率的な処理に関する研究」(平成元年)

繊維糊剤PVA分解への利用

- 1) 大阪府先端技術共同研究開発事業「ニューバイオテクノロジーによる新規酵素の創成と繊維素材の改良・開発に関する研究」成果報告書(最終報告、平成5年3月)
- 2) 藤原信明, 山元和彦, 増井昭彦, 坂井拓夫: ポリビニルアルコール分解菌の分離とその性質, 産業技術総合研究所報告, 9-13, No. 9, 1996

写真フィルムのリサイクルへの利用

- 1) 藤原信明, 山元和彦, 好アルカリ *Bacillus* sp. 産生アルカリプロテアーゼによるX線フィルムのゼラチン膜の分解, 醗酵工学会誌, 65, 531-534(1987)
- 2) 藤原信明, 都宮孝彦, バイオリクターによるフィルムからの銀の回収, Bio Industry, 5, 21-27(1988)
- 3) Nobuaki Fujiwara, Takahiko Tsumiya, Tsutomu Katada, Takeshi Hosobuchi and Kazuhiko Yamamoto, Continuous Recovery Process of Silver from Used X-ray Films Using a Proteolytic Enzyme, Process Biochemistry, 155(1989)

殺菌剤としての利用

大阪府産学官共同研究開発事業「新規殺菌剤の開発とその利用に関する研究」成果報告書(最終報告, 平成8年9月)

水道管腐食の微生物制御

泉北丘陵住宅地区水道の水道管腐食対策に関する調査・研究結果報告書, 大阪府企業局, 社団法人 大阪府技術協会(昭和60年2月)