

研究課題名 = 固相バイオリアクターによる廃棄物処理

研究期間（西暦） = 2002・2004

代表研究者名 = 平石 明（豊橋技術科学大学）

分担研究者名 = 二又裕之（豊橋技術科学大学）、松澤有希子（豊橋技術科学大学）

研究目的 = 本研究の目的は、ダイオキシンやトリクロロエチレン（TCE）などの有害化学物質で汚染された廃棄物・土壌を効果的に処理できる生物学的技術を開発することである。有害化学物質の分解と生物系廃棄物処理を併用してコンポスト化できる固相バイオリアクターを開発し、有害物質を分解するだけでなく処理物の再利用を可能にするハイブリッド型廃棄物処理技術を確立することを目指す。このために、以下の主要6テーマと目的を設定して、実験研究を行った。

- (1) 固相有機物分解系の物理化学的・生化学的特性： 固相反応の基礎となる反復回分コンポスト化処理プロセス（fed-batch composting [FBC] process）における有機物分解の生化学的機構と物理化学的特性を明らかにする。
- (2) 有機物の固相分解反応に関わる主要微生物の特性評価： FBC 処理プロセスに関わる主要微生物が何であるかを明らかにする。特に処理プロセスを立ち上げたときから安定期に至るまでの微生物群集構造の変化について解析する。
- (3) 固相反応に及ぼす含水率・水分活性の影響： FBC 処理プロセスにおける有機物分解効率や優占微生物の動態に及ぼす含水率、水分活性の影響を明らかにする。特に固相バイオリアクター中微生物群集の水分活性の低下に対する抵抗性の程度や、タンパク発現への影響について明らかにする。
- (4) 有害化学物質分解に関わる微生物の動態解析、分離、および特性評価： 有害化学物質のモデルとしてジベンゾフランおよび TCE を取り上げ、これらの物質の分解に関わる微生物群集の特性評価を行う。また分解微生物を分離し、その分解特性について生化学的、遺伝学的に明らかにする。
- (5) 化学物質の疎水性担体への吸着特性： モデル化学物質と疎水性担体の吸着作用について明らかにする。特に疎水性担体として生分解性プラスチックを用いる。
- (6) 固相バイオリアクターによる汚染土壌と有機廃棄物の同時処理： リアクター内に実際にダイオキシン汚染土壌を投入して FBC 処理を行い、分解除去を試みる。

研究方法 = 固相バイオリアクターのモデルとして植木鉢を利用したリアクター（FUSBIC reactor）および市販の家庭用電動生ゴミ処理機を用いた。これらのリアクターを利用した FBC 処理プロセスを立ち上げ、この過程における有機物分解の生化学的、物理化学的特性について調べた。総菌数、生菌数測定の他、FISH 法、DGGE 法、キノンプロファイル法によって微生物群集の動態を解析した。細菌分離株は 16S rRNA 遺伝子の解析によって同定した。処理プロセスに対する含水率の影響について調べた他、水分活性値の異なる分離培地を用いて細菌を計数し、水分活性の低下に対する抵抗性や分離株の低水分活性培地における生育について調べた。水分活性を変えた培地で分離株を培養し、発現されるタンパクを二次元電気泳動で解析した。ジベンゾフラン分解微生物を分離し、分解特性を生理学的、分子レベルで解析した。フェノール供給リアクターを用いて TCE 分解性微生物群集の集積を行った。この集積微生物群集の TCE 分解性を動力学的に解析すると同時に、定量 PCR、DGGE による群集構造解析および分離株の同定試験、分解特性試験を行った。汚染化

学物質と疎水性担対との吸着相互作用については、いくつかの芳香族化合物と生分解性プラスチックを用いて解析した。吸着効果に分光光学的に評価するとともに、HPLC を用いて吸着量を定量した。生ゴミ処理機を利用した固相バイオリアクターにダイオキシン汚染土壌および有機廃棄物を投入し、ダイオキシンの消長を高分解能 GC/MS で分析することにより、分解除去を評価した。

結果と考察 = 主要 6 テーマについて以下の結果を得た。

(1) 固相有機物分解系の物理化学的・生化学的特性

FUSBIC リアクターおよび市販の電動処理機を用いて生ゴミの FBC 処理を行なった結果、処理開始から約 3 週間以降で分解活性が、また 1 カ月以降で温度、pH、含水率、バイオマス量などが安定することが判明した。また、この処理期間中、水分活性は低下し続けた。さらに、FBC 処理プロセスの起ち上げ過程において、微生物群集は 2 段階の増加パターンを示すことがわかった。これらの物理化学的、生物学的プロファイルは、FBC 処理プロセスの特徴と考えられる。

(2) 有機物の固相分解反応に関わる主要微生物の特性評価

FBC 処理プロセスの起ち上げの期間、主要細菌がプロテオバクテリア門 (phylum *Proteobacteria*) からアクチノバクテリア門 (phylum *Actinobacteria*) の菌種に変化することが判明した。この事実は、生ゴミに由来するプロテオバクテリアが、馴養されていない初期過程の有機物分解に関わり、徐々に固相反応により適したアクチノバクテリアが優占して有機物分解に関わっていくことを示している。また馴養期間の途中で、培養では検出できないバクテロイデス門 (phylum *Bacteroidetes*) 細菌が一時増加することが認められた。

(3) 固相バイオリアクター内微生物群集に及ぼす含水率・水分活性の影響

FBC 処理プロセスにおける含水率の影響について調べた結果、アクチノバクテリアの優占化と活性発現には特に含水率が関係しており、含水率 30 ~ 40% で高い分解活性が得られた。このデータに基づいて市販生ゴミ処理機の含水率を 40% に制御しながら運転した結果、格段の処理効率の上昇がみられた。

完全馴養した固相バイオリアクターと水系の活性汚泥の生菌数を異なる水分活性に調整した寒天平板法で計測したところ、活性汚泥では水分活性の低下に対応した生菌数の落ち込みが顕著であったのに対し、固相バイオリアクターでは減少がなだらかであった。この結果は、固相バイオリアクター内には、水分活性の低下に抵抗性を示す細菌が多く存在することを示している。このプロセスからの分離株について、水分活性の抵抗性について調べた結果、プロテオバクテリアよりもアクチノバクテリアの方が低水分活性に耐性を示すことがわかった。さらに、アクチノバクテリアの分離株について、水分活性とタンパク発現の関係を二次元電気泳動によって調べたところ、低水分活性で誘導されるタンパクの存在が示された。

(4) 有害化学物質分解に関わる微生物の動態解析、分離、および特性評価

ジベンゾフラン有機溶媒溶液を塗布した寒天培地を調製し、環境中からのジベンゾフラン分解菌の検出・分離を試みた。その結果、本培地が多数の分離株を簡便に試験するのに有効であり、八口の形成や黄色色素の形成に基づいて分解活性のみならず、代謝経路までもある程度推測できることがわかった。分離されたジベンゾフラン分解性グラム陽性菌数株について、分解特性を調べた結果、従来とは異なる黄色代謝産物を産生する株が見つかった。この株は遺伝子レベルで分解に関わる三つの末端ジオキシゲナーゼを有していることが示唆された。

TCE を効率的に分解できる微生物群集をフェノールを供給することにより馴養・集積した。その結果、フェノール負荷量 1.5 g/L/日 で高 TCE 分解活性を有する微生物群集が集積できること、および集積した微生物群集の TCE 分解機能は *Variovorax* 属細菌が担っていることが明らかとなった。分離された *Variovorax* 属細菌は、TCE のみならず、ジベンゾフランなどの様々な芳香族化合物に対する分解性を示した。

(5) 化学物質の疎水性担体への吸着特性

モデル汚染化合物としていくつかの芳香族化合物を取り上げ、疎水性担体であるプラスチックとの吸着作

用について検討した。その結果、試験したほとんどの生分解性プラスチックがジベンゾフラン、ピフェニル、ビスフェノール A などの芳香族化合物を吸着除去する性質があることがわかった。この吸着作用は、生分解性プラスチックおよび化学物質が持つ物性の両面によるものと考えられた。固相バイオリアクター中にこのような疎水性担体が存在することによって、共存する汚染化学物質の微生物分解に大きな影響が出るものと考えられる。

(6) 固相バイオリアクターによる汚染土壌と有機廃棄物の同時処理

固相バイオリアクター中にダイオキシン汚染土壌を投入し（初期濃度 5,400 pg-TEQ/g 乾土）、生ゴミを毎日添加しながら、至適条件で FBC 処理を行った。その結果、運転 270 日目で分解除去率は 75% に達した。これは 1 ヶ月あたり 450 pg-TEQ/g（乾土）のダイオキシン除去速度に相当する。

結論 = 本研究では、生物系有機廃棄物の反復回分処理プロセスの実験によって、固相反応の物理化学的、生物学的特性を明らかにした。この処理系においては含水率および水分活性が重要な因子であり、アクチノバクテリアを中心とする微生物群集が主要な役割を担っていることが明らかとなった。これらは、低水分活性と疎水的環境に適した微生物と考えられる。固相バイオリアクターにダイオキシン汚染土壌と生ゴミを投入して処理を行った結果、ダイオキシンが効率的に分解されることが判明した。これらの結果は、生物系有機廃棄物存在下での有害化学物質の分解処理とコンポスト化が可能であることを示唆している。