

微生物を利用する水産廃棄物の資源化

その他（別言語等） のタイトル	Microbial Conversion of Marine Industrial Waste to Resources
著者	水谷 敦司，海野 健一，高橋 紀行，成田 均，永原 利雄，武者 一宏，藤井 克彦，菊池 慎太郎
雑誌名	室蘭工業大学紀要
巻	53
ページ	35-40
発行年	2003-11
URL	http://hdl.handle.net/10258/83

微生物を利用する水産廃棄物の資源化

その他（別言語等） のタイトル	Microbial Conversion of Marine Industrial Waste to Resources
著者	水谷 敦司，海野 健一，高橋 紀行，成田 均， 永原 利雄，武者 一宏，藤井 克彦，菊池 慎太郎
雑誌名	室蘭工業大学紀要
巻	53
ページ	35-40
発行年	2003-11
URL	http://hdl.handle.net/10258/83

微生物を利用する水産廃棄物の資源化

水谷敦司^{*1}、海野健一^{*1,2}、高橋紀行^{*1}、成田均^{*3}、永原利雄^{*3}
武者一宏^{*4}、藤井克彦^{*4}、菊池慎太郎^{*4}

Microbial Conversion of Marine Industrial Waste to Resources

Atsushi Mizutani, ken-ichi Unno, Noriyuki Takahashi, Hitoshi Narita, Toshio Nagahara
Kazuhiro Musha, Katsuhiko Fujii and Shintaro Kikuchi

(論文受理日 平成 15 年 8 月 29 日)

To extract polyunsaturated fatty acids and to remove cadmium from marine industrial waste like squid-waste-tissues, a microbial treatment of the tissues was examined using a bio-reactor of 200 L. During the sequential and mixed cultivation of proteolytic microbes and some strains of sulfate-reducing bacteria in the homogenized tissues, cadmium was removed significantly from the homogenate as the metal-sulfide precipitate. Characterization of polyunsaturated fatty acids extracted from the tissues are also discussed.

Keywords : waste-tissues, microbial removal of cadmium, proteolytic microbe, sulfate-reducing bacteria, cadmium sulfide, polyunsaturated fatty acids

1. はじめに

イカの非可食内臓部などの水産系廃棄物には多量のタンパク質や油分などが含まれることから肥・飼料として利用されてきた。さらに最近、これら水産系廃棄物の油分はドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)などの高度不飽和脂肪酸を主要な構成脂質とすることが明らかにされ、医薬品原料などとしての利用も研究されつつある。^{1,2)}

他方、図 1 に示すように、これら非可食内臓部には有効成分とともにカドミウムをはじめとする多種類の有害重金属も含まれるため、その有効利

法の開発も限られている状況にあり、あるいは廃棄物として焼却や埋め立てられて環境汚染の一因となる場合も多い。^{3,4,5,6)}

以上の観点から電解法をはじめとするさまざまな重金属除去が開発されている現状にあるが、本稿では非可食内臓部を微生物処理することによって低エネルギー供給下に簡便に有害重金属除去し、あわせてDHAやEPAなどの有効油分を回収する実証試験規模の成果について解説し紹介する。^{7,8)}

2. 実験室規模における水産廃棄物からの微生物工学的重金属除去

水産物廃棄物中で全重金属の約 80%は遊離イオンとして存在するほか、約 20%はタンパク質と結合(抱合)して存在する。すなわち図 2 に模式的に示すように、カドミウムをはじめとする重金

*1 株式会社竹中工務店 技術ソリューション本部

*2 室蘭工業大学工学部客員教授

*3 丸市東洋興業株式会社

*4 室蘭工業大学工学部応用化学科

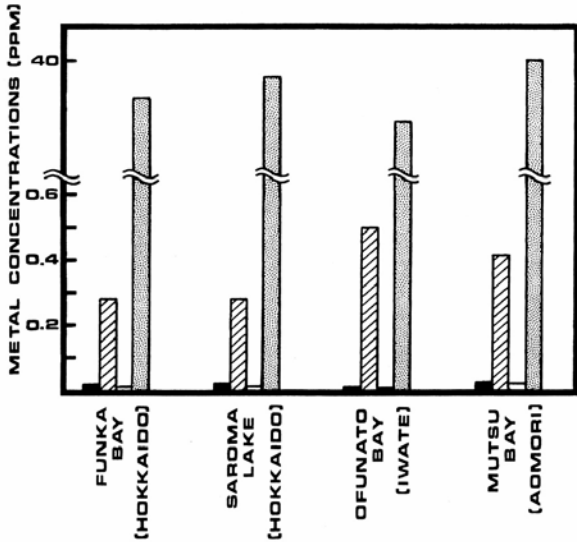


図1 ホタテガイ中腸腺における重金属
 ■; 水銀, ▨; 鉛, □; ヒ素, ▤; カドミウム

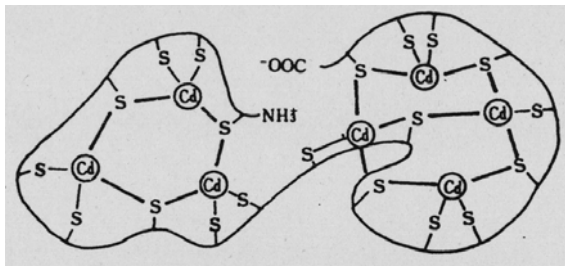
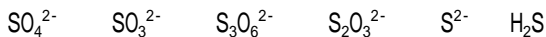


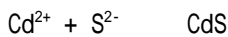
図2 タンパク質(メタロチオネイン)による
 重金属抱合の概念図

属の一部は水産廃棄物のような生体組織内でメタロチオネインに代表される重金属結合タンパク質のチオール基(-SH基)と結合し、結果的にタンパク質に覆われた状態にあることが特徴であると考られている。

他方、硫酸還元菌と呼ばれる一群の微生物は嫌気環境下においてエネルギー代謝的に硫酸塩を還元して亜硫酸塩を生成する。多くの硫酸還元菌の菌株においては亜硫酸塩は亜硫酸還元酵素などの作用によってトリチオン酸やチオ硫酸などの中間段階を経て硫化水素にまで還元される。⁸⁾



従って反応系に遊離の重金属イオンが存在するならば、以下に示す反応に従って硫化金属沈殿が形成されることとなる。



あるいは



以上の原理に基づいて、まず実験室規模において硫酸還元菌などの微生物を利用して水産廃棄物から重金属を除去することを試みた。

すなわち一般的にはウロと呼ばれるホタテガイの非可食部(中腸腺)ホモジネートに、新規に分離した硫酸還元菌を接種し嫌気環境下に培養すると、培養時間の経過に伴ってホモジネート中の硫酸イオンは硫化水素にまで還元されるとともに硫化カドミウム沈殿が形成され、培養開始72時間後にはホモジネート濾液中に残存するカドミウム濃度は初期濃度の20%にまで低下した(図3)。

72時間後のホモジネート濾液中に残存するカドミウムはタンパク質に結合性すると推定されたので、次に硫酸還元菌の接種と培養に先立ってホモジネートにタンパク質分解菌を接種、培養してカドミウム結合性タンパク質を分解し、この重金属を遊離イオンとした後、硫酸還元菌による反応を適用することを試みた。

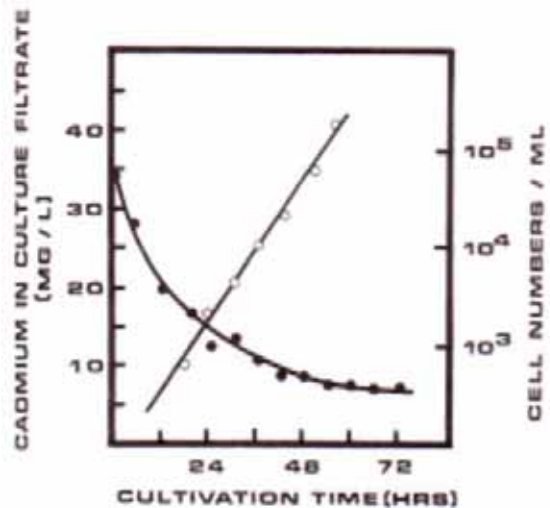


図3 イカ非可食内臓部ホモジネートにおける
 硫酸還元菌の増殖と溶存カドミウムの減少
 ○: 硫酸還元菌の増殖、□: 溶存カドミウムの減少

その結果を図4に示した。ホタテガイ中腸腺ホモジネートに新規に分離したタンパク質分解菌を接種し、好気環境下に24時間培養して重金属結合性タンパク質の分解を図った後、前記の硫酸還元菌を接種して嫌気環境下に72時間培養したところ、ホモジネート中のほとんど全てのカドミウムは硫化カドミウムとなって沈殿し、ホモジネート濾液にこの重金属は検出されなかった。

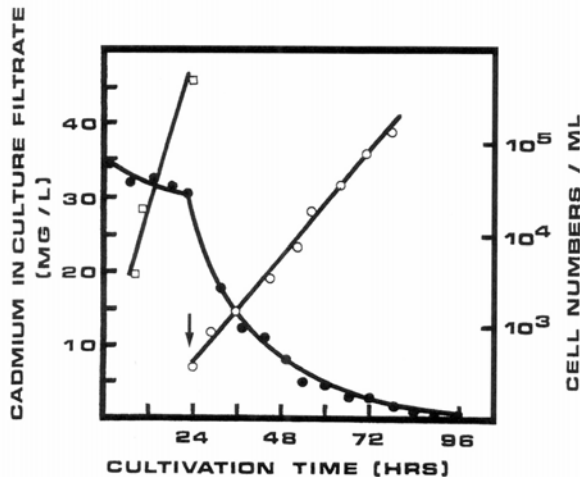


図4 タンパク質分解菌と硫酸還元菌の段階的処理における微生物の増殖と溶存カドミウムの減少

及び : タンパク質分解菌数及び硫酸還元菌数、
: 溶存カドミウムの減少
矢印で示した時間に硫酸還元菌を接種

以上の結果は、重金属結合性タンパク質をタンパク質分解菌で処理することによってタンパク質に結合する金属が重金属イオンとなって反応系に遊離することを示唆するものであり、併せて硫酸還元菌が生成する硫化水素あるいはそれに由来する硫黄イオンが水産廃棄物中の遊離重金属イオンと硫化金属沈殿を形成することを示すものである。

3. 実証規模における水産廃棄物からの微生物工学的重金属除去

以上に基づき、本道南西地域において加工廃棄物として排出されるイカ非可食部（内臓部、一般的にはゴロとも呼ばれる）を被検水産廃棄物として200リットル反応槽による実証規模の微生物工学的カドミウム除去試験を実施した。

本研究の目的は上記の実験室規模での試験成果を実用化するための条件評価であるので、供給エネルギー量と使用機器種を最少限にとどめ、また再利用可能な回収物は返送し、さらに工程での物質搬送は簡易な方式または手動によって行なった。

図5に実験プロセスのフローを示し、図6に装置の全景を示した。まず反応槽へ被検材料（イカ内臓部）と予め前培養しておいたタンパク質分解菌を投入し、好気環境下に所定の温度でタンパク質分解反応を行ってタンパク質に結合する重金属をイオンとして遊離させた。次いで粗固形分を5mmのメッシュで濾過し、さらに濾液をディスク

型遠心分離機で油分、液分（1次液分）及び固分（2次固分）の3画分に分離分画した。

メッシュで濾過した粗固形分はイカ軟骨などが主体であるので以後の資源化が困難であり、また重量や体積もわずかであることから、乾燥して減量した後に廃棄した。



図6 試験装置全景

他方、油分はDHAやEPAなどの高度不飽和脂肪酸の生理活性脂質原料として回収し、また1次固分にはタンパク質分解菌が含まれるので回収して以後のタンパク質分解反応の元菌として使用した。

その後、1次液分を反応槽へ返送し、これに予め前培養しておいた硫酸還元菌を接種した。反応槽を密閉して嫌気環境とし、所定の温度で硫酸還元菌を培養して硫酸還元反応を進行させた。前述の実験室規模の試験成果に従うなら、この反応過程において硫黄イオンと液分中の遊離重金属イオンとが結合して硫化金属沈殿を形成することが期待される。

事実、反応終了後の液分を、超遠心機によって液分（2次液分）と固分（2次固分）に分離すると、2次液分にカドミウムは検出されず、2次固分からのみカドミウムが検出されて、カドミウムは硫化物沈殿となって2次液分から除かれたことが示唆された。すなわち2次液分には重金属が残存しないので、乾燥後に飼・肥料原料としての資源化が可能である。

他方、2次固分には硫酸還元菌が含まれるので以後の硫酸還元反応の元菌として使用することが可能であるが、再利用回数の増加とともに硫化カドミウム蓄積量も増加するので適当な再利用回数の後に廃棄した。

以上の一連の反応における代表的なマテリアルバランスを図7に示し、また硫酸還元菌の培養に伴う液分及び固分のカドミウム濃度の経時変化を図8に示した。

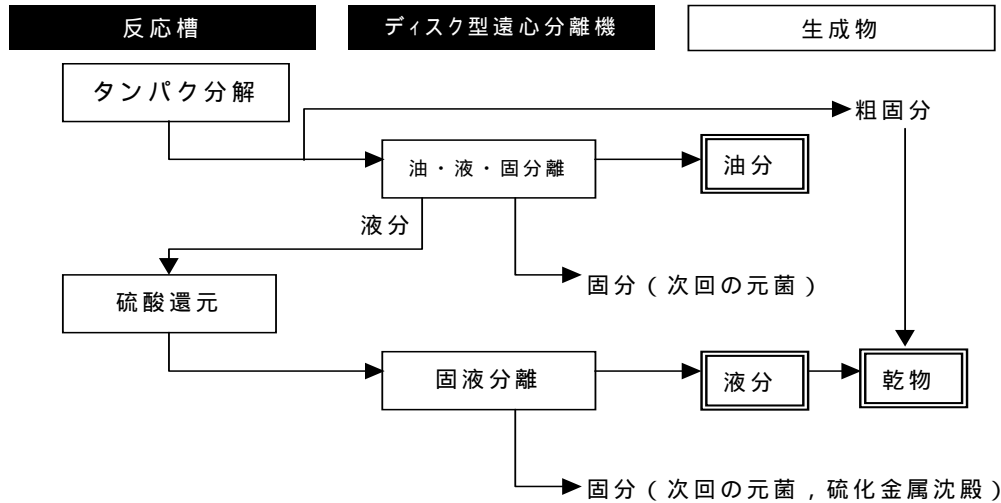


図5 実験のフロー

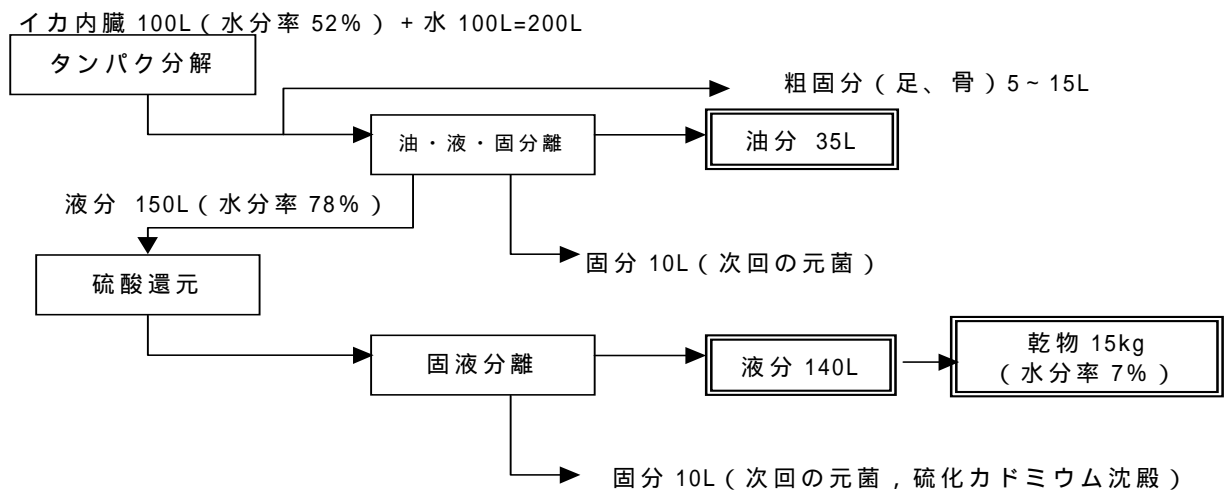


図7 代表的なマテリアルバランス

図8に示されるように、タンパク質分解反応の進行に伴ってイカの本質成分の1次固分に検出されるカドミウム濃度が減少するとともに1次液分に検出されるカドミウム濃度が増加することから、タンパク質に抱合されていたカドミウムが遊離したことが示唆され、他方、硫酸還元菌の培養に伴って2次液分のカドミウム濃度が顕著に減少し、それと化学量論的に一致するカドミウムが2次固分に検出されたことから、遊離カドミウムイオンが硫化カドミウムとして沈殿したことが示された。

さらに油分について、有用物質である高度不飽和脂肪酸の含有量、並びに製品の品質に大きく影

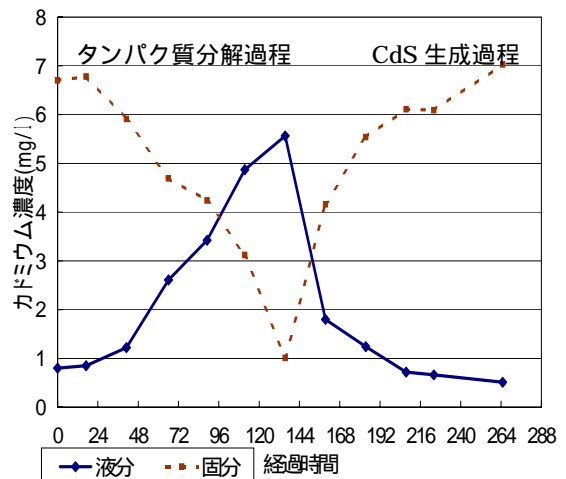


図8 処理時間の経過に伴うカドミウム濃度変化

響する脂質の過酸化度を分析した。その結果を表1に示した。

他の魚介類非可食部に比較してイカ非可食部にはドコサヘキサエン酸(DHA)及びエイコサペンタエン酸(EPA)が高値で含有されていた。しかし表1において過酸化物価として示した1期酸化物のヒドロペロオキシドや、カルボニル価あるいはチオバルピツール酸価として示した2期酸化物のケトン・アルデヒドあるいはマロンジアルデヒドはいずれも高値であり、さらに酸価として示した短鎖有機酸も比較的高値であることから、抽出油分の酸化は速やかに進行することが示唆された。

表1 油分の分析

項目		含有量
カドミウム		検出せず
脂肪酸	ドコサヘキサエン酸	6.1%
	エイコサペンタエン酸	13.2%
過酸化	過酸化物価	11.7 ミリ当量/kg
	カルボニル価	6.40 吸光度/g
	チオバルピツール酸価	2.49 μ mol/g
	酸価	28.3mg/g

4. おわりに

以上のようにタンパク質分解菌と硫酸還元菌を用いる連続的微生物処理によって、イカ加工廃棄物(非可食内臓部)に含有されるカドミウムをほぼ完全に除去することが可能であり、本法による水産廃棄物の飼・肥料原料への転換と資源化の実用性が示唆された。

さらに、詳細なデータは省略するが、硫酸還元菌が生成する硫黄イオンや硫化水素による硫化金属沈殿の形成を、反応系への単体硫黄添加やポンベなどからの硫化水素供給で代替することは不可能であり、そのような観点からも本法は極めて簡便で安価な低エネルギー技術と位置づけられる。

他方、図8に示すように本法によるタンパク質分解反応の終了までには144時間(6日間)という長時間の反応時間が必要であり、また全工程の終了にも約10日間の日数が必要であった。反応系のpH調整などの環境設定によって硫酸還元菌による反応時間を短縮することは比較的容易あるが、本試験で用いたタンパク質分解菌の活性をただちに向上させることは困難と思われ、従ってさらに高活性を有する新規のタンパク質分解菌を探索するなどして反応効率を向上させることも必要であ

ろう。

また、油分の酸化が当初の予想を上回る速度で進行することから、抽出油分を良質な原材料として利用するためには管理方法の改善などの酸化防止措置を講じる必要もあろう。

本研究の一部は環境事業団より平成13年度次世代廃棄物処理技術基盤整備事業助成金の交付を受けて実施したものである。

文 献

- (財)バイオインダストリー協会・バイオ・テク便覧編集グループ編:バイオ・テク便覧、通産資料調査会(1991年)
- 鹿山光編:総合脂質科学、恒星社厚生閣(1989)
- Shintaro Kikuchi, Mikio Inohara, Ichei Okamura, Yuko Oshima, Takao Takeuchi, Toshiaki Miura and Masakazu Tatewaki: Purification and Characterization of Metallothionein-like, Zinc-binding Protein of Scallops, *Patinopecten yessoensis*, Bioscience Biotechnology & Biochemistry, Vol.56, No.9, pp.1434-1438 (1992)
- 菊池慎太郎、寺田淑恵、関千草、大嶋尚士、澤谷拓治、穂刈勝利、梅原泰男、高見澤一裕: ホタテガイ廃棄組織からの微生物的カドミウム除去、廃棄物学会論文誌、Vol.8, No.2, pp.65-70 (1997)
- 菊池慎太郎: 水産廃棄物の資源化、資源処理技術、Vol.45, No.4, pp.306-310 (1998)
- Shintaro Kikuchi, Yuko Oshima, Takashi Oshima, Masakazu Tatewaki, and Toshiaki Miura: A New Zinc-binding Protein of Scallop, *Patinopecten yessoensis*, Induced under Zinc-enriched Conditions, Bioscience, Biotechnology & Biochemistry, Vol.59, No.4, pp.751-752 (1995)
- 水谷敦司、海野健一、高橋紀行、矢部誠一、川人尚美、永原利雄、成田均、鈴木治雄、菊池慎太郎: 水産加工廃棄物の醗酵分解による無害化、魚油抽出の実用化技術の開発、環境事業団平成13年度次世代廃棄物処理技術基盤整備事業報告書(2002)
- 水谷敦司、海野健一、高橋紀行、矢部誠一、川人尚美、永原利雄、成田均、鈴木治雄、菊池慎太郎: 水産加工廃棄物の醗酵分解による無害化、魚油抽出の実用化の開発、第2回廃

棄物処理科学研究発表会成果抄録集、pp63-66
(2002)

- 9) 石本真編：嫌気呼吸と硫黄代謝、北大図書刊
行会 (1988)