

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2010-94593

(P2010-94593A)

(43) 公開日 平成22年4月30日(2010.4.30)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C O 2 F 1/56 (2006.01)	C O 2 F 1/56 G	4 D O 1 5
B O 1 D 21/01 (2006.01)	B O 1 D 21/01 1 O 7 Z	

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2008-266368 (P2008-266368)	(71) 出願人	000156581
(22) 出願日	平成20年10月15日 (2008.10.15)		日鉄環境エンジニアリング株式会社
			東京都千代田区東神田一丁目9番8号
		(71) 出願人	500433225
			学校法人中部大学
			愛知県春日井市松本町1200
		(74) 代理人	100098707
			弁理士 近藤 利英子
		(74) 代理人	100077698
			弁理士 吉田 勝広
		(74) 代理人	100146042
			弁理士 梶原 克哲
		(72) 発明者	蔵田 信也
			東京都千代田区東神田1-9-8 日鉄環
			境エンジニアリング株式会社内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 有機性廃液の処理方法

(57) 【要約】

【課題】黒液又は黒液様廃液を安価かつ簡便に処理すること。

【解決手段】微生物由来のバイオポリマーを黒液又は黒液様廃液に添加し、該黒液中又は黒液様廃液中の着色成分を沈殿させることを特徴とする有機性廃液の処理方法。微生物由来のバイオポリマーとしては、構成アミノ酸残基の質量比として、アラニン：16.4%、グリシン：11.3%、グルタミン酸：11.2%、ロイシン：8.9%、アスパラギン酸：8.8%、アルギニン：7.9%、バリン：7.5%、スレオニン：7.3%、セリン：7.1%、リジン：3.5%、フェニルアラニン：3.3%、イソロイシン：2.9%、ヒスチジン：1.8%、プロリン：1.4%、メチオニン：1.0%で特定される水溶性タンパク質であることが好ましい。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

微生物由来のバイオポリマーを黒液又は黒液様廃液に添加し、該黒液中又は黒液様廃液中の着色成分を沈殿させることを特徴とする有機性廃液の処理方法。

【請求項 2】

前記黒液様廃液が、セルロース系バイオエタノール生産時の廃液である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記微生物が、ロードコッカス属の細菌である請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記バイオポリマーが、水溶性タンパク質である請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記水溶性タンパク質を構成するアミノ酸組成において、質量比として、塩基性アミノ酸であるアルギニンが 7 ～ 9 %、かつ、リジンが 3 ～ 4 % である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記着色成分を沈殿させて得られた上清を、前記バイオポリマーを産生する微生物の培養に使用する請求項 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、有機性廃液の処理方法に関し、より詳しくは、微生物由来のバイオポリマーを利用することで、黒液又は黒液様廃液中の着色物質を容易に沈殿させ、澄んだ上清を簡便に得る方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

植物資源を原料として生産されるエタノールは「バイオエタノール」と呼ばれている。バイオエタノールは、植物が大気中から吸収した二酸化炭素を炭素源としているため、それを消費して二酸化炭素を排出しても、大気中の二酸化炭素量は増減せず、二酸化炭素の排出はないものとして取り扱われている（カーボンニュートラル）。したがって、バイオエタノールは、悪化しつつある地球環境問題や価格が高騰する資源問題の切り札として大きな注目を集めている。

【0003】

バイオエタノールには、食料として利用されているサトウキビやトウモロコシなどの植物資源を原料とする第 1 世代のバイオエタノールと、食料としては利用されない木材や稲わらなどを原料とする第 2 世代のバイオエタノールがある。従来生産されるバイオエタノールは、ほとんどが第 1 世代のバイオエタノールである。しかし、第 1 世代のバイオエタノール生産に必要な植物原料は、食料資源と競合し、世界的な食物価格の高騰を招くなどの悪影響も出ているため、第 2 世代のバイオエタノール生産のための研究・開発が進められている。

【0004】

第 1 世代のバイオエタノールは、食物として利用されている植物原料を使用するため、その生産に伴い発生する残渣、廃液は、飼料や肥料に再利用することが容易である。しかし、第 2 世代のバイオエタノールはセルロース類を原料とする（以下、セルロース系バイオエタノールと呼ぶ。）ため、その生産に伴いパルプの製造工程で排出される黒液に似た黒液様廃液が大量に発生し、この黒液様廃液の処理が課題となっている。黒液様廃液の発生量は得られるエタノールの約 10 倍程度であり、また、リグニンや樹脂等を多量に含むため、飼料や肥料として利用することは困難である。このため、セルロース系バイオエタノール生産の工業化においては、大量の廃液の浄化処理が不可欠となる。

【0005】

黒液や黒液様廃液の処理方法としては、直接生物処理する方法、産業廃棄物として処理する方法、及び、焼却処理などが考えられるが、いずれも高コストである。これらの処理方法をセルロース系バイオエタノール生産時に発生する黒液様廃液に適用し、その処理コストを得られるエタノールに転嫁すると、バイオエタノールの生産コストは、ガソリンや輸入バイオエタノールと比べ格段に高価なものになってしまう。従って、より安価で簡便な廃液の処理方法の開発は、セルロース系バイオエタノール生産の工業化にとって、避けることのできない極めて重要な問題である。

【 0 0 0 6 】

従来より、パルプの製造工程で排出される黒液の処理は、黒液中に多量の無機成分を含むことから、多重効用真空蒸発缶法で濃縮し、これを焼却し、炭酸ナトリウムや硫化ナトリウムを回収することが行われている。これに対し、近年の環境保護への高まりもあり、黒液の処理について、より簡便で、環境に配慮した処理方法の開発が望まれている。その一つとして、大半が焼却処理されていた黒液中のリグニンを凝集剤によって分離する黒液の処理方法が提案されている（例えば、特許文献 1 参照）。特許文献 1 には、黒液に酸を加えて pH を 2 . 5 ~ 3 . 5 とし、次いで凝集剤を添加して、黒液中のリグニンを固形物として分離する方法が開示されている。

10

【 0 0 0 7 】

【特許文献 1】特開 2 0 0 7 - 7 0 7 8 4 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

20

【 0 0 0 8 】

しかしながら、上記した黒液の処理方法でも十分であるとは言い難く、より簡易で経済的であり、かつ、環境保護に配慮した黒液の処理方法の開発が望まれている。また、今後の工業化が待望されているセルロース系バイオエタノールの製造の際に排出される黒液様廃液は、リグニン等を含有する点では黒液と似ているものの含有成分が異なり、従来の黒液の処理方法をそのまま適用することはできない。

【 0 0 0 9 】

従って、本発明の目的は、安価でかつ簡便に、環境保護にも配慮した黒液又は黒液様廃液を浄化処理できる廃液の処理方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

30

【 0 0 1 0 】

上記目的は以下の本発明により達成される。すなわち、本発明は、微生物由来のバイオポリマーを黒液又は黒液様廃液に添加し、該黒液中又は黒液様廃液中の着色成分を沈殿させることを特徴とする有機性廃液の処理方法を提供する。

【 0 0 1 1 】

前記方法においては、黒液様廃液が、セルロース系バイオエタノール生産時の廃液であること；微生物がロッドコッカス属の細菌であることが好ましい。

また、バイオポリマーが水溶性タンパク質であることが好ましく、塩基性アミノ酸であるアルギニンを質量比として 7 ~ 9 % かつリジンを 3 ~ 4 % 有するものであることがより好ましい。

40

また、本発明の処理方法においては、前記着色成分を沈殿させて得られた上清を、前記バイオポリマーを産生する微生物の培養に使用することも好ましい態様である。

【発明の効果】

【 0 0 1 2 】

本発明によれば、黒液又は黒液様廃液を簡便かつ安価に凝集物と上清とに分離し、浄化できる方法が提供される。また、本発明により分離された上清は凝集物の混入が少なく、本発明の方法に使用するバイオポリマーを産生する微生物の培養に使用できるほか、簡便な処理で、再生上水として再利用することも可能である。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 3 】

50

以下、好ましい実施の形態を挙げて、本発明を詳細に説明する。

本発明において、「黒液」とはパルプの製造工程で排出される黒色の廃液をいう。また、「黒液様廃液」とは、セルロースなどの植物資源を処理する際に排出される着色した廃液のことをいう。

【0014】

また、本発明において「微生物」とは、肉眼では観察できないような微細な生物のことをいい、具体的には、原核生物並びに糸状菌、酵母、単細胞性の藻類及び原生動物などの真核生物の一部を含むものとする。

【0015】

本発明者らは、黒液又は黒液様廃液を、簡便に効率よく、環境保護に配慮して処理することについて鋭意検討した結果、微生物が分泌するバイオポリマーを利用することが有効であることを見出して本発明に至ったものである。すなわち、微生物が分泌するバイオポリマーを利用することで、pH調整のような前処理をすることなく、黒液又は黒液様廃液にバイオポリマーを添加するといった極めて簡便な方法によって、これらの廃液中に含まれる着色成分を効率よく凝集沈殿させることができ、結果として澄んだ上清を容易に得ることができる。また、この処理によって沈殿物及び上清に含有されることになるバイオポリマーは微生物由来の天然物であるので、無機凝集剤を使用した場合と比較して、その後の処理も容易であり、また、環境に与える影響も少ないという利点もある。

【0016】

本発明の方法で処理した廃液は、着色成分が凝集・沈殿し、澄んだ上清と着色成分を含む層とに分離する。着色成分を含む層にはリグニン等が濃縮されており、沈殿物を回収して焼却処理することにより、熱としてエネルギーを回収することができる（サーマル・リサイクル）。一方、上清は不純物の混入が少ないため、簡単な処理で再生上水として再利用することができる（マテリアル・リサイクル）。また、上清は、本発明の処理方法に使用するバイオポリマーを産生する微生物の培養に用いることもでき、本発明の廃液の処理方法のコストをさらに低減することができる。

【0017】

上記黒液様廃液の例としては、セルロース系バイオエタノール生産時の廃液を挙げることができる。上記したように、セルロース系バイオエタノールを生産するには大量の黒液様廃液が発生する。この黒液様廃液を生物処理や焼却処理をしてそのコストをエタノールに上乗せすると、セルロース系バイオエタノールの価格は、ガソリンや輸入エタノールよりも高額となってしまう。本発明の処理方法は、黒液様廃液を非常に低コストで処理することができるため、結果として、セルロース系バイオエタノールの製造価格が抑えられ、ガソリンや輸入エタノールに対する競争力を与えることができる。

【0018】

本発明の方法に使用する微生物由来のバイオポリマーは、黒液又は黒液様廃液に添加した場合に、これらの廃液中の着色成分を沈殿させる能力を持つことが必要である。このような物質として、ロードコッカス属の細菌由来のバイオポリマーが挙げられる。特に、バイオポリマーが水溶性タンパク質であることが好ましい。より好ましくは、ロードコッカス（*Rhodococcus*）sp. KKY株の生産する水溶性タンパク質を用いるとよい。本発明者らの検討によれば、塩基性アミノ酸の組成比が一般のタンパク質に比べて多い水溶性タンパク質を用いた場合に、より迅速かつ確実に着色成分を沈殿させることができることがわかった。より具体的には、アミノ酸組成として、質量比で、塩基性アミノ酸であるアルギニンを7～9%、かつ、リジンを3～4%含む塩基性タンパク質を用いることが好ましい。なお、一般のタンパク質は、これらの塩基性アミノ酸をアルギニンとリジンの合計で数%程度含んでいる。本発明の方法に好適な水溶性タンパク質の一例としては、その構成アミノ酸残基の質量比として、アラニン：16.4%、グリシン：11.3%、グルタミン酸：11.2%、ロイシン：8.9%、アスパラギン酸：8.8%、アルギニン：7.9%、バリン：7.5%、スレオニン：7.3%、セリン：7.1%、リジン：3.5%、フェニルアラニン：3.3%、イソロイシン：2.9%、ヒスチジン：1.

10

20

30

40

50

8 %、プロリン：1.4 %、メチオニン：1.0 %で特定されるタンパク質を挙げることができる。

【0019】

本発明の方法に好適に使用できる上記したようなアミノ酸組成を有する、塩基性の水溶性タンパク質は、例えば、下記のような方法によって簡易に検証することができる。すなわち、精製したサンプルを濾紙電気泳動した場合に、開始点から陽極側にバンドが現れ（図1参照）、かつ、精製サンプルをIR分析した場合に、図3に示したスペクトルが得られれば、上記のアミノ酸組成を有する塩基性の水溶性タンパク質であると同定できる。

【0020】

本発明の処理方法において黒液又は黒液様廃液に添加するバイオポリマーの量は、バイオポリマーの凝集剤としての能力や黒液又は黒液様廃液中のリグニンの量などにより変動するが、黒液又は黒液様廃液1リットルに対し50mgより多く添加しても、凝集効果が飽和し、それ以上の添加は不経済となり好ましくない。また、0.5mgより少ない場合、凝集剤としての効果が十分に発揮されない場合があるため好ましくない。したがって、バイオポリマーの添加量は、黒液又は黒液様廃液1リットル当たり0.5mg～50mgであることが好ましく、2mg～40mgであることがより好ましい。

【実施例】

【0021】

以下、実施例及び比較例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0022】

[実施例1]

<バイオポリマーの精製>

ロードコッカス sp. KKY株を以下の組成の液体培地に植菌し、4日間、30℃にて振盪培養した。培養終了後、培地を遠心分離（10,000g、5分間）して菌体を除去し、培養上清液を得た。

グルコース	10g
酵母エキス	0.5g
尿素	0.5g
K ₂ HPO ₄	5g
KH ₂ PO ₄	2g
NaCl	0.1g
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.2g
蒸留水	1L

【0023】

上記培養上清液100mLに、n-ブタノール飽和水溶液100mLと硫酸アンモニウム40gを加えて混合し、遠心分離（10,000g、5分間）したところ、水層、n-ブタノール層及び不溶性画分の3相に分かれた。

これら3相の中の不溶性画分を採取し、乾燥させた。乾燥重量は20mgであった。予備実験により、この不溶性画分に凝集活性があることを確認した。上記不溶性画分の乾燥試料をアセトン洗浄した後、蒸留水に添加し、懸濁させ、この懸濁液を濾紙電気泳動したところ、図1に示すように、開始点から陽極側に単一のバンドを示した。このため、上記不溶性画分の乾燥試料を、本実施例において精製バイオポリマーとして用いた。

【0024】

また、上記懸濁液をゲル濾過し、各分画の吸光度（図中に実線で示す）に、各分画におけるタンパク質濃度（図中○で示す）と凝集活性（図中●で示す）を重ね合わせたグラフを図2に示す。図2に示されたように、凝集活性とタンパク質濃度は、よい一致を示し、タンパク質濃度が凝集活性と関連していることが推測された。そこで、懸濁液をタンパク質分解酵素で処理したところ、凝集活性が失われることが確認された。この結果、上記で得た精製バイオポリマーはタンパク質であって、かつ、凝集活性に優れることが明らかと

10

20

30

40

50

なった。また、先の濾紙電気泳動の結果から、塩基性のタンパク質であることが確認された。なお、ゲル濾過用のゲルとしては、Sephacryl S-300（ファルマシア社製）を使用し、吸光度の測定波長は280nmとした。

【0025】

精製したバイオポリマーについて、Moore法（S. Moore, D. H. Spackman及びW. H. Stein, Anal. Chem., 30, 1185ページ, 1958年を参照）により、構成アミノ酸とその構成比を求めたところ、以下の通りであった。

〔表1〕 ロードコッカスsp. KKY株生産ポリマーのアミノ酸組成

アラニン	16.4	セリン	7.1
グリシン	11.3	リジン	3.5
グルタミン酸	11.2	フェニルアラニン	3.3
ロイシン	8.9	イソロイシン	2.9
アスパラギン酸	8.8	ヒスチジン	1.8
アルギニン	7.9	プロリン	1.4
バリン	7.5	メチオニン	1.0
スレオニン	7.3	計	100

（数字は質量％）

表1の結果から、上記バイオポリマーは、アルギニンやリジンなどの塩基性アミノ酸の含有率が高い塩基性タンパク質であることが明らかとなった。

また、精製したバイオポリマーのIRスペクトルを図3に示した。

【0026】

< 廃液処理 >

メスシリンダーに50mLのパルプ廃液（黒液）を注ぎ、濁度計（上水用濁度計TR-30、笠原理化学工業株式会社製）を用いて色度を測定した。色度は測定範囲の上限を超えたため、測定できなかった。また、当該黒液に上清は存在しなかった。

当該黒液に、上記バイオポリマー2mgを添加後、十分に混合してから1時間静置した。この結果、黒液中の溶解性リグニン由来物質が凝集、沈殿し、真黒な凝集沈殿画分とわずかに黄味があった澄んだ上清とに自然分離した。上清は約38mLであり、上清の色度は55度であった。

【0027】

〔比較例1〕

実施例1の対照実験として、メスシリンダーに50mLのパルプ廃液（黒液）を注ぎ、注いだ直後と1時間後に上清の量と色度を測定した。この結果、黒液を注いだ直後、及び、1時間後とも上清は見られず、色度も測定範囲の上限を超えたため測定できなかった。実施例1と比較例1の測定結果を表2に示す。

【0028】

[表 2]

	経過時間			
	0 分		1 時間	
	上清量(mL)	上清の色度(度)	上清量(mL)	上清の色度(度)
実施例 1	0	∞	38	55
比較例 1	0	∞	0	∞

10

∞ は測定範囲の上限を超えたことを示す。

【 0 0 2 9 】

実施例 1 と比較例 1 の実験結果から、本発明の廃液の処理方法を黒液に適用することにより、黒液の着色成分を沈殿させ、澄んだ上清を得ることができることが示された。この結果から、本発明の廃液の処理方法を、セルロース系バイオエタノールの生産時に発生する黒液様廃液に適用することにより、該廃液を安価にかつ容易に処理でき、セルロース系バイオエタノールの製造コストを低減できると考えられる。

20

【産業上の利用可能性】

【 0 0 3 0 】

本発明によれば、黒液又は黒液様廃液を安価かつ簡便に処理できる廃液の処理方法が提供される。本発明の処理方法をセルロース系バイオエタノールの生産時に発生する黒液様廃液に適用することにより、セルロース系バイオエタノールの生産コストを低減することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 1 】

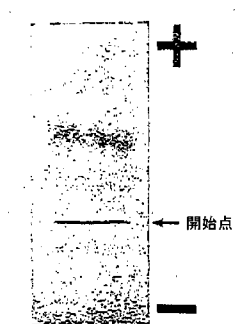
【図 1】バイオポリマーの濾紙電気泳動の結果である。

【図 2】バイオポリマーをゲル濾過した際の各分画の吸光度等を示すグラフである。

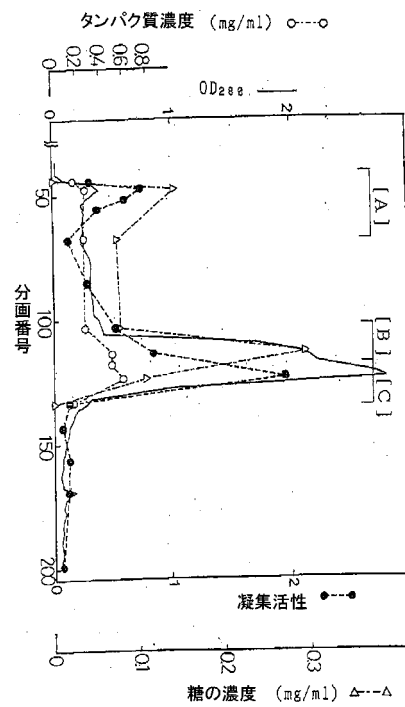
【図 3】バイオポリマーの I R スペクトルである。

30

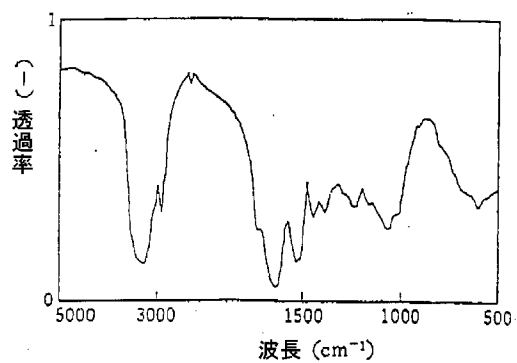
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

(72)発明者 倉根 隆一郎

愛知県春日井市松本町 1 2 0 0 番地 学校法人中部大学内

F ターム(参考) 4D015 BA02 BA19 BB05 CA09 CA20 DB34 DB35 DC10 EA32