

酢酸菌によるセルロース膜の作成とその膜の評価と利用

岐阜県立岐阜工業高等学校 化学技術工学科

岩田 仁見

1. はじめに

私たちを取り巻く環境は普遍的なものでかつかけがえないものです。環境は人間社会の高度化に伴いいくつかの問題を抱える現状となっています。その一つである地球温暖化は化石燃料の消費が大きな割合を占めていて、中でも廃棄プラスチックに関する問題は燃焼に伴う二酸化炭素の排出にとどまらずダイオキシンや海洋中でのマイクロプラスチックも軽視できない状況となっています。

SDGs の 13「気候変動に具体的な対策を」 14「海の豊かさを守ろう」 15「陸の豊かさを守ろう」に関連して環境に貢献できる石油由来のプラスチックとは違う生分解性の高分子化合物であるセルロースに注目しました。

微生物とのコラボを考え、木材からでなく微生物が生産するセルロース膜で工業材料としての利用や環境教育の意識を高めることを研究の目的とし「課題研究」の科目で担当する生徒たちと研究をしました。

本学科の実験実習には機器分析、バイオ、化学分析、物理化学や製造化学実習があり、実験によって製造した物質の組成（組成式）や性質、機能を実験実習で得た知識や技術、技能を駆使して調べることが出来ます。実験で集めたデータを分析し評価を出していきます。課題を見つけていこうと思います。

2. 研究概要

セロハン（半透膜）とは本来、精製したセルロースを再生繊維と同様に薬品に溶解させ、フィルム状に成型することで生産しています。本研究では酢酸菌によりセルロースを生産する工程で予めフィルム状の膜になるように生産することを目的としました。セルロースとは、 β -グルコースが縮合重合した重合体で、高分子に分類されます。植物などが生産する繊維質の物質の主成分でもあり、二酸化炭素と水から生産されることから環境循環型の材料とも言えます。

目的のセルロースは、産膜性の酢酸菌(*Acetobacter xylinum*)がコロニーを形成した時に生産してそれが膜となります。生産された膜の主成分がセルロースであり、形状も培養の方法によって制御することが可能な点から採用しました。この製法で作る半透膜を以後 BC 膜(Bacteria Cellulose)と呼称します。

BC 膜の特性として挙げられるのが、微細繊維構造(太さ 50~100nm 程度)、複雑な三次元ネットワーク構造、高い機械的強度(高引張強度)、透析性、浸透性、生分解性、保水性などです。これらの特徴を生かした応用例として人工血管、創傷被覆材、UV カット材、キャパシタ（蓄電装置）などに利用されています。

製作した BC 膜が実際に半透膜としての機能性を持ち、応用が可能なのかを自作の電池の半透膜部分を代替して実験を行います。透析、浸透の実験や起電力の測定や、それを用いた LED の点灯、N ゲージの走行実験などです。また、本学科の所有する SEM や IR など文献との特性の照合により、半透膜としての可能性以外にも検証を行います。本研究によって BC 膜の教材としての有用性を明らかにしていきます。

酢酸菌による生産を実施し BC 膜で次の(1)～(4)の研究を実施していきます。

(1) 酢酸菌によるセルロース膜の製造を行う。

バイオ実習でセルロース膜を製造する。

(2) BC 膜の組成、性質や機能性を調べる。

できた膜を燃焼による元素分析をして組成式を求める。

物理化学実習で透析の実験を行い半透膜の有無を調べる。

機器分析装置の IR や SEM などから構造などを調べる。

(IR：赤外吸収分光法による分析、SEM：共分散構造分析による分析)

半透膜の性質があれば膜を利用してダニエル電池の製作をする。この電池を使って LED の点灯やモーターの駆動など実際に実験をすることで電池の働きを理解させることができる。シーケンス制御装置を使い LED の点灯を制御させる外部電源として利用してみる。

(3) 膜の引張強度を測定する。化学実験で使用する汙紙や薬包紙など比較し利用や用途を考える。(引張強度は膜の厚さをマイクロメーターで測りおもりをぶら下げて破断したときの質量と断面積から計算をして求める)

(4) BC 膜のヒドロキシ基を過ヨウ素酸カリウムで酸化し、亜硫酸水素ナトリウム処理でスルホン化し陽イオン交換膜を作製する。陽イオン交換膜を用いて食塩水の電気分解により水酸化ナトリウムの製造を行うことができる。(現在のカセイソーダ製造の原理となるもので無機化学工業の一部を理解させることができる)

BC 膜の製造では滅菌操作、培養、温度管理、培養液の調製などの操作が必要でオートクレーブ、インキュベーターなどを使用します。作った膜を使って透析、強度試験、ダニエル電池の起電力測定、実用的な何かを動かすものを作るなど派生的な学習につなげていきます。

3. 研究

(1)BC 膜の製造について

酢酸菌によるセルロース膜を製造する。サトウキビ栽培とサトウキビの収穫後にジュースを取り糖度を測りセルロース膜の原料とする。昨年収穫した一部と今年栽培しているものを材料とする。今年の栽培のものは収穫時期が 1 2 月以降と遅いため最初は市販の砂糖を代わりに使用していきます。

①酢酸菌の入手

BC 膜を作成するにあたってコンブチャ菌株というセルロースをコロニー内で生産する性質を持つ菌種でコンブチャスコビーというものを使いました。一般的には自作の美容健康用の発酵飲料に使われています。

②酢酸菌の培養

酢酸菌の繁殖しやすい環境にするためにガラス器具の滅菌、培養液の調整、温度調整を行う必要があります。本研究では圧力鍋、オートクレーブによる滅菌を行い、糖とスコビーを用いた培養液を作りました。培養液を作る際に使った糖は昨年収穫したサトウキビと市販の砂糖を使いました。培養を行う際に酢酸菌の活動しやすい温度が 30～35℃であるこ

とから夏の期間は室内での培養、冬の期間はインキュベーターで保温をし、培養を行いました。



図 1．酢酸菌が膜を生成する様子とサトウキビの糖度測定 オートクレーブによる滅菌

③生産された膜の処理

酢酸菌が生産した膜をフィルム状に加工します。生産された BC 膜は培養液や菌が含まれる為、水酸化ナトリウム水溶液に浸して加熱を 30 分ほど行うことで滅菌と他の物質を除去します。その後水溶液を蒸留水に変えて、同様の操作を 2 回と揉み洗いを行うことで白色の透明や無色透明の膜になります。次に、プラスチック製のシートの上で膜を 1～2 日乾燥させるとフィルム状になります。このときに BC 膜にカビが生えないようにシートをアルコール消毒で除菌を行います。これをシートから剥離させると BC 膜の完成です。



図 2．乾燥前の BC 膜ゲルと完成した BC 膜

(2)BC 膜の組成、性質や機能性について

①元素分析

有機化合物の成分元素の割合を測定することを元素分析といいます。元素分析を行うには、一定量の試料を燃焼管に入れ乾いた酸素を送って完全燃焼させます。炭素は二酸化炭素に、水素は水蒸気になるためそれぞれを別々の吸尿管に吸収させて、その質量を測定します。吸収する管の中は、塩化カルシウムとソーダ石灰を用います。塩化カルシウムで H_2O を吸収し、ソーダ石灰で CO_2 を吸収します。作成した BC 膜が有機化合物であるかを調べるために元素分析を行います。

※試料 BC 膜の質量は 0.0194g

	塩化カルシウム(H ₂ O) g	ソーダ石灰(CO ₂) g
燃焼前	67.2452	68.6466
燃焼後	67.2526	68.6471
差	0.007400	0.001200

結果をもとに計算をすると炭素、水素、酸素の原子数の比は 1 : 30 : 41 という結果になりました。BC 膜の主成分はセルロース (C₆H₁₀O₅) であるため原子数の比が 1.2 : 2 : 1 になるはずですが、塩化カルシウムやソーダ石灰の質量を図る際に空気中の水蒸気や二酸化炭素を吸収したため、大きな差が出たと考えました。組成式を出すことはできませんでしたが、元素分析の実験から、H₂O と CO₂ を発生したことから C、H、O で構成されている有機化合物であると分かりました。



図 3 . 元素分析装置

②透析性と浸透性

作成した BC 膜は半透膜の持つ特性である透析性の確認をします。透析性とは半透膜を通して、ある一定の大きさの隙間を通れる物質のみが移動し、大きな物質はそのままの場所に残るといったものです。このような性質があるのかを確認するために水槽に BC 膜を挟み、塩化鉄(III)水溶液(褐色のコロイド)と純水をそれぞれの箱に入れ、実験をしました。目視で浸透圧を確認することは難しいので、時間をおいてから純水を入れた方に硝酸銀水溶液を滴下したところ、白色沈殿が生じました。コロイドの通過は見られなかったことから半透膜の透析性を確認できました。また純水と 20%の水溶液で浸透性の確認もしました



図 4 . 透析性と浸透性の様子

③ 機器分析による検査

SEM による観察を行ったところ、文献にみられるような繊維質を確認できました。また、IR での分析結果はセロハンを示していることから製作した BC 膜は半透膜であると言えます。

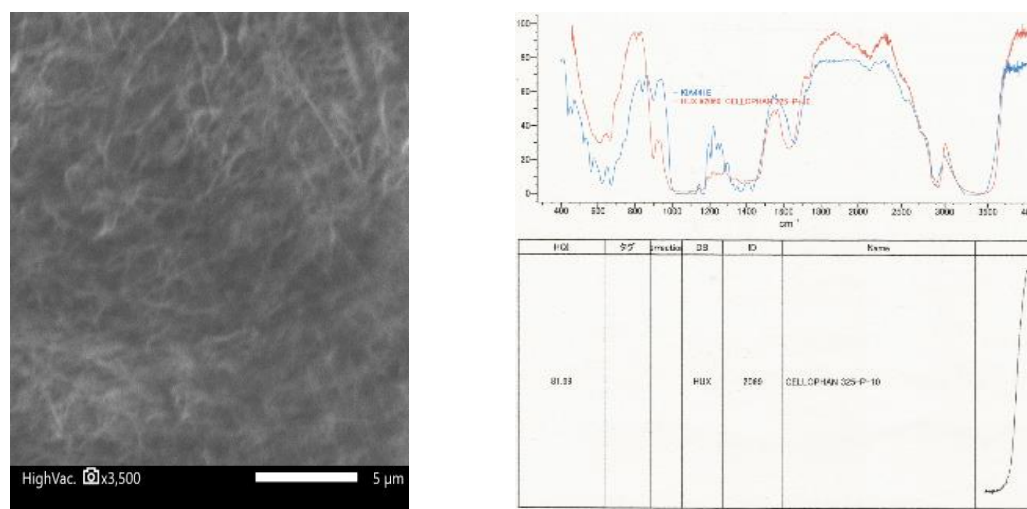


図 5 . SEM,IR による分析結果

④ ダニエル電池の製作

BC 膜には透析の実験でイオンが通過する性質が確認できたので、電池の半透膜部分を本研究で作成した BC 膜を使用して電池として機能するか検証します。

電池に使用する水槽はプラスチック (PS) の箱を使用します。全ての箱の穴はレーザー加工で空けました。BC 膜の貼り付けにはゴリラテープを使用し接着力を高めて水漏れを防ぎます。もう一つのプラスチックの箱にもレーザー加工とゴリラテープを貼り付けくりぬきます。2つの加工した箱をお互いに貼り付け、ダニエル電池の水槽の完成です。次に電解液を用意します。1 mol/L の塩化ナトリウム水溶液と 1 mol/L の硫酸銅水溶液を用意します。1つの水槽に塩化ナトリウム水溶液を入れ、もう1つの水槽に硫酸銅水溶液を入れます。塩化ナトリウム水溶液の方に亜鉛板、硫酸銅水溶液の方に銅板を入れ、同様のものを10個作ります。出来上がった電池を使い、起電力の測定、LEDの点灯やNゲージを走行させる実験を行います。ダニエル電池1個で1.1Vの起電力が出ました。この電池を10個使用して、Nゲージの電車を動かしてみた結果、問題なく走行することが出来ました。

昨年は市販のセロハン膜を使いダニエル電池を作成しましたが、今回は作成した BC 膜を用いて走行させることができました。

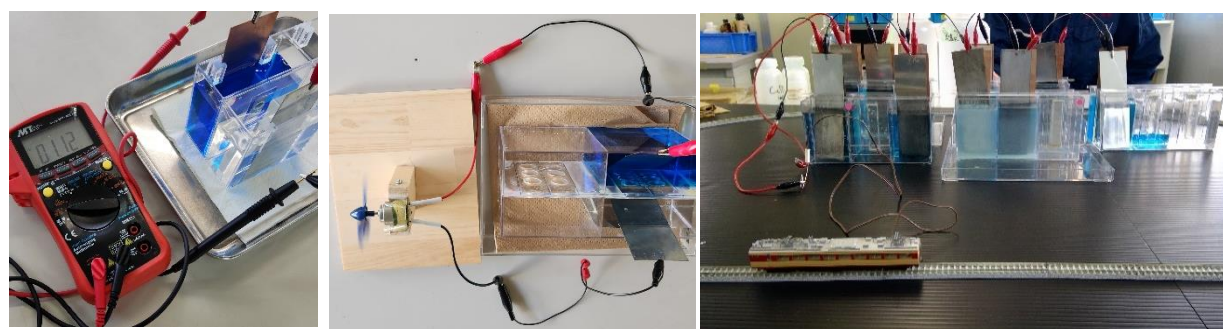


図 6 起電力の測定 モーターの回転 N ゲージの走行

(3) BC 膜の強度について

BC 膜の特性の一つに引張強度の高さが挙げられます。これがどの程度の強度なのか引張試験を行い、検証します。引張試験の結果によると以下のようにになりました。ろ紙などの紙よりも高い引張強度を示しました。これは半透膜としての利用だけでなく強度が求められるような素材としても活躍できる可能性を持ち得ると言えます。

表 2. 引張強度

	最大引張力[N]	厚さ[mm]	引張強度[MPa]
BC 膜	16.7	0.021	79.3
ろ紙	14.7	0.267	5.5
薬包紙	11.8	0.025	47.0

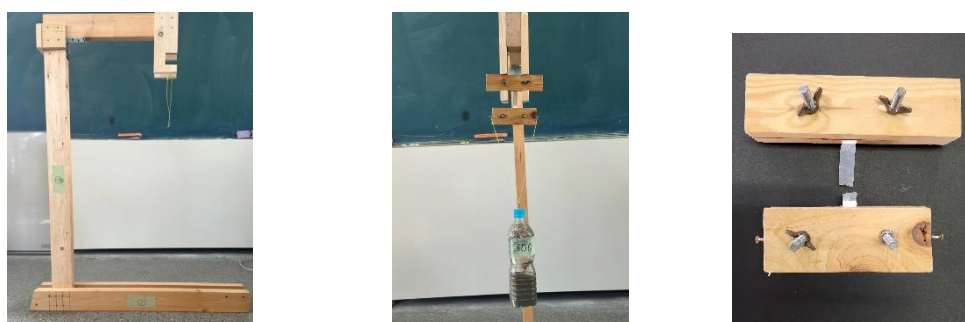


図 7 自作の強度測定装置 測定の様子

(4) 陽イオン交換膜について

陽イオン交換膜とは水酸化ナトリウムの工業製法である陽イオン交換膜法を行う際に欠かせないものです。陽イオン交換膜法とは陽極側に塩化ナトリウム(食塩水)を、陰極側に純水を入れると陽極側では塩化物イオンが電子を放出し、塩素が生じ、陰極側では水が電子を受け取り、水酸化物イオンと水素が生じます。陽極側にあるナトリウムイオンが陽イオン交換膜を通過し陰極側に移動します。陰極側で発生した水酸化物イオンと移動したナトリウムイオンで水酸化ナトリウムが生成します。

① 陽イオン交換膜の作製

作製した BC 膜を飽和溶液の過ヨウ素酸カリウムの中に入れ、1 日放置し酸化させます。その後スルホン化させるために 0.1mol/L の亜硫酸水素ナトリウムの中に入れ 1 日放置し、残留した反応物を除去するために純水で洗浄し BC 膜を乾燥させると陽イオン交換膜の完成です。



図 8 過ヨウ素酸カリウムと亜硫酸水素ナトリウム水溶液 陽イオン交換

② 検証実験

陽イオン交換膜の検証の実験を行います。ダニエル電池の際に使用した加工した水槽に製作した陽イオン交換膜を貼り付け、片方の水槽に純水と陰極用の炭素棒を入れ、もう水槽の部屋に食塩水と陽極用の炭素棒を入れ、18Vの電圧を加え、20分ほど放置します。ナトリウムイオンのみが陽イオン交換膜を通過し塩化物イオンが通過していないのかが確認できないので陰極側の水槽から5mLほど試験管にとり、その中に硝酸銀水溶液を1,2滴入れ白濁の有無を確認します。白濁しなければ塩化物イオンが存在しないことになり、陽イオン交換膜を通過しなかったことになります。ナトリウムイオンが通過したことを確認するために陰極側の水槽のpH試験紙とフェノールフタレイン溶液を使い調べます。

③ 実験結果

電源を入れて20分放置して陰極側の水溶液を5mLほど試験管にとりpHを調べたところ値は10で、フェノールフタレイン溶液を滴下すると深紅になったので塩基性ということが分かりました。しかし、硝酸銀水溶液を滴下すると白濁してしまいました。このことから水酸化ナトリウムはできているけど陰イオンである塩化物イオンも通過していることが分かりました。完全なる陽イオン交換膜の機能を有しているか疑問が残りました。

(5) 水槽の作製について

水槽はポリスチレンのペンケースを代用し、2つのケースをドリルとレーザーで穴をあけて強力な接着テープで接合したものが下の写真です。左が膜を交換できない非交換型水槽で右が交換できる交換型です。



図9 ドリルとレーザーでの穴あけ加工 膜の非交換型と膜の交換型

4. まとめ

この研究での成果としてオープンスクールや生徒研究発表会の場で研究の取り組みを紹介することが出来た。オープンスクールでは中学生に透析や浸透性の実験を体験させ、生徒研究発表のではBC膜の生産から半透膜としての利用の発表ができた。その様子は図10の写真の通りです。



図 10 オープンスクール 透析性の実験



図 11 生徒研究発表会

今後の教材として期待できることは以下の通りです。

- (1) 化学技術やバイオ関連技術への興味・関心や理解を深める。
- (2) 電池の製造や電気実験、マイクロメーターを使って引張強度を求める実験など化学系以外の専門内容も学習させ幅の広いモノづくりへの興味や関心を持たせる。
- (3) セルロース膜は微生物によって分解する高分子化合物で SDG s 「持続可能な社会の実現を目指す」の意識を高めるものづくりができる。
- (4) 自ら作ったものがいろいろな材料として利用でき、用途が広がることを実感できる。
- (5) BC 膜の利用で教科書「工業化学」の酸化と還元の電池、電気分解やソーダ工業の学習内容に沿った実験実習ができる。

課題研究で BC 膜の製造、膜の性質の試験実施や利用などを考える過程で生徒は化学技術の理解と環境への意識を深められたと思います。

BC 膜の製造とその膜の評価や利用を考えるための実験実習（他実習パートと繋がり）を行うことが化学技術の興味・関心や理解を深め、環境への意識また学習意欲の向上につながっていくと考えることが出来ました。この BC 膜という環境に関した工業技術教材が、生徒の学びに取り組む態度や学習時間の減少による学習意欲の減退を増進に変えていく一助になると思いました。

謝辞

本研究を遂行するにあたり高圧蒸気滅菌器や殺菌線消毒保管庫、湯せん器など購入させていただくなど天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。

参考文献

環境省 温室効果ガス排出量 マイクロプラスチック問題

農畜産業振興機構 酢酸菌によるセルロース合成と発酵ナノセルロース(NFBC)の大量生産

実教出版 教科書 工業化学実習2