

台所の生ゴミを利用したバクテリアによる 水素生産

谷生重晴・藤井義浩

横浜国立大学工学部

〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台156

Hydrogen Production from Garbage by the Bacterium *Enterobacter aerogenes*

Shigeharu TANISHO and Yoshihiro FUJII

Fermentative hydrogen production from kitchen garbage was examined by using the bacterium *Enterobacter aerogenes* strain E.82005. Fruits and vegetables were good substrates for hydrogen production. Approximately 0.51, 0.27, 0.09 and 0.15 mmoles of hydrogen were produced from 1 g of garbages of apples, oranges, bananas and spinage, respectively. Guts of fishes, tofu, tofu refuse and egg were alternative nitrogen sources of peptone. Especially, miso, soy sauce and soybean flour were very good substrates for hydrogen as well as good nitrogen sources.

1. はじめに

化石燃料のエネルギー利用が引き起こした地球規模の温暖化や酸性雨による森林湖沼の破壊は、世界中の人たちに地球環境の保全の重大さを気づかせ、その原因である化石燃料に代わるきれいなエネルギー源として、水素エネルギーが再び脚光を浴びている。工業技術院によるニューサンシャイン計画では、水素利用国際クリーンエネルギーシステム技術（WE-NET）プロジェクトとして、水電解による水素製造と液体水素の輸送、貯蔵、燃焼などに重点をおいた研究開発が旧サンシャイン計画をはるかに上回る規模で進められており、地球環境産業技術研究機構（RITE）では、光合成バクテリアあるいは微細藻類を利用した太陽光による水素製造の研究開発が進められている。

筆者は、バイオマスを使用した発酵による水素生産に注目し、草の葉から採取した水素発生能の高いバクテリアを使って、これまで各種炭水化物、有機酸、アルコールなどから水素を生産する研究をおこなってきた¹⁻⁵⁾。その結果、このバクテリアはグルコースなど六炭糖とその類似物、スクロース、モルトースなどからは、非常に活発に水素を発生し、乳酸などを副産することが明らかになった。これらの炭水化物は家庭の台所ゴミとして排出される生ゴミに多く含まれている物質であるから、生ゴミを基質とした水素発生が考えられる。RITEの研究開発計画でも、光合成バクテリアへの有機酸基質の供給源として家庭廃棄物、食品関連産業排出物を嫌気発酵することを組み込んでおり⁶⁾、この菌を利用することができるなら、有機酸供給と同時に水素を発生する好適な方法になるであろう。

本論文は、家庭の台所からでる果物や野菜廃棄物、魚や味噌などタンパク質廃棄物を水素生産に利用することを目的とし、水素源、窒素源としての各種生ゴミの特質について研究した結果を報告する。

2. 実験方法

使用したバクテリアは *Enterobacter aerogenes* strain E.82005 菌である。この菌は筆者らがオシロイ花の葉から採取したバクテリアで、通性嫌気性であるため酸素を遮断する必要がなく、倍加時間も約 25 分程度で、取扱いが極めて容易という特徴を持つ。

ガス発生実験は、表 1 (A) の組成を持つ前培養液で 20 時間培養した菌液 30 ml を、表 1 (B) の組成に検査試料を加えた本培養液が 1000 ml 入っている体積 2000 ml のジャーファーメンターに移植して行った。培養温度は 38℃、4 枚羽根タービン翼で攪拌しながら培養した。翼直径は 55 mm、翼幅は 15 mm、回転数は 350 rpm である。

発生したガス量は、1 N 硫酸を満たした 2000 ml のメスシリンダーを倒置し、水上置換法により測定した。ファーメンターからガス捕集器まで導くパイプの途中にガス採取口を設け、採取したガスの成分と組成を、活性炭またはモレキュラーシーブ 5 A を充填剤とする 2 台のガスクロマトグラフにより分析した。発生したガスから検出された成分は水素と炭酸ガスだけであった。

試料は、主として家庭で廃棄されていると考えられる部分を実験に使用した。その種類は図、表に記載した。

本培養液は、表 1 (B) の Y N U B 3 液 1 量を加えてミキサーで粉碎した検査試料に、水素源としての特質を調べるときは窒素源として 5 g/l のペプトン、窒素源としての特質を調べるときは水素源として 3 g/l のグルコースを加えて調製した。実用条件に近づけるため、培地の滅菌操作は行わずに使用した。培地 pH は、実験の前には約 6.8~6.6 であった。

植え付けた菌体の乾燥重量、試料の乾燥重量は、30 ml の液をステンレスチューブを使って遠心分離し、105℃で乾燥して測定した。

表 1. イオン交換水 1 l 中の無機成分組成

成分	(A)	(B)
	前培養液	Y N U B 3
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	14.0	5.0
KH ₂ PO ₄	6.0	2.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0	2.0
Citrate · 2H ₂ O	1.0	1.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2	0.2
Peptone	5.0	—
Glucose	15.0	—

3. 実験結果と考察

1) ガス発生への無機成分添加の効果

リングの皮と芯を水素発生の基質とした実験で、増殖の栄養条件を決めるため、ペプトンを 5 g/l 加えただけの培養液で発酵を行ったものと、ペプトン 5 g/l に表 1 (B) の無機成分 (Y N U B 3) を加えた培養液で発酵を行ったものとのガス発生を比較した。図 1 はガス発生速度を比較したものである。ペプトンのみの培養液に比べ、ペプトンに無機成分を加えた培養液からは数倍の速さでガスを発生することが明らかに示されている。図 2 はこの比較実験における発生ガス中の水素分率の時間変化を示したものであるが、この図においても、ペプトンに無機成分を加えたものの方が水素分率の高いことが示されている。Y N U B 3 は、おもに pH 緩衝液の役目をもつ添加物で、ペプトンのみの培地の pH が培養前 5.75 から培養後 4.85 まで下がったのに対し、ペプトンに Y N U B 3 を加えた培地では培養前 6.63 から培養後 5.30 と比較的菌の生育、水素発生のどちらにも適した pH 範囲²⁾に治まっていた。このこと

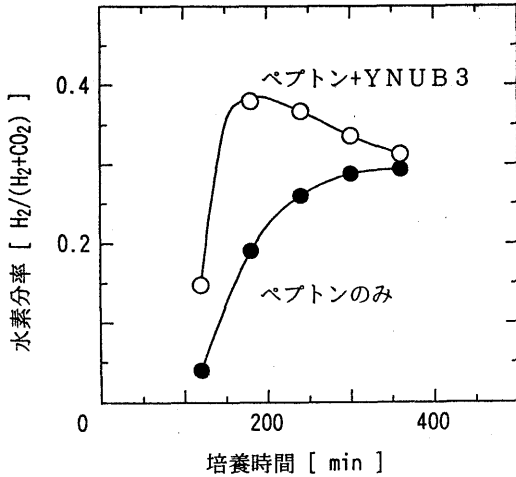


図1. ガス発生速度と無機成分添加の効果

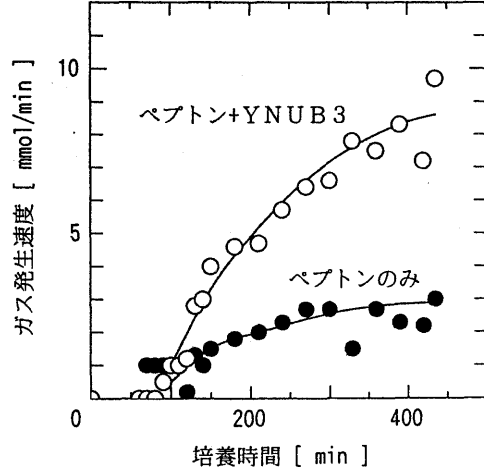


図2. 発生ガス中の水素分率

から、水素発生速度がYNUB3を加えた培地で速かったのは、pH緩衝効果のためであると考えられる。ただ、水素分率にpHがどのように影響するかについては、今後詳しく実験し十分なデータを得てから検討を加えたい。この結果から、以後の実験では、YNUB3液を基本に、ペプトンまたはグルコースを検査試料に加えて本培養の培地とした。

2) 試料重量と水素発生量との関係

図3は試料の湿重量と乾燥重量との関係を示したものである。実線は最小2乗法で求めた回帰直線を示している。ミカンの皮については湿重量と乾燥重量の間に原点を通る非常にきれいな比例関係が認められ、水分含量は約55%であることがわかった。しかし、リンゴについては原点を通る比例関係は見られなかった。リンゴの場合、皮を剥く厚みが増すと果肉部分が増えて湿重量が増加するけれども、果肉はおもに水分でできているので、乾燥重量としての増加は湿重量の増加に

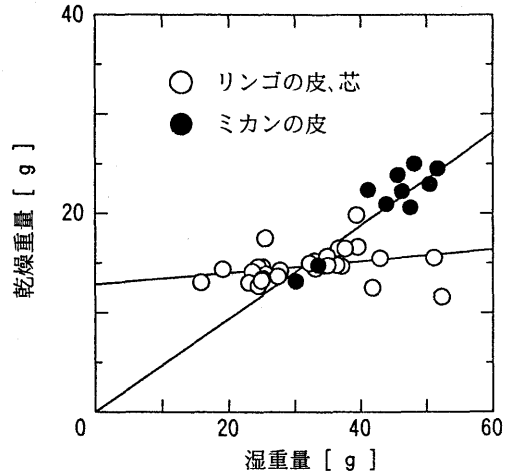


図3. リンゴとミカンの乾-湿重量の関係

表2. 水素源としての台所廃棄物の特性

水素源	ガス量 [mmol/g-wet]	水素分率 [H ₂ /(H ₂ +CO ₂)]	水素量 [mmol/g-wet]
リンゴ皮、芯	1.15	0.44	0.51
ミカンの皮	0.82	0.33	0.27
ミカンの実	1.15	0.45	0.52
バナナの皮	0.24	0.38	0.09
ほうれん草	0.32	0.46	0.15
味噌	1.65	0.51	0.84
醤油	0.38	0.51	0.19
きなこ	0.45	0.36	0.16

比べると非常に少なく現れるためと考えられる。また、リンゴではデータに大きなばらつきが生じたが、これは芯の部分に種など固形物があるため、採取液にこれらが入っていたかいなかったかで生じたと考えられる。

図4は試料の湿重量とガス発生量との関係を示したものである。リンゴ、ミカン、バナナといづれの場合も、湿重量の増加とガス発生量の増加の間には非常に良い比例関係が見られ、このことから、ガス発生量は試料単位湿重量あたりで表すのが適当であることが明らかになった。リンゴについては、湿重量の増加は、水分だけでなく、果肉に含まれる糖分も比例して増加するために、良好な比例関係となって現れたものと考えられる。

表2には回帰直線から求めた各種試料の単位重量あたりガス発生量、全発生ガスに占める水素の分率、および、これらから計算した水素発生量を示した。このバクテリアはグルコース1gから5.56mmolの水素を発生するので、リンゴの皮や芯それにミカンの実は約9%、ミカンの皮は約4.9%、バナナの皮は約1.6%のグルコース含有水素源に相当すると言える。これらの試料の中で、ハウレンソウは、これまでハクサイ、キャベツなどの葉物野菜と共に、水素発生源にならないと考えられていた試料であるが⁵⁾、今回の実験では約2.7%のグルコース含有試料に相当する水素を発生した。これは、文献5で行った実験が、水を加えただけの試料を粉碎して培地としたために栄養条件が劣悪であったからであり、今回のように、試料に窒素源を加えてバクテリアの増殖を促す培地にするならば、相当量の水素を発生する水素源になることを示している。このことから、他の葉物野菜も栄養条件によっては水素源になると考えられる。味噌、醤油、きなこは、原料に大豆を含むので、初めは窒素源と考えてグルコースを加えた実験を行ったが、グルコース本来の水素収率をかなり上回る収率(味噌を使用すると $2.2\text{mmol-H}_2/\text{mol-glucose}$ 以上)を得、窒素源ばかりでなく水素源にもなることがわかったものである。表中の値はペプトンを加えずに行った実験の結果を記載している。特に味噌は水素発生量が多く、非常に良質の水素源であることがわかった。これは、味噌に含まれるアミラーゼが原料の小麦などのデンプンをグルコースに分解するためと考えられる。実際、炊いた米だけでは水素を発生しないが、炊いた米と味噌を混ぜて実験すると、水素発生量が味噌だけの時より多量に発生することが観察された。ただし、煮沸した味噌では効果がなかったので、味噌汁にした後ではアミラーゼの活性は利用できないようである。

3) 窒素源としての台所廃棄物

これまでの実験では、水素発生基質としての果物類・野菜類の有効性について調べるために、窒素源としてペプトンを使用してきたが、実用においてはこのような高価なものを窒素源として用いることはできない。そこで、台所廃棄物として発生する料理ゴミが窒素源に利用できるかどうか、魚の腑や豆腐、味噌、醤油などをペプトンの代わりに使って、グルコースから水素を発生する速さを調べた。生ゴミに

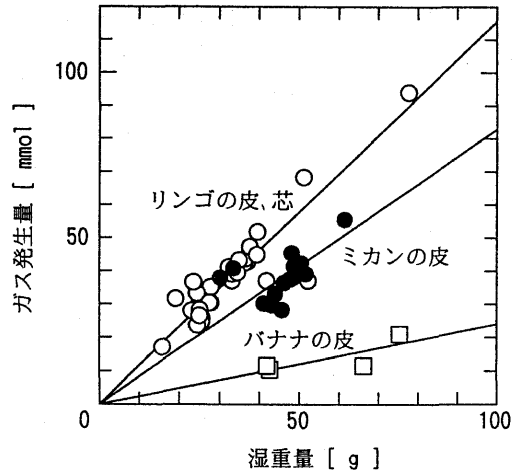


図4. 試料湿重量とガス発生量との関係

は種々のバクテリアや微生物が多数棲息しているのので、この実験でも、滅菌を行わない生のものを試料とした。

図5は窒素源に魚の肺を使用したものとペプトンを使用したもの、それに比較のために水素発生基質にリングを、窒素源にペプトンを使用したもののガス発生速度を示したものである。ペプトンを窒素源にしたときにはリングとグルコースのいずれもほぼ同じ速さでガスを発生しているが、窒素源に肺を使用したものは、これらよりかなり速い速度でガスを発生することがこの結果からわかる。肺に他のバクテリアが棲息していた可能性があるのので、E.82005 菌を植え付けしないで、肺とグルコースからガスがどれくらい発生するかを調べたところ、ガスは10ml程度捕集できただけであったので、肺に棲息する菌がガスを発生したのではないことがわかった。バクテリアの培地学では、牛の心臓から浸出する蛋白質エキスが非常に良好な増殖因子を含むことが知られており⁷⁾、浸出液が増菌培地のエキスとして利用されているので、魚の肺にもE.82005菌の増殖に適した成分が含まれていると考えられる。

図6は発生したガス中の水素分率の時間変化を示したものである。肺を使用したものは、培養初期における水素分率が大きく、培養の進行とともに小さくなって、約0.4程度になることがわかる。

一方、ペプトンを使用した場合には、培養初期に水素分率が小さく培養の進行とともに大きくなって、約3.3になることがわかる。培地pHの実験開始前と終了時の変化は、ペプトン培地の場合6.75から5.72であり、サバの肺培地の場合6.85から5.55であったから、培地pHが水素比率を大きくしたとは考え難い。この理由については今後の研究課題とするが、生の魚の肺がペプトンよりも良好な窒素源になることがこれによって明らかになった。

表3は種々の窒素源の量とグルコースからの水素収率との関係を示したもので

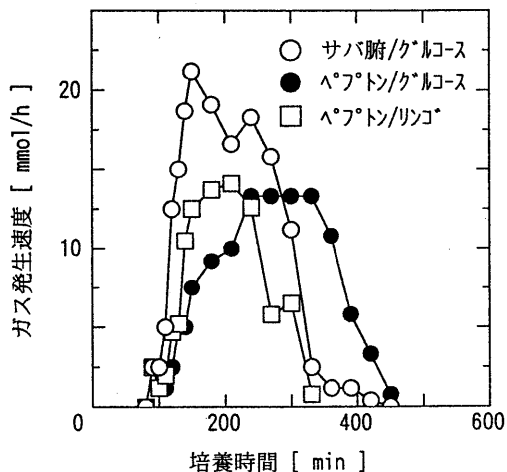


図5. ガス発生速度に及ぼす魚の肺の効果

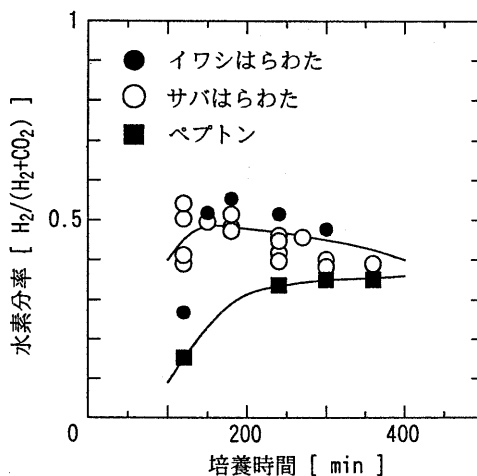


図6. 水素分率に及ぼす肺の効果

表3. 窒素源としての台所廃棄物の特性

窒素源	重量 [g/l]	水素収率 [-]
ペプトン	5.0	0.79
ペプトン	15.0	1.02
イワシのハラワタ	10.3	0.80
イワシのハラワタ	20.1	1.21
サバのハラワタ	19.8	1.08
豆腐	20.1	0.60
豆腐	50.3	1.02
豆腐	72.1	1.04
おから	40.0	0.84
卵黄	18.7	0.46
卵白	32.7	0.62
硫酸アンモニウム	10.0	0.20
硫酸アンモニウム	20.0	0.21

ある。豆腐、おから、卵などタンパク質と呼ばれている食品は、ペプトンよりも多量に使用しなければならないが、いずれも窒素源になり、多量にあるほどグルコースからの水素収率が良くなることがわかった。味噌、醤油、きなこはそれ自身に水素源を含み、グルコースからの収率が測定できないのでこの表には記載しなかったが、前節で述べたようにこれらも良好な窒素源であった。

4. 結言

今回の実験により、次のことが明らかになった。

- 1) 果物類や野菜類などの台所廃棄物が水素発生の良好な基質になることが明らかになった。発生量は試料湿重量で表すと良好な比例関係を得ることができた。
- 2) 果物の種類によって単位湿重量あたりの水素発生量が異なり、リンゴの皮と芯、ミカンの実、ミカンの皮は水素発生に適していることがわかった。
- 2) これまで水素基質にはならないとされてきた野菜も、窒素源を加えることで水素基質となることが明らかになった。
- 3) 味噌、醤油、きなこは窒素源になるばかりでなく、水素源としても良好な基質であることがわかった。特に、生味噌は他のデンプン質試料を糖化するので、非常に良好な基質であることがわかった。
- 3) タンパク質食物はペプトンに代わる窒素源になることがわかった。
- 4) サバ、イワシの腑は非常に良好な窒素源になるばかりでなく、発生ガス中の水素比率を大きくする効果を持つことが明らかになった。

以上、滅菌操作をしない台所廃棄物が水素生産に有効に利用できることが明らかになった。味噌などのように、他の試料と一緒に使用すれば単体で使用するより水素発生量を増加できるものもあるので、実際の排出状態で実験検証しなければ正しい評価はできないが、実用に明るい見通しがついたと言える。

文献

- 1) Tanisho, S. et al.: "Fermentative hydrogen evolution by *Enterobacter aerogenes* strain E.82005", Int. J. Hydrogen Energy, Vol.12, pp.623-627, (1987).
- 2) Tanisho, S. et al.: "Hydrogen evolution of *Enterobacter aerogenes* depending on culture pH: Mechanism of hydrogen evolution from NADH by means of membrane-bound hydrogenase", Biochim. Biophys. Acta, Vol.973, pp.1-6,(1989).
- 3) Tanisho, S. et al.: "Microbial fuel cell using *Enterobacter aerogenes*", Bioelectrochem. Bioenergetics, Vol.21, pp.25-32,(1989).
- 4) Tanisho, S. and Ishiwata, Y.: "Hydrogen Production by Fermentation and a Trial for Improvement on the Yield of Hydrogen", WHEC 9th (Pari), Vol.1, pp.583-590,(1992).
- 5) 谷生重晴ら: "微生物を利用した発酵による水素生産", 7th HESS 予稿集, pp.1-3 ,(1986).
- 6) Morimoto, M. and Miyake, J.: "Development of environmentally friendly technology for the production of hydrogen", WHEC 10th (Cocoa Beach), Vol.2, pp.951-957,(1994).
- 7) 坂崎利一: 新細菌培地学講座, 近代出版, (1981), 上 p230.