

食品廃棄物を用いた水素発酵条件の基礎的検討 (Ⅲ) —種菌無添加での水素発酵条件—

河原みよ子・久保倉宏一

福岡市保健環境研究所廃棄物試験研究センター

Fundamental Study for Hydrogen Fermentation Condition using the Food Waste(Ⅲ) —Condition of Hydrogen Fermentation without Seeding—

Miyoko KAWAHARA, Koichi KUBOKURA

Waste Research Center, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

給食残飯の生ごみ処理機生成物を基質とした種菌無添加での回分および繰り返し回分水素発酵試験において、水素発生量に及ぼす pH および基質負荷量の影響について検討した。38℃培養における 1L スケールの回分試験では、基質重量あたりの水素発生量は pH6.5 が最大で 0.13L/g であり、ガス発生ピークまでの時間は基質負荷量が 40g/L が最短(約 19 時間)であった。また、異なる 3 施設から採取した基質全てで、種菌無添加において水素発酵を確認することができた。そこで、pH6.0 で繰り返し回分水素発酵試験を行なったところ、5 回目以降でガス発生量がほぼ一定となり、基質負荷量が 40g/L の条件で基質重量あたりの水素発生量は 0.043~0.094L/g、基質負荷量が 100g/L では 0.054~0.063L/g であった。

Key Words : 食品廃棄物 food waste, 水素発酵 hydrogen fermentation, 種菌 seed, 嫌気発酵 anaerobic fermentation

1 はじめに

平成 12 年に循環型社会形成推進基本法が公布されて以来、廃棄物の発生抑制や循環型社会の形成が求められている。その中でも、水素発酵を用いた食品廃棄物からの水素ガスの回収は、水分含有量が高く、焼却処分が困難な食品廃棄物の有効利用となる。さらに、燃料電池を用いて直接電気エネルギーとして利用でき、クリーンなエネルギー源を確保できるという利点がある。

これまで、微生物発酵を用いた有機性廃棄物からの水素回収技術の研究^{1)・2)}が行われてきている。水素発酵は下水消化汚泥等を種菌として使用する方法が主であるが、模擬生ごみを基質とした、種菌を使用しない研究も報告されている³⁾。連続発酵を行う場合、問題として種菌の流出が挙げられるが、種菌を使用せずに基質中に存

在する微生物により水素発酵を行うことができれば、この問題を解消できる。

筆者らは、給食残飯の生ごみ処理機生成物を基質とした試験を行っており、これまで、種菌無添加・pH 未制御においても、培養時間を長くすることにより十分なガス回収が可能であると報告した^{4)~7)}。本報では、温度一定条件下における、種菌無添加・pH 制御での回分および繰り返し回分水素発酵試験により、水素ガス発生量に及ぼす pH や基質負荷量の影響を検討した。

2 実験方法

2.1 使用基質

基質は、給食残渣、病院およびレストランから出され

る生ごみを、それぞれの施設で所有する業務用生ごみ処理機で処理した生成物を 1mm メッシュで篩い、異物を除去したものをを用いた。

2.2 発酵条件および試験装置

装置は前報⁶⁾と同様で、図 1 に示す装置で行なった。基質と純水 1L を発酵器にとり、窒素置換した後、38 度で培養した。pH 調整は NaOH を用いた。

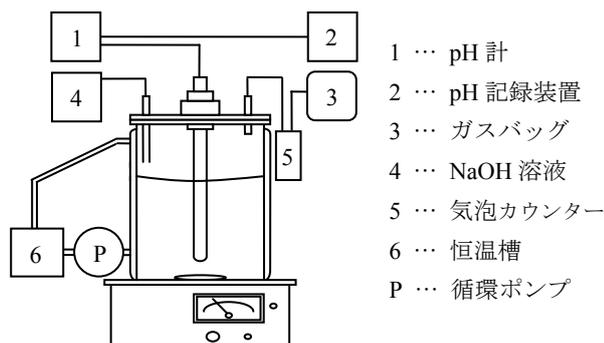


図1 水素発酵装置

2.2.1 回分水素発酵試験

試験は、次に示す条件で行なった。

- ・調整 pH…4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 8.0
- ・純水 1L に対する基質負荷量
…20g, 40g, 80g, 100g, 120g

2.2.2 繰り返し回分水素発酵試験

試験は、次に示す条件で行なった。

- ・調整 pH…6.0
- ・純水 1L に対する基質負荷量…40g, 100g

水素発生が停止したところで、発酵液を半量取り出し、同量の純水と、基質を 40g または 100g 加えた。

2.3 分析方法

2.3.1 基質の主要成分

基質成分の水分は 105℃乾燥法、灰分は 550℃乾式灰化法、油分はエーテルを用いたソックスレー抽出法で測定し、タンパクは CHN 計 (Elemenar 社 vario MAX) を用いて測定した全窒素分にタンパク質換算係数 (6.25) を掛け合わせて算出し、炭水化物は差引法で求めた。

2.3.2 ガス測定

発生ガスは、気泡数を連続的に記録する気泡カウンターを経由してアルミバックに回収し、ガス組成を GC - TCD で分析した後、水上置換にて全ガス量を測定した。ガス測定条件を表 1 に示す。

表1 ガス組成分析条件

装置	Yanaco G3800
カラム	Unibeads C 60/80(2m×3φ)
キャリアーガス	Ar 50mL/min
カラム温度	125℃
TCD 温度	150℃
TCD 電流	60mA

2.3.3 全糖度、全固形分および有機酸測定

水素発酵終了液を、フェノール硫酸法⁸⁾により全糖度、乾燥法により全固形分を測定するとともに、HPLC による有機酸 (コハク酸、乳酸、酢酸、プロピオン酸及び酪酸) の測定を行なった。HPLC 測定条件を表 2 に示す。

表2 有機酸分析条件

装置	DIONEX DX-100
カラム	Rspak KC-811 (300mm×8φ)
ガードカラム	Rspak KC-LG (50mm×8φ)
カラム温度	50℃
溶離液	1mM HClO ₄
流速	0.8mL/min
注入量	20μL
反応液	1/10 ST3R (Shodex)
反応液流速	0.2mL/min
反応ポンプ	SNK FI-710L (反応液量)
検出器	SOMA S-3702 (430nm)

3 結果および考察

3.1 基質の主要成分

表 3 に、今回の研究で用いた基質 3 種類の主要成分を示す。A は学校給食施設、B は病院給食施設、C はレストラン集合施設から採取した。水素発酵に利用されるといわれる炭水化物⁹⁾ は約 40~50%であった。今回の報告では、主に基質 A を用いた。

表3 基質 3 種類の成分 (単位%)

	水分	灰分	油分	タンパク	炭水化物
基質 A	5.7	6.1	10.9	26.6	50.7
基質 B	5.9	5.7	4.1	41.7	42.6
基質 C	4.7	4.3	21.7	22.3	47.0

3.2 回分水素発酵試験

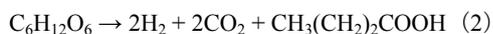
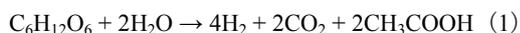
3.2.1 培養 pH による発酵の違い

基質負荷量 40g/L の条件にて、培養 pH の違いによる

ガス発生速度やガス発生量等を検討した。基質負荷量 40g/L の条件下での pH4.5~8.0 におけるガス発生量や発酵液の有機酸濃度等の測定結果を表 4 に示す。pH4.5 はガス発生が確認できなかった。ガス発生終了および時間あたりの水素ガス発生量ピークまでの時間が最短であるのは、pH6.0 であり、それぞれ約 52 時間および約 19 時間であった。

水素以外の生成ガスは二酸化炭素であり、全ガス発生量中の水素ガスの割合は約 70%，基質重量あたりの水素ガス発生量は pH6.5 の時に 0.13L/g と最大であった。基質負荷量 40g/L の pH4.5~8.0 におけるガス発生量と全固形分・全糖度減量の変化を図 2 に示す。pH が 6.0 から 8.0 に上昇するに伴い、全ガス発生量は 1/4 に減少したが、水素ガス発生量の減少は 1/2 であり、pH8.0 では水素ガスの割合が約 90% と非常に高く、精製利用の面では有利であると考えられるが、ガス発生ピークまでの時間が最長であり、処理効率は悪い。しかし、pH6.0 は、ガス発生ピークおよび終了までの時間が短いため、処理効率の点から有利である。全固形分減量は、pH5.0 が最大で 37% であり、pH が高くなるほど低下し、pH8.0 では 7% であった。しかし、pH 変動に伴う全糖度減少量は小さく、73~78% であった。ガス発生量と全糖度減量が比例していないことから、糖以外からのガス発生を示唆していると考えた。また、pH5.0~7.0 における発酵終了液の生成有機酸は、酢酸と酪酸が主であり、乳酸は 0.01g/L 以下であった。pH8.0 ではコハク酸と酪酸が同程度であるが、酪酸が非常に低い。以上のことから、pH5.0~7.0 と pH8.0 とでは発酵機構が異なると考えられた。

培養 pH を 5.0~6.0 に制御した際の水素発酵は、糖の分解により乳酸およびエタノールが生成した後、乳酸が酢酸もしくは酪酸に分解する代謝経路で水素が生成し³⁾、理論式は以下の 2 式とされている。



水素発酵で生成される水素は全て酢酸を生成する式 (1) によるとすると、1mol のグルコースから 4mol の

水素が生成され、理論的な水素効率は 4mol-H₂/mol-glucose となる。基質負荷量 40g/L 条件下での試験において、消費された全糖度を全量グルコースとし、各 pH の水素効率を算出した値を表 4 に示す。水素効率は最大で 2.81mol-H₂/mol-glucose となり、グルコースを基質として用いた水素発酵試験の水素効率が、1.0~2.49mol-H₂/mol-glucose とされている⁹⁾ が、それと同等以上の値を得ることができた。

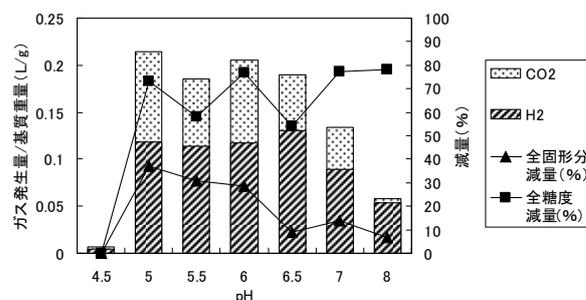


図2 基質負荷量 40g/L 条件下でのガス発生量等に及ぼす pH の関係

3.2.2 基質負荷量による発酵の違い

pH6.0 での培養が、ガス発生速度やガス発生量等で有利であると考えられたことから、pH6.0 でのガス発生速度やガス発生量等への基質負荷量の影響を、20~120g/L の範囲で検討した結果を表 5 に示す。ガス発生終了までの時間およびピークまでの時間が最短であるのは、基質負荷量 40g/L であり、それぞれ約 52 時間および約 19 時間であった。また、水素効率は、20g/L が最大で 3.02 mol-H₂/mol-glucose となり、グルコースを基質として用いた水素発酵試験の水素効率 (1.0~2.49mol-H₂/mol-glucose)⁹⁾ と同等以上の値を得ることができた。発酵終了液において乳酸は観測されず、酢酸と酪酸が主であった。

pH6.0 条件下でのガス発生量等に及ぼす基質負荷量の関係は図 3 のとおりで、基質重量あたりの水素ガス発生量は基質負荷量 20g/L が最大であるが、全試験範囲で差異は小さく、平均で約 0.12L/g であった。全固形分減量は基質負荷量による変化はほとんど見られなかったが、

表4 基質負荷量 40g/L 条件下でのガス発生量等に及ぼす pH の関係

培養 pH	全ガス発生量 (L)	水素ガス発生量 / 基質重量 (L/g)	水素ガス割合 (%)	ガス発生終了までの時間 (時間)	ガス発生ピークまでの時間 (時間)	全固形分減量 (%)	全糖度減量 (%)	水素効率 (mol-H ₂ /mol-glucose)	有機酸濃度 (g/L)				
									コハク酸	乳酸	酢酸	ピオン酸	酪酸
4.5	-	-	69	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-
5.0	8.6	0.12	55	77	45	37	73	2.53	0.03	<0.01	0.24	<0.01	0.42
5.5	7.4	0.11	61	56	35	31	58	2.43	<0.01	<0.01	0.42	<0.01	0.23
6.0	8.2	0.12	57	52	19	29	77	2.50	0.09	<0.01	0.30	<0.01	0.43
6.5	7.6	0.13	69	65	29	9	54	2.81	0.02	<0.01	0.80	0.01	0.25
7.0	5.4	0.09	67	120	44	14	77	1.92	0.02	<0.01	0.49	0.02	0.34
8.0	2.3	0.05	93	154	44	7	78	1.16	0.03	<0.01	0.53	<0.01	0.07

表5 pH6.0 条件下でのガス発生量等に及ぼす基質負荷量の関係

基質負荷量	全ガス発生量 (L)	水素ガス発生量 / 基質重量 (L/g)	水素ガス割合 (%)	ガス発生終了までの時間 (時間)	ガス発生ピークまでの時間 (時間)	全固形分減量 (%)	全糖度減量 (%)	水素効率 (mol-H ₂ /mol-glucose)	有機酸濃度 (g/L)				
									コハク酸	乳酸	酢酸	プロピオン酸	
20	4.6	0.13	57	77	50	40	74	3.02	<0.01	<0.01	0.14	0.25	0.34
40	8.2	0.12	57	52	19	36	77	2.80	0.09	<0.01	0.30	<0.01	0.43
80	18	0.12	52	68	47	37	80	2.47	0.10	<0.01	0.75	<0.01	0.87
100	22	0.11	51	96	59	35	83	2.32	<0.01	<0.01	1.40	0.02	0.62
120	24	0.10	51	90	39	33	86	2.07	0.03	<0.01	0.86	<0.01	0.89

全糖度減量は基質負荷量が高くなるほど高くなっていった。よって、基質負荷量が高くなると、糖の分解による水素ガス発生が増加していると考えられた。

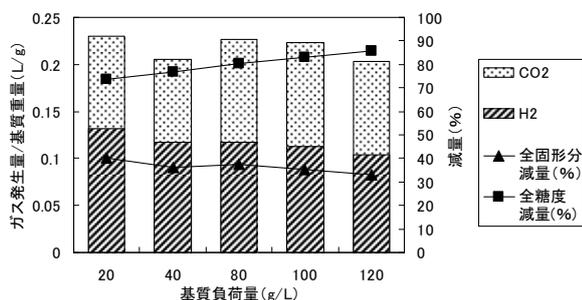


図3 pH6.0 条件下でのガス発生量等に及ぼす基質負荷量の関係

3.3 基質の違いによる発酵結果

採取施設が異なる3種の業務用生ごみ処理機生成物を基質とし、種菌無添加において、基質負荷量 40g/L、pH6.0 条件下で、水素ガス発生状況への影響を検討した。ガス発生量や減量等を表 6 に示したが、3種類全ての基質で種菌無添加においても水素発酵を確認できたので、特定の生ごみ処理機生成物に特異的な現象ではなく、種菌流出の問題解決が必要な連続試験に有利であることが分かった。

全ての基質において、全糖度減量は約 70%となったが、基質 C の水素ガス発生量および全固形分減量が、基質 A および B と比較して低かった。このことから、全固形分減量と水素ガス発生量に関係があることが分かった。

多くの業務用生ごみ処理機は、投入された生ごみを微生物発酵が起こらないような高温で乾燥・粉末化¹⁰⁾している。今後、種菌無添加の水素発酵がこの処理に関係しているかを、未処理の食品廃棄物を基質とし検討する必要があると考えられる。

表6 異なる基質による水素効率等の違い

	水素ガス発生量 / 基質重量 (L/g)	水素効率 (mol-H ₂ / mol -glucose)	全固形分減量 (%)	全糖度減量 (%)
基質 A	0.12	2.80	36	77
基質 B	0.13	2.69	32	68
基質 C	0.08	1.72	14	71

3.4 繰り返し回分水素発酵試験

回分試験において、十分な水素効率を確認できたことから、連続試験の予備実験として、基質負荷量を 40g/L および 100g/L として繰り返し回分試験を検討した。

基質負荷量 40g/L の繰り返し回分試験における測定結果を表 7 に、繰り返し回数に対するガス発生量と全固形分・全糖度減量の変化を図 4、酢酸および酪酸の変化を図 5 に示す。回数を繰り返すにつれて、水素ガス発生量が減少しており、それに伴い、基質重量あたりの水素ガス発生量も減少しているが、5 回目の水素発生終了後以降はほぼ一定となっている。水素ガス発生終了後の発酵液の全固形分、全糖度、酢酸および酪酸濃度についても、5 回目の水素発生終了後以降にほぼ一定になっている。しかし、有機酸濃度において、6 回目までは酢酸の濃度が酪酸の濃度よりも高かったが、7 回目で酪酸の濃度が 6 回目の濃度と比較し約 2 倍となり、8 および 9 回目は、酪酸の濃度が酢酸の濃度よりも高くなるという変化が観測された。これは、7 回目で何らかの微生物群の変化が起ったと考えられる。水素効率は、4 回目以降、0.78~1.67mol-H₂/mol-glucose となり、回分水素発酵試験と比較し、低かった。3 回目は、実験操作の不備によりガス量を測定できなかった。

基質負荷量 100g/L の繰り返し回分試験における測定結果を表 8 に示す。基質負荷量 40g/L と同様に回数を繰り返すにつれて、ガス発生量が減少しており、3 回目の水素発生終了後以降、水素ガス発生量、全固形分、全糖度、酢酸および酪酸濃度がほぼ一定になった。基質負荷量 40g/L の繰り返し回分試験と比較すると、酢酸より酪酸の濃度が高いことから、発酵経路が異なると考えた。

表7 基質負荷量 40g/L の繰り返し回分試験におけるガス発生量等の変化

繰り返し回数 (回)	全ガス発生量 (L)	水素ガス発生量 /基質重量 (L/g)	水素ガス割合 (%)	ガス発生終了までの時間 (時間)	ガス発生ピークまでの時間 (時間)	全固形分減量 (%)	全糖度減量 (%)	水素効率 (mol-H ₂ /mol-glucose)	有機酸濃度 (g/L)				
									コハク酸	乳酸	酢酸	プロピオン酸	酪酸
1	7.4	0.11	58	57	36	36	69	3.06	0.03	<0.01	0.50	<0.01	0.32
2	7.0	0.10	54	37	19	30	68	2.17	<0.01	<0.01	0.97	0.02	0.58
3	-	-	-	49	23	23	53	-	<0.01	<0.01	0.90	0.01	0.63
4	5.1	0.07	54	70	9	23	53	1.35	<0.01	<0.01	0.89	<0.01	0.59
5	3.6	0.05	56	96	16	15	49	0.99	<0.01	<0.01	0.71	<0.01	0.55
6	2.9	0.05	59	126	27	26	51	0.79	<0.01	<0.01	0.80	<0.01	0.57
7	5.0	0.08	60	119	43	24	52	1.43	<0.01	<0.01	0.96	<0.01	1.02
8	3.1	0.04	53	118	40	22	51	0.78	<0.01	<0.01	0.42	<0.01	0.47
9	5.7	0.09	62	101	40	20	51	1.67	<0.01	<0.01	0.42	<0.01	0.51

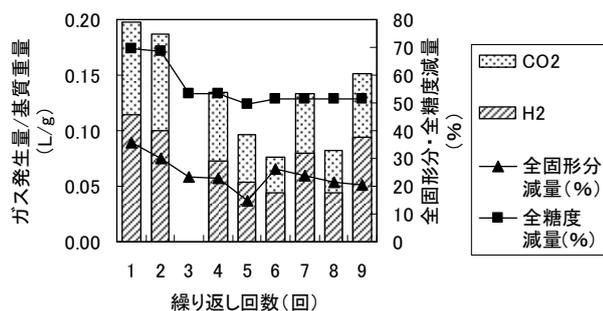


図4 基質負荷量 40g/L 条件下の繰り返し回分試験におけるガス発生量等の変化

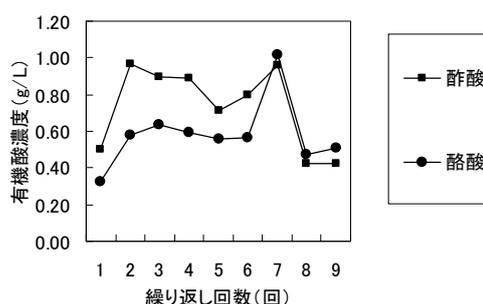


図5 基質負荷量 40g/L 条件下の繰り返し回分試験における酢酸および酪酸の変化

表8 基質負荷量 100g/L の繰り返し回分試験におけるガス発生量等の変化

繰り返し回数 (回)	全ガス発生量 (L)	水素ガス発生量 /基質重量 (L/g)	水素ガス割合 (%)	ガス発生終了までの時間 (時間)	ガス発生ピークまでの時間 (時間)	全固形分減量 (%)	全糖度減量 (%)	水素効率 (mol-H ₂ /mol-glucose)	有機酸濃度 (g/L)				
									コハク酸	乳酸	酢酸	プロピオン酸	酪酸
1	22	0.12	53	68	38	47	66	3.12	0.06	<0.01	1.17	<0.01	0.59
2	20	0.10	50	89	42	36	52	2.09	<0.01	<0.01	0.96	0.03	1.72
3	13	0.06	47	102	28	31	52	1.21	<0.01	<0.01	1.42	0.02	1.92
4	12	0.05	47	162	33	29	43	1.00	<0.01	<0.01	1.29	0.01	1.73
5	13	0.06	47	166	109	33	39	1.06	<0.01	<0.01	1.12	0.02	1.72

水素効率は、3回目以降、1.06～1.21 mol-H₂/mol-glucose となり、基質負荷量 40g/L の繰り返し回分試験と比較し、同等の値を得ることができた。

以上から、繰り返し回分試験においても、連続的に水素を回収することができた。今後、連続水素発酵試験を行い、水素回収効率を調査していく。

4 まとめ

生ごみ処理機生成物を基質として使用し、種菌無添加で水素発酵試験を行なったところ、次のことが分かった。

1. 業務用生ごみ処理機生成物を用いて種菌無添加および pH 制御下で水素発酵試験を行なった。

2. pH4.5～8.0 の試験では、ガス発生量やガス発生終了までの時間の点で、pH6.0 条件下の効率が良かった。
3. 基質負荷量を 20～120g/L で試験を行ったところ 40g/L の効率が良かった。
4. 水素効率は、pH6.0 および基質負荷量 40g/L 条件下で最大 3.02mol-H₂/mol-glucose であった。
5. 3つの異なる施設から採取した業務用生ごみ処理機生成物を基質とした試験において種菌無添加で水素の発生を確認できた。
6. 繰り返し回分試験においても、連続的に水素を回収できた。

本研究の概要は、第 44 回日本水環境学会年会で口頭発表した。

文献

- 1)藤田由季ら：有機性廃棄物の高効率発酵に関する基礎的研究，クリモト技報 No.51, p16-21 (2008)
- 2)片岡直明ら：微生物による水素生産システムに関する研究，エバラ時報 No.183, p38-45 (1999)
- 3)清水哲ら：種菌を接種しない食品廃棄物の水素発酵に pH 制御が及ぼす影響，第 18 回廃棄物学会研究発表会講演論文集，p545-547 (2007)
- 4)草野陽子ら：食品廃棄物を用いた水素発酵条件の最適化，福岡市保健環境研究所報 vol.32, p145 (2006)
- 5) 村瀬佳史ら：食品廃棄物を用いた水素発酵条件の基礎的検討 (Ⅱ)，福岡市保健環境研究所報 vol.33, p146 (2007)
- 6)村瀬佳史ら：種菌を用いない食品廃棄物からの水素回収に関する検討，福岡市保健環境研究所報 vol.34, p137 (2008)
- 7)村瀬佳史ら：種菌を用いない食品廃棄物からの水素回収に関する検討，第 43 回日本水環境学会年会講演集 p92 (2008)
- 8)社団法人日本食品科学工学会，新・食品分析法編集委員会：新・食品分析法，株式会社光琳，p531 (1993)
- 9)堆洋平・李玉友：水素生成ポテンシャルに及ぼす基質と細菌群の影響，廃棄物学会論文誌 vol.18, No.5, p335-343 (2007)
- 10) 富田弘樹ら：家庭用生ごみ処理機による食品残渣の堆肥化生成物性状調査，福岡市保健環境研究所報 vol.32, p116 (2006)