

## 第4章 バイオマス資源を基質にした水素発生

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、世界中の人们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べきいなエネルギー源として、水素エネルギーが近年再び脚光を浴びるようになった。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<sup>1)</sup>。

ところで、久保田と松田<sup>2-4)</sup>は「バイオマスエネルギー利用の条件」を検討し、農業生産物をエタノール燃料に変換する場合、エタノールのエネルギー基準の単価がガソリン価格の2～3倍にもなるので、エタノール変換を行わず農作物として代価を得た方が、石油輸入節約金額よりも多くなることを指摘した。つまり、農作物の持つ価値の方が、エタノールの持つ価値よりも大きいということである。したがって、エネルギー生産を目的とした農業の成立する可能性は少ないから、廃棄物を利用したエネルギー変換を考えることを主張している。それでは日本国内のバイオマス廃棄物はどれくらいあるのだろうか。

日本におけるバイオマス資源の内、未利用のバイオマス量、あるいは有効資源化期待量については、いくつかの試算がある。表4-1は工業技術院技術評価委員会報告の一部であり、表4-2は農林水産省の総合研究チームが試算したものである。し尿類を含めておよそ5,500～7,600万トン／年間の利用可能なバイオマスがあることになる。

このバイオマス量はそれではどのくらいのエネルギー量であろうか。農水省試算では、約 $4.0 \times 10^{13}$  kcal/yr、460億kWhと見積っている。したがって、火力発電電力量の約11%に相当する。また、火力発電における石油火力の割合は49%程度であるから、火力発電で消費する原油量で比べると、22%に相当する。

このように、水素をエネルギー源として使用し、その需要に発酵水素生産によっても相当量の供給をするためには、*Enterobacter aerogenes* strain E.82005 がどのような基質を利用でき、どれくらいの速さで水素を発生するかを調べておく必要がある。そこで、この章では、各種有機物を使用して、その有機物単体の水素発生基質としての特性を調べ、それら有機物を多く含む草、木の葉、野菜、果物などの利用可能性を調べるとともに、最も利用が期待できる廃糖蜜を使用して連続水素発生を試みた。

表 4-1 日本のバイオマスの年間推定生成量<sup>5)</sup>

工業技術院技術評価調査委報告（1978）より

種類	生成量	推定有機物量 (乾燥重量、万㌧)
未利用雑木	2000万立方㍍	800
林業廃棄物	900万立方㍍	360
製材くず	2800万立方㍍	1120
農業廃棄物	1200万㌧	1200
都市ごみ	3300万㌧	1000
畜産廃棄物	6278万㌧	628
紙パルプ産業廃棄物	57万㌧	57
工場排水スラッジ	166万㌧	166
食品工場排水		22
し尿	4230万立方㍍	120
下水	5910万立方㍍	59
合計		5532

表 4-2 主要なバイオマスの有効資源化期待量<sup>6)</sup>

バイオマス の種類	項目	年間 産出量 (万t/ 年間)	利 用 可 能 量 (万t/ 年間)	有効資源化期待量		備 考
				エネルギー 生産量 (×10 <sup>8</sup> Kcal)	有効物質 生産量 (万t/ 年間)	
森林系 (乾物)	里山広葉樹	2,800	280	126,000	-	400万ha(10%)
	森林地残材	960	96	43,200	-	(10%)
	工場残廃材	1,350	270	121,500	-	(20%)
	廃ホダ木	80	40	-	(飼料) 8	(50%利用) 発酵蛋白
	新樹種	110	110	16,000	(〃) 7	10万ha(その他) 2.5万t
	サ	4,000	200	-	(〃) 42	(うち5%利用)
小計		9,300	996	306,000	(〃) 57	(その他) 2.5万t
農産系 (乾物)	イナワラ	1,300	260	-	(〃) 260	(20%) 現在の焼却分1/2
	モミガラ	450	30	-	(〃) 30	(5%)
	野菜残渣	200	20	-	(〃) 20	(10%) 大産地分
	新作物	200	200	-	(〃) 200	(10万ha)
	小計	2,150	510	-	(〃) 510	
畜産系 (含水)	牛ふん尿	4,730	2,365	29,800	(堆肥) 473	メタンガス(50%) 多頭飼育分
	豚ふん尿	790	395	17,060	(〃) 79	" " "
	鶏ふん尿	1,340	270	7,200	-	熱分解(20%)
	小計	6,860	3,030	54,060	(〃) 552	
水域系 (含水)	水生植物(新資源)	440	440	3,950	(飼料) 5	440t/ha(1万ha) 5%乾物
	海藻類(〃)	2,200	2,200	31,600	(その他) 30	200t/ha(11万ha) 15%乾物
	低小藻類(〃)	25	5	-	(飼料) 1	25t/ha(1万ha) 20%乾物
	投棄魚	30	3	-	(〃) 1.5	(10%利用) 蛋白歩留り50%
	深海魚	50	10	-	(〃) 5	(20%利用) " 50%
	メ類	70	7	-	(〃) 3.5	(10% " ) " 50%
小計		2,815	2,665	35,550	(〃) 16	(その他) 30万t
加工系 (含水)	水産加工残さい	350	100	-	(飼料) 20	濃縮蛋白
	〃スカム	40	20	-	(〃) 2	"
	〃煮汁	50	25	-	(〃) 0.5	発酵蛋白
	大豆煮汁	72	36	449	(〃) 0.4	" (有機物 4%)
	澱粉廃水	385	192	240	-	メタンガス(〃 1%)
	みかんカス	24	12	269	-	" (〃 10%)
製めん廃水		2	1	958	-	" (〃 100%)
小計		923	386	(飼料) 223		
計		22,043	7,587	(エネルギー) 397,268	(堆肥) 552万t (飼料) 606万t (その他) 325万t	

(農水省試算)

#### 4.1 各種基質による *Enterobacter aerogenes* の水素発生特性

第2章、第3章ではグルコースを基質にした水素発生の諸性質を調べたが、*E. aerogenes* st. E. 82005 を利用して工業的規模で水素発生を行うには、グルコース以外のどのような糖類や炭水化物が基質として利用できるか、また、産業廃水などを利用することも考えられるので、カルボン酸やアルコール、アミノ酸などからも水素発生をするか、と言ったことを調べておくことも役立つと思われる。そこで、本節ではグルコース以外の物質を基質として、それらの基質に対する水素収率、水素発生速度、菌体収量など水素発生の諸性質を調べた。

##### 4.1.1 実験方法

###### 菌と培養条件

使用したバクテリアは、*Enterobacter aerogenes* st. E. 82005である。前培養はSP培地（表2.3-1参照）で38℃、20時間、好気的に攪拌培養した。この培養によって、菌体濃度は約12 mg-dry cell/mlになった。

ペプトンは菌の増殖を促進するけれども、ペプトンの添加そのものが水素発生を活発にする原因にはならないことを第3章、3.3節で明らかにした。そこで、測定のための培養は、簡便にするため、ペプトン（日本製薬）のみを窒素源として5%加え、これに水素発生を調べる物質を炭素源として1%添加して行った。培養は、30 mlの培養液を入れた50 mlのサンプル瓶に前培養菌液を0.25 ml植え付け、嫌気下で行った。攪拌にはマグネチックスターラを使用した。温度は38℃であった。

###### 水素発生速度、水素収量と乾燥菌体重量

一つの物質について同時に5~10本の実験を行い、平均値を測定結果とした。発生したガスは10%NaOH水溶液を満たした50 mlのメスピベットに導き、発生量を経時的に測定した。水上置換したガスの成分は、活性炭とモレキュラーシープ5Aを充填した二台のガスクロマトグラフで分析した。キャリアーガスは活性炭側にはHe、モレキュラーシープ側にはArを使用した。

乾燥菌体の測定は第3章、3.1節で述べた方法で行った。

グルコース濃度は液体クロマトグラフで測定した。キャリヤーは0.1%リン酸水溶液、分離は充填カラムGL-C610H（日立化成工業）、分析には分光光度計(RI)を使用した。

#### 4.1.2 実験結果と考察

##### 水素発生速度の表し方について

第6章、6.4節で明らかにしたように、植菌量が多いほど水素発生の活性は早く現れるけれども、水素発生が活発になった後の累積発生量の傾きはほぼ同じで、培養液当たりで表わした水素発生速度は植菌量や菌体量の影響をあまりうけない。一方、菌体収量当たりの発生速度で表すと、培養時間による菌の増殖量の影響を強く受け、成長曲線のどの時期に菌体量を測定したかによって、培養液当たりで表す場合より植菌量の影響が大きく現れる。したがって、種々の基質による水素発生を比べるには、菌体の生育状況と関係なく水素発生速度を評価できる点で、培養液当たりの発生速度を使用する方が適している。

##### 各種基質のデータの表し方について

微生物の水素発生を工業的に利用するには発生速度が速いこと、基質の水素収率の大きいことが望ましい。そこで、各基質の発生速度をグルコースの発生速度に対する比で表し、水素収率は基質 1 mol 当たりまたは 1 g 当たりで表した。見かけの水素発生量・菌体収量からペプトンに由来すると考えられる量を差し引いて、それぞれの収率の計算をした。約 10 時間で 1 % 濃度のグルコースを消費するので（図 3.1-4）、特殊な場合、例えば L-スレオニンは 113 時間、を除いておよそ 24 時間培養した。初期 pH と終了時 pH を測定して、水素発生と基質の分解による培地 pH の関係を調べた。表 4.1-1 に糖類および類似物の測定結果を、また、表 4.1-2 にカルボン酸やアルコール、アミノ酸などの測定結果を示した。

###### a) トリオース、ペントース

水素発生速度はグルコースに比べてやや遅かった。したがって、水素発生にとってはあまり良い基質にはならない。アラビノースは L 型はかなりよく水素発生したが、D 型では速度・収率共に小さく、D 型では培養後 pH は初期 pH より大きくなった。このように、D 型と L 型で顕著な違いが現れた。

###### b) ヘキソースとその類似物

実験に使用したこれらの物質は、総じて非常によい水素発生源であることが分かった。なかでも、グルコースの酸化物であるグルコン酸の水素発生速度はグルコースの 1.4 倍にもなった。ただし水素の収率は 0.9 mol/mol-substrate と小さかった。グルコースより 1 分子中に含まれる水素原子数が 2 多いマンニトール、D-ソルビトールは発生速度、水素収率のどちらも大きかった。とりわけ水素収率はグルコースの約 1.6 倍あった。基質の水素を有効に利用することでは、水素収率は大きいほど良い。したがって、マンニトール、D-ソルビトールは、その様な観点から

は非常に優れた基質であると言える。これらの物質は、ワカメなど褐藻類に多く含まれている<sup>7)</sup>ので、海藻バイオマスの利用と言うことが考えられる。さらに、マンニトールの菌体収率が極めて大きいことが分かったので、大量集菌に効果が期待できる。一方、単糖のL-ソルボースからは全くガス発生がなく、培養によって培地 pH は大きくなった。菌の収率も悪かったが、わずかに増殖はしていた。これらのヘキソース類の立体構造の違いは、高い収率を得るためのメカニズム解明との関係から興味ある結果である。

c) 二糖類

スクロース、モルトースはグルコースと同じくらいの発生速度であった。これらの二糖類は水素収率がグルコースより大きく、単糖のグルコースに比べて、モル収率では 2.5~2.9 倍、重量収率では 1.3~1.5 倍あった。したがって、廃糖密を利用した大量水素生産に希望が持てる。しかし、ラクトースからは殆ど水素を発生せず、菌体増殖量も非常に少なかった。また、培養後の pH も大きくなつた。Bergery's manual<sup>8,9)</sup>によると、*E. aerogenes* のラクトース資化能は陽性である。そこで、綿栓をした緩い好気培養における菌体増殖を調べた。表 4.1-3 に示すように、グルコースに比べると増殖速度は遅いけれども、好気下では資化能をしめした。したがって、好気下での菌体収集には利用できる。

d) 多糖類など

*E. aerogenes* は多糖類を直接資化する力は弱いようだ。検査した多糖類からはあまり水素発生がなかった。可溶性デンプンを炭素源とする寒天平板培地上でコロニーを形成するが、コロニーの成長はグルコースに比べて非常に遅かつた。この様に、入手しやすいデンプン類からは水素発生をしないので、処理をしないで利用できる物質の範囲が狭くなつた。

総じて、これら糖および糖類似物の培養では、水素発生の盛んなものや増殖の盛んなものの培養後 pH は培養前より小さくなつた。つまり、酸を代謝生成した。一方、水素発生、あるいは増殖の少ないものでは培養前よりアルカリ側に変化した。これはペプトンの影響を調べた第3章 3.3 節の結果と同様ペプトンの緩衝作用によると思われる。

e) カルボン酸

*Escherichia coli* では、ピルビン酸のリン酸化分解過程で生じるギ酸が更に分解され、水素と炭酸ガスが発生するといわれている<sup>10,11)</sup>。*E. aerogenes* と *E. coli* は同じ科に属している<sup>8)</sup>ので、*E. aerogenes* もギ酸を分解して水素を発生していると考えられた。しかし、ギ酸の分解による発生速度はグルコースの 1/2 しかなかつた。ピルビン酸からの水素発生速度もギ酸とほぼ同じであった。ギ酸・ピルビン酸分解による水素発生の理論水素収率は 1 であるが、これらの基質からの

水素収率は約 0.3 と小さいので、一部は同化された可能性もある。しかし、発生速度の観点からは、ギ酸分解による水素発生ではないようである。

カルボン酸の分解による水素発生は、ギ酸とピルビン酸を除くと、あまり活発ではなかった。しかし、菌体量は酢酸を除く検体の総てで増加した。したがって、菌体増殖のエネルギー源として利用することはできる。

f) アルコール類、アミノ酸類、ビタミン等

メタノール、エタノール、2-プロパノールは何れも水素を発生せず、増殖もペプトンだけの培地より少なかった。

アミノ酸のスレオニンに対しては、光学異性体への顕著な選択性をしめした。D-スレオニンからは水素発生は無く、菌の増殖もわずかであった。一方、L-スレオニンからは 0.3 mol/mol-sub. の水素発生があり、菌の増殖も多かった。ただし、45 時間を越えてもまだ水素発生がみられ、45 時間ににおける菌体収量は 30 ml の培地当たり 12.4 mg、113 時間では 14.9 mg と非常に緩やかな資化であった。

L-グルタミン酸からは水素発生はみられなかつたが、菌の増殖が活発であった。ビタミン C に相当する L-アスコルビン酸ナトリウムからはかなり活発に水素が発生し、ギ酸より速かつた。とりわけ菌の増殖が活発で、菌体収量はグルコースの約 3 倍も大きかつた。したがって、増殖促進剤としてマンニトールと共に利用できる。ペントースとよく似た分子式をもつイノシトールは、水素発生にはあまりよい基質にならなかつた。しかし、菌増殖ではグルコースと同じ程度の収量を得た。

カルボン酸、アルコール類、アミノ酸類、ビタミン類を基質とした培養では、糖類と異なつて、総じて培養後 pH は大きくなつた。ギ酸培地では 0.85 もアルカリ側に移動した。これらは酸を消費したからである。アミノ酸培地においても pH 7 近くに変移した。したがつて、この様な物質のみを炭素源として含む液では、pH を中性にする働きが期待できる。

#### 4.1.3 結論

発酵で水素を発生する *Enterobacter aerogenes* st. E.82005 が水素発生にどの様な物質を利用できるか、ペプトンを窒素源に使用して調べた。その結果、

(1) 糖類及び糖類似物では、多くの単糖・二糖類からグルコースと同じ様に活発に水素発生した。中でも、グルコースの酸化物であるグルコン酸からは、グルコースの 1.4倍の速さで水素を発生した。

(2) グルコースの水素収率は約 1.0 であったが、マンニトール、ソルビトールからは 1.6 mol/mol-substrate の収率で水素が得られた。スクロース、モルトースを基質とした場合には、重量当たりで比較して、グルコースの 1.3~1.5 倍の収率があり、変換効率の良い基質であった。

(3) ラクトースは嫌気条件では水素発生がほとんど無く、菌の増殖もわずかであったが、好気条件では菌体増殖に使えることが分かった。

(4) ギ酸の分解による水素発生速度はグルコースに比べて約1/2と遅かった。

(5) カルボン酸類は水素発生には適していなかったが、菌体は増殖した。ビタミンC、マンニトールの菌体収量は非常に大きく、グルコースの約3倍にもなった。

表 4.1-1 炭水化物およびその類似化合物

Material	Formula	mol-w	Cell mass <sup>b)</sup> [mg]	Hydrogen evolved [mmol]	Specific <sup>c)</sup> rate [-]	$\gamma_{H_2/S}^d$ [mol/mol]	$\gamma_{H_2/S}^d$ [mmol/g]	Cultiv. hours	pH <sup>e)</sup> [-]	$\Delta pH^f)$ [-]
<b>Trioses</b>										
D-Glyceraldehyde	$C_3H_6O_3$	90.1	*	0.50 0.72	*	0.1 0.2	1.2 1.9	23.0 23.0	5.43 5.32	*
Dihydroxyacetone			*							
<b>Pentoses</b>										
D-Arabinose	$C_5H_{10}O_5$	150.1	8.7 16.1 15.9	0.31 1.54 0.95	0.2 0.6 0.4	0.1 0.7 0.4	0.5 4.7 2.7	26.3 26.3 23.0	5.86 5.90 5.67	-0.48 0.38 0.04
L-Arabinose			*							
D-Xylose										
D-Ribose										
<b>Hexoses and related compounds</b>										
Glucose	$C_6H_{12}O_6$	180.2	24.5(7.0) 12.3(9.3) 26.7(8.0) 25.3(7.8)	1.88 1.80 2.15 2.19	1 0.8 0.9 1.0	1.0 1.0 1.2 1.2	5.7 5.6 6.8 6.9	24.0 21.2 21.2 21.2	6.24 6.14 6.39 6.20	0.59 0.40 0.52 1.14
Galactose										
D-Fructose										
D-Mannose										
L-Sorbose										
Mannitol	$C_6H_{14}O_6$	182.2	43.8(7.0) 22.5(7.0)	2.79 2.78	1.2 1.2	1.6 1.6	8.9 8.9	20.0 28.0	6.50 6.54	0.59 0.68
D-Sorbitol										
Gluconic acid	$C_6H_{12}O_7$	196.2	33.2(8.5)	1.38	1.4	0.9	4.6	23.3	6.39	0.32
<b>Saccharides</b>										
Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.3	22.7(9.9) 23.3(8.5)	2.33 2.56	1.0 0.9	2.5 2.9	7.4 8.6	23.5 23.5	6.31 6.46	0.71 1.15
Maltose										
Lactose										
<b>Polysaccharides and structural polysaccharide</b>										
Amylose	$(C_6H_{10}O_5)_n$	-	*	0.19	-	-	0.1	23.0	6.41	0.19
Glycogen			*	0.22	-	-	0.4	23.0	6.50	*
Starch	$(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$	-	12.1	0.19	-	-	0.1	25.5	6.51	0.17
Dextrin			*	0.35	-	-	0.7	47.5	6.52	*
Chitin	$(C_6H_{13}NO_5)_n$	-	*	0.16	0.0	-	0.0	23.0	6.35	*
<b>Peptone</b>										
			-	6.5 <sup>g)</sup>	0.16 <sup>g)</sup>	*	-	0.1	23.2	6.39
										-0.35

a) Symbols: \*, data not measured in the experiments; -, data difficult to define or evaluate.

b) Expressed in dry weight of cell mass grown in 30ml culture liquid containing 1% substrate. That in parentheses means cultivating hours. Unless otherwise noticed, the cell mass was measured at the end of the cultivation.

c) Evolution rate of hydrogen from substrate referred to the rate from glucose as unity, where the rate from glucose was estimated at 11 mmol/(g-culture-h).

d) Yield of hydrogen from substrate calculated by subtracting the amount due to peptone from apparent yield.

e) Initial pH of culture liquid.

f) Subtracted final pH from initial pH.

g) Yield obtained by the cultivation under 5% peptone alone.

表 4.1-2 カルボン酸、アルコール、アミノ酸およびその化合物

Material	Formula	mol-w	Cell mass <sup>b</sup> production [mg]	Hydrogen evolved rate [mmol/l]	Specific <sup>c</sup> rate [-]	$\gamma_{H_2/S}^d$ [mol/mol]	Cultiv. hours [h]	pH <sup>e</sup> [-]	$\Delta pH^f$ [-]
<b>Carboxylic acids</b>									
Formic acid	HCOOH	46.0	21.1	1.67	0.5	0.3	7.6	23.3	6.35 -0.85
Acetic acid	CH <sub>3</sub> COOH	60.1	3.3	0	-	-	-	22.5	7.14 0.03
Pyruvic acid	CH <sub>3</sub> CO-COOH	88.1	12.7	0.76	*	0.2	2.0	25.0	6.36 -0.43
Malonic acid	CH <sub>2</sub> (COOH) <sub>2</sub>	104.1	23.3	0.26	0.3	0.0	0.3	22.7	6.73 -0.51
Fumaric acid	(:CHCOOH) <sub>2</sub>	116.1	19.2	0.17	0.0	0.0	0.0	24.4	6.44 -0.24
Succinic acid	COOH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	118.1	*	0.06	-	-	-	24.0	6.61 -0.20
D,L-Malic acid	COOH-CH(OH)-CH <sub>2</sub> COOH	134.1	18.7	0.31	0.1	0.0	0.4	24.3	6.43 -0.31
L-Malic acid	COOH-CH(OH)-CH <sub>2</sub> COOH	134.1	14.1	0.12	-	-	-	25.4	7.63 0.45
<b>Alcohols</b>									
Methanol	CH <sub>3</sub> OH	32.0	4.5	0.05	-	-	-	21.0	6.84 -0.07
Ethanol	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	46.1	6.2	0.09	-	-	-	22.7	6.73 -0.40
2-Propanol	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHOH	60.1	6.7	0.13	-	-	-	27.1	6.69 -0.39
<b>Amino acids</b>									
D-Threonine	CH <sub>3</sub> CH(OH)-CH(NH <sub>2</sub> )-COOH	119.1	7.5	0.14	-	-	-	25.5	6.45 -0.33
L-Threonine	CH <sub>3</sub> CH(OH)-CH(NH <sub>2</sub> )-COOH	119.1	12.4	0.86	0.1	0.3	2.3	11.3	6.49 -0.02
L-Glutamic acid	COOH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )-COOH	147.1	14.2	0.15	-	-	-	24.3	6.41 -0.33
<b>Vitamin and Coenzyme</b>									
L-Ascorbic acid	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	176.1	35.1	2.19	0.6	1.3	7.6	24.4	6.42 -0.03
Inositol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180.2	23.1	0.94	*	0.5	2.6	22.8	6.42 0.33
<b>Peptone</b>									
		-	6.5 <sup>g)</sup>	0.16 <sup>g)</sup>	*	-	0.1	23.2	6.39 -0.35

a) Symbols: \*, data not measured in the experiments; -, data difficult to define or evaluate.

b) Expressed in dry weight of cell mass grown in 30ml culture liquid containing 1% substrate.

c) Evolution rate of hydrogen from substrate referred to the rate from glucose as unity, where the rate from glucose was estimated at 11 mmol/(g-culture·h).

d) Calculated by subtracting the amount due to peptone from apparent yield.

e) Initial pH of culture liquid.

f) Subtracted final pH from initial pH.

g) Yield obtained by the cultivation under 5% peptone alone.

表 4.1-3 好気培養における菌体増殖量

Substrate <sup>a)</sup>	Cultivation time [ h ]	Growth <sup>b)</sup> [ mg ]	$\Delta\text{pH}^{\text{c)}$ [ - ]
Glucose	9.5	38.7	0.46
Lactose	9.5	13.8	-0.65
	29.5	36.5	0.49

a) Culture medium consisted of 5% peptone and 1% substrate.

b) Dry cell weight grown in 30ml culture liquid.

c) pH difference defined as initial pH - final pH.

## 4.2 草木を基質とした水素発生

前節で、*E. aerogenes* st. E.82005 は多くの糖質を利用して水素を発生することが明らかになった。これらの糖質は、草木の葉や実に豊富に含まれている。たとえば、グルコース、フラクトース、スクロースなどは植物界に広く分布しており、ソルビトール、マンニトールは海草類やりんご、モモなどの果実に多く含まれている。L-アラビノースはマツ、スギの心材に含まれており、L-アスコルビン酸は別名ビタミンCと呼ばれて果物、野菜、緑茶などに多く含まれている。このように、草木の葉や実には水素発生の基質が豊富に含まれているので、バイオマス利用の観点から、本節では身近にある植物の基質特性を調べた。この実験では、これらの植物自身がバクテリアの増殖に必要な栄養分を含んでいると考え、ペプトンなど窒素源、微量養分になるものは特に加えなかった。

### 4.2.1 実験方法

実験装置は第2章、図2.1-1(c)と同じである。水洗いした植物試料約100gと市水400mlを家庭用ミキサーに掛け、5分間粉碎してジュースをつくる。このジュースを2分割し、一方は120°C、15分間滅菌する。50mlの培養ビン4本に滅菌した試料液30mlをそれぞれ入れたものと、同様に滅菌していない試料液を入れた培養ビン4本を準備し、SP培地であらかじめ20時間培養しておいた菌液1mlを、滅菌試料、非滅菌試料のそれぞれ2本に植え付ける。このようにして、表4.2-1に示した4種の検体を作り、ガス取り出し口のついた栓をして、マグネットターラで攪拌しながら38°Cで培養する。

表4.2-1 試料の処置と植菌の組み合わせ

検体	滅菌操作	植菌
A	有	有
B	有	無
C	無	有
D	無	無

#### 4.2.2 実験結果

培地滅菌の有無、E.82005 菌の植え付けの有無の4種の検体について、植物試料の水素発生状況は、表72-2に示す4種の型に分類することができた。

I型はA、Cで水素発生が見られたもので、菌を植え付けたことによって水素を発生しているので、E.82005 菌だけが水素発生基質として利用できる植物である。

II型はC、Dで水素発生が見られたもので、滅菌していない検体でのみ水素発生があり、植菌をしていない検体からも水素発生がみられるから、E.82005 菌による水素発生ではなく、植物試料に棲んでいる他の微生物による水素発生である可能性もある。つまり、E.82005 菌に対する阻害物質を含んだ植物であると考えられる。しかし、基質になる物質が滅菌操作で変質した可能性もあり、さらに詳しい検査が必要である。

III型はA、C、Dで水素発生が見られたもので、滅菌試料に菌を植え付けると水素発生がみられるから、E.82005 菌の水素発生基質になると同時に、植物試料に棲んでいる他の微生物の水素発生基質にもなると考えられる。

IV型はA、B、C、Dのいずれからも水素発生がみられないか、非常に少ないので、このまま基質として利用するのは難しい植物である。

#### 4.2.3 考察

IV型に分類された植物のうち、ホウレンソウ、ハクサイ、キャベツのような野菜からは水素発生が観察されなかった。しかし、本実験では窒素源となる栄養素を加えていないので、この結果から直ちに野菜の利用可能性の可否を論ずるわけには行かないと思われる。そこで、次節でさらに台所廃棄物の利用可能性を検討する。

そのほかに、IV型に分類されたもので注意すべきものに、ヤマイモ、オシロイバナがある。これら二種類の植物は、どちらも、E.82005 菌を単離する前には非常に活発に水素を発生することが観察された植物である。この実験で水素を発生しなかった理由を考えると、実験方法か、季節との関係が考えられる。つまり、この実験はミキサーを使って植物細胞を破壊しているので、乳鉢ですりつぶした前回の実験に比べて、十分な量の細胞を破壊することができなかつた可能性がある。季節に関して考えると、E.82005 菌の単離を行ったのは夏から秋にかけてであったが、この実験は秋に行われており、植物の葉の光合成能力が減退していた可能性がある。いずれにしても、再調査する必要がある。

表4.2-2でアンダーラインを引いた植物は、イネ科に属する植物である。これらの植物の多

くは水素発生量の多いものに分類されているから、イネ科の他の植物も含めてイネ科の植物は水素発生の基質に適していると思われる。ただし、おもに、穂が実った頃に採取実験したので、実際に水素発生基質が蓄積していたと考えられる。E.82005 菌はセルロースを分解することができないので、稻藁などの繊維質から水素を発生させることはできない。

表 4.2-2 雜草・樹木の葉などからの水素発生状況

H <sub>2</sub> 発生量 mol/m <sup>3</sup>	0~0.5	0.5~1	1~2	2以上
I		イチョウ ベニシダ セイヨウカキモ	ナガハグサ ノゲシ チカラシバ ヤツデ	オヒシバ
II		オトコヨモギ ヤマザクラ	スダジイ ササ	ミズキ エンコウカエデ ブラタナス
III		エビヅル アキタムラサク イタドリ	アキノキリンソウ トウバナ ユブナグサ エノコロクサ ススキ ケサノオウ ヨモギ	セイタカアワタ スキナ ネズミガヤ シロツメグサ スヌメノテッポウ
IV	スヌメルヒ ハルタデ センタングサ ドクダミ ツユクサ ホウレンソウ ハクサイ キヤベツ オシロイバナ ヤマイモ			

I、II、III、IVの分類は表 7.2-1 の検体の種類のうち、それぞれ次ぎのような検体から水素発生がみられたものである。

I、A、Cで水素発生； II、C、Dで水素発生； III、A、C、Dで水素発生； IV、A、B、C、Dのいずれでも水素発生が少ない。

#### 4.3 台所生ゴミからの水素発生

グルコースなど六炭糖とその類似物、スクロース、モルトースなどの炭水化物は、草や木の葉だけでなく、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。特に、将来団地など適当な規模の家庭から、ディスポーザーで粉碎処理した台所生ゴミが排出されるようになると、団地の一次処理系で水素を取り出し、燃料電池で変換した電気を街灯などの電力として利用することが現実になるかもしれない。R I T E 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<sup>1)</sup>、この菌の使用可能性を調べておくことは必要であろう。

本節では、家庭の台所からな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調べた。

##### 4.3.1 実験方法

使用したバクテリアは *Enterobacter aerogenes* strain E. 82005 菌である。

前培養は表 7.3-1 (A) の組成を持つ培養液で 20 時間行った。ガス発生実験は、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、前培養菌液 30 ml を移植して行った。培養温度は 38°C、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 4.3-1 (B) の YNUB3 液 1 l を加えてミキサーで粉碎した検査試料に、水素源としての特性を調べるときは窒素源として 5 g/l のペプトンを、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 4.3-1 イオン交換水 1 ℥ 中の成分組成

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

## 4.3.2 実験結果と考察

## 1) ガス発生への無機成分添加の効果

リンゴ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 4.3-1(B)の無機成分(YNU B3)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 4.3-1 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。

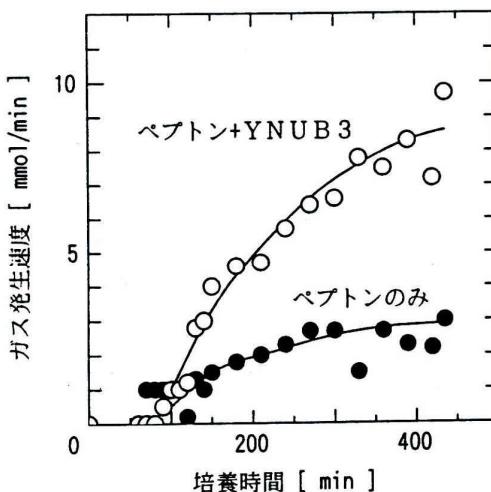


図 4.3-1 ガス発生速度と無機成分添加の効果

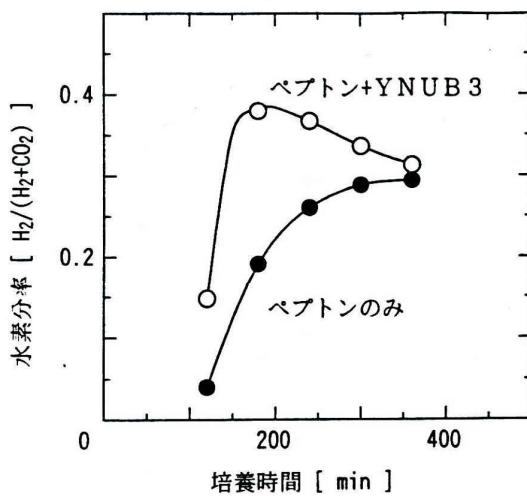


図 4.3-2 発生ガス中の水素分率

図 4.3-2 はこの比較実験における発生ガス中の水素比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比率の高いことが示されている。YNUB3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YNB3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範囲に治まっていた。このことから、水素発生速度がYNB3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。この結果から、以後の実験では、YNB3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 4.3-3 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、皮に比べて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。

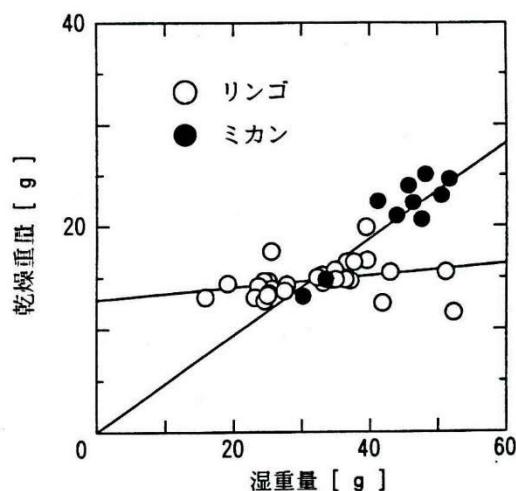


図 4.3-3 リンゴとミカンの乾 - 湿重量の関係

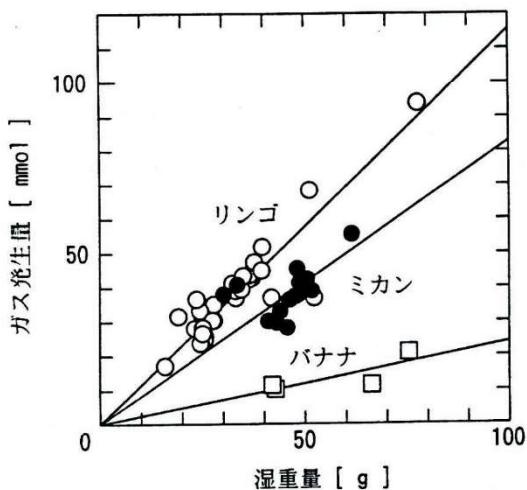


図 4.3-4 試料湿重量とガス発生量との関係

図 4.3-4 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、良好な比例関係となって現れたものと考えられる。

表 4.3-2 には回帰直線から求めた各種試料の単位湿重量あたりガス発生量、発生ガス中の水素分率の平均値、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 1 g から 556 mmol の水素を発生するので、リンゴの皮やミカンの実は約 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、ホウレンソウは、前節の実験ではハクサイ、キャベツなどの葉物野菜と共に、水素を発生しない試料であったが、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、前節で行った実験が、試料に水を加えて粉碎しただけの培地であったために、栄養条件が劣悪であったためと思われる。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、他の葉物野菜とともに相当量の水素を発生する水素源になることをこれは示している。

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、グルコースの水素収率をかなり上回り、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した。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。

表 4.3-2 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 <sub>2</sub> /(H <sub>2</sub> +CO <sub>2</sub> )]	水素量 [mmol/g-wet]
リンゴ	1.15	0.44	0.51
ミカン	0.82	0.33	0.27
ミカンの実	1.15	0.45	0.52
バナナ	0.24	0.38	0.09
ホウレンソウ	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

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

図 4.3-5 は窒素源に魚の腑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ゴを、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ゴ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、窒素源に腑を使用したものは、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。腑に他のバクテリアが棲息していた可能性があるので、E.82005 菌を植え付けて、腑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 10 ml 程度捕集できただけであった。これによって腑に棲息する菌がガスを発生したのではないことが確かめられた。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に非常に良好な増殖因子が含まれていることが知られており<sup>12)</sup>、浸出液が増菌培地のエキスとして利用されているので、魚の腑にも 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 4.3-6 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。腑を使用したものは、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つて約 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

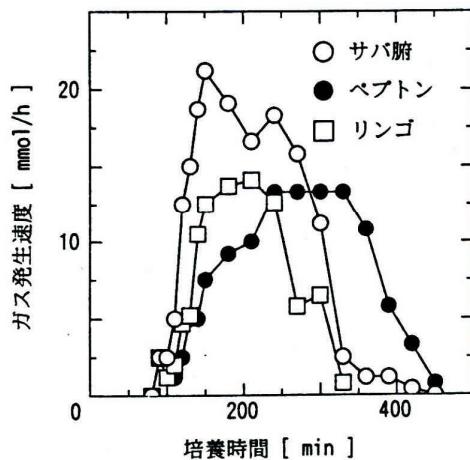


図 4.3-5 ガス発生速度における魚の腑の効果

大きくなつて、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、サバの臍培地の場合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、生の魚の臍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 4.3-3 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つた。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つたが、前節で述べたようにこれらも良好な窒素源であった。

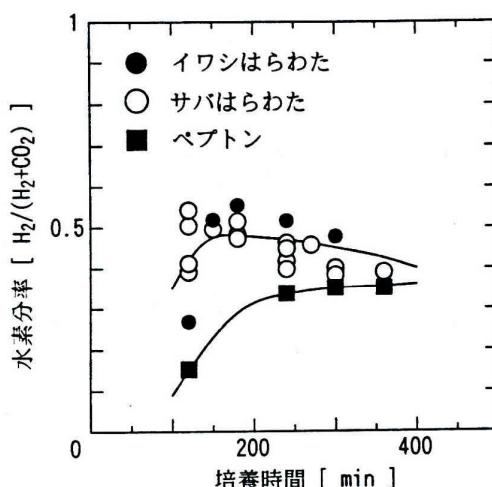


図 4.3-6 水素分率における臍の効果

表 4.3-3 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

#### 4.3.3. 結論

本節の実験により、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、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。
- 3) 前節で水素基質にはならないとされた野菜も、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。

#### 4.4 廃糖蜜を利用した連続水素発生

第4章第1節において*E. aerogenes* strain E.82005 がグルコースだけでなく、その他の糖および糖類似物からも活発に水素発生することが明らかになった。中でも二糖類のスクロースとモルトースからはそれぞれ 7.4, 8.6 mmol/g の収率で水素を発生し、グルコースの収率 5.7 mmol/g よりも高い収率であった。スクロースはサトウキビやテンサイから採れる砂糖のことで、粗糖の生産量は世界中で約 1 億 1 千万トン、日本では約 100 万トン生産されている。この粗糖を生産するとき、粗糖生産量の約 5 % に相当する膨大な量の結晶化できなかった糖が廃糖蜜として発生し、それはアルコール発酵の原料などに利用されてきた。しかし、近年、日本で発生する廃糖蜜はコスト高のせいで引き取り手が減少し、製糖各社では処理に悩んでいると言われている。また、ブラジルではサトウキビから搾り出した糖蜜をアルコール発酵の原料に使用し、蒸留生産したアルコールをガソリンと混合して自動車の燃料に使用していることなどから、本章では廃糖蜜を利用して連続水素発生を試みる。

粗糖の生産過程において廃糖蜜が発生するばかりでなく、国内で粗糖から精白糖を生産する過程においてもさらに廃糖蜜が発生する。精白糖生産で発生する廃糖蜜は、廃糖蜜の製品価値を高めるため、糖濃度が 50% もの高濃度で出荷されている。その成分にはカルシウム、鉄分、リン、ナトリウム、カリウムなどが多く含まれており、糖濃度を薄くすれば、バクテリアの培養に好都合な培地になる。そこで、精白糖生産の廃糖蜜を使用して、連続水素発生を行った。

##### 4.4.1 実験方法

実験に使用したバクテリアは *Enterobacter aerogenes* strain E.82005 である。

原料の廃糖蜜は粗糖から精白糖を生産する際に発生する二次廃糖蜜で、M 社製である。この廃糖蜜には 51% の糖が含まれているが、これを市水で約 2 % まで薄めて、前培養と本培養の培養液に使用した。その組成は、スクロース 13.8 g/l、グルコース 1.5 g/l、フラクトース 2.1 g/l であった。

前培養は、寒天培地に生えた E.82005 のコロニー数個を滅菌した培養液 250 ml に植え付け、38°C、嫌気状態で搅拌培養した。培養槽体積は 300 ml であった。20 時間培養後、滅菌した培養液を約 80 ml/h の速さで培養槽に滴下し、連続培養を開始した。培養の期間中、培地 pH は水素発生に最適な 6.0 に pH コントローラで自動調節した。調整液には 5 % の KOH を使用した。

培養液の廃液 30 ml を定期的に採取し、遠心分離して廃液中の代謝産物組成と菌体量を測定した。上澄み液は有機酸分析用の液クロカラム (GL-C610H、日立化成(株)) を通して RI (屈折率) メーターで組成を分析した。キャリアー液には 0.1 % のリン酸を使用した。乾燥菌体量は、フ

イード液をあらかじめ遠心分離して105℃で沈殿物の乾燥重量を測定しておき、培養廃液の沈殿物乾燥重量からフィード液乾燥重量を差し引いて求めた。

発生した気体組成は2台のガスクロマトグラフで分析した。水素はアルゴンをキャリアーにモレキュラーシープ5Aを充填剤にして、炭酸ガスはヘリウムをキャリアーに活性炭を充填剤にして分析した。記録計の最高感度でも、これら以外の発生気体は検出されなかった。水素発生速度は、25%のKOHを置換液に使用して、水上置換法で定期的に測定した。

図4.4-1に装置の概略を示した。

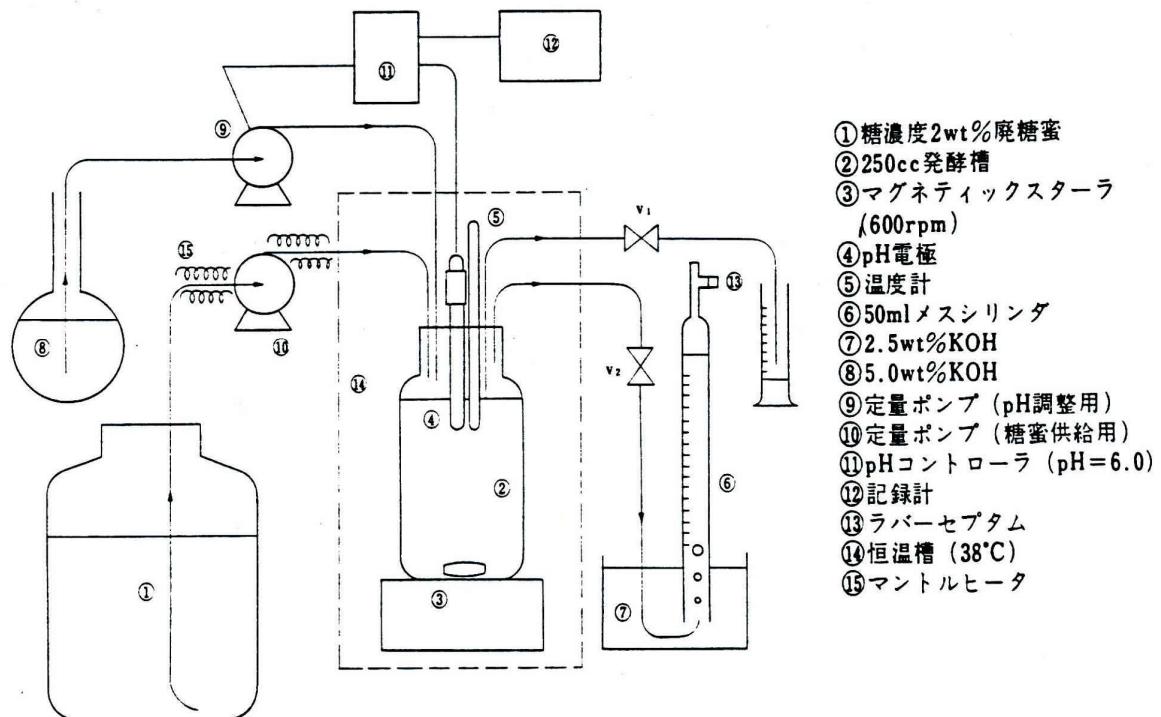


図4.4-1 実験装置略図

## 4.4.2 実験結果と考察

## 廃糖蜜の発酵による代謝産物

図4.4-2は本培養液と連続培養廃液の液体クロマトグラフ分析例である。図に見られるように、廃糖蜜にはスクロースとグルコース、フラクトースが含まれており、培養廃液では、これらの糖類のピーク高さが減少して他のいくつかの代謝産物のピークが現れる。これらの物質は、リテンションタイムやNeishら<sup>13)</sup>の分析結果と照らし合わせて、乳酸、酢酸、フマル酸、2,3-ブタンディオール、酪酸であると決定できた。各種物質のリテンションタイムを検定した結果が表4.4-1である。

図4.4-3に培養廃液中の代謝産物の日々変化を示した。この図から、乳酸、酢酸、酪酸とエタノールが連続発酵の主な代謝産物であることがわかる。とりわけ乳酸の占める割合は、培養日数が経つにつれて増加し、始めに25%程度であった代謝割合が8日以後は約70%を占めるまでになった。一方、エタノールと酢酸は、培養初期には合わせて70%を占めていたにもかかわらず、培養の進行と共に減少し、エタノールの代謝割合はわずか5%程度、酢酸も約10%程度と乳酸の代謝量変化とはまったく逆の変化を示した。また、*Enterobacter aerogenes*は、回分培養ではpHが6.3以上では混合酸発酵を、pHが6.3以下では2,3-ブタンディオール発酵をすることが知られており<sup>14)</sup>、連続発酵では水素発生に最適なpH6.0に保ったので、主な代謝産物の一つとして2,3-ブタンディオールが検出されると考えていが、予想とは異なって、ブタンディオールの生産量は非常に少なかつた。

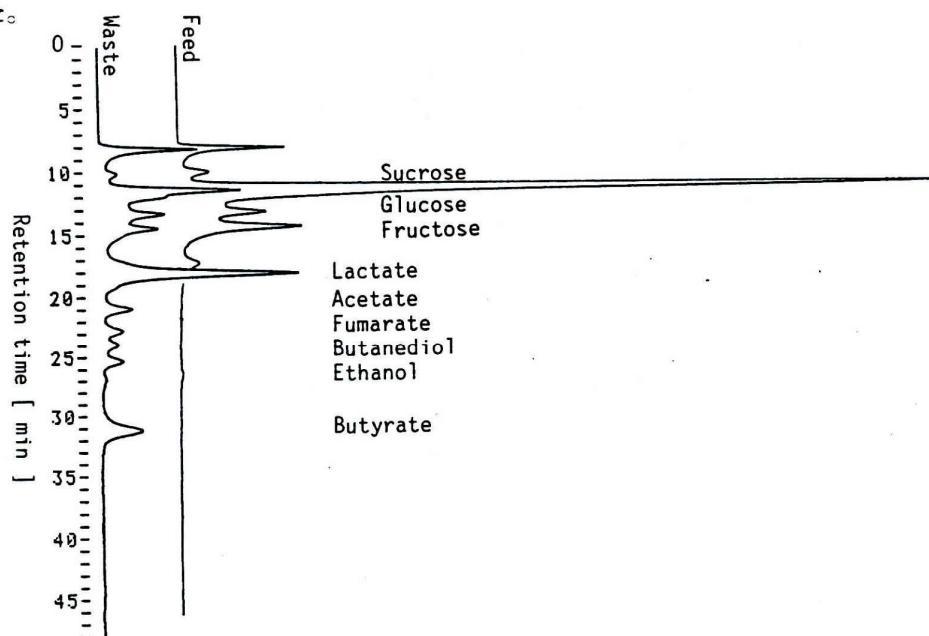


図4.4-2 培養液と発酵廃液中の代謝産物の液体クロマトグラフ分析例

表 4.4-1 各種物質の液体クロマトグラフリテンションタイム

分析カラム GL-C610H、分析機器 RI検出器、キャリアー液 0.1%リン酸、流量 1ml/min

時間 [min]	Retention time [min]	*	物質名	その他
	7.98		ペプトン	8.04, 26.05
	8.04		ペプトン	7.98, 26.05
10	10.41		アスコルビン酸 Na	13.49, 15.34
	11.15		サッカロース	
	11.24		モルトース	
	11.33		モルトース	
	12.75		クエン酸 Na	
	13.15		グルコン酸 Na	
	13.17		グルコース	
	13.49		アスコルビン酸 Na	
	13.74		イノシトール	
	13.89		マンノース	
	14.06		マンノース	
	14.23		フラクトース	
	14.53		リンゴ酸	
	14.76		リンゴ酸	
15	15.34		アスコルビン酸 Na	
	17.82		乳酸	
	18.21		コハク酸	
	18.30		グリセリン	
	18.48		コハク酸	
	19.04		ギ酸	
20	20.64		酢酸	
	22.03		アセトアルデヒド	
	21.87		アセトアルデヒド	
	22.20		アセトアルデヒド	
	22.59		メタノール	
	22.64		フマル酸	
	23.60		2,3-ブタンジオール	
	24.21		アセトイソ	
	24.22		2,3-ブタンジオール	
	24.73		ギ酸エチル	
25	25.14		エタノール	
	26.05		ペプトン	
30	30.99		酪酸	
	31.00		酢酸エチル	

\*) 87年7月21日よりUV検出器を除いた短流路

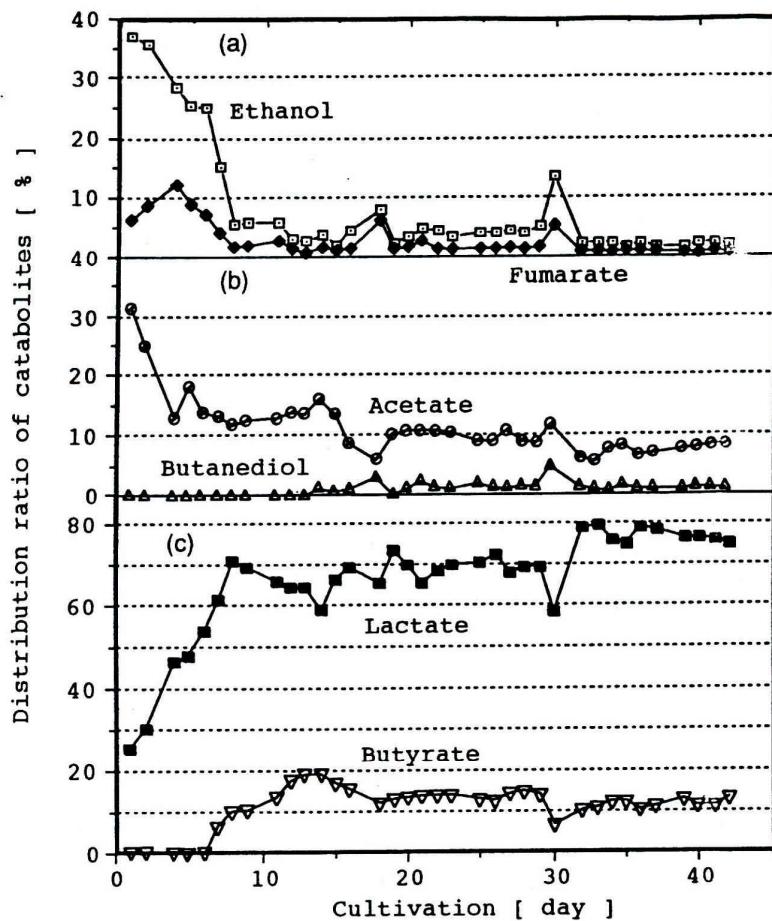


図 4.4-3 発酵廃液中の代謝産物の日々変化

表 4.4-2 発酵廃液中の代表的代謝産物分析例と回分培養での分析例

Cultivation	Fermentation products (mmol/100 mmol glucose fermented)					
	Lactate	Acetate	Fumarate	Butanediol	Ethanol	Butyrate
<b>Continuous</b>						
8(day)	129.1	21.4	3.36	-	10.1	18.0
9	126.5	22.4	3.61	-	10.5	18.5
12	110.6	23.8	2.12	-	5.16	29.2
23	122.7	18.3	2.43	1.75	5.89	23.6
<b>Batchwise</b>						
pH 6.0	25.9	29.2	5.11	13.4	73.7	19.7
pH 7.0*)	25.0	42.4	-	10.8	57.7	0.68
pH 6.6*)	7.59	12.9	-	38.8	55.2	0.44
pH 6.0*)	3.35	7.96	-	47.5	57.4	0.00

\*) Synthetic culture, analyzed by Neish and Ledingham [1].

表4.4-2に培養期間中の幾日かの発酵収支を示した。糖類はグルコースに換算して計算した。培養液が廃糖蜜であるために代謝産物が異なったことも考えられるので、比較のために、回分式培養で得た発酵収支とNeishらの合成培地での発酵収支<sup>13)</sup>を併せて示したが、フマル酸と酢酸それにエタノールの代謝量に培養液の違いが見られるものの、回分培養ではブタンディオールが主な代謝産物として検出されており、廃糖蜜と合成培地の間に大きな変化は無いよう見える。一方、連続培養と回分培養とでは乳酸、ブタンディオール、エタノールの代謝生産量に顕著な違いが見られ、連続して培養することでバクテリアの代謝性質に変化が起きたと考えられる。

図4.4-4には水素発生速度とスクロースに換算した糖取り込み速度の日々変化を示した。図4.4-3と図4.4-4を比べると、はじめの12日間では、明らかに水素発生速度の増加に反比例してエタノールと酢酸の生成量が減少し、一方、乳酸は正比例して増加している。これは、水素発生について従来考えられていた代謝反応とまったく異なっており、興味深い結果である。なぜなら、これらの代謝反応は次の簡易式で表される反応であるから、水素発生はエタノールと酢酸の代謝生産における副産物として位置づけられており、乳酸は水素発生にまったく関与しない代謝反応と考えられていたからである。

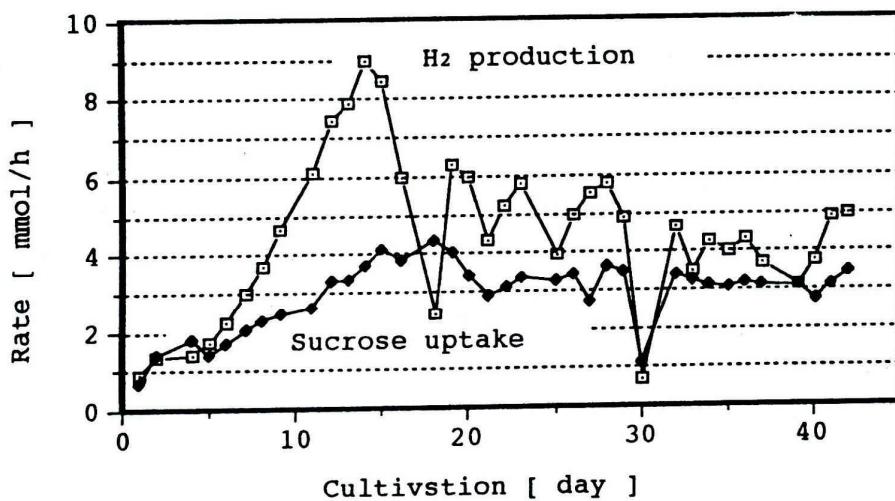
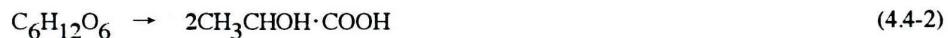
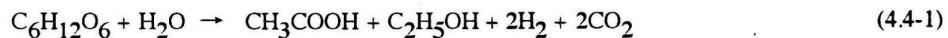


図4.4-4 水素発生速度とスクロース換算で計算した糖取り込み速度の日々変化

### 水素発生速度と糖取り込み速度

図 4.4-4に見られるように、水素発生速度は始めの14日間で最大9mmol/h、すなわち36mmol/(l-culture·h)まで増加した。しかし、その後、糖取り込み速度は増加しているにも係わらず、急速に水素発生速度は減少し、4日間で2.5mmol/hまで減少した。この理由としては次の2つが考えられる。1つは、発生した気体をメスシリンドーまで導いているパイプの接続部で、接続に使用したゴムパイプが緩くなり、発生気体が外に漏れたため、他の1つは pHセンサーに菌や何か不純物が付着して設定pHが保たれなかつたためである。接続を密にし、センサーを洗浄することで発生速度は6.2mmol/hまで回復したが、それ以後は減少増加の振動をしながら発生速度は平均して4.5mmol/h、すなわち16-20mmol/(l-culture·h)を示すにすぎなかつた。したがって、水素発生速度が減少したのは、さらに別の理由によるのかも知れないが、それは不明である。

培養30日目に、pHコントローラの操作ミスで培地のpHが4.2まで落ちたため、水素発生速度、糖取り込み速度の両方とも急激に減少してしまつた。しかし、このpHが*E. aerogenes* st. E.82005の生存限界付近のプロトン濃度であるにもかかわらず、このバクテリアは強い回復力を示し、pHを6.0に戻した2日後にはそれまでと同じ水素発生速度、糖取り込み速度を示すようになった。

これら非常に速い水素発生速度やpH変動に強い性質は、廃糖蜜を使用した水素生産の強い可能性を示すものと言える。

### 糖消費率と菌体密度

図 4.4-5 に糖消費率の日々変化を示した。糖消費率は糖取り込み速度の変化と非常によく似た変化を示し、発酵槽内の菌体量が十分増加した後では約70%以上の消費率を保つた。19日から27日の培養期間を除けば、フィードに含まれる糖類のほとんど90%が消費されていた。

図 4.4-5 には培養廃液中の菌体密度、すなわち発酵槽内に浮遊する菌体密度の日々変化もまた示している。菌体密度は、若干のばらつきはあるものの、4日目以後の実験期間を通してほぼ0.9g-dry cell/lと一定値を示したが、培養の進行と共に、ガラス製発酵槽の壁面に菌体のフロックが付着し、壁面を覆っていくのが観察された。したがって、実際の菌体密度は浮遊菌体密度よりもかなり濃いと考えられる。それは糖取り込み速度が18日間に渡って増加したことからも考えられることである。事実、42日間の培養を終えて発酵槽内のフロックを含む総菌体密度を測定したところ、6.2g-dry cell/lであった。ただし、この密度は発酵槽内の菌体が総て活きていると仮定した値である。バッチ培養におけるこの菌の水素発生速度 [11mmol/(g-dry cell·h)] から菌体密度を逆算すると、最大水素発生速度を示した14日目の菌体密度は 3.3g-dry cell/l 以上でなければならず、

最終日の水素発生速度 [20mmol/(l-culture·h)] では1.8g-dry cell 1 以上の菌体密度がなければならぬ。これらの逆算値は明らかに培養廃液中の菌体密度より大きいので、壁面に付着したフロックなどで発酵槽内の総菌体量は増加しても、浮遊菌体密度はほぼ一定値に保たれる性質があると考えられる。

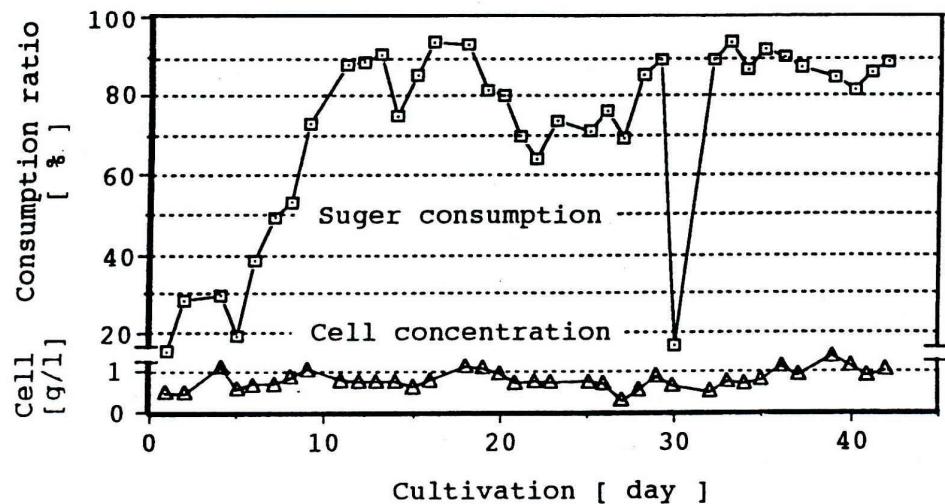


図 4.4-5 糖消費率と廃液中の菌体密度の日々変化

#### 水素収率と水素分率

図 4.4-6 はスクロース換算における廃糖蜜からの水素収率と発生ガス中の水素と炭酸ガスの比率を示したものである。最も大きかった収率、 $2.5\text{mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$ 、はペプトンを窒素源に使用して測定したスクロースからの水素収率と同じである。培養の進行と共に始め減少した収率は、4日目から増加し始め最大水素発生速度を得た時には $2.4\text{mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$ という高い収率であった。その後、水素発生速度の減少と共に再び収率は減少したが、ほぼ $1.5\text{mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$ の平均水素収率で推移した。これは基質エネルギーの効果的変換という観点からは好ましくない結果であった。

これとは対照的に、発生ガス中に占める水素の体積は炭酸ガスより僅かではあるが大きく、水素と炭酸ガスの比は 6:4 であった。これはバッチ培養での水素と炭酸ガスの比 1:2 に比べると、水素を分離する上でたいへんよい結果であると言える。

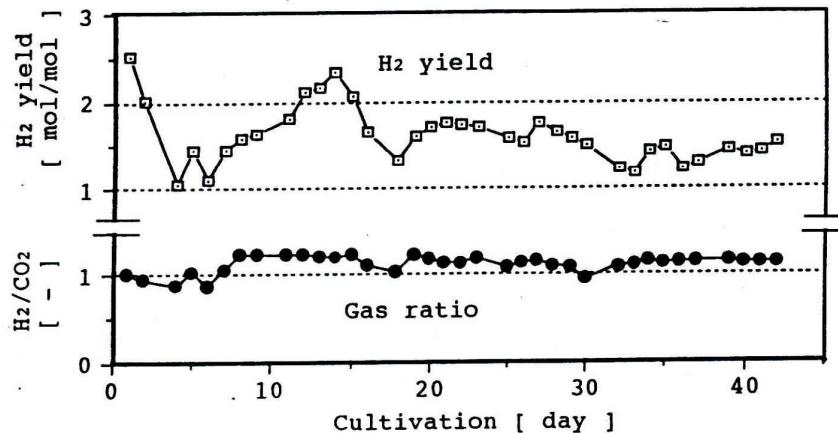


図 4.4-6 スクロース換算で計算した水素収率と発生ガス中の水素／炭酸ガス比率

#### フィード濃度と水素発生速度の関係

図 4.4-7 はフィードの濃度を2%から4%、6%と変えて連続培養を行った結果を示している。

17日間にわたる2%のフィード濃度での再実験では平均 3.2mmol/h の速さで水素を発生し、ほぼ前回の実験と同じ水素発生速度を得ることができた。そこで、17日目にフィード濃度を4%に増やして実験を続けたところ、平均水素発生速度は5.5mmol/hに増加した。25日目に、さらにフィード濃度を増やして6%にしたところ、水素発生速度も平均7mmol/hまで増加した。何%濃度のフィードまで増やせるかは今後の課題であるが、このように、水素発生速度は、フィード濃度を濃くすると、それにほぼ比例して速くなることがわかった。

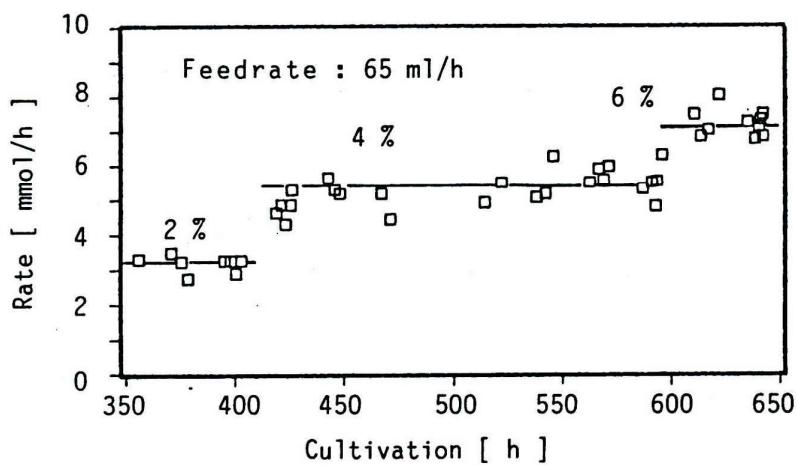


図 4.4-7 フィード濃度と水素発生速度との関係

#### 4.4.3 結論

廃糖蜜を使用した連続培養で、いくつかの新しい結果を得ることができた。それらをまとめると、次のような。

1. 最大水素発生速度は  $36\text{mmol/(l-culture \cdot h)}$  にも達し、有効水素発生速度も  $20\text{mmol/(l-culture \cdot h)}$  とかなり速かった。このように、グルコースを使用した回分培養より速い速度を得た理由は、培養中に菌が培養槽壁面にフロック状に付着し、菌体密度が回分培養より数倍も高かったからである。
2. 連続培養での代謝反応は回分培養の代謝反応とは異なっていた。発酵廃液中の主な代謝産物は乳酸で、その量は全代謝産物の約70%を占めていた。
3. 発酵水素生産の可能性を考える上で最も重要な水素収率については、わずか  $1.5\text{mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  の有効収率しか得られなかつた。
4. 発生気体中に占める水素の割合については約60%と大きかった。回分培養ではわずか30%程度であるから、水素と炭酸ガスを分離する場合にはコストが少なくてすみ、利点と言える。一時的ではあるが、 $2.5\text{mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  の収率を得たことから、いかにしたら高収率と最大水素発生速度を維持した連続発酵ができるかが、今後の課題として残された。

#### 4.5 ウレタンフォームをフロックの担体に使用した連続発酵

前節で、浮遊菌体濃度がほぼ一定に保たれることがわかったが、フロックなどで発酵槽全体の菌体密度が高くなれば発生速度が速くなることもわかった。そこで、本節では菌体密度を高くするために、ウレタンフォームをフロックの担体に使用し、連続発酵を行って水素発生速度を速めることを検討した。

##### 4.5.1 実験方法

フロックの担体になるように、約0.7gのウレタンフォームを3~5mmのさいの目に切り、発酵槽に入れた。

フィードは、流量の影響を調べるため、始めの9日間は50ml/hで、それから7日間は85ml/hに流量を速め、最後の5日間は再び50ml/hで供給した。

実験装置とその他の方法は前節と同じである。

##### 4.5.2 実験結果と考察

図4.5-1に、22日間の実験中のフィード流量と糖取り込み速度の変化をスクロース換算で示した。同時に、発酵廃液中の菌体密度の変化も示した。

フィードに含まれる糖の濃度はスクロース換算で約53mmol/lであったので、スクロースの供給速度は約2.6mmol/hから約4.5mmol/hに増加し、再び約2.6mmol/hに減じたことになる。糖の取り込み速度は4日目から9日目まではほぼ1.4mmol/hと一定値になった。したがって、糖の消費率は約54%であった。糖取り込み速度はフィード流量の増加と共に増加したが、その増加分はわずか0.2mmol/h、増加率は1.1倍で、フィードの増加率が1.6倍であることを考えるとかなり少なかった。

一方、発酵廃液中の菌体密度は培養第2日目に最大密度1.2 g-dry cell/lであったが、2日目から6日目まで徐々に密度は減少し、フィード流量とは関係なく約0.8 g-dry cell/lで一定値になった。これは、糖取り込み速度が増加していることと考え合わせると、然るべき量の菌がウレタンフォームの上または中に付着したと考えることができる。

図4.5-2は発酵廃液中の代謝産物の内、培養期間中に少なくとも1度は1mmol/l以上の濃度で検出された物質の成分構成を示したものである。この図によると、培養5日目からはほぼ定状態でスクロースの代謝を行っていることがわかる。前節と同様、エタノール、酢酸は培養の進

行と共に代謝割合が減少し、酢酸の割合が10数%程度になっている。また、乳酸も顕著に増加し、同様に全代謝量の約70%を占めている。ブタンディオールはほとんど代謝生産せず、定状態では酢酸が15%前後を占めることが全節と同じである。このことから、連続培養と回分培養では、代謝反応が異なることが明らかになった。

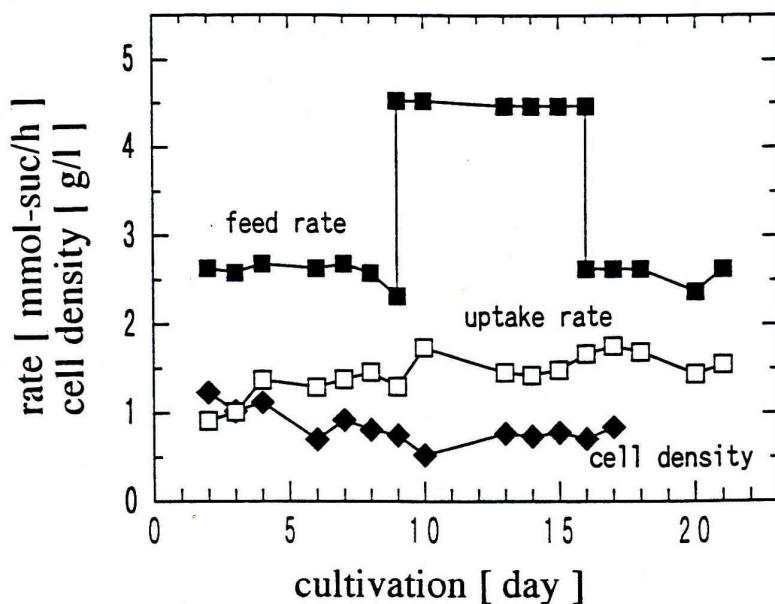


図 4.5-1 フィード流量、糖取り込み速度と廃液中の菌体密度

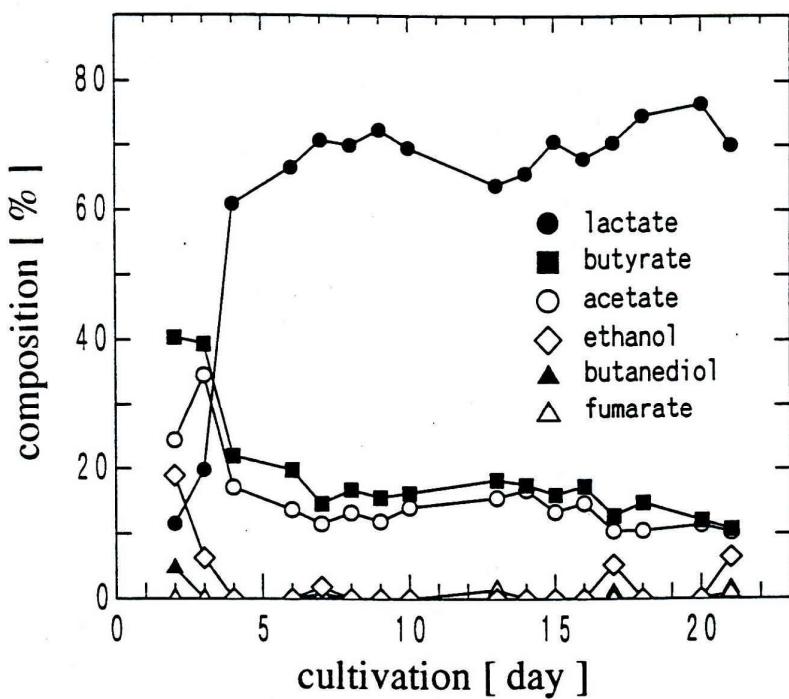


図 4.5-2 発酵廃液中の代謝産物日々組成

図4.5-3は水素発生速度の変化を示したもので、●は実測の発生速度を、○と◇は第7章第2節式(7.2.28)から(7.2.41)で示した総括反応式を使用してそれぞれ代謝産物の日々濃度からNADH収支およびギ酸収支を計算して求めた発生速度を示している。

発生速度は第2日目、3日目は  $3 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  を越えていたが、その後減少して  $2.4 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  ほどになった。しかし、第6日目から9日目までの速度変化を考慮すると、 $2.6 \text{ mmol-sucrose/h}$  のフィード流量の下における平均水素発生速度は約  $2.5 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  であると言える。フィード流量が  $4.2 \text{ mmol-sucrose/h}$  に増加した10日目から16日目まででは、平均水素発生速度は約  $3.3 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  まで増加した。フィード流量が  $2.6 \text{ mmol-sucrose/h}$  に戻った16日目以後は、徐々に水素発生速度が遅くなり、20日目頃には約  $2.5 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  まで減じた。これら  $2.5$  と  $3.3 \text{ mmol-H}_2/\text{h}$  を発酵槽単位体積あたりで表すと、それぞれ  $10$  と  $13 \text{ mmol-H}_2/(l\text{-culture}\cdot h)$  になり、後者の発生速度は回分培養における平均水素発生速度  $11 \text{ mmol-H}_2/(l\text{-culture}\cdot h)$  より速い速度であることがわかる。しかし、ウレタンフォームを混入しなかった前節の発生速度  $20 \text{ mmol-H}_2/(l\text{-culture}\cdot h)$  に比べると、かなり遅くなっている。

これらの水素発生速度における菌体密度を回分培養の単位重量あたり水素発生速度から計算すると、それぞれ  $0.9$ 、 $1.3 \text{ g-dry cell/l}$  になり、いずれの密度も発酵廃液中の浮遊菌体密度より大きい。ウレタンフォームを懸濁すると、発酵槽壁面にウレタンフォームがぶつかって、壁面へのフロックの付着は観測できなかったので、このことから、ウレタンフォームにある程度の菌が付着したと考えられる。

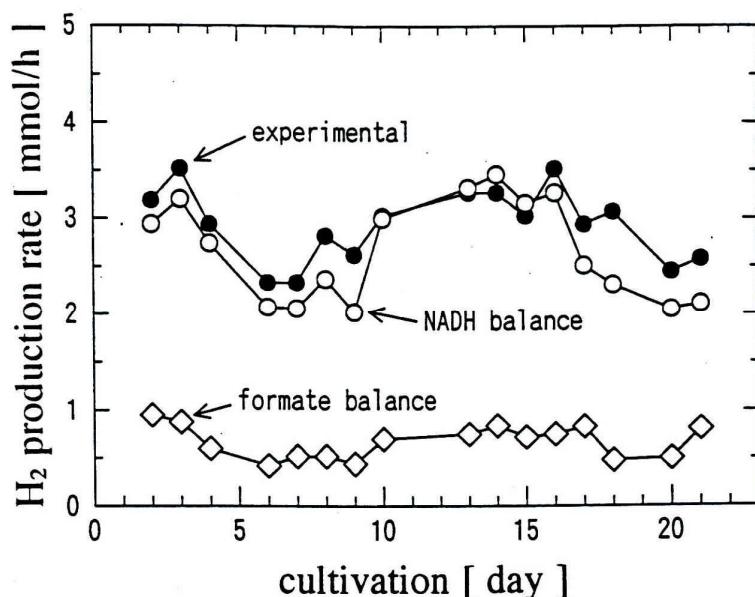


図 4.5-3 実測値およびNADH収支、ギ酸収支から計算した水素発生速度

図4.5-3に見られるように、NADH収支から推算した水素発生速度は実測値に非常によく合つたが、一方、ギ酸収支から推算した発生速度はまったく実測値に合わなかった。回分培養ではそれほど明瞭に水素発生経路の特定をることができなかつたが、連続培養では際だつた違いとして表れており、この図はこのバクテリアがNADH経路で水素を発生していることを明瞭に示している。

図4.5-4はスクロース換算で計算した水素収率の日々変化を示している。●は実測の水素発生量と糖類の濃度測定値とから計算した水素収率で、○はNADH収支から計算した水素発生量と代謝産物量から計算した糖消費量とを使用して計算した収率である。二つのグラフは非常によく一致していることがわかる。始めの2点の実測の水素発生速度から計算した収率は、約  $3.5 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  と非常に高い。しかし、フィード流量が  $2.6 \text{ mmol/h}$  の下では、すぐに、 $1.8 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  前後まで減少した。フィード流量を前節の実験とほぼ同じ流量の  $4.2 \text{ mmol/h}$  に増やすと  $2.3 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  まで増加し、平均収率は約  $2.2 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  になった。この収率は、フィードに含まれる糖類の濃度から計算した期待値  $2.4 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  にほぼ等しく、前節で得た収率  $1.5 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  に比べると非常によい結果である。この結果から、ウレタンフォームと一緒に培養することで、水素収率を改善する効果を得たといえるだろう。

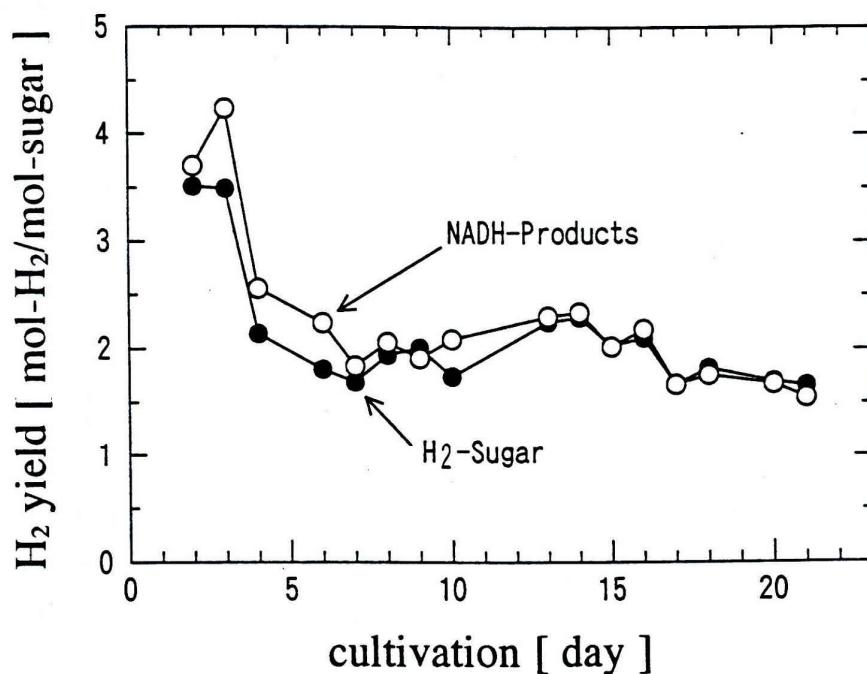


図4.5-4 スクロース換算で計算した糖からの水素収率

水素収率をいかにして高くするかは発酵水素発生で最も重要な問題である。廃糖蜜では、2.4 mol が糖組成から推定した水素収率であるから、実測値の 3.5 mol-H<sub>2</sub> は異常に高い収率と言わざるを得ない。図 4.5-5 は代謝産物成分と水素収率との相関関係を示したもので、●と▲はそれぞれ乳酸と収率、酪酸と収率の関係である。図からも明らかなように、乳酸と酪酸の代謝量と水素収率との相関関係はきわめて高い。とりわけ、乳酸は負に相関しているので、代謝量が多ければ多いほど水素の収率が少なくなる。ちなみに、収率—乳酸、収率—酪酸の相関係数は、それぞれ 0.96 と 0.97 で、収率—酢酸、収率—エタノールの相関係数はそれぞれ 0.93 と 0.70 であった。乳酸、酪酸の総括反応式は(4.5.1)、(4.5.2)式のように表されるので、図に表された結果は、もし、何らかの方法で乳酸の代謝量が 0 % で酪酸の代謝量が 50 % に出来るなら、4 mol-H<sub>2</sub>/mol-sucrose まで収率を高めることが出来ることを示唆するものである。3.5 mol-H<sub>2</sub>/mol-sucrose と異常に高かつたはじめの 2 日間の収率は、おもにそのような代謝状況に依るものに違いない。

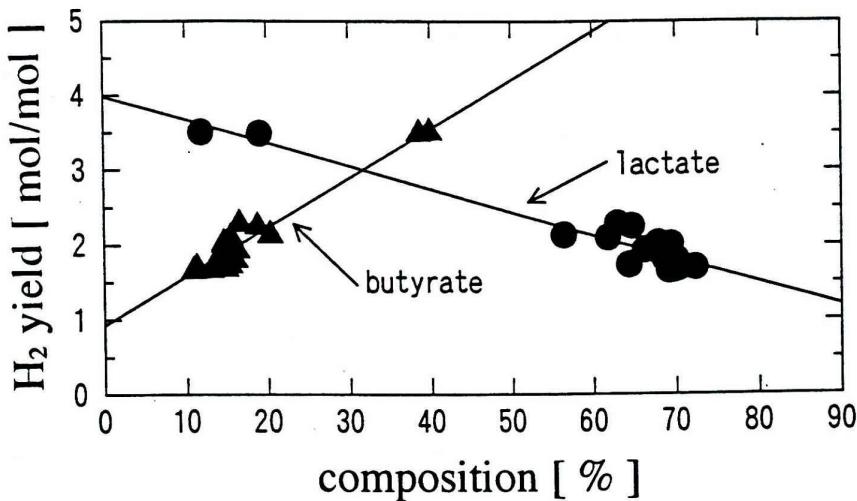


図 4.5-5 水素収率と乳酸、酪酸が代謝産物中に占める割合との相関関係

#### 4.5.3 結論

ウレタンフォームを担体に使用した実験から、いくつかの有用な結果を得た。それらのあるものは前節で得た連続水素発生に特徴的な性質を確証するものであり、あるものは本実験で明らかになったものである。次のものは廃糖蜜を用いた連続水素発生に特徴的な結果である。

1. 培養液に懸濁状態で存在する菌体は、0.9g/l 前後の密度で一定になる。
2. 菌はフロックを形成し、何かの担体に付着する。これが、回分培養より連続培養の方が水素発生速度が速くなる理由である。
3. 代謝産物では、乳酸が最もたくさん生成され、全代謝産物量に対するその割合は約70%にもなる。酪酸、酢酸も生成されるが、その割合はどちらも15%前後である。この結果、この菌が培養状態によって代謝経路を変えることが確認された。
4. 酢酸とエタノールの生成量は、この菌の水素発生経路がギ酸経路であるとするには、あまりにも少ない。

次のことは、ウレタンフォーム片を入れたこの実験によって得られた新しい結果である。

1. 菌は自然にウレタンフォームに付着したが、前節の実験で発酵槽の壁面に付着した菌体量に比べるとその量はかなり少なく、ウレタンフォームを担体として利用するには何らかの前処理が必要である。
2. 水素発生と乳酸の生成の間には強い相関関係があった。したがって、何らかの方法で乳酸の生成をコントロールする事ができれば、スクロースからの水素収率は  $4 \text{ mol-H}_2/\text{mol-sucrose}$  まで増加させることができる。その方法を見つけることは今後の課題である。
3. ウレタンフォームと一緒に培養することで、廃糖蜜の組成から計算した水素収率にはほぼ等しい平均水素収率を得ることができた。
4. この菌の水素発生経路が NADH 経路であることを、代謝産物量と糖消費量から計算した NADH 収支から明瞭に示すことができた。
5. 平均水素発生速度は回分培養よりわずかに速い  $13 \text{ mmol/(l-culture \cdot h)}$  であった。

#### 4.6 結論

*Enterobacter aerogenes* st. E.82005 が利用できる有機物について、かなり広い範囲にわたって明らかにすることができた。実験した7種類のカルボン酸からの水素発生はあまり活発ではなかったが、酢酸を除く他の6種類のカルボン酸は菌体の増殖に有効に利用されていることが明らかになり、産業廃棄物の処理などへの展望が開けた。糖類では、スクロース、モルトースだけでなくグルコン酸やマンニトール、ソルビトールがグルコースより良い基質になることがあきらかになり、基質の利用性が広がった。一方、デンプンやセルロースなどを分解できないことが明らかになったことは、農林産業廃棄物から直接水素発生をおこなう希望を碎くもので、今後、これらを使用した水素発生では、糖化処理などの工夫を加えることが必要になった。

身近かな草木の葉の利用性ではイネ科の植物の多くが良い基質になることが明らかになり、雑草の中でも非常に勢力の強い科の植物が利用できることは雑草を利用した水素発生に希望が開けた。また、一時は活発に水素発生していたヤマイモやオシロイバナの葉が、季節、粉碎方法と思われる理由で水素発生しなくなるのは、収穫管理が必要であることを示唆する興味ある結果であるといえる。

野菜、果物など台所廃棄物が良好な基質になることが明らかになり、さらに、味噌、醤油と言った最も頻繁に使用される食品が、水素基質ばかりでなく良好な窒素源になることが判明した。また、魚の腑が水素収率をも向上する良好な窒素源になることが明らかになった。これらの事実は、団地規模での台所廃棄物の利用という目的に良く合致しており、実用化に向けて非常に明るい展望が開けたと言える。

産業廃棄物、家庭廃棄物などを基質に利用する上では非常に価値のある結果であるといえる。

ところで、イネ科の雑草が良好な基質になることが明らかになったが、第1章1.1節ではイネ科に属するC4植物がバイオマス資源として期待されることを述べた。サトウキビは茎に15%ほどの甘蔗糖（スクロース）を含み、純生産量も大きいので、砂糖の生産だけでなくアルコール発酵によるエネルギー生産植物としても有望視されている<sup>15-19)</sup>。それに比べて、ソルガム（モロコシのこと）の一種のサトウモロコシは、葉と茎に20%の糖分を含んでいる<sup>20)</sup>。また、平均CGR (Crop Growth Rate)はサトウキビよりも大きい。それにもかかわらず、この植物の糖分は結晶性が悪いために、サトウキビが開発されてからは砂糖を探るために栽培することはなくなった。しかし、水素発生に利用するのであれば結晶にしなくともよいから、エネルギー植物として見直す必要があるのではなかろうか（表1.1-1参照）。

廃糖蜜を利用した連続水素発生では菌体がフロック状に集合し、発酵槽内の菌体密度が回分培養より高くなることが明らかになった。菌体密度の上昇によって総代謝量が増加し、発酵槽体積あたりの水素発生速度は  $36 \text{ mmol/(l-culture\cdot h)}$  まで上昇した。しかし、この発生速度は短時間しか維持できず、 $16 \sim 20 \text{ mmol/(l-culture\cdot h)}$  が普通に得られる発生速度であった。発生速度が減少した原因を明らかにすることはできなかったので、今後、速い水素発生速度を継続して得る培養技術の確立が必要となった。ただ、フィード濃度を濃くすれば発生速度もほぼ比例して速くなることがわかり、生産速度の観点から評価すれば、実用化への明るい材料であると言える。

ウレタンフォームを菌の担体に使用することで、菌体密度を高くすることができただけでなく、フィード組成から計算した期待収率をほぼ定常的に得ることができた。ウレタンフォームを使用したことがどのような理由で収率に効果及ぼすのか、その解明は今後の課題である。

発酵廃液中の代謝産物の分析から、連続培養では回分培養とは異なった代謝反応をすることが明らかになり、総括反応式によるフィード代謝物収支から *Enterobacter aerogenes* strain E.82005 は NADH 経路で水素を発生していることを明瞭に示すことができた。第4章で論じた *E. aerogenes* の水素発生の機構は NADH 経路であると仮定して展開したが、本章でこの仮定の正しいことが明らかになった。

水素発生量と代謝産物生成量との相関計算から、乳酸の生成が水素収率を低めていることが明らかになった。鉄イオンの欠乏が乳酸の代謝を促す<sup>21)</sup>という報告もあるので、ウレタンフォームの使用と乳酸生成の抑制で水素収率を高くできる可能性が高まったが、それは今後の課題したい。

廃糖蜜が非常に良好な水素発生基質になることが明らかになったが、廃糖蜜の発生量を世界全体で約600万トンと見積もっても、これをを利用して生産した水素のエネルギーは、石油換算で約32万kℓにしかならない。

$$7.4 \text{ mol-H}_2 \text{ kg-sucrose} \times 68.3 \text{ kcal/mol} \approx 500 \text{ kcal/kg}$$

$$6 \times 10^6 \times 10^3 \text{ kg} \times 500 \text{ kcal/kg} = 3 \times 10^{12} \text{ kcal}$$

$$\text{石油換算量} = 3 \times 10^{12} \text{ kcal} \div 9400 \text{ kcal/l} = 3.2 \times 10^5 \text{ kℓ}$$

砂糖キビの純生産量は約  $67 \text{ t/ha yr}$  (第1章 表 1.1-1)で、その内約 9 トンが蔗糖に、残り 58 トンがバガスとして燃料などに使用されている。したがって、代替エネルギーとして発酵水素を位置付けるためには、廃糖蜜だけではなく、砂糖キビの絞りかすであるバガスを利用するなどを今後考えなければならないであろう。

参考文献

- 1 Morimoto, M. and J. Miyake; Proc. 10th World Hydrogen Energy Con., Florida, 2, 951-957(1994)  
"Development of environmentally friendly technology for the production of hydrogen"
- 2 Kubota, H., and S. Matsuda; エネルギー・資源, 4, 103-110(1983)  
"バイオマスエネルギー利用の条件"
- 3 Matsuda, S., H. Kubota and H. Iwaki; 科学, 52, 735-741(1982)  
"バイオマスエネルギー"
- 4 Matsuda, S. and H. Kubota; 化学経済, 3, 2-14(1982)  
"エネルギー生産農業成立の条件"
- 5 Koyama, M.; 科学朝日, Vol.40, No.1, 55-59(1980)  
"生物が蓄えるバイオマス資源"
- 6 Taguchi, T.; エネルギー・資源, 6, 50-53(1985)  
"生物資源の現状と研究の方向"
- 7 Benson, F.R.; Encyclopedia of Chemical Technology, 2nd Edition, H.F. Mark, J.J. McKetta, D.F. Othmer eds., Vol.1, 569-588(1963)  
"Alcohols, Polyhydric (sugar alcohols)"
- 8 Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons; Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed., Williams and Wilkins, (1974)  
"Bergey's manual of determinative bacteriology."
- 9 Krieg, N.R., and J.G. Holt; Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, (1984)  
"Bergey's manual of systematic bacteriology."
- 10 Thauer, R.K., K. Jungermann and K. Decker; Bacteriol. Rev., 41, 100-180(1977)  
"Energy Conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria"
- 11 Utter, M.F., F. Lipmann and C.H. Werkman; J. Biol. Chem., 158, 521-531(1945)  
"Reversibility of the phosphoroclastic split of pyruvate."
- 12 Sakazaki, K.; 新細胞培地学講座(上・下), 近代出版, (1978)  
"新細胞培地学講座(上・下)"
- 13 Neish, A. C. and G. A. Ledingham; Can. J. Research, Sec. B, 27, 694-704(1949)  
"Production and properties of 2,3-butanediol"
- 14 Wood, W.A.; in The Bacteria, vol.2, (Gunsalus, I.C. and R.Y. Stanier eds), Academic Press, New York, 59-150(1961)  
"Fermentation of carbohydrates and related compounds."
- 15 Yamamoto, T.; 化学工学, 45, 285-291(1981)  
"生物資源と微生物によるアルコールその他燃料化合物の生産およびその展望"
- 16 Nishimura, H.; 化学工学, 45, 291-296(1981)  
"微生物によるエネルギー生産のアセスマント:さとうきびを例として"
- 17 Noda, Y. and y. Shiratsuki; 化学工学, 45, 301-305(1981)  
"アルコール発酵のコストエスティメーション:  
ブラジルのアルコール工場の実例"
- 18 Hanai, S.; エネルギー・資源, 7, 168-177(1986)  
"固定化酵母によるアルコールの連続発酵"
- 19 Saiki, T.; 微生物, 3, 555-563(1987)  
"エタノール発酵の新技術"
- 20 Koyama, T.; 週間朝日百科世界の植物, 98, 2192-2194(1977)  
"モロコシ"
- 21 Pappenheimer,Jr., A.M. and E. Shaskan; J. Biol. Chem., 155, 265-275(1944)  
"Effect of iron on carbohydrate metabolism of Clostridium welchii"

