

# 食品加工廃棄物の処理に関するシステム技術の開発ー微生物を利用したバイオエネルギー生成及び低減化の最適条件の確立ー

北海道立食品加工研究センター

食品開発部水産食品科 能登裕子

食品バイオ部バイオテクノロジー科 中川良二、八十川大輔

応用技術部 長島浩二

## 概要

ホタテ貝加工処理残渣を中心としたタンパク質系食品廃棄物の効率的な低減化とそれを原料とした有用物質生成システムの構築を目指した。本研究では、道内の水田土壌から分離した*Clostridium acidisoli* 2株(分離菌株番号11, 22)を用いて、ホタテ貝のウロを分解し、水素ガスの生成と有機物量の低減化を検討した結果、菌株22を用いたウロ濃度25%での嫌気培養により効率の良い水素生成と有機物量の減少が達成され、水素発酵によるタンパク質系水産廃棄物の環境負荷低減化の可能性が示された。

## 目的

ホタテ貝加工処理残渣を中心とした食品廃棄物の効率的な低減化とそれを原料とした有用物質の生成システムを構築することを目指し、すでに確立されている畜産糞尿を原料としたメタンガス生産システムを応用して、食品加工残渣を原料に微生物によりバイオエネルギー(水素ガス)を生成すると同時にその低減化を図ることを検討した。

## 方法

### 菌の分離

道内3カ所(長沼、幌向、南幌)の水田土壌及び食加研敷地内土壌からグルコース培地\*により30°Cで1週間嫌気培養し菌を分離した。

*グルコース培地組成	
組成	g/100ml
グルコース	2.0
ポリペプトン	2.0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.4
Yeast Extract	0.1
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1
L-システイン 塩酸塩一水和物	0.2

### 菌の同定と水素生成菌の検出

菌の同定: グルコース培地から得られたコロニーの菌種は、16S rDNAの塩基配列に基づいたホモロジー検索によって推定された(Nagashimaら、1999)。

水素生成菌の検出: *C. perfringens*などのヒドロゲナーゼ遺伝子部分塩基配列を参考に設計されたプライマー(F: ATATGACAATAATGGAAGAAG R: TCTGTGTGTATAACTGCATC)と菌同定時のDNAテンプレートを用いてPCRを行った。増幅されたDNAは2.5%アガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、所定のサイズ(329bp)のバンドを検出した。

### 水素濃度の測定

ガスクロマトグラフィを用い、以下の条件で行った。

カラム温度: 150°C、

インジェクション、ディテクター、TCD温度: 210°C

### 有機物の測定

タンパク質量測定: Coomassie試薬を用いて測定した。

グルコース量測定: F-キットを用いて測定した。

TS(全固形分): 試料を105°C、2h蒸発乾燥後の残量(試料湿基準%)

VS(強熱減量): 全固形分を600°C、0.5h強熱時の減量(試料湿基準%)

COD<sub>Cr</sub>: 重クロム酸カリウム法により測定した。

## ホタテウロの処理および発酵

ホタテのウロはホモジナイザーで7,400rpm, 1minミキシング後、生理食塩水で所定倍に希釈し、オートクレーブ処理した。これに菌液を加え30°Cで嫌気培養した。

## 結果

### 分離菌株リスト

分離菌株番号	菌株名	抽出	C-PCR+RBT	抽出地	菌株名	抽出	C-PCR+RBT
1 食加研	<i>Clostridium</i> sp.	39%	x	15 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
2 食加研	<i>Clostridium</i> sp.	39%	x	16 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	97%	x
3 食加研	<i>Clostridium</i> sp.	39%	x	17 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
4 食加研	<i>Clostridium sordium</i>	39%	○	18 南幌	<i>Clostridium</i> sp.	95%	x
5 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	19 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
6 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	20 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
7 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	21 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
8 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	37%	x	22 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	○
9 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	23 長沼	<i>Clostridium beijerinckii</i>	97%	x
10 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	24 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x
11 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	○	25 長沼	<i>Clostridium</i> sp.	92%	x
12 幌向	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	26 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	99%	x
13 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	27 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	○
14 南幌	<i>Clostridium acidisoli</i>	39%	x	28 長沼	<i>Clostridium acidisoli</i>	98%	x

### ウロを培地として使用した時の水素発生量

分離菌株番号	ウロ濃度 (%)	ガス発生量 (L/ウロ湿量%)	水素濃度 (%)	水素量 (L/ウロ湿量%)
11	100	1.90	25	0.48
	50	2.88	23	0.66
	25	7.05	26	1.83
22	100	1.41	23	0.32
	50	2.38	22	0.52
	25	7.10	25	1.78

### 水素発酵前後でのウロの有機物量

分離菌株番号	ウロ濃度 (%)	グルコース量 (g/l)	タンパク質量 (μg/ml)	TS (%)	VS (%)	COD <sub>Cr</sub> (g/l)
コントロール	100	0.41	1331	22.7	21.2	315
11	100	0.016	798	20.5	19.1	311
	50	0.0035	255	11.4	10.3	168
	25	0.0026	152	6.12	5.18	108
22	100	0.035	463	18.4	17.1	294
	50	0.0069	253	10.5	9.44	146
	25	0.016	121	5.89	4.99	81.6

## まとめ

道内水田土壌より分離した*Clostridium acidisoli* 2株(分離菌株番号11, 22)を用いて、ホタテ貝のウロを分解し、水素ガスの生成と有機物量の低減化を検討した。

菌株22を用いたウロ濃度25%での嫌気培養により効率の良い水素生成と有機物量の減少が達成され、水素発酵によるタンパク質系水産廃棄物の環境負荷低減化の可能性が示された。