

研究ノート

トマトの廃材からのエタノール生産

伊藤雅子*1、阿部祥忠*1、森川 豊*1

Ethanol Production from Unused Parts of *Solanum lycopersicum*

Masako ITO*1, Yoshitada ABE*1 and Yutaka MORIKAWA*1

Industrial Research Center*1

バイオマス資源からのエタノール生産技術の開発を目的に、愛知県内で有効利用が期待されているトマトの廃材(葉・茎)を用いたエタノール発酵条件について検討した。五炭糖発酵酵母である *Pichia stipitis* NBRC1687 でトマトの廃材糖化液のエタノール発酵を行ったところ、発酵 12 時間後のエタノール濃度は 1.5mg/ml、エタノール収率 46%となった。一方、トマトの廃材糖化液に糖を添加してエタノール発酵を行うと、エタノール収率が向上することを確認した。バイオマス資源からの高エタノール生産の為には、pH、温度などの条件だけでなく、糖化液のキシロースなどの糖濃度が高いことも条件として重要であることを確認した。

1. はじめに

化石燃料の枯渇などの資源問題や二酸化炭素排出による地球温暖化などの環境問題を背景に、バイオマス資源からのエタノール生産は重要な課題となっている。様々なバイオマス資源の中でセルロース系バイオマス資源は、食糧と競合しないこと、また、燃やしても二酸化炭素総量の増減に影響を与えないカーボンニュートラルな資源と考えられていることから、セルロース系バイオマス資源からのエタノール生産技術開発が必須となっている。愛知県内においても農産廃棄物などのバイオマス資源の有効利用に関心が高く、研究開発する必要がある。

本研究では、愛知県内で発生量が多く未利用資源となっているトマトの廃材(葉・茎)からのエタノール生産技術について検討した。セルロース系バイオマス資源にはキシロースなどの五炭糖も含んでいる為、五炭糖発酵微生物を用いたエタノール発酵条件について検討した。

2. 実験方法

2.1 エタノール発酵微生物

五炭糖発酵微生物として *Pachysolen tannophilus* NBRC1007、*Pichia stipitis* NBRC1687、*Candida shehatae* NBRC1983 を、六炭糖発酵微生物として *Zymomonas mobilis* NBRC13757 及び *Saccharomyces cerevisiae* K701 の計 5 菌株を用いた。これらの微生物の前培養には YM 培地を使用した。

2.2 トマトの廃材糖化液の作製

トマトの廃材の粉砕物を 5g とリン酸ナトリウム緩衝

液 (pH5.0) 95g を混合し、オートクレーブ滅菌を行った。その後、0.45 μ m のフィルタで無菌濾過した混合酵素液(セルラーゼ A「アマノ」3、セルラーゼ T「アマノ」4 及びヘミセルラーゼ「アマノ」90 を等量で混合、すべて天野エンザイム(株)製)を 5ml 添加し、180rpm、50°C で酵素糖化を行い、72 時間後の糖化液をトマトの廃材糖化液とした。糖化後の糖濃度は HPLC で測定した。

2.3 五炭糖発酵酵母によるエタノール発酵

トマトの廃材糖化液に、*Pichia stipitis* NBRC1687 の前培養液を添加し、30°C、180rpm で振盪しエタノール発酵を行った。グルコース及びキシロースをトマトの廃材糖化液と同等の糖濃度となるように添加した YM 培地を対照としてエタノール発酵を行った。所定時間発酵後サンプリングし、糖濃度及びエタノール濃度を HPLC で測定した。エタノール収率は、減少した糖量から想定されるエタノール濃度(理論量)に対する実際のエタノール濃度として計算した。

3. 実験結果及び考察

3.1 五炭糖発酵酵母のエタノール発酵特性の確認

五炭糖発酵酵母のエタノール発酵特性を確認する為、YM培地でエタノール発酵を行った際の、発酵 20 時間後のエタノール濃度を表 1 に示す。五炭糖であるキシロースからのエタノール生産は、*Pichia stipitis* NBRC1687 が 1.16mg/ml と最も高く、3 菌株の五炭糖発酵酵母の中でエタノール生産が最も早いことを確認した。グルコース及びグルコースとキシロースを添加した場合でも、

*1 産業技術センター 環境材料室

Pichia stipitis NBRC1687 のエタノール濃度が高かった。またグルコースからのエタノール生産能の高い酵母として一般的に使用されている *Saccharomyces cerevisiae* K701 と比較して、*Pichia stipitis* NBRC1687 はほぼ同等のエタノール生産能を示した。したがって、本研究で使用する五炭糖発酵酵母として、*Pichia stipitis* NBRC1687 を選択した。

表 1 発酵 20 時間後のエタノール濃度

添加した糖	エタノール濃度 (mg/ml)		
	グルコース (10mg/ml)	キシロース (10mg/ml)	グルコース (10mg/ml) + キシロース (10mg/ml)
<i>Pachysolen tannophilus</i> NBRC1007	2.48	0.05	0.79
<i>Pichia stipitis</i> NBRC1687	2.44	1.16	2.85
<i>Candida shehatae</i> NBRC1983	0.05	0.02	0.02
<i>Zymomonas mobilis</i> NBRC13757	0.21	-	0.05
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K701	2.30	-	2.30

3.2 選定菌を用いたエタノール発酵条件の検討

グルコースとキシロースを 10mg/ml となる様に添加した YM 培地で、発酵温度、pH 及び前培養液の添加量を変化させて、*Pichia stipitis* NBRC1687 の発酵条件について検討した。発酵温度に関しては、菌の至適温度である 30℃より高くすると、菌の生育が認められなかった事を確認した。pH に関しては、pH を 4～9 まで変化させたところ、酸性側でエタノール濃度が高かった (表 2)。前培養液の添加量に関しては、添加量が多いと短い発酵時間でのエタノール濃度は高いが、キシロースの消費が終わるまでの発酵時間では、最終的なエタノール濃度はほぼ変わらないことがわかった (図 1)。以上の結果より、発酵温度 30℃、pH5.0、前培養液の添加量を 0.5% とした。

表 2 pH 変化時のエタノール濃度 (発酵 24 時間後)

pH	4	5	6	7	8	9
エタノール濃度 (mg/ml)	2.89	2.77	2.41	2.39	2.40	1.88

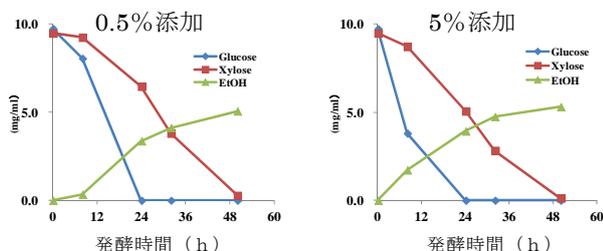


図 1 前培養液添加量変化時の糖及びエタノール濃度

3.3 トマトの廃材糖化液でのエタノール発酵

先に選定した発酵条件で、トマトの廃材糖化液及びト

マト廃材糖化液と同濃度のグルコースとキシロースを添加した YM 培地で、*Pichia stipitis* NBRC1687 でのエタノール発酵を行った。エタノール発酵 12 時間後の濃度と収率を表 3 に示す。

表 3 エタノール発酵 12 時間後の濃度及び収率

	トマトの廃材糖化液	YM 培地
エタノール濃度 (mg/ml)	1.47	1.74
エタノール収率 (%)	46.3	59.3

トマトの廃材糖化液でのエタノール濃度は 1.47mg/ml となり、YM 培地でのエタノール濃度 1.74mg/ml より低かったが、*Pichia stipitis* NBRC1687 はトマトの廃材糖化液中で順調にエタノール生産を行う事を確認した。

次にキシロースを追加添加し、キシロースの濃度を高くしたトマトの茎糖化液で、同様の発酵条件でエタノール発酵を行った結果を表 4 に示す。

表 4 キシロースの追加添加による糖濃度、エタノール濃度及びエタノール収率の変化

	キシロース添加無し		キシロース添加	
	発酵前	発酵後	発酵前	発酵後
グルコース濃度 (mg/ml)	5.5	0.0	4.5	0.0
キシロース濃度 (mg/ml)	1.3	0.0	11.7	0.0
エタノール濃度 (mg/ml)	-	1.47	-	4.79
エタノール収率 (%)	-	46.3	-	59.9

キシロースの添加により、エタノールの収率は 46.3% から 59.9% まで向上した。YM 培地で同様の試験を行った場合も、エタノール収率が向上する結果が得られた。糖化液のキシロースなどの糖濃度が高いとエタノール収率が向上することが新たな知見として得られた。

4. 結び

愛知県内において未利用資源となっているトマトの廃材は、エタノール生産に利用可能なバイオマス資源であることがわかった。また、トマトの廃材糖化液からのエタノール発酵条件を決定することができた。さらに、バイオマス資源からの高エタノール生産の為には、発酵時の pH や温度などの条件だけでなく、糖化液の糖濃度が重要となることがわかった。当センターで保有する特許技術¹⁾を用いて、トマトの廃材糖化液の糖化率向上について検討する予定である。

文献

- 1) 特願 2010-75425 : 高濃度糖化液を取得する方法