

研究ノート

並行複発酵によるトマトの廃材からのエタノール生産

伊藤雅子*¹、森川 豊*¹Ethanol Production from Unused Parts of *Solanum Lycopersicum* with Simultaneous SaccharificationMasako ITO*¹ and Yutaka MORIKAWA*¹Industrial Research Center*¹

エタノール生産工程の短縮化を目的に、並行複発酵について検討した。原料は、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。並行複発酵開始直後は糖濃度が低く、エタノール発酵が進みにくいことが予想されたため、先に糖化を 20 時間程度行ってから酵母を添加する先行糖化後複発酵についても検討した。発酵開始 24 時間以内に、並行複発酵、先行糖化後複発酵でエタノール濃度は、それぞれ 0.75mg/mL、0.77mg/mL となり、並行複発酵で順調なエタノール生産が進むことを確認した。今回の検討では、先行糖化後複発酵で 40 時間以上必要であった糖化及び発酵の工程を、並行複発酵で 24 時間に短縮できた。

1. はじめに

バイオマス資源から製造されるバイオエタノールは、石油代替燃料としての利用が可能である。バイオマス資源は、大気中の二酸化炭素を増加させ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、バイオエタノールの利用は、二酸化炭素の発生抑制による地球温暖化防止などの環境問題に貢献できると考えられる。現在、様々なバイオマス資源の中でも、食糧と競合しないセルロース系のバイオマスからの生産が主流となっており、効率的なエタノール生産技術開発が必須となっている。

バイオエタノール生産においては、生産工程が多いことが、最終製品であるバイオエタノールのコストを上げる要因の一つとなっている。そこで本研究では、糖化とエタノール発酵を同時に行う並行複発酵技術を用い、生産工程の短縮化について検討した。原料として、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）を用い、セルロース資源において、ヘミセルロースの構成成分として多く含まれるキシロースなどの五炭糖も有効利用するため、五炭糖資化性酵母を用いた並行複発酵について検討した。

2. 実験方法

2.1 使用酵素及び使用酵母

糖化酵素は、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(すべて天野エンザイム

㈱製)を等量混合し、緩衝液 1mL に 60mg の割合で溶解後、0.45 μ m のフィルタで無菌濾過したものを使用した。酵母は、昨年度に検討した五炭糖資化性酵母である *Pichia stipitis* を用いた。YM 培地を用いて、30°C で 18 時間以上培養したものを前培養液として使用した。

2.2 発酵方法

並行複発酵は、酵素と酵母を同時に添加し、糖化とエタノール発酵を同時に進める工程であることから、並行複発酵開始直後は糖濃度が低く、エタノール発酵が進みにくいことが予想された。そこで、先に糖化を 20 時間程度行って糖を生産した後に酵母を添加する先行糖化後複発酵についても実施し、比較検討した。

トマトの廃材の粉砕物を 5% (W/V) となる様にリン酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) に混合し、オートクレーブ滅菌を行った。先行糖化後複発酵の場合は、無菌濾過した混合酵素液を添加、50°C で 20 時間糖化した。30°C まで冷却後、酵母の前培養液を添加し、30°C で発酵を行った。並行複発酵の場合は、無菌濾過した混合酵素液及び酵母の前培養液を同時に添加し、30°C で並行複発酵を行った。

糖濃度及びエタノール濃度は HPLC で測定した。

3. 実験結果及び考察

先行糖化後複発酵及び並行複発酵を行った結果を図 1 に示す。

先行糖化後複発酵では、酵素添加 20 時間後に、グルコ

*¹ 産業技術センター 環境材料室

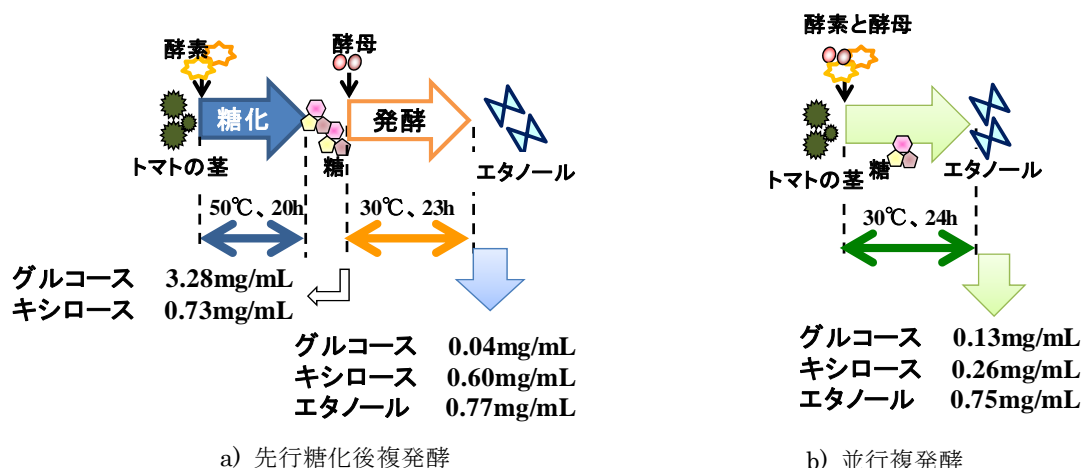


図1 各方式による発酵の結果

ース 3.28mg/mL、キシロース 0.73mg/mL の糖濃度となった。酵母添加 23 時間後に、酵素糖化時間と合わせ計 43 時間後にエタノール濃度は 0.77mg/mL となった。

一方、並行複発酵では、酵母及び酵素添加 24 時間後に、エタノール濃度は 0.75mg/mL となった。並行複発酵では、開始時に酵母が利用する糖が無く、発酵が進みにくいことを予想していたが、糖化工程の 20 時間を必要とせず、先行糖化後複発酵とほぼ同等のエタノールを生産できた。並行複発酵の技術をトマトの廃材からのエタノール生産に適用することで、糖化発酵工程を短縮化できることがわかった。

並行複発酵を行った際の糖の利用状況を確認した。並行複発酵時の糖濃度及びエタノール濃度の経過を図 2 に示す。

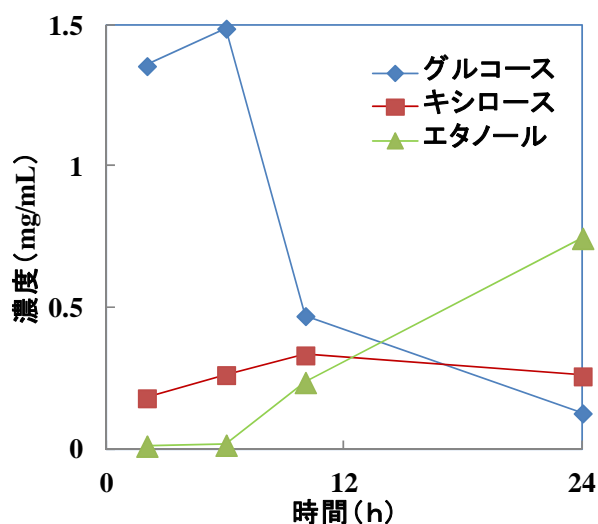


図2 並行複発酵時の糖及びエタノール濃度変化

グルコースの濃度は、並行複発酵開始 6 時間まで上昇し、6~10 時間の間に大幅に減少した。一方、キシロースの濃度は大幅に変化することなく、並行複発酵開始後 10 時間までゆるやかに上昇し、最高 0.33 mg/mL に留まった。その後緩やかに減少した。以上より、グルコースを先に利用した後にキシロースを利用してエタノール生産を行ったと考えられた。

並行複発酵では、糖化とエタノール発酵が同時進行であるため、エタノール濃度の上昇と共に、糖濃度は上昇または同濃度で推移すると予想していたが、糖濃度は減少した。これは、糖化速度が発酵速度より遅く、生成された単糖がすぐにエタノール生産に使われたためと考えられる。糖化速度を上げるため、糖化酵素の至適温度である 50°C 近辺で並行複発酵を行えば、より高濃度にエタノールを生産できる可能性がある。

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から、*Pichia stipitis* を用いた並行複発酵について検討したところ、順調にエタノールを生産し、糖化・発酵工程の短縮化を行う事ができた。来年度は高温耐性酵母を用いた高温域 (50°C 近辺) での並行複発酵や当センターで保有する特許技術¹⁾を用いて、より高濃度にエタノールを生産できる技術開発に取り組む予定である。

文献

1) 特願 2010-75425