

徳島県における廃棄物を利用した バイオエタノールの研究

徳島県立保健製薬環境センター

三好 寛幸・藤井 伸基^{*1}・高島 京子^{*2}

A study of ethanol production process from waste at Tokushima prefecture

Hiroyuki MIYOSHI, Nobuki FUJII and Kyoko TAKASHIMA

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

徳島県の特産物であるスタチを搾った残さ（搾りかす）を用いてのバイオエタノールの製造に向けた研究を行い、市販の酵素を用いることによりグルコースが生成されること、及び固定化酵母を用いることにより糖からエタノールが生成されることを確認できた。

Key words : バイオエタノール bioethanol, 廃棄物 waste

I 緒言

地球温暖化問題は、次世代に豊かな資源と環境に囲まれた地球を残していくため、人類が早急に取り組まなければならない最も重要な環境問題の一つである。

2005年に京都議定書が発効され、我が国においては、二酸化炭素等の温室効果ガスの排出量を基準年に比べ6%の削減を2012年までに達成する義務が課されている。こうした中、二酸化炭素の排出を削減するための代替燃料として、カーボンニュートラルであるバイオエタノールに注目が集まっている¹⁾。

既に海外では、ガソリンにバイオエタノールを混合した燃料が普及している国もあり、バイオエタノール100%の燃料も使用されている国もある²⁾。

バイオエタノールの製造方法は、酵母を用いて糖質を発酵させることが基本的である。サトウキビや廃糖蜜を原料とする場合には、すでに原料中に糖質が存在しているため、そのまま発酵させることが可能である。しかし、トウモロコシや小麦などのデンプン質または稲わらや木材などのセルロース

系を原料とした場合には、それぞれ原料に含まれるデンプン質やセルロースなどを糖に変換する工程が、発酵の前段階に必要となる。

サトウキビやトウモロコシなどは、食料として利用されており、近年のバイオ燃料との競合の影響で、食料価格が高騰している。一方、セルロース系原料に含まれるセルロースは、植物細胞の細胞壁や繊維の主成分で、天然の植物質の約3分の1を占めており、地球上で最も多く存在する炭水化物である。そのため、食料との競合がなく、バイオエタノールの原料として適しているが、効率的な製造方法について課題がある。また、セルロース系原料の特徴として、その存在が薄く広い範囲に広がるため、広範囲な収集にはコストが必要となる。そこで、バイオエタノールは地域単位での原料の収集及び製造並びにその消費、いわゆる地産地消型のエネルギーであることが望ましい。

徳島県では、スタチの収穫量が5,960トン（平成21年）と全国一位で、2,468トンが加工用として利用されている³⁾。加工は主に搾汁であり、それに伴い搾りかすが発生する。スタチの搾りかすは堆肥化や肥料など有効活用されているが、産業廃棄物として処分されている量も少なくない。そこで、ス

^{*1}現 東部保健福祉局

^{*2}現 南部総合県民局

ダチの搾りかすからバイオエタノールが製造できれば、廃棄物の有効利用による循環型社会形成への貢献、地域の活力向上、地球温暖化防止の一石三鳥の効果が期待できる。本研究は、スタチの搾りかすを原料としたバイオエタノールの検討をしたので、その内容について報告する。

II 実験方法

1 固定化酵母の作成⁴⁾

1.5%アルギン酸ナトリウム水溶液200mLを、市販のドライイースト14gの水200mL懸濁液に混合させた。さらに3%塩化カルシウム水溶液を滴下及び攪拌させて、得られたものをろ過し、水洗することにより、直径3～4mmの黄白色球状体の固定化酵母を作成した。

2 固定化酵母を用いた発酵

基質を含む水溶液100mLに対して、作成した固定化酵母を加え、30℃に設定した恒温振とう機にて1時間反応させた(振とう回数は80rpm)。反応後のエタノールの存在は、気相を検知管式気体測定器(株式会社ガステック社製GV-100S)を用いて確認した。

3 デンプン質系原料の発酵

基質を含む水溶液に対し、 α -アミラーゼ(和光純薬工業株式会社製、化学用)を添加し、35℃にて1昼夜静置した。続いて、作成した固定化酵母に加え、同様に発酵を行った。

4 ろ紙の糖化

2～3mmに裁断したろ紙(アドバンテック東洋株式会社製定量ろ紙5種A)1gを含む水100mL中に酵素(ヤクルト薬品工業株式会社製セルラーゼ“オノズカ”3Sまたは同社製セルラーゼY-NC)を添加して反応させた。なお、反応液中の糖度は、屈折式糖度計(株式会社アタゴ社製自動温度補正手持屈折計MASTER-A20T)を用いて測定した。

5 スタチの搾りかすの糖化

スタチの搾りかすを、フードプロセッサーにて粉碎して、試料として用いた(含水率は約80%)。

粉碎したスタチの搾りかすに、乾燥重量の1%に相当する酵素を添加して、40℃の恒温庫内にて攪拌を行った。反応液中のグルコース濃度は、和光純薬工業株式会社製グルコースCII-テストワコー及び分光光度計(株式会社日立ハイテクノロジー社製U-3010)を用いて測定した。

III 結果と考察

1 固定化酵母による発酵

酵母を用いて糖質原料からエタノールに発酵させる手法は、古来から知られている。同様にバイオエタノールを製造する際にも酵母を用いるが、製造コスト削減を考慮すると、使用する酵母を固定化して再利用することが望ましい。そこ

で、既報⁴⁾に従い固定化酵母を作成した。

糖質原料として10%ブドウ糖溶液を、作成した固定化酵母に加え室温で約20分間反応させた。その結果、微気泡が発生し、沈降していた固定化酵母の球体が浮上する現象が観察された。また、気相を検知管式気体測定器にて測定したところ、エタノールの存在を確認できた。これらのことから、作成した固定化酵母によるブドウ糖からエタノールへの発酵は可能であることを確認できた。

続いてブドウ糖以外の各種の糖について同様に発酵を行った(表1)。検知管式気体測定器により、単糖類であるグルコース及びスクロースからはエタノールの生成を確認できたが、多糖類であるデキストリン及び溶性でんぷんからはエタノールの生成を確認できなかった(図1)。

表1 試験に用いた糖類

糖 類	構 造 式	濃 度		
		5%	2%	1%
グルコース (ぶどう糖)	$C_6H_{12}O_6$	5%	2%	1%
スクロース (サッカロース)	$C_{12}H_{22}O_{11}$	5%	—	—
デキストリン	$(C_6H_{10}O_5)_n \cdot \chi H_2O$	5%	—	—
溶性でんぷん	—	5%	—	—

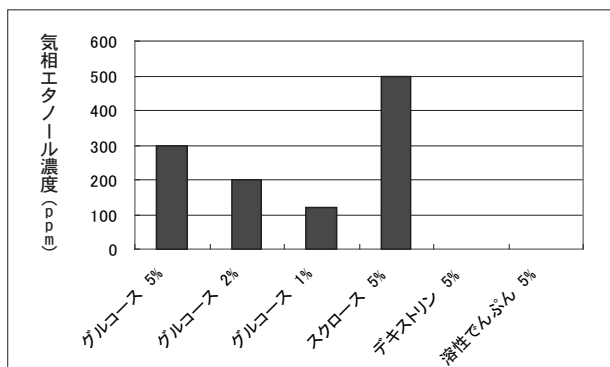


図1 発酵後の気相エタノール濃度

多糖類であるデキストリンやでんぷんでは、固定化酵母によるエタノール発酵ができなかったことから、多糖類を単糖類にする必要があると考えられる。そこで、でんぷんに α -アミラーゼを作用させ、単糖類にしてから、固定化酵母を反応させた。その結果、 α -アミラーゼの添加量の多寡に関わらず、エタノールの生成を確認できた。

上記の結果をもとに、実試料としてうどんやそばのゆで汁に対して α -アミラーゼによる処理及び固定化酵母によるエタノール発酵を行った。その結果、 α -アミラーゼ処理を行ったものにおいて、エタノールの生成を確認できた。一方、 α -アミラーゼによる処理をしなかったものについては、エタノールの生成を確認できなかった。

2 糖化の検討

セルロース系原料の前処理として、表2にあげられるような方法があり、現在においても硫酸による分解が主に行われ

表2 セルロースの糖化法

セルロースの糖化法	概要	利点	問題点
硫酸処理法	濃硫酸（または希硫酸）を添加して加熱し、分解する	既に確立している技術	有害な薬品の使用 生成した糖類が過分解する 中和に伴い石膏などの廃棄物が発生
酵素処理法	酵素を添加して分解する	反応条件が緩和 生成した糖類の過分解がない	酵素は比較的高価 固定化等の再利用化を考慮
加圧熱水処理法	高温・高圧の水と接触させ分解する	薬品を必要とせず水のみで分解できる	特殊な装置が必要

表3 セルラーゼの違いによる糖度変化の違い

セルロースろ紙 細切→30分攪拌 1% (1g/100mL)		セルラーゼオノヅカ 3S			セルラーゼ Y-NC			セルラーゼ オノヅカ 3S+Y-NC (各々設定gずつ添加)		
糖度計による糖度		添加前	添加後	6時間後	添加前	添加後	6時間後	添加前	添加後	添加後
55℃ pH4	2g	0	1.8	2.2	0	1.8	2.1	0	3.5	4.5
	5g	0	4.5	5.2	0	3.9	5.4	0	8.5	10.4

ている。しかし、硫酸による分解方法は生成した糖の過分解などの問題点があるため、比較的穏和な条件である酵素法による検討を行った。

セルロースとして実験用紙を用いて、糖化の予備検討を行った。その結果、室温では糖度の上昇は確認できなかったが、セルラーゼの至適条件（55℃、pH4）で2種類のセルラーゼを併用することにより糖度が上昇することを確認できた。また、添加したセルラーゼの量が多いほど糖度も高くなることが確認できた（表3）。これは、それぞれのセルラーゼにおいてセルロースの分解作用に違いがあるため、相乗効果があったものと考えられる。

予備検討の結果をもとに、実試料としてスダチの搾りかすを用いて糖化の検討を行った。冷凍させたスダチの搾りかす10g（含水率82%）を水100mL中に懸濁させて、2種類のセルラーゼを添加して40℃の恒温庫内で1週間反応させた。その結果、0.20gのグルコースの生成を確認することができた。比較のために、同じく冷凍させたスダチの搾りかすに対して、硫酸を添加して、セルラーゼなしの同じ条件で2日間反応させた結果、グルコースの生成を確認できなかった（図2）。これは、硫酸によるグルコースの過分解が起きたものと推測された。

一般的に、果実にはペクチンという非水溶性高分子が存在

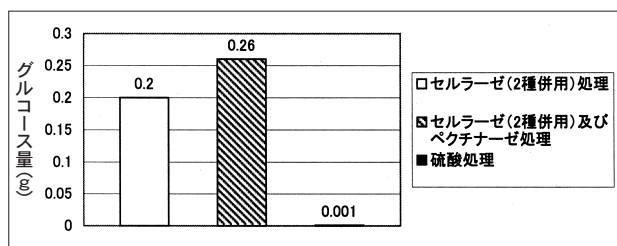


図2 スダチの糖化の結果

しており、特にスダチのような未熟果実には、ペクチンが長く結合したプロトペクチンが存在している。プロトペクチンは水に不溶であり、細胞壁にセルロースを包む層として存在しており、その存在が糖化の効率を妨げていることが考えられた。そこで、糖化の妨げとなっているペクチンを分解する酵素も添加することで、糖化の効率を上昇させることができるのではないかと仮説を立てた。その結果、2種類のセルラーゼとペクチナーゼ（ヤクルト薬品工業株式会社製ペクチナーゼSS）を併用した結果、0.26gのグルコースの生成を確認した（図2）。

本検討の結果をもとに、スダチの搾りかす1kg（含水率77%）を原料として、スケールアップ試験を行った。その結果、22gのグルコースの生成が確認できた。これは、スダチの搾りかす乾燥重量1kgあたり94gのグルコースが生成することに相当する。

3 試算

スケールアップ試験の結果より、スダチの搾りかす1kgから22gのグルコースの生成が得られることが確認できた。この22gのグルコースから、100%エタノール発酵が進行すると仮定したら、エタノールが11g（8.8mL）が得られることが予想できる。

年間600トンのスダチの搾りかすを原料とした場合、上記の結果から算出すると、エタノールが5.4kL製造できると予想できる。ガソリンの排出係数のみから単純に計算すると、年間12.5tの二酸化炭素の削減効果があるとみられる。

一方、今回の検討において、市販の酵素類（セルラーゼ及びペクチナーゼ）を利用したことにより製造コストの大幅な上昇は免れない。商業ベースとするためには、より安価で効率の良い酵素類の探索または開発が鍵となるだろう。

IV 課題

本検討においては、市販の酵素を用いており、製造コストの上昇は避けられない。製造コストの低下のためには、安価で効率的な糖化を進行させる高活性な酵素の探索または開発が必要になる。

また、本検討においては、糖化の前処理は行わなかったが、原料の微粉碎などの前処理が糖化の効率に影響するものと考えられる。植物体の組織には、セルロース及びヘミセルロース並びにリグニンが存在しており、本検討において着目したセルロースはヘミセルロースやリグニンに包み込まれるような形で存在している。セルロースからの効率的な糖化のためには、セルロースと酵素の反応機会を増加させる必要がある。そのため、適切な前処理によりヘミセルロースやリグニンなどを除去する必要があると考える。

その他、植物中のヘミセルロースはキシロースなどのC5糖分子で構成されており、糖からエタノールへの変換は可能である。しかし、通常の酵母では、このヘミセルロース由来のC5糖をエタノールへ発酵させることが困難であるため、この成分を有効に活用できれば、さらなる収量の増加（製造コストの低下）にもつながることが期待できる。

V まとめ

徳島県の特産物であるスタチの搾りかすを用いたエタノール製造に向け、以下のことが明らかになった。

- ① 固定化酵母を用いることで糖類のエタノール発酵が可能である事を確認できた。
- ② でんぷん質をアミラーゼによって分解後、固定化酵母によるエタノール発酵の進行が確認できた。
- ③ すだちの搾りかすを原料として、酵素を用いた糖化を行ったところ、グルコースの生成が確認できた。
- ④ スタチの搾りかすからのグルコース生成量は極微量であり、実用化のためには安価で高効率な酵素などの探索または開発が必要である。

参考文献

- 1) よくわかる最新バイオ燃料の基本と仕組み 井熊 均
バイオエネルギーチーム著 秀和システム刊
- 2) 調査と情報 No.553
- 3) 農林水産省 平成21年産特産果樹生産動態調査
- 4) 酵母によるアルコール発酵作用に関する学生実験の改良 加藤徳雄, 斎藤正明 愛媛県立医療技術大学紀要第4巻
第1号 P29-33 2007