

## 糖化工程を省略したエタノール発酵の効率化に関する検討

新潟県立上越総合技術高等学校 正会員 ○大森 将希  
 日本大学 正会員 高橋 岩仁  
 環境文明 21 正会員 木科 大介  
 日本大学 学生会員 大貫 翔馬

表1 生ごみ液体培地

NG液体培地(g/L)	
グルコース	24.9
ペプトン	10.7
脂肪酸グリセリンエステル	3.16

表2 イーストアンドモールド液体培地

YM液体培地(g/L)	
グルコース	10
ペプトン	5
Yeast extract	3
Malt extract	3

## 1. 目的

エタノール発酵は、古くから醸造発酵産業の中で利用されてきたが、化石燃料の大量消費が主要因とされる地球温暖化や、生活レベルの向上に伴う廃棄物処理問題などの環境問題を受け、近年ではバイオエタノールの生成に利用されてきている。しかし、穀物などの食糧を原料とするためフードクライシスなどの問題が提起されており、食糧と競合しない原料を用いてエタノール発酵を行う必要がある。したがって、廃棄物を利用したバイオエネルギー化は環境負荷軽減策および資源循環型社会に即した新エネルギーとして期待されている。なお、エタノール発酵は一般的に糖化工程と発酵工程の二工程から構成されているため、効率化およびコストにおける課題が挙げられている。また、代謝物の量は菌体の増減によって左右される。このため、菌体の増殖が多ければ代謝物も多くなり、増殖が少なれば代謝物も少なくなるといえる。

そこで本研究は、廃棄物からの効率的なエタノール化およびコスト低減化の可能性を見出すため、試験管実験により糖化工程を省略した酵母の増殖特性について検討を行った。なお、対象試料は生ごみとし、酵母には一般酵母の *Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0216 (以下 *S.cerevisiae*) を使用した。

## 2. 実験概要

## 2. 1 培地の作製

表1に生ごみ液体培地(以後、NG液体培地)の組成、表2にイーストアンドモールド液体培地(以後、YM液体培地)の組成を示す。NG液体培地は生ごみの組成を基にした培地であり、YM液体培地は酵母を培養する一般的な培地である。この各液体培地を15mLの試験管に作製し、オートクレーブ(高圧蒸気

滅菌器)により滅菌を行った。なお、YM液体培地はNG液体培地の対照検体として用いた。

## 2. 2 酵母の増殖特性

NG液体培地およびYM液体培地に *S.cerevisiae* を植え継ぎ、増殖におけるバッチ実験を行った。発酵温度は *S.cerevisiae* の増殖最適温度である 30°Cとし、6時間ピッチでサンプリングを行った。測定項目は、増殖量とpHとした。また、バッチ実験後にエタノール濃度および有機酸濃度を測定した。なお、増殖量は分光光度計を用い、波長600nmで測定を行った。

## 3. 実験結果および検討

図1に *S.cerevisiae* の増殖曲線を示す。結果より、両培地とも同様な傾向を示し、増殖量は24時間まで増加がみられた。その後は増加が見られず、最終的にNG液体培地は約1.2Abs、YM液体培地は約1.4Absとなり、NG液体培地は0.2Abs劣る結果となった。しかし、NG液体培地でもYM液体培地に近い増殖能力がみられたことから、生ごみ中においても *S.cerevisiae* の増殖能力はあるといえる。

図2にpHの経時変化を示す。結果より、両培地とも同様な傾向を示し、24時間以降まで急激な低下がみられた。その後は緩やかに低下し、最終的にpH値はNG液体培地4.8、YM液体培地4.9となった。また、図1は24時間で変曲点を向えていることから、pH5.0

キーワード 酵母, 試験管, 増殖量, 生ごみ, エタノール, 有機酸

連絡先 〒943-8503 新潟県上越市本城町3丁目1番 新潟県立上越総合技術高等学校 環境土木科 TEL 025-525-1160

前後で *S.cerevisiae* の増殖がみられなくなるといえる。

図 3 に実験後のエタノール濃度および有機酸濃度を示す。結果より、エタノール濃度は NG 液体培地 8.5g/L，YM 液体培地 6.7g/L であり、NG 液体培地は YM 液体培地の約 1.3 倍となった。これは、グルコース量が、YM 液体培地に比べ NG 液体培地が多いことに起因していると考えられる。一方、有機酸濃度は NG 液体培地 38.3g/L，YM 液体培地 7.4g/L であり、NG 液体培地は YM 液体培地の約 5.2 倍となった。さらに、エタノール濃度と有機酸濃度の比では NG 液体培地 1:4.5，YM 液体培地 1:1.1 となった。この理由として、NG 液体培地ではグルコースの他にタンパク質や脂質を多く含むため、YM 液体培地より有機酸濃度および比率が高くなったと考えられる。なお、有機酸は酵母にストレスを与え、増殖の阻害および酵母の破壊をする働きがある。このため、図 1 で示した通り、NG 液体培地の増殖量が YM 液体培地に比べ劣ったと考えられる。また、YM 液体培地に比べ NG 液体培地のエタノール濃度が高かったことから、エタノール生成による酵母の増殖よりも有機酸による破壊が多かったため、増殖量が少なくなったと考えられる。したがって、エタノール生成量をさらに増加させるためには、pH 調整などの対策が必要であるといえる。

図 4 に有機酸濃度の割合を示す。これより、NG 液体培地の有機酸割合は、乳酸が 29% 占めており、次いで、クエン酸、リンゴ酸、酢酸などが生成されていた。それに対し YM 液体培地での有機酸割合は主に乳酸が生成されており 50% を占めていた。次いでリンゴ酸、クエン酸、酢酸であった。これらの要因として、NG 液体培地ではタンパク質や脂質が多く含まれていたため、その他の有機酸が多く生成されたと考えられる。YM 液体培地では、解糖系より、ピルビン酸がエタノールとは別に乳酸を生成するため、乳酸の割合が多くなったといえる。このため、NG 液体培地は多種の有機酸を生成することから、メタン発酵などに利用することによって、さらなるエネルギー回収が可能であるといえる。

4. まとめ

本研究は、試験管実験により糖化工程を省略した酵母の増殖特性について検討を行い、以下の知見が得られた。

1) NG 液体培地でも YM 液体培地に近い増殖能力が

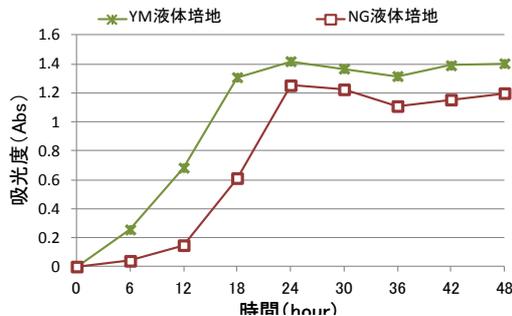


図 1 S. cerevisiae の増殖曲線

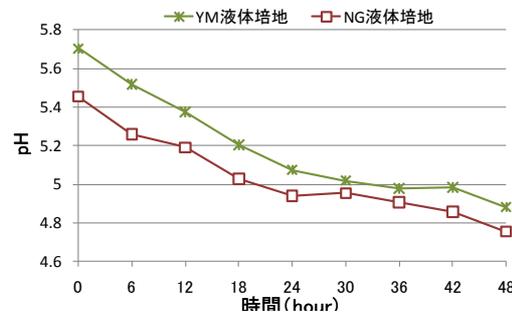


図 2 pH の経時変化

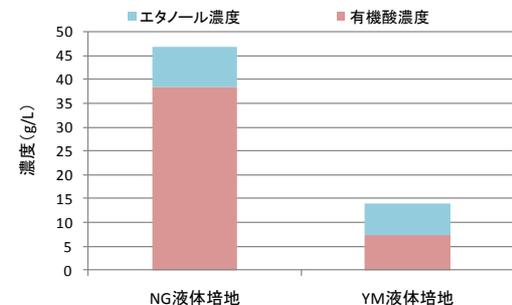


図 3 実験後のエタノール濃度および有機酸濃度

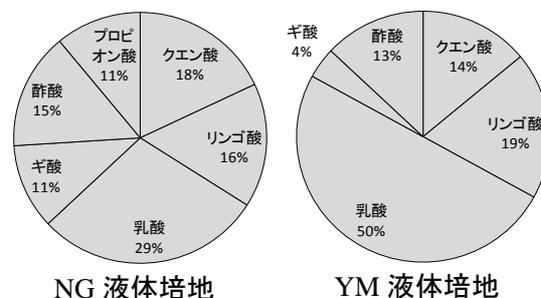


図 4 有機酸濃度の割合

みられたことから、生ごみ中においても *S.cerevisiae* の増殖能力はあるといえる。

- 2) pH5.0 前後で *S.cerevisiae* の増殖がなくなった。
- 3) NG 液体培地は、グルコースの他にタンパク質や脂質を多く含むため有機酸濃度が高くなり、多種の有機酸が多く生成された。
- 4) NG 液体培地はエタノール濃度が YM 液体培地の 1.3 倍となったが、有機酸の影響で増殖量が劣った。このため、pH 調整などの対策が必要であるといえる。以上のことから、廃棄物からの効率的なエタノール化およびコスト低減化の可能性と課題を得られた。