ISSN 2186-5647

3-32

酵母導入変化によるエタノール発酵特性

日大生産工（院）　○大森　将希　日大生産工　大木　宜章
環境文明 21　木科　大介　道都大・美術　大沢　吉範

１．序文

長年にわたる化石燃料の大量使用により地球温暖化や化石燃料の枯渇化、また生活レベルの向上に伴う廃棄物量の増加といった環境問題が深刻化している。このため、廃棄物を利用したバイオエネルギー化が環境負荷軽減策および資源循環型社会に則した新エネルギーとして期待されている。その方法の一つとして、エタノール発酵が挙げられる。

エタノール発酵は、古くから酒類などの醸造発酵産業の中で利用されてきた。近年では、切迫する環境問題を受け、バイオエタノールの生成に利用されてきている。しかし、サトウキビやトウモロコシなどの食糧を原料とするためフードクライシスの問題がある。このため、食糧と競合しない原料を用いて行う必要がある。このエタノール発酵は、一般的に *Saccharomyces cerevisiae*（以下 *S.cerevisiae* とする）と呼ばれる酵母を用いて、単糖類を基質として発酵することが知られている。

そこで、本研究は *S.cerevisiae*（NBRC 0216）の導入量を変化させ、糖化工程を省略したエタノール発酵を行い、その効率について検討するものである。特に、今回は一般家庭から廃棄される生ごみを想定した模擬生ごみを試料とし、これに大量培養した *S.cerevisiae* を接種した。これにより、模擬生ごみに生息する細菌類と *S.cerevisiae* の複合微生物系が形成され、エタノールへの分解および代謝が考えられることから、バッチ式実験により模擬生ごみからのエタノール発酵特性について検討を行った。

２．実験概要

２．１ *S.cerevisiae* の大量培養

大量培養に使用した培地は酵母一般用のイーストアンドモールド液体培地（以後は YM 液体培地と記す）を使用した。YM 液体培地の組成を表 1 に示す。YM 液体培地は、100mL ・300mL・500mL・700mL の容量で作製した。まず、メディウムビンに YM 液体培地を作製し、*S.cerevisiae* の植え継ぎを行った。その後 30℃の培養庫で 3 日間静置し、培養した。培養した *S.cerevisiae* は遠心分離機により固液分離させ集菌し用いた。

表１　YM 液体培地の組成

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

２．２ 試料条件

表 2 に模擬生ごみの性状を示す。模擬生ごみは、粉砕機でスラリー状にしたキャベツにでん粉 6.45g/L、セルロースパウダー 0.85g/L、ポリペプトン 12.7g/L および脂肪酸グリセリンエステル 6.9g/L の有機試薬を混合させ試料とした。

Ethanol Fermentation Characteristics due to the Introduction Change of Yeast.
Shouki OHMORI、 Takaaki OHKI、 Daisuke KISHINA and Yosihnori OhSAWA

２．３ エタノール発酵におけるバッチ実験

図 1 に実験装置図を示す。培養槽は有効容量を 700mL とし、CO_2 等のガス排出および試料との接触度合の増加を図るため、槽の中心に合門型の羽根を中心シャフトに取り付け、上部モーターにより攪拌した。さらに、装置下部から加温し、温度調節をした。

表 3 に実験条件を示す。実験は、模擬生ごみ 700mL に集菌した *S.cerevisiae* を導入した。YM 液体培地の容量別で CASE1～4 とし、また模擬生ごみのみで稼働したものを対照検体とした。発酵温度は *S.cerevisiae* の増殖最適温度である 30℃とし、6 時間ピッチでサンプリングを行った。測定項目は、エタノール濃度および有機酸濃度、ガス発生量、 pH とした。濃度の測定には高速液体クロマトグラフィーを使用した。

２．４ 固形分減少率

固形分の減少は、ガス発生量に関係するとともに廃棄物処理の目的の 1 つとして重要である。そのため、最終処分量の減少を測定する目的として、バッチ実験後に対照検体と各 CASE の試料を採取し、固形分減少率を求めた。

３．結果

３．１ エタノール発酵におけるバッチ実験の結果

図 2 にバッチ実験におけるエタノール濃度の経時変化を示す。これより、エタノール濃度は対照検体・CASE1・CASE2 ではわずかな増加にとどまり 30 時間後には濃度変化がみられなくなった。42 時間後のエタノール濃度は対照検体が約 11g/L、CASE1 が約 14g/L、CASE2 が約 20g/L と

表 2　模擬生ごみの性状

項目	測定値
間隙率（%）	8.76
水分量 （g/L）	914.89
T-SS （g/L）	85.11
T-VS （g/L）	75.45
灰分 （g/L）	9.66
pH	6.17
糖類 （g/L）	55.40
セルロース （g/L）	6.90
タンパク質 （g/L）	26.70
脂質 （g/L）	7.90

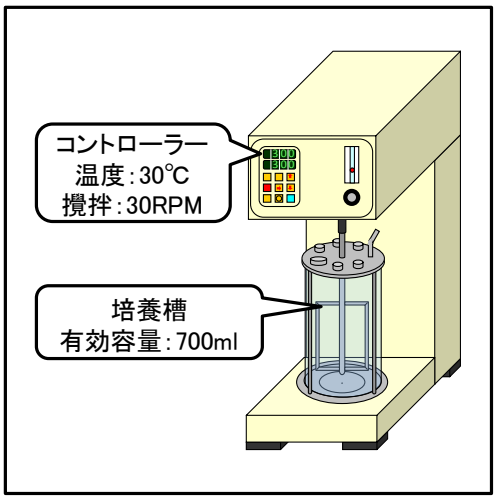

図 1　実験装置図

表 3　実験条件

	対照検体	CASE1	CASE2	CASE3	CASE4
YM液体培地容量 （mL）	–	100	300	500	700
集菌酵母量 （g）	–	0.57	1.45	2.42	3.25
酵母導入比 (g-酵母/kg-模擬生ごみ)	–	0.81	2.07	3.45	4.64
模擬生ごみ （mL）	700				
温度 （℃）	30				
撹拌 （rpm）	30				

なった。一方、CASE3・CASE4 のエタノール濃度は、18 時間後まで急激な増加がみられた。その後は緩やかに増加し、最終的に双方ともに濃度は約 22g/L となった。以上の結果より、CASE3 は CASE4 と同様なエタノール生成効果を示したことから、酵母導入比が 3.45g-酵母/kg-模擬生ごみ以上であればエタノール生成効が著しく行われるといえる。

図 3 にバッチ実験における有機酸濃度の経時変化を示す。結果より、対照検体の有機酸濃度は 12 時間まで急激な増加がみられた。その後は緩やかに増加し、42 時間後には約 31g/L となった。一方、各 CASE の有機酸濃度は緩やかに増加し 42 時間後には全ての CASE で約 20g/L となり、この有機酸量は対照検体の約 0.65 倍であった。これは、*S.cerevisiae* の導入により複合微生物系が形成し、エタノールが優先的に生成されたため、有機酸の生成量が対照検体に比べて少なくなったといえる。

図 4 にバッチ実験におけるガス発生量の経時変化を示す。この結果より、対照検体は、わずかなガス発生しか見られず、最終的に 0.18L であった。一方、各 CASE のガス発生量は、図 2 のエタノール濃度と同様な増加傾向が見られ、初期に急激なガスが発生し、その後のガス発生は見られなくなった。最終的にガス発生量は CASE1 では 2.0L、CASE2 では 4.6L、CASE3 では 4.0L、CASE4 では 4.3L となった。しかし、模擬生ごみに多量の気泡が溶液中に存在する状態が見られた。さらに、気泡が溶解しているともいえる。したがって、これらの気泡が全て排出されるならば、ガス発生量はさらに増加すると考えられる。なお、エタノ

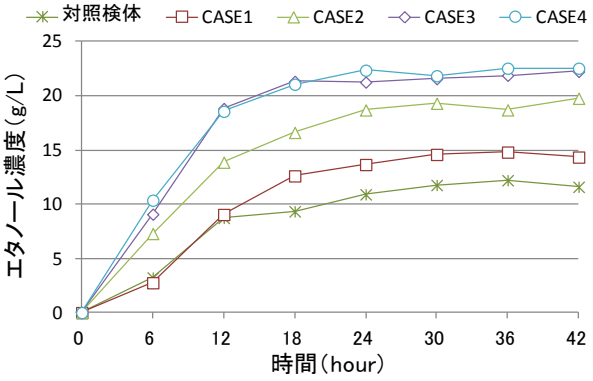

図 2　バッチ実験におけるエタノール濃度の経時変化

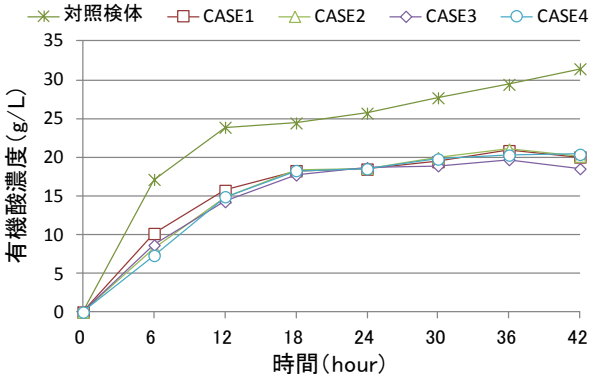

図 3　バッチ実験における有機酸濃度の経時変化

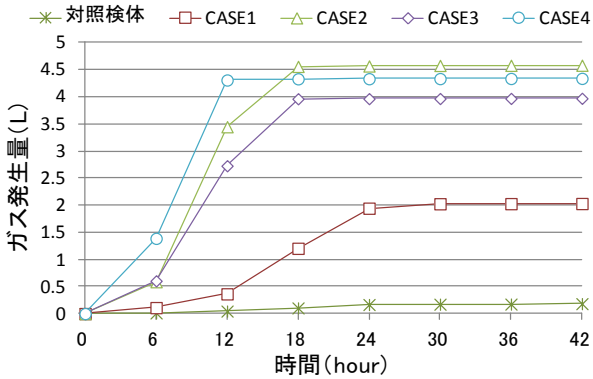

図 4　バッチ実験におけるガス発生量の経時変化

ール発酵時のガス成分は、各 CASE とも CO_2 濃度が 90%であった。その他は水素（H_2）やメタン（CH_4）、窒素（N_2）および硫化水素（H_2S）などである。

図 5 にバッチ実験における pH の経時変化を示す。対照検体および各 CASE とも、18 時間後まで急激に pH が下がったが、その後は変化がみられなかった。48 時間後には対照検体および各 CASE とも 4.1 であった。これらの pH の変化は、有機酸の生成による影響が大きいといえる。すなわち、pH 値の低下は有機酸濃度が増加していることを意味する。したがって、エタノール発酵は酸が発酵阻害物質であるため、18 時間以降、不適切な環境下となり、エタノール濃度の増加が緩慢になったと考えることができる。

表 4 に各試料の水分量・T-SS・T-VS・灰分および固形分減少率を示す。結果より、実験後の対照検体および各 CASE の T-SS が実験前の模擬生ごみの T-SS と比べて減少している。さらに、固形分減少率は対照検体に比べ、各 CASE とも高かった。このことから、*S.cerevisiae* の導入は固形分の減量にも効果があるといえる。

4．まとめ

本研究は *S.cerevisiae* の導入量を変化させ、模擬生ごみに生息する細菌類と *S.cerevisiae* の複合微生物系によるエタノール発酵特性について検討した。この検討結果より以下の知見が得られた。

1）CASE3・CASE4 は、エタノール濃度が最も高かく、同様なエタノール生成効果を示した。したがって、酵母導入比が 3.45g-酵母/kg-模擬生ごみ以上であれば、エタノール生成が著しく行われるといえる。

2）*S.cerevisiae* を導入することにより、エタノールが優先的に生成され、有機酸の生成量は少なくなった。

3）有機酸の増加による pH 値の低下に伴い、エタノールの生成量が少なった。

4）*S.cerevisiae* の導入は固形分の減量にも効果があり、CASE3 の固形分が最も減少していた。このため、CASE3 は分解効率がよかったといえる。

以上のことから、模擬生ごみに生息する細菌類と *S.cerevisiae* の複合微生物系を形成することにより、糖化工程を省略したエタノール発酵の可能性を見出した。また、本実験結果において、培養コストなどの経済性を考慮し CASE3 の実験条件がエタノール発酵に適しているということができる。

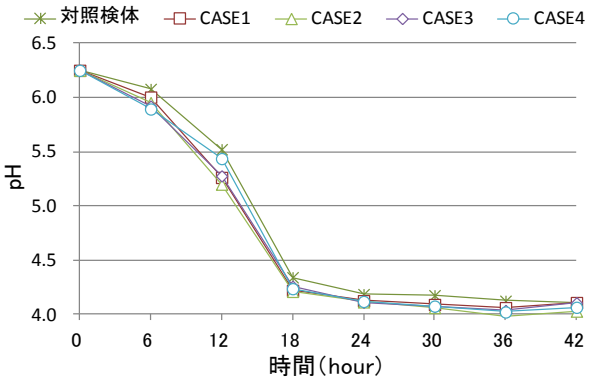

図 5　バッチ実験における pH の経時変化

表 4　各試料の水分量・T-SS・T-VS・灰分および固形分減少率

項目	模擬生ゴミ（実験前）	対照検体（実験後）	CASE1（実験後）	CASE2（実験後）	CASE3（実験後）	CASE4（実験後）
水分量 (g/L)	914.9	921.1	923.1	927.9	932.3	930.1
T-SS (g/L)	85.1	78.9	76.9	72.1	67.7	69.9
T-VS (g/L)	75.4	69.6	70.1	65.4	61.1	63.1
灰分 (g/L)	9.7	9.3	6.8	6.7	6.6	6.8
固形分減少率（%）	–	7.3	9.7	15.3	20.5	17.9