

2024年度 新産業創出研究会「研究成果報告書」

「高温発酵と膜分離の複合による酒造残渣からのエタノール生産性の向上」

[山口大学・教授] [熊切 泉]

1. はじめに

事業活動で使用するエネルギーを 100%再生可能エネルギーとする世界的な取り組み(RE100)は、日本でも“環境省 RE100 達成のための行動計画”が 2019 年に策定され、実現に向けた様々な技術開発が行われている。さらに、災害等での大規模停電でも自立して電力を供給できる分散電源のニーズも高い。

産業廃棄物として処理されることが多い食品加工工場で副生する食品残渣を、発生源（工場敷地内）で、簡易な手法によりエネルギーに変換できれば、RE100 に貢献するだけでなく、廃棄物の処理費用も削減できる。さらに、地産地消の自立型電源となるので、災害時での分散電源としても活用できる。

本研究開発は、山口大学農学部と中高温微生物研究センターで研究開発が行われてきた高温発酵によるバイオマスの燃料転換¹⁾と、膜分離を複合化することで、発酵に要する時間の短縮や連続発酵を可能とし、エタノールの生産効率を向上することを目的とする。

2. 概要

本研究開発は、食品工場からの廃棄物削減に加えて、グリーンなエネルギーを地産地消する小型な自立型分散電源の実現を目指すものである（図 1）。

高温発酵によるバイオマス廃棄物の燃料転換技術に膜分離を複合化することで、エタノールの生産効率を向上することを目指し、具体的には、以下の 3つの課題に取り組んだ。

- ✓ 高温発酵と膜分離を複合化したプロセスに与える操作条件の影響の解明
- ✓ 連続発酵の基礎検討と副生成成分の分析
- ✓ 大型化の指針

3. 研究成果および今後の課題

<実験>

本検討では、発酵培地に yeast extract 1% peptone 2% glucose 8%を用いた。培地に酵母(DMKU3-1042)を投入し水浴中で 40℃、300rpm の条件で一晩発酵した後、一定時間、膜を介してエタノール水溶液を発酵槽系外に除いた。

膜には、市販のシリコン中空糸膜（永柳工業社製:NAGASEP）を用いた。発酵液を膜に供給し、未透過分は発酵槽に戻した。膜の透過側は減圧し、透過した蒸気を冷却して捕集する、浸透気化（PV）試験を行った。膜分離を行う時間を、30分から2時間と変え、発酵槽から系外に取り除く液量が発酵に与える影響も検討した。グルコースを添加する効果も検討した。いずれの場合も、膜分離試験終了後も 40℃で発酵を1日以上続けた。発酵液、及び、透過液中のエタノール、グルコースや、有機酸等を液体クロマトグラフ(LC)で、揮発性の香気成分をガスクロマトグラフ(GC)で分析した。

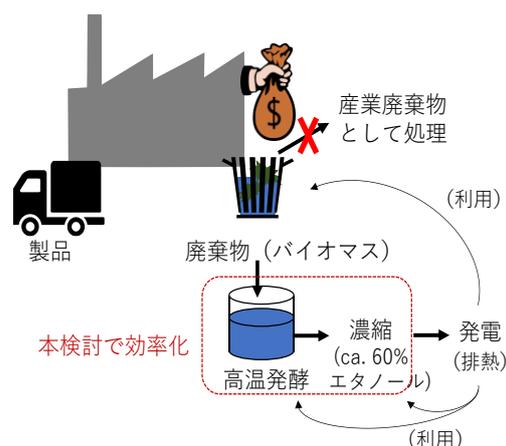


図1 食品工場の廃棄物を、オンサイトで燃料に変換し、自立型の分散電源として有効利用する概略図

膜性能に与える発酵液の影響を検討するため、比較として合成エタノール水溶液を用いた PV 実験を行い、膜性能の濃度・温度依存性を測定した。

<結果>

発酵液中には、エタノールやグルコースに加えて、約 0.1%の酢酸や、その 1/10 以下の量のクエン酸などの有機酸やエステル類などが含まれていた。膜の透過側に、発酵槽よりも高い濃度のエタノールが得られた。透過液には、エタノール、水以外に、微量の酢酸が検出されたが、その他の有機酸やグルコースは検出限界以下だった。

膜の透過分離性能は、供給液に合成試薬から作成したエタノール水溶液を用いた場合と、発酵液を用いた場合でほぼ同じで、発酵液中の微量成分が膜性能に与える影響は見られなかった。また、発酵液試験に複数回膜を使用しても、その前後での、合成エタノール水溶液分離透過性能は変化せず、発酵液に対する膜の耐久性が高いと考えられる。

図 2 には、発酵槽中のエタノールとグルコース濃度の時間変化を示す。発酵開始 15 時間後でエタノール濃度は約 2% になった。膜分離を行わず、発酵を継続すると、エタノール濃度は時間に比例して増加した (▲)。一方、1 時間の膜分離を行った場合では、膜によりエタノールが除去されるので、発酵槽中のエタノール濃度は減少し、その後、時間に比例して増加した (■)。エタノール濃度の変化は、膜分離を行わなかった場合に比べて、1 時間の膜分離を行った方が約 1.3 倍速くなった。

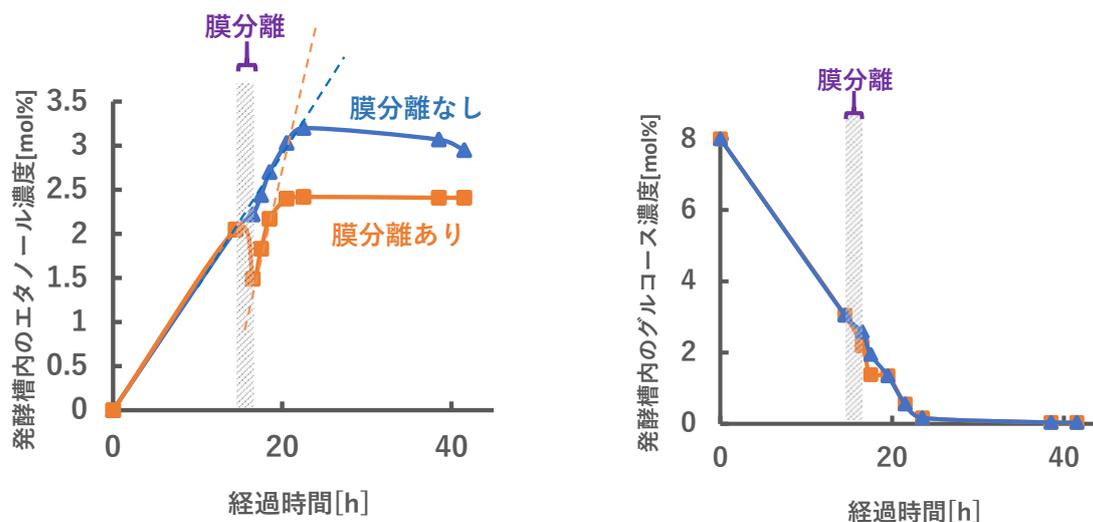


図 2 発酵槽中のエタノール (左) 及びグルコース (右) 濃度の経時変化

膜分離の有無によらず、発酵開始から 22 時間以降ではエタノール濃度がほぼ変わらなかった。これは、発酵槽中のグルコースがほぼ消費されたためである (図 2 右)。

そこで、膜分離を適用する前にグルコースを添加したところ、膜分離により加速したエタノール生産速度はより長い時間維持された (図 3 □)。この結果は、適宜、基質を添加することで、間欠的な膜分離で向上したエタノール生産速度を維持できる可能性を示している。また、エタノール生産速度が、実験範囲内では、発酵槽中のグルコースやエタノール濃度によらないことも示している。

1 時間の膜分離操作で、発酵槽内に生産されたエタノールの 60%程度を発酵槽外に取り除けた。また、発酵槽中の約 2%のエタノールは、透過側で約 15%に濃縮された。透過液中には、エタノール、水と、微量の酢酸以外の成分は測定限界以下だった。この固形分を含まないエタノール水溶液は、高分離機能を持ったゼオライト膜によりさらに 80%以上に濃縮することが可能である 1,2)。

発酵槽中のエタノールと、膜透過側のエタノールを合計すると、膜分離を 1 時間行うだけで、エタノール生産量は膜分離を行わない場合の約 1.3 倍になった。消費されたグルコース量と、生成したエタノール量を比較すると、膜分離を行わない場合は、1mol のグルコースから

1.3mol のエタノールが、膜分離を行った場合には 1.6mol のエタノールが生成したこととなり、膜分離によるグルコースからのエタノール転換率が増加した。発酵液中の有機酸の量は、膜分離の有無によらず変わらなかったが、揮発性のアセトアルデヒドやイソアミルアルコールなどは、膜分離を行わない場合の方が多かった。尚、透過液中には酢酸以外は、検出限界以下であった。これらから、発酵時間の一部で間欠的に膜分離を行った際のエタノール生産性の向上は、酵母の代謝経路が変化したこと起因する可能性が考えられた。

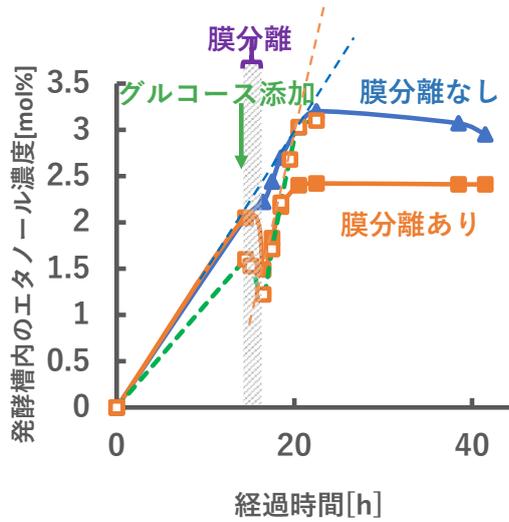


図 3 グルコース添加の影響

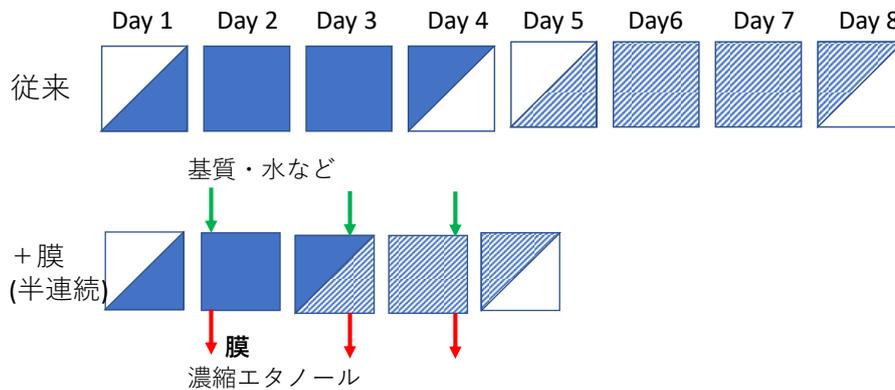


図 4 発酵と膜の組み合わせの効果

エタノールの生産速度が 1.3 倍になると、同じ量のエタノールを得るために必要な発酵時間が 0.77 倍と短くなる。さらに、従来の、バッチ式に発酵では、各発酵操作の間で、発酵液の流出、発酵槽の洗浄、仕込みの工程が必要で、このため、槽を発酵に使用しない期間が 1 日程度ある (図 4 上)。図 4 下のように、膜を用いて間欠的に生産したエタノールを除き、適宜、基質や水などを添加すれば、エタノール生産速度を高く維持できることに加えて、発酵槽の洗浄等を省くことができ、発酵時間の短縮に加え、労務時間の削減効果も期待できる。膜の使用は 1 時間程度なので、

複数の発酵槽で膜分離装置を共有することができ、設備費も削減できる。

<今後の課題>

エタノール除去やグルコース添加の量やタイミングの最適化が必要である。また、微量の副生成物は発酵槽内に残るので、それらが阻害物質とならない発酵範囲の検討も必要である。短時間の膜分離により代謝経路が変わる可能性があるが、詳細は不明である。膜の効果が分かれば、エタノール発酵以外への展開も考えられる。

参考文献

1. Pattanakittivorakul S, Kumakiri I, Nutaratat P, Hara M, Yokota M, Murata M, Kosaka T, Thanonkeo P, Limtong S, Yamada M., "High-Temperature Fermentation and Its Downstream Processes for Compact-Scale Bioethanol Production", *Fuels*, 5(4), 857 (2024)
2. Kumakiri I, Yokota M, Tanaka R, Shimada Y, Kiatkittipong W, Lim JW, Murata M, Yamada M., "Process intensification in bio-ethanol production—recent developments in membrane separation", *Processes*, 9(6), 1028 (2021)

4. おわりに

発酵途中で間欠的に短時間の膜分離を行い、発酵液からその体積の約 1%の濃縮エタノールを除くと、発酵槽中のエタノール生産速度が 1.3 倍に増加した。基質を添加すると、向上した生産速度を維持できた。膜分離を適用しても発酵で副生する微量な有機酸濃度に大きな違いはなかったが、揮発性香気成分濃度は低下した。これらの結果は、発酵に膜分離を適用する効果を示している。

5. 本研究の今後の計画

膜分離や基質投入のタイミングが発酵に与える影響を検討し、より効果的な発酵と膜の組み合わせ方を提案する。従来のバッチ式発酵と、発酵と膜を組み合わせた半連続発酵を比較し、膜を組み合わせたプロセスの優位性を明らかにする。

6. その他

(1) 出願特許 (タイトル・出願番号・発明者・特許権者など)
該当なし

(2) 投稿論文 (タイトル・学会名等)
“発酵への膜分離の適用によるエタノール生産性の向上”

佐賀 大祐・山田 守・熊切 泉

第 27 回化学工学会学生発表会, 2025 年 3 月 8 日(土) オンライン開催

(3) 本研究会の参加企業・団体名

旭酒造株式会社