

修士論文

スイートソルガムを原料とした エタノール生産に関する研究

弘前大学大学院教育学研究科
教科教育専攻 理科教育専修
11GP208 小野寺 美佳

目次

第 1 章	緒論	1
第 2 章	先行研究調査	
第 1 節	作地面積に対する収穫量	5
第 2 節	スイートソルガム全草を利用するアルコール発酵	8
第 3 章	スイートソルガムの成分組成分析	
第 1 節	植物繊維組成の分画	10
第 2 節	結果と考察	20
第 4 章	アルコール発酵に用いる酵母の選定	
第 1 節	アルコール発酵と酵母	25
第 2 節	酵母の選定	27
第 3 節	結果と考察	28
第 5 章	糖化に用いる酵素の選定	
第 1 節	糖化酵素	35
第 2 節	酵素の選定	36
第 3 節	結果と考察	38
第 6 章	スイートソルガムを用いたアルコール発酵	
第 1 節	原料と方法	46
第 2 節	結果	51
第 3 節	考察	75
第 7 章	総括	79
実験項		81
参考文献		86
謝辞		88

第 1 章 緒論

エネルギーは、どのような種類に変換されても総量は増減せず、一定不変であり保存される¹⁾というエネルギー保存の法則があるように、宇宙全体で見るとエネルギーは一定に保たれている。しかし現代において、我々が消費するエネルギーに対し利用できるエネルギーが不足していることから、エネルギー不足として捉えられ社会問題になっている。その背景の下、石油や石炭などの枯渇性エネルギー資源の代わりとなり得るものの1つとして、トウモロコシやサトウキビ、生ゴミ、家畜の排泄物などのバイオマス資源が注目されている。それから生み出されるエネルギーをバイオマスエネルギーといい、原料を適切に管理・処理することで永続的に作り続けることが出来るため再生可能なエネルギーとされている。先ほど挙げたバイオマス資源の他に、薪などもバイオマス資源に含まれる。それらは古くから燃料として使われていたが、石油など化石燃料の普及により次第に衰退していくこととなった。しかし化石燃料の使用は、大昔に地中奥深くで固定された炭素を使用することになるため、現代という短い期間に限ってみると、大気中の二酸化炭素量を増加させてしまう結果となった。従って二酸化炭素の排出が少ないエネルギーの変換方法が考え出されるようになり、その中でバイオマス資源は見直されてきたと考えられる。またバイオマス資源を原料として変換されたエネルギーは、燃焼しても生じた二酸化炭素の量はそのバイオマスが取り入れた量と同じと考えられるため、大気中の二酸化炭素量を増やすことはないと言われている²⁾。このような点でもカーボンニュートラルであるエネルギーの生産として地球温暖化対策に期待されている。

バイオマスエネルギーの種類については、植物油から作られるバイオディーゼル油、生ゴミや家畜の排泄物を発酵させて作るバイオガス、トウモロコシやサトウキビをアルコール発酵させて得られるバイオエタノールなどがある²⁾。しかしバイオディーゼルはオイルパームを原料とすると石油換算で 3.71 t/ha

生産できるという例があるが、製造工程で搾油する必要があり、その工程における効率をこれ以上に上げることは見込めないとされている²⁾。生ゴミに関しては、まず生じる生ゴミを全て回収することは出来ない。またエネルギーの原料として回収し再利用すると考えたとき、生ゴミの中から穀物を例に挙げると穀類 1 t から得られるエネルギー量は約 360 万 kcal であり、これは石油 1 t から得られるエネルギー 1000 万 t の約 36%程度に過ぎない²⁾。これをエネルギーに変換する過程ではロスも生じるため、エネルギー問題を解決するためには期待が小さいとされている²⁾。家畜の排泄物によるバイオガスの生産では、供給される餌に含まれるエネルギーの多くが家畜に吸収されてしまうため、結果的に得られるエネルギーはあまり多くなく、社会のエネルギーの不足を補うことは不可能と言われている²⁾。バイオエタノールの生産では、海外においてサトウキビやトウモロコシが用いられ行われている。ブラジルではサトウキビの絞り汁を直接アルコール発酵させてバイオエタノールを製造しており、そのままではエタノールの濃度が 10%程度と低いためバイオ燃料として利用するにあたり蒸留精製して濃度を 99.5%以上に濃縮している³⁾。その年間生産量は 1200 万 t、石油に換算すると 800 万 t に達している³⁾。アメリカでは、トウモロコシの実の部分である種子を原料としてバイオエタノールの生産を行っており、生産量は 1995 年の時点で全エタノール生産量 550 万 kL の 80%に当たる 450 万 kL が燃料用に使用されている⁴⁾。これはガソリン消費量の 1%をバイオエタノールにより代替したとされている⁴⁾。そしてトウモロコシの実以外の部分である葉や茎の糖化も検討されている。しかしサトウキビを始めトウモロコシなどは食料・飼料との競合が問題化してきている⁴⁾。

そこで本研究では、スイートソルガムという植物を用いたバイオエタノールの生産を考えた。スイートソルガムとは大型のイネ科の植物で、茎には糖を含んでいる。また比較的寒冷な地域でも育つことが出来るため、日本の東北地方においても栽培可能な草本である³⁾。また一般的な草本や木本より生長速度が

速いという特徴を持つため、単位面積当たりのエネルギー収穫も良好である。植物の種類や土地の緯度によって生産速度は異なるが、木本類は1日1~5 g/m²であるのに対し、スイートソルガムの場合は年間平均で1日15~20 g/m²を生産することができ、これは太陽電池の効率の4分の1から2分の1でエネルギーを蓄えられることになる³⁾。また日本では食料との競合もないため、その生産に関しては危惧することは無い。これらの観点から、バイオマスエネルギーの原料としてスイートソルガムに注目し研究を進めた。

スイートソルガムを用いたアルコール発酵に関する研究は、茨城県や長野県、沖縄県などで行われている。青森県では、筆者が調べた限りはそのような研究はされていなかったものの、青森県におけるスイートソルガムの栽培に関しては事業が実際に行ったという報告が僅かに見られたため、栽培は可能である。しかし単位面積当たりの収穫量など定量的なデータの詳細は見られなかった。それに加えて寒冷である青森県で栽培したスイートソルガムを用いて、実際に



図1 弘前大学の所有する千年農場にて栽培されたスイートソルガム
(2012年10月)

アルコール発酵させバイオマスエネルギーを得たという報告は、筆者の知る限りない。

また先行研究では、スイートソルガムをアルコール発酵の原料とするときには搾汁が主に用いられ、搾りかすは燃料や家畜の飼料とされている。しかし搾りかすにも糖は含まれており、さらに糖化することでアルコール発酵に用いることのできるデンプンやセルロースなどを含んでいる。これらも原料として使用することでより多くのアルコールが得られると期待されるが、一般的には行われていない。デンプンやセルロースも原料としたときのエネルギーの収率はどれ程のものなのか。そこで搾汁の他に穂や茎、葉を含めたスイートソルガム全草をアルコール発酵の原料として用いることで、搾汁のみを使用した場合よりどの程度多くのエタノールが得られ、最終的なエネルギーの収量はいかなるものなのか検討を行う必要があると考えた。よってスイートソルガムを実際に栽培し、全草をアルコール発酵の原料とした場合の、エネルギー収量を検討することを目的として研究を進めた。

本論文では第 2 章で先行研究について紹介し、第 3 章にアルコール発酵を行う上での基礎データとなるスイートソルガムの成分組成分析、第 4 章ではアルコール発酵に用いる酵母の選定、第 5 章では糖化に用いる酵素の選定、第 6 章でアルコール発酵に用いるスイートソルガム全草試料の成分組成分析とアルコール発酵について述べていく。

第 2 章 先行研究調査

第 1 節 作地面積に対する収穫量

ここでいくつかの先行研究について表とともに紹介する。

表 1 先行研究におけるスイートソルガムの収量とエタノール収量

先行研究	スイートソルガム 収量[t/ha]	エタノール収量 [L/ha]
NPO 亜熱帯バイオマス利用 研究センター(沖縄県)	52	2400
琉球大学(沖縄県)	139	—
長野県農政部(長野県)	49.1 ⁱ⁾	3280 ⁱⁱ⁾
カリフォルニア	46.6	3523 ⁱⁱⁱ⁾

i) 糖収量 5.9 t/ha より換算した値

ii) 糖収量より算出した理論値

iii) スイートソルガム収量より試算した理論値

表 1 は沖縄県の NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センターと琉球大学、長野県の長野県農政部、そしてカリフォルニアでの先行研究における 1 ha 当たりのスイートソルガム収量[t]とエタノール収量[L]を示している。NPO の事業では独自に研究を行った結果のエタノール収量である。琉球大学ではスイートソルガム収量のみデータである。長野県農政部では 5.9 t/ha の糖収量の報告があり、標準的なスイートソルガム全草中では重量比で糖は 12%を占めるため、これを用いてスイートソルガムの収量に換算した。また ii) のエタノールの収量は、アルコール発酵により重量比で糖の約半量がエタノールと変換されること

から算出した理論値である。

NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センターによる H22 年度沖縄バイオマス資源活用促進事業報告書では、植え付けは 3~5 月頃に播種で行い、栽植密度は畝間 60cm、株間 30cm 程度を目安とし、施肥は種苗会社が推奨する窒素成分が合計で 15kg/10a となるように栽培を行った。その結果平成 20 年の栽培試験では、平均して 52 t/ha という結果が得られている。また、平成 18 年には琉球大学において一期作で 139 t/ha という報告例がある。スイートソルガムの収穫量についてはエネルギー作物の事典によると 20~130 t/ha という報告があるが、NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センターの事業ではこれらの結果を踏まえ、その平均的な単収を 60 t/ha としている。またスイートソルガムから得られるエタノールについてはエネルギー作物の事典によると 6000 L/ha という報告があり、その事業ではソルガム茎の搾汁率を 50%、ソルガム搾汁液の糖含有率を 14%、糖からのエタノール生成比率を 50%、発酵歩合を 90%とし、ソルガム茎 1 t 当たりのエタノール生成量を 31.5 kg(40 L)と推定した。これは茎単収で 60 t/ha の場合、エタノール単収は 2400 L/ha を意味している。同事業によるアルコール発酵と蒸留の試験では、Brix13.3 のソルガム搾汁液 1 t あたり 64.7 L のエタノールが得られたという報告がある⁵⁾。

長野県農政部農業技術課では、甘味ソルゴーとスーパーシュガーソルゴーの 2 品種の搾汁を用いた発酵試験を行った報告がある。ここでは搾汁作業において、茎を搾汁したあとバガスに温水を加えてさらに搾汁する工程を 2 回繰り返す方法をとっており、この操作により搾汁効率は 100%になるとしている。また品種比較試験の結果、甘味ソルゴーでの糖収量は平均 5.9 t/ha であり、岩手県醸造食品試験場報告 24.に基づきエタノール発酵収率を 85%として試算するとエタノール生産量は 3280 L/ha と試算している⁶⁾。

スイートソルガムの生長において、緯度が日本と近い値に位置するアメリカのカリフォルニア地方での例がある。それによると成長速度は 12.8 g/(m²・日)

であり、1 ha 当たり年間 46.6 t の収穫となる³⁾。糖分のみをアルコール発酵の原料として用いるとすると、そのうちの約 12%である 5.6 t が発酵に使われる。これで得られるエタノールは 2.8 t であり、石油換算では 1.8 t という報告がある³⁾。

スイートソルガムは、日本において搾汁を主に発酵の原料として使用されており、その効率を上げる研究が進められている。しかし茎や葉は糖化し発酵させるよりも、飼料として使うという傾向にあると見受けられる。

第2節 スイートソルガム全草を利用するアルコール発酵

本研究では、スイートソルガムの全草を用いてアルコール発酵を行う。一般的には糖を得た後に燃料や家畜の飼料にされてしまう搾りかすが、それには搾りきれずに残った糖類の他に、穂や茎、葉などに由来するデンプンやセルロースが含まれている。それらを糖化することでアルコール発酵に利用できるようになり、より多くのエタノールを得られるようになる。

セルロースを原料とするアルコール発酵は、食料と競合しないものを原料とするという観点の下、様々な技術開発が行われている。例を紹介すると、糖化とアルコール発酵によりエタノールを得る原料として最も注目されている熱帯牧草のスイッチグラスという植物がある⁴⁾。この乾草を16 t/haで生産し乾草1 tから300 Lのエタノールが生産されると仮定すると、原料価格から試算したエタノール3.8L(1ガロン)当たりの生産コストは、トウモロコシの70セント~1ドル21セントに対し、スイッチグラスは51~89セントと低いという試算がある⁷⁾。またアメリカではかつて飼料生産のため利用された3300万 haは、穀物生産に影響せずバイオマスの原料を生産する場として利用可能としている。ここでスイッチグラスを栽培すると5億2000万 tのバイオマスが生産できるといわれている。スイッチグラス栽培は穀物生産よりも環境保全に適する利点もあるといわれているが、現時点では実用可能な規模のエタノール生産設備は存在しない⁴⁾。

セルロースの原料としては他にも稲わらや麦わらなどの草本系や木材などが挙げられるが、アルコール発酵を行うためには、それらに含まれるセルロースやヘミセルロースを分離し、糖化する必要があり、さらに前処理の工程が必要となる。製造工程が



図2 稲わらのペレット化⁸⁾

増えるとコストや製造のためのエネルギーも増えることになる⁹⁾が、どの原料を用いたにせよ最終的なエネルギー収量が問われる。

第3章 スイートソルガムの成分組成

第1節 植物繊維組成の分画¹⁰⁾

スイートソルガムを原料として用いるにあたり、その成分組成分析を行った。この実験で用いたスイートソルガムは弘前大学千年農場にて栽培した高糖分ソルゴで、種から育て 2011 年 10 月に収穫したものである。平均的な情報を得るため、様々なサイズのもの

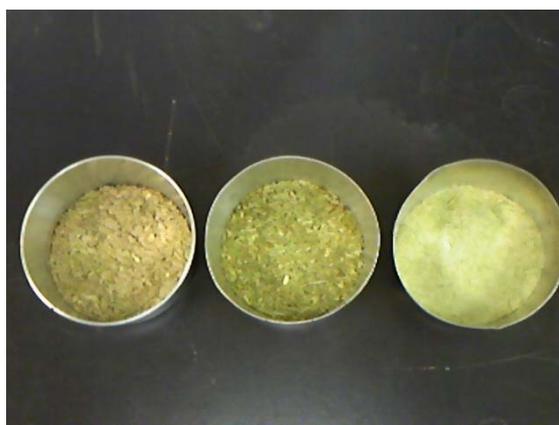


図3 粉碎した試料(左から穂、葉、茎)

を合計 10 本選別した。そして 1 本当たりの質量を記録し、穂と葉、茎に分け、茎は適当な大きさに切断し搾汁器にかけて搾汁を得た。10 本全ての処理が終わった後、10 本分の穂、葉、茎の搾りかすであるバガス、搾汁の質量を各々量った。搾汁については糖組成の分析と糖度の測定を行った。穂、葉、茎は真空乾燥してビニール袋に入れ 1℃で保存し、搾汁は二重にしたジップロックに入れて冷凍保存した。分析に使用するときには、穂、葉、茎を適量取り、フードプロセッサにて細かく粉碎し用いた。

今回の植物繊維組成の分画では、固形試料中の脂質や水に可溶性成分である糖類・水溶性ヘミセルロース、デンプン、ペクチン、水不溶性ヘミセルロース、セルロース、リグニン、灰分の分画を行った。スイートソルガム本体を用いたアルコール発酵において、デンプンやセルロースの糖化も行う予定であるため、この分析で得られるデンプンとセルロースの量が重要となる。

この実験は上記処理を行った穂と葉、茎の試料それぞれ 1 つずつを 1 連とし、全て 4 連で行った。

3-1-1 乾物重量測定法

まずは使用する試料の乾物重量測定を行った。

穂・葉・茎を搾ったバガスの試料は真空乾燥することにより、試料を乾物とした。穂と葉、搾汁した茎を適量取り、真空乾燥の前後の質量を量り水分含量と固形分重量を求め、乾物試料を得た。

また 6 章においてスイートソルガムの品種別における成分分析を行う際は、105℃のオーブンで 3 時間おき、加熱前と加熱後の質量の差から求めた。



図 4 オーブンで乾燥させている様子

3-1-2 脂質抽出法

脂質抽出において、本実験ではソックスレー法を用いた。沸騰石を1粒入れた専用のガラス容器に針金でできた固定器具を入れ円筒濾紙を固定し、そこに乾物試料を入れた。そして全体の質量を量って記録し、適当な大きさにした脱脂綿を円筒濾紙にフタをするように2回軽く詰めた。このとき脱脂綿は軍手を着用して切り離し、ピンセットを使って詰めることが望ましい。用意ができたらジエチルエーテルを140mL程度一気に流し込んで迅速脂肪抽出装置に設置し、ドラフトで換気しながら抽出を開始した。この実験では2時間半で脂質が抽出され、円筒濾紙の中の試料からガラス製の容器の方へ脂質が移動する。抽出終了後、80°Cで30分置きジエチルエーテルを蒸発させた。そして100°Cのオーブンで1時間乾燥させ、デシゲーター内で1時間以上放冷したあと質量を量った。この値と空のガラス容器との質量の差が抽出した脂質の量である。脂質の抽出が終わった試料はサンプル瓶に移して保存した。



図5 迅速脂肪抽出装置にて脂質を抽出している様子

3-1-3 水に可溶性成分の抽出法

脂質抽出の次は、水に可溶性成分の抽出を行った。脱脂した試料を 1 g 量り取り、質量を量った 100 mL 三角フラスコに入れた。これに蒸留水を 30 mL 加え栓をし、振とう機に設置して約 130 rpm になるように設定し室温で 4 時間振とう抽出を行った。その間に繊維抽出装置で用いるガラスるつぼ P2(フィルター孔径 40~60 μm)を秤量して記録しておく。4 時間の振とう抽出をしたあと、繊維抽出装置にガラスるつぼを設置し試料を濾別し水洗いした。そして試料が入ったガラスるつぼを 105°C のオーブンで 2 時間乾燥させ、水に可溶性成分が抽出された試料の乾物重量を得た。このとき脂質抽出したときの乾物重量との差が水に可溶性成分の質量である。

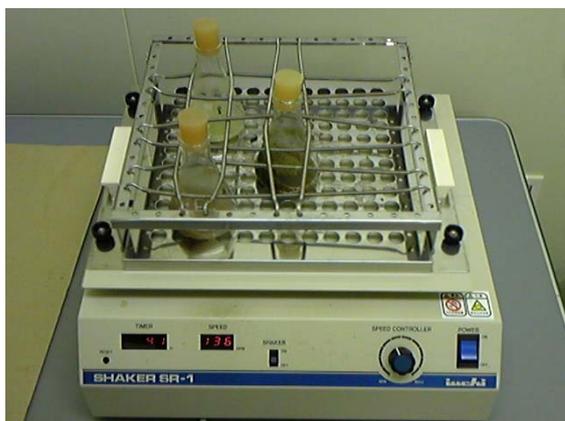


図 6 振とう抽出している様子



図 7 水洗いしている様子

3-1-4 デンプンの抽出法

水に可溶性成分を抽出後、デンプンの抽出を行った。ここでは 0.2 M 酢酸緩衝溶液を用いるため、あらかじめ調製して用いた。

まず 50 mL ビーカーに水に可溶性成分を除去した試料が入ったガラスるつぼを入れ、50 mL の 0.2 M 酢酸緩衝



図 8 デンプン抽出操作

溶液をガラスるつぼの中の試料が浸かるよう

に入れた。次にガラスるつぼとビーカーの上部をアルミ箔でしっかりと覆い、オートクレーブで滅菌した。以下断りがない限りオートクレーブの操作は 121°C 20 分の処理とする。この間にアミラーゼ系酵素剤である 0.001 g/mL グルコ SB G 酢酸緩衝溶液を調製し、オートクレーブし終わった試料が冷めたあと 2.5 mL 加えた。この濃度は試料固形分の 0.1%としている。本来ならば乾物量に 20 mL をかけた量の緩衝溶液を加えるが、別の実験方法を取り 50 mL 加えることとしたため、その中で酵素剤の濃度が 0.001 g/mL となるようにした。オートクレーブにて少しの減水が考えられるが、ここで酵素を溶かした 2.5 mL の緩衝溶液を加え、また酵素の濃度は低くなければ良いと考えたため、このような操作をして実験を進めた。酵素剤を加えたガラスるつぼにビーカーごとフタをし、55°C で 18 時間静地反応させた。反応後アルミ箔を外しビーカーからガラスるつぼを取り出して、繊維抽出装置で水洗いし 105°C のオーブンで 2 時間乾燥させ乾物重量を求めた。水に可溶性成分を除去したときの乾物重量とこのときの乾物重量の差が、抽出されたデンプンの量である。

3-1-5 ペクチンの抽出法

デンプン抽出の次はペクチンの抽出を行った。この実験では 0.25%シュウ酸アンモニウムを使うため、必要量調製して用いた。

始めにデンプンを抽出した試料が入ったガラスるつぼを繊維抽出装置に設置し、0.25%シュウ酸アンモニウムを 20 mL 入れた。装置のヒーターを、試料が軽く沸騰する程度に合わせ、少し攪拌しながら 3 時間置いてペクチンを抽出した。抽出後廃液し水洗いして、残った試料を 105℃のオーブンで 2 時間乾燥させ、乾物重量を得た。この乾物重量とデンプンを抽出したときの乾物重量との差がペクチンの量となる。



図 9 攪拌しながら煮沸抽出している様子

3-1-6 水不溶性ヘミセルロースの抽出法

次に水不溶性セルロースの抽出を行った。ここでは 5%(v/v)硫酸を用いるため、あらかじめ調製して用いた。

まずデンプン抽出を行った試料が入っているガラスるつぼを繊維抽出装置に設置し、5%(v/v)硫酸を 20 mL 程度加え、7 分煮沸した。煮沸後は廃液し水洗いして 105℃のオーブンで 2 時間乾燥させ、乾物重量を求めた。この乾物重量とペクチン抽出後の重量との差が、水不溶性ヘミセルロースの量となる。



図 10 5%(v/v)硫酸を加え煮沸している様子

3-1-7 セルロースの抽出法

続いてセルロースの抽出を行った。この実験では 72%(w/w)硫酸を用いるため、あらかじめ調製して用いた。

始めに水不溶性ヘミセルロースを抽出した試料が入ったガラスるつぼを 50 mL ビーカーに入れ、試料が浸かる程度に 72%(w/w)硫酸を加えた。1つの試料につき約 30 mL である。これをフタの付いた容器に入れフタをし、2~4℃の冷蔵庫に入れて 72 時間静置させた。抽出後ガラスるつぼを繊維抽出装置に設置するが、このとき手袋を着用してガラスるつぼを持ち、ガラスるつぼの側面に付いている硫酸を水で洗い流してから設置する。そして廃液し水洗いして、105℃のオーブンで 2 時間乾燥させ乾物重量を得た。この値と水不溶性ヘミセルロースを抽出したときの乾物重量との差がセルロースの量である。



図 11 硫酸に浸けて容器に入れた試料

3-1-8 リグニンの抽出法と灰分の測定法

最後にリグニンの抽出を行った。セルロースを抽出した試料が入っているガラスるつぼを電気炉へ入れ、500℃で23時間加熱した。加熱後電気炉の中で十分に温度が下がったあと、取り出して乾物重量を得た。この値とセルロース抽出後の乾物重量との差がリグニンの量である。また、ガラスるつぼに残った試料の量が灰分の質量となる。

以上で植物繊維組成の分画が全て終了した。



図 12 加熱後の電気炉内の試料

3-1-9 搾汁の成分組成分析

搾汁は培地やアルコール発酵に用いるため、その成分組成を知る必要がある。よって搾汁機で搾汁を得たあと簡易糖度計により糖度の測定し、搾汁の成分組成分析を行った。



図 13 茎を搾っている様子



図 14 得られた搾汁

まずは搾汁を希釈した。予備実験の結果を基に 200 倍に希釈して 2 mL の試料を得た。それを 2.5 mL のシリンジに入れ、フィルター孔径 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過しながらバイアルへ注入した。これを用いて液体クロマトグラフィーにより糖組成の分析を行った。

本実験で使用した液体クロマトグラフィーの測定条件を以下に示す。

- ・測定方式：イオンクロマトグラフー電気化学
検出法
- ・カラム：PCI-520 糖分析カラム（陰イオン
交換カラム）
- ・溶離液：0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液
- ・流量：0.7 mL/min
- ・温度：約 40°C
- ・モード：糖類（グルコース、フルクトース、
スクロースの検出）



図 15 使用した液体クロマトグラフ

第 2 節 結果と考察

スイートソルガム各部分の繊維組成の分析結果を表と共に示す。

まずは穂の分析結果である。

表 2 穂の繊維組成分析結果

試料	水分量 [%]	脂質 [%]	水可溶 成分[%]	デンプン [%]	ペクチン+水不溶性 ヘミセルロース[%]	セルロ ース[%]	リグニン [%]	灰分 [%]
1	52.8	1.6	10.5	9.3	7.6	11.2	5.5	0.5
2		1.4	11.9	12.0	8.0	14.3	5.4	0.4
3		2.7	11.2	4.4	13.2	7.5	14.0	0.6
4		1.8	10.2	11.5	9.5	13.5	6.2	0.7
平均	52.8	1.6	11.0	10.9	8.4	13.0	5.7	0.6

表 2 は穂の組成について分析した結果を重量比で示している。試料 3 の黒い部分は他の試料と比較し値が大きくずれているため平均を計算する際には加味していない。

穂の固形分中にはデンプンが多く含まれていると予想されたが、この分析においてデンプンは穂の 10.9%を占めていることが分かった。またそれ以上にセルロースも 13.0%とデンプンよりも多く含まれているという結果となった。そして糖類を含む水に可溶性成分も 11.0%含んでいることが確認できた。

次に葉の分析結果を示す。

表 3 葉の繊維組成分析結果

試料	水分量 [%]	脂質 [%]	水可溶 成分[%]	デンプン [%]	ペクチン+水不溶性 ヘミセルロース[%]	セルロ ース[%]	リグニン [%]	灰分 [%]
1	69.1	1.9	16.1	1.1	8.4	11.7	5.8	1.5
2		1.4	16.4	2.7	10.4	14.8	6.7	1.5
3		3.4	13.1	-4.0	15.0	18.6	7.6	1.5
4		1.7	2.9	2.2	23.56	14.4	7.6	1.6
平均	69.1	1.7	15.2	2.0	11.3	13.7	6.9	1.5

表 3 は葉の組成を分析した結果を重量比で示したものである。表の黒い部分
は他の試料の結果と比較し差が大きい場合や、実験結果において算出した結果
がマイナスになってしまったものであり、平均を出す際には考慮していない。

固形分中の成分を見ると、葉は糖類を含む水に可溶性成分を 15.2%と多く含
んでいた。それに次いでセルロースも 13.7%と多く含まれていた。

最後に搾汁した茎のバガスの分析結果を表で示す。

表 4 茎(バガス)の繊維組成分析結果

試料	水分量 [%]	脂質 [%]	水可溶 成分[%]	デンプン [%]	ペクチン+水不溶性 ヘミセルロース[%]	セルロ ース[%]	リグニン [%]	灰分 [%]
1	59.4	0.5	21.7	1.4	4.5	11.8	5.1	0.0
2		-0.3	21.5	-3.9	13.2	2.9	18.5	0.0
3		0.5	10.1	11.8	6.5	16.2	6.6	0.0
4		0.3	5.0	-22.2	46.9	2.4	19.5	0.1
平均	59.4	0.4	17.8	1.4	8.1	8.4	12.4	0.0

表 4 は搾汁した茎のバガスの組成を分析した結果を重量比で示したものである。表の黒い部分は穂や葉と同様に他の試料と比較して値に差があるものや含有量を算出した時にマイナスの値になってしまったものであり、平均を出す際には加味していない。デンプンについては 4 検体のうち試料 2 と試料 4 でマイナスの値となってしまう、また試料 3 においては茎が穂のようにデンプンを含んでいるとは考えにくいため、その値は結果として用いないこととした。

搾汁した茎の固形分中の組成では、糖を含む水に可溶性成分が 17.8%と多く含まれていた。またセルロースは比較的多く含まれていた。

次のページに穂、葉、茎の各部分の結果を成分別に棒グラフで表したものを示す。

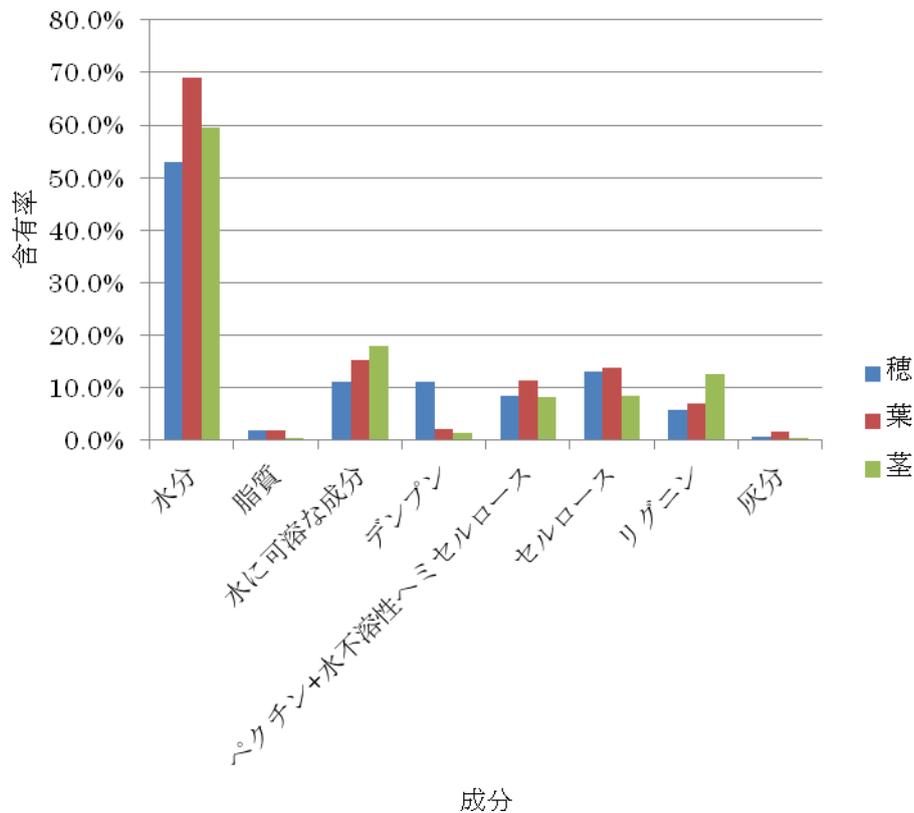


図 16 穂、葉、茎(バガス)の固形分中に含まれ成分別の比率

このグラフは穂と葉、搾汁した茎の水分量と固形成分の組成の重量比を、成分別に示したものである。

アルコール発酵に重要な固形分中の成分の含有比率を比較すると、糖を含む水に可溶な成分は穂と葉、茎が共通して比較的多く含んでいると考えられる。デンプンは穂に多く含まれていたが、このグラフにより葉や茎と比較してその含有量は大きく抜きんでている。セルロースは茎に多く含まれていると考えていたが、それ以上に穂や葉にも多く含まれているという結果が得られた。糖類はそのままアルコール発酵に使われ、デンプンやセルロースは酵素により糖化することでアルコール発酵に用いることができる。よってセルロースを含んでいるスイートソルガムの各部分、また穂にはデンプンも多く含まれるため、これらを酵素で糖化することによってアルコール発酵におけるエタノールの収量

を上げることができると考えられる。一般的には搾汁がアルコール発酵の原料として用いられているが、穂や葉、茎なども同じく原料とすることによって、今までよりも多くのエタノールが得られると期待できる。

次に糖組成の分析結果を示す。

表 5 高糖分ソルゴの搾汁 1 L 当たりの糖組成と Brix%

品種	Glu[g/L]	Fru[g/L]	Suc[g/L]	合計[g/L]	糖度%
高糖分ソルゴ	27.2	25.2	103.4	155.8	15.6

表 5 はサンプルとして合計 10 本選んだスイートソルガムの搾汁 1 L に含まれるグルコースとフルクトース、スクロースの量、そして簡易糖度計による糖度を示している。

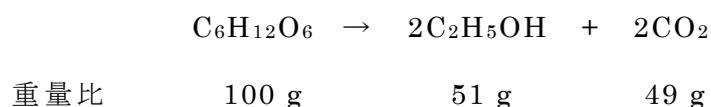
アルコール発酵については次の章で詳しく述べるが、アルコール発酵の反応式を基にした重量比では、発酵に使われる糖の約半分がエタノールとして生成される。よってこの搾汁全てが発酵に用いられたとすると得られるエタノールの量は約 79 g、体積に換算すると約 100 mL の理論値となる。

第4章 アルコール発酵に用いる酵母の選定

第1節 アルコール発酵と酵母

発酵とは、微生物の嫌気的な代謝により糖質を分解しエネルギーを得るための過程である。その種類はアルコール発酵(エタノール発酵)の他に、乳酸発酵やアセトン・ブタノール発酵などがある⁴⁾。微生物の働きで起こる同じような現象として腐敗があるが、人間にとって有用なものを生成する働きを発酵、有害物質を生成する働きを腐敗として使い分けられている。

本実験で扱うアルコール発酵は、その反応式は次のように表され、1 mol のグルコースから 2 mol のエタノールと二酸化炭素が生成されることが分かる。



また重量比ではグルコース 100 g からエタノール 51 g、二酸化炭素 49 g が得られる。エタノールの重量はグルコースの重量の半分に減少するが、グルコースの持つエネルギーの約 91% が生成するエタノールに保存される⁴⁾。

このアルコール発酵に用いられる微生物は *Saccharomyces cerevisiae* と呼ばれる酵母が主流であり、エタノールの発酵能力が強く、エタノールに対する耐性も強い⁴⁾。発酵できる糖の種類はグルコース、マルトース、フルクトース、スクロースなどのヘキソースの単糖類、二糖類である⁴⁾。

今回発酵に用いる酵母として、青森県産業技術センター弘前地域研究所にある 48 種類の酵母を選定の対象とした。次に選定に用いた酵母を挙げる。

K701 ^⑬	ロ号酵母 (3711-268) ^⑱	ラルバン/71B	トマト
K601 ^⑮	イ号酵母 (3703-7) ^⑭	ラルバン/Wadenswil	カシス 1
Y-19	ハ号酵母 (3703-109) ^⑭	ラルバン/CY 3099	カシス 2
K40	まほろば	ラルバン/ECC 1118	AP-1
K1501	wine2254	s3(しょうちゅう)	AP-2
K1601 ^⑭	Mauri/SW	s2(しょうちゅう)	AP-3
K15 ^⑩	Mauri/350	GM	AP-4
K14 ^⑩	Mauri/EP2	AK59	AP-5
K1401 ^⑭	Mauri/SAUVIGNON L3	KTB26	AP-6
K11 ^⑪	Mauri/PRIMEUR	K86	A3703
K10 ^⑮	Mauri/522	yaf1 ^⑭	A4004
K901 ^⑮	Mauri/B	K1101	TCR7

これらの酵母は弘前地域研究所の保有菌株から実際の酒造に使われている実用株や古くからある実用株、果実などから釣菌したオリジナル菌株である。wine2254 は I4 発酵研究所のワイン用酵母であり、研究などに使われる。Mauri は Mauri 社製、ラルバンはラルバン社製のワイン用乾燥酵母である。しょうちゅうは日本醸造酵母の焼耐用酵母である。トマトは弘前実業高校が所有する酵母で、使い道はまだ決まっていない。A3703、A4004 は青森県が所有する清酒用酵母である。

実用株はエタノール生産の実績があり、性質が判っているため入手しやすい。古くからある菌株はスイートソルガムをアルコール発酵の原料として用いたとき、発酵が良いのではないかという期待を込めて試すことにした。オリジナル菌株は、上手く使うことができればオンリーワン技術として知財化ができる。そしてこれらの菌は全て安全であることが判っている。以上の理由によりこれらの菌株から選定することとした。

第 2 節 酵母の選定法¹¹⁾

酵母の選定を行うにあたり、培地はスイートソルガム搾汁を用いた。まず搾汁を 5000 rpm で 10 分間遠心分離機にかけ沈殿物を取り除いた。その上清を試薬ビンに移してフタをし、さらにアルミホイルで上から覆いオートクレーブにかけた。そして熱が取れたら再び同じ条件で遠心分離し沈殿物を取り除いて、同様に上清をオートクレーブにかけた。これを培地として使用した。

酵母を培養する容器には 8×12 セルのマイクロプレートを用い、1 セル当たり 200 μ L の培地を入れ、これにスラントで培養されている酵母 48 株を植菌し、30℃のインキュベーター内で 48 時間静置培養した。その後同じプレートの残りのセルに新しい培地を用意してそれぞれの菌を一爪楊枝量移植し、

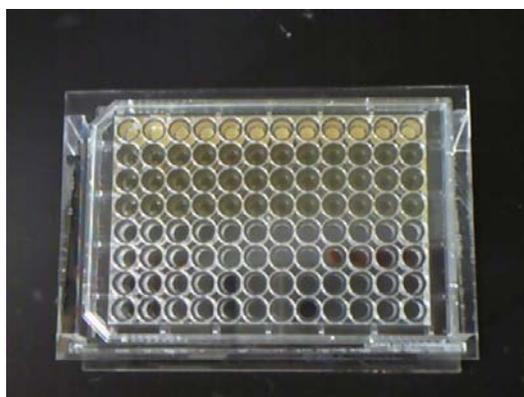


図 17 酵母の培養試験

このときの酵母の増殖の様子から結果を得た。酵母はマイクロプレートリーダー(Multiskan JX)により O.D.630 で吸光度を測定し、菌体濃度を求めることにより増殖の観察を行った。菌体濃度は、得られた吸光度の値の指数をとることによって求められる。増殖が良かった酵母を培地との相性が良いものとして 12 株を選定し、さらに絞り込みを続けた。

第3節 結果と考察

スイートソルガムの搾汁から調製した培地を用い、発酵に使用する酵母 48 株を培養して絞込みを行った結果を以下の表とグラフに示す。

表 6 培養した 48 株の時間経過における菌体濃度 [$\times 10^8$ cells/mL]

時間[hr]	0	26	35	48
K701 ^⑬	0.119	0.208	1.056	2.558
K601 ^⑮	0.122	0.133	0.625	2.267
Y-19	0.113	0.111	0.193	0.699
K40	0.107	0.115	0.388	2.179
K1501	0.110	0.120	0.407	2.552
K1601 ^⑭	0.117	0.136	0.709	2.552
K15 ^⑩	0.116	0.143	0.611	2.033
K14 ^⑩	0.129	0.162	1.035	3.417
K1401 ^⑭	0.119	0.142	0.808	2.931
K11 ^⑪	0.109	0.122	0.425	2.173
K10 ^⑮	0.113	0.150	0.901	3.134
K901 ^⑮	0.112	0.122	0.519	2.695
ロ号酵母 (3711-268) ^⑱	0.107	0.113	0.226	1.183
イ号酵母 (3703-7) ^⑭	0.107	0.107	0.112	0.169
ハ号酵母 (3703-109) ^⑭	0.119	0.145	0.767	2.490
まほろば	0.138	0.177	1.064	2.874
Mauri/SW	0.214	0.475	2.033	3.494
wine2254	0.178	0.325	2.063	3.717

s3(しょうちゅう)	0.124	0.200	1.452	2.846
s2(しょうちゅう)	0.174	0.378	1.697	3.188
Mauri/350	0.178	0.348	1.603	3.284
Mauri/EP2	0.146	0.356	1.676	3.065
Mauri/SAUVIGNON L3	0.222	0.652	2.387	3.895
Mauri/PRIMEUR	0.149	0.286	2.068	4.093
Mauri/522	0.205	0.421	2.502	3.236
Mauri/B	0.315	0.481	2.163	3.383
ラルバン/7 1 B	0.314	0.754	2.013	2.695
ラルバン/Wadenswil	0.489	0.611	2.089	2.902
ラルバン/CY 3099	0.345	0.928	2.312	3.468
ラルバン/ECC 1118	0.179	0.168	1.427	2.874
GM	0.127	0.221	1.212	3.358
AK59	0.164	0.274	1.533	3.383
KTB26	0.137	0.199	1.246	3.065
A3703	0.278	0.468	2.136	3.572
A4004	0.153	0.360	1.796	3.653
K86	0.107	0.107	0.144	0.379
yaf1 ⑭	0.107	0.107	0.108	0.110
K1101	0.166	0.255	1.355	2.874
TCR7	0.139	0.144	1.032	2.584
トマト	0.221	0.709	2.104	2.783
カシス 1	0.107	0.107	0.107	0.107
カシス 2	0.107	0.107	0.107	0.110
AP-1	0.107	0.107	0.107	0.110

AP-2	0.107	0.107	0.110	0.111
AP-3	0.107	0.107	0.107	0.108
AP-4	0.107	0.107	0.107	0.109
AP-5	0.107	0.107	0.107	0.110
AP-6	0.107	0.107	0.107	0.111

この表は培養した 48 株の酵母の植菌後を 0 時間として 26 時間後、35 時間後、48 時間後の菌体濃度を表している。

続けて次のページにこの値を用いて増殖曲線としたグラフを示す。

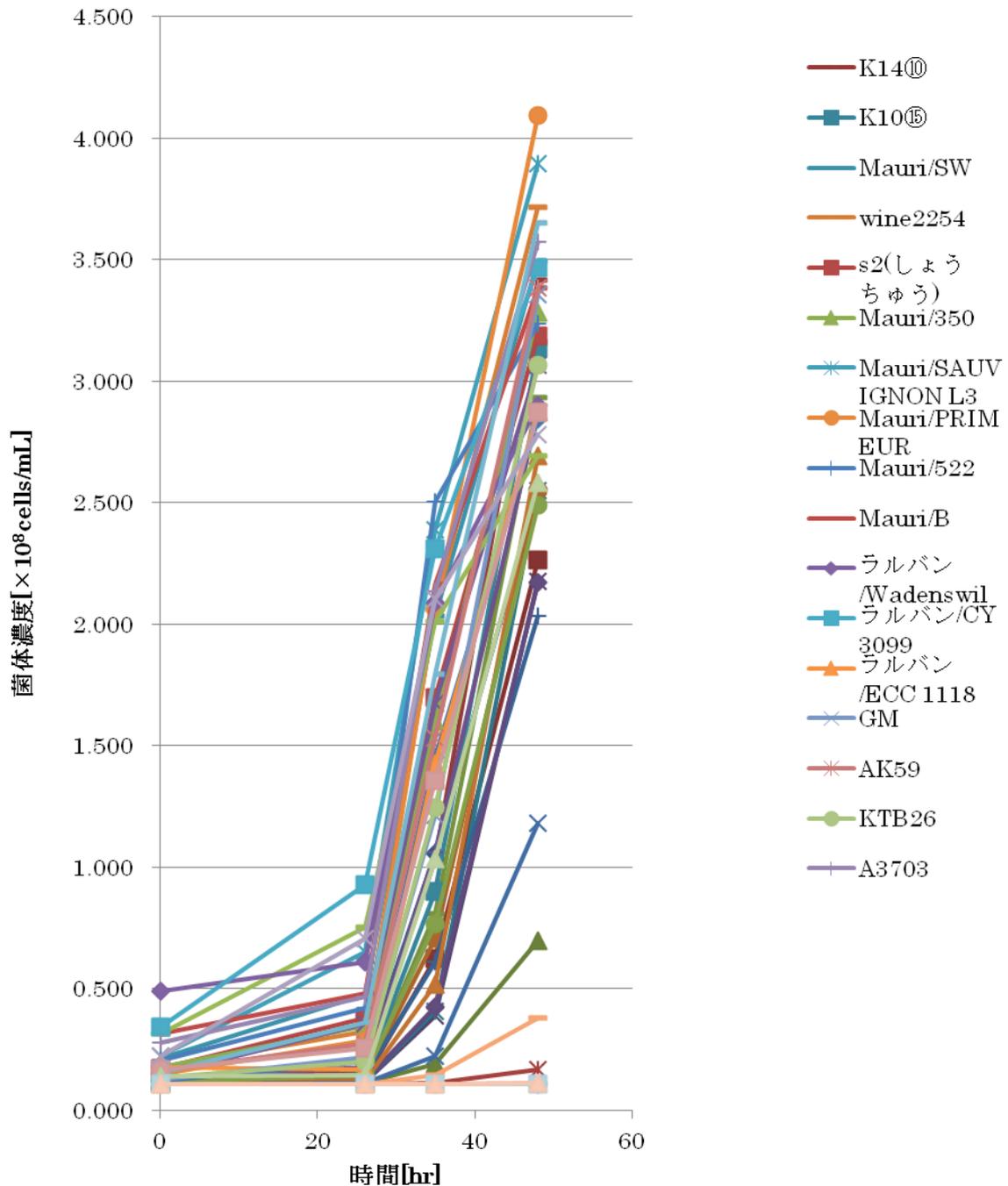


図 18 培養した 48 株の時間経過における菌体濃度の変化

これは酵母を培養してから 26 時間後、35 時間後、48 時間後にマイクロプレートリーダーにより読みとった吸光度を基に、酵母の菌体濃度を算出しグラフにしたものである。酵母の増殖が速かったもの、最終的に多く増殖したものを

目安に、この中から 12 株に絞り込んだ。O.D.630 で $3.0\sim 3.5\times 10^8$ cells/mL と計算される菌体濃度は、経験的に知られている酵母濃度の最大であるといわれている。よって 24~48 時間でその濃度に達する酵母は、その培地に適した酵母と判断される。従って 48 株から 12 株への絞り込みは 48 時間の培養で行った。次に 12 株から選定を行った。12 株からの絞り込みは、酵母が培地の環境に適応している時間であるラグフェイズが短いものを選ぶため、24 時間の培養で行った。その結果を次に示す。

表 7 12 株に選定した時の時間経過における酵母の菌体濃度 [$\times 10^8$ cells/mL]

時間 [hr]	0	16	18	20	22	24
Mauri/SW	0.151	0.637	0.837	1.522	2.762	3.662
wine2254	0.147	0.390	0.877	1.564	2.668	3.434
s2(しょうちゅう)	0.147	0.187	0.313	0.565	1.322	1.623
Mauri/SAUVIGNON L3	0.147	0.442	1.038	1.935	3.358	4.795
Mauri/PRIMEUR	0.149	0.184	0.262	0.475	1.071	1.902
Mauri/522	0.148	0.488	1.123	2.250	3.763	4.783
Mauri/B	0.147	0.235	0.387	0.663	1.309	2.028
ラルバン/Wadenswil	0.147	0.273	0.540	1.183	1.619	2.471
ラルバン/CY 3099	0.146	0.374	0.837	1.545	2.695	3.434
A3703	0.147	0.349	0.814	1.420	2.715	4.113
A4004	0.147	0.213	0.427	0.826	1.685	2.623
トマト	0.147	0.839	1.660	2.742	4.113	4.927

表 7 は選定した 12 株の時間経過における吸光度から菌体濃度を算出したものである。これを増殖曲線として次のページに表す。

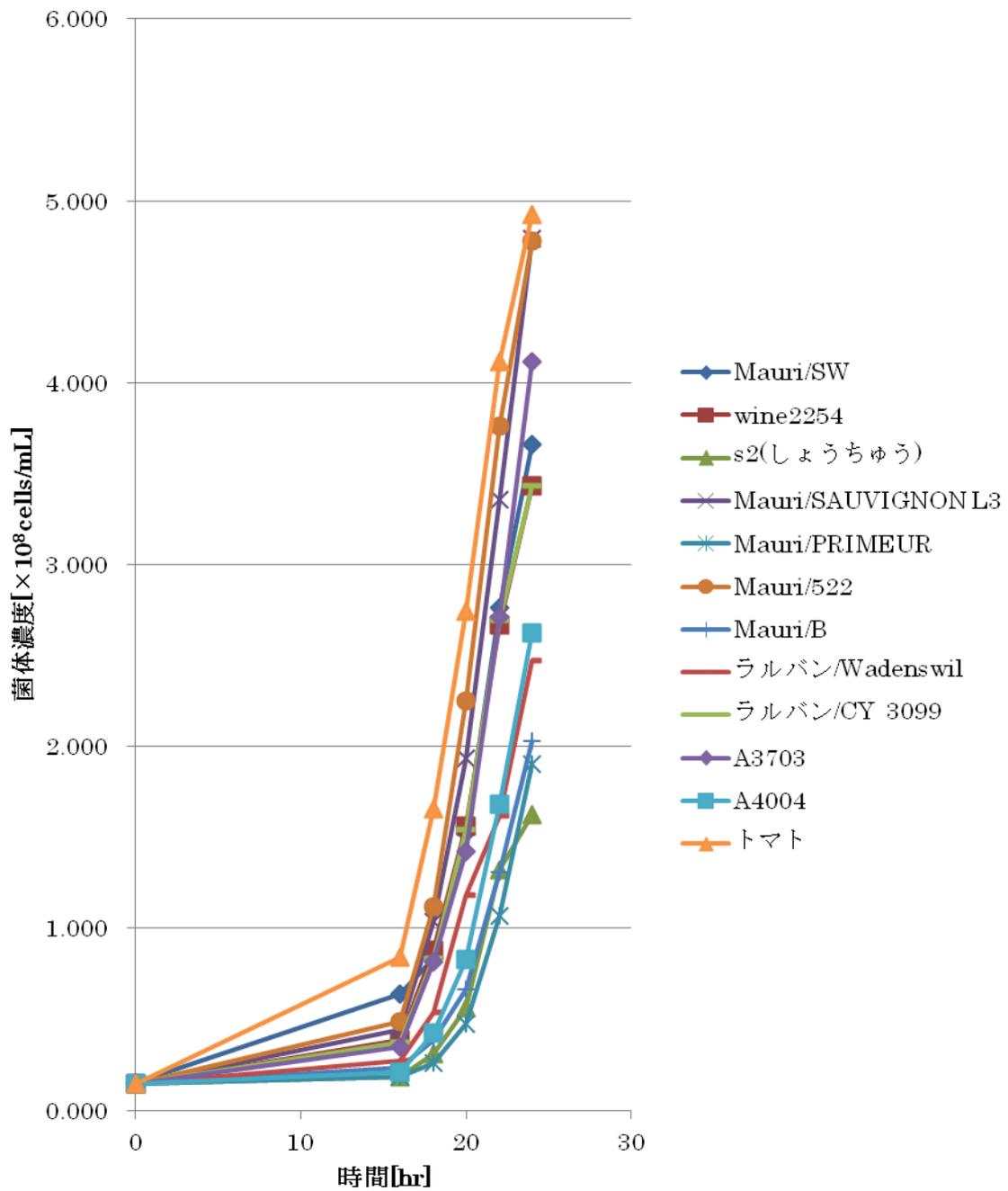


図 19 12 株に選定した時の酵母の菌体濃度

このグラフは、12 株の酵母を 24 時間培養した時の植菌直後と 16 時間後から 24 時間後まで 2 時間おきに測定した時間経過における菌体濃度を示している。

これらの結果より、スイートソルガムの搾汁で調製した培地と相性が良いものはトマト酵母と考えられる。しかしこの酵母は弘前地域研究所の所有ではなく、また広く知られておらず、産業的に適していないと判断したため、本実験ではこの酵母は用いないこととした。トマトの次に増殖が良かったものは **Mauri/SAUVIGNON L3**、続いて **Mauri/522** となった。この 2 種類の酵母の増殖はほとんど差がなかったが、途中経過をみると後者の方が時間経過における酵母の増殖が良く、ラグフェイズが短いため、アルコール発酵に用いる酵母は **Mauri/522** に決定した。

第 5 章 糖化に用いる酵素の選定

第 1 節 糖化酵素

スイートソルガムの搾汁だけではなく全草をアルコール発酵の原料とするため、デンプンやセルロースを酵素により糖化しアルコール発酵に使用できるようにする必要がある。従ってデンプンとセルロースを糖化するために、使用するアミラーゼ系酵素とセルラーゼ系酵素の選定を行った。また、キシラナーゼによる糖化も試みた。キシラナーゼはセルラーゼ系酵素と組み合わせることで、2 種類の酵素の組み合わせでありながら、セルラーゼやアミラーゼ、またペクチナーゼといった酵素 3 種類以上の組み合わせと同程度の糖化が見られた¹³⁾という結果があることから、酵素の選定の対象にした。

アミラーゼ系酵素は 2 種類、セルラーゼ系酵素は 3 種類の酵素を候補に挙げ、これらの中から 1 種類ずつ選び、そして糖化が良かったものを組み合わせて使用し選定した。アミラーゼ系酵素にはグルク SB G とスミチーム、セルラーゼ系酵素にはアサヒセルラーゼ、セルラーゼ TP5-協和、アクレモセルラーゼ KM を使用した。キシラナーゼにはキシラナーゼコンクを用いた。

第 2 節 酵素の選定¹²⁾

まず pH4.8 の 0.05 M 酢酸ナトリウム緩衝溶液を調製し、これを用いて使用する酵素が 0.5 mg/mL となるように酵素溶液を調製した。次に 4×6 セルのマイクロプレートに穂と葉、茎の搾りかすであるバガスの粉碎したものを 5 mg 量り取り、調製した酵素溶液を 1 mL 加えた。酵素の量の目安は試料の 10% である。反応前の糖度として、簡易糖度計を用いて Brix% を測定した。溶液の揮発を防ぐため、プレートの上に透明な専用のシールを貼り密閉させてフタをし、それを 50°C のインキュベーター内で 48 時間静置反応させ、反応後に再び糖度を測定した。この実験は 3 連で行い、比較のため酵素は加えない緩衝溶液のみのブランクを設けた。また簡易糖度計で測定する際には、ピペッターで 50 μ L 取り糖度の測定を行った。

初めに酵素を単独で用いてアミラーゼ系酵素 2 種類とセルラーゼ系酵素 3 種類の中からそれぞれ糖化が進んだものを選定した。このとき 2 種類のセルラーゼ系酵素において結果に差があまり出なかったため、効果の違いを見るために試料・酵素の量を 5 倍にし同じ比率で試験を行った。1.5 μ L マイクロチューブを用い、糖度を測定する際には 10000 rpm で 7 分半遠心分離機にかけ、他は同じように実験を行った。アミラーゼ系酵素については良い結果が得られなかったため、次にセルラーゼ系酵素と組み合わせた実験においてより糖化される方を用いることとした。

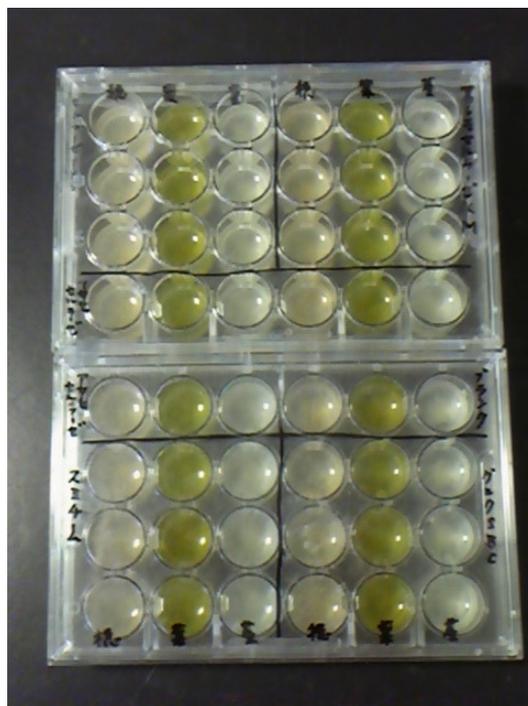


図 20 酵素 5 種類を単独で用いたときの実験

次にセルラーゼ系酵素の糖化が良かったものを1つ選定したのち2種類のアミラーゼ系酵素とそれぞれ組み合わせて糖化したときに、より効果がみられた方を使用することとした。組み合わせの実験を行うときは、加える緩衝溶液 1 mL 中にそれぞれの酵素を 0.5 mg 溶かして加えた。

最後にキシラナーゼの効果を見るため、これまで選定したアミラーゼ系酵素とセルラーゼ系酵素の組み合わせに、キシラナーゼを加えた場合とそうでない場合でマイクロチューブを用いて同じように実験を行った。

途中からグルコースキットを用いて分光光度計により O.D.505 で測定する吸光度から結果を読み取った。グルコースキットとは、グルコース CII-発色試液により発色させグルコース濃度による吸光度の差を読み取るものである。発色試液中にはムタロターゼが含まれており、その作用によりグルコースが α 型から β 型へ変換する。 β -D-グルコースはグルコースオキシダーゼ(GOD)により酸化されて、同時に過酸化水素を生成する。生成した過酸化水素は、共存するペルオキシダーゼ(POD)の作用により発色試液中のフェノールと 4-アミノアンチピリンとを定量的に酸化縮合させ、赤色の色素を生成させる。この赤色の吸光度を測定することにより、試料中のグルコース濃度が求められる¹⁴⁾。



図 21 使用した分光光度計

第3節 結果と考察

まずアミラーゼ系酵素を単独で用いたときの結果を表で示す。

表8 グルクSBGを単独で用いたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	0.5	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6
2	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	0.6
3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6

表9 スミチームを単独で用いたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4	0.6
2	0.7	0.6	0.7	0.6	0.5	0.6
3	0.4	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5

表8、9はそれぞれグルクSBGとスミチームを糖化酵素として用いたときの、酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度である。

グルクSBGを使用した場合穂において糖化が見られたが、葉や茎のバガスは糖度が上がるものが少なく変わらないものもあった。スミチームについては、グルクSBGと同様に穂において糖化がみられた。また茎では僅かに糖化した

ことが分かる。しかし葉では糖度の上昇は観察されなかった。

アミラーゼ系酵素に関してはこの実験のみではどちらを使用するか判断をしかねるため、選定したセルラーゼ系酵素と組み合わせて使用したときによく糖化された方を用いることにした。

次にセルラーゼ系酵素を単独で用いたときの結果を表で示す。

表 10 アサヒセルラーゼを単独で用いたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	0.5	0.7	0.6	0.7	0.5	0.7
2	0.4	0.7	0.5	0.7	0.6	0.8
3	0.4	0.6	0.5	0.7	0.6	0.6

表 11 セルラーゼ TP-協和を単独で用いたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	0.4	0.6	0.5	0.6	0.7	0.7
2	0.5	0.7	0.6	0.6	0.5	0.7
3	0.4	0.7	0.5	0.6	0.5	0.7

表 12 アクレモセルラーゼ KM を単独で用いたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度

試料	穂		葉		茎 (バガス)	
	加酵素後 [%]	糖化後 [%]	加酵素後 [%]	糖化後 [%]	加酵素後 [%]	糖化後 [%]
1	0.4	0.6	0.6	0.7	0.6	0.8
2	0.4	0.7	0.6	0.7	0.5	0.8
3	0.5	0.7	0.5	0.7	0.6	0.7

表 10、11、12 はそれぞれアサヒセルラーゼとセルラーゼ TP、アクレモセルラーゼ KM を糖化酵素として使用したときの、酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度である。

セルラーゼ系酵素の選定では 3 種類の酵素を使用した。穂については全ての酵素において反応の前と後で糖度が高くなり、同じくらいに糖化された。葉に関してはアサヒセルラーゼとアクレモセルラーゼ KM がセルラーゼ TP-協和よりも糖化の効果が見られた。茎においてはアサヒセルラーゼとセルラーゼ TP-協和では同じような糖度の増加となり、アクレモセルラーゼ KM が最も糖化されたと考えられる。これらの結果からセルラーゼ TP-協和が他の 2 つとは劣り使用する酵素からは除外されるが、アサヒセルラーゼとアクレモセルラーゼ KM のどちらを用いるかはこの結果からは判断が難しいと考えたため、試料と酵素の量を同じ比率で 5 倍にし、より精密な結果を得るために実験を試みた。その結果を次の表に示す。

表 13 試料と酵素の量を 5 倍にしたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度 (アサヒセルラーゼ)

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	4.8	7.7	6.2	8.8	9.1	10.6
2	4.8	6.7	6.2	9.3	9.5	11.2
3	4.9	6.4	6.9	9.7	10.0	11.4

表 14 試料と酵素の量を 5 倍にしたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度 (アクレモセルラーゼ KM)

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]	加酵素後[%]	糖化後[%]
1	4.6	7.5	6.1	9.2	9.7	11.2
2	4.6	7.0	6.1	9.8	9.7	11.3
3	4.6	7.6	5.7	9.5	9.3	11.5

表 13、14 はアサヒセルラーゼとアクレモセルラーゼ KM の糖化酵素を用いて、試料と酵素の量を同じ比率で量を 5 倍にしたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後の簡易糖度計による糖度である。

その結果、葉と茎においてアクレモセルラーゼ KM の方がより糖化されたと考えられる。よって使用するセルラーゼ系酵素はアクレモセルラーゼ KM とした。

セルラーゼ系酵素を選定したことにより、このセルラーゼとアミラーゼ系酵素を組み合わせたときに糖化が進んだ方をアミラーゼ系酵素として選定することにした。実験ではマイクロチューブを用いて同じように行い、アクレモセルラーゼ KM のみの場合、アクレモセルラーゼ KM とスミチームを組み合わせた

場合、アクレモセルラーゼ KM とグルク SB G を組み合わせた場合を用意した。反応前後の変化をより細かく見るため、ここからはグルコーステストワコーにより O.D.505 にける吸光度を用いて結果を得た。次の表にその結果を示す。

表 15 アクレモセルラーゼ KM のみの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後における吸光度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後
1	0.052	0.449	0.092	0.317	0.130	0.389
2	0.054	0.452	0.103	0.314	0.136	0.400
3	0.060	0.447	0.095	0.297	0.139	0.419
平均	0.055	0.449	0.097	0.309	0.135	0.403
吸光度の差	0.394		0.213		0.268	

表 16 アクレモセルラーゼ KM とスミチームを組み合わせたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後における吸光度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後
1	0.210	0.602	0.194	0.407	0.261	0.560
2	0.229	0.565	0.193	0.404	0.278	0.503
3	0.242	0.593	0.193	0.416	0.255	0.511
平均	0.227	0.587	0.193	0.409	0.265	0.525
吸光度の差	0.360		0.216		0.260	

表 17 アクレモセルラーゼ KM とグルク SB G を組み合わせたときの酵素を加えた後(加酵素後)と糖化後における吸光度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後
1	0.269	0.604	0.204	0.442	0.272	0.564
2	0.282	0.654	0.195	0.404	0.261	0.551
3	0.282	0.608	0.213	0.448	0.258	0.529
平均	0.278	0.622	0.204	0.431	0.264	0.548
吸光度の差	0.344		0.227		0.284	

表 15、16、17 はアクレモセルラーゼ KM のみの場合とアクレモセルラーゼ KM にアミラーゼ系酵素であるスミチームを加えた場合、グルク SB G を加えた場合の、酵素を加えた直後(加酵素後)と糖化後の O.D.505 における吸光度の値とその平均の差を示している。

まず穂においては酵素を加えた直後と糖化後の吸光度の差がアクレモセルラーゼ KM のみが 0.394、スミチームとの場合が 0.360、グルク SB G との場合が 0.344 という変化となった。アクレモセルラーゼ KM のみの場合は、アクレモセルラーゼ KM にアミラーゼ系酵素の効果と比較するために用意したが、今回の実験ではアミラーゼ系酵素を加えた他の 2 種類と比較して、糖化前に測定した吸光度が低く、他の 2 種類は既に高くなっている。これはアミラーゼ系酵素を加えた場合において、酵素を加えてから吸光度を測定するまでに糖化が始まっていたためと考えられる。このような差があり、またアミラーゼ系酵素も加えた方が理論的には糖化が進むと考えるため、結果を比較するときは、アクレモセルラーゼ KM のみの場合は他の 2 つの場合の比較の対象から外した。よってアミラーゼ系酵素 2 種類の結果について着目すると、この場合はスミチームとの組み合わせの方がより糖化されたと分かる。次に葉に関してはスミチーム

との場合が 0.216、グルク SBC との場合が 0.227 の吸光度の増加となった。この場合の差はわずかではあるが、グルク SB G との場合がより糖化されたと言える。最後に葉について酵素を加えた後と糖化後の吸光度の差はスミチームとの場合が 0.260、グルク SB G との場合が 0.284 となった。よってグルク SB G との組み合わせがより糖化されたと言える。

これらの結果から、総合的にアクレモセルラーゼ KM とグルク SB G の組み合わせが最も糖化されたと考察できる。従ってアクレモセルラーゼ KM と組み合わせで使用するアミラーゼ系酵素は、グルク SB G とした。

次に、この組み合わせに対してさらにキシラナーゼを加えた場合とそうでない場合の実験を同時に行った結果を以下に表で示す。

表 18 アミラーゼとセルラーゼにキシラナーゼを加えたときの酵素を加えた後(加酵素後)と反応後における吸光度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後
1	0.254	0.569	0.167	0.429	0.216	0.506
2	0.270	0.606	0.189	0.442	0.233	0.515
3	0.261	0.584	0.193	0.463	0.239	0.536
平均	0.262	0.586	0.183	0.445	0.229	0.519
吸光度の差	0.325		0.262		0.290	

表 19 キシラナーゼを加えずアミラーゼとセルラーゼのみのときの酵素を加えた後(加酵素後)と反応後における吸光度

試料	穂		葉		茎(バガス)	
	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後	加酵素後	糖化後
1	0.226	0.618	0.165	0.418	0.208	0.484
2	0.206	0.574	0.162	0.403	0.198	0.497
3	0.214	0.578	0.164	0.397	0.209	0.518
平均	0.215	0.590	0.164	0.406	0.205	0.500
吸光度の差	0.375		0.242		0.295	

表 18、19 はアクレモセルラーゼ KM とグルク SB G の酵素の組み合わせにキシラナーゼ コンクを加えた場合と加えない場合の、酵素を加えた直後(加酵素後)と糖化後の O.D.505 における吸光度の値とその平均の差を示している。

初めに穂においてはキシラナーゼを加えた場合の糖化後の吸光度は 0.325、加えない場合は 0.375 となり、加えない場合の方が糖化は進んだと考えられる。次に葉については加えた場合が 0.262、加えない場合が 0.242 という結果になり、加えた場合の方がわずかに大きく糖化された。そして茎に関しては加えた場合が 0.290、加えない場合が 0.295 となった。これらの結果から、キシラナーゼを加えた場合とそうでない場合とではあまり大きな差は生じなかったと考えられる。別な試料を用いた先行実験ではこれよりも良い結果が得られており、今回の実験ではそれに及ぶほどではない。またこのわずかな効果を求めてキシラナーゼを加えたところで、糖化におけるコストが大きくなるだけであると考ええる。キシラナーゼは加えずに糖化を行うこととした。

以上より、本実験で糖化に使用する酵素は、アミラーゼ系酵素はグルク SB G、セルラーゼ系酵素はアクレモセルラーゼ KM の 2 種類の酵素を選定した。

第 6 章 スイートソルガムを用いたアルコール発酵

第 1 節 原料と方法 ¹²⁾

アルコール発酵に用いるスイートソルガムは、前年度に栽培した結果から糖収量が高いものを選び、高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴー、甘味ソルゴー、スーパーシュガーソルゴーの 4 品種のスイートソルガムを対象として、これらの品種を栽培し実験に用いた。栽培期間は 2012 年 5 月から 10 月の 5 ヶ月間であり、弘前大学所有の千年農場で行った。その過程では移植等もあり正確ではないが、畝幅 1 m、株間 20 cm で各品種を 18 m の畝に 3 畝ずつ栽培した ¹⁵⁾。単位面積当たりの栽植数は 1 m² 当たり 5 本、1 ha 当たり 5000 本となる。肥料については 1 畝に 1.8 kg 播き、1 m² 当たり窒素とリン、カリウムがそれぞれ 15 g となるように与えた ¹⁵⁾。収穫時の大きさは 2~3 m であった。本実験ではスイートソルガム全草を用いる場合と搾汁を用いる場合で発酵の試験を行うため、スイートソルガム全草の試験には各種 2 本ずつ、搾汁は各種 1 kg 程度試料を用意した。

スイートソルガム全草を用いて発酵させるために、カッターミキサーを用いて穂や葉、茎を全て混ぜて細かく粉碎した。そのうち実験に使う分を適量、チャック付きのビニール袋に入れ冷凍保存し、残りは大きなビニール袋に入れ約 1℃の冷蔵庫で保存した。



図 22 使用したカッターミキサー



図 23 粉碎前の試料



図 24 粉碎後の試料

搾汁はスイートソルガムから絞ったあとジップロックに入れ、その日のうちに冷凍保存した。

全草および搾汁を実験に用いる際は冷凍した試料を解凍して用いた。

アルコール発酵の原料として検討する上で、それぞれ大きさや糖度が違うためその成分組成を調べる必要があると考える。よって収穫した4種類のスイートソルガム全草を前処理した後、まずは3章と同じ方法で成分組成の分析を行った。またスイートソルガム全草だけではなく搾汁も発酵試験に用いるため、品種別における糖の成分組成を分析した。この章で使用した液体クロマトグラフィーは3章で用いた時と機器、測定条件ともに同じである。搾汁は冷凍保存していたものを解かして使用した。

搾汁の糖組成分析では、まず2 mLのマイクロチューブを用いて搾汁20 μ Lを水で100倍希釈し、5000 rpmで5分間遠心分離した。その上清を2.5 mLのシリンジに移してフィルター孔径0.45 μ mのメンブランフィルターを装着し、2 mLマイクロチューブへ濾過し入れた。1 mL以上の濾液を得たら液体クロマトグラフィーにより分析し糖組成を得た。

さらにスイートソルガム全草を粉碎した試料に含まれる糖について分析した。試料0.80 mgを40 mLのホモジナイザーに入れ水を加え、糖質を十分に抽出した。それを濾過して20 μ L取り、搾汁と同様に100倍希釈して遠心分離器

にかけ、上澄みをシリンジにて濾過し液体クロマトグラフィーで分析を行った。

次に使用する酵母の培養を行った。200 mL 三角フラスコに 4 種類の搾汁をそれぞれ 100 mL 入れ、シリコン栓でフタをしアルミ箔で覆いオートクレーブにて滅菌した。そしてスラントに培養されている Mauri/522 の酵母をクリーンベンチ内で搾汁へ溶かし移植して、30°C 137rpm で 94 時間振とう培養した。培養した酵母は約 2°C の冷蔵庫で保存した。

この培養した酵母を用いて、まずはスイートソルガム全草を用いた発酵試験を行った。100 mL 三角フラスコに各種試料を 50 g 入れ、同量の水を加えてオートクレーブし滅菌した。また糖化のため前章に従い選定した酵素を試料の 0.05% 量となるように加え、発酵と同時に糖化が行われるようにした。酵素は水 10 mL にアクレモセルラーゼ KM とグルク SB G をそれぞれ 0.025 g 溶かしたものであり、これを加えることで試料が水に少し浸る程度とした。それに培養していた酵母を品種別に 1 mL 加え、三角フラスコの口に発酵管を着けた。この発酵管は中にオートクレーブしたグリセリンが入っており、発酵に伴って発生する二酸化炭素は抜けていくが、三角フラスコ内で蒸発する水分はグリセリンにより留められるようになっている。そして三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量を量った後、30°C の室温で静置反応させた。反応が進み次第適宜同じ時間帯に質量を量り、二酸化炭素が抜けていくことによる全体の質量



図 25 本体の発酵試験の様子



図 26 搾汁の発酵試験の様子

の減少を見て発酵の様子を観察した。高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴーでは発酵から 2 日目に吹きこぼれていたのが確認されたため、試料量を 20 g に減らし、加える水は 20 g、酵素剤は水 4 mL にそれぞれ 0.01 g 溶かしたもの、酵母は前回と同様に 1 mL 加えて再び発酵を始めた。今回は糖化の実験も行っているためしばらく発酵させ、甘味ソルゴーとスーパーシュガーソルゴーは 30 日で発酵を終了し、高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴーは先の 2 品種に合わせ 22 日目で発酵を終了とした。

次に搾汁の発酵について述べる。100 mL 三角フラスコに搾汁を 40 mL 入れ、それぞれの酵母を 1 mL 加えて発酵管を着け、全体の質量を量ったあと 30°C の室温で静置反応させた。全草試料の場合と同様に適宜質量を量り観察を行った。これらの実験は本体、搾汁ともに 3 連で行った。

全草と搾汁の発酵終了後、蒸留法により蒸留を行った。まずは本体の蒸留である。発酵後の試料を全量、専用の容器に移し、試料が 20 g のときは 40 mL、試料が 50 g のときは 100 mL 加水し、蒸留装置に設置して加熱を始める。試料が焦げ付かないよう熱の強さに注意しながら沸騰させ、アルコールを蒸留する。蒸留液を受け取るメスシリンダーに、試料が 20 g の場合は 30 mL 程度、50 g の場合は 70 mL 程度の蒸留液を得たら加熱をやめ、冷却管を少量の水で共洗い



図 27 蒸留装置

した後メスシリンダーを取り出した。蒸留液の量の目安としては、試料量の 7 割程度の蒸留液を得られると生成したアルコールがほとんど出尽くす¹⁶⁾ということに基づき、念のため多く見積もりそれ以上の蒸留液を得ることとした。試料が 20 g の場合は、そのまま密度比重計によりアルコール度数の測定を行った。この測定では 15°C のもとにおける酒精と水との混合液中の酒精の体積百分率を比重により求めアルコール濃度を測定している¹⁶⁾。50 g の場合は 70 mL 得た蒸留液に水を足し 100 mL とし、メスシリンダーの口をラップして手で押しさえよく混ぜた後、アルコールの測定を始めた。このようにして、蒸留液中のアルコール度数を求めることで、試料 1 g 当たりから得られるエタノール量を算出し、スイートソルガムの全草 1 t 当たりのエタノール収量を試算した。

また蒸留が終わったあとの残渣は濾紙などで軽く水分を除きペトリ皿に移し、105°C のオーブンで 2 時間乾燥させ乾物とし、発酵後の試料の乾物重量を得た。

搾汁も同じ方法で蒸留し、アルコール濃度の測定を行った。発酵させた液を共洗いを含めて専用の容器に移し、それ以上の水は加えずに過熱を始めた。メスシリンダーに蒸留液を 28 mL 以上得たら過熱をやめ、冷却管を少量の水で共洗いし取り出した。そして水を加えて 40 mL にし、液をよく混ぜた後アルコール度数の測定を行い、搾汁 1 mL 当たりから得られるエタノール量を算出した。



図 28 アルコール測定器(密度比重計)

第 2 節 結果

スイートソルガムを栽培した結果、高糖分ソルゴーについては、1 本当たり平均して 2.4 kg とすると 1 ha につき 12 t 収穫できたと試算された。

次にスイートソルガム 4 品種を搾汁した結果について示す。

表 20 搾汁を得るために処理したスイートソルガムの品種別重量と搾汁量、搾汁率および簡易糖度計による Brix 糖度

品種	全草の質量[kg]	うち搾汁[kg]	搾汁率[%]	糖度[%]
高糖分ソルゴー	5.16	1.10	21.3	15.6
ビッグシュガーソルゴー	5.06	0.78	15.4	10.2
甘味ソルゴー	4.48	1.12	25.0	15.4
スーパーシュガーソルゴー	3.70	0.94	25.4	14.3

表 20 はスイートソルガムを搾汁したときに使用した全草の量、そこから得られた搾汁の量、全草から得られた搾汁の量を重量比で示した搾汁率、簡易糖度計により測定した糖度を品種別に示したものである。ビッグシュガーソルゴーの搾汁率と糖度が他の 3 品種と比較して低い値となり、他 3 品種では搾汁率、糖度ともに大きな差ではなかった。

次のページに、品種別にスイートソルガム全草の成分組成分析を行った結果をグラフと表で示す。ここではアルコール発酵に重要な成分である糖類を含む水に可溶性成分をデンプン、グルコースの固形成分中における含有率を示す。

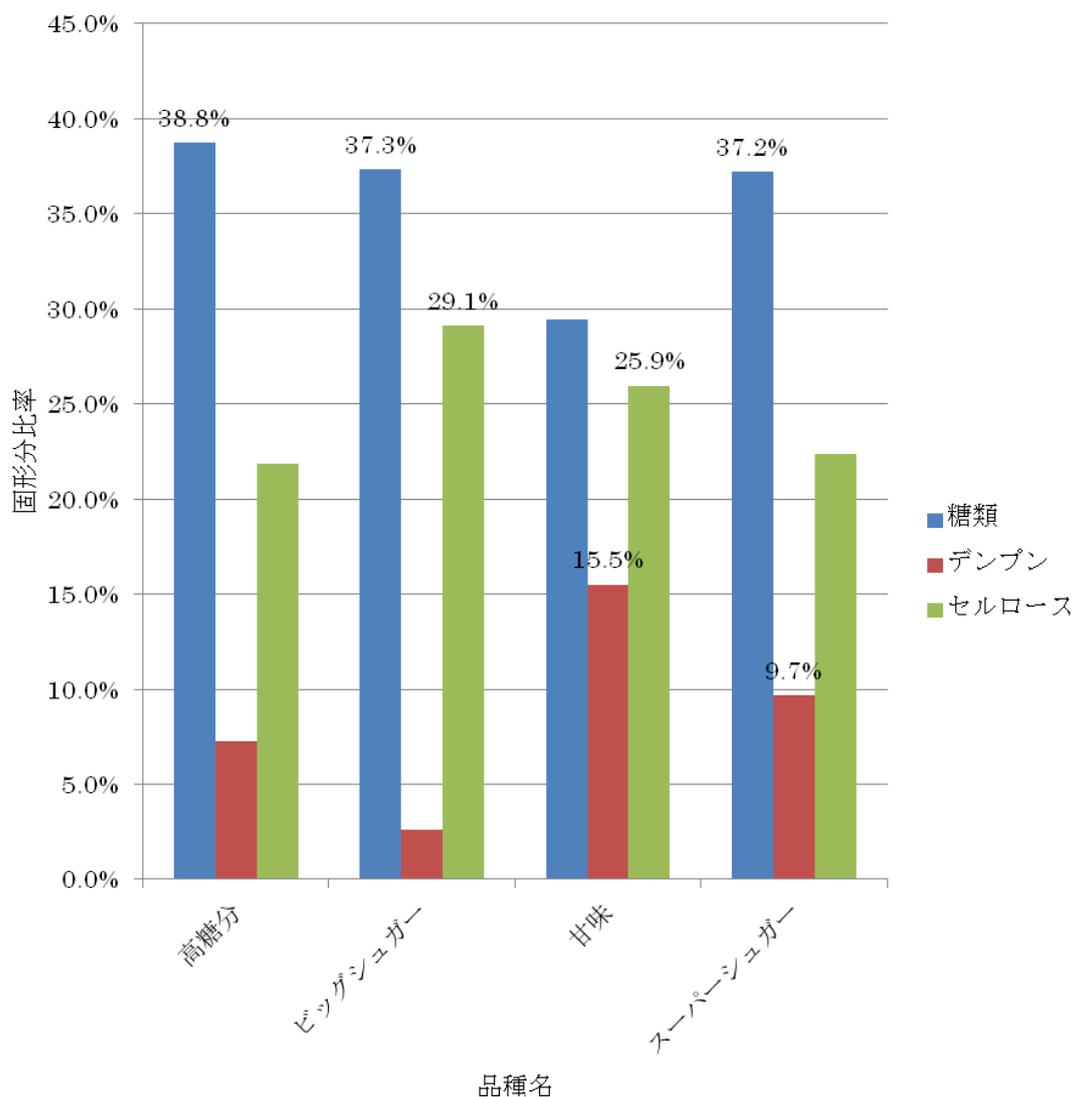


図 29 品種別における糖類とデンプン、セルロースの含有率

表 21 品種別における糖類とデンプン、セルロースの含有率とその合計

品種	糖類 [%]	デンプン [%]	セルロース [%]	合計 [%]
高糖分	38.8	7.3	21.9	67.9
ビッグシュガー	37.3	2.6	29.1	69.0
甘味	29.4	15.5	25.9	70.9
スーパーシュガー	37.2	9.7	22.4	69.3

図 29 と表 21 は品種別に分析したスイートソルガム全草の固形成分中における糖類・水可溶性ヘミセルロースなどの水に可溶性成分とデンプン、セルロースの含有率を示している。その結果、全ての品種において 7 割近くがそれらの成分を含んでいると考えられる。糖類は 4 品種全てに多く含まれており、高糖分ソルゴーが最も多く 38.8%であった。デンプンに関しては甘味ソルゴーが著しく高く 15.5%含んでいた。セルロースは糖類と同様 4 品種全て高い傾向にあり、ビッグシュガーソルゴーが 29.1%と多く占めていた。

次に液体クロマトグラフィーにより搾汁の糖組成を分析した結果について示す。

表 22 品種別におけるスイートソルガム搾汁 1 L 中の糖組成と糖度

品種	Glu[g]	Fru[g]	Suc[g]	合計[g]	糖度[%]
高糖分ソルゴー	17.2	15.6	45.5	78.3	15.6
ビッグシュガーソルゴー	16.0	15.6	36.5	68.1	10.9
甘味ソルゴー	15.4	14.4	49.8	79.6	15.5
スーパーシュガーソルゴー	14.5	13.1	46.7	74.3	14.1

この表は高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴー、甘味ソルゴー、スーパーシュガーソルゴーの搾汁 1 L 当たりに含まれるグルコースとフルクトース、スクロースの量とその合計、品種別の糖度を示している。

糖度 15.6%であるならば 3 種類の糖の合計量が 156 g/L となるはずであるが、ここでは一致しないのは、デンプンなど他の成分が含まれている場合はそれが影響してしまうためと推測される。よって搾汁の固形分の成分分析も行うことが必要と考えられる。

次に液体クロマトグラフィーにより全草を粉砕した試料の糖組成を分析した結果について示す。

表 23 スイートソルガム全草粉末試料の品種別における 1 g 当たりの糖組成

品種	Glu[mg]	Fru[mg]	Suc[mg]	合計[mg]
高糖分ソルゴー	45.1	37.0	111.8	194.0
ビッグシュガーソルゴー	19.7	16.4	41.8	77.9
甘味ソルゴー	31.9	27.0	18.6	77.4
スーパーシュガーソルゴー	33.1	26.8	38.9	98.9

*校正液の濃度に誤差があったため換算した数値

この表は高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴー、甘味ソルゴー、スーパーシュガーソルゴーの全草を粉砕した試料 1 g に含まれるグルコースとフルクトース、スクロースの量とその合計を示している。

搾汁の糖組成は全ての品種においてスクロースが多く含まれており、ビッグシュガーソルゴーのみ少し値が小さかった。簡易糖度計による Brix% に対して糖組成の分析による糖量の合計は一致しなかったが、これは搾汁にデンプンが含まれるとしたらその影響を受けたものと考えられる。

スイートソルガム全草の結果は、校正に用いた標準液の濃度に誤差があったため、得られた値を換算して得た糖組成である。この結果を見ると、スイートソルガム全草に含まれる糖組成は高糖分ソルゴーが他と大きく差をつけて糖を含んでいた。甘味ソルゴーにおいてはスクロースの含有率が他の 3 品種と比べて少ない傾向にあった。

次にアルコール発酵を行った結果を以下の図と表に示す。まずは高糖分ソルゴー全草をアルコール発酵させたときの結果である

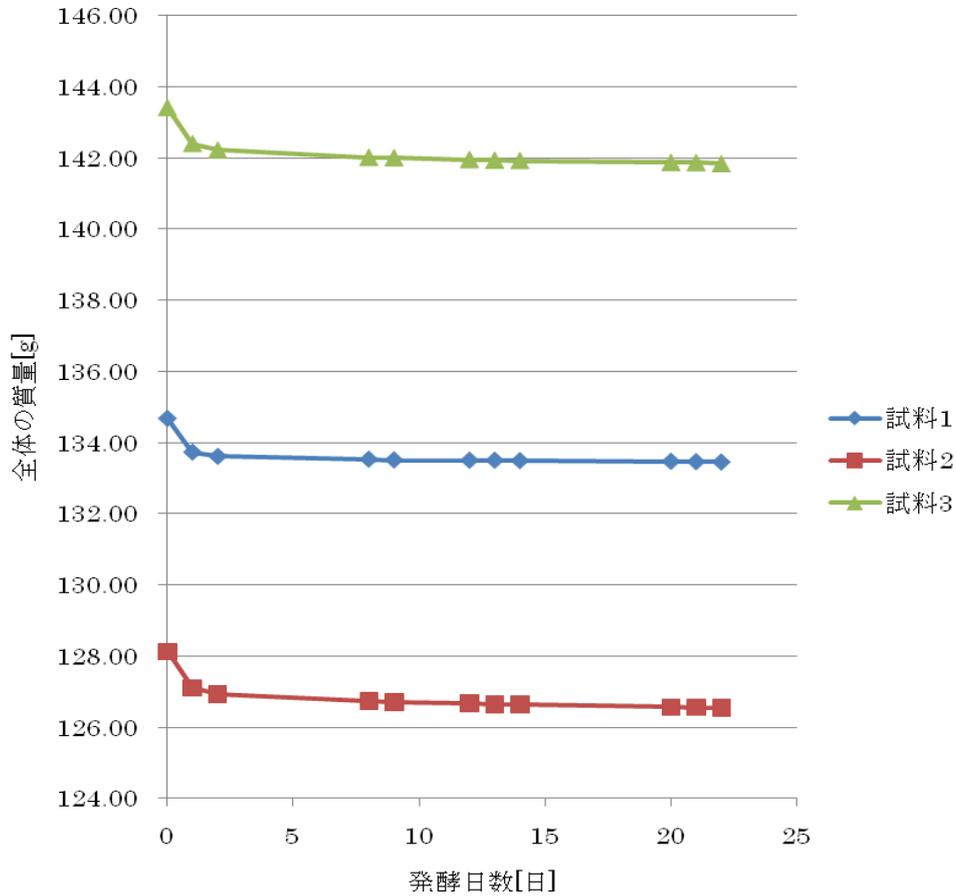


図 30 高糖分ソルゴー全草の発酵日数における質量の変化

図 30 は高糖分ソルゴーの全草試料を発酵させたときの、二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

高糖分ソルゴーは発酵を開始してから 2 日目まで質量が著しく減少したが、それ以降はあまり変化が見られなかった。また初め試料 50 g で発酵させたところ吹きこぼれてしまい 20 g に減らして再度発酵を始めたため、試料 50 g で発酵させた品種よりも発酵開始から数日後の質量の変化は少なく、試料量に伴って発酵が進んだように考えられる。

表 24 高糖分ソルゴー全草を発酵させたときのエタノールの収量

試料	蒸留液[mL]	度数[%]	EtOH[mL]	収量[mL/g]	収量[L/t]
1	32.3	4.96	1.60	0.0801	80.1
2	34.0	4.79	1.63	0.0814	81.4
3	36.1	4.45	1.61	0.0803	80.3

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量 : 80.6 L

表 24 は高糖分ソルゴー全草 20 g を発酵させたときの、各発酵液を蒸留し得られた蒸留液の量とアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 g から算出されるエタノール収量、それを試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

高糖分ソルゴーの全草 20 g をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 1.6 mL 程度となり、全草試料 1 t から得られる平均収量は 80.6 L となった。

次にビッグシュガーソルゴ全草を発酵させたときの結果を示す。

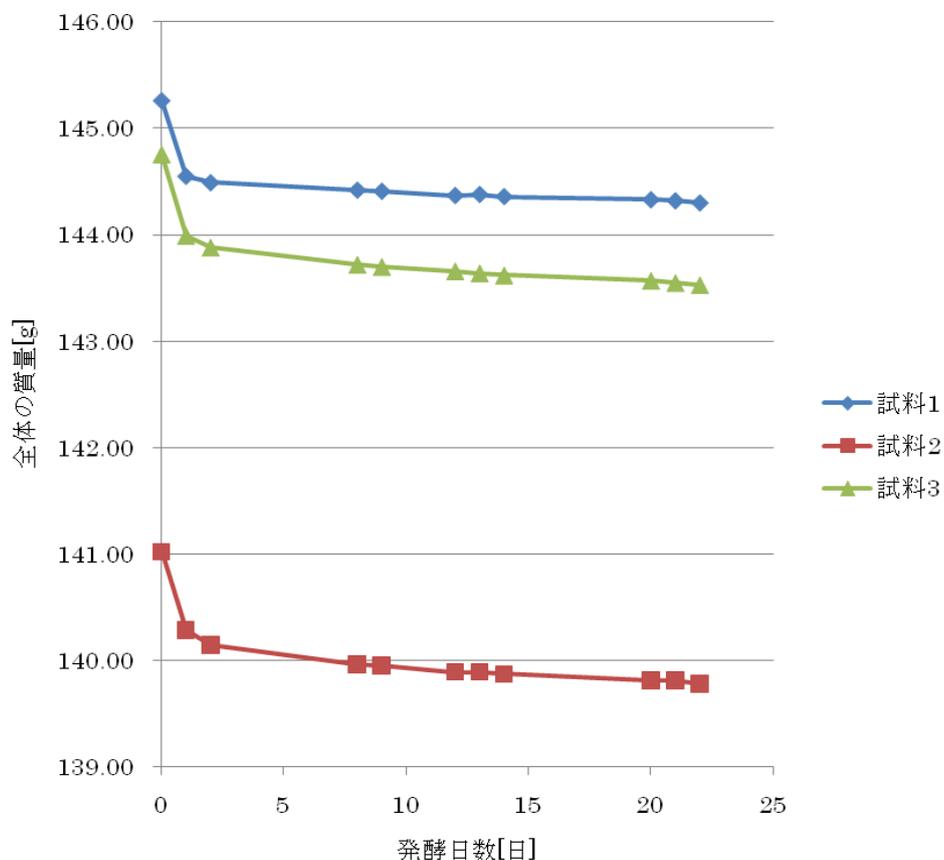


図 31 ビッグシュガーソルゴ全草の発酵日数における質量の変化

図 31 はビッグシュガーソルゴの全草試料を発酵させたときの、二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、高糖分ソルゴと同様に三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

高糖分ソルゴと同様にビッグシュガーソルゴの場合も発酵を開始してから 2 日目まで質量は著しく減少したが、それ以降は高糖分ソルゴよりも質量の減少が見られた。この品種も初め試料 50 g で発酵させたところ吹きこぼれてしまったため 20 g に減らして再度発酵を開始し、試料 50 g で発酵させた品種よりも発酵開始から数日後の質量の変化は少なく、試料量に伴った発酵が進んだように思われる。

表 25 ビッグシュガーソルゴ全草を発酵させたときの試料量に対するエタノールの収量

試料	蒸留液[mL]	度数[%]	EtOH[mL]	収量[mL/g]	収量[L/t]
1	37.0	2.96	1.10	0.0548	54.8
2	36.0	2.93	1.05	0.0527	52.7
3	35.0	3.02	1.06	0.0529	52.9

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：53.5 L

この表はビッグシュガーソルゴ全草 20 g を発酵させたときの、各発酵液を蒸留し得られた蒸留液の量とアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 g から算出されるエタノール収量、それを試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

ビッグシュガーソルゴの全草 20 g をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 1.1 mL 程度となり、全草試料 1 t から得られる平均収量は 53.5 L となった。

次に甘味ソルゴー全草を発酵させたときの結果を示す。

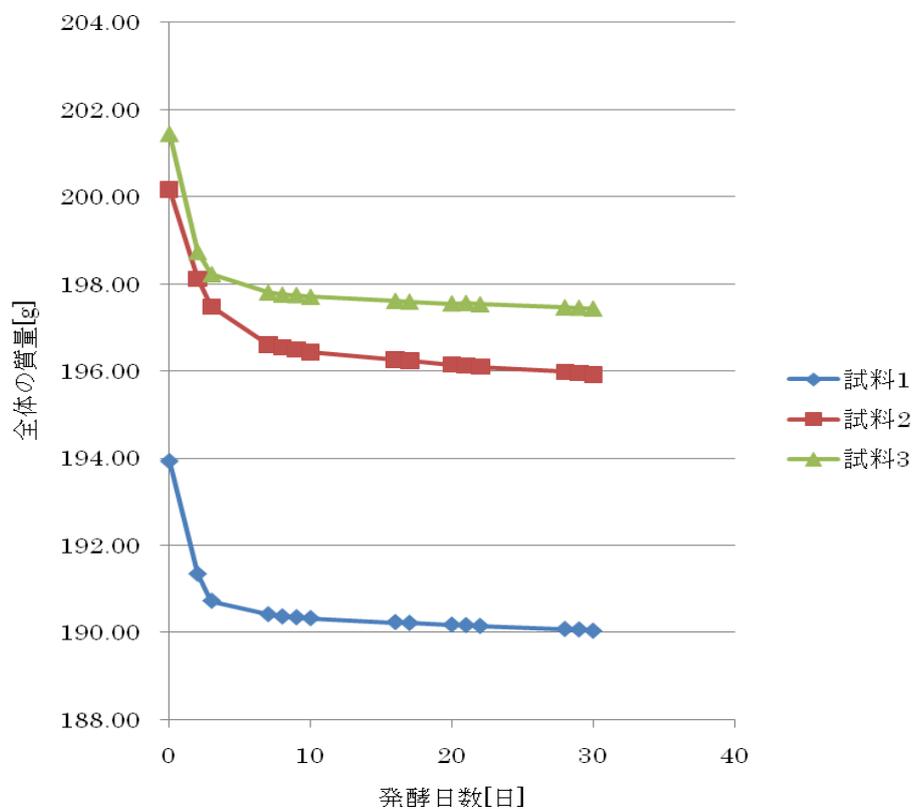


図 32 甘味ソルゴー本体の発酵日数における質量の変化

図 32 は甘味ソルゴーの全草試料を発酵させたときの、二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、前者と同様に三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

甘味ソルゴーの場合は試料 50 g で発酵させたため、発酵を開始してから 3 日目までの質量は著しく減少した。また 3 日目から 7 日目までも緩やかに質量は減少し、それ以降は変化があまり見られなくなった。

表 26 甘味ソルゴー全草を発酵させたときの試料量に対するエタノールの収量(蒸留液を 100 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH[mL]	収量[mL/g]	収量[L/t]
1	3.70	3.70	0.0740	74.0
2	3.79	3.79	0.0758	75.8
3	3.73	3.73	0.0746	74.6

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量 : 74.8 L

表 26 は甘味ソルゴー全草 50 g を発酵させたときのアルコール度数とその液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 g から算出されるエタノール収量、それを試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

甘味ソルゴーの全草 50 g をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 3.7 mL 程度となり、全草試料 1 t から得られる平均収量は 74.8 L となった。

次にスーパーシュガーソルゴ全草を発酵させたときの結果を示す。

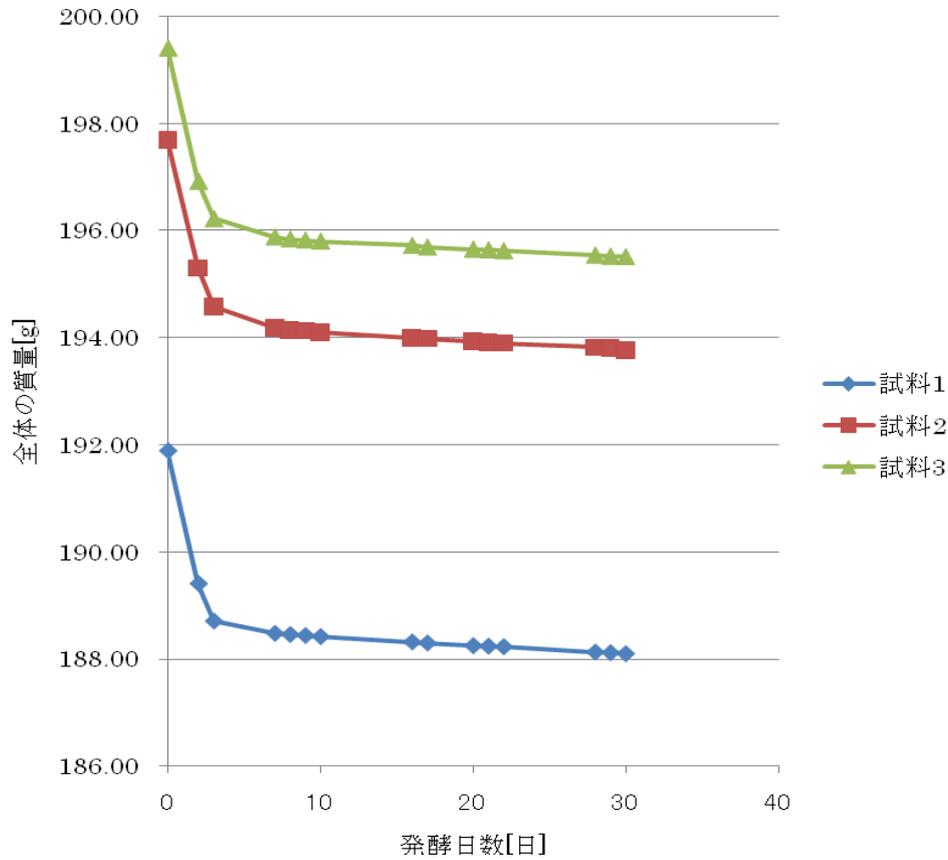


図 33 スーパーシュガーソルゴ本体の発酵日数における質量の変化

図 33 はスーパーシュガーソルゴの全草試料を発酵させたときの、二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、前者と同様に三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

スーパーシュガーソルゴの場合は甘味ソルゴと同様に試料 50 g で発酵させたため、発酵を開始してから 3 日目までの質量は著しく減少した。また 3 日目から 7 日目までも緩やかに質量は減少し、それ以降は変化があまり見られない結果となった。

表 27 スーパーシュガーソルゴ全草を発酵させたときの試料量に対するエタノールの収量(蒸留液を 100 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH[mL]	収量[mL/g]	収量[L/t]
1	4.14	4.14	0.0828	82.8
2	4.37	4.37	0.0874	87.4
3	4.26	4.26	0.0852	85.2

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：85.1 L

この表はスーパーシュガーソルゴ全草 50 g を発酵させたときのアルコール度数とその液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 g から算出されるエタノール収量、それを試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

スーパーシュガーソルゴの全草 50 g をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 4.2 mL 程度となり、全草試料 1 t から得られる平均収量は 85.1 L となった。

次にスイートソルガムの各品種別におけるエタノールの収率を求めた結果を表に示す。

表 28 品種別におけるエタノールの理論値と実際の収量から求められた収率

品種	発酵前固形分量 [g]	糖+デンプン+セルロース [g]	EtOH 理論値 [mL]	EtOH 収量 [mL]	収率 [%]
高糖分	5.8	5.6	3.8	1.6	42.8
ビッグシュガー	5.5	3.3	2.3	1.1	46.8
甘味	15.4	10.3	7.2	3.7	52.3
スーパーシュガー	15.0	9.7	6.7	4.3	63.5

*高糖分とビッグシュガーは発酵前の試料量が 20 g、甘味とスーパーシュガーは 50 g である。

表 28 は成分組成分析を基にした、品種別における発酵に用いた試料中の発酵前の固形分量、糖とデンプン、セルロースの合計量、それから算出されるエタノールの理論値、実際のエタノールの収量、その収率を表しており、3 連で行った発酵の実験結果の平均を取っている。高糖分ソルゴーとビッグシュガーソルゴーでは試料量は 20 g、甘味ソルゴーとスーパーシュガーソルゴーでは試料量は 50 g で発酵を行った。表中の糖量は糖組成を求めたときの値を用いた。デンプンとセルロースは糖化され重量比が 1.1 倍となり、その量と糖量との合計の重量比で 0.51 倍がエタノールになるとしてエタノールの理論値を算出した。そして理論値に対する実験で得られたエタノールの収量から収率を求めた。その結果品種別に約 43%~64%という収率となり、品種ではスーパーシュガーソルゴーが最も収率が良い結果となった。

次に発酵後の残渣を処理した結果を示す。

表 29 品種別における発酵後の残渣量と固形分の減少量から求められた固形分の分解率

品種	残渣乾物量 [g]	発酵前固形 分量[g]	実測減量[g]	実測固形分 分解率[%]
高糖分	2.3	5.8	3.5	62.9
ビッグシュガー	2.9	5.5	2.6	77.8
甘味	6.2	15.4	9.2	89.5
スーパーシュガー	6.6	15.0	8.4	85.8

*高糖分とビッグシュガーは発酵前の試料量が 20 g、甘味とスーパーシュガーは 50 g である。

表 29 は品種別における発酵後の残渣を乾燥させたときの乾物量、それを発酵前の固形分重量と比較したときの固形分の減少量、固形分のうちどの程度減少したかを割合で示した分解率を示している。

発酵後の残渣量と発酵前の試料中の固形分重量との差は、発酵させているときに分解された固形分量と考えられる。分解される成分は、アミラーゼとセルラーゼの酵素を加えているためデンプンとセルラーゼのように思われる。また糖類はアルコール発酵に用いられるため、発酵後はエタノールと二酸化炭素に変化したとすると、発酵から蒸留の過程を通して発酵前の試料中からはなくなっていると推測される。よって発酵前の固形分重量と発酵後の残渣の乾物量の差は、発酵に用いられた糖とデンプン、セルロースの量と考えられる。以上を考慮し試料中の固形分のうちどの程度分解されたかを分解率として算出すると、品種別に約 63%~90%となり、品種別では甘味ソルゴーが最も分解されたと考えられる。

次に搾汁を発酵させアルコールを得たときの結果を示す。まずは高糖分ソルゴの搾汁をアルコール発酵させた場合の結果である。

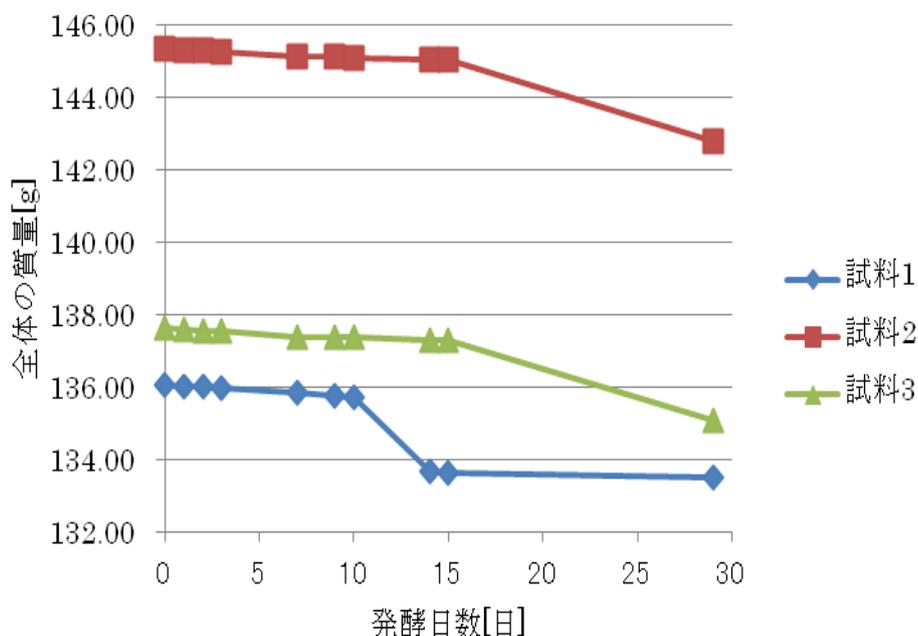


図 34 高糖分ソルゴの搾汁の発酵日数における質量の変化
(10日の時点で三角フラスコを振る操作を行った。)

図 34 は高糖分ソルゴの搾汁をアルコール発酵させたときの二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、三角フラスコと発酵管を含む試料全体の質量である。

高糖分ソルゴの搾汁は発酵開始からしばらく日数が経過しても、全体の質量の大きな変化は見られなかった。試料 1 において他の試料とは別な質量の減量の仕方をしているが、他の 2 つの試料では発酵開始 14 日目から 29 日目にかけて全体の質量が減少した。

表 30 高糖分ソルゴの搾汁を発酵させたときのアルコール収量

(蒸留液を 40 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH 収量[mL]	搾汁 1t 当たり EtOH[L]	全草 1t 当たり EtOH[L]
1	6.33	2.53	59.2	12.6
2	6.76	2.70	63.2	13.5
3	6.40	2.56	59.9	12.8

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：13.0 L

表 30 は高糖分ソルゴの搾汁 40 mL を発酵させたときの、蒸留液 40 mL のアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、それから算出される全草試料 1 t 当たりのエタノール収量、それを全草 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

高糖分ソルゴの搾汁 40 mL をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 2.6 mL 程度であり、これを搾汁 1 t 当たりに換算すると 60.8 L となった。さらに搾汁率を考慮して全草 1 t から得られる収量に換算すると、平均収量は 13.0 L となった。

次にビッグシュガーソルゴの搾汁を発酵させたときの結果を示す。

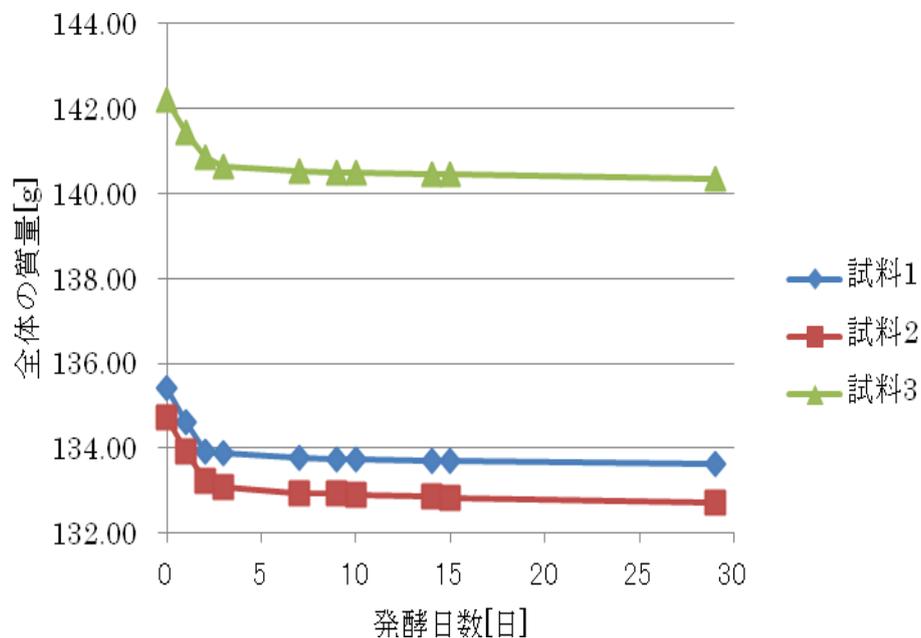


図 35 ビッグシュガーソルゴの搾汁の発酵日数における質量の変化
(10日の時点で三角フラスコを振る操作を行った。)

図 35 はビッグシュガーソルゴの搾汁をアルコール発酵させたときの二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、高糖分ソルゴの場合と同様に三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

ビッグシュガーソルゴの搾汁は発酵開始から 3 日目までは全体の質量が著しく減少していき、その後は大きな変化は見られなくなった。

表 31 ビッグシュガーソルゴの搾汁を発酵させたときのアルコール収量

(蒸留液を 40 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH 収量[mL]	搾汁 1t 当たり EtOH[L]	全草 1t 当たり EtOH[L]
1	4.96	1.98	46.9	7.2
2	4.88	1.95	46.2	7.1
3	4.52	1.81	42.8	6.6

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：7.0 L

表 31 はビッグシュガーソルゴの搾汁 40 mL を発酵させたときの、蒸留液 40 mL のアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 t 当たりのエタノール収量、それを全草試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

ビッグシュガーソルゴの搾汁 40 mL をアルコール発酵させ発酵液を蒸留すると、エタノールは 1.9 mL 程度得られ、これを搾汁 1 t 当たりに換算すると 45.3 L となった。さらに搾汁率を考慮して全草 1 t から得られる収量として試算すると、平均収量は 7.0 L となった。

次に甘味ソルゴの搾汁をアルコール発酵させたときの結果を示す。

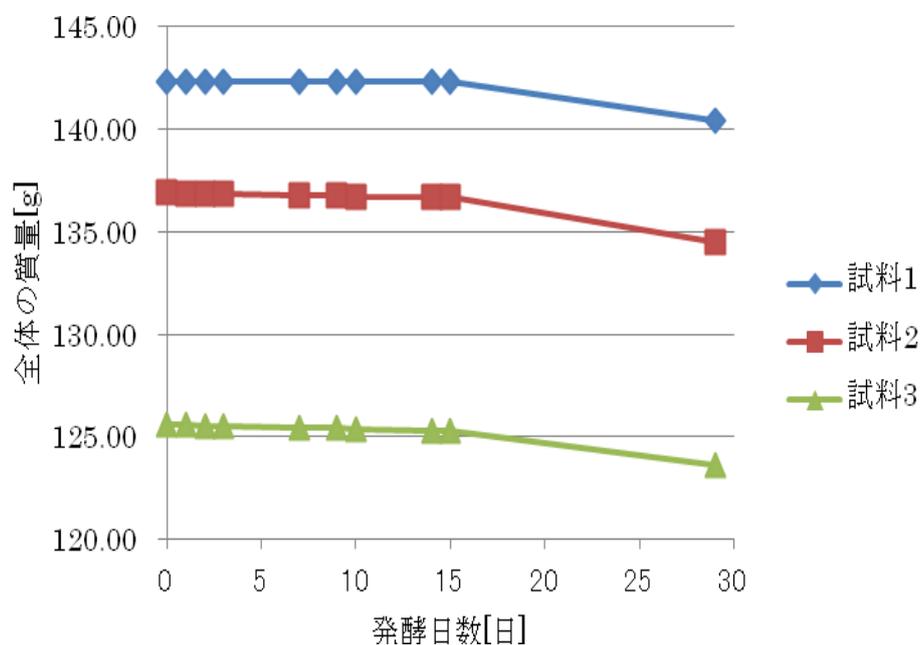


図 36 甘味ソルゴの搾汁の発酵日数における質量の変化
(10日の時点で三角フラスコを振る操作を行った。)

図 36 は甘味ソルゴの搾汁をアルコール発酵させたときの二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、前者と同様、三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

甘味ソルゴの搾汁は高糖分ソルゴの搾汁と同様に、発酵開始からしばらく日数が経過しても著しい全体の質量の変化は見られなかった。14日目以降は高糖分ソルゴと同じような質量の減少が見られた。

表 32 甘味ソルゴの搾汁を発酵させたときのアルコール収量

(蒸留液を 40 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH 収量[mL]	搾汁 1t 当たり EtOH[L]	全草 1t 当たり EtOH[L]
1	5.41	2.16	50.1	12.5
2	6.36	2.54	58.9	14.7
3	6.76	2.70	62.6	15.6

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：14.3 L

この表は甘味ソルゴの搾汁 40 mL を発酵させたときの、蒸留液 40 mL のアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、それから算出される搾汁 1 t 当たりのエタノール収量、それを全草 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

甘味ソルゴの搾汁 40 mL をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 2.5 mL 程度であった。これを搾汁 1 t 当たりに換算すると 57.2 L となり、搾汁率を考慮し全草 1 t から得られるエタノール収量に換算すると、平均 14.3 L となった。

次にスーパーシュガーソルゴの搾汁を発酵させたときの結果を示す。

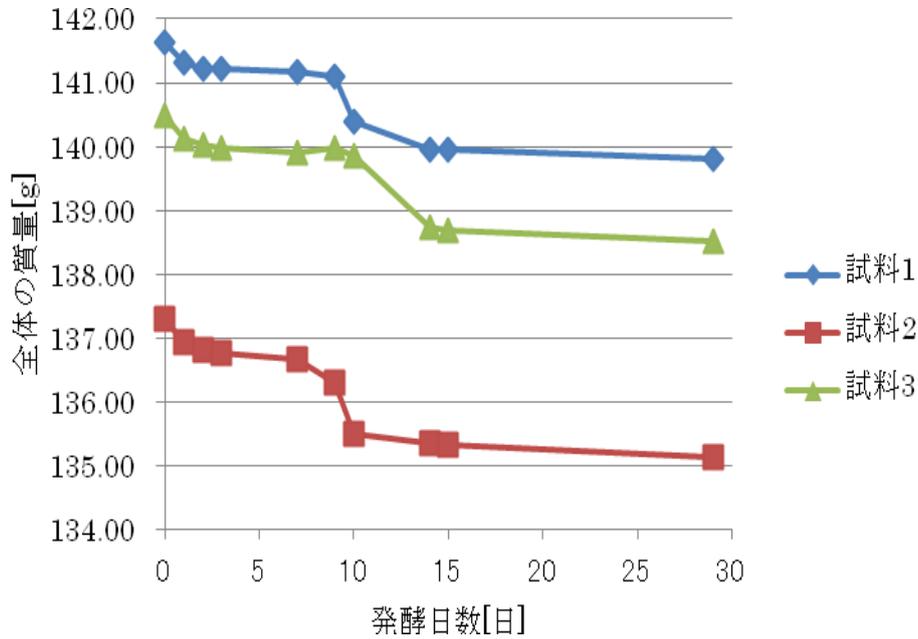


図 37 スーパーシュガーソルゴの搾汁の発酵日数における質量の変化
(10日の時点で三角フラスコを振る操作を行った。)

図 37 はスーパーシュガーソルゴの搾汁をアルコール発酵させたときの二酸化炭素の発生による発酵日数に対する全体の質量を示している。この全体の質量は、三角フラスコと発酵管を含めた試料全体の質量である。

スーパーシュガーソルゴの搾汁はビッグシュガーソルゴの搾汁と同様に発酵開始から3日目までは全体の質量が著しく減少していった。その後質量の減少は緩やかになったように思われたが、10日目で三角フラスコを振る操作を行ったところ試料中からたくさんの二酸化炭素が抜けていったため、その時点での本来の試料の質量が求められたと考えられる。その後も適宜三角フラスコを振る操作をしたが、大きな質量の変化は見られなくなった。

表 33 スーパーシュガーソルゴの搾汁を発酵させたときのアルコール収量

(蒸留液を 40 mL に加水して算出)

試料	度数[%]	EtOH 収量[mL]	搾汁 1t 当たり EtOH[L]	全草 1t 当たり EtOH[L]
1	4.87	1.95	47.0	11.9
2	5.19	2.08	50.0	12.7
3	4.70	1.88	45.3	11.5

全草 1 t 当たりのエタノール平均収量：12.1 L

表 33 はスーパーシュガーソルゴの搾汁 40 mL を発酵させたときの、蒸留液 40 mL のアルコール度数、その液に含まれるエタノールの量、そこから算出される全草試料 1 t 当たりのエタノール収量、それを全草試料 1 t に換算したときのエタノール収量を示している。

スーパーシュガーソルゴの搾汁 40 mL をアルコール発酵させ発酵液を蒸留したとき、得られたエタノールは 2.0 mL 程度となった。これは搾汁 1 t 当たりから 47.4 L 得られる試算となる。搾汁率を考慮し全草 1 t から得られるエタノール収量に換算すると、平均 12.1 L となった

次に搾汁を発酵させたときの結果を品種別に理論値とともに表に示す。

表 34 品種別における搾汁をアルコール発酵させたときのエタノール収量と理論値、理論値に対する収量の収率

品種	EtOH 収量[mL]	糖度による搾汁 1 mL 当たり の EtOH 理論値[mL]	収率[%]
高糖分	0.065	0.109	59.7
ビッグシュガー	0.048	0.075	63.8
甘味	0.062	0.109	56.7
スーパーシュガー	0.049	0.095	51.3

表 34 は品種別における搾汁をアルコール発酵させたときのエタノールの収量と、搾汁の糖度を基にした搾汁 1 mL から得られるエタノール量の理論値、その理論値に対する得られたエタノール収量の収率を示している。

その結果、品種ごとに約 51%~64%の収率となった。

第3節 考察

まずスイートソルガムの収量について次の表に示す。ただし品種により差が生じるため直接比較はできない。

表 35 先行研究と本研究におけるスイートソルガム収量とエタノール収量

先行研究	スイートソルガム 収量[t/ha]	エタノール収量 [L/ha]
NPO 亜熱帯バイオマス利用 研究センター(沖縄県)	52	2400
琉球大学(沖縄県)	139	—
長野県農政部(長野県)	49.1 ⁱ⁾	3280 ⁱⁱ⁾
カリフォルニア	46.6	3523 ⁱⁱⁱ⁾
本研究の高糖分ソルゴー	12	967

i)糖収量 5.9 t/ha より換算した値

ii)糖収量より算出した理論値

iii) スイートソルガム収量より試算した理論値

表 35 は先行研究のスイートソルガム収量及びエタノール収量と本研究の高糖分ソルゴーの結果を示している。

NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センターの事業による平均的な単収が 60 t/ha であるのに対し、本実験での高糖分ソルゴーの収穫量は 12 t/ha であり大きく下回っているように思われる。また琉球大学での 139 t/ha という報告例と比較すると、沖縄県は暖かく青森県は寒冷という地域差による気候の影響があると推測される。カリフォルニア地方の 46.6 t/ha と比較しても、その約 26% に留まっているように見受けられる。

品種別にみると、今回の実験ではスーパーシュガーソルゴーが最もエタノールの収率が良く、品種別に見るとこの種がアルコール発酵の原料として適していると考えられる。一方高糖分ソルゴーに着目すると、スーパーシュガーソルゴーに次いで多くのエタノールが得られたが、収率は最も低かった。またエタノール収量に関して高糖分ソルゴーの結果を用いて考察すると、1 ha 当たりの収量は 967 L となった。参考として NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センターの事業による 2400 L/ha という値や、長野県農政部の 3280 L/ha と照らし合わせると、その収量は少なく思われる。高糖分ソルゴーは理論値が高いこともあり、発酵条件の見直しを行い収率を上げることができれば、同じ資源の量でより多くのエタノールを得ることができると考えられる。

発酵と同時に糖化も行っており、発酵に用いた試料中の固形成分量に対する、発酵後の二酸化炭素の発生による質量の減少量を分解率として算出した結果、甘味ソルゴーの品種が最も分解されたという結果になった。しかしながら甘味ソルゴーのエタノール収率は高いものではなかった。この原因として、デンプンやセルロースなどは分解されたが、試料中ではエタノールではなく別なものに変換され、エタノールの収量に反映されなかったと考えられる。

今回の実験ではエタノールの収量が全体的に低かったため、全草のアルコール発酵の収率を上げるためにまず試料の加工を考えた。今回はスイートソルガム全草を生の状態でカッターミキサーにより細かく粉砕したものを試料として用いたが、この処理においても粉砕した試料の大きさなどで酵素による糖化の具合も変わってくるのではないかと考える。試料の大きさをもう少し細かく粉砕することやペレットなどに加工することで、酵素がより良く効くようになるかもしれない。よってスイートソルガム全草の前処理における加工について検討する必要もあると考えられる。次に、今回用いた糖化酵素と酵母について、アミラーゼ系酵素がグルク SB G、セルラーゼ系酵素がアクレモセルラーゼ KM、酵母は Mauri/522 であった。しかしこれらは高糖分ソルゴーの穂と葉、バガス、

搾汁を使用して選定したものである。よって高糖分ソルゴの試料に対してはよく効果を発揮すると思われるが、その他の品種に関しても同じような効果をもたらすとは言い切れない。品種によっても適した酵素や酵母が存在するとも考えられるのである。従ってスイートソルガムの品種別に適する酵素や酵母を選定する余地があると考えられる。こうして糖化酵素や酵母を最適化することにより、アルコール発酵におけるエタノール収率を上げることができると考えられる。

搾汁をアルコール発酵に用いた場合、糖化を行わないため試料中の糖のほとんどがアルコール発酵に用いられると考えられるが、収率は約 51~64%となった。この原因としては、酵母がよく働かなかったと考えられる。今回用いた酵母は 94 時間培養したものであり、培養時間が長かったため酵母が死滅期に入っていたことが考えられるためである。よって発酵に用いる酵母を培養するときは培養時間を考慮し、酵母の増殖において分裂が終わり菌数が一定に保たれる時期で培養を終了し保存して、アルコール発酵に用いた方が良いと考える。そうすることで、搾汁を含む全草を用いたときのアルコール発酵の収率の向上にも繋がると期待できる。

実験方法について、発酵の過程では、試料中に気泡が見られることがあった。これはアルコール発酵に伴って発生した二酸化炭素による気泡が溜まっているものと考えられる。よって二酸化炭素の発生による全体の質量の減少を正確に求めるため、全ての品種において三角フラスコを振り、溜まっていた二酸化炭素を排出する操作を行った。この操作により、発酵開始からの質量の減少による発酵の様子が正確に近いものとなったと考える。観察された質量の減少は全草の場合は高糖分ソルゴとビッグシュガーソルゴは 3 日目、甘味ソルゴとスーパーシュガーソルゴは 8 日目当たりから二酸化炭素による質量の減少があまり見られなくなっている。今回は発酵と同時に糖化の実験も行っており、全体の質量の変化があまり見られなくなってもしばらく実験を続けていた。そ

の結果 4 品種共通して僅かながら質量は減少し続けていたが、発酵管中のグリセリンの水分の吸着が悪く、発酵溶液中の水分や生成したエタノールが抜けていってしまったことによる全体の質量減少のようにも考えられる。よって質量が減少したあとはどの程度発酵を続けるべきか曖昧な部分があり、また正確なエタノール収量を求めるとともに発酵期間を確立するため、この実験は再び行う必要があると考える。従って、二酸化炭素の減少があまり見られなくなったときに発酵をやめ残渣を乾物とし、減少量とその品種における糖類とデンプン、セルロースの含有量を比較し今回の値と同じようであるか検討する必要がある。

第7章 総括

アルコール発酵に用いる原料についてサトウキビやトウモロコシを原料とした産業では、やはり食料や飼料との問題が生じている。しかしスイートソルガムは、この点に関して競合の問題がないため利用しやすいと考えられる。その傍らで食料などと競合しない稲わらや麦わらなどのセルロース系の原料を使用する研究もなされているが、糖化などの処理を必要とするためコストが多くかかってしまう。これはスイートソルガム全草を用いるアルコール発酵にも同じ事が言えるが、スイートソルガム全草を原料として用いた時とそれらを原料としたとき、コストがかからない方が効率が良い。両者とも同じような前処理が必要となるが、どちらがより効率良く安価にエネルギーを生成することができるかが重要となると考える。

今回行った青森県弘前市で栽培されたスイートソルガム全草を原料としたアルコール発酵では、1年を通すとやはり暖かい日が少ないためか地域的な影響を受けてしまい、また栽培方法が確立していないためか収穫量が少なく、必然的に得られるエネルギーの量も減ってしまうように思われる。よって弘前地域でスイートソルガム全草をアルコール発酵の原料とするとき、まずは栽培方法から見直す必要があると考える。また発酵方法も1つの方法しかとっておらず、試料の加工や発酵期間において改善される部分もあると考えられるため、改善の余地がある。その一方、総合的なエネルギーの収支についても考慮すべきである。得られたエネルギーがスイートソルガムを原料とするバイオマスエネルギーを生成するために消費したエネルギーや、使用した酵素や酵母などにかかったコストも含め、最終的なエネルギーの効率を求めるべきである。

今回行ったスイートソルガム全草を用いたアルコール発酵では、搾汁を用いた先行研究の値にすら及ばなかったため、栽培条件や発酵条件等を最適化した上でエタノールの収量を算出し、全草を用いた場合と搾汁のみを用いる場合で

は、スイートソルガムを原料とするに当たりどちらが適しているか検討する必要がある。

実験項

- ・塩酸：関東化学株式会社 Lot No. 904X1061
- ・水酸化ナトリウム：和光純薬工業株式会社 Lot PEK 4614
- ・ジエチルエーテル：関東化学株式会社、和光純薬工業株式会社
- ・酢酸：和光純薬工業株式会社 Lot No. DLK5111
- ・酢酸ナトリウム(無水)：和光純薬工業株式会社 Lot No. DM5510
- ・シュウ酸アンモニウム一水和物：和光純薬工業株式会社 Lot No.ESM2737
- ・硫酸：和光純薬工業株式会社 Lot No. AWF6744
- ・D(+)-グルコース：和光純薬工業株式会社 Lot DCF0780
- ・D(-)-フルクトース：和光純薬工業株式会社 Lot CKE 0703
- ・ラクトース：和光純薬工業株式会社 Lot No. ALH2185
- ・スクロース：和光純薬工業株式会社 Lot No.EPL2639
- ・マルトース：和光純薬工業株式会社 Lot LEQ 1683
- ・エタノール：和光純薬工業株式会社 Lot EPQ4119
- ・グリセリン：関東化学株式会社 Lot No.112U1565
- ・メタノール：和光純薬工業株式会社 Lot DWQ7407
- ・アセトン：和光純薬工業株式会社 Lot KWE1033
- ・グルコースキット：和光純薬工業株式会社

緩衝液：りん酸緩衝液 pH7.1、フェノール

発色剤：ムタロターゼ(ブタ腎臓由来)

グルコースオキシダーゼ(GOD)(微生物由来)

ペルオキシダーゼ(POD)(西洋ワサビ由来)

4-アミノアンチピリン

アスコルビン酸オキシダーゼ(AOD)(カボチャ由来)

- ・オートクレーブ KT23 アルプ株式会社
- ・繊維抽出装置 ファイバーテスト FIWE3 株式会社アクタック
- ・恒温器 清水理化学機器製作所
- ・強制循環式定温恒温器 EPSF-220 株式会社いすゞ製作所
- ・遠心器 H-200NR 国産遠心器株式会社
- ・ザルトリウス天秤 R160D カールツァイス株式会社
- ・上皿天秤 シイベル機械株式会社
- ・ガラス電極式水素イオン濃度計 F-15 堀場製作所
- ・迅速脂肪抽出装置 Gerhardt Soxtherm 2000 automatic
- ・簡易糖度計 PR-101 株式会社 ATAGO
- ・マッフル炉 FM-31 Yamato Scientific Co., Ltd
- ・カッターミキサー AC-25S 愛工舎製作所
- ・密度比重計 DA-310 KYOTO ELECTRONICS
- ・マントルヒーター フラスコ用 SAFR-3 No.H22JA18 柴田科学株式会社
- ・BIO MULTI INCUBATOR LH-30-8CT 株式会社日本医化器械製作所
- ・CENTRIFUGE CT13 HITACHI
- ・INCUBATE BOX M-230 MFG-No. 5C 2081279
- ・Incubator IS82 YAMATO SCIENTIFIC CO., LTD
- ・Multiskan JX サーモバイオアナリシスジャパン株式会社
- ・PCV Clean Bench HITACHI
- ・Spectrophotometer U-2000 HITACHI
- ・SUGAR ANALYZER SU-300 東亜ディーケーケー株式会社
- ・VORTEX MIXR Labnet International, Inc.
- ・16SPEED BLENDER Osterizer

- ・ グルク SB G 天野エンザイム

清酒用酵素、清酒四段

- ・ スミチーム LOT NO. 110901-02 新日本化学工業株式会社

*Rhizopus oryzae(delemar)*より産生されるグルコアミラーゼで、デンプンからブドウ糖を高純度に生成する。強力な力価も持ち、速やかに糖化率を上昇させ、正常に液化されたデンプンに対しては分解限度値をきわめて高く保持し、高純度のブドウ糖を製造することが出来る。生デンプンに対しても効果を発揮する。

- ・ 力価：2000 u/g (SJ 法)

- ・ pH：至適 pH は 5.0 だが、pH4.0~8.0 の間で実用的に作用する。

- ・ 温度：至適温度は 60℃だが、50~60℃の間で実用的に作用する。

- ・ 用途：デンプンからのブドウ糖製造

デンプン原料によるアルコール発酵

醸造原料の糖化助成

- ・ アクレモセルラーゼ KM LOT.091030 協和化成株式会社

アクレモニウムセルラーゼを主活性とする複合酵素製剤で、植物組織に対して強力な分解力を示す。従来のセルラーゼに比べて処理時間を大幅に短縮できる。

Acremonium cellulolyticus より産生される高活性セルラーゼであり、ヘミセルラーゼ系も強力な活性(特にペクチナーゼ活性)を含有している複合酵素製剤。植物組織(細胞壁)を速やかに崩壊及び可溶化させることが可能になる。

- ・ 力価：10,000 u/g 以上 (CMCase 法)

- ・ pH：至適 pH は 4.0~5.5 だが、pH2.0~6.0 の範囲で実用的に作用する。

- ・ 温度：至適温度は 65℃だが、40℃~70℃の範囲で実用的に作用する。
- ・ 応用：植物組織(細胞壁)の破壊力は、*Trichoderma sp.*より産生されるセルラーゼに比べて優れた活性を持っている。強力なβ-グルコシターゼ活性を有しており、天然セルロースの低分子化を効率的に行うため、多糖のグルコース転換に利用できる。耐酸性に優れ、幅広い pH でも安定して作用する。

・ アサヒセルラーゼ Lot 2059394

・ セルラーゼ TP5-協和 Lot.110117 協和化成株式会社
繊維素分解複合酵素

・ キシラナーゼ コンク 株式会社樋口商会

*Trichoderma Reesei*由来のキシラナーゼ製品。発酵法により製造され、プロテアーゼ、リパーゼ、アミラーゼはほとんど含まれていない。食品用酵素(GRASに収載されている)であり、FAO/WHO、FCCⅢに推奨されている規格に適合している。キシラナーゼ活性の他、セルラーゼ、ヘミセルラーゼやグルカナーゼを有している。

<性状>

- ・ 起源：*Trichoderma Reesei*
- ・ 外観：薄茶色の粉末
- ・ 溶解性：水溶性
- ・ 至適 pH：4.0~6.5
- ・ 至適温度：50~65℃
- ・ 力価：180,000 XYU/g
- ・ 水分：<7%

<微生物>

- ・ 一般生菌数 : <10,000/g
- ・ E.Coli : 陰性 /g
- ・ サルモネラ : 陰性 /25g

<重金属>

- ・ ヒ素 : <3ppm
- ・ 重金属 : <40ppm

製造者 : ADVANCED ENZYME TECHNOLOGIES (インド)

輸入販売者 : 株式会社樋口商会 化成品部

参考文献

- 1) 高等学校物理 I (2005)
兵藤申一・福岡登 著 啓林館 P.154
- 2) 世界の食糧生産とバイオマスエネルギー 2050年の展望 (2008)
川島博之 著 東京大学出版会 P.72~77
- 3) バイオマスが拓く 21世紀エネルギー (2000) 坂井正康 著 森北出版株式会社 P.45,62,70,71
- 4) バイオマスハンドブック (2006) 社団法人 日本エネルギー学会
オーム社 P.32,157,158
- 5) H22年度沖縄バイオマス資源活用促進事業報告書 (2010)
NPO 亜熱帯バイオマス利用研究センター
- 6) 資源作物としてのスイートソルガム栽培法 (2011)
長野県農政部農業技術課
- 7) P. K. Vogel 'Energy production from forages (or American agriculture-back to the future)'
Journal of Soil and Water Conservation Vol. 51, No.2 pp.137~139
(1996)
- 8) イネ全草のペレット化によるバイオエタノール生産システムについて
(2012) 地方独立行政法人 青森県産業技術センター 弘前地域研究所
齋藤知明・村中文人
- 9) 秋田県バイオエタノール推進戦略 秋田県生活環境文化部環境あきた創造
課 菜の花バイオエネルギーチーム 2009年 P.10,11
- 10) M. A. Jeltema, 'Revised method for quantitating dietary fibre components.', Journal of the science of Food and Agriculture, 31.8,
820-829 (1980)
- 11) 村中文人 私信

12) 齋藤知明 私信

13) 稲わらからのバイオエタノール生成に関する研究

岸良拓治 弘前大学 P.24

14) グルコース CII-テストワコー (2008)

和光純薬工業株式会社

15) 肥田野豊 私信

16) 第三回改正国税庁所定分析法注解 (1987) 財団法人 日本醸造協会

新日本印刷株式会社 P.12~15

謝辞

本研究を進めるにあたり、実験設備を提供し懇切丁寧なご指導頂きました青森県産業技術センター 村中文人氏、齋藤知明氏、及び同研究所の皆様に心から感謝の意を表します。

またスイートソルガムの栽培から収穫において終始ご指導頂きました弘前大学教育学部 肥田野豊教授に、謹んでお礼申し上げます。

最後に、様々な形で協力して下さった弘前大学教育学部 長南幸安教授並びに、理科学研究室の方々、そして家族に、深く感謝申し上げます。

平成 25 年 1 月 小野寺 美佳