

干し芋加工残さの利用に関する研究

武田 文宣* 坂井 祥平** 長谷川 裕正* 中川 力夫**

1. はじめに

干し芋は、国内産の約90%がひたちなか・東海地区を中心に生産される茨城の名産品の一つである。その生産量は、年間1万tに上る一方で、製造時に重量で生産量の4倍に相当する干し芋加工残さ（以下、加工残さ）が発生する。一部は飼料として利用されるが、その大部分が利用されず、農地還元や産業廃棄物処分されるなど、生産者にとっては厄介者となっている。

そこで、新たな用途開発研究として、加工残さを発生オンサイトで糖化・発酵、蒸留するバイオエタノールの生産を軸とした干し芋製造ゼロエミッションを目標に、企業、大学を含む三者での共同研究を実施した。

2. 目的

本研究において、当センターの役割として、加工残さに含まれるデンプンから糖化・発酵を経てエタノールを生成する最適条件の検討を行い、糖化・発酵条件を提案する。

また、糖化・発酵液の固液分離性の向上について検討を行ったので、併せて報告する。

3. 研究内容

3.1 加工残さの成分分析

干し芋加工残さの組成について、水分、タンパク質、灰分、デンプン価を定法に従って分析を行った。



写真1 干し芋加工残さ

3.2 酵素剤の性能試験

加工残さの糖化・発酵に利用する酵素剤として、液化酵素（ α -アミラーゼ）、糖化酵素（グルコアミラーゼ）を入手し、加工残さの酵素処理試験を行い、処理後のグルコース濃度及び目視による処理液の性状を確認した。

〔方法〕フードプロセッサーにて均一化した干し芋加工残さに対して0.1M酢酸バッファ（pH 4.5）2倍容量に、各酵素剤0.5~1wt%（加工残さ当たり）を加えて、25若しくは40℃（恒温器）で処理した。遠心分離

（3000rpm, 15min）にて固液分離後、上澄み液の一部をHPLCによりグルコースの分析を行った。

表1 供試酵素剤一覧

No.	メーカー	製品名
対照	酵素剤なし	
1	α -アミラーゼ	エイチビィアイ(株) 液化酵素 T
2		エイチビィアイ(株) 液化酵素 6T
3		天野エンザイム(株) アミラーゼ ADアノ1
4		天野エンザイム(株) ビンサームA
5		新日本化学工業(株) Sumizyme BAA-L
6		ヤクルト薬品工業(株) エアゼ BM-8
7	グルコアミラーゼ	エイチビィアイ(株) グルターゼ AN
8		天野エンザイム(株) グルサームAF6
9		新日本化学工業(株) Sumizyme NG-L
10		ヤクルト薬品工業(株) エアゼ 30

3.3 繊維分解酵素の性能比較

予備試験（記載省略）において加工残さの糖化及び液性向上に効果のあったペクチナーゼ酵素剤との併用における繊維分解酵素（セルラーゼ、ヘミセルラーゼ）の性能試験を行い、処理後のグルコース濃度及び目視による処理液の性状を確認した。

〔方法〕対照は酵素剤無添加、No.1はペクチナーゼ酵素剤（エイチビィアイ製セルロシン PE60）のみ添加、その他各0.5wt%添加し、3.2同様に25℃、24hr処理した。

表2 供試酵素剤一覧

No.	メーカー	製品名
対照	酵素剤なし	
1	ペクチナーゼのみ添加	
2	セルラーゼ	エイチビィアイ(株) セルロシン T3
3		三菱化学フーズ(株) スクラージェ C
4		天野エンザイム(株) セルラーゼ Tアノ4
5		新日本化学工業(株) スミチムC
6	ヤクルト薬品工業(株) セルラーゼオノスカ3S	
7	ヘミセルラーゼ	ヤクルト薬品工業(株) セルラーゼ Y-NC
8		三菱化学フーズ(株) スクラージェ X
9		新日本化学工業(株) スミチムX

3.4 酵素剤併用による糖化試験

酵素剤に、グルコアミラーゼ（グルターゼ AN）、ペクチナーゼ（セルロシン PE）、セルラーゼ（セルロシン T3）、ヘミセルラーゼ（スクラーゼ X）の4種類を組み合わせて、糖化試験を行い、効率的な糖化に適した酵素剤の併用条件について探索した。さらに、糖化試験後、一部の糖化液に対して、酵母を添加し発酵の進行具合を確認した。

〔方法〕3.2同様に、各酵素剤0.5wt%添加し、25℃、

24hr 処理した。さらに、糖化处理後の No. 11, 12 の上澄み液 5mL に復水した乾燥酵母(日本醸造協会 701 号) 0.05g 相当を添加し、28°C で 3 日間発酵を行った。遠心分離後、上澄み液の一部を HPLC によりグルコース及びエタノールの分析を行った。

表 3 併用酵素剤一覧

No.	グルコ アミラーゼ ^a	ペクチ ナーゼ ^b	セル ラーゼ ^c	ヘミセル ラーゼ ^d
対照 1	—	—	—	—
1	○	—	—	—
2	○	○	—	—
3	○	—	○	—
4	○	—	—	○
5	○	○	○	—
6	○	○	—	○
7	○	—	○	○
8	○	○	○	○
9	—	○	○	○
対照 2	—	—	—	—
11	—	○	—	—
12	—	○	○	—

3.5 糖化・発酵並行試験

3.4 までは酵素の性能比較等の基礎データ取得ため、均一化した加工残さを用いて糖化・発酵試験を行っていたが、これ以降の検討は、現実的な条件として均一化処理しない加工残さを用いて試験を行った。

糖化酵素に加え、繊維分解酵素の使用有無の違いを確認するとともに、液化酵素の影響も確認した。

併せて、糖化と酵母による発酵を同時並行で進めるため、酵素剤及び酵母を同時に仕込み方法で、糖化・発酵試験を行い、加工残さに含まれるデンプンからのエタノール生成収率を調べた。

[方法] 未処理の干しイモ加工残さ 100g に対して、加水歩合 100% で乳酸添加水 (100 μL/100mL) 中、それぞれ下表のとおり酵素剤及び酵母を加えて、28°C (恒温器) で 48hr 処理した。グルコアミラーゼはグルターゼ AN, ペクチナーゼはセルロシン PE, セルラーゼはセルロシン T3, ヘミセルラーゼはスクラーゼ X, αアミラーゼは液化酵素 T を使用した。

処理後、遠心分離 (5000rpm, 15min) にて固液分離し、上澄み液の一部を HPLC により分析を行った。

表 4 試験条件一覧

No.	グルコ アミラーゼ ^a	ペクチ ナーゼ ^b	セル ラーゼ ^c	ヘミセル ラーゼ ^d	αアミ ラーゼ ^e	乾燥 酵母
対照	—	—	—	—	—	—
1	0.02	1.00	—	—	—	—
2	0.02	1.00	1.00	1.00	—	—
3	0.02	0.04	—	—	0.10	—
4	0.02	1.00	—	—	—	0.05
5	0.02	0.04	1.00	1.00	—	0.05
6	0.02	0.04	—	—	0.10	0.05

3.6 酵素使用量及び加水量の検討

加工残さの糖化・発酵時の加水歩合 (加水する水量) 及び酵素剤の使用量の検討するために、以下の条件で糖化・発酵試験を行った。

[方法] 3.5 同様に行った。

表 5 試験条件一覧

No	加水 歩合 (%)	酵素剤 (wt%)				乾燥 酵母 (wt%)
		グルコ アミラーゼ ^a	ペクチ ナーゼ ^b	セル ラーゼ ^c	ヘミセル ラーゼ ^d	
1	70	0.10	0.40	0.10	0.10	0.10
2	100	1.00	0.04	1.00	0.04	0.10
3	150	1.00	0.04	1.00	0.04	0.10
4	100	0.02	0.02	0.02	0.02	0.10

3.7 酵素使用量の低減の検討

3.6 試験 No. 1 を基本とし、さらに酵素剤使用量の削減を検討するために、以下の条件で糖化・発酵試験を行った。試験は、糖化・発酵の安定性確認も含め、N=2 で行った。

[方法] 3.6 試験 No. 1 と同様に行った。

表 6 試験条件一覧

No	酵素剤 (wt%)				乾燥 酵母 (wt%)
	グルコ アミラーゼ ^a	ペクチ ナーゼ ^b	セル ラーゼ ^c	ヘミセル ラーゼ ^d	
1-1	0.10	0.10	0.30	0.10	0.10
1-2					
2-1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
2-2					
3-1	0.10	0.10	0.10	0.05	0.10
3-2					
4-1	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10
4-2					

3.8 凝集剤を用いた発酵液の固液分離性の検討

凝集剤として、鉄ミョウバン (和光純薬製), シリカゾル (大塚食品製コポロック) 及びポリグルタミン酸架橋物 (日本ポリグル社製 PGα21Ca) を用いて、発酵液の固液分離性の向上を検討した。

[方法] 3.7 試験 No. 1-1 同様に糖化・発酵させた発酵液に対して、凝集剤 0.5wt% (仕込加工残さ当たり) を添加し、良く攪拌した後室温で一晩静置した。

4. 研究結果と考察

4.1 加工残さの成分分析

表 7 に示すとおり加工残さには、約 18wt% のデンプンが残存していることが確認できた。よって、理論上 100g の加工残さから、20g のグルコースが得られ、エタノールに 100% 変換した場合、11.4g (14.4mL) のエタノールが生成することになることが判った。

表7 成分分析結果

	加工残さ (wt%)	蒸し塊根 ^{※)}
水分	68.7	66.4
タンパク質	1.6	1.2
灰分	1.5	1.0
デンプン価	18.2	(炭水化物) 31.2
繊維質	約10 (推定)	3.8

※ 参考：日本食品標準成分表五訂増補より抜粋

4.2 酵素剤の性能試験

表8に示す結果は、40℃で4.5hr処理したものであるが、液化酵素については、No.4を除いて対照と比較して著しい液化進行は見られなかった。

一方で、糖化酵素については、いずれの酵素剤を用いても使用量が加工残さ当たり1wt%と多いせいか、酵素力価の違いを無視してもその効果に差は見られず、いずれの酵素剤も十分使用可能であると思われた。

さらに、酵素剤No.7,8,10について、0.5wt%添加、25℃、24hr処理した結果、いずれもグルコース濃度6.5%程度と十分糖化が進行することが判った。

表8 試験結果一覧

No.		グルコース (%)	マルトース (%)
対照		1.28	2.45
1	α-アミラーゼ	0.10	2.43
2		0.06	2.15
3		0.11	2.44
4		3.84	—
5		0.18	2.66
6		0.07	2.65
7	グルコアミラーゼ	5.39	—
8		5.15	—
9		5.25	—
10		5.22	—

4.3 繊維分解酵素の性能比較

表9に示すとおりペクチナーゼ酵素剤のみ (No.1) に比べ、ペクチナーゼ酵素剤に加えいずれかの繊維分解酵素剤を用いた場合は、液性の向上が見られた。しかし、繊維分解酵素剤の種類によらず、上澄液の量及びそのグルコース濃度に大きな違いは見られなかった。

処理後の目視観察では、固形分の沈降性に若干違いが見られ、No.2,3,8は沈降性が良かった。

表9 試験結果一覧

No.		上澄液 (g)	グルコース (%)	性状
対照		20.3	0.17	
1	セルラーゼ	23.0	4.35	
2		24.8	4.50	上澄 40%
3		25.3	4.33	上澄 60%
4		24.4	4.29	細かい濁り
5		23.2	4.53	細かい濁り
6		23.1	4.61	細かい濁り
7	ヘミセルラーゼ	23.0	4.55	細かい濁り
8		25.0	4.38	上澄 50%
9		22.5	4.46	細かい濁り

4.4 酵素剤併用による糖化試験

表10に示すとおりグルコアミラーゼ酵素剤及びペクチナーゼ酵素剤の単独使用 (No.1,11) では、やや糖化不十分であるが、グルコアミラーゼに加え、ペクチナーゼ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼを併用することでほぼ理論収率90%でグルコースが得られることが確認できた (No.2~8)。なお、デンプン価18%として試算すると、グルコース濃度7.4%が理論最大値となる。

また、ペクチナーゼに加え、セルラーゼ・ヘミセルラーゼ酵素剤を併用すると、清澄効果が高いことも判った (No.5,6,8)。

さらに、糖化試験後の糖化液 (No.11,12) を用いて、酵母を添加し発酵を行った結果、酵母添加時の糖化液 (上澄液) のグルコース量から想定されるエタノール生成量を超えるエタノールが生成した (データ省略)。これは、発酵中にグルコースが新たに生成したことを示しており、発酵によりグルコアミラーゼ酵素の阻害が解消され、糖化が進行したものと考えられる。

表10 試験結果一覧

No.	上澄液 (g)	グルコース (%)	性状
対照1	19.3	0.20	やや濁り
1	20.2	6.51	やや濁り
2	22.4	6.67	やや濁り
3	24.5	6.70	濁り細かい
4	24.4	6.60	濁り細かい
5	24.5	6.89	キレイ澄む
6	24.6	6.78	キレイ澄む
7	24.5	6.73	濁り細かい
8	24.4	6.80	キレイ澄む
9	25.5	5.48	かなりキレイ
対照2	15.7	0.15	
11	21.8	4.25	濁り細かい
12	23.0	4.71	上澄み

4.5 糖化・発酵並行試験

No.1~3の糖化試験では、前述4.4の均一化処理残さを用いた糖化試験に比べ、全体的に糖化収率が低い (75%以下/均一化90%) ことが判った。これは、フードプロセッサーによる均一化処理で、酵素と基質 (デンプン、繊維等) の接触 (反応) しやすさが異なることや加水量の違いによるグルコアミラーゼ酵素の活性阻害の違いが影響していると考えられる。

これまで糖化と発酵を分けて検討を進めていたが、酵母を添加しなくても、原料の加工残さや空気中から取り込まれる野生酵母による自然発酵が見受けられたり、前述4.4のとおり発酵によりグルコアミラーゼ酵素の阻害が解消されたりするので、酵素剤と同時に酵母を添加する方法で、糖化・発酵試験を行った (No.4~6)。その結果、酵母添加の有無によらず、同等の糖化収率が得られ、最終エタノール濃度からも、発酵はほぼ定量的に進行していることが確認できた。これにより、酵素剤及び酵母の同時添加法での糖化・発酵が有効であることが判った。

また、ペクチナーゼ、セルラーゼ等繊維分解酵素を多く使用した場合は、皮と大きい繊維分のみ残存する

など極めて良好な液性を示した (No. 2, 5)。

併せて、グルコアミラーゼ及びペクチナーゼ酵素剤を用いれば、液化酵素は不要であることが確認された (No. 3, 6)。

表 1 1 試験結果一覧

No.		グルコース (%)	エタノール (v/v%)	全グルコース換算 (%)	サラ度 5段階
対照		0.15	0.47	2.15	5
1	糖化のみ	6.85	0.71	8.85	3
2		6.60	1.12	9.26	1+
3		3.02	2.32	6.96	4
4	同時	0.75	4.78	8.50	2
5	糖化・発酵	0.01	5.65	8.96	1
6		0.06	5.02	8.03	4+

※全グルコース換算:エタノール濃度から換算したグルコース+残存グルコースを合計した全濃度

※サラ度5段階:流動性を感覚判断により、5段階評価

4.6 酵素使用量及び加水量の検討

発酵液中のエタノールの蒸留回収においては、発酵液のエタノール濃度が高いほど、蒸留効率が良くなるので、糖化発酵液への加水量は出来るだけ少ない方がよい。そこで、加水量を低減すべく検討した結果、表 1 2 に示すとおり加水歩合が高い方が糖化・発酵収率が高い傾向が伺え、加水歩合を70% (No. 1) に減らしても85%を超える理論収率が得られ、発酵液のエタノール濃度8v/v%超が可能であることが判った。

表 1 2 検討結果一覧

No.	残存グルコース (wt%)	エタノール (v/v%)	理論エタノール濃度	理論収率 (%)
1	0.39	8.07	9.3	86.6
2	0.00	7.23	7.8	92.7
3	0.22	5.95	6.1	97.0
4	0.20	5.92	7.8	75.9

※理論エタノール濃度:加工残さのデンプン価18%として、使用する加工残さAgから生成するグルコース0.18*Ag, エタノール換算で、生成エタノール量を0.18A*0.72mLとし、全体の液分容量を、残さ持ち込み水分0.7*Ag, 加水量A*(加水歩合/100)g, 生成エタノール量の合計とし、(生成エタノール量)/(全液分容量)×100により、次の式のとおり計算。
 $0.18A*0.72 / (0.7*A + A*(加水歩合/100) + 0.18A*0.72) * 100 (%)$

4.7 酵素使用量の低減の検討

前述4.6試験No. 1の条件をベースに酵素剤使用量を減らして、糖化・発酵試験を行った結果、表 1 3 に示すとおり合計使用量を2/3程度削減しても、これまで同等の糖化・発酵収率、エタノール濃度を得られることが確認された (No. 2-1~3-2)。

しかし、合計使用量を1/2程度まで削減すると、糖化・発酵収率は同程度か若干低くなり、感覚的にも発酵液の粘性が増し、固液分離性が低下することが推察された。

表 1 3 検討結果一覧

No.	残存グルコース (wt%)	エタノール (v/v%)	理論エタノール濃度	理論収率 (%)
1-1	0.51	8.4	9.3	90.8
1-2	0.52	8.2	9.3	88.3
2-1	0.50	8.0	9.3	86.1
2-2	0.49	8.2	9.3	87.8
3-1	0.48	8.2	9.3	88.0
3-2	0.50	8.1	9.3	86.8
4-1	0.49	7.9	9.3	84.9
4-2	0.47	8.1	9.3	86.7

4.8 凝集剤を用いた発酵液の固液分離性の検討

発酵液の蒸留工程において、固形分を容易に除去可能となれば、その分蒸留で消費されるエネルギーの低減が図られる。そこで、発酵液の固液分離性の向上を念頭に、発酵液に凝集剤を添加して固液分離性を調べた。その結果、写真 2 のとおり目視ではポリグルタミン酸架橋物を用いると、鉄ミョウバンより凝集性が良く、シリカゾルと同程度か若干良いことが判った。また、鉄ミョウバン、シリカゾルとは異なり残存ガス取り込みにより大部分が浮上分離する。一方で、容器底部に沈降する微細成分が僅かに見受けられた。

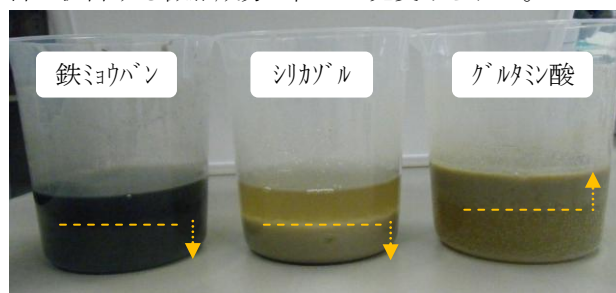


写真 2 : 凝集剤添加による発酵液の固液分離の様子

5. まとめ

干し芋加工残さを原料とするバイオエタノール生成に向け、糖化・発酵条件について各種検討を行った。その結果、加工残さに対して、加水量 70%、酵素剤 4 種 (グルコアミラーゼ、ペクチナーゼ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ) 各 0.1wt%及び乾燥酵母 0.1wt%を用いた一括仕込により、25~30℃、2~3 日間、糖化・発酵処理する条件を確立した。これにより、発酵液のエタノール濃度 8v/v%、糖化・発酵収率 86% (含有デンプンに対する推定値) を達成することが出来た。

この結果をもとに、共同研究機関である筑波大学が開発した可搬型リアクタによる 150kg スケールの実地試験に向け、図 1 に示す糖化・発酵フローを提案するに至った。複数回に及ぶ実施試験においても、糖化・発酵は順調に進行し、ベンチスケール並の糖化・発酵収率、エタノール濃度を得ることが出来た。

今後の課題としては、発酵液の効率的な固液分離方法の確立によるエネルギー収支の向上等が挙げられる。

6. 謝辞

本研究を進めるに当たり御協力いただいた研究参画機関である株式会社照沼勝一商店，筑波大学に感謝いたします。

また，本研究は，独立行政法人科学技術振興機構の平成 20 年度重点地域研究開発推進プログラム(地域ニーズ即応型)により，平成 21~22 年度に実施したものであり，ここに記して感謝の意を表します。

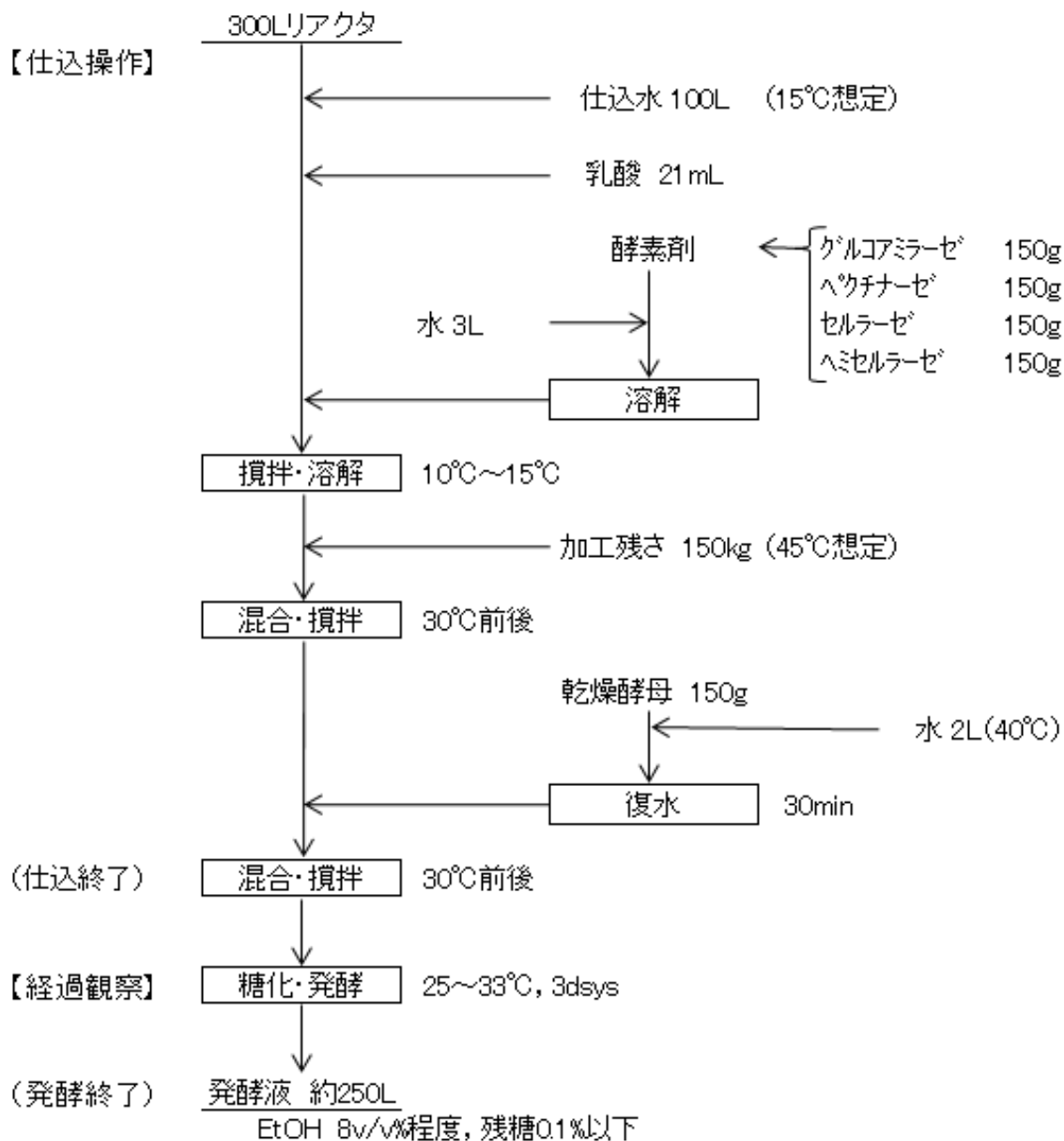


図 1 糖化・発酵フロー