

## 馬鈴しょでん粉粕からのエタノール生産

渡辺 彩夏\*1, 渡辺 昌治\*2, 佐藤 正昭\*2, 竹口 昌之\*3

### Ethanol Production from Potato Pulp

WATANABE Ayaka\*1, WATANABE Masaharu\*2, SATOU Masaaki\*2,  
TAKEGUCHI Masayuki\*3

**Abstract:** Potato pulp, a byproduct of starch production, was discharged from a potato starch plant in Koshimizu, Hokkaido. The potato pulp contained 77.6% dietary fiber including cellulose, and starch that could not be recovered in the starch production process. Enzymatic saccharification of potato pulp with cellulase and amylase for 3 days produced 0.66 g glucose per 1 g dry potato pulp. *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 was inoculated on the third day of enzymatic saccharification, and 28.8 mg ethanol was produced per 1 g dried potato pulp.

**Key Words:** Potato pulp, Enzymatic saccharification, Bio-ethanol

### 1. 緒言

北海道の小清水町農業協同組合は馬鈴しょ（品種；コナフブキ、アーリースターチ等）からでん粉を製造する馬鈴しょでん粉工場を有している。図1にてでん粉生産工程および廃棄物の処理工程を示す。馬鈴しょからでん粉を製造する工程は輸送、洗浄、すりつぶし、抽出、乾燥の5工程に分けられる。搬入された馬鈴しょはフリューム石取機やロータリーウォッシャー等により馬鈴しょ以外の不純物が取り除かれる。その後、摩砕機によりすり潰され、摩砕篩別機およびハイドロサイクロンを用いてでん粉成分が抽出される。抽出したでん粉（生粉）は乾燥サイクロンにて乾燥され、でん粉製粉となる。でん粉製造の際、副産物として馬鈴しょの果肉絞りかすであるでん粉粕、および植物性タンパク質を多く含むデカンター廃水を生じる。デカンター廃水については、連続操業中に嫌気処理施設では全排出量の27%にあたる17,000トンが処理され、残りの46,000トン（全排出量の73%）は酸処理後に連続遠心機によりタンパク質を含む不溶性成分を回収し、溶液成分は酸処理地に貯蔵されている。回収したタンパク質はでん粉粕および小麦ふすまと混合され、高栄養価の酪農飼料として畜産農家に利用されている。酸処理池に貯留された成分は中和された後に圃場散布される [1].

でん粉粕はすりつぶし工程の際に排出される廃棄物であり、馬鈴しょの外皮などの繊維質を主成分としている。でん粉粕

は毎時約4トン、年間では約6262トン排出されている。その多くが酪農飼料として使用されている。でん粉粕はでん粉工場周辺の畜産農家でフスマを混合してサイレージに調整され乳牛に給与されている [2].

でん粉粕にはセルロース、ヘミセルロース、ペクチン、アミノ酸などが含まれることが報告されている [3]. これら成分はでん粉同様のバイオマス資源であることから、本研究室では酪農飼料原料以外の利用について検討を行っている。本研究ではでん粉粕から酵素糖化によりグルコースを生成することを試みた。グルコースは5-ヒドロキシメチルフルフラールに転換することで工業原料となることが期待されている [4]. さらに本研究では生成したグルコースをエタノール発酵することで、工業原料および燃料として期待されているエタノールを生成することを目的とした。

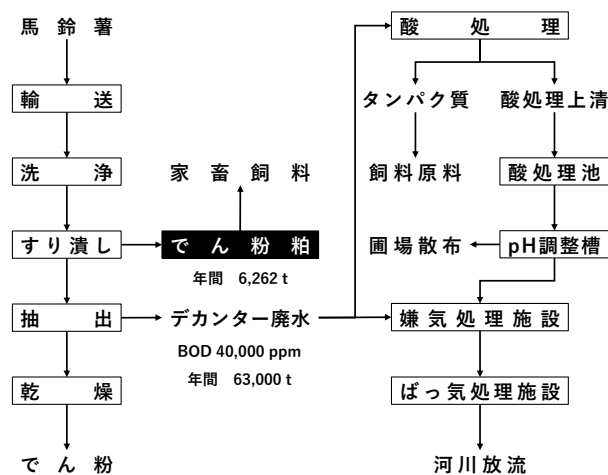


図1 馬鈴しょでん粉生産工程および廃棄物処理工程

\*1 専攻科 Advanced Course, \*2 小清水町農業協同組合 Japan Agriculture Cooperatives Koshimizu Town, \*3 物質工学科, Department of Chemistry & Biochemistry

## 2. 実験方法

### 2.1 でん粉粕の成分分析

でん粉粕（小清水町農業協同組合馬鈴しょでん粉工場 2015 年 9 月 30 日採取）を 80°C にて 2 日間加熱乾燥した。得られた乾燥物をハンマークラッシャー（三庄インダストリー, NH-34）を用いて粒径 2 mm 以下に粉碎し、乾燥でん粉粕を得た。乾燥でん粉粕の成分分析は㈱エコプロ・リサーチに依頼した。食物繊維は Prosky 法、タンパク質は燃焼法、水分は常圧加熱乾燥法、灰分は直接灰化法、脂質は酸分解法により測定した。各測定項目の検出限界は試料全重量 100 g あたり 0.1 g である。全重量より食物繊維、タンパク質、水分、灰分および脂質の重量を差し引き、残量をその他成分とした。

でん粉粕はルゴール液にて染色後、光学顕微鏡（オリンパス, CX41）にて観察した。

### 2.2 でん粉粕の酵素糖化反応

300 mL 容培養瓶に絶乾でん粉粕の終濃度が 2.75w/v% となるように未乾燥でん粉粕 4.82 g（含水率 80.6wt%，絶乾でん粉粕重量 0.94 g）または乾燥でん粉粕 0.97 g（含水率 4.0wt%，絶乾でん粉粕重量 0.94 g）、セルラーゼ SS 144  $\mu$ L（牛ガンマグロブリン(BGG)換算終濃度 20 mg/g-絶乾でん粉粕、ナガセケムテックス）および 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5.0）30.0 mL を仕込み（全量 34.0 mL）、50°C 恒温下、120 rpm かく拌条件にて酵素糖化反応を行った。所定時間に反応溶液 400  $\mu$ L を採取し、グルコースオキシダーゼ法（和光純薬工業、グルコース CII-テストワコー）を用いてグルコース濃度を測定した。実験はセルラーゼ SS 無添加の場合についても同様にして行った。

### 2.3 エタノール発酵

#### 2.3.1 *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 の培養

*Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 は独立行政法人製品評価技術基盤機構より L-乾燥標品として入手した。L-乾燥標品を YM 培地（グルコース 10 g/L、ペプトン 5 g/L、酵母エキス 3 g/L、麦芽エキス 3 g/L）にて復元し、得られた培養液にグリセロールを添加して凍結保存（-80°C）した。エタノール発酵に使用する種菌として、滅菌した YM 培地 500 mL に *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 のグリセロール含有凍結保存菌体を植菌し、25°C、120 rpm 条件下にて 24 時間培養を行った。

#### 2.3.2 でん粉粕の酵素糖化とエタノール発酵

でん粉粕の酵素糖化反応とエタノール発酵には 10 L 容培養装置（エイブル, BMS-10KP3）を使用した。培養装置に絶乾でん粉粕の終濃度が 2.75w/v% となるように未乾燥でん粉

表 1 HPLC 分析条件

移動相	アセトニトリル/H <sub>2</sub> O (75 vol. / 25 vol.)
流量	0.6 mL/min
カラム	カプセルパック SG80 S5（資生堂） 4.6 mm I. D. × 250 mm L, 5 $\mu$ m
カラム温度	25°C
検出器	示差屈折率検出器（島津製作所, SPD-6A） RANGE 32 × 10 <sup>-6</sup> RIU (温度 35°C)
試料容量	5 $\mu$ L
装置	送液ユニット LC-10ACvp（島津製作所） 脱気装置 DGU-20A3（島津製作所） カラムオープン CTO-10AS（島津製作所） データ処理装置 C-R8A（島津製作所）

表 2 GC 分析条件

移動相	窒素
カラム	Sorbitol 25%, Gasport B 60/80 （ジーエルサイエンス） Glass Column 3.2 mm I. D. × 2 m L
温度	導入口 150°C / 検出器 150°C カラム温度 100°C
検出器	水素炎イオン化検出器 (FID)
試料容量	5 $\mu$ L
装置	本体 GC-14B（島津製作所） データ処理装置 C-R6A（島津製作所）

粕 991.4 g（含水率 80.6wt%，絶乾でん粉粕重量 192.3 g）と 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5.0）6.2 L を仕込み（全量 7.0 L）、高圧蒸気滅菌（120°C、40 分）した。滅菌後に培養装置を 50°C に温調制御し、セルラーゼ SS 29.6 mL（BGG 換算終濃度 20 mg/g-絶乾でん粉粕）、ビオザイム A 3.21 g（BGG 換算終濃度 5 mg/g-絶乾でん粉粕、天野エンザイム）、ビオザイム M 3.21 g（BGG 換算終濃度 5 mg/g-絶乾でん粉粕、天野エンザイム）、グルクザイム AF6 1.92 g（BGG 換算終濃度 5 mg/g-絶乾でん粉粕、天野エンザイム）、クライスターゼ PL45 1.44 mL（BGG 換算終濃度 5 mg/g-絶乾でん粉粕、天野エンザイム）を加え、50°C、120 rpm 条件下にて 3 日間酵素糖化を行った。2.3(1)節で得られた *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 の培養液を糖化 3 日後の 10 L 大量培養装置に添加し、25°C、120 rpm 条件下にて 5 日間エタノール発酵を行なった。所定時間に培養液 2 mL 採取し、グルコース濃度およびエタノール濃度を測定した。採取した培養液は 4°C 下、8,000 × g で 15 分間遠心分離した後、上清をフィルター（ADVANTEC, 0.45  $\mu$ m DISMIC-25CS）ろ過した。ろ液について表 1 に示す HPLC 分析条件にてグルコース濃度測定した。ろ液中のエタノール濃度は表 2 に示す GC 分析条件にて測定した。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 でん粉粕の成分分析

小清水町農業協同組合でん粉工場から 2015 年 9 月 30 日に採取したでん粉粕を 80°C にて 2 日間加熱乾燥した。得られた乾燥物を粉碎したものを乾燥でん粉粕とした。でん粉粕の含水率は採取日より異なっており、本研究で使用したでん粉粕の含水率は 80.6~86.9wt% であった。

乾燥でん粉粕の成分分析結果を表 3.1 に示す。表 3.1 には日本食品標準成分表より馬鈴しょ（塊茎、皮つき、生）のデータも示した [4]。馬鈴しょには 15.9wt% の炭水化物が含まれており、その内 9.8wt% の食物繊維である。乾燥でん粉粕中には 77.6wt% の食物繊維が含まれていた。乾燥でん粉粕には馬鈴しょの食物繊維分が高濃度で含まれていることから、馬鈴しょでん粉工場において馬鈴しょはすり潰されたのち、でん粉と可溶性のタンパク質や脂質はスクリーン（金属製スリット）を通過し、馬鈴しょ外皮が選択的にスクリーン上で回収されていることがわかった。馬鈴しょ外皮由来の不溶性食物繊維としてセルロースやヘミセルロースが考えられることから、馬鈴しょでん粉工場においてでん粉粕はでん粉同様重要なバイオマス原料と考える。

でん粉粕の光学顕微鏡観察画像を図 2 に示す。でん粉粕の顕微鏡画像には食物繊維由来すると考えられる繊維状物質とともに粒状物質が観察された。でん粉粕をルゴール液で染色したところ、図 2 に示すように粒状物質は青紫色に染色された。粒状物質はスクリーンを通過できなかったでん粉粒子であることがわかった。表 3 に示した食物繊維の重量測定法である Prosky 法ではアミラーゼ、プロテアーゼで加水分解後、有機溶媒で脂質成分を取り除き、灰分重量を差し引くことで植物繊維重量が算出される。このため、表 3 に示す 9.2wt% の「その他」成分がアミラーゼにより加水分解されるでん粉成分と考えられ、乾燥でん粉粕中には良質な炭水化物が 86.8wt% 含有していることが示唆された。

#### 3.2 でん粉粕の糖化反応

3.1 節に示したようにでん粉粕はセルロースを主成分とする食物繊維 77.6wt% に加え、でん粉製造工程で回収できなかったでん粉を含んでいる。これらバイオマスを加水分解することで工業原料、エネルギー源として期待されているグルコースを回収することができる。そこででん粉粕よりセルラーゼを用いてグルコース生成する方法を検討した。

乾燥でん粉粕（絶乾でん粉粕終濃度 2.75w/v%）にセルラーゼ SS を BGG 換算終濃度 20 mg / g 絶乾でん粉粕となるように添加した。グルコース濃度の経時変化を図 3（白丸と白四角）に示す。酵素糖化 2 日後にグルコース濃度は 18.4 g/L と

表 3 乾燥でん粉粕の成分(100 g あたり)

	乾燥でん粉粕	馬鈴しょ*
水分	4.5 g	81.1 g
タンパク質	5.8 g	1.8 g
脂質	0.3 g	0.1 g
炭水化物 (食物繊維)	— (77.6 g)	15.9 g (9.8 g)
灰分	2.6 g	1.0 g
その他	9.2 g	—

\* 日本食品標準成分表 2020 年版(八訂) 第 2 章データ 食品名: <いも類>じゃがいも 塊茎 皮つき 生 [4]

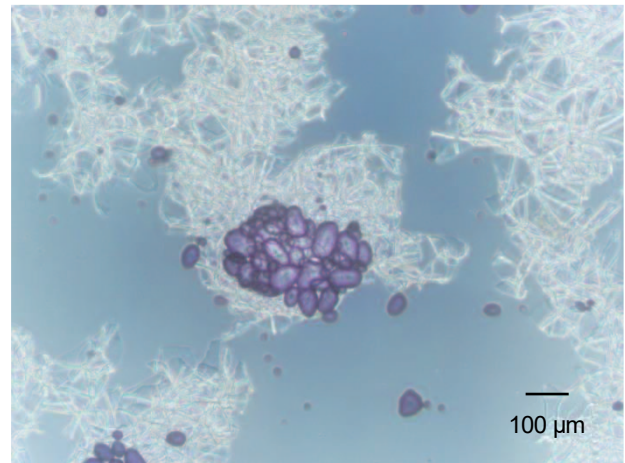


図 2 ルゴール液染色したでん粉粕の光学顕微鏡画像

なり、絶乾でん粉粕 1 g あたり 0.67 g のグルコースが生成することがわかった。この結果より、乾燥でん粉粕中の 77.6wt% を占める食物繊維はセルラーゼにより高い糖化率で加水分解されることがわかった。また、主な加水分解物としてグルコースが観測されたことから、乾燥でん粉粕中の食物繊維はセルロースが主成分であると考えられる。

上記実験では 80°C にて 2 日間加熱乾燥したでん粉粕を基質として酵素糖化を行った。乾燥でん粉粕は保存性に優れているが、乾燥でん粉粕を製造するためには大量のエネルギー消費する必要がある。でん粉工場より排出されるでん粉粕を直接利用することで、でん粉粕の酵素糖化コストは大幅に削減される。そこで工場より排出したでん粉粕（含水率 80.6wt%）を用いてセルラーゼによる酵素糖化を行った。乾燥でん粉粕を基質とした場合と同様に、でん粉粕（絶乾でん粉粕終濃度 2.75w/v%）にセルラーゼ SS を BGG 換算終濃度 20 mg / g 絶乾でん粉粕となるように添加した。グルコース濃度の経時変化を図 3（黒丸と黒四角）に示す。酵素糖化 2 日後にグルコース濃度は 16.1g/L となり、絶乾でん粉粕 1 g あたり 0.58 g の

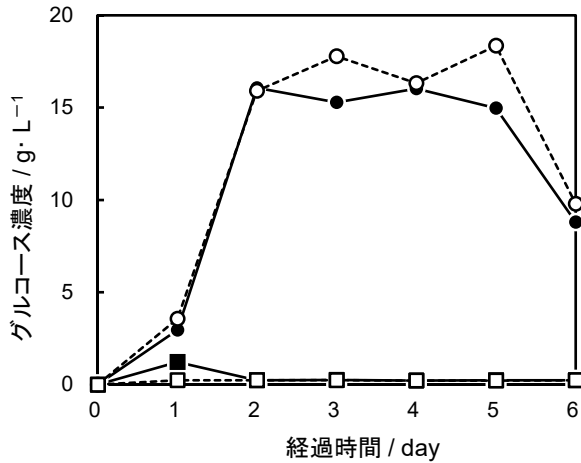


図3 でん粉粕のセルラーゼによる酵素糖化

○; 基質: 乾燥でん粉粕(絶乾でん粉粕換算終濃度 2.75wt%)・酵素: セルラーゼ SS(BGG 換算終濃度 20 mg / g-絶乾でん粉粕), □; 基質: 乾燥でん粉粕(絶乾でん粉粕換算終濃度 2.75wt%)・酵素: 無添加, ●; 基質: でん粉粕(絶乾でん粉粕換算終濃度 2.75wt%)・酵素: セルラーゼ SS(BGG 換算終濃度 20 mg / g-絶乾でん粉粕), ■; 基質: でん粉粕(絶乾でん粉粕換算終濃度 2.75wt%)・酵素: 無添加

グルコースが生成することがわかった。この結果より、未乾燥のでん粉粕を基質とした場合においても乾燥でん粉粕と同様の生成速度とグルコース濃度が得られることがわかった。

以上より、でん粉工場より排出したでん粉粕を前処理することなく原料として利用し、セルラーゼによる酵素糖化反応によりグルコースが生成することがわかった。

### 3.3 でん粉粕からのエタノール生産

3.2 節よりでん粉粕からグルコースが生成することがわかった。そこで、生成したグルコースから工業原料および燃料として期待されているエタノールを生成することを試みた。でん粉粕は未乾燥とし、でん粉粕濃度は 3.2 節と同様に絶乾でん粉粕終濃度 2.75wt%とした。

10L 大量培養装置にでん粉粕とセルラーゼおよびアミラーゼを添加し、3 日間酵素糖化反応を行った。アミラーゼは、でん粉粕に含まれるでん粉を加水分解するために添加した。グルコース濃度およびエタノール濃度の経時変化を図 4 に示す。酵素糖化 3 日後に 18.3 g/L となり、絶乾でん粉粕 1 g あたり 0.66 g のグルコースが生成した。セルラーゼのみを用いた酵素糖化では絶乾でん粉粕 1 g あたり 0.58 g のグルコース生成 (3.2 節) であったことから、アミラーゼの酵素作用によりでん粉粕中のでん粉が加水分解されたことが考えられる。3 日間の酵素糖化後、前培養した *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 を植菌することでエタノール発酵を開始した。酵母を植菌後、グルコース濃度の減少とともに、エタノール濃度が増加した。エタノール発酵 4 日後にエタノール濃度は 0.79 g/L となり、絶乾でん粉粕 1 g あたり 28.8 mg のグルコー

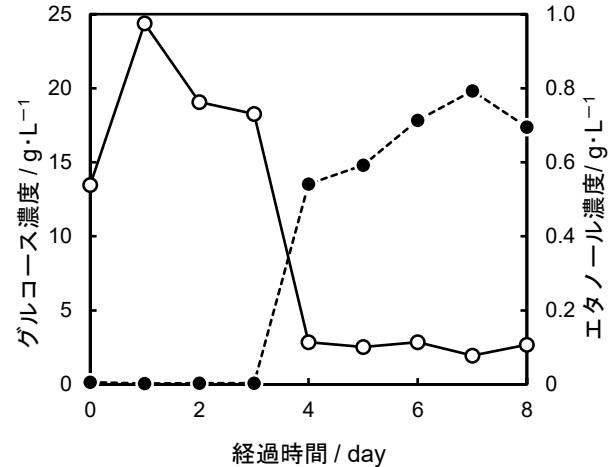


図4 でん粉粕からのエタノール生産

**酵素糖化:** 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.0) 6.2 L, 未乾燥でん粉粕 991.5 g (絶乾でん粉粕換算終濃度 2.75wt%), セルラーゼ SS 29.6 mL (BGG 換算終濃度 20 mg / g-絶乾でん粉粕), ピオザイム A 3.21 g (BGG 換算終濃度 5 mg / g-絶乾でん粉粕), ピオザイム M 3.21 g (BGG 換算終濃度 5 mg / g-絶乾でん粉粕), グルクザイム AF6 1.92 g (BGG 換算終濃度 5 mg / g-絶乾でん粉粕), クライスターゼ PL45 1.44 mL (BGG 換算終濃度 5 mg / g-絶乾でん粉粕) を加え, 50°C, 120 rpm 条件下にて 3 日間酵素糖化, **エタノール発酵:** 酵素糖化 3 日後に前培養した *Saccharomyces cerevisiae* NBRC-110703 500 mL を植菌, ○: グルコース濃度, ●: エタノール濃度

スが生成した。グルコース消費量あたりのエタノール生成収率は 6.42%であった。

## 4. 総括

小清水町農業協同組合の馬鈴しょでん粉工場ではでん粉製造の副産物として、馬鈴しょの絞り粕であるでん粉粕が排出されている。現在、でん粉粕は酪農飼料の原料として利用されているが、その利用例は限られている。そこででん粉粕の成分を明らかにし、主成分と考えられるセルロースから酵素糖化によりグルコースを生成することが試みた。さらに本研究では生成したグルコースをエタノール発酵することで、工業原料および燃料として期待されているエタノールを生成することを目的とした。

でん粉粕の成分分析より、乾燥でん粉粕中には良質な炭水化物が 80wt%以上含有していることが示唆された。でん粉粕のセルラーゼによる酵素糖化により絶乾でん粉粕 1 g あたり 0.67 g のグルコースが生成することがわかった。グルコースは 5-ヒドロキシメチルフルフラールに転換することで工業原料となることが期待されていることから、でん粉粕がでん粉同様バイオマス資源になることが示唆された。生成したグルコースより 6.42%の生成収率でエタノールが生成することがわかった。でん粉粕からのバイオエタノール製造技術について水熱可溶化による先行事例がある [5]。本研究で行った酵

素糖化による方法は水熱可溶化に比べ温和な条件でエタノール生産が可能であるものの、エタノール生成量が低い問題点を有している。今後は酵素糖化におけるでん粉粕濃度を高めることや、エタノール発酵条件の検討が必要と考える。

#### 参考文献

- [1] TAKEGUCHI M., HASUMI F., MAYANAGI M., SATOU M. : Utilization of potato protein recovered from wastewater of potato starch factory as cattle feed, *Journal of Engineering and Technological Sciences*, 47, 2 (2015) pp.170-178
- [2] 大久保倫子, 原光輝, 宮城優一, 増子孝義, 相馬幸作 : バレイショデンプン粕とフスマの混合サイレージの発酵品質と栄養価, *北海道畜産草地学会報*, 7 (2019) pp.17-24
- [3] F. Mayer : Potato pulp: properties, physical modification and applications, 59, 1/3 (1998) pp. 231-235
- [4] 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会 報告: 日本食品標準成分表 2020 年版 (八訂) 第 2 章 日本食品標準成分表 (データ), 令和 2 年 12 月, [https://www.mext.go.jp/a\\_menu/syokuhinseibun/mext\\_01110.html](https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html) (2022.11.20 参照)
- [5] 川尻聡 : ばれいしょでん粉工場廃棄物の有効利用について~バイオエタノール製造技術の開発~, *でん粉情報*, No.36 (2010) pp.1-4