

発酵液からのパーペレーション法によるエタノールの連続抜き出し

Ethanol production by pervaporation in the membrane bioreactor

斉藤史代*・中尾真一*・戸田清**・木村尚史*

Fumiyo SAITOH, Shin-ichi NAKAO, Kiyoshi TODA and Shoji KIMURA

1. はじめに

石油資源が有限であることが指摘されている今日、太陽エネルギーによる再生産が可能、いわゆるバイオマスからのエネルギー生産が急務となっている。中でも、トウモロコシ・精密・キャッサバなどの農産型バイオマスの糖化・発酵によるエタノール生産プロセスは、メタンガス・水素ガスなどと並んで、石油の代替エネルギーを確保できるものとして注目を浴びている。現在、ブラジルでは国家アルコール計画のもとに、直接サトウキビから大量のエタノールが生産され、自動車用燃料として利用されている。このような発酵によるエタノール生産では、飲料用のものについては古来よりの伝統的技術が確立されているが、石油の代替エネルギーとして利用するためには、より高濃度のエタノールをより高収率で、しかも低コストで得られる技術が必要になっている。そのため、単位菌体あたりの発酵速度が大きく、エタノール耐性の高い新規生産菌の検索が、遺伝子工学の手法を取り入れつつ、広範囲にわたって行われている。また、菌体をゲルなどに包括固定することにより基質阻害を緩和し、菌体濃度を高め、菌体を回収・再利用して連続発酵を行うプロセスも開発されている。一方、蒸留による濃縮工程はエタノール生産工程のうち最大のエネルギー消費を伴い、ここでの省力化は大きな課題となっている。

そこで、この連続発酵と生成エタノールの濃縮とを同時に行えるプロセスとして、以前からパーペレーション法¹⁾を用いたメンブレンバイオリアクターの適用が考えられていた。パーペレーション法は膜を介して高圧側を液相とし、低圧側を減圧もしくはキャリアガスを流すことにより、液相中の特定成分を他よりも優先的に透過させて分離濃縮を行う方法である。エタノール選択性を有する膜としてはシリコンゴム膜²⁾がよく知られているが、この膜は透過流速が極めて小さく、発酵と組み合わせるには膨大な膜面積を必要とする。一方、液体は通さず蒸気(気体)のみを通す疎水性多孔膜を用い

た場合には、エタノール選択性は蒸留法と同様に気液平衡関係で決まってしまうが、透過流速としては大きな値が得られる。そこで今回は、疎水性多孔膜であるポリテトラフルオロエチレン(PTFE)膜を用い、発酵液より菌体・基質が流出することなく、連続的かつ安定にエタノールを濃縮しつつ抜き出すことが可能かどうかを検討したので、ここに報告する。

2. 装置および実験方法

装置全体のフローシートを図1および図2に示す。実験Iではキャリアーガス方式(図1)を、実験II・IIIでは

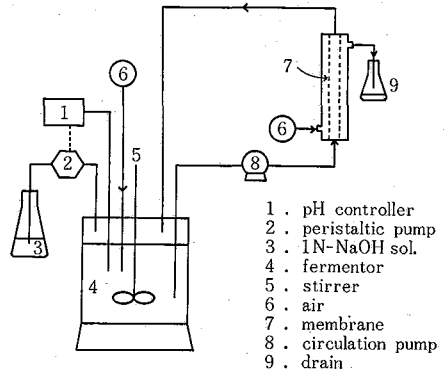


図1 実験Iのフローシート(キャリアーガス方式)

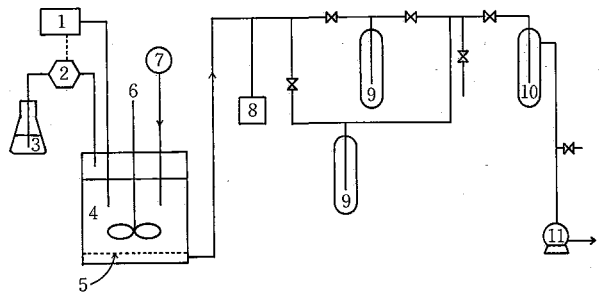


図2 実験II・IIIのフローシート(真空方式)

* 東京大学生産技術研究所 第4部

** 東京大学応用微生物研究所

真空方式 (図 2) を用いた。使用した膜はいずれも孔径 0.2μ の PTFE 平膜 (日東電工) で、有効膜面積は実験 I では 400 cm^2 、実験 II, III では 85 cm^2 である。

2-1 実験 I

菌体は *Saccharomyces carlsbergensis* (LAM 1068) を、培地はグルコース約 200 g/l 、酵母エキス 5 g/l を含む Wickerham 培地⁹⁾を用いた。発酵槽は丸菱 MD-260 (作業液量 1.5 l) を用い、温度 30°C 、pH 5.0 に調整しながら回分発酵を行った。また、膜を使わない発酵を同じ条件で並列して行った。

発酵液は膜面積 200 cm^2 、流路断面 $100\text{ mm}\times 8\text{ mm}$ を有する膜 2 枚の間隙を流速 2 l/min で通過させたのち、元の発酵槽に戻した。膜の外側にはキャリアーガスとして、流速 3 l/min で空気を流した。発酵液の透過実験は発酵終了後も連続して行った。なお、ここでは透過蒸気の捕集は行わなかった。

2-2 実験 II

菌体は乾燥酵母 (オリエンタル)、培地は和田らの培地⁴⁾を用いた。発酵槽としては、底部に膜を取り付けた内径 12 cm 、高さ 15 cm の円筒形のセルを自作して用いた。膜の透過側を真空ラインに接続し、透過蒸気は液体窒素で捕集した。発酵は作業液量 0.9 l 、温度 30°C 、pH 4.5 で、ゆるやかに通気攪拌しながら 30 時間行った。発酵開始後 6 時間経過したのち、真空ポンプで透過側を約 3 Torr に引き、透過蒸気を連続的に 2 時間ずつ捕集した。

2-3 実験 III

発酵および真空ラインの条件はすべて実験 II と同様であるが、ここでは透過実験開始とともに、抜き出された水と同量の無菌水を補給した。糖が消費され尽くした 24 時間後からは 2 時間おきに、糖 20 g とともに無菌水に替えて培地の補給を行いつつ、さらに 36 時間発酵を続けた。

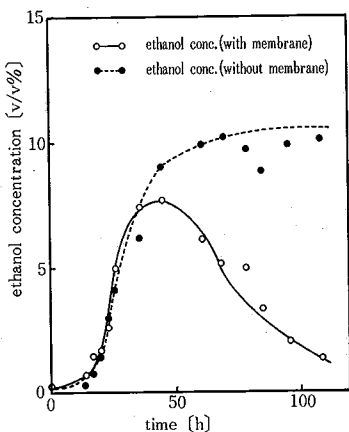


図 3 発酵液中のエタノール濃度

2-4 分析

菌体濃度には 105°C で乾固させた乾燥菌体重量を用い、発酵液中の糖濃度・エタノール濃度は酵素電極アナライザー M-100 (東洋醸造) を用いて測定した。実験 II, III において、透過液のエタノール濃度は、屈折率を測定することにより求めた。

3. 実験結果

3-1 実験 I

図 3 に発酵液中のエタノール濃度の経時変化を示した。点線は膜を用いない通常の発酵によるエタノール濃度の変化である。発酵終了後、膜を用いない発酵槽ではエタノール濃度は一定となるが、膜を用いた場合エタノール濃度は時間とともに低下しており、このことからエタノールが連続的に系外へ抜き出されていることがわかる。このエタノール抜き出しの効果は、発酵時間にも顕著に表れており、通常の発酵では約 60 時間であるのに対して、膜を用いた発酵では約 40 時間と、発酵所要時間が約 3 分の 2 に短縮されている。図 4 には発酵液中の菌体濃度・糖濃度の経時変化を示した。図 3 と同様に、点線は膜を用いない通常の発酵における変化を表している。菌体濃度は通常の場合に比べ約 2 倍になっているが、これは透過側にキャリアーガスとして空気を流しているため、膜近傍で酵母の好氣的増殖が起こったものと考えられる。なお、ここで用いた酵母がエタノールを資化することにより増殖する場合の菌体収率は、別の実験から明らかになっており ($0.67\text{ g}\cdot\text{dry weight cell/g}\cdot\text{ethanol}$),

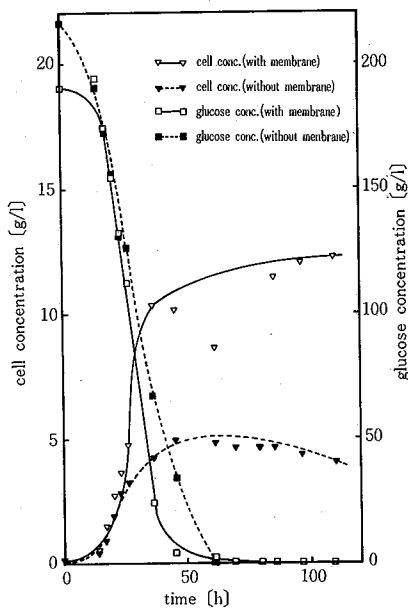


図 4 発酵液中の菌体濃度・糖濃度

研究速報
 通常の場合と膜を用いた場合の菌体濃度の差から菌体の資化によるエタノール消費量を求めても、実際のエタノール減少量のわずか6%に過ぎない。したがって、膜を用いた場合のエタノール濃度の低下は、明らかに膜を介してエタノールが抜き出されたため起こったと考えられる。

3-2 実験II

図5に発酵液中の菌体濃度、糖濃度、エタノール濃度の経時変化を示した。糖が消費され尽くし、エタノール生産が終了した22時間後あたりから、エタノールの連続抜き出しにより実験Iの場合と同様に、エタノール濃度が徐々に低下している。図6には透過流速、発酵液中および透過液中のエタノール濃度の経時変化を示した。図中には、発酵液中のエタノール濃度から760 mmHgにおける気液平衡により得られる濃度についても示した。透過液のエタノール濃度は気液平衡関係を少し下回る濃度ではあるが、透過流速は30時間ほぼ一定になっている。さらに図7には、発酵液中のエタノール量、透過液中の積算エタノール量およびこれらを合わせた総エタノール量の経時変化を示した。発酵液中のエタノール量は発酵終了後減少しているが、透過液中のエタノール量は増加しており、総エタノール量は通常の見られるような定常状態を示している。このことから、真空方式によってもエタノールの抜き出しが連続して安定に行われたことがわかる。

3-3 実験III

実験IIと同様に、図8には発酵液中の菌体濃度、糖濃度、エタノール濃度の経時変化を示した。なお、24時間

後以降の糖濃度については、糖の補給が断続的であったことと、糖の補給時刻が発酵液の分析時刻に対して一定でなかったことから、連続した濃度変化を捉えることができず、プロットのみを示した。発酵液中のエタノール濃度は24時間後付近で一時落ちこむが、これはエタノール抜き出しのためと考えられ、糖が補給されるとともにエタノール生産も再開され、やがて定常状態に達している。図9には透過流速、発酵液中および透過液中のエタノール濃度の経時変化を示し、さらに図6と同様に、発酵液中のエタノール濃度と気液平衡関係にある濃度についても示した。透過液のエタノール濃度は気液平衡関係を少し下回るが、透過流速は実験IIと同様の値で60時間ほぼ一定となっている。図10には発酵液中のエタノール量、透過液中の積算エタノール量およびこれらを合わせた総エタノール量を示した。図より40時間後から20時間にわたり、発酵液中のエタノール量を定常状態に保ちながら、一定の速度でエタノールの抜き出しが行われていることがわかる。この定常状態におけるエタノール生産速度は、総エタノール量を表す直線の傾きから約2.8 g/l・hであった。

4. 考 察

糖消費量から換算したエタノールの理論収量に対して糖からエタノールへの変換効率を求めると、実験II・IIIともに74%となった。最終菌体濃度が実験IIでは16.8 g/l、実験IIIでは22.1 g/lとかなり高いにもかかわらず、このようにエタノール生産量が低いのは、通気量が多過ぎて菌体の好氣的増殖が盛んに起こったためと考えられる。

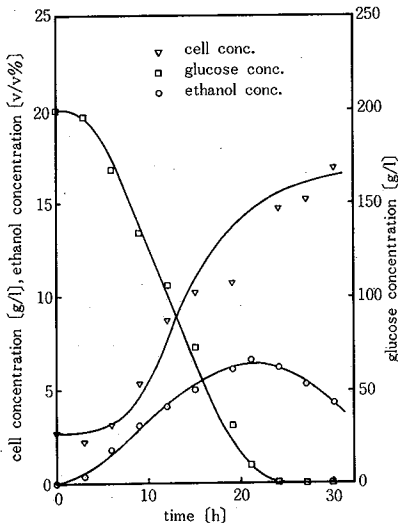


図5 発酵液中の菌体濃度・糖濃度・エタノール濃度

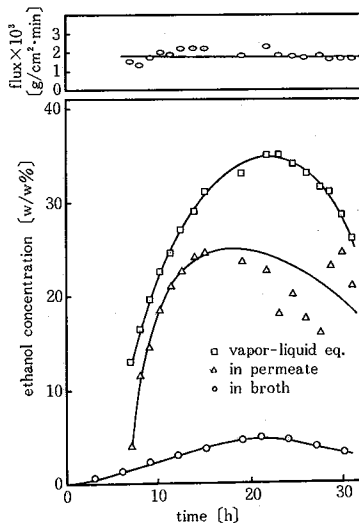


図6 パーペーパーレシジョンによる透過流速と発酵液中および透過液中のエタノール濃度

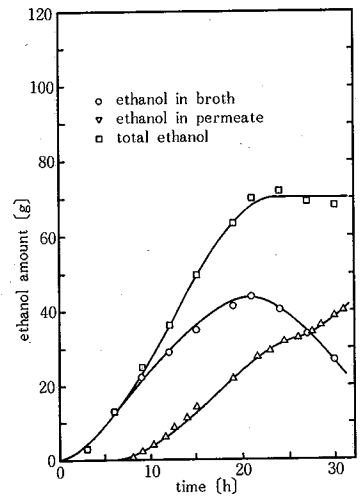


図7 発酵液中および透過液中のエタノール量と総エタノール量

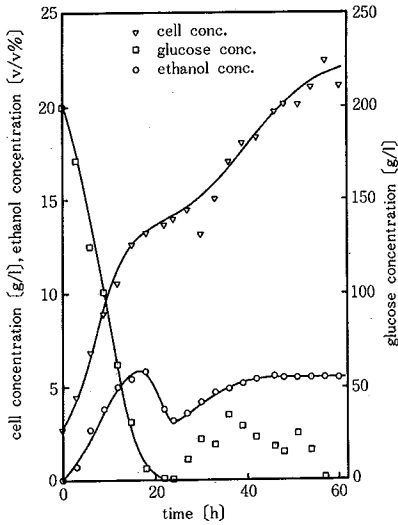


図 8 発酵液中の菌体濃度・糖濃度・エタノール濃度

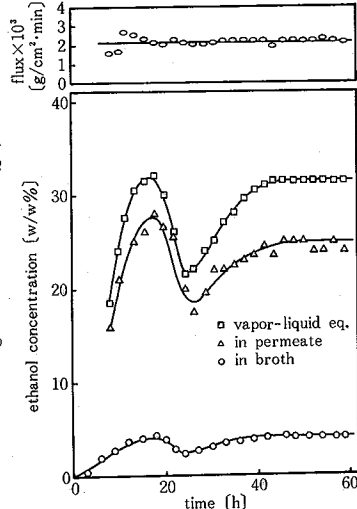


図 9 パーバパーレーションによる透過流束と発酵液中および透過液中のエタノール濃度

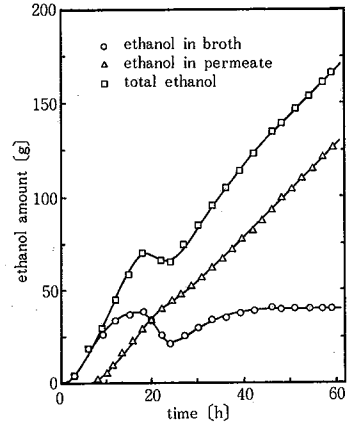


図 10 発酵液中および透過液中のエタノール量と総エタノール量

透過液のエタノール濃度は、実験Ⅱ・Ⅲともに気液平衡関係を下回っているが、これについては濃度分極の影響が考えられる。パーバパーレーション法には透過液の濃度が原液より高く得られるという利点があるが、これは溶質（エタノール）が溶媒（水）より選択的に膜を透過することに起因しており、そのため膜面のエタノール濃度は原液本体より低くなる。こうした濃度分極現象は膜近傍の物質移動条件により決まるが、エタノール水溶液の透過実験を別に行ったところ、得られた透過液濃度は攪拌時のほうが無攪拌時より 10% ほど高かった。原液が発酵液となった場合、膜を通過する流れにより膜面に運ばれてきた菌体が蓄積してゲル層を形成するため、このゲル層中の物質移動は極めて遅くなる。したがって、膜面のエタノール濃度は原液本体より常に低くなり、気液平衡関係にある濃度も原液本体に対するそれよりも低くなると考えられる。表 1 には、菌体を含まない系であるエタノール水溶液およびエタノール培地溶液について行った透過実験の結果を示したが、ここでは気液平衡関係にはほぼ等しい濃度の透過液が得られた。

一方、エタノール水溶液の気液平衡を発酵液のような多成分を含む高濃度懸濁液にそのまま適用することが適切かどうか、まだ明らかではない。濃度分極を含めて、さらに検討が必要と思われる。

5. おわりに

発酵に膜を組み合わせてパーバパーレーションを行うことにより、キャリアーガス方式でも真空方式でも、基質や菌体が流出することなく、連続的に安定してエタノ

表 1. エタノール水溶液およびエタノール培地溶液での透過実験結果

sol.	aq.				medium			
	feed conc. (w/w %)	permeate conc. (w/w %)	V-L. eq. conc. (w/w %)	flux (g/cm ² ·min)	feed conc. (w/w %)	permeate conc. (w/w %)	V-L. eq. conc. (w/w %)	flux (g/cm ² ·min)
①	6.0	35.5	38	3.00×10 ⁻¹	3.7	29.3	29	2.02×10 ⁻¹
②	7.0	38.6	42	2.64×10 ⁻¹	7.5	42.3	44	2.88×10 ⁻¹

(いずれも 5 回ずつ実験を行い、その平均値をとった。)

ールを抜き出せることがわかった。また、菌体の付着が起こっているにもかかわらず、延べ 90 時間にわたり、膜は疎水性を失うことなく安定した透過流束を保ちつつ使用することができた。

今回は単にエタノールの安定した連続抜き出しに留まったが、エタノール生産速度のより高い状態で抜き出しが行えるように、今後は発酵その他の条件の最適化をはかる必要がある。一方、蒸留法より有利な気液平衡関係を得て、省エネルギー化を進めるために、エタノール選択性が高くかつ透過流束が大きな膜の開発が強く望まれる。
(1985 年 5 月 18 日受理)

参考文献

- 1) 妹尾学, 木村尚史: 新機能性材料「膜」
- 2) 木村尚史, 野村剛志: 生産研究, 35, 289 (1979)
- 3) L. J. Wickerham: U. S. Dept. Agri. Tech. Bull., No. 1029, 1 (1951)
- 4) M. Wada et al.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 8, 241 (1979)