

2019年度 生物学技術賞 受賞

選択的発酵酵母を利用した 砂糖・バイオエタノール逆転生産プロセスの開発

小原 聡^{1*}・寺島 義文²・杉本 明³・福島 康裕⁴・菊池 康紀⁵

Development of the *Inversion* process using a selective-fermentation yeast

Satoshi Ohara^{1*}, Yoshifumi Terajima², Akira Sugimoto³, Yasuhiro Fukushima⁴, Yasunori Kikuchi⁵ (¹Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, 4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8904, ²Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1091-1 Maezato-kawarabaru, Ishibaki, Okinawa 907-0002, ³Sugarcane Consultant, 6443-7 Nishinooto, Nishinooto, Kagoshima 891-3101, ⁴Department of Chemical Engineering, Tohoku University, 6-6-01 Aramaki-aza-aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, ⁵Institute for Future Initiatives, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8654), *Seibutsu-kogaku* **98**: 62-66, 2020



はじめに

世界的な人口増加に伴う将来的な食料・エネルギー不足が予測されるなか、植物資源を用いた食料とバイオエネルギーの増産が望まれる。サトウキビは単位収量が高く、主に砂糖原料となるショ糖と、エタノール原料となる還元糖（ブドウ糖、果糖）を蓄積するため、小面積で多くの砂糖（食料）とエタノール（バイオ燃料）の生産を可能とする作物である。サトウキビから砂糖（粗糖）を製造する現在の製糖プロセスは1840年代にほぼ完成され、サトウキビから糖液を搾った後の繊維分（バガス）をボイラーで燃焼して蒸気と電力を生成し、そのエネルギーを利用して、糖液から砂糖の生産を行っている。1970年代以降は、砂糖抽出後の液体残渣（糖蜜）からエタノールを生産し、さらに、余剰電力を売電する砂糖・エタノール・電力の複合生産システムが提案され、世界各国で普及してきた。

従来の複合生産システムでは、優良農地の減少や異常気象に伴う原料調達量の減少と不安定さ、工場稼働率の低さが課題である。単位面積あたりの砂糖・エタノール・電力の生産量を増やす目的で、世界の研究機関が多収性

のサトウキビ品種を開発するなかで、筆者らの研究チームも食料増産型のエタノール生産¹⁾を目指して多収性を特徴とする品種KY01-2044を開発した²⁾（アサヒビールと農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センターとの共同研究）。KY01-2044は台風や干ばつに比較的強く（耐倒伏性、耐乾性）、不良環境において多収性を発揮するため、サトウキビ生産者の収益性や製糖工場の原料調達の安定性の面では優れた原料である。しかしながら、このような特徴を持つ多収性品種では還元糖含有率の高さが課題になる。還元糖は搾汁の粘性を高くするため、砂糖結晶化の阻害物質である³⁾。還元糖が多い場合は砂糖結晶の成長と糖蜜分離が阻害され、砂糖回収率および砂糖品質が低下し、副産物の糖蜜生産量を増やす結果となる。これでは糖蜜からのエタノール生産量は増えるものの、砂糖生産量を減らし、食料競合の問題を引き起こしかねない。そのため、多収性品種はこれまで製糖産業に受容されず産業上利用されてこなかった。さらに、従来の製糖工場の工場稼働率の低さの原因も、還元糖含有率が低くショ糖含有率の高い時期（つまり砂糖回収率の高い時期）しか操業していないことに起因している。これまでクロマト分離のような還元糖分離

著者紹介 ¹東京大学先端科学技術研究センター（特任准教授） E-mail: ohara@enesys.rcast.u-tokyo.ac.jp

²国際農林水産業研究センター、³サトウキビコンサルタント、⁴東北大学、⁵東京大学

方法⁴⁾も提案されているが、高コストなどの理由から導入に至っていない。そこで還元糖除去とエタノール製造を同時に行う逆転生産プロセスの開発に至った。

逆転生産プロセスの開発

逆転生産プロセスは、サトウキビ産業の歴史の中で常識であった、砂糖製造の後にエタノールを製造するという従来の生産順序を世界で初めて逆転させ、エタノール製造後に砂糖を生産するプロセスである⁵⁾ (図1)。第一段階で、サトウキビ搾汁に選択的発酵酵母(シヨ糖を資化せず還元糖のみを選択的にエタノールに変換する酵母)を添加し、砂糖製造の阻害因子である還元糖のみを選択的にエタノールへと変換する。シヨ糖とエタノールを含む発酵液を加熱・濃縮することにより、蒸発したエタノールの回収と同時に高純度のシヨ糖含有シラップが得られる。第二段階で高純度のシヨ糖含有シラップから砂糖を高効率に結晶化させる。

一般にアルコール産業で使われる酵母は、シヨ糖分解酵素であるインベルターゼを生産し、菌体外に放出する。

このような酵母をサトウキビ搾汁に加えると、シヨ糖をすべて還元糖に分解して、元々存在した還元糖とともにすべてエタノールに変換してしまう。そのため、サトウキビを原料としたバイオエタノール生産では、まず搾汁中の貴重なシヨ糖を砂糖として回収して、その後に残ったシヨ糖と還元糖を含む糖蜜をエタノールに変えてきた。一方、逆転生産プロセスに利用する選択的発酵酵母(たとえば、*Saccharomyces dairenensis*⁶⁾)は、何らかの理由でインベルターゼを生産もしくは放出しないため、シヨ糖を分解できず、搾汁中に元々存在した還元糖のみを選択的にエタノールに変換する(図2)。このような選択的発酵酵母は1900年代初頭に報告されているが、その産業利用はオリゴ糖製造⁸⁾など数少ない。

逆転生産プロセスでは、従来の砂糖とエタノールの生産順序を逆転させるが、実際は既存の製糖工場の清浄工程と濃縮工程の間にバイパスラインとして選択的発酵設備(発酵槽、熱交換器など)を接続・挿入することで、比較的容易に製糖工場に導入可能である(図3)。選択的発酵後の発酵液に含まれるエタノールは、製糖工場の濃

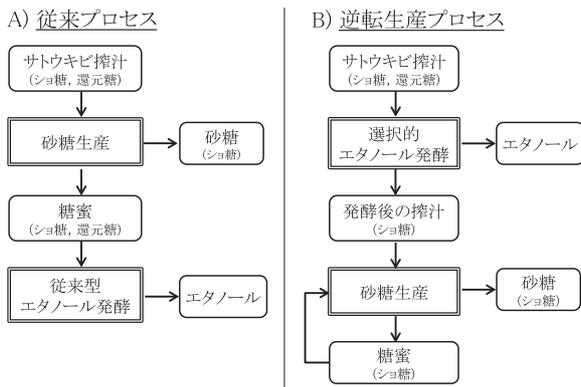


図1. 従来プロセスと逆転生産プロセス

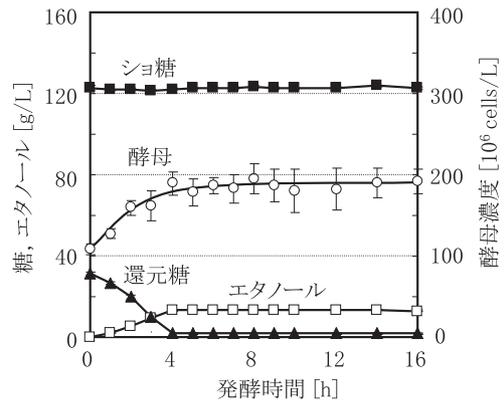


図2. 選択的発酵酵母 *S. dairenensis* の発酵経過⁷⁾

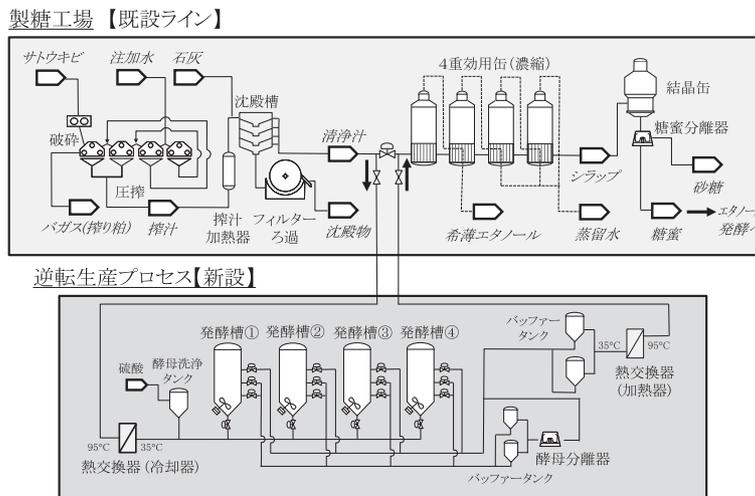


図3. 製糖工場に逆転生産プロセスを導入した場合のプロセスフロー

縮工程において回収できるため、新たに発酵液からエタノールを分離回収する装置は不要である。

逆転生産プロセスのメリット

図4にラボスケールにおける砂糖の結晶化試験の結果を示す⁵⁾。逆転生産プロセスでは、還元糖の選択的変換・除去により、砂糖回収率（シヨ糖の結晶化効率）が飛躍的に向上する。特に純糖率（全可溶性固形分に占めるシヨ糖の割合）が低い、つまり還元糖を多く含む搾汁において、その差が顕著である。従来、還元糖比率の高い夏季はサトウキビの収穫・砂糖生産が実施されてこなかったが、本技術によって収穫期間の大幅な延長が世界的に可能になる。その結果、工場・収穫機械の稼働率、土地・労働力の利用効率が向上し、原料および製品の生産コストの低減および農業経営の高度化が図られる。さらに、逆転生産プロセスと多収性品種との組合せにより、食料競合の解消（砂糖・エタノールの同時的増産）が可能になる。つまり、エタノールを生産することで、食料生産の効率化、安定化、増産がもたらされるというパラダイムシフトが起こる。加えて、搾汁や糖蜜の粘度上昇の原

因であった還元糖が除去されるため、砂糖と糖蜜の分離性が向上し、砂糖表面に付着して残る糖蜜が減少する。その結果、砂糖品質（シヨ糖純度）が向上するという副次的効果も得られる。

逆転生産プロセス用酵母GYK-10株の開発

シヨ糖非資化性を有する選択的発酵酵母として、*S. dairenensis* (NBRC0211)⁶⁾、*S. transvaalensis* (NBRC1625)⁹⁾、*S. rosinii* (NBRC10008)¹⁰⁾、*Zygosaccharomyces bisporus* (NBRC1131)⁶⁾など18属71種が報告されている。実際に逆転生産プロセスを製糖工場に導入するためには、食品工場で利用可能な酵母菌株である*S. cerevisiae*を利用する必要がある。そこで、シヨ糖非資化性、高エタノール発酵性に加えて、連続発酵時の分離性向上のために、凝集性（攪拌を停止させると酵母同士が凝集し沈降する性質）を併せ持つ逆転生産プロセス用酵母GYK-10株（*S. cerevisiae*）を開発した¹¹⁾。まず、シヨ糖非資化性酵母NBRC10055（*S. cerevisiae*）と凝集性酵母SDT株（*S. cerevisiae*）を親株として、菌株接合を行い、スクリーニングにより選抜した。続いて、黒糖ベース培地を用いて、100 Lスケールでの回分発酵（発酵温度30 °C、5 h サイクル：発酵時間4 h + 静置・上清分離1 h）を10回連続で実施し、選抜したGYK-10株の選択的発酵の安定性を確認した（図5）。

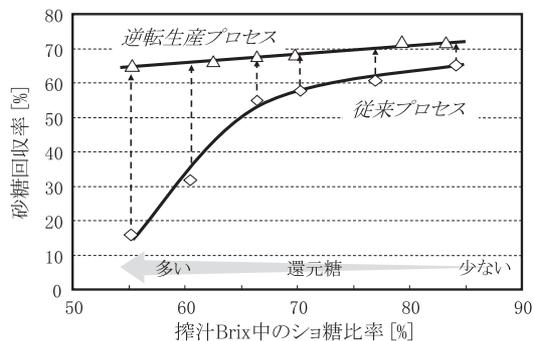


図4. 砂糖回収率の比較⁷⁾

単位面積あたりの砂糖・エタノールの生産性

世界の主要なサトウキビ生産地域において、品種とプロセスの組合せを変えた場合の砂糖・エタノールの生産性シミュレーションを実施した。結果を表1に示す⁵⁾。

日本やオーストラリアでは、多収性品種の導入により砂糖とエタノールが共に増産し、逆転生産プロセスを組

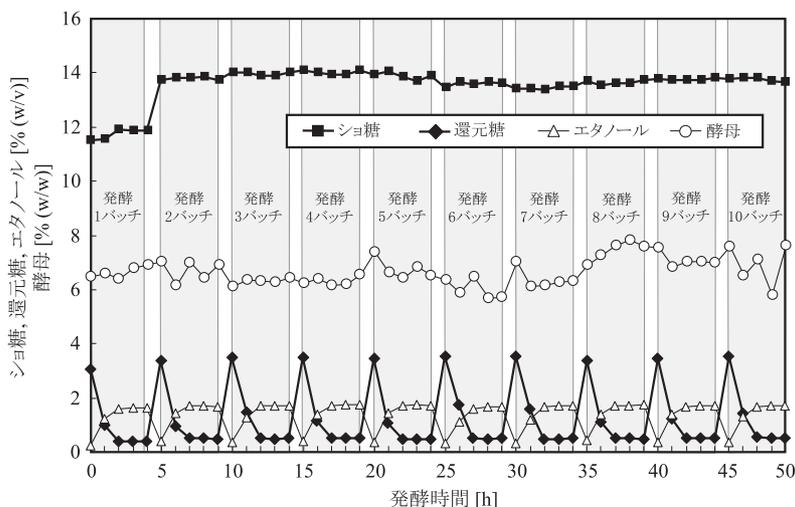


図5. 逆転生産プロセス用酵母GYK-10株の安定性試験¹¹⁾

表1. シミュレーションによる生産性の変化⁵⁾

国名	サトウキビ情報			生産量 (シミュレーション結果)				
				従来プロセス		逆転生産プロセス		
	品種名	タイプ	単位収量 [t/ha]	純糖率 [%]	砂糖 [t/ha]	エタノール [t/ha]	砂糖 [t/ha]	エタノール [t/ha]
日本	NiF8	製糖用品種	75.2	85	8.2	1.2	9.1	0.8
	KY01-2044	多収性品種	101.3	78.3	8.4	2.1	9.9	1.4
ブラジル	RB72454	製糖用品種	89.8	83.3	10.2	1.7	11.4	1.1
	RB867515	多収性品種	103.2	73.5	6.9	2.6	8.8	1.7
タイ	K84-200	製糖用品種	91.4	79.7	12.5	2.7	14.5	1.9
	MPT00-478	多収性品種	137.4	57.4	3.5	9.7	11.6	5.6
アメリカ	CP65-357	製糖用品種	73.3	92.7	13	0.7	13.3	0.6
	L79-1002	多収性品種	177.2	74.2	11.5	4.1	14.6	2.7
オーストラリア	Q177	製糖用品種	65.0	88.2	9.3	0.9	9.8	0.7
	KQ04-6003	多収性品種	128.0	79.2	13.5	3.1	15.7	2.1

み合わせることで更なる砂糖増産が見込めるという結果が得られた。特にオーストラリアでは多収性品種と逆転生産プロセスの組合せにより、砂糖が従来の1.5倍以上(9.3→15.7 t/ha)、エタノールが2倍以上(0.9→2.1 t/ha)増産できる可能性が示された。一方で、世界最大のサトウキビ生産国であるブラジルでは同時増産の効果が見込めないという結果になった。タイやアメリカでは、多収性品種の導入だけでは砂糖減産量が大きくなるが、逆転生産プロセスを組み合わせることで、砂糖減産を抑えつつ、エタノールを増産できることが分かった。一般に、生産性は複数年度にわたる実際のデータを基に評価をする必要があるため、上記はあくまで参考値ではあるものの、品種やプロセスの選択幅が広がったことで、地域の事情に適したシステム設計が可能になった意義は大きい。

製糖工場でのプラント実証試験

種子島(鹿児島県)にある既設の製糖工場(新光糖業(株)中種子工場)内に、逆転生産プロセスのパイロットプラント設備(2,000 L発酵タンク3基、チューブ式熱交換器、1,500 L酵母培養槽1基、2,000 Lバッファータンク1基)を設置し、実際のサトウキビ搾汁を用いた選択的発酵工程の実証試験を実施した¹²⁾。酵母はGYK-10株を用い、発酵温度35℃で、発酵時間3hサイクル(搾汁受入1h+発酵1h+静置30min+上清払出20min+待機10min)の回分発酵を70回連続で行った。発酵後の酵母は発酵槽内に残し、入れ替えることなく、繰り返し使用した。結果、自動運転で70回連続発酵に成功した。平均ショ糖残存率は99.5%、平均還元糖除去率は88.4%という良好な結果が得られた。搾汁中に混入した芽胞由来の微生物(*Clostridium beijerinckii*)のコンタミは観察されたが、短時間で搾汁による希釈と

い出しを繰り返すことで、検出菌濃度が 10^2 cells/mLオーダーに抑えられ、ショ糖残存率や還元糖除去率などへの影響は見られなかった。

経済性検討結果

フィリピンの製糖工場(4,500 t-sugarcane/d規模)に、多収性品種と逆転生産プロセスを導入した場合の経済性検討を行った¹³⁾。事業期間を20年に設定し、年度ごとの技術導入計画を作成し、それに必要な設備投資額や労務費の計画、年度ごとの原料調達量や補助原料・副資材の購入量、製品生産量(砂糖、エタノール、電力)のシミュレーションを実施した。コストデータはすべて現地のフォアグラウンドデータを収集し、工場の設備投資額の算出については、プラントエンジニアリング会社と共同で最終的な設備投資額を決定した。さらに、資金調達手段や元本返済計画・配当金支払計画なども加えて、事業期間全体のキャッシュフローシートを作成した。

技術導入によって、砂糖生産量は現状比1.95倍の9.7万t/yearに、エタノール生産量は2.7万kL/yearに増加する。設備投資額が約111億円(うち逆転生産プロセス設備7.4億円)、総事業投資額が約133億円、事業投資指標である内部利益率(IRR)が14.9%、投資回収年数が6.4年と試算され、新規技術の導入リスクは伴うものの、事業性ありという結果が得られた。

温室効果ガス排出削減効果

製糖工場(種子島)に従来の砂糖・エタノール複合生産システムと逆転生産システムを導入した場合のライフサイクル全体からの温室効果ガス(Greenhouse Gas: GHG)排出量の評価を行った(図6)¹⁴⁾。

逆転生産システムを導入する場合、製品の累積製造GHG排出原単位が増加するものの、ライフサイクル全

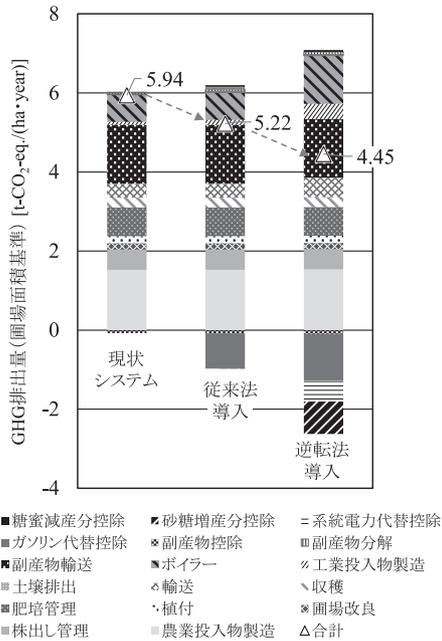


図6. ライフサイクル全体のGHG排出量（日本LCA学会誌¹⁴より転載）

体では、現状システムと比較して1.49 t-CO₂-eq./ha·yearのGHG排出削減ポテンシャルがあることが分かった。従来型システムを導入した場合も製品のGHG排出原単位が増加するものの、ライフサイクル全体では現状システムと比較して0.72 t-CO₂-eq./ha·yearのGHG排出削減ポテンシャルがあることが分かった。逆転生産システムはGHG排出削減に効果があることが定量的に示された。

まとめ

人口増加と優良農地の不足が共存する状況下、従来の製糖技術だけでは、今後の食料・エネルギー供給の不足は必至であるが、逆転生産プロセスと多収性サトウキビとの組合せにより、食料増産を伴う新たな世代のバイオ燃料生産システム（砂糖・エタノールの同時的増産+バガス発電による工場エネルギー自給と売電）が可能になり、物質循環型の高収益産業が展開できるようになる。また、従来は還元糖比率の高い夏季にサトウキビの収穫・砂糖生産が実施されてこなかったが、本技術によって収穫期間の大幅な延長が世界的に可能になる。その結果、工場・収穫機械の稼働率、土地・労働力の利用効率が向上し、原料および製品の生産コストの低減および農業経営の高度化が図られる。

本技術は世界の製糖工場に比較的容易に導入可能であり、従来のサトウキビにおいても砂糖増産が可能となる。

現在、オーストラリアの製糖工場への第1号導入プロジェクトが進行中であり、日本発のイノベーションとして世界の食料・再生可能エネルギー生産への貢献が期待される。

謝 辞

本技術開発は、2001年のアサヒビール（株）における新規事業提案から始まり、九州沖縄農業研究センター、東京大学、東北大学、新光糖業（株）、住友商事（株）、国際農林水産業研究センター、日揮（株）などとの約20年にわたる産学連携研究の成果です。これまで関係したすべての方々に感謝申し上げます。特に、逆転生産プロセス用酵母の開発を中心的に進めたアサヒビールの加藤拓主任研究員、実証試験を共に進めたバイオエタノール技術開発部のメンバーに深謝致します。さらに、実証試験で協力をしてくださった沖縄県伊江村、新光糖業の皆様、多くの貴重なアドバイスを頂きました東京大学の迫田章義教授、大久保達也教授、平尾雅彦教授に心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) 小原 聡, 寺島義文, 杉本 明, 早野達宏, 氏原邦博, 下ヶ橋雅樹, 迫田章義: 日本エネルギー学会誌, **84**, 923-928 (2005).
- 2) 寺島義文, 寺内方克, 境垣内岳雄, 服部太一郎, 藤崎成博, 照屋寛由, 内藤 孝, 大工正信, 松岡 誠, 小原 聡, 伊禮 信, 氏原邦博, 杉本 明: 第229回日本作物学会講演会要旨集, p. 124 (2010)
- 3) Hook, A. V.: *Ind. Eng. Chem.*, **38**, 50-53 (1946).
- 4) Kochergin, V., Keamey, M., Jacob, W., Velasques, L., Alvarez, J., and Baez-Smith, C.: *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.*, **74**, 62-69 (2000).
- 5) Ohara, S., Fukushima, Y., Sugimoto, A., Terajima, Y., Ishida, T., and Sakoda, A.: *Biomass Bioenergy*, **42**, 78-85 (2012).
- 6) Naganishi, H.: *Bot. Mag. Tokyo*, **31**, 107-115 (1917).
- 7) Ohara, S., Kato, T., Fukushima, Y., and Sakoda, A.: *J. Biosci. Bioeng.*, **115**, 540-543 (2013).
- 8) 藤田孝輝: バイオセパレーションプロセス便覧, pp. 196-201, 共立出版, 東京 (1996).
- 9) van der Walt, J. P.: *Antonie Van Leeuwenhoek*, **22**, 190-192 (1956).
- 10) Vaughan-Martini, A., Barcaccia, S., and Pollacci, P.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **46**, 615-618 (1996).
- 11) Kato, T., Ohara, S., Fukushima, Y., Sugimoto, A., Masuda, T., Yasuhara, T., and Yamagishi, H.: *J. Biosci. Bioeng.*, **122**, 58-63 (2016).
- 12) Ohara, S., Kitai, K., Sugimoto, A., Hamada, Y., Hidaka, H., Shioura, M., O'Hara, I., and Yasuhara, T.: *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technologists*, **29**, 615-621 (2016).
- 13) 小原 聡, 菊池康紀: 日本LCA学会誌, **15**, 325-331 (2019).
- 14) 小原 聡, 菊池康紀, 大内田弘太郎, 杉本 明, 服部太一郎, 安原貴臣, 福島康裕: 日本LCA学会誌, **15**, 86-100 (2019).