

## 酵母によるアルコール発酵の効率化とアルコール測定方法の知見

化学班:藤田 ころろ 森田 宏樹 海田 静恵

### 要約

COVID-19の流行で消毒・殺菌のためにアルコールが大量に使用され、消費量が増加し、アルコールの不足が社会的になり、その問題を解決できないかと思い、アルコールを効率的に生成する方法を模索した。そこで私たちは酵母によるアルコール発酵の方法をしり、私たちは酵母によるアルコール発酵により酵母が効率よくアルコールを生成させる条件を調べるための実験を行なった。4つの発酵条件（発酵時間、酵母の量、設定温度、水の硬度）をいろいろと変化させて行なった結果、酵母4g、温度35℃、硬度40mg/Lの時に最も多くアルコールを生成した。また、CO<sub>2</sub>の発生による質量変化からのアルコール生成量の測定と、蒸留によるアルコール生成量の測定の結果を比較した。その結果大きな差は見られなかったため、CO<sub>2</sub>による測定方法が蒸留より容易であるので、CO<sub>2</sub>による測定方法がアルコール測定に有効であることが分かった。

### Abstract

The COVID-19 caused the lack of alcohol in social problems. So we wanted to solve the problem. So we thought there was a way to solve the problem. And we did experiments to examine the conditions that efficiently generate alcohol in the alcohol enzyme by the enzymes. Four fermented conditions (to change the amount of enzymes, temperature settings, ferment time, and water hardness.) However, the result has not changed greatly. We measured alcohol production methods of measurement of alcohol from mass changes due to carbon dioxide and how to measure alcohol production by distillation. Therefore, the measurement method by CO<sub>2</sub> is easier than distillation, so the method by CO<sub>2</sub> is valid for alcohol measurement.

### 1. 序論

COVID-19(新型コロナウイルス)の流行により、消毒・殺菌のために多くの人々がアルコールを使用し、消費量が激しく増加したため、アルコール不足が社会的に問題になった。そこで私たちは、その問題を解決する方法はないかと考え、模索していくとバイオエタノールを使った技術があると知った。その技術によって少しでも解決することができるかもしれないと思い、身近にある酵母によるアルコール発酵に着目した。

### 2. 研究手法

効率良くアルコールを生成させる条件を調べるため、様々な条件を変更して測定した。

・準備物

アルギン酸ナトリウム 0.5 g

塩化カルシウム 2.15 g

酵母(ドライイースト) 1 g

グルコース 20 g

熱湯(約 80℃) 20ml

水道水 100ml

精製水 3ml

水(硬度 20mg/L、40mg/L(水道水)、60mg/L) 70ml

・使用器具

三角フラスコ(前もって滅菌処理をした)

ビーカー

駒込ピペット

実験 1、2 では発酵時間を 48 時間にそろえ、

①バイオリアクターの量

②発酵に使用する水の硬度

③発酵中の温度

の 3 点を変更して測定した。

まず最初に、酵母をビーズ状に固めたものである、バイオリアクターを作った

1、500ml のビーカーに水道水 100ml と塩化カルシウム 2.15 g を入れて混ぜた。

2、50ml のビーカーに精製水 3ml、酵母 1g を入れて混ぜた。

3、2 で使ったビーカーとは別の 50ml のビーカーに熱湯(約 80℃)20ml とアルギン酸ナトリウム 0.5 g を入れて混ぜた。

4、3 で作ったものを 30~40℃まで冷やし 2 と混ぜた。

5、4 を 1 にピペットで滴下した。

6、全て滴下し終わったら、ビーズ状に固まったバイオリアクターを水道水で軽くすすいだ。

実験 1

バイオリアクターの量を 2g、4g、8g の 3 種類に分けて実験を行った。

1、三角フラスコに水道水 70ml とグルコース 20 g を入れて混ぜたものを 3 つ作った。

2、1 で作ったものにバイオリアクターを 2 g、4 g、8 g ずつ入れた。

3、三角フラスコに水の蒸発を防ぐためアルミホイルを被せ、質量を測った。

4、35℃に設定したインキュベーターで静置により 48 時間発酵させた。

5、反応後にもう一度質量を測り、生成したアルコール量を算出した。

## 実験 2

実験 1 よりバイオリアクターを 4g にした時に最も多くアルコールを生成したので、バイオリアクターの量は 4 g に統一し、水の硬度 20mg/L、40mg/L(水道水)、60mg/L の 3 種類の水を用意し、さらにインキュベーターの設定温度を 25℃、35℃、38℃、45℃に変更して実験を行った。

1、3 種類の硬度の水 70ml を三角フラスコにそれぞれ入れ、そこにグルコースを 20 g 加えて混ぜた。

2、1 で作ったものにバイオリアクターをそれぞれ 4 g 入れた。

3、アルミホイルを被せ、質量を測った。

4、温度を変更して 4 回実験を行った。4 回とも発酵時間は 48 時間とした。

5、反応後にもう一度質量を測り、生成したアルコール量を算出した。

6、より正確に測定できるように、CO<sub>2</sub>の発生量からアルコール生成量を測定する方法と蒸留によるアルコール発生量を比較するため硬度 40mg/L、温度 35℃で発酵したものを蒸留した。

## 実験 1、2 のアルコールの算出方法

反応式は以下ようになる。



反応前と反応後の質量の変化から CO<sub>2</sub>の生成量が分かった。化学反応式より、生成したアルコールと発生した CO<sub>2</sub>の比が 1:1 であることがわかるので、そこからアルコールの生成量を計算した。

## 蒸留での計算方法

約 75℃になるまで加熱し、20 分程度加熱を続けた。

取り出したアルコールの質量を測り物質量を計算した。

## 実験 3

実験 1、2 では発酵時間は 48 時間だったがアルコールの生成量の限界値を調べるため、発酵時間を 3 週間(同じ条件で 2 回実験し、それぞれ A、B とした。)、4 週間(同じ条件で 2 回実験し、それぞれ C、D とした。)に伸ばし、それぞれアルコール生成量を測定した。同様に、蒸留の操作を行った。

1、三角フラスコに水道水 70ml、グルコース 20 g を入れて混ぜた。

2、1 で作ったものにバイオリアクター 4 g を混ぜた。

3、アルミホイルを被せ、質量を測った。

4、35℃に設定したインキュベーターで発酵させた。

5、反応後に CO<sub>2</sub>の質量を測りアルコール生成量を算出した。

## 3. 結果

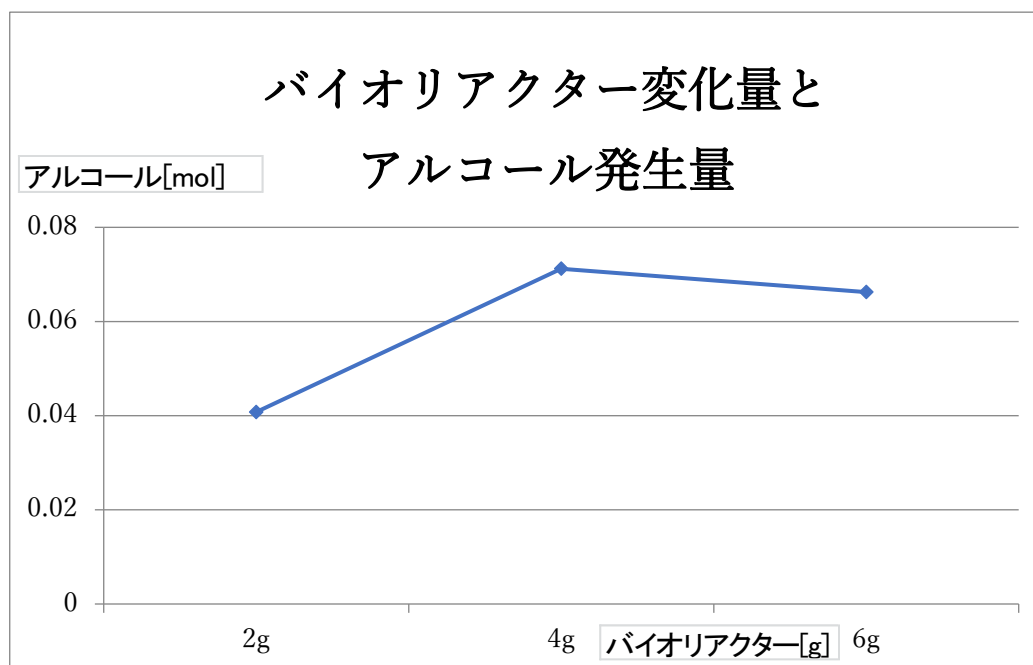
実験 1 ではバイオリアクターが 2g から 4g に増やすとアルコールの生成量は 1.7 倍になり、さらに 4g から 8g に増やすと生成量は 0.93 倍になった。

結果の表とグラフは以下の通りとなった。

表 1

バイオリアクター[g]	2g	4g	6g
アルコール[ $\text{mol}$ ]	0.04077	0.0712	0.06627

図 1



実験 2 では

温度変化の点では 35°C で最もアルコールが生成し、水の硬度変化の点では 40mg/L の水で最もアルコールが生成した。

また、温度は 35°C に近づく程アルコールの生成量は多くなる傾向があった。

さらに、蒸留によって測定した値と比較すると、誤差は 0.002mol となり、ほぼ値が変わらない事が分かった。

結果は以下の表とグラフの通りとなった。

表 2 (実験 2) 温度と硬度の変化によるアルコール生成量の変化

温度	25°C	35°C	38°C	45°C
硬度 20mg/L	0.04459mol	0.06325mol	0.05657mol	0.04629mol
硬度 40mg/L	0.04329mol	0.07120mol	0.05863mol	0.04815mol
硬度 60mg/L	0.04177mol	0.06493mol	0.05970mol	0.05281mol

図2 温度変化と硬度変化をした時のアルコールの生成量

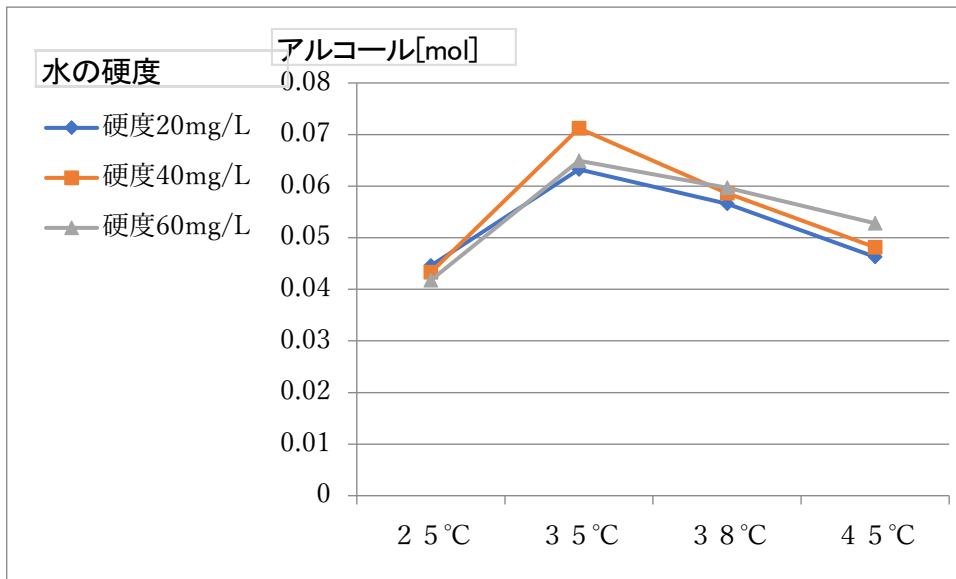


表3 蒸留法とCO<sub>2</sub>測定法によるアルコール生成量の比較

蒸留法	CO <sub>2</sub> 測定法
0.07308mol	0.07120mol

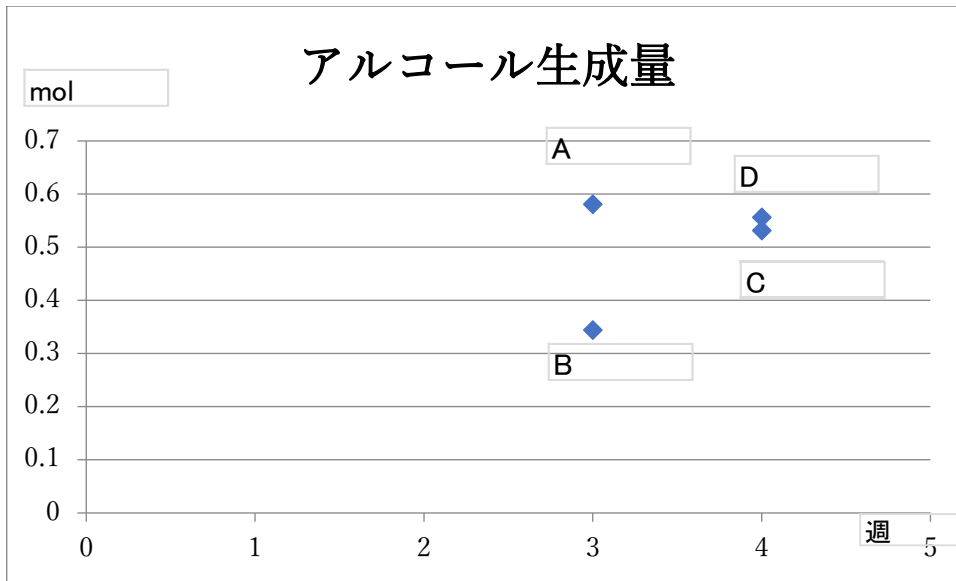
実験3では、

アルコール生成量はA、B(20日)それぞれ26.764g(0.581mol)、15.867g(0.344mol)  
C、D(30日)は25.623g(0.556mol)、24.475g(0.531mol)となった。

表4 長期間の発酵におけるアルコール生成量の変化

A(3週間)	B(3週間)	C(4週間)	D(4週間)
0.5809mol	0.3444mol	0.5562mol	0.5313mol

図 3



#### 4. 考察

##### 実験 1

バイオリアクター4~8g にかけてのアルコールの生成量がほぼ横這いであることから、バイオリアクター4g の時がアルコールを効率よく生成できるのではないかと考える。

##### 実験 2

水の硬度のどの条件でも、温度 35℃におけるアルコールの生成量が多かった。25-35℃での増加度は 35-45℃での減少度より大きい。最もアルコールを生成した条件は硬度 40mg/L で温度が 35℃の時である。

初め私たちは、バイオリアクターは人の体温くらいで一番活発に働くのではないかと予想しており、35~38℃で減少しているが、人の体温に最も近い 36℃や 37℃では 35℃の時よりもアルコールの生成量は多くなるのではないかと考えられる。

##### 実験 3

Bは他と比べて値がかなり小さいので、別の何らかの要因が作用したと考え、この実験において、データは無効であるとする。

アルコール生成量が横ばいになり始めた最初の地点が発酵の終点であると考えられるので、結果から、アルコール発酵の終点における発酵期間は 3 週間またはそれ以内である。

##### アルコール測定方法について

CO<sub>2</sub>発生による質量変化から計算したアルコールの生成量と蒸留で得られたアルコールの生成量を比較すると、生成量に大きな差は無いため、作業が簡易である CO<sub>2</sub>測定法を用いたアルコール生成量の測定の方が容易であると考えられる。

#### 5. 結論

初めに、この研究をするにあたって4つの発酵条件である、発酵時間、バイオリアクターの量、水の硬度、発酵させるときの温度を変化させていくことによって、より効率的に、従来のアルコール発酵よりアルコールを生成できるのではないかと考えた。結果と考察より、発酵時間、バイオリアクターの量、発酵させるときの温度、水の硬度を変化させることによって効率的にアルコールを生成するには、硬度 40mg/L でバイオリアクター4g、温度を 35℃にするとよいと分かった。

そこでまた、その4つの発酵条件を単独で変化させていくのではなく、二つ以上の発酵条件を同時に変化させていくことによって、より良い研究結果を得られると考えた。

また、CO<sub>2</sub>の発生による質量変化から測定したアルコール生成量と、蒸留によって測定されたアルコール生成量の値を比較した。その結果大きな差は見られなかったので、CO<sub>2</sub>による測定方法が蒸留より容易であることから、CO<sub>2</sub>による測定方法がアルコール測定に有効である。

## 6. 参考文献並びに参考 Web ページ

アルコール発酵 [http://www.sci.keio.ac.no/go/2E73001A\\_17A5C7C5.html#fdf5356d](http://www.sci.keio.ac.no/go/2E73001A_17A5C7C5.html#fdf5356d)

新観察・実験大事典 [化学編] ③生活の化学物づくり 河内義勝 東京書籍

よくある質問と回答 [水質] 大阪市

<http://www.city.osaka.lg.jp/suido/page/0000160562.html>