

Rhizopus oryzae を用いた L-乳酸の工業生産

谷口 正明*・三浦 重信

ポリ乳酸 (PLA) の製造工程は、①バイオマスを乳酸発酵し、②発酵液から乳酸のみを精製、濃縮③触媒の存在化重合する、の大きく3つの工程に分けられる。それぞれの工程での生産物は次工程での原料であり、そのプロセスや条件を大きく左右する要因となる。一例を挙げれば培地コストの低減の観点のみから不純分の多い糖質 (たとえば廃糖蜜など) を原料とした場合、エタノールならば単純な蒸留で分離可能のケースでも、乳酸発酵では中和剤の除去、抽出、およびエステル化など多くの工程を要するため、初期不純物による精製への負荷によるデメリットが大きく、プロセス全体的にみれば原料として不適切である場合がある。このように乳酸の工業生産では、原料選択から始まり全体を通したプロセスの最適化が強く要求される。

糸状菌 *Rhizopus oryzae* は、一般的な乳酸菌が栄養要求が複雑で多くの副原料 (窒素源) を必要とするのに対し、デンプンとわずかな無機塩のみで清澄な発酵液の高光学純度 L-乳酸を生産することが知られている。発酵液が清澄であることは、後段の精製工程の選択の幅を増やすことが可能となり、大きな利点といえる。本稿では、*R. oryzae* を用いた乳酸発酵と、それにつながるプロセスとの組み合わせにより PLA 製造を前提とした環境に調和した L-乳酸の工業生産方法を紹介する。

乳酸生産の現状と問題点

乳酸の生産量は全世界で約20万トン (2004年、PLA用を除く) であり、純度の高いものから医療用、食品用、工業用というグレードである。低純度品ほど若干の着色が有り安価であるのが一般的である (図1)。

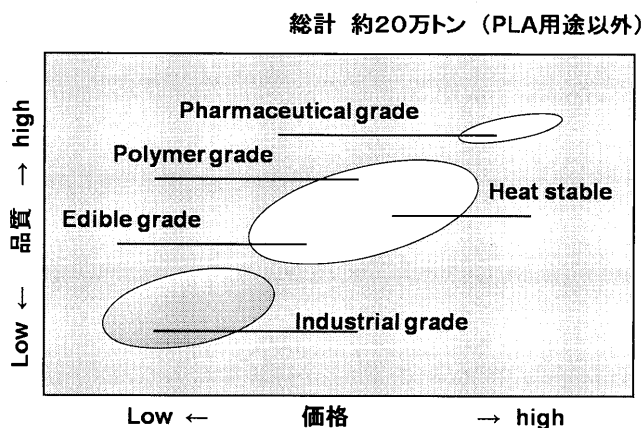


図1. 各種乳酸のグレードと価格

この他に米カーギル社には PLA 原料用途として 20 万トンの乳酸製造設備がある。PLA 以外でも、中国を始めとするアジア市場において、畜肉、魚介への用途などで乳酸市場は2桁の伸びを示しており、Purac社は2007年末にタイで10万トンの設備を新たに稼働させている。

図1に示したポリマーグレードの乳酸は、中間体としてラクチド (乳酸の環状2量体) を経る方法の原料として用いられる熱安定性の高い乳酸として位置づけられる。乳酸を直接 PLA に変換する直接重合法ではさらに高純度のものが要求される。これらの価格帯は PLA 原料として本来求められている価格よりも高価なのが現状である。

また図2に示す通り、現在工業的に行われている乳酸製造では、発酵時に中和剤として炭酸 Ca を用い、精製の前段で硫酸を添加し粗乳酸を得るが、この時石膏が副生する。この乳酸を PLA 製造に使用すると、PLA1 トンあたり約1トンの石膏が生じることとなり、近年の硫酸などの高騰に加えて石膏の有効利用にかかる処理コストが PLA の価格を押し上げる要因ともなりうる。

この問題を解決するために、いくつかの精製法が提案されている (表1) が、これら新規の乳酸精製法を既存の乳酸菌発酵液に適用する場合、菌体や培地成分の分離、リアクターや膜などへの付着の影響から、長期安定運転が難しい。しかし、前述の通り *R. oryzae* 発酵液では、フィルタープレスなどのきわめて単純な方法で菌体を分離するだけで清澄な液が得られるため、これらの精製法との組み合わせが可能となる。

Rhizopus oryzae による乳酸発酵

PLA 製造原料としての L-乳酸に要求される条件は表2

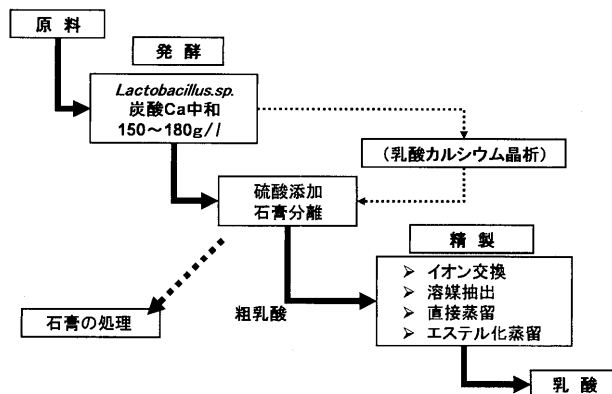


図2. 従来の乳酸技術と石膏の副生

* 著者紹介 株式会社武蔵野化学研究所企画開発部 (グループリーダー) E-mail: Yaguchi@musashino.com

表1. 新規乳酸精製法の特長、問題点など

新規乳酸精製法	特長と問題点
NH ₃ 回収-エステル化法 ¹⁾	高純度乳酸が得られる、中和剤リサイクル可、プラントコスト大
Na 回収電気透析法 ²⁾	運転、装置簡素化、中和剤リサイクル可、後精製が必要、寿命による膜コスト
硫酸副生エステル化法 ³⁾	高純度乳酸、副生物大
反応抽出法 ⁴⁾	トリアルキルアミンなど使用、後精製が必要

表2. PLA原料としてのL-乳酸に求められる特性と理由

特性	理由
高純度	直接重合の必須条件、ラクチド法にも好結果
高光学純度	広範囲、多機能の PLA 用途に対応可能
品質安定性	PLA 品質の安定化
低廃棄物・CO ₂	廃棄物処理負担の低減、環境問題
高収率・低コスト	PLA 普及のため

の通りである。著者らは、これらを満たすL-乳酸工業生産法として、*R. oryzae*によるNH₃中和での発酵と、NH₃回収-乳酸ブチルエステル (BUL) 精製法を開発した。あわせて得られた高純度L-乳酸から直接重合法を用いれば、きわめて環境調和型のPLA製造法となる (図3)。

*R. oryzae*によるNH₃中和での発酵では、静岡大学岡部教授 (現名誉教授)と共同で以下の研究を行った。

変異処理による菌の改良 土壌から分離した野生株を変異誘導することにより、収率、生成物濃度、生産性、アンモニア耐性において従来の乳酸菌の結果と比較し遜色のないものとなった (図4)。

エアリフト発酵と諸条件の検討 糸状菌である *R. oryzae* はエアリフト型ファーマンターで発酵が可能である。エアリフトは構造が簡単で大型化が容易である。図5に示す3 lエアリフト型ファーマンターを用いて各種試験を行った。結果として、至適pHは6.0~6.5、初発糖濃度は120g/lの時に最大の生産速度2.5~2.6g/lを示した。

また、エアリフト発酵においては、孢子植菌量が菌の形状、様相に大きな影響を与え、菌体の多寡が生産性に

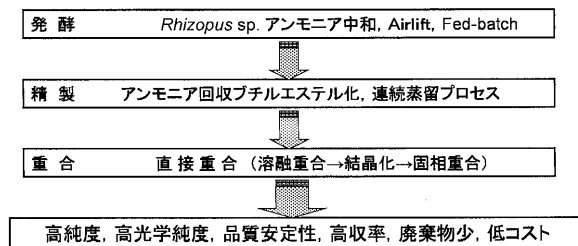


図3. 新規PLA製造プロセス概略

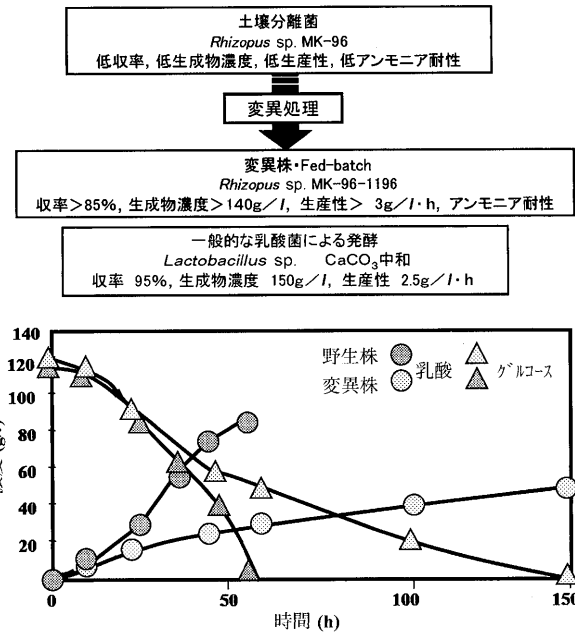


図4. 変異による乳酸生産性の向上

大きな影響を与えることがわかった。植菌する孢子の濃度の影響について、10⁶個/mlが最適であり、きれいに揃ったペレットが形成され乳酸収率、生産性ともに最大になった (表3)。

通気量とスケールアップ 上記、3 lエアリフトでの通気量の最適値は1.0vvm (線速度Vsは0.5cm/s)であった。スケールアップした場合の指標について100 lのエアリフトファーマンターで検討した。図6に糖濃度、乳酸濃度、菌体濃度、DOを示す。Vs=0.21cm/sの場合、DO=0

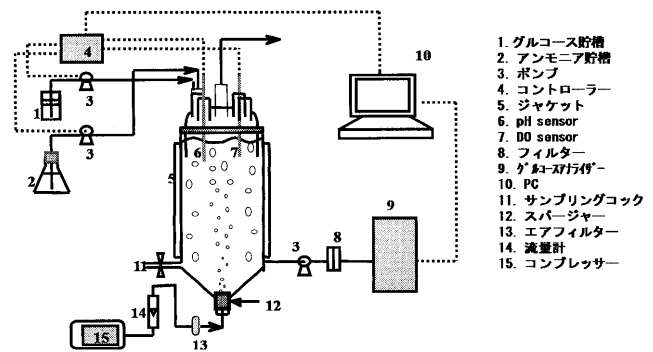


図5. 3 lエアリフト型ファーマンター

表3. 孢子植菌量と菌糸形状

孢子濃度 (個/ml)	乳酸濃度 (g/l)	乳酸収率 (%)	発酵速度 (g/l/h)	菌の様相
10 ⁴	87	79	1.0	ふわふわした菌体
10 ⁵	91	83	1.9	大きいペレット (5-7 mmf)
10 ⁶	93	85	2.6	小さいペレット (1-3 mmf)
10 ⁷	88	80	1.4	綿状の大きな塊

特 集

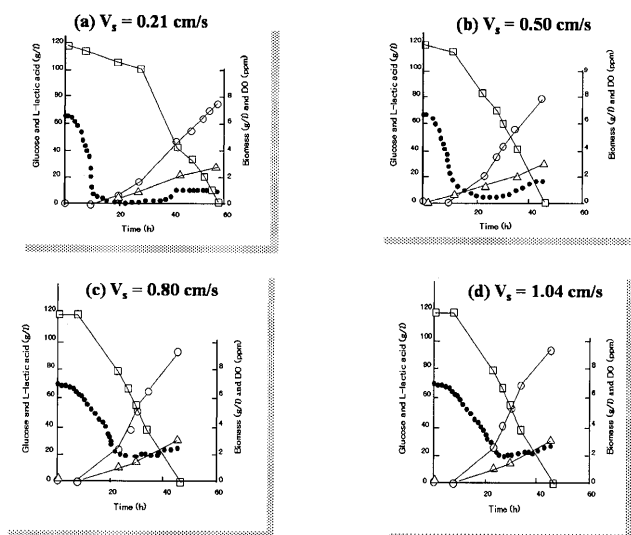


図6. 100 lエアリフトでの通気量試験。□グルコース濃度、○乳酸濃度、△菌体濃度、●DO。

となり生産性も落ちるが、通気量は $V_s=0.5\text{cm/s}$ で十分であり、それ以上では生産性に変化はなかった。この結果をもって、北九州エコタウン実証エリアの5 klエアリフトファーマンター（図7）で実機に近いスケールでテストしたところ、問題なく発酵が進行した。

NH₃回収-ブチルエステル化プロセス

NH₃回収-ブチルエステル化プロセスと簡単な物質収支を図8に示す。アルコールとしてメタノールやエタノールではなく、ブタノールとするのは、脱アンモニアを伴う蒸留操作において共沸による脱水と水との相分離を利用するためである。*R. oryzae* 発酵液では発酵液が清澄であるため、連続エステル化が可能となり、その結果として乳酸の品質も安定化する。ただし、実際は図のフローの通りではなく収率を上げるためのいくつかの操作が入る。本法によれば中和に使用したアンモニアおよび精製に使用するブタノールを共に高い収率で回収でき、高収率で高純度の乳酸も得ることができる。

今後の課題

このところの原油高とそれにもなうスターチなどの高騰により、PLAを取り巻く環境は混沌としている。将来はPLAも非可食原料からの製造が強く要望される状況となると思われる。著者らも、強力なセルラーゼを持つ *Acremonium* との同時糖化発酵によるコーンの軸からの糖化乳酸発酵の検討などを行っている（図9）。

しかし、これらの発酵液は未消化成分や資化できない成分が多く含まれており、*R. oryzae* の本来の有利さを生かしているとは言えない。本稿に述べた方法が有効に機能し、PLAが安価に製造されるためには、たとえば大型のエタノールプラントと併設し、糖化液からグルコース

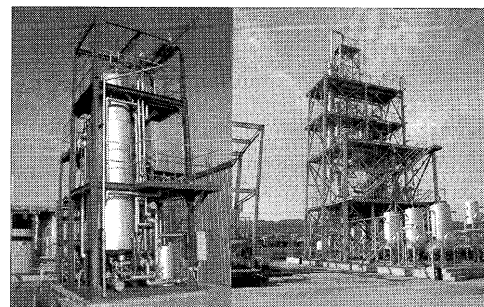


図7. 北九州エコタウン実証エリア装置（左、5 kl アリフト発酵槽、右 NH₃回収-ブチルエステル化装置）

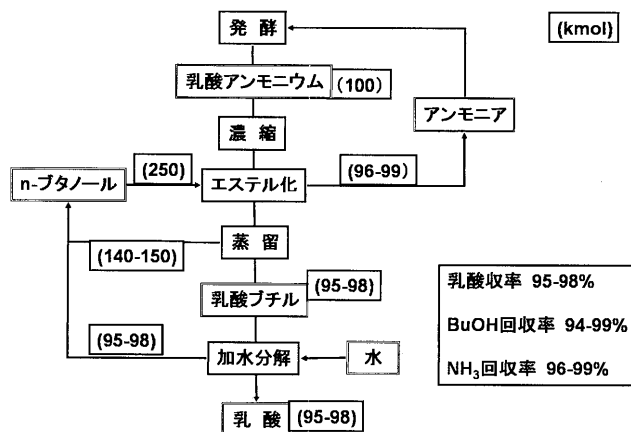


図8. ブチルエステル化プロセスと収率

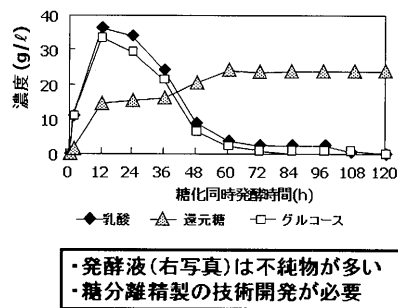


図9. コーン軸粉碎物の糖化同時発酵

などを一部抽出、糖製して乳酸発酵の原料にするなど、巨大バイオマスコンビナートの一環として組み入れられるなどの条件、工夫が必要であろう。

文 献

- 1) 特許第3502419号
- 2) Madzingaidzo, L. et al.: *J. Biotechnol.*, **96**, 223 (2002).
- 3) Hironaka, M. et al.: *Separation Science and Tec.*, **36**, 2927 (2001).
- 4) WO-A1-093000440
- 5) Okabe, M. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **101**, 522 (2006).
- 6) Okabe, M. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **101**, 9 (2006).