

木材腐朽菌の混合培養を用いた一貫バイオプロセスによる

セルロース系原料からのエタノール生産

1205002 井上瑛絵

Ethanol production from cellulosic material

Akie Inoue

by consolidated biological processing using co-culture of wood-rot fungi.

【緒言】食糧と競合しないセルロース系原料を用いたエタノール生産の場合は、脱リグニンや糖化の工程が増えるため、製造コストが抑えることが課題である。現在、脱リグニンを含む前処理は主に物理・化学的処理が用いられているが、脱リグニンや糖化に酵素や微生物を用いる、生物的処理法も研究されている。我々は、セルロース系原料に含まれるリグニン及びセルロースを分解できる白色腐朽菌による前処理を検討してきた。さらに発酵能をもつ菌株を用いることで、ひとつの反応槽で脱リグニン・糖化・発酵が行える、一貫バイオプロセス (Consolidated Bioprocessing, CBP)が構築できると考えた。当研究室ではこれまでに、優れたエタノール発酵能をもつスエヒロタケ (*Schizophyllum commune* NBRC 4928) を見出した。この菌株は、グルコースだけでなく、キシロース、セルロース、ヘミセルロースからエタノールを生成できることも明らかになっている。しかし、スギ材を原料としてスエヒロタケを用いた場合は、エタノールがほとんど生産されなかった。この原因は、スギ材中に含まれるリグニンによって、スエヒロタケがセルロース・ヘミセルロースに接触できず、糖化が進行しないためであると考えた。

セルロース系原料からのエタノール生産量を増加させるために、本研究では二つの解決策を講じた。一つ目は、リグニン分解酵素であるマンガンペルオキシダーゼ (MnP) の高生産菌であるヤケイロタケ (*Bjerkandera adusuta* IWA5b) との混合培養を行った。二つ目に、リグニンを分解しなくても、セルロース・ヘミセルロースを糖化できれば、スエヒロタケによる発酵ができると考え、褐色腐朽菌であるオオウズラタケ (*Fomitopsis palustris* NBRC 30339) との混合培養を行った。

また、スギ材はリグニンが強固なハードバイオマスであるため、エタノール生産量が少ない可能性がある。このことから、比較的分解が容易なソフトバイオマスであるダンチクと稲わらを新たなセルロース系原料として用い、木材腐朽菌によるエタノール生産を試みた。

【実験方法】液体培地 (60mL) とガラスビーズを入れた 200mL の三角フラスコに供試菌を計 4 片接種した。30°C の暗所で回転数を 80rpm に設定し、回転培養を行った。また、スポンジ栓を用いたものを好気条件とし、窒素ガスでパージし、発酵栓付のゴム栓をしたものを準嫌気条件とした。糖源は、グルコース、セルロース系原料として、スギ材・ダンチク・稲わらをそれぞれ乾燥重量で 4g 用いた。糖・エタノールは HPLC を用いて、MnP 活性はグアヤコールを基質として分光光度計を用いて測定した。

【結果と考察】スエヒロタケとヤケイロタケの混合培養において、酸素の供給条件を変化させたところ、嫌気条件下では MnP がほとんど生産されなかったため、MnP はエタノール生産及びリグニン分解に貢献していないことが明らかとなった。したがって、混合培養によってスギ材からのエタノールが増加した理由は、MnP 以外のリグニナーゼによるリグニンの除去、または他の原因で増加したのではないかと考えられる。スギ材を原料とした場合、スエヒロタケとオオウズラタケの混合培養の際に、エタノールが最も生産された。オオウズラタケはリグニンを分解してなくても、糖化が行えることが示された。また、ハードバイオマスであるスギ材とソフトバイオマスであるダンチクを比較すると、ダンチク原料の方がエタノール生産量が多かった。このことから、木材腐朽菌による前処理およびエタノールの生産でも、木材よりもソフトバイオマスの方がエタノール生産に適していると考えられる。