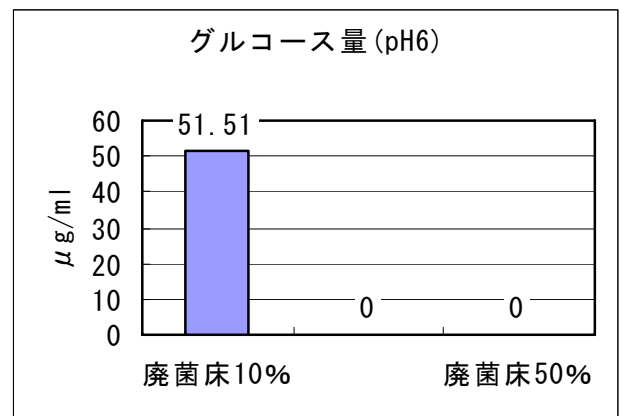
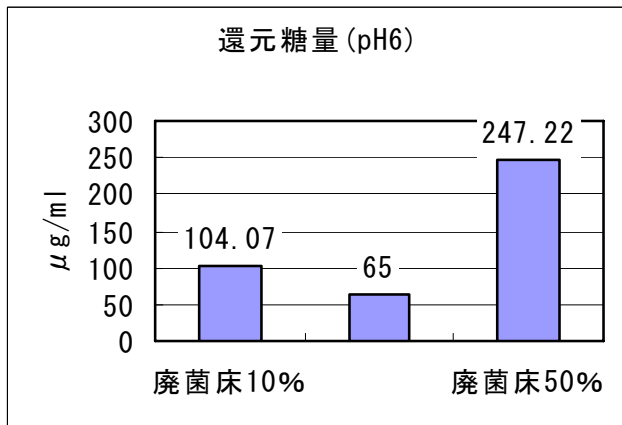
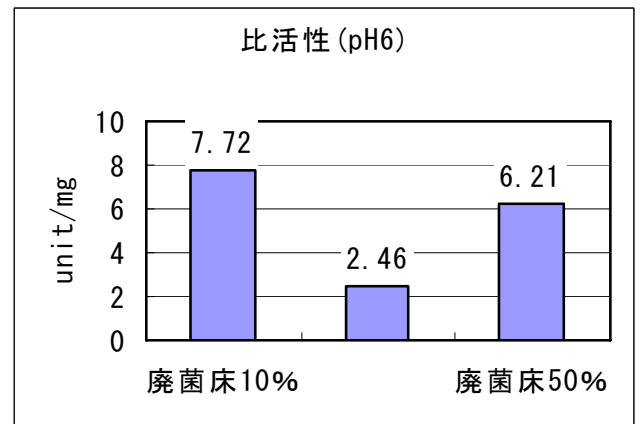
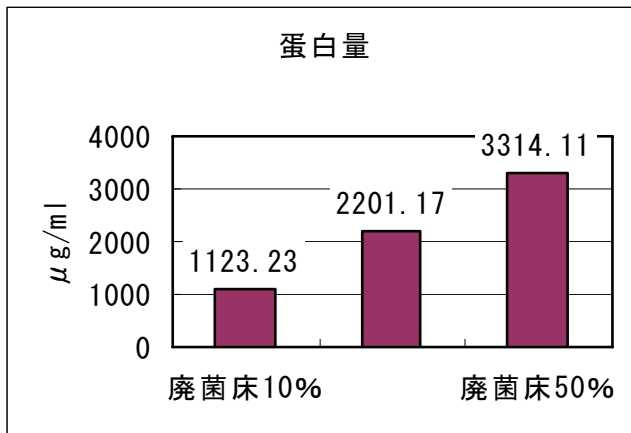


研究テーマ：「木質バイオマスを活用したバイオエタノールの生産技術に関する研究」	
研究代表者（職氏名）：教授 森永 力	連絡先 (E-mail 等) : tmorina@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者（職氏名）：	

研究成果の概要

本研究の概要は1年目で、木質分解に必要な酵素を生産する微生物をスクリーニングし、2年目ではそれらをジャーで培養して酵素を取得し、スギ間伐材を糖化する。そして、酵母によりアルコール発酵することである。

成果については、昨年7月から本年3月までに、セルロース、リグニン、キシランを分解する菌をスクリーニングすることができた。すなわち、セルロース分解では分離したベッコウタケとヒトヨタケのセルラーゼ活性を調べたが、ベッコウタケは至適 pH 4、培養日数4日で活性があった。一方、ヒトヨタケは至適 pH4 と 8 に活性があり、1%グルコース/1.5%尿素のとき、高いアルカリセルラーゼを生産することがわかった。キシラン分解では高温性糸状菌、*Talaromyces emersonii*、*Humicola lanuginosa*、*Byssoschlamys nivea* の3菌株を分離したが、*H. lanuginosa* がポテトデキストロース培地に2%キシランを加えた培地で非常に高いキシラナーゼ活性を示し、非活性は約 170 unit / mg protein であった。リグニン分解では、土壌から強力なリグニン分解菌をスクリーニングすることはできなかったが、エリンギやブナシメジを栽培した後、廃棄される廃菌床中に高い活性のあることを見出し、特許申請を行った。五単糖発酵性酵母のスクリーニングでは酵母は分離できなかったが、*Delftia* や *Paenibacillus* などの細菌を分離することができた。また、購入した機械を使って山で間伐した各種材を粉碎することもできた。上記のように、予定より早く菌の分離をすることができたので、ファーメンターを購入して分離菌の酵素生産のための培養条件も、予備実験することができた。19年度に関しては順調に進捗したと思っている。当初は、分離した菌のセルラーゼ遺伝子等を調べる予定であったが、庄原市で2年後にバイオエタノール工場を建設する計画が明らかになったので、急遽、実用化を優先して分離菌の遺伝子レベルでの同定にとどめ、酵素生産の条件を決定することとした。19年度末で、その条件も決定したので、本年度はスギ間伐材の加水分解条件を検討する。従来の硫酸による方法では、排水処理などコスト面で問題があり、熱による処理、或いはアンモニアなどのアルカリ処理が注目されている。その際には、加水分解したあと、アルカリセルラーゼが非常に有効となる。pH8 に至適をもつ酵素は我々のものしかない。どのような加水分解を行うか、加水分解後、セルラーゼ、キシラナーゼ、リグニナーゼをどのような順番で作用させるかを検討する必要がある。また、糖化後の液にはグルコース以外にキシロースも含まれており、キシロース発酵性細菌あるいは酵母とグルコース発酵性の酵母とが共存できるのか、並行複式発酵でアルコール発酵できるのかなど課題は多いが、精力的に実験を進めていきたい。



上記右上の図は、廃菌床（エリンギとブナシメジ 1 対 1 に混合したもの）を重量比で水に対して、10%、30%、50%加えて、かき回し、1 時間放置後、ろ過し、その後、Lowry 法により蛋白質含量を測定したもので、廃菌床の量が増えるに従って、蛋白質含量の増加するのがわかる。次に、廃菌床を水に懸濁後、ろ過した濾液を用いて、セルラーゼ活性を測定し、その値を蛋白質量で割ったデータが、上左の図である。セルラーゼ活性は、pH6 の MacIlvaine buffer 1ml に 1%セルロース粉末を加え、廃菌床ろ液 1ml を加えて、37 度、1 時間反応後、遊離した還元糖を Nelson-Somogyi 法で測定した。このように、比活性は 10%のものが一番高い結果となった。そのときの還元糖量は下左の図、グルコース量は下右の図に示した。なお、グルコース量はグルコースキット（ワコー）で測定した。このように、10%廃菌床（ホクト産業）を用いれば、木質原料糖化に必要なセルラーゼを安価に得られることがわかった。