

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19995

研究課題名（和文）高活性水蒸気爆砕とLED照射型増殖促進木材腐朽菌処理を用いたバイオエタノール生産

研究課題名（英文）Bioethanol production using high-activity steam explosion and LED-irradiated growth-promoting wood-rotting fungus treatment

研究代表者

鈴木 昭浩（suzuki, akihiro）

京都大学・生存圏研究所・特定研究員

研究者番号：00848509

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：環境問題解決の向け、利用が困難な木質バイオマスを環境負荷が少ない方法での分解する方法の開発が求められている。水のみを利用した分解処理と菌による分解処理を組み合わせた処理方法の開発を行った。菌による分解方法の開発時にLEDによる光照射培養にて、分解効率に変化が生じた。照射する光を変化させ、分解されるグルコースや生成されるエタノールの収量に対する検討を行い、最適な光照射条件を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの菌への光照射培養はランプ光源による短時間の照射が多く、長期間の培養研究はあまり行われていなかった。しかし、LEDの発明によって、より低コストに長時間の照射を行うことができる。菌を用いた木質バイオマスの分解技術は低コストかつ環境に優しい方法であるが、効率が悪く実用に至っていない。光照射培養によって糖分解効率が向上した本研究成果によって、菌による木質バイオマスの分解の効率化が期待できる。

研究成果の概要（英文）：decomposing woody biomass, which is challenging to use in a way that has less environmental impact. We have developed a treatment method that combines a decomposition treatment using only water and a decomposition treatment using bacteria. During the development of the decomposition method using bacteria, the decomposition efficiency changed in light irradiation culture using LEDs. By changing the irradiation light, the yield of glucose to be decomposed and ethanol to be produced was investigated, and the optimum light irradiation conditions were investigated.

研究分野：バイオマス変換工学

キーワード：バイオマス リグニン セルロース 発酵 LED アラゲカワラタケ 水蒸気爆砕

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

国内における、エネルギー消費は年々増加している。また、国内でのエネルギー供給の内訳で最も多いのが火力発電である。火力発電に使用される石油、石炭、天然ガスの合計は総発電量全体の 83.8% を占める (経済産業省、2018)。温室効果ガスとされている CO₂、SO_x、NO_x は火力発電の際に生成される。そのため、地球温暖化対策のため、クリーンなエネルギー生産システムの開発が求められている。

また、国内に存在する化石資源は埋蔵量の少なさもあり、ほぼ取り尽くしてしまった状態である。そのため化石資源を輸入に依存しており、また大量に消費し続けている。世界規模でも化石資源の消費は年々増加し続けており、いつの日か化石資源が枯渇することは明白である。それゆえエネルギー生産において化石資源の代替物となる資源の開発が求められている。

そこで、注目されるのは化石資源の代替としての木質バイオマスである。木質バイオマスは成長の際に CO₂ を吸収するのでカーボンニュートラルな資源とされ、地球温暖化問題の解決に役立つ。さらに国土の 67% が森林である日本において、豊富に存在し、かつ再生可能な資源である木質バイオマスは期待されている。

しかし、木質バイオマスはそのままの形では、利用効率が悪い。そのため、木質バイオマスを効率よく利用するための前処理及び変換方法の開発が必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、環境低負荷で低コストかつ腐食性物質や薬剤フリーの前処理操作である高活性水蒸気爆砕と LED 照射型増殖促進木材腐朽菌処理を併用した未利用木質バイオマスからの新規エタノール製造システムの開発である。なお、高活性水蒸気爆砕は従来までの水蒸気爆砕 (最大水蒸気圧力 3 MPa、最大水蒸気温度 235) よりも大変高い 5 MPa、260 までの処理が可能であり、広葉樹だけでなく、針葉樹の前処理にも効果的 (針葉樹は広葉樹と異なり、リグニン構造が縮合型であるため分解されにくい、高活性水蒸気では加水分解可能) である。次に、LED 照射によって増殖が促進 (種々の波長の光照射による効果を究明) された木材腐朽菌を用いて、爆砕処理後の木材中の残存リグニンをさらに分解・除去 (セルロースの効率的加水分解のためには、木材中のセルロースを強固に覆っているリグニンを取り除くことが最も重要であり、残存リグニンがあると酵素に吸着して酵素活性を著しく低下させるという報告有) することで、酵素糖化 (セルロースのグルコースへの加水分解) に、より適した処理木材 (少量の酵素で糖化可能) の作製を試みる。

3. 研究の方法

【高活性水蒸気爆砕による未利用木質バイオマスの前処理】

木質バイオマスの中でも分解しづらい針葉樹、本研究ではスギを高活性水蒸気爆砕法によって前処理を行った。処理温度に伴い水蒸気圧曲線を有して耐圧反応容器内の圧力は変化する。よって、高温域での反応容器内は水蒸気による高温高圧な環境を有する。高温高圧の水蒸気による木質バイオマスへの加水分解と高圧力下にある反応容器を一気に開放する事による急激な圧力変化によって木質バイオマスへの破砕が行われる。これらによって、分解が難しい針葉樹なども分解知ることが可能である。本研究では、この処理温度と処理時間 (高温高圧水蒸気下に木質バイオマスを晒す時間) を変化させ、セルロース回収量の面から最適処理条件を検討した。

【LED 照射型増殖促進法による木材腐朽菌の培養】

本研究では *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd TUF13731 を用いた。この菌株はアラゲカワラタケ (和名) で、木材腐朽菌のなかでも白色腐朽菌に分類される。また、この菌株はエタノール発酵能を有していることが知られている。高活性水蒸気爆砕によって分解された木質バイオマスのリグニンとセルロース及び糖類の分解に適した菌株である。

まず、アラゲカワラタケの光照射培養による生育変化を調べた。PDA 固体培地上で、LED 照射の有無によって、菌の生育に変化が生じるかを検討した。28 に設定した培養器内に青色 LED (470nm) と赤色 LED (650nm) を互いに色が干渉しないように設置した。未照射条件は同じ培養器内に培養シャーレをアルミホイルで包み遮光して培養した。この際、LED 照射培養の 2 種類から多量の水分の発生が確認され、LED 照射の菌生育への影響が確認された。

よって、LED 照射培養の影響を検討するため、培養装置の作成と検討する光の種類を増やし、検討を行った。

また、生育に影響を与えた原因を調べるため、RNA-seq 解析を行い、より最適な培養条件を検討した。

4. 研究成果

【高活性水蒸気爆砕による未利用木質バイオマスの前処理】

針葉樹であるスギをチップ状にし、高活性水蒸気爆砕を行った。反応容器内圧力が 30atm から

50atmまで5atm刻みに変化させ、処理時間は5,10,15分で検討を行った。セルロース回収率から最適条件は45atmで5分の処理であることがわかった。

【LED照射型増殖促進法による木材腐朽菌の培養】

PDA 固体培地 20mlにてアラゲカワラタケの光照射培養を行った。28℃設定の培養器内での培養は、光照射したもから、10mlの水分が生成した。この水分をHPLCに分析したところ、グルコースとエタノールが検出された。一方、アルミホイルで遮光し培養したもからは水分が得られなかった。この結果から光が菌株の生育に影響を及ぼしている可能性を得られた。よって、さらに影響を調べるための検討を行った。まず、LED照射による培養器内の影響を調べた。すると培養器内の温度はLED直下では3,4℃ほど高くなっており、この温度変化が生育に影響を与えている可能性が生じた。そのため、培養器を冷却機能付きの培養器に変え、内部にてLED照射を行い続けたときの温度変化を培養期間の2週間で測定を行った。光を照射するLEDは従来のランプよりも発光効率が良いが、それでもわずかにロスが生じ、そのロスが熱として発生する。これによって、培養器内の温度が上昇している。また、LEDの種類、発光する色によってLEDの発光効率が違うため、温度の上昇率は光に変化することがわかった。培養器の冷温調機能とLEDの発生熱を調整し、庫内温度が28℃で安定するように調節を行った。

この培養器内で、PDA 固体培地で培養し、得られた溶液中のグルコースとエタノールをHPLCにて定量した結果を図1に示す。また、CDY液体培地での培養の結果を図2に示す。

固体培養と液体培養で光が与える影響が異なることが得られた。黄色光や赤色光は比較的両培地でグルコース、エタノールの生成が増加しており、LED光が菌株の生育に影響を与えることが示された。

生育への影響の原因を探るため、RNA-seqを行った。しかし、優位な差などが得られず、その遺伝子へ影響があったかが判明しなかった。これは、分析を行う菌の採取時期や方法などによって遺伝子発現の差異を測定できなかったためだと考えられる。

本研究期間では、LEDによって生育に影響が出るということが判明したが、なぜ影響が生じるかの解明には至らなかった。今後、引き続き研究を進め、解明していく。

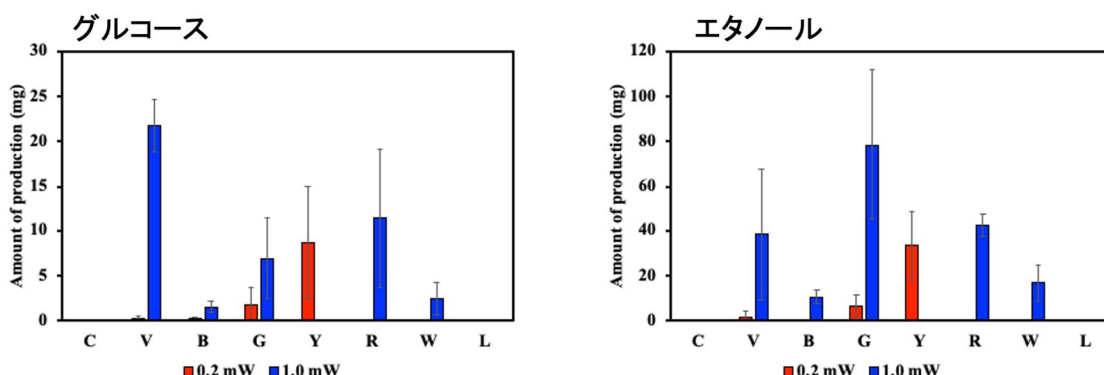


図1 PDA 固体培地 C：遮光、V：紫光、B：青色光、G：緑色光、Y：黄色光、R：赤色光、W：白色光、L：電球色光

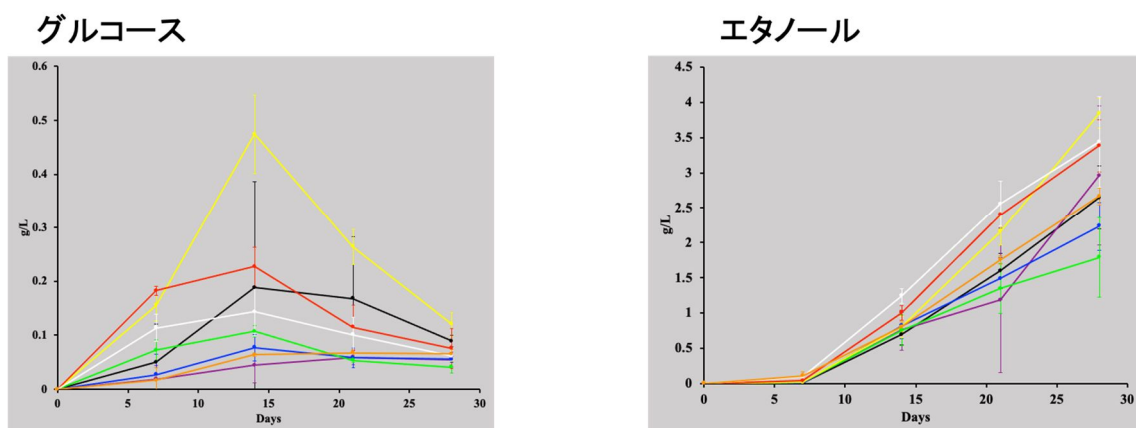


図2 CDY 液体培養 黒：遮光、紫：紫光、青：青色光、緑：緑色光、黄：黄色光、赤：赤色光、白：白色光、橙：電球色光

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------