

令和元年6月24日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K06873

研究課題名(和文) 赤色酵母の代謝変化に基づくアスタキサンチン・キシリトール同時生産プロセスの開発

研究課題名(英文) Co-production of astaxanthin and xylitol using *Xanthophyllomyces dendrorhous* from renewable resources

研究代表者

堀内 淳一 (Horiuchi, Jun-ichi)

京都工芸繊維大学・分子化学系・教授

研究者番号：30301980

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では種々の赤色酵母 *Xanthophyllomyces dendrorhous*を用い、未利用バイオマスであるコーンコブ(とうもろこしの穂軸)を原料としたアスタキサンチン・キシリトールの同時生産を目指し種々の培養工学的検討を行った。

その結果、最初好気条件で培養しアスタキサンチン生産を行い、その後微好気条件としてキシリトール生産を行う二段階培養を検討したところ、アスタキサンチンが最大1.2 mg/L、キシリトールが最大11.2 g/L蓄積され、酸素供給条件を制御した二段階培養によりコーンコブ加水分解液を用いたアスタキサンチン・キシリトールの同時生産が可能になったことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球温暖化の抑制や循環型社会構築の観点から、バイオマス等の未利用資源を原料としたバイオプロセスによる有用物質生産の研究が注目されている。本研究では、農産廃棄物であるコーンコブ(トウモロコシの穂軸)をモデル原料として、ヘミセルロース、セルロース成分をそれぞれキシロース・グルコースに加水分解し、それらを基質として赤色酵母を用いたバイオプロセスにより、アスタキサンチン及びキシリトールの同時発酵生産に成功した。

研究成果の概要(英文)：Co-production of astaxanthin and xylitol from renewable resources (corncoobs) using *Xanthophyllomyces dendrorhous* was investigated. *X. dendrorhous* could successfully produce both astaxanthin and xylitol using synthetic medium containing glucose and xylose. *X. dendrorhous* was then cultivated using corncoobs hydrolysate medium containing glucose and xylose. The results showed that only astaxanthin was effectively accumulated, however, xylitol was little produced. To improve xylitol production using corncoobs hydrolysate medium, a two-step fermentation, which started with aerobic condition for astaxanthin production followed by xylitol production with microaerobic condition, was examined. Using the two-step fermentation system, the co-production of astaxanthin and xylitol from corncob hydrolysate medium was successfully performed.

研究分野：生物化学工学

キーワード：バイオリファイナリー 赤色酵母 アスタキサンチン キシリトール コーンコブ

1. 研究開始当初の背景

バイオマスの生物利用では、実用化に向けて生産コストの低減が課題となっており、更なるプロセスの簡素化・効率化が重要である。生産コストが高い原因として生産性が十分高くない点に加え、グルコース、キシロースそれぞれに発酵工程が必要でプロセス構成が複雑であること、培養液や細胞が廃水・廃棄物として多く排出される点が上げられている。またバイオマスからの生産物として、需要が伸びている高付加価値製品を生産することも経済性を改善する重要な課題である。

これらの点を踏まえ申請者はバイオマスの有効利用に適した各種微生物の探索を進め、赤色酵母 *Xanthophyllomyces dendrorhous* (旧名 *Phaffia rhodozyma*) に着目した。*X. dendrorhous* は、アスタキサンチンに生産に利用されてきた赤色酵母だが、グルコースとキシロースを両方とも資化する能力を有し、細胞内にアスタキサンチンを蓄積し、キシリトールを菌体外に分泌する性質を有する。従ってこの *X. dendrorhous* を活用することにより、バイオマス由来のキシロース・グルコース混合加水分解液を原料として、キシリトールを培養液中に、アスタキサンチンを細胞内に蓄積させ、1回の培養で両物質を生産し、かつ培養液や菌体を廃棄物として排出しない新しい同時発酵プロセスが可能となると考えられた。

2. 研究の目的

地球温暖化の抑制や循環型社会構築の観点から、リグノセルロース系バイオマス等の再生可能資源を原料としたバイオプロセスによる有用物質生産の研究が活発化している。リグノセルロース系バイオマスの生物利用では、バイオマスから得られるグルコース及びキシロースをともに利用し、高付加価値の生産物を得ることが重要である。本申請では、多様な糖資化能を有する赤色酵母 *Xanthophyllomyces dendrorhous* を用い、リグノセルロース系バイオマスであるコーンコブを原料とし、キシリトールを培養液中に、アスタキサンチンを細胞内に蓄積させ同時生産するバイオプロセスを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

6種の *X. dendrorhous* (JCM 9680・9681・9682・9683・9684・19184)を用いて、グルコース及びキシロースを炭素源とする合成培地を用い培養特性を比較した。次に、バイオマス原料として、食糧供給と競合せず世界的規模で生産量が多く、セルロース・ヘミセルロース含有率が高いトウモロコシの芯(コーンコブ)を用いることとし、酸加水分解及び酵素糖化により100g/Lのコーンコブからキシロース約25g/L、グルコース約28g/L含有するコーンコブ(CC)加水分解液を得て培養実験に供した。有効容量5LのジャーファーマンターによりYMP合成培地(グルコース25g/L、キシロース25g/L)及びCC加水分解液を用いた回分培養及び流加培養を行った。主な培養条件はpH5.0、通気量1vvmとし、温度、攪拌速度を適宜変化させた。

4. 研究成果

6種の *X. dendrorhous* を用いグルコース・キシロースをそれぞれ25g/L含有する合成培地により回分培養を行ったところ、いずれの菌株でもキシロース・グルコースを炭素源として速やかに資化することが明らかになった。一方アスタキサンチン及びキシリトールの生産特性は菌株により大きく異なったが、最大でアスタキサンチン約9mg/L、キシリトール約16g/Lが生産された。その内アスタキサンチン及びキシリトール両方の生産が認められたJCM 9680及び9683を用いて合成培地による回分培養を行ったところアスタキサンチンとキシリトールの同時生産が可能となったことが明らかになった。

次にコーンコブを酸加水分解及び酵素糖化して得られるキシロース・グルコース混合加水分解液を用いて同様の回分培養を行ったところ、合成培地を用いた場合に比べ菌体増殖が促進され3-4mg/Lのアスタキサンチン生産が可能となったことが明らかとなった。一方キシリトールは一時的に生産されたもののその後資化され消失した。その原因を明らかにするためバイオマス加水分解液の成分を検討したところ、加水分解液に含有されるコーンコブ由来の高濃度ミネラル成分がキシロース代謝を促進していると考えられた。

キシリトールの分解抑制のためにCC加水分解液からミネラル成分を除去することは現実的ではないと考えられたことから、キシリトールの分解を抑制するための培養工学的方法を検討した。一般に、酵母は酸素供給を制限した微好気条件下でキシリトールを菌体外に分泌することが知られている。そこで、酸素供給を制限し微好気条件下($k_La=32\text{ h}^{-1}$)でCC加水分解液を用いた回分培養を行ったところ、最大10.8g/L

のキシリトールが生産され、その後の分解も抑制することができた。一方、抗酸化物質であるアスタキサンチンは微好気条件では殆ど生産されなかった。

このため、CC 加水分解液を用いたアスタキサンチン・キシリトールの同時生産を実現するために、最初好気条件で培養しアスタキサンチン生産を行い、その後微好気条件としてキシリトール生産を行う二段階培養を検討した。まず好気条件 ($k_{La}=152 \text{ h}^{-1}$) で培養を開始したところ、グルコースの消費とともにアスタキサンチンが最大 1.2 mg/L 生産された。次に、微好気条件 ($k_{La}=32 \text{ h}^{-1}$) に変化させることにより、キシロースが消費されキシリトールが最大 11.2 g/L 蓄積し、酸素供給条件を制御した二段階培養により CC 加水分解液を用いたアスタキサンチン・キシリトールの同時生産が可能になったことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

堀内淳一：代謝改変赤色酵母を用いる未利用バイオマスからのアスタキサンチン・キシリトールの同時発酵生産プロセスの開発、*Research communications(Institute for Fermentation, IFO)*, No.32, pp203 (2019)

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いたコーンコブからのアスタキサンチン・キシリトールの同時発酵生産、第 19 回化学工学会学生発表会 (2017.3)
2. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いた未利用バイオマスからのアスタキサンチン・キシリトールの同時発酵生産、第 49 回化学工学会秋季大会 (2017.9)
3. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いた未利用バイオマスからのアスタキサンチン・キシリトールの同時発酵生産、第 69 回日本生物工学会大会 (2017.9)
4. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いた今コブ加水分解液からのアスタキサンチン・キシリトールの高効率生産、第 83 回化学工学会年会 (2018.3)
5. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いた未利用バイオマスからのアスタキサンチンの効率的生産、第 49 回化学工学会秋季大会 (2018.9)
6. 井上順允・堀内淳一・熊田陽一：赤色酵母を用いた未利用バイオマスからのアスタキサンチン・キシリトール生産、日本生物工学会大会 (2018.9)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

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、研究者個人に帰属されます。