

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2017～2019

課題番号：17KT0151

研究課題名(和文) 固体発酵法を用いた非食用バイオマス資源の有効活用技術の開発

研究課題名(英文) Efficient utilization of non-edible biomass using solid-state fermentation method

研究代表者

堀田 光生 (Horita, Mitsuo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・ユニット長

研究者番号：10355729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では「固体発酵法」による非食用バイオマスの有効利用を進めるため、(1)各種植物バイオマスの分解・糖化に適したバイオマス分解酵素の種類や組み合わせ、(2)発酵微生物を用いた実験室レベルの「固体発酵試験」、(3)ほ場収穫物を直接用いた「固体発酵試験」を行い、エタノール等有用物質の生成量や変換率を調査した結果、従来用いていた飼料イネと比較して、イタリアンライグラス等のバイオマスで多量のエタノールが生産され、またほ場収穫物を用いた発酵試験でも同バイオマスの有用物質への変換率は高く、素材として有望であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化石資源の大量使用にともなって発生する環境汚染や地球温暖化の防止のため、また、穀物資源を化石燃料の代替物として利用することを抑えるため、我々は「固体発酵法」の開発を進めてきた。低水分条件で酵素と微生物の働きでバイオマスの分解とエタノール発酵を行い、エタノール回収後の残さは家畜飼料にする方法である。「固体発酵法」は、飼料イネ以外の非食用または未利用バイオマスやエタノール以外の有用物質生産にも応用可能であり、使用エネルギーを抑えながら、廃棄物をなるべく出さずに、簡単な設備や操作でバイオマスを有効活用できる可能性が示唆されている。

研究成果の概要(英文)：In this research, in order to promote the effective utilization of non-edible biomass by the "solid-state fermentation method", (1) types and combinations of biomass degrading enzymes suitable for degrading and saccharifying various plant biomass, (2) laboratory-level fermentation test using fermenting microorganisms, (3) Subsequently, "solid-state fermentation test" using field harvest directly was conducted to investigate the production amount and conversion rate of useful substances. Compared with previous forage rice, a large amount of ethanol is produced in biomass such as Italian ryegrass, and the rate of conversion of this biomass to these substances is high in fermentation tests using field harvests, so it is a promising material.

研究分野：応用微生物学

キーワード：バイオマス 固体発酵

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

化石資源の大量使用による環境汚染や地球温暖化の防止のため、また、穀物資源を化石燃料の代替物として利用することを抑えるため、これらと競合しない非食用バイオマスを有効活用する技術の開発が求められている。この課題を解決する手段として、我々は飼料作物から家畜の餌(発酵飼料、サイレージ)を作る工程を利用して、エタノールを省力的かつ大量に生産するエタノール「固体発酵法」の開発を進めてきた。収穫直後のバイオマスが含む水分(約60~70%)と栄養分を利用して、酵素と微生物の働きでバイオマスの糖への分解とエタノール発酵を行い、エタノール回収後の残さは飼料にする方法である。飼料イネを用いて、サイレージと同様にロール型に調製し、屋外で静置して試験した結果、試験開始3ヶ月後に乾物1tあたり最大168Lのエタノールが生産され、蓄積したエタノールは、実規模の蒸留装置を用いて最大9割程度回収できた(Horita et al. 2015)。「固体発酵法」は、飼料イネ以外の非食用または未利用バイオマス(飼料作物、牧草、植物残さ等)やエタノール以外の有用物質生産(乳酸、酢酸等の有機酸)にも応用可能と考えられ、使用エネルギーを抑えながら、廃棄物や廃液をなるべく出さずに、簡単な設備や操作で各種バイオマス資源を有効活用できる可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

上記の経過および成果をもとに、本研究では「固体発酵法」による非食用バイオマスの有効利用を進めるため、(1)各種植物バイオマスの分解・糖化に適したバイオマス分解酵素の種類や組み合わせを検討する、(2)植物バイオマス、分解酵素、発酵微生物を用いて実験室レベルの「固体発酵試験」を行い、エタノール生産性を指標にバイオマスの変換効率を調査・検討する、(3)エタノール以外の有用物質(乳酸等の有機酸他)生産能を有する微生物を用いて、同様に「固体発酵法」により各種バイオマスからの生産性を検討する、(4)上記の試験で得られた結果を基に、スケールアップして「固体発酵試験」を行い、有用物質と発酵飼料の生成量や収率を調査し、それらバイオマスの有効性を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 飼料作物、牧草、植物残さなどの各種植物バイオマスの分解・糖化(生成量、変換効率)に適したバイオマス分解酵素(セルラーゼ、アミラーゼ等)の種類や組み合わせを検討する。
- (2) 各種植物バイオマス、分解酵素、発酵微生物(エタノール発酵性酵母、乳酸菌)を用いて実験室レベルの固体発酵試験を行い、エタノール生産性を指標にバイオマスの変換効率を調査・検討する。
- (3) エタノール以外の有用物質(L-乳酸、酢酸等の有機酸)生産能を有する微生物を用いて、同様に「固体発酵法」により各種バイオマスからの生産性を検討する。
- (4) 上記の試験で得られた結果を基に、順次スケールアップして「固体発酵」試験を行い、有用物質と発酵飼料の生成量や収率を調査する。

4. 研究成果

- (1) イネ(タチスズカ、トドロキワセ)、コムギ、ソルガム、トウモロコシ等飼料作物、イタリアンライグラス、トールフェスク等牧草類、キャッサバ、バガス等の植物残さなど、各種植物バイオマスの乾燥粉末を調製・滅菌し、バイアル瓶内でこれら粉末に各種バイオマス分解酵素と乳酸(濃度1%、雑菌生育抑制、pH調整用)を加えて、低水分条件(水分含量60%)で分解・糖化試験(28°C、10日間)を行った結果、いずれのバイオマスでも酵素添加により糖(グルコース、フルクトース、スクロース等)の遊離・蓄積が促進された。飼料作物では、セルラーゼ、グルコアミラーゼに加え、ペクチナーゼ添加により糖の蓄積が増加した。一方、牧草類ではセルラーゼ添加で糖の蓄積が増加し、それ以外の酵素

を添加しても効果は弱かった（図1）。

糖蓄積量(mg/g 生重量)

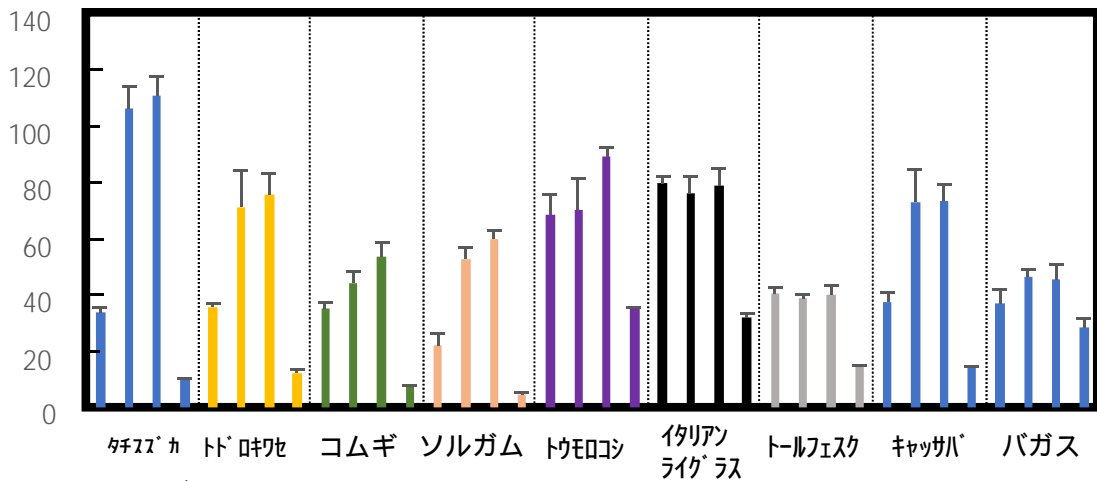


図1 各種バイオマスからの糖蓄積量

左からセルラーゼ添加、セルラーゼ+グルコアミラーゼ添加、セルラーゼ+グルコアミラーゼ+ペクチナーゼ添加、酵素無添加

(2) 次に、これらバイオマス、分解酵素、乳酸混合物に発酵微生物(酵母)を加えて、パイアル瓶内で糖化・エタノール固体発酵試験(28°C、20日間)を行った。その結果、従来試験に用いてきた飼料イネ、コムギ、ソルガム、トウモロコシ等に加え、イタリアンライグラスやキャッサバ等のバイオマスで、高濃度(66~149mg/g生重量)のエタノールが生産され、しかも大半のバイオマスで10日程度の期間で糖化、発酵が進んでおり、固体発酵用バイオマスとして有望であると考えられた(図2)。

エタノール
(mg/g 生重量)

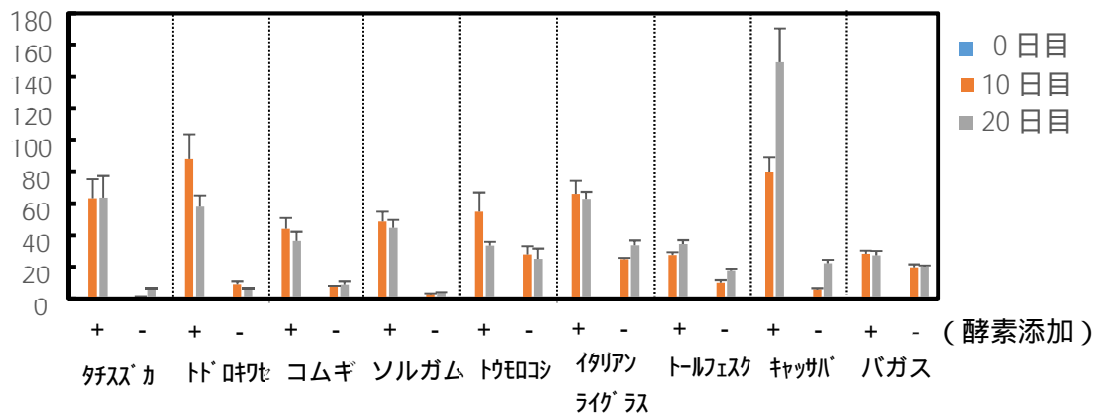
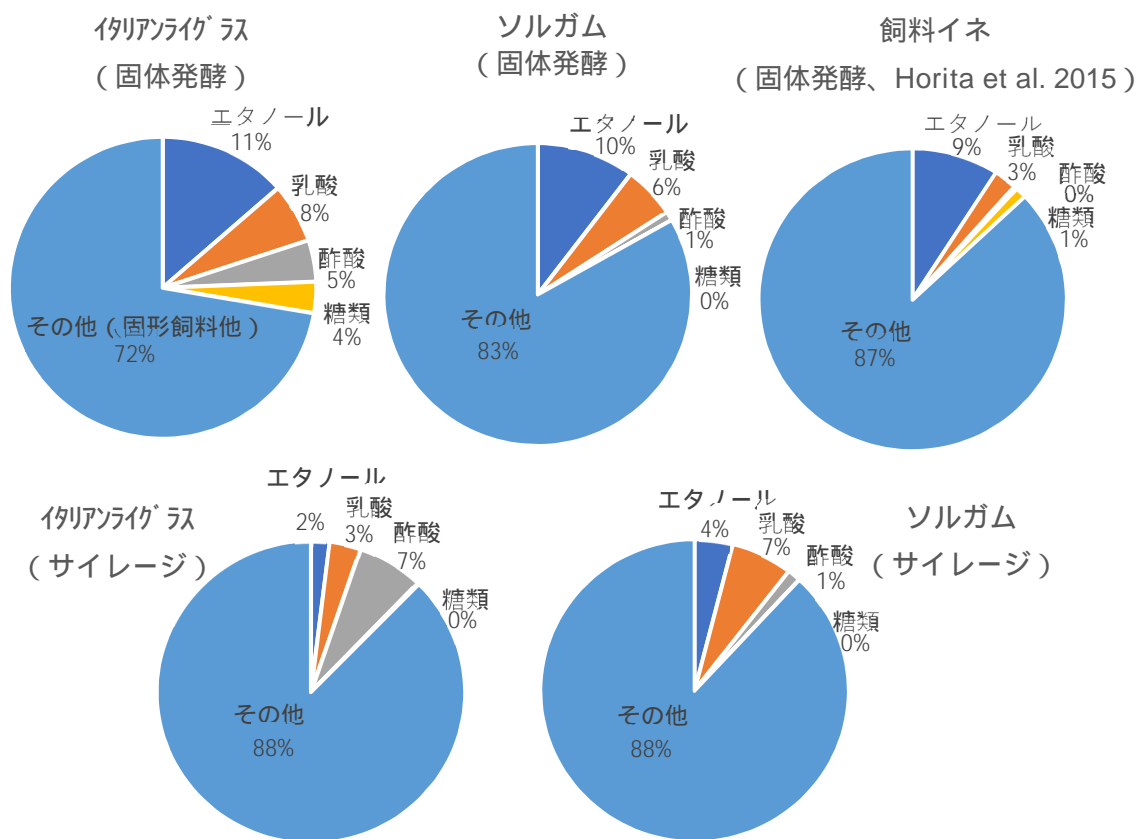


図2 各種バイオマスからの固体発酵によるエタノール生成量

(3) 乳酸菌を用いて、上記とほぼ同様な条件(乳酸、酵母は無添加)で固体発酵試験を行った結果、エタノール固体発酵の場合と同様に、糖分を比較的多く蓄積するバイオマスでL-乳酸が蓄積する(最大15mg/g)傾向が認められた。一方、酢酸菌を用いて同様に試験した場合、低水分の嫌気条件下では酢酸はほとんど生成されなかった。

(4) 次に、イタリアンライグラスおよびソルガムについて、屋外で栽培したバイオマスを収穫・細断したものにバイオマス分解酵素および発酵微生物(乳酸菌、酵母)を加えて固体発酵試験を行った。イタリアンライグラスでは、生重量300g(乾物重量比15%)のバイオマスを用いて試験(28°C、20日間)した結果、発酵20日目に12mg/gのエタノールが生産され、それ以

外にもL-乳酸(8mg/g)、酢酸、糖類の蓄積がみられた。ソルガムでは生重量約300kg(乾物重量比20%)のロールベールを用いて屋外(11~1月)で発酵試験を行った結果、処理2ヶ月後に21mg/g程度のエタノールが生産され、それ以外にもL-乳酸(11mg/g)の蓄積がみられた。各バイオマスの変換率(乾物重量比)について比較した結果、これまで固体発酵試験に用いてきた飼料イネ(屋外ロール試験、Horita et al. 2015)では、13%程度(9%エタノール、3%乳酸)であったのに対し、イタリアンライグラスでは28%、ソルガムで17%程度と高かった(図3)。試験のスケールがそれぞれ異なっており、単純に比較はできないが、以上の結果から、これら非食用バイオマスは固体発酵に適した素材と考えられた。また、イタリアンライグラスやソルガムは発酵飼料(サイレージ)を作る過程で、材料草に付着している微生物(乳酸菌等)が働いて、乳酸発酵や酢酸発酵が進み、これら成分が多量に蓄積する傾向がみられたことから(図3)、発酵条件や発酵微生物の添加条件等を更に検討することで、これら有用物質生産にも適用可能と考えられた。



<引用文献>

Horita, M., H. Kitamoto, T. Kawaide, Y. Tachibana, Y. Shinozaki (2015) On-farm solid state simultaneous saccharification and fermentation of whole crop forage rice in wrapped round bale for ethanol production. *Biotechnology for Biofuels* 8:9

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 堀田 光生	4. 巻 62
2. 論文標題 セルロース系バイオマスから固体発酵でバイオエタノール生産	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ケミカルエンジニアリング	6. 最初と最後の頁 634-638
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----