

高温L-乳酸発酵におけるスターチ直接資化の試み

社会開発システム工学科 環境計画研究室 井原寛文

1. 研究背景



多糖を直接利用していない



課題

- 多糖(スターチなど)を利用するには糖化を行い、単糖(グルコース)に分解することが必要
- 糖化処理は高コスト

2. 研究目的

微生物による糖化工程を高温L-乳酸発酵に組み入れる。

I. 共培養によるアミラーゼの供給

II. 乳酸菌自身によるアミラーゼの供給

単糖に分解する糖化工程を、アミラーゼ生成菌を用いて糖化を行うことや、多糖を直接利用できる乳酸菌を用いることで、L-乳酸発酵のコスト的な効率化を検討する。

3. 研究方法

2010年10月20日に大根、スイートソルガム、キャベツ、ネギ、梨、枝豆、里芋、人参、ブロッコリーの土壌を採取

アミラーゼ活性

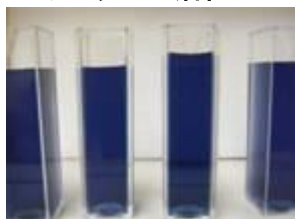


図1. ヨウ素と反応させた様子

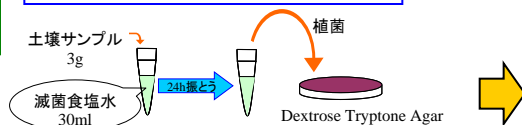
表1. 前培養培地の組成

	g/L
starch	20
beef extract	10
yeast extract	2
CaCl ₂	0.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.1

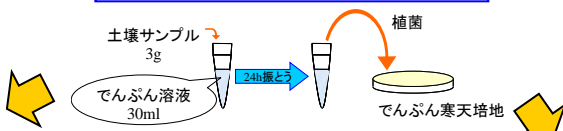
嫌気条件, 好気条件において55°Cで48時間の前培養を行った. 培養後, ヨウ素と反応させて吸光度測定した.

高温菌の単離

高温性のL-乳酸生成株の探索



高温性のアミラーゼ誘導株の探索



アミラーゼ生成・乳酸発酵



図2. 発酵の様子

L-乳酸発酵性

振とう培養

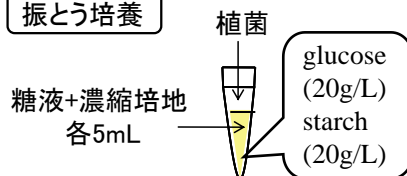


表2. 濃縮培地の組成

		(単位: g/L)
yeast extract	bacto	10
(NH ₄) ₂ HPO ₄	和光純薬 特級	1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	和光純薬 特級	0.2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	和光純薬 特級	0.04
FeSO ₄ ·7H ₂ O	和光純薬 特級	0.02
CaCO ₃	和光純薬 特級	10

表3. 液体培地の組成

		(単位: g/L)
starch	和光純薬 特級	10
yeast extract	bacto	4

アミラーゼ誘導株として単離できたs2, s3について試験を行った.

共培養において乳酸生成できなかった.

4. 結果

表3. 高温菌の単離結果

株名	単離土壌	菌種	Accession No.	
d1	スイートソルガム	<i>Bacillus licheniformis</i>	AB610856	
高温L-乳酸生成株	d2	梨	<i>Bacillus licheniformis</i>	AB610853
	d3	梨	<i>Bacillus licheniformis</i>	AB610854
	d4	枝豆	<i>Bacillus smithii</i>	AB610857
	d5	里芋	<i>Bacillus smithii</i>	AB610855
アミラーゼ誘導株	s1	梨		
	s2	里芋	<i>Aneurinibacillus thermoaerophilus</i>	AB610851
	s3	ブロッコリー	<i>Geobacillus caldoxylosilyticus</i>	AB610852

高温性のアミラーゼ誘導株を2種類単離できた. (*A. thermoaerophilus*, *G. caldoxylosilyticus*)
 高温性のL-乳酸生成株を2種類単離できた. (*B. licheniformis*, *B. smithii*)
 菌種推定できた株の塩基配列は, DDBJに登録済みである. (Accession No.; AB6108510~AB610857)

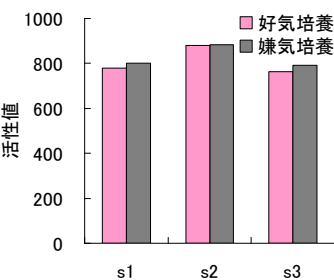


図3. アミラーゼ活性

高温性のアミラーゼ誘導株として単離したs1~s3はアミラーゼ活性が示された.

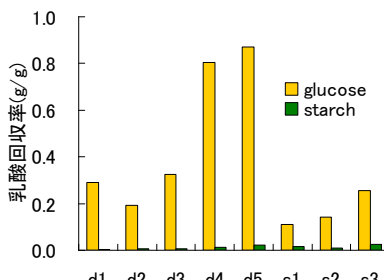


図4. 糖資化結果

単離株全てについてグルコースからL-乳酸を確認した. 特に, d4, d5からは高い値を得られた. しかし, スターチについてはどの株からもL-乳酸生成を確認できなかった. 共培養についても同様であり, β-アミラーゼやグルコシターゼなどスターチとその加水分解物から二糖・単糖へと加水分解する酵素群を補う必要があるという課題が明らかとなった.