

# Ceriporiopsis subvermispora を用いた コーンストーバーの糖化前処理に関する研究

環境計画研究室 古橋 弘至

## 1. はじめに

トウモロコシの非可食部、コーンストーバーは、多量のセルロース、ヘミセルロースを高分子リグニンが被覆する化学構造を有しているため、糖化、及びエタノール発酵するには脱リグニンが必要である。Wan and Li(2010)により報告された、環境面に配慮した白色腐朽菌(*Ceriporiopsis subvermispora*)を用いた脱リグニンプロセスを我々も実施したところ、既報ではコーンストーバーに生育するとされた *C.subvermispora* の生育が確認できなかった。そこで本研究では、*C.subvermispora* の生育法に関する検討と脱リグニン化の検討を実施した。なお、用いたコーンストーバーは、農閑期に残留肥料成分を吸肥する目的で施用されたトウモロコシであり、栽培期間 60 日間のものである。

## 2. 実験方法

### 2.1 バイオマス

実をつける前のトウモロコシを使用し、根を除く茎と葉をコーンストーバーとした。

*C.subvermispora* 培養の前処理として、乾燥コーンストーバーが 5%となるように蒸留水を添加、オートクレーブ(120°C, 20分)した。回収バイオマスを乾燥後、同バイオマスが 5%となるように 80%アセトン溶液を添加、抽出(24時間、室温)した。

### 2.2 *C.subvermispora* 培養

上記処理済み乾燥バイオマス 3g を滅菌の後、別途 Malt extract 培地に前培養した同株を植菌した。培養終了後、バイオマスは滅菌を行い、乾燥後デシケーターで保管した。

### 2.3 酵素糖化

NREL プロトコルに基づき実施した。乾燥バイオマス 0.15g に対して酵素溶液(60FPU/g-基質)9.85ml 添加し、45°Cで 72時間振とう攪拌した。酵素溶液は 0.1M 酢酸緩衝液(pH4.5)にセルラーゼ、2%アジ化ナトリウムを溶解させたものである。糖化終了後、糖化反応を停止しグルコースおよび還元糖を測定した。

### 2.4 統計解析

グルコース、還元糖を多重比較検(Tukey-Kramer test)し、また 2 群の差の検定は t 検定を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 *C.subvermispora* 培養の前処理効果

熱水・溶媒抽出の *C.subvermispora* 培養への影響を見た(繰り返し回数 3 回)。その結果、熱水・溶媒抽出を行った系のみいづれも *C.subvermispora* が生育し

た。用いたコーンストーバーに、*C.subvermispora* を生育する方法を確立した。なお、熱水・溶媒抽出成分に *C.subvermispora* の成長阻害要因があると考えられるが、この点は引き続き調査中である。

### 3.2 *C.subvermispora* の糖化前処理効果

各バイオマス、つまり *C.subvermispora* 培養の前処理を行っていないブランク、培養前処理を行ったコントロール I、培養前処理を行い *C.subvermispora* 培養条件下に供したコントロール II および *C.subvermispora* 培養を行った 14 日培養と 28 日培養について糖化を実施した(図 1)。その結果、コントロール I および II が高いグルコース回収量を示した(危険率 5%)。また、*C.subvermispora* 培養系では、培養日数の増加に伴いグルコース回収量が有意に減少した。この結果は Wan and Li(2010)とは異なる結果であり、*C.subvermispora* 株間の差異あるいは用いたバイオマスの特質に原因が考えられる。なお、用いたバイオマスは、十分に成長したトウモロコシのコーンストーバーと比べて *C.subvermispora* が資化するヘミセルロース画分が少ないことを補記する。

本研究の酵素糖化では、熱水・アセトン抽出を施すことによりグルコース回収率が向上することを確認した。この方法を糖化前処理と捉え、既存の効率的とされるアルカリ過酸化水素処理(A/O 処理)と前処理効果を比較した。(図 1)。その結果、熱水・アセトン抽出は A/O 処理ほどの糖化前処理効果は得られないことを確認した。(危険率 5%)

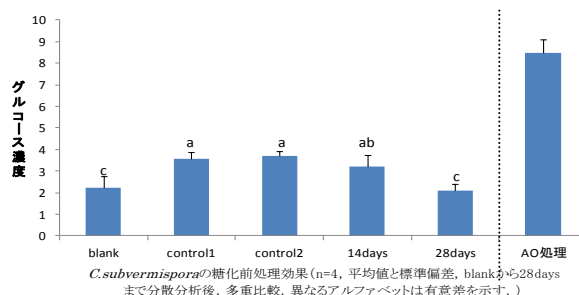


図 1. AO 処理と生物処理の比較

トウモロコシ非可食部を原料に、*C.subvermispora* による酵素糖化前処理を検討した。用いたコーンストーバーに対して熱水・アセトン抽出を施すことにより、*C.subvermispora* を確実に生育させる方法を確立した。一方、*C.subvermispora* 培養の酵素糖化に対する効果は、グルコース回収率が低下したことから負に作用する結果となった。