

Trichoderma reesei 由来酵素を用いたもみ殻からの有価物回収

長岡技術科学大学 学生会員○吉田理奈, 齋藤耕平, 中村明靖, 幡本将史, 志田洋介, 小笠原渉, 山口隆司
国際石油開発帝石株式会社 若山樹, 今田美郎

1. はじめに

近年, セルロース系バイオマスからの有価物・エネルギー回収が注目されている。我々は, バイオマスに前処理, 酵素糖化を施すことで構造中のシリカやリグニンおよび糖を有価物として回収し, 酵素糖化残渣のメタン発酵によりメタンガスをエネルギーとして回収する資源化プロセスを開発している。資源化技術のひとつである酵素糖化は, 回収した糖類をバイオエタノールや化成品の原料として利用可能である点から, 盛んに研究が進められている技術である。一方, 現在酵素糖化におけるコストの低減が課題となっているため, 我々は有価物の回収量増大や付加価値向上を目指し, 条件を満たす酵素(セルラーゼ)の開発を試みている。

そこで我々は, 多種のセルラーゼ成分を分泌する糸状菌⁽¹⁾, *Trichoderma reesei* (以下 *T. reesei*) に着目した。これまでに, より活性の高い酵素を生産する株を育種し, その酵素 (*T. reesei* 由来酵素) を取得した。本研究では, 新潟県の地域バイオマスであるもみ殻に前処理として化学物質を使用しないため洗浄プロセスを必要としない熱水処理を施し, その処理条件を検討した。その後, *T. reesei* 由来酵素と市販酵素製剤による酵素糖化を行い, 各酵素の糖化能を評価した。

2. 実験方法

もみ殻は, 外部委託により微粉化 (中位径: 30 μm) を施した。もみ殻 1.0 g-DM (Dry Material) あたりの構成成分は, セルロース 36%, ヘミセルロース 19%, リグニン 20%, 灰分 25% (主成分シリカ) であった。

2-1. 熱水処理

熱水処理は, 日東高圧 (株) の熱水反応装置を用いて行った。処理温度は 120, 160, 180, 220, 260 $^{\circ}\text{C}$, 処理時間は 30 min とした。供試微粉化もみ殻濃度は Volatile Solid (VS) 基準で 5% (w/v) とした。処理後は反応液の固液分離を行い, 処理液および残渣を回収した。処理液はさらに 0.45 μm の MF (Microfiltration) 膜でろ過し,

溶出したシリカ, リグニン, 全糖濃度の分析を行った。

2-2. 酵素糖化

酵素糖化は, (株) 明治の酵素製剤 (Meiselase) および *T. reesei* 由来酵素を用いて行った。酵素濃度は 0.74 g-protein/L とした。供試熱水処理残渣の濃度は 5% (w/v, VS 基準) とした。初期 pH は 5 に調整し, バイアル瓶を 50 $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽において 48hr, 約 150 strokes/min で振とうさせた。反応終了後, 糖化液を 0.45 μm の MF 膜でろ過し, 全糖濃度および主な糖類 (グルコース, キシロース, マンノース, アラビノース, ガラクトース, セロビオース, キシロオリゴ糖) の分析を行った。酵素の糖化能は, 糖化液からの全糖回収量で評価した。

3. 実験結果および考察

3-1. 熱水処理

熱水処理温度の上昇は, シリカおよびリグニンの回収量増大に効果があることが示された (図 1)。最大のシリカ回収量は 0.006 g/g-DM, リグニン回収量は 0.05 g/g-DM であった。全糖回収量は, 熱水処理温度 180 $^{\circ}\text{C}$ のとき最大 0.21 g/g-DM であり, それ以上の温度で熱水処理を行ったとき全糖回収量は減少した。熱水処理において溶出した糖は単糖に分解され, 高温で有機酸に二次分解されるという報告がある⁽²⁾。よって, 熱水処理温度の上昇に伴う全糖回収量の減少は, 溶出した糖成分の有機酸への二次分解が原因であると推測されるため, 糖以外の有機体炭素の詳細分析を検討中である。

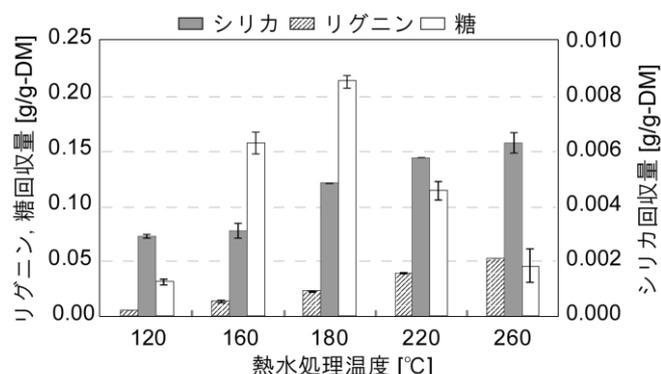


図1 熱水処理における資源回収量

キーワード セルロース系バイオマス, 熱水処理, 酵素糖化, 資源化処理, 糖

連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1 長岡技術科学大学大学院 工学研究科 水圏土壌環境制御工学研究室

TEL : 0258-47-1611 (内線 6646) E-mail : s103353@stn.nagaokaut.ac.jp

3-2. 酵素糖化

各温度で熱水処理を施したもみ殻を Meiselase および *T. reesei* 由来酵素を用いて糖化を行ったところ、微粉碎もみ殻 1.0 g-DM からの全糖回収量は、熱水処理温度の上昇に伴い減少した(図 2)。熱水処理を施さずに *T. reesei* 由来酵素で糖化を行ったとき最も全糖回収量が大きく、0.31 g-sugar/g-DM であった。120°C で熱水処理を施した場合と同程度の全糖回収量が得られたため、酵素糖化においては熱水処理を施さずとも糖が回収できた。ほぼ全ての条件において *T. reesei* 由来酵素を用いて糖化を行った方が全糖回収量は多く、1.2~1.4 倍となった。従って、熱水処理を施したもみ殻を基質とした場合 *T. reesei* 由来酵素は Meiselase よりも高い糖化能を有することが明らかとなった。

糖化液中の主な糖類の成分比は、酵素の種類により異なった(図 3)。最も成分比が大きい糖は、いずれの酵素を用いたときもグルコースであり、同程度の割合であった(Meiselase を用いたとき 70.2%, *T. reesei* 由来酵素を用いたとき 67.0%)。次に成分比が大きい糖は、Meiselase を用いたときキシロオリゴ糖(23.3%)であり、*T. reesei* 由来酵素を用いたときキシロース(21.2%)であった。Meiselase は *T. reesei* と同属の菌が分泌した酵素であるが、本研究で改良した *T. reesei* 由来酵素を糖化に適用することで異なる種類の糖を回収できた。従って、*T. reesei* の育種・改良により酵素糖化において回収できる有価物を制御できることが示唆され、より付加価値の高い糖を回収できる可能性がある。

3-3. 糖収支

糖収支は、各プロセスにおける全糖回収量の和として算出した(図 4)。本プロセスにおいて最も全糖を回収できる条件は、160°C 熱水処理を施し *T. reesei* 由来酵素を用いて酵素糖化を行った条件で 0.40 g-sugar/g-DM となり、微粉碎もみ殻中の糖成分(セルロースおよびヘミセルロース)からの糖回収率は 72.3% であった。

4. まとめ

本研究により、熱水処理、酵素糖化の資源化プロセスにもみ殻を適用することでシリカ、リグニン、糖が回収可能であった。熱水処理温度は、有価物回収量に関係することが示された。酵素糖化では市販酵素製剤と *T. reesei* 由来酵素の糖化能を評価した結果、*T. reesei* 由来酵素は Meiselase より糖化能が高く、より多くの全糖が回収可能であった。糖化液における主な糖類の分析を行った結果、使用する酵素の種類により回収でき

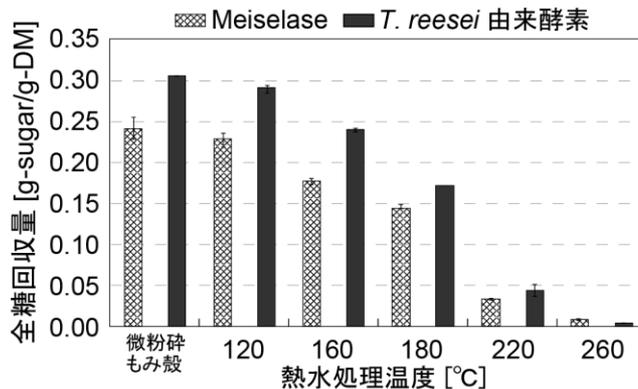
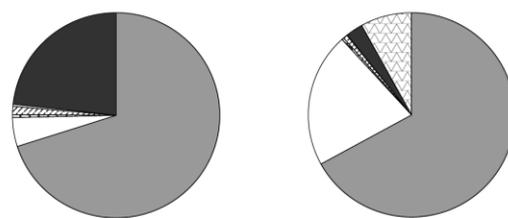


図2 酵素糖化における全糖回収量

■ グルコース □ キシロース ■ キシロオリゴ糖
 □ マンノース ▨ アラビノース ▩ ガラクトース ▭ 不明



Meiselase *T. reesei* 由来酵素

図3 糖化液中の成分比(基質:微粉碎もみ殻)

■ セルロース ■ ヘミセルロース
 ▨ 熱水処理プロセス □ 酵素糖化プロセス
 M: Meiselase T: *T. reesei* 由来酵素

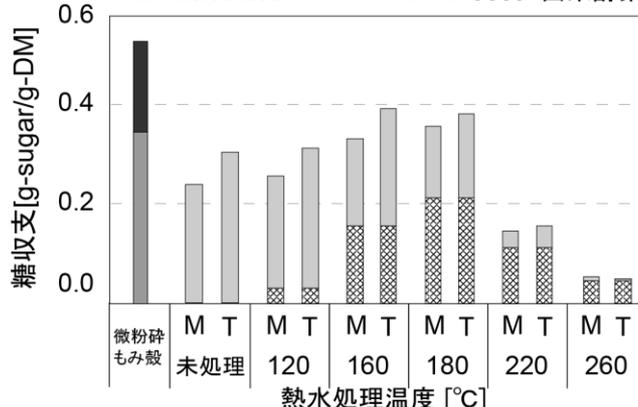


図4 本プロセスにおける糖収支

る糖の成分が異なった。*T. reesei* の育種・改良により有価物の種類を制御できる可能性が示唆された。糖収支より、160°C で熱水処理を行い *T. reesei* 由来酵素で糖化を行う条件において最も全糖回収量が多かった。本プロセスに *T. reesei* 由来酵素を適用することにより、有価物の回収量増大に成功した。今後は、酵素糖化によって得られる有価物の付加価値向上を目指し、*T. reesei* の育種による酵素の改良を行う。

参考文献

- (1) 森川康, 「キノコとカビの基礎科学とバイオ技術」セルラーゼ・キシラナーゼ, pp.453-465, 2002
- (2) 熊谷ら, 加圧熱水処理による大麦わらの可溶化および糖化, 日本食品工学会誌, 9, (2), pp.115-119, 2008