

キシロース発酵性乳酸菌と可溶不溶可逆酵素 を用いた農産廃棄物の乳酸への連続変換

(課題番号 13836003)

平成13年度～平成14年度科学研究費補助金（基盤研究C）
研究成果報告書

平成15年3月

研究代表者 谷口正之
(新潟大学工学部教授)

はじめに

研究代表者は「キシロース発酵性乳酸菌と可溶不溶可逆酵素を用いた農産廃棄物の乳酸への連続変換」に関して、平成 13 年度文部省科学研究費補助金を申請し、採択された。本報告は、上記研究の成果を総括したものである。

「地球環境を保全しつつ、人類社会を持続的に繁栄させるためには、太陽エネルギーの固定によって生産される生物資源に依存するポスト石油社会に移行する必要がある」ことが再認識されつつある。そのためには生物資源をカスケード的に総合利用する循環型物質生産体系を構築する必要がある。しかし、地球上に最も多量に存在するリグノセルロース資源は、建材、紙パルプ、繊維、コンポスト、燃料など一部の分野においてしか利用されていない。このリグノセルロース資源を、廃棄物も含めて有効に活用し、リグノセルロース資源の各成分を原料としてケミカルズを生産する技術を確立することは緊急な学術的課題である。

一方、研究代表者はこれまで約25年間にわたり、①リグノセルロース資源の有効利用および②乳酸菌による有用物質の生産に関する生物工学的研究を継続してきた。また、研究代表者を含むグループは平成6～7年度に（財）地球環境産業技術研究機構（RITE）から委託を受けて『生物機能を利用した地球環境改善技術に関する調査ーリグノバイオプロセスの構築ー』を実施した。研究代表者は、この調査において林産・木質系・農産廃棄物の資源化を目的とした場合、最終的にこれらのリグノセルロース系廃棄物の量に見合う生産物は、現在石油を原料として大量に生産（日本 1,391万t/年：1998年）され、廃棄（日本 984万t：1998年）されている「プラスチック」しかないと感じた。

新潟県では米とほぼ同じ量の稲わらが廃棄され、「野焼き」が深刻な社会問題になっているため、もみ殻と共にその有効利用法の開発が切望されている。本研究では、我が国において有効利用されずに、大量に廃棄されている稲わら、もみ殻、米ぬかなどをリグノセルロース系資源として取り上げ、これらのすべての糖源から生分解性プラスチックの原料として注目を集めている L-乳酸を効率よく生産すること目的とした。そこで、既に報告しているバイオマス資源のエタノールへの連続変換に関する研究代表者らの既往の研究成果を踏まえて、次の3点についておもに検討した。

- 1) キシロース発酵性乳酸菌のスクリーニングと発酵特性の解析
- 2) 単独および混合乳酸菌を用いた同時糖化発酵による L-乳酸の効率的生産システムの開発
- 3) 未殺菌米ぬかを炭素源とした同時糖化発酵による L-乳酸の生産

以上の研究成果は、生物資源をカスケード的に総合利用する循環型物質生産体系を構築するにあたって、有益な知見を提供していると確信している。

研究組織

研究代表者：谷 口 正 之 (新潟大学工学部教授)
研究分担者：田 中 孝 明 (新潟大学工学部助教授)

研究経費

平成 13 年度	2,400 千円
平成 14 年度	1,200 千円
計	3,600 千円

研究発表

(1) 学会誌等

- 1) 谷口正之：
微生物間相互作用の解析と混合培養システムの開発.
化学工学論文集，第 25 卷 2 号，149-157 (1999).
- 2) M. Taniguchi, T. Tokunaga, and T. Tanaka:
Production of Lactic Acid from Biomass Hydrolysate by a Co-Culture of Lactic Acid Bacteria. The 2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies. Agro-0096, Hawaii (2000).
- 3) 谷口正之：新エネルギーの可能性「バイオマス」
新潟経済社会リサーチセンター、センター月報 3 月号、p.19-21 (2002).
- 4) K. Hoshino and M. Taniguchi: "Stimuli responsive polymers in bioprocessing" (eds: I. Galaev and B. Mattiasson), Smart Polymers for Bioseparation and Bioprocessing, p.257-283, Taylor and Francis, London and New York (2002).

(2) 口頭発表

- 1) 徳永 崇，堀内健一郎，田中孝明，谷口正之：
乳酸菌の混合培養による複合糖液からの乳酸の生産.
平成 11 年度日本生物工学会大会 (大阪)，講演要旨集 p.226 (1999 年 9 月).
- 2) 白井義人，谷口正之：
生ゴミ乳酸発酵における光学純度の向上法.
化学工学会第 33 回秋季大会 (浜松)，講演要旨集 p.807 (2000 年 9 月).
- 3) 石田淳也，石井克行，酒井謙二，田中孝明，谷口正之：
膜型混合バイオリアクターを用いた乳酸菌の選択的増殖条件の解明と
その生ゴミの乳酸発酵への応用.
2001 年度日本農芸化学会大会 (京都)，講演要旨集 p.21 (2001 年 3 月).
- 4) 石井克行，石田淳也，田辺 卓，酒井謙二，田中孝明，谷口正之：
膜型混合培養システムの開発とその乳酸菌の選択的増殖条件解明への応用.
化学工学会福井大会 (福井)，講演要旨集 p.7 (2001 年 7 月).

- 5) 田辺 卓, 石井克行, 佐藤和人, 大坪貞視, 田中孝明, 谷口正之:
米ぬかの同時糖化発酵による乳酸の生産.
日本生物工学会平成 13 年度大会 (山梨), 講演要旨集 p.326 (2001 年 9 月).
- 6) 田辺 卓, 酒井 謙二, 佐藤 和人, 大坪 貞視, 田中 孝明, 谷口 正之:
米ぬかを炭素源とした同時糖化発酵による乳酸の生産.
2002 年度日本農芸化学会大会 (仙台), 講演要旨集 p. 8 (2002 年 3 月).
- 7) 田辺 卓, 酒井 謙二, 佐藤 和人, 大坪 貞視, 田中 孝明, 谷口 正之:
未殺菌米ぬかを炭素源とした同時糖化発酵による乳酸の生産.
化学工学会新潟大会, 講演要旨集 p.44 (2002 年 8 月).
- 8) 石田淳也, 田辺 卓, 酒井謙二, 田中孝明, 谷口正之:
膜型混合培養システムの開発とその食品廃棄物資源化への応用.
日本食品工学会第 2 回大会 (東京), 講演要旨集 p.136 (2002 年 8 月).

目 次

第1章	序 論	1
第2章	可溶不溶可逆酵素とペントース発酵性酵母を用いた脱リグニン 稲わらの同時糖化発酵によるエタノールの連続生産	7
第3章	<i>Pichia stipitis</i> と <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 呼吸欠損変異株 の混合培養による複合糖液からのエタノール生産	15
第4章	膜型混合バイオリアクターを用いた混合培養による 複合糖液からのエタノール生産	22
第5章	キシロースから乳酸を生産できる微生物の検索と その培養条件の確立	28
第6章	乳酸菌の混合培養による複合糖液からの乳酸生産	35
第7章	未殺菌米ぬかを炭素源とした同時糖化発酵による乳酸の生産	44
第8章	全体の総括	53

第1章 序 論

第1章の一部は下記より転載した。

可溶不溶可逆高分子への酵素の固定化

『新タンパク質応用工学』（旗野昌弘監修）p.518-526. フジテクノシステム(1996).

および

新エネルギーの可能性「バイオマス」

新潟経済社会リサーチセンター，センター月報3月号，p.19-21 (2002).

第 2 章 可溶不溶可逆酵素とペントース発酵性 酵母を用いた脱リグニン稲わらの同時 糖化発酵によるエタノールの連続生産

第 2 章は下記より転載した。

Continuous Simultaneous Saccharification and Fermentation of Delignified Rice Straw by
a Combination of Two Reversibly Soluble-Autoprecipitating Enzymes
and Pentose- Fermenting Yeast Cells.

J. Chem. Eng. Japan, Vol.30, No.1, 30-37 (1997).

第3章 *Pichia stipitis* と *Saccharomyces cerevisiae*
呼吸欠損変異株の混合培養による
複合糖液からのエタノール生産

第3章は下記より転載した。

Ethanol Production from a Mixture of Glucose and Xylose by Co-Culture of *Pichia stipitis*
and a Respiratory Deficient Mutant of *Saccharomyces cerevisiae*.
J. Ferment. Bioeng., Vol.83, No.4, 364-370 (1997).

第4章 膜型混合バイリアクターを用いた 混合培養による複合糖液からの エタノール生産

第4章は下記より転載した。

Ethanol Production from a Mixture of Glucose and Xylose by a Novel Co-Culture System with Two Fermentors and Two Microfiltration Modules.

J. Ferment. Bioeng., Vol.84, No.1, 59-64 (1997).

第5章 キシロースから乳酸を生産できる 微生物の検索とその培養条件の確立

第5章の一部は下記より転載した。

Production of Lactic Acid from Biomass Hydrolysate by a Co-Culture of Lactic Acid Bacteria. The 2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies. Agro-0096, Hawaii (2000).

第 6 章 乳酸菌の混合培養による複合糖液 からの乳酸生産

第 6 章の一部は下記より転載した。

Production of Lactic Acid from Biomass Hydrolysate by a Co-Culture of Lactic Acid Bacteria. The 2000 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies. Agro-0096, Hawaii (2000).

第7章 未殺菌米ぬかを炭素源とした同時 糖化発酵による乳酸の生産

第7章 未殺菌米ぬかを炭素源とした同時糖化発酵による乳酸の生産

1. はじめに

米ぬかの廃棄処理・資源化にはコストがかかり、環境問題を引き起こす原因物質となっている。新潟県では毎年約 2 万 t の米ぬかが排出されており、特に赤ぬかを有効利用する方法を開発することが求められている。脱脂米ぬかには、デンプン系糖類が 29.4 %、セルロース系糖が 25.0 % も含まれており、米ぬかの全重量の約 54 % が糖質である。そこで、米ぬかを炭素源とした乳酸発酵によって、生分解性プラスチックの原料である乳酸を効率よく生産できれば、米ぬかの有効利用につながると考えられる。本研究では、脱脂米ぬかの酵素糖化条件と加熱殺菌処理した脱脂米ぬかを用いた同時糖化発酵について検討した。また、加熱殺菌処理した脱脂米ぬかを用いた場合の結果を踏まえて、未殺菌の脱脂米ぬかを用いた同時糖化発酵による乳酸の生産について検討した。

2. 加熱殺菌処理した脱脂米ぬかを用いた同時糖化発酵

2-1. 糖化反応に対する加熱殺菌処理の影響

まず最初に、酵素を用いた米ぬかの糖化反応条件について検討した。緩衝液に米ぬかを懸濁した場合に、米ぬかの重量の約 10 % が全糖として緩衝液中に可溶化した。酵素はアミラーゼやセルラーゼを単独で添加するよりも、2 種類の酵素を組み合わせる方が、生成する全糖濃度が高くなった。また、酵素濃度を 10 mg/l 以上に上げて、生成する全糖濃度にほとんど増加しなかったことから、以後の実験では、酵素濃度を 10 mg/l とした。

次に、脱脂米ぬかの糖化反応に対する加熱殺菌処理の影響について検討した。その結果を図 1 に示す。横軸は糖化反応時間、縦軸は全糖とグルコースの濃度を示す。上の図は、雑菌汚染を防ぐためにアジ化ナトリウムを添加して糖化反応を行った結果を、下の図は加熱殺菌後に糖化反応を行った結果をそれぞれ示す。それぞれの糖化反応は、100 g/l の脱脂米ぬかを用いて、酵素糖化反応に適した pH5.0 および pH4.5 と乳酸発酵に適した pH6.8 の緩衝液中で行った。また、反応温度は、同時糖化発酵を考慮して、乳酸菌の増殖に最適な 37°C に設定した。アジ化ナトリウムを添加して糖化反応を行った場合には、pH を 5.0 とした時に、緩衝液だけによって可溶化した分も含めて 36.8 g/l の全糖および 19.7 g/l のグルコースが生成した。これに比べて pH を 4.5 および 6.8 とした時には、得られる全糖およびグルコース濃度は低下した。これに対して、酵素添加前に加熱殺菌処理をすることによって、脱脂米ぬかから可溶化する全糖濃度は、約 33 g/l およびグルコースは約 10 g/l となった。さらに酵素糖化することによって全糖濃度は約 44.5 g/l に、グルコースは約 26 g/l にまでそれぞれ増加した。また、pH を 4.5 および 6.8 とした場合にも、pH を 5.0 とした場合とほぼ同じ濃度の全糖およびグルコースを得ることができた。

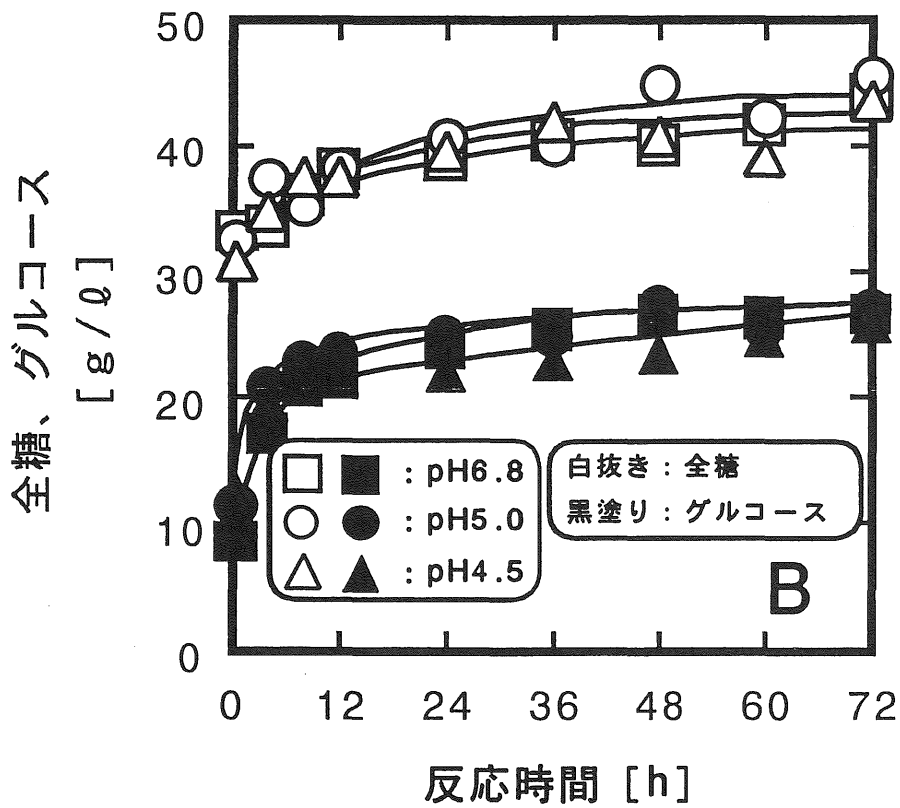
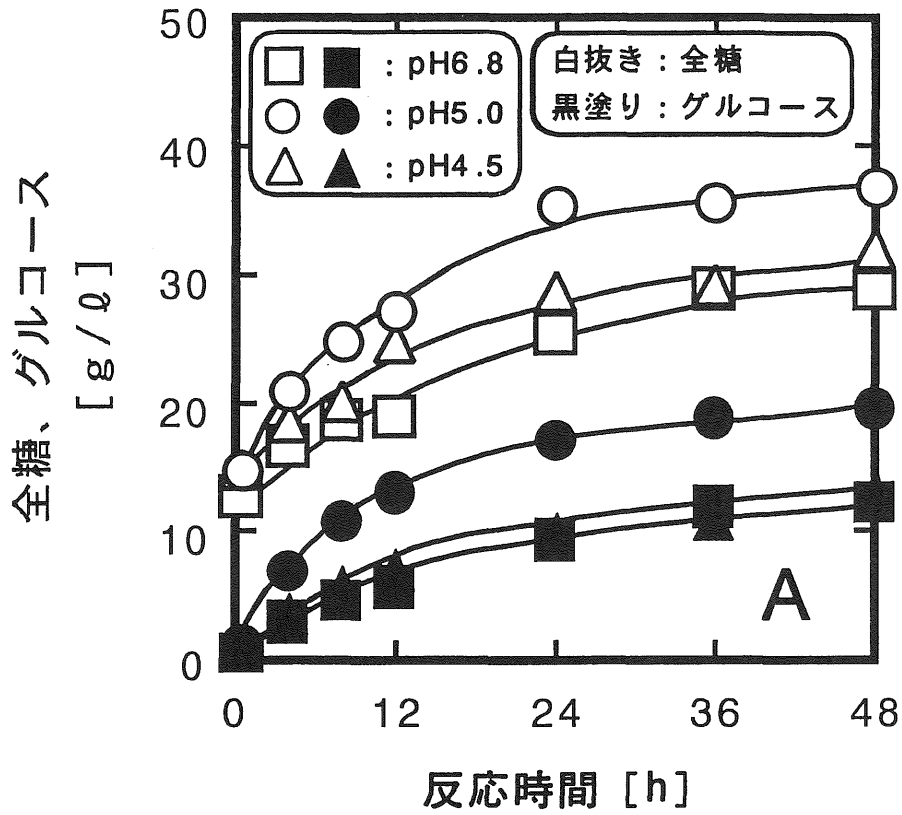


図1 米ぬかの酵素糖化反応に対する加熱殺菌処理の影響
 A: アジ化ナトリウム添加. B: 加熱殺菌処理.

2-2. 加熱殺菌処理後の米ぬかを用いた同時糖化発酵による乳酸の生産

乳酸を1段階で生産するために、米ぬかの酵素糖化反応と乳酸発酵を同時に行う同時糖化発酵について検討した。この発酵は、米ぬかを培地に懸濁した後、オートクレーブを用いて121℃で15分間の加熱殺菌を2回行い、その後にメンブランフィルターで除菌した酵素を添加すると同時に、ホモ型乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* を植菌することにより行った。この同時糖化発酵の結果を図2に示す。左の図は *L. rhamnosus* の生育に最適な pH である 6.8 に、右の図は糖化反応に最適な pH である 5.0 に、培養期間を通して pH を制御した結果をそれぞれ示す。どちらの pH に制御しても、酵素糖化反応によって生成した全糖とグルコースは、ともに乳酸菌によって減少し、グルコースは12時間目以降、見かけ上検出されなくなった。この糖の消費にともなって生菌数は増加し、乳酸濃度も徐々に増加した。得られた乳酸の濃度は pH を 6.8 に制御した培養では 28.6 g/l となり、pH を 5.0 に制御した培養では 36.7 g/l となった。すなわち、pH を 5.0 とした培養において比較的高い濃度の乳酸を得ることができた。しかし、本来植菌した *L. rhamnosus* によって生産されないはずの酢酸とギ酸が乳酸以外に検出された。それらの酸の濃度は pH を 6.8 とした培養において高くなり、結果として pH を 6.8 とした培養において得られた乳酸濃度は低い値となった。この原因は、米ぬか中に内在する微生物を 121℃で15分間という通常のオートクレーブの条件では完全に殺菌できないために、*L. rhamnosus* 以外の微生物が増殖し、酢酸とギ酸を生産したためであると考えられる。また、オートクレーブを2回することにより、米ぬか中に内在する微生物が生産すると思われる酢酸やギ酸の生産量は、オートクレーブを1回するより低下できたが、それらの酸の生産を完全に抑えることはできなかった。

3. 未殺菌の米ぬかを用いた同時糖化発酵

3-1. 未殺菌米ぬかの同時糖化発酵に対する pH の影響

次に、実用的な観点から未殺菌の脱脂米ぬかを用いた同時糖化発酵を試みた。まず、未殺菌の米ぬかを用いて乳酸菌の生育に最適な 6.8 に pH を制御して同時糖化発酵を行った。その結果を図3に示す。左の図は *L. rhamnosus* を植菌せずに培養した結果を、右の図は *L. rhamnosus* を植菌して培養した結果をそれぞれ示す。両培養において、加熱殺菌処理した米ぬかを用いた場合と比べて、可溶化してくる初期の全糖とグルコース量はともに低くなった。また、乳酸は培養初期から増加したが、生産物として酢酸やギ酸も検出された。*L. rhamnosus* の植菌の有無に関わらず、一度生産された乳酸が減少するにつれて酢酸が徐々に生産された。これらの原因は、米ぬかに内在する微生物が数多く存在し、それらの微生物が *L. rhamnosus* 以上に増殖したためと思われる。実際に *L. rhamnosus* を植菌していない培養において、生菌数として示すように、2種類の米ぬか内在菌の生育を確認できた。

そこで、米ぬか中に内在する微生物の増殖を抑制するために、pH を低くした培養を試みた。その結果を図4に示す。左の図と右の図は、pH をそれぞれ 5.0 と 4.5 に制御して *L. rhamnosus* を培養した結果を示す。また、初期 pH だけを 6.8 に調整した

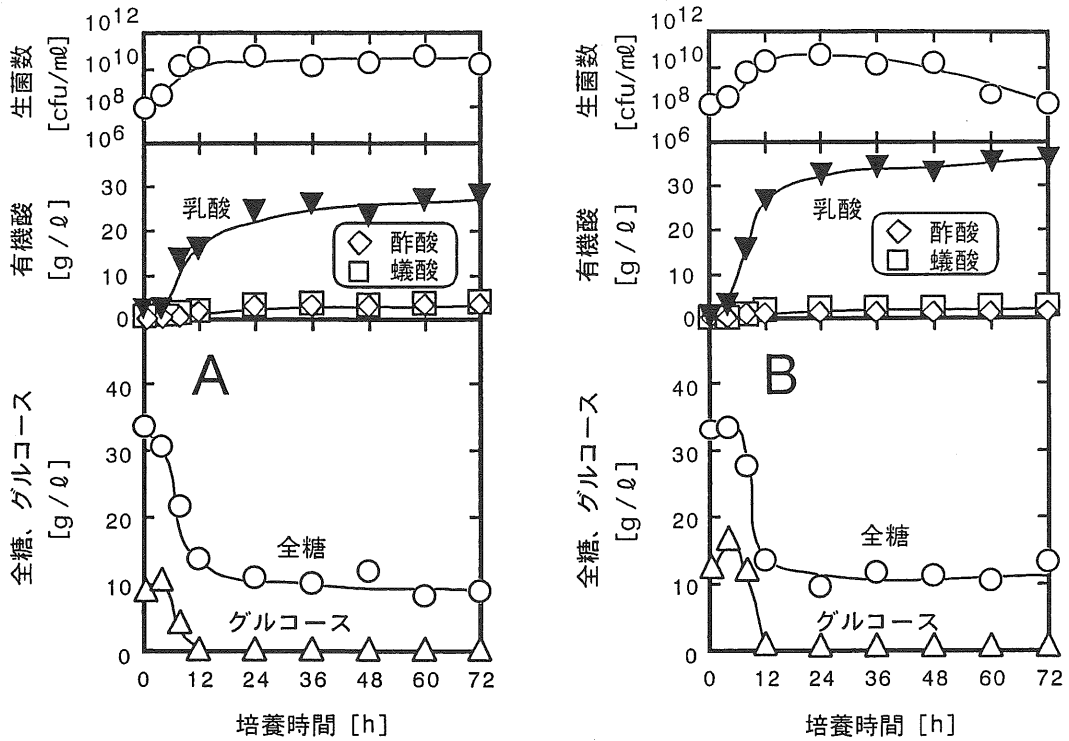


図2 加熱殺菌処理した米ぬかを用いた同時糖化発酵による乳酸の生産

A: pHを6.8に制御. B: pHを5.0に制御.

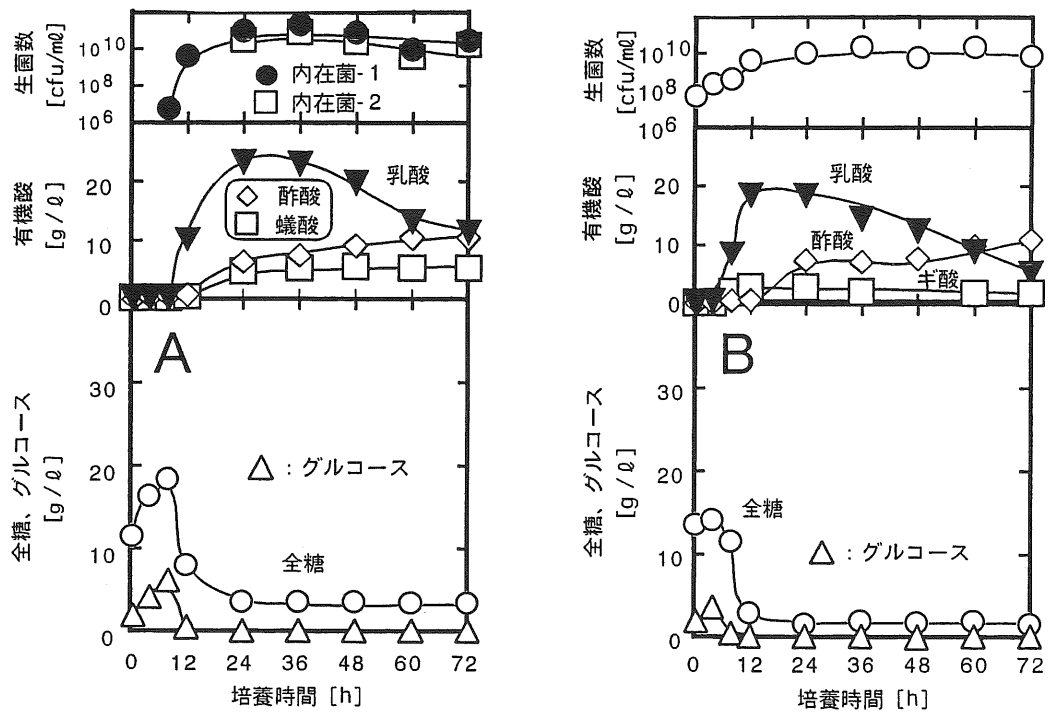


図3 pHを6.8に制御した未殺菌米ぬかの同時糖化発酵

A: *L. rhamnosus* を植菌しない場合. B: *L. rhamnosus* を植菌した場合.

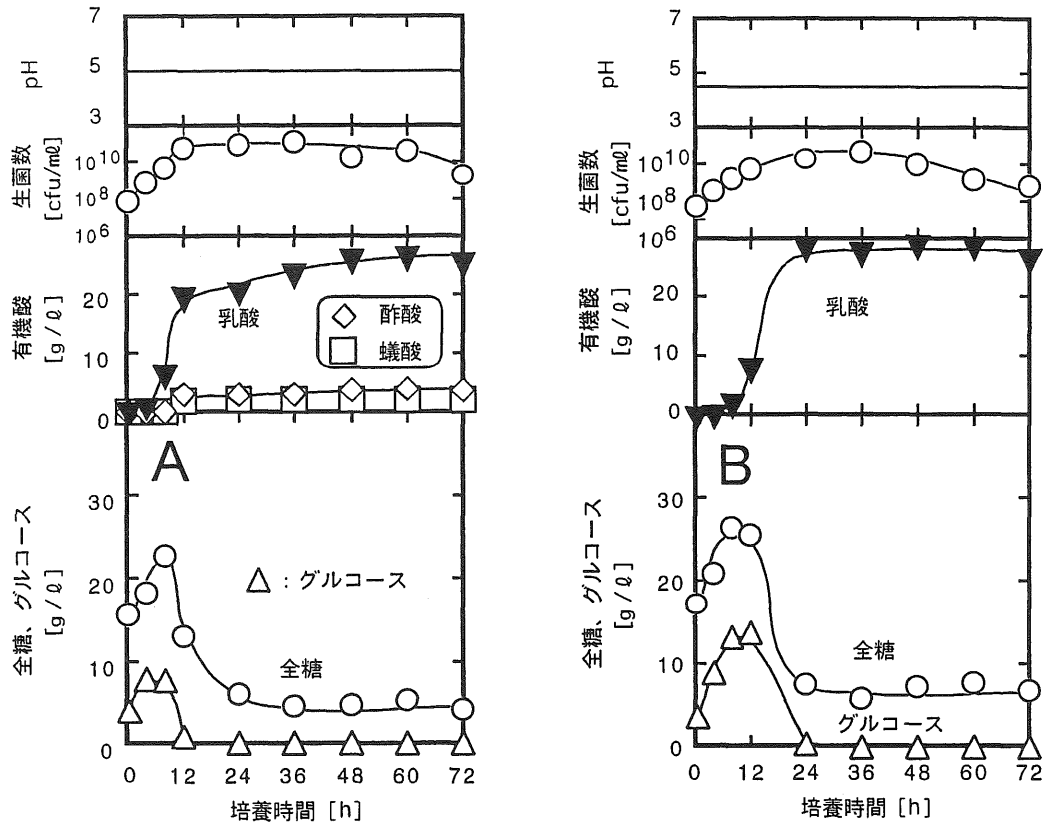


図4 未殺菌米ぬかを用いた同時糖化発酵
 A: pHを5.0に制御. B: pHを4.5に制御.

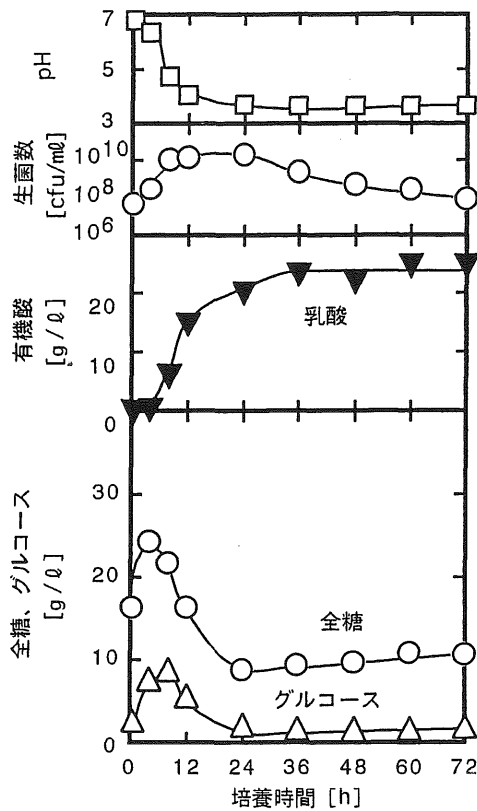


図5 pHを制御しない未殺菌米ぬかの同時糖化発酵

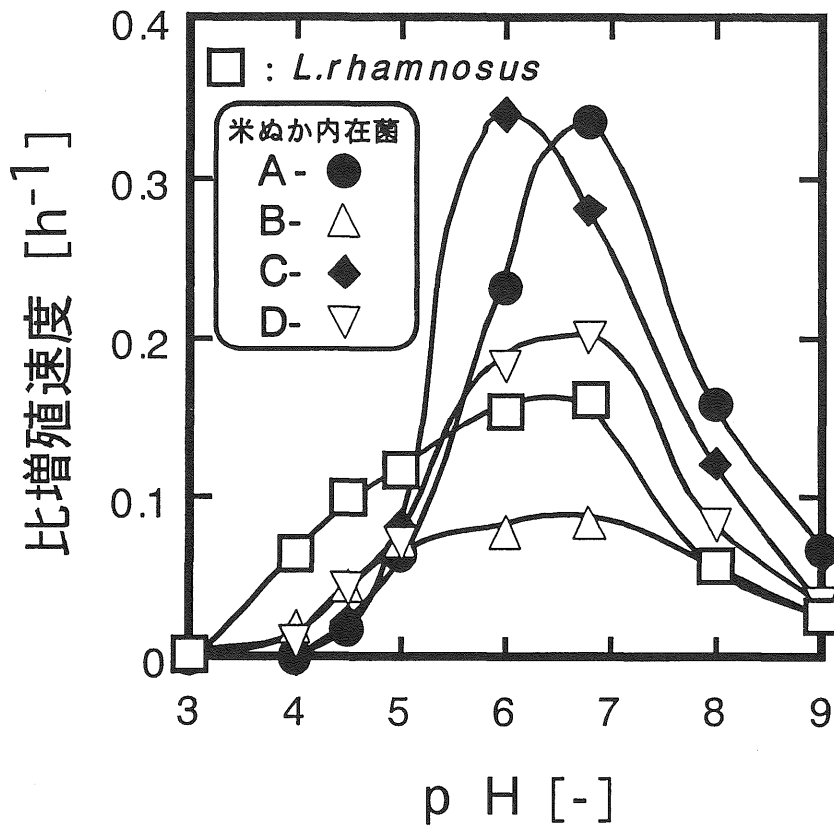


図6 米ぬか内在菌の比増殖速度に対する初期pHの影響

表1 米ぬか内在菌の比増殖速度と代謝産物

菌 株	比増殖速度 [h ⁻¹]		代謝産物 [g/l]			乳酸の D/L比	
	pH4.5	pH6.8	乳 酸	酢 酸	ギ 酸		
<i>L.rhamnosus</i>	0.098	0.160	7.98	—	—	13/87	
米 ぬ か 内 在 菌	A	0.017	0.336	6.58	—	—	15/85
	B	0.046	0.084	8.25	1.03	0.80	14/86
	C	0.023	0.281	7.44	—	—	45/55
	D	0.044	0.201	9.20	—	—	49/51

○基質として10 g/lのグルコースを用いた。

結果を図5に示す。生成される乳酸濃度と生菌数は、加熱殺菌処理した米ぬかを用いた場合に比べて、生成する糖濃度が低いために、ともに低い値となった。pHを制御しない培養において、pHは乳酸の生成に伴って低下し、24時間目以降pHは約4に保たれた。これらの3種類の培養の中では、pHを4.5に制御した培養において、乳酸濃度が最も高くなり、29.7g/lに達した。また、pHを5.0に制御した培養では若干の酢酸とギ酸が生産されたが、pHを4.5に制御した培養とpHを制御しない培養においては、酢酸や蟻酸が生産されなかった。これらの結果から、酢酸や蟻酸を生産する微生物は低いpHにおいて増殖できないことがわかった。

3-2. 米ぬか内在菌の比増殖速度と代謝産物

そこで、米ぬかに内在している微生物を、MRS培地を用いたSingle Colony Isolationによって分離した。単離した微生物A,B,C,Dと*L. rhamnosus*の性質を比較した。これらの微生物の比増殖速度に対する初期pHの影響を図6に示す。pH6.8において米ぬかに内在する4種類の菌株はいずれも、*L. rhamnosus*よりも速く増殖した。しかし、pHを低くした時の比増殖速度は*L. rhamnosus*と同程度かそれ以下になった。また、表1からわかるように、米ぬかに内在した菌株Bは、グルコースから乳酸以外に酢酸や蟻酸を生産することがわかった。さらに、米ぬかに内在した菌株CとDは、生成した乳酸のD/L比がほぼ1対1であり、AとCはpHが4.5の時にほとんど増殖できないことがわかった。これらの乳酸菌をAPI CHL50培地（日本ビオメリュー株式会社）を用いて同定した結果、すべて*Lactobacillus plantarum*に分類さ

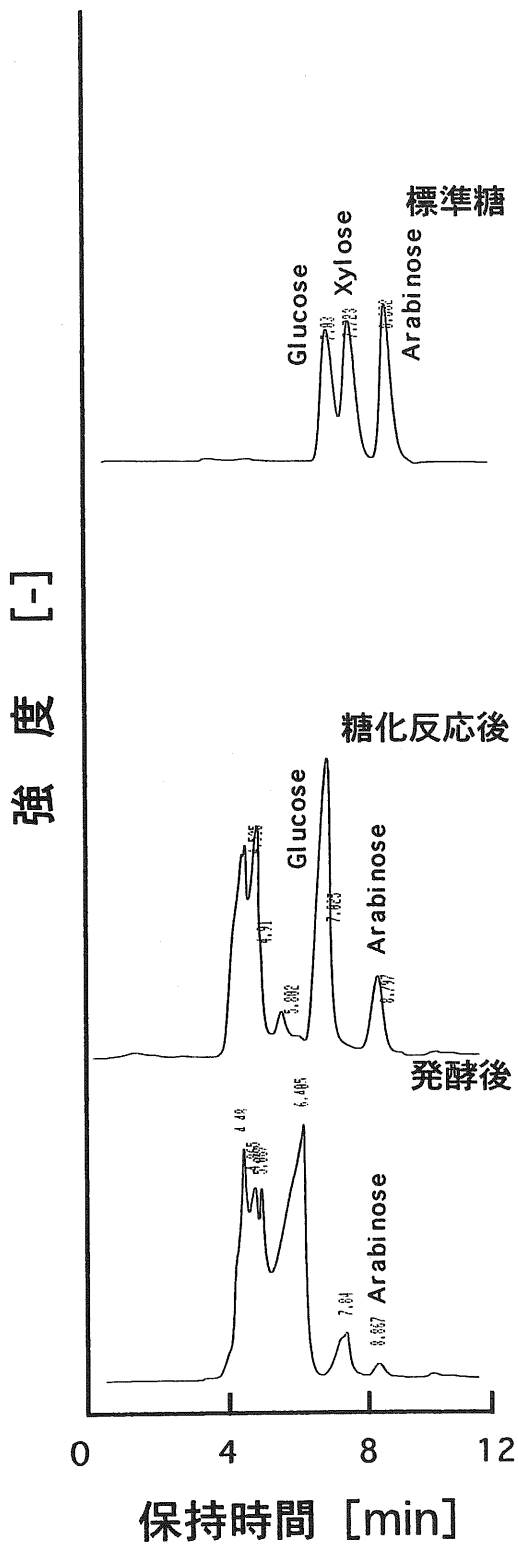
米ぬかの 処理方法	pH制御	pH	乳 酸 濃 度 [g / l] *1					D/L比
			0	10	20	30	40	
加熱殺菌	+	6.8	28.6					27/73
		5.0	36.7					10/90
未 殺 菌	-	初期 6.8	25.9					10/90
		6.8	24.3*2					14/86
	+	6.8	19.6					30/70
		5.0	26.9					17/83
		4.5	29.7					9/91

図7 米ぬかの同時糖化発酵における乳酸生産量の比較

* 1 100g/lの米ぬかから生成した乳酸濃度を示す。

* 2 *Lactobacillus rhamnosus* を植菌しない時の結果を示す。

分析カラム
shim-pack SCR-101C



分析カラム
CLC-NH₂

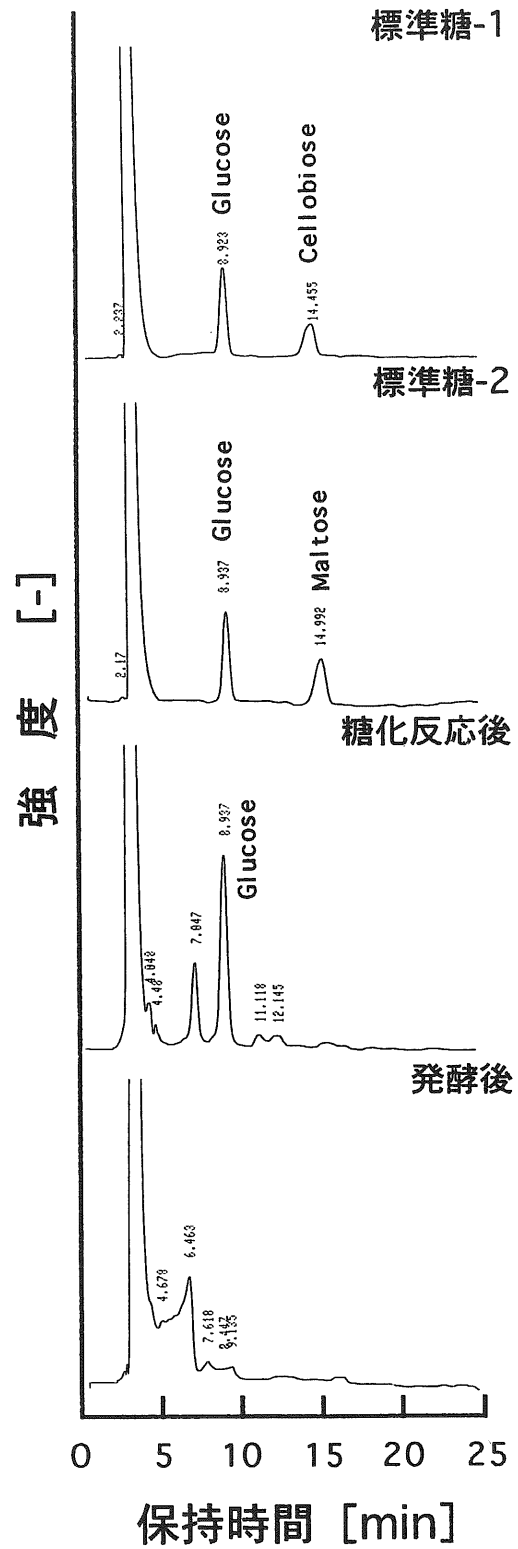


図8 酵素糖化後に生成した糖と同時糖化発酵後に残存する糖の組成

れた。しかし、図6と表1に示すように、その性質はそれぞれ異なっていた。以上の結果より、図5に示した pH を制御しない培養と図4 Bに示した pH を4.5に制御した培養においては、*L. rhamnosus* が選択的に増殖し、乳酸だけが生産されたことがわかった。

3-3. 乳酸生産量の比較

これまで述べてきた各種同時糖化発酵において、100g/L の脱脂米ぬかから得られた乳酸生産量を比較した結果を図7に示す。加熱殺菌した米ぬかを用いた同時糖化発酵では、pH を5.0に制御した発酵において、100g/L の脱脂米ぬかから約37g/L の乳酸を生産することができた。また未殺菌の米ぬかを用いた同時糖化発酵では、加熱殺菌した米ぬかを用いた同時糖化発酵に比べて得られる乳酸濃度は低くなったが、pH を4.5に制御した培養において *L. rhamnosus* だけを選択的に増殖させることができ、光学純度の高い約30g/L の乳酸が得られた。

4. 酵素糖化液と同時糖化発酵後の培養液の糖組成

培地中に米ぬかを懸濁しただけで溶出してくる糖について検討した。すなわち酵素糖化反応前のサンプル中からは、結果は示していないが、SCR-101C カラムを用いた場合に保持時間が約5.8分である2糖と推定される未知の糖が検出され、また、保持時間が約7.0分であるグルコースが検出された。また、CLC-NH₂ カラムを用いた場合にも未知の2糖とグルコースが確認できた。

酵素によって糖化した後に生成する糖の組成を、HPLCにより2種類のカラムを用いて比較した。その結果を図8に示す。糖化反応後のサンプルからは、2糖に基づく推定されるピークがほとんど検出されなくなり、グルコースが増加した。さらに、糖化反応前には検出されなかったアラビノースが検出された。また、同時糖化発酵した後に残存している糖を HPLC により分析した結果からわかるように、糖化反応後に検出されたグルコースは、発酵後には全く検出されなかった。しかし、アラビノースやその他の糖が、発酵終了時にも残存していることがわかった。

5. 今後の課題

今後の課題として、発酵後に残存している糖類（主にアラビノース）を利用できる乳酸菌を用いて、脱脂米ぬかから高い収率でL-乳酸を生産することを検討する必要がある。また、アミラーゼの使用量を減らすために、デンプン発酵性乳酸菌を用いて脱脂米ぬかから低コストでL-乳酸を生産することも今後の重要な課題である。最後に、上記の点を検討した後、可溶不溶可逆酵素と固定化乳酸菌を調製し、米ぬかから連続的にL-乳酸を生産する方法を開発しなければならない。

第8章 全体の総括

第8章 全体の総括

1. バイオマスの有効利用

バイオマスは、大量の炭酸ガスを固定しており、地球環境の保全にとってきわめて重要な役割を演じている。一方、バイオマスは再生可能な資源であり、この点が再生不可能な化石資源とは大きく異っている。資源・エネルギーの安定供給や地球環境保全の立場から、化石資源への依存度を下げるには、この再生可能なバイオマス資源を有効に利用する努力が必要である。バイオマス資源は、セルロース系バイオマスとデンプン系バイオマスに大別できる。21世紀においては、特に食糧と直接的に競合しないセルロース系バイオマス（樹木、草、林産・農産廃棄物など）を有効に利用しなければならない。また、デンプン系バイオマスも廃棄されるような未利用部分を積極的に利用すべきである。具体的には、農産廃棄物（稲わら、もみがらなど）などのバイオマスに含まれるセルロースやヘミセルロースを糖化と発酵によって代表的な生分解性ポリマーであるポリ乳酸の原料となる乳酸やバイオマスエネルギーであるエタノールやメタンに変換するプロセスの開発が必要である。

2. バイオマス利用のための基盤技術

バイオマスを成分別に利用するためには前処理が必要である。セルロース系バイオマスの前処理法には、機械的・物理化学的な方法、化学的な方法および生物学的な方法がある。いずれの前処理法も単独では効果的かつ経済性の高い処理は達成されていない。個々の処理法では十分な効果は得られなくても、いくつかの処理法を合目的的に組合せることで、全体として処理効果を高めることが重要と思われる。

木材はセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンを主要な成分とし、この他、抽出成分や無機塩類を含む。これらの成分は植物の種類、部分、細胞の部位などにより異なる。一般的には、セルロースが50～55%含まれるが、ヘミセルロースは針葉樹と広葉樹ではそれぞれ15～20%と20～25%、リグニンはそれぞれ25～30%と20～25%である。一方、稲わらではセルロースやヘミセルロースの含量は木材に近いもののリグニン含量が約12%と低く、代わりに温水による抽出分が約14%に達する。セルロースは、種々の微生物によって加水分解反応を受けて最終的にはグルコースを生じる。この過程には種々の酵素（セルラーゼおよび β -グルコシダーゼ）が関与する。セルラーゼによるセルロースの分解速度は、セルロースが水に不溶なため、アミラーゼによる澱粉の分解速度に比べて非常に遅く、特に、結晶性セルロースを分解するのに必要な酵素量は澱粉の分解の場合の約100倍と言われている。したがって、強力なセルラーゼを開発することは急務である。また、それらの比較的高価な酵素を有効に利用する方法を開発

する必要がある。研究代表者らが開発したいいくつかの可溶不溶可逆酵素は、酵素を繰り返し利用する画期的な方法である。今後、可溶不溶可逆酵素がバイオマスの加水分解反応に利用されることを期待したい。

セルロース系バイオマスは通常水難溶性であり、エネルギーや工業原料へ変換するためには、酵素を用いた液化糖化工程と生成した糖を微生物を用いて有用物質へ変換する発酵工程の二段階のプロセスが必要である。液化糖化プロセスは使用する酵素が高価であり、かつ反応速度が遅いため有用物質生産において最大の律速段階であり、製造工程において必要な経費が生産された製品のコストを上回る原因となっている。そこで、今後は上述したように、強力な酵素を生産し、さらに有効に利用する方法を開発しなければならない。また、廃材や稲わらなどのセルロース系バイオマスを酵素的に加水分解した場合、おもに得られる糖はグルコースとキシロースであり、その割合はグルコースとキシロースが重量比としておおよそ 2:1 である。したがって、得られたバイオマス加水分解物を有用物質生産のために有効利用するには、グルコースばかりでなくキシロースもエネルギー物質に変換する必要がある。研究代表者らが本研究において提案したいいくつかの混合培養法は、グルコースとキシロースを含むバイオマス加水分解液を、エタノールや乳酸などの有用物質に変換する有力な方法である。今後、混合培養法がバイオマス加水分解液の有用物質への変換に利用されることを期待したい。

3. 米ぬかを原料としたL-乳酸の生産

ポリ乳酸は、乳酸のエステル重合体であり、代表的な生分解性プラスチックとしてよく知られている。ポリ乳酸の性質は熱可塑性で PET やポリエチレンと比較的類似している。現在の汎用プラスチックやエンジニアリングプラスチックの価格帯は 100 ~ 300 円/kg バルクであることから、もしポリ乳酸が農産廃棄物からできれば、農産廃棄物からの一般的な製品である肥料（一般的には~5円/kg）、飼料（30円/kg~）よりもかなり付加価値が高い製品になる。また、ポリ乳酸のような生分解性をもつプラスチックは、容易にモノマーに分解されるものが多い。もし農産廃棄物からプラスチックができれば、これまでにない優れた資源化が可能であるばかりでなく、新しい循環型社会の建設が可能かもしれない。ここで、現在における最大の難関は、いかに安価にポリ乳酸の原料である L-乳酸を大量に迅速に生産するかという点である。

米ぬかの廃棄処理・資源化にはコストがかかり、環境問題を引き起こす原因物質となっている。新潟県では毎年約 2 万 t もの米ぬかが排出されており、有効利用する方法を開発することが求められている。脱脂米ぬかは、デンプン系糖類が 29.4 %、セルロース系糖が 25.0 % であり、米ぬかの全重量の約 54 % が糖質である。米ぬかを炭素源とした乳酸発酵によって、生分解性プラスチック（ポリ乳酸）の原料である L-乳酸を効率よく生産できれば、米ぬかの有効利用につながると考えられる。そこで、脱脂米ぬかを酵素を用いて糖化しながら同時に乳酸菌によって発酵をする、いわゆる同時糖化発酵による L-乳酸生産について検討した。

第7章において、その研究成果を紹介した。

4. 21世紀におけるバイオマス資源の活用

化石資源への依存度を下げ、再生可能な資源の有効利用を図ることは、地球環境の保全に大きく貢献するものと考えられる。なかでも、膨大な資源量を有するセルロース系バイオマス資源を有効に活用し、バイオマスエネルギーや化学製品を生産する技術を確立する必要がある。特に、メタン、水素、エタノールなどのバイオマスエネルギー生産にセルロース系バイオマス資源を利用するためには、セルラーゼの改質、リグニン分解酵素の強化などが遺伝子工学・タンパク質工学分野において重要な課題となる。また、プロセス全体を考慮した場合には、まず生物的处理および生物的处理と爆砕処理の組合せの有用性を評価する必要がある。次に、エネルギー資源としてばかりでなく、化学製品の原料としてセルロース系バイオマス中の全成分を利用することを前提に、各成分を効率よく分離する技術を開発する必要がある。これらの技術が開発できれば、各地域で消費する化学原料やエネルギーの一部は、その地域で創出することが可能になる。