

水圏バイオマスを原料とするバイオエタノールの生産 ～有害外来草ホテイアオイの有効利用～

浦野直人(東京海洋大学)

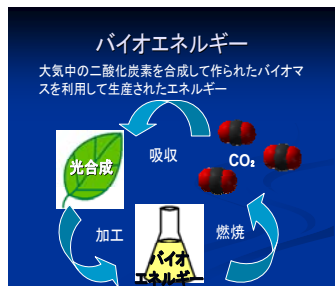
食糧との競合がない水圏植物であり、世界三大害草の一つであるホテイアオイ(*Eichhornia crassipes*)を原料として、高効率なエタノール生産工程の検討を行った。糖化条件について酵素添加量は400Uが最適であった。生じたエタノール量は前回報告した値(2008春季大会)よりも20%程度増加して、ホテイアオイ1g当り0.21gであった。ホテイアオイ糖化液の構成糖は、グルコース72%、キシロース16%、ラムノース7%、ガラクトース4%、マンノース1%であった。これらの構成糖に対する天然酵母や菌株保存機関由来酵母の発酵・資化*能はグルコース・ガラクトース・マンノースについては全株が資化・発酵能があり、キシロースについては*Pichia stipitis* NBRC 1687のみ資化・発酵能があった。ラムノースについてはどの株も資化・発酵能を示さなかった。 ※資化:微生物が栄養源として利用すること。

目的

背景

- 化石燃料の枯渇
- 化石燃料消費によって生じる二酸化炭素などによる地球の温暖化現象
- 異常気象の増加
- 砂漠化の促進
- 気候変動による作物の適性変化・生物の生息域の変化
- 極地の氷融解による海水面の上昇

エタノールを3%含んだバイオガソリンの導入



方法

実験方法1 試料の糖化

試料粉末3g
3%硫酸水溶液50mL
オートクレーブ121°C, 1h 加水分解

試料酸分解液
pH4.6に調整
セルラーゼ添加(100~1000IU)
50°C, 24h 糖化

濾過
糖化液
酵素法(グルコース量)
Somogyi-Nelson法(全還元糖量)

実験方法2 糖化液の単糖の分析

糖化液+内部標準物質(イノシトル)添加
pH調整(5.5~6.5にする)
水酸化バリウム
濾過(沈殿物除去)
還元
水素化ホウ素ナトリウム70mg 2h
アセチル化
無水酢酸4mL, 120°C, 1h
GCMS中性単糖測定(GCMS-QP5050A 株式会社)

バイオエタノール

糖質、デンプン質系バイオマス
セルロース系バイオマス

長所: 直接発酵できる糖化がしやすい
短所: 食糧との競合 森林伐採

資源が豊富 食糧競合がない
糖化がしにくい

ホテイアオイ(*Eichhornia crassipes*)

繁殖力大
コストが安い
水質浄化が可能

実験方法3 糖化液の発酵

各試料糖化液
pH6.0付近に調整

10mlずつ試験管へ分注
各酵母を0.3g添加
25°C, 5日間発酵

発酵液
酵素法(エタノール量)

- S. cerevisiae* NBRC 10217
- 日本酒酵母 K7
- ビール酵母
- TY-2(淡水園由来)
- C19(海水園由来)
- Pichia stipitis* NBRC 1687
- 新規単糖酵母1株

実験方法4 酵母の資化・発酵試験

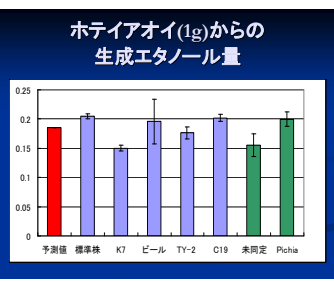
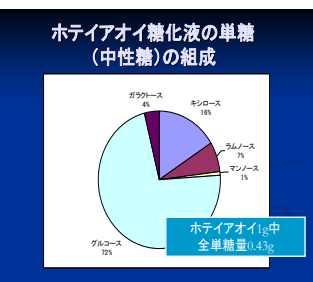
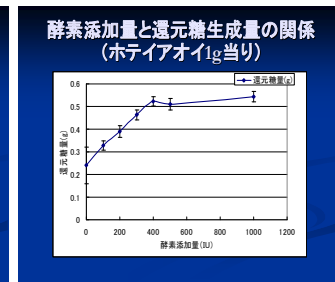
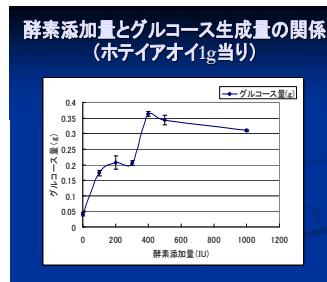
各糖の50mM/100ml調製液9ml
+YNB液体培地1ml

糖の種類
キシロース
ラムノース
マンノース
ガラクトース
セロビオース

3週間観察

- S. cerevisiae* NBRC 10217
- 日本酒酵母 K7
- ビール酵母
- TY-2(淡水園由来)
- C19(海水園由来)
- Pichia stipitis* NBRC 1687
- 新規単糖酵母1株

結果



考察

糖化	グルコース量 (g)	グルコース量 (%) 乾燥原料	発酵	最も発酵した酵母	エタノール量(g)	エタノール量 (%) 乾燥原料
2008春季大会	0.293	29.3	2008春季大会	<i>S. cerevisiae</i> C19	0.163	16.3
今発表	0.363	36.3	今発表	<i>S. cerevisiae</i> NBRC 10217	0.205	20.5

耕地面積あたりのエタノール生産量
サトウキビ: 5.1 kl/ ha
とうもろこし: 2.1kl/ ha

ホテイアオイの生産量
40~50t/ha(乾重量)

エタノール生産量
10.4~13.0 kl/ ha

今後は試料をより溶かして高濃度の発酵を行い、生産されるエタノールの高濃度化を行っていく予定

- キシロースはホテイアオイ糖化液中の約2割を占めていた。→発酵できればエタノール生成量増加。
- キシロース発酵能を有している*Pichia stipitis* NBRC 1687でもそれほど多いエタノール量が得られなかった。→グルコースが優先的に資化され、発酵されている。

今後はキシロースをより発酵しやすい工程の検討、自然界からの高発酵酵母の探索を行っていく予定