



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道におけるシイタケ廃菌床を原料としたバイオエタノール製造に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	檜山, 亮
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第6961号
Issue Date	2015-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59662
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryo_Hiyama_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士(農学)

氏名 檜山 亮

学 位 論 文 題 名

北海道におけるシイタケ廃菌床を原料としたバイオエタノール製造に関する研究

北海道においてシイタケは毎年生産量の増加が続いており、平成 25 年では全国 2 位となる年間 8,150 トンの生シイタケが生産されている。通常、生シイタケはナラ類などの広葉樹おが粉を用いた菌床栽培による生産が主流であり、北海道においては菌床栽培の割合が全国平均と比べて高く、約 97%となっており、生シイタケの生産に伴って推計 7,000 トン以上の廃菌床が発生している。シイタケは白色腐朽菌であり、木質中のセルロース、ヘミセルロース、リグニンをほぼ等比率で分解することから、廃菌床にはセルロースが相対的に多く残存し、更にそのセルロースはリグニン含量の減少により酵素糖化性が向上していることが期待された。近年、酵素糖化法による木質バイオマスを原料とするバイオエタノール製造に注目が集まっているが、木質バイオマスからのエタノール製造には酵素糖化のための前処理の簡素化、酵素および蒸留コストの低減が主な未解決課題としてあり、実用には至っていない。そこで本研究では、廃菌床のエタノール原料としての可能性を追求することを目的に、第一に、廃菌床の酵素糖化原料（基質）としての基本的な性質を調べ、第二に、糖化率向上と酵素処理コスト低減のための前処理方法を検討し、第三に、蒸留コスト低減のために同時糖化発酵法を開発した。

定法により栽培したシイタケ廃菌床について、糖化原料となるグルカンをはじめとする主要な木材成分組成、および酵素の反応効率に影響する粉碎性を調べ、さらに、酵素処理を行って酵素糖化適性を評価した。北海道産のミズナラにシラカンバを混合したおが粉と栄養材とを乾燥重量比 72 : 28 で混合した培地に、市販のシイタケ種菌を接種し、生シイタケを収穫した後の廃菌床を供試材料とした。栽培前後で菌床の乾燥重量は 52%減少し、シイタケが栄養材だけでなくおが粉も分解していることが確認された。廃菌床には栄養材由来の澱粉の残存は少なく、非澱粉グルカンが 27%含まれていた。栽培前の菌床の非澱粉グルカン含有率は 28%であり、栽培前後においてほとんど変化は認められなかった。一方、ヘミセルロースおよびリグニンの割合は減少していた。また、栽培前後の菌床の粉碎性について、切削式ミル粉碎物の粒度により評価した結果、廃菌床では細粒画分の割合が高かった。乾燥粉碎した廃菌床に対して酵素量 20 FPU/g-基質で 24 時間の酵素処理を行った結果、廃菌床の非澱粉グルカンの糖化率（理論量に対する割合）は 39%となり、栽培前菌床の 2.8 倍に達した。廃菌床において、エタノールの原料となるグルカンの十分な残存が確認され、シイタケの分解作用によるヘミセルロースとリグニンの減少およびおが粉（木質）の細粒化がその残存グルカンの酵素に対する受容性を高めていることから、廃菌床は酵素糖化に好適であることが明らかとなった。

廃菌床の更なる糖化率向上と酵素処理コスト低減のために、(1) 収穫終了後さらに培養を継続し菌床の生分解を促進する処理、(2) 高圧水蒸気による蒸煮処理、および(3) 軽軟なヤナギ材への培地基材の代替による効果を検討した。

(1) 培養継続により菌床の生分解を促進する処理としては、栽培終了後に 5-25℃で 1-2 か月間保温貯蔵する保蔵処理と、子実体の収穫回数を増やして収穫期間を通常の約 60 日から 116 日に延ば

す延長処理の2つを検討した。保蔵処理では、高温で長期間の25℃2か月の処理で最も糖化率が向上し、酵素量20 FPU/g-基質72時間の酵素処理により60%の糖化率が得られた。また、酵素量の節約という面においては、保蔵処理で酵素量を5 FPU/g-基質に下げても52%の糖化率が得られた。これは、前述の20 FPU/g-基質の糖化率より若干低いものの、収穫終了直後の廃菌床を酵素量5 FPU/g-基質で糖化した結果の糖化率37%の1.4倍であることから、保蔵処理の有効性が示された。一方、収穫期間の延長処理でも保蔵処理と同様に糖化率の向上が確認された。

(2) 次に、簡易な酵素糖化前処理として、水蒸気のみによる蒸煮処理を検討した。蒸煮処理によりヘミセルロースは減少したが、グルカン含有率に変化は認められなかった。保蔵処理した廃菌床は210℃3分間の蒸煮処理後に酵素添加量20 FPU/g-基質の酵素処理をすることで糖化率が95%まで向上した。さらに、酵素量を5 FPU/g-基質に減らしても87%が糖化し、蒸煮処理が糖化率向上に極めて有効であることが示された。

(3) 近年、北海道における早生樹バイオマスとしてヤナギ類が注目されている。その付加価値の向上を企図してヤナギ類を基材とするきのこ栽培が検討され、シイタケの菌床栽培に対する有効性が示された。ヤナギ類は通常シイタケ栽培に用いられるナラ材などに比して軽軟であり、粉碎適性が見込まれ、また子実体収量が多いことから木質の分解が進んでいることが期待されたため、ヤナギ類廃菌床の糖化適性を検討した。廃菌床には約30%の非澱粉グルカンが残存し、粗粉碎物(10 mm以下)は酵素量5 FPU/g-基質の酵素処理で約60%の糖化率を示した。これは、ミズナラ、シラカンバ主体の廃菌床を微粉碎(2 mm以下)したこれまでの結果と同程度の糖化率であり、ヤナギ類の廃菌床もエタノール原料として有望であることが示された。

エタノール製造における蒸留コストを低減するには、発酵産物中のエタノール濃度を50 g/Lに引き上げる必要がある。そのための高濃度の糖液製造に際して、酵素のフィードバック阻害の克服が課題となる。そこで糖化反応を進めながら産生した単糖をエタノールに変換する連続同時糖化発酵を検討した。糖化発酵の基質として、ヤナギ類を培地基材とした廃菌床に対して延長処理のみを行い、蒸煮処理を行っていない廃菌床を試料として用いた。まず、基質濃度を30および35% (w/v)とし糖化のみを行った結果、酵素量5 FPU/g-基質、72時間の酵素処理で50–60%の糖化率が得られ、これまでの2% (w/v)条件と同等に糖化できることがわかった。次に、初発の基質濃度を35% (w/v)とし、その後、基質を4回追加投入して72% (w/v)まで高めると、酵素量5 FPU/g-基質、発酵160時間で約50 g/L、232時間で56 g/Lのエタノール濃度に達した。すなわち、簡易な前処理で、酵素量を節約し、50 g/L以上のエタノールを得る方法の開発に成功した。

本研究により、シイタケ廃菌床には約3割に非澱粉グルカンが残存しており、そのグルカンの酵素糖化性はシイタケの分解作用により通常の広葉樹おが粉の3倍近くに向上していることが明らかとなり、酵素糖化原料としての適性が示された。収穫終了後に廃菌床中に残存するシイタケの菌糸活性を促す、ごく簡易な処理で糖化率を60%に向上できること、さらに、簡易な蒸煮処理によって糖化率を95%に引き上げることを見出した。これらの処理は糖化率向上だけでなく酵素量節約にも効果を示した。ヤナギ類の廃菌床に対しては、蒸煮処理を行わずとも酵素添加量を5 FPU/g-基質まで減らした連続同時糖化発酵法により、56 g/Lの高エタノール濃度を得る方法を開発することができた。以上のことから、本研究により木質バイオマス由来のエタノール製造における主要な課題であった前処理の簡素化、酵素処理および蒸留コストの低減について、解決の糸口が見出され、北海道のシイタケ廃菌床がバイオエタノール製造に有望な地域資源であることが明らかとなった。