



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_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 檜山 亮

審査担当者 主 査 教 授 浦 木 康 光

副 査 教 授 佐 野 雄 三

副 査 准教授 玉 井 裕

副 査 講 師 幸 田 圭 一

副 査 主 査 原 田 陽（北海道総合研究機構）

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

本論文は、図 30（写真を含む）、表 9、引用文献 123 編を含む総頁数 95 頁の和文論文であり、他に参考論文 4 編が添えられている。

北海道におけるシイタケ生産は毎年増加し、平成 25 年には全国 2 位の 8,150 トンが生産され、その内、97%が広葉樹のおが粉を用いた菌床栽培によるものである。これにより北海道では、年間 7,000 トン以上の廃菌床が発生していると推計されており、地域資源の有効活用といった観点から、廃菌床の利活用は重要な課題である。現在廃菌床は、堆肥の原料として安価に取引されているのみで、バイオエタノールなどに変換できれば、液体燃料やケミカル原料として利用でき、その付加価値は向上すると予想される。

白色腐朽菌であるシイタケは、培地中のおが粉（木質）の主要成分をほぼ均等に分解することから、廃菌床にはセルロースが相対的に多く残存し、一方、他の主要成分であるヘミセルロースとリグニンの割合は、減少していることが予想される。そのため、廃菌床中のセルロースは容易に酵素糖化されると考えられ、好適なバイオエタノール原料として期待される。そこで本研究では、シイタケ廃菌床が有望なバイオエタノール原料であることを証明することを目的に、1) 廃菌床の酵素糖化原料（基質）としての基本的な特性を解明し、2) 糖化率向上と酵素処理コスト低減を目指す数種の廃菌床前処理法および、3) 蒸留コスト低減を目指した同時糖化発酵法を検討した。

檜山氏は、まず、北海道産のミズナラとシラカンバの混合おが粉、および栄養材からなる培地を作製し、これにシイタケ種菌（森 XR-1）を接種して、シイタケを栽培した。子実体収穫後、供試材料となる廃菌床を得た。栽培による培地の重量減少から、シイタケが栄養材だけでなく、木質も分解していることを確認した。化学成分分析から、栽培により栄養材の澱粉が顕著に減少したことを示すと共に、木質成分のヘミセルロースとリグニンも減少したことを明らかにした。しかし、酵素糖化の基質となるセルロースの割合は、栽培前培地のセルロース含有率とほぼ同じ 27%であり、木質成分の中で多量残存していることを示した。加えて、栽培により廃菌床の粉碎性も向上することを見出した。

次いで、乾燥粉碎した廃菌床の酵素糖化性について検討した。酵素量 20 FPU/g-基質の 24 時間糖化で、セルロースの糖化率は 39%となり、栽培前培地の 2.8 倍に達した。この糖化性の向上は、廃菌床の粉碎性の向上と、セルロースの酵素受容性を低下させる木質成分の分解によるもので、廃菌床が酵素糖化に適した材料であることを明らかにした。

第 2 の検討課題である糖化率向上を目指した処理として、以下の 3 つの処理を検討した。

(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：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 日に延ばす収穫延長処理の 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 時間の酵素糖化条件で、60%の糖化率が得られた。さらに、酵素量を 1/4 に減少させても 52%の糖化率が得られた。また、収穫延長処理でも同様の向上が観測され、菌床の生分解を促進する処理は、糖化率向上に有効であることが分かった。

(2) 210℃の高圧水蒸気を用いる蒸煮処理：廃菌床を 3 分間蒸煮することで、酵素添加量 20 FPU/g-基質で糖化率が 95%まで向上した。1/4 の酵素量でも糖化率が 87%と、蒸煮処理が極めて有効な前処理であることが明示された。

(3) 最近注目されている、軽軟で早生のヤナギ材培地は、シイタケ子実体収量が多いことから、ナラ・カンバ材より優れた菌床であることが明らかになりつつある。その高収穫性から、木質の分解も進行していると予想されたため、ヤナギ材廃菌床の糖化性を検討した。この廃菌床も約 30%のセルロースを含有していた。粗く粉碎した廃菌床でも、約 60%の糖化率（5 FPU/g-基質の酵素量使用）を示し、微粉碎ナラ・カンバの廃菌床と同程度の糖化率となった。よって、ヤナギ材廃菌床は、ナラ・カンバ材廃菌床より有望なエタノール原料であることが示された。

蒸留コストの低減を目的に、ヤナギ材廃菌床の同時糖化発酵を検討した。予備実験から、蒸煮前処理を行わない廃菌床でも、高基質濃度 [35% (w/v)] で糖化できることを明らかにした。この結果を基に、糖化液に酵母を加え、さらに、基質を 72% (w/v) の濃度になるまで断続的に加える Fed-Batch 型同時糖化発酵を行い、酵素使用量 5 FPU/g-基質で当初の目標値とした 50 g/L を超える 56 g/L 濃度のバイオエタノール製造に成功した。

以上、本研究は、北海道のシイタケ廃菌床が有望なバイオエタノール原料となることを示すとともに、重要な地域資源として利活用できることを明らかにした。よって審査員一同は、檜山亮氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。