

4Hp14 Rhizopus oryzaeによるキシロースからの乳酸生産におけるキシロースイソメラーゼの添加効果

○齋藤 勝一¹, 波佐 康弘², 橋本 直人³
 (¹農研機構・食総研, ²農研機構・北農研, ³農研機構・九沖農研)
 k.saito@affrc.go.jp

【目的】地球温暖化などを背景に、各種バイオマス資源からのバイオ燃料生産、石油代替品の生産が急務となっている。Rhizopus oryzaeは、グルコース及びペントースであるキシロースからの乳酸生産能を有しており、セルロース系バイオマスの発酵技術開発に向け、本菌によるキシロース及び麦芽からの乳酸生産について検討を行ってきた。本研究ではキシロース発酵の更なる効率化に向け、原核生物のキシロース代謝酵素であるキシロースイソメラーゼ (XI 酵素) に着目し、R. oryzaeとの組み合わせ効果について検討を行った。

【方法及び結果】Streptomyces murinus由来のXI 酵素 (シグマ社製) を用い 50% キシロース溶液を50℃、24時間の反応を行い、得られた反応液をキシロース換算で2.5%としプラスコ中30℃の条件でR. oryzae NBRC 5378による発酵を行った。その結果、XI 酵素処理により対照となる酵素処理なしの場合の約1.5倍量の乳酸の生成が確認できた。次に、XI 酵素処理とR. oryzaeによる発酵を独立して行う二段階反応と、それらを同時に行う並行複発酵をファーマンターを用い比較検討を行った。その結果、二段階反応で最も乳酸の生成量が多く、発酵開始54時間後に対照の糸状菌のみの場合の約1.2倍となる6.5g/lの乳酸を生成し、対照に比べ最大量到達に要する時間も短かった。一方、並行複発酵の場合には生成する乳酸量が対照よりも少なく、酵素剤がR. oryzaeによる発酵に何らかの阻害的な影響を及ぼすことが示唆された。

1) Saito et al., J. Biosci. Bioeng., 114(2), 166-169 (2012).

Effect of xylose isomerase addition on the production of lactic acid from xylose by Rhizopus oryzae

○Katsuchi Saito¹, Yasuhiro Hasa², naoto Hashimoto³
 (¹NARO/NFRI, ²NARO/HARC, ³NARO/KARC)

Key words Rhizopus oryzae, lactic acid, xylose, xylose isomerase

4Hp16 コーンコブの希硫酸加水分解残渣を用いた同時糖化発酵による高濃度乳酸生産

○高村 裕哉, 多田 清志, 菅野 亨, 堀内 淳一
 (北見工大・工)
 horiucju@mail.kitami-it.ac.jp

【目的】バイオリアファイナリーは、再生可能資源を原料としてバイオプロセスによりエネルギー・化学原料を生産する次世代の基盤技術として期待されている。本研究では、コーンコブ(スイートコーン穂軸)を用いるバイオリアファイナリー構築の一環として、コーンコブ中のヘミセルロース成分を希硫酸加水分解により有効利用した後のセルロース含有残渣を原料とし、効率的に乳酸を発酵生産する方法について検討を行った。

【実験方法及び結果】コーンコブを1.5%硫酸で121℃、60minの条件で加水分解処理し、ヘミセルロース成分を抽出後の不溶性成分(コーンコブ酸加水分解残渣、Com Cob Residues, CCR)を原料として用いた。CCRの主成分はセルロース及びリグニンである。このCCRを炭素源とするMRS培地を用い、酵素糖化と乳酸発酵を並行させる同時糖化発酵(Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)によるL-乳酸生産について検討した。SSFには有効容量2.0Lジャーファメンタを用い、CCRに対し糖化酵素としてメイセラゼ(明治製菓株式会社)を50FPU/g-CCRとなるように添加し、同時にホモ乳酸菌Lactococcus lactisを接種して30℃、pH6.0、200rpmの条件でSSFを行った。その結果、CCR乾燥重量ベースで収率約60%でのL-乳酸生産が可能であった。次に乳酸生産の高濃度化を目指し、CCRを逐次添加するSSFを行ったところ、収率をいじしつつCCR100g/Lから約48.7g/LのL-乳酸生産が達成された。現在、CCR逐次添加量を増加させ、L-乳酸生産の更なる高濃度化について検討中である。

Enhanced production of L-lactic acid from acid hydrolyzed corn cob residues by simultaneous saccharification and fermentation

○Hiroya TAKAMURA, Kiyoshi TADA, Tohru KANNNO, Jun-ichi HORIUTHI
 (Kitami Inst. Technol.)

Key words Biorefinery, Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF), corn cob, L-lactic acid

4Hp15 ペントース資化性乳酸菌によるセルロース系バイオマスからの効率的D-乳酸発酵

○水野 志乃¹, 木原 真希¹, 竹中 沙耶香¹, 濱 真司¹, 近藤 昭彦², 野田 秀夫¹
 (¹Bio-energy (株), ²神戸大院・工・応化)
 mizuno@bio-energy.jp

【目的】乳酸は生分解性プラスチックであるポリ乳酸の原料として期待されており、近年では食糧と競合しない非可食バイオマスを原料とした乳酸発酵技術の開発が進められている。演者らは、セルロース系バイオマスからのD-乳酸の発酵生産に着目した。酵素糖化法によるセルロースの糖化液には、グルコース以外にヘミセルロース由来のキシロースなども含まれている。演者らの研究グループでは、ヘミセルロースを構成するキシロースとアラビノースを資化し、高純度のD-乳酸を生成することが可能な組換え乳酸菌Lactobacillus plantarumを開発している。これまでの研究により、組換えL. plantarumを用いてグルコース・キシロース・アラビノースを含む混合糖からD-乳酸を生成できることを示したが、実バイオマスを基質とした場合の発酵能力については報告されていない。そこで、本研究ではパルプなどセルロース系バイオマスからの乳酸製造技術の確立を目指し、ペントース資化能を有する乳酸菌L. plantarumによるD-乳酸発酵系の開発を試みた。

【方法・結果】脱リグニンされた広葉樹パルプを各種セルラーゼで酵素糖化し、組換えL. plantarumを接種してD-乳酸発酵を実施した。糖化液及び発酵液中の乳酸と糖濃度は高速液体クロマトグラフィーにより定量した。糖化・発酵効率を向上させるために、パルプを含有するスラリーへL. plantarumを接種して37℃で並行複発酵を行ったところ、仕込みパルプ濃度10%の発酵液から72時間で80g/LのD-乳酸を生成することができた。

Efficient D-lactic acid fermentation from cellulosic biomass using pentose-assimilating lactic acid bacteria

○Shino Mizuno¹, Maki Kihara¹, Sayaka Takenaka¹, Shinji Hama¹, Akihiko Kondo², Hideo Noda¹
 (¹Bio-energy, ²Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ.)

Key words D-lactic acid, cellulose, pentose assimilation

4Hp17 コーンコブ加水分解液を用いたアスタキサンチンの微生物生産

○松井 麗樹, 多田 清志, 菅野 亨, 堀内 淳一
 (北見工大・工)
 horiucju@mail.kitami-it.ac.jp

【目的】農産廃棄物であるコーンコブ(スイートコーンの穂軸)には、セルロース、ヘミセルロースが豊富に含まれており、バイオプロセスによる有効活用が期待されている。本研究では、コーンコブの酸加水分解及び酵素糖化により得られるグルコース及びキシロース含有加水分解液を用い、酵母Xanthophyllomyces dendrorhousによるアスタキサンチン生産について検討した。

【実験方法及び結果】コーンコブ100g/Lを1.5%硫酸により、121℃、60minの条件で加水分解処理し、pH5に調整後、メイセラゼ(明治製菓株式会社)を0.5%添加し酵素糖化を行った。糖化後ろ液に粉末活性炭白鷺M(日本エンバイロケミカルズ)を3%添加し発酵阻害物質を除去し、コーンコブ加水分解液とした。この加水分解液のグルコース及びキシロース濃度、A₂₈₀はそれぞれ、30g/L、25g/L、2.7であった。この加水分解液に窒素源を加え培地とし、種々の糖代謝能を持つ酵母Xanthophyllomyces dendrorhous (NBRC 10192)を用いて、5L容ジャーファメンタにより、温度25℃、pH5.0、通気量2.5vvm、溶存酸素濃度5.0mg/L以上の条件で回分培養を行った。その結果、最初グルコースが優先的に消費され、グルコース枯渇後キシロースが資化された。培養中一次的にキシリトールが蓄積したがその後キシリトールは消費された。菌体増殖は速やかに増殖に伴いアスタキサンチンも蓄積し、最終的に菌体濃度31.6g/L、アスタキサンチン濃度4.5mg/Lが得られた。これらの結果、キシロース及びグルコースを含有する加水分解液を用い、X. dendrorhousによるアスタキサンチン生産が十分可能なことが明らかとなった。

Microbial production of astaxanthin from corn cob hydrolysate containing glucose and xylose

○Kazuki MATSUI, Kiyoshi TADA, Tohru KANNNO, Jun-ichi HORIUTHI
 (Kitami Inst. Technol.)

Key words Corn cobs, Astaxanthin, Xanthophyllomyces dendrorhous