



# Bioethanol production from ball milled bagasse using an on-site produced fungal enzyme cocktail and xylose-fermenting *Pichia stipitis*

オンサイト生産された糸状菌酵素カクテルとキシロース発酵性酵母 *Pichia stipitis* を用いたボールミル処理されたバガスからのバイオエタノール生産

(JBB, Vol. 110, No.1, 18 – 25, 2010)

Benchaporn Buaban<sup>1,2</sup>・井上 宏之<sup>3</sup>・矢野 伸一<sup>3\*</sup>・Sutipa Tanapongpipat<sup>2</sup>・Vasimon Ruanglek<sup>2</sup>・Verawat Champreda<sup>2</sup>・Rath Pichyangkura<sup>1</sup>・Sirirat Rengpipat<sup>1</sup>・Lily Eurwilaichitr<sup>2</sup>

地球温暖化対策とエネルギーの化石資源依存度を低下させるために、ガソリン代替燃料としてのバイオエタノールの利用が注目されており、特に食料用途と競合しない、農業残渣などからの生産が期待されている。しかしこれらのバイオマスはセルロースに加えてリグニン、ヘミセルロースを含む強固な構造を持つため、これを酵素で分解するためには、リグニン、セルロースの保護を緩めると共に、セルロースの稠密な分子集合構造も崩して、酵素が反応しやすい状態を作るための効率的な前処理技術の開発が不可欠である。また酵素によるセルロースの分解（糖化）は、同じくグルコースのポリマーであるデンプンの場合に比べ、多量の酵素を必要とすると共に、酵素自体の価格が高いことが問題になっており、酵素コストの低減が実用化に向けた大きな課題になっている。さらに農業残渣などのヘミセルロースには多量のキシロースが含まれるので、これも発酵基質として利用できればエタノール生産性を向上させることができる。しかし通常エタノール発酵に使用される *Saccharomyces cerevisiae* はキシロースの代謝能がなく発酵することができない。このように農業残渣などからのエタノール生産には、克服すべき技術課題がいくつも存在する。

タイは世界有数の砂糖生産国であり、製糖工場ではサトウキビから糖液を搾った残渣であるバガスが大量に発生している。現在は主として燃焼して工場のエネルギー源として利用されているが、ボイラーの効率向上などにより、近年余剰量が増加する傾向にある。本論文はタイ-日本の共同研究により、前処理、酵素糖化、発酵の各プロセスにおける技術課題を克服し、バガスからのエタノール生産を可能にした結果を報告したものである。

前処理技術としては産業技術総合研究所で開発している微粉碎処理を採用した。バガスをボールミルで粉碎することにより、セルロースの結晶化度の低下がみられ、同時に酵素による糖化性が向上した。

酵素による糖化では市販酵素を用いた実験と共に、タイ国立遺伝子生命工学研究センター (BIOTEC) が保有するカルチャーコレクションの中から2種のセルラーゼ・ヘミセルラーゼ生産菌株を選抜し、その培養液上清を用いた実験を行った。 *Penicillium chrysogenum* BCC4504株が生産する酵素は高いエンドセルラーゼ活性を示し、 *Aspergillus falvus* BCC7179株の酵素はβ-グルコシダーゼ、β-キシロシダーゼの活性が高い、という異なる特質を持つ。このため *P. chrysogenum*, *A. falvus* の培養液単独では、どちらも低い糖収率しか得られなかったが、この2種の培養液を組み合わせると糖収率が大きく向上し、その値（対グルコース84.0%、対キシロース70.4%）は同じFilter Paper Unit (FPU) で酵素量を合わせて実験を行った市販酵素の組み合わせ（アクレモニウムセルラーゼ+Optimash BG）での収率をいずれも上回った。

発酵は、やはりBIOTECのカルチャーコレクションから、キシロース発酵能を持つ *Pichia stipitis* BCC15191株を選択して用いた。糖化・発酵分離方式 (SHF) と並行複発酵 (SSF) の2方式での発酵実験を行ったが、エタノール収率はどちらも同程度であった。

本研究により、キシロースの利用を含むバガスからのエタノール生産システムを構築できることが示されたが、タイで分離された酵素生産菌とキシロース発酵性酵母を用いた点に特徴がある。市販酵素の購入ではなく、エタノール生産者が自ら酵素を生産すること（オンサイト酵素生産）には酵素コストを大幅に低減できる利点があるが、そのためにはエタノール生産者自身が優良な酵素生産菌を確保する必要がある。この意味で、タイで実用的に使用できる菌株が示されたことの意義は大きい。本研究成果が活用されることで、タイに豊富に存在する非食用資源であるバガスからのエタノール生産が、実用化されることを期待したい。

\*著者紹介 産業技術総合研究所バイオマス研究センター（研究チーム長） E-mail: s-yano@aist.go.jp

<sup>1</sup>チュラロンコン大学理学部、<sup>2</sup>タイ国立遺伝子生命工学研究センター、<sup>3</sup>産業技術総合研究所