

シイタケ廃菌床の酵素糖化

(道総研 林産試) 檜山 亮、宜寿次 盛生、原田 陽、折橋 健

1. 背景と目的

近年、北海道では生シイタケ生産量が伸びており、全国 2 位の 7,365 トンとなっている (2011 年)¹⁾。北海道では広葉樹おが粉を主体とした菌床栽培の比率が全国平均の 85% と比べて高く 95% となっており (2011 年)¹⁾、生重量で 5,000 ~ 8,000 トンのシイタケ廃菌床 (以下、廃菌床) が発生していると思われる。菌床栽培の普及によりシイタケ生産地の集約化・大型化、また、季節変動の少ない安定生産が進んでいる。廃菌床は収集、運搬コストが極めて少なく、通年安定して供給できるバイオマス資源と考えられる。現状では廃菌床は主に堆肥化されているが、我々は廃菌床に 3 割程度セルロースが含まれること、およびそのセルロースは白色腐朽菌であるシイタケの作用により酵素糖化されやすい状態になっていることを明らかにし²⁾、廃菌床から糖類を得てバイオエタノール等の原料とする可能性を示した。さらに、廃菌床を一定温度で保存する、またはシイタケの収穫期間を長期化することで酵素糖化率が高められることを明らかにした^{2,3)}。ただし、これらの糖化試験は基質濃度が 2% という希薄な溶液での試験結果であり、糖液をバイオエタノール等の原料とする際にはできるだけ濃度を上げる必要がある。一方、我々はヤナギを主体とした菌床による新しいシイタケ栽培手法を確立しつつある⁴⁾。ヤナギを用いた菌床は収穫後に通常廃菌床に比べてより大きな重量減少が観察されたことから、酵素糖化率が高い可能性が考えられた。

そこで本研究では、ヤナギを用いたシイタケ栽培で発生した廃菌床を用い、高基質濃度での酵素糖化を行い、できるだけ高い濃度の糖液を得ることを目的とした。

2. 試験方法

2.1. 試験材料

オノエヤナギ (*Salix sachalinensis*、以下、オノエ) およびエゾノキヌヤナギ (*Salix pet-susu*、以下、キヌ) を用いてシイタケ栽培をした⁴⁾後の廃菌床を試料とした。廃菌床を 50 ~ 60 °C の条件下で水分が 10% 以下になるように乾燥し、10mm の目皿を付けたカッターミルで粗粉碎した。72% 硫酸を用いた方法^{2,3,5)}で、試料のリグニンおよび構成多糖量を吸光高度計および HPLC により測定した。

糖化酵素としてメイセラゼ (明治製菓、*Trichoderma viride* 由来) を用いた。酵素活性を Adney と Baker の方法⁶⁾で測定し、FPU (Filter Paper Units) を求めた。

2.2. 酵素糖化

2.2.1 試験管スケールのオノエとキヌ廃菌床の酵素糖化

オノエおよびキヌの廃菌床を乾燥重量 240mg とり、酵素を 1.2FPU (5FPU/g-基質) pH4.8 に調整した 0.1M クエン酸緩衝液を 12ml (基質濃度 2% [w/v])、アジ化ナトリウムを 0.24mg 添加して 40 °C で 72 時間糖化した。酵素糖化で単糖化したグルコースを HPLC で定量し^{2,3)}、試料に含まれるグルカンが全て糖化したときのグルコース理論量に対する割合を求め、グルコー



写真 1 3L用ジャーフェンター (基質濃度 35%の糖化開始時)

ス収率とした。

2.2.2 ジャーフェーマンターでのキヌ廃菌床の酵素糖化

3L容のジャーフェーマンター(写真1)に基質濃度2%および35%(w/v)となるようにそれぞれ750および566.7mlの0.1Mクエン酸緩衝液とキヌ廃菌床をそれぞれ15および198.3g入れた。各フェーマンターに所定量の酵素および153mgのアジ化ナトリウムを添加した。40または50で200rpmの搅拌をしながら96時間酵素糖化し、2.2.1と同様にグルコース収率を計算した。

3. 結果と考察

3.1. 廃菌床の分析

表1にオノエおよびキヌ廃菌床に含まれるリグニンおよび構成多糖の割合を示す。オノエおよびキヌ廃菌床で構成成分に大きな違いは見られなかった。我々のこれまでの報告^{2,3,7)}の廃菌床とも大きな違いは見られなかった。

3.2. 試験管スケールでの廃菌床の酵素糖化

図1にオノエおよびキヌの廃菌床の酵素糖化結果を示す。オノエとキヌでは同量の基質乾燥重量から得られるグルコースの量はほとんど変わらなかった。オノエおよびキヌから

得られるグルコースの量およびグルコース収率は、我々のこれまでの報告^{2,3,7)}と同程度であった。ヤナギ2種を代表して、以降の試験ではキヌの廃菌床を用いることとした。

3.3. フェーマンタースケールでの廃菌床の酵素糖化

図2に5FPU/g-基質の酵素添加量で基質濃度と糖化温度を変えて酵素糖化した時のキヌ廃菌床のグルコース収率を示す。各条件で60%以上のグルコース収率が得られた。40・基質濃度2%の条件の時にグルコース収率が72~92時間で急激に低下した。これについては雑菌汚染の可能性が考えられた。基質濃度35%では糖化が遅いが、96時間の糖化で基質濃度2%と同程度のグルコース収率が得られることがわかった。50において基質濃度35%で96時間酵素糖化したときのグルコース濃度は76.6g/Lであり、メイセラゼを用いた酵素糖化に関する林産試験場内の過去の実験データと比較して高いグルコース濃度が得られた。

図3に50において基質濃度35%で酵素添加量を変えた時の

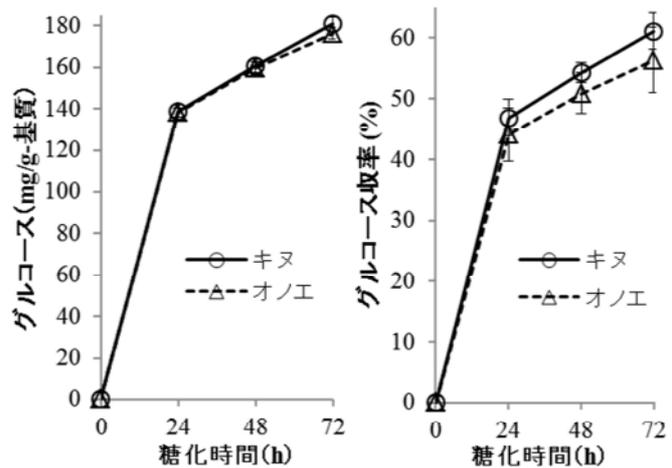


図1 オノエおよびキヌ廃菌床の酵素糖化により生成したグルコースの量とグルコース収率(n=3)

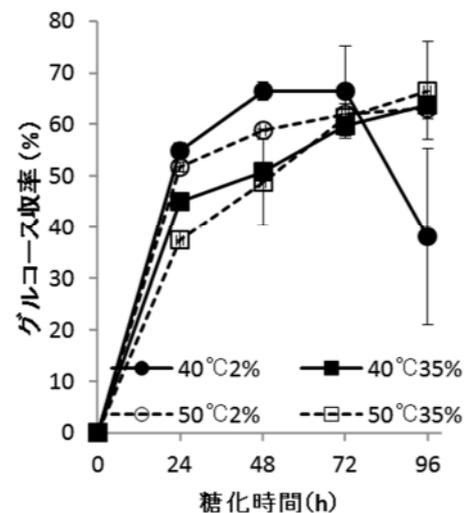


図2 糖化温度と基質濃度(w/v)を変えて5FPU/g-基質で酵素糖化したキヌ廃菌床のグルコース収率(n=3)

表1 廃菌床の構成成分(重量%)

	酸不溶性 リグニン	酸可溶性 リグニン	グルカン	キシラン	ガラクトサン	アラビナン	マンナン	その他
オノエ	13.5 ± 1.3	6.6 ± 0.2	31.5 ± 2.6	9.3 ± 0.8	1.8 ± 0.4	3.0 ± 0.3	5.3 ± 0.6	29.0
キヌ	14.2 ± 0.6	6.7 ± 0.3	29.6 ± 1.2	9.7 ± 0.7	1.7 ± 0.3	3.0 ± 0.3	5.3 ± 0.8	29.7

数値は平均±標準偏差を表す(n=3)

キヌ廃菌床のグルコース収率を示す。酵素量を 5FPU よりも減らすと得られるグルコース収率が低くなる傾向が見られた。

4. まとめ

ヤナギを用いた廃菌床にグルカンが 30%前後残存していること、および 5FPU/g-基質の比較的少ない酵素添加量で 60%以上の糖化率が得られることがわかった。35%の高基質濃度で 2%の基質濃度とほぼ同程度の糖化率で糖化でき、最高で 76.6g/L のグルコース濃度が得られることを明らかにした。現在、エタノール生産酵母を用いた併行複発酵による更なる高基質濃度化を試験中であり、その詳細は当日発表する。

5. 引用文献

- 1) 北海道 (2013) 平成 23 年 特用林産統計
(http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/rrm/grp/04/tokusan/tokusan_toukei23.pdf)
- 2) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2011) J Wood Sci 57: 429–435
- 3) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2013) J Wood Sci 59: 88–93
- 4) 原田 陽、折橋 健、檜山 亮、宜寿次 盛生、棚野 孝夫 (2013) 日本きのこ学会第 17 回大会講演要旨集 p. 68
- 5) Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scararlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D (2008) Technical Report NREL/-510-42618
- 6) Adney B, Baker J (1996) Technical Report NREL/TP-510-42628
- 7) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2012) J Wood Sci 58: 446–452

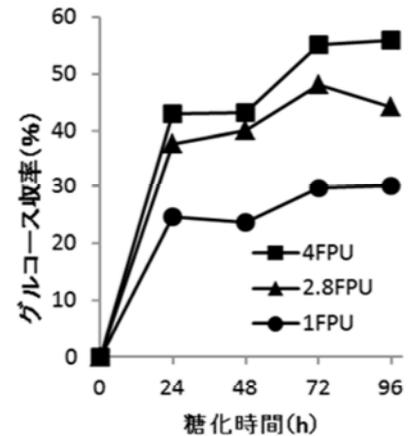


図3 50°C、基質濃度35%で酵素添加量を変えた時のキヌ廃菌床のグルコース収率