

*Streptomyces violaceoruber* 及びアルコール醗酵菌用いた *Laminaria japonica* (昆布) からのバイオエタノールの生産に関する研究

日大生産工 (院) ○濱本 優  
日大生産工 神野 英毅 小森谷友絵

【緒言】

近年の化石燃料の高騰により、バイオエタノールは代替エネルギーとして、また再生可能な自然エネルギーとしても注目を浴びている。しかし、トウモロコシなどの食料をバイオエタノールの製造原料として使用するためバイオエタノールの製造による食料価格の高騰や、化石エネルギーを利用したその製造法によるコスト高などの問題点がある<sup>1)</sup>。

そこで我々は、地球の7割を占める海洋に存在するバイオマス資源に着目した<sup>2)</sup>。中でも、生育が速く、単位面積あたりのエネルギー効率の高い昆布に着目し、昆布からのバイオエタノール生産を目的とした。

昆布の主成分は Cellulose, Alginate などの食物繊維で構成されている<sup>3)</sup>。Alginate は、D-Mannuronic acidoy 及び L- Glucuronic acid から構成される直鎖状の複合多糖である<sup>4)</sup>。そして、Alginate は Cellulose を糖化する際に、糖化を阻害する働きがありエタノール生産に必要な Glucose を得るために分解する必要がある<sup>5)</sup>。そこで、本研究では、*Streptomyces violaceoruber* により昆布の成分中の Alginate を分解し昆布を糖化した。

【実験方法】

1, 使用菌株及び昆布

菌体は独立行政法人製品評価技術基盤機構から分譲された NBRC No.15146 の *Streptomyces violaceoruber*, 北市及び小林らにより単離された千葉県印旛沼に生息していた Cellulose 分解

菌を使用した。継代培地は Yeast extract 1 g, Beef extract 1 g, NZ Amine Type A 2 g, Maltose 10 g を超純滅菌水 1 l に溶解し、pH 7.3 に調製した培地を用いた。

使用した昆布は、バイオマスとして東京湾で生産された *Laminaria japonica* (昆布) を使用した。

2, *Streptomyces violaceoruber* による *Laminaria japonica* の成分中の Alginate 分解及 Cellulase による糖化実験

2-1, *Streptomyces violaceoruber* による *Laminaria japonica* の成分中の Alginate 分解及 Cellulase による糖化実験に用いた培地

*Laminaria japonica* 10 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g, NaCl 0.5 g, NH<sub>4</sub>Cl 1 g Distilled water 1 l に溶解し pH を 6.0~8.0 に調整した培地を用いて分解実験を行った。

2-2, *Streptomyces violaceoruber* による *Laminaria japonica* の成分中の Alginate 分解及 Cellulase による糖化実験の方法

継代用の培地で生育した *Streptomyces violaceoruber* のコロニーを 1 つ釣菌し継代用の培地 5ml が入った試験管に植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで 200rpm/min で 48 時間攪拌培養した。培養液 1ml を継代用の培溶液 200ml が入ったフラスコに植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで 200rpm/min で 48 時間攪拌培養した。培養液 1ml を実験用培地それぞれ 200ml(pH 6.0~8.0)が入った三角フラスコに植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで、200rpm/min で 120 時間攪拌

---

Study on fermentative pathway of *Laminaria japonica*  
by *Streptomyces violaceoluber* to produce bioethanol  
Suguru HAMAMOTO, Hideki KOHNO and Tomoe KOMORIYA

培養し、Cellulase を用いて培養液の糖化を行い、高速液体クロマトグラフィーで Glucose の生成を調べ、Alginase 及び Cellulase の混合酵素を用いて実験用培地を糖化させた場合と比較検討した。

3、*Streptomyces violaceoruber* による昆布分解物の Cellulose 分解菌による糖化実験。

3-1、昆布分解物の糖化実験に用いた培地

アルギン酸分解実験で用いた培地を *Streptomyces violaceoruber* によって分解したものを加圧滅菌し用いた。

3-2、昆布分解物の糖化実験方法

継代用の培地で生育させた Cellulose 分解菌のコロニーを 1 つ釣菌し継代用の培地 5ml が入った試験管に植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで 200rpm/min で 48 時間攪拌培養した。培養液 1ml を継代用の培液 200ml が入ったフラスコに植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで 200rpm/min で 48 時間攪拌培養した。培養液 1ml を実験用の培地それぞれ 200ml 入った三角フラスコに植え継ぎ 30℃の恒温槽のなかで、200rpm/min で 120 時間攪拌培養し、培養液を液体クロマトグラフィーで分析した。

#### 【実験結果】

*Streptomyces violaceoruber* による昆布の分解及び Cellulase による糖化実験で生成した結果図 1 に示す。

図 1 を見ると *Streptomyces violaceoruber* によって昆布を分解させたものは、pH8.0 が最も Glucose を生成し 0.0455 g/l 生成した。混合酵素を用いて実験用培地を分解したものは、0.0860 g/l 生成した。

Cellulase 分解菌による糖化実験は現在実験中のため発表の際に実験結果を示す。

#### 【結論】

混合酵素を用いた方がよく糖化したが、Alginase は大変高価なため工業的に培養するには、*Streptomyces violaceoruber* によって昆布を pH 8.0 で分解させた方がよいと考える。

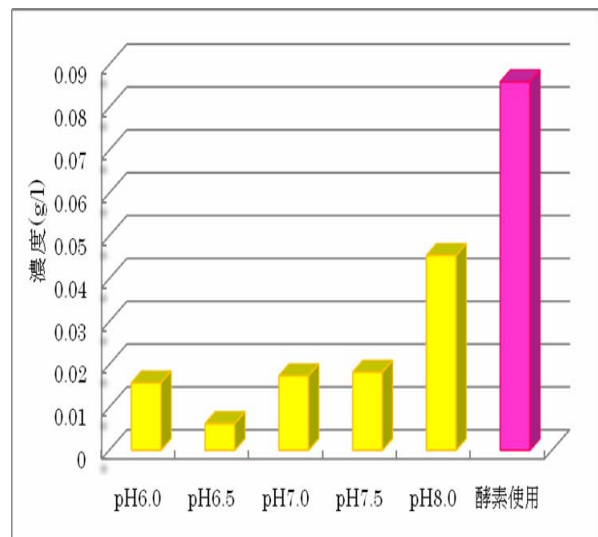


図 1 糖化実験で生成した glucose

#### 【今後の予定】

*Streptomyces violaceoruber* を用いて *Laminaria japonica* の成分中の Alginase を分解し、cellulase を分解し、分解物をアルコール発酵菌でアルコール発酵させる最適アルコール発酵菌を検討する。

#### 【参考文献】

- 1) 岩崎 博, 高橋 伸英, 小林 敦, 山田興一, バイオエタノール発酵プロセスの合理化, 日本エネルギー学会誌, Vol.85, No.7(2006) pp. 542-551
- 2) Motoharu uchida, Studies on lactic acid fermentation of seaweed
- 3) Susumu kohata, Toshihisa sumi, Kohei tanemura, Takashi sakamoto, Makoto shimada, Makiko asakawa, Characterization and Enzymatic Digestion of Seaweed Cultured in the Yasuhiro Sea
- 4) 三宅 統, 山崎正幸, 河井重幸, 橋本 涉, 三上文三, 村田幸作, 細菌アルギン酸リナーゼの分子多様性, 進化, および X 線結晶構造に関する研究, 応用微生物学研究, Vol. 2, No. 2, (2004), pp103-111
- 5) 本多 徹, *Laminaria japonica* (真昆布) を用いた *Rhodobacter spheroids* RV による水素生産に関する研究