

[成 果 情 報 名] 高温におけるキシリロース発酵能を強化した酵母を用いたバイオエタノール生産法

[要 約] 高温におけるキシリロース発酵能を強化した酵母株を用いて同時異性化発酵を行うことにより、稻わら等のリグノセルロース系バイオマスに多く含まれるキシリロースを、40°Cでキシリロースに酵素変換しながらエタノールに発酵する技術である。

[キーワード] バイオエタノール、キシリロース、酵母、同時異性化発酵、稻わら

[担 当] バイオマス利用・エタノール変換技術

[代 表 連絡 先] 電話 029-838-8061

[研 究 所] 食品総合研究所・食品バイオテクノロジー研究領域

[分 類] 研究成果情報

[背景・ねらい]

再生可能資源であるバイオマスから生産されるエタノール（バイオエタノール）は、ガソリンの代替燃料として利用することにより、地球温暖化抑制に寄与するものとして注目されている。食料との競合を避けるために、稻わらのようなリグノセルロース系バイオマスからバイオエタノールを生産することが求められているが、これらのバイオマスには一般的な酵母が利用できないキシリロースが多く含まれており、キシリロースを効率的にエタノールに変換する技術が必要である。バイオエタノールの生産には、糖化と発酵を同時にに行う並行複発酵がしばしば用いられるものの、リグノセルロース系バイオマスの並行複発酵では、酵素による糖化の最適温度（約50 °C）と酵母による発酵の最適温度（約30 °C）とが大きく異なるという問題が生じている。本研究ではリグノセルロース系バイオマスにおける並行複発酵の効率化を図るために、40 °Cでキシリロースをエタノールに変換する方法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 40 °Cでキシリロースを発酵可能な酵母を開発するために、40 °Cにおいてキシリロース発酵の代謝中間産物であるキシリロースを発酵可能な酵母の単離を行った。食品総合研究所のカルチャーコレクションを検索した結果、*Candida glabrata* NFRI 3163 が得られた。
2. *C. glabrata* NFRI 3163 を用いて同時異性化発酵（図1）によるキシリロースの発酵を試みた。その結果、NFRI 3163 は 40 °C、72 時間の発酵によって、2 % (w/v) キシリロースから理論収率の 49 %でエタノールを生産した（図2a）。本株では、エタノール収率の低下の原因となるキシリトールの蓄積も見られた。
3. エタノール収率向上のために、*C. glabrata* NFRI 3163 に対して、自身のキシリロキナーゼ遺伝子の高発現とアルドースレダクターゼ遺伝子の破壊による代謝系の改良を行った（図1）。改良株である *C. glabrata* 3163 dgXK1 を用いて同時異性化発酵を行ったところ、40 °C、72 時間の発酵によって、2 % (w/v) キシリロースから理論収率の 75 %に相当する 0.78 % (w/v) エタノールを生産することができた（図2b）。また、キシリトールの蓄積も非常に低いレベルに抑制することができた。
4. 水酸化カルシウムで前処理した稻わらを原料に、*C. glabrata* 3163 dgXK1 を用いて並行複発酵と同時異性化発酵を組み合わせてエタノール生産を行った。その結果、実際のバイオマスを原料とした場合でも、40 °Cにおいてキシリロースが消費されエタノールが生産されることを確認した（図3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法では、他生物種由来の遺伝子を必要としないため、セルフクローニングによる酵母の改良が可能である。
2. 稻わらを原料に用いた場合には、発酵時間 120 時間ににおいても発酵液中にキシリロースの残存が見られたため、添加酵素量の最適化等の更なる検討が必要である。

[具体的データ]

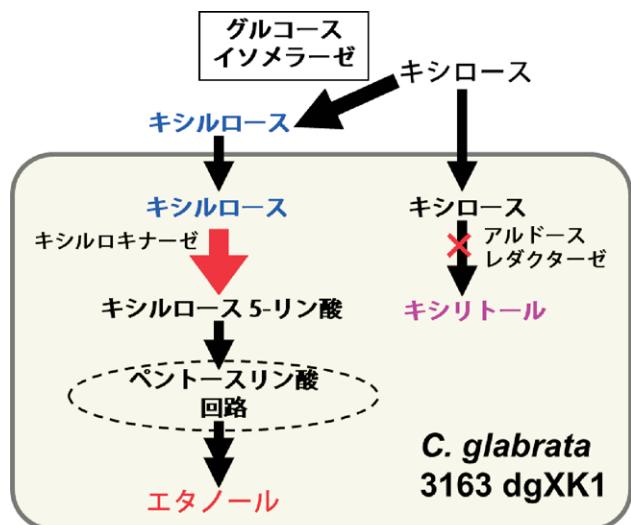


図1 同時異性化発酵によるキシロースのエタノールへの変換

同時異性化発酵では、グルコースイソメラーゼの添加により菌体外でキシロースをキシルロースに変換（異性化）し、キシルロースを酵母によってエタノールに発酵する。

改良株である *C. glabrata* dgXK1 では、①キシルロースの代謝促進のためのキシルロキナーゼ遺伝子の高発現、②キシリトールの生成抑制のためのアルドースレダクターゼ遺伝子の破壊、が行われている。

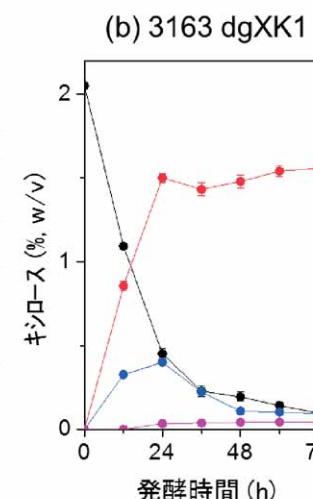
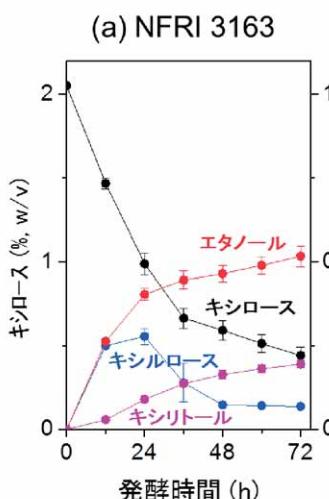


図2 *C. glabrata* によるキシロースの同時異性化発酵

2 % (w/v) キシロースを含む培地にグルコースイソメラーゼと酵母を添加し、40 °C で嫌気的に培養した。

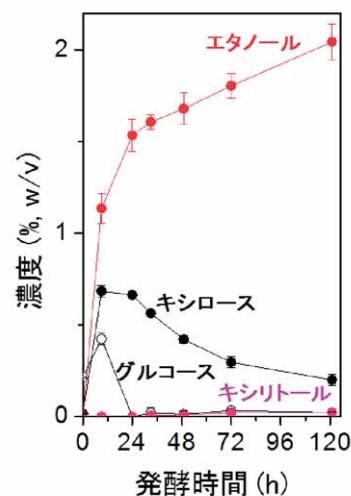


図3 *C. glabrata* 3163 dgXK1 による稻わらの並行複発酵

水酸化カルシウムで前処理した稻わら (10 %, w/w) に糖化酵素、グルコースイソメラーゼ及び酵母を加え、40 °C で並行複発酵を行った。

(榎原祥清)

[その他]

中課題名：セルロース系バイオマスエタノール変換の高効率・簡易化技術の開発

中課題整理番号：220c0

予算区分：交付金、委託プロ（バイオマス、バイオ燃料）

研究期間：2011～2012 年度

研究担当者：榎原祥清、王曉輝、中村敏英、徳安健

発表論文等：榎原祥清ら 「キシロースを高温で発酵する方法」 特願 2012-135883