

# 廃菌床の有効利用に関する研究

【環境化学室】

矢信聡裕 門木秀幸

## 1 はじめに

きのこの菌床栽培からは、使用済みの廃培地（廃菌床）が大量に発生する。この菌床はおがくずを主成分とし、フスマ、おから、米ぬか等が栄養剤として添加されている。鳥取県内のきのこ栽培においては、約600万基もの菌床が消費され、その一部は畑等の肥料として利用され残りは廃棄されている。

本研究では、県内で発生する廃菌床に含まれるセルロース等の成分を、単糖まで糖化した後、エタノール発酵でエタノールを、L-乳酸発酵でL-乳酸を生産するプロセスを確立することを目的とした。

木質の主要成分であるセルロース、ヘミセルロースは、発酵原料として利用可能な単糖（グルコース等）が構成要素となっている。セルロース、ヘミセルロースを単糖まで糖化するためには、細胞壁を保護するリグニンを分解除去した後、加水分解する必要がある。そして、加水分解によって生成した単糖のグルコース、キシロース、マンノースを同時に発酵できる発酵細菌により、エタノール等の目的原料を生産する。

## 2 調査方法

### 1) 廃菌床排出実態調査

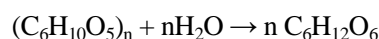
#### (1) 廃菌床組成分析

はたけしめじ、エリンギ、まいたけ、ぶなしめじ、しいたけ、ひらたけ、えのきから発生する廃菌床の組成分析を行った。また、はたけしめじ菌床栽培に使用されるおがくずの組成分析も併せて行った。分析項目は水分、灰分、脂質、ホロセルロース、全セルロース、ヘミセルロース、リグニン、粗タンパクとした。水分、灰分、ホロセルロース、全セルロース、リグニンは木質科学実験マニュアル<sup>1)</sup>、脂質、タンパク質は衛生試験法<sup>2)</sup>により行った。ヘミセルロースは、ホロセルロースから全セルロースを差し引くことで求めた。

#### (2) 廃菌床排出量推計<sup>3)</sup>

セルロースは、加水分解によりグルコースとなり、

発酵によってグルコースからエタノール、L-乳酸が生成される。その反応式は、

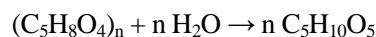


で表され、廃菌床単位湿潤重量当たりのセルロースからのエタノール生産量及びL-乳酸生産量  $P_C$  は(1)式で表される。

$$P_C = m M_2 M_1^{-1} C_C X \quad (1)$$

ここで  $m$  は化学量論係数、 $M_1$  はセルロース分子量、 $M_2$  はエタノールあるいはL-乳酸分子量、 $C_C$  はセルロース含有率、 $X$  は糖質のうち基質として利用できる割合である。

ヘミセルロースは、加水分解によってキシロースとなり、発酵によってキシロースからエタノール、L-乳酸が生成される。その反応式は、



で表され、廃菌床単位湿潤重量当たりのヘミセルロースからのエタノール理論収量あるいはL-乳酸の理論収量  $P_H$  は(2)式で表される。

$$P_H = m M_2 M_3^{-1} C_H X \quad (2)$$

ここで  $m$  は化学量論係数、 $M_3$  はヘミセルロース分子量、 $M_2$  はエタノールあるいはL-乳酸分子量、 $C_H$  はヘミセルロース含有率、 $X$  は糖質のうち基質として利用できる割合である。上記の(1)、(2)の理論式を用いて、資源の回収量の試算を行った。ここで、 $X$  を0.8とし、県内廃菌床の排出量を2786 t/年（平成18年度鳥取県林業統計およびアンケート調査による推計値）とした。

### 2) 廃菌床糖化技術開発

#### (1) 原料

原料は、はたけしめじ廃菌床、菌床、おがくずを使用した。

#### (2) 保管処理

廃菌床に残っている菌を、リグニンの分解に利用で

きるのではないかと考え、廃菌床を常温もしくは一定温度下で一定期間保管する処理、  
 を行い、廃菌床中の化学組成の変化を調べた。

**室温保管**

はたけしめじ廃菌床を採取後、衣装ケースに入れ空気がある程度交換できる隙間を残して蓋をして室温に保ち、4 か月間保管した。各保持期間保った廃菌床をそれぞれ木質化学分析マニュアルに基づき組成分析を行った。

**定温保管**

はたけしめじの培養室の温度は 22 ~ 23、湿度は 65 %前後であるが、菌床は袋に覆われていたため中の湿度は 90 %以上に保たれている。そこで最も生育に適した条件は温度 23、湿度 95 %以上とし、この条件で 3 か月間保管した。

**(3) 前処理**

廃菌床の前処理法としてアルカリ・酸化処理に統一した。まず、乾燥し粉碎した廃菌床 1 g に 1 %水酸化ナトリウム水溶液を 20 ml 添加し、室温で 12 時間反応させた。そして、31 % (w/v) 過酸化水素水を 1 % (w/v) となるように添加しさらに 12 時間反応させた。反応液を遠心分離し、上澄み液を捨てた後、蒸留水を加えてかき混ぜ、再び遠心分離する作業を数回繰り返し洗浄した。沈殿物を 70 で乾燥させ、超遠心粉砕器 (FRITSCH) を用いて粉砕し試料とした。

**(4) 糖の定量法**

加水分解して生成した、グルコース、キシロース、マンノース、アラビノース、セロビオースを HPLC により定量した。

**(5) 酵素糖化試験<sup>4)</sup>**

**酵素糖化条件最適化**

酵素糖化製剤として、産業用酵素として市販されている Meiselase (明治製菓)、Onozuka3S (ヤクルト薬品工業)、Amano4 (アマノエンザイム) を使用した。それぞれの酵素の糖化条件のうち糖化温度、糖化 PH について最適化試験を行った。酵素溶液は、酵素粉末 0.2g に対して各酵素の至適 PH に調整した 50mM 酢酸ナトリウムバッファーを 100 mL 加え作成した。乾燥試料 0.2 g に対して作成した酵素溶液を 4 mL 加え、恒温振とう培養機を用いて 130 strokes/min で、温度をそれぞれの酵素の至適温度付近で変えて 96 時間反応を行った。次に最も高い糖化率が得られた酵素の糖化温度において、

至適 PH 付近で PH を変えて 96 時間反応を行った。いずれの条件においても反応後に反応液をろ過し、得られたる液のグルコース、キシロース、マンノース、アラビノース、セロビオース濃度を定量した。

**3 結果及び考察**

**1) 廃菌床排出実態調査**

7 種のきのこ菌床栽培から発生する廃菌床の成分分析結果を Table 1、Table 2 に示す。この成分分析結果から、より詳細な資源の理論回収量の試算を行った。この結果、県内の廃菌床から生産されるエタノールは約 328 t/年、L-乳酸は約 636 t/年と試算された。

Table 1 廃菌床水分含有率 (% - 湿潤重量)

	はたけしめじ	えりんぎ	まいたけ	ぶなしめじ	しいたけ	ひらたけ	えのき
水分	67	62	59	62	56	66	54

Table 2 組成分析結果 (単位: % - 乾燥重量)

	はたけしめじ	えりんぎ	まいたけ	ぶなしめじ	しいたけ	ひらたけ	えのき
灰分	2.8	3.9	3.2	6.6	4.1	4.9	6.9
脂質	0.52	1.1	0.67	0.38	0.56	1.9	3.9
ホロセルロース	66	61	70	63	65	66	64
全セルロース	60	60	66	57	61	74	65
ヘミセルロース	6	1	4	6	4	-	-
リグニン	27	26	28	26	18	29	29
粗たんぱく	9.7	8.0	5.5	5.3	3.9	8.2	7.7
合計	106	100	108	101	91	110	111

**2) 廃菌床糖化技術開発**

**(1) 保管処理**

廃菌床を室温で 4 か月保管した時の状態を Fig.1 に示す。

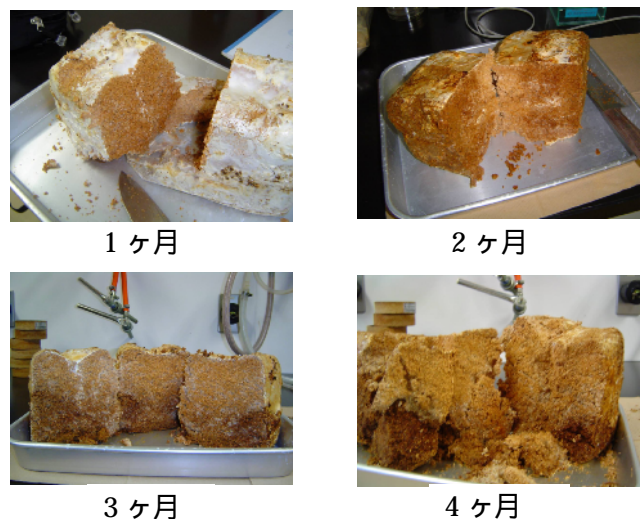


Fig.1 室温保管廃菌床

室温保管、定温保管した廃菌床の各組成は保管期間中ほぼ一定であることが明らかとなった(Table 3、Table 4、Table 5、Table 6)。

Table 3 室温保管処理廃菌床 水分分析結果(単位：%-湿潤重量)

	保存なし	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月
水分	66	61	63	68	70

Table 4 室温保管処理廃菌床組成 (%-乾燥重量)

	保存なし	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月
灰分	2.2	2.1	2.2	2.4	2.4
脂質	0.75	0.42	0.43	0.62	1.8
ホロセルロース	60	59	59	59	57
全セルロース	62	61	62	66	59
リグニン	32	30	32	33	30
粗たんぱく	8.9	7.9	7.2	8.3	9.4
合計	104.4	98.8	101.3	102.7	100.9

Table 5 定温保管処理廃菌床 水分分析結果(単位：%-湿潤重量)

	保存なし	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
水分	65	63	62	66

Table 6 定温保管処理廃菌床組成 (%-乾燥重量)

	保存なし	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
脂質	0.50	0.58	0.63	0.50
ホロセルロース	66	65	63	64
全セルロース	60	59	61	58
リグニン	27	30	32	33
粗たんぱく	9.7	8.3	8.9	9.7
合計	103.3	104.0	104.6	107.2

## (2) 酵素糖化試験

### 酵素糖化条件最適化

前処理をした、はたけしめじ乾燥試料0.2 gにMeiselase、Onozuka3S、Amano4の酵素溶液を添加して反応を行った。Meiselaseは、PH 5.0、糖化温度を40、45、50、Onozuka3Sは、PH 4.0、糖化温度を45、50、55、Amano4はPH 4.5 糖化温度を40、45、50と変えて96時間糖化反応を行った(Fig.6、Fig.7、Fig.8)。その結果Meiselaseで96時間糖化した場合が、最も高い糖化率となったため最適な酵素をMeiselase、最適温度を45と決定した。次に、Meiselaseを用いて、最適温度の45でPHを4.0、4.5、5.0と変えて反応を行った結果、PH 4.5とPH 5.0で高い糖化率が得られた(Fig.9)。この2つでは差はほとんどみられなかったが、46時間で高い糖化率が得られたPH 4.5を最適PHとした。

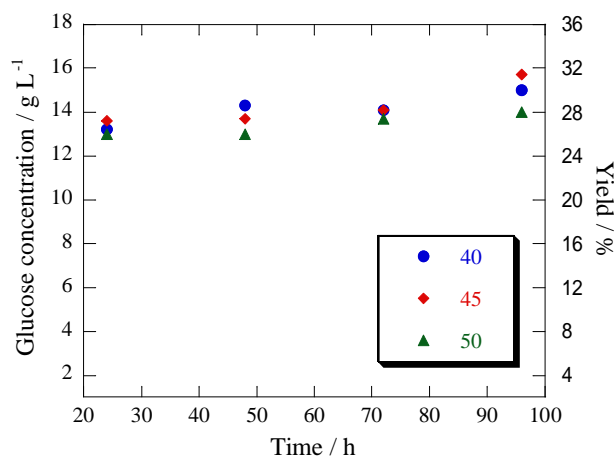


Fig.6 Effect of saccharification temperature using Meiselase on the yields of glucose.

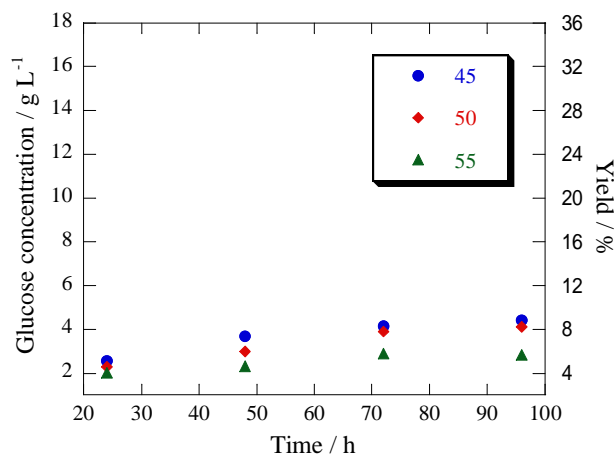


Fig.7 Effect of saccharification temperature using Onozuka3S on the yields of glucose.

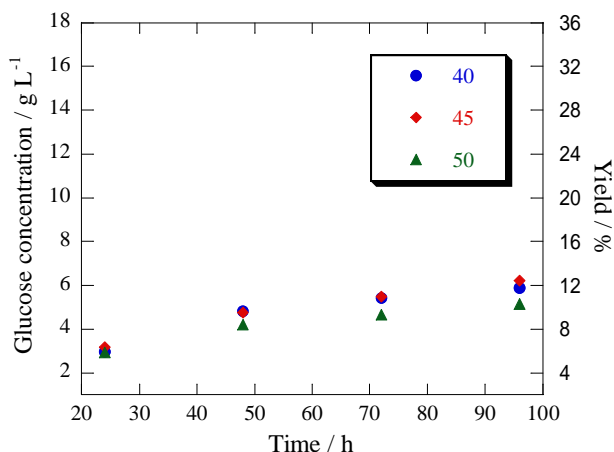


Fig.8 Effect of saccharification temperature using Amano4 on the yields of glucose.

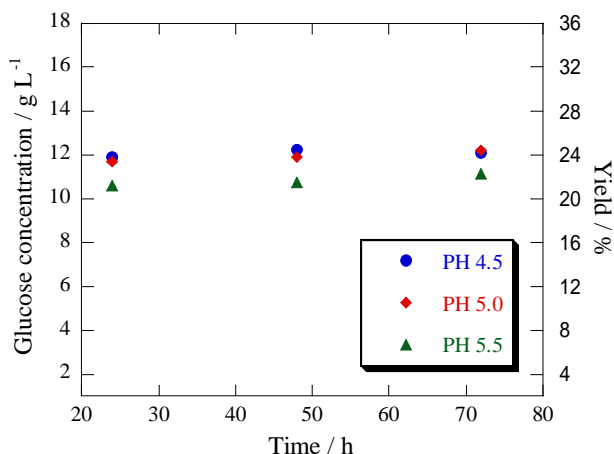


Fig.9 Effect of saccharification PH using Meiselase on the yields of glucose.

#### 4 まとめ

県内で発生する廃菌床のバイオエタノール、L-乳酸原料としての可能性を理論生産量を試算することで評価した。その結果それぞれ約328 t/年、約636 t/年に相当する資源量となることがわかった。

菌床残存菌による前処理の簡略化と酵素糖化处理条件の最適化を行った結果、菌床残存菌によるリグニンの優先的な分解は見られず、保管処理の有効性について確認できなかった。はたけしめじ廃菌床を用いて糖化試験を行った結果、最適な酵素をMeicelase、最適糖化温度45、最適糖化PH4.5と決定した。

はたけしめじは比較的リグニン分解能力が低く、しいたけ、ひらたけなどの白色腐朽菌は、リグニン分解能力が高いと言われている<sup>5)</sup>。そこで今後、これらの

きのこの廃菌床で保管処理を実施し、糖化率に及ぼす影響を評価する予定である。

セルラーゼについてはその役割から大きく3種類に分類されることが知られている。今後は分解能力向上のための酵素の組み合わせの検討、最適化した糖化条件において酵素量の最適化、最適な前処理条件の検討を行う予定である。

本研究は、環境省の「地域の産学官連携による環境技術開発基盤整備モデル事業」の助成を受けて実施した。

#### 5 参考文献

- 1) 日本木材学会編:木質科学実験マニュアル,東京,文永堂,2000,p.92-97.
- 2) 日本薬学会編:衛生試験法・注解,東京,金原出版株式会社,2005,p.307-309.(ISBN 4-307-47036-2)
- 3) 保井淳,国次純,西嶋渉,岡田光正:成分組成に基づいた有機性固形廃棄物の再資源化用途の評価.環境科学会誌,14(2),165-171(2001)
- 4) 是石真友子,今中洋行,今村維克,狩山昌弘,中西一弘:酵素糖化と発酵を併用した小麦フスマからの効率的エタノール生産.生物工学会誌,87(5),216-223(2009)
- 5) 湯川秀明:バイオマスエネルギー利用技術,東京,株式会社シーエムシー出版,2001,p.147-154.(ISBN 4-88231-900-4)