

デンプンからアルコールを生産するカビの性質

大阪府立園芸高等学校 バイオ研究部3年 井窪 かなで

問題提起・研究目的

2016年、バイオ研究部の海藻資化微生物の研究で偽菌糸性酵母と思われる微生物が海藻から発見。分離後、G#1-2と命名。各種培養実験の結果、胞子嚢を形成する接合菌の糸状菌であると推測できた。また、デンプンを基質に直接アルコール発酵を行うことができ、先行研究によると同じくデンプンから直接発酵を行う能力を持っているカビである微生物利用の教科書にある代表的ケカビの一つであり、筑波大学からの分譲株である *Mucor rouxii* と富山大学でパルプ残渣からのバイオエタノール生産の実証実験中の *Rhizomucor pusillus* に比べてG#1-2は発酵が速く、有望な株であることが分かっている。

今回の実験は、デンプンを直接資化しアルコールを生成するカビの能力と、その特性を明らかにすることで、食品ロスとして廃棄されるコンビニの弁当などから効率的にバイオエタノールを製造する技術の開発を目標とした。

菌体細断処理実験

目的: 菌体を細断することが、その後のデンプンを直接資化するアルコール発酵の速度に及ぼす影響を明らかにする

液体培地に *Mucor rouxii* を植菌し、振盪培養機で30°C、150rpmで24時間培養した後のフラスコ内に生育した団子状の菌体を、漏斗とひだ付き濾紙で濾過した。得られた菌体を、殺菌したピンセットで細断した区分と、無処理の団子状のままの区分を可溶性デンプンを10%で加熱溶解後、オートクレーブ滅菌したものに混合しそれぞれの区分におけるガス発生量を気泡の高さで計測して比較した。実験には図2に示すように2本の組み合わせた試験管を用い、25°Cの培養室で24時間発酵させた。実験は3反復で行い、平均値と標準誤差を算出した。

結果を図5に示した。写真3にそれぞれの区分の発酵前・発酵後の様子を示した。区分間の発生ガス量にわずかに差はあったものの、標準誤差の範囲から2区分間に差は認められなかった。なお、細断区は誤差範囲が無処理区よりも大きかった。

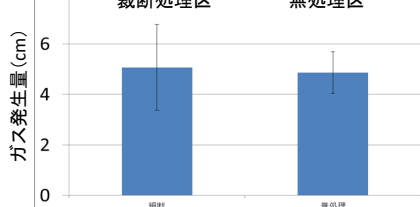
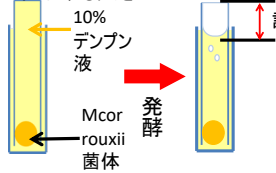


図2. 菌体処理実験培養の様子

写真3. *Mucor rouxii* の菌体処理実験24時間の変化
上が処理区
下が無処理区

▲: ガス発生位置

図5. *Mucor rouxii* の振とう培養によって得られた菌塊の細断処理によるガス発生量の変化
図中のバーは3反復の標準誤差範囲を示す。

考察: ケカビがデンプンを資化しアルコール発酵を行う際に、菌糸が細断されていることが阻害要因になる可能性について確かめた結果、菌糸が裁断されることで発酵速度が低下しないことが明らかとなった。今後、このケカビ類を用いてデンプン質を直接アルコール発酵に持ち込むのに際し、菌体のビーズなど適用条件を広い範囲で検討できると考えられる。

発酵最適温度検証実験

実験1目的: *Mucor rouxii* の大まかな発酵温度を明らかにすること
菌体は菌体処理実験と同様に培養、処理したものを用いた。実験にはアインホルン管を用いて行った。濾過後の菌体の重量を計測したのち、25,35,45,55,65°Cに設定したインキュベーター内で24時間発酵させ、それぞれの区分におけるガス発生量を計測して比較した。

実験1の結果を図6に示した。写真4にそれぞれの発酵前・発酵後の様子を示した。35,45°C区において計測不能となった。

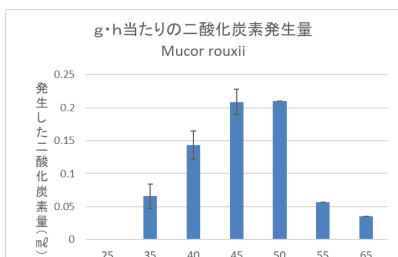
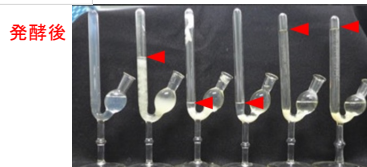
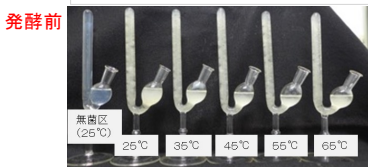


図6. *Mucor rouxii* の温度条件による発酵24時間後の二酸化炭素発生量の変化
写真4. *Mucor rouxii* の温度条件による発酵24時間後の二酸化炭素発生量の変化
▲: ガス発生位置



発酵最適温度検証実験

実験2 目的: G#1-2, *Rhizomucor pusillus*, *Mucor rouxii* のより正確な発酵最適温度を明らかにすること

菌体は実験1と同様に培養、処理した。でんぷん溶液は、実験1と同様のものを用いた。実験にはアインホルン管を用いて行った。濾過後の菌体の重量を計測し、実験2では40,45,50°Cに、実験3では35,40,45°Cにそれぞれ設定したインキュベーター内で24時間発酵させた。それぞれの区分におけるガス発生量を計測して比較した。

実験2の結果を図7に示した。写真5にそれぞれの発酵前・発酵後の様子を示した。 *Mucor rouxii*, G#1-2, *Rhizomucor pusillus* すべてのカビにおいて45°Cで最も発酵が盛んだった。

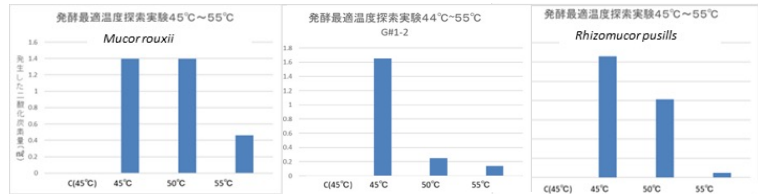


図8. ケカビの45°C~55°C条件での発酵実験における二酸化炭素発生量の比較

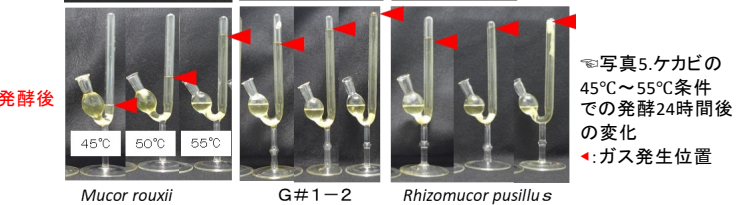


写真5. ケカビの45°C~55°C条件での発酵24時間後の変化
▲: ガス発生位置

実験3の結果を図8に示した。写真6にそれぞれの発酵前・発酵後の様子を示した。 *Mucor rouxii*, G#1-2においては45°Cで最も発酵が盛んであったが、 *Rhizomucor pusillus* は45°Cで最も発酵が盛んであった。

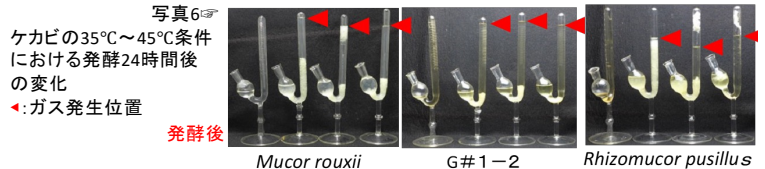
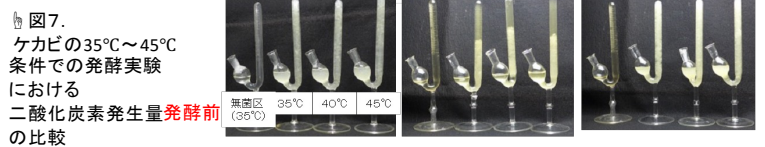
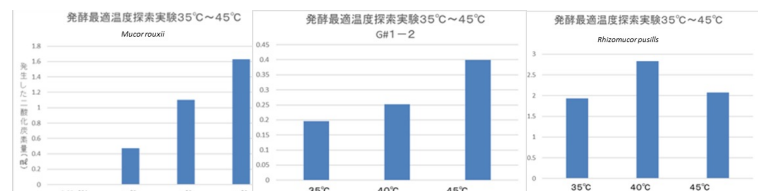


図7. ケカビの35°C~45°C条件での発酵実験における二酸化炭素発生量発酵前の比較

写真6. ケカビの35°C~45°C条件における発酵24時間後の変化
▲: ガス発生位置

考察: 図9にg毎時の二酸化炭素発生量を比較したグラフを示した。発酵における最も適した温度については、45°Cであることが分かり、似た能力を持ったカビの中ではやや差があるもの的高温や低温に大きく偏ってはいないといえる。

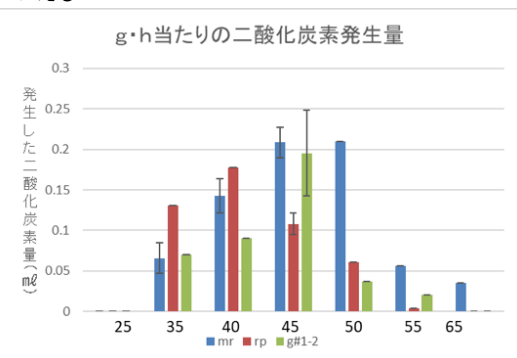


図9. ケカビの25°C~65°C条件における発酵実験での菌体1g時間あたりの二酸化炭素発生量の比較
■ mr: *Mucor rouxii*
■ rp: *Rhizomucor pusillus*
■ G#1-2: G#1-2