

## 雑草からグルコースへの生成の効率化

石川県立金沢泉丘高等学校理数科2年  
7班 稲沖 龍一 内田 陽貴 島上 翔太郎 安田 凱音

### 1. 研究動機

近年、サトウキビやトウモロコシ由来のバイオエタノールがエコ燃料として話題になっている。また、サトウキビ栽培のための過度な農地開拓が南米で環境問題になっている<sup>1)</sup>。そこで私達は、身の周りに豊富にある雑草から効率よくバイオエタノールを作ることができると、エネルギー問題解決のほか、環境問題や食糧問題など様々な問題の解決にもつながると考えた。今回我々は、グルコースの収率の効率化を主に手順の簡略化などについて研究を進める。

### 2. 先行研究

雑草に含まれるセルロースをグルコースに分解し、さらにグルコースを2日ほど酵母菌を用いてアルコール発酵させることでエタノールができるが、セルロースの分解の遅さとコストが課題となっている<sup>2)</sup>。

セルロースの分解方法は主に2つある。(他にも後述する白色腐朽菌を用いる方法がある)

方法①セルロースの分解酵素セルラーゼで分解

方法②酸の加水分解能力を利用した分解

方法①は最も一般的であり、収率が高いが分解スピードが遅い。一方方法②は方法①と比べると、分解スピードは早い収率が低い<sup>3)</sup>。

白色腐朽菌によるリグニンの分解機構は、菌体外に分泌されるリグニンペルオキシダーゼ、マンガンペルオキシダーゼ、ラッカーゼ、および多機能型ペルオキシダーゼの4つのリグニン分解酵素が必要で、白色腐朽菌を利用すればセルロースを糖類へと変換できる。

また、白色腐朽菌は嫌気的な条件が不必要なので、好気的な条件での研究が多く行われていて、嫌気的な条件下での挙動はあまり調べられていない。

白色腐朽菌が分解したグルコースを取り出す方法は明らかになっていない。

### 3. 本研究で明らかにしたいこと

未加工の雑草を使っても加工された粉末セルロースと同じように分解できる条件を明らかにする。本研究では白色腐朽菌を使って、セルロースを分解したときに生じるグルコースの収率をそれぞれ比較する。

### 4. 実験計画

・準備するもの:雑草(イネ科植物)5g、微粉末セルロース5g、菌床(マイタケ)、乳鉢、200mlビーカー、人工気象器、シャーレ  
イネ科の理由:身の周りに豊富にあり、先行研究によく使われているから<sup>4)</sup>。

・実験場所:化学実験室

(実験手順)

菌床を用いた実験

①マイタケの菌床の白色腐朽菌を培養する。

培養方法:カビなどの培養と同様に、分生子(孢子)や菌糸体の切片をシャーレ等の容器に植えて行う。またこのようにして培養した新鮮な菌類を液体培地(低窒素培地)に植菌し、静地培養を行う。高湿度、温度20~40度5)

②培養地から白色腐朽菌を収集する。

③生きた白色腐朽菌を微粉末セルロースと雑草にそれぞれ加える。それぞれ複数の下の条件で分解させ、対照実験をする。

1、人工気象器を使って気温を10℃から60℃の間で5℃ずつ変化させる。

2、湿度を0%から100%の間で10%ずつ変化させる。乾燥した空気が入った空間に一定の水を加えて密閉する。

3、照度を0lxから1000lxの間で100lxずつ変化させる。

4、pHを3.0から7.0まで0.5ずつ変化させる。

5、分解する日数を1日から7日まで1日ずつ変える。

これらの実験から得られたデータでグラフをつくる。

○グラフ(解析方法)について

白色腐朽菌を利用し、セルロース分解行ったときの収率と雑草で行ったときの収率が隣り合うように、変化させた条件ごとに棒グラフで表す。

横軸: 変化させた条件 縦軸: セルロースの糖化割合(%)

○解析して得られること

- ・それぞれの分解方法のうち、どの条件下で最も効率よくセルロースを糖化できるか
- ・セルロースと雑草を比較したときに最も収率の差が小さい条件

④ソモギー・ネルソン法<sup>5)</sup>を用いて生成したグルコースの量をはかり、収率を計算する。

⑤微粉末セルロースを使った場合と雑草を使った場合で収率を比較する。

(i)雑草とセルロースの収量の値が近い条件を確認する。

(雑草を使った場合の収量)÷(セルロースを使った場合の収量)×100の値が一番大きいもの且つ極端に収量が小さいものを除く。

(ii)微粉末セルロースを使った場合と雑草を使った場合のいずれかでグルコースの収率が一番大きい条件。

⑦(i)と(ii)から条件を変えて再度実験をし、収率の効率がよく雑草の加工をあまり必要としない条件を発見する。

ソモギー・ネルソン法: できた液にアルカリ性銅試液を加えて加熱した銅イオンを還元して酸化銅を沈殿させる。

冷却後、ネルソン試液を加えると銅は硫酸酸性でヒ素モリブデン酸を還元してモリブデンブルーの青色を呈するので吸光度計を利用して吸光度を測定し糖量を求める。

## 5. 仮説

- ・白色腐朽菌が持つ分解酵素は主にリグニナーゼ、セルラーゼだが、どちらも最適pHは3~5なので、弱酸性下の条件でグルコースの収率が高い。
- ・きのこは光合成ができず、また林床に生息しているため、照度の小さい条件でグルコースの収率が高い。もしくは、照度はグルコースの収量に影響しない。
- ・マイタケの栽培には温度20℃、湿度80%~90%が適しているため、同じような条件でグルコースの収量が高い。

○解析して得られること

- ・それぞれの分解方法のうち、どの条件下で最も効率よくセルロースを糖化できるか
- ・セルロースと雑草を比較したときに最も収率の差が小さい条件

## 6. 参考文献

1) バイオ燃料の生産がもたらす環境破壊、という矛盾

<https://wired.jp/2012/08/07/biofuel/dc> 2012. 2024年6月14日

2) 産業技術総合研究所、機能化学研究部門、セルロース材料グループ「バイオエタノール生成のためのナノセルロース製造」国立研究開発法人 2020.

[https://unit.aist.go.jp/ischem/ischem-clm/bioethanol\\_pretreatment/bioethanol\\_pretreatment.html](https://unit.aist.go.jp/ischem/ischem-clm/bioethanol_pretreatment/bioethanol_pretreatment.html)

2024年6月10日閲覧

3) 亀井一郎「生物触媒としての白色腐朽菌による脱リグニン同時糖化発酵」日本農芸化学会 2021.

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/59/3/59\\_590301/\\_pdf-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/59/3/59_590301/_pdf-char/ja) 2024年5月14日

4) 農業・食品産業技術総合研究機構「稲わら長者続出?!」2012

<https://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/yakudachi/biofuel/pdf/cacco20110309.pdf> 2024年4月28日

5) 森本 博「木材の腐朽について」1960.

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jtappij1955/14/10/14\\_10\\_644/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jtappij1955/14/10/14_10_644/_pdf) 2024年7月3日