

稲わらから効率的に高濃度糖液をつくる微生物糖化法

稲わら糖化の実装には、糖化反応を維持し高濃度糖液を得る糖化法が必要である。Tween 20（界面活性剤）添加は、酵素の非生産的吸着および酵素活性低下を抑え、高固形分条件での糖化安定化に寄与する。また、Tween 20の添加と、稲わらを段階的に追加投入する半連続運転を組み合わせることで、高固形分条件でも外部酵素添加に依存せずに糖化を維持できる。本手法では、稲わら総投入量 250 g L^{-1} に対しグルコース 140 g L^{-1} （理論収率の 70.1%）が得られる。本成果は、高負荷糖化の条件設定とスケール検討の指針となる。

キーワード：稲わら、微生物糖化、高濃度糖液、半連続運転、Tween 20

背景・ねらい

稲わらはアジア各地で大量に発生し、収穫後の処理として野焼きが行われる地域も多い。野焼きは煙・PM2.5等による大気汚染や健康影響、国境を越えて煙害が広がることもあるなど、地域社会にとって重要な環境課題である。一方、稲わらを糖化して得られる糖液は、燃料（バイオエタノール）に加え、有機酸や日用品原料となる化学品の製造にも利用でき、野焼きに代わる新たな処理・利用の選択肢として有望である。しかし実装には薄い糖液ではなく、後段の発酵・精製工程の効率向上のため高濃度糖液を得ることが必要となる。そのため高固形分糖化が不可欠であるが、基質濃度の上昇は粘度増大による混合不良に加え、糖化酵素の吸着や活性低下、阻害因子の蓄積を招き、糖化プロセスを不安定化させる。また外部酵素添加に依存する従来法は、コストと供給制約の面で普及の障壁となる。そこで本研究では、外部酵素添加を前提としない微生物糖化法を基盤に、界面活性剤の活用と稲わらを培養途中に追加投入する方法（半連続運転）を組み合わせた運転設計により、高固形分条件でも糖化を安定的に維持して高濃度糖液を得る条件を体系化する。

成果の内容・特徴

1. Tween 20（界面活性剤）添加は、酵素の非生産的吸着および活性低下を抑制し、高固形分（高負荷）条件下で微生物糖化を安定化する。Tween 20添加条件では糖生成が向上するだけでなく、培養液中のセルラーゼおよびβ-グルコシダーゼ活性の保持が改善し、糖化が継続しやすい運転状態の確立に有効である（表1）。
2. セルロース分解菌(*Clostridium thermocellum*)と補助菌（β-グルコシダーゼ生産菌 *Thermobrachium celere* A9：特許第 7460978 号）の共培養により微生物糖化法は成立するが、高固形分条件では糖化の進行が不安定化しやすい（図1）。
3. 共培養に Tween 20 添加と稲わらの段階的追加投

入による半連続運転を組み合わせることで、糖化停滞が回避され、高濃度糖液を安定的に得られる。初期 150 g L^{-1} の稲わらで糖化を開始し、その後 100 g L^{-1} の稲わらを追加投入する二段投入の条件では、Tween 20 添加区で総量 250 g L^{-1} 条件でもグルコース 140 g L^{-1} （理論収率の 70.1%）が得られるのに対し（図2A）、Tween 20 無添加区では糖化が不安定化し、得られるグルコースは 99.2 g L^{-1} （理論収率 49.5%）にとどまる（図2B）。

成果の活用面・留意点

1. 本法は、国際農研とキングモンクット工科大学トンブリ（タイ）の共同研究で構築した外部酵素添加に依存しない微生物糖化法であり、稲わらなど未利用バイオマスの糖液製造工程の低コスト化とアジア各地での実装検討に活用できる。
2. 追加投入（半連続運転）と条件設定の考え方は、高固形分糖化の運転安定化に有効であり、実証規模でのスケール検討（基質投入、混合・攪拌、運転管理）の指針として利用できる。
3. 培養を伴うため滞留時間の設計や菌の維持・追加の可否を検討する必要がある。加えて、界面活性剤は最小有効量の設定、安価な代替剤（非イオン性界面活性剤：アルコールエトキシレートやアルキルポリグルコシド等）への置換可能性、後段工程への影響を評価する必要がある。

その他

予算区分：交付金プロ [A2 カーボンサイクル]

研究実施期間：2021～2025 年度

研究担当者：Sreyneang, N., Rattiya, W.（キングモンクット工科大学）、鶴家綾香、小杉昭彦（生物資源・利用領域）

発表論文等：国際農研プレスリリース 2022 年 6 月 微生物の培養だけでセルロースを糖化する技術を開発—微生物糖化法で糖化酵素に要するコストをゼロに一

Nhim et al. (2025) *Frontiers in Microbiology* 15:1519060. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1519060/full>

表1 Tween 20（界面活性剤）添加による稲わらを用いた微生物糖化法に及ぼす影響

Tween 20 (% v/v)	培地中に蓄積された グルコース量(g L ⁻¹)	稲わら* ¹ 中のセルロース成分からの グルコース回収率(%)	セルラーゼ酵素活性 (U/mL)	β-グルコシダーゼ酵素活性 (U/mL)
添加なし	78.8 ± 0.2	65.7 ± 0.2	2.5 ± 0.3	3.0 ± 0.2
0.1	82.5 ± 0.3	68.8 ± 0.3	3.3 ± 0.2	4.5 ± 0.1
0.5	90.8 ± 0.2	75.7 ± 0.2	5.2 ± 0.1	5.3 ± 0.2
1.0	80.8 ± 0.5	67.4 ± 0.5	2.8 ± 0.3	4.5 ± 0.3
1.5	54.8 ± 0.5	45.3 ± 0.5	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.1

*¹アルカリ前処理した稲わらを使用（前処理条件は Nhim et al. (2025)を参照）。稲わら固体負荷 150 g L⁻¹ 条件下における *Clostridium thermocellum* と *Thermobrachium celere* A9 の共培養を用いた微生物糖化試験。Tween 20 は容量比 (% v/v)にて添加している。数値は3回の実験の平均値±標準偏差である。

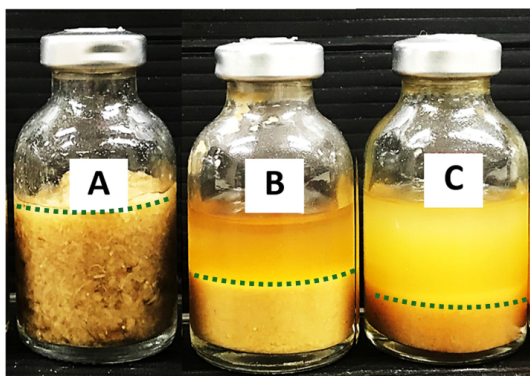


図1 微生物糖化を用いた、150 g L⁻¹の稲わらにおける糖化に対する Tween 20（界面活性剤）添加の影響を示す画像
A. 糖化菌接種なし、B. Tween 20 添加なしの微生物糖化、C. 0.5% Tween 20 添加の微生物糖化の様子を示す。各線は微生物糖化中の基質残量を示す。

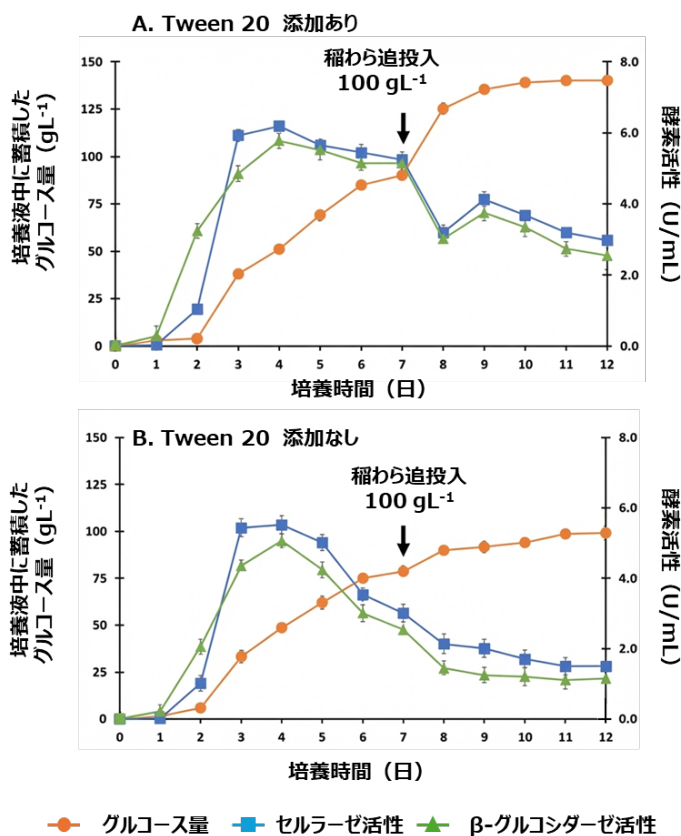


図2 稲わらを用いた半連続運転式微生物糖化初期固体負荷量 150 g L⁻¹で開始し、その後処理済み稲わらを 100 g L⁻¹添加。添加液には 0.5% (v/v)の Tween 20 を含む。A. Tween 20 を添加した場合、B. Tween 20 を添加しない場合、を示す。矢印は稲わら添加時点を示す。データは3回の独立した実験の平均値を示し、エラーバーは標準偏差を示す。

図は Nhim et al. (2025) より CC BY 4.0 に従い転載/改変して作成
© Author(s) 2025 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ja>