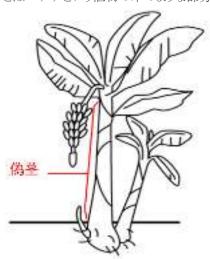
バナナを地球に優しく K.T <科③ゼミ>

2. 実験方法

1. はじめに

バナナは日本で最も消費されている果物であるが、栽培時に数多くの問題を抱えている。その一つとして偽茎の廃棄に関する問題が挙げられる。偽茎とはバナナという植物の木のような部分を指す。



バナナは実を収穫すると、同じ植物から二度と実 を収穫することができないため、収穫後偽茎は処分 されてしまう。偽茎は繊維が強いため、放置してい ても分解されづらく、焼却処分され、この際に多くの 二酸化炭素が排出されてしまう。この状況を打開す るために、バナナの偽茎を有効活用する方法を模 索した。その方法は、バナナの偽茎に含まれるセル ロースからバイオエタノールを生成するというもので ある。具体的な方法として、今回の探求では偽茎に 生えたカビを利用して、偽茎を分解する方法を探っ た。これは、偽茎に生えたカビであれば、偽茎を栄 養として成長していることから、セルロースを分解で きるのではないかとの仮説に基づいたものである。 偽茎に生えたカビからセルラーゼの抽出を試みた。 また、偽茎の繊維は強いため、セルラーゼを使って もエタノール生成に必要な量のグルコースを得るこ とができないかもしれない。そのため、セルラーゼを 使って偽茎が十分に分解できるか確かめた。

実験①

偽茎に付着したカビがセルラーゼを持つか検証

偽茎に付着したカビをセルロースを含んだ培地で培養してセルラーゼを持っているか確認した。培養したカビの中でセルラーゼを持っている可能性があるカビを選別し、それらを再度培養し、実際にセルラーゼを保有しているか確かめた。本研究では、以下の2つの作業を行った。

- ①偽茎に生えたカビからのセルラーゼの抽出
- ②セルラーゼによる偽茎の分解



図1:セルロースを含んだ培地を利用したカビの培養 写真下はコンゴーレッドでセルロースを染色したもの 手順1:セルロースを含んだ培地を利用してカビを 培養

培地組成(蒸留水200ml 寒天 3.5g セルロース 7.0g ペプトン0.05g 小麦エキス0.5g)

手順2:0.3%コンゴーレッド溶液を1~2ml滴下し、1分間培地を染色した。蒸留水で培地を洗浄し、1M NaCl 水溶液を1~2ml滴下し脱色した。脱色班が見えたら蒸留水で培地を洗浄し、5%酢酸を滴下し、数分後に蒸留水で洗浄し脱色班を観察した。手順3:手順2で染色されなかったカビを再度同じ培地を利用して培養

手順4: 再度培養したカビをセルロースを含んだ液体培地で大量培養

液体培地組成(蒸留水400ml グルコース4.0g セルロース10g ペプトン0.40g 小麦エキス1.0g)

手順5:大量培養したカビを遠心分離してカビから 酵素を抽出。酵素にセルロースを入れて分解される か確かめた。

表:時間別カビから抽出した酵素のセルロース分解量

	カビf	カビh
0h	0mg/L	0mg/L
1h	0mg/L	0mg/L
2h	0mg/L	0mg/L
3h	0mg/L	0mg/L
48h	0mg/L	0mg/L

結果より、カビから取り出した酵素にセルロースを投入し、一定以上の時間が経過しても分解されなかったことから、今回バナナの偽茎から抽出したカビからはセルラーゼを抽出することができなかった。

実験②

偽茎がセルラーゼで分解できるか検証 偽茎がカビ由来のセルラーゼによってエタノール生成に十分な量が分解されるか確認した。

手順1: 偽茎に200ml蒸留水を投入し、煮沸

手順2:煮沸後の偽茎にセルラーゼを投入し、35~

38℃の条件下で20時間分解

手順3:グルコース量の測定

手順4:手順2で得た液体にイースト菌3gを投入し、3

分間発酵



図2:エタノール発酵の様子 右:水にイースト菌を投入 左:手順2の液体にイースト菌を投入(気体の発生を確認) 手順5:遠心分離し、エタノールの生成を確認 前記の実験の結果エタノールの生成を確認でき た。よって偽茎を煮沸すればカビから取り出したセ ルラーゼでもエタノール生成に十分な量のグルコー スが得られると言える。

4. 考察

実験①の手順1では、セルラーゼを持つことが示 唆されたカビは複数発見できたが、セルラーゼを抽 出することができなかった。このことから今回の実験 で利用した抽出方法ではセルラーゼを取り出すこと ができない、もしくは、そもそも今回実験に利用した カビがセルラーゼを持っていないと考えられる。今 後、膨大な種類のカビを使い、最適な培地組成や 抽出方法を模索していく。また、実験②では、カビ 由来のセルラーゼ試薬を利用し、偽茎を分解するこ とにより、エタノール生成に十分な量のグルコース が得られることがわかった。このことから、セルラー ゼを安定して得る方法を確立できれば、バナナの 偽茎から安定してエタノールを生成できると推測さ れる。今後環境負荷の少ない方法で偽茎からエタ ノールを生成するためには偽茎に付着したカビの みではなく、すでにセルラーゼを有していることが 確認されているカビや微生物からセルラーゼを抽 出し、バナナの偽茎を分解するうえで最適なセル ラーゼを模索していく。

5. 終わりに

今回の探求ではバナナの偽茎からバイオエタノールを生成することを目標に実験を進めてきた。結果として、エタノールの生成には成功したが、カビからのセルラーゼの抽出はできなかった。今後、効率的にセルラーゼを得る方法を模索していきたい。

6. 謝辞

本研究を進めるにあたり、数多くのご指導をいた だきました飯塚先生、戸井田先生、指導員である反 町先生に心から感謝を申し上げます。

7. 参考文献

[1]川北 龍司(2016)「生物科学班勉強会結果報告 ~セルラーゼ生産糸状菌の分離~」広島大学 [2]Binal Y. Patel, Hiren K. Patel (2022) 「Retting of banana pseudostem fibre using Bacillus strains to get excellent mechanical properties as biomaterial in textile & fiber industry」