

## 0-4. モウソウチク稈水解物のキシリトール発酵

北見工大 ○松本晃幸, 横野圭太郎, 三浦雅弘, 霜鳥慈岳, 青山政和  
北海道三井化学㈱ 中原正博

### [緒言]

タケは気候が温暖で湿潤な地域に広く分布し、わが国では函館以南に分布し、その資源蓄積は300~360万トンと推定されている。わが国で栽培されているタケ林(68,000 ha)の約6割がモウソウチク林(41,100 ha)と言われている。モウソウチク(*Phyllostachys heterocycla* (Carr.) Mifl.)は中国江南地方原産であるが、元文元年(1736年)、薩摩藩による琉球王国経由の移入によって本格的に植栽されるようになったと伝えられている。モウソウチクのヘミセルロースはアラビノグルクロノキシランから構成されており、<sup>1</sup>キシロースの有望な給源の1つである。本報では、モウソウチク稈粉砕物の希硫酸水解を行い、キシロースを高収率で溶出させるための水解条件を検討した。一般に、リグノセルロースの水熱分解に際して、生成した単糖類の脱水反応によって、フルフラールやメチルフルフラールが、また、リグニンから低分子フェノールがそれぞれ副生する。これらはキシロースのキシリトールへの微生物変換において発酵阻害物質として働く。そこで発酵に先立ち炭末を用いて阻害物質を除去し、酵母によるキシリトールの生産性を検討した。

### [実験]

予めモウソウチク稈粗砕物(42-80 mesh)をベンゼン・エタノール(2:1)混液および熱水で順次前抽出し原料とした。抽出済みの稈粗砕物(300 mg)に所定量の希硫酸(1~4%硫酸)を加え、121°C、60分間水解処理した。水解物をろ別し、ろ液中の中性糖をHPLC法(Aminex HPX 87P, Bio-Rad)で定量した。ろ液中の発酵阻害物質は、水解液の280 nmでの吸光度を測定し、フルフラールとして推定した。また、原料に対する反応液の比を1:10~1:3(w/w)に上げ、水解液のキシロース濃度に及ぼす固液比の影響を調べた。さらに水解液中の発酵阻害物質を除去するために、水解液15 mLに所定量の炭末(白鷺M, 日本エンバイロケミカルズ)を加え、毎分160ストロークの往復運動式振とう器を用いて30°C、1時間接触攪拌した。炭末をろ別し、ろ液中の単糖および発酵阻害物質をそれぞれHPLC法と比色法で定量し、炭末の発酵阻害物質除去効果を評価した。菌株は、酵母 *Candida magnoliae* (FERM P-16522; AIST, Tsukuba) を用いた。キシリトール発酵は、1.5Lの培地を含む有効容量2L ジャーファメンターを用い、30°C, pH5.0, 微好気条件下で行った。グルコース及びキシロース等の発酵性の糖類及びキシリトールはHPLCを用いて測定した。

### [結果・考察]

前抽出したモウソウチク稈の化学組成は、ヘキソザン 40.7%(グルカン 39.9%)、ペントザン 18.8%(キシラン 18.0%)、リグニン 27.9%、灰分 0.1%である。前抽出した稈粗砕物を希硫酸で水解すると、硫酸濃度が1~3%の範囲で濃度の上昇にともない水解液中のキシロース濃度は増加し、3%で最大値を与えた(Fig. 1)。さらに硫酸濃度を増加するとキシロース収量は僅かではあるが低下した。キシランは、2~4%硫酸での水解でほぼ定量的にキシロースとして回収されている(94~100%)。一方、水解液中のグルコース収量は原料中のグルカン当り0.1~0.2%にとどまっており、セルロースの加水分解が強く抑制されている。したがって、モウソウチク稈の希硫酸による121°C、60分間の条件での水解処理はキシランに選択的な水解条件と言える。上述した液比条件は、単糖類やリグニン定量条件に準拠したものであり、得られた水解液の糖濃度は極めて低い(3%硫酸処理でキシロース濃度は0.65 g L<sup>-1</sup>)。そこで反応液に対する原料の比を増加した時、水解液の糖濃度におよぼす固液比の影響を調べた(Fig. 2)。固液比は最大で1:3まで上げることができ、キシロース濃度が61.1 g L<sup>-1</sup>の糖液が得られたが、発酵阻害物質の指標であるA<sub>280</sub>値<sup>2</sup>も上昇した。そこで、水解液を炭末処理した結果、炭末添加量の増加(0~15 g L<sup>-1</sup>)にともない吸光度値は大幅に減少したが、各単糖における収率、特にキシロースの収率にはほぼ変化が見られなかった(Fig. 3)。したがって、炭末処理によって発酵阻害物質が選択的に除去されることが明らかとなった。また、炭末接触時間による溶出糖の吸着量の相違が確認されなかったため、炭末への発酵阻害物質の収着は非常に早くしかも選択的に進行すると思われる。発酵前に滅菌処理を行うがその際、系内に硫酸イオンが存在するとキシロースが脱水しフルフラールが生成する。硫酸イオンの除去が必要であると考えられるので、硫酸イオンと反応し水不溶性の沈殿物を生成するCaCO<sub>3</sub>で中和処理を行った。*C. magnoliae*によるキシリトール変換は12時間付近から開始され、約96時間で完了した。このときの初期キシロース濃度17.6 g/Lに対し、最終キシリトール濃度が11.6 g/Lであり、キシリトール収率70%となった。しかし転換時間が長いこと、今後、より短時間で高収率のキシリトールを得るための条件を検討していく。

Fig. 1. Effect of sulfuric acid concentration on hydrolysis of polysaccharides present in the culm of *Phyllostachys heterocyclus*<sup>1</sup>

Sulfuric acid concentration (%)	Yield (%) <sup>2</sup>			
	Glucose	Xylose	Arabinose	Mannose
4	0.9	19.7	1.0	0.1
3	0.7	20.5	0.9	0.1
2	0.5	19.3	0.9	ND <sup>3</sup>
1	0.2	17.0	0.8	ND

<sup>1</sup>Pre-extracted culm of *Phyllostachys heterocyclus* was hydrolyzed with dilute sulfuric acid with a solid to liquid ratio of 1:290 at 121°C for 1 h.

<sup>2</sup>Dry material basis. <sup>3</sup>Not detected.

Fig. 2. Effect of solid to liquid ratio on the concentrations of solubilized sugars and fermentation inhibitors<sup>1</sup>

Solid to liquid ratio	A <sub>280</sub> <sup>2</sup>	Concentration (g L <sup>-1</sup> )		
		Glucose	Xylose	Arabinose
1:10	119	0.7	18.9	0.8
1:5	188	1.4	40.0	2.0
1:3	262	2.2	61.1	2.6

<sup>1</sup>Pre-extracted culm of *P. heterocyclus* was hydrolyzed with dilute sulfuric acid at 121°C for 1 h.

<sup>2</sup>Absorbance of the hydrolyzate at 280 nm.

Fig. 3. Effect of the dose of activated char on removal of fermentation inhibitors from the hydrolyzates<sup>1</sup>

Dose of activated char (g L <sup>-1</sup> )	A <sub>280</sub>	Concentration (g L <sup>-1</sup> )		
		Glucose	Xylose	Arabinose
0	119	0.7	18.9	0.8
5	52	0.7	18.9	0.9
10	16	0.7	18.9	0.9
15	6	0.7	18.8	0.9

<sup>1</sup>Pre-extracted culm of *P. heterocyclus* was hydrolyzed with dilute sulfuric acid with a solid to liquid ratio of 0.1 at 121°C for 1 h.

<sup>2</sup>The hydrolyzates were treated with a commercial activated char (Shirasagi M, Japan EnviroChemicals Ltd.) at 30°C for 1 h.

## [文献]

- 1) 松崎 啓, 守屋正夫, 石田 彰, 祖父江寛. 工化, **65**, 987-989 (1962).
- 2) Tada, K., Horiuchi, J., Kanno, T., Kobayashi, M. *J. Biosci. Bioeng.*, **98**, 228-230 (2004).