

## O-1 チシマザサ稈水解物のキシリトール発酵

北見工業大学 バイオ環境化学科 三浦雅弘, 妹尾朋暁, 霜鳥慈岳, 青山政和

### [緒言]

北海道の森林では下層植生としてササ類が広く分布しており, その資源蓄積は 1 億 5 千万トンと推定されている. ササ類は生長が非常に速く, 再生可能な循環型森林資源である. しかし, その膨大な資源も利用度は極めて低く, 資源全体から見ればほとんどが未利用の状態に放置されている. ササ類のヘミセルロースは主としてキシランから構成されており, キシロースやキシリトールの有望な供給源の一つである. とりわけキシリトールは, 砂糖と同程度の甘味度を示し, 口内で冷涼感を与え, 虫歯の原因となる細菌類に利用されないこと, インスリン非要求性など優れた食品機能性を示し, 甘味料や, 歯磨粉や洗口液などのオーラルケア商品に広く利用されている. 現在, キシリトールは, トウモロコシの穂軸や広葉樹パルプ廃液中から得られたキシロースを接触還元することにより工業生産されている. しかし, 現行の化学還元法では高純度のキシロースが要求され, 糖液の精製コストが製品価格に転嫁されることが課題とされている. 近年, 現行法に代わる代替プロセスとして微生物変換によるキシリトールの生産が注目されている. 本研究では, チシマザサ(*Sasa kurilensis*)稈から糖液を調製し, 酵母 *Candida magnoliae* を用いたキシリトール発酵生産を検討した.

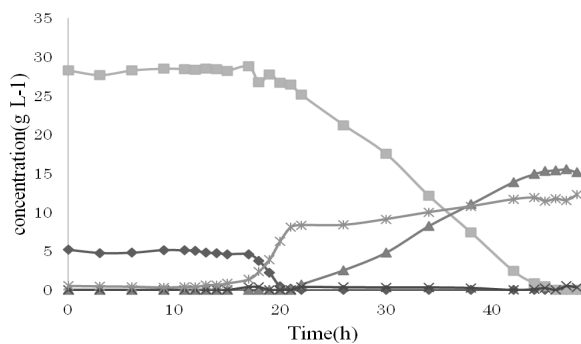
### [実験]

チシマザサ稈粗砕物(42-80 mesh)を, 2%硫酸に対する原料の割合を 1 : 6 とし, 121°C, 1 時間の条件で水解した. 予め醗酵阻害物質を除去するために, 水解液に粉末活性炭(白鷺 M, 日本エンバイロケミカルズ)を所定量(10, 15, 20 g L<sup>-1</sup>)に加え, 毎分 160 ストロークの往復運動式振とう器を用いて 30°C, 24 時間振とう接触した. ろ液中の中性糖, フルフラール, 5-ヒドロキシメチルフルフラール(HMF), 酢酸は HPLC 法により定量した. 炭末処理を行った水解液は炭酸カルシウムで中和し, 栄養源としてカザミノ酸 1.0 g L<sup>-1</sup>, 尿素 2.27 g L<sup>-1</sup>, ニトロゲンベース 1.7 g L<sup>-1</sup> を加えて発酵培地を調製した. 滅菌した発酵培地は, 先ず, 30°C, pH5.0 の好気条件でグルコースを消費させ, 続いて攪拌速度, 通気量を調節した微好気条件で発酵した. 糖類及びキシリトールは経時的にサンプリングし HPLC 法で定量し, 菌体重量は比色法で定量した.

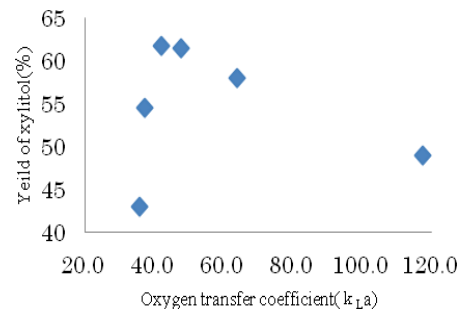
### [結果・考察]

ササ稈からキシロースを主成分とする糖液の調製に際して, 水解条件を 121°C, 1 時間とした場合, 2%硫酸が最大のキシロース収率を与えることが明かにされている.<sup>1,2</sup> 本研究では, チシマザサ稈から 2%硫酸を用いた水解で, キシロース濃度 31.1 g L<sup>-1</sup> の糖液が得られた. 一般に, 木質原料を水熱処理すると, 水解液中には有機酸, フラン誘導体, 低分子フェノール類等が含まれる. これらの化合物は微生物代謝を著しく阻害するため,<sup>3</sup> 発酵操作に先立ちこれらの阻害物質を除去しなければならない. 簡便で効果的な発酵阻害物質の除去法として活性炭処理が用いられている.<sup>4,5</sup> チシマザサ稈水解液中には 6 g L<sup>-1</sup> の酢酸, 0.25 g L<sup>-1</sup> のフルフラール,

0.36 g L<sup>-1</sup>のHMFおよびリグニン由来のポリフェノールが含まれていた。水解液を活性炭処理(0~20 g L<sup>-1</sup>)したところ単糖類や酢酸の濃度に大きな変化は見られず、フラン類やフェノール類の指標となる波長 280 nm での吸光度(A<sub>280</sub>)<sup>6</sup>は活性炭投与量の増加に伴い低下した。培地のA<sub>280</sub>値が20以上の場合、発酵に支障をきたすことから、<sup>7</sup>活性炭投与量を15 g L<sup>-1</sup>として、阻害物質の除去操作を行なった。キシリトール発酵での最も重要なパラメータは初期キシロース濃度と溶存酸素量である。<sup>8</sup>そこで、まず攪拌速度300~500 rpmの条件でキシリトール生産を比較した。攪拌速度350 rpmのとき比較的高収率なキシリトール生産が認められ、次いで通気量の調整により最適な通気条件(k<sub>L</sub>a = 42.0 h<sup>-1</sup>) (Fig. 1)を明らかにした。この通気条件でキシリトール収率は62%であった(Fig. 2)。活性炭処理後も大半の酢酸が糖液中に溶存しており、発酵の生産性を低下させていると考えられる。この簡便な解決策として糖液の減圧濃縮を検討する予定である。



**Fig. 1.** Time course of xylose (-■-), glucose (-◆-), xylitol (-▲-), ethanol (-×-) and biomass (-\*-) concentration in batch xylitol fermentation by *Candida magnolia* from detoxified *Sasa kurikensis* culm hydrolysates (k<sub>L</sub>a = 42.0 h<sup>-1</sup>)



**Fig. 2.** Influence of k<sub>L</sub>a on fermentation of *Sasa kurikensis* hydrolyzate into xylitol by *Candida magnoliae*

## [参考文献]

- 1) Miura, M., Yokono, K., Miyamoto, H., Aoyama, M., Tada, K., Horiuchi, J., Kojima, Y., Sakai, C., Nakahara, M. *Eur. J. Wood Prod.* **68**, 139-142 (2010).
- 2) Miura, M., Shimahata, A., Nishikawa, T., Aoyama, M., Tada, K., Horiuchi, J., Nakahara, M., Sakai, C. *J. Mat. Cycles Waste Manag.* **13**, 80-83 (2011)
- 3) Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B. *Biores. Technol.* **74**, 25-33 (2000).
- 4) Parajó, J.C., Domínguez, H., Domínguez, J.M. *Biores. Technol.* **66**, 25-40. (1998).
- 5) Mussatto, S.I., Roberto, I. C. *Biotechnol. Lett.* **23**, 1681-1684 (2001).
- 6) Martinez, A., Rodriguez, M.E., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O. *Biotechnol. Prog.* **16**, 637-64 (2000).
- 7) Tada, K., Horiuchi, J., Kanno, T., Kobayashi, M. *J. Biosci. Bioeng.* **98**, 228-230 (2004).
- 8) Silva, S.S., Felipe, M.G.A., Mancilha, I.M. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **70-72**, 331-339 (1998).