シラカンバ材水解物の活性炭処理

（北見工業大学）丹治未菜，三浦雅弘，霜鳥慈岳，青山政和
（北海道立総合研究機構　森林研究本部　林産試験場）原田　陽

【はじめに】

広葉樹材細胞壁構成成分の約25%を占めるヘミセルロースは，比較的温和な条件で分離，抽出される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である．本研究は，キシリトールの原料となるキシロースを広葉樹残廃材から製造する目的で，北海道の森林に広く分布し，資源蓄積も多いシラカンバ材 (広葉樹総蓄積の23%)の希硫酸水解を検討した．一般に水熱処理で木質原料から調製された糖液中には，細胞壁構成成分に由来する発酵阻害物質が含まれている.[1] そのために発酵に先立つ前処理として，活性炭による水解液中の発酵阻害物質の除去を検討した.

【実験】

食用きのこの菌床栽培用として市販されているシラカンバオガ粉を粉砕分級し，P32-R80 mesh 部を水解原料とした．水解原料の化学組成は，ヘキソザン 37.0%(グルカン 35.3%を含む)，キシラン 19.1%，リグニン 29.0% (酸可溶性リグニン 3.1%を含む)，灰分 0.7%である．シナノキ材からキシロースを選択的に調製する至適水解条件は，温度を 121ºC とすると，硫酸濃度 3%，反応時間 60 分であることが報告されている.[2] そこで 3%硫酸を用いて，固液比 0.2(g g^{-1}，希硫酸に対する基質量), 120 ºC, 60 分の条件で水解液を調製し，市販活性炭の発酵阻害物質除去効果を調べた．水解液に所定量の水蒸気賦活炭(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 時間振とう，接触させた．炭末をろ別し，ろ液中の中性糖 (Aminex HPX 87P, Bio-Rad) および発酵阻害物質(Shodex SH，昭和電工)をそれぞれ HPLC 法で定量し，発酵阻害物質除去に及ぼす活性炭処理の効果を評価した.水解液中のフェノール量は Mussatto ら[3]の方法に従いの比色法で推定した.

【結果】

Effland のリグニン定量法[4]に基づくシラカンバ材からのグルコース収量は 39.2.%(対原料重量%)であるが，直接 3%硫酸で固液比 0.2 の条件で水解すると，グルコースの収量は 1.7%に大きく低下した．一方,キシランの水解に関しては, 3%硫酸水解でキシロース濃度 37.7 g L^{-1}(対原料に換算して約 19%収量)の糖液が得られ，原料中のキシランの 87%がキシロースとして回収された. Parajó ら[5]は, *Eucalyptus globulus* 材を 3%硫酸，固液比 0.125, 130ºC, 1 時間の条件で水解し, 13.6%の収量でキシロースを得ている． また,シナノキ材の 3%硫酸，固液比 0.2, 121ºC, 1 時間の水解処理で，キシロース濃度 31.9 g L^{-1}(対原料で約 16%収量)の糖液が得られている.[3] したがって，キシロース生産を目的とする場合，シラカンバ材は原料としてシナノキ材やユーカリ材よりも優れ，比較的温和な希硫酸水解が木質原料から簡便かつ選択的にキシロースを生産するプロセスであると言える.

一般に木質部の水熱処理では，処理過程でアセチル化した糖単位から酢酸や，一旦溶出したペントースやヘキソースの脱水生成物であるフルフラール, 5-ヒドロキシメチルフルフラール(HMF)，リグニン由来の低分子フェノール類が副生する．これらの化合物は酵母に対し代謝毒性を示し, 木質水解物中の糖類の発酵変換を著しく阻害する. Gong ら[6], Lee ら[7]は発酵阻害物質の除去に活性炭処理が有効なことを示した．さらに最近，製糖工場で用いられている水蒸気賦活炭処理によって容易にササやタケ水解物から発酵阻害物質が除去されることも報告されている.[8]

Table 1 にシラカンバ水解液の組成に及ぼす水蒸気賦活炭処理の効果を示す．水解液は，発酵阻害物質として, 11.3 g L^{-1} の酢酸, 0.67 g L^{-1} のフルフラール, 0.03 g L^{-1} の HMF, 280 nm での吸光度約 90 を与える濃度のフェノール類を含んでいた. Delgenes ら[9]は 0.5, 1 g L^{-1} のフルフラールが存在すると酵母(*Pichia*

stipitis)の細胞増殖がそれぞれ25%, 47%低下すると報告している. Watsonら[10]は，酢酸濃度が1.45 g L^{-1}を超えると，酵母(*Pachysolen tannophilus*)の増殖が完全に阻害されると報告している．酢酸の代謝阻害機構は，非解離型の酢酸が酵母細胞の細胞質に拡散し，解離し細胞内のpHを下げ，エネルギー代謝や栄養分の輸送を阻害すると考えられている．水解液を炭末処理した結果，活性炭添加量の増加(5～25 g L^{-1})に伴い280 nmでの吸光度値とフルフラール濃度は減少したが，各中性糖の濃度，とりわけキシロース濃度には大きな変化が見られなかった．一方，水解液中の酢酸は，活性炭処理後もその大半が水解液中に残存していた．活性炭処理はフェノール類や糖脱水生成物であるフラン類の除去には有効であるが，酢酸除去には大きな効果が認められなかった. Parajóら[11]も*E. globulus*材水解液の活性炭処理で同様の結果を得ている．キシロースを主成分とする木質物の水解液を発酵基質として利用する場合には，水解液から代謝阻害の原因とならないレベルまで酢酸を除去する必要がある．

Table 1. Effect of carbon dose on the chemical composition of birch wood hemicellulose hydrolysate[*1]

Carbon		Concentration (g L^{-1})					
(g L^{-1})	A_{280}[*2]	Glc[*3]	Xyl[*3]	Ara[*3]	Furfural	HMF[*3]	Acetic acid
0	88.8	3.4	37.7	1.2	0.7	-[*4]	11.3
5	80.4	3.1	35.8	1.3	0.5	-	9.7
10	24.4	3.6	37.1	1.0	-	-	9.5
15	20.4	3.5	37.2	1.0	-	-	9.3
20	8.6	3.1	36.3	1.0	-	-	9.1
25	6.9	3.2	35.3	1.1	-	-	8.9

[*1]Ground Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) wood was hydrolyzed with 3%sulfuric acid with a liquid to solid ratio of 5 at 120ºC for 1 h. Sorption experiments were conducted by agitating the hydrolysate with a steam-activated char (Shirasagi A, Japan EnviroChemicals, Ltd., Osaka, Jpn) in a reciprocal shaker (160 strokes min^{-1}) to 30°C for 1 h. The resulting sugar solution was filtered and neutralized with calcium carbonate, followed by centrifugation. [*2]Absorbance at 280 nm. The pH of the test solutions was adjusted to 12 according to the method of Mussatto *et al.*[4] [*3]Glc: Glucose; Xyl: Xylose; Ara: Arabinose; HMF: 5-Hydroxymethylfurfural. [*4]Less than 0.1 g L^{-1}.

【文献】

1) E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal: *Biores. Technol.* **74**, 25-33 (2000).

2) T. Yamaguchi, M. Aoyama: *Cellulose Chem. Technol.* **44**, 293-298 (2010).

3) I.S. Mussatto, J.C. Santos, I.C. Roberto: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **79**, 590-596 (2004).

4) M.J. Effland: *Tappi* **60**(10), 143-144 (1977); R.C. Pettersen *et al.*: *J. Chromatog. Sci.* **22**, 478-484 (1984).

5) J.C. Parajó, H. Domínguez, J.M. Domínguez: *Bioprocess Eng.* **13**, 125-131 (1995).

6) C.S. Gong, C.S. Chen, L.F. Chen: *Appl. Biochem. Biotechnol.* **39-40**, 83-88 (1993).

7) W.G. Lee *et al.*: *Appl. Biochem. Biotechnol.* **77-79**, 547-559 (1999)

8) M. Miura *et al.*: *Eur. J. Wood Prod.* **68**, 139-142 (2010); *J. Mater. Cycles Waste Manag.* **13**, 80-83 (2011); *Wood Sci. Technol.* Published on-line on the 26th of September,2012.

9) J.P. Delgenes, R. Moletta, J.M. Navarro: *Enzym Microb. Technol.* **19**, 220-225 (1996).

10) N.E. Watson, B.A. Prior, P.M. Lategan: *Enzym Microb. Technol.* **6**, 451-456 (1984).

11) J.C. Parajó, H. Domínguez, J.M. Domínguez: *Biores. Technol.* **57**, 179-185 (1996)