

酵素糖化に及ぼす

湿式ジェットミル粉碎時の pH の効果

阿部祥忠*¹、森川豊*¹、伊藤雅子*¹、楳田慎一*²

Effect of Wet-milling pH Conditions on Enzymatic Saccharification

Yoshitada ABE, Yutaka MORIKAWA, Masako ITOU and Shinichi UMEDA

Research and Development Division ,AITEC*¹, Yoshida Kikai Co. Ltd*²

食糧と競合することのないセルロース系バイオマス資源からバイオエタノールを高効率かつ低コストに生産することを目的に、高温高压処理及び粉碎を連続に行う新規な装置を用い、トマトの葉茎の処理試験を行った。本研究では、酵素糖化率の向上を目指し、リグニンを含むトマトの葉茎の混濁液の pH が、湿式処理に及ぼす影響を検討した。トマトの葉茎の混濁媒として、イオン交換水、pH 5 及び 12 の緩衝液を用いて湿式処理を行ったところ、pH 5 の緩衝液を用いた混濁液の処理後の酵素糖化率は、室温及び 180°C 処理ともに、イオン交換水使用時より増加することが分かった。

1. はじめに

食糧と競合することのないセルロース系バイオマス資源は、大気中の二酸化炭素量増加を招くことのない、いわゆるカーボンニュートラルな資源であり、有効活用技術の開発が強く望まれている。

セルロース系バイオマス資源からバイオ燃料やバイオプラスチックの原料となるグルコースを製造するためには、粗粉碎、微粉碎、リグニン除去・加圧加熱処理などの前処理工程、及び酵素糖化工程など非常に多くの工程を必要とする。一般に、セルロースは酵素糖化効率が低いことから、前処理に多くのエネルギー投入が必要となり、高額な酵素を多く使用している。

我々は、これら問題を解決するために、セルロース系バイオマス資源の粉碎工程と高温高压処理工程を連続化する湿式処理装置の開発を行った¹⁾。開発装置は連続化による前処理の効率化が可能ならぬに、処理したセルロース系バイオマス資源の酵素糖化性を向上させた。本研究では、開発装置による処理効率をさらに向上させることを目的として、セルロース系バイオマス資源として、愛知県において、特に多い農業系廃棄物であるトマトの葉茎を用い、湿式処理時において、pH が酵素糖化率に与える影響を検討した。

2. 実験方法

2.1 試料及び試薬

セルロース系バイオマス試料は、トマトの葉茎を乾式粉碎後篩い分けし、100 μ m の篩目下の試料を用いた。セルロース糖化用酵素には、セルラーゼ A「アマノ」3、セルラーゼ T「アマノ」4、及びヘミセルラーゼ「アマノ」90（全て、天野エンザイム(株)製）を用いた。

2.2 粉碎及び加熱高压処理

高压湿式粉碎が可能なナノマイザー（吉田機械興業(株)製）に加熱装置を取り付けて、室温及び 180°C の加熱条件下で試験を行った。重量比で 1% になるように試料を、イオン交換水、リン酸 Na 緩衝液 (pH 5) 及び水酸化 Na 緩衝液 (pH 12) にそれぞれ混濁し、試験に供した。ポンプの試料送り速度を調整し、処理圧力が 180 MPa の条件下で、5 回処理を行った。

2.3 酵素糖化

粉碎処理を行っていない未処理の試料、及び粉碎処理後の試料 100 ml を三角フラスコに投入し、1N の HCl で pH 5 に調整後、121°C で 15 分間殺菌処理した。冷却後、三角フラスコに酵素を無菌的に投入し、50°C の環境下において 180 rpm で 72 時間振とうし反応させた。酵素量は、試料 1 g あたり各 20 mg とした。

2.4 分析

ホロセルロースの定量は、試料を酢酸溶液中で亜塩素酸漂白して得られた固形分の重量で求めた。試料の α -セルロースの定量は、ホロセルロースをさらに水酸化ナトリウムを用いてアルカリ処理し、ガラスフィルタで濾

*1 基盤技術部（現工業技術部 環境材料室） *2 吉田機械興業(株)

過回収した固形分の重量で求めた。ヘミセルロースを除きグルコースの定量分析は、グルコースC IIテストワコー（和光純薬㈱製）を用いて行った。糖化後の全糖の定量分析は、フェノール硫酸法を用いて行った。平均粒子径の測定については、BECKMAN COULTER（株）の粒度分布測定装置を用いた。

3. 実験結果及び考察

3.1 トマト葉茎の成分分析

試験に使用したトマトの葉茎の成分分析結果を、表1に示す。トマトの葉茎は、リグニン量が少なく10.7%であった。また、灰分量は、25.9%と非常に多かった。水耕栽培用の肥料が、灰分量に影響していると考えられる。

表1 トマトの葉茎の成分

| 成分 | 成分割合 (%) |
|-----------------|----------|
| 水分 | 8.7 |
| 灰分 | 25.9 |
| リグニン | 10.7 |
| ホロセルロース | 46.8 |
| α -セルロース | 22.7 |
| タンパク質 | 14.1 |

3.2 トマト葉茎の連続加熱加圧処理

トマトの葉茎を、イオン交換水、pH 5の緩衝液及びpH 12の緩衝液に、1% (w/w) で混濁させた試料を、それぞれ室温及び180℃にて連続処理した。各々、処理前は水に対して沈降したが、処理後の試料は処理温度に関わらず水への分散性が向上し沈降しにくくなった。

処理後の試料を酵素加水分解し、溶液中のグルコースや全糖の分析結果及びトマトの葉茎の成分分析結果を基に、ホロセルロースや α -セルロースの分解率を算出した。未処理の場合に比べ、処理後の試料の分解率は向上した。pH 5で処理した場合、イオン交換水で処理した場合に比べ、グルコース量及び全糖量共に増加し、ホロセルロース分解率及び α -セルロース分解率共に向上した（図1）。

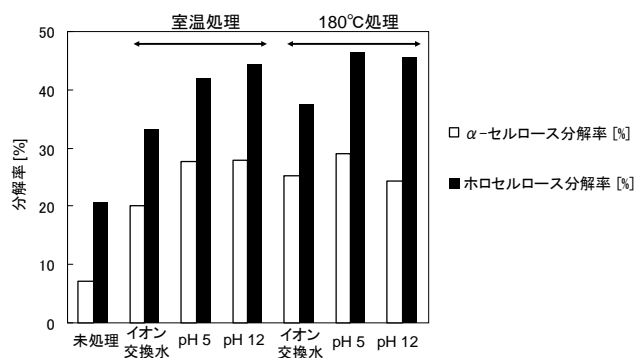


図1 様々な条件で処理したトマトの葉茎の分解率

また、電子顕微鏡（SEM）を用いて、分解率が大きく向上した、pH 5の混濁液を180℃処理した試料の観察を行ったところ、処理前の形状がブロック状であったのに対し、処理後については、試料が裂け、板状になっていることが確認された。（図2）。

エラー! 編集中のフィールド コードからは、オブジェクトを作成できません。 エラー! 編集中のフィールド コードからは、オブジェクトを作成できません。

図2 湿式処理前後のトマトの茎のSEM像
(左: 処理前、右: pH 5 混濁液, 180℃処理後)

さらに、平均粒子径については、未処理の試料と比較すると、pH 5で処理した場合に大きく減少した。（表2）。pH 5では、細かく粉砕されることで、比表面積が増加し、分解率の増加につながったと考えられる。pH 5の処理では、試料の酸分解が起こった可能性が示唆される。

表2 湿式処理前後の粒子径

| RUN | 平均粒子径 (μm) |
|-------------|-------------------------|
| 未処理 | 125 |
| イオン交換水 室温 | 50.6 |
| pH 5 室温 | 48.1 |
| pH 12 室温 | 92.0 |
| イオン交換水 180℃ | 60.8 |
| pH 5 180℃ | 34.4 |
| pH 12 180℃ | 91.7 |

4. 結び

共同開発した連続処理装置で処理したトマトの葉茎の分解（酵素糖化）率は、処理温度と共に混濁液のpHの影響を受けることが示された。特に、pH 5の緩衝液を使用して処理を行った場合、ホロセルロース分解率及び α -セルロース分解率共に向上することが分かった。酸性側のpHで高温高圧処理を行うことで、より粉砕が促進され、比表面積が増加し、分解率が増加した可能性が示唆される。また、粉砕後にpHの調整なしに酵素糖化を行うことが可能であるため、コストの低減化が期待できる。

文献

- 1) 阿部祥忠 : 化学工学会第42回秋季大会要旨集, (2010)