

バイオマスからのキシロースと キシリトールの微生物生産

高見澤一裕*1・河合 啓一²・鈴木 徹³

キシロース (D-キシロース) は木糖とも呼ばれ、文字通り、木に含まれている糖で、かなり苦味がある。構造は5炭糖で、資源量としては6炭糖であるグルコースと同程度である。グルコースは、甘味料として食生活に大量に使用され、さらに、発酵工業や各種の化学工業で原料として使用されているが、キシロースはほとんどが利用されていない。資源量として豊富であるのになぜ利用されないのであろう？ その答えは価格にある。ブドウ糖は、砂糖を加水分解することで簡単にかつ安く手に入るが、キシロースの入手は困難である。その理由は、どの植物にたくさん含まれているかの情報が不十分であることと、取り出し方に良い方法がないからである。

バイオマス・ニッポンが提唱され、地球温暖化防止と循環型社会構築のためにカーボンニュートラルであるバイオマスの利用が叫ばれている。バイオマスは石油に匹敵する資源量があると試算され、新たな産業の創出につながると期待されている。バイオマスは再生可能な資源であるため、理屈で考えると再生産量に見合う量を利用すれば、永遠に資源は枯渇しないことになり、理想的な資源である。

しかし、現状はエネルギー利用に主眼が注がれ、新産業が創出できるような状況にはない。その原因は、バイオマスに含まれる化学組成がはっきりせず、個々の研究者がばらばらにデータを取得し、まとまったデータベースがないためと考えられる。日本には、食品分析表という世界に冠たる食品成分のデータベースがあり、これを利用したさまざまな食品や医薬品の開発が行われている。すぐれたデータベースは、産業の隆盛につながる。バイオマスのデータベースが整備されることを望んでいる。

筆者らは、植物残渣として廃棄されるバイオマスの有効利用、特にキシロースの利用を考えて、植物系廃棄物中に含まれる糖質系のデータベースの作成と、それらの廃棄物からのキシロースの抽出方法とキシリトールへの変換方法を検討してきた。その一端を紹介する。

植物系廃棄物の糖質組成¹⁻⁴⁾

植物は一般に、セルロース、ヘミセルロース (主にキ

シラン)、リグニンからなっている。セルロースはグルコースのポリマー、リグニンはポリフェノールの複雑な構造をしている。目的のキシロースはヘミセルロース(キシラン) 中にポリマーとして存在し、これらは複雑に絡み合った強固な構造をしており、それゆえ、木や草はまっすぐに立っている。

キシロース量を正確にするには、まず、脱リグニンしてセルロースとヘミセルロースの複合体を得、次に、セルロースをアルカリ分解で除去し、残ったヘミセルロースを加水分解して最終的に糖質成分を分析するという複雑な操作をしなければならない。これらの操作は木材の分析のために発展してきたもので廃棄植物成分のために検討されたものではない。そこで、分析方法の検討から開始し、最適分析条件を求めた。

各種植物の殻や皮など15種類と食品工業廃棄物(具体的にはジュース、清涼飲料水の製造残渣) 5種類の分析を行った。選んだ植物は、FAO統計年間を参考にし、世界的にみてその生産量が多く、しかも廃棄率が高いと考えられるものである。なお、トウモロコシの穂軸、サトキビの滓も大量に産出しているが、これらはアルコール・

表1. 各種植物系廃棄物の化学分析による組成¹⁻⁴⁾

	ヘミセル ロース	セルロース	その他	ヘミセル ロース中の キシロース
ピスタチオ殻	49	40	12	36
クルミ殻	34	41	25	19
ヒマワリ種殻	28	47	25	18
ブナ	23	43	35	17
雑草	35	36	29	14
大麦の籾殻	30	44	26	14
クリの殻	30	46	24	13
タケ	34	36	30	13
スギ	21	49	30	11
イネの籾殻	38	35	27	11
ギンナン殻	45	32	23	8.7
イナワラ	31	39	30	8.5
ピーナッツ殻	23	51	26	8.4

単位はすべて、g/100 g 試料

* 著者紹介 ¹岐阜大学応用生物科学部 (教授) 〒501-1193 岐阜市柳戸 1-1
TEL. 058-293-2906 FAX. 058-293-2906 E-mail: tak2003@cc.gifu-u.ac.jp

²岐阜大学応用生物科学部, ³岐阜大学生命科学総合実験センター

乳酸発酵原料などとして、主に中南米でその有効利用がなされているので除外した。

結果の一例を表1に示す。クルミ、ピスタチオ、ヒマワリの種の各々の殻には18%以上のキシロースが含まれている。特に、ピスタチオ殻には36%が含まれていた。ブナののこ屑、雑草、ムギのもみがら、タケやスギののこ屑、クリの皮にも11-17%のキシロースが含まれ、ギンナン、ピーナッツの各殻とイナワラにも約9%が含まれていることが分かった。また、麦茶の搾りかすには、キシロースはあまり含まれていないが、グルコースが20%含まれていた。

これらのデータは非常に興味深いものである。すなわち、たとえばピスタチオの殻と麦茶の搾りかすの両者を合わせると、興味ある発酵原料になる可能性を示している。また、砂糖の吸収を阻害することで最近注目を集めているアラビノースがスギののこ屑やクリの皮に6%含まれていることもわかった。

植物系廃棄物からのキシロースの抽出方法¹⁻⁴⁾

植物系廃棄物からキシロースを抽出する方法として、物理的方法、化学的方法、酵素を用いる方法を検討した。ここでは、酵素法を中心に説明する。

キシランは、キシロースから成る主鎖にアラビノースやグルクロン酸が側鎖として結合している。キシロースを得るには、主鎖を切断するエンド- β -1,4-キシラナーゼ、キシラナーゼによって生成するキシロビオースを加水分解する β -D-キシロシダーゼと側鎖を切断する α -L-アラビノフラノシダーゼが必要となる。さらに、キシランと入り組んだセルロースも分解する必要もある。キシラナーゼの高生産菌 *Penicillium* sp. AHT-1 (60 U/ml) およびキシロシダーゼとアラビノフラノシダーゼの高生産菌 *Rhizomucor pusillus* HHT-1 (各々 0.16 U/ml, 0.42 U/ml) を各々新たに見つけ出し、さらに場合によっては市販のセルラーゼも使って、各種植物系廃棄物の加水分解とキシロースの抽出を行った。試料を90 μ m以下に粉碎して実験を行った。

キシロースの抽出率は、キシラナーゼ単独処理 (*Penicillium* sp. AHT-1 の粗酵素液) では一般的に非常に低い。このキシラナーゼはエンド型であるため、オリゴ糖が最終産物となる。したがって、キシロシダーゼを作用させることによってキシロースの抽出率は飛躍的に高まる。ピスタチオの殻、ピーナッツの殻、クリの殻を試料とした場合は、100%の回収率となった。これらの試料のキシランの構造はホモキシランであることが推測で

きる。なお、反応時間は72時間に統一したが、24時間の反応では試料にもよるが72時間での回収率に比べて約30%低い。さらに、粒度が90 μ m以上となるとほとんど反応は起こらない。

粒度を90 μ m以下にしてヘミセルロース分解酵素群を作用させると少なくとも70%の回収率が得られることがわかった。

また、粉碎の条件や試料によっては、品種による差であるのか保存の影響なのか不明であるが、著しく同時反応では回収率が悪くなる場合がある。その場合はセルラーゼ、アラビノフラノシダーゼ、キシラナーゼ、キシロシダーゼの順に酵素を使って解決できる。

キシロースからキシリトールへの微生物変換

植物系廃棄物から酵素を利用してキシロースが高い収率で抽出できることを示した。次に、キシロースからより付加価値の高いものを生産することを考えた。そのひとつとしてキシリトールを選んだ。キシリトールは、甘味料として平成9年4月以来、年間10,000トンも使われるようになった。しかし、その製造方法はシラカバを原料とした化学合成法で、収率は50%である。そこで、植物系廃棄物を原料とする微生物法を試みた。

キシロースは、通常、キシロースないしキシリトールを経てペントースリン酸経路に入ってエネルギー代謝される。キシリトールを蓄積させるには、キシロースイソメラーゼとキシリトールデヒドロゲナーゼの存在が鍵となることがわかる。キシロース資化性微生物のうち、キシロースイソメラーゼ活性がない微生物として酵母 *Candida tropicalis* IFO 0618株を選んだ。酸化還元の影響によってキシリトールを蓄積させる培養工学的戦略である。まず、遊離細胞を利用した変換を検討し、培地組成を実験計画法で最適化することによって、培養時間36時間で、最大生産速度2.67 g/l/h、変換収率59%を得た。⁵⁾ 次に、キシリトールの培養液からの分離精製工程を簡略化するために固定化培養を検討した。セラミックビーズに菌体を固定化し、グルコースを流加することによって、1バッチの培養時間64時間で、最大生産速度1.35 g/l/h、収率69%で5回の繰り返し培養を行うことができた。⁶⁾

さらに、収率を向上させるために、補酵素の供給源としてグルコースに着目し、グルコースを添加する培養方法を考案し、培養時間32時間で、最大生産速度3.26 g/l/h、収率82%を得た。⁷⁾ これらの結果は、精製キシロースを使用したものであり、最適な条件を得ようとした研究であ

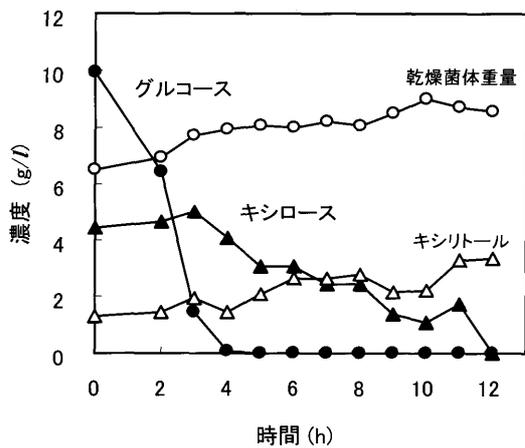


図1. プナのこの屑からのキシリトール生産

る。

また、キシリトール生産のオンライン制御を目指してキシリトールデヒドロゲナーゼ、ジアフォラーゼ、メディエーターとしてのビタミン K、酸素電極からなるバイオセンサーも開発することができた。⁸⁾

次に、実際の試料での研究を開始した。

ブナのこの屑を試料とした例を図1に示す。ブナのこの屑から収率24%でキシロースを抽出し、その50%をキシリトールへ変換できた。すなわち、ブナのこの屑からのキシリトール収率は12%である。

一連の研究では、植物系廃棄物から最終目的であるキシリトールを生産するために、3種類の微生物 (*Penicillium* sp. AHT-1, *R. pusillus* HHT-1, *C. tropicalis* IFO 0618) を利用することになる。さらに、いずれも活性の高い菌であるが、キシリトールを食品添加物として使用するならば、発酵生産に使用する菌株の安全性の確認が不可欠である。むしろ、安全性の確かめられている麹菌を遺伝子組換えの方が現実的であろう。そのため、クローニングによって1種類の菌で生産することを試みている。⁹⁾ なお、3種類の微生物を用いて生産する場合のコストは、新

規設備投資なしで行えば、現状のキシリトールの価格と同等で供給できる試算となった。

実用化に向けて解決しなければならない点をあげると、

- 1) キシロースの抽出に関しては、粒度をいかにして安価で細かくするか、すなわち微粉碎技術の開発
- 2) 加水分解で生じるキシロースの精製方法
- 3) ヘミセルロース活性が高く、かつキシリトールデヒドロゲナーゼ活性が低いキシリトール蓄積型の麹菌のクローニング
- 4) キシリトールの精製方法であろう。

キシロースからは、キシリトール以外にもグリセロール、フルフラール、アセトン、ブタノール、乳酸など多種の物質が合成できる。安く抽出でき、工業的に供給できれば新たなキシロース工業が発生することも夢ではないと考えている。バイオマスは加水分解すれば、グルコース、キシロース、およびその他の糖類原料となり、リグニンフェノールとなる。工業原料として利用できる限りのものを利用し、利用しがたいものをエネルギー源とする、いわゆるカスケード型のシステムを作る必要があると考えている。

文 献

- 1) 趙 昶浩ら：廃棄物学会論文誌, **11**, 11 (2000).
- 2) 趙 昶浩ら：廃棄物学会論文誌, **12**, 241 (2001).
- 3) Cho, C. H. et al.: *Water Sci. Tech.*, **45**, (12), 97 (2002).
- 4) Tran, L. H. et al.: *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **9**, 223 (2004).
- 5) Horitsu, H. et al.: *Biotech. Bioeng.*, **40**, 1085 (1992).
- 6) Yahashi, Y. et al.: *Biotech. Lett.*, **18**, 1395 (1996).
- 7) Yahashi, Y. et al.: *J. Ferment. Bioeng.*, **81**, 148 (1996).
- 8) Takamizawa, K. et al.: *Can. J. Microbiol.*, **46**, 350 (2000).
- 9) Tran, L. H. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **97**, 419 (2004).