

## N-21

## 加水分解および乳酸発酵の連続処理による綿繊維からの乳酸製造に関する検討

### Study on lactic acid production from cotton fiber by continuous processing of hydrolysis and fermentation

○青木優<sup>1</sup>, 野口治哉<sup>1</sup>, 江澤舞<sup>2</sup>, 角田雄亮<sup>3</sup>, 平野勝巳<sup>3</sup>\*Yu Aoki<sup>1</sup>, Harutoshi Noguchi<sup>1</sup>, Mai Ezawa<sup>2</sup>, Yusuke Kakuta<sup>3</sup>, Katsumi Hirano<sup>3</sup>

Abstract: The effective availability of the waste textile has stagnated in about 22%. To develop a new usage for effective use of resource are necessary. Then, lactic acid production from cotton fiber which is about 60% of the waste textile by continuous processing of hydrolysis and lactic acid fermentation was examined. As a result, it turned out that the semi-batch reactor is effective to generate glucose without generating HMF though it is necessary that effect of retention time at each reaction temperature is examined. In addition, it is necessary bacterial strain which endures the acid is selected to perform fermentation directly.

## 1. 緒言

繊維廃棄物は年間約 171 万トン排出されており、ウエスや反毛、中古衣料として再生利用されている。しかし、バージン品の価格低下等により需要は低下しており、新規利用用途の開発が望まれている<sup>[1][2]</sup>。そこで、繊維廃棄物の約 6 割を占める綿繊維に着目した<sup>[3]</sup>。綿の主成分であるセルロースを加水分解・発酵させることで得られる乳酸はバイオプラスチックであるポリ乳酸の原料となる。従来セルロースは触媒として濃硫酸や亜臨界水を用いて加水分解が行われてきた。しかし、前者は糖化液と硫酸の分離工程において大量の石膏が廃棄物として発生すること、後者はグルコースが過分解し、発酵阻害物質である 5-ヒドロキシメチルフフルアル(HMF)が生成することが問題となっている。そのため、廃棄物や発酵阻害物質を発生しない新たな加水分解プロセスの開発が急務である。そこで酸触媒として乳酸を選定した。乳酸は発酵後生成物であるため分離せずに発酵可能であり、副生成物を発生しない。先行研究では、バッチ式反応装置を用いて乳酸加水分解を行った結果、綿からグルコースを生成する速度に比べ、グルコースから HMF に過分解する速度の方が速いため、グルコースを高収率で得ることは困難であった<sup>[4]</sup>。そこで、過分解を抑制しつつグルコースを高収率で得るため、水可溶分を連続的に排出できる半流通式反応装置を用い、その有効性について検討した。また、加水分解で得られた糖化液を直接発酵することを想定し、ホモ型発酵を行う代表的菌株である *Lactobacillus casei* を選定し、乳酸触媒共存下で発酵できる乳酸初期濃度について検討した。

## 2. 実験

## 2.1 加水分解

管型反応器(1.13mL)に綿を 0.25g 仕込み、5wt%乳酸水

溶液をポンプにより流速 0.5mL/min で送液した。ヒーターにより 200°C に加熱し、背圧弁を用いて 6MPa に保った。また、反応温度に到達してから 2 時間分の排出液を回収し、HPLC により糖化液中のグルコース、マルトースおよび HMF を定量した。さらにフェノール硫酸法によりグルコースおよびマルトース以外の水溶性多糖を定量した。

## 2.2 乳酸発酵

所定量のグルコース水溶液に乳酸を加え疑似糖化液を調整した。別途 MRS ブイヨンにて 3 日間培養した乳酸菌を生理食塩水で 10 倍希釈した培養液を作製し、所定量の GYP 培地とともに疑似糖化液に加え、5 日間発酵させた。1 日毎に一部採取し、分光光度計により濁度(OD<sub>600</sub>)を測定した。また、発酵前の発酵液に対して HPLC によるグルコースの定量を行い、減少量から転換率を算出した。

## 3. 結果と考察

## 3.1 加水分解

糖化液中の生成物濃度を Table1 に示す。これより、水溶性多糖が多く生成し、グルコースおよびマルトースが少量生成することがわかる。このとき、HMF は定量下限値以下であった。これらのことから、半流通式反応装置を用いることでグルコースの過分解は抑制できるが、反応温度が低いまたは滞留時間が短いため多糖からグルコースへの分解が十分生じなかったと考えられる。反応温度を上昇させることでグルコシド結合に対する H<sup>+</sup>の

Table1 Product yields on hydrolysis

Glucose	Maltose	Water-soluble polysaccharide	
		[ wtpm - Saccharified solution basis ]	
3.8	1.9	668	Not detected

1: 日大理工・学部・応化 2: 日大理工・院(前)・応化 3: 日大理工・教員・応化

求電子攻撃の促進が見込まれるが、同時に過分解が懸念される。そのため、今後は各反応温度における滞留時間の影響を把握する必要があることが示唆された。

### 3.2 乳酸発酵

乳酸菌の増殖に対する乳酸濃度の影響を Fig.1 に、乳酸発酵に対する乳酸濃度の影響を Fig.2 に示す。

Fig.1 より、乳酸濃度が 0.1wt% 以下では濁度は上昇するが、0.6wt% 以上ではほとんど変化しないことがわかる。Fig.2 より、乳酸濃度の上昇に伴い、転換率が低下することがわかる。細菌は非解離の酸を取り込みやすいことが知られている<sup>[5]</sup>。菌体内の pH は通常菌体外に比べやや高いため、取り込まれた酸は解離が起きる。その結果、菌体内の解離によって生成した  $H^+$  が細菌内を酸性化することで菌体は死滅する。しかし、乳酸菌は解糖系により生成した ATP が  $ADP+Pi$ (無機リン酸)に分解したときに発生するエネルギーを用いて菌体内の  $H^+$  を菌体外に能動輸送させる ATPase を有している。そのため低濃度の乳酸が菌体内に取り込まれても菌の増殖が確認できたと考えられる。しかし、乳酸濃度が上昇すると菌体外において非解離の酸が増加するため、大量の乳酸が菌体内に取り込まれる。その結果、ATPase により排出できなかつた一部の  $H^+$  が核タンパク質を攻撃し、菌体を死滅させるため、菌の増殖が確認できなかつたと考えられる。ただし、加水分解工程において乳酸触媒の濃度が 1wt% ではほとんど加水分解が進行しないことが先行研究より確認されている。以上のことから、糖化液を直接発酵させる場合には *Lactobacillus casei* は不適であり、耐酸性菌株を検討する必要があることが判明した。

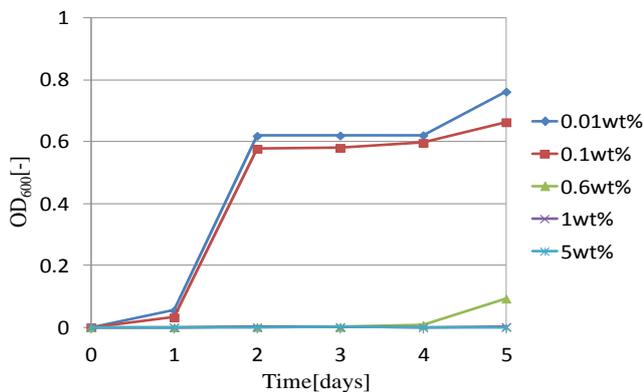


Fig.1 Influence of lactic acid concentration on growth of lactic acid bacteria

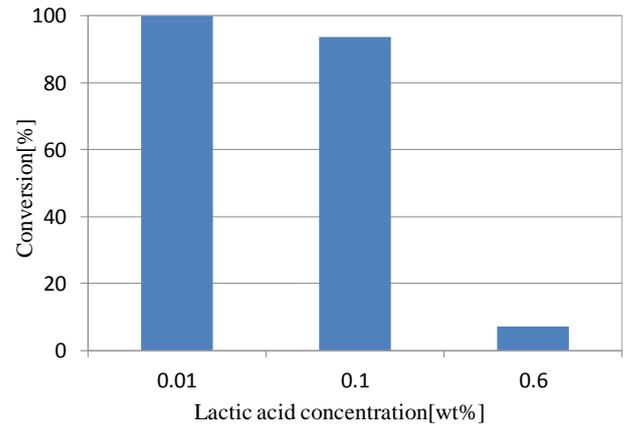


Fig.2 Influence of lactic acid concentration on fermentation

### 4. 結言

- ・半流通式反応装置を用いることでグルコースの過分解は抑制できる見通しを得た。
- ・ただし、グルコース収率を上昇させるためには各反応温度における滞留時間の影響を把握する必要がある。
- ・糖化液を直接発酵させる場合には *Lactobacillus casei* は不適であり、耐酸性菌株を検討する必要がある。

### 5. 参考文献

- [1] 独立行政法人中小企業基盤整備機構：「繊維製品 3R 関連調査事業」報告書(2010)
- [2] 経済産業省：繊維製品リサイクル懇談会報告書(2001)
- [3] 池内智彦，兼松泰男：繊維機械学会誌(2010)
- [4] 荒井剛：平成 23 年度修士論文(2012)
- [5] 指原信廣：日本食品微生物学会誌(2009)