

# 琉球大学学術リポジトリ

## [報文]バガスの肉牛飼料化及びセルラーゼによる糖化アルコール発酵

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 外山, 信男, TOYAMA, Nobuo メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016516">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016516</a>

## 報 文

## バガスの肉牛飼料化及びセルラーゼによる糖化アルコール発酵

外 山 信 男

南九州大学園芸学部 (宮崎大学名誉教授)

Practicable Delignifying Method of Bagasse for Production of Beef Cattle Feed and Ethanol.

Nobuo TOYAMA

*Faculty of Horticulture, Minami Kyushu University**Takanabe, Miyazaki 884*

Practicable delignifying methods of bagasse were investigated considering the economization of water and fuel.

Bagasse was treated with a 1% sodium hydroxide solution at room temperature for 1 to 3 days and left intact for air-drying.

The delignified bagasse including sodium carbonate seems to be suitable for feeding beef cattle, forming humus in the soil and making compost owing to the effective digestibility for microbes.

The bagasse delignified with 1 to 3% sodium hydroxide solutions at room temperature for 1 to 3 days followed by washing with water was easily saccharified with a 1% cellulase (Meicelase, *Trichoderma viride*) at a 10% substrate concentration, pH 5.0, 45 °C for 48 hr giving rise to 6 to 7% reducing sugar solutions (degree of saccharification, 55 to 65%).

Simple and economical delignifying method of bagasse will be useful for the production of feed, humus, manure, compost, paper, sugar and ethanol.

## 結 論

バガスを燃料以外に利用する試みは、戦前から行われ、紙やパーティクルボードが作られている。これらの製造には、高度の技術、高額の設定備および多大のエネルギーを必要として、沖縄、奄美の諸島の産業としては不適である。著者は、これらの諸島におけるウシの飼育にバガスを利用することの可能性を研究した。著者が昭和46年に沖縄を訪れた際、某製糖会社で切り刻んだバガスに糖蜜を加えてウシを飼っていたが、この方法は今日まで続いているようである。

しかし微生物学の立場から見れば、リグニンを15~25%も含むバガスを反芻胃内の微生物が容易に分解できるとは考えられない。ウシの飼育の先進国であるヨーロッパでは藁類を、必ず、アルカリで処理してから給与している。さらに、堅いバガスの断片がウシの胃壁を傷つけることが問題となっているようである。

そこで、著者は脱リグニンを目的とする実用的化学処理法を研究した。その上、前記諸島の環境を考えて、水と熱エネルギーの所要量を極力少なくすることを考えた。

第1表 セルロース系バイオマスの組成 (単位: Wt.%)

バイオマス	セルロース	ヘミセルロース	リグニン	灰分	その他
バガス	35~45	20~25	15~25	2~10	5~15
稲ワラ	35~45	20~30	15~25	10~20	0~5
おがくす	40~55	20~35	25~30	0.2~2	0~5

1. 研究方法

バガスは沖縄産を主として使用した。これらの試料は、一般的に知られている組成<sup>1)</sup>を有していた (第1表)。

バガスや稲わらのような草本類のリグニンは、木本類に比べてリグニン含有量が少ない上に、リグニンの構造も木本類のそれとは異なるようで脱リグニンが容易である。この脱リグニンの程度を判定する場合、常法で残留リグニンを定量するのであるが、脱リグニンの条件を定める場合は、フロログルシン試薬による呈色反応を用いるのが簡便、的確である。同試薬は、フロログルシン (和光純薬、特級) 1gを95%エタノール50mlに溶解し、使用時に塩酸(比重1.16) 25mlを加えて調製する。この試薬を、木片に滴下すると赤紫色に呈色するが、脱リグニン木片では呈色しない。

バガスや稲わらの断片では濃赤色となり、リグニンが存在する部分が呈色することが分かる。著者の経験では、以下述べる方法で得られるバガスや稲わらの脱リグニン物のリグニン含有量は6~7%であり、木材では8%前後である。

脱リグニン過程での呈色は次のように記した。濃赤紫色+++++, 赤紫色++++, 淡赤紫色+++ , 微赤紫色++ , 微赤色+ , および無色-。さらに、脱リグニンの程度をセルラーゼによる糖化性によっても判定した。通常1%酵素液を次のように調製して用いた。メイセラーゼCEPB5053 (*Trichoderma viride*, 液内培養法, 明治製菓) 5gを0.1M酢酸塩緩衝液500mlに溶解し, 3,000rpm, 10分遠心分離して, その上澄みを使用した。糖化後生成する還元糖は, 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)法<sup>2)</sup>で定量した。

実験結果

水酸化ナトリウムを用いるバガスの常温常圧脱リグニン法

著者の経験によれば、稲わらでは1%水酸化ナトリウム液で3時間煮沸したり、同液を用い120°Cで1時間加圧蒸煮すれば脱リグニン出来る。しかし、これらの方法は燃料を必要とする外、脱リグニン稲わらの洗浄に多量の水を使わねばならぬ。さらに、リグニンを含む廃液は、塩酸を加えて中和してリグニン・ヘミセルロース複

第2表 水酸化ナトリウムによるバガスの室温処理後のフロログルシン反応

濃度 \ 処理日数	1	2	3	4
1 (%)	+++++	++++	++++	+++
3	+++	+++	++	++
5	++	+	+	+
28	++	+	+	+
3 (水洗) *	++++	++++	+++	+++

\* 3%水酸化ナトリウムで処理後、直ちに水洗して通風乾燥したもの

合物を沈澱させ分離した後上澄みを汚水処理してから放流せねばならぬので、これにも設備が必要となる。そこで、アルカリ処理のみで済むバガスの有効利用を考えた。バガスを5gずつ100mlのビーカーに入れ、1, 3, 5%水酸化ナトリウム液を55mlずつ加えた。3%液添加区は2本作っておく。また濃厚な水酸化ナトリウムを少量加える方法の検討のために、5gのバガスに28%水酸化ナトリウム液を10ml加えたものも作った。

これらを室温平均25°C、ポリエチレンフィルムで被って1~5日間静置した。毎日バガスを取り出し、水洗せずに絞って通風乾燥した。ただし、3%水酸化ナトリウム液区の1箇所は、水洗した後風乾した。この風乾物にフロログルシン反応を試みて第2表を得た。表示のように1~3%水酸化ナトリウム液処理では呈色して脱リグニンが不十分である(風乾物にフロログル

シン試薬を滴下すると試薬中の塩酸がナトリウム塩で中和されて、反応が不十分と考えられたが水洗区と同様に呈色した)。また、5%区と28%区は同様に良く脱リグニンされ、濃厚水酸化ナトリウムを少量加えて充分攪拌すれば良いことが分かる。

処理バガスの酵素糖化

各濃度の水酸化ナトリウム液で処理したバガスを十分に水洗した後室温で通風乾燥し、2gずつ大型試験管に入れ、1%メイセラゼ液を18mlずつ加えた。対照として0.1M酢酸塩緩衝液18mlを加えたものを用いた。これらの試験管にトルエンを0.5~1mlを加え、サランラップで覆い、45°Cの定温器中で48時間作用させた。のち濾過して、その上澄みを用いて還元糖量を測定した。さらに基質量に対する生成還元糖量から糖化率を算出した(第3表)。

第3表 水酸化ナトリウムによる処理バガスの糖化率 (%)

処理日数 濃度	1		2		3		4	
	糖濃度	糖化率	糖濃度	糖化率	糖濃度	糖化率	糖濃度	糖化率
1 (%)	5.3	47.6	6.2	56.2	6.6	59.2	6.9	62.4
3	4.1	36.8	5.6	50.7	3.8	33.8	3.5	31.8
5	1.1	9.8	3.3	29.5	2.7	24.4	4.2	37.6
28	4.0	36.2	2.4	21.2	2.9	25.7	1.6	14.2
3 (水洗)	6.6	59.1	7.3	66.1	6.2	55.7	6.5	58.4

基質濃度10%, PH5.0, 45°C, 48時間糖化

第3表の如く、1%水酸化ナトリウム処理のバガスが最も良く糖化し、フロログルシン反応から見た予想に反した糖化率を示した。3%水酸化ナトリウム処理物と、同処理後直ちに水洗、乾燥した処理物を比較すると後者の方が良い成績を示している。これらは洗浄しないで風乾すると、アルカリの作用が進み、洗浄によりヘミ

セルロースが失われるために生成糖量が低くなると考えられる。5%と28%(処理中の濃度は約5%になる)水酸化ナトリウム処理では、この効果が一層明瞭に示されている。アルカリが付着したまま風乾したバガスにフロログルシン試薬を滴下すると発泡するが、これは水酸化ナトリウムが空気中の炭酸ガスと反応して、炭酸

ナトリウムに変わり、これが試薬中の塩酸により炭酸ガスを発生するからである。

以上の実験から、バガスをウシの飼料とする場合は、1%水酸化ナトリウム液を用い室温1~3日間処理して、そのまま風乾したものを与えれば、反芻胃における良好な消化が期待できる。ウシの唾液中には炭酸ソーダ、重炭酸ソーダが含まれ、反芻胃内で生ずる酢酸等の揮発性脂肪酸を中和するのに役立っているの、バカスが炭酸ナトリウムを含んでいても差し支えない。また、本法による処理バガスを乾燥せず、そのまま土壤中に混入させると微生物による分解も無処理バガスより急速に進むはずであり、これも沖縄、奄美諸島の土壤の有機化に貢献するであろう。

本処理法は、特別な設備、燃料および洗浄用水を必要としない方法で、前記諸島の環境条件に適した手段といえる。

一方、特に3%水酸化ナトリウム液を用い、室温で1~3日間処理後水洗して得られるバガスは、ヘミセルロースの損失も少なく製紙や酵素糖化の良い原料と考えられる。この場合は、洗浄用水を必要とするが、予め海水で洗浄した後淡水で洗う方法も考えられるし、現在進みつつある膜分離技術により、バガス処理液より水酸化ナトリウムを回収再利用することが可能となろう。

### 結 論

本研究では、特に沖縄における環境条件を考慮して、極力簡単な設備で出来ること、燃料を使用しないことおよび多量の水を使わぬことを条件にして多数の実験を試みた。バガスの化学的脱リグニンには1%水酸化ナトリウム液で120°C、1時間加圧蒸煮すれば良いことは、すでに著者が確立しているが、前諸条件を満足させる方法の発見は困難であった。しかし、沖縄、奄美諸島においてウシを飼育すること並びに土壤の有機化を進めることの重要性を認識するにつれて、幸いにその方法を発見することが出来た。

今回の研究では、本法の他に酸化によるバガスの脱リグニン法、すなわち過酢酸、過マレイ

ン酸、次亜塩素酸ナトリウム、亜塩素酸ナトリウムのいずれかを使用する方法も研究した。また今回報告したアルカリによる溶解法の外濃厚アンモニアを使用する方法も研究した。その結果バガスを酵素糖化エタノール発酵のために脱リグニンする場合には酸化法と溶解法との組合せが最適であった。また過酢酸を使用すればガス状で脱リグニン出来、残留酢酸も乾燥により除けるので洗浄水を殆ど必要としないが、刺激臭と腐食性のため現地での実施は困難である。この外、稲わら、麦わら、最近ではイ草をビニールシートで密封して液化アンモニアを注入してリグニンを分解する方法も開発され、これも洗浄水を必要としないのでバガスについて試験する価値がある。

結局沖縄において、簡単な設備で可能であり、燃料と洗浄水を殆ど必要としないバガスの脱リグニン法としては、今回著者が明らかにした1%水酸化ナトリウム液にバガスを浸漬して、室温1~3日間処理後、取出して風乾する方法が最適と思われる。この処理バガスは肉牛の飼料として好適と考えるが、そのまま土壤に投与すれば短期間で腐植化させられるし、堆肥の材料としても適当であろう。さらに1~3%水酸化ナトリウム液で同様に常温常圧脱リグニン後水洗したバガスは、セルラーゼによる糖化アルコール発酵の原料に使用できるのみでなく製紙用にも使え、将来の沖縄、奄美諸島のバイオインダストリーの基礎原料として重要となろう。

### 文 献

- (1) 道本英之：化学技術誌 MOL, 6, 29(1985)
- (2) Sumner, J.B. : *J. Biol. Chem.*, 65 393 (1925).

### 参考資料

- (1) 外山信男：熱帯牧草 Napier Grass の酵素糖化とアルコール発酵、バイオインダストリー in 九州—めざせバイオランド九州、九州商工協会、122頁 (1986)。
- (2) 外山信男：セルラーゼの研究と発展、でん粉と食品、日本澱粉学会九州支部鹿児島部

会, 11号33頁 (1986).

- (3) 外山信男: 応用微生物学研究の歩み  
(1947~1985) 宮崎大学農学部農業化学科,  
応用微生物学研究室 (1986).