

竹材の成分分析試験(Ⅳ)

— 逐次抽出による抽出物の定量ならびに熱水抽出液による酵母の培養 —

森田 慎一*

モウソウチク材の抽出成分の構成を調べるために逐次抽出による抽出物の定量を行った。その結果メタノール及び熱水抽出物が大部分を占めることがわかった。熱水抽出物中に糖分が多く含まれることはすでに²⁾報告したが、今回は抽出物利用の一方法として熱水抽出液を培地としてSaccharomyces属酵母の培養を試みた。抽出液を培地として用いた場合でも従来の培地と比較して酵母の生育には何ら障害はみられなかった。

1. はじめに

竹は短期間で再生産できる生物資源として注目すべきものであり、全国一の竹林面積を有する本県では資源・エネルギー分野でのいわゆるバイオマス利用技術の適用対象として有望なものであると考えられる。

竹材(モウソウチク)の基本的成分としては、芝本ら³⁾の分析(Dore法)によればセルロース45%、リグニン20%、冷水抽出物5~9%であり、筆者が鹿児島県産モウソウチクを分析した結果¹⁾(JIS法)ではセルロース49%、リグニン24%、熱水抽出物9%前後であった。筆者ら²⁾は熱水抽出物についてさらに調べ、伐採季節により量的な変動があること、そしてそれは抽出物全体の40~60%程度を占める遊離糖分量の変動に基づくものであることなどを明らかにした。

竹材をバイオマス資源として利用する形態としては、糖化・発酵によるアルコール生産もしくは飼料化が第一に考えられる。しかしながら材をじかに発酵させることは困難であり、前処理としての糖化法の検討や発酵菌の選択・発酵条件の設定等には基礎的なデータの積み重ねが必要である。モウソウチク材中には比較的多くの抽出物が含まれているが¹⁾、これらの抽出成分が微生物に与える影響も明らかではない。そこで今回はモウソウチク材の抽出成分のおおまかな構成を逐次抽出によって調べた。また最初の試みとして、熱水抽出物中に遊離の糖分が比較的多量に含まれることに着目し、抽出液を利用したアルコール生産菌(酵母)の培養を行うこととした。これは熱水抽出物添加培地による酵母菌の生育を通常の培地によるものと比較することによって、竹材を原料とする酵母発酵の可能性について検討することを目的としたものである。

この実験は東京大学農学部森林化学教室において善本知孝教授並びに佐分義正助手の指導のもとに行った。

2. 実験方法

2. 1 試料竹材

実験に供した竹材は鹿児島県林業試験場の施肥試験林(加治木町石野)から昭和58年1月31日に伐採した5年生モウソウチクである。伐採後直ちに乾燥機に入れ50°Cで含水率9%程度まで人工乾燥させた材の地上高1m付近の節間から、表皮層及び内壁を除いて細かく割いた。粉碎機で粉碎し、1mmのフルイを通過したものを抽出用試料として用いた。

2. 2 抽出

抽出成分の大まかな構成を調べるために、n-ヘキサン、エチルエーテル、酢酸エチル、メタノールの順序で逐次溶媒抽出を行った。抽出はソックスレー抽出器により、試料20g、溶媒各200mlを用いて6時間づつ行った。得られた抽出液は正確に200mlにした後、半量をナス型フラスコに取りロータリーエバポレータで濃縮・乾固した。105°Cで6時間乾燥しナス型フラスコの重量増加分を求め、それを2倍した値を抽出成分量とした。

熱水抽出は2ℓ容ナス型フラスコに竹粉100gを取り、水1ℓを加えて90°Cの湯浴中で3時間行った。放冷後ろ紙でろ過し、一部はロータリーエバポレータで減圧濃縮し高速液体クロマトグラフ(HPLC)による糖分の定量に供した。定量方法は前報²⁾と同じである。

2. 3 酵母培養

培養に用いた菌は表-1に示す4種のSaccharomyces属酵母で菌株は国立醸造試験場から提供を受けたものである。

培養方法は液体培地による振とう培養とし、表-2に示す3種類の培地を調製した。竹材の熱水抽出物中にはグルコース、フラクトース、スクロースの3種の糖が含まれる²⁾が、HPLCによる遊離糖量の定量結果(合計で3.9g/ℓ)をもとにし、抽出液を用いない培地ではグルコースの添加量がこれに見合うように調製した。[C]の培地は酵母培養用の標準的な培地⁴⁾で、対照として用

* 研究部

いた。

各培地を試験管に10mlずつ取りオートクレーブで滅菌後、表-1に示す酵母を1白金耳ずつ各4本無菌的に接種した。振とう培養は水平振とうにより、26.5°Cの培養室で40時間行った。

表-1 使用した酵母菌株名

No	菌 株 名	
1	協会6号 (清 酒)	RIB6001
2	協会7号 (清 酒)	RIB6002
3	OC-2 (ワイン)	IAM4274
4	焼酎酵母	RIB6852

表-2 培地の組成

物質名	培地 [A]	培地 [B]	培地 [C]
熱水抽出液	1ℓ	1ℓ	-
酵母エキス	-	3g	3g
麦芽エキス	-	3g	3g
ペプトン	-	5g	5g
ブドウ糖	-	-	4g
水	-	-	1ℓ

2. 4 培養結果の判定

培地中の糖分の減少の割合から培養結果を判定した。糖分の定量はフェノール-硫酸法⁵⁾を用い、486nmにおける吸光度を測定した。

3. 実験結果及び考察

3. 1 抽出成分の構成

逐次抽出による抽出成分の量は図-1のとおりであった。抽出成分全体で絶乾試料の10.17%であるが、その約85%をメタノール抽出物が占めている。

培地用の熱水抽出液中の抽出物量は、試料絶乾重に対する重量比で7.32%であった。またHPLCによる分析の結果、抽出液1ℓ中に含まれる糖分はグルコース2.17g、フラクトース1.26g、スクロース0.51gで、合計3.94gであった。これら3種類の糖で熱水抽出物の59%を占めている。

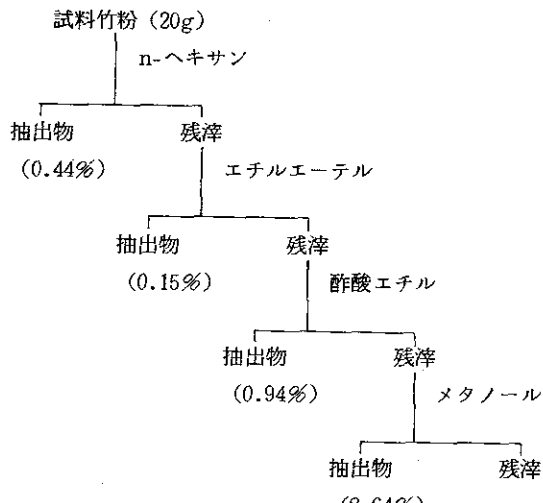


図-1 モウソウチク材の逐次抽出

また熱水抽出物のUVスペクトルをとると、図-2のよりにきわめて平坦で、菌類の生育に影響する可能性があると思われるフェノール類等の存在は確認されなかった。

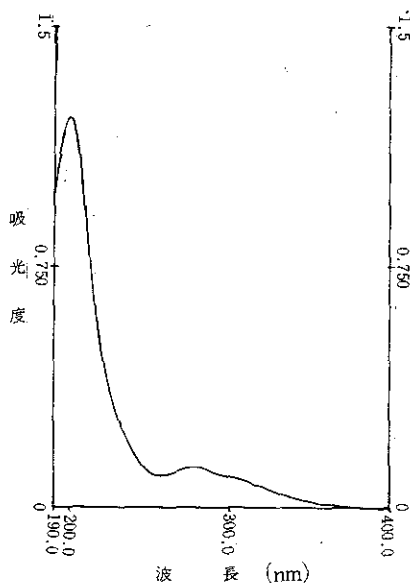


図-2 熱水抽出物のUVスペクトル

3. 2 酵母培養

培養による糖分の消費量をフェノール-硫酸法で測定した結果を表-3に示す。なお、グルコース標品を用いた吸光度〔ABS.〕と糖濃度〔C:単位g/ℓ〕との関係を示す検量線は次式のとおりであった。

$$C = 3.8054 [ABS.] - 0.0985 \quad (R = 0.9883)$$

表-3 培養前後の各培地の糖分量(単位:g/l)

培養菌株名	A	B	C
培養前	3.94	7.21	7.55
RIB6001	0.89	3.29	3.62
RIB6002	0.93	3.10	3.82
IAM4274	0.83	2.22	2.76
RIB6852	0.81	2.64	3.17

肉眼による観察では、菌の種類による生育の差は認められなかった。表-3の結果からは、ワイン酵母であるIAM4274が最も糖の消費量が多くなっている。

培養に添加した麦芽エキス等に糖が含まれているために各培地の糖分量には培養前から違いがある。しかし培地BとCとはほとんど同程度の糖分量であり、観察ではこれらの培地間で酵母の生育状態にほとんど差異が認められなかった。培地Aでは若干生育が劣るように見えたが、他の培地と比較して糖の濃度が低いのでそのままでは比較できない。そこで表-3に示されている培養前後の糖分量の差から、各酵母による糖の消費量を計算してみると、培地による違いはそれほど顕著でないことがわかる。従って今回用いたSaccharomyces属酵母の生育には竹材熱水抽出物の影響は特にないものと判断される。

4. 結 論

モウソウチク材について、その抽出成分のおおまかな構成を知るために、n-ヘキサン、エチルエーテル、酢酸エチル、メタノールによる逐次抽出を行った。その結果、各抽出量は試料絶乾重量に対して、0.44%、0.15%、0.94%、8.64%で、メタノール抽出物が大部分を占めた。

また熱水抽出物中に糖が多く含まれることに着目して、竹材のバイオマス利用をはかるための基礎資料とする目的で、熱水抽出液を用いて4種類のSaccharomyces属酵母の培養を行った。培地中の糖の消費量から判断すると、ワイン酵母であるIAM4274が最も良好な生育を示した。また熱水抽出物による酵母生育への影響は特に見られなかった。

文 献

- 1) 森田慎一：昭和57年度鹿木試業務報告書，54，1983
- 2) 善本知孝，森田慎一：東大演報，74，9～15，1985
- 3) 芝本武夫ら：東大演報，48，203～207，1955
- 4) 微生物研究法懇談会編：微生物学実験法（講談社1975），424
- 5) 同上書，265