

# バイオマス発酵工程および酵母菌培養工程 における有機酸モニタリング

田邊 彩乃

## ユーザーベネフィット

- ◆ 夾雑成分の多いバイオマス発酵試料中の有機酸を選択的に感度良く分析することができます。
- ◆ 短時間で乳酸、ギ酸、酢酸など複数の有機酸を効率よく分離することができ、迅速に発酵状況の確認ができます。
- ◆ バイオ燃料、特に第二世代の研究開発において、業務効率の向上に貢献します。

## ■はじめに

バイオエタノールはカーボンニュートラルな再生可能エネルギーであり、地球温暖化防止対策や石油代替燃料として世界中で研究が進められています。さらに、食料不足や価格高騰の懸念から、第二世代としての開発が、稲わらや木材など非食用植物のセルロースやヘミセルロースを原料として行われています。しかし、第二世代は繊維部分の分解・発酵に多くの工程を必要とします。その過程で発生する酢酸などの有機酸が発酵を阻害し、生成するエタノールの収率に大きな影響を与えます。そのため、発酵途中における有機酸の挙動を把握することが、エタノール収率管理において非常に重要なポイントになります。

本稿では、Nexera有機酸分析システムを用いて、バイオマス発酵試料および、酵母菌培養液の有機酸の経時変化をモニタリングしました。本システムで採用しているポストカラムpH緩衝化-電気伝導度検出法では、カラム分離後にpH緩衝化試薬と混合することにより、有機酸を高感度かつ選択性よく検出することができます。バイオマス発酵液のような夾雑成分の多い試料の分析に最適なシステムです。今回、高速分析用カラムShim-pack™ Fast-OAと組み合わせることで、分析時間を半分に短縮でき、発酵時の問題の有無を迅速に確認できるようになりました。

## ■標準試料の分析

Shim-pack Fast-OAはイオン排除型ポリマー充填カラムで、有機酸の高速分析用に最適化されたカラムです。図1に、従来品であるShim-pack SCR-102H（2本接続）とShim-pack Fast-OA（3本接続）による有機酸9成分混合標準試料のクロマトグラムを示します。表1に分析条件を示します。

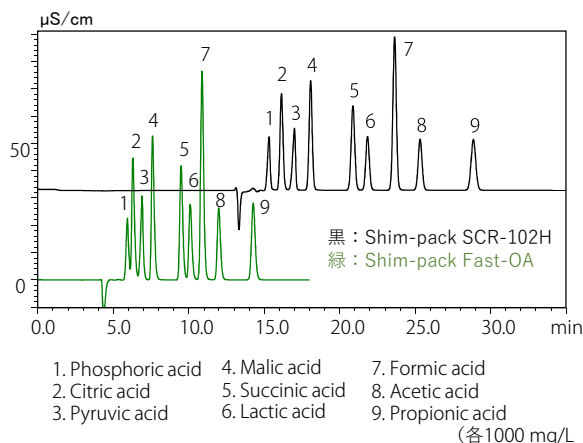


図1 有機酸9成分混合標準試料のクロマトグラム  
上段：Shim-pack SCR-102H (2本接続)  
下段：Shim-pack Fast-OA (3本接続)

表1 分析条件

System	: Nexera有機酸分析システム
Column	: Shim-pack SCR-102H (300 mm×8.0 mm I.D., 7 μm) <sup>*1</sup> ×2 (Conventional) : Guard column SCR-102H (50 mm × 6.0 mm I.D.) <sup>*2</sup>
Column	: Shim-pack Fast-OA (100 mm×7.8 mm I.D., 5 μm) <sup>*3</sup> ×3 (Fast) : Shim-pack Fast-OA(G) (10 mm × 4.0 mm I.D.) <sup>*4</sup>
Mobile Phase	: Reagents kit for Organic Acid Analysis System <sup>*5</sup>
Flow Rate	: 1.0 mL/min
pH Buffering	: Reagents kit for Organic Acid Analysis System <sup>*5</sup>
Solution	
Mixer	: MR 20
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Vial	: Shimadzu Vials, LC, 1.5 mL, Glass <sup>*6</sup>
Detection	: Conductivity detector

<sup>\*1</sup> P/N : S228-17893-91, <sup>\*2</sup> P/N : S228-17924-91, <sup>\*3</sup> P/N : S228-59942-41  
<sup>\*4</sup> P/N : S228-59942-42, <sup>\*5</sup> P/N : S228-61465-91, <sup>\*6</sup> P/N : S228-15652-92

## ■実バイオマス糖化液の発酵試料の分析

実バイオマス糖化液の発酵試料について、有機酸の発酵前および48時間発酵後のクロマトグラムを図2に示します。また、スクリーニング用途でモニタリングした各有機酸の面積値の変化を図3に示します。ここで用いた酵母菌 (TOYOTA XyloAce™)は、一般に発酵阻害物質と考えられている酢酸をエタノールへ変換でき、その効率が高くなるよう改良されたもので、48時間の発酵により、酢酸が97%以上減少していることがわかります。また、代謝経路の中間で発生した発酵阻害物質、ギ酸、乳酸は増加する傾向が見られました。尚、17分付近には、生成したエタノール由来の負ピークが確認できます。

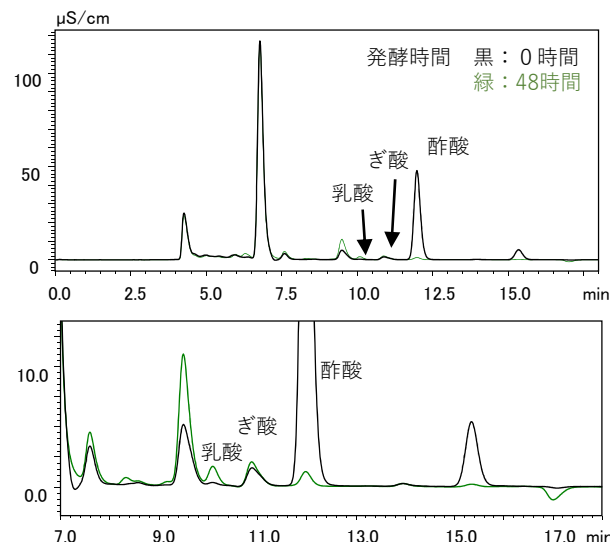


図2 実バイオマス糖化液の発酵試料のクロマトグラム  
(上段：全体、下段：拡大)

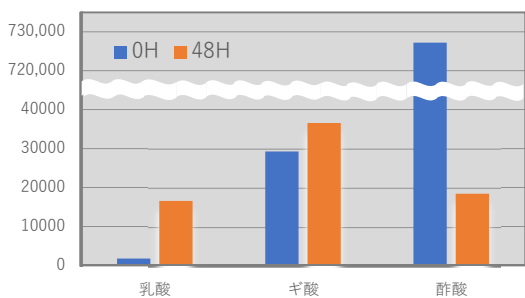


図3 実バイオマス糖化液の発酵前後の各有機酸の面積値の変化

### ■ 草本系バイオマス糖化液の発酵試料の分析

草本系バイオマス糖化液を6~40時間発酵させた際のクロマトグラムを図4に、その発酵モニタリング結果を図5に示します。前項と同じく、発酵時間の増加と共に酢酸は減少し、ギ酸や乳酸はやや増加しました。通常、夾雑成分と重なりやすい乳酸やギ酸も、Fast-OAカラムの高分離能と高い選択性を持つpH緩衝化-電気伝導度検出法により、細かい経時変化まで確認することができます。

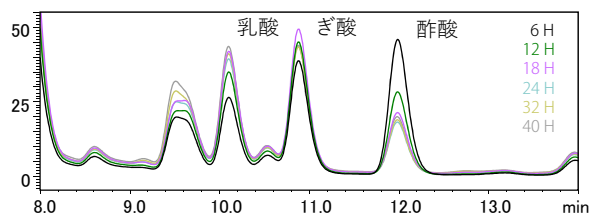
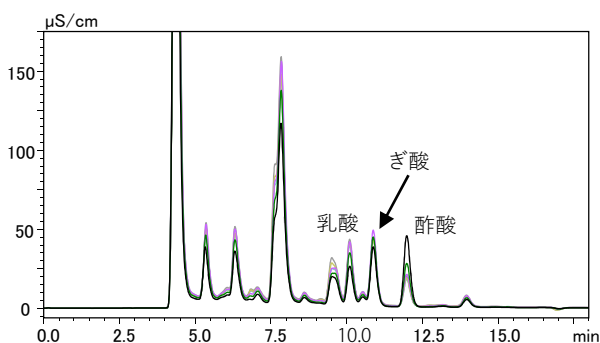


図4 草本系バイオマス糖化液の発酵試料のクロマトグラム (6~40時間発酵サンプルの重ね描き (上段:全体、下段:拡大))

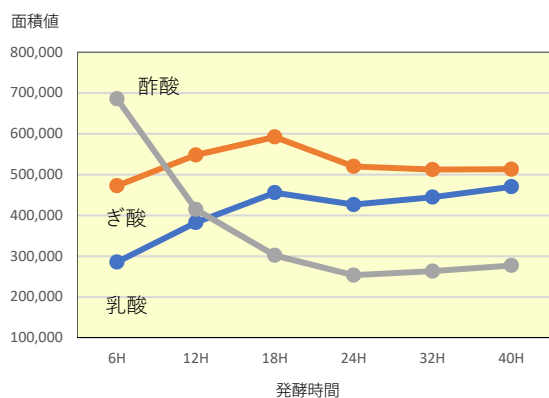


図5 草本系バイオマス糖化液の発酵モニタリング結果

### ■ 糖蜜培養液の分析

糖蜜中に培養した試料のクロマトグラムを図6に、その培養モニタリング結果を図7に示します。培養時間の増加に伴い、乳酸、ギ酸、酢酸の大幅な減少が確認できます。これは、培養により酵母菌が増殖することによって糖が欠乏し、酵母菌培養中に副生成された有機酸が代謝されたことを示しています。

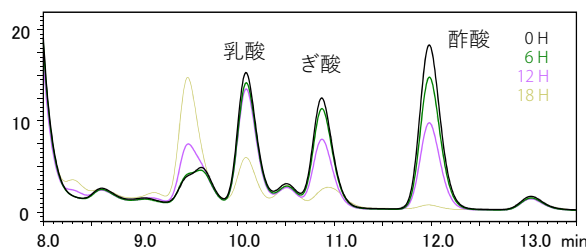
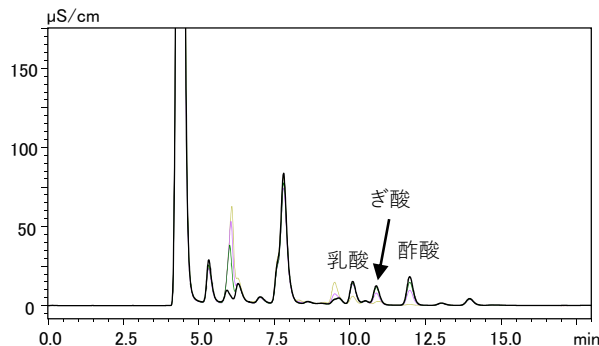


図6 糖蜜培養液のクロマトグラム (0~18時間培養サンプルの重ね描き (上段:全体、下段:拡大))

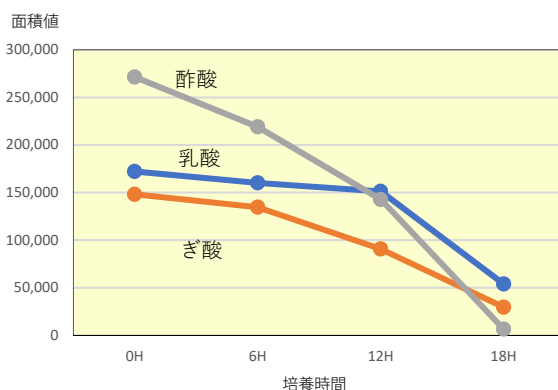


図7 糖蜜培養液の培養モニタリング結果

### ■ まとめ

本稿では、Nexera有機酸分析システムとShim-pack Fast-OAカラムの組み合わせにより、夾雑成分の多いバイオマス発酵試料中の有機酸を精度良く、効率的に分析を行った事例をご紹介いたしました。世界的に広く進められているバイオ燃料の研究開発において、本システムは、業務効率の向上に大きく貢献します。

本稿の作成にあたっては、トヨタ自動車株式会社 アグリバイオ事業部 保谷典子様よりサンプルをご提供いただきました。

Nexera、Shim-packは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。  
XyloAcelは、トヨタ自動車株式会社の米国およびその他の国における商標または登録商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。  
本文中では「TM」、「®」を明記していません。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>  
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

© Shimadzu Corporation, 2020