

令和3年度環境省委託業務

令和3年度

＜脱炭素社会を支えるプラスチック等資源循環システム構築実証事業＞

植物由来で生分解性を備えた高吸水性ポリマーの製造実証

事業委託業務

成果報告書（公開版）

令和4年2月

Green Earth Institute 株式会社

## 要約

高吸水性ポリマー（SAP）は主に紙おむつや生理用品の吸水剤として用いられ、世界での生産量は 250 万トンを超える。現在高吸水性ポリマーにはポリアクリル酸が使用されているが、このポリアクリル酸は、石油由来のプロピレンから作られているため、二酸化炭素削減の観点から植物由来の原料への転換が求められている。

本事業では、Green Earth Institute 株式会社が、発酵法によりアスパラギン酸を製造し、DIC 株式会社がこのアスパラギン酸を使って高吸水性ポリマーであるポリアスパラギン酸を製造するという計画である。現在アスパラギン酸は石油由来のフマル酸から作られており、発酵法による工業生産が実現すれば世界初の植物由来のアスパラギン酸が誕生する。またポリアクリル酸は生分解されないが、ポリアスパラギン酸は生分解性を有しているため環境汚染への懸念が軽減される。

本年度は、中国でのアスパラギン酸生産を見据えて、中国で広く使われている甜菜モラセスと純度の劣る炭酸アンモニウムを準備してアスパラギン酸の発酵試験を行った。その結果、炭酸アンモニウムの使用に問題はないが、甜菜モラセスはサトウキビモラセスに比べて発酵の性能が低下した。現地で調達可能なサトウキビモラセスを使ったところ、こちらは問題なく使えることがわかった。

副生物を減らす菌体改良の結果、グルタミン酸、コハク酸、酢酸、アラニンなどの副生物が減り、アスパラギン酸の対糖収率は、昨年の 0.86 (g/g) から 1.00 (g/g) を超えるまで上昇した。

また LCA の観点から非可食由来の糖の積極的な利用を検討した。木材、麦藁、パルプの糖化液で検討した結果、低濃度（～200mM）の糖の添加であれば、発酵阻害は見られず良好なアスパラギン酸発酵が確認できた。しかし 400mM 程度のグルコース濃度になると特に麦藁の糖化液で強い発酵阻害が見られた。

DIC 株式会社では、本事業において Green Earth Institute 株式会社が製造した発酵アスパラギン酸から得た SAP が工業品アスパラギン酸から得た SAP と同等の物性が得られる事を確認した。また SAP を得るための中間体であるポリスクシイミドの工業化を見据えた重合法を検討し、スケールアップに目途を立てた。一方で、性能面では SAP の保水性と通液性の両立を図るため、架橋方法の見直しを検討した。その結果、従来に比べ保水性を向上させながら通液性を保持する事が可能となった。ただし、性能は未だアクリル酸 SAP に比べて劣るため今後の継続改良は必要である。

## Abstract

Superabsorbent Polymers (SAP) has been mainly used for hygiene applications such as disposable *diapers*, sanitary napkins. Global demand for SAP reached over 2.5 *million tons*. At present, polyacrylic acid and its derivatives have been mainly used as SAP, but they are produced from petroleum-derived isopropylene and need to be replaced by plant-based materials from the viewpoint of carbon dioxide reduction.

In this project, Green Earth Institute Co. Ltd carries out the production of bio-based aspartic acid by fermentation and DIC corporation polymerizes it, producing alternative superabsorbent polymer, polyaspartic acid. Currently, aspartic acid is industrially produced from petroleum-derived fumaric acid and it would be the world-first green aspartate if the fermentation process become industrialized. Furthermore, polyaspartic acid is a biodegradable, environmental-friendly product whereas polyacrylic acid is non-biodegradable.

Looking ahead to future aspartate production in China, we prepared sugar beet molasses and semi-purified ammonium bicarbonate, which is widely used in Chinese companies. As a result, semi-purified ammonium bicarbonate could be used for aspartate production without significant reduction of yield and productivity. On the other hand, deteriorated aspartate production was observed using sugar beet molasses in comparison with using sugar cane molasses. Then, we also confirmed that sugar cane molasses, which is available in China, could be used for aspartate production without significant problems.

As a result of strain modifications to reduce byproduct, the amounts of glutamate, succinate, acetate, and alanine were reduced and the yield of aspartic acid to glucose was increased up to above 1.00 (g/g) from 0.86 (g/g) in the last year.

From the prospective of LCA, we examined utilization of saccharified liquids derived from non-edible biomass. Using saccharified liquids of hard wood, wheat straw and pulp, aspartate production proceeded without inhibitory effects as long as sugar concentration is low (~200mM). However, when the sugar concentration was increased (~400mM), strong inhibition for aspartate production was observed in the reaction using saccharified liquid of wheat straw.



In this project, DIC corporation confirmed that SAP produced from bio-aspartic acid, which was supplied by Green Earth Institute Co. Ltd, was equivalent to that produced from industrial aspartic acid. Furthermore, we had a prospect on a scale-up process of polysuccinimide, an intermediate of SAP, as a consequence of testing several polymerization methods which are feasible for industrialization. On the other hand, we reevaluated the bridging method in order to satisfy two different performances of SAP, water retention and liquid permeability. As a result, we succeeded in improving water retention while keeping liquid permeability constant. Further improvements are required in order to catch up with the performances of acrylic acid SAP.

## 目次

### 1. 生産場所に合わせたプロセス検討・・・・・・・・・・ 9

#### 序論

- 1-1 炭酸水素アンモニウムの検討
- 1-2 中国炭酸水素アンモニウムの検討
- 1-3 甜菜モラセスの培養での検討
- 1-4 甜菜モラセスの反応での検討
- 1-5 中国甜菜モラセスの検討
- 1-6 中国サトウキビモラセスの検討

### 2. フラックスコントロール・・・・・・・・・・ 3 4

#### 序論

- 2-1 フラックスの解析方法
- 2-2 pH によるコントロール
- 2-3 温度によるコントロール
- 2-4 攪拌速度によるコントロール
- 2-5 パラメーターの変化によるフラックスの変化

### 3. 菌体開発・・・・・・・・・・ 5 3

#### 序論

- 3-1 甜菜モラセスでの副生物のプロファイル
- 3-2 遺伝子操作のターゲットにする場所
- 3-3 GlutA の欠損変異の導入
- 3-4 グルタミン酸とコハク酸の副生への影響
- 3-5 gltA2 変異株での副生物のプロファイル
- 3-6 酢酸を減少させる試み

- 3-7 GESs694 株での副生物のプロファイル
- 3-8 GESs694 株での繰り返し反応
- 3-9 繰り返し反応による副生物の変化
- 3-10 アラニン・ピルビン酸を減らす試み
- 3-11 GESs793 株での繰り返し反応
- 3-12 バリンを減らす試み

#### 4. 非可食由来の糖化液を用いたアスパラギン酸発酵・・・ 78

##### 序論

- 4-1 糖化液の調達
- 4-2 糖化液の糖の種類と糖濃度
- 4-3 糖化液と発酵阻害物質
- 4-4 低濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵
- 4-5 中濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵
- 4-6 高濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵
- 4-7 まとめ

#### 5. ポリアスパラギン酸を用いた吸水性樹脂の開発・・・ 91

##### 序論

- 5-1 重合反応概要
- 5-2 ラボ静置重合の概要
- 5-3 混錬重合法の検討
- 5-4 混錬機スケールアップ検討
- 5-5 架橋反応概要
- 5-6 吸水性能評価方法
- 5-7 バイオポリアスパラギン酸用いた高吸水性樹脂性能評価
- 5-8 新架橋方法による保水性、通液性の評価
- 5-9 ポリアスパラギン酸市場調査
- 5-10 まとめ

## 6. LCA の検証・評価・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 1 3

6-1 評価の目的

6-2 調査範囲

6-3 影響領域と影響評価手法

6-4 必要とされるデータ

6-5 前提条件

6-6 ライフサイクルインベントリー分析 (LCI)

6-7 ライフサイクル影響評価 (LCIA)

6-8 ライフサイクル解釈

6-9 限界と今後の課題

6-10 付属書

## 1. 生産場所に合わせたプロセス検討

## 序論

昨年の構想設計書の見積もりでは、一から設備を作る過程で計算しているため、アスパラギン酸 1 kg をつくるのに 6 3 0 円という結果になってしまった。しかし中国で既存の設備を使えば、現在のパフォーマンスでも 2 0 0 円以下でアスパラギン酸 1 kg をつくるのが可能だという情報もあった。またこちらが想定したより中国のユティリティー費用は安いこともわかった。これらのことから中国でのアスパラギン酸製造に向けて動き出すことにした。

しかし、中国での生産ということになると、使う材料から装置まで大きく異なることになる。スケールアップなどの調整は中国の企業に任せるにしても、原材料の違いによる生産効率の低下がないかは確認しておかなければならない。特に現在はコロナ禍のなか、実際に現地に行ってアスパラギン酸発酵プロセスの指導を行うことが難しく、想定できる問題点はできるだけ潰しておくことが重要になってくる。

原材料の違いという観点からは、特に注意が必要と考えられる原料が二つ存在する。一つは炭酸の供給源である。本事業では、排気二酸化炭素を水酸化カリウムに吸着させた炭酸カリウムを使う予定であった。しかし中国では、価格の観点から炭酸水素アンモニウムが使われる可能性が高い。本事業では、炭酸アンモニウムと炭酸カリウムは検討しているが、炭酸水素アンモニウムは検討していない。さらに中国では、ラボで使う試薬レベルのものではなく、精製の低い炭酸水素アンモニウムが使われることが多い。

もう一点はモラセスである。モラセスは産地によって成分に差が出やすい原料と言える。どういう工程でどの程度砂糖を搾り取っているかによって、糖濃度や不純物の割合が変わってくる。さらに心配な点として、この企業は中国の北部に位置し、サトウキビモラセスの入手にやや難があり、甜菜由来のモラセスを使う予定だという。サトウキビモラセスと甜菜モラセスは、同じ砂糖の搾りカスではあるが、ミネラルやビタミンの含量が大きく異なることがわかっている。

このような不安要素をあらかじめ取り除くために、現地からこれらの原料を取り寄せ、アスパラギン酸発酵に適した原料であるかどうかを検討した。

## 1-1 炭酸水素アンモニウムの検討

中国で使用予定の未精製の炭酸水素アンモニウムの検討に先立ち、日本で用意した試薬レベルの炭酸水素アンモニウム（関東化学）でアスパラギン酸発酵プロセスを検討した。

炭酸水素アンモニウムは、炭酸源として初期反応液に加える他、pH 調整液に加えて pH の調整と炭酸とアンモニアの供給に使う（図 1-1）。炭酸アンモニウムでは 2M の溶液をそのまま pH 調整液として用いたが、炭酸水素アンモニウムでは 2M で溶液にすると pH8.3 程度であり、これをそのまま pH 調整に使うと炭酸アンモニウムが入りすぎることになる。このような理由から、初期反応液に入れる割合と pH 調整液の二つの方向から炭酸水素アンモニウムの利用を検討した。

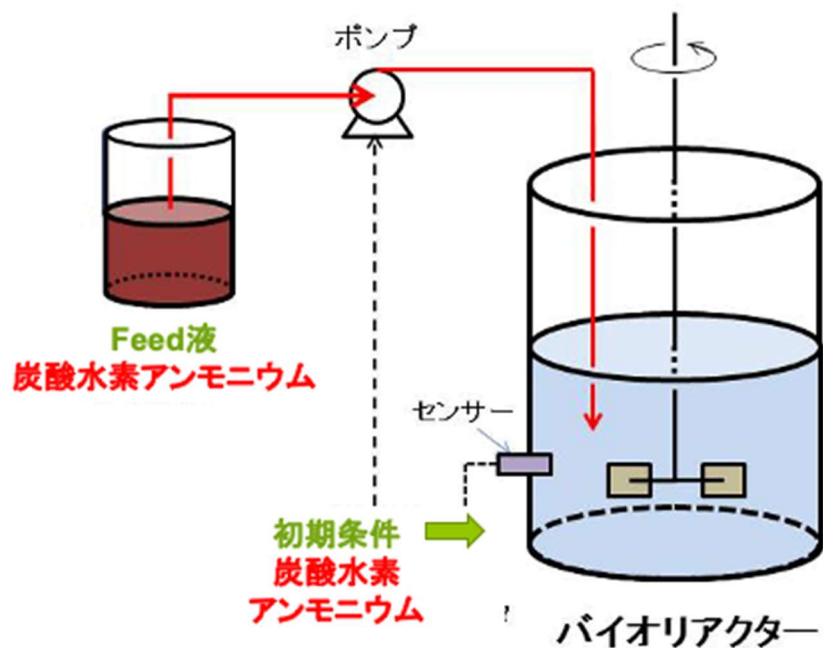


図 1-1 炭酸水素アンモニウムの検討

初期条件では、アスパラギン酸の生産開始に必要な炭酸とアンモニアを反応液に入れた炭酸水素アンモニウムで供給することになる。反応条件の検

討は、本事業でリースさせて頂いている Bio. Jr. 8 MicroBio (ABLE) を使って行った。反応条件などは以下の通り。

#### 反応液組成

##### 菌体

|               |            |
|---------------|------------|
| ミリ Q 水        | 85-Xml     |
| 2M 炭酸水素アンモニウム | Xml        |
| 50% グルコース     | 15ml       |
| クロラムフェニコール    | 25 $\mu$ l |

#### 反応条件

温度：35℃

pH:8.0

攪拌：500 rpm

通気：20ml/min

Feed 液はこれまでと同様に炭酸カリウムとアンモニアの混合液で実験を行った。反応液の総量は 100ml として、初期炭酸水素アンモニウムの量を振って水で総量を調整した。炭酸アンモニウムの時は 2M の溶液を反応液の 1 / 10 加えていたが、炭酸水素アンモニウムでも同様の比率が最適であることがわかった（図 1-2）。

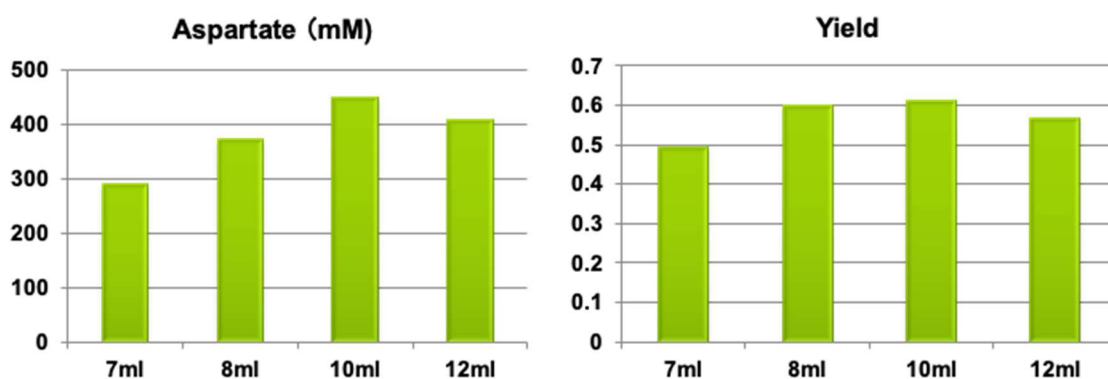


図 1-2 初期反応液に加える炭酸水素アンモニウムの検討 1



また炭酸アンモニウムと比べてアンモニアの量が半分であるため、アンモニアを少し足した形での検討も行った。検討の結果、アンモニアの添加は必要ないという結論に至った（図 1-3）。

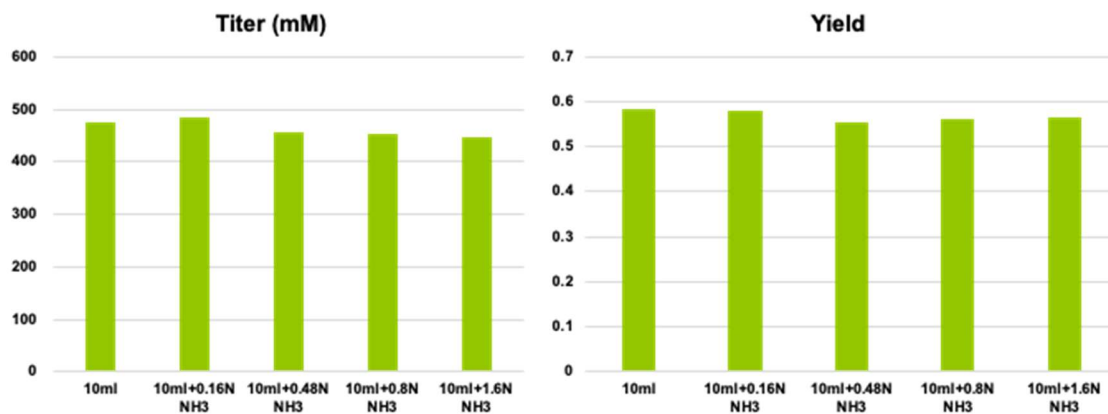


図 1-3 初期反応液に加える炭酸水素アンモニウムの検討 2

次に初期反応液に加える炭酸水素アンモニウムの量は 1/10 として、pH 調整液 (Feed 液) の検討を行った。pH 調整液は 2M 炭酸水素アンモニウムの pH が弱アルカリであることを加味して、強アルカリの 10N NaOH の添加を検討した。図 1-4 に示す通り、NaOH を加えないと pH 調整液が入りすぎて 30ml 用意した pH 調整液を使い切ってしまった。同様の現象は、2M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  と NaOH を 20:1, 10:1, 5:1 で混合した溶液でも起こった。逆に 2M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ :NaOH を 20:1 で混合した溶液では pH が 13 を超えて強アルカリ状態になり、炭酸水素アンモニウムの析出が見られた。結果として 3:1 での混合液で混ぜたものが最も反応が進んだ。

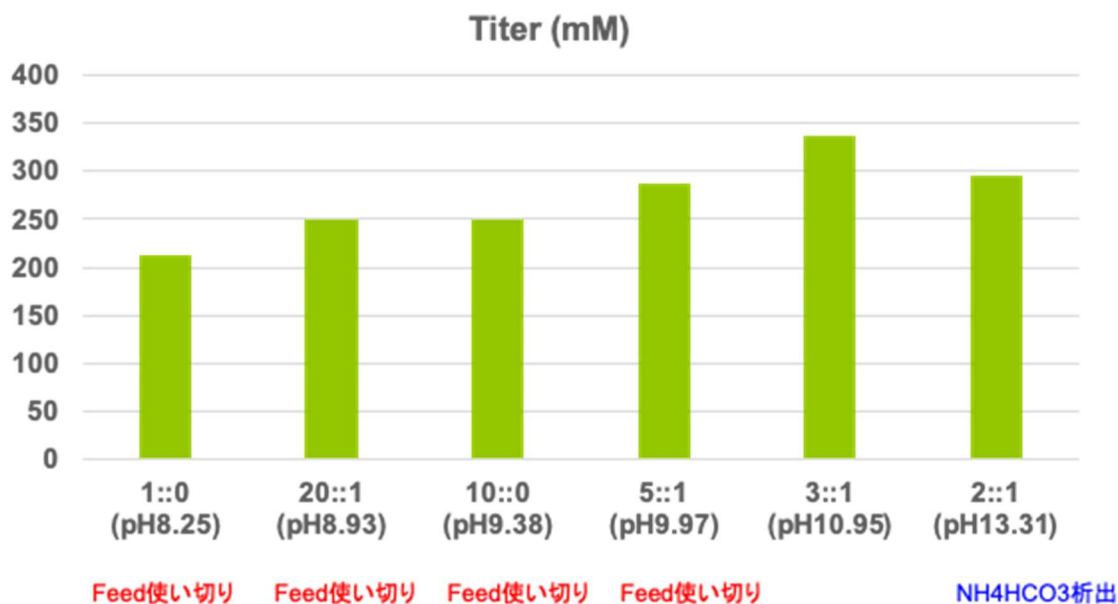


図 1-4 pH 調整液に加える炭酸水素アンモニウムの検討 1

\*比は 2M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  と 10N  $\text{NaOH}$  の混合比

また初期条件の検討と同様に、pH 調整液 (Feed 液) でもアンモニウムイオンの欠乏を考慮して、10N  $\text{NaOH}$  の一部を 16N  $\text{NH}_3$  で置き換えての検討を行った。検討の結果、アンモニアの添加で収率 (収率はモル収率) の向上がみられ 2M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  : 10N  $\text{NaOH}$  : 16N  $\text{NH}_3$  = 6 : 1 : 1 の比率で混ぜた混合液で最も良い結果が得られた (図 1-5)。以下の実験ではこの比率で混ぜた混合液、もしくは水酸化ナトリウムを使わず 2M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  : 16N  $\text{NH}_3$  = 4 : 1 で混合した溶液を pH 調整液として使っている。全体的に炭酸アンモニウムで反応した結果と遜色なく使えることがわかった。

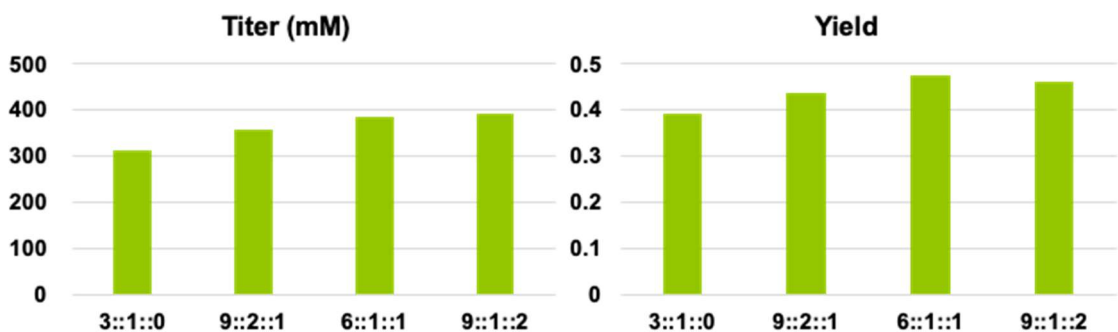


図 1-5 pH 調整液に加える炭酸水素アンモニウムの検討 2

\*比は 2M  $\text{NH}_4\text{CO}_3$  と 10N  $\text{NaOH}$  と 16N  $\text{NH}_3$  の混合比

## 1-2 中国炭酸水素アンモニウムの検討

前述の通り、中国の企業で使う予定の炭酸水素アンモニウムは、試薬のように純度の高いものではなく、結晶も日本の試薬のように白ではなく、若干灰色がかっている（図1-6）。



図1-6 中国から取り寄せた炭酸水素アンモニウム

このような不純物を含んだ原料を使う場合、発酵阻害物質が含まれていることが懸念される。日本の試薬で検討した通りの方法で、日本の試薬、中国から送られてきた二種類の炭酸水素アンモニウムを阻害効果が認められるかを検証した。

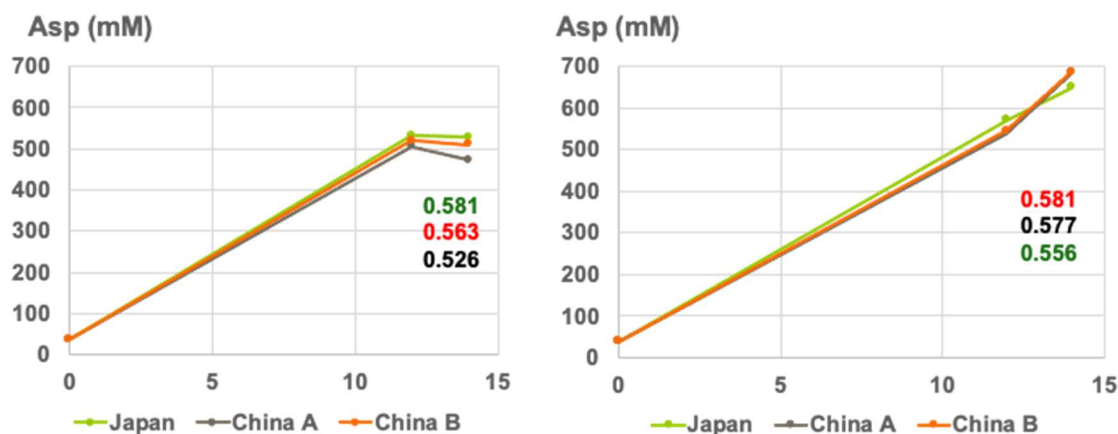


図 1-7 炭酸水素アンモニウムの評価

図 1-7 に示す通り、評価は 2 回行ったが、いずれも日本の試薬同等のアスパラギン酸の生産が確認された(収率はモル収率)。この結果を受けて、現地で使用予定の炭酸水素アンモニウムは問題なく使用できることを確認した。

### 1-3 甜菜モラセスの培養での検討

中国から甜菜モラセスを調達する段取りを整えたが、到着まで 1 ヶ月以上かかるということだった。そのため、日本での甜菜モラセスの取り寄せを行った(北海道糖業)。現地モラセスが日本に到着するまで、この日本の甜菜モラセスを使って検討を行うことにした(図 1-8)。



**糖蜜液**  
**日本ガーリック株式会社**

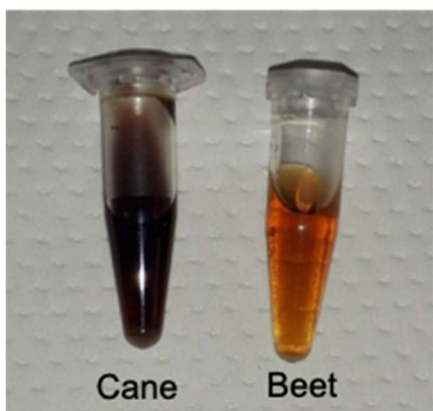


**ビート糖蜜**  
**北海道糖業株式会社**

図 1-8 日本で取り寄せたサトウキビモラセスと甜菜モラセス

着色の度合いは大きな差があり、サトウキビモラセスはかなり濃い褐色であるのに対して、甜菜モラセスは透明度がある程度保たれた褐色であった。この違いは、反応液の着色度合いにも影響を与えており精製に対する負荷も変わってくる（図 1-9）。

### 10% Molasses



### 反応液上澄

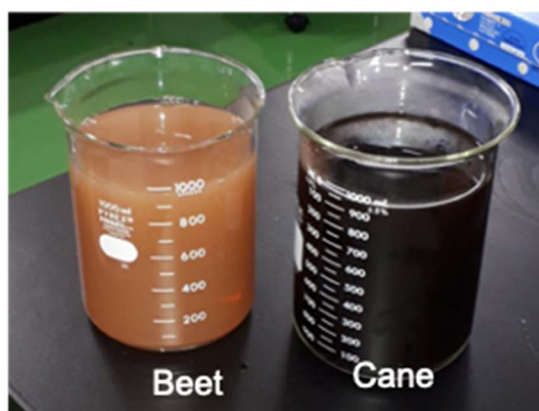


図 1-9 サトウキビモラセスと甜菜モラセスの着色

糖分析を行った結果、サトウキビモラセスは、ショ糖（シュクロース）の分解産物を思われるグルコースとフルクトースがかなり検出されるが、甜菜モラセスではショ糖のシングルピークであることがわかった（図1-10）。糖濃度は若干甜菜モラセスのほうが高く、重量比率でサトウキビモラセスが51.9%、甜菜モラセスが57.8%であった。

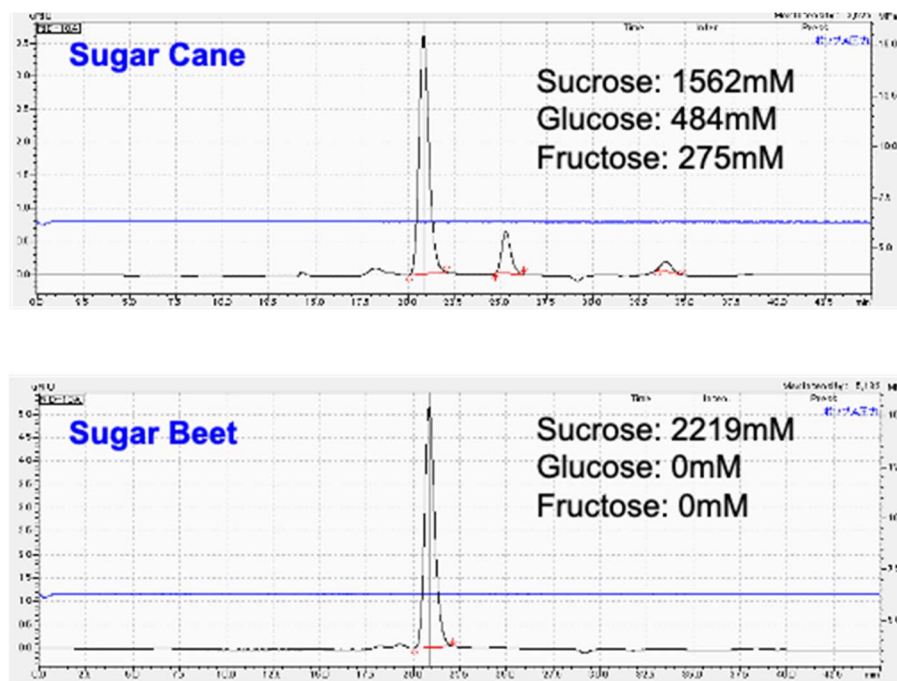


図1-10 サトウキビモラセスと甜菜モラセスの糖分析

またアミノ酸の含量も甜菜モラセスのほうが高いが、有機酸は顕著な差は認められなかった。

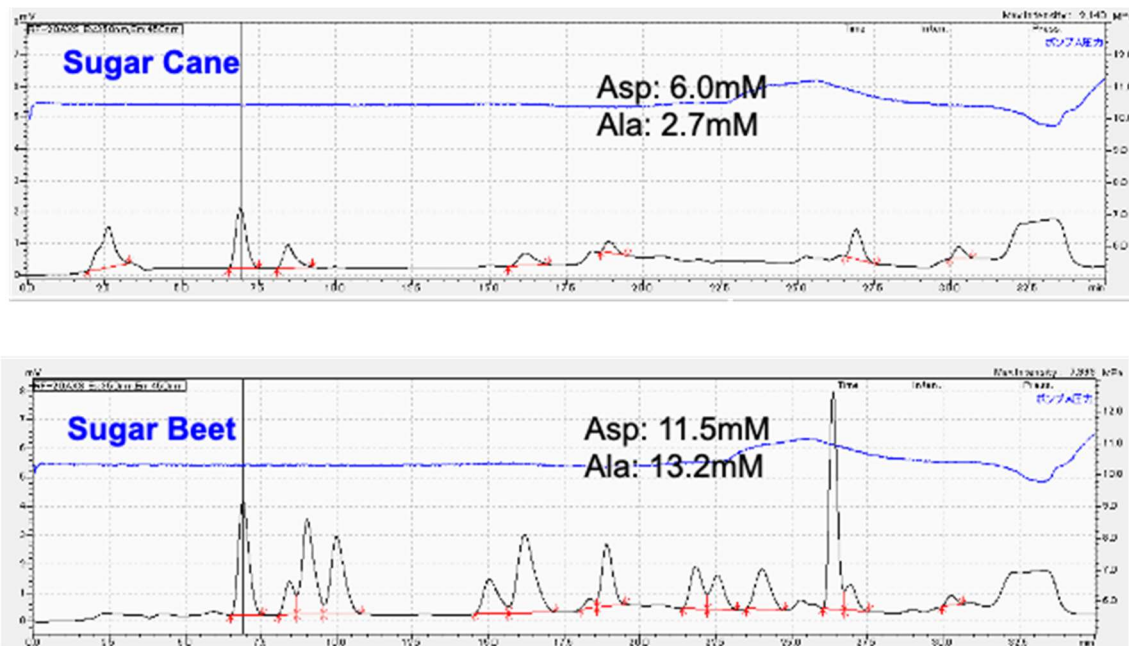


図 1-1 1 サトウキビモラセスと甜菜モラセスのアミノ酸分析

上記のサトウキビモラセスと甜菜モラセスを用いて菌体の培養を行った。  
培養条件は以下の通りである。

培地成分

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| モラセス                     | 800ml  |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ | 7g     |
| Antifoam                 | 10ml   |
| $\text{H}_2\text{O}$     | 6290ml |

培養条件 (10L Jar scale)

温度 35℃

pH 7.0

攪拌 700 rpm

通気 3L/min

甜菜モラセスの方が糖濃度は高いが、実際培養してみるとサトウキビモラセスほど  $\text{OD}_{610}$  の値が伸びなかった (図 1-1 2)。文献情報 (Sugarcanejuice



and molasse beet molasses and sweet sorghum-Composition and usag, ResearchGate 2009) になるが、甜菜モラセスではミネラルの含量がサトウキビより低く、カルシウムはサトウキビモラセスで、6-12 g/kg に対して甜菜モラセスで、0.75-3.8 g/kg となっている。またマグネシウムは、サトウキビモラセスで、4-11 g/kg に対して甜菜モラセスで、0.1-2.7 g/kg となっている。検討の結果、マグネシウムを添加すると甜菜モラセスでも OD<sub>610</sub> の値が伸びることがわかった (図 1-1 2)。

### 培養終了後のOD<sub>610</sub>

|                   |        |        |        |
|-------------------|--------|--------|--------|
| 甜菜モラセス            | 800ml  | 800ml  | 800ml  |
| 攪拌                | 700rpm | 700rpm | 700rpm |
| 通気                | 3L/min | 3L/min | 3L/min |
| MgSO <sub>4</sub> | 0g     | 5g     | 10g    |
| OD <sub>610</sub> | 66.1   | 83.2   | 75.5   |

図 1-1 2 甜菜モラセスでの培養 1

さらに通気を検討した結果、3L/min が最適という結果になった (図 1-1 3)。



### 培養終了後のOD<sub>610</sub>

|                   |        |        |        |
|-------------------|--------|--------|--------|
| 甜菜モラセス            | 800ml  | 800ml  | 800ml  |
| 攪拌                | 700rpm | 700rpm | 700rpm |
| 通気                | 3L/min | 2L/min | 1L/min |
| MgSO <sub>4</sub> | 5g     | 5g     | 5g     |
| OD <sub>610</sub> | 83.2   | 76.1   | 67.7   |

図 1-1 3 甜菜モラセスでの培養 2

また、甜菜モラセスはサトウキビモラセスに比べて粘性も高くないため、浸透圧ストレスが少ないと考えた。そこで加えるモラセスの量を増やす方向で検討した。その結果 900ml まで入れても菌体の培養は阻害されず、逆に OD<sub>610</sub> は伸びることがわかった（図 1-1 4）。

### 培養終了後のOD<sub>610</sub>

|                   |        |        |        |
|-------------------|--------|--------|--------|
| 甜菜モラセス            | 800ml  | 900ml  | 1000ml |
| 攪拌                | 700rpm | 700rpm | 700rpm |
| 通気                | 3L/min | 3L/min | 3L/min |
| MgSO <sub>4</sub> | 5g     | 5g     | 5g     |
| OD <sub>610</sub> | 83.2   | 89.8   | 82.4   |

図 1-1 4 甜菜モラセスでの培養 3

最後に通気を増やす方向で検討してみたところ、OD<sub>610</sub>=98.7 まで伸びた（図 1-1 5）。

### 培養終了後のOD<sub>610</sub>

|                   |        |        |
|-------------------|--------|--------|
| 甜菜モラセス            | 900ml  | 900ml  |
| 攪拌                | 700rpm | 700rpm |
| 通気                | 3L/min | 5L/min |
| MgSO <sub>4</sub> | 5g     | 5g     |
| OD <sub>610</sub> | 89.8   | 98.7   |

図 1-1 5 甜菜モラセスでの培養 3

決定した培養条件を下記に記しておく。

#### 培地成分

|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| 甜菜モラセス                          | 900ml  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 7g     |
| MgSO <sub>4</sub>               | 5g     |
| Antifoam                        | 10ml   |
| H <sub>2</sub> O                | 6190ml |

#### 培養条件 (10L Jar scale)

|    |         |
|----|---------|
| 温度 | 35℃     |
| pH | 7.0     |
| 攪拌 | 700 rpm |
| 通気 | 5L/min  |

## 1-4 甜菜モラセスの反応での検討

反応にはモラセスを使用するわけではないが、どの培地でどういうコンディションで培養したかということは、大きく反応の結果を左右する。これは細胞が発現している酵素の量やバランス、NAD<sup>+</sup> と NADH の量や比で表される酸化還元状態などが反応に大きく左右するからだ。特に酵素発現は、反応状態では新たに行われることはなく、培養の最終状態の酵素発現がその後の反応に影響を与え、反応条件で調節することは難しい。

図 1-16 は甜菜モラセスを使って 3 回繰り返し反応を行った結果である。実験の条件は以下の通りである。

### 反応液組成

#### 菌体

|               |             |
|---------------|-------------|
| ミリ Q 水        | 1400m       |
| 2M 炭酸水素アンモニウム | 200ml       |
| 50% グルコース     | 400ml       |
| クロラムフェニコール    | 500 $\mu$ l |

### 反応条件

|      |            |
|------|------------|
| 温度   | 35°C       |
| pH   | 8.0        |
| 攪拌速度 | 340rpm     |
| 通気   | 250 ml/min |

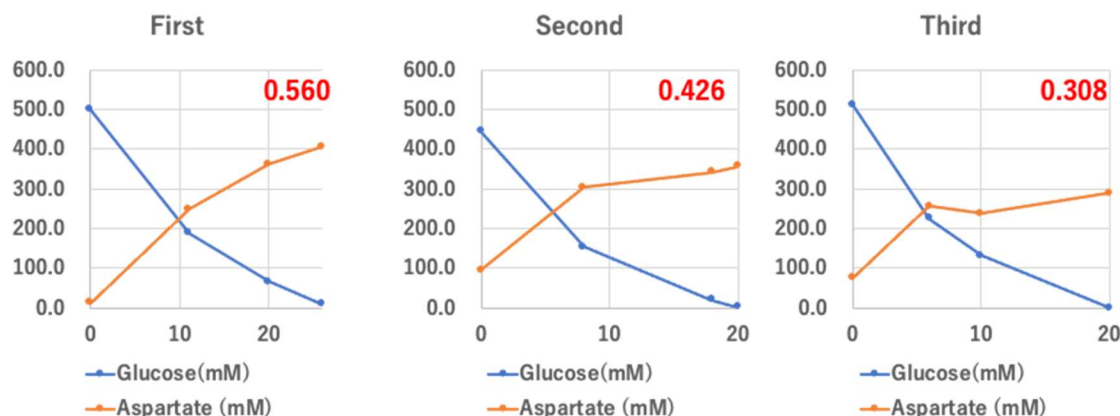


図 1-1 6 甜菜モラセス培養菌体での繰り返し反応

この結果には問題点が二つあった。一つは Titer が 400mM 程度までしか上がっていないことである。グルコースを添加することは可能だが、これ以上グルコースを足しても、副生が増えるばかりで収率(収率はモル収率)はどんどん落ちていく。もう一つは繰り返し反応がうまくいっていないことだ。繰り返しを行うごとに収率は落ちている。これはサトウキビモラセスでもみられる現象であるが、甜菜モラセスでは、その劣化の速度が著しい。副生の割合を見てみると図 1-1 7 になる。甜菜モラセスの時の特徴としては、1 回目のグルタミン酸の割合が高いこと、検出できていないカーボンの量が多いことなどが挙げられる。

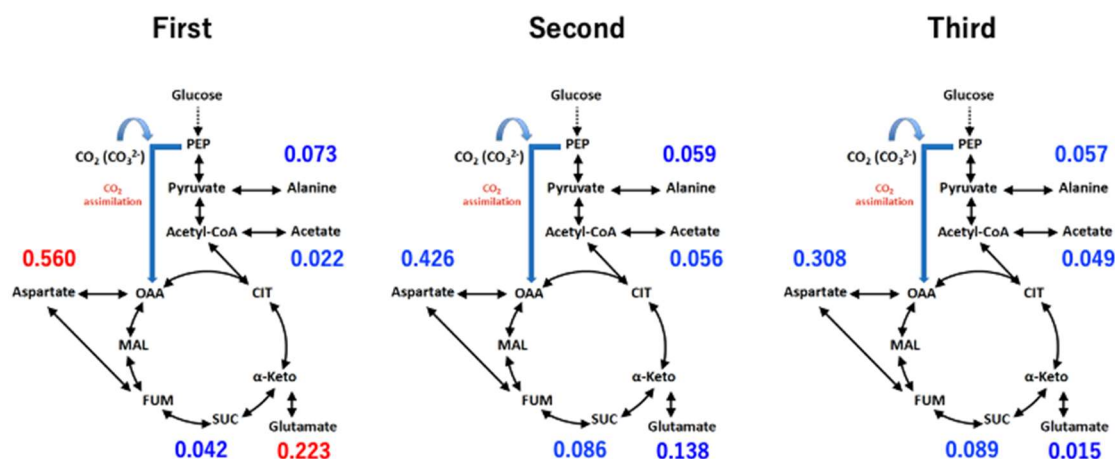


図 1-1 7 甜菜モラセス培養菌体での反応での副生物

## 1-5 中国甜菜モラセスの検討

このように甜菜モラセスの使用に関しては、かなり不安が残る状態であったが、中国より甜菜モラセスが到着したため、こちらを使ってアスパラギン酸のプロセスを動かしてみることにした。

モラセスは、原料が同じであっても糖の精製のプロセスによってその成分は変わってくる。図1-18はサトウキビモラセス(日本)、甜菜モラセス(日本)、甜菜モラセス(中国)の成分分析の結果である。現地甜菜モラセスの糖濃度は低めであったが、アミノ酸含量などは高めであった。このことは、中国の甜菜モラセスではより多くの糖を抽出していることが予想される。

|                   | Sugar Cane | Sugar Beet | Sugar Beet (中国) |
|-------------------|------------|------------|-----------------|
| Glucose(mM)       | 484        | 0          | 0               |
| Sucrose (mM)      | 1562       | 2219       | 1758            |
| Fructose (mM)     | 275        | 0          | 0               |
| Sugar (g/L)       | 69.9       | 79.9       | 63.3            |
| Lactic acid(mM)   | 452        | 344        | 495             |
| Succinic acid(mM) | 81         | 0          | 0               |
| Acetic acid(mM)   | 0          | 86         | 0               |
| Pyruvate (mM)     | 0          | 0          | 0               |
| Malate (mM)       | 0          | 0          | 0               |
| Fumarate (mM)     | 37         | 0          | 0               |
| Valine (mM)       | 2          | 7          | 1               |
| Threonine (mM)    | 3          | 4          | 1               |
| Aspartate (mM)    | 6          | 11         | 21              |
| Alanine (mM)      | 2          | 1          | 4               |

図1-18 モラセスの成分分析

このモラセスを使って、サトウキビモラセス(日本)、甜菜モラセス(日本)、甜菜モラセス(中国)をほぼ同じ条件で、培養を比較した。条件は基本的にサトウキビモラセスで最適化した条件を使ったが甜菜モラセスの培地にはマウネシウムイオンを加えている。結果、日本の甜菜モラセスと中国の甜菜モラセスでは、ほとんど差は見られなかった。しかし、サ

トウキビモラセスに比べると生育は少し悪くなっている（図 1-19）。

## Cultivation

### Conditions

Strain: GESs580  
Jar: 7L in 10L Jar (ABLE)  
Agitation: 700rpm  
Temperature: 35C  
Aeration: 3L/min  
pH: 7.0  
Feed: 16N NH<sub>3</sub>

### Medium

Molasses: 800ml  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 7g  
Antifoam: 10ml  
Water: 6190ml  
(MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O: 5g)

### OD<sub>610</sub> after 22h incubation

|                | Sugar Cane  | Sugar Beet (JP) + MgSO <sub>4</sub> | Sugar Beet (CN) + MgSO <sub>4</sub> |
|----------------|-------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>GESs580</b> | <b>95.4</b> | <b>83.2</b>                         | <b>81.7</b>                         |

図 1-19 三種類のモラセスを用いた培養

さらに、現地甜菜モラセスで培養した菌体を使って繰り返し反応を 3 回行った。その結果を図 1-20 に示す。日本の甜菜モラセスを使ったときと同様に 500mM 程度の濃度で頭打ちになる傾向は見られた。また日本の甜菜モラセスの時より、やや反応の速度が遅く 24 時間では 500mM のグルコースを消費することができていない。

日本の甜菜モラセスの時と比べると、収率（モル収率で表示）の劣化は穏やかなものとなっている。ただしやはりグルタミン酸の割合が高めであるという特徴は共通していた（図 1-21）。

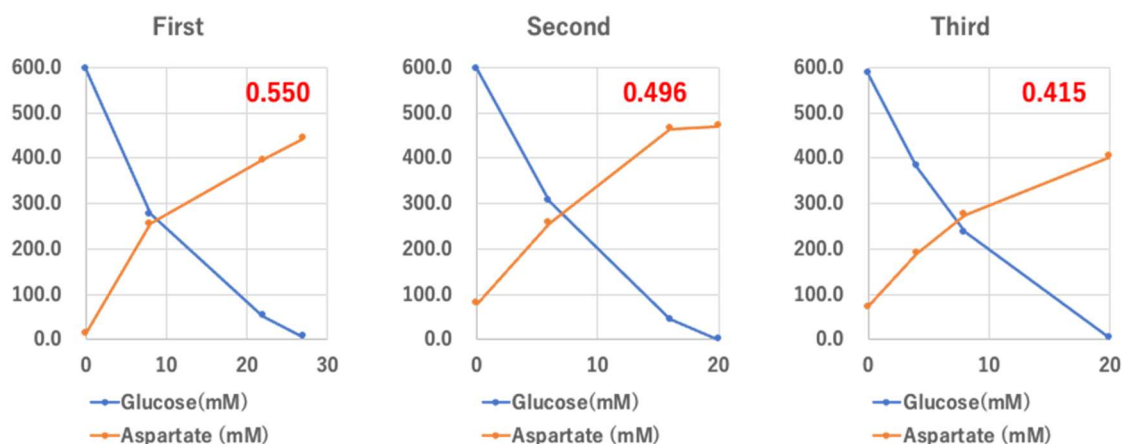


図 1-20 中国甜菜モラセスを用いた繰り返し反応

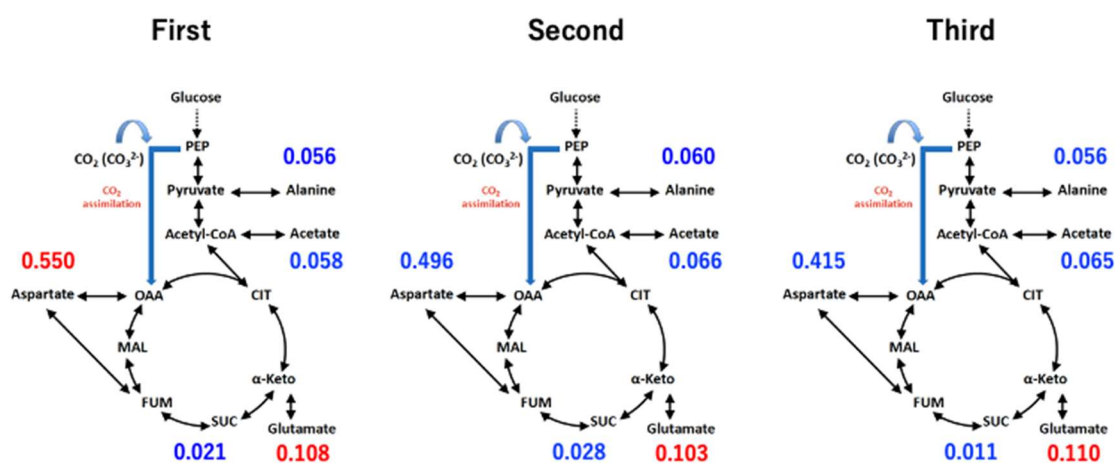


図 1-21 中国甜菜モラセスを用いた繰り返し反応の副生物

これらの結果を昨年度行ったサトウキビモラセスと比較すると、図 1-22 になる。横軸の数は繰り返し反応の回数を示す。図から明らかなように、甜菜モラセスでは、

- 1) Titer が上がりにくい
- 2) 繰り返し反応で収率の低下が速い

という特徴があり、これは全体のコストにかなり響くと言う判断をした。しかし、サトウキビモラセスの使用は難しいと判断し、菌体開発やプロセスの検討を続けることにした。

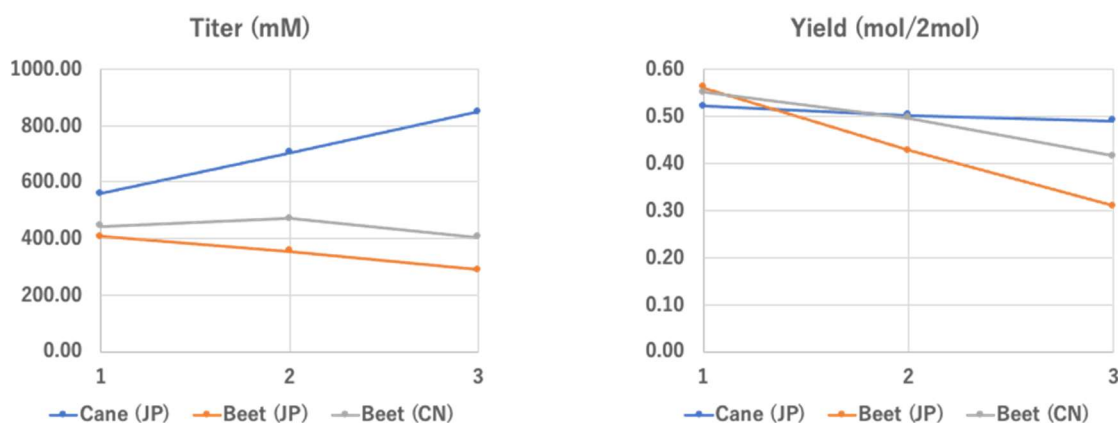


図 1-2 2 サトウキビモラセスと甜菜モラセスの繰り返し反応の比較

## 1-6 中国サトウキビモラセスの検討

甜菜モラセスでの検討は続けていたが、甜菜モラセスでは思うような結果が出ていないため、中国で入手可能なサトウキビモラセスの検討を行うことにした。すぐに中国からサトウキビモラセスを調達した。

日本に到着後、まず成分分析を行った。並行して日本のサトウキビモラセスも行ったが、ロットの違いか測定誤差かはわからないが図 1-1 6 と少し異なる数値が出た (図 1-2 3)。日本のサトウキビモラセスと中国のサトウキビモラセスを比較すると、日本のサトウキビモラセスの方が糖濃度は高めであった。ただしアミノ酸などの含量は中国のサトウキビモラセスの方が高く、甜菜モラセス同様に中国のモラセスの方が糖の抽出の度合いが高いことが窺える。



|                   | Cane (CN) | Cane (JP) |
|-------------------|-----------|-----------|
| Glucose(mM)       | 103.5     | 492.5     |
| Sucrose (mM)      | 1237.0    | 1479.0    |
| Fructose (mM)     | 382.5     | 444.5     |
|                   |           |           |
| Lactic acid(mM)   | 984.0     | 408.2     |
| Succinic acid(mM) | 594.0     | 66.9      |
| Acetic acid(mM)   | 0.0       | 0.0       |
| Pyruvate (mM)     | 0.0       | 0.0       |
| Fumarate (mM)     | 45.4      | 35.9      |
| Valine (mM)       | 6.5       | 0.0       |
| Glutamate (mM)    | 8.5       | 0.0       |
| Aspartate (mM)    | 47.0      | 6.3       |
| Alanine (mM)      | 17.0      | 3.0       |

図 1-2 3 サトウキビモラセスの成分分析

このモラセスを使って早速培養を開始した。日本のサトウキビと比べるとやや到達 OD<sub>610</sub> が低くなっているが、培養自体は遅くはなっておらず、糖濃度の違いが到達 OD<sub>610</sub> の違いになっていると考えられる (図 1-2 4)。

# Cultivation Conditions

## Conditions

**Jar:** 7L in 10L Jar  
**Agitation:** 700rpm  
**Temperature:** 35C  
**Aeration:** 3L/min  
**pH:** 7.0  
**Feed:** 16N NH<sub>3</sub>

## Medium

**Molasses:** 800ml  
**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** 7g  
**Antifoam:** 10ml  
**Water:** 6190ml

|                   | CANE (CN) | CANE (JP) |
|-------------------|-----------|-----------|
| OD <sub>610</sub> | 89.0      | 95.2      |
| 培養時間 (h)          | 20        | 22        |

図 1-2 4 中国サトウキビモラセスでの培養

この培養菌体を用いて、繰り返し反応をおこなった。反応の条件は以下に記す

## 反応液組成

### 菌体

|                |         |
|----------------|---------|
| ミリ Q 水         | 1250m   |
| 2 M 炭酸水素アンモニウム | 300ml   |
| 50% グルコース      | 450ml   |
| クロラムフェニコール     | 500 μ l |

## 反応条件

|    |     |
|----|-----|
| 温度 | 30℃ |
| pH | 7.0 |

攪拌速度 320rpm  
通気 200 ml/min

やや反応速度が遅く、24時間で糖を使い切ることができていないが、収率や Titer は甜菜モラセスより向上している（図1-25）。しかし日本のサトウキビモラセスの時と比べると Titer の伸びがなく、これは反応温度を下げたことによと考えられる

副生物のプロファイルを見ると、甜菜モラセスで見られたようなグルタミン酸の副生が増えるという現象は見られていない（図1-26）。しかし甜菜モラセスと比べるとコハク酸の副性が増えており、同じ TCA の右側に位置する副生だが培養の糖源によって副生物の種類が違ってくるのは興味深い結果となった。

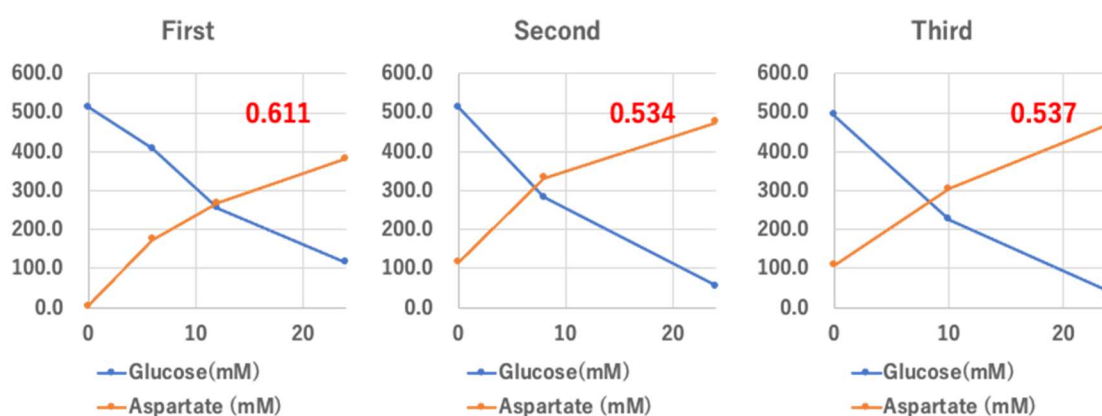


図1-25 中国サトウキビモラセスでの繰り返し反応

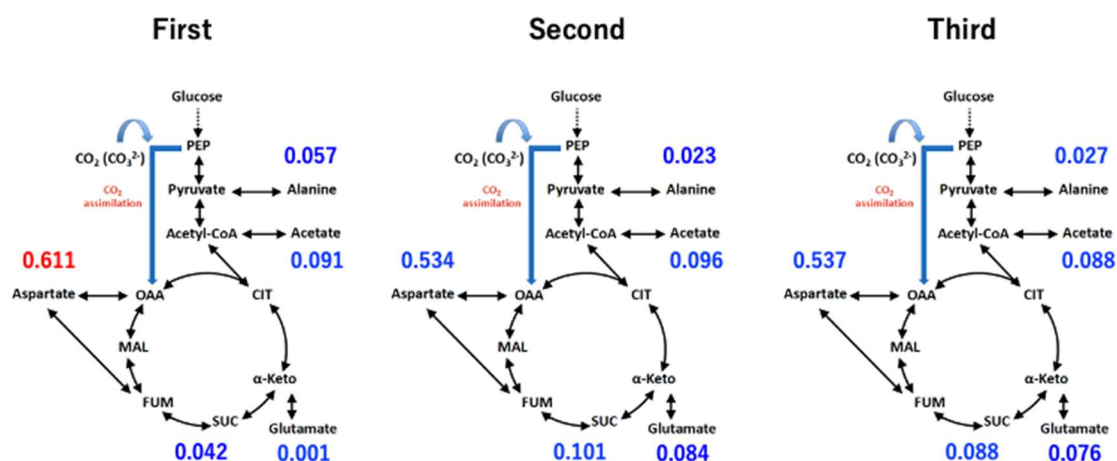


図 1-2 6 中国サトウキビモラセスでの繰り返し反応の副生物

同じ条件で日本のサトウキビモラセスで反応した結果と比べると、ほぼ変わらないことがわかる (図 1-2 7)。今回のアッセイでは Titer が低めであったが、これは温度を 30℃、攪拌を 320rpm で行ったためだと思われる。甜菜モラセスでの検討の結果から、温度は低い方が収率はよく、回転数も低い方が収率は良いことがわかっていて (次章参照)。この結果を受けて、収率重視で反応条件を選択したが、この結果が Titer の低下をもたらしたと考えられる。

いずれにせよ、現地サトウキビモラセスを使えば、日本のサトウキビモラセスとほぼ同じような結果が出るのが確かめられた。Titer を上げるような条件設定をすると、Titer も上がることも確認している。

以上の結果から、炭酸水素アンモニウムは精製度の低いもので使用に問題ないことが確かめられ、またモラセスは甜菜由来ではなくサトウキビ由来のモラセスをつくることで、日本で想定しているパフォーマンスが維持できることが確認できた。

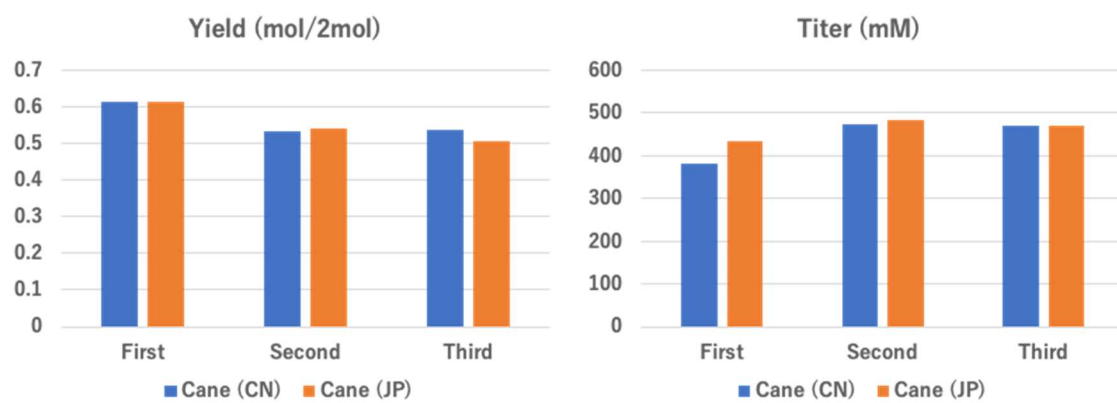


図 1-2 7 サトウキビモラセスでの比較

## 2. フラックスコントロール

## 序論

甜菜モラセスでの反応がうまくいかないということを受けて、反応条件の検討を行う方向で研究を進めた。結果的にはサトウキビモラセスを使う方向で調整されたが、その結論が出るまで甜菜モラセスでの反応条件検討を続けていた。よってこの章で紹介するデータのほとんどが甜菜モラセスで培養した菌を使って行われている。ただしここで得られた知見はサトウキビモラセスで培養した菌体でも十分に適用できる。

ここで行った条件検討は、今までのように如何にして収率を上げるのか、どうやって Titer をあげるかという視点では行っていない。どのパラメーターを変えると細胞の中の代謝フラックスがどのように動くのかという視点で解析を行った。単純に収率を上げるためにはという視点に立つと、この菌体ではこの条件だが、この菌体ではこの条件ということになり、それぞれに対して最適化のプロセスが必要となる。しかし予めフラックスをコントロールする方法を把握しておけば、菌体の副生などの特徴から調節すべきポイントが事前に予測できることになる。

またフラックスのコントロールの仕方を把握していることは、技術移転やスケールアップの時にも役に立つと考えられる。技術移転で問題になるのは、Green Earth のラボで行った実験が、他のラボでは再現できないと言うことが起こることである。現在、現地企業に技術移転を行っているが、この問題は多発している。他のラボでは、例えば同じ 5L Jar であってもメーカーが違えばベッセルの形が微妙に異なったりしている。通気や攪拌数を数字上合わせても、酸素条件が異なり同じパフォーマンス出なかったりする。とくに外国の場合は、装置は確実に異なり、さらにこのコロナ禍で現地にいけないとなると、技術移転はかなり難しい作業となる。このような時に、どの副生物に炭素が流れやすくなっているのかという視点で調整を行えば適切な対応ができる。同様のことはスケールアップ時にも言える。

### 2-1 フラックスの解析方法

フラックス解析と言っても、細胞内の物質を抽出して質量分析計で物質を同定すると言ふような大掛かりなものではなく、普段測定している反応液の組成の解析から炭素の流れの変化を考えると単なるものだ。特にこのアスパラギン酸の発酵プロセスは、培養と反応が分かれており、10L Jar で培養して8連 Jar で反応すると言ふ形態で実験を行うと、同じ菌体でかなりの数の反応が行えることになる。菌体は4℃で保存しておくとも1週間程度は特に劣化せずに反応が行える。

図2-1は解析のために副生物をグループ化した図である。アスパラギン酸の発酵には、炭素の流れに二つの大きな分岐があり、ここを区別するために Pyruvate-derivatives、Aspartate-derivatives、Glutamate-derivatives という3つの大きなグループに分けた。TCA の方向に落ちていない Pyruvate-derivatives というグループは本来アラニン、バリン、ピルビン酸、乳酸で構成されるが、今回の解析では酢酸もこのグループに加えた。酢酸は本来、この Pyruvate-derivatives と後述の Glutamate-derivatives の中間に位置し、簡単に分類できない。

TCA 回路に落ちた炭素は、左側に向かえば目的物質であるアスパラギン酸の生産に使われる。このグループを Aspartate-derivatives と名付けた。TCA 回路は還元状態では左回りに流れるため、反応条件を十分還元状態にしておけばこちらに炭素は流れるはずである。このグループにはアスパラギン酸の他に、リンゴ酸とフマル酸を加えている。またフマル酸をコハク酸に変換するコハク酸脱水素酵素は遺伝子操作によって欠失してあるため、このグループの炭素が右側のグループに移ることはない。

三つ目のグループは TCA 回路の右側に位置するグループで Glutamate-derivatives と名付けた。本来こちらに炭素は来るような条件にはしてはいけないのだが、あまりに還元状態にしてしまうと反応が全く進まなくなってしまう。これは細胞内の NADH が過剰に蓄積し、解糖系の  $\text{NAD}^+$  を必要とするグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素の反応が止まってしまうためと考えられる。反応をある程度速やかに流すためには、NADH の酸化が必要であり、そのために通気や回転数を上げると、同時にこのグループに流れる炭素も増えてしまうということになる。このグループには、グルタミン酸、コハク酸、クエン酸などが入るが、クエン酸は実質的にはほとんどカウントされないため、グルタ



ミン酸とコハク酸をこのグループに入れている。また数値は基本的にモル収率での数値を使っているが、アスパラギン酸、フマル酸、リンゴ酸、ピルビン酸、乳酸、酢酸、アラニンはグルコース 1 モルから 2 モルできるが、バリン、グルタミン酸、コハク酸は 1 モルしかできない。よって

モル収率＝生産物のモル濃度／使用したグルコースのモル濃度／ 2

(アスパラギン酸、フマル酸、リンゴ酸、ピルビン酸、乳酸、酢酸、アラニン)

モル収率＝生産物のモル濃度／使用したグルコースのモル濃度

(バリン、グルタミン酸、コハク酸)

という計算になっている。

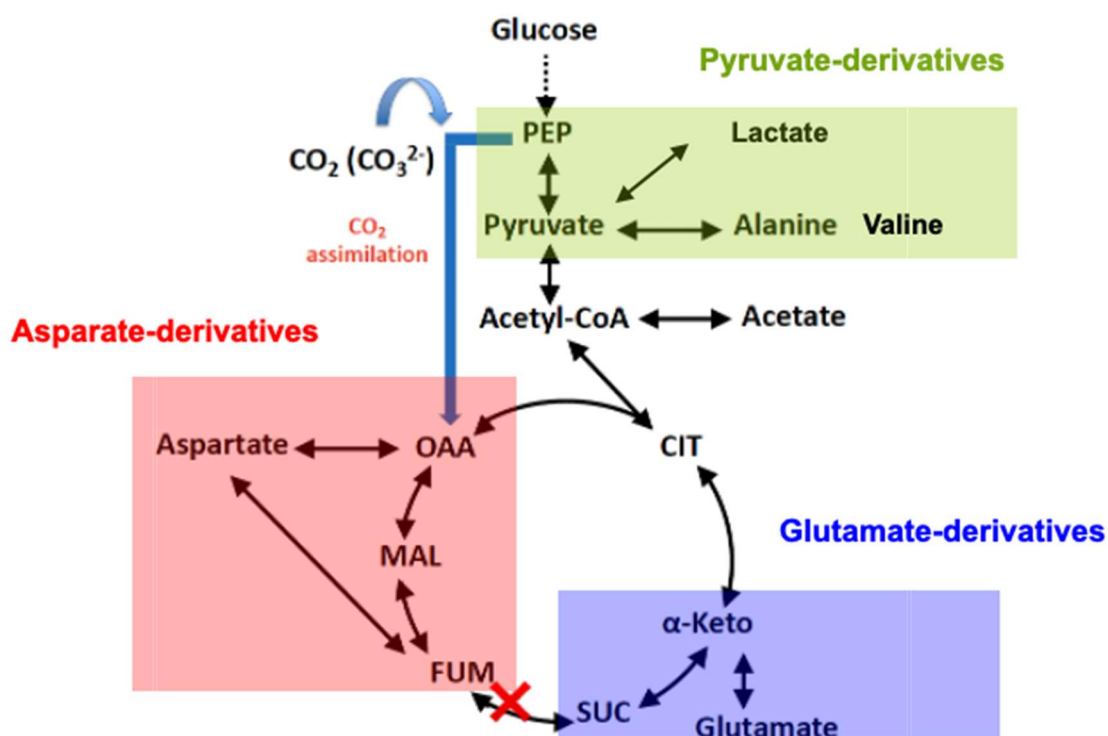


図 2-1 副生物のグループ化の模式図

## 2-2 pH によるコントロール

前述のようにフラックスコントロールの解析は菌体改良と同時に行った。よって複数の異なる株に対して解析を行っている。複数の遺伝子型の異なる株に対して共通の動きを見せれば、それはその株に特有の現象ではないという証左にもなる。

図 2-2 は、pH を 6.5~8.5 の間で振ったとき（温度 30℃、500rpm、10ml/min）の TCA に流れた炭素の割合を示している。より具体的に記すと

TCA = Aspartate derivatives + Glutamate derivatives

Total Carbon = Pyruvate derivatives + Aspartate derivatives +  
Glutamate derivatives

ということになる。要するにどれだけの炭素が TCA に流れたか、逆にいうと Pyruvate-derivatives を減らせたかということになる。図で見るとわかるように pH が高いほど TCA に炭素が入っている。この傾向はすべての菌体に共通している。今のところその正確な理由はわかっていない。考えられることとして、高い pH の方が Feed 液は多く入ることになり、常に反応液により多くの炭酸が存在することがプラスに働いている可能性はある。

## TCA/Total Carbon

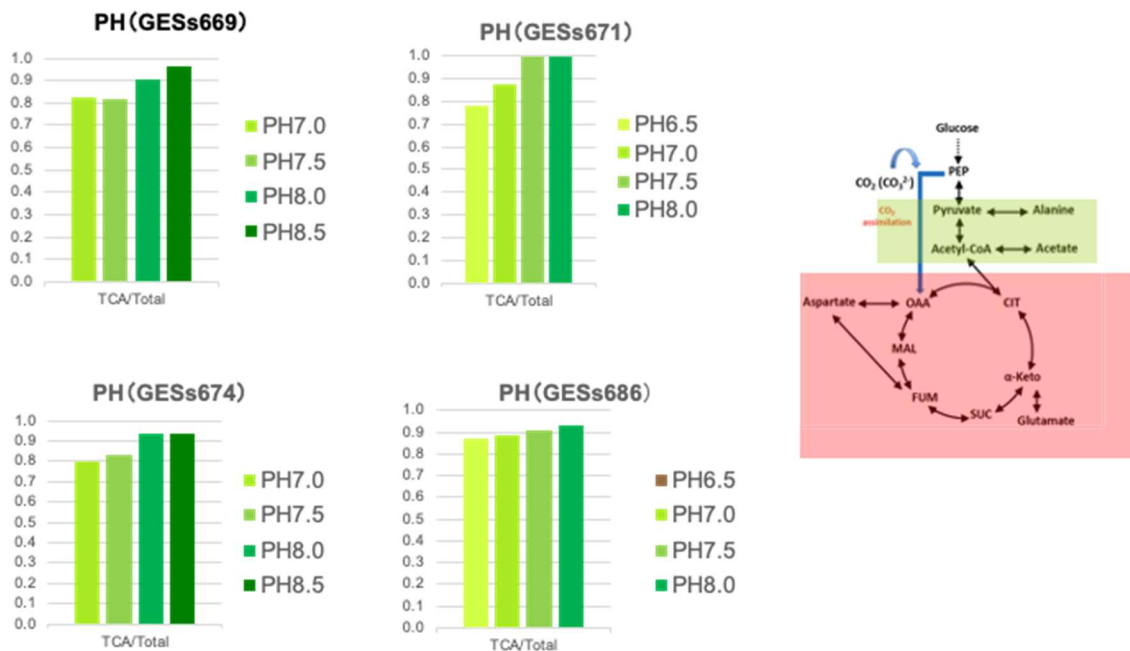


図 2-2 pH によるコントロール (TCA/Total Carbon)

次に TCA に流れた炭素が左側の Aspartate-derivatives に流れる割合を図 2-3 で示した。こちらにもほぼ例外なく pH が低い方が Asp-Derivatives に炭素が流れやすいという共通の結果が出ている。TCA が酸化的に動くか還元的に動くかは基本的には酸素状態が規定しているが、pH による傾向もあるというのは予想外ではあった。ピルビン酸からアセチル CoA を経てクエン酸に落ちる経路は pH が高い方が働きやすいという解釈は可能だが、今のところそれを支持する証拠はない。アスパラギン酸の場合は、アスパラギン酸の排出に問題があり、排出が滞るために酸化的な方向に流れるということも起こりうる。pH が高い方が TCA に炭素が流れ、その炭素が行き場を失って Glutamate-derivatives に流れてきているという解釈も成り立つ。

## Asp-Derivatives / TCA

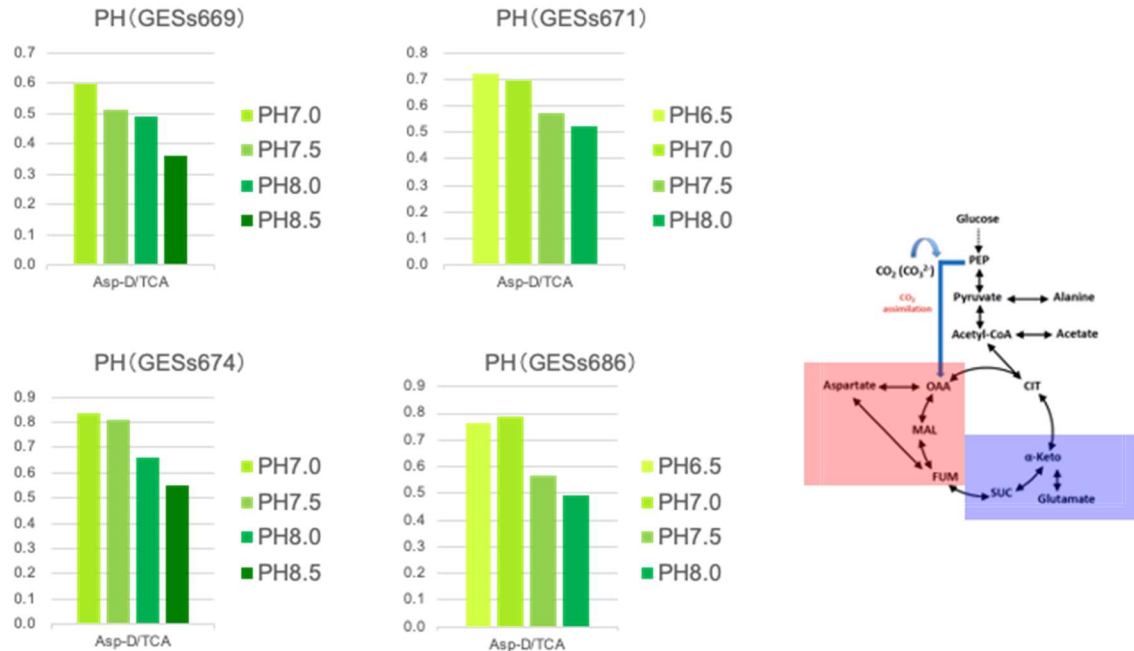


図 2-3 pH によるコントロール (Asp-Derivatives / TCA)

アスパラギン酸の生産という意味において、pH の上昇は異なる二つの効果を与えることになる。炭素を TCA 回路に落とすという意味では、pH は高い方がいいが、その TCA 回路の中では pH が高い方がグルタミン酸の方向に炭素が行きやすくなっている。図 2-4 は pH によるアスパラギン酸の収率を比較したものだが、どの菌体でも pH7.0 で最も高くなっている。

## Aspartate Yield

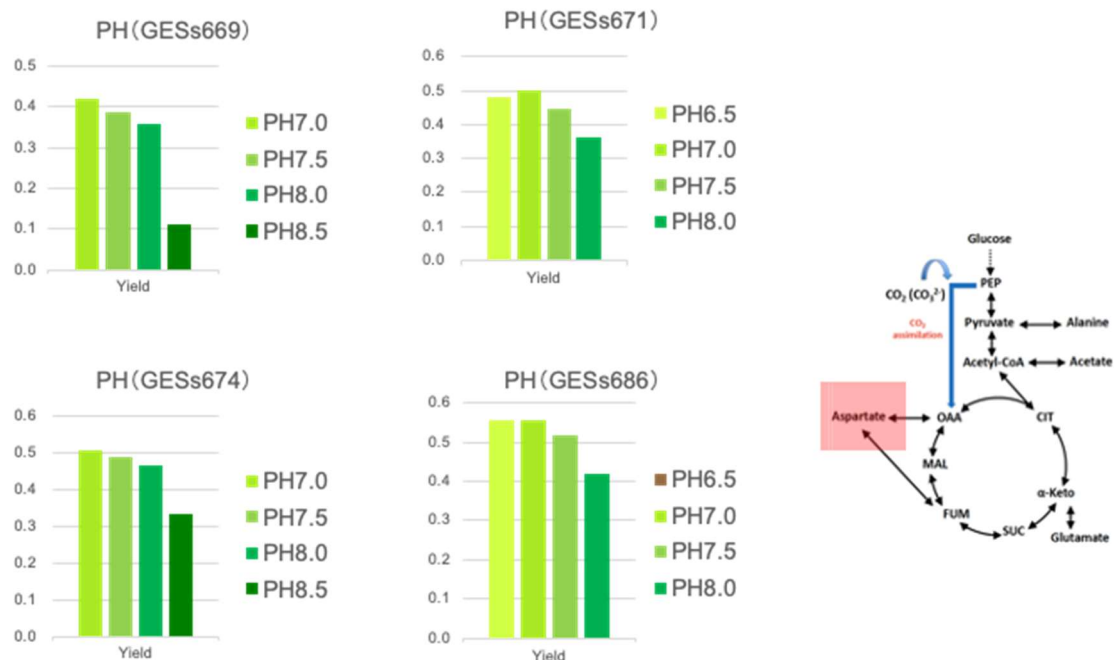


図 2-4 pH によるコントロール (Aspartate Yield)

収率の他に反応スピードも大きな判断基準となる。図 2-5 は、単位時間に単位 OD<sub>610</sub> あたりの細胞が消費するグルコース (mM) を示したグラフである。pH が低いほど反応速度は速くなっている。

## 反応速度(Glc/OD<sub>610</sub>/h)

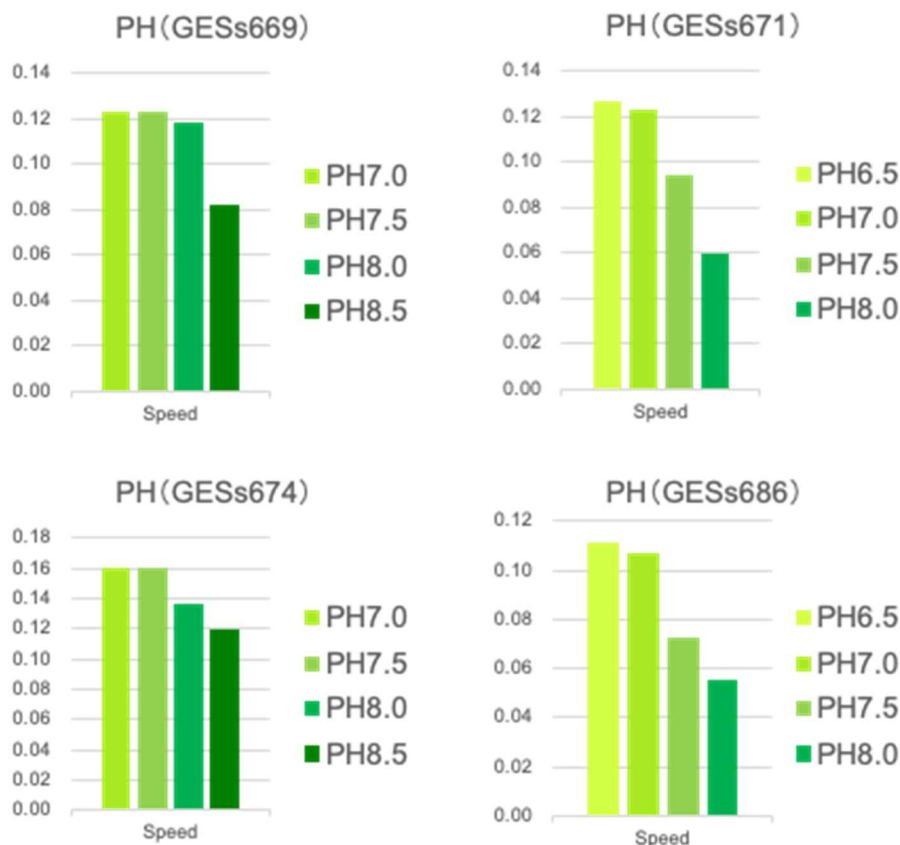


図 2-5 pH によるコントロール (反応速度)

pH によるコントロールでは、解糖系から TCA 回路に向かう炭素と TCA の中でアスパラギン酸の方向に炭素が向かうベクトルが一致していない。これを GESs674 の例にとって、3つのグループの割合を分けると図 2-6 のようになる。

この図からわかるように、結果的には pH7.0 あるいは pH7.5 が最もアスパラギン酸の方向に炭素が向かっている。しかし、グルタミン酸方向にはいかなる他のコンディションと組み合わせたり、遺伝子操作と組み合わせたりすれば、場合によっては高い pH の方がより好ましいということもありうると思われる。このようなケースでは簡単に至適な pH は決めずに、いろんなコンディションと組み合わせで考えていく方が良いと思われる。

## GESs674

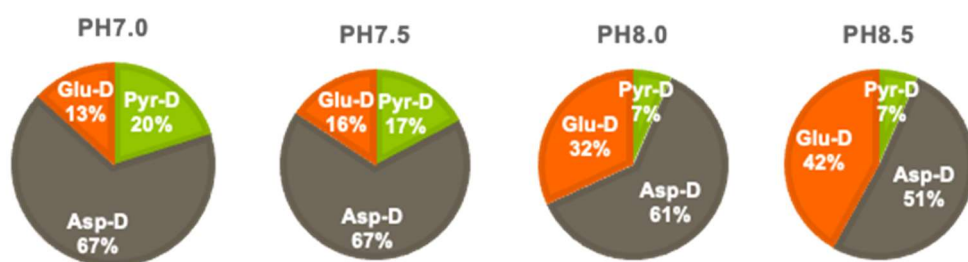


図 2-6 pH によるコントロール（3つのグループの割合）

### 2-3 温度によるコントロール

図 2-7 は、温度を 18℃～35℃の間で振ったときの TCA 回路に流れた炭素の割合を示している。温度による明確な差は見られていないが、同じ菌体を使った時には、全体な傾向として低温の方が TCA 回路に炭素が流れていると言える。ただし実験誤差の影響のほうが大きいようで、pH の時のようにはっきりとした傾向は見られず、また絶対的な温度による差も見られていない。

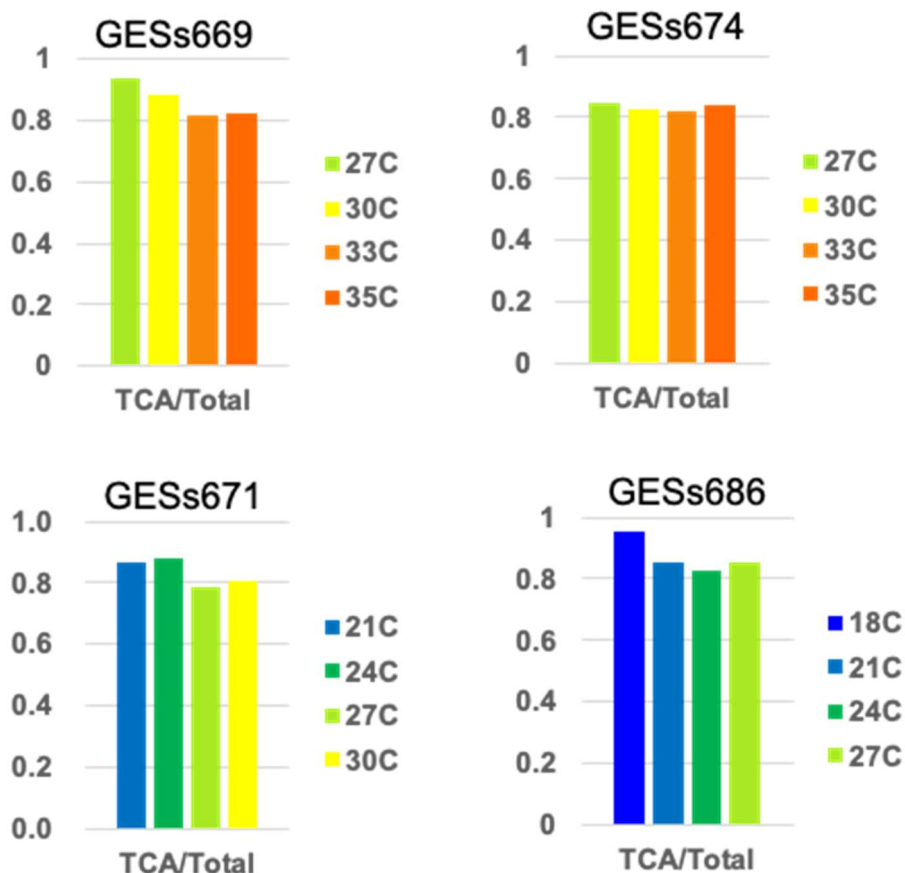


図 2-7 温度によるコントロール (TCA/Total Carbon)

同じように Aspartate-derivatives に流れる炭素の割合を見たのが図 2-8 になる。実験誤差の影響が大きく、共通した影響を見てとるのが難しいが、温度ごとに平均を取って並べると、図 2-9 のようになり、温度が低いほうが Aspartate-derivatives に炭素が流れやすくなっている。これだけのデータでは、説得力に欠けるが、低温の方が収率はよくなるという傾向は、再現性良く観察される(図 2-10)。



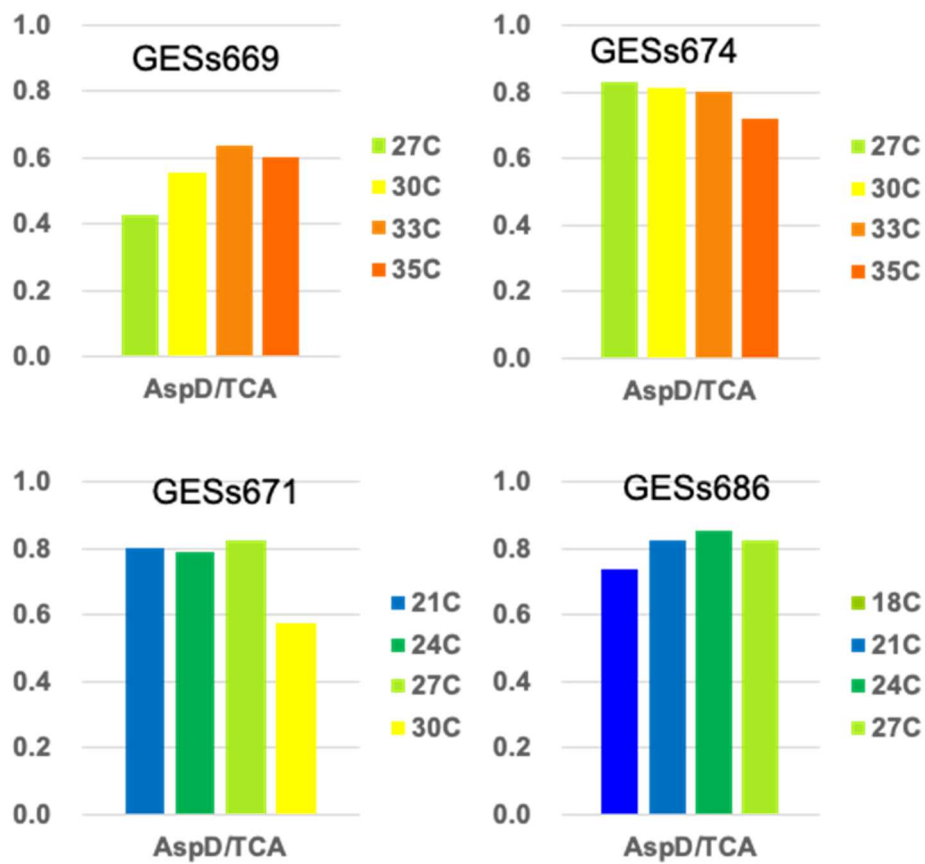


図 2-8 温度によるコントロール (Asp-Derivatives / TCA) 1

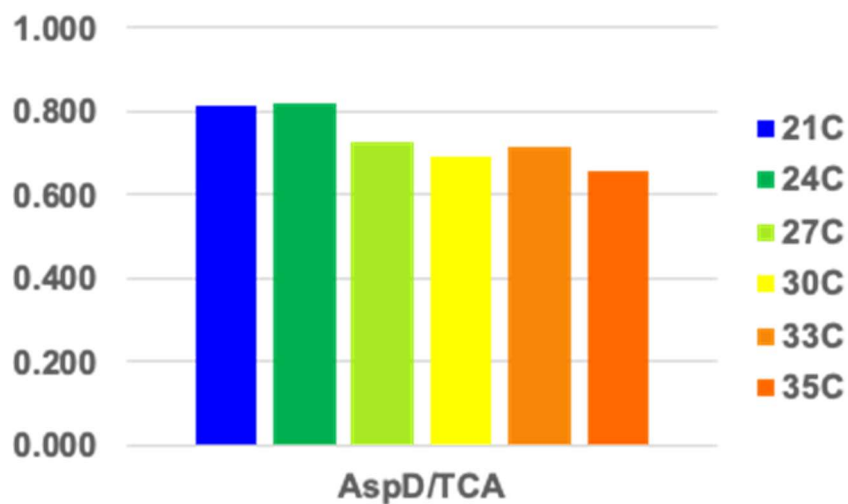


図 2-9 温度によるコントロール (Asp-Derivatives / TCA) 2

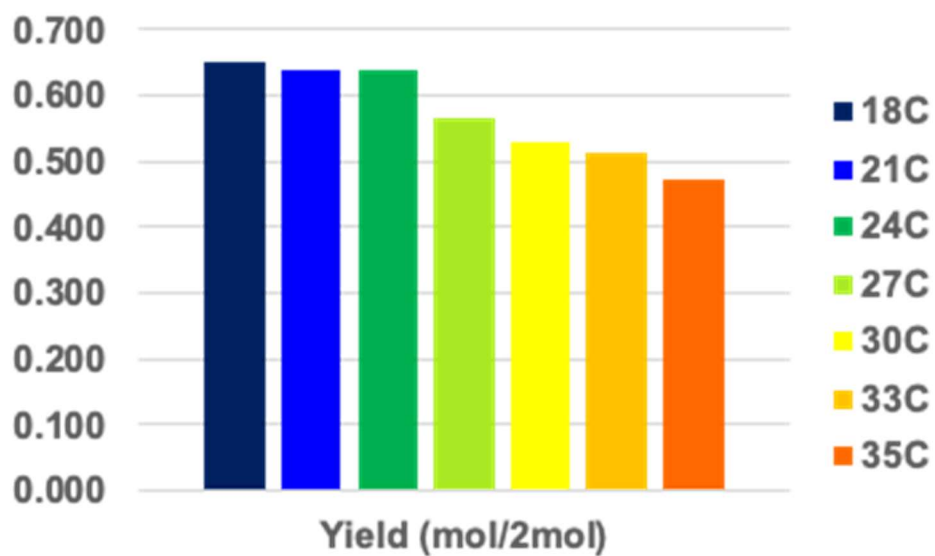


図 2-1 0 温度によるコントロール (Yield)

このことから、低温では TCA 回路への炭素の流れも、TCA の還元的な炭素の流れも低温の方が好ましいと考えられる。また低温で顕著な特徴に、Aspartate derivatives の中でアスパラギン酸が占める割合が高く、また再現性よく観測される (図 2-1 1)。

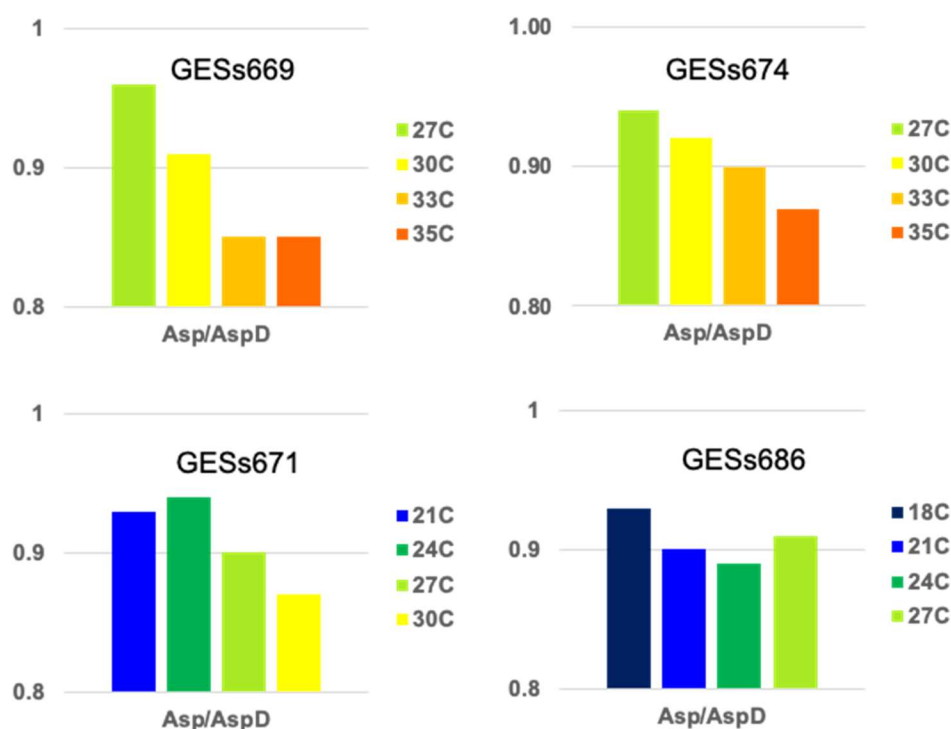


図 2-1 1 温度によるコントロール (Asp/Asp-derivatives)

実験の誤差はあるものの低温の方が収率はよくなるのは間違いないが、反応は低温の方が良い即断できないマイナスの面がある。それは反応速度が遅いことである。予想されることではあるが低温では一般に酵素反応が遅くなり代謝は抑えられる傾向にある。図 2-1 2 はそれぞれの温度の反応速度を平均で示したものである。単位は図 2-5 と同様で単位時間に単位 OD<sub>610</sub> あたりの細胞が消費するグルコース (mM) を示したグラフである。この結果を受けて、27°C を標準のテストに使用する温度とした。しかし温度に関しては完全に、収率と反応速度が反比例の関係にあり、それぞれの条件によって至適な温度を選んでいく必要がある。

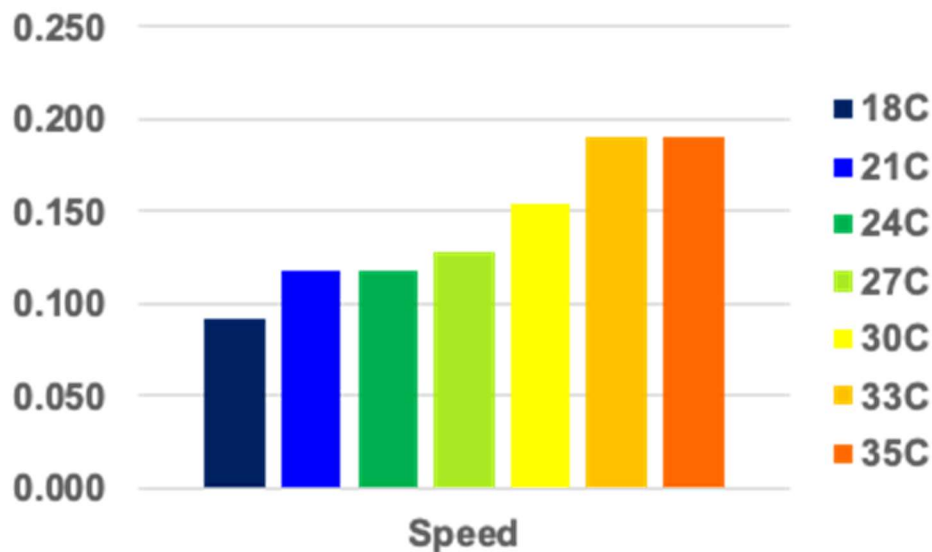


図 2-1 2 温度によるコントロール（反応速度）

## 2-4 攪拌速度によるコントロール

図 2-1 3 は、攪拌速度を 400rpm～600rpm の間で振ったときの TCA 回路に流れた炭素の割合を示している。攪拌速度が速くなるほど、TCA 回路に炭素が流れるという結果となった。この点は pH と同様に明確な傾向が見て取れる。アッセイは全て 8 連 Jar で行っているため、5L での反応では同じ値は適用できない。ただし、ここに出てきた傾向自体は、スケールにかかわらず適用できる。

しかし、この場合はアスパラギン酸の生産に好ましい経路を通っているのかどうかは疑わしい。解糖系から TCA 回路に炭素が流れる経路は二つ存在し、アスパラギン酸生産で想定しているのは、還元的な条件でも動くフォスホエノールピルビン酸からオキサロ酢酸に流れる経路である。ピルビン酸からアセチル CoA を経てクエン酸に入る経路は  $\text{NAD}^+$  を必要とし  $\text{NADH}$  を生産するため、 $\text{NADH}$  が溜まる傾向にある還元状態では動きにくい。このピルビン酸からアセチル CoA を経てクエン酸に入る経路では、クエン酸合成に使われグルタミン酸の方向に炭素が流れるためにアスパラギン酸の生産には使われることがない。

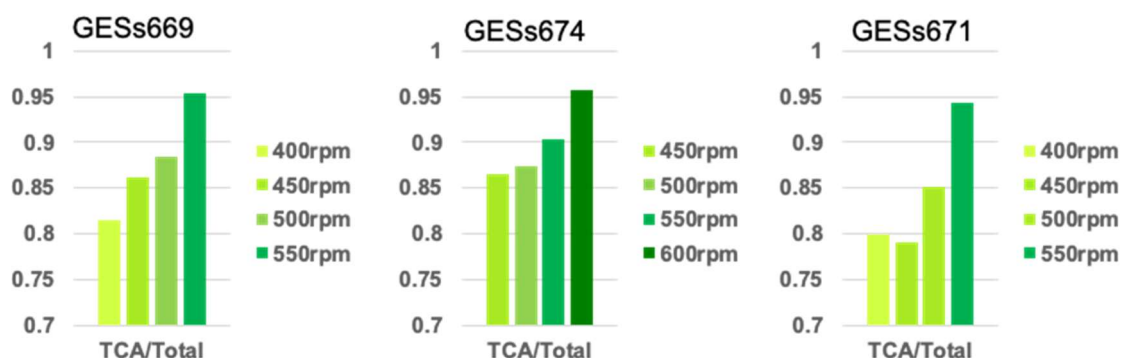


図 2-1 3 攪拌速度によるコントロール (TCA/Total Carbon)

図 2-1 4 は、TCA 回路のうち Aspartate-derivatives に流れた炭素の割合を示したもののだが、ここでは逆に攪拌速度が速い方が Aspartate-derivatives に流れた炭素の割合が小さくなっている。これはやはり、攪拌速度が速くなるほど、Glutamate-derivatives に流れる炭素が多くなっていることを示しており、前述のピルビン酸からアセチル CoA を経てクエン酸に入る経路を通る炭素の割合が増えていることを示している。これは、攪拌速度を上げることで反応液の酸化状態があがり、本来還元状態では動きにくいピルビン酸からアセチル CoA の経路が動き出したと考えられる。

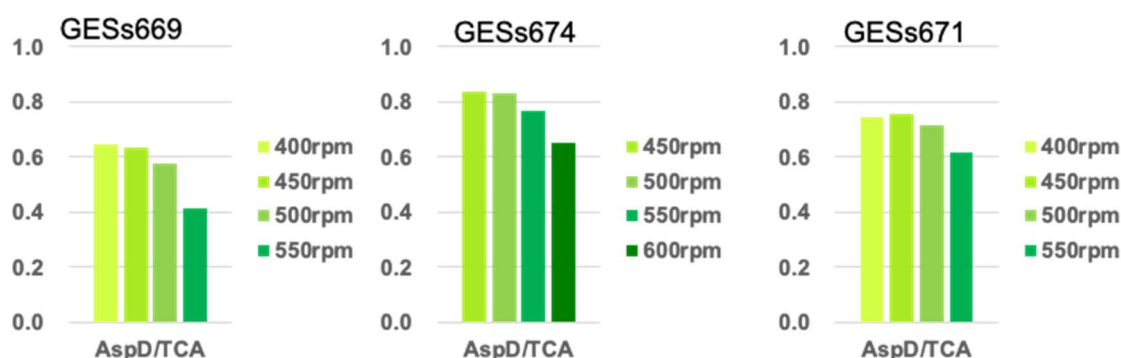


図 2-1 4 攪拌速度によるコントロール (Asp-Derivatives / TCA)

このように攪拌速度の場合も pH の場合と同様に、解糖系から TCA 回路に落ちる炭素の割合と TCA の中でアスパラギン側に向かう炭素の割合が逆になっている (図 2-1 5)。このような場合、至適な回転数は収率で見ていくしかないが、収率で見た場合、500rpm にピークがあるように見える (図 2-1 5)。

しかし、単純に至適な攪拌速度を把握するより、攪拌速度と炭素の動きを把握して組み合わせで考えていく方がより大切になってくる。

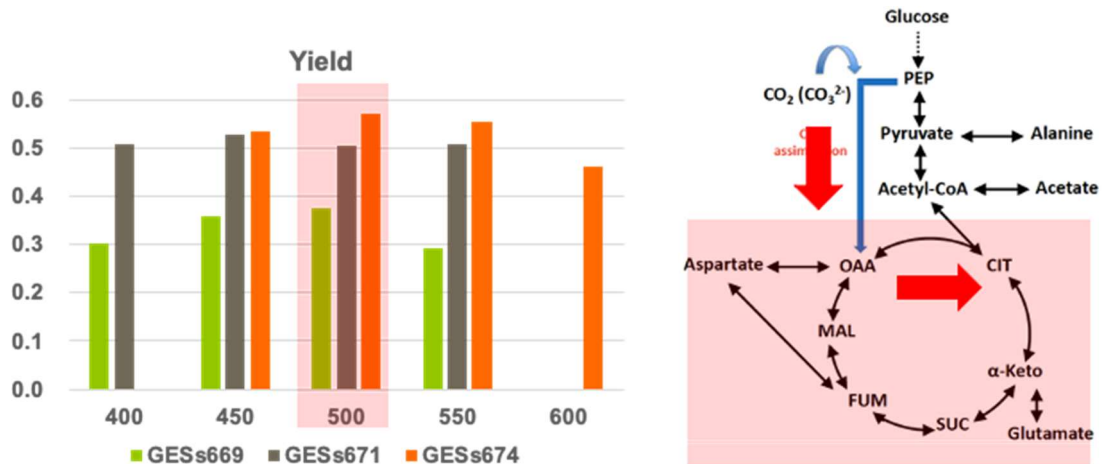


図 2-1 5 攪拌速度によるコントロール (Yield)

図 2-1 6 はそれぞれの温度の反応速度を示したものである。単位は図 2-5 と同様で単位時間に単位 OD<sub>610</sub> あたりの細胞が消費するグルコース (mM) を示したグラフである。図を見てわかるように。反応速度は回転数が速いほど速く進む。このことも条件を選ぶときに大きな要因になりうる。



図 2-1 6 攪拌速度によるコントロール (反応速度)

図 2-1 7 は 3 つのグループの割合を円グラフで示したものである。このアッセイでは不明な炭素が 1 割～2 割程度あり、実際の収率より若干高く見えるが、その傾向はよく見て取れる。

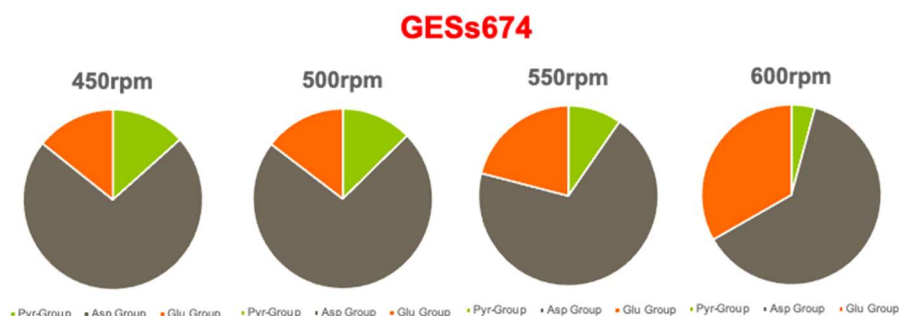


図 2-1 7 攪拌によるコントロール（3つのグループの割合）

## 2-5 パラメーターの変化によるフラックスの変化

図 2-1 8 は、pH、温度、攪拌速度を変えることで起こる炭素の流れの変化を示したものである。温度は低い方がアスパラギン酸に炭素が向かうが、ここが反応速度との兼ね合いで至適な温度を決定するのは難しい。また温度が低いと Titer が上がりにくいという問題があり、何を最も重要視するかによって選ぶ温度も変わってくる。pH と攪拌速度に関しては、前述のように TCA に炭素を流す方向性と還元方向（アスパラギン酸方向）に炭素を流す方向性が逆になっており、単純にこの pH、この攪拌速度が至適だとは決定できない。また反応速度もこれらのパラメーターによって変化するので、生産性をとるのか、収率を取るのかというような判断によっても至適な値は変化する。

このようにそれぞれのパラメーターが、それぞれ相反する価値観の間で揺れ動いているため、至適な条件設定は複雑かつ選択基準の明確化が求められる。これらの動きと遺伝子操作によるフラックスの調節などを合わせていくと、そのコンビネーションの場合の数は膨大になる。こういう複雑な解を求めていくには、フラックスのコントロールの方向性を把握しておくことが重要になる。そういう意味で各パラメーターの大まかな動きを把握できたことは大きな成果と言える。

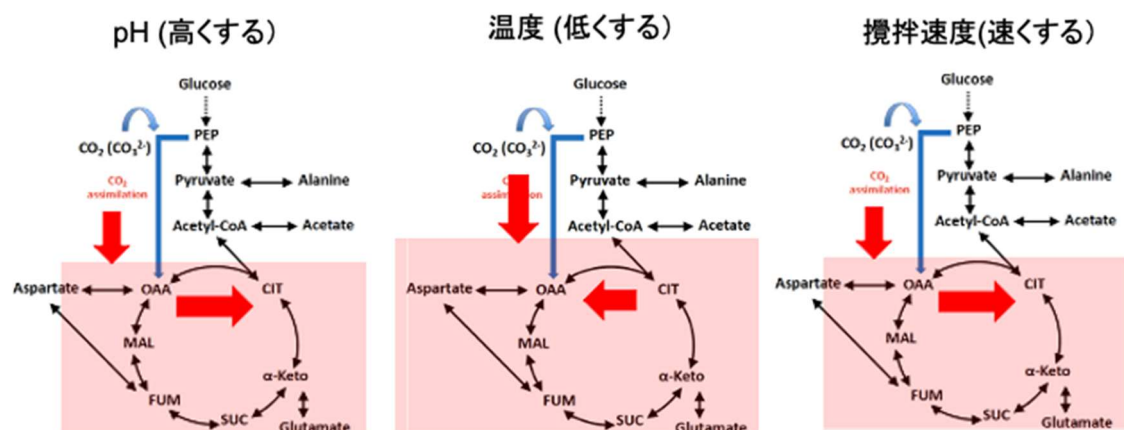


図 2-1 8 pH、温度、攪拌速度によるフラックスコントロール



### 3. 菌体改良

## 序論

中国での生産は甜菜モラセスを使用する可能性が高いということで、甜菜モラセスで対応できるように反応プロセスの検討をした。しかし甜菜モラセスで培養した菌体は、グルタミン酸方向の副生物が多くこれを減らすために温度を低くしたり、回転数を下げたりしたが、これでは反応速度が下がる一方でこれはこれで問題があると感じた。また pH も 7.0 と低めに設定したが、これだとアラニンなどのピルビン酸由来の副生物が増えていく。

このような事態に対応するために、予めグルタミン酸方向の副生物を減らすような遺伝子操作を加えておいてはどうかと考えた。ただしグルタミン酸方向の副生物を減らすためには、TCA 回路を時計回りに回りにくくする遺伝子操作を加えるということに他ならない。TCA 回路が右回りに回るとは、細胞の増殖にとっては必須であり、ここに遺伝子操作を加えることは細胞の増殖に影響を与えるということを意味する。そういう意味では遺伝子破壊のような完全に経路を遮断するような改変は好ましくない。

このような難しい状況の中でも、敢えて遺伝子操作を加える方向で検討した。その結果に関してここで報告する。また同じように部分的な機能不全を入れ込む方向で、欠失が好ましくない他の箇所にも変異を導入した。その結果に関しても併せて報告する。

### 3-1 甜菜モラセスでの副生物のプロファイル

図3-1は、サトウキビモラセスで培養した菌体と甜菜モラセスで培養した菌体を同じ条件で反応させた時の副生物のプロファイルの例である。図3-1の例はその特徴がよく現れており、甜菜モラセスに比べてグルタミン酸に炭素の2割以上が流れている。アッセイによってばらつきがあるが、ほとんどの場合1割～2割の炭素がグルタミン酸に入っている。

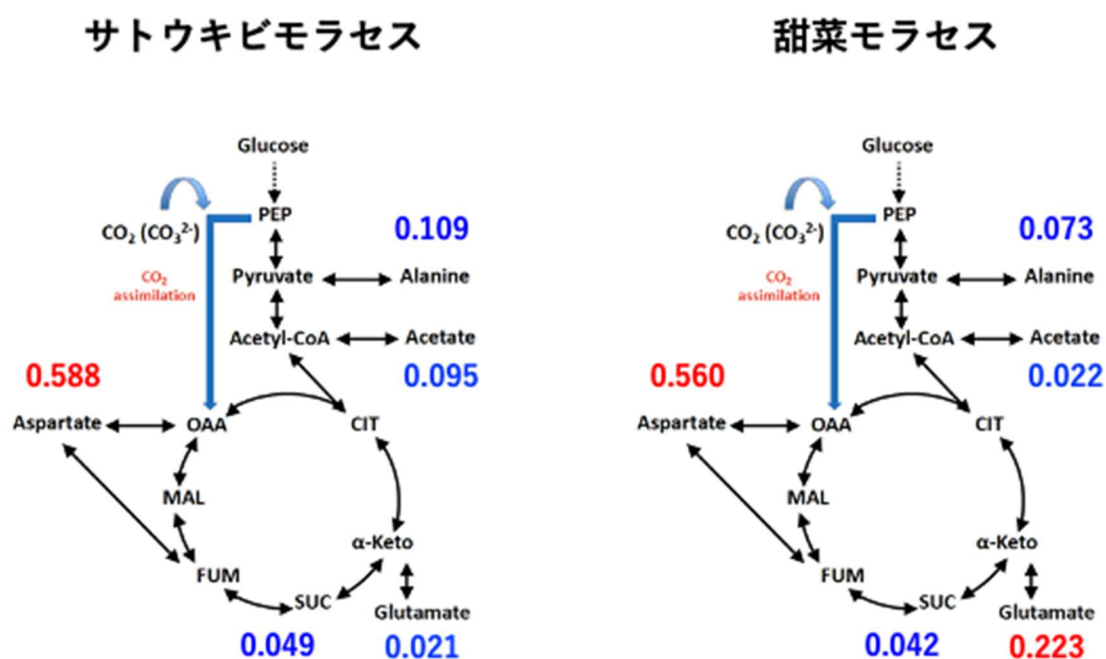


図3-1 サトウキビモラセスと甜菜モラセスの副生物の例

### 3-2 遺伝子操作のターゲットにする場所

グルタミン酸（あるいはコハク酸）の副生を減らすためには、TCA 回路を左回りに回す必要がある。これにはいくつかの方法が考えられる。

- 1) オキサロ酢酸 (OAA) とアセチル CoA からクエン酸 (Citrate) を生合成するクエン酸合成酵素 (GltA) の活性を弱める (図3-2)

- 2) アセチル CoA が生合成されないように還元的な条件（あるいは遺伝子操作）に持っていく
- 3) オキサロ酢酸がクエン酸合成酵素の基質にならないように、リンゴ酸脱水素酵素 (Mdh)、あるいはアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AspC) の活性を強める

考え方としてはこの3つ方向性しかなく、1) が最もダイレクトな解決方法だと言える。また TCA を時計回りに回させないという意味では、 $\alpha$ -Ketoglutarate を生産する isocitrate dehydrogenase (Icd) の活性を弱めることも考えられるが。GltA の反応は基本的にはクエン酸の合成の方向に向かい、クエン酸をオキサロ酢酸とアセチル CoA に分解する方向には向かわない。ここを一方方向と考えると TCA の右側に炭素を持っていけないためには、GltA の反応をできる限り抑えることを考えるしかない。

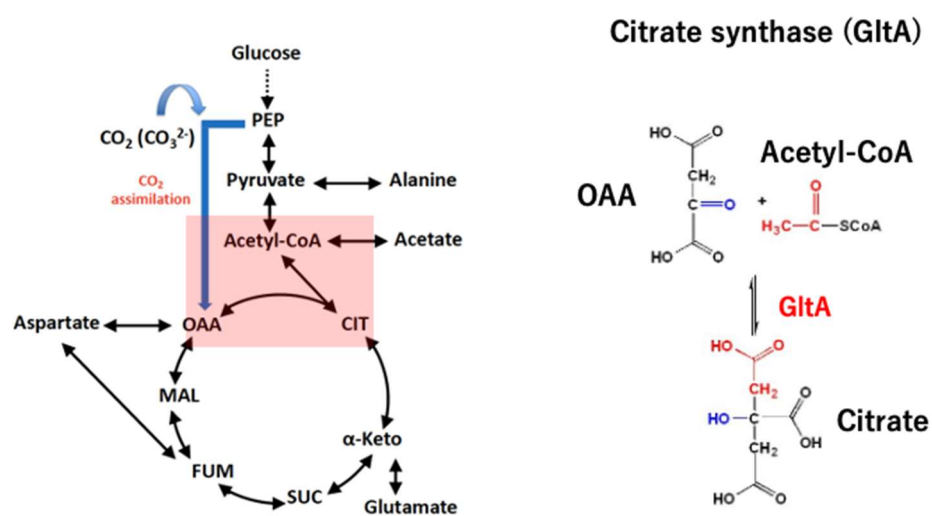


図 3-2 遺伝子操作のターゲット

### 3-3 GltA の欠損変異の導入

前述の通り、TCA 回路が時計回りに動くことは、菌体の生育にとっては重要で、TCA 回路が回らなければ解糖系のみで ATP や生合成を行うことになり、生育は悪くなる。今回のターゲットである gltA 遺伝子は必須遺伝子ではない

が、その欠失は生育に重大な影響を与える。よって必然的に部分的な欠損を導入することになるが、その度合いがかなり重要ということになる。今回 *gltA* の欠失を含め五種類の変異体を用意した。以下変異番号と菌株の名前を記す。

GESs580: 親株

GESs756: GESs580  $\Delta$  *gltA*

GESs616: GESs580*gltA*1

GESs639: GESs580*gltA*2

GESs641: GESs580*gltA*3

GESs614: GESs580*gltA*4

これら 10L Jar で培養した結果を図 3-3 で示した。やはり *gltA* の欠失やかなり強い変異を導入した *gltA*1 には強い生育阻害が観測された。しかし *gltA*2, *gltA*3 の生育への影響はかなり軽微であり、*gltA*4 に至ってはほとんど生育への影響は観測できなかった。

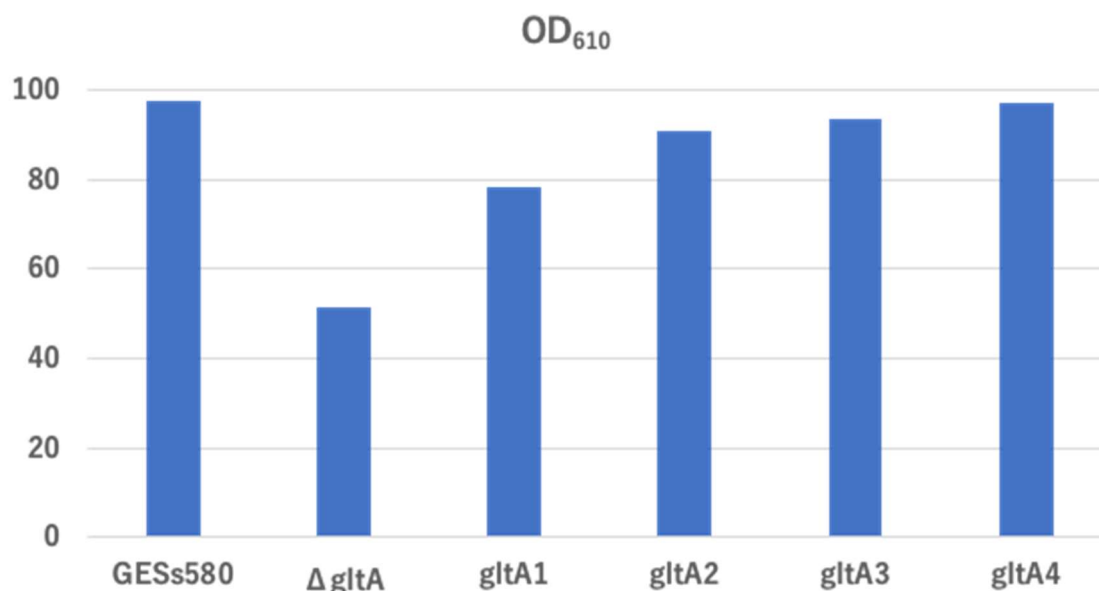


図 3-3 *gltA* の変異と生育への影響

### 3-4 グルタミン酸とコハク酸の副生への影響

これらの変異株を用いて反応をおこなった。その結果を図3-4に示した。親株 GESs580 に比べて *gltA* 変異株はどれもグルタミン酸、コハク酸の割合は減少していた。特に顕著な現象が観測されたのは、 $\Delta$ *gltA*, *gltA1*, *gltA2* の3株であった。

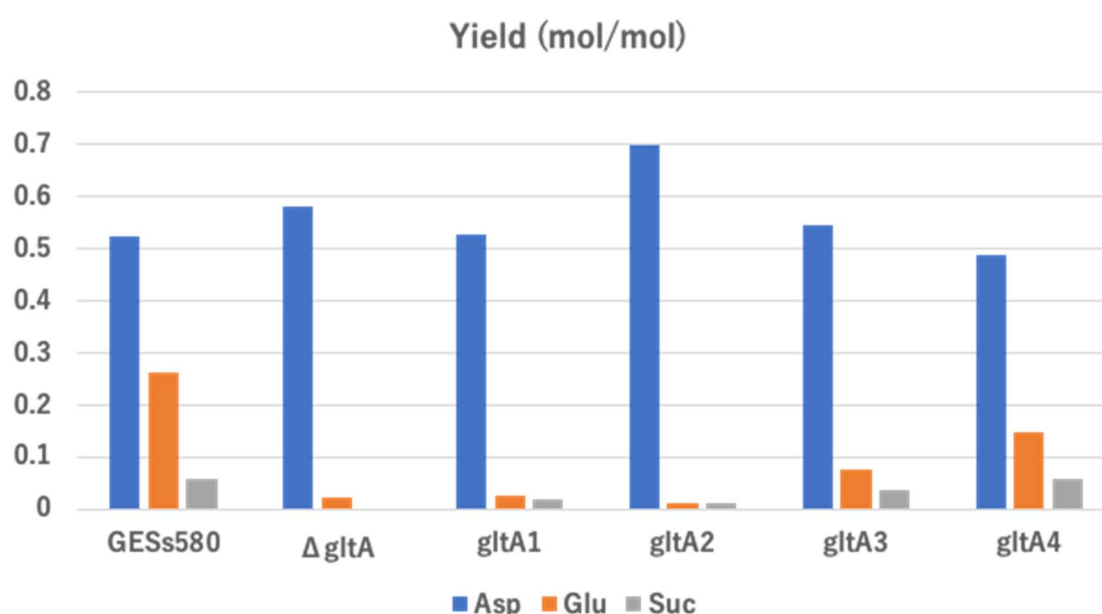


図3-4 *gltA* 変異株でのグルタミン酸、コハク酸の割合

このうち  $\Delta$ *gltA*, *gltA1* は増殖も悪く、また反応速度も遅いという特徴があった。特に  $\Delta$ *gltA* の反応速度はかなり遅く、24時間程度で終了する反応が48時間もかかった（図3-5）。また行方不明の炭素の割合も多く、15%程度の炭素が、普段検出しているアミノ酸や有機酸以外のどこかに使われている結果となっていた。

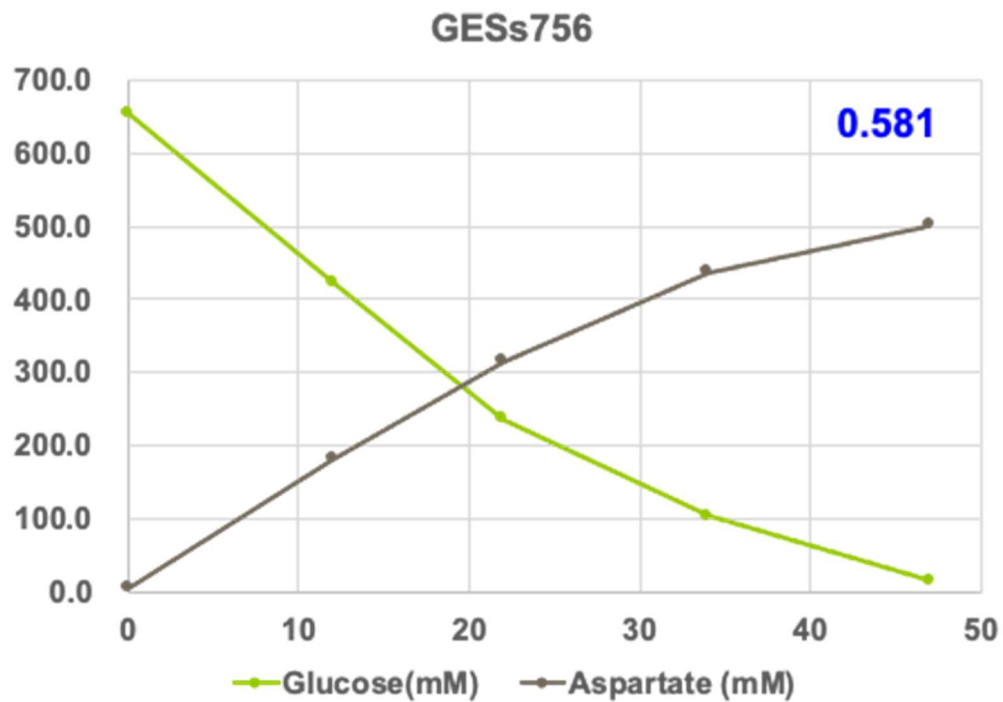


図 3-5  $\Delta$ gltA 変異株での反応

### 3-5 gltA2 変異株での副生物のプロファイル

以上の結果から考えると、 $\Delta$ gltA, gltA1 は生育への影響が強く、また gltA3 や gltA4 はその効果が限定的であり、gltA2 が最も好ましい変異の強さと考えられた。また gltA2 株では収率の向上も観測されている。親株との副生物のプロファイルを比べると図 3-6 になる。

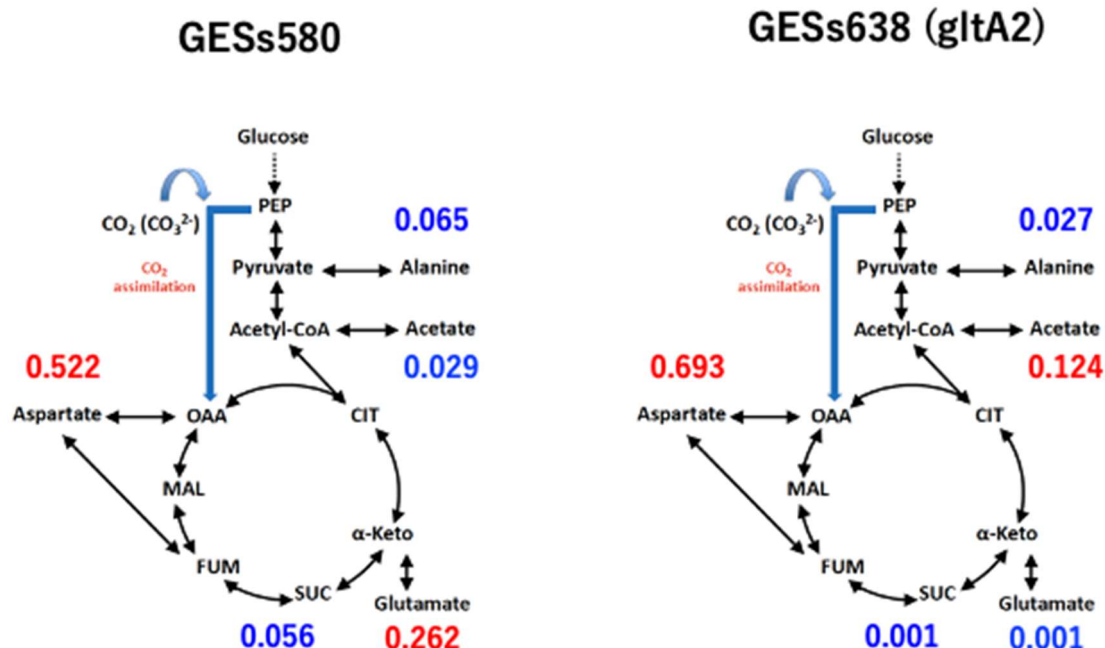


図 3-6 GESs580 株と gltA2 株の副生物のプロファイル

このプロファイルを見るとわかるが、GESs638 ではグルタミン酸やコハク酸は確かに減少しているが、逆に酢酸が増えているのがわかる。これは gltA に損傷を与えることによって、グルタミン酸やコハク酸に流れる炭素がアセチル CoA で止まってしまうために、細胞内にアセチル CoA が蓄積し、このことによって酢酸が増えたと思われる。ピルビン酸からアセチル CoA の流れもほぼ一方方向と考えてよく、溜まったアセチル CoA は酢酸に流れることになる。

### 3-6 酢酸を減少させる試み

GESs638 ではグルタミン酸、コハク酸の副生物を減らすことに成功したが、同時に酢酸の副生を増やしてしまうということになった。酢酸を減らすためにはピルビン酸からアセチル CoA を合成するピルビン酸脱水素酵素の活性を落とすしかない（図 3-7）。



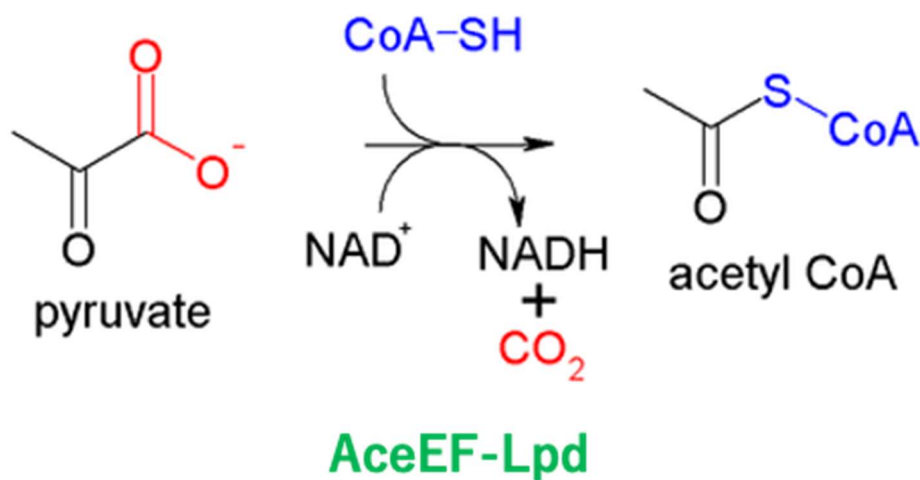


図 3-7 ピルビン酸脱水素酵素反応

この反応を触媒するのが AceEF-Lpd の複合体である。この反応もクエン酸合成反応と同様に代謝の大動脈であり、遺伝子欠失を行えば生育への影響が大きい。よって必然的に *gltA* に導入したような部分的な欠損を加えることになる。本研究では *aceE* 遺伝子に部分的な欠損 *aceE1* を導入し、GESs638 から GESs694 を作成した。その生育への影響を示したのが図 3-8 である。この時点では、中国からサトウキビモラセスが届いたため、甜菜モラセスではなくサトウキビモラセスを使用している。

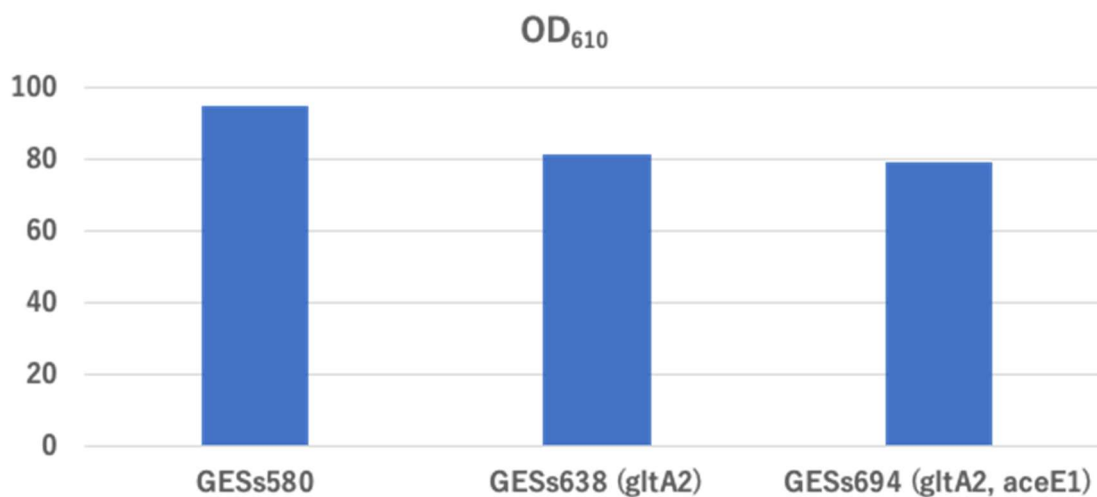


図 3-8 サトウキビモラセスにおける変異体の生育

サトウキビモラセスでの生育も *gltA2* の変異導入で若干の影響が出ているが、*aceE1* の導入による生育の低下はそれほど観測されなかった。これらの株アミノ酸のクロマトグラフを図 3-9 で示す。

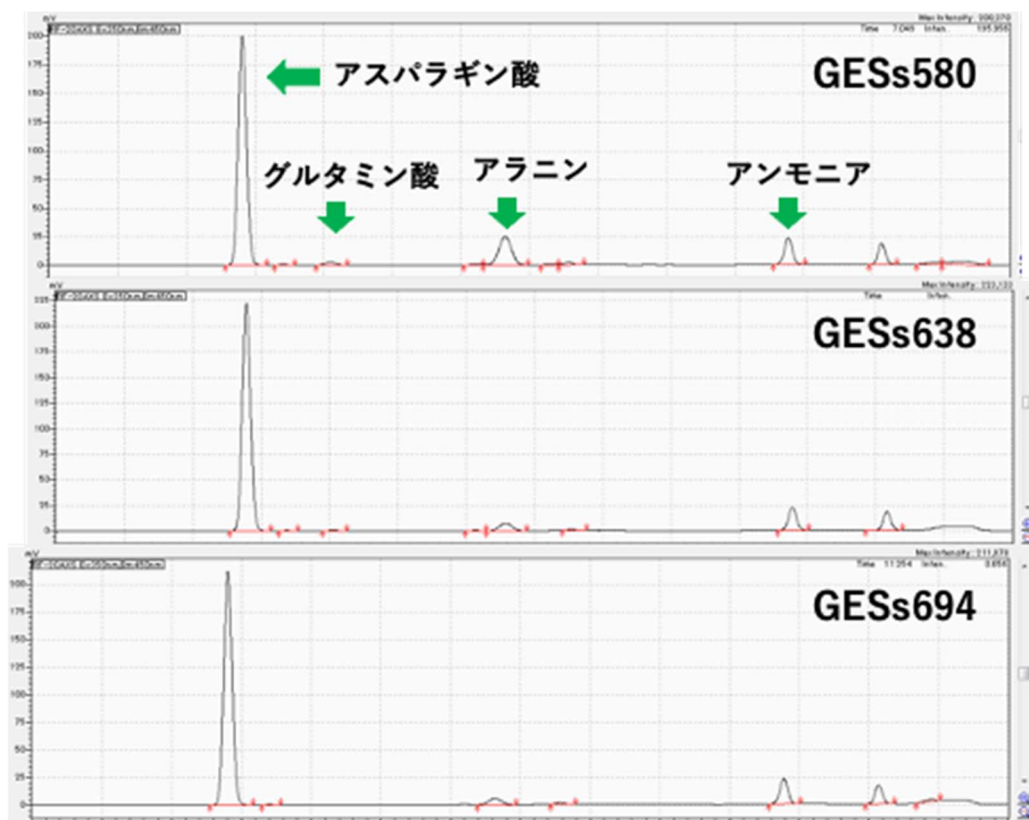


図 3-9 変異株のアミノ酸のクロマトグラフ

サトウキビモラセスの培養では、もともとグルタミン酸の副生はそれほど多くなく、変異の導入によってグルタミン酸は減ってはいるが目立たなくなっている。一方、甜菜モラセスで培養した時はそれほど顕著ではなかったが、アラニンの副生が *gltA2* の導入によってかなり下がっていることがわかる。この傾向は再現性よく観測され、*gltA2* の導入とアラニンの副生低下は確固たる分子機構が存在すると考えられる。図 3-10 で推定される分子機構を示した。

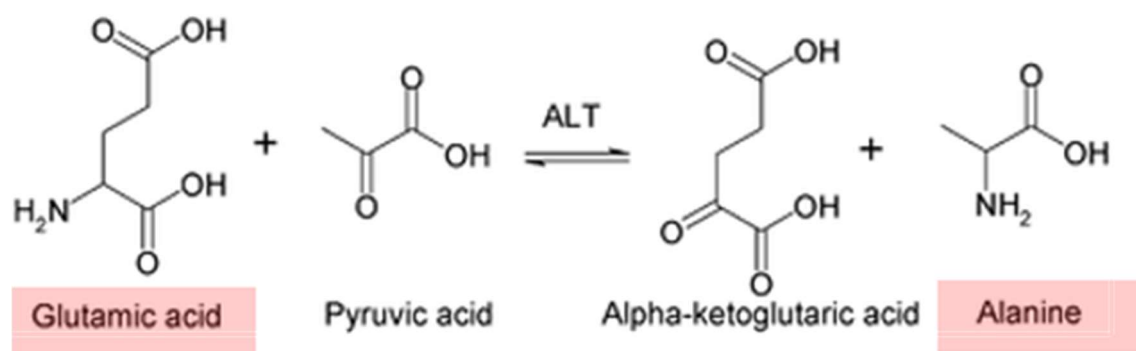


図 3-1 0 gltA2 の導入がアラニンの副生を減らす機構

アラニンの生合成は、ピルビン酸に直接アンモニウムイオンが入り込むのではなく、グルタミン酸のアミノ基が転移される形で導入される。よってグルタミン酸の細胞内の濃度が低くなれば、この反応も低下すると考えられる。この機構が作用するのはアラニンに限ったことではなくほとんどのアミノ酸に共通する機構といえる。実際、バリンの副生も gltA2 の導入によって減少している。

### 3-7 GESs694 株での副生物のプロファイル

aceE1 の導入は酢酸を減らすことにあるが、図 3-1 1 に示すように、aceE1 の導入によって酢酸の減少は認められている。ただ gltA2 のような劇的な効果は認められなかった。aceE の変異導入に関しては、もっと強い変異の導入も試みたが、実際はそのような株を取得することができなかった。生育に対する影響が強すぎて取得不可能なのか、取れてもかなり生育が遅いことが予想される。

サトウキビモラセスで培養した菌体では、gltA2 の導入は酢酸の蓄積を増加させ、グルタミン酸やコハク酸の蓄積は減少させている。結果としてアスパラギン酸の収率上昇を導いているので、この変異導入はサトウキビモラセスを使う場合でも有効だということを確認した。

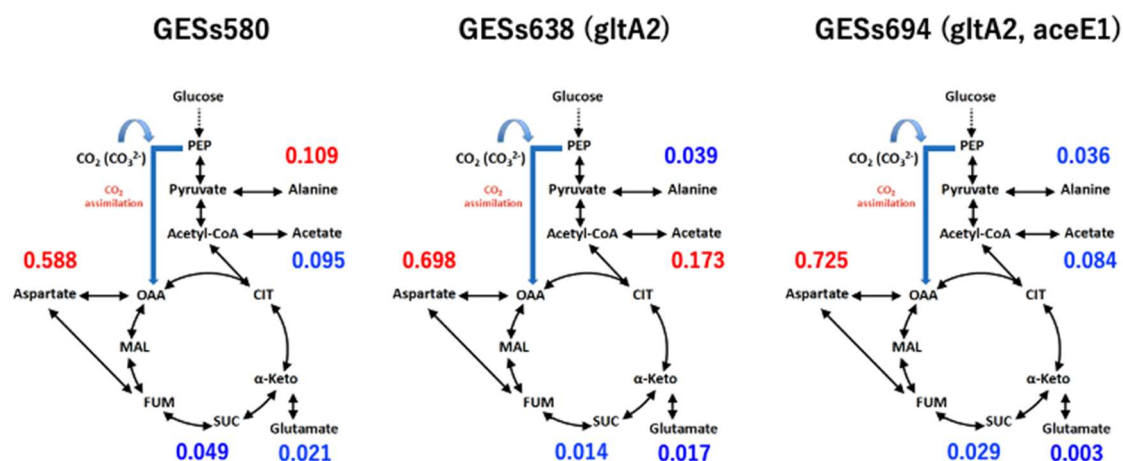


図 3-1 1 サトウキビモラセスでの副生物プロフィール

また aceE1 の変異導入も酢酸を減少させており、同時にアスパラギン酸の収率も向上させている。この変異もアスパラギン酸生産にプラスに働いていると判断して導入を決めた。この変異はその位置から考えて、酢酸を減少させるだけではなく、グルタミン酸やコハク酸への炭素の流れにもマイナスに働くことが予想される（図 3-1 2）。さらにグルタミン酸の減少はアラニンやバリンなどのアミノ酸の副生を減らす効果も期待できる（前述）。

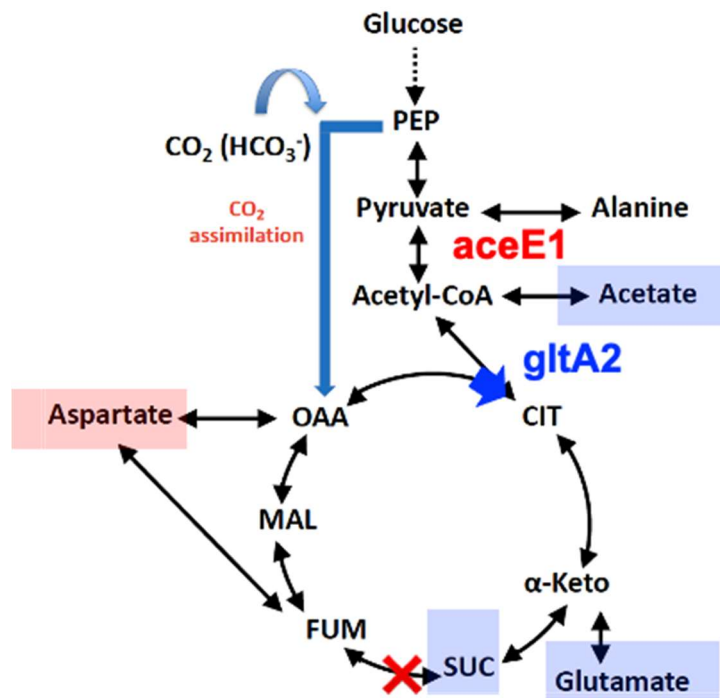


図 3-1 2 導入した変異の位置と削減された副生物

### 3-8 GESs694 株での繰り返し反応

GESs694 株を現時点でのアスパラギン酸生産株として選択したが、生産コストを下げるためには繰り返し反応が必須であり、繰り返しに弱い菌体であれば実生産には使えない。繰り返しの回数が多いほど、培養にかかったコストが相対的に安く抑えられ、また時間的には培養の時間を短縮できるというメリットがある。しかし繰り返し反応によって菌体が劣化していけば、それだけ一回の反応にかかるコストは増大し、培養分のコスト減を上回ってしまうことも考えられる。よってある程度の収率を保ったまま繰り返し反応を続けることが求められる。図 3-1 3 は GESs694 株を使った繰り返し反応の結果である。

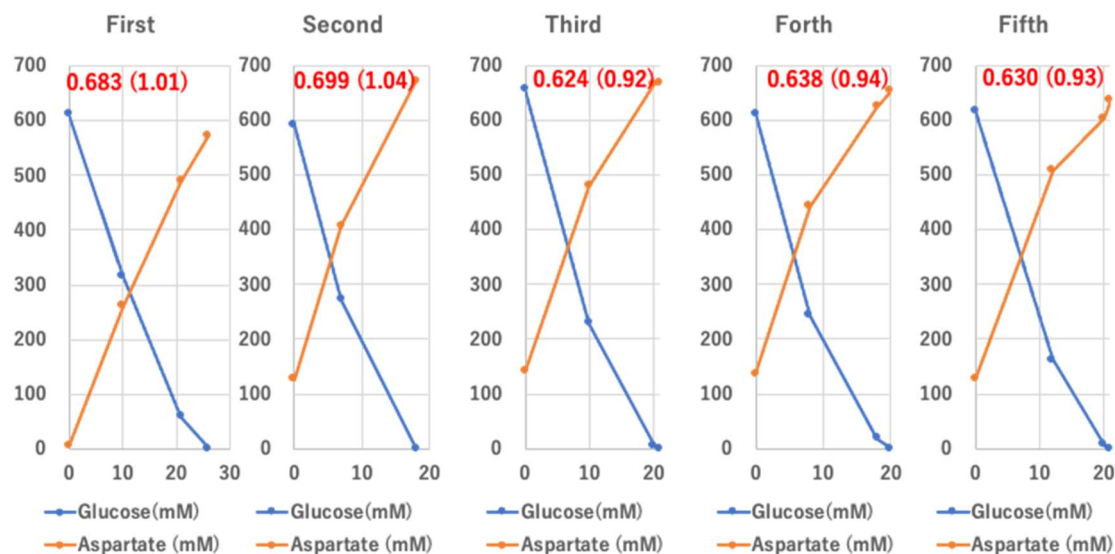


図 3-1 3 GESs694 での繰り返し反応

反応は5回までかなり良好な結果を得た。上の数字はモル収率 (mol/2mol) で合わせてカッコの中にグルコースに対する重量収率 (g/g) を示した。アスパラギン酸の生合成では炭酸が同化されるので、重量収率で見た場合は1を超えることもありうる。実際反応1回目と2回目は、重量収率で1を超える数字となった。6回目の反応もおこなったが収率が5割台 (モル収率) に落ちたので結果は載せていない。繰り返し回数が増えていけば、削減される培養のコストも減少していくので、一回の収率の方が重要になってくる。この結果を使って原材料費のコストを計算すると1ドルを切る値になっている。ただし原材料の単価はアリババの最安値など知り得る限りで最も安い単価を使っているため、現実の原材料費のコストとは誤差が生じる可能性はある。

### 3-9 繰り返し反応による副生物の変化

図 3-1 4 は繰り返し反応による副生物の収率をモルベースで表したものである。この表をよく見てみると繰り返し反応を重ねるごとに比率が増えていく副生物と減っていく副生物があることがわかる。

|                         | 1st   | 2nd   | 3rd   | 4th   | 5th   |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Lactic acid (mol/2mol)  | 0.010 | 0.000 | 0.013 | 0.017 | 0.008 |
| Succinic acid (mol/mol) | 0.044 | 0.015 | 0.001 | 0.000 | 0.000 |
| Acetic acid (mol/2mol)  | 0.076 | 0.046 | 0.032 | 0.024 | 0.013 |
| Pyruvate (mol/2mol)     | 0.000 | 0.012 | 0.014 | 0.019 | 0.031 |
| Malate (mol/2mol)       | 0.024 | 0.033 | 0.051 | 0.035 | 0.062 |
| Fumarate (mol/2mol)     | 0.005 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 |
| Valine (mol/mol)        | 0.016 | 0.015 | 0.024 | 0.029 | 0.025 |
| Glutamate (mol/mol)     | 0.014 | 0.015 | 0.016 | 0.010 | 0.009 |
| Aspartate (mol/2mol)    | 0.683 | 0.699 | 0.624 | 0.638 | 0.630 |
| Alanine (mol/2mol)      | 0.053 | 0.058 | 0.079 | 0.092 | 0.100 |

図 3-1 4 繰り返し反応による副生物のモル収率 (GESs694)

増えていく傾向が明らかな副生物は、アラニンとピルビン酸がある（図 3-1 5）。バリンとリンゴ酸もその傾向があるが、ここでは取り上げない。逆に減っていく傾向が明らかな副生物は、コハク酸、酢酸である（図 3-1 5）。アスパラギン酸、グルタミン酸も基本的には収率は下がっていくがここでは取り上げない。

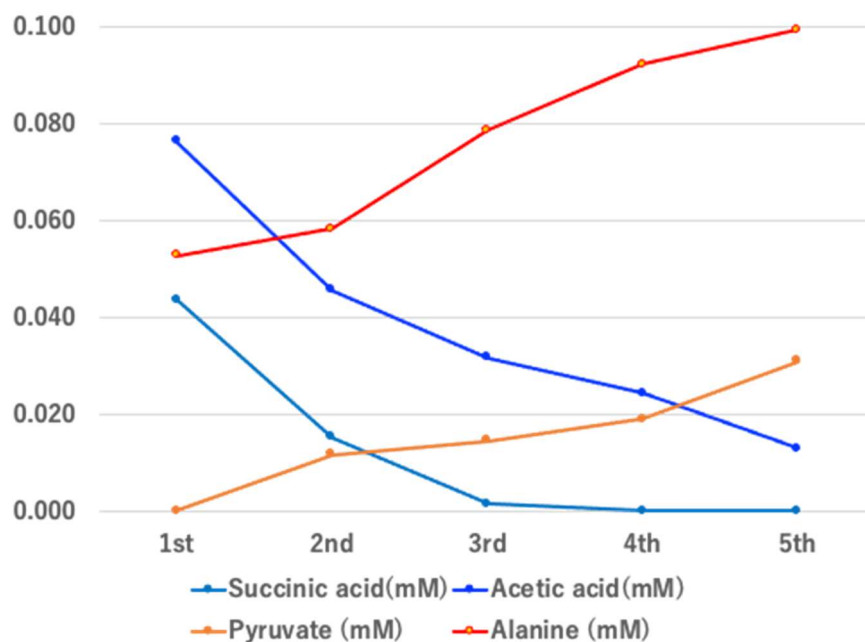


図 3-1 5 繰り返し反応によるアラニンやピルビン酸のモル収率



これを代謝マップに落とし込んでみると図3-16になる。この図からわかるように、繰り返しによって比率が増えていくはピルビン酸とそこから派生する副生物であり、バリンが増加傾向にあるのもこのことと関係がありそう。逆に繰り返し反応によって減っていく副生物は、酢酸とコハク酸であり、これらの副生物はNADHの生成を伴うため還元状態では生成されにくい特徴がある。よって繰り返しが進むにつれ還元状態が進んでいることが推定される。グルタミン酸の減少傾向もこのことで説明できる。

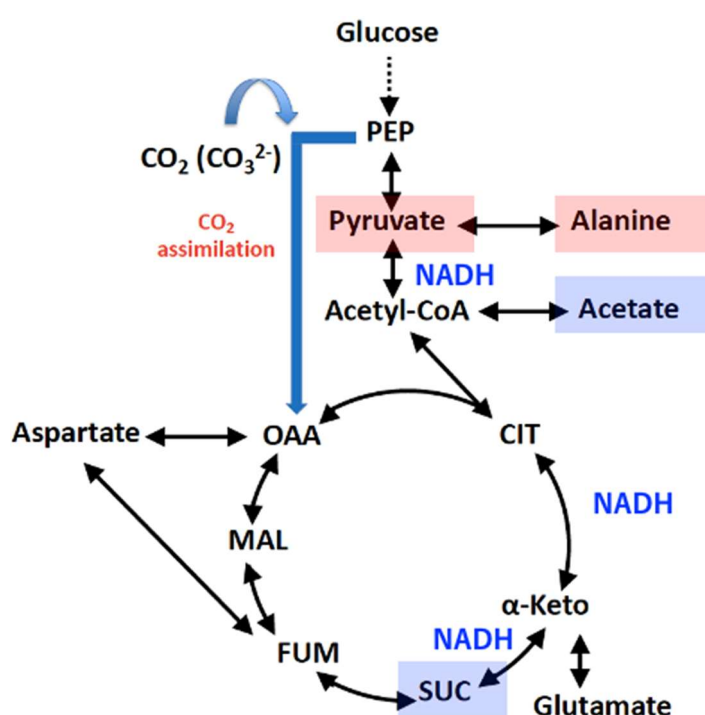


図3-16 繰り返し反応によって減少する副生物と増加する副生物

### 3-10 アラニン・ピルビン酸を減らす試み

アラニン・ピルビン酸の生合成を減らす方法としては、主に1) PEP→Pyruvateの流れを小さくする、2) Pyruvate→PEPの流れを強化する、3) PEP→OAAの流れを強化する3つの方策が考えられる。

このうち1)はいくつかの理由で本事業では実施しなかった。第一には、この流れを完全に切ってしまうことは不可能で細胞の生育にこの炭素の流れは必



須であることがある。第二にこの経路は複数の酵素反応によって触媒されコントロールすることが難しいことがある。直接的にはピルビン酸キナーゼが触媒するが、コリネでは二種類のピルビン酸キナーゼが存在することが知られている。またこの経路はピルビン酸キナーゼのみが触媒しているわけではなく、グルコースの取り込みに使われる sugar phosphotransfer system (PTS) でも触媒される (図 3-17)。この反応により少なくともグルコースから合成される二分子の PEP のうち一分子の PEP はグルコースの取り込みに使われることになり、半分の炭素はピルビン酸になる計算になる。PTS を破壊することも考えられるが、ここではグルコースの取り込みを重視して、1) の方策は見送った。

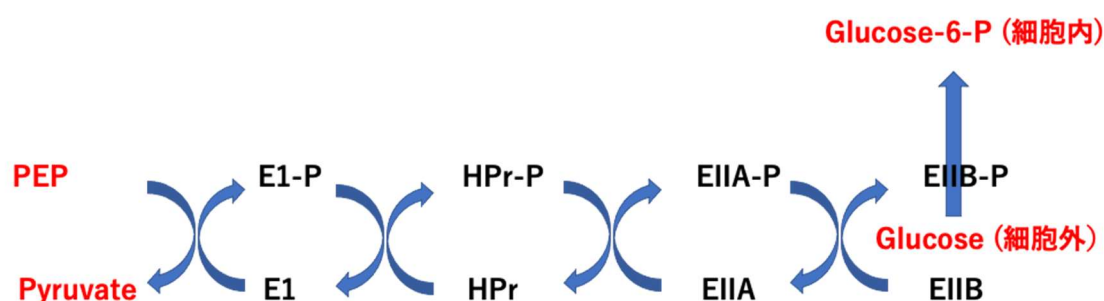


図 3-17 sugar phosphotransfer system (PTS)

また 3) の PEP カルボキシラーゼの強化は、すでにこの事業が始まる前に行っておりここではその詳細は割愛する。よって新たな試みとしては、2) の PEP 合成酵素の強化を図った (図 3-18)。PEP 合成酵素はピルビン酸から PEP を合成する酵素であり、ppsA という遺伝子がこの酵素をコードしている。強化は gapA のプロモーターの下流に ppsA の遺伝子を繋ぎ、これをゲノム上に挿入した。このようにして作成した株を GESs793 として菌体の評価を行なった。

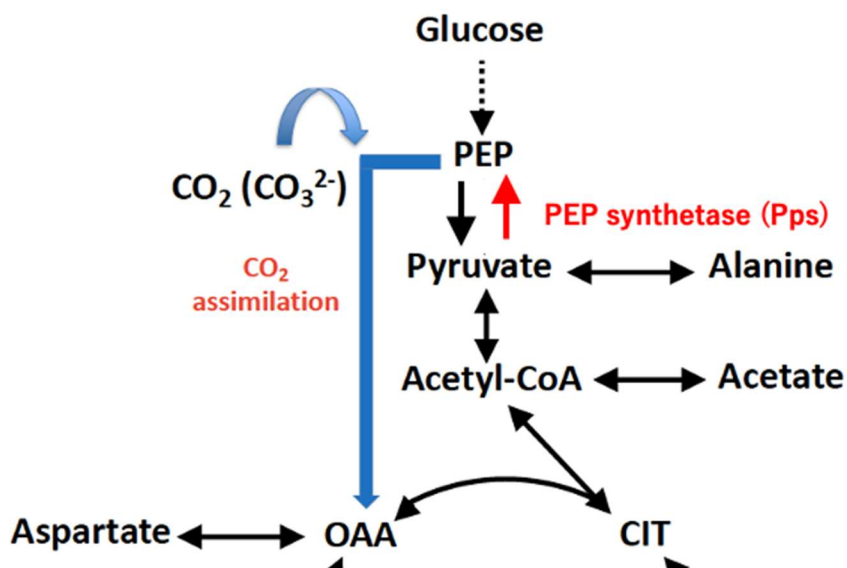


図 3-1 8 PEP 合成酵素の経路図情の役割

### 3-1 1 GESs793 の繰り返し反応

GESs793 の培養は、34 時間で OD<sub>610</sub> が 72.5 まで伸びている。到達 OD に関しては、遺伝子操作による大きな影響は感じられないが、培養時間はやや長くかかっている（図 3-2 2）。この傾向はプラスミドを使って ppsA を導入した時に顕著に観測され ppsA の発現強化が細胞の生育に対してマイナスの効果があることが示唆されている。

図 3-1 9 は GESs793 株を用いて 5 回の繰り返し反応を行なった結果である。反応速度の低下は確認できず、全ての繰り返し反応は 2 4 時間以内で終了している。またアスパラギン酸の収率に関しても、4 回まで 6 割台を保っており、収率の大きな低下なども観測はできなかった。またその他の副生物の動きも GESs694 とよく似た動きをしていることがわかる。

|                         | 1st   | 2nd   | 3rd   | 4th   | 5th   |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Lactic acid (mol/2mol)  | 0.016 | 0.022 | 0.033 | 0.039 | 0.039 |
| Succinic acid (mol/mol) | 0.023 | 0.025 | 0.019 | 0.020 | 0.014 |
| Acetic acid (mol/2mol)  | 0.101 | 0.065 | 0.049 | 0.044 | 0.025 |
| Pyruvate (mol/2mol)     | 0.001 | 0.006 | 0.000 | 0.008 | 0.019 |
| Malate (mol/2mol)       | 0.024 | 0.021 | 0.026 | 0.037 | 0.047 |
| Fumarate (mol/2mol)     | 0.007 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 |
| Valine (mol/mol)        | 0.014 | 0.022 | 0.056 | 0.067 | 0.059 |
| Glutamate (mol/mol)     | 0.050 | 0.038 | 0.019 | 0.012 | 0.006 |
| Aspartate (mol/2mol)    | 0.683 | 0.670 | 0.665 | 0.636 | 0.568 |
| Alanine (mol/2mol)      | 0.076 | 0.087 | 0.125 | 0.124 | 0.129 |

図 3-1 9 繰り返し反応による副生物のモル収率 (GESs793)

アラニンとピルビン酸のモル収率に着目すると図 3-2 0 のようになる。  
GESs793 では GESs694 に比べるとピルビン酸の減少は確認できるが、アラニンの減少は確認できず、むしろ生産の割合が増加している。

これらの結果から、ppsA 遺伝子の発現強化はアスパラギン酸生産において大きなプラスの影響は確認できず、またアラニンやピルビン酸の副生物を減らすという目的も期待通りの効果を確認することはできなかった。

ppsA 遺伝子の発現強化は生育にとってマイナスであり、反応にとってもプラスの効果が認められないことから、この遺伝子導入は採用しない方針にした。

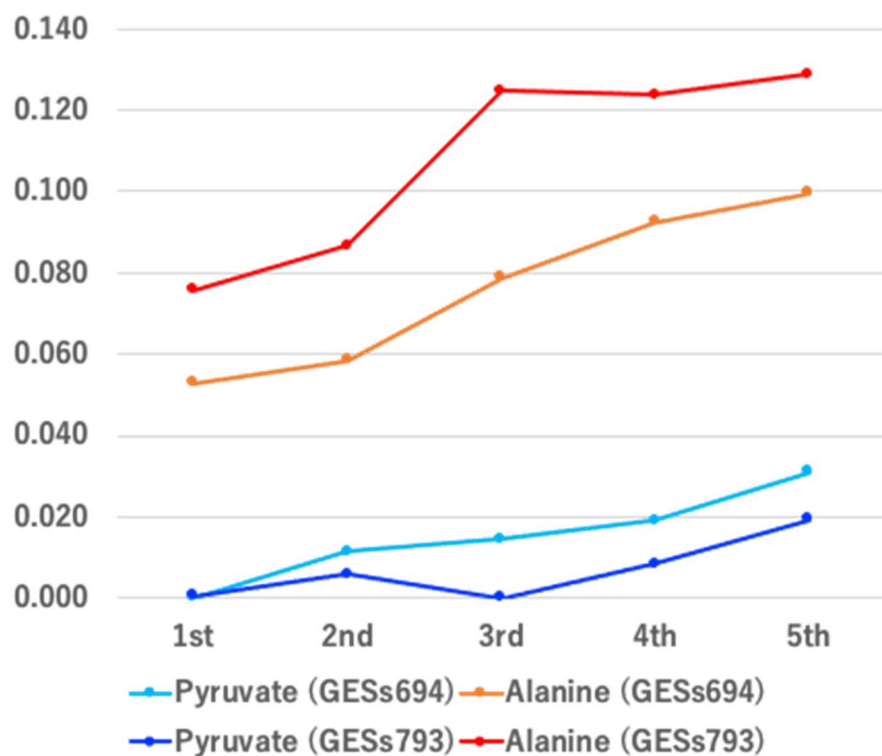


図 3-2 0 繰り返し反応によるアラニンとピルビン酸のモル収率

### 3-1 2 バリンを減らす試み

図 3-1 4 や図 3-1 9 を見ると、アラニンが最もメジャーな副生物であることは間違いない。アラニンの生合成経路は、ピルビン酸にアミノ基をつける経路の他にもう一つ生合成経路が存在する。それはバリンからアラニンを作る経路で図 3-2 1 に示す。この反応は見方によっては、ピルビン酸にアミノ基を供給するのにグルタミン酸ではなくバリンを使っていると考えられる。酵素もアミノ基転移酵素 (valine-pyruvate aminotransferase) となっている。

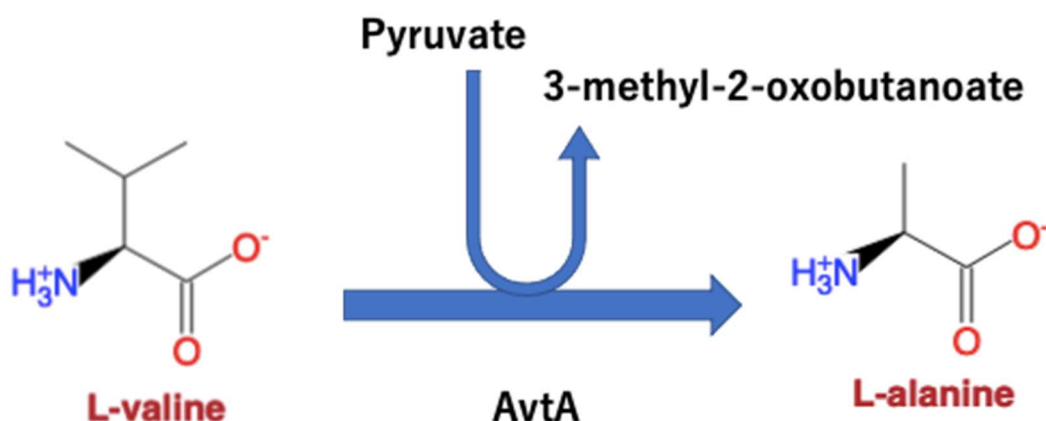


図 3-2 1 バリンからアラニンの生合成経路

この経路を使ったアラニンを減らす目的であれば *avtA* の遺伝子破壊も考えられるが、それではアラニンの向かった炭素がバリンに戻るだけであり、副生物を減らすことにはならない。バリンの副生自体も無視できないレベルであり、*avtA* の経路をつぶすよりもバリンへの炭素の流れを減らす方が望ましいと考え、バリンの副生の低下を目指した菌体改良を行うことにした。

図 3-2 2 はバリンの生合成経路を示したものである。炭素を無駄にしないためには、*IlvBN* (acetohydroxy acid synthase) の部分に損傷をあたえることが重要であることがわかる。ただし *ilvB* を欠失させてしまえば、バリン（ロイシンも同様）の生合成ができなくなるため、生育に影響が出ることもわかっている。よって今回も *ilvB* に部分的な損傷を与える方法を選択した。

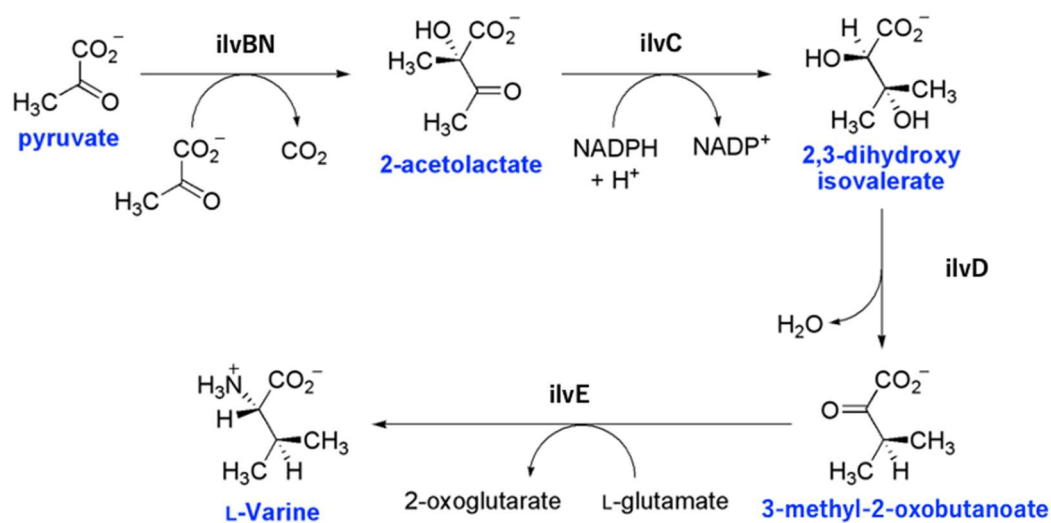


図 3-2 2 コリネ菌におけるバリンの生合成経路

GESs694 に *ilvB1* の変異を導入した株を GESs801 とした。培養の結果を先ほどの GESs793 と一緒に図 3-2 3 で示した。生育の悪化はほぼ観測されず、変異の導入による培養への影響は軽微なものとなっている。

|                   | GESs694 | GESs793<br>(gapA-pps) | GESs801<br>(ilvB1) |
|-------------------|---------|-----------------------|--------------------|
| OD <sub>610</sub> | 72.8    | 72.5                  | 69.9               |
| 培養時間              | 23h     | 34h                   | 23h                |

図 3-2 3 GESs694 株、GESs793 株、GESs801 株の培養結果

この菌体を 3 回繰り返した結果を図 3-2 4 で示す。反応 3 回目にやや収率の劣化が観測されたが、1 回目、2 回目の反応は特に問題なく反応できている。繰り返し反応に本当に弱いのかどうかは今後の検証が必要である。

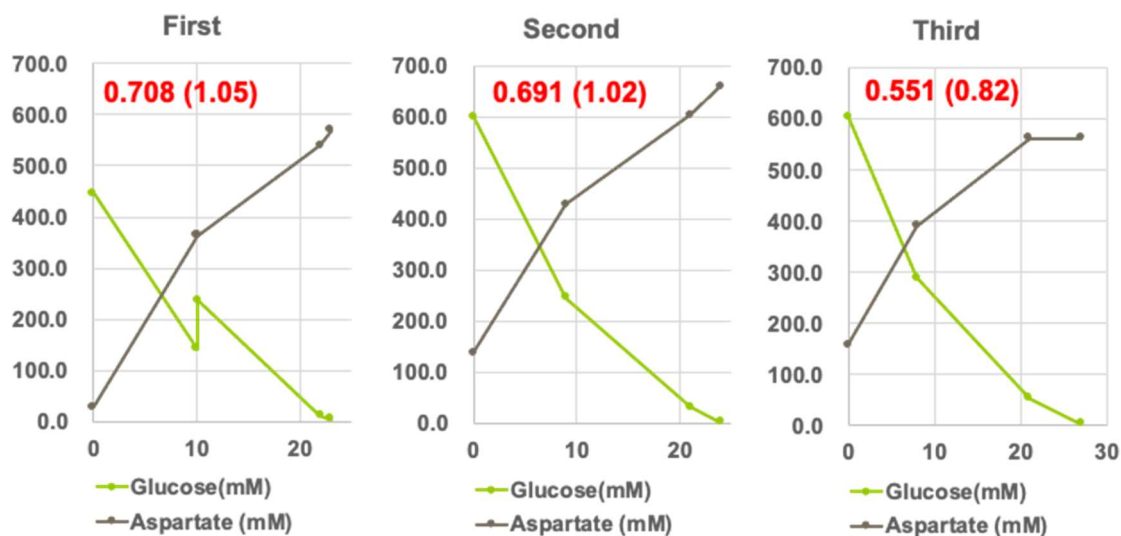


図 3-2 4 GESs801 株の繰り返し反応

図 3-2 5 は反応 1 回目のアミノ酸のクロマトグラフを示したものだ。アラニンのピークもバリンのピークも親株に比べて低くなっていることがわかる。

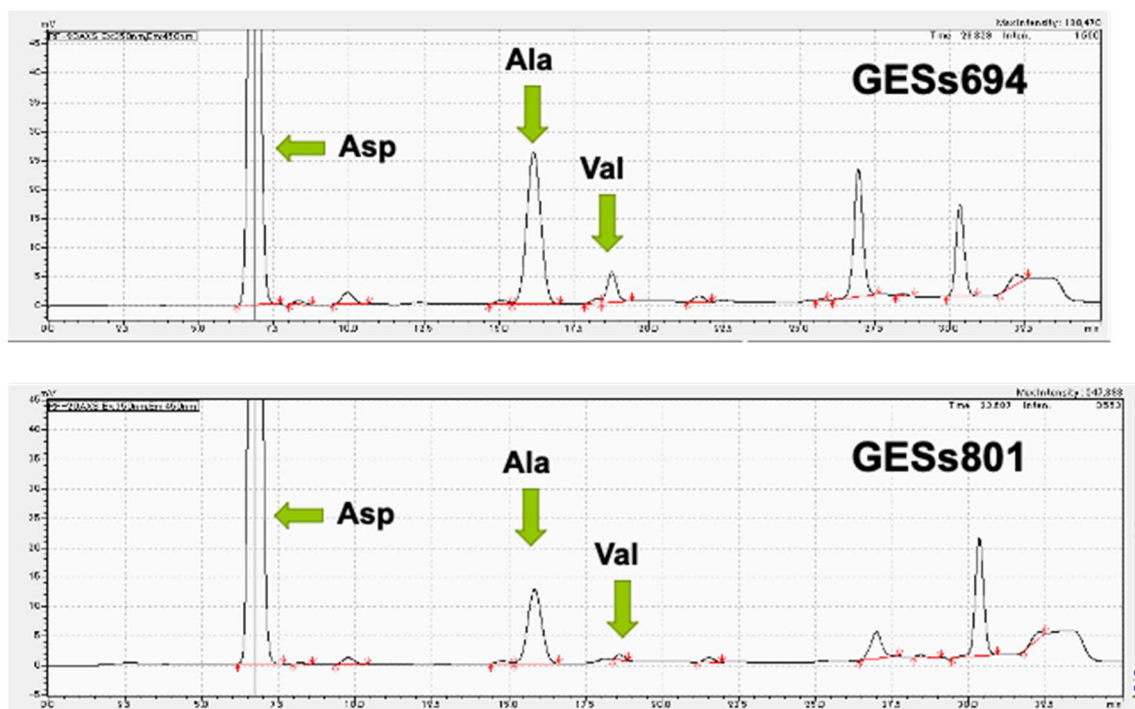


図 3-2 5 GESs694 株と GESs801 株の反応液のクロマトグラフ



図 3-2 6 は、3 回の繰り返し反応を通じたバリンの収率をしめしたものである。この結果をみると、確かに *ilvB1* の変異導入がバリンの生産を抑えていることがわかる。ただし図 3-2 7 をみると、アラニンの収率が親株より減っているのは反応 1 回目のみだということがわかる。AvtA 経路でアラニンの生合成が行われている可能性は否定できないが、*ilvB1* によるバリンの減少が繰り返し反応におけるアラニンの増加を抑制するという効果は見られないことがわかる。

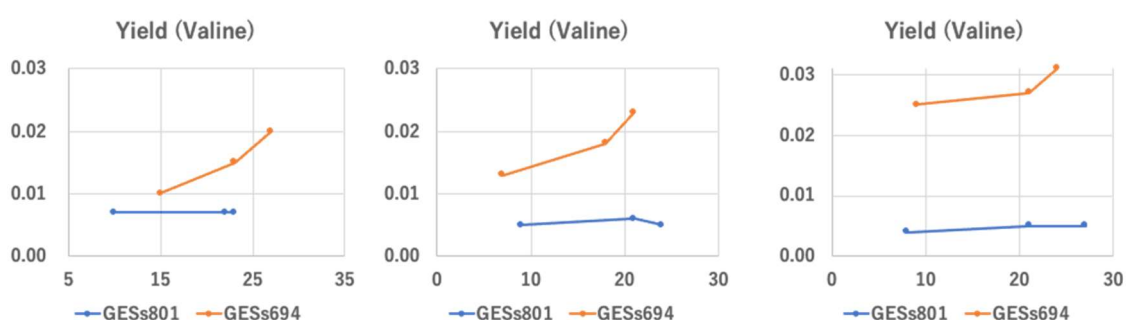


図 3-2 6 GESs694 株と GESs801 株のバリンの収率

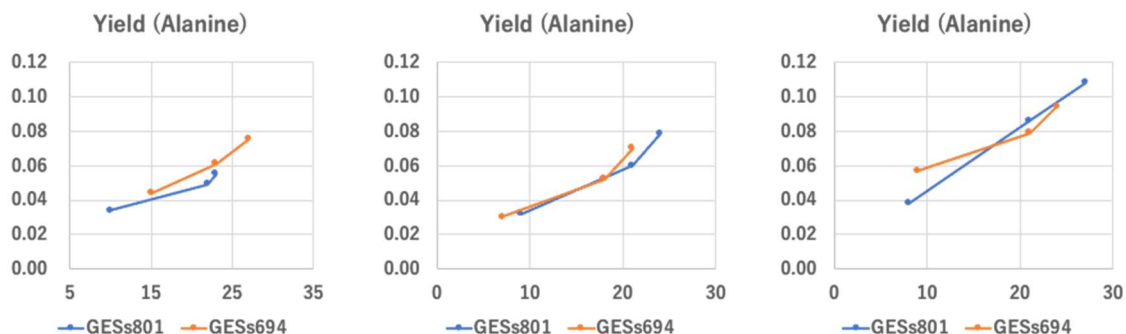


図 3-2 7 GESs694 株と GESs801 株のアラニンの収率

これらの結果を総合して考えると、*ilvB1* の変異導入は生育に対する影響は軽微であるのに対しバリンの副生を抑える効果は認められた。この結果を受けて *ilvB1* の変異は導入することにした。ただしバリンの減少がアラニンの副生を抑える効果は今のところ観測されていない。このことは AvtA の経路がマイナーな経路であり、この経路を使ったアラニンの生合成はほとんど行われない



という可能性が高い。しかしこの経路はアミノ基転移反応であり必ずしもバリンの量がアラニンの量に直結しないため、別途 avtA の欠失株を作成することで確認したい。

アラニンの副生を減らすその他の方法として、ピルビン酸カルボキシラーゼ (Pyc) の強化は考えられる。この方法が一番無駄がなく合理的であり、何度か試してはいるが今のところうまくいっていない。うまくいかない理由も明確になっていないのでこちらの方角も再度検討したいと考えている。

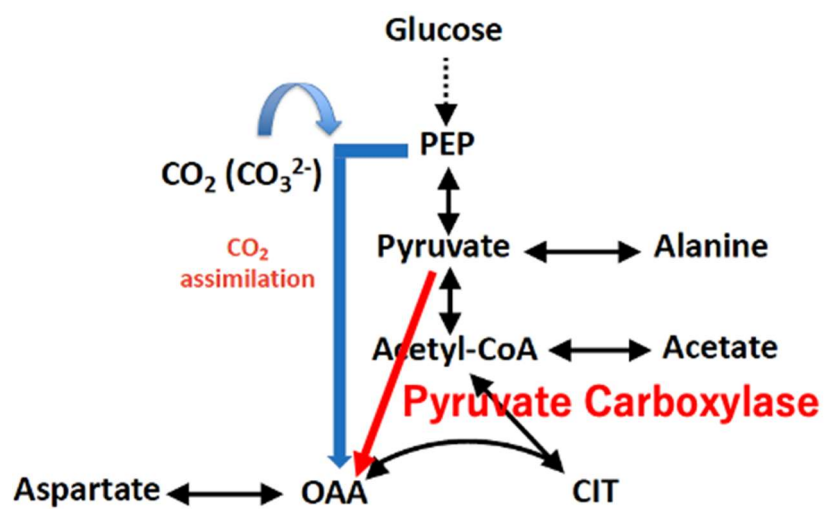


図 3-2 8 ピルビン酸カルボキシラーゼとアスパラギン酸生産

最後に、精製プロセスについては令和 2 年度に目標値を達成しているため大きな進展はなく、本年度の報告書には記載していない。着色については、現時点で想定される生産プロセスでは大きな問題とならないため、今後の生産品等の状況に応じて対応をしていく。

#### 4. 非可食由来の糖化液を用いたアスパラギン酸発酵

## 序論

近年の脱炭素社会を目指す動きは目覚ましい。環境省の本事業そのものが、この社会的な動向の一環であり、本プロジェクトでは石油由来の原料で作られているポリアクリル酸を植物由来のポリアスパラギン酸で置き換えていくことを目指すものである。

石油由来の原料を植物由来の原料に置き換えていくという方針は、脱炭素社会の動向と一致していると言えるが、最終的には排出する二酸化炭素を削減する必要がある。このため本事業でも LCA (Life Cycle Assessment) の評価が必須となっている。LCA とは、ある製品のライフサイクル全体（資源採取—原料生産—製品生産—流通・消費—廃棄・リサイクル）又はその特定段階における環境負荷（二酸化炭素排出量）を定量的に評価する手法であり、この評価に基づきそのプロジェクトが二酸化炭素排出削減にプラスなのかどうか判断される。

本プロジェクトは残念ながら現状の数値ではポリアクリル酸の LCA を下回ることができていない。この原因の一つにトウモロコシ由来の炭素源であるグルコースの LCA が意外と高いことがあり、これを主要な炭素源にしている限り大幅な LCA の減少は見込めない。この問題を解決するために、非可食バイオマス由来の糖化液を炭素源としてアスパラギン酸発酵を試みることにした。トウモロコシは本来食用あるいは飼料用として使われるため、トウモロコシからグルコースを作る過程で排出される二酸化炭素はそのまま環境負荷となるが、本来燃やされてしまう麦わらなどからグルコースを使えば、本来燃やして出ていた二酸化炭素との差分が環境負荷として計算されることになる。また二酸化炭素の排出という側面からだけでなく、資源の有効利用という側面から見ても、廃棄されるものから有用物質を生産するという方向性は、今後開発していかなければいけない技術と言えるだろう。

本来は大量に作られているトウモロコシの茎や葉（コーンストーバー）のセルロースを糖化して作った糖化液を使用する予定だったが、本研究では材料を調達することができなかった。コーンストーバーに近い、麦わらの糖化液、木材の糖化液、それに紙オムツの再利用を考えてパルプの糖化液の三種類を用意した。その結果について報告する。

## 4-1 糖化液の調達

麦わら (Wheat Straw)、木材 (Hard Wood) の糖化液は、アメリカの C 社からサンプル提供して頂いた。パルプの糖化液は、以下の方法で調整した。

- 1) 以下の混合物を 500ml の三角フラスコにいれて 50℃、150rpm で振とう培養を開始する。

パルプ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10g

500mM 酢酸・・・・・・・・・・・・・・・・ 16ml

ViscamylFlow (Cellulase) ・・・・・・・・ 4ml

ミリ Q 水・・・・・・・・・・・・・・・・ 332ml

- 2) 培養開始後 4 時間目にパルプ 10g を追加する
- 3) 培養開始後 8 時間目にパルプ 10g を追加する
- 4) 培養開始後 24 時間目にパルプ 10g を追加する
- 5) 培養開始後 48 時間目に振とう培養をやめて、7000rpm で遠心分離を行う。
- 6) 上澄みをパルプ糖化液として保存する



図 4-1 本研究で使用した非可食由来の糖化液

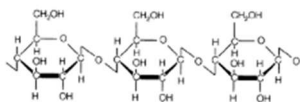
#### 4-2 糖化液の糖の種類と糖濃度

木材や麦わらなどのセルロース系バイオマスは大きく分けて3つの成分からなっている。その成分は材料によって変わるが、大きく見てセルロースが50%、ヘミセルロースが20~30%、そしてリグニンが10~30%程度ある。リグニンは針葉樹で多く、草木では低い割合で存在する。

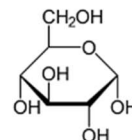
セルロースの糖化は主に酵素（セルラーゼ）を使って糖化して、グルコースあるいはセルビオースとなる。ヘミセルロースは、（アラビノ）キシラン、（グリコ）マンナンなど様々な糖がつながった多糖類であるが、強酸と熱で処理することによって加水分解して単糖、あるいはオリゴ糖になる。糖の種類は様々であるが、キシロースやアラビノースなどの5単糖を多く含む。そのほかマンノース、グルコースやガラクトースなどの6単糖も含まれている（図4-2）リグニンは分解されず糖化の段階で取り除かれる。

## バイオマス成分

### セルロース

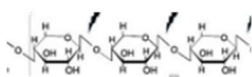


糖化



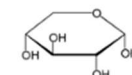
Glucose

### ヘミセルロース

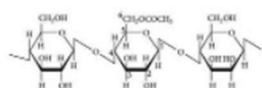


Xylan

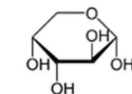
加水分解



Xylose

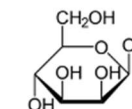


Mannan



Arabinose

### リグニン



Mannose

図 4-2 セルロース系バイオマスの成分と糖化液

図 4-3 は、今回準備した糖化液を等分析にかけた結果である。検出されたのはグルコースの他は、キシロースとアラビノースのみで、マンノースやガラクトースは検出されなかった。キシロースやアラビノースの 5 単糖は、麦わらの糖化液に多く、木材の糖化液では少なめであった。パルプからの糖化液ではアラビノースは検出できなかった。

本研究で用いているコリネバクテリウムは、残念ながらキシロースなどの 5 単糖を積極的に利用することができない。これは取り込みの機構が発達していないことに加えて、キシロースをペントースリン酸経路に取り込む酵素活性がほとんどないことに起因する。遺伝子操作を加えれば、コリネバクテリウムに 5 単糖を利用させることは可能であるが、現状では利用できないため、以下の実験はグルコースの濃度のみを基準に実験を行っている。

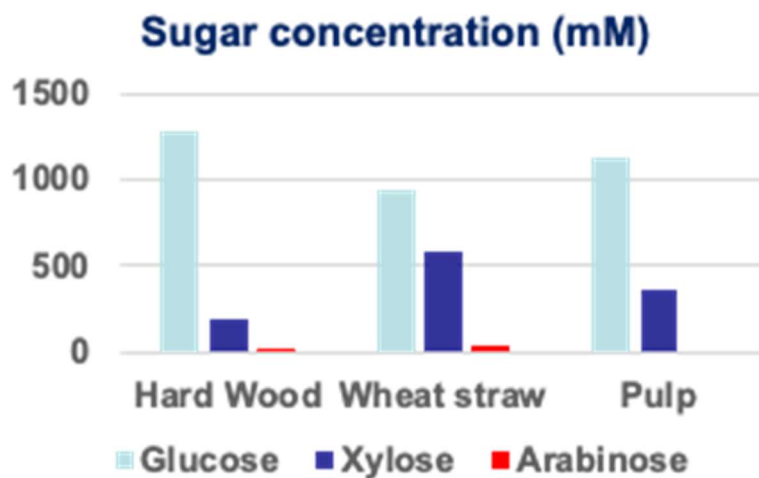


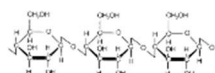
図 4-3 糖化液と糖の種類

#### 4-3 糖化液と発酵阻害物質

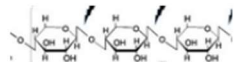
木材や麦わらなどのセルロース系バイオマスは、セルロースとそれらを束ねる役割をするアラビノキシランならびに接着剤の役割を果たすリグニンにより構成されている。これらを糖化する過程には、酸やアルカリによる処理や熱処理などの過酷な物理化学的な処理とセルラーゼを用いた酵素糖化を組み合わせる方法が使われる。この処理過程で、糖の過分解によるギ酸の生成、アラビノキシランの側鎖であるアセチル基由来の酢酸の遊離、リグニンの分解によるバニリンなどのフェノール性物質が同時に生成してしまう。これら物質は一般に発酵の進行にマイナスの影響を持つ。また 5 単糖が過酸化反応をしたフルフラール、6 単糖が過酸化反応をしたヒドロキシメチルフルフラール (HMF) は強い発酵阻害を引き起こすことが知られており、これらの物質のアスパラギン酸発酵への影響が懸念される (図 4-4)。

## バイオマス成分

### セルロース



### ヘミセルロース



### リグニン

前処理

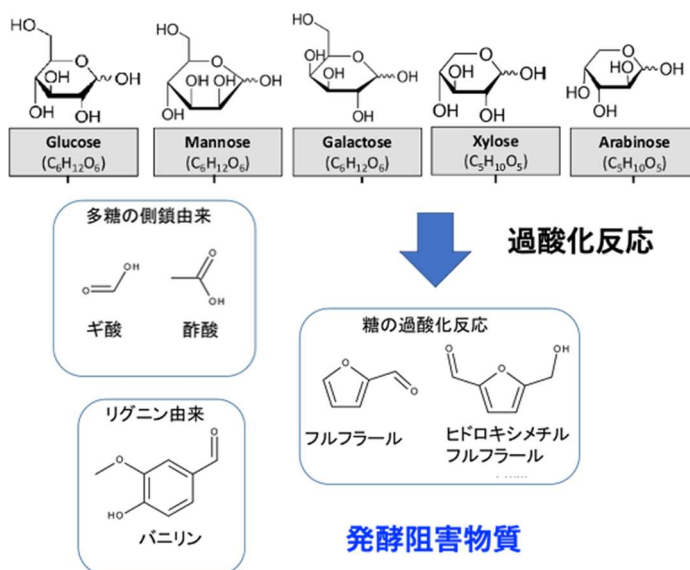


図 4-4 糖化液と発酵阻害物質

図 4-5 は、今回準備した糖化液に含まれる発酵阻害物質の濃度を示したものである。木材、あるいは木材由来のパルプの糖化液に比べて麦わらに含まれる発酵阻害物質の濃度は高めであることがわかる。特に強い発酵阻害物質であるヒドロキシメチルフルフラール(HMF)が検出されており、アスパラギン酸発酵への影響が懸念される。その他バニリンなどのフェノール類の検出はここでは行っていない。

## 濃度 (mM)

|     | 酢酸  | 蟻酸 | フルフラール | HMF |
|-----|-----|----|--------|-----|
| 木材  | 101 | 0  | 0      | 0   |
| 麦わら | 319 | 12 | 0      | 4   |
| パルプ | 86  | 0  | -      | -   |

図 4-5 糖化液に含まれる発酵阻害物質の濃度



#### 4-4 低濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵

本事業では増殖非依存の発酵プロセスをしている。この手法は発酵阻害物質にはある程度耐性があると考えられる。増殖はモラセスを用いて十分生育させているため、増殖への阻害を考える必要がない。また発酵プロセスは、定常期の細胞を使うので、細胞はタンパク質合成をやめてストレスに対して耐性をもった状態になる。

しかし、代謝に対する発酵阻害物質の影響が懸念されるため、最初はグルコース濃度を 200mM 程度に調整して糖化液を加えてアスパラギン酸発酵を行うことにした。反応の条件などは以下の通りである。

##### 反応液組成

菌体 (GESs694)

ミリ Q 水 85~90ml

2M 炭酸水素アンモニウム 0ml

糖化液 10~15ml

クロラムフェニコール 25  $\mu$ l

##### 反応条件

温度：27°C

pH:8.0

攪拌：400 rpm

通気：10ml/min

図 4-6 はその結果を示す。収率はグルコースに対する重量収率(g/g)で示している。結果から言うと、どの糖化液でもかなり良好なアスパラギン酸生産が確認された。収率の劣化もほとんど確認されず、反応速度に対する影響もほとんど観測されていない。このことから低濃度の糖化液であれば、問題なくアスパラギン酸生産に使用できることがわかった。

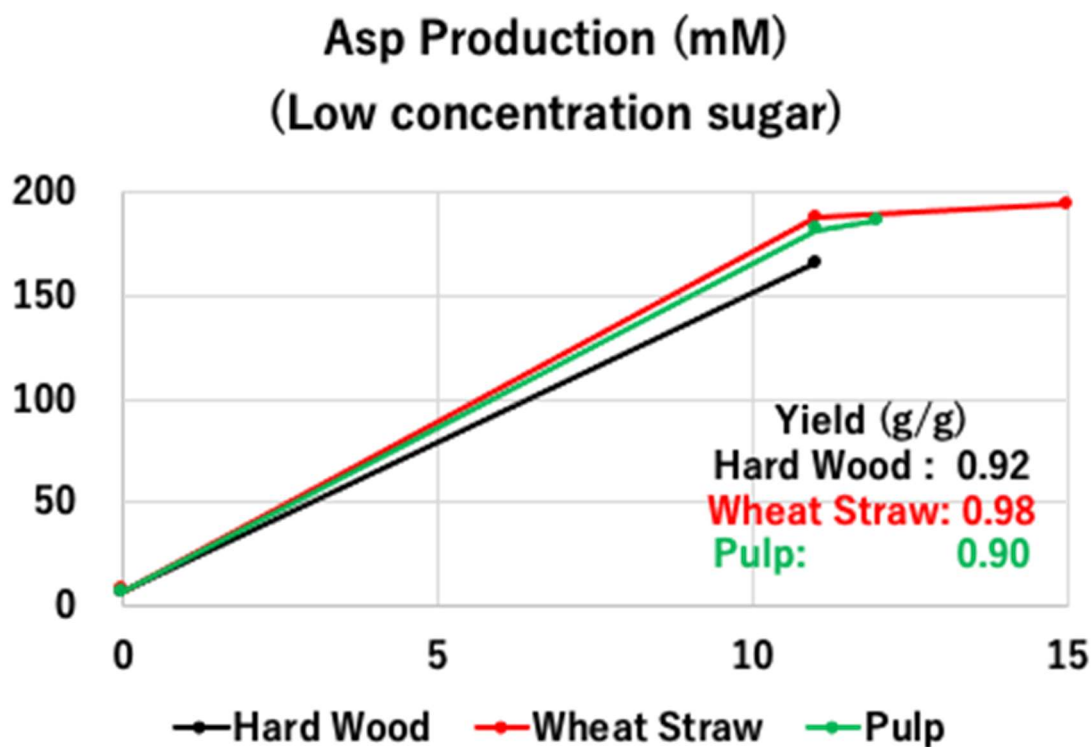


図 4-6 低濃度の糖化液を使ったアスパラギン酸生産

#### 4—5 中濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵

200mM 程度のグルコース濃度であれば、どの糖化液でも発酵阻害は確認されなかったため、400mM 程度にグルコース濃度をあげてアスパラギン酸発酵を行った。反応条件は上記と同様であり、反応液組成は糖化液を倍にして、水の量を減らした。

##### 反応液組成

菌体 (GESs694)

|               |            |
|---------------|------------|
| ミリ Q 水        | 70～80ml    |
| 2M 炭酸水素アンモニウム | 0ml        |
| 糖化液           | 20～30ml    |
| クロラムフェニコール    | 25 $\mu$ l |

その結果を図4-7に示す。グルコースの濃度を400mMまで上げると、麦わらの糖化液で強い発酵阻害が起こった。収率の低下も観測されたが、それよりも反応がほとんど進まず、グルコースの消費がほとんど観測できなかった。麦わらの糖化液は、発酵阻害物質の濃度が高めであり、これが影響している可能性がある。一方木材とパルプの糖化液については、比較的良好なアスパラギン酸生産が確認された。試薬グルコースと比較しても収率の低下は確認されておらず、反応速度は若干の遅れは観測されるものの強い阻害は受けていないと考えられる。

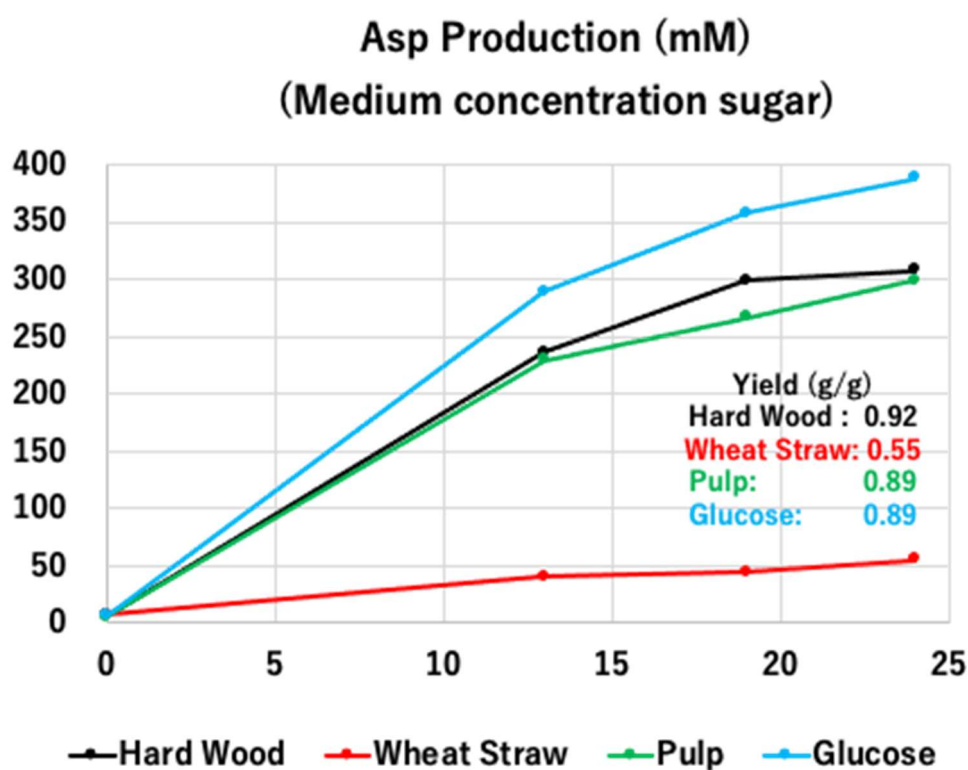


図4-7 中濃度の糖化液を使ったアスパラギン酸生産

#### 4-6 高濃度糖化液でのアスパラギン酸発酵

通常アスパラギン酸生産は500mM~600mMのグルコースを加えて反応を開始する。この濃度で発酵阻害があるのかどうか、最も発酵物質少ないと思われる

パルプの糖化液を使ってアスパラギン酸生産を行った。図 4-8 でその結果を示した。400mM 程度のグルコース濃度に調整した反応液ではほとんど反応阻害は検出できなかったが、500mM を超える濃度にすると反応阻害が観測された（図 4-8）。特にグルコースの消費速度が遅くなっており、反応速度が極端に遅くなっていることがわかる。ただし中濃度で麦わらの糖化液とはやや様相が異なっている。反応速度が遅くなるのは麦わら糖化液と同じだが、18 時間の段階では収率の低下は見られていない。

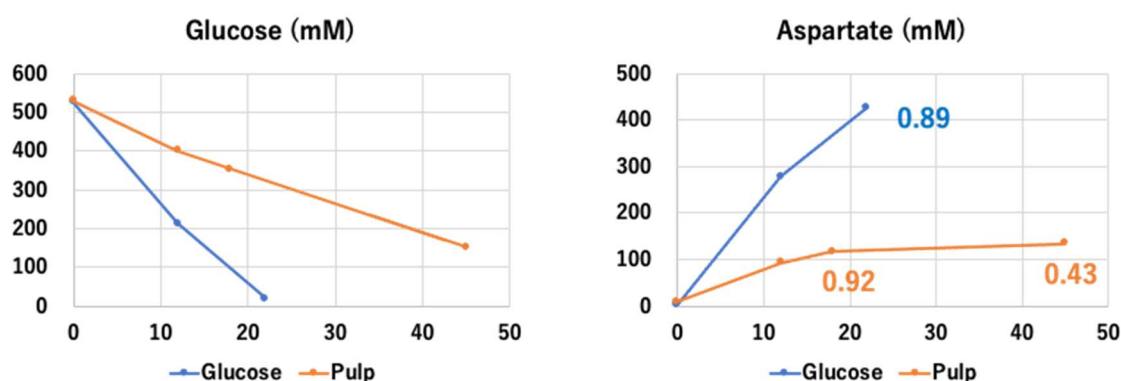


図 4-8 高濃度のパルプ糖化液を使ったアスパラギン酸生産

しかし、18 時間以降はほとんどアスパラギン酸の生産は行われていないが、グルコースの消費速度はそれほど低下していない。18 時間以降に炭素が流れた副生物に着目すると、アラニンとコハク酸に流れている（図 4-9）。この図にはない副生物として乳酸があり、18h で 0.026 の炭素が流れているが 45h では 0.175 の炭素が流れている。図 4-10 はパルプの糖化液の反応で、0 時間から 18 時間までと 18 時間から 45 時間までに生産されたアミノ酸、有機酸を第二章で分けたグループに分類した円グラフである。18 時間から 46 時間では、ほとんどアスパラギン酸の方には炭素が流れておらず、ピルビン酸の周りに多くの炭素が流れていることがわかる。

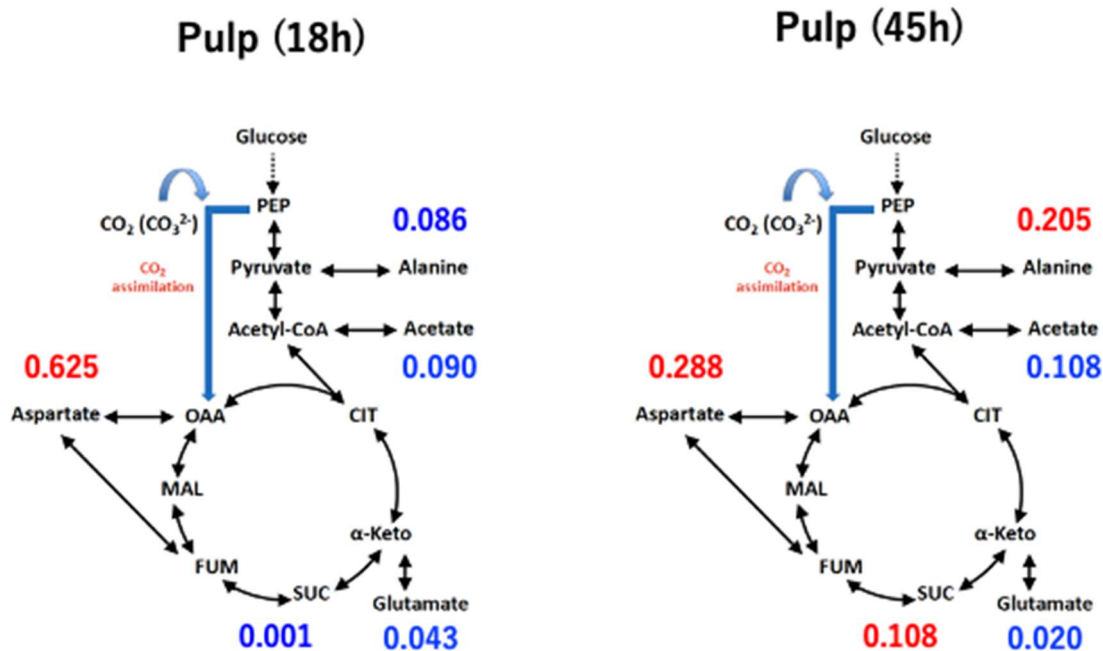


図 4-9 高濃度のパルプ糖化液での副生物 1

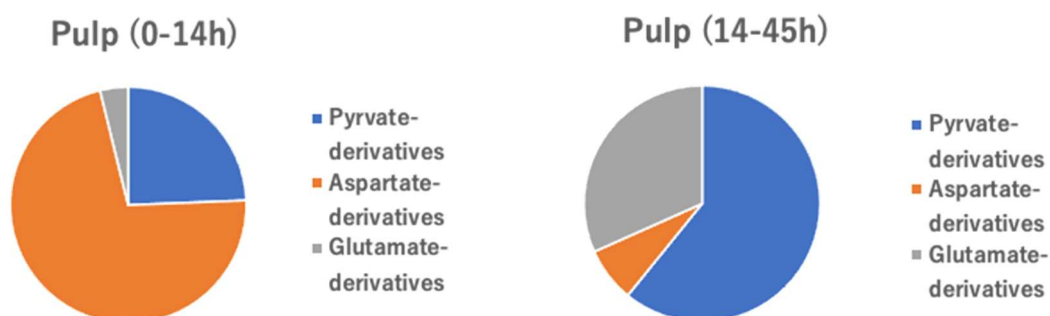


図 4-10 高濃度のパルプ糖化液での副生物 2

## 4-7 まとめ

LCA をベースとしたシナリオでは、コーンストーバーを用いた糖化液を利用した場合が、環境負荷が最も小さくなるという結果が出ている。LCA の値としては、アクリル酸の LCA を大きく下回る。コーンストーバーは、草本系ソフトセルロースということになり、今回準備した糖化液では麦わらの糖化液に最も近い。残念なことに今回の検証では、麦わらの糖化液が最も発酵阻害物質の含

有量が多く、また実際に 400mM 程度にグルコース濃度を上げた時点で強い発酵阻害が確認された。

草本系バイオマスの糖化液を実生産に使うためには、発酵阻害物質を減らす必要がある。現在のところ、草本系ソフトバイオマスの糖化は、Green Earth では行っていないが、阻害効果の少ない糖化液を調整するには自社開発して糖化プロセスを検討していく必要がある。また草本系バイオマスの糖化液には、多量のキシロースが含まれている。現在の菌体ではこのキシロースを資化することができず、貴重な炭素源を無駄にしている。こちらは菌体改良で 5 単糖を利用するように改良していきたい。5 単糖を利用することができるようになれば、アスパラギン酸を作るのに必要な糖化液の量を相対的に減らすことができる。こちら間接的に糖化液の阻害効果を緩和することができる。

## 5. ポリアスパラギン酸を用いた吸水性樹脂の開発

## 序論

ポリアスパラギン酸は、分子内にカルボキシル基を有するポリアミノ酸であり、高吸水性用途の使用が期待されている。高吸水性用途のポリマーとして、現在はポリアクリル酸ナトリウムが主流であり、低コストで優れた吸水特性を持つことが広く知られている。一方で、ポリアクリル酸ナトリウムは生分解性を有しておらず、廃棄時また使用後の処理には焼却が必要であるが、大量の水を含んでおり処理効率が非常に悪い。また、石油から作られているため、二酸化炭素削減の観点から植物由来の原料への転換が求められている。

ポリアスパラギン酸は生分解性ポリマーとして知られており、植物由来であればポリアクリル酸の代替となりうる理想的な素材である。しかし、ポリアクリル酸は優れた吸水特性を有し、低コストの素材であるため、他の素材に置き換えるにはハードルが高い。そのため、ポリアスパラギン酸製造の課題は、ポリアクリル酸に近い品質を低コストで製造するプロセスを見出す事にある。更に紙おむつ用のポリアクリル酸ナトリウムの高吸水性ポリマーは、国内外あわせて 300 万トン／年にも及ぶ流通量であると推察されており、代替には大量生産可能なプロセスが望ましい。

高吸水性ポリマー（SAP）は自重の数百～数千倍程度の水を吸水して膨潤し、多少の圧力をかけてもゲル状のまま水を保持する性質を持つポリマーである。ポリアスパラギン酸そのものは前述の通り分子中にカルボキシル基を有する水溶性ポリマーであるため、高吸水性用途のポリマーとして利用するためには、ポリアスパラギン酸の一部を架橋し、水に不溶な状態をつくりだす必要がある。そのため、主鎖であるポリアスパラギン酸の構造や分子量、架橋状態の制御が吸水性能に及ぼす影響が大きいことが知られている。そこで、昨年までに前駆体であるポリスクシンイミドの重合条件の検討及び吸水性能を向上させる架橋条件の検討を行ってきた。ポリスクシンイミドの重合は、溶液重合法及び固相重合法の検討を行い、SAPにするために必要な一定分子量の重合物が両方法ともに得られることが分かった。一方で、得られた重合物の架橋条件を検討しSAP性能の評価を行ってきたが、架橋したポリアスパラギン酸のSAPは紙おむつ用のSAPとしては、ポリアクリル酸SAPと同等性能の発現には至っていない。



そこで、本年度は重合の面では工業化可能なポリスクシンイミドの重合方法の選定検討を行い、スケールアップできるか検証した。また、紙おむつ用としてのSAP性能が未だポリアクリル酸SAPに及んでいないことから、SAP性能を向上させるため、DICグループ会社である中国(青島)の青島迪愛生精細化学有限公司と共同で、架橋方法／条件の検討を継続して実施した。

## 5-1 重合反応概要

ポリアスパラギン酸の工業的な合成は、石油由来のマレイン酸やフマル酸を出発原料とする方法とアスパラギン酸を出発原料とする方法が知られている。アスパラギン酸を出発原料として、ポリアスパラギン酸を得るためには、酸触媒を用いてアスパラギン酸を重縮合し、中間物質であるポリスクシンイミド（PSI）を経由する方法が一般的に知られている（図5-1）。ポリスクシンイミドを得た後に、吸水性ゲルとするため架橋及び加水分解を行い、架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムとする方法である。その後、脱水・乾燥、粉碎を経て紙おむつ用途の高吸水性ポリマーとして製造するプロセスが想定される。

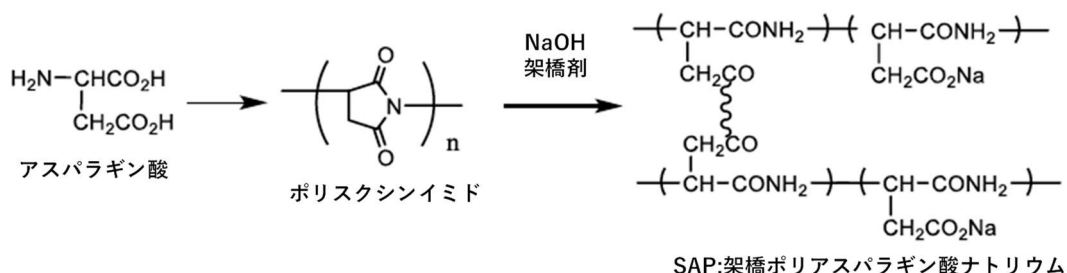


図5-1 架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムの合成スキーム

アスパラギン酸から架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムを合成する製法に関しては1990年代に盛んに開発が進められている。製造技術の課題としてはポリマーの高分子量化及びポリマーの架橋反応が挙げられ、それらの課題をクリアしつつコスト低減を可能とする製造プロセス開発が最大の課題である。

本年度は、架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムの量産化を想定し、前駆体であるポリスクシンイミドのスケールアップ可能な重合プロセスの確立を目標に検討を行った。

## 5-2 ラボ静置重合の概要

高吸水性ポリマーとしての吸水性を向上させ、吸水ゲルの強度を保つためにはポリマーの高分子量化は大きな課題である。高分子量化した架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムを得るためには、前駆体であるポリスクシンイミドを合成段階で高分子量化する必要がある。そのため、ポリスクシンイミドの重合方法及び重合条件の検討が極めて重要であるといえる。

アスパラギン酸からポリスクシンイミドを得るための重合方法としては、アスパラギン酸を有機溶媒中でスラリー状態にし、酸触媒を添加し脱水縮合により重合する①溶液重合法と、アスパラギン酸に酸触媒を直接添加し加熱状態で脱水縮合を行う②固相重合法の2つの重合法が広く検討されている。昨年度までの検討で両重合法を検討し、両方法ともに Mw10 万近いポリスクシンイミドが合成できることが明らかとなった。一方で各重合法には特徴があり、溶液重合法は重合時に溶媒を使用するため、溶媒残留のリスクやプロセス上脱溶剤が必要なことから、大量生産には不向きな面がある。反面、固相重合は溶剤を使用せずに重合可能ではあるが、現状での検討では高真空、高温の条件下でモノマーと触媒を薄膜状に静置して長時間重合させているため、量産化には不向きと考えられる。そこで、スケールアップ可能な固相重合条件を検討することとした。

まずは従来ラボスケールで実施していた固相重合法について記載する。

### ① 固相重合(ラボ)

固相重合は、アスパラギン酸モノマーに触媒を添加した状態で、重縮合を進める反応である。溶液重合に比べ、溶媒を使用しないため低コストでの製造方法につながる可能性がある。一方で、アスパラギン酸に触媒を加えたスラリー状態から反応がスタートし、重縮合終了後は固形物になり、系の状態変化を伴うため、ハンドリングが難しいことも予想された。

昨年度までにラボではSAP性能の見極めのため、量産化を考慮しない状態(静置重合)で重合条件を検討し、SAP化に必要な分子量のポリスクシンイミドが得られる事が分かっている。

以下にラボでの重合装置及び重合条件の概要を示す。

#### <実験装置>

- ・真空乾燥機
- ・真空ポンプ
- ・冷却トラップ
- ・フッ素樹脂コーティング容器
- ・乳鉢

#### <合成手順>

モノマーである粉末のアスパラギン酸に溶液の触媒を添加し、モノマーに触媒がなじむように乳鉢で良く混合させた。乳鉢で混合後はスラリー状の混合物が得られ、その混合物をフッ素樹脂でコーティングされた容器に薄く広がるように投入した。

次にあらかじめ所定の温度まで温度を上げておいた真空乾燥機の中に、スラリーが入った容器ごと入れ、所定の圧力まで真空引きを行い、重合反応を行った。所定時間まで重合を行った後に、容器を真空乾燥機から取り出し、重合を終了させた。反応前の状態はスラリー状であるが、取り出し時は脱水及び重合の影響で、ポーラス状の板状固形物が得られる。

重合が終了した後は、得られた板状固形物を破砕し、乳鉢で粉末状になるまで粉砕した。その後、触媒を取り除くため洗浄水が中性になるまでイオン交換水で洗浄を行った。洗浄後の重合物は真空乾燥を行い、触媒が除去されたポリスクシンイミドが得られる。

重合により得られたポリスクシンイミドは、下記の手順にて分子量を測定し、評価を実施した。

#### <分子量測定>

試作されたポリスクシンイミドは、含有している触媒を水洗浄により除去した後真空、80℃、一昼夜の条件のもと、乾燥機で水洗に使用した水を除い

た。その後、NaOHでアルカリ加水分解し、ポリアスパラギン酸ナトリウム水溶液にした後、プルランを標準サンプルとしてGPC（ゲルパーミエーションクロマトグラフィー）により測定した。

装置 : 昭和電工 GPC-101  
カラム : GF-7MHQ  
溶離液 : 0.1M-NaCl  
カラム温度 : 40℃  
流速 : 0.6mL/min  
検出器 : RI

昨年度までの検討で得られたポリスクシンイミドの分子量を下記に示す。

表5-1 ラボ静置重合で得られるポリスクシンイミド

|          |      |
|----------|------|
| 温度(℃)    | 190  |
| 圧力(torr) | 10   |
| 時間(h)    | 6    |
| 分子量 Mw   | 10 万 |

安定的に分子量 Mw が 10 万のポリスクシンイミドが得られているが、前述した通り量産化には不向きな方法であると考えた。そこで、量産化を見据えた固相重合法の検討を行った。

### 5－3 混錬重合法の検討

ラボで実施していた固相重合は、前述したようにモノマーである粉末のアスパラギン酸に溶液状の触媒を添加し、モノマーに触媒がなじむように乳鉢で混合し、スラリー状になった混合物を容器に薄く広がるように静置して、真空・高温条件下で反応を行う方法である（静置重合）。この方法は小スケールでは簡易的に一定分子量のポリスクシンイミドが得られる一方で、大量生産のスケールではスラリーを薄膜状に静置し、高真空で長時間重合する必要があることから、生産性に劣り、スケールアップが非常に難しい課題があった。そこで、本年度は量産化に向けた重合法を確立するため、スケールアップ可能な装置を使つての重合を検討した。

静置重合では反応前の状態ではスラリー状の重合物が脱水及び重合が進むにつれて固形物になることがわかっている。スラリーから固形物への状態変化を伴うため、一般的な溶液の混合で使用する攪拌槽では混合不良・高負荷により重合できなくなることが推察される。そこで、スラリーから固形物の混合が行える装置が量産化には適していると考え、混錬機を用いた重合法を検討した。

混錬機を用いた重合の目標は、従来のラボで実施していた静置重合と同等の分子量のポリスクシンイミドが得られる事とした。

以下、本年度実施した混錬機での重合法の概要と実験手順について記す。

#### ① 小型混錬機重合

重合装置及び重合条件の概要を示す。

##### <実験装置>

- ・ 混錬機（内容量 0.3L）
- ・ 真空ポンプ
- ・ 冷却トラップ

#### ＜合成手順＞

混錬機による重合では、静置重合と同等の分子量を得るために、手順を変えながら検討を進めたが、下記の手順をベースとした。

モノマーである粉末のアスパラギン酸と溶液の触媒を混錬機に投入し、モノマーに触媒がなじむまで常温の条件下で混錬機内にて混合を行った。

次にあらかじめ設定した所定の温度に到達するまで、常圧条件下で脱水を実施しながら重合を促進させた。所定の温度到達後、所定の真空度に到達するまで発泡に注意しながら真空度を調整し、重合を促進させた。更に所定の真空度に到達後、重合を進めるために温度、真空度を維持し所定時間反応を行った。

重合が終了した後は、混錬機から取り出した固形状の重合物は粉末状になるまで粉碎した。その後、触媒を取り除くため洗浄水が中性になるまでイオン交換水で洗浄を行った。洗浄後の重合物は真空乾燥を行い、静置重合と同様に触媒が除去されたポリスクシンイミドを得た。

#### ＜小型混錬機での試作検討＞

まず、小型混錬機(内容量0.3L)実施していた静置重合と同程度の分子量を有するポリスクシンイミドが重合できるかの検証を実施した。本試作に用いた混錬機は装置構造上の都合で静置重合と同レベルの高い真空度は確保できないため、真空度を変えて重合を行った。

表 5－2 小型混錬機重合の条件検討

|         | 静置重合      | 条件 1  | 条件 2  | 条件 3   |
|---------|-----------|-------|-------|--------|
| 反応装置    | 真空乾燥機     | 混錬機   |       |        |
| 真空度     | 10torr(高) | 常圧    | 低     | 中      |
| 反応時間(h) | 6         | 6     | 6     | 6      |
| 分子量 Mw  | 10 万      | 3.5 万 | 5.4 万 | 12.9 万 |
| 備考(外観等) | 板状固形物     | 粉末    | 粉末    | 粉末     |

表5-2に示すように混練機での重合は、脱水を促進する真空度が重合物の分子量に大きく影響している事が確認できた。しかし、結果的に静置重合までの真空度で重合しなくとも重合条件を適正化することにより、混練機による重合でも静置重合と同等の分子量のポリスクシンイミドが得られる事が明らかとなった。また、混練機を使用した重合の利点として、混練機のせん断作用により生成した重合物が塊状の重合物から次第に粉末状に変化する様子も見られた。塊状より粉末状の方が重合物のハンドリングも容易あり、量産化に適した重合法であることが示唆された。

重合条件の最適化により小型混練機で目標分子量のポリスクシンイミドが得られるようになったことから、次のステップとしてスケールアップ性を確認するため、混練機のサイズを大型化し、同様の検討を行った。



## 5－4．混錬機スケールアップ検討

前述の通り小型の混錬機で、静置重合と同等の分子量のポリスクシンイミドが得られる事が確認できた。そこで、次はスケールアップ性を確認するため、5Lサイズの混錬機で重合を実施した。

### ① 混錬機重合(スケールアップ)

以下に重合装置及び重合条件の概要を示す。基本的に小型混錬機と同じ装置構成及び重合条件である。

#### <実験装置>

- ・ 混錬機（内容量 5L）
- ・ 真空ポンプ
- ・ 冷却トラップ

#### <合成手順>

基本的な手順は小型混錬機の重合手順に従う。

#### <混錬機でのスケールアップ検討>

5L混錬機へのスケールアップ性の評価は、小型混錬機と同条件で重合することで小型混錬機(内容量0.3L)で同等の分子量のポリスクシンイミドが得られるかを確認することで行った。表5－3に同重合条件での試作結果を示す。

表 5－3 混錬機重合の条件検討

|          | 静置重合   | 小型混錬機  | 5L 混錬機 |
|----------|--------|--------|--------|
| 反応装置     | 真空乾燥機  | 混錬機    |        |
| 真空度      | 10torr | 中      | 中      |
| 反応時間 (h) | 6      | 6      | 6      |
| 分子量 Mw   | 10 万   | 12.9 万 | 11.4 万 |
| 備考(外観等)  | 板状固形物  | 粉末     | 粉末     |

表 5－3 に示すように混錬機でのスケールアップ重合は、小型混錬機と同重合条件で重合する事で、ほぼ同等の分子量のポリスクシンイミドが得られる事が明らかとなった。このことから、更に大型化(スケールアップ)しても同等分子量のポリスクシンイミドが得られる事が想定され、スケールアップ可能となり工業化で実施可能な固相重合であると考えている。

## 5-5 架橋反応概要

ポリアスパラギン酸ナトリウムは水溶性のポリマーであるため、高吸水性ポリマーとして使用するためには、架橋を行う事で水に不溶な状態をつくりだし、吸水後に膨潤してもゲル状態を保ち、水を保持する必要がある。架橋密度を高くすることで、吸水後のゲルの形態を保持しやすくなるが、架橋を行う事でポリマー中のカルボキシル基量（親水基量）が減少するため、吸水性能が低下する。

下図（図5-2）のフローリーの吸水理論（高分子電解質）により、吸水力はイオンの浸透圧とポリマーの水との親和力に比例し、ポリマーの架橋密度に反比例すると言われている。

昨年度は、得られたポリスクシンイミドをベースに架橋反応を実施し、高吸水性樹脂としての評価を行った。その結果、フローリーの吸水理論にある通り、架橋量によって吸水性能を制御できること、更に粒子表面の表面処理により吸水性能と通液性を両立できる可能性がある事が見いだせた。

吸水力Q

$$Q^{5/3} = \left\{ \left[ 1/2 \times i/Vu \times 1/S^{1/2} \right]^2 + (1/2 - X_1)/V_1 \right\} / (v/V_0)$$

$i/Vu$  : ポリマーに固定された電荷密度

$S$  : 外部溶液中のイオン濃度

$(1/2 - X_1)/V_1$  : ポリマーと水の親和力

$v/V_0$  : ポリマーの架橋密度



$$\text{吸水力} = \frac{\text{イオンの浸透圧} + \text{ポリマーと水の親和力}}{\text{架橋密度}}$$

図5-2 フローリーの吸水理論

そこで本年度は、5－2章の方法で得られたポリスクシンイミドをベースに保水性と通液性とを高度に両立すべく、新たな架橋系導入検討を行い改良可能性の評価をした。

## 5－6 吸水性能評価方法

紙おむつ用途の場合、高吸水性樹脂の吸水量や保水量は重要な評価指標となる。そこで、合成した架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムは、下記の方法で紙おむつ用途の高吸水性樹脂として物性評価した。吸水量や保水量は水を吸収する能力を示す指標であるが、通液性は紙おむつの構成部材となることを想定した吸水時のゲルの強度を示す評価項目である。

また、これまでの高吸水性樹脂としての評価は、純水にて実施していたが、展開先として紙おむつを想定しているため、今後は純水ではなく、尿を想定しすべて生理食塩水（0.9 w t %NaCl）で実施することとした。

表 5－4 本年度の評価に用いた評価項目

| 評価項目 | 条件                                            | 参考           | 市販紙おむつ<br>(アクリル酸系SAP) |              |
|------|-----------------------------------------------|--------------|-----------------------|--------------|
| 吸水性  | ティーバッグ法<br>浸漬：25℃×1時間<br>水切り：15分              | JIS K7223    | 生理食塩水                 | 47～60 g/g    |
| 保水性  | 遠心脱水法<br>脱水：150G×2分                           |              |                       | 33～43 g/g    |
| 通液性  | 浸漬：25℃×30分<br>荷重：20g/cm <sup>2</sup> (0.3psi) | 特開2012-41439 |                       | 10～40 ml/min |

尚、表中の市販紙おむつの数値は、市販の紙おむつから高吸水性樹脂を採取し、本報告書記載の評価方法で独自に測定した値である。そのため、サンプル採取の際に、他の部材の混入やSAP粒子が破損している可能性もあるため、あくまで参考値である。一方で、この数値を比較目標値として、架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムの評価を実施した。

### A. 吸水量評価

吸水量の評価は、JIS K7223 を参考にティーバック法により行った。架橋反応で得られた吸水性樹脂を所定量計量した後に不織布製のティーバックに入れ、ティーバックの口を絞り、25℃に保たれた大量のイオン交換水中にティーバックごと浸漬し、吸水性樹脂を吸水及び膨潤させた。浸漬後1時間で、ティーバックを引き上げ、そのまま吊り下げて水切りを行った。水切り時間は15分とした。その後、吸水した状態で全体の重量を測定した。

また、同様の操作をティーバックのみで行い、それをブランクとした。その後、以下の計算により吸水量を算出した。

＜吸水量の計算＞

吸水量[g-water/g]=

$$\{( \text{吸水後重量} ) - ( \text{吸水後ブランク重量} ) - ( \text{サンプル重量} ) \} / ( \text{サンプル重量} )$$

## B. 保水量評価

保水量の評価は、吸水量の評価と類似した手順で行った。吸水量の評価のティーバックを引き上げ、そのまま吊り下げて15分間水切りを行うまでは同じ手順で実施した。その後、遠心脱水機で25℃、150G×2minの条件で脱水し、脱水後のティーバックの重量を測定した。

同様の操作をティーバックのみで行い、それをブランクとした。その後、以下の計算により保水量を算出した。

＜吸水量の計算＞

保水量[g-water/g]=

$$\{( \text{脱水後重量} ) - ( \text{脱水後ブランク重量} ) - ( \text{サンプル重量} ) \} / ( \text{サンプル重量} )$$

## C. 通液性評価

(ゲル) 通液性の評価は特許公報(参考:特開2012-41439等)を参考に、吸水性樹脂が生理食塩水で膨潤した際の、吸水性樹脂の粒子間の水の通り易さ(通液性)を評価した。

試料を25℃の生理食塩水に30分間浸漬して、吸水性樹脂の膨潤ゲルを調整する。その後、目開き100μmのガラスフィルターが底部に取り付けられたテフロンコック付のクロマトカラム(右写真)に、膨潤ゲルとともに生理食塩水を入れる。クロマトカラムの上から円形金網のついた専用の荷重軸をカラムに挿入し、吸水性樹脂の膨潤ゲルに荷重を加える。その後、荷重軸をセットした状態で、1分間静置する。静置が完了したら、すぐに



写真 1

コックを開き、あらかじめクロマトカラムに印を付けておいた範囲で、生理食塩水20mLが排出される時間を測定する(T1)。

同様の操作を吸水性樹脂が入っていない生理食塩水のみでも測定し、それをブランクとした(T2)。その後、以下の計算により通液性を算出した。

＜通液性の計算＞

$$\text{通液性}[\text{mL}/\text{min}] = 20 \text{ mL} \times 60 / (T1 - T2)$$

## 5-7 バイオポリアスパラギン酸用いた高吸水性樹脂性能評価

昨年度までは重合によりバイオアスパラギン酸由来のポリスクシンイミドが石油由来のポリスクシンイミドと同等の分子量が得られる事が分かっている。そこで本年度はバイオ由来のアスパラギン酸を用いたことによる吸水性能等性能へ及ぼす影響を把握するため、同架橋条件で作製した石油系アスパラギン酸由来の吸水樹脂と比較した。

5-2の方法で得られたバイオアスパラギン酸由来のポリスクシンイミドを用いて架橋反応を実施した。架橋反応の手順は一昨年度報告と類似した手順により実施した。得られた架橋ポリマーはフリーズドライによる乾燥及び乾燥粒子の粉碎及び分級を実施して、架橋ポリアスパラギン酸ナトリウム吸水樹脂とした。本評価結果を表5-5に示す。

表5-5 バイオ由来SAPと石油由来SAPとの違いによる性能比較

|             | 石油由来 | バイオ由来 | 参考    |
|-------------|------|-------|-------|
| 架橋量         | 多い   | 多い    |       |
| 吸水性評価結果     |      |       |       |
| 吸水量(g/g)    | 47   | 46    | 47～60 |
| 保水量(g/g)    | 20   | 21    | 33～43 |
| 通液性(mL/min) | 53   | 119   | 10～40 |

表5-5の結果より同じ架橋量で架橋したバイオ由来の架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムの高吸水性ポリマーは、同架橋条件で作製した石油由来のそれと同等であることが判明した。すなわち、前章で検討された精製工程で得られたアスパラギン酸を用いることで、石油由来の架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムと同等の吸水性能が得られることが判った。そのため、以降の検討は石油由来のモノマーを使用する事で評価を行った。



## 5－8 新架橋方法による保水性、通液性の評価

5－2の方法で得られたポリスクシンイミドを用い、新架橋方法を検討した。昨年まで検討進めてきた架橋反応検討の中で、架橋反応と解架橋反応（加水分解反応）とが同時に進行してしまうことが判った。この解架橋反応が進行してしまうと、保水性と通液性とバランス取りが難しくなる。すなわち、今後の製造プロセス最適化を難しくする。この解架橋反応は化学結合に依存することから、従来の架橋構造（構造1）から新しい架橋構造（構造2）に変えることで解架橋反応抑制を図ることにした。

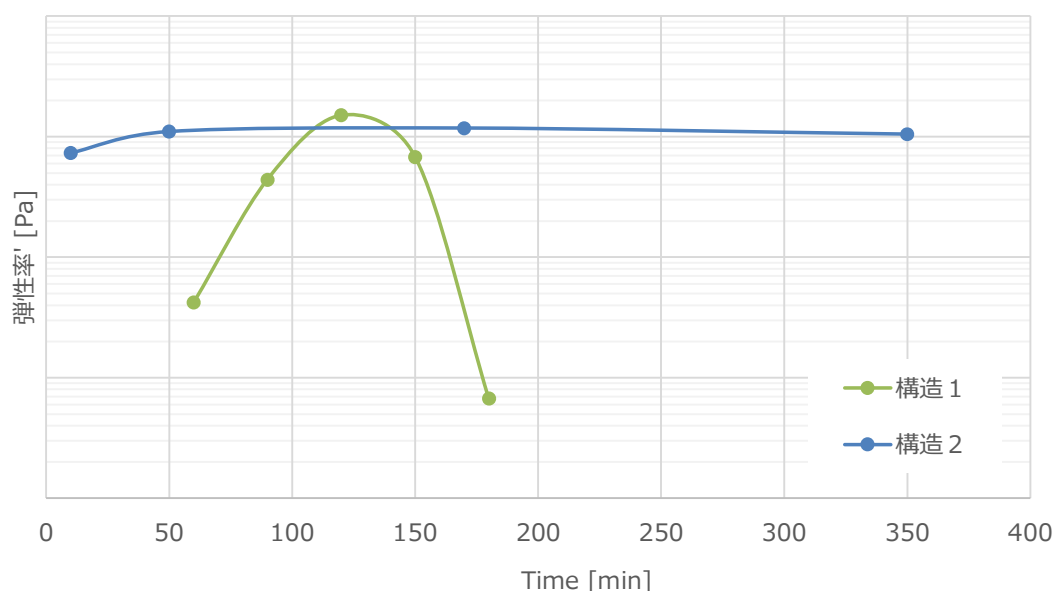


図5－3 架橋反応時における架橋構造1と構造2の安定性比較

図5－3には、架橋反応時におけるゲルの弾性率の経時変化を示す。架橋密度と弾性率との間には良相関があり、弾性率の変化により架橋密度の変化をとらえることが可能である。図5－3の結果から明らかなように架橋構造を変えることで反応時の架橋部の安定化が図られたことが判る。この知見を基に保水性、通液性のバランス改良を進めた結果を図5－4に示す。

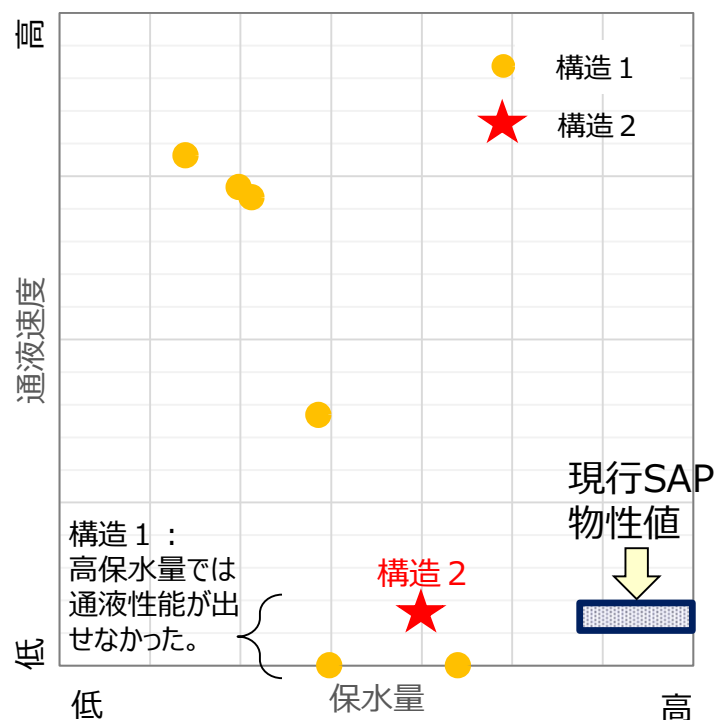


図 5 - 4 S A P 保水量と通液速度の関係

顧客へのヒヤリングからは保水性能と通液性が最も重要な試験項目であることが判っている。またより低い値を精度よく測定できるように通液試験条件を変えている。図 5 - 4 から明らかなように、架橋を構造 2 に変更することにより、通液性が全く出せなかった中保水域でもとの通液性のバランスが図られ、目標に近づけられることが判った。より安定な架橋方法を採用することにより、保水性と通液性のバランスがより取りやすくなったと推察している。

本年度の検討により S A P としての吸水性能はポリアクリル酸に近づいている。しかし、今後は製品化を進める上で吸水性能以外の保存安定性も含めた総合的な S A P の評価を行っていく必要がある。本検討で得られた S A P は数ヶ月～1 年程度では大幅な吸水性能の低下は見られないものの、他の安定性評価が必要になる可能性もあり、今後顧客へのサンプルワークを通じて、試験方法も含めた評価を行っていききたい。

## 5-9 ポリアスパラギン酸市場調査

ポリアスパラギン酸の用途として、文献やメーカーヒアリングをもとに吸水材用途も含めたニーズ探索を行った。これまでの市場調査の結果、ポリアスパラギン酸はポリアクリル酸代替用途としてのニーズがあることが明らかとなっている。そこで、ポリアクリル酸の市場調査をベースに、ポリアスパラギン酸の展開先を探った。

市場規模が大きいものの一つとしては、本事業で検討している紙おむつ・衛生材料用途の吸水性ポリマーである。その他では水処理用のキレート剤や洗浄助剤としての洗剤ビルダーの用途でのニーズがあると考えられる。各用途ともにバイオニーズが高く、本事業で検討を進めているバイオ由来ポリアスパラギン酸の適合性は高いと推察される。一方で、本素材の特徴でもある生分解性へのニーズは各用途で様々であり、それぞれ求められる生分解性（水中、コンポストなど）も多様である。そのため、用途展開を図る上では展開先に応じた要求性能をより明確化していく調査が必要である。

以上の結果を考慮しつつ、本事業で開発を進めてきたポリアスパラギン酸は、今後事業性を検討した上で、他用途への展開も進めていきたいと考えている。

## 5-10 まとめ

紙おむつ用途に向けた高吸水性材料としての架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムの性能向上のため、前駆体であるポリスクシンイミドの工業化可能な固相重合法の検討を行った。また、紙おむつ用途を想定した評価指標を組み込んだ吸水性樹脂の評価を行いつつ、架橋方法の検討によりSAPとしての吸水性能（保水量、通液性）の向上を図った。

まず、ポリスクシンイミド重合において工業化を想定した検討を行った。昨年度までにポリスクシンイミドの重合法として、溶液重合法と固相重合法の2つの方法を検討してきたが、溶剤を使用せずプロセス上脱溶剤が不要な点を考慮して、固相重合で検討を進めることにした。その結果、混練機を用いる事で、従来の静置重合と同等分子量のポリアスパラギン酸が得られる事が分かった。更にこの方法を用いる事で、数Lサイズへのスケールアップが容易に実施可能である事も確認できた。

次に重合したポリスクシンイミドを用いて架橋ポリアスパラギン酸ナトリウムのSAPとしての吸水性能向上を目指した。具体的には架橋部の構造を変えることで、従来に比べて架橋構造の安定化を図り、保水量及び通液性のバランスを向上させる試みを行った。結果、通液性が全く出せなかった中保水域でも、通液性のバランスが図られ、目標値（ポリアクリル酸SAP）に近づけられることが明確化した。一方で、吸水性能では目標のポリアクリル酸SAPに到達する事は出来ていない事が現状である。そこで、本年度の架橋法により架橋構造の安定性が向上したことから、昨年度まで検討していたSAPの表面処理法を再検討し、SAP性能の向上を目指す予定である。

本年度の検討により、アスパラギン酸モノマーからポリアスパラギン酸SAPを合成するラボ処方は確立できたと考えている。重合法もスケールアップ性を確認できており、吸水性能の向上が今後の課題である。しかし、昨年度まで検討していた表面処理方法と適用する事で、本年度より更に保水及び通液性のバランスが取れたSAPが得られるものと考えている。

今後、本事業でのSAPの量産化に向け、サンプルワークを加速し、顧客との情報交換を進めていきながら、吸水性能に限らずSAPとしての品質向上を図り、上市に向けて検討を進めていく所存である。

## 6. LCA の検証・評価

## 6-1 評価の目的

- ・ 開発予定であるバイオマス由来のポリアスパラギン酸 Na 系高吸水性樹脂（Super Absorbent Polymer：SAP）の環境負荷と、従来の石油由来のポリアクリル酸系 SAP との環境負荷の比較を行い、代替による CO2 削減効果を検証する。
- ・ 早期に製品システムの環境負荷の排出ポイントの全体像や問題点を把握し、環境効率の改善に役立てる。

## 6-2 調査範囲

### 6-2-1 調査対象の製品システム

本評価で対象とする製品システムを下記に示す。

表 6-1 製品システム

| 項目   | 評価対象製品       | 比較対象製品     |
|------|--------------|------------|
| 製品名  | バイオ SAP      | 石化 SAP     |
| 仕様   | 紙おむつ用途       |            |
| 構成要素 | ポリアスパラギン酸 Na | ポリアクリル酸 Na |
| 生分解性 | あり           | なし         |

評価対象製品は、バイオマス由来のポリアスパラギン酸 Na 系 SAP（以下「バイオ SAP」）とし、比較対象製品（ベースライン）は、石油由来のポリアクリル酸系 Na 系 SAP（以下「石化 SAP」）とする。ただし、どちらの SAP も用途は紙おむつに限定する。また、調査範囲は、原材料の調達、土地利用、資本財の製造、製品の製造、輸送および廃棄物処理とする。なお、現段階においては、紙おむつの製造から使用段階に関しては、評価対象製品と比較対象製品で同等の機能を発現すると仮定し、同一の工程となることが想定されるため、調査対象外とする。

### 6-2-2 製品システムが持つ機能

紙おむつ利用時に発現する吸水機能。

#### 6-2-3 機能単位及び基準フロー

機能単位は、石化 SAP 1kg が発現する吸水機能とした。バイオ SAP と石化 SAP ではその品質が同等と考えられる（そのような品質を目指し事業において開発を実施）ことから、石化 SAP も、バイオ SAP も基準フローは SAP 1kg である。

なお、紙おむつ用途の SAP については、日本工業規格（Japan Industrial Standard：JIS）S 0251「尿吸収製品用ポリアクリル酸系吸水性樹脂」においてその品質などが規定されている。JIS S0251 の内容の抜粋を付属書に示した。

#### 6-2-4 システム境界

##### 1. ライフサイクルフロー図

前出「製品システム」を満たすシステム境界を決定した。バイオ SAP（図中：評価対象製品）と石化 SAP（図中：ベースライン）のライフサイクルフロー図を以下に示す。それぞれのライフサイクルの詳細については、次項以降で説明する。

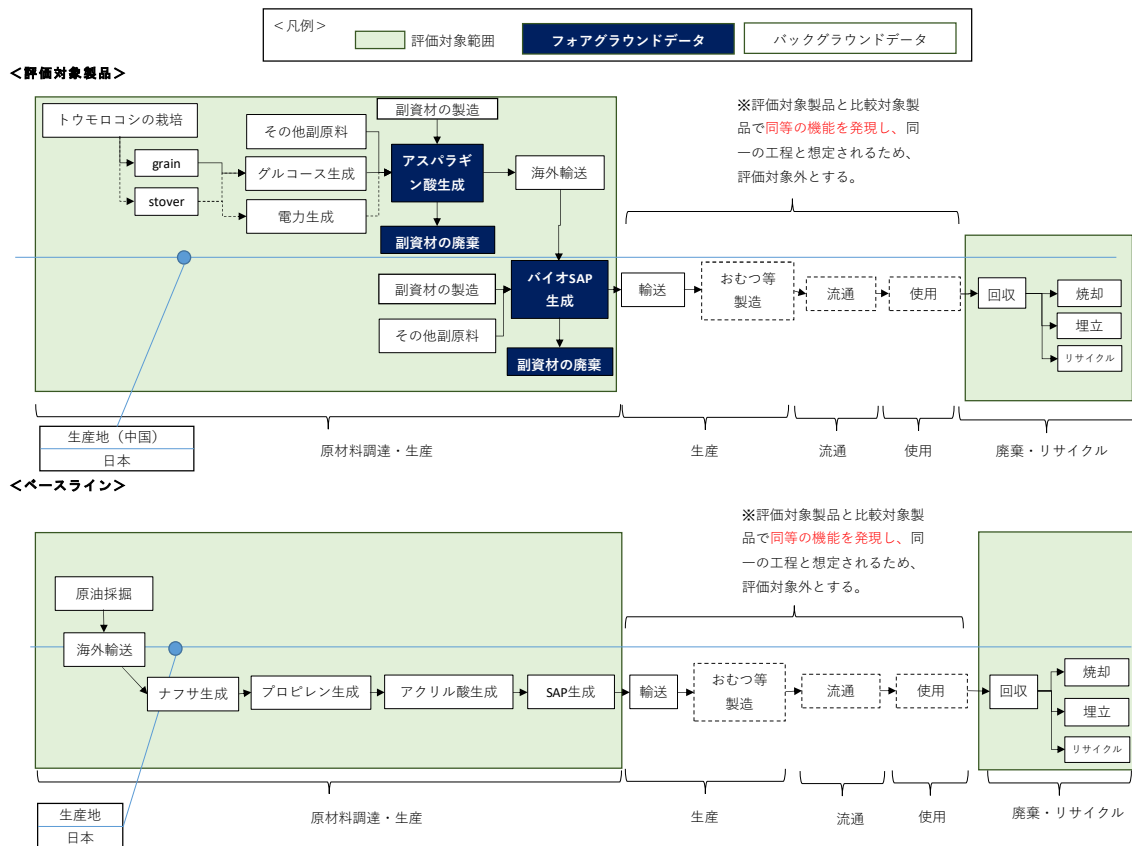


図 6-1 バイオ SAP と石化 SAP のライフサイクルフロー図

## 2. 石化 SAP の生産

ベースラインとなる石化 SAP は、アクリル酸をポリマー化したポリアクリル酸 Na で構成されている。アクリル酸は、化石燃料を原材料としており、ナフサ、プロピレンといった物質を経て生産される。石化 SAP は、日本国内でも多く生産されており、紙おむつ用途に限らないが、日本国内生産かつ日本国内需要分で年間 20 万トンほどの量となっている [吸水性樹脂工業会, 2019]。



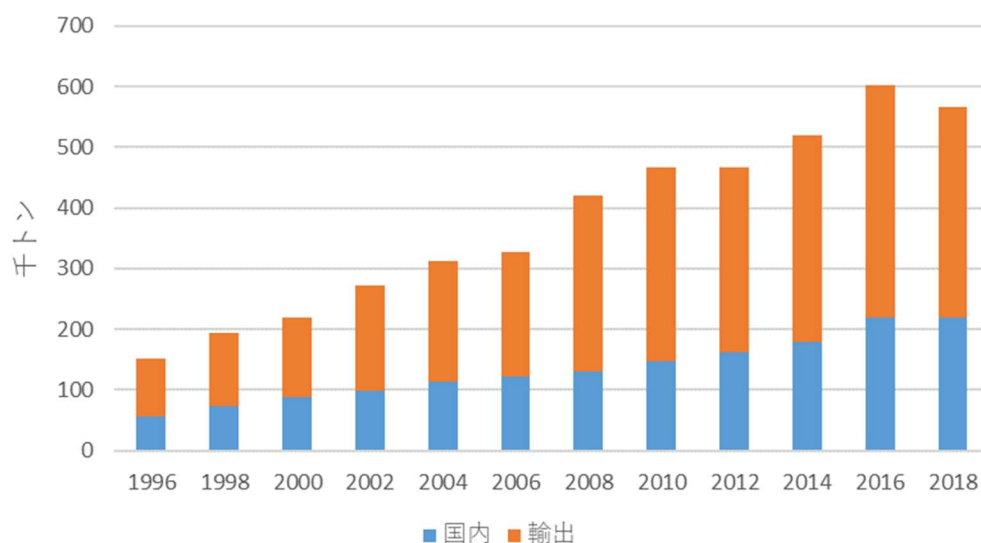


図 6-2 SAP の国内生産量の推移とその供給先 [吸水性樹脂工業会, 2019]をもとに作成

SAP の生産プロセスについては、国内メーカー大手である日本触媒（アクリル酸生産能力で世界第 3 位、SAP 生産能力で世界第 1 位 [日本触媒, 2015] ）の生産工程を確認した。

その結果、アクリル酸、SAP とともに国内で生産されており、その原料であるナフサもしくは原油は海外から輸入していることが確認できた [日本触媒, 2015] [日本触媒, 2012] 。そこで、本評価でのライフサイクルフロー図の構築に当たっては、海外から輸入した原油を用いて、国内でナフサ、プロピレン、アクリル酸、SAP を生産しているものとした。

### 3. バイオ SAP の生産

バイオ SAP は、石化 SAP と異なりポリアスパラギン酸 Na で構成される。ポリアスパラギン酸 Na は、アスパラギン酸を主原料としたポリマーである。また、アスパラギン酸は、グルコース等の糖類を原料に生産される。本評価では、上記のポリアスパラギン酸生産とアスパラギン酸生産、ならびにそれらの生産に伴う資本財と廃棄物処理についてフォアグラウンドデータを用いた。LCA の観点におけるバイオ SAP と石化 SAP の大きな違いは、バイオ SAP の主原料が化石資源ではなく、バイオマス由来の資源なことである。

#### 4. SAP の利用・廃棄

続いて、SAP の主な用途である紙おむつの生産、利用、廃棄状況について調査した。

紙おむつは、主にパルプ、プラスチック、SAP で構成される。統計によると、2018 年における紙おむつの生産量は、乳幼児用が 48 万トン、大人用が 39 万トンである〔経済産業省，2019〕。乳幼児用は主に一般家庭で利用され、大人用は主に介護施設で利用される。下表のように、使用に伴い紙おむつの重量はおおよそ 4 倍になると推察されている。

表 6-2 使用前後の紙おむつの組成〔国土交通省，2018〕をもとに作成

| 項目    | 大人用おむつ |       | 乳児用おむつ |       |
|-------|--------|-------|--------|-------|
|       | 使用前    | 使用后   | 使用前    | 使用后   |
| パルプ   | 35g    |       | 25g    |       |
| プラ    | 10g    |       | 7g     |       |
| ポリマー  | 5g     |       | 3g     |       |
| 紙おむつ計 | 50g    | 50g   | 35g    | 35g   |
| し尿    |        | 160g  |        | 95g   |
| 合計    | 50g    | 210g  | 35g    | 95g   |
| (重量比) |        | 4.2 倍 |        | 3.7 倍 |

利用された紙おむつは、前者のほとんどは家庭系一般廃棄物として、後者のほとんどは事業系一般廃棄物として収集・焼却処理される場合が多い〔国土交通省，2018〕。たとえば、北海道の調査では、道内の「紙おむつ」および「生ごみ」の処理方法について、市町村区単位で 80%が焼却、17%が埋立、3%がその他という回答だった〔循環資源活用部会，2016〕。

使用済み紙おむつの分別回収・リサイクルは、いまだ自治体レベルの規模でありほとんど行われていない〔国土交通省，2018〕。しかし、伊坪らの研究事例のように、SAP を含めたおむつのリサイクルプロセスに関する研究も進められており、将来時点での評価であれば検証する価値があるプロセスになりつつある〔伊坪 徳宏，2019〕。

#### 5. SAP の土壌保湿剤用途

ライフサイクルフロー図の通り、本評価ではおむつ用途に限った SAP について評価を行うが、SAP のもう一つの用途である「土壌保湿剤」についても調査を行った。

比較対象製品である石化 SAP の用途として、衛生材料の次に販売量が多いのが土壌保湿剤であるが、衛生材料と比較すると 1/20 以下と小さい。

**表 6-3 高吸水性樹脂の国内販売量（2016 年見込み）** [JFE テクノリサーチ株式会社, 2017]をもとに作成

| 用途    | 販売量（トン）  | 割合   |
|-------|----------|------|
| 衛生材料  | 172, 260 | 96%  |
| 土壌保水材 | 7, 740   | 4%   |
| 合計    | 180, 000 | 100% |

文献によれば、現状 SAP による保水材は、数年間は機能を維持すると考えられている。機能の発現後、アクリル酸系 SAP はそれ自体が生分解することはないが、低分子量までポリマーの崩壊が進むと、微生物により生分解されることが報告されている [農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター, 2010]。また、水分がある場合にはゲル状になっていることもあり、いわゆる「マイクロプラスチック問題」を引き起こすかどうかの影響に関しては必ずしもわかってはいないとされる。[JFE テクノリサーチ株式会社, 2017]

すなわち、仮にバイオ SAP で石化 SAP の土壌保湿剤を代替することを考えたとき、生分解性を有することは必ずしも有利にならない。生分解性を有した SAP と生分解性を有さない SAP において LCA を実施するためには、機能単位やシステム境界の設定が重要になることが想定される。

ただし、SAP の用途として衛生材料と比較すると土壌保水材としての用途の販売量が少ないことは確実である。そのため、土壌保水材用途に関しては簡易的な調査のみにとどめ、本評価では、バイオ SAP と石化 SAP の機能が同等と考えられるおむつ用途に限定した評価を行うこととした。

### 6-3 影響領域と影響評価手法

- ・ 本調査の影響領域は、気候変動とした。
- ・ 本調査では、影響評価手法として IPCC 2013 Global Warming Potential 100 years（単位：kg CO<sub>2</sub> eq）を使用した。
- ・ インベントリデータの整理・計算、環境影響の算定にあたっては、LCA 支援ソフト「SimaPro 9.0.0.29 英語版」を使用した。「SimaPro 9.0.0.29 英語版」には、本調査で使用した「IPCC 2013 Global Warming Potential 100 years」が標準で実装されている。二次データとして使用した LCI データベース「IDEA V2.2」もオプションデータベースとして搭載できることから、本 LCA の実施にあたっては、適切なソフトウェアであると判断した。

### 6-4 必要とされるデータ

#### 6-4-1 評価対象製品（バイオ SAP）

本 LCA では、対象製品の使用段階を除いたライフサイクルの環境影響を評価するため、原材料の調達から製品の生産プロセス、そして製品廃棄のプロセスに係るデータを収集する。製品の生産プロセスについては、原則一次データを収集する。サプライチェーン上の外部事業者による原料の製造については、二次データを収集する。バイオ SAP はアスパラギン酸の製造までが中国で行われることが想定されている。そのため、その範囲における原材料や生産に必要な二次データはできるだけ中国のものが望ましい。

#### 6-4-2 比較対象製品（石化 SAP）

バイオ SAP と同様に原材料の調達から製品の生産プロセス、そして製品廃棄のプロセスに係るデータを収集する。ただし、一次データは収集しない。石化 SAP は、バイオ SAP と比較してライフサイクルの上流から日本で生産が行われる。日本で生産されるプロセスについては、日本の二次データを用いることが望ましい。

## 6-5 前提条件

### 6-5-1 評価対象製品（バイオ SAP）

- ・ アスパラギン酸製造プロセス、ポリアスパラギン酸 Na の生産プロセスのフォアグラウンドデータは、現時点では実験等から推計されたデータセットである。
- ・ アスパラギン酸製造の原料となるグルコースの原料作物は、中国産トウモロコシをベースシナリオとして設定した。
- ・ 輸送距離については、海上輸送のみ一次データを利用した。国内輸送に関しては、地点が決まっていないこと、石化 SAP と条件をそろえられることから評価対象外とした。
- ・ トウモロコシの生産に伴う土地利用変化に関しては、中国の土地利用変化の二次データを利用した。

### 6-5-2 比較対象製品（石化 SAP）

- ・ 石化 SAP のバックグラウンドデータは IDEA になかったため、石化 SAP 生産のユニットプロセスを別途文献から収集したデータで作成した。

### 6-5-3 共通

- ・ 紙おむつの生産段階、使用段階、廃棄段階までは、評価対象製品と比較対象製品は同一の工程をとり同一の機能を発現するとした。
- ・ 廃棄処理方法に関しては、100%焼却処理をベースシナリオとして、埋立処理とリサイクル処理を行う場合もシナリオ分析した。

## 6-6 ライフサイクルインベントリ分析 (LCI)

### 6-6-1 データ区分とデータ取得方法

## 1. 一次データ

アスパラギン酸、バイオ SAP の生産データは、事業実施元より提供された製造データを用いた。一次データの取得範囲を以下に示す。

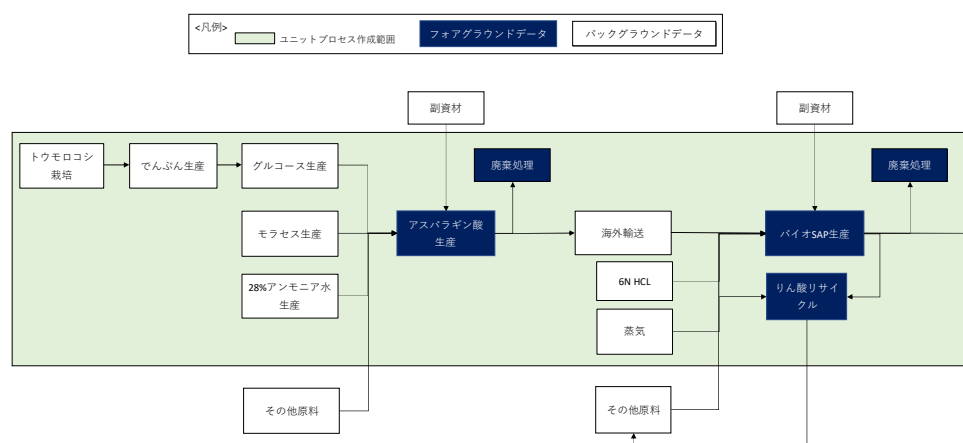


図 6-3 バイオ SAP 生産のライフサイクルフロー図

## 2. 二次データ

本 LCA では、サプライチェーン上の部品調達先や、製品販売先等の取引先からの一次データ収集は行わなかったため、それらのプロセスについては二次データを用いた。二次データは、原則として SimaPro 9.0.0.29 に実装される IDEA V2.2 に含まれるユニットプロセスデータを使用した。ただし、IDEA のユニットプロセスに適切なものがない場合は、別途ユニットプロセスを作成し、IDEA の二次データを上流連鎖させた。

なお、二次データのマッピング表は、付属書に示した。

### 6-6-2 シナリオ項目

## 1. 評価対象製品の削減施策

評価対象製品について、今後導入可能性のある削減施策について、以下の表に示す項目のインベントリを調査した。

表 6-4 削減施策項目の分類と内容

| 対象製品    | ライフサイクル段階 | プロセス    | 削減施策項目             |
|---------|-----------|---------|--------------------|
| バイオ SAP | 原料調達      | グルコース生産 | コーンストーバー由来グルコースの利用 |

## 2. 廃棄・リサイクル段階

紙おむつの現在の廃棄状況から、廃棄・リサイクル段階における基本シナリオは焼却処理であるが、今後の紙おむつ処理の変更可能性を考えて以下の表に示す項目のインベントリ表を調査した。

表 6-5 廃棄・リサイクル段階シナリオ項目の分類と内容

| 対象製品    | ライフサイクル段階 | プロセス       | シナリオ項目      |
|---------|-----------|------------|-------------|
| バイオ SAP | 廃棄・リサイクル  | 廃棄・リサイクル処理 | 埋立処理（生分解あり） |
|         |           |            | 埋立処理（生分解なし） |
|         |           |            | リサイクル処理     |
| 石化 SAP  | 廃棄・リサイクル  | 廃棄・リサイクル処理 | 埋立処理（生分解なし） |
|         |           |            | リサイクル処理     |

### 6-6-3. 評価対象製品（バイオ SAP）生産

評価対象製品の生産のインベントリを調査した。表中の「データ」列の値は、各プロセスのデータ区分を示している。

表 6-6 データ列の意味

| 「データ」列 | 意味                                                    |
|--------|-------------------------------------------------------|
| 一次データ  | 事業実施元より提供された製造データである                                  |
| 二次データ  | SimaPro 9.0.0.29 に実装される IDEA V2.2 に含まれるユニットプロセスデータである |
| ※      | IDEA V2.2 に対応するユニットプロセスがないなどの理由から、別途作成したユニットプロセスである   |

## 1. バイオ SAP 生産

バイオ SAP 生産は固相重合法で行う。そのユニットプロセスのインベントリは以下の通りである。

表 6-7 バイオ SAP 生産インベントリ表

| 入出力 | 分類    | 項目                  | 値     | 単位  | データ   |
|-----|-------|---------------------|-------|-----|-------|
| 出力  | 製品    | バイオ SAP             | 1     | kg  |       |
| 入力  | 主原料   | アスパラギン酸             | 0.92  | kg  | 一次データ |
|     |       | 85%リン酸              | 非公開   | kg  | 二次データ |
|     |       | NaOH                | 非公開   | kg  | 二次データ |
|     |       | 架橋剤                 | 非公開   | kg  | 二次データ |
|     |       | 水                   | 7.48  | kg  | 二次データ |
|     |       | 6N HCL(濃度 20%)      | 非公開   | kg  | ※     |
|     | エネルギー | 電力                  | 1.11  | kWh | 二次データ |
|     |       | 蒸気 (バイオ SAP 生成プロセス) | 4.25  | kg  | ※     |
|     |       | 都市ガス                | 0.048 | m3  | 二次データ |
|     | 処理    | りん酸リサイクル            | 非公開   | kg  | 一次データ |
|     |       | 排水処理                | 5.611 | l   | 二次データ |
|     | 資本財   | 化学プラント              | 非公表   | p   | ※     |



また、化学プラントについては、実験段階につき一次データが入手できなかったため、ecoinvent の「Chemical factory, organics {GL0} | market for | APOS, U」がポリマー生産に投入される量を参考にした。具体的な数値は、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

## 2. アスパラギン酸生産

アスパラギン酸生産のユニットプロセスのインベントリは、以下の通りである。なお、アスパラギン酸生産においてアスパラギン酸以外の出力物の処理プロセスも、すでにこのプロセスの中に存在する。なお、中国と日本間の海上輸送は、本プロセスに含めた。

表 6-8 アスパラギン酸生産インベントリ表

| 入出力 | 分類     | 項目              | 値      | 単位  | データ   |
|-----|--------|-----------------|--------|-----|-------|
| 出力  | 製品     | アスパラギン酸         | 1      | kg  |       |
|     | 大気への排出 | 活性炭燃焼時の直接排出 CO2 | 0.0733 | kg  | 二次データ |
| 入力  | 主原料    | グルコース           | 0.96   | kg  | ※     |
|     | 副原料    | モラセス            | 1.68   | kg  | ※     |
|     |        | 28%アンモニア水       | 0.8    | L   | ※     |
|     |        | 活性炭             | 0.02   | kg  | 二次データ |
|     |        | 36N 濃硫酸         | 0.34   | kg  | 二次データ |
|     |        | 洗浄用水道水          | 40     | L   | 二次データ |
|     |        | 純水              | 25     | L   | 二次データ |
|     | エネルギー  | 電力              | 0.352  | kWh | 二次データ |

|  |     |              |         |     |       |
|--|-----|--------------|---------|-----|-------|
|  |     | 蒸気           | 0.00239 | kg  | 二次データ |
|  | 処理  | 下水処理         | 65      | L   | 二次データ |
|  |     | 廃液処理（アンモニア水） | 0.1     | kg  | 二次データ |
|  |     | 廃液処理（モラセス）   | 0.01    | kg  | 二次データ |
|  |     | 産廃処理（コネリ菌）   | 0.89    | kg  | 二次データ |
|  |     | 産廃処理（活性炭）    | 0.02    | kg  | 二次データ |
|  | 資本財 | 化学プラント       | 非公表     | p   | ※     |
|  | 輸送  | 中国日本間海上輸送    | 1.928   | tkm |       |

中国日本間の海上輸送は、日本と中国の一般的な海運距離 [国土交通省 国土交通政策研究所, 日付不明] を用いた。

### 3. 6N HCL 生産

濃度 6N の HCL は、濃度 12N の HCL を同体積の水で希釈したものとした。塩酸の密度としては、1.18 g/cm<sup>3</sup> を用いた。

表 6-9 6N HCL 生産インベントリ表

| 入出力 | 分類  | 項目      | 値   | 単位 | データ   |
|-----|-----|---------|-----|----|-------|
| 出力  | 製品  | 6N HCL  | 非公開 | kg |       |
| 入力  | 主原料 | HCL 35% | 非公開 | kg | 二次データ |
|     |     | 水       | 非公開 | kg | 二次データ |

### 4. りん酸リサイクル

りん酸リサイクルで利用される蒸気も、バイオ SAP 生産プロセスで投入される蒸気と同様のデータを紐づけた。

表 6-10 りん酸リサイクルインベントリ表

| 入出力 | 分類    | 項目                 | 値     | えん単位 | データ   |
|-----|-------|--------------------|-------|------|-------|
| 出力  | 処理    | 廃りん酸リサイクル          | 非公開   | kg   |       |
|     | 回避製品  | 85%りん酸             | 非公開   | kg   | 二次データ |
| 入力  | 処理    | 排水処理               | 非公開   | kg   | 二次データ |
|     | エネルギー | 蒸気（バイオ SAP 生成プロセス） | 10.25 | kg   | ※     |
|     | エネルギー | 電力                 | 0.015 | kg   | 二次データ |

#### 5. 蒸気（バイオ SAP 生産プロセス）

バイオ SAP 生産プロセスにおいて投入する蒸気は、現状都市ガスによるものと想定されている。しかし、IDEA の蒸気プロセス（steam, manufacturing industry {JP} | 351211100）は重油由来であるため、アダプテーションを実施した。

作成にあたっては、IDEA のユニットプロセスを参考に、そのユニットプロセスのうち以下の項目を変更することとした。具体的なインベントリは、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

| 入出力 | （変更前）IDEA 項目名                                            | 変更の内容                                   | データ   |
|-----|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------|
| 出力  | steam, manufacturing industry {JP}   351211100           | steam, from town gas, SAP solid process |       |
| 入力  | energy, heavy fuel oil C combustion {JP}   181118801   U | 都市ガスへ繋ぎ変え                               | 二次データ |

## 6. グルコース生産

IDEA には、日本におけるグルコース生産のユニットプロセス（glucose {JP} | 095311000 | U）は存在するが、中国におけるグルコース生産のユニットプロセスは存在しない。そこで、中国におけるグルコース生産のユニットプロセス（glucose, IDEA process, CN-ele）を新しく作成した。

作成にあたっては、IDEA のユニットプロセスを参考に、そのユニットプロセスのうち以下の項目を変更することとした。具体的なインベントリは、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

表 6-1 1 グルコースインベントリ変更箇所

| 入出力 | (変更前) IDEA 項目名                                | 変更の内容                         | データ   |
|-----|-----------------------------------------------|-------------------------------|-------|
| 出力  | glucose {JP}   095311000   U                  | glucose, IDEA process, CN-ele |       |
| 入力  | electricity, Japan, 2015 {JP}   331111015   U | 中国の電力へ繋ぎ変え                    | 二次データ |
|     | starch {JP}   099111000   U                   | 中国のでんぷんへ繋ぎ変え                  | ※     |

なお、それぞれの項目の投入量は変更しない。

## 7. グルコース生産（コーンストーバー由来）

シナリオ分析のために、コーンストーバー由来のグルコースのインベントリを文献より入手した。コーンストーバー由来の場合、グルコースのほかに電力も生産される。発電電力により回避される GHG 排出量は、電力の二次データから計算され、その値はグルコースの GHG 排出量から控除される。

表 6-1 2 グルコース生産インベントリ表（コーンストーバー由来） [Felix A. et al., 2019]

| 入出力 | 分類 | 項目    | 値 | 単位 | データ |
|-----|----|-------|---|----|-----|
| 出力  | 製品 | グルコース | 1 | kg |     |

|    |       |                  |      |    |       |
|----|-------|------------------|------|----|-------|
|    | エネルギー | Electricity      | 5    | MJ | 二次データ |
| 入力 | 主原料   | Corn stover      | 1.5  | kg | ※     |
|    | 副原料   | H2SO4            | 0.03 | kg | 二次データ |
|    |       | NH3              | 0.02 | kg | 二次データ |
|    |       | Cellular protein | 0.02 | kg | 二次データ |
|    |       | Yeast            | 0.01 | kg | 二次データ |
|    | エネルギー | Natural gas      | 2.1  | MJ | 二次データ |
|    |       | Electricity      | 0.22 | MJ | 二次データ |

corn stover については、IDEA に二次データがなかったため、別途ユニットプロセスを作成した。corn stover は、corn grain との間で配分が必要である。corn stover の GHG 排出量や配分について調査をしたところ、GHG 排出量 0.03～0.09 kg CO<sub>2</sub> eq/kg とする論文 [Seungdo Kim, 2009] や、0.2～1.8kg CO<sub>2</sub> eq/kg とする論文 [Thea Whitman, 2011] を確認できた。また、後者の論文において、corn grain との合計に対する corn stover の配分（質量配分・価値配分）は、0.05（経済配分 15%のコーンストーバー利用）～0.43（重量配分コーンストーバー75%利用）であった。通常、トウモロコシの収穫残渣はすき込みに利用されることから、その割合によって配分率が変化するが、本評価では、価値配分を採用し、コーンストーバー収穫残渣の利用実態を踏まえた帰結的 LCA については現時点では行わないことから、コーンストーバーへの配分率 0.05 を利用することとした。

表 6-13 コーンストーバー生産のインベントリ表

| 入出力 | 分類 | 項目          | 値 | 単位 | データ |
|-----|----|-------------|---|----|-----|
| 出力  | 製品 | Corn stover | 1 | kg |     |

|    |     |                       |     |      |   |
|----|-----|-----------------------|-----|------|---|
|    |     | Corn grain            | 1   | kg   |   |
| 入力 | 主原料 | Maize, CN, SM-WW      | 2   | kg   | ※ |
|    | 輸送  | corn stover transport | 100 | kgkm |   |

コーンストーバーの輸送プロセスは、現状のコーンストーバーの密度 [Yang, 2019] を参考に算出した。本プロジェクトにおける複数の生産予定値の中から、密度の低い地点を「5 トン/km<sup>2</sup>」とすると、年間 20 万トンを生産するために 4 万 km<sup>2</sup> の範囲からコーンストーバーを回収する必要がある。4 万 km<sup>2</sup> について、生産工場を中心とする円だと考えると、そのときの半径は約 100km である。回収に必要な輸送の平均が、円の半径半分の往復だと考えると、約 100km の輸送が必要となる。そこで、1kg のコーンストーバーの輸送には、100kgkm の輸送が必要とした。

表 6-14 コーンストーバーの配分設定

| 項目          | 配分   |
|-------------|------|
| Corn stover | 0.05 |
| Corn grain  | 0.95 |

なお、上表の「Maize, CN, SM-WW」は、この後示される中国のトウモロコシ生産プロセスが入力される。このように配分率を設定した時、corn stover の環境負荷は論文の下限值に近い値となった。

## 8. でんぷん生産

IDEA には、日本におけるでんぷん生産のユニットプロセスは存在するが、中国におけるグルコース生産のユニットプロセスは存在しない。そこで、中国におけるでんぷん生産のユニットプロセス (starch, IDEA, only corn, CN ele) を新しく作成した。

作成にあたっては、IDEA のユニットプロセスを参考に、そのユニットプロセスのうち以下の項目を変更することとした。具体的なインベントリは、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

表 6-15 でんぷんインベントリ変更箇所

| 入出力 | (変更前) IDEA 項目名                                | 変更の内容                              | データ   |
|-----|-----------------------------------------------|------------------------------------|-------|
| 出力  | starch {JP}   099111000   U                   | starch, IDEA, only<br>corn, CN ele |       |
| 入力  | electricity, Japan, 2015 {JP}   331111015   U | 中国の電力へ繋ぎ変え                         | 二次データ |
|     | corn {JP}   011411000   U                     | 中国のトウモロコシへ繋ぎ変え、投入量を調整              | ※     |
|     | wheat flour {JP}   096311000   U              | 投入量を 0 に調整                         |       |
|     | sweet potato {JP}   011511000   U             |                                    |       |
|     | potato {JP}   011512000   U                   |                                    |       |

上記の表では、トウモロコシ以外の作物の投入量を 0 に調整している。IDEA におけるでんぷんは、トウモロコシ、小麦、さつまいも、じゃがいもを原料としていたが、本評価では、トウモロコシを原料と想定していることから、各作物の炭水化物含有量を参考に、トウモロコシのみを原料とするインベントリに変更することとした。

表 6-16 炭水化物含有量 [文部科学省, 2020]

| 作物     | 炭水化物含有量 (g/100g) |
|--------|------------------|
| トウモロコシ | 70.6             |
| 小麦     | 75.8             |
| さつまいも  | 33.1             |
| じゃがいも  | 15.9             |

なお、IDEA における上記 4 作物の投入量は、トウモロコシが最も多く、今回のように、トウモロコシのみを原料作物とする上記変更によって、プロセス上で大きな変化は起きないと考えられる。

## 9. トウモロコシ生産

IDEA には、日本におけるトウモロコシ生産のユニットプロセスは存在するが、中国におけるトウモロコシ生産のユニットプロセスは存在しない。そこで、中国におけるトウモロコシ生産のユニットプロセス (Maize, CN, SM-WW) を新しく作成した。

作成にあたっては、中国のトウモロコシ生産の LCA 評価をしている論文のインベントリを参考にし、それぞれのプロセスに IDEA のユニットプロセスを上流連鎖させた。

表 6-17 トウモロコシ生産インベントリ (1ha あたり) [Ha, 2015]をもとに作成

| 入出力 | 分類        | 項目                              | 値    | 単位    | データ |
|-----|-----------|---------------------------------|------|-------|-----|
| 出力  | 製品        | トウモロコシ                          | 7317 | kg    |     |
| 入力  | 原料・エネルギー等 | Ammonium bicarbonate            | 242  | kg    |     |
|     |           | Urea                            | 116  | kg    |     |
|     |           | NPK Compound                    | 631  | kg    |     |
|     |           | Diammonium phosphate (DAP)      | 28   | kg    |     |
|     |           | Ammonium sulfate                | 23   | kg    |     |
|     |           | Ammonium nitrate                | 6    | kg    |     |
|     |           | Manure                          | 260  | kg    |     |
|     |           | Seed                            | 36   | kg    |     |
|     |           | Labor                           | 481  | hour  |     |
|     |           | Electricity for irrigation      | 1262 | MJ    |     |
|     |           | Electricity for maize threshing | 23   | MJ    |     |
|     |           | Diesel for sowing seeds         | 15   | liter |     |
|     |           | Diesel for harvest              | 3    | liter |     |



|  |  |                           |      |       |  |
|--|--|---------------------------|------|-------|--|
|  |  | Diesel for transportation | 16   | liter |  |
|  |  | Maize residue management  | 56.4 | liter |  |

論文中のインベントリには、土壌、肥料からの直接排出は含まれていなかったが、論文中の結果において、土壌からの GHG 排出量は 921kg CO<sub>2</sub>/ha と表示されていた。

また、最終的な GHG 排出量（中央値）は、トウモロコシ 1kg あたり 0.46kg-CO<sub>2</sub> eq とされていた。

表 6-18 中国トウモロコシ GHG 排出量 [Ha, 2015]

| 項目  | Units                    | Mean   | Min   | Max    |
|-----|--------------------------|--------|-------|--------|
| PCF | kg CO <sub>2</sub> eq/kg | 0.46   | 0.17  | 1.62   |
| GM  | USD/ha                   | 1334.4 | 658.5 | 1867.7 |

そこで、中国におけるトウモロコシ生産の最終的なインベントリは、論文中のインベントリをもとに、以下を満たすインベントリとした。

- ・直接排出（土壌）について、本入力における GHG 排出量が 921 kg-CO<sub>2</sub>/kg となるよう調整
- ・直接排出（肥料）について、最終的なトウモロコシの GHG 排出量が 0.46kg CO<sub>2</sub>/eq となるよう調整

上記を満たす中国で生産されるトウモロコシ（Maize, CN, SM-WW）の最終的なインベントリを以下に示す。

表 6-19 最終的なトウモロコシインベントリ

| 入出力 | 分類   | 項目                       | 値     | 単位 | データ   |
|-----|------|--------------------------|-------|----|-------|
| 出力  | 製品   | Maize, CN, SM-WW         | 7317  | kg |       |
|     | 直接排出 | CO <sub>2</sub> （換算-土地分） | 921   | kg | 二次データ |
|     |      | CO <sub>2</sub> （換算-肥料分） | 731.7 | kg | 二次データ |

|    |           |                                 |      |       |       |
|----|-----------|---------------------------------|------|-------|-------|
| 入力 | 原料・エネルギー等 | Ammonium bicarbonate            | 242  | kg    | 二次データ |
|    |           | Urea                            | 116  | kg    | 二次データ |
|    |           | NPK Compound                    | 631  | kg    | 二次データ |
|    |           | Diammonium phosphate (DAP)      | 28   | kg    | 二次データ |
|    |           | Ammonium sulfate                | 23   | kg    | 二次データ |
|    |           | Ammonium nitrate                | 6    | kg    | 二次データ |
|    |           | Manure                          | 260  | kg    | 二次データ |
|    |           | Seed                            | 36   | kg    | 二次データ |
|    |           | Labor                           | 481  | hour  | 二次データ |
|    |           | Electricity for irrigation      | 1262 | MJ    | 二次データ |
|    |           | Electricity for maize threshing | 23   | MJ    | 二次データ |
|    |           | Diesel for sowing seeds         | 15   | liter | 二次データ |
|    |           | Diesel for harvest              | 3    | liter | 二次データ |
|    |           | Diesel for transportation       | 16   | liter | 二次データ |
|    |           | Maize residue management        | 56.4 | liter | 二次データ |

中国のトウモロコシインベントリを利用した論文には、土地利用変化に伴う GHG 排出量は計算されていなかった。

そこで、トウモロコシの土地利用変化については、Agrifootprint の「Maize, at farm/CN Economic」で確認できる直接排出「Carbon dioxide, land transformation」の値 (kg-CO<sub>2</sub>/kg) を利用することとした。具体的な値は、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

#### 1 1. モラセス生産

モラセスも IDEA にそのユニットプロセスは存在したが、徳島産のモラセスである。そこで、中国におけるモラセス生産のユニットプロセス (molasses, Ecoinvent China) を新しく作成した。

まず、Ecoinvent3 allocation at point of substitution (APOS) の「Molasses, from sugar beet {CH} | ethanol production from sugar beet molasses | APOS, U」のインベントリを IDEA に上流連鎖させることを試みた。

Ecoinvent で投入されるユニットプロセスと IDEA に存在するユニットプロセスの粒度がそろわないなどの理由で、うまくマッピングすることができなかった。実際に、IDEA に上流連鎖させたモラセスの GHG 排出量を計算したところ、Ecoinvent 上で計算される GHG 排出量に比べて 2.5 倍ほどの大きさとなった。そこで、モラセスのユニットプロセス作成にあたっては、Ecoinvent の中国モラセスの GHG 排出量結果のみを利用することとした。なお、GHG 排出量の内訳として、エネルギー起源と非エネルギー起源は半分となるように割り振った。具体的なインベントリに関しては、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

#### 1 2. アンモニア水生産

アンモニア水は IDEA のユニットプロセスの一覧になかったため、アンモニアから生産することを考え、濃度を水で調整するようインベントリ表を作成した。ただし、アンモニア水の密度としては、0.9g/cm<sup>3</sup> [KISHIDA, 2019]を用いた。

表 6-20 アンモニア水生産インベントリ表

| 入出力 | 分類  | 項目        | 値     | 単位 | データ |
|-----|-----|-----------|-------|----|-----|
| 出力  | 製品  | 28%アンモニア水 | 1     | kg |     |
| 入力  | 主原料 | アンモニア     | 0.252 | kg |     |
|     | 副原料 | 水         | 0.648 | L  |     |

### 13. 資本財（化学プラント）

現時点で資本財について正確な一次データは把握できていないが、生産設備はEcoinventにおける「Chemical factory, organics {RER} | construction」と大きな違いはないと想定し、EcoinventのインベントリにIDEAのユニットプロセスを上流連鎖させた。IDEAの二次データが紐づかなかった項目は、さらにその項目のEcoinventのインベントリ（RoW）を参考に、IDEAの二次データに上流連鎖させた。化学プラント製造のインベントリはライセンスの関係上本報告書に表記しない。

#### 6-6-4 比較対象製品（石化SAP）生産

比較対象製品であるポリアクリル酸ナトリウム系SAPは、IDEAのユニットプロセスになかったため、論文[SANDERSON, 2003]より生産のインベントリを別途作成し、そのインベントリにIDEAのユニットプロセスを上流連鎖させた。表中の「データ」列の値が「※」である項目は、IDEA V2.2に適切なユニットプロセスがなかった。それらの項目は、別途生産のインベントリを作成した。

##### 1. 石化SAP生産

石化SAP生産のインベントリ表は以下のとおりである。ただし、論文のデータには、使用した水の排水処理が含まれていないと考えられるため、1,753 kgの排水処理を別途追加した。また、アクリル酸からSAP製造に伴う資本財も別途追加した。

表 6-21 石化SAP生産インベントリ表 [SANDERSON, 2003]

| 入出力 | 分類 | 項目                   | 値 | 単位 | データ |
|-----|----|----------------------|---|----|-----|
| 出力  | 製品 | Sodium poly-acrylate | 1 | kg |     |

|    |       |                                                                            |       |    |       |
|----|-------|----------------------------------------------------------------------------|-------|----|-------|
| 入力 | 主原料   | Acrylic acid                                                               | 0.782 | kg | 二次データ |
|    | 副原料   | NaOH                                                                       | 0.468 | kg | 二次データ |
|    |       | initiator [(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> ] | 0.005 | kg | ※     |
|    |       | water                                                                      | 1.753 | L  | 二次データ |
|    | エネルギー | Electricity                                                                | 7.830 | MJ | 二次データ |
|    | 処理    | 排水処理                                                                       | 1.753 | kg | 二次データ |
|    | 資本財   | 化学プラント                                                                     |       | p  | ※     |

なお、化学プラントについては、バイオ SAP 生産と同様に ecoinvent の「Chemical factory, organics {GL0} | market for | APOS, U」がポリマー生産に投入される量を参考にした。具体的な数値は、ライセンスの関係上本報告書に表記しない。

## 2. 過硫酸アンモニウム生産

IDEA に二次データがなかった過硫酸アンモニウム (initiator [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]) のインベントリを論文から別途取得した。

表 6-22 過硫酸アンモニウム生産インベントリ表 [JAKOB, 2000]

| 入出力 | 分類    | 項目                                                            | 値     | 単位  | データ |
|-----|-------|---------------------------------------------------------------|-------|-----|-----|
| 出力  | 製品    | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> | 1     | kg  |     |
| 入力  | 主原料   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>               | 0.429 | kg  |     |
|     |       | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                | 0.578 | kg  |     |
|     | エネルギー | Electricity                                                   | 2     | kWh |     |

### 6-6-5 廃棄・リサイクル

廃棄・リサイクル処理としては、焼却処理を基本シナリオとした。本評価では、廃棄段階における CO2 直接排出において、バイオ由来の CO2 は計上しないこととした（カーボンニュートラル）。石化 SAP の焼却時 CO2 直接排出量は、完全燃焼を想定し、SAP の燃焼化学反応式より計算した。紙おむつの重量が使用後約 4 倍になるというデータから、1 kg のバイオ SAP 処理に必要な廃棄・リサイクル処理の重量は 4 kg としてユニットプロセスのインベントリを作成した。

### 1. 焼却処理

焼却処理のユニットプロセスのインベントリは以下のとおりである。

表 6-2 3 バイオ SAP 焼却処理インベントリ表

| 入出力 | 分類     | 項目          | 値 | 単位 | データ |
|-----|--------|-------------|---|----|-----|
| 出力  | 大気への排出 | 焼却時直接排出 CO2 | 0 | kg |     |
| 入力  | 処理     | 廃バイオ SAP    | 1 | kg |     |
|     | 処理     | 焼却の処理場由来    | 4 | kg |     |

表 6-2 4 石化 SAP 焼却処理インベントリ表

| 入出力 | 分類     | 項目          | 値    | 単位 | データ |
|-----|--------|-------------|------|----|-----|
| 出力  | 大気への排出 | 焼却時直接排出 CO2 | 1.36 | kg |     |
| 入力  | 処理     | 廃石化 SAP     | 1    | kg |     |
|     | 処理     | 焼却の処理場由来    | 4    | kg |     |

石化 SAP の焼却時の CO2 直接排出量は、石化 SAP の化学式より計算した。ただし、重合数が十分に大きいと考えて計算を行った。

表 6-2 5 石化 SAP CO2 排出係数の計算

| 項目         | 算定式             | 量   | 単位 |
|------------|-----------------|-----|----|
| 石化 SAP 分子量 | $C_7H_5O_6Na_3$ | 227 |    |
| 二酸化炭素分子量   | CO2             | 44  |    |

|                          |                          |      |                    |
|--------------------------|--------------------------|------|--------------------|
| 石化 SAP 完全燃焼時<br>二酸化炭素分子数 | 石化 SAP 分子の炭素数            | 7    |                    |
| CO2 排出係数                 | $(44 \times 7) \div 227$ | 1.36 | kg CO2 eq / kg SAP |

## 2. 埋立処理

SAP が埋立処理をされる場合には、燃焼時に大気へ排出していた CO2 は発生しない。そのため、石化 SAP では大気への CO2 排出が 0 となり、バイオ SAP についてはバイオマス生産に伴う CO2 吸着分をマイナス計上する形とした。バイオ SAP の CO2 吸着分は、バイオ SAP の化学式より計算した。ただし、重合数が十分に大きいと考えて計算を行った。

バイオ SAP が埋立されて生分解する場合には、メタンが排出されることが考えられる。埋立に伴うメタン排出係数は、食物くず、紙くず、繊維くず、木くずの平均値を用いることとした。

表 6-2 6 バイオ SAP 埋立処理インベントリ表（生分解あり）

| 入出力 | 分類     | 項目             | 値      | 単位 | データ |
|-----|--------|----------------|--------|----|-----|
| 出力  | 大気への排出 | CO2 直接排出（-吸着分） | -1.593 | kg |     |
|     |        | 生分解によるメタン直接排出  | 0.1455 | kg |     |
| 入力  | 廃棄物    | 廃バイオ SAP       | 1      | kg |     |
|     | 処理     | 埋立の処理場由来       | 4      | kg |     |

表 6-2 7 バイオ SAP 埋立処理インベントリ表（生分解なし）

| 入出力 | 分類     | 項目             | 値      | 単位 | データ |
|-----|--------|----------------|--------|----|-----|
| 出力  | 大気への排出 | CO2 直接排出（-吸着分） | -1.593 | kg |     |
|     |        | 生分解によるメタン直接排出  | 0      | kg |     |
| 入力  | 廃棄物    | 廃バイオ SAP       | 1      | kg |     |
|     | 処理     | 埋立の処理場由来       | 4      | kg |     |

表 6-28 石化 SAP 埋立処理インベントリ表（生分解なし）

| 入出力 | 分類     | 項目            | 値 | 単位 | データ |
|-----|--------|---------------|---|----|-----|
| 出力  | 大気への排出 | C02 直接排出      | 0 | kg |     |
|     |        | 生分解によるメタン直接排出 | 0 | kg |     |
| 入力  | 廃棄物    | 廃石化 SAP       | 1 | kg |     |
|     | 処理     | 埋立の処理場由来      | 4 | kg |     |

上記の表の値の基となった、バイオ SAP 生産時に吸着する C02 量と、生分解により排出するメタン量の算出方法は以下のとおりである。

表 6-29 バイオ SAP 生産時の C02 吸着係数

| 項目                        | 算定式                       | 量     | 単位                    |
|---------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| バイオ SAP 分子量               | C16H20N4O8Na2             | 442   |                       |
| 二酸化炭素分子量                  | C02                       | 44    |                       |
| バイオ SAP 生産時<br>吸着二酸化炭素分子数 | バイオ SAP 分子の炭素数            | 16    |                       |
| C02 吸着係数                  | $(44 \times 16) \div 442$ | 1.593 | kg C02 eq/ kg バイオ SAP |

表 6-30 廃棄物ごとのメタン排出係数 [環境省, 2019]と平均

| 廃棄物の種類 | 排出係数 (kg-CH4 / t) |
|--------|-------------------|
| 食物くず   | 145               |
| 紙くず    | 136               |
| 繊維くず   | 150               |
| 木くず    | 151               |
| 単純平均   | 145.5             |

### 3. リサイクル処理



紙おむつのリサイクルプロセスは、一次データ、IDEA の二次データ、文献による詳細なインベントリのどれも得られなかった。そこで、伊坪らの論文 [伊坪 徳宏, 2019] より、紙おむつリサイクル時の SAP 回収率とリサイクルプロセスの GHG 排出量のみをデータとして用いることとした。

バイオ SAP、石化 SAP とともに、論文に記載された SAP 回収率とリサイクルプロセスの GHG 排出量の値は同じとした。また、各 SAP のリサイクルにおいて代替されるものは、各 SAP それぞれの生産プロセスとした。すなわち、バイオ SAP がリサイクルされた場合には、リサイクル後の製品は、バージンのバイオ SAP の生産を代替し、石化 SAP がリサイクルされた場合には、リサイクル後の製品は、バージンの石化 SAP の生産を代替するとした。このような前提においては、バイオ SAP のリサイクルによって製造される SAP は、「焼却時の直接排出を考慮なくてよいバイオ由来の SAP」であるから、バイオ SAP リサイクル処理のインベントリ表について、CO<sub>2</sub> の直接排出、吸着分はともに 0 となる。

リサイクル処理については、論文中にユニットプロセスの情報が示されていないことから、GHG 排出量の内訳は不明である。ここでは、GHG 排出量の内訳をエネルギー起源のものと非エネルギー起源のものに分類し、その比を 1 : 1 と仮定した。石化 SAP バイオ SAP とともにリサイクルを選択した場合には、この比による代替効果への影響はない。それぞれの SAP のリサイクル処理のインベントリ表は以下のとおりである。

表 6-3 1 バイオ SAP リサイクル処理インベントリ表

| 入出力 | 分類     | 項目                          | 値    | 単位                    | データ |
|-----|--------|-----------------------------|------|-----------------------|-----|
| 出力  | 回避製品   | バイオ SAP 生産プロセス              | 0.8  | kg                    |     |
|     | 大気への排出 | CO <sub>2</sub> 直接排出        | 0    | kg                    |     |
| 入力  | 廃棄物    | 廃バイオ SAP                    | 1    | kg                    |     |
|     | 処理     | リサイクルに伴う GHG 排出量 (エネルギー起源)  | 1.55 | kg CO <sub>2</sub> eq |     |
|     |        | リサイクルに伴う GHG 排出量 (非エネルギー起源) | 1.55 | kg CO <sub>2</sub> eq |     |

表 6-3 2 石化 SAP リサイクル処理インベントリ表

| 入出力 | 分類     | 項目                          | 値     | 単位        | データ |
|-----|--------|-----------------------------|-------|-----------|-----|
| 出力  | 回避製品   | 石化 SAP 生産プロセス               | 0.8   | kg        |     |
|     | 大気への排出 | CO2 直接排出 (SAP 0.2kg 排出分)    | 0.272 | kg        |     |
| 入力  | 廃棄物    | 廃石化 SAP                     | 1     | kg        |     |
|     | 処理     | リサイクルに伴う GHG 排出量 (エネルギー起源)  | 1.62  | kg CO2 eq |     |
|     |        | リサイクルに伴う GHG 排出量 (非エネルギー起源) | 1.62  | kg CO2 eq |     |

インベントリ表の回避製品の値は、論文中の SAP の再資源化率の 8 割を用いた。リサイクルに伴う GHG 排出量は以下のように計算した。まず、論文より紙おむつ 1 枚 (SAP 11.3kg 含) のリサイクルに伴う GHG 排出量は下のとおりである。

表 6-3 3 紙おむつ 1 枚 (SAP 11.3g) あたりリサイクルプロセス GHG 排出量

| 番号  | プロセス     |               | GHG 排出量 |
|-----|----------|---------------|---------|
|     |          |               | g-CO2   |
| 1   | 収集輸送     |               | 7.83    |
| 2   | 破砕・洗浄・分離 |               | 22.8    |
| 3-1 | 再資源化品製造  | オゾン処理 (パルプ製造) | 5.55    |
| 3-2 |          | SAP 再資源化      | 17.0    |
| 3-3 |          | RPF 製造・燃焼     | 47.2    |

ここで、番号 1 と 2 は、再資源化品であるパルプ、SAP、RPF すべてのリサイクル処理に必要なプロセスである。そのため、目的とするリサイクルプロセス

の SAP のみの環境負荷は、1 と 2 の合計を再資源化製品であるパルプ、SAP、RPF で配分した後に、3-2 を合計したものである。

表 6-3 4 リサイクル時 SAP のマテリアルフロー

| 割合  | エンドオブライフ    | CO2 直接排出 |
|-----|-------------|----------|
| 80% | 再資源化－SAP    |          |
| 20% | 汚泥処理（焼却）    | あり       |
|     | 汚泥処理（埋立）    |          |
|     | 再資源化－RPF    |          |
|     | 再資源化－RPF 燃焼 | あり       |

SAP のマテリアルフローを考える。論文中では、リサイクル処理で SAP として再資源化できなかった 20%の SAP は、汚泥処理されるか RPF として再資源化される。汚泥処理は、焼却処理と埋立処理が考えられており、焼却処理の場合は、再資源化の負荷に SAP の焼却時 CO2 直接排出も含まれている。また、RPF を製造した場合の代替効果には、一般炭製造と一般炭燃焼が考えられており、一般炭燃焼の場合には、SAP の燃焼時 CO2 直接排出も含まれている。バイオ SAP を利用する場合には、焼却時 CO2 直接排出は考えなくてもいいことから、この直接排出分を控除する必要がある。控除ができる対象は SAP であり、控除分がパルプなどに配分されることは望ましくないことから、焼却処理と RPF 燃焼部分の控除は、どちらも SAP 再資源化プロセスから控除することとした。ここでは、SAP 総量のうち、汚泥処理（焼却）と再資源化－RPF 燃焼の合計の割合は 10%と仮定し、石化 SAP の CO2 排出係数 1.36kg CO2 eq /kg SAP を掛け合わせた値を控除することとした。

表 6-3 5 紙おむつ 1 枚（SAP 11.3g）あたりリサイクルプロセス GHG 排出量（バイオ SAP）

| 番号 | プロセス     | GHG 排出量 | 控除    |
|----|----------|---------|-------|
|    |          | g-CO2   | g-CO2 |
| 1  | 収集輸送     | 7.83    |       |
| 2  | 破碎・洗浄・分離 | 22.8    |       |

|     |             |                  |      |       |
|-----|-------------|------------------|------|-------|
| 3-1 | 再資源化<br>品製造 | オゾン処理（パ<br>ルプ製造） | 5.55 |       |
| 3-2 |             | SAP 再資源化         | 17.0 | -1.54 |
| 3-3 |             | RPF 製造・燃焼        | 47.2 |       |

番号 1 と 2 におけるパルプ、SAP、RPF の配分は、再資源化製品の価値（以下表参照）を用いた。

表 6-3 6 紙おむつ 1 枚から再資源化される製品の価値基準配分

| 再資源化品 | 重量※1 | 単価※2   | 価値    | 配分率  |
|-------|------|--------|-------|------|
|       | g    | 円 / g  | 円     | %    |
| パルプ   | 13.3 | 0.066  | 0.88  | 34.7 |
| SAP   | 9.04 | 0.179  | 1.62  | 63.8 |
| RPF   | 10.2 | 0.0038 | 0.039 | 1.5  |

以上により、SAP のリサイクル処理に伴う GHG 排出量は、石化 SAP 3.23 kg CO2 eq/kg SAP、バイオ SAP 3.10kg CO2 eq/kg SAP と計算された。

※1 パルプと SAP の重量は、論文中的おむつの重量（40.5g）とその構成比（パルプ：40.9%、SAP：27.9%）、さらにそれぞれの再資源化率である 0.8 より算出した。

RPF の基となるプラスチックの重量データは存在したが、RPF 自体の重量は論文に記載がなかった。そこで、RPF 製造による代替効果を IDEA の石炭燃焼の単位当たりで割り、さらに RPF 発熱量を割ることで算出した。

※2 パルプの単価は、経済産業省の統計をもとに算出した。論文にリサイクル後のパルプの種類は NBKP と述べられていたため、NBKP の直近 5 年間の販売数量と販売金額から単価をだしその平均とした。SAP の単価は、出荷量と出荷額が確認できた直近 5 年（2010～2014 年）の平均とした。RPF の単価は、全国産廃廃棄物連合会リサイクル推進委員会のデータを用いた。

表 6-3 7 クラフトパルプさらし（針葉樹）の販売価格と販売金額 5 年推移

[経済産業省，2019]

| 年    | 販売数量（t） | 販売金額（百万円） | 単価（千円/t） |
|------|---------|-----------|----------|
| 2014 | 180,357 | 11,983    | 66       |
| 2015 | 148,182 | 10,341    | 66       |
| 2016 | 136,216 | 9,120     | 66       |
| 2017 | 142,294 | 9,764     | 66       |
| 2018 | 151,957 | 12,668    | 66       |

表 6-3 8 SAP の出荷量と出荷額推移 [文部科学省，2017] より作成

| 年    | 出荷量(100 万 t) | 出荷額（10 億円） | 単価（千円/t） |
|------|--------------|------------|----------|
| 2010 | 1.75         | 320        | 183      |
| 2011 | 1.9          | 340        | 179      |
| 2012 | 2.05         | 365        | 178      |
| 2013 | 2.2          | 385        | 175      |
| 2014 | 2.3          | 410        | 182      |

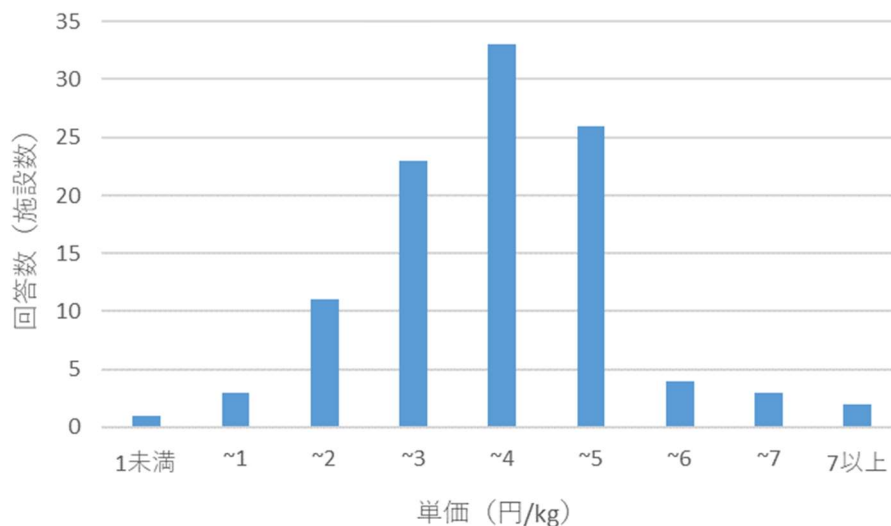


図 6-4 RPF 単価の分布 [全国産業廃棄物連合会，2010]より作成

## 6-7 ライフサイクル影響評価 (LCIA)

### 6-7-1 ベースシナリオ

基本となるシナリオ（削減施策なし）において、ライフサイクルの段階別の GHG 排出量の内訳を以下に示す。また、バイオ SAP の主原料はアスパラギン酸であり、そのアスパラギン酸製造の内訳についても示した。

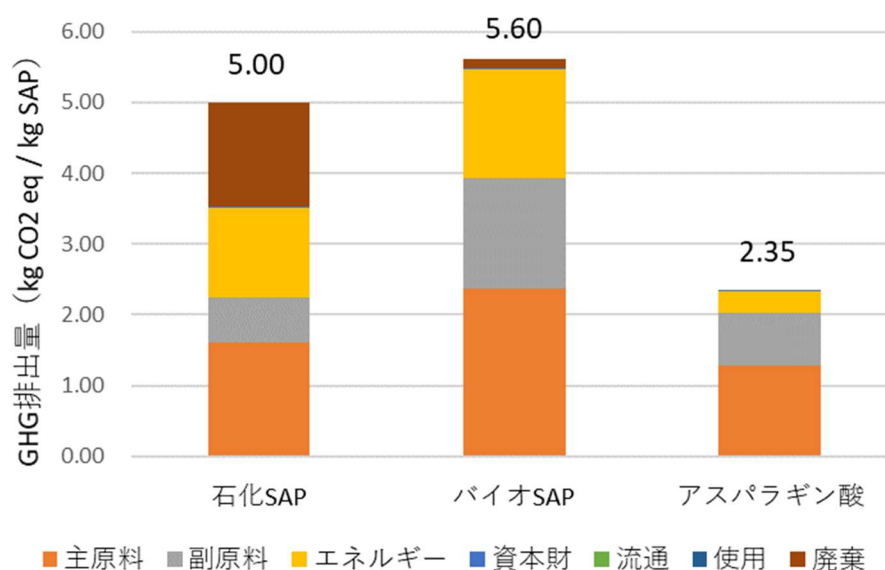


図6-5 石化SAPとバイオSAPのGHG排出量

石化SAPとバイオSAPのライフサイクルGHG排出量は、それぞれ 5.00 kg CO<sub>2</sub> eq / kg SAP、5.60 kg CO<sub>2</sub> eq / kg SAP となった。バイオSAPは、廃棄段階のGHG排出量が石化SAPに比べて少ない一方で、製造時のGHG排出量は大々くなっている。ライフサイクルで合計したGHG排出量はバイオSAPのほうが10%ほど大きいことが分かった。

アスパラギン酸のGHG排出量の中では、主原料であるグルコースが約半分を占めていることがわかった。

### 6-7-2 シナリオ分析

#### 1. 評価対象製品の削減施策

先ほどのベースシナリオは、バイオ SAP の現時点での実験段階における影響評価結果である。今後の原材料の選定を見据え、削減施策（非可食バイオマス由来のコーンストーバー利用：非可食シナリオ）を適用した場合のシナリオ分析を行った。

非可食シナリオのライフサイクルフロー図を確認するため、2.4 章で示したライフサイクルフロー図を再掲する。

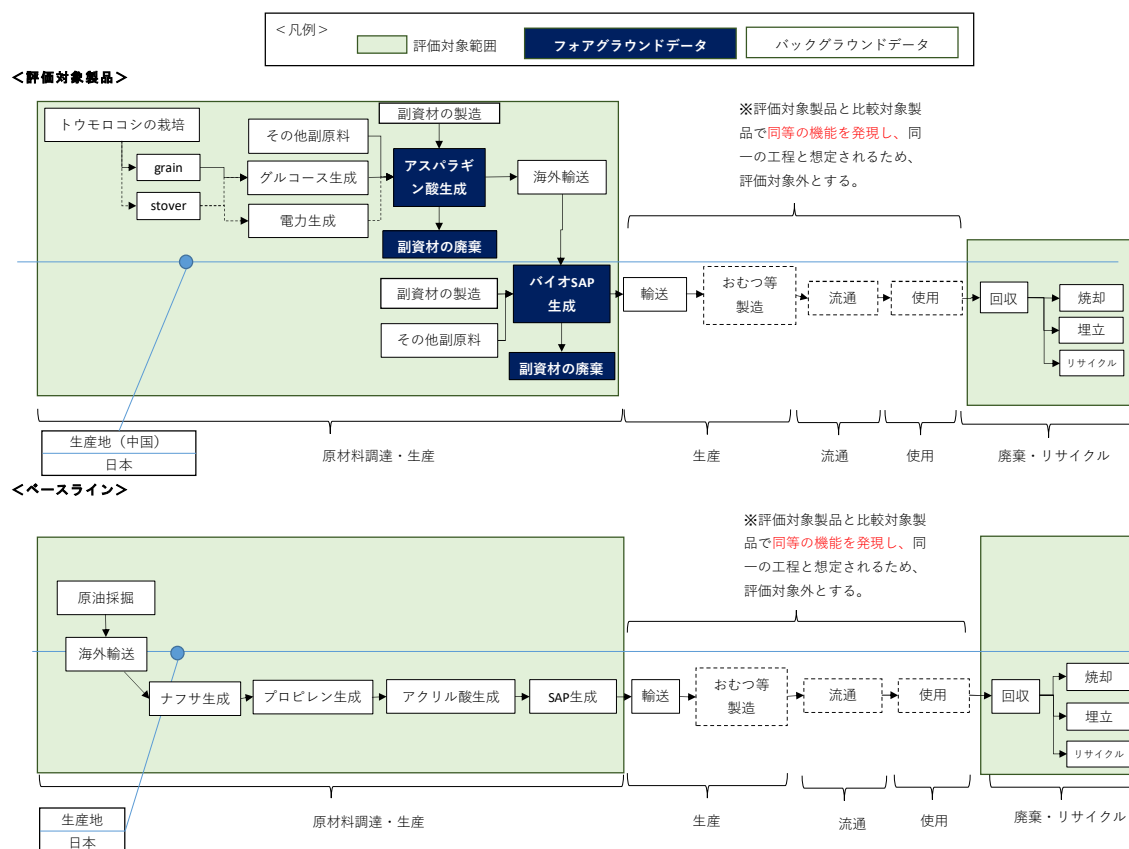


図 6-6 ライフサイクルフロー図（再掲）

非可食シナリオでは、コーンストーバーから製造されたグルコースによりアスパラギン酸を製造する。また、グルコースの生産に伴いリグニンから電力が発電される。なお、本シナリオで用いるインベントリデータは、すでに 6 章で示したインベントリである。

影響評価を行った結果を以下に示す。

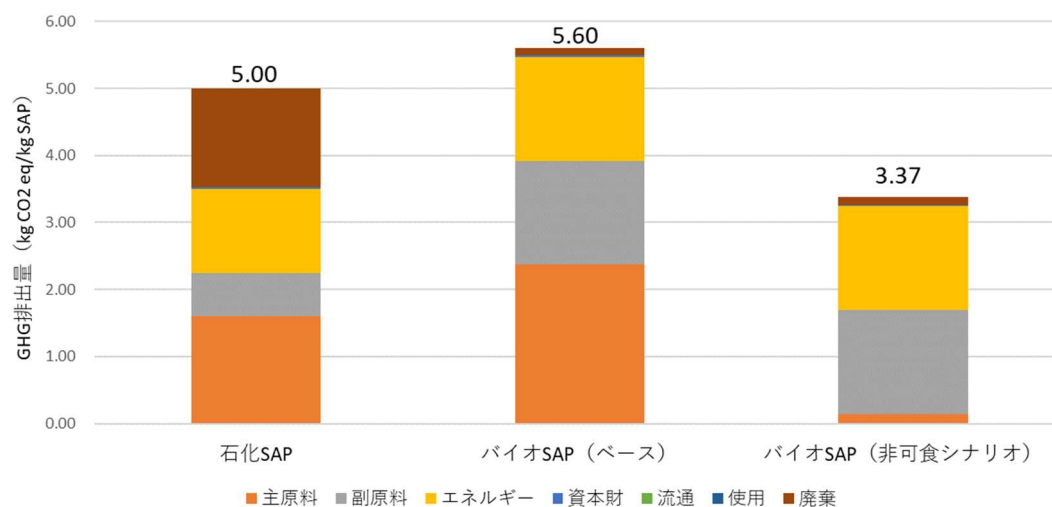


図 6-7 削減シナリオ適応後の GHG 排出量

バイオ SAP の GHG 排出量は、非可食シナリオを適応させることで 3.37 kg CO2 eq/kg SAP となり、石化 SAP を約 3 割下回った。

## 2. Consequential LCA

続いて、非可食シナリオにおけるコーンストーバー利用について、帰結的な LCA を実施した。帰結的な LCA を実施するために、まず現状のコーンストーバーが中国でどのように利用されているかを確認した。

表 6-39 中国地域ごとのコーンストーバー利用状況 (%) [Yang, 2019]

| Sampled Site | field retention | commercial utilization | cooking and heating | burning in field | unplanned utilization |
|--------------|-----------------|------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|
| Shanxi       | 48.9            | 25.3                   | 0.0                 | 25.8             | 0.0                   |
| Jilin        | 11.8            | 15.5                   | 21.8                | 49.5             | 1.4                   |
| Anhui        | 51.0            | 33.0                   | 3.1                 | 3.9              | 8.9                   |
| Hunan        | 14.6            | 0.0                    | 0.0                 | 71.1             | 14.3                  |
| Guangxi      | 7.8             | 8.9                    | 17.4                | 62.5             | 3.5                   |
| Chongqing    | 9.0             | 16.7                   | 21.8                | 51.8             | 12.1                  |



|          |      |      |     |      |     |
|----------|------|------|-----|------|-----|
| Yunnan   | 14.3 | 28.0 | 6.1 | 40.4 | 0.5 |
| Ningxia  | 54.5 | 36.0 | 0.0 | 0.7  | 0.7 |
| Xinjiang | 15.6 | 76.3 | 1.7 | 8.3  | 5.1 |
| Average  | 25.3 | 26.6 | 8.0 | 34.9 | 5.1 |

本プロジェクトにおける生産予定地では、おもに Field retention、続いて commercial utilization としての利用が想定された。そこで、コーンストーバーを利用するシナリオにおいては、コーンストーバーの利用による環境影響をそれらの生産量で置き換える帰結的な LCA を実施した。

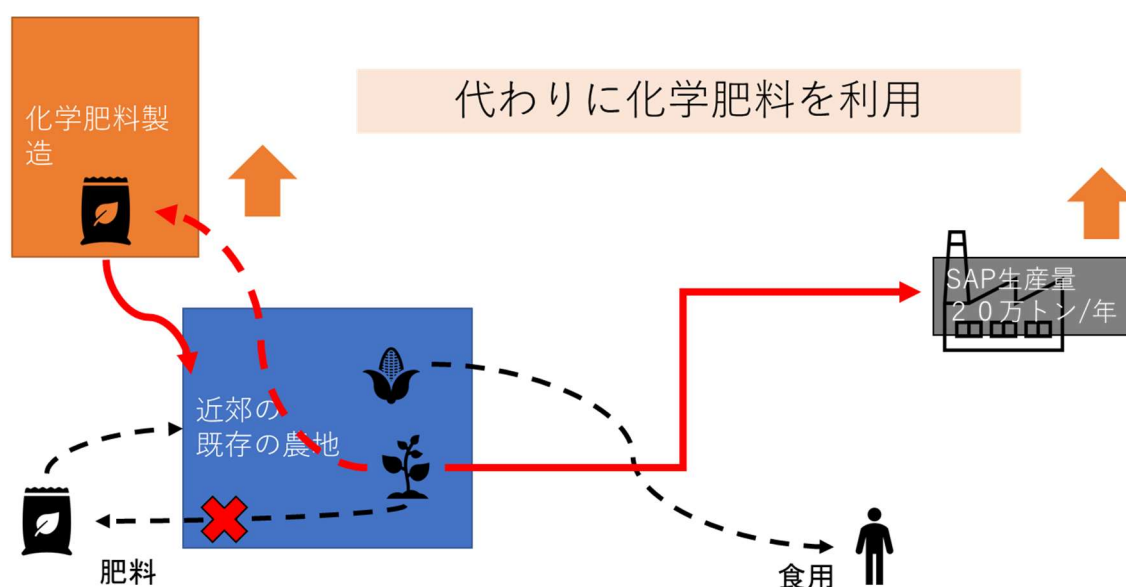


図 6-8 帰結的な LCA のイメージ

コーンストーバーが SAP の生産に使用されることで、代わりに化学肥料が利用され、結果として化学肥料の製造が増えることになる。またその製造量は、コーンストーバーの肥料としての機能に依存することから、コーンストーバーの肥料の有効成分をもとに、その製造量を決定した。

コーンストーバーの肥料の有効成分に近いものを調査したところ、コーンコブ堆肥の成分、肥効率は以下の通りであった。

表 6-39 コーンストーバー1 トンあたりの肥料としての想定有効成分 [長野県, 2022]

| 堆肥の種類 | 成分 (現物 %) |     |     | 肥効率 (%) |    |    |
|-------|-----------|-----|-----|---------|----|----|
| コーンコブ | 1.0       | 1.5 | 0.3 | 20      | 80 | 80 |

上図のコーンコブ堆肥を今回のコーンストーバーの有効成分とし、1 トンのコーンストーバーを利用した際に増加する肥料のインベントリを作成した。肥料の投入量には、「コーンストーバーが肥料として利用される割合」×「肥料成分」が入っている。なお、Commercial Utilization に関しては、木材と同様の取引を想定した。結果を確認したところ、全体に与える影響はわずかであった。

表 6-40 帰結的な LCA によるコーンストーバー生産ユニットプロセス

| 入出力 | 分類  | 項目          | 値       | 単位 | データ   |
|-----|-----|-------------|---------|----|-------|
| 出力  | 製品  | コーンストーバー    | 1       | kg |       |
| 入力  | 増加分 | 肥料 (N 分)    | 0.00109 | kg | 二次データ |
|     |     | 肥料 (P205 分) | 0.00654 | kg | 二次データ |
|     |     | 肥料 (K20 分)  | 0.00981 | kg | 二次データ |
|     |     | 木材チップ       | 0.00036 | m3 | 二次データ |

上記インベントリをもとに、帰結的な LCA を実施した際の結果は以下の通りである。

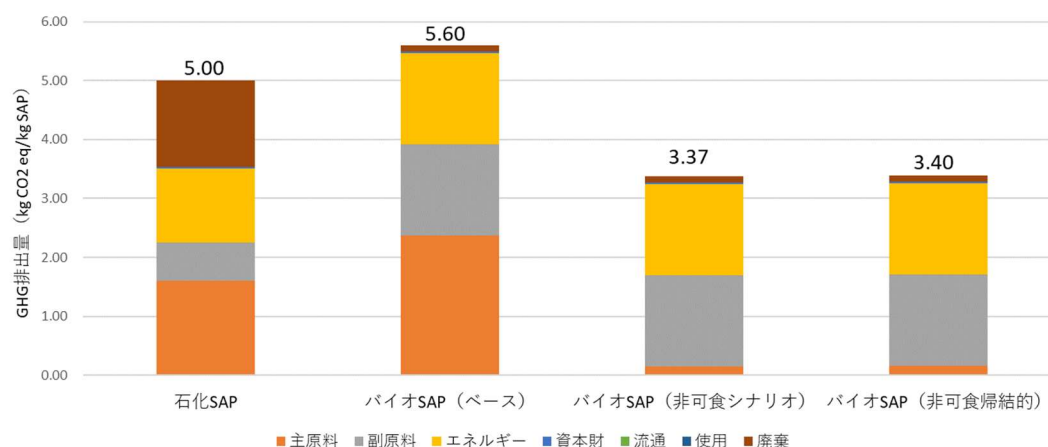


図 6-9 帰結的な LCA 計算結果

帰結的な LCA を実施した際の GHG 排出量は 3.40 kg CO<sub>2</sub> eq/kg であり、帰属的な (attributional な) LCA にたいして約 1%環境負荷が増加した。ただし、石化 SAP に対しては変わらず削減が見込まれることが確認できた。

#### 廃棄・リサイクル

続いて、廃棄・リサイクル処理を変更した場合のシナリオ分析を行った。シナリオは以下の 4 つである。

表 6-4 1 バイオ SAP・石化 SAP の影響評価で設定した廃棄・リサイクルシナリオ番号

| 廃棄・リサイクル<br>シナリオ番号 | バイオ SAP     | 石化 SAP      |
|--------------------|-------------|-------------|
| ベースシナリオ            | 焼却処理        | 焼却処理        |
| 1                  | 埋立処理（生分解あり） | 埋立処理（生分解なし） |
| 2                  | 埋立処理（生分解なし） |             |
| 3                  | リサイクル処理     | リサイクル処理     |

バイオ SAP は非可食シナリオに固定し、廃棄・リサイクルシナリオを焼却処理から 1～3 に変化させたときの GHG 排出量を以下に示す。

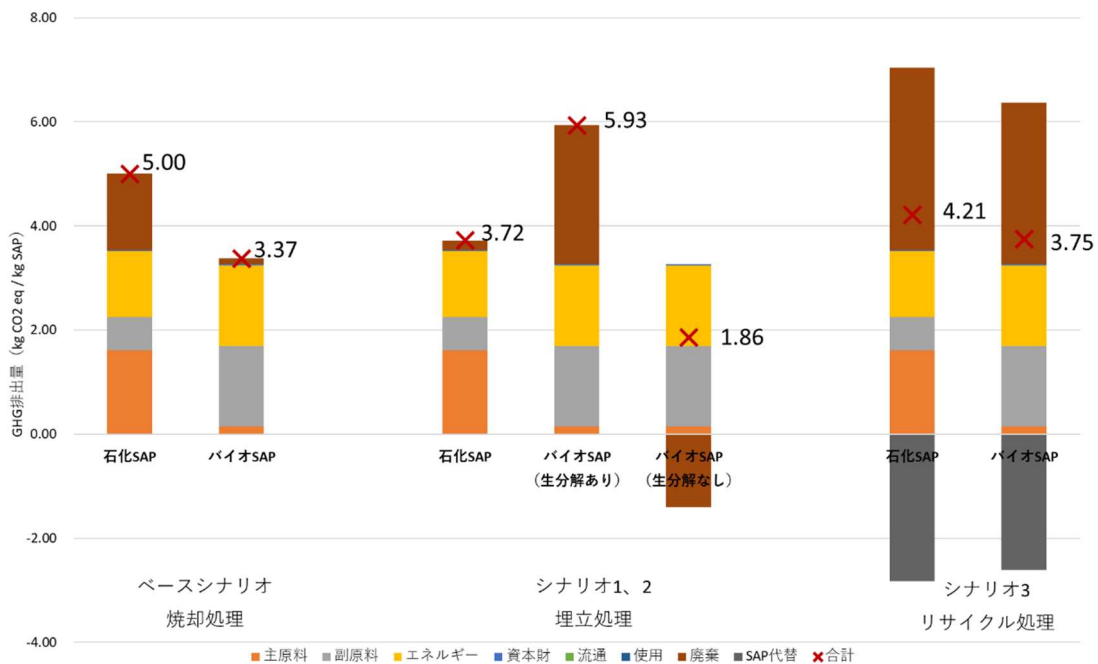


図 6-10 廃棄・リサイクルシナリオ番号ごとの GHG 排出量

ベースシナリオ（埋立処理）においては、前述のとおり石化 SAP と比較してバイオ SAP の GHG 排出量が 3 割ほど低い。シナリオ 1（バイオ SAP 生分解性あり）においては、バイオ SAP の GHG 排出量が石化 SAP よりも大きい結果となった。これは、同じ埋立であってもバイオ SAP のみが温室効果が高いメタンを排出しているためである。

シナリオ 3 において、石化 SAP はリサイクルをすると GHG 排出量が少なくなるものの、バイオ SAP はリサイクルをすると GHG 排出量が増えることが分かった。これは、バイオ SAP においては、リサイクルにより代替するものの環境負荷が小さいためである。ただし、本シナリオは大気中から吸着された CO2 がバイオ SAP となり、土壌炭素を増加させたという前提の結果である。

### 6-7-3 エネルギー起源・非エネルギー起源

CO2 排出量をエネルギー起源のものと非エネルギー起源のものに分類した。IDEA の基本フロー Emissions, carbon dioxide (fossil), air, unspecified について、エネルギー起源のプロセスから発生する CO2 をエネルギー起源の CO2 排出量とした。エネルギー起源のプロセスとは、IDEA のプロセス名に

energy とついているプロセスと、その他エネルギー起源と考えられた C4 distillate, naphtha cracking {JP} 等一部のプロセスとした。これら以外のプロセスや他の温室効果ガスについては、非エネルギー起源とした。エネルギー起源 CO<sub>2</sub> と非エネルギー起源 CO<sub>2</sub> を分類した GHG 排出量の結果を以下に示す。ただし、廃棄・リサイクルシナリオは全量焼却処理とした。

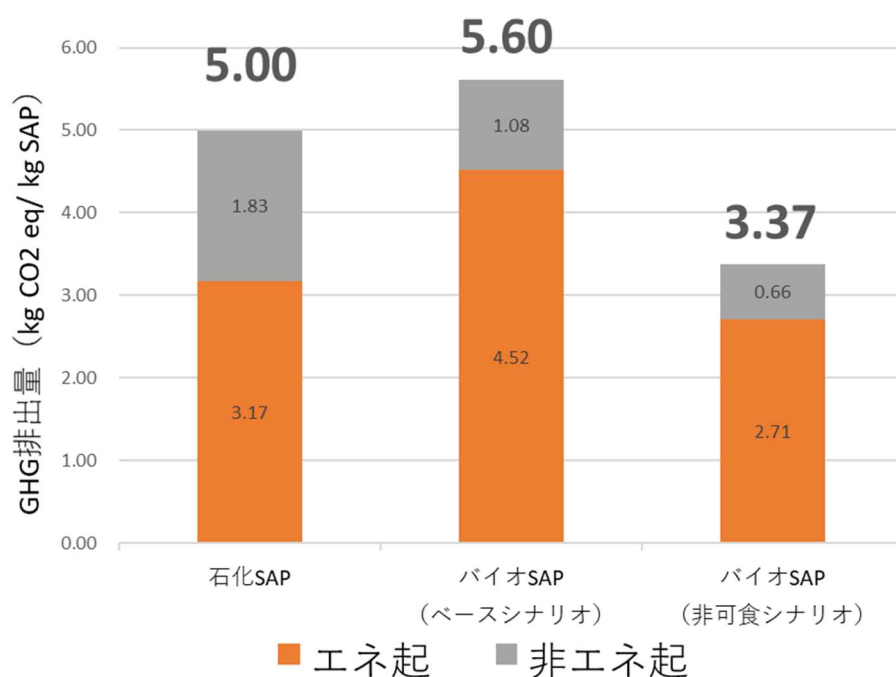


図 6-1 1 CO<sub>2</sub> 排出量のエネルギー起源、非エネルギー起源の分類結果

石化 SAP バイオ SAP とともに、エネルギー起源の GHG 排出量の割合が多い。石化 SAP のエネルギー起源の排出量が 3.17 kg CO<sub>2</sub> eq/kg SAP であるのに対し。バイオ SAP のエネルギー起源の排出量はベースシナで 4.52 kg CO<sub>2</sub> eq/kg SAP、非可食シナリオでは 2.71 kg CO<sub>2</sub> eq/kg SAP であった。非可食シナリオにおいては、バイオ SAP のエネルギー起源排出量が石化 SAP よりも小さい結果となった。

#### 6-7-4 CO2 削減効果

石化 SAP の影響評価結果と前述の非可食シナリオにおけるバイオ SAP の影響評価結果から、CO2 削減効果を算出した。CO2 削減効果に用いる前提条件を以下に示す。なお、影響評価結果と CO2 削減効果については、エネルギー起源と非エネルギー起源に分類してある。

表 6-4 2 CO2 削減効果総量算出の前提条件

| 項目             | 前提条件            |
|----------------|-----------------|
| 削減施策シナリオ       | 非可食シナリオ         |
| 廃棄・リサイクルシナリオ   | ベースシナリオ（全量焼却処理） |
| 実証事業終了時点の年間生産量 | 設定しない           |
| 普及段階の年間生産量     | 20 万トン          |

| 製品       | 時期                      | 段階       | エネルギー起源   | 非エネルギー起源 | 合計        |
|----------|-------------------------|----------|-----------|----------|-----------|
| 評価対象製品   | 普及段階<br>時点(t-<br>CO2/年) | 原材料調達・生産 | (43,038)  | 71,812   | 28,774    |
|          |                         | 生産       | 568,687   | 55,444   | 624,131   |
|          |                         | 流通       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 使用       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 廃棄・リサイクル | 17,217    | 4,857    | 22,075    |
|          |                         | 合計       | 542,866   | 132,113  | 674,979   |
| ベースライン製品 | 普及段階<br>時点(t-<br>CO2/年) | 原材料調達・生産 | 253,673   | 67,866   | 321,539   |
|          |                         | 生産       | 363,442   | 21,258   | 384,700   |
|          |                         | 流通       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 使用       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 廃棄・リサイクル | 17,217    | 276,223  | 293,440   |
|          |                         | 合計       | 634,333   | 365,347  | 999,680   |
| 削減量      | 普及段階<br>時点(t-<br>CO2/年) | 原材料調達・生産 | 296,711   | (3,946)  | 292,765   |
|          |                         | 生産       | (205,245) | (34,186) | (239,431) |
|          |                         | 流通       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 使用       | 0         | 0        | 0         |
|          |                         | 廃棄・リサイクル | 0         | 271,366  | 271,366   |
|          |                         | 合計       | 91,467    | 233,234  | 324,700   |

図 6-1 2 CO2 削減効果

評価対象製品をベースライン製品に置き換えた場合のライフサイクルにおける削減量は、シナリオ 1 で年間 32.4 万 t CO2 eq という結果となった。また、内訳としては、エネルギー起源の削減幅は年間 9.1 万 t CO2 eq、非エネルギー起源の削減量は年間 23.3 万 t CO2 eq であった。バイオ SAP の原材料調達・生

産のエネルギー起源がマイナスになっている理由としては、コーンストーバーからグルコースを生産する際の副製品である電力による控除分の効果が挙げられる。

## 6-8 ライフサイクル解釈

- ・ バイオ SAP の生産は、バイオ由来の原料からグルコースを生産しているため焼却処理を前提とした廃棄プロセスにおける環境負荷はカーボンニュートラルとなり低い。一方、重合プロセスにおける蒸気利用など化石燃料を利用するプロセスが存在しており、大きなホットスポットになっている。これらのエネルギーや副原料の使用量を低減する効率化が求められる。
- ・ 現在のトウモロコシの可食部 (corn grain) を原料とするバイオ SAP 生産プロセスは、使用しているエネルギー量も石化 SAP に比べて大きいことから、バイオ SAP のほうが石化 SAP よりも GHG 排出量は大きい結果となった。よって、今後バイオ SAP 生産における各プロセスの効率化、より環境負荷の低い原材料やエネルギー源の選定などの各種削減施策の導入は必須である。また、非可食原料の採用等の削減施策を導入した場合のバイオ SAP は、石化 SAP に対して 3 割以上の削減効果があることが確認できた。



## 6-9 限界と今後の課題

本評価では、未評価の部分以外にも多くの仮定やシナリオが想定されている。今後の検証に向けて現段階での評価の限界と今後の課題をまとめた。

表 6-4 3 本評価の限界と今後の課題

| 製品名        | ライフサイクル段階 | 項目    | 限界・課題                                                                                                                                            |
|------------|-----------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| バイオ<br>SAP | 原材料調達     | 全体    | 二次データを使用して算定を実施しているため、必ずしも実際の負荷を反映した算定結果となっていない可能性がある。                                                                                           |
|            |           | グルコース | トウモロコシ含め、二次データの環境負荷は、データにより 50%~100%ほどの幅がある。そのため、どの二次データを選択するかで結果に大きな違いが出る。今後生産地として選ばれた製造場所において調達したグルコースの環境負荷について、生産実態にあった一次データの収集・適用を検討する必要がある。 |
|            |           | グルコース | コーンストーバー由来のグルコースのインベントリデータは、プラントシュミレーターから得られた推計値である。今後、コスト等も含めて、導入の実現性を検証し、生産実態にあったデータの取得・適用を行う必要がある。                                            |
|            |           | モラセス  | 現段階では、モラセスは中国で生産されるてんさい由来のモラセスの二次データを利用しているが、現時点での実験室段階のバイオ SAP 生産において利用されているモラセスは、てんさい由来ではない。今後は、より実際の生産実態にあったデータを取得する必要がある。                    |

|        |    |           |                                                                                                                        |
|--------|----|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|        |    | モラセス      | モラセスの配分について、価値基準での配分をおこなっているが、大量生産を行う場合においては、その量のモラセスを使用が、どのように他の糖原料の増産に影響を与えるかなど、Consequential に発生しうる影響についての調査も必要である。 |
|        | 生産 | アスパラギン酸生産 | 現時点では、実験室段階データを元にした推計値を用いており、大規模生産を実施した場合の効率は異なってくる可能性がある。今後はより実際の生産実態にあったデータを取得・適用する必要がある。                            |
|        |    | アスパラギン酸生産 | 洗浄・廃棄処理などで仮定が多く残っている。より実際の生産実態にあったデータを取得・適用する必要がある。                                                                    |
| 石化 SAP | 生産 | 全体        | 石化 SAP の影響評価を実施している既存の研究は複数あり、現状ベースラインとしている石化 SAP の結果とは異なる可能性がある。入手可能なより多くの情報を参照し、より代表性がある妥当な値に更新していく必要がある。            |
| 共通     | 使用 | 機能        | 本算定では、バイオ SAP は石化 SAP と、重量あたりで同等の機能を持つ前提で算定を行っているが、今後バイオ SAP の品質特性を踏まえた調整が必要となる可能性がある。                                 |

## 6-10 付属書

### 6-10-1 JIS 尿吸収製品用ポリアクリル酸系吸水性樹脂抜粋

| 項目       | 内容                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|------|-----|---------------------|-------|--------|------------------------|-------|----|---------|-------|----|--------|-------|----|------------------------------------|-------|------|--------------|-------|-----|------------------|-------|
| JIS 規格番号 | S 0251                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 年        | 2018                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| JIS 規格名称 | 尿吸収製品用ポリアクリル酸系吸水性樹脂<br>Water-absorbent polyacrylate for urine absorbing products                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 3 用語及び定義 | 3.1 ポリアクリル酸系吸水性樹脂<br>吸水性樹脂 自重の 10～1 000 倍の水又は水性液体を吸収し保持することのできる粉末状又は繊維状の樹脂。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 4 組成     | 吸水性樹脂の組成は、適度に架橋されたポリアクリル酸の部分アルカリ金属塩を主成分としたもので、具体例としては、次のアクリル酸重合体部分アルカリ金属を主成分としている。 なお、原料としてアクリルアミドは用いない。<br>a) アクリル酸重合体部分ナトリウム塩<br>b) デンプングラフト・アクリル酸重合体部分ナトリウム塩<br>c) アクリル酸重合体部分カリウム塩                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |       |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 5 品質     | 吸水性樹脂の品質は、表 1 による。<br><div>表 1－品質</div> <table><tr><th>項目</th><th>品質</th><th>試験方法</th></tr><tr><td>吸収量</td><td>生理食塩水の吸収量 10 g/g 以上</td><td>6.3.1</td></tr><tr><td>残存モノマー</td><td>アクリル酸として 1000 mg/kg 以下</td><td>6.3.2</td></tr><tr><td>pH</td><td>4.5～8.0</td><td>6.3.3</td></tr><tr><td>水分</td><td>20 %以下</td><td>6.3.4</td></tr><tr><td>粒度</td><td>850 μm 以上：1 %以下，<br/>45 μm 以下：1 %以下</td><td>6.3.5</td></tr><tr><td>かさ比重</td><td>0.3～1.0 g/mL</td><td>6.3.6</td></tr><tr><td>重金属</td><td>鉛として 20 mg/kg 以下</td><td>6.3.7</td></tr></table> | 項目    | 品質 | 試験方法 | 吸収量 | 生理食塩水の吸収量 10 g/g 以上 | 6.3.1 | 残存モノマー | アクリル酸として 1000 mg/kg 以下 | 6.3.2 | pH | 4.5～8.0 | 6.3.3 | 水分 | 20 %以下 | 6.3.4 | 粒度 | 850 μm 以上：1 %以下，<br>45 μm 以下：1 %以下 | 6.3.5 | かさ比重 | 0.3～1.0 g/mL | 6.3.6 | 重金属 | 鉛として 20 mg/kg 以下 | 6.3.7 |
| 項目       | 品質                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 試験方法  |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 吸収量      | 生理食塩水の吸収量 10 g/g 以上                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 6.3.1 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 残存モノマー   | アクリル酸として 1000 mg/kg 以下                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 6.3.2 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| pH       | 4.5～8.0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 6.3.3 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 水分       | 20 %以下                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 6.3.4 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 粒度       | 850 μm 以上：1 %以下，<br>45 μm 以下：1 %以下                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 6.3.5 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| かさ比重     | 0.3～1.0 g/mL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 6.3.6 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |
| 重金属      | 鉛として 20 mg/kg 以下                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 6.3.7 |    |      |     |                     |       |        |                        |       |    |         |       |    |        |       |    |                                    |       |      |              |       |     |                  |       |

## 6-10-2 二次データマッピング表

二次データのマッピング表を以下に示す。なお、マッピングの対応度を以下の表のとおりに示した。

| 対応度 | 意味                      |
|-----|-------------------------|
| A   | ほとんど同一の二次データが対応した       |
| B   | 比較的同一の二次データが対応した        |
| C   | 異なる二次データだが、影響は小さい       |
| D   | 異なる二次データかつ、影響が小さいとは言えない |

### 1. 評価対象製品

#### 1-1 バイオ SAP 生産

| 項目     | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                 | 対応度 |
|--------|------------|------------------------------------------------|-----|
| 85%リン酸 | 172912000  | phosphoric acid, 85% {JP}                      | A   |
| NaOH   | 172111000  | sodium hydroxide, 97% {JP}                     | A   |
| 架橋剤    | 非公表        | 非公表                                            | C   |
| 水      | 179919200  | pure water, ion exchange membrane process {JP} | A   |
| 電力     | 331111015  | electricity, Japan, 2015 {JP}                  | A   |
| 都市ガス   | 341111000  | town gas {JP}                                  | A   |
| 排水処理   | 852511000  | industrial waste water treatment services {JP} | B   |

#### 1-2 アスパラギン酸生産

| 項目           | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                        | 対応度 |
|--------------|------------|-------------------------------------------------------|-----|
| 活性炭          | 172928000  | activated carbon {JP}                                 | A   |
| 36N 濃硫酸      | 172921000  | sulfuric acid, 98% {JP}                               | A   |
| 洗浄用水道水       | 361111000  | tap water {JP}                                        | B   |
| 純水           | 179919200  | pure water, ion exchange membrane process {JP}        | A   |
| 電力           | 332106011  | electricity, PR of China, IEA, 2011 {CN}              | A   |
| 蒸気           | 351211100  | steam, manufacturing industry {JP}                    | A   |
| 下水処理         | 851811000  | sewerage treatment service {JP}                       | B   |
| 廃液処理（アンモニア水） | 852200205  | industrial waste treatment service, waste alkali {JP} | B   |

|            |           |                                                                                                         |   |
|------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 廃液処理（モラセス） | 851612200 | incineration service service, domestic waste, no power generation, except for emissions from waste {JP} | B |
| 産廃処理（コネリ菌） | 851612200 | incineration service service, domestic waste, no power generation, except for emissions from waste {JP} | B |
| 産廃処理（活性炭）  | 851612200 | incineration service service, domestic waste, no power generation, except for emissions from waste {JP} | B |
| 中国日本間海上輸送  | 451200108 | ship transportation service, container ship >4kTEU {JP}                                                 | A |

### 1-3 6NHCL

| 項目  | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                 | 対応度 |
|-----|------------|------------------------------------------------|-----|
| HCL | 172115000  | hydrochloric acid, 35% {JP}                    | A   |
| 水   | 179919200  | pure water, ion exchange membrane process {JP} | A   |

### 1-4 りん酸リサイクル

| 項目     | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                                                                  | 対応度 |
|--------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 85%りん酸 | 173116110  | p-xylene {JP}                                                                                   | D   |
| 排水処理   | 851612200  | incineration service, domestic waste, no power generation, except for emissions from waste {JP} | B   |
| 電力     | 331111015  | electricity, Japan, 2015 {JP}                                                                   | A   |

### 1-5 蒸気（バイオ SAP 生産プロセス）

| 項目   | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名 | 対応度 |
|------|------------|----------------|-----|
| 都市ガス | 341111000  | town gas {JP}  | A   |

### 1-6 グルコース生産

| 項目          | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名 | 対応度 |
|-------------|------------|----------------|-----|
| Electricity | 332106011  | 332106011      | A   |

1-7 グルコース生産（コーンストーバー由来）

| 項目               | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                           | 対応度 |
|------------------|------------|------------------------------------------|-----|
| Electricity      | 332106011  | electricity, PR of China, IEA, 2011 {CN} | A   |
| H2SO4            | 172921000  | sulfuric acid, 98% {JP}                  | A   |
| NH3              | 171112000  | ammonia, NH3 conversion to 100% {JP}     | A   |
| Cellular protein | -          | -                                        | C   |
| Yeast            | -          | -                                        | C   |
| Natural gas      | 052112801  | energy, natural gas combustion {JP}      | A   |
| Electricity      | 331111015  | electricity, Japan, 2015 {JP}            | A   |

1-8 トウモロコシ生産

| 項目                              | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                                                               | 対応度 |
|---------------------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Ammonium bicarbonate            | 172949222  | ammonium hydrogen carbonate {JP}                                                             | A   |
| Urea                            | 171115000  | urea {JP}                                                                                    | A   |
| NPK Compound                    | 171211000  | chemical fertilizers {JP}                                                                    | B   |
| Diammonium phosphate (DAP)      | 171211200  | chemical fertilizer, ammonium phosphate 19-42 {JP}                                           | B   |
| Ammonium sulfate                | 171111000  | ammonium sulfate {JP}                                                                        | A   |
| Ammonium nitrate                | 171114000  | ammonium nitrate {JP}                                                                        | A   |
| Manure                          | 852000656  | recycling products, animal manure, output, REM                                               | B   |
| Seed                            | 017219940  | seed, input, REM                                                                             | B   |
| Electricity for irrigation      | 332106011  | electricity, PR of China, IEA, 2011 {CN}                                                     | A   |
| Electricity for maize threshing | 332106011  | electricity, PR of China, IEA, 2011 {CN}                                                     | A   |
| Diesel for sowing seeds         | 181115875  | energy, light oil, internal combustion engine, diesel engine, except transportation use {JP} | B   |
| Diesel for harvest              | 181115875  | energy, light oil, internal combustion engine, diesel                                        | B   |

|                           |           |                                                                                              |   |
|---------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---|
|                           |           | engine, except transportation use {JP}                                                       |   |
| Diesel for transportation | 181115875 | energy, light oil, internal combustion engine, diesel engine, except transportation use {JP} | B |
| Maize residue management  | 181115875 | energy, light oil, internal combustion engine, diesel engine, except transportation use {JP} | B |

## 1-9 アンモニア水生産

| 項目    | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                 | 対応度 |
|-------|------------|------------------------------------------------|-----|
| アンモニア | 171112000  | ammonia, NH3 conversion to 100% {JP}           | A   |
| 水     | 179919200  | pure water, ion exchange membrane process {JP} | A   |

## 2. 比較対象製品

### 2-1 石化 SAP 生産

| 項目           | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                 | 対応度 |
|--------------|------------|------------------------------------------------|-----|
| Acrylic acid | 173239115  | acrylic acid {JP}                              | A   |
| NaOH         | 172111000  | sodium hydroxide, 97% {JP}                     | A   |
| water        | 179919200  | pure water, ion exchange membrane process {JP} | B   |
| Electricity  | 331111015  | electricity, Japan, 2015 {JP}                  | A   |
| 排水処理         | 852511000  | industrial waste water treatment services {JP} | B   |

### 2-2 過硫酸アンモニウム生産

| 項目          | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                | 対応度 |
|-------------|------------|-------------------------------|-----|
| Electricity | 331111015  | electricity, Japan, 2015 {JP} | A   |
| H2SO4       | 172921000  | sulfuric acid, 98% {JP}       | A   |
| (NH4)2SO4   | 171111000  | ammonium sulfate {JP}         | A   |

### 2-3 廃棄・リサイクル

| 項目     | IDEA 製品コード | IDEA 製品名/作成製品名                                                                                                   | 対応度 |
|--------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| SAP 焼却 | 851612200  | incineration service service,<br>domestic waste, no power<br>generation, except for emissions<br>from waste {JP} | B   |
| SAP 埋立 | 851611200  | landfill treatment service,<br>domestic waste, except for<br>emissions from waste {JP}                           | B   |



## 参考

### 特許権

| 番号 | 記入年月日     | 種類* | 出願日／登録日    | 出願番号／特許番号     | 発明の名称                                                | 出願人／特許権者                           |
|----|-----------|-----|------------|---------------|------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1  | 2021.8.3  | 出願  | 2021.6.29  | 特願2021-107638 | アスパラギン酸組成物、並びにポリアスパラギン酸組成物、架橋ポリアスパラギン酸組成物、及びそれらの製造方法 | DIC株式会社<br>GreenEarthInstitute株式会社 |
| 2  | 2021.8.3  | 出願  | 2021.6.29  | 特願2021-107301 | アスパラギン酸を製造する方法                                       | DIC株式会社<br>GreenEarthInstitute株式会社 |
| 3  | 2021.12.3 | 出願  | 2021.11.26 | 特願2021-192344 | アスパラギン酸生産菌株およびこれを用いてアスパラギン酸を生産する方法                   | DIC株式会社<br>GreenEarthInstitute株式会社 |