

循環型社会形成推進科学研究費補助金 総合研究報告書概要版

- ・ 研究課題名：木質系バイオエタノールのための環境低負荷型生産技術の開発
- ・ 研究番号：(K 2 0 2 4,) K 2 1 4 6, K 2 2 0 4 3
- ・ 国庫補助金精算書要額（円）：73,356,000 円也
- ・ 研究期間 2008～2010
- ・ 代表研究者名 森田 昌敏（愛媛大学）
- ・ 共同研究者名 本田 克久（愛媛大学）、川嶋 文人（愛媛大学）、河野 公栄（愛媛大学）、秀野 晃大（愛媛大学）、鈴木 規之（国立環境研究所）、鎌迫 典久（国立環境研究所）、和泉 憲明（川崎重工業(株)）
- ・ 研究協力者 泉 可也（(株) Biomaterial in Tokyo)

・ 研究目的

近年、地球環境保全と資源問題への対策の必要性から、循環可能なエネルギー資源や生物資源を利用する循環型社会の構築が求められている。この対策の一つとして、バイオエタノールの生産が活発になっている。中でも食糧や飼料と競合しない木質系バイオマスから生産されるバイオエタノールは第二世代バイオエタノールと呼ばれ、その実用化が強く望まれている。木質系バイオマスからバイオエタノールを生産するには、前処理、糖化、発酵、蒸留精製、副生成物の利活用技術が必要であるが、これら各工程の高効率化が求められており、さらに生産システムの最適化に関わる環境評価も必要である。

本研究では、量が豊富で安定供給可能な製材工場残材、建設廃材、間伐材等の木質を有効に活用して、バイオエタノール生産を低コストかつ低環境負荷で行うために必要な技術開発を行うとともに、生産システムの環境評価を行うことで、循環型社会形成にむけての廃棄物処理技術の新たな展望をひらくことを目的とした。

・ 研究方法

本研究では、スギやヒノキなどの木質系バイオマスからバイオエタノールを低コストかつ低環境負荷で生産するために必要な4つの要素（前処理技術、糖化発酵技術、残渣利活用技術、全体を統合する生産最適化のためのシステム）の開発を目的とした。以下に検討項目を示す。

前処理技術開発

①希酸による結晶性セルロース加水分解条件の検討

希酸によるリグノセルロースの糖化反応の可能性を検討するために、結晶性セルロースの希酸によるグルコースへの加水分解反応条件の基礎的検討を行った。

②木質バイオマスの効率的な糖化を可能にするオルガノソルブ処理条件の検討

低沸点溶媒のエタノールまたは高沸点溶媒のエチレングリコール、水、酢酸の混合液を用いたオルガノソルブ処理に短時間（10分間）のボールミル粉碎処理を組み合わせた方法の検討を行った。さらに低消費エネルギー前処理法の開発を目指し、オルガノソルブ処理のみで高糖化率を得る処理法の開発を行った。反応温度 170~200℃で、硫酸や塩酸等の酸を微量添加したオルガノソルブ処理の検討を行い、酵素糖化によって評価するとともに、本処理物の糖化に適した酵素液について検討を行った。

③木質バイオマスの熱水糖化法の検討

糖化しにくいセルロースに対し、糖化特性向上のため、酸性の薬剤を用いた簡易な前処理で、セルロースの結晶形態を改変した。結晶形態を改変したセルロースの 200℃及び 240℃での熱水法による糖化特性を検討した。

糖化発酵技術開発

④耐熱性酵母を用いた同時糖化発酵法の検討

同時糖化発酵およびフラッシュ連続気化によるアルコール気化除去を組み合わせ、アルコールによる生成物阻害を回避し、効率の良いアルコール生産を実現するため、耐熱性アルコール菌株の選抜を行った。選抜した菌株 (*Kluyveromyces marxianus* NBRC1777 株) を用いて、セルロースからの同時糖化発酵法の予備検討を行うとともに、前処理後の木質バイオマスの同時糖化発酵法についても検討を行った。

⑤五炭糖成分発酵の検討

木質系バイオマスにはヘミセルロース成分に由来するキシロースを主とする五炭糖が大量に含まれているものの、高エタノール生産菌の酵母は五炭糖を発酵できないという課題がある。他の酵母 (*Pichia stipitis*) 由来のキシロース還元酵素（以下、XR）とキシリトール脱水素酵素（以下、XDH）遺伝子を導入した組み換え酵母はキシロースからのエタノール発酵能を獲得できる。本検討では、我々が独自に開発した五炭糖発酵酵母を用いて、ヒノキ糖化液中の五炭糖発酵の可能性について検討した。

残渣利活用技術開発

⑥糖化発酵リグニン残渣の利活用技術開発

木質バイオマスの糖化後の残渣の主要成分はリグニンである。このリグニン残渣の利活用技術として本検討では、以下の2つの検討を行った。

- ・リグニン残渣の芳香族化合物原料としての可能性を検討するために、残渣の還元分解反

応を種々の条件で行い、その最適化と生成物の解析を行った。

・リグニン残渣の吸着材としての可能性を検討するためにリグニン残渣を炭化、賦活して吸着材を作製し、その残留性有機汚染物質(POPs)の吸着除去性能の評価を行った。

生産最適化システム開発

⑦環境に配慮した生産最適化のためのシステムの開発

木質系バイオエタノールの環境低負荷型技術を展開するため、ゼロエミッションを目指してマテリアルバランスと熱バランス及び発生する排水/廃棄物処理の最適化を行なうと共に、要素技術と排水、原料の輸送に伴う環境負荷、そして廃棄物処理の最適化を検討するためのシステム開発を行った。

・結果と考察

前処理技術開発

①希酸による結晶性セルロース加水分解条件の検討

本検討では各種酸類の影響、硫酸の濃度、反応温度の影響、反応系へのエタノールの添加効果、反応系への各種溶媒、塩の添加効果について検討を行った。リグノセルロースの希酸による糖化反応効率についての知見を得るために希酸を用いて結晶性セルロースのグルコースへの加水分解反応ならびに同条件でのグルコースの分解反応を行い、グルコース、ヒドロキシメチルフルフラール、フルフラールの生成量を測定した。その結果、セルロースの加水分解により 30%以上のグルコース濃度が得られた。酸の種類の違いや有機溶媒の添加はセルロースの加水分解によるグルコースの生成に若干の影響を与えるものの、硫酸溶液の場合に比べ大きな変化は見られなかった。しかしながら、特にジオキサンの反応系への添加は、0.368%硫酸 50/ジオキサン 50、200℃の反応系において14%のヒドロキシメチルフルフラールが生成しており、グルコースの分解によるヒドロキシメチルフルフラールの生成促進が確認された。

②木質バイオマスの効率的な糖化を可能にするオルガノソルブ処理条件の検討

各処理条件を至適化した後、微量の酸を添加したオルガノソルブ処理物の酵素糖化の結果、トリフルオロ酢酸 2%含有 50%エタノール水溶液を用いた 170℃、60 分間の処理物 (EtOH50/W50/TFA2) 及び塩酸 0.4%含有 50%エタノール水溶液を用いた 170℃、45 分間の処理物 (EtOH50/W50/HCl0.4) の結果が最も高く、30 g/L に達した (図 1 左図)。しかしながら、生ヒノキに含まれる糖を基に算出した糖収率、すなわち固形分収率を考慮した糖収率では、EtOH75/W25/AA1-B10, EG75/W25/AA1-B10 の二種が 40~45%と高く、EtOH50/W50/TFA2 及び EtOH50/W50/HCl0.4 は約 30%であった (図 1 右図)。これらの処理物は、微量の強酸が添加されることで、前処理での重量損失が大きく、固形分収率が低くなり、結果的に糖収率も低い結果であった。しかし、糖化酵素と Acremozyme (明治

製菓株式会社) 及び Accellerase1500 (ジェネンコア協和株式会社) を用いて、これまでの前処理物に対する糖化試験を行ったところ、微量の塩酸添加オルガノソルブ処理物に対しては、Accellerase1500 を用いることで、ボールミル処理と同等以上の糖収率が得られた (図 2)。

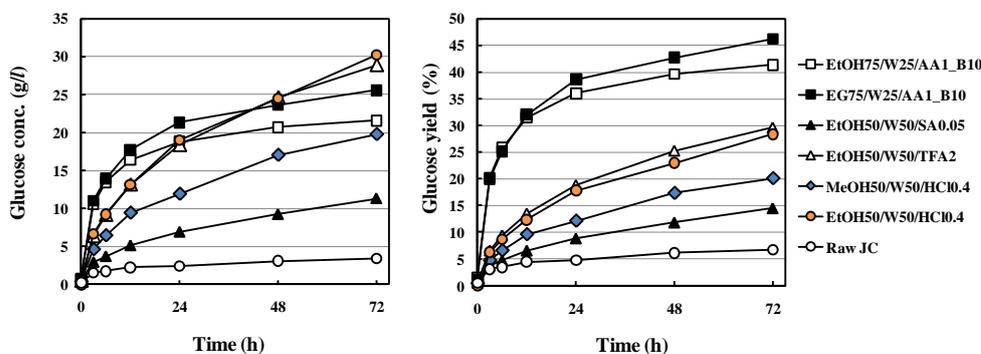


図 1. 各種オルガノソルブ処理物中の酵素糖化

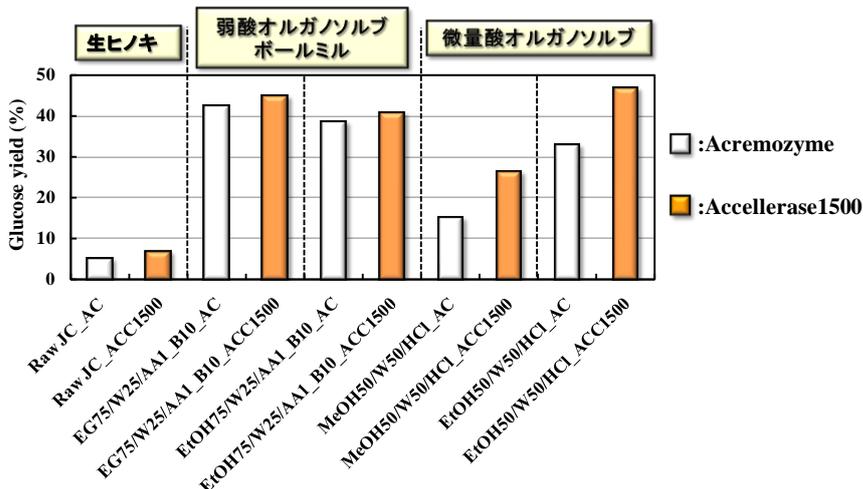


図 2.オルガノソルブ処理物に対する Acremozyyme 及び Accellerase1500 の加水分解特性

③木質バイオマスの熱水糖化法の検討

熱水を用いて加水分解する方法は、環境負荷が最も少ない方法である。熱水のみ或いは少量の酢酸を用いての分解を行って、木質からの収量を計算したその結果、スギにおいて 191 g/kg、ヒノキにおいて 233g/kg の糖収量を得ることができた (表 1)。

よりよい条件を求めて、前段において結晶性セルロースの前処理を検討した結果、X 線回折 (XRD) によりセルロースの結晶形態が改変されていることを確認した。また、結晶形態改変により大幅に糖化特性が改善することを確認した。これは、セルロース中の水素結合の一部が解裂したためと考えられる。簡易な計算の結果、結晶形態改変により、反応速度は約 30 倍となる。

表1 スギ及びヒノキからの糖収量

	スギ	ヒノキ
ヘミセルロース由来糖収量 (g/kg)	140	164
セルロース由来糖収量 (g/kg)	51	69
糖収量合計 (g/kg)	191	233

糖化発酵技術開発

④耐熱性酵母を用いた同時糖化発酵法の検討

②で調製したオルガノソルブ処理物からの *Acremozyne* (明治製菓株式会社) と耐熱性酵母の *K. marxianus* による同時糖化発酵を行ったところ、EtOH50/W50/TFA2 において最もエタノール濃度が高く、ついで MeOH50/W50/HCl0.4 となり、酢酸添加オルガノソルブ処理とボールミル粉碎処理を組み合わせた処理を上回った (図 3)。

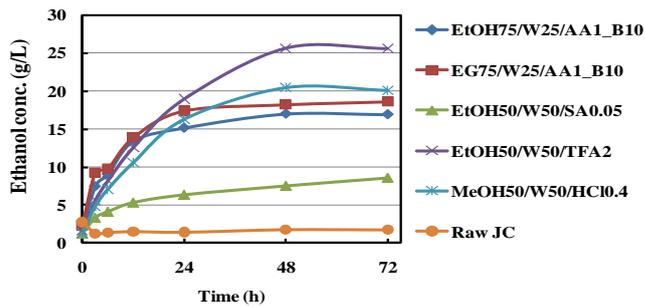


図 3. オルガノソルブ処理物からの同時糖化発酵

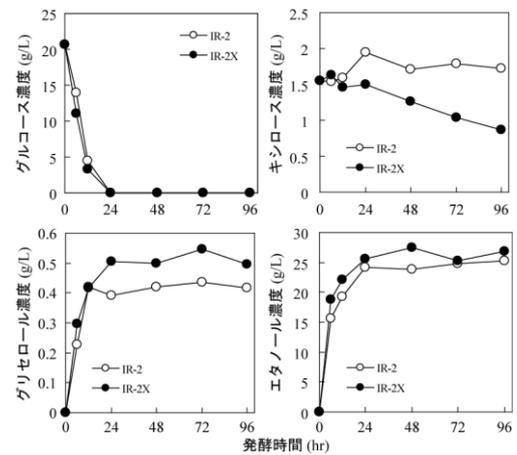


図 4. キシロース代謝遺伝子導入によるキシロース発酵

⑤五炭糖成分発酵の検討

六炭糖からのエタノール生産能が優れているサッカロミセス酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) IR-2 株にキシロース代謝遺伝子を導入した IR-2X 株を用いて、オルガノソルブ処理ヒノキの酵素糖化液の発酵試験を行ったところ、IR-2 株がグルコースのみを消費してエタノールを生産したのに対し、IR-2X 株は、グルコースを消費した後、キシロースも消費し、IR-2 株よりも高いエタノール濃度であり (図 4)、五炭糖発酵酵母の開発に成功した。なお、両菌株において、副生成物としてグリセロールをわずかに生成した。

残渣利活用技術開発

⑥糖化発酵リグニン残渣の利活用技術開発

・リグニン残渣の芳香族化合物原料としての可能性を検討するために、残渣の還元分解反応条件とその生成物の解析を行った。その結果、エチレングリコールに 30% のギ酸を添加した溶媒中で 270℃、1 時間反応することにより 90% 以上の高い分解率が得られることが判明した。さらにその分解生成物には 4-ヒドロキシ 3-メトキシトルエンやグアヤコールなどのグアヤシルリグニン由来の芳香族化合物が検出された (図 5)。

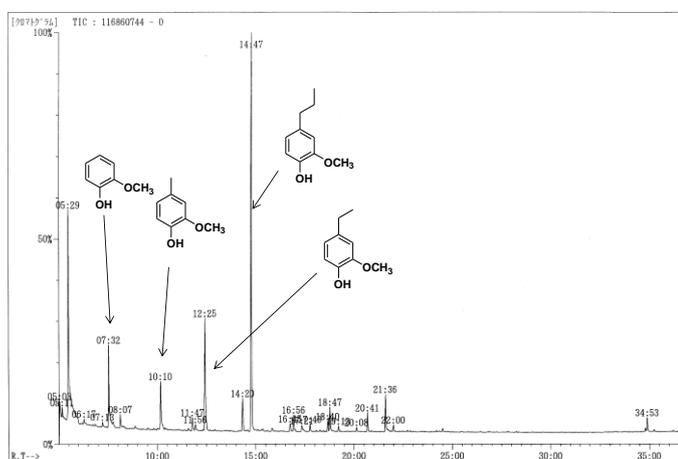


図 5. 酵素糖化残渣分解反応液の GC-MS スペクトル

・リグニン残渣の吸着材としての可能性を検討するためにリグニン残渣を炭化、賦活し、その物性を種々の物理化学的方法により検討するとともに、残留性有機汚染物質 (POPs) の吸着除去剤としての性能試験を行った。その結果、賦活した吸着材は高い吸着能を示し、*non-ortho* 体はほぼ 100%、*mono-ortho* 体で 90%、*di-ortho* 体で 25% 程度の吸着率が得られた (図 6)。

これらは市販の一般的な活性炭よりも高い吸着率を示した。これらの結果、バイオエタノール製造時の残渣の高付加価値素材としての利用が可能であり、バイオエタノールの製造コストの低減が可能になることが明らかとなった。

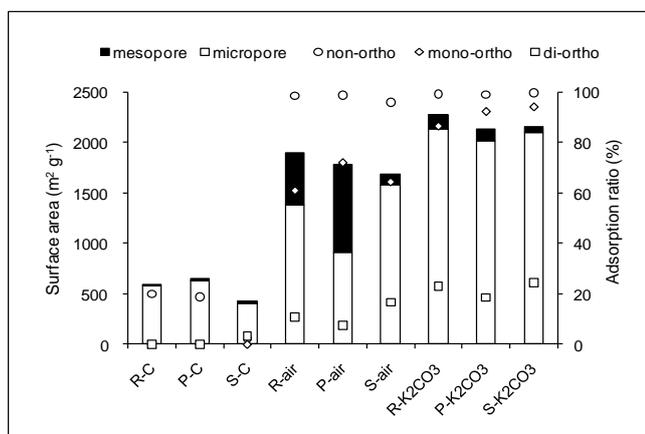


図 6. 各吸着材の細孔表面積と PCB の吸着率 (R: 生ひのき、P: 前処理ひのき、S: 酵素糖化残渣、C: 炭化、air: 空気賦活、K₂CO₃: 炭酸カリウムによる薬品賦活)

生産最適化システム開発

⑦環境に配慮した生産最適化のためのシステムの開発

バイオエタノール製造においては、原料となる木質系材料の発酵を主体とする生産工程から、どのような工程として開発されるにせよ、環境影響、特に大気、水質への影響を慎

重に考慮することが必要となると考えられる。これらを的確に実施するためには、評価に必要な環境動態モデル、排出推定の基礎情報となる社会統計、また、人口分布などの各種の情報を GIS（地理情報システム）上で利用可能な形に構築し、総合評価を行うことが有効であると考えられる。影響評価に用いる情報や環境動態モデル等のツール類を GIS 上に展開するために、データと動態モデルの共通データ基盤システムを構築した。本システムでは、各種の製造プラントの排出推定の支援ツール、GIS モデルにこれらを投入するための支援ツール、また、GIS モデル側のインターフェースの構築、これらの結果を表示する可視化ツールを一体として利用可能な形へシステム構築を行った。可視化ツールの主要なインターフェースを図 7 に示す。

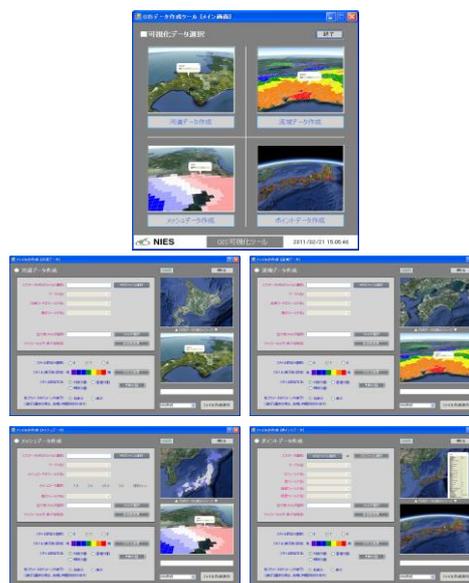


図 7. 可視化ツールのインターフェイス

・ 結論

木質セルロースを加水分解して、糖を高収率に生成させる方法として、熱水のみおよびエタノール等の有機溶媒系を検討し、最高 60%程度の糖収率を得た。これを用いてエタノールを生成させると共に、加水分解残渣からリグニン誘導体、活性炭を、また発酵残渣から養殖のための飼料化の途をひろげ、プロセスのゼロエミッション化および環境負荷の低減が可能となることを明らかにした。活性炭含有の飼料を与えることにより、ダイオキシンや PCB を含まない味のよい魚の養殖が可能となり全体の生産コストの低減が可能となることを明らかにした。杉、ヒノキは最も糖化が難しい原料であったが、製紙スラッジの中にはエタノール原料として適したものがあることも明らかとなり、より安いエタノール生成の可能性を明らかにした。

英語概要

- 研究課題名 「Environment-friendly production system for bio-ethanol from woody materials」
- 代表研究者名 Masatoshi Morita (Ehime University)
- 共同研究者名 katsuhisa Honda (Ehime University) , Ayato Kawashima (Ehime University) , Masahide Kawano (Ehime University) , Akihide Hideno (Ehime University) Noriyuki Suzuki (National Institute for Environmental Studies) , Norihisa Tatarazako (National Institute for Environmental Studies) , Noriaki Izumi (Kawasaki Heavy Industries, Ltd.)
- 研究協力者名 Yoshiya Izumi (Biomaterial in Tokyo Co.,Ltd)

• 要旨 (200 語以内)

Organosolvolytic of the wood powder was examined for developing an effective production of lignocellulosic ethanol. The wood powder was pretreated at various conditions and the resulting substrate was hydrolyzed by cellulase. The high saccharification yield over 40% was obtained at the pretreatment conditions of ethanol/water/acetic acid=75/25/1 at 140 °C or ethylene glycol/water/acetic acid=75/25/1 at 170 °C with subsequent ball-milling. The saccharification yield about 30% without ball-milling was also obtained by pretreatment with ethanol/water/TFA=50/50/2 or ethanol/water/hydrochloric acid=50/50/0.4 at 170 °C.

Simultaneous fermentation with enzyme saccharification was examined and yeast strain of NBRC1777 showed high ethanol production performance at 43 °C. Fermentation of xylose was also investigated with recombinant xylose-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* and higher ethanol yield than by normal cellulase was obtained.

Lignin depolymerization and production of adsorbents from lignin residue were also investigated for assessing the possibility of effective utilization of lignin residue. The lignin residue was depolymerized in alcohol at 210-300 °C and obtained chemicals were found to be phenolic aromatic compounds. The lignin residue was also converted into activated carbon by chemical activation and obtained adsorbents indicate high adsorption activity for DL-PCB removal.

In addition, preliminary experiments were done for environmental impact assessment in relation to bio-ethanol production.

• キーワード (5 語以内)

Bio-ethanol
Woody material
Organo-solvolytic
Cellulase
Subcritical Liquid