B020　稲わら水熱・酵素糖化・エタノール発酵基盤技術開発

坂西欣也、澤山茂樹、矢野伸一、滝村　修、井上宏之、松鹿昭則、
塚原建一郎、藤井達也、遠藤貴士、井上誠一、美濃輪智朗、藤本真司

独立行政法人　産業技術総合研究所　バイオマス研究センター

1．はじめに

セルロース系バイオエタノール製造技術においては、前処理技術、糖化技術、発酵技術が重要な要素技術であり、稲わらを原料とする場合は水熱処理と酵素糖化を組み合わせる方法が最も有望な技術の1つと考えられる。従って、稲わらのエタノール変換技術において、これらの要素技術と経済性を含めた統合化技術に関する基盤的研究開発の進展が必要である。本実行課題では、環境負荷が低く経済的で効率の高い、稲わらからのバイオエタノール製造技術の研究開発を行う。稲わらからのバイオエタノール製造原価100円／L以下を達成する基盤技術の開発を目標とする。

2．前処理技術（水熱／微粉砕）

前処理技術として水熱、微粉砕（乾式、湿式）、これらの組み合わせ（水熱メカノケミカル）を検討し、経済性分析の観点から水熱処理を選択した。後段の酵素糖化に適した水熱処理条件を明らかにするとともに、新しくリン酸水熱処理を開発した（図1）。リン酸水熱－酵素糖化では90％を超えるキシロース糖化収率を得ることができ、キシランを多く含む稲わら等に適していると思われる。一方、リン酸の回収再利用の課題について、イオン交換樹脂によるリン酸回収を確認した。

3．糖化技術（酵素オンサイト生産）

稲わらの前処理物を炭素源として含む培地を用いることにより、200 FPU/g-C6の酵素オンサイト生産を達成した（図2）。実際にオンサイトで生産した酵素を用いて酵素糖化試験を行い、市販酵素と同等以上の糖化収率を得た。さらに、ヘミセルラーゼ生産株（糸状菌KIF-125株）を取得した。

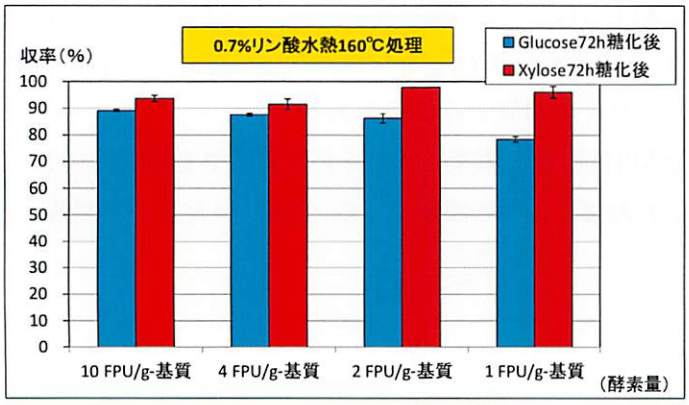


図1　リン酸水熱―酵素糖化における酵素添加量と糖収率の関係

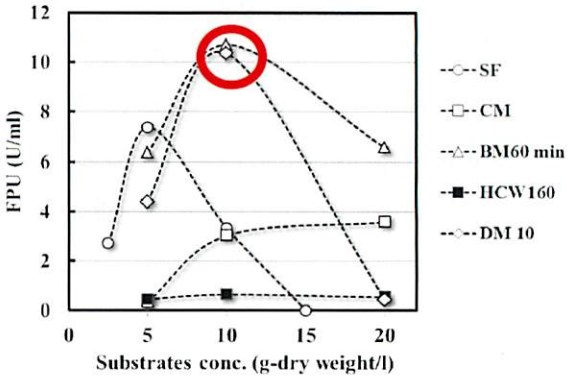


図2　稲わらを炭素源とした酵素生産

4．エタノール発酵理技術（C6C5 同時発酵）

稲わら糖化液を高効率に発酵する酵母を育種するため、有望な実用酵母（IR-2）の１倍体にキシロース代謝遺伝子を導入後、交配を行い、グルコースおよびキシロースを含む培地で発酵収率 85% を超える株を取得した。

5．経済性解析

水熱前処理、オンサイト酵素生産、酵素糖化、エタノール発酵を組み込んだプロセス（図 3）のプロセス設計、コスト計算を行い、140 円 /L 程度と試算された。今後は、さらなる酵素生産性の向上、高濃度処理が必要で、達成されれば 110 円程度まで下げられる。

6．ベンチプラントによる運転実証

産総研所有のベンチプラント（規模：0.2 トン原料 / バッチ）を用いた運転実証を行った。酵素生産および六炭糖発酵はラボスケールと同等以上の酵素生産性およびエタノール収率を得た。遺伝子組換え酵母による C6C5 同時発酵も確認した（図 4）。

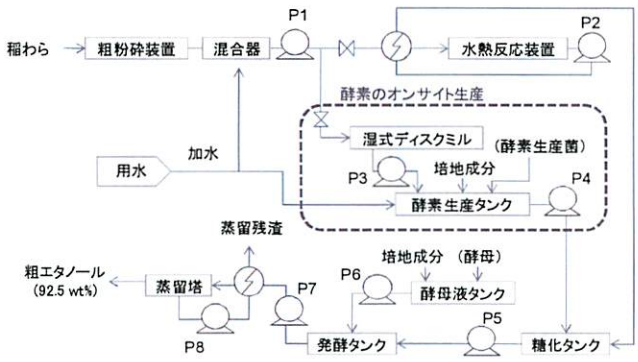


図３　想定しているプロセスフロー

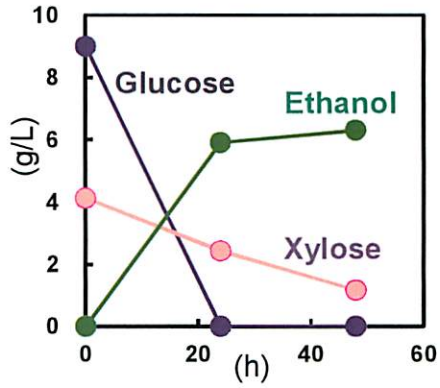


図４　ベンチプラントによる C6C5 同時発酵試験

7．まとめ

前処理技術、糖化技術、発酵技術の重要な各要素技術について検討を行い、稲わらを原料とする場合は前処理として水熱処理、リン酸水熱処理が有効であることを確認した。酵素生産については、オンサイト生産で大幅な酵素費用削減が達成できること、稲わらの湿式微粉砕処理物が有効な炭素源となることを示した。稲わらに多く含まれるキシロースに対して C6C5 を同時発酵できる遺伝子組み換え酵母を開発した。

100 円 /L 以下というコスト目標に対しては、さらなる酵素生産性の向上、高濃度処理の実現等の技術課題を明示した。また全体を通したトータルでの実験検証も必要である。

詳細情報：文献、特許

1) 吉村忠久，et al.（2011）．“イナワラの酵素糖化に及ぼすリン酸水熱処理の効果．” 日本エネルギー学会誌 90（3）：268.

2) A Hideno, et al. (2011). “Production and characterization of cellulases and hemicellulases by *Acremonium cellulolyticus* using rice straw subjected to various pretreatments as the carbon source.” Enzyme and Micrlbial Technology 48: 162-168.

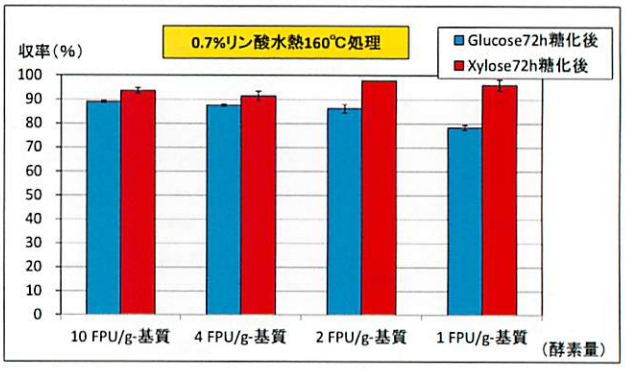
3) 秀野晃大，et al.（2008）．“酵素液の製造方法及び糖の製造方法．” 特願 2008-193301.

稲わら水熱・酵素糖化・エタノール発酵基盤技術研究開発

環境負荷が低く経済的で効率の高い、稲わらからのバイオエタノール製造技術の研究開発を行っています。稲わらからのバイオエタノール製造原価 100 円 /L 以下を達成する基盤技術の開発を目標としています。

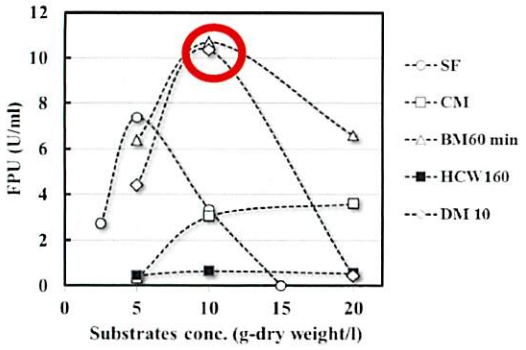
1. 水熱前処理

後段の酵素糖化に適した水熱処理条件を明らかにするとともに、新しいリン酸水熱処理を開発しました。イオン交換樹脂によるリン酸の回収も確認しています。

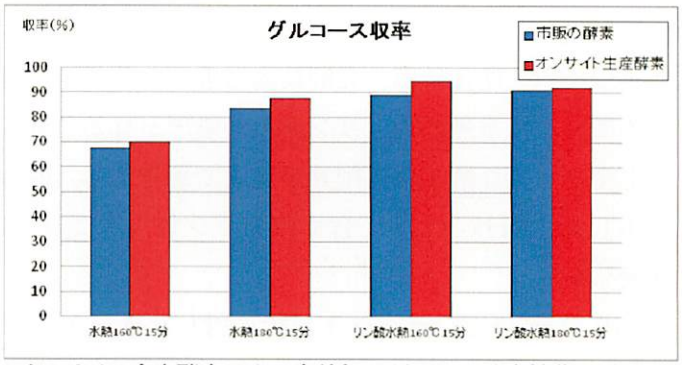


リン酸水熱—酵素糖化における酵素添加量と糖収率の関係

2. 酵素糖化



稲わらを炭素源とした酵素生産



オンサイト生産酵素による水熱処理稲わらの酵素糖化試験結果

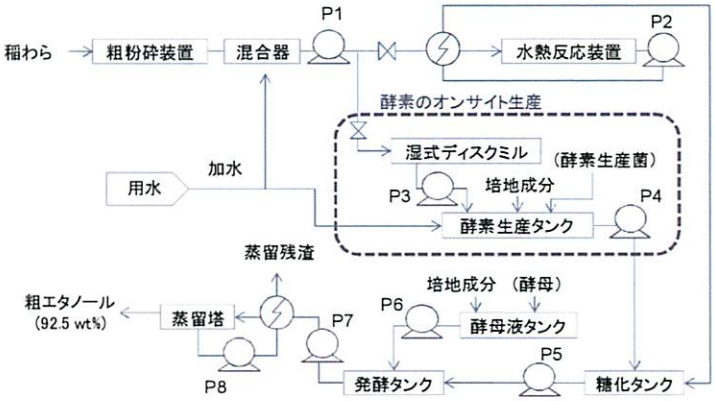
稲わら自身を炭素源としてセルラーゼ酵素の生産を行うとともに、実際にオンサイトで生産した酵素を用いて酵素糖化試験を行い、市販酵素と同等以上の糖化に成功しました。ヘミセルラーゼ生産株（糸状菌 KIF-125 株）の取得も行いました。

3. エタノール発酵

稲わら糖化液を高効率に発酵する酵母を育種するため、有望な実用酵母の 1 倍体にキシロース代謝遺伝子を導入後、交配を行い、グルコースおよびキシロースを含む培地で発酵収率 85% を超える株を得ました。

4. 経済性解析

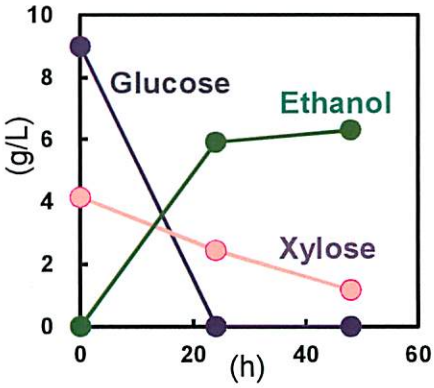
水熱前処理、オンサイト酵素生産、酵素糖化、エタノール発酵を組み込んだプロセスのプロセス設計、コスト計算を行い、140 円 /L 程度と試算されました。今後は、さらなる酵素生産性の向上、高濃度処理が必要で、110 円程度まで下げられる見込です。



酵素オンサイト生産を組み込んだプロセスフロー図

5. ベンチプラントによる運転実証

2,000L 発酵タンク



市販酵素―遺伝子組み換え酵母による糖化発酵試験結果

ベンチプラント（規模：0.2 トン原料／バッチ）を用いた検討により、酵素生産および六炭糖発酵はラボスケールと同等以上の酵素生産性、エタノール収率を達成しました。C6C5 同時発酵も確認しました。

詳細情報；文献、特許

1) 吉村忠久, et al. (2011). 日本エネルギー学会誌 90 (3)：268.
2) A Hideno, et al. (2011). Enzyme and Micrlbial Technology 48: 162-168.
3) 秀野晃大, et al. (2008). 特願 2008-193301.

■ (独) 産業技術総合研究所 バイオマス研究センター
美濃輪智朗
■ B020 稲わら水熱・酵素糖化・エタノール発酵基盤技術研究開発
坂西欣也、澤山茂樹、矢野伸一、滝村　修、井上宏之、松鹿昭則、塚原建一郎、藤井達也、遠藤貴士
井上誠一、美濃輪智朗、藤本真司（産総研、バイオマス RC）
■ TEL：082-420-8296　■ E-mail：minowa.tom@aist.go.jp