B2チーム：アルカリ蒸解・酵素糖化法による木質バイオエタノール生産技術

大原誠資、陣川雅樹、眞柄謙吾、野尻昌信、下川知子

独立行政法人　森林総合研究所

1．はじめに

森林の重要な機能の一つに木材生産がある。木材を住宅・建築物等に使用すれば、そこに炭素を貯蔵することができる。木材から住宅・建築用部材を製造する過程では、木材としては使えない間伐材、端材、枝葉、樹皮等の木質バイオマスが多量に発生する。現在の木質バイオマスの発生量は、林地残材が約2,000万m^3、製材工場等残材が1,070万m^3、建設発生木材1,180万m^3と推計されている。これらの木質バイオマスをエネルギーとして有効利用すれば、地球温暖化軽減に大きく貢献する。

木材は主に、セルロース、ヘミセルロース及びリグニンの3成分から構成されている。木質バイオマスを原料として酵素法でバイオエタノールを生産する場合、リグニンを除去する前処理技術が重要なポイントになる。そこで本プロジェクトでは、スギ材を原料としたアルカリ蒸解・酵素糖化法によるバイオエタノール生産技術を開発した。

2．開発技術の特質と実施課題

開発技術の特質としては次の5点が挙げられる。①日本で最も資源量の多いスギ材を原料としたこと、②現在、ほとんど未利用の状況である林地残材の輸送コスト低減に取り組んだこと、③アルカリ蒸解工程に酸素漂白工程を導入したこと、④固体培養による低コスト酵素生産技術を開発したこと、⑤トリコデルマとアスペルギルスの培養液を混合して糖化効率を最適化したこと。

以下、下記の実施課題について技術紹介する。①木質バイオマスを効率的に輸送保管する技術の開発、②スギ材を原料としたバイオエタノール生産のための前処理技術の開発、③セルラーゼ生産菌培養液を用いたバイオエタノール生産技術の開発

3．林地残材輸送コスト低減のための減容化技術の開発

林地残材の輸送コスト低減のためには、かさ張るバイオマスを減容化して輸送トラックへの積載量を増加させることが必要である。トラック荷台に簡易に装着可能な圧縮装置を開発し、森林伐採現場での現地試験を行った結果、積載重量は、枝葉のみでは約30%、枝葉と端材の混合状態では約10%向上させることができた。

林地残材のトラック輸送コストは道路の幅員と走行速度、バイオマスの種類（枝葉、端材）、トラックの荷台サイズ（2t車、4t車、10t車）によって異なる。秋田県北秋田市のバイオエタノールプラントに枝条を4tトラックを使用して目標値（1,800円/m^3）以下で輸送できる範囲は、圧縮装置を導入することで約8倍に広がることが示された。

4．アルカリ蒸解前処理法の開発と酸素漂白の導入

木質バイオマスからエタノールを生産する技術としては、これまでに主に3つの方法（硫酸法、亜臨界水法、蒸煮爆砕法）が開発されている。硫酸法は世界的に先行して行われてきた方法だが、反応容器

の耐酸性、硫酸の回収に多くのエネルギーを必要とする等の短所がある。また、残渣として得られるリグニンが高付加価値マテリアル利用が困難な物質に変性しているなど、問題点も多く指摘された。亜臨界水法は環境に易しい高速糖化法であるが、工程でのエネルギー消費量が高いことが欠点である。蒸煮爆砕法はシラカバ、アカシア等の広葉樹材には有効だが、スギ等の針葉樹材では充分な糖化率が得られない。

以上の欠点を克服し、スギ材にも適用可能な前処理法としてアルカリ蒸解法（図1）を開発した。アルカリ蒸解法は既に紙パルプ製造工程で実施されている方法であり、排液（黒液）を回収・濃縮・燃焼してプロセスのエネルギーとして使用すること、アルカリ薬剤の回収・再利用が可能である。また、黒液中のリグニンから高付加価値マテリアル素材を製造することが可能である（Ⅳ系との連携）。

スギチップをNaOH水溶液とアントラキノン（対チップ0.1％）を加えて蒸解した後に、酸素ガスで残留リグニン量を3％以下に落とすことにより、糖化工程での酵素使用量を削減できる。

現状での最適条件は活性アルカリ20％、4段酸素漂白であり、蒸解工程での変換コストは17.4円/Lエタノールである。

図1　アルカリ蒸解法試験機

5．セルラーゼ生産菌培養液によるスギ漂白パルプの酵素糖化

バイオエタノールを生産する工程で最も重要な点は、糖化に用いる酵素コストの低減である。固体培養の培養資材としてスギパルプ、コーンコブ、小麦ふすま、硫安を用いることで、1Lのエタノールを生産するのに必要な酵素生産資材費を5.17円に低減できた。さらに、パルプの代わりに製紙スラッジを用いることにより、3.98円までの低減化が可能である。また、β-グルコシダーゼ活性が高く、胞子生産能の低い*Aspergllus tubingensis*のUV変異株の培養液をトリコデルマ培養液に20％混合することにより、スギ漂白パルプの酵素糖化効率はさらに向上する。

バイオエタノール生産技術では、セルラーゼの使用量を減らしつつ、酵素反応効率を向上させることが必要である。上記のアルカリ蒸解・4段酸素漂白で得られたパルプ（基質濃度3％）をトリコデルマとアスペルギルスの混合固体培養液を用いて糖化を行うと、5mgタンパク質/g-パルプの酵素添加量でC6糖当たりの糖化と発酵を併せた収率が93.4％であり、エタノール収率0.21L/kgチップを達成した（図2）。

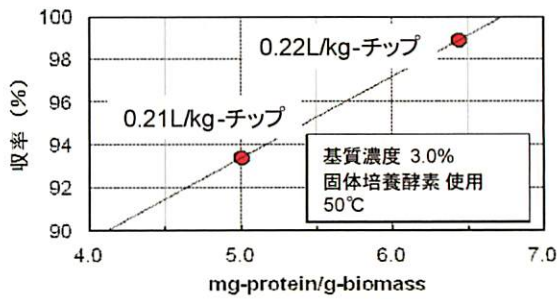


図2　酵素添加量と糖化・発酵収率

以上の結果から、原料運搬からエタノール生産までのコストは108円/Lエタノールと試算された。

6．残された課題

バイオエタノール製造コスト100円/Lを実現するためには、次のような課題が残されている。①簡易圧縮装置の荷締作業の自動化による省力化、②漂白と酵素糖化率の関係の詳細な知見を得るためのバイオマスミクロ構造の解明、③酵素生産資材の更なる見直しによるコスト削減、④固定化酵母を使った連続発酵技術による酵母利用率の改善。

アルカリ蒸解・酵素糖化法による木質バイオエタノール生産技術

本プロジェクトでは、スギ材を原料として酵素法でバイオエタノールを効率的に生産することを目的とし、林地残材の積載量を増大させるための簡易圧縮装置、アルカリ蒸解・酸素漂白前処理技術、及び固体培養による酵素のオンサイト生産技術を開発しました。

これらの技術開発により、スギ材からバイオエタノールを収率 0.21L/kg、製造コスト 108 円 /L で生産できることを明らかにしました。

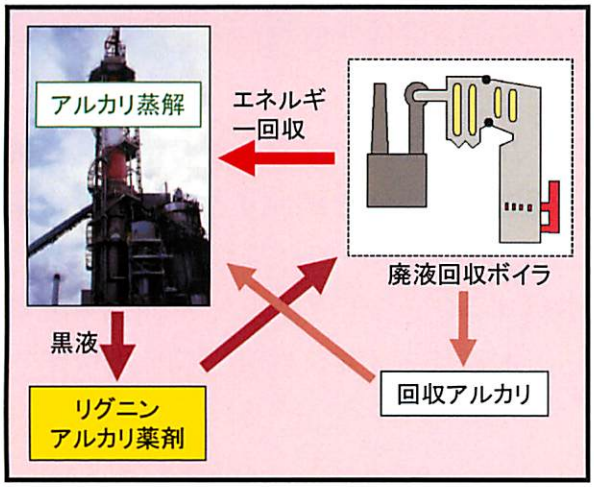
1. 簡易圧縮装置の開発

トラックの荷台に簡易に装着することができる簡易圧縮装置を開発しました。現地試験の結果、積載重量は枝葉のみでは約 30%、枝葉と端材の混合状態では約 10% 向上しました。

林地残材

林地残伐

2. アルカリ蒸解でスギ材からリグニンを除去する



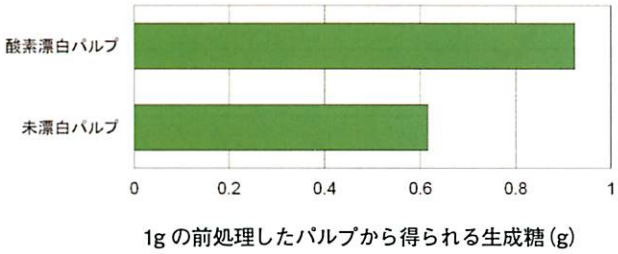
アルカリ蒸解によるエネルギーと薬剤回収プロセス

スギ材はセルロース 50%、ヘミセルロース 17%、リグニン 31% で構成されています。スギ材中のリグニンを水酸化ナトリウム水溶液中で加熱することによって除去し、パルプを製造します。排出された黒液を燃焼してエネルギーとして使用するとともに、アルカリ薬剤の回収も行います。

3. オンサイト生産酵素を用いたエタノール生産

トリコデルマ及びアスペルギルス変異株を固体培養することで、培地資材費 5.17 円で高活性な糖化酵素を生産することが可能になりました。また、アスペルギルス培養液を 20% 混合することで糖化効率がさらに向上しました。

アルカリ蒸解したパルプに酸素漂白処理を導入することにより、タンパク質換算 5mg の酵素使用量でパルプの酵素糖化性が大きく向上しました。また、糖化残渣が大幅に減少しました。



酸素漂白処理による酵素糖化性の向上

パルプの一部を用いて酵素をオンサイト生産

■ (独) 森林総合研究所
大原誠資 (研究コーディネータ)
■ B2 チーム 木質バイオマス変換総合技術の開発
■ TEL：029-829-8211
■ E-mail：oharas@ffpri.affrc.go.jp

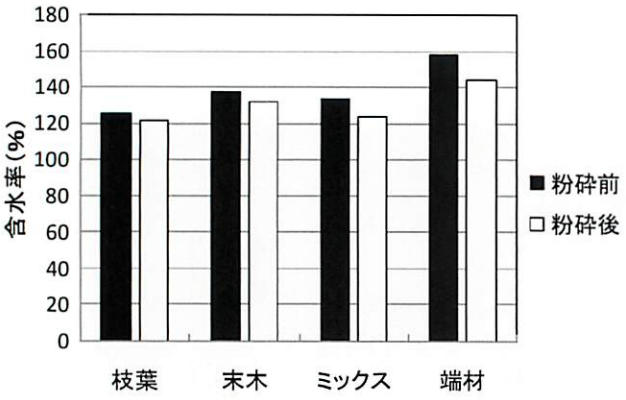
木質バイオマスを効率的に輸送保管するための新しい技術の開発

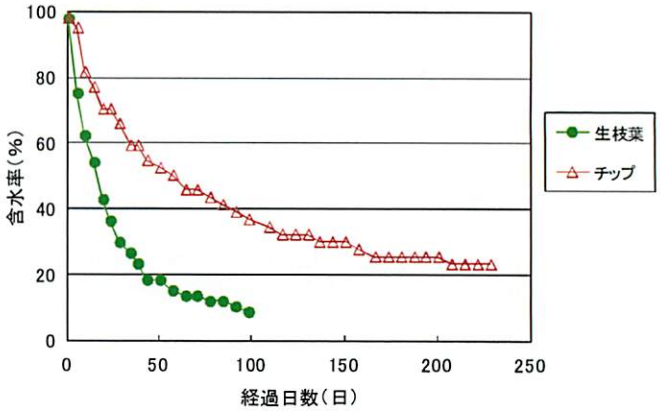
木質バイオマスを低コスト・安定供給するためには、かさ張るバイオマスを減容化して積載量を増加させること、輸送コストを解明し効率的に輸送する手法を開発すること、含水率を上手に調整することが必要であり、これらを適切に組み合わせなければなりません。

そこで、木質バイオマスを 1,800 円 /m^3 以下で供給することを目的として、含水率調整手法、簡易圧縮装置、輸送コスト試算ツールを開発し、木質バイオマスを低コストで供給できる方法を明らかにしました。

1. 含水率調整手法

破砕前後で含水率は 5 ～ 10% 低下すること、生枝葉とチップでは自然乾燥による乾燥速度が違うことを利用し、乾燥日数を 10% 以上短縮することができます。





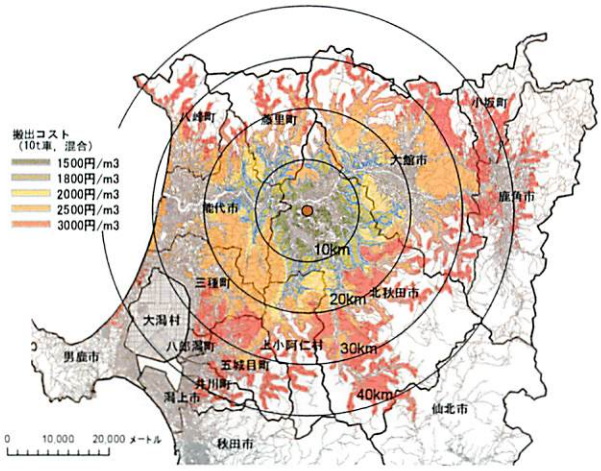
2. 簡易圧縮装置の開発

積載重量を 25% 向上させることを目的に、トラック荷台に簡易に装着することができる圧縮装置を開発しました。現地試験の結果、積載重量は、枝葉のみでは約 30%、枝葉と端材の混合状態では約 10% 向上しました。

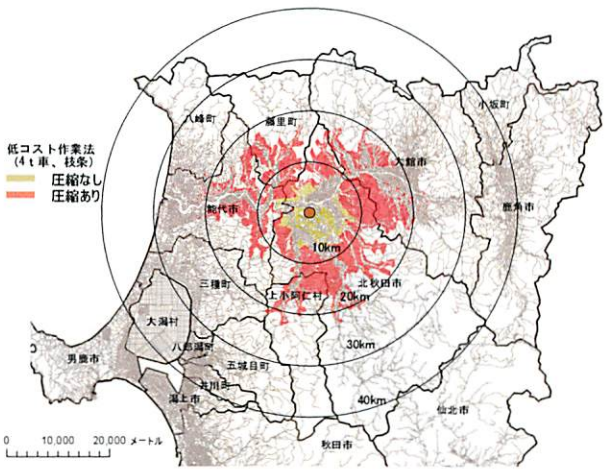
簡易圧縮装置

現場における積載試験

3. 輸送コスト試算ツールの GIS への適用



トラック輸送コストマップ
（10 トントラックに枝葉と端材を混載した場合）



圧縮装置の有無による低コスト輸送範囲
（1,800 円 /m^3 以下）
（4 トントラックに枝葉を積載した場合）

道路の規格、走行速度、トラックの種類、積載するバイオマスの種類などを条件として、輸送コストを試算可能なツールを開発し、これを GIS に適用することによって、輸送コストを地図上に図示することが可能となりました。

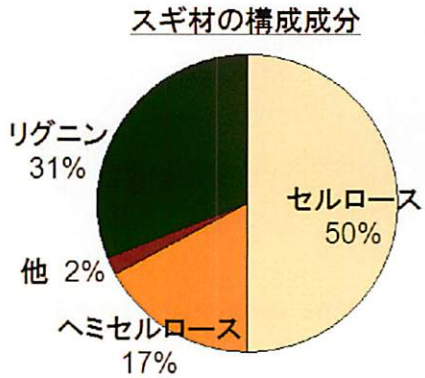
例えば、1,800 円 /m^3 以下で供給できる範囲・面積は、圧縮装置を使うことによって拡大することができます。

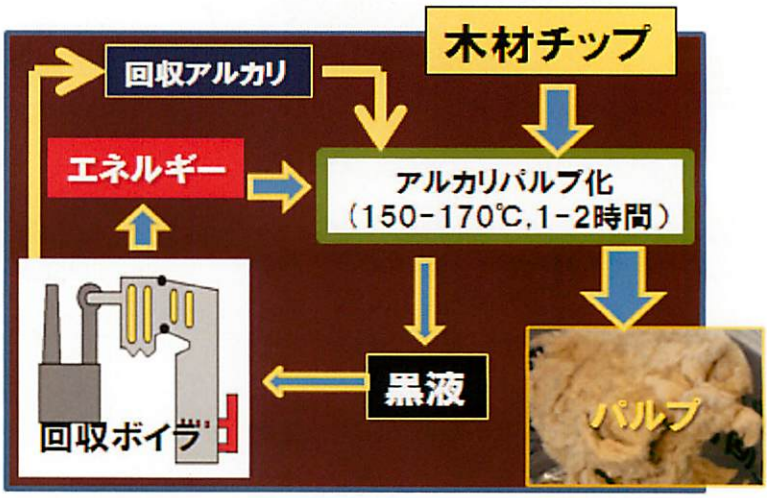
■（独）森林総合研究所
陣川雅樹、吉田智佳史（林業工学研究領域）、伊神裕司（加工技術研究領域）
■ B030 木質バイオマスの効率的輸送保管のための減容化技術の開発
■ TEL：029-829-8284　■ E-mail：jin@ffpri.affrc.go.jp

スギ材を原料にしたバイオエタノール生産のための前処理技術の開発

スギを原料にして酵素法でバイオエタノールを生産する場合、スギに含まれるリグニンを除く前処理技術の開発が大きなポイントになります。本課題では、紙の原料であるパルプを製造する技術を応用し、少量のアントラキノンという化合物を添加した水酸化ナトリウム水溶液でスギ材中のリグニンを取り除き、スギに含まれる糖分を効率良く酵素で糖化する技術を開発しました。

1. 水酸化ナトリウムで木材からリグニンを除く

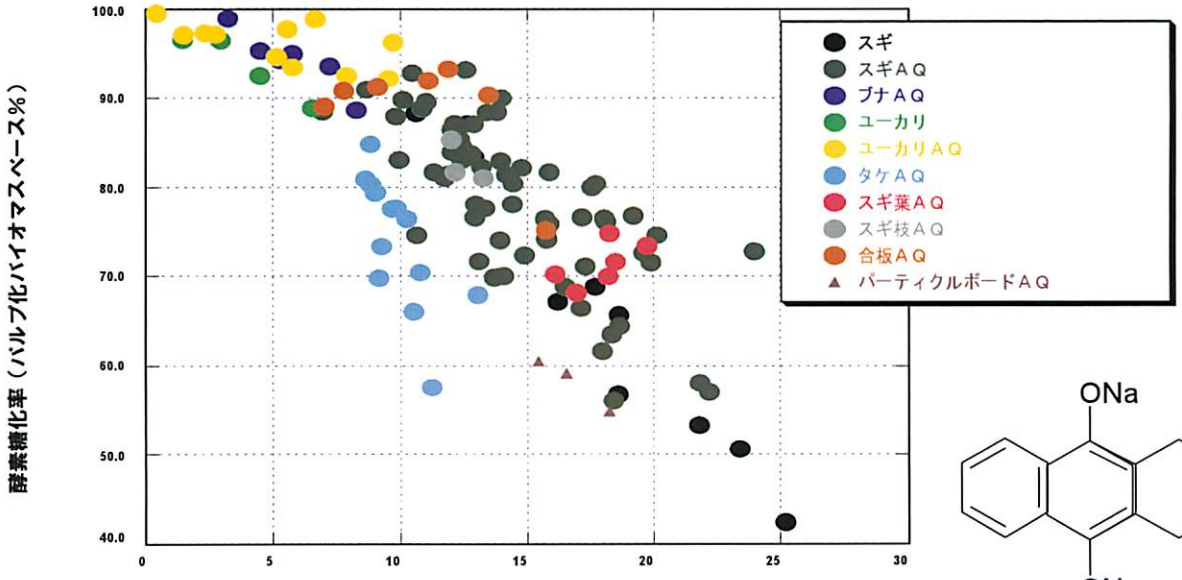




木材中のリグニンを取り除いてパルプ化するプロセス

製紙工場では、水酸化ナトリウムと硫化ナトリウムを用いて木材中のリグニンを取り除きパルプという紙の原料を製造します。その過程で排出される黒液というリグニンの混じった排液をボイラーで燃焼させ、プロセスのエネルギーとして使用し、同時にアルカリ薬剤の回収を行っています。この方法を応用すれば、外部からのエネルギーを必要としない効率的なリグニンの除去が可能となります。

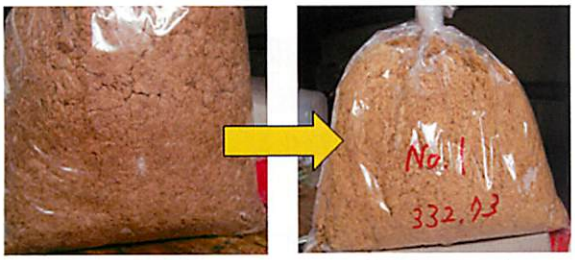
2. イオウを使わずにリグニンを取り除く



パルプ中の残留リグニン（パルプ化バイオマスベース%）

パルプ残留リグニン量と酵素糖化率の関係

アントラキノン化合物



漂白前　漂白後

スギパルプの酸素漂白結果
アルカリ蒸解しただけのスギパルプを酸素漂白するとパルプの色が薄くなっています。

製紙工場では、リグニン除去を促進するため、硫化ナトリウムという悪臭の原因になるイオウ化合物を使います。本プロセスではイオウの代わりにアントラキノンという触媒を使用し、悪臭を発生させることなくパルプ中のリグニンを 10% 以下に落とすことにより、スギを始めとする木材の酵素による糖化を可能としました。

パルプ化した後さらに酸素ガスでリグニンを分解して 3% 以下に落とすと、酵素の使用量を削減できることもわかりました。

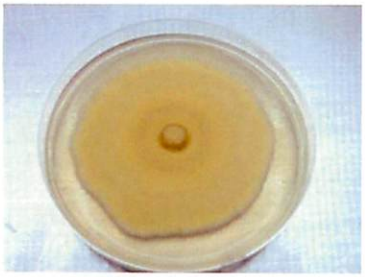
詳細情報；紙パルプ技術協会誌 63 (5)：95-101 (2009)
紙パルプ技術協会誌 61 (9)：62-67 (2007)

■ (独) 森林総合研究所
真柄謙吾（バイオマス化学研究領域 木材化学研究室）
■ B050 低コストアルカリ処理による木質系バイオマスの酵素糖化前処理法の開発
眞柄謙吾、池田　努
■ TEL：029-829-8272
■ E-mail：pacusi@ffpri.affrc.go.jp

セルラーゼ生産菌培養液を用いたバイオエタノール生産技術の開発

木質バイオマスからのバイオエタノール生産を実用化するためには、コストの大幅な削減が必須の課題となっています。糖化酵素の低コスト生産技術や酵素使用量を抑制してもエタノール収率が確保できる糖化技術を開発することによって、酵素コスト 15.6 円 / ℓ エタノール、エタノール収率 0.21 ℓ /kg バイオマスを達成しました。

1. 低コスト酵素生産技術



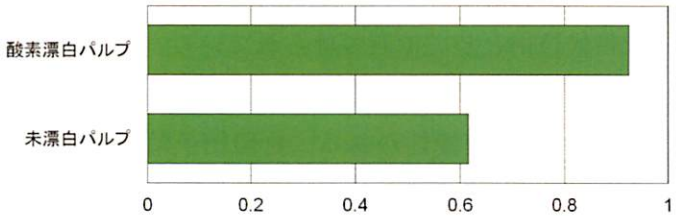
木質バイオマスの糖化に相乗的に作用する酵素生産に優れた *Aspergillus tubingensis* 変異株 (KRCF700-33Y)

木質バイオマスの糖化には数種の糖化酵素が作用しています。主要なセルラーゼの他にβ - グルコシダーゼなどの相乗効果酵素も糖化効率の向上には必要です。そこで森林総合研究所所有の菌株から相乗効果の高い酵素を生産している菌株を選抜し、さらに UV 光により変異させた高生産アスペルギルス変異株を得ました。また固体培養の培養資材の見直しにより、高活性な糖化酵素を低コストで生産することが可能になりました。

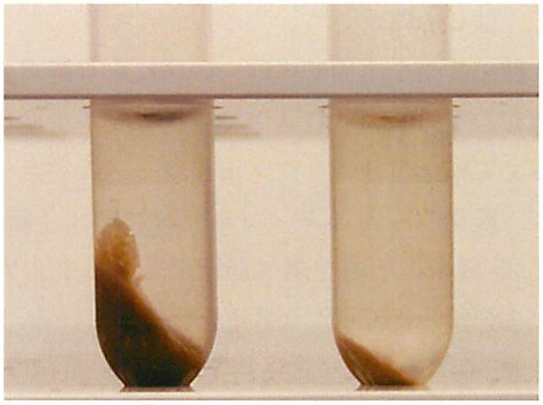
また、トリコデルマ培養液（セルラーゼが主成分）とアスペルギルス培養液の混合比率を木質バイオマスの糖化に最適化することで酵素糖化効率が、さらに向上しました。

2. タンパク質換算 5mg の酵素で 1g のバイオマスを処理しても十分なエタノールを生産する技術

糖化酵素は木質バイオマスに吸着し、不活化してしまうため、これまでは十分な糖化率を得るために、必要量以上の酵素を投入していました。そこで木質バイオマスの前処理法を改良（B050 課題）することにより、不活化する酵素吸着量が減り、タンパク質換算で 5mg の酵素使用でも 1g の前処理物から 0.9g 以上の糖を生産できるようになりました。また、収率が向上したことにより、糖化できなかった残渣の量も大幅に減少し、残渣を分離除去する工程も簡略化できることが確認されました。



酸素漂白処理による酵素糖化性の向上



酸素漂白処理による糖化残渣の減少
(左) 未漂白パルプ、(右) 酸素漂白パルプ

特許
特許 4756476 号 エタノールの製造方法 (H18.10.16 出願)
特開 2010-136702 エタノールの製造方法 (H20.12.15 出願)
特願 2010-050596 リグニン系酵素安定化剤 (H22.3.8 出願)

■ (独) 森林総合研究所
野尻昌信 (微生物工学研究室)
■ B080 セルラーゼ生産菌培養液を用いたバイオエタノール生産技術の開発
野尻昌信、林　徳子、澁谷　源、下川知子 (微生物工学研究室)
眞柄謙吾、池田　努 (木材化学研究室)
■ TEL：029-829-8281　■ E-mail：nojiri@affrc.go.jp