[Review Paper]

Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass Requiring No Sulfuric Acid: Mechanochemical Pretreatment and Enzymic Saccharification

Shinji FUJIMOTO, Hiroyuki INOUE, Shinichi YANO, Tsuyoshi SAKAKI, Tomoaki MINOWA*,
Takashi ENDO, Shigeki SAWAYAMA, and Kinya SAKANISHI

Biomass Technology Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,
2-2-2 Hirosuehiro, Kure, Hiroshima 737-0197, JAPAN

(Received December 17, 2007)

Bioethanol has become an important product recently. Manufacture depends on sugar or starch, but such processes conflict with the requirements for food supply. Lignocellulose has high potential as feedstock for bioethanol, and has been the focus of much research and development. Sulfuric acid is generally used for saccharification or pretreatment of lignocellulose, but we have developed a saccharification process not requiring sulfuric acid, which is more environment friendly, combining mechanochemical pretreatment and enzymatic saccharification processes. We studied the process design, and presented the technical and economical portfolio. Based on this portfolio, we developed low energy mechanochemical treatment and low cost saccharification processes. The commercialization of our system is expected to begin soon.

Keywords

Lignocellulosic biomass, Bioethanol, Mechanochemical pretreatment, Enzymatic saccharification, Hydrothermal treatment, Process design

1. はじめに^{1),2)}

最近、原油価格の高騰と地球温暖化対策の要因から、燃料エタノールやバイオディーゼル燃料（BDF）などの液体バイオ燃料への関心と需要が世界的に高まっている。特に、燃料エタノールは米国とブラジルで既に大量に生産、消費されているほか、中国、インド、タイなどでも急速に使用量が増加している。わが国でも2003年の法改正で3%までのエタノールをガソリンへ混合することが認められ、エタノール生産と併せたE3（エタノール3%混合ガソリン）使用の実証事業が複数実施されており、また2007年にはエタノールを原料としたオクタン価向上剤であるエチルターシャリーブチルエーテル（ETBE）を添加したガソリンの販売が首都圏で開始されている。

現在の燃料エタノールの原料は、サトウキビ等からの糖液またはトウモロコシ、キャッサバ等のデンプンである。これらの利用は農作物の新たな需要の開拓にもなり、農業政策としても重要である。しかし、本来食用や飼料用のために栽培されていたこれらの作物が燃料用にも使用されることで、資源の不足と価格騰貴の問題が起ることが従来から懸念されてきたが、最近それが現実のものになりつつある。特に、穀物価格は2007年には世界的に上昇し、日本でも多くの食品が値上げされた原因になった。中国やインドなどの人口が多い国で食料需要が増えていること、世界的な株安傾向で投資マネーが穀物に向かっ

たこと等いくつか要因があると考えられるが、燃料エタノール用の需要が増えたこともその一つであることは確かであろう。このため中国では新規の燃料エタノール工場では穀物を原料にすることを禁止するに至った。

このような問題が存在するため、燃料エタノールの原料として食用と競合しない農産廃棄物や木質系などの資源を利用することが期待されている。これらはセルロース、ヘミセルロース、リグニンの3成分を主要な構成要素としているため、リグノセルロース系バイオマスと総称されるが、これらを原料とする燃料は第2世代バイオエタノールと呼ばれ、食用資源を原料とする第1世代バイオエタノールとは区別して考えられている¹⁾。

糖やデンプンからのエタノール生産は基本的に酒造と同じであるので、第1世代バイオエタノールの製造は技術的には容易である。しかし第2世代バイオエタノールの生産は、現時点では多くの技術的課題を抱えており、また製造工程も複雑である。特に、リグノセルロース系バイオマスの主成分であるセルロースは構造が強く、同じグルコースのポリマーであるデンプンと比べてもはるかに分解が難しい。そのため、セルロースをいかに効率良く（もちろん低コストで）分解するかが、研究開発の最大のポイントとなる。

セルロースの分解には硫酸等の酸を使用する方法と酵素による方法があり、現時点では酸分解法の方がコスト面で有利であると考えられている。しかし酸分解法には、糖の過分解による収率低下と発酵阻害物質の生成、耐酸性材料使用の必要性、廃酸の処理等の問題が存在し、これらは酸を使用する以上避けられない本質的な問題であるので、今後大幅にコストを削減する

* To whom correspondence should be addressed.

* E-mail: minowa.tom@aist.go.jp

ことは困難であると考えられている。一方、酵素法は、現状では酵素コストが高いので不利であるが、今後の研究開発により酵素コストが劇的に下がる可能性があり、酸を使う方法に比べて環境調和型でもあることから、研究開発においては世界的に酵素糖化法が主流になっている。ただ、酵素を木質等に直接加えても、セルロースはリグニンとヘミセルロースによって保護されているので、ほとんど反応しない。そのためこの保護を外して酵素反応を受けやすくするために何らかの前処理が不可欠である。この前処理に酸を使用する方法もあるが、上述した酸使用に伴う問題が発生する可能性が大きい²⁾。

産業技術総合研究所バイオマス研究センターでは上記の観点から、酸を使用しないリグノセルロース系バイオマスからのエタノール生産システムの研究開発を行っているので、その技術内容について解説する。

2. プロセスシミュレーションによる開発指針の検討^{3),4)}

プロセスの開発を行う上で、実験的な要素技術開発は重要であるが、そのみではその開発がプロセス全体でどのように効率を向上させるのか、あるいは経済性にどのように影響を及ぼすのか全体像が見えづらい。プロセスシミュレーションは、そのプロセスの生産性、経済性、環境性等について事前に評価、検討を行うことができるため、実験的な要素技術開発とプロセスシミュレーションを組み合わせることで、より効率的にプロセス開発を行うことができる。

我々の研究センターでは、BTL (Biomass To Liquid) /ETBE 液体燃料製造トータルシステムを提案している。本システムは、粗粉碎、水熱処理およびメカノケミカル処理による前処理、酵素糖化、エタノール発酵、ETBE 合成反応からなる ETBE 製造プロセスと、これらの工程から排出される残さを原料とした水蒸気ガス化、合成ガス精製、Fischer-Tropsch (FT) 合成反応、水素化分解からなる BTL プロセスが組み合わされたシステムである。より効率的な開発を目的として、本システムに対してプロセス設計およびプロセスシミュレーションを行い、本システムの将来性や技術開発の指針について検討した。

2.1. プロセスシミュレーション

プロセスシミュレーションには市販の定常状態プロセスシミュレーター PRO/II (インペンス・シムサイ(株)) と Microsoft Office Excel (マイクロソフト(株)) を用いた。

本システムの基本フローを Fig. 1 のように構築した。木材は左上から投入されて前処理、糖化、発酵、蒸留と右下に流れてエタノールとなり (成分分離・エタノール製造プロセス)、エタノールはさらに ETBE 製造プロセスで製品 ETBE となる。これらの工程からの残さは BTL 製造プロセスで製品 BTL となる。さらに、本プロセスシミュレーションでは、BTL/ETBE 液体燃料製造システムに発電、熱利用を組み合わせ、外部からの電力や熱供給を必要としない完全自立型システムとした。シミュレーションに必要なデータとしては、木材組成データ、システム構成成分の熱力学データ、コストデータ、実験データがある。木材組成は、リグニン、セルロース、ヘミセルロースおよび灰分を 27%、50%、20%、3% とし、平均分子構造モデルを $C_{3.8}H_{5.9}O_{2.9}$ とした。

燃焼熱、標準生成熱、比熱、蒸気圧といったシステム構成成

分の熱力学データは、基本的には PRO/II のデータ (シムサイデータベース) を用い、多成分系については NRTL (Non Random Two Liquid) モデルを用いた。一方、バイオマスに関連する物質 (木材、灰分、リグニン、セルロース、ヘミセルロース、五炭糖、六炭糖等) のデータは十分ではないため、これらのデータについては、実測データを収集し、推算式の形でまとめた。一例を Fig. 2 に示す。

コストデータについては、主要構成機器のコスト、システム構成成分の価格、プラントコストインデックス (建設工事費、配管費用、計装費用の推算方法) 等を文献調査し、さらに外注分析によるクロスチェックを行った。それぞれの主要構成機器について、機器サイズを因子とした価格推算式の形でまとめた。一例として、Fig. 3 に熱交換器の価格データを示す。

変換プロセスデータについては、トータルシステムを構成する要素プロセスである成分分離 (水熱処理、メカノケミカル処理)、バイオ変換 (酵素糖化、エタノール発酵)、熱化学変換 (ガス化、燃焼、発電、触媒合成) のデータを、文献および実験を通じて収集し整理した。

2.2. 基本ケースの経済性シミュレーション

基本ケースとして、国内の最大規模製材所から排出される製材残材量に相当する 495 t/d の木材処理量を想定し、プロセスシミュレーションを行った。この規模に相当するプラントの主要機器のサイズをプロセスシミュレーションにより得られた物質収支データから求めた。さらに、価格推算式を用いて主要機器費を求めると、総計 88.7 億円となった。計装、建物、配管等で構成される固定費総額 (投資総額) は文献および最近の動向を考慮した経験則から主要機器費の 3 倍として 267 億円となった。

運転経費は、直接運転費 [人件費 (800 万円/人・年×12 人)、保守費 (固定費の 1%)、試験および検査費 (プラント運転費の 20%)、固定資産税 (固定費の 1.5%)、保険費 (固定費の 0.4%)、一般管理費 (直接運転費の 25%) とした。

年間稼働日数 300 日で製品は完売するという前提において求めた製品の生産量と売上を Table 1 に示す。

単純投資回収年を次式のように定義し、バイオマス調達費 (原料費) を変動因子として、単純投資回収年へのその影響を調べた (Fig. 4)。

$$\text{単年度回収費} = \text{売上高} - [\text{原料費} + \text{運転経費}]$$

$$\text{単純投資回収年} = \text{投資総額} / \text{単年度回収費}$$

その結果、原料価格の増加に伴い、単純投資回収年も増加するが、製材残材クラスの 9 千円/t 程度の原料費で投資回収年は 11 年程度となることから、本システムの実現の可能性は低いものと考えられる。

2.3. 開発指針の検討

基本ケースのプロセスシミュレーション結果をベースとして各要素技術に対して感度解析を行い、バイオ液体燃料の低コスト化の観点から要素技術開発の指針を検討した。はじめに技術評価 (物質収支およびエネルギー収支の改善程度) およびコスト評価 (固定費、運転費の改善程度) を行った。また、その技術評価においてはヒアリング等も行った。その結果をポートフォリオの表としてまとめた (Table 2)。表では、右にあるものほど経済性の感度が高く (E と表現)、技術的にも難易度が

Fig. 1 System Flow of BTL/ETBE Process⁴⁾

高い(Tと表現)。経済性への感度は、前処理では粉碎エネルギーと酵素価格が高いことが分かった。粉碎エネルギーに関しては、より高効率な粉碎方法やより低エネルギーでのセルロースの高活性化方法の開発が必要となり、本要素を集中して検討するべきであることが分かった。酵素に関しては、酵素生産コストを低下させる技術の開発が求められる。

また、エタノール発酵および ETBE 製造では五炭糖の発酵と ETBE 製造の経済性の感度が高いことが示された。五炭糖の発酵性能の向上はそのままエタノール収量の向上につながる。しかしながら、発酵速度が小さく発酵時間が増加すると、機器サイズ、すなわち機器費が向上する。このため五炭糖の高速発酵が重要となる。また、ETBE 製造も経済性の感度への影響が大きいものの、既存の技術を応用できるため研究要素が少ないも

のと思われる。

BTLではFT合成用の触媒が経済性に大きく影響する。より安価な触媒の開発、リサイクルによる再利用の検討等が本システムの実用化に向けた研究課題となる。

3. 粉碎技術による酵素糖化前処理

3.1. 前処理方法の課題

木質の主要な構成成分はセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンである。バイオエタノールを製造するためには、セルロースやヘミセルロースをその構成糖に加水分解（糖化）して発酵する必要がある。加水分解方法として最も一般的なのは酸加水分解であるが、酸の回収コストや糖収率、発酵阻害、環境負荷等が課題とされている。一方、酵素糖化法は低環境負荷で

Fig. 2 Enthalpy of the Solid Process Configuration Component⁴⁾

Fig. 3 Relationship between Heating Surface Area and Cost of Heat Exchanger

高収率・高効率が期待される方法であるが、木質の前処理が極めて重要である。木質においてセルロース成分が最も安定であるが、その理由はセルロース分子の規則正しい自己集合による幅数 nm のセルロースマイクロフィブリル（結晶性）の形成と、このマイクロフィブリルがさらに層状に積層して強固な木質組織を形成しているためである。

酵素糖化のための前処理方法としては、蒸煮処理、爆砕処理、粉砕処理などが知られている。蒸煮処理は、高温・高圧の蒸気処理で、紙・パルプ分野では化学薬品処理との併用した基盤技術となっている。爆砕処理は、高温・高圧蒸気で処理した後、一気に大気圧に開放して、木質を繊維状にする方法である。蒸煮や爆砕処理は、樹種への依存が知られており、すべてのバイオマスには対応できない場合もある。粉砕処理は、単純な機械的処理で樹種依存も低く糖化性は容易に向上させやすいが、多くの電力を必要としコスト高になる課題がある。

3.2. メカノケミカル処理と酵素糖化性

粉砕処理では、単純に物理的に細くなる以上に、分子レベルでの変化も起こる。このような粉砕エネルギーによって化学反応を起こす方法はメカノケミカル処理と呼ばれている。我々は化学反応として水素結合等の弱い結合の形成や切断までを広

Table 1 Estimated Annual Sales

Manufactured goods	output	unit price	sales
	t/d	¥/kg	million ¥/yr
ETBE	121.1	100	3,634
FT diesel	58	80	1,391
Combustible gas	72.1	15	325
Total			5,350

Fig. 4 Simple Payback Year of the Woody Biomass Utilization Process⁴⁾

く含めてメカノケミカル処理ととらえている⁵⁾。

木材を粉砕すると酵素分解性が向上することは以前より知られている⁶⁾。条件を適切に選べば10 μm 以下の微粒子も製造が可能である⁷⁾が、粒径と酵素糖化性が相関しない場合がある。そこで、粉砕処理で酵素分解性が向上する機構を明らかにする目的で、粉砕処理木粉の特性と酵素糖化性の関連について調べた。

実験用試料としては製紙用ユーカリチップおよび米松チップをカッターミルにより0.2 mm 程度に粗粉砕した木粉を用いた。メカノケミカル処理は遊星型ボールミルにより行った。

原料木粉をボールミル粉砕した場合の生成木粉の粒径の変化を明らかにするために、生成物を水に分散させ、レーザー回折式粒度分布計でフローセルを用いて粒度分布を測定した（Fig. 5）。その結果、粉砕とともに粉砕生成物の粒径は次第に小さくなっていったが、粉砕時間が1時間以上になると生成粒子の粒度分布はほぼ同一（平均粒径約20 μm）となり、長時間粉砕しても微粒子は生成しないことが分かった。これは、走査型電子顕微鏡（SEM）観察などから粉砕中に生成した1次粒子の再凝集が起こっているためと考えられる。この再凝集力は強く、水や緩衝液中で超音波照射しても容易には微粒子に分散できなかった。

次に、ユーカリからの粉砕生成物を酢酸緩衝液に分散させ、酵素として市販セルラーゼを加えて45℃ で加水分解試験を行った。セルロース糖化して生成したグルコース量については、酵素法による比色定量により求めた。糖化試験の結果を Fig. 6 に示す。ユーカリでは粉砕時間が長くなるのに従ってグルコース生成量は増加した。粉砕1時間以降は粒度分布計では粒径の変化がほとんどないにもかかわらず、グルコース生成量は増加

Table 2 Portfolio for Development of Our System

Economic sensitivity (E)	Low					High
Items						
Low energy mechanochemical treatment						E, T
Low energy hydrothermal process			T		E	
Low cost enzymatic saccharification						E, T
Xylose fermentation					T	E
Glucose fermentation		E, T				
Ethanol recovery (distillation)		T		E		
ETBE production		T			E	
High yield gasification		T		E		
H ₂ /CO ratio		T		E		
Dry cleaning of gas				T		E
FT catalyst for biomass gasified gas						E, T
Technical difficulty (T)	Commercial	Bench	Lab.	Fundamental	Idea

Fig. 5 Particle Distributions of the Milled Products from Eucalyptus

したことから、粒度分布計で測定できる単純なミクロンオーダーの粒径を評価基準として酵素糖化性を推測することは困難であることが分かった。

3.3. メカノケミカル処理による木質の構造変化

木質中では、セルロース成分のみが結晶性を持っており、他のヘミセルロースやリグニンは非晶質である。従来から木質やパルプを機械的粉砕してセルロースの結晶性を低下させることが酵素糖化性の向上のために重要と言われている。そこで、粉砕試料の結晶構造の変化について粉末X線回折により調べた。比較のため、精製木材パルプ（日本製紙ケミカル、KC フロック W-100）についても同様に粉砕処理し、結晶性および糖化性について調べた。Fig. 7 に、粉砕時間によるセルロースの結晶化度と24時間後の糖化率の関係について示す。ユーカリの場合、粉砕によりセルロース成分の結晶性は急激に低下したが、グルコース生成量の増加は緩やかな曲線となった。一方、精製木材パルプの場合も、粉砕に従って結晶化度は急激に低下した

Fig. 6 Effect of Milling Time on the Saccharification of Cellulose

が、未粉砕試料（結晶化度57%）でも酵素糖化性は高く、粉砕の糖化性への寄与はわずかであった。以上の結果から、木質バイオマスの酵素糖化では、セルロース成分の結晶性が低いほど酵素糖化性は向上すると言えるが、糖化性と結晶性の相関が高くなく、精製木材パルプでは結晶性が高くても酵素糖化が進行していることから、結晶性が糖化性を支配する重要因子ではないことが示された。

粉砕では、強い圧力やせん断力によって、木質成分の分子構造が破壊されることも考えられるため、赤外分光分析および固体核磁気共鳴（NMR）分析により、分子構造の変化についても調べたが、酸化などによる基本分子構造の破壊は観測されなかった。また、木質中のリグニンの低分子化や分解の影響について調べるために、90% ジオキサン抽出を行った。その結果、ユーカリの4時間粉砕後のリグニン抽出率はわずかに3%であり、リグニンの分解や分離はほとんど起こっていないことが分かった。

次に、酵素糖化性に影響する重要因子について調べるため、木質構成成分の分子運動性の評価を行った。固体NMRでは、分子構造の解析以外に、緩和時間測定から分子運動性を調べる

(a) Eucalyptus, (b) purified pulp.

Fig. 7 Relationship between Saccharification Degree and Crystallinity of Cellulose

ことができる。Fig. 8に、固体 NMR により測定した木質構成成分の緩和時間 (T_1^H) の変化を示す。測定は試料が吸湿している状態 (約 15 wt%) で行った。その結果、粉碎時間が長くなるのに従って緩和時間は減少し、計算より求められる運動している領域の大きさは、4 時間後では 5 nm 程度となり、セルロース分子の集合体であるマイクロフィブリル程度の単位で分子運動できる状態にあることが分かった⁸⁾。

以上のことから木質の粉碎により酵素糖化性が向上する要因として、木粉の粒径やセルロースの結晶性よりはマイクロフィブリルが解かれて酵素が接近し易くなっていることが重要であることが示された。

3.4. 微細繊維化処理

前項で述べたように、固体 NMR 測定から酵素糖化性を向上させるためにはマイクロフィブリル単位での酵素との相互作用が重要であることが示された。そこで、実際に木質をマイクロフィブリルに解かす方法について検討した。原料木粉を 10~20 倍量 (重量比) の水に懸濁させて、ボールミルにより湿式メカノケミカル処理を行った。得られた褐色のクリーム状生成物の特性を分析するためには乾燥試料を得る必要があるが、微細繊維化処理は水系で行っているため、そのまま凍結乾燥等を行うと凝集が強く起こる。そのため、クリーム状生成物の水をアルコールに置換して減圧乾燥を行うことにより、凝集を抑制して水系での形態をほぼ保持したまま乾燥することができた。得られた乾燥生成物については、結晶性、形態および糖化性について評価を行った。

乾燥生成物を SEM 観察したところ、幅 100 nm 以下の微細繊維

Fig. 8 Effect of the Milling Time on ^1H Spin-lattice Relaxation Time (T_1^H)

維が生成していることが分かった。次に、X 線回折により結晶性を調べたところ、原料とほぼ同等であったことから、湿式メカノケミカル処理ではマイクロフィブリル構造があまり破壊されることなく、解かされていることが分かった。通常、セルロースの X 線回折では、マイクロフィブリル 1 本の幅の領域 (3~5 nm) しか原理的に測定できないため、結晶性の低下が見られないことは、フィブリル化がスムーズに進行していることを示している。

次に、生成物の酵素糖化性について調べた。生成物ではセルロース成分は高い結晶性を保持しているにもかかわらず、比較的高い糖化性を示した。ユーカリの場合、48 時間加水分解後の糖化率は約 40%、米松の場合では約 59% であった。

微細繊維化方法を効率化する目的で、ディスクミルによる処理方法について検討した。ディスクミルは高速で回転する電動石臼 (うす) 方式で、連続処理が可能である。原料木粉濃度 5 wt% のスラリーをディスクミルにより繰り返し粉碎し、生成物の特性および糖化性について調べた。生成物は粉碎回数とともに粘度が上昇し、生成物を乾燥後に SEM 観察したところ、ボールミルの場合と同様に微細繊維が生成していた。生成物の糖化性は処理回数が増えるに従って向上したが、5 回程度で十分であることが分かった。実験で用いたディスクミルは、ディスク径 250 mm、回転数 1800 rpm で、処理時間は原料木粉濃度 5 wt% のスラリー 10 l で、1 回約 3~5 分であった。また、3 mm パスの原料木粉からの処理も可能であった。

ディスクミルを用いた湿式メカノケミカル処理では、短時間かつ連続処理により、前処理コストを大幅に削減できる可能性がある。Fig. 9 に前処理のイメージを示す。木質に限らず植物系バイオマスからのバイオエタノール製造では、セルロース等の成分分子の性質や構造特性をマクロからナノレベルまで把握して、効率的な前処理方法を構築することが重要である。

4. 酵素糖化法の検討^{9),10)}

従来の希硫酸法は、セルロースからの糖収率が低いため、糖化酵素を用いて糖化を行う酵素糖化法が注目されている。木質バイオマスは、リグニン、セルロース、ヘミセルロースから構

Fig. 9 Proposed Mechanism for the Wet Mechanochemical Treatment of Wood

Eu, eucalyptus; Oa, Oak; Be, Beech; Jcy, Japanese cypress; Df, Douglas fir.

Fig. 10 Sugar Composition of Enzymatic Hydrolysate of Mechanochemically Treated Woods (2 h-milling)⁹⁾

成されるが、セルラーゼとヘミセルラーゼをいきなり作用させても、リグニン等の3次元ネットワーク構造が邪魔をして、加水分解はほとんど起こらない。水熱処理やメカノケミカル処理された木質バイオマスをアクレモニウムセルラーゼ(明治製菓)で処理するとグルコース等が生成する。ヘミセルラーゼ活性を補うと、全糖収率がさらに向上することが分かった。

4.1. メカノケミカル処理-酵素糖化法

Fig. 10に示すように、遊星型ボールミルによるメカノケミカル処理は、針葉樹・広葉樹とも酵素糖化性を大きく向上させる。メカノケミカル処理は水熱処理や爆砕に比べ、より多くの樹種に適用可能であることが分かった。

ユーカリではメカノケミカル処理時間に応じて、処理基質の酵素糖化におけるグルコース収率とキシロース収率が向上することが分かった。したがって、メカノケミカル処理の作用は、セルロースマイクロフィブリルの破壊よりも、むしろセルロース-ヘミセルロース-リグニンの3次元ネットワーク構造を破壊していると考えられる。遊星型ボールミル2時間処理後、40 FPU/g-前処理バイオマスの酵素量を添加することによって、グルカンの88%とキシランの79%が加水分解された。私たちは、メカノケミカル処理したユーカリがさらに少ない酵素添加量で加水分解できるのを見出ししている。ユーカリをメカノケミカル処理後、4 FPU/g-前処理バイオマスの酵素処理によってグルカンの81%とキシランの72%がグルコースとキシロースにそれぞれ分解された。これらのことは、メカノケミカル処理が酵

MC: mechanochemical milling; HCW: hot-compressed water treatment¹⁰⁾.

Fig. 11 Effect of Cellulase Loading on Glucan Digestibility of Pretreated Eucalyptus

素糖化の前処理として有用であることを示している (Fig. 11)。

4.2. 水熱処理-酵素糖化法

ユーカリを水熱処理するとヘミセルロースが可溶化し、キシロースを含む可溶性キシランとして回収される。最も高い可溶性キシランの収率は65%で、その時の処理温度は180℃であった。キシロースは180℃以上の水熱処理によりフルフラールに分解されるため、収率はそれ以上には上がらなかった。原料中のヘミセルロースが可溶化するのに伴い、水熱処理したユーカリ残さの酵素処理によるグルコース収率は向上した。グルコース収率からの最適処理条件は200℃、30分で、77%のグルカンが40 FPU/g-前処理バイオマスの酵素処理でグルコースに加水分解された。この条件でのキシロース収率はとても低く、21%であった。セルラーゼの添加量を4 FPU/g-前処理バイオマスにすると、グルコース収率は38%に低下した。水熱処理では、メカノケミカル処理の5倍にあたる20 FPU/g-前処理バイオマスの酵素量が必要であった (Fig. 11)。

4.3. 水熱-メカノケミカル処理-酵素糖化法

2時間のボールミル処理は酵素糖化性を大きく向上させるが、消費エネルギーも高い。一方、水熱処理は先に報告したように酵素必要量は比較的多いが、消費エネルギーは低いことが知られている。メカノケミカル処理の消費エネルギーを低下させるために、水熱法との組合せを検討した。Fig. 12に示すように、水熱処理後メカノケミカル処理することにより、メカノケミカル処理の時間を短くすることができた。投入エネルギーおよびグルコース収率の観点から水熱-メカノケミカル処理法の最適条件は水熱160℃、30分、メカノケミカル処理40分であり、水熱処理のみの場合に比べよりマイルドな水熱条件で処理すればよいことが分かった。200℃、30分水熱処理後にメカノケミカル処理を2時間行くと、逆に酵素反応に阻害効果が認められた。水熱処理のみを行う場合と異なり、水熱処理後ボールミル処理したリグニンにはセルラーゼ活性を阻害する働きがあ

ることが推定される。160℃、30分水熱処理後、メカノケミカル処理40分行った残さを4 FPU/g-前処理バイオマスの酵素量で糖化すると、未処理原料の77%のグルカンがグルコース(372 mg/g 原料)に、54%のキシランがキシロース(68 mg/g 原料)に変換された。さらに、水熱処理によって可溶化したキシランを加算するとキシロースの回収は理論上84%(99.5 mg/g 原料)に達した。これらの収率は、メカノケミカル処理のみ40分行ったユーカリの酵素糖化におけるグルコースおよびキシロース回収率に比較して、それぞれ1.2倍および1.7倍高いものであった。

4.4. まとめ

メカノケミカル処理により、樹種によらず大きく酵素糖化性が向上することが分かった。2時間ボールミル処理したユーカリは、4 FPU/g-前処理バイオマスという少ない酵素量で糖化することができた。一方、200℃、30分の水熱処理は、20 FPU/g-前処理バイオマスというメカノケミカル処理に比べより多くの酵素を必要とした。水熱処理とメカノケミカル処理を組み合わせることにより、メカノケミカル処理時間を短縮できることが明らかとなり、前処理の省エネルギー化の可能性が示された。

5. 非硫酸バイオエタノール製造プロセスの構築

2章で述べたように、非硫酸前処理によるバイオエタノールの製造には粉碎動力の低減と酵素糖化工程価格の低減が必須である。本章では、3、4章での検討を基に非硫酸バイオエタノール製造プロセスを提案する。

5.1. 低動力粉碎(湿式ディスクミル)

3章で述べたように、粉碎による酵素糖化率向上の本質はセ

Fig. 12 Enzymatic Digestibility (4 FPU/g of substrate) of the Eucalyptus Treated by a Combination of Hot-compressed Water and Mechanochemical Milling⁹⁾

ルロースのマイクロフィブリルと酵素との相互作用の容易さであり、「解繊」が重要である。これをいかに低動力で実現できるかという観点から、ボールミルを用いた場合とディスクミルを用いた場合の必要動力をラボ規模で比較した(Table 3)¹¹⁾。粉碎では粉碎動力の原単位は規模の-0.2乗となるといわれており¹²⁾、この結果から実規模(100 t/d)での必要動力を推算した。ディスクミルではボールミルの場合と比較してかなり低動力になることが分かった。

しかしながら、それでも木材の有するエネルギー(高位発熱量で約20 MJ/kg wood (dry))の5%以上を占める。さらなる低動力化のため水熱処理との組合せも検討した。4章で述べたように、水熱処理とメカノケミカル処理を組み合わせることで粉碎時間が約1/3に短縮できることが分かった(Fig. 12)。一方、水熱処理を組み合わせると加熱エネルギーが追加が必要になる。水熱処理での加熱エネルギーは回収も可能であるので、それも考慮して必要エネルギーを推算した。その結果、水熱処理+湿式ディスクミルによる必要エネルギーは合計で3.2 MJ/kg wood (dry)と推算され、より一層の必要エネルギーの低減が可能である。

5.2. 酵素オンサイト生産の経済性

酵素糖化工程のコストは、酵素調達コストと酵素使用量の積となる。酵素調達コストの低減の一方策としてオンサイト生産を検討した。実験室規模での酵素生産実験の結果を基に、酵素オンサイト生産のプロセス設計と経済性評価を行った。プロセス設計における物質収支の結果をFig. 13に示す¹³⁾。この結果から酵素調達コストを推算すると100 t/d規模で約300円/kg酵素となった。現状の試薬レベル(10,000円/kg酵素)~大量購入レベル(1,000円/kg酵素)よりも安価に製造できることが分かった。これは販売のための精製が不要であることや、原料の購入費用を見積もらなくてよいこと、輸送費用が不要なことなどのためと考えられる。もちろん、酵素の販売価格がオンサイト生産よりも安価になれば購入の方が経済的に有利にな

Input		Output	
water	1.019 m ³	top layer	0.917 m ³
glucose	72.078 kg	(protein)	14.113 (kg)
(NH ₄) ₂ SO ₄	8.939 kg	(other)	8.546 (kg)
NH ₃ gas	0.975 kg	cultivation (5days)	
air	230.649 m ³	residue	0.102 m ³
		(solution)	0.102 m ³
		(protein)	1.568 (kg)
		(fungi)	13.246 (kg)
		(other)	0.950 (kg)

Fig. 13 Estimated Material Balance at the Enzyme Production Process (unit, per 1 kl ethanol)¹³⁾

Table 3 Required Energy at Milling Process

Mill type		Ball mill	Disk mill
Scale at lab. test		100 g, 2 h	500 g, 0.5 h
Required energy	[kWh/kg wood (wet)]	30	4
Estimated required energy at large scale	[MJ/kg wood (dry)]	31	4.1

Assumption: Scale, 100 t/d of wood; Operating days, 300 days/year; Payback time, 9 years.

Fig. 14 Relationship between Enzyme Loading and Saccharification Process Cost

る。

一方、酵素オンサイト生産の場合、原料の一部を酵素生産のために使用することとなり、酵素使用量も重要な因子となる。**Fig. 14**に酵素使用量と酵素糖化工程コストの関係を示す¹¹⁾。外部から購入する場合は原点を通る直線となる一方、オンサイト生産の場合は酵素使用量が増加すると酵素生産のために使われる原料が増える分コストは上昇することになる。4章で前処理法による酵素使用量と糖化率の関係を示したように(**Fig. 11**)、メカノケミカル処理(微粉碎)の場合、酵素使用量を低減できることが期待される。高温での水熱処理は酸を使った化学処理と本質的に同じであり、硫酸やアンモニアを使った前処理では酵素使用量を下げられないことが知られている。酵素使用量の観点からもメカノケミカル処理(微粉碎)の優位性が言える。

5.3. 非硫酸バイオエタノール製造プロセスの提案

以上の検討を基に非硫酸バイオエタノール製造プロセスを消費エネルギーの観点から検討した。**Fig. 15**にケース1として湿式微粉碎を採用した場合の全体プロセスの必要エネルギーを、ケース2として水熱処理+湿式微粉碎を採用した場合の必要エネルギーを示す。図に示すように粗蒸留工程での必要エネルギーが大きくなることが分かる。これは、湿式処理のため固形物濃度が低く、糖化・発酵後のエタノール濃度が低いことが原因である。そこで脱水工程を入れたプロセスを検討したところ(ケース3)、脱水工程に必要なエネルギーは小さいこと、粗蒸留工程での必要エネルギーが大きく低減されることが分かった。低温での水熱処理や機械的処理では可溶化が起きないかわずかであることから、脱水工程を追加してもロスはほとんどなく、これも機械的処理のメリットの一つである。

これらの検討を踏まえ、非硫酸バイオエタノール製造プロセスのフロー図を**Fig. 16**のように提案する。すなわち、粗粉碎、水熱処理、湿式微粉碎、脱水、一部を利用しての酵素オンサイト生産、酵素糖化、エタノール発酵、粗蒸留、無水化精製の各工程からなるプロセスである。今後はこのプロセスの実用化を

case 1, Methanochemical pretreatment. case 2, combination of hydrothermal and methanochemical pretreatment. case 3, with dewatering after pretreatment.

Fig. 15 Required Energy for Total Process of Ethanol Production

Fig. 16 Process Flow for Ethanol Production from Biomass with Combination of Methanochemical Pretreatment and Enzymatic Saccharification

目指し、まずはベンチスケール規模で実証を行いたい。

6. おわりに

京都議定書の第一約束期間の発効を来年(2008年)に控え、国内外でより一層の炭酸ガスの排出削減が求められており、

カーボンニュートラルで再生可能なバイオマス由来の液体燃料を製造し、石油、石炭、天然ガス等の化石資源を代替する技術開発の実用化が喫緊の課題となっている。バイオマス資源は、未利用の木質系を中心に草本系の天然バイオマスや、農産廃棄物系、古紙、生ごみ、汚泥等の廃棄物系バイオマスに大別され、各地域で分散して存在するため、その効率の良い収集・運搬システムの構築が非常に重要となってくる。特に、食料と競合しないリグノセルロース系バイオマス資源を効率良く収集・前処理して、エタノールやBDF、ジメチルエーテル（DME）等の輸送用燃料に変換するトータルシステムおよびその評価システム技術の開発は、山間部を含む地域分散型のエネルギー供給システムを、“適原料・適地”で実証し、経済性・環境性に優れたバイオ燃料製造プロセスの実用化を目指す上で、必要不可欠であると言える。

バイオ燃料の製造コストは従来の石油系燃料に比べれば割高と言わざるを得ないが、バイオ燃料は炭酸ガス削減効果のみならず、硫黄、窒素等のヘテロ化合物や芳香族が含まれていないことから、自動車排ガス浄化の観点からも有利である。また、昨今の1バレルが100ドルにも迫る原油高騰のあおりを受けて（2007年12月現在）、ガソリンや灯・軽油等の石油製品価格が急騰しており、バイオ燃料導入への期待も高まっている。農産廃棄物や製材残材等のリグノセルロース系バイオマス資源からのバイオエタノール製造技術は、硫酸法を中心に実証プラント開発が進められているが、今回紹介したような環境・調和型の非硫酸法による低エネルギー型の前処理技術は、基本的には水だけを使用するため種々のバイオマス資源や混合原料にも対応できる可能性を有している。さらに、酵素糖化法との組合せ最適化、セルラーゼ等の酵素のオンサイト生産、あるいはグルコー

ス・キシロースの同時発酵技術の開発等により、市販ガソリン価格と競合できるバイオエタノールの生産が可能になると期待される。

References

- 1) Yano, S., *Proceeding of Fourth Biomass-Asia Workshop*, (2007).
- 2) Sawayama, S., Yano, S., Sakanishi, K., *J. Soc. Automotive Engineers Jpn.*, **61**, (11), 16 (2007).
- 3) Fukuda, T., Kuroda, M., Fujimoto, S., Sasaki, Y., Sakanishi, K., Minowa, T., Yabe, A., *Energy & Resources*, **27**, (4), 282 (2006).
- 4) Fujimoto, S., Minowa, T., Sakanishi, K., *Catalysts & Catalysis*, **49**, (4), 254 (2007).
- 5) Endo, T., Chou, P., Shinohara, Y., *Cellu. Commun.*, **9**, (2), 86 (2002).
- 6) Tanaka, R., Yaku, F., Murai, E., Koshijima, T., *Cell. Chem. Technol.*, **14**, 859 (1980).
- 7) Endo, T., Ago, M., *Cellu. Commun.*, **11**, (2), 74 (2004).
- 8) Endo, T., *Material Stage*, **6**, (11), 56 (2007).
- 9) Inoue, H., Yano, S., Endo, T., Sakaki, T., Sawayama, S., *Proceedings of Renewable Energy 2006*, 1124 (2007).
- 10) Yano, S., Inoue, H., Endo, T., Sakaki, T., Sawayama, S., 2nd Baiomasukagakukaigi Happyouronbunshu, 24 (2007).
- 11) Fujimoto, S., Minowa, T., Inoue, H., Sawayama, S., Endo, T., 16th Nippon Enerugi Gakkai Taikai Kouenyoushishu, 198 (2007).
- 12) The Society of Powder Technology, Japan, “Handbook of Powder Technology,” Nikkankogo Shinbunsha, Tokyo (1986), p. 494.
粉体工学会編, “粉体工学便覧,” 日刊工業新聞社, 東京 (1986), p. 494.
- 13) National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 18FY Report of Entrusted Research, (in press).

要 旨

リグノセルロース系バイオマスからの非硫酸バイオエタノール製造法の開発 —メカノケミカル前処理・酵素糖化法—

藤本 真司, 井上 宏之, 矢野 伸一, 坂本 剛, 美濃輪 智朗,
遠藤 貴士, 澤山 茂樹, 坂西 欣也

(独)産業技術総合研究所 バイオマス研究センター, 737-0197 広島県呉市広末広2-2-2

昨今、バイオエタノールへの関心が高まっている。現在のバイオエタノールは糖やデンプンを原料にしていることから食料との競合が懸念されており、リグノセルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産の実用化が喫緊の課題である。リグノセルロース系バイオマスからのバイオエタノール製造では硫酸を使う方法が一般的ではあるが、より環境に優しい方法とし

て、我々は硫酸を使わない方法の開発に取り組んできた。具体的には微粉碎と酵素糖化を組み合わせた糖化方法である。プロセス工学の観点から課題を抽出して、低エネルギーでの微粉碎処理、低コストでの糖化処理を研究開発した。これらの技術を組み合わせてプロセスを構築することで、プロセスの実用化に目処がついた。