

学会賞(技術部門)

輸送用燃料向けセルロース系バイオエタノール製造技術の開発

福田 明

日本での非化石エネルギー源の利用を拡大することを目的にエネルギー供給構造高度化法が制定され、持続可能性基準を満たしたバイオエタノールの利用が義務付けられている。しかしながら、現在日本で利用されているバイオエタノールのほとんどは可食原料に由来している。そこで、エネルギーの低炭素化およびエネルギーセキュリティの観点から非可食原料由来であるセルロース系バイオエタノールの製造技術開発に着手した。ラボスケールにて最適糖化発酵プロセスの検討、セルロース系原料からのエタノール高生産酵母の開発、酵素・酵母の回収・再利用システムの構築を行い、その後のパイロットプラント規模での実証試験にてエタノール生産量、連続運転日数の目標値を達成し、経済合理性と環境性能を両立させた実用的なセルロース系バイオエタノールの一貫製造技術を完成させた。

キーワード

セルロース系バイオエタノール, 並行複発酵, エタノール高生産酵母(セルフクローニング), 酵素・酵母の回収・再利用システム

(2020年5月14日受理)

Development of Cellulosic Ethanol Production System for Transportation Fuel

Akira FUKUDA

1. はじめに

パリ協定を経て低炭素社会に向けた取組みは世界的な動きとなっている。このような動きのなか、バイオ燃料はバイオマスを原料とする燃料であり、持続可能なエネルギーとして期待されている。日本でも化石エネルギー原料の有効利用を促進するとともに非化石エネルギー源の利用を拡大することを目的として「エネルギー供給構造高度化法」(以下、高度化法)が2009年に制定され¹⁾、持続可能性基準^{脚注1)}を満たしたバイオ燃料の使用が義務づけられている。このような政策のもと、輸送部門における二酸化炭素排出量の大半を占める自家用乗用車²⁾の燃料であるガソリン代替として、バイオエタノールの導入促進が進められている。

現在、日本に導入されている持続可能性基準を満たす輸送用燃料向けバイオエタノールはブラジルの既存農地からのさとうきび原料由来のエタノールおよび米国からのとうもろこし原料由来のエタノールのみである。ブラジルや米国ではバイオエタノールの増産により、食料と競合するために食料価格が高騰する問題が顕在化している。高度化法に定める持続可能性基準には食料との競合に配慮することも盛り込まれており、エネルギーの低炭素化とともにエネルギーセキュリティの観点からも、食料と競合しない原料由来であるセルロース系バイオエタノールの一貫製造技術の開発が望まれている。

セルロース系バイオエタノールの製造プロセスおよび

ENEOS 株式会社 中央技術研究所
先進技術研究所 低炭素技術グループ
〒231-0815 神奈川県横浜市中区千鳥町8番地

脚注1) LCAでの温室効果ガス(GHG)排出削減量が、化石燃料由来のガソリンと比較して2017年までは50%以上、2018年からは55%以上。

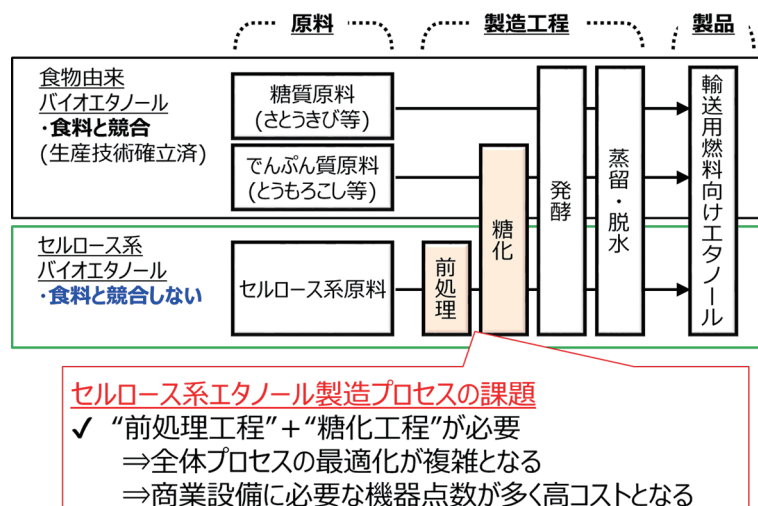


図1 バイオエタノールの種類および製造方法

その課題を図1に示すが、既存のさとうきび原料由来バイオエタノール製造工程と比較し、前処理工程および糖化工程が必要で全体プロセスの最適化が複雑になる。また商業設備に必要な機器点数が多くなるため、高コスト化しやすい点が課題である。さらに、発酵工程においては、一般的な酵母ではセルロース系原料中のキシロースからエタノールを生産できないため、本点を改善したセルロース系原料からのエタノール高生産酵母の開発も重要となる。筆者らは、セルロース系バイオエタノールの社会実装を目指し、低コストで、かつ、二酸化炭素排出量削減に効果的な輸送用燃料向けセルロース系バイオエタノール製造技術を開発したので、開発内容について報告する。本開発においては、原料調達から日本におけるバイオエタノール供給までを考慮した上で、必要となる要素技術をラボスケールで確立した後に、各要素技術を組み合わせたパイロットプラント規模の実証試験により実用性能を評価した。

2. ラボスケールでの要素技術開発

2.1 最適糖化発酵プロセスの検討

本開発ではセルロース系バイオエタノールの原料として高密度が高く輸送が効率的であること、通年収穫が可能であり貯蔵や保存の問題がないこと、栽培、収集、輸送のインフラおよび技術が確立されており高い供給安定性を見込めることから木質原料を選定した。また、原料との適合性およびスケールアップ技術の確実性から、前処理工程には製紙業で用いられるパルプ化処理

を選定した。

プロセスを最適化するため、糖化発酵工程は糖化反応と発酵反応について、図2に示すとおり複数の組合せを検討した。

逐次糖化発酵は2つの反応槽を用いて糖化反応と発酵反応をそれぞれ独立して行うプロセスである。まず1つ目の反応槽に原料であるパルプと酵素を添加し糖化反応を行い、糖化反応終了後に別の反応槽に糖化液を移送し、酵母を添加し発酵反応を行う。糖化反応と発酵反応は最適温度が異なるが、逐次糖化発酵では各反応を独立に行うため、それぞれの反応を最適温度で進められる点がメリットである。

並行複発酵は単一の反応槽を用いて、糖化反応と発酵反応を同時に行うプロセスであり、反応槽にパルプ、酵素、酵母を添加し、糖化発酵反応を行う。並行複発酵では酵母の死滅を防ぐため、反応温度を発酵反応の最適温度に合わせて低く設定する必要があるが、糖化反応を最適温度で進められない点がデメリットである。

半並行複発酵は逐次糖化発酵と並行複発酵を組み合わせたプロセスである。まず反応槽にパルプと酵素を添加し最適温度で糖化反応を行うが、糖化反応の途中で反応槽の温度を酵母が死滅しない程度に下げた後に酵母を添加し発酵反応を進める。

機器点数について、逐次糖化発酵は複数の反応槽およびそれに伴う付帯設備が増加するため、多数の機器が必要となるが、並行複発酵は単一反応槽のため、機器点数は少なくよいメリットがある。半並行複発酵

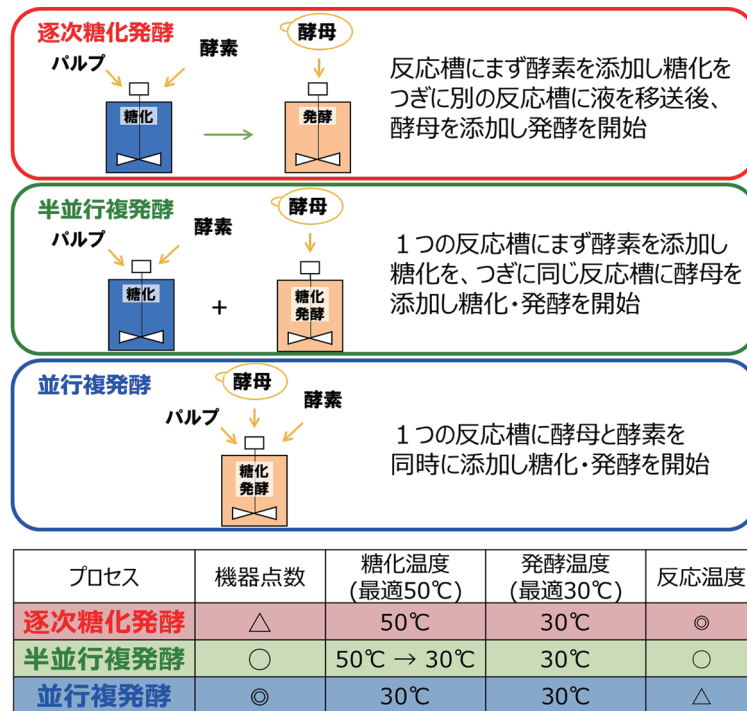


図2 糖化発酵工程の種類および特徴

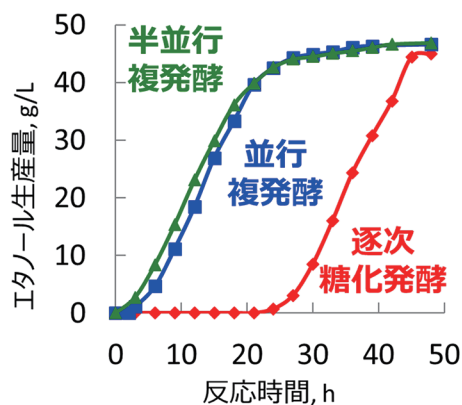


図3 各糖化発酵プロセスにおけるエタノール生産性の比較

は反応温度、機器点数ともに逐次糖化発酵と半並行複発酵の中間に位置づけられる。

各糖化発酵プロセスにおけるエタノール生産性を比較した結果を図3に示すが、エタノール生産量は高い順に並行複発酵、半並行複発酵、逐次糖化発酵であり、エタノール生産速度は並行複発酵と半並行複発酵でほぼ同等であり、逐次糖化発酵は両プロセスよりも低い値を示した。これらの結果と前述のとおり機器点数が少ない点を考慮し、本開発における最適プロセスとして並行複発酵を選定した。

2.2 セルロース系原料からのエタノール高生産酵母の開発

醸造酵母 *Saccharomyces cerevisiae* (以下、酵母と称す) は木質原料に最も多く含まれるグルコースからのエタノール生産性に優れ、高濃度エタノールに耐性を持つため、エタノール生産に広く用いられる安全な微生物である。一方で、木質原料中にグルコースに次いで多く含まれるキシロースからエタノールを生産することができないため、エタノール生産性を向上させるべく、キシロースからエタノールを生産することが可能なエタノール高生産酵母の開発に着手した。

キシロースの資化には図4に示すようにキシロース還元酵素 (XR)、キシリトール脱水素酵素 (XDH)、キシリロースリン酸化酵素 (XK)、

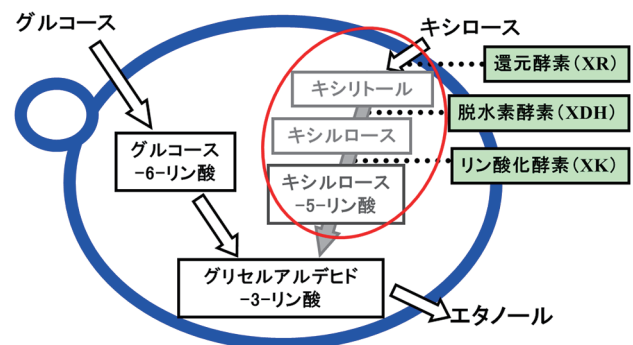


図4 醸造酵母のキシロース資化経路

シルロースリン酸化酵素(XKS)の3つの酵素が必要であるが、酵母はXKS活性をわずかに有するもののXR活性およびXDH活性を有していなかった。しかしながら、それぞれの酵素に対応する遺伝子を保有していたことから、3つのキシロース資化酵素遺伝子を活性化させ、酵母にキシロースからのエタノール生産能を付与することに成功した³⁾。さらに、グルコースおよびキシロースからのエタノール生産経路中でボトルネックとなっている反応を代謝物分析と数理モデル解析により特定し、遺伝子改良によりボトルネック反応を解消することでエタノール生産性をより向上させた⁴⁾。

なお、これらの遺伝子改良は酵母が持つ遺伝子のみを用いて行い、外来生物の遺伝子を導入していないため、本酵母は遺伝子組換え生物に該当しないセルフクローニング酵母である。遺伝子組換え生物に非該当となるため、セルロース系バイオエタノールを商用生産する際の環境漏洩リスクを回避できると期待される。

次に、原料であるパルプに対する耐性をもった酵母を選別するため、保有する約170種類の酵母に上述のキシロースからのエタノール生産能を付与し、パルプ糖化液中でのエタノール生産性およびパルプへの耐性を反映していると考えられる生菌数を調べた。図5に示すように、エタノール生産性と生菌数は酵母の種類により大きく異なっており、高いエタノール生産性と生菌数を示す酵母をエタノール高生産酵母候補として選別した。

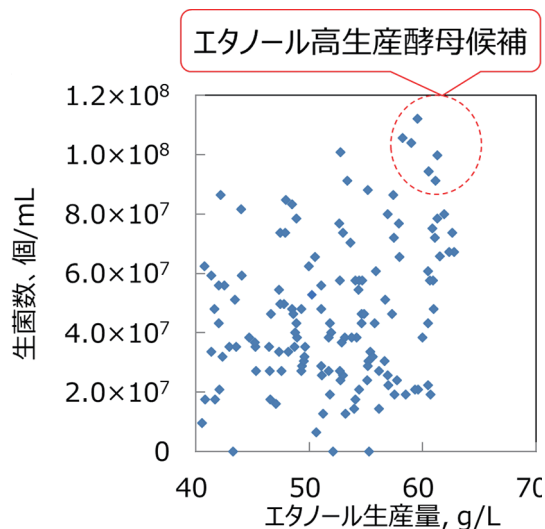


図5 パルプ糖化液中でのエタノール生産量と生菌数の評価

異なる性質を持つ優良酵母同士を交配させることで、両方の酵母の良い性質を継承した性能向上酵母を取得できる可能性があるため、選別したエタノール高生産酵母候補同士を交配させ、さらに性能の良い酵母を選抜してエタノール高生産酵母とした。

2.3 酵素・酵母の回収・再利用システムの構築

セルロース系バイオエタノールの製造においては、とうもろこし等のでんぷん質を原料としたエタノール製造に比べ、糖化に必要な酵素量が多く製造コストに占める酵素コストの割合が高いため⁵⁾、経済性を担保するには酵素コストの低減が重要である。酵素コストの低減には(1)酵素生産コストの低減、(2)酵素添加量の削減、(3)酵素の高効率な回収が必要と考えられる⁶⁾。筆者らは図6に示すように、エタノール製造の連続運転を行いながら、エタノールのみを抽出し、酵素および酵母を循環、すなわち回収・再利用させることで酵素添加量を削減し、酵素コストの低減を試みた。バッチ運転では酵素が一度きりで使い捨てされるのに対し、連続運転では運転時間を延ばすことにより、添加した酵素が再利用されることになるため、製造したエタノール当たりの酵素コストの低減が可能となる。

発酵工程の後の蒸留工程では、酵素や酵母へのダメージを抑制するため、比較的低温で酵素や酵母を回収できる減圧蒸留法とエタノールを濃縮する常圧蒸留法を組み合わせた二段蒸留方式とすることで、糖化発酵液の減圧蒸留後に酵素・酵母を含む濃縮液を糖化発酵工程に循環させるシステムとした(図7)。

最後に、一定量の糖化発酵液を取り出しエバポレーターによる減圧蒸留でエタノールを抽出しながら酵母と酵素を回収し反応槽に戻すラボースケールでの連続運転の検証により、酵素の追加なしに糖化発酵反応を

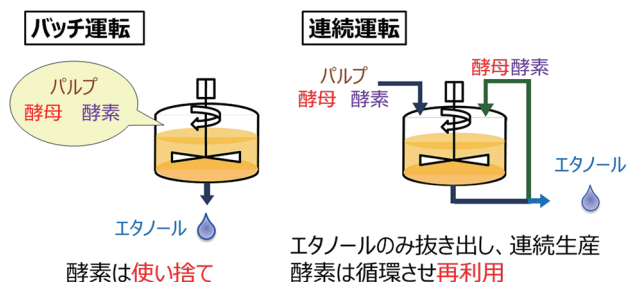


図6 連続運転による酵素添加量削減の概念図

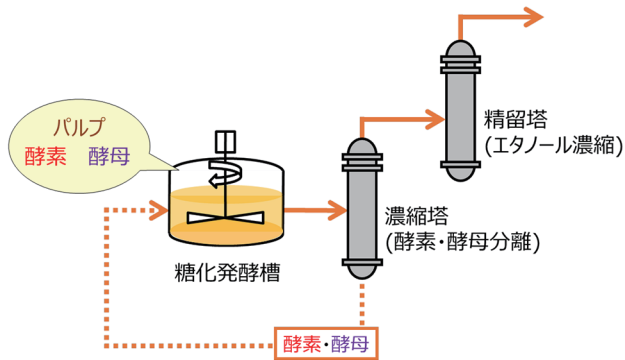


図7 酵素・酵母の回収・再利用システムの概略図

10日間以上継続できることを確認し、酵素・酵母の回収・再利用システムを構築した。

3. パイロットプラント規模のエタノール製造実証

3.1 パイロットプラント設備の概要

ラボスケールでの要素技術開発の結果を検証するため、王子ホールディングス株式会社の呉工場敷地内に木質原料から年産 100 kL エタノールを製造可能なパ

イロットプラントを建設した。パイロットプラントの外観を図8に、フローを図9に示す。

パイロットプラントの特徴として、前処理設備は様々な原料形状に対応し、180℃、4時間まで加熱可能な加熱器を有しており、雑菌汚染対策として高温水による洗浄を実施可能な仕様とした。糖化発酵設備は直列2槽の反応槽とし、第1槽には高濃度原料の仕込みに対応した攪拌翼を設置した。エタノール蒸留・酵素回

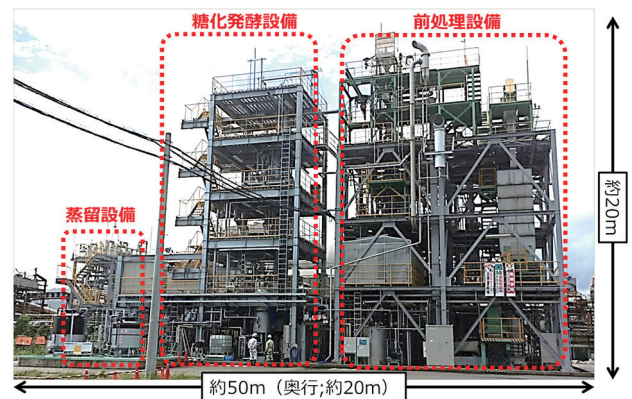


図8 パイロットプラント外観写真

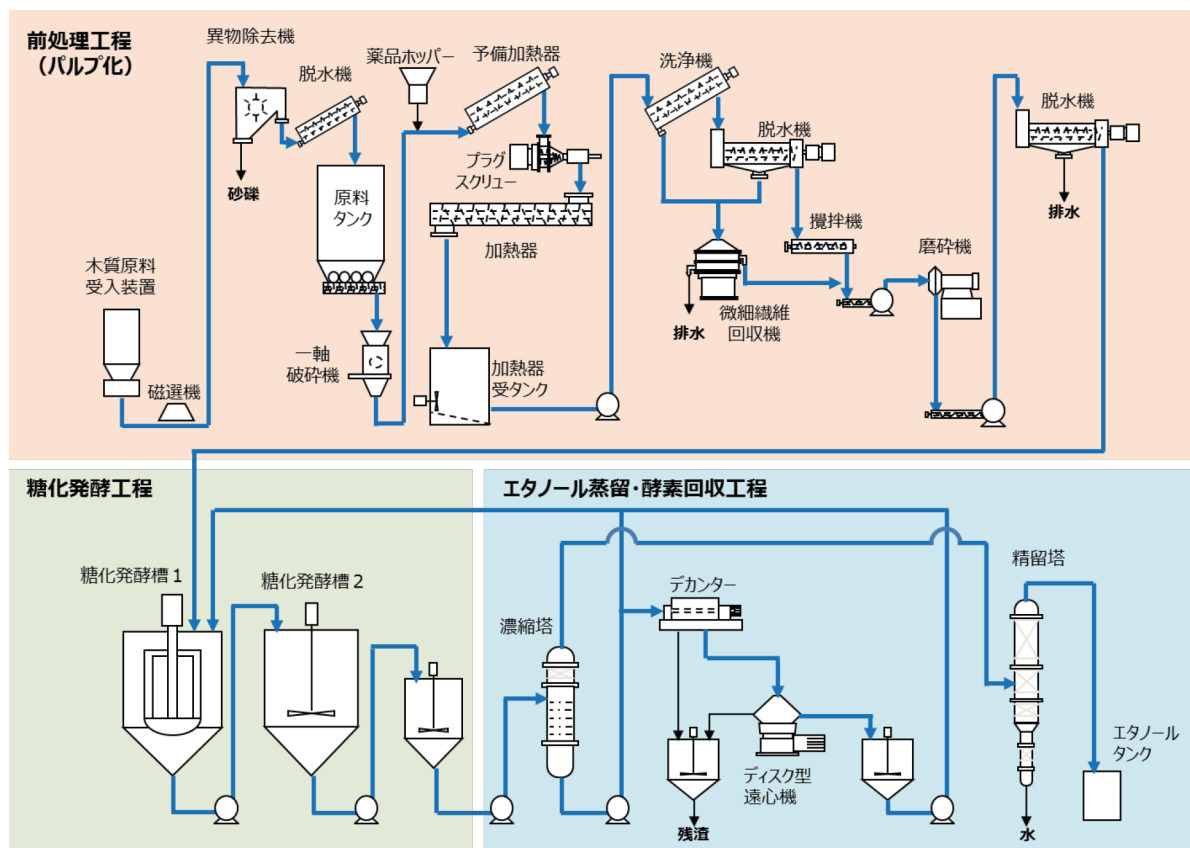


図9 パイロットプラントフロー図

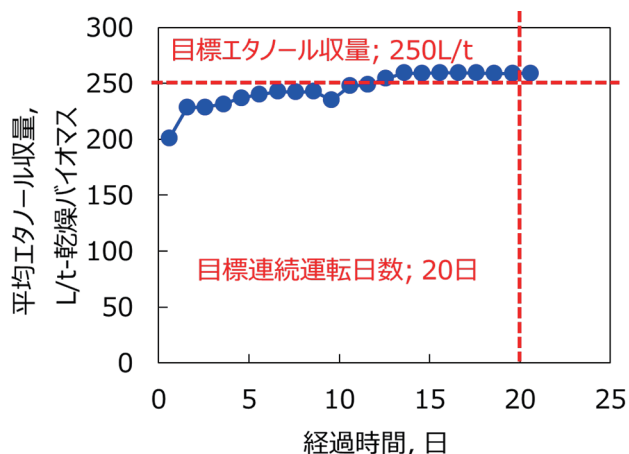


図 10 パイロットプラントでの平均エタノール生産量と連続運転日数

収工程は、前述のとおり酵素・酵母分離のための濃縮塔（減圧蒸留法）とエタノール濃縮のための精留塔（常圧蒸留法）を組み合わせた二段蒸留方式とした。

3.2 パイロットプラント実証結果

パイロットプラントでは約 13 ヶ月にわたり実証試験を実施し、前処理条件の検討、連続並行複発酵プロセスのコンセプト確認、酵素添加量最適化検討、連続運転期間の長期化検討、エタノール高生産酵母の性能確認などを実施した。

図 10 にパイロットプラントの運転結果の一例を示すが、目標としたエタノール収量 250 L/t-乾燥バイオマスおよび商業運転の成立に必要な連続運転日数 20 日を達成した。また、製造したセルロース系バイオエタノールについて、原料栽培から製品エタノール製造までのライフサイクル評価を実施した結果、高度化法に定める持続可能性基準を満たす環境性能を有することを確認し、化石エネルギー収支についても目標とした 2 以上を達成可能であることを併せて確認した。

さらに、経済性についても商用規模の製造量である年産 10 万 kL-エタノールを想定し、商用機設備の設備費を見積もるとともに、原料費や酵素費等の変動費も積算し、セルロース系バイオエタノールの生産コストを算出したところ、目標とした持続可能性基準適合エタノールの日本着価格を下回る見込みを得た。

4. おわりに

本開発は、食料と競合しない原料である木質原料からのエタノール生産効率を最大化すべく、糖化工程および発酵工程の最適組み合わせである並行複発酵プロセスのパイロットプラント規模での技術確立を成し遂げたものである。さらに、遺伝子組換え生物に該当しないセルフクロニング酵母の使用および製造中における酵素・酵母の回収・再利用が可能な世界初^{脚注 2)}のセルロース系エタノールの連続製造プロセスである。加えて、本成果を前提としたセルロース系バイオエタノールの原料調達から製品エタノールの日本供給までの全工程における商業生産・販売事業の事業性および二酸化炭素削減効果の評価を実施し、持続可能性を確保しつつ将来的に十分に事業として成立する見通しを得ることができた。

本開発で確立したセルロース系バイオエタノールの一貫製造プロセスは、木質原料への適用に限定されず、多岐にわたるセルロース含有資源に適用可能である。本技術によって製造されるバイオ燃料の普及は 2015 年に国連で採択された「持続可能な開発目標 (SDGs)」にも貢献するものであり、持続可能で活力ある未来づくりのための炭素資源の有効利用の観点からも、本開発成果は将来的に国内外へ幅広く展開されることが期待される。

謝 辞

令和最初の記念すべき年に、名誉ある日本エネルギー学会 学会賞（技術部門）を頂戴いたしましたことを大変光栄に存じます。当社は、今後もエネルギーに関する科学および技術の進歩発展に貢献すべく技術開発に邁進してゆく所存でございます。

本開発の一部は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の委託事業「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」として実施いたしました。関係各位に厚く御礼申し上げます。

脚注 2) ENEOS 株式会社調べ。セルロース系バイオエタノールの商用製造設備は海外に数基稼働しており、商用機の詳細な技術は不明であるが、いずれの設備も公開されている範囲において、連続生産が可能なプロセスとはなっていない。

文 献

- 1) 総務省行政管理局, https://elaws.e-gov.go.jp/search/elawsSearch/elaws_search/lsg0500/detail?lawId=421AC0000000072 (Last access on 2020.4.16)
 - 2) 国土交通省総合政策局環境政策課, https://www.mlit.go.jp/sogoseisaku/environment/sosei_environment_tk_000007.html (Last access on 2020.4.16)
 - 3) Konishi, J.; Fukuda, A.; Mutaguchi, K.; Uemura, T., *Biotechnol. Lett.*, **37**, 1623-1630 (2015)
 - 4) Fukuda, A.; Kuriya, Y.; Konishi, J.; Mutaguchi, K.; Uemura, T.; Miura, D.; Okamoto, M., *J. Biosci. Bioeng.*, **127**(5), 563-569 (2019)
 - 5) Lynd, L. R.; Laser, M. S.; Bransby, D.; Dale, B. E.; Davison, B.; Hamilton, R.; Himmel, M.; Keller, M.; McMillar, J. D.; Sheehan, J.; Wyman, C. E., *Nat. Biotechnol.*, **26**(2), 169-172 (2008)
 - 6) Kurosawa, M.; Kokubo, M.; Igarashi, K.; Samejima, M., *J. Jpn. Inst. Energy*, **93**(10), 964-972 (2014)
-