平成22年度

短伐期収穫ヤナギを原料とする バイオエタノールの製造技術

北海道立総合研究機構　林産試験場　○折橋　健
菊地伸一

北海道で資源作物化が検討されているヤナギを原料とし、バイオエタノールを製造する技術について検討した。ヤナギチップは、酸やアルカリを用いない蒸煮法で前処理した。蒸煮チップは粉砕後に温水処理を行い、水溶性のキシロオリゴ糖を得た。温水処理残渣はセルラーゼと酵母を用いて糖化発酵し、エタノールを得た。一連の工程について、50L規模での実験により製造安定性や効率性の向上を図った。また、以上の結果に基づいて、年間2,000t（絶乾）規模のヤナギ収穫を想定したバイオエタノール製造プラントの概略設計を行った。

キーワード：バイオマス、資源作物、石油代替

1. はじめに

地球温暖化問題などを背景に、化石燃料への依存度を減らす取り組みが加速している。その中で、植物バイオマス由来のバイオエタノールは、輸送用のガソリン消費量を削減する観点から注目を集めている。

バイオエタノールを工業生産するためには、原料を工場の近くで集中的に確保することや、食糧供給への影響を避けるために食用とはならないものを原料とすることが必要とされている。こうした要求を満たすために、面積あたり、単年あたりの生産性が高く、再生産も容易で、なおかつ非食用の植物を資源作物化することや（表-1）、これを集中的に生産してバイオエタノール原料とすることが検討されている[1]。

ヤナギ（図-1）は、資源作物としての素質を備え、また北海道の環境に適応した植物であることから、本道において資源作物化が検討されている。北海道開発局においても「北海道に適した新たなバイオマス資源の導入促進事業」を実施し、ヤナギの優良系統選抜および最適生育条件の検討、効率的な収集・運搬・集積システムの検討、ヤナギからの有用物質抽出に関する実証試験、地域産業モデルの検討、環境に関わる検討等を行っている。

上記事業の一環として、我々は、バイオマス資源として生産されたヤナギを効率的にバイオエタノールへと変換するための製造技術について検討を行ってきた。本報告では、ヤナギチップからバイオエタノールを得るまでの一連の工程における検討結果について述べるとともに、年間2,000ｔ（絶乾）規模のヤナギ収穫を想定したバイオエタノール製造プラントの概略について述べる。

2. バイオエタノール製造プロセス

ヤナギの木部や樹皮には、グルコースが鎖状に長くつながってできたセルロースとよばれる成分が30～40%程度含まれている（表-2）。基本的にバイオエタノールは、このセルロースをセルラーゼにより分解（糖化）してグルコースとし、さらに酵母によってグルコースを発酵することにより製造される（図-2）。

しかし、木部や樹皮中のセルロースは、ヘミセルロー

表-1　資源作物の候補

多収量草本植物
　エリアンサス，ネピアグラス，ミスカンサス，サトウキビ，ソルガム，ススキなど
早生広葉樹
　ユーカリ，**ヤナギ**，ポプラなど

出典：バイオ燃料技術革新計画

図-1　ヤナギの試験栽培（下川町）

Ken Orihashi, Shinichi Kikuchi

スやリグニンなど、他の木材成分によって覆われており、そのままでは容易に糖化できない。そこで、糖化発酵に先立ってセルロースの周囲からヘミセルロースやリグニンなどをできるだけ除去する作業を行った。この作業は、「前処理」と呼ばれている。

前処理にはさまざまな方法が提案されているが、本研究では、ヤナギチップを高温高圧の蒸気にさらす蒸煮法を採用した。蒸煮法は、酸やアルカリ等の薬剤を使用せず、環境負荷の少ない前処理方法である。蒸煮によりチップ中のヘミセルロースやリグニンが低分子化し、揮発性もしくは易水溶性成分となり、セルロース周囲から脱離しやすくなるため、セルロースの糖化性が改善される。林産試験場ではかつて、木材の家畜飼料化について検討した際にも蒸煮法を採用しており、当時の研究成果[2]を本研究でも活用した。

蒸煮時のヘミセルロースの低分子化の度合いは、蒸煮温度や時間により変化する。適度な蒸煮条件では、水溶性のキシロオリゴ糖が得られる。キシロオリゴ糖は、摂取により整腸作用[3]、血糖値や肝脂質の改善効果[4]等が認められており、機能性成分として市場に流通している。したがって、蒸煮後に温水処理を行い、高付加価値副産物であるキシロオリゴ糖を抽出回収することにより、バイオエタノール製造プロセスの経済性を高めることが期待される。

以上のことから本研究では、バイオエタノール製造プロセスとして、蒸煮－温水処理－糖化－発酵プロセス（**図-3**）を採用し、各工程の効率化に向けた検討を行った。

3. 実験および結果

(1) 蒸　煮

供試原料は、北海道旭川市近郊の河畔林で採取したオノエヤナギ（*Sarix sachalinensis*）の木部である。原料はチップ化した後、容積500Lのオートクレーブ（**図-4**）で蒸煮した。蒸煮条件は、温度180～200℃、内圧0.90～1.46MPa、時間5～30分とした。

図-5に蒸煮条件（温度、時間）と蒸煮収率（チップの投入量に対する蒸煮物の回収量の割合）の関係を示す。蒸煮収率は、同一処理時間においては温度が高いほど、また同一処理温度においては時間が長いほど低下し、蒸煮条件が厳しくなるほど収率が低下する傾向が認められた。

表-2　ヤナギの主要成分構成

セルロース	**43.6 %**
ヘミセルロース	
キシラン	**15.3 %**
マンナン	**1.9 %**
リグニン	**21.4 %**

＊本研究での分析データ
オノエヤナギ（6～7年生）

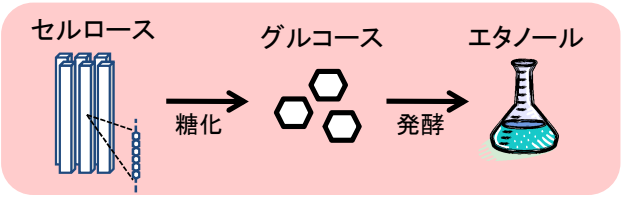

図-2　バイオエタノール製造の基本的流れ

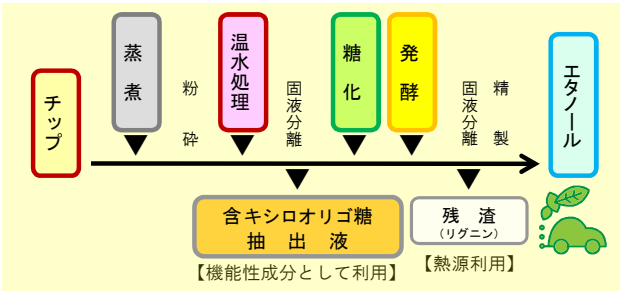

図-3　本研究におけるバイオエタノール製造プロセス

図-4　オートクレーブ（容積500L）

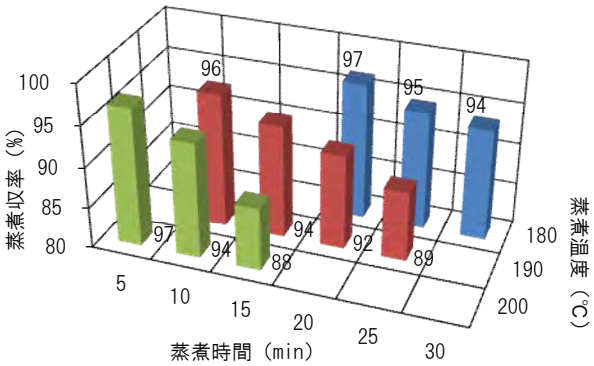

図-5　蒸煮条件（温度、時間）と蒸煮収率の関係
＊蒸煮収率：チップの投入量に対する蒸煮物の回収量の割合

(2) 温水処理

蒸煮チップを湿潤状態のままカッターミルで粉砕した後、温水処理実験に供した。蒸煮粉砕物と水は、1対50の割合（w/v）で混合し、100℃で3時間処理した。

得られた抽出液中の糖類を酸により加水分解（単糖化）し、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用いて単糖の構成を分析したところ、主体はキシロースであった。その収量を**図-6**に示す。なお、図中の理論収量とは、原料チップに含まれるキシランが完全に抽出された場合に得られるキシロース量のことである。キシロースの収量は、温度200℃、内圧1.46MPa、時間10分の蒸煮条件で最多となり、この蒸煮条件では、原料中のキシランの64%が温水処理によって抽出液中に回収された。

また、キシロオリゴ糖（二糖～五糖）に限定して定量したところ、同じく温度200℃、内圧1.46MPa、時間10分の蒸煮条件で収量が最も多くなった（**図-7**）。

(3) 糖　化

上記（2）の温水処理により得られた残渣を基質とし、その糖化性を評価した。実験では、セルラーゼとしてメイセラーゼ粗原末（明治製菓製）を、緩衝液には0.1M酢酸塩緩衝液（pH4.8）を使用した。基質濃度（w/v）は2%、酵素量は基質1gあたり20FPUとし、40℃で48時間糖化した。糖化液中のグルコースは、HPLC法で定量した。

糖化により原料チップ1kg（絶乾）からどのくらいのグルコースが得られたのかを**図-8**に示す。なお、図中の理論収量とは、原料チップに含まれるセルロースが完全に糖化された場合に得られるグルコース量のことである。蒸煮・温水処理を行っていない未処理のサンプルでは、グルコースは理論収量の16%ほどしか得られなかったが、蒸煮・温水処理後のサンプルでは、糖化性が大幅に改善された。特に、上記のキシロオリゴ糖収量の場合と同様に、温度200℃、内圧1.46MPa、時間10分の蒸煮条件でグルコース収量が最も多く、原料チップ中のセルロースの80%がグルコースとして糖化液中に回収された。

(4) 発　酵

温水処理におけるキシロオリゴ糖収量や、糖化におけるグルコース収量の結果を踏まえて、温度200℃、内圧1.46MPa、時間10分の条件で蒸煮した後、粉砕、温水処理して得た残渣を基質として発酵実験用の糖化液を調製した。糖化における基質濃度は（w/v）10%、酵素量は基質1gあたり20FPUとし、50℃で72時間糖化した。また比較として、温水処理前のサンプル（蒸煮粉砕物）を基質とする糖化液も調製した。糖化条件は、酵素量を基質1gあたり60FPUとした以外は上記に同じである。発酵実験では、市販の乾燥ビール酵母を使用し、糖化液に対して0.1%（w/v）添加した。発酵条件は、温度が30℃、時間が72時間、静置培養とした。発酵液中のエタノールは、HPLC法により定量した。

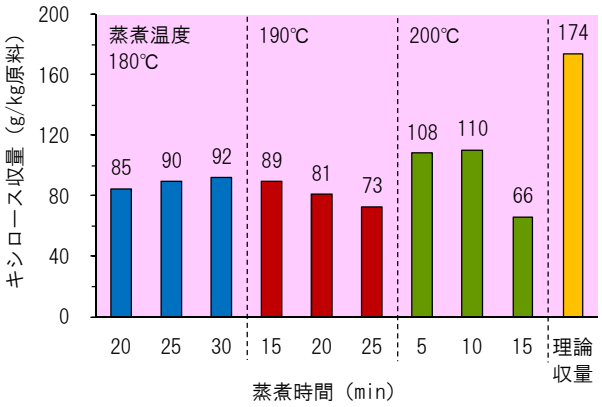

図-6　温水処理により抽出したキシランを酸加水分解して得たキシロースの収量

＊原料ベースで表示

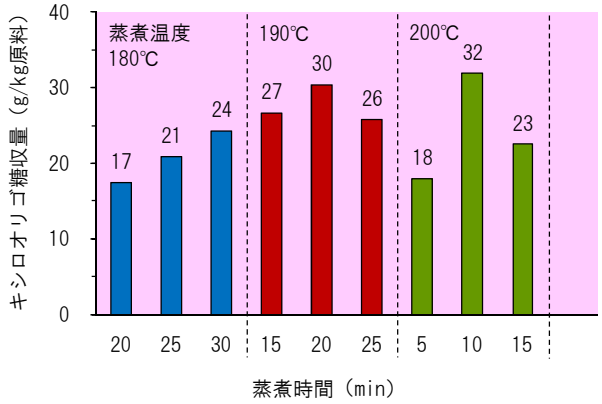

図-7　温水処理により抽出されたキシロオリゴ糖（二糖～五糖）の収量

＊原料ベースで表示

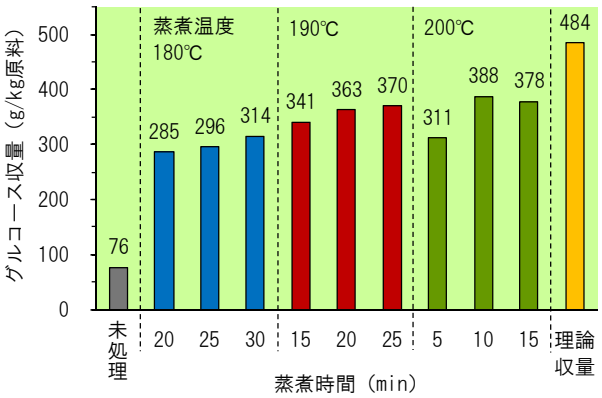

図-8　温水処理残渣の酵素糖化によるグルコースの収量

＊原料ベースで表示

発酵実験の結果を**図-9**に示す。温水処理残渣を基質とする糖化液では、液中グルコースの全量が速やかにエタノールへと変換された。一方、温水処理前の蒸煮粉砕物を基質とする糖化液も、液中グルコースのほぼ全量がエタノールへと変換されたが、変換スピードは温水処理残渣の場合よりも遅かった。

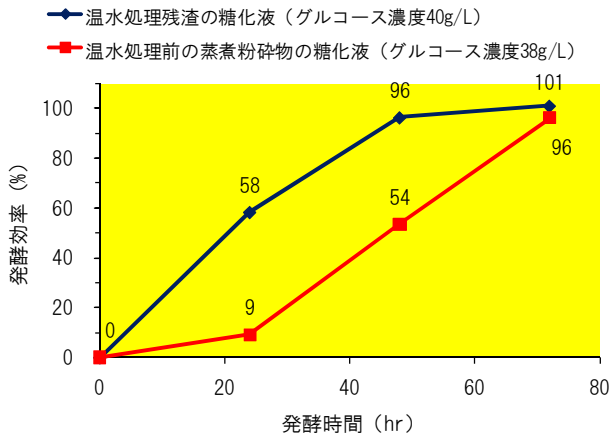

図-9　温水処理残渣の糖化液の発酵性

＊糖化液中のグルコースが全量エタノールに変換された場合を発酵効率100%とする

＊比較として、温水処理前の蒸煮粉砕物の糖化液の発酵性を赤線で示す

先にも述べたが、蒸煮ではチップ中のヘミセルロースやリグニンが低分子化し、揮発性もしくは易水溶性成分となる。これらの蒸煮産物には、キシロオリゴ糖のように有用成分も含まれるが、有機酸やフェノール類、フラン類といった発酵時に酵母の働きを阻害する物質も含まれる[5]。温水処理前の蒸煮粉砕物を基質とする糖化液の発酵スピードが遅いのは、これら発酵阻害物質の影響を受けているためではないかと考えられる。

これに対して、温水処理残渣を基質とする糖化液では発酵スピードが速く、発酵阻害物質の影響が少ないことが推測される。キシロオリゴ糖を抽出する目的で行っている温水処理は、副次的に発酵阻害物質の抽出も兼ねており、残渣の発酵性にも都合よく作用しているものと考えられる。

(5) 並行複発酵

バイオエタノール製造プロセスの簡素化、効率化を図る目的で、糖化工程と発酵工程を同一反応槽内で同時に行う並行複発酵技術を検討した。反応槽には、50L反応槽を用いた（**図-10**）。セルラーゼによるグルコース生成スピードに比べ、酵母によるグルコース消費スピードの方が速いことを踏まえ、一定時間先行的に糖化を単独で行い（以下、先行糖化とする）、途中から酵母を添加して並行複発酵へと移行する方法を採用した。

先行糖化や並行複発酵での温度、セルラーゼや酵母の量、基質濃度等の検討により、**表-3**に示すような条件において安定的な実験結果が得られるようになった。その条件による結果の一例を**図-11**、**表-4**に示す。先行糖化により蓄積されたグルコースは、酵母の添加とともに速やかにエタノールへと変換されており、先行糖化および並行複発酵を計48時間以内で終えることが可能と判断さ

図-10　50L反応槽外観（左）と内部（右）

表-3　本研究において安定的な実験結果が得られた先行糖化および並行複発酵の条件

先行糖化	温度（℃）	50
	時間（hr）	18
	基質濃度（%，w/w，対総量）	12
	酵素量（基質1gあたりのFPU）	20
	pH調整用緩衝液（種類）	クエン酸塩
並行複発酵	温度（℃）	30
	時間（hr）	24
	酵素量（基質1gあたりのFPU）	30
	酵母量（%，w/w，対総量）	0.2

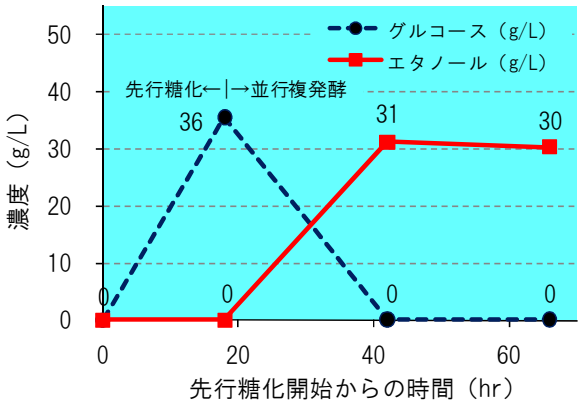

図-11　**表-3**の条件で行った先行糖化と並行複発酵の推移の一例

表-4　**表-3**の条件による実験結果の一例

グルコース収率（%）＊1	73.6
発酵効率（%）＊2	99.8
エタノール収率（%）＊3	15.9

＊1　温水処理残渣中のセルロースが完全に糖化した場合に得られるグルコース量を100として

＊2　糖化液中のグルコースが全量エタノールに変換された場合を100として

＊3　原料チップ量を100として

れた。温水処理残渣中のセルロース量を基準として、その74%がグルコースとして糖化液中に得られ、ほぼ全量がエタノールへと変換された。原料チップ中のセルロース量を基準としてみた場合、糖化液中に得られたグルコースは64%であったが、これは（3）の糖化実験で述べた収量（80%）よりも低くなった。先行糖化における基質濃度の違いや、並行複発酵時の温度の影響などが要因と考えられ、さらなるグルコース収量の向上は今後の課題である。

（6）バイオエタノール製造プラントの概略設計

200haのヤナギ栽培地より、毎年2,000t（絶乾）のヤナギを収穫し、これを原料にバイオエタノールを製造する小規模プラントについて概略設計を行った。プラント設計条件について**表-5**に示す。

プラントは製紙工場敷地内あるいは隣接地に設け、バイオマスエネルギーや排水処理を製紙工場施設に依存することにより、コストや立地制約の軽減を図ることとした。また、バイオエタノールの製造プロセスは、蒸煮－温水処理－先行糖化－並行複発酵プロセスとし、各工程の条件は、上記（1）～（5）の実験において得られたデータに基づいて設定した。副産物のキシロオリゴ糖は、粗抽出した後、脱色や脱塩といった精製を行うことでより付加価値を高め、経済性の向上を図ることとした。

以上のような条件において、本プラントの各工程を年間320日稼動させ、1日あたり6.25t（絶乾）の原料を処理するとした場合のマスフローを**図-12**に示す。年間2,000t（絶乾）の原料より、バイオエタノールが405kL（324t）、精製キシロオリゴ糖が220t得られると試算された。なお、これらの製品とともに発生する残渣（主にリグニン）は、プラントの熱源として活用する設計となっている。

表-5　小規模バイオエタノール製造プラントの設計条件

工場	
立地	製紙工場敷地内または隣接地
稼動日数	各工程を320日/年
原料処理量	2,000t/年，6.25t/日
エネルギー供給	製紙工場よりバイオマスエネルギーを受給
排水処理	製紙工場施設を使用
製造プロセスおよび装置	
プロセス	蒸煮－温水処理－先行糖化－並行複発酵
蒸煮装置	バッチ式オートクレーブ
蒸煮後粉砕装置	カッターミル
温水処理装置	バッチ式反応槽
糖化発酵装置	バッチ式反応槽
プロセス各工程操作条件	
蒸煮	200℃，10分
温水処理	40℃，30分
先行糖化	50℃，23時間，基質濃度12%（w/w，対総量），酵素量20×10^6 FPU（基質1tあたり）
並行複発酵	30℃，24時間，酵素量30×10^6 FPU（基質1tあたり），酵母量0.2%（w/w，対総量）
プロセス各工程収率（%）	
蒸煮収率（＊1）	**93.0**
温水処理残渣収率（＊2）	**72.3**
うちセルロース量（＊3）	**56.7**
グルコース収率（＊4）	**75.0**
発酵効率（＊5）	**100.0**
エタノール収率（＊1）	**16.2**
エタノール濃度	**3.1**
キシロオリゴ糖収率（＊1）	**11.0**

＊1　原料チップ量を100として
＊2　蒸煮チップ量を100として
＊3　温水処理残渣量を100として
＊4　温水処理残渣中のセルロースが完全に糖化した場合に得られるグルコース量を100として
＊5　糖化液中のグルコースが全量エタノールに変換された場合を100として

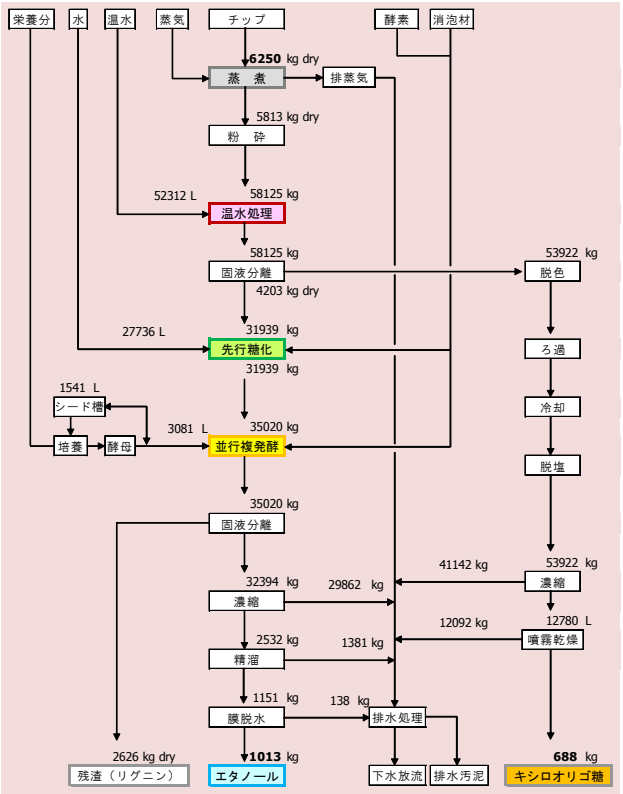

図-12　**表-5**に示す条件で小規模バイオエタノール製造プラントを稼働させた場合のマスフロー

4. おわりに

本研究で検討した蒸煮－温水処理－先行糖化－並行複発酵プロセスは、工程や装置がシンプルで、酸やアルカリ等の薬剤を使用せず、環境負荷の少ないプロセスである。また、バイオエタノールとともに機能性成分であるキシロオリゴ糖が副産物として得られる点が特徴となっている。

本発表では触れていないが、バイオエタノール製造の事業化にあたっては、EPR（エネルギー収支比）、ライフサイクルGHG（温室効果ガス）排出量および製造コストが重要であり、我々はそれらの検討も行った。特に問題となるのが製造コストの部分であり、プラントのスケールアップや各工程のコストダウンに向けた検討が必要となっている。

ヤナギの資源作物化は、国内では北海道に特有な取り組みであり、下川町や白糠町において栽培試験が進められている。このユニークな原料からのバイオエタノールの実用化に向け、今後も一層の検討を進めていきたいと考えている。

5. 参考文献

1) バイオ燃料技術革新協議会：バイオ燃料技術革新計画. 経済産業省、東京、2008
2) 北海道立林産試験場：蒸煮による素材化のための最適条件の検討. 北海道立林産試験場、旭川、1986
3) Okazaki M, Fujikawa S and Matsumoto N: Effect of xylooligosaccharide on the growth of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora*, **9**, 77-86, 1990
4) Imaizumi K, Nakatsu Y, Sato M, Sedarnawati Y and Sugano M: Effects of xylooligosaccharides on blood glucose, serum and liver lipids and cecum short-chain fatty acids in diabetic rats. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 199-205, 1991
5) （財）地球環境産業技術研究機構：図解　バイオリファイナリー最前線. 工業調査会、東京、2008

6. 付　記

本研究は、北海道開発局「北海道に適した新たなバイオマス資源の導入促進事業」の一環として、日本データーサービス（株）と共同実施した。