

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23658197

研究課題名(和文)セルロース系原料からのエタノール生産における糖化酵素リサイクル

研究課題名(英文)Reuse of enzyme for saccharification in ethanol production from cellulosic biomass

研究代表者

芋生 憲司 (Imou, Kenji)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：40184832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、酵素糖化後の未糖化の固形分に残存する酵素を繰り返し利用することにより、セルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産においてセルロースの糖化で使用するセルラーゼの使用量を大幅に低減することが可能となる技術を開発した。この技術を利用した仮想大規模得エタノール生産システムでは、酵素の再利用をしない場合と比べ、酵素使用量は半減し、エタノール生産量は10%向上し、エタノール生産システム全体のエネルギー収支が大きく向上することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, the technology to reduce the amount of enzymes used in hydrolysis process of cellulosic biomass for bioethanol production was developed by reusing enzymes remaining in the solid residue after enzymatic hydrolysis. According to the simulations of the ethanol production system installing this technology and that without this technology, installing this technology can reduce the amount of enzymes used in hydrolysis process by half, increase ethanol yield by 10% and improve total energy balance considerably compared to the ethanol production system without reusing enzymes.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：自然エネルギー利用 バイオエタノール

### 1. 研究開始当初の背景

バイオエタノールは即効性のある地球温暖化対策として生産量が急増している。しかし現在は糖やデンプン系作物を原料としており、食料との競合がしばしば問題になる。そこで食料と競合しないセルロース系バイオマスからのエタノール生産技術の開発が活発に行われるようになった。セルロースからエタノールを生産するには、グルコースに分解する糖化を行わなければならない。糖化処理の代表的な方法として濃硫酸法があるが、酸による腐食防止のため、設備費が高くなること、プロセスで消費するエネルギーが大きいことなどの問題がある。これに対し、反応条件がマイルドで、また環境負荷の少ない方法として酵素による糖化法が研究されている。ところがセルラーゼと総称される糖化酵素の生産コストが高いこと、またリグニンを除去する前処理の困難さが解決すべき課題となっている。筆者らは前処理の方法としてクラフトパルプの製造技術として既に確立されている技術を用いることを提案し、高基質濃度での糖化実験を行って、酸素晒パルプからのエタノール生産がエネルギー収支の観点から十分に成立しうることを明らかにした[1]。また糖化反応中、未糖化の部分に活性を持つ酵素が多く含まれることを明らかにした[2]。未糖化の固形分を再利用すると通常はリグニンが蓄積され糖化が阻害される。しかし、パルプ製造工程で前処理を行った場合、リグニンのほとんどが除去されているので、この心配がないと考えられる。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では糖化実験を繰り返し行い、残存酵素活性を評価するとともに、酵素使用量低減の効果を実証する。また未糖化基質を分離する最適なタイミングを明らかにする。さらにヘミセルロースの糖化酵素であるヘミセルラーゼについても同様の実験を行い、効果を調べる。

(2) (1)の結果を基に、この技術を用いた大規模のエタノール生産システムを想定し、生産コストとエネルギー収支を試算する。

### 3. 研究の方法

(1) 未糖化の固形分中に残存する酵素活性を、結晶性セルロース、キシランを評価用基質として用いて評価した。この結果をもとにシミュレーションを行い、固液分離の最適タイミングとなるセルロース糖化率を決定した。

(2) (1)で決定した最適タイミングで固液分離を行い、回収した固形分に新たな基質と不足する酵素を添加し、酵素糖化を計5回繰り返し、酵素使用料低減効果を評価した。

(3) (2)の結果をもとに大規模のエタノール生産システムを想定し、生産コストとエネルギー収支を試算した。

### 4. 研究成果

(1) 酸素晒パルプ、未漂白パルプ、結晶性セルロースの未糖化の固形分に残存する酵素活性を評価した。結晶性セルロースを評価用基質として評価したセルラーゼの酵素活性に関しては、結晶性セルロースでは、未糖化の固形分に残存する酵素活性は初期活性の20%程度と低く、酵素の多くは液相に存在していると考えられる。未漂白パルプでは、全体的に酸素晒パルプより5~10%程度低いことが確認された。一方、キシランを評価用基質とした場合には、キシランが完全に単糖のキシロースまで加水分解されず、その多くはキシロピオース、キシロトリオースなどの可溶性オリゴマーとして存在していたため、未糖化の固形分中に残存するヘミセルラーゼの酵素活性は十分に評価することができなかった。

(2) 酸素晒パルプを糖化基質とし、未糖化の固形分中の残存活性を評価した結果をもとに未糖化固形分分離の最適タイミングをシミュレーションにより算出した。未糖化固形分分離の最適タイミングの主な支配要因は、糖化繰り返し回数、酵素製造工程および蒸留工程での消費エネルギーとコストであることが確認された。ここでは、繰り返し回数を10回と設定し、消費エネルギーの観点から最適化を行い、セルロース糖化率70%が未糖化固形分分離の最適タイミングであることを算出した。

(3) 図2に各糖化サイクルでの糖化液中のグルコース濃度を示す。糖化液のグルコース濃度は第5サイクルの糖化液においても、第1サイクルとほぼ同等であり、リグニンの蓄積の影響は少なかった。また、この5サイクルの糖化実験の結果から酵素使用量を算出すると、グルコース1gあたり7.5FPUとなり、未糖化固形分中の酵素の再利用を行わない単独プロセスのグルコース1gあたり15FPUと比べ、50%の酵素使用量削減となることが確認された。

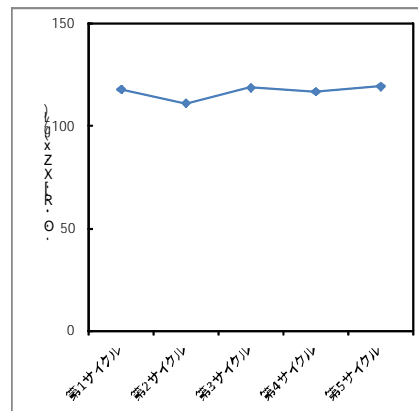


図1 各糖化サイクルでの糖化液中のグルコース濃度

(4) 図2に本研究で想定した大規模エタノール生産システムの概略を示す。本システムでは、原料となる木材をパルプ化し、酵素糖

化、発酵、蒸留、脱水を経て、無水エタノールを得る。パルプ化の際に副生する黒液から薬剤とエネルギーを回収しプロセスで利用する。本研究では、プラントに原料木材が搬入された所から製品となる無水エタノールを得るまでのエネルギー収支を算出した。糖化用酵素は酵素を購入するものとし、その生産にかかるエネルギーについてもエネルギー収支評価に加えた。酵素糖化に関しては、未糖化固形分を再度糖化工程に戻し、酵素の再利用を行うプロセス（再利用プロセス）と未糖化の固形分を戻さないプロセス（単独プロセス）を比較した。酵素糖化時の基質濃度は 200g/L、酵素使用量は基質 1g あたり 10FPU、糖化時間は 96 時間とした。エネルギー収支は、生産されたエネルギーと消費されたエネルギーの差として算出し、エネルギー回収率は、外部から投入したエネルギー（原料木材の持つエネルギー、購入電力、天然ガス）に対する生産されたエネルギー（エタノール、余剰蒸気）として、算出した。

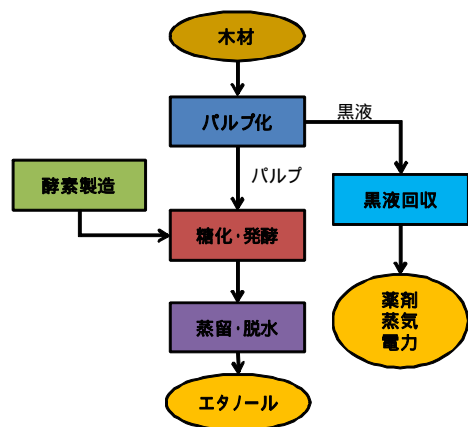


図2 本研究で想定したエタノール生産システムの概略

表1に各糖化プロセスでエタノール生産を行った場合の原料木材 1t（絶乾）あたりのエネルギー収支を示す。本エタノール生産プロセスでは、パルプ化で副生する黒液からエネルギーを回収できるので、そのエネルギーを生産物として扱った。

再利用プロセスでは、未糖化の固形分に残存する酵素を再利用可能であるため、酵素使用量が減少し、酵素生産にかかるエネルギーが減少した。さらに、未糖化の固形分中のセルロースもエタノールへ変換されるため、原料 1t あたりのエタノール生産量は増加した。その結果、再利用プロセスでは、エネルギー収支、エネルギー回収率が単独プロセスに比べ大きく向上した。

これらの結果から、本研究で想定した大規模エタノール生産システムは、未糖化の固形分を再度酵素糖化に戻すことにより、未糖化の固形分に残存する酵素の再利用を可能にするとともに、未糖化の固形分中のセルロースの再利用も行うことのできるシステムであることが確認された。

表1 エタノール製造のエネルギー収支(原料 1t あたり)

	単独	再利用
	プロセス	プロセス
生産		
エタノール (L/t)	208	228
蒸気 (GJ/t)	7.9	7.9
電力 (kWh/t)	328	328
消費		
蒸気 (GJ/t)	5.5	5.8
電力 (kWh/t)	698	485
天然ガス (GJ/t)	0.60	0.60
エネルギー収支 (GJ/t)	3.5	5.5
エネルギー回収率 (%)	34	37

参考文献

[1] Hasegawa, F., Yokoyama, S., Imou, K., Yano, S., Amano, T., "Bioethanol Production from Kraft Pulp", *Proceedings of the 5th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agriculture and Biosystems Engineering (ISMAB)*, Fukuoka, Japan (2010)  
 [2] Hasegawa, F., Inoue, H., Yokoyama, S., Imou, K., Yano, S., Amano, T., "Evaluation of reusable cellulase activity in the residue of enzymatic hydrolysis", *Proceedings of Renewable Energy 2010*, Yokohama, Japan, (2010)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

長谷川文生, 佐賀清崇, 海津裕, 芋生憲司, "パルプ製造技術を利用したエタノール生産～糖化酵素リサイクルシステムの評価", 農業機械学会関東支部第 49 回年次大会 2013 年 8 月 9 日, 東京農工大学 (東京都)

F. Hasegawa, H. Inoue, S. Yano, S. Yokoyama, K. Imou, "Evaluation of reusable cellulase activity in the residue of enzymatic hydrolysis", 20<sup>th</sup> European Biomass Conference and Exhibition, 21 June 2012, Milan, Italy

F. Hasegawa, H. Inoue, S. Yano, S. Yokoyama, K. Imou, "Evaluation of reusable cellulase activity in the residue of enzymatic hydrolysis", 8<sup>th</sup> Biomass Asia Workshop, 29 November 2011, Hanoi, Vietnam

長谷川文生, 井上宏之, 矢野伸一, 横山伸也, 佐賀清崇, 海津裕, 芋生憲司, "パルプ製造技術を利用したエタノール生産～高基質濃度糖化と酵素再利用", 農業環境工学関連学会 2012 年合同大会 2012 年 9 月 14 日, 宇都宮大学 (栃木県)

長谷川文生, 井上宏之, 矢野伸一, 横山伸也, 芋生憲司, "酵素糖化残渣中に残存する酵素の再利用の可能性", 第 70 回農業機械

学会年次大会 ,2011 年 9 月 8 日 ,弘前大学( 青森県 )

長谷川文生,井上宏之,矢野伸一,横山伸也,芋生憲司,“ 酵素糖化残渣中に残存する酵素の再利用 ”,第 20 回日本エネルギー学会大会,2011 年 8 月 11 日,関西大学(大阪府)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

芋生 憲司 (IMOU Kenji)

東京大学、大学院農学生命科学研究科・  
教授

研究者番号: 40184832

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: