

成果報告書[概要版]

1. 事業の概要

1-1 事業の背景と目的

年間約 800 万トン発生している林地残材の利用を推進するため、日本の森林条件に適した低コスト・効率的なバイオマス収集・運搬システム及びそれに必要な収集・運搬機械の開発が行われている。収集・運搬された木質バイオマスを大量かつ安定的に利用する方法として、燃料等の大規模低コスト型製造システムの構築が挙げられる。

本事業では、日本で最も資源量の多いスギを主たる対象樹種とし、これまで当所で研究開発を進めてきたアルカリ蒸解前処理と酵素糖化・発酵技術およびリグニンの化学・微生物変換技術を基本技術とし、実証プラントレベルでのランニングコストを最低限としたバイオエタノール生産技術とリグニンを付加価値の高いマテリアルとして利用する技術を実証する。

1-2 事業の概要

本事業では、木質資源に含まれるセルロース・ヘミセルロースを酵素糖化し、これを発酵してバイオエタノールを生産する。酵素（セルラーゼ）糖化を進み易くするための脱リグニン前処理には、「ソーダ蒸解法」を用いる。本システムでは生産物はエタノールであり、副次的にアルカリ蒸解リグニン（黒液）が得られる。副産物として得られる黒液は回収エネルギー量の評価に用いるとともに、一部を黒液濃縮装置による濃縮を通して蒸解リグニンを回収し、付加価値の高いマテリアル製品の原料として用いる。また、本バイオエタノール生産のマテリアルバランス、エネルギー収支及びランニングコストの試算を行う。

本事業で実施した実証項目を下記に記す。

- (1) 小型連続蒸解技術の針葉樹対応
- (2) 糖化技術の効率化
- (3) 発酵技術の効率化
- (4) 蒸留技術の効率化
- (5) 蒸解リグニンの分離とマテリアル変換

2. 実施体制

2-1 実施体制及び事業運営体制

事業の受託者は、独立行政法人森林総合研究所である。受託者の事業執行のための体制及び事業担当者を下記に記す。

- (1) 統括：山本幸一・研究コーディネータ（平成 20 年度）、大原誠資・研究コーディネータ（平成 21～24 年度）
- (2) 技術実証及び改良技術開発
 - ・アルカリ蒸解前処理：真柄謙吾、池田努（バイオマス化学研究領域）
 - ・糖化・発酵技術：野尻昌信（きのこ・微生物研究領域）
 - ・酵素のオンサイト生産技術：渋谷源（きのこ・微生物研究領域）
 - ・リグニンのマテリアル変換：山田竜彦（バイオマス化学研究領域）
- (3) プラントの運転管理・保守：真柄謙吾（バイオマス化学研究領域）
- (4) 木質バイオエタノール事業支援委員会（森林総合研究所内）

森林総合研究所内に、理事（企画・総務担当）を総括責任者とする事業支援委員会を設立し、安全衛生、財務経理、物品調達、財産・施設管理、研究企画、委託契約事務、プレス対応等に関する全所的な支援を行った。

また、事業を迅速、効率的に遂行するため、以下の業務について再委託を行った。再委託先と委託業務名を下記に記す。

- (1) 東京大学大学院農学生命科学研究科：糖化酵素の選定及び生産業務
- (2) 早稲田大学理工学術院：アルカリセルラーゼ生産菌の選別及び C5C6 同時発酵技術の開発業務
- (3) 秋田県立大学木材高度加工研究所：リグニン利用技術の開発業務
- (4) 実証プラントの維持管理業務：株式会社佐藤庫組
- (5) 廃水処理業務：株式会社エコシステムジャパン
- (6) プラント施設解体工事のための設計図書作成業務：株式会社旭設計
- (7) プラント施設解体業務：株式会社佐藤庫組

さらに、事業実施に当たってチップ原料の調達、林地残材の調製、プラント施設見学対応、成果発表会の共催等に関し、北秋田市総務部総合政策課、秋田県生活環境部をはじめとする秋田県の自治体、企業、研究機関等に多大の協力を頂いた。

2-2 バイオエタノール事業推進委員会

事業の進捗状況、設備の改良、事業の進め方とうについての専門家の立場から助言、指導を頂くため、バイオエタノール事業推進委員会を設置した。委員会委員の氏名・所属・専門分野を下記に記す・

- ・飯塚堯介・東京家政大学教授・リグニン化学
- ・高田克彦・秋田県立大学木材高度加工研究所教授・木材の材質特性
- ・安戸饒・バイテクAD・発酵・酵素コンサルタント・糖化発酵
- ・近藤和博・株式会社豊田通商事業開発部・化学工学
- ・松倉紀男・元株式会社日本紙パルプ研究所長・紙パルプ製造
- ・志水一允・元日本大学生物資源学部教授・糖化学

3. 実証プラント（平成20年度～平成24年度）

実証プラントは平成21年6月に完成した（写真）。プラントは3階建てであり、中には蒸解設備、パルプ洗浄設備、糖化設備、発酵設備及びユーティリティ設備が設置された。その後、実証設備改良工事を行い、平成21年度には廃水処理設備と糖液膜濃縮設備、平成22年度には黒液濃縮設備、平成23年度にはpH自動調整設備が導入された。



写真 バイオエタノール実証プラント（秋田県北秋田市）

主なバイオエタノール製造実証機器は、チップ投入機（ホッパー）、蒸解機、二連洗浄フィルター、酵素生産タンク、糖化槽、RO糖液濃縮機、発酵タンク、黒液濃縮装置である。各機器の目的、仕様を下記に記す。

- (1) チップ投入機（ホッパー）：チップの受入れ、容量 1m³
- (2) 蒸解機：アルカリ蒸解、170℃
- (3) 二連洗浄フィルター：蒸解パルプの洗浄、二連ウォッシャー式
- (4) 酵素生産タンク：糖化に使用する酵素のオンサイト生産、500L 容量
- (5) 糖化タンク：パルプスラリーの糖化または同時糖化発酵、5000L 容量
- (6) RO糖液濃縮機：糖液の濃縮、スパイラル膜式
- (7) 発酵タンク：濃縮した糖液を酵母で発酵、1000L 容量
- (8) 黒液濃縮機：蒸解廃液（黒液）の濃縮、液膜降下式熱交換器による単効用蒸発濃縮

4. 実証内容（平成20年度～平成24年度）

(1) 小型連続蒸解技術の針葉樹対応

これまで主として広葉樹や非木材のパルプ化に用いられてきたソーダ・アントラキノン蒸解法を蒸解の最も困難な針葉樹であるスギに適用し、その酵素糖化前処理としての最適蒸解条件（167℃、活性アルカリ 15%、液比 5、滞留時間 2 時間の半バッチ運転）を決定した。この条件では、糖化工程に必須であるパルプ中のリグニン量 3%以下を実現できる。これにより、国内に最も多く蓄積されている森林資源であるスギを木質バイオエタノール生産の原料に使用できることを実証した。また、スギ材部のみでなく枝・葉・伐根等の林地残材も同様にその原料とすることが可能であることを実証した。

(2) 活性の高い糖化酵素および糖化同時発酵条件の設定・最適化

スギパルプを炭素源としてセルラーゼ生産菌（*Trichoderma reesei*）から誘導された酵素タンパクは、他の基質によって誘導されたものよりもスギパルプを効率的に分解することが示された。スギを堆肥化することを経て得られた微生物群をバイアル瓶で継体培養することにより、スギ分解微生物群を構築することができた。スギで構築された微生物群は、稲わらで構築されたものとは異なる微生物で構成されており。また培養上清のタンパク質も異なっていた。

(3) 糖化技術の効率化

蒸解工程で得られるスギパルプを炭素源とした酵素のオンサイト生産を行った。本実証運転では、pH 自動調整装置を導入することで培養液の pH を菌培養の最適値（pH4.8）に維持することができた。最終的には、パルプ 30.4kg を用いて 130FPU/g-C の酵素を 120 FPU/[L・H] の生産性で生産することができた。

糖化工程では、糖化槽にエアノズルを設置することにより、エアレーションによるパルプと酵素の混合攪拌が可能になったことから、糖化時のパルプ濃度 3.5%を達成した。これに加えて、前処理工程でパルプ中のリグニンを 3.0%以下にする蒸解条件が確立されていることから、市販酵素（GC220）23FPU/g-pulp を用いた時に、糖化パルプ濃度 3.5%、糖化時間 72 時間の条件で C6 糖糖化率 97.1%を達成した。

(4) グルコース存在下でもキシロースを分解利用できるエタノール生産微生物の育種

デオキシグルコース耐性を指標とした変異育種により、キシロース選択的資化酵母（*Pichia stipitis* NBR43 株）を取得した。得られた NDR43 株と *Saccharomyces cerevisiae* X33 を組み合わせた 2 段階発酵プロセスによるエタノール生産では、wild type の *P.stipitis* NBRC10063 単独でのエタノール生産量を上回ったが、X33 株単独使用時のエタノール生産は下回った。1 段階目のキシロース消費速度の向上、あるいはグルコース消費の更なる抑制が必要となった。

(5) 発酵技術の効率化

RO膜を用いてC6糖濃度7.4%まで濃縮した糖液を乾燥酵母で発酵することにより、45時間の発酵時間で発酵収率96.5%のエタノールを製造することができた。また、糖化液のRO膜濃縮については、最大で12.46%まで糖濃度を高めることができた。

(6) 蒸煮処理によるヘミセルロースの分離

スギチップを常温常圧下でオゾン酸化してリグニンの一部をシュウ酸に変換した後、150または170℃で30-120分間熱水処理することにより、チップに含まれるヘミセルロースの約50%以上を分離することができた。

(7) 蒸留技術の効率化

(株)総合環境研究所(長野県信濃町)のバイオマス実験棟の蒸留装置を用いて発酵液のもろみ蒸留、精留を行った。供試液は、実証プラントで得られたエタノール濃度4.2%の発酵液を用いた。また、モレキュラーシーブ3Aを用いた無水化試験を行った。無水化後の試料の水分はJIS規格を大きく下回っており、本法による脱水は充分に行われたと判断した。メタノール等の有機不純物や銅・硫黄分等の成分についてはすべて品質規格を満たしており、スギ材成分に由来する不純物の存在は認められなかった。

(8) 黒液濃縮装置の実証運転

1回の蒸解運転毎に発生する黒液は、蒸解釜の洗浄液も含めて約2000Lであった。平成23~24年度の実証運転において、約88,000Lの黒液を約10,000Lまで濃縮した。濃縮黒液はポリタンク(20L容量)に入れ、239缶を森林総研本所に送付した。

(9) 蒸解リグニンの分離とコンクリート用減水剤等のマテリアル製造

プラントの黒液濃縮装置で得られた濃縮黒液を噴霧乾燥することで、蒸解リグニン粉末の連続的に製造することができた。また、黒液中のリグニンのコンクリート用減水剤としての利用のため、スギ林地残材の蒸解で得られた濃縮黒液に単官能化したグリシジルエーテルを加え、両親媒化反応を行った。両親媒化リグニンの減水剤としての性能を評価するペースト試験において、黒液中のリグニンから製造した減水剤は、市販の比較品と比較して3倍以上の高い流動付与性を示した。また、JIS A 6204に基づく減水剤としての特性評価を行ったところ、調製したリグニン系減水剤は、コンクリート用減水剤としての標準的使用に十分に対応できることが確認された。

(10) 木質プラスチック複合材(混練型WPC)等のマテリアル製造

蒸解リグニンを相溶化剤(無水マレイン酸変性ポリプロピレン)と共に添加した混練型WPCは、引張り強度、寸法安定性に優れたWPC原料として利用可能であった。得られたリグニン含有WPCは、秋田県下で市販されている混練型WPCより優れた諸特性を示した。

アルカリリグニンの土壌改良剤としての評価を行ったところ、pH5.0及び6.0の土壌での試験においてアルミニウムに対する生育阻害抑制効果を示した。しかし、その効果は現在、市場で用いられている炭酸カルシウムに比べると低かった。

(11) マテリアルバランス、エネルギー収支、エタノール製造ランニングコストの試算

前処理収率44%、除塵洗浄収率88%、糖化率97.1%、発酵収率96.5%を達成したことから、スギ切削チップ1トンから216Lのバイオエタノールを製造することができた。本実証プラントではC5糖の発酵を実施しなかったが、C5糖の発酵は既存データを適用すると、目標とした220Lを超えるエタノール製造が試算された。

原料(スギ切削チップ)の使用規模を250t/日とした場合のエタノール製造工程のエネルギー収支を試算すると、全工程のエネルギー消費量は蒸気量824.56T/日、電気量122.14MWh/日であった。一方、黒液のボイラー燃焼時に発生するエネルギーは蒸気量1102.2T/日、電気量189.75MWh/日であった。従って、全工程における余剰エネルギーは蒸気量277.64T/日(発生量の25.2%)、電気量67.61MWh/日(発生量の35.6%)と試算され

た。

原料使用規模を 250t/日、年間 330 日運転、エタノール収率 0.22kL/t とした場合のエタノール製造コストを試算すると、変動費 1,771,543 千円/年、固定費 3,010,050 千円/年、合計 4,781,593 千円となった。年間のエタノール生産量は 18,150kL であることから、エタノール製造のランニングコストは 98 円/L、固定費を含めた全体の製造コストは 260 円/L と試算された。なお、ランニングコストの 60.5%は原料購入費 (13,000 円/t) であった。

5. 実証の目標と達成度、構築した製造システム

実証の目標と達成度を下記に記す。

実証の目標は、エタノール収率を 220L/t、エタノール製造コスト 100 円/L、市販品の 2 倍以上の流動性を付与するリグニン系コンクリート減水剤の製造であった。

エタノール収率は 216L/t-スギ切削チップであった。本実証プラントでは C5 糖の発酵を実施しなかったが、C5 糖の発酵に既存データを適用すると、目標とした 220L/t を超えるエタノール生産が試算された。エタノール製造のランニングコスト (原料使用規模 250t/日、年間 330 日運転) は、98 円/L と試算され、ランニングコストでは目標値を達成した。スギチップの蒸解黒液から調製した両親媒性リグニンは、コンクリート用減水剤としてのペースト試験において、市販品の 3 倍以上の高い流動付与性を示した。

本事業で構築した製造システムを下記に記す。

構築した木質バイオエタノール製造システムは、前処理としてのアントラキノン添加ソーダ蒸解工程、糖化酵素のオンサイト生産工程、酵素糖化、糖液膜濃縮工程、発酵工程及び蒸解リグニンの分離とマテリアル変換工程から成る。当該システムの各工程の特徴を下記に記す。

(1)前処理工程

プレスチーム 100℃・20 分、昇温 170℃・30 分、滞留 170℃・120 分、チップ搬出 100℃・15 分の加熱温度スケジュール、活性アルカリ 15%、液比 5 の条件でスギチップをアルカリ蒸解した後、ハイポ漂白を行うことで糖化用パルプを製造。

(2)糖化酵素のオンサイト生産

実証プラントで生産したスギパルプを炭素源としてセルラーゼ分解菌 (*Trichoderma reesei*) を培養。パルプの小分け投入及び pH 自動調整装置の整備により、酵素コストを低減化。

(3)酵素糖化・発酵

エアレーションによる攪拌方式の採用、ハイポ漂白導入による酵素糖化の効率化、膜濃縮装置による糖液濃縮後の発酵の実施。

(4)リグニンの分離とマテリアル変換

固形分 2~3%の黒液を 40~50%にする濃縮黒液製造、濃縮黒液の噴霧乾燥による粉末化、コンクリート用減水剤及びリグニン含有混練型 WPC の製造システムの構築。

6. まとめ

実証課題と解決方法、達成目標及び達成度を次表に記す。

また、技術実証課題と達成状況の年度毎の進捗は、「 実証課題と達成状況」に示す。」

表 技術実証課題とその解決方法、実証の達成目標及び達成度

課題項目	解決方法	達成目標	達成度
1 小型連続蒸解技術の針葉樹対応	<ul style="list-style-type: none"> ・別事業で開発した針葉樹蒸解の成果や委託調査結果を基に、実証装置を設計・開発し、実証を行う。 ・蒸解温度、アルカリ濃度を検討し、小型連続蒸解の収率及び脱リグニンのデータ精度を向上させることにより、スギ材に適した小型連続蒸解条件を確立する。 ・ハイポ漂白処理の糖化効率に及ぼす効果を検証。 ・スギ材を常温常圧下でオゾン酸化してリグニンの一部をシュウ酸に変換し、水洗後に蒸煮処理することによりヘミセルロースを分離する（実験室）。 		<ul style="list-style-type: none"> ・平成21年度：実験室で50-70%のヘミセルロースを分離し、アルカリ蒸解前処理前に蒸煮処理工程を追加すれば収率が約30L/t向上することを確認。 ・平成23年度：スギ切削チップによる半バッチ式蒸解運転法を確立（167℃、滞留2時間、活性7%（15%））し、パルプ収率44%を達成。実証施設での24時間連続運転を実施。破砕チップ、林地残材によるアラック形成を確認し、蒸解試験実施。
2 糖化技術の効率化	<ul style="list-style-type: none"> ・前処理パルプ濃度、パルプスラリーの攪拌条件を検討し、糖化条件の最適化を図る。 ・糖化活性の高い安価な酵素選別のため、スギパルプを唯一の炭素源とする堆肥を作製し、成果を活用（東京大学農学生命科学研究科再委託）。更に、酵素のオンサイト生産の炭素源としてスギパルプを使用し、培養工程でのpH自動調整を行うことで、酵素生産量の向上、生産コストの低減を図る。 ・アルカリ条件下で高い活性を維持するセルラーゼを開発（早稲田大学理工学術院先進理工学部応用化学科木野研究室再委託）。 	エタノール収率を220L/t エタノール製造コスト100円/L	<ul style="list-style-type: none"> ・平成21年度：糖化タンクの攪拌装置を改良。 ・平成22年度：ハイポ漂白効果を実証施設で検証。酵素の選別を実施。 ・平成23年度：ハイポ漂白処理パルプの最適酵素使用量を決定。セルロース粉末を炭素源とした酵素のオンサイト生産で酵素コストを110円から56円に削減。 ・平成24年度：パルプを炭素源とした酵素のオンサイト生産で酵素コストを15円に削減。糖化率C6糖当たり97.1%を達成（GC220使用）。
3 発酵技術の効率化	<ul style="list-style-type: none"> ・膜濃縮装置で糖化液の糖濃度を高め、発酵条件の最適化を図る。 ・グルコース存在下でもキシロースを分解利用できるエタノール生産変異株NDR43を造成し、グルコースからの生産収率の高い<i>Saccharomyces cerevisiae</i>を組み合わせ、発酵途中でエタノール分離を必要としない効率的プロセスを検証。また、<i>S. cerevisiae</i>のみによる発酵で得られた発酵液の蒸留残渣にキシロース発酵酵母を作用させた場合のエタノール生産の可能性を検討（早稲田大学理工学術院先進理工学部応用化学科再委託）。 		<ul style="list-style-type: none"> ・平成22年度：<i>S. cerevisiae</i>への遺伝子導入は安定した発現がなく断念。<i>P. stipitis</i>の育種では、遺伝子破壊カセット構築に成功。 ・平成23年度：膜濃縮装置による発酵を検証し、糖液濃度2.6%の糖化液から95.6%の発酵効率でのエタノール生産を実証。 ・平成24年度：糖液濃度7.4%、発酵時間45時間で発酵収率96.5%を達成。
4 蒸留技術の効率化	<ul style="list-style-type: none"> ・発酵工程で得られたエタノール液を蒸留し、95%のエタノール液を製造（他のプラントを活用し、燃料用エタノールとしての品質評価を行う。） 		<ul style="list-style-type: none"> ・平成23年度：他のプラントの蒸留装置で99.5%エタノール液を製造、JAS規格製品を製造できることを確認。
5 蒸解リグニンの分離とマテリアル変換	<ul style="list-style-type: none"> ・蒸解リグニンの高付加価値化のための製造技術の開発として、黒液から大量の蒸解リグニン粉末を調製する技術及び得られたリグニンからコンクリート減水剤等の機能性リグニンを製造する技術の検証を行う。 ・蒸解リグニンを重金属吸着性土壌改良剤等のマテリアル製品として利用するため、森林総合研究所及び秋田県立大学のほか、関連企業等へのサンプル提供を通じて幅広く検証する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・製造コスト100円/Lを達成するリグニンの有価物化 ・リグニン粉末の効率的調製 ・市販品の2倍以上のコンクリート流動性付与 ・リグニンサンプル提供2件 	<ul style="list-style-type: none"> ・平成22年度：黒液濃縮装置設置。 ・平成23年度：黒液を濃縮しリグニン粉末を調製する効率的な方法を検証。また、黒液リグニンから土壌改良剤の試作、糖化残渣からWPC成形体を作成し、スギ木粉と糖化残渣をWPCに混練したものは引張強度が増大することを確認した。リグニン粉末試料を2件提供。 ・平成24年度：市販品より3倍程度高い流動性を示すコンクリート減水剤の製造を実証。スギ木粉と黒液リグニンをWPCに混練したものは市販品より優れた引張強度、寸法安定性を示すことを確認した。

図 実証課題と達成状況

