

ソフトバイオマスを原料とした酵素糖化における 各種前処理方法の糖化効率比較

環境計画研究室 前田光太郎

1. はじめに

バイオマスを原料とした燃料用エタノールの生産は、化石燃料に依存しない循環型社会の構築と温暖化対策として二酸化炭素の削減の観点から世界的に期待されている。現在、バイオエタノールの原料はサトウキビやトウモロコシ可食部などの農作物(糖)が用いられている。しかし、世界的な食糧不足の懸念から農作物を原料としたバイオエタノールの生産には限界がある。そこで、トウモロコシ非食用部(コーンストーバー)や稲わらなどのソフトバイオマスを原料としたバイオエタノールの生産技術開発が行われている。ソフトバイオマスは糖化対象となるセルロースとヘミセルロースの周りをリグニンが覆っているため、そのまま利用することはできない。ソフトバイオマスを原料として用いるためには、前処理工程でリグニンの除去を行い、糖化をより進めやすくする必要がある。本研究では、コーンストーバー、稲わらおよびヒシを対象バイオマスとして、前処理および酵素を用いた糖化を試みた。グルコース回収率と単糖回収率を用いて、前処理工程における実用技術から研究段階の技術を横断的に評価・検討を実施した。また、実験室規模での前処理・酵素糖化コストの算出も行った。

2. 実験方法

2.1 実験材料

本研究で用いたバイオマスを表 1 にまとめる。いずれのバイオマスも 80°C で 24 時間乾燥後、ワンダーブレンダー(大阪ケミカル株式会社)で 1 分間破碎を行った。破碎後、再度乾燥を行いデシケーターで保存した。

表 1 本研究で用いたバイオマス

試料	備考
コーンストーバー	高知大学にてクローニング作物として栽培されたもの(2009年12月)
ヒシ	鳥取県湖山池にて採取(2010年7月)
稲わら	園芸用資材として販売されているもの(2010年7月)

2.2 酵素糖化のための前処理

前処理方法としては、Alkaline/Oxidation 処理(AO)、アンモニア処理(SAA)、水熱処理(LHW)、イオン液体処理(IL)および白色腐朽菌処理(WRF)を行った。前処理条件を表 2 示す。固液比は AO 処理, SAA 処理および LHW 処理は 10%(w/v)、イオン液体処理は 10%(w/w)で行った。WRF 処理は処理前に乾燥バイオマスをオートクレーブ滅菌(121°C, 60 分)した。AO 処理, SAA 処理および LHW 処理は前処理後バイオマスを遠心分離(3500rpm, 10min)で回収した。回収したバイオマスは AO 処理と SAA 処理は酢酸緩衝液(pH4.5)で洗浄を 3 回繰り返した。IL 処理は前処理後のバイオマスに少量の蒸留水を加え、遠心分離で回収した。回収したバイオマスは蒸留水で洗浄を 5 回繰り返した。以上の前処理後のバイオマスは蒸発皿に受け、105°C で一晚乾燥後その重量(バイオマス回収率)を求めた(繰返し数 n=2)。WRF 処理は前処理後、オートクレーブ滅菌し、105°C で 1 晩乾燥後その重量を求めた(n=2)。

表 2 本研究での前処理方法および条件

前処理方法	条件
AO処理	混合溶液は0.25g-H ₂ O ₂ /g-biomass, NaOHでpH11.5に調整したものを使用。24時間室温で反応。
SAA処理	15% アンモニア水を使用。24時間室温で反応
LHW処理	蒸留水を使用。15分。160-250°Cで反応
IL処理	1-Butyl-3-methylimidazolium Chlorideを使用。130°C, 0.04MPaで3時間反応
WRF処理	<i>Ceriporiopsis subvermispota</i> を接種。28°C, 含水率75%で30日間培養

2.3 酵素糖化

酵素糖化は、滅菌済み 15ml チューブに 2%セルラーゼ溶液(pH4.5)4 ml, 前処理済みバイオマスを 0.2 g 添加し、45°C で 48 時間振とう攪拌した(n=3)。グルコース回収率は、前処理済みバイオマス重量当たりのグルコース回収率を実測より求め、バイオマス回収率を掛けることで、前処理前バイオマス重量当たりに対するグルコース生成率を求めた。単糖回収率は、前処理済みバイオマス重量当たりの単糖生成率を実測より求め、バイオマス回収率を掛けることで、前処理前バイオマス重量当たりに対する単糖回収率を求めた。グルコース回収率と単糖回収率を用いて前処理評価を行った。

2.4 分析方法

本研究で用いたバイオマスの破碎状態を粒度分布計(SHIMADZU, SALD II)で測定した。溶媒としてイソブチルアルコールを用いた。グルコースの測定はグルコースキット-C II テストワコー(和光純薬)を用いた。キシロースを含む単糖の測定は HPLC(カラム, Shodex SUGAR SP0810; 検出器, RD)を用いた。バイオマスの成分分析は NREL メソッドの一部を改めてセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンを測定した(n=2)。なお、NREL メソッドを改めた個所(試料添加量)については影響がないことを事前に確認した。

2.5 前処理・酵素糖化コスト

前処理・酵素糖化コストについては、各工程における試薬価格と電力料金の総和をグルコース生成量で割ることで求めた。試薬価格は工業薬品価格を、使用電力料金は低電圧高負荷電力料金を用いた。前処理工程におけるコストは実験条件における試薬価格と使用電力料金を求めた。酵素糖化工程におけるコストは、糖化条件における試薬価格と使用電力料金を求め、バイオマス回収率を掛けた。各工程のコスト総和をグルコース回収量で割ることで、グルコースあたりの前処理酵素糖化コストを算出し、評価を行った。ここでは、実験室でのコストを比較のため求めており、固定費、修繕費、光熱費および人件費などは含めていない。

3. 結果と考察

3.1 対象バイオマス成分と破碎状態

対象バイオマスの組成を図 1 に示す。稲わらとヒシについては他の文献とほぼ等しい値を示した。コーンストーバーについては、他の文献の 6~7 割程度であった。本研究で用いたコーンストーバーはクリーニングクローブとして成長期の段階(栽培日数 60 日)で刈り取ったものであり、他の文献で用いられているものは成熟したコーンストーバーであることが考えられた。

そこで、成熟期コーンストロー組成分析を行った結果、他の文献と等しい値となることを確認した。

各バイオマスの前処理前の破碎状態(メディアン値)は 338.3 μ m(コーンストロー), 25.9 μ m(ヒシ)および 495.9 μ m(稲わら)であった。

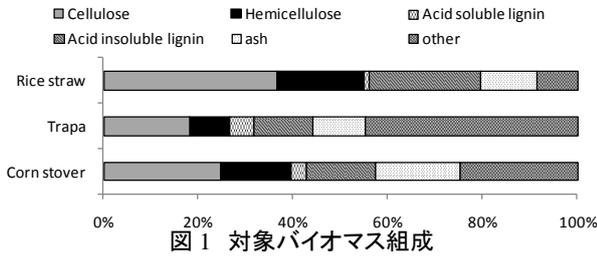


図 1 対象バイオマス組成

3.2 前処理・酵素糖化比較

前処理によるバイオマス成分変化を図 2 に示す。前処理によるバイオマス組成変化については、AO 処理がコーンストローと稲わらにおいてリグニンの含有率を最も減少させていた。しかし、SAA や LHW と比べてセルロースも失っていた。これは、NaOH が強アルカリであり、一部のセルロースやヘミセルロースを加水分解するためと考えられる。LHW 処理はすべてのバイオマスでヘミセルロースを分解し、失ってしまっていた。これは、ヘミセルロースが 180°C 以上で溶出するためと考えられる。SAA 処理はセルロースやヘミセルロースを溶出することなくリグニンやその他の物質を除去することができていた。

グルコース回収率を図 3 に示す。いずれのバイオマスもグルコース回収率は、AO 処理が最も効率的であった。ただし、ヒシのグルコース回収率は全体的に 10% 以下であり低かった。原因として、図 1 に示すようにヒシ中のセルロース含有率が低いことが考えられる。なお、AO 処理済みコーンストローのセルロースあたりのグルコース回収率は 89.3% であり良好であった。AO 処理済みコーンストローの糖化液のグルコース濃度は 21.2g/L で前処理を行わなかったものの約 3 倍であった。

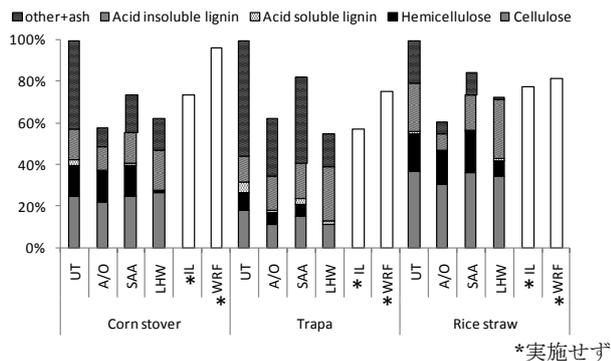


図 2 バイオマス組成変化

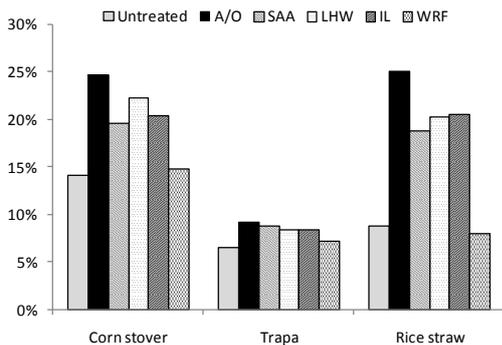


図 3 グルコース回収率

単糖類回収率を図 4 に示す。いずれのバイオマスも単糖類回収率は、AO 処理が最も効率的であった。ただし、ヘミセルロース含有率が高かった AO 処理と SAA 処理については、キシロース等を効率的に回収することはできなかった。例えば、AO 処理済みコーンストローのホロセルロースあたりの単糖類の回収率 72.8% に留まった。原因としては、糖化酵素としてセルラーゼを用いており、ヘミセルロースを効率的に糖化しキシロース等の単糖類を得ることができなかったためと考えられる。

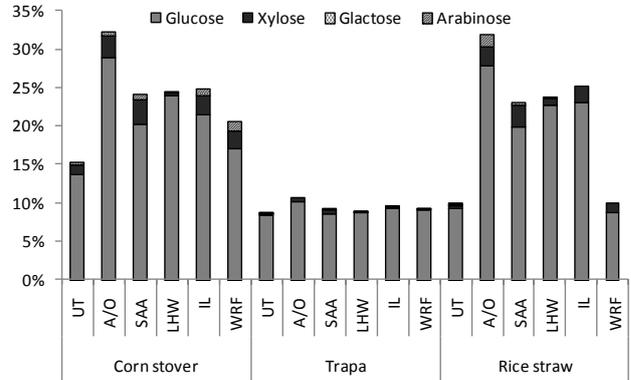


図 4 単糖類回収率

3.3 前処理・酵素糖化コスト比較

AO 処理, SAA 処理および LHW 処理について各バイオマスのグルコースあたりの前処理・酵素糖化コストを図 5 に示す。全てのバイオマスで AO 処理が前処理・酵素糖化コストが低く、コーンストローと稲わらは 5.6 円/g-Glucose, ヒシは 15.5 円/g-Glucose となった。なお、AO 処理で最も費用がかかった工程は洗浄工程で全体の 54.0% を占めていた。コーンストローは前処理なしのグルコースあたりの前処理・酵素糖化コストは 5.1 円/g-Glucose と AO 処理より安い結果となった。

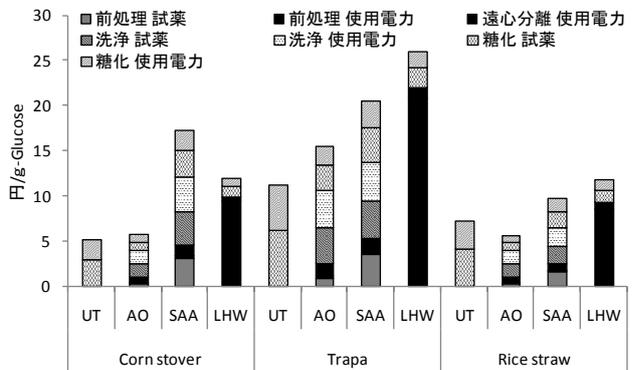


図 5 グルコースあたりの前処理・糖化コスト

4. まとめ

効率的にグルコースや単糖類を糖化回収できる前処理は AO 処理であった。AO 処理済みコーンストローのセルロースあたりのグルコース回収率は 89.3% であり、糖化液のグルコース濃度は 21.2g/L であった。単糖類回収率については、ヘミセルロースの糖化効率が低いことが示唆された。ヒシのグルコース回収率は 10% 程度であり、リグニンやその他の物質除去を効率的に除去する方法を考える必要がある。前処理・酵素糖化コストは AO 処理が最も安い結果となった。ソフトバイオマスは最先端の技術を用いなくても十分な酵素糖化が行えることが期待できる。