

超臨界水法によるリグノセルロースからのバイオエタノール生産

京都大学大学院エネルギー科学研究科
宮藤久士、坂 志朗

はじめに

近年、地球規模でのエネルギー・環境問題がクローズアップされる中、バイオマスエネルギーへの期待が高まってきています。中でも、木材をはじめとするリグノセルロースからのバイオエタノールに関する研究は、大きな関心が寄せられているテーマの一つです。

リグノセルロースから発酵性の糖類を得る方法としては、古くから硫酸などを用いた酸加水分解法をはじめとし、様々な方法が報告されています¹⁾。しかしながら、近年、無触媒で環境負荷の小さい処理方法として、超臨界水法が注目されてきています。本稿では、超臨界水法を用いたリグノセルロースからのバイオエタノール生産に関して、我々の研究グループにより得られた近年の研究成果について紹介します²⁻¹³⁾。

超臨界水

水は 374°C 以上、22.1MPa 以上の条件下では超臨界水となり特異な性質を示します。超臨界水の密度は常温の水の 1/2~1/3 程度であり、水蒸気に比べ数百倍大きい粘性率は水蒸気なみであり、拡散係数は液体と気体の中間です。これらのことから超臨界水は気体分子並みの大きな分子運動エネルギーを有し、常温での水のように高密度な高活性流体であり、超臨界水中では反応速度の増大が期待できます¹⁴⁾。

このような高温、高圧の超臨界状態を可能とする超臨界水処理装置には、大きく分けてバッチ型と流通型のものがある^{10, 15)}。

リグノセルロースの超臨界水処理

リグノセルロースを超臨界水処理すると図 1 のように分画され、水可溶部、水不溶部（沈殿）、メタノール可溶部（オイル状物質）、メタノール不溶残渣が得られます。水可溶部には、セルロースおよびヘミセルロースの加水分解により得られたオリゴ糖（2 量体~12 量体）や単糖（グルコース、フルクトース、マンノース、キシロースガラクトース、アラビノースなど）が可溶化しています⁶⁾。さらにそれら糖類が過分解して生成したレボグルコサン、エリトロース、グリセルアルデヒド、ジヒドロキシアセトン、メチルグリオキザール、フルフラール、5-ヒドロキシメチルフルフラール、蟻酸、酢酸、乳酸、グリコール酸なども同時に含まれていることが明らかとなっています⁶⁾。沈殿は、超臨界水には可溶化しているが、超臨界状態から常温常圧に戻ることで水不溶となり析出してくる 13 量体程度以上の多糖類です⁶⁾。図 2 には、流通型装置を用いてセルロースを 380°C、40MPa で 0.12、0.24、

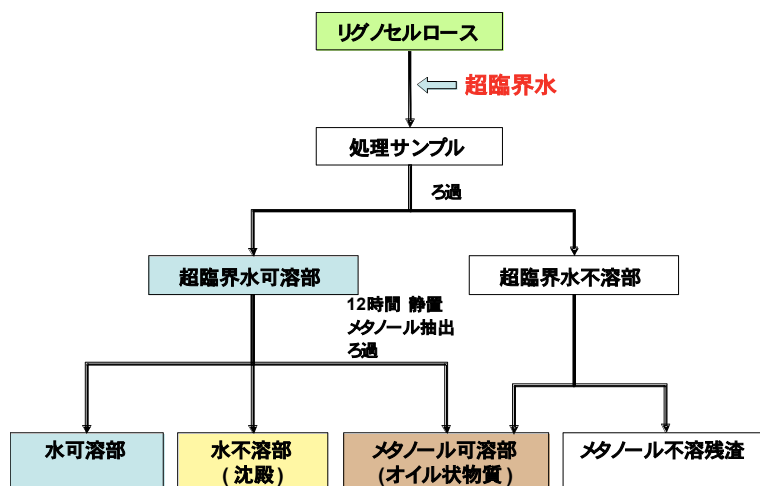


図 1 超臨界水処理サンプルの画分

0.48 秒処理した時の水可溶部と沈殿物の収率変化を示しています。処理時間が進むにつれて糖類の収率が低下し、過分解が進んでいることが分かります⁶⁾。

一方、メタノール可溶部には、表 1 に示すようなリグニン由来のベンゼン環を有する各種化合物が主に含まれています。メタノール不溶残渣は、未反応残渣でリグニン由来の高分子化合物です^{7,8)}。これらの画分の中で、エタノール生産に利用できるのは糖類を含んでいる水可溶部と沈殿です。

エタノール生産

セルロースをサンプルとして用い、最も糖類収率の高かった 380℃、40MPa、0.12 秒処理で得られた水可溶部および沈殿物からのエタノール生産について検討を行いました。通常エタノール発酵には酵母 *Saccharomyces cerevisiae* が用いられますが、この酵母は単糖をエタノール発酵できるものの、オリゴ糖や多糖をエタノールへ変換できません。したがって、エタノール発酵の前処理としてセルラーゼを用いた酵素糖化により、それらを単糖であるグルコースへの変換を試みました。その結果、図 3 に示すように、水可溶部中のオリゴ糖および沈殿物は超臨界水処理を行っていない無処理セルロースと比較して、非常に高速でグルコースが得られており、超臨界水処理と酵素糖化を組み合わせることでセルロースは高速で単糖に変換しうることが分かります¹³⁾。しかしながら、生成したグルコースは理論収率よりも低い値でした。

そこでグルコースの 6 量体であるセロヘキサオースのセルラーゼを用いた酵素加水分解反応系に、図 2 に示す各種の糖過分解物を添加し、酵素加水分解のモデル実験を行うことで、糖過分解物のセル

ラーゼの反応性に対する影響について検討を行いました。図 4 には、各種過分解物添加系における生成グルコース量の無添加系での生成グルコース量に対する割合を示しています。すなわち 100% の場合、過分解物は酵素加水分解に全く影響を及ぼさないとと言えます。いずれの物質においても生成グルコースは低くなっていることが分かります。特に有機酸では低い値となっています。これは、糖過分解物が酵

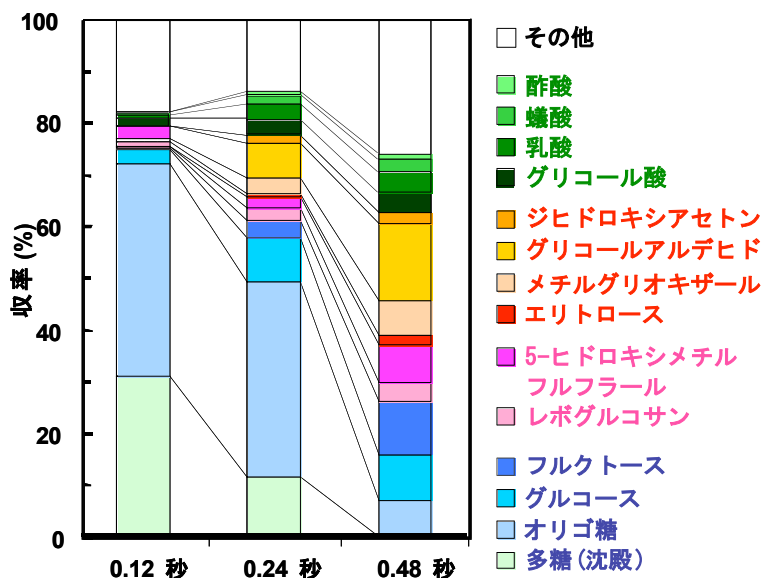


図 2 セルロースの超臨界水処理により得られた各種生成物の収率⁶⁾

表 1 メタノール可溶部中のリグニン由来物質^{7,8)}

グアイアシル骨格	シリングル骨格
グアイアコール	シリンゴール
メチルグアイアコール バニリン	メチルシリンゴール シリンガルデヒド
エチルグアイアコール ホモバニリン ホモバニリン酸 ビニルグアイアコール アセトグアイアコン	エチルシリンゴール ビニルシリンゴール アセトシリンゴン
プロピルグアイアコール 2-メトキシ-4-(1-ヒドロキシプロピル) フェノール オイゲノール イソオイゲノール (cis, trans) コニフェリアルデヒド (trans) フェルラ酸 プロピルグアイアコン 2-メトキシ-4-(プロピル-1-エン-3-オン) フェノール グアイアシルアセトン	プロピルシリンゴール アリルシリンゴール プロベニルシリンゴール (cis, trans) シナピルアルコール (cis, trans) シナピルアルデヒド (cis, trans) プロピルシリンゴン シリングルアセトン

素加水分解における反応阻害物質として作用することを表しています。したがって、図3で見られた水可溶部での低いグルコース収率は、この阻害作用によるものであると考えられます¹³⁾。

この阻害改善の方法として、阻害物質の吸着・除去を目的とした木質炭化物処理を試みました。また別の処理として、水可溶部の pH をいったん 12 まで上昇させた状態で 30 分間放置後、再び pH 5 まで低下させるオーバーライミング処理も検討しました。どちらの処理においてもグルコース生成量は増加し、阻害改善に効果的な処理であることが分かりました (図3参照)。

一方で、サンプルとしてスギやブナを用いた場合に得られる水可溶部では、エタノール発酵が進まないことが明らかとなっています¹²⁾。表2に示すように、糖過分解物である 5-ヒドロキシメチルフルフラールやフルフラールに加え、本来メタノール可溶部に含まれているリグニン由来物質が、微量ではありますが水可溶部にも存在します¹²⁾。これらの化合物はエタノール発酵の阻害物質として働くことが明らかとなっており、特にリグニン由来物質は糖過分解物に比べ、阻害作用が強いことが分かっています。これらの発酵阻害物質は、木質炭化物処理により水可溶部から吸着・除去が可能で、その際、グルコースなどの単糖類は除去されることはありません (表2参照)。この木質炭化物処理を行うことで、図4に示すように発酵が進み、エタノールが生産されうようになります¹²⁾。しかしながら、*Saccharomyces cerevisiae* はキシロースを発酵できないため、発酵終了後においてもキシロースは水可溶部中に残存することになります。そこで、キシロース発酵能を有する酵母 *Pachysolen tannophilus* を *Saccharomyces cerevisiae* 発酵系に共存させた共発酵について検討しました。その結果、図5に示すように残存したキシロ

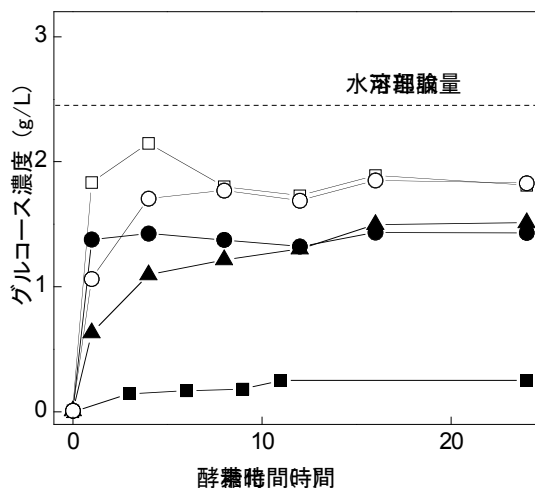


図3 各種基質の酵素糖化におけるグルコース濃度変化¹³⁾

■ 無処理; ▲ 沈殿; ● 水可溶部; ○ 水可溶部(オーバーライミング後); □ 水可溶部(木質炭化物処理後)

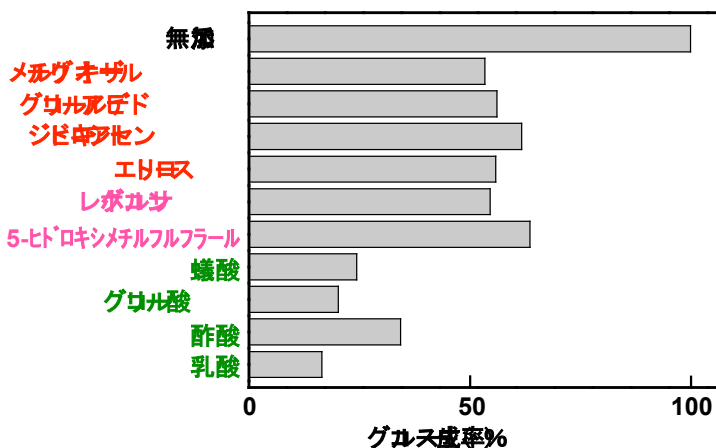


図4 各種糖過分解物添加系酵素加水分解モデル実験における生成グルコースの比較¹³⁾

表2 スギからの水可溶部中の各種物質濃度¹²⁾

	水可溶部中濃度 (mg/L)	
	無処理	木質炭化物処理後
5-HMF*	378	n.d.
フルフラール	240	n.d.
バニリン	818	n.d.
アセトグアイアコン	3	n.d.
グアイヤコール	33	n.d.
コニフェリルアルデヒド	94	n.d.
グルコース	1.04×10^3	1.04×10^3
その他の糖**	0.92×10^3	0.94×10^3

*5-ヒドロキシメチルフルフラール

**フルクトース、マンノース、ガラクトース、キシロースの合計
n.d. 検出されず

スもエタノールへと変換され、水可溶部に存在する発酵性糖のほとんど全てがエタノール発酵されることが明らかとなりました。

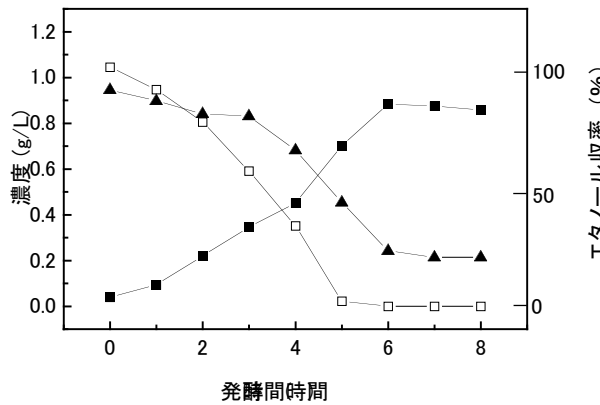


図4 木質炭化物処理後水可溶部からのエタノール生産¹²⁾

□ グルコース; ▲フルクトース、マンノース、ガラクトース、キシロースの合計; ■ エタノール

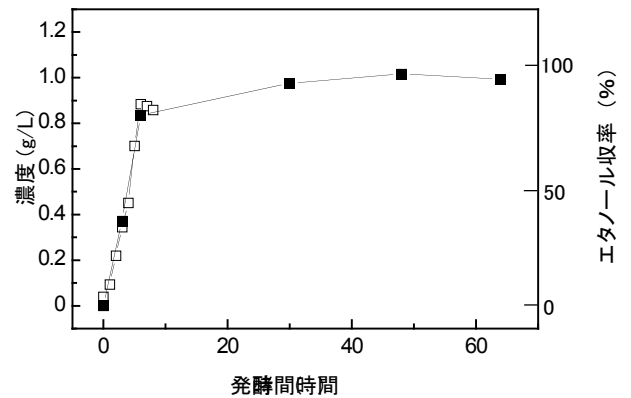


図5 共発酵系での生成エタノールの濃度変化

□ *Saccharomyces cerevisiae*;
■ *Saccharomyces cerevisiae* + *Pachysolen tannophilus*

今後の展望

今後は、さらなる糖類（多糖、オリゴ糖、単糖）収率の向上を目指すとともに、酵素反応や各種酵母を用いたエタノール変換を巧みに組み合わせることにより、得られる糖類を全てエタノールへと変換しうる高効率なプロセスの構築を目指しています。

参考文献

1. 坂志朗編著 “バイオマス・エネルギー・環境”，アイピーシー，2001，pp.251-290.
2. Ueno, T.; Saka, S. *Cellulose* **1999**, *6*, 177-191.
3. Saka, S.; Konishi, R. In *Progress in Thermochemical Biomass Conversion*; Bridgwater, A.V., Ed.; Blackwell Sci.: Oxford, 2001; pp 1338-1348.
4. Kusdiana, D.; Minami, E.; Ehara, K; Saka, S. In *12th European Conference and Technology Exhibition on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*: Amsterdam, 2002; pp 789-792.
5. Ehara, K.; Saka, S.; Kawamoto, H. *J. Wood Sci.* **2002**, *48*, 320-325.
6. Ehara, K.; Saka, S. *Cellulose* **2002**, *9*, 301-311.
7. Takada, D.; Ehara, K.; Saka, S. *J. Wood Sci.* **2004**, *50*, 253-259.
8. Ehara, K.; Takada, D.; Saka, S. *J. Wood Sci.* **2005**, *51*, 256-261.
9. Ehara, K.; Saka, S. *J. Wood Sci.* **2005**, *51*, 148-153.
10. Yoshida, K.; Kusaki, J.; Ehara, K.; Saka, S. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2005**, *123*, 795-806.
11. Ehara, K.; Saka, S. In *Lignocellulose Biodegradation*; Saha, B.C.; Hayashi, K., Ed.; ACS Symposium Series 889; ACS: Washington, DC, 2005; pp 69-83.
12. Miyafuji, H.; Nakata, T.; Ehara, K.; Saka, S. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2005**, *124*, 963-971.
13. Nakata, T.; Miyafuji, H.; Saka, S. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2006**, *130*, 476-485.
14. 坂志朗編著 “バイオマス・エネルギー・環境”，アイピーシー，2001，pp.294-297.
15. 坂志朗編著 “バイオマス・エネルギー・環境”，アイピーシー，2001，pp.298-301.