

「セルロース系エタノール生産
システム総合開発実証事業」
(事後評価)分科会
資料 7-1

「セルロース系エタノール生産システム 総合開発実証事業」

事業原簿【公開版】

担当部	国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 新エネルギー部
-----	--------------------------------------

— 目 次 —

概 要	i
プロジェクト用語集	v
I. 事業の位置付け・必要性について	I-1
1. 事業の背景・目的・位置づけ	I-1
1-1 背景	I-1
1-2 研究開発の目的	I-1
1-3 本事業の位置づけ	I-5
2. NEDO の関与の必要性・制度への適合性	I-7
2-1 NEDO が関与することの意義	I-7
2-2 実施の効果	I-8
II. 研究開発マネジメントについて	II-1
1. 事業の目標	II-1
1-1 アウトプット目標	II-1
1-2 アウトカム目標	II-1
2. 事業の計画内容	II-3
2-1 研究開発の内容	II-3
2-2 研究開発の実施体制	II-4
2-3 研究開発の運営管理	II-5
2-4 研究開発成果の実用化・事業化に向けたマネジメントの妥当性	II-9
3. 情勢変化への対応	II-11
4. 評価に関する事項	II-13
III. 研究開発成果について	III-1
1. 事業全体の成果	III-1
2. 研究開発項目毎の成果	III-3
2-1 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価	III-3
2-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価	III-42
3. 知的財産権等の取得及び成果の普及	III-215
3-1 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価	III-215
3-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価	III-218
IV. 成果の実用化・事業化に向けた取組および見通しについて	IV-1
1. 成果の実用化・事業化に向けた取組および見通しについて	IV-1
1-1 成果の事業化に向けた戦略	IV-1
1-2 波及効果	IV-2
(添付資料)	1

概要

		最終更新日	2020年10月26日
プロジェクト名	セルロース系エタノール生産システム 総合開発実証事業	プロジェクト番号	P14025
担当推進部/PM 担当者	新エネルギー部 森嶋誠治 (2017年11月～2020年3月) 矢野貴久 (2014年8月～2017年10月) 古川信二 (2014年4月～2014年7月) 担当者 中森研一 (2019年4月～2020年3月) 河守正司 (2018年4月～2019年3月) 濱田利幸 (2014年4月～2018年3月) 山家美歩 (2016年6月～2018年8月) 橋本 大 (2014年4月～2015年3月) 佐藤秀美 (2014年4月～2015年3月) 櫻庭美那 (2015年4月～2016年4月)		
0. 事業の概要	<p>本事業では、エネルギー安全保障、および地球温暖化対策の観点から、食糧と競合しないバイオ燃料の実用化を目指し研究開発を実施する。</p> <p>2020年にガソリン価格を見据えつつ、海外のエタノール価格と競合できるバイオエタノール生産コストで年産数万～20万kLのエタノール生産を実現するため、セルロース系バイオマス原料からバイオエタノールの製造に至る一貫生産モデルを確立し、食糧問題や環境問題にも配慮したセルロース系バイオエタノール生産システムの構築を目指す。</p>		
1. 事業の位置付け・必要性について	<p>環境負荷が少ない石油代替エネルギーの普及に向けた、新たな技術の開発およびコスト低減・性能向上のための戦略的取り組みが要求されている。バイオマスエネルギーは、カーボンニュートラルとして扱われているため、地球温暖化対策の一手段として重要である。一方、供給安定性の確保、食料との競合や森林破壊等の生態系を含めた問題、化石燃料との価格競争性・価格安定性といった経済面での課題、LCA（ライフサイクルアセスメント）上の温室効果ガス削減効果・化石エネルギー収支等の定量化等の課題を克服していくことが重要である。</p> <p>国内においては、2010年11月に「エネルギー供給構造高度化法」に基づく非化石エネルギー源の資料に関する石油精製業者の判断の基準（平成22年経済産業省告示第242号）として、2017年におけるガソリン対比GHG排出量削減率50%以上のバイオエタノール利用目標量（原油換算）50万kLが定められた。</p> <p>2014年の「エネルギー基本計画」改定においてもバイオ燃料については、国際的な動向や次世代バイオ燃料の技術開発の動向を踏まえつつ、導入を継続するとされている。また、NEDOの第3期中期計画においても、食糧供給に影響しない第2世代バイオ燃料であるセルロース系エタノールについては、2020年頃の実用化・事業化を目指すこととしている。そのため、セルロース系エタノールの大量生産に向けた、製造技術の開発、実証開発を推進する必要がある。</p> <p>しかしながら、技術的なハードルの高さに加えて、実用化に至るまでに多額の投資が必要であるため企業単独で取り組むにはリスクが高い。また、現状では我が国にバイオ燃料産業は確立しておらず、ビジネスモデルの創出と産業創出が必要である。2020年頃の実用化の見通しが確実となるまでは、NEDOが主体となって関与し実施することが必要である。</p>		
2. 研究開発マネジメントについて			
事業の目標	<p>(1) アウトプット目標</p> <p>① ガソリン比 GHG 削減効果 50%、化石エネルギー収支 2 以上の一貫生産プロセスの最適化</p> <p>② パイロットプラントにおける検証の継続による、商用化にむけた一貫生産プロセスの確立</p> <p>③ ガソリン価格を見据えつつ海外エタノール価格と競合できるバイオエタノール</p>		

	<p>ル生産コストの実現</p> <p>【中間目標（2017年度）】 商用プラントを想定して①を達成し、プレ商用実証プラントの設計・建設に進むに値するFS結果を得ることを目標とする。FS実施時に、商用化に資するコスト目標を事業目標として事業者側が設定し、その目標の妥当性を外部有識者により審議し、妥当であるとの評価を得る。</p> <p>【最終目標（2019年度）】 商用化に向け、パイロットプラントにおける検証の継続を図り①、②、③を達成する。FSで見通しを得た生産コスト70円/Lの確度を上げるとともに、更なるコスト削減を図る。</p> <p>(2)アウトカム目標 エネルギー供給構造高度化法におけるバイオエタノールの導入目標量(2017年度原油換算50万kL、2018年度以降も継続予定)のうち、セルロース系エタノールの供給に寄与する。 また、2020年以降にセルロース系バイオエタノールの商用化が実現し、導入が進むことによりガソリンの使用に起因するCO₂排出量の削減に貢献する。</p>							
事業の計画内容	主な実施事項	2014fy	2015fy	2016fy	2017fy	2018fy	2019fy	
	(i) 国内外の優良技術の調査・検討	○	○					
	(ii) 最適組合せの検証		○	○	○			
	(iii) 一貫生産プロセス開発・事業性評価(FS)の実施				○	○	○	
事業費推移 (会計・勘定別に事業費の実績額を記載) (単位：百万円)	会計・勘定	2014fy	2015fy	2016fy	2017fy	2018fy	2019fy	総額
	一般会計	0	0	0	0	-	-	0
	特別会計(需給)	1	1,494	2,306	1,243	464	244	5,752
	総予算額	1	1,494	2,306	1,243	464	244	5,752
開発体制	経産省担当原課	経済産業省 資源エネルギー庁 資源・燃料部 政策課						
	プロジェクトリーダー	なし						
	プロジェクトマネージャー	新エネルギー部 森嶋誠治						
	委託先	<p>【(i) 国内外の優良技術の調査・検討】 (一財) エネルギー総合工学研究所 (2014~2015年度)</p> <p>【(ii) 最適組合せの検証、(iii) 一貫生産プロセス開発・事業性評価(FS)の実施】</p> <p>① JXTG エネルギー(株) / 王子ホールディングス(株) (2015~2017年度)</p> <p>② (株) Biomaterial in Tokyo (2015~2019年度) / 三友プラントサービス(株) (2015~2019年度) / コスモ石油(株) (2015~2017年度)</p>						
情勢変化への対応	事業立ち上げ当初に、ブラジル、米国で第2世代エタノールプラントが相次いで立ち上がりつつあり、本事業の方向性の妥当性を検討し結果を踏まえて公募した。							
評価に関する事項	事前評価	2014年度実施 担当部 新エネルギー部						
	中間評価	2017年度実施						
	事後評価	2020年度実施						
3. 研究開発成果について	<p>【(i) 国内外の優良技術の調査・検討】 「国内外の優良技術の調査・検討((一財)エネルギー総合工学研究所(2014~2015年度))」 本調査では、年産1万kL規模のプレ商用実証プラントに向けた事業継続判断に参考</p>							

として用いるため、セルロース系エタノールの製造技術について、国内外の優良技術を抽出し、技術情報の整理を行った。

事業化レベルに基づいて、優良技術を分析した結果、以下のことが明らかになった。

- ・一貫プロセスの実証～商用規模プラントで用いられている原料は主に、農業残渣系など、残渣系の原料であり、大規模プラントーションによるエネルギー作物を利用した例ははまだ実施されていない。

- ・商業規模プラントは主に数万kL/年の規模で行われており、10万kL/年の規模はほとんどない。

以上のことから、セルロース系エタノールの製造技術を事業化に導くためには、技術の選定に加えて、事業形態（事業モデル）の設定が重要であることを明らかにした。

【(ii) 最適組合せの検証、(iii) 一貫生産プロセス開発・事業性評価 (FS) の実施】

①「木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価 (JXTGエネルギー(株) / 王子ホールディングス(株) (2015～2017年度))」

本テーマでは、日本の持続可能性基準適合セルロース系エタノールの商用生産を目指し、複数の要素技術（前処理・糖化・発酵・酵素回収の各プロセスおよび原料、酵素、発酵菌株等）について、実験室レベルおよびパイロットプラントにて組合せ評価を実施した。その結果、最適組合せを選定し、その運転条件および装置組合せを最適化することによりパイロットプラントレベルでの技術確立を達成した。

また、確立された一貫生産システムを前提とし、原料調達から製品エタノールの日本への供給までの全工程におけるセルロース系エタノールの商用生産時におけるビジネスモデルを設定した上でコスト分析および GHG 排出量/化石エネルギー収支の分析を実施した。また、本事業性評価の一環として、商業化技術完成におけるスケールアッププラントでの検証の必要性について検討した。

②「パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価 ((株)Biomaterial in Tokyo(2015～2019 年度)/三友プラントサービス(株) (2015～2019 年度)/コスモ石油(株) (2015～2017 年度))」

本テーマでは第 2 世代バイオエタノール製造システムとしてセルロース系廃棄物を原料とした 2 つの事業モデルを設定し、パイロットプラントの実証データに基づいて環境性・経済性を評価した。パイロットプラントでは前処理技術として汎用性の高い連続蒸気爆砕装置を採用した。各種爆砕処理物をそれぞれに適した自製酵素カクテルで糖化させ、C5C6 糖資化性酵母でエタノール発酵させ、本事業を通して廃パルプを基軸とした多様な原料に対応できるバイオエタノール製造システムを実証した。その結果、本事業の目標値である GHG 削減効果 50%以上、化石エネルギー収支 2.0 以上、生産コスト 70 円/L をパイロットスケール（年産数十 kL 規模）で検証した。そして、その検証結果を精査し、環境性・経済性が担保される実用規模（1～3 万 kL/年）のプラント設計仕様を導出し、運転方法を構築した。

投稿論文	査読付き 3 件 その他 2 件
特 許	出願 1 件
その他の外部発表 (プレス発表等)	研究発表・講演 16 件 新聞・雑誌への掲載 0 件

4. 成果の実用化・事業化に向けた取り組み及び見通しについて

化石燃料との価格競争力や米国等の開発計画を勘案し、経済的かつ多量、安定的にセルロース系原料からバイオエタノールを生産する革新的な一貫生産システムを実用化することで、バイオ燃料の技術競争力およびコスト競争力が確保され、国内外を問わず既存の産業構造にはない新たなエネルギー産業として事業化されることが期待される。

	<p>また、燃料エタノールだけでなく、エタノールを原料としたポリエチレンなどの樹脂生産や、ATJ (Alcohol-to-Jet) 技術によるバイオジェット燃料の製造が期待される。ATJについては、本テーマの成果に基づき、「バイオジェット燃料生産技術開発事業」の助成事業、「実証を通じたサプライチェーンモデルの構築(2020～2024年度)」において、実用化に向けて実施中である。</p>	
<p>5. 基本計画に関する事項</p>	<p>作成時期</p>	<p>2015年2月 制定</p>
	<p>変更履歴</p>	<p>2015年12月 変更 中間評価時期及び研究開発の運営管理方法の変更により改定 2017年11月 変更 プロジェクトマネージャーの追記により改定 2018年2月 変更 中間評価結果の反映により改定 「FS 結果により、事業後半に予定していたプレ商用プラントでの実証を経ずとも商用化に向けた技術確立の目処が立ったことから、事業性評価結果の精度を上げ商用化の確度を高めるため、パイロットプラントでのデータ取得・分析等を主とした事業を継続する。」 2019年7月 変更 プロジェクトマネージャー役職変更、および和暦から西暦への統一による改定</p>

プロジェクト用語集

	用語	定義
A	ADT	Air Dry Ton の略。内部に水を含んだ状態のバイオマスの重量単位。
B	BDT	Bone Dry Ton の略。絶乾状態のバイオマスの重量単位。
	BOD	Biochemical Oxygen Demand (生物化学的酸素要求量) の略。20°Cで5日間放置した際に水中の好気性微生物によって消費される溶存酸素量で、水質汚濁の指標の1つ。
C	C5 糖 (ペントース、五炭糖)	炭素原子5個を持つ単糖の総称。分子式 C ₅ H ₁₀ O ₅ 、構造式 C ₅ (H ₂ O) ₅ 。天然には、D-、L-アラビノース、D-リボース、D-キシロース、D-リブロース、D-、L-キシロースなどがあり、多糖体、配糖体、リン酸エステルなどの形で生体内に存在する。アルコール発酵に用いられる酵母サッカロマイセス・セレビシエはキシロースなどのペントースを代謝できないため、ペントース代謝系酵素の遺伝子を導入することによりペントース発酵酵母を育種する研究開発が進められている。
	C6 糖 (ヘキソース、六炭糖)	炭素原子6個を持つ単糖の総称。分子式 C ₆ H ₁₂ O ₆ 、構造式 C ₆ (H ₂ O) ₆ 。天然には、D-、L-ガラクトース、D-グルコース、D-マンノース、D-フルクトースなどがあり、多くは二糖類、多糖類、配糖体の形でバイオマス中に存在する。生物が炭素源・エネルギー源として最もよく利用する物質の一つである。ガラクトースを除き、酵母により発酵されやすい。
	CFD	Computational fluid dynamics の略。流体の運動に関する方程式をコンピュータで解くことによって流れを観察する数値解析・シミュレーション手法。
	CIP	Cleaning In Place (定置洗浄) の略。分解せずに装置内部を洗浄剤などで自動的に洗浄する操作。
	CSL	Corn Steep Liquor の略。コーンスターチ製造工程のとうもろこしを膨潤させる浸漬工程において、可溶成分が溶出した浸漬液を分離し、乳酸発酵させた後、濃縮したもの。各種アミノ酸やビタミンを含むため、微生物培養の培地成分として用いられる。
	COD	Chemical Oxygen Demand (化学的酸素要求量) の略。水中に含まれる有機物を酸化分解させる際に必要な酸化剤の消費量を酸素の量に換算して示される値で、水質汚濁の指標の1つ。
D	DCW	Dry cell weight の略。乾燥菌体重量
E	ETBE	バイオ ETBE の ETBE とはエチル・ターシャリー・ブチル・エーテル (略号は ETBE、化学式は C ₂ H ₅ OC(CH ₃) ₃) の略で、トウモロコシやサトウキビ等の植物から生産されるバイオエタノールに石油系のガスのイソブテンを合成したもの。バイオガソリンは従来のガソリンに、このバイオ ETBE を配合して作られる。
F	FPU	FPU (Filter Paper Unit の略) セルラーゼの総合的な活性の指標。ろ紙から1分間に1μmolのグルコースに相当する還元糖を生成する酵素量が1FPUと定義される。
G	GBEP	Global BioEnergy Partnership の略
	Greenhouse Gas, GHG	温室効果ガスの項を参照
	REET (米国)	米国アルゴンヌ研究所が開発した、温室効果ガス、排出量規制、エネルギー使用を含む交通モデル。
L	<i>Lactobacillus paracasei</i>	乳酸菌の一種。パイロットプラントでの雑菌汚染の原因菌。

	LCFS (アメリカ)	Low Carbon Fuel Standard の略。カルフォルニア州大気資源局 (CARB : California Air Resources Board) による、石油事業者の販売燃料の平均 GHG 排出量削減を義務付けた制度。
	L18 水準法	統計手法を用いることで少ない実験数で多くの条件を検討可能な手法
N	NAD、NADP	NAD : ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide) NADP : ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸 (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸、nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 全ての真核生物と多くの古細菌、真正細菌で用いられる電子伝達体のこと。さまざまな脱水素酵素の補酵素として機能し、酸化型 (NAD+) および還元型 (NADH) の 2 つの状態を取り得る。どちらの補酵素が利用されるかは酸化還元酵素の種類によって決まっている場合が多い。
	NSSCP	中性亜硫酸蒸解パルプ(Nuclear Sulfate Semi Chemical Pulp の略)亜硫酸ナトリウムをアルカリとして用いて木質バイオマスを蒸解して得られたパルプもしくは中性亜硫酸蒸解処理
P	<i>Pichia stipitis</i>	エタノール発酵を触媒する微生物の代表格である <i>Saccharomyces cerevisiae</i> は、キシロースについては基質としての利用性がない。一方、 <i>Pichia stipitis</i> は、 <i>Pichia segobiensis</i> 、 <i>Candida shehatae</i> 、 <i>Pachysolen tannophilus</i> などと並び、キシロースをエタノールに発酵する微生物群として知られている。なお、これらの株は、主に甲虫類の後腸などから単離されている。
R	RFS	Renewable Fuels Standard の略。 米国の再生可能燃料導入義務制度で、燃料供給事業者に一定の持続可能基準を満たすバイオ燃料の導入を義務付けるもの。2000 年以降の導入目標量を定めた 2007 年の改訂制度を RFS2 と呼ぶことがある。2022 年に 360 億ガロンの導入を目標としている。
	RTFO	Renewable Transport Fuel Obligation の略。 英国の再生可能輸送燃料義務制度で、燃料供給事業者に一定の持続可能性基準を満たすバイオ燃料の導入を義務付けるもの。2010 年に燃料供給量の 5% の導入を義務付けている。
S	SIP	Sterilization in Place (定置滅菌) の略。分解せずに装置内部を蒸気で滅菌する操作。
	SS	Suspended solid (浮遊物質) の略。水中に浮遊する粒径 2mm 以下の不溶解性固体の微粒子の総称。
T	TS	Total Solids (全蒸発残留物) の略。スラリー中に含まれる固形物の総量。
V	VSS	Volatile Suspended Solids (揮発性懸濁物質) の略。SS (SS の項目参照) を強熱した際に揮発する成分で、主に有機物。

ア	アセチル基	一価の基 $\text{CH}_3\text{CO}\cdot$ をいう。酢酸から誘導されるアシル基。
	亜硫酸ナトリウム	化学式 Na_2SO_3 。蒸解に用いるアルカリの一種
	アロケーション (代替法) (価格按分法) (熱量按分法)	<p>バイオ燃料の製造プロセスで、有用な副産物が発生する場合において、バイオ燃料と副産物でエネルギー投入量と環境負荷を分割すること。このうち、副産物へ分割されたエネルギー投入量・環境負荷量を「アロケーション量」と呼ぶ。大きく分けて、エネルギー投入量のアロケーションには下記の二つの方法がある（環境負荷についても同様である）。</p> <p>1. 副産物のエネルギー価値（エネルギークレジットともいう。副産物の保有エネルギーや、代替製法での製造エネルギー等）をプロセスに投入されたエネルギー合計から差し引いた結果を、バイオ燃料に投入されたエネルギーとみなす方法（「代替法」）。</p> <p style="padding-left: 2em;">(バイオ燃料へのエネルギー投入量)</p> $= (\text{エネルギー投入量合計}) - (\text{副産物のエネルギー価値})$ <p>2. バイオ燃料と副産物の価値の比を用いる按分法で、プロセス投入されたエネルギー量合計を按分した結果を、バイオ燃料に投入されたエネルギーとみなす方法のことをいう。市場価値と比較する場合を「価格按分法」、保有エネルギーと比較する場合を「熱量按分法」という。</p> <p style="padding-left: 2em;">(バイオ燃料へのエネルギー投入量)</p> $= (\text{エネルギー投入量合計})$ $\times \frac{(\text{バイオ燃料の価値})}{(\text{バイオ燃料の価値}) + (\text{副産物の価値})}$
	亜塩素酸法	脱リグニン法の一種。
ウ	ウロン酸	アルドースのアルデヒド基はそのままにして他端の第一アルコール基だけをカルボキシル基に酸化したヒドロキシ・アルデヒド酸の総称。
エ	エタノール	エタノール (ethanol) はアルコールの一つ。「エチルアルコール」 (ethyl alcohol) や、酒類の主成分であるため「酒精」とも呼ばれる。アルコール類の中で、最も身近に使われる物質の1つである。揮発性が強く、殺菌・消毒のほか、自動車燃料でも用いられる。
	エタノール生産適性 早生樹	生産性、糖含有量、酵素糖化難易性がいずれも高い早生樹。
	エタノール発酵	グルコース、フルクトース、ショ糖などの糖を分解して、エタノールと二酸化炭素を生成し、エネルギーを得る代謝プロセスであり、酸素を必要としない嫌氣的反応。
	エバポレーター	水を主とする揮発性の物質を除去したり、逆にそれを回収したりする装置で、常圧下もしくは減圧下で行うため諸種の装置がある。
	エネルギー供給構造 高度化法	エネルギー供給事業者による非化石エネルギー源の利用及び化石エネルギー原料の有効な利用の促進に関する法律。電気やガス、石油事業者といったエネルギー供給事業者に対して、太陽光、風力などの再生可能エネルギー源、原子力などの非化石エネルギー源の有効な利用を促進するために必要な措置を講じている。石油事業者はバイオ燃料の利用を促進することが求められている。
	エネルギー自給率	生活や経済活動に必要な一次エネルギーのうち、自国内で確保できる比率
	エネルギー収支	投入エネルギーに対する出力エネルギーの比率

	オートクレーブ	加圧加熱処理が可能な装置。密閉容器中に試料等を入れて、容器内の水を加熱することにより加圧し100℃以上の蒸気や水で処理する。滅菌処理などでも多用されている。
オ	温室効果ガス	大気圏にあって、地表から放射された赤外線の一部を吸収することにより温室効果をもたらす気体の総称。対流圏オゾン、二酸化炭素、メタンなどが該当する。近年、大気中の濃度を増しているものもあり、地球温暖化の主な原因とされている。
	開発輸入	先進国が、発展途上国に資本や技術を提供して、輸入国の仕様に合うように開発して、その生産物を輸入すること。発展途上国にとっても、未開発の資源を活かすことができるうえ、様々な技術やノウハウも学ぶことができ、また雇用の創出にもつながるとして、1963年に国連貿易開発会議で提唱された。
カ	灰分	バイオマスを燃焼後に残る不燃性の物質。主としてミネラル成分のこと。
	化学パルプ化法	薬品の作用で木材を繊維状に離解するパルプ化法。
	カップー価	パルプ中の不純物（リグニン）含量を現す指標。
	カルシウムベース	Ca(OH) ₂ 、CaCO ₃ などの陽イオンがCaの塩基類。
	加熱器	蒸解反応（蒸解の項目参照）を行う反応器。
	環境ストレス	乾燥、気温（高温あるいは低温）、洪水、強風などの環境要因によって、植栽木が被るストレス。環境ストレスが高じると、枯死、幹割れ、根腐れなどの状態を引き起こす。
	含水率	物質中に含まれる水分の割合
キ	揮発油	原油を分別蒸留する際、低沸点で得られる油。ふつう燃料用のものをガソリン、溶剤用のものをベンジンとよぶ。
	機械パルプ化法	機械力だけを用いて木材から作るパルプ化法。そのパルプを機械パルプ（mechanical pulp:MP）という。
	キシラン	β-1,4結合のキシロース単位からなる鎖状分子。木材ヘミセルロースの主要構成成分の一種。
	キシリトール脱水素酵素	キシリトールを脱水素してキシロースに変換する反応を触媒する酵素。通常のエタノール発酵用酵母はこの酵素を持っていない。
	キシロキナーゼ	キシロースをリン酸化してキシロース 5-リン酸を生成する反応を触媒する酵素。これにより糖がペントースリン酸経路に導入され、最終的にエタノールに変換される。通常のエタノール発酵用酵母はこの酵素を持っているが、活性が低い。
	キシロース還元酵素	キシロースを還元してキシリトールに変換する反応を触媒する酵素。通常のエタノール発酵用酵母はこの酵素を持っていない。
ク	クラソンリグニン	試料を硫酸で処理し、炭水化物などを分解し去り、残物として分離されたリグニン。
	クラフトパルプ	木材から洋紙を作る過程において、現在最も主流な手法で、木材をチップにし、苛性ソーダを加え、熱処理して得られたパルプ
ケ	減圧蒸留	減圧蒸留とは蒸留プロセスの一種で、真空ポンプなどで減圧状態にして行う蒸留。一般に高沸点の石油系炭化水素は350℃前後の温度から熱分解を始めるので有機物の熱分解を防ぐために行われる。

コ	叩解（こうかい）	水の存在下でパルプを機械的に処理し、紙の製造に適した性質を与えること。繊維のせん断が主なときは遊離状叩解、フィブリル化がおもなときは粘状叩解という。紙をすく工程および出来上がり品質に大きな影響を与える。
	抗生物質	微生物が産生し、他の微生物など生体細胞の増殖や機能を阻害する物質の総称。雑菌汚染を防ぐために用いられる。
	酵素	酵母が利用可能な単糖までパルプ（多糖）を分解する生体触媒。
サ	サークルフィーダー	タンクなどからブリッジや偏析を起こすことなく固体を排出することが可能な供給器。
	サーモメカニカルパ ルプ	リグニンのガラス転移点以下の温度（110-125℃）でチップを2～3分間予備加熱して、レファイニングをして作られるパルプ。
	砕木パルプ	回転する砥石に木材を平行に押し付け、摩擦力によって木材を摩砕して繊維化したパルプ。
	雑菌	エタノール発酵中に培養槽へ混入してくる酵母以外の菌の総称。酵母のエタノール生産性低下や、エタノール発酵停止を引き起こす。
	晒し	パルプを漂白すること
	酸可溶性リグニン	クラソンリグニン測定の際に酸に可溶化したリグニン。205nmの吸光度から算出。
シ	資源作物	エネルギー源や製品材料とすることを主目的に栽培される植物。トウモロコシ、なたね等の農作物やヤナギ等の樹木が該当する。
	自己遺伝子利用 （セルフクローニン グ）	「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」においては、宿主に導入されたDNAが、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物のDNAのみである場合（セルフクローニング）、に該当する微生物を利用して製造されたものは原則として安全性評価の対象に含めないと記載されている。酵母の場合、すべて酵母の遺伝子から構成され、外来（異種生物、化学合成など）の遺伝子を一切含まない方法で作製した組換え酵母は、食品安全委員会などでセルフクローニング認定を受けることにより、「遺伝子組換え体」ではなく、通常の食品微生物として扱えることになる。
	自己熱再生技術	自己熱再生技術とは、エクセルギー再生を利用したエネルギー循環利用技術のこと。蒸留や乾燥などのプロセスで蒸発した蒸気を断熱圧縮により高温にアップグレードすることにより、潜熱と顕熱を回収し大きな省エネルギー効果を実現する技術である。
	糸状菌（＝カビ）	糸状菌類とは、糸状の菌糸で生活する微生物で、一般的に「カビ」と呼ばれている生物のこと。単細胞性で生活する酵母や肉眼で見えるほどの大きな繁殖器官を作るキノコとともに真菌類に属する。菌類界のうちで、酵母またはキノコと言われるもの以外のものを包含する。
	持続可能性	人間活動、特に文明の利器を用いた活動が、将来にわたって持続できるかどうかを表す概念。
	持続可能性基準	温室効果ガス削減率 ガソリン比 50%以上

	充填塔	固体の各種充填物を塔内に充填し、その間隙に気液を流通接触させることで、塔内の充填物間隙において再蒸留をさせる構造としたもの。充填物には、不規則充填物と規則充填物がある。構造が簡単で、安価に製作でき、塔内の圧力損失が少ないという利点がある。
	樹種試験	単位面積最大の生産量をあげる適性樹種を判定するための植林試験
	蒸解	チップに薬品を加え、高温・高圧で処理することでリグニンおよび一部のヘミセルロースを溶解させパルプを製造すること。
	植栽密度試験	単位面積最大の生産量をあげるための適性密度（植栽間隔）を検討するために行う植林試験。
ス	スクリュウデカンター	横型の遠心分離器の一種で、主に遠心力により固液分離を行う装置。
	スクリュウプレス (SP)	スライドを機械式機構によって駆動する、機械プレスに分類されるプレス機械の一種。パルプの脱水に用いられる。
セ	生成糖あたりの酵素使用量	糖化工程において、最大の課題は、糖化に用いる酵素のコストのこと。
	精留	精留とは成分を精製する蒸留操作のこと。エタノール製造プロセスでは、エタノールを共沸点に近い90%ぐらいに濃縮する蒸留操作のことを指す。
	絶乾重量	水分を除いた重量(=乾燥させた時の重量)
	セミケミカルパルプ	軽度の化学処理を行ってからレファイニングによって作られるパルプ。
	セルフクローニング	遺伝子組換え技術によって最終的に宿主に導入されたDNAが、当該宿主と分類学上同一の種に属する微生物のDNAのみであるもの。遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）の適用除外となるメリットをもつ。
	セルラーゼ	セルロースのβ-1,4 グルコシド結合の加水分解を触媒する酵素群の総称。β-エンドグルカナーゼ、セロビオヒドロラーゼ、β-グルコシダーゼなどから成る。
	セルロース	セルロース (cellulose) とは、分子式 (C ₆ H ₁₀ O ₅) _n で表される炭水化物（多糖類）。植物細胞の細胞壁および繊維の主成分で、天然の植物質の1/3を占め、地球上で最も多く存在する炭水化物である。繊維素とも呼ばれる。自然状態においてはヘミセルロースやリグニンと結合して存在するが、綿はそのほとんどがセルロースである。
	セルロースマイクロファイブリン	セルロース分子が規則正しく積層して形成された超微細繊維で、木質等の基本構成成分。セルロースマイクロファイブリンが更に集合し積層して木材組織が形成されている。
	セルロース系エタノール	バイオマスからセルロースを分離し、セルロースを酵素を用いて糖分に分解し、微生物によって変換されたエタノール
ソ	早生樹	乾燥地や養分の少ない場所でも成長が早く、経済的価値が高い樹種のこと。熱帯アジアでは、ユーカリ類、アカシア類がこれに当る。また日本では、ポプラ、ヤナギがこれに当る。

タ	棚段式	塔内を複数段に空隙を有する棚板で水平に区切り、各段ごとに液溜めを作り空隙部（トレイ）から蒸気を噴出させることで気液を接触させて再蒸留する構造とした蒸留塔。棚板の構造は蒸留対象の液性状に応じて使用される。各段で気液の接触を図る液溜め構造としている関係で、圧力損失は大きくなる。各段の液はかなりの流速で液流下部から流れ落ちて行くので、固形物や懸濁物が含まれている液体の蒸留でも比較的目的まりしにくいことから、発酵もろみなどの汚れた液体の蒸留に採用されている。
	短伐期試験	伐期（植え付けから収穫までの期間）を1～3年に設定し、各伐期における生産量を検討するための植林試験。
チ	逐次糖化発酵	酵素による糖化と酵母によるエタノール発酵が別々の容器中で順次行われる糖化発酵法。
テ	ディスクミル	電動の石臼型粉碎機。ディスクはセラミックの他に金属製もある。湿式および乾式粉碎が可能。
	ディスク型遠心分離	円錐状のディスクを組込んだ回転体を高速回転させて生じる遠心力により、比重差を用いて液液や固液の二相、固液液の三相を効率よく短時間で連続的に分離する装置。
	デミスター	気体中に同伴される液体の微粒子（ミスト）を気体中から分離除去する装置。
ト	糖化	糖化とは、デンプン等の多糖類を分解し少糖類・単糖類にすること。酒造・製糖などで行われる。
	糖化率	パルプを酵素糖化した時に可溶化する割合
	糖収量	バイオマスを前処理、酵素糖化した時に得られる糖の量。
	土壌固定 CO ₂	土壌中に含まれる炭素を CO ₂ 換算したもの
	土壌炭素ストック	土壌中に含まれる炭素
	土地利用変化	森林、耕作地等の地上部の利用形態が変化すること
	トリコデルマ・リーセイ	<i>Trichoderma reesei</i> 糸状菌の一種。セルロースを分解する力が強い。
ナ	内在性遺伝子	新たに組み込まれた遺伝子ではなく、個々の生物に含まれる種特異的な遺伝子。
	ナトリウムベース	NaOH, Na ₂ CO ₃ などの陽イオンが Na の塩基類。
	ナノ空間形成法	産業技術研究所で開発している木質系バイオマス等の酵素糖化前処理技術。木質等を湿式粉碎し、ナノサイズの超微細繊維（セルロースマイクロファイブール）にほぐすことにより、超微細繊維の周囲に酵素が容易に活動（加水分解）できる空間を形成する技術。
ハ	バイオエタノール	サトウキビやトウモロコシなどのバイオマスを発酵させ、蒸留して生産されるエタノールのこと。バイオマスエタノールという語は、エネルギー源としての再生可能性やカーボンニュートラル性を念頭において使われる。品確法（揮発油などの品質の確保等に関する法律）で3%までガソリンと混合（E3と表記）することが可能。
	バイオマス	バイオマス（biomass）とは生態学で、特定の時点においてある空間に存在する生物（bio-）の量を、物質の量（mass）として表現したものである。通常、質量あるいはエネルギー量で数値化する。日本語では生物体量、生物量の語が用いられる。植物生態学などの場合には現存量（standing crop）の語が使われることも多い。転じて生物由来の資源を指すこともある。

	バイオ燃料	生物体の持つエネルギーを利用したアルコール燃料、その他合成ガスのこと。石油のような枯渇性資源を代替しうる非枯渇性資源として注目されている他、二酸化炭素(CO ₂)の総排出量が増えない(カーボンニュートラル)と言われていることから、主に自動車や航空機を動かす石油燃料の代替物として注目されている。
	発酵母(発酵残渣の固形分)	発酵残渣のうち固形分のこと。飼料・肥料の混合材料として利用することが出来る。海外においては、穀類を原料とするエタノール発酵液はその全量が飼料化されている。固形分を乾燥したものをDDG(Distillers Dried Grain)と称し、高栄養配合飼料として、牛・豚・養鶏用の飼料に利用されている。
	発酵	狭義には、酵母などの微生物が嫌気条件下でエネルギーを得るために有機化合物を酸化して、アルコール、有機酸、二酸化炭素などを生成する過程。広義には、微生物を利用して、食品を製造すること、有機化合物を工業的に製造すること。
	発酵阻害物質	エタノール発酵を阻害する物質のこと。代表的な阻害物質として、ペントースやヘキソース由来のフラン類(フルフラール、5-ヒドロキシ-2-フルアルデヒドなど)、リグニン由来のフェノール類(バニリン、4-ヒドロキシベンズアルデヒド、シリングアルデヒドなど)、ヘミセルロース由来の酢酸などがある。
	発酵廃液(発酵残渣の液体分)	発酵残渣のうち液体のこと。製造工程から排出される液体で最も有機物濃度が高い液で、飼料・肥料向けの液体混合物としての利用が期待されている。
	伐採周期	樹木を繰り返して伐採する林地における、伐採の間隔のこと
	半並行複発酵	酵素による糖化が一部進んだところで、酵母によるエタノール発酵が同一容器中で同時に行われる糖化発酵法。
ヒ	非滅菌土壌	滅菌処理を実施していない通常の土壌。滅菌土壌
フ	フーゼル油	イソアミルアルコールなど、高沸点の有機不純物。
	歩留り	製造など生産全般において、「原料(素材)の投入量から期待される生産量に対して、実際に得られた製品生産数(量)比率」のこと
	プラグスクリュウ	らせん型のスクリュウを回転させ内部の固体を移送するスクリュウフィーダーと呼ばれる供給器の一種で、加熱器へのチップ供給に使用される。シリンダーにより固体の進行方向とは逆向きに加圧することで固体が「プラグ」と呼ばれるコルク様のシール層を形成するため、圧力差のある場所にも固体を供給することができる。
へ	並行複発酵	酵素による糖化と酵母によるエタノール発酵が同一容器中で同時に行われる糖化発酵法。
	ヘキソース	グルコース、マンノースなど炭素原子6個を持つ単糖の総称
	ヘミセルラーゼ	陸上植物細胞の細胞壁を構成する多糖類のうちセルロースとペクチン以外の多糖であるヘミセルロースを分解する酵素群の総称。分解位置や基質特異性により、エンドキシラーナーゼ、β-キシロシダーゼ、アラビノフラノシダーゼ、グルクロニダーゼ、アセチルキシランエステラーゼ、マンナーゼ、β-マンノシダーゼ、フェルラ酸エステラーゼなど、多くの酵素タンパク質が存在する。

	ヘミセルロース	植物細胞壁中に含まれるセルロース以外の多糖混合物。複数種の糖からなるヘテロ多糖のこと。キシロースやアラビノースのようなペントース、およびマンノース、グルコース、ガラクトースといったヘキソースも含まれる。主要構成要素はキシランとガラクトマンナンである。イネ科植物ではキシランにフェルラ酸がエステル結合しており、このフェルラ酸を介して、リグニンと結合しているため、強固なマトリックスを形成している。
	ペントース	キシロース、アラビノースなど炭素原子 5 個を持つ単糖の総称
ホ	ぼう(萌)芽	主伐後の切り株（場合によっては根から）発生する芽あるいは新梢のこと。
	萌芽更新試験	主幹の収穫後、切り株から発生する萌芽による次世代更新を行い、その生産量を検討するための植林試験のこと。
	ボールミル	容器内にボールと試料を投入し、振動や回転によってボールと試料を衝突させて粉碎処理を行う装置。容器やボールの材質には金属の他にセラミックなどが用いられている。乾式の他、湿式粉碎も可能。
	ホロセルロース	セルロース+ヘミセルロース
マ	前処理	セルロース、ヘミセルロースは、天然バイオマス中ではリグノセルロースとして存在しており、そのままでは酵素分解を受けにくい。基質の比表面積を上げる、またヘミセルロースやリグニンを変性、除去することによりセルロース繊維と酵素の接触性を高める様々な処理法のこと。 物理的処理として、機械的粉碎（ボールミル）、高温高压（蒸煮、爆砕）、マイクロ波等の照射がある。化学的処理として、硫酸等の酸処理、苛性ソーダ等のアルカリ処理、メタノール等の有機溶媒処理がある。生物的処理として、白色腐朽菌などリグニン分解微生物処理がある。
	膜脱水	エタノール製造プロセスにおける一般的な膜脱水とは、ゼオライトやポリイミドなど水を選択的に透過させる膜でエタノール・水の混合物から水を取り除き、エタノールを 99.5% 以上まで濃縮する操作のこと。
	磨砕	一般的には、こすり、くだくこと。石うすでこなごなにすること。本プロジェクトでは特に木材のパルプ化のための「叩解」のことを指す。
	膜分離法	液体または気体を選択性を持つ隔壁（膜）に通すことで目的物を濾し分ける操作の総称。
	マックスブレンド翼	ボトムパドルと上部グリッドが一体化したユニークな形状で、攪拌性に優れ短時間での完全混合が可能な攪拌翼。
ミ	ミニスキッター	装備したグラブ（油圧シリンダーによって動く一対の爪）により、伐倒木を牽引式で集材する集材専用の自走式機械
メ	メカノケミカルパルピング前処理	機械パルプ化(メカノ・・・)と化学パルプ化(ケミカル・・・)法を組み合わせた前処理法のこと。既存のパルプ化法とは異なることから差別化の意味を込めて作った造語。
	滅菌土壌	滅菌処理した土壌
モ	もろみ塔	エタノール濃縮を目的とした蒸留塔のこと。 もろみ塔では発酵もろみ中の酵母や原料由来のスラッジ分などの固形分とエタノールを含む揮発性有機物などの分離に効果的に作用しており、エタノールと発酵もろみ中に含まれる固形の共雑物や不揮発成分などの分離を目的とした蒸留塔である。
ユ	輸送用液体バイオ燃料	現在の主な輸送用バイオ燃料は、バイオエタノール、ETBE、バイオディーゼル(BDF)

ヨ	溶媒抽出法	固体または液体に適当な溶媒を加え、その溶媒に可溶性の成分を溶かし出す分離法。
ラ	ライフサイクル GHG 排出量	バイオ燃料の原料栽培、原料輸送、燃料製造、燃料流通までの工程における GHG 排出量を総計したもの。原料栽培に必要な肥料を製造する際に排出される GHG 等、間接的な GHG 排出も含む。
	ライフサイクルアセスメント	製品やサービスに対する、環境影響評価の手法のこと。
リ	リグニン	フェニルプロパンを構成単位とする不規則な高分子物質。あらゆる高等植物に含まれ、物理的、化学的に植物を強固なものとしている。植物種によって構成単位は異なる。構造は複雑な網目状であり、植物体ではその中にセルロース繊維が埋め込まれている。さらにヘミセルロースも絡み合い、植物細胞壁を強固なものにしている。パルプ繊維とリグニンは鉄筋コンクリートになぞらえて説明すると、鉄筋がパルプ繊維でコンクリートに相当するのがリグニンである。およその含量は針葉樹で 30%、広葉樹や草本類では 20%前後である。
	林地残材	立木を丸太にする際に出る枝葉や梢端部分、森林外へ搬出されない間伐材等、通常は林地に放置される残材。
レ	レファイナー	平行に向き合って回転する円盤の中心にチップを水とともに送り込み、せん断力によってチップを粉碎し、パルプ化する装置

I. 事業の位置付け・必要性について

1. 事業の背景・目的・位置づけ

1-1 背景

2014年に改定された「エネルギー基本計画」においてバイオ燃料は、引き続き導入を継続することとしており、NEDOの第3期中長期計画においても、食糧供給に影響しない第2世代バイオ燃料であるセルロース系エタノールについては、2020年頃の実用化・事業化を目指すこととしている。国産技術により生産されたエタノールが普及することで、石油製品供給の一端を担える選択肢を確保することができ、エネルギーセキュリティ向上効果を得ることができる。しかし、セルロース系エタノールの大量生産のためには、まだ技術的課題が多く、当該技術の実用化・事業化に向け、今後も製造技術の開発、実証開発を推進する必要がある。

NEDOでは、2009～2013年度に実施した「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」（以下、「セル革事業」と略記）において、パイロットスケールの一貫生産プラントを建設して試験を行い、事業終了時の技術目標はほぼ達成した。しかし、セルロース系エタノールの実用化・事業化には、一貫生産システムとしての性能向上、スケールアップ技術の確立などが必要であり、現有技術だけでの実用化は難しいのが現状である。

セル革事業のうち「早生樹からのメカノケミカルパルピング前処理によるエタノール一貫生産システムの開発」（以下、「木質系」と略記）では原料・前処理工程に優れた成果を、「セルロース系目的生産バイオマスの栽培から低環境負荷前処理技術に基づくエタノール製造プロセスまでの低コスト一貫生産システムの開発」（以下、「草本系」と略記）では糖化発酵工程に優れた成果を得ている。セルロース系エタノールの実用化のためには、セル革事業の木質系と草本系のそれぞれで得られた特長を組み合わせ一貫生産プロセスとしての性能向上を図るとともに、プロセスのスケールアップ技術を確立し、大規模なプレ商用実証プラント（年産1万kl規模）による最終的な技術実証事業が必要と考えられる。

1-2 研究開発の目的

① 政策的な重要性

経済産業省は、2008年に「Cool Earth エネルギー革新技術計画」の中で“2050年までに世界全体の温室効果ガス（GHG）排出量を現状に比して半減する”という長期目標を掲げ、我が国として重点的に取り組むべきエネルギー革新技術開発として「バイオマスからの輸送用代替燃料製造」を選定している。また、バイオ燃料技術革新協議会では「バイオ燃料技術革新計画」において具体的な生産モデルや技術開発の方向性を技術ロードマップとしてまとめた。2016年11月にはパリ協定も発効し、世界規模での二酸化炭素削減の機運は益々高まっており、我が国の政策においてもバイオマス利用の促進はこれまで以上に重要となる見込みである。

セルロース系エタノールの実用化にあたって、最大の課題はコスト低減であり、未だこの課題を明確に解決し商業的に成功した事例は少ない。しかしながら、GHG削減の観点から導入が求められており、今後のセルロース系エタノールの開発競争は、各国において一層激しくなっていく

ことが予測され、我が国もこれに追従すべく強力に推進して行く必要がある。

また、バイオエタノールの供給をブラジル一國に依存している現状の下、エネルギーセキュリティーの観点から日本の技術および日本企業が供給可能な原料を使って純国産バイオ燃料「日の丸エタノール」の製造、導入を推進することは重要である。

② 我が国の状況

国内においては、2010年11月に「エネルギー供給構造高度化法」に基づく非化石エネルギー源の利用に関する石油精製業者の判断の基準（平成22年経済産業省告示第242号）として、バイオエタノールに関しては、石油精製事業者に対して各社の国内での揮発油供給量に応じてLCAでのCO₂削減効果を評価したバイオエタノールをガソリンに混和して自動車燃料として供給して行くことが課せられている。具体的には2011年度から2017年度までの7年間にバイオエタノールの利用量を段階的に増やすとともに、2017年度におけるガソリン対比GHG排出量削減率50%以上のバイオエタノール利用目標量（原油換算）を50万kL/年と定めた。2015年度の導入実績は41万kLで、定めた義務量38万kLを超えている。2018年度以降の導入量については、「我が国のバイオ燃料の導入に向けた技術検討委員会」において議論の結果、従来目標値を維持することが、2018年4月の二次告示において制定された。

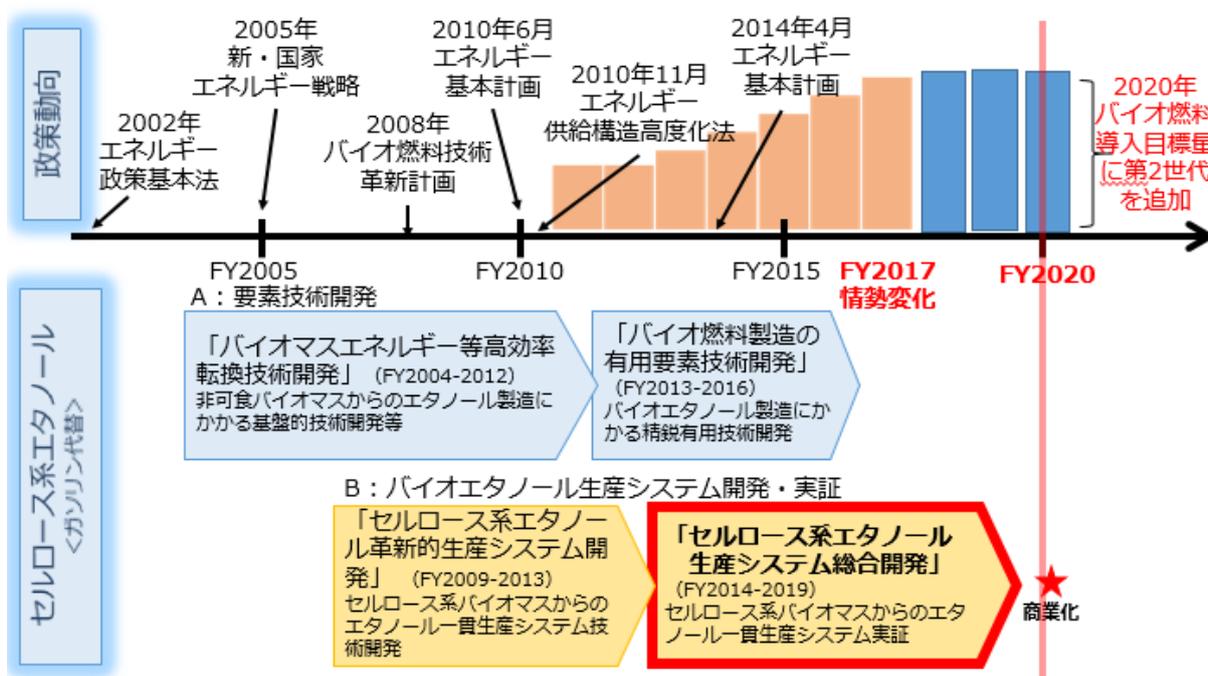


図1-2-1 これまでの施策とNEDOプロジェクト

③ 世界の取り組み状況

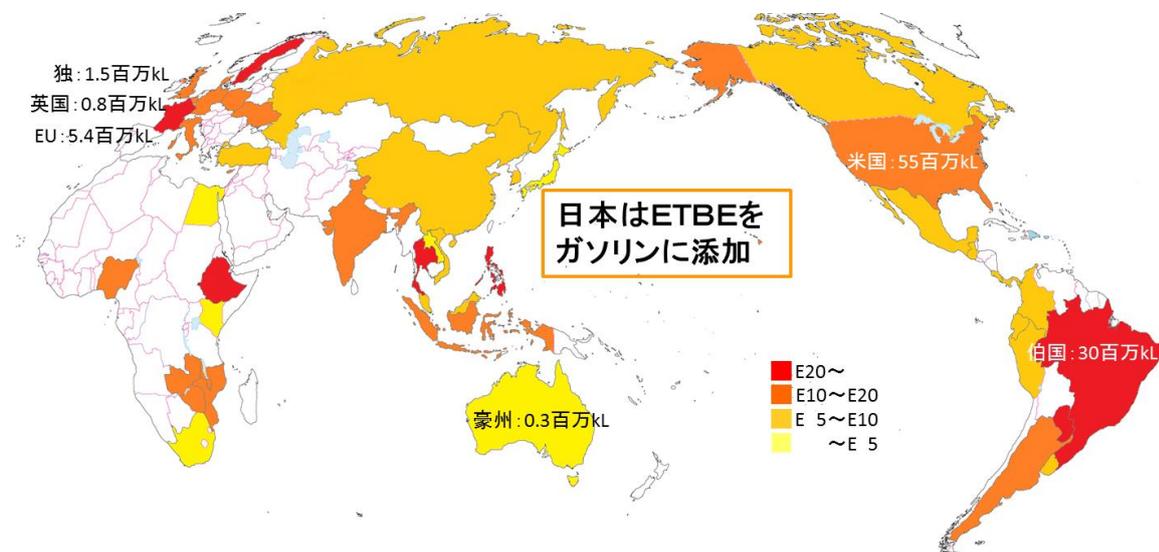


図1-2-2 世界のバイオエタノール導入状況

地球温暖化への対策として、各国でバイオエタノールの導入が進んでおり、総生産量は2015年時点で約1億kL/年である。米国およびブラジルにおいてトウモロコシやサトウキビなど可食バイオマスを原料とした大規模な商用生産が行われている。一方、本事業で取り組む食糧と競合する可能性の低いセルロース系バイオマスを原料とするエタノール製造については、米国において基盤研究から実証研究まで行われ、技術的困難さから何度か導入目標量が下方修正されてきたが、現時点でようやく商用化が現実のものとなりつつある。

欧州では2009年に制定した「RED」において、2020年には、GHG削減率60%以上の輸送用燃料を導入し運輸部門の再生可能エネルギーの割合を10%以上にする目標を作成した。各国はバイオディーゼル導入中心の計画であるが、バイオエタノールについても総量として7,306ktoe（≒150万kLのエタノール）の導入量を作成した。この政策実現のため、「バイオエネルギー産業イニシアティブ」(EIBI) において、製造技術開発の方向性として、2015年までの実証プラントの取組みが取りまとめられている。イタリアでは、Beta Renewables社が7万5000kL/年で藁やGiant reedなどを原料にバイオエタノール生産を行っている。

米国では、2010年に米国環境省（EPA）が、再生可能燃料基準を見直し「RFS2」を発表し、2022年にはガソリン対比GHG削減率60%以上のセルロース系バイオエタノールとして160億ガロン（≒6,060万kL）の導入目標を作成した。この政策実現のため、米国エネルギー省（DOE）、米国農務省（USDA）が共同議長として「バイオマス研究開発委員会」を立ち上げ具体的な「バイオ燃料アクションプラン」を指導し、2015年以降商業プラントを建設し、目標達成を目指している。本事業開始時には、パイロットベースで2,3機（生産規模：1万kL/年以下）が動いているのみであったが、2015年にはコーンストーバ等を原料にDuPont社が11万kL/年規模（2018年に工場を閉鎖し、売却を発表）、POET社が9万5000kL/年規模で、第2世代エタノール商用生産を開始した。

また、ブラジルにおいてGranBio社がバガス等を原料に8万2000kL/年規模での生産を開始している。

バイオエタノール導入に係る主要国の施策と第2世代バイオエタノールプラントの導入状況を表1-2-1と図1-2-3に示す。

表1-2-1 世界のバイオエタノール導入施策と開発動向

国	バイオエタノール導入政策	セルロース系エタノール開発動向
日本	供給高度化法により、2017年度は82万kL/年のバイオエタノール導入が義務。セルロース系エタノールは2倍カウントの優遇策あり。	パイロットレベルでの一貫生産システムでの評価の段階。開発輸入では、原料として製紙会社の植林地の木質バイオマスのセルロース系廃棄物を想定。
アメリカ	再生可能燃料基準(RFS2)により、2017年度は1.2百万kLのセルロース系バイオ燃料導入目標。CWCによる導入促進策、設備建設に対する補助金による支援などがある。	2014年度に数万kL/年規模の商用プラントが4つ(POET-DSM、Ineos Bio、Abengoa、DuPont)立ち上がった。うち少なくとも1プラントは燃料目的だけではなく、化成品原料目的。原料は農業残渣(トウモロコシ)、都市残渣。
ブラジル	特別なセルロース系エタノール導入促進策なし。第一世代については、混合率27%を義務化。セルロース系エタノールは当面、高値で売れるアメリカに輸出。	2014-15年度に数万kL/年規模の商用プラントが3つ(Gran Bio、Raizen、Abengoa)立ち上がった。原料はサトウキビ残渣。
中国	2020年までに、政策で120万kL/年のセルロース系エタノールを導入推進。 ※ただし、補助、罰則義務等は無し	すでに数万kL/年規模の商用プラントが1基稼働中。本プラントではエタノールはキシロース等生産の副産物(残渣利用)としての扱い。
欧州	EU指令に基づき、2020年に運輸部門の再生エネルギー比率を10%にする目標を設定。持続可能性基準を定め、セルロース系エタノールは優遇(2倍カウント)。	2013年から商用機(Beta Renewable7.5万kL/年)建設。技術はアメリカ、ブラジル、中国で展開中。主に原料は草本系残渣(麦わら、ダンチク等)を想定。

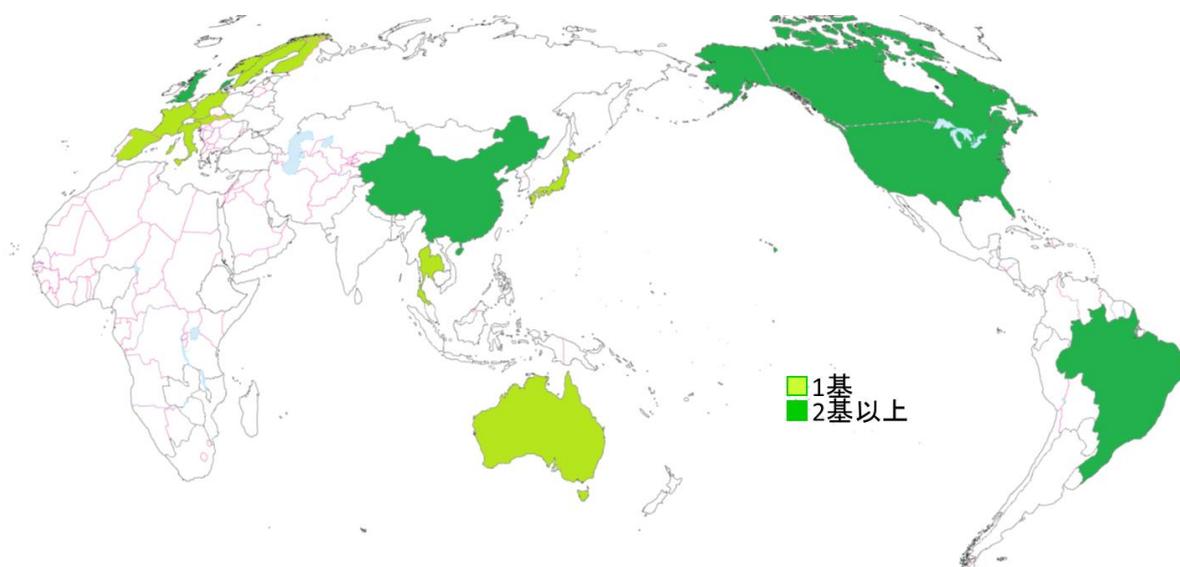


図1-2-3 セルロース系エタノールプラントの設置状況

④ 本事業のねらい

2020年に、ガソリン価格を見据えつつ、海外のエタノール価格と競合できるバイオエタノール生産コストで年産数万～20万kLのエタノール生産を実現するため、セルロース系バイオマス原料からバイオエタノールの製造に至る一貫生産モデルを確立し、食料問題や環境問題にも配慮したバイオエタノール生産システムの構築を目指す。

1-3 本事業の位置づけ

NEDOでは、セルロース系エタノール製造に関する研究開発は、「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発事業」と「バイオ燃料の有用要素技術開発」で基盤研究から応用研究を、また、「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」では実証研究をそれぞれ行い、実用化に取り組んできた。「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発事業」では中長期的視野も見据えてバイオマスからのエネルギー転換効率の向上を目指し「転換要素技術開発」と「先導技術研究開発」という形で2004年度～2012年度で行った。これまでの技術開発により、バイオマス（原料）から前処理工程、糖化工程、発酵工程および濃縮・脱水工程の各基盤技術は世界のトップクラスに到達しつつある。特にラボスケールで優れた糖化酵素が得られ、改良した有用微生物を用いた高効率なエタノール発酵生産をすることができた。2013年度～2016年度に行った「バイオ燃料の有用要素技術開発事業」（以下、「有用要素事業」と略記）では、より優れた糖化酵素、有用微生物によるエタノール発酵生産能力向上の開発を行い、生産規模においても、ラボスケールからパイロットスケールに大きくした場合でも、効率的に生産できる要素技術を確立し、2020年の実機スケールでの実用化に適用が見込まれている。さらに、その成果は、本事業「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」（以下、「セル総事業」と略記）にも活用されている。

2009～2013年度に行った「セル革事業」において、パイロットスケールの一貫生産プラントを建設して試験を行い、事業終了時の技術目標はほぼ達成した。しかし、セルロース系エタノールの実用化・事業化には、一貫生産システムとしての性能向上、スケールアップ技術の確立などが必要であり、当時の技術だけでの実用化は難しいのが実情であった。

セル革事業のうち「木質系」では原料・前処理工程に優れた成果を、「草本系」では糖化発酵工程に優れた成果を得ていた。

「セル革事業」の前倒し事後評価においては、開発目標は概ね達成しており、要素技術に優れたものがあると評価された一方で、「セル総事業」への反映（対処方針）のポイントとして次のことが課題として指摘された。

- ・各工程要素技術の総・棚卸しを実施し、その中から、早期に実用化可能な原料および前処理プロセスを選定、コスト・GHG削減を念頭に後段工程要素技術の組み合わせ・最適化について検討する。
- ・最適化した技術についてパイロットレベルでの評価を実施し、プレ商業プラントの設計・事業化検討に必要なデータを得る。
- ・事業主体が明確な企業体のみを採択候補とする。

これら意見を踏まえ、セル総のプロジェクト基本計画に、「国内外の優良技術の調査・検討」、「最適組み合わせの検証」の項目を位置づけ、幅広く技術やビジネスモデルについて事業化可能性を検討するとともに、パイロットレベルでの事業性の検証を実施することとした。また、公募に当たっては、事業主体が明確な2チームを採択した。

表1-3-1 セル革事業の前倒し事後評価における指摘事項等（概要）

評価のポイント	反映(対処方針)のポイント
<ul style="list-style-type: none"> ・本プロジェクトでは、原料調達スキームが確立している企業、エンドユーザー企業が積極的に開発に参画し、セルロース系バイオマスからのエタノール製造という世界でも確立していない技術開発に取り組み、各要素技術の開発目標は概ね達成している。 ・草本系及び木質系いずれのエタノール生産技術において、おのおの課題が残っており、その克服が必要である。特に、要素技術の達成度に比べて一貫生産システムの検討が遅れ、テストプラントを用いた問題点の抽出と改善がまだ十分ではない。スケールアップに際しての課題の抽出、整理を実施し、プロセスフローの見直しも含めて、プラント設計の精度を上げることが重要である。 ・草本系エタノール生産技術の実用化・事業化に向けては、要素技術を統合する事業主体の明確化が必要と考える。 	<p>次のプレ商用プラントの設計・建設に先立ち、後継事業の開始後2年間に、本事業のみならず幅広くセルロース系エタノールの各工程要素技術の総・棚卸しを実施し、その中から、早期に実用化可能な原料及び前処理プロセスを選定、コスト・GHG削減を念頭に後段工程要素技術の組合せ・最適化について検討する。さらに、最適化した技術についてパイロットレベルでのテストプラント評価を実施する。これにより、更なる技術のブラッシュアップ及びコスト削減を図り、プレ商業プラントの設計・事業化検討に必要なデータを得る。</p> <p>後継事業においては、事業主体が明確な企業体のみを採択候補とする。</p>

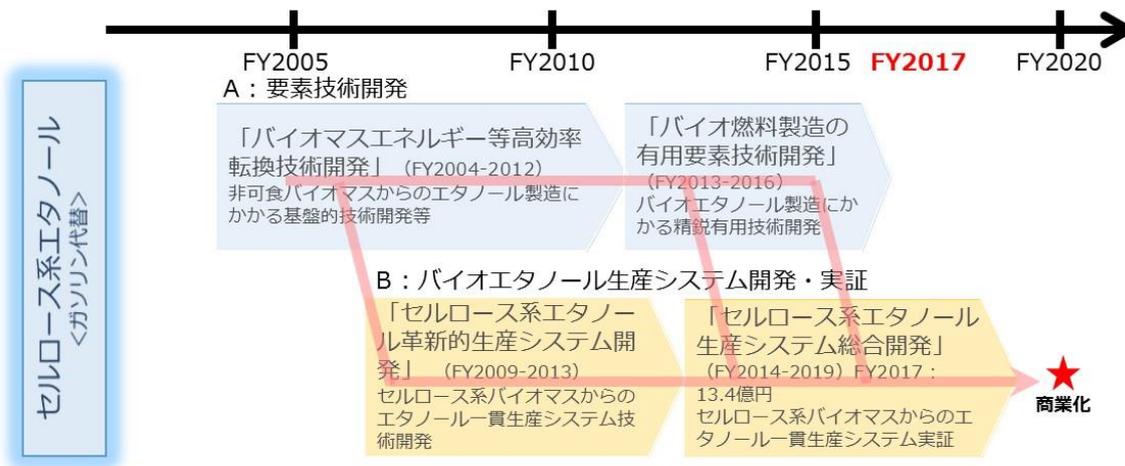


図 1-3-1 NEDO におけるバイオエタノール生産関連の事業

2. NEDOの関与の必要性・制度への適合性

2-1 NEDO が関与することの意義

日本のエネルギー利用の23%は運輸部門が占め（図2-1-1）、燃料についてはそのほとんどが液体燃料である。再生可能エネルギーの中でバイオマスだけが液体燃料を直接製造することが可能である。ただし、液体バイオ燃料製造において、砂糖、トウモロコシ、パーム油が食料と競合する問題が生じている。そこで、エタノールを、木質系や農業残渣系など食品として食べられない部分や、エネルギー用途に栽培した植物から得ることにより、食料と競合しない原料からエタノールを製造することが課題となっている。

そのためNEDOでは、今までバイオマスの利点を最大活用した液体燃料化（ガソリン代替、ジェット燃料代替）の製造技術開発に注力しており、政策面で見ても世界的にニーズは増加している。中長期計画において、ガソリン代替のバイオエタノールは2020年実用化という目標があるが、大量導入のためにはまだ技術的課題が多く、今後もバイオ燃料を大量導入するための技術開発を推進することとしている。バイオマスの利用の中でも食料と競合せず大量に製造可能なセルロース系エタノールの開発は、コスト要求に技術的に対応困難であるため、諸外国においても事業化が遅れているのが現状である。このような技術開発、実証研究等の取り組みは技術的ハードルの高さに加えて、実用化に至るまでに多額の投資が必要であるため、企業単独で取り組むにはリスクが高い。現状では我が国にバイオ燃料産業は確立しておらず、ビジネスモデルの創出と産業創出が必要なため、NEDOが主体となって関与し実施することが必要である。

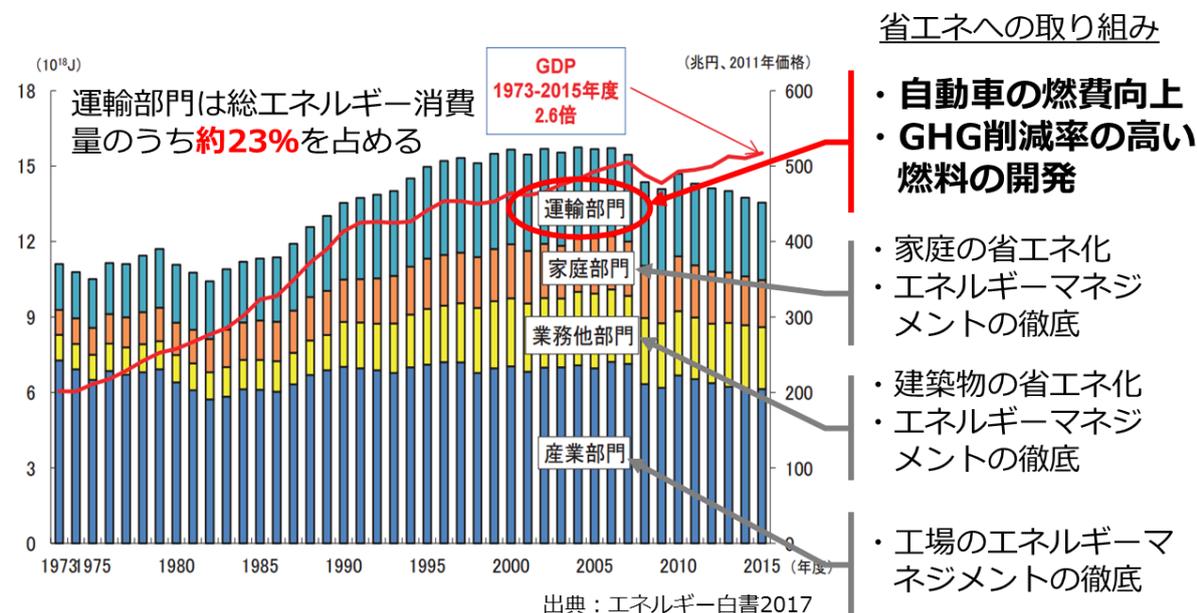


図 2-1-1 最終エネルギー消費と実質 GDP の推移（出典：エネルギー白書 2016）

2-2 実施の効果

〔セルロース系エタノール生産による二酸化炭素削減効果〕

本事業の目的を達成することにより、2020年にはガソリン対比50%以上のGHG削減率のバイオエタノール製造設備について、数万～20万kL/年規模での実用化に利用され、本事業費のCO₂排出削減効果として、十分な費用対効果があると判断している。また2020年以降更に製造設備が設置されれば、試算以上のアウトカムが期待できると考える。試算は、本事業で得られるバイオエタノールをガソリンに代替えた時のCO₂削減量と本事業の投資額より算出した。

<2020年に期待されるCO₂削減効果試算>

$$\begin{aligned} & (\text{エタノール生産量}) \times (\text{バイオエタノールによるGHG排出削減量}) \times (\text{エタノール発熱量}) \\ & = 20(\text{万kL}) \times 40.9(\text{gCO}_2\text{eq/MJ}) \times 21.2(\text{MJ/L}) = \underline{17.3\text{万tCO}_2\text{eq}} \end{aligned}$$

<事業としての費用対効果>

$$\begin{aligned} & (\text{総事業費}) \div (\text{CO}_2\text{削減期待量}) \\ & = 50.4(\text{億円}) \div 17.3\text{万}(\text{tCO}_2\text{eq}) \doteq \underline{29,100\text{円/tCO}_2\text{eq}} \end{aligned}$$

〔その他の効果〕

本事業の実用化・事業化後には、海外社有林におけるバイオマス増産、酵素事業の展開によるセルロース系バイオマスの利用促進、プラント受注や事業展開等において日本企業の海外展開を支援するものであり、波及効果も含めて世界規模での二酸化炭素削減に寄与するものである。また、セルロース系バイオマスから糖を安価に生産するプラットフォームが構築できれば、セルロース系エタノールの製造以外でも、さまざまなバイオマス由来の化学品製造に利用できるコアとなり、波及効果が期待できる。

また、エタノールを原料とし、エタノールの重合によりエチレンを生産し、ポリエチレンを生産する、あるいは、さらに重合、脱酸素・水素化による改質によりバイオジェット燃料を生産するATJ (Alcohol to Jet)と呼ばれる技術が期待されている。

II. 研究開発マネジメントについて

1. 事業の目標

本事業の成果目標は、セルロース系エタノール生産の商用化に資する技術の確立である。技術確立後の商用化にあたっては、バイオ燃料の導入意義に鑑み、環境性と経済性の両立が求められる。内外の技術動向、市場動向を踏まえつつ、プロジェクト中間時と終了時に達成すべき戦略的な目標として以下を設定している。

1-1 アウトプット目標

『2020年の商用化を目指し、これまでの技術開発成果を踏まえてセルロース系エタノールの一貫生産システムを開発する。達成目標は以下のとおり。』

- ① ガソリン比GHG削減効果50%、化石エネルギー収支2以上の一貫生産プロセスの最適化
- ② パイロットプラントにおける検証の継続による、商用化にむけた一貫生産プロセスの確立
- ③ ガソリン価格を見据えつつ海外エタノール価格と競合できるバイオエタノール生産コストの実現』

【中間目標（2017年度）】

『商用プラントを想定して①を達成し、商用化に資するFS結果を得ることを目標とする。FS実施時に、商用化に資するコスト目標を事業目標として事業者側が設定し、その目標の妥当性を外部有識者により審議し、妥当であるとの評価を得る。』

【最終目標（2019年度）】

『商用化に向け、パイロットプラントにおける検証の継続を図り①、②、③を達成する。FSで見通しを得た生産コスト70円/Lの確度を上げるとともに、更なるコスト削減を図る。』

1-2 アウトカム目標

『エネルギー供給構造高度化法におけるバイオエタノールの導入目標量（2017年度原油換算50万kL、2018年度以降も継続予定）のうち、セルロース系エタノールの供給に寄与する。また、2020年以降にセルロース系バイオエタノールの商用化が実現し、導入が進むことによりガソリンの使用に起因するCO₂排出量の削減に貢献する。』

（参考）GHG削減率50%のバイオエタノールが年間20万kL導入された場合、年間17.3万トンのCO₂を削減できる。

◆NEDO は技術検討委員会の審議を通じて『商用化に資する（生産）コスト目標』を策定

NEDO は NEDO に設置した技術検討委員会の平成 29 年 2～3 月の審議を通じて、『商用化に資する（生産）コスト目標』の目標値は 70 円/L 未満とするのが妥当とした。

これは、2014 年（「セル総事業」開始時）の輸入エタノール日本着価格 77 円/L を参考に、輸送費と利益他の事業条件等を考慮し、事業性評価に用いる『商用化に資する（生産）コスト目標』の目標値は 70 円/L 未満とするのが妥当と考えるため。

なお、米国では、第 1 世代エタノール全体の導入義務とは別に、セルロース系エタノールの導入義務量が課されていることにより、需給の関係から補助金や各種インセンティブがない中でも、第 1 世代エタノールよりも高値で取引されている。

本事業の事業性評価にかかる生産コスト目標については、必ずしも第 1 世代との競合を想定した 70 円/L 未満に拘らず、事業者自身で事業が成立するシナリオを策定しこれに基づく生産コスト目標を設定する事もあり得る。生産コスト目標が 70 円/L を超える形で事業者案が提出された場合は、そのシナリオの成立性（現実性、実現性）とそれに基づく生産コストの妥当性を技術検討委員会にて精査することとした。

ガソリン比 GHG 削減効果 50%、化石エネルギー収支 2 以上の一貫生産プロセスの最適化に係る算定方法は次のとおり。

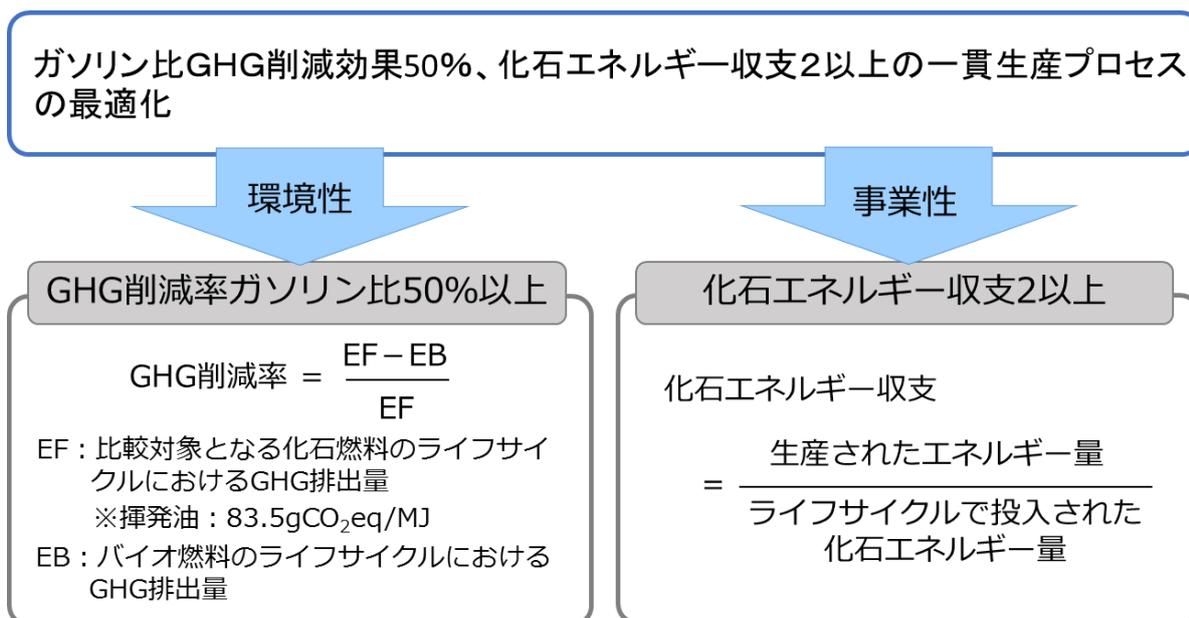


図 1-2-1 GHG 削減率および化石エネルギー収支算定方法

2. 事業の計画内容

2-1 研究開発の内容

2017年度までに、セル革事業で得られた木質系と草本系の成果を一本化した、各工程要素技術の最適組合せ検討を実施するとともに、国内外の優良技術を調査・検討する。これらと市場見通しを踏まえ、事業性評価（コスト評価、GHG削減効果、化石エネルギー収支評価）を実施し、有識者の意見を参考にしつつ、実証事業継続の可否を判断する。評価の結果、以後の研究を中止する場合もある。

事業性評価の結果、実証事業を継続することとなれば、プレ商用実証プラントによる技術実証を行う。

具体的には、下記の内容に取り組む。

1) 要素技術の最適組合せ検討〔委託〕

(i) 国内外の優良技術の調査・検討（2014年度～2015年度）

国内外のセルロース系エタノール生産技術の最新の技術動向を調査し、各工程要素技術における技術評価とコスト試算を実施する。

(ii) 最適組合せの検証（2015～2017年度）

セル革事業で得られた要素技術を中心に、キー技術となる前処理技術、糖化発酵技術（糖化酵素選定、発酵微生物選定）の組合せ検討をラボ試験レベル（実験室レベルでの小規模な試験）で実施し、早期に実用可能かつ性能的に有望な技術の組合せを選定する。選定した組合せについてパイロットスケールで原料～糖化～発酵に至るプロセスの事業性を検証する。

セル総事業では、次の2テーマについて実施した。

① 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産開発および事業性評価（以下実施事業者をAチームと称す）

エタノール生産のキー技術となる前処理技術、糖化発酵技術（糖化酵素選定、発酵微生物選定）の組合せ検討を実験室レベルでの小規模な試験で実施し、予備検証を行った。選定した組合せについてパイロットスケールで事業性検証を行うため、パイロットプラントの設計・建設・運転試験を行った。

② パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価（以下実施事業者をBチームと称す）

水蒸気爆砕前処理技術、糖化発酵技術（糖化酵素選定、発酵微生物選定）の組合せ検討を実験室レベルでの小規模な試験で実施し、予備検証を行った。選定した組合せについてパイロットスケールで事業性検証を行うため、パイロットプラントの設計・建設・運転試験を行った。

(iii) 一貫生産プロセス開発・事業性評価（FS）の実施（2017～2019年度）

(ii) の検証結果より、有望な要素技術を選定し、商用プラントのプロセスと運転条件を決定し、原料収集からエタノール出荷までの総合的なシステムのコスト、GHG削減効果、化石

エネルギー収支の評価を行う。この評価結果と(i)の検討結果および市場見通しを踏まえ、年産数万～20万kL規模の商用化を想定した事業性評価を実施する。

なお、本研究開発項目(i～iii)は、産学官の複数の事業者が互いのノウハウ等を持ちより協調して実施する基盤的技術の開発にかかる事業であり、委託事業として実施した。

。

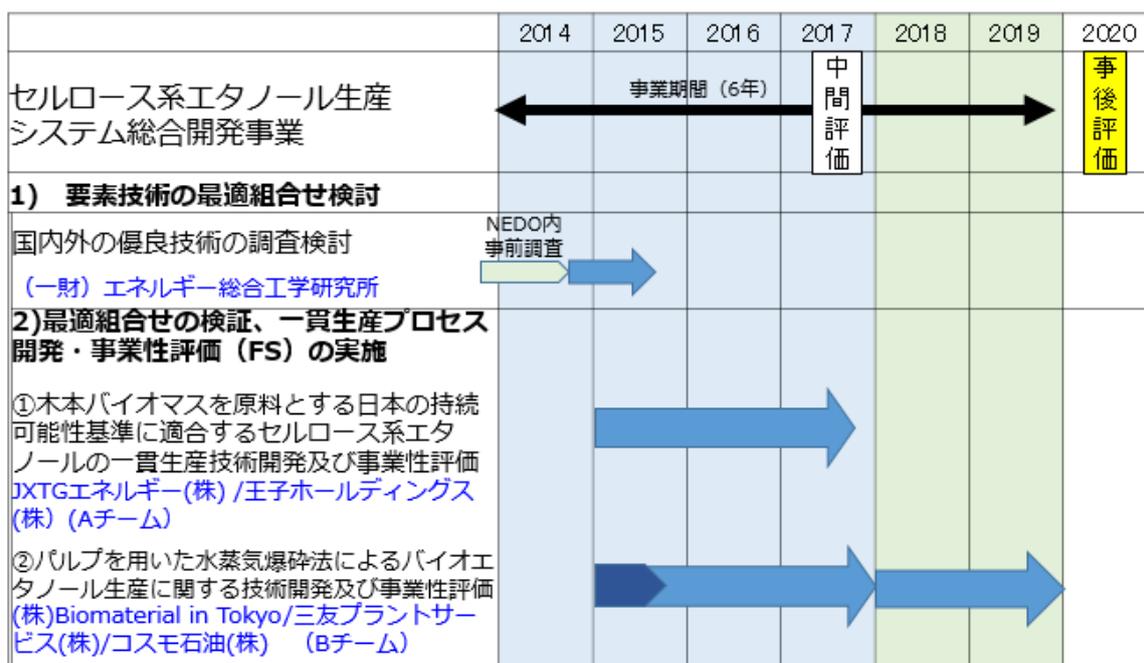


図2-1-1 事業の実施計画

2-2 研究開発の実施体制

本事業における研究開発体制を図 2-2-1 に示す。

要素技術の最適組み合わせの検証については、技術力および事業化能力を有する民間企業を中心に大学が連携する体制で2つのテーマが実施されている。

国内外の優良技術の調査検討は、調査能力と実績を有する財団法人が実施し、調査内容はプロジェクト運営に活用している。

本事業では、当初1チームを想定しプロジェクトリーダー (PL) を置くこととしていたが、2チームを採択し個別に事業化に向けた検討を進めることが効果的と判断したため、セル革事業と同様に外部有識者で構成する技術検討委員会を組織し、定期的に技術的評価および助言を受けNEDOが各チームを直接マネジメントする運営方法とした。

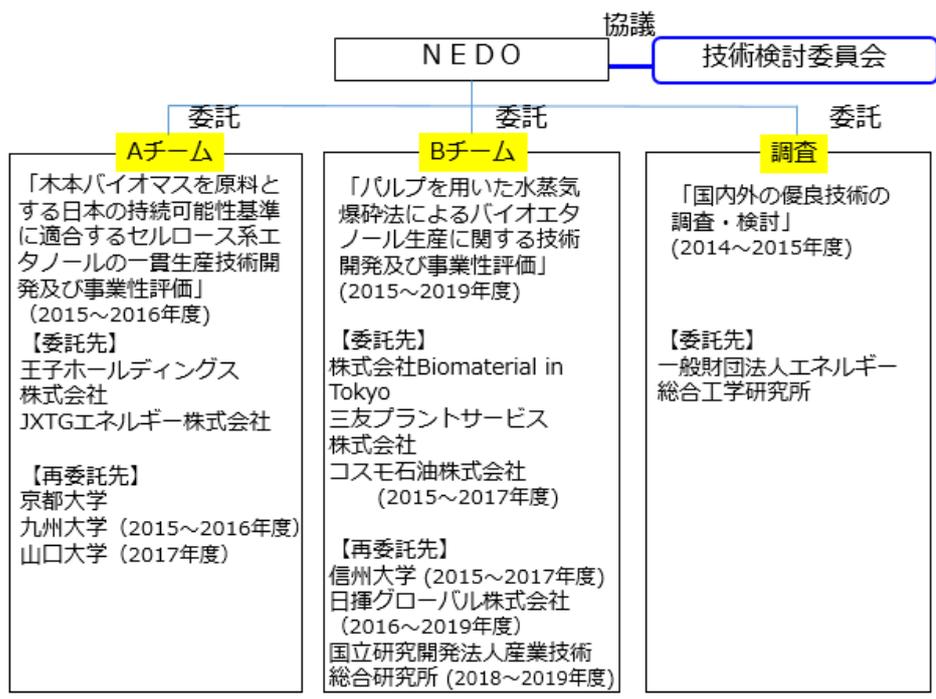


図 2-2-1 実施体制図

2-3 研究開発の運営管理

本事業においては、事業の立ち上げ段階から現在に至るまで適宜適切な運営管理に努めてきた。最適組合せの検討および事業性評価では、比較的短期間で実用化を目指す研究開発であることから将来の事業化を強く意識した民間企業を中心として研究開発体制を構築すること、事業化を推進するためには、バイオマス原料の入手からエタノール製造までを一貫して研究開発に取り組み最適なシステムを構築することが必要である。

事業の実施段階の具体的な運営管理について、以下に説明する。

2-3-1 技術検討委員会

事業の実施段階においては、各テーマの研究開発の進捗確認、ステージゲート、事業のコスト目標の検討、事業実施体制の見直し等について、NEDOに対する評価・助言を行い、効率的に研究開発を推進し、着実に実用化に結び付けて行くため、技術検討委員会を設置した。

技術検討委員会は、新エネルギー部が事務局となり、表2-3-1に示す外部有識者からなる委員会として開催した。委員の選定にあたっては、本事業における研究開発が原料の入手からエタノール製造の広範囲に亘り、しかもラボスケール・パイロットスケールでの研究開発を行うことからエンジニアリング要素も必要となることや、持続可能性に関する観点も必要になることを考慮して、幅広い分野における有識者を網羅することに配慮した。

表2-3-1-1 セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業 技術検討委員会

区分	氏名	所属・役職
委員長	横山 伸也	公立鳥取環境大学 環境学部 環境学科 特任教授
委員	井上 貴至 (～2017年度)	株式会社三菱総合研究所 シンクタンク部門 統括室長
委員	大谷 繁	一般財団法人地球温暖化対策技術会 技術顧問
委員	坂西 欣也	産業技術総合研究所 福島再生可能エネルギー研究所 所長代理
委員	高橋 香織 (～2017年度)	みずほ情報総研株式会社 環境エネルギー第2部 次長 環境ビジネス戦略チーム
委員	山田 富明	Bioengineering Consulting Office 代表

※敬称略、委員長を除いて五十音順

技術検討委員会は、2015～2019年度、計11回実施した。主な実施事項は以下のとおり。

- ・Bチームの前処理への新規技術適用に係る ステージゲート評価（第1回）
- ・Bチーム再委託先追加の妥当性検討（第4回）
- ・事業性評価の進め方検討（第5回）
- ・NEDOの目標値設定（第1回、5回）
- ・両チームの事業性評価結果の評価（第8回）
- ・Bチームの契約延長と既存パイロットプラントを活用した検証継続承認（第9回）
- ・Bチームの進捗確認と今後の進め方への助言（事業の完遂、今後の技術展開、国内モデル構築、バイオエコノミー分野への昇華）（第11回）

特に、ステージゲート評価と事業性評価は次のとおり実施した。

【ステージゲート】

Bチームは、公募時に廃パルプを原料としたエタノール製造に関わる開発を提案した。廃パルプを原料とすることによる原料費削減、バガスで実績のある前処理（水蒸気連続爆砕技術）の適用や高性能酵素の採用によるプロセスの最適化などの工夫には期待ができるとして採択された。しかしながら、前処理技術として提案された水蒸気連続爆砕技術は、当時草本系の実用化検討でいくつかの適用事例はあったものの、木本系での前処理技術としての実績が乏しいことから、データ検証を十分に実施し、実現性の有無を判断した上でパイロットプラントにおける検証を含む契約を締結することを契約・助成審査委員会での採択条件として付された。

そこで、Bチームは、2015年度当初の数ヶ月かけてデータ取得を行い、本技術検討委員会（2015年8月）においてステージゲート審査を実施し、実現性があると判断されたためパイロットプラントでの検証に着手することが妥当と判断した。

【事業性評価結果の評価】

当部は、2017年10月の技術検討委員会において、事業者が報告した事業性評価結果を評価・確認した。

『商用化に資する（生産）コスト目標』の算出と評価手順について

1) プロセスフローの各工程における技術開発成果

a) 以下の各工程における技術開発成果について、その考え方・内容の説明と成果数値を示す。

- ・原料バイオマス供給（栽培・収穫・運搬・貯蔵）
- ・エタノール生産プロセス（前処理・糖化・発酵・濃縮）

2) 算出準備

- a) ラボ試験の成果を元に、パイロット試験実施の際に採用する技術を決め、その判断根拠を示す。なお、プレ商用設備、あるいは商用化設備を想定する場合において、この採用技術は基本的に同じものとする。
- b) 商用化のビジネスモデルを明示し、想定した候補地、周辺立地条件でのエタノール製造設備（数万～20万kL/年）におけるレイアウトや運転方法を設定し、プロセスフロー、マテリアル（物質）・ユーティリティ（用役・薬品等）のバランステーブルを作成する。これらプロセスフローとバランステーブルを元に、機器仕様等を決定して、建設費と用役・薬品類使用量等を積算し、保守費・保険料・労務費等を含め、算定根拠を明示して、固定費・変動費を算出する。

3) 評価項目およびその数値の算出

a) GHG削減率・化石エネルギー収支

上記のデータを元に、エネルギー供給構造高度化法の『判断基準』および『エタノールのLCAでのGHG排出量の算出方法』に基づき、GHG削減率・化石エネルギー収支を算出し、その結果がGHG削減率ガソリン比50%以上、化石エネルギー収支2以上であるかどうかを検証する。

b) 商用化に資する（生産）コスト目標

上記のデータを元に、選択した事業性評価手法に基づき事業性を計算し、「商用化に資する（事業性が成立する）（生産）コスト目標」を算出する。

算出した（生産）コスト目標に対して感度分析を行い、変動幅を明らかにする。

2-3-2 推進委員会

最適組み合わせの検討および事業性評価では、技術検討委員会とは別に、各テーマでも推進委員会を年2回実施し、外部有識者からの意見を事業に反映している。推進委員会は各テーマの実施者が事務局となり、新エネルギー部はオブザーバーとして参加している。表2-3-2および表2-3-3に、各テーマの推進委員会のメンバーを示す。

表2-3-2-1 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価 (JXTGエネルギー、王子ホールディングス) 推進委員会

区分	氏名	所属・役職
委員長	松方 正彦	早稲田大学先進理工学研究科応用化学専攻・教授
委員	出口 英次	バイオマス燃料供給有限責任事業組合 (JBSL)・業務グループマネージャー
委員	福島 和彦	名古屋大学生命農学研究科森林化学研究室・教授

※敬称略、委員長を除いて五十音順

表 2-3-2-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価 (Biomaterial in Tokyo、三友プラントサービス、コスモ石油) 推進委員会

区分	氏名	所属・役職
委員長	五十嵐 泰夫	東京大学 名誉教授 / 中国西南大学資源環境学院 生物エネルギー・生物修復研究センター センター長
委員	芋生 憲司	東京大学 大学院 農学生命科学研究科 生物・環境工学専攻 教授
委員	森山 亮 (2016年4月～)	エネルギー総合工学研究所 プロジェクト試験研究部 主管研究員
委員	渡部 啓吾 (～2016年3月)	日本製紙株式会社 研究開発本部 総合研究所 主席研究員

※敬称略、委員長を除いて五十音順

2-4 研究開発成果の実用化・事業化に向けたマネジメントの妥当性

1) 事業性評価

「セル総事業」においては、2020年頃という比較的短期の事業化に向けて、プロジェクトの中間年度即ち2017年度に、実用化・事業化に向けた事業性を評価する。事業性評価においては、各チームの報告を踏まえて、技術検討委員会において、外部有識者の評価を受け、NEDO推進部としての自己評価を行い、中間評価を経て、技術動向・政策動向を踏まえて必要に応じて事業の見直しを行うこととしている。

【中間評価】

FS結果により、事業後半に予定していたプレ商用プラントでの実証を経ずとも商用化に向けた技術確立の目処が立ったことから、事業性評価結果の精度を上げ商用化の確度を高めるため、パイロットプラントでのデータ取得・分析等を主とした事業を継続する。

表 2-4-1 中間評価まとめと対応結果

評価のポイント	対処方針のポイント
①二つのテーマを独立して推進しているが、手法として重複する部分が多々あるので、 情報交換 を促進し長所を取り入れるような体制作りが必要である。	①本事業後半の進め方については、今後検討する。
②バイオマスの分解のプロセスについては、かなり確立しているように思われるが、発酵のプロセスについては、 雑菌の混入 や 発酵条件 などで課題がある。	②課題については既に解決しており、パイロットプラントの検証継続により、発酵プロセスの最適化に取り組む。
③ 特許出願数 が少なく感じられる。知財確保のために、積極的な特許出願が望まれる。	③本事業はセルロース系エタノール生産技術開発に係る集大成と位置付けられており、これまでの要素技術開発事業において既に多くの特許出願実績がある。今後とも積極的な特許出願を促していく。
④バイオエタノールは汎用化学物質であるため、製造コストのみが他者に対する優位性をもたらす。従って、優良酵素や優良微生物の単離・育種など、 他社にない独自技術 の開発が極めて重要である。	④優良酵素や優良微生物の単離・育種など、各社独自の技術開発を実施してきた。事業後半においても積極的に取り組む。

↓

<事業後半への反映>	
対応項目	対応結果
①情報共有	Aチームは、2017年度で終了。Aチーム成果をBチームに反映
②雑菌混入・発酵条件検討	検証を継続し、事業終了時には最適な発酵プロセスを構築できた(Bチーム)
③特許出願	基礎開発時に比べて、特許が出にくい実証フェーズの中で、事業化に重要な特許5件を出願することができた。
④独自技術(優良酵素・微生物)	糖化酵素のオンサイト生産において、対象のバイオマスに応じて糖化酵素が誘導される、という興味深い知見が得られた(Bチーム) 日本エネルギー学会 学会賞(技術部門)受賞 (2019年度)(Aチーム)

2) 知財マネジメント

開発成果に関する取扱いとして、委託事業の成果に関わる知的財産権等については原則として、すべて実施機関に帰属させることとする。(「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等)

実施機関においては、我が国の新エネルギー技術を基盤とする産業競争力の強化に資するべ

く、開発した技術や成果の知的財産マネジメントを実施した。

各チームはいずれも産学連携のチームであり、チーム毎に知財合意書を作成して、各チームの研究開発責任機関である企業が知財運営委員会の運営を実施。本委員会にて特許出願や学会発表についての審議を行うこととしている。

3. 情勢変化への対応

【事業立ち上げ当初の情勢】

- 2014年に、ブラジル、米国でセルロース系エタノールプラントが相次いで立ち上がりつつあった。
- セル総事業を立ち上げるにあたって、再度情報の整理を行い、本事業の方向性が妥当かどうかについて検討を行った。
- セルロース系エタノール製造事業者数か所の調査結果から次のことが分かった。
 - ▶ 一貫プロセスの実証～商業規模プラントで用いられている原料は主に、農業残渣など、残渣系の原料であり、大規模プランテーションによるエネルギー作物を利用した例は未だに実施されていない。
 - ▶ 商業規模プラントは主に数万kL/年の規模で行われており、10万kL/年の規模はほとんどない。
 - ▶ セルロース系エタノールの製造技術を事業化に導くためには、技術の選定に加えて、事業形態（事業モデル）の設定が重要である。
- これらに基づき木質系バイオマス为原料と想定する本事業の妥当性があると判断し、立ち上げることにした。加えて、商用生産規模に必要な量を安定して供給できるのであれば、他の原料を用いた提案でも差支えないこととして公募した。

【実施者採択と実施に際して】

- 前年実施したセル革事業の前倒し事後評価にて指摘を受けた「実用化可能な原料とプロセス」、「事業化に向けた実施者」を選定することに留意して採択を行うこととした。
- 当初から目標コストを設定するのではなく、プロジェクト前半の調査結果を踏まえて中間地点で技術評価委員会にて判断基準を設定した。
- 調査結果から、セルロース系エタノールの製造コストは70～100円/Lで生産可能と推測され、技術検討委員会で審議し、商用化に資する（生産）コスト目標70円/L未満が妥当と考えた。
- なお、2018年以降の国内の市場動向を左右するエネルギー供給構造高度化法の導入義務量の告示改正を注視しつつ、事業を実施した。
(2018年4月に制定された告示改正において、導入義務量が、2022年まで変わらずに、継続されることを確認した)

バイオ燃料に関する高度化法の今後の方向性（案）

- ガソリン代替のバイオエタノールは、現時点では、ブラジル産のサトウキビ由来エタノールに100%依存。
- 食物由来のバイオエタノール（第1世代）の国産化は厳しい状況。
（⇒セルロースや廃棄物由来のバイオエタノール等（第2世代）は、国産化の可能性あり。）
- バイोजェット等の導入については、ICAOなどの国際動向と整合の取れた形で検討する必要あり。

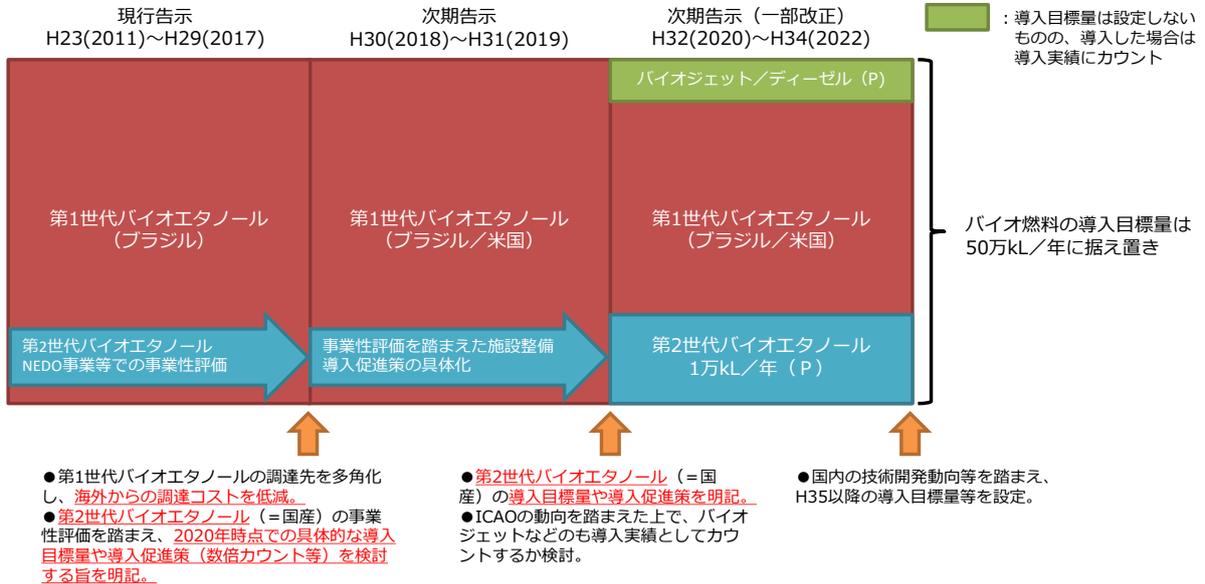


図3-1 バイオ燃料に関する高度化法の今後の方向性（案）

（出典：2016年度石油産業体制等調査研究（バイオ燃料を中心とした我が国の燃料政策のあり方に関する調査）（バイオエタノール関連）報告書）

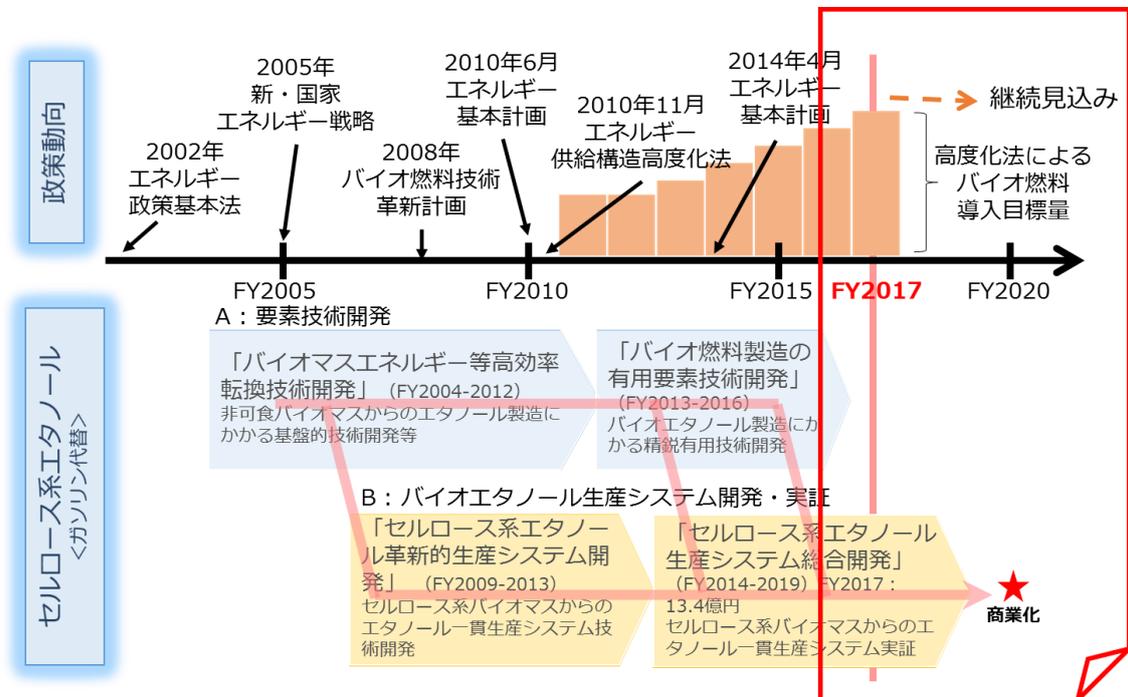


図3-2 2018年以降のエネルギー供給構造高度化法の導入義務量の告示改正を注視

4. 評価に関する事項

評価に関しては以下のとおり。

- ・事前評価：2014年度に当部で実施し、事前評価書を策定。
- ・中間評価：2017年度に実施。
- ・事後評価：2020年度に実施。

事業期間内必要に応じて外部有識者等による研究開発の評価を実施し、プロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

III. 研究開発成果について

1. 事業全体の成果

両チームの成果を総合的にみると、ラボレベル、パイロットスケールの研究を通じ商用プラントを想定して、両チームともガソリン比GHG削減効果50%、化石エネルギー収支2以上の一貫プロセスを構築し、実用化に資するコスト目標としてNEDOで設定した製造コスト70円/L未滿を達成している。また、両チームとも、これまでのNEDOのエタノール生産技術開発の成果を活用している。それぞれの成果の概略を以下にまとめる。なお、各チームの詳細な成果については、「III-2. 研究開発項目毎の成果」において説明する。

Aチームは、セル革事業の木本系チームのメカノケミカルパルピング（王子HD）と、草本系チームの酵素（JXTGエネルギー）の優れた成果を組み合わせ要素技術の組み合わせ棚卸評価を実施・検証した。ラボ検討の結果、エタノール収量が最大化するとともに製造設備機器点数が最少となる、並行複発酵を最適プロセスとして選択した。パイロットプラントでは、エタノール収量の確認や連続運転条件の最適化を実施し、低コストな運転条件を見出した。実用化モデルは、ブラジルの既設パルプ工場にエタノール製造工場（10万kL/年）を併設し、日本にセルロース系エタノールを供給するもの。事業性評価の結果、技術検討委員会において設定した「事業性評価に用いる『商用化に資する（生産）コスト目標』」である70円/L未滿を概ね達成した。

並行複発酵に適した高粘度攪拌技術の確認や、空気分散の検証が必要であるものの、前処理、蒸留・脱水部分の検証は既存技術で十分対応可能であることから、実用化に向けたプレ商用実証プラント（1万kL/年）における検証については不要であると報告され、中間評価委員会において、認められた。

Bチームは、前処理技術として多様な原料に効果が期待される連続水蒸気爆砕技術を適用し、事業開始当初にその有用性を確認し、パイロットプラントの検討を実施し、酵素反応時間を大幅に短縮し、酵素の使用量を30%以上削減することが可能であることを示した。酵素糖化には、2016年度まで実施したバイオ燃料生産の有用要素技術開発事業の成果を活用し、オンサイト生産による安価な自製酵素を使用することにより、酵素コストを大幅に削減できることを示した。大規模製紙工場から発生する大量かつ安価な破棄パルプを水蒸気爆砕し、自製酵素で糖化させ、キシロース資化性酵母でエタノール発酵させることで、環境性及び経済性（2万kL/年以上の生産規模において製造コストのNEDO目標（70円/L未滿）を達成）を満たすシステムを構築できる可能性が示された。さらに、安価かつ安定的に供給されるバイオマスとして、食用キノコの生産後に生じる廃菌床を原料にバイオエタノールの生産を行い、得られた結果を基に商用スケールのプラント設計を行った。廃菌床は夾雑物が多く高い糖化率は得にくいだが、残渣からのエネルギー回収が可能であり、環境性及び経済性（3万kL/年以上の生産規模において製造コストのNEDO目標（70円/L未滿）を達成）の高いシステムが構築できる可能性が示された。

生産されたバイオエタノールを蒸留・脱水し得られる90%以上の脱水バイオエタノールから、エチレンを介してドロップイン燃料となるナフサ・ケロシン・ディーゼルなどの合成に成功し、バイオエタノールの液体燃料以外の用途拡大の可能性を示した。

種々の廃棄物に対する運転条件の最適化が必要であるものの、実用化に向けたプレ商用実証プラント（1万kL/年）における検証については不要であると報告され、中間評価委員会にて認められ

た。

技術動向調査では、エネルギー総合工学研究所は、本事業で開発する技術について、国内外の技術開発の最新動向との比較を通じて強みを明らかにし、さらに、国内外におけるバイオ燃料の市場やバイオ燃料の導入がもたらす便益・社会的影響について整理することで、事業展開の方向性を明らかにした。

2. 研究開発項目毎の成果

2-1 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価

2-1-1 本事業の目的

本事業は、食料と競合せず、日本のエネルギー供給構造高度化法におけるバイオ燃料としての持続可能性基準を満たすセルロース系エタノール（以下「持続可能性基準適合セルロース系エタノール」と略記）一貫生産技術において、実験室レベルでの組合せ評価、パイロットプラントでの検証を通じて各種要素技術の棚卸を実施、セルロース系エタノールの生産において商業化するに足る最適組合せを選定し、パイロットプラントレベルでの技術確立、および、確立した一貫生産システムを採用した際に、2-1-2 項記載のビジネスモデル成立可否の検証を目的とする。

2-1-2 本事業のビジネスモデルおよび目標

本事業では、海外植林地から供給される木本系バイオマスを原料とし、海外または日本国内の既存のパルプ工場等に併設したセルロース系エタノール製造工場にて生産された持続可能性基準適合セルロース系エタノールを、ETBE 原料として日本の石油会社へ販売するビジネスモデル（図 2-1-2-1）とする。

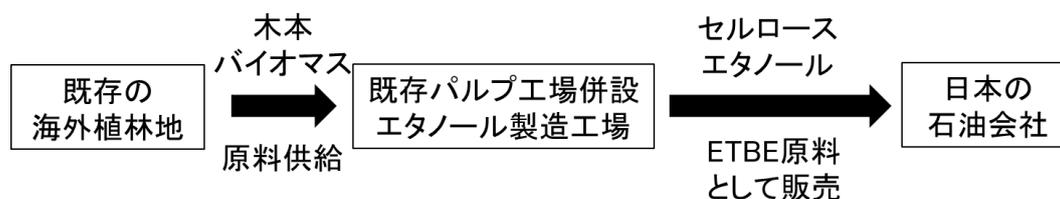


図 2-1-2-1 ビジネスモデルスキーム

この際、持続可能性基準適合輸入エタノール日本着価格と等価以下となるようなセルロース系エタノール販売価格を目標とし、商業化想定時点での「持続可能性基準適合輸入エタノール日本着価格」を本事業では設定し、本価格を目標として技術開発及び事業性評価を実施した。

2-1-3 本事業の概要

本事業は、日本の持続可能性基準適合セルロース系エタノールの商用生産を目指し、複数の要素技術（前処理・糖化・発酵・酵素回収の各プロセス及び原料、酵素、発酵菌株等）について、実験室レベル及びパイロットプラントにて組合せ評価を実施することにより、最適組合せを選定し、その運転条件及び装置組合せを最適化することによりパイロットプラントレベルでの技術確立を目指すものである。

さらには、確立された一貫生産システムを前提とし、安定的な原料調達から製品エタノールの日本への供給までの全工程におけるセルロース系エタノールの商用生産・販売事業のコスト分析・

実現性評価を実施した上で、事業性評価を実施し、事業性の有無を判断するものである。

また、本事業性評価の過程で、商業化技術完成におけるスケールアッププラントでの検証の必要性について検討し、その実施の可否判断を実施するものである。

具体的には、「セル革事業」における「木本系事業」において王子HDが、「草本系事業」においてJ X T Gエネルギーが、セルロース系エタノールの一貫生産システムに関する研究開発に取り組んで得られた、表 2-1-3-1 に示す要素技術を組合せることにより実施する。

表 2-1-3-1 「木本系事業」及び「草本系事業」の各要素技術

	原料	前処理	糖化/発酵
木本系事業	木本	パルプ化	並行複発酵
草本系事業	草本	アンモニア	逐次糖化発酵/セルフクローニング酵母

本事業にて要素技術の組合せ検討を実施するにあたって、原料については、木本系バイオマスは草本系バイオマスに比べて高密度が高く、輸送が効率的であること、通年収穫が可能で貯蔵や保存の問題が無いこと、既に王子HDで事業植林を展開しており、栽培、収集、輸送のインフラや技術が確立されていること、安定供給が期待できることから、木本系バイオマスを選択する。

前処理工程については、木本系バイオマスに対する前処理として、原料との適合性、スケールアップ技術確立の確実性の観点から、「木本系事業」で開発した中性亜硫酸セミケミカルパルプ処理（NSSCP、詳細は原料および前処理の検討(2-1-4-2)に記載）等のパルプ化技術を選択する。

糖化発酵工程は、王子HD及びJ X T Gエネルギー双方の保有する要素技術（プロセス及び酵素、酵母）を組合せた比較検討を実施し、商用生産を目指した各要素技術の最適組合せを見出す。

酵母は、別の種の遺伝子を導入することなくキシロース利用能を改良したセルフクローニング酵母（遺伝子組換え体に該当しない）を採用する。セルフクローニング酵母を採用することで、遺伝子組換え体を使用する際に必要な設備対策が不要となり設備コストが抑えられ、万一の漏洩等の際の環境負荷も低減できる。

2-1-4 棚卸評価

2-1-4-1 各種プロセスの検討

本事業においては、先にも述べた通り「セル革事業」における「木本系事業」と「草本系事業」において開発した要素技術の組合せを検討するが、各要素技術の検討に先立ち、最適な糖化発酵プロセスの選定を目的に、「木本系事業」で採用した並行複発酵プロセスと、「草本系事業」で採用した逐次糖化発酵プロセスと、両プロセスの間である半並行複発酵プロセスを比較した。

並行複発酵プロセスはで機器点数が少なく、設備コストの面で逐次糖化発酵プロセスより有利と考えられる。一方、並行複発酵プロセスは、酵母の生育温度に合わせて低温で糖化を進める必要があるのに対し、逐次糖化発酵プロセスは糖化と発酵をそれぞれの最適条件で実施できるため、並行複発酵プロセスより反応効率の面で有利と考えられる。また、半並行複発酵は、両者の中間に位置付けられる（表 2-1-4-1-1、図 2-1-4-1-1）。

表 2-1-4-1-1 各プロセスの特徴

	プロセス	反応方式	機器点数
1	「木本系事業」ベース	並行複発酵	◎
2	「草本系事業」ベース	逐次糖化発酵	△
3	組合せ	半並行複発酵	○

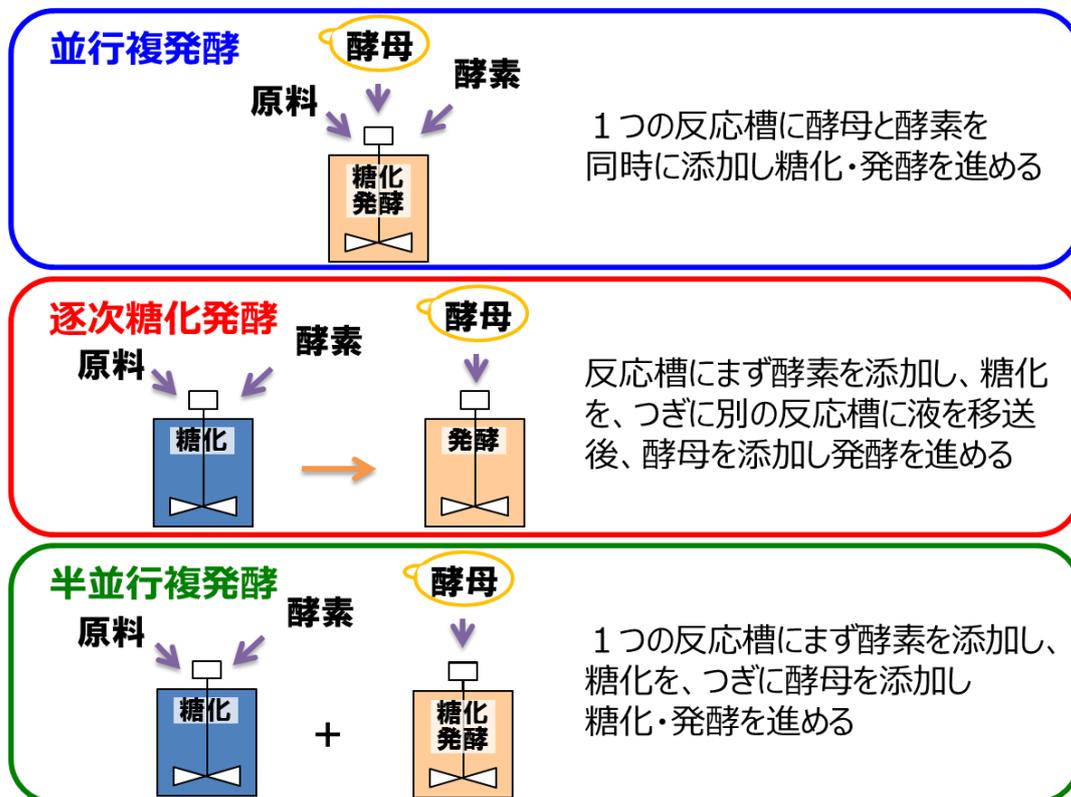


図 2-1-4-1-1 各プロセスの概要

2-1-4-1 a 実施内容および成果

(方法)

醸造酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) はバイオマスに含まれるキシロースを資化できないが、その資化に必要な遺伝子を有している (図 2-1-4-1-2)。これらのキシロース資化遺伝子群 (図 2-1-4-1-2) を活性化し、醸造酵母の染色体に導入することで、キシロース資化能を付与することが可能となる。本酵母は自己遺伝子を活性化したのみで外来遺伝子を導入していないため、遺伝子組換え体に該当しない (セルフクローニング) 酵母となる。

「セル革事業」の「草本系事業」にて開発した自己遺伝子の活性化によりキシロース資化能を付与した醸造酵母を用いて表 2-1-4-1-1 記載の 3 つのプロセスを比較した。

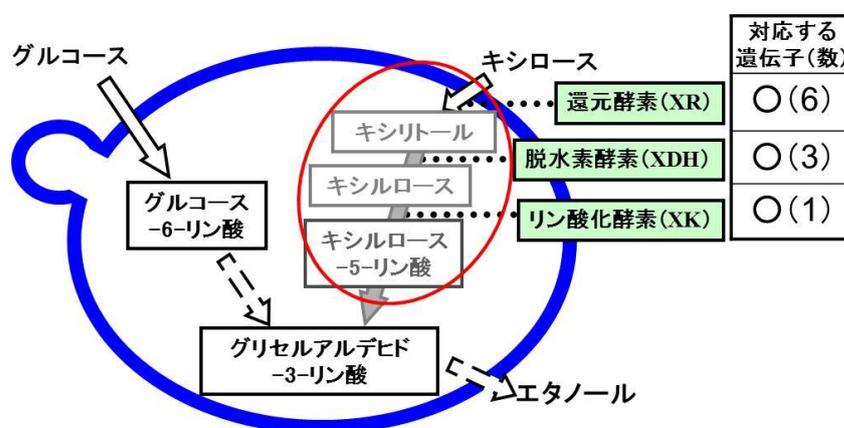


図 2-1-4-1-2 醸造酵母のキシロース資化遺伝子

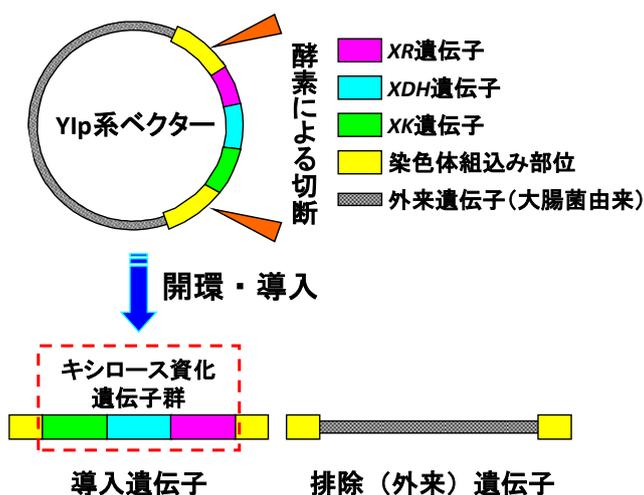


図 2-1-4-1-3 キシロース資化遺伝子の調製

試験条件は、基質濃度：NSSCP10%、酵素液量：対パルプ 15%、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、pH：4.8 (25mM 酢酸緩衝液)、反応容器：500mL 三角フラスコ (液量：200mL)、表 2-1-4-1-2 に記載の反応温度と反応時間にて、各プロセスにおけるエタノール生産性を評価した。

表 2-1-4-1-2 糖化発酵条件

反応方式	糖化温度, °C	発酵温度, °C	糖化時間, h	発酵時間, h
並行複発酵	-	30	-	48
逐次糖化発酵	50	30	24	24
半並行複発酵	50	30	2	46

(結果)

保有する 11 株のキシロース資化能付与醸造酵母を用い、3 つのプロセスを比較した。各プロセスで最も性能の良かった株を用いた結果を図 2-1-4-1-4 に示すが、エタノール濃度は並行複発酵と半並行複発酵はほぼ同等で、逐次糖化発酵は両プロセスより低い値を示した。なお、いずれのプロセスでも目標とした効率を達成した。表 2-1-4-1-4 に示す通りエタノール生産性の観点より、並行複発酵が最も優れたプロセスと考えられた。並行複発酵は機器点数が少なくプロセスを連続化できるメリットもあるため、本事業では並行複発酵を最適プロセスとして選定し、以降の要素技術の最適化に取り組んだ。

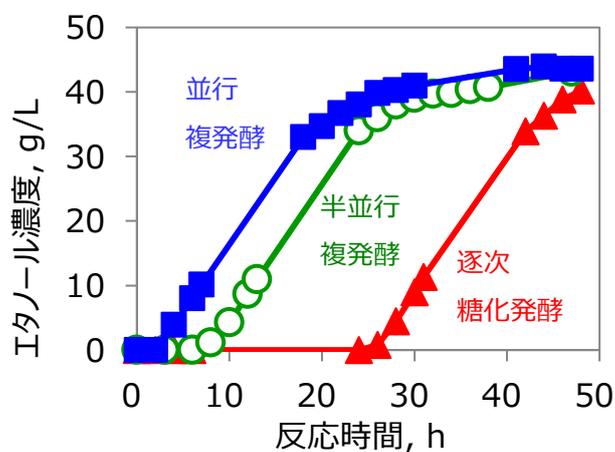


図 2-1-4-1-4 各プロセスにおけるエタノール濃度の比較

表 2-1-4-1-3 各プロセスにおけるエタノール生産性の比較

	糖化発酵効率*	エタノール生産速度*
並行複発酵	1	1
半並行複発酵	0.99	0.98
逐次糖化発酵	0.93**	0.90

*並行複発酵を 1 とした相対値

**発酵効率

2-1-4-1b まとめ

「セル革事業」における「木本系事業」および「草本系事業」において開発した並行複発酵、逐次糖化発酵と、両者の中間である半並行複発酵 3 つのプロセスのエタノール生産性を比較した結果、いずれのプロセスでも目標とした糖化発酵効率を達成したが、機器点数が少なく連続化が可能な並行複発酵を本事業における最適プロセスとして選定した。

2-1-4-2 原料および前処理の検討

本事業は、木本系バイオマスを原料として、既存のパルプ工場等に併設したセルロース系エタノール製造工場にて生産された持続可能性基準適合セルロース系エタノールの製造技術を検討し、事業性の評価を実施することを目的とする。

木本系バイオマスを原料として選定する理由は、草本系バイオマスに比べて嵩密度が高く輸送効率が高いこと、通年収穫が可能で貯蔵や保管の問題が無いこと、王子HDでは事業植林を展開しており、栽培・収穫・輸送に関わるインフラや技術が確立されていること、安定供給が期待できること等が挙げられる。

2009～2013年度の「セル革事業」において、王子HDは「木本系事業」を実施した。木本系バイオマスであるユーカリの木材チップや全木に対して中性亜硫酸セミケミカルパルプ処理（セル革事業ではメカノケミカルパルピング処理と記載）を検討し、ユーカリ・グロブラス (*Eucalyptus globulus*) チップを原料として、95%以上の高い糖化率で未糖化残渣の少ない前処理原料を得た。

本事業においても、木質バイオマス原料の前処理プロセスにおいては主に中性亜硫酸セミケミカルパルプ処理を採用する。より具体的には、薬品、反応温度、反応時間等の条件検討を実施し、95%以上の高糖化率を維持しつつ糖収率の向上によるエタノール収量の向上を目指した。

また、前処理条件検討の比較対象として、国内パルプ工場で生産しているクラフトパルプについても評価を行った。

本章では、下記の木質バイオマス原料について実施した前処理条件の検討結果について報告する。

- ・セルロース系エタノール製造の経済性評価に用いるため、産地の異なる4種類の林地残材に対して実施した前処理条件の検討
- ・プラント実証試験で使用するユーカリ・グロブラスチップに対して実施した前処理条件の検討
- ・パルプ工場が隣接し且つ資源量が多い植林地であるセニブラ社（ブラジル）の林地残材に対して実施した前処理条件の検討

2-1-4-2 a 実施内容および成果

(方法)

木質バイオマスのチップあるいは林地残材の含水率を事前に計測した上で、これら原料の絶乾重量をベースとして、一定の比率で薬品と水を添加し、前処理試験用の原料サンプルを調製した。調製した原料サンプルをラボ蒸解釜（オートクレーブ：内容積4,000mL）に投入し、温度、時間等の処理条件を変更して前処理試験を実施後、処理物を回収してリファイナーで摩砕することにより前処理サンプルを調製した。

回収した前処理サンプルの歩留り、カップー価等を測定し、ラボ酵素糖化試験あるいはラボ糖化発酵試験を実施して、溶出糖濃度やエタノール収量等を測定することにより前処理条件の評価を実施した。

(結果 1)

セルロース系エタノールの経済性評価に用いるため、産地の異なる4種類の林地残材に対して

実施した前処理条件の検討結果を以下に示した。

アルカリの濃度や温度及び時間等の処理条件は表 2-1-4-2-1 に記載した条件に設定した。A 国、B 国、C 国、D 国の植林地より調達した林地残材を前処理試験に供した。

上記 4 種の林地残材に対して L18 水準法による前処理条件の検討を実施して、得られた前処理原料に対して酵素糖化試験を行った。酵素糖化は、250mL 容の三角フラスコを使用して全量 100mL の反応系にて実施した。反応条件は、前処理サンプルは所定濃度、所定の酵素添加量、pH5.0、振盪 150rpm、反応温度は基準温度+4℃および反応時間は所定時間とした。

本試験結果を、表 2-1-4-2-1 に示した。酵素糖化試験後のサンプル評価結果について統計解析を行ったところ、糖化率に関して有意に効果がある前処理条件因子は、樹種、温度及び時間であった。本前処理試験条件下における最適条件は、最高温度、最高時間との結果となったが、実際の最適条件は温度、時間の両方あるいはどちらかを更に厳しい条件としたところにある可能性が高い。

また、検討した 4 種類のサンプルの中では、A 国林地残材の糖収量が最も多く、かつ残渣量の少ない前処理原料が得られると推定できた。

表 2-1-4-2-1 産地の異なる林地残材に対する前処理条件評価結果

林地残材の樹種	温度 [相対値]	時間 [相対値]	アルカリ1 [相対値]	アルカリ2 [相対値]	液比 [-]	歩留り [相対値]	カップー価 [相対値]	糖濃度 C5+C6 [相対値]	糖収量 [相対値]	糖化率 [相対値]
A国	100	150	200	100	7	100	100	100	100	96
	100	200	100	160	7	86	89	111	95	100
B国	100	150	200	160	7	78	95	58	44	58
	100	200	100	200	7	81	95	78	63	81
	100	100	150	100	7	85	89	68	56	69
C国	100	200	150	160	7	94	107	68	63	61
	100	100	200	200	7	88	99	68	58	64
	100	150	100	100	7	91	91	62	56	63
D国	100	200	150	100	7	79	74	98	77	100
	100	100	200	160	7	83	73	101	84	102

(結果 2)

プラント実証試験で使用するユーカリ・グロブラスチップに対して実施した前処理条件の検討結果を以下に示した。プラント糖化発酵試験に供する原料としてはいくつかの候補が考えられるが、原料（樹種や部位）が変わっても基本的な前処理条件評価の手法は同じであること、糖化発酵工程の条件変更等の評価においては同一の原料を使用するのが好ましいこと、加えて木本系事業での実績から基本的な前処理条件が把握できていることや入手しやすいこと等の条件を鑑み、ユーカリ・グロブラスチップを選定した。

処理温度や時間等について条件を変更して前処理試験を実施した後、リファイナーで摩砕することにより前処理原料を調製した。得られた前処理原料に対して下記の条件でラボ糖化試験とラボ糖化発酵試験を実施し、糖化率やエタノール収量等を評価した。

糖化試験は、250mL 容の三角フラスコを使用して全量 100mL の反応系にて実施した。反応条件は、前処理サンプルは所定濃度、酵素液量は所定量、pH4.8、振盪 150rpm、反応温度は基準温度および反応時間は所定時間とした。

糖化発酵試験も、糖化試験と同様の反応系で実施した。反応条件は、前処理サンプルは所定濃度、所定の酵素添加量、pH5.0、反応温度は基準温度+2°Cとして、前培養した酵母培養液（ 1×10^8 個/mL）を 2.5mL 添加して、150rpm で振盪しながら所定時間反応させた。

表 2-1-4-2-2 に、温度及び蒸解薬品添加量変更して実施した前処理試験の結果を示した。

時間を固定して、温度を上げると、温度上昇につれて歩留りとカップー価が大きく低下した。一方、糖化液中の溶出糖濃度と糖化率は温度上昇に比例して増加したが、歩留りが低下する影響で原料あたりのエタノール収量に明確な傾向や差を認めなかった。また、蒸解薬品の増添は、カップー価の低下並びに糖化率の向上に寄与すると考えられた。

糖化率が低い前処理条件で処理した原料による長期プラント連続運転を想定すると、未糖化残渣の蓄積量増大に伴う早期の操業不良が予想される。目標とする糖化率をクリアし、かつエタノール収量の向上を志向するならば、温度は本試験の最高温度付近として、時間のファクターを変更することにより、歩留りと糖化率の両立を目指すのが良いと考えられた。

表 2-1-4-2-2 ユーカリ・グロブラスチップの前処理に関わる温度と蒸解薬品添加量の影響

温度 〔相対値〕	時間 〔相対値〕	アルカリ1 〔相対値〕	アルカリ2 〔相対値〕	液比 〔-〕	歩留り 〔相対値〕	カップー価 〔相対値〕	糖化試験		糖化発酵試験
							糖濃度 C5+C6 〔相対値〕	糖化率 〔相対値〕	エタノール収量 〔相対値〕
100	100	100	100	5	100	100	100	100	100
103	100	100	100	5	93	72	108	103	95
106	100	100	100	5	87	52	115	106	99
100	100	120	100	5	98	90	100	102	99
103	100	120	100	5	96	70	109	106	102
106	100	120	100	5	86	45	114	108	96

次に、温度を固定して時間及び蒸解薬品添加量を変更した前処理試験の結果を表 2-1-4-2-3 示した。ラボ糖化試験とラボ糖化発酵試験は前述と同様の条件にて実施した。

前述の試験結果と同様に、蒸解薬品の増添はカップー価の低下と糖化率の向上に寄与すると考えられた。一方、本試験の条件範囲内では、時間の延長はカップー価の低下に対して大きな効果があるが、歩留りに対する影響は、温度を上昇した時と比較して影響度が少ない結果となった。温度を高くした場合は顕著な歩留りの低下を認めたが、時間の延長は歩留りの低下に対する影響度が低い。また、蒸解薬品の添加量が多い条件では、糖化率が安定して目標値以上の数値となった。

以上の試験結果から、プラント試験に供するユーカリ・グロブラスチップに関しては、相対値として温度 103~106、蒸解薬品添加量 120 の条件で糖化率がほぼ目標値を超え、高いエタノール収量が得られると考えられた。

表 2-1-4-2-3 ユーカリ・グロブラスチップの前処理に関わる時間と蒸解薬品添加量の影響

温度 〔相対値〕	時間 〔相対値〕	アルカリ1 〔相対値〕	アルカリ2 〔相対値〕	液比 〔-〕	歩留り 〔相対値〕	カップー価 〔相対値〕	糖化試験		糖化発酵試験 エタノール収量 〔相対値〕
							糖濃度 C5+C6 〔相対値〕	糖化率 〔相対値〕	
100	100	100	100	5	100	100	100	100	100
100	120	100	100	5	102	92	102	101	102
100	150	100	100	5	99	83	106	102	102
100	180	100	100	5	94	67	111	102	101
100	100	120	100	5	100	87	106	103	101
100	120	120	100	5	98	78	106	103	104
100	150	120	100	5	94	60	108	103	104
100	180	120	100	5	93	58	109	103	98

ユーカリ・グロブラスチップに対して実施した全ての前処理試験結果について、カップー価と歩留りの関係（図 2-1-4-2-1）、カップー価と糖化率の関係（図 2-1-4-2-2）を示した。

前述した試験結果から容易に推察できるように、本試験の条件範囲内において、カップー価と歩留り、カップー価と糖化率には明らかな相関関係が認められる。ラボ試験と異なり連続運転を行うプラント試験では試験途中の前処理原料の歩留りや糖化率を把握するのは困難かつ測定時間を要する等の問題がある。一方、カップー価に関しては少量の前処理原料をサンプリングすれば数時間で測定可能であるため、プラント前処理設備の運転管理に有効である。具体的にはカップー価が 40~50 の範囲に収まるように蒸解条件を制御すれば、糖化率 95%以上でエタノール収量の高い前処理原料が得られると考えられた。

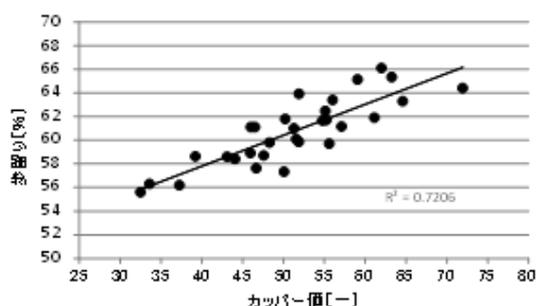


図 2-1-4-2-1 カップー価と歩留りの関係

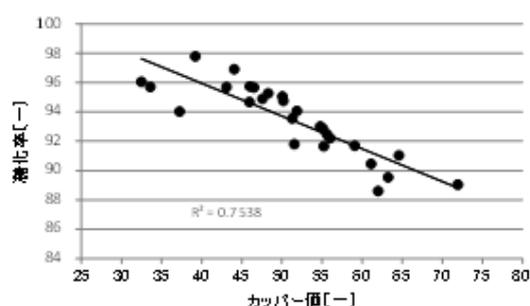


図 2-1-4-2-2 カップー価と糖化率の関係

(結果 3)

A 国の林地残材に対して実施した前処理条件の検討結果を以下に示した。

処理温度や時間等について条件を変更して前処理試験を実施した後、リファイナーで摩砕することにより前処理原料を調製した。得られた前処理原料に対してラボ糖化試験とラボ糖化発酵試験を実施し、糖化率やエタノール収量等を評価した。糖化試験と糖化発酵試験は前述と同様の条件にて実施した。

表 2-1-4-2-4 に、蒸解薬品条件を統一し、温度、時間を変更した時の、9 通りの試験条件における前処理試験の結果を示した。

ユーカリ・グロブラスチップの前処理試験結果と同様に、A 国林地残材においても温度が高く時間が長いほど歩留りとカップー価が低下し、糖化率が高くなる傾向が見られた。しかしながら

同じ試験条件におけるチップの試験結果と比較した場合、歩留りは低く、糖化率も低いいため、原料あたりのエタノール収量も低い結果となった。蒸解薬品の添加量を減添した試験も実施したが、歩留り低下の抑制に関して目立った効果はなかった。

表 2-1-4-2-4 林地残材の前処理に関わる温度と時間の影響

温度 〔相対値〕	時間 〔相対値〕	アルカリ1 〔相対値〕	アルカリ2 〔相対値〕	液比 〔-〕	歩留り 〔相対値〕	カップー価 〔相対値〕	糖化試験		糖化発酵試験
							糖濃度 C5+C6 〔相対値〕	糖化率 〔相対値〕	エタノール収量 〔相対値〕
100	100	100	100	5	100	100	100	100	100
100	150	100	100	5	97	89	108	104	104
100	200	100	100	5	89	73	112	108	98
103	100	100	100	5	85	79	111	104	92
103	150	100	100	5	83	72	119	106	93
103	200	100	100	5	79	62	122	106	92
106	100	100	100	5	79	73	118	107	95
106	150	100	100	5	76	69	119	105	89
106	200	100	100	5	72	80	119	104	84

A 国林地残材の前処理条件に関しては、歩留り低下の影響が大きくエタノール収量が低下するため、温度は上げ過ぎないほうが良い。一方で蒸解性が悪いため、糖化率を高くするには時間を長くする必要がある。アルカリ 2 添加率を変更した影響を確認することと、原料の性状に起因した測定データばらつきの懸念があるため、温度、時間一定条件における試験を実施した。表 2-1-4-2-5 にアルカリ 2 添加率を変更した時の測定データを示した。

アルカリ 2 については歩留り、カップー価ともに影響が無かった。糖化率目標値を達成したが、チップと比較してエタノール収量は低かった。

また、ユーカリ・グロブラスチップの試験結果と同様に、A 国林地残材を原料とした全ての試験結果についてカップー価と歩留りの関係および歩留りと糖化率の関係を調べた。その結果、相関係数はそれぞれ $R^2=0.4499$ 、 $R^2=0.2460$ となり、チップの試験結果のような強い相関関係は見られなかった。

表 2-1-4-2-5 温度、時間一定条件における前処理データとアルカリ 2 添加率の影響

温度 〔相対値〕	時間 〔相対値〕	アルカリ1 〔相対値〕	アルカリ2 〔相対値〕	液比 〔-〕	歩留り 〔相対値〕	カップー価 〔相対値〕	糖化試験		糖化発酵試験
							糖濃度 C5+C6 〔相対値〕	糖化率 〔相対値〕	エタノール収量 〔相対値〕
100	100	100	100	5	100	100	100	100	100
100	100	100	150	5	103	100	101	99	102
100	100	100	200	5	101	91	99	100	100
100	100	100	200	5	110	102	103	101	108

(結果 4)

葉樹クラフトパルプ（以下 KP）に対し、ラボ糖化試験とラボ糖化発酵試験を前述と同様の条件にて実施し、NSSCP との比較を行った。ラボ評価に供した KP は、LBKP（広葉樹晒しクラフトパルプ）、LOKP（広葉樹酸素晒しクラフトパルプ）、LUKP（広葉樹未晒しクラフトパルプ）の 3 種類で

ある。

表 2-1-4-2-6 に示した通り、エタノール収量は NSSCP と比較して若干低いですが、反応系の糖濃度と糖化率は NSSCP よりも高かった。コスト面では LBKP>>LOKP>LUKP であることから KP では LOKP、LUKP が有望であることがわかった。

表 2-1-4-2-6 各種 KP の糖化試験及び糖化発酵試験結果

パルプ種類	糖化試験		糖化発酵試験
	糖濃度 C5+C6 [相対 値]	糖化率 [相対 値]	エタノール収量※ [相対値]
NSSCP	100	100	100
LBKP	116	103	92
LOKP	113	102	95
LUKP	106	101	95

※木質バイオマスからのクラフトパルプ収率を 50%として計算

2-1-4-2b まとめ

前項に記載通り、セルロース系エタノール製造の経済性評価に用いることを目的として産地の異なる 4 種類の林地残材について前処理条件を比較検討した。その結果、A 国林地残材の糖収量が最も多く、かつ残渣量の少ない前処理原料が得られると推定できた。

また、ユーカリ・グロブラスチップと、A 国の林地残材について前処理条件を検討し、それぞれの原料についてラボレベルで前処理条件を最適化した。その結果、高糖化率を維持しつつ、糖収率や脱リグニンの向上によってエタノール収率を向上させるという目標を達成した。

しかしながら、パイロットプラントでの木質バイオマス前処理においては、ラボ蒸解釜（オートクレーブ）と比較して、攪拌方法の差異、電気加温（ラボ）生蒸気吹き込み加温（パイロットプラント）による加温方法の差異、更には釜容量の大型化に伴う熱損失や温度分布の差異など、スケールアップに起因した前処理反応の差異がある。このためパイロットプラントにおける木質バイオマスの前処理では、ラボ前処理試験の結果をベースとして、温度や反応条件等を修正して前処理原料の品質を合わせ込む必要があると考えた。

2-1-4-3 有望酵素の選定

木質バイオマスからのエタノール生産を実施する上で、原料コストと酵素コストが比例費の大部分を占めることが知られている。本事業では、原料としてユーカリなど成長の早い広葉樹バイオマスを用い、前処理として中性亜硫酸セミケミカルパルプ (NSSCP) 処理を行い、木質部分の柔軟化を生じさせる。次いで磨砕処理を行い、酵素糖化性を高め、糖化率目標値以上の前処理条件を見出した。

本項ではパイロットプラントでの使用を念頭に、複数の酵素を入手し、上記 NSSCP に最適な酵素の選定を実施した。

2-1-4-3 a 実施内容および成果

(方法)

市販品として入手可能なセルラーゼ酵素製剤 (酵素 A、酵素 B) について、添加するタンパク量を変化させて糖化率を評価することにより、必要酵素量の検討を行った。試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、反応容器：250mL 三角フラスコ (液量：100mL)、pH：5.0 (25mM 酢酸緩衝液)、反応温度：50℃、反応時間：24 時間とし、残渣量から糖化率を算出した。

(結果)

酵素製剤 (酵素 A、酵素 B) を用いた結果を以下に示す。

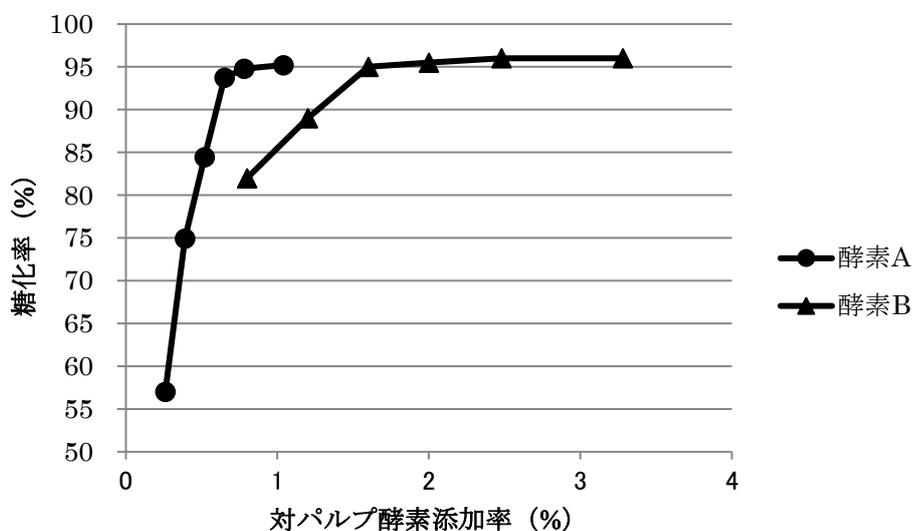


図 2-1-4-3-1 有望酵素選定試験結果

本事業で調製したパルプに対する目標以上の糖化率を提示する必要酵素量は投入酵素タンパク量で比較すると酵素 A が酵素 B の 50%程度で同等であることが認められた。

2-1-4-3 b まとめ

2 種の酵素の比較検討を行い、どちらの酵素でも目標糖化率を達成した。酵素 A が酵素 B の 50%

程度で同等の糖化率を示したことから、少量で目標糖化率を満たす酵素 A を選定することとした。

2-1-4-4 有望酵母の選定

本事業では「セル革事業」にて開発したキシロース資化能を付与した酵母を、中性亜硫酸セミケミカルパルプ(NSSCP)を用いた並行複発酵に供する。

一般に、酵母による発酵は、原料や前処理の影響を受けることが知られている。そこで、NSSCP に対しスクリーニングし、有望な酵母を選定した。さらに、選別した優良酵母同士を交配させ性能向上を試みた。

2-1-4-4 a 実施内容および成果

(1) NSSCP に耐性を持った醸造酵母のスクリーニング

(方法)

NSSCP を用いた並行複発酵を実施し、保有する 178 種の醸造酵母をスクリーニングした。NSSCP 耐性の指標として生菌数に着目し、エタノール生産量および生菌数が多い株の選別を試みた。試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、反応容器：50mL チューブ（液量：10mL）、pH：5.0（25mM 酢酸緩衝液）、反応温度：基準温度+2°C、反応時間：所定時間とした。

(結果)

スクリーニングの結果を図 2-1-4-4-1 に示すが、2-1-4-4-1 a に記載の「セル革事業」の「草本系事業」で開発したキシロース資化能付与醸造酵母（図 2-1-4-4-1 中の赤丸）よりも、NSSCP でのエタノール生産性、生菌数が多い酵母が複数みつかり、その中でも特に性能の優れた酵母（図 2-1-4-4-1 中の赤枠）を更なる改良に供した。

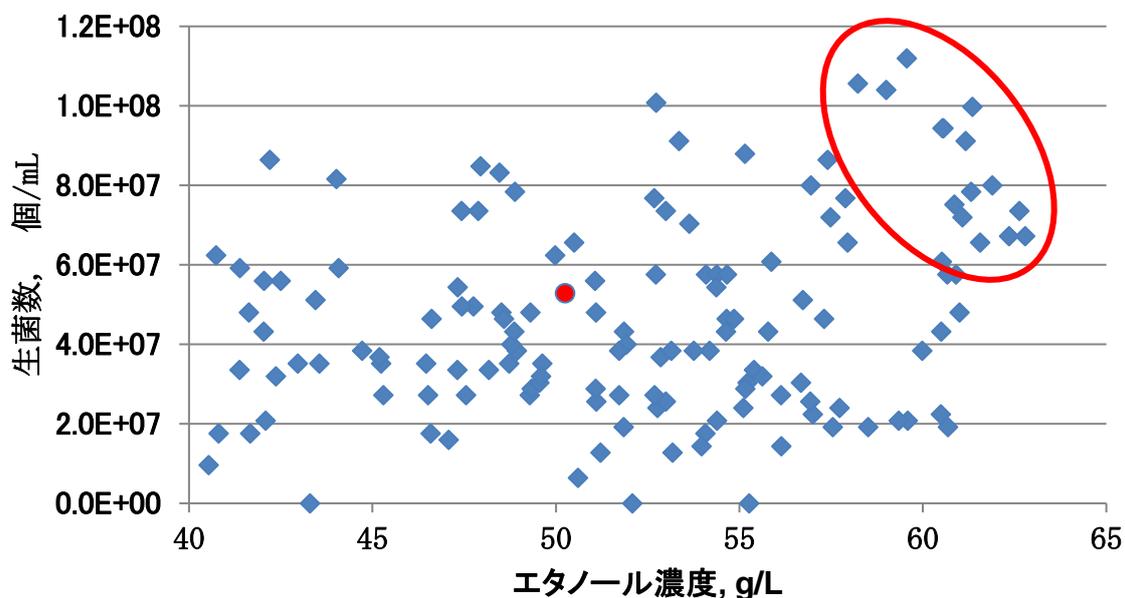


図 2-1-4-4-1 NSSCP 中でのエタノール濃度と生菌数の評価

(赤丸：セル革事業)の「草本系事業」で開発したキシロース資化能付与醸造酵母
赤枠：スクリーニングにより選んだ選別株)

(2) 選別株同士の交配による性能向上

(方法 1)

異なる性質をもつ優良株同士を交配させることで、両方の株の良い性質を継承した性能向上株を取得できる可能性がある。前項で選別した株の中で特にエタノール生産量が多い酵母と特に生菌数が多く NSSCP の発酵に適していると考えられた酵母を図 2-1-4-4-2 に示す方法にて交配させた。

通常条件下では、酵母は同一の遺伝子を二組持つ二倍体 (a/α) の状態で存在するが、胞子形成により遺伝子を一組しか持たない一倍体 (a 体または α 体) に分離する。二倍体である選別株を一倍体に分離した後、各一倍体に図 2-1-4-1-3 に記載したキシロース資化遺伝子を導入し、キシロース資化能を付与した。キシロース資化能を付与した一倍体を他の選別株由来の一倍体と交配させ、再度二倍体に戻した改良株を取得した。改良株を用いて並行複発酵によりエタノール収量を評価した。

試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、pH：5.0 (25mM 酢酸緩衝液)、反応容器：500mL 三角フラスコ (液量：200mL)、反応温度：基準温度、反応時間：所定時間とした。

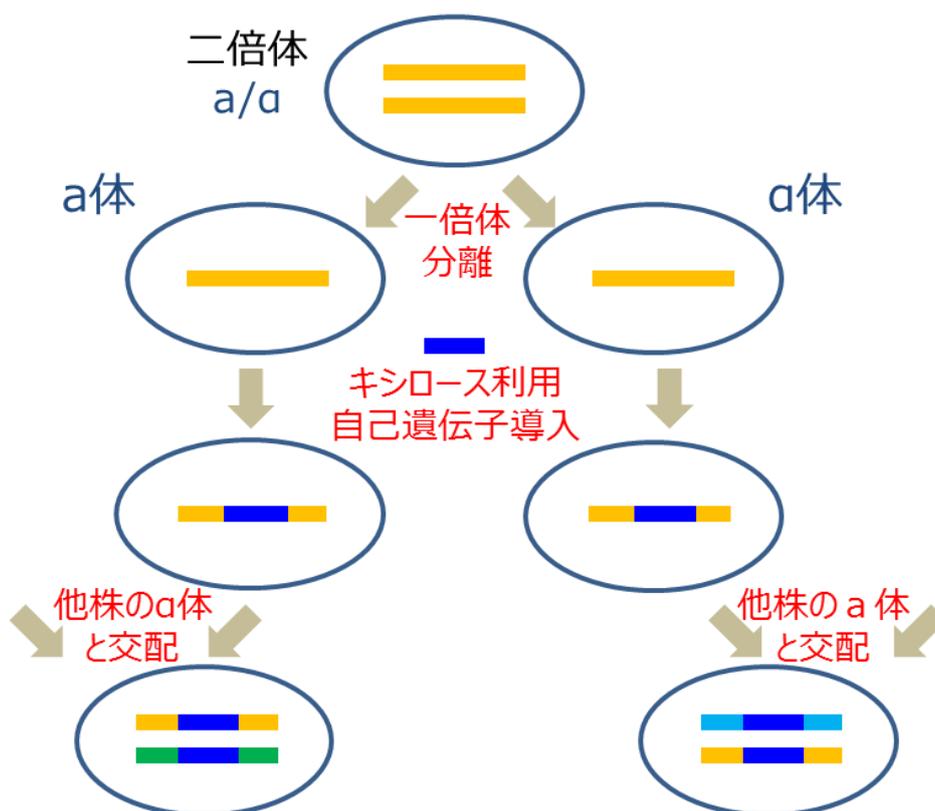


図 2-1-4-4-2 選別株の交配方法

(結果 1)

取得した改良株のエタノール生産性を評価し、性能の最も優れた株の評価結果を図 2-1-4-4-3 に示す。「セル革事業」の「草本系事業」にて開発した醸造酵母（図 2-1-4-4-3 中の従来株）に比べ、エタノール濃度およびエタノール生産速度が向上した改良株を複数取得した。また、改良株は従来株よりも生菌数が多く、NSSCP で調製した発酵液中でも良好な生育を示した。

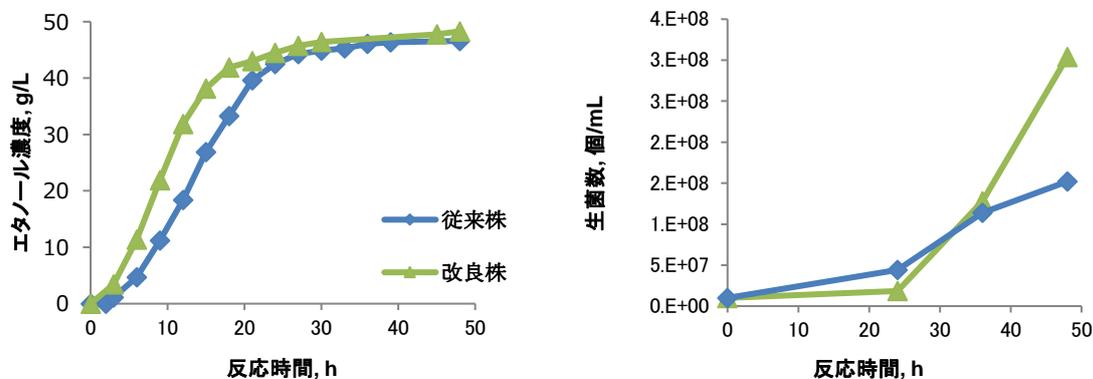


図 2-1-4-4-3 改良株のエタノール生産性および生菌数の評価

(方法 2)

取得した改良株の発酵効率を確認するため、NSSCP を用いて糖化液を調製し、発酵試験を行った。なお、選定したプロセスは並行複発酵だが、並行複発酵では発酵効率を算出できないため、逐次糖化発酵により発酵効率を確認した。

酵素糖化条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、反応容器：500mL 三角フラスコ（液量：200mL）、pH：4.8（25mM 酢酸緩衝液）、反応温度：50℃、反応時間：所定時間とした。得られた糖化液を遠心分離し、上清を 0.22 μ m のフィルターでろ過し、ろ過液に酵母を植菌し発酵を開始した。

発酵条件は、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、反応容器：50mL 三角フラスコ（液量：15mL）、pH：5.0（25mM 酢酸緩衝液）、反応温度：基準温度、反応時間：所定時間とした。

(結果 2)

結果を図 2-1-4-4-4 に示すが、改良株は全糖を資化し、エタノールを生産した。

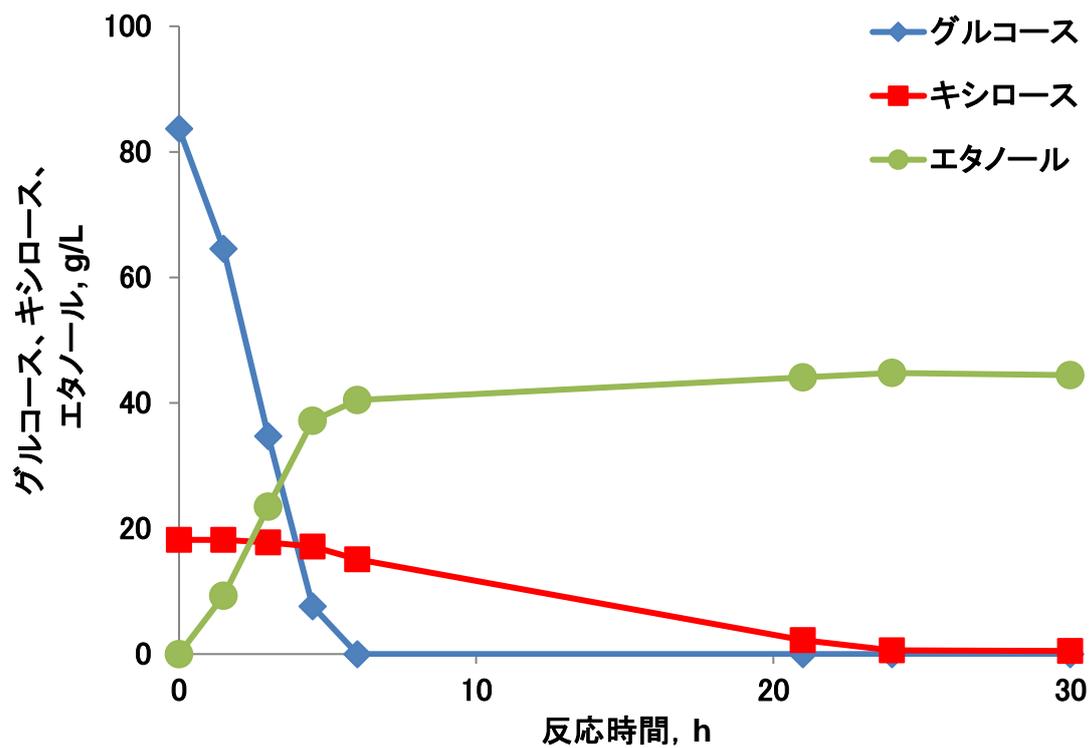


図 2-1-4-4-4 改良株の逐次糖化発酵結果

2-1-4-4 b まとめ

NSSCP に適性を持ち生菌数が多く、エタノール生産性も高い酵母を選別した。さらに選別株同士を交配させることで、NSSCP での並行複発酵に適した酵母を創出した。今後は、創出した酵母を変異育種し、エタノール生産性を更に向上させる予定である。

2-1-4-5 並行複発酵連続プロセスの検討

「セル革事業」の「木本系事業」において、紙パルプ製造技術を活用した NSSCP を連続的に投入しながら並行複発酵を行い、生成したエタノールを回収する連続プロセスとすることにより、設備の稼働率を高め、投入した酵素をなるべく系外に排出せず効率的に使用することでコスト削減を目指した。

2-1-4-1 において、逐次糖化発酵、半並行複発酵、並行複発酵の各プロセスを比較、検討した結果、並行複発酵が最適プロセスであることが確認できた。よって、本事業でも、並行複発酵を最適プロセスとして選定し、設備稼働率の向上、酵素の効率的な使用を目的として、並行複発酵の連続運転のための運転条件の最適化を検討した。

2-1-4-5 a 実施内容および成果

① NSSCPを用いた最適運転条件の検討

NSSCP を用いた並行複発酵連続プロセスにおいて、最適な運転条件を、ラボ試験で検討した。

(1) 通気量の検討

キシロースからのエタノール発酵では、予備検討により通気条件の影響を強く受けることが確認されている。酸素供給量が多すぎるとキシロース資化速度は速いがエタノールは生成せず、酸素供給量が少なすぎるとキシロースを資化せずにエタノールを生成しないため、最適点が存在すると考えられる。最適な酸素供給量を見出すため、発酵液への通気量を検討した。

(方法)

ジャーファメンター（容量：1L）を用いた連続糖化発酵試験を行い、槽内エタノール濃度の変化を計測した。試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、液量：0.6L、pH：5.0（5N NaOH で調整）、反応温度：基準温度とした。株は 2-1-4-4 で選定した改良株を用いた。

(結果)

図 2-1-4-5-1 に、各通気量での槽内エタノール濃度の比較結果を示す。通気量：条件 1 では槽内エタノール濃度が低下し、通気量が過剰で糖が呼吸を通して代謝され、エタノール生産性が低下したと考えられた。通気量：条件 2、条件 3 ではほぼ同等のエタノール濃度であった。なお通気量は、条件 1 > 条件 2 > 条件 3 である。

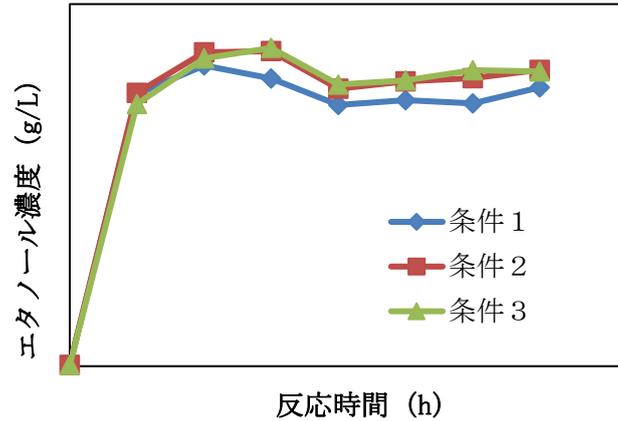


図 2-1-4-5-1 各通気量での槽内エタノール濃度の比較

(2) 温度の検討

酵素糖化の最適温度は 50℃で、酵母による発酵の最適温度は 25～30℃であり両者の最適温度は異なる。酵素糖化の最適温度 50℃では酵母が死滅するため、糖化と発酵を同時に行う並行複発酵に適した温度が存在すると考えられる。30℃以上 50℃未満の温度域で最適な反応温度を検討した。

(方法)

各温度（基準温度-3℃、基準温度、基準温度+2℃、基準温度+4℃）での糖化発酵試験を実施し、エタノール濃度の経時変化を測定した。

試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、反応容器：500mL 三角フラスコ（液量 200mL）、pH：4.8、反応時間：所定時間とした。株は 2-1-4-4 で選定した選定株を用いた。

(結果)

基準温度、基準温度+2℃においてエタノール濃度は高く、基準温度-3℃、基準温度+4℃においてエタノール濃度はやや低い結果となった。基準温度、基準温度+2℃のどちらを最適な反応温度とするかは、長期運転試験（後述）にて引き続き検討することとした。

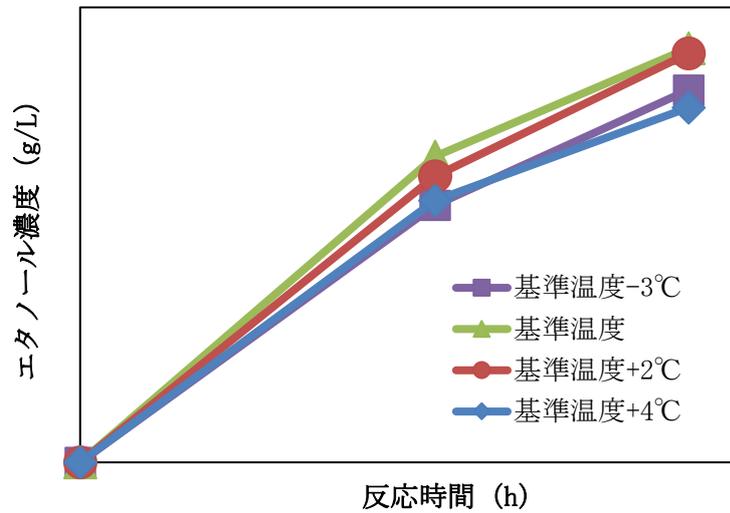


図 2-1-4-5-2 各温度での槽内エタノール濃度の比較

(3) 必要酵素量検討

本事業で作製した NSSCP に対して前項で選定した酵素 A を用いて、必要酵素量の検討を実施した。

(方法)

反応系 100g、基質濃度：NSSCP 所定濃度、pH：4.8 (50mM クエン酸バッファー)、酵素液量：所定量、反応温度：基準温度+2°C、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、反応時間：所定時間とした。分析は HPLC を用いて各種成分を評価した。

(結果)

NSSCP を用いて酵素添加量を短期の連続並行複発酵試験にて評価した結果を図 2-1-4-5-3 に示す。一定の酵素添加率以上で目標のエタノール収量を達成した。

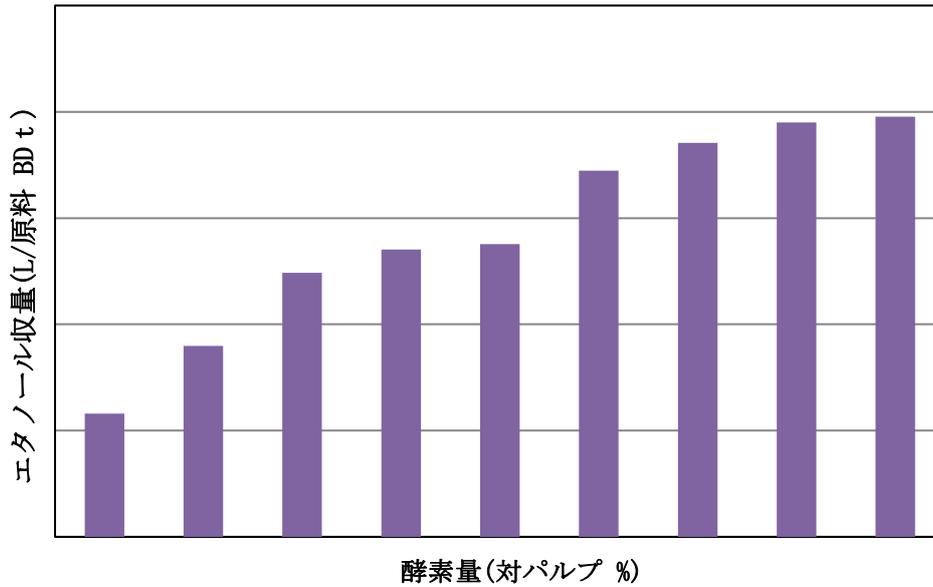


図 2-1-4-5-3 NSSCP での酵素添加量検討試験結果

(4) 長期連続並行複発酵運転評価

上記の試験結果を基に各条件での長期連続並行複発酵試験を実施し、各条件の最適組合せを検討した。

(方法)

ジャーファメンター（容量：3L）を用いた連続並行複発酵試験を実施した。試験条件は、基質濃度：NSSCP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、pH：4.8（5N NaOH で調整）、反応温度：基準温度、基準温度+2°C、通気量：所定量、とした。株は 2-1-4-4 で選定した改良株を用いた。

(結果)

結果を表 2-1-4-5-1 に示すが、No. 2 の条件が、エタノール収量が高く、必要酵素量が少なかった。反応温度は基準温度と基準温度+2°C で明確な差異はなく、酵母の性状がより安定な基準温度を選択した。本条件を、パイロットプラント運転条件のベースとした。

表 2-1-4-5-1 NSSCP での長期連続並行複発酵試験結果

	試験条件			試験結果	
	温度	パルプ濃度 (相対値)	酵素量 (相対値)	連続運転期間 (相対値)	エタノール収量 (相対値)
1	基準温度	100	100	100	100
2	基準温度	100	150	125	105
3	基準温度	100	200	126	104
4	基準温度 +2℃	100	150	117	103

②クラフトパルプ (KP) を用いた運転条件検討

(1) 必要酵素量検討

LOKP (広葉樹酸素晒シクラフトパルプ) に対して前項で選定した酵素 A を用いて、必要酵素量の検討を実施した。

(方法)

反応系 100g、基質濃度：LOKP 所定濃度、pH：4.8 (50mM クエン酸バッファー)、酵素液量：所定量、反応温度：基準温度+2℃、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、反応時間：所定時間とした。各種成分の分析には、HPLC を用いた。

(結果)

各酵素添加量におけるエタノール収量を短期糖化発酵試験にて評価した結果について図 2-1-4-5-4 に示す。対パルプ 7.5%以上の酵素添加率で最大のエタノール収量を達成した。

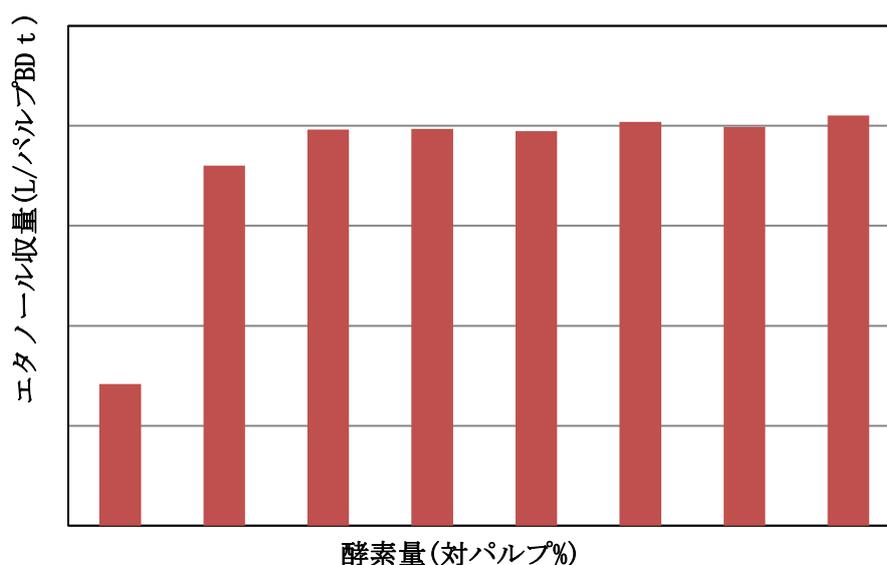


図 2-1-4-5-4 KP での酵素添加量検討結果

(2) 長期連続並行複発酵評価

(方法)

長期連続並行複発酵試験を実施した。条件は表 2-1-4-5-4 の No. 2 の条件とした。ジャーフェーマンター：1L、基質濃度：NSSCP 所定濃度、LOKP 所定濃度、酵素液量：所定量、初期酵母量： 1×10^7 個/mL、pH：4.8 (5N NaOH で調整)、反応温度：基準温度、通気量：所定量。株は 2-1-4-4 で選定した改良株を用いた。

(結果)

試験結果を表 2-1-4-5-2 に示す。LOKP は NSSCP よりエタノール収量を長期間一定値以上に保つことができた。

表 2-1-4-5-2 NSSCP と KP との長期連続並行複発酵試験結果の比較

パルプ種類	連続運転期間*(相対値)	エタノール収量(相対値)
中性亜硫酸処理セミケミカルパルプ(NSSCP)	100	100
クラフトパルプ(LOKP)	183	104**

*エタノール収量が低下し始めるまでの期間

**歩留り=50%として算出

2-1-4-5 b まとめ

ラボでジャーフェーマンターを用いて反応温度、通気量、酵素添加量を検討し、NSSCP での長期運転試験の試験条件を決定した。その後の長期運転評価において、エタノール収量が高く、必要酵素量が少ない条件を見出した。さらに、クラフトパルプでの必要酵素量検討を行い、一定以上の酵素添加率で最大のエタノール収量が得られることを確認した。

2-1-5 パイロットプラント

前処理設備については、木本系事業で得られた成果を元に前処理設備の改造を行った。

糖化発酵設備については系内に蓄積する残渣を排出しない残渣全循環フローと一部残渣を排出するフローの2つのフローが検証可能なパイロットプラントの設計、建設を行った。

2-1-5-1 パイロットプラント概要

以下に建設したパイロットプラントの概要を示す。

- ・設置場所：王子HD呉敷地
- ・処理能力：木本系バイオマス 1BDt/day
- ・製品：エタノール
- ・仕様：前処理設備^{注)}及び上記2つのフローが検証可能な糖化発酵設備及びエタノール蒸留設備

注)前処理設備：「セル革事業」からの共用替え

表 2-1-5-1-1 主要設備の設計基準

主要設備	設計基準
前処理設備	原料払い出し：原料の形状の変化に対応した設備 メカノケミカルパルピング処理：「木本系事業」よりも厳しい条件で処理可能な設備 洗浄・殺菌：「木本系事業」から更に雑菌汚染対策を強化した設備
糖化・発酵槽	2槽直列の反応槽 運転容量：6m ³ /槽 第一槽：20%の高原料濃度での攪拌糖化が可能な構造
エタノール蒸留・ 酵素回収設備	酵素変性のない40℃以下で、発酵液から酵素水溶液を回収する濃縮塔、エタノール濃度を90vol%以上に濃縮を可能とする精留塔

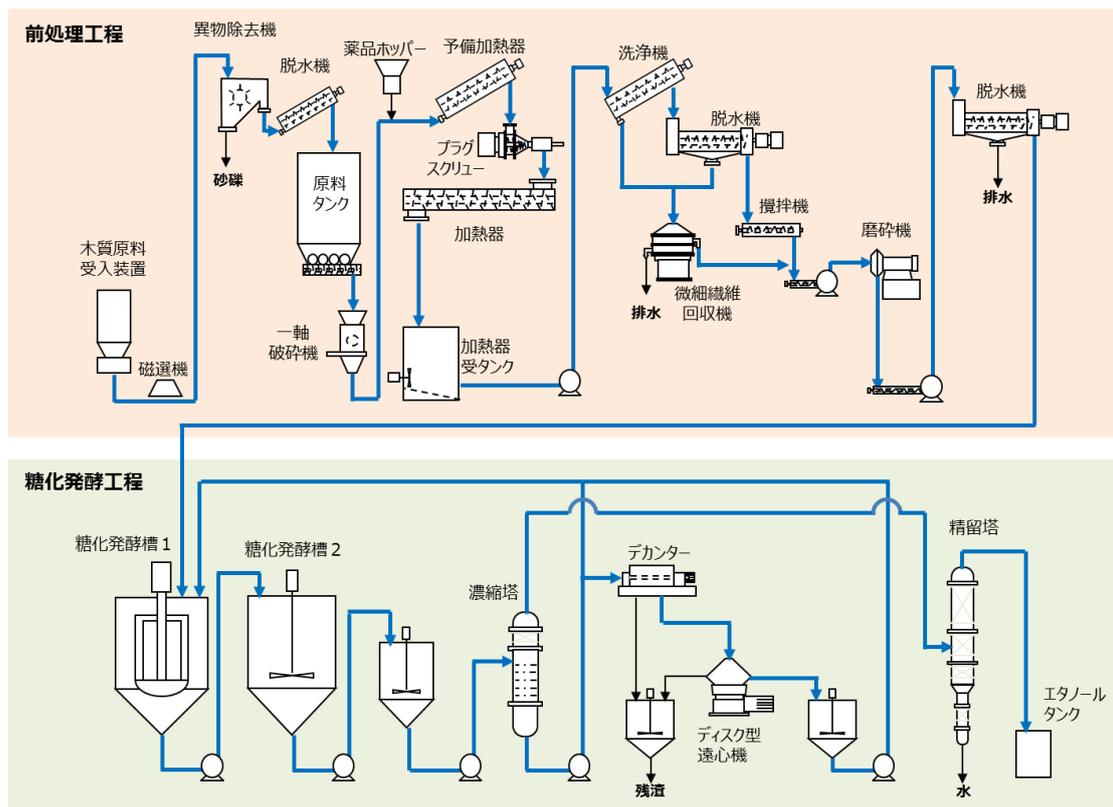


図 2-1-5-1-1 パイロットプラントフロー図

「木本系事業」におけるパイロットプラント評価では、糖化発酵及び酵素回収の設備はアルカリ溶液による洗浄及び加圧とされない範囲での蒸気の吹き込みが可能な設備であったが、酵素回収設備は外気との接触が不可避であり雑菌の混入に対する対策が十分でなかったため、雑菌汚染の影響によりデータ取得が困難となり大量の抗菌剤を使用してデータを取得した。

しかしながら、「木本系事業」における抗菌剤の使用量は大幅なコストアップとなるため、事業時への使用は困難であると考えられることから、雑菌混入対策として、糖化発酵設備を食品製造レベルの装置仕様とした。

一方で実事業時にこれら全てを満たすスペックで設備を作る事はコストアップにつながり、難しいことからプロセス、フローを決定後、必要最小限のスペックの設備を設定した。

2-1-5-2 パイロットプラント運転

パイロットプラント運転では前処理試験と、前処理、糖化発酵を含むエタノールの一貫製造試験を行った。

2-1-5-2 a 実施内容および成果

(前処理試験)

(方法)

原料タンクからユーカリ・グロブラスチップを連続的に一定量切り出し、加熱器に移送する。加熱器内に移送される前に所定量のアルカリと水を加え、薬品濃度と液比を整えた。加熱器内は蒸気で温度コントロールされており、所定温度、所定時間反応後、排出される。排出された原料はドレーナーで洗浄後、スクリープレスで脱水され、リファイナーで磨砕される。その後再度スクリープレスにより脱水されて前処理が終了する。

回収した前処理サンプルの歩留り、カップー価等を測定し、ラボ酵素糖化試験あるいはラボ糖化発酵試験を実施して、溶出糖濃度やSS濃度、エタノール濃度等を測定することにより前処理条件の評価をした。

た。

(結果)

2-1-4-2で行った前処理の検討を元に、プラントで行った前処理試験結果を表2-1-5-2-1に示した。プラント試験ではラボ試験と同等条件では糖化率が低い傾向が見られた。温度を上昇させることで糖化率目標を達成したが、歩留りが著しく低下し、糖化試験から得られた木質バイオマス当たりの推定エタノール収量は下がる傾向が見られた。

表 2-1-5-2-1 プラント前処理試験結果

試験番号	温度 (相対値)	時間 (相対値)	アルカリ (相対値)	歩留り (相対値)	カップー価 (相対値)	糖化試験			糖化発酵試験
						糖濃度 C5+C6 (相対値)	糖化率 (相対値)	推定EtOH収量 (相対値)	EtOH収量 (相対値)
1	100	100	100	100	100	100	100	100	
2	100	80	100	99	97	101	100	100	
3	100	80	100	97	92	104	100	101	
4	100	80	117	89	105	103	100	91	
5	97	80	100	118	174	88	91	103	100
6	97	100	100	116	136	95	95	110	103
7	97	120	100	111	130	94	95	105	98
8	99	80	100	112	136	94	95	105	100
9	97	100	100	112	161	94	92	105	102
10	97	120	100	112	146	95	94	105	102

(糖化発酵試験)

(方法)

前述の前処理方法で作製したパルプを糖化発酵設備に投入し、並行複発酵プロセスで連続的に蒸留を行い、糖化発酵残渣は全量を糖化発酵槽に戻す「残渣全循環フロー」と一部を排出する「残渣一部排出フロー」で試験を行った。

定期的にサンプリングを行い、エタノール濃度、SS濃度等を測定し、木質バイオマスあたりのエタノール収量を算出することで評価を行った。

(結果)

糖化発酵試験結果のまとめ及び代表的な運転状況を表 2-1-5-2-2 に示した。「木本系事業」では雑菌汚染により、大量の抗菌剤を加えた試験以外はほとんどの場合、短期間の連続運転しかできなかったが、本事業では最小限の抗菌剤の使用で 20 日間の連続運転を達成することができた。

エタノール収量の目標は、残渣全循環フローと残渣一部排出フローの両フローで達成できた。図 2-1-5-2-1 に Run 8 の結果を示す。

表 2-1-5-2-2 プラント糖化発酵試験結果

Run	フロー	運転目的	運転結果
1-5	残渣全循環 & 残渣排出	残渣全循環&残渣排出フローの検証/比較 ⇒連続並行複発酵プロセスの検証	連続プロセス検証 残渣全循環を採用
6-7	残渣全循環	酵素使用量の最適化検討	必要酵素量の決定
8	残渣全循環	長期連続運転	目標エタノール収量達成 連続運転日数達成

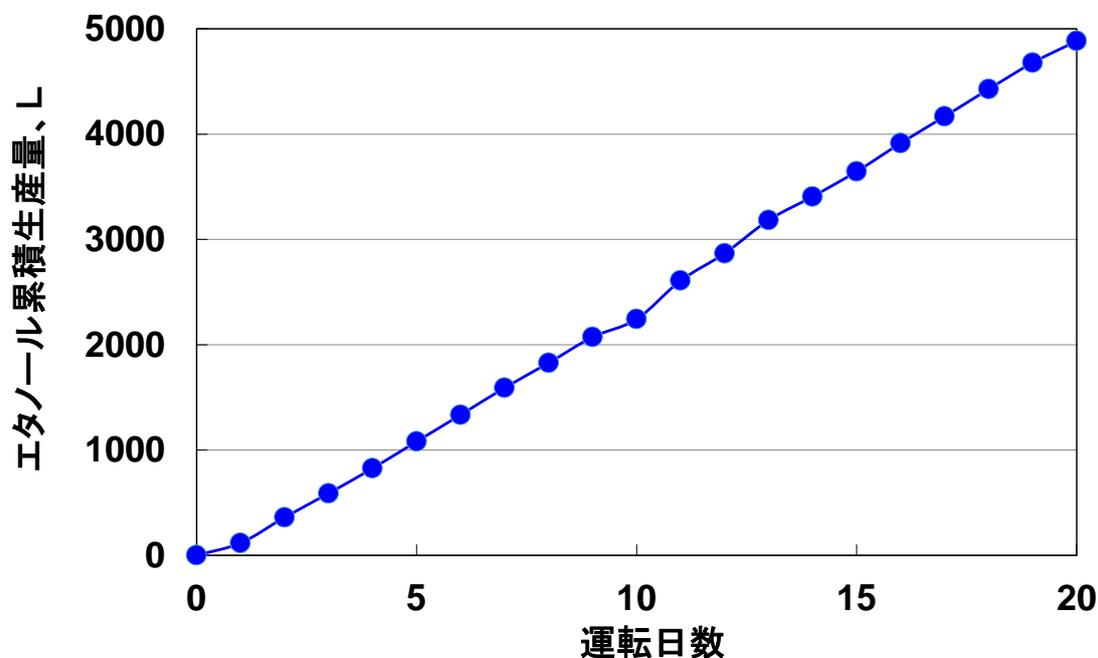


図 2-1-5-2-1 プラント運転状況(Run8)

2-1-5-2b まとめ

パイロットプラントにて前処理試験の検討を行い、目的とするエタノール収量が得られることを確認した。

本条件にて糖化発酵工程も含めたパイロットプラント運転を実施したところ、目標エタノール収量と必要最小限の抗菌剤添加により連続運転日数は20日間を達成することが出来た。

2-1-5-3 スケールアップ事前検討

商業化を前提とした生産プロセス確立において、プレ商業機(エタノール生産量 1 万 kL/年製造規模)での実証検討の必要性について検証する。

2-1-5-3 a 実施内容および成果

商業機で想定している製造フロー及び設備構成の概略を図 2-1-5-3-1 に示す。以下の各工程において、プレ商業機の検証必要性について、要否判定を行った。検討結果を表 2-1-5-3-1 に示す。

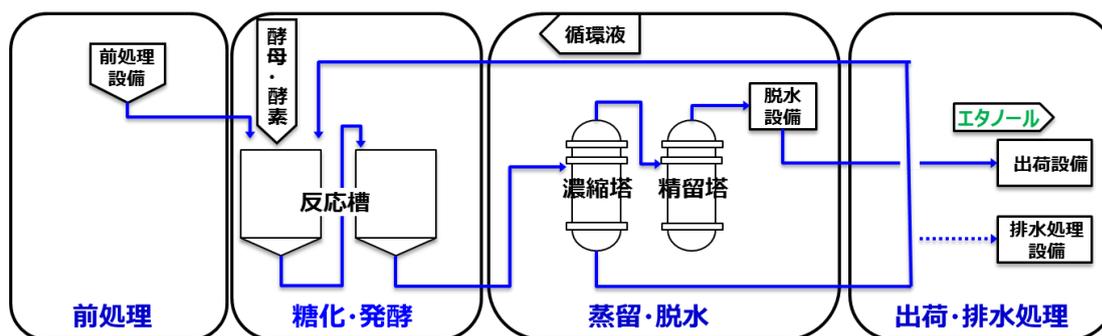


図 2-1-5-3-1 商業プラント想定製造フロー及び機器構成概略

表 2-1-5-3-1 検証要否判定結果

工程	要否判定	判定理由
① 前処理	不要	パイロットプラントで十分な設計データを得た。大型化は既存設備にて類似の事例が多数あり対応可能。
②糖化・発酵	プレ商業機での実証は不要 小規模(数 m ³)での糖化発酵槽の追加検証必要	商用機仕様に即した糖化発酵設備の検証が必要。
③蒸留・脱水	不要	パイロットプラントで十分な設計データを得た。大型化は既存設備にて類似の事例が多数あり対応可能。

2-1-5-3 b まとめ

以上の検討結果から、商業化技術完成のためのプレ商業機(1 万 kL/年製造規模)を用いたスケールアップ実証は不要であるが、糖化発酵槽の追加検証は必要と判断した。

2-1-6 事業性評価

各研究開発項目で得られたデータをもとに、エタノール生産コストの評価を実施するとともに、ライフサイクル評価を実施し、バイオ燃料に必要な要件である持続可能性基準に対する到達度を検証した。その結果を踏まえ、セルロース系エタノールの原料調達からエタノール生産、日本への供給までの全工程を対象とした事業性評価を実施した。

2-1-6-1 原料評価

製紙会社の海外事業植林地で生産されている木質バイオマスを前提として、セルロース系のエタノール製造の原料となる木材チップ、林地残材、工場残材について、収集ポテンシャルとコストを調査した。この調査により、セルロース系原料の選定、モデル候補地の選定、原料コストの見積もりを行った。

2-1-6-1 a 実施内容および成果

① 原料調達候補地の調査

モデルサイトの候補地となるA国、B国、C国、D国の林地残材、工場残材と木材チップを成分分析して、表2-1-6-1-1に示す結果を得た。木材チップと比較して林地残材では糖質（セルロース、ヘミセルロース）含量は9～20%程度低いことが明らかになった。一方、林地残材ではA国の林地残材が最も高い糖質含量が得られた。

表 2-1-6-1-1 サンプルの成分分析結果

	セルロース (%)	ヘミセルロース (%)	糖質小計 (%)	リグニン (%)	抽出成分 (%)	灰分 (%)
木材チップ (A国)	49.6	25.5	75.1	26.7	1.1	0.3
林地残材 (A国)	43.6	22.6	66.2	25.5	5.1	1.8
工場残材 (A国)	46.7	19.7	66.4	25.2	2.3	4.7
木材チップ (B国)	50.8	24.2	75.0	32.1	0.8	0.1
林地残材 (B国)	43.1	11.8	54.9	31.0	12.4	4.2
工場残材 (B国)	47.3	15.5	62.8	27.1	3.5	7.0
木材チップ (C国)	49.0	25.0	74.0	26.8	2.2	0.4
林地残材 (C国)	47.9	14.6	62.5	32.4	2.3	2.5
木材チップ (D国)	48.9	28.5	77.4	24.2	0.4	0.5
林地残材 (D国)	41.2	16.8	58.0	27.0	9.7	4.7

② 収集可能量および施業方法の調査

植林地単位面積あたりの林地残材収集量と、林地残材単位重量あたりの収集コストを算出することを目的として、A国にてトライアルテストを実施した（コストについては次項に記載）。

トライアルテストは図2-1-6-1-1に示すように、ミニスキッターにて、植林地に残存する林地

残材を収集し、植林地内で木材破砕機にて破砕し、トラックで輸送するスキームで収集した。収集した林地残材重量を測定し、試験地の面積から単位面積あたりの収集量を算出した。

トライアルテストは収集量を重視した第1回トライアルテストと、収集効率を重視した第2回トライアルテストを実施しており、2カ所の試験地（それぞれ0.5ha程度）を設定してテストを実施した。

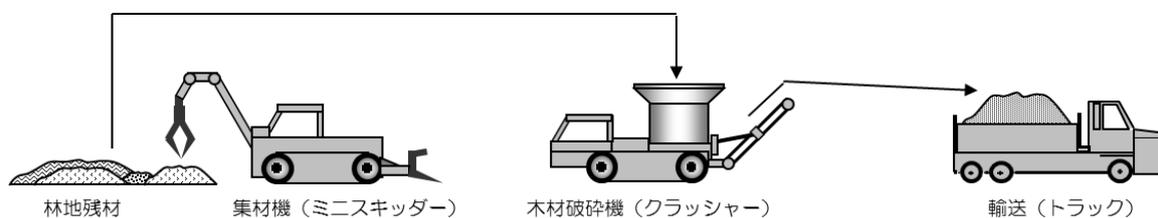


図 2-1-6-1-1 トライアルテストスキーム



図 2-1-6-1-2 ミニスキッター



図 2-1-6-1-3 木材破砕機および輸送トラック

③ 林地残材による原料調達コスト

A 国でのトライアルテスト(林地残材収集試験)結果から機械装置の償却を含むコストを試算した(表 2-1-6-1-2)。2回のトライアルテストにより、収集工程、輸送工程を効率化して、原料調達コストを削減することができた。原料を林地残材にすることにより、一般的な木材チップより安価に入手できることが明らかになった。

表2-1-6-1-2 収集コスト試算 (単位: 円/kg)

作業工程	詳細作業	第1回トライアル	第2回トライアル
収集	集材(原木集材機)	3.65	2.76
破砕・積込	破砕+積込	0.35	0.35
	集材・破砕補助	0.30	0.30
輸送	輸送(林地内)	0.99	0.39
	輸送(林地～工場)	2.19	1.93
	工場荷下	0.19	0.19
その他	施肥	1.22	1.22
合計		8.89	7.14
エタノール 1L に占める原料コスト ※ (円/L-EtOH)		37	29.8

※: 原料 1 kgあたり、エタノール収量0.24Lで計算

トライアルテストで得られた林地残材サンプルの組成分析をセルロース、ホロセルロースは亜塩素酸法、リグニンはクラソン法、抽出成分はアルコールベンゼン抽出、灰分は乾式灰化(525℃ 240分)で測定して、表2-1-6-1-3に示す結果を得た。ブラジルで入手した林地残材サンプルは、木材チップと同程度の成分を有することが明らかになった。

表 2-1-6-1-3 トライアルテストサンプルの成分分析結果

林地残材 (A国)	セルロース (%)	ヘミセルロース (%)	糖質小計 (%)	リグニン (%)	抽出成分 (%)	灰分 (%)
第1回トライアル n=1	55.0	17.1	72.1	25.4	3.1	2.6
第1回トライアル n=2	55.3	15.1	70.4	25.9	4.7	3.1
第1回トライアル n=3	53.4	15.4	68.8	26.5	4.0	3.9
第1回トライアル平均	53.9 (1.0)	15.9 (1.1)	69.8 (2.0)	25.9 (0.6)	3.9 (0.8)	3.2 (0.7)
第2回トライアル n=1	56.5	14.6	71.1	27.5	1.3	2.0
第2回トライアル n=2	57.6	13.5	71.1	27.2	1.5	2.1
第2回トライアル平均	57.1 (0.8)	14.1 (0.8)	71.1 (0.0)	27.4 (0.2)	1.4 (0.1)	2.1 (0.1)
トライアル平均	55.2 (1.9)	15.1 (1.3)	70.3 (1.6)	26.5 (0.9)	2.9 (1.5)	2.7 (0.8)

※ 括弧内は標準偏差

④ コスト評価およびエネルギー・薬品原単位の算出

2015年度（第1回）と2016年度（第2回）に実施したトライアルテスト結果より、残材収集および追加施肥作業に必要な燃料消費量を算出した（表 2-1-6-1-4）。第2回トライアルテストでは、収集効率と林地内輸送効率が向上したことにより、燃料消費量は90%に低減した。

表 2-1-6-1-4 残材収集および追加施肥作業に必要な燃料消費量（相対値）

	収集	破碎	輸送	回送	追加施肥	合計
第1回トライアル	48	6	40	1	5	100
第2回トライアル	42	5	35	2	7	90

2-1-6-1b まとめ

セルロース系エタノール製造の原料として、木材チップ、林地残材、工場残材について成分分析を行ったところ、木材チップと比較して、安価に入手できると期待される林地残材は、発酵原料となる糖質（セルロース、ヘミセルロース）含量が木材チップより9～20%程度低いことが明らかになった。しかし、A国の林地残材は他国の林地残材より糖質含量が高いことも判明した。

林地残材の単位面積あたりの収集可能量、収集コスト、収集・輸送等に必要となる燃料消費量の算出を行った。

2-1-6-2 モデルサイト選定

商業化を前提に原料栽培の候補地から、エタノール製造工場設置サイト候補を選定する。基本方針としては、原料の栽培、収集・輸送のインフラを活用できる既存事業植林地近傍もしくは、エタノール製造工場のエネルギー回収設備と薬品回収設備が共用化できる既存パルプ工場隣接を考慮して、海外と国内でモデルサイトを選定した。

2-1-6-2 a 実施内容および成果

王子HD海外植林地をベースとする原料調達の可能性を表 2-1-6-2-1 にまとめた。A 国は、大量の林地残材が発生する可能性があり、また、エタノール製造工場に必要となるエネルギー回収設備と薬品回収設備を供給できることから、海外でのモデルサイトの最有力候補と考えた。

表 2-1-6-2-1 王子HD海外植林地をベースとするモデルサイトの可能性評価

対象国	植林面積(相対値)	
	王子HD (2014/3末)	周辺 (推定)
A	100	-
B	7	181

一方、海外より木材チップを輸入してエタノールを製造する国内ケースが考えられ、国内製紙工場を活用する検討として、広葉樹パルプ/針葉樹パルプ/林地残材の供給可能量と原料コストを試算した(表 2-1-6-2-2)。その結果、広葉樹パルプや針葉樹パルプを利用することで原料費が日本国内で林地残材を利用する場合と比較して半分以下となることが判明した。

表 2-1-6-2-2 国内製紙工場活用時の供給可能量/エタノール生産量/原料コスト

バイオマス 種類	供給可能量 相対値	エタノール 生産量 相対値	原料単価 相対値	原料コスト 相対値
広葉樹 パルプ (東南アジア/ 豪州チップ由来)	100	100~104	100~120	100~124
針葉樹 パルプ (北米由来)	100	100~104	100~120	100~124
林地残材 (A 国)	195~365	101~162	73~123	172~291

2-1-6-2 b まとめ

海外および国内のモデルサイトで原料費の算出を行った。

2-1-6-3 生産コスト

上述の検討で選定したモデルサイトに建設可能な商業設備の規模を想定し、商業設備の設備費を見積もるとともに、原料費や運転費等々の変動費も積算しセルロースエタノールの生産コストを算出した。

2-1-6-3 a 実施内容および成果

① プロセス性能

商業設備設計に際し、上述の原料供給可能量を鑑みて、製造規模としては10万kL/年を設定し、マテリアルバランスおよびProcess Flow Diagramについて検討し、以下の検討を実施した。

② エタノール製造工場建設費（設備費）

①で検討した前提に従い、必要な機器仕様およびプロットプランを検討し概略設計および概略建設費の算出を実施した。また、必要な機器仕様を鑑みた上で、既存パルプ工場と共用可能な設備を検証し、“A国ケース”と“日本ケース”の両ケースにおける必要設備を整理した上で、各ケースにおける工場建設費を算出した。（表2-1-6-3-1）

表 2-1-6-3-1. 商業設備(10万kL/年製造規模)建設費積算表（○が新設必要設備）

設備区分	A国 ケース	日本 ケース
蒸解/洗浄/リファイナー	○	既設利用
アルカリ薬品回収設備	○	既設利用
エバポレーター/黒液ボイラー/発電機	既設利用	既設利用
糖化・発酵	○	○
濃縮・蒸留・脱水	○	○
陸上出荷	○	(不要)
排水処理	○	○
その他(培養設備/冷却水設備)	○	○

③ 変動費

(原料費)

原料評価結果およびパイロットプラント運転実績より、原料費を算出した。

(薬品費)

ラボ/パイロットでの糖化・発酵反応検証結果より、必要な薬品使用量(酵素使用量/他薬品)を算出し、薬品費を算出した。

(用益費)

上記検討で導出した機器の仕様・基数等およびパイロットプラントでの実績も参考にスケールアップの影響も考慮して必要用役使用量を想定し、これらの供給形態（工場内自給部と電力・燃

料の外部購入部 等) に基づいて必要なユーティリティ費用を算出した。

(その他)

モデルサイトの立地条件(国・地域 等)を踏まえて、土地代や人件費等を想定し、エタノール生産コストに必要な費用を導出した。

④ セルロース系エタノール生産コストの積算

上述の①-④の検討結果をもとに、エタノール生産に必要な設備費・運転費用等を算出し、積算を実施した。

⑤ 物流評価

セルロース系エタノールの日本着コストを評価する上では“A国ケース”では、A国から日本までの運搬費用にかかる下記の項目について調査を実施した。

- ✓A国国内エタノール製造工場出荷から港湾までの陸上輸送(ローリー)
- ✓A国の港湾から日本までの海上輸送(ケミカルタンカー)

⑥ セルロース系エタノール日本着コストの積算

④と⑤の結果を踏まえ、A国ケースと日本ケースの両ケースにおけるセルロース系エタノールの日本着コストを算出した。

2-1-6-3b まとめ

“A国ケース”と”日本ケース“における日本着コストは遜色ない結果と推算された。

また、両ケースともに、本事業で設定した目標である「持続可能性基準適合輸入エタノール日本着価格」を下回ることを確認した。

2-1-6-4 ライフサイクル評価

環境対策としてのバイオ燃料の市場導入にあたっては、実効的な GHG 削減効果と一定以上の化石エネルギー収支が求められる。本事業では、GHG 削減効果についてはエネルギー供給構造高度化法で求められるガソリン比 50%以上、化石エネルギー収支については NEDO 事業目標である 2 以上の達成度について検証した。

2-1-6-4 a 実施内容および成果

① GHG削減効果/エネルギー収支

原材料・燃料等の使用に伴う環境負荷（ここでは一貫生産システムから外部（大気）への GHG 排出量及び化石エネルギー資源投入量）を、資源採掘から最終消費までのライフサイクル全体で評価した。本検討の際には、木本バイオマス中の不要成分の有効活用、特にパルプ工場隣接の場合には当該工場からの回収エネルギー（残渣リグニン・黒液等）の有効活用を前提とした。

ガソリンのライフサイクル GHG 排出量(81.7gCO₂/MJ)と比較した GHG 削減率はいずれのケースにおいても 50%以上であり、目標を達成していることを確認した。

また、エタノールの高位発熱量(23.8MJ/L)から算出したエネルギー収支においても両ケースとも本事業の目標である“エネルギー収支 2 以上”を達成した。

2-1-6-4 b まとめ

本事業で技術確立したセルロース系エタノールの一貫生産システムを前提とし、バイオマス原料調達から製品エタノールの日本への供給までの全工程における GHG 排出量およびエネルギー収支を試算したところ、本事業の目標である GHG 削減率 50%以上およびエネルギー収支 2 以上を達成見込みであることを確認した。

2-1-7 総括

本事業では、日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの商用生産を目指し、複数の要素技術（前処理・糖化・発酵・酵素回収の各プロセス及び原料、酵素、発酵菌株等）について、実験室及びパイロットプラントにて組合せ評価を実施した。その結果として、最適組合せを選定し、運転条件及び装置組合せを最適化することによりパイロットプラントレベルでの技術確立を達成した。

また、本事業にて技術確立した一貫生産システムを前提とする、セルロース系エタノールのビジネスモデルを設定し、コストおよびGHG 排出量/エネルギー収支の積算を実施し、いずれも本事業の目標を達成見込みであることを確認した。また、本事業性評価の一環として、商業化技術完成におけるスケールアッププラントでの検証の必要性について検証した。

2-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価

2-2-1 要約

木質バイオマス由来パルプを水蒸気爆砕することで、酵素反応時間を大幅に短縮し、酵素の使用量を30%以上削減することが可能であった。爆砕パルプに対する自製酵素と購入酵素の糖化能力は同等であることから、オンサイト生産による安価な自製酵素を使用することによって、酵素コストを大幅に削減できる。非遺伝子組み換えのキシロース資化性酵母 *Candida intermedia* (nonGMO) は220°C以上の爆砕パルプ糖化液で発酵阻害が発生するが、200°C以下であればエタノール変換効率80%以上が可能である。遺伝子組み換えによって得られた *Saccharomyces cerevisiae* (GMO) においても同様の評価が得られ、バイオマス中のキシロースの利用性が担保された。大規模製紙工場から発生する大量かつ安価な破棄パルプを水蒸気爆砕し、自製酵素で糖化させ、キシロース資化性酵母でエタノール発酵させることで、環境性及び経済性を満たすシステムを構築できる可能性が示された。

安価かつ安定的に供給されるバイオマスとして、食用キノコの生産後に生じる廃菌床を原料にバイオエタノールの生産を行い、得られた結果を基に商用スケールのプラント設計を行った。廃菌床は夾雑物が多く高い糖化率は得にくいだが、残渣からのエネルギー回収が可能であり、環境性の高いシステムが構築できると試算された。

生産されたバイオエタノールを蒸留・脱水し得られる90%以上の脱水バイオエタノールから、エチレンを介してドロップイン燃料となるナフサ・ケロシン・ディーゼルなどの合成に成功し、バイオエタノールの用途拡大の可能性を示した。

2-2-2 研究開発の概要

セルロース系バイオエタノール燃料の商用生産に向けて、GHG削減効果50%以上、エネルギー収支2.0以上かつ生産コスト競争力に優れたプロセスを技術確立させるために、「最適な要素技術の組合せの検討」を実施した。本研究開発のキー技術である「水蒸気爆砕」による前処理技術の効果を確認し、次いで糖化発酵技術（糖化酵素選定、発酵微生物選定など）の組合せ検討をラボ試験レベル（実験室レベルでの小規模な試験）で実施し、目標を達成できる組合せ候補を選定した。また、実証プラントを建設し、パイロット試験レベル（実生産を前提とした数kLの実証試験）を実施し、ラボ試験レベルでの結果の実証を行った。バイオエタノールの出口として、エチレンへと変換し重合することで、バイオエタノールから直接ナフサやディーゼル、ケロシンなどのドロップイン燃料への変換を検討した。

2-2-2-1 研究背景

大気中の二酸化炭素の増加により地球が温暖化していることが問題視されており、化石燃料の使用量を抑制し二酸化炭素濃度の増加を抑制する政策が各国でとられている。このためバイオマスを液体燃料として利用できるバイオエタノールやバイオディーゼル（BDF）の生産が増加して

いる。バイオマスのエネルギー変換は、地球温暖化防止の観点から、バイオエタノール燃焼で発生する二酸化炭素はカーボンニュートラルであることから、温室効果ガスとしてはカウントされない。特に食料と競合しない非可食成分由来のバイオ燃料生産は重要と考えられている。こういった政策環境を鑑み国策に寄与し持続可能な社会を構築するためには非可食成分由来のバイオ燃料生産、特に再生可能資源であり、森林の更新により二酸化炭素吸収能力増進が期待できる木質系由来原料によるバイオエタノール生産技術の完成こそが重要である。

バイオエタノールの生産コストの内訳で最も高い割合を占めるのは原料のコスト、収集運搬コストである。木材は収集運搬において草本系に比較し非常に有利である。これはかさ密度が大きく、運搬が効率的であり、単糖や2糖類を含まず腐敗しにくいため、年間を通じて集荷が可能であるためである。しかしながら、木材はリグニン量が多く「堅牢」であり、多糖であるセルロースを得るためには多くのエネルギーが必要というデメリットを有している。木材を大量に取り扱う製紙業ではこの問題点をクリアするために「蒸解」という工程を利用している。蒸解を経て得られる「パルプ」は比較的糖化が容易でバイオエタノール生産に有利であるばかりでなく、蒸解工程で除去されたリグニンを液体で燃料として蒸解薬品とともに回収できる。このためボイラーで液体状のリグニンを噴霧燃焼し熱やおよび電気としてエネルギーを回収することが可能で、工程内のエネルギーを自立型はもちろんのことさらには余剰型に持っていくことが可能である。また、この得られたエネルギーを用いて蒸解薬品であるところのNaOHを97%以上の効率で回収、再利用している。

製紙産業で大量に発生する安価なパルプを鋭意調査したところ、200万トン/年以上の生産を行うパルプ工場では約1~2%の廃棄パルプが発生することを知りえた。大型製紙工場での廃棄パルプは通常では燃焼させるか廃棄埋め立てされているものであるがバイオエタノールの原料として十分活用できる。特に、木材パルプの中で最も大量生産の実績があり、安価な生産コスト、かつ原料を選ばないクラフトパルプを製造する工場から発生する廃棄パルプを原料としてバイオエタノール化することが有望であると考えられる。

また、安価かつ安定的に供給される農業・食品残渣の探索を行った結果、年を通じて工場生産・出荷されるブナシメジなどキノコの栽培培地かす、いわゆる廃菌床と、近年コンビニエンスストア等で気軽に購入できるようになったことでコーヒー需要が急増したと共に発生したコーヒー粕が候補として挙げられた。廃菌床は全国で年間30万t、コーヒー粕47万t程度発生しており、現在は廃棄されるか、たい肥として利用されている。この廃菌床とコーヒー粕からは17万kL/年のバイオエタノール生産量が期待でき、年を通じて安定的に供給される余剰バイオマスとして十分な可能性を有する。

本事業では原料としてパルプ、廃菌床、コーヒー粕を、そして、前処理技術として水蒸気爆砕処理を採用した。バイオエタノール事業における酵素費用は、原料費、設備償却費に次いで、大きな割合を占めている。これまで、水蒸気爆砕処理は消費エネルギーが高くバイオエタノール生産における前処理に不向きであると考えられていた。これは1970年台から1980年代の木質バイオマスの水蒸気爆砕研究の目的が「脱リグニン」であったからに他ならない。当時の研究では脱リグニンを促すために230℃で数分-数十分の処理を行っている。近年ではバイオマスの前処理として脱リグニンよりもセルロースの膨潤や表面積の増加（酵素分解の効率化のため）に力点を置くために脱リグニンを促進させるようなエネルギーの投入は不要であることがわかっている。既

に Andritz 社や Valmet 社の連続水蒸気爆砕装置が汎用機として販売されており、多くの第二世代のバイオエタノール事業者は連続水蒸気爆砕技術を前処理として採用している(図 2-2-2-1-1)。これまで我が国では水蒸気爆砕装置の導入事例はなく、最新の水蒸気爆砕技術については評価ができていない。

以上の背景から、本研究開発事業ではバイオマスを水蒸気爆砕することで酵素糖化性を向上させて、年産 1 万 kL 規模で GHG 削減効果 50%以上、エネルギー収支 2.0 以上かつ生産コスト競争力に優れたプロセス構築の可能性について検討し、原料費、酵素費、設備費を削減する事で、70 円/L となるモデルケースを算定する。

本事業では、原料バイオマスの多様性を確保する事で供給の安定化を図った。同様に事業の安定性を図る上でバイオエタノールの需要の多様性を確保することも重要となる。そこで、バイオエタノールからドロップイン燃料を生産する事を目指し、エタノールを原料にエチレンを合成し、エチレンからディーゼル・ナフサ・ケロシンを製造する実証規模での合成試験を行った。



図 2-2-2-1-1 連続水蒸気爆砕メーカーと採用する世界の第二世代バイオエタノール生産者

2-2-2-2 事業内容

木質バイオマス（ユーカリ/アカシア/竹・等）由来パルプ・廃菌床の前処理として水蒸気爆砕を選択する（Andritz 社もしくは Valmet 社の最新の水蒸気爆砕機は世界標準となっているが日本での検討例がない）。水蒸気爆砕後の後段は酵素法による糖化及び発酵を行い、酵素は株式会社 Biomaterial in Tokyo（以下 bits）の自製酵素と購入酵素の比較を実施する。発酵は非遺伝子組み換え株としてコスモ石油株式会社（以下コスモ）保有の C5 糖資化性 *Candida intermedia*、bits 保有の C5 糖資化遺伝子組み換え *Saccharomyces cerevisiae* を用いて評価する。おおむね 6 ヶ月間での評価をラボスケールで行い、最適組み合わせを完成させる。

① 要素技術と研究開発体制

1) 水蒸気爆砕 (Biomaterialin Tokyo(bits)、三友プラントサービス)

廃パルプ、廃菌床、コーヒー粕などの地域で発生するセルロース系バイオマスに対する水蒸気爆砕処理の効果を検証し、各種原料の最適爆砕条件を明らかにする。

2) 酵素糖化

2)-1 自製酵素カクテル (bits、信州大学)

NEDO 有用要素技術開発「可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」にて自製酵素カクテル製造技術が開発された。当該 PJ で得られた成果をパイロットプラントに適用し、自製酵素カクテルによって各種爆砕物を糖化できることを検証し、自製酵素カクテルによる酵素費削減効果を明らかにする。

2)-2 糖化促進添加剤 (bits、日揮)

NEDO 有用要素技術開発「有用微生物を用いた発酵生産技術の開発」において、糖化促進添加剤による酵素添加量削減効果が確認された。当該 PJ で得られた成果を本研究開発事業に適用し、各種爆砕物における対する糖化促進添加剤による酵素費削減効果を明らかにする。

2)-3 コンタミ抑制剤 (bits)

爆砕処理物の糖化反応時に危惧されるコンタミネーション抑制技術を確立する。

3) エタノール発酵

セルロース系バイオマス糖化液に含まれる C5 糖を効率的にエタノール変換し、バイオマス糖化液に含まれる単糖の 80%以上をエタノール変換できる技術を確立する。

3)-1 遺伝子組み換え酵母 *S. cerevisiae* (bits)

C5 糖資化遺伝子を組み込んだ酵母によるエタノール生産技術を検証する。

3)-2 非遺伝子組み換え酵母 *C. intermedia* (コスモ石油)

C5 糖をエタノール変換できる非遺伝子組み換え酵母によるエタノール生産技術を検証する

4) 事業性評価 (bits、三友プラントサービス)

上記の要素技術の組合せからなるプロセスの化石エネルギー収支・経済性を検証し、目標値を達成するプロセスを構築する。

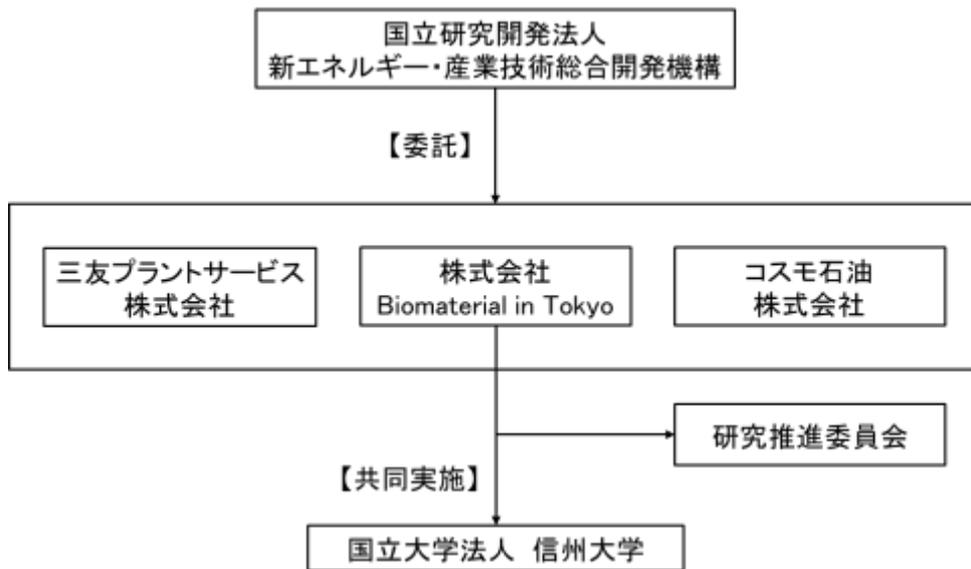


図 2-2-2-2-1 研究開発体制

② パイロットプラントの主要設備

図 2-2-2-2-2 にパイロットプラントの主要設備を示す。本研究開発プロセスは水蒸気爆砕、酵素糖化、エタノール発酵、固液分離などの各種単位操作から構成されており、多様なプロセスの検討が可能である。

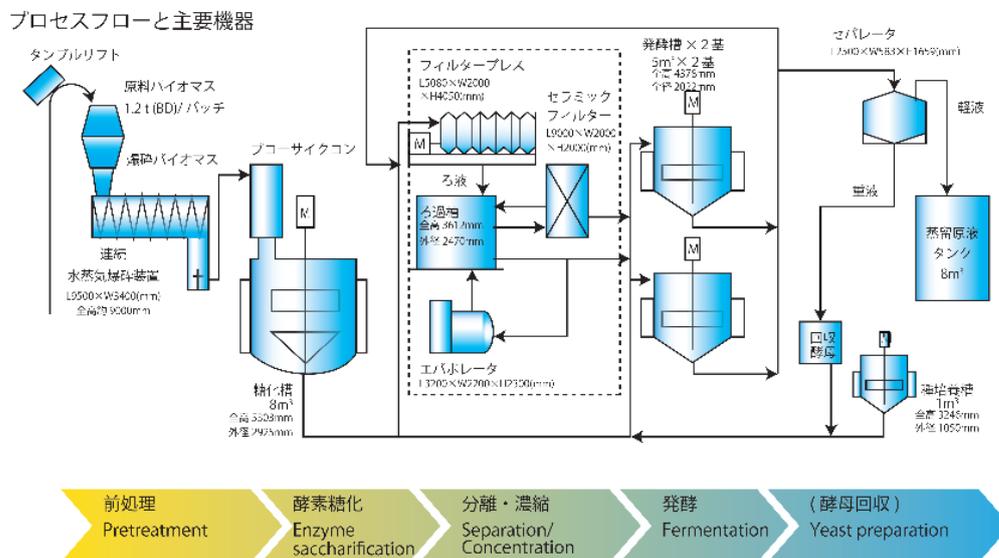


図 2-2-2-2-2 パイロットプラントの主要設備

③ 研究開発の目標設定

本事業で開発する第二世代バイオエタノール製造システムの目標値は、GHG削減効果50%以上、化石エネルギー収支 2.0 以上、生産コスト 70 円/L 未満となっている。この目標値をクリアするために、事前に水蒸気爆砕処理、酵素糖化、エタノール発酵などのプロセス要素技術を組み合わせ、バイオエタノール生産システムのシミュレータを構築し、各プロセス要素技術の

許容される反応条件及び効率を明らかにし、表 2-2-2-2-1 に示す研究開発項目ごとの目標パラメータを導出した。

表2-2-2-2-1 研究開発項目の内容及び目標パラメータ

研究開発項目	内容	目標パラメータ
①水蒸気爆砕処理	多様な原料に対する水蒸気爆砕効果を確認する。酵素使用量、基質濃度、攪拌動力、反応時間などを満足する爆砕条件を探索する。	糖化時の基質濃度:10~20%、酵素使用量:5~10FPU/g-基質 糖化時間:48時間以内、糖化率:80%程度、単糖濃度:~10% 水蒸気爆砕装置の排熱はエタノールの粗留工程で利用することが必須
②酵素糖化 2-1. 自製酵素カクテル 2-2. 糖化促進添加剤 2-3. コンタミ抑制剤	自製酵素カクテル、糖化促進添加剤による酵素費削減効果を確認する。コンタミ抑制のための技術を確認する。	
③エタノール発酵 3-1. GMO酵母 3-2. nonGMO酵母	植菌量、反応時間、エタノール濃度、エタノール収率のトレードオフ関係を整理し、最適プロセスを選定する。	エタノール発酵効率:80%程度、発酵時間:~72時間 前培養時の菌体対糖収率:25~50%程度 酵母シングルユースプロセス 植菌量:0.1~0.2dcw/v% 酵母リサイクルプロセス 植菌量:1.0dcw/v%、リサイクル回数:5回程度
④事業性評価 4-1. 海外モデル 4-2. 国内モデル	GHG削減効果50%以上、エネルギー収支2.0以上、生産コスト70円/Lを満足するバイオエタノール製造モデルの構築	

2-2-3 実証プラントの各要素技術の性能評価

本研究項目では3つの要素技術（前処理、酵素糖化、エタノール発酵）の組合せをラボレベル試験にて検討する。前処理技術に関しては木質バイオマス由来パルプの水蒸気爆砕条件を検討する。酵素糖化技術に関しては可溶性糖質源培養による自製酵素の利用を検討する。エタノール発酵技術に関しては非遺伝子組み換え C5 糖資化性 *C. intermedia* を検討する。対照は bits 保有の C5 資化性 *S. cerevisiae* とする。

2-2-3-1 木質バイオマス由来パルプの水蒸気爆砕条件の検討

水蒸気爆砕によってバイオマスの内部が膨潤し、それに伴い非晶領域・表面積が増大し、酵素糖化性が向上する。まずバッチ式水蒸気爆砕装置（日本電熱株式会社等の機械を用いて／仕込み最大 1.8L／最高使用圧力 4MPa／最高使用温度 250°C未満）で処理温度・保持時間が繊維回収率・形態変化・酵素糖化性（市販セルラーゼで評価）に与える影響を明らかにする。そして、水蒸気爆砕を行わないパルプの糖化率が 80%程度となる時の酵素添加率を 100%とした場合、酵素添加率を 70%以下に削減できる水蒸気爆砕条件を明らかにする。

2-2-3-1-1 爆砕パルプの選定

木材パルプには、木材を機械的に磨りつぶした機械パルプと、木材を化学薬品で処理し、リグニンをできるだけ取り除いた化学パルプがある。機械パルプは、パルプ表面がリグニンで覆われており、糖化しにくく、セルロース系バイオマスからバイオエタノールを製造する原料としては適していないといえる。化学パルプは、木材繊維のリグニンを出来るだけ除去してあるので、糖化すべきセルロースとヘミセルロースへのリグニンの付着量が少なく、バイオエタノールの製造原料に適したパルプであるといえる。化学パルプの製法は、亜硫酸カルシウムで蒸解する S P（Sulfite Pulp）法と苛性ソーダと硫化ソーダの混合水溶液で蒸解する K P（Kraft Pulp）法の2種類に大別される。

K P法は S P法に比較して、

・樹種を選ばない（フェノール成分、タンニン類を有していても蒸解可能、混合樹種でも蒸解可能）

- ・蒸解時間が短い（脱リグニン速度が速い）
- ・樹脂トラブル、チリが少ない（アルカリでケン化され溶出できる）
- ・強度が大きい（セルロースの分子量が高い）
- ・蒸解薬液・エネルギーが回収される
- ・トール油、テレピン油等の副産物も得られる

などの利点がある。

問題点としては

・蒸解薬品回収設備を必要とするので設備費がかさむ

・アルカリピーリング反応でセルロース、ヘミセルロースの還元性末端が脱落するためパルプ回収率が低い

- ・硫化メチル、メチルメルカプタンが発生し、蒸解排ガスの悪臭が強い
- ・縮合した残留リグニンにより未晒パルプの白色度が低い

- ・残留リグニンの分子量が大きく、不活性であり、漂白薬品を多く必要とする
- ・繊維表面のセルロース、ヘミセルロースの重合度が高く、膨潤し難いため、叩解動力を多く必要とする

- ・蒸解廃液に溶出した糖類が酸化されて、微生物による発酵ができない

があげられる。しかしながら改良技術の開発も進んでおり、2014 年段階では KP 法がパルプ製造法の主流となっている。化学パルプの中で最も大量生産の実績があり、安価な生産コスト、かつ原料を選ばない KP パルプがバイオエタノール原料として有望であると考えられる。

そこで、爆砕処理に供するための試料を選定するためには、4 種類のパルプを入手し、そのパルプの糖化性を明らかにする。

2-2-3-1-1a 実験方法

①実験試料

A 社の LUKP (広葉樹未晒クラフトパルプ)、B 社の LBKP (広葉樹晒クラフトパルプ)、比較対象として C 社 LUSP (広葉樹未晒サルファイトパルプ)、bits 社が製造した LUSP を試料とした。



図 2-2-3-1-1 検討するパルプ

(左から A 社 LUKP、B 社 LBKP、C 社 LUSP、bits 社 LUSP)

②糖化反応

反応液は以下のように調製した。10w/w% パルプ (乾燥重量比), 50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0), 市販セルラーゼ 5 FPU, 10 FPU/g-dry pulp。反応液総量を 50 g とし, 100 ml 容の容器 (アイボーイ, アズワン) に入れて, 50°C、150rpm で 48 時間反応させた。還元糖量は DNS 法で測定した。グルコースで作成した検量線を用いて還元糖量を算出した。

2-2-3-1-1b 結果と考察

図 2-2-3-1-2 にパルプの種類による糖化率の違いを示す。LBKP の 5、10FPU の還元糖量は 8.8、10.5w/v%であり、少ない酵素量でも効率的に糖化される。一方、LUKP の 5、10FPU の還元

糖量は3.8、5.7w/v%であった。また、同じLUSPでも糖化率は大きく異なる。以上の結果より、爆砕効果を確認するための実験試料として糖化率の低いクラフトパルプ（A社のLUKP）を採用することとした。

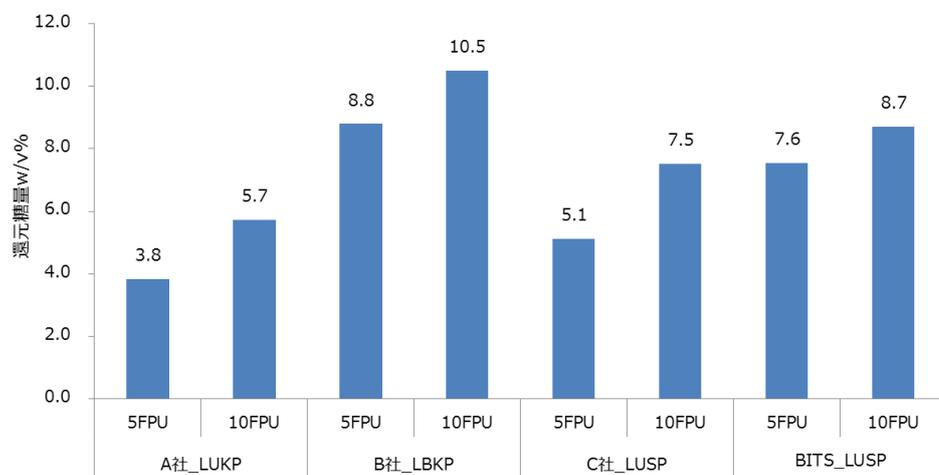


図 2-2-3-1-2 パルプの種類による糖化率の違い

2-2-3-1-2 爆砕処理温度と保持時間が糖化性に与える影響の検討①

バガス、コーンストーバー、麦わらなどの草本系バイオマスにおいて処理温度 170~190℃、保持時間 5~20min で爆砕処理によって糖化性が向上することが知られている(Andritz 社調べ)。そこで、LUKP (A 社広葉樹未晒クラフトパルプ) を上記の反応条件で爆砕処理し、糖化性に与える影響を検討した。

2-2-3-1-2a 実験方法

① 爆砕方法

蒸気爆砕処理にはバッチ式蒸気爆砕装置(日本電熱株式会社製、仕込み最大 1.8L/最高使用圧力 4MPa/最高使用温度 250℃未満)を用いた(図 2-2-3-1-3)。リアクター内に湿潤重量 450g(含水率 60%、嵩容量 2L)を投入し、所定の処理温度、保持時間で処理し、反応終了後、瞬時に圧力を大気圧まで開放した。反応条件は処理温度 170~200℃、保持時間は 20~30min とした。



図 2-2-3-1-3 爆砕の様子 (左: 開放前、右: 開放後)



図 2-2-3-1-4 爆砕サンプル①



図 2-2-3-1-5 爆砕サンプル②

(左から 170°C20min, 180°C20min, 180°C30min, 190°C20min, 190°C30min, 200°C20min)

② 糖化方法

反応液は以下のように調製した。10w/w% パルプ（乾燥重量比），50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5.0），市販セルラーゼ 5 FPU，10 FPU/g-dry pulp。反応液総量を 50 g とし，100 ml 容の容器（アイボーイ，アズワン）に入れて，50°C、150rpm で 48 時間反応させた。還元糖量は DNS 法で測定した。グルコースで作成した検量線を用いて還元糖量を算出した。

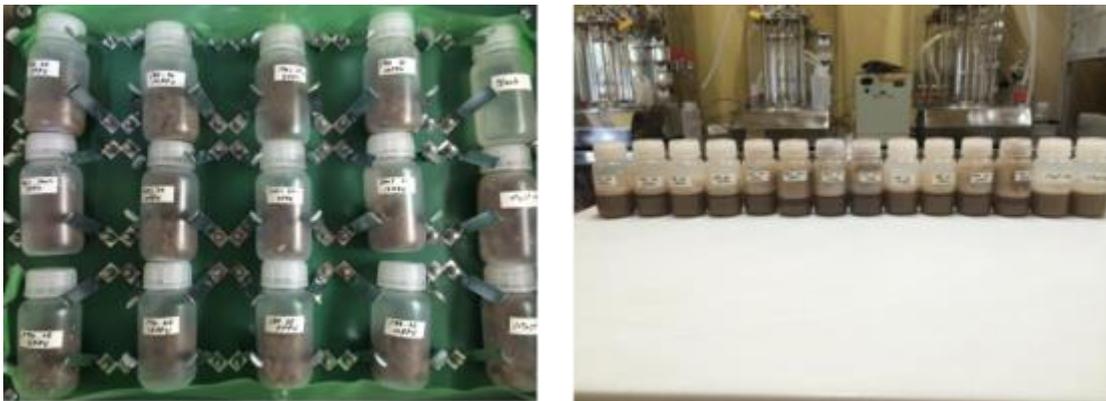


図 2-2-3-1-6 酵素糖化の様子

2-2-3-1-2b 結果と考察

図 2-2-3-1-7 に爆砕温度（170～200min）と保持時間（20～30min）が糖化性に与える影響を示す。草本系バイオマスで効果が確認されている温度域で処理したが、170°C～190°Cでは爆砕による糖化性向上は確認できなかった。木質系バイオマスでは至適温度域が異なることが示唆された。

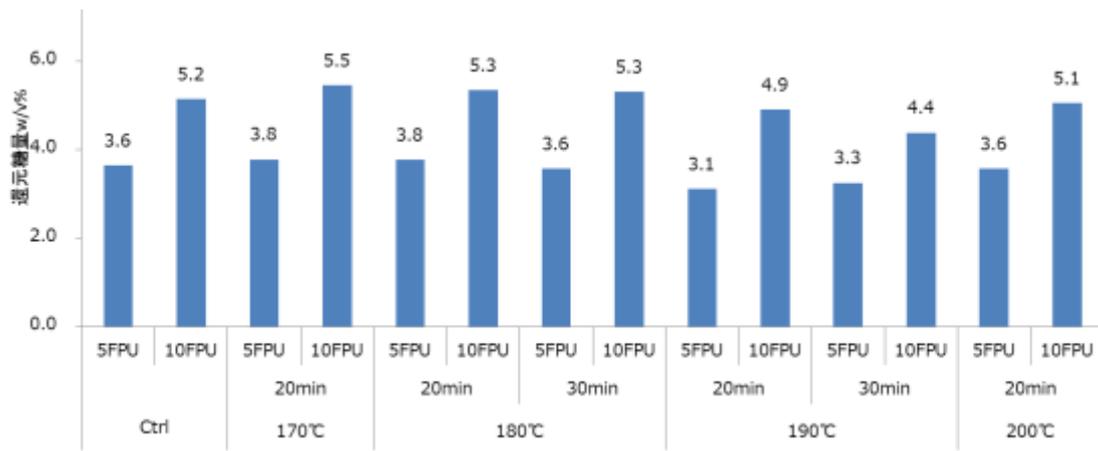


图 2-2-3-1-7 处理温度と保持時間が糖化性に与える影響①

2-2-3-1-3 爆砕処理温度と保持時間が糖化性に与える影響の検討②

中村ら¹⁾によって木材チップ（ユーカリ）を用いた爆砕では処理温度 242℃、保持時間 5min で酵素糖化率が最大となることが報告されている。処理温度及び保持時間が増加するに伴って過分解が発生し、糖収率が減少している。そこで、処理温度を 190℃～245℃、保持時間を 5min とし、爆砕処理し、糖化性に与える影響を検討した。

2-2-3-1-3a 実験方法

① 爆砕方法

原料：LUKP

爆砕条件：反応容積 2 L、仕込み量 450g（含水率 60%、嵩容量 2 L）

反応温度 190～245℃、保持時間：5min



図 2-2-3-1-8 爆砕サンプル

（左から無処理、190℃5min、220℃5min、245℃5min）

② 糖化方法

糖化条件：市販セルラーゼ、温度 50℃、基質濃度 10w/w%、反応時間 48 時間

2-2-3-1-3b 結果と考察

図 2-2-3-1-9 に爆砕処理温度（190～245℃）と保持時間（5min）が糖化性に与える影響を示す。無処理と 195℃5min ではほとんど糖化率は変化しなかった。一方、220℃5min と 245℃5min では酵素量を 3 割削減した 7FPU/g-基質で、無処理の 10FPU/g-基質と同程度の糖化率となり、酵素使用量を削減できることが示された。

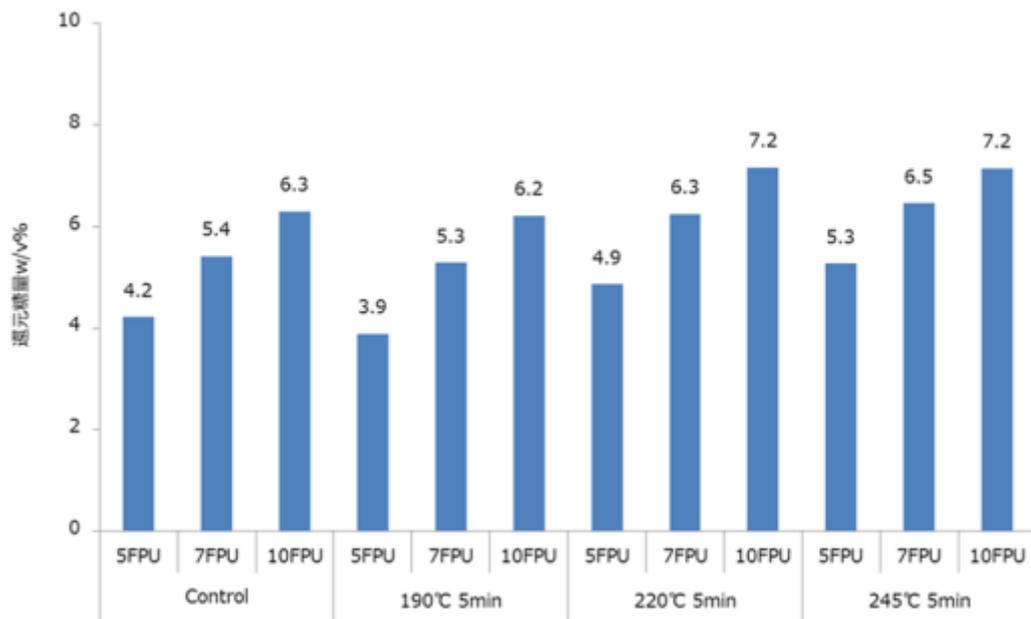


図 2-2-3-1-9 処理温度と保持時間が糖化性に与える影響②

2-2-3-1-4 バイオマスあたりの蒸気使用量が糖化性に与える影響の検討

爆砕処理とは所定の高温温度・保持時間で処理される水熱反応と、瞬間的に大気圧まで減圧されることによる膨潤反応の組み合わせた反応である。Yu ら²⁾は、リアクター内に充填されるバイオマスを変化させた場合、開放時のエネルギー出力密度が変化することを報告している（図 2-2-3-1-10）。爆砕時の出力密度（EPD: explosion power density）は以下の式で定義されている。そこで、低い温度域においてもバイオマスに対する蒸気量を多くすることで、爆砕効果が得られることを検討した。

EPD : Explosion Power Density

$$Pe \text{ (W/g)} = (\Delta H_s + \Delta H_l + \Delta H_m) / (t \cdot g)$$

ΔH : enthalpy drop (s: steam, l: liquid, m: material)

t: explosion duration

g: sample weight

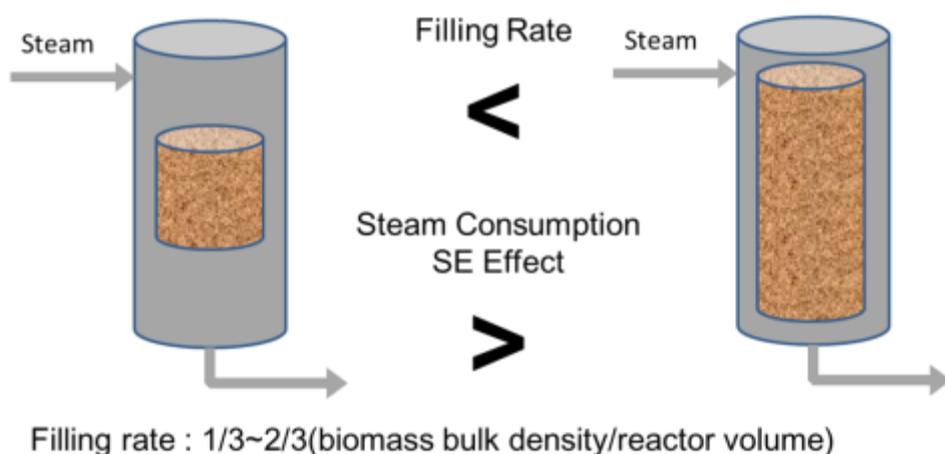


図 2-2-3-1-10 バイオマスに対する蒸気量が爆砕出力密度に与える影響

2-2-3-1-4a 実験方法

① 爆砕方法

原料 : LUKP

爆砕条件 : 反応容積 2 L、仕込み量 150g (含水率 60%)

反応温度 180~240°C、保持時間 : 20min

糖化条件 : 市販セルラーゼ、温度 50°C、基質濃度 10w/w%、反応時間 48 時間



図 2-2-3-1-11 爆砕サンプル
 (左から無処理、180℃、200℃、220℃、240℃)

2-2-3-1-4b 結果と考察

図 2-2-3-1-12 にバイオマスあたりの蒸気使用量が糖化性に与える影響を示す。前節の 2L リアクター容積に 450g-wet 投入した場合、180℃では爆砕効果が確認されなかったが、仕込み量を減少させたら 180℃でも糖化性向上が確認できた。また、爆砕効果によって酵素使用量を 30%減少させることが可能であることが明らかとなった。

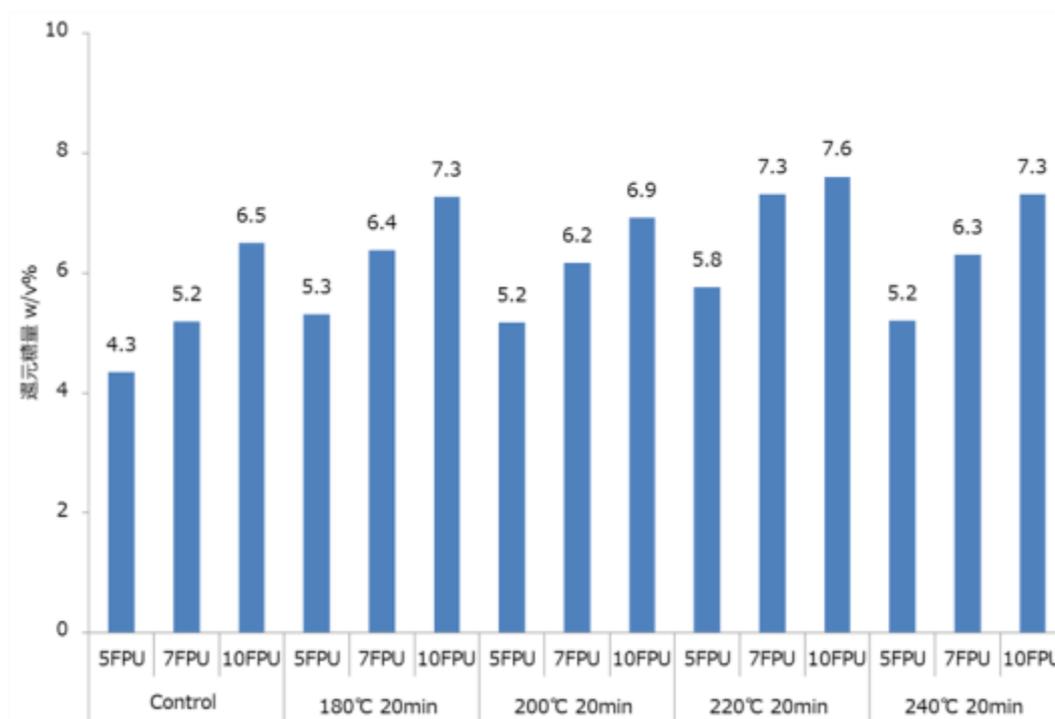


図 2-2-3-1-12 バイオマスあたりの蒸気使用量が糖化性に与える影響

2-2-3-2 可溶性糖質源培養による自製酵素利用時の糖化性検討

セルロース系バイオエタノール生産において、酵素費用は原料費・設備償却費に次いで大きな割合を占める。bits ではすでに「バイオマスエネルギー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」を実施した(図 2-2-3-2-1)。本有用要素技術開発では M2-1 株培養の酵素液に不足している酵素成分を補完することでクラフトパルプを強力に糖化する酵素を生産し、バイオエタノール 1L 生産時における酵素費用を購入酵素から大幅にコストダウンした。この時、前処理として「水蒸気爆砕」を行い、酵素糖化性を向上させることで酵素使用量そして酵素コストを大幅に削減することが可能である。「2-2-3-1 木質バイオマス由来パルプの水蒸気爆砕条件の検討」で得られた爆砕条件でパルプを処理し、パルプに特化した自製酵素で糖化させ、酵素使用量・糖化時間・糖化率を明らかにし、自製酵素の導入によるコスト低減効果について検討する。

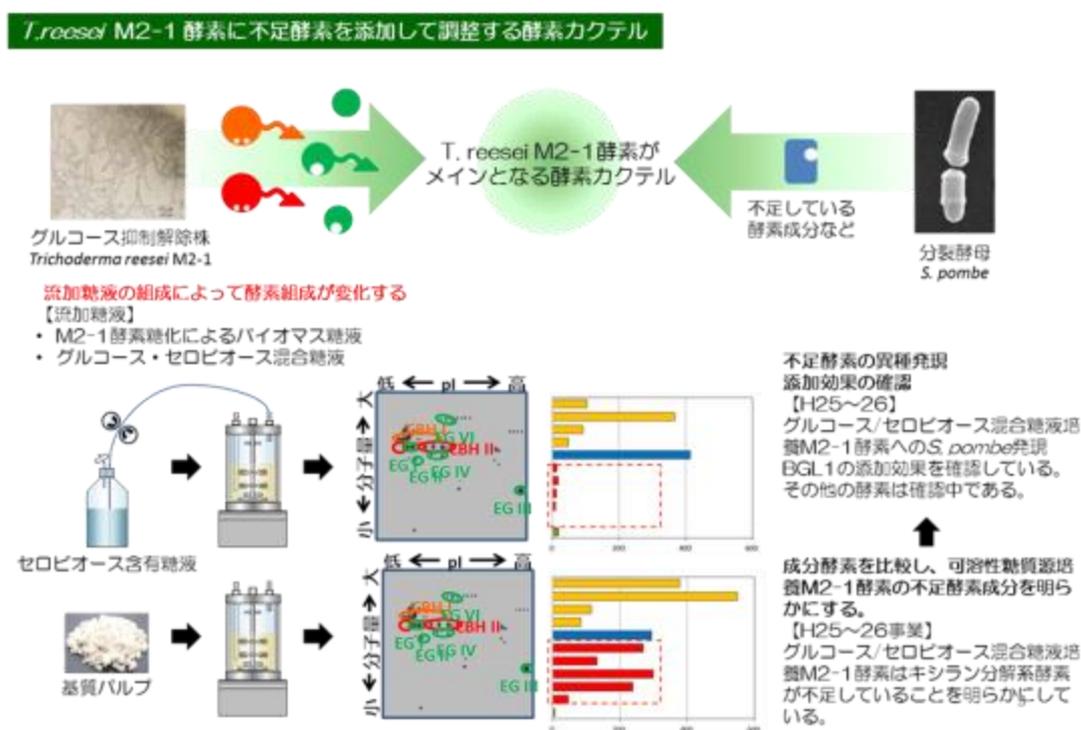


図 2-2-3-2-1 「バイオマスエネルギー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」の概要

2-2-3-2-1 パルプの爆砕

「2-2-3-1 木質バイオマス由来パルプの水蒸気爆砕条件の検討」で、LUKP を処理温度 180℃～220℃、保持時間 5～20min で爆砕することで、糖化性が向上することを明らかにした。そこで、Andritz 研究所 (13 Pruyn's Island Drive, Glens Falls, NY 12801 US) において下記条件で爆砕試験を実施した。

原料 : LUKP

爆砕条件 : 反応容積 30L、仕込み量 2kg-wet (含水率 43.2%、嵩容量 10L)

反応温度 180℃、200℃、220℃、保持時間 : 15min



図 2-2-3-2-2 Andritz 爆砕装置

(左上 : 爆砕装置外観、右上 : ブロータンク、下 : サンプル充填バスケット)



図 2-2-3-2-3 爆砕パルプ
(左から無処理、180℃、200℃、220℃)

2-2-3-2-2 自製酵素と市販酵素の比較検討

パルプの効率的な酵素糖化を目指して、爆砕処理と自製酵素の組み合わせの可能性を調査する。具体的には、各温度で爆砕処理したパルプに対し、市販酵素および自製酵素による糖化率を調査する。また、糖化反応における反応生成物を調査し、糖化率との関連性を明らかにする。最終的に、最適な爆砕処理条件、使用酵素の種類および酵素力価を明らかにし、生成糖量に対する酵素コストを比較する。

2-2-3-2-2a 実験方法

① 実験に使用したパルプ

未処理および各温度（180℃、200℃、220℃、全て保持時間 15 分）で爆砕処理したパルプを使用した。外観を図 2-2-3-2-4 に示す。爆砕処理によって粒径が小さくなり、特に 220℃処理の試料は粉状で、見かけ上の体積が減少し褐変した。これら試料の水分含量を表 2-2-6-2-1 に示す。未処理パルプの水分含量は 43%であり、爆砕処理によって 61.3%～65.7%まで増加した。



図 2-2-3-2-4 爆砕処理を施したパルプ

左上、未処理；右上、180℃処理；左下、200℃処理；右下、220℃処理

表 2-2-3-2-1 爆砕処理したパルプの水分含量

試料	湿潤重量 (g)	乾燥重量 (g)	水分 (%)
未処理パルプ	9.30	5.30	43.0
180℃爆砕処理	9.22	3.57	61.3
200℃爆砕処理	10.16	3.74	63.2
220℃爆砕処理	12.55	4.31	65.7

② 酵素セルラーゼ

(a) 自製酵素: *T. reesei* M2-1 株をパルプで培養した上清 (30.5 FPU/ml) と *Schizosaccharomyces pombe* で異種発現した *A. aculeatus* 由来 BGL (152.6 pNPG1-U/ml) を容積比 10 : 4 で混合したもの。

35.5 FPU/ml (製造コスト 1.27円/10³ FPU)

(b) 市販酵素: 市販セルラーゼ。

165.0 FPU/ml (販売コスト 2.14円/10³ FPU, 推定製造コスト 0.43円/10³ FPU)。

③ 糖化反応

反応液は以下のように調製した。10w/w% パルプ (乾燥重量比), 50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0), 酵素 5 FPU, 10 FPU および 15 FPU/g-dry pulp。反応液総量を 50 g とし, 100 ml 容の容器 (アイボーイ, アズワン) に入れて, 50°C で静置反応させた。反応 12 時間ごとに良く混合し, 上清の還元糖量を DNS 法で測定した (80 倍希釈で実行した)。グルコースで作成した検量線を用いて還元糖量を算出した。

④ 反応生成物の解析

糖化反応の生成物を薄層クロマトグラフィー (TLC) で解析し, 生成糖の種類と量を調査した。反応液上清 (0.3 μL 相当) を TLC プレート (TLC シリカゲル 60 250 μm, Merck Millipore) にスポットし, 展開溶媒 (2-Propanol : n-BuOH : H₂O = 60 : 15 : 12 [v/v]) で 2 回展開した。乾燥後に 30% 硫酸を噴霧し, 120°C で加熱・発色させた。

2-2-3-2-2b 結果と考察

① 酵素糖化による爆砕パルプの形態変化

酵素糖化前の様子を図 2-2-6-2-5 に示す。反応前は未処理に比べ, 180°C および 200°C 爆砕処理の上清が少なかった。これは爆砕によってパルプが膨張し, 水分の吸収率が増加したためと考えられた。220°C 処理の反応液は, 上清が褐色を帯び, 爆砕処理によってパルプ成分の一部が変性・可溶化したと考えられた。

糖化反応 120 時間反応液の様子を図 2-2-3-2-6 に示す。糖化が進むにつれ沈殿が減少し, その減少量は糖化率とよく一致していた。15 FPU では, 糖化率がほぼ 100% に達しているにも関わらず, 見かけ上まだ多くの沈殿が存在していた。



図 2-2-3-2-5 爆砕処理を施したパルプ
(左から未処理, 180℃爆砕, 200℃爆砕, 220℃爆砕)

<未処理>



(左から M2-1: 5 FPU, 10FPU, 15 FPU、 市販セルラーゼ : 5 FPU, 10FPU, 15 FPU)
<180°C>



(左から M2-1: 5 FPU, 10FPU, 15 FPU、 市販セルラーゼ : 5 FPU, 10FPU, 15 FPU)
<200°C>



(左から M2-1: 5 FPU, 10FPU, 15 FPU、 市販セルラーゼ : 5 FPU, 10FPU, 15 FPU)
<220°C>



(左から M2-1: 5 FPU, 10FPU, 15 FPU、 市販セルラーゼ : 5 FPU, 10FPU, 15 FPU)

図 2-2-3-2-6 酵素糖化後 (120 h) の試料の様子

② 爆砕パルプの糖化率

爆砕処理したパルプを各酵素で糖化し、生成糖の量を経時的に調査した (図 2-2-3-2-7)。

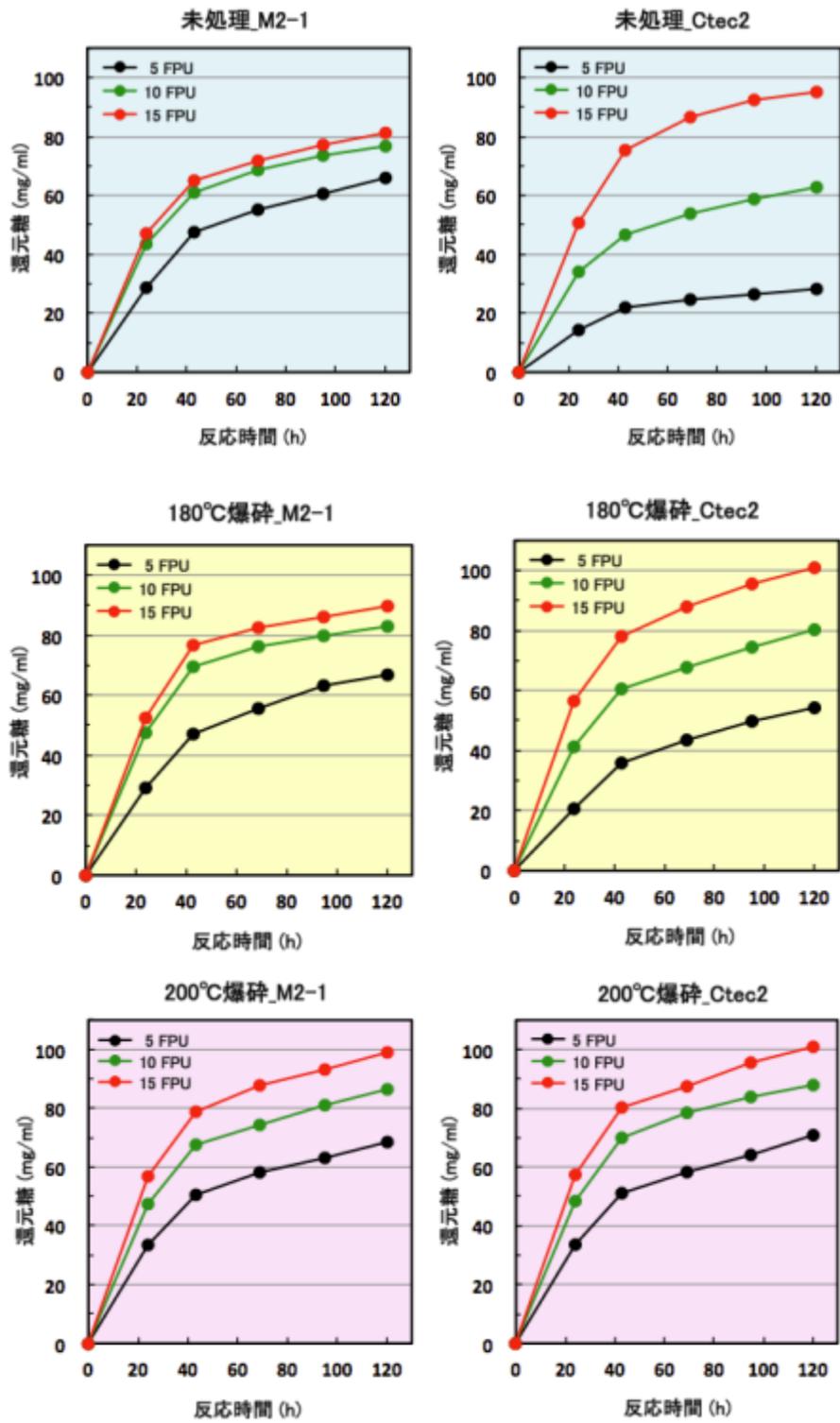


図 2-2-3-2-7 爆砕パルプの酵素糖化 (無処理、180°C、200°C)

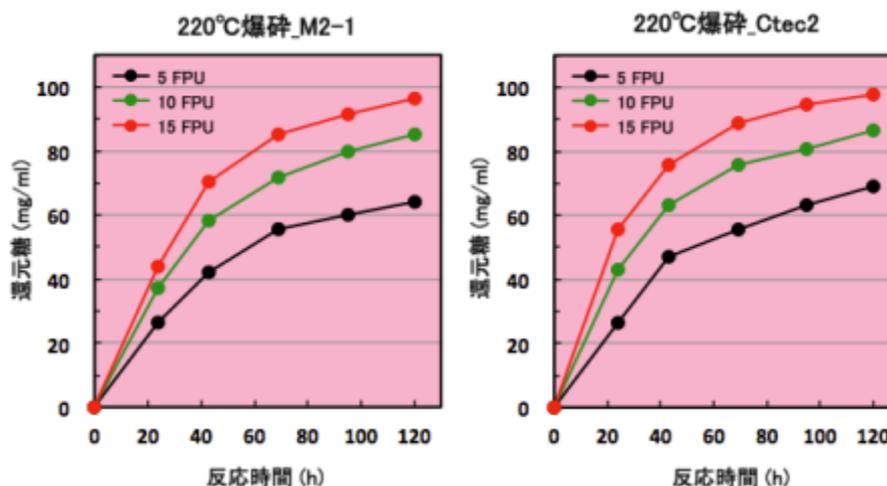


図 2-2-3-2-7 つづき 爆砕パルプの酵素糖化 (220°C)

未処理および 180°C爆砕パルプの分解では、5 および 10 FPU において、M2-1 酵素の糖化能力が市販酵素を大きく上回った。ただし、15 FPU では、逆に市販酵素の糖化率が高くなった。M2-1 酵素は、ある程度の糖化率までは、低い力価でも高い糖化率を得ることができる。しかし、糖化率の最大値は市販酵素に比べて低く、未処理パルプでは酵素量を増やしても 80 mg/ml 以上に達することは困難と考えられた。一方、市販酵素では、未処理パルプでも添加した酵素力価に応じた糖化率を得ることができた。最終糖化率も 15 FPU では、ほぼ 100% に近い糖化率を示した。

200°C以上の爆砕によって、2 種類の酵素剤の糖化能力に差がなくなった。15 FPU で 120 時間反応させた試料では、全てが糖化率 100% に達していると考えられた。この結果は、200°C以上の爆砕処理は、セルロースに対する酵素の反応効率が上がり、酵素剤に含まれるヘミセルラーゼなどのアクセサリ酵素の量や特性の影響が少なくなり、酵素力価を反映した糖化率が得られるためと考えられた。

③ 酵素糖化に対する爆砕温度の影響

酵素糖化における爆砕温度の影響を図 2-2-3-2-8 に示す。いずれの酵素および力価においても、爆砕の効果が確認された。処理温度は 180~200°C で最高の糖化率が得られた。例えば、M2-1 酵素 15 FPU では、未処理パルプにおいて反応 2 日目で 65 mg/ml であるものが、200°C 処理によって反応 2 日目で 80 mg/ml に到達した。同様に反応 5 日目では、未処理で 80 mg/ml であるものが 200°C 爆砕で 100 mg/ml に達し、糖化率は約 1.5 倍に増加した。M2-1 酵素においてパルプの爆砕処理は、高 FPU 活性になるほど効果的であると考えられた。

逆に、市販酵素において、爆砕処理は低 FPU 活性であるほど効果を示した。15 FPU における爆砕処理の効果は、その処理温度に関係なく、いずれも 10% 以下の糖化率の増加にすぎなかった。

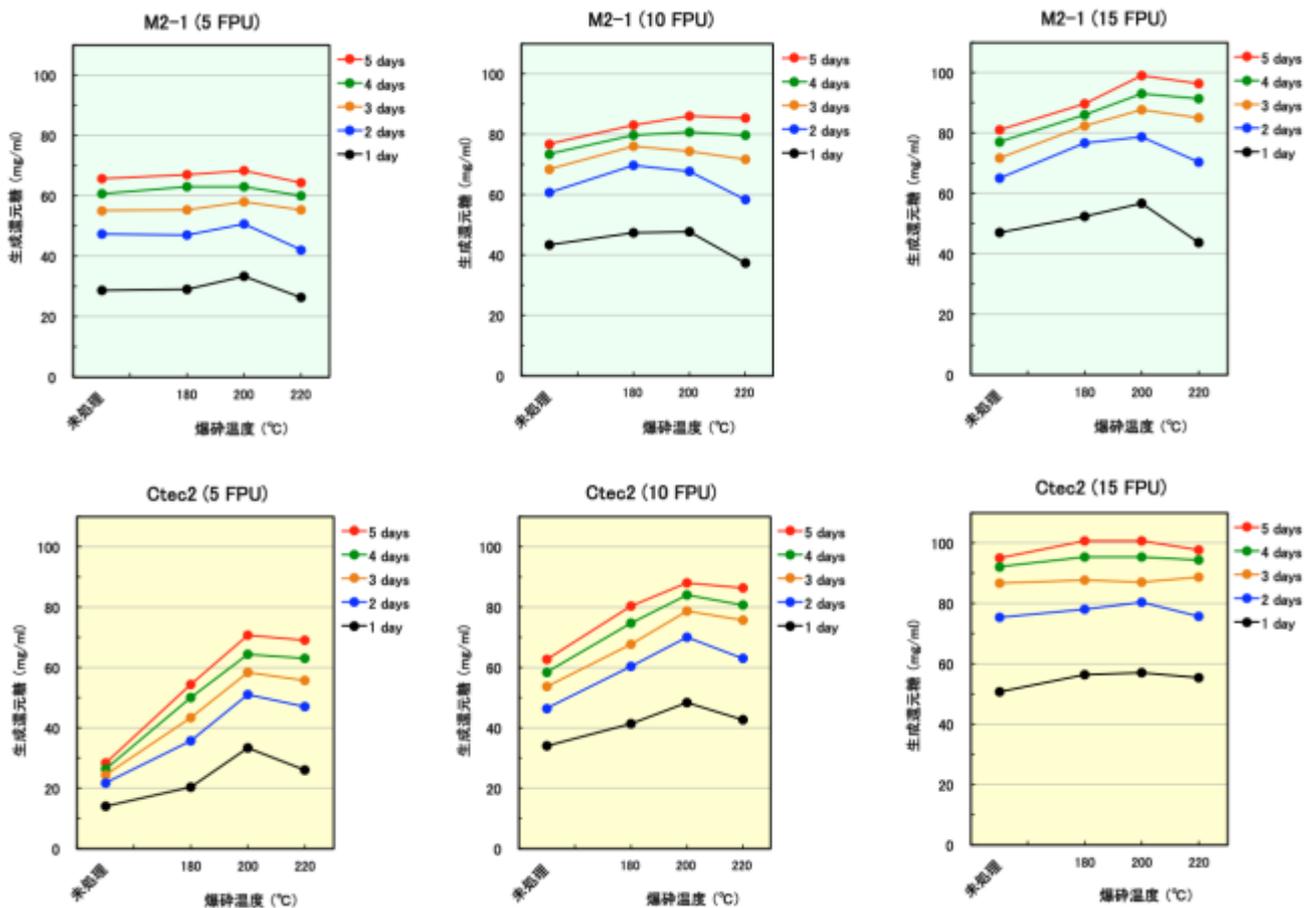


図 2-2-3-2-8 酵素糖化に対する爆砕温度の影響

④ 反応生成物の解析

各酵素 15 FPU における生成物を TLC で解析した。結果を図 2-2-3-2-9 に示す。いずれの酵素、反応時間においても、主生成物はグルコースであり、オリゴ糖の蓄積は生じていなかった。このことから、酵素剤に含まれる BGL の活性は十分であると判断できる。

グルコースに次ぐ生成物としてキシロースが観察された。その量は 180~200°C の爆砕処理で多くなり、220°C では減少していた。180~200°C ではヘミセルロースが可溶化し、セルロースとの複合体から解離することで酵素分解が促進されると考えられる。また、220°C ではヘミセルロースの過分解が生じ、収量が低下するとともに褐変や副生成物の蓄積が起こると考えられる。

さらに、微量ではあるが図中に○印で示したオリゴ糖の蓄積が認められた。これらは、セロオリゴ糖やキシロオリゴ糖の移動度と異なることから、ヘテロな糖質で構成されるオリゴ糖と考えられる。特に、青およびオレンジで示したものは、お互いに移動度や発色の色調が微妙に異なり、構造が異なる糖質と考えられた。各酵素剤に含まれるヘミセルラーゼの特性が異なるために、使用した酵素によってこのような差が生じると予想された。

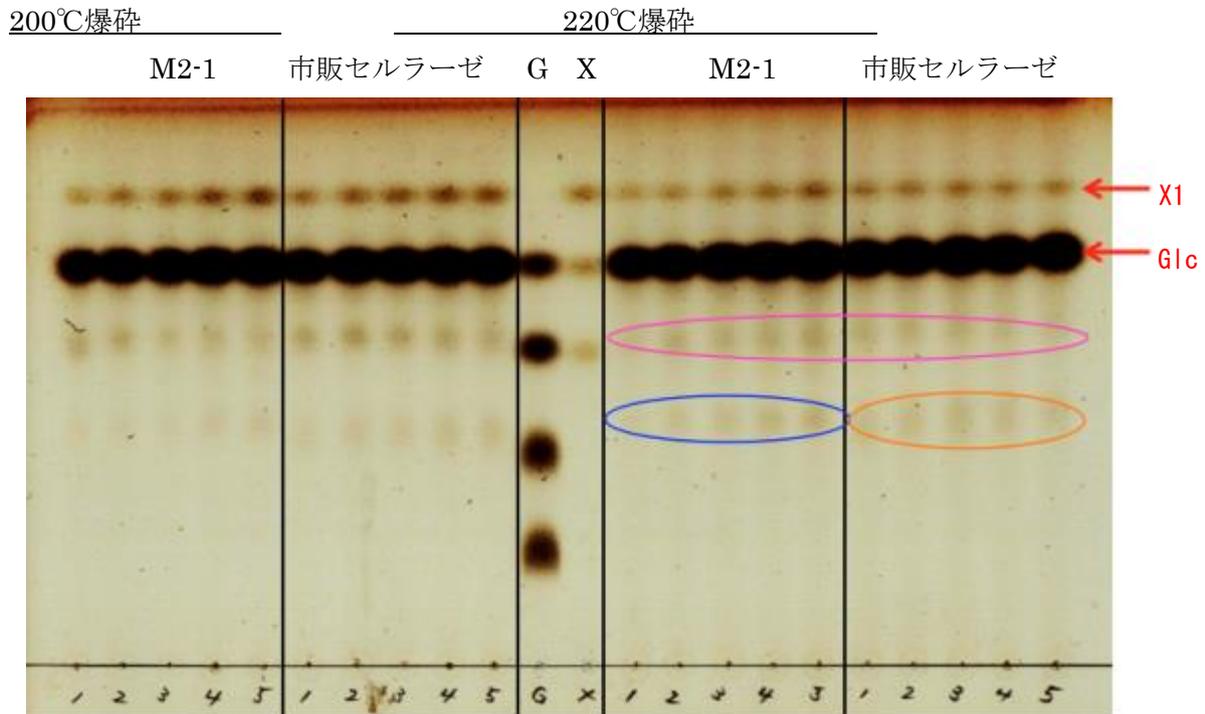
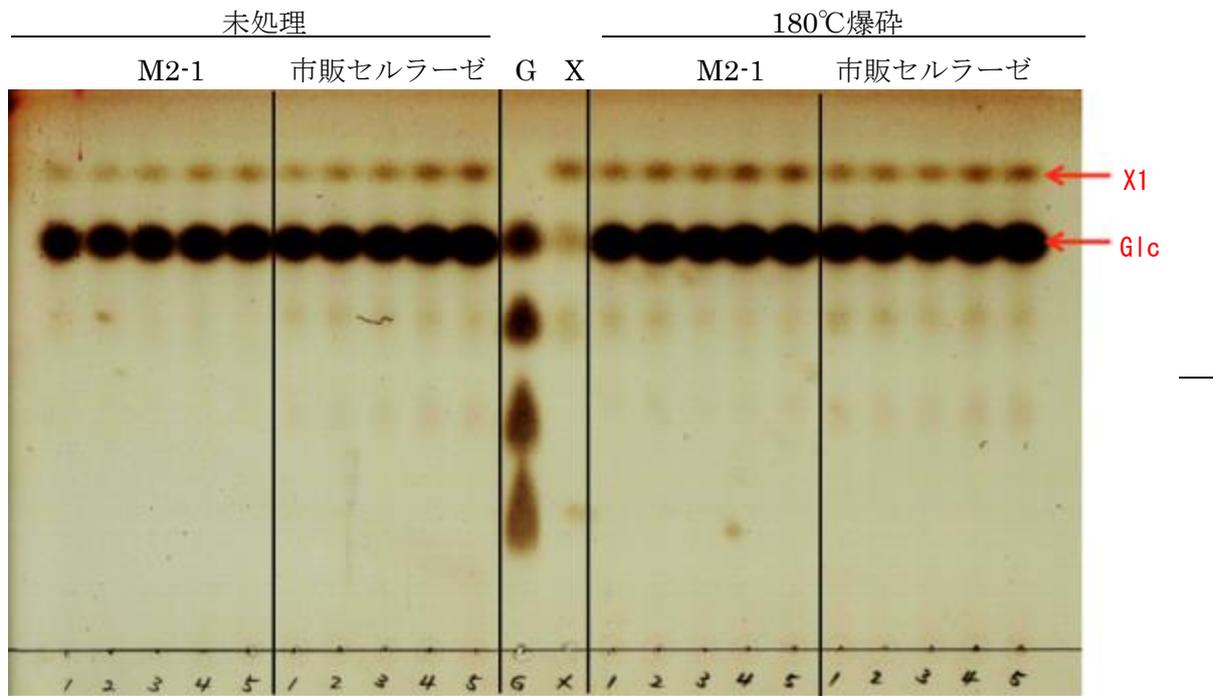


図 2-2-3-2-9 糖化液中の糖組成を TLC 分析した結果

酵素量は、いずれも 15 FPU。各試料は、左から 1～5 日反応させたもの。
 G, セロオリゴ糖スタンダード (Glc, G2, G3) ; X, キシロオリゴ糖スタンダード (X1, X2, X3)。
 ○印はヘテロオリゴ糖と推定される糖質

⑤ 酵素コストと糖化率

未処理パルプを酵素糖化 (15 FPU/g-pulp) し、80 mg/ml の生成糖 (糖化率約 80%) を得る場合、M2-1 酵素では 5 日間、市販酵素では 3 日間の反応時間を必要とした (表 2-2-3-2-2)。

一方、最高の糖化率を示した 200°C 爆砕パルプでは、いずれの酵素でも 2 日間で 80 mg/ml に到達した (図 2-2-3-2-8 右)。これら結果は、爆砕処理は M2-1 酵素を使用する場合、反応時間

を大幅に短縮するために有効であることを示している。また、力価 15 FPU におけるこの効果は、市販酵素を使用した時よりも大きかった。

200°C爆砕パルプを使用することで、両酵素の糖化能力に差が認められなくなった（表 2-2-6-2-2）。すなわち、いずれの酵素を使用しても同じ FPU 活性であれば、同等の糖化率が得られた。このことは、単価が低い M2-1 酵素を使用することによって、酵素コストを大幅に削減できることを示している。

表 2-2-3-2-2 生成糖量に対する酵素コスト

酵 素	80 mg/ml (糖化率約80%)に到達する時間 (15 FPU/g-Pulp)		酵 素 コ ス ト
	未処理	200°C爆砕	
M2-1	5日 (120 h)	2日 (48 h)	1.27円/10 ³ FPU (製造)
Cellic® Ctec2	3日 (72 h)	2日 (48 h)	2.14円/10 ³ FPU (販売)

2-2-3-2-2c まとめ

パルプの爆砕処理は、セルロース繊維の分散を促すとともにヘミセルロース-セルロース複合体の解離によって、酵素反応性の増加が期待できる。市販酵素の特性は、強固な結晶性セルロースの分解にファインチューニングされたものであり、力価に応じた糖化率が得られると考えられた。一方、M2-1 酵素は、ヘミセルラーゼ活性が高いことが予想され、未処理パルプにおいては低力価でも効果があるが、高結晶セルロースの分解能力が低く、最大糖化率が頭打ちになる傾向がある。爆砕処理は、この欠点を克服するために効果的な前処理であり、市販酵素に匹敵する糖化率を達成できる方法である。

今後の検討課題として、以下の項目を列挙する。

- ・ 各温度で爆砕処理したパルプの糖組成の分析
- ・ 爆砕パルプの比表面積、結晶化度、過分解物とそれによる発酵阻害
- ・ ヘテロオリゴ糖の分解による分解率のさらなる向上

2-2-3-3 非遺伝子組み換え C5 糖資化性微生物の検討

コスモは過去のバイオエタノールに関する研究実績として、変異育種によって C5C6 糖利用微生物 *C. intermedia* を開発している。また、bits は農林水産省事業である「ソフトセルロース利活用実証事業」において、キシロース取り込みタンパク質を強化・高発現とした新規な遺伝子組み換え *S. cerevisiae* を保有している。180°C、200°C、220°C各 15 分で爆砕したパルプを購入酵素及び自製酵素で糖化させ、nonGMO 株としてコスモ保有の *C. intermedia*、GMO 株として bits 保有の *S. cerevisiae* を比較検討する。またこうして得られた C5C6 含有糖化液のエタノール発酵効率が 80%以上で、バイオエタノール生産コスト低減に寄与する技術を検討する。

2-2-3-3-1 爆砕パルプ糖化液の調製

C. intermedia 及び *S. cerevisiae* の比較実験に供する糖化液は、「2-2-3-2 可溶性糖質源培養による自製酵素利用時の糖化性検討」において Andritz 社で製造した爆砕パルプを用いた。糖化条件は以下の通り。

基質濃度：20w/w%

酵素：市販セルラーゼ、10FPU/g-基質

温度：50°C

pH：5.0

初発の原料投入量は 5w/w%とした。酵素を全量添加し、液化を確認した後に 5w/w%ずつ 3 回基質を追添した。24 時間で全ての原料(20w/w%)を投入し終え、48hr で糖化反応を終了した。

それぞれの糖化液の糖濃度を 10w/v%に調整し、発酵試験に供した。



図 2-2-3-3-1 爆砕パルプの糖化の様子
(左上：無処理、右上：180℃、左下：200℃、右下：220℃)

2-2-3-3-2 *S. cerevisiae*によるエタノール発酵

2-2-3-3-2a 実験方法

① 酵母液調製

200 mL 羽根付三角フラスコに、50 mL YPD 培地を入れて滅菌 (121°C、15 min) した。YPD 寒天培地上のコロニー1個を種菌し、28°C、120 rpm で一晩培養した。培養液全量を 5 L ジャーファーマンター (YPD 培地 2 L、YPD 培地：酵母エキス (1%)、ペプトン (2%)、グルコース (2%)) に投入し、消泡剤 (和光純薬：PE-M) 1 滴を添加後、28°C、1 vvm、300 rpm にて一晩 (16 時間程度) 培養した。培養液を滅菌済み遠心管に移し、遠心分離 (4°C、3000 xg、5 min) によって菌体を回収した。回収した菌体を滅菌水で懸濁し、再度遠心分離 (4°C、3000 xg、5 min) した。上清を捨て、得られた菌体を少量の滅菌水で再懸濁し、*S. cerevisiae* EW-01 株酵母液とした。*S. cerevisiae* EW-01 株酵母液中の酵母濃度 (cfu/mL) を、トーマ型セルカウンタープレートを用いて計測した。

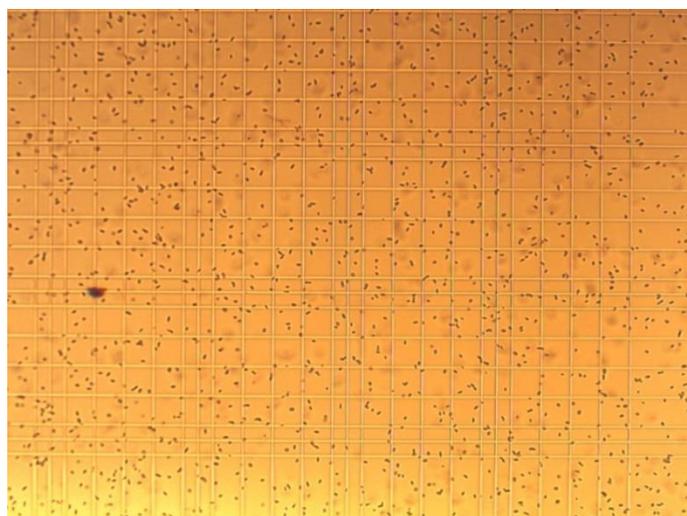


図 2-2-3-3-2 酵母濃度測定の様子

② 発酵液調製

200 mL 三角フラスコに、*S. cerevisiae* EW-01 株酵母ペースト、ろ過滅菌処理済糖液、滅菌水を添加し、総液量 100 mL (単糖終濃度：約 10%)、酵母濃度 1×10^9 (cfu/mL) に調整した。30°C、60 rpm で発酵を開始し、定期的に発酵液 1 mL を採取した。採取した発酵液を遠心分離 (4°C、10,000 rpm、3 min) し、上清を回収した。回収した上清中のエタノール濃度及び単糖濃度を、GC もしくは HPLC にて分析した。



図 2-2-3-3-3 *S. cerevisiae* の培養、集菌の様子



図 2-2-3-3-4 *S. cerevisiae* による発酵試験の様子

2-2-3-3-2b 結果と考察

表 2-2-3-3-1 に爆砕パルプ糖化液を用いた *S. cerevisiae* によるエタノール発酵の結果を示す。無処理、180℃、200℃、220℃の4試験区においてエタノール発酵効率は80%以上であり、目標値をクリアした。図 2-2-3-3-5 エタノール発酵の経時変化を示す。無処理、180℃、200℃では8時間以内にグルコースをほとんど消費した。一方、220℃では12時間かかっているが、48時間であれば問題なくエタノール発酵することが明らかとなった。キシロースの資化率は200℃爆砕パルプ糖化液で最大62.5%であり、低い水準に留まっている。キシロース代謝時には微好気条件が望ましく、発酵条件をコントロールできなかったことためキシロース資化率が低かったと考えられる。

表 2-2-3-3-1 *S. cerevisiae* によるエタノール発酵

	無処理	180°C	200°C	220°C
初発グルコース濃度(%)	6.2	6.1	7.2	7.2
初発キシロース濃度(%)	1.5	1.4	1.6	0.8
エタノール濃度@48hr(%)	3.4	3.6	3.9	3.9
エタノール収率@48hr(%)	86.9	94.4	86.9	95.1

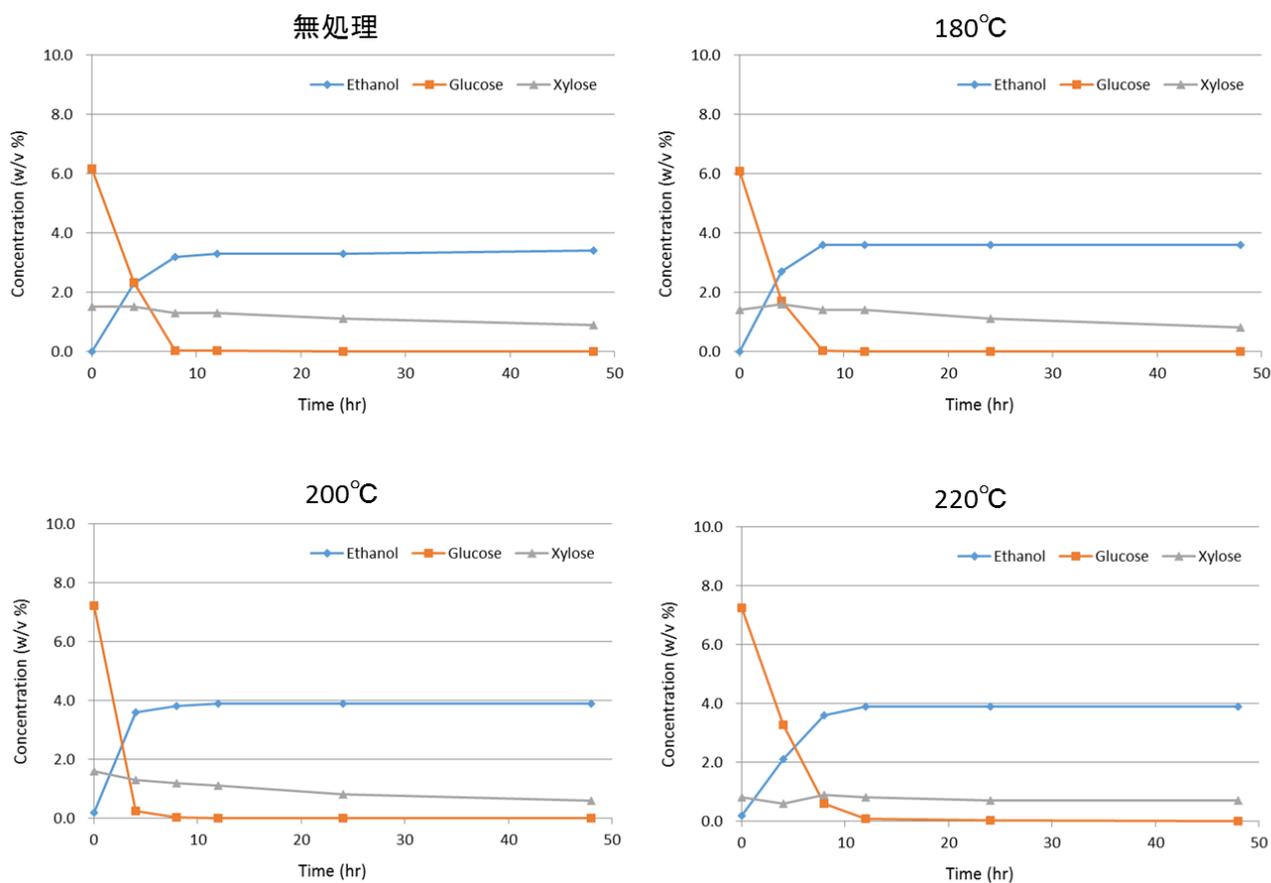


図 2-2-3-3-5 *S. cerevisiae* によるエタノール発酵の経時変化

2-2-3-3-3 *C. intermedia*によるエタノール発酵

2-2-3-3-3a 実験方法

200 mL 三角フラスコに、*C. intermedia* ペースト、ろ過滅菌処理済糖液、滅菌水を添加し、総液量 100 mL (単糖終濃度：約 10%)、菌体濃度：1% (dcw)になるように調整した。発酵開始時の pH=6.0 で水酸化カリウムを用いて調整した。30°C、120rpm で発酵を開始し、定期的に発酵液 1 mL を採取した。採取した発酵液を遠心分離し、上清を回収した。回収した上清中のエタノール濃度及び単糖濃度を、GC もしくは HPLC にて分析した。

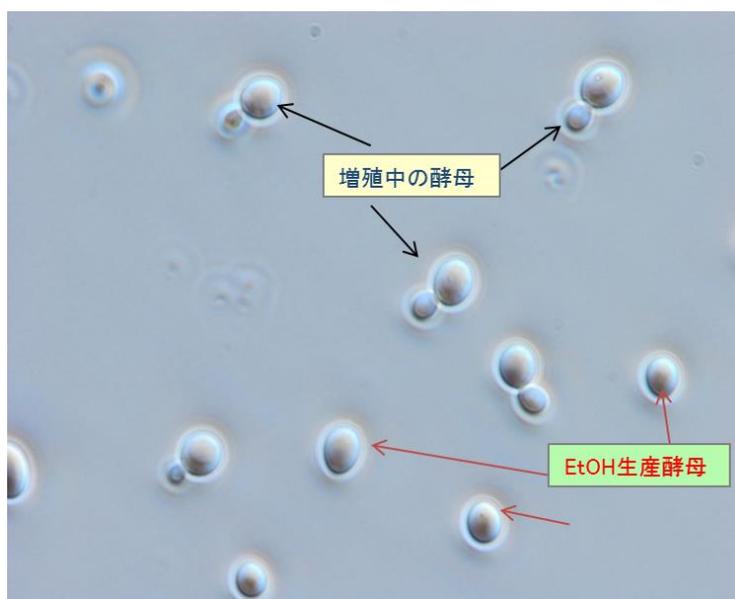


図 2-2-3-3-6 *C. intermedia*

2-2-3-3-3b 結果と考察

表 2-2-3-3-2 に爆砕パルプ糖化液を用いた *C. intermedia* によるエタノール発酵の結果を示す。無処理、180°C、200°C の 3 試験区においてエタノール発酵効率は 80% 以上であり、目標値をクリアした。しかしながら、48 時間での 220°C のエタノール発酵効率は 71.6% にとどまった。図 2-2-3-3-7 にエタノール発酵の経時変化を示す。220°C で爆砕したパルプ糖化液ではグルコース資化速度も小さい。220°C では 12 時間かかっているが、48 時間であれば問題なくエタノール発酵することが明らかとなった。初発培地の成分組成を表 2-2-3-3-3 に示す。220°C で爆砕したパルプの糖化液には 0.02% のフルフラール、0.13% の HMF が含まれており、これらの阻害物質が発酵効率を低下させたものと考えられる。キシロース資化率は 220°C で 28.5% であったが、無処理、180°C、200°C のキシロースは 48 時間ですべて資化された。

表 2-2-3-3-2 *C. intermedia* によるエタノール発酵

	無処理	180°C	200°C	220°C
初発グルコース濃度(%)	8.5	7.8	8.4	9.9
初発キシロース濃度(%)	2.0	1.7	1.7	1.1
エタノール濃度@48hr(%)	4.5	3.9	4.3	4.0
エタノール収率@48hr(%)	84.6	80.7	84.1	71.6

表 2-2-3-3-3 初発培地の成分組成

水蒸気爆砕 糖化液	グルコース (g/l)	キシロース (g/l)	フルフラール (%)	HMF (%)
無処理	85	20	0.00	0.01
180°C	78	17	0.00	0.01
200°C	84	17	0.00	0.01
220°C	99	11	0.02	0.13

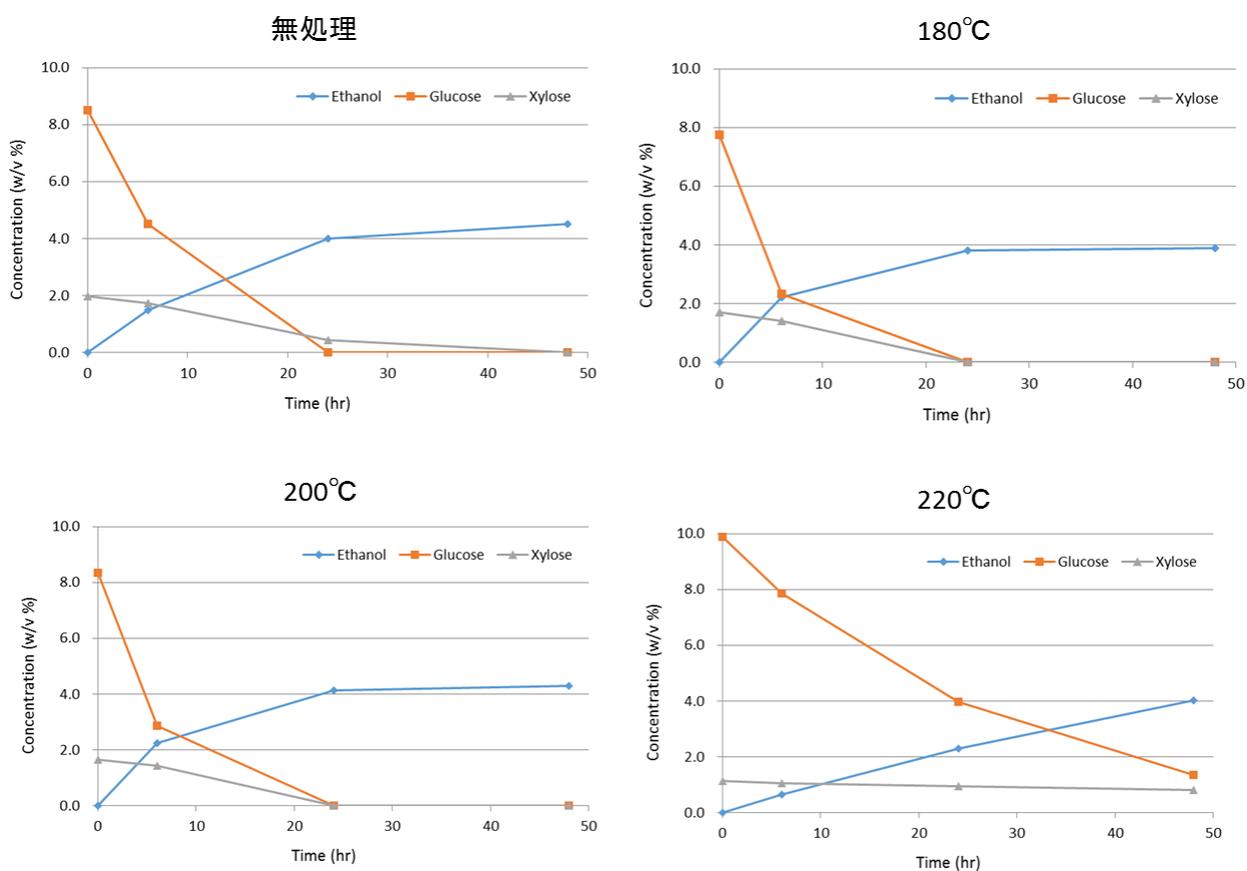


図 2-2-3-3-7 *C. intermedia* によるエタノール発酵の経時変化

2-2-3-3-4 まとめ

無処理、180°C、200°C、220°Cで処理した爆砕パルプを糖化させ、*C. intermedia* (nonGM0) と *S. cerevisiae* (GM0) の二種類の酵母で発酵試験を実施した。

キシロース資化性酵母 *C. intermedia* (nonGM0) は 220°C以上の爆砕パルプ糖化液で発酵阻害が発生するが、200°C以下であればエタノール変換効率 80%以上が可能であり、キシロースを全量資化できる。nonGM0 である *C. intermedia*は GM0 の *S. cerevisiae*と同等以上の発酵能を有していることを確認した。

参考文献

- 1) 中村嘉利ら、木材学会誌、Vol. 35, No. 7, p. 663-668(1989)、バイオマスの糖化と発酵のための爆砕の効果
- 2) Zhen dao Yu et al., Bioresource technology 121(2012)335-341, A real explosion: The requirement of steam explosion pretreatment

2-2-4 簡易事業性評価

2-2-4-1 原料パルプの賦存量及びコストの調査

生産コスト 80~90 円/L の第二世代バイオエタノールを成功させるための一番重要なことは原料の収集運搬費用をいかに抑えるかである。現状では輸入チップの価格は乾燥重量で約 18 円/kg 程度となり、4 倍則の原理を適用するとなると 1L のバイオエタノールを製造するために必要なチップの価格は 18 円×4=72 円となる。原料費ですでに 70 円を超えるため、前処理、糖化、発酵、蒸留に必要なトータルでの生産コストは 140 円/L を超えることとなる。コスト競争力を有するバイオエタノール原料を入手する方法として、チップというよりはむしろパルプの中に安価で調達できるものがあるのではないかと考えた。そこで、インドネシア・ジャカルタにおいて大規模製紙会社である Asia Pulp & Paper 社 (APP) と Pt. Korintiga Hutani 社 (KTH) にバイオエタノール生産に利用できる木質系バイオマスの調達の可能性についてヒアリング調査した。

Asia Pulp & Paper 社 (APP)

Asia Pulp & Paper (APP) 社はインドネシア最大の企業グループである Sinar Mas グループの中心企業で、世界有数規模の製紙/パルプ会社である。インドネシアと中国のグループ工場の紙・板紙生産能力は約 1,000 万トン/年、パルプ生産能力は約 485 万トン/年であり、さらに 200 万トン/年規模の新パルプ工場を建設中である (2017 年完成予定)。Sinar Mas グループ内の植林会社は、インドネシア国内に約 45 万ヘクタールの植林地を所有し、APP 社へアカシアおよびユーカリの原木、チップの供給を行っている。

APP 社は、2020 年までの Sustainability Roadmap を発表しており、環境に配慮した植林地の管理に限らず、工場の消費エネルギーの削減や持続性、供水量と排水処理の効率化、廃棄物の再利用などを積極的に取り組んでいる。2013 年、9 か所の工場の消費電力の約 50%が樹皮や黒液など「再生可能な燃料」から供給されている。パルプミルと製紙工場が隣接している場合、排出される樹皮や黒液などを再利用して設備が必要とする電力のほとんどを供給できる)。

APP 社のパルプミルでは製紙工場も効率化が進み、廃棄されるバイオマスはほとんどない。しかしながら、抄紙工程の廃水 (白水) 中に含まれるスラッジ (以下、廃棄パルプ) の主成分はセルロース系の固形分であり、これを回収しバイオエタノールの原料に使用する事は可能であると確認した。Riau 州にある工場では、年間 200 万トンのパルプが作られており、これの約 1-2%の量が廃棄パルプとして回収可能である (約 2 万トン)。現在、廃棄パルプは堆肥化もしくは燃焼処理されており、積極的に活用されているわけではない。含水している廃棄パルプの発熱量は 4~6MJ/kg 程度であり、この熱利用よりも有利である利用法・処理法であれば検討に値する。APP がパルプ原料として植林している樹種は主にアカシアであり、一部ユーカリ (*Eucalyptus pellita*) も植えている。これらを原料とする、現在のパルプの価格は USD \$700/ton であり、パルプ製品をそのままバイオエタノールの原料としては利用することは経済的困難である。

廃棄パルプはそのまま放置すると腐敗が進行するため、「貯蔵できる燃料」として排水スラッジをバイオエタノールに変換できることにメリットはあると考えている。まずは、実際に廃棄パルプを糖化発酵させ、エタノール収率を明らかにし、エネルギー収支、経済性などを確認したうえで、再度事業化について協議することとした。

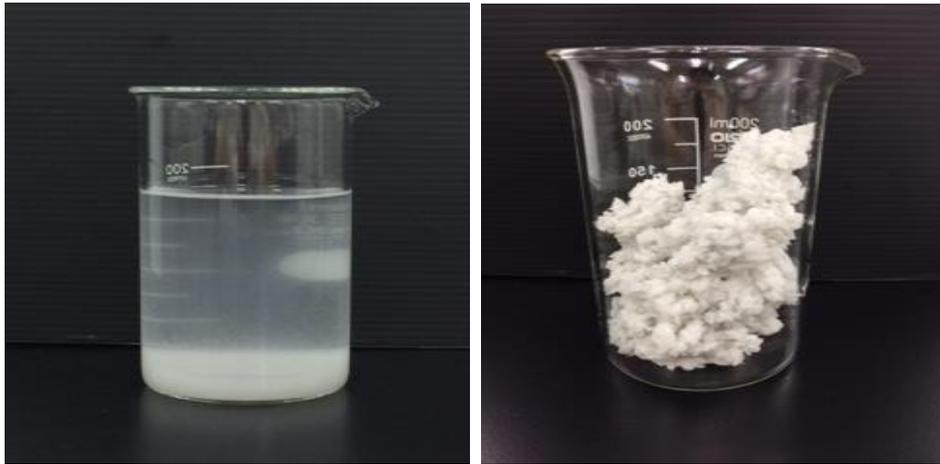


図 2-2-4-1-1 廃棄パルプ
(左：白水、右：脱水した廃棄パルプ)

Pt. Korintiga Hutani 社 (KTH)

Pt. Korintiga Hutani (KTH) 社は韓国財閥系企業グループの Korindo と日本の王子 HD のジョイントベンチャーである。中央カリマンタン州（ボルネオ島）に約 9.5 万ヘクタールの植林地を所有し、ユーカリやアカシアの製紙用チップ、原木の国内外への販売を中心として、工場由来の木質系廃材による発電やペレット生産、単板・製材の販売など、総合バイオマス事業を展開している。

KTH 社では、2014 年末から新しく売電事業を開始し、チップ工場から排出される樹皮を燃焼発電し、一月あたり 2,000-2,700 MWh の電力を売電している。現在では一番の高収益の事業であり、地域振興にも貢献できるため、今後も売電事業を拡大していく予定である。インドネシア政府は、積極的に電気供給量を 35,000 kW 上げる計画を発表したため、KTH 社としても売電事業を拡大するのに良いタイミングなため、売電事業に利用する焼却専用のバイオマス栽培も検討している（ユーカリの密植短伐期、ネピアグラス、柳、等）。電力は 1,100 Rp/kWh で売れるため、焼却用バイオマスをバイオエタノール生産に回す場合はこれ以上の利益が出なければならない。地域によっては発電事業の経済性が有利であり、バイオエタノール事業を展開することが困難であることを確認した。

2-2-4-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産プロセス

「2-2-3-4-1 原料パルプの賦存量及びコストの調査」より、大規模製紙工場の抄紙工程から発生する廃棄パルプが量的、コスト的に有望であると考えられる。大規模クラフトパルプ工場で排出される白水から回収される廃棄パルプはLBKPとほぼ同様の成分組成であることから、廃棄パルプの模擬原料としてLBKPを爆砕し、実際のプロセスの操作条件に近い糖化条件で、パルプに対する蒸気爆砕効果を検証する。そして、得られた実験データに基づき、パルプを用いた蒸気爆砕法によるバイオエタノール製造プロセスを構築する。

2-2-4-2-1 実験方法

① 原料

クラフトパルプ工場のLBKPを離解し、手動の圧搾機で含水率74%に脱水した。

② 爆砕条件

爆砕装置は日本電熱社製のバッチ式反応容積2Lを用いた。450g-wet（嵩容量2L、乾物重量117g）をリアクターに充填した。これまで用いていたものより漂白されたパルプであるLBKPを原料としたことから、処理条件は処理温度180℃、保持時間5分とした。圧力開放時は、リアクターに蒸気を吹き込んだ状態を維持したまま圧力を開放し、連続装置に近い反応条件を再現した。

③ 糖化条件

基質濃度20%（10g/50ml）、150rpm、50℃、4~6FPU/g-基質で糖化した。試験サンプルは無処理のLBKPと爆砕処理したLBKPの2種類である。酵素は最初に全量投入し、原料投入は4回に分けて投入した。投入は液化を確認して行った。



図 2-2-4-2-1 糖化サンプル
(左：原料パルプ、右：爆砕パルプ)

2-2-4-2-2 結果と考察

図 2-2-4-2-1 に酵素糖化による 0, 3, 11, 30 時間後の両サンプルの形態変化を示す。初発の基質濃度は 5w/w% であり、糖化開始から 3 時間後、爆砕パルプでは液化が認められた。一方、無処理のパルプでは液化は認められなかった。このことからパルプを爆砕することで液化が促進される

ことが定性的に確認された。

無処理のパルプでは液化が不十分であり、糖分析のためのサンプリングが困難であった。このため図 2-2-4-2-2 には爆砕パルプのみの糖化率の経時変化を示す。72 時間後の 4,5,6FPU/g-基質の還元糖量はそれぞれ 14.5、15.6、16.1w/v%であった。96 時間には 5FPU と 6FPU の糖化率は 16.2w/v%となり、糖化率 80%に達成した。

以上の結果より、廃棄パルプの模擬原料として LBKP を爆砕処理し、基質濃度 20w/w%、酵素使用量 5FPU/g-基質で糖化することで、糖化率 80%を達成できることを確認した。



15%_11hr



15%_30hr



20%_30hr



20%_48hr



5%_0hr



5%_3hr



10%_3hr



10%_11hr

図 2-2-4-2-1 無処理 LBKP と爆砕 LBKP の酵素糖化による形態変化

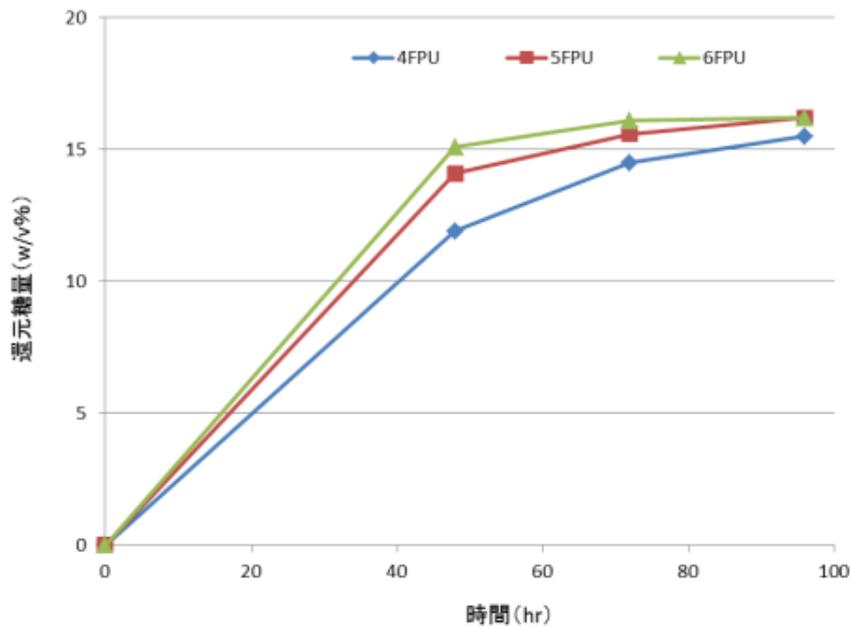


図 2-2-4-2-2 酵素使用量が爆砕 LBKP の糖化率に与える影響

2-2-4-2-3 プロセスフロー

これまでの結果などに基づく、パルプを用いた蒸気爆砕法によるバイオエタノール製造プロセスを図 2-2-4-2-3 に示す。まず、固形分率 30%程度の廃棄パルプは蒸気爆砕処理される。この爆砕処理によって酵素反応時間を大幅に短縮し、酵素の使用量を削減することが可能となる。また、廃棄パルプは廃水中から回収されるためコンタミネーションを引き起こす微生物が多く存在している。180℃の高温処理である蒸気爆砕はコンタミネーション防止にも有効である。爆砕処理されたパルプは基質濃度 20%、5FPU/g-基質、50℃で 72 時間糖化される。糖化反応後、糖化液は固液分離される。固液分離後の糖化残渣に加水し、再度固液分離する。この洗浄工程によって 95%の糖を回収する。

回収された糖化液は糖濃度 20%まで濃縮される。この濃縮工程の二つのメリットを有している。一つは、糖液を加熱濃縮することで雑菌繁殖を抑えることである。もう一つは、初発糖濃度が高いため、エタノール発酵が急激に進みエタノール濃度が大きくなるため雑菌汚染が生じないことである。並行複発酵は効率的である一方で、糖化・発酵が緩やかに進み、エタノール濃度が上昇するまでに 24 時間以上を要する。このため、雑菌の汚染リスクが付きまとい、最悪の場合、運転を停止しなければならない事態に陥る。本研究開発 PJ では、運転リスクの小さい濃縮工程を含むプロセスを採用する。

高濃度に濃縮された糖化液は、発酵効率 85%でエタノールに変換される。その後、蒸留工程を経て 95%エタノールが得られる。表 2-2-4-2-1 に示すプロセスの前提条件から表 2-2-4-2-2 に示す物質収支を得た。廃棄パルプ 1dry-t から 394L のバイオエタノールが生産される。

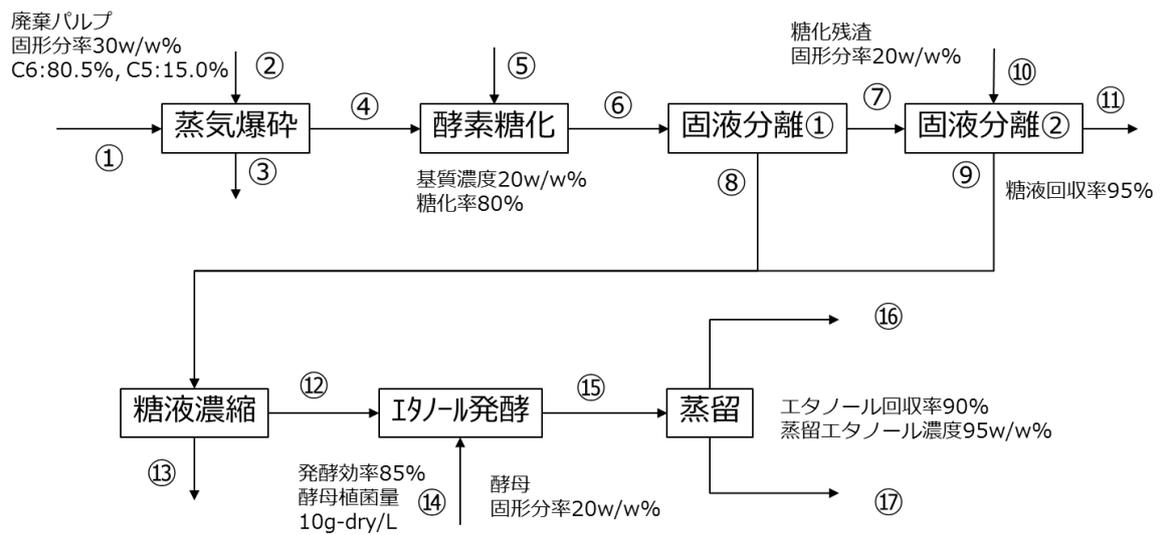


図 2-2-4-2-3 パルプを用いた蒸気爆砕法によるバイオエタノール製造プロセス

表 2-2-4-2-1 プロセスの前提条件

項目	値	単位
原料構成成分 (廃棄パルプ)		
原料処理量	1	dry-t/day
セルロース	0.805	
ヘミセルロース	0.15	
その他	0.045	
廃棄パルプ固形分率	0.3	
高密度	0.2	t-wet/m ³
爆砕プロセス		
リアクター嵩充填率	0.5	
爆砕処理物の固形分率	0.3	
反応容積	33.3	m ³
反応容積内の飽和蒸気	171.9	kg@180℃
糖化プロセス		
糖化温度	50	℃
糖化時基質濃度	0.2	
酵素使用量	5	FPU/g-基質
	0.033	m ³ /t-基質
FPU活性	150	FPU/ml
タンパク量	100	mg/ml(Bradford)
糖化率	0.8	
糖液濃縮プロセス		
濃縮後の糖濃度	0.2	w/w%
固液分離①		
糖化残渣固形分率	0.2	
固液分離②		
糖化残渣固形分率	0.2	
糖回収率	0.95	
エタノール発酵プロセス		
酵母植菌量	0.01	5wcw%=1dcw%
WetCell固形分率	0.2	
C6糖質化率	1	
C5糖質化率	1	
発酵効率	0.85	
蒸留プロセス		
処理温度	80	℃
エタノール回収率	0.9	
蒸留エタノール濃度	0.95	
エタノール比重	0.79	

表 2-2-4-2-2 プロセスの物質収支

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰
セルロース	0.805			0.805		0.161	0.161				0.161						
ヘミセルロース	0.150			0.150		0.030	0.030				0.030						
その他	0.045			0.045		0.045	0.045				0.045						
水	2.333	0.788	0.788	2.333	1.633	3.890	0.771	3.119	2.668	2.797	0.900	3.960	1.827	0.160	4.120	0.016	4.104
酵素液					0.033	0.033	0.007	0.027	0.005		0.002	0.032			0.032		0.032
ヘキソース						0.708	0.140	0.568	0.105		0.035	0.673			0.000		0.000
ペントース						0.132	0.026	0.106	0.020		0.007	0.125			0.000		0.000
エタノール															0.346	0.311	0.035
酵母														0.040	0.040		0.040
合計	3.333	0.788	0.788	3.333	1.667	5.000	1.180	3.820	2.797	2.797	1.180	3.992	1.827	0.200	4.538	0.328	4.210

2-2-4-3 エネルギー収支・GHG 分析

2-2-4-3-1 エネルギー収支・GHG の算出方法

「2-2-4-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産プロセス」で得られた物質収支と各工程の操作条件とエネルギー原単位、GHG 排出原単位から、投入エネルギー、産出エネルギー、GHG 排出量が算出される。

蒸気爆砕に必要なエネルギーは以下のように算出した。まず、含水率 70%の廃棄パルプを 180°Cまで昇温するのに必要なエネルギーを算出し、そのエネルギーを 180°Cの飽和蒸気で供給するものとして、必要蒸気量を算出した。糖化工程では当該液量を 50 度まで昇温するために必要な熱量を計算した。糖液濃縮、蒸留では当該液量を所定温度まで上げるのに必要な顕熱と、蒸発させるために必要な潜熱を合計して、各工程に必要な熱エネルギーを算出した。糖化・発酵での攪拌動力は単位時間当たりの電力原単位に反応時間と処理量を乗じて算出した。原単位固液分離での消費電力は表 2-2-43-1 に示す消費電力単位と処理量を乗じて算出した。表 2-2-4-3-1 に熱エネルギーと電力を算出するための原単位を示す。

表 2-2-4-3-1 エネルギー収支・GHG 分析のための原単位

熱収支計算緒元	
パルプ発熱量	17.5 MJ/kg
黒液発熱量	15.9 MJ/kg
エタノール発熱量	21.2 MJ/L
水比熱	4.2 kJ/kg・K
水潜熱	2.2 MJ/kg
木材比熱	1.25 kJ/kg・K
エタノール比熱	2.4 kJ/kg・K
エタノール潜熱	0.838 MJ/kg
ボイラー効率	0.9
発電効率	0.2
180°C飽和水蒸気の比エンタルピ	2.777 MJ/kg
消費電力計算緒元	
糖化時間	72 hr
発酵時間	36 hr
糖化発酵攪拌動力	0.2 kW/m ³
遠心分離動力	1.318 kWh/m ³

2-2-4-3-2 結果と考察

一日当たりの 1dry-t の廃棄パルプを原料とした場合、当該プロセスによってバイオエタノール生産量は 396L/dry-t である。産出エネルギーはバイオエタノールの発熱量 21.2MJ/L を乗ずることで、8,395MJ となる。一方、各工程で投入される熱エネルギー及び電力を表 2-2-4-3-2 に示す。投入熱エネルギーの合計は 8,049MJ であり、得られるバイオエタノール発熱量と同程度である。投入エネルギーのうち糖液濃縮が約 5 割を占めている。糖液濃縮で発生する蒸気の潜熱を蒸留に利用することができれば、投入熱エネルギーは大幅に改善することが可能である。

本研究開発 PJ では大規模クラフトパルプ製造工場から発生する廃棄パルプをバイオエタノール原料として想定している。パルプはチップを蒸解することで得られる。この蒸解工程で発生する黒液は多重効用缶によって濃縮される。濃縮黒液からエネルギー回収装置によって電力及び蒸気が生産される。黒液燃焼物は苛性化され、蒸解に必要なアルカリは再利用される。これらの工

程はすでに大規模製紙工場で十分実績があり、エネルギー自給プロセスとして優れている。黒液に含まれるリグニンを主成分とする固形分重量と得られるパルプの重量はほぼ等しい。つまり廃棄パルプ 1dry-t を製造する際に、黒液固形分は 1dry-t 発生している。この黒液は固形分率 70% 程度まで濃縮され、その発熱量は 15,000MJ であり、この一部を利用可能であれば、バイオエタノール製造で投入される熱エネルギー・消費電力は十分自給可能で、系外からの化石エネルギーの投入を必要としないと考えられる。

検討するプロセスにおいて蒸気・電力以外に系外から投入される主な化石エネルギー由来の資源として、薬品、酵素、酵母の栄養源が挙げられる。これらのエネルギー投入量及び GHG 排出量は少量であり、系外からの投入される化石由来の資源は少なく、GHG 削率 50%、EPR2 を満たす可能性が十分あると考えられる。

表 2-2-4-3-2 プロセスでの投入熱エネルギーと消費電力

工程	爆砕 (投入)	糖化	固液分離①	固液分離②	糖液濃縮	170-180発酵	蒸留	合計
熱エネルギー(MJ)	2,191	525			4,019		1,314	8,049
消費電力(kWh)		72	7	5		33		117

2-2-4-4 経済性評価

2-2-4-4-1 バイオエタノール製造コストの算出方法

バイオエタノール製造コスト (円/L-EtOH) は原料費、酵素費、減価償却費、酵母費、薬品費、労務費、一般管理費から構成される。以下に各費目の算出方法を示す。

原料費：廃棄パルプ単価 (円/kg) ÷ バイオエタノール収率 (L/kg)

酵素費：酵素使用量 (FPU/kg) × 酵素単価 (円/FPU) ÷ バイオエタノール収率 (L/kg)

減価償却費：プラント建設費 ÷ 償却年数 ÷ 年間バイオエタノール生産量

酵母費、薬品費、労務費：農林水産省、ソフトセルローズ利活用技術確立事業「柏の葉ソフトセルローズ利活用プロジェクト」より得られたデータをもとに推定する。

一般管理費：上記の費目合計の 10%

APP (アジア・パルプ&ペーパー) のペラワン工場やアジア・パシフィック・リソーシズ・インターナショナルの子会社でリアウ・アンダラン・パルプ&ペーパーのペカンバル近郊の工場などでは年間 2 万トンから 4 万トン程度の紙に適さない廃パルプが発生している。これらのパルプは製紙用には適さないがバイオエタノール製造用には十分転用が可能であり、3 円/kg 程度 (廃棄パルプの処理費相当) で入手可能であると考えられる。原料費はこの廃棄パルプ単価をバイオエタノール収率で除することで算出される。

酵素費は前節の検証実験で確認した酵素使用量 5FPU/g-廃棄パルプに「バイオマスエネルギー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」で試算された酵素単価 1.27 円/10³FPU を乗じたものを、バイオエタノール収率で除して算出される。

減価償却費はプラント建設費を償却年数 (15 年) と年間バイオエタノール生産量 (1 万 kL) で除することで算出される。プラント建設費は海外のブラジル第二世代及びエチオピア第一世代のバイオエタノールメーカーへのヒアリング調査、蒸気爆砕メーカー、蒸留装置メーカーへのプライベートコンタクトによって 1 万 kL 規模のパルプを原料とするバイオエタノール製造プラントの建設費を 33 億円と推定した。プラント建設費の内訳は爆砕前処理・糖化 15 億、発酵・固液分離等 10 億、蒸留 8 億である。このプラント建設費は製紙工場の併設を想定しており、熱電供給に必要なボイラー及び発電設備は含まれていない。また、自製酵素の設備として 100m³ の培養槽が三基必要であり、これらの建設コストは 25 億円とした。

酵母費、薬品費、労務費は農林水産省ソフトセルローズ利活用技術確立事業「柏の葉ソフトセルローズ利活用プロジェクト」(平成 21~24 年度) (以下、ソフセル事業) での実証プラント実証結果から得られたデータをもとに推定した。ソフセル事業で酵母費、薬品費、労務費はそれぞれ 9.0、12.0、8.4 円/L-EtOH と算出されている。酵母費は酵母培養のための培地コストが多くを占めている。当該 PJ では 3 回酵母を回収・再利用することとし、酵母費を 3.0 円/L-EtOH とした。ソフセル事業の薬品費は蒸解に要するアルカリ薬品が主だったものであり、廃棄パルプを爆砕する当該プロセスで必要となる薬品は糖化・発酵時の pH 調整用の酸・アルカリであり、2.0 円/L-EtOH と推定した。労務費はソフセル事業で得られた 8.4 円/L-EtOH を適用する。一般管理費は上記費目合計の 10%を計上した。

2-2-4-4-2 結果と考察

表 2-2-4-4-1 に算出されたバイオエタノール製造コストを示す。本研究開発結果にもとづくバイオエタノール製造コストは 83.4 円/L-EtOH であった。一般的にはバイオエタノールの製造コストのうち、原料費、設備償却費、酵素費の順に割合が大きいと考えられている。しかしながら、当該PJでは廃棄パルプを原料としており、原料費の占める割合は小さい。最も大きな割合を占める減価償却費には自製酵素を生産するための建設コストも含まれている。Biomaterial in Tokyo では NEDO「バイオマスイエネジー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」を委託しており、酵素の生産性向上に注力しており、建設コスト削減が期待される。次に大きな割合を占める酵素費は爆砕前処理の最適化による酵素添加量削減や、上記PJ成果による酵素製造単価削減によって酵素費を低減できる可能性がある。

表 2-2-4-4-2 に酵素使用量が 5FPU/g-基質から 3FPU/g-基質にまで低減できた場合のバイオエタノール製造コストを示す。酵素使用量を削減できれば 76.3 円/L-EtOH まで低減することが可能である。以上より、コスト競争力を有するプロセスを構築できる可能性が確認された。

表 2-2-4-4-1 バイオエタノール製造コストの試算

項目	値 (円/L-EtOH)	備考
原料費	7.6	
酵素費	16.1	5FPU/g
減価償却費	38.7	償却年数15年
酵母費	3.0	3回再利用
薬品費	2.0	蒸解薬品不要
労務費	8.4	4組3交代
一般管理費	7.6	一般管理費10%
合計	83.4	

表 2-2-4-4-2 酵素使用量削減によるバイオエタノール製造コスト

項目	値 (円/L-EtOH)	備考
原料費	7.6	
酵素費	9.7	3FPU/g
減価償却費	38.7	償却年数15年
酵母費	3.0	3回再利用
薬品費	2.0	蒸解薬品不要
労務費	8.4	4組3交代
一般管理費	6.9	一般管理費10%
合計	76.3	

2-2-5 システム評価

2-2-5-1 原料調査

本事業ではパルプ残渣を中心に検討を進めており、これまでの章でパルプ残渣を用いたバイオエタノール生産の可能性を論じてきた。一方で、事業化に当たって生産原料の確保は重要な課題となる。パルプ残渣の供給は今後の紙需要の変動がリスク要因となり得ることから、パルプ以外にも安価な原料を確保できることが望ましい。このことから、パルプ残渣以外にも四季を通じて安定供給されるセルロース系廃棄物を調査した。この結果、工場生産により年を通じて安定供給されているキノコの廃培地(廃菌床)と、近年、コンビニエンスストアでの提供により需要が増えたコーヒーの残渣(コーヒー粕)に着目した。一方でキノコは多糖を消費して生育することから、バイオエタノール原料としての残存多糖を把握する必要がある。またコーヒー粕は焙煎によって多糖成分の消失が懸念される。

こうした懸念のないセルロース系廃棄物として製紙工程で出てくるペーパーラッジが挙げられる。これは抄紙工程で抜ける微細な繊維からなり、糖化原料としては好適である一方、製紙工程で用いられる薬剤を含む。

こうしたことから、これら原料バイオマスに対して多糖成分分析を行い、原料としての可能性を調査した。

2-2-5-1-1 原料と分析の方法

NREL 法に基づき硫酸処理後のバイオマスの 5 単糖量(Arabinoses, Galactose, グルコース, キシロース, Mannose)を HPLC で分析することで糖組成を算出する。具体的な手順は以下の通り。

秤量済み試料 0.5 g をガラス乳鉢に投入し、72%硫酸液 8ml を加え試料を潰して 1 時間湿潤させる。300 ml の蒸留水で内容物を洗いながら 500 ml 容量三角フラスコに移しオートクレーブで 121°C, 60 min 処理する。処理後のサンプル上清液 5 ml に対して 0.5 g の CaCO₃を加えて中和したものを硫酸処理サンプルとして分析する。サンプル分析は HPLC ポストカラム法の糖検出で行い、その糖分析条件は以下の通りとした。

カラム ; Dionex CarboPac PA1

検出器 : 電気化学検出器 ED-40

分離液 : 蒸留水

流速 : 1.0 ml/min

ポストカラム液 : 流速 0.5 ml/min の 0.15 M NaOH

2-2-5-1-2 結果と考察

分析結果を図 2-2-5-1-1 に示す。

ペーパーラッジは極めて高い多糖含量を有しており、安定的かつ安価に入手できれば有望な原料である。一方で、ペーパーラッジには平滑材としてカルシウムが多量に含まれており、酵素糖化を阻害する。コーヒー粕、廃菌床は安価であり、かつ平滑材等の添加は行われなことから酵素糖化に悪影響を与えない。

今回は廃パルプ以外にセルロース系廃棄物として廃菌床とコーヒー粕を主に原料として検討を進めていくこととした。

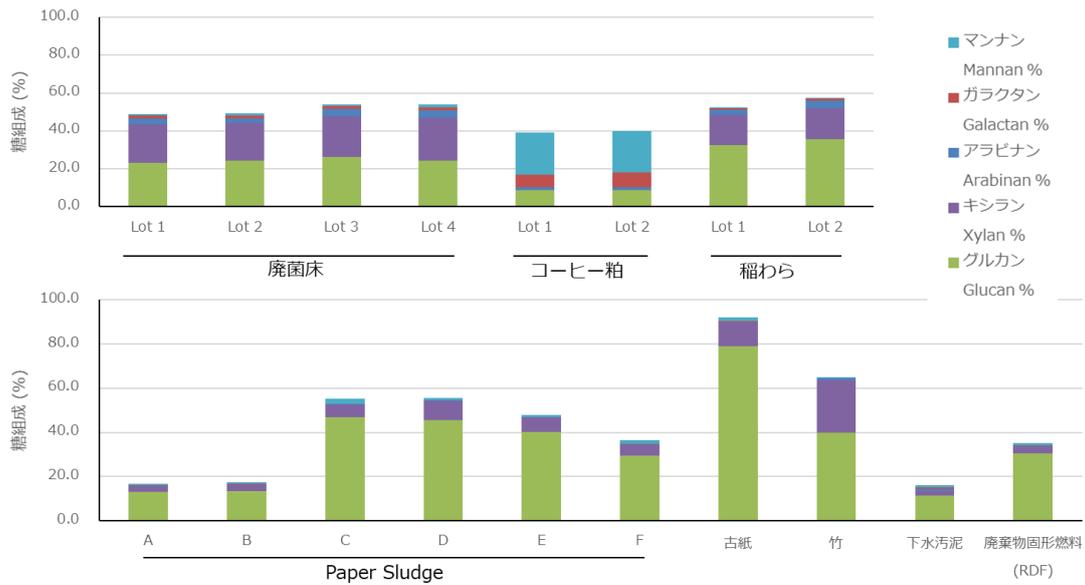


図 2-2-5-1-1 各バイオマスの繊維成分分析結果

2-2-5-2 エネルギー・GHG 評価

図 2-2-5-2-1 に各種原料のバイオエタノール製造プロセスの化石エネルギー収支を示す。化石エネルギー収支、GHG 削減効果の計算に用いた主な前提条件を以下に列挙する。

- 連続水蒸気爆砕装置からの排蒸気は蒸留工程で利用。（爆砕メーカーにも実施例を確認済み）
- 廃菌床、コーヒー粕をバイオエタノール原料とした場合にプロセスから発生する残渣発生量は、バイオマスボイラーで熱エネルギーを回収する。
- 原料輸送に関する値は、各種原料の輸送距離、嵩密度、バイオエタノール収率、ダンプカー燃費・積載容積から算出した。
- プラント建設、酵母前培養の窒素源、PH 調整の薬品、製品輸送からの GHG 排出量は既往研究より少量であることから除外した。
- 二酸化炭素排出係数：電気 533g-CO₂/kWh、A 重油 87.3g-CO₂/MJ、ガソリン 83.5g-CO₂/MJ
- 化石エネルギー収支 = 製造されたバイオエタノールの発熱量 / プロセス内で投入される熱及び電気エネルギー
- GHG 削減率 = (バイオエタノールで代替されるガソリンの GHG 排出量 - システムで排出される GHG 排出量) / バイオエタノールで代替されるガソリンの GHG 排出量

全ての原料においてエネルギー収支は 2.0 以上であり、GHG 削減効果も 50% 以上が達成可能であることを確認した。廃菌床、コーヒー粕から回収される熱エネルギーはプロセスで要する熱エネルギーを上回っていることから、余剰となる残渣を固形燃料ペレットなどで系外に供給できる場合は更に GHG 削減効果が向上すると考えられる。

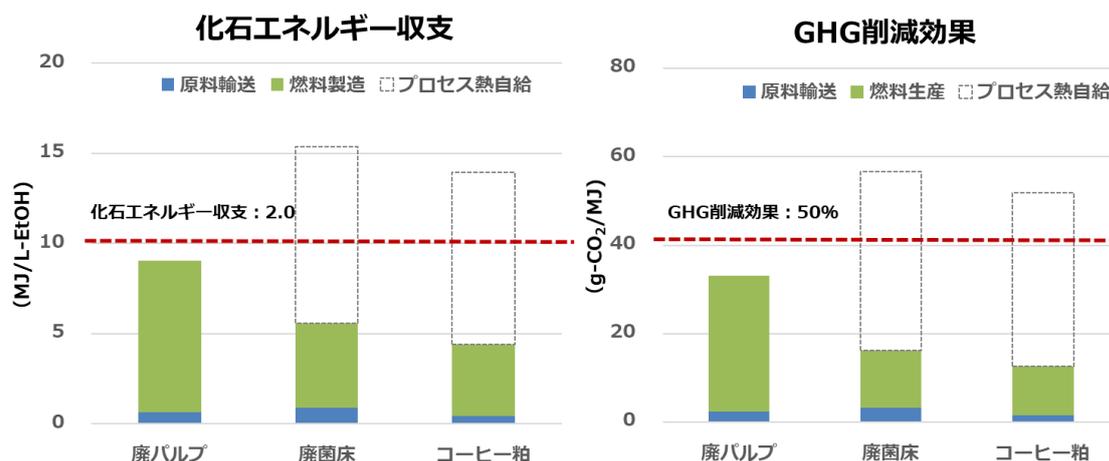


図 2-2-5-2-1 各種原料のバイオエタノール製造プロセスの化石エネルギー収支、GHG 削減効果

2-2-5-3 経済性評価

バイオエタノール生産コストは原料費、設備償却費、設備運転費、その他変動費から構成される。以下にそれぞれの費目について記載する。

原料費は以下の費目から構成される。それぞれの費目について算出方法を示す。

原料費：

原料調達費（円/kg-dry）にバイオエタノール収率（L/kg-dry）を乗じることで原料費（円/L）を算出する。RPF 事業者数社へのヒアリング調査より、首都圏で1万 kL 相当の難再生古紙を調達可能、調達コストは2~3 円/kg 程度となることが明らかとなった。また、実験により難再生古紙1 t-dry から250L 以上のバイオエタノールを生産可能であること確認したことから、2018 年度までの原料費は27.8 円/L と算出していたが、各種調査及び実験結果より10 円/L 程度まで低減できることを確認した。

酵素費：

当該PJ のセルラーゼ酵素は酵素 A（ベース酵素）と酵素 B（アクセサリ酵素）から構成される。これまでにBITS 「可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」の成果をもとに酵素費10 円/L を達成できることを確認した。本PJ にて酵素 A に関してはバイオエタノール製造プロセスから発生する糖化液を用いることで活性を向上させつつ、酵素産生微生物の培地を35%程度削減できることを確認した（図2-2-5-3-1）。また、酵素 B に関しては菌株の改良により培養液あたりの活性を3 倍程度向上させることに成功した（図2-2-5-3-2）。これらの成果を組み合わせることで、酵素費は10 円/L から6.5 円/L 程度まで低減させることが可能である。

酵素A 製造コスト低減戦略（“培地単価の低減による培養コストの低減”）

- ・ メイン培地にコーンステープリカー（CSL）を利用
- ・ 流加培地にバイオマス糖化液（未分解基質・セロピオース含有）を利用



図 2-2-5-3-1 酵素 A の培地コスト低減効果

酵素B 生産コスト低減戦略 (“株の改良による培養液当たりの活性向上”)

- マルチカセットの複座組み込み

分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe*

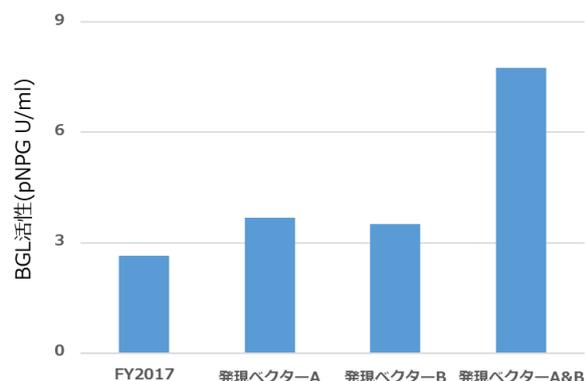
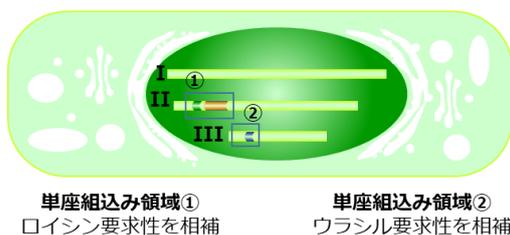


図 2-2-5-3-2 菌株改良による酵素 B の培養液あたりの活性向上効果

酵母費：

糖化発酵液あたりに投入する菌体量、菌体生産のための培地（廃糖蜜、コーンステーパーリカー）コストを乗じて、当該費目を算出した。

その他：

本費目には pH 調整剤、消泡剤が含まれる。それぞれの薬品の消費量に単価を乗じてコストを算出した。

設備償却費はプラント建設費を償却年数と年間バイオエタノール生産量で除することで 1L あたりの設備償却費を算出する。年産 1 万 kL 規模のセルロース系廃棄物を原料とするバイオエタノール製造プロセスのプラント建設コストを積算し、0.6 乗則を用いて任意の生産規模のプラント建設費を外挿した。プラント建設費は 2018 年度までの技術開発成果を反映した費用と 2019 年度の成果を適用した 2 種類のプラント建設費を示す。2018 年度までの成果に基づくプラント建設費と 2019 年度に得られた成果に基づくプラント建設費を表 2-2-5-3-1 に示す。上記のプラント建設費削減効果は以下の開発成果によるものである。

・液化・糖化・発酵設備

バイオエタノール収率を低減させることなく、SHP から dSSF に変更することで反応時間を大幅に削減し、プラント設備容積を大幅に削減した。

～2018 年度：液化 2hr、糖化 48hr、発酵 72hr

→2019 年度：液化 15min、糖化 12hr、発酵 48hr

・酵素生産設備

ベース酵素の生産サイクルを短縮し、アクセサリ酵素の培養液あたりの活性を

2019 年度：ベース酵素生産サイクル 8 日から 6 日に短縮、アクセサリ酵素の培養液あたりの活性が 3 倍程度向上することを確認した。

表 2-2-5-3-1 プラント建設費

(単位：億円)

～2018年度までの成果		2019年度の成果を適用したケース			
		プラント新設		廃水処理・CHP共用	
①機械装置費	76.2	①機械装置費	68.5	①機械装置費	41.1
原料受入	4.0	原料受入	4.0	原料受入	4.0
爆砕設備	9.1	爆砕設備	9.1	爆砕設備	9.1
液化・糖化・発酵設備	6.7	液化・糖化・発酵設備	4.7	液化・糖化・発酵設備	4.7
蒸留・脱水設備	8.3	蒸留・脱水設備	8.3	蒸留・脱水設備	8.3
酵素生産設備	16.5	酵素生産設備	10.8	酵素生産設備	10.8
廃水処理・CHP設備	27.4	廃水処理・CHP設備	27.4	廃水処理・CHP設備	-
共通設備	4.2	共通設備	4.2	共通設備	4.2
②工事費	22.9	②工事費	20.6	②工事費	12.3
据付・土建・配管・架構・計装		据付・土建・配管・架構・計装		据付・土建・配管・架構・計装	
③一般管理費	7.9	③一般管理費	7.1	③一般管理費	4.3
①&②の8%		①&②の8%		①&②の8%	
合計 (①+②+③)	107.0	合計 (①+②+③)	96.2	合計 (①+②+③)	57.7

設備運転費は以下の費目から構成される。それぞれの費目についての算出方法を示す。

光熱費：

本プロジェクトで開発しているセルロース系廃棄物からのバイオエタノール製造プロセスは化石エネルギー収支 2.0 以上、GHG 削減率 50%以上を担保するために、プロセス残渣からバイオマス CHP 設備によってプロセスに必要な電気と熱を自給することを志向している。既に 2018 年度までの実証成果よりプロセスに必要な熱と電気は自給可能であることを確認していることから、本費目はゼロとした。

更に、既設の製紙工場や焼却場といったバイオマスが発生・集積される場所にバイオエタノール工場を併設する場合を検討した。この場合、既設の廃水処理・CHP 設備を活用できるため、そのコストを削減することが出来る。

用水費：プロセスに必要な用水量に単価を乗じて、当該費目を算出した。

廃棄物処理費：プロセスで発生する廃棄物重量に単価を乗じて、当該費目を算出した。

保守点検費：

プラント建設費の 2%をバイオエタノール生産量で除して、1L あたりの保守点検費を算出した。

その他変動費は以下の費目から構成される。

人件費：下表の計算式より、1、3、5 万 kL の人件費を算出した。

1及び3万kL/y						5万kL/y							
エタノールプラント						エタノールプラント							
労務費	万円/人年	人・班	人数	労務費	万円/人年	人・班	人数	労務費	万円/人年	人・班	人数		
A	480 × 2 × 4		8	A	480 × 2		2	A	480 × 3 × 4	12	A	480 × 2	2
B	720 × 4		4	B	720 × 1		1	B	720 × 4	4	B	720 × 2	2
C	960 × 2		2					C	960 × 3	3			
合計	8,640		14		1680		3	合計	11,520		19	2400	4
プラント作業員		17 名		プラント作業員		23 名							
人件費		10,320 万円		人件費		13,920 万円							

製品輸送費：ヒアリング調査により実績値を採用した。

その他：支払金利、租税公課、借地代、菌株ロイヤリティなどが含まれる。

表 2-2-5-3-2 にバイオエタノール生産コストを示す。各種方策（原料の多様化による生産規模拡大、プロセス簡略化による建設コスト削減、酵素生産/利用プロセスの改善）を組み合わせることで、3 万 kL 規模で生産コスト 70 円/L を達成できる可能性を確認した。

SPC（特別目的会社）の PJ ファイナンス期間を 8 年とし、本事業で得られた開発成果を適用することで、130 円程度の販売コストとなる。これは輸入バイオエタノールに対して 2 倍程度の価格となるが、経済産業省資源エネルギー庁の「エネルギー供給事業者による非化石エネルギー源の利用及び化石エネルギー原料の有効な利用の促進に関する法律」において、対化石燃料 GHG 排出量が 10%未満であるバイオエタノールについては、2 倍のバイオエタノールと同等と扱われ、この GHG 削減効果を達成する事で採算性のある事業となる。

METI の政策にも寄与できる事業成立条件を明らかにした。

表 2-2-5-3-2 バイオエタノール生産コスト

(単位：円/L)

	～2018年度						2019年度の成果を適用したケース												備考	
	償却年数：15年						償却年数：15年						償却年数：8年							
				廃水処理・CHP共用			プラント新設			廃水処理・CHP共用			プラント新設			廃水処理・CHP共用				
	1万kL	3万kL	5万kL	1万kL	3万kL	5万kL	1万kL	3万kL	5万kL	1万kL	3万kL	5万kL	1万kL	3万kL	5万kL	1万kL	3万kL	5万kL		
プラント建設費 (億円)	108	208	283	68.6	133	180	96	186	253	58	112	152	96	186	253	58	112	152	1万kLをベースに0.6乗割	
原材料費	原料費	27.8	27.8	27.8	27.8	27.8	27.8	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	原料価格：5円/dry-kg、エタノール収率：0.18L/dry-k → 原料価格：2円/dry-kg、エタノール収率：0.2L/dry-kg	
	酵素費	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	プロセス糖液の利用によって35%コストカット	
	酵母費	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	酵母生産コスト	
	その他	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	pH調整剤、消泡剤など
設備償却費	64.6	41.6	33.9	41.2	26.5	21.6	57.7	37.2	30.3	34.6	22.3	18.2	108.2	69.7	56.9	64.9	41.8	34.1	(0.9*建設費)/生産量/償却年数	
設備運転費	光熱費	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	蒸気、電力は自給
	用水費	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	工業用水：2.28円/m3	
	廃棄物処理費	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	焼却灰処理費：10,000円/t	
	保守点検費	21.5	13.9	11.3	13.7	8.8	7.2	19.2	12.4	10.1	11.5	7.4	6.1	19.2	12.4	10.1	11.5	7.4	6.1	プラント建設費の2%
その他変動費	人件費	10.3	3.4	2.8	10.3	3.4	2.8	10.3	3.4	2.8	10.3	3.4	2.8	10.3	3.4	2.8	10.3	3.4	2.8	1～3万kL：プラント作業員17名、5万kL：23名
	製品輸送費	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	オエオン海上輸送実績値
	その他	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
生産コスト	153.2	115.7	104.8	122.0	95.6	88.4	122.8	88.5	78.7	92.0	68.7	62.5	173.3	121.1	105.2	122.3	88.2	78.4	原材料費+設備償却費+設備運転費+その他変動費	
一般管理費	13.3	11.1	10.6	12.1	10.4	10.0	9.8	7.7	7.3	8.6	7.0	6.7	9.8	7.7	7.3	8.6	7.0	6.7	OPEXの15%	
販売コスト	166.5	126.8	115.4	134.1	105.9	98.4	132.5	96.2	86.0	100.6	75.6	69.2	183.0	128.8	112.5	130.9	95.2	85.1	製造コスト+一般管理費	

2-2-6 実証プラントの設計・建設

商用規模生産として、本プロジェクトでは当初より製紙工程から出てくるパルプ残渣を想定している。このことから、標準原料には、模擬パルプ残渣としてパルプの主要製品である LBKP (Leaf Bleached Kraft Pulp : 広葉樹クラフトパルプ) を選定した。

また、これまで得られた知見を元に、以下の通りのプロセスを設計した。

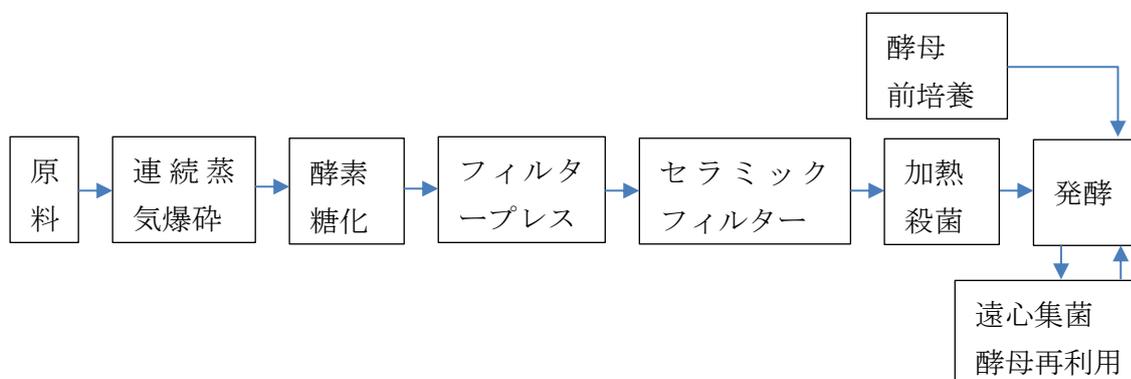


図 2-2-6-1 実証プラントのプロセスフロー

2-2-6-1 プラント設計・装置選定

今後想定する商用プラントでの運転に資するデータを取るために、実証プラントの生産規模を 99.5%バイオエタノールで 100L/day とした。これまでの知見から、爆砕・糖化工程と発酵工程を並行する事で、2 バッチ/週の運転が可能である。このことから、LBKP を 20%仕込んだ場合、99.5%バイオエタノール換算で 350L/バッチのバイオエタノール生産が可能となるように各機器の仕様を決定した。

連続水蒸気爆砕装置については、世界的にアメリカ合衆国の Andritz 社とスウェーデンの Valmet 社の 2 社がシェアを占めている。一方で、装置のメンテナンス、補修部品の調達を考えると国内メーカーであることが望ましい。そこで国内水蒸気爆砕装置メーカーを当たったが、各社とも開発しているのはバッチ式のみで連続水蒸気爆砕装置はノウハウがなく、対応は不可との回答であった。水蒸気爆砕装置メーカー以外では、主に解繊機を改良した連続爆砕装置を謳う製品は国内に存在する。これはスクリープレスで加圧し、その後開放する事で、水蒸気による水熱反応はないものの、爆砕処理と同様の効果を謳うものである。そこでサンプルを送ってテストを依頼したが、水熱処理部分がないためか、水蒸気爆砕装置で得られる効果は認められなかった。

本事業では多様な原料に対応できることが重要であることから、スクリーフィーダーではなくロックホッパーによる原料供給方式を有する Andritz 社の製品を選定した。

2-2-6-2 蒸気爆砕設備

2-2-6-2-1 原料投入装置

概要：原料の入ったバケットを垂直に持ち上げ、爆砕装置投入口の上で反転させることで原料の投入を行う。

基数：1基

方式：タンブルリフト

一バッチ搬送量：600L



図 2-2-6-2-1 ロックホッパー装置全景

図 2-2-6-2-2 原料搬送バケット

2-2-6-2-2 爆砕装置の仕様

概要：バイオマスを中圧蒸気で水熱処理をし、その後急激に大気圧に開放することでバイオマスの微細構造を破碎し、リグニン等で覆われている多糖繊維に酵素がアタックしやすい構造にする。

基数：1基

原料 1.2t-BD/batch

運転方式：連続蒸気爆砕

原料投入：ロックホッパー(ダブルダンパー)

処理量：2.4t-BD/24時間

処理温度：180℃～200℃

処理時間：8分～22分



図 2-2-6-2-3 原料受け入れ口

下部一面に原料供給用のスクリーンコンベアが4基ならんでいる。



図 2-2-6-2-4 ロックホッパー

3段のスライドシャッターを備えている。上中のシャッターを開けて原料をロックホッパーに取り込む。その後全てのシャッターを閉じた状態でロックホッパーに蒸気を注入して反応槽と均圧させる。その後下のシャッターを開けて均圧された原料を反応槽に導入する。原料導入後、シャッターを閉めてロックホッパーを大気圧まで減圧し、上中のシャッターを開けて原料を取り込む。これを繰り返すことで、反応槽の圧力を下げることなく連続的に原料を導入することが出来る。



図 2-2-6-2-5 反応槽

180℃～200℃の水蒸気に所定時間原料を晒し、水熱処理を行う。



図 2-2-6-2-6 ブローライン

水熱処理が終了した処理物を 10A もしくは 15A の配管に導入し、その後段に接続された 600A の配管へと放出することで爆砕反応を起こす。



図 2-2-6-2-7 移送管

爆砕処理物は蒸気の残存圧力で架構 3 階の高さのブローサイクロンへと送り込まれる。



図 2-2-6-2-8 ブローサイクロン

爆砕処理物を円筒に偏心して吹き込む事で遠心力を発生させ、蒸気と処理物を分離する。

写真は上部(爆砕物導入部)と下部。

ブローサイクロンの真下には糖化槽が直結されており、蒸気と分離された爆砕処理物は直接糖化槽へと落下する。

2-2-6-3 糖化～発酵設備

2-2-6-3-1 酵素糖化槽

概要：ブローサイクロンから落ちてきた爆砕処理バイオマスと糖化酵素を混和し、糖液を作成する。爆砕処理バイオマスは高温かつ浮上性が高いので、糖化槽には十分な冷却能力と、糖化液中にバイオマスを沈下させる攪拌翼を選定する必要がある。

基数：1基

容積：8 m³ / 設計液量：6kL

攪拌方式：Hi-F ミキサー(綜研テクニクス株式会社)、5～50rpm

攪拌動力：PV=1 以上(6kW 以上)

温度制御：ウォータージャケット方式(クーリングタワー/電気温水切り替え)

センサー類：pH、温度



図 2-2-6-3-1 糖化槽外見と Hi-F 攪拌羽

2-2-6-3-2 フィルタープレス

概要：糖液から糖化残渣を取り除く。

基数：1基

ろ過面積：30.4 m²

ろ過容積：418 L

フィード圧力：0.4MPa

圧搾圧力：0.7MPa

株式会社マキノ製 MDF710 x 38 室を選定した。



図 2-2-6-3-2 装置外観

2-2-6-3-3 セラミックフィルター

概要：フィルタープレスを抜けてきた初期ろ液の残渣を取り除く。

基数：1基

ろ過方式：クロスフロー型

セラミック膜：モノリス型、孔径1mm

ろ過面積：0.34 m²/本、6本

その他：CIP



図 2-2-6-3-3 装置外観

2-2-6-3-4 発酵槽

概要：バイオマス糖化液に非遺伝子組み換え酵母で発酵させてバイオエタノールを得る。発酵に必要な30℃から35℃の温度を維持する必要があるが、発酵熱が発生するため、保温と冷却を自動で切り替えながら温度維持をする必要がある。

基数：2基

容積：5 m³ / 設計液量：3.5kL (2基で7kL)

攪拌方式：6枚フラットタービン、5～50rpm

攪拌動力：PV=1以上(3.5kW以上)

温度制御：ウォータージャケット方式(チラー装置)

センサー類：pH、温度、DO、排ガス二酸化炭素

*排ガス二酸化炭素測定装置は、1基を発酵槽2基共通で使用する。



図 2-2-6-3-4 発酵槽外観

2-2-6-3-5 酵母前培養槽

概要：発酵に使用する酵母を、フラスコから発酵槽での発酵に必要な700Lまで増殖させる。

基数：1基

容積：1 m³ / 設計液量：700L

攪拌方式：6枚フラットタービン、8~85rpm

攪拌動力：0.75kW

温度制御：ウォータージャケット方式

センサー類：pH、DO、温度



図 2-2-6-3-5 酵母前培養槽外観

2-2-6-3-6 遠心分離機

概要：発酵液から酵母を分離し、再利用する。

基数：1基

処理量：7kL/2時間

形式：ディスク型

回転数：6500rpm

サイトウ式超遠心分離機 ADS-8000CS 型を選定した。



図 2-2-6-3-6 装置外観

2-2-6-4 蒸留・脱水～バイオエタノール改質装置

2-2-6-4-1 蒸留装置

概要：発酵液を蒸留し、30%のエタノール蒸留液を得る。

基数：1基

蒸留方式：薄膜真空蒸留装置



図 2-2-6-4-1 装置外観

糖濃度を上げる試験を行うために導入した濃縮装置を転用した。

2-2-6-4-2 エタノール脱水装置

概要：30%以上の蒸留バイオエタノールを膜脱水し、90%以上のエタノール濃度を得る。

基数：1基

ろ過方式：クロスフロー型

セラミック膜：疎水膜一基、親水膜一基

処理量：99%以上のバイオエタノールを 30L/日



図 2-2-6-4-2 装置外観

青いバケツの隣に断熱材を巻かれて縦に細長く 2 本設置されているのが脱水カラム。

奥側のカラムが疎水カラム、手前のカラムが親水カラム。

疎水カラムは水分に強いが高エタノール濃度(低水分量)での脱水速度が低く、
親水カラムは高エタノール濃度での脱水速度が高いが、耐水性が低い。

そこで、疎水カラムでエタノール濃度 60%まで脱水し、その後、
親水カラムでエタノール濃度 90%以上を得る。

2-2-6-4-3 バイオエタノール改質装置

概要：

現在、バイオエタノールは、ETBE (エチル・ターシャリー・ブチル・エーテル) に変換され、その ETBE を一定量混合したガソリンが供給されている。ETBE を製造するためには、石油系ガスであるイソブテンが必要であり、環境性・経済性に課題が残されている。これまでにバイオエタノールをエチレン化、オリゴマー化することで、従来の炭化水素燃料と任意の割合で混合可能で、エンジンの改良やインフラの変更なしに使用できるドロップイン燃料 (Drop-in Fuel) に変換できる可能性が示されている。

今回は、ASTMD7566 ANNEX 5 ドロップイン燃料規格に適合したプロセスを有する Byogy 社の設備を導入した。

処理量：80L/日・バイオエタノール

生産量：30L/日・ケロシン+7.5L/日・ディーゼル

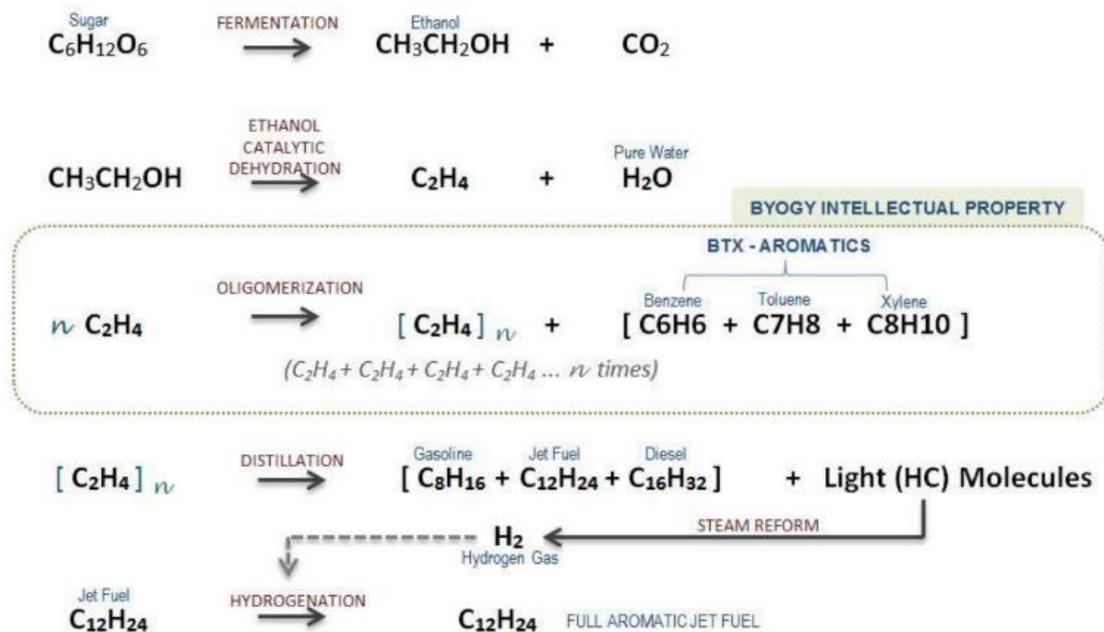


図 2-2-6-4-3 バイオエタノールから炭化水素への合成経路

プロセスの概略：

バイオエタノール改質装置は主にエタノールを分子内脱水しエチレンを得る工程と、得られたエチレンを重合し、炭化水素を得る工程の2段階からなる。それぞれのプロセスの概略を述べる。

バイオエタノールからのエチレン合成工程

バイオエタノールを分子内脱水しエチレンを得る工程の概略を図 2-2-3-6-19 に示す。バイオエタノールは水蒸気と混和されて気化され、脱水反応に必要な 450℃まで過熱器により過熱される。その後、脱水触媒が充填されたカラムに導入され、分子内脱水されることでエチレンへと変換される。得られたエチレンには、未反応のエタノールや水蒸気、CO、二酸化炭素などが不純物として含まれる。そのうち水溶性の成分は、冷却された洗浄水が噴霧されることで除去される。ここで除去されなかった成分、特に CO に関しては次段の炭化水素合成工程の触媒にとって危険であるため、精製カラムで除去される。

不純物が吸着した精製カラムは、定期的に還元ガスを流して再生される。

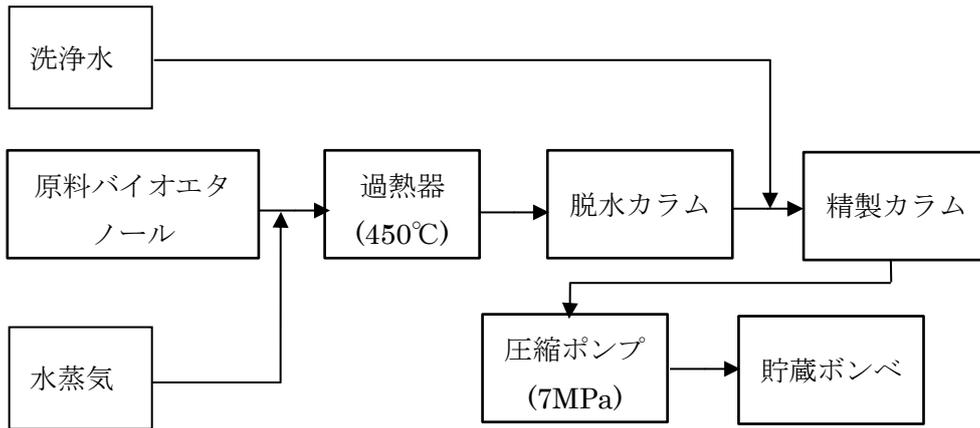


図 2-2-6-4-4 バイオエタノールからエチレンを得る工程の概略

エチレン重合及び炭化水素分画工程

合成されたエチレンは 2 段階の重合カラムを通して炭化水素混合オイルへと変換される。混合炭化水素オイルは蒸留され、低分子量画分から順にナフサ、ケロシン、ディーゼルの各画分へと分画される。得られた画分のうち、ナフサ画分については、目的とするドロップイン燃料によっては Olig.2 に戻し、再重合して更に高分子量の画分へと変換する。

また、ケロシン画分については水素添加して、ドロップイン燃料とする。

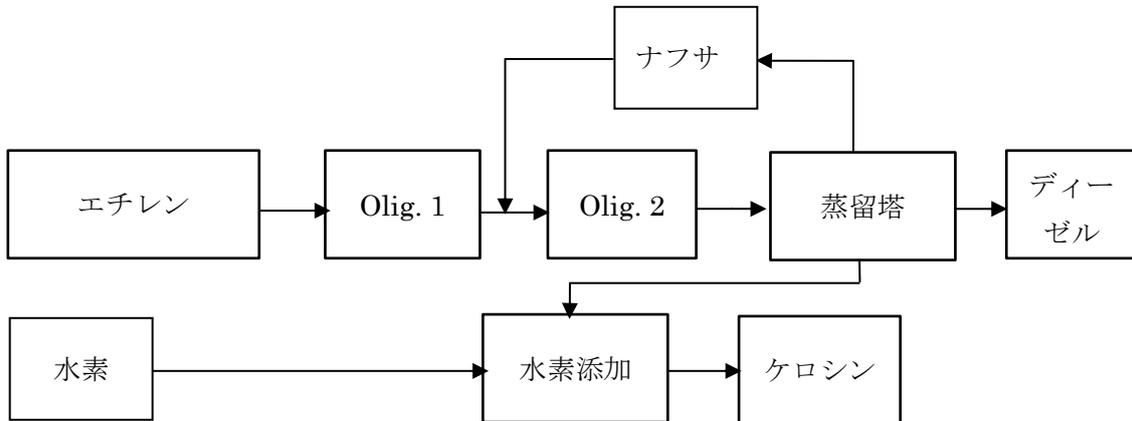


図 2-2-6-4-5 エチレン重合及びドロップイン燃料分画工程の概略

法規対応

バイオエタノール改質装置では、その反応に 3.5MPa あるいは 2MPa の高圧が必要となる。

0.1MPa 以上の気体を扱う反応器は、その圧力によって取り扱い法規が変わる。すなわち、1MPa 未満では労働安全衛生法に関わる第一種圧力容器もしくは第二種圧力容器、1MPa 以上では高圧ガス保安法の対象となる。なお、第一種圧力容器は内容物の相変化を伴うもの、第二種圧力容器は内容物の相変化が伴わないもの、と規定されている。

このため、本装置は高圧ガス保安法の対象となる。なお、本装置は ASEM 認定工場にて ASME 規格の規定に従って製作されており、「特定設備検査規則の機能性基準の運用について」別添 7 「第二種特定設備の技術基準の解釈」第 39 条の適用により、適切な溶接有資格者が製作することで、ASME 規格の規定では当該設備（実機）の試験板の機械試験は不要とされる。気密試験も不要とされている。

一方で、エチレン重合塔架構の全高は 7m あり、耐震設計の対象となる。設置場所の神奈川県では、修正震度法での耐震設計を求められており、Byogy 社からエチレン重合塔および架構の構造を取り寄せ、耐震基準を満たすかを確認した。

なお、設置場所は石油コンビナート等災害防止法の対象地域であるが、今回扱う高圧ガス量は 100 m³/日未満であるので、本法規には掛からない。

そこで、該当設備について(社)高圧ガス保安協会を受験し、認可を取った上で設置場所の神奈川県くらし安全防災局に設置届を行った。

熱媒及び製品は引火性であるため、本装置は少量危険物取扱設備となる。そこで、装置の詳細が判明した時点で川崎市臨港消防署に相談をし、実証プラントの一角に少量危険物取扱設備に必要な防液堤を設け、また 1m の保有空地が確保できるように配管の変更を行った上で届け出を行った。図 2-2-6-4-6 に設置図を示す。

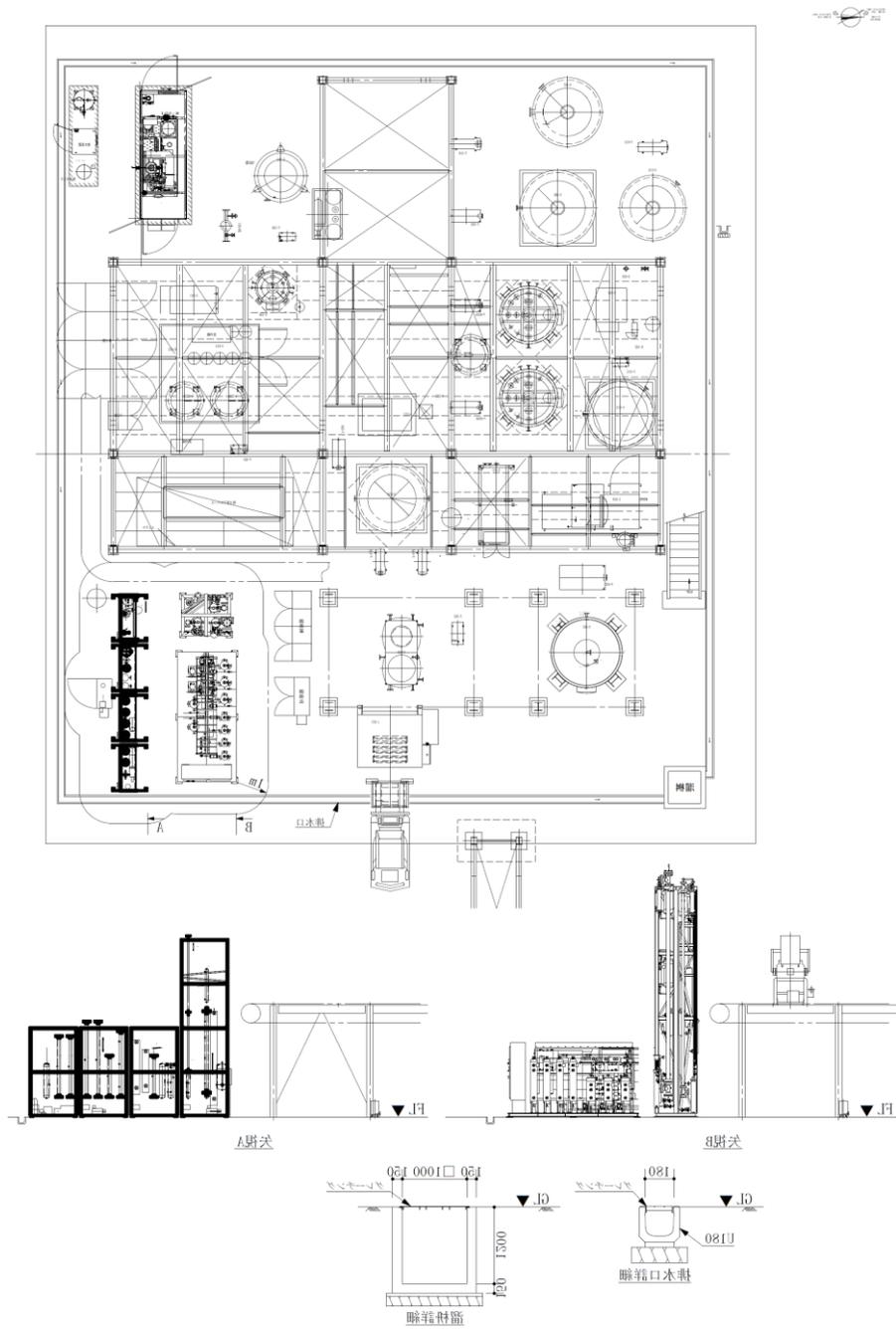


図 2-2-6-4-6 エタノール生産設備内における改質装置の設置図



図 2-2-6-4-7 装置外観

奥がバイオエタノールを脱水し、エチレンを得る工程、
手前が重合して炭化水素を得る工程。

2-2-7 実証プラントにおける技術開発

実証プラントにおける実証運転に先んじて、実証プラントを活用し、運転に必要な条件及びより効率的なバイオエタノール生産に資する技術の検討を行った。

2-2-7-1 セルロース系廃棄物に対する水蒸気爆砕条件の検討

本研究では、廃菌床およびコーヒー粕について、実際にキノコ工場及びコーヒーチェーンで発生したものを入手し、水蒸気爆砕前処理を行って、その糖化性と物性を評価した。

2-2-7-1-1 廃菌床の水蒸気爆砕条件検討の糖化試験

各条件(180~200℃, 10 または 20 min)で爆砕した廃菌床をアイボーイの反応系で糖化し、最も爆砕に適した条件を決定する。また、爆砕効果の提示のために、未処理廃菌床を過剰酵素量での糖化試験も行った。

① 実験の方法

a) 実験試料

爆砕、糖化にはブナシメジ廃菌床を使用した。酵素は 市販セルラーゼを使用した。

b) 爆砕及び糖化反応

反応容器：100 ml 容量 アイボーイ

液量：50 ml

基質：爆砕処理 180℃ 10 min, 180℃ 20 min, 190℃ 10 min, 190℃ 20 min,
200℃ 10 min, 200℃ 20 min, 未処理

基質固形分：20%

酵素：市販セルラーゼ

使用酵素量：10 FPU/g-biomass 市販セルラーゼ

無処理の廃菌床のみ、酵素量 5、7、10FPU/g-biomass での糖化を行った。

pH 調整：50 mM 酢酸緩衝液(pH5.0) (1M 酢酸緩衝液を反応系の 1/20 量添加)

試験器：日揮購入恒温槽 EYELA (50℃, 200 rpm)

サンプル数：7 条件爆砕+未処理 2 サンプル =9 サンプル

糖化中の各段階での単糖濃度は HPLC により測定した。

③ 結果と考察

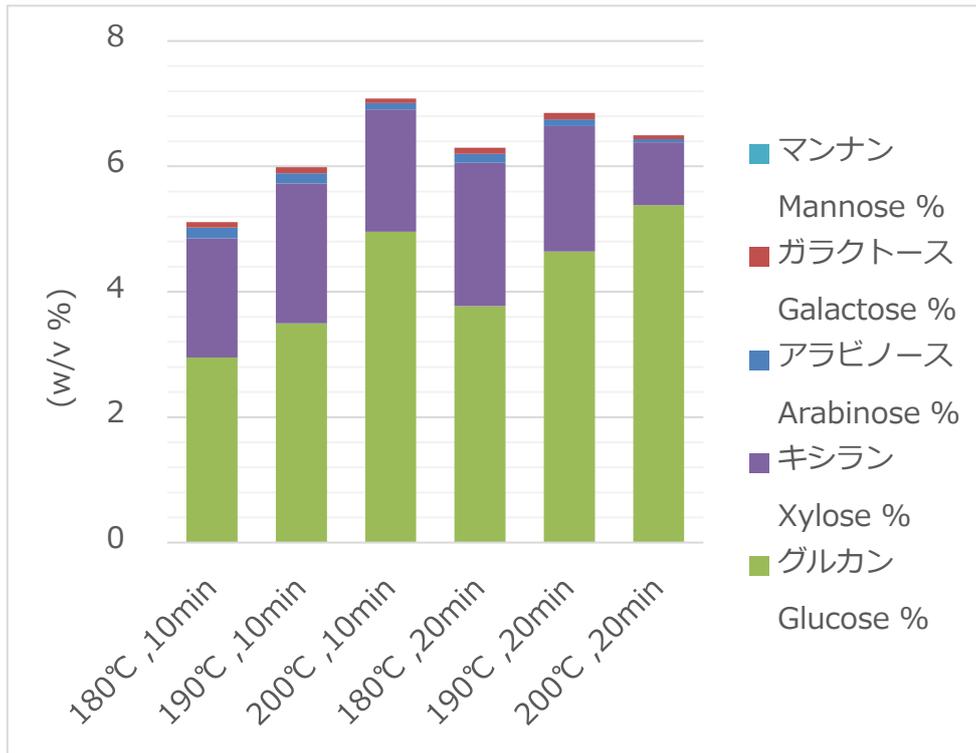


図 2-2-7-1-1 各爆砕条件の廃菌床糖化液の各単糖濃度(糖化 48 時間)

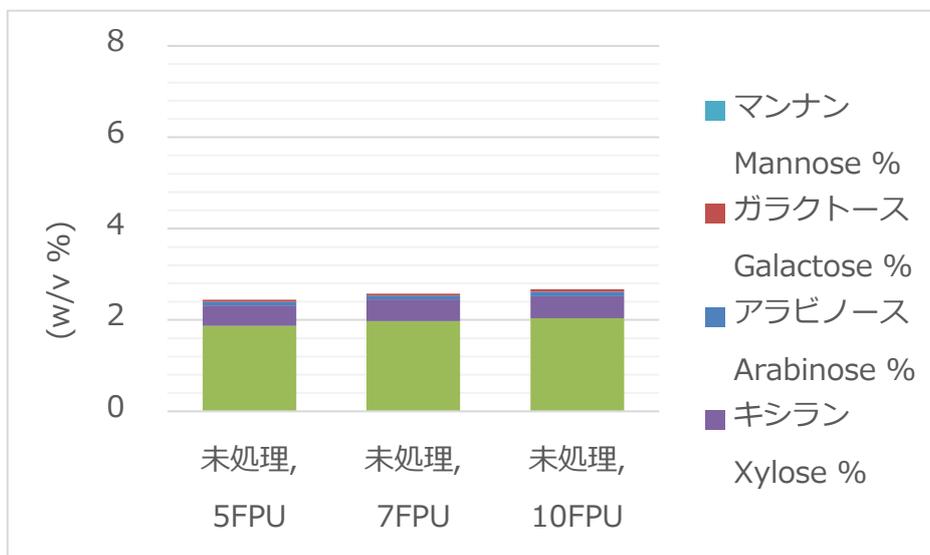


図 2-2-7-1-2 各酵素濃度での未処理廃菌床糖化液の各単糖濃度(糖化 48 時間)

各爆砕条件で糖化した際、最もグルコース量が多いのは200℃、20 minで爆砕したサンプルであったが、全糖濃度としてはグルコースとキシロースの生成量が多い200℃、10minで爆砕したものが最も高くなった。爆砕の条件を過酷にすることでバイオマスの構造が破壊される一方で、糖の過分解も起きていると考えられ、特に200℃、20minの爆砕条件ではキシロースの過分解による減少が著しく、その結果糖化におけるキシロースの生成量が顕著に減少すると考えられる。このことは糖組成分析の結果とも相関する。よって本試験において、200℃、10minでの処理が廃菌床中に含まれるセルロースの構造を効果的に破壊しつつ、ヘミセルロース由来の糖質を損なうことが無い廃菌床の爆砕条件として示される。

未処理の廃菌床を糖化した結果、酵素量を増加しても糖濃度は殆ど変わらないことから糖化の促進には影響しないことが示された。この結果より爆砕による糖化促進効果と酵素使用量の低減効果を明らかとなった。

2-2-7-1-2 コーヒー粕の水蒸気爆砕条件検討の糖化試験

都市近郊で安価に入手可能なバイオマスとして、コーヒーチェーンやコンビニエンスストアから発生するコーヒー粕がある。コーヒー粕の発生量はほぼコーヒー豆の消費量に等しいと考えられるので、日本においては47万t/年程度と見積もることが出来る。また、コーヒーチェーンやコンビニエンスストア、大手飲料メーカーでは年を通じてまとまって発生することから、収集が容易であるという長所がある。そこで、コーヒー粕について、爆砕糖化試験を行うこととした。

各条件(180~200℃、10 または 20 min)で爆砕したコーヒー粕をアイボーイの反応系で糖化し、最も爆砕に適した条件を決定する。また、糖化条件の検討のために酵素濃度を振っての糖化試験も行う。

① 実験の方法

a) 実験試料

爆砕、糖化にはコーヒー粕を使用した。酵素は市販セルラーゼと市販マンナーゼを使用した。

b) 爆砕及び糖化反応

- 爆砕効果を比較するための、糖化試験条件は以下の通りである。

反応容器：100 ml 容量 アイボーイ

液量：50 ml

基質：爆砕 180℃ 10 min, 180℃ 20 min, 190℃ 10 min, 190℃ 20 min,
200℃ 10 min, 200℃ 20 min, 未処理 ⇒ 計 7 条件

基質固形分：20%

酵素：市販セルラーゼ、市販マンナーゼ

使用酵素量：0.5 FPU/g-biomass 市販セルラーゼ・5.0 mg/g-biomass 市販マンナーゼ

pH 調整：50 mM 酢酸緩衝液(pH5.0)

試験器：日揮購入恒温槽 EYELA (50℃, 200 rpm)

糖化中の各段階での単糖濃度は HPLC により測定した。

- ・ 酵素量を検討するための、糖化試験条件は以下の通りである。

反応容器：100 ml 容量 アイボーイ

液量：50 ml

基質：爆砕 200°C 20 min, 未処理 ⇒ 計 2 条件

基質固形分：20%

酵素：市販セルラーゼ、Mannanase Amano BGM 10

使用酵素量：0.7 FPU/g-biomass 市販セルラーゼ- 7.0 mg/g-biomass BGM10

1.0 FPU/g-biomass 市販セルラーゼ- 10.0 mg/g-biomass BGM10

1.5 FPU/g-biomass 市販セルラーゼ- 15.0 mg/g-biomass BGM10

② 結果と考察

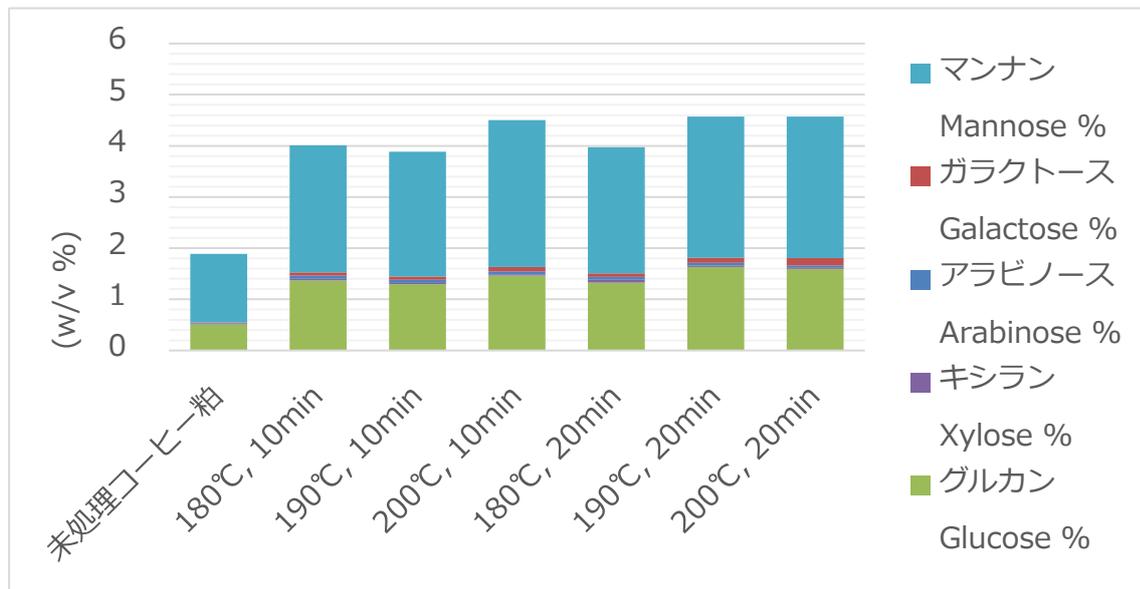


図 2-2-7-1-3 コーヒー粕の爆砕条件による糖化液の各単糖濃度(糖化 48 時間)

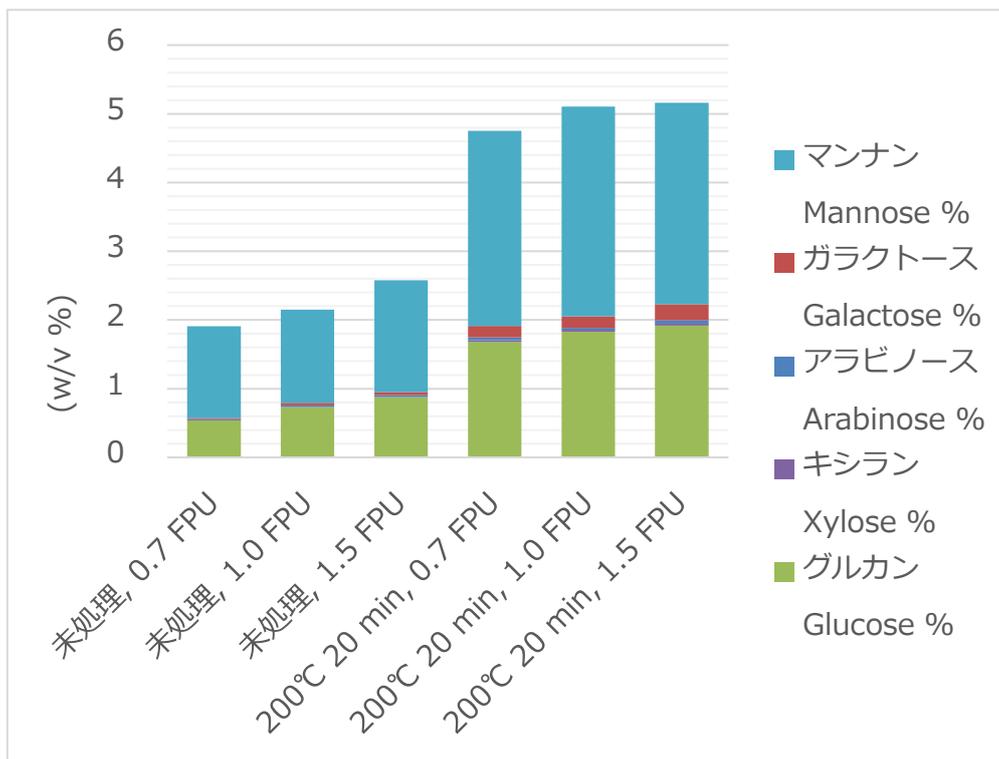


図 2-2-7-1-4 爆砕コーヒー粕の酵素量による糖化液の各単糖濃度(糖化 48 時間)

図 2-2-3-7-3 から、

- 190°C, 20 min と 200°C, 10 min および 200°C, 20 min が Total の糖濃度としてはほぼ程度。
- 190°C と 200°C でのグルコース量では、10 min 爆砕のサンプルより 20 min 爆砕の方がわずかに多い、
- 200°C, 20min は他の爆砕条件より、Galactose の量が多い、という結果となった。

200°C, 20min が一番安定して高い爆砕効果が得られるが、発酵段階において遅延など不利な面がある。よって糖化発酵を目的としたコーヒー粕の爆砕条件として 200°C, 10 min が適していると考えられた。

2-2-7-1-3 セルロース系廃棄物に対する水蒸気爆砕条件が組成に与える影響

水蒸気爆砕における水熱反応によりバイオマスに含まれる多糖の一部が分解されて失われてしまう可能性がある。この影響を調べるため、実証プラントにおいて爆砕温度と処理時間を変化させ、多糖組成の分析を行った。

原料：コーヒー粕、廃菌床

爆砕温度：180℃、190℃、200℃

処理時間：10分、20分

(分析方法)

NREL法に基づき硫酸処理後のバイオマスの5単糖量(Arabinose, Galactose, Glucose, Xylose, Mannose)をHPLCで分析することで糖組成を算出する。具体的な手順は以下の通りとなる。

秤量済み試料0.5gをガラス乳鉢に投入し、72%硫酸液8mlを加え試料を潰して室温で1時間湿潤させる。300mlの蒸留水で内容物を洗いながら500ml容量三角フラスコに移しオートクレーブで121℃、60min処理する。処理後のサンプル上清液5mlに対して0.5gのCaCO₃を加えて中和した液をフィルター濾過し、硫酸処理サンプルとして分析する。サンプル分析はHPLCポストカラム法により感度増幅された糖の検出で行い、そのHPLC分析条件は以下の通りとした。

カラム；Dionex CarboPac PA1

検出器；電気化学検出器 ED-40

分離液；蒸留水

流速；1.0 ml/min

ポストカラム液；流速0.5 ml/minの0.15 M NaOH

分析時間；13.5 min

(結果)

図2-2-7-1-5に未処理および爆砕処理コーヒー粕の多糖組成を示す。

コーヒー粕では、200℃20分で多糖成分の減少が見られたものの、それ以下の条件では大きな変化は認められなかった。

図2-2-7-1-6に未処理および爆砕処理廃菌床の多糖組成を示す。

廃菌床では200℃において多糖成分の減少が見られた。

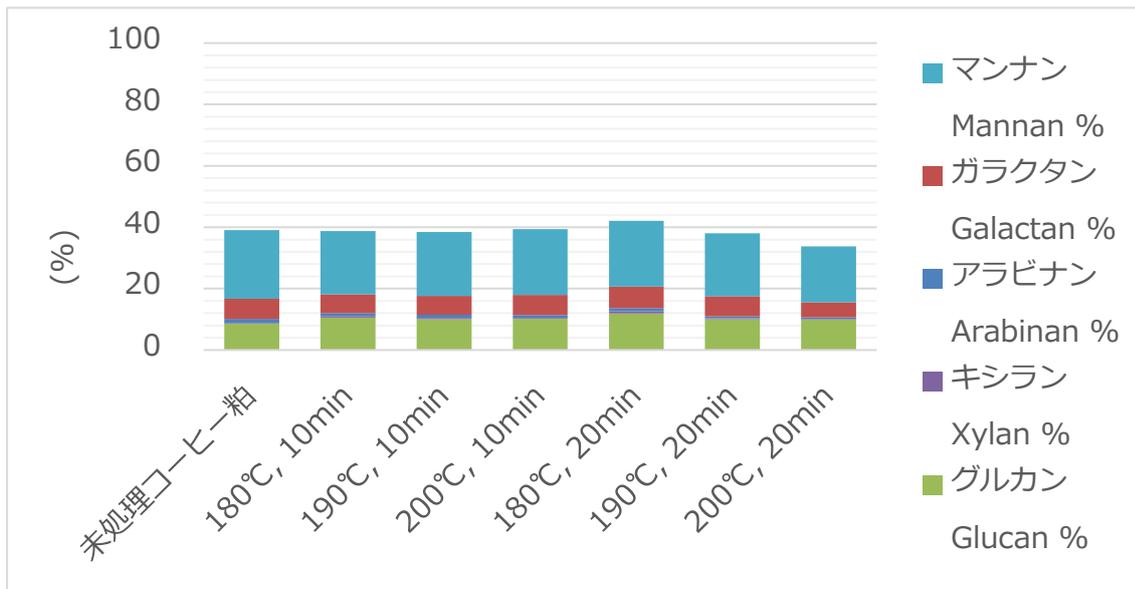


図 2-2-7-1-5 コーヒー粉に与える爆砕条件の影響

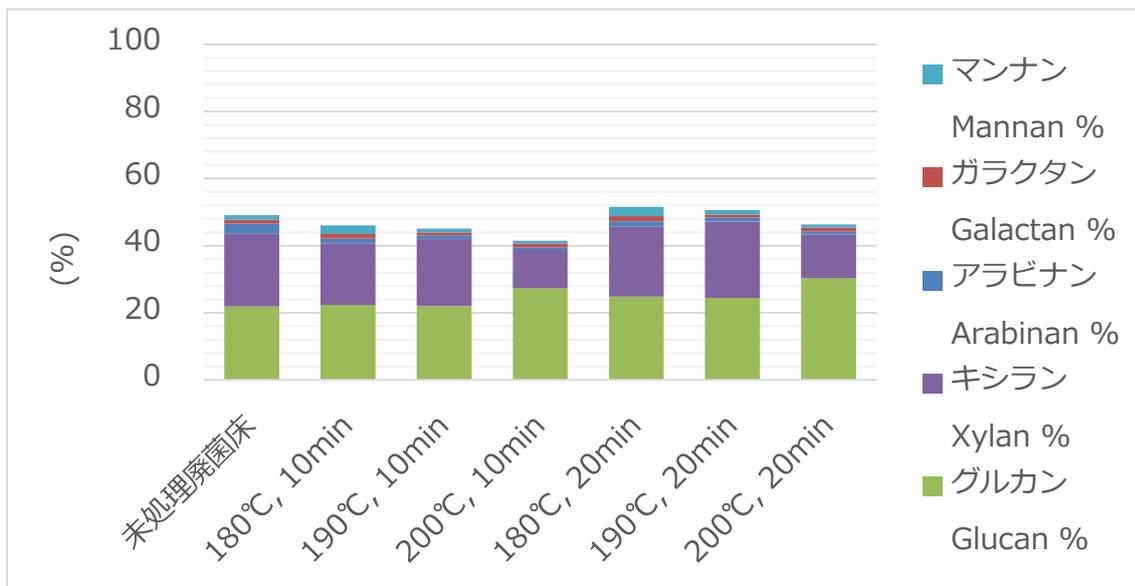


図 2-2-7-1-6 廃菌床に与える爆砕条件の影響

(結論)

得られた多糖収率と糖化率の結果を踏まえて、爆砕条件を 200°C10 分とすることとした。

2-2-7-2 高濃度糖化技術の検討

2-2-7-2-1 仕込み濃度の向上

これまで、バイオマス糖化仕込み濃度は20%で行ってきた。高濃度の糖化液を得ることは、発酵工程でのコンタミネーションの抑制、エネルギー収支の向上に有効である。さらなる高濃度仕込みの可能性を探るべく、ここでは20Lの反応系で酵素糖化試験を実施し、糖化時の基質濃度の上限を明らかにし、高濃度の糖化液の製造の可能性について検証する。

① 実験条件

a) 糖化条件

反応容器： 30L 培養器

仕込み総量： 20 L

基質： 爆砕処理廃菌床（処理条件：200℃、10 min、固形分率 36.5 w/w%）

基質濃度： 200, 262, 284, 310, 328, 32, 349, 356, 364, 372, 380 dry-g/L

酵素： 市販セルラーゼ

酵素使用量： 10 FPU/g-biomass

反応温度： 50℃

pH： 5.0（終濃度 100mM 酢酸緩衝液）

反応時間： ～24 時間

攪拌数： 200 rpm

攪拌翼： パドル羽

b) 分析法

糖分析： 酵素反応液中のグルコース濃度はバイオセンサーBF-7（王子計測機器株）にて測定した。採取した反応液を500 uL程度サンプルカップに入れ、オートサンプラーBF48ASにセッティングした。

運転条件

流速： 1.0 mL/min

注入量： 4 uL

恒温槽温度： 30 °C

測定時間： 60 秒

緩衝液： pH7

標準液： グルコース 1.8 g/L、3.6 g/L、5.4 g/L

グルカン糖化率： 以下の式でグルカン糖化率を計算した。

グルカン糖化率 (w/w%) = 100 x 遊離グルコース [g] / (基質中のグルカン[g] x 1.1)

② 結果と考察

以下に2018年3月に実施した糖化試験結果を示す(図2-2-7-2-1)。仕込み濃度を20%から38%まで振り、仕込み濃度と糖化率の関係を調べた。これまで検討していた20%仕込みと今回試験し

た 26.2%では大きな差は見られなかったが、仕込み濃度 28%以上からは糖化率が落ち込んだ。また、糖化後の糖化液はポンプで送液することになるが、糖化残渣が多く残ると送液に支障が出る。28%以上の仕込み濃度では、24 時間後に残留する固形分が多く、送液に適さない。従って仕込み濃度は 25%とする事とした。

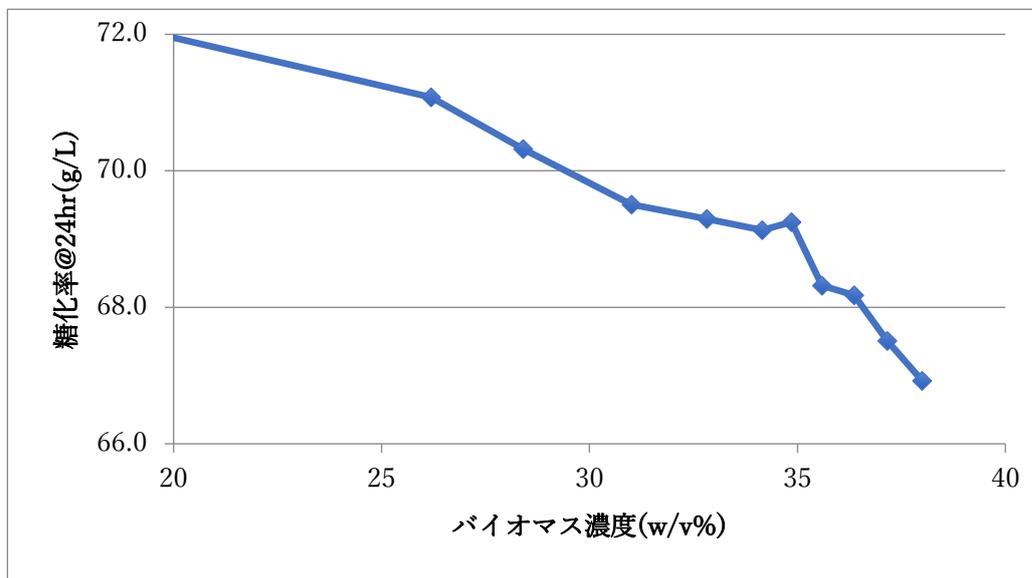


図 2-2-7-2-1 仕込み濃度と糖化率の関係

2-2-7-2-2 攪拌ストレスと糖化率の関係

攪拌ストレス

川崎プラントの糖化槽では、液化・糖化反応時の不溶性固形分濃度が変化することから、高粘度から中粘度まで低動力で攪拌可能な Hi-F ミキサー（総研テクニクス㈱）を採用している。攪拌動力が液化及び糖化に与える影響を検討するために、川崎プラントの糖化槽のスケールダウン試験として幾何学的相似な攪拌翼及びステンレス製ビーカーを特注し、Pv（単位体積当たりの攪拌動力）を測定できる装置と組み合わせ、糖化試験を実施した。

① 実験条件

a) 糖化条件

反応容器： 特注ステンレス製ビーカー

（川崎プラント糖化槽と幾何学的相似、㈱高杉製作所）

仕込み総量：2,500 mL

基質： 爆砕処理廃菌床（処理条件：200℃、10 min、固形分率 35.1~35.34 w/w%）

糖含有量

（マンナン：1.94 w/w%、アラビナン 0.72 w/w%、ガラクトサン：1.39 w/w%、グルカ
ン：29.42 w/w%、キシラン：8.25 w/w%）

基質濃度： 250 dry-g/L

酵素： 市販セルラーゼ
酵素使用量： 5.0 FPU/g-biomass
酵素添加方法：チュービングポンプによる定速添加（約 3sec）
反応温度： 50℃（ウォーターバスで温調）
pH： 5.0（終濃度 100mM 酢酸緩衝液）
反応時間： ～24 時間
攪拌数： 60～510 rpm（初発 Pv = 0.5～7.0 相当）
攪拌翼： Hi-F ミキサー（総研テクニックス）

b) 分析法

Pv「kW/m³」：ミキシングトルクメータ ST-3000 II（佐竹化学機械工業株）

糖分析： 酵素反応液中のグルコース、セロビオース、キシロース濃度は
バイオセンサーBF-7（王子計測機器株）にて測定した。採取した反応液を 500 uL
程度サンプルカップに入れ、オートサンプラーBF48AS にセッティングした。

運転条件

流速： 1.0 mL/min

注入量： 4 uL

恒温槽温度：30 ℃（グルコース）

25 ℃（グルコース、キシロース）

37 ℃（グルコース、セロビオース）

測定時間： 60 秒（グルコースのみ）

100 秒（グルコース、キシロース/グルコース、セロビオース）

緩衝液： pH7（キシロース、セロビオース測定時は ATP、塩化マグネシウム
添加）

標準液： グルコース： 1.8 g/L、3.6 g/L、5.4 g/L

キシロース： 0.75 g/L、1.50 g/L、3.0 g/L

セロビオース：1.71 g/L、3.42 g/L、6.85 g/L

全糖濃度： フェノール硫酸法により全糖濃度を測定した。

グルカン糖化率：以下の式でグルカン糖化率を計算した。

グルカン糖化率 (w/w%) = 100 x 遊離グルコース [g] / (基質中のグルカン[g] x 1.1)

② 結果と考察

以下に 2018 年 4 月に実施した糖化試験結果を示す（図 2-2-7-2-2）。初発 Pv 値を 0.5～7.0 kW/m³ で条件を振り、酵素添加後の Pv 値の挙動及び糖化率を調べることで、攪拌強度が及ぼす糖化への影響を調べた。酵素液以外の基質、水、緩衝液を混合し、一定攪拌数で一定の Pv 値を示すまで十分に攪拌し、均質化を行ってから酵素液を添加した。酵素添加条件に誤差がないように、チュービングポンプによる送液で酵素を添加した。

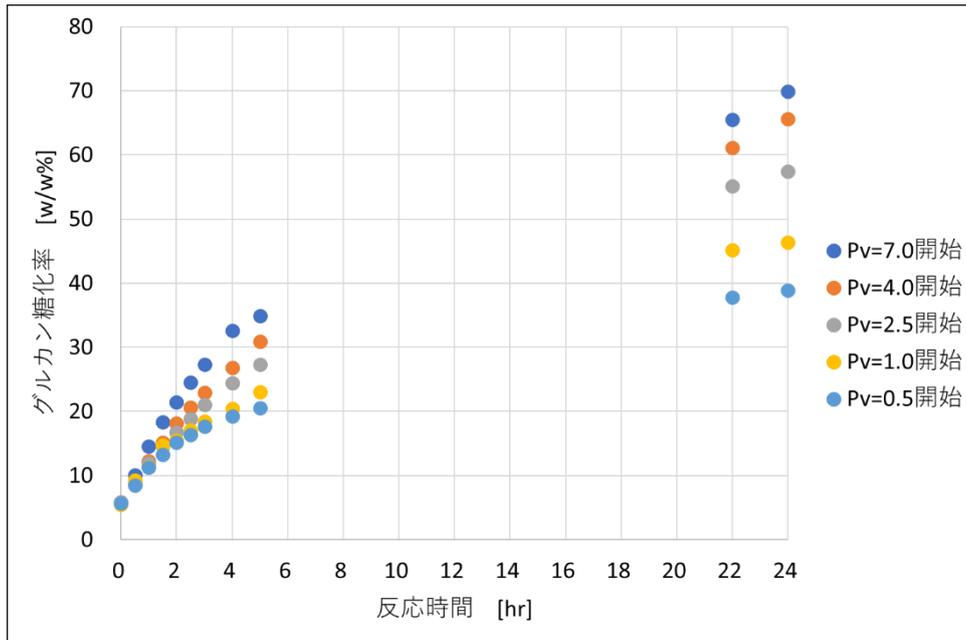


図 2-2-7-2-2 攪拌動力(PV)とグルカン糖化率の関係

試験の結果、攪拌強度依存的にグルカン糖化率が上昇することが示唆された。糖化反応中の Pv 値の挙動を以下の図 2-2-3-7-9 に示す。どの試験区においても Pv 値の急激な変化が反応初期に起こることが明らかになった。また、Pv 値は試験区ごとに一定の値に収束する傾向がみられた。Pv 値の急激な変化は“液化”に起因することが推察される。図 2-2-7-2-3 の右図からわかるように、Pv 値の急激な変化、つまり液化は 15 分以内に起きていることが明らかになった。この結果を受け、液化反応時の条件を $Pv=7.0 \text{ kW/m}^3$ 、液化時間 15 分間とした。

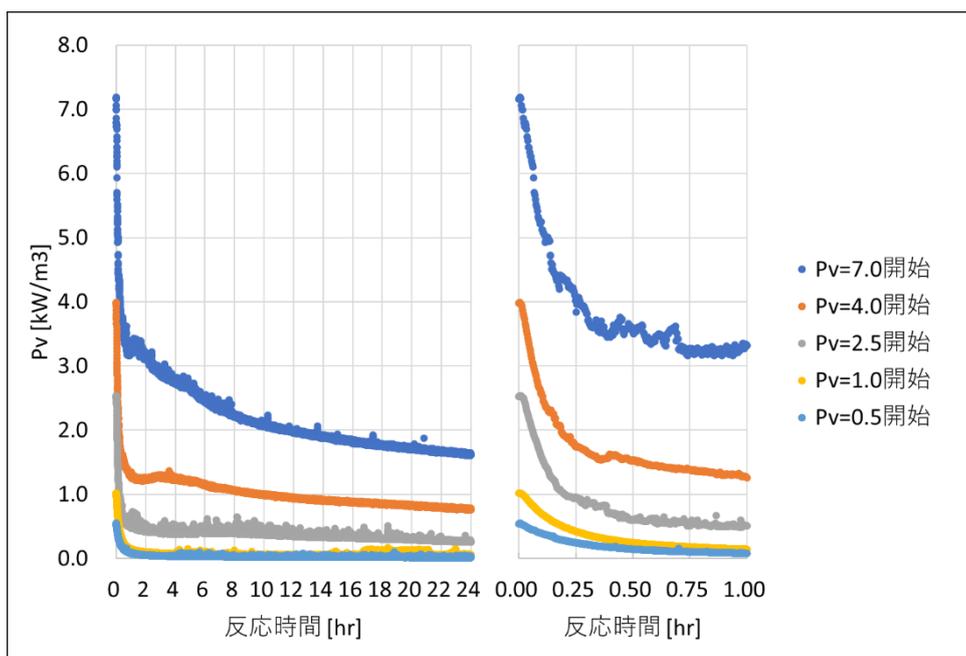


図 2-2-7-2-3 攪拌動力の時間変化

(左：反応全期間、右：反応開始 1 時間抜粋)

本検討における初発 P_v 値とグルカン糖化率の関係を図 2-2-7-2-4 に示す。試験区間で液化が進んだのちの P_v 値が異なるが、初発 $P_v = 4.0 \text{ kW/m}^3$ の条件以上でグルカン糖化率が頭打ちになる傾向が示唆された。初発 $P_v = 4.0 \text{ kW/m}^3$ の条件では、液化後に $P_v = 1.0 \text{ kW/m}^3$ で安定しているため、糖化反応条件を $P_v = 1.0 \text{ kW/m}^3$ とした。

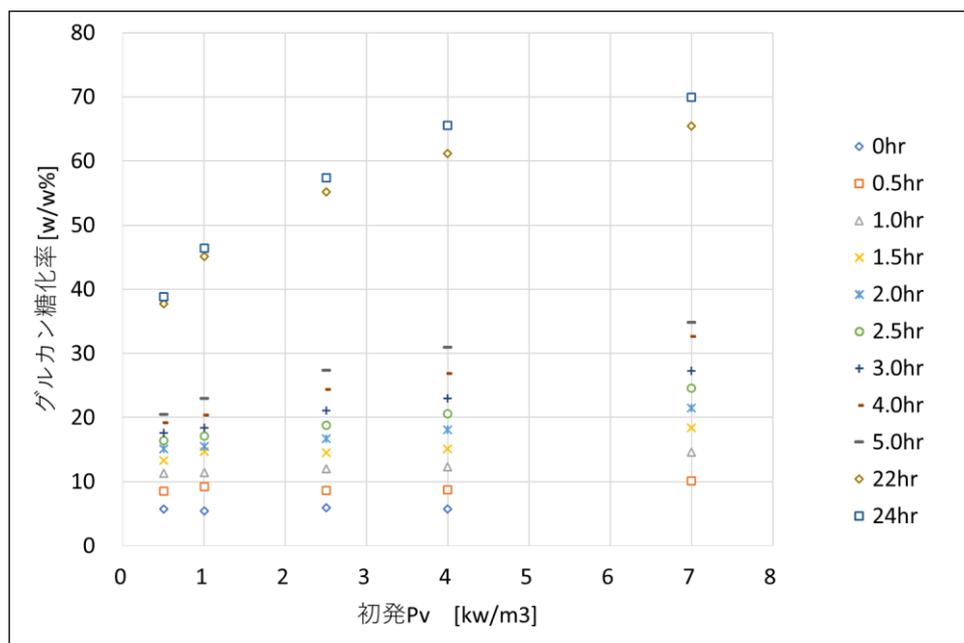


図 2-2-7-2-4 初発動力・攪拌時間とグルカン糖化率の関係

次に、初発条件 $P_v = 4.0 \text{ kW/m}^3$ 以上の状態は液化・糖化反応でどの程度維持する必要があるのかを検証するために試験を実施した。初発 P_v 値が 4.0 kW/m^3 の条件で反応を開始し、5 時間、10 時間、15 時間後に攪拌数を低減させ、各試験区の糖化率を調べた（図 2-2-7-2-5、図 2-2-7-2-6）。変更後の攪拌数は初発 $P_v = 0.5 \text{ kW/m}^3$ 相当に設定した。

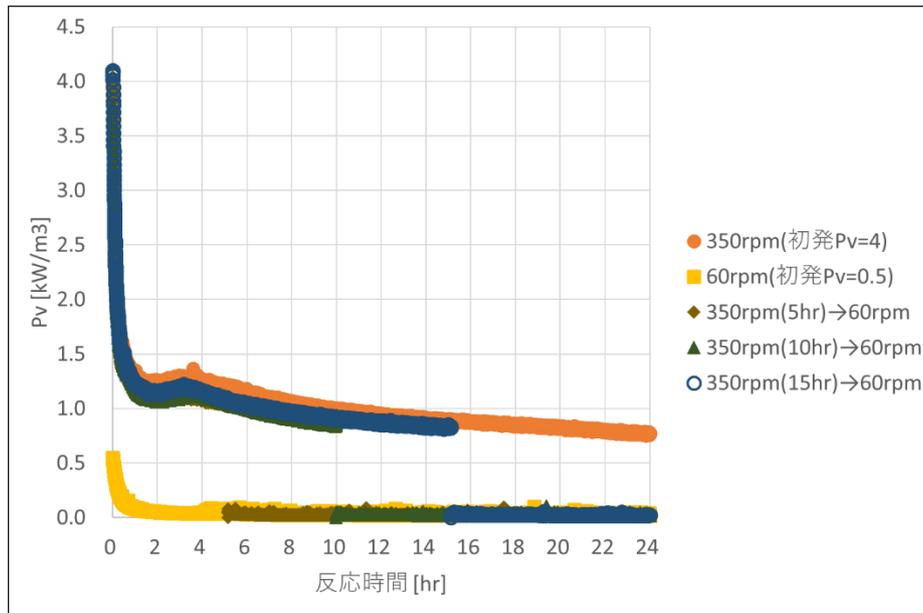


図 2-2-7-2-5 回転数と動力変化の関係

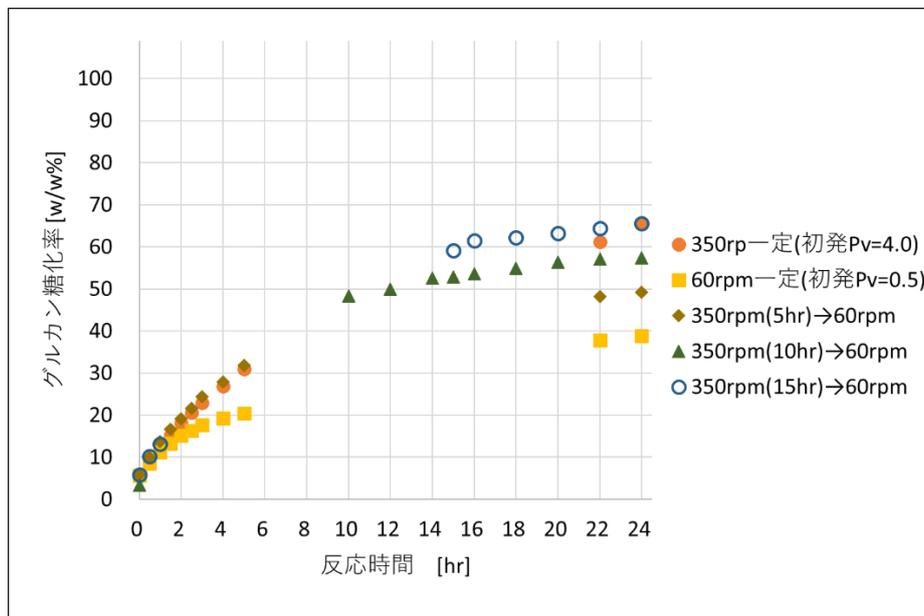


図 2-2-7-2-6 回転数とグルカン糖化率の関係

試験の結果、15 時間継続区では 24 時間継続区と同等のグルカン糖化率が得られることが明らかになった。一方、10 時間維持区では糖化率が僅かに低減されることが示唆された。

また、図 2-2-7-2-5 より、15 時間継続区の攪拌動力は 10 時間と 15 時間では差がみられるが、12 時間目から 15 時間まではほぼ同等の電力消費量となっている。すなわち 12 時間目で高攪拌動力を必要とする液化工程は終了していたと考えられる。

本結果を踏まえ、糖化条件を $P_v = 1.0 \text{ kW/m}^3$ 、反応時間を 12 時間とした。

2-2-7-2-3 熱水洗浄による糖化率向上の検討

爆砕処理したバガスおよび木材チップを $50\sim 100^\circ\text{C}$ の熱水中に 5~20 分ほど浸漬・攪拌し、その

後、固液分離する（水熱処理）ことにより、バイオマスの酵素糖化性が大きく向上することが見いだされている。しかしながら、本研究で使用するようなバイオマスにおいてはこの効果が検証されていない。このことから、本項では爆砕処理した廃菌床に対して水熱処理を行い、その効果について検証した。

① 実験の方法

a) 原料バイオマス

本研究では、原料バイオマスとして、廃菌床爆砕物と、世界的によく検討される代表的なバイオマスであるバガスを爆砕した物を使用した。

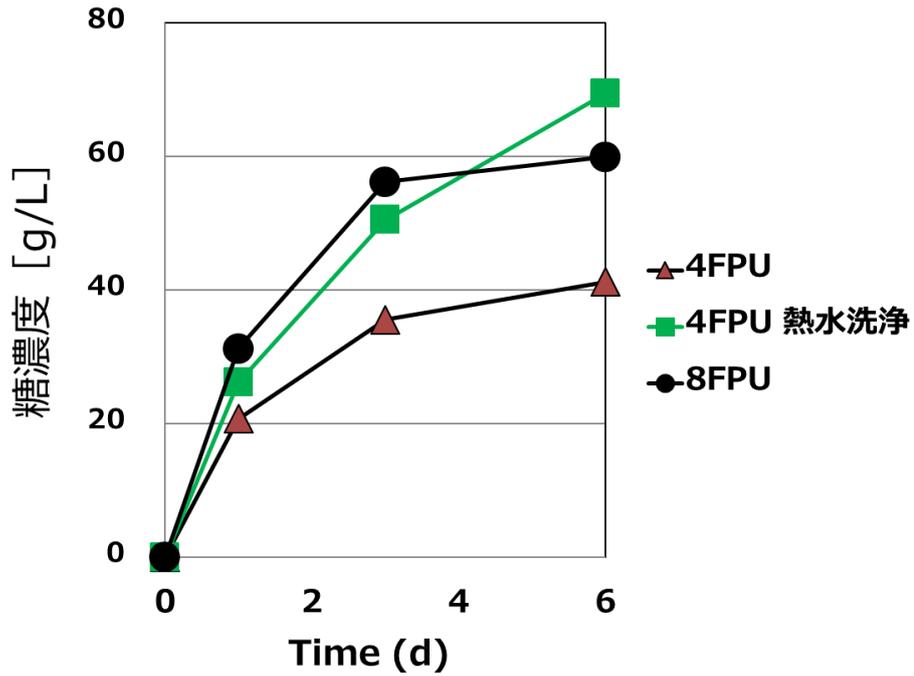
b) 糖化条件

200mL バッフル付き三角フラスコを振盪恒温槽で加熱振盪した。糖化温度は 50℃、振盪条件は 60~120rpm とした。酵素糖化時には、pH5 に調整した 50 mM 酢酸ナトリウム緩衝液を用いた。また、酵素糖化時の雑菌汚染を防ぐため、アジ化ナトリウムを濃度 0.2% となるように添加した。なお、これまでの研究で、セルロース糖化酵素を構成する CBH2 や EG1 などの成分酵素が、振盪や攪拌ストレスに極めて弱く、短時間で特異的に失活する事を確認している。そのため、パルプやろ紙を酵素糖化する際には、酵素が失活しない低ストレス下での実験が必要となる。また、分解対象バイオマスの種類によっては、振盪や攪拌による酵素に与えるストレスの影響が緩和され、逆に、グルコースや酵素の局所的濃度分布を振盪や攪拌により抑制する効果が重要になることも分かっている。そのため、本研究では、実験で用いるバイオマス毎に振盪条件を変えて実験した。詳細は、各実験結果の項目で説明する。

③ 結果と考察

図 2-2-7-2-7 にバガス爆砕物の酵素糖化における熱水処理の効果を示す。熱水処理したバガス爆砕物は酵素糖化されやすい事がわかる。熱水処理がバイオマスの酵素糖化性を向上させる作用機構は明確にはなっていないが、熱水処理を施すことにより、バイオマス表面のタール成分などが溶けだし、糖化酵素がセルロースにアタックしやすくなる事が考えられる。

廃菌床爆砕物に 100℃、70℃、50℃の各温度で熱水処理を施した場合の酵素糖化結果を図 2-2-7-2-8 と図 2-2-7-2-9 に示す。図 2-2-7-2-8 は酵素添加量 4mg/g-dry、図 2-2-7-2-9 は酵素添加量 20mg/g-dry のケースである。また、この図には、比較として水だけで洗浄した結果も示した。この図より、洗浄処理を行わない場合に比較し、生成されるグルコース濃度が高くなっているのが分かる。また、水洗浄だけでも効果が表れていた。



実験条件

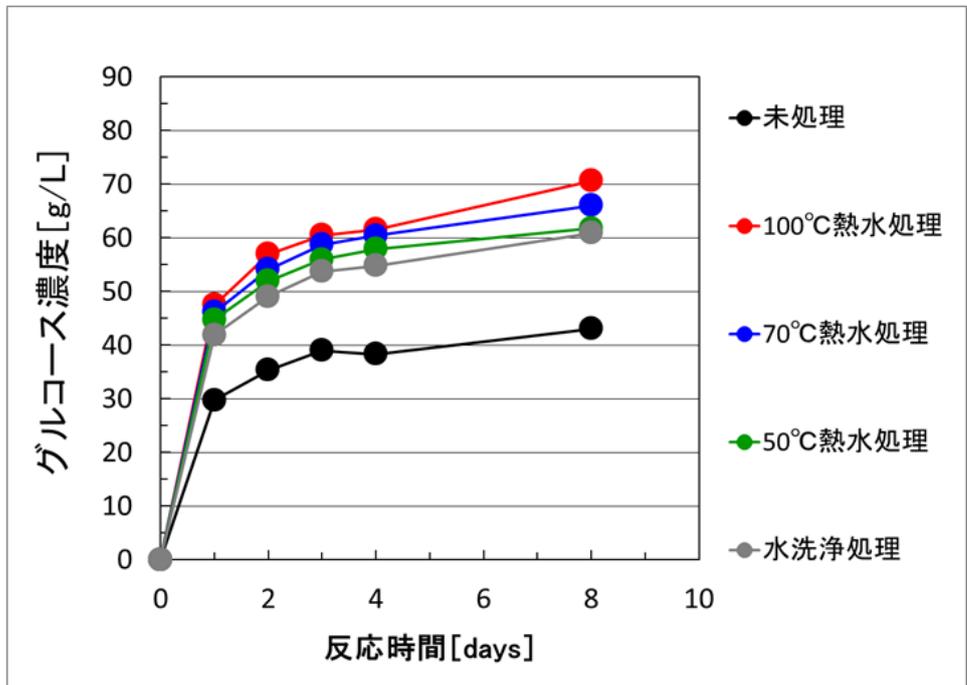
基質：

水蒸気爆砕バカス (2.1 Mpa, 8 min) or 当該水蒸気爆砕バカスの水熱洗浄サンプル
 スケール：25 mL in 200 mL フラスコ

基質温度：15%, 温度：50°C, 振盪：120 rpm

酵素：市販セルラーゼ, 酵素添加量：4 or 8 FPU/g-基質

図 2-2-7-2-7 水蒸気爆砕バカスの酵素糖化における熱水洗浄効果



実験条件

基質：廃菌床爆砕物

スケール：25 mL in 200 mL フラスコ

基質温度：15%，温度：50°C，振盪：120 rpm

酵素：市販セルラーゼ，酵素添加量：4 FPU/g-基質

熱水処理条件：各温度の熱水中で 10 分間攪拌（基質濃度：10%）し、吸引ろ過

図 2-2-7-2-8 熱水処理温度のグルコース濃度への影響

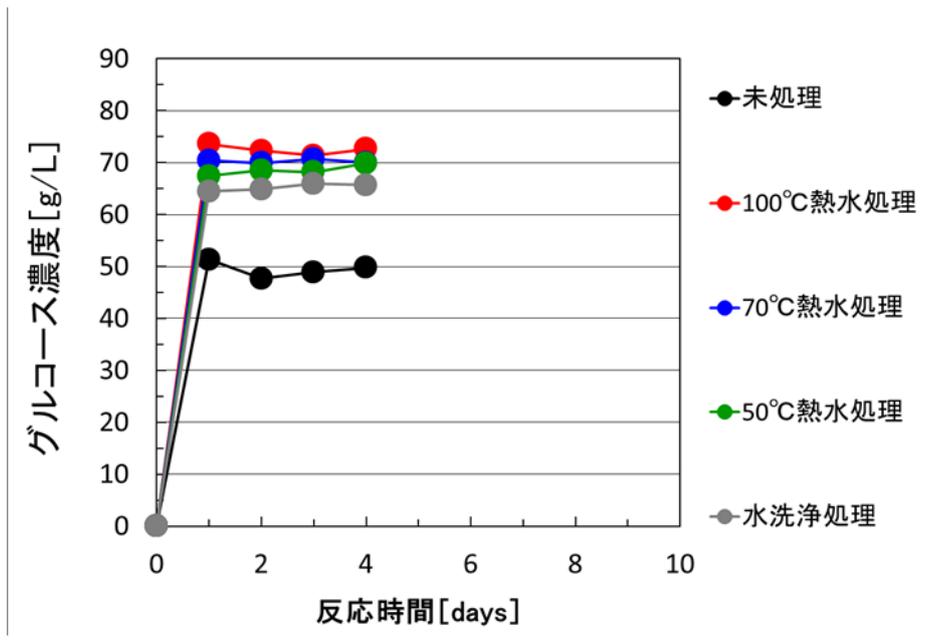


図 2-2-7-2-9 熱水処理温度のグルコース濃度への影響（酵素添加量 20mg/g-dry）

2-2-7-2-4 洗浄によって流出する分の測定

上記の通り、爆砕廃菌床を熱水リンス処理することで酵素糖化性が向上することが確認されたため、糖化から発酵まで爆砕廃菌床のリンス有無によって、糖収量がどの程度変化するか把握するために下記の実験を実施した。

① 実験の方法

a) 原料バイオマス

本研究では、原料バイオマスとして廃菌床爆砕物（固形分率：36.2%）を使用した。

b) 糖化酵素

本研究では、糖化酵素として、市販セルラーゼを使用した。反応時間 48 時間、50ml ファルコンチューブを寝かせて 50°C で回転攪拌して反応させた。

c) 洗浄条件

50 mL ファルコンチューブに爆砕廃菌床 13.8 g-wet (5 g-dry) を投入し、40 mL まで常温の蒸留水を加え、ボルテックスでミキシング。

2000 ×g で 5 分間遠心分離し、沈殿物と上清を分離した。

② 結果と考察

a) 可溶化成分の重量測定

沈殿物重量：16.41 g-wet × 固形分率 21.7% = 3.6 g-dry

上清液重量：28.2 g-wet × 固形分率 4.6% = 1.3 g-dry

よって爆砕物：5 g-dry は固形分：3.6g、可溶化成分 1.3g から構成されるサンプルが生じた。

b) 爆砕物の糖化性に対するリンス効果

①：50 mL ファルコンチューブに爆砕廃菌床 13.8 g-wet (5 g-dry) に酵素液 755 μL (セルラーゼ 10 倍希釈液、5 FPU/g-dry 爆砕廃菌床)、pH5.0 の酢酸 buffer 1.25 mL を加え、25mL までメイクアップ (基質濃度 20w/v%) したサンプルと、

②：50 mL ファルコンチューブに爆砕廃菌床 13.8 g-wet (5 g-dry) を投入し、40ml まで常温の蒸留水を加え、ボルテックスでミキシング。2000 ×g で 5 分間遠心分離し、上清を除去分離した。沈殿物に酵素液 755 μL、pH5.0 の酢酸 buffer 1.25 mL を加え、25mL までメイクアップ (基質濃度は 14w/v% 程度と計算される) して、ボルテックスでミキシングしたサンプルの 2 つを作成して糖化反応を行った。

その結果、

①：D-グルコース：48.2g/L、D-キシロース：17.9g/L

②：D-グルコース：53.2g/L、D-キシロース：10.8g/L

の糖が生成された。このことから、爆砕廃菌床をリンス処理することで、グルコース収量は増加し、キシロース収量は減少することが確認された。リンス処理することで酵素の非特異的吸着が抑制され、グルコース収量が向上したと思われる。

2-2-7-2-5 糖化発酵試験

水熱処理は糖化効率の向上以外に発酵についても効率が向上することが予想された。また、糖の割合が変わることによっても、発酵の推移が変わる可能性も考えられた。これらのことから、未処理のサンプルと水熱処理を施したサンプルについて、発酵試験を行った。

① 実験の方法

a) 原料バイオマス

本研究では、原料バイオマスとして廃菌床爆砕物を使用した。

b) 糖化酵素

本研究では、糖化酵素として、市販セルラーゼを使用した。

c) 発酵条件

100 mL 三角フラスコに 50 mL の廃菌床糖化サンプルを加え、OD600 が 1 になる菌量だけ *S. cerevisiae* を加えて発酵させた。

③ 結果と考察

発酵試験の結果を下記の図 2-2-7-2-10 に記す。34.7 g/L D-グルコースを含んでいた未処理の糖化サンプルから 26.39 g/L バイオエタノール、60g/LD-グルコースを含んでいた熱水処理をした糖化サンプルから 32.07 g/L バイオエタノールを生産することができた。これらのことから、熱水処理の有無にかかわらず *S. cerevisiae* は糖化液サンプル中に含まれる糖を問題なくバイオエタノールに変換することができると考えられた。

熱水処理した方が D-グルコースの量が多い分だけバイオエタノール生産量が多いが、処理のコストや排水処理などを考慮すると洗浄しない方が同量のバイオエタノール生産に対するコストは安くなると思われる。洗浄を行うことで D-キシロース分が流出する可能性がある一般的な酵母は D-キシロースを資化しにくい点がある。また、設備費、廃水処理費の増大が見込まれることから、本技術は今回の商用プロセスでは採用を見送ることとした。

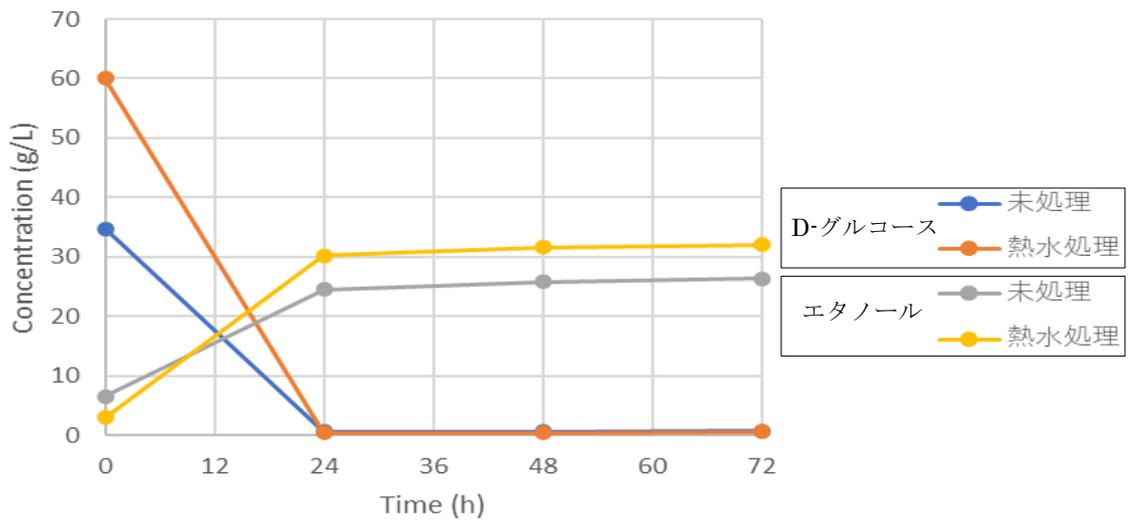


図 2-2-7-2-10 未処理および熱水処理爆碎廃菌床糖化液の発酵

2-2-7-3 酵素カクテル生産技術の検討

セルラーゼ生産菌 *T. reesei* M2-1 は、可溶性糖質の組成を変えることである程度成分酵素組成が最適化されたベース酵素を容易に誘導生産できる特徴を有しているが、十分に生産できない成分酵素も存在する。本課題を解決すべく、我々はこれまでに分裂酵母 *Shizosaccharomyces pombe* にこれらの成分酵素を異種発現させ、ベース酵素と一定比率で混合することで木質系バイオマス由来パルプ分解用の酵素カクテルを製造する技術を開発した（平成 25 年度～平成 28 年度成果報告書「バイオマスエネルギー技術研究開発／バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業／可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」）。

一方、これら酵素を用いたバイオマスの酵素糖化工程は雑菌汚染し易く、高濃度の糖液調製を困難にしている。従って、セルラーゼの産生能を有し、かつ抗生物質の産生による雑菌の生育抑制能を有する放線菌株の開発を目指した。加えて、抗生物質産生株の培養液を用い、糖化工程における雑菌汚染低減効果についても検討した。

本実証事業では、日本国内における原料調査において、廃棄物系バイオマスが有力な原料であることを明らかとしている。これを受けて、廃棄物系バイオマスの一つであるコーヒー粕に着目し、コーヒー粕の糖化に関与すると考えられる成分酵素の誘導検証を行った。

2-2-7-3-1 セルラーゼ活性を有する放線菌を用いた酵素カクテルの最適化検討

放線菌の多くは菌体外に抗生物質を産生することが知られており、工業的に多くの菌株が実用化されている。一方で、バイオマスを原料とする第二世代バイオエタノール製造において酵素糖化工程は雑菌汚染し易いという問題がある。bits ではセルラーゼ及び抗生物質を産生する放線菌株を開発することで、酵素糖化における雑菌汚染リスクを低減することを目的とした開発を実施しており、セルラーゼ活性（CMCase 活性）を有する放線菌ライブラリーを有している。本項目では放線菌ライブラリーより、自製セルラーゼ酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 株の代替となり得るセルラーゼ生産菌の獲得を目指し評価した。

本事業におけるバイオマス原料は木質系パルプであるが、事業化に向け、原料の多様化に対応するために、廃菌床やコーヒー粕、古紙パルプの評価にも取り組んでいる。この背景を受け、廃菌床及びコーヒー粕を分離源とした株を評価した。

菌株のセルラーゼ活性の確認には、BiNF_i-s（極短繊維～極長繊維、スギノマシン製）、又は中越パルプ製のセルロースナノファイバーを含有する平板培地（表 2-2-7-3-1）を作製し、クリアゾーン形成能で評価した。

表 2-2-7-3-1 セルロースナノファイバー含有平板培地

セルロースナノファイバー	1.0~2.0 %
グルコース	0.0~5.0 %
セロビオース	0.0~2.0 %
Bacto Soytone	0.1 %
ハイポネックス	1.0 mL
塩化カルシウム（無水）	2.0 mL
硫酸マグネシウム・7水和物	1.0 mM
MOPS	0.1 %
ゲランガム	0.7 %
水道水	
pH	無調整

クリアゾーン形成能の認められた代表的な分離株に関する評価結果を以下の表に示す（表 2-2-7-3-2）。この中からクリアゾーン形成能を基に有望と思われた放線菌 K71-57 株を選抜した。

表 2-2-7-3-2 放線菌の分離及び評価結果

菌株	クリアゾーン形成能*	分離温度（℃）
K71-57	+++	50
Kh-2	+	常温
tm-96	+	50
tm-98	++	50
tm-99	++	50
tm-100	+	50
tm-118	++	50
tm-159	+++	50

*クリアゾーン（+：小，++：中，+++：大）

続いて K71-57 株についてジャーファーマンターによる培養検討を以下の条件で実施し、自製セルラーゼ酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 株の代替の可能性について評価した。セルラーゼ活性は以下に示す方法で pNPL 分解活性及び FPase 活性により評価した。

a) 培養条件

第一種母 (S1)

- ↓ 培養容器：振盪三角フラスコ バッフル付 (100 mL 容×6 本)
- ↓ 培養器： 恒温振とう培養器 (タイテック)
- ↓ 振盪数： 250 rpm (旋回式)
- ↓ 培地組成： BiNF_i-s (標準)：10%, デキストリン：4%
- ↓ Bacto Soytone：1.5%, 酵母エキス：0.3%
- ↓ 炭酸カルシウム：0.3%
- ↓ 培地量： 35 mL
- ↓ 滅菌条件： 121°C、20 min (オートクレーブ滅菌)
- ↓ 植菌量： 平板培地培養より約 2cm×3cm 切片
- ↓ 培養温度： 45°C
- ↓ 培養時間： 56 時間
- ↓

本培養 (Main)

- ↓ 培養容器：5L 容ジャーファーメンター (株高杉製作所)
- ↓ 培地組成： BiNF_i-s (標準)：10%, デキストリン：1%
- ↓ Bacto Soytone：1.5%, 酵母エキス：0.3%
- ↓ 炭酸カルシウム：0.3%, ハイポネックス：1.25%
- ↓ 培地量： 2,000 mL
- ↓ 滅菌条件： 121°C、20 min (オートクレーブ滅菌)
- ↓ 植菌量： 第一種母培養液 210 mL (10.5 v/v%)
- ↓ 培養温度： 45°C
- ↓ pH 制御： 下限値 pH6.0 (10%アンモニア水)
- ↓ DO 制御： 下限値：0.31 mg/L
- ↓ 上限値：2.00 mg/L (0~14 hr) , 1.00 mg/L (14 hr~)
- ↓ 攪拌数： 初発 101 rpm
- ↓ DO 制御開始後に変動
- ↓ 通気量： 1 vvm (2 L/min)
- ↓ 圧力： 0 kPa
- ↓ 添加： トリメトプリム (終濃度 500 µg/mL)
- ↓ 10%微結晶セルロース溶液：200 mL (17, 42 時間)
- ↓ 培養時間： 67 時間
- ↓

培養終了

b) 分析法

β-ラクトピラノシダーゼ活性：pNPL (*p*-nitrophenyl-β-D-lactopyranoside) 分解活性で β-ラクトピラノシダーゼ活性を測定した。反応温度は 50°C で測定した。

FPase 活性：平成 20 年～平成 24 年度成果報告書「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究」の附属資料「セルロース系バイオマスの酵素糖化に関する分析法の検討」に準じて行った。

タンパク質量：平成 20 年～平成 24 年度成果報告書「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究」の附属資料「セルロース系バイオマスの酵素糖化に関する分析法の検討」に準じて行った。

評価結果を以下の表に示す（表 2-2-7-3-3）。pNPL 分解活性、FPase 活性が共に確認された。しかしながら、セルラーゼ酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 株に対して pNPL 分解活性が 1/69~1/54、FPase 活性が 1/64~1/53 と顕著に劣る結果となった。

また、セルラーゼ酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 は 50 g/L 程度のタンパク質を菌体外に分泌し、そのほとんどがセルロースの分解に関わる酵素であることが最大の特徴である。本検討で用いた放線菌 K71-57 株の菌体外タンパク質量は、*T. reesei* M2-1 株の 1/6 と大きく及ばない結果となった。

これらの結果より、本検討にて単離した放線菌を自製セルラーゼ酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 株の代替として用いるには、更なる生産性の向上が必要と判断した。

表 2-2-7-3-3 放線菌 K71-57 の評価結果

	K71-57	<i>T. reesei</i> M2-1*
pNPL (U/mL)	0.13	7~9
FPase (FPU/mL)	0.47	25~30
タンパク質量 (mg/mL)	8.13	50

* *T. reesei* M2-1測定値：平成25年度～平成28年度成果報告書「バイオマスエネルギー技術研究開発／バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業／可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」に関連する試験結果より引用

一方、放線菌ライブラリーの中には、バイオマスの酵素糖化工程から分離された雑菌の生育を抑制する抗生物質産生株も見出されている。抗生物質を含有した培養液をバイオマスの酵素糖化工程に添加することで雑菌生育を抑制し、より高濃度の糖化液の製造に寄与できることが期待される。

2-2-7-3-2 放線菌の培養液添加による糖化及び発酵プロセスの コンタミネーション低減効果

自製酵素の性能確認のために 400L の実証試験系において糖化試験を行ったところ、雑菌混入が頻繁に認められた。ここでは、その経緯と対策として行った、抗生物質産生株の放線菌培養液添加効果について報告する。

① 実験の方法

a) 実験試料

糖化原料として LBKP を使用した。酵素は自製 *T. reesei* M2-1 培養液 (19.0 FPU/ml) と *S. pombe* 培養液 BGL を使用した。

b) 糖化反応

試験の条件は

基質(未処理パルプ濃度):15%

酵素:10 FPUg-biomass M2-1 培養液+20 BGLU g-biomass

液量:400 L

攪拌:50 rpm から開始

で行った。また、pH の制御に使うアルカリ溶液は初期～中期には 25% (6.25N NaOH), 終期には飽和 NaOH 溶液を使用した

④ 結果と考察

試験における、pH の変化とアルカリ溶液の消費量の関係を図 2-2-7-3-2 に示す。アルカリ溶液が尽きていたと思われる期間は赤点線で囲った。糖化から 24 時間以上たってから pH 制御装置により急激に溶液の投入が行われ、なおかつ pH4 まで低下した。

T. reesei M2-1 培養液には *T. reesei* の菌体と多量の N 源が含まれていると考えられる。本試験での pH の低下は *T. reesei* によるものと混入した雑菌によるものと 2 種類の原因が考えられる。糖化初期には眠っていた菌が糖化の進行と共に糖を消費し爆発的に増えることで今回のような pH の低下と糖濃度の低下が起きたと考えられる。

また、本試験における単糖濃度は低く、(予備試験 12.7%→本試験 9.0%)コンタミネーションによる糖化への影響が考えられた。

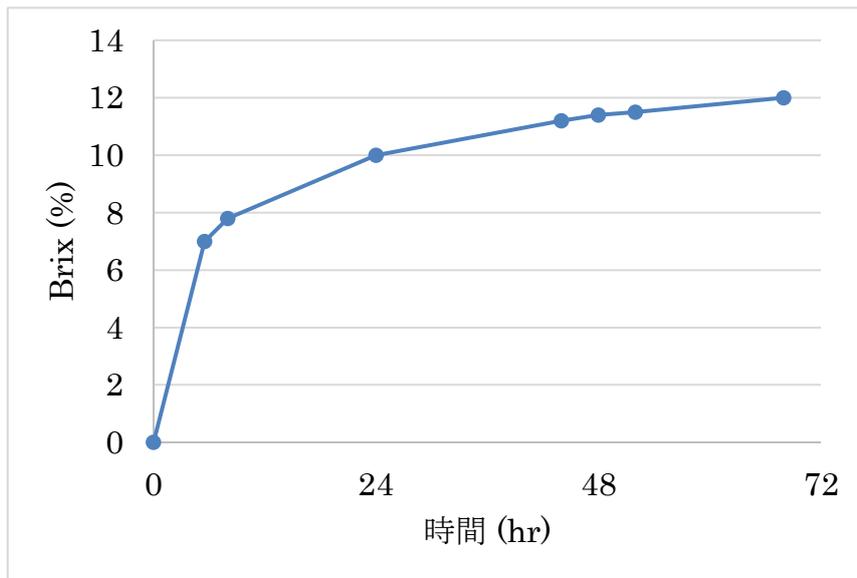


図 2-2-7-3-1 経時毎の Brix 濃度

表 2-2-7-3-4 経時毎の単糖濃度

反応時間 (hr)	Glu (%)	Xyl (%)
5.5	4.04	1.06
8	4.72	1.25
24	6.77	1.65
48	8.14	1.95
70	7.13	1.97

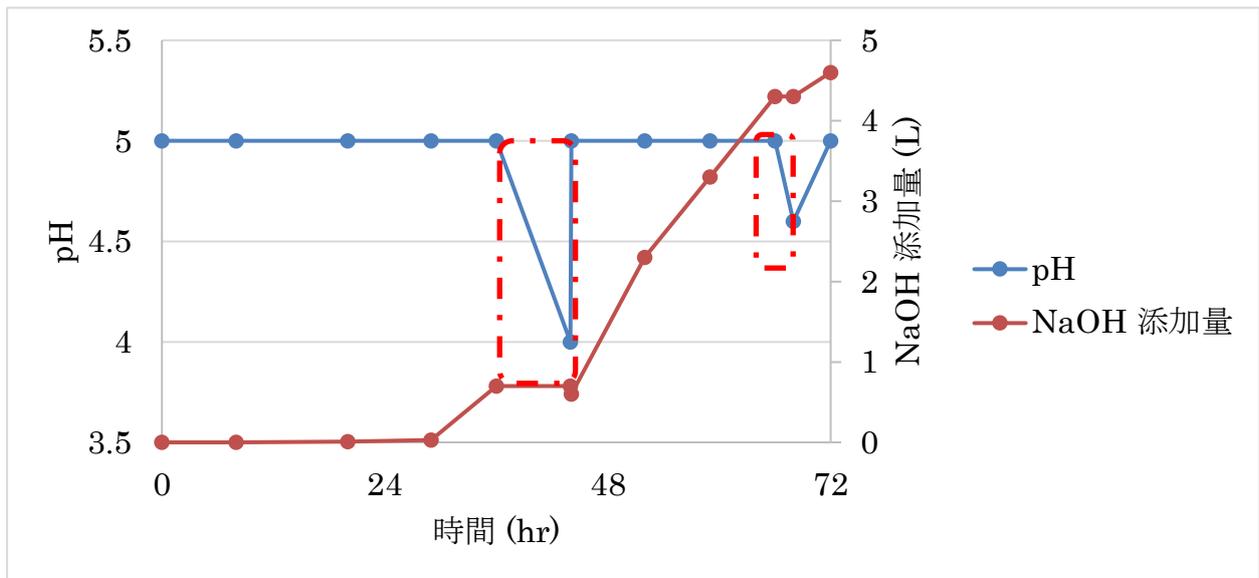


図 2-2-7-3-2 経時毎の pH 変化と NaOH 添加量

2-2-7-3-3 放線菌培養液を抗生物質として添加した LBKP パルプの糖化試験時の比較

放線菌 abp-129 培養液の添加の有無で、糖化試験結果の差を比較した。糖化試験は自製の *T. reesei* M2-1 培養液及び BGL による酵素カクテルを用いた模擬パルプ残渣 (LBKP) の 1m³ タンクでの糖化で同じ条件の物を使用した。

① 実験の方法

a) 試験概要

糖化には LBKP を使用した。酵素は自製 *T. reesei* M2-1 培養液 と *S. pombe* 培養液 BGL を使用し、どちらも 10FPU g-biomass 相当の酵素量になるよう糖化した。糖化は 1m³ タンク中で最終濃度 15% の LBKP を 300L の反応系で糖化する条件で行われ、それぞれの糖濃度と pH 調整に用いられたアルカリ (10 M NaOH) 液量を比較した。

放線菌 abp-129 培養液は、予め 90°C, 1 hour 処理し以下のように投入された。

・糖化開始時(0h)

酵素(*T. reesei* M2-1 培養液)添加と同時に 1/50000 量 (6ml)添加

・糖化初期 (13 h)

雑菌による酸生成に伴うアルカリ液の消費と顕微鏡観察にて活動を確認した。1/5000 量 (60 ml) 放線菌 abp-129 培養液を三回投入することで、アルカリ液の消費と雑菌の活動の抑制を確認した。

・糖化終期 (50 h)

放線菌 abp-129 培養液 114 ml 投入。Total で 1/1000 量 (300 ml)投入。

③ 結果と考察

抗生物質の有無による、LBKP 糖化試験に与える影響を図 2-2-7-3-4(放線菌 abp-129 添加無し)と図 2-2-7-3-5 (放線菌 abp-129 添加あり)に示す。コンタミネーションが発生した場合、有機酸が生成され pH が低下する。糖化槽は pH 制御がなされており、pH を 5 に維持するために、アルカリ消費量が増大する。商業プラントではコンタミネーションは更に重要な問題となる。抗生物質を使用しない場合は、糖化 12 時間以降からコンタミネーションによる pH の低下によるアルカリ液の大量投入が見られ、糖化率は 50~60%程度に留まっていた。一方で自製の放線菌 abp-129 培養液を抗生物質として使用した際には、糖化の後半までアルカリ液の投入は抑制されていた。抗生物質は増殖が始まる前の適切な時期に添加することで、雑菌の増殖が抑制されていたと考えられる。

各試験の最終的な単糖濃度を比較すると、抗生物質を投入した試験の方が 2%程高い単糖濃度を示した。以上よりパルプの糖化において放線菌 abp-129 培養液が雑菌抑制に効果的であり、安価な抗生物質として糖化工程に有用であると示された。



図 2-2-7-3-3 抗生物質液として使用した放線菌 abp-129 培養液

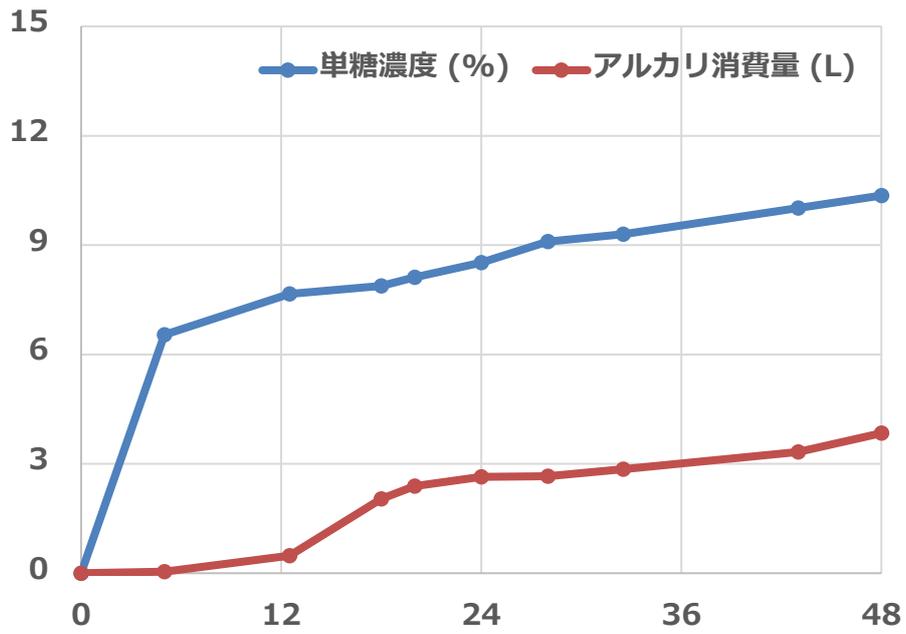


図 2-2-7-3-4 放線菌 abp-129 を添加せずに 15%LBKP を糖化

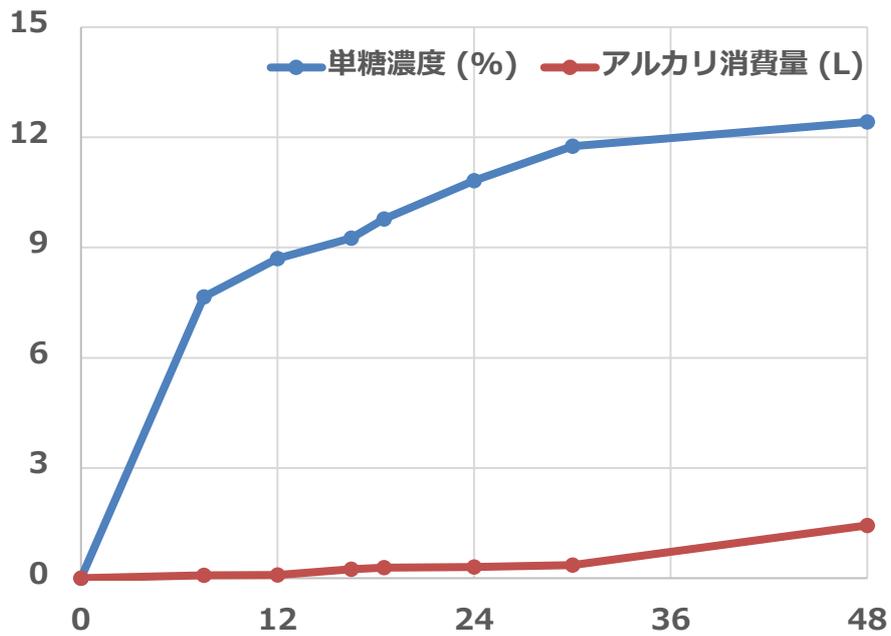


図 2-2-7-3-5 放線菌 abp-129 を添加して 15%LBKP を糖化

2-2-7-3-4 酵素誘導効果の検証

本実証事業では、日本国内における原料調査において、廃菌床及びコーヒー粕等のセルロース系廃棄物が有力な原料であることを明らかとし、川崎プラントでの水蒸気爆砕試験による原料評価を実施した。中でもコーヒー粕は近年のコーヒー国内消費量の高まりから発生量が増加しており、非常に有力な原料と考えられる。

一方、可溶性糖質源培養が可能なベース酵素生産菌 *T. reesei* M2-1 の特徴は、可溶性糖質の組成を変えることで“ある程度”成分酵素組成が最適化されたベース酵素を容易に誘導生産できるところにある。これまでに、LBKP の糖化に関与する成分酵素の誘導効果の検証を目的として、LBKP 糖化液にグルコースを加糖して調製した流加糖液を用いた流加培養により、LBKP の糖化に関与する成分酵素の誘導を確認している（平成 25 年度～平成 28 年度成果報告書_バイオマスエネルギー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発）。つまり、原料バイオマスの糖化液を誘導糖質として酵素生産菌の培養基材として用いることは、当該バイオマスの糖化に関与する成分酵素組成の最適化に非常に有効な方法と考えられる。本検証結果を受けて、原料候補の一つであるコーヒー粕の糖化に関与する成分酵素の誘導にも基質であるコーヒー粕糖化液の流加糖液への利用が有効との仮説を立てた。

本仮説の実証には、コーヒー粕及びその糖化液が必要である。しかしながら、水蒸気爆砕処理後のコーヒー粕は不溶性の残渣を多く含んでおり、ラボスケールレベルにおいて均一で流加可能な糖液を調製することは困難である。従って、コーヒー粕の糖組成に類似した基材への代用を考えた。

水蒸気爆砕処理（処理条件：180~200℃，10~20 min）コーヒー粕の糖組成の分析結果を示す（図 2-2-7-3-6）。ガラクトサンを多く有し、中でもマンナンを最も多く含むという特徴を有している。この糖組成に類似した多糖類としてローカストビーンガム（Locust Bean Gum, LBG）が知られている。高濃度での水への溶解は困難であるものの、30 g/L 程度であれば 80~85℃の加熱により溶解することを確認し、流加糖液の基材として利用可能であることを予備検討にて明らかとした。

本項目では、廃棄物系バイオマスの一つであるコーヒー粕の利用を目的として、コーヒー粕の糖組成に類似し、かつ取り扱いが容易な LBG を用い、コーヒー粕の糖化に関与する成分酵素の誘導について検証した。

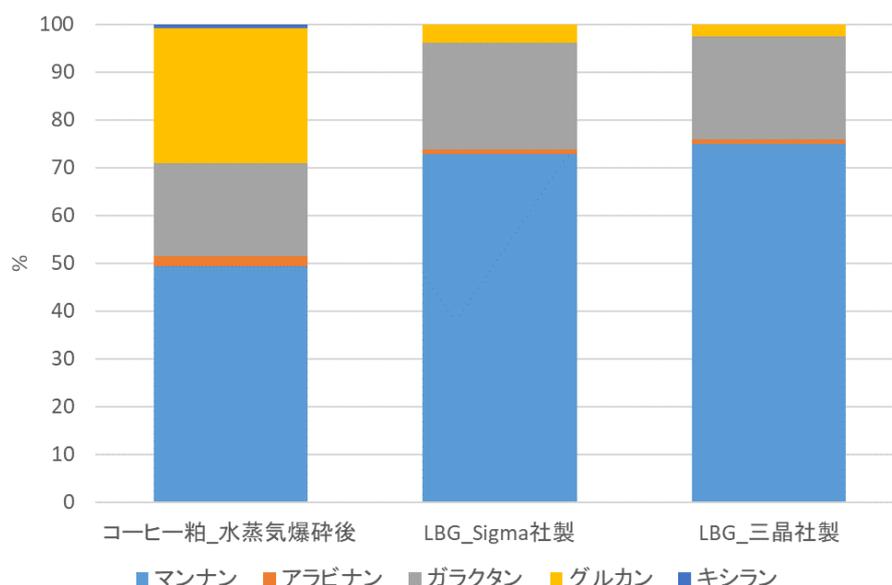


図 2-2-7-3-6 コーヒー粕とローカストビーンガム (LBG) の糖組成の比較

まず、LBG の糖組成から、グルコース (G1)、セロビオース (G2)、マンノース (Man)、ガラクトース (Gal) の混合液が LBG の糖化に関する成分酵素の誘導に妥当であるとの仮説を立てた。次いで、糖組成の異なる種々の流加糖液を調製し、マンノース、ガラクトース、LBG による生成酵素の組成への影響を検証した。検証に用いた培地組成 (表 2-2-3-7-5) と流加糖液中の糖組成 (表 2-2-3-7-6) を示す。

表 2-2-3-7-5 ベース酵素生産 *T. reesei* M2-1 培地組成

種母培養培地組成			本培養培地組成		
原料	製造	終濃度 (g/L)	原料	製造	終濃度 (g/L)
炭素源			炭素源		
含水ぶどう糖	(株)サナス	22.0	含水ぶどう糖	(株)サナス	22.0
有機炭素・窒素源			有機炭素・窒素源		
ハイポリペプトン	日本製薬(株)	1.0	酵母エキスP602	Shandong Bio Sunkeen Co., LTD	0.5
酵母エキスP602	Shandong Bio Sunkeen Co., LTD	0.5	コーンステイープリカー	向後スターチ(株)	80.0
無機窒素源			無機窒素源		
硫酸アンモニウム		1.4	硫酸アンモニウム		15.0
ミネラル			ミネラル		
りん酸二水素-カリウム		2.0			
硫酸マグネシウム・七水和物		0.3			
塩化カルシウム・二水和物		0.3			
増殖促進・炭素源			増殖促進・炭素源		
Tween80		1.0	Tween80		1.0
ミネラル微量元素 (Trace element)			ミネラル微量元素 (Trace element)		
ホウ酸		0.00006	ホウ酸		0.00006
モリブデン酸六アンモニウム・四水和物		0.00026	モリブデン酸六アンモニウム・四水和物		0.00026
塩化鉄・六水和物		0.00100	塩化鉄・六水和物		0.00100
硫酸銅・五水和物		0.00040	硫酸銅・五水和物		0.00040
塩化マンガン・四水和物		0.00008	塩化マンガン・四水和物		0.00008
塩化亜鉛		0.00200	塩化亜鉛		0.00200
消泡剤			消泡剤		
アデカノールLG-126	(株)ADEKA	0.5	アデカノールLG-126	(株)ADEKA	0.5
pH無調整			pH5.2に調整 (KOH使用)		

表 2-2-3-7-6 流加糖液中の糖組成 (終濃度 g/L)

	G1	G2	Man	Gal	LBG
G1 + G2 + Man	490	50	5		
G1 + G2 + Man	484	50	10		
G1 + G2 + Gal	490	50		5	
G1 + G2 + Gal	484	50		10	
G1 + G2 + Man + Gal	490	15	20	10	
G1 + G2 + Man + Gal	473	50	16	4	
G1 + G2 + LBG	473	50			10

a) 培養条件

第一種母 (S1)

- ↓ 培養容器： 振盪三角フラスコ バッフル付 (500 mL 容、柴田科学(株))
- ↓ 培養器： 恒温振とう培養器 (株)高杉製作所)
- ↓ 振盪数： 180 rpm (旋回式、振幅 70 mm)
- ↓ 培地： 種母培養培地
- ↓ 培地量： 100 mL
- ↓ 滅菌条件： 121°C、20 min (オートクレーブ滅菌)
- ↓ 植菌量： 1.51 x 10⁷ conidia
- ↓ *T. reesei* M2-1 フリーズストック (2.7 x 10⁸ conidia/mL)
- ↓ 培養温度： 28°C
- ↓ 培養時間： 24 時間
- ↓

第二種母 (S2)

- ↓ 培養容器： 5L 容ジャーフェーマンター (株)高杉製作所)
- ↓ 培地： 種母培養培地
- ↓ 培地量： 2,000 mL
- ↓ 滅菌条件： 121°C、20 min (オートクレーブ滅菌)
- ↓ 植菌量： 第一種母培養液 100 mL (5 v/v%)
- ↓ 培養温度： 28°C
- ↓ pH 制御： 下限値 pH4.0
- ↓ ON : 3 秒、OFF : 60 秒 (10%アンモニア水)
- ↓ DO 制御： 初発溶存酸素値の 50% 下回り後、50%~60%を維持
- ↓ 攪拌回転数出力調整による制御
- ↓ 攪拌数： 400 rpm
- ↓ 通気量： 1 vvm (2.0 L/min)
- ↓ 圧力： 0 kPa

↓ 培養時間： 24 時間

↓

本培養 (Main)

↓ 培養容器： 5L 容ジャーファーメンター (株)高杉製作所)

↓ 培地： 本培養培地

↓ 培地量： 2,500 mL

↓ 滅菌条件： 121°C、20 min (オートクレーブ滅菌)

↓ 植菌量： 第二種母培養液 100 mL (4 v/v%)

↓ 培養温度： 28°C

↓ pH 制御： 下限値 pH4.0 (0~48 hr) , pH5.0 (48 hr~)

↓ ON : 3 秒、OFF : 60 秒 (10%アンモニア水)

↓ DO 制御： 初発溶存酸素値の 50% 下回り後、50%~60% を維持

↓ 又は、初発グルコース枯渇後、50%~60% を維持

↓ 攪拌回転数出力調整による制御

↓ 攪拌数： 初発 500 rpm

↓ DO 制御開始後に変動

↓ 通気量： 1 vvm (2.5 L/min)

↓ 圧力： 0 kPa

↓ 流加培地： 表 4. 3. ⑥を参照

↓ 流加速度： 3.2 g/h/L・初発培地 (8.0 g/h)

↓ 流加開始： 培地中の残存グルコース濃度 1.0 g/L 下回り後に開始

↓ 培養時間： 134 時間

↓

培養終了

b) 分析法

培養液濁度： $\lambda=600\text{nm}$ における濁度 (OD_{600}) から菌体増殖を評価した。 OD_{600} は培養液用濁度計 Biowave C08000 Cell Density Meter (Biochrom Ltd.) にて測定した。測定値が 0.7 以下になるように RO 水で希釈して測定した。

グルコース： 培養液中の残存グルコース濃度はバイオセンサーBF-7 (王子計測機器(株)) にて測定した。採取した培養液を 500 μL 程度サンプルカップに入れ、オートサンプラー BF48AS にセッティングした。

運転条件

流速： 1.0 mL/min

注入量： 4 μL

恒温槽温度： 37 °C

測定時間： 60 秒

緩衝液： pH7.0

標準液： グルコース 1.8 g/L、3.6 g/L、5.4 g/L

PCV (Packed Cell Volume) : サンプルングした培養液をよく混合し、目盛付き遠心管に入れ 3,000rpm、10min 遠心し沈殿した菌体ペレットの上面の目盛を読み取り、下記の式で PCV を算出した。

$$\text{PCV}(\%) = (\text{遠心前培養液目盛} - \text{遠心後ペレット目盛}) / \text{遠心前培養液目盛} \times 100$$

タンパク質量 : 平成 20 年～平成 24 年度成果報告書「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究」の附属資料「セルロース系バイオマスの酵素糖化に関する分析法の検討」に準じて行った。

マンナーゼ活性 : 平成 20 年～平成 24 年度成果報告書「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究」の附属資料「セルロース系バイオマスの酵素糖化に関する分析法の検討」に準じて行った。

β -マンノシダーゼ活性 : 平成 20 年～平成 24 年度成果報告書「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究」の附属資料「セルロース系バイオマスの酵素糖化に関する分析法の検討」に準じて行った。

β -ガラクトシダーゼ活性 : pNPgal (*p*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) 分解活性で β -ガラクトシダーゼ活性を測定した。反応温度は 50°C で測定した。

以下に、流加糖液中のマンノースが生成酵素の組成に及ぼす影響を示す (図 2-2-7-3-7)。検討の結果、マンノース濃度依存的にマンナン分解に関与するマンナーゼ、マンノシダーゼがともに誘導されることが明らかとなった。

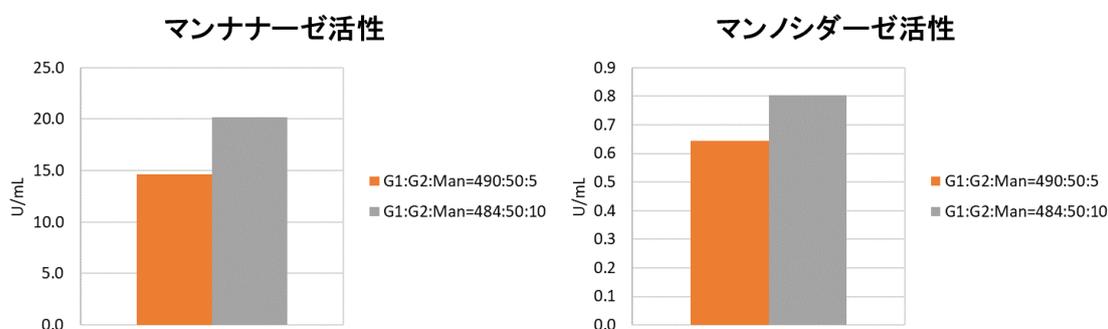


図 2-2-7-3-7 マンノースによるマンナーゼ及びマンノシダーゼの誘導

併せて、ガラクトース濃度依存的にガラクトンの分解に関与するガラクトシダーゼが誘導されること、加えてガラクトシダーゼの誘導は、マンノース存在下で生じやすい傾向が示唆された (図 2-2-7-3-8)。

ガラクトシダーゼ活性

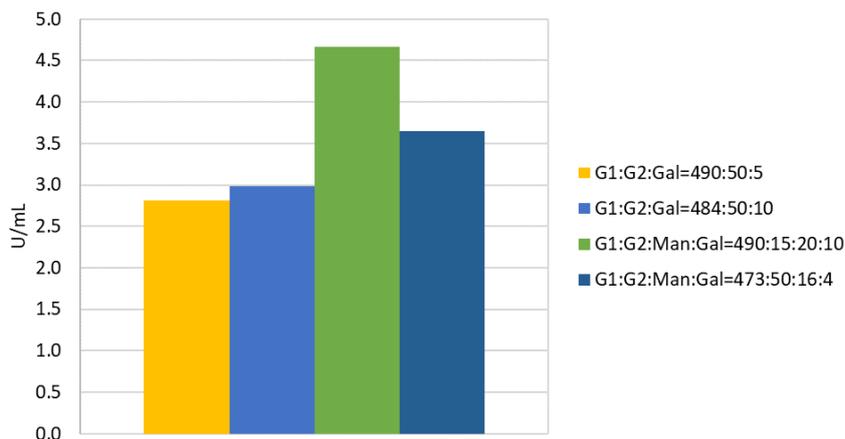


図 2-2-7-3-8 ガラクトース及びマンノースによるガラクトシダーゼの誘導

また、LBG によって、その構成多糖であるマンナン分解に関与するマンナーゼが明瞭に誘導される現象を確認した (図 2-2-7-3-9)。これらの結果より、当該酵素の対象基質、或いはその構成糖を流加糖液の基材として用いることにより、当該原料の糖化に適した酵素成分を誘導可能であることが明らかとなった。

マンナーゼ活性

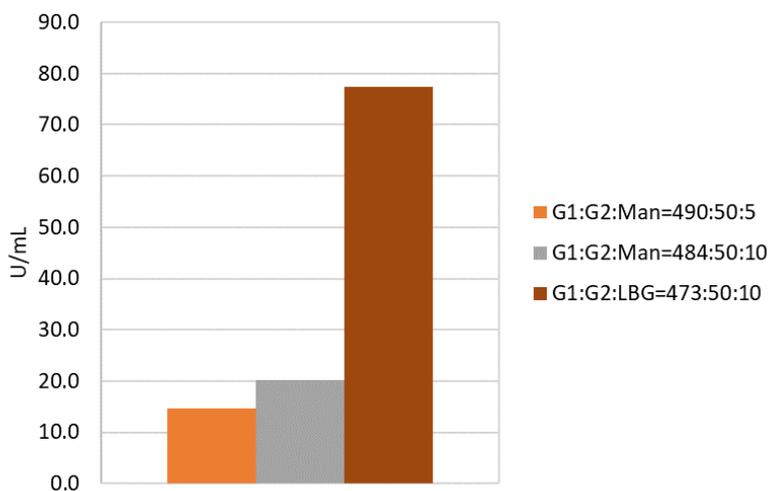


図 2-2-7-3-9 LBG によるマンナーゼの誘導

LBG 糖化液による酵素誘導効果の検証

流加糖液中にマンノースやガラクトースを添加することでマンナンやガラクトサンの分解に関与する酵素が誘導され、さらに LBG を添加することによりマンナーゼが顕著に誘導生産されたが、酵素の積極的な誘導には構成単糖や LBG そのものではなく、LBG 由来のオリゴ糖が関与している

ことが推測される。また、将来的にコーヒー粕を流加糖液や培養基材として用いる場合でも、流加時のハンドリングも含めてコーヒー粕そのものではなく水蒸気爆砕後のコーヒー粕を糖化したオリゴ糖を含有する糖化液を用いる可能性が高い。本項目では、LBGを *T. reesei* M2-1 ベース酵素で酵素糖化して平均重合度 (Degree of Polymerrization) の異なる糖化液を調製し、これを流加糖液に添加して *T. reesei* M2-1 による酵素誘導試験を実施した。

a) LBG糖化条件

反応容器： 5L 容ステンレス製ジャーフェーマンター (株高杉製作所)

仕込み総量： 2,000 mL

基質： LBG (三晶株, 固形分率：87.39 w/w%)

糖含有量 (マンナン：65.00 w/w%, アラビナン：0.82 w/w%, ガラクタン：18.65 w/w%, グルカン：2.17 w/w%, キシラン：0.00 w/w%)

基質濃度： 50 dry-g/L

酵素： *T. reesei* M2-1 培養上清 (FPase 活性：40.6 U/mL, pNPL 分解活性：9.1 U/mL, マンナーゼ：40.8 U/mL, マンノシダーゼ：0.6 U/mL, ガラクトシダーゼ：3.2 U/mL)

酵素使用量： 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 6.00 U/g-マンナン

反応温度： 50°C

反応時間： 72 時間

攪拌数： 300 rpm

攪拌翼： 3 段傾斜 4 枚パドル翼 (株高杉製作所)

b) 分析法

全糖濃度： フェノール硫酸法により全糖濃度を測定した。

還元糖濃度： DNS 法により還元糖濃度を測定した。

平均重合度： $100 \times \text{還元糖濃度} / \text{全糖濃度}$

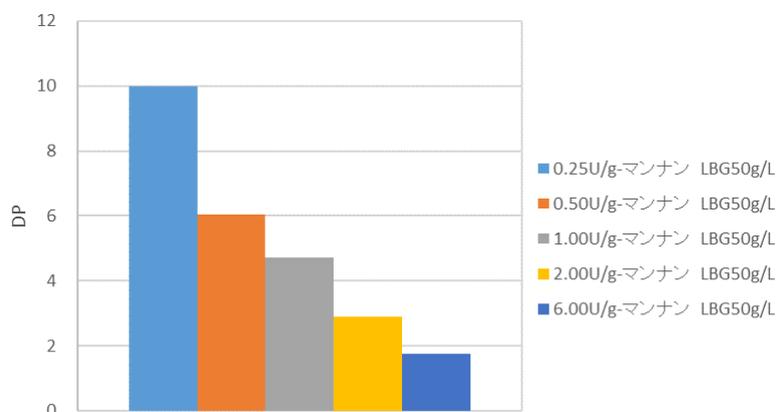


図 2-2-7-3-10 平均重合度 (DP) の異なる LBG 糖化液の調製

平均重合度より、酵素使用量依存的にオリゴ糖から単糖へ移行していることが明らかとなった(図 2-2-7-3-10)。また、先にも記したが、LBG の中性付近の水溶液は粘性が強く、常温での高濃度水溶液 (LBG 10 g/L 以上) を調製することは困難である。しかしながら、糖化处理を施すことにより何れの試験区においても著しく粘性が低下する現象が確認された。これにより、高濃度の LBG 含有流加糖液の調製が可能となった。

次に、本 LBG 糖化液を用いて LBG 濃度の異なる流加糖液を調製した。LBG 糖化液は、1.00U/g-マンナンで糖化处理を行った溶液を用いた。流加糖液の単糖組成はグルコース濃度 473 g/L、セロビオース濃度 50 g/L、LBG 糖化液 200~600 g/L (LBG 10~30 g 相当) とした。これらを用いた流加培養試験を実施した。

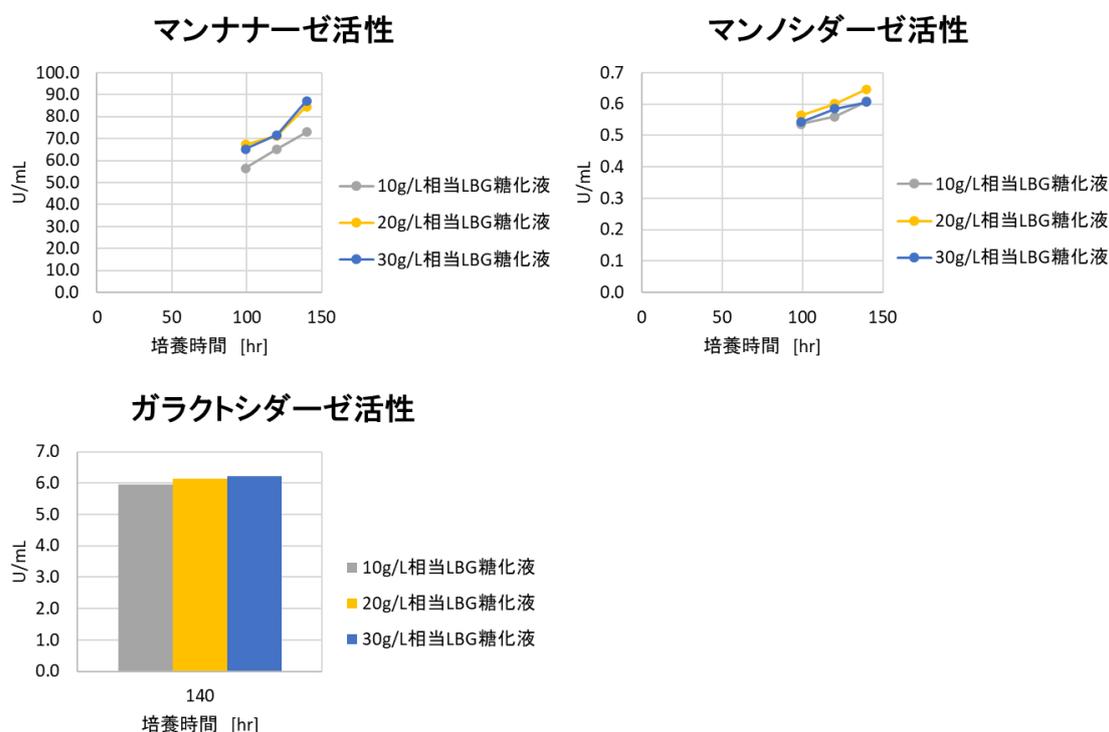


図 2-2-7-3-11 LBG 流加糖液を用いた酵素誘導試験結果

検討の結果、LBG 糖化液を用いた流加糖液により LBG の分解に関与する酵素が産生されることが明らかとなった(図 2-2-7-3-11)。このことは、プロセスから発生する糖化液を酵素製造に用いることによって、当該原料の糖化に適した酵素成分を生産誘導可能であることを示唆している。また、誘導生産が期待されるマンナーゼの酵素活性は、LBG 濃度依存的に増加していることが明らかとなった。

本検討は廃棄物系バイオマスとしてコーヒー粕の利用を目的としたものであり、先の研究開発である「バイオマスエネルギー技術研究開発/バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/可溶性糖質源培養による木質系バイオマス由来パルプ分解用酵素生産の研究開発」にて実施した LBKP 糖化液の利用実証を含めて、バイオマス由来の糖化液がプロセスにて利用可能であることを改めて

示す結果となった。先にも述べたが、日本国内には他にも多様なセルロース系廃棄物（廃菌床、麦わら、稲わらなど）が存在している。今後はそれら多様な廃棄物系バイオマスに対する利用検証を行う必要がある。

2-2-7-4 C5糖資化性微生物の検討

古くから行われてきているバイオエタノールの研究と同様に、C5糖資化性微生物についても古くから微生物のスクリーニングおよび育種が行われてきている。一般的にエタノール発酵で用いられている *Saccharomyces cerevisiae* は高い効率でグルコースからエタノールへ変換することができるが、キシロースのようなバイオマスから生じるC5糖を資化することができない。このため、C5糖からエタノールを生産することができる酵母のスクリーニング、あるいは *S. cerevisiae* に対して遺伝子組み換え技術によりキシロースを資化するための遺伝子を導入する方法により、この問題の解決が試みられている。前者では *Candida intermedia* や *C. glabrata*、*Kluyveromyces marxianus* などが知られており、後者としては xylose isomerase (XI) や xylose reductase (XR) と Xylitol dehydrogenase (XDH) を導入した *S. cerevisiae* が知られている (1-5)。発酵条件に大きく依存するが、非遺伝子組換え酵母と遺伝子組換え酵母ではC5糖からのエタノール生産効率は遺伝子組換え酵母の方が優れていることが多い。一方で、日本やカルタヘナ議定書締約国ではその使用に関して、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)によって規制されており、これに準ずる必要がある。このため、高い設備投資が必要となり、C5糖の含有量が少ない場合や使用する生物資源のバイオセーフティレベルによっては経済的にバイオエタノール生産効率が遺伝子組換え酵母よりも非遺伝子組換え酵母の方が望ましい場合もある。

本研究においては様々なバイオマスからバイオエタノール生産することを視野に入れており、非遺伝子組換え酵母と遺伝子組換え酵母のどちらを使用するのか、あるいは両方を使用するのかわからない。これらのことから、本項では非遺伝子組換え酵母と遺伝子組換え酵母の両方についてバイオマスからのバイオエタノール生産性を検討した。

2-2-7-4-1 *Candida intermedia* 4-6-4T2

C. intermedia は様々なキシロース資化性酵母の中から、キシリトール蓄積性と阻害物質耐性からカルチャーコレクションより選抜されて、さらに育種を重ねることによって *C. intermedia* 4-6-4T2 が得られた。本プロジェクトにおいては、そのキシロース資化性と阻害物質耐性から *C. intermedia* 4-6-4T2 を用いることとした。

2-2-7-4-2 *Saccharomyces cerevisiae* IR-2

S. cerevisiae IR-2 はインドネシアの発酵食品由来の酵母であり、それを宿主に NEDO 事業(「バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業/有用微生物を用いた発酵の生産技術開発」)にて遺伝子組み換えにより、アルカリ処理バガス、希硫酸浸漬爆砕処理バガスなどキシロースを含むバイオマスに対して高い発酵効率を示してきた。しかしながら、廃菌床などのバイオマスについて、その発酵の可否は検討されていない。また、前述のプロジェクトでは多様な菌株が開発されており、開発された菌株の中でどの株が使用するバイオマスに適しているのか検討する必要があった。これらのことから、本項では廃菌床糖化液を用いて、遺伝子組換え酵母 *S. cerevisiae* IR-2 の発酵性について実験を行った。また、その適切な植菌量についても検討を行った。

① 実験の方法

a) 発酵試料の調整

200℃、10 min で水蒸気爆砕した廃菌床(Cellulose: 34.05 dry-w/v%、Hemicellulose: 12.62 dry-w/v%)を仕込みスラリー濃度が 25 dry-w/v%になるように仕込み、これを CTec3HS 20 FPU/dry-g biomass 相当加えて 50℃、pH: 5 で 48 時間反応させた。反応終了後、糖化反応を停止させるために 98℃で 10 分間加温し、pH5.5 に調製した後に遠心分離によって上清を回収した。この作業を 3 回行い、これらサンプルを発酵液に供した。

b) 発酵の可否の検討

開発された *S. cerevisiae* IR-2 は多数あるが、その中でもアルカリ浸漬爆砕バガスにおいて高い発酵効率を示した *S. cerevisiae* IR-2 B16 株 (*MAT*・*ho*・*bleMX6*, *gre3*・*hphMX6*, *AUR1-C*::*HSP26p-LpXI_{mut}-HSP26t-PGK1p-XKS1-PGK1t*, *CDC19_{mut}*, *MTH1_{mut}*, *gpd2*・*HSP12p-KmRKI1opt-T2A-ScTKL1-HSP12t-kanMX6*)、阻害耐性が強く希硫酸浸漬爆砕バガスでも高い発酵性能を示した B16 株の順養株である *S. cerevisiae* IR-2 C12~16 株を選抜し、発酵試験を行った。

前培養は *S. cerevisiae* IR-2 を 24 時間以上培養して静止期にまで達したと思われるまで菌体を生育させた。100 mL フラスコに対して 63 mL の廃菌床糖化液と 7 mL の前培養液 (10%植菌)を加え、自然発酵法により 38℃で発酵を行った。

c) 植菌量の検討

前述の b) 発酵の可否の検討と同様の方法で行った。ただし、植菌量は 20%、10%、5%、1%、0.1%で行った。

② 結果と考察

a) 発酵試料の調整

糖化液は同じ爆砕廃菌床を用いて糖化反応により 3 回作成したが、1 回目 (WMBSS1)はグルコース: 79.2 g/L、キシロース: 25.8 g/L、酢酸塩: 33.3 mM、ギ酸: 39.1 mM、フルフラール: 7.3 mM、2 回目 (WMBSS2)はグルコース: 71.8 g/L、キシロース: 28.2 g/L、酢酸塩: 30.0 mM (0.18%)、ギ酸塩: 21.7 mM、フルフラール: 41.5 mM、3 回目 (WMBSS3)はグルコース: 77.8 g/L、キシロース: 26.2 g/L、酢酸塩: 33.3 mM (0.20%)、ギ酸塩: 50.0 mM、フルフラール: 7.3 mM となり、糖濃度と酢酸の濃度に大きな差はないものの、ギ酸が多く含まれているサンプルとフルフラールが多く含まれているサンプルの 2 つの傾向が確認された (表 2-2-3-7-7)。この 2 つの差は、各サンプルによって熱の伝達具合に相違が生じたことにより、フルフラールが過分解されてギ酸塩が生成されたと考えられる。サンプルを均一化することは重要なことではあるが、大量生産においてはサンプルを均一にすることに限界がある。ギ酸塩とフルフラールは発酵阻害物質として知られており、このことから発酵の際に用いる酵母はギ酸塩またはフルフラールに対して耐性を有する必要がある。これらの結果を受けて、酵母の選抜にはギ酸塩が多く含む WMBSS1 とフルフラールを多く含む WMBSS2 を用い、植菌量の検討には WMBSS3 を用いることとした。

b) 発酵の可否の検討

WMBSS1 および WMBSS2 を用いて発酵試験を行った。その結果、*S. cerevisiae* IR-2 B16 株で発酵阻害が確認できたが、希硫酸浸漬バカスで耐性を確認した *S. cerevisiae* IR-2 C12~C16 株では、48 時間以内に糖化によって生じたほとんどのキシロースを消費して、どちらの糖化液においてもバイオエタノール生産効率は理論収率の 0.51(g-EtOH/g-Sugar) に対し 90%以上の高い発酵効率を示した (表 2-2-7-4-2、図 2-2-7-4-1、図 2-2-7-4-2)。特にギ酸塩を多く含む WMBSS1 においては *S. cerevisiae* IR-2 C15 株が対理論収率でバイオエタノール生産効率 93.8%、フルフラールを多く含む WMBSS2 においては *S. cerevisiae* IR-2 C13 株がバイオエタノール生産効率 96.1%を示したことから、廃菌床糖化液に対しては *S. cerevisiae* IR-2 C15 株、または *S. cerevisiae* IR-2 C13 株を用いることが望ましいと考えられた。これらの結果を受けて植菌量の検討で用いる WMBSS3 はギ酸塩が多いことより、*S. cerevisiae* IR-2 C15 株を用いることとした。

c) 植菌量の検討

前述の b) 発酵の可否の検討の結果を受けて、*S. cerevisiae* IR-2 C15 株を用いて発酵試験を行った。その結果、1/20 量以上で 48 時間以内にキシロースを消費してバイオエタノールを生産していることを確認した (図 2-2-7-4-3)。

これらの結果を受けて、廃菌床のようなキシロースを多く含むバイオマスを用いたバイオエタノールの大量生産については遺伝子組換え設備を用いてキシロース資化性遺伝子組み換え体 *S. cerevisiae* IR-2 を 1/20 量植菌して用いることとした。

表 2-2-7-4-1 爆砕廃菌床糖化液の成分分析

	グルコース (g/L)	キシロース (g/L)	酢酸塩 (mM)	ギ酸塩 (mM)	フルフラール (mM)
WMBSS1	79.2	25.8	33.3	39.1	7.3
WMBSS2	71.8	28.2	30.0	21.7	41.5
WMBSS3	77.8	26.2	33.3	50.0	7.3

表 2-2-7-4-2 72 時間発酵によって得られたバイオエタノール生成量と発酵効率

Strain	WMBSS1			WMBSS2		
	エタノール 生 産量 (g/L) ^a	エタノール収率 (g-EtOH/g-Sugar) ^a	グルコース消費 速度 (g/L/h) ^b	エタノール生 産量 (g/L) ^a	エタノール収率 (g-EtOH/g-Sugar) ^a	グルコース消費 速度 (g/L/h) ^b
C12	45.83	0.468	5.55	45.70	0.487	6.70
C13	46.33	0.474	5.49	46.00	0.490	6.67
C14	45.97	0.470	5.41	45.47	0.484	6.79
C15	46.55	0.476	5.39	45.33	0.483	6.63
C16	45.65	0.467	5.31	45.15	0.481	6.67

^a 48 時間

^b 6-12 時間

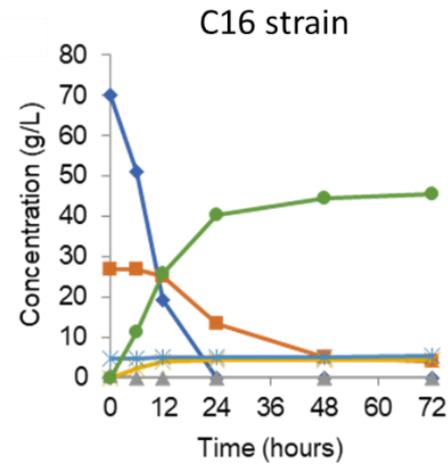
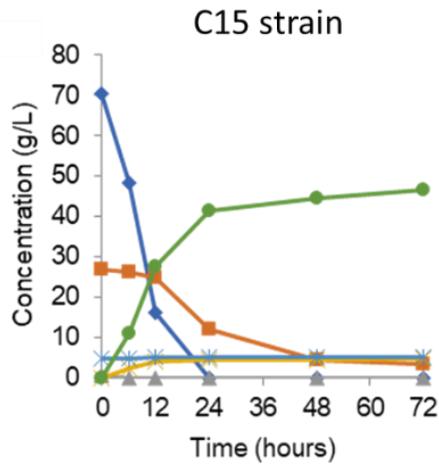
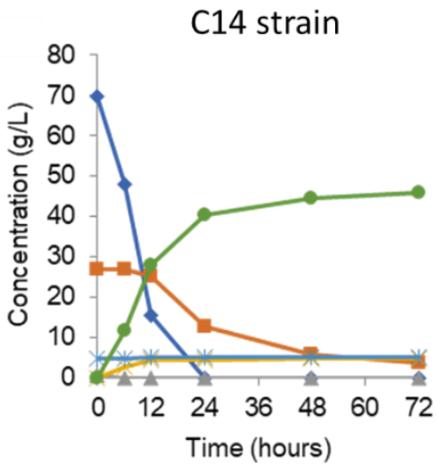
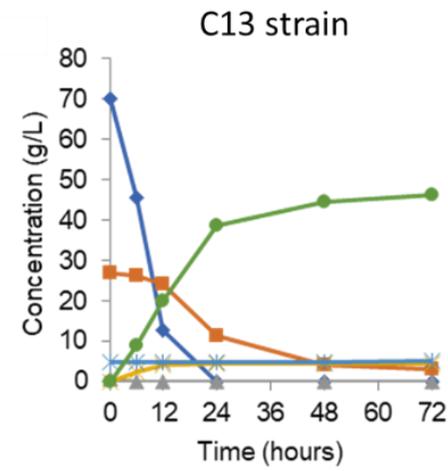
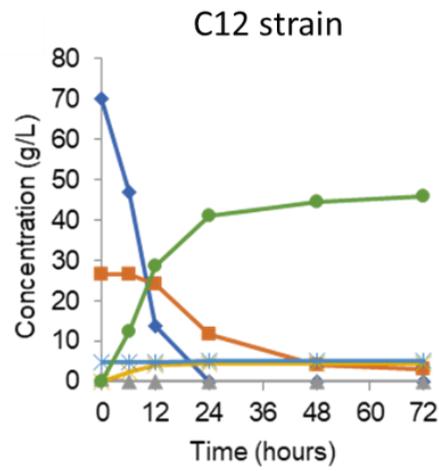
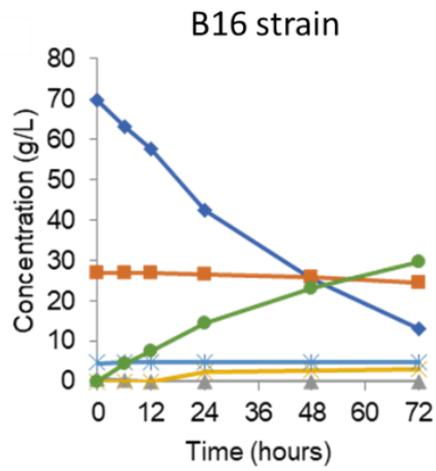


図 2-2-7-4-1 WMBSS1 を用いた発酵の経時変化

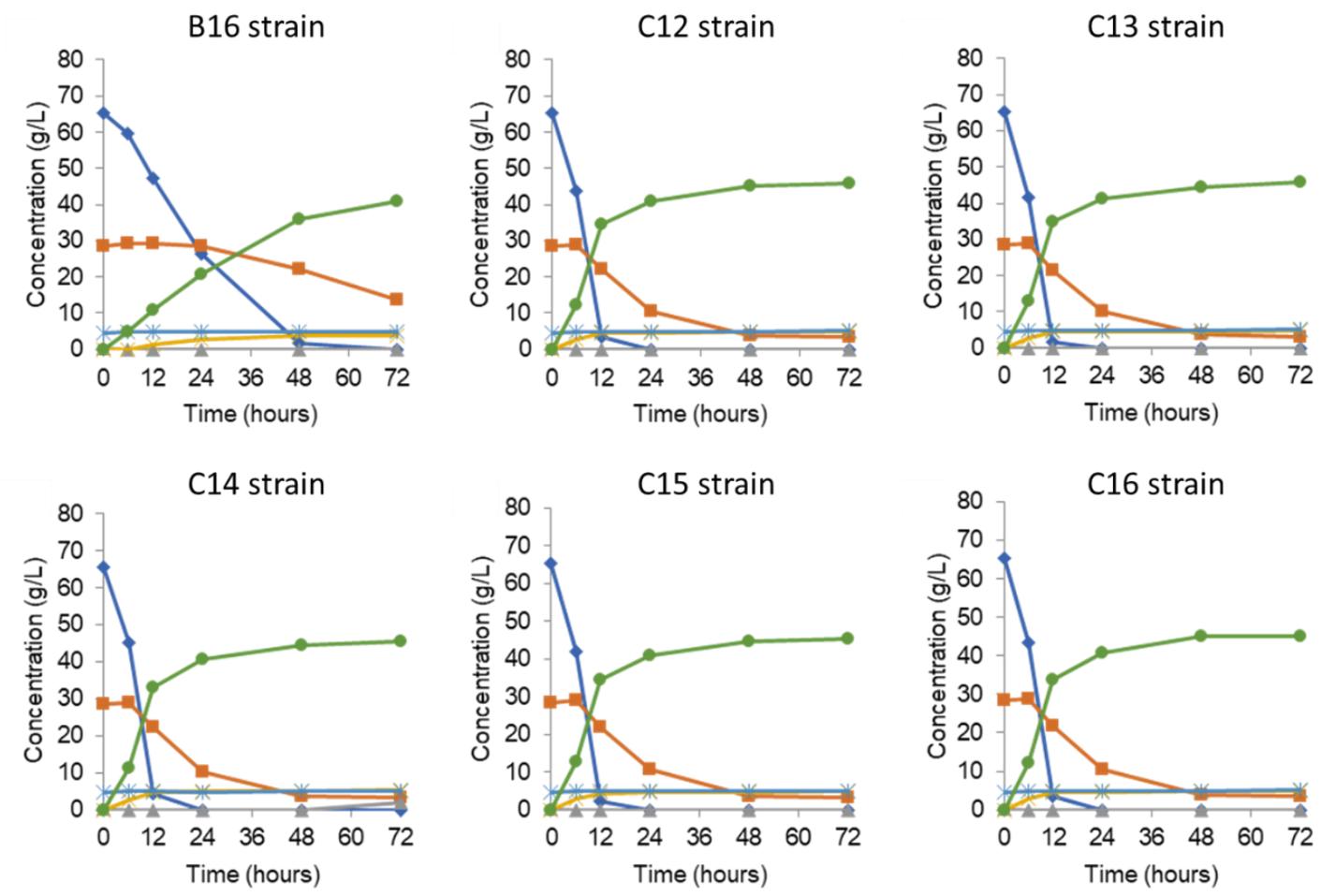


図 2-2-7-4-2 WMBSS2 を用いた発酵の経時変化

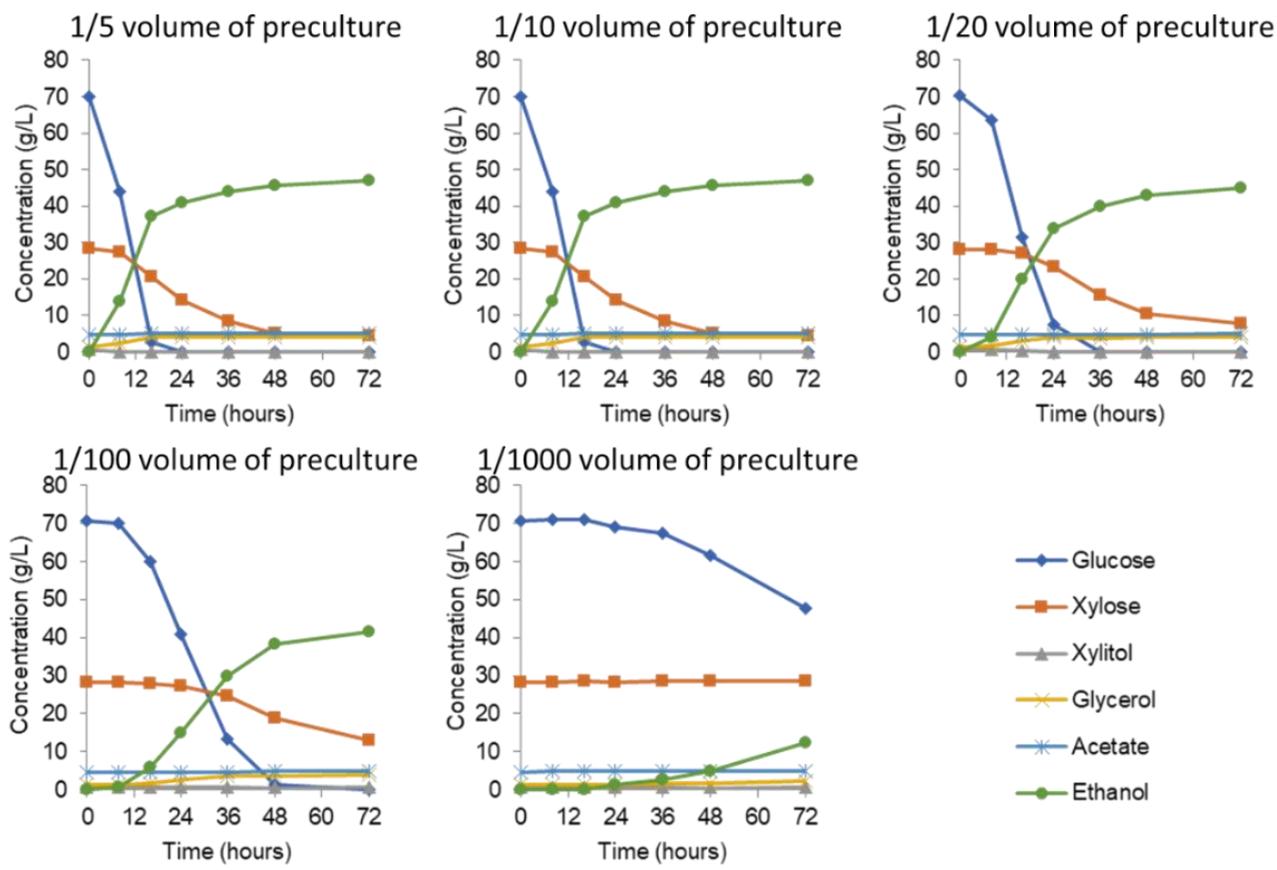


図 2-2-7-4-3 異なる植菌量による発酵の経時変化

参考文献

- 【1】 Saito M. et al., Journal of the Japan Petroleum Institute 60 (2017) 127-136, Ethanol Production from Sugars in Hydrolysates of Cellulosic Biomass Resources with Xylose-fermenting Yeast *Candida intermedia* 4-6-4T2
- 【2】 特開 2010-148488
- 【3】 Nonklang S. et al., Biosci Biotechnol Biochem. 73 (2009) 1090-1095 Construction of flocculent *Kluyveromyces marxianus* strains suitable for high-temperature ethanol fermentation
- 【4】 Kobayashi Y. et al., J Ind Microbiol Biotechnol. 44 (2017) 879-889 Genetic improvement of xylose metabolism by enhancing the expression of pentose phosphate pathway genes in *Saccharomyces cerevisiae* IR-2 for high-temperature ethanol production.
- 【5】 Seike T. et al., Biotechnol Biofuels. 12 (2019) 139 Molecular evolutionary engineering of xylose isomerase to improve its catalytic activity and performance of micro-aerobic glucose/xylose co-fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*.

2-2-8 実証プラントにおける実証運転

2-2-8-1 パルプを原料とするバイオエタノール製造実証

2-2-8-1-1 市販酵素製剤による爆砕パルプの糖化試験

爆砕条件を検討した結果、180°C、10 min 爆砕パルプが爆砕したサンプルの中で良く糖化する傾向になることが確認されたため、実証プラントでの糖化を本条件で市販セルラーゼを使用して行う。

① 実験の方法

a) 実験試料

爆砕、糖化には LBKP パルプブロック(含水率約 10%程度) をサンプルとして使用した。酵素は市販セルラーゼを使用した。

b) 爆砕及び糖化反応

爆砕及び糖化の条件は以下のように調製した。爆砕条件は 180°C, 10 分とし、450 kg-BD のパルプを含水率 50%になるよう加水して爆砕装置に供した。糖化の条件は反応液量 3.0 kL, 基質濃度 15%, 反応温度 50°C, pH5.0, 糖化時間 48 hr, 攪拌動力 30 Hz, 酵素活性量 10 FPU/g-biomass とした。

糖化中の各段階でのグルコース, キシロース濃度はバイオセンサーによって測定した。

2-2-8-1-2 自製酵素による爆砕パルプの糖化試験

爆砕パルプの糖化に *T. reesei* M2-1 株を培養した自製酵素を使用する。また、酵素糖化時におけるコンタミネーションによる雑菌の繁殖が確認されていることからその抑制のため、放線菌 abp-129 培養液を使用しての雑菌抑制試験も行った。

① 実験の方法

a) 実験試料

爆砕、糖化には LBKP パルプブロック(含水率約 10%程度) をサンプルとして使用した。酵素は *T. reesei* M2-1 株培養液(28.7~30.1 FPU/ml), *S. pombe* BGL 高発現株 培養濃縮液(2974.6 and 3135.5 pNPGU/ml)を使用した。抗生物質液には、反応液量の 1/1000 の放線菌 abp-129 培養液を使用した。

b) 爆砕及び糖化反応

爆砕及び糖化の条件は以下のように調製した。爆砕条件は 180°C, 10 分とし、450 kg-BD のパルプを含水率 50%になるよう加水して爆砕装置に供した。糖化の条件は反応液量 3.0 kL, 基質濃度 15%, 反応温度 50°C, pH5.0, 糖化時間 48 hr, 攪拌動力 30 Hz, 酵素活性量 10

FPU/g-biomass (*Trichoderma reesei* M2-1 株培養液 99.1 kg, *S. pombe* BGL 高発現株 培養濃縮液 9L) とした。酵素投入と同時に、糖化槽に 3 L の 1bp-129 培養液を投入しコンタミネーション抑制を行った。

糖化中の各段階でのグルコース、キシロース濃度はバイオセンサーによって測定した。

③ 結果と考察

図 2-2-8-1-1 に自製酵素を使用した爆砕パルプの糖化試験結果を示す。pH の調整に使用するアルカリ液 (25% NaOH 溶液) は糖化の間ほぼ消費されることは無かった。これまでの糖化試験において、雑菌が増殖に伴って乳酸などの有機酸を分泌し、糖化液中の pH の低下を引き起こしていることが考察されている。それにより雑菌の増殖が起きた際には糖化中の pH 調整のために大量のアルカリ液が消費される。本試験では雑菌の増殖は抗生物質として使用した放線菌 *abp-129* 培養液による抑制に成功しており、その結果として糖化中のアルカリ液の消費は見られなかった (図 2-2-8-1-2)。

糖濃度は 48 hr でグルコース 7.44 w/v %, キシロース 1.56 w/v%まで達していた。同条件で市販セルラーゼを使用したものに比べて糖化は低くなる。以前の試験でも示されるように爆砕によるヘミセルラーゼなどアクセサリ酵素の影響が少なくなることの反映と考えられる。

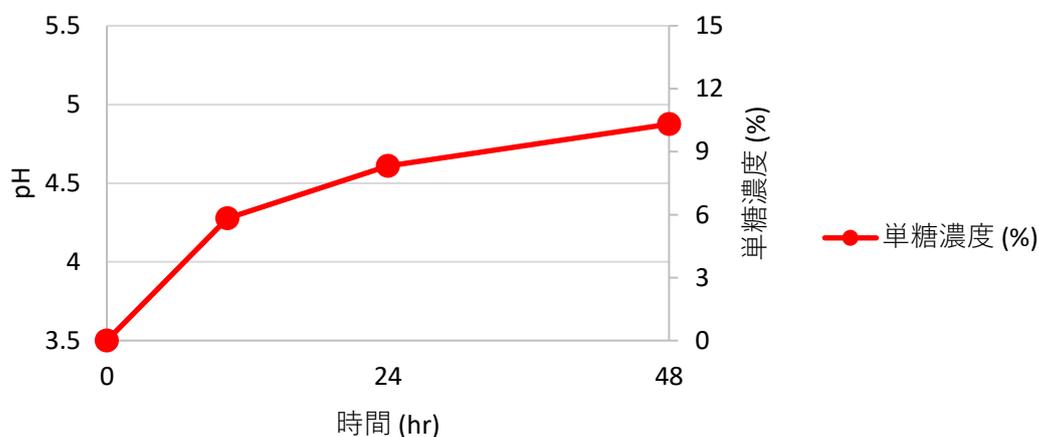


図 2-2-8-1-1 市販セルラーゼによる糖化の全単糖濃度

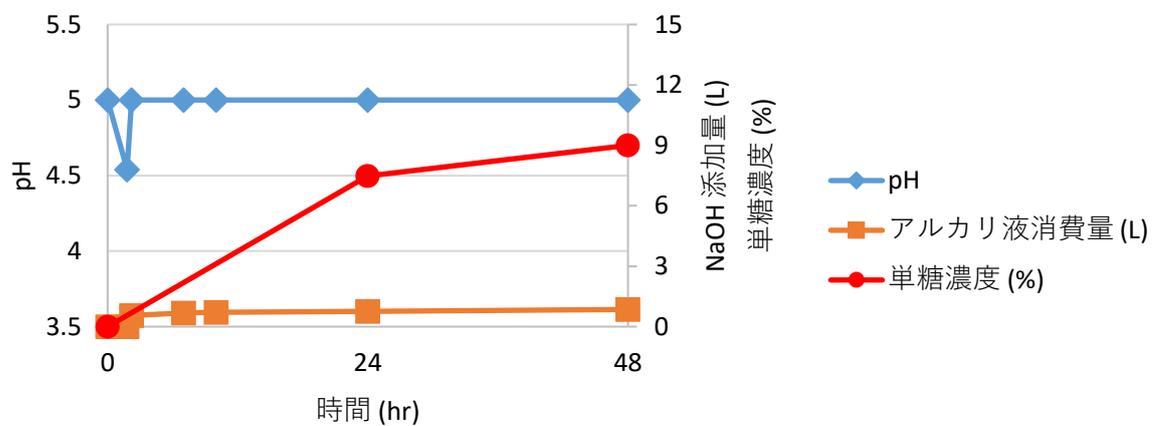


図 2-2-8-1-2 自製酵素による糖化の全単糖濃度及びアルカリ液消費

2-2-8-2 セルロース系廃棄物を原料とするバイオエタノール製造実証

2-2-8-2-1 ブナシメジ廃菌床の爆砕後糖化試験

廃菌床（ブナシメジ）を爆砕し、糖化試験を行った。1.25 t-dry 廃菌床を 200℃, 10min の条件で爆砕し、市販セルラーゼで糖化した。

① 実験の方法

a) 実験試料

爆砕、糖化にはブナシメジ栽培後の廃菌床を使用した。酵素は市販セルラーゼを使用した。

b) 爆砕及び糖化反応

爆砕及び糖化の条件は以下のように調製した。爆砕条件は 200℃, 10 分とし、1250 kg-BD の廃菌床(含水率 57.3%) を爆砕装置に供した。糖化の条件は反応液量 4.8 kL, 基質濃度 22.8%, 反応温度 50℃, pH5.0, 糖化時間 48 hr, 攪拌動力 30 Hz, 酵素活性量 10 FPU/g-biomass (市販セルラーゼ 18.9L) とした。

糖化中の各段階での単糖濃度は HPLC により測定した。

④ 結果と考察

図 2-2-8-2-1 に糖化試験結果を示す。同条件で爆砕した廃菌床を 20%固形分、同 FPU アイボーイで小容量で糖化した際には糖濃度は 7.1%まで達していた。一方、今回 8 m³での糖濃度は 6.4%と低い。糖化の低下に関しては小容量内でアイボーイに比べ攪拌力が低いことと本試験において pH 調整のための NaOH が 53.8L と多めに投入されており最終的な pH は 5.3 と最適 pH よりやや高くなったためと考えられる。

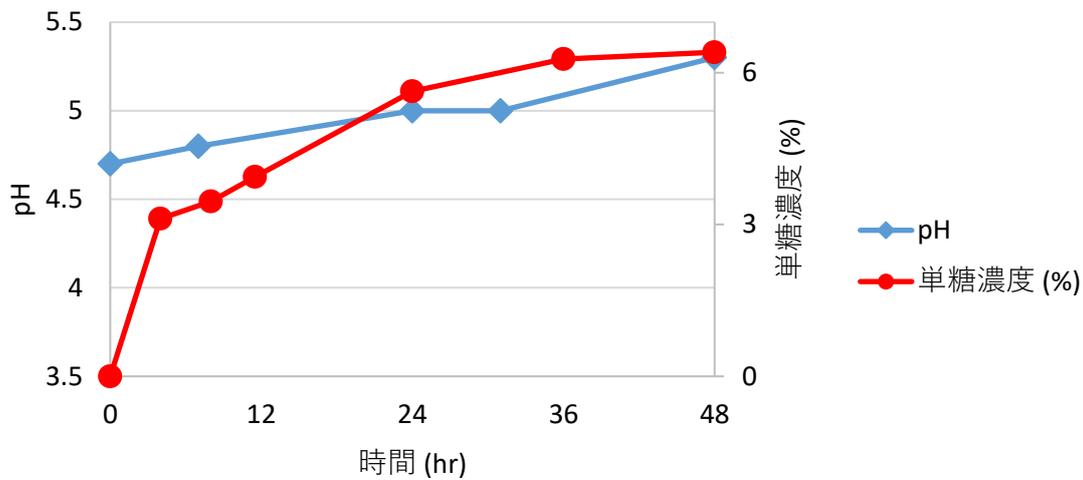


図 2-2-8-2-1 爆砕廃菌床糖化液の全単糖濃度と pH

2-2-8-2-2 コーヒー粕爆砕物の糖化試験

コーヒー粕を爆砕、糖化試験する。1.25 t-dry 廃菌床を 200°C, 10min の条件で爆砕し、市販セルラーゼで糖化する。

① 実験の方法

a) 使用原料

首都圏から回収されたコーヒー粕を原料とした。酵素は 市販セルラーゼと市販マンナーゼを使用した。

b) 大規模爆砕・糖化反応

爆砕及び糖化の条件は以下のように調製した。a)の結果より爆砕条件は 200°C, 10 分とし、1640 kg-BD のコーヒー粕(含水率 35.1%) を爆砕装置に供した。糖化の条件は反応液量 7.2 kL, 基質濃度 22.8%, 反応温度 50°C, pH5.0, 糖化時間 48 hr, 攪拌動力 30 Hz, とした。酵素活性量は 2 FPU/g-biomass (セルラーゼ 10.5L)に 10 mg/g-biomass (17.3 kg) のマンナーゼを投入した。

糖化中の各段階での単糖濃度は HPLC により測定した。

② 結果と考察

図 2-2-8-2-2 に各爆砕条件での糖化試験結果を示す。

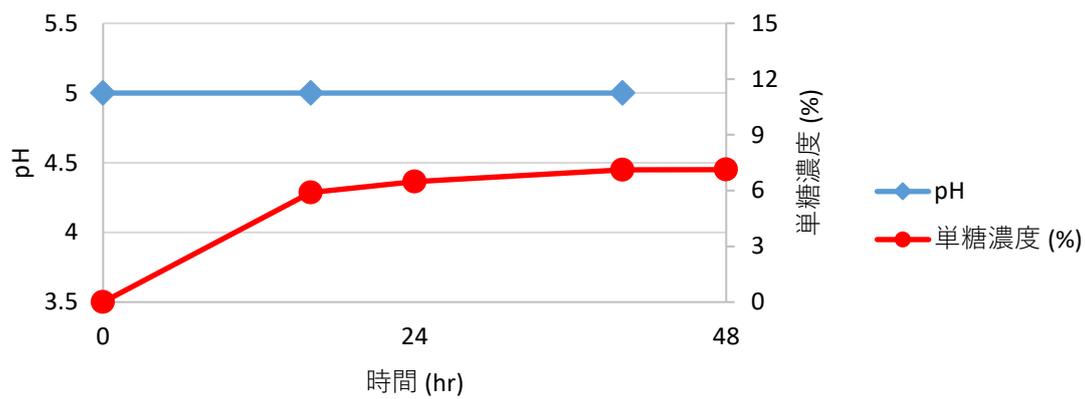


図 2-2-8-2-2 爆砕コーヒー粕糖化液の全単糖濃度と pH

2-2-8-3 自製酵素カクテルの検証

2-2-8-3-1 市販酵素製剤と自製酵素カクテルのパルプの糖化性能比較

bits 自製酵素である *T. reesei* M2-1 培養液及び *S. pombe* 発現 BGL の酵素カクテルの有用性を評価した。LBKP パルプを基質とし、市販酵素製剤と自製酵素カクテルを使用して同条件で糖化試験を行い生成される単糖量から糖化能を比較した。

① 実験の方法

a) 実験試料

糖化には呉 LBKP パルプ を使用した。酵素は Ctec3 (276.6 FPU/ml) または *T. reesei* M2-1 培養液 (20.4 FPU/ml), *S. pombe* 発現 BGL 濃縮液 (4370.4 U/ml) を使用した。抗生物質として放線菌 abp-129 培養液 (90°C, 1 hr 処理済み) を使用した。

- ・糖化開始時(0h)

酵素投入と同時に反応系の 1/50000 量 (6ml) の抗生物質液を添加

- ・糖化初期 (13 h~)

1/5000 量 (60 ml) 抗生物質液を三回添加

b) 糖化反応

糖化の条件は以下のように調製した。

反応液量 300 L, 基質濃度 15%, 反応温度 50°C, pH5.0, 糖化時間 48 hr とした。酵素活性量はそれぞれ 10 FPU g-biomass となるよう投入した。

また、抗生物質として abp-129 培養液を下記のように添加した。

- ・糖化開始時(0h)

酵素投入と同時に反応系の 1/50000 量 (6ml) の抗生物質液を添加

- ・糖化初期 (13 h~)

1/5000 量 (60 ml) 抗生物質液を三回添加

糖化中の各段階での単糖濃度は HPLC により測定した。

③ 結果と考察

各糖化試験での糖濃度を以下に示す。市販酵素製剤と異なり *T. reesei* 培養液を酵素液として使用する場合、セルロースの分解に関わる酵素群の内単糖を生成する BGL が不足していることが糖化の律速となる。それを補うため *S. pombe* にて発現された異種発現 BGL を適切量使用して自製酵素カクテルとし、結果として市販酵素製剤と同程度の性能を示す糖化を可能とした(図 2-2-8-3-2, 図 2-2-8-3-3)。

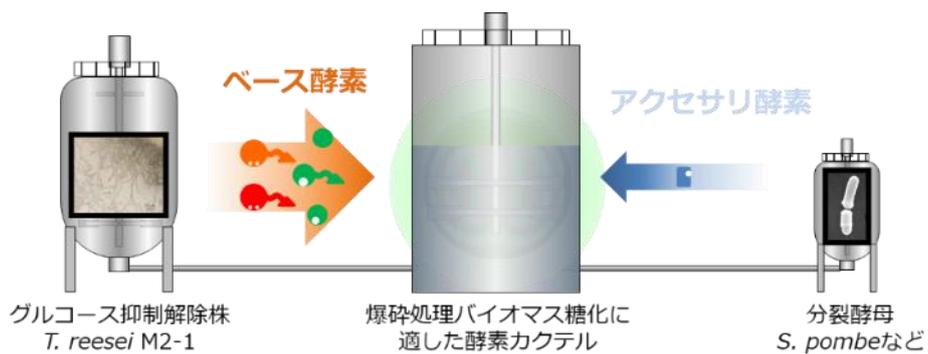


図 2-2-8-3-1 高セルラーゼ生産菌 *T. reesei* M2-1 培養液と *S. pombe* による異種発現酵素を利用した自製酵素カクテル

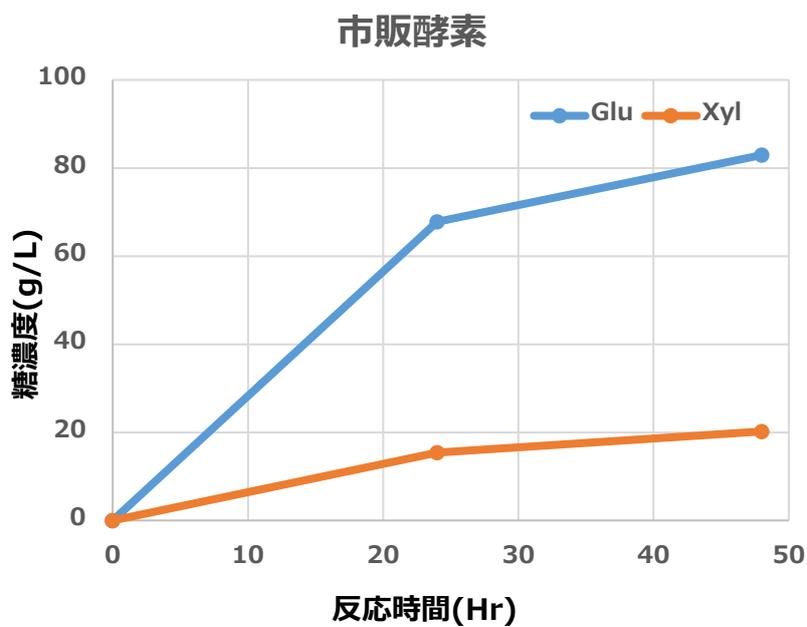


図 2-2-8-3-2 市販酵素を使用したパルプ糖化のグルコース, キシロース濃度

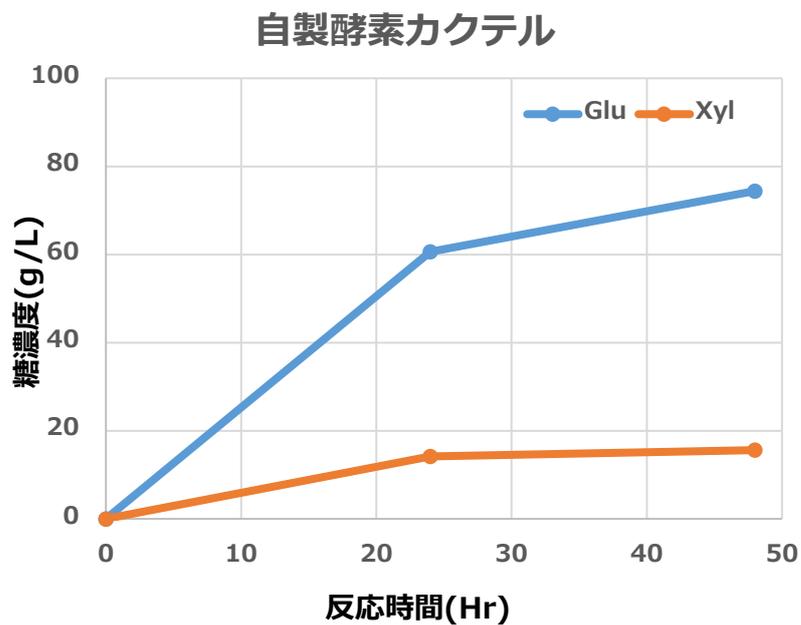


図 2-2-8-3-3 自製 *T. reesei* M2-1 培養液及び *S. pombe* 発現 BGL の酵素カクテルを使用したパルプ糖化のグルコース, キシロース濃度

2-2-8-4 C5糖資化性微生物の検証

微生物を用いて工業的に物質生産を行う上でスケールアップは大きな課題の一つである。微生物培養においてスケールアップ時に、試験管・フラスコレベルとは異なり pH や DOなどを制御することができるが、思うように培養できないことが多々発生する。特に *C. intermedia* のような溶存酸素量を制御する必要がある場合や、キシロース資化性遺伝子組換え酵母 *S. cerevisiae* IR-2 のようにカルタヘナ法に準ずる必要がある場合には、大きな隘路になり得る。このことから、前述にて発酵させることができた *C. intermedia* とキシロース資化性遺伝子組換え酵母 *S. cerevisiae* IR-2 について大量培養を行うこととした。

2-2-8-4-1 *Candida intermedia*

① 実験の方法

a) 種菌の作成

培養はグリセロールストックからの復帰、試験管によるスケールアップ、2 L 容フラスコによる継代培養、30 L Jar fermenter によるスケールアップ、5 m³ 発酵タンクによる前培養、連続遠心機による菌体濃縮、5 m³ 発酵タンクによる発酵の手順で行った。2 L 容フラスコによる継代培養までは引用文献の通りに行った¹⁾。30 L Jar fermenter と 5 m³ 発酵タンクによる前培養についてはいずれも 70%の張り込み量で、終濃度 10 g/L 酵母エキス Flav-R-Tide LS、1.24 g/L MgCl₂・6H₂O、10 g/L D-グルコース、15 g/L D-キシロース、0.2 mL/L Antifoam204 (Sigma-Aldrich) になるように培地を調整し、OD₆₆₀ が 0.16 になるように植菌し、30°C、回転数を 30 L Jar fermenter の時は 150 rpm、5 m³ 発酵タンクの場合は 40 Hz で 24 時間培養を行った。これによって得られた 5 m³ 発酵タンクによる前培養液を連続遠心分離機によって菌体を 20 倍以上に濃縮し、その濃縮液で 50%張り込みのパルプ糖化液を発酵させた。

b) 糖化反応

糖化反応は「2-2-8-1 パルプを原料とするバイオエタノール製造実証」に記した方法で行った。

c) 本発酵

前記の a) で記載した濃縮液と b) の糖化液を糖化液 2.25 m³ 相当を発酵槽に送液し、最終的に 2.5m³ にした (50%張り込み)。張り込み完了後、30°C、攪拌 15 Hz、通気なし、pH6.0 制御のもと、発酵を開始した。

④ 結果と考察

発酵試験の結果について下記の図 2-2-8-4-1 に記した。72 時間での発酵により発酵前にあった 67.2 g/L D-グルコースと 15.8 g/L D-キシロースはほとんど消費されて、34.64 g/L

バイオエタノールが生産された。また、バイオエタノール収率として 80.4%を示した。このバイオエタノールの生産量は D-グルコースから生産される量では生じないため、D-キシロースからもバイオエタノールが生産されたことが推定され、これまで非遺伝子組換え酵母では難しかった D-キシロースからバイオエタノールを生産したことのみならず、バイオマスを用いた大量培養を行った点でも重要な知見と考えられる。

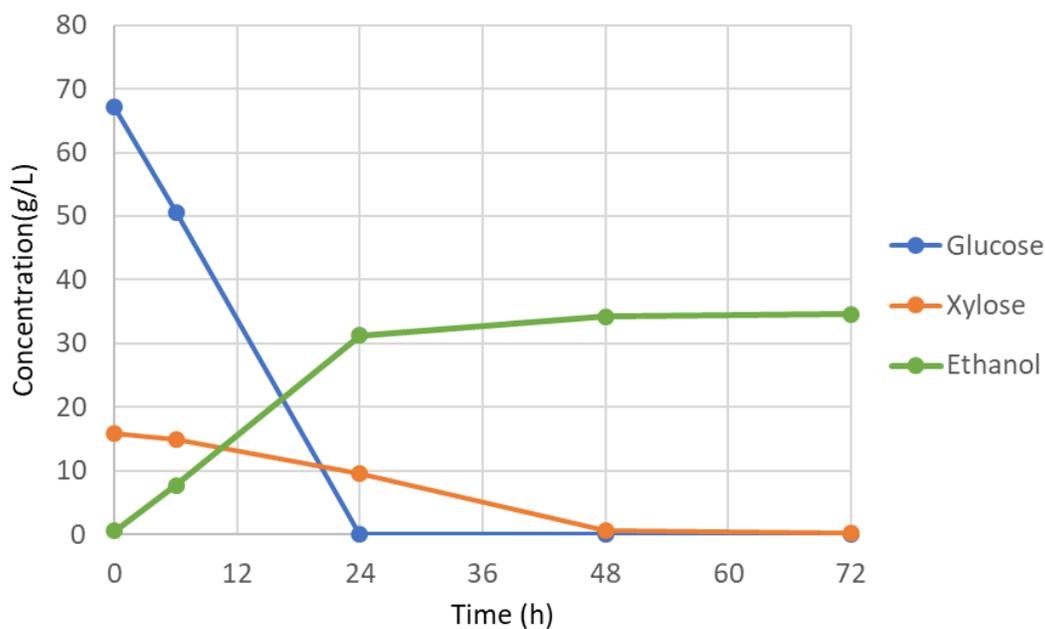


図 2-2-8-4-1 *C. intermedia* を用いたパルプ糖化液の発酵試験

2-2-8-4-2 *Saccharomyces cerevisiae* IR-2

① 実験の方法

a) 種菌の作成実験試料

前々培養として 500 mL フラスコに合成培地 (0.8 g/L KH_2PO_4 , 0.8 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g/L Urea, 5 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 mL/L CSL, 20 g/L グルコース) 100 mL 用意し、*S. cerevisiae* IR-2 C15 株を一白金耳植菌した。これを 30°C で 24 h 培養し、その培養液を合成培地 21 L を張り込んだ 30 L Jar fermenter で 30°C, 24 h, 0.5 vvm, 300 rpm の条件で培養を行った (前培養液)。

b) 糖化反応

爆砕・糖化を行った運搬し発酵試験に供した。

c) 本発酵

前培養液を 35 L (17.5 L×2 バッチ) 回収し、1 m³ 発酵タンクに張り込んだ 700 L の廃菌床糖化液に投入した (5% 植菌)。この発酵を 38°C, 70 rpm, 通気なし, pH5.5 制御で行った。

④ 結果と考察

発酵試験の結果について、図 2-2-8-4-2 に示した。72 時間での発酵により発酵前にあった 37.2 g/L D-グルコースと 16.0 g/L D-キシロースはほとんど消費されて、27.81 g/L バイオエタノールが生産された。また、糖化液から発酵によって得られたバイオエタノール収率は 90% 以上の値を示したが、この廃菌床糖化液においては酵素の失活処理を行っていないため、発酵中も糖化反応によって糖が生じていた可能性もあり、実際のバイオエタノール収率はこれよりも低いかもしれない。

また、このバイオエタノールの生産量は D-グルコースから生産される量では生じないため、D-キシロースからもバイオエタノールが生産されたことが推定される。廃菌床という阻害物が多く含まれるバイオマスから D-グルコースのみならず D-キシロースからもバイオエタノールを生産し、かつ大量培養でも生産を確認できたことは、今後、様々なバイオマスからバイオエタノールを生産でも応用することができると考えられる。ただし、本菌は遺伝子組換え酵母であり、設備はカルタヘナ法に基づいた場所でなければならない。今回使用した菌株は GILSP の認可を得ているが、それでも非遺伝子組換え酵母と比べれば、設備に要するコストは高くなる。このため、バイオマス中に含まれる D-キシロースの含有量が高いことや阻害物質の量が多い場合など、バイオマスにより酵母を使い分ける必要が明らかになった。

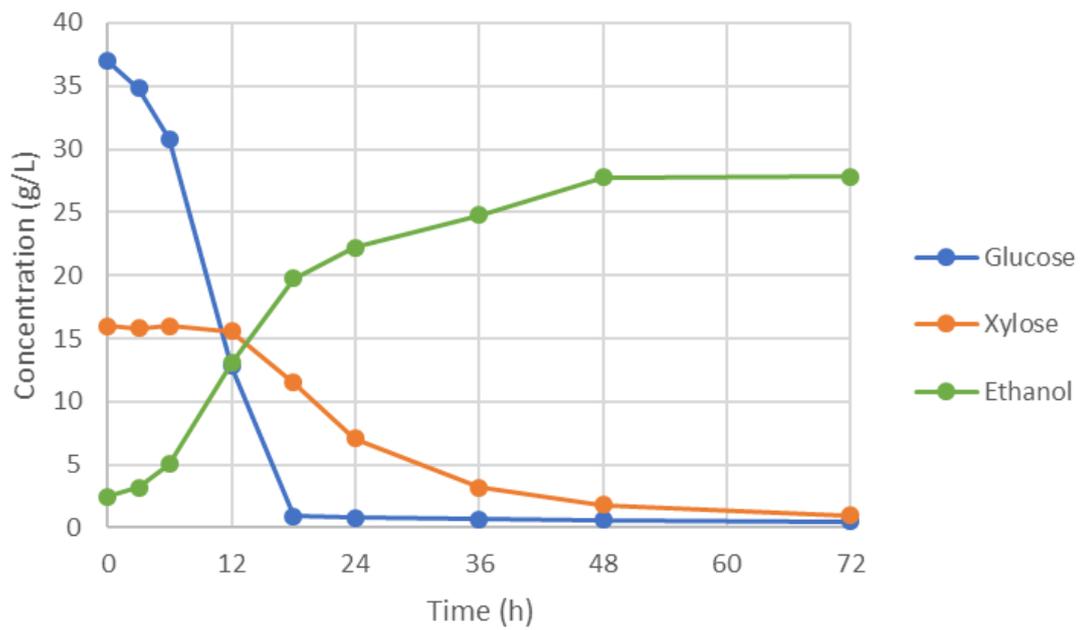


図 2-2-8-4-2 D-キシロース資化性遺伝子組換え酵母 *S. cerevisiae* IR-2 を用いた
 廃菌床糖化液の発酵試験

2-2-8-5 バイオエタノール蒸留と脱水運転

廃菌床を爆砕・糖化・発酵し、得られたもろみ液から 99%以上のエタノール濃度を得、これを分析してバイオエタノール改質装置の原料とすることが出来るか、確認を行った。

バイオエタノール改質装置の原料バイオエタノールの要求仕様を表 2-2-8-5-1 に示す。また、実験の概要を図 2-2-8-5-1 に示す。廃菌床を爆砕、糖化し、スクリーンで大粒の残渣を除去した後、非遺伝子組み換えの *S. cerevisiae* で C6 糖のみ発酵し、もろみを作成する。もろみを真空薄膜蒸留装置に掛け、粗溜を行う。得られた粗溜液を、さらに浮標でアルコール濃度 30%v/v 以上を示すまで繰り返し蒸留する。

表 2-2-8-5-1 バイオエタノール改質装置要求仕様

分析対象	許容量
密度	811kg/m ³ まで
アルコール濃度*	95 (v/v) %以上
全酸価	20 mg/L(ppm)まで
NVM	30 mg/L(ppm)まで
アセトアルデヒド	30 mg/L(ppm)まで
メタノール	50 mg/L(ppm)まで
エチルアセテート	80 mg/L(ppm)まで
イソプロパノール	20 mg/L(ppm)まで
N-プロパノール	20 mg/L(ppm)まで
N-ブタノール	10 mg/L(ppm)まで
アセタール	50 mg/L(ppm)まで
Higher alcohols (フーゼル油)	100 mg/L(ppm)まで
硫黄	0.8 mg/L(ppm)まで

*アルコール濃度はエタノール濃度と異なる。

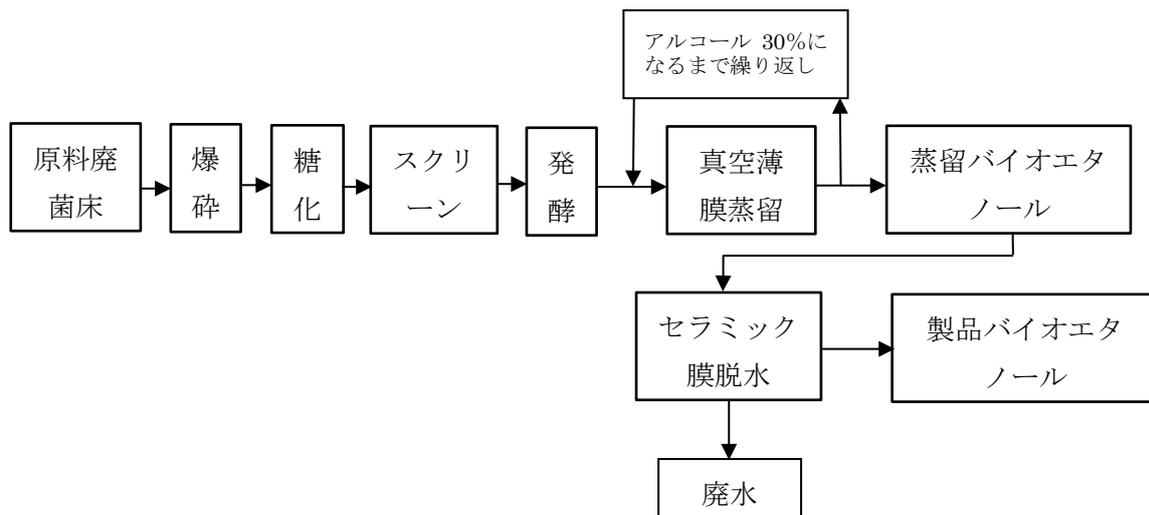


図 2-2-8-5-1 廃菌床由来バイオエタノールの蒸留脱水試験

① 実験の方法

a) 廃菌床の爆砕、糖化、発酵工程

爆砕及び糖化の条件は以下のように調製した。爆砕条件は 195℃、10 分とし、2.4t-wet (含水率 54.4%) の廃菌床を爆砕装置に供した。糖化の条件は反応液量 4.5 kL、基質濃度 20%、反応温度 50℃、pH5.0、糖化時間 18 hr、攪拌動力 30 Hz→100Hz、酵素活性量 10 FPU/g-biomass (市販酵素製剤 36.4L) 及び抗生物質液 (放線菌 abp-129) を約 2L 添加した。

発酵における前培養液の培地組成は以下の通りである (表 2-2-8-5-2)。

表 2-2-8-5-2 前培養液の培地組成

リン酸二水素カリウム	0.92	g/L
硫酸マグネシウム 7 水和物	0.92	g/L
尿素	1.83	g/L
硫酸アンモニウム	1.83	g/L
CSL (向後スターチ)	9.2	g/L
グルコース	18.3	g/L
消泡剤 (PE-M)	0.916	mL/L

発酵に使用する酵母前培養は、酵母液 0.3 L を約 500L 前培養液に添加し 30℃、初期 pH4.9、攪拌 50Hz、通気量 1vvm、24hr の条件で行った。

スクリーンで大きな残差を除去した廃菌床の糖化液 4.0 kL を前培養液と混合した。発酵は 35℃、pH5.5、攪拌 10Hz で行った。

b) 発酵液の真空蒸留工程

廃菌床糖化発酵液中のアルコール成分を、大川原製作所製濃縮装置エバポールを蒸留装置として用い、蒸留した。蒸留は3段階に分けて行った。最終的に得られた蒸留アルコールは20Lポリタンク9本に回収した。各段階でのアルコール濃度は浮標計で測定し、同時に温度測定して補正しエタノール濃度として算出した。

エバポールによる真空蒸留の減圧条件は1段目及び2段目は21.5kPa、3段目は状況に応じ12.5~16.5 kPaの条件で行った。

c) 膜脱水装置による脱水工程

ポリタンクに回収したバイオエタノール蒸留液をSEPINO社製膜脱水装置へ供した。一段目の脱水は疎水脱水膜がセットされたM1カラムによりアルコール濃度90%以上まで行い、その後2段目の親水脱水膜がセットされたM2カラムに供してアルコール濃度99%以上の脱水を目標として濃縮した。最終的に約20Lのポリタンク中バイオエタノール液×9本分を膜脱水装置にて脱水した。

d) 脱水バイオエタノールの評価

脱水バイオエタノールの評価としてその全酸価とバイオエタノールに含まれている高級アルコール類の定量分析を行った。全酸価量はジェット燃料用規格JIS K 2276-2003に記載されている方法に基づき分析した。バイオエタノール中の各高級アルコール分の分析はGCMA-QP2020を用いたGC-MS分析で行った。カラムはDB-624を使用した。

② 結果と考察

a) 糖化発酵工程

爆砕廃菌床の糖化、発酵試験結果について図2-2-8-5-2に示す。糖化18時間でのグルコース濃度は47.9 g/L、キシロース濃度20.2 g/Lであった。廃菌床に含まれる粒上の木化管はエバポールによる濃縮工程で送液ラインの詰りの原因となる。そこで発酵前段階でスリットセーバーによって除去し、前発酵液と混合した。尚、廃菌床糖化液約4.5 kLから153 kgの粒が木化管として除去、回収された。発酵段階でグルコース分がバイオエタノールへと変換され、発酵開始から21hr後19.3g/Lのエタノール溶液が4582L生産（グルコース発酵効率89.8%）された。

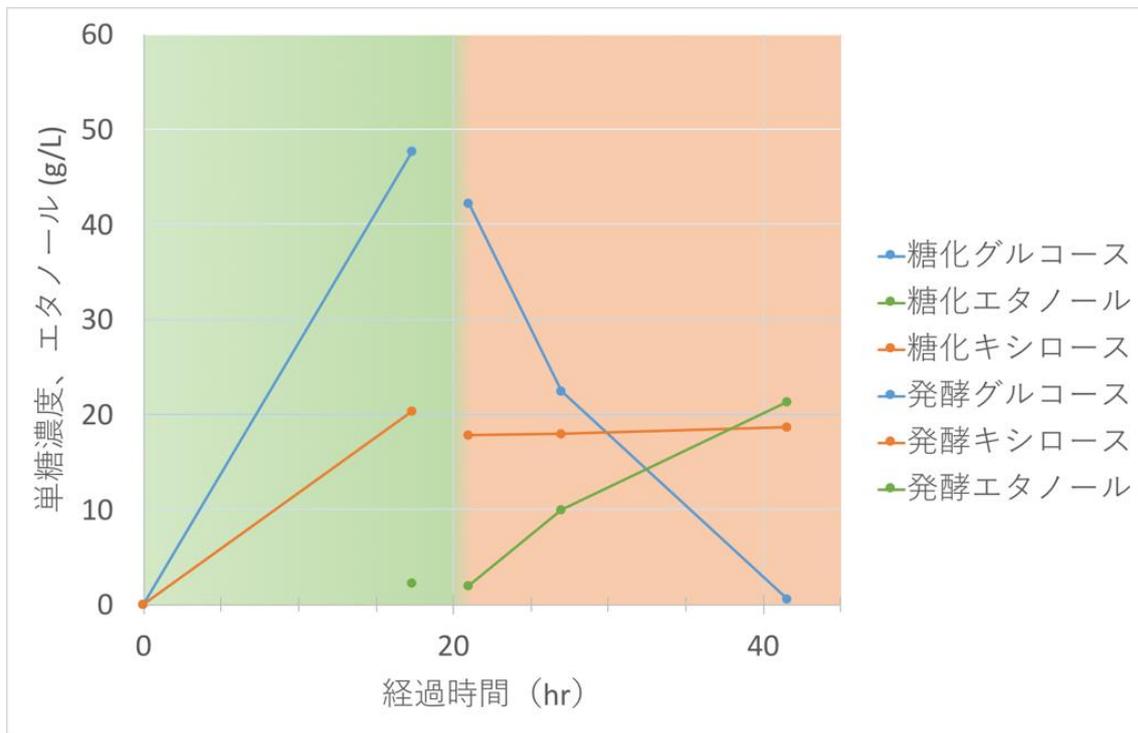


図 2-2-8-5-2 爆砕廃菌床の糖化・発酵時の各糖とエタノール濃度変化
 図中緑のエリアは糖化工程、オレンジのエリアは発酵工程

b) 蒸留工程

発酵液のエバポールによる蒸留時の1段目と2段目の液量変化を図 2-2-8-5-3, 図 2-2-8-15-4, 図 2-2-8-5-5)に示す。1段目の蒸留は液量の多さから2回に分けて行われた。1段目は最終的に約 4kL のもろみ液から 1.2 kL の蒸留液が得られた。アルコール濃度はもろみ液 1.9%であった。得られた蒸留液のアルコール濃度は 4.8%であった。2段目の蒸留では 1.2kL の蒸留原液から 0.5 kL の蒸留液が回収され、アルコール濃度はそれぞれ 4.8%と 9.2%であった。3段目の蒸留では約 20 L ずつポリタンクに回収した。各ポリタンク中のアルコール濃度を表 2-2-8-5-3 に示す。回収初期においては濃度 30%程度であったが濃縮が進むにつれ元のアルコールが減少し、得られた蒸留液のアルコール濃度も段階的に減っていった。

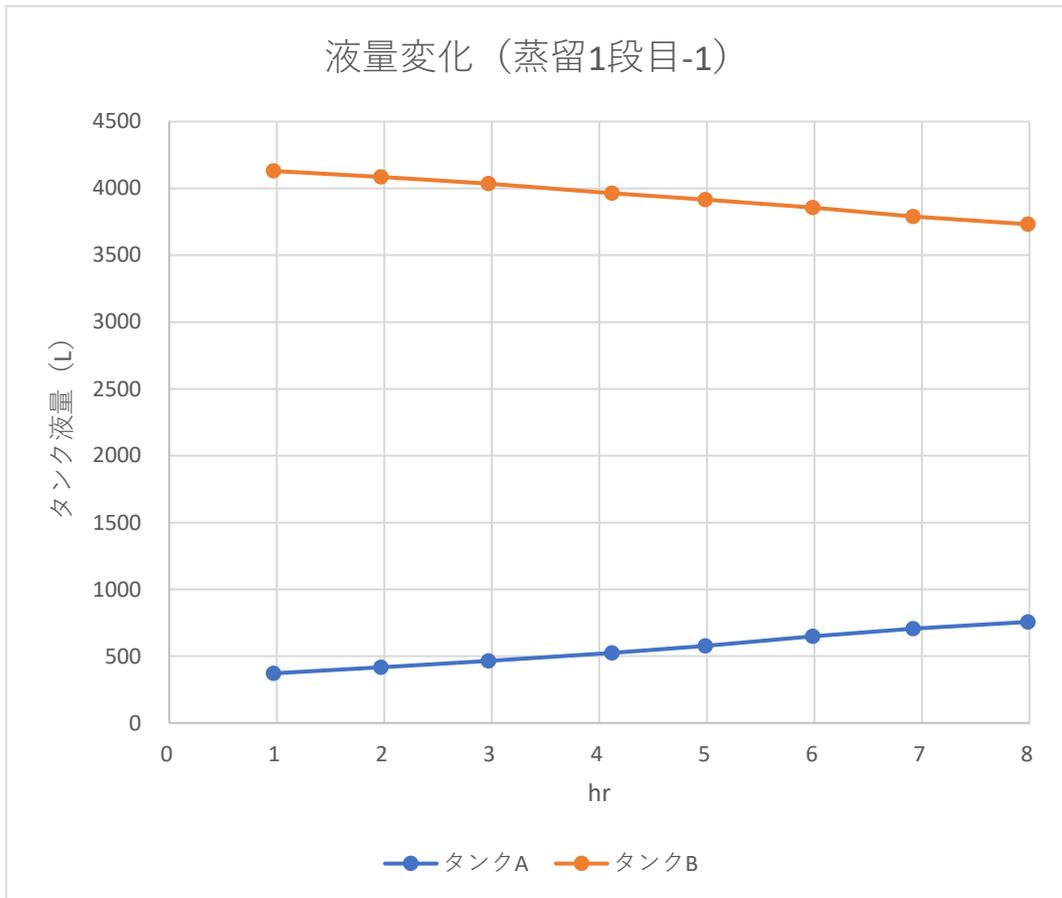


図 2-2-8-5-3 エバポールによる蒸留 1 段目-1 の液量変化

タンク A : 蒸留液、タンク B : 蒸留原液

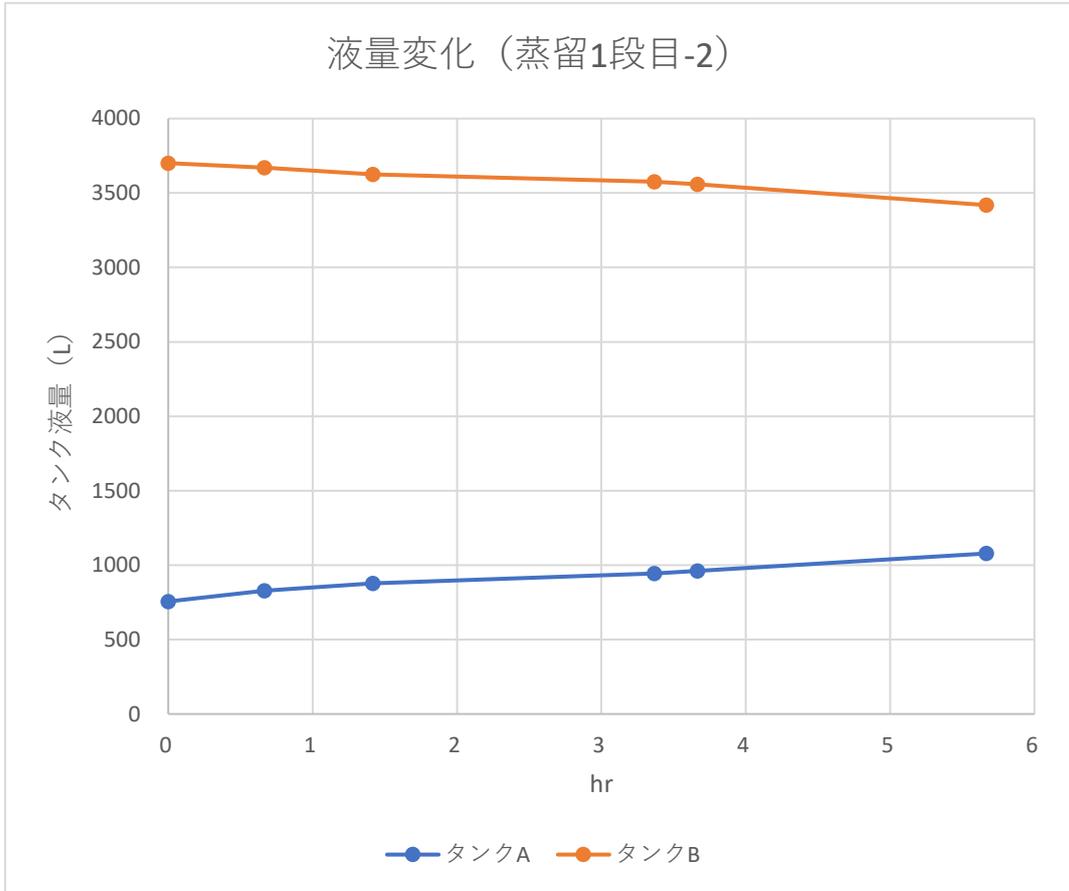


図 2-2-8-5-4 エバポールによる蒸留 1 段目-2 の液量変化

タンク A : 蒸留液、タンク B : 蒸留原液

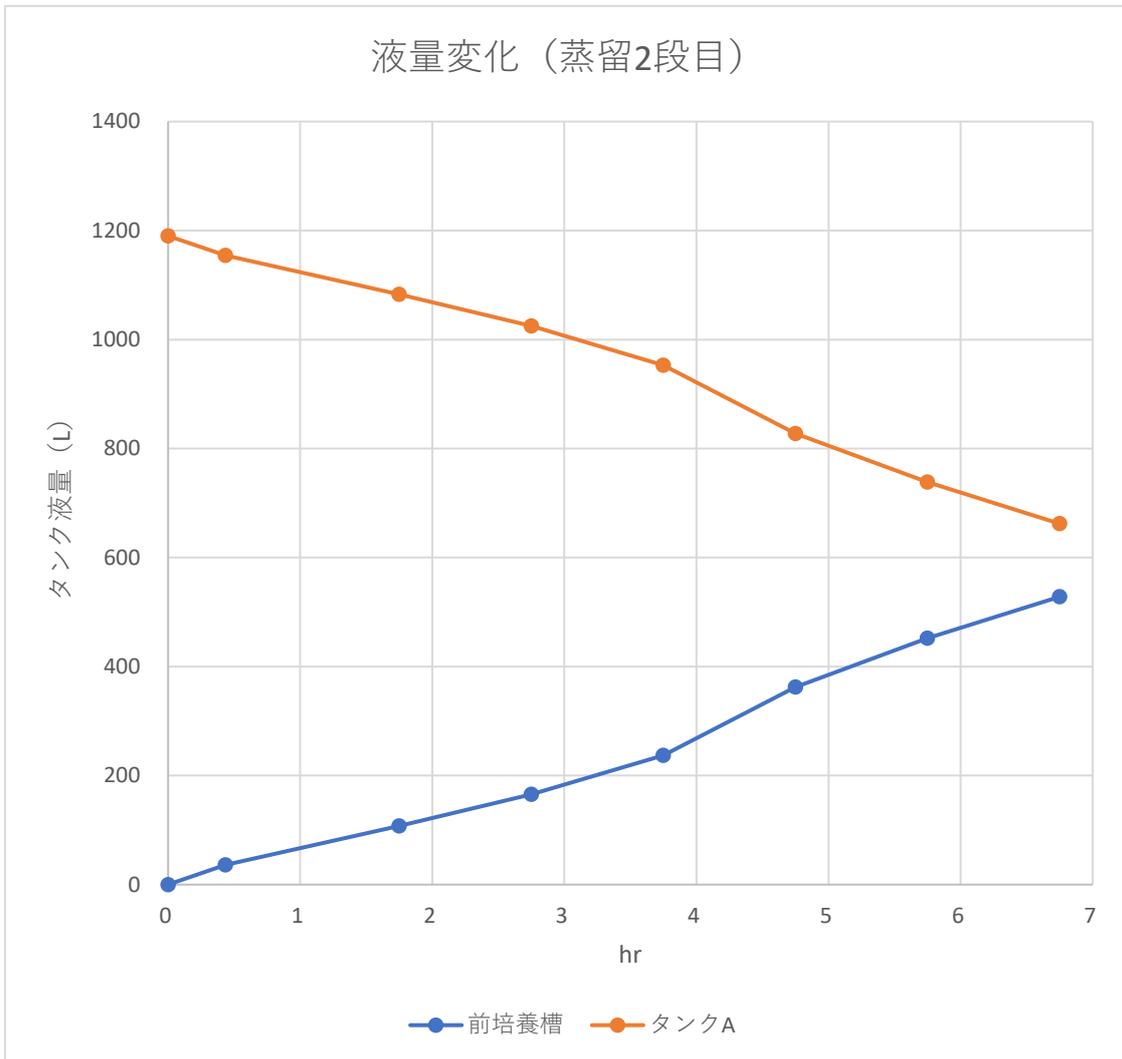


図 2-2-8-5-5 エバポールによる蒸留 2 段目の液量変化
 タンク A : 蒸留原液液、前培養槽 : 蒸留液

表 2-2-8-5-3 エバポールによる蒸留濃縮 3 段目の回収タンクのアルコール濃度

蒸留エタノール回収 ポリタンク No.	エタノール濃度 (w/v%)
1	30.8
2	28.1
3	25.8
4	22.1
5	19.5
6	14.9
7	12.3
8	9.5
9	7.2
10	5.6
11	4.0

c) 脱水工程

膜脱水装置によるバイオエタノール脱水結果を表 2-2-8-5-4 に示す。アルコール濃度が 7~30%程であったポリタンク中の蒸留液が脱水され最終的にアルコール濃度は 99.6%に到達した。膜脱水装置に供したアルコールは 95%以上が回収された。

膜脱水で得られた脱水バイオエタノール液中の不純物として的高级アルコールと全酸価評価結果を表 2-2-8-5-5 に示す。全酸価の測定において、検出の上限を超える量の酸の存在が確認された。廃菌床爆砕物は pH4~5 と低い値を示すことから酢酸などの有機酸が含まれていると考えられる。エバポール及び膜脱水において、これらの酸もバイオエタノールと同じく蒸留、回収されたために限界を超える量の酸価が見られたと考えられる。バイオエタノール改質装置に供するために許容されるバイオエタノール以外のアルコール類は 0~100ppm の範囲内であるが、本試験で得られた脱水アルコールはそれらの値を超えていた。特に発酵副産物とみられるプロパノールにおいては許容値が 20 ppm 以下であるのに対して 1000 ppm を超えていた。これら発酵における副産物として的高级アルコールも、バイオエタノールと同様に蒸留されて回収されたと考えられる。今後バイオエタノール改質装置に廃菌床由来バイオエタノールを利用する為には、蒸留段数を増やすなど、酸や高級アルコールを分離する必要がある。

表 2-2-8-5-4 膜脱水装置に供されたバイオエタノール溶液量とその収量

投入液 総量 (kg)	投入バイオ エタノール 総量 (kg)	総排出水量 (kg)	エタノール 濃度 (w/v %)	濃縮バイオ エタノール量 (kg)	回収率 (%)
169.4	32.7	138.4	99.6	31.3	95.2

表 2-2-8-5-5 廃菌床由来バイオエタノール濃縮液の不純物評価結果

全酸価	検出上限以上
エチルアセテート	80 ppm
イソプロパノール	110 ppm
N-プロパノール	1110 ppm
N-ブタノール	60 ppm
アセタール	90 ppm

2-2-8-6 バイオエタノール改質装置の運転

2020年3月に、導入したバイオエタノール改質装置を用いて、バイオエタノールからのエチレン合成と、エチレンを重合して炭化水素の合成確認運転を連続70時間行った。

今回行った運転の範囲を図2-2-8-6-1に示す。今回は確認運転のため、バイオエタノールの脱水工程とエチレンの重合工程を、それぞれ市販品を準備して行った。2段目のエチレン重合工程は、2段階の重合工程(olig1, olig2)が連続して行われる。

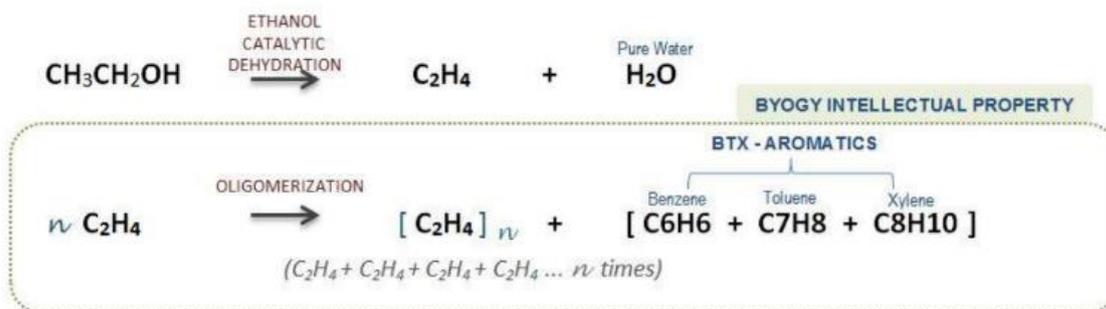


図 2-2-8-6-1 今回行った合成確認運転の範囲

2-2-8-6-1 バイオエタノール脱水工程

2020年3月13日

9:00 昇温開始

13:00 脱水カラム 400°C到達

17:00 エチレン合成確認、カラム中に残存していた大気もあったため、エチレン濃度は63%であった。

2-2-8-6-2 エチレン重合工程運転履歴

2020年3月10日

7:00~昇温開始

18:00~重合カラム所定開始温度到達(Olig1=110°C, Olig2=230°C)、重合開始
反応条件

目標温度: Olig 1 = 120°C, Olig 2 = 250°C

反応圧力: Olig 1 = 490psi (3.38MPa), Olig 2 = 260 psi (1.79MPa)

エチレン流量: 5 標準リットル/分→安定後 20 標準リットル/分

20:30 最初の炭化水素合成を確認、液色は薄黄色。

到達温度: Olig 1 = 117.31°C, Olig 2 = 239.31°C

到達圧力: Olig 1 = 491.53psi, Olig 2 = 263.50psi

エチレン流量: 4.99 標準リットル/分



図 2-2-8-6-2 スタートアップ後の運転記録

スクリーンショットはそれぞれ Olig 1 と Olig 2 のモニター画面

2020年3月11日

0:00

到達温度: olig 1 = 116.84°C、olig 2 = 242.23°C

到達圧力: olig 1 = 493.71psi, olig 2 = 270.96psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分



図 2-2-8-6-3 3月11日0時の運転記録

2020年3月11日

6:00

到達温度: olig 1 = 113.50°C、olig 2 = 244.96°C

到達圧力: olig 1 = 487.22psi, olig 2 = 258.74psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分

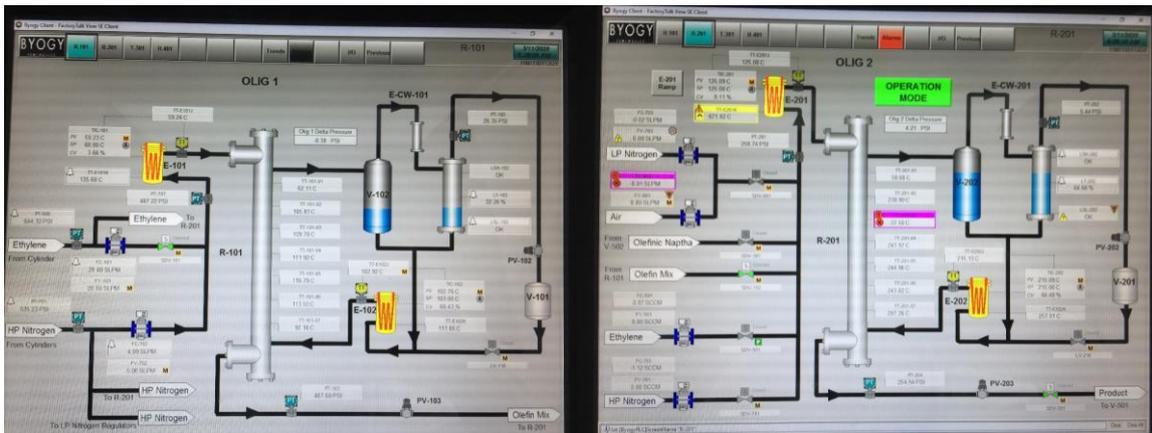


図 2-2-8-6-4 3月11日6時の運転記録

2020年3月11日

12:00 安定運転に移行、液色は褐色。

到達温度: olig 1 = 117.08°C、olig 2 = 242.23°C

到達圧力: olig 1 = 493.35psi, olig 2 = 270.96psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分



図 2-2-8-6-5 3月11日12時の運転記録

2020年3月11日

18:00

到達温度: olig 1 = 114.41°C、olig 2 = 255.34°C

到達圧力: olig 1 = 497.13psi, olig 2 = 260.14psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分

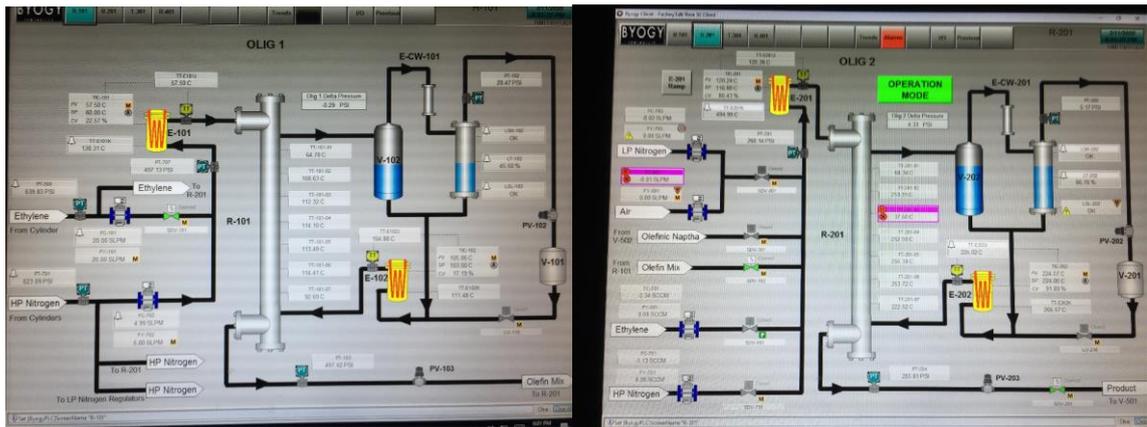


図 2-2-8-6-6 3月11日18時の運転記録

2020年3月12日

0:00

到達温度: Olig 1 = 113.96°C、Olig 2 = 229.01°C

到達圧力: Olig 1 = 492.27psi, Olig 2 = 257.64psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分

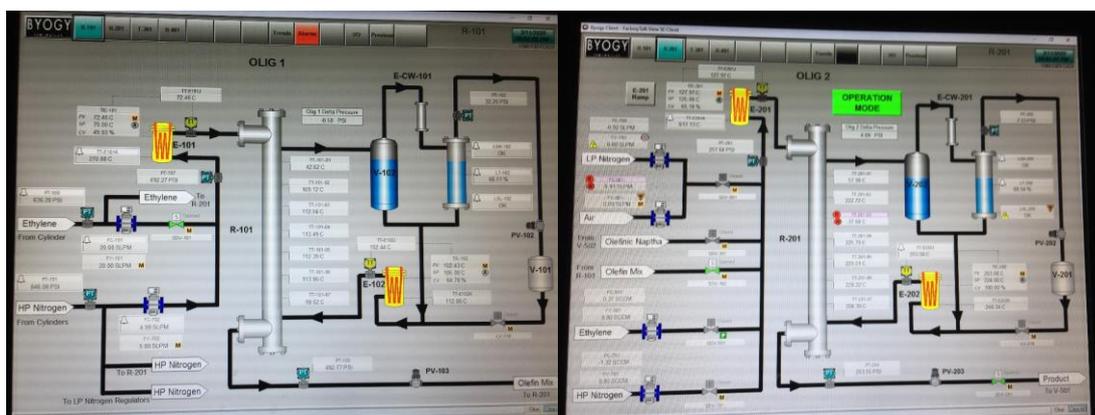


図 2-2-8-6-7 3月12日0時の運転記録

2020年3月12日

6:00

到達温度: Olig 1 = 116.30°C、Olig 2 = 213.08°C

到達圧力: Olig 1 = 496.60psi, Olig 2 = 403.38psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分

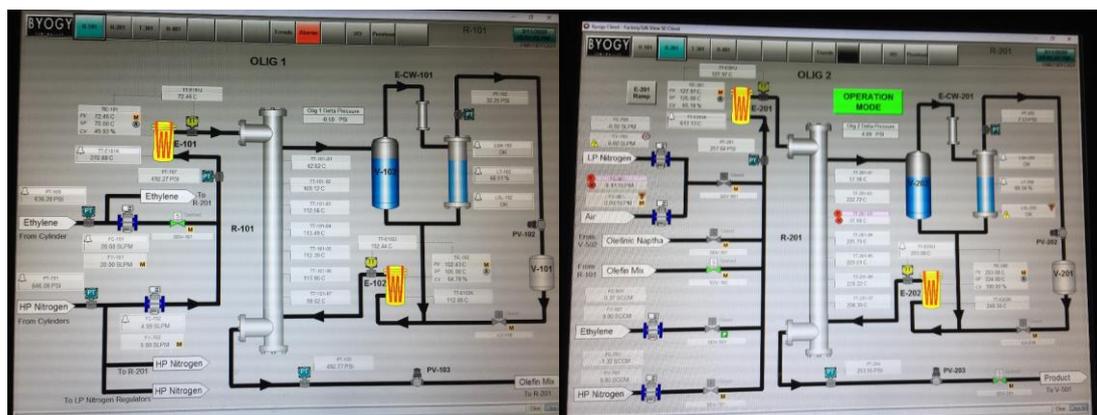


図 2-2-8-6-8 3月12日6時の運転記録

2020年3月12日

12:00

到達温度: olig 1 = 118.31°C、olig 2 = 221.59°C

到達圧力: olig 1 = 481.71psi, olig 2 = 284.94psi

エチレン流量: 20 標準リットル/分

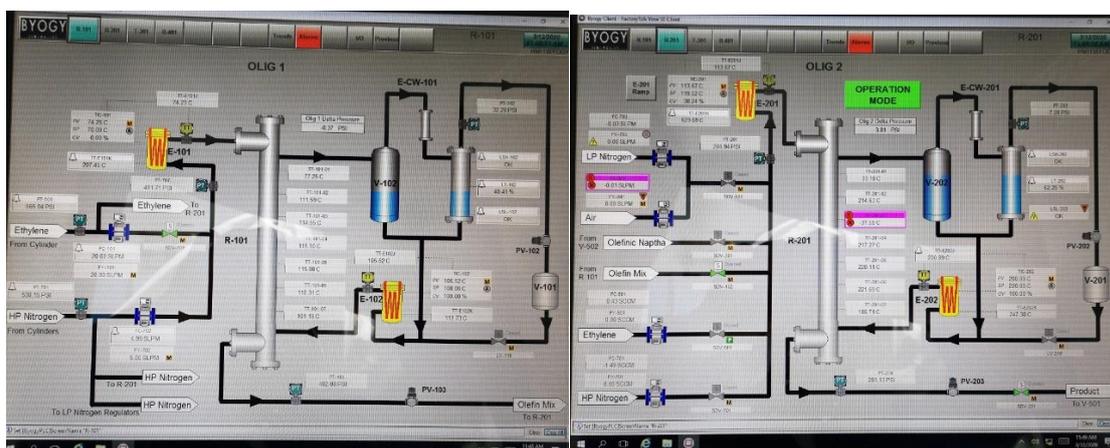


図 2-2-8-6-9 3月12日12時の運転記録

2020年3月12日

20:00

到達温度: olig 1 = 115.38°C、olig 2 = 230.31°C

到達圧力: olig 1 = 477.30psi, olig 2 = 281.32psi

エチレン流量: 5 標準リットル/分

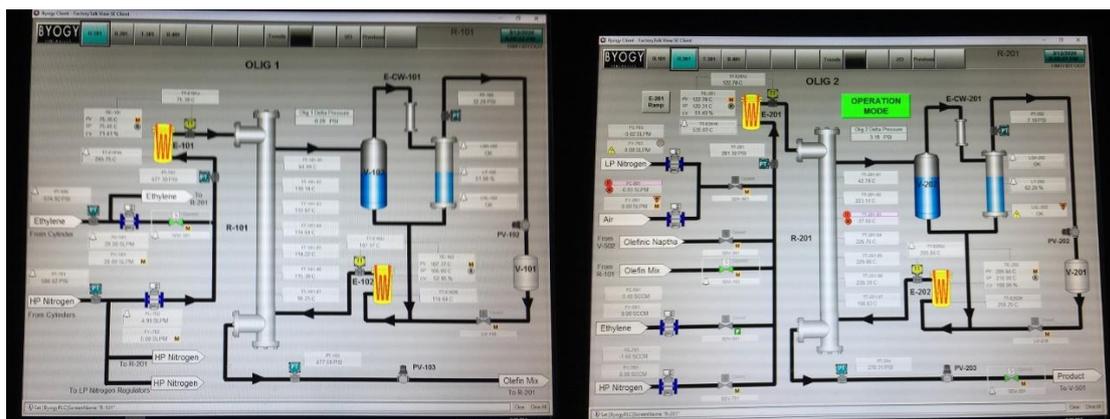


図 2-2-8-6-10 3月12日20時の運転記録

2020年3月13日

5:00 運転終了

今回得られた炭化水素サンプルの様子を図 2-2-8-6-11 に示す。重合が進むにつれ呈色が進み、運転が安定した 3/11, 12:00 のサンプル以降は安定した呈色を示している。



図 2-2-8-6-11 今回エチレンを重合して得られた炭化水素
順に 3/10, 21:00、3/11, 0:00、3/11, 6:00、3/11, 12:00、3/11, 18:00、3/12, 0:00、3/12, 6:00
にサンプリングしたもの。

2-2-8-7 発酵残渣からのエネルギー回収の検討

本プロセスは水蒸気爆砕を用いることから、中圧蒸気源としてのエネルギー消費が多い。従って、発酵残渣からのエネルギー回収は大きな課題となる。残渣の利用法として最も大きなエネルギー源になるのは、脱水ケーキをバイオマスボイラーに供給して蒸気を得るという手法である。そこで、得られた残渣をフィルタープレスで圧搾し、脱水ケーキを得てこれがバイオマスボイラーに供給できるか検討することとした。

2-2-8-7-1 実験と考察

原料は 190℃10 分爆砕処理廃菌床とした。これを 20%仕込みの糖化を行った後、非遺伝子組み換えの酵母でエタノール発酵を行った。その後、フィルタープレスで含水率 50%まで圧搾した。

結果を表 7. 7. ①に示す。高位発熱量は 20,800kJ/kg とバイオマスボイラー燃料に十分な熱量を有していたが、軟化点が 1150℃とやや低く、バイオマスボイラー中でスケーリングを起こす可能性が危惧された。これは、灰分の中で特に Na 塩が多い事が原因である。

表 2-2-8-7-1 発酵残渣圧縮ケーキの熱分及び灰分組成

分析項目	試料名		脱水ケーキ	分析項目	試料名		脱水ケーキ		
	ベース	単位			ベース	単位			
高位発熱量	無水	kJ/kg	20,800	SiO ₂	灰化	%	45.3		
全水分	到着	%	49.9	Al ₂ O ₃	灰化	%	8.90		
工業分析	気乾試料水分	気乾	%	11.16	Fe ₂ O ₃	灰化	%	3.09	
	揮発分(二炉法)	無水	%	63.38	CaO	灰化	%	12.2	
	固定炭素	無水	%	25.56	MgO	灰化	%	3.47	
元素分析	灰分	無水	%	11.06	TiO ₂	灰化	%	0.37	
	C	無水	%	50.84	SO ₃	灰化	%	1.43	
	H	無水	%	5.29	P ₂ O ₅	灰化	%	10.4	
	O	無水	%	30.20	Na ₂ O	灰化	%	10.3	
	N	無水	%	2.13	K ₂ O	灰化	%	3.71	
	S	無水	%	0.15	V ₂ O ₅	灰化	%	0.01	
	燃焼性 S	無水	%	0.09	MnO	灰化	%	0.15	
	不燃性 S	無水	%	0.06	NiO	灰化	%	0.03	
	Cl	無水	%	0.03	Cl	灰化	%	0.03	
	K	無水	%	0.36	CO ₂	灰化	%	<0.1	
灰溶解性	酸化	軟化点	灰化	°C	1195	外観写真	到着	-	別紙添付
		融点	灰化	°C	1310	見掛け比重	到着	-	0.99
		溶流点	灰化	°C	1325	以下余白			
	還元	軟化点	灰化	°C	1150				
		融点	灰化	°C	1265				
		溶流点	灰化	°C	1310				
以下余白									

この Na 塩は糖化・発酵の際、pH を調整するのに用いる水酸化ナトリウムが原因と考えられる。そこで、同じ爆砕廃菌床を原料に、pH 調整を 15%アンモニア水とした実験系を組み、その残渣脱水ケーキの分析を再度行った。(なお、この追加実験は 5L のジャーファーマンターで行った。)

結果を表 2-2-8-7-2、表 2-2-8-7-3 に示す。熱量は 20,110kJ/kg とほぼ変わらず、灰分の融点は 1270°C と大幅に上昇した。これは灰分中 10%程度あった Na₂O が 0.12%まで抑え込めたことによると考えられる。これにより、アンモニア中和をした場合は発酵残渣をバイオマスボイラー燃料と出来ることが分かった。

表 2-2-8-7-2 アンモニア中和脱水ケーキの分析(1)

No.	試料名		発酵残渣	表示ベース	分析方法
	分析項目	単位			
1	高位発熱量	kJ/kg	20,110	d. b	JIS M 8814
2	高位発熱量	kcal/kg	4,800	d. b	JIS M 8814
3	全水分	%	67.9	a. r	JIS M 8820準拠
4	固有水分	%	0.7	a. d	JIS M 8812
5	揮発分	%	65.7	d. b	JIS M 8812
6	固定炭素	%	24.1	d. b	JIS M 8812
7	灰分	%	10.2	d. b	JIS M 8812
8	炭素	%	49.9	d. b	JIS M 8819
9	水素	%	5.66	d. b	JIS M 8819
10	酸素	%	30.81	d. b	計算値
11	窒素	%	2.50	d. b	JIS M 8819
12	硫黄	%	0.21	d. b	JIS M 8819
13	燃焼性硫黄	%	0.13	d. b	計算値
14	不燃焼性硫黄	%	0.08	d. b	JIS M 8819
15	塩素	%	0.32	d. b	JIS K 0101 32
16	カルシウム	%	0.48	d. b	JIS K 0102 49準拠
17	二酸化炭素(灰中)	%	0.17	d. b	JIS R 9011 18.1準拠
18	嵩密度	g/cm ³	0.992	a. r	JIS Z 7302-9
19					
備考 a. r : 到着ベース表示 d. b : 無水ベース表示					

表 2-2-8-7-3 アンモニア中和脱水ケーキの分析(2)

No.	試料名		発酵残渣	表示ベース	分析方法
	分析項目	単位			
1	雰囲気=酸化性(Oxi.)				
	軟化点	℃	1,270	---	JIS M 8801
	融点	℃	1,315	---	JIS M 8801
	溶流点	℃	1,320	---	JIS M 8801
2	雰囲気=還元性(Red.)				
	軟化点	℃	1,275	---	JIS M 8801
	融点	℃	1,325	---	JIS M 8801
	溶流点	℃	1,325	---	JIS M 8801
3	SiO ₂	%	17.88	d. b	蛍光X線
4	Al ₂ O ₃	%	8.78	d. b	蛍光X線
5	Fe ₂ O ₃	%	3.46	d. b	蛍光X線
6	CaO	%	30.71	d. b	蛍光X線
7	MgO	%	6.12	d. b	蛍光X線
8	Na ₂ O	%	0.12	d. b	蛍光X線
9	K ₂ O	%	8.13	d. b	蛍光X線
10	SO ₃	%	2.34	d. b	蛍光X線
11	P ₂ O ₅	%	20.76	d. b	蛍光X線
12	TiO ₂	%	0.72	d. b	蛍光X線
13	MnO	%	0.31	d. b	蛍光X線
14	NiO	%	0.10	d. b	蛍光X線
15	Cl	%	0.11	d. b	蛍光X線
16	V ₂ O ₅	%	0.04	d. b	蛍光X線
17					
18					
備考 d. b : 無水ベース表示 試料を815℃にて灰化させ、得られた灰化試料にて分析を行った。					

2-2-8-7-2 結論

残渣の脱水ケーキをバイオマスボイラーに供してエネルギー回収を行うという観点から、商用プロセスでの中和に用いるアルカリは、アンモニア溶液を用いることとする。

2-2-9 商用プロセスの設備仕様・運転方法の検討

2-2-9-1 ケース 1. 複合バイオマス利用モデル

商用プロセスを年間1万kLのバイオエタノール生産量で設計した。プラントの立地として九州地方を仮定し、九州および沖縄で発生する廃菌床、麦わら、サトウキビからのバイオエタノール事業モデルを検討した。

廃菌床は年間を通じて発生し、また石や砂などの混入の少ない有望なバイオマスである一方、夏季の発生量はやや減少する。夏季の廃菌床の減少を補うために、沖縄で早春に発生するサトウキビ残渣と初夏に発生する麦わらに着目した。

表 2-2-9-1-1 九州地方における1万kLバイオエタノール事業原料の条件

原料	廃菌床	麦わら	サトウキビ残渣
含水率, wt%	60	15	15
年間処理量 wet-ton/年	75,000	11,764	11,764
年間処理量 dry-ton/年	30,000	10,000	10,000
	合計50,000		
受け入れ時期と量	4月～9月	6月と7月のみ	1月と3月のみ
dry-ton/月	2,000	5,000	5,000
	10月～3月		
	3,000		
工場内保管	1000ton	全量をヤードに保管	
搬入形態	バラ積み	角ベール	ロールベール
		PPメッシュ	PPメッシュ
異物含有(石、砂等)	なし	あり	
破碎	不要	1cm以下、メッシュ除去	

設備稼働日数、バイオエタノール収率条件

- ・ 年間稼働日数： 300 日
- ・ バイオエタノール収率： 原料に関らず 200 L/dry-ton バイオマス

したがってバイオエタノール生産量は、
バイオマス処理量 50,000 dry-ton/年×200 L/dry-ton = 10,000,000 L/年 となる。

問題点として、この場合、麦わらとサトウキビ残渣のベールを5mに積み上げたとした場合の保管面積が約6ha必要となる。また、大量のバイオマスを雨曝しで長期保管する場

合、発酵熱による発火の危険があることから、テント倉庫での保管となり、設備費の増加が無視できない。

2-2-9-2 ケース2. 廃菌床単独モデル

年間を通して十分な廃菌床が安定供給可能である地域を想定し、廃菌床のみを原料とするモデルを検討することとした。

2-2-9-2-1 プロセスの概要

年間生産量： 99.5%EtOH を 1 万 kL

年間稼働日数： 300 日

原料： 廃菌床 168bd-ton/日(5 万 400ton/年)

爆砕工程： 200℃、20 分、連続

液化工程： 15 分、固形分濃度 25%、連続

糖化工程： 12 時間、固形分濃度 25%、連続

発酵工程： 48 時間、半バッチ、遺伝子組換え酵母

酵素製造工程： *T. reesei* セルラーゼ 168hrs.、バッチ

BGL/アクセサリー酵素 120hrs.、バッチ、遺伝子組換え酵母

廃水処理： 廃水量 800 m³/日

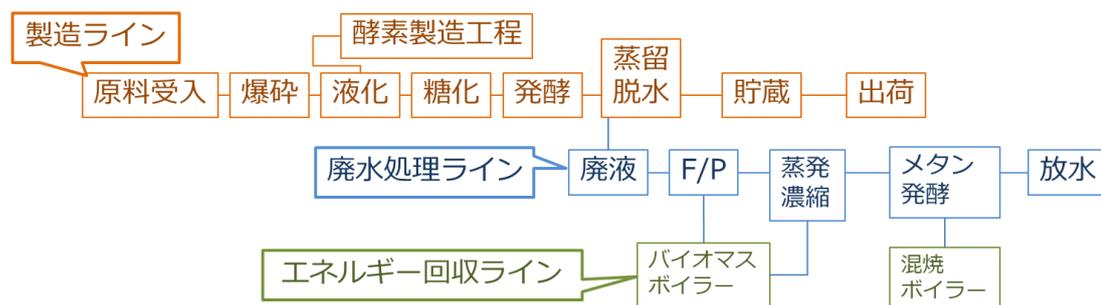


図 2-2-9-2-1 プロセス概略

受け入れた原料は 3 日間分(450bd-ton)保管できるストックヤードに蓄えられる。ストックヤードに蓄えられた原料は直接爆砕装置に導入される。爆砕処理では、所定の時間水熱処理され、連続的にブローされる。爆砕バイオマスは冷水と混和され、液化タンクに導入される。液化タンクでは Hi-F ミキサーによって自制酵素と混和される。液化行程では、高動力・短時間(PV=7 程度 15 分間)で混和され、素早く液化された後、糖化工程へと移送される。比較的低い動力(PV=1)で 12 時間連続糖化したのちに半バッチ式の発酵槽へと移される。糖化液は 24 時間かけて発酵槽へと張り込まれ、その後 24 時間保持されることで、計 48 時間の半バッチ発酵が行われる。廃菌床は、グルカンとほぼ等量のキシランを含むため、組み換え酵母によるキシランからのエタノール発酵が重要となる。従って、発酵槽及び種酵母の前培養槽は遺伝子組み換え対応設備となる。発酵液は加熱殺菌することで、後段プロセスへの組

み換え菌の流出を防ぐ。その後、蒸留・脱水工程を経て製品バイオエタノールとして出荷される。

蒸留残渣はフィルタープレスで固液分離後、脱色の為に蒸発濃縮装置に掛けられる。蒸発液はVFAなどの揮発性有機物が含まれるので、メタン発酵槽で処理後、放流される。

フィルタープレスの脱水ケーキと濃縮黒液はバイオマスボイラーへと供され、エネルギー回収が行われる。メタン発酵槽からのメタンガスは都市ガスの混焼ボイラーに供される。これらボイラーは本プロセスで最もエネルギーを消費する爆砕処理の蒸気源とすることが出来る。

2-2-9-3 爆砕装置について

実証プラントでの検証から、前処理技術として水蒸気爆砕が有用であることが示されたので、引き続き連続水蒸気爆砕法による前処理を検討する。なお、実証プラントでは多様な原料の検証を行う必要から、ロックホッパー方式の原料導入を採用した。しかし、ロックホッパーは原料を蒸気で予圧し、次の原料受け入れに備えて排圧する、ということを繰り返すため、蒸気使用量が膨大になる。商用プロセスでは環境性を担保するために、プラグスクリー方式を採用し、蒸気使用量を大幅に減らすこととした。

プラグスクリー方式はスクリープレスと同等の機構を原料導入に使用することで、基本的にモーターの押し圧で原料の予圧を行う。大気圧と処理圧の縁切りを行うシールは、バイオマスそのものを押し固めたケーキが担う事となる。従って原料のケーキ形成能が重要となり、全てのバイオマスを受け入れることが出来るというわけではない。

そこで、爆砕装置の選定に先立ち、使用予定のバイオマスのケーキ形成能と爆砕効果の確認を行うため、プラグスクリー方式の爆砕装置を供給しているスウェーデン Valmet 社に廃菌床、コーヒー粕、パルプを送り、現地研究所にてその性状試験を行った。

結果、いずれのバイオマスも良好なプラグ形成能を有し、爆砕効果も、実証プラント現有の爆砕装置と比較しても大きな違いがないことを確認した。



図 2-2-9-3-1 Valmet 社装置外観

上：原料導入部／下：水熱反応部



図 2-2-9-3-2 プラグスクリューケーキ形成の様子
良好なシール性が認められる(廃菌床)

2-2-9-4 液化・糖化設備

- ・ 液化タンクは、滞留時間 15 分間から容量 8.9m³とする。
- ・ 糖化タンクは、滞留時間最大 12 時間から容量 425m³×2 タンクとする。

2-2-9-5 発酵槽、酵母培養及び酵母滅菌槽

発酵槽は、糖液投入時間 24 時間、発酵時間 48 時間より 815m³×4 タンクする。また、酵母は遺伝子組み換え株の使用を前提とするため、発酵槽及び前培養槽は遺伝子組み換え微生物対応設備となる。また、発酵液は滅菌タンクで加熱滅菌し、蒸留段階への遺伝子組み換え酵母の流出を防ぐ。酵母培養は、フラスコ培養→50L 槽→1m³ 槽→50m³ 槽 とする。滅菌タンクは 28m³ で 90℃×1 時間以上の加熱滅菌を行う。

2-2-9-6 蒸留塔の設計

2-2-9-6-1 蒸留設備の課題

蒸留設備の仕様決定においては、蒸留設備へ供給される滅菌後糖化発酵液中の以下に列挙する物性が大きな影響を与えると想定される。

① 微量成分（含有種、含有量）

：製品バイオエタノール規格を満たす精製バイオエタノールを得るために必要な精製工程数、すなわち蒸留塔数に影響する。

② 固形分（含有量、粒度）

：蒸留塔内の閉塞対応、すなわち、もろみ塔のインターナル選定に影響する。

（インターナルによって塔高さ、圧損等へも影響する）

廃菌床から生産された糖化発酵液の上記物性を分析する。

2-2-9-6-2 糖化発酵液分析結果

2 種類の滅菌処理を施された糖化発酵液を作成し、双方についてガスクロマトグラフ/質量分析（以下、GC-MS）を行った結果を表 2-2-9-6-1 に、粒度分布測定を行った結果を図 2-2-9-6-1 に示す。

分析に供された糖化発酵液は、以下の通り。

- ・ 90℃1h 不活性化処理 糖化発酵液（以下、不活性化液）
- ・ フィルター滅菌済み 糖化発酵液（以下、フィルター滅菌液）

表 2-2-9-6-1 GC-MS 結果

ピーク No.	分子量	分子式	推定化合物	構造式	面積%	
					90°C1h 不活化処理 糖化発酵液	フィルター 滅菌済み 糖化発酵液
1	46	C ₂ H ₆ O	エタノール		69	73
2	60	C ₂ H ₄ O ₂	酢酸		3.8	3.9
3	92	C ₃ H ₈ O ₃	グリセリンもしくは その類似物質		1.5	1.6
4	92	C ₃ H ₈ O ₃	グリセリンもしくは その類似物質		0.59	—
5	92	C ₃ H ₈ O ₃	グリセリンもしくは その類似物質		9.9	8.2
6	178	C ₇ H ₁₄ O ₅	エチル-b-d-リボシド もしくはその類似物質		—	1.5
7	178	C ₇ H ₁₄ O ₅	エチル-b-d-リボシド もしくはその類似物質		0.88	—
8	95	C ₅ H ₅ NO	ピリジノール		0.87	0.98
9	178	C ₇ H ₁₄ O ₅	エチル-b-d-リボシド もしくはその類似物質		0.41	—
10	不 明				0.44	0.57
11	178	C ₇ H ₁₄ O ₅	エチル-b-d-リボシド もしくはその類似物質		12	10

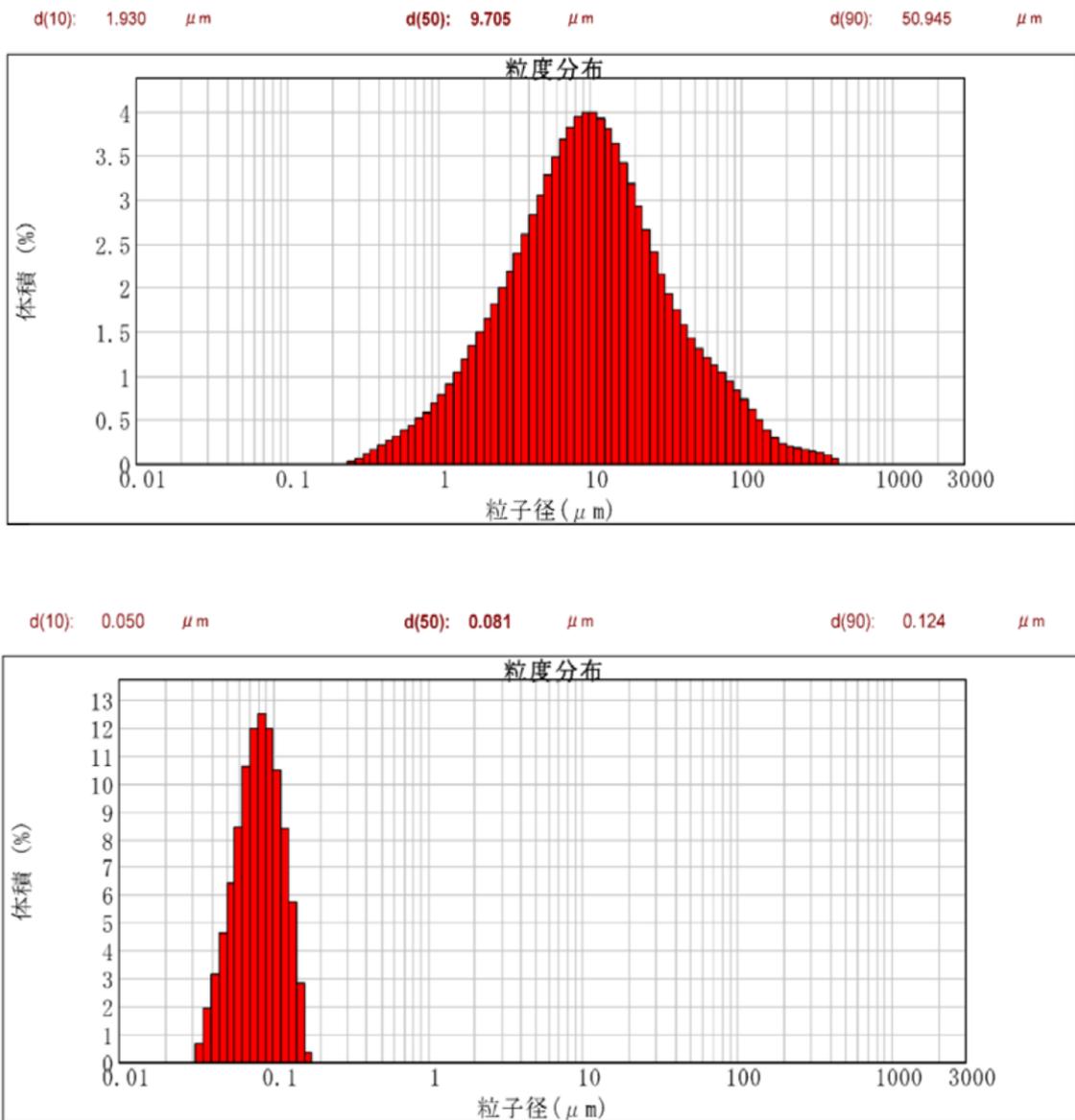


図 2-2-9-6-1 粒度分布測定結果
 (上：加熱滅菌液、下：フィルター滅菌液)

① 微量成分に対する評価結果

成分は GC-MS で測定した。Aspen Plus ver. 8.6 を用いて、前述の蒸留設備供給液成分および想定している蒸留設備運転条件 (温度、圧力、等) をインプットし気液平衡計算を行い、供給液に対してそれぞれの成分が留出液側へどれだけ移行するかを計算した結果を表 2-2-9-6-2 に示す。なお以下の前提に基づき計算を行う。

- エタノール濃度 (基準成分) : 4.8wt%
- 水以外の留出液中成分を結果として示す (水は下流の脱水設備で除去するため)

表 2-2-9-6-2 に示すように気液平衡計算上、留出液中の成分が製品バイオエタノール規格を満たしていることを確認した。

表 2-2-9-6-2 流出液中成分計算結果

糖化発酵液中成分	不活性化液濃度		フィルター滅菌液濃度		無水エタノール規格 (JIS K2190) [wt%]
	供給液 [wt%]	留出液(水除く) [wt%]	供給液 [wt%]	留出液(水除く) [wt%]	
エタノール	4.80	99.99	4.80	99.99	>99.36
酢酸	0.26	0.00	0.26	0.00	<0.79
グリセロール	0.83	0.00	0.74	0.00	
ピリジノール	0.06	0.01	0.06	0.01	
エチル・b,d-リボシド	0.92	0.00	0.66	0.00	

② 固形分に対する評価結果

図 2-2-9-6-1 に示す通り、より粒度が大きいと考えられる不活性化液では平均粒径 (d50) が 10 micron 以下、最大粒径 500 micron 以下でした。採用予定の固形物に強いタイプのもろみ塔のインターナルは、平均粒径 1,000micron 未満においては閉塞が起りにくい構造となっており、不活性化液中固形粒度はその基準値よりも小さいことを確認した。

2-2-9-6-3 糖化発酵液分析結果を踏まえた蒸留設備仕様

「2-2-9-6-1 蒸留設備の課題」で設備仕様決定のための検討課題として挙げた①微量成分と②固形分に関して分析結果を解析し、以下の設備仕様で問題ないことを確認した。

蒸留塔数 : もろみ塔、精留塔の 2 塔

もろみ塔インターナル : 固形物に強いタイプのインターナル

2-2-9-7 オンサイト酵素生産プロセス

酵素 A 製造設備は 700L/時の生産能力として設計している(図 2-2-9-7-1)。

酵素 B 製造設備は 300L/時の生産能力として設計している(図 2-2-9-7-2)。培養に使う糖質として、多糖を含むプロセス液を使用して、酵素生産誘導を掛ける。生産する微生物は遺伝子組み換え菌であるので、製造プロセスは遺伝子組み換え取り扱い設備となる。生産した酵素液はセパレーターとセラミックフィルターに供し、遺伝子組み換え菌を除去した上で酵素 A と併せて主プロセスの液化行程へと添加される。

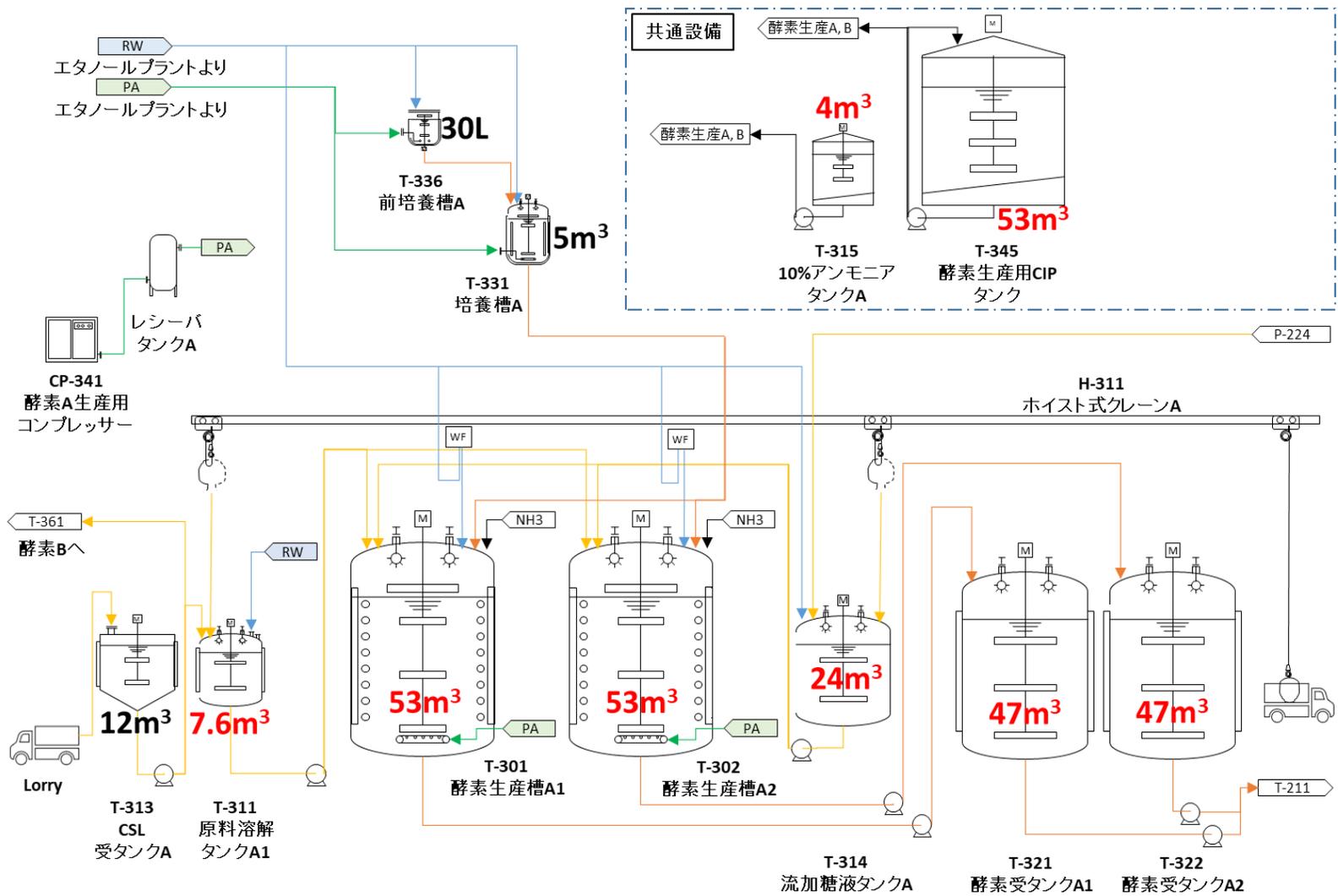


図 2-2-9-7-1 酵素 A 製造設備

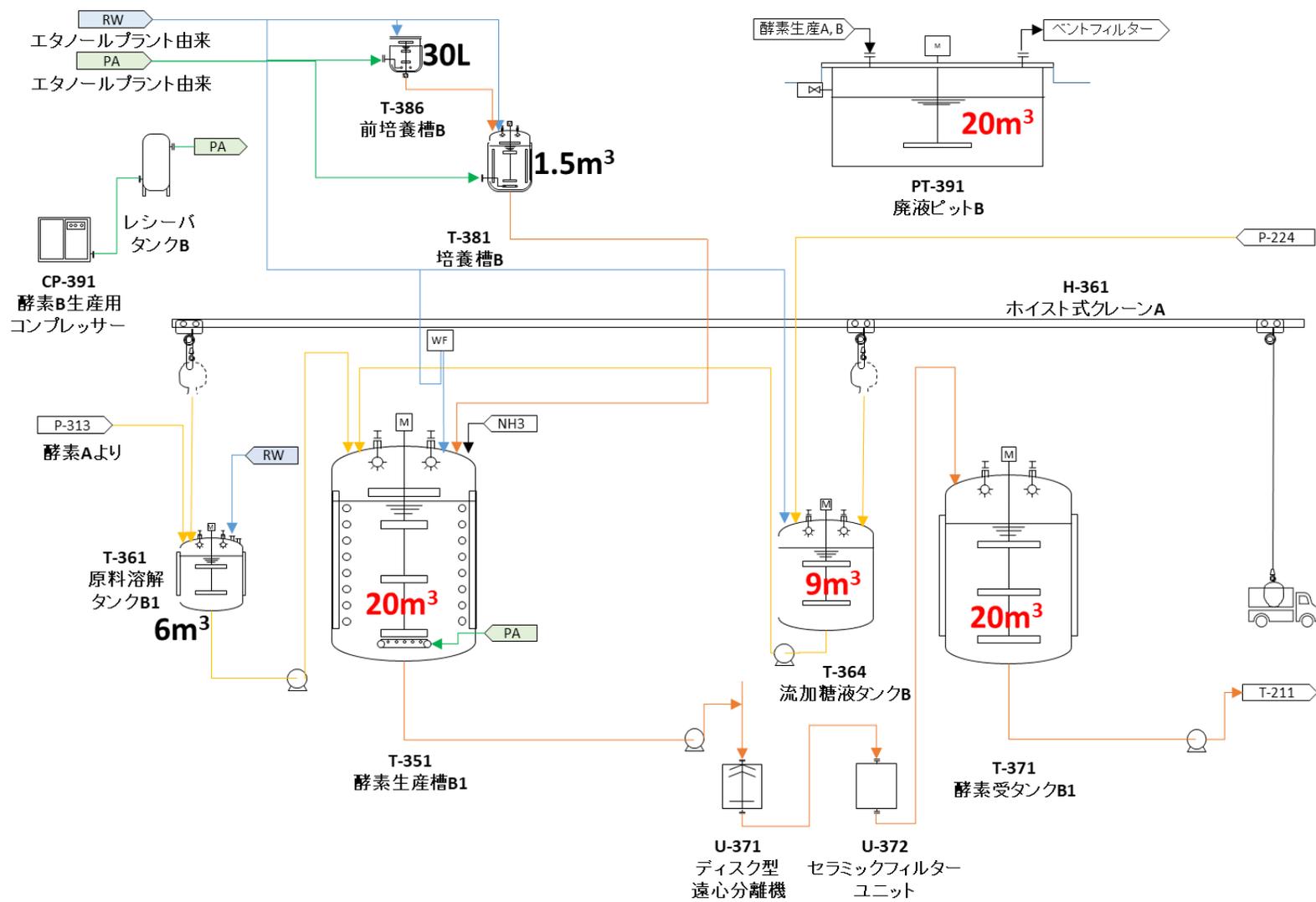


図 2-2-9-7-2 酵素B製造設備

2-2-9-8 組み換え微生物対応

実証試験の結果から、アルコール発酵とアクセサリ酵素(酵素 B)の生産に使う酵母は遺伝子組み換え株の使用を前提とした。遺伝子組換え酵母を使用する設備は、平成 16 年財務・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省令第 1 号「遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」の「別表の二 カテゴリー1 遺伝子組み換え微生物」の「拡散防止措置の内容」に従い設計する。

第二種使用とは閉鎖系での使用を意味し、区域外からフィルター、防液堤で縁切りされた空間やタンクでの使用を指す。第一種とは、例えば農地で遺伝子組み換え農作物を生産する場合など、開放区域での使用を意味する。

カテゴリー1 遺伝子組み換え微生物は、導入遺伝子および宿主の双方に病原性がないと確認されている GILSP リストに登録されているものを指す。

設備は遺伝子組み換え酵母を大気、水、土壌と分離するとともに、設備には遺伝子組換え酵母を捕捉できる HEPA フィルターを設置する。

2-2-9-9 プロセスのマテリアルバランス

廃菌床からのバイオエタノール商用生産におけるマテリアルバランスを図 2-2-9-9-1 に示す。本プロセスは一日 168bd-ton/日の廃菌床から 37.2kL/日のバイオエタノール生産を目標とする。これまでの知見から廃菌床の含水率は約 60%、爆砕後は約 70%となる。爆砕物の温度は 100℃であるので、そのままでは酵素を添加することが出来ない。この爆砕物に冷水を加えながらコンベア輸送し、酵素が耐えられる 60℃以下に冷却する必要がある。また必要に応じてアンモニア等の pH 調製剤が加えられる。冷却した爆砕物に酵素液を加えた時点の固形物濃度は 25%として設計している。爆砕物に酵素を加えたのち、15 分間高動力(PV7 以上)で攪拌し、液化する。その後、比較的穏やかな条件で攪拌し 12 時間糖化する。廃菌床中には、5%程度の割合でコーンコブ由来とみられる粒状の固い残渣が含まれている。これは糖化されずに後段まで残り、ポンプや配管を閉塞させる原因となることが分かっている。これを除去するため、液化・糖化後に 3 mm程度のスクリーンを通して大粒の残渣を除去する。除去した大粒残渣は再度爆砕処理に回される。スクリーンを通した糖化液の一部は酵素 A の生産と組み換え酵母生産の糖質原料として利用する。残りの糖液は 24 時間かけて発酵槽へと導入され、48 時間発酵する。発酵液は遺伝子組み換え菌を含むので、熱交換器で 90℃まで昇温後、1 時間以上置いて殺菌する。殺菌された発酵液はもろみ液として蒸留塔に供され、バイオエタノールが回収される。残渣は固液分離・濃縮後バイオマスボイラーの熱源として利用される。バイオマスボイラーは必要に応じて木材チップ等補助燃料が追加されるが、熱源は全てバイオマス由来である。

発生する蒸留残渣は約 580kL/日、洗浄水も含めた廃液量は 800kL/日と見積もる。

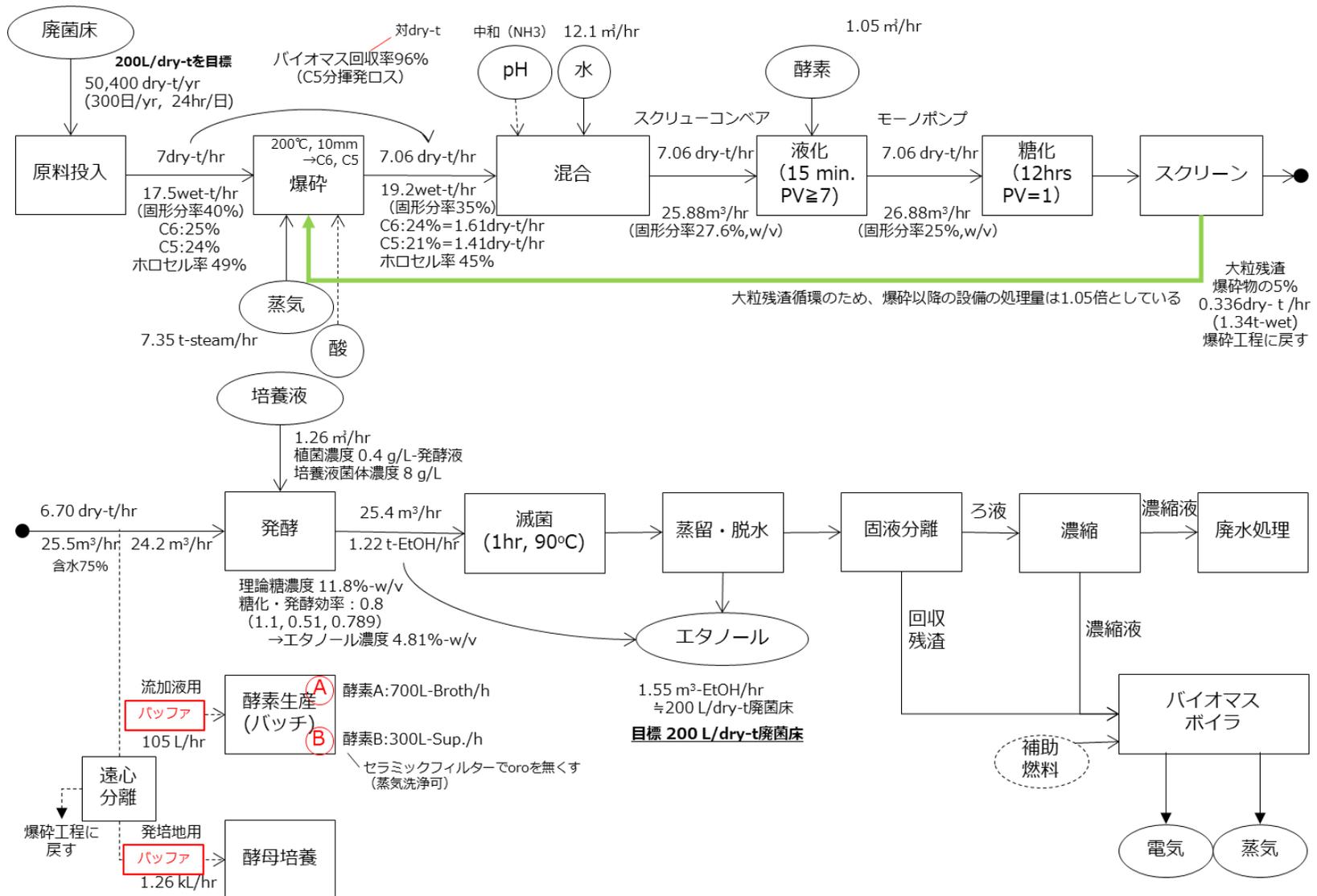


図 2-2-9-9-1 マテリアルバランス概算

2-2-10 総括

DOE（アメリカエネルギー省）が2006年に「コーンストーバーからの第二世代バイオエタノール生産」の意義についての政府見解を発表してから、14年が経った。大規模気候変動に対する人類の挑戦の一つとして石油に代わる液体燃料の製造技術は2020年の現段階でも大きく進歩した。この間に非可食原料由来のバイオエタノール生産については我が国でも複数の事業が立ち上がり、農林水産省の「ソフトセルロース利活用技術確立事業」やNEDO事業における個別の有用要素技術、例えばセルラーゼの高度化、生産コストの低減技術なども実施された。今回のセル総事業の意義は非可食原料をつかったバイオエタノール生産技術において世界的に活用されている「水蒸気爆砕」技術を導入することで第二世代バイオエタノールの生産コストを低減させ社会実装を推進することにある。併せて、社会実装にむけた事業性の向上を期待して、我が国で初となるエタノールからエチレンを製造しその後エチレンを重合させることでジェット燃料であるところの「ケロシン」を製造するプラントを設置、運転し、ケロシンの合成に成功した。今後、バイオジェット燃料やエタノールの樹脂化の方向性を期待させる成果である。

このように第二世代バイオエタノールの事業性向上のための方策として、複数の技術改善によるコストダウンを模索し、規模の拡大でのコスト低減の可能性を試算した結果、製紙工場などの大規模エネルギー供給事業と協業することで年産3万KL以上の第二世代バイオエタノール生産工場が建設できた場合には、酵素の自製もしくは非常に安価な酵素購入が前提ではあるが、設備の償却年数が15年程度と長くなるものの「70-80円/L」の製造コストでの第二世代バイオエタノールの製造が可能と試算された。

一方でこの70円/Lでのエタノール製造のためのバイオマス原料価格は5円以下を目標としているのだが、現在のところ安定的な供給体制は我が国には見いだせていない。リグノセルロース系の原料であれば3万KLのエタノール製造には12万ton規模の収集運搬が必須になる。廃棄パルプ系の原料であれば6万5000ton規模の古紙系の原料が必要となる。今後は原料の調達などは重要な課題となることが推察される。

本事業で設置した製造プラントは世界的標準技術であった「連続水蒸気爆砕技術」をバイオマスの前処理技術として導入し、我が国に存在する多くの第二世代バイオエタノールを生産するための基礎技術を導入した。

木質バイオマス由来パルプならびに廃菌床を水蒸気爆砕することで、酵素反応時間を大幅に短縮し、酵素の使用量を30%以上削減することが可能である。自製酵素と購入酵素の糖化能力はほぼ同等であることから、オンサイト生産による安価な自製酵素を使用することによって、酵素コストを大幅に削減できる。また、非遺伝子組み換え酵母 *Candida intermedia* 4-6-4T2 株ではパルプからのエタノール変換効率80%以上が可能であり、更に遺伝子組み換え酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IR2 C-15 株では、廃菌床のような発酵阻害成分を有するバイオマスからでも96%以上のバイオエタノール変換率を得ることが出来た。

大規模製紙工場から発生する大量かつ安価な破棄パルプや大規模なきのこ生産工場から生じた廃菌床を水蒸気爆砕し、自製酵素で糖化させ、キシロース資化性酵母でエタノール発酵させ、またプロセスから生じる蒸留残渣等をバイオマスボイラーに供することで、「エネルギー供給事業者による非化石エネルギー源の利用及び化石エネルギー原料の有効な利用の促進に関する法律」第2条第7項で定められる次世代バイオエタノールとしての環境性が担保され、これにより経済性を満たすシステムを構築できる道筋が示された。

また、出来たバイオエタノールをジェット燃料へと変換する可能性が示された。このエタノール改質技術で得られる炭化水素油は、化石燃料由来のガソリンと本質的に同一物であり、その代替使用に対して技術的なハードルは極めて低く、従来のバイオエタノール直接混合方式に際して問題となるシール材への攻撃性などは起きない。本事業の目的は化石由来ガソリンの代替燃料であるが、このエタノール改質技術を応用し、重合条件等を見直す事で、ASTM D7566 に適合した純バイオジェット燃料を次世代バイオエタノールから製造する事も可能である。これにより、次世代バイオエタノールビジネスの更なる展望が拓かれる。大規模製紙工場などにエタノール生産プラントを隣接設置した場合にはエタノールから直接的にジェット燃料を生産が可能である。ICAO では 2027 年には民間航空機へのバイオジェット燃料の搭載を義務化することになっており、将来的には純国産バイオジェット燃料の生産が期待されている。

また近年ではプラスチックの原料にバイオエタノールからのバイオエチレンを使う企業も増えており、第二世代バイオエタノールの需要が燃料から樹脂用のエタノールにシフトする可能性もでてきている。このよう第二世代バイオエタノールの事業は多方面に展開されつつあり、その用途別に政策誘導されることが望ましいと考えられる。当該チームとしても第二世代バイオエタノールの社会実装に向けて進める予定である。

3. 知的財産権等の取得及び成果の普及

3-1 木本バイオマスを原料とする日本の持続可能性基準に適合するセルロース系エタノールの一貫生産技術開発および事業性評価

【特許】

出願番号：特願 2018-169163

発明の名称：リグノセルロース系原料からのエタノールを製造する方法

出願者：JXTG エネルギー株式会社、王子ホールディングス株式会社

出願番号：特願 2018-175089

発明の名称：糖化液

出願者：王子ホールディングス株式会社

出願番号：特願 2019-012040

発明の名称：キシリトールの蓄積を抑制した酵母

発明者：JXTG エネルギー株式会社

出願番号：特願 2019-162093

発明の名称：エタノールの製造方法

発明者：JXTG エネルギー株式会社、王子ホールディングス株式会社

出願番号：特願 2020-039822

発明の名称：糖化液

出願者：王子ホールディングス株式会社

【論文】

Journal of Bioscience and Biotechnology Vol. 127, No.5, 563-569 (2019)

題目：Kinetic modeling and sensitivity analysis for higher ethanol production in self-clonong xylose-using *Saccharomyces cerevisiae*.

著者：Akira Fukuda, Yuki Kuriya, Jin Konishi, Kazue Mutaguchi, Takeshi Uemura, Masahiro Okamoto

【図書 その他】

えねるみくす (日本エネルギー学会誌) Vol. 99, No. 4, 317-323 (2020)

題目：輸送用燃料向けセルロース系バイオエタノール製造技術の開発

発表者：福田 明

【学会発表】

発表日：2018年9月18日

発表先：化学工学会 第50回秋季大会

題目：木質系バイオマスを原料とするセルロース系エタノール一貫生産システムの構築

発表者：中川 幸次郎、井手 浩平、福田 明、上村 毅、大野 真美、関沢 真吾、安住 尚也、
塚本 晃、古城 敦、池水 昭一

発表日：2018年9月18日

発表先：化学工学会 第50回秋季大会

題目：木質系バイオマスを原料とするセルロース系エタノールの連続生産プロセスの検討

発表者：福田 明、井手 浩平、兼澤 みゆき、上村 毅、大野 真美、関沢 真吾、安住 尚也、
塚本 晃、古城 敦、池水 昭一

発表日：2018年10月4日

発表先：第61回紙パルプ技術協会 年次大会

題目：木本バイオマスを原料とするセルロース系エタノール生産技術開発

発表者：古城 敦、関沢 真吾、安住 尚也、塚本 晃、井手 浩平、兼澤 みゆき、福田 明、
上村 毅

発表日：2018年10月17日

発表先：第48回石油・石油化学討論会

題目：木本バイオマスを原料とするセルロース系エタノールの生産プロセス実証

発表者：井手 浩平、兼澤 みゆき、福田 明、上村 毅、大野 真美、安住 尚也、塚本 晃、
池水 昭一

発表日：2018年10月17日

発表先：第48回石油・石油化学討論会

題目：木本バイオマスを原料とするセルロース系エタノールの一貫生産システムの構築

発表者：中川 幸次郎、井手 浩平、福田 明、上村 毅、大野 真美、関沢 真吾、安住 尚也、
塚本 晃、古城 敦、池水 昭一

発表日：2019年1月16日

発表先：第14回バイオマス科学会議

題目：木本バイオマスを原料とするセルロース系エタノール生産プロセスのスケールアップ検証

発表者：兼澤みゆき、井手浩平、福田明、中川幸次郎、関沢真吾、塚本晃、安住尚也、古城敦、
池水昭一

発表日：2019年3月14日

発表先：第69回日本木材学会 年次大会

題目：木本バイオマスを原料とするセルロース系エタノール生産技術開発

発表者：古城 敦、関沢 真吾、安住 尚也、塚本 晃、井手 浩平、兼澤 みゆき、福田 明、
上村 毅

発表日：2019年3月16日

発表先：日本化学会 第99回春季大会

題目：木質系バイオマスを原料とするセルロース系エタノール生産 プロセスのスケールアップ検
証

発表者：兼澤みゆき、井手浩平、福田 明、中川幸次郎、関沢真吾、塚本 晃、安住尚也、古城 敦

発表日：2019年6月24日

発表先：第8回 JACI/GSC シンポジウム

題目：自動車用燃料向け次世代バイオ燃料の新規製造プロセスの開発

発表者：井手浩平、兼澤みゆき、福田 明、古城 敦

発表日：2020年10月27日

発表先：第10回バイオマス製品普及推進功績賞 表彰式 記念講演会

題目：非可食バイオマスを活用した国産プラスチック製造への取り組み

発表者：古城 敦

3-2 パルプを用いた水蒸気爆砕法によるバイオエタノール生産に関する技術開発および事業性評価

【特許】

出願番号：特願2017-88067

発明の名称：酵母の培養方法及びバイオエタノール生産方法

出願者：コスモ石油株式会社

【論文】

石油学会誌 (Journal of the Japan Petroleum Institute) Vol. 60, No.3, 127-136 (2017)

題目：Ethanol Production from Sugars in Hydrolysates of Cellulosic Biomass Resources with Xylose-fermenting Yeast *Candida intermedia* 4-6-4T2

著者：Masaru Saito, Hiroshi Nagasaki, Shigeyuki Watanabe, Takanori Fujimoto

石油学会誌 (Journal of the Japan Petroleum Institute) Vol. 61, No.3, 191-198 (2018)

題目：Pretreatment Conditions for Hydrolysates from Unbleached Pulp Waste for Ethanol Fermentation with Xylose-fermenting Yeast, *Candida intermedia* 4-6-4T2

著者：Masaru Saito, Hiroshi Nagasaki, Tomoaki Ikeda, Kiyotaka Saga, Koji Yoshida, Shigeyuki Watanabe

エネルギー工学会誌 (Journal of the Japan Institute of Energy) Vol. 98, 139-143 (2019)

題目：A Pilot Plant Scale 2nd Generation Bio-ethanol Production from Waste Mushroom Beds in Japan

著者：Kouji Yoshida, Yosuke Kobayashi, Hiroto Nishijima, Naohisa Sugioto, Fuminori Imai, Masatoshi Kanematsu, Kenji Yamada, Susumu Arai, Kiyotaka Saga, Yoshiya Izumi

【学会発表】

発表日：2016年11月18日

発表先：第46回石油・石油化学討論会

題目：非遺伝子組換え酵母(*Candida intermedia* 4-6-4T2)によるセルロース系バイオマス糖化液からのバイオエタノール生産

発表者：齊藤優、長崎宏、大崎貴之、藤本尚則、渡辺佳久

発表日：2017年7月7日

発表先：第31回セルラーゼ研究会

題目：ガラクトマンナン分解系酵素の発現系構築と作用機構の調査

発表者：高橋ひろみ、杉浦かなえ、佐賀清崇、泉可也、藤野尚人、野崎功一

発表日：2017年9月2日

発表先：第26回日本エネルギー学会大会

題目：酵素糖化のためのセルロース系廃棄物の連続水蒸気爆砕処理

発表者：佐賀清崇, 吉田浩爾, 西島拓人, 杉本直久, 石倉喜郎, 廣田真, 泉可也, 荒井進,
今井史規, 金松雅俊

発表日：2017年9月7日

発表先：日本応用糖質科学会平成29年度大会

題目：*Trichoderma reesei* 由来ガラクトマンナン分解系酵素の機能解析

発表者：高橋ひろみ, 杉浦かなえ, 佐賀清崇, 泉可也, 藤野尚人, 野崎功一

発表日：2017年11月16日

発表先：第47回石油・石油化学討論会 (2017.11.16)

題目：非遺伝子組換え酵母 (*Candida intermedia* 4-6-4T2) によるセルロース系バイオエタノールの製造コスト削減検討

発表者：齊藤 優、長崎 宏、池田 智明、渡邊 繁幸

発表日：2018年1月18日

発表先：第13回バイオマス科学会議

題目：多様なセルロース系廃棄物に対応可能なバイオエタノール製造プロセスの単位操作組合せ検討

発表者：佐賀清崇, 吉田浩爾, 松永尚之, 鈴木伸一, 西島拓人, 杉本直久, 小林洋介, 石倉喜郎,
泉可也, 荒井進, 山田憲治, 金松雅俊, 今井史規

発表日：2018年7月31日

発表先：6th Asian Conference on Biomass Science

題目：A Pilot Plant Scaled 2nd Generation Bio-Ethanol Production from Waste Mushroom Beds in Japan

発表者：Kouji YOSHIDA, Yosuke KOBAYASHI, Hiroto NISHIJIMA, Naohisa SUGIMOTO,
Fuminori IMAI, Masatoshi KANEMATSU, Kenji YAMADA, Susumu ARAI, Kiyotaka SAGA,
Yoshiya IZUMI

発表日：2018年9月6日

発表先：第70回日本生物工学会大会

題目：廃菌床由来バイオエタノールの発酵生産

発表者：小林洋介, 藤森一浩, 西島拓人, 杉本直久, 藤野尚人, 今井史規, 金松雅俊, 山田憲治,
荒井進, 吉田浩爾, 佐賀清崇, 泉可也

発表日：2019年3月27日

発表先：日本農芸化学会 2019年度大会

題目：C5C6発酵酵母による廃菌床由来バイオエタノールの発酵生産

発表者：小林洋介，藤森一浩，西島拓人，杉本直久，藤野尚人，栗原大樹，今井史規，金松雅俊，
山田憲治，荒井進，吉田浩爾，佐賀清崇，泉可也

発表日：2019年11月8日

発表先：公益社団法人 自動車技術会 ガソリン機関部門委員会

タイトル：非遺伝子組換え酵母 (*Candida intermedia* 4-6-4T2) によるセルロース系バイオマス
からのバイオエタノール生産 C5C6発酵酵母による廃菌床由来バイオエタノールの発
酵生産

発表者：藤本 尚則，三浦 靖智

IV. 成果の実用化・事業化に向けた取組および見通しについて

1. 成果の実用化・事業化に向けた取組および見通しについて

1-1 成果の事業化に向けた戦略

図 1-1 に本事業で確立した数万 kL 規模のセルロース系廃棄物からのバイオエタノール製造システム（国内モデル）の水平展開の可能性を示す。有望な原料としてはコーンスターチ工場からのコーンファイバー、きのこ工場からの廃菌床、製紙工場からの廃パルプ、首都圏からのコーヒー粕などが挙げられる。これらのセルロース系廃棄物に加え、稲わら、麦わらなどの農業残渣なども適切に組み合わせ、本研究開発で確立する多様なバイオマスに対応できるエタノール製造技術システムを適用すれば、「エネルギー供給構造高度化法」で定められる次世代バイオエタノールとしての環境性が担保され、これにより経済性を満たすシステムを構築できる道筋が示された。

原料多様化の検討結果から導出された次世代バイオ燃料事業モデル

年産 1 万 kL 以上の生産規模を担保するために、製紙工場 PS、難再生古紙、一般廃棄物紙類などのパルプ類と、地域で発生するセルロース系廃棄物を組み合わせた、次世代バイオ燃料製造システムを全国に水平展開させることを提案。

これまでに検討した事業モデル

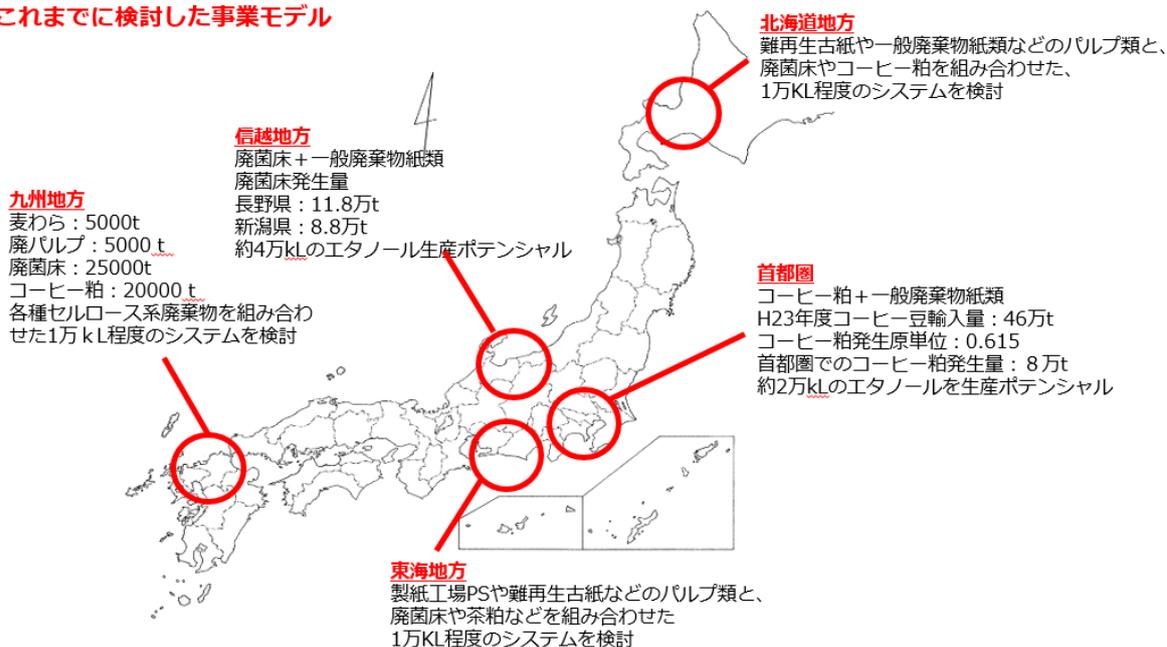


図 1-1 開発した技術システムの水平展開の可能性

1-2 波及効果

本事業で確立されるセルロース系廃棄物からのバイオエタノール製造システムによって、燃料エタノールだけでなく、エタノールを原料としたポリエチレンなどの樹脂生産や、ATJ (Alcohol-to-Jet) 技術によるバイオジェット燃料の製造が期待される。また、セルロース系廃棄物由来の糖を安価に製造することはバイオリファインリーの基盤技術となる。

近年ではプラスチックの原料にバイオエタノールからのバイオエチレンを使う企業も増えており、第二世代バイオエタノールの需要が燃料から樹脂用のエタノールにシフトする可能性もでてきている。

2027年には民間航空機へのバイオジェット燃料の搭載を義務化することになっており、大規模製紙工場などにエタノール生産プラントを隣接設置した場合には、エタノールから直接的にジェット燃料を生産が可能である。

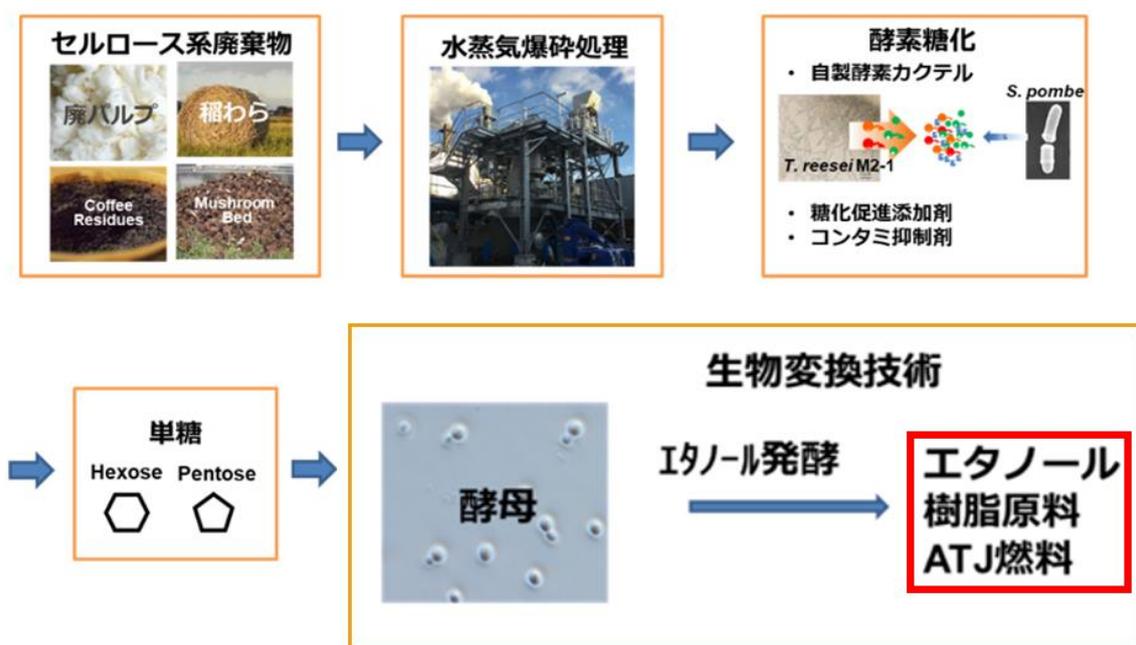


図 1-2 本研究開発による波及効果

(添付資料)

プロジェクト基本計画

「バイオマスエネルギー技術研究開発」基本計画

新エネルギー部

1. 研究開発の目的・目標・内容

(1) 研究開発の目的

2005年2月に発効した京都議定書及び2008年4月に制定されたエネルギーイノベーションプログラム、環境安心イノベーションプログラムの対応として、環境負荷が少ない石油代替エネルギーの普及に向けた、新たな技術の開発及びコスト低減・性能向上のための戦略的取り組みが要求されている。

バイオマスエネルギーは、カーボンニュートラルとして扱われているため、地球温暖化対策の一手段として重要である。一方、供給安定性の確保、食料との競合や森林破壊等の生態系を含めた問題、化石燃料との価格競争性・価格安定性といった経済面での課題、LCA（ライフサイクルアセスメント）上の温室効果ガス削減効果・エネルギー収支等の定量化等の課題を今後克服していくことが重要である。

このような中で、2012年までに京都議定書の目標達成に貢献すべく取り組むことに加え、2030年度、更には2050年に向けた長期的視野に立ち、国内の知見・技術を結集して、バイオマスエネルギー分野における革新的・新規技術の研究開発、開発技術の適用性拡大、コストの低減、利用・生産システム性能の向上等を行い、世界における優位性を確保することが重要となっている。このためには、従来技術の延長にない技術革新をも目指した継続的な研究・技術開発が必要不可欠である。

本研究開発では、バイオマスエネルギーの更なる使用促進・普及に向け、これを実現するための技術開発を行うことを目的とする。

(2) 研究開発の目標

本研究開発は、2010年度以降の更なる二酸化炭素等の温室効果ガス排出量削減に向けて、新技術の開発、開発技術の拡大、性能の向上及びコストの削減を図り、2005年3月総合資源エネルギー調査会需給部会の2030年のエネルギー需給展望(答申)にある2030年度目標値の達成に資する。

なお、個々の研究開発項目の目標は別紙「研究開発計画」に定める。

(3) 研究開発の内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

- ①バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発(制度)〔委託事業、共同研究事業(負担率: 1/2、2/3)〕
- ②セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業〔委託事業〕

- ③戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業〔委託事業、共同研究事業（助成率：2／3）〕
- ④バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業〔委託事業、共同研究事業（助成率：2／3）〕
- ⑤セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業〔委託事業〕

2. 研究開発の実施方式

(1) 研究開発の実施体制

プロジェクトマネージャーにNEDO 新エネルギー部 森嶋誠治 統括研究員を任命して、プロジェクトの進行全体を企画・管理し、そのプロジェクトに求められる技術的成果及び政策的効果を最大化させる。

本研究開発は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下、「NEDO」という。）が、単独ないし複数の原則本邦の企業、大学等の研究機関（原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない）から公募によって研究開発実施者を選定し実施する。

NEDOは、研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルを検討し、これを最大限活用することにより効率的な研究開発を図る観点から、委託先決定後に必要に応じて研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を指名し、その下に効果的な研究を実施する。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発実施者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて外部有識者による技術検討委員会を設置し、開発内容について審議し、その意見を運営管理に反映させる。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は研究開発項目ごとに以下のとおりとする。

① バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発

本研究開発の期間は、2004年度から2012年度までの9年間とする。

② セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業

本研究開発の期間は、2009年度から2013年度までの5年間とする。

③ 戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業

本研究開発の期間は、2010年度から2016年度までの7年間とする。

④ バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業

本研究開発の期間は、2013年度から2016年度までの4年間とする。

⑤ セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業

本研究開発の期間は、2014年度から2019年度までの6年間とする。

4. 評価に関する事項

評価の実施時期や方法は、研究開発項目毎に別紙「研究開発計画」に記載する。

5. その他重要事項

(1) 研究開発成果の取扱いについて

①成果の普及

本研究開発で得られた研究成果についてはNEDO、委託先とも普及に努めるものとする。

②知的財産権の帰属

本研究開発で得られた研究開発の成果に関わる知的財産権については、「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

① バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発

「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ」

② セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業

「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ」

③ 戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業

「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ」

④ バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業

「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ」

⑤ セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業

「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ、第9号」

6. 基本計画の改定履歴

(1) 2010年3月、「新エネルギー技術研究開発／バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発」

「E3地域流通スタンダードモデル創成事業」「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」「戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業」を統合して新たに制定。

(2) 2011年3月、「E3地域流通スタンダードモデル創成事業」が経済産業省の直執行事業

となることを受けて削除、また(別紙)「研究開発計画」のうちの研究開発項目①「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発」の2. 研究開発の具体的内容における公募の実施について、「また、2010年度に実施した加速的先導技術の技術委員会での評価結果を受けて、実施中の研究開発テーマにおいて一部強化が必要な技術について委託先を追加するため、2011年度に公募を実施する。」を追加により改定。

(3) 2013年8月、研究開発項目④「バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業」の追加により改定。

- (4) 2015年2月、研究開発項目⑤「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」の追加により改定。
- (5) 2015年12月、研究開発項目⑤「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」の中間評価時期及び研究開発の運営管理方法の変更により改定。
- (6) 2017年11月、プロジェクトマネージャーの追記により改定。
- (7) 2018年2月、研究開発項目⑤「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」の中間評価結果の反映により改定。FS結果により、事業後半に予定していたプレ商用プラントでの実証を経ずとも商用化に向けた技術確立の目処が立ったことから、事業性評価結果の精度を上げ商用化の確度を高めるため、パイロットプラントでのデータ取得・分析等を主とした事業を継続する。
- (8) 2019年7月、プロジェクトマネージャー役職変更、および和暦から西暦への統一による改定。

(別紙) [研究開発計画]

研究開発項目①「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発」

(イ) バイオマスエネルギー先導技術研究開発

1. 研究開発の必要性

現在のバイオマス転換エネルギーは化石燃料に比べてコスト競争力に乏しく、導入普及のネックとなっている。バイオマス社会の実現に向けて、中長期的視野に立ったエネルギー転換効率のさらなる向上を目指した、新規で革新的な超高効率エネルギー転換技術及び付加価値が高く採算性を有したエネルギー形態に転換する技術の可能性探索が必要である。

また、2004年度「バイオマスエネルギーテクノロジー・ロードマップ策定に関する調査」においてバイオマスエネルギー利用導入・普及拡大のための課題として

①バイオマスエネルギー地域システム化実験事業の必要性

②バイオマスエネルギー先導技術研究開発事業の必要性

が示され、特に②の先導的な研究に関しては2030年の実用化を見据えたバイオマスエネルギー利用技術のシーズを探索し、中長期的視点から革新的なバイオマス先導技術研究の必要性が指摘された。

さらに、バイオマス・ニッポン総合戦略推進会議「国産バイオ燃料の生産拡大工程表（2007年2月策定）」において、ガソリンの卸売価格等と競合できる価格でバイオ燃料を生産する必要性が提唱され、原料別、段階的に100円/Lの製造コストの目安が示された。

また、次世代自動車・燃料に関する懇談会「次世代自動車・燃料イニシアティブとりまとめ（2007年5月策定）」において、上述の「国産バイオ燃料の生産拡大工程表」との整合性を図りつつ、経済的かつ多量にセルロース系バイオマスからバイオ燃料等を効率的に生産する画期的な技術革新の実現についての具体的な議論を進める必要性が提唱された。ここでは、技術革新ケースのベンチマークとして40円/Lの製造コストの目安が示された。また、燃料に限らず、化成品原料への転換も併せて行う総合利用（リファイナリー）の視点の重要性についても提唱された。

これらの状況に鑑みると、バイオマスのエネルギー転換、利用技術等の分野において2015～2030年頃の実用化を目指した新規な革新的技術を発掘、支援し、日本独自の代替エネルギーの確立を探索・推進するために本事業が必要である。

2. 研究開発の具体的内容

バイオマスを気体・液体・固体燃料、電気等のエネルギーに転換する技術に関連した2015～2030年頃の実用化を目指した先導的な研究開発及び将来の革新的なブレイクスルーにつながる基礎研究のテーマを公募し、委託により実施する。

なお、2015～2020年頃の実用化を目指し、特にセルロース系バイオマスからバイオ燃料等を効率的に生産する画期的な技術（以下、加速的先導技術という）について、重点的に実施する。

個別テーマの開発期間は2年間（加速的先導技術は最大3年間）を基本とし、NEDOに設置する技術委員会で継続に関して高い評価が得られたテーマについては、最大8年間実施することを可能とする。

公募は2005年度から2009年度まで実施する。また、2012年度に実施した加速的先

導技術の技術委員会での評価結果を受けて、実施中の研究開発テーマにおいて一部強化が必要な技術について委託先を追加するため、2011年度に公募を実施する。

3. 達成目標

実施テーマごとに、従来の技術に比べて画期的に優れた効率、低コスト化、省エネ性等の技術水準を見込めることを基礎的データの取得・分析により確認する。

なお、個別研究開発テーマの開発目標及び実施内容の詳細については、採択テーマ決定後にNEDOと委託先の間で協議の上決定し、別途「研究開発テーマ一覧」に定める。

4. 評価の時期及び方法

NEDOは、政策的観点から見た制度の意義、目標達成度、将来の産業への波及効果、効果的な制度運営等の観点から、制度評価を制度評価指針に基づき、原則、内部評価により毎年度実施する。(事後評価を含む)ただし、制度立上げの初年度、翌年度に公募を実施しない年度においては制度評価を実施しないこととする。また、評価結果を踏まえ、必要に応じて制度の拡充・縮小・中止等の見直しを迅速に行う。

個別テーマについては、2年度(加速的先導技術は最大3年度)を単位としてNEDOに設置する技術委員会で評価を行い、その結果を踏まえて継続の要否を判断する。

また、NEDOに設置する技術委員会で実用化研究への移行が適切であるとの評価が得られたテーマについては、(ロ)バイオマスエネルギー転換要素技術開発に移行して実施することとする。

(ロ) バイオマスエネルギー転換要素技術開発

1. 研究開発の必要性

2002年度「新エネルギー等導入促進基礎調査」“バイオマスエネルギー開発・利用戦略に関する調査研究”により、コア技術だけでなくエネルギー転換システムの構成要素である「原料の前処理技術、生成燃料の利用技術等」にも多くの開発要素があることが明らかになった。さらに、2001年度から2005年度にかけて実施した、11テーマの研究開発内容を補完する要素技術の必要性が明らかになり、本技術開発を行うことにより、2010年の新エネルギー導入目標の達成に向けてバイオマスエネルギー転換事業の普及を促進させることが期待される。

さらに、バイオマス・ニッポン総合戦略推進会議「国産バイオ燃料の生産拡大工程表(2007年2月策定)」において、ガソリンの卸売価格等と競合できる価格でバイオ燃料を生産する必要性が提唱され、原料別、段階的に100円/Lの製造コストの目安が示されるとともに、次世代自動車・燃料に関する懇談会「次世代自動車・燃料イニシアティブとりまとめ(2007年5月策定)」において、上述の「国産バイオ燃料の生産拡大工程表」との整合性を図りつつ、経済的かつ多量にセルロース系バイオマスからバイオ燃料等を効率的に生産する画期的な技術革新の実現についての具体的な議論を進める必要性が提唱され、技術革新ケースのベンチマークとして40円/Lの製造コストの目安が示された。また、燃料に限らず、化成品原料への転換も併せて行う総合利用(リファイナリー)の視点の重要性についても提唱された。

2. 研究開発の具体的内容

(1) 2010年の新エネルギー導入目標の達成に向けた研究開発(2006年度で公募終了)

バイオマスを気体・液体・固体燃料、電気等のエネルギーに転換する技術に関連した、下記に示す要素技術の研究開発をNEDOとの共同研究により実施する。

①高効率化要素技術

②高品質化要素技術

③小型化・低コスト化要素技術

④その他、現在進めている「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発」に比して差別化されたエネルギー転換の基幹技術

- ・共同研究におけるNEDOの負担割合は、共同研究先が企業等の法人単独の場合は2分の1とし、企業等の法人が大学等の公的研究機関と連携して行う場合は3分の2とする。
- ・個別テーマの開発期間は最長3年間とする。
- ・公募は2004年度から2006年度まで実施する。

(2) 2015年ごろの実用化を目指したバイオ燃料等生産に係わる要素技術開発

セルロース系バイオマスからバイオ燃料等を経済的かつ多量に生産・利用する上でボトルネックとなっている要素技術のうち、既存技術の組み合わせ等によって解決を図ることが可能な実用化研究をNEDOとの共同研究により実施する。

- ・NEDOの負担割合は3分の2とする。
- ・個別テーマの開発期間は最長3年間とする。
- ・公募は2008年度から2009年度まで実施する。
- ・NEDOに設置する技術委員会で、バイオマスエネルギー先導技術研究開発から、実用化研究への移行が適切であるとの評価が得られたテーマについても実施する。

3. 達成目標

- ・提案された要素技術を用いることにより、従来の技術に比して有意な差(エネルギー損失の解消等)をもって高い効率を達成する。
- ・2010年の導入目標につながる技術にあつては、従来の技術水準に対する優位性(コスト、性能等)を達成する。
- ・2015年の実用化を目指した技術にあつては、セルロース系バイオマスからバイオ燃料等の製造・利用コスト及び投入エネルギーの低減について、従来の技術水準に対する優位性を達成する。

なお、個別研究開発テーマの開発目標及び実施内容の詳細については、採択テーマ決定後にNEDOと共同研究者との間で協議の上決定し、別途「研究開発テーマ一覧」に定める。

4. 評価の時期及び方法

NEDOは、政策的観点から見た制度の意義、目標達成度、将来の産業への波及効果、効果的な制度運営等の観点から、制度評価を制度評価指針に基づき、原則、内部評価により毎年度実施する。(事後評価を含む)ただし、制度立上げの初年度、翌年度に公募を実施しない年度においては制度評価を実施しないこととする。また、評価結果を踏まえ、必要に応じて制度の拡充・縮小・中止等の見直しを迅速に行う。

研究開発項目②「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」

〔研究開発の目的〕

バイオ燃料は、カーボンニュートラルとして扱われているため、地球温暖化対策の一手段として重要である。一方、供給安定性の確保、食料との競合や森林破壊等の生態系を含めた問題、化石燃料との価格競争性・価格安定性といった経済面での課題、LCA（ライフサイクルアセスメント）上の温室効果ガス削減効果・エネルギー収支等の定量化といった課題を今後克服していくことが重要である。このような背景から、2008年3月に経済産業省は農林水産省と連携し、産業界及び大学・公的研究機関の協力を得た上で、2015年に向けた具体的な目標、技術開発、ロードマップ等を内容とする「バイオ燃料技術革新計画」を策定した。

本研究開発は、「バイオ燃料技術革新計画」における技術革新ケース（2015～2020年においてバイオエタノール製造コスト40円/L、年産10～20万kL規模、CO₂削減率5割以上（対ガソリン）、化石エネルギー収支2*¹以上）の実現に向けて、食料と競合しない草本系又は木質系バイオマス原料からのバイオエタノール生産について、大規模安定供給が可能なセルロース系目的生産バイオマス*²の栽培からエタノール製造プロセスまでの一貫生産システムを構築し、研究開発を実施することにより環境負荷・経済性等を評価することを目的とする。また、バイオ燃料の持続可能性の検討については、G8各国を中心に、各種国際的なフォーラムでの検討が進められている状況である。こうした動向を十分に踏まえ、我が国におけるバイオ燃料の持続可能な導入のあり方について検討することも目的とする。

本技術の確立により、2015～2020年において事業ベースで数十万kL規模単位でのバイオエタノール生産が開始され、2020年から2030年にかけては事業の普及に伴い相当量のバイオエタノールが生産されることが期待される。これにより、「長期エネルギー需給見通し」（2008年5月 総合資源エネルギー調査会・需給部会）における2030年のバイオマス熱利用最大導入ケース423万kL、新・国家エネルギー戦略（2006年5月）における運輸部門の石油依存度を2030年までに8割程度にまで削減する目標の達成に資する。

*1 化石エネルギー収支 = (生産されたエネルギー量 : MJ) / (ライフサイクルで投入された化石エネルギー量 : MJ)

*2 食料と競合せず、大規模安定供給が可能で、バイオエタノール生産に特化した目的で栽培するセルロース系バイオマスを示す。従って、食料に供される作物（イネ、サトウキビ等）や副生的に発生するバイオマス（稲ワラ、麦ワラ、バガス、間伐材、林地残材等）を除く。

〔研究開発の目標〕

技術革新ケース（2015～2020年においてバイオエタノール製造コスト40円/L、年産10～20万kL規模、CO₂削減率5割以上（対ガソリン）、化石エネルギー収支2以上）の実現に向けて、2011年度までにセルロース系目的生産バイオマスの生産システムに関する基礎的知見（生産性、栽培環境及び条件、収集・運搬効率等）を得ると共に、エタノール製造プラントを構築する。また、バイオ燃料の持続可能性について、総合的な調査を行い、基準、評価指針、評価方法等に関する具体的検討事項を選定する。また、選定した事項について基準、評価指針、評価方法等の検討を行う。

2013年度までにセルロース系目的生産バイオマスの栽培からエタノール製造までの一貫生産システムについて、基盤技術を確立する。また、バイオ燃料の持続可能性について、基

準、評価指標、評価方法等を取りまとめる。更に、本事業において開発したバイオエタノール一貫生産システムのLCA評価（温室効果ガス排出削減効果、エネルギー収支）及び社会・環境影響評価も行う。

[研究開発の内容]

上記目標を達成するために、以下の研究開発について実施する。

[委託事業]

- イ) バイオエタノール一貫生産システムに関する研究開発
- ロ) バイオ燃料の持続可能性に関する研究

イ) 「バイオエタノール一貫生産システムに関する研究開発」

1. 研究開発の必要性

2015～2020年においてバイオエタノール製造コスト40円/L、年産10～20万kL、CO₂削減率5割以上（対ガソリン）、化石エネルギー収支2以上を実現するためには、セルロース系目的生産バイオマスの栽培、収集・運搬から前処理～糖化～発酵～濃縮・脱水～廃液処理に至るエタノール製造プロセスを一貫した革新的な生産システムを開発し、環境負荷・経済性等も評価することが必要である。

2. 研究開発の具体的内容

(1) セルロース系目的生産バイオマスに関する研究開発

多収量草本系植物（エリアンサス、ミスカンサス、ソルガム、ススキ、ネピアグラス、スイッチグラス等）及び早生樹（ヤナギ、ポプラ、ユーカリ、アカシア等）のセルロース系目的生産バイオマスについて、実用化段階において食料生産に適さない土地で栽培することを前提に、植物種選定、栽培地検討、栽培条件の最適化、大量栽培技術の開発・栽培、育種（遺伝子組み換え技術は除く）を行うとともに、低コストで、かつ、エネルギー効率に優れた収集・運搬技術を確立し、バイオマス生産システムの開発を行う。

(2) エタノール製造システムの開発

前処理～糖化～発酵～濃縮・脱水～廃液処理に至るエタノール製造プロセスの設計、実験プラント（ベンチスケール以上の規模）の建設、運転及びデータの収集を行い、最適化した上でバイオエタノール生産システムを開発する。

(3) 一貫生産システムの最適化及び評価

セルロース系目的生産バイオマスの栽培からエタノール製造プロセスまでの一貫生産システムについて、総合的なシステムの最適化を行い、環境負荷・経済性等について評価する。

3. 達成目標

(1) 中間目標（2011年度）

セルロース系目的生産バイオマスの植物種選定、栽培地検討、大量栽培技術の開発及び収集・運搬技術の開発を行いバイオマス生産システムに関する基礎的知見（生産性、栽培環境及び条件、収集・運搬効率等）を得る。また、技術革新ケースにおける開発ベンチマーク（2015年）※を踏まえた上で、エタノール製造プラントを構築する。

(2) 最終目標（2013年度）

セルロース系目的生産バイオマスの栽培からエタノール製造プロセスまでを一貫したバイオエタノール生産システムについて、基盤技術を確立する。なお、本事業で確立した基盤技術の達成度合いは、技術革新ケースにおける開発ベンチマーク（2015年）※を参照しつつ評価する。

※「バイオ燃料技術革新計画」の技術革新ケースにおける開発ベンチマーク（2015年）

		開発ベンチマーク（2015年）
原料	乾物収量	草本系：50 t / ha・年、木質系17 t / ha・年
製造	一貫プロセスとして	エネルギー使用量6 MJ / kg バイオマス以内（バイオマスで自立）、 エタノール収率0.3 L / kg バイオマス以上、エネルギー回収率35%以上
	前処理	酵素糖化効率80%以上となる前処理
	酵素糖化	酵素使用量1 mg / g 生成糖以下、酵素コスト4円 / L エタノール以下、糖収量500 g / kg バイオマス以上
	エタノール発酵	エタノール収率95%以上
	濃縮脱水	エネルギー使用量2.5 MJ / L エタノール以下（10%エタノール水溶液→無水エタノール分離回収）
	廃液処理	エネルギー回収分を除いた処理コスト5円 / L エタノール以下

ロ)「バイオ燃料の持続可能性に関する研究」

1. 研究開発の必要性

バイオ燃料の利用や開発は食料との競合問題、森林破壊等の環境問題を引き起こす可能性があり、こうした影響を引き起こすことなく持続可能な利用や開発を図ることが重要である。また、バイオ燃料の持続可能性の検討については、G8各国を中心に、各種国際的なフォーラムでの検討が進められている状況である。

そのため、本事業においても、単なる生産技術の確立だけに留まらず、こうした国際的な動向を十分に踏まえ、我が国におけるバイオ燃料の持続可能性について検討する必要がある。

2. 研究開発の具体的内容

バイオ燃料の持続可能性の評価及び国際標準化等に資するため、バイオ燃料の持続可能性について、国内外の関係機関（政府機関、研究機関等）や国際的枠組み（GBEP^{*3}、ERIA^{*4}、ISO等）における取り組みや議論の動向を総合的に調査し、基準、評価指標、評価方法等について検討し、とりまとめる。

また、本事業において開発したバイオエタノール一貫生産システムについて、LCA評価（温室効果ガス排出削減効果、エネルギー収支）及び社会・環境影響評価を行う。

*3 国際バイオエネルギー・パートナーシップ（Global Bioenergy Partnership）

2005年のG8サミットにおいて、バイオ燃料の持続的発展を図ることを目的として立ち上げることに合意し、設立された枠組み。

*4 東アジア・ASEAN 経済研究センター（Economic Research Institute for ASEAN and East Asia）

東アジアサミットにおいて、政策提言等を行うことを目的に設立された国際研究機関。バイオ燃料についても、持続可能性・環境評価方法の検討が進められる予定。

3. 達成目標

(1) 中間目標（2011年度）

バイオ燃料の持続可能性について、国内外の動向を総合的に調査、解析、整理した上で、基準、評価指標、評価方法等に関して具体的に検討が必要な事項を選定する。また、選定した事項について基準、評価指針、評価方法等の検討を行う。

(2) 最終目標（2013年度）

バイオ燃料の持続可能性について、国内外の動向調査を継続するとともに、基準、評価指標、評価方法等について、とりまとめる。

また、本事業において開発したバイオエタノール一貫生産システムについて、LCA評価

(温室効果ガス排出削減効果、エネルギー収支) 及び社会・環境影響評価を行う。

[評価に関する事項]

NEDOは、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を2011年度に、事後評価を2014年度に実施する。また、必要に応じて、適宜自主中間評価を実施する。中間評価及び自主中間評価の結果を踏まえ必要に応じてプロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。評価の時期については、研究開発に係る技術動向、政策動向や進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

[その他]

バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発と密接な連携を図る。必要に応じて、外部有識者の評価等を経た上で、優秀な研究開発案件の取り込みについても検討する。

研究開発項目③「戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業」

〔研究開発の目的〕

①政策的な重要性

本プロジェクトの先導研究フェーズにおいては、「Cool Earth-エネルギー革新技術計画」（2008年3月経済産業省）ロードマップにおいて2030年頃の実用化を目標とする技術として位置づけられている、BTL（Biomass to Liquid）、微細藻類由来バイオ燃料製造技術等の次世代バイオマス利用技術について研究開発を実施する。

また、2009年8月28日施行の「エネルギー供給事業者による非化石エネルギー源の利用及び化石エネルギー原料の有効な利用の促進に関する法律」により、電気以外の部門（ガス、燃料部門）への一定量の非化石エネルギーの導入が新たに義務付けられる予定であり、バイオマス利用へのニーズが増大することが見込まれる。本プロジェクトの実用化開発フェーズにおいては、ガス、燃料部門におけるバイオマス利用の早期拡大に向け、現在は大規模な原料調達が可能である等の特殊な条件でしか普及していないメタン発酵、ガス化技術等の大幅な導入、ランニングコストの削減に関する研究開発を実施する。

②我が国の状況

我が国は、木質、廃棄物系バイオマスエネルギーの導入に関しては、着実に進んでいるものの、バイオマスのエネルギー利用は、化石エネルギー消費量の削減、GHG排出量の削減、エネルギーセキュリティの確保、また地域社会の活性化と発展、廃棄物量の削減と有効利用の観点からも、今後一層の導入普及を図ることが必要である。

③世界の取り組み状況

BTLに関しては、欧州・米国で既に商用プラントの建設も開始されている。また、微細藻類由来バイオ燃料製造技術に関しては、石油価格の乱高下やGHG削減の要請の増大という社会的な状況の変化と、バイオテクノロジーの技術革新の大幅な進展によってこの技術が見直され、2007年頃から米国を中心として、大規模プロジェクトが始動している。

④本事業のねらい

本プロジェクトにより、バイオマス原料に応じた最適なバイオ燃料製造プロセスが選択できるようになり、ガソリン代替、軽油代替等、出口のオプションが多様化される。その結果、ビジネスとして実用化可能なバイオマス利用技術の幅が広がり、バイオマスエネルギー導入量の拡大に寄与する。

〔研究開発の目標〕

①過去の取り組みとその評価

2001年度から実施している「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発」事業の中で、2010年頃の実用化を目指すバイオマス資源のエネルギー転換に関する要素技術の開発を目的とする「バイオマスエネルギー転換要素技術開発」、2015～2030年頃に実用化が期待されるバイオマス利活用、エネルギー転換に係わる幅広い革新的シーズ技術の探索・育成を目的とする「バイオマスエネルギー先導技術研究開発」事業を実施している。さらに、「バイオマスエネルギー先導技術研究開発」事業の中において、「バイオ燃料技術革新計画」の技術革新ケースの達成をめざし、2015～2020年にバイオエタノール製造コスト40円/Lを目指す取り組みとして、「加速的先導技術開発」プログラムを開始している。

また、2009年度から「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」を開始

し、セルロース系目的生産バイオマスの栽培からエタノール製造までの、革新的な技術を用いた一貫生産システムに関する研究開発を行っている。

②本事業の目標

本事業では、先導研究フェーズ(次世代技術開発)、実用化開発フェーズ(実用化技術開発)の二つの研究開発を実施する。

○次世代技術開発

市場でのコスト競争力のあるバイオマス由来液体燃料製造技術の開発とすることを目標とする。

○実用化技術開発

ビジネススペースに乗る技術レベルまで設備導入コスト及びランニングコストを低減できる技術を確立することを目標とする。

尚、個別の研究開発テーマの開発目標及び実施内容の詳細については、採択テーマ決定後にNEDOと実施者との間で協議の上決定し、別途実施計画書に記載するものとする。

③事業以外に必要とされる取り組み

本事業とは別に、NEDOは、バイオマスに係る技術開発、国際標準化や規制見直しに資する研究等を行い、バイオマスの普及・促進に資する活動を総合的に実施している。

④全体としてのアウトカム目標

これらの取り組みにより、2030年までに輸送用バイオ燃料の石油依存度を80%に引き下げる目標達成(新・国家エネルギー戦略 2006年5月経済産業省)に寄与することが期待される。

[研究開発の内容]

上記目標を達成するために、以下の研究開発を実施する。

[委託事業、(共同研究事業(NEDO負担率: 2/3))]

(イ)「次世代技術開発」

バイオマスを気体、液体、固体燃料、電気等のエネルギーに転換する技術に関連した2030年の実用化を目指した次世代の研究開発及び将来の革新的なブレイクスルーにつながる基礎研究を実施する。

特に、BTL、微細藻類等のバイオ燃料製造技術開発を実施する。

本研究開発項目は、(1)実用化まで長期間を要するハイリスクな「基盤的技術」に対して、産学官の複数事業者が互いのノウハウ等を持ちより協調して実施する事業、又は(2)試験・評価方法、基準・プラットフォームの提案等、国民経済的には大きな便益がありながらも、民間企業の研究開発投資に見合うものが見込めない「公共財の研究開発」事業であり、原則、委託事業として実施する。ただし、(1)については、上記以外のもの^(※1)は、共同研究事業(NEDO負担率: 2/3)として実施する。

※1 民間企業単独、民間企業のみでの連携等、産学官連携とならないもの。

[共同研究事業(NEDO負担率: 2/3)]

(ロ) 実用化技術開発

バイオマスを気体、液体、固体燃料、電気等のエネルギーに転換する技術に関連した

下記に示す実用化の研究開発を実施する。

- ① 高効率化技術
- ② 高品質化技術
- ③ 小型化・低コスト化技術

また、導入普及の実現のためには、収集運搬技術、バイオマス利活用技術、需要の創成等のトータルシステムの研究開発も必要に応じて実施する。

本研究開発項目は共同研究事業（NEDO負担率：2／3）として実施する。

尚、上記研究開発を効果的かつ効率的に実施するために、バイオマス関連技術に関する国内外の技術レベルの把握、技術的課題の明確化等に必要な各種検討を適宜実施する。

〔研究開発の実施方式〕

（１） 研究開発の実施体制

本研究開発は、NEDOが単独ないし複数の原則本邦の企業、大学等（原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点から国外企業との連携が必要な場合はこの限りでない。）から公募によって研究開発実施者（又は研究開発グループ）を選定した後、委託または共同研究により実施する。

（２） 研究開発の運営管理

研究開発の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発事業の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて設置される技術検討委員会等における外部有識者の意見を運営管理に反映させること等を行う。

プロジェクトへの参加者は、これらのNEDOのマネジメントに従い、我が国におけるバイオマスエネルギー導入量拡大のために必要な取り組みに協力するものとする。

〔評価に関する事項〕

NEDOは、政策的観点から見た制度の意義、目標達成度、将来の産業への波及効果、効果的な制度運営等の観点から、制度評価を制度評価指針に基づき、原則、内部評価により毎年度実施する（事後評価を含む）。ただし、制度立ち上げの初年度、翌年度に公募を実施しない年度においては制度評価を実施しないこととする。

また、制度評価結果を踏まえ、必要に応じて制度の拡充・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、本制度に係る技術動向、政策動向や本制度の進捗状況等に応じて、適宜見直すものとする。

次世代技術開発の個別テーマについては、NEDOに設置する技術委員会で2年度を単位として評価を行い、その結果を踏まえて継続の可否を判断する。

研究開発項目④「バイオ燃料製造の有用要素技術開発事業」

〔研究開発の目的〕

①政策的な重要性

バイオエタノール等のバイオ燃料は、エネルギーセキュリティの向上及び地球温暖化の防止の観点から、再生可能エネルギーの一つとして取り組むべき重要課題である。

経済産業省は、2008年に「Cool Earth エネルギー革新技术計画」の中で“2050年までに世界全体の温室効果ガス（GHG）排出量を現状に比して半減する”という長期目標を掲げ、我が国として重点的に取り組むべきエネルギー革新技术開発として「バイオマスからの輸送用代替燃料製造」を選定している。また、バイオ燃料技術革新協議会では「バイオ燃料技術革新計画」において具体的な生産モデルや技術開発の方向性を技術ロードマップとしてまとめた。当該ロードマップ等を踏まえ、2010年6月に「エネルギー基本計画」が改定され、2020年までに全国のガソリンの3%相当以上のバイオエタノールを導入するとしている。

②我が国の状況

国内においては、2010年の「エネルギー基本計画」で掲げられた、2020年には全国のガソリンの3%相当以上をバイオ燃料にする目標（約180万kL）に向け、バイオエタノール製造が検討されている。現在NEDOでは、セルロース系エタノール製造に関する研究開発は、バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発事業では基盤研究を、また、セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業では実証研究をそれぞれ行い、実用化に取り組んでいる状況である。

③世界の取り組み状況

米国及びブラジルにおいてトウモロコシやサトウキビなど可食バイオマスを原料として大規模な商用生産が行われている。一方、本事業で取り組む予定の食糧と競合する可能性の低いセルロース系バイオマスを原料とするエタノール製造については、米国において基盤研究から実証研究まで行われ、実用化に取り組んでいる状況である。

④本事業のねらい

本事業を実施することにより、2020年に（ガソリン対比）CO₂削減率50%以上を達成する生産プロセスで、国内外のバイオエタノールと競合可能な製造コスト（2008年のバイオ燃料革新技术計画では40円/L）でのバイオエタノール製造の実用化に資する有用要素生産技術を確立する。

〔研究開発の目標〕

①過去の取り組みとその評価

バイオエタノール製造技術開発については、バイオ燃料技術革新計画（2008年3月バイオ燃料技術革新協議会）の技術革新ケースとして、製造コスト40円/L、CO₂削減率50%以上（対ガソリン）の技術を持って、2020年に年産10～20万kL規模での実用化を実現すべく取り組んできている。

NEDOでは、中長期的視野も見据えてバイオマスからのエネルギー転換効率の向上を目指した技術開発として【バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発事業】を「転換要素技術開発」と「先導技術研究開発」という形で2004年度～2012年度で行ってきてい

る。これまでの技術開発により、バイオマス(原料)から前処理工程、糖化工程、発酵工程及び濃縮・脱水工程の各基盤技術は世界のトップレベルである。特に、有用糖化酵素、有用微生物を用いたエタノール発酵生産、バイオ燃料用のバイオマス原料の改良については、主にラボスケールで優れた成果が得られている。

②本事業の目標

本事業では、高効率事業で優れた成果が得られた有用糖化酵素によるバイオマス前処理物の糖化能力の向上、及び有用微生物によるエタノール発酵生産能力向上の開発を行うと共に、スケールアップ技術によるパイロットスケールでの生産技術開発を行い、2020年の商用機スケールでの実用化に適用可能な生産技術を確立する。またバイオマス原料についても、植栽技術の改良による更なる収量アップ、塩害地や乾燥地での耐性或糖化効率向上に対応した機能を強化した植物創成技術の開発を行い、実用化を促進する。

事業実施にあたっては、開発される要素技術が実証プラントへ適用されバイオエタノールの実用化に着実に資することを念頭におき、事業を実施する。

③アウトカム達成目標についての取り組み（事業以外に必要とされる取り組み）

本事業で開発された要素技術を実証プラントへ組み込み、実証研究事業においてその性能を検証する。

④全体としてのアウトカム目標

ガソリン対比GHG排出削減率50%以上のバイオエタノールについては、2017年には約84万kLの使用が義務化されており、2020年には約180万kLの使用目標が掲げられている。現在は、ブラジルからの輸入のみである。

本事業終了後において、2020年には（ガソリン対比）CO₂削減率50%以上を達成する生産プロセスで、国内外のバイオエタノールと競合可能なコストでのバイオエタノール製造の実用化に資する有用要素生産技術を確立することを目標とする。この技術を用いた実用化により、2020年に10万～20万kL/年規模以下の製造設備により生産されたバイオエタノールの海外からの開発輸入や現地販売が図られ、CO₂削減量の試算として、20万kL/年規模のバイオエタノール生産によるガソリンに代替した時に17.3万t CO₂ eq/年になり、地球温暖化対策にも貢献できる。

〔研究開発の内容〕

上記目標を達成するために、以下の有用糖化酵素、有用微生物を用いた高収率なエタノール生産、原料のバイオマス資源の確保に関する研究開発について実施する。

1. 研究開発の必要性

経済産業省は、2008年に「バイオ燃料技術革新計画」において具体的な生産モデルや技術開発の方向性を技術ロードマップとしてまとめ、その上で2010年6月に「エネルギー基本計画」を改定し、2020年までに全国のガソリンの3%相当以上のバイオエタノールを導入するとしている。

2012年度まで実施した「バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発事業」において、有用糖化酵素、有用微生物を用いたエタノール発酵生産技術及びバイオ燃料用のバイオマス原

料の確保について技術開発が行われ、バイオエタノールの生産に関する優れた成果が得られた。これらの成果は、主にラボスケールで得られた基盤的な技術であり、バイオマスからのエタノール生産に確実に適用されるためには、例えば、糖化酵素のセルロース系バイオマスを分解する能力アップや微生物によるエタノールの生産能力の向上等が必要である。

2. 研究開発の具体的内容

セルロース系バイオマス（原料）から前処理→糖化→発酵→濃縮・脱水の各工程を経てバイオ燃料（エタノール）を製造する方法において、糖化工程での有用糖化酵素、発酵工程での有用微生物を用いた高収率なエタノール生産、原料のバイオマス資源の確保に関するパイロットスケールに相当する生産技術開発を行う。これらの技術開発により、2020年にセルロース系バイオマスからの一貫生産プロセスでエタノール生産する実用化に資する技術を確立する。

① 有用糖化酵素の生産技術開発

- ・遺伝子操作等により、革新的糖化酵素生産菌を造成し、糖化能力がアップした高活性の酵素を開発する。
- ・革新的糖化酵素生産菌をパイロットスケール（数 m^3 以上）で、安価で最適な培養条件を検討して酵素生産技術を開発し、2020年の商用機スケール（数百 m^3 以上）での実用化に資する技術を確立する。

② 有用微生物を用いた発酵生産技術開発

- ・微生物を遺伝子操作等により、糖化性、耐熱性、耐酸性などの多機能を有する微生物（酵母・細菌）を育種し、糖化同時発酵による高効率エタノール発酵生産を行う。
- ・多機能微生物をパイロットスケール（数 m^3 以上）で、最適な培養条件を検討してエタノール発酵生産技術を開発し、2020年の商用機スケール（数百 m^3 以上）での実用化に資する技術を確立する。

③ バイオマス原料の生産技術開発

- ・海外の植林地（ブラジル等）のユーカリ等をターゲットにして、高バイオ燃料用生産性樹木の評価・選定技術、成長促進剤などの利用による植栽技術などにより収量アップを図り、2020年の実用化に資する技術を確立する。
- ・ユーカリ、エリアンサス等は、遺伝子操作による更なる育種を行い、前処理・糖化されやすい、あるいは不良地耐性等の機能を強化し、特定網室、圃場試験または野外試験を行い、実用化を目指す。

なお、本研究開発は、実用化まで長期間を要するハイリスクな「基盤的技術」に対して、産学官の複数事業者が互いのノウハウ等を持ちより協調して実施するものであり、原則、委託として実施する。ただし、上記以外の民間企業単独、民間企業のみでの連携、大学等の単独等、産学官連携とならないものは、共同研究事業（NEDO負担率：2/3）として実施する。

3. 達成目標

有用糖化酵素については、1mg/gー生成糖以下の酵素活性を持ち、4円/Lーエタノールの酵素コストを達成する。有用微生物を用いた高収率なエタノール生産技術開発については、エタノール生成濃度5%（w/v）以上で、エタノール収率95%以上の生産技術を確立する。バイオマス資源の生産技術開発についてはユーカリ等の木質原料については、改良前の1.2倍以上収量をアップする。また、ユーカリ、エリアンサス等については、糖化されやすい機能等を有

する育種技術を確立する。これらの技術により、2020年にセルロース系バイオマスからの一貫生産プロセスでのエタノール生産において、(ガソリン対比)CO₂削減率50%以上で、国内外のバイオエタノールと競合可能な製造コスト(2008年のバイオ燃料革新技術計画では40円/L)での実用化に資する有用要素技術を確立する。実施テーマごとに、従来の技術に比べて画期的に優れた効率、低コスト化、省エネ性等の技術水準を見込めることを基礎的データの取得・分析により確認する。

[研究開発の実施方式]

(3) 研究開発の実施体制

本研究開発は、NEDOが、単独ないし複数の原則本邦の企業、大学等の研究機関(原則、本邦の企業等で日本国内に研究開発拠点を有していること。なお、国外の企業等(大学、研究機関を含む)の特別の研究開発能力、研究施設等の活用または国際標準獲得の観点から国外企業等との連携が必要な部分を、国外企業等との連携により実施することができる。)から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託(または、共同研究)して実施する。

(4) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発実施者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて設置される技術検討委員会等における外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、プロジェクトの進捗について報告を受けること等により進捗の確認及び管理を行うものとする。

[研究開発の実施期間]

2013年度から2016年度までの4年間とする。

[評価に関する事項]

NEDOは、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の事後評価を2017年度に実施する。また、事業期間内必要に応じて外部有識者等による研究開発の評価を実施し、プロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。

[その他の重要事項]

(1) 研究開発成果の取扱い

①成果の普及

得られた研究成果により、バイオマス原料からのバイオエタノール一貫生産技術の実用化の普及にNEDO、実施者ともに努めるものとする。これにより、国内におけるバイオエタノールの普及市場創出効果と温室効果ガス排出削減効果を図ることができる。

②知的財産権の帰属

委託研究開発及び共同研究の成果に関わる知的財産権については、「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、国内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本プロジェクトは、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロに基づき実施する。

研究開発項目⑤「セルロース系エタノール生産システム総合開発実証事業」

1. 研究開発の必要性

2014年に改定された「エネルギー基本計画」においてバイオ燃料は、引き続き、導入を継続することとしており、NEDOの第3期中期計画においても、食糧供給に影響しない第2世代バイオ燃料であるセルロース系エタノールについては、2020年頃の実用化・事業化を目指すこととしている。国産技術により生産されたエタノールが普及することで、石油製品供給の一端を担える選択肢を確保することができ、エネルギーセキュリティ向上効果を得ることができる。一方、セルロース系エタノールの大規模生産のためには、まだ技術的課題が多く、当該技術の実用化・事業化に向け、今後も製造技術の開発、実証開発を推進する必要がある。

NEDOでは、2009～2013年度に実施した「セルロース系エタノール革新的生産システム開発事業」（以下、「セル革事業」と略記。）において、パイロットスケールの一貫生産プラントを建設して試験を行い、事業終了時の技術目標はほぼ達成した。しかし、セルロース系エタノールの実用化・事業化には、一貫生産システムとしての性能向上、スケールアップ技術の確立などが必要であり、現有技術だけでの実用化は難しいのが現状である。

セル革事業のうち「早生樹からのメカノケミカルパルピング前処理によるエタノール一貫生産システムの開発」（以下、「木質系」と略記）では原料・前処理工程に優れた成果を、「セルロース系目的生産バイオマスの栽培から低環境負荷前処理技術に基づくエタノール製造プロセスまでの低コスト一貫生産システムの開発」（以下、「草本系」と略記）では糖化発酵工程に優れた成果を得ている。セルロース系エタノールの実用化のためには、セル革事業の木質系と草本系のそれぞれで得られた特長を組み合わせ一貫生産プロセスとしての性能向上を図るとともに、プロセスのスケールアップ技術を確立し事業性評価結果を踏まえ、大規模なプレ商用実証プラント（年産1万kL規模）による最終的な技術実証事業の必要性を見極める。

2. 研究開発の具体的内容

2017年度までに、セル革事業で得られた木質系と草本系の成果を一本化した、各工程要素技術の最適組合せ検討を実施するとともに、国内外の優良技術を調査・検討する。これらと市場見通しを踏まえ、事業性評価（コスト評価、GHG削減効果、エネルギー収支評価）を実施し、有識者の意見を参考にしつつ、実証事業継続の可否を判断する。評価の結果、以後の研究を中止する場合もある。

事業性評価の結果、プレ商用実証プラントによる実証を経ずともパイロットプラントでの検証を継続することで、商用化に向けた技術確立の目処が立ったことから、データ取得・分析等を主とした事業を継続して実施する。

具体的には、下記の内容に取り組む。

(1) 要素技術の最適組合せ検討〔委託〕

(i) 国内外の優良技術の調査・検討

国内外のセルロース系エタノール生産技術の最新の技術動向を調査し、各工程要素技術における技術評価とコスト試算を実施する。

(ii) 最適組合せの検証

セル革事業で得られた要素技術を中心に、キー技術となる前処理技術、糖化発酵技術

(糖化酵素選定、発酵微生物選定)の組合せ検討をラボ試験レベル(実験室レベルでの小規模な試験)で実施し、早期に実用可能かつ性能的に有望な技術の組合せを選定する。選定した組合せについてパイロットスケールで原料～糖化～発酵に至るプロセスの事業性を検証する。

(iii) 一貫生産プロセス開発・事業性評価(FS)の実施

(ii)の検証結果より、有望な要素技術を選定し、商用プラントのプロセスと運転条件を決定し、原料収集からエタノール出荷までの総合的なシステムのコスト、GHG削減効果、エネルギー収支の評価を行う。この評価結果と(i)の検討結果及び市場見通しを踏まえ、年産数万～20万kL規模の商用化を想定した事業性評価を実施し、NEDOは、継続の可否を判断する。

2017年度までに実施した事業性評価の結果により、プレ商用実証プラントによる実証を経ずともパイロットプラントでの検証を継続することで、商用化に向けた技術確立の目処がたった。このことから、一貫生産プロセスの開発に向けてパイロットプラントにおいて発酵プロセスの最適化や酵素性能向上・生産コスト低減を目的としたデータ取得及び事業性評価の精度向上を図る。

なお、本研究開発項目(i～iii)は、産学官の複数の事業者が互いのノウハウ等を持ちより協調して実施する基盤的技術の開発にかかる事業であり、委託事業として実施する。

[研究開発の実施方式]

(1) 研究開発の実施体制

本研究開発は、NEDOが、単独ないし複数の原則本邦の企業、大学等の研究機関(原則、本邦の企業等で日本国内に研究開発拠点を有していること。なお、国外の企業等(大学、研究機関を含む)の特別の研究開発能力、研究施設等の活用または国際標準獲得の観点から国外企業等との連携が必要な部分を、国外企業等との連携により実施することができる。)から公募によって研究開発実施者を選定し、研究体制を構築する。2.(1)の要素技術の最適組合せ検討は委託により実施する。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発実施者と密接な関係を維持しつつ、本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、外部有識者で構成する技術検討委員会を組織し、定期的に技術的評価及び助言を受け、研究開発の運営管理を行う。

[研究開発の実施期間]

本研究開発の期間は、2014年度から2019年度までの6年間とする。なお、個別研究開発テーマの開発目標及び実施内容の詳細については、採択テーマ決定後にNEDOと研究開発実施者の間で協議の上決定する。

[評価に関する事項]

NEDOは、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を20

17年度に、事後評価を2020年度に実施する。また、事業期間内必要に応じて外部有識者等による研究開発の評価を実施し、プロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

[その他の重要事項]

(1) 研究開発成果の取扱い

①成果の普及

得られた研究成果により、バイオマス原料からのバイオエタノール一貫生産システムの実用化の普及にNEDO、実施者ともに努めるものとする。これにより、国産技術によるエタノール生産が普及することで、石油製品供給の一端を担える選択肢を確保することができ、エネルギーセキュリティー向上効果と、温暖化ガス削減効果（年間ガソリン比17.3万tCO₂削減）を得ることができる。また、国内におけるバイオエタノールの普及市場創出効果（20万kLで年間140億円に相当する生産：価格70円/L想定時）を図ることができる。

②知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、「国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

③知財マネジメント

「NEDOプロジェクトにおける知財マネジメント基本方針」を適用する。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、国内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本プロジェクトは、下記の国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法に基づき実施する。

国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1号ロ、第9号

3. 研究開発の目標

(1) アウトプット目標

2020年の商用化を目指し、これまでの技術開発成果を踏まえてセルロース系エタノールの一貫生産システムを開発する。達成目標は以下のとおり。

①ガソリン比GHG削減効果50%、化石エネルギー収支2以上の一貫生産プロセスの最適化

②パイロットプラントにおける検証の継続による、商用化にむけた一貫生産プロセスの確立

③ガソリン価格を見据えつつ海外エタノール価格と競合できるバイオエタノール生産コストの実現

【中間目標（2017年度）】

商用プラントを想定して①を達成し、商用化に資するF S結果を得ることを目標とする。F S実施時に、商用化に資するコスト目標を事業目標として事業者側が設定し、その目標の妥当性を外部有識者により審議し、妥当であるとの評価を得る。

【最終目標（2019年度）】

商用化に向け、パイロットプラントにおける検証の継続を図り①、②、③を達成する。F Sで見通しを得た生産コスト70円/Lの確度を上げるとともに、更なるコスト削減を図る。

(2) アウトカム目標

エネルギー供給構造高度化法におけるバイオエタノールの導入目標量（2017年度原油換算50万kL、2018年度以降も継続予定）のうち、セルロース系エタノールの供給に寄与する。

また、2020年以降にセルロース系バイオエタノールの商用化が実現し、導入が進むことによりガソリンの使用に起因するCO₂排出量の削減に貢献する。

（参考）GHG削減率50%のバイオエタノールが年間20万kL導入された場合、年間17.3万トンのCO₂を削減できる。

以上