

## 研究論文

# リグノセルロース系バイオマス資源の 前処理技術の開発

森川豊\*<sup>1</sup>、伊藤雅子\*<sup>1</sup>、山本晃司\*<sup>2</sup>、伊藤彰敏\*<sup>2</sup>、楳田慎一\*<sup>3</sup>

## Development of Preprocessing Technology for Ethanol Production from Lignocellulosic Biomass Materials

Yutaka MORIKAWA\*<sup>1</sup>, Masako ITO\*<sup>1</sup>, Koji YAMAMOTO\*<sup>2</sup>,  
Akitoshi ITO\*<sup>2</sup> and Shinichi UMEDA\*<sup>3</sup>

Research and Development Division ,AITEC\*<sup>1</sup>、Food Research Center, AITEC\*<sup>2</sup>  
Yoshida Kikai Co. Ltd\*<sup>3</sup>

食糧と競合しないスギなどのセルロース系バイオマス資源から糖化酵素を利用してバイオエタノールを効率よく生産するための前処理方法を開発した。本方法は高圧湿式粉砕機（湿式ジェットミル）を用い、その配管の一部を加熱することにより、分解が困難なセルロースの粉砕、高温高圧処理を単一工程で行うものである。リグニンを含まない結晶性セルロース（セオラスTG（旭化成㈱製））及びリグニンを含む国産のスギに適用したところ、いずれも繊維状に粉砕され、その後の糖化酵素による分解率は、180℃の加熱条件下では結晶性セルロースは未処理のものに比べ4倍以上に、スギの分解率は約2倍以上に増加した。

### 1. はじめに

大気中の二酸化炭素濃度の増加は地球温暖化の原因とされている。植物由来のセルロース系バイオマス資源（以下、バイオマス資源）は、大気中の二酸化炭素濃度を増加させない、いわゆるカーボンニュートラルな資源である。このため、大気中の二酸化炭素濃度の増加防止対策としてバイオマス資源を活用する技術開発が盛んに行われている。

バイオマス資源は様々な成分からなる混合物であり、炭素は主にセルロースとして存在する。一般に、このようなセルロースを活用するためには、微粉化して表面積を大きくし不純物の分離を容易にする必要がある。例えば、木材からセルロースを回収し活用するためには、振動ミルやカッターミルの様な粉砕が行われる<sup>1)</sup>。

さらに、バイオマス中のセルロース繊維は強固な結晶構造を有するので、その後の加水分解（糖化）などの化学反応に供するためには粉砕の後、オートクレーブ等の装置による高圧水蒸気処理や、亜臨界水処理<sup>2)3)</sup>などの加熱・高圧処理を行いセルロースの繊維束を解したり膨潤化したりする。しかし、これらの方法でバイオマス資源を処理する場合は、バイオマスを粉砕する工程と加熱・高圧処理する工程とを各々別

に設ける、いわゆるバッチ式処理が用いられており、エネルギー効率が悪いためにバイオエタノールなど生産物のコスト高を招いている。

そこで本研究では、セルロース系バイオマスを原材料とするバイオエタノールなどの製品の低コスト化を目的に、バイオマス資源の加熱・高圧処理及び粉砕を連続かつ、単一の工程で行う装置の開発を試み、処理後のバイオマス資源の諸性質を調べた。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料

セルロース系バイオマス試料にはリグニンを含まない結晶性セルロースのセオラスTG（旭化成㈱）及びリグニンを含む国産のスギを用いた。スギは振動ロッドミル粉砕の後、篩い分けし、500 μm の篩目下の試料を用いた。

#### 2.2 粉砕及び加熱高圧処理

バイオマスの連続処理を行う為に、高圧湿式粉砕が可能な湿式ジェットミル（吉田機械興業㈱製）の粉砕機構を用いた。図1にその粉砕用ノズル部の概略図を示した。粉砕用ノズル部の細管を高圧で通過する試料が、管壁と

\*1 基盤技術部 \*2 食品工業技術センター 発酵技術室 \*3 吉田機械興業㈱

の接触による剪断力や試料同士の衝突による衝撃力により微粉化されるものであり、送液用のポンプの連続運転により、粉碎部への試料の連続供給が可能である。本研究では、この湿式ジェットミルの配管(粉碎ノズル直前)の一部に加熱機構を設け、室温から180℃の加熱条件下で、粉碎・加熱・加圧工程が単一工程で行うことができるように改造した後使用した。なお、処理時圧力が150MPaとなるように、ポンプの試料送り速度を調整した。

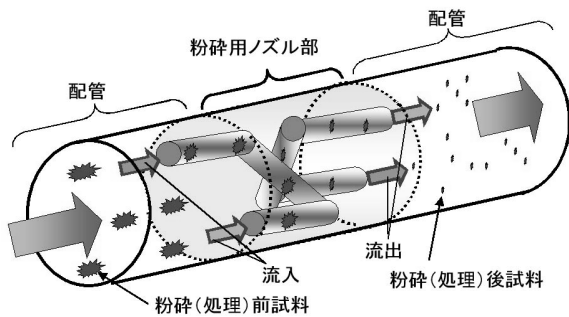


図1 粉碎用ノズル部の概略図

### 2.3 酵素糖化(分解)

セルロース糖化用酵素には、セルラーゼA「アマノ」3、セルラーゼT「アマノ」4、及びヘミセルラーゼ「アマノ」90(全て、天野エンザイム(株)製)を用いた。

リン酸Na緩衝液99mL(pH5.0)の入った三角フラスコに試料1gを投入し、121℃で15分間殺菌処理した。冷却後、三角フラスコに酵素を無菌的に投入し、50℃の環境下において180rpmで振とうし反応させた。なお、酵素量は試料1gあたり各20mg、計60mgを混合して投入した。

### 2.4 成分分析

水分は、試料を105℃の環境に恒量になるまで放置し、減少した重量の割合から算出した。灰分は、試料を550℃の環境に恒量になるまで放置し、減少した重量の割合から算出した。有機溶媒抽出分は、ベンゼン:エタノール=1:1溶媒で試料から抽出された成分の重量から算出した。ホロセルロースの定量は、試料を酢酸溶液中で亜塩素酸漂白して得られた固形分の重量で求めた。リグニンは、ガラスフィルタで濾過回収した硫酸未分解成分の割合から求めた。α-セルロースの定量はホロセルロース(グルコースのみが構成成分であるセルロースとグルコース以外の糖も構成成分に含むヘミセルロースの総称)を水酸化ナトリウムでアルカリ処理し、ガラスフィルタで濾過回収した固形分の重量で求めた。グルコースの定量分析は、グルコースCIIテストワコー(和光純薬(株)製)を用いて行った。全糖の分析はフェノール硫酸法を用いた。また、試料粒子径は粒度分布系LS13320(ベックマン・

コールター(株)製)を用いて測定した。

### 2.5 セルロースの結晶化度測定及び電子顕微鏡観察

セルロースの結晶化度はX線回折装置(理学電機(株)製RINT2200/PC)の測定結果を基に算出した<sup>4)</sup>。電子顕微鏡観察は日立製作所(株)製S-3000Nを用いて行った。

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 セオラスTG、スギの諸性質及び電子顕微鏡観察

表1にセオラスTG及びスギの諸性質を、表2にはスギの成分分析結果を記した。図2にそれらの電子顕微鏡写真を示した。セオラスTG、スギは共に塊状の形状が観察された。

表1 セオラスTG及びスギの諸性質

試料	セオラスTG	スギ
平均粒子径(μm)	74.4	386
結晶化度(%)	84.7	50.5
溶解性(水・油) <sup>a)</sup>	不溶	—
見かけ比重(g/cc) <sup>a)</sup>	0.3	—

a) 旭化成(株)の分析による。

表2 スギの成分分析結果

水分(%)	灰分(%)	有機溶媒抽出分(%) <sup>a)</sup>	リグニン(%)	ホロセルロース(%)	α-セルロース(%)
8.4	2.1	2.6	22.3	60.7	31.9

a) エタノール:ベンゼン=1:2を有機溶媒に使用した。

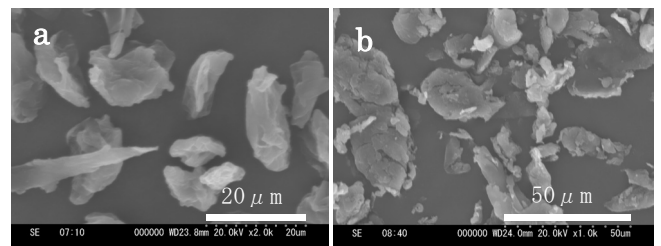


図2 未処理試料の電子顕微鏡写真  
a セオラスTG、b スギ

### 3.2 粉碎・加熱・高圧処理による水分散性及び形状変化

室温及び180℃加熱条件下で、粉碎・加熱・高圧処理を行った試料の平均粒子径を表3に示した。

表3 粉碎・加熱・高圧処理後の試料の平均粒子径

試料	平均粒子径(μm)		
	処理前	室温処理	180℃処理
セオラスTG	74.4	14.1	13.2
スギ	35.7	31.0	30.4

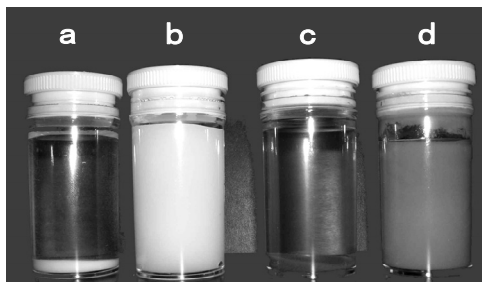
また、同様の処理を施した試料中のセルロースの結晶化度を表4に示した。なお、粉碎機条件(粉碎用ノズル直径)

を揃えるため、スギ試料は予め室温下で粉碎・高圧処理して平均粒子径を  $386\ \mu\text{m}$  から  $35.7\ \mu\text{m}$  に小さくして試験に供した。加熱の有無に係わらず、1回の粉碎処理によりセオラスTGの粒子径は  $74.4\ \mu\text{m}$  から  $13\sim 14\ \mu\text{m}$  程度に減少した。なおスギにおいても、1回の粉碎処理により平均粒子径が小さくなった。一方、セルロースの結晶化度は処理前後で大きな変化は見られなかった。

**表 4** 粉碎・加熱・高圧処理後の試料中のセルロースの結晶化度

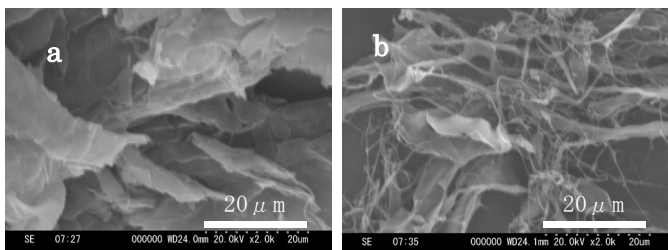
試料	結晶化度(%)		
	処理前	室温処理	180℃処理
セオラスTG	84.7	83.5	83.9
スギ	52.2	52.3	52.8

未処理の試料は疎水性であり、イオン交換水に対する分散性が悪く、即時に沈降した。一方処理後の試料は、室温及び  $180^\circ\text{C}$  の処理温度に係わらず分散性が向上し沈降しにくくなった。図3にイオン交換水に  $1\ \text{wt}\%$  の割合で混合した未処理及び  $180^\circ\text{C}$  処理後の試料混濁液の写真を示した。



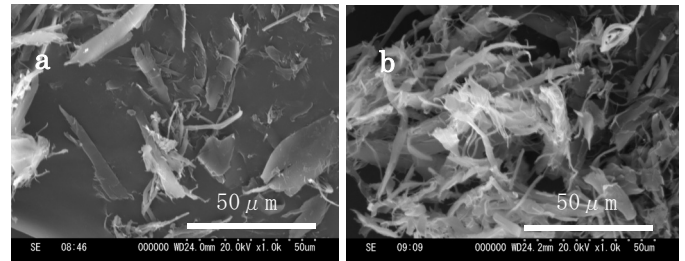
**図 3** 粉碎・加熱・高圧処理後のセオラス TG 及びスギ  $1\ \text{wt}\%$  混濁液の写真(30分静置後)  
a セオラス TG 未処理、b セオラス TG  $180^\circ\text{C}$  処理、  
c スギ未処理、d スギ  $180^\circ\text{C}$  処理

さらに、室温処理及び  $180^\circ\text{C}$  処理後のセオラスTGの凍結乾燥品を電子顕微鏡で観察した(図4)。室温処理後の試料は、板状であったのに対し、 $180^\circ\text{C}$  処理後の試料は繊維状の形状も観察された。未処理のセオラス TG はブロック状であ



**図 4** 粉碎加熱高圧処理後のセオラス TG の電子顕微鏡写真  
a 室温処理、b  $180^\circ\text{C}$  処理

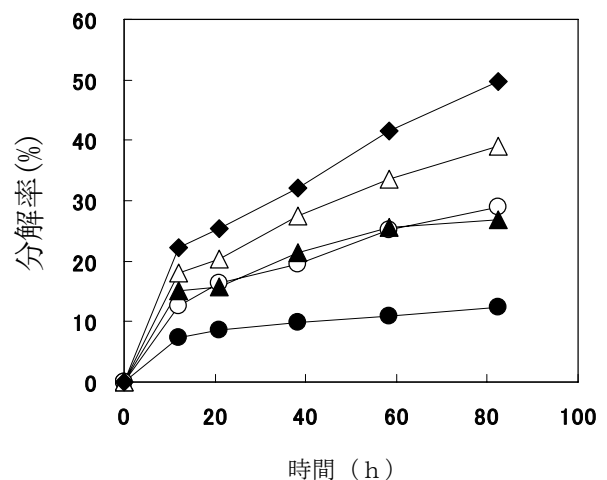
たことから(図2 a)、未処理、室温処理さらには加熱処理の順に試料の表面積が大きくなっていることが示唆された。なお、スギの室温処理試料及び  $180^\circ\text{C}$  処理試料でもセオラスTGと同様な形状の変化が観察された(図5)。スギにおいても未処理の試料はブロック状であったことから(図2 b)、セオラスTGと同様に未処理、室温処理さらには加熱処理の順に試料の表面積が大きくなっていることが示唆された。



**図 5** 粉碎加熱高圧処理後のスギの電子顕微鏡写真  
a 室温処理、b  $180^\circ\text{C}$  処理

### 3.2 酵素糖化(分解)

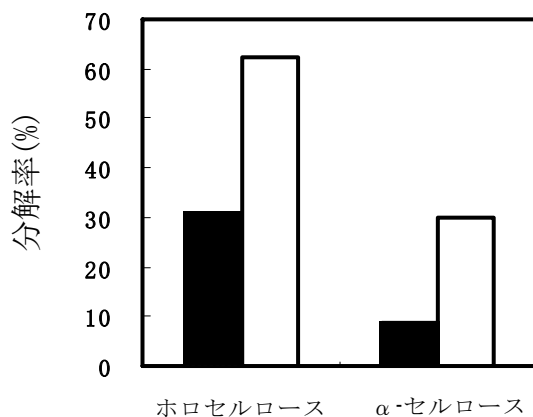
未加熱から  $180^\circ\text{C}$  までの加熱条件を変えて粉碎・加熱・高圧処理を行ったセオラス TG を時間 82 時間まで酵素糖化処理し、セルロースの分解率を調べた(図6)。粉碎・加熱・高圧処理の温度が高くなるにつれ、また、酵素糖化処理時間が長くなるにつれ、分解率は向上した。中でも、 $150^\circ\text{C}$  以上での粉碎・加熱・高圧処理を行った試料の酵素糖化(分解)率が大きくなり、 $180^\circ\text{C}$  で 82 時間処理した場合は、未処理の試験区の約  $10\%$  に比べ  $49.7\%$  と約 5 倍の分解率となった。



**図 6** 様々な加熱条件で処理したセオラス TG の酵素分解率  
分解率(%) = 液中グルコース量(g) / 初発セオラス TG(g) × 100 とした。  
● 未処理、▲ 室温処理、○  $90^\circ\text{C}$  処理、  
△  $150^\circ\text{C}$  処理、◆  $180^\circ\text{C}$  処理

なお、スギにおいてもセオラスTGと同様に、粉碎・加熱・高圧処理の処理温度が高くなるにつれ、また、酵素糖化処理時間が長くなるにつれ、糖化（分解）率は向上した。**図7**に室温で粉碎・加熱・高圧処理及び180℃で粉碎・加熱・高圧処理を行ったスギを酵素糖化試験した際の110時間後のホロセルロース及び $\alpha$ -セルロースの分解率を示した。ホロセルロース分解率は、180℃処理により約2倍に、 $\alpha$ -セルロース分解率は3倍以上に増加した。ホロセルロースの分解率が $\alpha$ -セルロースの分解率より大きいのは、ホロセルロースには $\alpha$ -セルロース及び $\alpha$ -セルロースに比べて結合エネルギーが小さいヘミセルロースが含まれている為であると考えられた。加熱処理による分解の上昇率は $\alpha$ -セルロースの方が3倍と大きく、加熱処理はヘミセルロースより難糖化性の $\alpha$ -セルロースの糖化率に影響を及ぼした。

上記のような、180℃の粉碎・加熱・加圧処理によるセオラスTG及びスギの酵素糖化率の向上は、繊維状の粉碎による表面積増加と水への分散性向上(図3)による、酵素との接触効率の増加が主な原因と考えられた。今回試験に用いた装置は、バイオマス資源の粉碎・加熱・高圧処理が連続かつ単一の工程でできる効率のよい装置であり、様々なバイオマス利活用への応用が期待される。



**図7** 加熱処理したスギの酵素分解率

ホロセルロース分解率(%) = 液中全糖量(g) / 初発ホロセルロース量(g) × 100 とした。

$\alpha$ -セルロース分解率(%) = 液中グルコース量(g) / 初発セルロース(g) × 100 とした。

■ : 室温処理 □ : 180℃処理

## 4. 結び

本研究では、スギなどのセルロース系バイオマス資源から糖化酵素を利用してバイオエタノールを効率よく生産するための前処理方法として、バイオマス資源の加熱・高圧処理及び粉碎を連続かつ、単一の工程で行う装置の開発を試みた。高圧湿式粉碎が可能な湿式ジェットミルの配管の一部に加熱機構を設け、バイオマスの粉碎・加熱・高圧の連続処理が可能となるように改良した装置は、従来のジェットミルでは不可能であったセルロースの表面積を大きくするような繊維形状の粉碎を達成した。繊維形状の粉碎はリグニンを含まないセルロース及びリグニンを含むスギでも可能であった。処理後の試料は、 $\alpha$ -セルロースの酵素分解（糖化）率が向上したことから、バイオマス由来の糖の回収コスト低減に効果が期待された。

## 文献

- 1) 藤本, 井上, 矢野, 坂木, 美濃輪, 澤山, 坂西 : *J. Jpn. Petrol. Inst.*, **51**, 5 (2008)
- 2) 坂, 江原, 南 : 木材学会誌, **51**, 4, 207 (2005)
- 3) 松永, 松井 : 木材学会誌, **50**, 5, 325 (2004)
- 4) P. L. GRANJA, L. POUTEGU, M. PETRAUD, B. DE JESO, C. BAQUEY, M. A. BARBOSA : *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 3341 (2001)