

バイオエタノール研究最前線 —バイオマスの糖化と発酵のマッチングが勝負—

三重大学大学院 生物資源学研究所 資源循環学科 教授 久松 眞

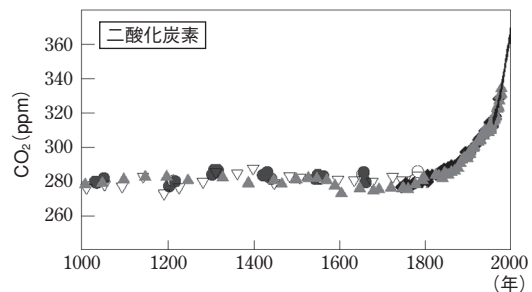
1. はじめに

ブラジルでは砂糖や廃糖蜜から、アメリカではトウモロコシ(コーン)のデンプンからバイオエタノール生産が行われている。畑作物は連作障害がおこるため輪作が基本である。急な需要でバイオエタノール向けのトウモロコシ栽培を増やすと、小麦や大豆の栽培計画にも影響が及ぶので、食料全般に供給不足感が生まれる。先物取引はこのような変化を敏感に察知し反応するので食料価格が高騰する。今後はこのような心配のない、食料と競合しない木質系の資源を原料とするバイオエタノール生産へシフトしていく。この基本技術は既にあるが、市場で通用するコストではない。いま世界中でしのぎを削っている研究は、如何にしてガソリン価格と同じような価格帯でバイオエタノールの生産ができるかである。ここでは、非食料系バイオマスの利活用に関することや、われわれが目指しているバイオエタノール研究の考え方などを紹介したい。

2. 環境対策の基本的な考え方

大量生産・大量消費・大量廃棄によってヒトの生活は豊かになったが、この活動が地球環境に悪影響を及ぼすようになってきたのはいつ頃からであろうか? 大気中の二酸化炭素濃度の変化(図1)、人口の変化、平均気温の変化、エネルギー消費量の変化を見ると、いずれも20世紀後半からほぼ同じような急勾配の増加を示すグラフとなっている。

ヒトは科学技術を発達させてエネルギーを豊富に消費するようになった。



出典：IPCC「第3次評価報告書」(2001年)

図1 大気中CO₂濃度変化(出典:H13環境白書)

動を手に入れ、短期間で化石資源の使用量を大きくしたことから、自然はその変化に対応できなくなってきた。それ故、ヒトも他の生物と同様自然の物質循環の範囲内で基本的に生活しなければならない。

再生可能資源を巧みに利用した鎖国時代の生活で、今でも使えそうなアイデアは参考にし、規模は小さいけれど地域社会のレベルで活発に環境対策を進めることも重要と考える。また、本来の経営に加え、環境対策に関するビジョンを発信できる企業が生き残ると思う。生活基盤の再生なので、力を合わせて取り組む政策もグローバルとローカルが必要である。

3. 原油価格の変動から伺えること

この40年間の原油価格変動パターンのグラフと折々の出来事を示す(図2)。第二次オイルショックで1バレル15ドルから35ドルに跳ね上がったが、油田開発などによって再度15ドルのラインに戻った。しかし、21世紀に入ると一時的に1バレル150ドルを超え、その後60~90ドルの範囲を推移しているが、情勢如何では再度高騰する様相である。これほど原油価格が高騰すれば、新たな油田開発や増産が始まって価格はもっと下がるはずである。原油価格がこのような高値を推移している理由は、化石資源の埋蔵量が底をつき始めている不安感と、インド、中国、南米諸国の経済発展によるエネルギー需要の急激な増加などが複雑に関与しているためと思われる。いずれにしても、いつまでも化石燃料に

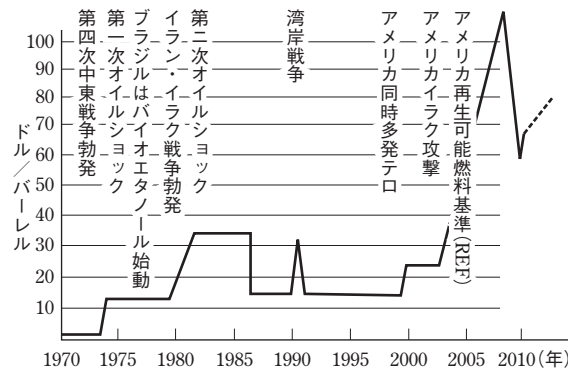


図2 原油価格の推移と出来事

に、後者は食品や医薬品に利用されている。

6. お酒とバイオエタノールの違い

お酒は飲料、バイオエタノールは燃料であるが、どちらも発酵法で生産される。日本では、90%未満のエタノール濃度は国税庁の税務署(酒類取扱い)で、90%以上になると経済産業省の産業部アルコール課が扱う。大学では研究用として年に1度使用目的を明記して無税の未変性発酵アルコール(95%)を購入できるが、管理は厳密である。燃料用バイオエタノールはほぼ100%の純度のものを製造するが、アメリカでは輸送する場合ガソリンを5%添加する不飲化処置が義務付けられている。海外ではガソリンにバイオエタノールを10-20%加える国が増えている。日本では3%の添加が認められているが、取扱う店をほとんど見ない。バイオエタノールの国内生産を増やし、給油所や法などの整備も進め、環境先進国としてバイオエタノールの普及を望んでいる。

第一世代のバイオエタノールは原料がデンプン系であるのでお酒の造り方と基本的に同じである。これに対し、第二世代のバイオエタノールは原料が木質系資源(リグノセルロース)であるため、材料が硬くて分解が容易でない。製造時間を短縮するため、酵素糖化をする前に木材チップなどを化学的物理的処理をする。現在この糖化スピードを速くする前処理技術が重要な研究ポイントになっている。

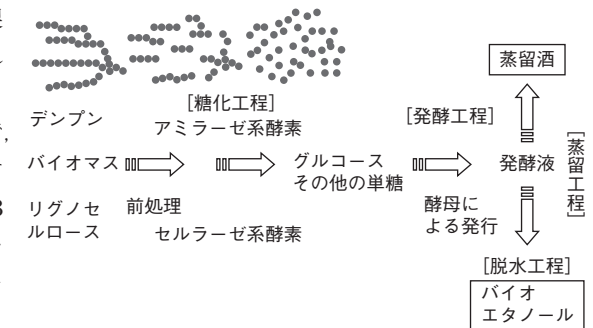


図4 お酒とバイオエタノールの製造工程の比較

依存している訳にはいかない。

一方、1バレル60ドルを超えると、ブラジルやアメリカでは代替燃料がビッグビジネスと写ったようにバイオエタノール生産がいきなり増加した。

4. バイオエタノールの期待と将来展望

植物が太陽エネルギーと水と二酸化炭素から作ったバイオマスを、ヒトも含め多くの生物は活用している。植物が固定するエネルギー量は自動車に利用するエネルギーの50倍ほどある。農業や林業で廃棄されるバイオマスのエネルギーだけでも自動車に利用するエネルギーの7割程度はまかなえられる。省エネルギー技術の向上から化石燃料の使用量が減れば、バイオエタノールの利用割合はもっと増える。また、バイオエタノールは液体燃料であるので貯蔵や輸送においても優れている。さらに、エタノールからさまざまな化合物の合成技術が発達すれば、環境に優しい化学製品が増えグリーンケミストリーの時代がやってくる。

5. エタノールについて

エタノール分子(C₂H₅OH)には炭素2個に対して1個の酸素があり、すでに酸化された状態なのでエタノールを燃焼させても飽和炭化水素の6割程度しかエネルギーは出ない。この数字だけを考えると、苦勞してバイオマスをエタノールに変換するモチベーションは下がる。しかし、環境に優しい化学製品を使用する社会へシフトしていく第一歩と考えれば、このような研究の意義は大きい。

高分子(バイオマス)は直接物質変換できないので、単糖まで加水分解したあと発酵法でエタノールにする。グルコースがエタノールに変換される式を図3に示す。グルコースはエタノールと二酸化炭素になるが、エタノールはグルコースの化学エネルギー(2872KJ/mol)の約95%を引継いでいる。

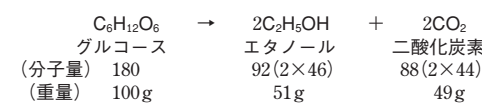


図3 グルコースがエタノールに変換される化学式

C₂H₅OHには、石油などから化学的につくる安価な合成エタノールと、砂糖やデンプンを培養してつくる高価な発酵エタノールがある。前者は工業原料

7. リグノセルロースの構成糖と発酵戦略

セルロース(40-50%)、ヘミセルロース(25-30%)、リグニン(15-25%)で構成されているリグノセルロース粉末を高濃度硫酸処理すると、硬いセルロース構造が緩み、その間に挟まれていたヘミセルロースが分解されながら溶出する(参考文献3)。

表1 各種リグノセルロースの構成糖

| | ヘミセルロース画分 (前段処理) | | | | セルロース画分 (後段処理) | | | |
|---------|---------------------|------|------|------|-------------------|------|------|------|
| | 針葉樹 | 広葉樹 | 一年草 | その他 | 針葉樹 | 広葉樹 | 一年草 | その他 |
| 全糖 (g) | 572 | 552 | 672 | 1200 | 880 | 890 | 763 | 300 |
| Ara (%) | 8.6 | 2.4 | 8.2 | 43.3 | ND | ND | 0.4 | 15.3 |
| Xyl (%) | 29.4 | 76.3 | 77.8 | 36.8 | 3.5 | 3.7 | 5.8 | 30.3 |
| Man (%) | 35.9 | 2.5 | 2.9 | 4.6 | 4.4 | ND | ND | 3.3 |
| Gal (%) | 6.4 | 4.9 | 0.8 | 5.6 | ND | ND | ND | 1.9 |
| Glc (%) | 19.8 | 13.9 | 10.5 | 9.6 | 91.7 | 96.4 | 94.1 | 49.4 |

(注:その他:種子の皮やコーンの芯など)

この技術を利用するとヘミセルロースの構成糖の特徴がよく分かり、針葉樹、広葉樹、一年草、その他に分けられる(表1)。広葉樹や稲ワラにはキシロースが75%程度含まれているのに対し、針葉樹ではキシロース、マンノース、グルコースがそれぞれ20-35%含まれている。また、幹やストロー以外(表1のその他の区分)のサツマイモの皮、小麦種子の皮、トウモロコシの芯などにはキシロースやアラビノースが多く含まれている。グルコースとマンノースは多くの酵母がエタノール発酵できるが、キシロースを発酵できる酵母は少ない。アラビノースはさらに少ない。第二世代のバイオエタノール生産では、少なくともグルコース、マンノース、キシロースからエタノール発酵する酵母が必要である。

8. 酸塩耐性酵母でエタノール発酵

われわれのバイオエタノール研究は、先行グループと差別化する考えで、酸性条件下でアルコール発酵できる酸耐性酵母を分離することからスタートした。群馬県の草津・万座温泉は酸性温泉で有名であるが、その温泉街の河川(草津温泉はpH2付近)から目的とする酵母 *Issatchenkia orientalis* MF-121 株(図5)を分離した(参考文献1)。

この酵母はpH2.0の酸性条件下で生育しエタノールを発酵する(図6、表2)。この酸耐性の特性を利用すると、デンプンを0.8-1.0規定の硫酸で加水分解し、苛性ソーダを加えてpH2.5に調整したあと、栄養源を加えれば、硫酸を除去せず発酵槽も殺菌せずにエタノール発酵することができる。

pH2.0, pH2.5, pH3.0の培養液に硫酸ソーダ塩を



図5 *I. orientalis* MF-121 株の顕微鏡写真

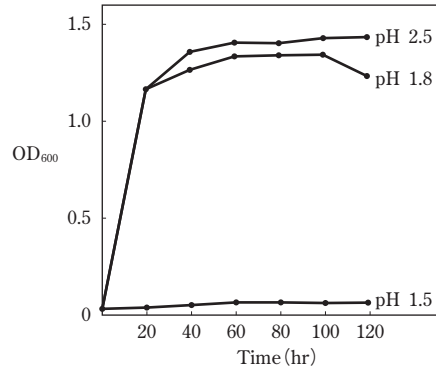


図6 MF-121 株の酸性条件化における増殖曲線

0%, 2.5%, 5.0%加えた培養液で、MF-121 株とお酒を造る醸造用酵母のエタノール生産能力を比較した(表2)。醸造用酵母は酸耐性能力には優れていても塩耐性には弱い。その後、MF-121 株は酸塩耐性に加えて熱耐性であることも分かった(参考文献2)。しかし、この酵母はグルコースとマンノースしかエタノール発酵しない。

表2 酒酵母とMF121株のアルコール発酵能の比較

| 酵母 | アルコール濃度(%) | | | | | | | | |
|--------|------------|-----|-----|-----------|-----|-----|---------|-----|-----|
| | 0%硫酸ソーダ | | | 2.5%硫酸ソーダ | | | 5%硫酸ソーダ | | |
| | pH | | | pH | | | pH | | |
| | 3.0 | 2.5 | 2.0 | 3.0 | 2.5 | 2.0 | 3.0 | 2.5 | 2.0 |
| MF-121 | 7.4 | 8.4 | 7.1 | 9.2 | 8.6 | 8.5 | 8.5 | 8.8 | 5.2 |
| 焼酎 | 8.4 | 4.3 | 1.4 | 3.1 | 2.9 | 0 | 0.3 | 0.1 | 0 |
| 酒協会3 | 8.6 | 1.5 | 0 | 1.6 | 0 | 0 | 0.2 | 0.1 | 0 |
| 酒協会7 | 10.0 | 6.0 | 1.4 | 4.5 | 2.3 | 0 | 2.8 | 0.3 | 0 |
| 酒協会9 | 8.8 | 4.1 | 0.4 | 4.4 | 2.2 | 0 | 2.1 | 0.2 | 0 |

9. 糖化と発酵を並行して行う

エタノールの生産コストを削減するため、バイオマスを糖化しながら同時にエタノール発酵するSSFプロセス(Simultaneous Saccharification and Fermentation)を世界は競っている。現在は、セルラーゼ系の市販酵素で完全にバイオマスの糖化が終ってから、次にエタノール発酵を行っている。理由は、バイオマスの糖化に使用する酵素セルラーゼは40℃以上の温度でよく働くのに対し、一般酵母は35℃ぐらいが生育の上限であるためである。そのような理由から、高温耐性のエタノール発酵性酵母が必要になってくる。

10. 実践的有用酵母を作ることに挑戦

無殺菌でSSFの運転をするためには、(1)酸耐性・塩耐性・温度耐性のマルチ耐性酵母、(2)グルコース、マンノース、キシロースをエタノール発酵できる酵母、(3)遺伝子組換えでない酵母、の条件をすべて満たす酵母がほしい。このような酵母をワールドから直接分離することは経験上難しいと考えている。遺伝子組換えで理想の酵母の創世を考える手段もあるが、生物の多様性の確保から遺伝子組換え生物の規制(カルタヘナ法)があるため、事業化までいった場合に安全性の高いプラント設備が要求され設備投資が非常に高くなる。そこで、カルタヘナ法の規制にひっかからない微生物間での細胞融合で有用酵母の取得を目指している。

酵母はβ-1,3-グルカン系の細胞壁多糖類で覆われている。この細胞壁多糖類を酵素ザイモリエースで溶解し、生じた二つのプロトプラスト細胞を接着して融合株を作り再生させる。融合頻度は非常に低いが、染色体の一部がハイブリッドして両親株の優れた遺伝子をうまく引継いだ株が取得できることがある。われわれは、酵母プロトプラスト細胞を安定化する水溶性のβ-1,3-グルカンの研究経験があるので(参考文献4)、この多糖類を利用して融合株の取得率を大幅にアップすることに挑戦している。

11. 地域社会とバイオ製品

地域のバイオマスからバイオ燃料を生産し、そのエコ燃料を地域で使用する“バイオエネルギーの地産地消”は悪くないが、小規模なので安く生産することは決して容易でない。この生産コストに関する課題に対して、このバイオエタノール生産技術を応用して付加価値の高い食品や医薬品などの生産も将来行なえるようにしたい。しかしまず初めに、稲ワラや草や間伐材などのほかに、食品や農産廃棄物、規格外農産物など地域社会から出る様々なバイオマスからバイオエタノールの生産ができるようにしたい。そのような理由から、基本的にデンプン系とセルロース系のバイオマスを分けることを考えないで糖化する技術や滅菌しないでエタノール発酵する技術の開発にむけた研究を行ってきた。

発酵培養液のエタノール濃度は4-8%程度なので、これを焼酎(蒸留酒)のような30-60%まで地域で濃縮し、その後は最寄りの石油コンビナートに輸送し

て既設の蒸留塔を利用し90%以上に濃縮すれば、地域レベルでもバイオエタノール生産がなんとか可能にならないかと考えている。

12. おわりに

SSFプロセスの次は、糖化酵素を同じ発酵槽で生産し、糖化しながらエタノール発酵するプロセス(Consolidated Bio-Processing:CBP)が提案されている。SSFとCBPのイメージを図7に示す。バイオマスを酒米に置換えてみると、この夢のプロセスと日本酒の製造方法(平行複発酵、参考文献5)とは瓜二つである。麹菌が生産したアミラーゼがデンプンを糖化しこれを酵母がエタノールにしている。この方法は室町時代頃には出来上がっていたと言われているが、お酒の世界では他に類を見ない非常に優れた製造法である。究極のバイオエタノール生産にCBPが提案されて、あらためて日本の発酵技術やアイデアの高さを思い知らされる。日本でも、海外で植林を行い大量に森林資源を保有する製紙会社等が次世代燃料の開発を精力的に行っていると聞く。いずれ日本の技術がこの分野でも世界をリードするに違いない。われわれは微生物操作に優れた民族なので、これからのバイオマス利活用や環境対策などの分野で若い日本の研究者の活躍が楽しみである。

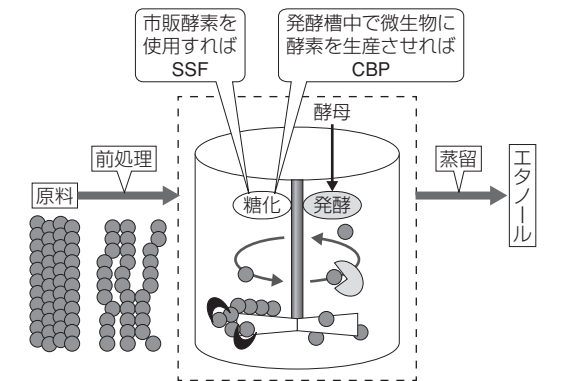


図7 SSF及びCBPプロセスのイメージ(点線内)

参考文献

- 1) M. Hisamatsu et al.: J. Appl. Glycosci. 53, 111 (2006)
- 2) T. Kitagawa et al.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 87, 1841 (2010)
- 3) T. Thalagala et al.: J. Appl. Glycosci. 56, 1 (2009)
- 4) M. Hisamatsu et al.: B.B.B. 57, 484 (1993)
- 5) 三重大X21号 pp08 図1
<http://www.mie-u.ac.jp/home/X/index.html>