

# 熱帯早生樹のバイオリファイナリー\*

渡辺 隆司\*\*

## Biorefinery of tropical fast-growing wood\*

Takashi Watanabe\*\*

### 概要

東南アジア地域は熱帯雨林に代表される豊かな生物資源を有しており、熱帯産早生樹などのバイオマスを高度に変換してエネルギー、燃料、化学資源として利用するバイオリファイナリーを実現する場として大きな可能性を秘めている。熱帯産早生樹を利用した新しい産業の創成は、化石資源依存型産業からの脱却、地球温暖化ガスの排出抑制、地域活性化、新産業の育成などにつながる<sup>1)</sup>。ここでは、熱帯早生樹のバイオ燃料化に関連する最新の研究を調査するとともに、熱帯早生樹バイオリファイナリーの可能性を論じる。

### 1. バイオマスからのバイオエタノールや化学品の製造

リグノセルロース系バイオマスからエタノールなどの発酵化学品を生産するためには、セルロースなどの植物の細胞壁を構成する多糖類を加水分解して単糖にする工程が必要となる。植物細胞壁中の多糖を加水分解する技術には、硫酸などの強酸を用いる方法、超臨界水あるいは亜臨界水を用いる方法、酵素を用いる方法などがあるが、ここでは現在研究開発の中心となっている酵素分解法について述べる。

樹木や多くの草本性植物の細胞壁では、セルロースなどの多糖類がリグニンにより被覆されているため、細胞壁多糖をセルラーゼなどの酵素で加水分解するためには、リグニンによって固められた細胞壁をほぐして細胞壁多糖を露出させる前処理が必要となる。リグニンを剥がす前処理と酵素による細胞壁多糖の分解のための技術開発が、木や草から効率よくバイオエタノールを生産する大きな鍵となる。このリグニンによる多糖の被覆を壊すために、これまで、様々な物理的、生物的、および化学的前処理法が検討されてきた。爆砕法や蒸煮法など水を加熱して反応させる前処理法の多くは、一般に広葉樹材と比較して針葉樹材に対する前処理効果が低いことが知られている。広葉樹でも、樹種により分解の受けやすさには大きな差がある。産業造林用樹木は、紙パルプや建築材料の生産を目的として選抜・育種されており、燃料や化学品生産を主目的とした選抜や育種は行われていない。バイオリファイナリーに適した樹種は、成分分離や変換の容易さ、分離した成分からの機能物質への変換などを基準にして選抜されるものであり、これまで注目されてこなかった熱帯産早生樹にも、バイオリファイナリーに適した有用樹種が見出される可能性がある。近年、バイオ燃料化に適した樹木を育種する研究や、酵素糖化性を指標としてバイオ燃料化に適した未利用熱帯産早生樹を探索する研究が活発化している。

\*2011年9月13日受理

\*\*〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圏研究所バイオマス変換分野

E-mail: twatanab@rishi.kyoto-u.ac.jp

## 2. 熱帯産早生樹からのバイオエタノールの生産

木材の細胞壁多糖を前処理により露出させ、露出した多糖を酵素加水分解して単糖を生産し、生成した単糖を酵母などのアルコール発酵性微生物で発酵するとバイオエタノールが生産される。表1に、熱帯産早生樹からバイオエタノール生産を主目的とした研究例を列記した。エタノリシス、白色腐朽菌処理、水熱反応、希硫酸処理、爆砕処理、イオン液体処理、粉碎処理など様々な酵素糖化前処理法が検討されている<sup>2-15)</sup>。

熱帯産早生樹材に含まれるセルロースは紙パルプに変換し、ヘミセルロースであるキシランはエタノールに変換利用する研究も実施されている<sup>14-15)</sup>。この考えでは、キシランをパルプ化前に抽出してエタノールに変換し、キシランを抽出した残滓を脱リグニンしてパルプを生産する。これまで、キシランなどのヘミセルロースはパルプ収率を向上させるために、パルプ化による溶出や過分解を防ぐ方法が検討されてきたが、分解しやすいキシランをバイオエタノールなどの他用途に利用できるならば、パルプ化の条件をセルロース分離に最適化できる。これにより、パルプ化の条件の許容度が広がり、全体のコストバランスや木材の利用価値が向上する。一方、こうした前抽出とは異なり、漂白クラフトパルプからアルカリでキシランを抽出して利用する方法や、パルプ黒液からキシランを膜分離して利用する方法も検討されている。キシランは、バイオエタノールの他、揮発性成分の蒸散を防ぐコーティング材、ハイドロコロイドなどの機能性ポリマーに変換される<sup>2)</sup>。

表1は、木部を原料として使う酵素糖化・発酵を試験した研究例であるが、ユーカリ内樹皮から二酸化炭素添加水熱前処理により酵素糖化を促進する試みが近年行われた。ユーカリ内樹皮の水熱前処理に二酸化炭素を添加すると酵素糖化が促進され、 $\alpha$ -セルロースベースで最大 80% の収率でグルコースが得られた<sup>16)</sup>。ユーカリ内樹皮の 80 メッシュ以下のフラクションには、60% 以上のシュウ酸カルシウムが含まれており、これは内樹皮全体の 24.6% に相当する<sup>17)</sup>。

表1：熱帯産早生樹からのバイオエタノール生産を目的とした研究

樹種	前処理法	酵素糖化、エタノール発酵	文献
<i>Acacia mangium</i>	オートクレーブ水熱処理 超音波処理	120℃、3 分のオートクレーブ処理後、メイセラージェで酵素糖化し、木粉 100 mg 当たり 8 mg の還元糖が生成。セルロースの 8.2% が糖化。超音波処理により収率は、1.5 倍増加。酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SH1089) を用いた並行複発酵により、木粉 100 mg 当たり約 6 mg のエタノールが生成。	4)
<i>Acacia dealbata</i>	エタノリシス+白色腐朽菌処理	白色腐朽菌 <i>Ceriporiopsis subvermispora</i> と <i>Ganoderma australe</i> で 30 日間処理後、60% エタノールで 200℃、1 時間オルガノソルボリシス処理。酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> で逐次発酵あるいは並行複発酵を行い、それぞれ原料木材ベース 51% と 65% の転換率でエタノールを生産。	3)
<i>Acacia dealbata</i>	希硫酸前処理	0.8% 希硫酸による 180℃、15 分の前処理と <i>Pichia stipitis</i> CBS 5773 による逐次発酵により、水不溶性画分から 10.31 g/L のエタノールを 24 時間で生産。並行複発酵では、7.53 g/L のエタノールを 48 時間で生産。	5)
<i>Eucalyptus globulus</i>	水熱反応	224℃ までの水熱反応による主成分の可溶化を定量。水熱処理により、最大 90.4% のキシランが可溶化。リグニン	10)

		は最大 13.8% 脱離。セルロースは、ほぼパルプ画分に残存。酵素分解は実施せず。	
<i>Eucalyptus dunnii</i>	2% 希硫酸 134°C、60分前処理	2% セルラーゼと 4% $\beta$ -グルコシダーゼを用いた 50°C、22 時間の酵素処理で収率 54% で前処理物を糖化。60°C の糖化では、収率 34%。 <i>Zymomonas mobilis</i> ZM4 により発酵収率 71% でエタノールを生産。	6)
<i>Paraserianthes falcataria</i>	オートクレーブ水熱処理 超音波処理	120°C、3 分のオートクレーブ処理後、メイセラゼで酵素糖化し、木粉 100 mg 当たり 29 mg の還元糖が生成。セルロースの 38.1% が糖化。超音波処理により収率は、1.2 倍増加。酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SH1089) を用いた並行複発酵により、木粉 100 mg 当たり約 18 mg のエタノールが生成。	4)
<i>Eucalyptus globulus</i>	爆砕処理	42°C、基質濃度 10% の条件で、15 FPU/g 基質のセルラーゼと耐熱性酵母 <i>Kluyveromyces marxianus</i> CECT 10875 を用い並行複発酵。グルコースベースの理論収率 50-72% でエタノールを生産。	7)
<i>Eucalyptus globulus</i>	イオン液体処理	イオン液体 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride ([EMIM+][Cl-]) を用い前処理。150°C、60 分の前処理物から酵素糖化により 30% の収率で還元糖を得た。	11)
<i>Eucalyptus globulus</i>	水熱反応	水熱反応前処理の温度、処理時間が与える酵素糖化への影響を評価。230°C の水熱反応後、前処理物の並行複発酵によりエタノールを最大 26.7g/Lで生産。	12-13)
<i>Eucalyptus globulus</i>	水熱反応	パルプ化の前にキシランを水熱処理で可溶化し、バイオエタノールに変換。ペントース発酵能をもつ酵母 <i>Pichia stipitis</i> を用いて、濃度(12 g/l)、生産性 (0.22 g/l/h) で水熱可溶化キシランからバイオエタノールを生産。	14-15)
<i>Eucalyptus</i> チップ <sup>a</sup>	加圧熱水 + ボールミル処理	加圧熱水処理 (160°C, 30 分) とボールミル処理 (20 分) により、4 FPU/g 基質のセルラーゼで 70% の糖収率で酵素糖化。	8)
<i>Eucalyptus</i> チップ <sup>a</sup>	エタノリシス	1% の酢酸を含む 25% エタノール水溶液でソルボリシス。200°C の前処理条件で、セルロースをほぼ定量的に酵素糖化。	9)

<sup>a</sup>種の記載なし。

### 3. アカシアの変換利用

インドネシアなどの熱帯アジアでは窒素固定能力により旺盛な成長が可能なマメ科のアカシアが広範に導入されている<sup>18-19)</sup>。 *Acacia mangium* は、荒廃地への造林適用性が高いため、紙・パルプ、木質材料、燃料、活性炭、肥料、化学品などの原材料として広く利用されている。木質材料としては、ドア、窓枠などの建築用造作材、家具、合板、パーティクルボード、ハードボード、LVL、MDF などのボード製造に利用される<sup>19)</sup>。例えば、世界的な家具メーカーである IKEA は、ベトナムで *Acacia mangium* などの熱帯産早生樹から家具を製造し、各国で販売している<sup>20)</sup>。 *Acacia mangium* については、樹皮に豊富に含まれるタンニンを利用してアミノ樹脂やフェノール樹脂系の接着剤に代わる接着剤の開発がなされている。 *Acacia mangium* の種子は、食用にも利用される。また、葉は、家畜飼料に利用される<sup>19)</sup>。

*Acacia dealbata* は、オーストラリア南東部原産で、アフリカに帰化植物として自生した。19世紀初頭に観賞用としてヨーロッパに持ち込まれ、それ以降、野生化している。*Acacia dealbata* の精油は、ミモザと呼ばれ広く利用されている。*Acacia dealbata* は、繁殖力が強く、生態系を破壊する生物種と位置づけられている。このため、*Acacia dealbata* の利用拡大を図る方策の一つとして、バイオエタノール化が研究されている<sup>3, 5)</sup>。

熱帯早生樹は、燃料材や土壌改良剤として利用されている。アカシアは灰分 (ash)、すなわち、無機物 (Ca, K, P, Mg, Si, Al, Ba, Fe, Ti, Na, Mn, Sr) 含量が高いことから、燃焼後に残る灰分を肥料として土地に散布することか可能である。パルプ生産の際に出る *A. mangium* の樹皮の炭 (charred bark) を土壌に肥料として散布し、トウモロコシやピーナッツなどの農作物の収穫量が増加したという報告もある<sup>21)</sup>。その他、土壌の化学成分の改善として、pH、総窒素、可吸態リンの増加など降水量が多く、土地が痩せやすい熱帯土壌に効果的である。また、高 Al 飽和度であるアルティソル土壌で適応できる樹種として *Acacia mangium* は貴重な樹種である<sup>22)</sup>。

アカシアは微生物酵素 (リグニン分解酵素やセルラーゼ系酵素) 生産の誘導基質となり<sup>23)</sup>、また、微生物による廃材やチップからのアルコール発酵やメタン発酵が可能である。さらに、タンニンや *A. auriculiformis* に多く存在する抗真菌性及び抗酸化性抽出物についてはバイオリファイナリーの利用価値が強く期待される<sup>24-25)</sup>。

#### 4. 東南アジアにおける熱帯産早生樹バイオリファイナリーの構築に向けて

バイオリファイナリーは、熱帯雨林をもつ東南アジア地域に有利な産業であり、バイオマスの生産と高度利用によって東南アジア地域に新たな産業を興し、国際間および国内の地域格差の是正につながる新たな機会を与える<sup>1)</sup>。バイオ燃料の生産は、離島や遠隔地など電力や燃料の供給が難しい地域に地産地消のエネルギーをもたらす上でも大きな意義がある。地域の文化や経済、環境への影響を最大限配慮しつつ、先進的な変換技術をもつ国とバイオマス資源国が緊密に連携して、持続的な熱帯産早生樹バイオリファイナリーが構築されることを強く望む。

#### 参考文献

- 1) 渡辺隆司：産業構造の大転換ーバイオリファイナリーの衝撃ー，地球圏・生命圏・人間圏 持続的な生存基盤を求めて，京都大学学術出版会，pp. 281-300, 2010.
- 2) Talja, R. and K. Poppius-Levlin, Xylan From Wood Biorefinery-A Novel Approach, Workshop, EU 7th Framework program, Lyon, France, May 10, 2011.  
<http://www.flexpakrenew.eu/docs/filesProject/1/C1A5127A-188B-310B-B8EB8F5C212F9D42.pdf>
- 3) Muñoz, C., Mendonça, R., Baeza, J., Berlin, A., Saddler, J., and Freer, J., Bioethanol production from bioorganosolv pulps of *Pinus radiata* and *Acacia dealbata*, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **82**, 767-774, 2007.
- 4) Kaida, R., Kaku, T., Baba, K., Oyadomari, M., Watanabe, T., Sudarmonowati, S. H. E., and Hayashi, T, Enzymatic saccharification and ethanol production of *Acacia mangium* and *Paraserianthes falcataria* wood, and *Elaeis guineensis* trunk, *J. Wood Sci.*, **55**, 381-386, 2009.
- 5) Ferreira, S., Gil, N., Queiroz, J. A., Duarte, A. P., and Domingues, F. C., An evaluation of the potential of *Acacia dealbata* as raw material for bioethanol production, *Biores. Technol.*, **102**, 4766-4773, 2011.
- 6) Jeon, Y. J., Xun, Z., and Rogers, P. L., Comparative evaluations of cellulosic raw materials for second generation bioethanol production, *Letters in Appl. Microbiol.*, **51**, 518-524, 2010.
- 7) Ballesteros, M., Oliva, J. M., Negro, M. J., Manzaneres, P., and Ballesteros, I., Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875, *Process Biochem.*, **39**, 1843-1848, 2004.
- 8) Inoue, H., Yano, S., Endo, T., Sakaki, T., and Sawayama, S., Combining hot-compressed water and ball milling

- pretreatments to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus, *Biotechnology for Biofuels*, **1:2**, 1-9, 2008.
- 9) Teramoto, Y., Lee, S.-H., and Endo, T., Cost reduction and feedstock diversity for sulfuric acid-free ethanol cooking of lignocellulosic biomass as a pretreatment to enzymatic saccharification, *Biores. Technol.*, **100**, 4783–4789, 2009.
  - 10) Garrote, G., and Parajó, J. C., Non-isothermal autohydrolysis of *Eucalyptus* wood, *Wood Sci. Technol.*, **36**, 111–123, 2002.
  - 11) Pezoa, R., Cortinez, V., Hyvärinen, S., Reunanen, M., Hemming, J., Lienqueo, M. E., Salazar, O., Carmona, R., Garcia, A., Murzin, D. Y., and Mikkola, J.-P., Use of ionic liquids in the pretreatment of forest and agricultural residues for the production of bioethanol, *Cellulose Chem. Technol.*, **44**, 165-172, 2010.
  - 12) Romani, A., Garrote, G., Alonso, J. L., and Parajó, J. C., Bioethanol production from hydrothermally pretreated *Eucalyptus globulus* wood, *Biores. Technol.*, **101**, 8706–8712, 2010.
  - 13) Romani, A., Garrote, G., Alonso, J. L., and Parajó, J. C., Experimental assessment on the enzymatic hydrolysis of hydrothermally pretreated *Eucalyptus globulus* wood, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **49**, 4653–4663, 2010.
  - 14) Vanessa, C., Mendes, T., Baptista, C. M. S. G., Rocha, J. M. S., and Carvalho, M. G. V. S., Prehydrolysis of *Eucalyptus globulus* Labill. hemicelluloses prior to pulping and fermentation of the hydrolysates with the yeast *Pichia stipitis*, *Holzforchung*, **63**, 737–743, 2009.
  - 15) Mendes, C. V. T., Carvalho, M. G. V. S., Baptista, C. M. S. G., Rocha, J. M. S., Soares, B. I. G., and Sousa, G. D. A., Valorisation of hardwood hemicelluloses in the kraft pulping process by using an integrated biorefinery concept, *Food and Bioproducts Processing*, **87**, 197–207, 2009.
  - 16) Matsushita, Y., Yamauchi, K., Takabe, K., Awano, T., Yoshinaga, A., Kato, M., Kobayashi, T., Asada, T., Furujo, A., and Fukushima, K., Enzymatic saccharification of *Eucalyptus* bark using hydrothermal pre-treatment with carbon dioxide, *Biores. Technol.*, **101**, 4936–4939, 2010.
  - 17) NEDO 「バイオマスエネルギー高効率転換技術開発／バイオマスエネルギー先導技術研究開発／未利用木質バイオマス（樹皮）の高効率糖化先導技術の開発」平成 18 年度～平成 21 年度のうち平成 19 年度中間年報, 名古屋大学, 06990718-0
  - 18) 渡邊崇人, 渡辺隆司, 熱帯バイオマス資源のバイオリファイナリー, 生存圏研究, **3**, 65-71, 2007.
  - 19) *Acacia mangium* Growing and Utilization, MPTS Monograph Series No. 3., eds by Awang, K., and Taylor, D., Winrock International and The Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok, pp. 1-280, 1993.
  - 20) ASEAN バイオマス研究開発総合戦略 1. バイオマス賦存量・利用可能量の調査, 森林総合研究所, 2005, <http://unit.aist.go.jp/btrc/ASEANHP/seika2005FFPRI.pdf>.
  - 21) Yamato, M., Okimori, Y., Wibowo, I. F., Anshori, S., and Ogawa, M., Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in south Sumatra, Indonesia, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **52**, 489-495, 2006.
  - 22) 富田健太郎, *Acacia mangium* によるアルティソル土壌の理化学性改善に関する事例研究, 2000 年度帰国隊員支援プロジェクト報告書「パナマのアルティソル地帯におけるアグロフォレストリー・システムの確立に関する事例研究」, 2001: <http://www.tuat.ac.jp/~tropical/agroforestry/report20.htm>.
  - 23) Khanongnuch, C., Saowapark, T., Lumyong, S., Honda, Y., and Watanabe, T., Lignocellulolytic enzymes from thermotolerant white rot fungus *Coriolus versicolor* cultured on tropical fast-growing tree wood meal, *Abstracts of International Symposium on Sustainable Utilization of Acacia mangium*, Oct. 21-22, 2003, Kyoto, Japan, pp. 155-158.
  - 24) Mihara, R., Barry, K. M., Mohammed, C. L., and Mitsunaga, T., Comparison of antifungal and antioxidant activities of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis*, *J. Chem. Ecol.*, **31**, 789-804, 2005.
  - 25) Singh, R., Singh, S., Kumar, S., and Arora, S., Studies on antioxidant potential of methanol extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn, *Food Chem.*, **103**, 505-511, 2007.