

## 稲わらの糖化处理のためのアルカリ処理条件の検討

株式会社大林組 技術本部 正会員 ○大島 義徳  
株式会社大林組 技術本部 正会員 千野 裕之

## 1. 目的

気候変動問題への対応策として、バイオ燃料の生産拡大が挙げられる。日本国内では、比較的賦存量が多い稲わらを原料としたバイオエタノール生産が、注目される。エタノール生産は、多段階の複雑な工程を経る必要があるため、エネルギーや経費がかかる。エネルギー収支やコスト収支をプラスにするには、地域固有の材料の特性や適正な規模に応じて、最適な手法を選択することが重要となる。しかし、そのために必要な処理方法と効果についての知見は、十分とは言えない状況である。特に、材料から糖にいたる前処理工程は、材料特性の違いが直接影響し、糖の生成や最終的なエタノールの収率に差異を生むため、非常に重要である。

稲わらの糖化方法としては、酸処理や、アルカリ剤と酵素を組み合わせる方法が、よく知られている。筆者らは、比較的環境負荷が少ないとされるアルカリ／酵素処理について試験した。

表 1. 供試稲わらの性状

| 項目     |    | 稲わら①  | 稲わら②  | 分析法     |
|--------|----|-------|-------|---------|
| 水分     | 現物 | 3.9 % | 5.8 % | 加熱減量法   |
| 粗タンパク質 | 乾物 | 2.9 % | 3.8 % | ケルダール法  |
| 粗脂肪    | 乾物 | 2.1 % | 1.9 % | エーテル抽出法 |
| 粗繊維    | 乾物 | 45 %  | 30 %  | ろ過法     |
| 粗灰分    | 乾物 | 7.2 % | 15 %  | 直接灰化法   |
| 可溶無窒素物 | 乾物 | 42 %  | 50 %  | 差引法     |

表 2. 使用した酵素液の性状

| 項目       | 酵素液                    | 分析法                                                     |
|----------|------------------------|---------------------------------------------------------|
| タンパク量    | 2.5 g/L                | 色素結合法 <sup>※1</sup>                                     |
| CMC 分解活性 | $4.5 \times 10^3$ U/mL | 1U:1 分間に $1 \mu\text{mol}$ のグルコースを遊離する量 <sup>※2</sup> . |
| ろ紙分解活性   | $2.4 \times 10^2$ U/mL |                                                         |
| ブドウ糖     | 2.8 g/L                | 酵素反応=NADPH 検出                                           |

※1: Pierce 660nm Protein Assay (Thermo SCIENTIFIC 社)

※2: T.M. Wood, et.al. Methods in Enzymology, Vol.160, p87-135

表 3. アルカリ反応条件

| 条件 <sup>※</sup> | 温度  | 処理時間 |
|-----------------|-----|------|
| I               | 90℃ | 1 hr |
| II              |     |      |
| III             | 25℃ | 1 hr |
|                 |     | 1 d  |
|                 |     | 2 d  |

※ 表 4 の添加条件参照。

表 4. 薬剤添加条件

| 薬剤条件         | NaOH/わら (w/w) | NaOH 薬液濃度 |        |         |         |          |
|--------------|---------------|-----------|--------|---------|---------|----------|
| I シリーズ       | 約 1.4 %       | 0.03 %    | 0.1 %  | 0.3 %   | 1 %     | 3 %      |
| II シリーズ      | 約 4.5 %       | 0.1 %     | 0.3 %  | 1 %     | 3 %     | 10 %     |
| III シリーズ     | 約 14 %        | 0.3 %     | 1 %    | 3 %     | 10 %    | 30 %     |
| 液固比 (溶液: わら) |               | 45 : 1    | 14 : 1 | 4.5 : 1 | 1.4 : 1 | 0.45 : 1 |

## 3. 試験材料

試験に用いた 2 種類の稲わらについて、飼料分析法 (2004 年) に準じて測定した性状を表 1 に示した。これらに、意図した差異はなく、稲わら①の方が、乾燥が進んでいた。また、糖化酵素は、*Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼ粗酵素液を用いた。その性状を表 2 に示す。

## 4. 水酸化ナトリウムによる前処理

## 4.1 処理時間と温度、薬剤量の影響

水酸化ナトリウムを用い、様々な条件で前処理を行った後に、酵素糖化を行い、前処理条件が糖の生成効率に与える影響を調べた。表 3 と表 4 に処理条件を示した。稲わら①を、1 cm 程度に裁断したものについて試験した。

表 5 に酵素糖化の反応条件を示した。アルカリ処理した稲わらは、ろ過して処理液を捨て、100 mL の水を加えて 1 N 塩酸溶液で中和したのち、再度ろ過、風乾してから糖化处理した。

キーワード バイオエタノール, 糖化, アルカリ, 前処理, 稲わら

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸 4-640 (株) 大林組技術研究所環境技術研究部 TEL 042-495-1014

糖化処理後の液中グルコース濃度を図1と図2に示す。

図1より、薬剤の添加条件のうち糖化の効率に支配的に強い影響を及ぼすのは、基質に対するアルカリ塩の添加量であり、液固比や溶液濃度は、比較的軽微な影響に止まることが分かった。

液固比では、最も効果があるのは、わらに対して重量比で1.4～4.5倍量の液を加えた状態であった。これは、わらが水分を全部吸いきって保持できる量から、若干の液量が余る状態である。液量としては、わらに塗す程度で十分であることが分かった。

また、図1のⅢの結果と図2の比較より、90℃程度に加熱することで反応が、かなり速まった。ただし、2日程度の処理期間が取れるのであれば、常温処理であっても、短時間加熱するのと同様の糖化効率が得られた。

## 4.2 発酵の確認

前項までの処理条件で得た糖化液は、問題なく発酵可能であることを以下の様に確認した。アルカリ処理と糖化条件を表6と表7に示す。発酵は、糖化液20 mLに酵母 *Saccharomyces cerevisiae* K-7 株の培養液を加え30℃で培養した。試料は、稲わら②を用いた。

糖化の結果を図3に示す。特に障害なく発酵が進み、最終エタノール濃度は、4.7%を得た。

## 5. アンモニアによる前処理と糖化

アンモニア処理による糖化の効率を試験した。試験法は、薬剤以外は前項同様とした。試験条件と結果をそれぞれ表8と図4に示す。

水酸化ナトリウムは、効果の最大値が2週程度で得られるのに対し、アンモニアは3週程度と効き目が緩やかであった。両薬剤の処理効果を表9で比較した。アンモニア処理は、最終的な糖化の効率も低く25%程度劣ることが分かった。

但し、アンモニアは、曝気するだけで中和できるため、中和の薬剤や手間が、大きく省略できるという利点がある。

## 6. 終わりに

稲わらのアルカリ糖化処理に関して、処理条件が、糖化の効率に与える影響について調べた。今後は、更なる知見の蓄積に加え、これらの知見を応用し、具体的処理法について検討する。

**謝辞** 本研究の実施において、東京大学大学院農学生命科学研究科の五十嵐泰夫教授と石倉喜郎博士には、試験法など多くのご指導をいただいた。記して謝辞とする。

表 5. 糖化処理条件

|        |         |
|--------|---------|
| 温度     | 50℃     |
| pH※    | 5.0     |
| 処理時間   | 24 hr   |
| 基質添加量  | 100 g/L |
| 酵素液添加量 | 2.5 %   |

※ 10 mM 酢酸バッファーで調整。

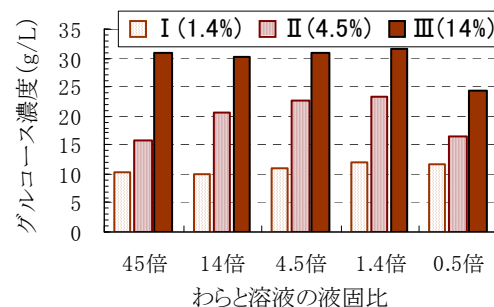


図 1. 薬剤量／基質と糖濃度の関係 (90℃、1 hr 処理)

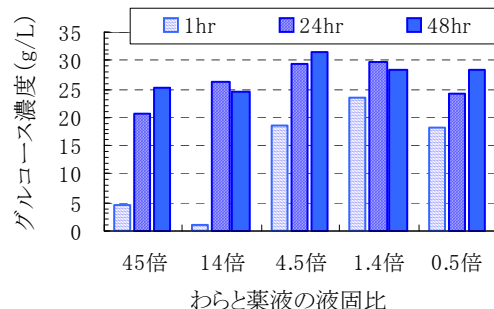


図 2. 常温での処理期間と糖濃度の関係 (NaOH/substrate=14 %\_w/w)

表 6. アルカリ処理条件

|        |         |
|--------|---------|
| 温度     | 90℃     |
| pH     | 5.0     |
| 処理時間   | 1 hr    |
| 基質添加量  | 250 g/L |
| 酵素液添加量 | 15%     |
| 液固比    | 10%     |
| 薬液濃度   | 3%      |

表 7. 酵素糖化条件

|        |         |
|--------|---------|
| 温度     | 50℃     |
| pH     | 5.0     |
| 処理時間   | 24 hr   |
| 基質添加量  | 250 g/L |
| 酵素液添加量 | 15%     |

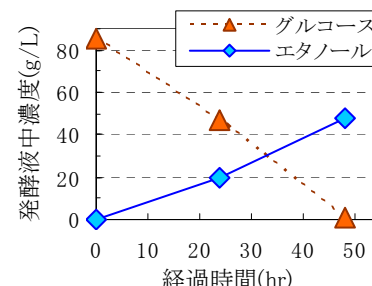


図 3. 発酵確認試験

表 8. アンモニア前処理条件

| 記号※                | ◆    | ■     | ▲      |
|--------------------|------|-------|--------|
| NH <sub>4</sub> 濃度 | 0.3% | 3%    | 30%    |
| 液固比                | 45:1 | 4.5:1 | 0.45:1 |

※ 図4参照。

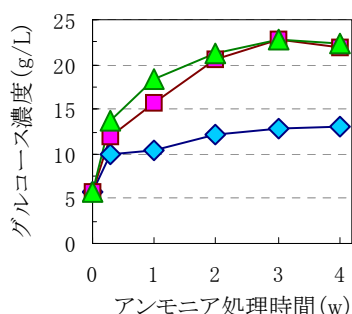


図 4. アンモニア糖化

表 9. NaOH 処理と NH<sub>4</sub> 処理の比較

| 薬剤処理            |     |      | 処理<br>期間 | 最終<br>糖濃度 |
|-----------------|-----|------|----------|-----------|
| 種類              | 濃度  | 液固比  |          |           |
| NaOH            | 0.3 | 45   | 48 hr    | 25 g/L    |
|                 | 3   | 4.5  | 48 hr    | 31 g/L    |
|                 | 30  | 0.45 | 48 hr    | 28 g/L    |
| NH <sub>4</sub> | 0.3 | 45   | 21 d     | 13 g/L    |
|                 | 3   | 4.5  | 21 d     | 23 g/L    |
|                 | 30  | 0.45 | 21 d     | 23 g/L    |