

バイオ研究グループ



グループリーダー代行
乾 将行

【コアメンバー】

サブリーダー・副主席研究員
佐々木朱実
副主席研究員 稲富 健一
副主席研究員 Crispinus A.Omumasaba
副主席研究員 寺本 陽彦
副主席研究員 城島 透
副主席研究員 平賀 和三

主任研究員 渡辺 高延
主任研究員 田中 裕也
主任研究員 須田 雅子
主任研究員 北出 幸広
主任研究員 豊田 晃一
主任研究員 加藤 直人
主任研究員 長谷川 智

研究員 信龍 亮志
研究員 竹本 訓彦
研究員 渡邊 彰
研究員 生出 伸一
研究員 小川 昌規
研究員 久保田 健
研究員 小暮 高久
研究員 猿谷 直紀
研究員 橋本 龍馬
研究員 前田 智也

グリーン燃料・グリーン化学品の 生産技術開発に向けた取り組み

1. はじめに

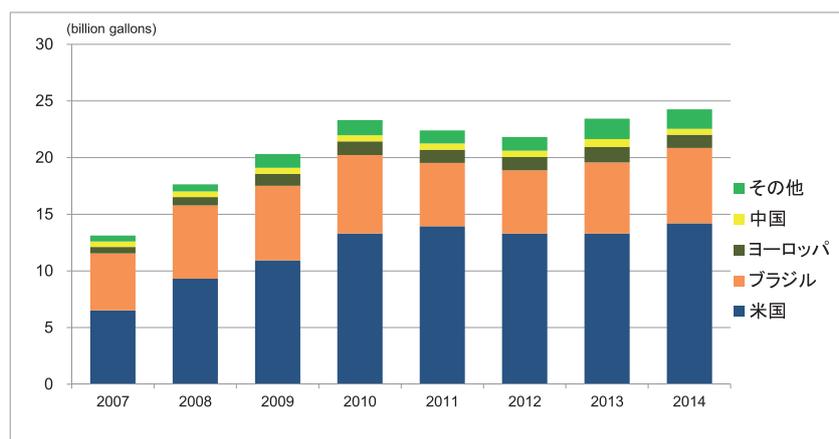
昨年の世界エネルギー分野における最大のトピックスは、昨年10月以降の原油価格の急激な低下であり、夏にはガロン\$100を超えていた原油価格は今年に入ってガロン\$50割れが続き、さらに下がるとの予想もある。当グループでは、バイオマスからバイオ燃料やグリーン化学品を製造するバイオリファイナリー技術の研究開発を進めているため、この原油価格の低下がバイオリファイナリー産業にどのような影響を与えるのかを注目している。化石燃料の価格低下でガソリンやナフサを原料とする石油化学産業の競争力が回復しているが、従来型化石資源への依存は、クリーンエネルギーやグリーン化学品の開発を妨げ、CO₂排出量を増加させることにより地球温暖化がさらに深刻になることは間違いない。

2番目のトピックスは、年産10万KLを超えるセルロース系エタノールの大規模商業プラントが欧州や米国で稼働したことである。米国では政府支援によるところが大きいですが、セルロースエタノールは、従来のコーンエタノールよりもCO₂排出削減効果が大きく、資源量も豊富で食料資源とも競合しないことから、グリーン燃料の切り札として大きな期待が寄せられている。2015年にはブラジルでも同様の設備の稼働が予定されている。

最後は、バイオ素材やバイオポリマー等のグリーン化学品の大幅な市場拡大である。米国の調査会社によると2017年までに現在の約倍の1300万トンを超える生産量に増加する見込みである。従来型のバイオ化学品の代表である乳酸やコハク酸、アミノ酸に加えて、バイオプラスチックであるバイオポリエチレンテレフタレート (PET) やバイオポリエチレン (PE) のさらなる市場拡大が予想されている。このように、2015年もグリーン燃料・化学品の生産拡大が期待されるが、前述したように原油価格の低下がどのような影響を与えるかが注目される。

2. 世界のバイオ燃料生産状況と次世代バイオ燃料への期待

2014年の世界バイオエタノール生産量は、F.O. Licht社などによると238億ガロン（9000万KL）を超え従来生産量を上回る予測である（図1）。Renewable Fuels Associationによると米国の昨年のバイオエタノール生産量も一昨年より増加して過去最大の142億ガロンと予測され、世界生産量の約60%を占める見込みである。



source: F.O.Licht

図1 世界燃料用エタノール生産量

2.1 米国での再生可能燃料基準（RFS）とセルロースエタノール商業生産の開始

米国では、バイオ燃料（再生可能燃料）の製造・消費拡大を行うため、2005年に制定した再生可能燃料基準（Renewable Fuel Standard : RFS）により米国環境保護庁（EPA）が毎年の使用義務量を決定して、バイオ燃料の普及を推進していた。しかし、ここ数年の米国でのガソリン消費の低下やブレンドウォール（RITE Today 2014参照）のため、EPAでは2014年度や2015年度の使用義務量を低減する模様である。一方、非可食バイオマスへの原料転換については、前述したように漸く昨年からセルロース系エタノールの大規模プラントが稼働を始め、今年にはさらに最大規模のプラントがアイオワ州で稼働する予定である。これらのプラントはコーンストーバー等の農業残渣を酵素加水分解して得られた混合糖を原料としてエタノール発酵を行う。一方、従来型コーンエタノールの生産も昨年末にかけて米国では過去最高になった。この理由は、原料であるトウモロコシ価格がこの数年豊作で\$4/ブッシェルと低下していることやバイオエタノール価格の高止まり、米国産バイオエタノール輸出の増大などが原因と言われている。

2.2 次世代バイオ燃料の現状

エタノールに続く次世代バイオ燃料として注目されているのが、バイオブタノールである。ブタノールは熱密度が高く、水にはほとんど溶けないために製油所で混合し、既存のインフラ設備（パイプライン）で輸送できるという大きな利点がある（バイオブタノールの生産方法についてはRITE Today 2014を参照）。

米国では、トウモロコシを原料とした商業レベルでのイソブタノール生産設備が昨年稼働を開始している。この設備では、既存のバイオエタノールプラントの発酵と蒸留工程を改造することによりバイオブタノールを生産している。現状では、米国バイオエタノールの収益性が高く、バイオブタノールの急拡大は難しいが、ブタノールは燃料だけではなく、C4化学品やジェット燃料等への原料としても有望なため、今後の発展が期待されている。

3. 世界のグリーン化学品生産の現状と期待

コハク酸や乳酸、バイオPETなどのバイオベース化学品（グリーン化学品）の市場が拡大しており、今年の世界化学品市場の10%を占めるという予想もある。昨年も欧州大手化学品メーカーが、バイオアクリル酸から高吸水性樹脂の生産に成功したとして話題になった。このアクリル酸の原料は、グルコースを原料とした発酵産物である3-ヒドロキシプロピオン酸である。この他、タイヤメーカーとバイオ企業によるバイオイソプレン生産や、米国バイオベンチャーによるポリアミド原料（ドデカン2酸）の商業生産プロジェクトなどが報告された。グリーン化学品の中でも特に生産が急拡大しているのはバイオプラスチック分野で、上述したバイオPETとバイオPEが市場を牽引している。国内でも今年のバイオプラスチックの市場規模は4万トンを超えると予想されている。用途は、飲料用ペットボトルやレジ袋である。一方、従来型生分解樹脂の代表であるポリ乳酸も、シェールガス採掘における目止め剤や採掘量を増やすための支持材料（ドリリングケミカル）として新たな市場の開拓が進んでいる。

4. RITEの技術開発

4.1 RITEバイオプロセスの特徴

バイオ研究グループでは、これまでに新規技術コンセプトに基づく革新バイオプロセス「RITEバイオプロセス（増殖非依存型バイオプロセス）」を確立し、バイオ燃料や有機酸を始めとしたグリーン化学品を、高経済性で製造する技術開発に大きな成果を上げ、国内外から高い評価を得ている。

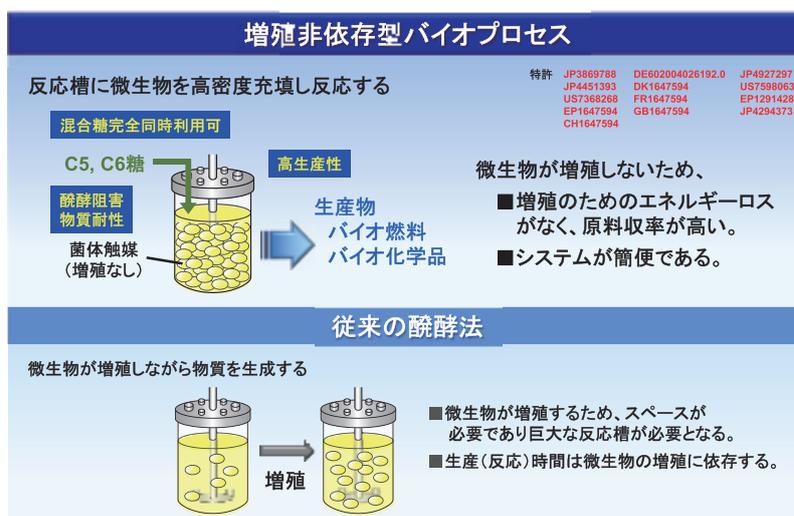


図2 RITEバイオプロセス（増殖非依存型バイオプロセス）の特徴

本プロセスの特徴は、目的物質を効率的に生産できるように代謝設計した微生物（コリネ型細菌）を大量に培養し、細胞を反応槽に高密度に充填後、嫌気的な条件で細胞の分裂を停止させた状態で反応を行う（図2）。

高効率化の鍵は、微生物の増殖を抑制した状態で化合物を生産させることにあり、このため増殖に必要な栄養やエネルギーが不要である。これにより微生物細胞をあたかも化学プロセスにおける触媒のように利用することが可能で、通常の化学プロセスと同等以上の高い生産性（space time yield；STY, 単位反応容積の時間あたりの生産量）を備えたバイオプロセスが実現した。

また、セルロース系バイオマスの加水分解物である混合糖には、セルロース由来のC6糖類と、ヘミセルロース由来のC5糖類（キシロース、アラビノース）が共存しているため、発酵工程に用いる微生物は、混合糖中のC6糖類とC5糖類を同時利用できることが効率的物質生産に必須の条件となる。我々は、コリネ型細菌の代謝系の改良により、C6糖類およびC5糖類の完全同時利用を達成し、効率的なセルロース系バイオマス利用を可能とした。

さらに、セルロース系バイオマスを加水分解した混合糖に存在する発酵阻害物質（フェノール類やフラン類、有機酸類など）に対しても、RITEバイオプロセスは、高い耐性を示す。この理由は、発酵阻害物質の作用機構は微生物の増殖阻害であり、我々のプロセスは非増殖状態で物質生産が行われているため、発酵阻害物質から影響を受けにくいと考えられる（詳細はRITE Today 2013～2014参照）。

現在、コリネ型細菌のゲノム情報に基づいたメタボローム解析や代謝設計、システムバイオロジーを駆使した遺伝子改良により、本プロセスを利用したバイオ燃料やグリーン化学品の拡大を進めている。エタノール、L-、D-乳酸、アミノ酸等の高効率生産に加えて、ブタノールやフェノール等の芳香族化合物など幅広い展開を図っている。次章では、従来の発酵生産では細胞に対する毒性が強く、発酵生産が不可能と言われていた高細胞阻害物質製造技術へのチャレンジについて紹介する。

4.2 高細胞阻害物質の生産技術開発への挑戦

高細胞阻害物質とは、微生物による発酵生産を阻害する物質であり、主に微生物細胞への毒性により、増殖停止など生産性に影響を与える物質を指す。具体的には、フェノールやブタノール等のアルコール類がよく知られている。このような物質を発酵法で生産させると増殖阻害のため低い生産性（生成速度の低下、最終生成物濃度の低下等）を示し、実用生産は困難とされてきた。しかし、我々が開発したRITEバイオプロセスは、増殖非依存型バイオプロセスであるため増殖を伴う従来型発酵法と比較して阻害物質による影響が少なく、さらにコリネ型細菌は、芳香族化合物やアルコールに対する耐性が高い（図3）。これらの特徴を生かして高細胞阻害物質の生産技術開発を行った。次章で独自に開発した2段工程法によるフェノール生産について解説する。

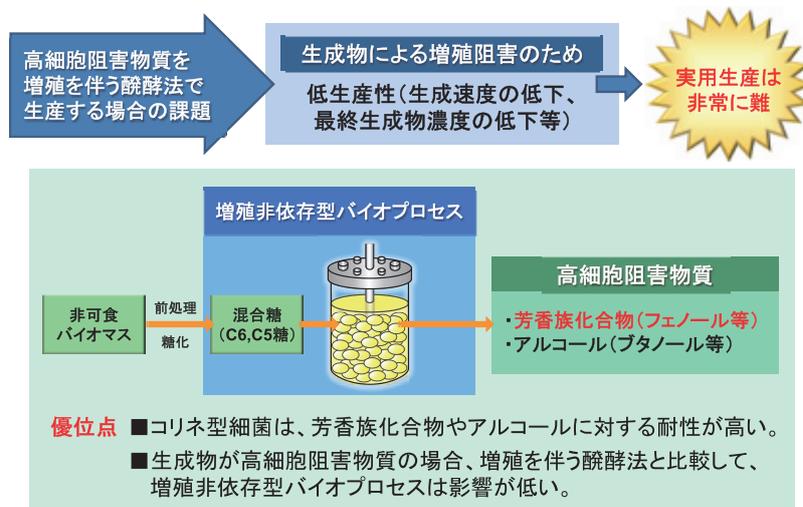


図3 高細胞阻害物質の生産技術開発への挑戦

4.3 2段工程法によるグリーンフェノール生産技術開発

フェノールは、フェノール樹脂やポリカーボネート等の原料として幅広い用途があり、そのグリーン化が期待されていたが、細胞毒性が強く、グリーン化は困難と言われてきた。しかし、我々が開発した「増殖非依存型バイオプロセス」は増殖とリンクせず物質生産が可能のため、フェノール生産においても増殖阻害の回避が期待できること、さらにコリネ型細菌は、0.2%のフェノール存在下でも良好に増殖を示し、0.24%のフェノール存在下においても増殖可能であるなど、大腸菌等の微生物と比較してフェノールに対して高い耐性を示した。我々は、この組み合わせに加えて、実用生産を達成するためには生産プロセスのさらなる改良が必要と考え、増殖非依存型バイオプロセスを利用した「2段工程法」によるフェノール生産法を考案した(図4)。

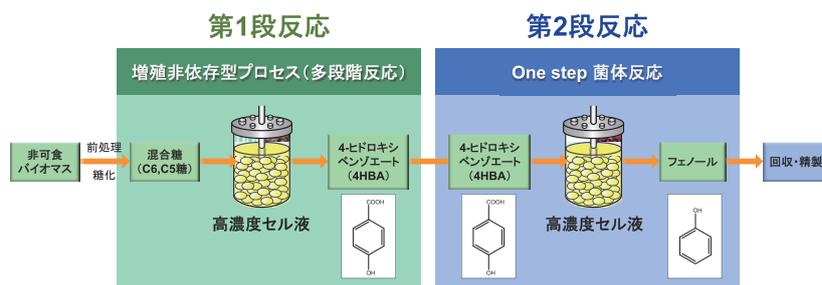


図4 2段工程法によるグリーンフェノール製造プロセス

2段工程法では、細胞毒性の少ない中間体(4-ヒドロキシベンゾエート(4-HBA))を増殖非依存型バイオプロセスで高生産し、続いてこの中間体を原料としてフェノールを生産する。4-HBAからフェノールへの変換は、4-HBA脱炭酸酵素による一段反応であり、フェノールによる該反応への阻害は低く、グルコースからのフェノール直接生産に比べて非常に高い生産性が可能になった。今回開発したグリーンフェノール生産システムは、既存の報告を大幅に上回り、最終フェノール濃度22 g/Lを達成した。今回開発した2段工程法は、これまでにな

い高濃度フェノール生産を可能とし、グリーンフェノール製造技術の実用化を実証するものである。この2段工程法の展開については5章及びトピックスで紹介する。

4.4 100%グリーンジェット燃料生産技術開発

IEA（国際エネルギー機関）によると、2050年に運輸部門で最大のCO₂排出量割合（40%）を占めるのは航空機部門との予想である（IEA Energy Technology Perspective 2010）。現在、航空機からのCO₂排出量は運輸部門の約20%を占めるが、航空機は液体燃料を使用するため抜本的な改善策が容易ではなく、機体の軽量化などの対策が進んでも、旅客数やLCCの増加によりCO₂排出量が増え続けることが大きな理由とされている（図5）。

従って、航空機からのCO₂排出削減対策として、バイオマスを原料とするバイオジェット燃料に大きな期待が寄せられている。現在使用されている石油系ジェット燃料は炭素数C10~C15の分岐および環状飽和炭化水素と芳香族化合物を主成分とする混合物で、その物理的性質は規格化されている。しかし、植物油を水素化した代表的なバイオジェット燃料は、飽和炭化水素化合物のみから構成され、芳香族化合物を添加するために石油系ジェット燃料とブレンドしなければ利用できない。そこで、我々はジェット燃料の規格に適合する多様な分岐および環状飽和炭化水素化合物と芳香族化合物の全てを、バイオマス由来の混合糖から製造可能な、世界初の100%グリーンジェット燃料生産方法を提案した（図6）。

本提案では、前述した化合物の全てをバイオマス由来の混合糖から製造可能な微生物を創製し、従来の発酵生産法では製造が困難な100%グリーンジェット燃料製造技術を開発する。

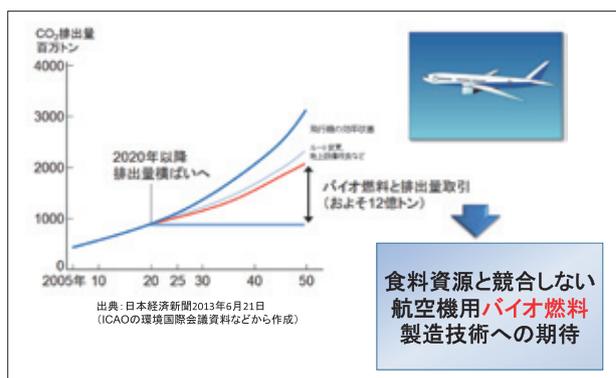


図5 航空機からのCO₂排出量の予測

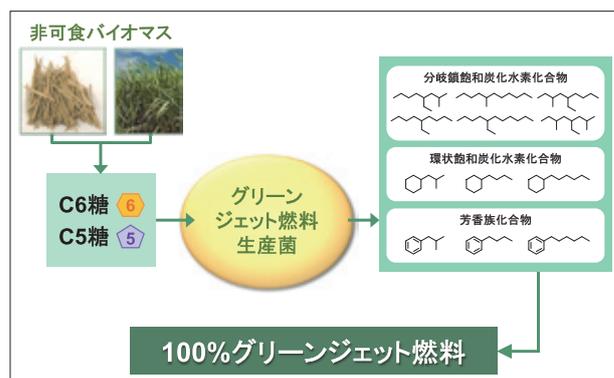


図6 100%グリーンジェット燃料生産技術開発

5. 実用化への取り組み

5.1 グリーンフェノール開発株式会社の設立

前章で述べた世界初のグリーンフェノール製造技術である2段工程法によるフェノール生産を早期実用化するため住友ベークライト社と共同で平成26年5月にグリーンフェノール開発株式会社を設立した。詳細はトピックスを参照されたい。

5.2 ブタノール

次世代バイオ燃料として期待されているブタノールについては、ブタノール合成系遺伝子を導入したコリネ型細菌を用いたRITEバイオプロセスにより、非可食バイオマス由来の混合糖を原料とした生産技術開発を継続している。混合糖からの高変換率（対糖収率）を目指し、代謝工学を駆使してコリネ型細菌の育種を行い、ブタノール生成における高いSTYを実現している。ブタノールはフェノールと同様に微生物の増殖に対し強い細胞毒性を有し、ブタノール生産を阻害することが知られているが、コリネ型細菌は他の微生物よりもブタノール耐性が優れている。我々は、さらに膜を利用した効率的なブタノール回収法と組み合わせてブタノール濃度（～数%）を効率的に濃縮する生産システムの開発に着手している（図7）。また、昨年紹介した航空機燃料素材としての利用をめざしたプロジェクトについては、米国立再生可能エネルギー研究所（NREL）等との国際共同体制で取り組んでおり、独自に開発した突然変異導入法による高ブタノール耐性株の取得や高機能性酵素の導入による菌体改良により、糖類からの高いブタノール収率を達成した。ブタノール製造技術については、実用化菌体の開発は順調に進んでおり、今後は回収法を含めたブタノール生産システムとして、関心のある企業と共に実用化開発を進めていきたい。

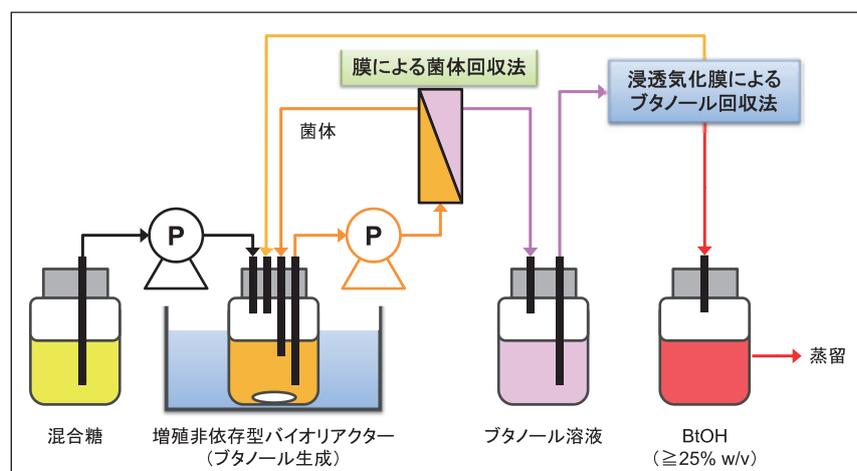


図7 連続生成反応と膜回収法を組み合わせたブタノール生産システム

5.3 シキミ酸の製造技術開発

シキミ酸は、インフルエンザ治療薬タミフル（oseltamivir）合成の中間体として、世界的に需要が高まっている。タミフルはパンデミック対策のため備蓄が必要であるが、原料のシキミ酸の不足が課題であった。シキミ酸は3つの不斉炭素原子を有する環状ヒドロキシ酸でありタミフルの他、様々な医薬品、化成品、化粧品、農薬等の原料や合成中間体として重要である。従来シキミ酸は、植物のシキミ（ハッカク）の乾燥果実より抽出、精製されていたため、低収量でコストが高かった。また、シキミ生産が中国に集中し、乱獲などの問題もあったため、安価な再生可能原料からのバイオプロセスによる生産が望まれていた。RITEでは、コリネ型細菌の芳香族アミノ酸等の生合成経路の中間体であるシキミ酸に早くから着目し（図8）、糖類の取り込み系やシキミ酸生合成経路の強化、シキミ

酸分解経路の遮断等の改良をコリネ型細菌に実施し、今まで報告されていた値と比較して大きく上回るシキミ酸生産性を達成した。本技術開発は、多数の反響を企業から頂いており、実用化開発を目指した共同研究や共同開発に繋げていきたいと考えている。

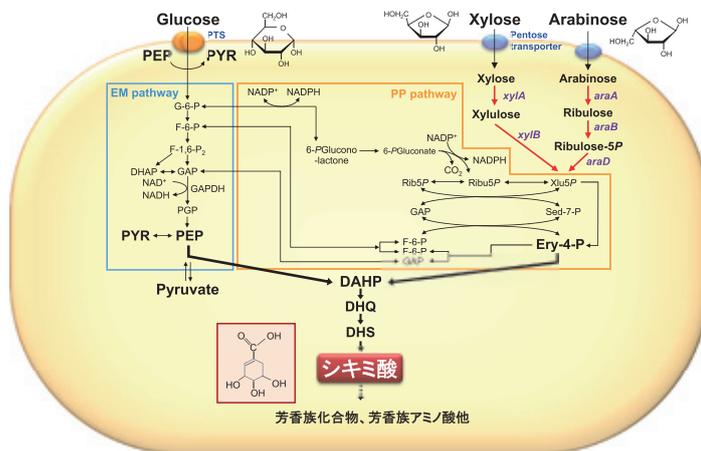


図8 コリネ型細菌における芳香族化合物生成とシキミ酸

6. 終わりに

北米で新型天然ガス（シェールガス）の生産が本格化し、世界のエネルギー市場や経済・産業構造を大きく変える「シェールガス革命」が進行している。シェールガス等を原料とする「新・石油化学工業」は、今後急速な生産規模の拡大が予測されている。これによるメタンやエチレンベースの化学品は、かなりのコスト競争力を持つと予想されるが、逆に、炭素数4以上の化学品、および芳香族化学品は価格上昇が予測されている（図9）。このような動きは、将来的にはバイオリファイナリー産業にとって追い風になると予測される。

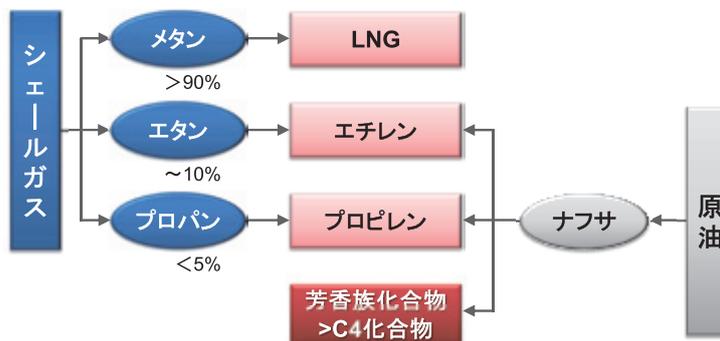


図9 シェールガス革命による化学産業への影響

今後とも、本誌面で紹介した従来の発酵法では生産が困難であった「高細胞阻害物質」であるフェノール類のような芳香族化合物や、ブタノールに代表されるグリーンジェット燃料の生産技術開発などに注力し、バイオリファイナリー産業の拡大による地球環境保全や持続可能社会の実現に貢献していきたい。