

粉体工学情報センター理事長 山田 幸良 殿

平成 22 年度研究助成報告（兼、終了報告）

研究題名	メカノケミカル効果と希硫酸触媒作用のシナジー効果によるセルロースからのグルコースへの変換プロセス開発
研究期間	平成 21 年 4 月 1 日～平成 23 年 3 月 31 日（2 年間）
研究機関・所属 研究者名	東北大学・多元物質科学研究所 張 其武

1. 平成 22 年度研究成果の概要

非食用バイオマスの糖化には、次の 2 つの克服すべき課題がある。1) セルロースの糖化に効果的な酵素の開発、2) セルロースの糖化を阻害するリグニンのセルロースからの除去。

本研究助成では、粉碎と触媒作用のシナジー効果を活用し、セルロースの加水分解を図る。同じ C-H-O (OH) 構造を持つ澱粉などに比べてセルロースはこれらの分子は強固に水素結合した巨大分子から構成されている。本研究の目的を達成するにはセルロースを加水分解し、その結合を破壊する必要があり、そのために種々の添加剤との混合粉碎を試みた。結果として、尿素などアンモニウム系物質を添加し、湿式粉碎するとセルロースの分子量が小さくなり、ろ過分離ができないほどになり、ゲル化する現象が確認された。完全なグルコース単分子までになると言う結果は得られていないが、セルロースの分子間の強固な水素結合がアンモニウム系物質の存在により緩められ、セルロース分子が確実に小さくなっていく。本研究結果では、セルロースはゲル状になり、分子量が低下しており、これにエタノール発酵のための酵素添加処理すると、加水分解して、エタノールが効率良く製造できることが期待できる。

2. 助成期間内での研究成果の概要

粉碎と触媒作用のシナジー効果を活用し、セルロースのグルコースへの加水分解について種々の可能性を実験的に探索した。その実験によると、巨大分子量（約 3 千）のグルコースユニット（セルビオース構造）をもつセルロース分子は、グルコース単分子まで低分子化することはできなかったが、それに近い、ゲル状化した状態まで分子量を低減できたことが判明した。多くの種類の添加剤の効果を検討したが、リン酸塩系固体と尿素などのアンモニウム系物質の添加によりセルロース分子は破壊され、低分子化でき、これらの添加剤は、水に可溶であり、洗浄分離でき、低分子化したセルロースが単独で回収できることが分かった。低分子化したセルロースは、酵素処理により、エタノールが製造できる。本研究成果は、これまでのバイオエタノール製造で大きな障害になっていたセルロースとリグニンの分離工程が、本研究の手法により効果的に行われ、バイオエタノール製造に明るい見通しを与えた内容と云える。

3. 研究発表

題 目：バイオマスエネルギー利用における粉碎操作の活用

発表者：張 其武

粉体工学会春期研究発表会 平成 23 年 5 月 24, 25 日 (総評会館、東京)

報告書（詳細）

メカノケミカル効果と希硫酸触媒作用のシナジー効果によるセルロースからのグルコースへの変換プロセス開発

東北大学・多元物質科学研究所

張 其武

1. 本提案研究の背景 ～新しい非食用バイオマスからのセルロースぶんり・低分子量化

バイオエタノール製造の原料は、サトウキビやトウモロコシなどの食用バイオマスが主流である。しかし、食用バイオマスを原料とするバイオエタノールの製造では、どうしても食用との競合が課題であり、非食用バイオマスからのエタノール製造法開発への期待が強い。これを背景として非食用バイオマス（木質系）からのエタノール発酵製造法が種々研究されている。最大の課題は、原料となる木質系バイオマスに含まれるセルロースの単独分離である。逆にいえば、木質系バイオマスの主成分であるセルロースと、エタノール発酵阻害因子であるリグニンの除去がポイントであり、そのための分離エネルギーが、非食用バイオエタノール製造コストを押し上げ、商業化できないでいる大きな要因である。但、セルロースがリグニンから分離できたとしても、硫酸法でセルロースの可溶化を目指す試みがあるが、生成物には可溶化したセルロースと硫酸の混合物であり、両者の分離が、バイオエタノール製造における第2の障害になる。もしも、木質系バイオマスから、簡単にセルロースのみを分離でき、かつ、セルロースの分子量を低減できる処理プロセスが開発できれば、それに直接酵素を添加してエタノール発酵できる。

そこで、本研究では、従来法にない新しい木質系バイオマスからのセルロースの単独分離と、硫酸法によらないセルロースの低分子量化を目指した。その方法は、従来のメカノケミカル法ではなく、添加物との相互作用によるセルロースの低分子量化・単独分離法を開発することを目的とした。

2. 本研究の目的・狙い

研究の背景に記したように、本研究では、木質系バイオマスからのセルロースの単独分離と、硫酸法によらないセルロースの低分子量化を目指した。その手法は、セルロースを添加剤存在下で粉碎し、両物質間でのメカノケミカル相互作用により、セルロースを単独分離し、かつその分子量を低減することを考えた。すなわち、従来法の“セルロースの希硫酸（触媒）による可溶化によるグルコースへの変換”の発想を転換し、硫酸に代わる、例えば、新しい触媒的作用の役割を持つ物質の探索である。それと同時に、粉碎によるセルロース分子量の低分子化も期待した。

3. 試料と実験方法

試料は、モデル試薬として、セルロース試薬を用いた。また、添加剤として H_2SO_4 、 H_3BO_3 な

どの酸溶液や $\text{Al}(\text{OH})_3$ や V_2O_5 等の酸化物、あるいは NbPO_5 等のりん酸塩、尿素系物質を準備した。

粉碎は、遊星ミル (Fritsch, P-7, Germany) を用いた。

実験方法は、基本的にアルドリッチ製のセルロース試薬品を用いて、各種な添加物と混合粉碎した。粉碎は、乾式粉碎と、水を添加した湿式粉碎の2通りとした。粉碎の強さは、ミル回転速度を調整して行った。粉碎物の評価は、水洗によるその重量な変化を測定し、水溶性に変わった量を測定した。また、添加物は、試薬品そのままの使用と実験室で合成したものもある。特に、リン酸塩やバナジウム酸塩など複合酸化物は実験室で合成したが、その合成では、原料の粉碎により、低温度で合成ができたものもあった。粉碎産物 (セルロース+添加剤) を、常温下あるいは 100°C で加熱して、セルロースの加水分解 (水溶性向上) を評価した。その理由は、セルロースの水溶性は、セルロースからグルコースへと変換する酵素反応を効率良く行うための重要な基礎データになるからである。

なお、セルロースの水溶性化 (可溶化) の評価実験の前に、添加試薬として効果が期待されているものの、同試薬の入手が困難な BPO_4 の合成を試みた。原料は $(\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4)$ を等モル比で混合し、遊星ミルで粉碎処理後、 $600\sim 1200^\circ\text{C}$ の温度範囲で1時間加熱した。その結果、どの温度でも BPO_4 は合成できるが、 600°C で調整した試料を以後用いることとした。

次により、セルロースからグルコースを効率良く得ることが本研究の目的であり、そのため、セルロースを水に可溶化させるための検討を行った。その検討の一つとして、

- 1) セルロースに対して硫酸の他 BPO_4 などを添加、更に水添加の条件で遊星ミルで混合し、その後、 100°C 程度で加熱して、セルロースの可溶性向上を確認した。
- 2) セルロースに $\text{Al}(\text{OH})_3$ 、 FeOOH 、 Nb_2O_5 等の無機物を添加し遊星ミルで混合粉碎し、その後水を添加して 100°C 程度に加熱して、同様にセルロースの可溶化を確認した。

4. 実験結果と考察

4.1 水酸化物との混合粉碎

セルロースと水酸化物との間には、粉碎しても新しい合成物が得られるという結果はなかった (混合物として存在)。しかしながら、この混合物に中のセルロースは、原料のセルロースとは同一ではないことが確認された。例えば、下図に示したように、塩酸溶液に試料を溶かした写真を比較すると、その差が明瞭である。すなわち、原料セルロースは酸溶液には溶けないので、ビーカの底に沈殿しているが、粉碎試料では、溶けて溶液状になっており、その色は黄色見を帯びた透明である。

粉碎した試料でセルロースが可溶化する原因は、明確ではないが、添加物 (水酸化物) との混合粉碎によりセルロース分子が物理的に非常に低下し、両物質間である種の化学的変化が起こったものと考えられる。

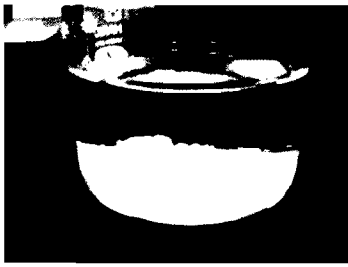


写真1 セルロース原料

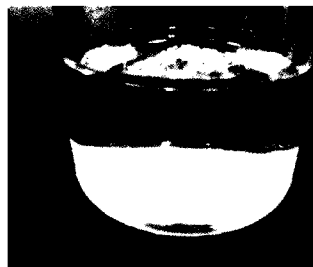


写真2 混合粉碎産物

4.2 複合リン酸塩などの混合粉碎

固体酸触媒の働きを期待し、りん酸アルミニウム、リン酸鉄、リン酸ホウ素、バナジウム酸アルミニウム（以上は実験室で合成）などを用い、セルロースとの混合粉碎を行った。なお、りん酸ホウ素の合成では、図1にそのXRDパターンを示すが、600℃の加熱で合成できた（従来法より低温で達成＝理由は粉碎による活性化）。

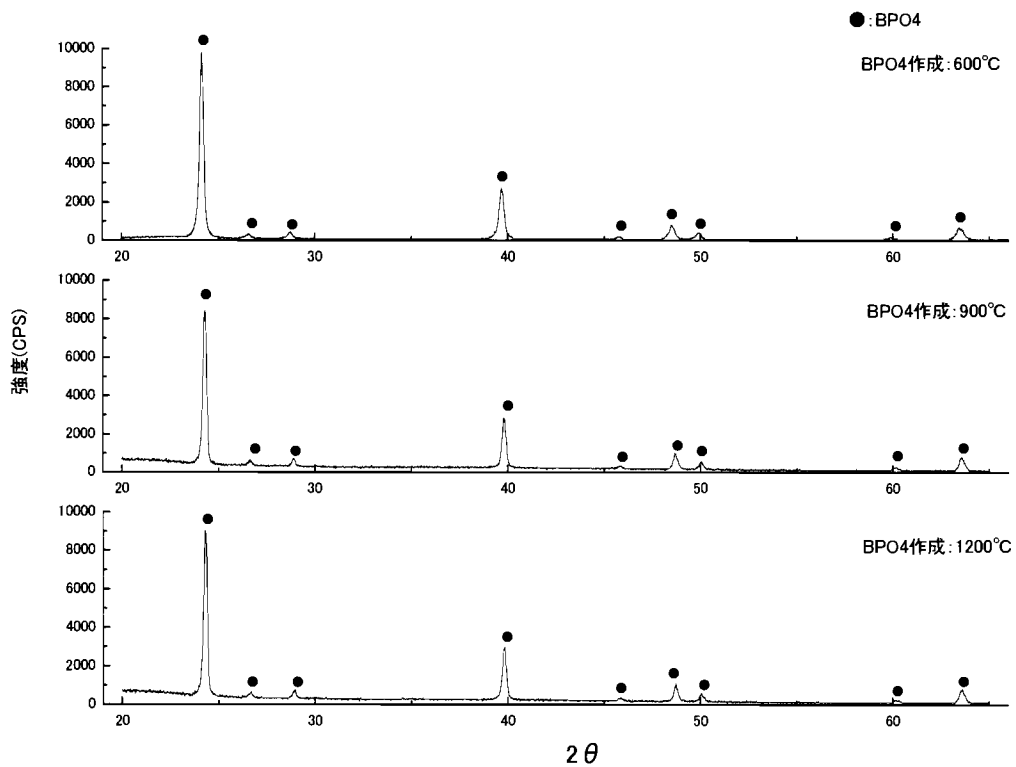


図1 合成したBPO₄のXRDパターン

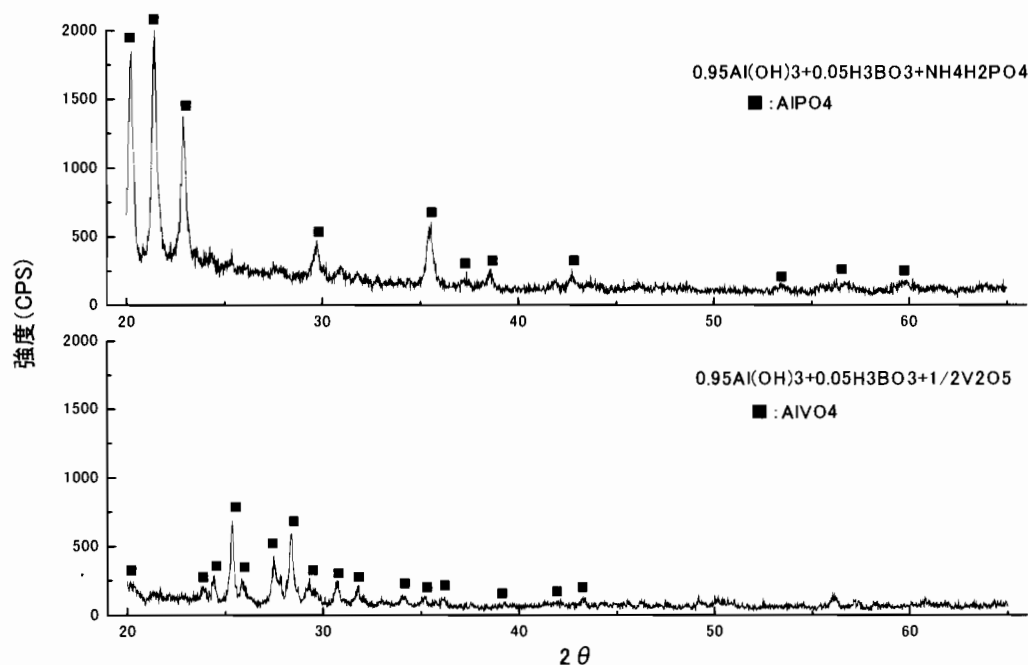


図2 合成した AlPO_4 と AlVO_4 のXRDパターン

図2に示すように、複合リン酸塩やバナジウム化合物も比較的低温で合成できた。これらの物質をセルロースに添加して混合粉碎し、その産物に水を添加して、室温～100℃までの温度範囲に調整し、更に湿式粉碎して水洗し、その重量変化を測定した。その結果の1つとして、表1にはりん酸アルミニウム(AlPO_4)(1)、バナジウム酸アルミニウム(AlVO_4)(2)を使用して得られた結果を示す。いずれの条件でも、残存量は100%を超える数値があるが、これらは、実験誤差であり、したがって、明確な重量減少がないと判断する。したがって、これらの試料添加によるメカノケミカル反応・相互作用によるセルロースの加水分解はないといえる。

表1 セルロースと $\text{AlPO}_4/\text{AlVO}_4$ との混合粉碎 - 水洗後の重量変化

No	粉碎条件	加熱条件	H ₂ O(ml)	サンプル(g)	残存量(%)
①	-	100℃ 3h(蓋有り)	-	2	101.1
	600rpm 30min	95℃ 3h	0.5	1	95.8
②	-	100℃ 3h(蓋有り)	-	2	103.6
	600rpm 30min	95℃ 3h	0.5	1	97.8

一方、りん酸ホウ素をセルロースに添加して粉碎し、加熱してろ過した場合の結果を表2に示す。表より、試料の重量が75～95%の範囲にあり、重量減少した結果が認められ、セルロースが水溶性へと変換しているといえる。ただし、ろ液を加熱し蒸発させて回収した固体試料は、確実にグルコースであることはまだ確認していないので、りん酸ホウ素の効果をさらに詳細な検討する必要がある。

表2 セルロース-りん酸ホウ素混合粉碎-水洗後の重量変化

No	BPO ₄ (g)	Cel(g)	粉碎条件	H ₂ O(ml)	サンプル(g)	加熱条件	残存量(%)
1	1	1	300rpm 2h	1.0	1	95°C 3h	75.6
2	1	3	-	2.0	1	105°C 3h	83.4
3	1	3	600rpm 30min	1.0	1	95°C 3h	95.2
				13.6	1		94.2
				2.0	1	105°C 3h	81.0
4	1	3		1.0	1	95°C 3h	92.2
				13.6	1		88.2
				1.5	0.75	105°C 3h	84.0

4.3. アモンニウム系との混合粉碎

グルコースの発酵によるエタノール合成は、酒造と同じで太古の昔から知られている。グルコースは自然界には大量には産出せず、したがって、それを製造するには原料となる物質が必要である。グルコース製造の原料としては、米やトウモロコシなどの食品に含まれる澱粉が最も知られている物質である。澱粉には、おおよそ 300 個のグルコースユニットがあり、その加水分解反応は容易に起こる。しかし、澱粉から工業用エタノール製造は、食料と競合し、したがって、それに代わるグルコース原料が必要である。そこで注目されているのが非食用バイオマス中のセルロースである。このセルロースを原料とするエタノール製造はエネルギー業界で注目されているが、商業化には課題が多い。すなわち、セルロースは澱粉の 10 倍 (3000 個) のグルコースユニットをもつが、セルロースを簡単に加水分解する方法がない。もちろん、濃硫酸によりセルロースの加水分解は可能であるが、硫酸と生成物 (グルコース) との分離が困難であり、問題の解決には至っていない。バイオ化学の進歩により有効な酵素が開発され、セルロースからグルコースへの糖化は可能になってきたが、セルロースを効果的・経済的に木質系バイオマスから分離する技術が無いことからまだ実用化できない状況にある。

セルロース中のグルコースユニットは水素結合にあり、非常に強固である、リグニンなども多く含む木や植物から、強固に水素結合しているセルロースを分離することが必要になっている。そこで、本研究では、モデル試料としてセルロースを用い、アモンニウム系物質を添加して混合粉碎し、セルロースの単独分離、可溶化の可能性を追求した。添加物は、1 種類と 2 種類に分けて実験した結果を、それぞれ表 3 と表 4 に示す。

いずれの実験結果について、多少の重量変化がみられたが、確実にグルコースへの糖化を成功したといえない。にもかかわらず、興味深い現象として、たとえば、写真 3 に示したように、セルロースと尿素との湿式粉碎試料から水洗したスラリーは、1 日以上に放置しても上澄みが見えず、不透明で濁ったままの状態である。つまり、セルロースの分子単位は、非常に小さくなり、ゲル化したことが分かる。これは、アモンニウム基によりセルロースの水素結合がある程度破壊されていると思われる。この結果は重要であり、リン酸塩系固体と尿素などのアンモニウム系

物質をセルロースの添加して粉碎すると、セルロース分子は破壊され、低分子化できると云える。これらの添加剤は、水に可溶であり、洗浄分離でき、低分子化したセルロースが単独で回収できる。低分子化したセルロースに酵素を添加・糖化处理することにより、エタノールが効率良く製造できることが期待できると思われる。この点は、今後確認する必要があるが、ここで得られた結果は、これまでのバイオエタノール製造で大きな障害になっていたセルロースとリグニンの分離工程が、クリアーできるのではと思われる。本研究で得た成果により、木質系バイオマス（非食用）からのバイオエタノール製造に明るい見通しを与えた内容と確信する。

表3 アモンニウム系試料との混合粉碎産物の重量変化

添加試料1種類		試料(g)	Cel(g)	試料(g)	残渣(g)	減少(g)	減少(%)
		Cel+urea	乾式	1.0009	1.0028	1.0003	0.5510
	湿式	1.0016	1.0032	2.0048	1.1596	-0.8452	-42.1588
Cel+(NH ₄) ₂ SO ₄	乾式	1.0004	1.0012	1.0041	0.5847	-0.4194	-41.7687
	湿式	1.0025	1.0000	2.0025	1.4501	-0.5524	-27.5855
	2ml 水	1.0001	1.0004	2.0005	1.0605	-0.9400	-46.9883
	8ml 水	1.0005	1.0005	2.0010	1.0911	-0.9099	-45.4723
Cel+(NH ₄) ₂ SO ₄ (再)	湿式	1.0016	1.0016	2.0032	1.0661	-0.9371	-46.7802
Cel+NH ₄ NO ₃	乾式	0.9998	1.0041	1.0029	0.5551	-0.4478	-44.6505
	湿式	1.0041	1.0026	2.0067	1.2784	-0.7283	-36.2934
Cel+NH ₄ NO ₃ (再)	湿式	1.0030	1.0000	2.0030	1.0575	-0.9455	-47.2042
Cel+NH ₄ H ₂ PO ₄	乾式	1.0002	1.0006	1.0026	0.5427	-0.4599	-45.8707
	湿式	1.0009	1.0021	2.0030	1.1058	-0.8972	-44.7928
Cel+NH ₄ Al(SO ₄) ₂	乾式	1.0032	1.0040	1.0028	0.5453	-0.4575	-45.6223
	湿式	1.0002	1.0003	2.0005	1.0873	-0.9132	-45.6486
Cel+NH ₄ HSO ₄	乾式	1.0024	1.0018	1.0032	0.5252	-0.4780	-47.6475
	湿式	1.0016	1.0012	2.0028	1.0667	-0.9361	-46.7396
Cel+CH ₃ COONH ₄	乾式	1.0051	1.0038	1.0006	0.5359	-0.4647	-46.4421
	湿式	1.0022	1.0020	2.0042	1.0506	-0.9536	-47.5801
Cel+ガラス	乾式	1.0023	1.0010	1.0032	1.0021	-0.0011	-0.1096
	湿式	1.0042	1.0011	2.0053	1.9532	-0.0521	-2.5981
Cel+(urea)	湿式 6ml 水	1.0043	1.0025	2.0068	1.2879	-0.7189	-35.8232
Cel+(ガラス)	湿式 6ml 水	1.0023	1.0011	2.0034	2.0683	0.0649	3.2395

表4 二種類添加物の使用により混合産物からの重量変化

		試料(g)	Cel(g)	Kaolin(g)	試料(g)	残渣(g)	減少(g)	減少(%)
NH ₄ HSO ₄	乾式	0.5047	1.0016	0.5018	1.0008	0.7420	-0.2588	-25.8593
	湿式	0.5000	1.0027	0.5024	2.0051	1.5402	-0.4649	-23.1859
NH ₄ H ₂ PO ₄	乾式	0.5017	1.0015	0.5015	1.0035	0.7772	-0.2263	-22.5511
	湿式	0.5018	1.0044	0.5029	2.0091	1.5510	-0.4581	-22.8013
NH ₄ Al(SO ₄) ₂	乾式	0.5030	1.0003	0.5017	1.0029	0.8418	-0.1611	-16.0634
	湿式	0.5025	1.0000	0.5028	2.0053	1.6744	-0.3309	-16.5013
CH ₃ COONH ₄	乾式	0.5051	1.0026	0.4999	1.0008	0.7721	-0.2287	-22.8517
	湿式	0.5032	1.0001	0.5009	2.0042	1.4703	-0.5339	-26.6391
(NH ₄) ₂ SO ₄	乾式	0.5023	1.0008	0.5016	1.0007	0.7478	-0.2529	-25.2723
	湿式	0.5007	1.0017	0.5013	2.0037	1.5201	-0.4836	-24.1353
		試料(g)	Cel(g)	Kaolin(g)	試料(g)	残渣(g)	減少(g)	減少(%)
(NH ₄) ₂ SO ₄	湿式	0.5025	1.0006	0.5015	2.0046	1.0861	-0.9185	-45.8196
NH ₄ HSO ₄	湿式	0.5009	1.0000	0.4999	2.0008	1.0755	-0.9253	-46.2465
		試料(g)	Cel(g)	urea(g)	試料(g)	残渣(g)	減少(g)	減少(%)
(NH ₄) ₂ SO ₄	湿式	0.5025	1.0006	0.5015	2.0046	1.0861	-0.9185	-45.8196
NH ₄ HSO ₄	湿式	0.5009	1.0000	0.4999	2.0008	1.0755	-0.9253	-46.2465



写真3 セルロースと尿素との湿式粉碎のスラリー

5. むすび

粉碎と触媒作用のシナジー効果を活用し、セルロースのグルコースへの加水分解について種々の可能性を実験的に探索した。その結果、巨大分子量（約3千）のグルコースユニット（セルビオース構造）をもつセルロース分子は、グルコース単分子まで低分子化することはできなかったが、それに近い、ゲル状化した状態まで分子量を低減できることが分かった。多くの種類の添加剤の効果を検討したが、リン酸塩系固体と尿素などのアンモニウム系物質の添加によりセルロース分子は破壊され、低分子化でき、これらの添加剤は、水に可溶であり、洗浄分離でき、低分子化したセルロースが単独で回収できることが分かった。低分子化したセルロースから、酵素処理により、エタノールが製造できることが期待でき、ここに本研究の結果の意義があり、本研究成果は、これまでのバイオエタノール製造で大きな障害になっていたセルロースとリグニンの分離工程が、本研究の手法により効果的に行われ、バイオエタノール製造に明るい見通しを与えた内容と云える。

謝辞：

本研究成果は、粉体工学情報センター研究助成（平成 21-22 年度）により達成されました。ここに記して謝意を表します。