

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：10106

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07871

研究課題名(和文) 低エネルギーで真に実用可能な結晶セルロースの加水分解法の検討

研究課題名(英文) Study on the practicable method for the hydrolysis of crystalline cellulose by low-energy cost

研究代表者

服部 和幸 (Hattori, Kazuyuki)

北見工業大学・工学部・准教授

研究者番号：20333669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：微結晶セルロースや針葉樹・広葉樹パルプ、再生紙由来のセルロースをエチレンジアミンとチオシアン酸ナトリウムの混合物に溶解し、それらの溶液に非水系の有機溶媒を添加することで、水中でも安定な非結晶セルロースの調製に成功した。このセルロースの加水分解性を、従来法で得た非晶セルロースや天然セルロースと比較し、当該非晶セルロースが著しく加水分解を受け易いことを見出した。この理由として、水素結合の割合が結晶セルロースや従来の非晶セルロースと異なることを、赤外吸収スペクトルで明らかにした。また、この非晶セルロースの固体NMRを測定し、セルロース分子の運動性について検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

木材由来の高結晶性セルロースを溶解する新規な溶媒を見出した。この溶媒にセルロースを室温で溶解し、アルコールやアセトンなどの非水系有機溶媒を加えて析出する固体セルロースの性質について調べた。このセルロースは完全な非晶性であるが、他の手法で得られる非晶セルロースと異なり、水中で1ヶ月放置しても最結晶化しなかった。この非晶セルロースは、結晶セルロースや従来の非晶セルロースに比べて、酵素や酸での加水分解性が著しく高いことが分かった。本研究による単純で分解性の高いセルロースを得る手法は、木材パルプからバイオ燃料や化成品の原料を得るのに有効なプロセスとなる。

研究成果の概要(英文)：The facile preparation, aqueous stability, and hydrolysis characteristics of amorphous cellulose regenerated from cellulose solutions using amine/inorganic salt solvents was investigated. Highly crystalline cellulose was dissolved in a mixture of ethylenediamine and NaSCN at room temperature; subsequent addition of alcohol, acetone, or acetonitrile immediately precipitated the bulk cellulose in a completely amorphous state. Only a small amount of the amorphous cellulose crystallized during one month in 50 °C water, as revealed by XRD and CP/MAS solid state ¹³C NMR analyses. The susceptibility of the amorphous cellulose to acid and enzymatic hydrolysis was remarkably enhanced compared with the original highly crystalline cellulose. This simple method for preparing the specific amorphous cellulose, coupled with the high susceptibility of the product cellulose to hydrolysis, suggests that this is a useful process for the production of biofuels and biochemicals from chemical pulp.

研究分野：糖質化学

キーワード：セルロース セルロース溶媒 無定形セルロース 非結晶セルロース

1. 研究開始当初の背景

バイオマスからエタノールが製造されるようになって久しい。近年では燃料としてだけでなく、そこから化成品を合成する技術、バイオプラスチックの合成研究も盛んである。これらを広く普及させるには、デンプン・砂糖を原料とするのではなく、非食料であるセルロースを原料としなければ真の実用とはならない。セルロースとデンプンはどちらも加水分解すればグルコースになるが、天然セルロースはデンプンと異なり固い結晶構造をとっており、酸や酵素での分解に激しく抵抗する。下表のように、現行のセルロース分解法やその前処理は、エネルギー収支や経済性の観点から実用の目処が立たない。しかし、結晶セルロースを低エネルギーで安価にグルコースまで分解する新手法が見つければ、事態は一気に好転する。

表1. 現在のセルロース加水分解法およびその前処理技術 (分解まで進むものも含む)

手 法	問 題 点
強酸処理	装置が腐食。廃酸の再利用困難。セルロースの過分解。
高温・高圧水による爆砕	エネルギーコスト大。危険。セルロースの過分解。
微粉碎	当手法だけでは効果が低い。
溶解処理	相応しい溶媒が少ない。経済性が悪い。
酵素のみによる直接分解	大量の酵素が必要。極めて時間がかかる。経済性が悪い。

セルロースの結晶構造を壊すには、溶解するのが最も望ましい。しかし、セルロースを溶解できる溶媒は少ない。われわれは以前、低級アミンにある種の無機塩を添加したものが室温でセルロースを溶解できることを見出した。最近、この溶液から特異な性質の非結晶のセルロースが得られることを発見した。この性質を利用すれば、セルロースが容易に加水分解できると考えた。

2. 研究の目的

全ての天然セルロースは結晶状態で存在し、理論上は酸や酵素で分解しうるものの、実際には結晶表面や、わずかに存在する非晶領域から少しずつしか分解しない。そこで、以前に申請者らが開発したアミン/無機塩から成る溶媒にセルロースを溶解して、結晶構造をまず破壊する。その溶液に非水系の貧溶媒を加えて得られる特異な非晶セルロースの加水分解性を明らかにすることが本研究の目的である。一般に非晶セルロースは水中で、II型とよばれる結晶に変態するのが定説である。しかし、本研究の非晶セルロースは、温水中でも結晶化がほとんど起こらない。重合度の大小に関わらずである。これならば、天然セルロースと比べてはるかに分解され易い筈である。これを検証する。種々の条件で酵素あるいは酸で加水分解を行い、天然セルロースや既知の手法で得られる通常の非晶セルロースと、加水分解性の違いを比較する。

本研究の非晶セルロースが高い加水分解性を示すならば、その理由を解明することが重要である。われわれが見出した溶媒中で、セルロースは液晶性を示す特異な性質がある。従って、そこから調製される非晶セルロースは、通常の非晶セルロースと分子の集合状態が異なっていると考えている。赤外吸収スペクトルおよび固体NMRで、水素結合の状態や分子鎖の運動性(緩和時間)を調べて、加水分解性や水中の安定性と関係づける。水素結合や運動性を結晶セルロース

と比較すれば加水分解性が異なる理由が解明できる。また、運動性を通常非晶セルロースと比較すれば、本研究の非晶セルロースが水中でも安定な理由が説明できる。

3. 研究の方法

(1) 特異な非晶セルロースの調製

エチレンジアミンとNaSCNを55/45の割合で混合し、セルロースの溶媒とした。この比率は、セルロースの溶解度が最大となるように最適化したものである。これに、市販の微結晶セルロース、バクテリアセルロース、濾紙、木材パルプなど、分子量および結晶化度の異なるセルロースを室温で溶解した。分子量は粘度法(TAPPI標準法)で、結晶化度はX線回折から見積もった。溶液が液晶性を示すように、各セルロース濃度を7~10%にした。溶解や液晶の判断は偏光顕微鏡で行った。溶液は数十グラムの規模で作製したが、スケールアップも検討した。小規模の場合と異なり均一な溶解が困難であったため、回転羽を用いた攪拌方法を採用して改善した。得られたセルロース溶液にエタノールを加え、非晶セルロースを沈殿させた。濾過・乾燥した後、X線回折、赤外吸収スペクトルで非晶性および溶媒の除去を確認した。以上、調製の概略を右図に示す。なお、用いた溶媒は回収し、蒸留で再利用を検討した。

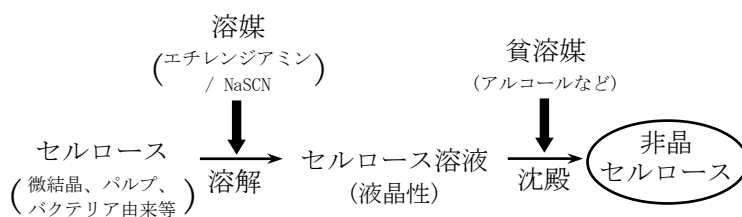


図. 非晶セルロースの調製法

(2) 非晶セルロースの加水分解

(1)で調製した非晶セルロースの加水分解性を、従来法で得た非晶セルロースや天然セルロースと比較した。グラインダーで粒径を揃えた非晶セルロースを、希硫酸、濃硫酸(72%)、酵素セルラーゼを用いて加水分解を行った。温度・時間を変えながら系統的に実施し、各セルロースの分解性を比べた。比較の方法は、反応液の一部を一定時間毎に取り出し、生成したグルコースとそのオリゴマーをHPLCで定量した。不溶部については、粘度法で分子量の変化を分解前のセルロースと比較し、X線回折で結晶化度の変化を追跡した。

(3) 非晶セルロースの高次構造と加水分解性の関係解明

非晶セルロースを重水(D₂O)に浸し、乾燥後、赤外吸収スペクトルを測定して、水素結合していない水酸基のピークシフトを観察した。また、固体NMRにおいて、¹Hの縦緩和時間を成分ごとに分離できる2次元手法を利用して、固体非晶部の構造を調べた。非晶部と結晶部の運動性の違いを比較し、加水分解性と関係づけた。

4. 研究成果

(1) 特異な非晶セルロースの調製と水中での安定性評価

市販の微結晶セルロース、木材パルプ(サルファイト蒸解法)、再生紙由来のセルロースをTAPPI標準法で分子量を測定し、それぞれDP216、716、550の結果を得た。これらの結晶化度をX線回折で調べると、それぞれ0.89、0.80、0.70であった。エチレンジアミンとNaSCNを種々の割合で混合し、これに微結晶セルロースを溶解して最大溶解度を調べた。エチレンジアミン/NaSCN

の割合が55/45でセルロースの溶解度は最大16wt%に達した。木材パルプ、再製紙についてもそれぞれ溶解し、濃度10%の3種類のセルロース溶液を得た。各セルロースは1g使用したが、微結晶セルロースについては、20gに規模を拡大して調製した。溶解の進行とともに粘度が上昇するため小規模の場合よりも攪拌が困難であったが、回転羽を用いた新規な溶解方法を確立させた。このようにして得られた各セルロース溶液にエタノールを加え、固体のセルロースを沈殿させた。得られた固体セルロースを乾燥してIRスペクトルを測定すると、溶媒由来のNaSCNを微量含んでいることが分かったが、メタノールで繰り返し洗浄することにより完全に除去された。X線回折で結晶性を調べると、いずれのセルロースも完全な非晶体であった。

これらの非晶セルロースを50℃の温水中で12時間、1日、3日、1週間浸し、一部を取り出して乾燥した後、X線回折および固体NMRを測定したところ、初めの12時間でわずかに結晶化が進行し、一部がⅡ型の結晶となったが、その後は結晶化が全く進行せず、ほぼ無定形を保っていることが分かった。この結果はセルロースの分子量や種類によらず、他の方法で調製した非晶セルロースには見られない新規な性質であった。

(2) 非晶セルロースの加水分解性の検討

(1)で調製した3種類の天然セルロース、およびそこから得られる非晶セルロース(本手法および他の手法で調製したもの)について分解性を比較した。各々のセルロースをグラインダーで粒径を揃え、希硫酸、濃硫酸(72%)、酵素セルラーゼを用いて加水分解を行った。温度・時間を変えながら系統的に実施した。加水分解後、水溶部中のグルコースおよびそのオリゴマーをHPLCで定量したところ、本研究手法で得た非晶セルロースは、天然セルロースよりも5倍以上多かった。また、従来手法で得た非晶セルロースと比較しても、3倍以上の加水分解物が得られた。

水に不溶の部分については、分子量の変化を加水分解前と比較し、X線回折で結晶化度の変化を時間毎に追跡し、いずれも本研究の非晶セルロースの方が大きく低下していることが認められた。以上の検討から、本手法で得た非晶セルロースは、天然の結晶セルロースよりも加水分解性が著しく高く、さらに従来法で得られる非晶セルロースよりも高いことが明らかとなった。

(3) 非晶セルロースの高次構造と加水分解性の関係解明

本研究の非晶セルロースを重水に含浸し、凍結乾燥した後、赤外吸収スペクトルを測定したところ、 $3,400\text{ cm}^{-1}$ 付近のOH伸縮振動が著しく減少し、新たに $2,525\text{ cm}^{-1}$ にOD伸縮振動に由来する吸収が現れた。これは、この非晶セルロースの水酸基のプロトンが、重水によって重水素と交換されたことを示している。同様の操作を天然セルロースについて実施したところ、天然セルロースではODの吸収は非晶セルロースよりも小さかった。すなわち、本研究の非晶セルロースは、天然セルロースよりも水素結合の割合が低いことが示された。また、この非晶セルロースの固体NMRを測定し、セルロース分子の運動性について検討した。非晶セルロースのスピン格子緩和時間を測定し結晶セルロースと比較したところ、分子中に局所的に運動性が高い部分があることが示された。この部分が酸や酵素との接触性が高く、本セルロースが加水分解性が高い理由であろうと推定した。一方、従来法で得た非晶セルロースは、加水分解の際、水中で一部が結晶化したため、分解性は低下したのであろう。以上の成果を、2件の国際学会および国際学術誌に発表した。バイオマスからの真に実用可能なエネルギー生産として、当該非晶セルロースは極めて有望と考えられる。これを調製するエネルギーコスト、経済性を正確に見積もり、反応規模のさらなる拡大が今後の検討事項である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kazuyuki Hattori and Mizuho Ohira	4. 巻 19
2. 論文標題 Synthesis of a Star-Shaped Poly(ε-caprolactone) with a Cyclodextrin Core	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Trends in Polymer Science	6. 最初と最後の頁 51-58
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuyuki Hattori, Arisa Arai, and Takahito Ida	4. 巻 1
2. 論文標題 Determination of Molecular Weight of Cellulose by Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the 12th SPSJ International Polymer Conference (IPC2018)	6. 最初と最後の頁 5P093c
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuyuki Hattori, Arisa Arai, and Takahito Ida	4. 巻 66
2. 論文標題 Determination of Molecular Weight of Cellulose by Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Polymer Preprints, Japan	6. 最初と最後の頁 1Pc127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kazuyuki Hattori and Arisa Arai
2. 発表標題 Determination of Molecular Weight of Cellulose by Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy
3. 学会等名 The 257th ACS National Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 服部和幸、荒井亜利沙、井田嵩人
2. 発表標題 拡散NMRによるセルロースの分子量測定
3. 学会等名 第12回SPSJ国際高分子会議（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部和幸、荒井亜利沙、井田嵩人
2. 発表標題 拡散NMRを用いたセルロースの分子量測定
3. 学会等名 第66回高分子学会年次大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関