

令和元年6月6日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K12850

研究課題名(和文)植物バイオマス利用プロセスの構築を目指した成分分離法の確立

研究課題名(英文)Construct of effective biorefinery process using butanol- dilute acid pretreatment.

研究代表者

寺村 浩(Hiroshi, Teramura)

東京理科大学・基礎工学部生物工学科・助教

研究者番号：10645089

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ブタノールを用いた植物バイオマスの成分分離法の最適な条件の検討を行った。その結果、ブタノール濃度、硫酸濃度、反応温度、反応時間が成分分離の効率に大きく影響することが明らかになった。これらの結果から、25% butanol, 0.5% 硫酸, 200 °C, 60分の条件で最も成分分離の効率が高くなることが明らかになった。この成分分離後のセルロース画分は、セルロース分解酵素によって効率的に分解されることが明らかになった。また、液体画分に含まれるブタノールを、ナノフィルトレーション膜を用いて除去し、酵母を用いてエタノール発酵を行った。その結果、10.2 g/Lのエタノールを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果から、ブタノールが植物の成分分離を行う上で非常に有用な化合物であることが明らかになった。これらの知見は、植物バイオマスの工業利用を促進し、CO2の資源化に寄与するものである。

研究成果の概要(英文)：We examined the optimum conditions of the component separation method of plant biomass using butanol. As a result, it became clear that butanol concentration, sulfuric acid concentration, reaction temperature and reaction time affect the efficiency of component separation. Based on these results, it became clear that the efficiency of component separation is highest under the conditions of 25% butanol, 0.5% sulfuric acid, 200 °C, 60 min. The cellulose fraction obtained after this component separation has been found to be efficiently degraded by a small amount of cellulolytic enzymes. It also revealed that butanol contained in the liquid fraction can be removed using a nanofiltration membrane. Ethanol fermentation was carried out using this liquid fraction from which butanol had been removed and yeast to obtain 10.2 g / L of ethanol.

研究分野：バイオマス化学

キーワード：バイオマス セルロース リグニン ヘミセルロース ブタノール

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 環境への負荷が小さい未利用植物バイオマスの工業利用が注目されている。植物バイオマスは、3つの主成分(セルロース、ヘミセルロース、リグニン)から成る非常に複雑な構造を形成している。これらの3成分は、それぞれ工業資源として注目され、利用法の開発研究も進んでいる。しかし、各成分の利用方法が異なるため、これらの3成分を成分分離できる技術が効率的な利用にとって重要であった。既存の成分分離法は、多大なコストが掛かるため、実用的ではなかった。

(2) 疎水性アルコール(ブタノール等)を使用し、高温条件下で植物バイオマスを反応させることで、バイオマスの成分を3つの画分に分離できた。しかしリグニンとセルロースの分離率が低かった(精製度:59%)ため、より効率的に成分分離できる条件を決定する必要があった。

## 2. 研究の目的

本研究は、疎水性アルコールを用いた植物バイオマスの成分分離法の実用化を目的としている。目的の達成のために、以下の3つの小課題を行った。

### 1) 成分分離法の条件の決定。

バイオマスを構成するセルロース、ヘミセルロース、リグニンを高効率で分離できる手法を確立する。これまでに、ブタノールと希硫酸を用いた成分分離法が確立されている。しかし、セルロースとリグニンの分離の効率が低かった。これらの成分の分離の効率は、反応温度、反応時間、希硫酸の濃度に大きく影響を受けることが知られている。そこで、これらの要素に関して様々な組み合わせを用いて成分分離を行い、最も精製度の高いセルロースが得られる条件を決定する。

### 2) 成分分離に使用した疎水性アルコール再利用法の構築。

本研究で成分分離法に添加するブタノールは、高価な試薬である。そのため、本研究で確立した成分分離法を実用化するためには、ブタノールの再利用が重要である。また、ヘミセルロースに由来するキシロースが含まれる水層に、ブタノールが高濃度で含まれている。キシロースは、微生物発酵を介して様々な化合物へと変換できる重要な化合物である。しかし、水層に高濃度のブタノールが含まれているため、微生物発酵が阻害され、効率的に利用することが出来なかった。これらのことから、ブタノールを用いた成分分離法を実用化するためには、水層からブタノールを回収する技術の確立が重要であると考えられた。

### 3) 分離後の成分の利用法の開発。

成分分離後の各成分が工業利用に適しているのかは、明らかになっていない。そこで、成分分離後の各成分について、物性の解析を行う。特にセルロースに関しては、酵素による分解の効率を測定する。これらの結果を基に、成分分離後のセルロースが微生物発酵の原料として適しているのかを明らかにする。また、ヘミセルロースに由来するキシロースについても微生物発酵に利用可能であるのかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

### 1) 成分分離条件の決定

ブタノールを用いた成分分離は、ホットスターラー反応分解装置(三愛化学)を用いて行った。6 g の粉末化したソルガムに希硫酸およびブタノールを添加し、スターラーで撹拌を行いながら反応させた。ブタノールの添加量、希硫酸濃度、反応温度を変化させ、全 20 種類の条件で反応を行った。反応後のサンプルをろ過・分離し、有機溶媒画分、液体画分、固体画分に分離した(図 1)。反応後に得られた固体画分に関して硫酸 2 段階加水分解法を用いて組成の解析を行った。これらの結果を基に反応後の固体中のセルロース濃度が最も高くなる条件の探索をした。

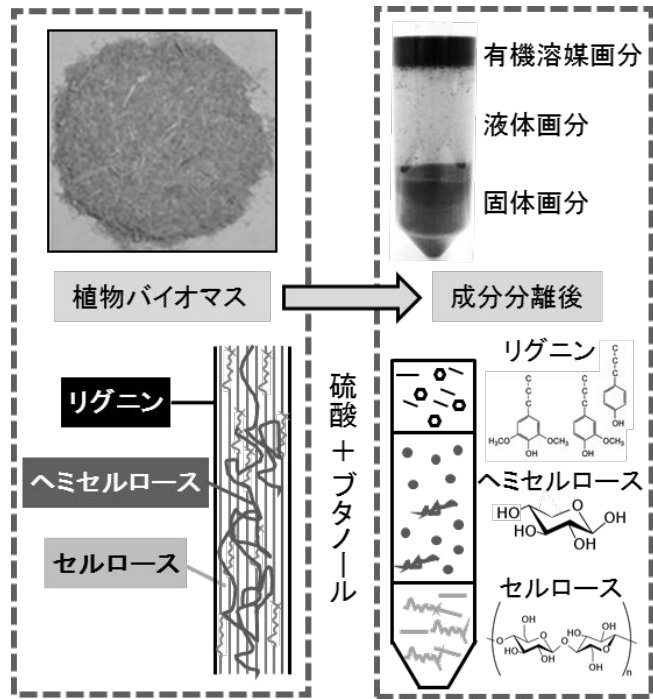


図1 植物バイオマスの成分分離

## 2) 反応後の液体画分からのブタノールの除去

ナノフィルトレーション NF 膜として ESNA3(日東電工)を用いた。このナノフィルトレーション NF 膜を平膜試験セルにセットした。300 ml の液体画分をいれた平膜試験セルをマグネチックスターラー上に置き 400 rpm で撹拌した。窒素ガスと圧力制御弁を用いて圧力(2.0 MPa)をかけ、ろ過・分離を行った。150 ml の液が透過した段階で、平膜試験セルに 150 ml の蒸留水を添加した。この作業を 3 回繰り返した。その後、平膜試験セル中に残った液体画分を回収した。

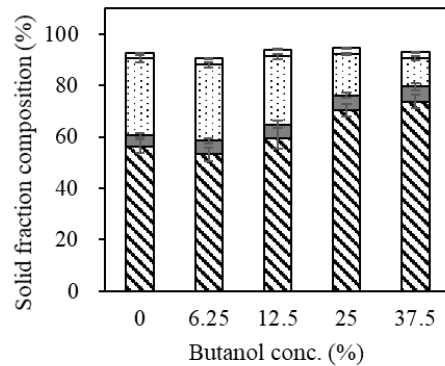
## 3) 酵素糖化

固体画分の酵素糖化は、Celic CTec2 (Novozymes) 用いて行った。固体画分を 100 g/L の濃度で 0.3 M のクエン酸緩衝液に添加した。微生物の増殖を防ぐためにテトラサイクリン(40 µg/mL)とシクロヘキシミド(30 µg/mL)を加えた。混合物を、ケミステーションを用いて、35°C で 72 時間撹拌しながらインキュベートした。反応後の反応液をサンプリングしグルコースの濃度を測定した。

## 4. 研究成果

### 1) 成分分離条件の決定

■ Cellulose ■ Hemicellulose  
□ Acid-insoluble Lignin □ Acid-soluble Lignin



■ Cellulose ■ Hemicellulose  
□ Acid-insoluble Lignin □ Acid-soluble Lignin

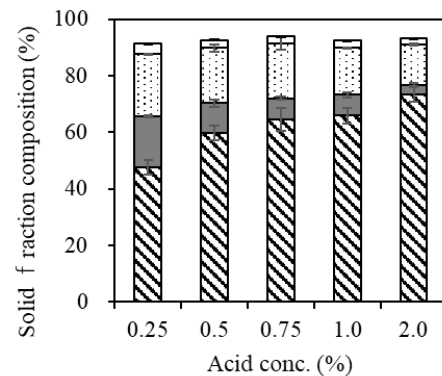


図2 ブタノール濃度と硫酸濃度が成分分離に与える影響

まず、様々な条件で植物バイオマスの成分分離を行った。その結果、アルコール添加量、硫酸添加量、反応時間、反応温度が、植物バイオマスの主成分の分離効率に関わることを明らかにした(図2、3)。これらの結果を基に、

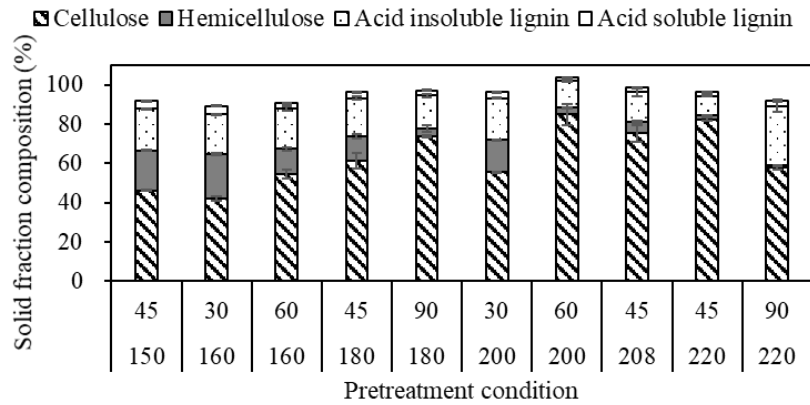


図3 前処理温度及び時間が成分分離に与える影響

最も分画後のセルロースの精製度が高くなる反応条件(25% butanol, 0.5% 硫酸, 200°C, 60分)を決定した。次に、精製度が高いセルロースの酵素による分解効率を測定した。その結果、このセルロースは少量の酵素により高効率でグルコースに分解されることも明らかにした(図4)。加えて、反応条件を制御することによって、多様な精製度のセルロースを作出することも可能にした。

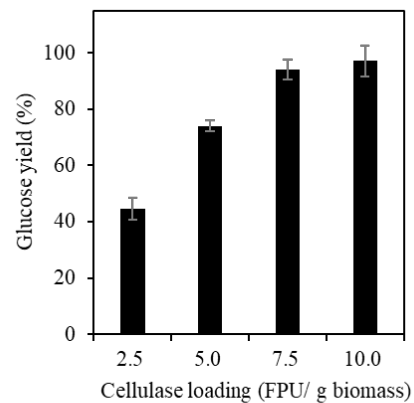


図4 セルロースの酵素糖化効率

## 2) 反応後の液体画分からのブタノールの除去

成分分離後の液体画分に含まれるアルコール(ブタノール)を、ナノフィルトレーション膜を用いて分離することが可能であるか解析した。その結果、液体画分から98.6%のブタノールを分離することができた。このことから、ナノフィルトレーション膜を用いることで、液体画分からブタノールを分離することが可能であることが明らかになった。また、ブタノールを含む液体画分は、アルコール発酵の原料として利用することは不可能であったが、ブタノール分離することにより液体画分をアルコール発酵の糖源として利用できることを明らかにした(図5)。

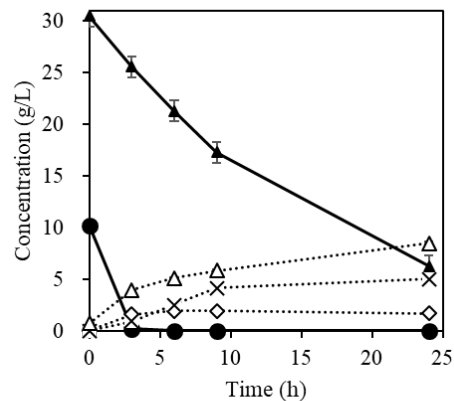


図5 液体画分を用いたエタノール発酵

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Teramura, H., Sasaki, K., Oshima, T., Kawaguchi, H., Ogino, C., Sazuka, T., & Kondo, A. (2018). Effective usage of sorghum bagasse: Optimization of organosolv pretreatment using 25% 1-butanol and subsequent nanofiltration membrane separation. *Bioresource technology*, 252, 157-164.

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。