

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26620151

研究課題名(和文)水-二酸化炭素によるバイオマス新規糖化法の開発

研究課題名(英文)Hydrolysis of lignocellulosic biomass with supercritical CO₂

研究代表者

佐々木 正秀 (SASAKI, Masahide)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究グループ長

研究者番号：60357126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では木質系バイオマスの化学原料化を目指して、水と二酸化炭素のみで木質系バイオマスの糖化反応を行い、種々の化学原料となるグルコース、キシロースを効率的に生成することを目的とする。木質系バイオマスの加水分解に関して、パーコレーター型反応装置を用いて二酸化炭素の添加効果について検討した結果、二酸化炭素共存下では反応残渣の減少および液状生成物の増加が観測された。得られた液状生成物の硫酸による加水分解の結果、二酸化炭素存在下では水のみ 비해、グルコース、キシロース収率の増加が認められた。以上のことから、超臨界二酸化炭素は木質系バイオマスの加水分解能を有することが実証された。

研究成果の概要(英文)： The use of lignocellulosic biomass for the production of energy and chemicals is one of the key issue of sustainable development. Biomass has high potential as renewable feedstock for the production of bulk chemicals, since it consists of highly functionalized molecules. The objective of our study of hydrothermal dissolution of biomass is the production of chemical feedstock with water and CO₂.

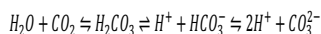
Biomass hydrolysis experiments were conducted in a percolating reactor at 255 °C with and without CO₂. Liquid products yield with CO₂ was much higher than that without CO₂. After hydrolysis with diluted sulfonic acid of the liquid products, sugar yields increased with addition of CO₂. We conclude that CO₂ at supercritical condition catalyzes the hydrolysis of lignocellulosic biomass.

研究分野：反応工学

キーワード：木質系バイオマス 化学原料化 超臨界二酸化炭素 加水分解反応 水熱反応

1. 研究開始当初の背景

木質系バイオマスの糖化は古くから行われており、その手法は酸糖化および酵素糖化に大別される。酸糖化は使用する酸の分離・処理コストがネックとなっており、一方、酵素糖化は適切な前処理方法および高活性酵素の開発等の解決すべき問題があり、いずれも確立されたプロセスとは言えない。バイオマスのCO₂/H₂O 処理は酵素糖化の前処理方法のひとつとして検討されている。この方法は(1)高温での水のイオン積増加および(2)二酸化炭素添加による炭酸が生成し(次式参照)、



酸触媒反応の促進効果によりセルロース、ヘミセルロース成分がオリゴ糖に分解され、その後の酵素反応が飛躍的に向上することが報告されている(引用文献①)。

我々は木質系バイオマスの水熱反応についてパーコレーター型反応装置(図-1)を用いて検討してきた。その結果、温度プログラムの最適化(170℃ 60min 保持、その後 230℃ 90min 保持)により液状生成物の大部分がオリゴ糖成分として選択的に抽出(液状生成物 65%のうち 56%がオリゴ糖成分)できることを明らかにした(未発表データ)。また、このオリゴ糖成分は有機酸(1M 酢酸)により容易に単糖(グルコース、キシロース)に加水分解が可能であった。この結果および上記 CO₂/H₂O 処理の効果を考慮すると、パーコレーター型反応装置による水熱反応で得られたオリゴ糖成分を CO₂/H₂O 処理を行うことにより、木質系バイオマスを容易に単糖に変換可能と考えた。

2. 研究の目的

現在の石油依存型社会から持続可能社会実現のためには、石油資源代替としてバイオマス資源の活用が必須である。そこで本研究では木質系バイオマスの化学原料化を目指して、水と二酸化炭素のみで木質系バイオマスの糖化反応を行い、種々の化学原料となるグルコース、キシロースを効率的に生成することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では木質系バイオマスを水と二酸化炭素のみを用いて加水分解を行い、化学原料である単糖(グルコース、キシロース)を効率的に生成する方法について検討した。

(1) 水熱反応で得られたオリゴ糖成分の二酸化炭素添加による分解挙動

①オリゴ糖成分の調製

反応試料であるオリゴ糖成分の調製には、図-1 に示すパーコレーター型反応装置を使用した。具体的な実験操作を以下に示す。

- ・ 反応物：竹水不溶分(149-297 μm), 1000mg
- ・ 水熱反応条件：室温→170℃(60min)→230℃(90min)カッコ内保持時間である。圧力は背圧弁にて 9.8MPa に制御した。

得られた液状生成物は凍結乾燥により水分を除去し、秤量後その重量より収率を算出した。液状生成物は HPLC 分析により、その化学構造を明らかにした。

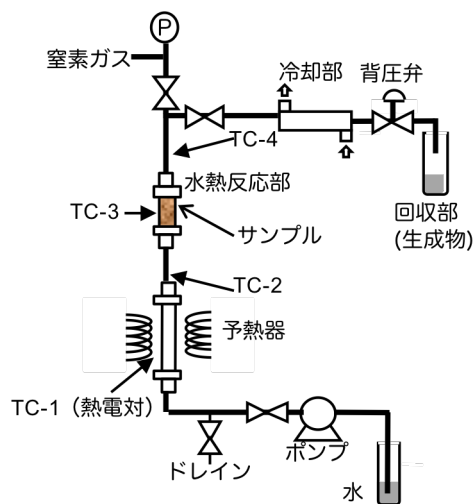


図-1 パーコレーター型反応装置

②オリゴ糖成分の二酸化炭素添加による分解挙動

①で得られたオリゴ糖成分(水熱反応生成物)を反応物として、二酸化炭素添加による分解挙動をバッチ式反応装置(図-2)により評価した。実験条件を以下に示す。

- ・ 反応物：水熱反応で得られたオリゴ糖成分(50mg)
- ・ 溶媒：水(15mL)
- ・ ガス種：二酸化炭素あるいは窒素
- ・ 反応温度：160-200℃
- ・ 反応時間：6min
- ・ 反応圧力：3-10MPa

分解挙動は反応後回収された生成物の化学組成を HPLC により分析することで、評価した。カラムは糖、有機酸分析用 Shodex SP-0810 を使用した。比較のために窒素圧で同様の反応も併せて行った。

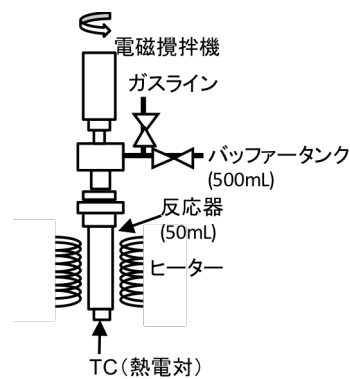


図-2 バッチ式反応装置

(2) 既存パーコレーター型反応装置の二酸化炭素導入による仕様変更

二酸化炭素添加による木質系バイオマスの加水分解能に関して検討するために、既存パーコレーター型反応装置を図-3に示すように仕様変更を行った。本装置を用いて下記に示す各項目に関して検討を行った。

- ・ 水/二酸化炭素合流点での混合促進
- ・ 予熱部における温度分布および速度分布の解消

- ・ 冷却水温度の設定
- ・ 全自動背圧弁のヒーター温度の設定

(3) 改良後パーコレーター型反応装置による加水分解実験

① 反応器内部温度測定

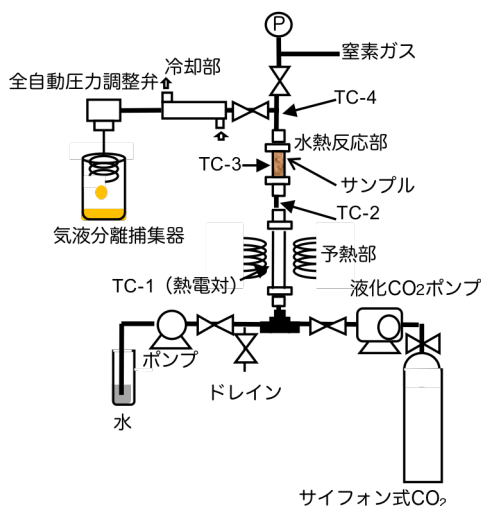


図-3 パーコレーター型反応装置 (改良後)

図-3の反応装置では、予熱器外部に設置された熱電対(TC-1)でヒーターの制御を行っている。反応温度(反応器内部温度)は流速あるいは流体の密度変化等で大きく変化することが予想される。そこで反応条件での反応器内部温度を測定するために、通常の反応器(VCR反応器)の代わりに温度測定用管(ステンレス管の縦方向中心部の熱電対を挿入したもの)を設置し、各設定温度(TC-1)における予熱器出口温度(TC-2)および反応器内部温度をそれぞれ測定し、これらの温度の関係について検討した。具体的には水のみ6.0mL/min、および水(6.0mL/min)/二酸化炭素(6.0mL/min)系の条件で、各温度の測定を行った。

② 加水分解反応実験

反応実験は図-3に示したパーコレーター型反応装置を用いて行った。反応試料は竹水不溶分約1000mg、溶媒は水、水/二酸化炭素であり、比較のために0.1M酢酸水溶液を使用した。反応温度は255°C、保持時間は30minである。溶媒の流速は6.0mL/minに固定した。そのため水/二酸化炭素系では流体の合計流速が12.0mL/minとなる。木質系バイオマスの加水分解生成物は二酸化炭素にほとんど溶解しない(引用文献②)ため、反応時における生成物の水に対する溶解度を一定に保つため、水の流速はどちらの場合も6.0mL/minに固定した。反応終了後、気液分離捕集器で得られた液状生成物は凍結乾燥により水分を除去し、その重量より液状生成物収率を求めた。反応残渣(反応後、反応器に残った成分)は反応器を減圧乾燥により水分を除去し、その重量と反応前の重量を比較することで求めた。反応により得られた液状生成物に関して、それに含まれる単糖を求めるために、4% H₂SO₄による加水分解反応を行った(引用文献③)。

4. 研究成果

(1) 水熱反応で得られたオリゴ糖成分の二酸化炭素による分解挙動

① オリゴ糖成分の調製

当初の計画では、水熱反応過程でのロス分を

極力抑えるために、水熱条件を2段階とし室温→170°C(60min)→230°C(90min)と設定した。種々の条件で水熱反応を行った結果、反応温度が250°C以下では1段階反応でもロス分は発生しないことが明らかになった。また、250°C以上で観測されるロス分は、反応過程で生成した5-ヒドロキシメチルフルフラール(5-HMF)、フルフラール等の低沸点成分の凍結乾燥時の除去が原因で、ガス発生はほとんど起こっていないことが判明した。以上の結果より、オリゴ糖成分調製のための水熱反応条件を室温→250°C(30min)、5°C/min、9.8MPaと設定した。

上記条件で得られた液状生成物をHPLCにより分析した結果、昇温区間(室温→250°C)では検出された成分の94%(面積値)がオリゴ糖であった。一方、保持区間(250°C, 30min)では69%がオリゴ糖で、31%が単糖およびその分解物であることが判明した。保持区間ではすでにオリゴ糖の分解反応が進行しているため、次節のバッチ式反応装置の反応物として不適と考えられる。したがって、バッチ式反応装置の反応試料には、室温→250°C、昇温区間で得られた水熱反応生成物を用いることとした。

② オリゴ糖成分の二酸化炭素添加による分解挙動

バッチ式反応装置による反応結果を表-1に示

表-1 バッチ式反応装置による反応結果

solvent	sugars, wt%	glucose, wt%	xylose, wt%
H ₂ O	9.7	0.3	7.5
H ₂ O/CO ₂	15.3	0.3	12.6
1M acetic acid	51.2	3.1	46.6

40°C/min, 200°C, 6min

す。二酸化炭素添加系では水のものに比べ、単糖収率が若干増加しているが、酢酸に比べると二酸化炭素の添加効果は僅かであった。反応終了後、回収した反応溶液の収率が二酸化炭素添加系では他の反応系に比べ低かった(二酸化炭素添加:84wt%, それ以外94wt%以上)。さらに反応器開放時、二酸化炭素添加系ではガス配管部分に水滴が確認された。これは超臨界二酸化炭素の高い拡散性に起因すると考えられる。超臨界二酸化炭素を用いたバッチ式反応装置による実験で観測されるロス分に関してはJ. S. Luterbacherらの報告(引用文献④)があり、210°Cで17wt%のロス分が観測されている。以上の結果より、バッチ式反応装置による二酸化炭素添加系の実験では、超臨界二酸化炭素の高い拡散性のためロス分の発生および反応物が加熱域に滞留していない等の問題があり、評価困難であることが明らかになった。

(2) 既存パーコレーター型反応装置の二酸化炭素導入による仕様変更

前節では二酸化炭素添加によるオリゴ糖の分解挙動をバッチ式反応装置による評価を試みたが、超臨界二酸化炭素の高い拡散性のためロスの発生および反応物の高温域での滞留が困難であることから、目標を達成することが

できなかった。そこで本節では二酸化炭素の添加効果を明確に実証するため、二酸化炭素添加による木質系バイオマスの加水分解能について検討した。ここでは二酸化炭素導入による仕様変更後の基本運転条件の設定を行った。各検討項目に関する結果を以下に示す。

① 水/二酸化炭素合流点での混合促進
流体合流点での混合を促進するために、標準的なT型継手(内径:1.3mm)の代わりにロードドポリウムT型継手(内径:0.3mm)を使用した。これにより大きなレイノルズ数(乱流効果)に基づく良好な混合が期待される(引用文献⑤)。

② 予熱部における温度分布および速度分布の解消

管型反応器の外部加熱では、その半径方向に温度分布(中心部の温度が低い)とともに速度分布(中心部の速度が高い)が生じ、内部流体温度が不均一となる。これらの問題を解決するために、予熱部にスタティックミキサーを使用した(引用文献⑥)。

③ 冷却水の温度設定

本装置には予熱器ヒーター用(図-3 予熱部)および2重管式冷却器(図-3 冷却部)の2カ所で冷却水が必要である。当初、両者まとめて20℃の水を循環させていたが、反応過程での装置内圧力が非常に不安定でデータ取得が困難であった。原因として2重管式冷却器の冷却水温度と考えられた。20℃の水による冷却では内部温度が二酸化炭素の臨界温度である31℃よりも低くなり、二酸化炭素が亜臨界状態に変化したためと推測された。そこで2重管式冷却器の冷却水温度を35℃に設定したところ、反応時の装置内圧力が安定に推移することが判明した。なお、予熱器ヒーターの冷却水温度は20℃設定とし、それぞれ独立に制御することとした。

④ 全自動背圧弁のヒーター温度設定

二酸化炭素導入実験では背圧弁出口での急激な圧力開放により温度が低下し、水が凍結することが観測された。出口配管内で水の凍結が起こると配管が閉塞し、反応器内の急激な圧力上昇により二酸化炭素供給ポンプが緊急停止する。そこで背圧弁出口付近での水の凍結を抑制するために、全自動背圧弁のヒーター温度を設定限界の80℃とした。この操作により、少なくとも水:6.0mL/min, 二酸化炭素:6.0mL/minの条件では、圧力、温度ともに安定に運転可能であることを確認した。

(3) 改良後パーコレーター型反応装置による加水分解反応実験

① 反応器内部温度測定

前節で得られた基本運転条件をもとに、反応器内部温度測定実験を行った。水のみ6.0mL/minの結果を図-4に示す。ここで縦軸は反応に内部温度、横軸は予熱器出口温度である。図より、両者の間には良好な直線関係(相関係数R=0.995)が存在することが明らかになった。したがって、実際の反応では観測された予熱器出口温度の値より反応器内部温

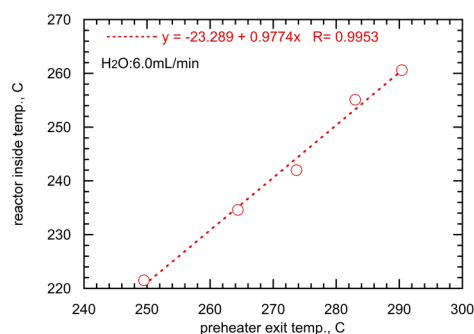


図-4 反応器内部温度と予熱器出口温度との関係

度(反応温度)が図に示した回帰式より推算が可能である。同様に二酸化炭素を導入した結果(水:6.0mL/min, 二酸化炭素:6.0mL/min)を図-5に示す。この場合も反応器内部温度と

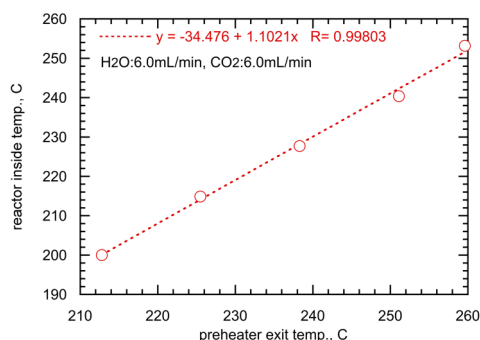


図-5 反応器内部温度と予熱器出口温度との関係

予熱器出口温度との間には良好な直線関係(相関係数:R=0.998)が存在することが判明した。以上の結果を用いて、実際の反応実験における反応温度を推算した。

② 加水分解反応実験

各溶媒における反応残渣と反応温度との関係を図-6に示す。これまでの研究より水/二酸

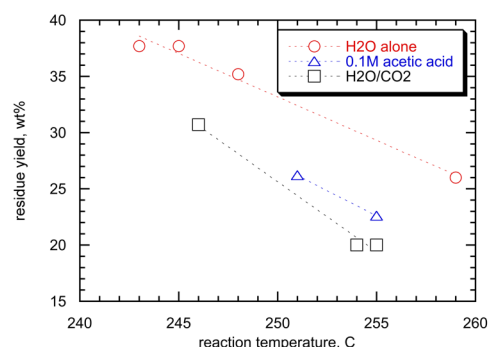


図-6 反応残渣収率と反応温度との関係

化炭素系、70℃, 9.8MPaにおけるpHは2.9と報告されている(引用文献⑦)。そこで、ここには参考として、0.1M酢酸水溶液の反応結果もあわせて示した。水のみ(水熱反応)では、反応残渣は反応温度の増加に伴い、減少することがわかる。二酸化炭素を添加した系でも同様な傾向を示すが、水熱反応に比べ、明らかに反応残渣の減少が観測された。反応温度255℃での残渣収率は0.1M酢酸水溶液の結果

とほぼ同等であることが判明し、二酸化炭素を添加した際の加水分解能は反応条件での pH で説明可能である。

次にそれぞれの条件で得られた液状生成物について着目した。4% H₂SO₄ 処理後の HPLC 測定結果を表-2 にまとめた。水熱反応に比べ二酸化炭素添加系では、単糖収率の増加が観測さ

表-2 液状生成物の加水分解結果

solvent	sugars, wt%	glucose, wt%	xylose, wt%
H ₂ O	39.1	13.0	25.2
H ₂ O/CO ₂	44.6	17.5	26.0
0.1M acetic acid	48.0	21.1	25.9

4% H₂SO₄, 121°C, 60min

れ、その原因はグルコース収率の増加であった。このことは二酸化炭素を添加することにより、セルロースの分解が促進されていることを示唆している。以上の結果より、超臨界二酸化炭素は木質系バイオマスの分解反応において、酸触媒として効果的に作用することをパーコレーター型反応装置により実証することに成功した。

<引用文献>

- ① J. S. Luterbacher, J. W. Tester, L. P. Walker, High-solids biphasic CO₂-H₂O pretreatment of lignocellulosic biomass, *Biotechnology and Bioengineering*, 107, 2010, 451-460
- ② 化学工学会超臨界流体部会編、「超臨界流体入門」丸善出版、2012, 第4章、p. 67
- ③ A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, D. Crocker, Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass, *Laboratory Analytical Procedure (LAP)*, ver. 08-03-2012, National Renewable Energy Laboratory (NREL)
- ④ J. S. Luterbacher, J. W. Tester, L. P. Walker, Two-temperature stage biphasic CO₂-H₂O pretreatment of lignocellulosic biomass at high solid loadings, 109, 2012, 1499-1507
- ⑤ 化学工学会超臨界流体部会編、「超臨界流体入門」丸善出版、2012, 第8章、p. 223
- ⑥ スタティックミキサー総合カタログ、株式会社ノリタケカンパニーリミテド、2007
- ⑦ K. L. Toews, R. M. Shroll, C. M. Wai, *Anal. Chem.* 67, 1995, 4040-4043

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計2件)

- ① 市原和幸 (発表)、加我晴生、清水弘樹、佐々木正秀、熱化学変換法による木質系バイオマスの糖化、日本化学会北海道支部夏期研究発表会、2014年7月12日、苫小牧高専 (北海道苫小牧市)

- ② 藤中悠太 (発表)、清水弘樹、佐々木正秀、熱化学変換法による木質系バイオマスの糖化反応、平成28年度日本農芸化学会北海道支部第2回講演会、2016年11月28日、北海道大学農学部 (北海道札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 正秀 (SASAKI Masahide)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究グループ長

研究者番号：60357126

(2) 研究分担者

加我 晴生 (KAGA Harumi)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・主任研究員

研究者番号：20356752

研究分担者

清水 弘樹 (SHIMIZU Hiroki)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・主任研究員

研究者番号：30344716

(3) 連携研究者

福嶋 正巳 (FUKUSHIMA Masami)

北海道大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40344113