

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06535

研究課題名(和文) イオン液体の相間・リレーによる藻類オイルの湿式・超臨界CO₂抽出法の構築

研究課題名(英文) Wet extraction of oils from Microalgae in aqueous solution using Supercritical Carbon Dioxide and Surface Active Ionic Liquids

研究代表者

相田 卓 (Aida, Taku)

東北大学・環境科学研究科・助教

研究者番号：00466541

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本申請は、イオン液体(IL)の水における界面活性を利用した、超臨界CO₂(scCO₂)湿式抽出法について検討を行った。IL/オイル・ミセルを含んだ水溶液からのscCO₂抽出(40℃, 25MPa)は、ILの疎水性が低いほど高いオイル抽出率を示した。実藻類を含んだ培養液からのscCO₂抽出は、ILを含まない培養液では0.1%、IL添加した培養液では10%であった。今後、本手法のプロセス化にはILの回収・リサイクル手法の開発、バブリングによるエントレンが起きないCO₂装置の開発、毒性を示さないILの開発が重要だと考える。

研究成果の概要(英文)：Microalgae is gaining attention as a potential new feedstock for biorefineries. Current methods used to obtain oil from microalgae require drying steps, which consumes much energy and the usage of organic solvents. In this work, we developed a wet extraction method using surfactant active ionic liquids (IL) and supercritical CO₂ (scCO₂). IL are applied to solubilize microalgae oil in water, and to improve contact efficiency with scCO₂. Wet oil extraction was conducted from microalgae (*Botryococcus braunii*) in the cultivation solution with IL and scCO₂ which confirmed that the extraction yield increased greatly by adding ILs in the culture compared to pure scCO₂ extraction.

研究分野：化学工学

キーワード：超臨界流体 イオン液体 バイオマス 微細藻類 超臨界抽出 界面活性剤

(3) scCO₂抽出を用いた Water/IL/SQ ミセルからの SQ 抽出

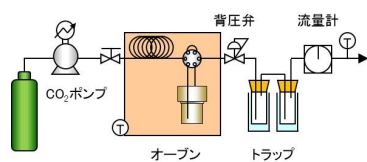


図3 半回分型超臨界 CO₂ 抽出装置

図3に実験に用いた半回分型超臨界 CO₂ 抽出装置の概略図を示す．調整したサンプルを容積 50 ml の耐圧セルに約 30 mL 仕込み，SUS316 製の配管と接続した．次に，系内を CO₂ でパージした後，オープン(GC-353B, GL SCIENCE)により所定温度(45 °C)に保持した．系内が熱平衡に達した後 CO₂ ポンプ (PU2080-CO₂ plus, JASCO)により所定圧(10 MPa, 大気圧下)まで圧入し流通させた．系内圧力は，背圧弁(SCF/Bgg/M, JASCO)により保持し，CO₂ の流量は乾式流量計(DC-2, シナガワ)により測定した．回収部のトラップは三段設置し，それぞれ氷水で冷却した．なお，CO₂ の流通量は Span-Wagner 式 1)および乾式流量計により測定した積算 CO₂ 体積から算出を行った．

(4) 実藻類を用いた界面活性 IL の相関リレーによるオイルの湿式 scCO₂抽出

湿式抽出実験は，3.4 で使用したのと同じ半回分型超臨界 CO₂ 抽出装置を用いて行った．藻体(*B. braunii* BOT22 株)を含む培養液 25 mL に [C₁₂mim][Cl] を濃度 0.05 M になるように仕込み，攪拌を行い，体積 50 mL の高圧セルに仕込んだ．その後，CO₂ を温度 313 K，圧力 10 MPa，流量 1.0 mL/min で流通させ，背圧弁で減圧した後，トラップにてオイルを回収した．回収オイル重量は，GC-FID を用いて，内部標準法により評価した．オイル抽出率 (Eoil) は，乾燥藻体をヘキサン抽出したオイル重量を基準として評価した．

(5) 微細藻類に対する IL の毒性評価

定常期のボトリオコッカス (*B. braunii* BOT22 株) 培養液中にオートクレイヴ滅菌した各イオン液体を添加した．各溶液はコントロール (AF-6 培地) 60 mL (100 mL 試験管，シリコ栓つき) と等濃度になるように栄養塩を添加した．サンプリングは，各所定時間において 1mL 採取して pH, Qy を測定した．pH の測定には LAQUAtwin pH meter (HORIBA) を用い，Qy の測定には AquaPen-C (旭光通商) を用いた．Qy は光化学系 II の効率の指標であり，本実験ではこの変数を光合成活性の指標として用いた．

4. 研究成果

(1) IL/SQ 水溶液における Water/IL/SQ ミセル形成に対する IL の構造依存性の解明

Water/IL/SQ 水溶液における相挙動 および SQ 溶解度の IL 構造依存性

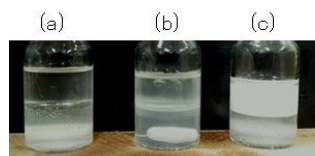


図4 イオン液体，水，スクアレン 3 成分系における相挙動 (イオン液体 : (a) [C₈mim][Cl]，(b) [C₁₂mim][Cl]，(c) [C₁₆mim][Cl])

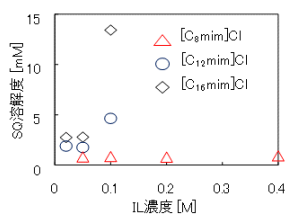


図5 イオン液体 (IL) 水溶液に対するスクアレン (SQ) 溶解度の測定結果 (イオン液体 : () [C₈mim][Cl]，(○) [C₁₂mim][Cl]，(◇) [C₁₆mim][Cl])

図4に IL，水，スクアレン 3 成分系における相挙動の写真を示す．相挙動は，[C₈mim][Cl]，[C₁₂mim][Cl] ではスクアレン相と水相の 2 相に分離し，[C₁₆mim][Cl] の水溶液において，スクアレン相が白濁し，乳化が認められた．また，IL 水溶液に対するスクア

レン溶解度測定は、(図 5) , 低濃度条件ではスクアレンの溶解度はほとんど変化しないが、高濃度条件では、長鎖のアルキル側鎖を有する IL ほどスクアレン溶解度は大きい値を示した。[C₁₂mim][Cl], [C₁₆mim][Cl]水溶液に対するスクアレン溶解度は、IL の濃度がある濃度を超えると急激に増加したことから、スクアレンの溶解は IL とのミセル形成によるものであることが示唆された。

IL/SQ 水溶液におけるミセル観察

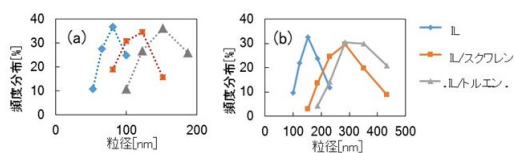


図 6 イオン液体・オイル水溶液における動的散乱測定による粒径分布 (イオン液体: (a) [C₁₂mim][Cl], (b) [C₁₆mim][Cl])

図 6 (a)に[C₁₂mim]Cl 水溶液における IL ミセルとオイル内包 IL ミセルの粒径分布を、図 6 (b)に[C₁₆mim]Cl 水溶液における IL ミセルとオイル内包 IL ミセルの粒径分布を示す。まず、IL 飲みを含む水溶液の粒径分布は、[C₁₂mim]Cl では 100 nm 前後、[C₁₆mim]Cl では 150 nm 前後であり、これにスクワレン、トルエンを加えた水溶液では、粒径の分布が増大方向にシフトした。これは、IL ミセルがオイルをミセル内部に取り込んだことによる増大であると考えられる。各 IL においてトルエン、スクアレンの可溶化量は粒径の増大量の傾向にも一致した。以上、IL 水溶液へのオイルの可溶化はオイル内包ミセルの形成によるものであることが示された。

(2) scCO₂を用いた Water/IL/SQ ミセルからの SQ 抽出, IL 種, 抽出条件依存性の解明
scCO₂を用いた Water/IL/SQ ミセルからの SQ 抽出

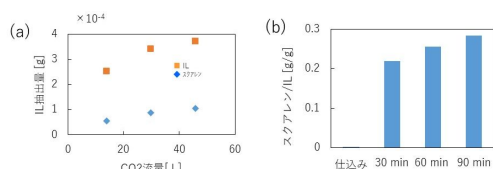


図 7 イオン液体 (IL)・スクアレン (SQ) 水溶液の超臨界 CO₂ 抽出 (45 °C, 10 MPa) における (a) IL, SQ の抽出量, (b) 抽出前後における SQ と IL の重量比

図 7 (a)に scCO₂ による抽出実験におけるスクアレン, IL 抽出量を示す。scCO₂ によるスクアレンおよび IL の抽出量は、CO₂ 流通量の増加に伴い緩やかに増加していることが明らかとなった。本結果は IL・オイルミセル水溶液からのオイル抽出が可能であることを示す。IL は scCO₂ に不溶であるため、本実験で抽出された IL は、バブリングによるエントレンで生じたと示唆された。すなわち、scCO₂ 抽出実験ではミセルから scCO₂ へのスクアレンの溶解抽出とエントレンによる物質移動が併発している可能性が示唆された。

CO₂ エントレンによる SQ 抽出

図 8 (a)に大気圧下での CO₂ 流通後のスクアレン, IL 抽出量を示す。高圧下での実験と同様にスクアレンは CO₂ 流通量の増加に伴い緩やかに増加していることが確認できた。また、IL 抽出量もスクアレンと同様の傾向で抽出されていることを確認したが、IL 抽出量はスクアレン抽出量の約数 100 倍と、IL が優先的に抽出されていることが明らかとなった。

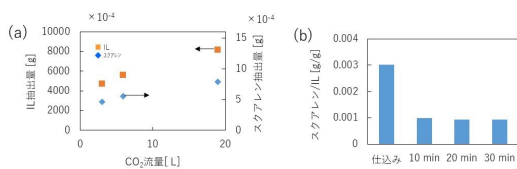


図 8 イオン液体 (IL)・スクアレン (SQ) 水溶液の CO₂ エントレン抽出における (a) IL, SQ の抽出量, (b) 抽出前後における SQ と IL の重量比

図 8 (b)に仕込み液 (抽出前) と抽出後の

スクアレンと IL の重量比 (スクアレン/IL) を示す。仕込み液と比較して, CO₂ 流通後はスクアレン/IL は減少した。また, 今回の実験では流量を変えながら実験を行ったが, 抽出時間・流量によらずスクアレン/IL は一定の値を示した。さらに, 実験時に装置の管出口から泡の出現を確認した。

以上の結果から, CO₂ を流通させたとき, セル内でバブリングによる泡が発生し, 溶液の一部が泡として管内を流通し, 排出されていると考える。大気圧下では CO₂ に対するスクアレンの溶解度は限りなく小さく, 今回抽出されたスクアレンと IL は全てバブリングにより抽出されているものと考えられる。

IL とオイルの分離を考えるとバブリングの抑制が重要となるが, バブリングは IL の濃縮効果があると考えられ, 抽出実験終了後, 大気圧下で CO₂ を流通させることで IL を回収し, リサイクルができることが示唆された。

scCO₂ 抽出のエントレン評価

高圧 CO₂ (scCO₂) と大気圧 CO₂ のスクアレンと IL の抽出量を比較すると, 高圧 CO₂ における IL の抽出量は非常に小さいことが明らかとなった (図 7 a, 8 a)。これは, 高圧下では圧力による泡の生成の抑制および消泡効果が起きていると考えられ, 高圧下ではバブリングによるエントレンの抑制効果が期待できると考える。ここで高圧下のスクアレン抽出量における scCO₂ による正味のスクアレン抽出量の算出を (1)バブリングにより抽出される溶液のスクアレン/IL は実験点の平均を取り, 常に一定, (2)高圧下で抽出された IL 量は全てバブリングによるものと仮定して行った結果, 高圧で抽出されたオイルのうち, バブリングによる抽出量は全体の抽出量の約 0.5 %であり, 約 99.5 %のスクアレンはミセルから scCO₂ に分離して抽出されていることが示唆された。

(3) 微細藻類を用いた界面活性 IL の相関リレーによるオイルの湿式 scCO₂ 抽出

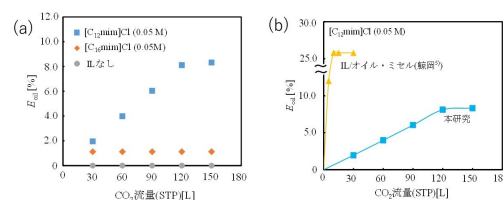


図 9 超臨界 CO₂ 抽出 (45 °C, 10 MPa) におけるオイル抽出率 (E_{oil}) の CO₂ 流量依存性: (a) 微細藻類を含む培養溶液からのオイル抽出におけるイオン液体の添加効果, (b) モデル系 (イオン液体・オイル水溶液との比較)

図 9 に実藻類を含んだ培養液から IL/scCO₂ を用いた湿式オイル抽出におけるオイル抽出率, およびイオン液体種の CO₂ 流量依存性 (40 °C, 10 MPa) を示す。オイルの抽出は, IL 添加した [C₁₆mim]Cl では, 約 1.1%, [C₁₂mim]Cl では約 8.3% であった。また IL 無添加の scCO₂ 抽出実験における抽出率は 0.01% と低かった。これは, scCO₂ による湿式オイル抽出には IL 添加が重要であることを示している。一方, 実藻類の scCO₂ 抽出率は, Water/IL/SQ ミセルを含む水溶液と比較して低い値を示した。これは, 藻体からオイルがミセルとして可溶化する過程が, ミセルから scCO₂ への抽出と比較して律速であることを示している。本現象は従来報告 [2] されている藻体周りの多糖類及びアルジナンが IL と藻体オイルの接触を阻害し可溶化を抑制しているためと考えている。

また, 本手法で得られた抽出率 (8%) は, 従来報告されているヘプタンを用いた湿式の液液抽出 (10%) と同程度であることが明らかとなった。また, 藻体培養液にイオン液体を添加したサンプルの顕微鏡写真 (図 10) において, 藻細胞の破壊は認められなかったことから本手法におけるオイル抽出が藻類の表面で進行したと推察される。

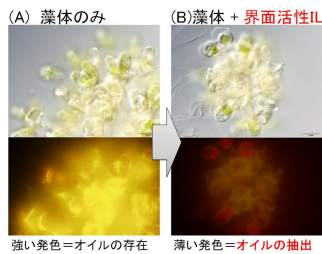


図 10 微細藻類を含む培養溶液の顕微鏡観察写真：(A)イオン液体の添加してない培養液，(B)イオン液体を添加した培養液（黄色発色は，ナイルレッド染色であり，炭化水素の存在を示している）。

(4) 藻体に対する IL の毒性評価

最後に，本手法のミルクキングプロセス（藻体を一部抽出しながら培養層に戻す抽出手法）としての可能性を検討すべく，藻体培養における IL の毒性評価を行った 図 11 に，IL を操体培養時に添加した時の光合成活性の経時変化を示す．図 11 から，IL： $[C_{16}mim]Cl$ ， $[C_{18}mim]Cl$ で添加した時点からすぐに光合成活性が減少していることが認められた。これは、IL が藻体に対して強い毒性を有すること、すなわち、本湿式プロセスがミルクキングプロセスとして使用できないことを示している。今後、微細藻類に対して毒性を有さないイオン液体の開発が望まれる。

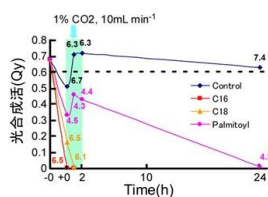


図 11 微細藻類培養における光合成活性 (Qy) の経時変化(イオン液体の添加時を t=0 としている．2h 以降は激発泡のため CO₂ 供給停止)

【まとめ】 界面活性 IL と超臨界 CO₂ を用いて，微細藻類からの湿式オイル抽出が，ミセルを介した IL のリレーにより可能で，抽出率も従来の有機溶剤を用いた湿式抽出と同程度であることを明らかにし，その有用性を示した．IL の疎水性は，オイルの水溶液への可

溶化には有効だが，超臨界 CO₂ への抽出においては不利であった．今後，本手法のプロセス化には IL の回収・リサイクル手法の開発，バブリングによるエンツレンが起きない CO₂ 装置の開発，対象とする微細藻類に対して毒性を示さない IL の開発が重要だと考える．

<引用文献> [1] J.Luczak *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, 117, 5653-5658 (2013), [2] 渡邊信，新しいエネルギー・藻類バイオマス，みみずく舎(2010)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

相田卓，超臨界流体，9.4 バイオマス・天然化合物(反応)，化学工学，有，79(10) 2015，779-780

〔学会発表〕(計 3 件)

T.M. Aida *et al.* Extraction of oil from microalgae using supercritical carbon dioxide and ionic liquids, ISASWR '17 5th International Symposium & Exhibition on Aqua Science and Water Resources (国際学会)，2017 年 08 月 8 日～ 2017 年 08 月 11 日，Fukuoka (Japan)

T.M. Aida *et al.*, Direct extraction of oil from wet microalgae (*Botryococcus braunii*) with intelligent ionic liquids, The 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会)，2016 年 06 月 26 日～ 2016 年 06 月 29 日，San Diego (USA)

小澤健太，鄒舒，相田卓，田辺雄彦，渡邊信，スミス リチャード，界面活性イオン液体を用いた微細藻類からの湿式オイル抽出，化学工学会第 47 回秋季大会，2015 年 09 月 09 日～ 2015 年 09 月 11 日，北海道大学(札幌)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相田 卓 (AIDA TAKU)

東北大学・大学院環境科学研究科・助教
研究者番号：00466541

(2) 研究分担者

スミス リチャード (SMITH RICHARD)

東北大学・大学院環境科学研究科・教授
研究者番号：60261583

(3) 連携研究者

佐藤 善之 (SATO YOSHIYUKI)

東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：50243598