

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82641

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K14452

研究課題名（和文）液化アンモニアを用いた微細藻類の脱水・抽出技術の構築

研究課題名（英文）Dewatering and extraction method from wet microalgae using liquefied ammonia

研究代表者

櫻木 潔（Sakuragi, Kiyoshi）

一般財団法人電力中央研究所・エネルギー変換技術研究本部・主任研究員

研究者番号：10638018

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：アンモニアの気液相転移を用いて、湿潤未破碎の微細藻類試料から直接脂質を抽出する技術を開発した。アンモニアと微細藻類試料の重量比が45:1のとき、試料から48.5 wt.%（乾燥重量基準）が抽出物として得られ、99 wt.%以上が脱水された。抽出物には炭素数12から20の脂肪酸が含まれており、乾燥や細胞破碎を用いる既存法と同程度の収率でバイオディーゼルを合成することに成功した。また抽出物には、脂肪酸以外の成分も多く含まれており、燃料用途に限らない微細藻類成分の抽出技術としても有望であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微細藻類からのバイオ燃料生産工程では、乾燥や細胞破碎のエネルギー消費量が大きい。燃料生産工程のエネルギー消費量を抑制するため、湿潤未破碎試料から、脂質を抽出する技術が求められている。本研究では、液化アンモニアによる脂質抽出により、湿潤未破碎試料から既存法と同程度の収率でバイオディーゼルを合成可能な技術を確認した。また液化アンモニア抽出物には脂肪酸以外の成分も多く含まれることを見出し、同技術がバイオ燃料生産に限らない、微細藻類成分の利用拡大に有効な手法であることを示した。

研究成果の概要（英文）：This study developed a novel technique to directly extract lipids from the wet and undisrupted microalgae using the gas-liquid phase transition of ammonia. When the ratio of NH₃ to the sample was 45:1, approximately 48.5% of the sample was separated as a crude extract, removing over 99 wt.% of water in the sample. The crude extract contained fatty acids from C12 to C20 fatty acids. The total fatty acid methyl ester yields obtained from the crude extract using the liquefied NH₃ extraction method from untreated microalgae was the same levels as that obtained using conventional methods.

研究分野：移動現象および単位操作関連

キーワード：微細藻類 アンモニア 気液相転移 抽出 脱水 バイオ燃料 脂肪酸

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

微細藻類から得られる脂質を輸送用燃料に変換して利用することで、電化の難しい運輸部門のCO₂排出量を低減することができる。微細藻類から輸送用燃料を製造する工程は、培養、収穫、脱水、乾燥、細胞破碎、抽出、回収、合成および精製などの複数工程からなる。多くの場合、脂質抽出には有機溶媒が用いられるが、高い脂質抽出率を得るためには、乾燥、細胞破碎などの前処理が必要となる。しかし、微細藻類は含水率が高く、粒子径が小さいため、乾燥および細胞破碎工程のエネルギー消費量が非常に大きい。エネルギー収支の観点から、乾燥および細胞破碎工程を必要としない、湿潤未破碎の微細藻類から脂質を抽出する技術が求められている。エネルギーキャリアとして利用拡大が期待されるアンモニアは、常温常圧では気体であるが、加圧(20で0.85 MPa)あるいは冷却(常圧で-33.5)することで容易に液化する。液化アンモニアは、植物細胞壁への浸透性が高いことが知られており、種々の有機物を溶解する。また液化アンモニアは、圧力および温度の両方、またはいずれか一方を調整することで、試料から気体として容易に分離回収することができる。これらのことから、常温付近でのアンモニアの気液相転移を用いることで、これまで用いられてきた有機溶媒に比較して、エネルギー消費量の低減が見込める抽出技術の構築が期待できるとの着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、アンモニアの常温付近での気液相転移を用いて、湿潤未破碎の微細藻類から脂質を抽出する技術を構築することを目的とした。液化アンモニアおよび既存の抽出溶媒(クロロホルムおよびメタノールの混合液あるいはヘキサン)を用いて、商業生産されている微細藻類試料からの抽出試験を行った。各溶媒で得られた抽出物をメチルエステル化して、得られた脂肪酸メチルエステル(バイオディーゼル成分)の組成および収率から、微細藻類からの脂質抽出における液化アンモニアの適用可能性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 脂質抽出実験

微細藻類試料として、凍結保存した *Nannochloropsis oculata* を用いた。液化アンモニアによる抽出は、試料に液化アンモニアを通液可能なプラグフロー型装置を用いて、約 20 にて実施した。液化アンモニア通液後、試料容器に残る固体部分(抽出後試料)および抽出物容器に回収された液体部分(抽出物)は、それぞれの容器を減圧(大気開放)することで、アンモニアを気化除去した。クロロホルムおよびメタノールの混合液による抽出実験は、試料溶液中の藻細胞を破碎した後、生物試料の総脂質抽出法として知られる Bligh-Dyer 法を一部変更して行った。ヘキサンによる抽出は、試料溶液中の藻細胞を破碎した後、真空乾燥(40)し、乾燥試料を 69 にて、20 回以上還流抽出することで行った。各溶媒を用いて得られる抽出物の収率は、各試料を真空乾燥(40)して、重量変化がなくなったときの重量から算出した。

(2) 元素分析および分子量分布測定

抽出物および抽出後試料の元素含有率は、JIS Z 7302-8:2002 に従って測定した。また抽出物の分子量分布は、テトラヒドロフランを移動相として、サイズ排除クロマトグラフィ用カラムおよびコロナ荷電化粒子検出器を備えた高速液体クロマトグラフを用いて分析した。抽出物に含まれる化合物の分子量は、ポリスチレンを標準物質として算出した。

(3) 脂肪酸組成分析および脂肪酸メチルエステル定量

脂肪酸組成および脂肪酸メチルエステル収率は、各溶媒を用いて得られる抽出物をメチルエステル化したあと、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて測定した。脂肪酸メチルエステルの定量は、トリデカン酸メチルエステルを内部標準物質として算出した。

4. 研究成果

(1) 脂質抽出実験

微細藻類試料からの脂質抽出特性を調べるため、液化アンモニア、クロロホルムおよびメタノールの混合液、ヘキサンによる抽出を行い、得られる抽出物収率を調べた。液化アンモニアによる抽出では、液化アンモニア通液量の増大にともなって、抽出物収率も増大する傾向がみられた(図1)。抽出物収率は、アンモニアと湿潤試料の重量比が 45 のとき、48.5 wt.%(乾燥試料基準)であった。このとき、微細藻類試料に含まれる水の 99 wt.%(乾燥試料基準)以上が脱水された。既存の抽出方法であるクロロホルムおよびメタノールの混合液による抽出物収率は 21.2 wt.%(乾燥試料基準)、ヘキサンによる抽出物収率は 17.1 wt.%(乾燥試料基準)であった。これらのことから、乾燥や細胞破碎による前処理を行わないにもかかわらず、液化アンモニアは既存の抽出方法よりも高い抽出物収率が得られることが分かった。

(2) 元素分析および分子量分布測定

抽出前試料と抽出物の元素組成を比較したとき、クロロホルムおよびメタノールの混合液およびヘキサンを抽出溶媒とする方法で得られる抽出物は、炭素および水素の含有率が高く、窒素と酸素の含有率が低下した。これに対して、液化アンモニア抽出物は、既存の方法で得られた抽出物と比較して、抽出物の元素組成変化が小さかった。これは、液化アンモニア抽出物の収率が高く、主要な脂質であるトリアシルグリセロールに限らない様々な成分が共抽出されたため、抽出前試料からの元素組成変化が小さかったためと考えられる。また興味深いことに、抽出前試料の窒素含有率は 6.5 wt.% であるが、液化アンモニア抽出物の窒素含有率は 4.1 wt.% に低下し、抽出後試料の窒素含有率は 8.2 wt.% に増大した。このことから、原料に含まれる含窒素化合物およびアンモノリシス生成物の一部は、真空乾燥後も抽出後試料に保持されたと考えられる。

液化アンモニア、クロロホルムおよびメタノールの混合液、およびヘキサンによって得られた抽出物の分子量分布を測定したところ、いずれの抽出物にも 3 つの主要なピークが確認された。これらのピークは小さい方から順に、380 g/mol、870 g/mol、および 1187 g/mol を中心とするピークであった。ピーク強度に着目したとき、液化アンモニア抽出物は、既存の抽出方法で得られる抽出物と比較して、分子量の小さい化合物 (380 g/mol) が多く含まれることが分かった。液化アンモニアは、トリアシルグリセロールに限らない様々な成分を共抽出するとともに、エステル結合などの化学結合の一部開裂をとめないながら成分を抽出するため、既存方法に比べて、抽出物の分子量が小さくなったと考えられる。

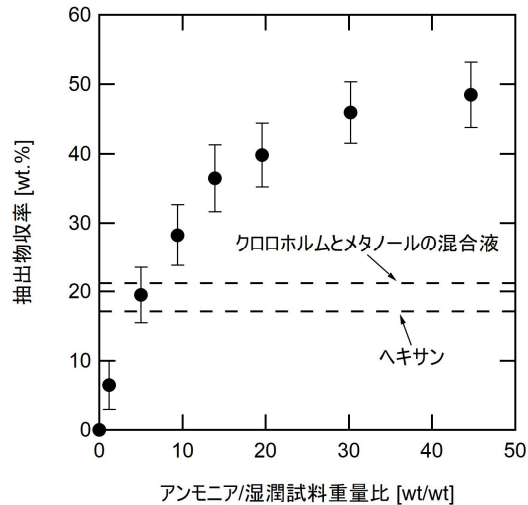


図 1 液化アンモニアによる抽出物収率

(3) 脂肪酸組成分析および脂肪酸メチルエステル定量

液化アンモニア抽出物には、既存の抽出方法で得られた抽出物と同様に、炭素数 12 から 20 の脂肪酸が含まれた。各抽出物には、ヘキサデカン酸 (C16:0)、ヘキサデセン酸 (C16:1)、オクタデセン酸 (C18:1) などが主要な脂肪酸として同定されるとともに、液化アンモニア抽出物には、エイコサペンタエン酸 (C20:5) が多く含まれることが分かった。抽出物に含まれる脂肪酸メチルエステル組成を比較すると、ヘキサンで得られる抽出物には飽和脂肪酸である C16:0 および一価不飽和脂肪酸である C16:1 の比率が高いのに対して、液化アンモニア抽出物では多価不飽和脂肪酸である C20:5 の比率が高い傾向がみられ、クロロホルムとメタノールの混合液では、それらの中間の組成であった。

脂肪酸メチルエステルの収率は、液化アンモニアでは 10.5 wt.% (乾燥試料基準)、クロロホルムおよびメタノールの混合液では 12.4 wt.% (乾燥試料基準)、ヘキサンでは 9.9 wt.% (乾燥試料基準) であった。このことから、液化アンモニアは、少なくとも *N. oculata* については、湿潤未破碎の試料から、既存の抽出方法であるクロロホルムとメタノールの混合液およびヘキサンと同程度の収率で、脂肪酸メチルエステルを得られることが分かった。各方法で得られる抽出物収量に対する脂肪酸メチルエステル収量比は、液化アンモニアでは 0.23、クロロホルムとメタノールの混合液では 0.58、ヘキサンでは 0.58 であり、液化アンモニアで得られる抽出物には脂肪酸以外の成分が多く含まれることが分かった。既存研究において、抽出溶媒の極性が高くなると、脂質二重層の破壊が促進され、膜に結合した脂質の抽出が容易になることが報告されている。また *N. oculata* などの微細藻類には、中性脂質であるトリアシルグリセロールに加えて、細胞膜を構成するリン脂質および糖脂質などの極性脂質、非アシルグリセロール中性脂質 (遊離脂肪酸、炭化水素、ステロール、ケトン、カロチンおよびクロロフィルなど) など、様々な成分が含まれる。液化アンモニアでは、様々な成分が脂肪酸成分と共抽出されたため、既存の抽出方法であるクロロホルムとメタノールの混合液およびヘキサンで得られる抽出物に比べて、高い抽出物収率が得られるとともに、抽出前試料からの元素組成の変化が小さく、抽出物には分子量の小さい成分が多く含まれたことから、既存の抽出方法と抽出物の脂肪酸組成に差異が生じたと考えられる。

これらのことから、液化アンモニアによる抽出技術は、湿潤未破碎の微細藻類から従来法と同程度の収率で脂肪酸成分を抽出でき、乾燥や細胞破碎などの大きなエネルギーを消費する工程を必要としない、有望な脂質抽出技術であることが分かった。また液化アンモニア抽出物には、脂肪酸以外の成分も多く含まれることから、燃料用途に限らない微細藻類成分の抽出技術としても適用できる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 櫻木潔、大高円
2. 発表標題 液化アンモニアによる湿潤微細藻類からの油分抽出
3. 学会等名 日本エネルギー学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kiyoshi Sakuragi, Maromu Otaka
2. 発表標題 Lipid extraction from wet microalgae using liquefied ammonia
3. 学会等名 10th Asian conference on biomass science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 櫻木潔、徳永毅、大高円
2. 発表標題 液化アンモニアによるソルガム構成成分の分離回収技術
3. 学会等名 第18回バイオマス科学会議
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 有機物の回収方法、及び、有機物の回収装置	発明者 櫻木潔	権利者 一般財団法人電力中央研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-060988	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------