

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26850222

研究課題名(和文) 熱分析によるバイオマス成分の簡易評価法の開発とその応用

研究課題名(英文) Development and application of a simple evaluation method for biomass components by using a thermal analytical technique

研究代表者

秀野 晃大 (Hideno, Akihiro)

愛媛大学・紙産業イノベーションセンター・講師

研究者番号：30535711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：市販の微結晶性セルロースを標準試料として、熱分析の測定条件を定めると共に、ハンドプレスによって直径約4.5 mmの錠剤型に成型することで安定した測定データを得る事を可能にし、ヒノキ、ススキ等リグノセルロースの酵素糖化の為に前処理試料およびセルロースナノファイバー(CNF)試料に関する熱分析の基盤データを整備した。最終的に、熱分解速度曲線からバイオマスの組成や状態を推測する事で、発酵性糖生成の為に前処理法やCNF調製法を選択する際の判断基準になる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：To apply thermal gravimetric analysis (TGA) to the characterization of lignocellulosic biomasses, the sample preparation and analysis conditions were optimized. Tablets of approximately 4.5 mm in diameter were cast using a custom-made press machine, which allowed the reproducible measurement of flossy lignocellulosic samples. The fundamental data were obtained through the TGA technique developed to carry out measurements of pretreated lignocellulose such as Japanese cypress, Miscanthus sp., and various cellulose nanofibers. It was found that the derivative thermal gravimetric (DTG) curve is an indicator for characterization of lignocellulosic biomass through TGA data mining. Our results indicate that the DTG curve also has the potential to serve as the criterion for selecting the pretreatment technique for enzymatic hydrolysis and the preparation method of cellulose nanofibers from lignocellulose.

研究分野：農学

キーワード：バイオマス 熱分析 バイオリファイナリー セルロース リグノセルロース

1. 研究開始当初の背景

近年注目を集めているバイオリファイナリープロセスで中心となるのは、植物バイオマス利用である。中でも植物バイオマスに約 50%含まれるセルロースは地球上で最も豊富に存在する有機化合物であり、加水分解後のグルコースは各種発酵性糖として利用され、バイオエタノールや乳酸等の原料となる。最近ではナノスケールに解繊された CNF が幅広い応用の可能性を持つ素材として注目されている。セルロースを含む多種多様なバイオマスはそれぞれ含有成分および構造が大きく異なり、組成分析や構造解析、反応性解析は複雑になっていた。それぞれのバイオマスの物理化学的特性を迅速且つ簡便に把握できれば、特徴を活かした処理法や利用法をオンタイムで調整しながら提案できる。

熱分析は、簡便で、再現性があり、バイオマスのような複数の成分からなる有機物を特徴づけるのに有用な手法である。研究代表者はこれまでに廃菌床の熱分析 (TG/DTA) を行い、それぞれに含まれる成分組成および熱に対する反応性の変化について、重量減少率 (TG) の温度または時間に対する一次微分曲線 (DTG 曲線) から明らかにし、加熱処理の最適化に應用している (Hideno et al., *Energ. Fuels*, 2008; Hideno et al., *Int. J. Energy Eng.*, 2013)。同様に、蜜柑残渣から CNF の調製においても、DTG 曲線からセルロースの精製度を推定している。以上の経験から、DTG 曲線がバイオマスのポリマー成分 (特にセルロース) およびその化学反応性を示す汎用性の高い指標になりえるとの着想に至った。

これまで国内外の熱分析に関する研究において、バイオマスを直接燃焼用の燃料として利用するために分解熱を解析する例 (Manyá et al., *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2003; Chen and Kuo, *Energy*, 2010; Carrier et al., *Biomass Bioener.*, 2011 etc.) は多いが、複雑なバイオマス成分の総合利用を念頭においた物性把握に DTG 曲線を用いた例はほとんど無く、基盤データそのものが不足している状況にある。

そこで、本研究では熱分析の DTG 曲線を用いたバイオマスの簡易評価法を開発し、基盤データを蓄積しつつ、構成成分の分離利用技術を開発することを目指した。

2. 研究の目的

循環型社会の構築、環境産業の主導権確保という観点から、バイオマスから燃料および化成品を生産するバイオリファイナリープロセスが求められている。その為には、複合多糖 (セルロース、ヘミセルロース、ペクチン) および 3 次元に発達したフェノール重合化合物 (リグニン) の複合体である植物等の多種多様な成分を有するバイオマスの物理化学的特性を簡易且つ迅速に評価する手法

および分離技術が必要である。

本研究では、複雑なバイオマス成分の分離技術の開発を目指し、熱分析によるバイオマス成分の簡易評価法の開発と共に、熱分析データを基盤にした高効率な酵素糖化法による発酵性糖生成およびセルロースナノファイバー (CNF) 調製について検討した。

3. 研究の方法

本研究は、バイオリファイナリープロセスを目指し、熱分析によるバイオマスの簡易解析法を開発を基盤に、バイオマスの成分分離技術の開発を行うものであり、下記に述べる 4 つのサブテーマを実施した。(1) 分離精製試薬およびその混合物を対象にした熱分析および標準条件の検討、(2) 各種植物バイオマスを原料にした前処理物および CNF の熱分析による基盤データの整備、(3) (2) で得られたデータ群を基にしたデータマイニング、(4) 複合的なバイオマスの熱分析を基に選定した手法による発酵性糖生成および CNF 調製、について検討した。

4. 研究成果

(1) 分離精製試薬およびその混合物を対象にした熱分析および標準条件の検討

セルロースの標品として Avicel PH-101 を選択し、種々条件を検討した結果、試料量：約 5 mg、昇温速度 10°C/min、測定温度範囲：40-550 °C、雰囲気：窒素 (約 100 ml/min)、リファレンス： $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ を標準の測定条件とした。さらに試料の形状について検討した結果、ハンドプレスによって直径約 4.5 mm の錠剤型に成型することで (図 1) 安定した測定データを得る事が可能になった。特にバイオマスで多く確認される不定形試料や、低密度で嵩高い試料において効果を発揮した。



図 1 ハンドプレスおよび成型試料例

(2) 各種植物バイオマスを原料にした前処理物および CNF の熱分析による基盤データの整備

リグノセルロース前処理試料の熱分析を行った結果、ヘミセルロースの減少に伴って熱分解重量減少速度曲線 (以下、DTG 曲線) のピークトップが、約 340-350°C 付近で無処理物よりも鋭くなり、微結晶セルロースの熱分解挙動と類似した。酵素糖化性が大きく増加したヒノキの前処理試料について熱分析を行った結果、共通点は、DTG ピーク温度の低下のみであったが、大きく二つの種類に分類された。一つは精製セルロースの熱分解挙動に近似したオルガノソルブ処理試料であ

り、熱分析がセルロース精製度の目安になる可能性を示した。もう一つは、熱分解が大きく低温側にシフトすると共に、吸熱反応の低下が確認されたボールミル粉碎処理試料およびアルカリ-過酸化水素処理試料であり、ヘミセルロースおよびリグニンの変性の影響が示唆される。

さらに、蜜柑搾汁残渣およびコットンから種々条件で調製した CNF の熱分析を実施し、CNF に関して、セルロース純度や結晶化度と共に熱分解温度の基盤データを整備した。

コットン由来の CNF を調製した後、熱分析を行った結果、コットン由来 CNF が、他の素材由来 CNF よりも熱分解温度が高く、耐熱性を示す事が明らかとなった。

(3)(2) で得られたデータ群を基にしたデータマイニング

標準試料として用いた Avicel のボールミル処理試料の熱分析結果から、結晶性を有する試料では、結晶化度の低下と熱分解温度の低下に相関があったが、結晶性を失った試料についてはボールミル処理を続けても熱分解温度の低下は確認されず、影響を受けない事がわかった。また、結晶性セルロースと非晶性セルロース(ボールミル処理試料)の熱分解温度に差はあるものの、DTG 曲線の形状は類似した。一方、リグノセルロースのボールミル処理試料は、DTG 曲線の形状を大きく変化させたことから、ボールミル処理によって損傷を受けたヘミセルロースやリグニンの影響が示唆された。これまでヘミセルロースやリグニンの構造分析の前処理として、ボールミル処理が行われてきたが、本研究により、熱分析がそれらの変性を検知できる可能性を示した。

また、整備した基盤データの DTG 曲線を用いて、SplitGaussian 法による分離、Levenberg-Marquardt 法によるカーブフィッティングを行い、個々のピークに分離し(図 2)、試料の組成変化等について予測できるデータを構築した。それらのデータを整備していく過程において、ミスカンサス属の品種による前処理の効果の違いや、酵素糖化に対するボールミル処理の効果について、熱分析結果から推察できる可能性を示した。

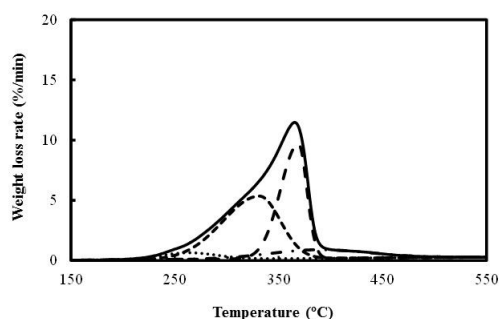


図 2 ヒノキの DTG ピーク分離例
(Hideno, *BioResources*, 2016 より改編抜粋)

ヒノキの各前処理試料の DTG 曲線からピーク分離およびカーブフィッティングし得られたセルロース由来と考えられるピーク面積と、実際のセルロース量との相関係数は、0.95 と高い正の相関であった。

(4) 複合的なバイオマスの熱分析を基に選定した手法による発酵性糖生成および CNF 調製

柑橘類内皮に共通して特徴的なペクチンおよびセルロースの熱分解に由来する DTG 曲線の形状を明らかにすると共に、DTG 曲線が柑橘系果皮等のペクチン系多糖を含むセルロース試料から CNF を調製する際の目安になる事を示した。また、ヒノキのオルガノソルブ処理試料と Wise 処理試料を比較したところ、Wise 処理試料の熱分解開始温度の方が低く、比較的ブロードなピークであった。オルガノソルブ処理試料には、ヘミセルロースが殆ど含まれていなかったが、Wise 処理試料にはヘミセルロースが残存していた為と考えられる。Wise 処理試料について、既報に従い、グラインダーを用いて解繊したところ、10~50 nm の CNF が得られた。残存するヘミセルロースは、乾燥による CNF の凝集を防ぐと共に、CNF を水に高分散させるのに重要と考えられている。DTG ピークを単一且つ鋭くしながら、低温領域の熱分解温度を僅かに起こす事で、ヘミセルロースを一部残しながらセルロースの純度を高め、CNF 生成用の試料として調製可能になると考えられる。

DTG 曲線から、バイオマスの種類を推測できると共に、発酵性糖生成の為の前処理法や CNF 調製法を選択する際の判断基準になると期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

- (1) Akihiro Hideno (2016) Comparison of the Thermal Degradation Properties of Crystalline and Amorphous Cellulose, as well as Treated Lignocellulosic Biomass, *BioResources*, vol. 11 (3): 6309-6319. 査読有. (<http://ncsu.edu/bioresources> ISSN: 1930-2126)
- (2) 秀野晃大 (2016) 第 23 回欧州バイオマス会議および展示会(EUBCE2015)レポート, *Cellulose Communications*, vol. 23: 34-36, 査読無.
- (3) Akihiro Hideno and Hiromi Uchimura (2015) Preparation of nanofibers from citrus peel using pectinase, *The 4th Joint Conference on Renewable Energy and Nanotechnology Proceedings*, vol 4: C-21-1-4, 査読無.
- (4) Akihiro Hideno (2015) Thermal

gravimetric analyses of cellulose in lignocellulosic biomass, 23rd European Biomass Conference and Exhibition Proceedings, vol. 23: 1088-1091, 査読無.

- (5) 鈴木貴明, 秀野晃大 (2015) 愛媛県におけるナノファイバー利用に関する取組について, *Cellulose Communications*, vol. 22: 11-14, 査読無.
- (6) Hiroshi Nonaka and Akihiro Hideno (2014) Quantification of cellulose adsorbed on saccharification residue without the use of colorimetric protein assays, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, vol. 110: 54-58, 査読有. (doi:10.1016/j.molcatb.2014.09.008)
- (7) Akihiro Hideno, Kntaro, Abe and Hiroyuki Yano (2014) Preparation using Pectinase and Characterization of Nanofibers from Orange Peel Waste in Juice Factories, *Journal of Food Science*, vol. 79: N1218-N1224, 査読有. (DOI: 10.1111/1750-3841.12471)

〔学会発表〕(計 13 件)

- (1) 秀野晃大, 酵素を用いた愛媛県内バイオマスからの CNF 調製に関する成果報告, えひめセルロースナノファイバー(CNF)活用促進セミナー(招待講演), 2016/3/2, テクノプラザ愛媛(愛媛県・松山市)
- (2) 秀野晃大, 内村浩美, 阿部賢太郎, 矢野浩之, セルロースナノファイバー調製法選択の為の熱分析, 第 11 回バイオマス科学会議, 2016/1/20-, 朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)
- (3) Akihiro Hideno and Hiromi Uchimura, Preparation of nanofibers from citrus peel using pectinase, The 4th Joint Conference on Renewable Energy and Nanotechnology, 2015/12/6, Matsuyama (Japan)
- (4) 秀野晃大, 地域バイオマス資源を用いたセルロースナノファイバー調製に向けた取り組み, 第 2 回紙産業イノベーションセンターシンポジウム, 2015/10/26, ホテルグランフォーレ(愛媛県・四国中央市)
- (5) 秀野晃大, Kossonou Guillaume, 山田敏彦, ミスカンサスの酵素糖化性と熱分解特性の関係, 第 24 回日本エネルギー学会大会, 2015/8/3-4, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)

- (6) 秀野晃大, 阿部賢太郎, 矢野浩之, セルラーゼを利用したコットンセルロースのナノ解繊と解繊試料の物性評価, セルロース学会第 22 回年次大会, 2015/7/9-10, 北海道大学学術交流会館(北海道・札幌市)
- (7) Akihiro Hideno, Thermal gravimetric analyses of cellulose in lignocellulosic biomass, 23rd European Biomass Conference and Exhibition, 2015/6/1-4, Vienna (Austria)
- (8) 秀野晃大, 阿部賢太郎, 矢野浩之, 愛媛のバイオマス資源による CNF の試作・物性試験について, えひめセルロースナノファイバー(CNF)活用促進セミナー(招待講演), 2015/3/12, テクノプラザ愛媛(愛媛県・松山市)
- (9) 秀野晃大, 阿部賢太郎, 矢野浩之, 愛媛県バイオマス資源由来 CNF(セルロースナノファイバー)調製に向けた取り組み~蜜柑搾汁残渣およびコットンを例に~, 粒子加工技術分科会平成 26 年度第 3 回見学・講演会(招待講演), 2015/2/27, テクノプラザ愛媛(愛媛県・松山市)

- (10) 秀野晃大, ヒノキに含まれるセルロースの熱分解特性解析, 第 10 回バイオマス科学会議, 2015/1/14-16, (独)産業技術総合研究所 つくば中央 共用講堂(茨城県・つくば市)

- (11) 秀野晃大, 阿部賢太郎, 矢野浩之, 柑橘系果実加工残渣からのセルロースナノファイバーの分離技術およびその特性, 新化学技術推進協会 第 1 回学産交流ポスターセッション, 2014/10/30, 新化学技術推進協会会議室(東京都・千代田区)

- (12) 秀野晃大, 阿部賢太郎, 矢野浩之, コットンセルロースのナノ解繊に対するセルラーゼの作用, 第 66 回日本生物工学会, 2014/9/9-11, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)

- (13) 秀野晃大, リグノセルロース前処理物の熱分解挙動, 第 23 回日本エネルギー学会大会, 2014/7/19-20, 九州大学箱崎キャンパス 文系地区(福岡県・福岡市)

〔図書〕(計 2 件)

- (1) 秀野晃大, 内村浩美, 阿部賢太郎, 矢野浩之, (2016) ナノセルロースの製造技術と応用展開, 第 8 章 酵素を用いた地域セルロース資源からのセルロースナ

ノファイバー調製に向けた取り組み(pp. 76-88),(株)シーエムシー・リサーチ

- (2) 秀野晃大,阿部賢太郎,矢野浩之,(2015)セルロースナノファイバーの調製、分散・複合化と製品応用,第2章 第14節 ミカン搾汁残渣に含まれるセルロースナノファイバーの分離およびその特性(pp. 140-146),株式会社技術情報協会

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.cri.ehime-u.ac.jp/staff/staff-231/>

<https://www.cri.ehime-u.ac.jp/staff/staff-231/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秀野 晃大 (HIDENO AKIHIRO)

愛媛大学・紙産業イノベーションセンター・講師

研究者番号：30535711

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

矢野 浩之 (YANO HIROYUKI)

京都大学・生存圏研究所・教授

阿部賢太郎 (ABE KENTARO)

京都大学・生存圏研究所・准教授