セイタカアワダチソウのバイオエタノール製造における糖化前処理方法の比較

横山　芽美

要旨

侵略的外来種セイタカアワダチソウの有効活用を目指し、バイオエタノール製造に適した糖化前処理を検証した。硫酸と水酸化ナトリウムで濃度と成分変化の関係を実験した結果、水酸化ナトリウムの方がリグニン分解能力が高く、セルロース保持量も多いことが判明した。特に 0.50 mol/L の水酸化ナトリウム処理が最適であり、これは先行研究の傾向とも一致する結論であった

キーワード：リグノセルロース、バイオエタノール、化学的前処理

Ⅰ. はじめに

Ⅰ.背景

国立環境研究所の侵入生物データベースによると、セイタカアワダチソウは全国各地に分布する外来植物で、日本の侵略的外来種ワースト 100 に指定されているので、生態系の保全のためにセイタカアワダチソウは除外されるべきである一方除外方法は年 2 回以上の抜き取りや刈り取りであるので、除外に伴い大量の植物資源を焼却などによって廃棄しなければならなくなる。したがって、この植物資源を有効活用する処理方法の開発が望まれる。

Phong Ti Vu et.al. （2017）によるとバイオエタノールは様々な環境問題を引き起こしている石油などの化石資源と違い、半永久的な供給が見込まれるので、地球規模のエネルギー安全保障の有望な担い手である。また、資源エネルギー庁によるとバイオ燃料は成長過程で大気中の CO_2 を吸収するためカーボンニュートラルな燃料とみなされている。

セイタカアワダチソウから得られるバイオマスを用いてバイオエタノールを効率よく作ることができれば、外来種の排除による生態系の保全と環境負荷軽減を両立できると考えた。Wiatrowska et.al. (2022)よると、セイタカアワダチソウはバイオエタノールの原料としてポテンシャルはあることが検証済されている。しかし、その研究は単一の手法で行なっているだけで、様々なバイオエタノール製造法の中でセイタカアワダチソウに適しているものを探すことはできていない。社会実装をするためにはセイタカアワダチソウに適した製造方法を特定する必要がある。本研究では、バイオエタノール製造の初期段階に必要な化学前処理に注目し、酸と塩基、高温と低温の条件それぞれで実験を行い、どの条件がヘミセルロース・リグニンを除去し、セルロースの割合を高められるのかを検証した。

II. バイオエタノールの製造法

バイオエタノールとは、植物由来のエタノールのことである。

バイオエタノール製造は大まかに、三つの段階に分けられる。前処理、糖化、アルコール発酵がある。

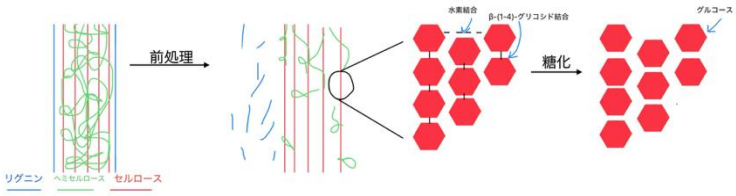


図 1 バイオエタノール製造の流れ

エタノールはグルコースを発酵させてでき、グルコースが鎖状につながったセルロースが、リグニンとヘミセルロースという二種類の高分子と絡まって植物の中に存在している。

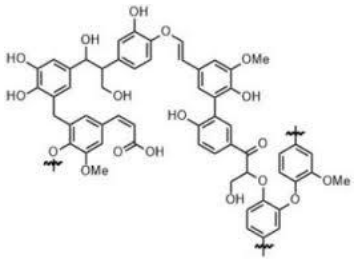


図 2 リグニンの構造式

図 3 セルロースの構造式

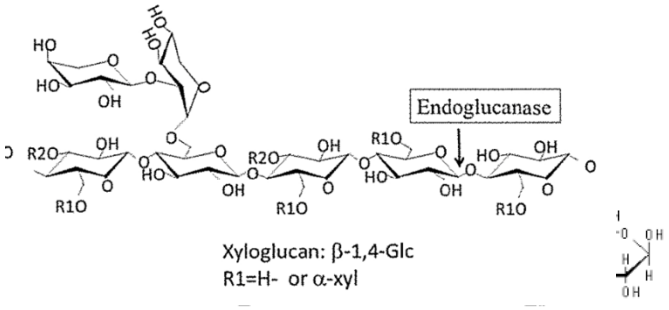


図 4 ヘミセルロースの構造式

前処理では、絡まった三種の高分子の中からからセルロース以外を可能な限り除去し、その後グルコースを取り出しやすいようにする。植物によって、適する前処理方法は異なるので、本研究ではセイタカアワダチソウに適した前処理方法を検討することを目指した。

II. 手法

［試薬］

エチレンジアミン四酢酸(EDTA)二カリウム塩二水和物

$HOOCCH_2(KOOCCH_2)NCH_2CH_2N(CH_2COOK)CH_2COOH \cdot 2H_2O$、

リン酸水素二ナトリウム　Na_2HPO_4、ラウリル硫酸ナトリウム　$NaC_{12}H_{25}SO_4$、四ホウ酸ナトリウム　$Na_2B_4O_7$、亜硫酸ナトリウム　Na_2SO_3、セチルトリメチルアンモニウムプロミド

$C_{19}H_{42}BrN$、H_2SO_4 aq（0.05mol/L、0.25molL、0.50mol/L）、NaOH（0.25mol/L、0.50mol/L）

［実験］

1. セイタカアワダチソウを集める。
2. セイタカアワダチソウを洗い、茎と葉に分けて 50℃で 72 時間乾燥させる。
3. セイタカアワダチソウを粉砕し、2mm メッシュに通して大きさを均一にする。
4. 濃度と種類を表 1 のように変えた溶液と 3 の葉を 500mL ビーカーに入れ、オートクレーブで 121℃、約 1.5 時間反応させる。

表 1 実験条件

	0.25mol/L	0.50mol/L
H_2SO_4	①	②
NaOH	③	④

5. 4 の溶液を溶液の pH が中性になるまで多量の DI water で洗い、吸引濾過する。
6. 105℃のオーブンで一晩乾燥させる。

［評価方法］

効果は Van Soest method に乗っ取り、NDF、ADF、ADL の数値を測定して処理前後で比較することで評価した。Arslan et.al(2020)の論文を参考に行った。

NDF（中性デタージェント繊維）は、植物の中のセルロース、ヘミセルロース、リグニンと灰分を合わせたい値で、ADF（酸性デタージェント繊維）は、セルロース、リグニンと灰分を合わせた値、ADL（酸ディタージェントリグニン）はリグニンと灰分を合わせた値である。

NDF 測定方法

① NDS の準備
　1.0L の水に、18.6g EDTA 二カリウム塩、5.5g リン酸水素二ナトリウム、30g ラウリル硫酸ナトリウム、7g 四ホウ酸ナトリウムを加える。
② ガラス棒でよく混ぜる
③ 1.0g のセイタカアワダチソウを 300mL ビーカーに入れる。
④ 0.5g の亜硫酸ナトリウムを③のビーカーに入れる。
⑤ ③のビーカーに 100mL の NDS を加え、ガラス棒で混ぜる。
⑥ 90 分間加熱し、適宜 DI water を追加して溶液の量を 100mL に保つ
⑦ 吸引濾過器でビーカーの内容物を取り出す。その際、熱湯で 4~5 回サンプルを洗い、その後アセトンで 2 回ほど洗う。なお、この時、事前に耐熱容器に濾紙を入れて質量を測定しておく。
⑧ 耐熱容器に移し、オーブンで 105℃で一晩乾燥

させる

⑨ デシケーターに入れて冷えるのを待つ

⑩ 質量を測る

⑪ ⑩-耐熱容器＋濾紙の質量＝NDF（灰分未補正）

ADF 測定方法

① ADS の準備

0.05mol/L の H_2SO_4aq を調整した後、600mL の DI water に 2.27mL の H_2SO_4 aq と 2g のセチルトリメチルアンモニウムプロミドを加えて、それに 400mL の DI water を加える。

②以降は NDF 測定の処理と同様。

ADL 測定の手順

① ADF 残渣の質量を測る。

② ADF 残渣を耐熱容器に入れ、残渣を覆う程度に H_2SO_4 を入れて残渣をペースト上にする

③ 室温で 3 時間放置し、1 時間毎に軽く撹拌する。

④ 吸引濾過器を用いて熱湯で洗浄しながら濾過する。用いる濾紙と耐熱容器の質量を事前に測定しておく。

⑤ 残渣を取り出して耐熱容器に移し、105℃で一晩乾燥させる

⑥ ⑤-耐熱容器＋濾紙の質量＝ADL（灰分未補正）

III. 結果

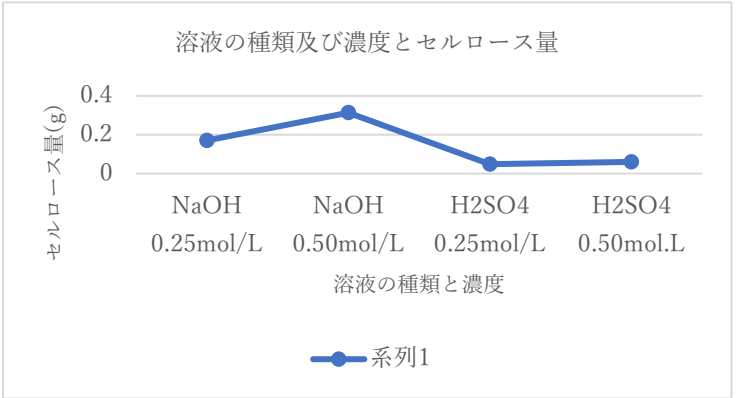


図 5 溶液の種類及び濃度とセルロース量の関係

水酸化ナトリウム、硫酸ともに、濃度が高い方がセルロースの量は多くなった。

水酸化ナトリウムと硫酸で比較すると、水酸化ナトリウムの方が硫酸よりセルロース量が多くなった。

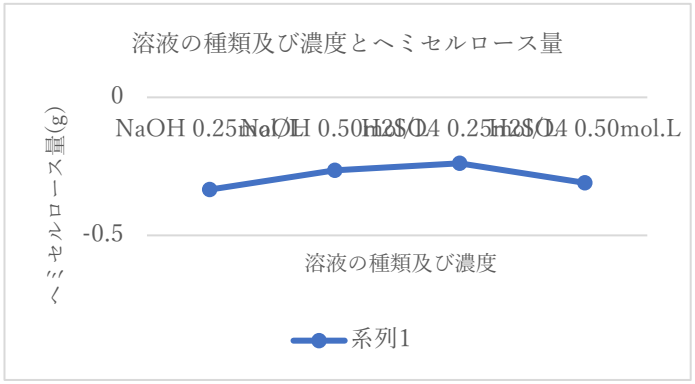


図 6 溶液の種類及び濃度とヘミセルロース量の関係

濃度とヘミセルロース分解量に相関はなく、水酸化ナトリウムと硫酸のヘミセルロース分解能力に優位な差はなかった。

また、ヘミセルロースがマイナスの値を取ってしまった。

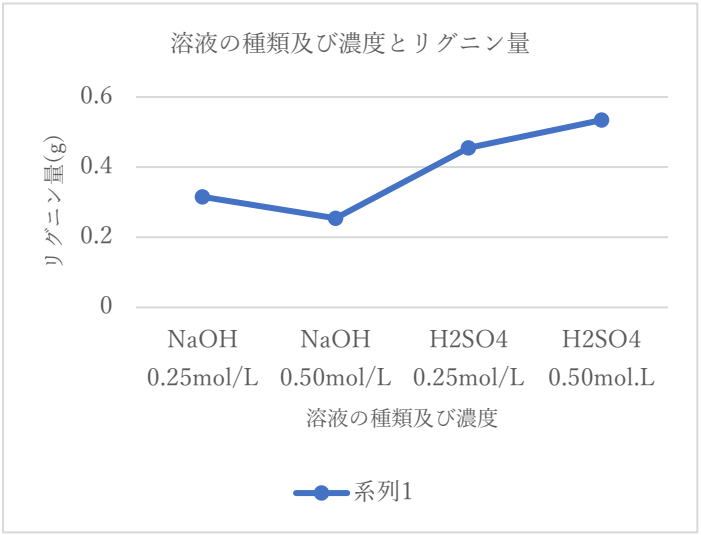


図 7 溶液の種類及び濃度とリグニン量の関係

水酸化ナトリウムの方が、硫酸よりもリグニンの分解能力が高かった。

水酸化ナトリウム 0.50mol/L の溶液が最も大きいリグニン分会能力を示した。

IV. 考察

1.どの処理方法がセイタカアワダチソウの前処理に適していると言えるか

セルロース量の保持が最もよく、リグニンの分解量が最も大きいNaOH 0.50mol/Lによる処理が最適だとわかった。これは、Arslan et.al(2020)などこれまでの先行研究で、他の植物に関しては酸よりも塩基の前処理の方が適していることがわかっていたので、妥当性がある結果だと言える。
なぜ酸よりも塩基の方が適しているのかについては Mankar et.al (2021)の植物の前処理についてのレビュー論文で、理由はわからないとされている。本研究でも、酸よりも塩基の方が適している理由を突き止めることはできなかった。
2.なぜヘミセルロースの値がマイナスになってしまったのか
ヘミセルロースは正の値を取るはずだが、負の値を取ってしまった。

V. 結論

NaOH 0.50mol/L による前処理が、セイタカアワダチソウの化学的前処理に最も適していることがわかった。

謝辞

本研究を進めるにあたって、数多くの助言をくださった小芝先生に深く感謝申し上げる。

文　献

Phong Ti Vu et.al. (2017)：Evaluation of bioethanol production from rice field weed biomass. Emergent Science Research, 3(2), 42-49

Wiatrowska et.al. (2022)：Bioethanol Production Potential and Other Biomass Energy Properties of Invasive Reynoutria, Solidago, and Spiraea Plants. Forests 13(10),1582,1-14

Chaudhry Arslan et.al (2020)：Optimizing the effect of chemical pretreatment of lignocellulosic properties of wheat straw. Journal of Waster and Biomass Management,2(2), 28-32

Akshay R. Mankar et.al(2021)：Pretreatment of lignocellulosic biomass：A review on recent advances . Bioresource Technology,Volume 334, 48-56