

セルロースを原料とした バイオエタノール生成の探究

3610 片田ゆの 3603 安藤優

要旨

私たちはバイオエタノールの生成に関する研究を行った。現在主流となっているバイオエタノール生成の原料は、主にトウモロコシやサトウキビを原料とするものだが、これらは世界的に食料として利用されている。そこで私たちは、食料とされない原料を活用したセルロース系バイオエタノールを生成すること、そして、効率よく生成できる原料を発見することを目的として実験を行った。硫酸加水分解法を用いて多糖類を単糖類に分解する過程を踏むことで、エタノールの生成には成功した。エタノールの生成はヨードホルム反応により確認した。今後は、純粋なエタノールのみを取り出す方法の確立と、効率のよい原料の発見を目標に研究を進める。

本文

1. 目的

現在主流となっているバイオエタノールは、サトウキビなどの糖質原料やトウモロコシなどのでんぷん質原料から生成されている。糖質原料は、取り出した糖を発酵させることでエタノールができ、でんぷん質原料は、そこに糖化の工程が加わる。セルロース系原料は糖を取り出すのが難しいため、硫酸などを用いて前処理を行ってから糖化する必要がある。

サトウキビやトウモロコシをはじめとする糖質原料やでんぷん質原料を用いたバイオエタノールは、食糧価格高騰の原因になりうる。そのため、食糧と競合しないセルロース系バイオエタノールへの期待が高まっており大学や企業による研究が進められているが、まだ実用化には至っていない。

そこで私たちは、まずはセルロース系バイオエタノールを生成できるか確かめること、そして効率よくエタノールを生成できる原料を発見することを目的とした。

2. 仮説

トウモロコシやサトウキビなどを原料としたエタノールの生成方法に、セルロースを分解し糖化する過程を加えることで、セルロース系バイオエタノールを生成できる。

また、セルロースの多い繊維質な原料ほど多くの糖を取り出せると考えられるため、より多くのエタノールを生成できる。

3. 実験1

セルロース系バイオエタノールを生成できるか確かめるために、4つの手順に分けて実験を行った。

実験で用いた原料は、トウモロコシの皮とエダマメのさやである。食料と競合しない普段廃棄される部分であるため、これらを用いることにした。

<手順1> 前処理

セルロース系原料を糖化しやすくするために、薬品などを使い前処理をする必要がある。

ここでは、硫酸加水分解法を用いた。

使用した器具、材料

- ・フードプロセッサー
- ・ガスコンロ
- ・鍋
- ・温度計
- ・ビーカー
- ・純水
- ・濃硫酸（75%）
- ・pH試験紙
- ・水酸化ナトリウム

- ① フードプロセッサーで原料を細かくした(図1)。
- ② 乾燥させた。
(乾燥させたものは冷凍庫にて保存)
- ③ 75%硫酸 24mL に原料を 12g 加えた。
- ④ 40℃で 15 分間攪拌した(図2)。
- ⑤ 硫酸の濃度を 15%に希釈した。
- ⑥ 80℃で 25 分間攪拌した。
- ⑦ 水酸化ナトリウムを加えて中和した。



図1 細かくしたトウモロコシの皮



図2 攪拌している様子



図3 硫酸加水分解後の抽出液

結果

すべての工程を終え、図4の状態になった。

中和に水酸化カルシウムを用いたところ、硫酸カルシウムができて粘土のような状態になった。



図4 すべての工程を終えた抽出液

考察

粘土のような状態では手順2の蒸留をすることが難しかったため、水酸化ナトリウムに変更した。

<手順2> 糖化と発酵

セルロース系エタノールを生成するためには、多糖類を単糖に分解する糖化が必要である。ここでは、麹菌の働きによって糖化した。

そして糖化した後、発酵させることでエタノールが生成できる。発酵にはイースト菌を用いた。

使用した器具、材料

- ・ビーカー
- ・米麹
- ・イースト菌

- ① 図4に米麴とイースト菌を20gずつ加えた。
- ② 密閉して1週間発酵させた。

結果

1週間発酵させたところ、図5の状態になった。



図5 1週間酵母で発酵させた後の抽出

<手順3> エタノールの取り出し
 手順2が終わった状態からエタノールを取り出す必要がある。そこで、減圧蒸留と常圧蒸留の2つの方法を試した。

A) 常圧蒸留

使用した器具

- ・枝付きフラスコ
- ・リービッヒ冷却管
- ・温度計
- ・三角フラスコ
- ・ガスバーナー

- ① 枝付きフラスコに作成した抽出液(図5)を入れた。

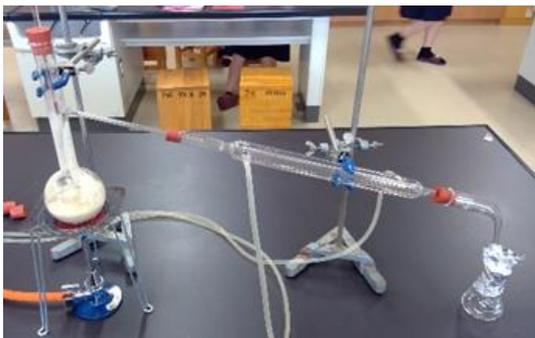


図6 常圧蒸留装置

- ② ガスバーナーで熱して、78℃前後に保ちながら蒸留した。

B) 減圧蒸留

使用した器具

- ・減圧蒸留器
- ・ウォーターバス
- ・三角フラスコ

- ① フラスコに手順2が終わった状態のものを入れた。
- ② ウォーターバスでフラスコを温め、40℃に保ちながら蒸留した。



図7 減圧蒸留装置

結果

常圧蒸留は沸騰を抑えられず、取り出した液体に原料のかすなどが混ざった(図8右)。そのため蒸留を中断した。減圧蒸留は液体のみを全て取り出すことができた。蒸留を終えるまでに2時間かかった(図8左)。

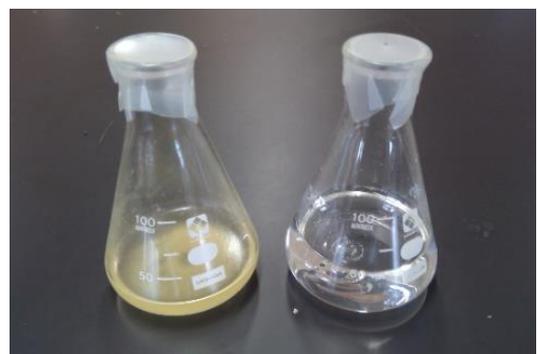


図8 右) 常圧蒸留で取り出した液体
 左) 減圧蒸留で取り出した液体

考察

液体や固体の状態の様々な物質が混ざっていたため、沸騰を抑えるのが難しかったと考えられる。エタノールを含んだ液体のみを取り出すには減圧蒸留が適している。

<手順4> エタノールの存在の確認

これまでの実験でエタノールが生成できたかどうか、次の3つの方法で確認を試みた。

- ・火を近づけた(図9)。
- ・シリカゲルで水を吸収したものに火を近づけた(図10)。
- ・ヨードホルム反応が出た(図11)。

使用した器具、材料

- ・チャッカマン
- ・試験管
- ・シリカゲル
- ・水酸化ナトリウム
- ・ヨウ素
- ・ヨウ化カリウム



図9 火を近づけている様子



図10 SiO₂ で水を吸収している様子

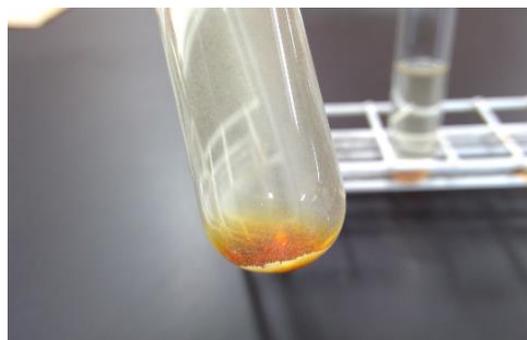


図11 ヨードホルム反応

結果

- ・火を近づけても引火しなかった。
- ・シリカゲルで水を吸収しても、引火しなかった。
- ・ヨードホルム反応が出た。

考察

ヨードホルム反応によりヒドロキシ基を持つ物質の存在を確認し、これがエタノールだと考えられる。取り出した液体は水が多く、エタノールの割合が小さいと考えられる。

4. 実験2

適した原料を見つけるために、原料の種類を変えて対照実験を行った。エタノール生成の手順は、実験1の結果をもとにいくつか変更した。

変更点

- ・原料 12g→25g
- ・70%硫酸 24mL→36mL
- ・イースト菌と米麴 各 20g→40g
- ・水酸化カルシウムで中和→水酸化ナトリウムで中和
- ・エタノール定量キットを用いて生成したエタノールの量を測定

使用した原料

- ・ダイコン

- ・エダマメのさや
- ・トウモロコシの皮



図12 左からダイコン、エダマメのさや、トウモロコシの皮



図13 減圧蒸留によって取り出した液体
左からダイコン、エダマメのさや、トウモロコシの皮

<手順4> エタノールの定量

エタノール定量キットと吸光光度計を用いて、取り出した液体に含まれるエタノールの量を測定した。

使用した器具、材料

- ・エタノール定量キット(Fキット)
 - ピロリン酸カリウム緩衝液…A
 - NAD/AI-DH 錠剤…B
 - ADH 懸濁液…C
 - コントロール用エタノール標準液…D
- ・吸光光度計
- ・ガラスピペット
- ・ピペッター
- ・ビーカー



図14 エタノール定量キット

- ① A3mL、B1 錠をビーカーに入れ、15 分間放置した。
- ② セルに①の溶液と取り出した液体(図13)0.1mL 加え、緩やかに攪拌した。
- ③ 吸光光度計で反応前の吸光度を測定した。
- ④ ③のセルに C0.05mL を加え、緩やかに攪拌し、10 分間放置した。
- ⑤ 吸光光度計で反応後の吸光度を測定した。

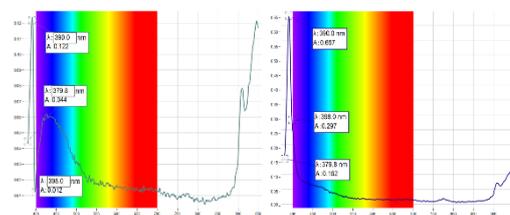


図15 吸光光度計で測定した反応前(左)と反応後(右)の吸光度

結果

	反応前	反応後
ダイコン	0.122	0.651
エダマメのさや	0.126	0.265
トウモロコシの皮	0.098	0.574

図16 $\lambda = 390\text{nm}$ での吸光度

図16の吸光度の変化量を ΔE として以下の式に代入、計算した結果が図17である。

$$\text{エタノール}(g/l) = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 2 \times 1000} \times \Delta E$$

V(反応液量): 3.15mL

MV(分子量): 46.07

d(光路長): 1cm

ϵ (吸光係数): $6.3(1 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$

v(資料量): 0.10mL

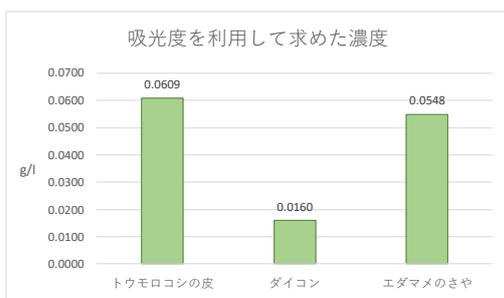


図 17 キットを用いて求めたエタノールの濃度

考察

今回用いた原料の中で最もバイオエタノールの生成に適していたのはトウモロコシの皮だと考えられる。

生成量に違いが出たのはセルロースの含有量に差があったからで、トウモロコシの皮のセルロース含有量が最も多かったと考えられる。

5. 展望

実験の回数を重ねてより正確なデータを得る。

エタノールの純度を高める方法を確立する。

6. 参考文献

「課題研究サイエンスリサーチⅡ論文集
ウキクサで作るバイオ燃料」
中山拓海 蜂谷英介 保谷聖耀 原直矢
(2016)

「セルロース系バイオエタノール製造技術の開発」
古賀吏 土谷肇太
(2020)