

# バイオマスの総合評価

千葉事業所 平野 直子 / 千葉事業所 瀬尾 千春 / 大阪事業所 浅野 賢一  
 大阪事業所 章 宏 / 工業支援事業部 森川 正弘

## 1 はじめに

地球温暖化対策とエネルギーの安定確保は国内外を問わず重要課題であり、バイオマスを含む再生可能エネルギーの活用が強く求められている。バイオマスとは一般的に光合成により生産され、エネルギーあるいはマテリアル利用が可能な生物資源を意味する。これらはカーボンニュートラルな材料であるため温暖化抑制として有効な上に、副生成物が化成品原料や付加価値品として利用価値があることから、石油に代わる資源として有望視され、盛んに研究が進められている。

これらの研究のうち木質系、草本系、藻類等の再生利用可能な資源から燃料、化成品原料、ポリマーなどを生産する技術であり、かつ、石油などの化石資源を原料とする石油リファイナリーと同様の物質を得ることを目的とし研究されている生産体系のことをバイオリファイナリーと称する。現

在バイオリファイナリーにより各種エネルギー・副生成物が生産されているが、それらの生産経路は、図1に示すようにセルロース、ヘミセルロースを変換することによりグルコース、キシロースからC2～C6化合物およびポリマーを生成する経路や、リグニンを変換することによりフェノール誘導体、樹脂等を得る経路等様々であり、副生成物についても多種多様である。アメリカ合衆国エネルギー省(DOE)ではバイオリファイナリーの核となる基幹化学品として12種が選定され、活発に研究開発が行われている。バイオリファイナリーに関連する複雑な生成経路、副生成物の解明のためには、化合物の性質に応じた分析方法を選択して、総合的に評価することが求められている。

本稿では、高付加価値品や基幹化学品の探索、バイオマス前処理及び糖化、発酵法の開発を支援するため、バイオリファイナリーの各工程における着目すべき成分について、その化学的性質に合わせた種々の分析手法を用いた総括的な評価方法を紹介する。

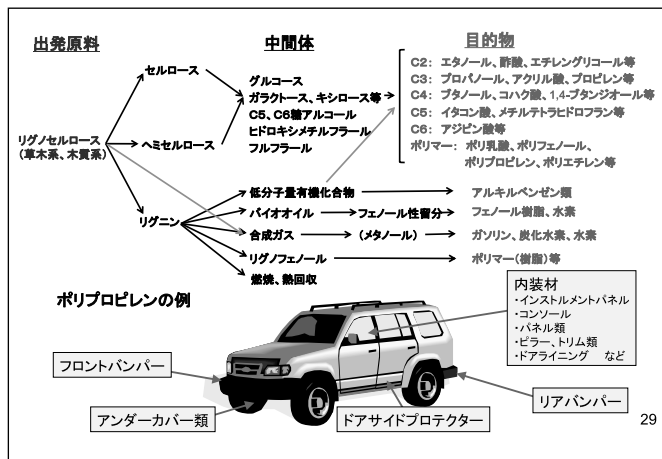


図1 バイオリファイナリー系統図<sup>1)</sup>

表1 各種分析法と対象化合物群

化合物種	手法	ヘッドスペース GC/MS	GC/MS	熱分解 GC/MS	FD/MS	LC/MS	IC IC/MS	CE CE/TOFMS	HPAEC/PAD (糖分析)
揮発性		◎	○	○					
低沸点 (~300°C)			◎	◎	◎	○			
高沸点 (300°C~)			△	◎	◎				
高分子				◎	◎	○			
アニオン, 有機酸						△	◎	◎	
カチオン						△	◎	◎	
糖						△		○	◎

GC/MS: Gas chromatography Mass Spectrometry  
 FD/MS: Field Desorption Mass Spectrometry  
 LC/MS: Liquid Chromatography Mass Spectrometry  
 IC: Ion Chromatography  
 CE/TOFMS: Capillary Electrophoresis Time-Of-Flight Mass Spectrometry  
 HPAEC/PAD: High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection

成分で構成されており、組成を解析する際は、その物性や分解条件などから着目する化合物を考慮し、最適な分析法を選択する必要がある。表1に分析法と対象化合物群を示す。

ガスクロマトグラフィー質量分析法(GC/MS)は有機物分析に広く用いられる手法で、揮発性、低沸点化合物の定性・定量に有効な手法である。ヘッドスペースGC/MSは、試料を100°C前後に加熱し、揮発した低分子成分のみを選択的に測定する手法である。熱分解GC/MSは、試料を500°C前後の高温で瞬時に熱分解し、生じた揮発性物質をGC/MS測定する手法である。固体、液体を問わず前処理なしに測定できるため、ポリマーの定性等に広く用いられ、木材等バイオマスの熱分解挙動解明にも有用である。電界脱離質量分析法(FD/MS)は、試料を直接イオン化、測定する手法である。フラグメンテーションが起きにくいイオン化法のため、混合物の分子量分布の情報を得ることができ、バイオディーゼル等の混合物の組成解析に有効である。液体クロマトグラフィー(LC)は熱に対して不安定な化合物等を液体のまま分離することができるため高沸点化合物の定性・定量に有効な手法である。イオンクロマトグラフィー(IC)はLCの一種でイオン成分や極性分子の定性・定量に用いる手法である。キャピラリー電気泳動法(CE)はイオン性成分をキャピラリー内で電気泳動させることにより分離し、定性・定量する手法である。HPAEC/PAD法(High-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection)はICの一種で、糖の分析に特化した手法である。単糖〜オリゴ糖の定性・定量が可能である。

## 3 事例紹介

木質系バイオエタノールの製造工程で生成する化合物を探索するために、その工程を模して、市販のヒノキ及びスギ薪材を粉碎し、200°Cで水熱処理した。この処理液中の化合物の分析法として、3つの分析

手法：LC/MS, IC, CE 及びキャピラリー電気泳動 / 飛行時間型質量分析法 (CE/TOFMS) を紹介する。

### 3.1 LC/MS による組成解析 ～高付加価値品の探索, 基幹化学品の探索～

#### 3.1.1 LC/MS の分析原理・特徴

LC/MS は、試料を LC で分離した後、溶出順に各成分をイオン化して質量と電荷数の違い ( $m/z$ ) により分析する手法である。イオン化法には、①エレクトロスプレーイオン化法 (ESI), ②大気圧化学イオン化法 (APCI), ③大気圧光イオン化法 (APPI) がある。リグニン由来のフェノール性化合物などの高極性化合物を分析する場合には、ESI 法を採用する。

LC/MS による組成解析には、高分解能 LC/MS を用いる。リニアイオントラップ電場型フーリエ変換質量分析計は、新しい原理に基づくイオントラップ型質量分析計であり、主な特長として高い分解能 (最大 10 万) と安定した質量精度 (2 ppm 以内, 内標準法) が挙げられる。この 2 つの特長により、複雑なマトリクス中のターゲット化合物であっても、より迅速に、より確実に検出・同定することが可能となり、バイオリファイナリーにおける組成解析による高付加価値品の探索に有用である。

#### 3.1.2 木質バイオマス処理液の LC/MS 分析事例

この高性能 LC/MS を用い、木材の熱水処理液中の化合物の構造を同定した事例を紹介する。LC/MS 分析結果を図 2 に示す。処理液の HPLC/Photo Diode Array (PDA) クロマトグラム (図 2 (a)) にて、保持時間 26.6 分に最も大きなピーク (以下ピーク A) を検出した。ピーク A の UV スペクトルとマススペクトルを図 2 (b), (c) に示す。ピーク A について、UV スペクトルからは芳香族系化合物であること、マススペクトルからは分子量 302 であることが推定された。次にピーク A の構造を決定するため、多段階 MS ( $MS^n$ ) 測定した。 $MS^n$  測定結果を図 2 (d), (e) に示す。 $MS^n$  測定により、段階的にマススペクトル測定し、フラグメントパターンから得た部分構造を組み合わせることで、全体構造を決定した。その結果、ピーク A は構造式 1 に示すフェノール性化合物であると推定した。

このように LC/MS により、バイオリファ

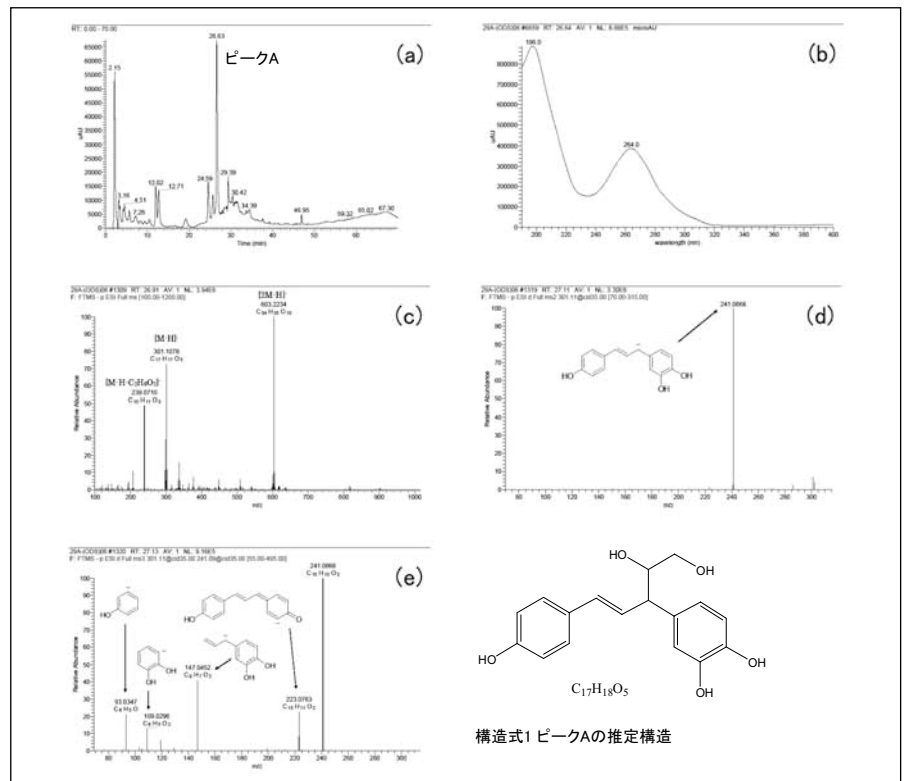


図2 ヒノキ処理液のLC/MS分析結果

- (a) HPLC/PDA クロマトグラム
- (b) UV スペクトル
- (c) マススペクトル
- (d) プロダクトイオンスペクトル (MS/MS, プレカーサーイオン: 301.1078)
- (e) プロダクトイオンスペクトル (MS/MS/MS, プレカーサーイオン: 241.0868)

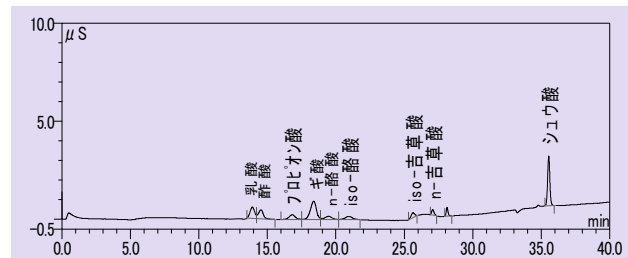


図3 ICによる有機酸混合標準溶液 (1 µg/L) のクロマトグラム

イナリーに関連する複雑な未知成分の構造を推定することができる。

### 3.2 有機酸の IC による分析例

有機酸はバイオリファイナリーにおける基幹化学品である他、発酵プロセスにおける阻害要因物質や、バイオ燃料中の不純物や腐食の原因物質でもあり、評価項目として重要である。有機酸などのアニオン成分の分析には、一般的に IC や CE が用いられ、特に IC は有機酸の高感度定量を得意とする。濃縮注入法を用いた有機酸の IC 分析例を図 3 に示す。大容量注入や濃縮注入法を用いることで  $\mu\text{g/L}$  レベルの高感度検出が可能であるため、試料中の微量な有機酸成分の定量に有用である。試料に有機

溶剤や有機物を含む場合、IC ではカラムを汚染して測定に影響を及ぼすことが懸念される。このような試料では前処理によりマトリクス成分を除去して IC 測定する方法の他、後述する CE を用いることで測定が可能となる。

### 3.3 有機酸・糖などの CE 及び CE/TOFMS 分析例 ～バイオマス糖化, 発酵法の開発支援～

#### 3.3.1 CE 及び CE/TOFMS の分析原理・特徴

CE はバイオリファイナリーに関連する複雑なマトリクス中のアニオンやカチオンを分離・検出することを得意とした分離定量法である。CE システムの概要を図 4 に

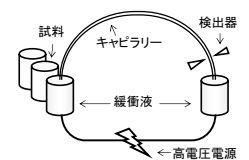


図4 CEシステムの概要

示す。CEでは緩衝液を満たしたキャピラリーに試料をごく微量注入して電場をかけることにより、試料中成分をそのイオンの電荷、イオン半径、移動速度に応じて移動させて検出する。ICと比較して高い理論段数により各種成分が良好に分離、定量される点、夾雑成分の影響を受けにくい点、必要試料量が数 $\mu$ Lと微量である点が大きな特徴である。

一般的にCEの検出には紫外吸光度法を用いるが、紫外吸収を持たない有機酸などの検出には間接吸光度法を用いる。CEを用いた定性は標準ピークの検出時間の比較により行う。検出時間等で同定が困難な成分の定性分析には、CEにTOFMSを接続したCE/TOFMSが有用である。

CE/TOFMSでは、CEで分離されたイオン成分をLC/MSと同様にESIによりイオン化させる。加速電圧により加速されたイオンは、フライトチューブ内を $(m/z)^{1/2}$ に比例した時間で通過して検出器に達し、この時間を測定することによりイオンの精密な $m/z$ を測定することが可能である。得られた分子量関連イオンの精密質量情報から元素の組み合わせを行うことで、組成式を算出できることが特徴である。また、一定の条件のもとで各化合物のクロマトグラムを自動的に抽出することができるため、検出が困難であったベースに埋もれたピークも抽出可能である。

このように、CE及びCE/TOFMSは、夾雑成分を含む試料であってもCEでイオ

ン成分を分離してTOFMSで精度よく定性できるため、バイオリファイナリーにおける組成解析に有用である。

### 3.3.2 アニオン成分（有機酸類）や糖類のCE測定結果

バイオリファイナリー基幹化学品として選定されたいくつかの化合物は、その性質によりCEで良好に定量できる。酸成分及び糖類のCE測定成分を図5に、CEによる標準溶液の測定結果を図6に示す。図6の有機酸類は高いpHの緩衝液を用いることで、各成分を陰イオンとして分離、検出している。CEの高い分解能の特徴を生かし、23成分の無機成分及び有機酸成分を25分以内に一齐分析することが可能で

**有機酸**  
＜CE条件①＞

■ 発酵阻害物質  
■ 基幹化学品

**無機イオン成分**  
＜CE条件①＞

■ Br<sup>-</sup> ■ Cl<sup>-</sup> ■ NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ■ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 ■ SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ■ F<sup>-</sup> ■ PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>

**糖**  
＜CE条件①＞

**糖**  
＜CE条件②＞

グリセロール (グリセリン)    ソリトール    キシリトール

図5 CE測定成分

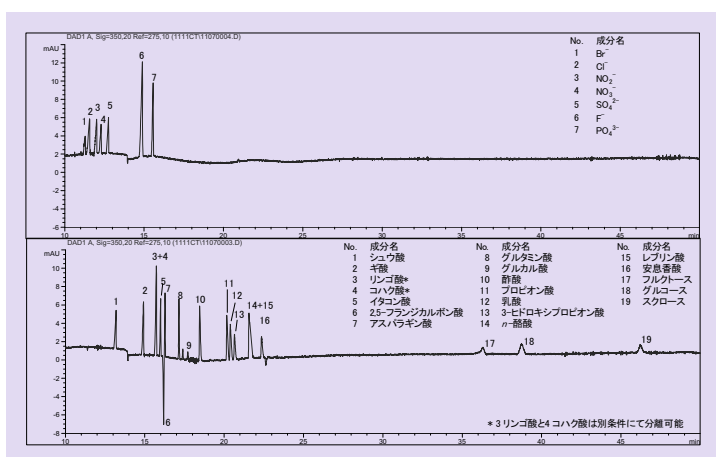


図6 CEによる有機酸及び糖の混合標準溶液 (50mg/L) のエレクトロフェログラム＜CE条件①＞

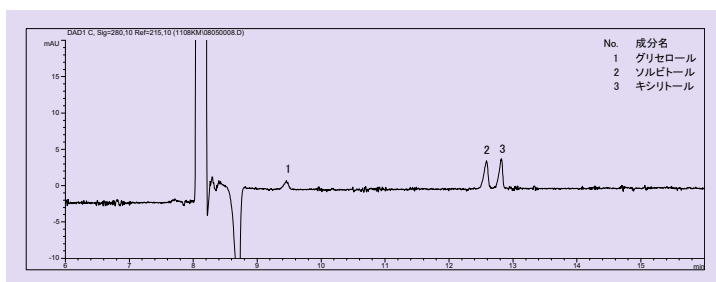


図7 CEによる糖の混合標準溶液 (100mg/L) のエレクトロフェログラム＜CE条件②＞

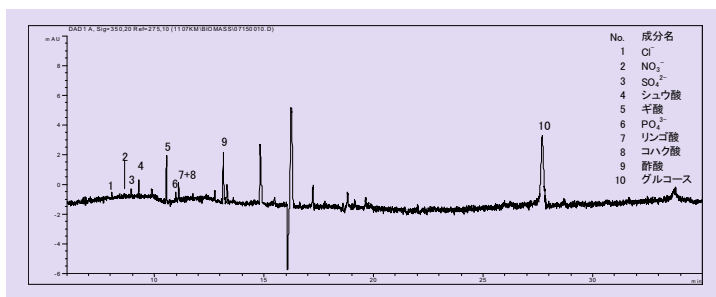


図8 ヒノキ処理液のエレクトロフェログラム＜CE条件①＞

ある。さらに糖類のフルクトース、キシロース、グルコース、スクロースについても同条件で検出可能である。グリセロール、ソルビトール及びキシリトールは、図7に示す様に、錯形成を利用したホウ酸緩衝液を用いる条件で分析を可能とした。

### 3.3.3 アニオン成分(有機酸類)や糖類のCE及びCE/TOFMSによる分析事例

ヒノキの処理液をCE測定した結果を図8に示す。試料から $SO_4^{2-}$ 、 $PO_4^{3-}$ 等無機酸の他、ギ酸、酢酸、リンゴ酸、コハク酸等の有機酸とグルコースが検出された。また成分が特定できない不明成分がいくつか検出された。

ヒノキとスギの処理液をCE/TOFMSで分析した結果を図9に示す。マトリックス由来のノイズを除去して各化合物のクロマトグラムを自動的に抽出することで、ピーク強度が小さくベースに埋もれていた成分や分離が不十分であった成分を検出することができた。また抽出された検出成分の精密質量情報から、元素の組み合わせを行い、推定組成式さらには推定化合物の情報を得ることができた。これによりCE測定では確認できなかったアスパラギン酸、グリコール酸、マレイン酸、クエン酸等、木質バイオマス分解物と考えられる多数の有機酸類を確認することができた。検出されたコハク酸及びアスパラギン酸はDOEにより選定されたバイオリファイナリー基幹化学品であり、着目成分の検出が確認できた。

さらに、CE/TOFMS測定から得られた多量のデータを統計的に処理することにより、試料の特徴を把握し、統計的に有意な差異がみられた化合物を特定することが可能である。ヒノキ及びスギ処理液から検出された多数の成分について、試料間で検出強度を比較するため、抽出したデータから二群間比較を行った結果を図10に示す。ヒノキで検出量が多い成分、あるいはスギで検出量が多い成分など、各試料における

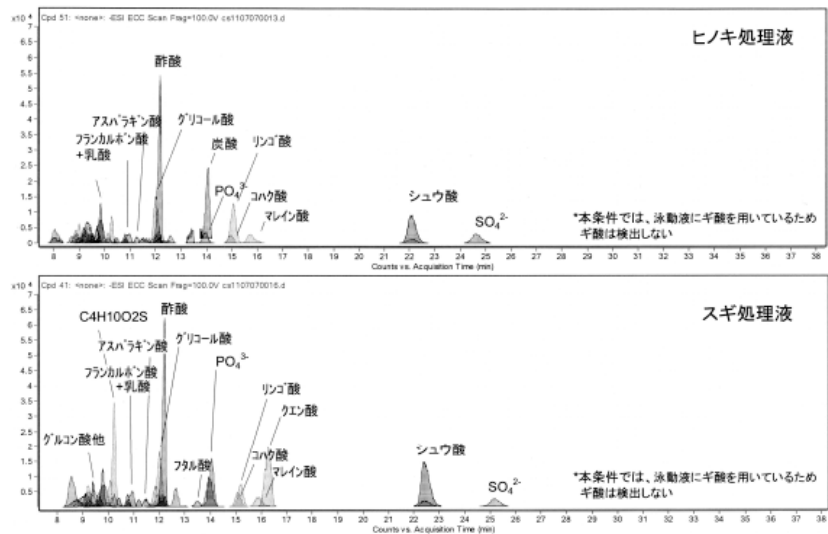


図9 CE/TOFMS 定性結果

検出成分の傾向を視覚化することができた。また図中のプロットから、その成分の推定組成式を確認することが可能である。

木質バイオマスを水熱処理した試料について紹介したが、その後の工程の糖化液についても同様に分析することで、バイオリファイナリー基幹化学品やエタノール発酵における発酵阻害物質であるギ酸や酢酸を分析することが可能である。

以上のように、本手法を用いることで試料中のイオン性化合物を網羅的に検出・解析することが可能であり、バイオリファイナリーにおける着目成分である有機酸や糖類の評価に活用できる。

## 4 おわりに

近年益々バイオマスの利活用技術の向上が求められ、原料や製造プロセスにおける問題も多様である。当社では、バイオリファイナリーの各工程における着目すべき成分について、その化学的性質に合わせた種々の分析手法を用いることで総括的に評価することが可能であり、バイオマス化学品の探索やバイオマス前処理及び糖化、発酵法の開発などを支援していきたい。



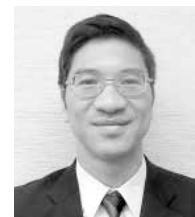
平野 直子  
(ひらの なおこ)  
千葉事業所



瀬尾 千春  
(せお ちはる)  
千葉事業所



浅野 賢一  
(あさの けんいち)  
大阪事業所



章 宏  
(い こう)  
大阪事業所



森川 正弘  
(もりかわ まさひろ)  
工業支援事業部

## 文献

- 1) 資源エネルギー庁 Web Site (2011年現在)  
<http://www.enecho.meti.go.jp/policy/fuel/080404/gaiyou.pdf>

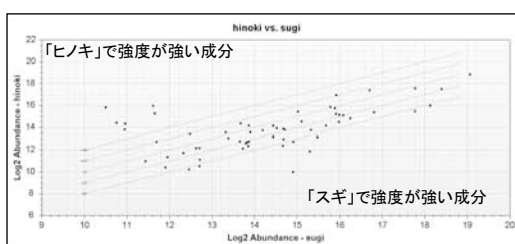


図10 ヒノキ及びスギ処理液中アニオン成分の二群間比較