

2021年11月11日(木)

B会場

バイオマス利用技術

[1B01-04] バイオマス利用技術(1)

座長:山口 有朋(国研)産業技術総合研究所)

09:00 ~ 10:00 B会場 (函館アリーナ 会議室B)

[1B01] 放線菌*Amycolatopsis* sp. NT115由来ホスファチジルグリセロール特異的ホスホリパーゼ Cの異種組換え発現検討

○梶山 聖人¹、松井 萌¹、杉森 大助^{1,2} (1. 福島大学大学院、2. 福島大学)

09:00 ~ 09:15

[1B02] 脱ガム酵素ホスファチジン酸ホスファターゼの精製と諸特性解析

○松井 萌¹、藤田 大勢¹、佐藤 佑香²、杉森 大助^{1,2} (1. 福島大学大学院、2. 福島大学)

09:15 ~ 09:30

[1B03] メタン資化細菌中のメタノール脱水素酵素発現制御によるメタン/メタノール変換

○伊藤 栄紘¹、吉森 孝成¹、石川 聖人²、堀 克敏²、蒲池 利章¹ (1. 東京工業大学、2. 名古屋大学)

09:30 ~ 09:45

[1B04] コブラ由来バイオオイルの水素化改質の多機能触媒の設計

○綱川 隼矢¹、銭 衛華¹ (1. 東京農工大学大学院 生物システム応用科学府)

09:45 ~ 10:00

バイオマス利用技術

[1B05-07] バイオマス利用技術(2)

座長:銭 衛華(東京農工大学)

10:15 ~ 11:30 B会場 (函館アリーナ 会議室B)

[1B05] Highly efficient degradation of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) by continuous flow processing in multiple solvent system

○陳 鵬茹¹、山口 有朋¹、三村 直樹¹ (1. 国立研究開発法人 産業技術総合研究所)

10:15 ~ 10:30

[1B06] 動植物性油脂からの新しい炭化水素系バイオディーゼル燃料 (HiBD) の液相合成

○島田 光¹、平川 哲也¹、朝見 賢二¹、谷 春樹²、村上 弥生³、藤元 薫³ (1. 北九州市立大学 朝見研究室、2. 環境エネルギー株式会社、3. HiBD研究所)

10:30 ~ 10:45

[1B07] 【招待】触媒によるバイオマス資源の化学品への変

換

○福岡 淳¹ (1. 北海道大学)

10:45 ~ 11:30

バイオマス利用技術

[1B01-04] バイオマス利用技術(1)

座長:山口 有朋(国研)産業技術総合研究所)

2021年11月11日(木) 09:00 ~ 10:00 B会場 (函館アリーナ 会議室B)

[1B01] 放線菌*Amycolatopsis* sp. NT115由来ホスファチジルグリセロール特異的ホスホリパーゼ Cの異種組換え発現検討

○梶山 聖人¹、松井 萌¹、杉森 大助^{1,2} (1. 福島大学大学院、2. 福島大学)

09:00 ~ 09:15

[1B02] 脱ガム酵素ホスファチジン酸ホスファターゼの精製と諸特性解析

○松井 萌¹、藤田 大勢¹、佐藤 佑香²、杉森 大助^{1,2} (1. 福島大学大学院、2. 福島大学)

09:15 ~ 09:30

[1B03] メタン資化細菌中のメタノール脱水素酵素発現制御によるメタン/メタノール変換

○伊藤 栄紘¹、吉森 孝成¹、石川 聖人²、堀 克敏²、蒲池 利章¹ (1. 東京工業大学、2. 名古屋大学)

09:30 ~ 09:45

[1B04] コプラ由来バイオオイルの水素化改質の多機能触媒の設計

○綱川 隼矢¹、銭 衛華¹ (1. 東京農工大学大学院 生物システム応用科学府)

09:45 ~ 10:00

放線菌 *Amycolatopsis* sp. NT115 由来ホスファチジルグリセロール特異的ホスホリパーゼ C の異種組換え発現検討

(*福大院・理工、**福大・理工) ○梶山 聖人^{*,}, 松井 萌^{*,}, 杉森 大助^{*,**}

1. 緒言

ホスホリパーゼ C (PLC) は、グリセロリン脂質のリン酸エステル結合を加水分解し、ジアシルグリセロール (DG) とホスホリル塩基を遊離する加水分解酵素である (Fig. 1). 放線菌や大腸菌の細胞膜には総リン脂質の約 10%以上のホスファチジルグリセロール (PG) が含まれている。したがって、それらバイオマスに PG 特異的 PLC (PG-PLC) を作用させることによりバイオディーゼル燃料 (BDF) 製造の原料となる DG を生産できる。そこで、PG-PLC の大量生産 (調製) を目指し、異種組換え発現検討を行った。

2. 実験

大腸菌および放線菌を用いて *Amycolatopsis* sp. NT115 株の PG-PLC 遺伝子の異種組換え発現を試みた。大腸菌発現では宿主 JM109, 発現ベクター pCold TF を用い、放線菌発現では宿主 *Streptomyces lividans*, 発現ベクター pUC 702 を用いて発現させた。さらに、精製を簡略化するため PG-PLC の C 末端に Ni キレート His6 タグを付加させた。

3. 結果

大腸菌発現では活性型の酵素の発現には至らなかった。放線菌発現では菌体内外に目的酵素が

生産され、菌体外に分泌生産された酵素は微弱ながら活性を示した (Fig. 2). 一方、菌体内可溶性画分を His-tag タンパク質精製用カラムクロマトグラフィーに供したところ、電気泳動的に単一バンドまで精製でき、PG-PLC が約 70 倍精製されたことを確認した。現在、精製 PG-PLC について酵素学的な諸特性解析を行っている。

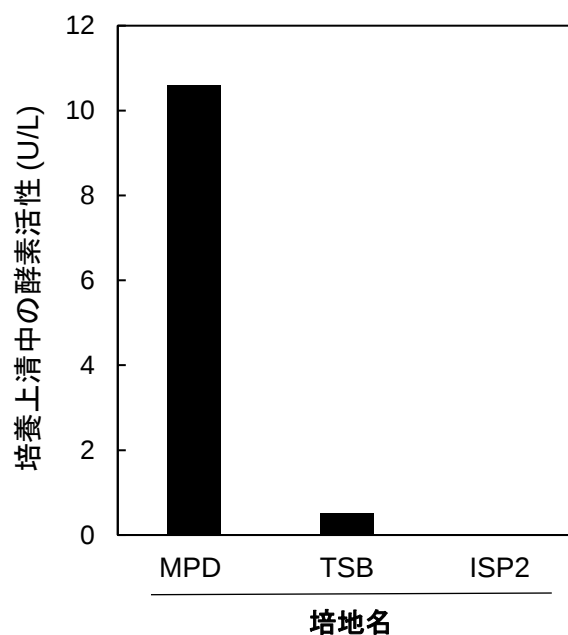


Fig. 2. Relationship between PG-PLC productivity and culture medium.

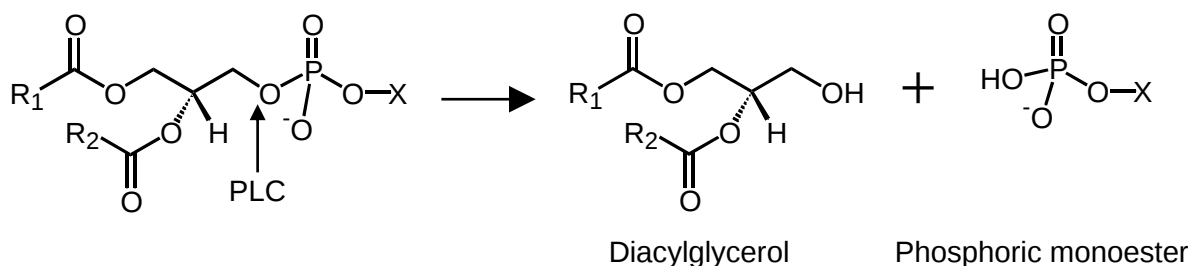


Fig. 1. Hydrolysis of phospholipid by PLC.

脱ガム酵素ホスファチジン酸ホスファターゼの精製と諸特性解析

(福大院・理工*・福大・理工**)

○松井 萌*・藤田 大勢*・佐藤 佑香**・杉森 大助**

1. 緒言

酵素脱ガム法は、従来の物理化学的脱ガム法と比べ低コストかつ低環境負荷であることから海外を中心に普及し始めている。しかし、既存脱ガム酵素はガム質の成分であるホスファチジン酸 (PA) を分解できないことから、PA を効率的に分解できる PA ホスファターゼ (PAP) の開発が強く求められている。また、PAP による PA の分解生成物はバイオディーゼル燃料 (BDF) 製造の原料となるジアシルグリセロール (DAG) であるため、PAP は産業上有用な酵素といえる (Fig. 1)。このような背景のもと、本研究では放線菌由来 PAP に着目し、本酵素の精製と諸特性解析を行った。

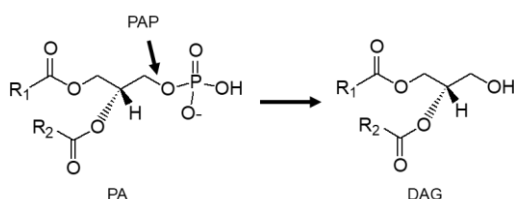


Fig. 1. Hydrolysis of PA by PAP.

2. 方法および結果

2.1 PAP 精製

研究室保有の放線菌ライブラリーのうち 112 株を対象にしたスクリーニングにより、培養上清に PAP を分泌生産する NT-119 株を取得した。NT-119 株の 16S rDNA 塩基配列解析の結果から、本菌株は *Amycolatopsis halotolerans* に近縁の新種 *Amycolatopsis* sp. と帰属された。NT-119 由来 PAP (PAP_{NT119}) の精製工程にパルミトイルセルロースアフィニティークロマトグラフィー (Pal-G) を導入することにより、PAP_{NT119} を電気泳動的に単一とな

るまで精製することに成功した (Fig. 2)。SDS-PAGE 分析の結果、PAP_{NT119} は分子質量 54 kDa のポリペプチド鎖からなる単量体酵素であると推定した。

2.2 諸特性解析

精製酵素サンプルを用いて PAP_{NT119} の諸特性解析を行った結果、PA に対して pH 6.5、45°C で最大活性を示した。基質特異性試験の結果、PA 以外の基質にはほとんど作用しないことから、本酵素は PA に特異的に作用する酵素である。また、PAP_{NT119} は透析によって失活し、10 μ M MnCl₂ 添加によって活性が回復したことから、Mn²⁺ 要求性酵素であると考えられる。1 mM 金属塩を反応液に添加し、金属イオンによる影響を調べたところ、CaCl₂ および NaCl 存在下で活性が約 1.5 倍向上した。現在、精製酵素を用いてさらなる諸特性解析を進めている。

3. 総括

放線菌 *Amycolatopsis* sp. NT-119 由来分泌型 PAP (PAP_{NT119}) を精製し、諸特性解析を行った。PAP_{NT119} は Mn²⁺ 要求性、分子質量 54 kDa であり、pH 6.5、45°C で最大活性を示した。

PAP に関しては、これまでに真核生物由来膜結合型 PAP の報告例が多数ある一方で、原核生物由来分泌型は唯一 *Streptomyces mirabilis* A-2313 由来 PAP (PAP_{A2313}) が報告されているのみである¹⁾。PAP_{A2313} の分子質量は 15 kDa であり、Ca²⁺ 要求性であることなどから、放線菌由来分泌型 PAP としても PAP_{NT119} は新奇酵素で可能性が高いと結論づけた。

1) 東洋醸造株式会社, 新規なホスファチジン酸ホスファターゼの製造法, 特開昭 50-142780 (1975.11.17).

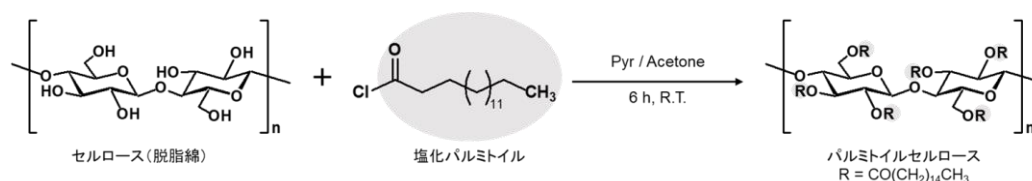


Fig. 2. Synthesis of palmitoyl cellulose (Pal-G).

メタン資化細菌中のメタノール脱水素酵素発現制御による メタン/メタノール変換

(東工大生命理工*・名大工**) ○伊藤栄紘*・吉森孝成*・石川聖人**・堀克敏**・蒲池利章*

1. 緒言

化学品原料だけでなく次世代燃料源として注目されているメタノールは、工業的な製造に高温高压下、多段階の反応を必要とする。一方、メタンを代謝して生育するメタン資化細菌は、メタンをメタノール、ホルムアルデヒド、ギ酸、二酸化炭素へと段階的に酸化する各種酵素を持つ。本研究では、メタノールを代謝する酵素であるメタノールデヒドロゲナーゼ (MDH) の発現を制御可能なメタン資化細菌を遺伝子工学手法で作成した。この菌体を用いて培地中の金属イオンの交換により MDH 発現を制御することで、メタノールの蓄積と菌体増殖の切替えを目指した (Fig.1) ¹⁾。

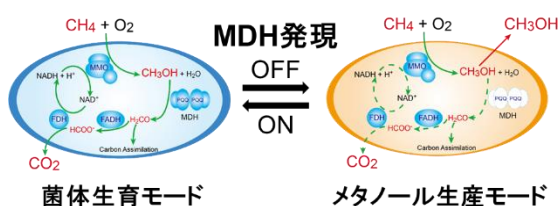


Fig. 1 Cell growth and methanol production induced in methanotrophs by switching methanol dehydrogenase gene expression.

2. 実験

メタン酸化細菌 *Methylosinus trichosporium* OB3b (以下 OB3b 株) を用いて、相同組換え法によりメインの MDH である *mxoF* 遺伝子を欠損させた変異株を構築した。この OB3b *mxoF* 遺伝子欠損株 (OB3b $\Delta mxoF$ 株) を、別の MDH である *XoxF* の発現条件である Ce^{3+} イオン含有培地に培養し、ゲノム DNA の PCR とウェスタンブロッティングを行った。さらに、培地中の金属イオンを菌体生育モード (Cu^{2+} イオン不含、 Ce^{3+} イオン含有) からメタノール生産モード (Cu^{2+} イオン含有、 Ce^{3+} イオン不含) へ切り替えて OB3b $\Delta mxoF$ 株を植え継ぎ、菌体の増殖と培地中のメタノール濃度を測定した。

3. 実験結果および考察

構築した OB3b $\Delta mxoF$ 株からゲノム DNA を抽出し、*mxoF* 遺伝子の周辺領域を PCR で増幅すると、野生 OB3b 株よりも短いアンプリコンが得られ、*mxoF* 遺伝子が欠損していることが確認できた。抗 *MxaF* 抗体を用いてウェスタンブロッティング解析を行ったところ、タンパク質レベルでの *MxaF* の欠損を確認した。

OB3b $\Delta mxoF$ 株の培地交換における Cu^{2+} および Ce^{3+} イオンの添加/除去により、菌体生育モードとメタノール生産モードのスイッチングを試みた (Fig. 2)。菌体生育モードで培養した OB3b $\Delta mxoF$ 株をメタノール生産モードの培地に植え継いだ場合、菌体増殖は低下し、時間経過と共に培地中にメタノールが蓄積した。その後回収した菌体を再度菌体生育モードに植え継いだ場合、わずかにメタノールが蓄積したが、菌体増殖に伴ってメタノールが消費され最初の状態と同程度まで菌体増殖が回復した。以上の結果から、OB3b $\Delta mxoF$ 株のメタノール脱水素酵素発現制御によるメタン/メタノール変換に成功した。

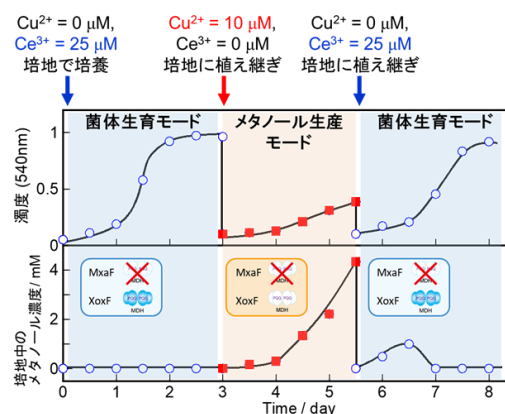


Fig. 2 OB3b $\Delta mxoF$ mutant switching between cell growth and methanol production conditions by modulating copper and cerium concentrations.

1) Ito, H.; Yoshimori, K.; Ishikawa, M.; Hori, K.; Kamachi, T., *Front. Microbiol.*, **2021**, Mar 22; 12, 639266

コブラ由来バイオオイルの水素化改質の多機能触媒の設計

(東京農工大学) ^{つなかわとしや} 綱川隼矢、^{せんえいか} 銭衛華

1. 緒言

ジェット燃料からの CO₂ 排出は地球温暖化を促進する要因の一つであり、これを受けて、航空業界は 2050 年までに CO₂ 排出量を半分にまで削減することを目指して掲げている。この目標を達成するためには、バイオジェット燃料の使用が必要不可欠である。そこで本研究では、近年ココナッツの生産での廃棄物であるコブラを水蒸気分解で製造したバイオオイル(Copra-BO)を改質するバイオジェット燃料製造法に着目した。Copra-BO には C₆-C₁₈ 炭化水素(20-30%)に加え、C₆-C₁₈ 遊離脂肪酸(40-50%)、含酸素化合物(10%程度)および少量のトリグリセリドが含まれている。Copra-BO をバイオジェット燃料に変換するために、脂肪酸の脱炭酸反応、含酸素化合物の水素化脱酸素反応および炭化水素の異性化とクラッキング反応が同時に起こる多機能触媒を設計する必要がある。そこで本発表では、アルカリ土類金属酸化物を ZSM-5 に担持し、さらに Pt を担持した多機能触媒を調製し、Copra-BO の改質を行った。

2. 実験

2.1. 触媒調製

多機能触媒は含浸法によって調製した。アルカリ土類金属硝酸塩水溶液を ZSM-5 に含浸させ、触媒 MeO/ZSM-5 触媒を調製した。さらに Pt を担持させ、Pt/MgO/ZSM-5 触媒を調製した。

2.2. 回分反応器による触媒性能評価

オートクレープによる Copra-BO の改質を、水素圧力 0-2 MPa、反応温度 300-340°C、反応時間 3-6 h で行った。Pt を含む触媒は、水素化還元(400°C、3 h)を行った。得られた気体生成物、液体生成物の分析を GC によって定性および定量した。

3. 結果および考察

Copra-BO の改質反応において、気体生成物として、C₁-C₅ 炭化水素、CO、CO₂ が、液体生成物として、C₅-C₁₈ 炭化水素が生成された。CO₂ の発生、C₆-C₁₈ 炭化水素の増加、脂肪酸の減少より、アルカリ土類金属酸化物での脂肪酸の脱炭酸が起こったことが示唆された。また、C₁-C₅ 炭化水素の生成より ZSM-5 による水素化クラッキングが起こったことがわかる。

Table 1 に各触媒および各反応条件での Copra-BO 中の脂肪酸の転化率(x_{FFA})、脂肪酸脱炭酸率(S_{DCO})、バイオジェット燃料留分である C₇-C₁₄ 炭化水素収率(Y_{JF})を示した。二機能触媒におけるアルカリ土類金属酸化物による影響では、MgO/ZSM-5 の S_{DCO} が最大であったが、 Y_{JF} は最も低い値となった(Entry 1-3)。反応条件について、触媒量(Entry 1, 4, 5)および反応時間(Entry 4, 8)を増加させたところ、 x_{FFA} 、 S_{DCO} 、 Y_{JF} が向上することがわかった。

水素圧力は 1 MPa の時、いずれのパラメータも最高値となった(Entry 4, 6, 7)。 S_{DCO} は 1 MPa の時より低くなった。これは、DCO より HDO が進みやすいことが考えられる。

次に三機能触媒を用いた Copra-BO の改質を行ったところ、二機能触媒の時と類似した生成物状態となった。二機能触媒との比較を行うと、 S_{DCO} と Y_{JF} が減少した。これは、Pt の含有による触媒中の MgO サイトと ZSM-5 の酸サイト割合の減少に起因していて、Pt が起こす反応が起こらなかった。しかし、反応中に生成されるコークが減少していることがわかった。そのため、Pt によるコーク抑制を見ることができた。

4. 結論

固体塩基/固体酸での二機能触媒では、Copra-BO 中の脂肪酸の脱炭酸率、炭素鎖の水素化クラッキングが起こっていることが確認できた。また、Pt の担持によってコーク生成が抑制されることがわかった。

Table 1 The result of test on diverse reaction condition.

Entry	Catalyst (supported by ZSM-5)	Reaction Condition			x_{FFA} [%]	S_{DCO} [%]	Y_{JF} [%]	W_{coke} [wt%]
		W_{cat} [g]	P_{H_2} [MPa]	t_{rea} [h]				
1	MgO	0.5	1	3	47.0	63.3	14.0	1.13
2	CaO	0.5	1	3	68.9	62.2	17.4	1.83
3	BaO	0.5	1	3	58.2	54.8	15.5	1.05
4	MgO	1	1	3	86.4	57.5	22.6	1.16
5	MgO	1.5	1	3	88.9	75.0	31.6	1.79
6	MgO	1	0	3	69.8	55.7	16.5	0.91
7	MgO	1	2	3	74.8	53.1	20.1	0.90
8	MgO	1	1	6	83.4	68.1	25.2	3.54
9	Pt, MgO	1	1	6	86.5	56.6	21.6	1.84

バイオマス利用技術

[1B05-07] バイオマス利用技術(2)

座長: 銭 衛華(東京農工大学)

2021年11月11日(木) 10:15 ～ 11:30 B会場 (函館アリーナ 会議室B)

[1B05] Highly efficient degradation of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) by continuous flow processing in multiple solvent system

○陳 鵬茹¹、山口 有朋¹、三村 直樹¹ (1. 国立研究開発法人産業技術総合研究所)

10:15 ～ 10:30

[1B06] 動植物性油脂からの新しい炭化水素系バイオディーゼル燃料（HiBD）の液相合成

○島田 光¹、平川 哲也¹、朝見 賢二¹、谷 春樹²、村上 弥生³、藤元 薫³ (1. 北九州市立大学 朝見研究室、2. 環境エネルギー株式会社、3. HiBD研究所)

10:30 ～ 10:45

[1B07] 【招待】触媒によるバイオマス資源の化学品への変換

○福岡 淳¹ (1. 北海道大学)

10:45 ～ 11:30

Highly efficient degradation of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) by continuous flow processing in multiple solvent system

(AIST) ○Pengru Chen • Aritomo Yamaguchi • Naoki Mimura

The synthesis of bio-based HMF is attractive because of its valuable market potentials. Here, we achieve the continuous formation of high selectivity and yield of HMF from fructose dehydration in a H₂O-1,4-dioxane (DIO)-methyl isobutyl ketone (MIBK) ternary solvent system over Amberlyst 70. The presence of DIO promotes the fructose conversion, and MIBK prevents the side reactions by extracting HMF from active aqueous phase.

Fructose dehydration • HMF • Solvent system
n.mimura@aist.go.jp (Naoki Mimura)

1. Introduction

Bio-based HMF, produced from acid-catalyzed dehydration of fructose (Fig. 1), has been identified as a versatile intermediate for clean fuels and degradable polymers.¹⁾ Production of HMF with high selectivity is challenging because of the high reactivity of its functional groups, causing concomitant side reactions under the evaluated reaction conditions. Solvents with high boiling point, such as dimethyl sulfoxide and gamma-valerolactone, are using to access high yield of HMF, leading to formidable energy consumption in downstream separation and distillation. Here, we perform an economical reaction system by using low boiling point solvents to continuously synthesize high selectivity of HMF from fructose dehydration.

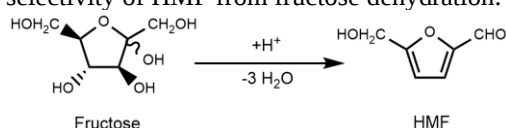


Fig. 1 Production of HMF from fructose dehydration.

2. Experimental method

The dehydration reaction was conducted in a flow reactor with Amberlyst 70 as the catalyst. The aqueous feed consisting of fructose and organic solvents were separately pumped to the reactor at certain flow ratio of two phases. A back-pressure regulator was installed to keep the reaction fluid in liquid state. Product sample was collected after the system reaching steady state and analyzed by HPLC and GC.

3. Results and Discussion

Fructose was successfully dehydrated to HMF over

Amberlyst 70 owing to its strong Brønsted acidity. Organic solvent present in the reaction mixture greatly affected the reaction performance. In the monophasic system with water miscible solvents, fructose conversion was above 90% and DIO gave higher yield of HMF than other solvents. FTIR analysis revealed the stabilization of HMF conformers in DIO. In addition, the rate constant gradually increased with the increase of DIO concentration. ATR-FTIR analysis of fructose in varying ratio of H₂O to DIO confirmed a blue shift of OH stretching vibration when increasing the amount of DIO, suggesting strengthened H-bond interactions which contributed to the increased dehydration rate.²⁾ However, the humins formation was significant in monophasic system. In contrast, biphasic system could minimize the side reactions by continuously extracting HMF from active aqueous phase. 94% carbon balance was achieved in H₂O/MIBK system ascribed to high partition coefficient of MIBK to HMF, whereas the fructose consumption rate was moderate with only 64% fructose conversion. Therefore, a H₂O/DIO/MIBK ternary system was performed in order to combine both benefits of monophasic and biphasic system. In this system, HMF with 93% selectivity was continuously produced at 90% fructose conversion (Fig. 2). We conclude that the presence of DIO and MIBK in the system simultaneously contributes to the facile fructose dehydration and inhibits the side reactions. In addition, the reaction system exhibited good stability even after 10 h.

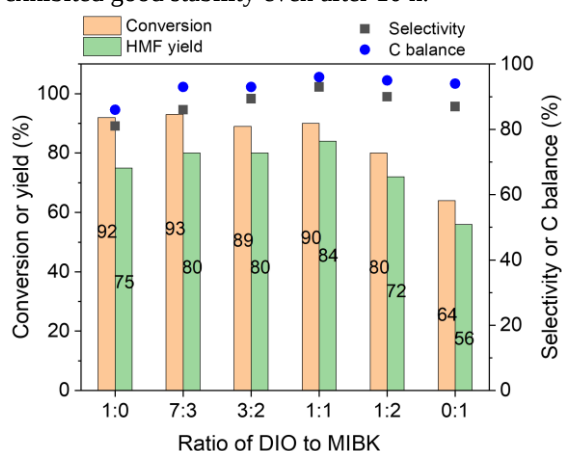


Fig. 2 Effect of the solvent system on fructose dehydration. Conditions: 0.3 M fructose, 0.5 g catalyst, 120 °C, 1:5 volume ratio of aqueous to organic phase (total 0.18 mL min⁻¹).

1) Q. Hou, *et al*, *Green Chem.*, **23**, 119 (2021)

2) T W. Walker, *et al*, *Energy Environ. Sci.*, **11**, 617 (2018)

動植物性油脂からの新しい炭化水素系 バイオディーゼル燃料（HiBD）の液相合成

（北九州市立大*・環境エネルギー**・HiBD 研***）

しまだひかる^{*}、ひらかわてつや^{*}、あさみけんじ^{*}、たにはるき^{**}、むらかみやよい^{***}、ふじもとかおる^{***}
○島田光^{*}、平川哲也^{*}、朝見賢二^{*}、谷春樹^{**}、村上弥生^{***}、藤元 薫^{***}

1.緒言

石油の代替燃料としてバイオマス液体燃料の重要性が近年高まってきている。我々は副原料を用いずに油脂類に固体触媒を用いた接触分解によって脱炭酸反応することにより炭化水素を得るHiBD(High quality Bio Diesel)法という新しいバイオディーゼル製造法の開発を進めている。[1]

本研究では、液相中で反応を行うことでコークの析出による触媒の固着を抑制し、長時間反応可能でより高効率なHiBD製造方式を開発することを目的とした。まず、液相合成に適した触媒を検討するため、固定床や攪拌槽で高活性を示したものの炭素析出が著しかったハイドロタルサイト(HT)など数種の触媒を選び、従来型のMgO/SiO₂触媒[2]と比較検討した。次に好結果を与えたHTを用い、反応器形状や還流塔の設置など反応システムの改良を実施した。

2.実験

触媒の選定実験では、セミバッチ式装置を用い、触媒 10 g、廃食油 50 g を仕込み、温度 430 °C、キャリアガス He(50 ml/min)、攪拌機は 300-360 rpm で反応を行った。氷冷トラップで凝縮した液体生成物を分解油として回収し重量基準で収率を求めた。凝縮しない気体成分はオンラインのGC-FIDで炭化水素類を、GC-TCDでCO、CO₂を分析し、生成量を算出した。反応システムの改良においては、反応器形状の影響、還流塔の設置および充填量や還流塔冷却方式などを検討した。

3.結果と考察

触媒の選定実験では、MgO/SiO₂よりもHTおよび硫酸アルミニウムが高い分解油収率とディーゼル留分選択性を与えた。さらに反応後の触媒のTG分析結果から、HTは炭素析出量が最も少ないことが分かった。またHT触媒は酸価が0.5 mg-KOH/g-oilであり、バイオディーゼルのニート規格(0.5 以下)を満たしている。脱炭酸反応に由来するCO₂の生成量が多かったことから、この触媒では脱炭酸反応が効率よく進行していることが明らかである。以上の結果より、液相スラリー反応の触媒としてはHT触媒が最も優れていると判断し、以下のシステム改良の検討に使用した。

システム改良においては、まず反応器の形状を検討し、液相の突沸トラブルに対応できるよう、液面から揮発した生成物の排出口までの距離を調整した。次に排出口の下流に還流塔を設置し、高沸点成分の十分な分解を進めた。さらに液充填量や還流温度などの最適化を行った。以上の改良を経て長時間連続運転試験を行った。Fig.1にCO、CO₂および生成油の酸価の経時変化を示す。また長時間試験を行うにあたっての反応条件の検討を行ったことで従来の液相合成より短時間で高収量の分解油を得るシステムを完成させた。しかし、長時間運転をする際に初期の昇温過程において突沸が発生した。反応時間3hまでの急激な変動は、反応初期の一時的な流出量の増大の影響である。この部分を除いてみると、MgO/SiO₂触媒ではCO₂生成量が急速に減少し、これに対応して酸価の著しい上昇が観察された。これは、脂肪酸からの脱炭酸反応に対する触媒活性が低下したことを示す。これに対してHT触媒では、CO₂生成量の低下は緩やかであり、酸価の上昇速度もMgO/SiO₂触媒よりもはるかに遅かった。この結果から、HT触媒の方が従来型のMgO/SiO₂触媒よりも長寿命化であることが明らかとなった。

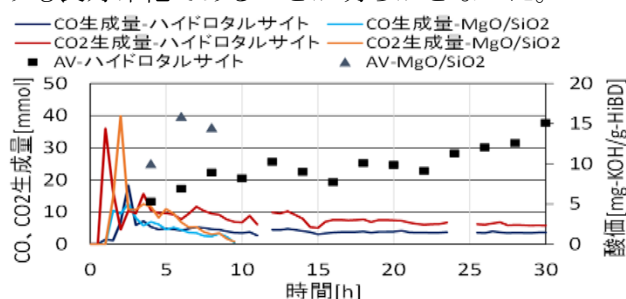


Fig.1 CO,CO₂生成量と酸価の経時変化

4.結論

液相スラリー反応用の触媒としてはHT触媒が最も優れているということを見出し、長時間反応を行うシステムを完成することができた。

5.引用文献

- [1] H. Tani, et al., Catal. Today, 164, 410 (2011).
- [2] N. Paweesuda et al., J. Jpn. Inst. Energy, 94, 1393 (2015).

触媒によるバイオマス資源の化学品への変換

(北海道大) 福岡 淳

1. 緒言

バイオマスは再生可能エネルギーの中で唯一の有機化合物からなる資源である。その中でも資源量が多く、食料と競合しない木質及び海洋バイオマスの利用は、脱炭素化に資すると期待されている（図 1）。木質バイオマスの主成分はグルコースの高分子であるセルロース、5～6 糖の高分子であるヘミセルロース、そして芳香族高分子であるリグニンである。このうち、最も資源量が多いセルロース部分を分解して単量体に変換できれば、様々な化学品を合成することができる[1,2]。しかし、セルロースは水素結合に基づく強固な結晶構造（図 2）をもち一般的な溶媒に不溶であり分解が困難である。さらに、高温・強酸条件下で加水分解を行うと、生成するグルコースの逐次反応が容易に進行して副生成物を与え選択性が低下する。

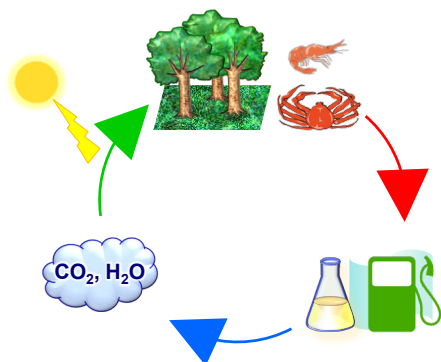


図 1. バイオマスを利用した炭素循環

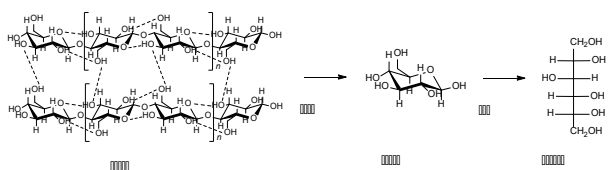


図 2. セルロースの構造と加水分解水素化によるソルビトール合成

酵素や硫酸を用いる既存のセルロース分解法は、反応速度・選択性・分離プロセス等で難点があり経済的なプロセスの確立はなされていない。一方、固体触媒は反応後の生成物との分離が容易であり、かつ反応条件の適用範囲が広いという利点をもつにもかかわらず、ほとんど検討されてこなかった。以上の背景から、固体触媒を基軸とする方法によりバイオマスを選択的に分解して基

幹化学品を合成することを研究目的とした。

2. 固体触媒によるセルロースの加水分解水素化

我々はまずセルロースの加水分解水素化によるソルビトールの合成に取り組んだ。本法では、セルロースの加水分解で生成したグルコースを反応系中で直ちに水素化し、化学的に安定な糖アルコール（ソルビトール）に変換するため、選択性の向上が期待できる（図 2）。ソルビトールは、プラスチックモノマーや緑内障治療薬として重要なイソソルビドなどの化学品原料になる。

その結果、白金やルテニウムなどの担持金属触媒上でセルロースの加水分解水素化反応が進行し、ソルビトールが収率よく得られることを見いだした[3]。この反応には固体基質と固体触媒の衝突が必要で、このような反応は進行しないと長年信じられていたが、我々はこの常識を覆し固体触媒でも反応が進行することを示した。この成果は、世界初の固体触媒によるセルロース分解であることから国内外で注目を集めるとともに、各地で同様の研究が行われるきっかけとなった。

次に、動力学的な検討を行い、担持金属触媒が水素化だけでなくセルロースの加水分解反応も促進することを明らかにした[4]。これにより、固体触媒がセルロースを加水分解できることを初めて実証した。この詳細を調べ、触媒担体の一つである活性炭にも加水分解活性があることを解明した[5]。この加水分解活性と高い耐水性が、活性炭の担体として優れている理由である。

さらに我々は、固体触媒として結晶性アルミノケイ酸塩の一つであるベータゼオライトを用い、疎水性の酸点を形成させると、ソルビトールをイソソルビドに効率的に変換できることを見いだした（図 3）[6]。従って、図 2 と図 3 を併せてセルロースから実用化学品であるイソソルビドまで固体触媒により一貫して導くことができた。

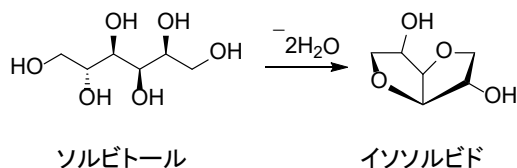


図 3. ソルビトールの分子内脱水によるイソソルビドへの変換

3. 弱酸点を持つ炭素触媒によるセルロースの加水分解

セルロースの加水分解水素化ではソルビトールなどの糖アルコールが生成するが、加水分解で反応を止められればグルコースが得られる。グルコースは各種有用化合物の原料となり、例えば発酵によるエタノールは燃料となるが、乳酸や5-ヒドロキシメチルフフルフルールはバイオポリマーの原料となる。加水分解水素化反応で得た知見から、我々は活性炭を触媒に用いればセルロースを加水分解してグルコースを合成できるのではないかと推測した。炭素を触媒にすることができれば、経済性や元素戦略の観点からも望ましい。しかし、グルコース合成はソルビトール合成よりも格段に難しい。そこで我々は、グルコースを高収率で合成するためには、固体触媒と固体基質間の接触を高めて加水分解速度を最大化することが重要であると考え、活性炭とセルロースを一緒にボールミル処理する前処理方法を考案した。この前処理を用いることにより、反応は20分で完結し、グルコース収率88%を達成した(図4) [7]。ありふれた活性炭により糖を高収率かつ短時間で合成できることから、従来法に比べて圧倒的な優位性があり、多くのメディアに取り上げられた。動力学的な検討を行った結果、この前処理により触媒と基質が強制的に接触させられるため、加水分解速度が13倍に向上し、むしろ均一系触媒よりも遥かに活性を高められることが分かった。

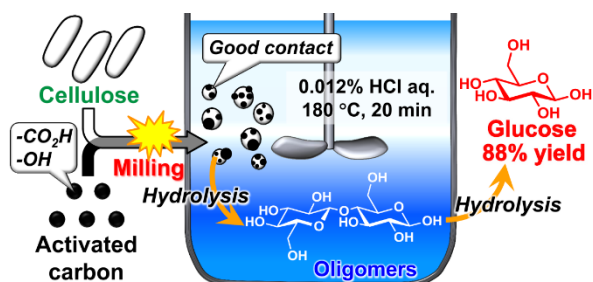


図4. 混合粉碎法を用いたセルロース加水分解

次に、セルロースの活性炭表面への吸着過程と加水分解過程からなる反応機構を解明した(図5) [8]。まず吸着に関し、活性炭の芳香族表面がセルロースをCH- π 水素結合により吸着することを示した。この時、水分子が疎水性表面から離れて自由度が増す疎水性相互作用が働くため、エントロピーが増大する。このエントロピー変化は一般的な吸着と対照的であり、温度を問わずセルロースの吸着を有利にする。次に、加水分解過程について、弱酸であるカルボキシル基が活性点であり、フェノール性水酸基が隣接すると特に高い活性を示すことを明らかにした。これは、フェノール性水酸基がセルロースと水素結合を形成するこ

とにより、隣接するカルボキシル基がグリコシド結合を攻撃する頻度が増加するためである。従来の研究ではセルロースを人工的に加水分解するためには強酸性が必要とされていたが、疎水性による吸着と弱酸を組み合わせればセルロースを加水分解できるという独創的な触媒設計指針を提示した。

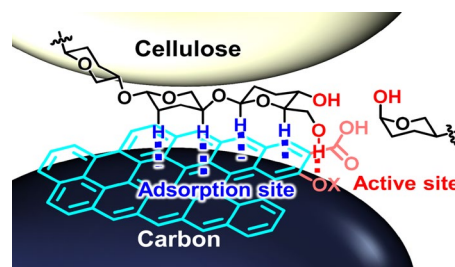


図5. 炭素表面の触媒反応機構

次に、実際の木質バイオマスを効率的に加水分解するための触媒系を構築した。木質バイオマスと純粋なセルロースとの決定的な相違は、加水分解反応後に触媒にリグニンが混入し、活性炭触媒が再使用できないことである。これは固体触媒共通の問題である。そこで、我々は活性炭の触媒機能をもとに、基質である木質バイオマス自身やリグニンを空気酸化する新規触媒調製法を考案した(図6) [9]。つまり、木質を高温で処理すると、炭化してセルロースの吸着点である芳香族が生成する。さらに、空気中の酸素に酸化されて活性点である弱酸点が付与される。本法では、反応後に触媒にリグニンが混ざっても、その混合物を同様に空気酸化すればリグニン部分も含めて触媒となり、触媒の循環が可能となる。これは、一般的な固体触媒を再使用するためには混入物を除去しなければならないことと真逆である。

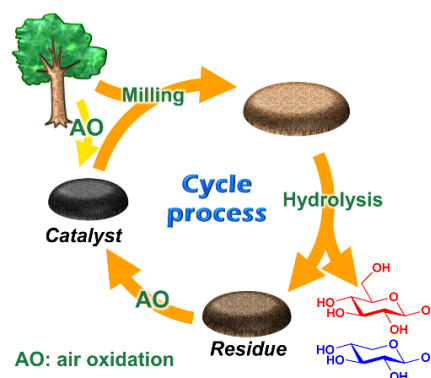


図6. 木質バイオマスの分解プロセス

この自己完結・循環型プロセスにより、木質バイオマスのセルロース部分からグルコースを、ヘミセルロース部分からキシロースを収率75%以

上で合成することに成功した。これは酵素法に匹敵する収率である。さらに、本法は外部から活性炭の供給を必要としないため、触媒コストは低く抑えられ、しかも廃棄物をほとんど発生しないという利点をもつ。

これまではセルロースをグルコースまで完全に加水分解する反応の開発を行ってきたが、次にセロオリゴ糖の合成を目標とした。セルロースのグリコシド結合を部分的に加水分解して得られる水溶性セロオリゴ糖は、微量でも植物に対してバイオスティミュラントとして作用し、病害耐性や成長を促進することが知られている。従って、農業において農薬や肥料の使用量を減らすことが可能となる。しかし、高機能を示す 3~6 量体のものを効率的に合成する方法がないため、これらは非常に高価（500~2000 円/mg）であり、応用研究は進んでいない。そこで、我々は炭素触媒とセルロースという低コスト材料から付加価値の高い水溶性セロオリゴ糖（3~6 糖）を合成することを試みた。

既に混合ボールミル処理したセルロース／空気酸化炭素触媒を加水分解すると、セロオリゴ糖が得られることが分かっていたが、バッチ式の反応では生成したセロオリゴ糖が系中に留まり続けるため逐次分解を抑制しきれず、高収率を維持したまま分子量分布を制御することは難しい。そこで、セロオリゴ糖の鎖長制御と高収率化を同時に達成するため、セミフロー式の反応法を開発した。空気酸化炭素触媒とセルロースを混合ミル処理後に反応管に充填し、水を流通させながら温度を上昇させていくと、150 °C 付近から加水分解が始まり、生成したセロオリゴ糖は水に溶けるため速やかに系外に排出された。空間速度や反応温度を変化させることにより、オリゴ糖の分子量分布を変えられ、6 量体をピークとする 3 量体以上のセロオリゴ糖を収率 70% で合成することができた（図 7）[10]。セロオリゴ糖合成については、工業プロセス化の観点からリン酸によるセルロース加水分解の系も比較検討している[11]。これらの手法で得られた水溶性オリゴ糖について、現在、共同研究先の企業が圃場試験によりバイオスティミュラントとしての評価を行っている。

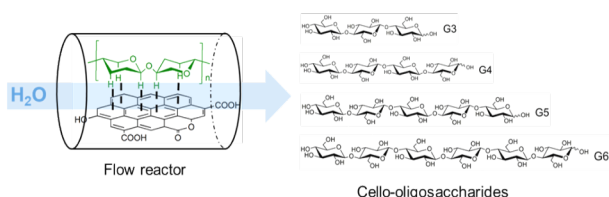


図 7. セミフロー反応系によるセルロースからセロオリゴ糖の合成

4. キチンの選択的解重合と有機窒素化合物の合成

キチンはバイオマスの中でセルロースに次ぐ第二の資源量を誇り、エビやカニの甲羅に大量に含まれている。キチンは *N*-アセチルグルコサミン（NAG）が β -1,4-グリコシド結合によって多数連結した高分子である（図 8）。NAG は、セルロースと似た構造をもつが、グルコースの 2 位の水酸基がアセトアミド基に置き換わったアミノ糖であり、窒素原子を含むことが大きな特徴である。キチンから NAG を合成できれば様々な有機窒素化合物への変換が期待できる。現在、有機窒素化合物の合成における工業的な窒素源は、大量の炭素排出を伴うハーバー・ボッシュ法で製造したアンモニアである。一方、キチンを原料にすれば炭素が循環するとともに、アンモニアを経由しないため窒素も循環可能となる（図 1）。

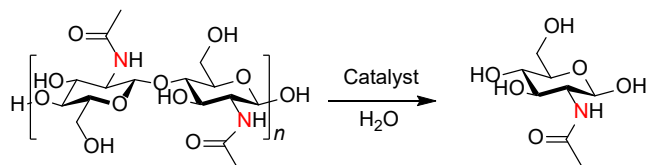


図 8. キチン加水分解による *N*-アセチルグルコサミンの合成

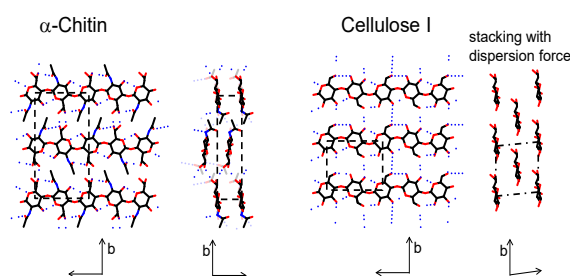


図 9. キチンとセルロースの構造

しかし、キチンは分子内・分子間の多数の水素結合を含んだ三次元的な結晶構造をもつため、セルロース以上に分解が困難である（図 9）。また、加水分解して単糖の NAG にすると 1 位にヘミアセタール基を持つため、反応性が高く容易に分解する。さらにキチン特有の問題もある。それは、キチンから NAG を合成するために加水分解の条件を適用すると、グリコシド結合だけでなく、アミド結合も加水分解を受けてしまうことである。アミノ基が遊離すれば副反応を誘発し、触媒毒にもなり、しかも NAG に比べて付加価値が低下する。このように選択的な分解が困難であることから、キチンはその 99% が利用されずに廃棄されており、研究もごく限られている。たとえば酵素によるキチン分解では数~10 日程度の長時間が必要である。キチンの分解法として濃塩酸を用いる方法もあるが、キチンに対して大過剰量（基質/触

媒比 < 0.01)の濃塩酸を必要とすることが問題である。従って、反応が短時間で完了し、かつ触媒条件で機能する反応系の開発が望まれている。

このような状況を鑑み、新規かつ選択的なキチン分解法の開発に取り組むこととした。我々は、ボールミルと硫酸を用いたメカノカタリシスによりキチンのグリコシド結合のみを選択的に切断することを着想した。実際にキチンに触媒量の硫酸を含浸しボールミル処理を行うと、アミド基を完全に保持したままグリコシド結合が切断できることを見だし、NAG を 61% 収率で合成することに成功した [12,13]。大量の濃塩酸と酵素を用いる工業法の収率 (32%) を大きく上回っている。次にキチン加水分解機構を検討した。まず、本反応は熱反応ではなく、メカノカタリシスによるものであることを明らかにし、さらにボールミルのマクロな力が分子レベルでグリコシド結合を選択的に活性化し、プロトン化と引き続く結合開裂の両方を促進することを示した (図 10) [12]。これはメカノカタリシスという現象一般の理解に繋がる重要な知見である。

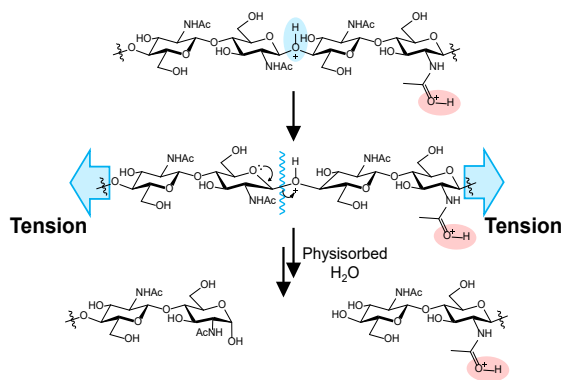


図 10. メカノキヤタリシスによるキチンの加水分解

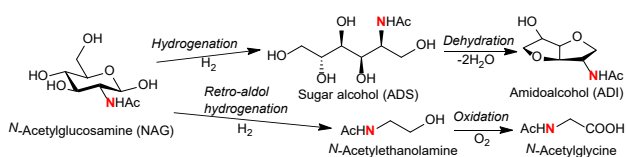


図 11. NAG からの有機窒素化合物の合成

我々はさらに、NAG からの有機窒素化合物の合成に取り組んだ(図 11)。まず、NAG を糖アルコール(ADS)に選択的に変換できる触媒系を考案し[13]、大量に合成・単離する方法を確立した。次いで、得られた糖アルコールを酸触媒により脱水することにより二環縮合アミドアルコール(ADI)を合成した[14]。この剛直な構造を持つ化合物は、高い耐熱性と機械強度を持つポリウレタンやポリアミドのモノマー前駆体として期待される。また、NAG のアミド基の電子的な性質を

利用して C-C 結合を位置選択的に切断できる触媒系を構築し、多くの用途を持つモノエタノールアミンと標準アミノ酸であるグリシンの誘導体を合成することに成功した。

5. 結言

以上のように、我々は再生可能資源である木質および海洋バイオマスの利用という観点からセルロースとキッチンの触媒変換に取り組み、化学品合成のための新触媒の開発、反応機構の解明、反応プロセスの開拓および誘導体合成を達成してきた。今後は反応プロセスの実用化を目指して研究を進めていきたい。

文献

1. H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Green Chem.*, **15**, 1740-1763 (2013).
2. A. Shrotri, H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Acc. Chem. Res.*, **51**, 761-768 (2018).
3. A. Fukuoka, P. L. Dhepe, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 5161-5163 (2006).
4. H. Kobayashi, Y. Ito, T. Komanoya, Y. Hosaka, P. L. Dhepe, K. Kasai, K. Hara, A. Fukuoka, *Green Chem.*, **13**, 326-333 (2011).
5. H. Kobayashi, T. Komanoya, K. Hara, A. Fukuoka, *ChemSusChem*, **3**, 440-443 (2010).
6. H. Kobayashi, H. Yokoyama, B. Feng, A. Fukuoka, *Green Chem.*, **17**, 2732-2735 (2015).
7. H. Kobayashi, M. Yabushita, T. Komanoya, K. Hara, I. Fujita, A. Fukuoka, *ACS Catal.*, **3**, 581-587 (2013).
8. M. Yabushita, H. Kobayashi, J. Hasegawa, K. Hara, A. Fukuoka, *ChemSusChem*, **7**, 1443-1450 (2014).
9. H. Kobayashi, H. Kaiki, A. Shrotri, K. Techikawara, A. Fukuoka, *Chem. Sci.*, **7**, 692-696 (2016).
10. P. Chen, A. Shrotri, A. Fukuoka, *ChemSusChem*, **12**, 2576-2580 (2019).
11. J. Hirayama, H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **93**, 273-278 (2020).
12. M. Yabushita, H. Kobayashi, K. Kuroki, S. Ito, A. Fukuoka, *ChemSusChem*, **8**, 3760-3763 (2015).
13. H. Kobayashi, K. Techikawara, A. Fukuoka, *Green Chem.*, **19**, 3350-3356 (2017).
14. T. Sagawa, K. Kobayashi, C. Murata, Y. Shichibu, K. Konishi, A. Fukuoka, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **7**, 14883-14888 (2019).