

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14224

研究課題名(和文)次世代バイオマス資源の高選択的変換に有効に働く固体触媒の創製

研究課題名(英文)Solid catalysts for highly selective conversions of next generation biomass resources

研究代表者

恩田 歩武 (Onda, Ayumu)

高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・講師

研究者番号：80335918

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)：緑藻類アオサ属の海藻はウルバンと呼ばれる硫酸化グルクロンラムナン多糖類を約40%含む。本研究では、DNA既知の標本株を培養した海藻を用いて、不純物の少ないウルバンの効率的な抽出法、及び、加水分解に有効に働く固体触媒の開発を行った。その結果、温和な熱水条件下で固体酸触媒によりラムノースなどの単糖を高選択的にえることに成功した。また、固体酸触媒の触媒活性の順序は、多糖類の種類に依存することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Ulvan, a sulfated glucuronorhamnan polysaccharide extracted from *Ulva* spp. green macroalgae, is selectively hydrolyzed to monosaccharides, such as rhamnose, over solid acid catalysts under mild hydrothermal conditions at approximately 403K. The order of the catalytic activities of the solid-acid catalysts depends on the kinds of polysaccharides. Ulvan is selectively hydrolyzed to monosaccharides over solid acid catalysts under mild conditions.

研究分野：触媒化学

キーワード：多糖 加水分解 固体酸触媒 海藻 ウルバン

### 1. 研究開始当初の背景

中長期的に、深刻な食料・淡水不足の可能性が警告されており、今後のバイオマス資源開発は、“主食と競合しない”ことだけでなく、“淡水利用と競合しない”ことも重要であり、海洋性藻類の利活用法の開発が期待されている。加えて、例えば共同研究者平岡(藻類学)の研究対象である、四国に自生するミナミアオノリ(*Ulva meridionallis*)は、全植物の中でトップクラスの成長速度(=高い太陽光利用効率)、網で容易に回収、等の利点を有し、次世代の資源作物として大いに期待される。申請者らは、ミナミアオノリを成分分析し、デンプン(15%)、細胞間の硫酸化多糖ウルバン(最大40%)、セルロース(10%)、残りはタンパク質、ミネラル成分であることを見出した。しかし、主成分のウルバン(硫酸化グルクロノラムナン)を、高効率的に加水分解する酵素はなく、一方、既存の酸触媒は共存する金属イオンなどのために著しい活性低下を生じる。そのため、既存の方法では効率的に加水分解できない。

### 2. 研究の目的

本研究において、申請者が実績を有する、温和な水熱反応技術や固体触媒技術を基軸とし、研究用グレードの海藻、及び海藻に多量に含まれる硫酸化多糖を、無駄なく有用な化合物に変換するための、新触媒の創製と効率的プロセスの開発を行う。海洋性大型藻類である海藻は、炭水化物含有率が高い、リグニンを含まない、大きさが木質や微細藻類と比べて扱いやすい、収穫サイクルが短い、主食でない、淡水利用と競合しないなどの多くの利点を有している。また、陸上植物を大きく凌ぐ日間成長率(2倍以上)を有しているものもある。これらの長所から、海藻は次世代バイオマス資源の1つとして有望視されている。本研究期間では、トップクラスの成長速度を有するミナミアオノリを主な対象海藻とする。

### 3. 研究の方法

(1) 海藻原料の供給・分析: 本研究では、海藻の化学研究を再現性高く行うために、研究用グレードの海藻および海藻固有多糖を準備する。多くの海藻には、固有種であることを決定するためにDNA解析した標本株が存在する。本研究では、孢子集積化法により、標本株の海藻を高速培養する。海藻を成分分析する。海藻固有多糖を抽出し、得られた多糖を詳細に構造および組成分析する。

(2) 硫酸化多糖の選択的加水分解に有効に働く固体酸触媒の開発: 効率的な加水分解活性種、及び多糖を活性点に近づける部位(疎水性部位と含酸素官能基)を有する固体触媒を合成する

### 4. 研究成果

#### 1. アオサ属からのウルバン抽出法の開発

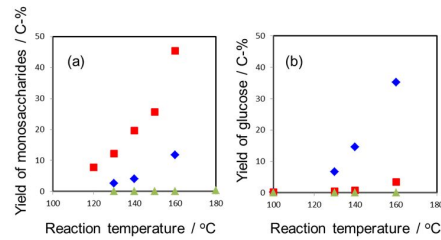


Figure 1. Hydrolysis of ulvan (a) and starch (b) with Amberlyst 70 (■), AC-SO<sub>3</sub>H (◆) catalyst and without catalyst (●). Reaction conditions: reaction time 10 min, catalyst 20 mg, 0.5 wt% aqueous solutions 2 mL.

実験の出発原料として、海洋生物研究教育施設が所有する四国産のミナミアオノリ株を、平岡准教授が浮遊式育成法により1t水槽で培養したものをを用いた。

含水量およびサイズをそろえて実験の再現性を高めるために、海藻を凍結乾燥し、粉碎処理した海藻の乾燥粉末を実験に用いた。得られた海藻粉末(1g)を、90℃程度の熱水(30mL)で15分処理し、水溶液中にウルバンを抽出した。なお、海藻粉末の抽出処理(熱水処理)の前に、15秒程度蒸留水で洗浄した。この洗浄により、抽出後のウルバンの硫酸塩不純物が少なくなった。ただし、ここでの洗浄を行いつぎるとウルバンも10-30%程度が溶出することがわかった。ミナミアオノリ(乾燥重量約3kg)からウルバンを抽出した。

#### 2. 固体触媒を用いた多糖の選択的加水分解

海藻多糖は、触媒水熱法により加水分解し、オリゴ糖もしくは単糖に変換した。ウルバン水溶液(0.5%)に触媒を加え、マイクロウェーブ反応装置により100-160℃の所定温度・時間で加熱した。固体触媒として、強酸性イオン交換樹脂(スチレン系樹脂)のAmberlyst 70と活性炭にスルホン酸基を導入したスルホン化活性炭(AC-SO<sub>3</sub>H)を用いた。得られた水溶液は、HPLC(RIおよびUV)、TOC、ICにより分析した。

Figure 1(a)に120-160℃でのウルバン加水分解の結果を示す。触媒なしで水熱反応を行ったところ(図の●)加水分解の進行は遅く、単糖の生成はほとんど見られなかった。Amberlyst 70触媒を用いた場合(図の■)、120℃、10分の反応条件でも約10%は単糖まで加水分解が進行し、その反応速度は温度とともに増加した。一方、AC-SO<sub>3</sub>H触媒を用いた場合(図の◆)、Amberlyst 70触媒よりも明らかに反応速度が遅かった。比較として、Figure 1(b)に同じ反応条件で行ったデンプン加水分解の結果を示す。ウルバン加水分解と対照的に、デンプン加水分解に対しては、スルホン化活性炭触媒の方がAmberlyst 70触媒よりも高活性を示した。なお、触媒なしで

は単糖の生成はほとんど見られず、デンプン加水分解およびウルバン加水分解ともに、固体酸触媒が触媒活性を示すことが確認された。

それぞれの違いを解明するために、加水分解による低分子化の挙動（GPC 分析）および固体触媒と硫酸触媒の比較を行った。Figure 2 に、固体酸触媒（Amberlyst 70 と AC-S03H）及び 0.001-0.01 M 希硫酸を触媒に用いたときのウルバン加水分解の生成物を示す。また、Figure 3 は GPC データの経時変化（反応時間 0~3 h）を示しており、(a) は AC-S03H 触媒の結果であり、(b) は Amberlyst 70 触媒の結果である。Figure 2 の、その他の水溶性有機化合物（water soluble organic compounds (WSOCs)）は主に多糖であり、oligosaccharides は重合度 2-5 程度の総計である。ウルバン加水分解に対して、Amberlyst 70 は 0.01-0.02 M 希硫酸と同程度の触媒特性であることが示唆された。

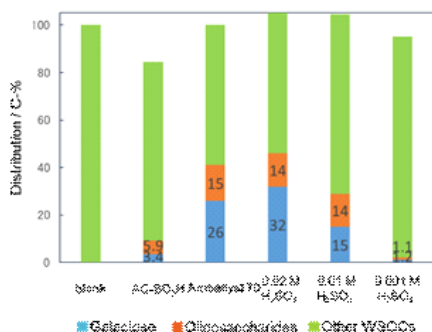


Figure 2. Hydrolysis of ulvan using Amberlyst 70, AC-S03H, and diluted H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> catalysts. Reaction conditions: reaction temperature 130 oC, reaction time 30 min, catalyst 20 mg, 0.5 wt% aq. solutions 2 mL

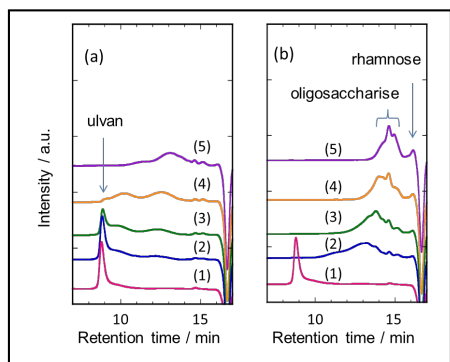


Figure 3. GPC data in hydrolysis of ulvan using AC-S03H catalyst (a) and Amberlyst 70 catalyst (b) at reaction times of 0 (1), 10 min (2), 30 min (3), 1 h (4), and 3 h (5). Reaction conditions: reaction temperature 130 oC, catalyst 20 mg, 0.5 wt% aq. solution 2 mL.

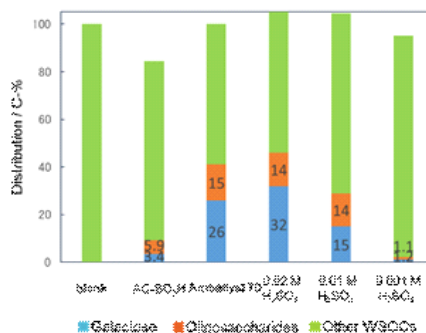


Figure 4. Hydrolysis of starch using Amberlyst 70, AC-S03H, and diluted H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> catalysts. Reaction conditions: reaction temperature 130 oC, reaction time 30 min, catalyst 20 mg, 0.5 wt% aq. solution 2 mL

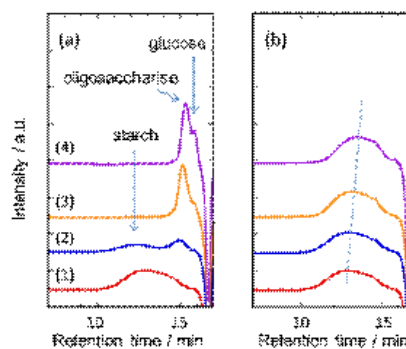


Figure 5. GPC data in hydrolysis of starch using AC-S03H catalyst (a) and Amberlyst 70 catalyst (b) at reaction times of 0 (1), 10 min (2), 30 min (3), 1 h (4), and 3 h (5). Reaction conditions: reaction temperature 130 oC, catalyst 20 mg, 0.5 wt% aq. solution 2 mL.

GPC データの経時変化によると、Amberlyst70 触媒を用いた場合は、反応初期にウルバンの低分子化が迅速に進行し、オリゴ糖および単糖への加水分解が少しずつ進行した。一方、AC-S03H 触媒を用いた場合は、ウルバンの低分子化が Amberlyst70 触媒よりも遅いことが確認された。また、AC-S03H 触媒の反応時間 3 h と Amberlyst70 触媒の反応時間 10 min が同程度であり、ウルバン低分子化の触媒活性は約 20 倍異なることが示唆された。

一方、Figure 3 にはデンプン加水分解の結果を示す。Amberlyst 70 は 0.001 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と同程度の触媒活性であり、AC-S03H は 0.01 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と同程度の触媒活性であった。希硫酸を基準にすると、Amberlyst 70 はウルバンよりもデンプンに対するほうが活性が低く、逆に AC-S03H はデンプンに対するほうが活性が高かった。GPC データの経時変化によると、

Amberlyst70 触媒を用いた場合 (b) は、反応時間とともに少しずつ低分子化が進んでいるが、Figure 2 (b) のウルバン加水分解と比べて、低分子化がとて遅いことが明らかになった。一方、AC-SO3H 触媒では、デンプンの低分子化も迅速に進行することが確認された。

高活性な固体触媒の開発を目指して、酸強度の高いヘテロポリ酸の担持を検討した。触媒開発において、水熱中での遊離をしないこと、ヘテロポリ酸をできるだけ多く担持することをめざした。そこで、担体について検討したところ、シリカ (SiO<sub>2</sub>) よりも、遷移金属の酸化物であるタンタル酸化物よりもニオブ酸化物が適していることが示唆された。また、合成方法を検討し、あらかじめ調製した金属酸化物にヘテロポリ酸を担持する含浸法より、ヘテロポリ酸を含む溶液中で金属酸化物を合成する共沈法のほうがヘテロポリ酸の安定性が増加した。さらに、金属酸化物の合成方法や前駆体の種類を検討し、前駆体としてニオブエトキシドおよびアンモニア型ヘテロポリ酸を用いて共沈法により合成し、それを 350 °C で熱処理することにより、120 °C でのセロピオースの触媒水熱反応において、ポリ酸溶出量を抑えられて、加水分解に対する触媒活性も確認された。また、触媒活性は 2 回目以降でほぼ安定し、2 回目以降のヘテロポリ酸の溶出はほとんどゼロに抑えられたことから、この触媒は繰り返し利用が可能であることが示された。今後、他のヘテロポリ酸の担持触媒の調製および触媒活性評価を行う。

Table 1 ヘテロポリ酸担持触媒を用いたセロピオース加水分解

触媒	前処理温度 / °C	セロピオース変換		
		グルコース / 収率%	5HMF / 収率%	POM 溶出率 / %
blank	-	0.8	0	-
H-SiW 11/NbOx (共沈)	150	3.8	1.5	6
H-SiW 11/NbOx (共沈)	350	2.0	0.9	< 1
H-SiW 11/SiO <sub>2</sub> (共沈)	350	7	0.0	28
NH <sub>4</sub> -SiW 11/NbOx (共沈)	350	7.8	3.2	2
NH <sub>4</sub> -SiW 11/TaOx (共沈)	350	2	0.2	1
NbOx	350	1.7	0.1	-

反応温度 120°C, 反応時間 2 h, セロピオース 20 mg, 触媒 (POM 25wt%) 20 mg, 蒸留水 2 mL.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Onda, A., Onda, S., Koike, M., Yanagisawa, K., Tsubaki, S., Hiraoka, M., "Catalytic hydrolysis of polysaccharides derived from fast growing green macroalgae", ChemCatChem, (2017) in press.

2. Tsubaki, S., Oono, K., Onda, A., Ueda, T., Mitani, T., Hiraoka, M., "Microwave-assisted hydrolysis of biomass over activated carbon supported polyoxometalates", RSC Advances, 7, 12346–12350 (2017).
3. Ogo, S., Nishio, T., Sekine, H., Onda, A., Sekine, Y., One pot direct catalytic conversion of cellulose to C3 and C4 hydrocarbons using Pt/H-USY zeolite catalyst at low temperature, Fuel Processing Technology, 141, 123-129 (2016)
4. Tsubaki, S., Oono, K., Onda, A., Mitani, T., Microwave-assisted hydrothermal extraction of sulfated polysaccharides from Ulva spp. and Monostroma latissimum, Food Chemistry, 210, 311–316 (2016)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Onda, A., Tsubaki, S., Masanori, M., Catalytic hydrolysis of polysaccharides derived from macroalgae, International Symposium on Catalytic Conversions of Biomass (ISCCB2016), Taipei (2016/6/27-30)
2. 恩田歩武, 恩田さゆり, 小池美雪, 柳澤和道, 植俊太郎, 平岡雅規, 海藻多糖の加水分解に対する固体酸触媒作用, 第 117 回触媒討論会, 大阪 (2016/3/21-22)
3. 恩田歩武, 恩田さゆり, 上田忠治, 今村和也, 柳澤和道, 担持ポリオキソメタレート触媒を用いた糖変換, 第 118 回触媒学会討論会, 盛岡 (2016/9/21-23)
4. 坂本友樹, 恩田歩武, 今村和也, 柳澤和道, 様々な多糖の加水分解におけるスルホン化活性炭触媒とアンバーリスト触媒の活性比較, 2016 年日本化学会中国四国支部大会, 香川大学 (2016/11/5-6)
5. 小池美雪, 恩田歩武, 今村和也, 柳澤和道, 海藻多糖から有用化合物への水熱変換プロセスの開発, 2016 年日本化学会中国四国支部大会, 香川大学 (2016/11/5-6)

〔図書〕(計 1 件)

1. Onda, A., "Production of Platform Chemicals from Sustainable Resources, Chapter 7: Production of Glucaric/Gluconic Acid from Biomass by Chemical Processes using Heterogeneous Catalysts", Ed. Fang, Smith and Qi, Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp207-230 (2017)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

恩田 歩武 (ONDA, Ayumu)  
高知大学・教育研究部総合科学系複合領域  
科学部門・講師  
研究者番号 80335918

##### (2) 研究分担者

平岡 雅規 (HIRAOKA, Masanori)  
高知大学・教育研究部総合科学系黒潮圏科  
学部門・准教授  
研究者番号 30380306

##### (3) 研究分担者

椿 俊太郎 (TSUBAKI, Shuntaro)  
東京工業大学・物質理工学院応用化学系・  
助教  
研究者番号 90595878