

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18852

研究課題名（和文）細胞間多糖の高付加価値化を実現する革新的触媒変換手法の開発

研究課題名（英文）Innovative catalytic conversions to produce high value-added chemicals from cell-wall polysaccharides

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・准教授

研究者番号：80335918

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：海藻は資源作物として利点が多く、次世代の有機資源の1つとして期待される。海藻の主成分は「細胞間粘質多糖」であり、酸性官能基や金属カチオンを含有するヘテロ多糖である。本研究では、1日に2倍以上生長する緑藻類ミナミアオノリに着目し、タンク養殖法でクローニング的に約2 kg（乾燥重量）を培養生産し、水熱法でウルバン多糖を高収率で抽出した。物性評価し分子量は約800,000であった。固体触媒を用いた水熱-ソルボサーマル分解により、ウルバンの分子量および硫酸化度を制御した。また、構造解析することにより、基本の4糖単位が[硫酸化キシロース-ラムノース-グルクロン酸-硫酸化ラムノース]であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞間多糖の低分子量多糖やオリゴ糖の生産増による生理活性機能（抗ウイルス作用など）に関する研究開発加速。陸上植物のヘミセルロースに適用し、セルロース以外の様々な未利用バイオマスから有用な有機化合物への選択的な低分子化プロセスの構築。光触媒と熱触媒の新たなハイブリッド型固体酸触媒系の開拓。

研究成果の概要（英文）：Seaweed has many advantages as a sustainable resource. The main component of seaweed is intercellular mucilage polysaccharides, which are heteropolysaccharides containing acidic functional groups and metal cations. In this study, we focused on the green algae *Enteromorpha*, which grows more than twice per day. Approximately 2 kg (drying, weight) of seaweeds was clonally cultured and produced using tank culture methods, and ulvan polysaccharides were extracted with a high yield using a hydrothermal method. The molecular weight was evaluated to be approximately 800,000. In the catalytic hydrothermal decomposition, the molecular weight and sulfation degree of ulvan were controlled by the reaction temperature and catalyst. In addition, structural analysis showed that the basic tetrasaccharide unit is "sulfated xylose-rhamnose-glucuronic acid-sulfated rhamnose".

研究分野：触媒化学

キーワード：細胞間多糖 海藻 固体触媒 ヘミセルロース

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

次世代の有機物資源の1つと期待される海藻は、食料や淡水資源と競合しない、成長速度が速くて太陽光利用効率が高い等、資源作物として利点が多い。海藻の構成成分(水を除く)の約半分は「細胞間粘質多糖」であり、酸性官能基および金属カチオンを含有するヘテロ多糖である。類似の細胞壁多糖は、陸上植物ではヘミセルロースとも呼ばれ、セルロースと同等の存在量があり、構成単糖由来の高付加価値化合物(低分子量硫酸化多糖、オリゴ糖、希少糖等)の原料として期待される。セルロースの化学変換の例は比較的多くあり、我々も取り組んできた。それに対し、海藻の細胞間多糖は、多種であるために酵素法は適用できないが、セルロースと比較すると溶解度が高いため「固体触媒法」を適用しやすいと期待される。ただし、海藻の細胞間多糖に対する変換研究例は極めて少ない。その原因として、海藻は、同じ種類でも地域差および個体差が大きく、研究用グレードの海藻及び細胞間多糖の入手が困難であることがあげられる。

そこで本研究において、再現性の高い(研究用グレードの)細胞間多糖の生産・抽出を行った。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。それらの標本株を用い、独自技術により大型水槽でクローン的に高速培養する。これにより、構成成分やサイズがほぼ同じである海藻個体群を高い再現性で生産し、化学変換研究に供する試料の確保が容易となる。

### 2. 研究の目的

本研究では、独自技術で構成成分の再現性が極めて高い海藻を製造し、独自の多糖変換技術や触媒調製技術を用いて、高付加価値な様々な化学構造の低分子量多糖・オリゴ糖を生産する。また、光触媒作用と熱触媒作用を組み合わせることにより、従来法の課題であるバイオマス中に存在する金属イオンによる失活を受けにくく、温和な反応温度で加水分解を促進する革新的な固体酸触媒の開発をめざした。

### 3. 研究の方法

海藻として、最も高い成長速度を有するミナミアオノリに着目し、タンク養殖法でクローン的に約2kg(乾燥重量)を培養生産した。そこから、水熱法で主構成成分であるウルバンという硫酸化多糖を抽出した。分子量や組成などを物性評価した。得られたウルバンを、触媒を用いた水熱反応およびソルボサーマル反応により選択的に低分子化した。生成物の低分子量多糖・オリゴ糖の分子量および硫酸化度は、反応温度、時間、触媒量により連続的に変化した。得られた低分子量ウルバンの構造を種々の分析法により解析した。光触媒反応は、様々な金属酸化物を触媒に用いて常温常圧下で照射(水銀ランプ、LEDランプ)により行った。

### 4. 研究成果

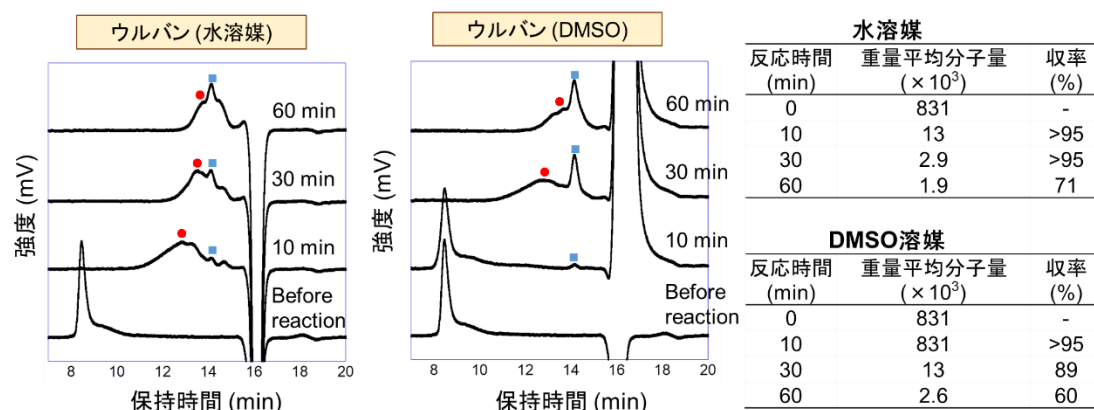


Figure 1 水熱およびソルボサーマル条件下におけるウルバンの触媒変換に対する反応時間の影響

Amberlyst 70 触媒を用いた固体触媒法により、水と DMSO 溶媒中でウルバン加水分解を行った。Figure 1 に反応温度 130°Cでの反応生成物のクロマトグラムおよび平均分子量と収率を、Figure 2 に得られた生成物の平均分子量と硫酸イオンの脱離量の経時変化を示す。出発物質の分子量は約 800,000 であった。水溶媒中では、10 min で約 13,000、60 min で約 3,000 の分子量に連続的に低分子化した。硫酸イオンの脱離量は 60 min で 1.3 mmol/g であり、水溶媒中では硫酸エステル基をほとんど保持したまま低分子化したことが示された。一方、DMSO 溶媒中では、水溶媒と比較して分子量減少速度は遅く、60 min で平均分子量が約 6,000 に減少した。硫酸イオンの

脱離量は水溶媒と比較して速く、60 min で 2.1 mmol/g であった。そして、遊離硫酸イオンの生成量に着目すると、水溶媒では反応時間とともに緩やかに増加しているが、DMSO 溶媒では比較的短期間で増加して、その後緩やかに増加するグラフとなった。これはウルバンの低分子化より先に硫酸エステル基が脱離しているものと考えた。この脱離した硫酸エステル基の濃度が濃くなるタイミングで触媒となり、低分子化や脱硫酸に関与しているのではないかと考えた。そのため、短い反応時間の反応でも、すでに硫酸エステル基が脱離しているため、DMSO 溶媒中では、脱硫酸化低分子量多糖が選択的に得ることができた。

ウルバンの加水分解は、糖と糖の間のグリコシド結合と硫酸エステル基が酸触媒作用によって切れることで起こる。溶媒比較により、水溶媒ではグリコシド結合が切れる反応が促進し、DMSO 溶媒では硫酸エステル基が切れる反応が促進していることが示された。これは、DMSO が糖の間に入ってしまふことで、グリコシド結合ではなく硫酸エステル基が切れやすいのではないかと予測される。

したがって、固体触媒法でのウルバンの加水分解は、反応温度、反応時間で平均分子量を制御でき、溶媒によって硫酸エステル基濃度を制御できることが示された。

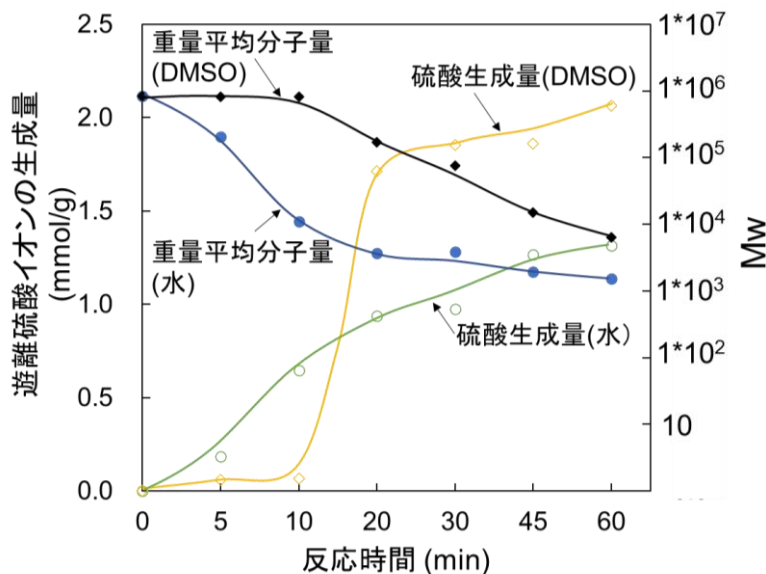


Figure 2 固体触媒法により得られた生成物の平均分子量と硫酸イオンの脱離量の経時変化  
 触媒 Amberlyst 70 30 mg. 基質 ウルバン 15 mg. 溶媒 水 (DMSO) 3 mL.  
 反応時間 5 min – 60 min. 反応温度 130 °C.

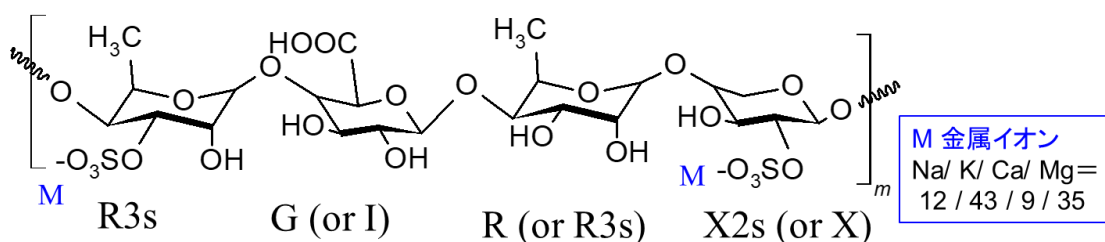


Figure 3 ミナミアオノリから抽出したウルバンの典型的な4糖ユニット

元素分析より C:S = 約 13:1 であること、構成単糖の中性糖:酸性糖 = 7:3 であること、GC-MS 分析よりラムノース:キシロース = 2:1 であること、酸性糖はグルクロン酸とイズロン酸であること、NMR より得られた低分子多糖、オリゴ糖にはキシロース 2s があることから、ミナミアオノリ由来のウルバンの平均的な4糖単位は Figure 3 に示す化学構造であると推定した。

また、CeO<sub>2</sub> を用いてグルコースの光触媒的変換を検討したところ、青色 LED (λ<sub>max</sub> = 470 nm) の照射時間とともにグルコースが減少し、ギ酸が生成した。また、少量のアラビノースの生成が確認され、アラビノースが中間体であることが示唆された。一方、TiO<sub>2</sub> を使用して同様にグルコースの光触媒的変換を実施すると、紫外線照射下では TiO<sub>2</sub> の強力な酸化力によってほとんど二酸化炭素まで酸化分解され、青色 LED (λ<sub>max</sub> = 470 nm) 照射下では反応が進行しなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kazuya Imamura, Kazuma Ikeuchi, Yuki Sakamoto, Yushiro Aono, Takahiro Oto, Ayumu Onda	4. 巻 11
2. 論文標題 Photocatalytic hydrogenation of nitrobenzene to aniline over titanium(IV) oxide using various saccharides instead of hydrogen gas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 32300-32304
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D1RA05953J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kayo Machihara, Shoma Oki, Yuka Maejima, Sou Kageyama, Ayumu Onda, Yurino Koseki, Yasuyuki Imai, Takushi Namba	4. 巻 26
2. 論文標題 Restoration of mitochondrial function by Spirulina polysaccharide via upregulated SOD2 in aging fibroblasts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 107113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2023.107113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yuya Hasegawa, Yuto Shimada, Rikiya Nakamura, Tatsuomi Matsuoka, Ayumu Onda, Mikihiko Arikawa	4. 巻 33
2. 論文標題 Soil extract induces excystment and inhibits encystment in the terrestrial ciliate Colpoda cucullus	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J. Protozool. Res	6. 最初と最後の頁 18-31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.32268/jprotozoolres.33.Vol.1-2_18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ami Ide, Ayumu Onda, Kazuya Imamura
2. 発表標題 Effect of water on photocatalytic reduction of carbonyl compounds over titanium(IV) oxide
3. 学会等名 18th Japan-Korea Symposium on Catalysis（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takehiro Oto, Kazuma Ikeuchi, Yuki Sakamoto, Yushiro Aono, Ayumu Onda, Kazuya Imamura
2. 発表標題 Photocatalytic hydrogenation of nitrobenzene to aniline over titanium(IV) oxide using various saccharides as hydrogen sources
3. 学会等名 18th Japan-Korea Symposium on Catalysis (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 アンチエイジング剤	発明者 恩田歩武, 難波卓司	権利者 国立大学法人高知大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2022-170789	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ギ酸の製造方法	発明者 今村和也, 恩田歩武, 大音貴裕	権利者 国立大学法人高知大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-143020	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 整腸剤	発明者 難波卓司, 恩田歩武	権利者 国立大学法人高知大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-108242	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	平岡 雅規 (Hiraoka Masanori) (30380306)	高知大学・教育研究部総合科学系黒潮圏科学部門・教授  (16401)	
研究分担者	今村 和也 (Imamura Kazuya) (30750624)	高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・助教  (16401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------