

二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と
生産物活用のための基盤技術の創出

平成 23 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

渡辺 隆司

京都大学 生存圏研究所
教授

電磁波応答性触媒反応を介した植物からのリグニン系機能性ポリマーの創成

§1. 研究実施体制

(1)「統括」グループ

- ① 主たる共同研究者: 渡辺 隆司 (京都大学 生存圏研究所、教授)
- ② 研究項目: リグニンの精密構造解析および分解・分離システムの研究開発

(2)「生存研・電磁波解析」グループ

- ① 主たる共同研究者: 篠原 真毅 (京都大学 生存圏研究所、教授)
- ② 研究項目: 電磁波照射システムの研究開発

(3)「メタル化ペプチド」グループ

- ① 主たる共同研究者: 高谷 光 (京都大学化学研究所、准教授)
- ② 研究項目: リグニン精密分解のためのメタル化ペプチド触媒の開発
・リグニン高親和性・電磁波感受性メタル化ペプチド触媒の合成

(4)「精密構造解析」グループ

- ① 主たる共同研究者: 片平 正人 (京都大学エネルギー理工学研究所、教授)
- ② 研究項目: NMR による植物包括精密構造分析法の開発
・試料調製法の開発
・定量法の開発
・バイオマスの分解・変換物の同定・定量

(5)「プロセス開発」グループ

- ① 主たる共同研究者:近田 司 (日本化学機械製造(株)、次長)
- ② 研究項目:電磁波反応システム及びリグニン精製プロセスの開発

(6)「ポリマー変換」グループ

- ① 主たる共同研究者:林 利夫 (花王(株) エコイノベーション研究所、主任研究員)
- ② 研究項目:リニア型リグニンポリマーの分離と構造・機能変換
・リニア型リグニンポリマー分離反応系の開発

(7)「モノマー変換」グループ

- ① 主たる共同研究者:林田 茂 (帝人(株) 融合技術研究所・室長)
- ② 研究項目:リグニンモノマーの分離と機能性ポリマーへの変換システムの開発

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、植物バイオマスからマイクロ波反応により機能性高分子の原料に適したリグニン分子を分離する基盤技術を開発する。このため、リグニンを含むバイオマス構造の精密解析法、マイクロ波分解触媒とリグニン分離反応、およびマイクロ波反応装置の開発を行う。機能性ポリマーへの変換は、リグニンをモノマーまで分解してから重合するルートとリニア型構造に富む高分子リグニンから変換する2つのルートを研究する。

平成 25 年度に、機能性高分子の原料となるリグニンモノマーを高収率で生成するマイクロ波反応を新規に見出した。この反応は、通常加熱法に比べてマイクロ波照射系において反応が促進された。空洞共振器を用いて電場と磁場を分離し、電場強度と磁場強度が最大となる条件で加熱反応を行い、オートクレーブによる外部加熱法と比較した。その結果、磁場加熱が電場加熱や外部加熱に比べて有意に高い反応収率を与えることを見出した。

植物バイオマスから、リニア型構造に富む高分子リグニンを分離する方法についても、高効率で目的物を分離する反応系を見出した。バガスの酵素糖化残渣リグニンを原料として、マイクロ波加熱装置を用いて反応性を検討した結果、重量平均分子量(Mw) 22,000 の高分子溶媒可溶リグニンが収率 65.4% で得られる溶媒系を見出した。この溶媒系に種々の酸、ラジカル捕捉剤を添加した結果、分子量は低下するが、リグニン抽出率は 95% に達し、ほぼ定量的に溶媒可溶リグニンとして抽出できることが明らかとなった。また、混合溶媒分解系や酸+ラジカル捕捉剤添加混合溶媒系で得られたリグニンは、クラフト蒸解リグニンに比べてリニア度が高いことが化学分解法により示された。さらに、酸+ラジカル捕捉剤添加混合溶媒系で得られたリグニンの UV-B 領域の吸収強度はクラフト蒸解リグニンの 2 倍、汎用市販 UV 吸収剤の半分に達する吸収強度を持つことが示され、紫外線吸収剤としての利用が期待された。混合分解溶媒系における分解反応機構に関しては、2 量体モデル分子を用いた検討の結果、非フェノール性 $\beta-O-4$ 結合を高度に維持しながら、フェノール性 $\beta-O-4$ 結合を選択的に分解していると推察された。この点を明確にするため、 ^{31}P -NMR と過ヨウ素酸酸化法を組み合わせることで構造解析した結果、内部型フェノールと構造末端型フェノールを区別することに成功し、内部型フェノールが芳香環 100 個あたり約 7 個存在すると推定された。分離したリグニンの詳細な構造は、 ^1H - ^{13}C HSQC および ^1H - ^{13}C HMBC スペクトルでも解析した。

高効率マイクロ波分解触媒として、メタル化ペプチドのコアにリグニン親和性ペプチドを結合させる触媒合成を目指し、コア部分の合成と、リグニン親和性ペプチドの探索を実施した。コア部分として、Ru 錯体が結合したノルバルリンの合成に成功し、それらがリグニンの基本骨格に含まれるベンジルアルコール類やリグニンダイマーモデルの酸化分解反応の良い触媒となる事を見出した。Ru 触媒結合型ノルバルリンおよび過酸化水素を用いる酸化反応がメキシベンゼン類の酸化反応に高い触媒活性を示すことを見出した。また、SPring-8 において酸化反応溶液の in situ XAFS 測定を行い、反応系中では水相、有機相共に 3 価の Ru 種が支配的であることを明らかにした。さらに、触媒のアミノ酸部位を種々変化させた誘導体を合成して反応速度の比較を行った結果、アミノ基部位の存在が活性向上に大きく寄与しており、NH 水素が水素結合によって活性種であるオキソルテニウム種 $\text{Ru}^{+3}=\text{O}$ の生成を促進している可能性が示唆された。また、放射光小角X線散乱や中性子散乱実験から、反応系中においてミセル状集合体が生成し、それらが相関移動触媒として作用す

ることによって水相—有機相の物質移動が促進されていることが示唆された。本年度は、またリグニンに対して親和性を持つペプチドをファージディスプレイ法で選抜し、その配列情報を基に合成したペプチド分子が表面プラズモン共鳴(SPR)でリグニンに対して配列特異的に親和性を示すことを見出した。さらに、SPRによる解析に有用なリグニンを担持・固定化可能な官能基が導入されたSAM膜の開発に成功した。

電磁波リグニン分解反応の周波数依存性解析のため、1.86GHz~2.7GHzの周波数範囲において反射率10%以下小型同軸型広帯域電磁波照射装置を電磁界シミュレータにより設計した。また、非加圧環境下において試験管サイズのサンプルを4本同時にかつ均一に加熱する装置を電磁界シミュレータにより設計した。本装置は同軸空洞共振器構造をベースとしており、周波数2.45GHzにおいて反射率0.02%以下を達成した。バイオマスの精密構造解析法に関しては、NMRによる定量性を低下させる要因を排除する新規な測定手法を考案し、その有効性を実証した。¹H-¹³C HSQCスペクトルにおける各化合物のピーク強度は、各化合物ごとに異なる¹H-¹³C間のスピン—スピン結合定数¹J^{CH}及び各化合物毎に異なる横緩和時間T₂によるモジュレーションを受ける。本年度は、この二つの項によるピーク強度のモジュレーションを排除する測定手法を二種類考案し、その有効性を、実際の測定によって検証・確認する事に成功した。また、タンパクにリグニンモデル化合物が1分子から多分子吸着した複合体を直接FT-ICR-MSにより観測することに成功した。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

- 1 Kazuki Ogata, Daisuke. Sasano, Tomoya. Yokoi, Katsuhiko Isozaki, Ryota Yoshida, Takeo Takenaka, Hirofumi Seike, Tetsuya Ogawa, Hiroki Kurata, Nobuhiro Yasuda, Hikaru Takaya, and Masaharu Nakamura, “Palladium NCN-Pincer Complex-Bound Norvalines: Synthesis, Self-Assembly Properties, and Catalysis”, *Chem. Eur. J.* Vol. 19, pp.12356–12375 2013, (DOI: 10.1002/chem.201301513)
メタル化アミノ酸およびペプチドの合成、構造、化学的性質、自己組織化能に関して包括的な研究を行い、60年間未決の疑問点等を解決した。
- 2 Hikaru Takaya, Takashi Iwaya, Kazuki Ogata, Katsuhiko Isozaki, Tomoya Yokoi, Ryota Yoshida, Nobuhiro Yasuda, Hirofumi Seike, Takeo Takenaka, and Masaharu Nakamura, “Synthesis, Structure, and Function of PCP Pincer Transition-Metal-Complex-Bound Norvaline Derivatives”, *Synlett*, Vol. 24, pp.1910–1914, 2013 (DOI: 10.1055/s-0033-1339473)
- 3 Hikaru Takaya, Yusuke Haga, Katsuhiko Isozaki, Kazuki Ogata, Takeshi Naota, “Synthesis and Self-Assemble Properties of Pt-Complex Bound Oligoglutamic Acids”, *Chem. Lett.* accepted (MS ID CL-140259)

- 4 Ryota Yoshida, Katsuhiko Isozaki, Tomoya Yokoi, Toshio Takenaka, Koichi Yoshioka, Takashi Watanabe, Hikaru Takaya, and Masaharu Nakamura, "Ruthenium Pincer Complex-Bound Norvaline-Catalyzed Oxidation of Electron-Rich Aromatic Compounds with Hydrogen Peroxide", 60th Symposium on Organometallic Chemistry, Japan, The Kinki Chemical Society, Japan, P1B-21, P105.

(3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 4 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 6 件)