HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	触媒法による海洋バイオマス変換の研究
Author(s)	鉄地河原, 浩太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13676号
Issue Date	2019-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k13676
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74103
Type	doctoral thesis
File Information	Kota_Techikawara.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

触媒法による海洋バイオマス変換の研究

平成 30 年度

北海道大学大学院　総合化学院　総合化学専攻
物質変換研究部門

鉄地河原　浩太

目次

第 1 章 序論 1
1.1 緒言 1
1.2 キチン 3
1.2.1 キチンの化学構造 3
1.2.2 キチンの資源量と工業的精製法 3
1.2.3 キチン誘導体の工業的生産と利用 4
1.2.3.1 キトサン 4
1.2.3.2 キチン・キトサンオリゴマー 5
1.2.3.3 NAG・グルコサミン 5
1.2.4 キチンからの化成品合成の研究 6
1.2.4.1 酵素による NAG 合成 6
1.2.4.2 塩酸による NAG 合成 8
1.2.4.3 キチンの加アルコール分解 9
1.2.4.4 キチンからのフラン類の合成 10
1.2.4.5 キチンオリゴマーおよび NAG の脱水分解反応 11
1.2.4.6 NAG の水素化及び水素化分解 12
1.3 機械的加水分解 13
1.3.1 セルロースの機械的加水分解 13
1.3.2 各種粉砕法による機械的加水分解 14
1.4 加水分解水素化反応 15
1.4.1 固体触媒によるセルロースの加水分解水素化 15
1.4.2 固体触媒と均一系触媒を組み合わせたセルロース分解 17
1.5 レトロアルドール反応 18
1.6 本研究の目的および意義 20
1.7 本論文の構成 21
1.8 参考文献 22

第 2 章 機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成 25
2.1 緒言 25
2.2 実験 26
2.2.1 キチンのアセチル化度測定 26
2.2.2 キチンの機械的加水分解 26
2.2.2.1 エーテル溶媒を用いたキチンへの酸含浸 26
2.2.2.2 水溶媒を用いたキチンへの酸含浸 26

2.2.2.3 遊星ボールミル処理 26
2.2.2.4 生成物分析と可溶化率の測定 26
2.2.2.5 UV-vis 測定 28
2.2.2.6 NMR 28
2.2.3 キチンオリゴマーの加水分解 28
2.3 試薬 29
2.4 結果・考察 30
2.4.1 キチンのアセチル化度測定 30
2.4.2 キチンの機械的加水分解 31
2.4.2.1 加水分解方法の比較 31
2.4.2.2 酸含浸溶媒の選択 34
2.4.2.3 酸のスクリーニング 36
2.4.2.4 S/C の効果 39
2.4.2.5 キチンオリゴマーの NMR 分析 40
2.4.3 キチンオリゴマー加水分解 43
2.4.3.1 S/C の最適化 43
2.4.3.2 反応温度の影響 44
2.5 結言 45
2.6 参考文献 46

第 3 章 キチンオリゴマーからの含窒素糖アルコール合成 47
3.1 緒言 47
3.2 実験 48
3.2.1 キチンの機械的加水分解 48
3.2.2 担持金属触媒の調製及びキャラクタリゼーション 48
3.2.2.1 担体の前処理 48
3.2.2.2 5 wt%担持金属触媒の調製 48
3.2.2.3 70 wt%チタニア担持ニッケル触媒の調製 48
3.2.2.4 窒素吸脱着測定 49
3.2.2.5 粉末 XRD 測定 49
3.2.2.6 TEM 測定 49
3.2.3 キチンオリゴマーの加水分解水素化 49
3.2.3.1 キチンオリゴマーの直接加水分解水素化 49
3.2.3.2 キチンオリゴマーの 2 段階ワンポット加水分解・水素化 49
3.2.3.3 生成物同定 50
3.3 試薬 53

3.4 結果・考察 54
3.4.1 担持金属触媒のキャラクタリゼーション 54
3.4.2 キチンの反応性比較 56
3.4.3 キチンオリゴマーの直接加水分解水素化 58
3.4.4 NAG と ADS の熱安定性 61
3.4.5 キチンオリゴマーの 2 段階加水分解水素化 62
3.4.6 経時変化の速度論的解析 64
3.5 結言 66
3.6 参考文献 67

第 4 章 NAG からのアミノ酸合成 68
4.1 緒言 68
4.2 実験 68
4.2.1 担持金属触媒の調製及びキャラクタリゼーション 68
4.2.1.1 5 wt%担持金属触媒の調製 68
4.2.1.2 窒素吸脱着測定 69
4.2.1.3 粉末 XRD 測定 69
4.2.1.4 TEM 測定 69
4.2.1.5 XAFS 測定 69
4.2.3 NAG のレトロアルドール水素化 69
4.2.4 AMEA の酸化 70
4.2.5 DFT 計算 70
4.3 試薬 71
4.4 結果・考察 72
4.4.1 NAG からの AMEA 合成 72
4.4.2 触媒の再使用性 74
4.4.3 グルコースとの反応性比較 75
4.4.4 AMEA の酸化 77
4.4.5 Ru/C のキャラクタリゼーション 80
4.5 結言 83
4.6 参考文献 84

第 5 章 総括 85

研究業績目録 90

謝辞 92

第 1 章 序論

1.1 諸言

産業革命以降、石炭や石油などの化石燃料を利用することで文明社会は急速に成長してきた。しかし化石燃料の大量消費は、化石資源の早急な枯渇をもたらすだけでなく、大量の二酸化炭素の放出による地球温暖化を引き起こしている。人類文明が持続的に発展していくためには本問題の解決が不可欠である。

近年、再生可能な炭素資源としてバイオマスが注目されている。バイオマス由来の炭素を利用することはカーボンニュートラルであるとされる。すなわち、(i)バイオマスを炭素源として化成品を製造し、(ii)化成品を燃焼・焼却することにより二酸化炭素が発生しても、(iii)発生した二酸化炭素は光合成によりバイオマスとして再生されるため、大気中の二酸化炭素の総量は増加しない(Fig. 1. 1)。

バイオマスの中で特に注目すべきはセルロースとキチンである。セルロースは陸上で最も賦存量の多いバイオマスであり、その年間発生量は 2000 億トンと推定されている。また、キチンは海洋最大のバイオマスであり、1000 億トン/年の発生量があるとされる[1]。この量は現在人類が消費しているエネルギーの原油換算量 120 億トン/年よりも大きい。さらに、ヒトはセルロースやキチンを消化することができないため、これらのバイオマスを化学原料として利用しても食料生産と競合しない。そのため、この二大バイオマスを効率的に有用化合物に転換できれば化石資源に依存した現代文明の抜本的な変革が可能になると考えられる。

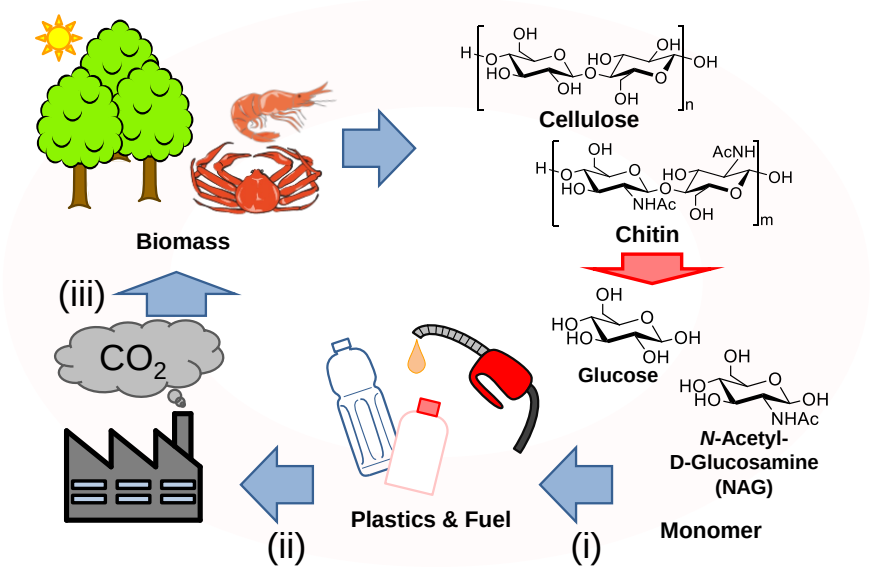


Fig. 1.1 Use of biomass to achieve carbon-neutral

これまでセルロースの分解および応用について広く研究がおこなわれてきた一方で[2]、キチンの分解や利用はほとんど行われてこなかった。キチンは多様な生物に含まれているが、最大の資源はカニやエビといった甲殻類の外骨格である。例えば、乾燥ベニズワイガニの外骨格中に 25~30%程度含有されている[3]。キチンは、セルロースの構成単位であるグルコースの 2 位の水酸基がアセトアミド基に置き換えられた *N*-acetyl-D-glucosamine (NAG)が β-1,4-グリコシド結合で多数繋がった高分子である。分子内に窒素原子を含むことが特徴であり、セルロースとは異なる、より機能的な化成品を合成するバイオリファイナリーが構築できると期待される。しかし、現在のところ、キチンの利用は繊維、フィルム、凝集剤といった素材としての用途に限られており、その大半は利用されずに廃棄されている。これはキチンがセルロースと同様に分子内・分子間水素結合を持つことに加え、含窒素官能基が高い反応性を持つため、効率的に単量体に変換することが困難なためである。その結果、キチンの選択的な分解法は濃塩酸と酵素を用いた長時間反応に限られ、キチンを有効利用するためには新規分解法の確立が必須である。

著者は様々な触媒プロセスを組み合わせることによりこれらの問題点の解決を目指した。キチンのアセトアミド基は水中で容易に加水分解されアミノ基になるが、アミン存在下で糖化合物を加熱するとメイラード反応などの副反応を起こすため、選択的なキチン変換のためには脱アセチル化の抑制が鍵となる。そこで触媒を用いた多段階の反応でキチンを穏やかな条件で転換していくことでこれを達成しようと検討した(Fig. 1.2)。

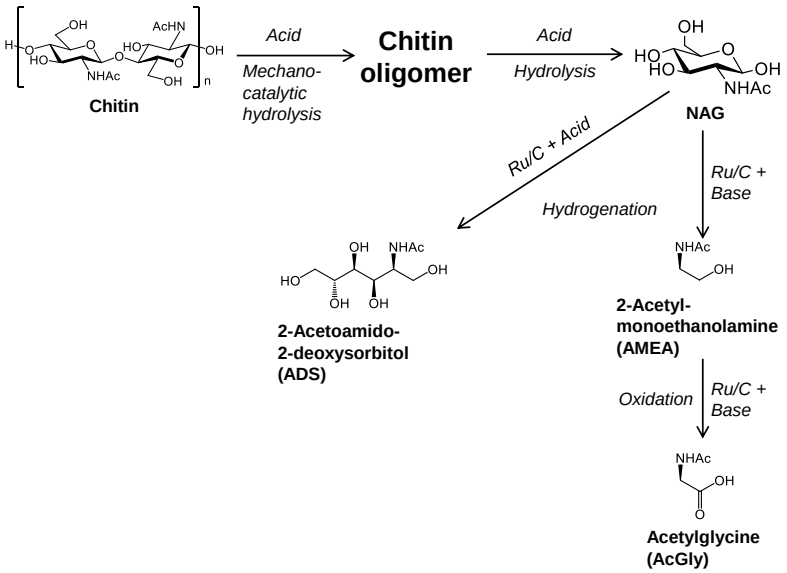


Fig. 1.2 Synthesis of various *N*-containing chemicals from chitin using catalytic processes.

1.2 キチン

1.2.1 キチンの化学構造

キチンは NAG が β-1,4-グリコシド結合で多数結合した天然高分子であり、その重合度は数万から数百万程度まで広く分布している[4]。NAG のみから構成されたキチンは天然には存在せず、脱アセチル化したグルコサミンのユニットを含む。脱アセチル化された割合(脱アセチル化度)が 40%未満の物をキチンと呼び、それより大きいものをキトサンと呼ぶ。

キチンの結晶構造には α-、β-、γ-キチンの 3 種類があることが知られている[5]。天然に最も多く存在しているのは α-キチンであり、カニやエビの外骨格を構成しているキチンはこの α 型である。α 型キチンはキチン分子鎖が逆平行に配向した構造をしており、セルロースの II 型に対応する。また、イカの軟骨を構成するキチンは β 型であり、これはキチン分子が平行に配向した構造をしている(Fig. 1. 3, セルロースの I 型に対応)。β 型キチンを塩酸水溶液中で溶解・再結晶させると α 型に変化する。γ 型はキチン分子鎖の向きが平行と逆平行が混ざり合った構造である。3 種のキチン結晶の中で最も安定な構造は α 型である。この安定性の差は分子内および分子間の水素結合の数に起因しており、α 型は NAG 1 単位につき分子内に 4 個、分子間に 2 個の水素結合を有しているのに対し、β 型は分子内の 4 個しか持たない。結晶性キチンをボールミル処理すると非晶質キチンが得られる[6]。

キチンの結晶構造は X 線回折や FT-IR、固体 ^{13}C CP-MAS NMR により判別できる[7]。

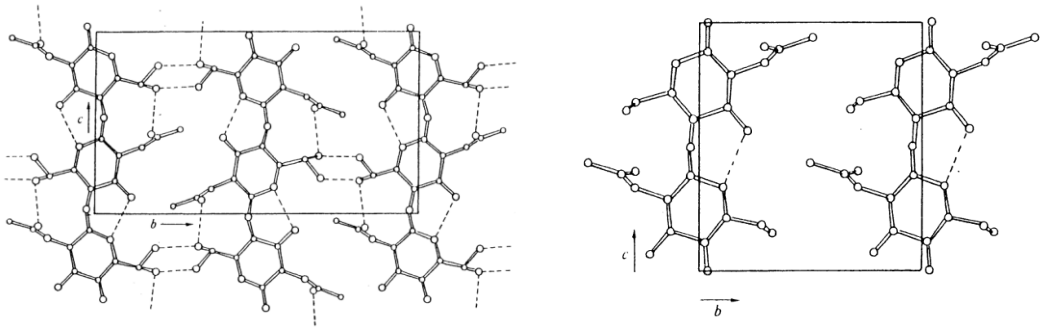


Fig. 1.3 Structure of α-chitin (left) and β-chitin (right)[5]

1.2.2. キチンの資源量と工業的な精製方法

工業的に利用されるキチンのほとんどはベニズワイガニの足から生産されている。乾燥したカニ殻にはキチンが 25–30%含まれており、残りはタンパク質やカルシウム分である。カニ殻を 3–5%水酸化ナトリウム水溶液中で加熱処理することによりたん

ぱく質を、7%塩酸により室温で処理することによりカルシウム分を除去してキチンを得ている。キチンの製造量は世界で年間 10 万トン弱である。

誘導体化していないキチンの主な用途は、その生体親和性、抗菌・保湿作用を活かした手術用糸や人工皮膚である。キチンを濃水酸化ナトリウム水溶液で処理することにより、アルカリキチン溶液を作ることができる。この溶液をビスコースレーヨン法で繊維状に、また薄く広げて酸で中和することにより薄いフィルム状に加工して使用する。また、最近キチンをディスクミルにより細かく粉砕することでキチンナノファイバーが得られる[8]。

1.2.3. キチン誘導体の工業的生産と利用

1.2.3.1 キトサン

キチンを濃厚な水酸化ナトリウム水溶液によって脱アセチル化するとキトサンが得られる。本処理では脱アセチル化と同時に解重合が進行するため、分子量がキチンよりも小さくなる。完全に脱アセチル化させることはできず、脱アセチル化度が約60%以上のものがキトサンとして市販されている。

キトサンの主な用途は、排水処理の凝集剤である。キトサン塩のアミノ基はカチオン性を示すため、負の電荷をもつ水中の汚泥粒子を電気的に中和し、粒子を凝集させることができる。キトサンは天然由来の分子であるため、凝集した汚泥を肥料として再利用でき、低環境負荷な凝集剤といえる[9]。また、キトサンはキチンと同様に抗菌作用を持つため、医療分野などに用いられている。加えてキトサンは特定保健用商品としても認められており、摂取することにより脂肪の吸収を抑え、血中のコレステロールを低下させる働きがある。さらに、キトサンにカルボキシメチル基やスクシニル基を導入して溶媒に可溶化させ、化粧品に利用されている。またアミン部位を酸で中和したキトサン塩の形でも利用されており、塩酸塩や酢酸塩などが生産されており、これらも化粧品分野で保湿剤などとして多く利用されている(Fig. 1.4)。

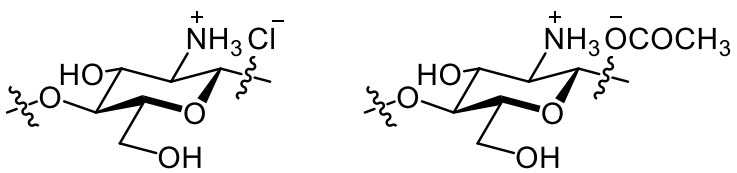


Fig. 1.4 Chitosan derivatives (left: chitosan chloride, right: chitosan acetate)

1.2.3.2 キチン・キトサンオリゴマー

キチンを濃塩酸によって部分的に加水分解するか、酵素キチナーゼによって分解することにより、キチンオリゴマーが生産されている。また、キトサンをキトサナーゼによって分解することによってキトサンオリゴマーが生産されている。

これらオリゴマーは健康食品などに利用されており、甘味料や増粘安定剤として添加される[10]。

1.2.3.3 NAG・グルコサミン

NAG はキチンからキチンオリゴマーを経由し、酵素キチナーゼによって加水分解することにより製造されている。例えば特許[11]には、濃塩酸をキチンに対して溶媒量を用い(基質/触媒比 S/C = 0.14)、40 ℃ で 3 時間加水分解するとキチンオリゴ糖が得られ、精製後さらにキチナーゼにより 40 ℃ で 2 日間加水分解すると、NAG が収率 32% で得られることが示されている。また NAG は、グルコサミンをアセチル化することによっても得られる[12]。また、グルコサミンはキチンを塩酸で加水分解することにより製造されている。これは、塩酸を触媒に用いるとグリコシド結合の加水分解と同時に、アミド基の加水分解も進行するためである。

NAG およびグルコサミンの用途として、医薬品と健康食品が挙げられる。これらの化合物は変形関節症の予防や抗炎症作用、血栓予防効果を示すことが知られている。なお、これらを食品として利用するためには、その製造法が JHFA 規格に登録されている必要がある。そのため、食品用途で使える NAG は、上述した製造法のうち塩酸と酵素を組み合わせた方法で合成した物に限られている。NAG とグルコサミンを合わせた市場規模は日本では 50 億円/年であるが、そのうち大半をグルコサミンが占める。これは、グルコサミンが 4000 円/kg であるのに対し、NAG は合成が難しく、13,000–20,000 円/kg と高価であるためである。しかし、グルコサミンは苦みを持つのに対し、NAG は爽やかな甘味を有している。さらに、人体への吸収効率も NAG の方が高いため、NAG の方が医薬品や食品添加物として遥かに優れている。従って、NAG を効率的に合成できるようになれば、その用途は大幅に拡大すると期待される。

また、研究段階ではあるが、NAG の生理活性を活かした抗がん剤や抗ウイルス薬の合成が検討されている。ウイルスは細胞表面のシアル酸を認識して結合するが、シアル酸と似た構造を持つ NAG やその誘導体を用いることで、ウイルスの増殖を抑える[13]。また、NAG の誘導体であるリピド A は極めて強力な免疫システムの刺激剤で

あり、リピド A のアナログであるエリトランは過剰炎症反応の抑制剤として臨床試験が行われている。

1.2.4 キチンからの化成品合成の研究

前節で述べたように、現行のキチン分解プロセスは様々な問題を抱えており、高コストである。キチンが汎用化学品原料として利用されるためには、キチンを NAG に代表される単量体に効率的に変換する方法と、その生成物を様々な分子に変換する技術の開発が必要である。このような観点から、近年、キチンの新規分解法ならびに NAG の誘導体化法に関する研究が勃興しつつある。本節では、その現状について示す。

1.2.4.1 酵素による NAG 合成

キチンを、酸を用いずに酵素のみで分解する方法が報告されている。カニ由来の α-キチンを使って、キチナーゼを用いて、反応温度 17 ºC、pH 7.0 で 10 日間反応させると NAG の収率は 77%であった[14]。酵素法の特徴は選択率が高いことである。酵素法では、高収率で NAG が得られる反面、反応時間が非常に長いこと、そして反応温度や pH といった条件が限られることが問題である。つまり、高温短時間化することはできず、また反応には緩衝液が必要になる。

酵素法での反応時間を短縮するため、キチンの反応性を高める前処理が検討されている。代表的な方法は塩酸による可溶性オリゴ糖への変換であり、これは前節の工業プロセスで述べた通りである。別の方法はボールミルによるキチンの非晶質化である。これは、キチンと類似の構造を持つセルロースの加水分解において、ボールミル処理によるセルロースの非晶質化が有効であるのと同じである[15]。つまり、非晶質化することによってグリコシド結合への触媒および水のアクセスが容易になり、反応性が向上する。大島らはキチンを遊星ボールミルを用いて 350 rpm で 100 分以上処理することで、非晶質キチンが得られると報告した[6]。また同時に分子鎖の切断も進行しており、原料キチンが平均分子量 30 万であったのに対し、処理後のキチン分子量は約 62000 にまで減少した。Osada らはコンバージミルと亜臨界水によってキチンを高効率で非晶質化し、これを酵素を用いて加水分解することで、キトビオース収率 93%を達成した[16]。コンバージミルは高速回転する円筒とガイドベーンと呼ばれる羽根が内部で固定化された構造をしている(Fig. 1.5)。回転するポット内でガイドベーンによってボールの方向が変えられ、内壁の粉体層と高速で衝突する。これにより通常のボ

ールミルに比べ、より高いエネルギーを付加することができる。しかし、これらのミル処理は消費エネルギーが大きく、非晶質化だけのために用いることは現在のところ難しい。

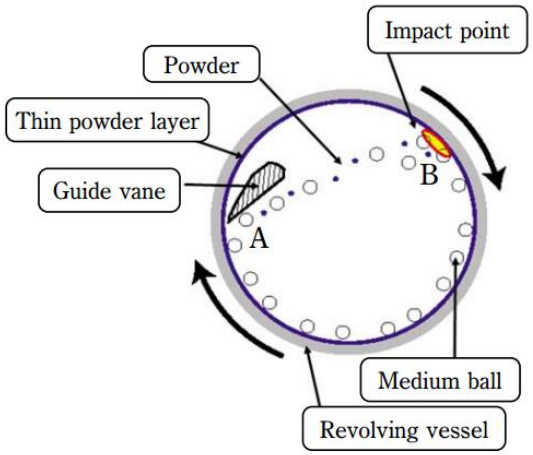


Fig. 1.5 Schematic of converge mill[15]

キチナーゼによるキチンの加水分解機構について、Dijkstra らは Family 18 に分類されるキチナーゼが、基質補助触媒として加水分解を行っていることを明らかにした[17]。この機構では、キチン分子がもつアセトアミド基が加水分解中にオキサゾリニウムイオン中間体を形成することで加水分解が促進されている(Fig. 1.6 (a))。この際、生成する糖はアノマー位の立体が維持されている。また、Goddard らは Family 19 に分類されるキチナーゼが、セルラーゼと同様の酸触媒機構で加水分解を行っていることを示した[18]。こちらの機構ではオキソカルベニウムイオン中間体を経て進行する(Fig. 1.7 (b))。また、アノマー位が反転した糖ができる場合がある(Fig. 1.8 (c))。

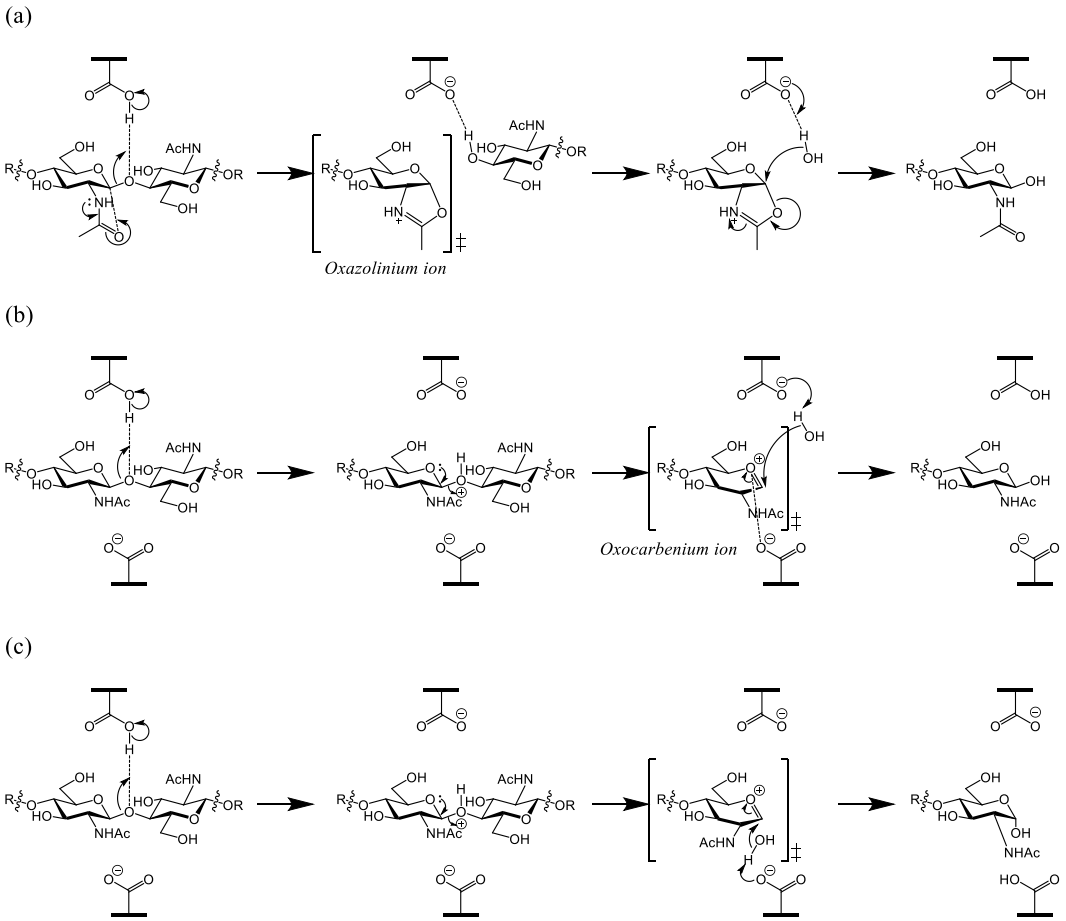


Fig. 1.8 Mechanism of hydrolysis of chitin by enzyme

また、酵素法の応用として、キチンをキチナーゼを生産する細菌によって発酵させ、NAG を合成する方法が開発されている[19]。

1.2.4.2 塩酸による NAG 合成

一方、逆に酵素を使わずに濃塩酸のみでキチンを加水分解する方法が検討されている。反応温度 60 ºC、反応時間 1 時間で NAG が収率 58%で合成できるとされている。濃塩酸法の特長として、反応時間が短く済むという点がある。一方で、濃塩酸を大量に使用しており、S/C 比は 0.009 と非常に小さい。そのため反応後の中和と生成した塩の処理コストが嵩む。しかし、塩酸量の低減は副反応であるアミド基の加水分解を促進するため困難である。さらに、塩酸は強い腐食性を持つため、反応器のコストも高くなる。

塩酸によるキチンの加水分解反応の機構を Fig. 1.9 に示す[20]。まず、(i)塩酸によりキチンのグリコシド結合がプロトン化され、グリコシド結合が活性化される。続いて

(ii)グリコシド結合の開裂が S_N1 機構で進行し、オリゴマーとオキソカルベニウムイオンが生成する。この(iii)オキソカルベニウムイオンに溶媒が求核付加することで加水分解が進行する。また、同時にアミド結合の加水分解も S_N2 機構で進行する(Fig. 1.10)。まず、アミドの酸素原子がプロトン化され、水分子が求核付加することで四面体中間体を生成する。続いてアミドの窒素原子がプロトン化され、アミンが脱離する。脱離したアミンは酸性条件下でプロトン化されるため、逆反応は進行しない。

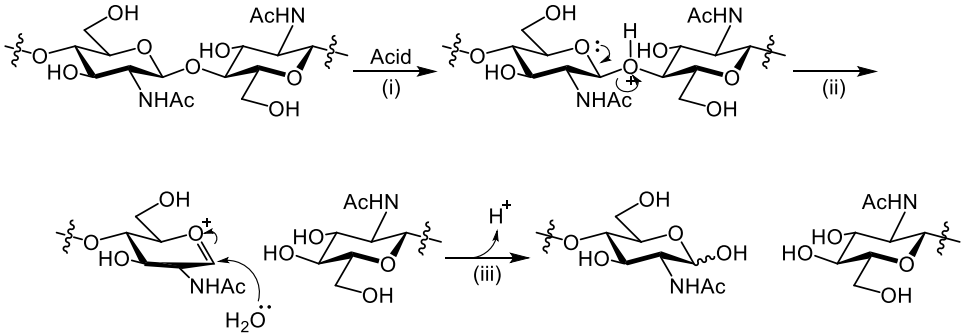


Fig. 1.9 Mechanism of hydrolysis of chitin

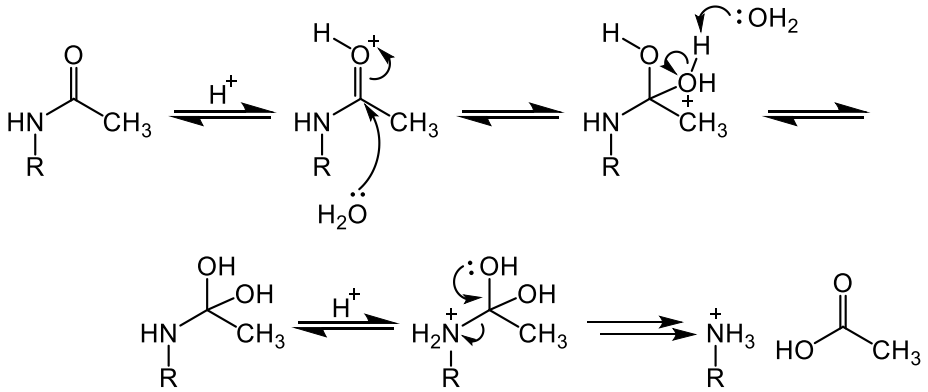


Fig. 1.10 Mechanism of hydrolysis of amide

1.2.4.3 キチンの加アルコール分解

Yan らはエチレングリコール溶媒中で硫酸(S/C = 0.9)を触媒として、キチンを 165 ºC で 1 時間加溶媒分解することにより、1-*O*-(2-ヒドロキシエチル)グルコサミンと 1-*O*-(2-ヒドロキシエチル)-*N*-アセチルグルコサミンが合計収率 30%で得られたと報告している(Fig. 1.11)[21]。ヘミアセタール基がアルコールによって保護されているため、NAG やグルコサミンに比べ熱安定性が高く過分解が抑制されている。しかし、アミド基にエチレングリコールが攻撃することで脱アセチル反応が進行してしまう。

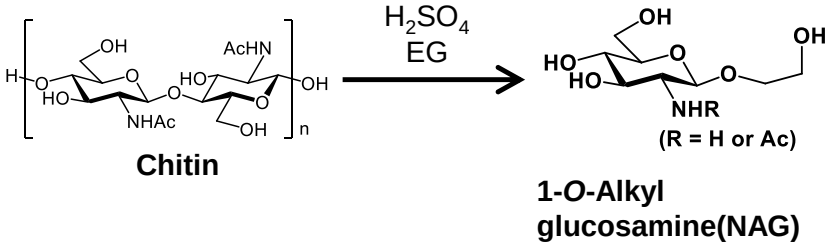


Fig. 1.11 Chitin alcoholysis

1.2.4.4 キチンからのフラン類の合成

Kerton らは塩化スズを触媒として 200 ºC、30 分反応させることで、キトサンやグルコサミンからレブリン酸や 5-HMF を合成した[22]。Hou らは 67%塩化亜鉛溶液中で 120 ºC、90 分反応させることで、5-HMF をグルコサミンから 22%、キトサンから 10%得ることに成功した[23]。

Kerton らはホウ酸を触媒として、DMA 中で NAG を 220 ºC、15 分反応させることで、3-アセトアミド-5-デオキシフラン(3A5AF)を収率 58%で合成できたと報告している[24]。3A5AF は様々な化合物への転換が期待できる化合物である(Fig. 1.12)。本反応でのホウ酸はルイス酸触媒として機能しており、糖と容易に 2 配位で脱水縮合する。これにより糖の脱水が促進され、3A5AF が高収率で合成された。

また、Yan らはホウ酸を触媒として、NMP 中でキチンを 215 ºC、2 時間加熱することで、3A5AF が収率 7.5%を報告している[25]。また、彼らは本反応系での律速段階はキチンの結晶領域の分解であり、さらなる収率の向上のためには、キチンの非晶質化が必要であると述べている。

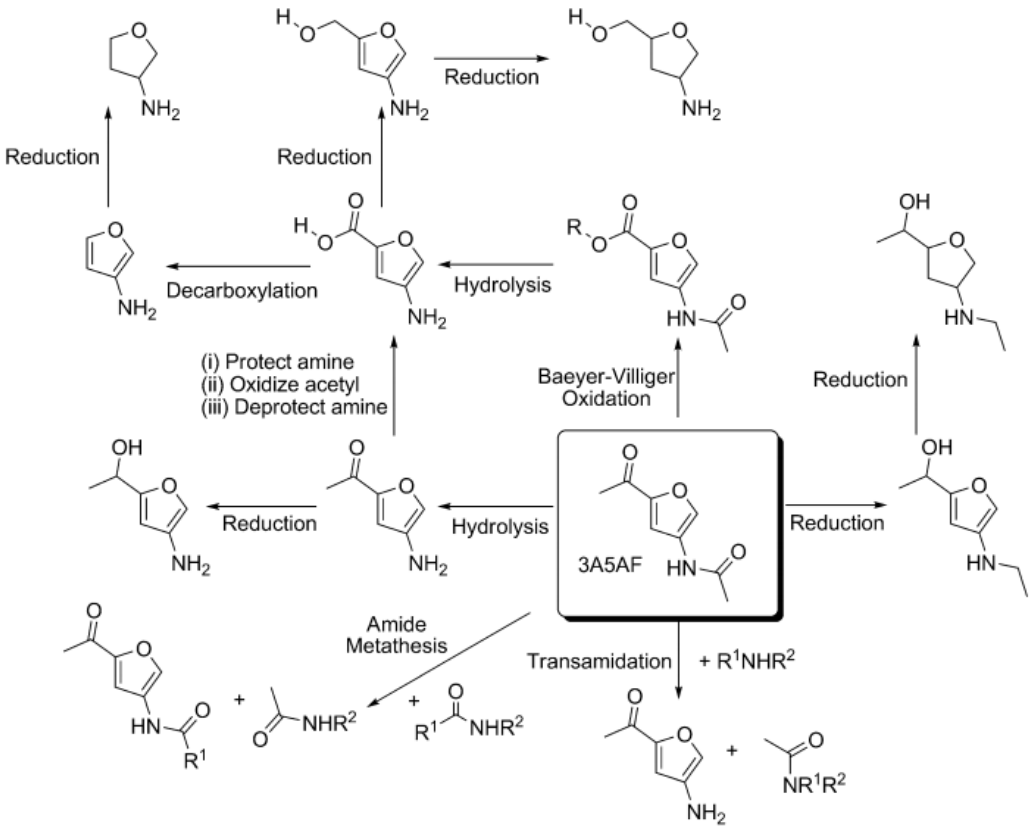


Fig. 1.12 Some potential future transformations of 3A5AF[25]

1.2.4.5 キチンオリゴマーおよび NAG の脱水分解反応

Osada らは NAG の 2 量体であるキトビオースを 180 ºC の熱水中で短時間反応することで、キトビオースが 4-*O*-b-グルコピラノジル-2-アセトアミド-2,3-ジデオキシジヒドログルコピラノース(GND)を収率 24.7%で得られたと報告している(Fig. 1.13)[26]。GND は抗酸化剤などの利用が期待されている化合物であるが、キチンオリゴマーは高価で多段階合成が必要となるため、GND といった誘導体は市販されていない。

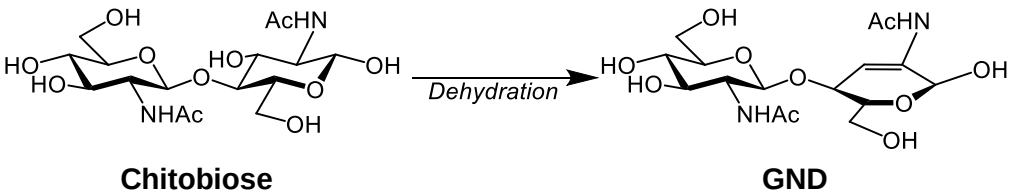


Fig. 1.13 Dehydration of chitobiose

また、Osada らは NAG を 180 ºC の熱水中で短時間反応すると、クロモゲン I と III の混合物が収率 23%で得られることを報告している(Fig. 1.14)[27]。キトビオースが同条件で単純脱水により GND を生成するのに対して反応経路が異なり、まず NAG の 3 位の水酸基が脱離する。この化合物はクロモゲン I の異性体である。さらにクロモゲン I の 1 位の水酸基が脱離することで、クロモゲン III が得られる。

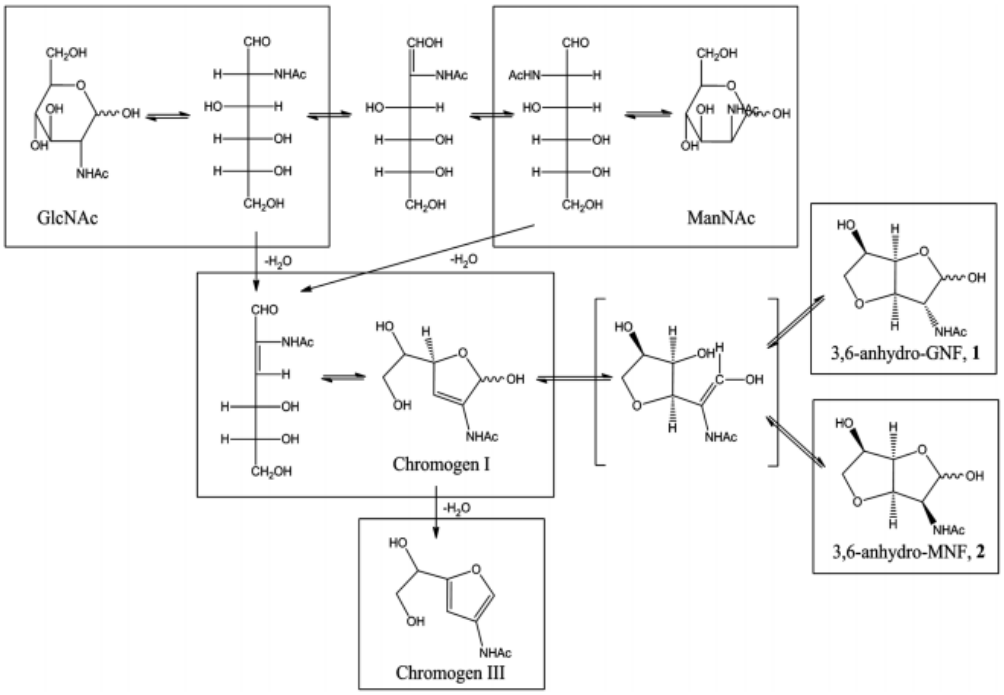


Fig. 1.14 Reaction pathway of NAG in high-temperature water[27]

1.2.4.6 NAG の水素化および水素化分解

Yan らは 5wt%炭素担持ルテニウム触媒を用いて、NAG を水素加圧下 80 ºC、1 時間水素化すると、糖アルコールである 2-アセトアミド-2-デオキシソルビトール(ADS)が収率 98%で生成したと報告している[28]。1 wt% Ru/C を使って、反応温度を上げると NAG の転化率が向上し、180 ºC で 100%となった。また ADS の収率が減少すると同時に C2-C4 のポリオールの収率が増加し、メタンなどが生成していた。これは高温のために NAG や ADS が逆アルドール反応や脱アセチル化などの副反応を受けるためである(Fig. 1.15)。

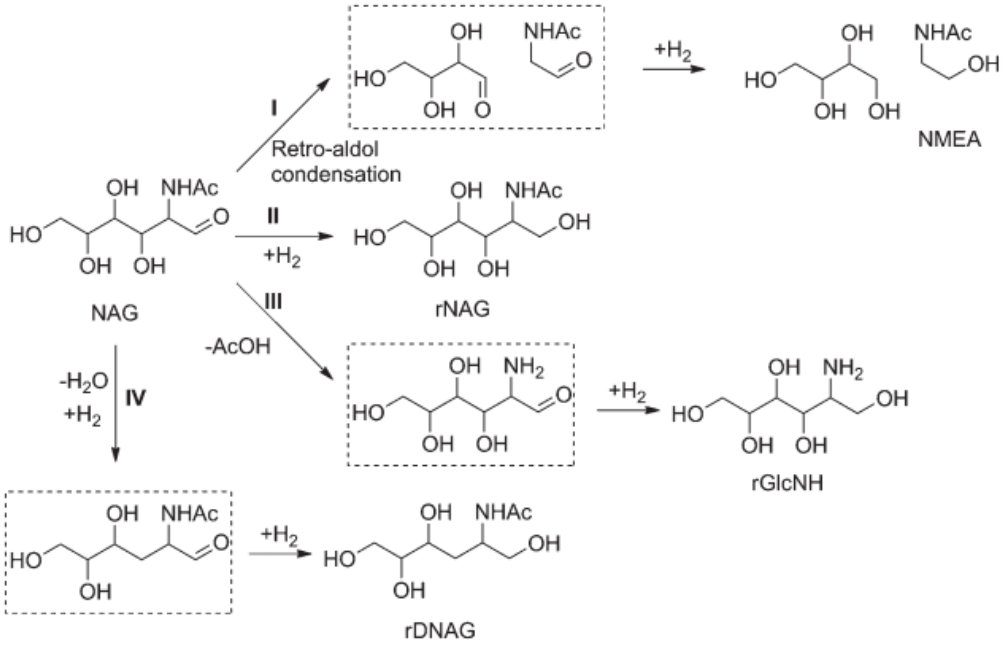


Fig. 1.15 Proposed reaction pathway of NAG conversion[28]

1.3 機械的加水分解

1 次元ポリマーは長い鎖を持つため、機械的エネルギーを張力として受けやすい。従って、ポリマーを結合している化学結合が切れやすくなることは想像に難くない。実際、Sottos らは PMA 中にスピロピラン環をもつポリマーを引っ張ると、スピロピラン環のエーテル結合が切断する異性化が起こることを報告しており、機械的ストレスを視覚化することに成功している[29]。キチンはNAGの1次元ポリマーであるため、この原理を応用すればグリコシド結合の選択的な切断が可能になると考えられ、本節では機械的エネルギーによるポリマー分解、特にキチンと類似構造を持つセルロースの分解について論じる。

1.3.1 セルロースの機械的加水分解

Blair らはセルロースとカオリナイトを一緒にボールミル処理することでセルロースが可溶化することを見出した[30]。これは機械的エネルギーによりカオリナイトの層構造が剥離し、セルロースとよく接触するようになるためであり、最適化した条件でセルロース可溶率 84%を達成している。Rinaldi らは、セルロースに硫酸や塩酸を含浸担持し、それを 800 rpm、2 時間遊星ボールミル処理することで、セルロースが水溶性のオリゴマーに分解できることを報告している[31]。得られた水溶性オリゴマーを水

中、130 ºC で 1 時間加水分解することで、グルコースが収率 91%で得られた。また、彼らは pK_a≤-1.8 の強酸を使用することで、セルロースのグリコシド結合がプロトン化され、機械的加水分解が進行すると提案している。Beltramini らは硫酸を含浸したのち、300 rpm、10 時間遊星ボールミル処理して水溶性のオリゴマーを得た。これをアルミナ担持 Ni-Pt 触媒を使って、水素圧 5 MPa、200 ºC、1 時間加水分解水素化することで、ヘキシトール収率約 80%を報告している[32]。本反応ではソルビトールの脱水も同時に進行しており、反応前に水酸化バリウムにより中和し、これを抑制することでヘキシトール収率約 90%まで増加した。

1.3.2 各種粉砕法による機械的加水分解

セルロース加水分解において、酸存在下で遊星ボールミル処理を行うことで、その物理的なエネルギーによりセルロース分子鎖の一部が加水分解され、水溶性のオリゴマーとなることが Beltramini らによって報告されている。遊星ボールミルとは、ボールミルがポットを自転させるのみであるのに対し、自転と公転を組み合わせることで粉砕効率を高めたものである(Fig. 1.16)。ポット内に酸を含浸したセルロースやキチンといった基質とボールを入れ回転させると、ボール同士が衝突する。このとき基質がその間に存在すると、ボール同士がずれる力によって分子に張力が加わる。この張力によってグリコシド結合が変形し、そのエネルギーによってグリコシド結合が切断していると考えられている(Fig. 1.17)[33]。キチンを機械的加水分解することにより、不溶性であったキチンが可溶性のオリゴマーへと転換する。可溶化したことにより反応性が向上しており、Fukuoka らはキチンオリゴマーを加水分解・加メタノール分解することでそれぞれ NAG 収率 53%、Me-NAG 収率 70%を達成している。

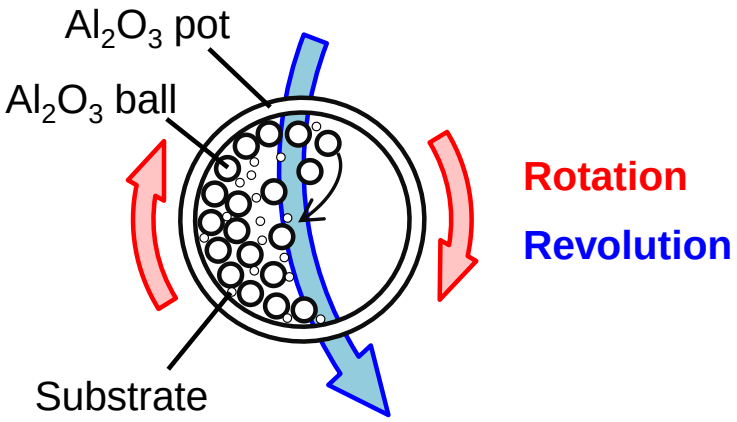


Fig. 1.16 Planetary ball-mill

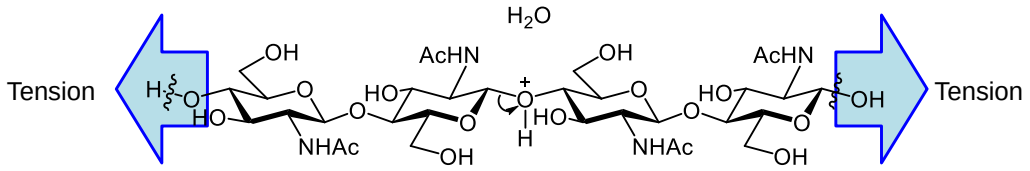


Fig. 1.17 Proposal mechanism of mechanocatalytic hydrolysis

1.4　加水分解水素化反応

キチンの加水分解で生成する NAG はアルデヒド基と等価のヘミアセタール基を持つため、熱安定性の低さが合成を難しくしている要因として挙げられる。つまり、加水分解を促進するために反応条件を厳しくすると、NAG は逐次分解してしまう。これと同じ問題はセルロースの加水分解でも起こるが、生成したグルコースのヘミアセタール基を直ちに水素化して化学的に安定なアルコールにすれば、高収率化が達成できることが明らかになっている。本法はキチン分解に応用できる可能性があるため、本節ではセルロースの加水分解水素化反応について紹介する。

1.4.1 固体触媒によるセルロースの加水分解水素化

1952 年に Schniepp らは 1,5-ジフリル-3-ペンタノンといったフラン環をもつケトンをセライト担持ニッケル触媒を使って加水分解水素化し、トリオールを合成した[34]。Balandin はこの方法をセルロース分解に適用した[35]。固体であるセルロースを加水分解するための硫酸と、溶液中に生成したグルコースを水素化するための担持ルテニウム触媒を添加し、7 MPa の水素加圧下、160 °C で 2 時間反応させたところ、ソルビトールとその脱水物であるソルビタンが得られたと述べている(Table 1.1, entry 1)。1988 年に、Jacobs らはスターチを Ru/USY 触媒により分解し、ソルビトールを合成することに成功した[36]。スターチは熱水に溶解するため、固体酸触媒である USY によって加水分解され、Ru によって水素化されたと考えられる。2006 年、Fukuoka らはセルロースを固体触媒のみで加水分解水素化することに初めて成功した。水素圧 5 MPa の条件下、Pt/Al_2O_3 触媒を用いて水中 190　°C でセルロースを分解するとソルビトールが収率 25%で、マンニトールが収率 6%で合成できる(entry 2)[37]。固体触媒のみで固体のセルロースを分解できた理由は不明であったが、この報告によって固体触媒によるセルロース選択分解の研究が始まった。

Liu らは Ru/C 触媒がセルロースの加水分解水素化に高い活性を示すことを報告した[38]。245 °C、30 分の反応でソルビトールが収率 30%で得られた(entry 3)。加水分解

過程は熱水の自己解離で発生するプロトンによって促進されていると推測した。しかし、水の解離定数(pK_w)は、当温度で約 12 であるため、pH は約 6 である。セルロースの均一系酸加水分解には pH 2 以下が必要であることが知られており、水の解離による酸反応は期待できない[39]。恐らく、当該触媒系では水分子の直接攻撃によるグリコシド結合の切断が起きていると推測される。Fukuoka らは、新たな触媒として Pt/BP2000 (BP2000: Cabot, carbon black Black Pearls 2000)を報告した[40]。本触媒は反応温度 190 °C、24 時間の反応でソルビトール収率 49%を与え、さらに少なくとも 3 回は活性低下なく再使用できる(entry 4)。この論文の最も重要な点は、担持金属触媒である Pt/BP2000 がセルロースの加水分解を促進することを示したことである。つまり、セルロース加水分解の擬一次速度定数は無触媒条件では 0.082 h^{-1} であるのに対し、Pt/BP2000 存在下では 0.21 h^{-1} に向上する。また、金属種のスクリーニングの結果、Pt や Ru はソルビトールを高収率で与えるのに対し(entries 4,5)、Ir を用いると収率がやや低下した(entry 6)。さらに、Rh や Pd はほとんどソルビトールを生成せず(entries 7,8)に分解反応を引き起こし、少量のエチレングリコールやプロピレングリコールを与えるのみであった。加水分解水素化反応は 190 °C の高温で行われるため、触媒が適切でなければ、水素化が進行する前に糖が分解したり、過剰な水素化能により C–C 結合や C–O 結合が水素化分解されるため、金属種によって反応結果に大きな差を生じたと考えられる。

加水分解水素化の律速段階はセルロースの加水分解であるため、系中に酸触媒を添加することで加水分解を加速する手法が検討されてきた。2011 年に Sels らは、Ru/C とタングストケイ酸($H_4SiW_{12}O_{40}$)を組み合わせた系により、ボールミル処理したセルロースと微結晶セルロースから糖アルコールをそれぞれ 85%、36%合成することに成功している(entries 9,10)[41]。Palkovits らは同様にタングストケイ酸と Ru/C を組み合わせた系で、C4 から C6 の糖アルコールを収率 81%で得ている[42]。

これらの反応では高圧の水素を必要とするが、2011 年に Fukuoka らは高分散の炭素担持ルテニウム触媒を用いることで、低圧の水素化でも水素化反応が進行することを見出している(entry 11)[43]。また、水素源として水素ガスの替わりに 2-プロパノールを用いることもできる(entry 12)。TEM 測定で求められた Ru 粒子径は 1.4 nm と非常に小さく、これが低水素圧でも高い水素化能を達成する上で重要であることが示唆されている。EXAFS による分析結果では、Ru 種は空気中では $RuO_2{\cdot}2H_2O$ として存在するが、水素雰囲気では速やかに還元され、金属 Ru が活性種になることが示されている。

配位数の解析から、Ru の粒子径は 1.5 nm と算出され、TEM の測定結果とほぼ一致している。本触媒系でのソルビトール収率は最高でも 30%であったため、収率を決めている因子が速度論的に解析された。その結果、水素化反応で生成したソルビトールの逐次反応が無視できないことが明らかにされた。そこで、ソルビトールが逐次分解する前に反応を完結させるため、前処理方法が検討された。その結果、セルロースとルテニウム触媒を混合ミル処理[44]することにより、触媒基質間の接触を増加させると、加水分解過程を選択的かつ大幅に加速することができ、ソルビトール収率は 58%に改善した(entry 13)[45]。

Table 1.1 Hydrolytic hydrogenation of cellulose to sugar alcohol

Entry	Cat.	Pre-treatment of cellulose	Temp. /ºC	Time /h	$P(H_2)$ /MPa	Conv. /%	Yield /%			Ref.
							Sor	Man	Total	
1	H_2SO_4, Ru/C	Sulfite	160	2	7	n.d.	n.d.	n.d.	82	35
2	2.5 wt% Pt/Al_2O_3	Microcrystalline	190	24	5.0	n.d.	25	6	31	37
3	4.0 wt% Ru/C	Microcrystalline	245	0.5	6.0	86	30	10	39	38
4	2.0 wt% Pt/BP2000	Ball-milled	190	24	5.0	82	49	9.0	58	40
5	2.0 wt% Ru/BP2000	Ball-milled	190	24	5.0	86	37	13	50	40
6	2.0 wt% Ir/BP2000	Ball-milled	190	24	5.0	77	21	2.3	23	40
7	2.0 wt% Rh/BP2000	Ball-milled	190	24	5.0	87	5.2	3.2	8.4	40
8	2.0 wt% Pd/BP2000	Ball-milled	190	24	5.0	77	0.3	0.2	0.5	40
9	5.0 wt% RuC, $H_4SiW_{12}O_{40}$	Ball-milled	190	1	9.5	100	n.d.	n.d.	85	41
10	5.0 wt% RuC, $H_4SiW_{12}O_{40}$	Microcrystalline	190	1	9.5	77	n.d.	n.d.	36	42
11	2.0 wt% Ru/Norit	Ball-milled	190	18	0.8	82	30	8.3	38	43
12	2.0 wt% Ru/Norit	Ball-milled	190	18	0	74	34	9.0	43	44
13	2.0 wt% Ru/Norit	Mix-milled	190	3	0.9	89	58	9.4	68	45

1.4.2 固体触媒と均一系触媒を組み合わせたセルロース分解

Balandin が開発した均一系酸触媒と固体触媒を組み合わせる反応法が再精査された。2011 年に Sels らはゼオライト担持ルテニウム触媒と微量の塩酸を使ったセルロース加水分解水素化を報告している。水素圧 5 MPa、水中 190 ℃ でボールミル処理したセルロースから糖アルコールが収率 66%で合成できる[46]。

また、Rinaldi らは後で詳細に述べるセルロースを硫酸存在下で機械的加水分解によってオリ 94%を達成した[47]。また、Fukuoka らは 2-プロパノールを水素源に用いる

技術と機械的加水分解による可溶性オリゴ糖合成を組み合わせることにより、固定床流通式反応でのソルビトール合成に成功している[48]。

1.5 レトロアルドール反応

1,2-プロピレングリコール(PG)やエチレングリコール(EG)などのジオールやブタジエンは、ポリエステルなど有用なプラスチックのモノマーとして利用される有用化成品である。これらは現在は石油由来のプロピレンやエチレンから合成されているが、化石資源の枯渇や大量消費による環境問題があるため、再生可能なバイオマスからの変換法が注目されている。Fig. 1.18 にグルコースからの変換経路の一例を示す。まずレトロアルドール反応によりグルコースの C－C 結合が切断される。本反応の触媒として塩基やルイス酸が知られている。このとき同時に一部のグルコースは Lobry de Bruyn-van Ekenstein 転移により異性体であるフルクトースへと変換される。カルボニルの位置により C－C 結合の切断位置は変わるため、フルクトース経由では C3－C4 間の切断が起こりグリセルアルデヒドとジヒドロキシアセトンが生成する。これらは異性体であり、1 分子の水が脱離することでピルブアルデヒドとなる。これを水素化することで PG が、ベンジル酸転移により同じくプラスチック原料となる乳酸が生成する。また、グルコースからは C2－C3 間が切断されたエリスロースとグリコールアルデヒドが生成し、これらは水素化によりエリスリトールや EG、水素化脱水素により 1,3-ブタジエンなどが合成できる。

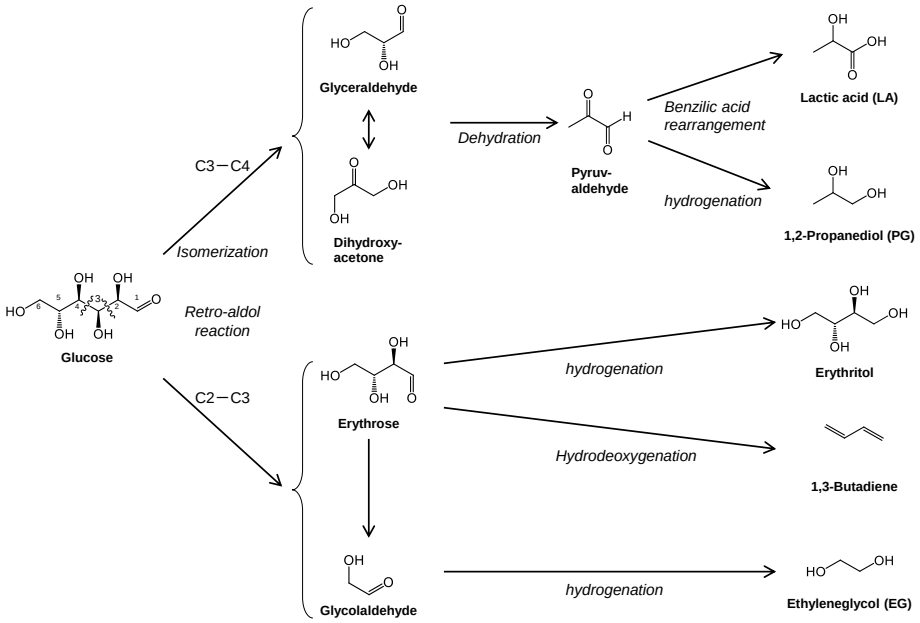


Fig. 1.18 Glucose transformation to C2-C4 compounds.

Arai らは流通型反応装置を用いた、超臨界水によるグルコースからのエリスロース合成を報告している(entry 14)[49]。無触媒反応であるため超臨界条件という厳しい条件が必要であるが、高温短時間での反応条件ではレトロアルドール反応によるエリスロースへの変換(70%)もしくはフルクトースへの異性化(25%)が主反応であり、従来の酸性水溶液中での反応における 5-HMF といった脱水生成物への転換[50]が抑制されることを利点として挙げている。また、温度と圧力を調整することで二つの反応の選択率が変化し、生成物分布を制御することができることを明らかにした(entry 15,16)[51]。

Zhang らはヘテロポリ酸であるメタタングステン酸アンモニウムと担持金属触媒によりセルロースやグルコースからエチレングリコールがそれぞれ収率 61%、50%で得られることを報告している(entries 18,19)[53-55]。また Li らは Pd-WO_x/Al_2O_3 を充填した固定床流通装置を用いることで、高い C3 選択率でのレトロアルドール水素化反応を達成している(entry 20)[56]。本触媒は 200 時間以上の連続反応において高い選択率および転化率を維持した。これらの反応系において WO_x はルイス酸として機能しており、グルコースからフルクトースへの異性化とレトロアルドール反応を促進している(Fig. 1.19)。

Table 1.2 Conversion of cellulose and glucose to sugar C2-C4 sugars.

Entry	Substrate	Solvent	Catalyst	Temp. /ºC	Time /min	Pressure /MPa	Conv. /%	Yield /%			Ref.
								C4	C2	C3	
14	Glucose	Supercritical water	—	400	< 0.01	30	90	40			49
15	Glucose	Supercritical water	—	350	0.02	40	51	17	11	15	51
16	Glucose	Supercritical water	—	450	0.02	35	> 99	4.5	64	5.4	51
17	Glucose	water	$CaCO_3$+CuCr	140, 220	120, 300	6 (H_2)	> 99	24		23	52
18	Cellulose	water	Ni-W_2C/AC	245	30	6 (H_2)	100	2.3	61	7.6	53
19	Glucose	water	AMT-Ru/C	240	40	5 (H_2)		3.3	50	12	54
20	Glucose	water	Pd-WO_x/Al_2O_3	180		4 (H_2)	92	9.9	5.7	61	56
21	Glucose	water									

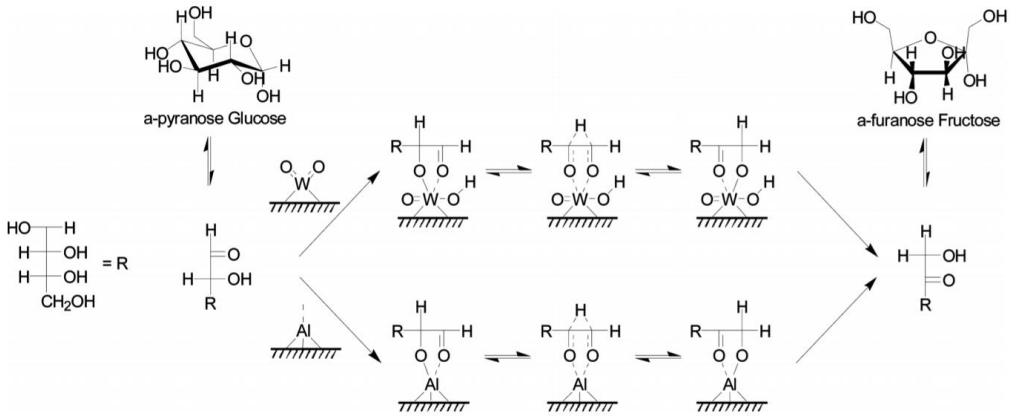


Fig. 1.19 Suggested mechanism of isomerization of glucose to fructose on Pd-WO_x/Al_2O_3.

1.6 本研究の目的および意義

海洋バイオマスであるキチンは、賦存量第 2 位のバイオマスであり、窒素原子を含み、さらに単一ユニットからなるポリマーであるという特質を持つにもかかわらず、これまでほとんど利用されてこなかった。キチンを分解し、その単量体を有用化合物原料として利用することができれば意義深い。従来、キチンを加水分解し NAG を合成する方法が多く報告されてきたが、コストや効率の点で問題を抱えている。また、NAG 自体の熱安定性が低く、容易に分解してしまう。　著者は様々な触媒プロセスを組み合わせることによりこれらの問題点の解決を目指した。キチンのアセトアミド基は水中で容易に加水分解されアミノ基になるが、アミン存在下で糖化合物を加熱するとメイラード反応などの副反応を起こすため、選択的なキチン変換のためには脱アセチル化の抑制が鍵となる。そこで触媒を用いた多段階の反応でキチンを穏やかな条件で転換していくことでこれを達成しようと検討した。

1.7 本論文の構成

第 1 章「序論」

本研究の背景を述べ、本研究の目的と意義を明らかにした。

第 2 章「機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成」

機械的加水分解の優位性を示すとともに、さらなる高収率でのキチンオリゴマーおよび NAG 収率を目指し、処理条件の検討を行った。

第 3 章「キチンオリゴマーからの含窒素糖アルコール合成」

担持金属触媒を用いて、機械的加水分解により調製したキチンオリゴマーを加水分解水素化することにより、糖アルコールである 2-アセトアミド-2-デオキシソルビトール(ADS)を合成した。

第 4 章「NAG からのアミノ酸合成」

キチンの単量体である NAG からのアセチルグリシン合成を目的とした。また、NAG とグルコースの反応性の違いについて計算科学を用いて考察した。

第 5 章「総括」

本研究を総括した。

1.8 参考文献

[1] M. F. A. Goosen, Application of Chitin and Chitosan, CRC Press (1996).

[2] Y. Sun, J. Cheng, *Biosour. Technol.* **83**, 1 (2002).

[3] キチン・キトサン研究会, 最後のバイオマス キチン、キトサン, 技術堂出版 (1988).

[4] 食品機能性の科学編集委員会, 食品機能性の科学, 産業技術サービスセンター (2008).

[5] K. Kurita, *Prog. Polym. Sci.* **26**, 1921 (2001).

[6] K. Oshima, *苫小牧工業高等専門学校紀要* **40**, 31 (2005).

[7] M. Jang, B. Kong, Y. Jeong, C. H. Lee, J. Nah, *J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.* **42**, 3423 (2004).

[8] S. Ifuku, Z. Shervani, H. Saimoto, Advances in Nanofibers, INTECH (2013).

[9] S. Aiba, 化学と教育 49 巻 8 号 (2001).

[10] 工業所有権総合情報館, キチン・キトサン利用技術 (2004)

[11] M. Ishikawa, F. Nanjo, K. Sakai, *JP Pat.* 1 822 027 (1994).

[12] K. Kurita, *Chem. Lett.* **9**, 1597 (1989).

[13] N. Kochibe, K. L. Matta, *J. Biol. Chem.* **264**, 173 (1989).

[14] H. Sashiwa, S. Fujishima, N. Yamano, N. Kawasaki, A. Nakayama, E. Muraki, K. Hiraga, K. Oda, S. Aiba, *Carbohydr. Res.* **337**, 761 (2002).

[15] L. T. Fan, Y. H. Lee, D. R. Beardmore, *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 419 (1981).

[16] M. Osada, C. Miura, Y. S. Nakagawa, M. Kaihara, M. Nikaido, K. Totani, *Carbohydr. Polym.* **92**, 1573 (2013).

[17] I. Tews, A. C. T. Scheltinga, A. Perrakis, K. S. Wilson, B. W. Dijkstra, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 7954 (1997).

[18] K. A. Brameld, W. A. Goddard III, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 4276 (1998).

[19] N. Kazue, T. K. Mazumdar, Y. Kazuhiko, K. Hisashi, 特許第 5052702 (2003).

[20] P. Y. Bruice, ブルース有機化学 第 5 版, 化学同人 (2010).

[21] Y. Pierson, X. Chen, F. D. Bobbink, J. Zhang, N. Yan, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2**, 2081 (2014).

[22] K. W. Omari, J. E. Besaw, F. M. Kerton, *Green Chem.* **14**, 1480 (2012).

[23] Y. Wang, C. M. Pedersen, T. Deng, Y. Qiao, X. Hou, *Bioresour. Technol.* **143**, 384 (2013).

[24] K. W. Omari, L. Dodot, F. M. Kerton, *ChemSusChem* **5**, 1767 (2012).

[25] X. Chen, S. L. Chew, F. M. Kerton, N. Yan, *Green Chem.* **16**, 2204 (2014).

[26] M. Osada, K. Kikuta, K. Yoshida, K. Totani, M. Ogata, T. Usui, *RSC Adv.* **4**, 33651

(2014).
[27] M. Osada, K. Kikuta, K. Yoshida, K. Totani, M. Ogata, T. Usui, *Green Chem.* **15**, 2960 (2013).
[28] F. D. Bobbink, J. Zhang, Y. Pierson, X. Chen, N. Yan, *Green Chem.* **17**, 1024 (2015).
[29] D. A. Davis, A. Hamilton, Jinglei Yang, L. D. Cremar, D. V. Gough, S. L. Potisek, M. T. Ong, P. V. Braun, T. J. Martinez, S. R. White, J. S. Moore, N. R. Sottos, *Nature* **459**, 68 (2009).
[30] S. M. Hick, C. Griebel, D. T. Restrepo, J. H. Truitt, E. J. Buker, C. Bylda, R. G. Blair, *Green Chem.* **12**, 468 (2010).
[31] N. Meine, R. Rinaldi, F. Schüth, *ChemSusChem* **5**, 1449 (2012).
[32] A. Shrotri, L. K. Lambert, A. Tanksale, J. Beltramini, *Green Chem.*, **15**, 2761 (2013).
[33] M. Yabushita, H. Kobayashi, K. Kuroki, S. Ito, A. Fukuoka, *ChemSusChem* **8**, 3760 (2015).
[34] C. R. Russell, K. Alexander, W. O. Erikson, L. S. Hafner, L. E. Schniepp, *J. Am. Chem. Soc*. **74**, 4543 (1952).
[35] A. A. Balandin, N. A. Vasyunina, G. S. Barysheva, S. V. Chepigo, M. M. Dubinin, *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.* **6**, 403 (1957).
[36] P. Jacobs, H. Hinnekens, EP Patent 0,329,923 (1988).
[37] A. Fukuoka, P. L. Dhepe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **45**, 5161 (2006).
[38] C. Luo, S. Wang, H. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **46**, 7636 (2007).
[39] O. Bobleter, *Prog. Polym. Sci.* **19**, 797 (1994).
[40] H. Kobayashi, Y. Ito, T. Komanoya, Y. Hosaka, P. L. Dhepe, K. Kasai, K. Hara, A. Fukuoka, *Green Chem.* **13**, 326 (2011).
[41] J. Geboers, S. Van de Vyver, K. Carpentier, P. Jacobs, B. Sels, *Green Chem.* **13**, 2167 (2011).
[42] P. Palkovits, K. Tajvidi, A. M. Ruppert, J. Procelewska, *Chem. Commun.* **47**, 576 (2011).
[43] H. Kobayashi, H. Matsuhashi, T. Komanoya, K. Hara, A. Fukuoka, *Chem. Commun.* **47**, 2366 (2011).
[44] H. Kobayashi, M. Yabushita, T. Komanoya, K. Hara, I. Fujita, A. Fukuoka, *ACS Catal.* **3**, 581 (2013).
[45] T. Komanoya, H. Kobayashi, K. Hara, W.-J. Chun, A. Fukuoka, *ChemCatChem* **6**, 230 (2014).
[46] J. Geboers, S. V. Vyver, K. Carpentier, P. Jacobs, B. Sels, *Chem. Commun.* **47**, 5590 (2011).
[47] J. Hilgert, N. Meine, R. Rinaldi, F. Schüth, *Energy Environ. Sci.* **6**, 92 (2013).

[48] A. Shrotri, H. Kobayashi, A. Tanksale, A. Fukuoka, J. Beltramini, *ChemCatChem*, **6**, 1349 (2014).

[49] B. M. Kabyemela, T. Adschiri, R. M. Malaluan, K. Arai, *Ind. Eng. Chem. Res.* **36**, 5063 (1997).

[50] M. L. Wolfrom, R. D. Schubtz, L. F. Cavalieri, *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 514 (1948).

[51] M. Sasaki, K. Goto, K. Tajima, T. Adschiri, K. Arai, *Green Chem.* **4**, 285 (2002).

[52] Z. Xiao, S. Jin, G. Sha, C. T. Williams, C. Liang, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53, 8735 (2014).

[53] N. Ji, T. Zhang, M. Zheng, A. Wang, H. Wang, X. Wang, J. G. Chen, *Angew, Chem, Int, Ed.* **47**, 8510 (2008).

[54] G. Zhao, M. Zheng, J. Zhang, A. Wang, T. Zhang, *Ind. Eng. Chem. Res.* **52**, 9566 (2013).

[55] M. Zhang, J. Pang, R. Sun, A. Wang, T. Zhang, *ACS Catal.* **7**, 1939 (2017).

[56] C. Liu, C. Zhang, S. Sun, K. Liu, S. Hao, J. Xu, Y. Zhu, Y. Li, *ACS Catal.* **5**, 4612 (2015).

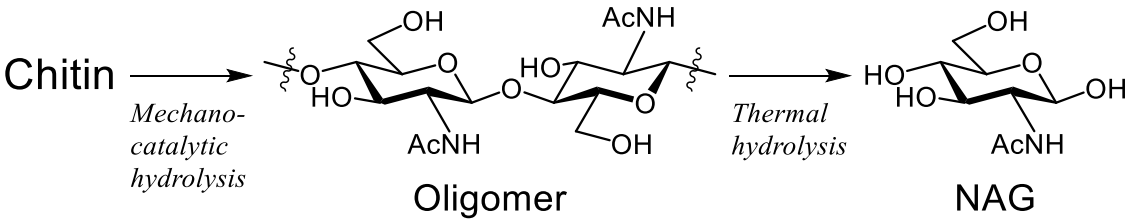
[57] Y. Koito, K. Nakajima, R. Hasegawa, H. Kobayashi, M. Kitano, M. Hara, *Catal. Today* **226**, 198 (2014).

第 2 章 機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成

2.1 諸言

キチンを化成品原料として利用するためには、ポリマーであるキチンを利用しやすい単量体へと分解する必要がある。しかしキチンはセルロースと同様に、分子内・分子間の多数の水素結合を含んだ強固な結晶構造をもち、反応性が低いという問題がある。また、キチンの単量体である NAG に含まれるヘミアセタールとアミド基は高い反応性を持つため、キチンが分解するような厳しい反応条件では、それらの分解も加速されるために、選択的な単量体合成は困難である。そのため、キチンの選択的な分解は大過剰量の濃塩酸と酵素を用いた長時間反応に限られており[1]、キチンの有効利用のためには新規分解法の確立が必須である。

著者の所属する研究グループでは、硫酸とボールミルの機械的な力を合わせたメカノキャタリシスによりキチンを加水分解して低重合度の水溶性オリゴマーとすることに成功している。以下では、本法を機械的加水分解と呼ぶ。さらに、得られたオリゴマーを硫酸によって加水分解することで NAG 収率 53%を達成している[2]。これは触媒量の酸でキチンを NAG に選択的に分解することに初めて成功した例であり、コストおよび環境負荷の点が改善されている。キチンオリゴマーや NAG は食品添加物や医薬・化粧品原料、植物の成長促進剤など用途は多岐にわたる有用な化合物である。本章では機械的加水分解の優位性を示すとともに、さらなる高収率でのキチンオリゴマーおよび NAG 合成を目指し、処理条件の検討を行った。



Scheme 2.1 Hydrolysis of chitin to oligomer and NAG

2.2 実験

2.2.1 キチンのアセチル化度測定[3]

85%リン酸 5 mL を撹拌しながらキチン 25 mg を少しずつ加え、60 ℃ の恒温槽中で 1 時間撹拌することでキチンを完全に溶解した。この溶解キチン 1 mL を蒸留水で 100 mL に希釈し、60 ℃ の恒温槽中で 2 時間撹拌した。得られたキチン水溶液を石英セル(光路長 10 mm)に入れ、UV-vis (JASCO, V-650)を用いて透過法で 203 nm の吸光度を測定することでアセチル化度を算出した。

2.2.2 キチンの機械的加水分解

2.2.2.1 エーテル溶媒を用いたキチンへの酸含浸

キチン 5.0 g と撹拌子を 50 mL ナス型フラスコに加えたのち、任意の基質触媒比 (S/C, [mol/mol], NAG/GlcN ユニット基準)となるように酸/ジエチルエーテル溶液 15 mL を加え、振とう・超音波処理により懸濁させた。その後、ロータリーエバポレーターを用いてエーテルを留去し、さらに一晩室温・< 1 Pa で真空乾燥した。このように調製したキチンを Chitin-Acid(E)と表記する。

2.2.2.2 水溶媒を用いたキチンへの酸含浸

キチン 5.0 g と蒸留水 5 mL、撹拌子を 50 mL ナス型フラスコに入れた。必要量の酸を含む蒸留水 10 mL を加え、フラスコ内を油回転ポンプによって減圧しながらマグネチックスターラーにより一晩撹拌した。この時、水の蒸発を促すために、フラスコを室温の水浴に漬けながら行った。このように調製したキチン試料を Chitin-Acid(W)と表記する。

2.2.2.3 遊星ボールミル処理

約 5 g の Chitin-Acid とアルミナボール(ø5、100 g)をアルミナポット(250 mL)に投入した。試料を遊星ボールミル装置(FRITSCH 製、P-6)を用いて公転速度 500 rpm で 6 時間粉砕することにより、キチンが解重合した試料 *Oligomer-Acid* を得た。遊星ボールミル処理は発熱を伴うため、粉砕時間 10 分ごとに 10 分間の放冷を挟んだため、処理に要した合計時間は 12 時間である。

2.2.2.4 生成物分析と可溶化率の測定

Oligomer-Acid 100 mg を蒸留水 10 mL に入れ、超音波洗浄機を用いながら 10 分間

溶かした後、メンブレンフィルター(0.1 μm mesh、PTFE、ADVANTEC)を用いて液相と固相とに分離した。高速液体クロマトグラフ(High Performance Liquid Chromatograph, HPLC, LC-20AD、島津製作所)を用いて、液相中の生成物を定量分析した。なお、HPLC における生成物の検出には RI および UV 検出器を用いた。分析条件および各生成物の保持時間を Table 2.1 および Table 2.2 に示す。生成物収率はキチンに含まれる炭素を基準として算出した(eq. 2.1)。キチンの可溶化率は固体残渣の重量から算出した(eq. 2.2)。試料の含水率は、試料を乾燥させたときの重量減少から決定した(eq. 2.3)。試料の乾燥には BEL Prep II を用いて、真空下(< 10Pa)、60 °C で 18 時間実施した。

Table 2.1 Analytical conditions of HPLC.

Column	Column temp. /°C	Mobile phase
Rezex RPM-Monosaccharide Pb++	70	H_2O 0.6 mL min^{-1}
Asahipak NH2P-50 4E	30	CH_3CN/H_2O=70/30 1.0 mL min^{-1}

Table 2.2 Retention times of products.

Product	Retention time /min	
	Rezex RPM-Monosaccharide Pb++	Asahipak NH2P-50 4E
Chitotriose	10.4	6.4
Chitobiose	11.7	5.5
NAG	13.9	4.8

$$(\text{Yield }/\%)=\frac{f\times A\times V}{\frac{M_{Oligomer-Acid}}{203.21}\times C_{NAG}\times\left(1-\frac{w}{100}\right)\times\left(\frac{\mathrm{S/C}}{\mathrm{S/C}+1}\right)}\times 100 \qquad \textbf{(eq. 2.1)}$$

$$(\text{solubility }/\%)=\left(1-\frac{M_{\mathrm{Residue}}}{M_{Oligomer-Acid}\times\left(1-\frac{w}{100}\right)\times\left(\frac{\mathrm{S/C}}{\mathrm{S/C}+1}\right)}\right)\times 100 \qquad \textbf{(eq. 2.2)}$$

$$(\text{Water content }/\%)=\frac{M_{\mathrm{before}}-M_{\mathrm{after}}}{M_{\mathrm{before}}}\times 100 \qquad \textbf{(eq. 2.3)}$$

, where f is calibration factor [M^{-1}], A is area from HPLC chart, V is volume of water [L], M_x is mass of x [g], C_{NAG} is NAG units content of sample [wt%], w is water content of sample [wt%] and S/C is weight ratio of chitin to H_2SO_4 [wt/wt].

2.2.2.5 UV-vis 測定

Oligomer-H_2SO_4 を蒸留水 10 mL に溶かし、石英セル(光路長 10 mm)を用いて UV-vis 測定を行った。なお、液相中のキチン濃度が 10 mM、0.1 mM となるように調製した。また対照実験として、同濃度の NAG/6 mM H_2SO_4 溶液を用意し、同様に測定した。

2.2.2.6 NMR

分析には核磁気共鳴装置(Nuclear Magnetic Resonance, NMR, JNM-ECX400, JEOL)を使用した。

2.2.3 キチンオリゴマーの加水分解

反応は SUS316 製高圧反応器(MMJ-100、オーエムラボテック)を用いて実施した(Fig. 2.1)。反応器に *Oligomer-Acid* および蒸留水 40 mL を加えた。この時、試料に含まれるキチンが 2 mmol となるように加えた。600 rpm で撹拌しながら、室温から任意の温度まで急激に加熱した。反応時間経過後、ただちに室温まで風冷した。なお、所定の温度に到達後に直ちに冷却を開始した場合を以降では急加熱急冷条件と呼ぶ。

反応後の溶液は HPLC を用いて分析した。なお、HPLC における生成物の検出には RI および UV 検出器を用いた。分析条件および生成物収率の計算は「2.2.2.4 生成物分析と可溶化率の決定」と同様である。

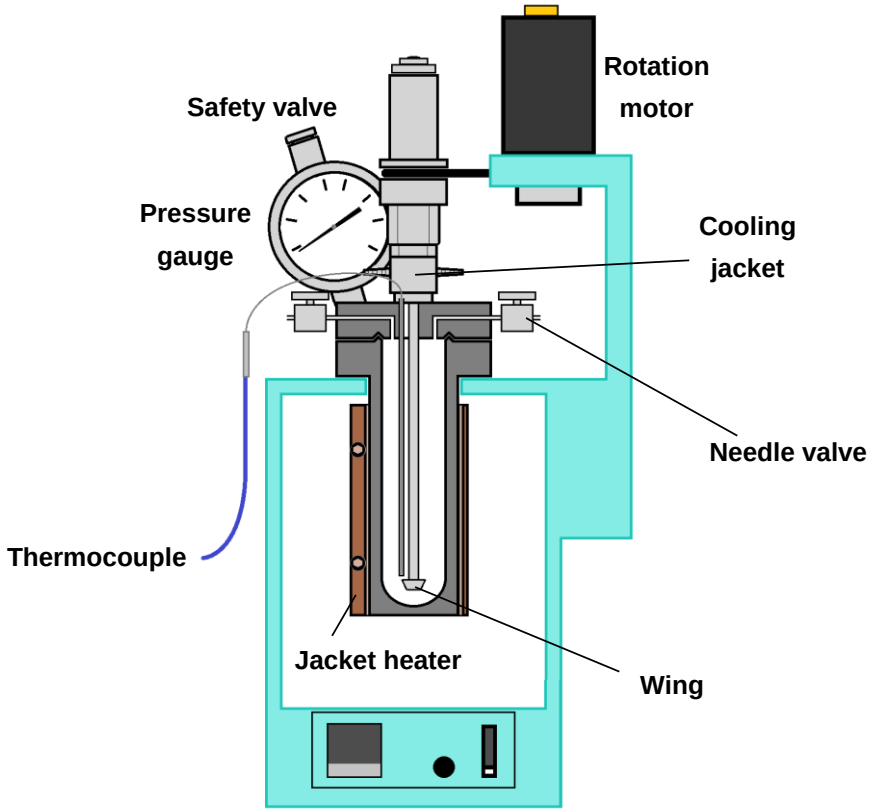


Fig. 2.1 Diagram of high-pressure reactor.

2.3 試薬

本章で用いた試薬は以下のとおりである。

Reagent	Class, company and footnote
Chitin	First grade, Wako Pure Chemical Industries
N-Acetyl-D(+)-Glucosamine	First grade, Wako Pure Chemical Industries, denoted NAG
Glucosamine	Santa Cruz Biotechnology
H_3PO_4	85%, Wako Pure Chemical Industries
H_2SO_4	97%, Wako Pure Chemical Industries
$HClO_4$	70%, Wako Pure Chemical Industries
CH_3SO_3H	98%, Wako Pure Chemical Industries
HCl	36%, Wako Pure Chemical Industries
Diethyl ether	Special grade, Wako Pure Chemical Industries
Distilled water	For HPLC, Wako Pure Chemical Industries

2.4 結果・考察

2.4.1 キチンのアセチル化度測定

第 1 章で述べた通り、分子内のアミノ基が完全にアセチル化されたキチンは存在しないため、精製されたキチンにおいても一部 GlcN ユニットを含んでいる。そのためキチンの加水分解に先立ち、基質となる市販のキチンのアセチル化度を算出する必要がある。使用したキチンのアセチル化度は既報[3]に従って行った。本法はアセトアミド基の存在により 194 nm 付近での π-π*遷移に起因する吸収を利用している。キチンをアセチル基が脱離しない穏やかな条件化で単量体にまで加水分解し、得られたキチン/キトサン溶液の UV-vis 測定を行い、その吸光度からキチン中の NAG ユニット数を算出した。

Fig. 2.2 にキチン/キトサン溶液、標品の NAG、GlcN の各濃度に対する UV 吸収曲線とその 1 次微分をそれぞれ示す。アセトアミド基を持たない GlcN についても 200 nm 以下でわずかに吸収が見られるため、GlcN の影響のない 203 nm における吸光度の 1 次微分の値(H_{203})を用いて検量線を作成したところ、NAG の濃度に対して良好な直線関係が得られた(Fig. 2.2 (c))。これとキチン/キトサンリン酸溶液の 203 nm における 1 次微分の値および式 2.4 からキチンのアセチル化度を算出したところ 85.2%であり、試薬のキチンには 88 wt%の NAG ユニットが含まれていることがわかった。

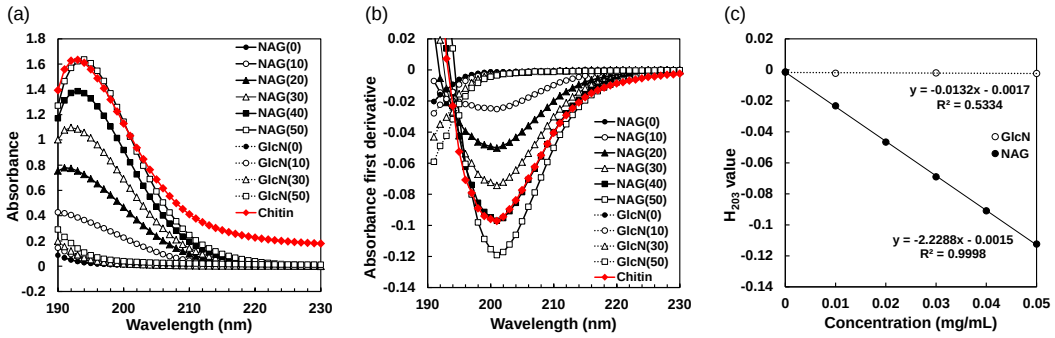


Fig. 2.2 Determination of the degree of acetylation of chitin by UV-vis measurement

$$(\mathrm{DA}/\%)=\frac{\frac{m_1}{203.21}}{\frac{m_1}{203.21}+\frac{m_2}{161.17}}\times 100 \qquad \textbf{(eq. 2.4)}$$

, where m_1 is the mass of NAG in 1 mL chitin/chitosan solution, calculated from the calibration curve by the corresponding H_{203}, m_2 is the mass of GlcN in 1 mL chitin/chitosan solution, calculated by subtracting m_1 from the total amount of NAG and GlcN contained in chitin/chitosan solution.

2.4.2 キチンの機械的加水分解

2.4.2.1 加水分解方法の比較

従来のキチンの加水分解は大量の濃塩酸と酵素を使って行われており、特殊な反応器を必要とし、大量の中和廃棄物が生じる問題がある。そのためキチンの有効利用のためにはこれらの問題を解決する必要がある。

キチンと類似の構造を持つバイオマスとしてセルロースがあり、この加水分解法について広く研究が行われてきた。セルロースおよびキチンはそれぞれの分子鎖が互いに相互作用することで強固な結晶構造を形成するため、反応性が低く加水分解を困難にしている。そのためこの結晶構造を壊すためにボールミルなどによる粉砕処理が行われてきた。非晶質化することでグリコシド結合への酸触媒のアクセスが可能になり加水分解が進行する。著者の所属する研究室において、セルロースと活性炭を共にボールミル処理することによりセルロースと活性炭の間に強い接触が形成され、この混合粉砕試料を熱水中の加水分解に用いることで効率的に単量体のグルコースが得られることを見出した[4]。Fig. 2.3 にその模式図を示す。セルロースの分子鎖はファンデルワールス力によりスタッキングし、結晶構造を形成している。これに対し混合粉砕処理によって活性炭が接近すると、セルロースのアキシアル面の C-H と活性炭表面との間に CH-π 相互作用が働き、セルロース分子鎖を活性炭上に引きはがす。活性炭上に吸着したセルロースは含酸素官能基が隣接した活性サイトによって加水分解される。

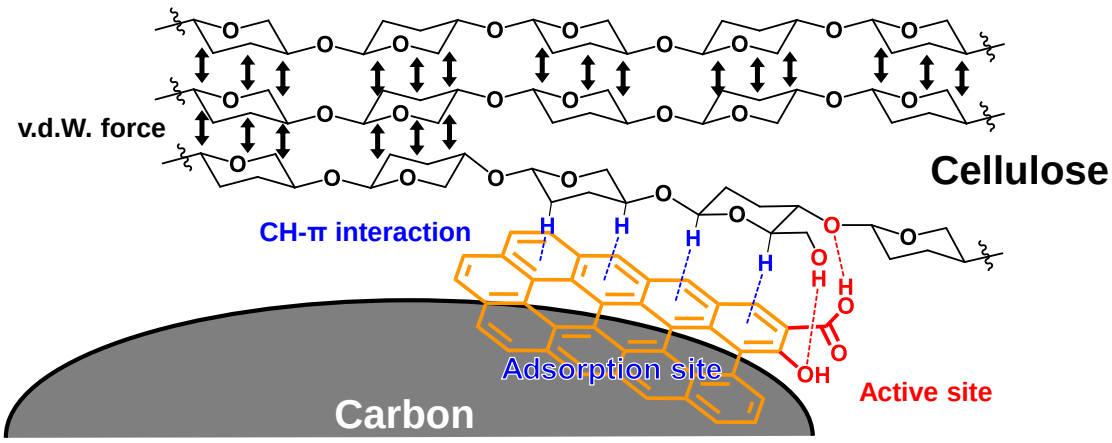


Fig. 2.3 Pattern diagram of mechanizm of cellulose hydrolysis on carbon catalyst.

これらの手法をキチンにも適用してみた。酸を含浸していないキチンに対し、「2.2.2.3 遊星ボールミル処理」の手順に従い粉砕処理を行った。得られた粉砕キチンを S/C=3.9 となるような硫酸水溶液中で 175 °C、1 時間加水分解を行ったところ、転化率 13%、NAG 収率 3 %C とほとんど加水分解は進行しなかった。これに対し同様の処理および反応をセルロースに対し行ったところ、転化率 27%、グルコース収率 15 %C、オリゴ糖の合計収率 8 %C と選択的に水溶性オリゴ糖に変換できた。また、混合粉砕処理を行った試料を加水分解すると、セルロースでは転化率 95%、水溶性オリゴ糖収率 80 %C と混合粉砕の効果がよく現れていたのに対し、キチンでは転化率 7.8%、水溶性オリゴ糖収率 1.5 %C とほとんど加水分解は進行しなかった。以上より、キチンはセルロースと同様の化学構造を持ちながら、その反応性は大きく異なることが分かった。

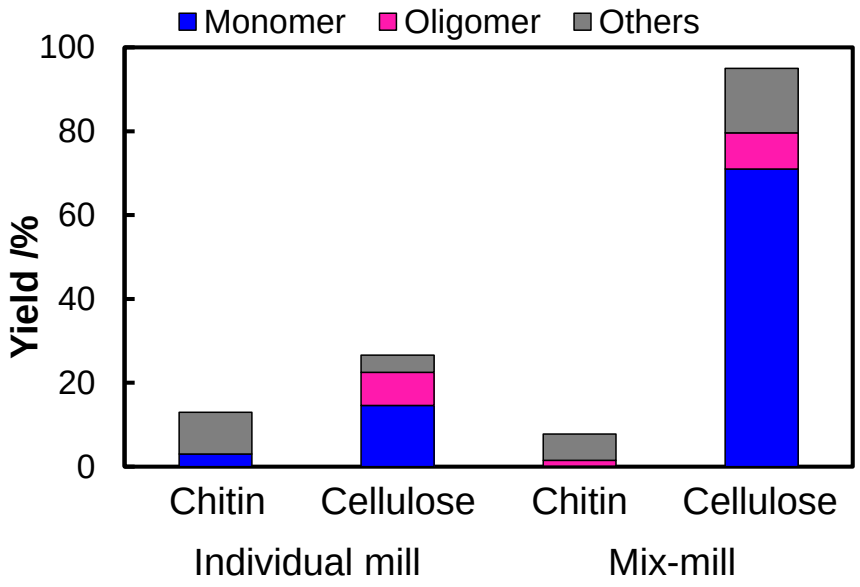


Fig. 2.4 Comparison of pre-treatment method for hydrolysis of chitin and cellulose.

Table 2.1 Comparison of pre-treatment method for hydrolysis of chitin and cellulose.

Entry	Substrate	Pre-treatment	Yield [%C]		Conv.
			Monomer	Oligomer (DP=2-4)	[%]
1	Chitin	Individual	3.0	-	13
2	Cellulose	mill	15	7.9	27
3	Chitin	Mix-mill	0.1	1.4	7.8
4	Cellulose		71	8.6	95

この原因について、次のように推測した。キチンはセルロースの 2 位の水酸基がアセトアミド基に置き換わった構造である。このアセトアミド基同士の水素結合によりキチン分子鎖はスタッキングしているため、ファンデルワールス力のみのセルロースに比べ結晶構造が強固である(Fig. 2.4)。またアセトアミド基の立体障害により CH-π 相互作用の形成についても阻害されるために、キチン分子鎖を引きはがし、活性炭上に吸着させることが不可能であると予想される。以上より、固体酸触媒によるキチンの加水分解は非常に困難であることが予想された。

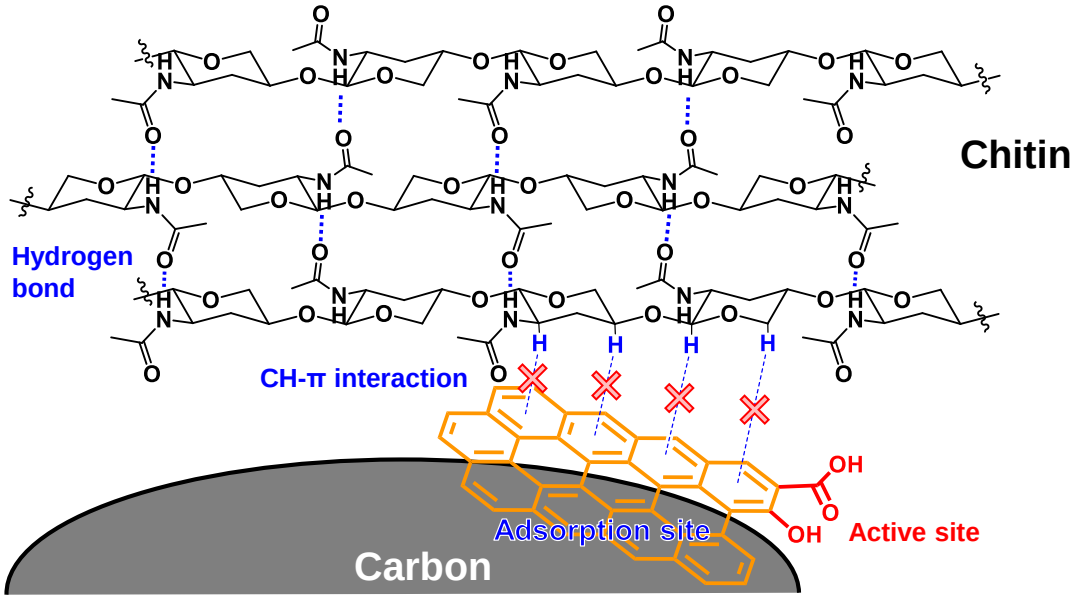


Fig. 2.5 Pattern diagram of mechanizm of chitin hydrolysis on carbon catalyst.

以上の理由から、グリコシド結合へのアクセスが容易な液体酸触媒を検討した。濃酸を使用したバイオマス加水分解は木質バイオマスを濃硫酸で加水分解する北海道法[5]やキチンへの濃塩酸法が知られるが、いずれも大量の酸を使用するため効率が悪い。希酸水溶液での木質バイオマス加水分解も多数報告されているが、アセトアミド基の加水分解は S_N2 機構で起こるため、希酸水溶液での加水分解では水分子がプロトン化されたカルボニルに求核攻撃することで脱酢酸が進行する。以上より、酸量を減らしつつ、水が少ない系での加水分解がキチンの選択的加水分解に有効であると言える。

これらの観点から、触媒量の強酸を含浸担持し、それをボールミル処理することで加水分解を進行させる「機械的加水分解」に着目した。本法では加熱する代わりに

ボール同士および壁との衝突による機械的エネルギーにより加水分解が促進されるため、従来法よりも酸量を減らすことができる。また、乾式ミルの条件下では試料に吸着したわずかな水分により加水分解されるため、脱酢酸といった S_N2 機構での加水分解が抑制できると期待される。

2.4.2.2 酸含浸溶媒の選択

キチンの機械的加水分解を行うために、キチンに酸を含浸担持する必要がある。硫酸を含浸する際の溶媒としてジエチルエーテルまたは水を使用した場合の結果を比較した。このとき、S/C = 7.9 となるように調製した。

まず、未処理のキチン、Chitin-H_2SO_4(E)、および Chitin-H_2SO_4(W)はいずれも白色であった。これらのキチンを 500 rpm、6 時間遊星ボールミル処理したところ、粉砕キチンおよび *Oligomer-H_2SO_4(W)*は依然として白色であったのに対し、*Oligomer-H_2SO_4(E)*は薄い黄色であった。両者はいずれも完全に水に溶解し(可溶化率 >99%)、その可溶性成分は主に NAG～6 量体と推測されるオリゴマーであった。およそ 4 量体以上のキチンオリゴマーは水に溶けにくいため、このように高い可溶化率を示すことは興味深い。この点については後で考察する。

前述した通り、含浸溶媒にエーテルと水を用いた場合で生成物の色が異なっていた。この違いについて明らかにするため、これらの試料を水に加え、可溶成分を UV-vis および HPLC により分析した。

UV-vis 測定の結果を Fig. 2.6 に示す。左はキチン濃度が 0.1 mM、右は 10 mM の場合での測定結果である。青で示す NAG/硫酸水溶液では、192 nm に吸収が見られた。これは NAG が持つアセトアミド基の π-π*遷移に起因する吸収である(ε = 8600)。なお、210 nm 付近に存在するはずの n-π*遷移は禁制遷移であるため吸光係数が非常に低く($\varepsilon \leq 100$)見えない。また、黒で示す *Oligomer-H_2SO_4(E)*および赤で示す *Oligomer-H_2SO_4(W)*はともに、192 nm と 284 nm に吸収を示した。284 nm の吸収は共役構造を持つ脱水物由来であると考えられ、ここからボールミル処理の過程で分子内脱水反応が進行し、フルフラールなどのフラン化合物に転換したことが示唆された。

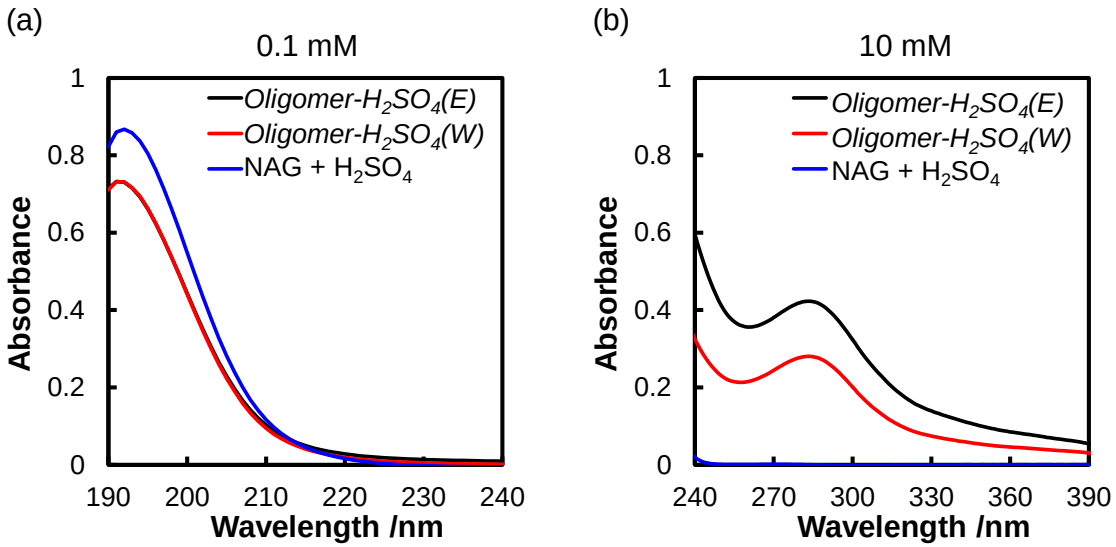


Fig. 2.6 UV-vis spectra of *Oligomer-H_2SO_4*

次に HPLC 測定を行った結果を以下に示す(Fig. 2.7, Table 2.2)。NAG およびそのオリゴマーのピークが見られることから、キチンが機械的加水分解により、低重合度のオリゴマーとなったことが分かる。また、星印で示すピークは未同定生成物である。キチンの加水分解物である NAG やオリゴマーのピークに着目すると、赤で示す *Oligomer-H_2SO_4(W)*の方が黒で示す *Oligomer-H_2SO_4(E)*に比べ大きく出ている。一方で未同定生成物のピークに着目すると、*Oligomer-H_2SO_4(E)*の方が *Oligomer-H_2SO_4(W)*に比べ大きく、含浸溶媒にエーテルを使用した場合に副生成物の生成量が多いことを示している。これは UV-vis 測定の結果と一致している。エーテルと水を使用した場合の違いとして粉砕時に含まれる水分量が影響していると考えている。エーテルを溶媒として使用した場合、キチンは水とほとんど触れないために真空乾燥によって試料はほぼ完全に乾燥する。そのため機械的加水分解反応のときに脱水反応まで加速されてしまい、副生成物が増える。一方で水を溶媒とすると、キチンの水酸基との水素結合により保持されるために、室温での真空乾燥では完全には除かれずに試料中に残存する。これにより脱水反応が抑えられ、より高収率で水溶性のオリゴマーを得られた。以上よりキチンに酸を含浸する溶媒としては水が適している。以降、特に表記がなければ *Oligomer-Acid* は水で含浸を行ったキチン試料を表すこととする。

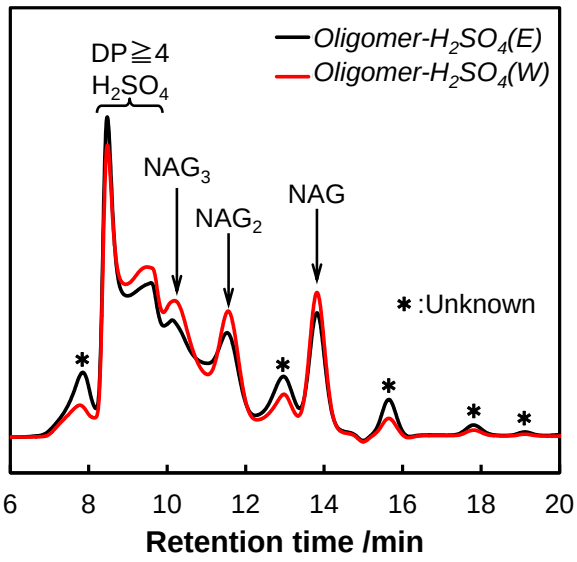


Fig. 2.7 HPLC charts of chitin oligomers

Table 2.2 Effect of impregnation solvent on the mechanocatalytic hydrolysis of chitin

Entry	Solvent	Yield [%C]				Solubility [%]
		NAG	NAG_2[a]	NAG_3[b]	Oligomers (DP≥4)	
1	Diethyl ether	9.5	12	16	41	> 99
2	Water	11	14	18	42	> 99

2.4.2.3　酸のスクリーニング

次に機械的加水分解に使用する酸について検討した。キチンに各種酸を S/C = 3.9 となるように含浸し、次いで遊星ボールミル処理した。処理後の水溶性生成物を HPLC によって分析した(Fig. 2.8, Table 2.3)。

酸触媒なしでボールミル処理を行った場合、キチンの可溶化率は 7.6%であった。水溶性生成物は NAG が 0.1%、オリゴマーの合計収率が 1.3%であった(entry 3)。生成物収率は非常に低く、機械的なエネルギーのみではキチンの分解はほとんど起こらないことを示している。硫酸(pK_a = –3)を含浸したキチンを遊星ボールミル処理したところ、完全に可溶化した。また水溶性生成物として NAG を 19%、オリゴマーを 64%含んでいた(entry 2)。このことから機械的加水分解には酸触媒が必要であり、酸存在下でキチンをミル処理することで、キチンが水溶性のオリゴマーに変換されることが分かった。その他の酸強度の異なる比較的蒸気圧の低い酸のスクリーニングを行ったところ、強酸である過塩素酸(–10)、メタンスルホン酸(–2)、ヘプタフルオロ酪酸(0.4)で

もキチンを可溶化できることが分かった(entry 3–6)。一方、リン酸(2.1)を用いると可溶化率は 43%まで低下した。この結果から、キチンの機械的加水分解によるオリゴマー化を効率的に行うためには pK_a が少なくとも 1 より小さい酸を使う必要があることが分かった。プロトン化されたグリコシド結合の pK_a は約–4 と言われており[6]、強酸によりグリコシド結合がプロトン化されたところに、機械的な力が加わることにより加水分解が進行したと考えられる。

生成物分布に着目すると NAG およびそのオリゴマーの総収率はほぼ同程度であるが、酸強度が強くなるにつれて低重合度の生成物が多くなっていた。この結果から、以下の加水分解の機構を推定した(Fig. 2.9)。(1)機械的加水分解ではボール同士の衝突のエネルギーが分子鎖に張力として加わり、プロトン化されたグリコシド結合の加水分解を促進する。(2)解重合が進み分子鎖が短くなってくると張力が加わりにくくなるため張力による加水分解は起こりにくくなる。(3)張力の効果が小さくなるにつれて相対的に熱などのエネルギーによる加水分解が増加する。これはグリコシド結合のプロトン化率が高いものほど反応する確率が高くなるため、より強い酸を用いることで NAG などの単量体収率が増加する。可溶化率と単量体収率の観点からキチンの機械的加水分解において過塩素酸と硫酸が良好な結果を示すが、過塩素酸は高価格であるだけでなく、強い酸化力を持つために系中で過酸化物などの副生生物を生成する可能性を否定できず、スケールアップなど実用化の観点から避けることが望ましい。そこで、以降の検討では安価で酸化力の低い硫酸を用いることとした。

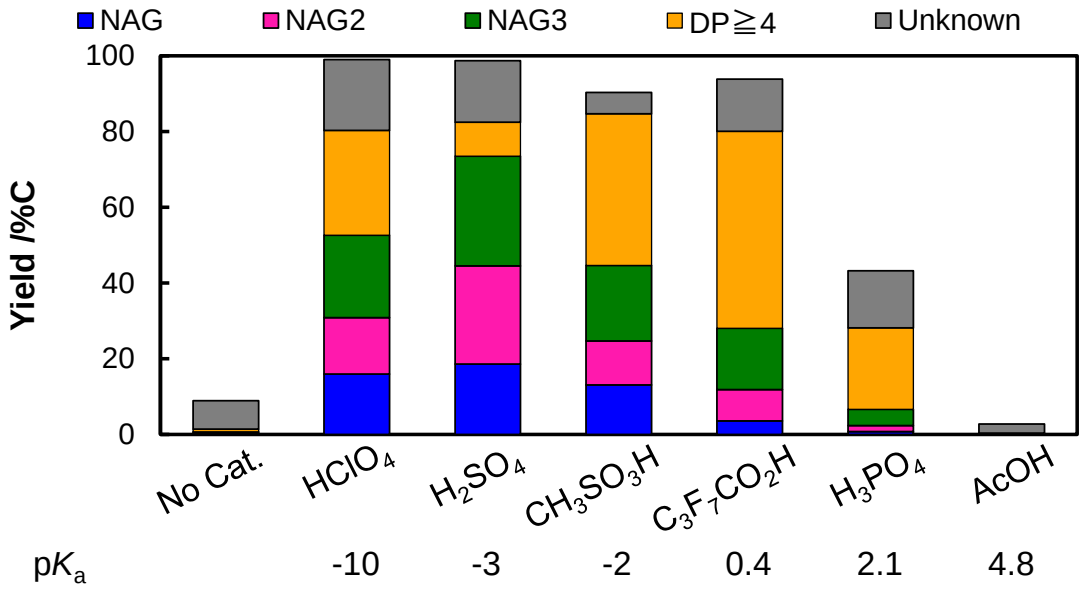


Fig. 2.8 Production of Chitin-Acid using different acids

Table 2.3 Evaluation of hydrolytic activity of acids on mechanocatalytic hydrolysis

Entry	Acid	pK_a	Yield [%C]				Solubility [%]
			NAG	NAG_2[a]	NAG_3[b]	Oligomers (DP≥4)	
3	—	—	0.1	0.2	0.4	0.7	7.6
4	$HClO_4$	-10	16	15	22	28	>99
2	H_2SO_4	-3	19	26	29	9.0	>99
5	CH_3SO_3H	-2	13	12	20	40	90
6	$C_3F_7CO_2H$	0.4	3.6	8.2	16	52	94
7	H_3PO_4	2.1	0.71	1.6	4.3	22	43
8	AcOH	4.8	0.33	—	—	—	2.7

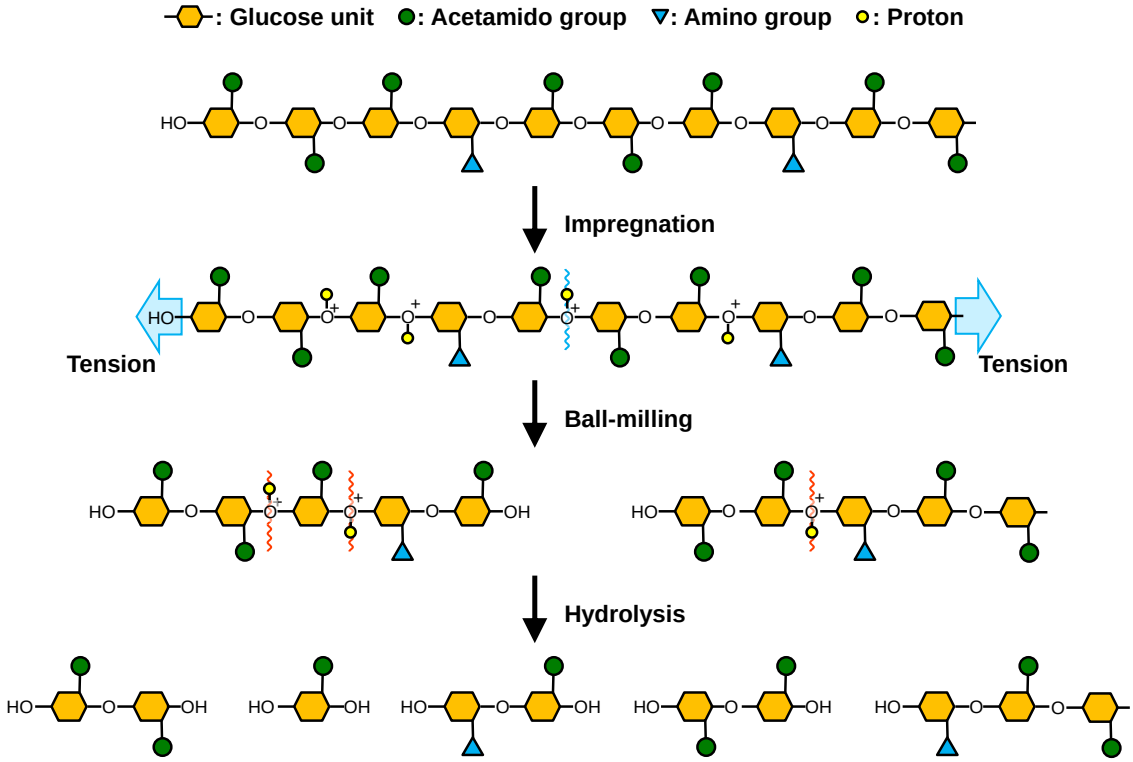


Fig. 2.9 Pattern diagram of mechanocatalytic hydrolysis

2.4.2.4　S/C の効果

次に機械的加水分解に使用する酸量について検討した。キチンに対し硫酸を S/C = 7.9, 3.9, 1.9 となるように含浸し、次いで遊星ボールミル処理した。処理後の水溶性生成物を HPLC によって分析した(Fig. 2.7, Table 2.3)。

S/C を変化させたいずれの試料についてもほぼ完全に可溶化し、NAG とオリゴマーの合計収率はほとんど変化がなかった。この結果から、500 rpm で 6 時間ボールミル処理するという条件においては、S/C が少なくとも 7.9 以下であれば機械的加水分解によるキチンの可溶化は十分に達成できると言える。また、前節で述べたように酸量が多いほど加水分解が進行する確率が高くなり低分子量の生成物が増えるはずであるが、実際に、酸量を増やすと 4 量体以上のオリゴマーが減少し、1–3 量体の収率が向上している。

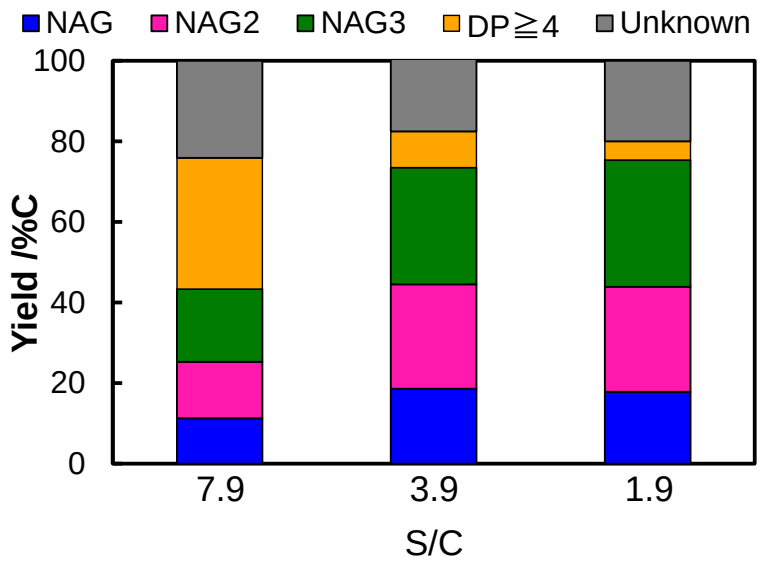


Fig. 2.7 Effect of S/C on the mechanocatalytic hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4*

Table 2.3 Effect of S/C on the mechanocatalytic hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4*

Entry	S/C [mol/mol]	Yield [%C]				Solubility [%]
		NAG	NAG_2[a]	NAG_3[b]	Oligomers (DP≧4)	
9	7.9	11	14	18	33	>99
2	3.9	19	26	29	9.0	>99
10	1.9	18	26	32	4.7	>99

2.4.2.5　キチンオリゴマーの NMR 分析

生成したオリゴマーの構造を明らかにするために、S/C = 3.9 の条件で調製した *Oligomer-H_2SO_4* を D_2O 中で ^{1}H-NMR により分析した(Fig. 2.9)。2–6 ppm に現れるピークが主に NAG のオリゴマーに由来するピークである。そのほかに、6–8 ppm に芳香族の C-H に由来するピークが、9–10 ppm にアルデヒドに由来するピークがそれぞれ観測された。これは UV-vis 分析の結果を裏付けており、機械的加水分解においてフラン化合物が生成していることが支持された。

^{1}H NMR によってオリゴマーに含まれるグリコシド結合の位置についての情報を得ることができる。(c)において 4.5–5.5 ppm に見られるピークは NAG ユニットの 1 位の炭素に結合する水素であり、それぞれ還元末端側の α 型 (5.2 ppm)と β 型 (4.7 ppm)、α-1,6-結合部位 (5.4 ppm)と β-1,4-結合部位 (4.6 ppm)に由来する。カニ殻由来のキチンである α-キチンは NAG が β-1,4-グリコシド結合でつながった構造であるにもかかわらず、実際には α-1,6 結合を持つ NAG ユニットのプロトンのピークが観測された。このことから粉砕中に加水分解だけでなくオリゴマーの再結合が起こり、α-1,6-グリコシド結合を持った分岐オリゴマーが形成されることが示された。ピークの積分比からオリゴマー中のグリコシド結合の α/β 比を見積もると α/β=0.165 となり、グリコシド結合のうち 14%が α-1,6-グリコシド結合である。2.4.2.1 節に記述した通り、キチンオリゴマーはあまり水に溶けないにもかかわらず機械的加水分解により合成したオリゴマーは水に容易に溶ける。この理由は、α-1,6-分岐構造により溶解度が向上したためと考えられる。Fig.2.8 に機械的加水分解の推定反応機構を示す。機械的なエネルギーによってグリコシド結合が切断されると、オキソカルベニウムイオン中間体を形成する。これに対して水が求核剤として攻撃すると加水分解となるが、系中の水の量は少ないため、近傍に存在する別のオリゴマーの水酸基(特に 6 位)が水の代わりに反応し、α-1,6-グリコシド結合が形成される可能性がある。

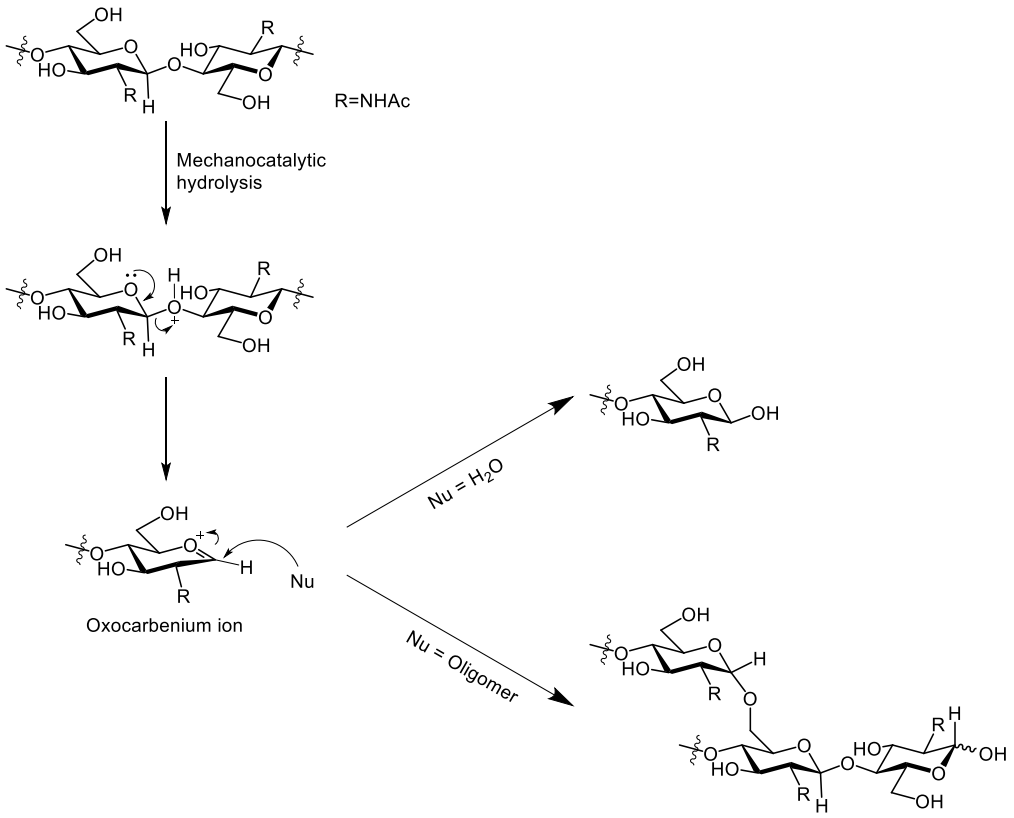


Fig.2.8 Mechanism of mechanocatalytic hydrolysis and oligomerization.

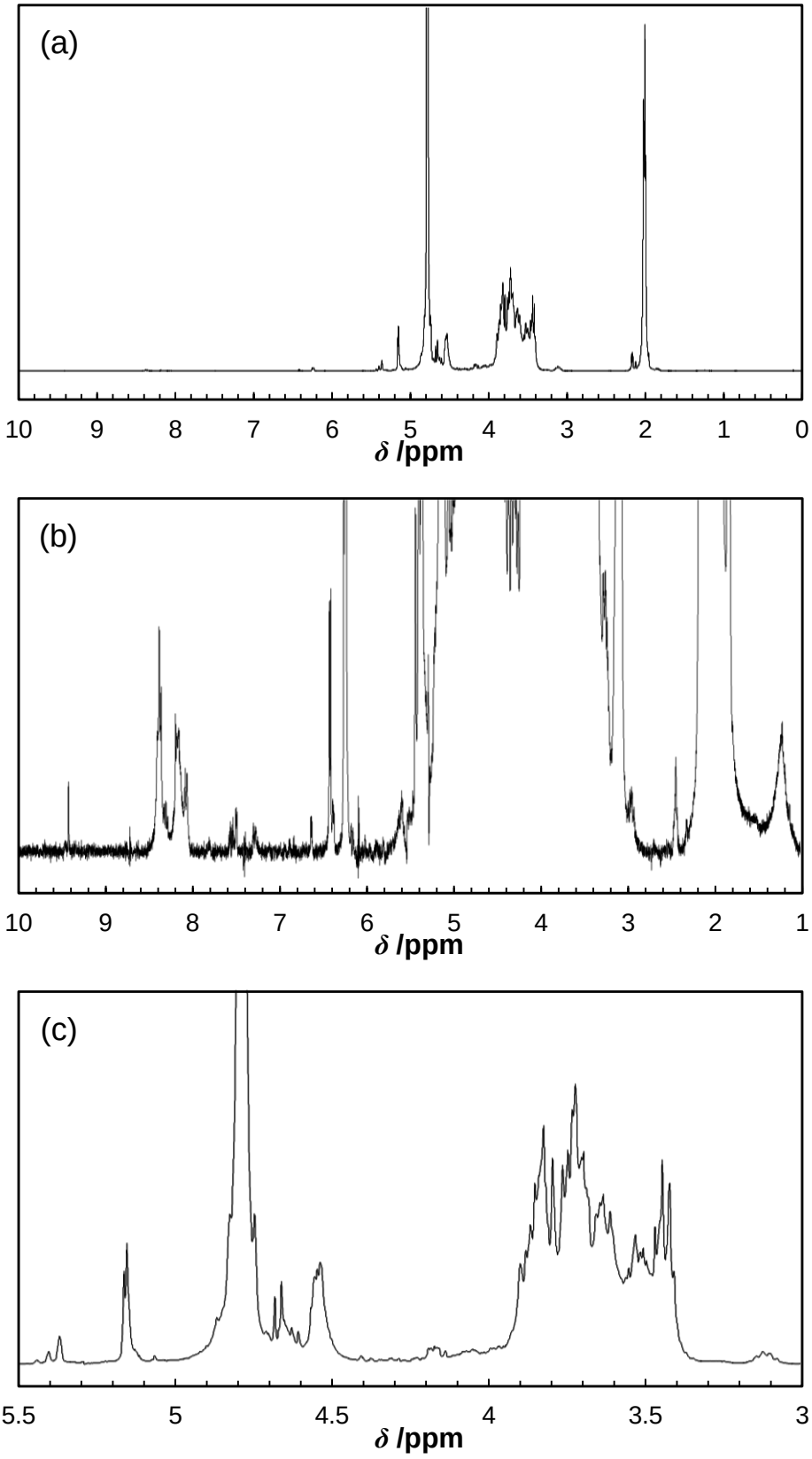


Fig.2.9 ^{1}H NMR spectrum of Chitin-H_2SO_4 in D_2O (a) and its enlarged image (b), (c).

2.4.3 キチンオリゴマー加水分解

2.4.3.1 S/C の最適化

S/C を変えた *Oligomer-H_2SO_4* を用意し、180 °C で加水分解を行った(Fig. 2.10、Table 2.4)。S/C 7.9 のとき、NAG が収率 42 %C で得られた。なお、オリゴマーが 21 %C 残存していた(entry 11)。硫酸量を増やしていくと、オリゴマーの加水分解がさらに進行し、S/C 3.9 のとき NAG 収率は最大の 51 %C に達した(entry 12)。さらに硫酸量を増やすとオリゴマーはすべて転化したが、同時に NAG の過分解が進行し、NAG 収率は低下した(entry 13)。従って、加水分解の工程で最適な S/C は 3.9 であると結論した。

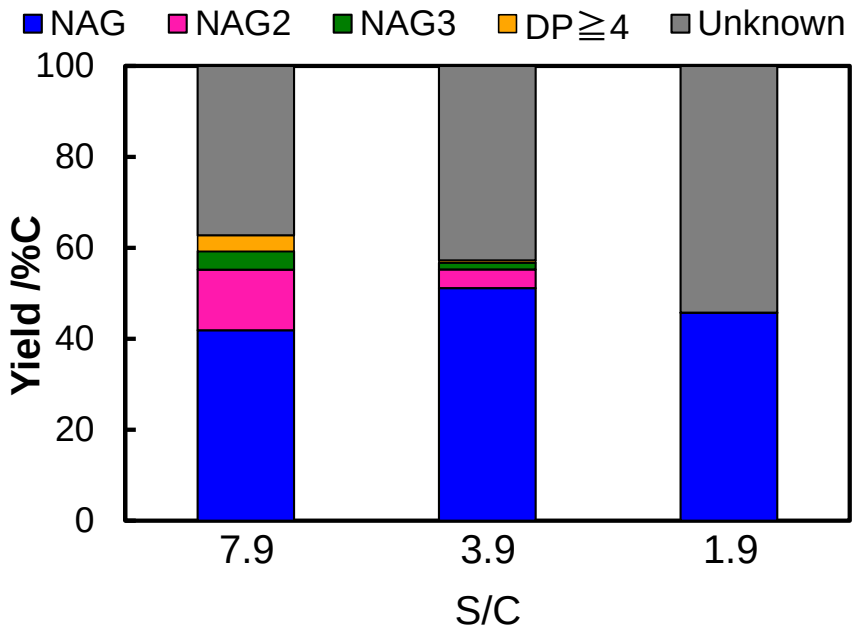


Fig. 2.10 Effect of S/C on hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4* at 180 °C

Table 2.4 Effect of S/C on hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4* at 180 °C

Entry	S/C [mol/mol]	Yield [%C]				Solubility [%]
		NAG	NAG_2[a]	NAG_3[b]	Oligomers (DP≧4)	
11	7.9	42	13	4.1	3.5	> 99
12	3.9	51	4.1	1.5	0.57	> 99
13	1.9	46	0.07	n.d.	0.03	> 99

2.4.3.2 反応温度の影響

180 °C での加水分解において 40%以上のキチンが未同定生成物に転化していた。これは酸水溶液中での加水分解ではアミド基の加水分解といった副反応も同時に起こるためである。さらなる NAG の収率向上を目指し、S/C = 3.9 とした *Oligomer-H_2SO_4* について、反応温度を 160 °C から 190 °C まで変えて加水分解を行った(Fig. 2.11、Table 2.5)。反応温度 160 °C では、オリゴマーが 32 %C 残っており、NAG の収率は 46 %C に留まった。反応温度を上げるにつれてオリゴマーの加水分解が進み、NAG 収率は 175 °C で極大化し 61 %C になった。さらに温度を上げていくと NAG 収率は減少し、過分解が顕著になった。以上より、反応温度は 175 °C が最適であった。この時の硫酸のターンオーバー数は 2.4 であり、キチンから NAG を触媒的に合成することができた。

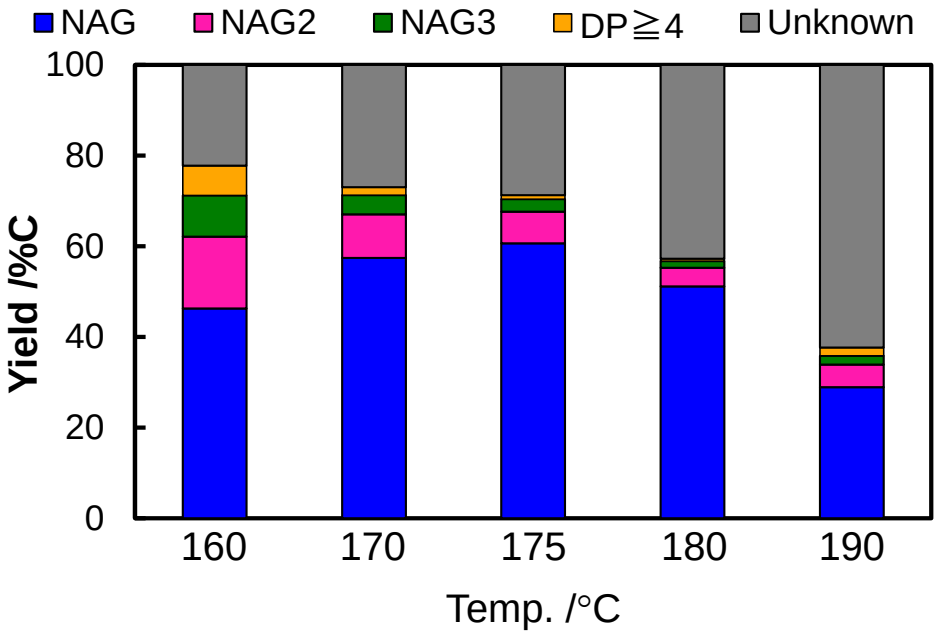


Fig. 2.11 Effect of temperature on hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4*

Table 2.5 Effect of temperature on hydrolysis of *Oligomer-H_2SO_4*

Entry	Temp. /°C	Yield [%C]				Solubility [%]
		NAG	NAG_2[a]	NAG_3[b]	Oligomers (DP≧4)	
14	160	46	16	9.1	6.6	> 99
15	170	57	9.6	4.2	1.8	> 99
16	175	61	7.0	2.7	0.89	> 99
12	180	51	4.1	1.5	0.57	> 99
17	190	29	5.0	1.9	1.8	> 99

2.5 結言

不溶性で反応性の低いキチンを分解するために、機械的加水分解を適用した。キチンに硫酸を含浸し、遊星ボールミル処理することで、分子鎖の一部が加水分解され、反応性の高い水溶性オリゴマーとなった。このステップではボール同士の衝突による機械的な力が張力として働くことで、分子長の短いアセトアミド基を維持したままグリコシド結合だけを選択的に加水分解することができる。処理後のキチンは完全に可溶化し、水溶性のオリゴマーが約 80%の収率で得られた。このオリゴマーを 175 ℃の熱水中で短時間処理することで、単量体である NAG を収率 61%で得た。酸触媒である硫酸の触媒回転数 TON を計算すると 2.4 であり、硫酸は触媒として機能していた。現在の工業プロセスである濃塩酸加水分解法における塩酸の回転数を計算すると 0.009 であり、飛躍的に酸の利用効率を高めることができた。

2.6 参考文献

[1] M. Ishikawa, F. Nanjo, K. Sakai, Patent JP1822027 (1994).

[2] M. Yabushita, H. Kobayashi, K. Kuroki, S. Ito, A. Fukuoka, *ChemSusChem* **8**, 3760 (2015).

[3] T. Wu, S. Zivanovic, *Carbohydrate polymers* **78**, 248 (2008).

[4] H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **91**, 29 (2018).

[5] T. Kobayashi, Y. Sakai, 林業指導所研究報告 10, 1-31 (1956).

[6] O. Bobleter, *Prog. Polym. Sci.* **19**, 797 (1994).

第 3 章 キチンオリゴマーからの含窒素糖アルコール合成

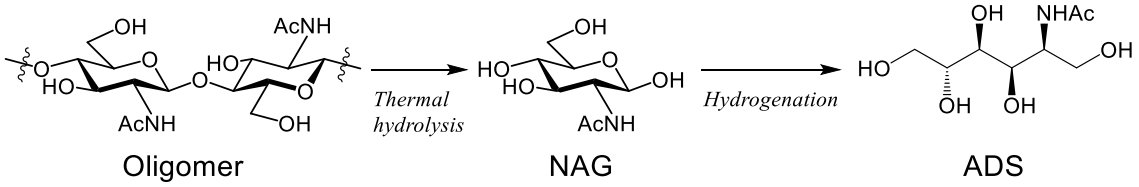
3.1 諸言

第 2 章「機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成」では、キチンを少量の硫酸と機械的なエネルギーによって水溶性のオリゴマーおよび単量体の NAG へと変換できることを示した。水溶性としたことで様々な反応に適用することが容易になり、単量体とは異なる含窒素化合物への転換が可能になった。

糖アルコールは糖化合物の重要な誘導体の一つである。例えばデンプンを加水分解することで得られるグルコースをニッケル触媒を用いて接触還元することでソルビトールが工業的に生産されており、甘味料や医薬品原料、プラスチック原料などに利用されている。キチンから NAG の水素化体である窒素を含む糖アルコール [2-Acetamide-2-deoxysorbitol (ADS)]が得られれば、これをプラスチックのモノマーに変換することでバイオマス由来ポリアミドの生産が期待できる。

近年、NAG を担持金属触媒を使って水素化することで ADS が高選択的に合成された[1]。しかし、本法を既存の工業プロセスに適用するためには NAG の分離・精製の工程が必要であり、ADS の通算収率は 30%程度に留まる。そのため ADS をキチンから精製することなしに高効率で合成する手法を開発できれば意義深い。

そこで、本章では水素化条件で担持金属触媒を用いることにより、機械的加水分解で得られたキチンオリゴマーから ADS を合成できるか検討することとした。キチンオリゴマーを水中で加水分解水素化することにより、生成する NAG は系中で速やかに水素化され、熱安定性の高い糖アルコールである ADS に変換される。これにより NAG から副生成物への分解が抑えられ、より高収率での ADS 合成が可能になると期待できる。



Scheme 3.1 Hydrolytic hydrogenation of chitin oligomer

3.2 実験

3.2.1 キチンの機械的加水分解[2]

キチン 5.0 g と蒸留水 5 mL、撹拌子を 50 mL ナス型フラスコに入れた。S/C = 3.9 (mol/mol)となるように硫酸を含む蒸留水 10 mL を加え、フラスコ内を油回転ポンプによって減圧しながらマグネチックスターラーにより一晩撹拌した。この時、水の蒸発を促すために、フラスコを室温の水浴に浸けながら行った。乾燥後の試料 5 g とアルミナボール(ø 5、100 g)をアルミナポット(250 mL)に投入した。試料を遊星ボールミル装置(FRITSCH 製、P-6)を用いて公転速度 500 rpm で 6 時間粉砕することにより、キチンが解重合した試料 *Oligomer-H_2SO_4* を得た。

3.2.2 担持金属触媒の調製およびキャラクタリゼーション

3.2.2.1 担体の前処理

担体として活性炭(BP2000)、酸化物(TiO_2、ZrO_2)を使用した。酸化物は使用前に空気雰囲気下、500 °C で 8 時間焼成した。

3.2.2.2 5 wt%担持金属触媒の調製[3]

ここでは担持ニッケル触媒以外の調製方法を示す。担体 0.95 g と蒸留水 20 mL を 100 mL ナス型フラスコに入れ、振とう・超音波処理により懸濁させた。そこに金属重量が 0.05 g となるように金属錯体溶液を加え、さらに蒸留水を全量が 50 mL となるように加えた。恒温槽付き振とう機を用いて、30 °C、18 時間振とうした。ロータリーエバポレーターで水を留去した後、一晩真空乾燥した。めのう乳鉢で軽く摩砕し、水素気流下、400 °C で 2 時間還元した。水素の流速は 30 mL min^{-1} とした。

3.2.2.3 70 wt%酸化チタン担持ニッケル触媒の調製[4]

酸化チタン 0.3 g と蒸留水 5 mL を 200 mL ビーカーに入れ、ヒーター付きマグネチックスターラーで撹拌した。そこにニッケルの重量が 0.7 g となるように調製した硝酸ニッケル水溶液 5 mL を加えた。撹拌しながらヒーターで 120 °C で加熱し、水を蒸発させた。水量が減少していくとスターラーによる撹拌が困難になるため、ガラス棒で撹拌しながら完全に乾燥させた。めのう乳鉢で軽く摩砕し、水素気流下、400 °C で 2 時間還元した。水素の流速は 30 mL min^{-1} とした。

3.2.2.4 窒素吸脱着測定

測定装置には BEL Japan Belsorp-mini II を用いた。前処理として、BEL Prep II(日本ベル)を用いて、試料を真空下(< 10 Pa)、120 °C で 4 時間乾燥させた。測定は-196 °C で窒素を吸脱着させることにより行った($0.050 < p/p_0 \leq 0.995$)。

3.2.2.5 粉末 XRD 測定

測定装置には粉末 X 線回折装置 RIGAKU Ultima IV を用いた。X 線源として Cu を使用した(Cu K_α: 1.542 Å)。検出器にはシンチレーション検出器を使用した。

3.2.2.6 TEM 測定

測定装置には電界放出形透過電子顕微鏡 JEM-2100F (日本電子, 加速電圧 200 kV)を用いた。

3.2.3 キチンオリゴマーの加水分解水素化

3.2.3.1 キチンオリゴマーの直接加水分解水素化

反応は SUS316 製高圧反応器(MMJ-100、オーエムラボテック)を用いて実施した。反応器に *Oligomer-H_2SO_4* と触媒 200 mg および蒸留水 40 mL を加えた。この時、試料に含まれるキチンが 2 mmol となるように加えた。水素を 4 MPa 充填し、600 rpm で撹拌しながら、室温から所定の温度まで急速に加熱した。反応時間経過後、ただちに室温まで風冷した。なお、所定の温度に到達後に直ちに冷却を開始した場合を以降では急加熱急冷条件と呼ぶ。

反応後の溶液は遠心分離により液相と固相とに分離した。固体残渣は少量の蒸留水を加えて遠心分離することで洗浄した。液相と洗浄に用いた蒸留水を合わせて 100 mL にメスアップし、HPLC を用いて分析した。なお、HPLC における生成物の検出には RI および UV 検出器を用いた。分析条件および生成物収率の計算は「2.2.2.4 生成物分析と可溶化率の決定」と同様である。

3.2.3.2 キチンオリゴマーの 2 段階ワンポット加水分解・水素化

キチンオリゴマーの加水分解および水素化を SUS316 製高圧反応器を用いて実施した。反応器に *Oligomer-H_2SO_4* と蒸留水 40 mL を加えた。この時、試料に含まれるキチンが 2 mmol となるように加えた。600 rpm で撹拌しながら、室温から所定の温度まで急速に加熱した。反応時間経過後、ただちに室温まで風冷した。反応後の溶液は HPLC を用いて分析した。

続いて上記反応生成物の水素化を行った。反応溶液を炭酸水素ナトリウムを使って所定の pH まで中和した後、触媒 200 mg を加えた。水素を 4 MPa 充填し、600 rpm で撹拌しながら、室温から 80 ℃ まで急激に加熱した。反応時間経過後、ただちに水冷した。反応溶液を少量とり、HPLC で分析した。残りの反応溶液は再び水素加圧した後水素化を行った。これにより反応の経時変化を調べた。

3.2.3.3 生成物同定

HPLC で ADS の保持時間に溶出する化合物が実際に ADS であることを確定するため、NMR および GC/MS 分析を行った。NMR 分析には核磁気共鳴装置(Nuclear Magnetic Resonance, NMR, JNM-ECX400, JEOL)を使用した。^{1}H NMR (400 MHz)、^{13}C NMR (100 MHz)、Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)、^{13}C-^{1}H Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC)、^{13}C-^{1}H Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC)法により分析した。GC/MS 分析に先立ち、生成物のシリル化を行った[1]。水素化後の反応溶液 10 mL をエバポレーターで濃縮乾固し、白色の固体約 100 mg を得た。これとピリジン 1.5 mL を還流管をつけた 50 mL ナス型フラスコに加え、フラスコ内をアルゴンでパージした。そこにセプタムを介しシリンジを用いてヘキサメチルジシラザン 1.5 mL とトリフルオロ酢酸 0.1 mL を加え、60 ℃、1 時間撹拌した。反応後の溶液に内部標準としてウンデカン 0.1 mL を加え、ジエチルエーテルによって 3% に希釈した。分析にはガスクロマトグラム質量分析計(GC-MS, 島津製作所、GCMS-QP2010)を、カラムには HR-1 (信和化工, ø0.25×30 m×0.25 μm)を用いた。以下に標品の ADS の分析結果を示す。

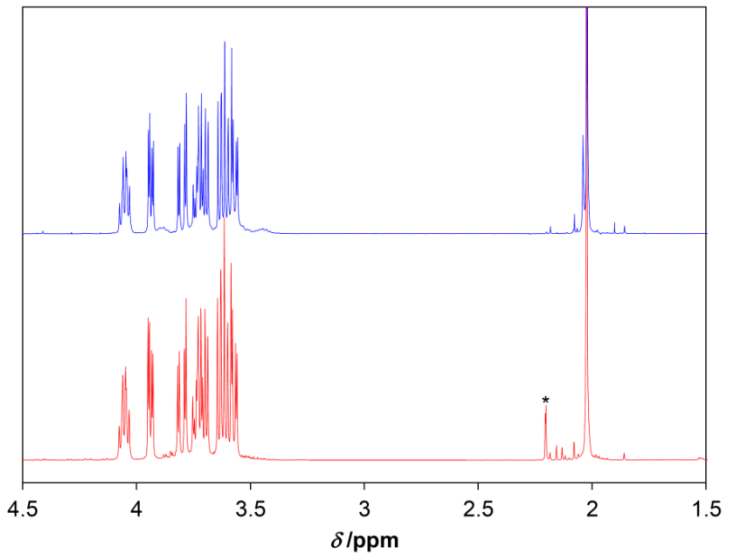


Fig. 3.1 ^{1}H NMR spectra of standard ADS (blue) and reaction product accumulated by fraction collector (red) in D_2O. *Contamination of the NMR tube with acetone.

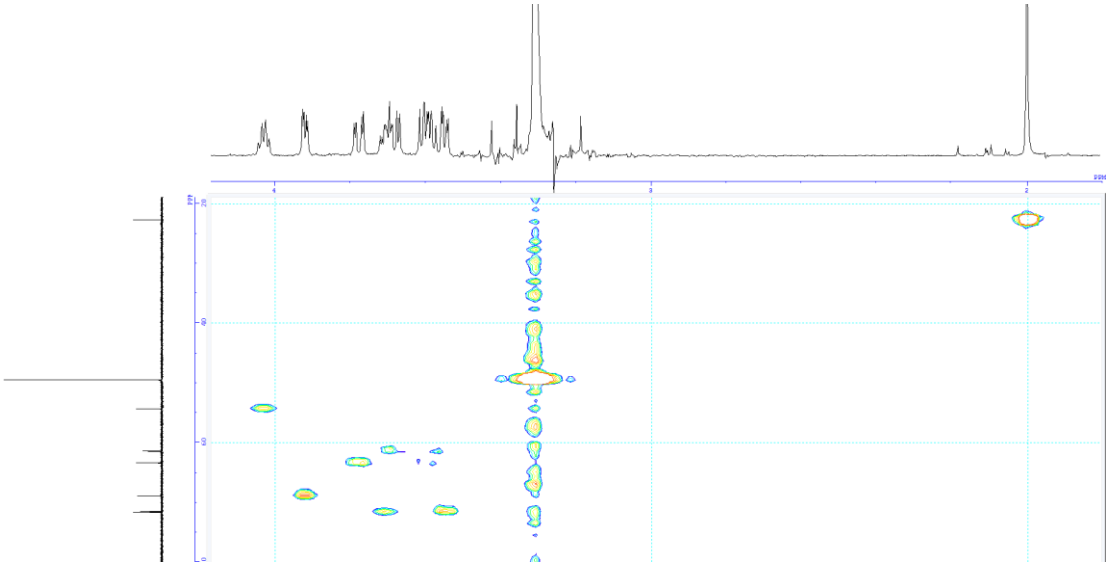
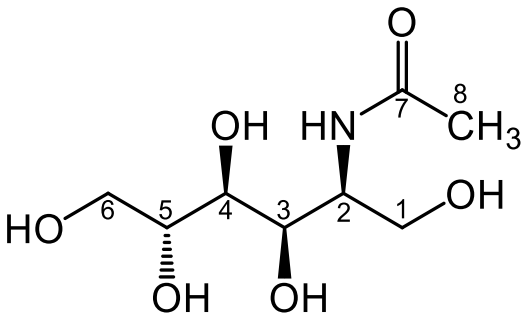


Fig. 3.2 ^{13}C–^{1}H HMQC spectrum of ADS produced in our experiments. ^{13}C signal at 50 ppm and ^{1}H signal at 3.3 ppm are derived from internal standard (MeOH).



・^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 4.05 (ddd, *J*=6.4, 6.4, 4.8 Hz, 1H, *H*-C2), 3.94 (dd, *J*=6.4, 2.4 Hz, 1H, *H*-C3), 3.80 (dd, *J*=12, 2.8 Hz, 1H, *H*-C6), 3.73 (m, 1H, *H*-C5), 3.70 (dd, *J*=12, 4.4 Hz, 1H, *H*-C1), 3.63 (dd, *J*=6.0, 5.6 Hz, 1H, *H*-C6), 3.62 (dd, *J*=6.0, 5.6 Hz, 1H, *H*-C1), 3.57 (dd, *J*=8.0, 2.4 Hz, 1H, *H*-C4), 2.02 (s, 3H, *H*-C8)

・^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 175.0 (C, C7), 71.7 (CH, C5), 71.5 (CH, C4), 68.9 (CH, C3), 63.4 (CH_2, C6), 61.4 (CH_2, C1), 54.4 (CH, C2), 22.7 (CH_3, C8)

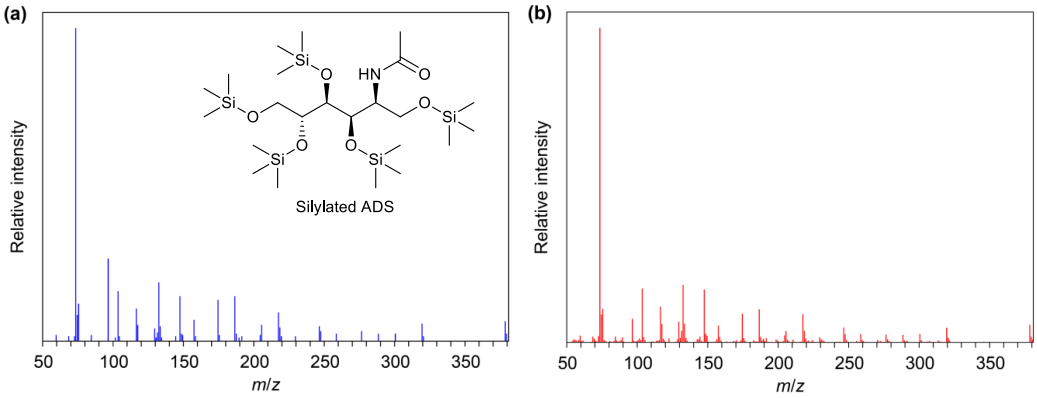


Fig. 3.3 GC/MS standard data of silylated ADS (a) and analytical data of our major product after silylation of reaction mixture (b).

3.3 試薬

本章で用いた試薬は以下のとおりである。

Reagent	Class, company and footnote
Chitin	First grade, Wako Pure Chemical Industries
N-Acetyl-D(+)-Glucosamine	First grade, Wako Pure Chemical Industries, denoted NAG
N-Acetyl-D-Glucosaminitol	~91%, Funakoshi, denoted ADS
H_2SO_4	97%, Wako Pure Chemical Industries
Distilled water	For HPLC, Wako Pure Chemical Industries
Black Pearls 2000	Carbon black, Cabot, denoted BP
TiO_2	JRC-TIO-4(2), AEROSIL
ZrO_2	JRC-ZRO-5, Daiichi Kigenso Kagaku Kogyo
$Ru(NO)(NO_3)_3$ HNO_3 sol.	Ru 1.5 wt%, Wako Pure Chemical Industries
$Pt(NH_3)_2(NO_2)_2$ HNO_3 sol.	Pt 5.156 wt%, Tanaka Kikinzoku Kogyo
$Ni(NO_3)_2$・$6H_2O$	Special grade, Wako Pure Chemical Industries
Sodium Hydrogencarbonate	First grade, Wako Pure Chemical Industries
Deuterium oxide	D 99.9%, Wako Pure Chemical Industries
Hydrogen gas	Alpha gas 2, Air Liquide Kogyo Gas, for reaction
Nitrogen gas	99.999%, Air Liquide Kogyo Gas, used for N_2 adsorption desorption experiments
Helium gas	99.999%, Air Liquide Kogyo Gas, used for N_2 adsorption desorption experiments

3.4 結果・考察

3.4.1　担持金属触媒のキャラクタリゼーション

各種担持金属触媒のキャラクタリゼーションを行った。それぞれの担体について、金属担持前後での窒素吸脱着測定と粉末 XRD 測定を行った(Fig. 3.2-4, Table 3.1)。いずれの担体においても担持前後で触媒の形状に大きな変化は見られなかった。酸化チタンはアナタース型、ルチル型の混合物であることが回折パターンから確認された。担持ルテニウム触媒では金属に由来するピークが見られず、アモルファス状の酸化物になっていると推察される(第 4 章にて Ru/C について XAFS 測定を行っており、$RuO_2 \cdot nH_2O$ とよく似た EXAFS スペクトルが見られている)。5 wt% Pt/TiO_2 触媒では、39.7°と 46.2°に白金の(111)面と(200)面に相当するピークが見られた。担体のみとの回折パターンの差をとることで、それぞれのピークを明瞭に確認することができ、Scherrer 式から白金の結晶子径は 6 nm と見積もられた(Fig. 3.5)。70 wt% Ni/TiO_2 触媒では 44.5°、51.8°、76.3°に酸化チタンとは異なるピークが見られ、それぞれニッケルの(111)面、(200)面、(220)面に相当するピークである。

また Ru/TiO_2 については TEM 測定も行った(Fig. 3.6)。観測されたルテニウム粒子について、Sauter 平均粒径を式 3.1[5]により算出したところ 2.4 nm であった。このときのルテニウムの分散度は 46%である。

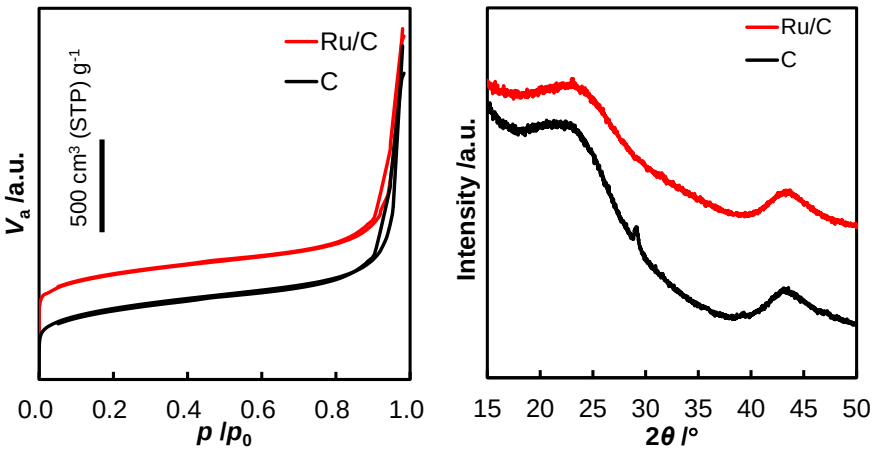


Fig. 3.4 Characterizations of Ru/C.

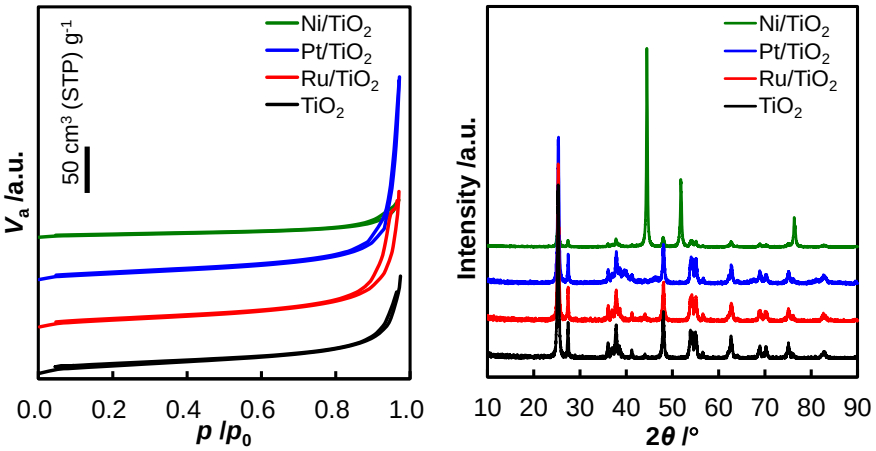


Fig. 3.5 Characterizations of metal/TiO_2.

The intensity for Ni/TiO_2 was reduced to be 40%.

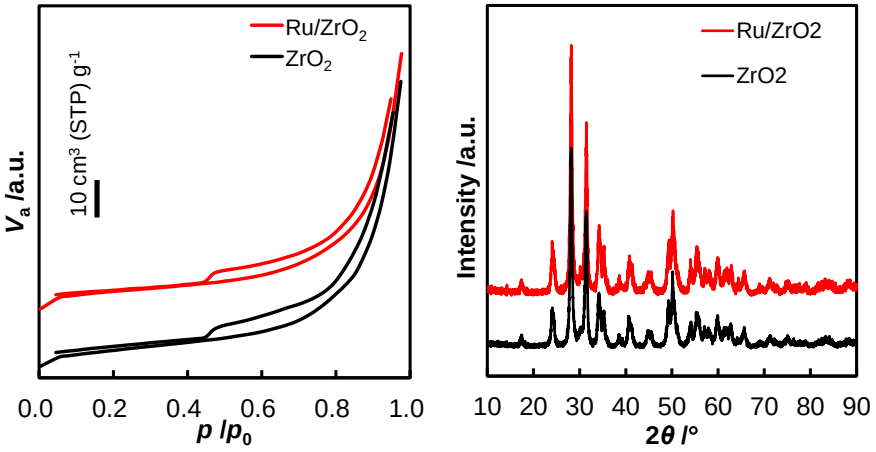


Fig. 3.6 Characterizations of Ru/ZrO_2.

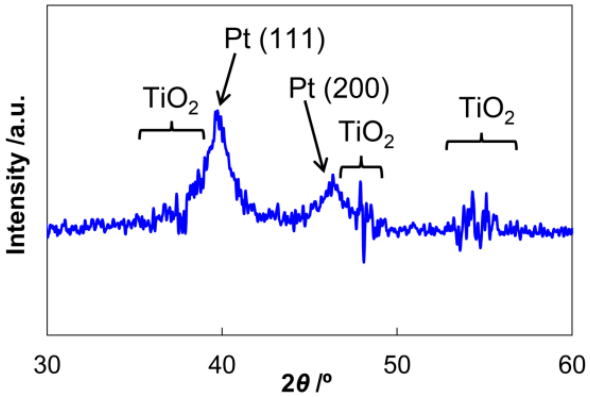


Fig. 3.7 Difference XRD pattern of Pt/TiO_2－TiO_2

Table 3.1 Characterizations of supported metal catalysts.

Metal	Support	BET surface area /m^2 g^{-1}	Clystallite size /nm
—	C	1362	
Ru		1300	—
—	TiO_2	51	
Ru		48	—
Pt		44	6
Ni		19	43
—	ZrO_2	27	
Ru		30	—

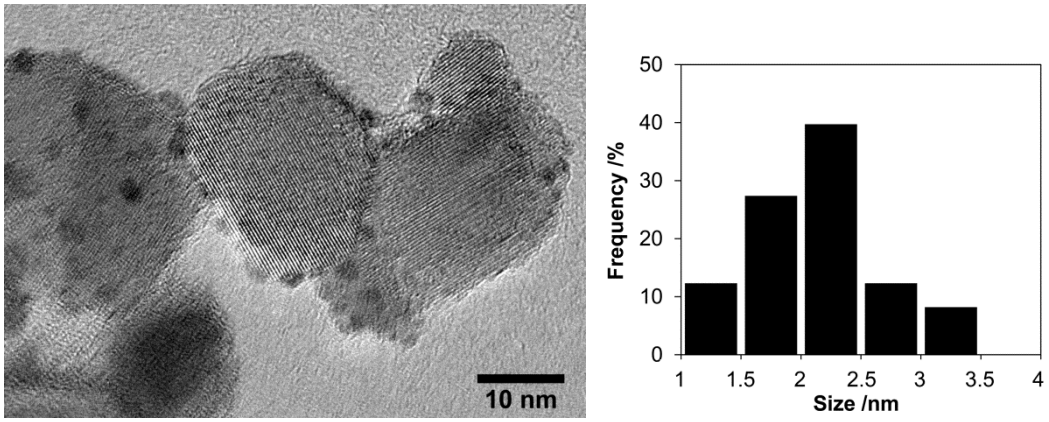


Fig. 3.8 TEM image of 5 wt% Ru/TiO_2.

$$d_{ave} = \sum_{k=1}^{n} d_k^3 \Big/ \sum_{k=1}^{n} d_k^2 \qquad \text{(eq. 3.1)}$$

where d_{ave} is Sauter mean diameter and d_k is the diameter of kth Ru particle.

3.4.2 セルロースとキチンの反応性比較

続いて各種前処理を行ったキチン試料に対しワンポットでの加水分解水素化を行った。触媒として 5 wt% Ru/C を用い、水素圧 4 MPa、190 °C で 20 時間の反応を行った。まず未処理のキチンでは転化率が 11%に留まり、ADS は全く生成しなかった(Table 3.3, Entry 6)。これはキチンは分子内および分子間に多数の水素結合を形成し、強固な結晶構造を有しているために反応性が低いことが原因である。セルロースも同様に強固な構造を持つが、ボールミルといった機械的な力によって非晶質化することで反応性を高めることができる。ボールミル処理を行ったキチンを基質として用いたところ、

転化率が 55%まで向上した(Entry 7)。さらに加水分解の効率を高めるため、6 mM の硫酸水溶液(S/C = 3.9)中で反応を行うと、転化率は 85%となった(Entry 8)。最も加水分解の効率を高めた機械的加水分解を行った *Oligomer-H_2SO_4* を基質として用いると転化率は最大の 92%となったが(Entry 9)、いずれの場合においても目的の ADS や単量体の NAG は得られなかった。キチンと同様の構造を持つセルロースについては、ボールミル処理したものを同様の条件下で反応させると、水中において転化率 86%、ヘキシトール収率 50%であり(Entry 5)[3]、キチンとセルロースで反応性に大きな差があることは明らかである。これらの反応性の違いについては後節で議論する。以上より、キチンはセルロースに比べ転換が困難であるが、機械的加水分解を利用することでセルロースと同程度の可溶化率を達成することができる。また選択的な ADS 合成には反応条件の最適化が必須である。

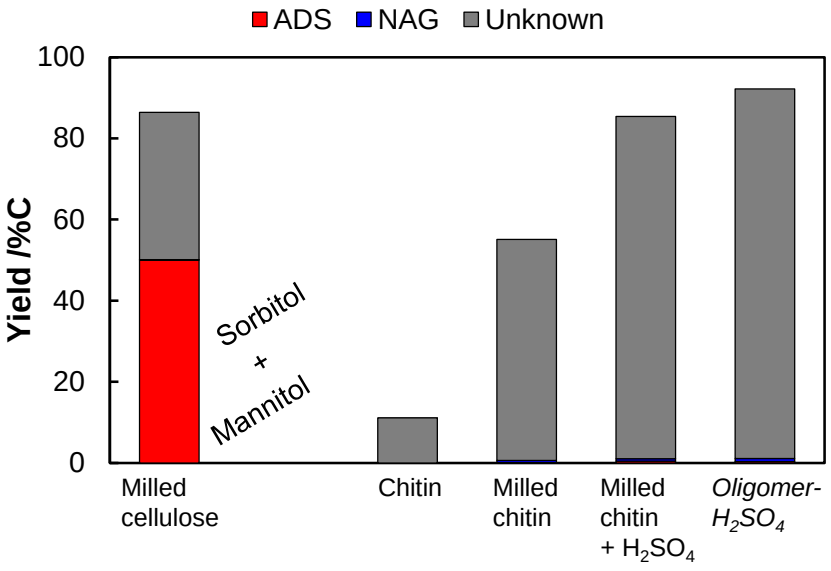


Fig. 3.9 Hydrolytic hydrogenation of chitin and cellulose

Table 3.2 Hydrolytic hydrogenation of cellulose to sugar alcohol

Entry	Substrate	Cat.	Temp. /°C	Time /h	$p(H_2)$ /MPa	Conv. /%	Hexitol yield /%C
1	Ball-milled cellulose	2 wt% Ru/C	190	24	5	86	50
2	Pristain chitin	5 wt% Ru/C	190	20	4	11	0
3	Ball-milled chitin	5 wt% Ru/C	190	20	4	55	0.09
4	Ball-milled chitin	5 wt% Ru/C H_2SO_4	190	20	4	85	0.48
5	*Oligomer-H_2SO_4*	5 wt% Ru/C	190	20	4	92	0.35

3.4.3 キチンオリゴマーの直接加水分解水素化

まずキチンオリゴマー*Oligomer-H_2SO_4* (S/C = 3.9)の直接加水分解水素化反応を水素圧 4 MPa、反応温度 180 °C、急加熱急冷条件で行った。加水分解の触媒は *Oligomer-H_2SO_4* に含まれる硫酸であり、反応開始前の溶液は pH 2 であった。金属触媒を用いない場合、ADS が生成せず、NAG が収率 41%で得られた(Table 3.4, Entry 10)。収率は炭素基準であり、以下同様である。水素化の触媒として糖の水素化に高い活性を示す担持ルテニウム触媒を選択した。耐水性が高い二酸化チタンを担体とした 5 wt% Ru/TiO_2 を触媒として用いたところ、目的物である ADS が収率 25%で得られた (Entry 11)。このときルテニウムの表面原子数を基にした TON は 9 であり、ルテニウムは水素化の触媒として機能した。そのほかの生成物は、中間体の NAG が 4.8%、2–6 量体のオリゴマーが 22%であった。また、残りの 48 %が何に変化したのか調べるため、水酸基をトリメチルシリル化したのちに GC/MS で分析したところ、2-amino-2-deoxysorbitol, 酢酸、アセトアミド、*N*-acetylmonoethanolamine (AMEA)、プロピレングリコール(PG)、エチレングリコール(EG)などが確認された。これら副生成物の生成機構などについては第 4 章で議論する。

担体の影響について調べるため、耐水性の高い活性炭 BP2000 と酸化ジルコニウムにルテニウムを 5 wt%担持した触媒を調製して反応に用いたところ、ADS 収率はそれぞれ 21%、19%とわずかに下がった(Entries 12, 13)。Ru/C を触媒とした場合では、触媒上に 26%もの吸着生成物が存在しており、主にキチンオリゴマーと推察される。活

性炭表面は主に多環芳香族から成るため疎水性であり、キチンオリゴマーのアキシアル面も C–H 基のみから成るため疎水性であることから、疎水性相互作用および CH–π 相互作用により炭素表面にオリゴマーが吸着する[6,7]。これにより、金属表面においてもオリゴマーの一部が覆いかぶさるなどして水素化活性が低下した可能性が考えられる。酸化ジルコニウムは酸化チタンとほぼ同程度の活性を示した。チタンはジルコニアに比べユビキタスな元素であるため、本反応系の担体として酸化チタンを選択した。

ルテニウム以外の金属種として、セルロース加水分解水素化に高い活性を示す白金とニッケルをそれぞれ二酸化チタンに担持した触媒を調製し、比較した。しかしこれらの金属種では ADS がほとんど生成しなかった(entries 14, 15)。白金はたんぱく質を含むような実バイオマスの加水分解水素化で活性が低下することが報告されており[8]、基質に含まれるアミンによる失活の影響がルテニウムに比べて大きいものと推測される。金属ニッケルは酸性水溶液中において次式で示される酸化を受けるため、系中の酸を消費するとともにニッケル触媒量も低下する。従って、加水分解および水素化の両面において反応が抑制される。

$$Ni + 2H^{+} \rightarrow Ni^{2+} + H_2 \qquad \text{(eq. 3.2)}$$

以上より、Ru/TiO_2 を用いることで *Oligomer-H_2SO_4* から ADS を合成することができることを示せたが、その収率は最大でも 25%であった。これは類似の構造を持つセルロースの加水分解水素化でのソルビトール収率約 90%[9-11]に比べると明らかに低い。キチンはセルロースの C2 位の水酸基がアセトアミド基に置き換わった構造であり、この官能基の差が反応性に大きな差を与えることが予想される。官能基の違いにより生じる反応性の差について DFT 計算により考察を行った。NAG とグルコースの部分構造である、アセトアミドアセトアルデヒド(Fig. 3.11a)とグリコールアルデヒド(Fig. 3.11b)について、水酸化物のプロトン化により生成するアニオンの安定性を比較した。その結果アセトアミド基のほうが水酸基に比べアニオンを安定化できることが分かった。これはアセトアミド基が電子吸引基として働き、$-I$ 効果によってグルコース骨格の電子密度を減少させている。加えてアセトアミド基の嵩高さによる立体障害のために、アルデヒド基のルテニウムへの吸着が阻害されることで水素化の速度が遅くなり、結果として副反応が進行していると予測される。

また、Ru/TiO_2 を用いた場合の ADS と NAG の合計収率は 30%に留まっており、触媒なしの場合(41%)に比べて低い。これはルテニウムが NAG から ADS への水素化だけでなく、副反応も促進していることを示している(Scheme. 3.2)。従って、副反応抑制の手立てが必要であり、次節で改良法を示す。

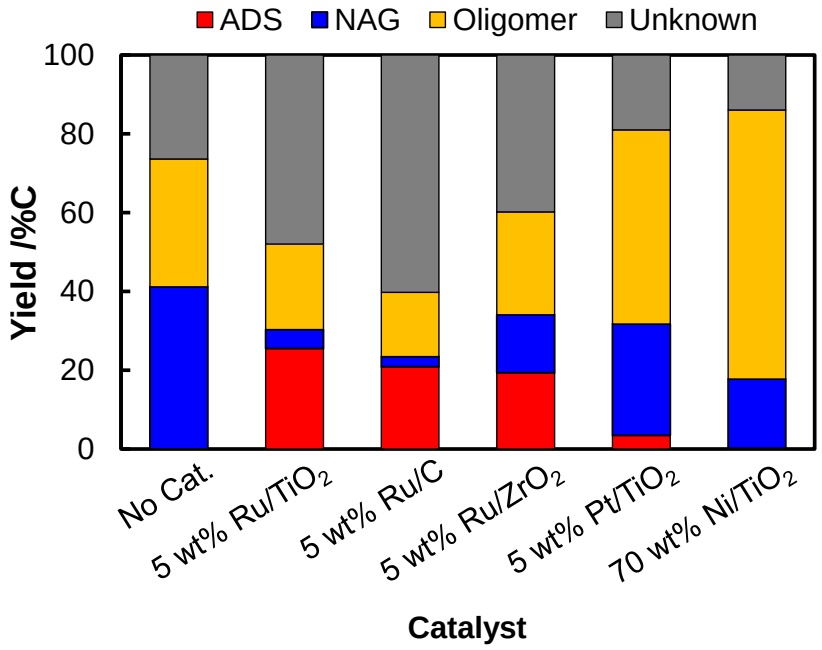
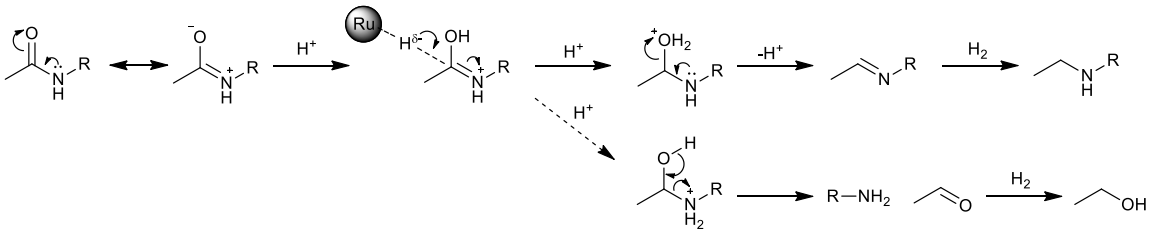


Fig. 3.10 Hydrolytic hydrogenation of *Oligomer-H_2SO_4* by a supported metal catalyst

Table 3.3 Hydrolytic hydrogenation of *Oligomer-H_2SO_4* by a supported metal catalyst[a]

Entry	Catalyst	Yield [%C]			
		ADS	NAG	Oligomers	Others
6	None	0	41	32	26
7	Ru/TiO_2	25	4.8	22	48
8	Ru/C	21	2.6	16	60(26)[b]
9	Ru/ZrO_2	19	15	26	40
10	Pt/TiO_2	3.4	28	49	19
11	Ni/TiO_2	0.14	18	68	14

[a] Rapid heating-cooling conditions at 180 °C. *Oligomer-H_2SO_4*: 454 mg, catalyst: 200 mg, water: 40 mL, $p(H_2)$: 4.0 MPa at 25 °C. [b] Adsorbed products



Scheme 3.2. Speculated mechanism for the decomposition of amide by acid and Ru under H_2 pressure.

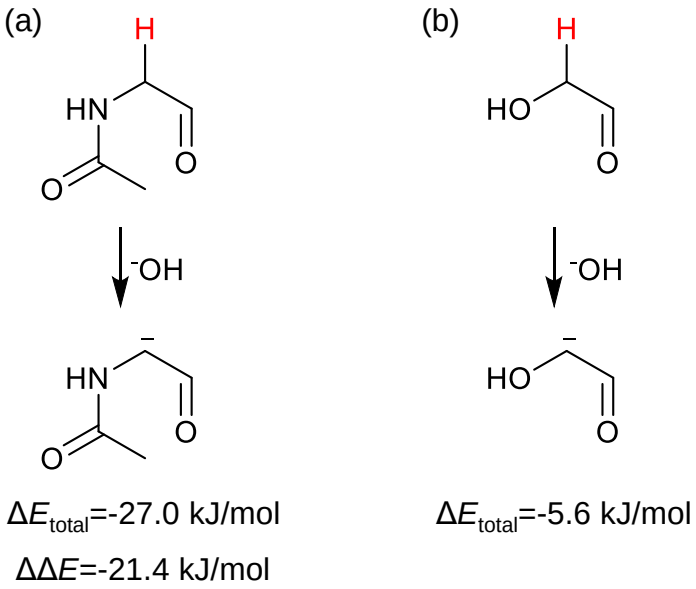


Fig. 3.11 Functional group effect for protonation of hydroxide ion by DFT calculations at the rB3LYP/6-31++G(d,p) level eith solvent effect of water. $\Delta E_{total}=\Delta E_{electronic}+\Delta E_{ZPE}$

3.4.4 NAG と ADS の熱安定性

反応条件の検討のため、NAG と ADS の熱安定性を比較した。反応容器にそれぞれの基質と蒸留水または 6 mM の硫酸水溶液を加え、180 °C、急加熱急冷条件で反応を行った。反応前後での基質の回収率を以下に示す(Fig. 3.12, Table 3.9)。水中での反応において、NAG の回収率 31%に対し、ADS では 74%であった。このことから NAG は熱水中で容易に分解してしまうが、これを速やかに水素化し ADS とすることで副反応を抑制できると期待できる。一方で 6 mM の硫酸を溶媒に用いるとその回収率は逆転し、NAG 回収率 47%に対し、ADS では 8%まで減少した。以上より、加水分解による NAG の合成には酸性条件が、水素化による ADS の合成は中性条件が適しており、共存できないことが分かった。

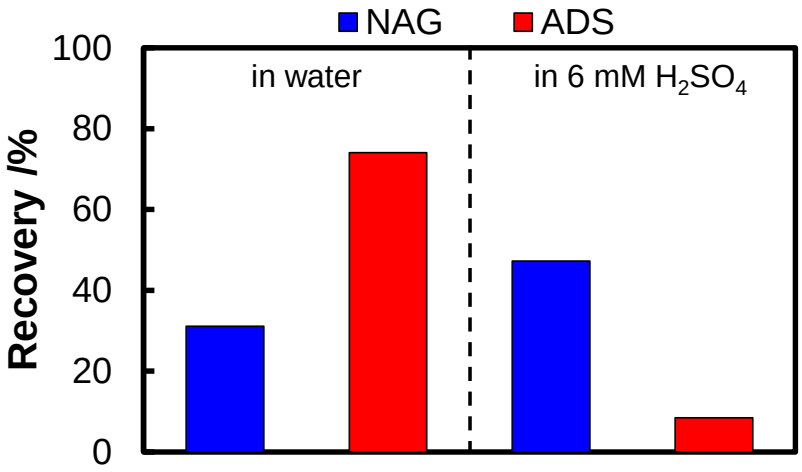


Fig. 3.12 Evaluation of products thermal stability

Table 3.4 Evaluation of products thermal stability

Entry	Substrate	Solvent	Recovery /%
12	NAG	Water	31
13	ADS		74
14	NAG	6 mM H_2SO_4 aq.	47
15	ADS		8

3.4.5 キチンオリゴマーの二段階加水分解水素化

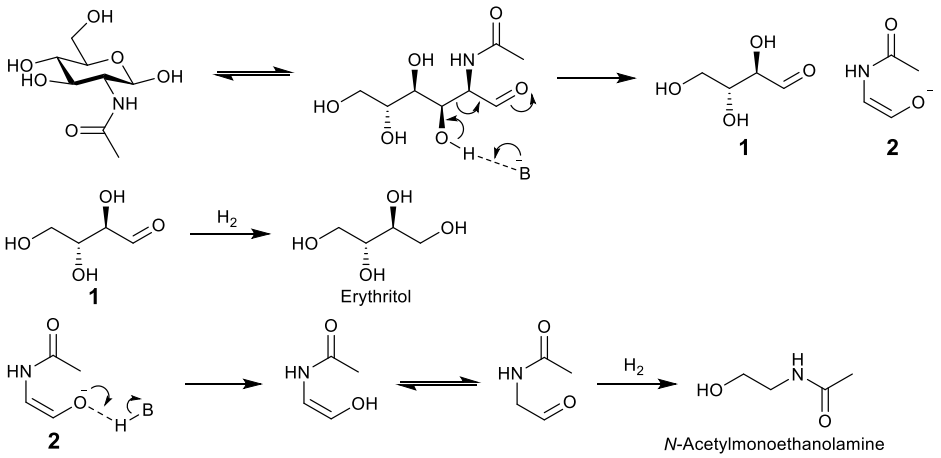
一つの反応の中で *Oligomer-H_2SO_4* を逐次的に加水分解水素化すると ADS 収率は 25%に留まった。これは高温・低 pH という加水分解に最適な条件では、ルテニウム触媒が水素化だけではなく副反応も促進することや、生成した ADS が逐次分解を受けやすいことが要因である。これを改善するために反応を二段階に分け、それぞれに最適な条件を適用した。加水分解の最適条件については、2 章「機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成」で示した通り、*Oligomer-H_2SO_4* (S/C = 3.9)を 175 ℃で短時間処理することで NAG が収率 61%で得られる。

続いて加水分解後の反応溶液(pH 2)に Ru/TiO_2 触媒および水素を 4 MPa 加え、120 ℃の低温で水素化反応を行った(Fig. 3.12a)。NAG から ADS への水素化は 1 次で進行し、ADS 収率は 2 時間後に最大となり、キチン基準でのの収率は 37%であった。また、水素化反応前に系中に存在した NAG 基準での選択率は 62%であった。反応時間を延ばすと ADS は徐々に分解した。直接加水分解水素化に比べ、ADS 収率は 1.5 倍とな

り、二段階で反応を行うことで ADS の収率を向上できることが分かった。しかし、対照実験として水中で純試薬の NAG の水素化を行うと、反応開始 30 分で NAG は完全に転化し、選択率 93%で ADS が得られた(Fig. 3.12f)。このことは、キチンから合成した NAG 溶液を直接用いると、系中に共存している他の物質の影響を受けて、副反応が起こりやすいことを示している。

副反応は低 pH により引き起こされていると考え、炭酸水素ナトリウムを少量添加して溶液の pH を調整することで収率および選択率の向上を目指した。その結果、pH 3 では ADS 収率 52%、pH 4 では 51%と、pH 2 の場合(37%)から顕著に増加し、NAG 基準の選択率>85%と良好な結果が得られた(Fig. 3.12b,c)。pH 3 での表面 Ru 原子数を基準にした TON は 19 であった。さらに pH を上げると、pH 5 では ADS 収率 46% (Fig. 3.12d)とやや減少し、pH 6.8 ではわずか 30 分で NAG のほとんどが副生成物に転化してしまった(Fig. 3.12e)。主な副生成物として *N*-acetylmonoethanolamine (31 %C)とエリスリトール (16 %C)が生成していた。これは反応中にレトロアルドール反応が起きたことを示唆している(Scheme 3.3)。レトロアルドール反応は塩基が触媒として機能し、本系は中性であるものの塩基が存在している。つまり、炭酸ナトリウムの陰イオン HCO_3^-の共役酸である H_2CO_3 の pK_a は 6.3 であるから、pH 6.8 の水溶液中では HCO_3^-がかなり残存している。加えて、HCO_3^-は高温条件下で不均化を起こし(eq. 3.3)、より強い塩基である CO_3^{2-}が発生する。これら塩基種により NAG のレトロアルドール反応が起きたと考えられる。

$$2HCO_3^- \rightarrow CO_3^{2-} + CO_2 + H_2O \qquad \text{(eq. 3.3)}$$



Scheme 3.3 Formation of erythritol and N-acetylmonoethanolamine from NAG, B^-: base.

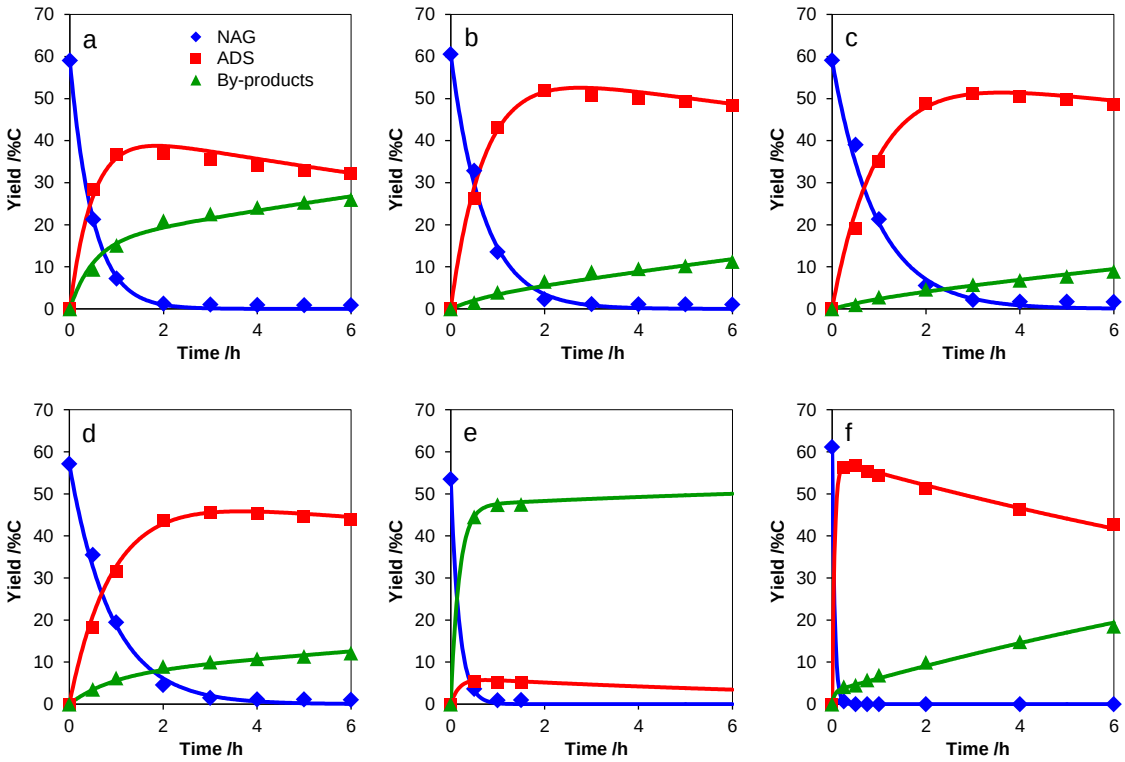


Fig. 3.13 Time courses of hydrogenation of Oligomer-H2SO4 hydrolysate at 120 °C: (a) pH: 2.0 (= no neutralisation), (b) pH: 3.0, (c) pH: 4.0, (d) pH: 5.0, (e) pH: 6.8. (f) That of pure NAG in water, where the amount of NAG was the same as that in the chitin conversion (61%). Lines indicate simulation results.

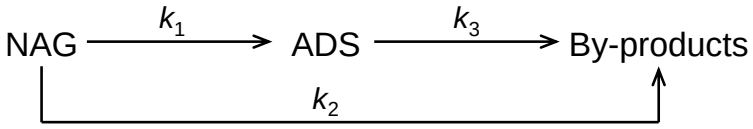
3.4.6　経時変化の速度論的解析

各 pH での反応結果について速度論解析を行った。反応を擬 1 次反応と仮定し、以下の反応経路と速度式を仮定した(Table 3.5、eq. 3.3–3.5)。まず NAG から ADS および副生成物へと向かう経路の速度定数を k_1 および k_2 とし、ADS が分解し副生成物へと向かう経路の速度定数を k_3 とした。オリゴマーの加水分解による NAG の生成はここで用いた反応条件では非常に遅いため、今回の計算では考慮しなかった。

pH を 2 から 3 にあげると、k_1 はほとんど変化がなかったが、k_2 は 0.56 h^{-1} から 0.08 h^{-1} へ、k_3 は 0.05 h^{-1} から 0.03 h^{-1} へと減少した。Table 3.6 に各速度定数での ADS の理論収率を示す。これによると、ADS の収率は k_2 により大きく変化し、0.56 から 0.08 h^{-1} に下がることで収率が 12–13%も増加する。一方で k_3 は 0.05 から 0.03 h^{-1} に変化しても収率は 1–2%しか増加しない。以上より ADS 収率の向上には、いかにして NAG の

副反応を抑えるかが鍵となる。さらに pH を上げていくと k_1、k_3 は小さくなり、k_2 が大きくなる。特に pH 6.8 では k_1 = 0.6、k_2 = 4.6 と大きく変化し、先述した通り系中の塩基によるレトロアルドールの反応速度が速く、NAG のほとんどが分解してしまったことを反映している。以上より ADS の高収率合成には k_2、より具体的には k_2/k_1 を最小化するような条件が良く、本反応系では pH 3–4 の中程度の酸性条件が最も良いことが分かった。

Table 3.5 Kinetic parameters determined by curve fitting of the reaction time courses



Entry	pH	k_1 /h^{-1}	k_2 /h^{-1}	k_3 /h^{-1}	k_2/k_1	k_3/k_1
16	2.0	1.4	0.56	0.050	0.40	0.036
17	3.0	1.3	0.080	0.030	0.062	0.023
18	4.0	1.0	0.050	0.025	0.050	0.025
19	5.0	0.95	0.15	0.020	0.16	0.021
20	6.8	0.60	4.6	0.10	7.7	0.17

$$v_{NAG}=\frac{d[NAG]}{dt}=-(k_1+k_2)[NAG] \qquad \text{(eq. 3.3)}$$

$$v_{ADS}=\frac{d[ADS]}{dt}=k_1[NAG]+k_3[ADS] \qquad \text{(eq. 3.4)}$$

$$v_{Bypro}=\frac{d[Bypro]}{dt}=k_2[NAG]+k_3[ADS] \qquad \text{(eq. 3.5)}$$

Table 3.6 simulation of the effects of the kinetic parameters on the ADS yield

			Theoretical maximum	
k_1 /h^{-1}	k_2 /h^{-1}	k_3 /h^{-1}	Time /h	ADS yield[a] /%
1.3	0.56	0.05	2.0	39
1.3	0.56	0.03	2.3	40
1.3	0.08	0.05	2.5	51
1.3	0.08	0.03	2.8	53

[a] Max. ADS yield=$[NAG]_0 \frac{k_1}{k_1+k_2}\frac{1}{R-1}\left(R^{\frac{1}{1-R}}-R^{\frac{R}{1-R}}\right)$, where $[NAG]_0$=initial amount of NAG = 61%; $R=k_3/(k_1+k_2)\neq 1$.

3.5 結言

キチンオリゴマーからの ADS 高収率合成を目指した。硫酸を含む *Oligomer-H_2SO_4* を酸化チタン担持ルテニウム触媒を使って、水素圧 4 MPa、180 °C での急加熱急冷条件で加水分解水素化することで、ADS を 1 段階で収率 25%で合成できた。セルロースでの反応に比べ選択率が低く、アセトアミド基がオリゴマー反応性に大きく影響していることが示唆された。

ADS 収率の向上のために、加水分解および水素化の反応を分け、それぞれ最適条件下を探索した結果、加水分解と水素化の最適な反応条件が相いれないことを見出した。すなわち、低 pH で高温短時間という加水分解に最適な条件は選択的な水素化には不適であり、それぞれの工程を分ける必要がある。キチンオリゴマーの加水分解条件については第 2 章で示した通り、基質触媒比 3.9 で調製した *Oligomer-H_2SO_4* を 175 °C、急加熱・急冷条件で加水分解することで、NAG を収率 61%で得ることができる。得られた NAG を含む反応溶液は精製することなく次の水素化のステップに適用することができる。炭酸水素ナトリウムによって pH を 3-4 に調整したのち、5 wt% Ru/TiO_2 触媒で水素圧 4 MPa、120 °C、2 時間水素化することで、ADS を通算収率 52%で合成することができた。

反応の各ステップにおける触媒回転数 TON を計算した。機械的加水分解および水中での加水分解の工程では硫酸が触媒として機能していた(TON=2.4)。また、水素化の工程では担持ルテニウムが水素化を触媒しており、その TON は 19 であった。以上より、触媒反応を利用したグリーンなプロセスでのキチンからの ADS 合成に成功した。

3.6 参考文献

[1] F. D. Bobbink, J. Zhang, Y. Pierson, X. Chen, N. Yan, *Green Chem.* **17**, 1024 (2015).

[2] M. Yabushita, H. Kobayashi, K. Kuroki, S. Ito, A. Fukuoka, *ChemSusChem* **8**, 3760 (2015).

[3] H. Kobayashi, Y. Ito, T. Komanoya, Y. Hosaka, P. L. Dhepe, K. Kasai, K. Hara, A. Fukuoka, *Green Chem.* **13**, 326 (2011).

[4] H. Kobayashi, Y. Hosaka, K. Hara, B. Feng, Y. Hirosaki, A. Fukuoka, *Green Chem.* **16**, 637 (2014).

[5] H. Kobayashi, Y. Hosaka, K. Hara, B. feng, Y. Hirosaki, A. Fukuoka, *Green Chem.* **16**, 37 (2014).

[6] P. W. Chung, A. Charmot, O. M. Gazit, A. Katz, *Langmuir* **28**, 15222 (2012).

[7] M. Yabushita, H. Kobayashi, J. Hasegawa, K. Hara, A. Fukuoka, *ChemSusChem* **7**, 1443 (2014).

[8] S. K. Guha, H. Kobayashi, K. Hara, H. Kikuchi, T. Aritsuka, A. Fukuoka, *Catal. Commun.* **12**, 980 (2011).

[9] J. Geboers, S. Van de Vyver, K. Carpentier, K. de Blochouse, P. Jacobs, B. Sels, *Chem. Commun.* **46**, 3577 (2010).

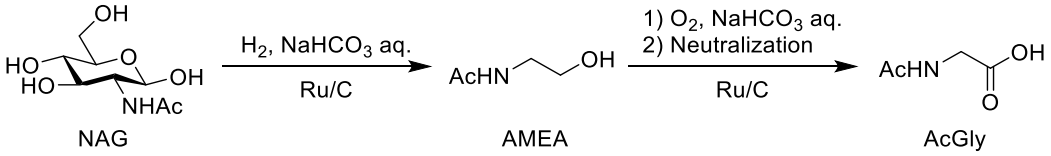
[10] J. Hilgert, N. Meine, R. Rinaldi, F. Schüth, *Energy Environ. Sci.* **6**, 92 (2013).

[11] A. Shrotri, L. K. Lambert, A. Tanksale, J. Beltramini, *Green Chem.* **15**, 2761 (2013).

第 4 章 NAG からのアミノ酸合成

4.1 諸言

NAG のさらなる用途拡大のために、新規化学変換ルートを提案する。前章において、NAG の塩基性条件下での水素化によって、副生成物として ADS より炭素数の少ない C_2 化合物[*N*-acetyl-monoethanolamine (AMEA)]や 4 炭糖のエリスリトールが多く生成した。この結果を受け、AMEA の水酸基を選択的に酸化することができれば、標準アミノ酸であるグリシンの保護体[アセチルグリシン(AcGly)]を合成できると考えた(Scheme 4.1)。グリシンは食品添加物や農薬、化粧品などに利用される基幹原料であり、2017 年の市場規模は 6 億 7 千万米ドルと大きい[1]。現行のグリシンの工業的な合成法として第 1 章で述べた Strecker 法やヒダントイン法が利用されているが、いずれもシアン化物やアンモニアといった毒劇物を原料に使用している。そのため、キチン由来の NAG からアミノ酸を合成することができれば、より環境に調和したプロセスとすることができる。また、これまでに NAG から人工的に標準アミノ酸を合成した例は報告されておらず、その他のアミノ酸を含めても 2-アセトアミド-2-デオキシグルコン酸の合成に留まっている[2]。そこで本章ではキチンの単量体である NAG からのアセチルグリシン合成を目的とした。



Scheme 4.1 Conversion of NAG to AcGly via AMEA over Ru/C.

4.2 実験

4.2.1 担持金属触媒の調製およびキャラクタリゼーション

4.2.1.1 5 wt%担持金属触媒の調製

担体として活性炭 BP2000 0.95 g と蒸留水 20 mL を 100 mL ナス型フラスコに入れ、振とう・超音波処理により懸濁させた。そこに金属重量が 0.05 g となるように金属錯体溶液を加え、さらに蒸留水を全量が 50 mL となるように加えた。恒温槽付き振とう機を用いて、30 ℃、18 時間振とうした。ロータリーエバポレーターで水を留去した後、一晩真空乾燥した。めのう乳鉢で軽く摩砕し、水素気流下、400 ℃ で 2 時間還元した。水素の流速は 30 mL min^{-1} とした。

4.2.1.2 窒素吸脱着測定

測定装置には BEL Japan Belsorp-mini II を用いた。前処理として、BEL Prep II(日本ベル)を用いて、試料を真空下(< 10 Pa)、120 °C で 4 時間乾燥させた。測定は-196 °C で窒素を吸脱着させることにより行った($0.050 < p/p_0 \leq 0.995$)。

4.2.1.3 粉末 XRD 測定

測定装置には粉末 X 線回折装置 RIGAKU Ultima IV を用いた。X 線源として Cu を使用した(Cu K_α: 1.542 Å)。検出器には半導体検出器 D/teX Ultra 2 を使用した。

4.2.1.4 TEM 測定

測定装置には電界放出形透過電子顕微鏡 JEM-2100F (日本電子, 加速電圧 200 kV)を用いた。

4.2.1.5 XAFS 測定

測定は高エネルギー加速器研究機構の放射光科学研究施設で行った。ビームラインには Photon Factory Advanced Ring (PF-AR, ring energy 6.5 GeV, 60 mA)の NW10A を使用した。測定は透過法で行い、Si (311)二結晶分光器およびイオンチャンバー検出器を使用した。スペクトルの解析には REX2000 (Rigaku)を使用した。

4.2.3 NAG のレトロアルドール水素化

反応は SUS316 製高圧反応器(MMJ-100、オーエムラボテック)を用いて実施した。反応器に NAG 442 mg (2 mmol)と触媒 200 mg および 50 mM 塩基水溶液 40 mL を加えた。水素を 4 MPa 充填し、600 rpm で撹拌しながら、室温から所定の温度まで急速に加熱した。反応時間経過後、ただちに室温まで風冷した。

反応後の溶液は遠心分離により液相と固相とに分離した。液相は HPLC と GC によって分析した。HPLC における生成物の検出には RI および UV 検出器を用いた。分離カラムには Rezex RPM-Monosaccharide Pb++ (Phenomenex, ø8×300 mm, 70 °C, water 0.6 mL min^{-1})、Aminex HPX-87H (Bio-Rad, ø7.8×300 mm, 30 °C, 5 mM H_2SO_4 0.8 mL min^{-1})、RSpak NN-814 (Shodex, ø8×250 mm, 40 °C, 30 mM H_3PO_4 1.0 mL min^{-1})を使用した。揮発成分の分析には GC-FID (DB-FFAP, ø0.25×30 m×0.25 μm)を用いた。生成物収率の計算は「2.2.2.4 生成物分析と可溶化率の決定」と同様である。また「3.2.3.3 生成物同定」で示したシリル化および GC-MS による生成物同定を行った。

4.2.4 AMEA の酸化

反応は SUS316 製高圧反応器を用いて実施した。反応器に AMEA 206 mg (2 mmol) と触媒 200 mg および 50 mM 塩基水溶液 40 mL を加えた。酸素を 1 MPa 充填し、600 rpm で撹拌しながら、室温から所定の温度まで急速に加熱した。反応時間経過後、ただちに室温まで風冷した。

4.2.5 DFT 計算

ルテニウム錯体およびいくつかの生成物について密度汎関数理論(DFT)を用いて計算を行った。ソフトウェアして Gaussian 16 と Gaussian 09 を使用した。積分グリッドは Ultrafine とし、10^{-12} の積分精度で計算した。各化合物の電子構造は自己無撞着場(SCF)計算で求め、構造の最適化に関して force および displacement の収束条件として "tight"を指定した。

ルテニウム錯体の構造計算では、uB3LYP-D3/aug-cc-pVDZ-PP(Ru)/6-31+G(d,p)(O,H) を用い、d 軌道以上の基底関数には球面調和関数を指定した[3-7]。特殊相対性理論の効果を効率的に考慮するためにルテニウムに対しては Stuttgart/Colognee の相対論的擬ポテンシャル(MDF28)を用いた[6]。また、多核ルテニウム μ-オキソアコ錯体に対して B3LYP を適用した理由は、過去の文献により実験結果をよく再現しているためである[8,9]。

糖化合物に対しては M06-2X/aug-cc-pVTZ//B3LYP-D3/6-31+G(d,p)を用いた。零点エネルギー(ZPE; scaling factor = 0.9857)と原子の電荷は B3LYP-D3/6-31+G(d,p)により構造最適化した段階で評価した。電荷計算において、natural population analysis (NPA)、Merz-Kollman-Singh (MKS)、Charge Model 5 (CM5) 最小基底系でのマリケン電荷が類似した傾向を与えることを確認した。水の溶媒効果は SMD モデルにより取り込んだ。

4.3 試薬

本章で用いた試薬は以下のとおりである。

Reagent	Class, company and footnote
N-Acetyl-D(+)-Glucosamine	First grade, Wako Pure Chemical Industries, denoted NAG
N-Acetylglycine	> 99%, Tokyo Chemical Industry, denoted AcGly
2-Acetamido-ethanol	> 90%, Tokyo Chemical Industry, denoted AMEA
Distilled water	For HPLC, Wako Pure Chemical Industries
Black Pearls 2000	Carbon black, Cabot, denoted BP
$Ru(NO)(NO_3)_3$ HNO_3 sol.	Ru 1.5 wt%, Wako Pure Chemical Industries
Platinum-Activated Carbon	Pt 5%, Wako Pure Chemical Industries
Palladium-Activated Carbon	Pd 5%, Wako Pure Chemical Industries
$HAuCl_4 \cdot 4H_2O$	Special grade, Wako Pure Chemical Industries
Sodium Hydrogencarbonate	First grade, Wako Pure Chemical Industries
Sodium Carbonate	First grade, Wako Pure Chemical Industries
Sodium Hydroxide	First grade, Wako Pure Chemical Industries
Hydrogen gas	Alpha gas 2, Air Liquide Kogyo Gas, for reaction
Oxygen gas	Alpha gas 2, Air Liquide Kogyo Gas, for reaction
Nitrogen gas	99.999%, Air Liquide Kogyo Gas, used for N_2 adsorption desorption experiments
Helium gas	99.999%, Air Liquide Kogyo Gas, used for N_2 adsorption desorption experiments

4.4 結果・考察

4.4.1 NAG からの AMEA 合成

はじめに NAG を塩基水溶液中、酸化条件下で加熱することで直接 AcGly が合成できないかを検討した。高圧反応器に NAG と 5 wt% Ru/C、50 mM $NaHCO_3$ 水溶液を加え、酸素 1 MPa を充填した。120 °C、1 時間の条件で酸化したところ、NAG 転化率 73%、AcGly 収率 1.9 %C とほとんど目的物は得られなかった。副生成物としてグリコール酸(GA, 3.1 %C)や酢酸(10 %C)、アセトアミド(2.7 %C)が得られており、レトロアルドール反応は進行はしているものの限定的であり、脱酢酸や脱アミドといった副反応が優先的に進行していることが分かった。以上の結果より、一段階で反応を行うことは難しく、まずレトロアルドール反応と酸化反応を分けて検討できる方法が必要と考えられる。

NAG から AcGly を得るための反応を分ける方法として Fig. 4.1 に示す 2 段階の反応を考案した。1 段階目は NAG のレトロアルドール反応と水素化である(Fig. 4.1)。このステップでは、まず NAG が塩基触媒によるレトロアルドール反応によって C2－C3 間で切断されることで、2-Acetamido-acetaldehyde とエリスロースが中間体として得られる。これらアルデヒドを系中で速やかに水素化することで化学的に安定な AMEA とエリスリトールを得る。次に AMEA を酸化して、AcGly を得る。

まず NAG からの AMEA の合成について検討を行った。50 mM の各種塩基水溶液を用い、水素圧 4 MPa、120 °C、1 時間の条件で反応を行った(Table 4.1)。水素化の触媒として、NAG の水素化に最も高い活性を示したルテニウムを、担体として塩基性条件下でも耐久性が高い活性炭を選択した。微粒子のルテニウムは空気中の酸素で容易に酸化されるため、反応前は酸化物として担持されているが、水素化条件下では還元され金属 Ru 種となり水素化触媒として機能する[10]。なお触媒のキャラクタリゼーションについては後述する。塩基触媒として炭酸水素ナトリウムを用いたところ、ほぼすべての NAG が転化したものの、目的の AMEA は 1.4 %C しか生成しなかった(Entry 1)。AMEA の収率を、基質に含まれている窒素原子数を基準にした「窒素収率」で表すと 2.8 %N である。主な副生成物は ADS (81 %C)やその異性体である 2-acetamido-2-deoxymannitol (ADM, 11 %C) 、脱水物である 2-acetamido-2,3-dideoxyhexitol (AD_2H, 2.2 %C)であった。これらはいずれもレトロアルドール反応による C－C 結合の切断が起こる前に異性化や脱水、および水素化されることで生成する化合物である。その他の塩基として、炭酸ナトリウムや水酸化ナトリ

ウムを用いたが、どちらの場合も ADS 収率は 3.1 %C および 5.5 %C と低かった (entry 3, 4)。副生成物の内訳に関しては ADS、ADM および AD_2H は減少したが、酢酸の生成量が増加し、最大で 16 %C となった。C_8 の NAG から C_2 の酢酸が脱離しているため、16 %C の酢酸を NAG 基準に換算すると 4 倍の 64%に相当し、NAG の大半がアセチル基の脱離により失われていることを意味している。強い塩基を用いることでレトロアルドール反応は進行しやすくなるが、同時に脱酢酸も加速されるため、AMEA を合成するには不適である。したがって塩基触媒には脱酢酸を起こさない炭酸水素ナトリウムが適当であり、弱塩基であってもレトロアルドール反応が進行するような条件の検討が必要である。

ルテニウム触媒を用いた NAG の水素化は 80 °C 程度の低温でも行うことができることから[11]、レトロアルドール反応に必要な温度まで昇温する間に、水素化が完了してしまうと考えられた。これを抑制するために、初めは水素加圧せずに昇温し、120 °C に達したところで水素を 4 MPa 導入することにした。これにより ADS の生成は 28 %C にまで抑えられ、AMEA 収率は 15 %C (29 %N)に向上した(entry 2)。その他の副生成物としては ADM (6.0 %C)、AD_2H (18 %C)、エリスリトール 7.0 %C)、エチレングリコール(EG, 2.5 %C)、酢酸(2.2 %C)であった。これらの化合物の生成機構について Fig. 4.1 に示すように考察した。まず NAG の C3 位の水酸基に塩基が攻撃することでレトロアルドール反応が進行し、C2－C3 間が切断された 2-acetamido-acetaldehyde とエリスロースが中間体として生成する。これらが水素化されるとそれぞれ AMEA とエリスリトールが得られる。エリスロースの一部はさらにレトロアルドール反応により C4－C5 間が切断されグリコールアルデヒドに、さらに水素化され EG が得られる。AMEA が生成するための中間体である 2-acetoamido-acetaldehyde が実際に生成していることを、水素ガスの代わりにヘリウムを充てんして対照実験を行い、反応溶液を速やかに GC-MS で分析することで確認した。エリスリトールと EG は AMEA の生成経路で必然的に併産される生成物である。ADM や AD_2H は NAG の enol 体を経由して生成していると考えらえる。

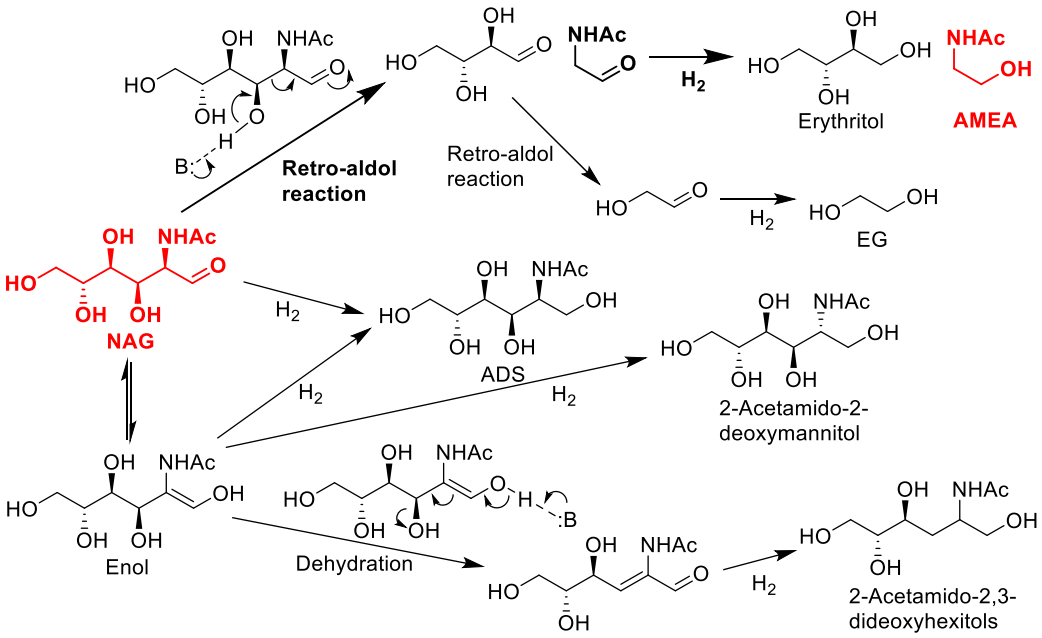


Fig. 4.1 Possible reaction pathways for major products in the conversion of NAG.

Table 4.1 Conversion of sugars under H_2 pressure in the presence of base[a]

Entry	Base	Conv.	Yield /%C								
			AMEA (%N)	ADS	ADM[b]	AD_2H[c]	Ery[d]	GR[e]	PG	EG	AcOH
1	$NaHCO_3$	> 99	1.4 (2.8)	81	11	2.2	1.8	< 1	< 1	< 1	< 1
2[f]	$NaHCO_3$	> 99	15 (29)	28	6.0	18	7.0	1.0	< 1	2.5	2.2
3	Na_2CO_3	> 99	3.1 (6.1)	36	9.2	3.4	3.1	< 1	< 1	< 1	11
4	NaOH	> 99	5.5 (11)	9.0	5.1	5.2	4.5	< 1	< 1	< 1	16
5[g]	$NaHCO_3$	93	—	33[h]	—	—	2.5	7.7	16	4.6	—

[a]NAG 442 mg (2 mmol), 5 wt% Ru/C 200 mg, base 2 mmol, water 40 mL, $p(H_2)$: 4.0 MPa at 25 °C, 120 °C, 1 h. [b]2-Acetamido-2-deoxymannitol. [c]2-Acetoamido-2,3-dideoxyhexitol. [d]Erythritol. [e]Glucerol. [f]Temperature was increased to 120 °C at $p(H_2)$ of 0.1 MPa, and $p(H_2)$ was increased to 4 MPa. [g]Substrate: glucose. After keeping 120 °C at $p(H_2)$ of 0.1 MPa for 1 h, the pressure was increased to 4 MPa, and the reaction was performed for 1 h. [h]Sorbitol.

4.4.2 触媒の再使用性

触媒の再使用性を調べるため、触媒の再生処理を行わずに 4 回まで繰り返し使用した(Fig. 4.2)。AMEA はそれぞれ収率 15 %C、18 %C、18 %C、20 %C、15 %C とややばらつきはあるものの、少なくとも 5 回目の使用までは活性を維持することができることが分かった。4 回目の使用で AMEA の最高収率である 20 %C (40 %N)を達成した。

5 回使用後の触媒をエタノールで洗浄したところ、溶液の色が黄褐色になったことから、フミンが生成し活性炭上に吸着していたことがわかった。また直接水素化物である ADS の収率に着目すると初回では 28 %C 生成していたのに対し、5 回目には 5.8 %C まで減少していた。これらの結果から触媒の水素化能が次第に減少していることが推測される。触媒の水素化能が低下すると、ADS への速い水素化が抑制され、目的とするレトロアルドール反応が優先する一方で、レトロアルドール反応生成物である 2-acetamido-acetaldehyde の水素化が遅くなり、副反応が起こりやすくなるというトレードオフの関係になる。そのために触媒の水素化能が低下しても AMEA の収率はほとんど変化しなかったと考えられる。5 回の反応を通して得られた AMEA の物質量に対するルテニウム触媒の TON は 35 であり、ルテニウムは触媒として機能していた。

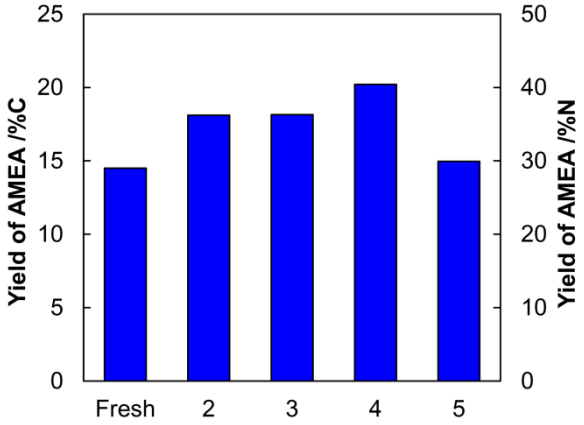


Fig. 4.2 Reuse experiments of Ru/C for the conversion of NAG.

4.4.3 グルコースとの反応性の比較

NAG と類似した構造を持つグルコースを用いて同様の反応を行った(Table 4.1, entry 5)。その結果、直接水素化物であるソルビトール(33 %C)を除いた残りの主生成物はグリセロールと PG の C3 アルコールであった(24 %C)。これら C3 化合物は Fig. 4.3 に示すように、グルコースが異性化しフルクトースとなったのちにレトロアルドール反応によって C3－C4 間が切断されることで生じる化合物である。この結果は、NAG では C2－C3 および C4－C5 間が切断され AMEA やエリスリトール、EG といった C2、C4 化合物が主であったことと異なっている。つまり、2 位がアセトアミド基か水酸基かで反応性が大きく異なることを示している。

この反応性の差の起源を解明するために DFT 計算を用いてそれぞれの基質の異性体についてエネルギー(□*E*: 電子エネルギー ＋ 零点振動エネルギー)を調べた。NAG

から enol 体への変換は ΔE = +9 kJ mol^{-1} のわずかな Uphill 反応であるため、平衡状態をとりうると考えられる。しかしイミン体まで変換すると ΔE = +73 kJ mol^{-1} となり、熱力学的に非常に不利であることが分かった。つまり NAG は異性化しにくく、そのために C2－C3 間での切断が主となる。一方、グルコースの場合には、フルクトースに変換すると ΔE = -18 kJ mol^{-1} となり、エネルギー的に異性体の方が有利であることが分かった。従って、フルクトースに異性化した後、C3－C4 間での切断が起こると考えられる。NAG の異性化が不利である理由を明らかにするため、構造と電荷に着目した。NAG のアミド基は共鳴構造をとり、N－C7 間の結合長は 1.346 Å であった。これは C－N 単結合長(1.465 Å)と C＝N 二重結合長(1.279 Å)の間である[12]。また MKS 法によって計算したカルボニルの酸素の負電荷は-0.76 であった。イミンに異性化させると、N－C7 結合長は 1.397 Å まで伸び、負電荷も-0.68 まで減少した。これは窒素の非共有電子対からのカルボニルへの電子の流れ込みが抑制され、N－C7 結合の単結合性が大きくなったことを示している。実際に、Second-order perturbation theory により、窒素の非共有電子対とカルボニルの□*軌道とのドナー・アクセプター相互作用が異性化により著しく減少することが確認された。また、比較としてカルボニルを持たない 2-iminoethanol と 2-aminoacetaldehyde のエネルギーを計算したところ、両者の間には 4 kJ mol^{-1} の差しかなかった(Fig. 4.4)。以上の結果より、NAG からイミンへの異性化がエネルギー的に極端に不利になる理由は、アミド基の共鳴安定化効果の損失によるものであると結論した。

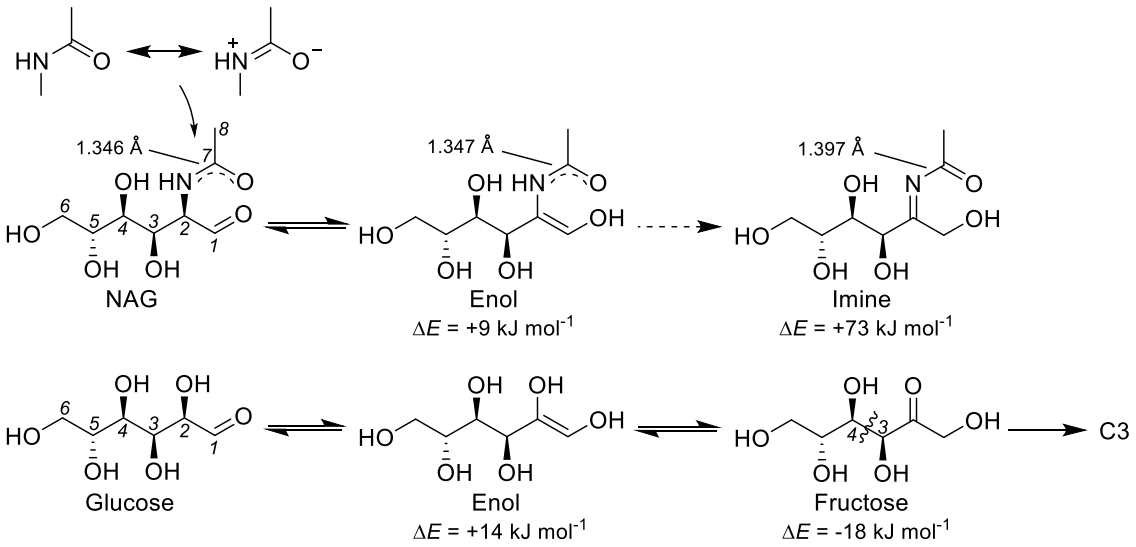


Fig. 4.3 DFT calculations of sugars in linear forms at the M06-2X/aug-cc-pVTZ//B3LYP-D3/6-31+G(d,p) level with solvent effect of water. $\Delta E = \Delta E_{electronic} + \Delta E_{ZPE}$, compared to original aldose.

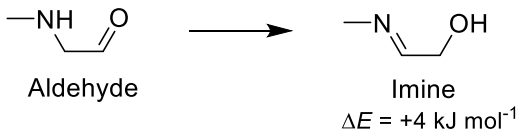


Fig. 4.4. Stability of imine compared to aldehyde determined by DFT calculations

4.4.4 AMEA の酸化

次に AMEA の酸化による AcGly の合成を検討した。均一系ルテニウム触媒を使用した例は既に報告されているが[13]、10 M NaOH/dioxane を使用しており、安全性や経済性の面から不均一系触媒を用いた穏やかな反応条件で本反応を達成できることが望ましい。そこで、50 mM $NaHCO_3$ 水溶液中、O_2 1 MPa 加圧下で担持金属触媒のスクリーニングを行った(Table 4.2)。140 °C、1 時間の反応において、触媒を添加しないと AMEA の転化率は 5%に留まり、目的の AcGly はほとんど得られず、少量の酢酸が副生するのみであった(entry 6)。Ru/C を加えると AMEA は完全に転化し、AcGly を 18 %C (18 %N)の収率で得ることができた(entry 7)。主な副生成物としてはアセトアミド ($AcNH_2$, 31 %C, 62 %N)、ギ酸(FA, 6.6 %C)、酢酸(7.3 %C)であった。Pt/C では転化率 67%、AcGly 収率 11 %C であり、副生成物は $AcNH_2$ (22 %C, 44 %N)、AcOH (6.0 %C)、グリコール酸(GA, 10 %C)であった(entry 8)。Pd/C と Au/C は本酸化反応条件では活性を示さなかった(entries 9, 10)。以上より本系では Ru/C が最も良い活性を示すことが分

かった。つまり計画した通り、NAG から AMEA、AMEA から AcGly という 2 段階の反応が進行することを実証できた。

AcGly の収率向上を目指して反応温度の最適化を行ったところ、120 °C に温度を低下させることにより 21 %C で AcGly を得ることができた(entries 7, 11－13)。このときのルテニウムの TON は 4.3 であった。

反応経路を明らかにするために 120 °C での経時変化を調べた(Fig. 4.5)。AMEA の転化は擬 1 次反応であり、その速度定数は 3.6 h^{-1} であった(Fig. 4.7)。反応初期において AcGly、$AcNH_2$、FA は並行して生成した(Fig. 4.6)。AcGly が生成するための中間体と考えられる 2-acetoamido-acetaldehyde は検出されなかったが、これは中間体の酸化が速いためであると考えられる。AcGly 収率は反応開始 1 時間で最大の 21 %C となり、その後はほとんど減少しなかったことから、AcGly は本反応系中で安定であることがわかった。一方、副生成物に着目すると、反応開始 15 分において $AcNH_2$ と FA の収率はそれぞれ 18 %C、16 %C であった。これはモル比でおよそ 1:2 であることから、1 分子の AMEA (C_4)の C–N 結合が酸化的に切断され、さらにそのフラグメントである 1,2-二置換エタンが迅速に酸化分解し、1 分子の $AcNH_2$ (C_2)と 2 分子の FA ($2\times C_1$)が生成したと推定した。C–N 結合の切断経路について知見を得るため、AMEA および 2-acetoamido-acetaldehyde の 2 位の C－H 結合均一開裂エネルギー(□$H°_{298}$)をそれぞれ CCSD(T)/aug-cc-p-VTZ//B3LYP/6-311++G(d,p)の高精度計算により求めた。その結果 AMEA では 390 kJ mol^{-1} であったのに対し 2- acetoamido-acetaldehyde では 349 kJ mol^{-1} まで大きく減少した。つまりレトロアルドール反応により生成する 2-acetamido-acetaldehyde は 2 位の C－H 結合が酸化されやすく、ヘミアミナールとなることで容易にアルデヒドとアミドに分解すると推察される。この結果は NAG を直接酸化した場合に、AcGly よりもアセトアミドが多く副生していた結果と矛盾せず、妥当性のある経路であると考えられる。$AcNH_2$ は系中で安定であったが、FA は反応時間の経過とともに減少したことからさらに酸化され CO_2 へと分解したと考えられる。

反応機構を明らかにするためにいくつかの対照実験を行った。まず、反応雰囲気をヘリウムに変えたところ、ほとんど反応は進行しなかった。このことから本反応系では分子状酸素が必要であることがわかった。一般的に酸素分子を用いた酸化反応はラジカル的な自動酸化か触媒的な酸化かに分けられる。両者を見分けるために、ラジカル捕捉剤として 2,6-ジ-*tert*-ブチル-*p*-クレゾールとヒドロキノンを、過酸化物の還元剤としてトリフェニルホスフィンをそれぞれ添加した。その結果、反応速度はわずか

に遅くなるのみであり、生成物分布もほとんど変わらなかった。したがって自動酸化は本反応にはほとんど関与しておらず、いずれの酸化反応も Ru/C 触媒により進行しており、触媒的に AcGly が生成していると結論付けた。

Table 4.2 Oxidation of AMEA by supported metal catalysts under O_2 pressure[a]

Entry	Cat.	Temp. /°C	Conv.	Yield /%C					
				AcGly	Glycine	$AcNH_2$	FA[b]	AcOH	GA[c]
6	None	140	5	< 1	< 1	< 1	< 1	4.2	< 1
7	Ru/C	140	> 99	18	< 1	31	6.6	7.3	< 1
8	Pt/C	140	67	11	< 1	32	< 1	6.0	10
9	Pd/C	140	16	< 1	< 1	1.7	1.0	3.6	1.7
10	Au/C	140	25	< 1	1.5	3.5	1.2	3.9	1.7
11	Ru/C	80	47	9.6	< 1	9.3	9.7	2.8	< 1
12	Ru/C	100	77	18	< 1	19	17	4.6	< 1
13	Ru/C	120	97	21	< 1	28	15	6.3	< 1
14[d]	Ru/C	120	12	< 1	< 1	< 1	< 1	1.7	< 1
15[e]	Ru/C	120	85	16	< 1	25	17	5.9	< 1
16[f]	Ru/C	120	87	22	< 1	22	15	6.3	< 1
17[g]	Ru/C	120	81	22	< 1	23	16	5.4	2.6

[a]AMEA 206 mg (2 mmol), catalyst 200 mg, $NaHCO_3$ 2 mmol, water 40 mL, $p(O_2)$: 1.0 MPa at 25 °C, 1 h. [b] Formic acid. [c] Glycolic acid. [d] He 1 MPa instead of O_2. [e] 2,6-Di-*tert*-butyl-*p*-cresol (0.2 mmol) was added. [f] Hydroquinone (0.2 mmol) was added. [g] PPh_3 (0.2 mmol) was added.

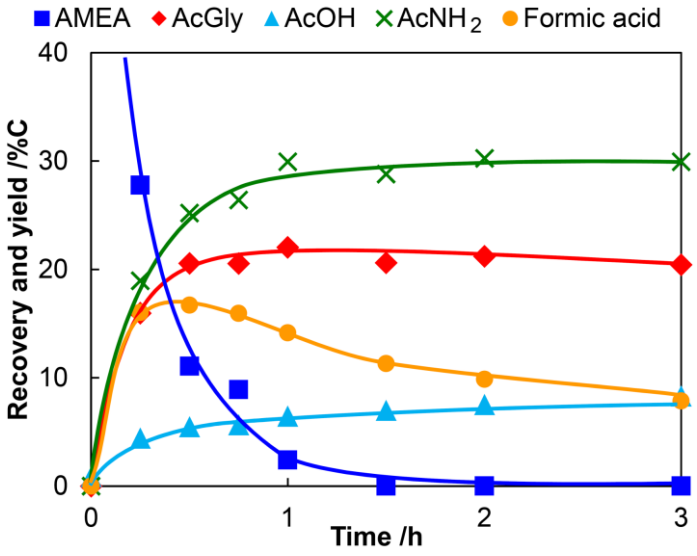


Fig. 4.5 Time course of AMEA oxidation by Ru/C under O_2 pressure at 120 °C.

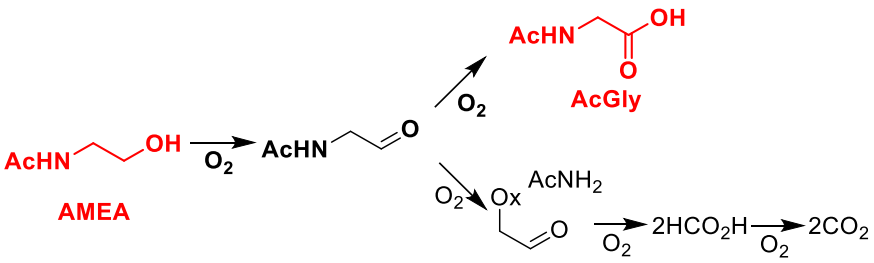


Fig. 4.6 Plausible reaction pathways for the oxidation of AMEA.

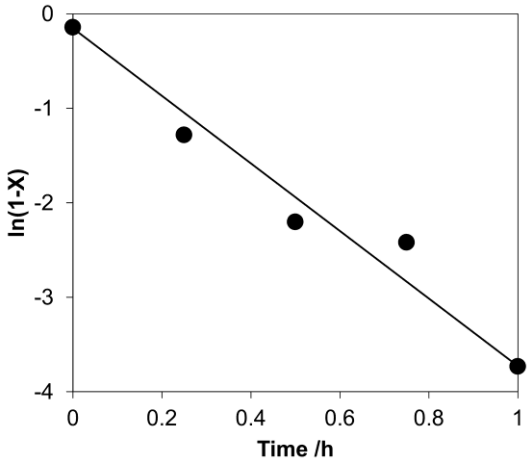


Fig. 4.7 First order plot for the oxidation of AMEA by Ru/C at 120 °C. Reaction time was set to zero when the reactor temperature reached 120 °C. Therefore, the plot does not start from 0 at 0 h.

4.4.5 Ru/C のキャラクタリゼーション

ここまで担持ルテニウム触媒がキチンやNAG を基質とした水素化や酸化反応に高い活性を示すことを示してきた。そこで Ru/C 触媒について、より詳細なキャラクタリゼーションを行った。

まず炭素担体の酸/塩基性に関して、今回使用した活性炭 BP2000 の表面に存在する弱酸性官能基は微量であり(160 μmol g^{-1})[14]、窒素原子を含まないことから塩基点はほとんど存在していない[15]。つまり炭素上の酸/塩基点は反応には影響しないと考えられる。

窒素吸着測定から、ルテニウムの担持前後でいずれも I 型の等温線を示した(Fig. 4.7A)。また、相対圧 0.9 以上の領域での立ち上がりは粒子間隙での毛管凝縮を反映している。Brunauer-Emmett-Teller (BET)比表面積はルテニウムの担持前後で変化はなく

(1300 $m^2 g^{-1}$)、触媒調製過程で活性炭の物理的形状はほとんど変化しないことがわかった。

担持前の活性炭の XRD 測定から、23°と 44°にブロードなピークが見られ、これはアモルファス炭素に由来している(Fig. 4.7B)。ルテニウムを担持しても新たなピークが現れなかったことから、ルテニウム種は高分散に、もしくは非晶質で担持されていることが示唆された。TEM 画像からルテニウム種は 1−3 nm の粒子として担持されており、Sauter 平均粒子径は 2.1 nm と見積もられた(Fig. 4.7C)。このような微小ルテニウム粒子は空気中で室温でも容易に酸化され、また水蒸気を吸収し $RuO_2 \cdot nH_2O$ (n = ca. 2)の形態をとる[16]。ルテニウムが金属ではなくアモルファス状の酸化物として存在するために、XRD でピークが見られなかったと考えられる。

より詳細にルテニウム種の構造を明らかにするために、各種ルテニウムサンプルの Ru K-edge XAFS 測定を行った(Fig. 4.7D)。測定には調製した Ru/C、市販の $RuO_2 \cdot nH_2O$ (n = ca. 2)および金属ルテニウム(Ru black)を用いた。フーリエ変換後の Ru K-edge EXAFS スペクトルで、Ru/C は 1.6 Å および 2.7 Å に大きなピークを与えた。また 2.2 Å にも小さなピークが現れた。これらピークは $RuO_2 \cdot nH_2O$ の標品でも同様にみられたが、金属ルテニウムのピークとは異なる位置であった。Ru/C の主要な 2 つのピークは Ru−O と Ru−Ru とアサインされ、カーブフィッティングの結果から、ルテニウム原子から 2.01 Å の距離に酸素原子が配位数 5.1 ± 1.0 で、3.04 Å の距離にルテニウム原子が配位数 1.2 ± 0.2 で存在していると推定された。Ru−Ru の配位数が小さいことから、炭素上の Ru クラスターのサイズが小さいことを示している。

DFT 計算を用いて、EXAFS の解析結果を満たすような Ru 種の構造について検討した。EXAFS のデータより Ru−Ru の配位数が 1 に近いことから、ルテニウム 2 核錯体をモデルとした。従来提唱されていた構造[16, 17]として、$Ru(OH)_2-(\mu\text{-}O)_2-Ru(OH)_2$ の平面構造に対し、ルテニウム原子のアキシアル位にそれぞれ 2 分子の水が配位した構造を初期構造として仮定した。ここから構造最適化を行ったところ、水分子のプロトンが水酸基や μ-オキソ基に自発的に移動し安定化することが分かった。Fig. 4.7E および F は得られた安定構造の一つを示している。この時の Ru−Ru 間距離は 3.05 Å、Ru−O 間の平均距離は 2.03 Å であった。これは EXAFS で得られた結果をよく再現しており、ルテニウム種の実際の構造はこれによく似たものであると考えられる。

炭素上でルテニウム種がどのような構造で存在しているかは、酸化反応の活性を決める重要なファクターである。Yamaguchi らは、$Ru(OH)_x$ 種に関して、Ru–Ru の配

位数が 1 に近い非常に小さいクラスターの時にアルコールの酸素酸化活性が発現することを報告している[18]。著者が調製した Ru/C も Ru－OH 結合を持ちルテニウムの配位数が小さいために高い酸化活性を示したと考えられる。

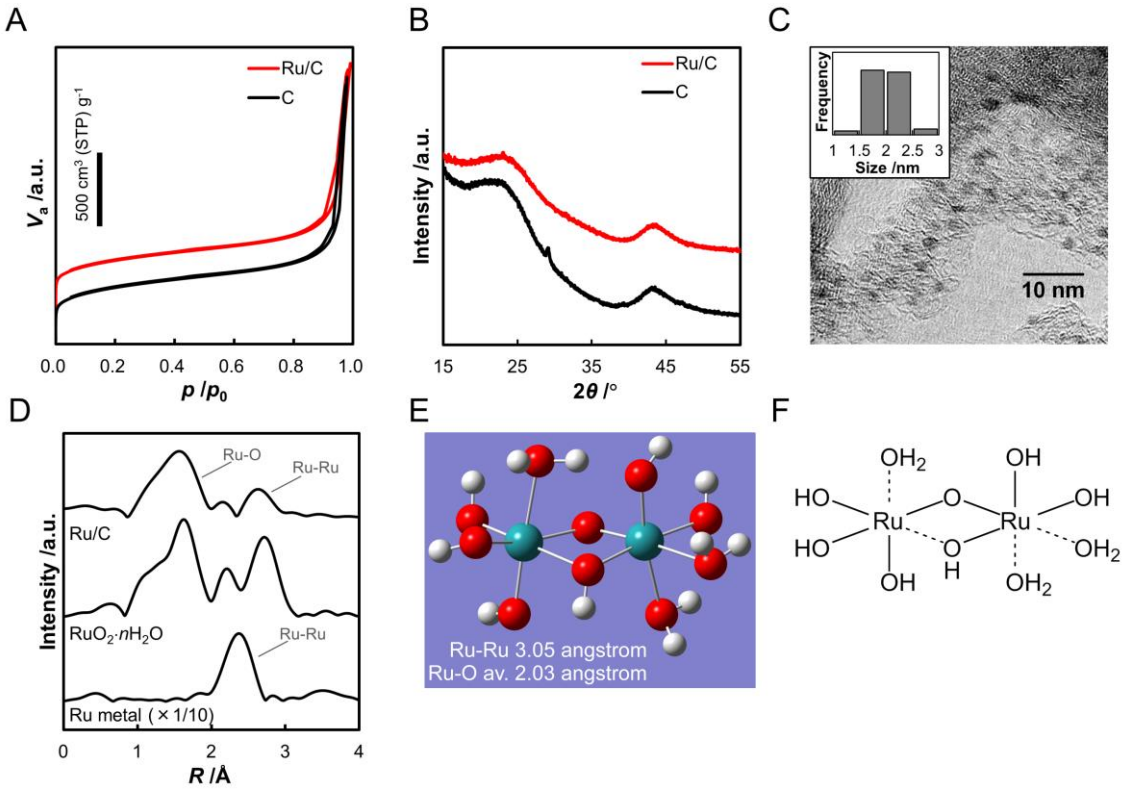


Fig. 4.7 Characterization of 5 wt% Ru/C and related samples. (A) N_2 adsorption isotherms, (B) XRD patterns, (C) TEM image of Ru/C with particle size distribution, (D) Fourier transform of Ru K-edge EXAFS spectra, (E) a possible structure of Ru species on carbon predicted by DFT calculations at the B3LYP-D3/aug-cc-pVDZ-PP (Ru)/6-31+G(d,p) (O, H) level. Blue green: Ru; red: O; white: H, (F) elemental symbol-based representation of the chemical structure of (E). In (A), (B), and (D), baseline is shifted for each sample for better visibility.

4.5 結言

Ru/C 触媒を用いた NAG からの AcGly 合成を目指した。中間生成物としてアルコールである AMEA を経由することで副反応を抑制でき、AcGly の収率を向上することができた。NAG のレトロアルドール反応において、弱塩基である炭酸水素ナトリウムを用いることでアセチル基の脱離を抑えながら C2－C3 間を切断することができた。アセトアミド基の共鳴安定化によりイミン型への異性化が抑制されることで、位置選択的な切断が起こることが DFT 計算により明らかになった。

AMEA の酸化は水素化と同じ触媒および溶媒を使用することができるため、反応雰囲気を水素から酸素に変えるだけで一連の反応を行うことが可能である。酸化反応は触媒的に進行しているが、アセトアミドおよびギ酸の生成が平行して進行することがわかった。

炭素触媒のキャラクタリゼーションの結果から、活性炭上のルテニウム種は RuO_2 の小クラスターであり、一部の Ru－OH が酸化活性に寄与していることが推察された。

4.6 参考文献

[1] Global Glycine Market Report 2018. APEX Market Reports.; https://apexmarketreports.com/Heavy-Industry/Global-Glycine-Market-Report-2018 (accessed December 2018).

[2] Y. Ohmi, S. Nishimura, K. Ebitani, *ChemSusChem* **6**, 2259 (2013).

[3] C. Lee, W. yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **37**, 785 (1988).

[4] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98**, 5648 (1993).

[5] S. Grimme, J. Antony, *J. Chem. Phys.* **132**, 154104 (2010).

[6] K. A. Peterson, D. Figgen, M. dolg, *J. Chem. Phys.* **126**, 124101 (2007).

[7] W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **56**, 2257 (1972).

[8] S. Piccinin, S. Fabris, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **12**, 7666 (2011).

[9] S. Piccinin, A. Sartorel, G. Aquilanti, A. Goldoni, M. Bonchio, S. Fabris, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 4917 (2013).

[10] T. Komanoya, H. Kobayashi, K. Hara, W. -J. Chun, A. Fukuoka, *ChemCatChem* **6**, 230 (2014).

[11] F. D. Bobbink, J. Zhang, Y. Pierson, X. Chen, N. Yan, *Green Chem.* **17**, 1024 (2015).

[12] F. H. Allen, O. Kennard, D. G. Watson, L. Brammer, A. G. Orpen. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* (1987).

[13] P. Hu, Y. Ben-David, D. Milstein, *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 6143 (2016).

[14] H. Kobayashi, A. Fukuoka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **91**, 29 (2018).

[15] Z. P. Li, Z. X. Liu, K. N. Zhu, Z. Li, B. H. Liu, *J. Power Sources* **219**, 163 (2012).

[16] T. Komanoya, H. Kobayashi, K. Hara, W. -J. Chun, A. Fukuoka, *Appl. Catal. A* **407**, 188 (2011).

[17] D. A. McKeown, P. L. Carette, A. E. Russell, K. E. Swider, D. R. Rolison, *J. Phys. Chem. B* **103**, 4825 (1999).

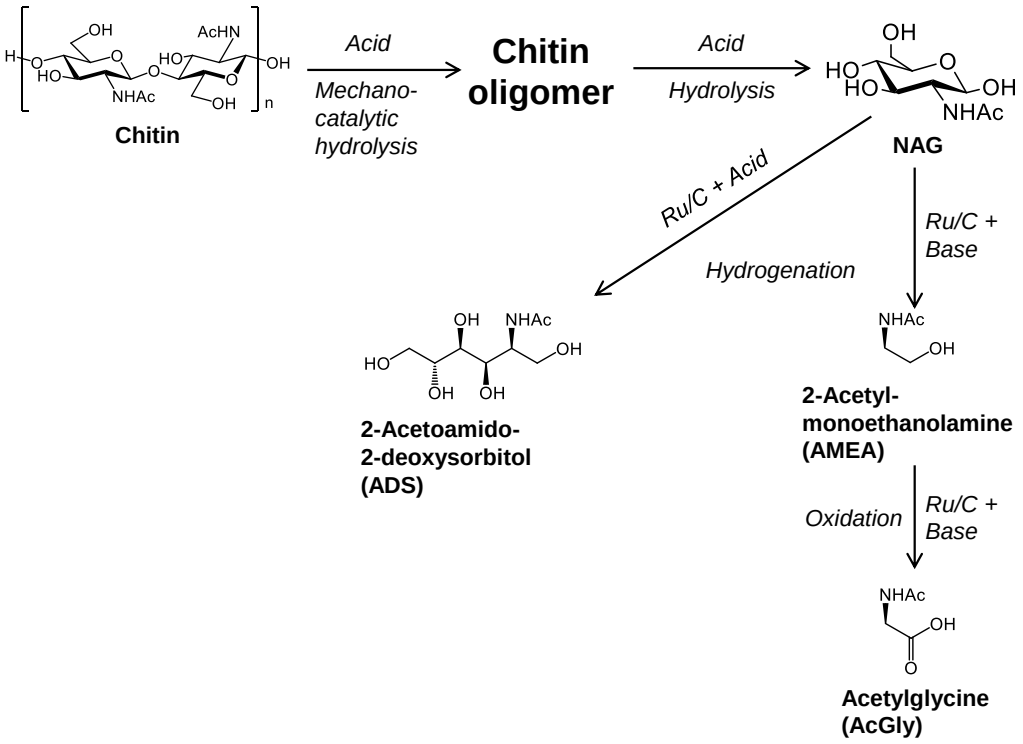
[18] K. Yamaguchi, J. W. Kim, N. Mizuno, *J. Catal.* **268**, 343 (2009).

第 5 章　総括

本研究を以下のように総括する。

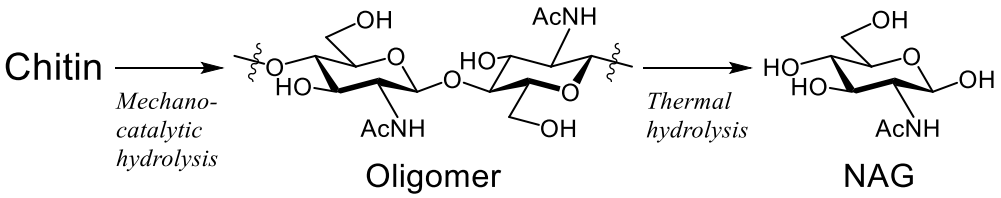
第 1 章「序論」では、研究の背景を述べ、意義と目的を明らかにした。限りある石油資源への依存から脱却するため、再生可能な資源であるバイオマスの有効利用が望まれる。*N*-アセチルグルコサミン(NAG)のポリマーであるキチンはカニの甲羅などに含まれ、セルロースに次ぎ地球上で二番目に豊富に存在するバイオマスである。キチンはセルロースの 2 位の水酸基がアセトアミド基に置き換わった構造を持つ天然高分子である。そのため、キチンを利用できればこれまでのバイオマス利用ではほとんど検討されてこなかった再生可能窒素化学品への道が開けると期待されるが、現在はキチンの 99 %以上が廃棄されており、残りの用途も健康食品などに限られている。これはキチンの単量体への効率的な分解方法が確立されていないためである。

著者は様々な触媒プロセスを組み合わせることによりこれらの問題点の解決を目指した。キチンのアセトアミド基は水中で容易に加水分解されアミノ基になるが、アミン存在下で糖化合物を加熱するとメイラード反応などの副反応を起こすため、選択的なキチン変換のためには脱アセチル化の抑制が鍵となる。そこで触媒を用いた多段階の反応でキチンを穏やかな条件で転換していくことでこれを達成しようと検討した。



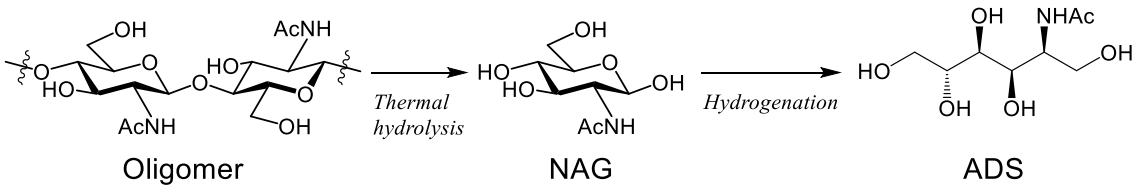
Shceme 5.1 Synthesis of various *N*-containing chemicals from chitin using catalytic processes.

第 2 章「機械的加水分解によるキチンからのキチンオリゴマーおよび NAG の高収率合成」では、酸と機械的な力を利用したキチンの加水分解について述べた。キチンは強固な結晶構造を有し反応性が低いが、少量の酸触媒とボールミルの機械的な力を組み合わせることで部分的な加水分解が進行し、水に不溶であるキチンを水溶性のオリゴマーに変換できることを見出した。これを機械的加水分解と名付けた。本法の特徴として、基質選択的な加水分解が可能である。キチンにはグリコシド結合とアミド結合が含まれているため、従来の熱水中での加水分解ではアミドの加水分解も併発してしまう。一方で、ボールミルによる機械的な力は長い分子鎖に対して張力として働くため、その結節点であるグリコシド結合に力が加えられる一方、NAG ユニット内に存在するアミド結合には大きな力は加わらない。そのため、アセチル基を残したままキチンを加水分解することが可能である。触媒量の硫酸を用いて機械的加水分解を行うことによりキチンから水溶性のオリゴマーが約 80 %C の収率で得られた。さらにこのオリゴマーを 175 °C の熱水中で短時間処理することで、キチンの単量体である NAG を炭素収率 61 %C で得た。硫酸の触媒回転数 TON は 2.4 であり、現行の塩酸法での TON 0.009 に比べ、飛躍的に酸の利用効率を高めることができた。



Scheme 5.2 Hydrolysis of chitin to oligomer and NAG

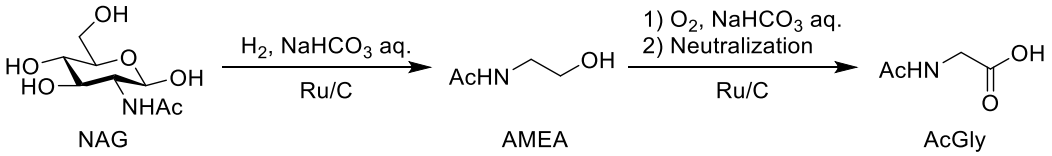
第 3 章「キチンオリゴマーからの含窒素糖アルコール合成」では、NAG 以外のキチンの新たな誘導体として含窒素糖アルコールである 2-アセトアミド-2-デオキシソルビトール(ADS)の合成について述べた。セルロース由来の糖アルコールであるソルビトールは甘味料や医薬品原料、プラスチック原料などに利用されており、ADS でも同様に、ポリアミドといった高付加価値の化成品用途の展開が期待できる。機械的加水分解により反応性が向上したキチンオリゴマーを利用し、担持ルテニウム触媒を用いて加水分解水素化することで、ADS の高収率合成を目指した。様々な反応条件を検討した結果、1 ステップでの加水分解および水素化では ADS 収率は最大でも 25 %C に留まった。セルロースの反応に比べて選択性が著しく低く、アセトアミド基がオリゴマーの反応性に大きく影響を与えていることが示唆された。ADS の収率を向上させるため、加水分解と水素化の工程を分け、それぞれを最適化した。その結果、pH 2、175 °C の高温条件で NAG を収率 61%で得たのちに、溶液を精製することなく、pH 3、120 °C の低温条件で水素化を行うことにより ADS を通算収率 52 %C で合成できた。水素化工程における担持ルテニウムの TON は 19 であり、触媒反応によるグリーンなプロセスでのキチンからの ADS 合成を達成した。



Scheme 5.3 Hydrolytic hydrogenation of chitin oligomer

第 4 章「NAG からのアミノ酸合成」では、NAG の塩基性条件下でのレトロアルドール反応と水素化反応により、N-アセチルエタノールアミン(AMEA)が得られ、さらに AMEA を酸素で酸化することで標準アミノ酸保護体であるアセチルグリシン(AcGly)が合成できることを述べた。グリシンは食品添加物や農薬、化粧品などに利

用される基幹原料であり、世界的に大量に利用されている化合物である。現行のグリシンの工業的な製法はストレッカー法やヒダントイン法であるが、どちらもシアン化合物やアンモニアといった毒劇物を原料に使用している。そのためキチン由来の NAG から無害な反応剤を用いてアミノ酸を合成することができれば、より環境に調和したプロセスとすることができる。予備検討から 1 段階での NAG からの直接アミノ酸合成では脱アセチルや脱アミドといった副反応を抑制することが困難であり、レトロアルドール反応と酸化反応を分けて検討する必要があった。反応条件を検討した結果、NAG を炭酸水素ナトリウム水溶液中、担持ルテニウム触媒によって 120 ℃ で水素化することにより、アセチル基の脱離を抑制しながら AMEA を収率 15 %C で合成できることが分かった。類似構造を持つグルコースで同様の反応を行ったところ炭素鎖の切断位置の選択性に差があることが分かった。これは、NAG がそのままレトロアルドール反応を受けるのに対し、グルコースはフルクトースに異性化した後に反応しやすいためである。この反応性の違いの起源を解明するため DFT 計算により検討した結果、グルコースのフルクトースへの異性化に相当する NAG のイミンへの異性化がエネルギー的に不利であることが分かった。さらに、この差がアセトアミド基の共鳴安定化の喪失に起因することを明らかにした。AMEA の酸化反応は、水素化と同じ炭酸水素ナトリウム水溶液および担持ルテニウム触媒を用いて行うことができ、AcGly を最大で収率 21 ¥%C で合成することができた。水素化とは溶媒と触媒が共通しており、反応雰囲気を変えるだけで NAG から AcGly までの一連の反応を行うことができることを見出した。



Scheme 5.4 Conversion of NAG to AcGly via AMEA over Ru/C.

本論文の意義を以下に示す。キチンは甲殻類の外骨格に多く含まれており、セルロースに次いで大量に存在するバイオマスであるうえ、分子内に窒素を含有している。したがって、キチンは再生可能含窒素化学品原料として期待されるが、現行法ではキチンの分解のために大量の濃塩酸や酵素を用いる必要があり環境負荷が大きい。本博士論文では、環境に調和した触媒反応プロセスによるキチンの分解および利用法を提

案した。まずキチンに機械的加水分解を適用することで、酸の使用量を大幅に減らしつつ、グリコシド結合を選択的に切断することが可能になり、水溶性のオリゴマーが得られた。このオリゴマーを中間体として用いることによりさらなる変換反応への適用が容易になり、実際に加水分解による単糖の合成、水素化による含窒素糖アルコールの合成、レトロアルドール反応・水素化によるモノエタノールアミン誘導体の合成、その酸化によるアミノ酸の合成を実現した。これらはいずれもキチンを化学品として効率的に利用するための触媒を利用した新規反応である。さらに本研究を通じて NAG に含まれるアセトアミド基の反応への影響を詳らかにしている。これら一連の知見は、キチンを含窒素化学品原料として利用するための基盤であり、これによりキチン変換の研究が発展していくことを著者は確信している。

研究業績目録

1. 論文(学位論文関係)

(1)Hirokazu Kobayashi, Kota Techikawara, Atsushi Fukuoka: “Hydrolytic hydrogenation of chitin to amino sugar alcohol”, *Green Chemistry*, **19**, 3350-3356 (2017)

(2)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Conversion of *N*-Acetyl-glucosamine to Protected Amino Acid over Ru/C Catalyst”, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **6**, 12411-12418 (2018)

2. 論文(その他)

(1)Mizuho Yabushita, Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka, Alexander Katz:“Zeolite-Templated Carbon Catalysts for Adsorption and Hydrolysis of Cellulose-Derived Long-Chain Glucans: Effect of Post-Synthetic Surface Functionalization”, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **4**, 6844-6851 (2016)

(2)Hirokazu Kobayashi, Hiroyuki Kaiki, Abhijit Shrotri, Kota Techikawara, Atsushi Fukuoka: “Hydrolysis of woody biomass by a biomass-derived reusable heterogeneous catalyst”, *Chemical Science*, **7**, 692-696 (2016)

3. 講演(学位論文関係)

(1)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Hydrolytic hydrogenation of chitin by solid catalyst”, The 3rd International Symposium on Ambitious Leader’s Program Fostering Future Leaders to Open New Frontiers in Materials Science (November 2015, Sapporo)

(2) 鉄地河原浩太, 小林広和, 福岡淳: "キチン加水分解水素化による含窒素糖アルコール合成", 第 118 回触媒討論会(2016 年 9 月, 盛岡)

(3)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Hydrolytic hydrogenation of chitin to *N*-containing sugar alcohol”, Joint symposium between JKU and HU (February 2017, Linz)

(4)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Three-step conversion of chitin to *N*-containing alcohol”, 16th Korea-Japan Symposium on Catalysis and 3rd International Symposium of Institute for Catalysis (May 2017, Sapporo)

(5)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Hydrolytic hydrogenation of chitin to *N*-containing polyols”, EUROPACAT2017-13th European Congress on Catalysis (Augast 2017, Florence)

(6) 鉄地河原浩太, 小林広和, 福岡淳: "キチンからの含窒素糖アルコール合成", 第 120 回触媒討論会(2018 年 9 月, 愛媛)
(7)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka: “Catalytic conversion of *N*-containing sugar alcohol from chitin”, The 8th Tokyo Conference on Advanced Catalytic Science and Technology (August 2018, Yokohama)
(8) 鉄地河原浩太, 小林広和, 福岡淳: "C-C 結合切断と酸化による *N*-アセチルグルコサミンからのアミノ酸合成", 第 118 回触媒討論会(2019 年 9 月, 函館)

4. 講演(その他)
(1)Kota Techikawara, Hiroyuki Kaiki, Hirokazu Kobayashi, Kenji Hara, Atsushi Fukuoka:“Hydrolysis of biomass by carbon catalyst”, The 7th Tokyo Conference on Advanced Catalytic Science and Technology Pre-symposium (May 2014, Shiretoko)
(2)Kota Techikawara, Hiroyuki Kaiki, Hirokazu Kobayashi, Kenji Hara, Atsushi Fukuoka:“Hydrolysis of raw biomass by air-oxidized carbon catalyst”, CRC International Symposium: Novel Photocatalysts for Environmental Purification and Energy Generation (October 2014, Sapporo)
(3)Kota Techikawara, Hiroyuki Kaiki, Hirokazu Kobayashi, Kenji Hara, Atsushi Fukuoka: “Depolymerization of raw biomass by air oxidized carbon catalyst”, The 2nd International Symposium on Ambitious Leader’s Program Fostering Future Leaders to Open New Frontiers in Materials Science (November 2015, Sapporo)
(4)Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Hiroyuki Kaiki, Atsushi Fukuoka: “Hydrolysis of woody biomass by air-oxidized carbon catalyst”, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (December 2015, Honolulu)
(5)Mizuho Yabushita, Kota Techikawara, Hirokazu Kobayashi, Atsushi Fukuoka, Alexander Katz: “Unique Microporous Catalysts for Upstream Biorefinery Processes: Metal-Organic Framework (MOF) and Zeolite-Templated Carbon (ZTC)”, 252nd ACS National Meeting and Exposition (August 2016, Philadelphia)

謝辞

触媒科学研究所物質変換研究部門の福岡淳教授には、研究室に配属された当初より熱心なご指導を賜りました。深く感謝いたします。非常に恵まれた実験環境を与えて下さり、日々の研究生活の中で非常に多くのことを学ばせていただきました。時に厳しい口調で指導を受けることもありましたが、私のためを思って本気で向き合って下さったためであると受け止め、心に留めておきたいと思います。これまでの 6 年間のこと、厚くお礼申し上げます。

同部門の中島清隆准教授には、ディスカッション等を通して多くの知見を賜りました。グループミーティングでの厳しくも優しい質問には助けられることが多く、この 4 年間で非常に勉強になりました。グループミーティングでは大局観にあふれた質問をたくさんしていただき、いつも考えさせられていました。深く感謝いたします。

同部門の小林広和助教には、研究方針や実験手法および結果等に対して、非常に多くのご意見・ご助言を賜りました。キチン分解のテーマ設定や実験の進め方、報告書作成といった研究生活全般に関して、日々多くのご助言頂けたことを深く感謝いたします。6 年間、最も近くで指導していただき、身についた能力のほとんどは小林助教から学ばせていただいたといっても過言ではありません。そのおかげで、研究では扱わなかったにも関わらず、気相反応用の装置を作ることができるようになりました。

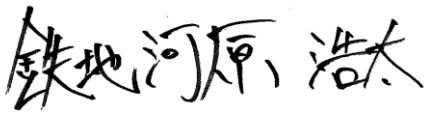
総合化学院材料化学工学研究室の向井紳教授、物質化学研究室の佐田和己教授、触媒科学研究所触媒理論研究室の長谷川淳也教授には本論文の査読および各審査会において様々なご意見を頂きました。頂いた多くのご意見により博士論文の質を向上することができました。この場を借りて御礼申し上げます。

触媒科学研究所研究支援技術部の皆様には各種測定や実験装置の作成・修理などで非常にお世話になりました。特に金属工作室技術職員の向井慎吾さんには工作機械の指導や装置の改良についてのディスカッションなどでお世話になりました。もともとモノ作りは好きでしたが、さらに技術を向上させることができました。またコーヒーを飲みながら色々な相談をさせてください。

修士課程からは北海道大学物質科学フロンティアを開拓する Ambitious リーダー育成プログラム(ALP)による学習及び金銭的な支援を受けることができました。ALP に参加したことで、異なる専門分野についての知見や多くの仲間ができ、充実した学生生活を送ることができました。

また、普段の生活を共に過ごしてきた福岡研究室の皆様には、研究室に配属された当初より、同学年の学生がいないことが気にならないほど、非常に多くのことを学ばせて頂きました。皆様の支援により、これまでの 6 年間を楽しく過ごせましたことを深く感謝いたします。

最後に、これまでの人生を支えて頂いた家族の皆様に、深く感謝いたします。

2019 年 2 月

北海道大学大学院 総合化学院 総合化学専攻
北海道大学触媒科学研究所 物質変換研究部門