

セルロースの加水分解反応の検討

阿久津 浩・古瀬 愛実・武部 志帆・坪野 玲巳・山田 洋一

宇都宮大学教育学部教育実践紀要 第5号 別刷

2018年8月3日

セルロースの加水分解反応の検討[†]

阿久津 浩*・古瀬 愛実*・武部 志帆*・坪野 玲巳*・山田 洋一**

栃木県立宇都宮女子高等学校*

宇都宮大学教育学部**

セルロースからグルコースなどの還元糖への、簡便な加水分解法について研究した。定性分析用紙を細かく刻んだものをセルロース試料として用いた。このセルロース試料を希硝酸中に加え、サリチル酸系触媒を加えた後、120℃で1時間加熱し、加水分解した。得られた還元糖の確認と定量は、ベネジクト反応による呈色を利用した検量線によった。検討した中では、*p*-ヒドロキシ安息香酸 (4-ヒドロキシ安息香酸)、*m*-ヒドロキシ安息香酸 (3-ヒドロキシ安息香酸) が触媒として良好なことが、初期の成果としてわかった。

キーワード：セルロース、加水分解 エネルギー、環境問題

1. はじめに

セルロースの加水分解反応は、エネルギー・環境問題の解決方策として重要な位置を占めている。

一つは、石油などの化石燃料の枯渇を見据えた、再生可能エネルギーとしてのバイオエタノール製造技術としてである。バイオエタノールは、すでにガソリンの代替としての利用実験が進められている。

植物体からグルコースを経てバイオエタノールへの変換を行うものとして、歴史的には、小麦、サトウキビ、トウモロコシなどのデンプンを加水分解してグルコースを得る技術が先に開発されている。デンプンの加水分解は容易だからである。しかしながら、食料として市場に供給される農産物を原料としている点で、新エネルギー開発が新たな食料不足を招きかねないという懸念がある。

そこで、デンプンに替えて、ヒトには消化することができないセルロース (植物の構造体) を出発物質として、その加水分解を行えば、食料生産とエネ

ルギー開発の競合を避けることができる。

第二は、地球温暖化防止対策上、温室効果ガスとして大きな影響のある二酸化炭素の新たな発生を抑える技術としてである。石油、天然ガスなどの化石燃料は、有機化合物の宿命として、燃焼によって二酸化炭素と水に変わる。

植物が産するデンプンやセルロースは、元々植物が生長する過程で取り込まれた二酸化炭素と水が形を変えたものである。したがって、デンプンやセルロースを基に製造したバイオエタノールであれば、燃焼後に発生する二酸化炭素は、生長過程で植物が取り込んだ二酸化炭素量に等しい (この考え方を、カーボン・ニュートラルという)。少なくともバイオエタノールを燃料として消費する過程では、地球上に新たに排出される二酸化炭素は無いのである。

それでは、デンプンよりも加水分解しにくいセルロースをどのようにして加水分解し、効率よくグルコースをつくるか。これが現代的な課題である。単糖類であるグルコースが得られれば、後は普通のアルコール発酵の経路でエタノールに変換できる。

このような背景の下、平成28年度栃木県立宇都宮女子高等学校のSSH課題研究のテーマとして、我々はセルロースの加水分解を簡便に、効率よく行う方法について研究し、初期の成果が得られたので、ここに報告する。

2. 実験方法

(1) 還元糖の定量方法

[†] Hiroshi AKUTSU*, Manami FURUSE*, Shioh TAKEBE*, Remi TSUBONO*, and Yoichi YAMADA**: A Basic Study of the Hydrolysis of Cellulose to Produce Reducing Sugar, such as Glucose

Keywords: Cellulose, Hydrolysis, Energy, Environmental Problem

* Tochigi Prefectural Utsunomiya Girls' High School

** School of Education, Utsunomiya University (e-mail: yamadayo@cc.utsunomiya-u.ac.jp Y.Y**)

まず始めに、セルロースの加水分解により生成する還元糖の定量方法について検討した。濃度0.100 mol/L (以下、Mと記す)のグルコース水溶液を原液とし、希釈することにより0.050, 0.040, 0.030, 0.020, 0.010, 0.005, 0.004, 0.003, 0.002, 0.001 Mのグルコース水溶液を調製した。それぞれの水溶液各2mLを試験管にとり、ベネジクト液150 μ Lを加えた後、約60 $^{\circ}$ Cの恒温水槽 (Figure 1) 中で一定温度に保つ。ベネジクト反応が陽性 (赤褐色沈殿) になるまでの時間を測定した結果をFigure 2に示す。



Figure 1. The Thermostatic Water Bath (for Benedict's Reaction)

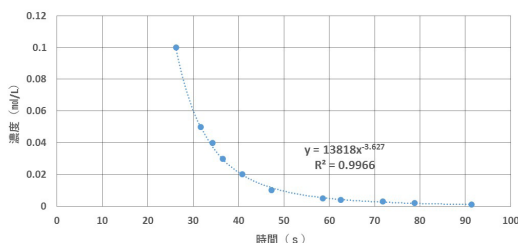


Figure 2. The Reaction of Cellulose with Benedict's Reagent

Figure 2で、横軸はベネジクト反応に要した時間 (s)、縦軸はグルコースの初期濃度 (mol/L) である。この結果から近似曲線の方程式、

$$Y = 13818X^{-3.627} \quad (R^2=0.9966) \quad \text{式 (1)}$$

が得られた。0.100から0.005Mの濃度領域では、検量線として精度良く使えると判断した。

(2) セルロース加水分解の方法

定性分析用ろ紙 (TOYOろ紙 No. 2) 0.20gを細かく刻んだものを、セルロース試料として用いた。このセルロース試料を1M-硝酸10 mL中に加え、サリチル酸系触媒0.01gを加えた後、Figure 3のようにオイルバス中、120 $^{\circ}$ Cで1時間、加熱攪拌する。

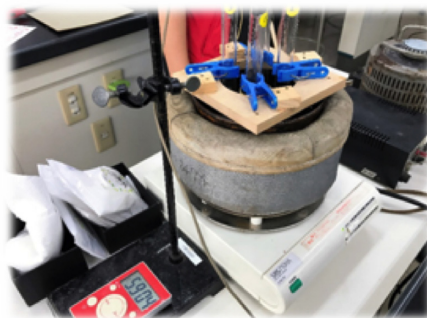


Figure 3. The Thermostatic Oil Bath

その後放冷し、室温になってから上澄み液5mLを試験管に移し、飽和炭酸ナトリウム水溶液を加えて中和する。その後、前述の方法でベネジクト反応に要する時間を測定した。サリチル酸系触媒としては、サリチル酸 (2-ヒドロキシ安息香酸)、*m*-ヒドロキシ安息香酸 (3-ヒドロキシ安息香酸)、*p*-ヒドロキシ安息香酸 (4-ヒドロキシ安息香酸)の3種類と、対照として安息香酸を用いた (Figure 4)。

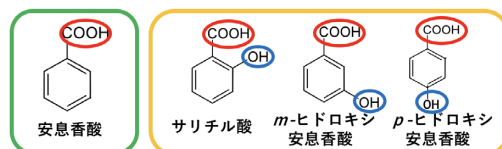


Figure 4. Salicylic Acid and Related Compounds as Hydrolytic Catalyst

3. 実験結果及び考察

ベネジクト反応に要する時間 (s) と、それを式 (1) にあてはめて求めた還元糖のモル濃度をTable 1に示した。Figure 5は、Table 1で示したそれぞれの還元糖の濃度をグラフ化したものである。どちらも2回ずつ行った実験結果と、その平均値を示している。

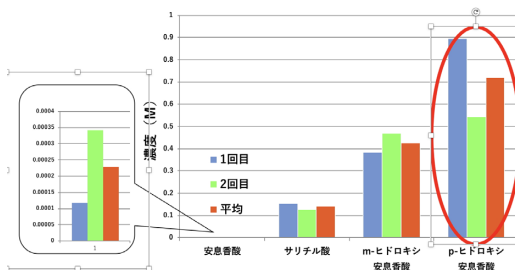


Figure 5. Reaction of Cellulose Catalyzed by Salicylic Acid and Related Compounds

Table 1. Reaction of Cellulose Catalyzed by Salicylic Acid and Related Compounds

		1 回目	2 回目	平均
安息香酸	時間	169.00	125.56	147.28
	濃度	0.00012	0.00034	0.00023
サリチル酸	時間	23.11	24.50	23.81
	濃度	0.15492	0.12546	0.14019
<i>m</i> -ヒドロキシ 安息香酸	時間	18.00	17.00	17.50
	濃度	0.38230	0.47002	0.42616
<i>p</i> -ヒドロキシ 安息香酸	時間	14.22	16.33	15.28
	濃度	0.89564	0.54313	0.71939

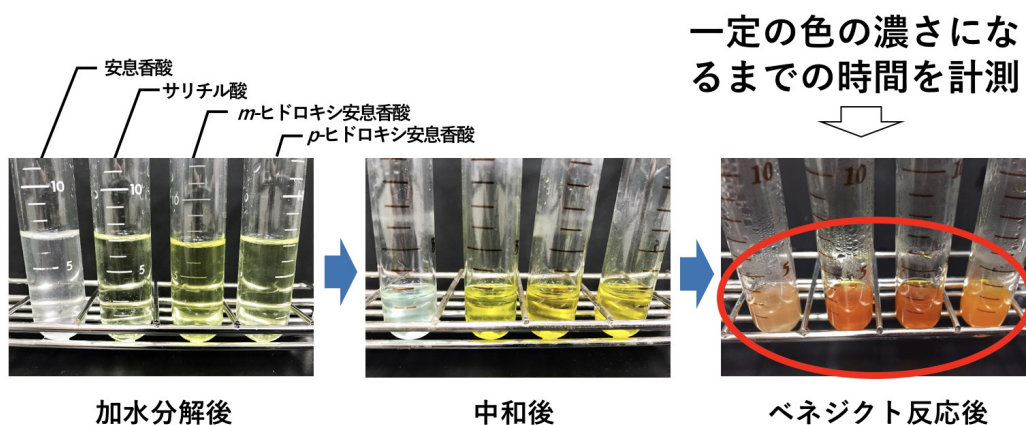


Figure 6. The Photos of Reaction Solutions, such as After Hydrolysis(Left), After Neutralization (Center), and After Benedict's Reaction(Right)

(1) 触媒の比較

ヒドロキシ基 (OH) を持たない安息香酸では、ほとんど反応は進行しない。それに対して安息香酸の *o*-, *m*-, 及び *p*- 位にヒドロキシ基を有するサリチル酸 (2-ヒドロキシ安息香酸), *m*-ヒドロキシ安息香酸 (3-ヒドロキシ安息香酸), *p*-ヒドロキシ安息香酸 (4-ヒドロキシ安息香酸) ではいずれも加水分解し、主としてグルコースと考えられる還元糖を生成した。Table 1 及び Figure 5 のように、*p*-ヒドロキシ安息香酸 (4-ヒドロキシ安息香酸) では2回の結果にばらつきはあるものの、触媒効果は、サリチル酸 < *m*-ヒドロキシ安息香酸

< *p*-ヒドロキシ安息香酸の順に増大する傾向が読み取れる。

Figure 6 は、セルロースの加水分解直後 (左)、飽和炭酸ナトリウム水溶液中で中和したところ (中)、及びベネジクト液による反応陽性 (右) の写真である。

Figure 6 ベネジクト液による反応陽性 (右) の写真で、最も左の安息香酸触媒による実験結果でも、ベネジクト反応はかろうじて (オレンジ色) 陽性と判断できる。ただし、ここまでの所要時間は長く、濃度に換算すると、Figure 5 左の吹き出し図のようにヒドロキシ酸触媒のものに比べて3桁ほど小さくなってしまふ。

したがって、この反応の触媒としては、ヒドロキシ芳香族カルボン酸であることが高活性の条件であると考えられる。

(2) 実験の精度

前節で述べたように、本報で検討した生成物の検出・定量法は、還元糖のベネジクト反応による呈色を利用し、グルコース濃度とベネジクト反応に要する時間との関係から作成した検量線 (Figure 2) を用いている。一つ目の問題点は、ベネジクト反応の終了点を目視により決めている点に不確実さが有る

ことである。Figure 2においてグルコース濃度が0.005 M以上あれば、ベネジクト反応が明確に現れるので目視判定が容易だが、それ以下の濃度では、反応による呈色が弱く、反応終了の見極めを困難にする。

このことは、Table 1及びFigure 5に示したセルロース加水分解生成物の確認と定量にも影響している。反応収率の良くない安息香酸触媒を用いたケースでは、前述のように微量の生成物をかろうじて検出している。本報の条件では、ベネジクト反応に要する反応時間は、Table 1に示したように最短14秒 (β -ヒドロキシ安息香酸1回目)、最長169秒(安息香酸1回目)であった。検量線(Figure 2)のグルコース濃度0.100 Mから0.005 Mの上限と下限に対応するベネジクト反応の所要時間は、26秒(上限)か

ら60秒(下限)である。安息香酸では下限を大幅に下回っており、その他の酸では上限をやや上回っているが、それぞれ、関係式(1)より外挿している。

もう一点、Figure 2の検量線を適用する上での課題は、セルロースの加水分解生成物が単糖のグルコースのみではないことである。一般に、グルコースに分解される前の二単糖であるセロビオースやその他のオリゴ糖の段階のものが共存するのが普通である。ベネジクト反応は、還元糖による酸化銅(I) Cu_2O の生成を見る呈色反応なので、セロビオースやその他のオリゴ糖であっても、糖の C_1 炭素がフリーであり、アルデヒド型になり得るものならば、陽性を示す。したがって、セルロースの加水分解生成物として還元性を有する少糖類の総和としての還元性に対応して、赤褐色に呈色していることに注意

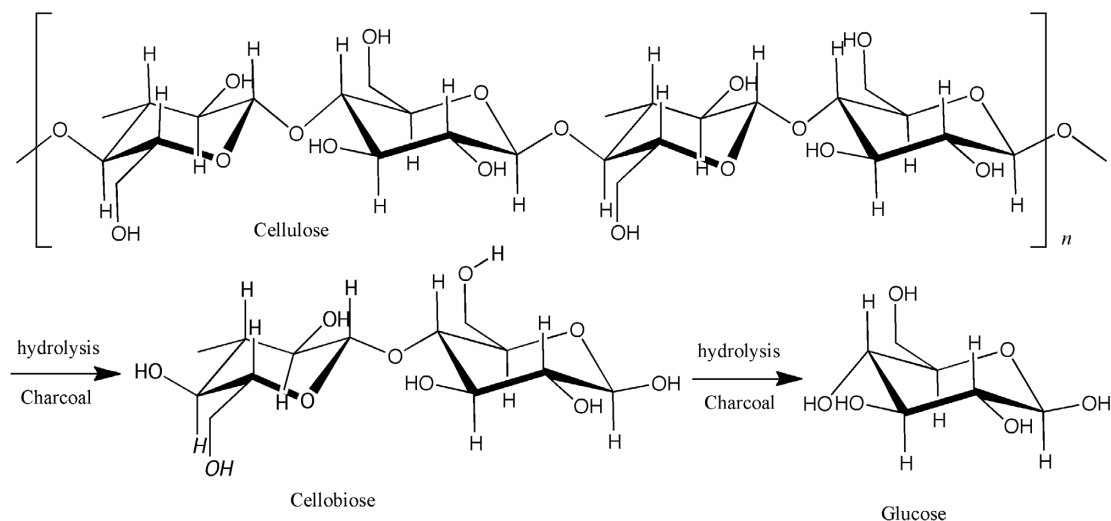


Figure 7. Intensive Hydrolysis of Cellulose Catalyzed by Charcoal [1]

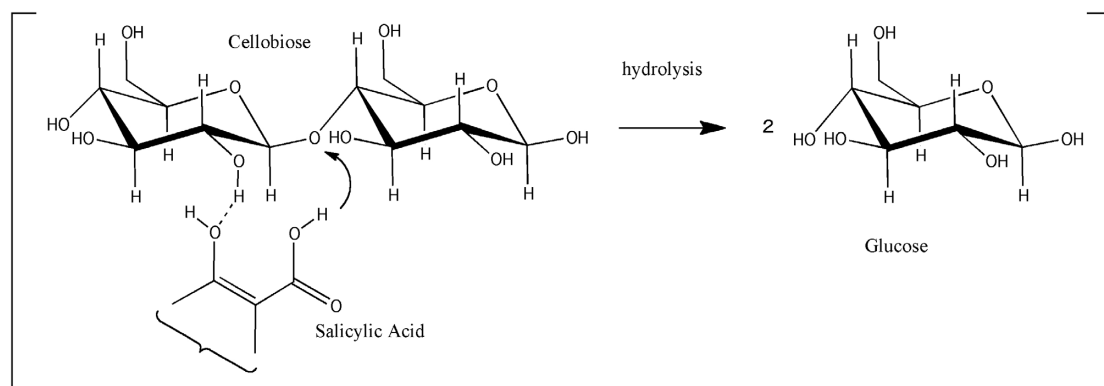


Figure 8. Presumed Reaction Mechanism of the Hydrolysis [1]

を要する。

このような実験精度上の問題点はあるものの、Table 1及びFigure 5に示した*p*-及び*m*-ヒドロキシ安息香酸の触媒としての高活性は、検討に値するものと思われる。

4. 他の研究との比較

文献調査により、(1)セルロースの加水分解反応にはアルカリ賦活炭という活性炭触媒が有功に作用すること (Figure 7)、(2)モデル反応としてのセロピオースの加水分解反応では、サリチル酸が同族化合物のヒドロキシ安息香酸よりも高い活性を示すこと (Figure 8)、の二点が報告[1]されていることを知った。活性炭としては、表面に酸素官能基(-OH、-COOH など)の構造を持つものに触媒活性が高いとされていた。

そのことから、フェノール性ヒドロキシ基や芳香族カルボキシ基の水素結合による親和性と、酸触媒としての攻撃性を仮定した活性炭触媒の作用メカニズムが推定されている。

しかしながら、この報告の主旨は固体触媒である活性炭の加水分解触媒作用の高機能化であり、本報の方法のようにサリチル酸や同族のヒドロキシ安息香酸そのものをセルロースの加水分解触媒として、活性炭に置き換えて検討することは行われていなかった。

したがって、本報の*p*-及び*m*-ヒドロキシ安息香酸のセルロース加水分解触媒としての作用メカニズムは、Figure 8のセロピオースの加水分解で好成績であったサリチル酸の作用メカニズムとは違うことが示唆される。

フェノール性ヒドロキシ基と芳香族カルボキシ基が近接部位にあるか、離れた位置にあるか、という違いであるが、固体表面の反応ではなく、水溶液中の反応であれば、必ずしも近接部位、あるいは同一分子内に存在することは必須条件ではないのかも知れない。

5. おわりに

本研究は、平成28年度栃木県立宇都宮女子高等学校のSSH課題研究の一つとして行われたものである。用いた器具や試薬は、高校の理科実験室にあるものを使用している。

科学的な正確さや精密さは犠牲にしているが、本

研究によりヒドロキシ芳香族カルボン酸類がセルロース加水分解の有望な触媒となる可能性が見出された。特殊な装置や試薬を用いていないので、高校での課題研究としてさらに展開する余地があろう。

現在のところ、加水分解反応自体は、120℃で1時間攪拌する方法のみを検討したが、上述のように有望な触媒化合物が見つかったので、反応時間の短縮が検討課題である。

最終生成物であるグルコースの定量法としては、ベネジクト反応による呈色利用の他に、ベネジクト反応で生成する酸化銅 (I) Cu₂Oを微量ろ過装置でろ別し、その質量とグルコース濃度との相関を検量線に利用する方法や、酸化還元滴定によって直接還元糖の濃度を求める方法が考えられる。

本研究は、平成26-29年度科学研究費補助金「基盤研究 (C)」により経費支援を受けて実施した。

6. 参考文献

(最終アクセス2018年3月30日)

[1] 小林 広和, 科学研究費助成事業 研究成果報告書, 炭素触媒による植物バイオマスの有用化学品への変換 (2013) .

<https://kaken.nii.ac.jp/file/KAKENHI-PROJECT-23760734/23760734seika.pdf>

平成30年3月30日 受理

A Basic Study of the Hydrolysis of Cellulose to Produce Reducing Sugar, such as Glucose

Hiroshi AKUTSU, Manami FURUSE, Shiho TAKEBE, Remi TSUBONO,
and Yoichi YAMADA