

戦略的創造研究推進事業(ALCA)
技術領域(プロジェクト名)「ホワイトバイオテクノロジー」
課題名「海洋微生物酵素群によるリグニン分解高度化と人工漆材料への展開」

終了報告書

研究開発期間 平成27年10月～令和2年3月

研究開発代表者：大田ゆかり
(群馬大学食健康科学教育研究センター、講師)

○報告書要約（和文）

研究開発代表研究者：群馬大学 講師 大田 ゆかり

研究開発課題名：海洋微生物酵素群によるリグニン分解高度化と人工漆材料への展開

1.研究開発の目的

木材などの非可食の植物バイオマスを原料とするバイオリファイナリーでは、セルロース・ヘミセルロース・リグニンの主要 3 成分の分離にコストがかかる上、分離工程でリグニンが変性し、高付加価値物への変換や多様な用途展開が難しいという現状がある。本研究では、国内の重要な再生可能資源の1つである木質系バイオマスの長期的な持続的利用を目指してリグニン利用採算性を向上させ、さらなる推進を通じて地球規模の低炭素化に寄与することを目的とする。

2.研究開発の概要

(1)内容:

本課題では、新しい環境調和型リグニン変換法を開発し、その分子基盤の理解を深めることを重点とし、海洋性のスフィンゴモナド近縁細菌に由来する酵素を組み合わせ、様々な機能性化学品に誘導可能な芳香族モノマーであるグアヤシルヒドロキシプロパノン (GHP)、シリングルヒドロキシプロパノン (SHP) を特異的に生産する技術の開発を行うとともに、芳香族モノマーの新しい骨格変換法を開発し、GHP/SHP を起点とする新規材料「スーパーウルシオール」へ展開することを目的とした。これにより現在、天然ウルシの供給は僅かであるためウルシそのものの市場規模は小さいが、従前の塗料や接着剤を置き換える新規材料を創製することで新しい展開を図ることで、リグニンの高付加価値化によるバイオリファイナリー推進を通じ、低炭素化社会の構築に寄与する。

(2)成果:

本課題ではリグニン断片から芳香族モノマーを選択的に生産する細菌由来の酵素群の生化学的特性を解析し、針葉樹(スギ)から単離したリグニンを原料とした場合には1種類(グアヤシルヒドロキシプロパノン/GHP)、広葉樹(ユーカリ)の場合には2種類(GHPとシリングルヒドロキシプロパノン/SHP)のフェニルプロパノンモノマーを、温和な条件のもと、ワンポット中で選択的に生成できることを明らかにすることができた。

上記酵素反応に適した原料リグニンの調製を目的として、環境調和型の低変性リグニン抽出法を開発した。酢酸・過酢酸(Acetic Acid-Peracetic Acid / AAPA)とマイクロ波加熱により抽出される画分に上記酵素群を作用させることで、10%w/w以上の収率(リグニンベース)でGHP/SHPの生産を可能とし、他のリグニン調製法では得られない高収率を達成した。

従前の細菌株に加え、リグニン断片に作用することができる細菌を海域から新規に取得し、インフォマティクスも活用して、高活性酵素の新規取得と改良に成功した。

さらに、スーパーウルシオール合成ルートをデザインし、合成途中での異性化を防ぐ保護基を検討することで、当初のデザイン通りのウルシオール類縁体モノマーを複数種得ることに成功し、人工漆材料における構造－物性相関研究も実施した。

(3)今後の展開:

環境負荷の小さい天然型リグニン取得法として AAPA 法は有用である。リグニンの選択的分解は高付加価値利用の鍵となることから低変性リグニンの酵素変換技術のさらなる開発が期待される。より安定性や活性の高い酵素の開発を進めるとともに、リグニンからの GHP/SHP の生産のみならず、残余成分についてもさらに解析を進め、包括利用を進めることにより実現性向上を目指す。リグニンから一定構造の分子が安価に大量生産できるようになれば、本課題で開発した人工漆材料からの新しいポリマー製造が拡大できる。

○Report summary (English)

Principal investigator: Gunma University, Lecturer, Yukari Ohta

R & D title: Development of bioprocess using marine microbial enzymes for efficient lignin degradation and application toward artificial urushi materials

1. Purpose of R & D

Biorefinery of non-eatable plant biomass such as wood requires high cost to separate its components, cellulose, hemicellulose, and lignin. In addition, lignins are severely denatured during the separation process, which makes lignin difficult to be applied for further transformation to value-added products. In this research, for the purpose of sustainable use of woody biomass, one of the most important renewable resources, we aimed for the valorization of lignin and the contribution to the development of low-carbon society.

2. Outline of R & D

(1) Contents:

In this research, we will develop a new environmentally benign method for lignin conversion, which enables further understanding of molecular basis of lignin. Specific production method of guaiacylhydroxypropanone (GHP) and syringylhydroxypropanone (SHP), which can be converted to various functional chemicals, will be developed by the combination of enzymes derived from marine bacteria closely related to “Sphingomonads”. Molecular transformation method of lignin-derived aromatic monomers GHP/SHP will be also developed to create novel “super-urushiol” materials. Although the current market size of urushi materials is small due to the limited production of natural urushi, biomass-derived renewable “super-urushiol” is expected to expand the market size as the artificial coating and adhesive materials.

(2) Achievements:

In this study, we successfully achieved highly specific production of aromatic monomers with a phenylpropane structure directly from extracted lignin fraction using a cascade reaction of β -O-4-cleaving bacterial enzymes in one pot. Guaiacylhydroxylpropanone (GHP) and the GHP/syringylhydroxylpropanone (SHP) mixture are major monomers from lignin isolated from softwood (*Cryptomeria japonica*) and hardwood (*Eucalyptus globulus*). In order to prepare a lignin fraction suitable for the enzyme reaction, an environment-friendly low-denatured lignin extraction method was developed using acetic acid / peracetic acid (AAPA) and microwave heating. The yield of GHP / SHP production was > 10% w / w (lignin) when AAPA-lignin was used as a raw material. It was highest value compare to those obtained from any other lignin preparations.

Furthermore, by designing a super urushiol synthesis route and studying protective groups that prevent isomerization during the synthesis, we succeeded in obtaining multiple types of urushiol analogs as designed, and structure-property relationship studies of newly created super urushis were also conducted.

(3) Future developments:

The AAPA method is useful for obtaining natural lignin with low environmental impact. Since selective degradation of lignin is the key to lignin valorization, further development of technology for enzymatic conversion of lignin is required. In addition to obtaining superior enzymes with higher stability and activity, we further analyze the remaining biomass components and promoting use of whole biomass. If molecules with a defined structure can be mass-produced at low cost from lignin, new polymer from artificial lacquer materials can be widely used as environmentally conscious materials.