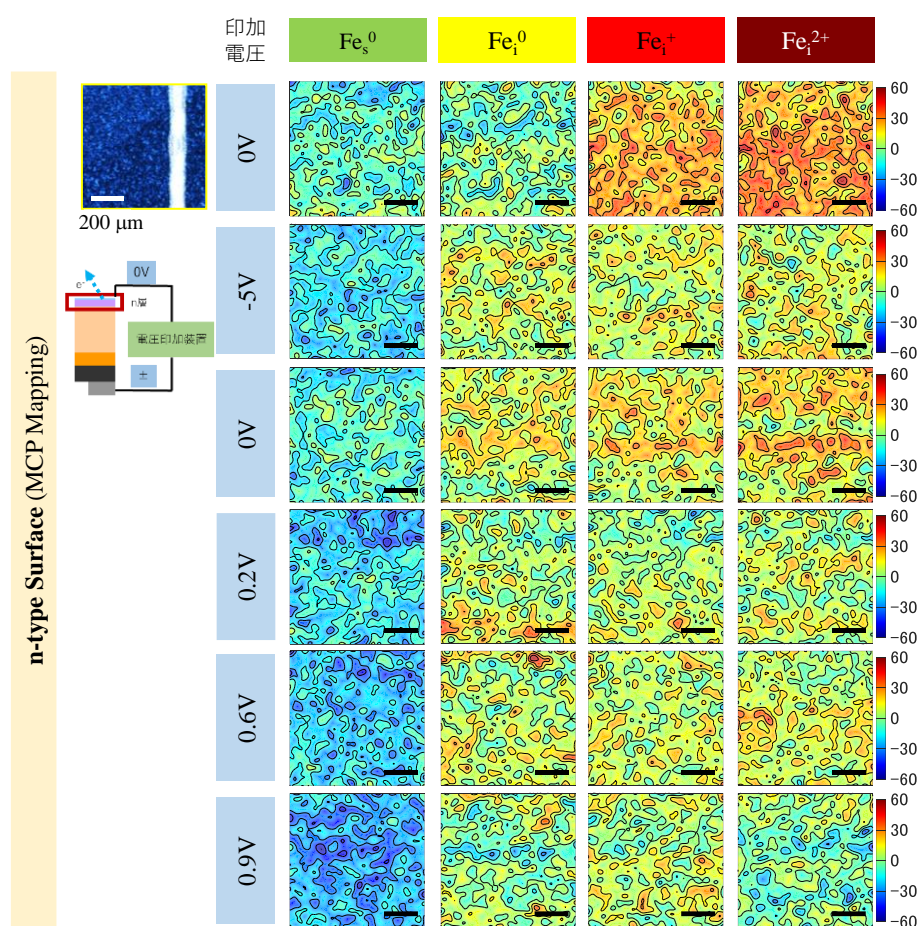


静岡理科大学 先端機器分析センター

令和3年度利用報告書



外部電圧印加中の多結晶シリコン太陽電池中の鉄不純物のオペランド観察

(小林正 2020年度修士論文、物質生命科学科 吉田研究室)

2022年3月 第12号

No.12 March 2022

目次

	ページ
巻頭言	P. 1
静岡理工科大学 理工学部 物質生命科学科 教授 吉田 豊	
静岡理工科大学 先端機器分析センター 非常勤職員 早川一生	
静岡理工科大学 先端機器分析センター センター長 齋藤明広	
1. 研究紹介	P. 3
2. 修士論文研究報告	P.40
編集後記	

巻頭言

2010年度、文部科学省により私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（研究拠点形成）として、「省資源型の地域産業創成を目指した微量元素分析・マッピング技術の開発と応用」と題する本学の研究プロジェクトが採択され、先端機器分析センターが建設・整備されました。当初の目標は「顕微メスバウア分光装置」や「食品安全性評価装置」などの微量元素分析・画像化(マッピング)のための基盤分析評価装置に汎用分析機器を組合せることにより、独自の分析技術を研究開発し、半導体材料・非鉛系セラミックス材料・小型強力磁石材料等の機能性材料開発と農水産物の安全性評価に応用することになりました。開始から10年以上が経過し、ユーザーの世代交代も進む中で新たな「分析センター」として再出発することが期待されているように思います。「静的構造からダイナミクス観察へ、そしてデバイス動作や化学反応、生体機能発現の観察（オペランド観察）」を実現できる大きな可能性を秘めた評価技術が必要になっています。観察による電子励起、格子欠陥生成、原子ジャンプなどの攪乱を誘起することなく「ありのまま」の系の状態をオペランド観察可能になる。そんな挑戦的な評価技術の開発を担えるような「先端機器分析センター」が実現し、新たなイノベーションへの挑戦拠点となることを願っています。Alles Gute!

令和4年3月吉日
理工学部 物質生命科学科 教授
吉田 豊

平成3年4月1日に着任しまして、機器センターから先端機器分析センターへと名前は変わりましたがセンター一筋、31年間勤務してきました。

大学創設の理念やセンターの役割についての議論は、開学の年にやってきた私は関与していませんが、私に与えられた使命は、①10種類の分析機器を共通機器として使えるように整備すること。②それらの機器を教員の研究や学生への教育に役立てること。③これらの機器を地域貢献に活かすことでありました。これらを実現するために重視したのが地域へのオープン化でした。センターを学生・教職員が利用するだけでなく、地域の教育機関、近隣の企業が日常的に利用できる環境にすることを目標にしました。そのための施策として、すべての機器をオープン化し、利用法のオープン化として機器分析講座を実施しました。これは開学の翌年から始め、毎年数十人以上が参加する恒例行事になりました。

31年間で一番印象に残っているのは、先端機器分析センターの計画立案から実現までに携わることができたことです。そしてその研究の一部にも関わることができ、研究結果においても良い評価が得られたことです。研究分担者の間を調整役で走り回った日々は苦痛も多かったのですが、今思えば充実した日々でもありました。貴重な経験をさせていただきましてありがとうございました。

さて、このところ本学には施設の増加、入学者数の増加等の良い風が吹いています。これこそ日頃の教職員の努力の結実であると思います。今後とも皆様の努力で理工科大をさらに発展させられんことを祈念いたします。

長い間、共に働かせていただき、またいろいろお世話になり、ありがとうございました。

令和4年3月吉日
先端機器分析センター
早川 一生

お陰様で、先端機器分析センターは2021年4月に開所10年を迎えました。10年を無事に積み重ねられてきたことを大変喜ばしく感じるとともに、ご支援くださった皆様に深く御礼申し上げます。一方、機器や装置に関しては、経年による劣化やメーカーのサポート期間終了に伴い、修理、更新、廃棄などの対応が必要な機器や装置がありました。

全自動水平型多目的X線回折装置(XRD: Smart lab, リガク)は昨年度に続いてパーツの疲労が原因と思われる破損故障があり修理しました。示差熱天秤・質量分析計(TG-DTA: ブルカー, TG-DTA2020S/MS)とマイクロプレートリーダー(テカン・M-1000)は、それぞれリガク・ThermoPlusEVO2とテカン・Sparkに更新しました。キャピラリーDNAシーケンサー(ABI・3100-Avant)は、廃棄処分しました。DNAの塩基配列解析は、民間への委託分析で十分代替できる、と判断したためです。その他、アミノ酸分析計(日立ハイテクサイエンス・L-8900)については、経年とこれまでの使用実績を考慮し、吉川尚子准教授の研究室に移設いたしました。

今年度は人事で大きな変化がありました。2021年4月に、本センターの専任技術職員として、小泉武昭氏が着任し、本センターの分析サポート環境がますます充実しました。その一方で、本センター専任技術職員の早川一生氏は今年度で退職します。早川氏は、本センターの前身の機器センターのころから、長きにわたり、本学の分析機器の整備と維持・管理、および利用支援をしてくださいました。早川氏無しには、本学の分析をめぐる環境がここまで整うことは無かったと思いますし、本センターの専任教職員の脇川講師や小泉氏といった人材の獲得と育成もできなかったと思います。

先端機器分析センターの初代センター長の吉田豊先生も本年度で定年退職なさります。吉田先生は、本センターの設置を含む計画「省資源型の地域産業創成を目指した微量元素分析・マッピング技術の開発と応用」の文部科学省への申請で中心的役割を果たされました。吉田先生抜きでは本センターの設置は無かったと言っても過言ではありません。

先端機器分析センターの設置と運営を担った吉田先生と早川氏は、本学の研究推進のみならず、地域の分析環境・文化の向上にも大きく貢献くださいました。公開で「機器分析講座」を定期的で開催し、機器の外部利用を推進するなど、本センターは地域の皆様にとっての分析拠点となっています。また、先端機器分析センターの設備は、本学において、優秀な教員を採用するうえでもプラスに働いています。

吉田先生と早川氏がともに開発に関わった顕微メスバウアー分光装置のうち2台は、お二人のご退職に伴い、他機関(東北大学と弘前大学)に移設されました。吉田先生は、もう1台の顕微メスバウアー分光顕微鏡を携えて、2022年4月からドイツで研究生生活をなさるそうです。さすがです。早川さんは町内会と畑と庭でますます忙しくなさることでしょう。

個人としても、センター長としても、吉田先生と早川氏のご退職を惜しむと同時に、感謝の念が絶えません。この紙面を借りて深く御礼申し上げたいと思います。

令和4年3月吉日
静岡理工科大学 先端機器分析センター
センター長 齋藤 明広

1. 研究紹介

「固体触媒による BDF の合成と応用」	機械工学科	十朱 寧	教授	P.4
「Cr を含む鋼材の電解加工における鉄イオン添加電解液による六価クロム生成防止の研究 (第2報)」	機械工学科	後藤 昭弘	教授	P.6
「各種金属材料の破面解析と表面分析」	機械工学科	三林 雅彦	教授	P.8
「材料表面の構造と摩擦特性および触感に関する研究」	機械工学科	吉見 直人	教授	P.9
「2次元粒子強化高分子複合材料の研究」	機械工学科	黒瀬 隆	准教授	P.10
「ITO 基板上への反応性 RF スパッタリング法による AlN 結晶成長」	電気電子工学科	小澤 哲夫	教授	P.11
「微生物電池構成材料の基礎検討」	電気電子工学科	東城 友都	講師	P.12
「メスバウア分光カメラの開発」	物質生命科学科	吉田 豊	教授	P.14
「XRD および ^{29}Si MAS NMR を活用した無機結晶の構造確認」	物質生命科学科	山崎 誠志	教授	P.17
「環境調和型有機合成反応の開発と生物活性物質合成への応用」	物質生命科学科	桐原 正之	教授	P.18
「超音波が誘起する微小気泡反応場に関する研究」	物質生命科学科	南齋 勉	准教授	P.20
「機能性高分子を用いたバイオマテリアルの開発」	物質生命科学科	小土橋陽平	准教授	P.22
「低分子量キチンを含む素材 LMC60 の培養畑土壌での分解と土壌微生物への影響」	物質生命科学科	齋藤 明広	教授	P.24
「 <i>Serratia nematodiphila</i> H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質に関する研究」	物質生命科学科	宮地 竜郎	教授	P.26
「静岡県中西部に分布するヒカゲノカズラ科植物の化学成分分析」	物質生命科学科	鎌田 昂	准教授	P.28
「食用植物の食品機能性評価に関する研究」	物質生命科学科	高部 稚子	准教授	P.30
「高分子半導体薄膜における光キャリア再結合のラジオ波効果」	先端機器分析センター	脇川 祐介	講師	P.32
「先端機器分析センター内機器を用いた研究の報告 (令和3年度)」	物質生命科学科	小林久理眞	客員教授	P.34
「XRD および SEM によるコンクリート用骨材の組成・組織分析」	建築学科	太田 達見	教授	P.36
「配位子の特性を活かした新規遷移金属錯体の創製および機能発現」	総合技術研究所	小泉 武昭	研究員	P.38

固体触媒による BDF の合成と応用

氏名 十朱 寧 静岡理科大学 理工学部 機械工学科 教授

1. 概要

本研究では、中和や洗浄工程の必要のない固体触媒（ゼオライト、卵の殻とアサリの殻）を用いた BDF 合成を行い、合成率の向上を図ることを目的とする。研究では、まず、固体触媒の調製及び成分分析を調査する。続いて、調製した触媒を用いて超音波やマイクロ波合成実験を行い、BDF 生成率を測定した。最後に、シャシダイナモメータによる実車走行実験を行い BDF と軽油使用時の排ガス濃度などを調べた。

2. 実験

2.1 触媒調製

固体触媒として、塩基性のゼオライト、卵とアサリ殻を用いることにした。市販のゼオライトは塩基性が弱いので、ゼオライトを水酸化ナトリウムに漬けてから小型電気炉で焼結する触媒調製を行った。

一方、アサリと卵の殻は主成分が炭酸カルシウム(CaCO_3)とされているが、研究では、卵の殻とアサリの殻を 378 K で 2 時間乾燥させ、その後 1173 K で 2 時間焼成する。調製後の固体触媒は SEM と XRD にて成分分析を行った。

XRD の分析結果は図 1 に示す。卵の殻の結晶は lime という酸化カルシウム的一种であることが分かった。また、アサリの殻も酸化カルシウムであることを確認できた。

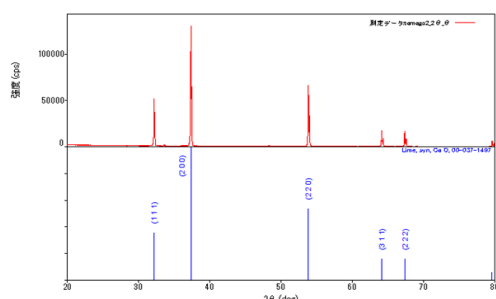


図 1 卵の殻の結晶骨格構造

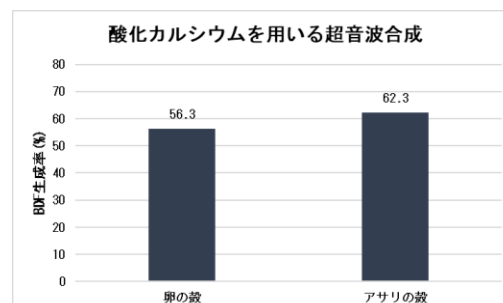


図 2 超音波 BDF 合成結果

2.2 BDF 合成実験

上述の 3 種類の固体触媒を用いる BDF 超音波合成実験では、サラダ油を 5 mL、メタノールを 1 mL、固体触媒を 1 g 試験管に入れ、65 °C の水温に保ち、28 kHz の超音波を 2 時間照射する。反応後、遠心分離器をかけて酸化カルシウムと油を分離する。

GCMS (株式会社島津製作所 GCMS-QP2020) により検出した BDF の合成結果を図 2 に示す。卵の殻 1 g を用いたサンプルの BDF 生成率は 56.3%、アサリの殻 1 g を用いたサンプルの BDF 生成率は 62.3% に達した。また、卵の殻に比べて、アサリの殻は BDF 合成効率が良いとみてとれた。これは触媒成分と吸着性の違いに原因があると思われる。

マイクロ波合成実験の合成条件はまず、植物油 5 mL とメタノール 1 mL を試験管に入れ、周波数 28 kHz の超音波を 30 分照射し、乳化させる。次に、固体触媒 1 g を試験管に入れ、マイクロ波化学反応装置 (Biotage 社製 Initiator+) でエステル交換反応を行った。

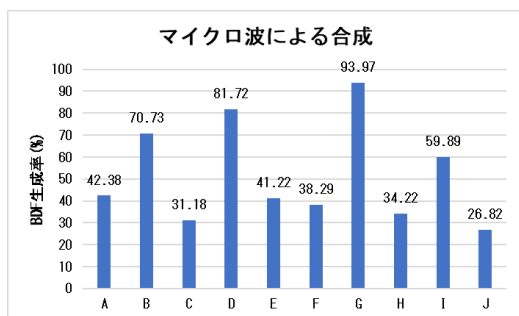


図3 マイクロ波 BDF 合成結果

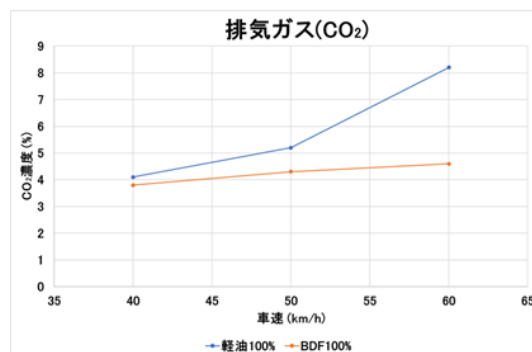


図4 CO₂濃度

種々な反応条件 (A-J) 下の BDF 合成結果を図3に示す。アサリ殻 0.5 g と乳化油 3 mL を 150 °C で 1 min の反応条件で合成された BDF は最大約 93.97% の生成率に達した。

2.3 シャシダイナモメータによる走行実験

トヨタのサクシードワゴンを用いて走行実験を行う。実験では、まず、試験車をシャシダイナモメータ上に設置する。続いて、空気抵抗や転がり抵抗の数値をシャシダイナモメータに入力し、エンジン負荷になる。最後に、車速を 40、50 と 60 km/h にかけて、ホダカ株式会社の HT-1300Z を用いてそれぞれの排気ガス濃度を測定する。CO₂ の濃度の測定結果は図6に示す。一方、BDF の CO₂ 排出量は軽油より低かったことが分かった。これは BDF の発熱量が軽油より低いからと考えられる。

3. 結論

- (1) 焼結した卵殻とアサリ殻の主成分は酸化カルシウムである；
- (2) マイクロ波照射を用いる BDF 合成では、生成率が 93.97% に達したことが確認できた。一方、超音波照射の場合は BDF 生成率が 62.3% であった；
- (3) 排気ガスでは、BDF の CO₂ 排出量は軽油より低かったが、NOX 排出量は軽油より高かった。

4. 謝辞

研究の遂行にあたり、本学先端機器分析センターの技術職員である早川一生氏ならびに脇川祐介氏と小泉武昭氏にご協力をいただき、感謝の意を表す。また、本研究の一部は日本学術振興会科学研究費基盤研究(C) No. 21K03924 の助成によって行われものである。

5. 利用機器

SEM, XRD, GC-MS

6. 令和3年度研究業績

(学会発表)

- (1) 十朱 寧・鐘 昕翰, 「固体触媒を用いる BDF の合成と応用」, 日本伝熱学会東海支部 ONLINE 発表会, 2021 年 10 月.
- (2) 久米山光希・鐘 昕翰・十朱 寧, 「環境型固体触媒による BDF の合成と応用」, 日本機械学会東海支部第 71 期総会・講演会, 2022 年 3 月 (オンライン開催).

Cr を含む鋼材の電解加工における鉄イオン添加電解液による 六価クロム生成防止の研究（第2報）

氏名 後藤 昭弘 静岡理科大学 理工学部 機械工学科 教授
小土橋陽平 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 准教授
陳 俊達 静岡理科大学 理工学部 機械工学科

1. 概要

ステンレス鋼等の Cr を含む材料を電解加工すると六価のクロムを生成することが知られており、電解加工の問題として取り上げられることが多い。前報（平成 30 年度）では、図 1 に示すような「鉄フィルター」を用いて、電解液に鉄イオン (Fe^{2+}) を添加し、電解加工時の六価クロム生成自体を防止する方法について検討した。鉄イオン (Fe^{2+}) を添加することで、六価クロムの生成を抑えることができることはわかったが、加工時間が経過するに従い、 Fe^{2+} イオンが消費され、 Fe^{2+} イオン濃度が低下する問題があることもわかった。そこで、本研究では、前報の研究を踏まえて、六価クロムの生成を抑制するために消費される Fe^{2+} イオンの供給速度を上げて Fe^{2+} イオン濃度の低下を防ぎ、連続加工を実現する方法について検討した。

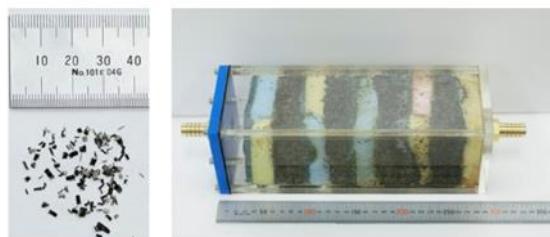


図1 鉄フィルターの構成

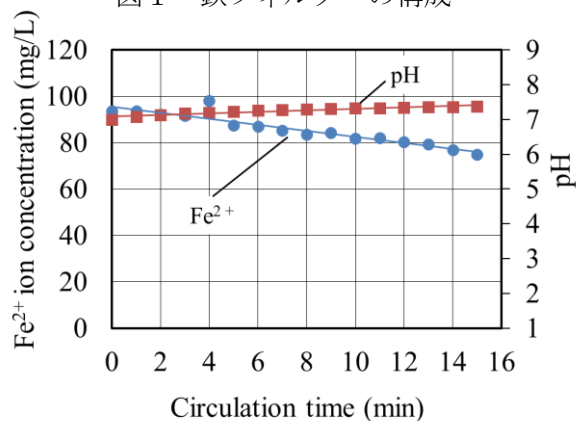


図2 鉄フィルターの構成

2. 電解液中の Fe^{2+} イオン濃度と電解液 pH との関係

前報で、 Fe^{2+} イオンが消費され、いずれは六価クロム生成を抑制できなくなることがわかったので、電解液への Fe^{2+} イオンの供給速度を向上させるため、電解液を一時的に酸性にし、多くの Fe^{2+} イオンを添加できな

いか検討した。電解液の pH 値を変化させ、電解液の pH とその時の電解液中に溶解させることができる Fe^{2+} イオン濃度との関係を調べた。実験方法は以下の通りである。約 1450 g の鉄切屑をケースに詰め込んで鉄フィルターを製作し、電解液（水 12 L, NaNO_3 1800 g）を通して循環させた。循環開始前に電解液に 5 mL の 60% HNO_3 を添加した。添加時点で電解液の pH 値は約 2.5 になった。まず、pH 値が 7.0 付近の電解液について調査した。循環時間が経過するに従い電解液がアルカリ性になるので、pH 値が 7.0 になった時点から 1 分毎に電解液を採取し、 Fe^{2+} イオン濃度を測定した。その結果を図 2 に示す。

●の点が Fe^{2+} イオン濃度であり、■の点は電解液の pH 値である。 Fe^{2+} イオン濃度が 70 mg/L から 90 mg/L 程度に保たれているが、pH のわずかな変化に Fe^{2+} イオン濃度が大きく影響を受けるように見える。同様の試験を pH 値 5.0 付近、3.0 付近でも行った。その結果をまとめた結果を図 3 に示す。pH 値が 7 程度以上になると急激に Fe^{2+} イオン濃度が低下することがわかる。

3. Fe^{2+} イオン高速供給のための装置の構成

電解加工で消費された Fe^{2+} イオンを速く供給するために、電解液を一時的に酸性にして、加工直前に

pH を 7.0 付近に戻して極間に供給するという方法を考えた. 図 4 に概略を示す. 図の左側の槽は電解加工を行う加工槽である. 中央の槽は電解加工に使用された電解液が導かれる電解液タンク (以下, 酸性電解液タンク) である. ここで電解液が酸性にされ, Fe^{2+} イオンが供給される. ここから電解液は図の右側の槽 (以下, 中和電解液タンク) に導かれて中和され, 加工槽に導かれる.

4. 電解加工実験

六価クロムの生成を防止しながら, Fe^{2+} イオンの連続供給ができるかを確認するため, ステンレス鋼 (SUS304) の加工実験を行なった. 加工実験には, 13% NaNO_3 水溶液を使用した. 加工開始前に電解液を酸性電解液タンクに入れ, 60% HNO_3 溶液を添加し pH 値を約 2.5 とした. しばらく鉄フィルターに電解液を循環させた後, 加工実験を開始した. 加工中, 電解液の酸性電解液タンクの pH を約 2.5 から 3.5 に保つように, 適宜 60% HNO_3 溶液を添加した. 中和電解液タンクでは 10% NaOH 水溶液を添加し, pH を約 6.0 から 7.0 とした. 中和された電解液を加工槽に送り, 15 分加工を行なった. 加工中 1 分毎に加工槽と酸性電解液タンクから電解液を採取し, 加工後にフェナントロリン吸光光度法により Fe^{2+} イオン濃度を, ジフェニルカルバジド吸光光度法により六価クロム濃度を分析した. 測定結果を図 5 に示す. 図中 ■印は加工槽の Fe^{2+} イオン濃度であり, ▲印は酸性電解液タンクの Fe^{2+} イオン濃度であり, ●印は加工槽内の電解液の六価クロム濃度である. 加工の全プロセスで六価クロムの出現を抑えることができた.

5. 謝辞

本研究の一部は, 科学研究費助成事業 (基盤研究 (C), 課題番号 18K03884) によって実施された.

6. 利用機器

UV-vis

7. 令和3年度研究業績

(論文)

後藤昭弘・小土橋陽平・陳俊達, 「Cr を含む鋼材の電解加工における鉄イオン添加電解液による六価クロム生成防止の研究 (第 2 報)」, 電気加工学会誌, **55**, 140 (2021).

(学会発表)

陳俊達・後藤昭弘・小土橋陽平, 「Cr を含む鋼材の電解加工における鉄イオン添加電解液による六価クロム生成防止の研究 (第 2 報)」, 電気加工技術, **44**, 138 (2021), 1-6.

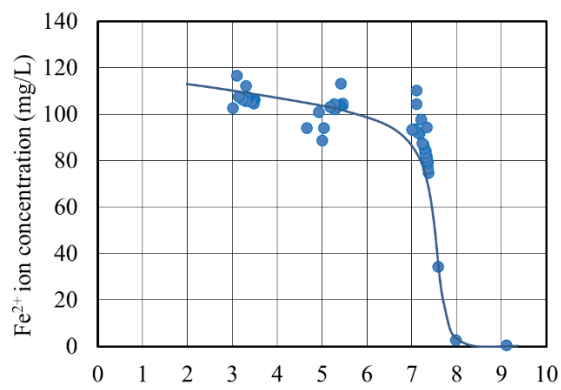


図 3 鉄フィルターの構成

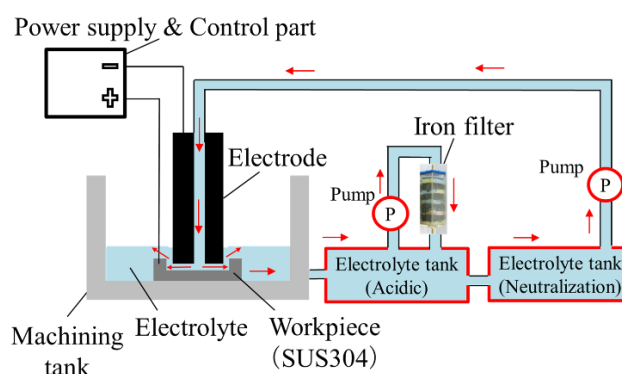


図 4 実験装置の構成

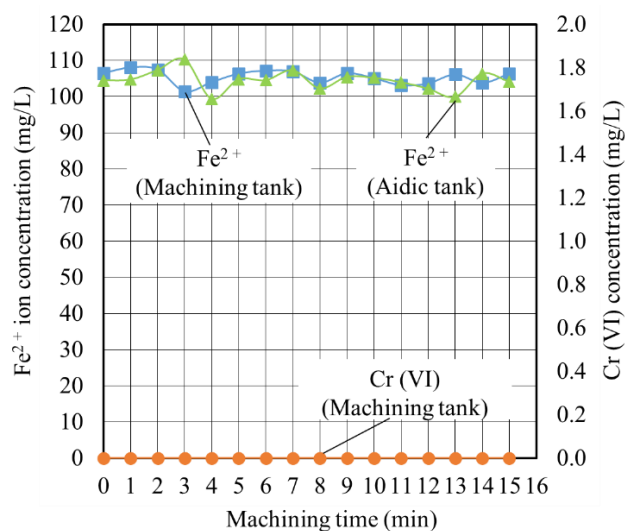


図 5 電解液のイオン濃度

各種金属材料の破面解析と表面分析

氏名 三林 雅彦 静岡理工科大学 理工学部 機械工学科 教授

1. 概要

各種機械部品の高強度化についての研究を行っている。その研究過程で破壊した部品や試験片について、その破壊起点、破壊モードを SEM 破面により明らかにすることは、破壊原因を探り、対策を行う上で極めて重要である。また、その前提となる表面および表面近傍の物性を XRD, EPMA により把握することも、併せて重要である。本年度は、以下のテーマについてそれらの分析機器を用いて解析・計測を行った。

2. 破壊解析による金属部材の高強度化

① 破壊解析による金型寿命の向上

金型の長寿命化を検討中。各種破損金型の破損原因を SEM 破面解析 (図 1) により調査することで、原因に応じた対策を講じることが可能となった。その結果、型寿命の大幅延長 (2~4 倍以上) を実現し、冷間鍛造の生産性向上に大きく貢献した。

② ボルトの疲労強度向上技術の開発

ボルトの高強度化技術の開発において、疲労試験を実施しているが、その疲労起点がネジ谷部の表面であることを確認し、疲労強度評価の妥当性を確認した。

3. 表面処理材の表面組成に関する研究

浸室処理材に、時効処理、サブゼロ処理を施した場合の表面窒素濃度分布の変化を EPMA 分析により計測し、いずれの処理も濃度分布にほとんど影響を与えないことを明確化し、浸室処理の基礎研究に貢献した。

4. 謝辞

脇川先生、早川課長をはじめとして、先端機器分析センターの皆様には、非常に熱心に学生のご指導頂いたこと、また、日頃より分析機器の保守点検にご尽力いただいていることで、高精度、高品質の解析・計測が可能となっていることに、心より感謝致します。

5. 利用機器

SEM (+EDS), XRD, EPMA, XRF

6. 令和3年度研究業績

(学会発表)

前記 2-① 「破壊解析による金型寿命の向上」: 日本材料学会東海支部第 16 回学術講演会, 2022 年 3 月.

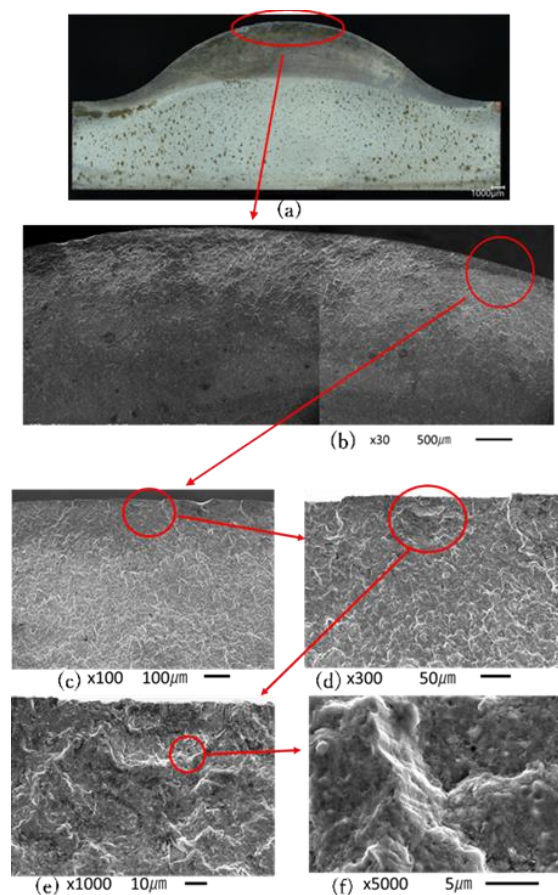


図 1 冷間鍛造金型の破面外観(a)と SEM 破面解析(b~f)
(破壊起点付近のストライエーション(f))

材料表面の構造と摩擦特性および触感に関する研究

氏名 吉見 直人 静岡理工科大学 理工学部 機械工学科 教授

1. 概要

材料のナノ～ミクロンオーダーの表面構造と摩擦特性に着目し、今年度はスマートフォン用ガラスフィルムの表面に人の指が触れたときの摩擦特性と触感について調査解析を行った。一般に、ガラスフィルムには、表面が平滑で透明な外観をもつ「グレタイプ（以下、G ガラス）」と、表面の微細な凹凸によって低光沢の外観をもつ「アンチグレタイプ（AG ガラス）」がある。後者は指による触感が「さらさら」しており、滑り性がよいという特徴がある。これらのガラスフィルムの表面構造を観察し、触感との関係を調べた。

2. ガラスフィルムの表面構造と触感

結果の一例として、図1にAGガラス表面のSEM像を示す。白い線状部が凸部、灰色の部分が凹部であり、この凸部の平均間隔は数 μm （ミクロンオーダー）であった。一方、Gガラスにはこのような凹凸は観察されず平滑だった。

学生30名にAGガラスとGガラスの表面に指で触れてもらい、触感語彙のアンケートを行った。AGガラスの場合、図2のように「滑り」と「乾き」に分類される触感語彙の回答数が多く、「さらさら」と乾いた感覚で滑ると感じた人が多いことがわかった。一方、Gガラスでは、「くっつき」と「滑り」に分類される触感語彙の回答数が多く、ガラス表面に指がくっつくように滑ると感じた人が多いことがわかった。このことから、ミクロンオーダーの表面凹凸構造が、ガラスと指の摩擦に起因する触感に影響を及ぼしていると考えられる。

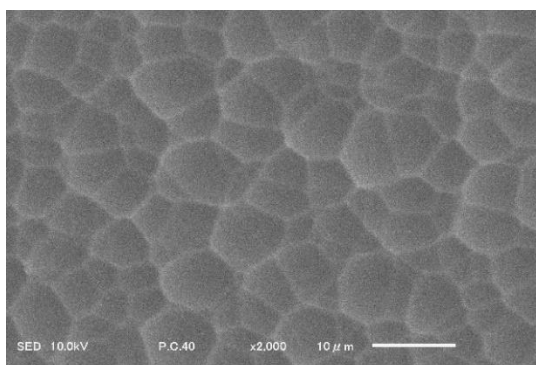


図1 AGガラス表面の微細凹凸構造の例

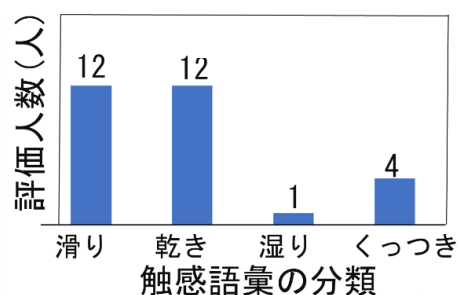


図2 AGガラスの触感の例 (数字は人数)

3. 謝辞

先端機器分析センターの脇川先生、小泉職員には、熱心に学生のご指導頂いたことに、心より感謝致します。

4. 利用機器

SEM

5. 令和3年度研究業績

外部未発表。学部生卒業研究として報告。

2次元粒子強化高分子複合材料の研究

氏名 黒瀬 隆 静岡理工科大学 理工学部 機械工学科 准教授

1. 概要

自動車の構造部材などへの適用を目指し低製造エネルギーで軽量な2次元粒子強化高分子複合材料の研究を進めている。課題である、(1) 複合材料の作製条件が力学特性に与える影響の解明、(2) 低エネルギーでの2次元粒子の作製検討のために、各種機器分析装置を用い材料解析を行った。

2. 2次元粒子強化高分子複合材料の作製に関する研究

2次元天然鉱物粒子と樹脂との複合化条件の検討を行った。図1は複合材料の断面SEM観察像である。図の上下方向が試験体の厚さ方向である。白く見えるのが2次元天然鉱物粒子、黒い部分が樹脂である。充填量40 vol%の高アスペクト比2次元粒子が、試験体の面内方向に高度に配向していることが確認できる。本年度、複合化条件が2次元粒子の配向に影響を与えることを明らかにした。

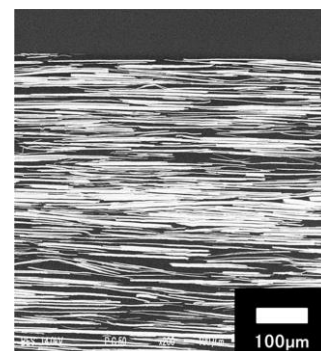


図1 断面SEM観察像

3. 炭酸カルシウム2次元粒子の作製に関する研究

結晶化したポリビニルアルコール(PVA)膜上に、CO₂を原料とした炭酸カルシウム2次元粒子を作製する検討を行っている。PVA膜を熱処理することで球晶が確認され(図2)、WAXDからもPVAの結晶格子間隔を確認した(図3)。本年度、結晶化PVA膜の作製条件を明らかにした。

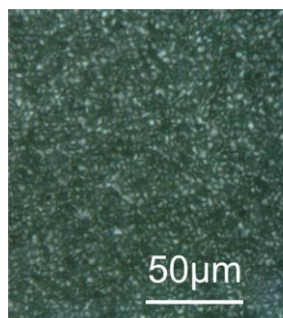


図2 偏光顕微鏡観察像

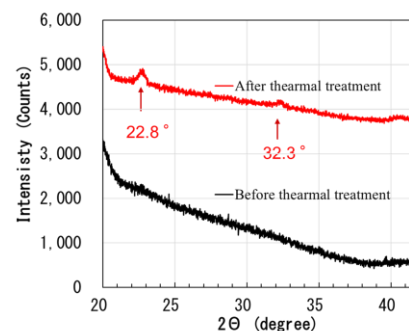


図3 WAXDパターン

4. 謝辞

本研究はJSPS科究費(課題番号20K05112)、及び、NEDO官民による若手研究者発掘支援事業の助成を受けたものです。ここに深く感謝いたします。

5. 利用機器

DSC, SEM, XRD

6. 令和3年度研究業績

(学会発表)

- (1) 〇土門 和暉・石神 明・黒瀬 隆・伊藤 浩志, 「貝殻真珠層構造を模倣した複合材料の作製と機械特性評価」, 第70回高分子討論会, 2021年9月.

ITO 基板上への反応性 RF スパッタリング法による AlN 結晶成長

氏名 小澤 哲夫 静岡理科大学 理工学部 電気電子工学科 教授

1. 概要

近年、注目されている電子材料として AlN がある。AlN は直接遷移型であることから深紫外 LED としても期待されている。しかし、AlN 薄膜の成膜には高温(1000℃以上)、高压(1 GPa)が必要とされ、単結晶膜の育成には困難が多く、結晶品質の向上は大変難しい。また、窒化物半導体基板として用いられている Al₂O₃ 基板はコストが高く、大量生産に向いていない。そこで、Al₂O₃ 基板の代用としてコストの低い ITO 基板を使用し、反応性 RF スパッタ法による低温低圧での成膜を試みた。ターゲットに Al を使用し、ITO 基板上 AlN を堆積させた。この時の条件は、スパッタ電力 200 W、スパッタ時間 60~240 min、チャンバー内圧力 2~4 Pa、窒素流量比 20~80vol%とした。また、成膜した試料は、XRD を用いて結晶構造の解析、成長模様は SPM を用いて観察した。

2. 反応性 RF スパッタリング法により成膜した AlN の X 線回折強度比

測定した試料の評価方法として、 $\alpha = \frac{(0002)}{(222)}$, $\beta =$

$\frac{(10\bar{1}0)}{(222)}$, $\gamma = \frac{(11\bar{2}0)}{(222)}$ と定義した。チャンバー内圧力 2 Pa, 窒

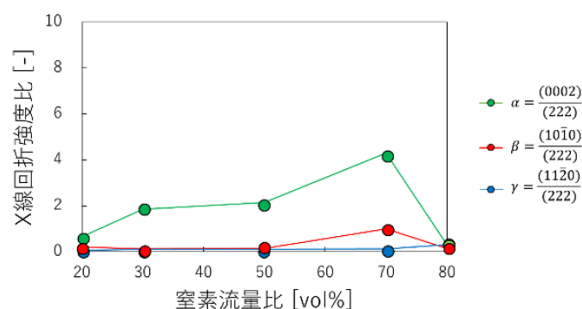
素流量比 20~80vol% における X 線回折強度比を図 1 に示す。2 Pa においては窒素流量比 70vol% の場合、強度 α が最も高くなり (0002) 配向が強まった。また、30~50vol% の場合、 α 以外の強度が抑えられた。図 2 はチャンバー内圧力 4 Pa, 窒素流量比 20~80vol% の x 線回折強度比を示した。4 Pa においては窒素流量比 70vol% の場合、強度 α が最も高くなった。また、2 Pa にくらべ β, γ の強度も弱いため、さらに (0002) 配向が強くなった。これらの結果より、チャンバー内圧力が高く窒素流量比も高い場合、分子同士が衝突しエネルギー損失が起きやすい。基板付近でも同様に衝突するが、窒素流量比が高いため浮遊している窒素が多数存在する。このためエネルギー損失による短いマイグレーションでも結合しやすいのではないかと考えられる。以上の結果から、テンプレートでない ITO 基板上へ反応性 RF スパッタ法を用いて、(0002) 配向の強い AlN を成膜することができた。

3. 謝辞

科学研究費助成事業基盤研究(C)(一般) (18K04962) の支援を受けて行われた。

4. 利用機器

SPM, XRD



2Pa における x 線回折強度比。

図 1 2Pa における x 線回折強度比。

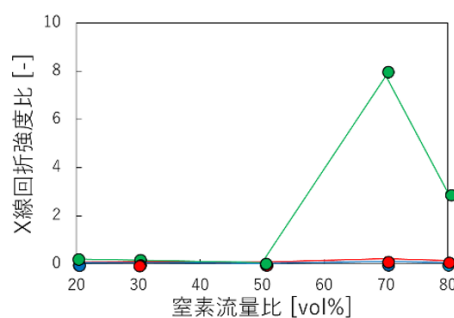


図 2 4Pa における x 線回折強度比

微生物電池構成材料の基礎検討

氏名 東城 友都 静岡理科大学 理工学部 電気電子工学科 准教授

1. 概要

近年、持続可能な開発目標（SDGs）や COP26 等の政策が打ち出され、これまでも増して地球環境問題や地球温暖化を解決しようとする研究活動が盛んに行われている。特に、エネルギー分野では、水素-酸素を燃料とする水素-酸素燃料電池の開発やそれを搭載した自動車の実用化が進んでいる。しかし、その燃料電池には高価な白金触媒を使用している点や、水素燃料の製造・運搬時の安全確保が難しい点で課題が多い。一方、微生物の代謝機能を利用し、動植物由来の有機物から水素燃料を取り出すことが検討されている。また、微生物が有機物を分解する際、菌種によっては多くの電気エネルギーを発生できるため、特定の菌種を用いた微生物電池の利用が注目を集めている。そこで、今年度は、静岡県袋井市内の土壌を採取し、菌種の大別と微生物電池の試作を行なった。この中で、微生物の観察、微生物電池の集電体材料の構造解析等で本分析センターの装置を利用した。

2. 微生物の観察

袋井市内の貯水池管理者より許可を頂き、土壌採取を行なった。微生物の繁殖を目的に、採取した土壌に水道水を加えて、数日間一定の温度で保管した。この土に対して遠心分離を行い、上澄み液を回収した。その上澄み液のグラム染色を行い、発電菌（グラム陰性菌）の存在有無を確認した。目視による確認では赤色に染色され、グラム陰性菌の存在が示唆されたが、レーザー顕微鏡による観察では目的の発電菌の形状は確認できなかった。グラム陰性菌の存在量が少ないことが原因であると考え、LB 寒天培地を使用し、菌の培養を行なった。

菌培養後の形状観察において、レーザー顕微鏡で細菌の存在を確認できたが、 $5\mu\text{m}$ 程度の微小サイズであったため、菌種特有の足の存在を観察できなかった。そこで、走査型電子顕微鏡（SEM）により、同菌種を観察したところ、既報のような楕円形状や足の存在が観察できた（Fig. 1）。遺伝子解析はこれからであり、また細菌の培養が必要ではあるが、採取した土壌中には目的の菌種が存在していることが示唆された。

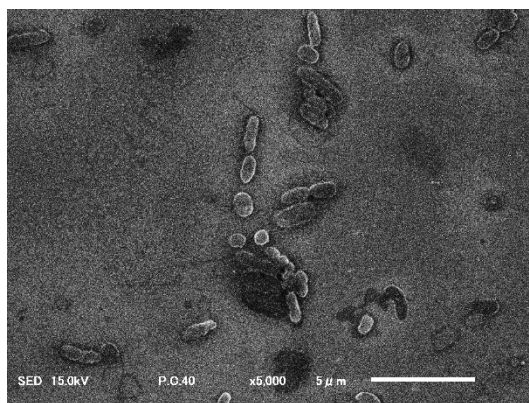


Fig. 1 培養した細菌の SEM 像観察

3. 微生物電池の集電体材料の構造解析

SEM 像観察済みの試料（土）を電解質として、微生物電池を試作した。集電体（電極）材料には、カーボン材料を用いた。エレクトロスピンニング法により繊維状カーボンをシート状に成型・炭素化し、これを集電体に用いた。電池構成材料における構造上の電子特性の検討として、 π 電子を担う炭素構造の結晶性が異なる 2 種の繊維状カーボンを採用し、電池出力特性を評価した。このとき採用したカーボンシートのラマン分光スペクトルを Fig. 2 に示す。いずれも炭素材料の構造欠陥に起因する D バンド (1390 cm^{-1}) と炭素六角網面の整列に起因する G バンド (1600 cm^{-1}) が観測された。ここで、炭素原子間の sp^2 , sp^3 混成軌道の割合を評価するために、ベースラインやフィッティング (Voigt) 関数を最適化して、それぞれのピーク面積強度 ; I_D/I_G 比を算出すると、Fig. 2 の左図では $I_D/I_G=1.74$ 、右図では $I_D/I_G=0.989$ となった。このことから、右図のものの方が左図よりも sp^2 結合割合が多く、定性的に電子伝導性が高いことがわかった。その理由により、電池出力特性についても、右図のものを使用した方が、負荷変動に対する過電圧が小さく、1 個の電池で 500-600 mV の起電力、100~200 μA の反応電流を維持できることがわかった。今後は、カーボンシート内の細孔径分布や真密度を測定し、発電菌が生息活動しやすい条件を探索する。

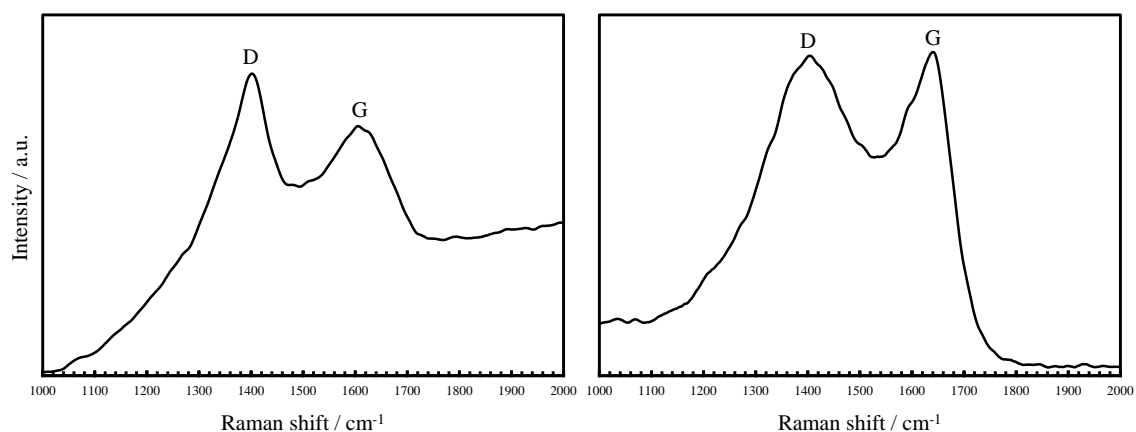


Fig. 2 2種のカーボンシートのラマンスペクトル

4. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、各種装置の操作方法をご指導頂きました先端機器分析センターの早川様、脇川様、小泉様に深く感謝いたします。

5. 利用機器

XRD, SEM-EDX, PL (Raman)

6. 令和3年度研究業績

(学会発表)

- (1) 石橋 大覚・東城 友都. 「溜め池の泥を用いた微生物電池の基本特性評価」, 第 24 回化学工学会学生発表会, 2022 年 3 月.
- (2) 若槻 直弥, 東城 友都. 「酸化物ナノ粒子の光触媒反応を用いた光-電気化学特性の基礎検討」, 第 24 回化学工学会学生発表会, 2022 年 3 月.
- (3) 鈴木 新大・東城 友都. 「ブロンズ型 TiO_2 の合成とその光触媒反応性の評価」, 第 24 回化学工学会学生発表会, 2022 年 3 月. 他 2 件

メスバウア分光カメラの開発

氏名 吉田 豊 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 教授

1. 概要

物質中のパターン形成を無攪乱でその場観察するために、 γ 線の無反跳核共鳴吸収（メスバウア効果）を利用して世界で初めて鉄原子の状態分析可能な「メスバウア分光カメラ」を構築し、様々なパターン形成のその場観察に成功した [1]。本報告では、 α -Fe 中の磁区や鉄鋼材料の炭素原子拡散・クラスタ形成など幅広いパターン形成過程の観察を紹介する。

「メスバウア分光カメラ」は、JST 機器開発により本学で開発された「顕微メスバウア分光装置」と浜松ホトニクス社製の X 線 CMOS カメラを融合して高分解能（数 μm ）、短時間（数時間）計測を実現した画像計測技術である。顕微メスバウア分光装置は γ 線集光によるマッピング技術で、数 $10\ \mu\text{m}$ の空間分解能、1 画像当たり数日の計測時間が必要でパターン形成過程を追跡することは極めて困難であった。CMOS カメラ（400~900 万画素）は γ 線をシンチレータで光に変換した後に 2 次元画像計測を行う技術で γ 線に対するエネルギー分解能を有しない。「メスバウア分光カメラ」では高い S/N での状態分析を実現するために、リニアアクチュエータに固定された ^{57}Co 線源から放射される $14.4\ \text{keV}$ - γ 線の ON-OFF 共鳴条件を精密に制御し、リニアアクチュエータ周期とカメラ露光タイミングを 8 秒周期で同期させ、メスバウア効果だけに敏感な画像計測を実現した [1]。

2. α -Fe 中の磁区観察

強磁性材料では、 ^{57}Fe 核位置の内部磁場の方向が γ 線の入射方向に並行な場合と垂直な場合で共鳴反応の断面積が異なるが知られている。これを利用して、 $6\ \mu\text{m}$ 厚の α - ^{57}Fe 箔の磁区構造を異なるスペクトル線に対応する透過 γ 線によるメスバウア分光画像を計測することにより画像化した：Fig.1 上の 3 画像は外部磁場無し、下が面に $0.35\ \text{T}$ の磁場印加時の結果である。一般的に強磁性 Fe のメスバウア・

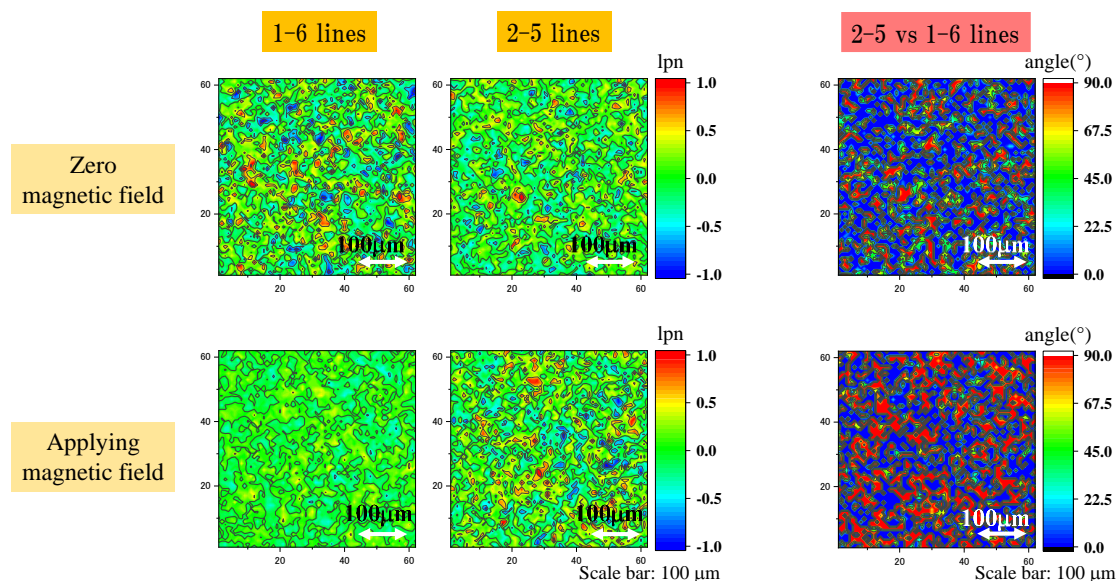


Fig. 1 α - ^{57}Fe 箔の磁区構造の CMOS 画像 (2×10^5 pixels) : 左 (1-6 ピーク), 中央 (2-5 ピーク), 右 (γ 線と磁化の成す角度の分布. 2 段目は外部磁場 (0.35T) の画像 [1].

スペクトルは 33 T で磁気分裂したよく知られた 6 本の吸収線で、スペクトルの 1-6, 2-5, 3-4 ピーク強度比は、粉末で 3:2:1, すべての磁区が面内または垂直に配向している場合はそれぞれ 3:4:1 と 3:0:1 の強度比となる。すなわち、図 1 の 2-5 ピークに共鳴条件を合わせた画像の強度分布は面内磁区分布に対応する。さらに、 γ 線と磁区の配向方向が成す角度分布を計算したものが Fig. 1 の右端の図である。明らかに磁場印加時には磁区と γ 線の角度が 90° の領域（赤）が増加している。さらに、数 μm の磁区構造が判別可能であり、顕微メスバウア画像と比較すると sCMOS カメラでは数 10 倍空間分解能が向上している。

3. 鉄鋼材料中の炭素原子分布

鉄鋼材料中の炭素の拡散や分布がオーステナイト、マルテンサイトなどの相変態を制御し、微細構造が変化して延性や強度などの機械的性質に大きな影響を及ぼす。しかし、室温でも容易に拡散する炭素原子の分布や動的挙動は、電子顕微鏡やアトムプローブなどの原子スケールの評価手段が存在する現在においても明らかではない。特に 200 °C 以下の低温度での炭素原子分布は不明な点が多い。本研究では系への攪乱を与えないメスバウア分光カメラ技術を用い

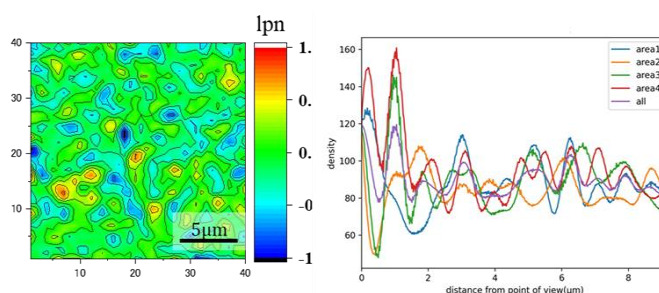


Fig. 2 鉄の八面体位置の孤立炭素原子の第 1 隣接 Fe 原子に共鳴条件を合わせて「その場観察」を行った。(静岡理科大学 2021 年度・石田優香卒業研究)

ては八面体位置の孤立炭素原子の第 1 隣接 Fe 原子に共鳴条件を合わせて「その場観察」を行った。実験では「顕微メスバウア分光装置」に高分解能の qCMOS カメラ（浜松ホトニクス社製）を搭載し、サブミクロンの空間分解能で炭素原子分布や拡散挙動の画像化を目指した。Fig.2 に室温の鉄鋼材料で得られた画像の一例を示す。赤から黄色、および青色部分にメスバウア効果に起因する吸収および放射の強度分布が観察される。サブミクロン領域に至る炭素原子分布が観察される。この得られた 2 次元画像の分析から、炭素原子の二体相関関数を試料面内の 4 つの方向（Area 1~4）ごとに求めた結果が Fig.2 右側のグラフである。異なる方位ごとにマルテンサイトの微細組織分布の影響と考えられる 1 μm 以下の領域から数 μm に至る異なる炭素原子間相関が認められる。1 画像は 1 時間程度の測定で取得可能で、時間依存性を求めることにも成功している。「メスバウア分光カメラ」は計測による攪乱を全く与えない観察法で、数 μm に及ぶ空間スケールで炭素原子近傍の格子歪みの影響やマルテンサイト微細組織を考慮した炭素原子の拡散や分布の解析が可能になった。

4. 謝辞

昨年 8 月発売の qCMOS カメラは極めて高い S/N を有し、画像を拡大するための光学システムと合わせて試験的に利用させていただきました。浜松ホトニクス社の担当者の方々には心よりお礼申し上げます。

5. 利用機器

顕微メスバウア分光装置 (JST), XRD, EPMA, SEM

6. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) M. Kobayashi, K. Hayakawa, Y. Yoshida, R. Röhlberger, "Mössbauer spectroscopic camera for operando measurement of pattern formation processes", *Hyperfine Interactions*, **243**:9, (2022). <https://doi.org/10.1007/s10751-022-01796-0>.
- (2) Y. Yoshida, "Mössbauer Spectroscopic Studies on Atomic Diffusion in Materials", in Modern Mössbauer Spectroscopy (Eds. Y. Yoshida and G. Langouche), *Topics in Applied Physics*, Springer., **137**, 445-515, Jan 20, 2021.

(学会発表)

- (2) M. Kobayashi, K. Harada, R. Atsumi, Y. Wakikawa, K. Hayakawa, H. Fujiwara, A. Goto, H. Kubo, Y. Yoshida, "MSM imaging of fractured metallic mould using 6 keV X-ray mapping", *International Conference of the Applications of the Mössbauer Effect*, September 2021, Brasov, Rumania.
- (3) M. Kobayashi, K. Kosugi, Y. Wakikawa, K. Ogai, K. Moriguchi, Y. Yoshida, "MSM imaging of Fe in Si solar cell before and after EBIC observation", *International Conference of the Applications of the Mössbauer Effect*, September 2021, Brasov, Rumania.

(特記事項)

本研究で利用した「メスバウア分光カメラ」の画像化術開発は、今後、Prof. Dr. Ralf Röhlberger, Helmholtz Institut Jena との共同研究としてドイツで継続されることが決まっている。

XRD および ^{29}Si MAS NMR を活用した無機結晶の構造確認

氏名 山崎 誠志 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 教授

1. 概要

XRD は、結晶・非結晶の構造確認に有用な手法であり、固体 NMR は、結晶中の局所構造を知るための有用な手法である。今年度の報告では、これらの分析結果の一例について紹介する。

2. モルタル表面処理における相同定

けい酸ナトリウムは、モルタルの表面含侵材として用いられる材料である。含侵材の塗布の有無による硫酸ナトリウム水溶液中での養生における結晶相の違いについて、XRD で検討した。図 1 は、結果の一例であるが、モルタル(Blank)由来のピークに加えて、硫酸ナトリウムだけでなく、二水石膏の生成が確認された。

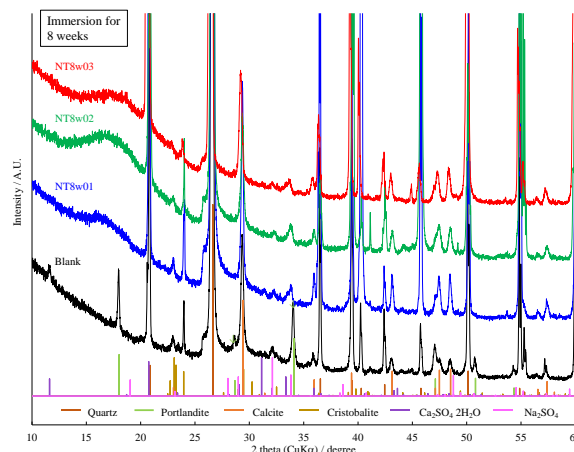


図 1. モルタル表面の結晶相の XRD パターン

3. ポルトランドセメントとけい酸ナトリウムの固化体の構造

ポルトランドセメント(PC)とけい酸ナトリウム(SS)の固化体は、建築分野では、グラウト材として広く用いられている。しかし、生成物がアモルファス構造のため、構造についての詳しい報告例がない。図 2 は、固化体の XRD パターンである。図の赤線は、フィッティングのハローピークで、実測値と良い一致を示すことがわかった。

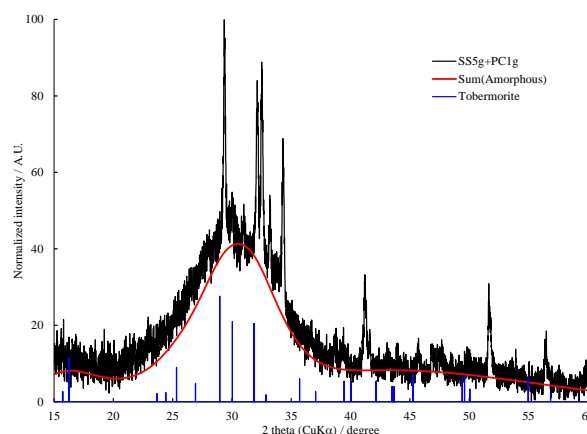


図 2. PC と SS の固化体の XRD パターン

4. ゼオライトの骨格組成(Si/Al 比)と局所構造の検討

図 3 は、ゼオライトの Si/Al 比と局所構造である Si(nAl) サイト数の関係を示している。このゼオライトでは、骨格中の Al サイトが制限されるため、Si/Al 比が、70 を境に異なる相関性があることが明らかになった。

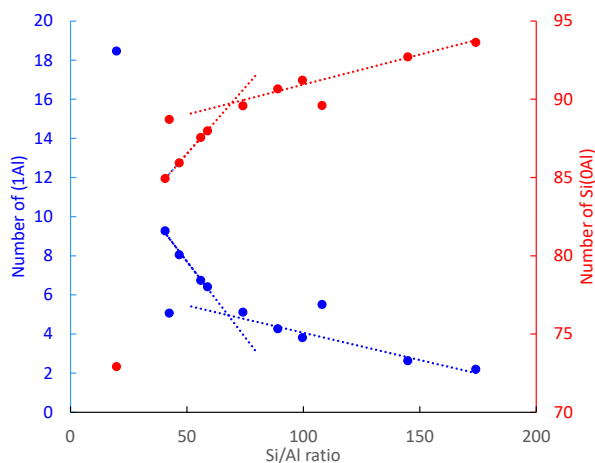


図 3. ゼオライトの Si/Al 比と Si(nAl) の関係

5. 利用機器

XRD, NMR

環境調和型有機合成反応の開発と生物活性物質合成への応用

桐原 正之 静岡理科大学 理工学部 教授

1. 概要

環境汚染物質を排出しない、クリーンな有機合成反応の開発を行なうとともに、それらの反応を活用して、医薬品開発に繋がるような生物活性物質の合成研究を行っている。今年度は、次亜塩素酸ナトリウム・5水和物結晶 ($\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) を用いる酸化反応、臭素-水-空気下におけるトルエン類の安息香酸類への光酸化反応、含フッ素液晶物質の効率的合成、小員環の開裂を利用した新規反応の開発研究を行った。

2. $\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を用いる酸化反応

$\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を用いた環境調和型酸化反応として、アルケンのクロロアミド化とそのアジリジン合成への応用 (論文1、学会1)、トリフルオロメチルアリルアルコール類の α, β -エポキシケトン水和物への酸化反応 [学会2、*J. Fluorine Chem.* **2021**, 243, 109719 (昨年度成果)]、アリルアルコールからのオキセタン形成反応、エン反応によるアリル位塩素化反応、二酸化炭素雰囲気下におけるジスルフィドやチオールからのスルホニルクロリドの効率的合成法、1,3-ジケトンの開裂反応、を開発することに成功した。未発表のものが多いが、いずれも学会発表・論文発表に向けて準備中である。

また、昨年度の小土橋研究室との共同研究において見出されていた、機能性高分子化合物を $\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を用いて分解する反応 (*Polymer Chem.* **2020**, 11, 2469-2474) の反応機構に関して、さらに詳細に検討を行った。その結果、機能性高分子中のポリビニルアルコール構造中の1,3-ジオール部位が、カルボニルへのモノ酸化の後、レトロアルドール反応によって切断されていることを見出せた。

さらに、フッ化カリウムを用いる、含水条件でのスルホニルクロリドからのスルホニルフルオリド合成反応を見出した。これを $\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を用いたスルホニルクロリド合成法と組み合わせることにより、ジスルフィドやチオールからのスルホニルフルオリドの効率的合成法を確立することに成功した (学会4)。

3. 「臭素-水-空気下におけるトルエン類の安息香酸類への光酸化反応」

トルエン類の側鎖アルキル基を酸化して安息香酸類を合成する方法は、有機合成化学上重要な反応であるため、環境調和型反応の開発が活発に行われてきた。今回我々は、トルエン類に対して空気雰囲気化、臭素および水を可視光照射下に反応させると、安息香酸が高収率で得られることを見出した (学会3)。本反応は安価な試薬のみを使用する環境調和型合成反応であり、工業的応用も可能であると考えている。

4. 「含フッ素液晶物質 2-fluoro-4,4'-dipropylbicyclohexyl の効率的合成」

2-Fluoro-4,4'-dipropylbicyclohexyl は、我々によって合成された化合物で、優れた液晶特性を示すことを見出されていた。しかし、その合成法は収率が悪く、この化合物を大量に合成するには不向きであった。昨年度までの検討で、多くの欠点は解決されていたが、フッ素原子導入反応での収率が低いことが、問題点として残っていた。

今回、フッ素化反応の基質をアルコール体から、そのシリルエーテル体へ変えることにより、2-fluoro-4,4'-dipropylbicyclohexyl を高収率で合成することに成功し、全ての問題点を解決することができた。

5. 「小員環の開裂を利用した新規反応の開発」

(1 位置換シクロプロピル)メタノール類や、1 位置換シクロプロパンカルバルデヒドと DAST との反応により、環拡大フッ素化反応がおり、フルオロシクロブタン類が得られる反応の、基質一般性や反応の特徴について、明らかにすることができた (学会 5)。

さらに、(1 位置換-2,2-ジフルオロシクロプロピル)メタノール類や、1 位置換-2,2-ジフルオロシクロプロパンカルバルデヒドと DAST との反応では、環拡大フッ素化反応ではなく、環開裂フッ素が進行しトリフルオロメチルアリル化合物が生成することも見出した (学会 5)。

6. 利用機器

NMR, FT-IR, GC-MS

7. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) M. Kirihara, K. Adachi, Y. Sakamoto, K. Tujimoto, S. Yamahara, R. Matsushima, Y. Namba, K. Sato, T. Kamada, Y. Kimura, S. Takizawa, “Chloroamidation of Alkenes Using Sodium Hypochlorite Pentahydrate and Its Application to Synthesis of Aziridines”, *Heterocycles*, **103**, 699–706 (2021).

(学会発表)

- (1) ○坂本侑吾・辻本夏月・山原 翔・足立滉太・木村芳一・滝澤 忍・桐原正之, 「次亜塩素酸ナトリウム 5 水和物とニトリルによるアルケンのクロロアミド化とそのアジリジン合成への応用」, 日本化学会第 101 春季年会, 2021 年 3 月 (オンライン開催).
- (2) ○中村里帆・辻本夏月・仲倉佳那・齋藤克哉・鈴木勝也・坂本侑吾・木村芳一・桐原正之, 「次亜塩素酸ナトリウム 5 水和物によるトリフルオロメチルアリルアルコール類の α, β -エポキシケトン水和物への酸化反応」, 日本化学会第 101 春季年会, 2021 年 3 月 (オンライン開催).
- (3) ○坂本侑吾・釘崎直樹・松浦大輔・山原翔・木村芳一・桐原正之, 「臭素-水存在下での無触媒・光照射によるトルエン類の安息香酸類への酸化反応」, 第 47 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2021 年 10 月 (オンライン開催).
- (4) ○山原翔・坂本侑吾・桐原正之, 「フッ化カリウムを用いたスルホニルフルオリド合成法の開発」, 第 47 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2021 年 10 月 (オンライン開催).
- (5) ○中村里帆・仲倉佳奈・辻本夏月・桐原正之, 「(1 位置換シクロプロピル)メタノールおよび 1 位置換シクロプロパンカルバルデヒド類の合成と反応」, 第 47 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2021 年 10 月 (オンライン開催).

超音波が誘起する微小気泡反応場に関する研究

氏名 南齋 勉 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 准教授

1. 概要

液体に数百 kHz の高出力超音波を照射すると、 μm サイズのキャビテーションバブル（キャビティ）と呼ばれる微小気泡が生成する。これが疎密波である超音波によって成長し、断熱圧縮崩壊すると泡の内部は数千度・数百気圧の高温高压場となる。この局所反応場では有機物の分解が起こるほか、溶媒として水を用いた場合は分解されて強力な酸化剤である OH ラジカルが生成する。この特殊な反応場を環境汚染物質の分解やナノ粒子の創製に応用することが期待されているが、未だ解明の余地は大きい。我々は、これまでに、水相中の超音波反応場の気液界面領域や、油相中での超音波反応場の特性に着目して研究を行ってきた。

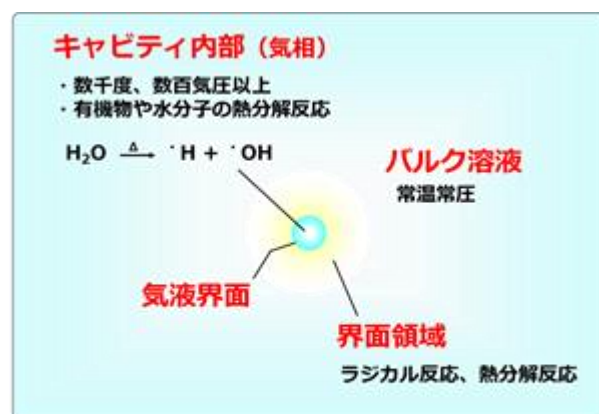


図1 超音波キャビテーション概略図

2. 「有機溶媒中の超音波キャビテーションに及ぼす雰囲気ガス調整後静置時間の影響」

有機溶媒中の超音波反応場は、溶媒自体の分解生成物が複雑であることや、その分解生成物のキャビテーションバブル（キャビティ）への影響が大きいことから解明の余地が大きい。本研究室のこれまでの研究から、ガス状炭化水素の生成量から、メチルラジカル再結合(MRR)法を用いて見積もったキャビティ温度と、キャビティ圧壊時に放出される光（ソノルミネッセンス:以下 SL）の強度の間に正の相関がみられることが分かっている。また、照射対象をベンジルアルコールとした際、雰囲気ガス調整後に静置を行うことで SL 強度が減少するという結果が得られた。本研究では、静置による SL 強度変化が何に起因するのかを解明し、有機溶媒中の超音波キャビテーションの状態と支配要因について、明らかにすることを目的とする。実験としては、数種類の直鎖アルカン、脂肪族アルコールを超音波照射対象として用い、照射容器（55 mm ϕ 、底厚 1 mm）にそれぞれ 60 mL 取った。雰囲気ガスとしてアルゴンを 100 mL/min で 30 分間バブリングした。照射容器を暗室内に設置し、25 $^{\circ}\text{C}$ の恒温水槽中で静置を行った。静置後、超音波照射装置（KAIJO 製, QUAVA mini; 200 kHz, 100 W）を用いて 30 分の照射を行い、光電子増倍管（浜松ホトニクス製, H11890-110）でソノルミネッセンス強度を測定した。

平均 SL 強度を見積もるにあたり、照射開始直後は強度が安定しないことを考慮し、30 分の照射時間中、後

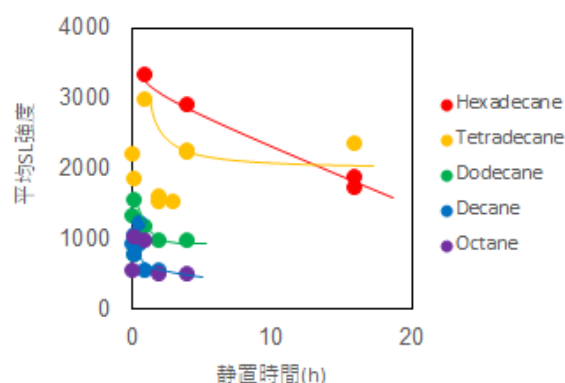


図2 平均 SL 強度と静置時間(直鎖アルカン)

半 15 分の平均強度を使用した。C8～C16 の種々の直鎖アルカンについて、静置時間の増加に伴う平均強度の変化を図 2 に示す。静置時間の増加に伴い平均強度は減少、安定化する傾向が見られた。これは、前述のベンジルアルコールと同様の傾向であった。また、炭素数の多いアルカンほど静置初期の強度が高く、低下して安定化するまでの時間がかかっていることから、静置による SL 強度変化には蒸気圧や粘度などの物性が起因することが示唆された。次に、C7～C9 のノルマルアルコールと 1,4-ブタンジオールについて、静置時間に伴う平均強度の変化を図 3 に示す。

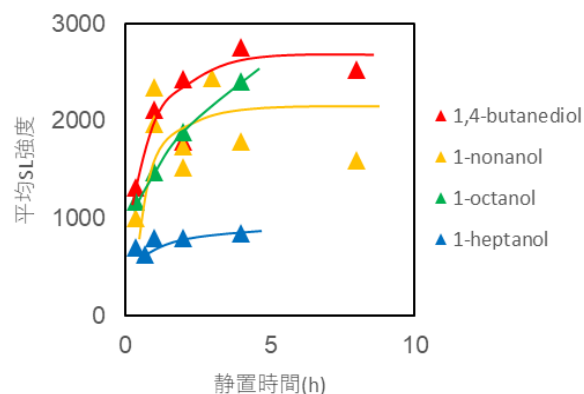


図3 平均 SL 強度と静置時間(脂肪族アルコール)

脂肪族アルコールでは、静置時間の増加に伴い平均強度は増加した。この結果は、これまでのベンジルアルコールや直鎖アルカンとは逆の傾向であり、これまで静置による SL 強度変化の原因と考えられていた、「静置による気泡核の減少」を否定するものであった。しかし、直鎖アルカンと脂肪族アルコールで正負の違いはあるが、静置による強度変化の大きさ自体は蒸気圧と相関が得られた。今後は、MRR 法によるキャビティ平均温度の見積もり及び、電子スピン共鳴 ESR を用いて生成されるラジカル種の同定と定量を行なっていく。

3. 謝辞

本研究の一部は、ENEOS 株式会社 中央研究所との共同研究により行われたものです。

4. 利用機器

ESR, GC-MS

5. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) K. Onoda, B. Nanzai, “Periodic expansion and contraction phenomena in a pendant droplet associated with Marangoni effect”, *Materials*, **15**, 239 (2022).
- (2) T. Ban, K. Matsumoto, B. Nanzai, Y. Mori, H. Nabika, “Bifurcation of chemically driven self-propelled droplets on a surfactant adsorbed surface based on spreading coefficients”, *Colloids Surf. A*, **620**, 126563 (2021).
- (3) B. Nanzai, S. Suzuki, K. Okitsu “Sonochemical degradation of surfactants with different charge types: Effect of the critical micelle concentration in the interfacial region of the cavity” *Ultrason. Sonochem.*, **71**, 105354 (2021).

(学会発表)

- (1) B. Nanzai, T. Suzuki, S. Yoshikawa “Difference in spontaneous electrical potential oscillation phenomena in oil-water biphasic system with chiral isomer”, *Pacificchem* **2021**.
- (2) 本田兼吾・鈴木誠也・南齋勉, 「陽イオン界面活性剤の超音波分解に及ぼす対イオンの影響」, 2020年度 第30回ソノケミストリー討論会, P13.

機能性高分子を用いたバイオマテリアルの開発

氏名 小土橋 陽平 静岡理工科大学 理工学部 物質生命科学科 准教授

1. 概要

病気の早期診断や治療をサポートする機能性高分子は、40兆円を超える我が国の医療費を削減し、quality of life を高めることが期待される。機能性高分子は構成するモノマーの特性のみならず、その構造(直鎖, 分岐, 環状, ゲルなど)により物理化学的な性質が変化する。これらの性質は自己集合や自己組織化の引き金となり、ナノスケールで構造制御された材料をボトムアップ式にて構築することができる。近年では精密重合やクリックケミストリーの台頭により、理論上の機能性高分子を具現化することが可能になってきた。我々は新規な機能性高分子を、特にバイオマテリアルとして開発し、医療現場での応用を目指す。本年度の研究成果を以下にまとめる。

2. 研究成果

(1) ポリビニルアルコール (PVA) フィルムの表面電荷の簡便な制御方法 (学術論文(1))

PVA は、世界で年間 65 万トン生産される高分子であり、包装フィルムや化粧品など身の回りの様々な場面で利用されている。しかしながら、その表面電荷は PVA 由来のマイナス (アニオン性) であり、プラス (カチオン性) にすることで応用分野をさらに拡張できることが期待される。これまでカチオン性の天然高分子や合成高分子を PVA に混合することで表面電荷をプラスにする試みが行われてきたが、水に溶解してしまうことや外部 pH により影響を受けてしまうなどの問題点があった。本研究では、PVA に永続的なカチオン性基を有する 3 元共重合体を混合し、得られたフィルムに異なる種類の架橋構造を導入することで、水への不溶化と表面電荷をプラスにすることに成功した。表面がプラスの電荷を持つ PVA フィルムは、マイナスの電荷を持つ化合物を選択的に吸着することが観察された。本研究により得られた新規 PVA フィルムは、センサーや分子の吸着システム、抗菌材料への応用が期待される。

(2) セミの翅のナノ構造を模倣した PVA 材料の抗菌性の評価

細菌による感染症は、少子高齢化や生活習慣病などの基礎疾患人口の増加などから、我が国において近年増加している。特に手術後の傷口や医療デバイスと体の接合部は感染源であり、感染すると重篤な症状の誘発や再手術を要する。現状、患部を高分子などの被覆材により覆うが、感染症を完全には防げない。また、既存の抗菌薬への耐性を獲得した薬剤耐性菌が世界共通の課題となっており、世界保健機関 (WHO) の報告によると 2050 年には関連する死者数が世界中で 1000 万人に上ると予測されている。近年、セミやトンボの翅が有するナノサイズのラフネス構造を模倣した材料が、薬剤耐性菌を含めた様々な菌に対し抗菌性を示すことが報告されている。しかしながら、高分子から作成されたナノラフネス構造による抗菌性については報告が限られている。特に、親水的な高分子からなるナノラフネス構造は、大きな表面積から水中でナノ構造を維持することが難しい。我々は、架橋構造を工夫することで、親水的なナノラフネス構造を簡便に調製し、ナノラフネス構造がグラム陰性菌およびグラム陽性菌どちらについても捕捉することを発見した。捕捉された細菌は、細菌死につながる膜の変形などが観察された。

3. 謝辞

研究の一部は、文部科学省 科学研究費助成事業 (19K09240, 20K21630), 公益社団法人 池谷科学技術振興財団研究助成, 文部科学省 地域イノベーション・エコシステム形成プログラムにより実施されました。

4. 利用機器

NMR, ゼータ電位・粒径・分子量測定システム, UV-vis, SEM, SPM, FT-IR, DSC, GC-MS, マイクロプレートリーダー, 細胞実験室, 細菌実験室

5. 令和3年度研究業績

(学術論文) *Corresponding Author

- (1) K. Fujimoto, A. Yamawaki-Ogata, Y. Narita, Y. Kotsuchibashi*, “Fabrication of cationic poly(vinyl alcohol) films cross-linked using copolymers containing quaternary ammonium cations, benzoxaborole, and carboxy groups”, *ACS Omega*, **6**, 17531–17544 (2021).
- (2) A. Doda, M.S. Azad, Y. Kotsuchibashi, J.J. Trivedi, R. Narain, “Investigation of alkali and salt resistant copolymer of acrylic acid and N-vinyl-2-pyrrolidinone for medium viscosity oil recovery”, *Canadian Journal of Chemical Engineering*, ASAP.
- (3) S. Tako, T. Mochizuki, M. Nakayama, Y. Kotsuchibashi, K. Tashiro, “Water-repellency and surface roughness with the structures of double layers using electroplated nickel deposit from a chloride bath”, *Transactions of the Institute of Metal Finishing*, **99**, 80–86 (2021).
- (4) A. Goto, S. Wang, Y. Kotsuchibashi, A. Nakata, J. Chen, Y. Chen, K. Hayakawa, “Prevention of hexavalent chromium formation by iron-ion-added electrolyte in electrochemical machining of chromium-containing steel”, *International Journal of Electrical Machining*, **26**, 9–15 (2021).

(学会発表)

- (1) 藤本一磨・小土橋陽平, 「セミの翅のナノ構造を模倣したポリビニルアルコール材料の抗菌性の評価」, 第70回高分子討論会, 2021年9月 (オンライン開催).
- (2) 小土橋陽平・林大輝・桐原正之, 「ポリメタクリル酸材料のポリビニルアルコールによる熱架橋と酸化環境における分解について」, 第70回高分子討論会, 2021年9月 (オンライン開催).
- (3) 小土橋陽平, 「ナノ構造を有するポリビニルアルコールの架橋フィルムの開発」, 第70回高分子年次大会, 2021年5月 (オンライン開催).
- (4) 藤本一磨・小土橋陽平, 「セミの翅のナノ構造を模倣した抗菌性ポリビニルアルコール材料の開発」, 第70回高分子討論会, 2021年9月 (オンライン開催).
- (5) 藤本一磨・小土橋陽平, 「ベンゾオキサボロール基を含有する三元共重合体によるポリビニルアルコールフィルムへのカチオン性の付与と機能性評価」, 第70回高分子討論会, 2021年9月 (オンライン開催).

(書籍)

- (1) 小土橋陽平, 「ポリビニルアルコール (PVA) 材料への刺激応答性の付与」, 刺激応答性高分子の開発動向, シーエムシー出版 247–252 (2021).

低分子量キチンを含む素材 LMC60 の

培養畑土壌での分解と土壌微生物への影響

齋藤 明広 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 教授

1. 研究成果の概要

キチンは *N*-アセチルグルコサミンが β -1,4 結合で連なった直鎖上のアミノ多糖である (図)。カニ殻やエビ殻、廃菌床などに含まれることから、キチンを含む素材やキチンそのもの、さらにはキチンの誘導体や加水分解物、脱アセチル化物の有効利用が検討されている。その一つに、農業での利用検討が挙げられる。

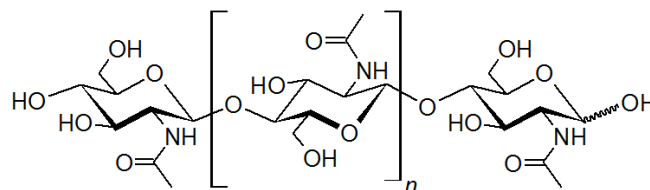


図. キチンの構造式.

以下、本年度の研究成果として、キチン加水分解物 LMC60 の培養畑土壌での分解と微生物への影響の評価に関する原著論文 (Ootsuka ら 2021. 右頁の「令和3年度研究業績」の項を参照) の内容を紹介する。

LMC60 は、平均分子量約 3,000 の低分子量キチン (LMwC) と製造の中和過程で生成した塩化ナトリウムを含む。焼津水産化学工業株式会社 (静岡県焼津市) で開発された。LMC60 を主原料とする土壌改良剤 (SLMC60) と LMwC は、それぞれキチンと同様、病原微生物に起因する植物病に対する抑制効果を示すことが報告されている¹⁾。しかしながら、SLMC60 が効果を示す植物病の種類がキチンとは異なったこと¹⁾から、SLMC60 は植物あるいは土壌微生物に対してキチンとは異なる効果を持つことが想像された。本研究では、キチンと SLMC60 間の植物病に対する効果のスペクトル差の原因を解明する研究の一部として、LMC60 の培養畑土壌における分解プロファイルと、土壌の抗真菌特性および微生物群集構造を、キチンの場合と比較しつつ解析した。LMC60 を添加した土壌とキチンを添加した土壌は、添加していない土壌よりも病原性 *Fusarium oxysporum* 株の生長を阻害する性質を強く示した。LMC60 とキチンの量の減少傾向と、それに伴うアンモニウムの蓄積パターンは同様であった。LMC60 とキチンの細菌と真菌の群集構造に対する影響は次のように明確に区別できた。①3つの細菌の科 (Bacillaceae, Paenibacillaceae, Alkaligenaceae) の相対量は LMC60 を添加した土壌でのみ有意に増加した。②LMC60 はキチンよりも早くに Promicrosporaceae 科の相対量を増加させた。③真菌に関しては、*Fusarium* 属は LMC60 とキチンのいずれの存在下でも増加した。④ *Mortierella* 属はキチン添加土壌でのみ大きく増大し、*Colletotrichum* 属と *Malbranchea* 属は LMC60 を添加した土壌でのみ増加した。

- 1) 門田育生・岡田浩明・吉田隆延・又平芳春・豊田真司. 「植物病害防除剤及びそれを用いた植物の病害防除法」. 日本国特許出願公開. 特開2004-323460. 2004年11月18日公開.

2. 謝辞

本研究は、焼津水産化学工業株式会社の担当者が、齋藤に対し、自社で開発した低分子量キチン(LMC)について、植物病の発病抑止に関する効果を紹介したことを発端に行われた。焼津水産化学工業(株)には、LMC60を譲っていただいた。

3. 利用機器

- ①可視紫外分光光度計(DNA濃度の測定)、②リアルタイムPCR(特定DNA断片の定量)、③GC-MS(糖質およびアミノ酸の定量)、④マイクロプレートリーダー(酵素活性測定、タンパク質定量)、⑤AKTA(タンパク質精製)、⑥超音波破碎装置(細菌細胞の破碎)、⑦凍結乾燥機(土壌抽出液の処理)、⑧大型冷却高速遠心分離機、⑨蛍光X線分析装置、⑩安全キャビネット、⑪蛍光顕微鏡

(参考) 当該研究室で実施した修士論文研究と卒業研究のタイトルと使用機器

- (1) 飯山 愛理 (①②)「畑土壤中の微生物に対するメチオニン影響」
- (2) 坂間 涼介 (①②③④⑤⑥⑦⑧)「放線菌リゾチームの異種発現系の構築と土壌微生物バイオマス推定への利用」
- (3) 荻島 晴紀 (⑩)「高分子の抗菌性の研究」
- (4) 窪田 圭佑 (①④)「放線菌キチナーゼの研究」
- (5) 関島 玄太 (④⑤⑥⑦⑧)「法瀬人リゾチームの研究」
- (6) 曾根 聡 (④)「複合微生物系によるキチン分解の研究」
- (7) 中村 美輝「細菌間相互作用の研究」

4. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) E. Ootsuka, Y. Iwasaki, K. Takagi, A. Saito, “LMC60, a material containing low-molecular-weight chitin: degradation and effects on soil microorganisms in incubated upland soil”, *Soil Science and Plant Nutrition*, **67**, 389–399 (2021).

(学会発表)

- (1) ○坂間涼介・齋藤明広, 「真菌/細菌バイオマスの新規推定法の確立を目指した *Streptomyces griseus* IFO 13350 の推定 *N*-アセチルムラミダーゼの異種生産系の構築・精製と分解特異性の解明」, 本微生物生態学会 34 回大会, 2021 年 10 月 (オンライン開催).
- (2) ○飯山愛理・齋藤明広, 「培養土壌中の植物病原性フザリウムと細菌群集に対するメチオニン添加の影響の評価」, 本微生物生態学会 34 回大会, 2021 年 10 月 (オンライン開催).

(著書)

- (1) 南澤究(編著)・妹尾啓史(編著)・青山正和(著)・齋藤明広(著)・齋藤雅典(著), 「エッセンシャル土壌微生物学 作物栽培の基礎」, 講談社.

(その他)

- (1) 齋藤明広, 「畑土壌でのキチン分解の研究への細菌群集構造解析の利用とインパクト」, 静岡大学グリーン科学研究所共同利用機器セミナー, 2021 年 3 月 (オンライン開催).

Serratia nematodiphila H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質に関する研究

氏名 宮地 竜郎 静岡理工科大学 理工学部 物質生命科学科 教授

1. 概要

微生物は新規な生理活性やユニークな構造を有する化合物を産生する。このような物質の生理活性や化学構造に対する理解は新しい医薬品や農薬の開発につながる。本研究室の先行研究において、ヤマトヒメミミズに対する殺傷活性を指標に目的菌株のスクリーニングが実施され、土壌より分離した *Serratia nematodiphila* H-1-1 株に有望な活性が見出された。ミミズが属する環形動物は系統上、ダニや昆虫等の節足動物と比較的近縁であるため、H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質は有害な節足動物に対しても活性を有する可能性がある。本研究では、無性生殖により早く増殖し、飼育が簡便なヤマトヒメミミズ (*Enchytraeus japonensis*) を用いた殺傷活性の測定系を構築し、H-1-1 株が産生するミミズ殺傷物質の分離・精製、構造解析を試みた。

2. 菌株の産生するミミズ殺傷物質の構造解析

H-1-1 株は培養上清中のミミズ殺傷活性に基づいたスクリーニングにより得られた細菌であるため、少なくとも培養上清中には殺傷物質が含まれる。本研究では、菌体内や細胞表層にも殺傷物質が見出される可能性を考慮して、菌体からの活性物質の精製・構造解析を試みた。

1) 培養上清中のミミズ殺傷物質の構造解析

①分子量の推定

培養上清を透析膜 (分画分子量: 10,000)、限外濾過フィルター (3,000cut、1,000cut)、透析膜 (分画分子量: 100~500) に供し、得られた処理液の活性を測定した。その結果、培養上清に含まれる活性物質は分子量 500 以下であることがわかった。

②分別沈殿

カルボキシル基の沈殿剤として酢酸鉛(II)三水和物、塩化バリウム二水和物、硝酸カルシウム四水和物、塩化カルシウム二水和物を用いた。他方、アミノ基の沈殿剤としてピクリン酸、ローダニルブルー、ライネック塩一水和物、3,5-ジニトロ安息香酸、ピクロロン酸、メチルオレンジを用いた。各沈殿剤の水溶液を調製し、ミミズに添加したところ、死滅は認められなかった。培養上清と沈殿剤を 5:1 の比率で混合し 10 分間放置し、遠心分離をすることで得られる上澄み液の活性測定を行った。その結果、カルボキシル基の沈殿剤である硝酸カルシウム四水和物と塩化カルシウム二水和物およびアミノ基の沈殿剤である 3,5-ジニトロ安息香酸の添加によって共に活性が消失した。この事より、ミミズ殺傷物質はこれらの官能基を有している可能性が示唆された。

2) 菌体の無細胞抽出液のミミズ殺傷活性の確認

菌体を生理食塩水で 3 回洗浄し、等量の抽出液 (100 mM の塩化ナトリウムを含む 20 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) を添加し、細胞を超音波破碎 (出力 70%、超音波 ON 1 秒・OFF 1 秒で 25 秒間のセットを 25 回実施) した。菌体破碎液の遠心分離後に得られる無細胞抽出液の活性を確認したところ、認められなかった。

3) 菌体のメタノール抽出液からの殺傷物質の分離・精製、構造決定

培養液の遠心分離により得られた菌体に対して洗浄なしにメタノールを添加した。これを遠心分離し、上澄み液をエバポレーターにより濃縮した。得られた沈殿に対して、順に純水と酢酸エチルを加え、分液ロートで分配した。水層のミミズ殺傷活性を測定したところ、活性は検出されなかった。続いて、酢酸エチル層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、ヘキサンと酢酸エチルの混合液を用いて溶出させフラクション1~4 (F1~F4) を得た。さらに、酢酸エチルおよびメタノールを用いて溶出させた画分をそれぞれ F5、F6 とした。各フラクションの濃縮物について、活性を測定したところ、F6 に活性が検出された。続いて、F6 を分取薄層クロマトグラフィー (PTLC) に供し、F6-1~F6-5 を得た。F6-2 に活性が検出されたため、この画分に対して PTLC を用いて精製を行った。そして、主要成分であった F6-2-3 に対して、1D および 2D-NMR 分析を実施した。その結果、この化合物は水不溶性の環状ジペプチドである既知物質マキュロシン(Maculosin) (図 1) であった。これまでに、マキュロシンは植物に壊死を引き起こす物質として *Pseudomonas aeruginosa* や *Bacillus* 属等から検出されているが *Serratia* 属からは初めてである。しかし、マキュロシンの市販品を購入して活性を測定したところ、活性は検出されなかったが、可溶化の条件等を検討することで活性が得られる可能性や F6-2 中の微量成分である可能性が考えられる。

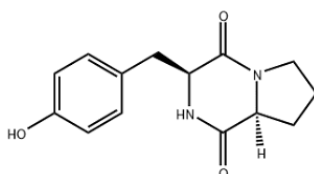


図1 マキュロシン cyclo-(L-Pro-L-Tyr)

3. 利用機器

NMR

4. 謝辞

本研究の遂行にあたり、目的物質の精製および構造解析に関して全面的にご指導頂いた本学の鎌田昂先生および、当該物質の化学反応性に関してご教示頂いた本学の桐原正之先生に深謝いたします。

5. 令和3年度研究業績

(学会発表)

- (1) ○趙浴竹・佐藤光将・鎌田昂・宮地竜郎, 「*Serratia nematodiphila* H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質」, 日本食生活学会
- (2) ○趙浴竹・佐藤光将・鎌田昂・桐原正之・宮地竜郎, 「*Serratia nematodiphila* H-1-1 株の産生するヤマトヒメミミズ殺傷物質」, 日本食生活学会。

静岡県中西部に分布するヒカゲノカズラ科植物の化学成分分析

氏名 鎌田 昂 静岡理工科大学 理工学部 物質生命科学科 准教授

1. 概要

ヒカゲノカズラ科 (Lycopodiaceae) の植物はシダ類に属し、日本には約 30 種が分布している。中でも、古来より髪飾りやお供え物などの装飾品や生薬として用いられてきたヒカゲノカズラとトウゲシバが有名である。その化学成分としては、強力なアセチルコリンエステラーゼ阻害作用を示し、アルツハイマー病に対する治療効果が認められた huperzine A などのリコポジウムアルカロイド群が注目されている。静岡県の森町から島田市にわたる雑木林には、ヒカゲノカズラとトウゲシバが多く自生しているが、これまでに化学成分分析を実施したという報告はない。本研究では、これらの 2 種を対象とし、二次代謝産物の探索と、農薬シーズの創製を目的とした生物活性試験を行った。

2. 「テルペノイドの単離と構造決定」

ヒカゲノカズラ科植物の分布・生育調査は、静岡県中西部の 3 市町村（島田市・掛川市・森町）で実施した。化学成分分析に供した 2 種のサンプルは、2021 年 2 月 19 日に静岡県森町の大洞院周辺の遊歩道で採集した。サンプルはそれぞれメタノールを用いて抽出した。得られたメタノール抽出物を酢酸エチルと水で二層分配し、酢酸エチル画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキササン/酢酸エチル系）を用いて 5 つに分画した。その後、各画分を ¹H-NMR プロファイリングに供し、二次代謝産物の存在が確認された高極性側の画分 4 と 5 に対して、PTLC を用いた分離と精製を行った。単離した化合物の構造解析では、本学先端機器分析センター所有の核磁気共鳴装置 (JEOL ECA-400) を使用した。

ヒカゲノカズラからオノセロイド化合物である α -onocerine (1) を単離した。一方、トウゲシバからは、中央の C 環が 7 員環構造をとるセラタン骨格のトリテルペンである serratenediol (2) と serratenediol-3-acetate (3) を単離した。森町問詰にて採集したヒカゲノカズラおよび島田市伊久美産のトウゲシバといった別個体に対しても同様の手順で化学成分分析を実施したが、分析結果は同じであった。苔類や藻類では、たとえ同一種であっても産地の違いによってケモタイプが存在することが知られている。しかし、本研究で扱ったシダ植物 2 種に関しては、ケモタイプの存在を確認できなかった。つまり、静岡県中西部に分布するヒカゲノカズラとトウゲシバの主要二次代謝産物は、それぞれ化合物 1 および 2-3 であることが分かった。なお、これらの化合物は、同属のヨウラクヒバやホソバトウゲシバなどからも報告されている。

先行研究によると、ヒカゲノカズラ科植物の地上部の組織には多様な内生糸状菌が定着している。近年、リコポジウムアルカロイドを生産する内生糸状菌種が複数報告されているため、ヒカゲノカズラ科植物は内生糸状菌と共生することでリコポジウムアルカロイドを生産している可能性がある。今回は、テルペン類に焦点を絞った化学成分研究を行ったが、今後、アルカロイド分配を行うなどして、含有するアルカロイド成分の解明を進める。

3. 「コクゾウムシ忌避活性の評価」

化合物 1 が、コクゾウムシに対して忌避活性 (25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) を示した。シダ植物が昆虫に食べられにくい理由は、このような生物活性に起因すると考えられる。他方、全ての化合物で、キョウナの根の成長

阻害活性は認められなかった。今後、コマツナやブロッコリーなど他の植物に対しても同様の試験を実施する。

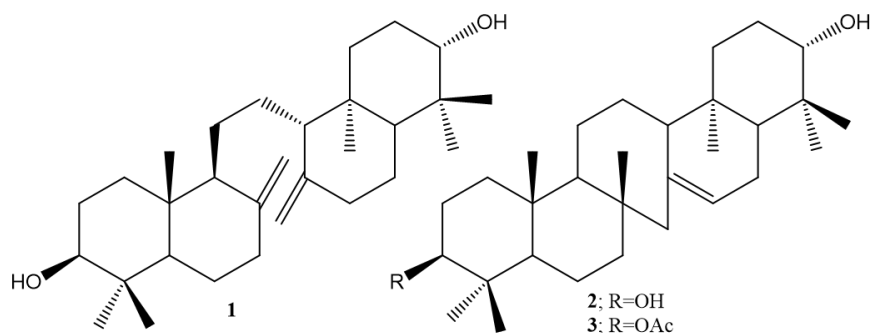


図. 化合物 1-3 の構造

4. 謝辞

本研究の一部は、科研費若手研究「21K14904」の支援を受けて実施しました。主体的に、採集活動と実験に取り組んでくれた学部4年生の加藤竜矢氏に感謝します。

5. 利用機器

核磁気共鳴装置・遠心分離機・マイクロプレートリーダー

6. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) S. Y. Ng, L. P. Ang, V. L. Hau, M. Suleiman, C. S. Vairappan, **T. Kamada**,* “Structural diversity, anti-fungal activity and chemosystematics of Bornean liverwort *Bazzania harpago* (De Not.) Schiffner.”, *Sains Malaysiana*, **50**, 101–107 (2021).
- (2) K. Sato, K. Kaneko, Y. Kamekawa, K. Taba, S. Ishigami, M. Wada, T. Ishii, T. Abe, **T. Kamada**,* M. Suzuki, “Two new halogenated compounds from the marine red alga *Laurencia nipponica* Yamada from the Kunashiri and Etorofu islands.” *Chemistry and Biodiversity*, **18**, e2100397 (2021).
- (3) Y. Minamida, H. Matsuura, T. Ishii, M. Miyagi, Y. Shinjo, K. Sato, **T. Kamada**, Y. Mihara, I. Togashi, K. Sugimoto, T. Abe, N. Kikuchi, M. Suzuki, “New acetogenin katsuurallene from *Laurencia saitoi* collected from Katsuura, Japan.” *Natural Products and Bioprospecting*, Article in Press.

(学会発表)

- (1) **T. Kamada**,* K. Sato, K. Nimura, K. Okamoto, “Biological potentials of halogenated secondary metabolites from Japanese marine red algae *Laurencia* spp.”, AFOB Malaysia Chapter International Symposium 2021, September, Serdang, Malaysia (オンライン開催) .
- (2) 佐藤光将・金子賢介・石井貴広・山岸幸正・加藤亜紀・二村和視・岡本一利・菊池則夫・鈴木稔・**鎌田昂***, 「紅藻キクソゾ由来の新規含ハロゲンテルペンの構造と生物活性」, 第65回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会, 山口, 2021年10月.

食用植物の食品機能性評価に関する研究

氏名 高部 稚子 静岡理科大学 理工学部 物質生命科学科 准教授

1. 概要

生体内でグルコースやフルクトースなどの還元糖がタンパク質と非酵素的に結合する糖化反応が起こると、終末糖化産物 (advanced glycation end products:AGEs) が産生される。AGEs は加齢とともに蓄積され、糖尿病などの生活習慣病の原因となる。AGEs の生成を防ぐ手法の1つとしてお茶や野菜、果実などの糖化反応を抑制する成分 (抗糖化作用成分) を多く含む食品を摂取することが挙げられる。また、糖化反応は途中で酸化反応を含むため、食品の抗酸化作用も重要と考えられる。本研究では静岡県西部で生産実績のある食用植物について、食品機能性、特に抗糖化作用と抗酸化作用について検証した。

2. 陶片処理水がイチゴの食品機能性に及ぼす影響に関する研究

近年開発された特殊な釉を塗布して作られた多孔質状の特殊陶器片により処理された水 (陶片処理水) は溶存水素濃度が上昇することが知られている。水素は強力な抗酸化能を持つため、水素ガスや水素水は様々な酸化ストレスに対して効果を有することが報告されているが、植物に関する効果としては農作物の収量の増加や糖度上昇などが知られている。本研究では14品種のイチゴについてそれぞれ通常水と陶片処理水で栽培を行い、収穫後、可食部である花托を薄くスライスし乾燥・粉末化した。乾燥粉末に超純水を加え80℃で75分間加温することで熱水抽出液を作製し、生体ストレス反応である糖化反応、酸化反応に対する効果を検証した。糖化反応抑制作用 (抗糖化作用) の評価はグルコースとタンパク質 (ヒト血清アルブミン) が結合して生じるAGEs が持つ蛍光 (励起波長370 nm、検出波長440 nm) を測定することで行い、酸化反応抑制作用 (抗酸化作用) は、DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去活性評価法を用い、ビタミンEの水溶性アナログであるTroloxを標準品としてTrolox当量で算出・評価した。その結果、全てのイチゴ熱水抽出液に抗糖化作用・抗酸化作用が認められたが、陶片処理水により抗糖化作用が亢進した物は1品種、抗酸化作用が亢進したものは4品種にとどまった。このことから陶片処理水による食品機能の亢進は特定の品種に限定される可能性が示された。

3. 生体ストレス抑制効果を持つ植物素材の探索

静岡県産の野菜類を乾燥・粉末化し、「2.」と同様、熱水抽出液を作製し、抗糖化作用及び抗酸化作用について検証を行った。その結果、抗糖化作用・抗酸化作用共、複数の食用植物に認められ、特に抗糖化作用はエゴマ、コリアンダー、抗酸化作用はエゴマ、オリーブの実で高かった。

4. 謝辞

研究の遂行にあたり、本学先端機器分析センターの先生方にご協力をいただいたことに感謝いたします。また本研究の一部はふくろい産業イノベーションセンター地域研究助成金によって行われました。

5. 利用機器

マルチ検出モードプレートリーダー(TECAN infinite M1000), 食品機能評価室, 食品安全評価室

6. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) Wakako Takabe, Takehiro Nagata, Karin Nakamura, Akiko Kiriya, Mika Asano, Masayuki Yagi, Yoshikazu Yonei, Yasushi Kondo, Shinichi Sugiura, “Effect of ceramic pieces-treated water on food functionality of strawberries.”, 投稿中.

(学会発表)

なし

高分子半導体薄膜の光キャリア再結合に対するラジオ波照射効果

氏名 脇川 祐介 静岡理科大学 先端機器分析センター 講師

1. 概要

炭素社会の実現が求められている中で、光エネルギーと電力を変換する有機半導体は低環境負荷材料として注目されている。有機半導体を用いたエレクトロニクス素子の高性能化にとって、電子正孔対が前駆体となる光キャリアの再結合(図1)は素子性能を左右する重要な素過程である。したがって、材料・素子開発において、素子動作条件下で再結合を評価することが重要である。

本研究では、P型有機半導体における電子正孔対ダイナミクスを解明するために、Poly(3-hexylthiophene-2,5-diyl) (P3HT) 薄膜における低磁場領域の電流検出磁気共鳴 (EDMR) を調査した[1]。試料素子の電氣的測定と ESR を融合した測定手法である EDMR は、ラジオ波の吸収・放出による電子正孔対の再結合量の変化に由来した電流値の増減を測定し、素子動作条件下で電荷再結合を評価できる強力な手法である。

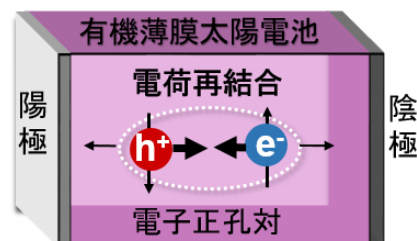


図1 有機薄膜太陽電池における光キャリアの再結合

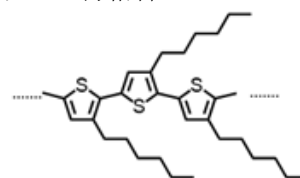


図2 P3HTの分子構造。

2. 実験方法

図3に試料素子と実験装置の模式図を示す。電極間 $5\ \mu\text{m}$ のITOくし型電極上にP3HT薄膜(厚さ $120\ \text{nm}$)をスピコート法で製膜し、試料素子とした。試料素子は、大気暴露防止のために、窒素雰囲気下のグローブボックス内で、石英基板による封止とESR試料管への封入を行った。 $50\ \Omega$ で終端したコイルを静磁場掃引用のヘルムホルツコイルの中央に設置し、試料管を挿入した。信号発生器とシンセサイザーを用いて $2\ \text{kHz}$ でAM変調したラジオ波($1\text{--}25\ \text{MHz}$)を高周波アンプで増幅し、試料素子にラジオ波磁場を照射した。

照射するラジオ波磁場の強度を一定にするために、 $50\ \Omega$ で消費される高周波電力を一定にした。電圧 $10\ \text{V}$ を試料素子に印可し、波長 $520\ \text{nm}$ の半導体レーザーを照射したときに回路に流れる光電流(I)の変調成分を、二位相ロックインアンプを用いて位相検出した。測定はすべて室温で行った。

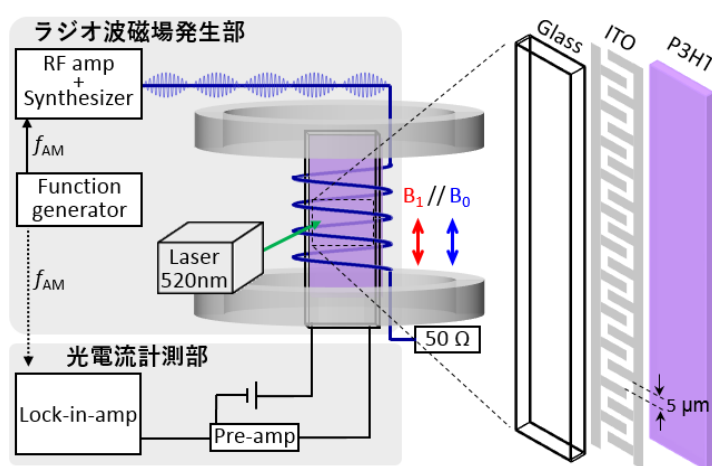


図3 試料素子と実験装置の模式図

3. 結果と考察

図4に、10 MHzにおける EDMR スペクトルを示す。ラジオ波磁場 (B_1) は外部磁場方向 (B_0) に対して平行 ($B_1 // B_0$)あるいは垂直 ($B_1 \perp B_0$) に印可した。垂直配置では、 $B_0 = \pm 0.36$ mT と $B_0 = 0$ mT において EDMR 信号が観測された。一方、平行配置では $B_0 = 0$ mT の EDMR 信号のみ観測された。 $B_0 = \pm 0.36$ mT の信号は電子正孔対の ESR による再結合量の増加に由来する。

$B_0 = 0$ mT の EDMR 信号の特性を調べるために、ラジオ波周波数依存性を測定した(図5)。 $B_0 = 0$ mT の EDMR 信号強度は 5 MHz 付近で極大を示し、その後ラジオ波周波数の増加とともに減少した。また、終端抵抗におけるラジオ波電力 ($P_{50\Omega}$) の増加に従い、EDMR 信号が増加した。観測された $B_0 = 0$ mT の EDMR 信号は、超微細相互作用によってエネルギー分裂した電子正孔対のスピン状態間の ESR とラジオ波による静磁場効果に由来する。電子正孔対の寿命 (τ_{e-h}) よりも周期が長いラジオ波を照射した場合、ラジオ波磁場は電子正孔対ダイナミクスに対して静磁場として寄与し、その効果は電子正孔対の寿命に依存する。観測された光電流減少のラジオ波周波数依存性に対して、密度行列を用いた光キャリア濃度変化 (Δn) の理論計算による解析を試み、電子正孔対の寿命を求めた。 $\tau_{e-h} = 20$ ns とした計算曲線は実験値を良く再現した。求めた τ_{e-h} は、EDMR 信号の AM 変調周波数依存性から求めた電荷再結合の寿命 13 μ s よりも著しく短いことが分かった。このことから、光キャリアの衝突による電子正孔対の形成が、電荷再結合の律速過程であることが明らかとなった。P3HT 薄膜における電子正孔対の遅い形成速度は、希薄な光キャリア濃度 ($\sim 10^{14}$ cm $^{-3}$) と低いキャリア移動度 (10^4 cm 2 / V \cdot s $^{-1}$) が原因であると考えられる。

4. 利用機器

ESR, XRD, SPM, UV-Vis

5. 令和3年度研究業績

(原著論文)

- (1) Y. Wakikawa, T. Ikoma, "Radiowave Effects on an Electron-Hole Pair in a Poly(3-hexylthiophene) near Zero Magnetic Field", *J. Phys. Chem. C*, **125**, 26613–26618 (2021).

(学会発表)

- (1) ○脇川祐介, 「有機半導体材料およびデバイスにおける電荷キャリア・励起子のスピンドイナミクス研究」, 第60回電子スピン共鳴サイエンス学会年会.
- (2) ○脇川祐介, 「有機光電変換デバイスにおけるキャリア再結合の電流検出磁気共鳴研究」, 第23回高柳健次郎記念シンポジウム.

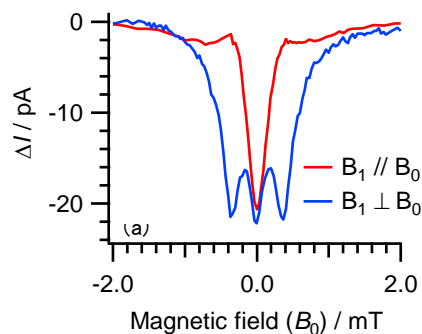


図4 10 MHz の EDMR スペクトル

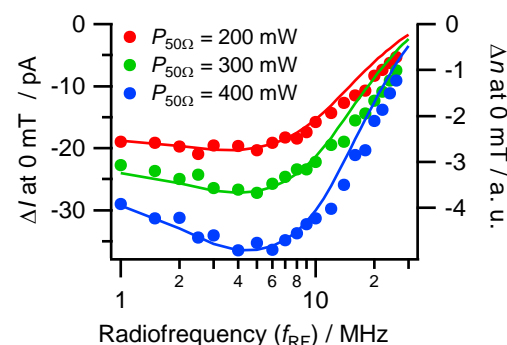


図5 ゼロ磁場 EDMR 信号のラジオ波周波数依存性。実線は密度行列を用いて計算した理論曲線を示す。

先端機器分析センター内機器を用いた研究の報告（令和3年度）

氏名 小林 久理眞 静岡理科大学 総合技術研究所 客員教授
久野 智子 本学総合技術研究所 特別研究員（博士研究員）

1. 概要

本研究グループは、本年度、卒業研究生を受け入れず研究を継続した。主に SEM、VSM、MFM などの機器を使用し、(外部)との共同研究の「磁気余効現象」の測定と磁区構造観察を行った。

トヨタ自動車(株)とは、本研究室所属の久野研究員と小林の共同で、永久磁石の「磁気余効」現象の研究を行っており、主に振動試料型磁力計(VSM)を使用した。同磁力計は玉川製作所(株)と東英工業(株)の整備調整と修理で測定を再開し、ほぼ順調に測定が出来ている。

磁気力顕微鏡(MFM)については、信越化学工業(株)磁性材料研究所(同所中村 元所長が直接窓口)と共同で磁石の磁区構造の観察を継続で行っており、上記の久野智子研究員と、すでに他所に移動した漆畑貴美子(前)研究員が協力して、観察の困難な永久磁石焼結体の結晶 a-b 面の磁区構造の観察を行った。VSMについては、立命館大学から譲渡要請が来ており、次年度に移設予定である。

2. ThMn₁₂型構造永久磁石の研究

立命館大学に移られた藤原弘教授が、この材料の研究に興味を示されており、今年度も、そちらの研究室で焼結実験を行った。解析などは、今後行う予定である。

上述の(SPS)法による焼結磁石については、ThMn₁₂型構造永久磁石の応用で、特に、工業的な重要度が高いと判断され、本大学法人からの独自出願特許として令和2年8月に特許出願し、さらに、同年12月には、補正データも追記してさらに再出願を行った。今後も継続して研究課題となる予定である。

3. 磁気余効現象の研究

トヨタ自動車(株)提供の永久磁石試料の磁気余効現象を測定、解析している。近年は、従来から広く用いられてきた磁気余効測定法と解析手法を踏襲し、それと Step 法によるデータを比較検討している。ただし、磁気粘性(従来 S と記載)値は、測定時間内で段階的に少しずつ変化することが明らかになった。今後は、試料の相違、測定温度の変化も含めて、解析を広げて行く予定である。また、小林の永久磁石の保磁力研究では、「磁気余効現象」は重要な部分であるので、今後も測定と理論の両面から研究を継続する予定である。

(試料と測定条件の詳細は、共同研究の制約上、本報告書では伏せる)

4. 磁気力顕微鏡(MFM)による磁区構造の研究

昨年度同様に、久野智子研究員を中心に、信越化学工業(株)磁性材料研究所と共同で磁石の磁区構造の観察(MFMを使用)を行っている。従来品と改良品(試料と測定条件の詳細は、共同研究の制約上、本報告書では伏せる)における磁区構造の相違に注目して観察を行っている。

5. 謝辞

昨年度の報告書でも述べたとおり、上述の研究の内、ThMn₁₂型構造永久磁石の研究は、経済産業省管

轄の略称 Mag-HEM プロジェクト（令和3年度で終了）からの研究助成を受けて、トヨタ自動車（株）グループと推進してきたものである。当社には上述した「磁気余効現象」の現在の研究テーマでも助成をいただき深く感謝している。また、信越化学工業（株）には、近年、継続した研究助成をいただき大変感謝している。

6. 利用機器

振動試料型磁力計（VSM）及び磁気力顕微鏡（MFM）、SEM

7. 令和3年度研究業績

（原著論文）

- (1) **Kurima Kobayashi**, Tomoko Kuno*, Takahide Yamamoto, “Preparation of $(\text{Sm}_{0.8}\text{Zr}_{0.2})_{1.05-1.10}(\text{Fe}_{0.9}\text{Co}_{0.1})_{11.3}\text{Ti}_{0.7}$ magnets by spark plasma sintering method”, *Mater. Trans.*, **62**(12), 1757–1763 (2021).
doi:10.2320/matertrans.MT-M2021077 *Corresponding author
- (2) **Kurima Kobayashi**, “Role of domain structure change in the coercivity mechanism of sintered permanent magnets”, *Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*, **68**(12), 523–535 (2021).
doi.org/10.2497/jjspm.68.523

XRD および SEM によるコンクリート用骨材の組成・組織分析

氏名 太田 達見 静岡理科大学 理工学部 建築学科 教授

1. 概要

骨材は、コンクリート全容積の約70%を占める主要材料で、骨材の乾燥収縮挙動がコンクリートのひび割れ発生の要因となっている。静岡県内では、生コンクリートの製造に主要河川流域から産出される川砂利が多用されるが、川砂利の収縮挙動や岩種はほとんど解明されていない。本研究は、川砂利の鉱物組成や岩種の解明をXRD または SEM によって試みるとともに、岩種を含む骨材の諸特性がコンクリートの乾燥収縮に及ぼす影響を明らかにし、コンクリートのひび割れ低減策の提案を目指すものである。

2. 本研究の成果

本研究では、静岡県内産の川砂利4種類の試料にひずみゲージを貼り、湿潤/乾燥環境下および温度変動下においてひずみ挙動を求め、その結果から乾燥収縮率と線膨張係数を求めた。しかし、川砂利は、各河川流域やその上流域から産出されるため、岩種が特定できず、そのため乾燥収縮率や線膨張係数にばらつきが多い。そこで、乾燥収縮率や線膨張係数が最大、最小、および平均値を示した骨材に対して、XRD や SEM による分析によって岩種や内部組織・組成を明らかにし、こうした特徴的な挙動を示す要因を明らかにすることとした。以下に、本研究で得られた成果をまとめて示す。

- 1) 静岡県産川砂利4種とその比較用の豊橋産石灰砕石の乾燥収縮率を求めた結果、乾燥収縮率は静岡県産川砂利の方が豊橋産石灰砕石に比べて約 290×10^{-6} 大きく、ばらつきも大きい。また、いずれの骨材も線膨張係数はほぼ同等で、骨材の乾燥収縮率と線膨張係数とは、概ね線形関係にある(図1)。
- 2) 骨材の乾燥収縮率が大きいと、それにほぼ比例してコンクリートの乾燥収縮率が大きくなる(図2)。

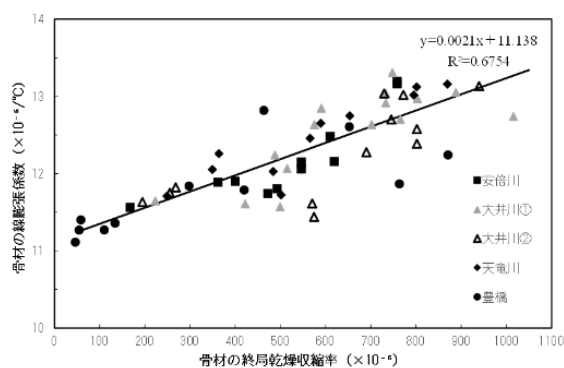


図1 骨材の乾燥収縮率と線膨張係数の関係

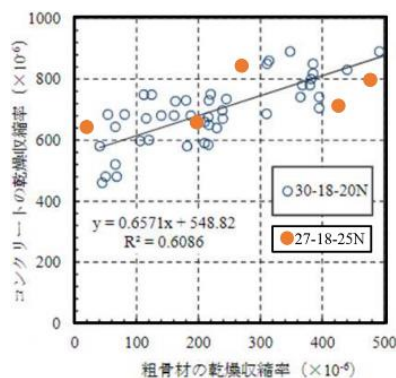


図2 骨材の乾燥収縮率とコンクリートの乾燥収縮率の関係

- 3) 本実験において特徴的なひずみ挙動を示した骨材試料を抽出し、XRD 装置による分析および SEM 観察を行った結果、骨材を構成する元素に静岡県内の主要河川による著しい相違は見られず、構成元素によって特異なひずみ挙動を示すか否かは明らかにならなかった(図3、図4)。
- 4) XRD 装置による分析および SEM 観察で、骨材の構成元素を特定することは可能ではあるが、これらの分析結果に基づく骨材の構成元素のみから、骨材の岩種まで特定するに至らなかった。そのため、岩石の結晶観察が行える偏光顕微鏡による骨材の観察、骨材の含有物質の質量分率の推定が可能な定量分析なども取り入れる必要がある。また、岩種の特定方法において、目視による岩種の判別など、骨材分析とは異なる岩種の特定方法についても模索する必要があると考える。

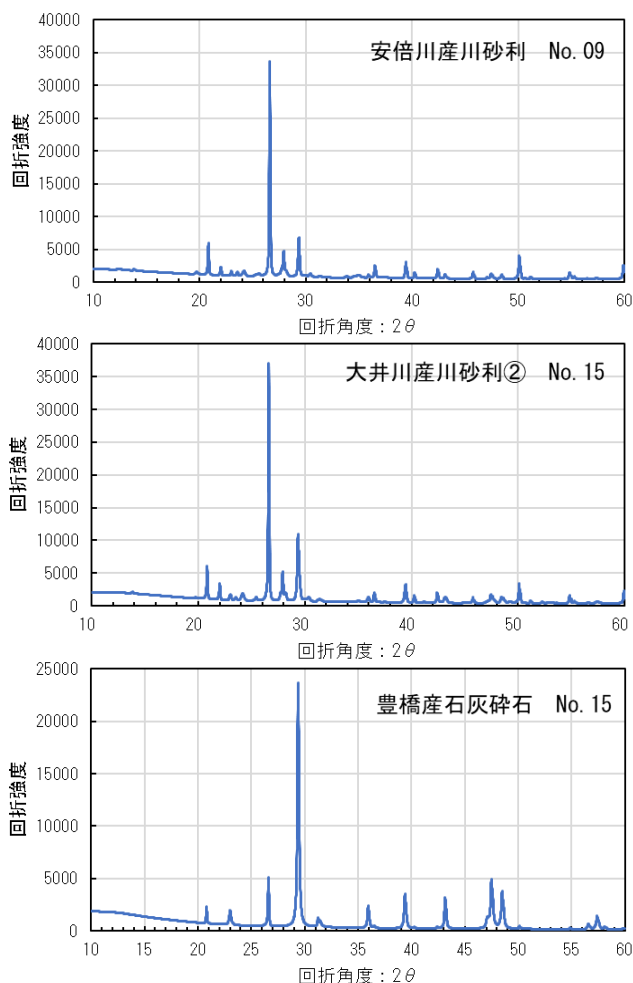


図3 骨材のXRDプロファイル

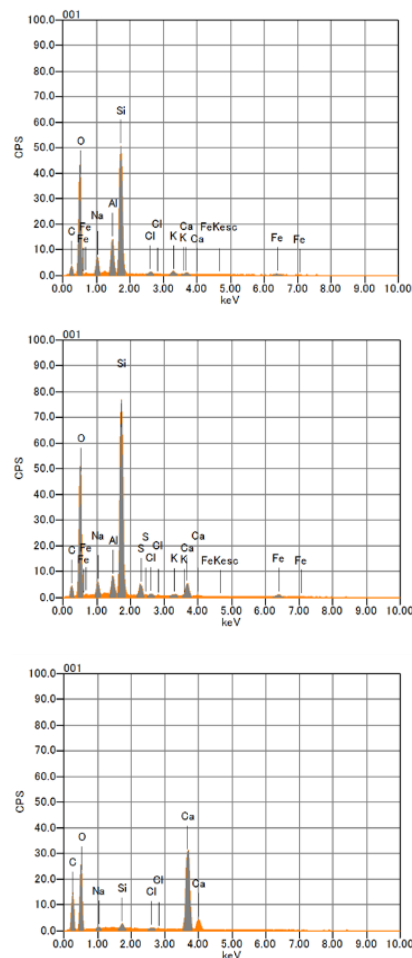


図4 SEMによって得られた骨材のスペクトル

3. 利用機器

XRD, SEM

4. 令和3年度研究業績

(論文)

- (1) 笠原快斗／田代奨真:静岡県産各種骨材の諸特性評価に関する研究、静岡理科大学卒業論文、2022.3

(学会発表)

- (1) 静岡県産各種骨材の諸特性評価に関する研究 (その1:粗骨材の乾燥収縮率と線膨張係数)、日本建築学会大会学術講演会、2022.9 (投稿準備中)

(その他、特記事項)

当該研究は、JPSF 科研費 JP21K04342 の助成を受けて実施したものである。

5. 謝辞

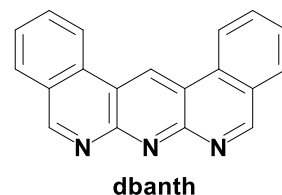
XRD および SEM の操作・分析に際しましては、先端機器分析センター 脇川祐介 講師、小泉武昭 職員から丁寧なご指導を賜りました。文末ながら謝意を表します。

配位子の特性を活かした新規遷移金属錯体の創製および機能発現

氏名 小泉 武昭 静岡理科大学 総合技術研究所 研究員

1. 概要

金属イオンと主に有機物からなる配位子との組み合わせにより形成される金属錯体は、金属のみ、あるいは有機物のみでは成しえない特異な物理・化学的性質や機能を発現することから、大きな注目を集めている化合物群である。1,9,10-アンチリジンは、3個のピリジンが縮環したアントラセン構造をもち、且つ3個のイミン窒素が一方のへの部位に位置している。この構造上の特性から、種々の配位形式をもつ新たな単核・複核錯体の形成が期待できる。本研究では、配位子としてジベンゾ-1,9,10-アンチリジン (dbanth) を有する新規遷移金属錯体を創製し、その機能について検討した。



2. dbanth を架橋配位子にもつ Rh(II)-Rh(II)二核錯体の研究

dbanth に対して2当量の[RhCl₃(tpy)] (tpy = 2,2':6',2''-terpyridine) を EtOH-H₂O 混合溶媒中で加熱還流することにより、濃緑色の生成物 [1] が得られた。¹H-NMR スペクトルを測定したところ、非対称な dbanth 配位子および2種類の tpy 配位子が含まれていることが強く示唆された。アセトニトリル-ジエチルエーテルからの再結晶により単結晶を作成し、X線結晶構造解析 (Rigaku XtaLaB Synergy-DW: 東京工業大学オープンファシリティセンター) を行うことでその構造を決定した (Figure 1)。COSY および NOESY スペクトルと得られた構造を照らし合わせることで、全てのプロトンの帰属に成功した (Figure 2)。

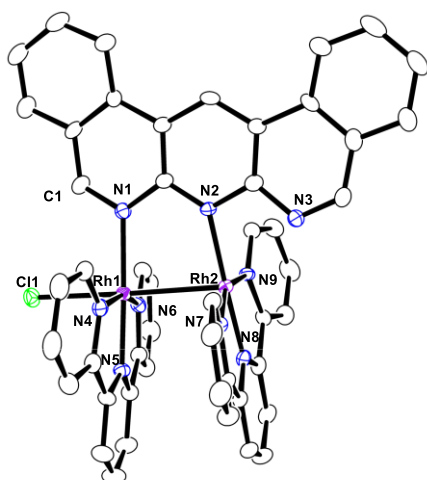
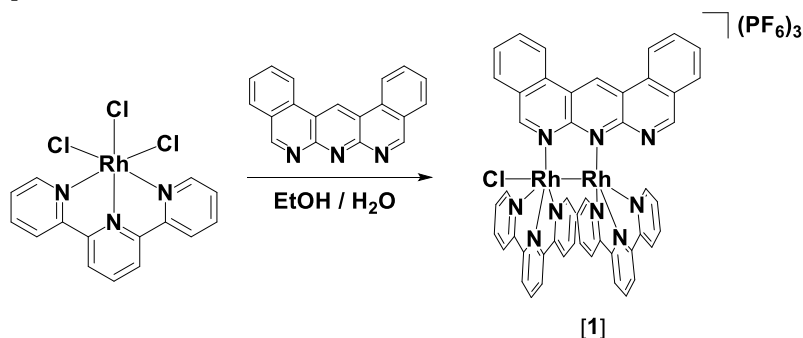


Figure 1. [1]の分子構造 (アニオンは省略してある)

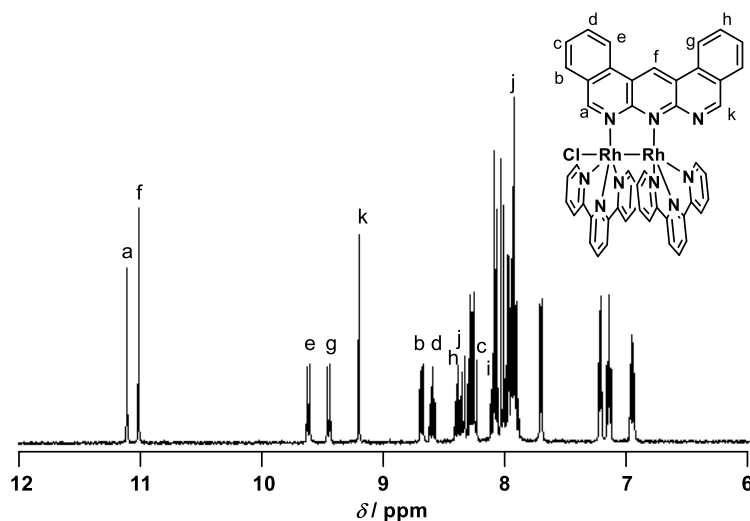


Figure 2. [1]の¹H-NMR スペクトル dbanth の帰属のみを表記

[1]は金属—金属結合を形成しており、それぞれの Rh は+2 価である。原料である[RhCl₃(tpy)]は+3 価であることから、反応系中で還元反応が起こっていることがわかる。Rh-Rh 軸上には一方にのみ Cl 配位子が結合している。これは、もう一方の Rh がアンチリジン配位子の金属に配位していないイミン窒素と近い位置にあり、立体障害のため配位が起こりにくくなっているためであると考えられる。

[1]のアセトニトリル溶液に対して過剰量の塩化物イオンを添加すると、赤色の固体が速やかに沈殿した。これをメタノール—ジエチルエーテルから再結晶し、X

線結晶構造解析を行った。その結果、Clが2個 Rh—Rh の軸方向の配位サイトに配位した構造をもつ[2]が生成したことがわかった。[1]はアセトニトリルに対して可溶、メタノールに対して不溶であるが、[2]は溶解性が逆転し、アセトニトリル不溶、メタノール可溶となった。これは、対アニオンが PF₆⁻ から Cl⁻へと変換されたことが影響していると考えられる。[2]の希薄メタノール溶液を用いた ESI-MS スペクトル測定では、[2]に加えて Cl の一方が MeO⁻に置き換わったと考えられるシグナルが現れたことから、容易に置換反応が起こることが示唆された。[2]のメタノール溶液に対して NH₄PF₆ 水溶液を添加すると、赤色溶液が緑色に変化し、濃緑色の沈殿が生じた。これは、[2]から Cl が1個解離し、[1]が再生したことを示している。すなわち、[1]はハロゲンの認識能を持つ錯体であり、センサーとしての機能を発現しうる化合物であることが伺える。

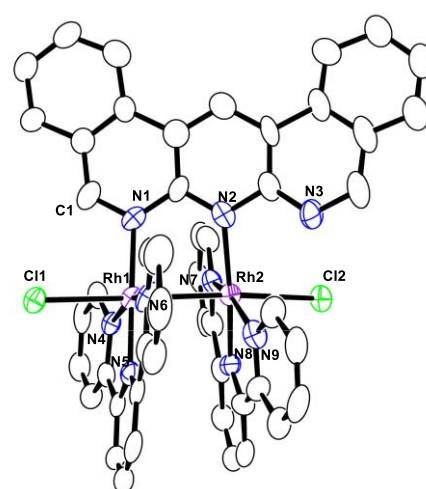
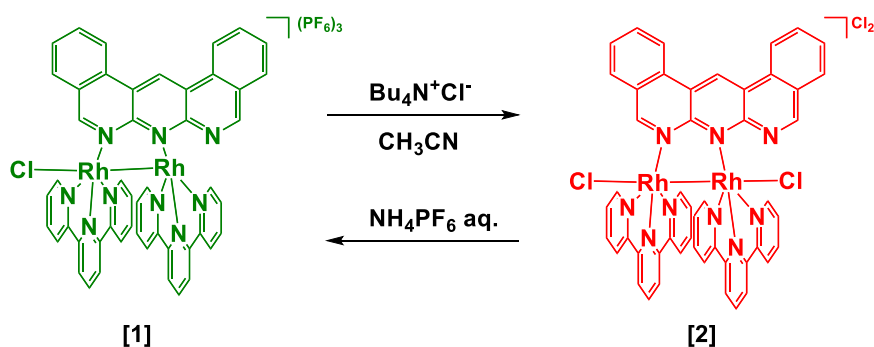


Figure 2. [2]の分子構造 (アニオンは省略してある)

3. 謝辞

本研究の一部は科学研究費基盤研究 C (課題番号：21K05097) の助成を受け実施しました。X 線結晶構造解析でお世話になりました東京工業大学 オープンファシリティーセンター・清悦久技術専門員、および ESI-MS スペクトル測定でお世話になりました名古屋市工業研究所 材料技術部・山中基資研究員に感謝申し上げます。

4. 利用機器

NMR, FT-IR

5. 令和3年度研究業績

(学会発表)

- (1) 小泉武昭・田中君弥・井手智仁・土戸良高・小坂田耕太郎, 「低原子価パラジウムクラスター錯体を用いたジスルフィド類の活性化」, 第 52 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2021 年 10 月 (オンライン開催).

2. 修士論文研究報告

- | | | | |
|-----|---|------------------|-----------------|
| 1. | 「 <i>Serratia nematodiphila</i> H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質に関する研究」 | 材料科学専攻
指導教員 | 趙 浴竹
宮地 竜郎 |
| 2. | 「固体触媒を用いる BDF の合成と応用」 | システム工学専攻
指導教員 | 鍾 昕翰
十朱 寧 |
| 3. | 「反応性 RF スパッタ法による $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶成長に関する研究」 | システム工学専攻
指導教員 | 中村 隼輔
小澤 哲夫 |
| 4. | 「畑土壌中の微生物に対するメチオニンの影響」 | 材料科学専攻
指導教員 | 飯山 愛理
齋藤 明広 |
| 5. | 「放線菌リゾチームの異種発現系の構築と土壤微生物バイオマス推定への利用」 | 材料科学専攻
指導教員 | 坂間 椋介
齋藤 明広 |
| 6. | 「ハロゲンを活用した新規反応の開発」 | 材料科学専攻
指導教員 | 坂本 侑吾
桐原 正之 |
| 7. | 「シクロプロパン化合物を用いる新規合成反応の開発」 | 材料科学専攻
指導教員 | 中村 里帆
桐原 正之 |
| 8. | 「紅藻ソゾ由来の含ハロゲン化合物の構造多様性と生物活性」 | 材料科学専攻
指導教員 | 佐藤 光将
鎌田 昂 |
| 9. | 「微生物処理した養豚排水からのアンモニア回収法の検討」 | | |
| 10. | | 材料科学専攻
指導教員 | 中野 直弥
山崎 誠志 |
| 11. | 「セミの翅のナノ構造を模倣したポリビニルアルコールを含有する架橋フィルムの調製と抗菌性について」 | 材料科学専攻
指導教員 | 藤本 一磨
小土橋 陽平 |

Serratia nematodiphila H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質に関する研究¹

Earthworm killing substance produced by *Serratia nematodiphila* H-1-1

趙 浴竹²

Yuzhu ZHAO

1. はじめに

微生物は新規な生理活性やユニークな構造を有する化合物を産生する。このような物質の生理活性や化学構造に対する理解は新しい医薬品や農薬の開発につながる。本研究の先行研究において、ヤマトヒメミミズに対する殺傷活性を指標に目的菌株のスクリーニングが実施され、土壌より分離した *Serratia nematodiphila* H-1-1 株に有望な活性が見出された。ミミズが属する環形動物は系統上、ダニや昆虫等の節足動物と比較的近縁であるため、H-1-1 株の産生するミミズ殺傷物質は有害な節足動物に対しても活性を有する可能性がある。本研究では、無性生殖により早く増殖し、飼育が簡便なヤマトヒメミミズ (*Enchytraeus japonensis*)¹⁾を用いた殺傷活性の測定系を構築し、H-1-1 株が産生するミミズ殺傷物質の分離・精製、構造解析を試みた。

2. 実験結果

2-1 培養上清のミミズ殺傷活性に関する実験

1) ミミズ殺傷活性測定系の構築

室温下でプラスチックシャーレ内にヤマトヒメミミズを3頭移し、H-1-1 株の培養上清 100 μ l を3頭の上からまとめて滴下し静置した。実体顕微鏡を用いて、ミミズ体内を含めミミズ全体の動きが全て停止するのに要した時間を1分ごとに計測した。ミミズ全体の動きが停止した場合は、活性ありと判定した。また、ミミズに純水を添加したものをネガティブコントロールとした。本測定系において、死滅に35分以上の時間を要することはなかったことから、35分の時点で死滅しなかった場合は活性なしと判断した。今回構築した活性測定系を用いて H-1-1 株から得られた培養上清の活性を測定したところ、3頭とも5分以内での死滅が確認された。

2) 培養上清の希釈倍率と活性の関係

培養上清を凍結乾燥することで得られた粉末を用いて粉末の10% (w/v) 水溶液を作成し、これを用いて種々の濃度の希釈液を調製した。また10%水溶液の一部は100 $^{\circ}$ C、10分間の熱処理を行った。熱処理を行っていない2~3%

希釈液においては死滅が認められたのに対して、熱処理を行った希釈液においては死滅が確認されなかった。4%より濃度が高い試料においては、熱処理の有無に関わらずミミズの死滅が認められた。ミミズに種々の浸透圧物質(塩化ナトリウム、グルコース、ショ糖)を添加したところ、同様に死滅した事より、粉末の高濃度溶液による死滅は浸透圧によるものと考えられた。この事から、H-1-1 株の培養には3%濃度の乾燥ブイオン培地を用いているため、培養上清によるミミズの死滅は浸透圧ではなく殺傷活性物質によるものと考えられる。

3) 培養上清のミミズ殺傷活性の安定性

① 培養上清のpHが活性に及ぼす影響

培養上清のpHは約9であった。培養上清に水酸化ナトリウムを添加することでpHを10に調整し、希塩酸によってpHを5~8に調整し活性を測定した。その結果、pH10では活性は変動せず、pH5~8では活性が低減したが、pHを再び9に戻したところ活性が回復した。純水に希塩酸あるいは水酸化ナトリウムを加えて調製したpH5~10の溶液をミミズに添加してもミミズは死滅しなかった。

② 殺傷活性の熱安定性

培養上清を20 $^{\circ}$ Cから100 $^{\circ}$ Cまで各温度下で10分間加熱した後の残存活性を測定したところ、50 $^{\circ}$ Cまで活性は保たれたが、60 $^{\circ}$ C以上で失活した。

③ 殺傷活性の酸素感受性と凍結乾燥の検討

凍結乾燥で得られた粉末由来の水溶液は活性を有していた。培養上清をアスピレーターと超音波洗浄機を用いて脱気した場合は、活性が長期間保持された。この結果より、培養で得られた培養上清は脱気後に凍結乾燥したものを-20 $^{\circ}$ Cで3ヶ月保存することとした。

2-2 菌株の産生するミミズ殺傷物質の構造解析

H-1-1 株は培養上清中のミミズ殺傷活性に基づいたスクリーニングにより得られた細菌であるため、少なくとも培養上清中には殺傷物質が含まれる。しかしながら、一般的に構造情報が得られていない水溶性低分子有機化合物の活性に基づいた精製は試行錯誤を伴う。本研究では、菌体

¹ 2021年度修士論文概要

² 静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

内や細胞表層にも殺傷物質が見出される可能性を考慮して、菌体からの活性物質の精製・構造解析を試みた。

1) 培養上清中のミミズ殺傷物質の構造解析

① 分子量の推定

培養上清を透析膜(分画分子量:10,000)、限外濾過フィルター(3,000cut, 1,000cut)、透析膜(分画分子量:100~500)に供し、得られた処理液の活性を測定した。その結果、培養上清中に含まれる活性物質は分子量500以下であることがわかった。

② 分別沈殿

カルボキシル基の沈殿剤として酢酸鉛(II)三水和物、塩化バリウム二水和物、硝酸カルシウム四水和物、塩化カルシウム二水和物を用いた。他方、アミノ基の沈殿剤としてピクリン酸、ローダニルブルー、ライネッケ塩一水和物、3,5-ジニトロ安息香酸、ピクロロン酸、メチルオレンジを用いた。各沈殿剤の水溶液を調製し、ミミズに添加したところ、死滅は認められなかった。培養上清と沈殿剤を5:1の比率で混合し10分間放置し、遠心分離をすることで得られる上澄み液の活性測定を行った。その結果、カルボキシル基の沈殿剤である硝酸カルシウム四水和物と塩化カルシウム二水和物およびアミノ基の沈殿剤である3,5-ジニトロ安息香酸の添加によって共に活性が消失した。この事より、ミミズ殺傷物質はこれらの官能基を有している可能性が示唆された。

2) 菌体の無細胞抽出液のミミズ殺傷活性の確認

菌体を生理食塩水で3回洗浄し、等量の抽出液(100mMの塩化ナトリウムを含む20mM Tris-HCl 緩衝液(pH7.5)を添加し、細胞を超音波破碎(出力70%、超音波ON1秒・OFF1秒で25秒間のセットを25回実施)した。菌体破碎液の遠心分離後に得られる無細胞抽出液の活性を確認したところ、認められなかった。

3) 菌体のメタノール抽出液からの殺傷物質の構造決定

培養液の遠心分離により得られた菌体に対して洗浄なしにメタノールを添加した。これを遠心分離し、上澄み液をエバポレーターにより濃縮した。得られた沈殿に対して、順に純水と酢酸エチルを加え、分液ロートで分配した。水層のミミズ殺傷活性を測定したところ、活性は検出されなかった。続いて、酢酸エチル層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、ヘキサンと酢酸エチルの混合液を用いて溶出させフラクション1~4(F1~F4)を得た。さらに、酢酸エチルおよびメタノールを用いて溶出させた画分をそれぞれF5、F6とした。各フラクションの濃縮物について、活性を測定したところ、F6に活性が検出された。続いて、F6を分取薄層クロマトグラフィー(PTLC)に供し、F6-1~F6-5を得た。F6-2に活性が検出されたため、この画分に対してPTLCを用いて精製を行った。そして、主要成

分であったF6-2に対して、1Dおよび2D-NMR分析を実施

した。その結果、この化合物は水不溶性の環状ジペプチドである既知物質マキュロシン(Maculosin)(図1)であった。これまでに、マキュロシンは植物に壊死を引き起こす物質として *Pseudomonas aeruginosa*²⁾や *Bacillus* 属³⁾等から検出されているが *Serratia* 属からは初めてである。しかし、マキュロシンの市販品を購入して活性を測定したところ、活性は検出されなかったが、可溶化の条件等を検討することで活性が得られる可能性やF6-2中の微量成分である可能性が考えられる。

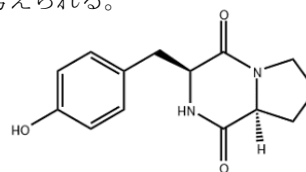


図1 マキュロシン cyclo-(L-Pro-L-Tyr)

3. まとめ

- ・ヤマトヒメミミズの殺傷活性測定系を構築した。
- ・ヤマトヒメミミズは高浸透圧により死滅するため、殺傷活性の検出にはミミズに添加する液の希釈が必要であった。
- ・ミミズ殺傷物質はカルボキシル基とアミノ基を有する分子量500以下の水溶性低分子有機化合物と考えられた。
- ・培養上清の活性は脱気後に凍結乾燥したものを-20℃保存することで長期が可能であった。
- ・無洗浄菌体のメタノール抽出液の精製から得られた活性を有する最終精製標品は水不溶性の環状ジペプチドであるマキュロシンと決定した。しかしながら、市販のマキュロシンに活性は検出されなかった。

謝辞

菌体からのミミズ殺傷物質の分離・精製実験は鎌田研究室との共同研究として行われた。鎌田昂准教授、大学院生の佐藤光将氏に深謝します。

文献

- 1) Y. Nakamura, "A new fragmenting enchytraeid species, *Enchytraeus japonensis* from a cropped Kuroboku soil in Fukushima, Northern Japan (enchytraeids in Japan 5)", *Edaphologia*, No.50:37-39 (1993).
- 2) A. Rudi, Y. Kashman Y, "Amino acid derivatives from the marine sponge *Jaspis digonoxea*", *J. Nat. Prod.* 57, 829-832 (1994).
- 3) G. S. Jayatilake, M. P. Thomson, A. C. Leonard, J. E. Grimwade, B. J. Baker, "Metabolites from an Antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*", *J. Nat. Prod.* 59, 293-296(1996).

固体触媒を用いる BDF の合成と応用[‡]

BDF Synthesis Based on Solid Catalyst by Ultrasonic Irradiation method and its Application

鍾 昕翰 §

CHUNG,HSIN-HAN

1. 緒言

近年、地球温暖化やエネルギーの問題が山積しており、地球温暖化対策をめぐる技術開発が一層加速する中で、再生可能なエネルギーに関する研究の重要性が高まり、ディーゼルエンジンやジェットエンジン用燃料の代替燃料としてバイオディーゼル燃料⁽¹⁾ (Bio-Diesel Fuel : BDF) が注目されている。

本研究は、これまでの研究成果をもとに、液体のアルカリ性触媒の代わり、水洗を必要としない固体触媒⁽²⁾のゼオライト、卵の殻とアサリの殻を用いた BDF 合成を行い生成率の向上を図る。

研究では、まず、固体触媒の調製及び成分分析を調査する。続いて、調製した触媒を用いて超音波やマイクロ波合成実験を行い、BDF 生成率を測定した。最後に、小型ディーゼルエンジンや実車を使って燃焼実験を行い、BDF と軽油の熱効率や排ガス濃度などを調べた。

2. BDF 合成原理

BDF 合成原理の化学反応式を Fig. 1 に示す。この式は植物油とメタノール・触媒に超音波またはマイクロ波を照射し、エステル交換反応することで、脂肪酸メチルエステル (FAME) とグリセリン (Glycerin) が生成される。この脂肪酸メチルエステル (FAME) が BDF として用いられる。

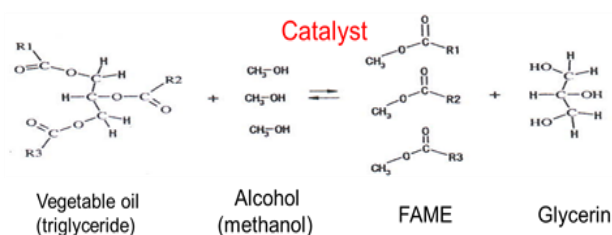


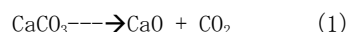
Fig. 1 BDF 合成化学反応式

従来の BDF 合成法では、加熱と攪拌が必要とされるが、本研究では、超音波のキャビテーション効果またはマイクロ波の加熱効果を使い、省エネかつ高効率な BDF 合成を図る。

3. 固体触媒の調製と特性調査

本研究では、固体触媒として、塩基性のゼオライト、卵とアサリ殻を用いることにした。市販のゼオライトは塩基性が弱いので、ゼオライトを水酸化ナトリウムに漬けてから小型電気炉で焼結する触媒調製を行った。一方、アサリと卵の殻は主成分が炭酸カルシウム (CaCO₃) とされている

が、研究では、卵の殻とアサリの殻を 378K で 2 時間乾燥させ、その後 1173K で 2 時間焼成する。なお酸化カルシウム合成原理の化学反応式を式 1 に示す。



調製された触媒は走査型電子顕微鏡 (日本電子株式会社 JSM-IT100) を用いて表面観察 (Fig. 2) する。最後に、粉末 X 線回折分析装置 (リガク株式会社 Smart lab) を用いて卵の殻とアサリの殻の結晶骨格構造変化 (Fig. 3) を調査した。結果は卵の殻とアサリの殻の結晶はほぼ同じ、lime という酸化カルシウムの一種であることが分かった。

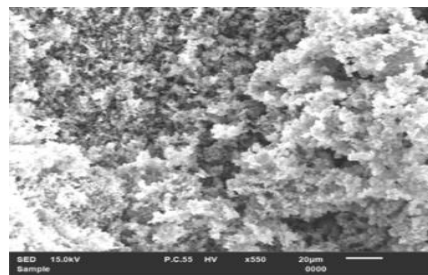


Fig. 2 卵の殻の表面観察

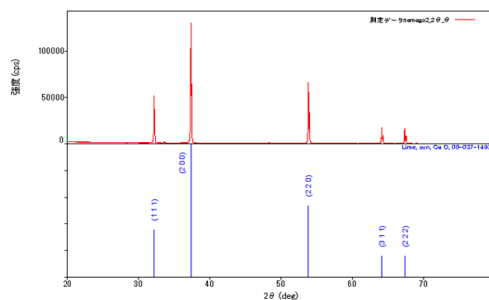


Fig. 3 卵の殻の結晶骨格構造

4. 卵の殻やアサリの殻を用いる BDF 超音波合成実験

超音波 BDF 合成システム実験装置を Fig. 4 に示す。上述の 3 種類の固体触媒を用いる BDF 超音波合成実験では、サラダ油を 5ml、メタノールを 1ml、固体触媒を 1g 試験管に入れ、65°C の水温に保ち、28kHz の超音波を 2 時間照射する。反応後、遠心分離器をかけて酸化カルシウムと油を分離する。

GCMS (株式会社島津製作所 GCMS-QP2020) により検出した BDF の合成結果を Fig. 5 に示す。卵の殻 1g を用いたサンプルの BDF 生成率は 56.3%、アサリの殻 1g を用いたサンプル

[‡] 2022 年度修士論文発表概要

[§] 静岡理科大学 大学院理工学研究科 システム専攻

のBDF生成率は62.3%に達した。また、卵の殻に比べて、アサリの殻はBDF合成効率が良いとみてとれた。これは触媒成分と吸着性の違いに原因があると思われる。

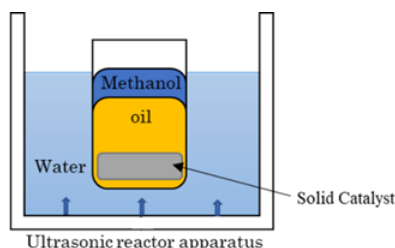


Fig. 4 超音波合成装置(本多電子株式会社WT-200-M)

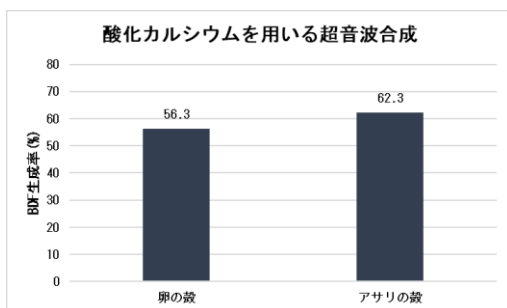


Fig. 5 超音波照射によるBDF生成率の比較

5. 卵の殻やアサリの殻を用いるBDFマイクロ波合成実験

マイクロ波合成実験の合成条件はまず、植物油5mlとメタノール1mlを試験管に入れ、周波数28kHzの超音波を30分照射し、乳化させる。次に、固体触媒1gを試験管に入れ、マイクロ波化学反応装置(Biotage社製Initiator+)でエステル交換反応を行う。

種々な反応条件(A-J)下のBDF合成結果をFig. 6に示す。Fig. 6では、アサリ殻0.5gと乳化油3mlを150°Cで1minの反応条件で合成されたBDFは最大約93.97%の生成率に達した。

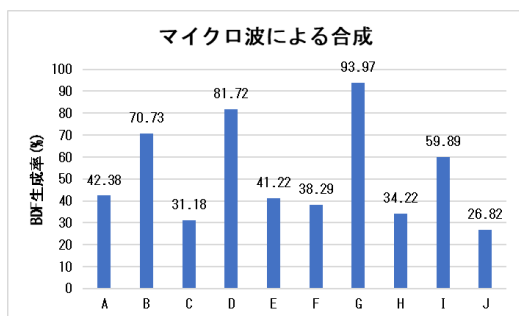


Fig. 6 マイクロ波照射によるBDF生成率の比較

6. シャンダイナモメータによる走行実験

シャンダイナモメータ(新日本特機製シャーシーダイナモメータ)による走行実験の装置図をFig. 7に示す。トヨタのサクシードワゴンを用いて走行実験を行う。実験では、まず試験車をシャンダイナモメータ上に設置する。続いて、空気抵抗や転がり抵抗の数値をシャンダイナモメータに入力し、エンジン負荷になる。最後に、車速を40、50と60km/hにかけ、ホダカ株式会社のHT-1300Zを用いてそれぞれの排気ガスを測定する。結果はFig. 8, 9に示す。

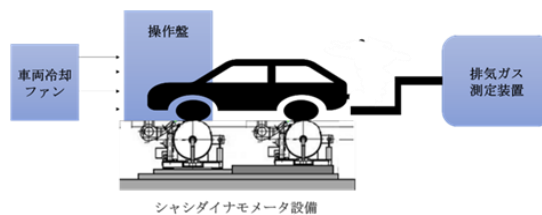


Fig. 7 シャンダイナモメータによる走行実験の概略図

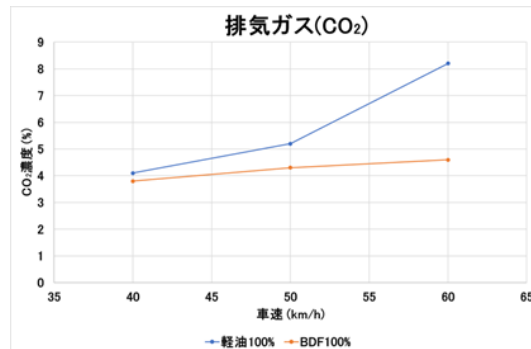


Fig. 8 排気ガス(CO₂)

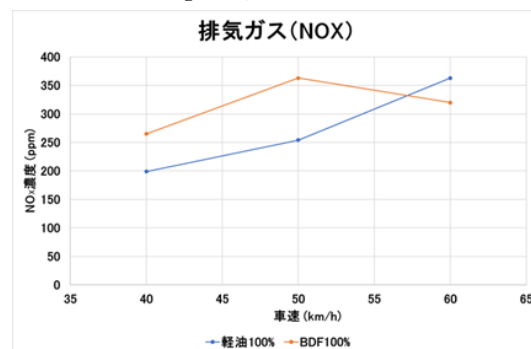


Fig. 9 排気ガス(NO_x)

Fig. 9とFig. 10から、BDFのCO₂排出量は軽油より低い。高速では、NO_x排出量はBDFで比較的低く、時速40と50は軽油が低い。BDFのNO_x排出量は軽油より高い原因は、BDFの発熱量が低いため噴射量が増加し、噴射量とエンジン回転数で制御しているパラメータにずれが生じると考えられる。

6. 結論

- 1) 焼結した卵殻とアサリ殻の主成分は酸化カルシウムである。
- 2) マイクロ波照射を用いるBDF合成では、生成率が93.97%に達したことが確認できた。一方、超音波照射の場合はBDF生成率が62.3%であった。
- 3) 排気ガスでは、BDFのCO₂排出量は軽油より低いが、NO_x排出量は軽油より高かった。

文献

- 1) 坂志朗, バイオディーゼルのすべて, (2006), アイピーシー株式会社.
- 2) 岑友里恵, “酸化カルシウム触媒を用いる油脂からのバイオディーゼル燃料製造におけるトランスメチル化触媒活性の向上の検討”, 化学工学論文集, Vol. 36, No. 3(2010), pp. 264-269.

反応性 RF スパッタ法による $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶成長に関する研究

Study of $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ Mixed Crystals Grown by Reactive RF Sputtering Method

中村 隼輔

Shunsuke Nakamura

1. はじめに

窒化物半導体 GaN、InN、AlN やその混晶半導体は、光エレクトロニクス、センサー、パワーデバイスの基板材料として注目されている。特に、 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶は近赤外(0.7eV)から深紫外(6.3eV)までの広い直接遷移型のバンドギャップを有し、次世代の多接合太陽電池の材料としても有望である。 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の育成上の問題点として、平衡状態で InN と AlN の成長温度、結合エネルギーが異なることにより非混和性ギャップによる相分離と組成比の不均質性が生じることである。加えて、高温1000°C、高圧下500kPa以上の育成条件が必要である。本研究では、非平衡状態で成膜可能な低温低圧下での成膜が可能な反応性 RF スパッタリング法に着目した。

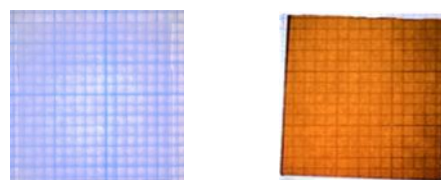
本研究の目的は、Al-In 合金ターゲットを用いて Al_2O_3 及びAlN/ Al_2O_3 基板上に反応性 RF スパッタリング法で $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の単相を育成することである。具体的には、1)チャンパー内圧力、2)窒素流量比率、3)基板種類の差異、4)基板への磁場印加が $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の単相化に及ぼす影響を調べた。合金ターゲットによる $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 単相育成と基板への磁場印加の報告例は現在までにない。

2. 実験方法

反応性 RF スパッタ装置を用いて、Al:50%,In:50%の合金ターゲットを使用し、Ar-N₂ 雰囲気中で Al_2O_3 及びAlN/ Al_2O_3 基板上に $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶を成膜させた。スパッタ電力50W、スパッタ時間5~240min、チャンパー内圧力2~8Pa、基板温度100°C付近、窒素流量比率30~80vol%とした。成膜した試料はXRD、SPM、SEMで評価した。

3. チャンパー内圧力変化と $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の結晶性

Ar と N₂ の流量比は 50vol%、50vol%一定とし、チャンパー内圧力を 2~8Pa の間で変化させ、スパッタ時間 30min で $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶を成膜した。図1に(a) Al_2O_3 基板と(b)チャンパー内圧力 2Pa で成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}/\text{Al}_2\text{O}_3$ の外観を示す。透明な Al_2O_3 基板に対して成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ は、オレンジ色に着色していた。InN のバンドギャップは近赤外にあり、AlN のバンドギャップは深紫外にあるため、光は透過し無色透明に見える。結果として、InN と AlN ではない $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶が成膜されていることが予想された。



(a) Al_2O_3 基板 (b) $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 成膜試料

図1 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 成膜試料の外観

図2に2~8Paの間で成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶のXRD測定結果を示す。チャンパー内圧力 2Pa~7Pa では、 $2\theta[\text{deg}]$ が33°付近で $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ の鋭い回折ピークを確認でき、(0002)の配向性が強くなる傾向を示した。チャンパー内圧力 8Pa ではアモルファス状態になることが分かった。チャンパー内圧力が高くなるに伴い、平均自由行程が低下し単相化が低下することが示唆された。

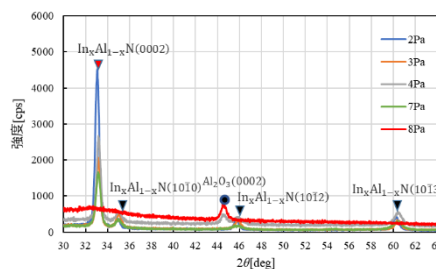


図2 2~8Paの間で成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶のXRD

4. 窒素流量比と結晶性の関係

図3に窒素流量比を30~80vol%の間で成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶のXRD測定結果を示す。ここで、スパッタ時間は30min一定とした。(a)2Paでは、窒素流量比50vol%の場合に最も $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ 混晶の回折ピークが鋭く現れた。窒素流量比70vol%では $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ 面の配向が弱まり $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(10\bar{1}3)$ の配向が強く現れた。(b)4Paでは、2Paよりも窒素流量比が高い場合に $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ の配向が強まる傾向が見られた。

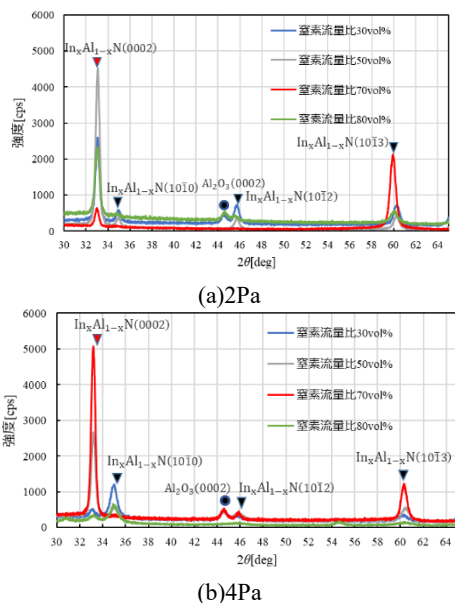


図3 30~80vol%の間で成膜した $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の XRD

5. スパッタ時間の変化と $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 膜厚の関係

チャンパー内圧力 2Pa、窒素流量比 50vol%においてスパッタ時間を 5~240min の間で変化させ、 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ を作成した。各々の $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 試料表面のドット状のステップ径をSPMで測定した。図4にドット状のステップ径の平均値とスパッタ時間の関係を示す。0~15minと30~240minで異なる2つの成長過程があることが分かった。0~15minの間は表面状態の緩和過程が生じ、30~240minでステップ拡張過程が生じたと考えた。

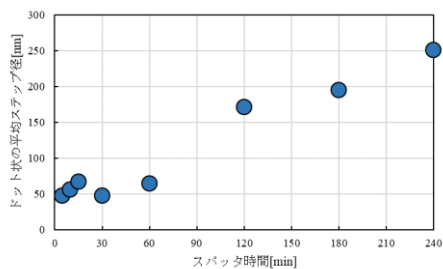


図4 ドット状のステップ径の平均値とスパッタ時間

6. AlN 転換層基板を用いた $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 結晶成長

マイクロ波プラズマ CVD 装置を用いて、 $\text{Al}_2\text{O}_3(0001)$ 基板表面に窒素プラズマを 30~120min 照射することで、AlN 転換層($\text{AlN}/\text{Al}_2\text{O}_3$)を形成した。 $\text{AlN}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 基板上に反応性 RF スパッタで $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶 (スパッタ時間 30min、圧力 2Pa、窒素流量比 70vol%)を堆積させた試料の XRD 測定結果を図5に示す。AlN 転換層なしのスパッタでは、 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(10\bar{1}3)$ 面の配向が強く現れたが、 $\text{AlN}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 基板上に $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶をスパッタすることで $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(10\bar{1}3)$ 面の配向が弱まり、 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ 面の配向が強くなる傾向となった。X線回折強度比 α は0.2から5.9へと改善

できた。

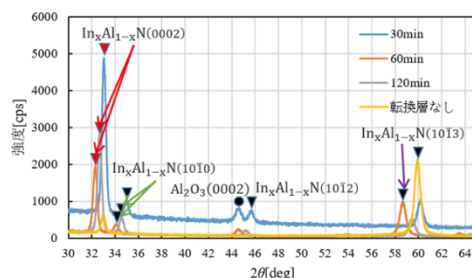


図5 $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}/\text{AlN}/\text{Al}_2\text{O}_3$ の XRD 測定結果

7. 基板近傍の磁場印加による $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 結晶成長

チャンパー内圧力 2Pa、窒素流量比 70vol%、スパッタ時間 30~120min、基板裏面の永久磁石 300mT の条件で $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ を成膜した。XRD 測定で現れた回折ピークの $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(10\bar{1}3)$ 強度 $\Delta_{(10\bar{1}3)}$ で $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ の強度 $\Delta_{(0002)}$ の強度を規格化した。 $(\alpha = \Delta_{(0002)}/\Delta_{(10\bar{1}0)})$ X線回折強度比 α とスパッタ時間の関係を図6に示す。磁場印加の効果としてスパッタ時間が長くなっても X線回折強度比 α の低下は見られず、向上する傾向となった。また、成長速度も20%向上することが分かった。

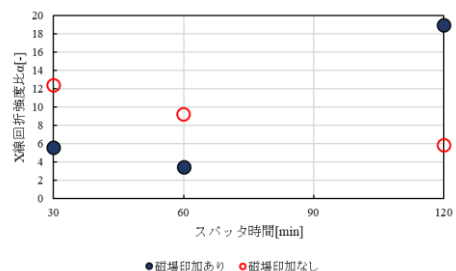


図6 X線回折強度比 α とスパッタ時間の関係

8. まとめ

合金ターゲットを使用して反応性 RF スパッタリング法により Al_2O_3 及び $\text{AlN}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 基板上に $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶の単相を結晶成長させることができた。AlN 転換層上に $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}$ 混晶をスパッタすることで $\text{In}_x\text{Al}_{1-x}\text{N}(0002)$ 面への配向性を向上させることができると分かった。新しい試みとして基板への磁場印加は、結晶性の改善と成膜速度を向上させることができた。

参考文献

1) A.Núñez-Cascajero, R.Blasco, S.Valdúeza-Felip, D.Montero, J.Olea and F.B.Naranjo : High quality $\text{Al}_{0.37}\text{In}_{0.63}\text{N}$ layers grown at low temperature ($<300^\circ\text{C}$) by radio-frequency sputtering, *Materials Science in Semiconductor Processing*, vol.100(2019), pp.8-14.

畑土壌中の微生物に対するメチオニンの影響**

Effects of Methionine on Microorganisms in Field Soil

飯山 愛理††

Airi Iiyama

1. 背景・目的

発病抑止土壌は、病原菌が存在する畑土壌で感受性作物を栽培した場合でも、発病が相対的に少ない土壌のことであるが、その成立についてはいまだ不明な点が多い¹⁾。食糧増産と持続可能な農業が迫られる中で、発病抑止土壌を継続的かつ人的に成立させる技術を確認することは挑戦的な課題の一つとなっている。エビやカニの殻に多く含まれるキチンは1962年の報告²⁾以来、土壌中の植物病原菌の密度や植物の病害を低減する効果が報告されてきた。本研究室で行ってきた土壌でのキチン分解過程の研究の中で、キチン分解の中期にメチオニン（以下 Met とする）要求性の *Lysobacter* 属細菌が増加することがわかった³⁾。また、土壌に Met を添加することで *Lysobacter* 属細菌が増加し³⁾⁴⁾、砂丘未熟畑土壌への Met 添加によって病原性フザリウム菌の生長抑制能が高まった⁴⁾。土壌中の *Lysobacter* 属細菌の存在量はジャガイモそうか病やリゾクトニア症に対する土壌の発病抑止性と相関があると報告されている⁵⁾。また、*Lysobacter* 属細菌には病原微生物に対して拮抗作用をもつ種株が知られている。一方、土壌への Met 添加によって、フザリウム病やネコブ病の病害を低減することや、ポット栽培試験でトマト萎凋病菌の病害が低減しただけでなく、フザリウム菌 (*Fusarium oxysporum*) の菌密度も低下したことも報告されている⁶⁾。これらより、土壌に Met を添加することで土壌の発病抑止性を高めることができるのではないかと考えた。しかしながら、土壌に添加した Met の消長や、微生物への影響、フザリウム菌への影響の詳細については不明である。本研究では、Met による土壌への発病抑止能の付与の仕組みを明らかにするため、土壌に添加した Met の消長、細菌と真菌に対する影響、および、フザリウム菌量への影響について調べた。

2. 方法

2.1 土壌中の L-Met 濃度の測定

L-Met 濃度が 1 μ g、10 μ g、100 μ g、1000 μ g/g soil [それぞれ 0.0001、0.001、0.01、0.1% (g/g soil) に相当、n=2] になるように、滅菌超純水に溶解してから添加し、培養した褐色森林畑土壌試料を作製した。土壌試料中の L-Met 濃度は Met 要求性パン酵母を用いた方法⁷⁾を適用して行った。Met 欠損液体培地⁷⁾に、ろ過滅菌した各土壌抽出液

を添加し、そこに、Met 要求性パン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* BY23849 株) を接種し、30 $^{\circ}$ C、170 rpm で 20 時間培養し、濁度を測定した。検量線は、既知濃度に段階希釈した L-Met 溶液を用いて作成した。土壌抽出液は、土壌試料 0.1g に対して滅菌超純水 1ml を添加し、氷温下で 30 分間振とう後遠心し、上清を滅菌して調製した。

2.2 トマト萎凋病菌汚染土壌試料の調製

トマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *licopersici* race1, 以降フザリウム菌) を、前培養した寒天培地ごと約 1 cm 角に切り取り、LB 液体培地 200 ml に 3 つ程度入れた。これを 30 $^{\circ}$ C、140 rpm で 50 時間以上振盪培養したのち、滅菌ガーゼと注射針、シリンジで培養液を濾して芽細胞のみを回収し、滅菌超純水で洗浄、懸濁した。回収した芽細胞は血球計算盤で細胞数を計数し、土壌 1g 当たり、無添加、 6×10^6 個、 1.8×10^7 個、 5.4×10^7 個、 1.6×10^8 個になるように接種した。穴を開けたアルミホイルで蓋をし、3 日間培養してから DNA を抽出、定量 PCR に供した。また、土壌は風乾して篩にかけた砂丘未熟畑土壌を使用し、芽細胞懸濁液を含めて最大容水量の 60% になるように滅菌超純水を添加した。これらはすべて 3 反復で行った。

2.3 土壌中のフザリウム菌の定量

Takada-Hoshino と Matsumoto の方法⁸⁾に従って土壌から抽出した DNA についてフザリウム菌に特異的なプライマー⁹⁾を用いて定量 PCR をすることにより、フザリウム菌 (*Fusarium oxysporum*) のカルモジュリン遺伝子のコピー数を定量した。これにより単位土壌あたりのフザリウム菌量を評価した。

2.4 Met 添加フザリウム菌汚染土壌の調製

風乾して篩にかけた褐色森林畑土壌を遠沈管に量りとり、①滅菌水と芽細胞②滅菌水と芽細胞と L-Met を添加した。滅菌水は、最大容水量の 60% になるように加えた。L-Met は 1 mg/g wet soil になるよう添加した。穴を開けたアルミホイルで蓋をし、30 $^{\circ}$ C で 0~6 日間、又は 0~21 日間培養した。培養期間中は 1 日 1 回重量を測定し、減少した分の水分を補填してかき混ぜた。培養終了後は -80 $^{\circ}$ C で保存した。これらはすべて 2 反復で行った。

2.5 L-Met 添加フザリウム汚染土壌での真菌・細菌量の評価

** 2021 年度修士論文概要

†† 静岡理工科大学 大学院理工学研究科材料科学専攻

2.4の0~21日間培養したMet添加フザリウム菌汚染土壌において、土壌から抽出したDNAを鋳型とし、定量PCRを用いて土壌中の細菌の16S rRNA遺伝子のコピー数、及び真菌のgITS7-ITS4領域の遺伝子のコピー数を定量した。定量PCRの標準試料には *Agrobacterium rhizogens* のDNA及び *Fusarium oxysporum* のDNAを用いた。

2.6 フザリウム菌へのL-Metの直接的作用

YPMGA培地あるいはPDA培地にL-Met溶液を添加して調製したL-Met添加寒天培地に、PDA培地(L-Met無添加)で培養したフザリウム菌を培地ごとくりぬき、シャーレ中央に接種した。培地のくりぬきには200 μ lのチップの先を鋏で切り取ったものを使用した。L-Met濃度は0, 10, 100, 1000 μ g/mlの4段階とし、3反復で、30 $^{\circ}$ Cで培養した。1日に一度コロニーの直径を測定し、菌糸がシャーレ全面に広がるまでを培養期間とした。

2.7 微生物群集構造解析

2.4で調製した土壌より抽出したDNAを用い、16S rRNA遺伝子(細菌)及びgITS7-ITS4領域(真菌)を対象としたアンプリコン塩基配列に基づく微生物群集構造解析を行なった。得られた塩基配列は、QIIME2)を用いて処理、解析、作図を行った。

3. 結果

3.1 土壌中のL-Met濃度の測定

L-Met添加土壌でのL-Metの消長を調べたところ、培養日数に関わらず1 μ g/g soil添加土壌ではL-Metは検出されなかった。10 μ g/g soil添加土壌では添加直後の土壌のみL-Metが検出され、100 μ g/g soil添加土壌では、培養1日後には約1/10に、3日後には約1/50にまで減少した。1 mg/g soil添加土壌では培養1日後には約2/3に、6日後には検出はできたものの定量限界以下まで減少した。

3.2 土壌中のフザリウム菌

フザリウム菌を接種した全ての土壌試料でフザリウム菌に由来する遺伝情報を検出することができたが、接種した細胞の数よりも定量PCRにより得られた遺伝子のコピー数の方が少ないことから、土壌に接種したフザリウム菌の全てを定量PCRにより検出・定量できるわけではないことが分かった。しかし、接種した量と検出できた量には正の相関関係があり、相対的な評価はできると判断した。

フザリウム菌汚染土壌にL-Metを添加し6日間培養した場合、フザリウム菌密度は一時的に上昇し、その後添加初期と同程度まで減少した。L-Metを添加しなかった土壌の方でも、L-Met添加土壌ほどではなかったが、フザリウム菌密度は上昇しその後検証した。21日間培養した土壌試料では、L-Metの添加の有無にかかわらず、一時的にフザリウム菌密度は上昇した後に添加直後と同程度まで減少した。

3.3 L-Met添加フザリウム菌汚染土壌での真菌・細菌量

培養開始後3日目で、L-Metの有無に関わらず全細菌量は大きく増加し、14日目には培養開始時と同程度まで減少、さらに21日目で再び増加した。また、真菌量もL-Metの有無に関わらず、一度増加した後に減少していた。これらより、細菌量、真菌量はL-Metに影響を受けなかったと判断された。

3.4 フザリウム菌へのL-Metの直接的作用

YPMGA培地およびPDA培地に0~100 μ g/mlのL-Metを添加しても、フザリウム菌の生長に影響しなかった。1 mg/ml添加した培地では、L-Metの添加濃度が低い培地や添加していない培地と異なり、気中菌糸形成がほとんど見られず、コロニーの赤紫色が濃かった。

3.5 細菌及び真菌の群集構造解析

L-Metを添加することで、DL-Metを添加した場合と同様に³⁴⁾、*Lysobacter*属細菌と*Cupriavidus*属細菌が増加した。また、この増加は添加後3日目にはみられており、その後1週間以上が経過しても無添加土壌と比べ多く存在した。真菌では、フザリウム菌を摂取したため、群集構造においてフザリウム菌がほぼ全てを占めており、その中でも3日目での存在比が最も多かった。

4. まとめ

褐色森林土の畑土壌へのフザリウム菌及びL-Met添加実験において、添加したMetは速やかに消費され、フザリウム菌はMetの有無に関わらず増加した後減少した。この条件では、L-Metの添加は、フザリウム菌密度や細菌量、真菌量の増減に影響しないことを示す実験結果を得た。L-Metによる影響よりも、風乾土壌に対する水の添加の方が影響が大きかったのではないかと考えている。一方、L-Metの添加は細菌群集構造には影響し、真菌に対する競合や抗菌の性質が報告されている*Lysobacter*属や*Cupriavidus*属の割合が増加した。本研究では、土壌に接種したフザリウム菌の芽細胞の密度を低下させる効果はL-Metには認められなかった。L-Metはフザリウム菌の腐生増殖を抑制する効果は低いものと考えられる。今後、厚壁胞子の発芽や腐生相への移行といった、フザリウム菌の感染経路や生活環に焦点を当て、L-Metの影響を調べていく必要がある。

5. 参考文献

- 1) 小林ら 1983.
- 2) MitchellとAlexander 1962.
- 3) Iwasakiら 2020.
- 4) 飯山 2020.
- 5) Rosenzweigら 2012.
- 6) Mizukuboら 2001.
- 7) 藤井ら 2011.
- 8) Takada-HoshinoとMatsumoto 2004.
- 9) Muleら 2004.

放線菌リゾチームの異種発現系の構築と

土壌微生物バイオマス推定への利用[‡]Construction of heterologous expression system of actinomycete lysozyme
and application to estimation of soil microbial biomass坂間 棕介^{§§}

Ryosuke SAKAMA

1. 背景

土壌微生物バイオマスとは、土壌中に生息する微小生物(主に糸状菌と細菌、他に原生動物および土壌動物の一部が入る)を包括的に取り扱う場合の概念である¹⁾。微生物バイオマスは、土壌有機物を分解するだけでなく、菌体が、作物養分の供給源・貯蔵源の役割も果たすことから、土壌生態系の維持に必須なものとなっている²⁾。土壌微生物バイオマスの定量法には、クロロホルム燻蒸法や ATP 法、直接検鏡法や基質誘導呼吸法があるが³⁾、真菌と細菌の区別の可否や厳密性に議論の余地がある。当研究室では真菌と細菌の細胞壁の構成成分に着目した、新たなバイオマス定量法の開発を行っている。真菌細胞壁成分であるキチンと細菌特異的な細胞壁成分であるムレインをそれぞれ特異的に加水分解する酵素を用いることで、真菌と細菌に由来する *N*-アセチルグルコサミン (以下 GlcNAc) を定量する、というものである。本間 (2019) は、本方法の開発基盤として、質量分析計付ガスクロマトグラフ (以下 GC/MS とする)を用いた土壌中の GlcNAc 定量方法を確立した⁴⁾。また、それをもとに、滅菌畑土壌に対してキチン分解酵素のキチナーゼと *N*-アセチルグルコサミニダーゼ (以下 GlcNAcase)、あるいは、ムレインを加水分解する酵素の卵白リゾチームと GlcNAcase を添加し、共通分解産物である GlcNAc を定量することで、前者からは真菌量を、後者からは細菌量を推定できることを示唆した⁴⁾。しかし、本間がムレイン分解に用いた卵白リゾチームはキチン分解活性をもつため、真菌と細菌に由来する GlcNAc の量をより厳密に推定するためには、キチンを分解せずムレインのみを分解する、より基質特異性の高いリゾチームを用いる必要があった。卒業研究⁶⁾では、放線菌 *Streptomyces griseus* 由来で、キチンは分解せずムレインのみを分解するリゾチームと推定される SGR4818 タンパク質の異種発現系を構築し、部分精製した。本研究では、卒業研究を継続し、SGR4818 を用いた土壌微生物バイオマスの新規推定方法の開発を目的として、SGR4818 を精製し、その諸性質を調べた。その後、得た酵素を畑土壌に添加し、遊離 GlcNAc 量を調べ、土壌中の真菌と細菌の比を調べた。

2. 実験方法

2.1 放線菌由来タンパク質の発現・精製と活性測定

Streptomyces griseus 由来の推定リゾチーム SGR4818⁶⁾と *S. coelicolor* A3 (2) 由来の GlcNAcase DasD⁷⁾は大腸菌で GST 融合タンパク質として生産し、グルタチオン-セファロースアフィニティークロマトグラフィーに供し、精製した。部分精製した SGR4818 を精製するため、陽イオン交換クロマトグラフィーを行った。DasD は Ebise らが確立した方法⁷⁾をもとに精製品を得て、キチン分解物やムレイン分解物からの GlcNAc の遊離反応に用いた。

2.2 キチン分解能の有無の調査

SGR4818 と卵白リゾチーム (以下、EWL とする) のキチン分解活性の有無を、コロイド状キチンを基質として評価した。EWL とキチナーゼはそれぞれ市販品を用いた。コロイド状キチンに対して酵素 (キチナーゼ、EWL、SGR4818 のうちの1つ) と 0.25 M クエン酸-NaOH 緩衝液 (キチナーゼは pH 5.0、SGR4818 と EWL は pH 3.0) を加え 37°C で一晩反応させた。その後、pH 調整のために 3 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を添加してから DasD を加え、さらに 37°C で一晩反応させた。以上の反応の後、遊離した GlcNAc の量を HPLC (波長 214 nm、移動溶媒 アセトニトリル水=65 : 35)⁸⁾で測定し、キチン分解の有無を調べた。

2.3 微生物乾燥菌体から遊離する GlcNAc の定量

真菌菌体 (細胞壁にキチンを含む) および細菌菌体 (細胞壁にムレインを含む) の凍結乾燥品に対して各種酵素処理を行い、遊離した GlcNAc 量を本間 (2019) が確立した方法に従い、定量した。具体的には真菌菌体にはキチナーゼと DasD (GlcNAcase)、細菌菌体には SGR4818 (リゾチーム) と DasD (GlcNAcase) をそれぞれ添加し、遊離した GlcNAc をメトオキシム-トリメチルシリル化法 (TMS 化学法) によって誘導体化し、GC/MS の SIM 法によって定量した。菌体量は 250、500、750、1000 µg/ml の範囲とし、遊離 GlcNAc 量と相関関係があるかどうかを調べた。

2.4 キチナーゼと SGR4818 リゾチームを用いた真菌/細菌バイオマスの推定

加熱滅菌畑土壌に対して各種酵素処理を行い、遊離した

‡ 2021 年度修士論文概要

§§ 静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

GlcNAc 量を本間 (2019) が確立した方法に従い、定量した。具体的には、加熱滅菌した褐色森林土、黒ボク土、砂丘未熟土にキチナーゼまたはリゾチーム (SGR4818)、と GlcNAcase (DasD) を共添加し、遊離した GlcNAc をメトオキシム-トリメチルシリル化法 (TMS 化法) によって誘導体化し、GC/MS の SIM 法によって定量した。GlcNAc と内部標準物質のキシリトールのピーク面積の比をもとに、畑土壌の真菌と細菌の比 (F/B 比) を算出した。

2.5 リアルタイム定量 PCR による微生物バイオマス量推定法との F/B 比の比較

2.4 で使用した風乾済畑土壌の真菌と細菌のバイオマスを、リアルタイム定量 PCR を用いた方法で推定した。具体的には、真菌と細菌それぞれに特異的なプライマーを用いて、リアルタイム定量 PCR で遺伝子のコピー数を測定した。真菌は gITS7-ITS4 領域のコピー数、細菌は 16S rRNA のコピー数で評価した。コピー数に基づいて、それぞれの土壌の F/B 比を算出し、本研究のバイオマス推定法で算出した F/B 比と比較した。

3. 結果と考察

3.1 SGR4818 タンパク質の精製、リゾチーム活性 (最適 pH、最適温度)

陽イオン交換クロマトグラフィーによって、部分精製品から SGR4818 を精製できた。精製品はリゾチーム活性を示し、最適 pH は 3.0、最適温度は 50°C であった。以上の結果から *S. griseus* 由来の SGR4818 を SGL (*Streptomyces griseus* Lysozyme) と命名した。

3.2 SGR4818 のキチン分解活性の評価

同程度のリゾチーム活性を示す EWL と SGL を用いて、DasD (GlcNAcase) とともにキチンに作用させたところ、EWL では GlcNAc が遊離したが、SGL では遊離 GlcNAc が検出されなかった。すなわち、EWL にはキチン分解活性が認められたが、SGL にはキチナーゼ分解活性が認められなかった。本結果から、SGL は EWL よりもキチンに対する分解活性が著しく低いリゾチームであることが示された。

3.3 酵素処理で遊離する GlcNAc 量と菌体量の相関

真菌である *Fusarium oxysporum* の乾燥菌体にはキチナーゼと DasD を、細菌である *Micrococcus luteus* と *Streptomyces coelicolor* A3 (2) の乾燥菌体には SGL と DasD を作用させて、遊離 GlcNAc 量を定量したところ、いずれの微生物についても菌体量 500~1,000 µg/ml で正の相関がみられた。一方で、*F. oxysporum* に SGL と DasD を作用させた場合、また、*M. luteus* にキチナーゼと DasD を作用させた場合には GlcNAc は検出されなかったことから、キチナーゼと SGL の作用の特異性を確認することができた。

3.4 畑土壌への酵素処理で遊離した GlcNAc 量と F/B 比

高圧蒸気滅菌した褐色森林土、黒ボク土、砂丘未熟土に

対してキチナーゼまたは SGL と DasD で処理した結果、酵素無添加試料に比べて、遊離 GlcNAc 量が増加した。以上から、SGL とキチナーゼを用いることで、土壌中のムレインおよびキチンが由来の GlcNAc を測定できることを示した。測定で得た GlcNAc と内部標準物質のキシリトールのピーク面積比をもとに、F/B 比を算出した結果、褐色森林土の F/B 比は 2.1、黒ボク土は 2.0、砂丘未熟土は 0.86 であった。

3.5 各土壌の真菌、細菌遺伝子のコピー数と F/B 比の比較

リアルタイム定量 PCR による真菌と細菌の特定遺伝子 (真菌: gITS7-ITS4、細菌: 16S rRNA) のコピー数から F/B 比を算出した結果、褐色森林土は 0.21、黒ボク土は 0.10、砂丘未熟土は 0.4 となり、本研究のバイオマス推定法で算出した F/B 比とは異なっていた。本研究のバイオマス推定法で、土壌に対する酵素の添加量等の反応条件や酵素の基質特異性、加熱処理で生じた GlcNAc の由来と量について検討することが必要だと考えられた。

まとめと展望

組換えタンパク質として放線菌 *S. griseus* 由来の SGR4818 を精製し、キチン分解活性を示さない、ムレイン特異的なリゾチームであることを示すことができ、SGL と命名した。真菌の乾燥菌体にキチナーゼと DasD を作用させた場合に生じる GlcNAc 量、細菌の乾燥菌体に対して SGL と DasD を作用させた場合に生じる GlcNAc 量を定量することで、それぞれ真菌と細菌の量を特異的に検出可能なことを示唆する結果を得ることができた。高圧蒸気滅菌した畑土壌に対して各種酵素を添加し、遊離した GlcNAc を定量することで、F/B を算出することができたが、リアルタイム定量 PCR による微生物バイオマス推定法で算出した F/B 比とは異なっていた。今後、土壌に対する酵素の添加量等の反応条件や酵素の基質特異性、加熱処理で生じた GlcNAc の由来と量について検討することが必要である。

謝辞

本研究での試料調製と分析作業にご協力くださった小土橋准教授と脇川講師に感謝いたします。

文献

- 1) 坂本一憲 (1998) 土と微生物
- 2) 古澤仁美 (2001) 日録工誌
- 3) 木村真人 (1991) 農土誌
- 4) 本間大智 (2019) 静岡理科大学修士論文
- 5) Shimoi ら (2020) Soil Science and Plant Nutrition
- 6) 坂間椋介 (2020) 静岡理科大学卒業論文
- 7) Ebise ら (2015) FEMS Microbiology Letters
- 8) Iinuma ら (2018) Microbes and Environments

ハロゲンを活用した新規反応の開発*

Development of new reactions utilizing halogens

坂本 侑吾***

Yugo SAKAMOTO

1. はじめに

従来の酸化反応は、環境や人に対して毒性の強い重金属酸化剤や爆発性のある酸化剤が用いられていた。次亜塩素酸ナトリウム五水和物 (NaOCl · 5H₂O)¹⁾や臭素 (Br₂)のようなハロゲン類を酸化剤として用いた場合は、爆発性の危険がなく反応終了後も重金属酸化剤とは異なり、有毒な廃棄物を生じない。今回私は NaOCl · 5H₂O と Br₂ を用いた4種類の新規酸化反応について報告する。

2. トリフルオロメチルチオのトリフルオロメチルスルホンへの酸化反応

2-1. 研究背景

トリフルオロメチルスルホニル (-SO₂CF₃) 基を有する化合物は、医薬品合成に用いられる重要なビルディングブロックである²⁾。-SO₂CF₃の合成方法の1つとして、トリフルオロメチルチオ (-SCF₃)基を酸化する方法があるが、-SCF₃は CF₃の強力な電子求引性によって酸化されにくくなっているため、重金属酸化剤を用いた特殊な方法が必要だった³⁾。当研究室の木下は、PhSCF₃を NaOCl · 5H₂O を用いて酸化すると PhSO₂CF₃が得られることを見出していた⁴⁾。しかし、本反応は進行が遅く PhSO₂CF₃を収率良く合成するためには長時間を要するという問題点があった(図1)⁴⁾。

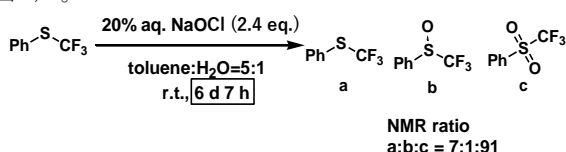


図1. aq. NaOClを用いた酸化反応

2-2. NaOCl · 5H₂O とトリフルオロ酢酸を用いた酸化反応

NaOCl · 5H₂O を用いて-SCF₃を-SO₂CF₃に効率よく酸化する条件を検討し、トリフルオロメチルベンゼン (BTF) 溶媒中、NaOCl · 5H₂O とトリフルオロ酢酸 (TFA)を用いれば、短時間で酸化できることを見出した(図.2)。

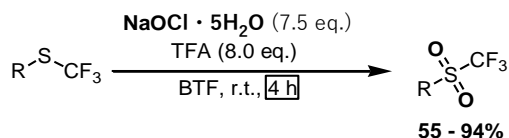


図2. NaOCl · 5H₂Oおよび TFA を用いた酸化反応

2-3. 酸化反応機構

反応機構は、スルフィドが、NaOCl と TFA から生じた HOCl によって塩素化され、次いで水酸化物イオンの攻撃によって塩素が脱離後、脱プロトン化しスルホキシドに変換される。その後、同様の機構によってスルホキシドがスルホンへと酸化されると考えている。

3. クロロアミド化反応とその応用⁵⁾

3-1. 研究背景

クロロアミド体は、有機合成化学上重要なビルディングブロックである。当研究室では、オレフィンに対して室温条件下、ニトリル系溶媒中で NaOCl · 5H₂O と H₃PO₄を反応させるとクロロアミド化反応が進行することが見出していた³⁾。しかし、必ずしも収率良くクロロアミド体が得られるとは限らなかった(図3)。

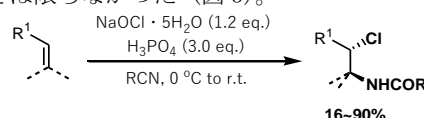


図3. オレフィンのクロロアミド化

3-2. 乾燥剤 (MgSO₄)による収率の向上

収率が低い場合を精査したところ、クロロヒドリンが副生していることを見出した。これは反応系中に存在する水が、中間体のクロロニウムイオンを求核攻撃するために生じると考えられた。このことは、NaOCl · 5H₂O のかわりに市販の13% NaOCl水溶液を使用すると、クロロヒドリンが主生成物となることから、強く支持された(図4)。

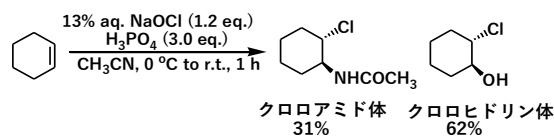


図4. 13% NaOCl水溶液を用いた反応

そこで系内の水量を減らすために、乾燥剤として MgSO₄を加えたところ、収率を大幅に向上させることに成功した(図5)。

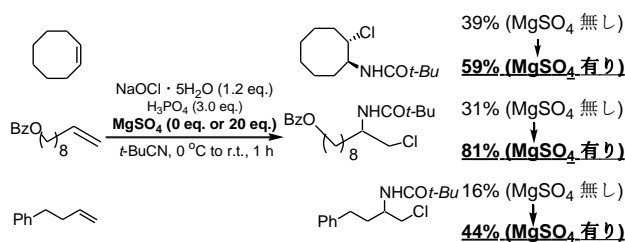


図5. MgSO₄の添加

3-3. 反応機構

HOCl または Cl₂から生じたクロロニウムイオンに対して、ニトリルが求核攻撃し、後処理の段階で加えた水が反応することで、クロロアミド体が生成する(図6)。

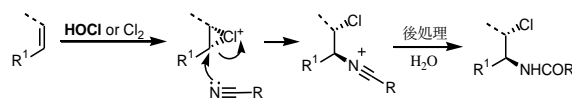


図6. クロロアミド化反応の機構

* 2021年度修士論文概要

¹⁾ 静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

3-4. アジリジン合成への応用⁵⁾

クロロアミド体に、強塩基である LiHMDS を作用させると、アジリジンへと変換できることを見出した (図7)。

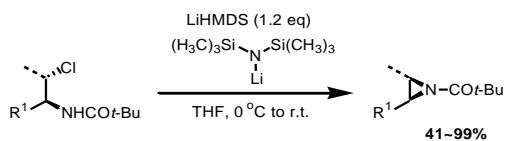


図7. アジリジン合成反応

4. 炭素-炭素結合の酸化開裂反応

4-1. 研究背景

当研究室では NaOCl・5H₂O を酸化剤としたトランス選択的なグリコール開裂を見出してきた⁶⁾。また、1,3-ジオール構造を持つ PVA 含有高分子が NaOCl・5H₂O で分解することも見出していた⁷⁾。そこで、1,3-ジケトンも同様に炭素-炭素結合の開裂ができないかを試みた。

4-2. 1,3-ジケトンの酸化開裂反応

1,3-ジケトンに対して CH₃CN 中 NaOCl・5H₂O を用いて反応させると、開裂反応が進行して、カルボン酸が生じることを見出した (図8)。

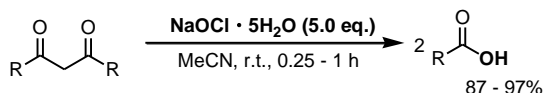


図8. 1,3-ジケトンの酸化開裂反応

4-3. 1,3-ジケトンの酸化開裂反応機構

まず、活性メチレン部位が塩素化され、カルボニルに水酸化物イオンが攻撃し開裂が起こり、カルボン酸とジクロロアセトフェノンのエノラートが生じる。このエノラートが塩素化された後にハロホルム反応が起こり、カルボン酸がもう1分子生じると考えられる (図9)。

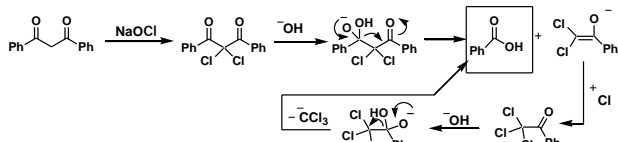


図9. 1,3-ジケトンの酸化開裂の反応機構

5. 芳香族側鎖炭素の酸化反応

5-1. 研究背景

トルエンを KMnO₄のような重金属酸化剤で酸化すると、安息香酸が生成する。これは極めて重要な反応で、高校の教科書にも掲載されている⁸⁾ (図10)。しかし、重金属酸化剤を大量に必要とする問題点があった。

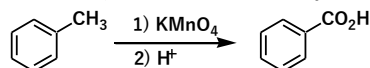


図10. KMnO₄による安息香酸合成方法

当研究室では、トルエン類に対して光照射下で NaOCl・5H₂O、NaBr、H₂SO₄で反応をさせると、カルボン酸類が得られることを見出していた⁹⁾ (図11)。

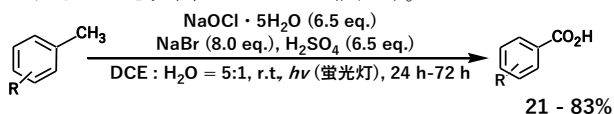


図11. NaOCl・5H₂O、NaBr、H₂SO₄を用いた光照射による合成法
しかし、図11の条件では系内で生成される臭素ラジカル (Br[·])が、溶媒である DCE と反応してしまうという問題点があった。そこで、Br[·]と反応しない溶媒として BTF を用いて検討をしたところ良好な収率で *p*-シアノトルエンが *p*-シアノ安息香酸へと変換された (図12)。

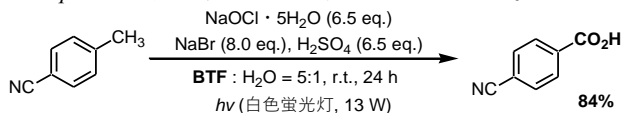


図12. BTF:H₂O=5:1 (v/v)溶媒中での NaOCl・5H₂O、NaBr、H₂SO₄を用いた光照射による合成法

5-2. 臭素・水存在下で光反応

上記反応の活性種は臭素ラジカル (Br[·])と考えられるため、Br₂でも同様の反応が行えると考え、各種検討をした。

その結果、トルエン類に Br₂と H₂O を光照射下 (可視光)で反応させると、目的のカルボン酸が高収率で得られることを見出した (図13)。

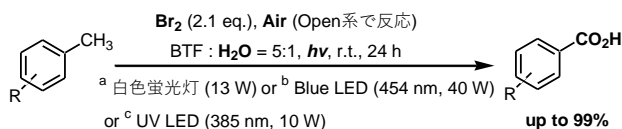


図13. カルボン酸類の合成反応

5-3. カルボン酸合成反応機構

反応機構は次のように考えている。まず、Br₂が光によりラジカル化し、ベンジル位の水素を引き抜いた後、臭素化され、モノプロモ体が生成し、さらにもう一度臭素化されジプロモ体に変換される。その後、ジプロモ体が光によって再度ラジカル化し、酸素酸化されてカチオンになる。そこに H₂O が求核反応した後、酸素酸化されることでベンゾイルプロマイドになる。これが、徐々に加水分解され、カルボン酸が得られる (図14)。

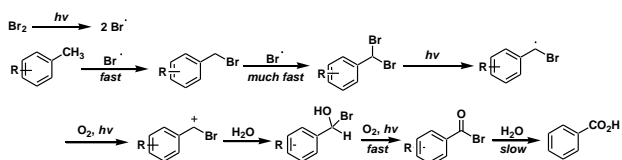


図14. カルボン酸合成反応の機構

本反応は、重金属酸化剤を使用しないといった点から、有機合成化学上極めて有用な反応である。

参考文献

- 1) Kirihiro, M. et al., *Org. Process Res. Dev.* **21** (2017) 1925.; 桐原正之ら 有機合成化学協会誌 **78**, (2020), 11.
- 2) Xu, L. et al., *J. Org. Chem.* **68** (2003) 5388.
- 3) Chachignon, H. et al., *Chin. J. Chem.*, **34** (2016) 445.
- 4) 木下 由香里, 静岡理科大学大学院 理工学研究科 材料科学専攻 2016年度修士論文
- 5) Kirihiro, M.; Sakamoto, Y., et al., *Heterocycles*, **2** (2021) 699.
- 6) Kirihiro, M. et al., *J. Org. Chem.* **84** (2019) 8330.
- 7) Kotsuchibashi, Y., et al., *Polym. Chem.*, **11** (2020) 2469.
- 8) 辰巳敬, “化学”, 教研出版株式会社, (2012) 325
- 9) 足立 滉太, 静岡理科大学大学院 理工学研究科 材料科学専攻 2019年度修士論文

シクロプロパン化合物を用いる新規合成反応の開発^{†††}

Development of new synthetic reactions using cyclopropane compounds

中村 里帆 ^{†††}

Riho NAKAMURA

1. はじめに

フッ素原子はその特異的な性質のため医薬品によく利用される元素である。さらに、シクロプロパン環も医薬品によく用いられる構造⁽¹⁾であり、さらに環開裂を利用した反応の原料としてもとても重要である⁽²⁾。これらより、シクロプロパン環とフッ素原子を併せもつ化合物は非常に有用であると言える。

当研究室では、かねてより脱酸素的フッ素化剤であるジエチルアミノ硫黄トリフルオリド [(diethylamino)-sulfurtrifluoride : 以下 DAST]⁽³⁾を用いたフッ素化反応の開発を行ってきた。今回、筆者はシクロプロパン化合物の DAST を用いた新しい環開裂反応や環拡大反応を見出すことに成功した。

2. シクロプロピルシリルエーテル類の環開裂アセトアミド化反応

当研究室の仲倉は、シクロプロピルシリルエーテル類に対し、CH₃CN 溶媒中で DAST を反応させると環開裂アミド化が進行し、アリルアミド体を高収率で得られることを見出した⁽⁴⁾。今回は、本反応の一般性と特徴を確かめるために様々な種類の置換基で基質検討をすることにした。その結果、様々な基質で環開裂アミド化反応が進行することが分かった (図 1)。

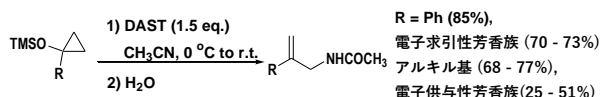


図 1. 環開裂アミド化反応

特に、置換基 R が芳香族基質だけでなく、アルキル基であっても環開裂アミド化反応が進行することが判明し、本反応に広く一般性があることが分かった。一方、置換基 R が電子供与性芳香族置換基の場合はやや収率が低下する傾向があった。

さらに溶媒検討の結果、CH₃CN 以外のニトリル系溶媒においても目的のアリルアミド体が得られた (図 2)。

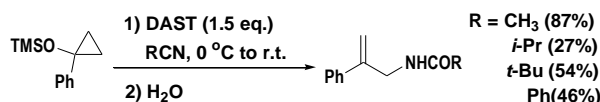


図 2. 環開裂アミド化反応の溶媒検討

3. シクロプロパン化合物の新規合成法の開発

当研究室の仲倉は、1 位置換シクロプロピルメタノール類、および 1 位置換シクロプロパンカルバルデヒド類の研究をしていた⁽⁴⁾。しかし、それらの原料は 1 位置換シクロプロパンカルボン酸を還元することによって合成されていた。1 位置換シクロプロパンカルボン酸類は、市販されている種類が少なく、また高価であったため、検討可能な基質の種類が限られており、この反応は十分に検討されているとは言い難かった。そこでまず、反応基質である、1 位置換シクロプロパン化合物類の新規合成法の開発をすることにした。

まずアリルプロマイドを合成⁽⁵⁾し、その後、アリルアセテートへと変換した。続いて、塩基性条件下で脱アセチル化し、アリルアルコールを合成することが出来た。これを、Simmons-Smith 反応によってシクロプロパン化し、1 位置換シクロプロピルメタノールを合成することが出来た。さらに、NaOCl · 5H₂O を用いる TEMPO 酸化⁽⁶⁾によって、アルデヒド体へと酸化し、1 位置換シクロプロパンカルバルデヒドの合成に成功した (図 3)。

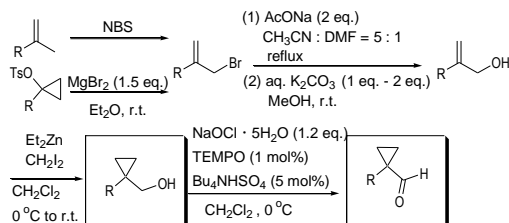


図 3. 1 位置換シクロプロパン化合物の合成

続いて、1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパン化合物の合成を検討した。まず上記と同様にアリルアセテートを合成し、続いてジフルオロシクロプロパン化反応⁽⁷⁾をし、1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロピルアセテートを合成した。その後、脱アセチル化して、目的の 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロピルメタノールを、さらに酸化して 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパンカルバルデヒドを合成することに成功した (図 4)。

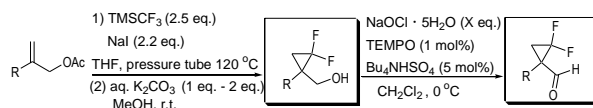


図 4. 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパン化合物の合成

^{†††} 2021年度修士論文概要

^{‡‡‡} 静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

また、1 位置換シクロプロピルメタノール、および 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロピルメタノールに対して、過剰に NaOCl・5H₂O を用いて酸化させることによって、医薬品等の有用化合物合成原料として有望な、1 位置換シクロプロパンカルボン酸の合成にも成功した(図 5)。

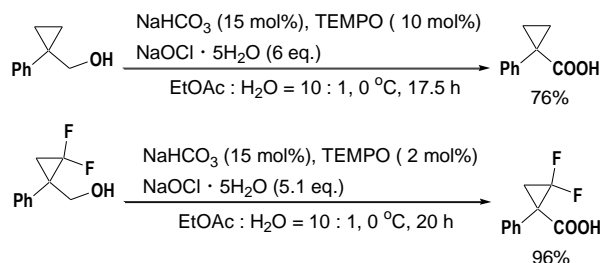


図 5. 1 位置換シクロプロパンカルボン酸類の合成

4. 1 位置換シクロプロパン化合物類の環拡大フッ素化反応

前章の方法で合成した様々な 1 位置換シクロプロピルメタノール類を CH₂Cl₂ 溶媒中で DAST を反応させると、いずれの場合も環拡大反応が生じ、フッ素原子が 1 つ導入されたシクロブタン体が得られ、本反応に一般性があることが分かった。興味深いことに 2 位置換シクロプロピルメタノール類と DAST との反応では、芳香族基質でないと反応が進行しない⁽⁸⁾のに対して、1 位置換の場合は、置換基 R がアルキル基であっても反応が進行した(図 6)。

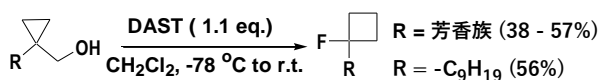


図 6. 1 位置換シクロプロピルメタノールの反応

次に、様々な 1 位置換シクロプロパンカルバルデヒド類で反応させたところ、環拡大フッ素化反応が起こり、フッ素原子が 2 つ導入されたシクロブタン体が得られた。本反応では、置換基 R が電子供与性芳香族置換基の場合は、環拡大体の生成比が上昇し、アルキル基では環拡大反応が全く生成しなかった(図 7)。

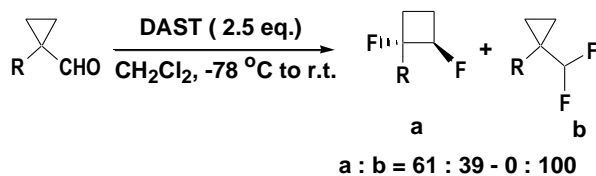


図 7. 1 位置換シクロプロパンカルバルデヒドの反応

1 位置換シクロプロピルメタノール、および 1 位置換シクロプロパンカルバルデヒドに対してフラン溶媒中で DAST を反応させたところ、共にフランが置換した生成物を得られた。この結果より、これらの反応は共にカルボカチオンを経由する S_N1 型の反応で進行していることが分かった。

5. 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパン化合物類の環開裂フッ素化反応

1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロピルメタノール類に対して、CH₂Cl₂ 溶媒中で DAST を反応させると通常のフッ素置換反応の他に、環開裂フッ素化反応が進行し、トリフルオロメチルアシル体が生成することが判明した(図 8)。

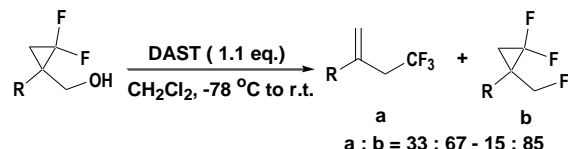


図 8. 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロピルメタノールの DAST による環開裂フッ素化反応

1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパンカルバルデヒド類の場合も、環開裂フッ素化反応によってアルケン部位にフッ素原子が 1 つ置換したトリフルオロメチルアシル体が生じた(図 9)。この場合は、1 位置換シクロプロパンカルバルデヒド類と DAST の反応の場合とは対照的で、置換基 R がアルキル基の場合も環開裂フッ素化反応が進行した。

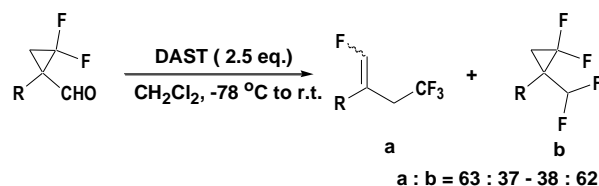


図 9. 1 位置換 2,2-ジフルオロシクロプロパンカルバルデヒドの DAST による環開裂フッ素化反応

このトリフルオロメチル基をもつ化合物は、反応途中で生じるカルボカチオンが、フッ素原子の電子供与効果によって安定化されたために生成したと推測している。

文献

- 1) Z. Casar, *Synthesis*, **52** (2020) 1315.
- 2) T. R. McDonald, et al., *Chem. Rev.*, **121** (2021) 3.
- 3) a) W. Middleton, et al., *J. Org. Chem.*, **40** (1975) 574;
b) M. Hudlicky, et al., *Org. React. (N. Y.)*, **35** (1988) 513.
- 4) 仲倉佳那, 静岡理科大学 理工学研究科 材料科学専攻 2019 年度 修士論文
- 5) a) Y. Y. Kozyrkov, et al., *Synlett*, (2002) 443.
b) B. Balazs, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **58** (2019) 10305.
c) R. J. Maza et al., *Chem. Comm.*, **56** (2020) 5973.
- 6) a) Y. Kimura, et al., *Synlett*, **25** (2014) 596.
b) M. Kirihara, et al., *Tetrahedron*, **72** (2016) 2818.
- 7) F. Wang, et al., *Ange. Chem. Int. Edi.*, **50** (2011) 7153.
- 8) M. Kirihara, Y. Kikkawa, R. Nakamura, et al., *Tetrahedron Lett.*, **64** (2021) 152655.

紅藻ソゾ由来の含ハロゲン化合物の構造多様性と生物活性^{§§§}Structural Diversity and Bioactive Properties of Halogenated Compounds from the Red Algae Genus *Laurencia*佐藤光将^{****}

Kosuke SATO

1. はじめに

世界中の浅海に分布する紅藻のソゾ属 (*Laurencia*) は、古くから種特異的にユニークな構造を有する二次代謝産物を生産することが知られている。これらの化合物は、セスキテルペン・ジテルペン・トリテルペン、そして C₁₅ アセトゲニン類に分類され、その多くがハロゲン原子を含んでいる。ソゾの化学成分研究は、60年代に、北海道大学の入江遠・鈴木稔らにより開始されたが、半世紀以上経った現在も、毎年数多くの新規化合物が見つかる。これは、含ハロゲン化合物が示す多彩な生物活性 (抗菌・付着阻害・抗炎症) およびケミカルレースと呼ばれる種内分化した個体群への関心に寄ることが大きい。ごく最近、海洋天然物化学の世界的権威である Bradley S. Moore 教授 (スクリプス海洋研究所) が、この生合成経路に注目したゲノムマイニング研究を開始したことから、ソゾの生産する化合物の多様性は今後一層注目を集めることになるだろう。本研究では、日本各地に点在する未調査区域に生息する紅藻ソゾを採集・同定した。そして、抽出物中の含ハロゲン化合物を単離し、構造決定の後、生物活性の評価を行った。

2. 紅藻ソゾの採集・同定

静岡県御前崎市産のマギレソゾ (*L. saitoi*)、モツレソゾ (*L. intricata*)、下田市産のキクソゾ (*L. composita*)、千葉県勝浦市産のニッポンソゾ (*L. japonensis*)、マギレソゾ、広島県の竹原市、尾道市および内海町産のキクソゾ、和歌山県白浜町産のヒメソゾ (*L. venusta*)、北方領土の国後島と択捉島産のウラソゾ (*L. nipponica*) といった総計 6 種 14 藻体を採集した。肉眼による形態と光学顕微鏡によるサクランボ小体の観察および塩基配列の確認によって、種の同定を行った。藻体の標本と顕微鏡観察下のサクランボ小体の一例を図 1 に示す。

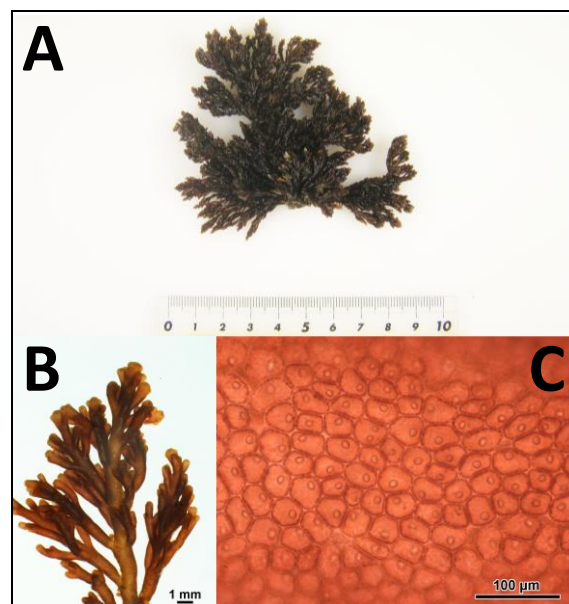


図 1. 静岡県御前崎市産のマギレソゾ
(A: 藻体 B: 枝拡大 C: サクランボ小体)

3. 二次代謝産物の単離と構造決定

各藻体をメタノールで抽出した後、酢酸エチルと水で二層分配を行い、脂溶性画分を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル系) にて、5 つに分画した。その後、PTLC と HPLC を用いて、単離・精製を行った。得られた化合物の化学構造を各種機器分析法 (NMR・MS・FTIR) により決定した。新規化合物が見つかったサンプルについて以下に記す。新規化合物の発見は、単に構造の多様性を示すばかりではなく、ソゾ属の生合成経路を検討する上でも大きな意味があった。

3.1. 千葉県勝浦市産と静岡県御前崎市産のマギレソゾ

本州中央部の太平洋沿岸で採集した 2 つの藻体から、総計 8 種の化合物を単離した。この内、化合物 1 は世界初となる新規化合物であったため、採集地の勝浦市にちなんで *katsuurallene* と命名し、国際学術誌で発表した¹⁾。また、既知化合物の *srilankenyne* (2) は、国内の紅藻類から初めての報告となった。

§§§ 2021 年度修士論文概要

**** 静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

3.2. 広島県竹原市と尾道市産のキクソゾ

単離した4種の化合物の内、**20**と**21**は新規の天然物であったため、NOESY相関とカップリング定数の解析から相対立体を決定した。これらの新規化合物は、採集地であった的場海岸にちなみ、matobols A-Bと命名した²⁾。

3.3. 国後島および択捉島産のウラソゾ

北方領土にて採集した4藻体より、総計8種の化合物を見出した(科研費基盤B21405009)。そして、新規のC₁₅アセトゲニンであったdeacetylneonipponallene(**32**)の絶対立体配置を、アセチル化によって決定した。加えて、新規のカミグレン型セスキテルペン(**33**)の化学構造も決定し、neopacifenolと命名した³⁾。どちらの化合物の炭素骨格もこれまでに報告例が少ない珍しいものであった。

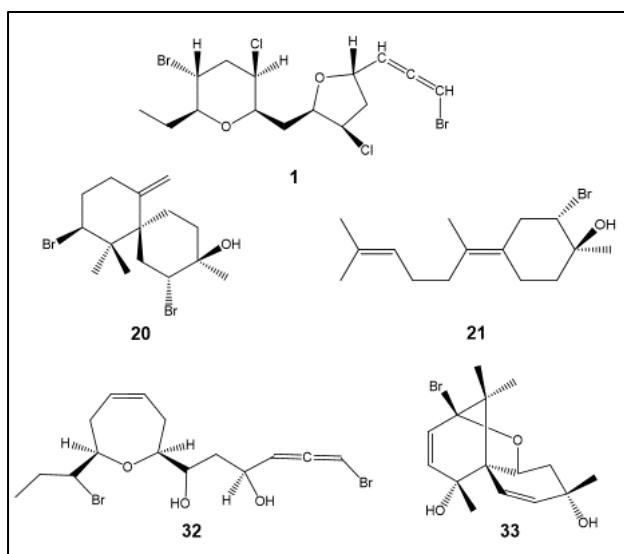


図2. 新規の含ハロゲン化合物

4. ケモタキノソミー

得られた新規化合物は、紅藻ソゾのケモタキノソミーを論じる上で重要な知見となった。具体的に、これまで主要な二次代謝産物として、高度に酸素化されたchamigrene類のみが報告されてきたキクソゾにおいて、全く異なる化合物**20**や**21**を生産する新しいケミカルレースの存在が明らかになった。隣接する地域(因島と横島)でケミカルレースが全く異なるのは興味深い。北方領土産のウラソゾの化学成分分析では、これまでに北海道地方で報告されてきた9種のケミカルレースとは異なる、ハイブリットタイプのケミカルレースが見つかった。

5. 生物活性の評価

コクゾウムシに対する忌避活性試験を行ったところ、新

規化合物**20**と**21**は5 µg/cm²という低濃度で活性を示した。また、これまでにフジツボのキプリス幼生や付着珪藻に対して強力な付着阻害活性が認められていたcupalaurenol(**30**)とcyclolaurenol(**31**)の混合物も強い活性(5 µg/cm²)を示した。同じく、付着阻害活性や抗菌活性が報告されてきたomaczellene(**10**)、laurenisol(**28**)およびallolaurinterol(**29**)などにも活性が認められた。以上の結果から、抗菌や付着阻害などの生物活性が報告されてきた海産の天然有機化合物の中には、生育環境が大きく異なる陸上の昆虫類に対しても忌避活性を示す有望なシーズ化合物が眠っている可能性が高い。

6. まとめ

日本各地の浅海で採集した6種の紅藻ソゾから総計37種の化合物を単離した。その内訳は、セスキテルペン21種・ジテルペン2種・トリテルペン3種・その他1種およびC₁₅アセトゲニン類が10種であった。新規化合物は国際学術誌で発表した¹⁻³⁾。

環境にやさしい農薬シーズの創製を目的として、紅藻のソゾ属から新奇な生物活性を有する含ハロゲン化合物の探索を行ってきたわけだが、これらが害虫に対する忌避剤開発の種となる可能性を示唆できた。これまでにソゾからは数多くの化合物が報告されてきたものの、未だ実用化されたものはない。持続可能な開発目標が叫ばれる昨今、環境にやさしいSDGs対応型の忌避剤開発を目標に、「海洋天然生物資源からのモノ取り研究」が再び活発化することを望む。

7. 謝辞

サンプルの一部は、静岡県水産・海洋技術研究所の二村和視博士、広島大学の加藤亜紀准教授、千葉県立中央博物館の鈴木稔博士らから提供して頂いた。種の同定では、福山大学の山岸幸正准教授にご協力頂いた。また、生物活性評価では、琉球大学の石井貴広准教授にご助言を頂いた。全ての共同研究先と研究者方に感謝申し上げる。

8. 発表論文

- 1) Minamida, Y., et al. *Nat. Prod. Bioprospect.* Accepted, 2022.
- 2) Sato, K., et al. *Chem. Biodivers.* 18, e2100397, 2021.
- 3) Minamida, Y., et al. *Biochem. Syst. Ecol.* 96, 104259, 2021.

微生物処理した養豚排水からのアンモニア回収法の検討

Investigation of ammonia recovery method from microbially treated pig farming wastewater

中野 直弥 †

Naoya Nakano

1. 背景と目的

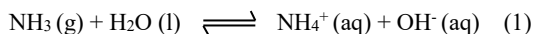
畜産事業所から公共用水域の流水には、家畜の排泄物由来の窒素が含まれている。水質汚濁防止法では、アンモニアの排水基準がある。畜産農業には、暫定基準値として現在 500mg/L の値が定められているが、今後も規制の強化が予想される。現状では、養豚排水から固形物を取り除き、無限希釈でアンモニア濃度を下げ、河川へ放流されている。一部では、アンモニアストリッピング法により、基準値以下の濃度に下げる方法が用いられている。共同研究先の村上開明堂では、事業所から出る廃ガラスの再利用として発泡ガラスを製造している。この発泡ガラスに微生物を棲ませ、微生物処理を行い、アンモニア濃度を下げる技術の開発に取り組んでいる。この処理では、気相中に放出されるアンモニアや、微生物処理では処理しきれないアンモニアが、水溶液中に残留する。村上開明堂では、これを取り除く技術がなく、アンモニアストリッピング法による除去技術を共同開発することとなった。

本研究では、実験室レベルでの装置開発から始め、実際の養豚排水を用いた実地検証を行い、アンモニアを除去、回収することを目的とする。また、養豚排水は、季節や天候によって、濃度が変動するため、コンディションの異なる試料排水を使用して検証を行うことも目的とする。

2. 原理

アンモニアストリッピング法は、アンモニア蒸気が溶存する水溶液から、アンモニアを気体として取り出す物理化学的手法である。原水の pH を高くすることで、 NH_4^+ を遊離の NH_3 に変化し、大量の気体と接触させて、大気中に拡散させるものであり、重要な条件が2つ存在する。

1 つ目は、pH である。アンモニア蒸気が溶解した水では、以下の(1)式で表せる解離平衡状態を保っている。



この反応の平衡定数 K は、以下の(2)式で表せる。

$$K = [\text{NH}_3][\text{OH}^-] / [\text{NH}_4^+][\text{H}_2\text{O}] \quad (2)$$

あらかじめ水溶液の pH を高くすると、(2)式の $[\text{OH}^-]$ が大きくなり、平衡が左に移動する。つまり、水溶液中のアンモニア蒸気 $\text{NH}_3(\text{g})$ の濃度が高くなり、アンモニア蒸気が系外に取り除かれやすくなる。2 つ目の条件は、通算曝気量(G)と処理排水量(L)である G/L 比である。中村ら¹⁾は、

G/L 比 2 と 4 の条件で回分式試験を行っており、アンモニア除去率の平均値は、それぞれ G/L 比 2 で 40 %、G/L 比 4 では 90 % と報告し、G/L 比が高い場合の方がアンモニア除去率も高くなる傾向が確認されており、この報告を参考に、本研究では G/L 比を決定していく。

3. 実験方法

アンモニアストリッピング装置は、自吸式ポンプで空気を循環させる閉鎖系とし、ステンレス製曝気槽は、処理中の溶液を分取できる分取口が取り付け、温度調整ができるようにしたものを作成した。製作した装置を使用し、G/L 比と初期 pH の検討を行った。G/L 比は G/L=比 2 および 4 の比較試験を行い、初期 pH は 9~12 の条件で検討した。

実地検証は、静岡県畜産技術研究所 中小家畜研究センターから提供の養豚排水を用い、村上開明堂大井川工場にて2回実施した。排水処理過程を想定し、①凝集剤による養豚排水の固形分の除去、②村上開明堂製作の微生物処理装置による活性汚泥を用いた微生物処理、③微生物処理中に揮発したアンモニアガスの溶解、④アンモニアストリッピング法によるアンモニア回収の流れを行った。②の工程では、活性汚泥などの固形分があるため、微生物処理終了後に、ろ過により汚水を分別した。③の工程では、微生物処理中に揮発したアンモニアを、曝気槽内の水に溶解させた。④の工程では、実験室で得た条件に合わせ、G/L 比が 4 になるように曝気槽に汚水を入れ、50 %水酸化ナトリウム水溶液で初期 pH=12 に調整後、アンモニアストリッピング処理を開始した。それぞれの処理の工程において、開始時と開始から 24 時間毎の溶液を分取し、COD、pH と NO_2^-/N 濃度、 NO_3^-/N 濃度、 NH_4^-/N 濃度を 3 回計測し、平均値を算出した。

4. 結果と考察

表 1 に G/L 比 2 と 4 の試験結果を示す。曝気流量で比較すると、流量が多い方が回収率が高いことがわかる。そして、同じ流量で G/L 比の違いを見ると、流量 10 L/min の条件では有意な差は確認できないが、流量 5 L/min の条件では、G/L 比=4 の方が回収率は高くなった。このことから本実験では、G/L 比=4 とした。

* 2022 年度修士論文概要

†静岡理科大学 大学院理工学研究科 材料科学専攻

表1 G/L比=2、4の試験結果

曝気時間 /h	G/L比	流量 / L/min		濃度 mg/L		減少量 / mg/L		回収率 / %		pH		温度 / °C
		初期	処理	初期	処理	初期	処理後	初期	処理後			
2	2	5	88	82	6	7.3	11.02	10.23	26.0			
↑	2	10	90	68	22	32.4	11.05	10.16	26.5			
↑	4	5	88	76	12	15.8	11.00	10.39	25.5			
↑	4	10	90	70	20	28.6	11.05	10.13	25.5			

図1にpH=9~12でのアンモニアストリッピングの結果を示す。pH=9と10では、6時間で回収率が飽和し、回収率は30%前後となった。pH=11では、回収率は高くなったが、18時間でほぼ飽和していることがわかる。しかし、pH=12にすると、18時間でも回収率は飽和せず、回収率も80%となっている。このことから、初期pHは、pH=12とすることにした。

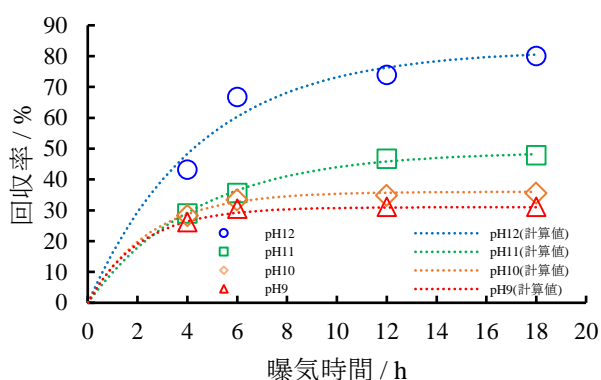


表2と表3にそれぞれの実地検証での微生物処理工程の結果を示す。微生物の活動によってNO₂-N、NO₃-N、NH₄-Nが分解および生成され濃度が変動していることがわかる。NO₃-Nが減少しているのは、脱窒菌によって窒素まで分解され、大気中に放出されたためと考えられる。

表2 1回目の微生物処理の結果

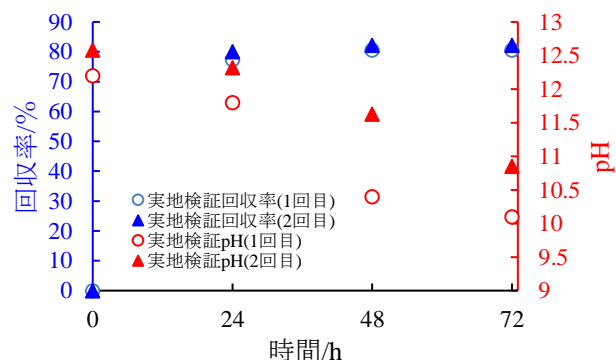
時間 /h	NO ₂ -N 濃度 / mg/L	NO ₃ -N 濃度 / mg/L	NH ₄ -N 濃度 / mg/L	pH	温度 / °C	COD / ppm
凝集前	-	-	-	-	-	-
凝集後	0.5	4.0	580	8.2	25	362
0*	0.35	2.5	375	8.0	32	288
24*	238	15.5	285	7.8	↑	2048

表3 2回目の微生物処理工程の結果

時間 /h	NO ₂ -N 濃度 / mg/L	NO ₃ -N 濃度 / mg/L	NH ₄ -N 濃度 / mg/L	pH	温度 / °C	COD / ppm
凝集前排水	8.67	3.5	330	8.1	25	528
凝集後排水	3.33	3.5	295	8.1	↑	286.7
活性汚泥	3.33	37.5	35	7.8	↑	178.7
0*	0.75	19.5	290	7.5	32	-
-	0.9	19	300	7.5	↑	-
-	1.05	20	280	7.5	↑	-
平均値	0.9	19.5	290	7.5	↑	297
24*	50	11.5	90	8.7	↑	-
-	50	13.5	140	8.6	↑	-
-	50	12.5	145	8.5	↑	-
平均値	50	12.5	125	8.6	↑	149

微生物処理に引き続き、アンモニアストリッピング処理

を行った。アンモニアストリッピング開始時のNH₄-N濃度は、表2と3の24時間の微生物処理後よりも高くなった。これは、微生物処理中に発生するアンモニア蒸気を予めアンモニアストリッピング槽で回収したためである。図2にアンモニアストリッピングの曝気時間と、回収率およびpHの関係を示す。1回目と2回目の初期のNH₄-N濃度はそれぞれ620mg/Lと225mg/Lであり、異なるコンディショニングの試料排水となっている。図の回収率を比較すると、1回目と2回目の実地検証は、いずれも24時間の曝気で回収率が80%程度となっている。曝気時間とpHの関係を見ると、pHの変化は緩やかであり、アンモニアストリッピングに最適なpHを保持していることがわかる。そのため、24時間で高い回収率となったと考えられる。次に、24時間以降で回収率は、ほぼ一定となっている。本実験では回分式であるため、アンモニア蒸気が拡散するスペースが制限されている。試料排水からアンモニア蒸気が追い出されると、気相のアンモニア濃度が高くなる。そのため、気相と液相間での平衡に達し、回収率がほぼ一定になったと考えられる。



5. まとめ

2回の検証において、24時間のストリッピング処理で80%の回収率を実現し、再現性のある結果が得られた。また、排水からだけでなく、微生物処理中に、発生するアンモニア蒸気を大気に放出することなく回収することができた。これは、他のアンモニアストリッピング法には見られない新しい技術である。さらに、今回の実地検証では、NH₄-N濃度が畜産排水の環境基準値以下に下回っているため、実用化に向けた基礎的な知見が得られた。

6. 謝辞

本研究は、村上開明堂の奨学寄附金により実施したことに、感謝いたします。

7. 参考文献

- 1) 中村茂和, 白岩佑美子, 杉山 典, “養豚排水のアンモニアストリッピング法による窒素除去に及ぼす諸要因,” 静岡県畜産技術研究所, 中小畜産研究センター研究報告, 31-32 (2013).

セミの翅のナノ構造を模倣したポリビニルアルコールを含有する 架橋フィルムの調製と抗菌性について*

Fabrication of cicada wing-inspired poly(vinyl alcohol)-based films with cross-linking structures and their antibacterial properties

藤本 一磨 †

KAZUMA FUJIMOTO

1. はじめに

細菌のバイオフィームに関連する感染症は、米国においては医療用インプラント手術を受ける患者の約 10%に影響を及ぼし、年間 10 万人近くの命を奪っている[1]。近年、セミやトンボの翅が有するナノサイズの凹凸構造(ナノラフネス構造)を模倣した材料が、バイオミメティクス材料として、大腸菌や黄色ブドウ球菌をはじめとする種々の細菌に対し抗菌性を示すことが報告されている[2,3]。これらの材料の多くは無機材料から成り、ナノラフネス構造を持つ高分子フィルム(ナノラフネスフィルム)の報告数は限られている。Park らは poly(ethylene glycol)dimethacrylate を用いてナノ構造を調製し、その表面に 2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine を修飾した。この親水的なニードル状のナノ構造はグラム陰性菌だけでなく、グラム陽性菌に対しても抗菌性を示すことが観察された[4]。この結果は、グラム陽性菌に対する抗菌性が低いセミの翅とは異なる。ナノ構造の潜在的な抗菌性を調査し、データを蓄積するために、特別な装置や複雑な有機反応、重合を必要とせず、ナノ構造のサイズや架橋構造、表面電荷を制御できる親水性ナノ柱を簡便に調製する方法が

必要である。本研究では、ナノラフネスフィルムの調製方法とその抗菌性について報告する (Fig. 1)。

2. 実験方法

モノマーとして、架橋部位を有する methacrylic acid(MAAc)を選択し、フリーラジカル重合により共重合体を合成した。合成した poly(MAAc)の構造を ^1H Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR)により評価した。合成した共重合体とポリビニルアルコール(PVA)を混合することで高分子フィルムを得た。その後、高分子フィルムを 135°C にて熱架橋した。高分子フィルムの物理化学的な特性を示唆走査熱量計(DSC)、熱重量分析計(TGA)、フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)、ゼータ電位、接触角測定、水中安定性試験、血液適合性試験により評価した。また、合成した poly(MAAc)と PVA を水に溶解させ、ラフネス構造を持つ基盤に流し込むことで基盤のラフネス構造を高分子フィルムに転写した。ナノラフネスフィルムをそれぞれ、 135°C にて 4、14、24、44 時間熱架橋した。熱架橋後のフィルムを 80°C の水に 3 時間浸漬し、その後ナノラフネス構造を走査型電子顕微鏡(SEM)により測定した。また、ナノラフネス構造を SEM と走査型プローブ顕微鏡(SPM)により測定した。

さらに、ナノラフネスフィルムに *E.coli* K-12(大腸菌)と *B.subtilis* 168(枯草菌)をそれぞれ播種し、その抗菌効果を観察した。フィルムを所定の濃度の細菌懸濁液中に 20 分浸漬した後、ホルムアルデヒド水溶液による固定とエタノールによる脱水処理を行い、SEM により観察した。また、Propidium Iodide(PI) と 5(6)-Carboxyfluorescein diacetate(CFDA)により二重染色した所定の濃度の細菌懸濁液をフィルムに播種した後、蛍光顕微鏡によりフィルム上の細菌の生死判別を行った。

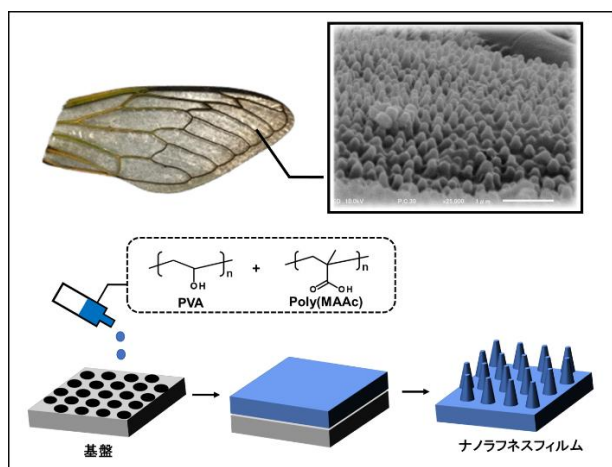


Fig. 1 Preparation method of the polymeric films with nano-roughness structures.

3. 結果・考察

フリーラジカル重合により、poly(MAAc) ($M_n=43900$

g/mol, $M_w/M_n=1.60$)を合成した。合成した poly(MAAc)をそれぞれ PVA と混合し、高分子フィルムを調製した。混合する組成を変え、135°Cにて 4 時間熱架橋を行った。架橋構造は、PVA のヒドロキシ基と poly(MAAc)のカルボキシ基によるエステル結合に由来する。架橋後のフィルムを 80 度の水に 3 時間浸漬させたところ、poly(MAAc)の含有量が 10, 25, 50 wt.%のフィルムは約 100%の残存率が観測された。未架橋のフィルムは同条件において完全に溶解した。DSC の結果から、PVA と poly(MAAc)を混合することにより、融点が減少することが観測された。これは、フィルム全体の結晶化度の低下によるものと考えられる。また、接触角測定により、フィルムは親水性を有することを確認した。

次に、PVA と poly(MAAc)の混合水溶液を基盤に流し込み、乾燥させることでナノラフネスフィルムを調製した。SEM と SPM の結果から、ラフネス構造はナノサイズの柱状の構造物(ナノ柱)から成り、基盤を変えることで、直径が約 30~90nm、高さが 50~300nm の ナノ柱が調製できることを観測した。これらの結果は、セミの翅のナノラフネス構造と近似した構造を親水的な高分子により再現できることを示唆する。また、ナノラフネスフィルムの水中安定性試験後の SEM 観察により、熱架橋を 24 時間以上行ったフィルムのナノラフネス構造は維持されていることが確認された。さらに SEM 観察により、ナノラフネスフィルム上で大腸菌が捕捉され、細菌が変形している様子を観測した(Fig. 2)。一方、ナノラフネス構造を持たない高分子フィルム(フラットフィルム)上では細胞の変形は観測されなかった。この結果は、枯草菌を播種したフィルムにおいても同様に観測された。

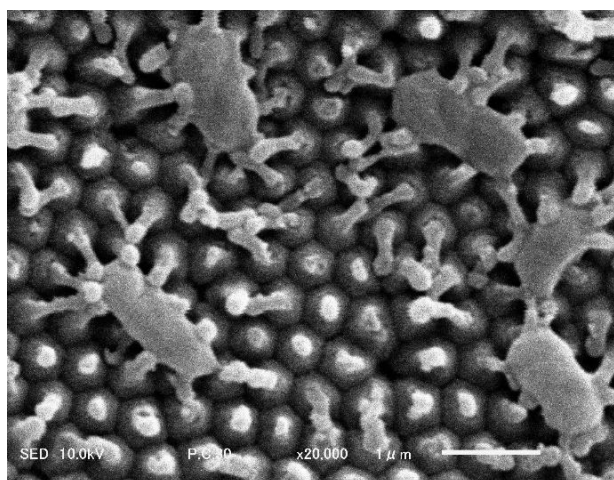


Fig. 2 SEM image of *E.coli* on nano-roughness film.

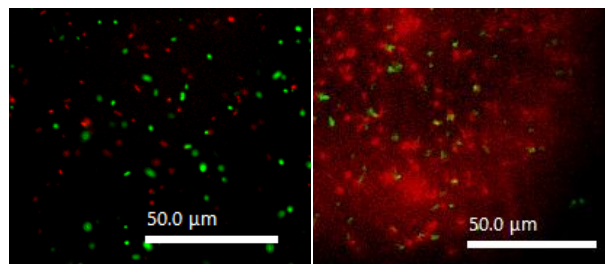


Fig. 3 Fluorescence microscope images of *E.coli* on (Left) Flat film and (Right) nano-roughness film.

蛍光顕微鏡観察により、ナノラフネスフィルムの表面上の大腸菌は、フラットフィルムの表面と比較して赤色の蛍光(死細菌)が強いことが観測された。これらの結果は、ナノラフネスフィルムはフラットフィルムと比較して強い抗菌性を有することを示唆する(Fig. 3)。枯草菌についても同様の結果が観測された。

以上より、セミの翅のナノラフネス構造を模倣した親水性高分子フィルムはグラム陽性菌とグラム陰性菌の両方に対して抗菌性を示すことが示唆された。簡便にナノラフネスフィルムを調製できる本手法は、ナノ構造を持つ親水性高分子フィルムとその抗菌性に関する研究を加速させることが期待される[5,6]。

4. 参考文献

- [1] K. Modaresifar *et al*, *Acta Biomaterialia*, (2019) 29–36.
- [2] M. Ganjian *et al*, *Adv. Mater. Interfaces*, **6** (2019) 1900640
- [3] D. P. Linklater *et al*, *Nat. Rev. Microbiol*, **19** (2021) 8-22.
- [4] Hyun-Ha Park *et al*, *ACS Macro Lett.*, **8** (2019) 64–69.
- [5] K. Fujimoto *et al*, *ACS Omega*, **6** (2021) 17531–17544.
- [6] K. Fujimoto *et al*, submitted.

編集後記

先端機器分析センター開所10周年を迎えた本年度は、再出発に向けた1年となりました。本年度で先端機器分析センターの開所と運営に尽力いただいた吉田豊先生と早川一生職員が退職されます。吉田先生と早川職員には、先端機器分析センターの業務遂行や研究活動等で大変お世話になり、感謝の気持ちでいっぱいです。お二方の退職は寂しい限りですが、新しく着任された小泉職員とともに、新たな先端機器分析センターを築き上げていく所存です。来年度から、本年度に更新した示差熱天秤・質量分析計、プレートリーダーに加え、吉田先生・小林先生の研究室から移設した装置（倒立型光学顕微鏡、カー効果顕微鏡、各種研磨機、精密切断機）を本格的に開放する予定です。皆さまのご利用をお待ちしております。

先端機器分析センター 講師 脇川祐介

本年度4月にこちらに着任して以来、早1年が経過しようとしております。昨年度から大きく仕事の内容を変え、試行錯誤の中活動を行って参りました。これまでは主に有機化学に関連した機器の取り扱いが中心でしたが、ここではさらに広い範囲の装置について取り扱わなければならない、まだまだ習得しなければならないことがたくさんあることを痛感しています。その中でもこれまでの研究を細々とでも続けていけることになったのは偏に先端機器分析センターはじめ関係者の皆様のご協力によるもので、心より感謝しております。国内では昨年度からの引き続きのコロナ禍、海外ではロシアのウクライナ侵攻などすべての活動に大きな影響を及ぼす事象が起こっておりますが、早期の収束を願いつつ、今後の分析センターの発展を目指して精進していこうと思っております。

先端機器分析センター 技術職員 小泉武昭



(左から) 小泉職員、脇川講師、早川非常勤職員、吉田教授、斎藤センター長、高部副センター長
令和4年3月11日 SIST サロン



静岡理科大学・先端機器分析センター

<http://www.sist.ac.jp/kiki>

TEL: 0538-45-0175

FAX: 0538-45-0176

e-mail: kiki@sist.ac.jp

〒437-8555 静岡県袋井市豊沢 2200-2