

TECHNORIDGE

2023 334



YouTube
太陽光アップコンバージョンフィルムの開発



YouTube
化成品の生産性向上のための光反応手法の開発



YouTube
微生物の育種技術の高度化

テクノリッジ 322 号
特集：コア技術確立事業 第一期



特集 コア技術確立事業 第二期

TECHNORIDGE

2023 334



目次

巻頭言	2
太陽光アップコンバージョンフィルムの開発	3
化成品の生産性向上のための光反応手法の開発	5
微生物の育種技術の高度化	7

実験条件や途中の様子、結果を記録します。実験が実際に行われたことを示す根拠となり、再現性を確保するために、正確に書く必要があります。研究者にとって欠かせない重要なツールです。

十年先を見据える

どんな仕事にも、なにかしらの目的があります。お客さんからの要望に応えるための仕事、自分が興味を持ったことを深掘りしていく仕事、同僚からお願いされて今回は恩を売っておこうと思っただけの雑用仕事など。こんな仕事の目的を眺めていると、「短期的」な視点と「長期的」な視点があることに気づきます。短期的と長期的、どちらの方が正しいなんてことはなく、どっちもあって強みになります。短期的な視点があれば、目の前のことが片付き、リターンも早いです。一方で、長期的なことは、将来の投資へとつながります。

これは企業全体でもあてはまる面があると思います。社員みんなで掲げる目標があり、それを達成するためには、立ちちはだかる課題を解決しなければいけません。課題はいつだって一つではなくて、いたるところに散在します。それが「短期的」な課題であったり「長期的」な課題である、というわけです。

和歌山県工業技術センターでは、技術的支援により県内企業の力になることが、職員みんなで共有する目標です。そのために、まずは企業の皆様からご依頼いただく「受託試験」や「受託研究」などの業務に取り組みます。けれど、県産業の将来を見据える長期的な視点も必要です。そのために取り組むのが、他の研究活動であり、今回特集する「コア技術確立事業」はその一つです。

簡単に「コア技術確立事業」を説明すると、これは5年から10年後、県内産業の新たな展開に貢献できる技術を確立することを目指した研究事業です。この事業の実施期間は3年間としており、研究テーマには市場動向等の調査・分析から見出した課題を設定しています。令和元年度に、第一期の事業として3つの研究を完了し（表紙を参照）、令和4年度には二期目の本事業が終了しました。

本号では、第二期の成果についての要所をまとめています。これから紹介する研究は、必ずしもすべての企業の方が密接に関わる内容ではないかもしれませんが、当センターでは、本事業で確立した技術はいずれも今後必要性が高まるものだと確信しています。たとえば今すぐに役立たなくとも、頭の片隅に置いておいてもらえたら、いつか来るべき時に「そういえば、あれ使えるかもな」と不意にアイデアが生まれる時が来ると考えています。この機会にご一読いただけますと嬉しい限りです。

編集担当
芳井 朝美

太陽光アップコンバージョンフィルムの開発

化学技術部 森 岳志

はじめに

和歌山県オリジナルでこれまでにない技術を生み出し、少し先の将来に県内企業に使ってもらおうと進めてきた研究テーマが今回紹介する光アップコンバージョンフィルムの開発です。本テーマは第一期のコア技術確立事業（平成 29 年度～令和元年度）から継続しており、第二期（令和 2 年度～令和 4 年度）では「太陽光エネルギーの有効利用」に着目して研究開発を実施してきました。本稿は広い分野の企業の方に光アップコンバージョン技術を知ってもらい、「こんなところにも使えるのでは!」と関心を持っていただけるよう、学術的な表現は極力少なくして成果をまとめたものです。光アップコンバージョンの原理など少し詳しい説明は第一期特集号であるテクノリッジ 322 号（表紙二次元バーコード参照）で紹介していますので、併せて読んでいただくとさらにこの技術の面白さ、そして可能性を感じてもらえるかと思います。

光を“アップ”コンバージョンさせるとは？

光アップコンバージョンとは、「色素」を使って光の色（波長）を変換させる技術のひとつで、一風変わった光変換です。光はその色によって持っているエネルギーに違いがあります。図 1(a) のように高い、低いで表現すると、青色の方向ほど高く、逆に赤色の方向は低くなっていきます。

光アップコンバージョンは、光を“アップ=上”、つまり低い位置から高い位置へ変換する技術のことを言い、特殊な条件下においてのみ起こる現象です。図 1(b) は、ガラス容器内の溶液に緑色の可視光が照射されることで青色に発光するアップコンバージョンの様子です。

何ができるのだろう？

それでは光をアップコンバージョンさせることで何ができるのでしょうか。光アップコンバージョン技術の利用で最大のメリットは、ある物質が「本来吸収できない光」を「吸収できる光」に変換して機能を付与させる点です。実際に提案されている光アップコンバージョン技術の応用例の一つに、太陽電池があります。

太陽電池は光を吸収して電気をつくり出します。しかし発電層が吸収できる光の範囲には限界があり、可視光よりもエネルギーが低い近赤外光の多くは吸収できず透過してしまいます。そこで図1 (c) のようなコンセプトが提案されています。太陽電池の発電層に太陽の光が当たりますが、近赤外光の大部分は透過してしまいます。そこでその光をエネルギーの高い光にアップコンバージョンすれば発電層が吸収でき電気を生み出すことができます。

実際には図1 (c) のように光アップコンバージョン材料をそのまま太陽電池に応用するためにはまだ多くの課題がありますが、近赤外光をアップコンバージョンさせる技術は

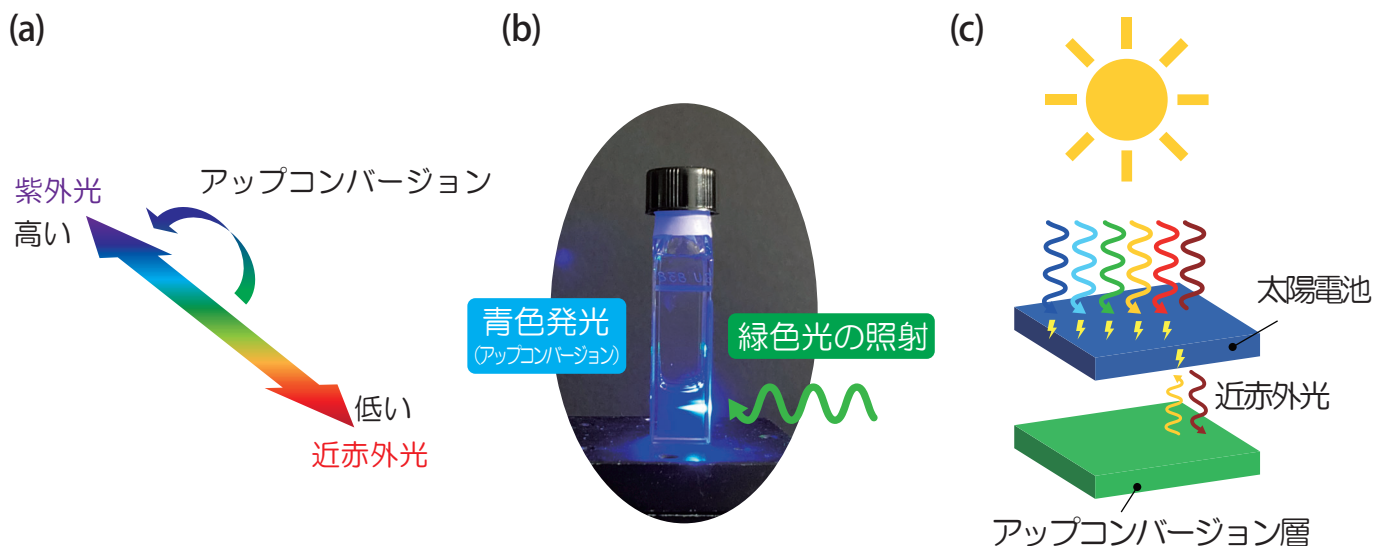


図 1 (a) 光アップコンバージョンのイメージ (b) アップコンバージョンの様子（ガラス容器内の溶液） (c) 太陽電池への応用例

太陽電池だけではなく光センサーなどにも有用になってきます。ただし太陽光は強度（光の密度）が小さすぎて、特にフィルム材料では光アップコンバージョンがうまく起こりません。そこで本研究では、太陽光の近赤外光を可視光にアップコンバージョンさせるフィルムの開発というチャレンジングな目標を立てて、成膜方法や色素とマトリックス樹脂の混合手法などを中心に検討してきました。

水と油を混ぜて穴だらけのフィルムから光アップコンバージョン

光アップコンバージョンの原理上、効率よく光を変換するための鍵は二つあります。一つ目は、色素を酸素に触れさせたくないということです。そのため当センターではフィルムの素材として、酸素バリア性が非常に高いポリビニルアルコール（PVA）を使用してきました（テクノリッジ 322 号参照）。PVA は水によく溶けますので水溶液にして塗布、乾燥を経てフィルムを作製していきます。ではその PVA 水溶液にどんな色素が合うのでしょうか。真っ先に思いつくのは水溶性の色素です。本研究でも水溶性の色素を用いて様々な混合条件を試してフィルム化の検討を行いました。残念ながらこれらの色素では明確な光アップコンバージョンを確認することはできませんでした。

二つ目の鍵は、光アップコンバージョンを起こすためにはある程度フィルム内で色素が集まっている必要があるということです。上述した水溶性の色素では、PVA によく溶けるためフィルム内で散り散りになってしまっているようです。そこで方針を変え、水に溶けない色素を使うことにしました。普通であれば、水に溶けない色素と PVA では分離してしまうために、フィルム化は難しいと考えられます。我々は試行錯誤の結果、色素を含むトルエン溶液と PVA 水溶液とのエマルジョン溶液（乳化液）を利用することで、色素と PVA が分離することなく均一なフィルムを作することに成功しました（図2(a)）。

作ったフィルムの光アップコンバージョンの様子ですが、図2(b)のように近赤外光 LED を当てると黄色の光に変換されていることがはっきりと確認できます。このフィルムの外観は非常に均一ですが、断面を観察すると数マイクロメートル以下の無数の小さな穴を確認できました（図2(c)）。さらにこれらの穴について詳しく調べていくと、穴の表面に色素が集まっており、光アップコンバージョンが起こりやすい状態になっていることが分かってきました。その結果、フィルム材料としては非常に高い光アップコン

バージョン効率を示しており、この成果はアメリカの学術誌にも発表しております。¹⁾

さいごに、本テーマの目標である太陽光での光変換を調べるため、太陽光の強度に近いソーラーシミュレータを使ってフィルムに近赤外光を当てた様子が図2(d)になります。先に述べたように太陽光強度の近赤外光の変換はフィルム材料では非常に難しく調べた限りこれまで報告はないのですが、当センターが開発したフィルムを介することで、変換された光を目視で確認することができました。

まとめ

本研究の最も大きな成果は、太陽光に近い比較的小さい強度（強いレーザー光を必要としない）の近赤外光を可視光に変換できる光アップコンバージョン材料を、フィルム形状として作製する方法を確立したことです。本技術により実験室内では、A4 サイズくらいのフィルムであれば難なく作ることができます。

フィルムということで、太陽電池などの面積が必要なデバイス、そしてフレキシブル性が求められるアプリケーションにも応用検討できます。さらに現在では、可視光から紫外光への変換など、色素を変えてバリエーションを増やしており、アプリケーションに合わせた材料設計にも対応できます。本技術に興味がありましたら是非お問い合わせください。

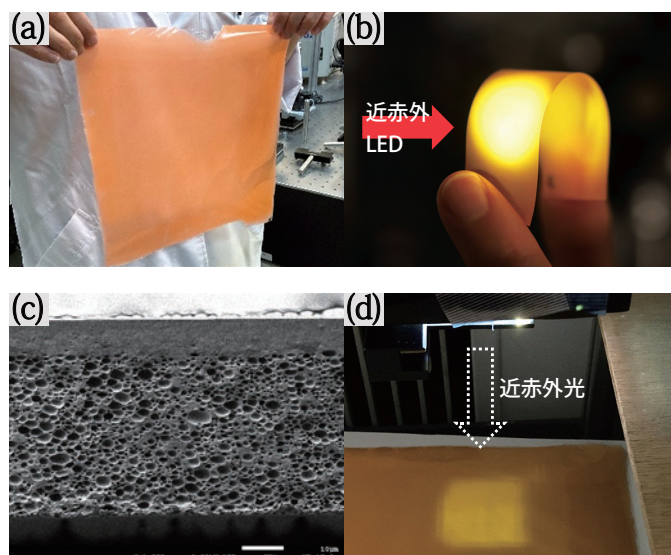


図2 (a) 作製したフィルム
(b) 光アップコンバージョンの様子（フィルム）
(c) フィルムの断面（スケールバー：10 μm）
(d) 太陽光強度の近赤外光照射

[参考文献]

1) <https://www.wakayama-kg.jp/news/2023/04/post-237.html>



化成品の生産性向上のための光反応手法の開発

化学技術部 藤井 亮

はじめに

化成品等を製造する際、一般的にはフラスコや反応釜等の容器を用いる「バッチ式」と呼ばれる方法が用いられます。一方、少量多品種製造への要望の高まりを受け、細い流路を持つマイクロリアクターに液体や気体を流しながら反応を行う「フロー式」での反応が近年注目を集めています^{1,2)}。図1に示すように、フロー式はバッチ式と比較して伝熱性や攪拌性に優れているだけでなく、二相反応や光反応においても反応の効率化が期待できます。また、細い流路を用いるということで小ロット生産にしか対応できないように聞こえますが、流路数を増やすこと(ナンバリングアップ)で生産スケールを柔軟に調整することができます。

本コア技術確立事業では、次項で示すような優位性を有する光反応に着目し、ニトロベンゼン類のフロー式光還元反応の検討を行いました。本稿では、本事業で得られた研究成果についてご紹介します。

フロー式光還元反応

光を照射して行う光反応は、通常の熱反応では得られないような特殊な構造を有する化合物を合成可能であるため、熱反応と相補的な特徴を持つ重要な合成手法です。しかしながら、光の透過力の問題から、バッチ式で光反応を行う場合には「光が反応液内部まで届きにくい」という課題が存在します(図1④)。一方、フロー式は細い流路を用いるために反応液全体に効率よく光を照射でき

ることから、光反応と非常に相性の良い反応系だと言えます。

実際に検討した結果、バッチ式ではアニリン類が得られるニトロベンゼン類の光還元反応において、反応系をフロー式に変えることでアゾキシベンゼン類が選択的に得られることを見いだしました(図2)^{3,4)}。この理由としては、フロー式の特徴の一つである効率的な攪拌効果により、バッチ式では発生しにくかった反応中間体同士の縮合が起これ、アゾキシベンゼン類が得られるようになったと考察しています。なお、フロー式による効率的な光照射の効果により、原料であるニトロベンゼン類の変換速度はバッチ式よりも約6倍速くなっていました。

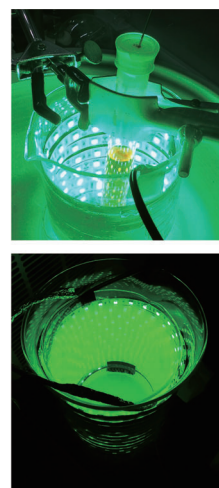
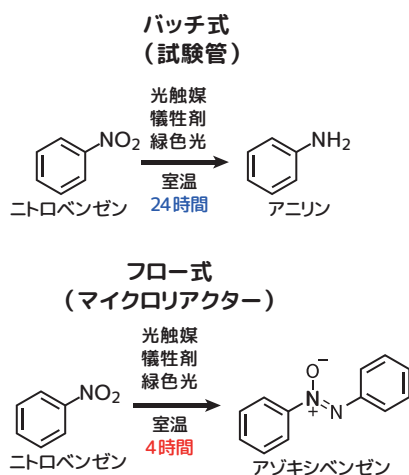


図2 フロー式におけるニトロベンゼン類の光還元反応

	①伝熱	②攪拌	③二相反応	④光反応	⑤スケールアップ
バッチ式	加熱・冷却に必要なエネルギーが大きい 液全体を均一な温度にするのに時間がかかる	反応体積に応じて最適な攪拌方法の選択が必要 (攪拌羽形状, 枚数, 回転速度)	液体と気体が触れる面積: 小 ⇒ 激しい攪拌が必要	光の到達距離 3cm	各スケールにおいて反応条件を最適化する日露がある
マイクロリアクター式	加熱・冷却に必要なエネルギーが小さい 素早い加熱・冷却が可能	流路壁を液体の摩擦 ⇒ 攪拌流 反応体積に関係なく 効率的な攪拌が可能	液体と気体が触れる面積: 大 トータルでバッチ式の 200倍	1mm	ナンバリングアップ 条件最適化された流路を複数並列化する ⇒ スケールの柔軟性 ⇒ 開発スピード UP

図1 バッチ式とフロー式反応の比較

スラグ流を用いた中間体の選択的合成

化学反応では、水と油（二層）や気体と液体（二相）等、混ざらない媒体を用いる場合があります。こうした系では各媒体が触れ合う界面で反応が起こるため、界面積が小さいバッチ式では反応効率を上げるための工夫が必要となります。一方、フロー式では、各媒体を交互に流す「スラグ流」の形成により大きな界面積をキープできることから、高い反応効率が期待できます（図1③）。そこで、単一流で行っていた先述の光還元反応を、「水に溶ける光触媒を含む水層」と「原料であるニトロベンゼン類を含む有機溶媒層」に分離し、スラグ流下で反応させることで効率の向上を目指しました。なお、水層と有機溶媒層に分けることで、反応後の「触媒と生成物の簡便な分離」も期待できます。

実際に反応させたところ、わずか1時間で原料はほぼ全て変換されましたが、得られたのは単一流で得られたアゾキシベンゼン類ではなく、ヒドロキシルアミン類でした（図3）。種々の検討の結果、スラグ流下では原料と光触媒の接触頻度が下がることでヒドロキシルアミン類の酸化が起こりにくくなり、結果的にヒドロキシルアミン類が選択的に得られたと考えています。

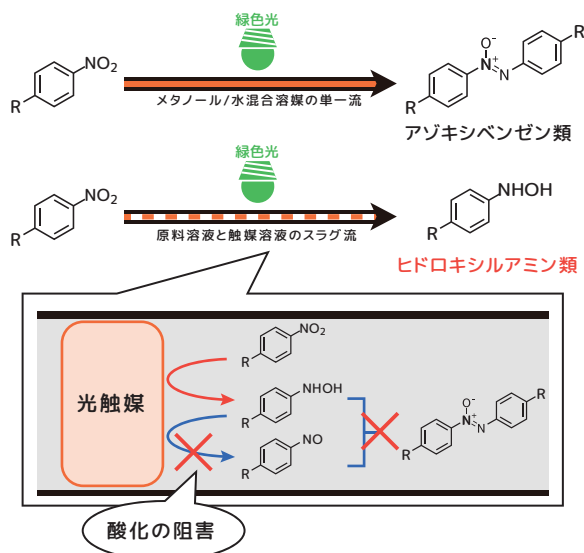


図3 ヒドロキシルアミン類の選択的合成

不安定化合物のインライン分析

前項のヒドロキシルアミン類は空気中で不安定であり、時間とともに分解や変質が起きるために正確な分析値を得るには工夫が必要となります。そこで、近赤外光センサーを用いたヒドロキシルアミン類の反応流路中でのリアル

タイム分析（インライン分析）を検討しました（図4）。具体的には、前項の反応流路にセパレータを接続して有機溶液を回収し、その溶液を近赤外光センサーに導入して近赤外光を測定し、 ^1H NMR から算出した反応収率と紐付けることで検量線を作成しました。その結果、不安定化合物であるヒドロキシアミン類でも、リアルタイムに反応情報の取得が可能となりました。

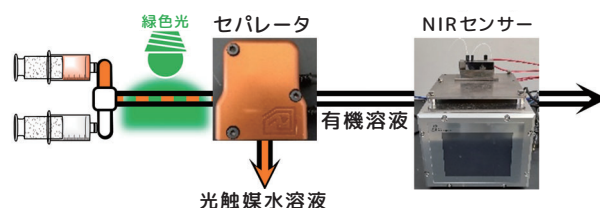


図4 近赤外光センサーを用いたインライン分析

おわりに

本稿では、フロー式光還元反応において、反応条件を選択することで従来とは異なる化合物選択性が発現する事例を紹介しました。また、不安定な化合物であっても、フロー式反応では各種分析機器を利用することでインライン分析が可能となることもお示しました。

今回はニトロベンゼン類の光還元反応に特化した内容となっておりますが、その他の反応においてもフロー式を利用することで、従来とは異なる現象を見出せる可能性を秘めています。今後プロセスの効率化や新たな反応開発を始める際、フロー式は効果的な反応手法となり得ます。ご興味をお持ちいただきましたら、いつでもお気軽にご相談ください。

[参考文献]

- 1) F. Politano, G. Oksdath-Mansilla, *Org. Process Res. Dev.*, **2018**, 22, 1045-1062.
- 2) K. Mizuno, Y. Nishiyama, T. Ogaki, K. Terao, H. Ikeda, K. Kakiuchi, *J. Photochem. Photobiol. C*, **2016**, 29, 107-147.
- 3) Y. Nishiyama, A. Fujii, H. Mori, *React. Chem. Eng.*, **2019**, 4, 2055-2059.
- 4) Y. Nishiyama, A. Fujii, H. Mori, *J. Flow Chem.*, **2022**, 12, 71-77.

微生物の育種技術の高度化

食品開発部 吉村 侑子

はじめに

微生物は、発酵食品をはじめとして化成品製造や水処理等、様々な場面で活用されています。いずれの用途でも、その目的に特化した微生物が選抜・育種され用いられており、微生物利用産業においては、それらの目的に応じた微生物の能力が重要です。

清酒の発酵では、微生物の一種である酵母が糖をエタノールに変換しますが、エタノール以外にも味や香りに関わる有機酸や香気成分を生成します。これら微量成分の生産能は酵母の菌株によって異なるため、酵母菌株の選抜は、製品設計の上で重要です。当センターでは、商品を差別化できる和歌山県オリジナル酵母の開発に対する要望をいただいています。そのような要望をもとに、平成16年から18年にかけて、和歌山県の特産品や名所から酵母のスクリーニングを行ったところ、世界遺産：熊野古道の土壌より単離した酵母に高いアルコール発酵能があることを見出し、この酵母を「古道酵母」と名付けて、平成19年から県内メーカーに分譲してきました。

古道酵母を用いて製造された清酒は、酸味のあるしっかりとした味わいが特徴とされています。一方で、近年は吟醸香と呼ばれるフルーティーな香りの清酒が人気ですが、古道酵母は、吟醸香を生産する能力が高くありません。また、古道酵母特有の匂いを指摘されることもありました。そこで、近年進歩の著しい遺伝子解析技術や育種技術を取り入れながら、古道酵母の生産する香気成分に関する研究に取り組みしました。

吟醸香(カブロン酸エチル)高生産株

カブロン酸エチルはリンゴのような香りを持つ成分で、多くの吟醸酒で感じられる、吟醸香の主要成分です。

カブロン酸エチルは、脂肪酸の一種であるカブロン酸から酵母によって生産されます¹⁾。カブロン酸の生合成が、カブロン酸エチル生産のボトルネックであり、脂肪酸合成酵素遺伝子 *FAS2* に変異が入ると、カブロン酸を多量に蓄積し、カブロン酸エチルを高生産することが報告されています²⁾。さらに、*FAS2* に変異を持つ酵母は、脂肪酸合成阻害剤であるセルレニンに対して耐性を示すことも報告されています³⁾。このような知見をもとに、カブロン酸エチル高生産株の開発に取り組みました。

図1にカブロン酸エチル高生産株の開発の概要を示しました。古道酵母に突然変異処理を行い、1次スクリーニングとしてセルレニンに耐性を示す約200株の変異株を選抜しました。次に、2次スクリーニングとして *FAS2* 遺伝子に変異が入っていることを確認しました。その後、3次スクリーニングでは、実験的によく用いられる酵母用の合成培地で培養した際のカブロン酸エチル生産量で絞り込み、4次スクリーニング以降から、清酒製造工程を模した小仕込み試験を行い、カブロン酸エチル量だけでなく、発酵経過も加味して候補株を絞り込んでいき、最終的に2株に絞りました。

選抜された2株を「KODO.ec159」及び「KODO.ec162」と命名しました。両株を用いた1kg小仕込み試験の生成酒の含有成分の内、味や香りに重要な成分の分析値を表1に示しました。KODO.ec159とKODO.ec162を比較すると、KODO.ec162の方がカブロン酸エチルをより高生産し、元の古道酵母と比較するとカブロン酸エチル濃度が約10倍高くなりました。一方、KODO.ec159は、KODO.ec162よりも発酵経過が良く、エタノール濃度も高くなりました。また、古道酵母は、市販されている清酒用酵母と比較して酢酸をよく生産するという特徴がありますが、酢酸は清酒では一般的には好まれません。KODO.ec159もKODO.ec162

表1 カブロン酸エチル高生産株を用いた1kg小仕込み試験生成酒の各成分値

香気成分	カブロン酸エチル高生産株を用いた1kg小仕込み試験生成酒の各成分値			
	カブロン酸エチル(mg/L)	酢酸イソamil(mg/L)	イソamilアルコール(mg/L)	酢酸エチル(mg/L)
古道酵母	1.0	3.1	272	54
KODO.ec159	7.7	2.5	275	43
KODO.ec162	10	2.4	264	40

エタノール	有機酸			
	エタノール(%)	クエン酸(mg/L)	リンゴ酸(mg/L)	コハク酸(mg/L)
古道酵母	18.7	123	205	333
KODO.ec159	17.1	117	392	253
KODO.ec162	16.8	99	294	253

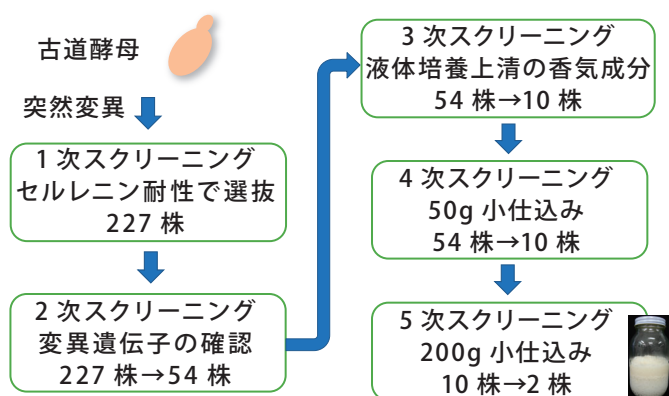


図1 カブロン酸エチル高生産株の開発フロー

微生物の育種技術の高度化

も、元の古道酵母と比較して酢酸濃度が低下しており、これも両株の特徴であることが分かりました。

KODO.ec159とKODO.ec162は、当センターから分譲を開始しております²⁾。その実用化第一号として、KODO.ec162を用いた清酒が尾崎酒造株式会社から販売されました(図2)。なお、この研究から実用化までの一連の取組に対して、全国食品関係試験研究場所長会より令和4年度優良研究・指導業績表彰をいただきました。



図2 開発酵母を用いて製造された日本酒

4- ビニルグアイアコール低生産株

4- ビニルグアイアコール (4-VG) は、燻製のような香りを持つ成分で、原料の植物細胞壁に存在するフェルラ酸から酵母等の微生物の働きによって生じます。4-VG は、消費者によっては好ましくない香りと認識されますが、市販されている清酒用酵母では4-VG生産に必要な遺伝子に変異を有するため、4-VGを生産しません。一方、自然界から単離した野生酵母である古道酵母は4-VGを生産します。そこで、野生酵母系統の4-VG生産能を低下させる方法として、4-VG生産能のない酵母との交雑育種を試みました。

4-VG生産株として、前項で紹介したカプロン酸エチル高生産株であるKODO.ec159を用いました。一方の4-VG非生産株としては、和歌山県オリジナル酵母の一つであり、こちらもカプロン酸エチル高生産株の「和歌山酵母」を用いました。つまり、交雑株に期待する性質としては、カプロン酸エチル生産は高いまま維持され、4-VG生産が半減するというものです(図3)。

植物等では交雑による育種が一般的に行われますが、産業用酵母は孢子形成能が著しく低いため、通常は交雑が困難です。そこで、交雑株の作出にあたっては、酵母の交雑について独自の技術を有する国立研究開発法人産業技術総合研究所と共同研究を行いました。原料であるフェルラ酸を添加した合成培地で4-VG生産能を試験すると、作出された交雑株は、狙いどおりに両親株の中間

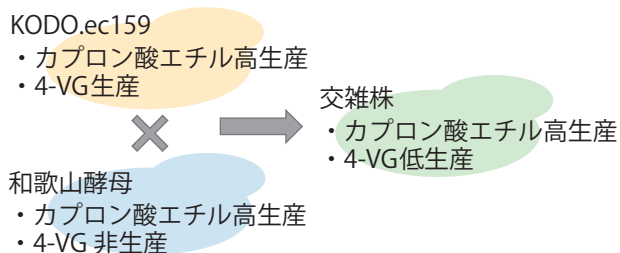


図3 交雑による4-VG低生産株の開発

程度の4-VG生産量となりました(図4(a))。しかし、清酒製造工程を模した小仕込み試験では、交雑株を用いた生成酒の4-VG量は、4-VG生産株であるKODO.ec159と同程度となりました(図4(b))。フェルラ酸添加合成培地の試験と小仕込み試験を比較すると、小仕込み試験では、原料の米に含まれるフェルラ酸の濃度が約10分の1と低く、発酵期間も長期間であるため、4-VG生産速度が半減した交雑株でも系中のフェルラ酸のほとんどを4-VGに変換してしまい、発酵終了後の生成酒では4-VG量に差がみられなかったと考えられます。4-VGの閾値は非常に低いため、清酒中の4-VGの香りを低減させるためには、4-VG生産能をさらに低下させた酵母を開発する必要があることが分かりました。

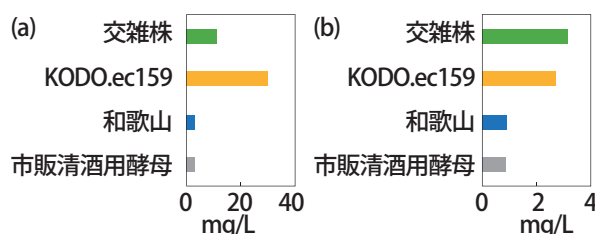


図4 4-VG低生産性交雑株の4-VG量
(a) フェルラ酸添加培地で6日間培養した上清
(b) 小仕込み試験生成酒

4-VG低生産化を狙った交雑株の開発は、実用的な観点からは難しい結果となってしまいましたが、今後も4-VGの低生産化を目指して研究を進めていきたいと考えています。また、本研究成果については、「第21回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会」においてポスター賞を受賞することができました。

おわりに

本研究では、和歌山県オリジナル酵母の一つである古道酵母が生産する香気成分に注目し、新規古道酵母の開発に取り組みました。本研究を通して、これまで当センターで取り組めていなかった遺伝子解析技術や育種技術を蓄積することができました。今後も、微生物の改良・育種研究は継続していく予定であり、本研究で得られた知見を活かして取り組んでいきたいと考えています。

また、当センター微生物資源分譲の手引き²⁾には、今回紹介した酵母だけでなく、他の和歌山県オリジナル酵母も掲載していますので、ご興味をお持ちいただけましたら是非お気軽にお問合せ下さい。

[参考文献]

- 市川英治 日本醸造協会誌, 1993, 88, 101-105.
- https://www.wakayama-kg.jp/org/docs/bunjotebiki_230401.pdf

