

魚類残滓からの芳香族化合物の生産： 魚油のオレフィンメタセシスを経由するハロベンゼンの合成

大島賢治^{1,*}

Production of aromatic compounds from fish residues: A pathway for synthesis of halobenzene via olefin metathesis of fish oils

Kenji Oshima^{1,*}

Six-membered ring compound 1,4-cyclohexadiene (1,4-CHD) was synthesized from fish oil containing EPA and DHA. The 1,4-CHD was then converted to bromobenzene by bromination followed by dehydrobromination. The use of a phase transfer catalyst was effective in the dehydrobromination, and no heating was required in all processes. Fish oil is a potential natural resource, and this study is aimed for a way to biomass shifts in the organic chemical industry

キーワード：オレフィンメタセシス、有機化学工業、バイオマス、EPA、DHA

Keywords : olefin metathesis, organic chemical industry, biomass, EPA, DHA

1. 背景・目的

魚類残滓いわゆる魚アラは、水産物の水揚げに始まり、加工、小売り、消費に至る各段階で発生し、それらの一部は飼・肥料として資源化されている。魚類残滓から得られる魚油は、かつては燃料の補助として使われ、1970年頃には硬化油の原料として最盛期には40万トンの魚油が生産されていた⁽¹⁾。近年は、魚油に含まれるドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)の生理機能が注目され、魚油を有効利用する動きが活発である。また、魚油に特徴的な脂肪酸は、植物プランクトンの生産物が食物連鎖により魚体に蓄積したものであり、バイオ燃料の供給に油脂生産藻類のスクリーニングと大規模培養が期待されている^{(2),(3)}。

著者が魚油や微生物油脂に注目するのは、これらに含まれる不飽和脂肪酸が規則的で反応性の高い部分構造をもち、有機化学原料として魅力的である点である。本稿では、魚油を原料とする芳香族化合物の供給の可能性について報告したい。

現在の有機化学工業において、ベンゼン、トルエン、キシレンはナフサを熱分解または接触改質して得ている。これらは合わせて日本で年間1千万トン超が製造され⁽⁴⁾、合成樹脂・繊維として身近なものではペットボトルをはじめとする容器、衣類から自動車部品までの様々な材料となり、また、低分子医薬品、洗剤、接着剤など用途は数えきれない。そして、ベンゼンのハロゲン化によるハロベンゼン(プロモベンゼンとクロロベンゼン)は合わせて日本で年間約1万トンが利用されている⁽⁴⁾。

これらをバイオマス原料から生産しようとするとき、生体由来油脂の成分で興味深い分子構造は、不飽和結合が並ぶ特徴的な部分である。植物油にもリノール酸、リノレン酸といった不飽和脂肪酸があり、かつてリノール酸メチルやサフラワー油、アマニ油を原料として、オレフィンメタセシス反応が行われた⁽⁵⁾。その結果、図1に

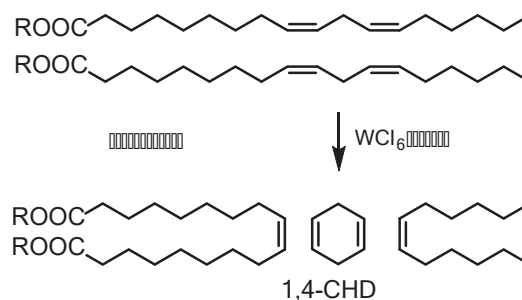


図1 リノール酸エステルオレフィンメタセシス反応

¹ 生産システム工学系
〒866-8501 熊本県八代市平山新町 2627
Faculty of Production System Engineering
2627 Hirayama-Shinmachi, Yatsushiro-shi, Kumamoto, Japan 866-8501

* Corresponding author:
E-mail address: oshimak@kumamoto-nct.ac.jp (K. Oshima)

示す環状の化合物 (1,4-シクロヘキサジエン ; 1,4-CHD) が得られることが報告されている。この報告があったのは、高性能なオレフィンメタセシス触媒 (Grubbs 触媒) が登場する 1995 年よりかなり以前であった。従来の 1,4-CHD を得る典型的な手法であるベンゼンの Burch 還元は金属ナトリウムと液体アンモニアを使う特殊な反応条件下で行われたため、これまで 1,4-CHD は工業的な化学原料としては見られていない。1,4-CHD がバイオマスから容易に得られれば、芳香族化合物の製造に寄与することが期待される。

本稿では、まず魚油を用いるオレフィンメタセシスに Grubbs 触媒を適用した結果について述べる。そして、得られた 1,4-CHD から芳香族化合物であるハロベンゼンの合成について、例としてブロモベンゼンの合成結果を報告する。

2. 材料および実験方法

2. 1 材料

使用した魚類残滓は、2017 年 10 月に処理されたサバのアラを凍結保存したものであり、鮮魚小売店より提供された。頭部と尾部が中骨でつながった状態で、いわゆる三枚おろしの処理後 1 週間以内のものであり、中骨には薄く可食部が残っていた。1 尾あたりの平均重量は 164 g である。これらを 2 尾ごとにポリエチレン袋に密封し凍結保存した。魚油の抽出には、凍結約 90 日後に頭から尾の全ての部位を 2 尾ごとに解凍して食品調理用のミキサーで均一に粉砕して供した。

2. 2 試薬

分析標品および反応に用いた試薬は以下の市販品を用いた：リノール酸メチル、パルミチン酸、1,4-シクロヘキサジエン、ピフェニル (以上東京化成工業)、パルミチン酸メチル、28%-ナトリウムメトキシド/メタノール溶液、三フッ化ホウ素メタノール錯体/メタノール溶液、トリフェニルエチレン (以上和光純薬工業)、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、塩化トリオクチルメチルアンモニウム (以上ナカライテスク)、*n*-デカン (以上キシダ化学)、Grubbs 触媒 C287 ジクロロ[1,3-ビス(2,4,6-トリメチルフェニル)-2-イミダゾリジニリデン](3-メチル-2-ブテニリデン)(トリシクロヘキシルホスフィン)ルテニウム(II) (SIGMA-Aldrich)。シリカゲル 60N 球状 63-210 μ m カラムクロマトグラフ用 (関東化学)

2. 3 魚油の抽出および脂肪酸エステルの定量

文献 (6) を参考に、以下のとおり実施した。粉砕した魚類残滓 8.0 g にメタノール 50 mL を加えて 2 分間攪拌した。さらにクロロホルム 50 mL を加えて 2 分間攪拌した後吸引ろ過した。抽出残渣にはさらにクロロホルム 40 mL を加え 2 分間攪拌した後吸引ろ過し、さきの抽出液

と合わせた。この操作を 2 回行った。合わせた抽出液に 0.5%-硫酸亜鉛水溶液 35mL を加え分液した。抽出液の体積は 119 mL であり、このうち 1.0 mL を採取しアルゴンガスを吹き付けながら加温して乾固した。これに 100 ppm トリフェニルエチレン/ヘキサン溶液を 1.0 mL 加え、2 mol/L-NaOCH₃/メタノール溶液を 0.2 mL 加えた。60°C にて 1 分間振盪した後、0.5 mol/L メタノール性塩酸 0.8 mL を加え、振盪・静置した。上層を採取し、ヘキサンで 2 倍に希釈したものをあらかじめ作成した検量線に基づき GCMS で分析した。

検量線は、パルミチン酸、DHA、EPA それぞれを BF₃-メタノール溶液でメチル化処理したのに対し、内標をトリフェニルエチレンとして作成した。⁽⁷⁾

GCMS はアジレントテクノロジー社製 7890A/5975C、カラムはアジレントテクノロジー社製 HP-5MS (L:30 m ID:0.250 mm) を用い、定量値はそれぞれ 3 回の測定の平均をとった。

さきの抽出液 119 mL のうち 118 mL は無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで濃縮した後、真空乾燥した。得られた油状物は 0.412 g であった。

2. 4 リノール酸メチル、EPA、DHA のオレフィンメタセシス反応

ジクロロメタン 300 μ l と Grubbs 触媒 12.9 mg の混合溶液から取った 100 μ l を DHA 18.8 mg に加え、触媒の量が油の約 1 wt% となるよう調製した。40°C にて 2 時間攪拌し、内標としてデカンを加え、生成した 1,4-CHD を GCMS で定量した。EPA 26.0 mg およびリノール酸メチル 44.3 mg に対しても同様に処理した。

2. 5 魚油のオレフィンメタセシス反応

粉砕した魚類残滓 3.0 g にメタノールとジクロロメタンをそれぞれ 50mL 加え、2 分間攪拌したのち吸引ろ過した。抽出残渣にはジクロロメタン 40mL を加え 2 分間攪拌したのち吸引ろ過し、同様の操作をもう一度行った。得られた 3 回分の抽出液を 0.5%-硫酸亜鉛水溶液 35 mL で分液した。採取したクロロホルム層にクロマトグラフ用シリカゲルを 60 g 加えてよく混ぜた後一晩静置し、ろ過した。このろ液の半量をロータリーエバポレーターで濃縮し、無色で半固形の油状物 0.305 g を得た。この固形物の 20.3 mg に、ジクロロメタン 300 μ l と Grubbs 触媒 12.9 mg の混合溶液から取った 100 μ l を加え、アルゴンガスを吹きかけたのち密栓し、40°C にて 2 時間攪拌した。その後、内標としてデカン 1.52 mg を加え、生成した 1,4-CHD は、あらかじめ作成した検量線に基づき GCMS で定量した。

2. 6 1,4-CHD の臭素化

市販の 1,4-CHD 126 mg (1.57 mmol) のヘキサン溶液 1 mL を氷水浴中で攪拌しながら、臭素 562 mg (3.51

mmol) のヘキサン溶液 1 mL を滴下した。1 時間後室温に戻し、さらに 1 時間攪拌した。その後、反応液を 2 w% チオ硫酸ナトリウム水溶液 20 mL で還元し、酢酸エチルで抽出した。水で 1 回、飽和食塩水で 2 回洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。その後凝縮し薄黄色の結晶として 1,2,4,5-テトラプロモシクロヘキサン 0.44 g (1.10 mmol) を得た。単離収率 70%。GC-MS(EI) m/z = 399.7 (M⁺)

2. 7 プロモベンゼンの合成 (脱 HBr 反応)

代表的な操作を示す。合成した 1,2,4,5-テトラプロモシクロヘキサン 119 mg (0.498 mmol) にビフェニル 13 mg、塩化トリオクチルメチルアンモニウム (TOMAC) 20 mg、7.97 mol/L NaOH 水溶液 1 mL、シクロペンチルメチルエーテル (CPME) を 2 mL を加え二層系となった反応液を激しく攪拌した。ビフェニルを内標として GC-MS で経時的に分析したところ、反応開始から 240 時間後のプロモベンゼンの生成量はモル収率 65 %であった。GC-MS(EI) m/z = 155.9, 157.9 (M⁺)。

3. 結果および考察

3. 1 魚油の抽出および脂肪酸エステルの定量

魚類残滓から抽出した油脂からはミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、EPA、DHA の 7 種類の脂肪酸エステルが検出された。これらのうち、ミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸に関しては、パルミチン酸の検量線を適用して定量した。結果を表 1 に示す。文献 (7) および文献 (8) には、養殖ハマチの中骨や、季節ごとのサバの筋肉中の EPA、DHA 量が報告されており、魚種、部位、捕獲の季節、試料の保管状態、保管期間によって変動が大きく、注意が必要である。今回の測定ではそれぞれ EPA/DHA が文献と同様であり、中骨中の含有量よりは 10 倍程多く、筋肉中の含有量よりはるかに少ない。今回は可食部をほとんど取り除いた魚アラであることを考慮すると適切な値と考えられる。

3. 2 リノール酸メチル、EPA、DHA および魚油のオレフィンメタセシス反応

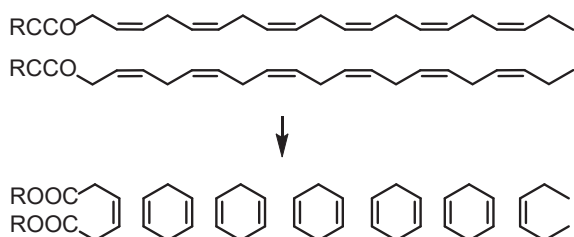


図 2 DHA で期待されるオレフィンメタセシス反応

表 1 魚類残滓 (サバ) 8 グラムより抽出した油脂中の脂肪酸エステル

脂肪酸エステル	重量/mg	割合/%
ミリスチン酸	3.3	22
パルミチン酸	3.3	22
パルミトレイン酸	0.77	5
ステアリン酸	1.3	9
オレイン酸	2.1	14
EPA	1.2	8
DHA	2.9	19
合計	14.9	100

表 2 脂肪酸エステルおよび魚油のオレフィンメタセシス反応: 1,4-CHD の収率

反応原料	重量収率/%	モル収率/%
リノール酸メチル	17	124
EPA	67	126
DHA	62	102
魚油	2.7	36

それぞれの油脂に Grubbs 触媒を加えオレフィンメタセシス反応を行った結果を表 2 に示す。期待した 1,4-CHD が生成した。市販のリノール酸メチル、EPA、DHA からは、定量的なモル収率で 1,4-CHD が得られた。触媒が、この系によく適合したことがわかる。そして、EPA、DHA からは重量で 60%にも上る量の 1,4-CHD が得られることが確認できた。これは、図 2 に示すように、EPA、DHA にある多数の規則的な不飽和構造が 1,4-CHD の合成に好都合であることを表している。

さらに、この反応を魚油に適用したところ、1,4-CHD が生成したことが確認できた。含有する不飽和脂肪酸から換算したモル収率は 36%であり、手順の改良によっては、さらに高効率に 1,4-CHD を生産できる可能性がある。ここでは、抽出した魚油を反応に供する前にクロマト用シリカゲルで処理し、極性成分を除去したことに効果があり、シリカゲル処理をしない魚油からは 1,4-CHD は生じなかった。シリカゲルに吸着される物質は確認していないが、一般的に魚油の悪臭成分として知られる物質の中で⁶⁾、アミンおよびチオールが除去され、ルテニウム錯体である触媒の被毒が抑えられたことがよい結果を与えたと考えられる。魚油から 1,4-CHD を得るときの重量収率は高くないが、魚油を扱う間の EPA、DHA の酸化損失を防ぐことと、反応前処理の精査および反応後の蒸留精製は検討が必要である。

3. 3 1,4-CHD の臭素化およびプロモベンゼンの合成

魚油から 1,4-CHD を供給する反応が確認できたので、市販の 1,4-CHD を用いたプロモベンゼンの合成について述べる。図 3 に示す反応経路で 1,4-CHD の芳香

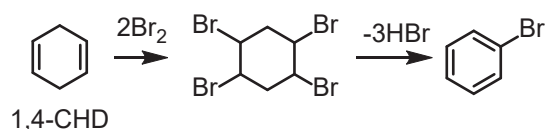


図3 ブロモベンゼンの合成経路

族化に伴うベンゼン誘導体の合成を行った。

ハロゲン化の付加反応は典型的なアルケンの反応であり、この系でも容易に進行して、1,2,4,5-テトラブロモシクロヘキサンは70%の収率で単離できた。ハロゲン化の工程はコストの面からは工業的には塩素化は好まれる。

1,2,4,5-ハロシクロヘキサンの脱ハロゲン化水素化反応により、ハロベンゼンを得る新規の反応である。脱ハロゲン化水素反応に用いる条件としては、実験項2.7に示した条件が現在のところ最適であり、混じり合わない有機溶媒と水の二相溶媒系に相関移動触媒としてTOMACが存在することが特徴である。このときハロベンゼンのモル収率は65%に達する。これに対し、メタノール単独の溶媒では反応が非常に遅く、190時間反応したときのハロベンゼンのモル収率はわずか6%であった。

4. まとめ

水産加工及び消費の過程で排出される魚類残滓の新しい利用法として、有機化学原料の生産に向けた検討を行った。

その結果、魚類残滓から得られる魚油にEPAおよびDHAが含まれていることが確認でき、オレフィンメタセシス反応により六員環骨格の1,4-CHDが得られることが確認できた。つまり、1,4-CHDが廃棄物から生産できる。そして、この化合物の利用例としてハロベンゼンの製造に繋がる合成経路を確認できた。一連の工程は加熱を要さず、反応規模を大きくすることも障害が少ないと考えている。引き続き魚類残滓や油脂蓄積藻類から1,4-CHDを大規模に獲得するプロセスの確立を目指すとともに、1,4-CHDを用いる有機化学プロセスの開発を広く進めたい。

謝辞

魚類残滓を提供いただいた瀬崎鮮魚店様に感謝いたします。卒業研究および創造実験において本研究課題を選び、意欲的に実験に取り組まれた学生諸氏：松下有郁氏、内田万裕氏、大津茅智氏、神野風沙氏、竹谷咲紀氏に感謝いたします。

(令和3年10月11日)

(令和3年12月24日)

- (1) 高橋是太郎：「魚油の利用」, 油化学, 40, 931-941 (1991).
- (2) D. Ryan Georgianna and Stephen P. Mayfield: "Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels", *Nature* 488, 329-335 (2012).
- (3) Seunghye Park, Thu Ha Nguyen, and EonSeon Jin: "Improving lipid production by strain development in microalgae: strategies, challenges and perspectives", *Bioresour. Technol.* 292, 121953 (2019).
- (4) 「15911の化学商品」, p.699, 749, 792, 937, 986, 化学工業日報社 (2011).
- (5) Takeshi Nishiguchi, Shin-ichi Goto, Katsuhisa Sugisaki, and Kazuo Fukuzumi: "Formation of 1,4-cyclohexadiene in olefin metathesis of fatty Oils", *Oil Chemistry*, 29, 15-19 (1980).
- (6) 平岡芳信, 園田浩二: 「水産物のエイコサペンタエン酸とドコサヘキサエン酸」, 食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル, 産業連四国食品産業分科課会食品機能成分分析研究会編 (2011).
- (7) 前田有美恵, 石川雅章, 山本政利, 寺田志保子, 増井俊夫, 渡辺佳一郎: 「健康食品中のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸の含有量」, 食衛誌, 26(5), 500-506 (1985).
- (8) 長田博光, 中井由香子: 「魚類のエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸の高速液体クロマトグラフィーによる定量」, 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 21, 39-36 (1996).
- (9) 太田静行: 「魚の生臭さとその抑臭」, 油化学, 29, 469-488 (1980).