

草本系パルプの生化学反応および触媒反応によるバイオ燃料化

保田 昌秀^{a)}・中村 泰久^{b)}・三浦 昭晃^{b)}・松本 朋子^{c)}・松本 仁^{d)}・白上 努^{e)}

Transformation from Herbaceous Pulp to Bio-fuels through Biological and Catalytic Reactions

Masahide YASUDA, Yasuhisa NAKAMURA, Akiteru MIURA, Tomoko MATSUMOTO, Jin MATSUMOTO, Tsutomu SHIRAGAMI

Abstract

Bio-fuel has been receiving a great amount of interest from the standpoint of utilizing renewable resources. We have paid much attention on the preparation of the bio-fuels such as 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) and ethanol which can be derived from the dedhydration and the fermentation of hexose (**1a**), respectively. As a source of **1a**, we focused on five kinds of pulps which are made from lignocelluloses such as sabai, wheat straw, kenaf, sweet sorghum bagasse, and bamboo. These pulps were turned into the reducing saccharides (**1**) by the hydrolysis of the pulp (1 g) with a hydrolytic enzyme (100 mg, acremozyme, cellulase from *acremonium*) in an acetate buffer solution (60 mL, pH 5.0) at 45 °C for 24 h under vigorous shaking. The **1a** was produced in 60-78% of yields whereas pentose (**1b**) contents was low (11-20%). Ethanol was produced by the usual fermentation of buffer solution of **1** with *Saccharomyces cerevisia* at 30 °C. Total yields of ethanol from the pulps were determined to be 38-59% whereas **1b** was recovered without reaction. In the case of the preparation of HMF, the water was removed from the saccharide solution under reduced pressure and then the **1** (500 mg) was subjected to dehydration in MeCN (40 ml) at 140 °C for 24 h in an autoclave using a composite of MgCl₂ (31 wt%) with silica gel (1 g) which served as an acid catalyst under dry conditions. HMF was produced from pulp in a 43-55% of total yield.

Key words: Bio-fuels, 5-Hydroxymethyl-2-furfural, Bio-ethanol, Lignocellulose, Acremozyme, MgCl₂-silica gel composite

1. はじめに

1.1 バイオマス燃料

人口増加や生活水準の向上により化石燃料の消費量が増大し、発生する二酸化炭素量による地球温暖化が深刻な問題となっている。そのために化石燃料に依存しない新たなエネルギー源が必要とされており、その1つにバイオマス燃料がある¹⁾。バイオマス燃料はライフサイクルにおいて二酸化炭素の増加が少ない“カーボンニュートラル燃料”であり²⁾、地球温暖化防止に貢献すると考えられている。

バイオマスから得られる糖類は、C5 および C6 の炭素源として活用することができ、なかでもグルコースなどのヘキソース (**1a**) は、セルロースやデンプンから豊富に入手できる単糖である。これらから種々のバイオマス燃料に変換する研究が重要となっている。

Table 1. Comparison of bio-fuel in combustion energy.

Fuels	Formula (MW)	$\Delta H^a)$ (kJ mol ⁻¹)	$\Delta H^b)$ (kJ g ⁻¹)
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆ (180.2)	2803	16
Ethanol	C ₂ H ₆ O (46.1)	1367	30
Hydrogen	H ₂ (2.0)	285	143
HMF ^{e)}	C ₆ H ₆ O ₃ (126.1)	2781 ^{d)}	22
Heptane ^{e)}	C ₇ H ₁₆ (100.2)	4400	44

a) Combustion energy in kJ mol⁻¹. Cited from reference 3.b) Combustion energy in kJ g⁻¹c) 5-Hydroxymethyl-2-furfural (HMF); density = 1.29 g cm⁻³, melting point = 30–34 °C, boiling point = 114–116 °C

d) Cited from reference 4.

e) Heptane is representative compound of gasoline. Density = 0.89 g cm⁻³, boiling point = 98-99 °C

表 1 にグルコースから誘導できる代表的なバイオマス燃料の燃焼熱を示す。グルコースの燃焼熱は 2803 kJ mol⁻¹ であり、(1)式の酵母発酵によって 1 モルのグルコースから 2 モルのエタノールが生成できる。反応が完全に完結すると、生成するエタノール (燃焼熱 1367 kJ mol⁻¹) の全燃焼熱は 2734 kJ mol⁻¹ となり、原料の燃焼熱をほぼ保持している。グルコースのリフォーミングによる水素生成 (2 式)

a) 物質環境化学科教授

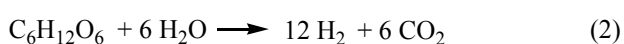
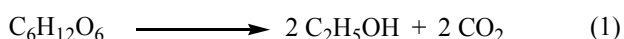
b) 物質環境化学専攻大学院生

c) 工学部教育研究支援技術センター 技術職員

d) 物質環境化学科助教

e) 物質環境化学科准教授

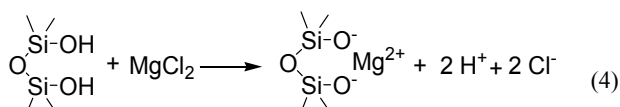
では、1モルのグルコースから12モルの水素（燃焼熱 285 kJ mol⁻¹）が生成することができる。その際の全燃焼熱は 3420 kJ mol⁻¹ になり、燃焼熱が増加している。このことから、この反応を進めるためには反応過程でエネルギーの注入が必要であることが分かる。グルコースの脱水反応（3式）で生成する 5-ヒドロキシメチル-2-フルフラール（HMF）⁵⁾ の燃焼熱は 2781 kJ mol⁻¹ になり、水の脱水は燃焼熱にほとんど影響しないことを示しており、燃料として適している。しかし、いずれのバイオマス燃料の燃焼熱も、ガソリンの代表物質であるヘプタン燃焼熱 4400 kJ mol⁻¹ と比較すると、低くなっている。



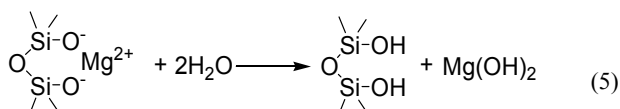
1.2 研究目的

HMF およびエタノールなどのバイオ燃料の原料であるグルコースを、食糧と競合しないリグノセルロースから生産することを考えたとき、リグニンおよびヘミセルロース由来のペントースとグルコースとの分離が必要である。パルプはリグノセルロースを原料として、脱リグニンによって製造されるが、製造工程で水溶性の高いヘミセルロースが除外され、セルロースの割合が高くなっている。そのためグルコース含量の高い原料の入手が容易であると思われる。そこで、草本系パルプからの HMF およびエタノール合成の可能性について検討を行った。

Under dry conditions



Under wet conditions

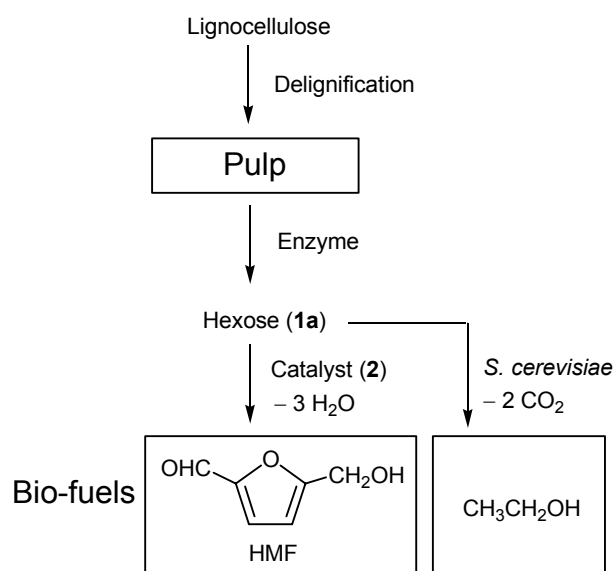


Scheme 1 MgCl₂-SiO₂ composite (2) .

ヘキソース（1a）からの HMF への脱水反応の触媒としてはシリカゲル担持塩化マグネシウム複合体（2, SiO₂ / MgCl₂）を用いた。この複合体は、乾燥状態で酸性になり（スキーム 1、4 式）、湿潤状態ではアルカリを加えることなく、弱酸性化することが知られている（5式）⁵⁾。我々は、この水分による pH 変化を利用して、従来の塩化コバ

ルトに替わる湿度指示剤として、SiO₂-MgCl₂-ポルフィリンの複合体の開発に成功している。これは、乾燥状態でプロトン化ポルフィリンを与え、湿潤状態でフリーベースポルフィリンになり、緑色からピンク〜オレンジに変色することで湿度指示剤として働くものである。乾燥状態での 2 の酸解離度 pKa は 1.7 と推定している⁶⁾。このように 2 の pH は水によって制御できることを示しており、もし、2 で発生するプロトンが HMF の脱水反応を触媒に利用できれば、グルコースから HMF への変換において、強い酸やアルカリを使わない環境調和プロセスを構築できると思われる。

そこで、パルプの酵素糖化によるグルコース生成、および生成した 1a の 2 による脱水反応によって HMF への変換を行ったので報告する。あわせて、1a の酵母発酵によるエタノール合成の結果も報告する（スキーム 2）。



Scheme 2 Reaction routes from pulp to bio-fuels.

2. 実験

2.1 使用機器

核磁気共鳴スペクトルは、Bruker AV 400M を用いて、重クロロホルム中でテトラメチルシランを内部標準として測定した。オートクレーブは、Büchi AG 社（スイス）製のガラスミニクレーブ（図 1A）を用いた。エタノールの定量は、島津ガスクロマトグラフ（model GC-2014）で、5% Thermon 1000 Sunpak-A (Shimadzu) をカラムに用いて、2-プロパノールを内部標準に用いて行った。

2.2 試薬類

草本系パルプとしては、サバイ (sabai)、麦わら (wheat straw)、ケナフ (kenaf)、サトウモロコシバガス (sweet sorghum bagasse)、タケ (bamboo) から作成したパルプ紙

を、旭化成ケミカルから提供して頂き、約 1 cm 四角に細分化して用いた。

アセトニトリルは、市販の和光純薬特級を用いた。酢酸緩衝液 (pH 5.0) は、酢酸水溶液 (0.1 mol L^{-1}) および酢酸ナトリウム (0.1 mol L^{-1}) を 1:1 で混合して調製した。

セルラーゼとしては、今までの研究で実績があり、活性の高いことが知られている *Acremonium cellulolyticum* 由来の市販セルラーゼ (Acremozyme, Kyowa Kasei) を用いた。Acremozyme の酵素活性をろ紙崩壊法で測定した。1 cm×1 cm のろ紙 2 枚を pH 5.0、45 °C で 150 min で完全崩壊させられる酵素量を 10,000 units とした。測定の結果、酵素量 (a) 10 mg で崩壊時間 (b) 114 min で 1 cm×1 cm のろ紙 2 枚を完全崩壊させる活性が認められ、Acremozyme の酵素活性は、(6)式から $1315.8 \text{ units mg}^{-1}$ と求められた。

$$\text{酵素活性 (units mg}^{-1}\text{)} = 150 \times 10,000 / (a \times b) \quad (6)$$

2.2 加水分解酵素によるパルプの糖化反応

パルプ紙の糖化反応は、大型試験管中で Acremozyme を用いて、酢酸緩衝液 (pH 5.0) 中 45 °C で、パルプ紙とともに激しく磁気攪拌しながら行った。還元糖の定量は Somogyi-Nelson 法⁷⁾で行った。ペントース (1b) 量はオルシン法⁸⁾で定量した。

2.3 塩化マグネシウム-シリカゲル複合体の調製

塩化マグネシウム六水和物塩 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 602 mg、和光純薬) をメタノール (40 mL) に溶解させ、シリカゲル (1 g、富士シリシア化学製、BW300、40 $\mu\text{m}\phi$) を加えて混合した。3 時間放置後、エバポレーターで溶媒を留去し、次に結晶乾燥機を用いて 50°C で 24 h、減圧乾燥して、 SiO_2 の重量に対して MgCl_2 の含有量が 32 wt% の $\text{MgCl}_2\text{-SiO}_2$ 複合体 (2) を得た。

2.4 パルプ糖化液の脱水反応による HMF の合成

パルプ糖化液の脱水反応による HMF の合成は次のように行った。酵素糖化溶液をエバポレーターにかけ、水を留去して乾燥還元糖を得た。モレキュラーシーブスで脱水したアセトニトリル (40 mL) に乾燥還元糖 (0.5 g) を分散し、2 (1.0 g) とともにオートクレーブ (図 1A) 内に入れ、密閉後 120~160 °C で加熱を行った。反応終了後、ろ過によって未反応分の 1 および 2 をろ別し、エバポレータにより溶媒を留去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム/メタノール) によって HMF の単離を行い、標品の ^1H -および ^{13}C -NMR との比較で同定を行った。HMF の NMR スペクトルデータを下記に示す。

5-Hydroxymethyl-2-furfural (HMF): ^1H NMR (400 MHz) δ 4.72 (s, 2H), 6.52 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 9.59 (s, 1H); ^{13}C NMR: δ 57.02, 110.06, 124.11, 151.96, 161.44, 173.05.

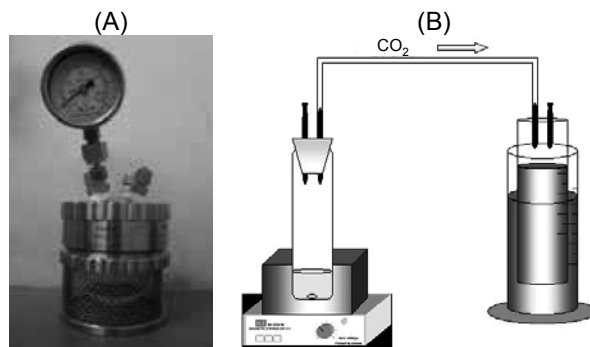


Figure 1. (A) Autoclave and (B) an apparatus for the fermentation.

2.5 酵母菌の前培養

酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の前培養は次のように行った。グルコース 2.0 g、硫酸マグネシウム七水和物 0.3 g、リン酸二水素カリウム 0.1 g、ポリペプトン 0.1 g、酵母エキス 0.1 g をビーカーに入れ、蒸留水を加え 100 mL とした。pH 5.5 とし試験管に上記試料を 5.0 mL とり、オートクレーブにかけた。オートクレーブ後、クリーンベンチで殺菌灯を当てながら冷やし、*S. cerevisiae* (NBRC 2044) を白金耳で接種した。その後 30 °C で 24 h、振とう培養して、酵母前培養液を得た。

酵母前培養液中 1 mL 当たりの生菌数を次のように求めた。クリーンベンチで酵母前培養液 100 μL をエッペンチューブに取り、血球計算版に約 20 μL 滴下した。カバーガラスをかぶせ、顕微鏡により 40 倍の倍率で隣り合った 4 つの区画内に存在する菌体の計測を 5 回繰り返して行った。1 区画の菌体数の平均を求めた結果、平均菌数 α は 38.7 と求められた。この値を下記の(7)式に代入し、1 mL 当たりの生菌数を $7.7 \times 10^7 \text{ cells mL}^{-1}$ と求めた。

$$\begin{aligned} \text{生菌数 (cells mL}^{-1}\text{)} &= \alpha \times 10 \times 2 \times 10^5 \\ &= 2 \times 10^6 \times \alpha \end{aligned} \quad (7)$$

2.6 パルプ糖化液の酵母菌によるエタノール発酵

パルプ糖化液 8 mL を大型試験管に採取し、スターラーチップを入れ、オートクレーブで 121°C で 20 min 間、滅菌を行った。発生する二酸化炭素を集めるために、大型試験管にチューブを取り付け、その先をメスシリンダーにつなぎ水上置換で捕集して定量を行った (図 1B)。酵母前培養液 0.16 mL を大型試験管に入れ、30°C で発酵を行い、二酸化炭素の発生が終了した時間を反応終了時間とした。反応終了後、エタノールを GLC で定量した。

3. 結果と考察

3.1 加水分解酵素によるパルプの糖化反応

パルプ (1 g) を大型試験管に詰め、そこへ酢酸緩衝液 (pH 5.0、50 mL) を加え、さらに Acremozyme (100 mg) を加えて、45 °C に保った。これを攪拌しながら、24 h、

Table 2. Transformation from pulp to HMF and ethanol through biological and dehydration reactions.

Pulp T/h ^{d)}	Yields of reducing sugar/% ^{a)}								Yield of HMF/% ^{b)}	Fermentation yield/% ^{c)}				
	0	1	3	6	9	12	24	1a ^{e)}		1b ^{f)}	1a	1b	CO ₂	Ethanol
Sabai	4	21	57	73	88	90	92	78	14	55 (70)	1	14	43 (55)	44 (57)
Wheat straw	0	14	48	67	73	80	80	60	20	45 (75)	0.1	20	37 (62)	38 (64)
Kenaf	0	11	35	46	63	78	86	67	14	43 (64)	5	14	52 (78)	59 (88)
Bagasse	0	12	39	45	59	72	86	74	12	53 (71)	1	12	51 (69)	52 (70)
Bamboo	0	12	34	37	53	66	76	64	11	49 (76)	6	11	51 (80)	59 (92)

a) Saccharification was performed by the reaction of the pulp (1 g) with aacremozyme (100 mg) in acetate buffer (50 mL) at 45 °C.

b) The preparation of HMF was performed by the reaction of **1** (500 mg) with **2** (1.0 g) in acetonitrile (40 mL) at 140 °C for 24 h. Yields are based on **1** used: Total yield= (yield of hexose)×(yield of HMF). The values in parenthesis are the HMF yield from **1a**: Yield = 100 (mol of HMF)/(mol of glucose)

c) Fermentation time was 60-96 h. Yields are based on **1** used: Total yield= (yield of hexose)×(yield of ethanol). The values in parenthesis are the ethanol yield from **1a**: Yield of ethanol = 100 (mol of ethanol)/(mol of **1a**)

d) Saccharification time in h.

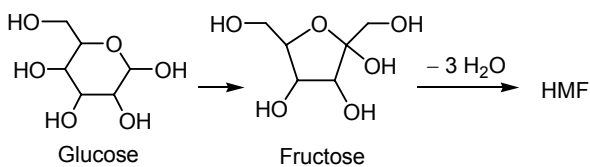
e) Yield of hexose after saccharification for 24 h. Yield of glucose = 100[0.9 (weight of **1a**)]/(weight of pulp).

f) Yields of pentose after saccharification for 24 h. Yield of pentose = 100[0.88 (weight of **1b**)]/(weight of pulp).

糖化反応を行った。反応時間 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24 h 毎にサンプリングを行い、Somogyi-Nelson 法で還元糖量を分析した。24 h 後のサンプルについては、オルシン法で **1b** 定量し、還元糖量から **1b** 量を差し引きすることで **1a** 量も定量した。反応結果を表 2 に示す。還元糖が 76~92%の収率で得られた。また、還元糖中の **1a** : **1b** 比は、ムギワラ以外では、1 : 0.16~0.20 であり、通常の草本系バイオマスでの 1 : 0.3~0.5 に比べると **1b** の含有量が低くなっている。また、同様の糖化反応を、針葉樹林から作られたコピー紙について行ったが、糖化収率は 44%と低い結果となった。

3.2 HMF 合成の反応条件の最適化

既に、純品のグルコース (和光純薬) および関連ヘキソースを用いて反応条件等の検討を行っている⁹⁾。その結果、**1a** から HMF への変換は、アルドースからケトースへの異性化および脱水反応で進行すると推定している(スキーム 3)。



Scheme 3

反応溶媒では、ジメチルスルホキシドや *N,N*-ジメチルホルムアミドの様な高極性溶媒は **1** を溶解するが、HMF との分離の段階で溶媒の留去が困難であり、反応溶媒に適していない。また **1** を溶解しないトルエンでは HMF をほとんど生成しないので適さなかった。そこで、少量ながら溶解できるアセトニトリルを選定した。反応温度を変化させて収率を検討した結果、140 °C が最適であることが分かっ

た。

触媒では、MgCl₂ を担持していない SiO₂ を用いた反応では、全く HMF が生成しなかった。また SiO₂ 担体を用いない MgCl₂ だけの反応でも HMF が全く生成しなかった。また、比較対象として CaCl₂-SiO₂, LaCl₃-SiO₂ 複合体を用いて同様の反応を行ったところ、低収率であった。反応条件の最適化の結果、MgCl₂-SiO₂ (32 wt%) を用いて 140 °C、24 h の反応で純品のグルコースから HMF が収率 70% で生成した。ここでは、SiO₂ は反応で生成する水を系内から取り除く働きもしていると思われる。

3.3 パルプ糖化液からの HMF 合成

パルプの酵素糖化で得た **1a** からの HMF 合成においては、まず、エバポレーターで、糖化溶液から反応溶媒の水を取り除き、グルコースを含む還元糖の固形物を得た。

2 は、使用する前に真空ポンプで 50 °C、3 h、減圧下で乾燥させた。脱水アセトニトリル (40 mL) に **1a** を含む固形物 (0.5 g) を分散し、**2** (1.0 g) を加えてオートクレーブ内で 140 °C で 24 h 加熱を行った。圧力が 0.4 MPa に達した。反応終了後、ろ過により未反応分の **1a** および **2** を濾別し、エバポレーターにより溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム/メタノール) で単離精製し、¹H-NMR で同定と純度の確認を行った。結果を表 2 に示す。

草本系パルプから得られた還元糖の脱水反応では、純品のグルコースの場合と同等の 61~78% の収率で HMF を生成した。原料の還元糖に含まれるペントースから 2-フルフラールへの変換が副反応として考えられるが、今までの検討⁹⁾でキシロースから 2-フルフラールへの変換収率が 17% と低いことおよびキシロースの含有率が低いことから、キシロースが含まれていても、HMF には、2-フルフラールがほとんど混入してないと思われる。以上のように、

パルプの酵素糖化と触媒的脱水反応によって全収率 45～55%でHMFを得ることに成功した。

3.4 パルプ糖化液からの酵母によるエタノール合成

パルプ糖化液 8 mL を大型試験管に採取し、スターラーチップを入れ、オートクレーブで 121 °C で 20 min 間、滅菌を行った。酵母前培養液 0.16 mL を大型試験管に入れ、30 °C で発酵を行った (1 式)。二酸化炭素の発生が終了した時間を反応終了時間とした。反応結果を表 2 に示す。1a 基準の発酵の収率は 57～92% となった。パルプからトータル収率 38～59% でエタノールを生成した。

4. 結論

HMF は、5 位にヒドロキシメチル基、2 位にカルボニル基を有するために、各種の誘導体を容易に変換しやすい。そのために、燃料以外に各種の医薬品、農薬、香料などの合成中間体として、さらには、各種のポリマー原料や樹脂の原料単量体としての用途もあり、カーボンニュートラル原料からの化成品の誘導化に展開することが可能となる。

初期のグルコースからの HMF の合成研究では、糖類を DMSO や酸触媒を使用し加熱脱水反応させることは既に知られている^{10,11)}。例えば水溶液中で強酸を触媒として用いる方法があるが、この方法だと水溶液中で樹脂化するとともに、レブリン酸、ギ酸などの副生成物を生じやすいので、高収率で得る事ができない。そのため最近ではそれらに替わって、分離およびリサイクルが容易な H 型ゼオライト¹²⁾、イオン交換樹脂^{13,14)}、金属酸化物¹⁵⁾、などの固体酸および酸性のイオン液体などの不均一反応系が多用されている。本研究のシステムは、環境に負荷をかけない軽金属触媒を用いていることが特徴となっている。

草本系パルプからのエタノール合成は、糖化液中のペントース含有量が低く、リグニンが除去されているので、パルプ原料当たりのエタノール収率が比較的高くなる特徴を持っている。

最後になりましたが、草本系パルプを提供して頂きました旭化成ケミカルズ(株) 添加剤事業部の柳沼義人氏に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) O. P. Ward and A. Singh: Bioethanol technology: Development and perspectives, *Adv. Appl. Microbiol.*, Vol. 51, pp. 53–80, 2002.
- 2) M. Balat and H. Balat: Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel, *Appl. Energy*, Vol. 86, pp. 2273–2282, 2009.
- 3) P. W. Atkins, *Physical Chemistry*, 5th ed., Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 922–926, 1994.
- 4) S. P. Verevkin, V. N. Emel'yanenko, E. N. Stepurko, R. V. Ralys, D. H. Zaitsau, and A. Stark: Biomass-derived

platform chemicals: Thermodynamic studies on the conversion of 5-hydroxymethylfurfural into bulk intermediates, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 48, p.10087, 2009.

- 5) X. Tong, Y. Ma, Y. Li: Biomass into chemicals: Conversion of sugars to furan derivatives by catalytic processes, *Appl. Catal. A: General*, Vol. 385, pp.1-13, 2010.
- 6) T. Matsumoto, Y. Mitsumura, M. Miyamoto, J. Matsumoto, T. Shiragami, Y. Fueda, K. Nobuhara, and M. Yasuda: Quantitative analysis for a color-change of humidity indicator by microscopic absorption spectrometry, *Analytical Science*, Vol. 27, pp. 623-628, 2011.
- 7) Y-K. Kim and Y. Sakano: Analyses of reducing sugars on a thin-layer chromatographic plate with modified Somogyi and Nelson reagents, and with copper bichinchonate, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, Vol. 60, pp. 594-597, 1996.
- 8) W. R. Fernell and H. K. King: The simultaneous determination of pentose and hexose in mixtures of sugars, *Analyst*, Vol. 78, pp. 80-83, 1953.
- 9) M. Yasuda, Y. Nakamura, J. Matsumoto, H. Yokoi, and T. Shiragami: Transformation of Glucose to 5-Hydroxymethyl-2-furfural by SiO₂-MgCl₂ Composite, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, Vol. 84, pp. 416-418, 2011.
- 10) D. W. Harris and M. S. Feather: Intramolecular C-2 → C-1 hydrogen transfer reactions during the conversion of aldoses to 2-furaldehydes, *J. Org. Chem.*, Vol. 39, pp. 724-725, 1974.
- 11) B. F. Kuster, H. S. van der Baan: The influence of the initial and catalyst concentrations on the dehydration of d-fructose, *Carbohydr. Res.*, Vol. 54, pp.165-176, 1977.
- 12) S. Lima, M. Pillinger, A. A. Valente: Dehydration of d-xylose into furfural catalysed by solid acids derived from the layered zeolite Nu-6(1), *Catal. Comm.*, Vol. 9, pp. 2144-2148, 2008.
- 13) J. N. Chheda and J. A. Dumesic: An overview of dehydration, aldol-condensation and hydrogenation processes for production of liquid alkanes from biomass-derived carbohydrates, *Catal. Today*, Vol. 123, pp. 59-70, 2007.
- 14) A. Takagaki, M. Ohara, S. Nishimura, K. Ebitani: One-pot Formation of Furfural from Xylose via Isomerization and Successive Dehydration Reactions over Heterogeneous Acid and Base Catalysts, *Chem. Lett.*, Vol. 39, pp. 838-840, 2010.
- 15) K. Shimizu, R. Uozumi, and A. Satsuma: Enhanced production of hydroxymethylfurfural from fructose with solid acid catalysts by simple water removal methods, *Catal. Comm.*, Vol. 10, pp. 1849-1853, 2009.