

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06173

研究課題名(和文) 樹皮リグニンの化学

研究課題名(英文) Chemical characterization of bark lignins

研究代表者

秋山 拓也 (Akiyama, Takuya)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：50553723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：針葉樹の内樹皮と外樹皮のリグニンの化学的特徴を木部リグニンと比較した。化学分解法で得られた非縮合型/ β -5型/ビフェニル型生成物の量比(モル比)は、スギの木部、内・外樹皮の試料間でほぼ差が見られずほぼ等しかった。また、スギの木部および内樹皮からリグニン(MWL相当)を単離し、それらの $^1\text{H-NMR}$ 、および $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -二次元NMR(HSQC)スペクトルを比較した結果、木部と内樹皮で差異は殆どみられなかった。本研究を通してみられた顕著な相違はリグニンの含量のみであり、内樹皮のKlasonリグニン量は21%と、辺材のそれ(36%)に比べ4割程度低い値を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

樹皮はバイオマス総合利用の観点から重要な木質資源であるが、その構成成分には未解明な部分が多く、木部と比べ化学的特徴の理解が遅れている。国内の針葉樹を代表するスギに関して、木部と樹皮を構成するリグニンは似ており、その高分子を構成する各部分構造の割合はほぼ同じであることが明らかになった。この研究成果は、細胞壁形成時における木化機構の理解へ向けた新たな基礎的知見として学術的意義があり、また、社会的意義としてリグニン利用技術を設計するための基盤的知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Lignin in the inner and outer bark of softwood (Japanese cedar) was chemically characterized by comparison with its xylem lignin. The ratios (mole ratios) of non-condensed/ β -5/biphenyl-type products obtained by the chemical degradation method showed almost no significant differences among the xylem, inner bark, and outer bark samples. Lignin (MWL) was isolated from the xylem and inner bark, and their $^1\text{H-NMR}$ and $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ two-dimensional NMR (HSQC) spectra were compared. No significant differences were observed between the xylem and inner bark, and peaks assigned to β -O-4, phenylcoumaran, resinol, and dibenzodioxocin structures were observed in the inner bark lignin as in the xylem. Throughout this study, the only significant difference between the lignin of the xylem and inner bark was in lignin content, with the inner bark having a Klason lignin content of 21%, less than two-thirds that of the sapwood.

研究分野：木質化学

キーワード：内樹皮 外樹皮 単離リグニン ニトロベンゼン酸化 NMR MWL

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

樹皮はバイオマス総合利用の観点から重要な木質資源であり、原木の約1割を占め、国内生産量はスギ樹皮のみで年間約50万トンに及ぶ。しかし、木部と比べ、樹皮を構成する高分子成分には不明な点が著しく多い。化学構造的特徴を明らかにすることによって、木質バイオマスとしての高付加価値利用の潜在性を把握し、また、細胞壁形成時における木化機構の理解に有用となる化学的情報が得られると期待される。

2. 研究の目的

道管と師部要素の大きく機能の異なる組織間では木化の際に細胞を取り巻く環境も異なる可能性があり、その反応場はリグニンの生成過程に影響し得ると想定される。針葉樹リグニンの多様性を調べることを目的として、本研究ではスギ樹種の木部と樹皮のリグニンの化学的特徴を比較した。具体的には、スギ樹種を対象として、化学分解法を用いて樹皮に含まれるリグニン骨格単位間の結合様式の構成比(β-O-4等の非縮合型、β-5型、および5-5型の部分構造の構成比)について木部リグニンと比較し、さらにNMR法を用いて各結合様式の詳細な存在形態について調べた。

3. 研究の方法

(1) 試料の調製とリグニン分析前の溶媒抽出処理

スギ(*Cryptomeria japonica*)から樹皮付き円盤試料(直径30cm、69年輪)を切り出し、木部、内樹皮、および外樹皮を分別した。その際、内樹皮は、抽出成分による変色を避けるため、分別後の小片を速やかに70%アセトンに浸漬し予備抽出した。木部、内樹皮、および外樹皮の小片からそれぞれ粉体試料を調製した。粉体試料をリグニン分析に供する前に、抽出成分を可能な限り取り除くことを目的に、溶媒抽出の条件検討を行った。

(2) 化学分析

70%アセトン抽出(室温浸漬、3~4回)およびエタノール-ベンゼン抽出(ソックスレー)で2段抽出した粉体物をリグニン分析用の試料とし、Klason法でリグニン量を評価した。また、ニトロベンゼン酸化法(NBO法)に供し、図1に示した分解生成物を標品との比較により同定・定量した。

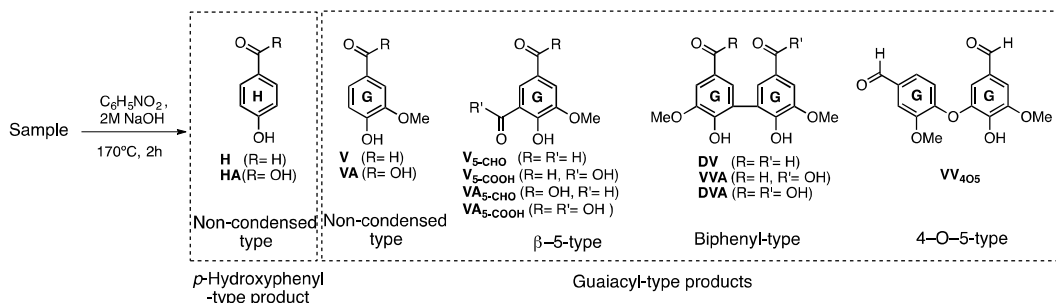


図1. 本研究で標品との比較により同定および定量したニトロベンゼン酸化生成物

(3) リグニンの単離とそのNMR解析

Björkmanらの方法に準じてリグニン試料を調製した。上記の2段抽出処理済みの内樹皮粉(または木粉)をボールミルで磨砕処理した後、96%ジオキサンで室温抽出し、抽出物を凍結乾燥、水洗してリグニン試料とした。その一部をアセチル化し、重クロロホルム溶液としてNMR測定(Bruker Avance 400MHz, N_2 クライオプローブ付)に供した。以下、木部由来のリグニン試料をMWL(milled wood lignin)、内樹皮由来のそれをMiBL(milled inner bark lignin)と略す。

4. 研究成果

(1) リグニン分析前の溶媒抽出処理

スギ木部、内樹皮、および外樹皮の粉体試料を、木材分析の前処理で常法であるエタノール-ベンゼン混合溶媒によるソックスレー抽出、または、タンニンの良溶媒である70%アセトンによる室温浸漬抽出の1段抽出を行い、抽出量を比較したところ、外樹皮および辺材についての抽出効率は70%アセトン抽出の方が若干高かった。次に、それぞれの粉体試料に対して、70%アセトン抽出(室温浸漬、3~4回)、およびエタノール-ベンゼン抽出(ソックスレー)の逐次2段抽出を行った結果、試料によって抽出量は異なるが、1.9~27.5%(70%アセトン)および0.03~0.7%(エタノール-ベンゼン)の範囲であり、1段目の70%アセトン処理によって抽出成分の多くが溶出した。今回用いたスギ試料の場合には、この2段抽出後の粉体をリグニン分析用の試料とした。尚、さらに3段目の逐次処理として水抽出(室温浸漬、2回)を小スケールで行ったが、抽出量は0.5~1.3%と僅かであった。

(2) 樹皮リグニンの -0-4/ -5/5-5 型構造の構成比

スギの木部、内樹皮と外樹皮から得られた NBO 生成物中の *p*-ヒドロキシフェニル (H) 核型生成物はどの試料の場合も微量 (H 核/G 核比 = 0.01~0.05) であり、スギ樹皮は正常材木部と同様、グアイアシル型リグニンであると示唆された。

次に、グアイアシル型リグニンの詳細として各種の結合様式の構成比 (-0-4 型を始めとする非縮合型、-5 型、および 5-5 型ビフェニルの部分構造の構成比) を比較することを目的に、NBO 生成物の相対収率を調べた。バニリンやバニリン酸の非縮合型生成物の他に、5-カルボキシバニリン等の -5 型構造由来の生成物 (以下、-5 型生成物) およびダイバニリン等のビフェニル型生成物を定量した (図 1)。その結果、非縮合型/ -5 型/ビフェニル型生成物の量比の違いは、木部、内樹皮および外樹皮の間でごく僅かであり、約 80:7:13 であった (3 試料間の差異、 79.8 ± 0.1 : 6.7 ± 0.3 : 13.3 ± 0.2 , モル比)。この結果から、内樹皮と外樹皮のリグニンの -0-4/ -5/5-5 型構造の構成比は、木部のそれと似ていると示唆された。

(3) 樹皮リグニンのリグニン量

抽出処理済み木部、内樹皮、および外樹皮の Klason 残渣 (KL) は、それぞれ 35.6、21.4、50.0 重量%の値を示した。内樹皮は、木部と比べて著しく低い KL 量を示したものの、KL 量あたりの NBO 生成物の収率は同等であること (木部 2429 $\mu\text{mol/g}$ 、内樹皮 2256 $\mu\text{mol/g}$)、また、両者のリグニンの部分構造の構成比がほぼ等しいことから、内樹皮の KL 量はリグニン量を反映していると結論づけた。内樹皮のリグニン量は木部のそれよりも 4 割減と顕著に低いことが示された。一方、外樹皮の KL 量は木部に比べて顕著に高い値を示した。KL 量あたりの NBO 生成物の収率を比較すると、外樹皮の NBO 収率 (879 $\mu\text{mol/g}$) は木部の場合の 4 割以下と極端に低く、KL として定量された物質の半分以上が、リグニン以外の成分に由来すると考えられる。従来からの指摘にあるように、外樹皮のリグニン量の評価に KL 量を用いるとリグニン量の過大評価に繋がることが本実験でも示唆された。

(4) 内樹皮リグニンの各結合様式の存在形態

スギの木粉および内樹皮粉からの単離リグニンの収率は、それぞれ 16 wt% (MWL) と 26 wt% (MiBL) であった (対 Klason lignin 量)。これらのアセチル化物を ^1H , ^{13}C -HSQC NMR 測定し、スペクトルの側鎖領域 (2.7-6.4/48-95 ppm, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) を比較した (図 2)。

その結果、内樹皮 MiBL の -0-4、-5、-、および 5-5 結合の各結合様式の存在形態として、木部 MWL と同様に -0-4、フェニルクマラン、レジノール、およびジベンゾジオキシン型の部分構造に帰属されるピークが観測された。また、芳香核領域 (6.1-8.3/100-134 ppm, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) についても、両者に顕著な違いは見あたらなかった。

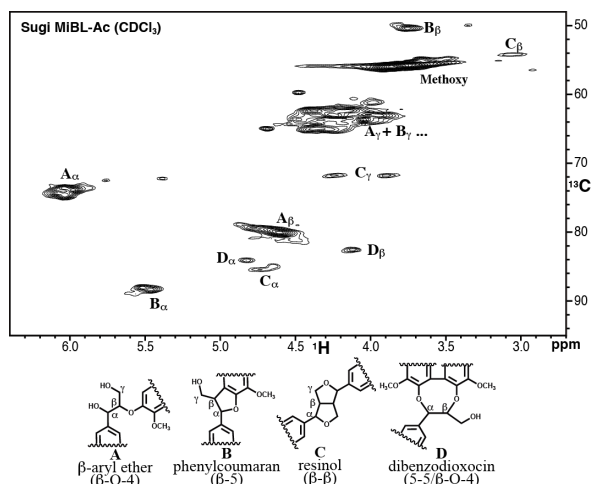


図 2. Partial ^1H , ^{13}C -HSQC NMR spectra (side chain regions) of acetylated Björkman lignin (MiBL-Ac) isolated from Japanese cedar inner bark (CDCl_3).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Zeming Xu, Hiroataka Nakamura, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, Zhenfu Jin, Kiyokuni Sasaki and Yuji Matsumoto	4. 巻 41
2. 論文標題 Syringyl ratio and its relation to the erythro ratio of -0-4-structure in leaf cell walls	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Wood Chemistry and Technology	6. 最初と最後の頁 118-127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/02773813.2021.1916533	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fuyu Yamauchi, Toko Ito, Osamu Kawamoto, Toshihiro Komatsu, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, Yuji Matsumoto.	4. 巻 74
2. 論文標題 Effects of lignin structure and solvent on the formation rate of quinone methide under alkaline conditions.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Holzforschung	6. 最初と最後の頁 559-566
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1515/hf-2019-0269	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shirong Sun, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto.	4. 巻 1
2. 論文標題 Utilization of recyclable MnO ₂ in prebleaching stage as a catalyst for oxygen delignification or as a delignifying agent.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lignin	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.62840/lignin.1.0_1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Xu Zeng, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto.	4. 巻 40
2. 論文標題 Contribution of the -hydroxy group to the -0-4 bond cleavage of lignin model compounds in a basic system using tert-butoxide.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Wood Chemistry and Technology	6. 最初と最後の頁 348-360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/02773813.2020.1812660	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shirong Sun, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto.	4. 巻 68
2. 論文標題 Differences in the mechanisms of MnO ₂ oxidation between lignin model compounds with the p-hydroxyphenyl, guaiacyl, and syringyl nuclei.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 6819-6825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jafc.0c01956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 秋山拓也	4. 巻 15
2. 論文標題 あて材を利用した樹木リグニンの化学構造研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 グリーンスピリッツ	6. 最初と最後の頁 2-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 秋山拓也、牧野礼、橋田光、菱山正二郎
2. 発表標題 スギ内樹皮のBjorkmanリグニンの化学構造的特徴について
3. 学会等名 第73回木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菱山正二郎、秋山拓也、梶田真也、上村直史、政井英司
2. 発表標題 1,2-Diaryl-1,3-propanediol 型化合物の短工程合成
3. 学会等名 第73回木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高田依里、橋田光、秋山拓也、眞柄謙吾、牧野礼、宮崎淳子、古田直之
2. 発表標題 スギ樹皮の希アルカリ水熱処理による低分子フェノール成分の抽出と化学特性
3. 学会等名 第73回木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋山拓也、牧野礼、橋田光
2. 発表標題 スギ樹皮のリグニンの化学構造的特徴について
3. 学会等名 第67回リグニン討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋山拓也
2. 発表標題 特別講演: リグニンの分析技術と構造研究の進歩
3. 学会等名 第67回リグニン討論会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菱山正二郎、秋山拓也、上村直史、政井英司
2. 発表標題 1,2-Bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-propanediolの効率的な合成法
3. 学会等名 第 72 回日本木材学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋山拓也、菱山正二郎、久保智史、眞柄謙吾、横山朝哉、上村直史、政井英司
2. 発表標題 スギ材チップのアントラキノン添加型ソーダ酸素蒸解により得られるフェノール性リグニン分解生成物の同定
3. 学会等名 第88回紙パルプ研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋山拓也
2. 発表標題 特別企画：リグニンの真の姿に迫る、二量体化 ～重合に伴う構造の多様化～
3. 学会等名 第65回リグニン討論会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古田直之、宮崎淳子、中村神衣、橋田光、高田依里、秋山拓也
2. 発表標題 スギ樹皮由来のフェノール成分を用いた接着剤による合板の接着性能
3. 学会等名 第73回木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋山拓也
2. 発表標題 「リグニンの基礎 -形成、構造、利用-」（分担、形成：飛松裕基、構造：秋山拓也、利用：松下泰幸）
3. 学会等名 第64回 2021年紙パルプ技術協会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋山拓也
2. 発表標題 「リグニンの利用に向けたホワイトバイオテクノロジーの潮流/園木和典」
3. 学会等名 第75回生物工学会年次大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関