

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03842

研究課題名（和文）ポリオンコンプレックスによるリグニンからの機能性物質の創製

研究課題名（英文）Conversion of lignin into functional materials by using poly-ion complex procedure

研究代表者

松下 泰幸（Matsushita, Yasuyuki）

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：60335015

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,200,000円

研究成果の概要（和文）：カチオン基やアニオン基をリグニンに導入し、それらを用いて機能性物質に変換することを試みた。リグニンには、最も反応性が低いと思われる酸加水分解リグニン（SAL）を選択した。このSALをアルカリ水熱処理に供することにより、水溶化することを見だし、その化学構造を解析したところ、酸性基であるフェノール性水酸基やカルボキシル基が導入されていることが分かった。この水溶化したHSLをカチオン化したところ、染料廃液の凝集処理剤への適用が可能であった。また、カルボキシル基を導入したところ、石こうの分散剤に応用可能であった。水溶化したHSALの生理活性性を調べたところ、植物の根の成長促進作用が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大気中の二酸化炭素増加が明らかとなり、化石資源依存の脱却および再生可能資源への転換が早急の課題となっている。再生可能資源の中でも特に木質バイオマスは豊富な賦存量を誇り、かつ、食料と競合しないことから、その有効活用技術の開発は最優先課題だといえる。本研究では、これまで有効活用されていなかったリグニンに着目し、見事、カチオン性吸着凝集剤、石こう分散剤、植物成長促進剤に変換することができ、石油由来でなくバイオマスから創製できたことは社会的に非常にインパクトがある。

研究成果の概要（英文）：Cationic and anionic groups were introduced into lignin and their conversion into functional materials was attempted. Acid-hydrolyzed lignin (SAL) was selected as the least reactive lignin, as it seems to be the most reactive. It was found that the SALs were soluble in water when subjected to alkaline hydrothermal treatment, and the chemical structure of the SALs was analyzed, and it was found that phenolic hydroxyl groups and carboxyl groups were introduced. The water-soluble HSL was cationized, and it could be applied to the flocculation treatment of the dye waste solution. The carboxyl group was introduced into the water-soluble HSL and the product was applicable to the dispersant of gypsum. The bioactivity of water-solubilized HSAL was investigated, and it was confirmed that it promoted the growth of plant roots.

研究分野：木質科学

キーワード：リグニン 機能性物質 成長促進剤

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

昨今におけるエネルギー事情を鑑みて、カーボンニュートラルなバイオマスエネルギーを利用することは緊急的な課題であり、食料と競合しない豊富な生産量を誇る木質バイオマスには大きな期待が寄せられている。木質バイオマスのうち 7 割程度がセルロースなどの多糖類であり、これらは繊維、フィルム、エタノールなどに変換可能である。しかしながら、約 3 割程度含まれているリグニンは、これらに変換できないため、副産物として廃棄または燃焼されることになる。この副産物リグニンの有効活用を見出し、製品化することができれば、多糖由来製品の販売コストも低減させることができよう。

申請者はこれまで、副産物リグニンに関する研究を続けてきており、その化学構造や反応性に関する知見を蓄積してきた。その成果として、アルカリ水熱反応により、副産物リグニンを簡単に親水性ポリマーへと変換できることを見出した (Matsushita et al., *Bioresour. Technol.* 100: 1024 (2009))。さらに、このポリマーと  $\epsilon$ -カプロラクトンとを重合させることにより、ポリエステルを合成することに成功した (Matsushita et al., *J. Wood Sci.*, 68:1049 (2011))。配合条件により様々な性質を持つポリエステルを調製することが可能であったが、このポリマーは他のモノマー原料との相溶性があまり高くなく、共重合などによる更なる機能性材料の創製は困難を極めると考えられた。

### 2. 研究の目的

木質バイオマスのリファイナリーにおいて、未利用副産物として得られるリグニンを電気材料や環境浄化材料などの機能性物質に変換することを目的とする。申請者は未利用リグニンについて研究を続けてきており、これまでに、カルボキシル基が導入された水溶性ポリマーを簡単な方法で創り出すことに成功している (Matsushita et al., *Bioresour. Technol.* 100: 1024 (2009))。本研究はこの水溶性リグニンとポリカチオンとを組み合わせ、ポリイオンコンプレックスを調製することにより、高機能性物質を創製することとした。ポリイオンコンプレックスは様々な物質を内包することができることから、酵素、農薬などを内包させることにより、バイオ電池、汚染水の浄化材料、徐放性肥料などを作り出すことができる。

本研究では以下の 3 点を主要目的とした

- (1) 水溶性リグニン (HSAL) の化学構造解析  
精密な機能性物質を創製するため、化学構造を正確に知る必要がある。
- (2) イオンコンプレックス能の調査  
水溶性リグニンを用いたイオンコンプレックス能を、石膏およびアニオン性染料を用いて調べる。
- (3) イオンコンプレックスの応用  
イオンコンプレックスの応用として、植物に対する生理活性能を調査する。

### 3. 研究の方法

- (1) 水溶性リグニン (HSAL) の化学構造解析  
水溶性リグニンの構造解析はいまだ不明である。本研究では赤外線吸収スペクトル、ゲル浸透クロマトグラフィーによる分子量分布測定、核磁気共鳴スペクトルなどによる化学構造解析を行った。また、さらに詳細に解析するため、 $^{13}\text{C}$  標識法を用いた解析も行った。
- (2) イオンコンプレックス能の調査  
水溶性リグニンにカルボキシル基やカチオン基を導入し、アニオン性 (C-HSAL) やカチオン性 (GTA-HSAL) を持たせた。アニオン性の水溶性リグニンは表面電荷がカチオンである石膏とコンプレックスを形成し、石膏スラリーの粘度を低下させる。アニオン性の水溶性リグニンのイオンコンプレックス能を石膏スラリーの粘度低下より評価した。また、カチオン性のイオンコンプレックス能はアニオン性染料の凝集体形成の形成により評価した。
- (3) イオンコンプレックスの応用  
水溶性リグニンは土壌中に散布することで、イオンコンプレックスを容易に形成し、フミン質様作用をもたらすことも考えられることから、植物に対する生理活性能を評価した。植物はイネとニンニクを用いた。

### 4. 研究成果

- (1) 水溶性リグニンの化学構造解析  
HSAL のメトキシ基含量を測定したところ、水熱処理により多くのメトキシ基が脱離していることが分かった。HSAL をそのまま液体 NMR で測定しても、明確なシグナルが現れなかったため、芳香環すべてを  $^{13}\text{C}$  標識したリグニンモデル化合物を合成し、続いて水熱反応とアセチル化を行い、液体 NMR 測定に供した。その結果、水熱処理によりフェノール性水酸基が増加していることが分かった。また、固体 NMR 分析に供したところ、芳香環の一部が開裂していることが判明した。以上のことから水熱処理により親水性が増加し、水溶化したものと考えられた。

- (2) イオンコンプレックス能の調査

化学構造解析の結果より、HSALは多くのフェノール性水酸基を有していることがわかったので、この官能基をグリシジルトリメチルアンモニウムクロライド (GTA) およびブロモ酢酸と反応させ、カチオン性 (GTA-HSAL) およびアニオン性高分子 (C-HSAL) へと変換した。GTA-HSAL はアニオン性染料を用いてイオンコンプレックス能を評価した三種類の染料 (Remazol Brilliant Blue R (RBB)、Direct Red 23 (DR)、Acid Black 1 (AB)) の水溶液に GTA-HSAL を添加したところ、どの染料に対しても 90%以上の効率で凝集沈殿させることができた。また、C-HSAL は石膏スラリーを用いて、その粘度低下を流動性試験にて調査した。その結果、市販のリグニン系分散剤 (リグノスルホン酸) とほぼ同等の流動性能を示すことが分かり、十分なイオンコンプレックス能を有することが分かった。これらの結果より、GTA-HSAL はアニオン性廃液の凝集処理剤、C-HSAL は石膏の分散剤としての活用が期待できる。

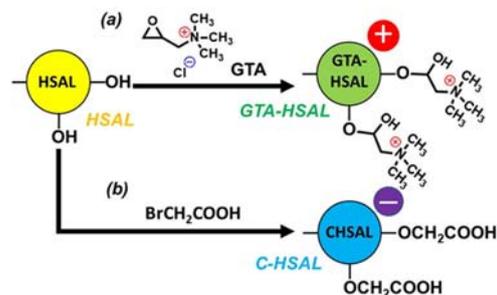


図1. カチオン性リグニン (GTA-HSAL) 及びアニオン性リグニン (C-HSAL) 合成スキーム

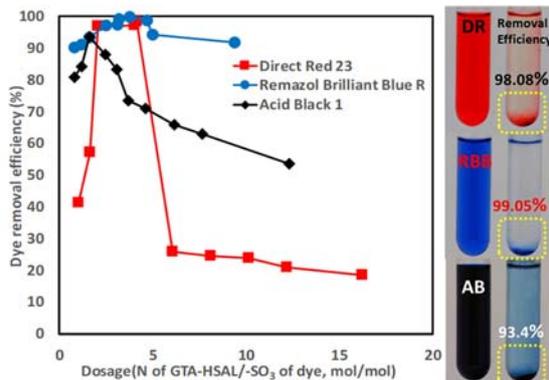


図2. カチオン性リグニン (GTA-HSAL) のイオンコンプレックス能

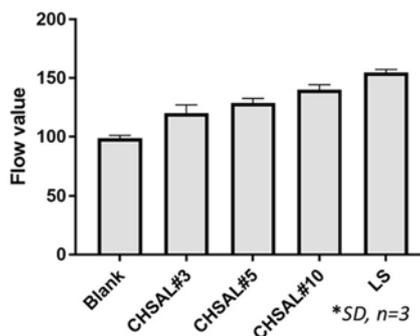


図3. アニオン性リグニン (C-HSAL) のイオンコンプレックス能

### (3) 植物成長促進剤の開発

HSAL を植物成長促進剤として利用できるかを、イネの水耕栽培にて検討した。イネは4種類 (Oryza sativa L. var, 日本晴 (NB)、Taichung 65 (TC)、Kasalath (Kas)、およびオーキシン低感受性変異体 (iaa)) を使用し、組織学的分析、成長曲線分析などを行った。さらに、共焦点レーザー走査顕微鏡観察やEdU染色による根先端の細胞分裂活性の測定も行った。その結果、どのイネに対しても、HSALは根の成長を著しく増大させる効果を有していることが分かった。4種類の中ではNBが最も効果が高かった (2倍以上)。また、iaaに対しても根の伸長促進が見られたことから、この伸長メカニズムはいろいろな要因が絡んでいることが分かった。光学顕微鏡観察から、HSALは主根、側根および太い側根の成長に対して正の効果を有するが、L型側根への効果は少ないことが分かった。さらに共焦点レーザー顕微鏡観察により細胞の長さを分析したところ、HSALを添加することにより若干短くなることも分かった。EdU染色の結果、HSAL添加により根の先端部の細胞分裂活性が著しく上昇していることも判明した。地上部のシュートについても観察したところ、HSAL添加により成長が促進されていることも確認された。以上のことから、HSALは植物に対して強い生理活性を示すことが分かった。今後の検討により、成長促進メカニズムが解明できれば、さらなる高機能化が図れるものと期待される。

また、ニンニクについても同様に調査した結果、イネと同様に成長促進作用があることが確認された。



図4. 水溶性リグニンの根 (日本晴, NB) の成長促進作用

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Q. Liu, Y. Matsushita, D. Aoki, S. Yagami, K. Fukushima	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of hydrothermal reaction of sulfuric acid lignin from Cryptomeria japonica for industrial utilization	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BioResources	6. 最初と最後の頁 7805-7823
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15376/biores.13.4.7805-7823	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 -

1. 著者名 Liu Qiang, Matsushita Yasuyuki, Aoki Dan, Fukushima Kazuhiko	4. 巻 65
2. 論文標題 Industrial utilizations of water-soluble sulfuric acid lignin prepared by hydrothermal treatment as flocculant and dispersant	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Wood Science	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s10086-019-1797-1	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 -

1. 著者名 Masaru Kajihara, Dan Aoki, Yasuyuki Matsushita, Kazuhiko Fukushima	4. 巻 135
2. 論文標題 Synthesis and characterization of lignin-based cationic dye-flocculant	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Polymer Science	6. 最初と最後の頁 46611
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/app.46611	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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Qiang Liu, Yasuyuki Matsushita, Dan Aoki, Kazuhiko Fukushima
2. 発表標題 Characterization of water-soluble polymers from sulfuric acid lignin by hydrothermal treatment
3. 学会等名 2018 Joint Convention Society of Wood Science and Technology (SWST) and The Japan Wood Research Society (JWRS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Qiang Liu, Yasuyuki Matsushita, Dan Aoki, Kazuhiko Fukushima
2. 発表標題 Study on the characterization of water-soluble lignin from sulfuric acid lignin by hydrothermal treatment
3. 学会等名 International Conference on Pulping, Papermaking and Biotechnology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Qiang Liu, Yasuyuki Matsushita, Dan Aoki, Kazuhiko Fukushima
2. 発表標題 Industrial utilization of water-soluble sulfuric acid lignin prepared by hydrothermal treatment as flocculant and dispersant
3. 学会等名 第69回日本木材学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梶原勝, 青木弾, 松下泰幸, 福島和彦
2. 発表標題 リグニン由来新規カチオン性界面活性剤の創製
3. 学会等名 2017年度木材学会中部支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Qiang Liu, Yasuyuki Matsushita, Dan Aoki, Kazuhiko Fukushima
2. 発表標題 Effect of hydrothermal reaction on sulfuric acid lignin from Cryptomeria japonica
3. 学会等名 第68回日本木材学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Q. Liu, T. Kawai, Y. Matsushita, Y. Inukai, D.Aoki, K. Fukushima
2. 発表標題 Conversion of byproduct lignin generated during bioethanol generation from woody biomass into plant growth promotor
3. 学会等名 1st International Lignin Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 植物成長促進剤	発明者 松下泰幸、劉強、福島和彦、青木弾、犬飼義明、河合翼	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-018404	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	福島 和彦  (Fukushima Kazuhiko)  (80222256)	名古屋大学・生命農学研究科・教授    (13901)	
研究分担者	青木 弾  (Aoki Dan)  (80595702)	名古屋大学・生命農学研究科・講師    (13901)	