

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21380109

研究課題名（和文）

バイオエタノール製造時の副産物である残渣リグニンの環境保全物質への創製

研究課題名（英文）

Conversion of Residual lignin generated during bioethanol production to functional materials for environment conservation

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

研究成果の概要（和文）：

バイオエタノール残渣リグニンの高度活用を目指し、新規環境保全物質を創製することを目的とした。アルカリ水熱処理により残渣リグニンを水可溶性物質に変換した後、アクリル酸との共重合を試みたが、相溶性の問題から共重合ポリマーを得ることができなかった。しかしながら、 ϵ -カプロラクトンとの共重合により、高い膨潤性を示す新規バイオポリエステル調製に成功した。また、アルカリ水熱処理による残渣リグニンの水溶化メカニズムを、モデル化合物を用いて明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In order to convert the residual lignin generated during bioethanol production using lignocellulosic materials into functional materials for environmental conservation, hydrothermal treatment with alkali was conducted followed by co-polymerization was occurred with acrylic acid. However, the co-polymerization was not succeed because of poor compatibility between the lignin and acrylic acid. The lignin was co-polymerized with ϵ -caprolactone to obtain the functional polymer with high swellability. The solubilization mechanism of residual lignin by hydrothermal treatment was investigated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	2,300,000	690,000	2,990,000
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：バイオマス、リグニン、環境材料

1. 研究開始当初の背景

今日、二酸化炭素を増加させない「カーボンニュートラル」な燃料として、バイオエタノールが、米国やブラジルで大量に生産されている。しかしながら、トウモロコシやサトウキビを原料としており、食料を燃料用に流用されることによる問題が指摘されている。

このような背景から食料と競合しないバイオマスとして、木質バイオマスに大きな期待が寄せられている。樹木は山岳地域や低降水地域でも生育し、また、豊富な生産量（バイオマス全体の約9割）や伐採時期を選ばないことから安定供給が可能である。また、稲ワラやバガスなどの草本系バイオマスと比較

すると、単位体積当たりの重量が高く、輸送に有利である。

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、これらはバイオエタノールに変換可能である。しかしながら、リグニンが約3割程度含まれており、バイオエタノール製造においては副産物として廃棄されることになる。現在、木質バイオマスからのエタノール製造に関する研究は、世界中で精力的に行われているものの、そのほとんどが糖化および醗酵に関するものであり、残渣リグニンに関する研究例は多くない。この残渣リグニンの有効活用方法を見出し、製品化することができれば、バイオエタノールの販売コストも低減させることができよう。

我々はこれまで、残渣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しての知見を蓄積してきた。その成果として、フェノール化を行えば、残渣リグニンの化学反応性が増加し、様々な機能性物質に変換可能であることを示した（例えば、Matsushita et al., *Bioresour. Technol.*, 96(4), 465-470 (2005)など）。また、最近では、環境負荷の高いフェノール化を行わなくても、アルカリ水熱反応を行えば、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.*, in press）。

通常、リグニンは疎水性の物質であると考えられているが、アルカリ水熱反応によって得られたこの親水性ポリマーは、中性の水にも可溶であり、さらに、酸性下では硬い固形状の沈殿とはならず、柔らかい親水ゲルに変化する。特別に親水基導入反応を行っていないにもかかわらず、このような性質を示すというのは、今までの認識を変えるような驚きであり、非常に興味深い。

本研究では、この親水性リグニンポリマーの性質を生かし、pH に依存しない親水ゲルを創製する。これは保水能力のある土壌改良剤として、植林地や耕作地の拡大に役立てることができよう。さらに、このポリマーは植物由来であるため、環境に負荷をかけず、自然に徐々に分解する。後で述べるように、この分解物はカルボキシル基を含有していると思われ、フルボ酸的な機能を有する可能性が考えられる。フルボ酸とは植物体が微生物分解により生成される腐植物質であり、土壤中に多く含まれている。フルボ酸は鉄イオンとキレートを形成し、鉄を山から河川・海に運ぶ役割を果たしていると考えられている。鉄イオンは海洋植物などには必須のものであるが、日本の山林は整備が進んでおらず、荒れ果てた状態であるため、フルボ酸が山から川に流れにくくなっており、その結果、水質の鉄不足を引き起こし、草などが育たず、水質の悪化を招いている。この水質悪化は魚の

減少にもつながっており、魚類の養殖にも深刻なダメージを与えている。このポリマーの分解物は河川・海に鉄を運ぶキャリアーとして働き、漁場環境の保全に役立つであろう。

2. 研究の目的

本研究では、今までに得られた親水性リグニンポリマーをもとに、環境保全に役立つ機能性物質を創生するとともに、得られた生成物の性能を評価する。

また、この親水ポリマーの化学構造については、IR 解析により、ヒドロキシル基やカルボキシル基が導入されていることが分かっている（Matsushita et al., *Bioresour. Technol.*, in press）ものの、化学構造が非常に複雑であり、詳細な解析はできていない。そこで、本研究ではモデル化合物などを用いて、リグニンの親水化反応および化学構造の解析を行う。

3. 研究の方法

残渣リグニンの代表として硫酸リグニン（硫酸加水分解糖化法における残渣リグニン：SAL）を選択した。SALは残渣リグニンの中でも最も反応性が低いものと考えられており、これを機能性物質に変換できれば、ほかの方法によって生成した残渣リグニンも容易に機能性物質に変換が可能となる。

(1) 機能性物質への変換

①SAL の調製

リグニンの定量に用いられる硫酸法（Klason 法）によって SAL を調製した。アカマツ脱脂木粉 1 g を 100 ml 容ビーカーにとり、72% (v/w) 硫酸 20 ml を加えて、適宜攪拌しつつ室温で二時間放置した。その後反応物を 1 L 三角フラスコに移し、蒸留水を加えて硫酸濃度を 3% に希釈した。これに 100 ml 三角フラスコで蓋をして、ガスバーナーで 2h 煮沸した。ただし、煮沸時間は沸騰してから 2h とした。この時に、SAL は不溶解残渣として生じる。反応物は一晩放置し不溶解残渣を沈降させた。あらかじめ恒量を求めておいたグラスフィルター (1G3) を用いて吸引濾過し、蒸留水で残渣 (SAL) が中性になるまで洗浄した。得られた SAL を 105°C ± 3 で恒量になるまで乾燥した。上記の動作を二回行い、1.9 g のアカマツ脱脂木粉から 0.5 g の SAL を得た。収率は 28.1% であった。

②水溶化硫酸リグニンの調製

内容量 15 ml の耐圧管に 100 mg のモデル化合物と 100 mg の水酸化ナトリウムを入れ、さらに、水を 3 ml 加えたのち密栓し、280°C にて 2 時間反応した。反応生成物にクロロホルムとメタノール硫酸（硫酸濃度 5 wt%）を加え、S-HSAL が完全に溶けるまで攪拌した。次に、500 ml のビーカーに用意しておいた水をスターラーで攪拌しておき、そこにゆっくりと反応生成物を滴下して硫酸の除去を

行った。このとき、水溶化した硫酸リグニン (HSAL) は沈殿として生じた。この沈殿を酸が完全に除去されるまで水洗した (pH 試験紙で確認)。酸除去後に得られた沈殿にアセトンを加えて溶液状態にして回収した。回収した HSAL 溶液はエバポレーターで濃縮し、その後、ポンプで吸引して完全に溶媒を除去して乾燥した。

③HSAL とアクリル酸ナトリウムとの共重合

アクリル酸と HSAL を重量比に 9:1、7:3、5:5 の割合で混合し、この混合物 1.8 g に NaOH 0.8 g を蒸留水 2.3 ml に溶解した水溶液を加えて、水で冷却しながら中和した。完全に冷却後、過硫酸カリウム 0.006g を加えて溶解した。これをバイアル管に入れ、密封して 70°C で 1 時間反応させた。

④水溶化したリグニンと ε-カプロラクトンとの共重合

反応容器には 4 cc の反応管瓶を用いた。反応容器に S-HSAL と ε-カプロラクトン (ダイキン化成製品販売株式会社)、触媒として ZnCl₂ (試薬特級、関東化学株式会社) をマイクロスポーテルで少量加えた。HSAL と CL の加える割合は、実験ごとに変化させた。HSAL を CL に溶かして均一な状態にしてから、150°C で 12 時間、攪拌しながら反応を行った。HSAL の割合が多くて CL に完全に溶けないときは、THF を少量加えることで HSAL を完全に溶かして均一にした。このとき、THF は反応中に揮発するため、反応容器の蓋を少し開けた状態にしておいた。また、反応中に蓋が外れないようにビニールテープで蓋を固定した。

(2) モデル化合物を用いた水溶化メカニズムの解析

SAL のモデル化合物 (図 1) を合成し、それを水熱反応に供することにより、親水化メカニズムを解析した。モデル化合物は以下の 2 種類を用いた。

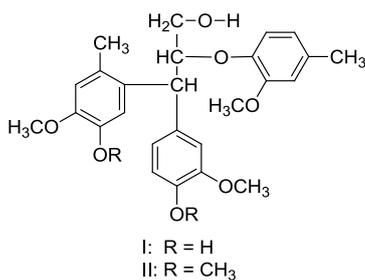


図 1. モデル化合物

内容量 15 ml の耐圧管に 100 mg のモデル化合物と 100 mg の水酸化ナトリウムを入れ、さらに、水を 3 ml 加えたのち密栓し、200°C にて 2 時間反応した。反応液を希塩酸にて弱酸性 (約 pH 4) した後、酢酸エチルにて抽出を行った。抽出液を 5% 炭酸水素ナトリウムにて抽出し、有機層を濃縮し GC-MS にて解析を行った。また、水層は希塩酸で弱酸性にし

た後、酢酸エチルで抽出した。濃縮後、重量を測定した。

4. 研究成果

(1) 機能性物質への変換

アルカリ条件下での水熱反応により、残渣リグニンを水溶性にすることに成功した。この水溶化したリグニン (HSAL) の化学構造を調べるため、IR 分析を行った。その結果、カルボキシル基が導入されていることが分かった。

HSAL とアクリル酸ナトリウムとの共重合を試みたが、どの実験条件においても、アクリル酸とリグニンとは共有結合を形成することができず、コポリマーを作成することはできなかった。

次に、HSAL のカルボキシル基を利用し、ε-カプロラクトン (CL) との共重合を試みた。その結果、均一なポリマーを創製することができた。その物理化学特性について解析した結果、有機溶媒可溶部分 (ポリ ε-カプロラクトン, PCL) と不溶部分 (HSAL) とが 3 次元ネットワークを形成していることが分かった (図 2)。CL と SAL との割合を工夫することにより、有機溶媒に対する高膨潤性ポリマーを調製することが可能となった。また、得られたポリマーの粘弾性特性についても解析したところ、CL と HSAL との比率によって性質が大きく異なることが分かった (表 1)。

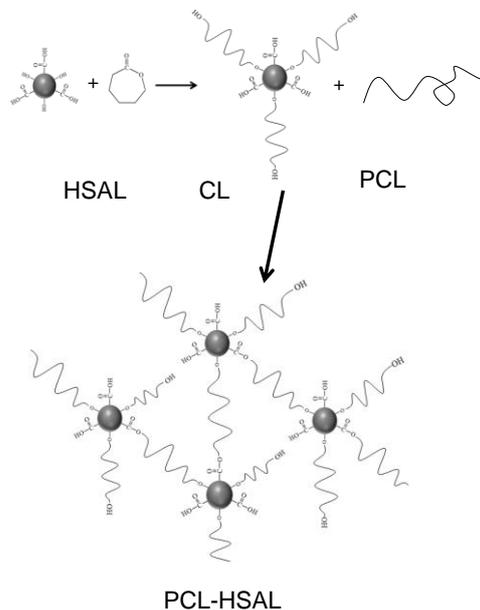


図 2. PCL-HSAL 三次元ネットワーク構造

表 1. PCL-H-SAL の溶媒に対する膨潤度

	CL:HSAL			
	3:1	5:1	10:1	15:1
水	0	0	0	0
メタノール	0.2	0.4	0.4	0.4
クロロホルム	4.7	9.6	8.0	- ^a

a 可溶化

(2) モデル化合物を用いた水溶化メカニズムの解析

モデル化合物を水熱処理した結果、クレオソール、クレゾール、カテコール、4-メチルカテコールが検出された。以上のことから、水溶化のメカニズムを以下のように推測した。主な反応経路は以下の2つである (図3.4)。

1. モデル化合物 I の γ 位水酸基がアルカリにより解離する。その後、生成した酸素アニオンが β 位炭素を攻撃することにより、 β -O-4 結合が解離し、クレオソールが生成する
2. モデル化合物 I の γ 位水酸基解離の後、ホルムアルデヒドとして γ 位が脱離し、クレゾール (ルート a) およびクレオソール (ルート b) が生成する。その後、脱メタノールが起こり、カテコールおよび4-メチルカテコールが生成する。

また、脱メタノールはホルムアルデヒドの脱離前に起きる場合も考えられる。また、モデル化合物 I の水熱分解反応物の中に、5%炭酸水素ナトリウムで抽出される物質が存在したことから、カルボキシル基を持つ化合物が存在していることが判明した。このことから、分解生成物のカテコール、4-メチルカテコールはさらに酸化されて、カルボキシル基を持つ化合物になると考えられるが、今回の実験では確認はできなかった。今後、詳細を検討する必要がある。

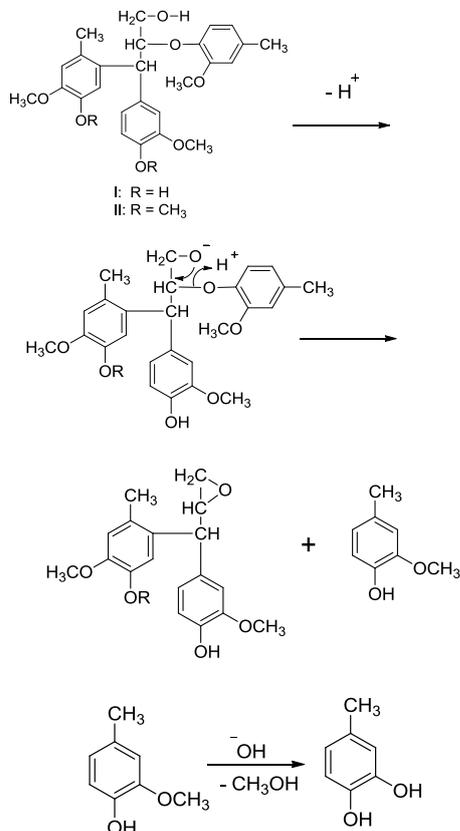


図3. モデル化合物の反応1

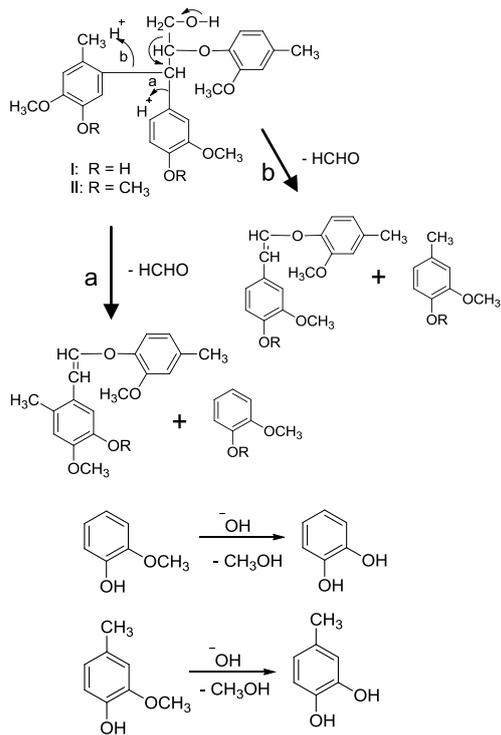


図4. モデル化合物の反応2

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計1件)

- ① Y. Matsushita, T. Inomata, Y. Takagi, T. Hasegawa, K. Fukushima: Conversion of sulfuric acid lignin generated during bioethanol production from lignocellulosic materials into polyesters with ϵ -caprolactone. *Journal of Wood Science*, 査読有, 57(3), 214-218 (2011).

〔学会発表〕 (計4件)

- ① Y. Matsushita, T. Inomata, Y. Takagi, T. Hasegawa, K. Fukushima: Conversion of sulfuric acid lignin generated during bioethanol production from lignocellulosic materials into polyesters with ϵ -caprolactone. *International Symposium on Ecotopia Science '11*, December 9-11, 2011, Nagoya, Japan
- ② 松下泰幸, 猪又豊生, 高木康雄, 長谷川達也, 福島和彦: 硫酸リグニンを原料としたポリエステル合成, 第77回紙パルプ研究発表会, 2010年6月
- ③ 高本典弘, 松下泰幸, 長谷川達也, 福島和彦: 水熱反応により水溶化した硫酸リグニンの構造に関する研究, 第60回日本木材学

会，2010年3月

- ④松下泰幸，猪又豊生，高木康雄，長谷川達也，福島和彦：硫酸リグニンを原料にしたポリエステル合成，第54回リグニン討論会 2009年10月

6. 研究組織

(1) 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