

樹皮リグニンの構造特性と土壌中リグニン機能化機構の解明

新潟大学農学部 三亀啓吾

【研究背景・目的】

樹皮の一部は古くからバーク堆肥として利用されており、土壌改良剤としての有用性が知られている。樹皮にはリグニンやタンニンが豊富に含まれており、特にタンニンは古くから金属やタンパク質の吸着能が知られている。この機能は、土壌改良効果に寄与していると考えられる。近年では樹皮ポリフェノールによる金属イオンのキレート作用や、リグニンを土に混ぜることで団粒化効果があることも報告されている。しかし、樹皮による土壌改良効果に寄与する具体的な化学成分およびその作用機構については、未だ不明である。従来のリグニン単離法においては、樹皮リグニンが縮合型タンニンと複合体を形成する可能性が指摘されており、これによりリグニンおよび高分子タンニンそれぞれの構造特性および機能の解明が困難となっている。したがって、樹皮リグニンと高分子タンニンを分離して構造的特性を明らかにすることは、今後の樹皮資源の有効利用に向けた重要な課題である。

カラマツ樹皮の酸化銅分解においてカテコール型の分解物が多く確認でき、樹皮にはタンニン成分が多いことが示唆されたが、リグニン由来の可能性も考えられる。タンニンとリグニンを分離するため、樹皮をアセトンで抽出し、低分子タンニン等を除去したのち相分離処理を行うこととした。相分離処理過程でリグニンは α -エーテルの開裂により低分子化するが、タンニンの単位間結合は開裂しなければタンニンはアセトン不溶のままであることから両者の分離が可能である(Fig. 1)。

72%硫酸系相分離処理で予備検討を行ったところ、プロアントシアニジンの部分的な低分子化が確認され、72%硫酸系ではリグノフェノール(LP)区分へのタンニン分解物の移行が考えられた。

そこで、本研究では、マイルドな酸条件であり、親水性のリグニンに向いているリン酸を用いて、タンニンが構造変化しない相分離系変換の条件を検討し、分離したリグニンおよびタンニンの構造解析を行った。

【樹皮ポリフェノールの分離】

カラマツ樹皮を硫酸系およびリン酸系相分離変換を行った結果、リグノフェノールの収率は、硫酸法で原料あたり 11.9%、Klason リグニン量あたり 21.9%に対し、リン酸法で得られたリグノフェノールの

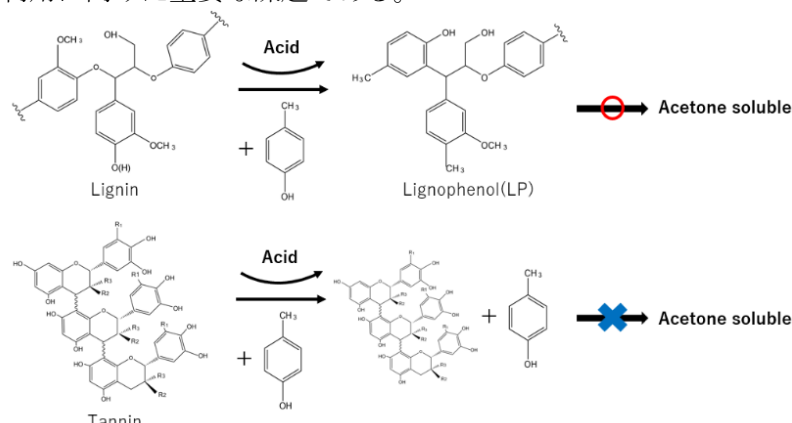


Fig.1 Structural changes of Lignin and Tannin in the phase separation system

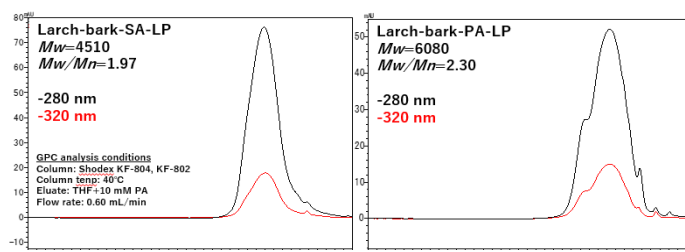


Fig 2 GPC analysis of SA-LP and PA-LP of larch/bark

収率は、原料あたり 25.4%, Klason リグニン量あたり 46.6%とリン酸法では収率が大幅に向上した。

硫酸法とリン酸法の LP(それぞれ SA-LP , PA-LP)の GPC 分析を行った結果(Fig.2), リン酸系では高分子画分も分離でき、硫酸法 LP の重量平均分子量は 4510, リン酸法 LP では 6080 となった。リン酸法では酸による樹皮リグニン分解が抑制された。また、フラバンジェノールとブドウ種子皮プロアントシアニジンを同条件で相分離処理したところ、低分子化が抑制されていることが確認され、樹皮リグニンのみがアセトン可溶となり、選択的に分離されていることが確認された。

【樹皮ポリフェノールの構造特性】

リン酸法で分離したカラマツ樹皮のLPを用いてアルカリ分解を行った。LPをアルカリ処理を行うとリグニン主要単位間結合 β -O-4が開裂し低分子化する。材LPは $M_w=9250 \rightarrow 1360$, 樹皮LPは $M_w=6080 \rightarrow 1670$ となった。LC/MS分析で β -O-4連続構造から生成するアリールクマランの生成が確認され(Fig.3), 樹皮LPが β -O-4型を中心とするリグニンであることが確認された。しかしその量は材LPと比べ樹皮LPは少なく, β -O-4結合構造は材リグニンに比べて低いことが確認された。

また、得られたLPをフォーリンチオカルト法によって水酸基定量した結果(Fig.4), 材リグニンと比較して樹皮リグニンはフェノール性水酸基量が多いことが分かった。

一方、樹皮タンニンが含まれる相分離系変換でのアセトン抽出残渣を用いてフロログルシノール塩酸法を行ったところ、アセトン抽出残渣中にもカテキンタイプフロログルシノール付加体が含まれていることが確認され(Fig.5), アセトン不溶区分にタンニンが分離されていることが示された。

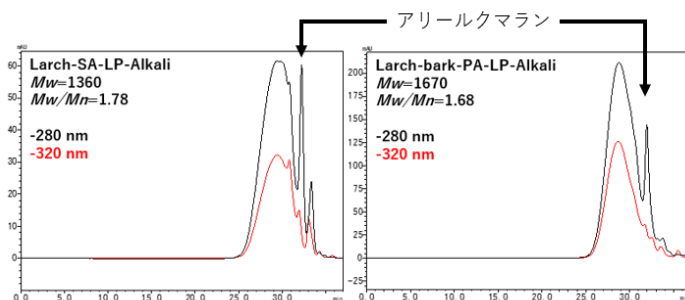


Fig.3 GPC analysis of LP-Alkali of larch wood and bark

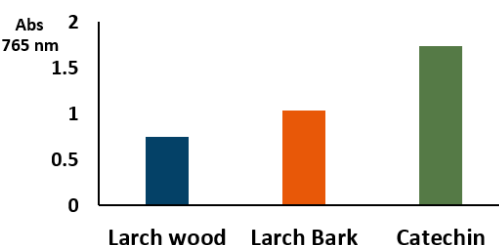


Fig.4 Folin-Ciocalteu Analysis of Hydroxyl Groups in Bark and Wood LP

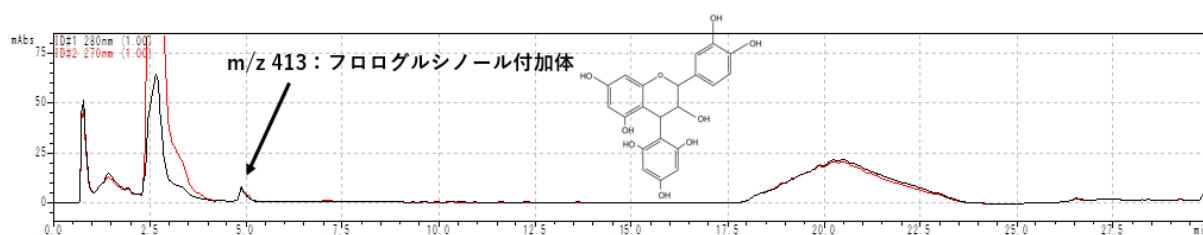


Fig.5 LC-MS of Phloroglucinolysis Products from Bark Acetone-Insoluble Residue

【まとめと展望】

以上、本研究では相分離系変換法で酸触媒にリン酸を用いることにより、樹皮リグニンの選択的分離を達成した。また、本手法により得られた樹皮LPの構造解析を行ったところ、樹皮リグニンは材リグニンと比較して β -O-4 構造の含有量が少なく、フェノール性水酸基含有量が高いという特徴を有することが明らかとなった。今後、選択的に分離された樹皮リグニンの詳細な構造特性をさらに解明し、機能特性との相関を解明することで、樹皮リグニンの土壌中での機能の解明および高付加価値利用への展開が期待される。