

藤森科学技術振興財団
研究実施概要報告書

(西暦) 2022年 5月 24日

公益財団法人藤森科学技術振興財団
理事長 藤森 明彦 殿

藤森科学技術振興財団の助成金による研究が終了しましたので、下記のとおり報告をいたします。

所属機関 東京大学

職 名 助教

氏 名 小南 友里



【提出書類】

(1) 研究実施概要報告書 (本紙)

添付書類 (A4 版 3 枚以内) : 研究状況を示す写真等の資料

(2) 収支報告書

添付書類 : 助成金を充当した経費の領収書

領収書を添付しない場合 : 支払一覧表と支払部門担当者確認署名

⑤

(1) テーマ

※スペースが足りない場合は、枠を追加いただいて構いません。

低利用バイオポリマー・リグニンの有効利用法に関する研究

(2) 本研究の期間

(西暦) 2021年4月～ 2022年3月

(3) 本研究の目的

穀類糠など植物性素材には、デンプン、セルロースおよびリグニンなどの炭素化合物素材が豊富に含まれ、その地球上に存在する資源量は膨大である。このうち前者の二つの素材については、糖化・発酵によるエタノール製造への利用が可能になりつつある。しかしながら、リグニンはフェノール性のポリマーであり、糖化・発酵によるエタノール製造への転用は不可能である。そのため、リグニンのほとんどは焼却によるサーマルリサイクルが行われている。本研究では製紙業界や今後さらに盛んになると考えられるバイオエタノール産業で排出されるリグニン資源を利用して、二酸化炭素を共有結合的に結合・固定化する技術を開発するとともに、その結果生じた二酸化炭素固定化リグニンを吸着担体等に有効利用する技術を開発し、低利用資源リグニンの高度有効利用を目指す。

(4) 本研究の概要

リグニンはヒドロキシ桂皮酸類が多量体化したもので複雑な構造を有する。フェノール骨格を有する化合物の場合、以下のような簡単な有機反応によって CO_2 分子を分子内に取り込むことが知られており、サリチル酸の合成などで用いられている(図 1)。

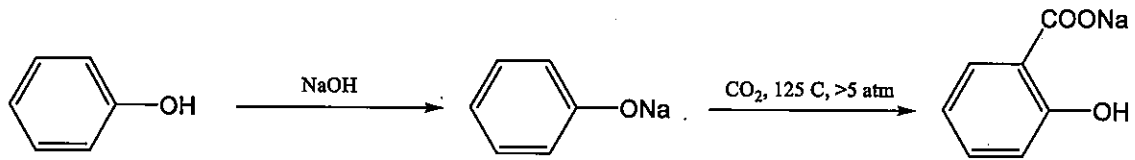


図 1 フェノールからのサリチル酸合成経路

本反応では、フェノールと水酸化ナトリウムを反応させてナトリウムフェノレートとし、これに二酸化炭素を加えて 5 気圧程度の比較的低い圧力下、 125°C と温和な条件で反応させて 1 分子のフェノールあたり 1 分子の CO_2 を固定する。上述したようにリグニンはフェノール骨格を有するヒドロキシ桂皮酸の多量体であることから、同様な官能基が豊富に含まれる。そこで、このフェノール基をターゲットとして CO_2 の固定を目指した(図 2)。

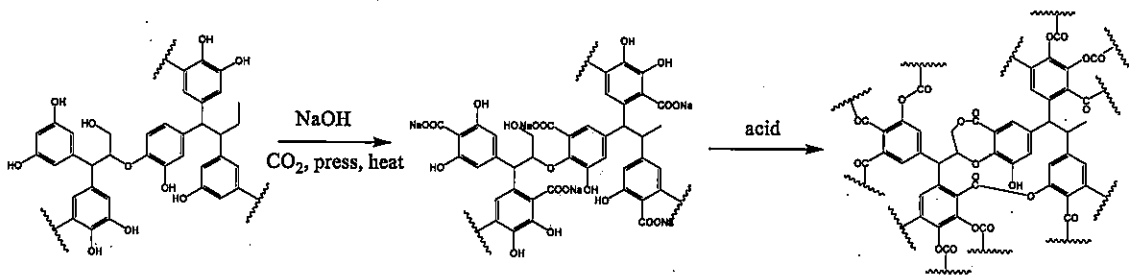


図 2 リグニンへの CO_2 固定の原理

また、リグニンの一般構造(図 3)に着目すると、そのフェノール構造が物質との相互作用を有するものと推定される。この性質から、穀類糠をクロマトグラフィー担体および徐放性担体として利用できる可能性を考えた。

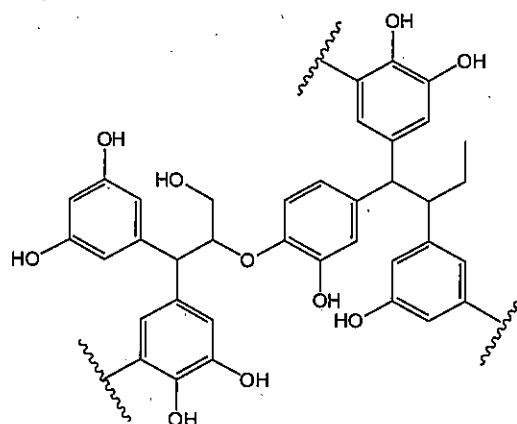


図 3 リグニンの一般構造

本研究では、(1) 小麦糠デンプン糖化残渣および木質粉碎物についての CO_2 固定能評価を行い、さらに (2) 穀類糠のクロマトグラフィー担体としての応用可能性について検討した。

(5) 本研究の内容及び成果

(1) 小麦糠デンプン糖化残渣および木質粉碎物についての CO₂ 固定能評価①小麦糠デンプン糖化残渣による CO₂ 固定

(試料および方法)

デンプン糖化後小麦糠残渣を 5 倍量のクロロホルムメタノール混液にて 10 回洗浄した後、有機溶媒をロータリーエバポレーターにて溜却した。得られた残渣を 1 L の 2 M 水酸化ナトリウム水溶液中に懸濁し、12 時間緩やかに攪拌した。得られた懸濁液をブフナー漏斗にて減圧濾過し、得られた残渣をさらに 1 L の純水で 5 回洗浄した。ろ液の pH を確認し、pH8 以下になったところで次の操作に用いた。

耐圧硝子工業株式会社製ポータブルリアクター (TVS-1 型, 20 ml 容) に上記試料 (約 0.1 g) を入れ、125°C に設定したヒートブロックに設置し、24 時間放置した。冷却後、試料の量を精秤し、再度リアクターに入れた後、レギュレーターを装備した CO₂ ポンベから 0.6 MPa (約 6 気圧) となるように CO₂ を充填した。リアクターを 125°C に設定したヒートブロックに設置し、6 日まで加熱反応を続けた。1 日ごとにリアクターごと冷却し、試料を取り出し、その重量を測定した。当初の値を 100 mg に換算して重量および重量増を評価した。

(結果)

糖化後小麦糠残渣への CO₂ 固定による重量の増加および増加量を図 4 に示す。0.6 MPa CO₂ 雰囲気下、125°C の加熱によって、糖化後小麦残渣は経過時間に伴って増加し、4 日目頃からプラトーに達する様相を示した。また、その増加量は初期増加域で 1 日当たり約 0.1 mg/100 mg 残渣、プラトー時で約 0.25 mg/100 mg 残渣であり、これを換算すると約 23 および 58 μ mol CO₂/g 残渣であった。

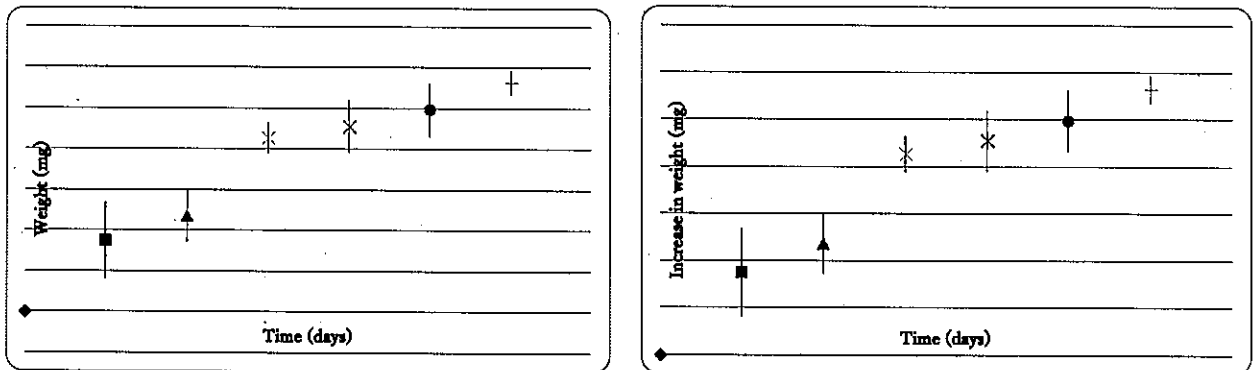


図 4 糖化後小麦糠残渣の重量変化 (左) および重量増加量 (右)

②木質粉碎物による CO₂ 固定

(試料および方法)

市販サクラチップを回転刃式粉碎機で粉碎し、これを 5 倍量のクロロホルムメタノール混液にて 10 回洗浄した後、有機溶媒をロータリーエバポレーターにて溜却した。得られた残渣を 1 L の 2 M 水酸化ナトリウム水溶液中に懸濁し、12 時間緩やかに攪拌した。得られた懸濁液をブフナー漏斗にて減圧濾過し、得られた残渣をさらに 1 L の純水で 5 回洗浄した。ろ液の pH を確認し、pH8 以下になったことを確認して次項の操作に用いた。

ポータブルリアクターに上記試料 (約 1 g) を入れ、125 あるいは 150°C に設定したヒートブロックに設置し、24 時間放置した。冷却後、試料の量を精秤し、再度リアクターに入れた後、レギュレーターを装備した CO₂ ポンベから 1.5 MPa (約 15 気圧) となるように CO₂ を充填した。リアクターを 125 あるいは 150°C に設定したヒートブロックに設置し、15 日間加熱反応させた。3 日ごとにリアクターごと冷却し、試料を取り出し、その重量を測定した。当初の値を 1 g に換算して重量および重量増を評価した。

(結果)

木質チップへのCO₂固定による重量の増加および増加量を図5に示す。1.5 MPa CO₂雰囲気下、125°Cの加熱によって木質チップの重量は3日目まで速やかに増加し、その後漸増し、増加量としてはほぼ0.01 g/gチップで安定した。これを換算すると0.23 mmol CO₂/gチップであった。これをもとに、前項と同様に年間米糠排出量をもとに試算すると、年間5000トンのCO₂を固定することができると思われ、リグニン含量が低いと考えられる小麦糠に比べて4倍程度の固定量が見積もられた。一方、加熱温度を150°Cに設定した場合、試行は1検体のみであるが、木質チップの重量が減少した(図6)。

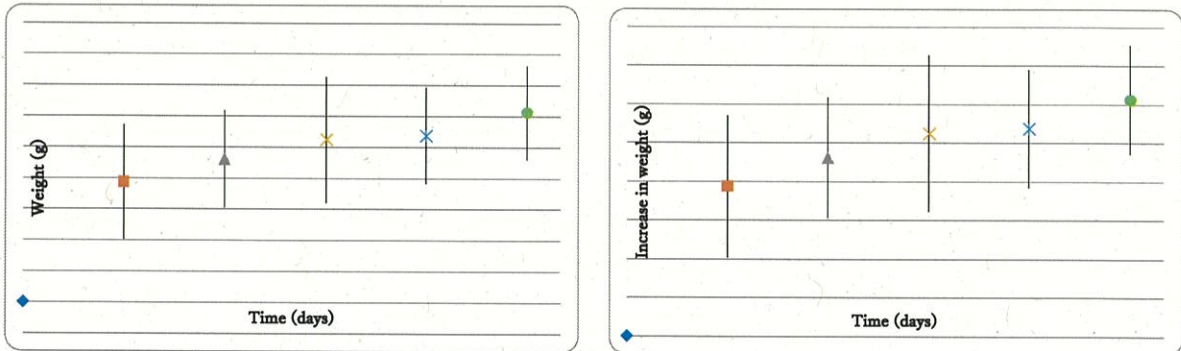


図5 1.5 MPa, 125°Cで処理したサクラチップの重量変化(左)および重量変化量(右)

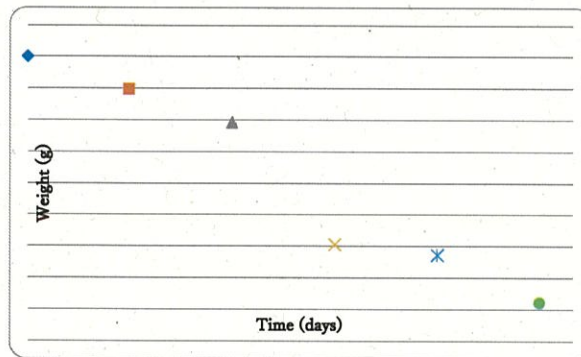


図6 1.5 MPa, 150°Cで処理したサクラチップの重量変化

(2) 穀類糠のクロマトグラフィー担体としての応用可能性

(試料および方法)

米糠を5倍量のヘキサン、ジエチルエーテル、エタノール、水にて順次10回以上洗浄して脂質や水溶性成分を完全に除去した後、110°Cにて24時間乾燥し、ガラスカラム内に充填した。クロロホルムメタノールによって乾燥利尻昆布から抽出した全脂質を重層し、10カラム容のジエチルエーテルを流した。その後、ジエチルエーテル・エタノール混液(98:2)にて溶出される画分をTLCにて検出した。残留ジエチルエーテルの危険性を考慮して残留性の低いヘキサンおよび飲用として使用可能なエタノールの混合溶媒についても検討を加えた。

(結果)

ジエチルエーテル・エタノール系

図7に示すように、脱脂米糠に吸着されたγオリザノールがジエチルエーテル・エタノール混液にて溶出されることが明らかとなった。したがって、脱脂米糠は化学修飾を施すことなく、植物性ステロール、γオリザノール、トコフェロールやクロロフィルなどの比較的極性の高い成分を特異的に吸着することが明らかとなった。

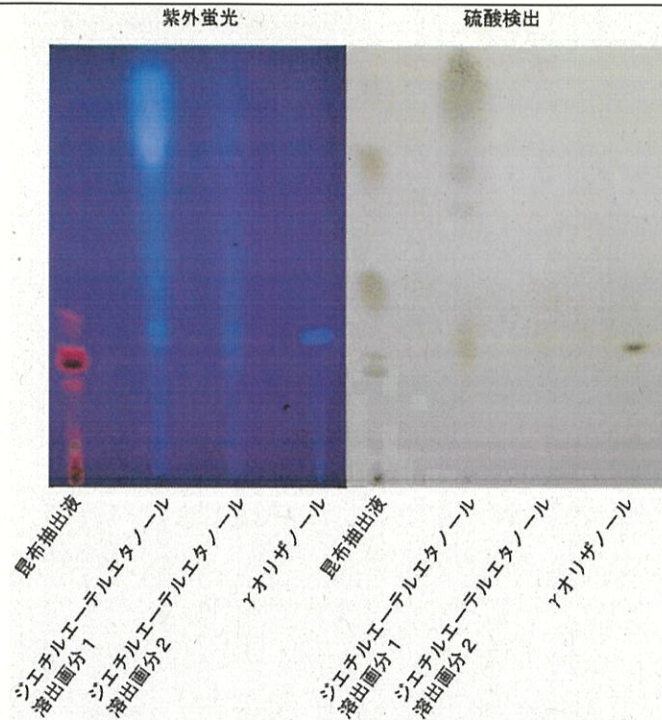


図7 ジエチルエーテル・エタノールにて溶出された画分の紫外蛍光像（左）および硫酸検出像（右）

ヘキサン・エタノール系

図8に示すように、脱脂米糠カラムに吸着したγオリザノールはヘキサン・エタノール混合溶媒（100:1, v/v）によって溶出された。そこで、さらに詳細な溶出パターンを明らかにした（図9）。γオリザノールは脱脂米糠カラムより、ヘキサン・エタノール（100:0.7）で溶出されることが明らかとなった。

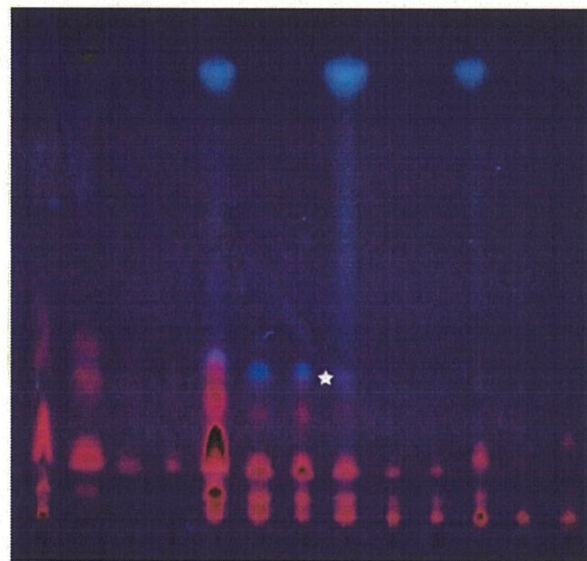
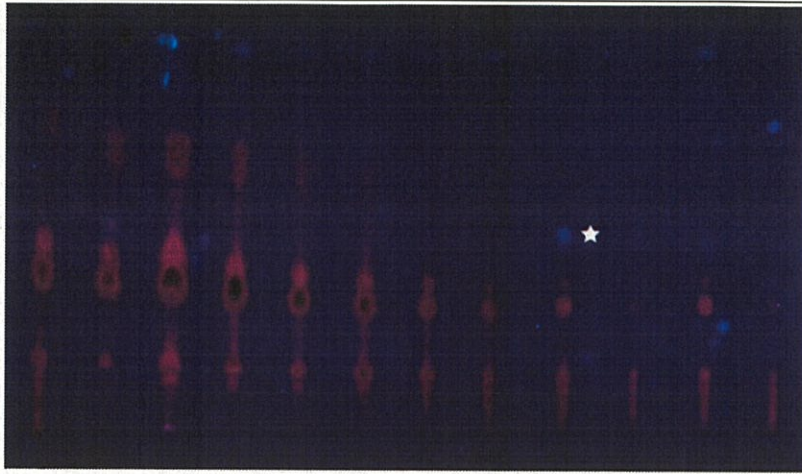


図8 ヘキサン・エタノール混合溶媒によるγオリザノールの分離
★ γオリザノール



| | | | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| サンプル | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | ヘキサン |
| | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1.0 | エタノール |

図9 ヘキサン・エタノール混合溶媒による γ オリザノールの分離

★ γ オリザノール

(6) 本研究の考察

本研究によって、0.6 MPa CO₂雰囲気下、125°Cの加熱によって糖化後小麦糠残渣のCO₂固定によるものと考えられる重量増が観察された(図4)。しかしながら、その固定効果は非常に少ないものであった。この原因として、今回用いた糖化後小麦糠残渣はセルロースを含んでいるだけでなく、糖化操作時の酵素も含有しているものと考えられるため、リグニン由来のフェノール含量が非常に少なかったものと考えられた。この固定量を年間生産量100万トンの米糠にそのまま当てはめると、デンプン糖化後の残渣回収率を50%と仮定して、年間約 2.9×10^7 mol すなわち1300トンと日本の年間CO₂排出量の約100万分の1しか固定できないことになる。そこで、リグニン含量が高い木質粉碎物について検討を加え、リグニンそのもののCO₂固定能力について検討を加えることとした。

木質チップのCO₂固定結果(図5)から、年間5000トンのCO₂を固定することができると算出され、リグニン含量が低いと考えられる小麦糠に比べて4倍程度の固定量が見積もられた。したがって、デンプン、セルロース、ヘミセルロースが完全に糖化された材料を用いることによってそのCO₂固定能力は格段に高まるものと考えられた。

以上のように、リグニン含量の高い材料を用いることによって、CO₂固定能力が高まるものと考えられた。しかしながら、本研究ではリグニン含量を正確に定量していないため、リグニン含量とCO₂固定能力やリグニン重合度とCO₂固定能力との相関を正確に導き出すことはできなかった。今後、詳細な検討が必要であると思われる。

また、本研究では、CO₂固定量を重量増として評価したが、150°C加熱の例に見るように、木質チップの加熱による気化成分の発生が、CO₂重量増を過小評価する原因となっている可能性がある。リグニン中にCO₂が固定され、カルボキシル基が導入されたことを直接的に評価するために、ジブチルカルボジイミド標識などによるX線光電子分析によって定量化が必要であると考えられる。本研究はリグニンによるCO₂固定の基本原則を確認することを目指したものであり、CO₂は純粋なものを使用した。実際のCO₂排出現場ではこのようなことはありえず、混合気体として存在するため、本研究で確認した原理を混合気体へと発展させる必要がある。今後は、窒素、酸素などと混合した場合のリグニンによるCO₂の固定能力についても検討する必要があるものと考えられる。

次に、穀類糠のクロマトグラフィー担体としての応用可能性について検討した。穀類糠のクロマトグラフィー分離担体への適用を試みた結果(図7-9)、脱脂米糠は化学修飾を施すことなく、植物性ステロール、 γ オリザノール、トコフェロールやクロロフィルなどの比較的極性の高い成分を特異的に吸着することが明らかとなった。これを利用してこれらの生理活性物質を脱脂米糠に濃縮することが可能である。また、残留性の低いヘキサンおよび飲用として使用可能なエタノールの混合溶媒を用いても効率的に溶出可能であることが示され、食品添加を目的とした成分分離にも応用できる。

⑤

(7) 共同研究者（所属機関名、役職、氏名）

東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 潮秀樹

(8) 本研究の成果の公表先

[注] この報告書を当財団のホームページ等に掲載します。予めご了承ください。