

リグニンの分解を探る～クエン酸を用いたリグニン分解の最適条件～

熊本県立済々黌高等学校

2年 野田悠晟 緒方航汰 原口翔理 一瀬心温 松永和子 平井利奈 岡山桃花 1年 豊田美咲 小笠原志華

はじめに

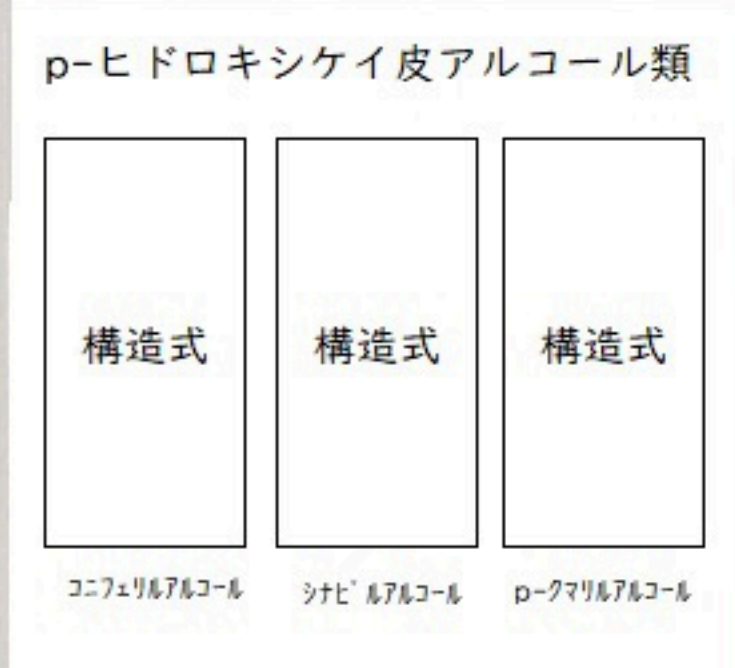
我々は以前、バイオエタノールについての研究を行っており、研究を進めていく中でリグニンについて知った。バイオエタノールの研究段階では、我々は植物から作る方法に目をつけ、贅内で廃棄予定だったチューリップの茎やポピー、古紙などを原料としたバイオエタノールを作ろうと考えた。しかしこれらにはそれ以外の利用価値があったため、他の材料を探していたところ、竹に出会った。そして竹でバイオエタノールを作っていたが、研究においてその硬さが原因で粉碎が困難だった。そこで、硬さについて調べていたところ、リグニンという物質が関係していることが分かった。そこで我々はリグニンに着目して研究を行った。

『リグニン』とは

『リグニン』は、世界で最も多く存在する物質であるといわれている。そのため、近年になって研究が始まり、コンクリートへの添加剤などの結合剤や分散剤として利用されている。植物細胞壁の主成分であり、植物を頑丈なものにするための化合物である。

リグニンの構造式

<参考文献>
http://blog.ac.eng.teu.ac.jp/blog/2015/01/post-97e8.html

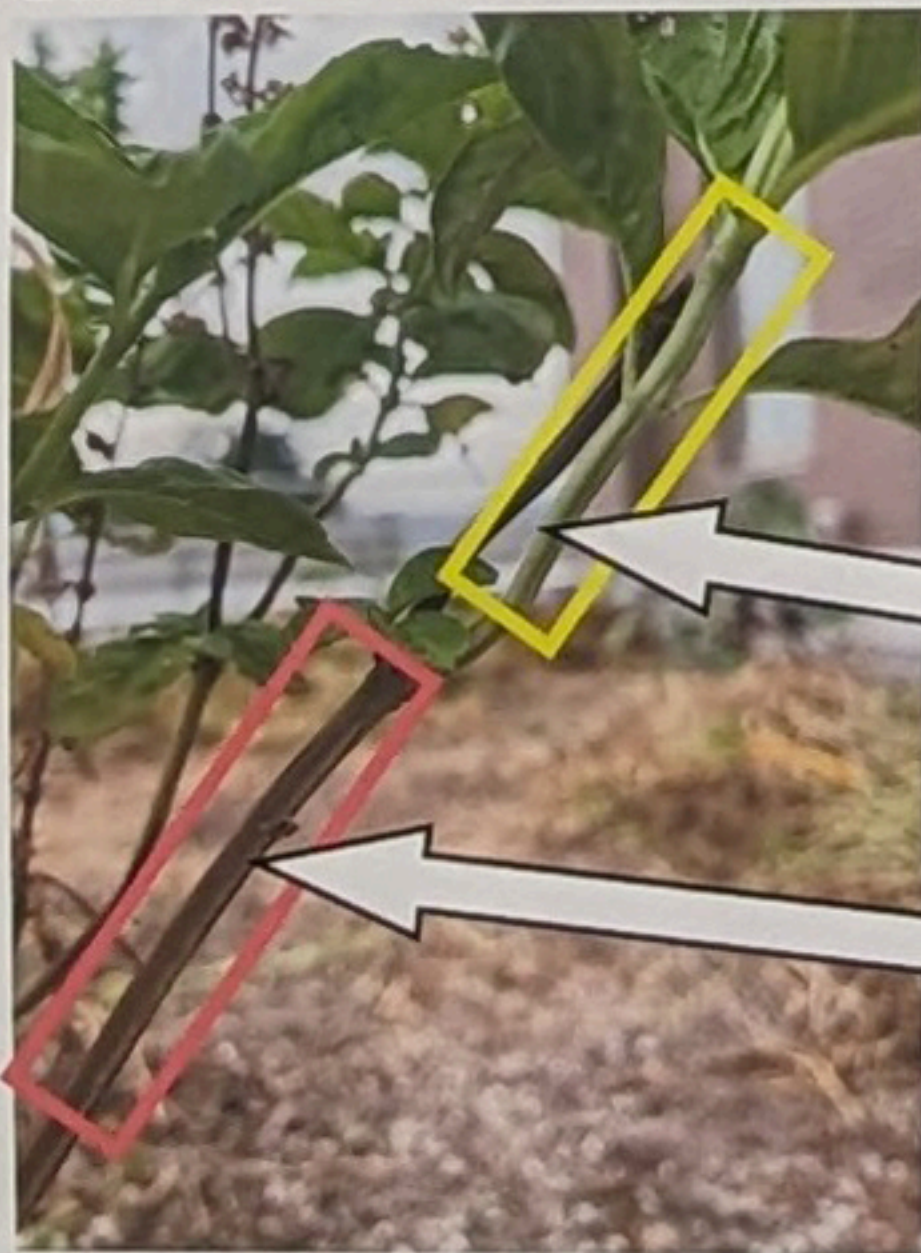


脱水素重合

リグニンの構造式

<参考文献>
http://blog.ac.eng.teu.ac.jp/blog/2015/01/post-97e8.html

参考文献によるとリグニンとはこれらのモノマーが脱水素重合し、この画像のような複雑な構造になっているものをさす。しかし、リグニンとは物質の総称のことを指しているため、植物ごとに構造が異なる。リグニンは植物の骨組みのようなものであるセルロース同士をつなぐ接着剤のような役割を果たしており、植物の木化に関わっている。そのため、成長につれてリグニンが合成されるほど木化が進み硬くなる。



リグニンがあまり合成されていない
＝木化が進んでおらず、硬くない

リグニンが多く合成されている
＝木化が進み、硬い

研究(製作)の目的

従来のリグニン分解法よりも安全かつ簡単に身近な方法の確立をめざす

実験 (バイオエタノールの生成方法)

チューリップ、ポピー、古紙を原料として、以下の方法でエタノールを生成する。

まずサンプル作成にあたり、反応する表面積を増やすため、フードプロセッサーを用いて材料を粉末状になるまで粉碎して7.5mol/Lの H_2SO_4 (硫酸)20mLを加え、セルロースを加水分解して、グルコースにする。



その反応を早めるため、約80℃の温水で45分間湯煎した後、NaOH(水酸化ナトリウム)を用いて、酵母が活動できるpHであるpH5～6に中和する。そのサンプルに、グルコースを分解する酵母を持つ塩麹10gとドライイースト3gを加え、温度が一定の暗室で1週間発酵させる。この段階で、グルコースが CO_2 (二酸化炭素)と $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (エタノール)に分解されている。次に、発酵させたサンプルをろ過し蒸留(図1)した液体に火のついたマッチを近づけ、着火したためエタノールが得られたと考えられる。しかし、冒頭にも示したように、チューリップは翌年も花をつけ、ポピーは季節性があるため年間通してエタノールを生成することが難しい。また、古紙は、企業がすでに工業化している。そのため、他に何か適した植物はないか考えた。

竹に着目

そこで私たちは身近に豊富にあり、近年早すぎる成長によって近隣集落などへの侵食などが問題となっている竹に目をつけた。また、竹は一年中通しての採取が可能であることから、材料として最適なのではないかと考えた。しかし竹は硬く粉碎しにくいというデメリットがあった。そこで硬さの原因を調べたところ、硬さの原因は「多量のリグニン」だった。

リグニンの分解

リグニンの構造の模式図

←細胞壁

文献を調査しているとリグニンとセルロースとの関係を知った。
右の画像のようにセルロースの上にリグニンがあり、セルロースを分解することがむずかしくなっている。
(植物は基本ヘミセルロースとセルロースが7割リグニン3割で構成される)

更に調査を進めるとリグニンを分解するために高温高压下で処理する。または、硫酸を使用し、分解させるという2つの方法が用いられているという事がわかった。しかし、高温高压による分解では危険で、リグニンとともにセルロースも流れ出てしまうため、今回は硫酸による分解を試みた。

実験① [硫酸を用いたバイオエタノール生成]

竹を材料としたバイオエタノールの生成のために、学校近くの竹林から竹を採取した。その後、予備実験と同様に、エタノール生成を行った。

参考文献

クエン酸を用いたタケの成分分離について <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010892965.pdf>
ウキタサで作るバイオ燃料 <https://school.gifu-noted.jp/ena-hs/ssh/H28ssh/sc2/21643.pdf>
脱リグニン処理が木質バイオマスの酵素糖化に与える影響 https://www.jstage.jst.go.jp/article/jiebiomassronbun/12/0/12_161/pdf/-char/ja
バイオエタノールの生成 <https://school.gifu-net.ed.jp/ena-hs/ssh/H29ssh/sc2/21735.pdf>
木材成分の化学を考える https://www.jstage.jst.go.jp/article/jtappij/67/10/67_1131/pdf
リグニンの研究、これまでの流れと今後への期待—寄稿— https://www.jstage.jst.go.jp/article/jisenorms/98/3/96_325/pdf/-char/ja

結果① [硫酸を用いたバイオエタノール生成から見えてきた課題]

生成した液体に火がついたことから竹からのバイオエタノールの生成に成功していると考えた。しかし硫酸による分解は硫酸自体が劇薬であり危険かつ硫酸の濃度を誤ると竹を炭化させてしまうため、**酸の代替を検討した**。

考察 [酸の検討]

代替案として学校にあった硝酸や塩酸、酢酸を検討した。しかし、硝酸、塩酸は硫酸と同様に強酸なため危険であると判断し、酢酸は特有の匂いを発してしまうためこれらの酸は実験に向いていないと判断した。そこで、比較的**安全**で、**身近**であり、**竹を炭化させない**クエン酸を使用することにした。クエン酸を選んだ理由は「安全にリグニンを分解してエタノールを作ること」ができると考えたからである。

実験② [クエン酸を用いたバイオエタノール生成]

7.5mol/Lの H_2SO_4 (硫酸)20mLを3.0mol/Lの $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ (クエン酸)に置き換えて実験①と同様の実験を行う。また、先ほどの実験と同じ温度である80度で加熱をおこなったところ、うまく行かなかったため今回の実験では100度で加熱した。

結果 [クエン酸による分解]

液体に火がついたことからエタノールが生成できたとわかる。



クエン酸に代替した状態でもエタノール生成ができたことから、リグニンを分解できたと考えられる。

考察 [クエン酸で分解できる理由]

1つ目の考察

フェノールの構造とクエン酸が反応し、弱酸の遊離によって分解できたのではないかと考えた。

2つ目の考察

エーテル結合が H^+ により加水分解したのではないかと考えた。しかし竹のリグニンの構造がわかっていないためこれはあくまで考察である。

リグニンの構造式

参考文献におけるクエン酸によるリグニン除去法

参考文献では、クエン酸におけるリグニン除去法として右のような手法を行っており、水分除去をした上で、110℃～170℃の電気炉で180分間加熱するという操作を行っている。

竹をクエン酸水溶液に浸す
攪拌し、オイルバスで水分除去する
110℃～170℃ (180分) にした電気炉で加熱
大量の熱水で洗浄、ろ過

考察 [クエン酸による分解]

前項で述べたように、参考文献では水分除去に加えて、高温で操作する必要があったが、私達は水分除去という手法を行わずに、100℃の加熱だけでバイオエタノールを生成でき、リグニンを分解することができたとも考えられる。

なぜ110℃まで加熱しなくてもリグニンを分解できたのか



実験の手法が関係していると考えた



滴定での収量測定で実験の手法によるリグニン分解量の変化を確認

実験③ [加熱時間での比較とその滴定]

加熱時間を15分、30分、45分に変更し、実験②と同様の実験を行う。ただし、火が付くというだけではエタノールの収量が明確ではないため、滴定によってエタノールの収量を求めることにする(図2)。滴定は以下に行う。まず、得られたエタノール10mLを硫酸酸性にするため、3.0mol/Lの H_2SO_4 (硫酸)を3mL加える。その後、0.25mol/Lの KMnO_4 (過マンガン酸カリウム)を少しずつ滴下し、色が消えなくなったところで滴定終了とする。

結果

右下の図は加熱時間によるエタノールの収量の差である。15分、30分では測定できないほどに極微量であったが、**45分のみ収量が10.3gと急増した**。

15分	30分	45分
極微量	極微量	10.3g

考察 [45分後に急増した理由]

植物は、リグニンがセルロースを取り囲むような構造になっている。長く加熱するほど分解が奥まで進んで行くので、45分でセルロースまで到達し、リグニンが分解できたと考えた。

15分後

30分後

45分後

リグニンの構造の模式図

<参考文献>
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jtappij/67/10/67_1131/_pdf

45分で収量が増加



30分から45分の間でリグニン分解量が増えると考えられる

結論

私達のクエン酸を使用したリグニンの分解は文献とは異なり、100℃45分程度の加熱によって分解が進むと考えられる。

成果

身近なクエン酸を使用して安全にリグニンを分解することができた。文献では水分除去をし、110℃から170℃に加熱しないとリグニンを分解できなかったが、100℃45分程度の加熱時間という、より簡単な条件で分解できることがわかった。また、電気炉を使用する必要がないことから従来の手法より簡略化できたといえる。

今後の展望

・学校の近くに生えている竹のみでしか実験できなかったため、**竹の生息場所**によるリグニン量の違いや、**クエン酸の濃度**とリグニン分解との関係について研究を進める
・リグニンは地球上で最も豊富に存在する有機物であり、自由にリグニンを操作できれば非常に役に立つと考えられるため、分解したリグニンについても活用法を探す