

リグニンの過マンガン酸カリウム酸化 (3)

誌名	東京農工大学農学部演習林報告 = Bulletin of the Experiment Forests, Tokyo University of Agriculture and Technology
ISSN	03719936
著者	諸星, 紀幸
巻/号	17号
掲載ページ	p. 43-48
発行年月	1981年1月

リグニンの過マンガン酸カリウム酸化 (第3報)^{*1}

ゲルろ過法によるオリゴマー及び高分子酸化分解物の解析

諸 星 紀 幸^{*2}

Permanganate Oxidation of Lignin (III)^{*1}

Analyses of the oligomer and high polymer fractions of
oxidation products by gel filtration

Noriyuki MOROHOSHI^{*2}

目 次

1. 緒 言	43
2. 実 験	43
2.1 リグニン試料の調製	
2.2 酸化分解法	
2.3 ゲルろ過法による分析	
2.4 単離フラクションの化学分析	
2.4.1 元素分析	
2.4.2 紫外線吸収スペクトル	
2.4.3 赤外線吸収スペクトル	
2.4.4 核磁気共鳴スペクトル	
3. 結果と考察	44
3.1 酸化分解物のゲルろ過的挙動	
3.2 各分解物フラクションの化学分析	
3.2.1 紫外線吸収スペクトルによる分析	
3.2.2 赤外線吸収スペクトルによる分析	
3.2.3 核磁気共鳴スペクトルによる分析	
3.2.4 元素分析	
4. 結 論	48
5. 引用文献	48
6. Summary	48

1. 緒 言

前報^{1,2}に引き続き、過マンガン酸カリ酸化分解法を適切に改良し、新たに分析項目を加えて、いかに精度高くリグニン化学構造分析に応用して行くかということがこの研究の本題である。

従来までの Miksche ら³⁾による分解法の改良、前酸化分解法²⁾及び検出法の検討⁴⁾などを経て得た結果によれば、リグニン酸化分解物中、ガスクロマトグラフィー分析可能な分解物はほぼリグニン 100 mg 当り 40~45 mg である。この時、もしガスクロマトグラフィーのデータだけを用いてリグニンの全体分析を行う場合、ほぼリグニン全体の 1/3 のデータで全体を分析することになる。以前、Miksche ら^{4),5)}によって単離された 3 量体、4 量体分解物などに示されるように、酸化分解物のオリゴマー及び高分子フラクションも存在するはずである。そこで、従来構造分析に考慮されて来なかったオリゴマー及び高分子分解物の情報を組み入れ、従来より確度の高い分析法を確立すべく、オリゴマー及び高分子フラクションを分別し、種々の性質を明らかにしようとするものである。

2. 実 験

2.1 リグニン試料の調製

使用試験体樹種は Loblolly Pine, Red Alder, Ezo-matsu の 3 種で、それぞれ MWL を調製してリグニン試料とした。又、MWL の調製法についての詳細は前報¹⁾にて報告した。

2.2 酸化分解法

Miksche らの方法を応用して行い、操作法についての詳細は、前報²⁾にて報告した。

2.3 ゲルろ過法による分析

使用カラムは Sephadex LH-20, 長さ 1.2 m, 直径

*1 Received Sep. 12, 1980.

*2 林産学科木材化学工学研究室: Laboratory of Wood Chemical Technology, Department of Forest Products.

3.5 cm であり、溶媒は蒸留 DMF、検出器は UV 光 280 nm が用いられた。

フラクションの分別、単離の操作としてはカラムにフラクションコレクターを接続し、溶出量 5 g ずつ分取し、それぞれについて UV 吸収 (280 nm) 量を測定した。溶出曲線を作図した後、各フラクションに分別した。

2.4 単離フラクションの化学分析

2.4.1 元素分析

使用装置は Model 240 Elemental Analyzer (Perkin-Elmer) である。

2.4.2 紫外線吸収スペクトル

使用装置は島津ダブルビーム UV-300 型であり、測定溶媒はジオキサンである。

2.4.3 赤外線吸収スペクトル

使用装置は島津 IR 270G 型分光光度計であり、各試料は KBr 錠剤法にて試料体に調製、分析された。

2.4.4 核磁気共鳴スペクトル

測定装置は JNN-FX 100 (日本電子) である。測定溶媒は重水素クロロホルム、内部標準としてはテトラメチルシランが用いられた。

3. 結果と考察

3.1 酸化分解物のゲルろ過的挙動

酸化分解物をリグニンの構造分析に用いる場合、実験的誤差を少なくするため操作手順は短く、そして操作は簡単なほど良い。このような観点からすれば、遊離の酸化分解物そのものを分析対象に出来れば、より好都合である。従って、Sephadex LH-20 のカラムを用いて酸

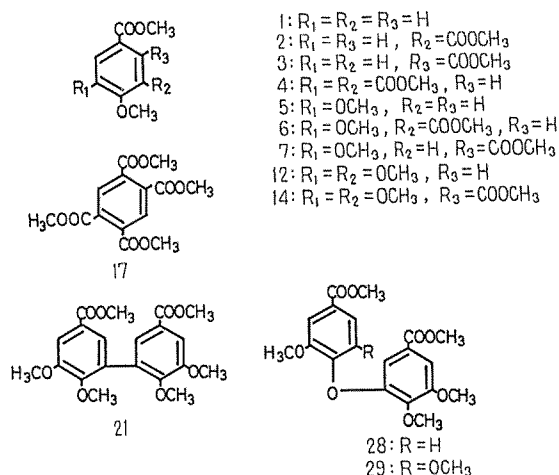


Fig. 1. Chemical structure of permanganate oxidation products.

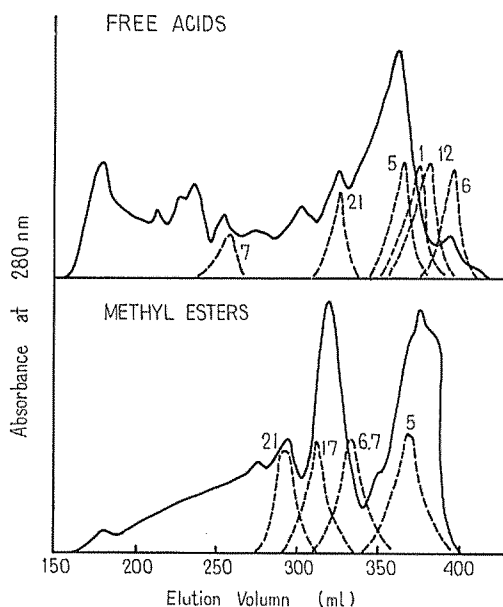


Fig. 2. Gel filtration chromatograms of permanganate oxidation products of Loblolly Pine MWL.

化分解物を分析する場合、遊離酸の場合とメチルエステル化物とでは、どのような異った特性を示すか検討するために実験を行い、Fig. 2 の結果を得た。これより酸化分解物の遊離酸の場合、メチルエステル化物のクロマトグラムに比べて多くのピークを有し、分解物間の分離能については優れているように思われる。しかし、モデル化合物のクロマトグラムでは、遊離酸の場合ゲルろ過法の一つの特徴である分子量別によるふるい効果よりも、カルボン酸に代表される極性基の吸着現象が、より大きな効果を発揮しているものと考えられる。逆に、メチルエステルのモデル化合物の場合、極性基がメチル基により塞がれているためか、分子量分別の効果は大きいようである。このような結果は以前、カルボン酸類を有しないリグニンモデル化合物で Connors ら⁹⁾により、ほぼ直線的に分子量分別が可能であることが示されている。

次に、分別されたメチルエステル物の溶出量と分子量との間に相関関係があるかどうかを調べるため、Fig. 3 の結果を得た。これより、メチルエステルモデル化合物の溶出量は対数目盛に目盛った分子量との関係で直線上に位置し、今回のゲルろ過法が分子量分別という観点から、酸化分解メチルエステル物に対して非常に良い分離を示していることが判明した。従って、図中に表示した如く、1-MER から +6-MER フラクションまでの 6 フ

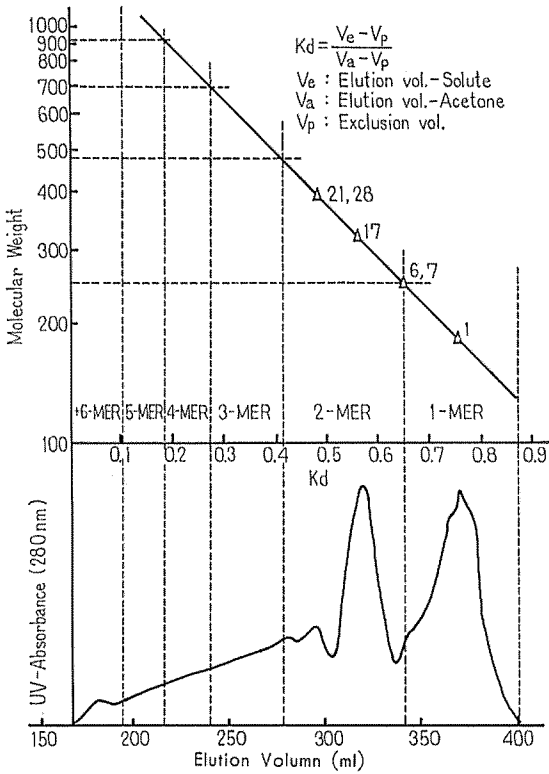


Fig. 3. Gel filtration chromatogram of a permanganate oxidation product mixture and its interpretation in terms of molecular weight distribution data.

ラクシオンに分別した。これらはモノマーからペンタマー以上の分子量のリグニン酸化分解物に相当するものである。次に、6フラクションを単離するためにフラクションコレクターを用いて分別し、これらのフラクションの精製は減圧濃縮後、同じカラムで分別を2回繰返した。この際、各フラクションそれぞれ一つのピークを有するようにピークの前後をカットして精製した。

3.2 各分解物フラクションの化学分析

3.2.1 紫外線吸収スペクトルによる分析

以下の結果はエゾマツ材 MWL を用いて得られたものであるが、各フラクションの UV スペクトル的特性を検討するため、Fig. 4 を得た。合せて比較、検討のため酸化分解物モデル化合物のスペクトル図も Fig. 4 に示す。一般的に、リグニンの UV スペクトル曲線の特徴は、250~270 nm にかけての谷が縮合構造型の割合が多くなるに従って浅くなり、核縮合構造の代表であるピフェニールタイプは長波長側に波形をシフトし、そして分子吸光係数は小さいという特徴がある。このことは

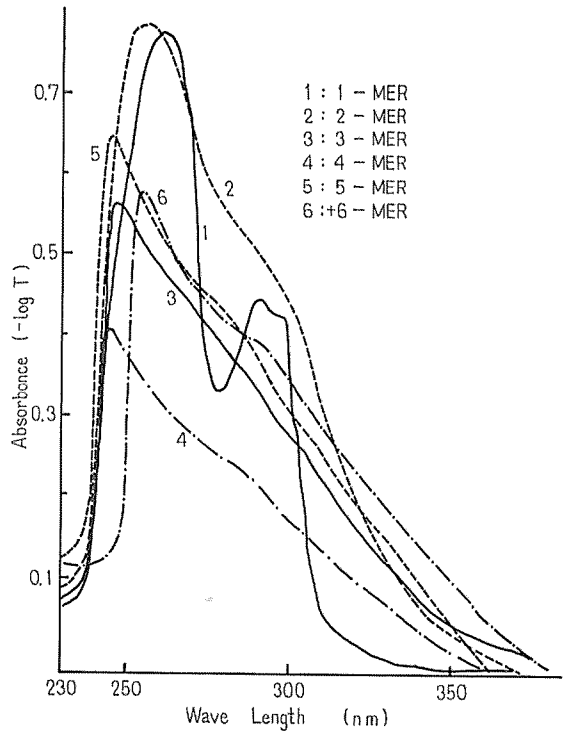


Fig. 4. UV-Spectra of 1-MER — +6-MER fractions.

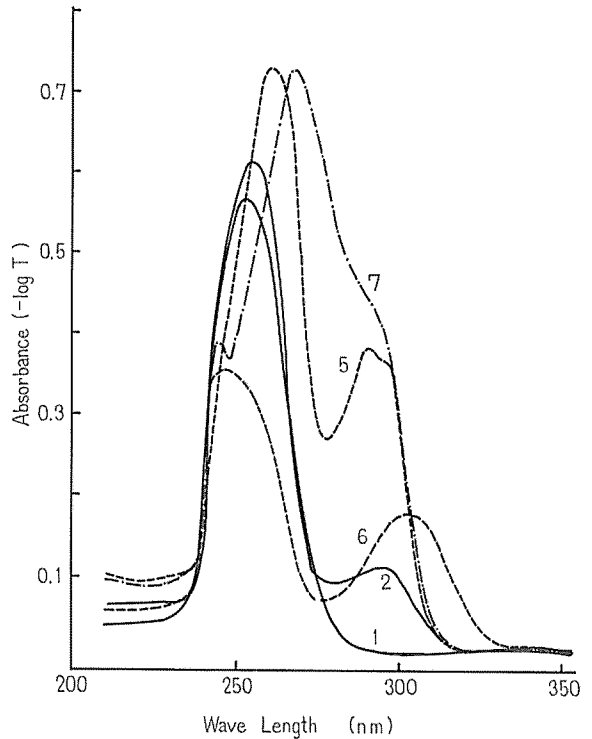


Fig. 5. UV-Spectra of model compounds.

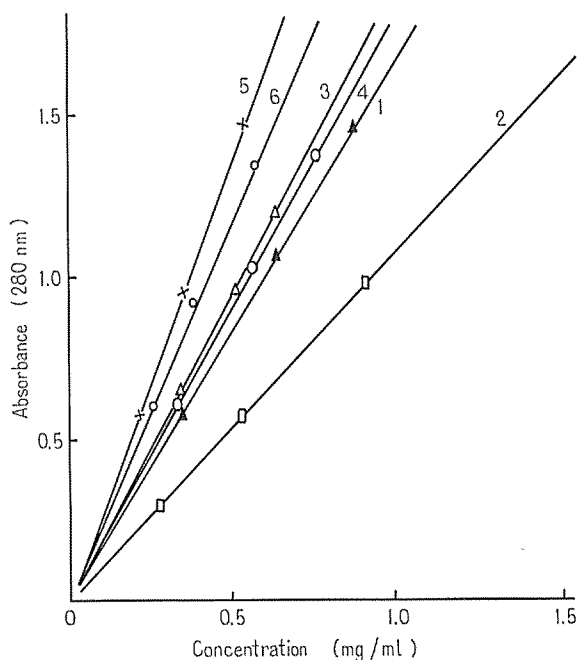


Fig. 6. Absorbance (280 nm) vs. concentration in 1-MER — +6-MER fractions (1: 1-MER, 2: 2-MER, 3: 3-MER, 4: 4-MER, 5: 5-MER, 6: 6-MER).

酸化分解物のオリゴマー、高分子フラクションが仮定され得る核縮合主体の構造形態を取れば、恐らく特徴的な吸収ピークを有するような曲線を得ることは期待出来ないであろう。このような意味で、Fig. 5 に示された 2-MER から +6-MER フラクションの挙動は理解出来るものであるし、これら 5 フラクションは、UV スペクトル的には類似の構造を有することもわかる。

1-MER フラクション (Fig. 4) はベラトルム酸メチルエステル (II) (Fig. 5) と非常に類似した曲線を有し、1-MER での主要生成物は II であることを示している。

次に、各フラクションの 280 nm に於ける吸光度と濃度の関係を調べた結果が Fig. 6 である。これより、各フラクションの傾きにかなりの差が

あることが判明した。結局、1-MER から +6-MER までのフラクションでは、吸光係数にかなりの相違があることを示す。従って、280 nm の吸収を利用して収量を推定する場合、Fig. 6 の直線の傾きから算出されたファクター (Table 1) を考慮すれば、さらに正確な結果を得ることが出来るだろう。

Table 1. Relative response factors to 1-MER for determining the yields in 2-MER — +6-MER fractions.

No.	Fraction	Factor
1	1-MER	1.000
2	2-MER	0.635
3	3-MER	1.114
4	4-MER	1.073
5	5-MER	1.659
6	6-MER	1.392

3.2.2 赤外線吸収スペクトルによる分析

一例として +6-MER フラクションのスペクトル図を示すが、2-MER から +6-MER フラクションまでではほぼ同様なパターンを示した。又、1-MER については II のスペクトルに類似した曲線を示す。これらの結果は UV スペクトルの結果と一致するものである。

3.2.3 核磁気共鳴スペクトルによる分析

求められる NMR スペクトルは、芳香族プロトンとメトキシルプロトンを含むかなり単純なものが予想されるが、分析に先立ち、プロトンの帰属の問題を明らかにする必要がある。そこで、9 種のモデル化合物を用いて Table 2 の結果を得た。これより、酸化分解物プロトン

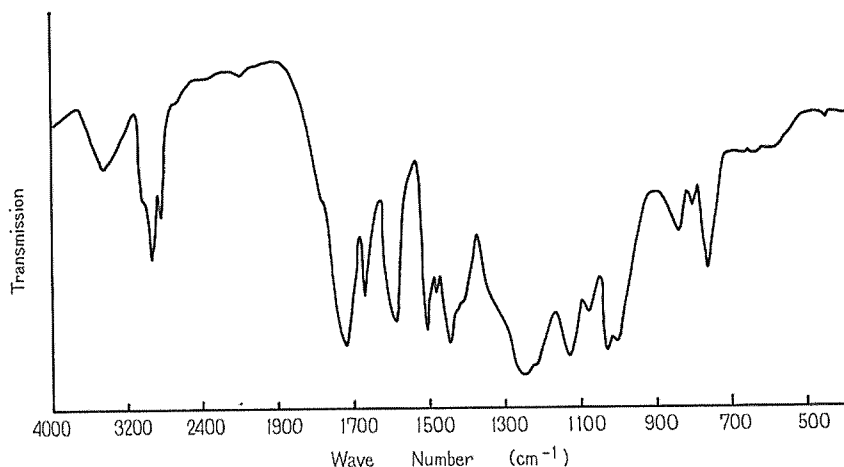


Fig. 7. IR-spectrum of +6-MER fraction.

Table 2. NMR data of model compounds.

Compound No.	τ -value									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		—(d)	—(d)			—(d)				
2		—(d)	—(d)			—(d)				
3		—(d)	—(t)			—(d)				
4	—(s)					—(t)				
5		—(t)	—(d)			—(d)				
6		—(s)—(s)				—(t)				
7			—(s)			—(t)				
12			—(s)			—(s)				
17			—(s)			—(s)				
21		—(m)				—(m)				
28		—(m)	—(m)			—(m)				

Assigned Range	Aromatic				Methoxyl	
	1	2	3	4	5	6

(s): Singlet, (d): Doublet, (t): Triplet, (m): Multiplet

の帰属を推定すると、芳香族プロトンは $1.0\sim 4.0\tau$ 、メトキシルプロトンは $5.6\sim 6.8\tau$ となる。代表例として、Fig. 8 には 1-MER と 4-MER フラクシヨンの NMR

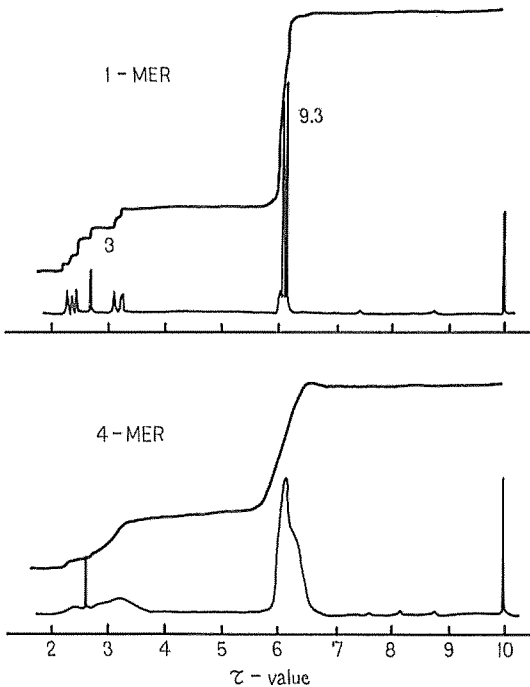


Fig. 8. NMR spectra of 1-MER and 4-MER fractions.

Table 3. Analysis of 1-MER — +6-MER fractions in MWL.

Fraction	Elementary Analysis			Ratio of proton (%)	
	C	H	O	Aromatic H	OCH ₃
1-MER	61.01	6.21	32.78	24.69	75.30
2-MER	62.42	6.64	30.76	23.25	76.70
3-MER	63.01	6.43	30.55	19.06	80.94
4-MER	63.52	6.01	30.47	18.80	81.09
5-MER	64.23	5.73	30.04	16.50	83.50
+6-MER	65.11	5.02	29.87	14.93	85.07

スペクトル図をそれぞれ示すが、1-MER でのピークのパターンは、完全にベラトルム酸メチルエステル (II) のものと同じであった。しかし、プロトン数に対しては若干の相違があるようで、1-MER は少々混合物を含むと言えども、ほとんどベラトルム酸によって構成されていると考えて良い。NMR スペクトルの結果をまとめて Table 3 に示すが、芳香族プロトンの割合に関しては、フラクシヨンの分子量が増大するに従って減少する傾向がある。これは高分子側フラクシヨンが、より多く核縮合構造を持つことを示唆している。

3.3.4 元素分析

元素分析の結果も Table 3 に示すが、炭素含量は高分子側フラクシヨンに移るに従って増大し、逆に酸素含

量は減少する。これは、NMR スペクトルの結果で示唆された核と核による縮合タイプの増大という結果を支持するものとして興味深い。

4. 結 論

以上の結果をまとめると以下の如くなる。

(1) カラム Sephadex LH-20, 展開溶媒 DMF を用いて、リグニン酸化分解物を分子量分別する場合、分解物をメチルエステル化合物にすることにより十分な分別が可能である。

(2) 分別された酸化分解物のオリゴマー、高分子フラクション (2-MER—+6-MER) は、核縮合構造の多い化学構造を有し、UV スペクトル的に類似の構造を有していると推定される。

(3) 各フラクション (1-MER—+6-MER) 間での UV 吸光度と濃度との関係は、かなりの相違があり、特に 280 nm を利用して各フラクションの収量を推定する場合、Table 1 のファクターを考慮する必要がある。

(4) IR スペクトルの結果では、オリゴマー高分子フラクション間 (2-MER—+6-MER) で、特徴的な差は見出されなかった。

(5) NMR スペクトル、元素分析値の結果より、フラクションの分子量が大きいほど、芳香核同士が縮合した構造形をより多く持つという結果を得た。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、種々の援助を賜った Dr. W. Glasser (VPI and SU) に、又、志水一允、山口 彰 両博士 (林業試験場) には元素分析、NMR 分析等で多大の援助を賜ったことに対し、深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 諸星紀幸: 東京農工大学演習林報告, No. 17, 25, 1981.
- 2) 諸星紀幸: 東京農工大学演習林報告, No. 17, 35, 1981.
- 3) M. ERICKSON, S. LARSSON and G. E. MIKSCH: Acta chem. Scand., 27, 903 1973.
- 4) S. LARSON and G. E. MIKSCH: Acta Chem. Scand., 23, 917, 3337, 1969.
- 5) S. LARSON and G. E. MIKSCH: ibid, 25, 647, 673, 1971.
- 6) W. G. CONNORS, L. F. LORENZ and T. K. KIRK: Holzforschung, 32, 106, 1978.

Summary

The results are summarized as follows:

- (1) By means of gel filtration with Sephadex LH-20, molecular weight distributions of degradation products can be determined only with methyl ester derivatives and not with free carboxylic acids.
- (2) According to the UV spectra, it is assumed that the oligomer and high polymer fractions (2-MER—+6-MER) have a similar structure which mainly consists of carbon-carbon bonds among aromatic rings.
- (3) The values obtained by dividing absorbances at 280 nm by concentrations are very different in each fraction. Therefore, the yields of them estimated by use of UV absorbance at 280 nm should be corrected in terms of the factors shown in Table 1.
- (4) IR spectra data of these fractions give no special feature.
- (5) From the results of NMR spectroscopy and elementary analysis, the higher molecular weight fraction has more condensed structure units consisting of carbon-carbon bonds among aromatic rings.