熱分解ガスクロマトグラフィーによる
リグニンの構造解析 (第7報)^{*1}
木材パルプの酸加水分解条件と酸不溶性残さの性状^{*2}

筑波大学農林工学系 大井 洋, 具 延, 黒田健一

**Structural Analysis of Lignin by Pyrolysis-Gas
Chromatography (VII)
Conditions for Acid Hydrolysis of Wood Pulps and
Characteristics of Acid-Insoluble Residues**

Hiroshi Ohi, Yan Ju and Ken-ichi Kuroda
Institute of Agricultural and Forest Engineering, The
University of Tsukuba

具 延

Acid-insoluble lignin can be hardly analyzed by spectroscopy because of the insoluble character in all organic solvents, and hence its chemical characteristics are not sufficiently clarified. To know the lignin content and the carbohydrate composition in pulps and woods, standard methods: JIS, Japan TAPPI, and TAPPI methods have been used, but different conditions for acid hydrolysis are chosen in these methods. It is required that conditions for acid hydrolysis are modified to shorten the time for determining the lignin content and the carbohydrate composition in many samples. To characterize the acid-insoluble residues prepared under various acid-hydrolysis conditions, pyrolysis-gaschromatography (Py-GC) is expected to be effective. In this paper, chemical characteristics of acid-insoluble lignins were discussed using Py-GC in order to find an improved method for determining the lignin content and the carbohydrate composition.

The treatment period of the primary acid hydrolysis with 72% sulfuric acid should be at least 2.5 hours for analyzing lignin and carbohydrate composition in pulps and wood meals. If it is less than 1 hour, acid hydrolysis of cellulose is not sufficient, and in this case, it is indicated by the pyrogram of the acid-insoluble residue that there are some

^{*1} 紙パ技協誌, 51 (8), 1213~1223 (1997) を第6報とする (大井, 黒田2氏は第2報: 紙パ技協誌, 48, 1212 にて紹介)。

^{*2} 本報の一部は, 第46回日本木材学会大会 (1996年4月, 熊本) において発表した。

peaks originating from holocellulose. This pyrogram also shows that the guaiacol peak is higher than the 4-methylguaiacol peak and is quite different from that of the acid insoluble lignin given by the Klason lignin method (the JIS method). Therefore, the J. TAPPI and TAPPI methods for determining the carbohydrate composition should be modified in their periods, which should be at least 2.5 hours. The modified method for carbohydrate composition, the Klason lignin method (the JIS method), and the modified Klason lignin method by Yoshihara give similar results on lignin contents and on pyrograms of the lignin residues in the case of akamatsu (*Pinus densiflora*) wood meals. In the case of akamatsu pulps, the yield of acid insoluble residue by the modified method for carbohydrate composition is slightly lower than the lignin content by the Klason lignin method (the JIS method), but the two methods show similar pyrograms of the lignin residues. It is concluded by the Py-GC results that the modified method for carbohydrate composition can be used for determining the lignin content in many wood and pulp samples.

Keywords : pyrolysis, gas chromatography, acid-insoluble lignin, carbohydrate, acid hydrolysis

1. 緒 言

木材とパルプに含まれるリグニンの定量法として、72%硫酸を用いて炭水化物を加水分解し、リグニンを残さとして定量する方法 (Klason 法) が古くから採用されている。この方法は他の方法より操作が簡単であり、日本、米国、スウェーデンなどの紙パルプ試験法において標準法となっている。各国の定量法は細部の点で異なるが、基本的には試料に濃硫酸 (72%) を加え、20℃で一定時間 (例えば4時間) 放置したのち、水を加えて希硫酸 (3%) にして沸騰処理する。放冷してからガラスフィルターで吸引ろ過し、秤量する。一方、リグニンの一部は加水分解に用いた酸に溶解する。この酸可溶性リグニンは紫外線スペクトル法により、205~210 nm または 280 nm 付近の最大吸収波長の吸光度を測定して間接的に定量される。ここで注意すべきことは、リグニン残さ (クラソンリグニン) の収率および性状は、使用する硫酸の濃度、処理時間、および温度によって影響されることである。濃度が65%以下の硫酸を用いる場合、通常の処理時間では多糖の加水分解が不十分であり、80%以上では多糖がフミン化により部分的に不溶物質となる危険がある。処理時間の不足、あまりに低い温度での処理でも、多糖の加水分解は不十分となるが、一方、長い処理時間や高温での処理でも、多糖由来の物質がリグニンと結合し、異常に高いリグニン量を与えることになる¹⁾。

現在使われている酸不溶性リグニン定量法では、TAPPI 法と JIS 法で72%硫酸による処理 (一次加水分解) 時間が異なっている。TAPPI 法では一次加水

分解は2時間、JIS 法では4時間である。なお、希釈後の3%硫酸による処理 (二次加水分解) は共に4時間である。一方、吉原らは加水分解の条件について詳細に検討し、72%硫酸による一次加水分解は2~24時間、10~25℃の範囲で分析値に差がなく、簡便法としては、3時間、20℃の一次加水分解、硫酸濃度3%、121℃、30分の二次加水分解が適当であることを示した²⁾。しかし、処理条件の違いが酸不溶性残さの性状へ及ぼす影響は明らかにされていない。

また、木材パルプの構成糖分析では一次加水分解の処理を1時間とする場合が多い^{3,4)}。ただし、二次加水分解は、硫酸濃度4%、温度121℃、加温時間1時間で処理される。この一次加水分解の条件については、リグニン定量法と構成糖分析法に相違がある。吉原らの結果に基づくと1時間の処理では酸不溶性残さ収率が大きくなり、多糖の加水分解が不十分であると考えられる。このことから、加水分解の条件をもっと詳細に検討する必要がある。

酸不溶性リグニンは全ての有機溶媒に不溶であり、分光法によって分析することが難しいため、その化学的特徴が十分に明らかにされていない。種々の条件で調製された酸不溶性残さの性状を明らかにするために、熱分解ガスクロマトグラフィー (Py-GC) は有効な方法であると期待される。

そこで本研究では、木材およびパルプに含まれるリグニンと構成糖を簡便に分析するために、その加水分解条件を改良することを試みた。さらに改良法の諸条件を検討するために、Py-GC を用いて酸不溶性残さの性状について調べた。

2. 実 験

2.1 供試材料

アカマツ (*Pinus densiflora*) 材脱脂木粉 (40~60 メッシュ), アカマツホロセルローズ (収率 69.7%), およびアカマツ材チップより調製したパルプ (パルプの蒸解条件, カッパー価等の蒸解結果を表 1 に示す) を用いた。ホルセルローズの調製では, 脱脂木粉を 1 g 精秤して 100 ml 容耐圧瓶にいれ, 蒸留水 60 ml を加えてから亜塩素酸ナトリウム 0.5 g および氷酢酸 0.1 ml を加え, 70~80℃ の湯浴中で時々振りながら 1 時間加熱した。この操作を 5 回行ってから濾別し, アセトンで洗って乾燥した。

2.2 加水分解と酸不溶性残さの定量

酸加水分解は以下の 4 つの方法で行った。

(1) クラーソンリグニン法 (JIS 法)

約 1 g の試料を精秤して 50 ml ビーカーに入れ, 72% 硫酸を 15 ml 加え, 20℃ でガラス棒で時々攪はんしながら 4 時間の処理を行った (一次加水分解)。次に試料の硫酸濃度を 3% に希釈し, 100℃ で時々水を補充しながら 4 時間煮沸した (二次加水分解)。

その後, 一昼夜放置冷却し, JIS 規格の 1 G 3 (柴田製 1 G 4) ガラスフィルターで残さをろ別して洗浄, 乾燥し, 酸不溶性残さの収率を測定した。

(2) 吉 原 法

約 1 g の試料を精秤して 50 ml ビーカーに入れ,

72% 硫酸を 15 ml 加え, 20℃ でガラス棒で時々攪はんしながら 2.5 時間の処理を行った (一次加水分解)。次に試料の硫酸濃度を 3% に希釈し, 平山製作所製オートクレーブ (SV-302 AUTOCLAVE) 内に置き, 121℃ で 30 分間, 加水分解を行った (二次加水分解)。なお, 100℃ から 121℃ に達するまでには 9 分間を要し, 121℃ から 100℃ まで降温するまでに 13 分間を要した。

(3) 構成糖分析法

約 0.3 g の試料を精秤して 20 ml ビーカーに入れ, 72% 硫酸を 3 ml 加え, 30℃ でガラス棒で時々攪はんしながら 1 時間の処理を行った (一次加水分解)。次に試料を 4% に希釈し, 平山製作所製オートクレーブ (SV-302 AUTOCLAVE) 内に置き, 120℃ で 1 時間, 加水分解を行った (二次加水分解)。昇温および降温速度は(2)とほぼ同等であった。

(4) 構成糖分析改良法

構成糖分析法の一次加水分解の処理時間を 2.5 時間に改良し, その他は(3)と同じ方法で行った。

2.3 熱分解ガスクロマトグラフィー

酸不溶性残さは前報の方法⁵⁾に従って Py-GC により分析し, 加水分解条件によるパイログラムの違いについて比較を行った。また, 比較としてホロセルローズの分析を行った。

熱分解装置: 日本分析工業製 JHP-3 型, ガスクロマトグラフ: 島津製作所製 GC-14 A, 熱分解温度: 500℃, 熱分解時間: 4 秒, パイロライザー温度: 270℃,

Table 1 Pulping of akamatsu (*Pinus densiflora*) wood chips by different methods

Sample no.	SFQ ^{a)} No.11	Kraft No.22	Kraft-AQ No.24	PS-AQ No.25
Pulping liquor	b)	c)	c)	c)
Liquor ratio, L/kg	6	5	5	5
Time at 170℃, min.	120	90	90	90
Additive,	SAQ ^{d)}		DAQ ^{e)}	SAQ
dosage, %	0.5	0	0.1	0.1
sulfur, %	0	0	0	1
Screened yield, %	54.5	43.4	44.2	45.2
Rejects, %	14.3	2.8	2.0	1.4
Kappa no.	49.5	36.0	30.3	26.8

Notes : a) : Sulfite-Formaldehyde-Quinone Pulping [Ohi, H. *et al.*, JAPAN TAPPI J., 41(8), 708-716 (1987)]

b) : 0.9 mol/L Na₂ SO₃, 0.2 mol/L HCHO

c) : active alkali 19%, sulfidity 25%

d) : 1,4-dihydro-9,10-dihydroxyanthracene sodium salts

e) : anthraquinone (emulsion type)

トランスファーチューブ温度: 270°C, 試料注入法: 直接導入法, インジェクション温度: 170°C, カラム: Ultra-ALLOY-(8 H)-1 (0.8 mm ϕ ×30 m, 膜厚 2 μ m), カラム温度: 50°C で 1 分間保持後, 5°C/min で 270°C まで昇温, 270°C で保持, 検出器: FID, 検出器感度: 10¹, 検出器温度: 270°C。

2.4 構成糖の分析

一次および二次加水分解を行った試料について, アルジトールアセテート法⁶⁾に準じて以下の手順で行った。

(1) 内部標準としてイノシトールを添加し, 残さと溶液を濾別し, 水酸化バリウムによって溶液を中和した。

(2) 遠心分離によって硫酸バリウムを除去し, 上澄み液を採取した。

(3) 水素化ホウ素ナトリウムによって溶液中の単糖を還元した。

(4) 酢酸を添加して溶液を濃縮した。さらにメタノールを添加して濃縮, 乾固を 2 回繰り返した。

(5) 試料を 105°C で乾燥し, 無水酢酸を添加して 120°C, 3 時間の処理によって試料をアセチル化した。

(6) 濃縮した試料について, キャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィーでアラビノース, キシロース, マンノース, ガラクトース, グルコースのアルジトールアセテートを定量した。

ガスクロマトグラフ: 島津製作所製 GC-14 B, カラム: SGE 製 25 QC 2/BPX 70 (0.25), スプリット比: 1/50, キャリアーガス: ヘリウム (110 kPa),

インジェクション温度: 240°C, カラム温度: 210°C, 検出器: FID, 検出器温度: 280°C, メイクアップ窒素圧: 50 kPa。

3. 結果と考察

3.1 各加水分解条件と酸不溶性残さ収率の違い

アカマツ木粉についてクラソンリグニン法 (JIS 法) 等の 4 つの方法によって定量した酸不溶性残さ収率を表 2 に示す。構成糖分析法は他の 3 つの方法より値が約 8% 大きく, 構成糖分析改良法, 吉原法, および JIS 法はほぼ同等であった。これらは吉原らの結果と一致する。

さらにアカマツパルプについてはいずれも構成糖分析法による値が大きかった。また構成糖分析改良法は JIS 法よりも値がやや小さかった。

構成糖分析法 (一次加水分解処理: 1 時間) と構成糖分析改良法 (一次加水分解処理: 2.5 時間) の比較から, 一次加水分解の処理時間は酸不溶性残さの収率に大きな影響を与えることがわかった。なお, 二次加水分解の処理時間がどう影響するかについても検討した。吉原法に基づいて, 一次加水分解を 2.5 時間, 二次加水分解 (硫酸濃度 3%) を 15, 30, 60 分間として処理を行ったところ, 酸不溶性残さ収率はほぼ同じ値が得られた。

3.2 酸不溶性残さのパイログラムの違い

酸不溶性残さの構造的特徴を把握するため, 残さを Py-GC で分析した。図 1 A はアカマツ木粉の構成糖分析法 (一次加水分解処理: 1 時間) による残さのパ

Table 2 Yields of acid-insoluble residues by four methods

No. Names of methods	Conditions of hydrolysis		Yields of acid-insoluble residues (%)				
	Primary	Secondary	akamatsu wood	No.11	No.22	No.24	No.25
1. Klason (JIS)	72% H ₂ SO ₄ , 20°C, 4 h.	3% H ₂ SO ₄ , 100°C, 4 h.	28.3	4.3	4.6	3.4	3.8
2. Modified Klason by Yoshihara (JAPAN TAPPI J., 38(4), 466 (1984))	72% H ₂ SO ₄ , 20°C, 2.5 h.	3% H ₂ SO ₄ , 121°C, 30 min.	28.2	—	—	—	—
3. Carbohydrate composition (J. TAPPI No.42-84, TAPPI T 249 cm-85)	72% H ₂ SO ₄ , 30°C, 1 h.	4% H ₂ SO ₄ , 120°C, 1 h.	36.3	5.5	5.9	4.5	4.6
4. Modified carbohydrate composition	72% H ₂ SO ₄ , 30°C, 2.5 h.	4% H ₂ SO ₄ , 120°C, 1 h.	28.0	4.2	3.9	3.1	3.7

Legend: No.11, No.22, No.24, and No.25 are shown in Table 1.

Fig.1 Py-GC traces of acid-insoluble residues from akamatsu wood.
 Legend : Method 3. and Method 4. are shown in Table 2.
 G 1 : guaiacol, G 2 : 4-methylguaiacol

イログラムである。また図1Bは構成糖分析改良法(一次加水分解処理:2.5時間)のパイログラムである。一次加水分解処理が1時間のパイログラムでは、グアイアコールのほうが4-メチルグアイアコールよりピークが高くなった。一方、一次加水分解処理が2.5時間のものではこれとは逆に、4-メチルグアイアコールがグアイアコールより高かった。なお、図1BのパイログラムはKurodaら⁷⁾がすでに報告したスギのクラスンリグニンのパイログラムとほとんど同じである。

さらにアカマツ木粉を用いて一次加水分解だけ行った試料を調製した。一次加水分解処理を1時間および2.5時間とし、二次加水分解を行わずに残さをろ別し、その収率を求めたところ、それぞれ約47%と28.9%であった。なお、前者の約47%という値については、繰り返し試験によるバラツキが大きかった。これらの残さのパイログラムを図2に示す。一次加水分解が1時間処理のパイログラム(A)では、グアイアコールのピークが4-メチルグアイアコールのピークよりも高くなったが、2.5時間処理(B)では、4-メチルグアイアコールのピークのほうがやや高かった。

前述のように、二次加水分解処理の前後ではほぼ同等の酸不溶性残さ収率(28.9%および28.0%)を与

えた。また、図1Bと図2Bの比較から、2.5時間の一次加水分解処理の終了時にすでになかなりの部分のリグニンの反応が進み、二次加水分解処理の前後ではリグニンの構造変化が意外と小さいことが示唆された。

図3にアカマツ木粉のクラスンリグニン法(JIS法)と吉原法による残さパイログラムを示す。これらと構成糖分析改良法のパイログラム(図1B)を比較すると、それらはほとんど同一であった。このことから、それらの酸不溶性残さの化学的特徴は同一であると考えられる。なお、構成糖分析改良法の二次加水分解処理において、硫酸溶液の濃度を4%から3%に変更した条件(吉原法の二次加水分解処理時間を1時間とした条件)でも分析を行った。その酸不溶性残さのパイログラムは図1Bおよび図3とほとんど同一であった。

図4AとBには、クラフトパルプ(No.22)についてクラスンリグニン法(JIS法)と構成糖分析改良法によって得られた酸不溶性残さのパイログラムをそれぞれ示す。前述のように酸不溶性残さ収率は後者の方がやや小さかったものの、両者のパイログラムはほとんど同一であった。

多くの木材およびパルプ試料の分析をする場合には、

Fig.2 Py-GC traces of residues (akamatsu wood) by the primary hydrolysis.

Legend : Method 3. and Method 4. are shown in Table 2.

G 1 : guaiacol, G 2 : 4-methylguaiacol

Fig.3 Py-GC traces of acid-insoluble residues from akamatsu wood by Klason and modified Klason methods.

Legend : Method 1. and Method 2. are shown in Table 2.

G 1 : guaiacol, G 2 : 4-methylguaiacol

Fig.4 Py-GC traces of acid-insoluble residues from akamatsu pulp No. 22.

Legend: Method 1. and Method 4. are shown in Table 2.

G 1: guaiacol, G 2: 4-methylguaiacol

簡便法として構成糖分析改良法（2.5時間の一次加水分解，120℃，1時間の二次加水分解）によって処理を行い，その酸不溶性残さ収率をリグニン収率とし，同時にろ液中の構成糖を分析することを提案する。

3.3 酸不溶性残さとホロセルロースのパイログラムの比較

前に述べたように，構成糖分析法では他の方法と比べて酸不溶性残さ収率が高かった。そのため，一次加水分解1時間処理の残さには糖の成分が残っている可能性がある。これを確認するため，酸不溶性残さとホロセルロースをPy-GCで分析し，そのパイログラムを比較した（図5）。酸不溶性残さのパイログラムのC印のピークは糖成分由来のピークである。

3.4 加水分解条件と構成糖分析の値

木材の構成糖分析法，およびJ. TAPPI法では一次加水分解の処理時間はいずれも1時間となっている。この条件は炭水化物の加水分解が不十分であることが示唆された。このことをさらに確かめるために，アカマツ木粉の一次加水分解処理時間が構成糖収率へ及ぼす影響を調べた（図6）。アラビノース，キシロース，マンノース，ガラクトースのヘミセルロース成分の収率はほとんど同じ値になったが，グルコース収率は1時間処理の場合が19.6%，2.5時間が41.0%となり，

その違いは大きかった。処理時間が短いと酸不溶性残さ中にセルロースが残存することがわかった。したがって，J. TAPPIおよびTAPPIの構成糖分析法についてはこの処理を2.5時間に改良するべきである。

3.5 加水分解条件と酸可溶性リグニン量

各方法によるアカマツ木粉の酸可溶性リグニン量を表3に示す。これらを比較すると，酸可溶性リグニン量は二次加水分解の温度が高いほど値が大きく，また，一次加水分解の処理時間が長いほど，または二次加水分解の硫酸濃度が大きいほど値は大きかった。しかし，紫外部に吸収を持つ糖変質物が生成して分析値に影響を与えたことも考えられ，さらに詳細な検討が必要で

Table 3 Observed yields of acid-soluble lignin (akamatsu wood)

No. Names of methods	Observed yield (%)
1. Klason (JIS)	0.27
2. Modified Klason by Yoshihara	0.83
3. Carbohydrate composition	0.44
4. Modified carbohydrate composition	1.09

Fig.5 Py-GC traces of acid-insoluble residue and holocellulose from akamatsu wood.

Legend : Method 3. is shown in Table 2.

C : pyrolysis products from carbohydrates, G 1 : guaiacol, G 2 : 4-methylguaiacol

Fig.6 Carbohydrate composition of akamatsu wood.

Legend : Method 3. and Method 4. are shown in Table 2.

ある。なお、パルプの分析においても同様の傾向が認められた。

前述のようにパルプの分析の場合、二次加水分解を

120～121℃、30分～1時間の条件で行うと、酸不溶性残さ収率がクラークソンリグニン法 (JIS法) よりも小さくなる傾向が認められた。また、一次加水分解処理を1時間とすると酸不溶性残さ収率が大きくなった。パルプ分析において構成糖分析法 (1時間の一次加水分解、120℃、1時間の二次加水分解) による処理を行った場合、これらが相殺されて値が結果的に JIS法に近づくが、この方法によってリグニンと構成糖を分析することは適当でない。

パルプの分析において、構成糖分析改良法による酸不溶性残さ収率がクラークソンリグニン法 (JIS法) よりも小さい理由は今のところ明確ではない。残さのバイログラムがほとんど同一であることから考えて、比較的高温の処理ではパルプに含まれる糖変質物あるいは残存リグニンの一部が可溶化することが理由の一つとして推定される。

4. 結 論

(1) 木材およびパルプ中のリグニンと構成糖を分析する場合、72%硫酸による一次加水分解処理では処理時間を2.5時間とする必要がある。処理時間が1時間

であると、セルロースの膨潤とその後の加水分解が不十分である。J. TAPPI および TAPPI の構成糖分析法についてはこの処理を 2.5 時間に改良するべきである。

(2) 一次加水分解の処理時間が 1 時間であると、酸不溶性残さのパイログラムでは、グアイアコールのピークが 4-メチルグアイアコールのピークより高い。

(3) アカマツ木粉の場合は、クラーソンリグニン法 (JIS 法)、吉原法、および構成糖分析改良法では二次加水分解処理条件が違っても酸不溶性残さの収率とパイログラムの特徴はほぼ同等であった。

(4) アカマツパルプの場合は、構成糖分析改良法による酸不溶性残さ収率はクラーソンリグニン法 (JIS 法) による値よりもやや小さかったが、両者のパイログラムの特徴はほぼ同等であった。

(5) 酸不溶性残さのパイログラムがほとんど同一であることから判断して、多くの木材およびパルプ試料の分析をする場合には、構成糖分析改良法を用いてリ

グニン定量を行うことができる。

引用文献

- 1) 中野準三, 飯塚克介 (翻訳・監修): リグニン化学研究法, ユニ出版, p.22-23 (1994).
- 2) 吉原一年, 小林武, 藤井利郎, 赤松勲: 紙パ技協誌, **38** (4), 466-475 (1984).
- 3) J. TAPPI 紙パルプ試験方法 No.42⁻⁸⁴: 紙パ技協誌, **38** (3), 361-364 (1984).
- 4) TAPPI TEST METHODS T 249 cm-85: TAPPI TEST METHODS 1996-1997, TAPPI PRESS, (1996).
- 5) 和泉明子, 黒田健一, 大井洋, 山口彰: 紙パ技協誌, **49** (9), 1339-1346 (1995).
- 6) 篠田善彦, 稲葉政満: 日本木材学会編増補改訂木材科学実験書 II. 化学編, p.191-194 (1989).
- 7) Kuroda, K., Yamaguchi, A., Sakai, K.: Mokuzai Gakkaishi, **40** (9), 987-995 (1994).
(受理: '97.4.22)