

リグニンの単離および単離リグニンの反応性

第6報 赤外吸収スペクトル法によるアルカリ・リグニン 中のカルボキシル基の定量について*

福 渡 七 郎 ・ 錦 織 勇

Shichiro FUKUWATARI and Isamu NISHIKORI.

Reactivity of the Isolated Lignin. Part VI. On the Determination of the Carboxyl Groups in Alkali lignins by the Infrared Absorption Spectrography.

1. ま え が き

プロトリグニンは本来カルボキシル基をふくんでいないと考えられているが、単離された各種リグニンにこれが含まれていることはすでに認められている⁽²⁾。またわれわれは先に強酸によって分離した酸リグニンをさらに低い一定濃度のアルカリによって可溶化せしめることが出来、このとき酸処理によって生成したカルボキシル基を含む部分はアルカリによって溶出される事実を赤外吸収スペクトルより確認した⁽²⁾⁽³⁾。リグニン中に生成したカルボキシル-カルボニル基の赤外吸収は $1700 \sim 1720 \text{ cm}^{-1}$ の附近に示されるものであるが、この吸収帯をカギ吸収帯 (Key band) として、リグニン中のカルボキシル基を定量しうるか否か、その可能性についてひきつづき実験をすすめた。この吸収帯を示すカルボニル基の安定性や性質を確認したので、さらに定量用ペレットに使用しうる内部標準を定め、モデル物質を利用してアルカリリグニン中のカルボキシル基を測定した結果、リグニン中のカルボキシル基を相対的に定量しうる可能性を見出した。すなわちリグニン酸のナトリウム塩の吸収帯の消失またはシフトを測定した結果、波数 $1700 \sim 1720 \text{ cm}^{-1}$ 附近に示される吸収がリグニン中のカルボキシル基のカルボニルによることは明らかとなり、このカルボキシル基が、酸、アルカリ、水、空気などに対してある程度安定であることも明らかとなった。またリグニンにおけるこの吸収領域の附近には、 1600 cm^{-1} 附近に見られる比較的強い吸収以外に弱い吸収のピークが見られず、赤外吸収スペクトル法を定量法に應用するには、はなはだ好

都合なカギ吸収帯であるので、この吸収を利用してリグニン中の比較的少量にふくまれるカルボキシル基を定量するのは見込みのある方法と考えられた。もう一つの他の理由は、リグニンが酸性を示す基としてカルボキシル基の他に水酸基をもっておるが、後者の OH 基に関係なく、カルボキシル基の吸収が取扱えることである。これらの理由により赤外スペクトル法は適当かつ有力な方法と考え実験をすすめた。

2. 赤外吸収スペクトル法によるリグニン中の カルボキシル基測定法の諸条件と問題点

2-1

リグニンはまた不溶性、無定形の粉体であるから、赤外分光分析法、特にブロームカリ (KBr) 錠剤法に適している。しかし、高分子中のカルボキシル基の定量について重要なそして困難な問題が数点ある。その第一は、吸光比を求めるために適当な内部標準物質をえらび出すことであり、第二の問題点は、高分子の場合求める原子団をもち、かつ試料高分子のモノマーに近い化学構造をもつモデル物質をえらび出すことである。

2-(1)-A 内部標準物質について

第一の問題については、幸い Sprague 氏ら⁽⁶⁾によって研究された内部標準物質、チオシアン酸カリ (KCNS) をリグニンの場合にも採用し、予備実験を行なった結果、これを標準物質として応用し差支えないことが明らかになった。チオシアン酸カリの CNS 基に基づく波数 2093 cm^{-1} の吸収は極めて鋭く強く、かつ、吸収帯の数が少なく、カギ吸収帯 (Key band) の位置が定量成分の吸収帯を妨害せず、試料との相互作用もなく、またよく混合し、かつ安定である等の内部標準物質の条件をそなえている。その吸湿性も30分以内の実験において

* 本報の一部は、昭和40年11月、大阪におけるリグニン討議会、昭和41年5月、名古屋における高分子学会、昭和41年11月、広島におけるリグニン討議会において発表した。

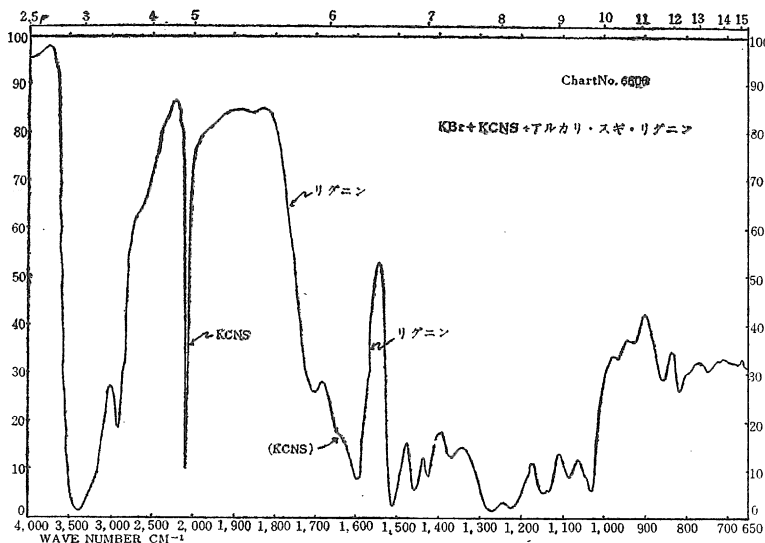
第1表 モデル物質の赤外吸収特性

ν_{key} , カルボニル ($-C\equiv O-H$) 吸収波数と $Kx = \left(\frac{Ax}{As} - B\right) / [Cx]$

基剤 (Base-Mixture) は KBr(ν) と KBr+KCNS (0.2%) (Kx, B)

モデル酸	ν_{key} (cm ⁻¹)	Kx	B	1/Kx	Chart.No.	モデル物質品度	備考
1. Stearic acid. <chem>CH3(CH2)16COOH</chem>	1710-1718	0.475	-0.0001	2.103	6616	市販特級	ベースライン
2. Benzoic acid. <chem>c1ccccc1C(=O)O</chem>	1685	—	—	—	24	"	
3. Vanillic acid. <chem>COc1ccc(C(=O)O)cc1O</chem>	1675	—	—	—	20	"	
4. DL-mandelic acid. <chem>C(O)c1ccccc1C(=O)O</chem>	1698	—	—	—	6655	"	
5. Trans-Cinnamic acid. <chem>C=CC(=O)O</chem>	1685	{2.667 2.553}	0.0151	0.375 0.392	6643 6645	"	重ね法 ベースライン
6. Ferulic acid. <chem>COc1ccc(C=CC(=O)O)cc1O</chem>	1691	2.66	0.0049	0.376	6666	{ 合成	ベースライン
7. Tyrosine. <chem>Cc1ccc(C(N)C(=O)O)cc1O</chem>	(1630)*	—	—	—	6630	市販特級	
8. Hippuric acid. <chem>OC(=O)NCC(=O)O</chem>	1740	—	—	—	6676及び Bellamy.	合成	

第1図



は妨げとならない程度であって、チオシアン酸カリの含有水分は、絶乾した特級市販 KCNS を室内に放置 10 分にて 0.39%, 30 分にて 1.55%, 240 分にて 5.49% であった。欠点としては 1625 cm⁻¹ 付近にかなり強い吸収帯をもつので使用上、特に注意を要す。次に KCNS の使用量を決定し KBr-KCNS 基剤 (Base mixture) を作製するため、二の予備実験を行なった。ペレット直径、12 mm の KBr 約 200 mg に対する KCNS の量 (%) 及び、加圧条件 (kg/cm², min) を求めた。その結果、KBr に対する KCNS 量は、ペレット重量にて 0.2%, 加圧は、真空 2~5 mmHg の下で、5 kg/cm², 約 1 分

間ののち、180~185 kg/cm², 5 分間を適当と認めた。このペレットは適当な吸収の強さを示す。さらに KCNS の特性吸収とカルボキシーカルボニル基吸収との相互関係をたしかめ、ペレット中に KCNS 約 0.4 mg に対し、ケイヒ酸を 0.05~0.25 mg を加え測定した結果、実験上の影響は無視しうるものと認められた。

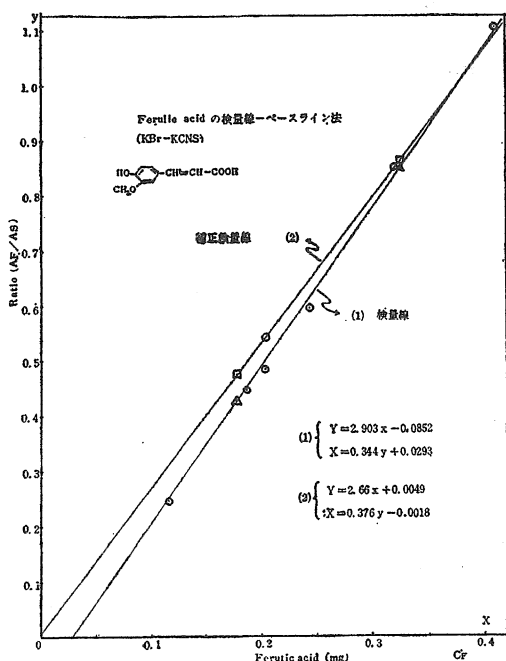
2-(1)-B

モデル物質の選定について

次にモデル物質の選択については、リグニンのモノマーは、フェニルプロパンを骨子とする誘導体、特にコニフェリールアルコールの誘導体と考えられているので、そ

の酸化物質として、フェルラ酸 Ferulic acid や、ケイヒ酸 Cinnamic acid などの若干について KBr-KCNS 法による検量線を求める実験を試みた。その結果は第1表の通りである。すなわち赤外吸収スペクトルについて、フェルラ酸 Ferulic acid C₆H₅(OH)(OCH₃)·CH:CHCOOH とケイヒ酸 Trans-Cinnamic acid C₆H₅CH=CHCOOH と比較するとそのカギ吸収帯について、吸光比 Ax/As と濃度 [Cx] (0.1~0.4 mg) とは直線関係を示し、かつその吸光比濃度係数、Ax/As·[Cx] = Kx の値はほとんど一致しフェルラ酸は Kx=0.376 の値を与えた (第2表, 第1図参照)。然しフェニル核の置

第 2 図



第 2 表 フェルラ酸の濃度と赤外線吸収比 (ベースライン法) KBr-KSCN法。ペレットの重量: 200 mg (199.76~200.42mg)

Chart. no.	C _F (mg)	吸収帯 μcm^{-1}	P _{bs}	P _S	P _{bF}	P _F	A _F /A _S
6668	0.1162	1685	98.1	52.9	72.4	62.2	0.2457
6669	0.1859	1689	88.7	33.5	60.7	39.2	0.4490
6670	0.2029	1689	92.8	42.8	68.0	46.7	0.4859
6671	0.2029	1687	95.8	44.7	71.0	46.9	0.5439
6672	0.2415	1688	101.3	42.0	64.2	38.0	0.5975
6673	0.3189	1693	91.9	39.5	57.4	27.9	0.8544
6674	0.4088	1693	94.9	42.0	52.5	21.3	1.1065

F は フェルラ酸

$$A_S = \log (P_{bs}/P_S), A_F = \log (P_{bF}/P_F)$$

$$A_F/A_S = 2.66 C_F + 0.005$$

$$C_F = 0.376(A_F/A_S) - 0.002$$

換基の影響は全く見られず、何れもモデル物質として同様に利用しうることを示した。とくにフェルラ酸のもつパラ位の水酸基や、メタ位のメトキシル基の影響の現われなかったことはリグニン定量のモデル物質として問題はむしろ側鎖構造に残されていることを示している。但し、ケイヒ酸よりもフェルラ酸の方がリグニンのモノマーにより近い構造であるから、フェルラ酸を標準モデル物質とし、ケイヒ酸を利用する時はこれに換算すべきである。

DL-マンデル酸, Mandelic acid, C₆H₅CHOHCOOH

の検量線は、濃度 [C_F] = 0.1~0.4 mg の領域において直線状を示さなかったので定量法に利用するには適当でないと思われる。マンデル酸においては α 位の位置に、水酸基が存在し隣接する COOH 基に影響を与えるものと見られる。

脂肪酸ステアリン酸は 1710~1720 cm⁻¹, 即ち正常酸のカルボキシル吸収波数を示す。DL-マンデリック酸, ケイヒ酸, フェルラ酸等は何れもフェニル核の影響をうけて、正常酸より、従って 1700-cm よりもやや低い値を示している⁽¹⁾。波数 ν の値よりすれば、リグニンの吸収は脂肪酸に近い性質を示している点は注目すべきである。濃度 [C_F] = 0.05~0.25 mg に対する検量線は、K_x = 0.475 と小さい値を示した。

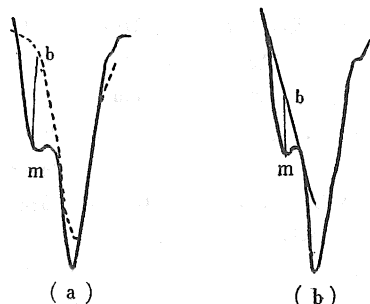
以上を要約するに、モデル物質についてはさらに広く検索を要するが現在までの比較的少ない例によれば、モデル物質としては、リグニンのモノマーに最も近い構造をもつと考えられるフェニル酸が最も適当であるが、この場合、脂肪酸側鎖の構造がカルボキシ・カルボニル基吸収にとって重要であって、芳香族核の構造は影響が小さいと見られた。従ってモデル物質として先ずフェルラ酸を標準モデルとし、ケイヒ酸もこれに代って利用しうる。しかし、直線状の検量線を与えるペレット中の濃度には制限があり、あまり高い濃度を用いることは理論的にも正当でない。実験によれば 200mg の KBr ペレット中に、ステアリン酸 0.25 mg (COOH, 0.039mg), ケイヒ酸 0.25 mg, (COOH, 0.075 mg), アルカリ・リグニンは 4.0 mg 以下において直線又は直線とみなしうる検量線を与えた。しかし、きわめて低い濃度の領域における吸収の問題、検量線または K_x 値が測定毎に示すばらつきを少なくしなければならぬ問題など、実際上のため解決せねばならぬ問題が多く残されている。

2-(1)-C 吸収の強さを決定する実際的方法

吸収の強さを決定する方法は理論を基礎においた、しかも実行しやすい方法が望ましい。吸収帯の強さはその面積を測定する方法と、吸収強さの高さまたは深さを長さで測定する方法があるが、1700~1720 cm⁻¹ 附近の吸収の消長の仕方から見ると、吸収の深さを長さではかる方法が可能であると考えられる。しかしこの場合その基線のとりかたにより二つの方法がある。第一の方法は試料にカルボキシル基がふくまれていない場合にえられる吸収曲線を基線とし、これに含まれている場合の吸収曲線を重ね合せ極大点 m における吸収の増加線分 mb を測定する方法である。第 3 図 a。この方法を、便宜上「重ね法」(Method of Superposition) と名づける。第二の方法は、いわゆる吸収帯の基部にあたる曲線に接線を引き、これを基線として吸収の極大点 m における吸

吸の増加線分 mb を測定する方法で、これはより便宜的な方法であるが、適正に作図しうる時は最も簡単であるため、ベースライン法、(基底線法 Method of Baseline) とよばれ、よく用いられている方法である。第3図 b.

第 3 図



カルボキシル基の $1700 \sim 1720 \text{ cm}^{-1}$ 附近の吸収帯は主として 1600 cm^{-1} 附近のフェニール基に基づく比較的強い吸収帯の肩に生ずるため、このいずれの方法も可能である。ケイヒ酸について、重ね方法とベースライン法とを比較した結果は、重ね法の方が補正計算の結果より正確であることが判明したが、重ね法もベースライン法もその吸光度比-濃度曲線(検量線)の勾配の値、すなわち Kx の値はほぼ一致するので、この場合、より簡単なベースライン法も実験誤差以内のとき採用しうることを知った。その実験結果は第3, 4表, 第4, 5図の通りである。

2-(1)-D 吸光度および検量線の補正について

検量線を求めるための計算は Beer および Lambert の法則が適用しうるとして常法の如く計算するものであるが、我々は吸収の強さを吸収帯の深さの線分(%)で求める方法をえらび、さらに理論上の取扱のため補正した。計算の要領は、いま内部標準物質 S の吸収帯の波数 ν_s における吸収の強さを、即ち吸光度を A_s とすると、

$$A_s = a_s b c_s \dots\dots\dots (1)$$

但し、 a はそれぞれの物質について固有な吸光係数、 c は濃度、 b はセルの厚さである。さらに、このときの入射光と透過光の強さを I_0, I とすると、

$$I = I_0 10^{-abc} ; abc = \log \frac{I_0}{I}$$

$$\therefore A_s = \log I_{0s}/I_s = a_s b c_s$$

同様に、モデル物質、または試料物質の吸収帯の波数 ν_x における吸収の強さを A_x とすると、

$$A_x = a_x b c_x \dots\dots\dots (2)$$

いま、 A_x と A_s との比、すなわち吸光比を求めると、

$$A_x/A_s = a_x b c_x / a_s b c_s = (a_x/a_s) c_x/c_s$$

c_s を一定にすると、 a_x, a_s は本来固有な値であるから

第3表 ケイヒ酸の濃度と赤外線吸収比(重ね法) KBr-KSCN法。ペレットの重量: 200mg (199.95 ~ 200.88mg)

Chart. no.	C _c (mg)	吸収帯 $\nu \text{ cm}^{-1}$	P _{bs}	P _s	P _{bc}	P _c	A _c /A _s
6547	0.0518	1688	98.2	30.0	91.0	85.5	0.052
6548	0.0688	1690	98.4	25.9	88.3	82.3	0.053
6549	0.0877	1679	94.0	28.9	83.0	73.0	0.109
6550	0.1087	1680	90.8	20.0	82.4	61.7	0.190
6551	0.1515	1679	94.3	21.4	82.5	49.0	0.351
6552	0.1944	1680	89.9	17.8	78.7	40.9	0.401
6553	0.2502	1678	93.9	17.3	73.8	25.0	0.640

C はケイヒ酸

$$A_s = \log (P_{bs}/P_s), A_c = \log (P_{bc}/P_c)$$

$$A_c/A_s = 2.667 C_c$$

$$C_c = 0.375 (A_c/A_s)$$

第4表 ケイヒ酸の濃度と赤外線吸収比(ベースライン法) KBr-KSCN法。ペレットの重量: 200mg (199.95 ~ 200.88mg)

Chart. no.	C _c (mg)	吸収帯 $\nu \text{ cm}^{-1}$	P _{bs}	P _s	P _{bc}	P _c	A _c /A _s
6547	0.0518	1688	98.2	30.0	86.6	85.5	0.011
6548	0.0688	1690	98.4	25.9	85.1	82.3	0.025
6549	0.0877	1679	94.0	28.9	78.4	73.0	0.061
6550	0.1087	1680	90.8	20.0	77.2	61.7	0.102
6551	0.1515	1679	94.3	21.4	77.8	49.0	0.310
6552	0.1944	1680	89.9	17.8	73.6	40.9	0.363
6553	0.2502	1678	93.9	17.3	69.7	25.0	0.606

C はケイヒ酸

$$A_s = \log (P_{bs}/P_s), A_c = \log (P_{bc}/P_c)$$

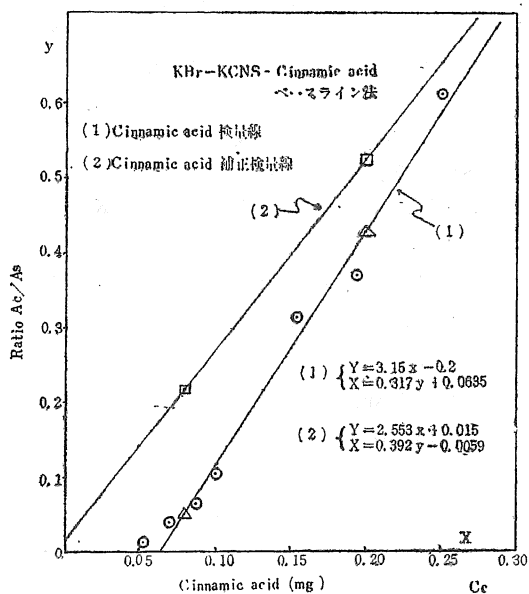
$$A_c/A_s = 2.553 C_c + 0.015$$

$$C_c = 0.392 (A_c/A_s) - 0.006$$

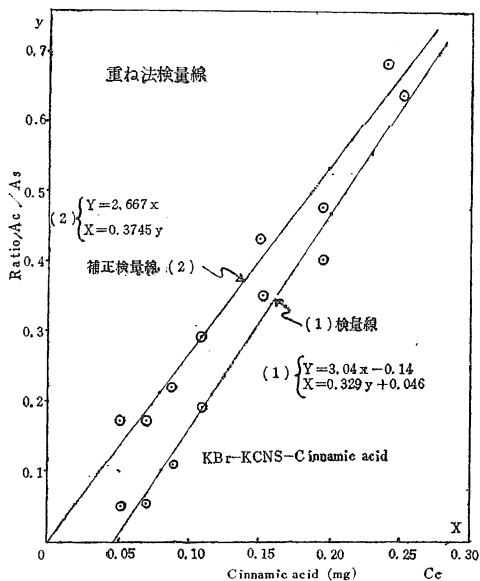
$$A_x/A_s = K \cdot c_x, \dots\dots\dots (3)$$

この式が適用しうる範囲において、すなわち直線を示す範囲において検量線をえがき、各濃度における吸光比を求めて定量に利用しうる筈であるが、実験の結果によると必ずしも直線とならぬ場合があり、直線とみなしうるときにも、多くの場合 (c_x) = 0 のとき、(A_x/A_s) = 0 とならない。つまり、定量のための検量線は一般に原点を通過しない。故に検量線が原点を通過するように補正しなければならない。試料濃度を変化させる一連の実験において、共通の吸光度誤差ならびに Back ground に相当する吸光度の総和 α を考慮して補正した。すなわち上記、吸光度決定に用いた m 点、S 点または b 点に相当する吸光度より α だけ差引き補正した吸光度比を求めて検量線をえがくと、上述の α かさね法、によって求めた吸光度の補正值は完全に原点を通過する検量線(第5図)を与えた。ベースライン法による場合はこの補正

第 4 図



第 5 図



によっても尚わずかに原点からそれ、一般に

$$Ax/As = K \cdot Cx + B \dots \dots \dots (4)$$

の式を示す直線を与えるが、Bの値が実験誤差の範囲より小さいことが望ましい。

2-(1)-E 定量誤差について

赤外吸収の強さの測定値のばらつきを少なくし定量の誤差を最少にするためには、多くの点について細心の注

意をしなければならない。我々は上述の諸実験の結果より、KBr-KCNS法を採用することにしたが主たる注意点を挙げると、まずKBrとKCNSの吸湿性を考慮して、実験操作中に吸湿に基づく障害を除くよう迅速かつ計画された方法を定めること、特に乾燥法、採取法、秤量法、混合法に注意すること、第2に、用いた分光器、準備室、測定室は恒温恒湿とし、第3にスライドの間隙、走査速度等を一定にすること、第4に錠剤法においては正確で十分な混合によりペレット中に均一分散せしめること、一定程度以上の粉末度(200~400メッシュ)まで微粉化することが必要である。また粉細と混合の操作に伴いやすい損失を最小にすること、第5には成型の際の厚み誤差、微量天秤の秤量などに伴う誤差などを最少にするよう操作条件を一定にし、誤差を一定以下に止める細心の注意が必要である。実験の結果はペレットの重量のばらつきは、 200 ± 0.5 mg以下、厚みのばらつきは8例の測定の結果 0.507 ± 0.001 mm以下にとどめることができた。上述の諸点に留意して、次の如き、実験法を決定した。

3. カルボキシル基の定量実験法

IRスペクトル法を用いてリグニン中のカルボキシル基を定量する方法として上述の結果に基づき、KBrペレット中に内部標準物質としてKCNSを加えたKBr-KCNSの基剤を用いることとし、モデル物質としてはフェルラ酸またはケイヒ酸を用いる方法の詳細を決定した。さらにカルボキシ・カルボニル基にもとづく吸収の強さよりカルボキシル基を算出する方法を検討した。これらの方法の実際は次の如くである。

3-1 装置及び主なる器具

まず試料の粉細及び混合のためメノウ乳鉢とアマルガメーター、Amalgamaterを用いた。前者を主として用い、後者は混合などの補助として使用するのがよい。試料の秤量にはマイクロ天秤、セミマイクロ天秤及び化学天秤を所要精度に従って選定し用いた。ペレットの成型には油圧式ポンプ10 ton成型機を用い、加圧は常に 5 kg/cm^2 、1分、 $180\text{--}185 \text{ kg/cm}^2$ 5分行なった。赤外分光器は日立IR-S型、複光束式を用いた。

3-2 試料および薬品

基剤ブロームカリKBr、内部標準物質のチオシアン酸カリKCNS、モデル物質のフェルラ酸およびケイヒ酸、は何れも市販の特級(G.R)または精製した合成物質を用いた。

3-3 測定実験法

まずメノウ乳鉢中に約200 mesh以上に充分(1回約10分間)に粉細したKBr、KCNSを $110\text{--}120^\circ\text{C}$ に

て1昼夜乾燥してデシケーター中に保存する。この乾燥 KBr 1960 mg ± 1 を秤量し、これに乾燥 KCNS 40 mg (2%) を加え、第1基剤とし保存する。次に第1基剤 200mg ± 1 に KBr 1800 mg ± 1 を加え、KCNS 0.2% の第2基剤を調製する。秤量は化学天秤を使用する。第1基剤や第2基剤の混和と粉細はメノウ乳鉢で10分間粉細し、そのち、これを6等分してそれぞれを2分間粉細し、ふたたび6区分を合せる。これをもう一度くりかえし。合計粉細は8回、6等分混和4回行なったこととなる。錠剤法においては粉細と混和と充分かつ一定法にて行なうことが極めて重要である。これをアブデルハルデン乾燥器 (P₂O₅) によって100°Cにて乾燥保存した。次に、この第2基剤 90.0 mg ± 0.1 に、モデル物質、フェルラ酸またはケイヒ酸 10.0 mg ± 1、あるいは供試試料の適当量をミクロまたはセミマイクロ天秤にて秤量して加え、混和し、3分間粉細する。これを試料混合体 (Sample mixture) とする。このときの試料濃度は10%である。

次に、検量線を求めるために、各種の試料濃度をもつペレットを作るために、適当量の第2基剤を試料混合体に加え混合する。例えばフェルラ酸の場合は、まず、その試料混合体を 0.1 mg ~ 0.4 mg を8通り、セミマイクロ天秤にて秤量し、これに、第2基剤を加えて全重量が 200 mg になるように秤量する。この混合体を一分間粉細しては混和することを6回くりかえす。この粉末混合物をやや中央高にして成型器に入れ、まず加圧棒にて軽く2~3回左右に回転させ、分布を均一にし、改めて加圧板を加えて、油圧、約 5 kg/cm²、1分間、つづいて真空 1~5 mmHg の下にて 180~185 kg/cm² (8000 kg) で5分間油圧してペレットをうる。ペレットは均一なもののみをえらんで採用し赤外吸収スペクトルを測定した。えられた吸収スペクトルより内部標準物質 KCNS (S) 及びモデル物質 (m) または試料 (X) のカギ吸収帯の波数 ν_s , ν_c , ν_x , と吸収帯の強さ A_s , A_c , A_x とを求める。まず両者の吸光比 A_m/A_s を算出し、各試料濃度との関係求めて検量線をえがき、上述の方法によって補正し検量線を求めた。このとき A_s , A_m , A_x の求め方は前述の通りで、一般にはベースライン法を用い、特に必要あるときに「重ね法」を用いた。ここにえられた既知量物質またはモデル物質つづいて未知量試料の検量線を用いて求めるカルボキシ基を算出する。既知量物質またはモデル物質は、そのうちに含まれるカルボキシ量が正確に分っていなければならないし、また未知量物質はそのカギ吸収帯が正しくカルボキシ基に基づく吸収帯であることが確認されたものでなければならない。これらの条件が満たされたとき、さらにリグニ

ンの場合まだその分子構造が充分に与えられていないので、アルカリリグニンにおけるカルボキシ基の単位量に基づく吸収の強さがフェルラ酸のそれとほぼ一致するという仮定をおくとき、リグニン (X) Lmg 中のカルボキシ基量は、次の如く算出することができる。今カルボキシ・カルボニル基のカギ吸収帯について、吸光比 $A_x/A_s = E$ を示す試料が R% だけカルボキシ基をふくんでいるとすると、前もってフェルラ酸の K 値が与えられているとき、

$$K_F = A_c/A_s \times (C_F) \dots\dots\dots (5)$$

試料リグニンの吸光比 E に相当するカルボキシ量 r の値 [mg] は、

$$r = (E/K_F) \times [\text{COOH}] / [\text{Ferulic acid}] \dots (6)$$

ここに [COOH]/[Ferulic acid] はモル比で、0.232 であるから、

$$r = 0.232 \times E \times (1/K_F)$$

K_F の値は本実験によれば 2.66 $\therefore 1/K_F = 0.376$.

$$\therefore r = 0.232 \times 0.376 \times E$$

$$r = 0.0872 E \dots\dots\dots (7)$$

リグニン中のカルボキシ量の含有率は、

$$R = (r/L) \times 100$$

$$\therefore R = 8.72 E/L \dots\dots [\%] \dots\dots\dots (8)$$

もし、ケイヒ酸を用いるときは、係数 (Kc) は 0.304 となるから、ケイヒ酸の検量線を用いるときは $\left(\frac{0.232}{0.304}\right)$ を乗じてフェルラ酸標準に換算すればよい。

5. アルカリリグニンの検量線とカルボキシ基量の算出

上記の方法によりスギ・アルカリリグニンの検量線を求め直線式をえたので、これを用いて各種のアルカリリグニン中のカルボキシ基量を計算した。

5-1 試料アルカリリグニンの調製

原料は松江産、樹令 39 樹高 9.6 m のスギ、Taxodiaceae, Cryptomeria Japonica D. Don である。分析の結果は レジン量 3.16%, クラーソンリグニン 32.74%, 灰分 0.19%。

これを活性アルカリ、Na₂O として 59.52 g/l の蒸解液を用い、乾燥チップ 500g に対し 20% の Na₂O を使用し、165 ± 2°C, 2hr の条件にて主蒸解した。精製は出来る限りアルカリリグニンに変化を与えぬために、次の二段精製を行なった。第一段は試料アルカリリグニンの精製、第二段は特に赤外ペレット用に洗滌比を大きくして精製したものである。その結果カルボキシ基の赤外吸収については第一段精製によっても第二段を終ったものと同様のスペクトルを与えることを知った。

第5表 アルカリ・リグニンの濃度と赤外線吸収比
(ベースライン法) KBr-KCNS法。ペレット
の重量：200mg (199.98~200.43mg)

Chart. no.	C _L (mg)	吸収帯 μcm^{-1}	P _{bs}	P _s	P _{bL}	P _L	A _L /A _s
6603	0.99	1709	97.0	14.5	64.3	62.0	0.0194
6604	2.13	1708	88.6	11.3	46.0	36.7	0.1097
6605	2.50	1700	86.1	10.4	43.1	31.9	0.1424
6606	2.95	1700	86.3	10.3	39.7	25.9	0.2009
6607	3.62	1700	86.8	9.8	39.4	20.2	0.3062
6608	3.98	1694	84.8	10.4	36.2	17.4	0.3491

Lはアルカリ・リグニン (サンプルNo.18)

$A_s = \log(P_{bs}/P_s)$, $A_L = \log(P_{bL}/P_L)$

$A_L/A_s = 0.1068 C_L - 0.0081$

$C_L = 9.363 (A_L/A_s) + 0.0758$

第一段精製は pH 3 の稀硫酸 (H₂SO₄) 溶液を分離リグニン沈澱層の 4 倍容量を加えて 4500 r.p.m で 15' 間遠心分離すること 4 回, つづいて蒸留水を分離リグニン沈澱層の 4 倍量加え, 12000 r.p.m にて 15' 間 2 回遠心分離し, 50~60°C にて乾燥した。アルカリに対する洗滌比は約 20 万。

第二段は第一段と異なり, 一度低温乾燥した試料粉末を少量とり, 多量の洗滌剤を用い, 洗滌比を大きくし, 第一段と同様遠心沈澱の方法を行なうか, または濾紙をおいたガラスフィルター 1 G 4 を用い第一段同様の方法で洗滌した。洗滌比は約 100 万。

上記, 第一段精製アルカリ・リグニンの約 1~4 mg を KBr-KCNS 粉末に加え, 上述の方法によって, 約 200 mg のペレットを作り, その赤外吸収スペクトルを求めた結果は次表 (第 5 表) の如くである。やや実験回数不足であるが, 本実験の結果, この濃度範囲において検量線はほぼ一直線状と認められる。さらにこれを補正した検量線の式を (4) 式により,

$$(A_L/A_s) = K_L C_L + B \dots\dots\dots (9)$$

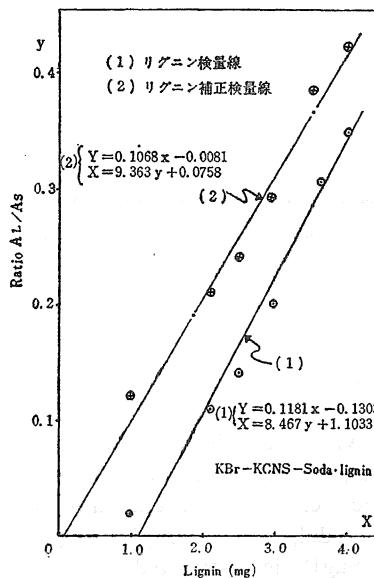
で表わすと, $K_L = 0.1068$, $B = -0.0081$

但し C_L は pellet 中のリグニンの mg 数とする。

B の値が実験誤差以内とみとめるときは計算は簡単である。本実験において $B \approx 0$ とし図上計算したとき, 約 ± 1% 程度の誤差で第 7, 8 式によりカルボキシル量と決定しうる。例えば吸光比 (A_L/A_s) = E の 2 例について検量線 [第 6 図] より計算すると次表の数値を得た。

E	L (mg)	r (mg)	R (%)
0.15	1.48	0.01305	0.88
0.25	2.42	0.0218	0.90

第 6 図



すなわち本実験に用いたアルカリ・スグリグニンのカルボキシル基の含有量は 0.89% と算出される。この値は以前に報告されているアルカリリグニン中のカルボキシル量 (例えば 0.6~4.12%)⁽⁴⁾⁽⁵⁾ の範囲内にある。

カルボキシル量 0.89% は, アルカリ・リグニン中に (COOH)/(OCH₃) のモル比が 0.035, 単量体コニフェリル基 28 箇にカルボキシル基 1 箇の割合で存在することに相当する。

以上の結果によれば赤外吸収スペクトル法によって, アルカリ・リグニン中のカルボキシル基含有量の相対値を知る可能性を示した。将来, この方法でえた値の補正項または補正係数を決定しうれば, さらに応用の範囲を拡大することが出来る。このため今後モデル物質の構造と吸収の強さとの関係についての深い知見と, リグニン中のカルボキシル基の絶対量を定量しうる標準方法, 検量線または K_L 値のばらつきを少なくする条件等を見出すことが必要である。

要 旨

天然高分子中, 特にアルカリ・リグニン中にふくまれる少量のカルボキシル基を測定する一つの方法として, 赤外吸収スペクトル法を利用する方法を実験検討した。すなわち内部標準物質として, チオシャン酸カリを, モデル物質としてフェルラ酸およびケイヒ酸を採用して, 錠剤法を実験した。フェルラ酸を標準モデルとしたときの実験例によればアルカリ・スグリグニンのカルボキシル基の含有量は 0.89% と測定され, 単量体コニフェリル基 28 箇にカルボキシル基 1 箇が存在することに相当する。

なお本実験におけるアルカリ・リグニンの調製実験は、当研究室錦織淳三君が担当した。また本研究に要した研究費の一部は文部省科学補助金にあおいだ。記して謝意を表します。

参 考 文 献

1. BELLAMY, L. J.: *The Infrared Spectra of Complex Molecules*. 1958. Methuen, London.
2. 福渡七郎: 島根農大研報 14(A): 113—118, 1965.
3. 福渡七郎, 雑賀宏昌: 島根農大研報 14(A): 107—112, 1965.
4. MOORE, R. G. D., WRIGHT, G. F. and HIBBERT, H.: *Can. J. Res.* 15 B: 532, 1937. (C, A, 1927, 1938)
5. PHILLIPS, M.: *J. Amer. Chem. Soc.* 53: 768, 1931.
6. SPRAGUE, J. W. and CAMPBELL, J. E.: *Anal. Chem.* 29(2): 210—213, 1957.

Summary

One of the methods of determination of the small quantities of the carboxyl groups contained within the natural complex molecules, especially of the alkali lignins has been examined with the infrared spectrography, where as a inner standard substance the potassium thiocyanate, and as the model substances of alkali lignin monomer containing carboxyl groups the ferulic acid and the cinnamic acid are adopted. When the ferulic acid is used as a standard model, the carboxyl groups content of the alkali lignin of *Cryptomeria japonica* D. Don (Sugi) is estimated 0.89%. i. e., 0.035 COOH per OCH_3 , and then about one carboxyl group per twenty-eight monomeric units.