



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	高分子界面活性剤としての両親媒性リグニンの調製及びその機能評価
Author(s)	本間, 春海
Description	本稿は、卒業論文（平成20年3月、北海道大学）を改訂したものである。第19回学生森林技術研究論文コンテスト（主催：日本森林技術協会）林野庁長官賞受賞
Issue Date	2008-05-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/34751
Type	journal article
File Information	honma.pdf



2007 年度 卒業論文

高分子界面活性剤としての
両親媒性リグニンの調製及びその機能評価

北海道大学農学部 森林科学科
木質生命化学
本間 春海

目次

1. 緒言

2. 実験

- 2.1 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の調製
- 2.2 PEGDE の単官能化とその両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の調製
- 2.3 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の調製
- 2.4 高速液体サイズ排除クロマトグラフィー（HP-SEC）による AL の平均分子量測定
- 2.5 PEG 含量の測定
- 2.6 赤外線吸収（IR）スペクトルの測定
- 2.7 Du Nouy 表面張力計による表面張力の測定
- 2.8 自動表面張力計による表面張力の測定
- 2.9 生分解性試験
- 2.10 Langmuir-Brodgett（LB）単分子膜の調製
- 2.11 原子間力顕微鏡（AFM）観察

3. 結果及び考察

- 3.1 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の調製
- 3.2 ^1H -NMR、FT-IR 及び分子量測定による PEGDE-AL の解析
- 3.3 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL 中の PEG 量
- 3.4 FT-IR による EO 含量の定量の検討
- 3.5 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の親水性と疎水性のバランス
- 3.6 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の表面張力
 - 3.6.1 PEGDE-AL と他の物質の表面張力の比較
 - 3.6.2 PEG 添加量の違いによる影響
 - 3.6.3 EO 鎖長の違いによる影響
- 3.7 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の表面張力の経時変化
- 3.8 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の調製
- 3.9 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL 中の PEG 量
- 3.10 FT-IR による PEGGE-AL の EO 含量の定量
- 3.11 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の親水性と疎水性のバランス
- 3.12 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の表面張力
- 3.13 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の表面張力の経時変化
- 3.14 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の調製
- 3.15 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の表面張力

- 3.16 両親媒性リグニン誘導体の生分解性
- 3.17 両親媒性リグニン誘導体の LB 単分子膜

4. 結言

5. 謝辞

6. 参考文献

1. 緒言

有限であり、二酸化炭素の排出源となる化石資源に依存した生活が見直されている今日、バイオマスに注目が集まっている。中でも、太陽エネルギーを使って植物の光合成から生成される植物バイオマスは、再生可能な資源であり、化石資源から脱却し、持続的循環型社会へ移行するための重要な有機資源である。

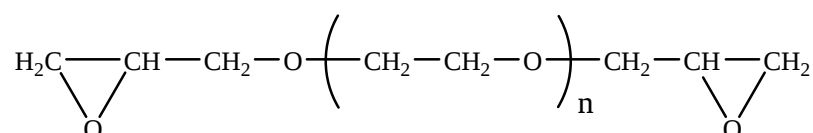
この植物バイオマスの中で最大量を占めるのが樹木を主体とする木質バイオマスである。木質バイオマスの利用としては、燃材や建築材としての直接利用、木炭などのような 1 次加工品の利用、さらに成分の利用などが考えられる。

木質バイオマスの主要な成分はセルロース（40～50％）、ヘミセルロース（20～30％）、及びリグニン（20～30％）である。木質バイオマスをこれらの個々の成分に分離して利用する方法の 1 つがパルプ化である。現在、パルプ製造の主流となっているクラフトパルプ化法では、セルロースを単離し、パルプ廃液中に含まれるヘミセルロースやリグニンは燃焼されるにとどまっている。これらの有効利用や循環的利用(リサイクル)が、持続可能な社会の構築の一端となることが予想される。そこで、リグニンの利用を促進する方法として、リグニンを機能性高分子材料に変換し、高付加価値を付与することが考えられた。

当研究室では、常圧酢酸パルプ化法による木質バイオマスの成分分離と、得られた成分の利用に関する研究を継続的に行っている。蒸解液として酢酸を用いたこの方法は、他のパルプ化法に比べ、環境低負荷で効率的な成分分離が可能であり、且つリグニンの変質も少ないため、リグニン利用を考える上でも有効な分離法である¹⁾。

このパルプ化法で得られた酢酸リグニン（AL）の機能化を図る研究の一つとして、両親媒性高分子材料に変換する研究が報告されている²⁾。両親媒性物質とは疎水性と親水性を併せ持った物質のことであり、食品、化粧品、印刷、ペイント、医薬などの分野で幅広く利用されている。AL はアセトンなどの有機溶媒やアルカリ水溶液に溶解するが、中性の水には不溶である。そこで、疎水性の AL を、アルカリ条件下で両端にエポキシ基を持つ親水性の polyethylene glycol diglycidylether (PEGDE) と反応させることで、両親媒性リグニン PEGDE-AL に変換した。PEGDE-AL は、弱酸性の水溶液にも溶解したため、液性に関係なく利用することが可能であり、クロロホルムなどの有機溶媒にも可溶であった。PEGDE の構造を下に示す。

polyethylene glycol diglycidylether (PEGDE)



本研究では、この両親媒性物質 PEGDE-AL を界面活性剤として利用することを目的とした。界面活性剤とは、2つの性質の異なる物質の境界面(界面)に配向をもって吸着し、

界面の性質を変化させる物質のことで、洗剤を始め、乳化剤、可溶化剤などとして幅広く用いられている。したがって、界面活性剤としての活用は、リグニンの利用用途を著しく拡大することに繋がる。

また、界面活性剤は親水基の分類によって、陰イオン（アニオン）、陽イオン（カチオン）、両性、非イオン（ノニオン）に分けられ、PEG を親水基とした PEGDE-AL は、構造的には非イオン界面活性剤に分類される。非イオン界面活性剤は主として、医薬品、農薬、化粧品の分野における乳化剤としてよく用いられており、低毒性の中性分子である PEG と天然高分子のリグニンからの調製物という利点を生かすことができると考える。

以上のような背景・目的から、本研究では、PEGDE ばかりでなく、数種の PEG 系エポキシ化合物と AL の反応により、両親媒性リグニン誘導体、特に、高い水溶性を発現する誘導体の調製を試みた。得られた誘導体の界面活性能を、水の表面張力の減少度から評価すると共に、その親水性・疎水性のバランスを数値化して、用途の検討を行った。また、界面活性剤が形成する特異な薄膜として、Langmuir-Blodgett（LB）単分子膜の調製も試み、両親媒的な物性を再評価すると共に、気液界面で形成された薄膜構造の解析を行った。加えて、環境調和型界面活性剤としての評価を行うために、誘導体の生分解性試験を行った。

2. 実験

2.1 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の調製

酢酸リグニン (AL) を 1M NaOH に溶解し (1g / 10 mL)、24 時間攪拌して、polyethylene glycol diglycidylether (PEGDE) (ナガセケムテックス株式会社製) を加え 70 °C で 2 時間攪拌した。本研究に用いた AL は当研究室で既に調製されていたもので、シラカンバ (*Betula platyphylla* SUKACHEV var. japonica) を 100 L 容大型蒸解釜で常圧酢酸パルプ化¹⁾して得られた。また、PEGDE は PEG 鎖長 (エチレンオキシドの繰り返し単位) が、n = 1、9、13、22 のもの (順にデナコール EX-811、830、841、861) を使用した。所定の反応時間が経過した後、反応溶液の一部を取り出し、酢酸を加え pH 4 にし、沈殿が生じないことを確認した後、全反応溶液を酢酸で pH 4 にして反応を終了させた。溶液をメンブレン (アミコン株式会社製、YM3、分子量 3.0×10^3 以下をカット) を取り付けた限外ろ過装置 (アドバンテック東洋株式会社製、UHP-76 K) を用いて未反応部分を取り除いた後、凍結乾燥により両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL を得た。今後 PEGDE-AL の後に (n,m) で、それぞれエチレンオキシド鎖長と、AL 1 g に対する PEG の添加量を示す様表記する。その調製方法を Fig.1 に示す。

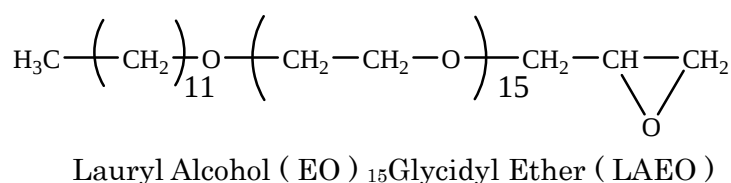
2.2 PEGDE の単官能化とその両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の調製

PEGDE 7 g (約 1×10^{-3} mol) をアセトン 5 mL に溶解し 50 °C に加熱した。この溶液にナトリウムエトキシド 0.34 g (0.5×10^{-3} mol) をエタノール 3 mL に溶かし、溶液を 50 °C に加熱し 20 分間かけて滴下した。さらに同温度で 10 分攪拌し、その後酢酸で中和した。溶媒を留去し、デシケーター中真空で 1 ~ 数日間放置して、単官能化した polyethylene glycol glycidylether (PEGGE) を得た。その調製方法を Fig.2 に示す。

PEGGE と AL による両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL は、2.1 と同様の方法で得た。

2.3 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の調製

デナコール EX-171 (Lauryl Alcohol (EO)₁₅Glycidyl Ether : LAEO) (ナガセケムテックス株式会社製) に 2.1 と同様の方法で AL と反応させて、両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL の調製を行った。またリグニンスルホン酸 (LS) とクラフトリグニン (KL) についても、2.1 と同様の方法で両親媒性リグニン誘導体を調製した。LAEO の構造を下に示す。



2.4 高速液体サイズ排除クロマトグラフィー（HP-SEC）による AL の平均分子量測定

AL を THF に溶解し、0.45 μm のメンブレンフィルターで強制ろ過した後、以下の条件で HP-SEC 測定を行った。検量線はポリスチレン標品を用いて作成した。

条件

カラム：Shodex GPC KF-805L（排除限界分子 4,000,000）2 本を直列に接続

溶媒：THF

流速：0.5 ml / min

カラム温度：40 °C

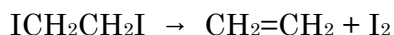
検出器：紫外吸光光度計（UV）（280 nm、検量線作成時は 254 nm）

検量線作成標品：ポリスチレン標品

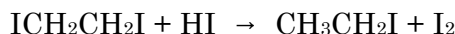
2.5 PEG 含量の測定

ヨウ化水素酸分解法による EO 含量の測定を行った^{3,4)}。その装置については Fig.3 に示す。

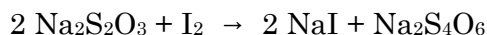
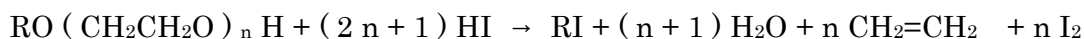
この反応は以下の反応式に従い進行する。



あるいは



ゆえに



従って、 $\cdot \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O} \cdot$ の構造より 1 分子の I_2 が生成し、これをチオ硫酸ナトリウムで滴定することで、 $\cdot \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O} \cdot$ の量が定量できる。

試料 0.2 g を反応フラスコ中に精秤し、窒素気流下でヨウ化水素酸 5 mL を加えた。反応フラスコをオイルバス中でゆっくりと 140 ~ 145 °C まで昇温させ、90 分間還流分解した。分解終了後、冷却管の上部より 20 wt.% ヨウ化カリウム溶液を加え、冷却管及びフラスコ上部に付いたヨウ素を溶解させ回収した。その他の器具も同様に洗浄してヨウ素を回収した。すべての分解液及び洗液を一緒にして、デンプンを指示薬として N/10 チオ硫酸ナトリウムでヨウ素量を滴定した。デンプン指示薬は、デンプン 1 g をミリ Q 水 100 mL に懸濁させたものを電子レンジ（700 w）にて 40 秒加熱して調製した。ブランク測定としてヨウ化水素酸のみの溶液についても同様に操作を行った。

各試料につき 2 回測定を行い、その平均値を測定値とし、次式から両親媒性リグニン誘導体全重量に対する EO 含量（％）、AL 1 mol に対する PEG 量（mol）（PEGDE あるいは PEGGE）を求めた。

$$EO(\%wt) = \frac{(S - B)}{1000} \times 0.1 \text{ mol/L} \times \frac{44}{2} \times \frac{1}{w_{\text{sample}}}$$

$$PEG(\text{mol} / \text{AL } 1 \text{ mol}) = \frac{AL M_w}{(100 - EO(\%wt.))} \times \frac{EO(\%wt.)}{44} \times \frac{1}{PEGchainL}$$

$EO(\%wt.)$: 両親媒性リグニン誘導体全重量に対する EO 含量

$PEG(\text{mol} / \text{AL } 1 \text{ mol})$: AL 1 mol に対する PEG 量

S : 試料滴定量（mL）

B : ブランク滴定量（mL）

W_{Sample} : 試料重量（g）

$AL M_w$: AL 重量平均分子量

$PEG \text{ chain } L$: PEG 鎖長

2.6 赤外線吸収（IR）スペクトルの測定

PEGDE-AL、PEGGE-AL、AL の IR スペクトルをフーリエ変換赤外分光光度計（日本バイオラッド株式会社製、IR FIS-50 A）を用いて測定した。各試料約 2 mg と臭化カリウム 80 mg を、メノウ乳鉢で混合して、この微粉碎物を加圧してペレット状に成型した。バックグラウンド測定は臭化カリウムで行い、スキャンスピード 5 KHz、フィルター 1.12 KHz、感度 1、測定範囲 $4000 \text{ cm}^{-1} \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 、分解能 4 cm^{-1} 、積算回数 64 回の測定条件で行い、オフセット機能によって 2100 cm^{-1} での Absorbance を 0 に設定した。

2.7 Du Nouy 表面張力計による表面張力の測定

Du Nouy 表面張力計（Fig.4）を用い、JIS K3362 に準じて行った。

試料をミリ Q 水に溶解させて試験液を調製し、ガラスシャーレ上に展開した。ミリ Q 水で洗浄し、ガス炎の酸化炎で赤熱するまで焼き冷却した白金環を、さおの先端につるして目盛をゼロに合わせ、さおが支持台と至近の距離になるように調節した。液展開後 2 分経過時に白金環を試験液表面へ静かに触れさせた。白金環が液面から離れないように注意しながら、ネジを回してシャーレを台と共に下げると、環が引っ張られてさおが下がり、それを元に戻すために鋼線をねじって支持台にさおが至近の距離となるようにした。この作業を徐々に繰り返し行っていくと、白金環が液面から離れるので、そのときの指度を読み取った。測定は液展開後から 2 分ごとに同一試験液について 3 回行い、それぞれの測定結

果と 3 回の平均値との差が 2 % を超えないときの平均値をとった。また、液温は表面張力の測定後に計測した。表面張力は以下の式によって算出した。

$$\sigma = \theta \times F$$

$$F = 0.7250 + \sqrt{\frac{0.01452\theta}{C^2} + 0.04534 - \frac{1.679}{\frac{R}{r}}}$$

σ : 表面張力 (10^{-3} N/m)

θ : 指度の平均値 (10^{-3} N/m)

F : 補正ファクター

C : 白金環の円周 $2\pi R$ (cm)

R : 白金環の半径 6.225 (cm)

r : 白金線の半径 0.205 (cm)

2.8 自動表面張力計による表面張力の測定

自動表面張力計 CBVP-Z 型 (協和界面科学) を用いて試験液の表面張力の経時変化を測定した。

測定の調整はミリ Q 水で行い、すべての試験液について室温 23 °C で測定を行った。ミリ Q 水で白金プレートを洗浄してアルコールランプで赤熱するまで焼き、冷却後、装着して値をゼロに合わせた。試験液をガラスシャーレに展開し、台にセットした。白金プレートをはずして液に 5 mm ほど浸水させ、再びプレートを装着した。スタートさせ、台が上昇して白金プレートに触れ、表面張力の測定を開始した。時間は液展開後からカウントを始めた。5 分間隔で測定値を記録し、平衡に達するまで 3 ~ 5 時間計測した。

2.9 生分解性試験

JIS K6950 プラスチック-活性汚泥による好氣的生分解度試験に準じて行った。BOD (Biological Oxygen Demand : 生物化学的酸素消費量) はタイテック BOD Tester を用いた。

まず、基礎培養基の調製を行った。緩衝液 (リン酸水素二カリウム 0.125 mol、リン酸二水素カリウム 0.0625 mol、リン酸水素二ナトリウム 0.188 mol、塩化アンモニウム 0.00938 mol を蒸留水に溶かし全量を 1 L とした。) 10 mL を蒸留水 800 mL と混合し、これに塩化カルシウム溶液 (塩化カルシウム 0.248 mol を蒸留水に溶かし全量を 1 L とした。)、硫酸マグネシウム溶液 (硫酸マグネシウム 0.0914 mol を蒸留水に溶かし全量を 1 L とした。)、塩化鉄 () 溶液 (塩化鉄 () 六水和物 0.000925 mol を蒸留水に溶かし全量を 1 L とした。) をそれぞれ 1 mL 加えた後、蒸留水を加えて 1 L とした。また、活性汚泥として、室温で 1 日曝気した札幌市創生川下水処理場提供の返送汚泥を、用いた。懸濁量は JIS K0101 の 16.1 (懸濁物質) によって求め、3 回測定した。培養瓶に生物試験

用培養液（基礎培養基 200 mL に活性汚泥 30 mg/L と試料 100 mg/L を添加した。）、対照物質用培養液（基礎培養基 200 mL に活性汚泥 30 mg/L、アニリン 100 mg/L を添加した。）、生物空試験用培養液（基礎培養基 200 mL に活性汚泥 30 mg/L を添加した。）を調製した。培養液にスターラーバーを入れ、瓶のゴム栓部に取り付けられている受け皿に二酸化炭素吸収液（水酸化ナトリウム 0.075 mol を蒸留水 7 mL に溶かした。）を 1 mL 入れた。培養瓶を 25 °C の恒温槽に設置して、攪拌しながら 28 日間培養した。培養瓶に藻類が育たないように恒温槽は遮光カバーで覆い、恒温槽中の水にアジ化ナトリウムを少量加えた。

仕組みについて Fig.5 に示す。検水中の有機物を微生物が分解し、溶存酸素を消費して二酸化炭素を排出する。排出した二酸化炭素は、水酸化ナトリウム水溶液のトラップで吸収される。液中の溶存酸素が消費されると、気相から酸素が補給され、気相部の気圧が下がり、ビュレットの下端から水を吸入する。したがって、吸入水量は消費された酸素量となる。

これを BOD として、以下の式を用いて算出した。

$$BOD(mg / L) = \frac{32 \times A}{0.082 \times 298} \times \frac{1000}{200}$$

32：酸素の分子量

A：消費酸素量（mL）

0.082：気体定数

298：絶対温度

200：検水量（mL）

また BOD の、理論酸素要求量（*ThOD*）（試料を完全に酸化するのに必要とする酸素消費量の計算値）に対する % で、生分解度を表した。

$$D_B = \frac{S - B}{ThOD} \times 100$$

D_B ：試料の生分解度（%）

S ：生物試験培養液の BOD 値

B ：生物空試験用培養液の BOD 値

$ThOD$ ：試料を完全に酸化するのに必要とする酸素消費量の計算値（理論酸素要求量）（mg）

この式において $ThOD$ は、試料の組成式 $C_cH_hN_nO_o$ から以下の式で算出した。また、両親媒性リグニン誘導体、AL 及び KL については元素分析から C,H,O の比を求め、組成式とした。

窒素原子を分子中に含んでいない試料の場合

$$ThOD(mg) = \frac{A \times M_o \times (2c + (h - 3n) / 2 - o)}{c \times M_c + h \times M_h + n \times M_n + o \times M_o}$$

窒素原子を分子中に含んでいる試料の場合

$$ThOD(mg) = \frac{A \times M_o \times (2c + h / 2 + 5n / 2 - o)}{c \times M_c + h \times M_h + n \times M_n + o \times M_o}$$

A : 試料の添加量 (mg)

M_i : 原子 i の原子量

2.10 Langmuir-Brodgett (LB) 単分子膜の調製

両親媒性リグニン誘導体をクロロホルムに種々の濃度で溶解させたものを試料溶液とし、USI 社製の LB 膜製造装置 FSD-220 LB system を用いて、表面圧の測定および LB 単分子膜の調製を行った (Fig.6)。トラフの水温は 21 °C で行った。

トラフ、バリアーをエタノールで拭いて清浄にした後、ミリ Q 水 260 mL でトラフを満たした。バリアーをセットし開始点まで移動させ、試料溶液をシリンジで滴下し、5 分間保持してクロロホルムを揮発させた。バリアースピード 0.25 mm/min で圧縮し、表面圧を測定した。

様々な表面圧に圧縮した膜を Langmuir-Blodgett (LB) 法によって、dipping スピード 0.5 mm/min で親水性処理したガラス基板上に転写し、LB 単分子膜を調製した。

親水性ガラス基板は、水酸化カリウム飽和エタノール溶液中に一晩浸し、その後ミリ Q 水で超音波洗浄を繰り返して得た⁵⁾。

2.11 原子間力顕微鏡 (AFM) 観察

様々な圧で調製した LB 単分子膜を、AFM により観察した。AFM 観察は Digital Instruments の Nanoscope を用いて行った。

3. 結果及び考察

3.1 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の調製

AL は中性の水には不溶である。これを水溶性誘導体に変換することで、その用途が広がると考えられ、本研究では界面活性剤として利用できる誘導体の開発を目的とした。AL を水溶性にするには、AL の水酸基と両端にエポキシ基を持つ親水性の PEG (PEGDE) を反応させることで、水溶性誘導体 PEGDE-AL を調製する方法が既に報告されている²⁾。

しかしながら Fig.7 に示す様に、この調製方法では 3 日間という長時間の反応を要するため、工業化にはより簡便で低コストな方法が求められる。そこで、本研究ではその調製法の簡略化を試みた。水溶性誘導体の生成は、水溶液を弱酸性条件にして沈殿が生じないことにより確認した。n = 13 の PEGDE を用いて種々の条件で調製を行ったところ、2 時間 70 °C の反応のみで沈殿が生じなくなり、水溶性誘導体が短時間で調製可能であることが示された。更に、水溶性誘導体の調製に必要な PEGDE の添加量の削減も試みた。既報では AL 1 g につき n = 13 の PEGDE 1.6 g を要したが、今回の調製方法では PEGDE 1 g で水溶性誘導体が調製可能となった。n = 1, 9, 22 の PEGDE でも水溶性誘導体の調製を試みたところ、n = 1 の PEGDE は AL への添加量を増やしても水溶性誘導体は調製できなかったが、n = 9, 22 の PEGDE では、どちらも AL 1 g につき PEGDE 1 g を添加したとき、すべて水溶性誘導体に変換された。以上の結果より、従来に比べ短時間かつ簡便で低コストな調製方法を見出すことができた。

3.2 ¹H-NMR、FT-IR 及び分子量測定による PEGDE-AL の解析

FT-IR 及び ¹H-NMR 測定により、両親媒性リグニン PEGDE-AL の構造解析を行った。

まず、AL に PEGDE が導入されたかを確認するため FT-IR 測定を行った (Fig.8)。PEGDE-AL の IR スペクトルでは、1500 cm⁻¹ 付近に AL の芳香核に由来する吸収帯と、2900 cm⁻¹ 付近に PEG のメチレンに由来する吸収帯が観測され、AL 中に PEG が導入されたことが示された。

次に、PEGDE のエポキシ基と AL の反応により PEGDE-AL が生成したことを確認するため、PEGDE 及び PEGDE-AL の ¹H-NMR 測定を行った (Fig. 9)。PEGDE の ¹H-NMR スペクトルで観測されるエポキシシグナル (2.5 ppm, 2.7 ppm, 3.1 ppm 付近) が PEGDE-AL のスペクトルには見られないことから、エポキシ基と AL が反応したと考えられる。

更に、PEGDE-AL の分子量を森林総研の久保氏に依頼して測定したところ、n = 9 の PEGDE を AL 1 g につき 2 g、3 g、4 g 添加したときの PEGDE-AL の重量平均分子量は、それぞれ 227,000、292,000、389000 となった。

3.3 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL 中の PEG 量

両親媒性リグニン誘導体の水溶性発現に寄与する、AL に実際に導入された PEG 量を求めるため、ヨウ化水素酸分解法によって EO 含量を測定した。この定量法は EO 1 mol から I₂ 1 mol を生成する反応を利用した方法で、Ethyleneglycol、Polyethylene Glycol 600 を用いて定量性を評価した結果、4 %以内の測定誤差で EO 量を測定できることがわかった。そこで、同一サンプルについて 2 回測定を行い、その平均値から EO 量を定量した。定量値を Table.1 に示す。EO 含量 (%) は、両親媒性リグニン誘導体全重量に対する EO の割合を示している。両親媒性リグニン誘導体の水溶性が発現するときの EO 含量は、EO 鎖長に関係なく一定となることが予想されたが、結果では n = 9 のときに 54.9 %と最低値をとり、n = 9, 13, 22 の順に増加した。

そこで EO 鎖長の違いによる影響を、更に検討することとした。EO 鎖長が長くなれば、水溶性発現に必要な PEGDE の付加 mol 数が少なくなることが予想されたため、求めた EO 含量を AL 1 mol に対する PEG の付加 mol 数に換算した。この時用いた AL の分子量は、高速液体サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって測定した。SEC クロマトグラムを Fig.10 に示す。今回調製に用いた AL は、重量平均分子量 $\overline{M}_w$ が 1800 であっ

たが、文献値での $\overline{M}_w$ は 3800 であった²⁾のに比べ、低分子量の結果となった。その理由として、文献での調製は 2 L スケールであるのに対し、今回用いた AL は 100L 容大型蒸解釜で調製された AL であったため、蒸解液の冷却に時間を要し、その間に酢酸による AL の分解が進んだ可能性も考えられる。この結果を基に、AL 1 mol に対する PEG の付加 mol 数 (PEG mol/AL1mol) を算出した。水溶性誘導体を調製するのに必要な PEG mol/AL1mol を縦軸に EO 鎖長を横軸にプロットした結果 Fig.11 のようになり、予想通り、長い鎖のものではより少ない数の PEG 付加で水溶性が発現することが示唆された。また、水溶性の発現には EO 含量に閾値があることが示唆され、n = 1 の場合では、AL の水酸基がすべて反応しないと水溶性にならないことが分かった。従って、n = 1 の PEGDE で水溶性誘導体が調製できなかったのは、その反応率の低さに起因することが明らかとなった。

また、水溶性誘導体の調製に必要な PEGDE の添加量以上の量を AL に加えた時、その性状に変化が生じるかどうかを検討するため、種々の量の PEGDE を添加した PEGDE-AL を調製し、同様に EO 含量の測定を行った (Table.1)。EO 含量は PEG の仕込み量が増えるにしたがって直線的に増加することが確認された (Fig.12)。

更に、得られた PEG の付加 mol 数と AL の分子量から PEGDE-AL の分子量を次式によって求めた。

$$1800 + M_{PEGDE} \times PEG(\text{mol} / \text{AL}1\text{mol})$$

1800 : AL の重量平均分子量

M_{PEGDE} : PEGDE の分子量

n = 9 の PEGDE を AL 1 g につき 2 g、3 g、4 g 添加したときの PEGDE-AL の計算結果

は、それぞれ 5700、7400、8100 となった。この値は、3.3 での測定結果の 4 分の 1 以下となったことから、PEGDE-AL は AL 間が架橋あるいは分子間力によって凝集し、巨大な分子を構成していることが示唆された。

3.4 FT-IR による EO 含量の定量の検討

FT-IR による EO 含量の定量を検討した。PEGDE-AL の PEG のエーテル由来の 1116 cm^{-1} 付近のバンドの Absorbance 1 と、リグニンの芳香核由来の 1500 cm^{-1} 付近のバンドの Absorbance 2 の比 (Abs.1/Abs.2) を求めた。この比と、ヨウ化水素酸分解法による EO 含量の定量結果との関係を Fig.13 に示す。R² = 0.8908 と高相関が確認できた。このことから、IR 測定により、EO 含量定量が容易に行えることが示された。

3.5 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の親水性と疎水性のバランス

親水性と疎水性のバランスである hydrophile-lipophile Balance (HLB) は、各種の界面活性剤について数値化されており、乳化及び洗浄力について油や汚れの極性、温度に関して最適 HLB 値が示されている。従って、HLB 範囲に対応して界面活性剤の適応性を示すことができるので、界面活性剤の用途を選択する目安として広く用いられている⁶⁾。非イオン界面活性剤においては、HLB と用途の関係は Table.2 のように示されている⁶⁾。

HLB の数値化は種々の方法が提出されているが、本研究では広く用いられている Griffin 式から HLB 値 (0 ~ 20) を求めた。

$$HLB = 20 (M_H / M)$$

M_H : 親水基部分の分子量

M : 活性剤の分子量

この式において M_H / M は、全重量に対する親水基の割合を示した EO 含量に置き換えることができると考え、計算した。その結果を Table.3 に示す。HLB 値は 11~14 程度となり、O/W 型乳化剤や洗浄剤としての適応性が確認された。

3.6 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の表面張力

界面活性剤の最も大きな特性の 1 つが、低濃度で水の表面張力を著しく下げることである。純水は 20°C で 72.7 mN/m の表面張力を示すが、そこに界面活性剤を添加すると、30 ~ 40 mN/m 程度まで低下するといわれている⁶⁾。

通常、濃度の対数を横軸に、表面張力を縦軸にプロットすると、直線に近似できる減少線と水平に近いもう 1 つの線が与えられる。その交点に当たる濃度が、臨界ミセル濃度 (critical micelle concentration : CMC) である⁷⁾。この濃度近くでは、水面で界面活性剤分子が飽和状態になり、溶液中でミセルを形成し始める。また、可溶化能や洗浄力、伝導

度などの物理的性質も急激に変化するため、界面活性剤の大変重要なパラメータの 1 つである。

両親媒性リグニン誘導体水溶液、その他の試料溶液の表面張力を、種々の濃度で測定した結果を Fig.14 ~ 17 に示す。CMC と、その濃度での表面張力をグラフの下に記した。

3.6.1 PEGDE-AL と他の物質の表面張力の比較

PEGDE のみではほとんど表面張力の低下は起こらなかったが、AL を付加した PEGDE-AL では著しく表面張力が減少した。PEG2000 や PEG20000、PEG methylether でも表面張力低下能はほとんど認められなかった。従って、界面活性性能の発現は、PEG と AL による両親媒性物質の形成によることが明示された。AL はアルカリ水溶液には可溶であるが、そのときの表面張力は 39 mN/m まで低下した。しかしながら、あくまでもアルカリ溶液中においてアニオンとなっている場合の界面活性性能であるので、AL のみでは水中で使用できない。

また、セメントの分散剤として用いられるリグニンスルホン酸 (LS) は水溶性リグニンの 1 つで、界面活性剤として実際に利用されているが、今回調製した両親媒性リグニン誘導体は、ほとんどが LS よりも高い界面活性性能を示した。TritonX-100 は一般的な界面活性剤の 1 つであるが、CMC、表面張力ともに、その界面活性性能には及ばなかった。

3.6.2 PEG 添加量の違いによる影響

PEGDE-AL の結果についてみると、 $n = 9$ のとき、PEG 添加量が 1 ~ 2 g へ増加するに伴って CMC が高くなり、そのときの表面張力は低下した。 $n = 13, 22$ でも同じ傾向が確認できた。一般に炭化水素鎖を疎水基とする界面活性剤は CH_2 が増え疎水性の割合が高くなると CMC は低下し、また EO 系非イオン界面活性剤では EO 鎖長の増加で親水性が増すと、表面張力は増加後減少する⁸⁾とされており、この結果はそれに従っていると考えられる。

また、 $n = 9$ では 2 ~ 4 g まで PEG 添加量を増やしても、CMC、表面張力ともに変化が見られなかったことから、親水基と疎水基の割合の変化による CMC、表面張力増減の傾向はある程度で頭打ちとなることが考えられる。

3.6.3 EO 鎖長の違いによる影響

EO 含量がほぼ同じである PEGDE-AL(9,2)、PEGDE-AL(13,1)、PEGDE-AL(22,1)を比較すると、 $n = 13, 22$ では違いは認められないが、 $n = 9$ のとき若干 CMC が高くなり、表面張力が減少した。CMC について同様の傾向が、EO 含量がほぼ同じ PEGDE-AL(9,3)、PEGDE-AL(13,2)、PEGDE-AL(22,2)を比較すると確認できる。また、PEG 量がほぼ同じである PEGDE-AL(9,1)、PEGDE-AL(13,1)、PEGDE-AL(22,2)を比較すると、どれも AL 1 mol について 5 mol 程度付いた PEGDE-AL だが、EO 鎖長の増加で親水性が増すため、CMC は高くなり、表面張力は低下するという傾向がみられる。

3.7 両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL の表面張力の経時変化

Du Nouy 表面張力計による測定は、溶液を展開後 6 ~ 10 分後にほぼ一定の値になったときの表面張力を測定した。しかし、低濃度溶液やかさ高い分子の溶液の表面張力は、長時間に渡り変化を起こすといわれる。試料によって平衡に達するのに数時間から数日かかった例も報告されている⁹⁾。しかしながら、Du Nouy 表面張力計によって種々の濃度での表面張力を長時間かけて測定することは困難であった。

そこで、表面張力の経時変化を調べるため自動表面張力計で測定を行い、平衡に達するまでの 5 時間程度の連続データを得た。その結果を Fig.18、19 に示す。

TritonX-100 は CMC 付近では 30 分で平衡に達し、表面張力は 1 mN/m 程度しか減少せず、最低値は 31mN/m となった。一方、両親媒性リグニン誘導体 PEGDE-AL は、CMC 付近では 100 分で平衡に達し、表面張力は 10 mN/m 程度減少し、37 mN/m まで低下した。しかし、TritonX-100 の CMC 付近での平衡値である 31 mN/m には及ばなかった。

3.8 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の調製

PEGDE-AL の界面活性が市販品の界面活性剤である TritonX-100 に及ばなかった要因として、PEGDE-AL は、PEGDE が 2 つのエポキシ基を持つため、AL 間で架橋が起こり気-液界面において不安定な構造をとることが予想された。そこで、PEGDE を単官能化し、AL 間の架橋を防ぐことで、一般的な界面活性剤の構造により近いものとなり、界面で表面張力を減少させる安定な構造をとると考えた (Fig.20)。

単官能エポキシ化合物の合成は、ナトリウムエトキシドを PEGDE に対し 0.5 当量加え、PEGDE の 2 つあるエポキシ基のうち片方だけに反応させて行った。単官能化は、NMR により確認した。結果を Fig.21、22 に示す。まず ^1H - ^1H COSY により各水素シグナルの帰属を行い、 $n = 13$ の PEGGE の構造決定した後、 ^1H -NMR 面積比からそれぞれ確認した。それぞれそれによって確認されたエポキシ基とエトキシ基由来のプロトンを面積比算出に用いた。その結果、 $n = 13$, 22 のものではほぼ 100 %単官能化できたことが確認できた。 $n = 9$ の PEGDE はナトリウムエトキシドと過剰に反応してしまったが、残存エポキシ基のスペクトルが確認できたため、単官能化した PEGGE と両端の 2 つのエポキシ基が反応した化合物が共存していると考ええる。単官能化した PEGGE は PEGDE と同様に AL と反応させて両親媒性リグニン PEGGE-AL を得た。

3.9 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の水溶性誘導体の調製に必要な PEG 量

PEGDE-AL と同様に、調製した両親媒性リグニン誘導体は、界面活性剤として利用するためにも、水溶性であることが求められる。PEGGE では、 $n = 9$ では AL 1 g に対して 2.5 g、 $n = 13$, 22 では AL 1 g に対して 2 g をそれぞれ添加したとき、水溶性誘導体が調製可能となった。

実際に導入された PEG 量を測定するために、ヨウ化水素酸分解法によって EO 含量を測定した結果、水溶性誘導体を調製するには PEGDE の 2 倍量以上の PEGGE が必要であっ

たが、得られた PEGGE-AL の EO 含量は、半分量で調製した PEGDE-AL と同程度であった。これは、2 官能の PEGDE のほうが容易に AL と反応したことに起因すると考えられた。さらに、水溶性誘導体を調製するのに必要な PEG 量 (mol/AL 1 mol) を縦軸に EO 鎖長を横軸にプロットした結果、Fig.23 のようになり、PEGDE-AL と同様に、短い鎖のものではより多くの数の PEG 付加が要求されることが示唆された。また、EO 含量は PEG の仕込み量が増えるにしたがって増加することが確認された (Fig.24)。

3.10 FT-IR による PEGGE-AL の EO 含量の定量

両親媒性リグニン PEGGE-AL の構造解析のため、PEGGE-AL の IR スペクトルを FT-IR により測定した (Fig.25)。

PEGGE-AL のスペクトルでは、PEGDE-AL と同様に 1500 cm^{-1} 付近に AL による芳香核由来の吸収が確認され、また 2900 cm^{-1} 付近に PEG によるメチレン由来の吸収が確認され、AL 中に PEG が導入されたことが示された。

また 3.3 と同様の方法で、FT-IR による EO 含量の定量を検討した。その結果を Fig.26 に示す。 $R^2 = 0.2349$ と低いことから、IR 測定による EO 含量の定量は PEGGE-AL には適さないと考えられるが、この結果は PEGDE-AL で得られた結論と相反する。その理由として、PEGGE-AL ではナトリウムエトキシド由来のエーテルを含むため、誤差が大きくなった可能性が考えられる。

3.11 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の親水性と疎水性のバランス

その結果を Table.3 に示す。HLB 値は PEGDE-AL とほぼ同程度の 12 ~ 14 程度となり、O/W 型乳化剤や洗浄剤としての適応性が確認された。

3.12 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の表面張力

PEGDE を単官能化して得た PEGGE から調製した、両親媒性リグニン PEGGE-AL 水溶液の表面張力測定の結果を Fig.27 に示す。PEGDE-AL(13,1)と PEGGE-AL(13,2)を比較すると、PEG 量はほぼ同じであるが、CMC、表面張力ともに若干減少している。また、PEGDE-AL(22,1)と PEGGE-AL(22,2)の比較でも同様の結果が得られた。単官能化による気液界面での安定化が影響したと考えられる。さらに、PEGDE-AL と同じく、PEG 添加量を増やすと CMC が高くなり表面張力は減少した。また、 $n = 13$ で 3 ~ 4 g まで PEG 添加量を増やしても、CMC、表面張力ともに変化が見られなかったことから、親水基と疎水基の割合の変化による CMC、表面張力増減の傾向はある程度で頭打ちとなることが考えられる。今回調製した両親媒性リグニン誘導体のうち最も低い表面張力を示したのは PEGGE-AL(13,3)と PEGGE-AL(13,4)であった。しかし、その界面活性は TritonX-100 には及ばなかった。

3.13 両親媒性リグニン誘導体 PEGGE-AL の表面張力の経時変化

PEGDE-AL と同様に、PEGGE-AL でも平衡に達した時の表面張力を性格に測定するため、自動表面張力計を用いて測定を行い、表面張力の経時変化を調べた。その結果を Fig.28 に示す。

PEGGE-AL(13,4)は CMC 付近では 100 分で平衡に達し、表面張力は 10 mN/m 程度減少し、最低値は 28 mN/m となり、TritonX-100 の CMC 付近での平衡値である 31 mN/m よりも低い値を示した。

以上の結果より、CMC は通常の界面活性剤よりも高いが、表面張力は同程度まで低下させることができることが示唆された。

3.14 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の調製

LAEO は高い界面活性を持つエポキシ化合物である。前述の PEGDE-AL や PEGGE-AL は、どちらも界面活性能を持たない物質から、それらを合わせることで界面活性能を有する両親媒性物質を調製した。ここでは、既に界面活性能を持つ LAEO に界面活性能を持たない疎水性高分子を付加した時、その界面活性能がどの程度変化するかを検討するため、LAEO を各種リグニンに導入し、水溶性誘導体の調製を試みた。AL 1 g につき 2.5 g、KL 1 g につき 5 g の LAEO を添加したとき水溶性誘導体を調製することができた。また LS はすでに水溶性であるが、今回は LS 1 g につき LAEO 3 g を添加して LAEO-LS を調製した。水溶性誘導体の調製に必要な LAEO 量が AL 1 g につき 2.5 g、KL 1 g につき 5 g と異なるのは、その化学組成や構造が異なるためではないかと考える。KL はリグニンの硫化と加水分解により得られるが、硫化によるスルフィドの形成でリグニンが架橋され、疎水性が増加した可能性が考えられる。

3.15 両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-LS、LAEO-KL の表面張力

両親媒性リグニン誘導体 LAEO-AL、LAEO-KL、LAEO-LS、LAEO の Du Nouy 表面張力計による測定結果を Fig.29 に示す。LAEO の界面活性能に比べ、AL や KL、LS を導入した LAEO-AL や LAEO-KL、LAEO-LS で、ほとんど変化しなかった。このことは、高分子界面活性剤において疎水基の分子量を変えても界面活性能はあまり変わらない⁸⁾という傾向に従っているものと考えた。よって、LAEO の界面活性能を損なわずリグニンで高分子化できることが示された。また、これらの結果は、リグニンの種類によらず両親媒性リグニン誘導体を本研究の方法によって調製可能であることを示唆している。

3.16 両親媒性リグニン誘導体の生分解性

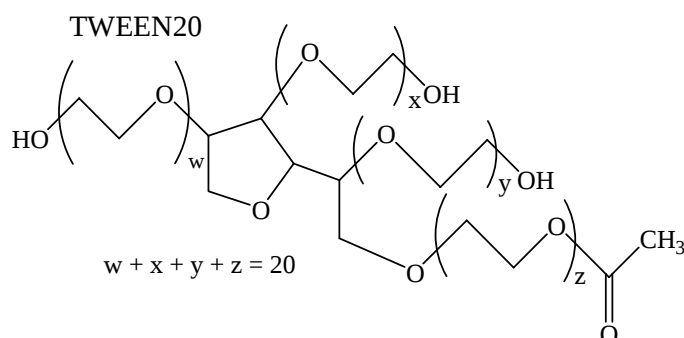
界面活性剤は、最終的には下水などの水環境に排出される。排出された界面活性剤の分解は、水溶性や吸着性などの特性によっても影響されうるが、生分解性が大変大きな影響

を与える。現在では、生分解性などの環境適合性が新規の界面活性剤を開発する上での要件の1つとなっている。

今回生分解試験に使用したアニリンは生分解性試験において微生物の活性度の指標として用いられており、易分解性化合物の一例として用いられる物質である¹⁰⁾。得られた結果を Fig.30、31 に示す。アニリンの生分解度は試験終了後 60%であることが求められるのだが、今回の試験では 40 ~ 50 %程度となってしまうため、測定値をそのまま有効な生分解度とすることはできないが、易分解性の指標であるアニリンと比較することで生分解性を評価したい。またこのように低い値となってしまったのは、今回の生物空試験用培養液の 28 日後の BOD 値が、基準値を満たすものであったことから、植種の量の問題ではなく、微生物がアニリンに馴染まず、微生物数が減少する等の影響が現れた可能性が考えられる。馴化も含め測定条件に関しては今後検討することが必要である。

今回調製した両親媒性リグニン誘導体の生分解度は、元素分析結果を基に算出した ThOD から求めた。元素分析結果を Table.4 に示す。

下に示した、TWEEN20 は生化学分野でよく使用される市販の界面活性剤である。



今回調製した両親媒性リグニンは、TWEEN20 よりも低いものとなったが、今回の試験で 20 %以上の分解が進んだことは、アニリンの結果と比較してもある程度の生分解性を有していることを示唆している。また、2 段的分解を示していることから、生物的に分解程度が違う 2 成分である AL、PEG それぞれ両方が分解されていることを示していると考えられる。また、単離リグニンである AL や KL の生分解性と比較すると、今回調製した両親媒性リグニン誘導体は高い生分解性を示した。

以上の結果より、両親媒性リグニン誘導体はある程度生分解性を持っており、単離リグニンそのものよりも分解されることが示された。天然物由来であるリグニンよりも生分解性が高いことを考えると、この両親媒性リグニン誘導体は環境調和型界面活性剤として利用できると結論付けられる。

3.17 両親媒性リグニン誘導体の LB 単分子膜

両親媒性化合物の特徴のひとつに LB 単分子膜¹¹⁾の製膜性があげられる。単分子膜は疎水基と親水基をもつ物質（両親媒性物質）が、親水基を水面に接し、疎水基を空中に突

き出して配向して形成される。一般的には水不溶性の両親媒性物質をクロロホルムなどに溶解させたものを、水面に滴下して、単分子膜を形成する。この単分子膜をトラフの面積を変え圧縮することで表面圧が変化する。また、トラフ面積を滴下した分子数で割ることで、分子 1 個あたりの面積を求めた。この様子をグラフで表したのが π (表面圧) – A (面積) 曲線である。 π (表面圧) は、清浄な水面の表面張力 γ_w と、単分子膜で覆われた水面の表面張力 γ との差として次の式で表される。

$$\pi = \gamma_w - \gamma$$

単分子膜は圧縮した膜として利用されるので、圧縮可能であることが重要となり、このような膜の π – A 曲線は面積の減少に伴ってあるところで急激に表面圧の上昇が起こり、膜が崩壊する。これは不溶性界面活性剤の特徴といわれる。しかし、水溶性界面活性剤でも圧縮速度より、界面からの脱離速度のほうが遅いとき、単分子膜が圧縮可能であるということがわかっており^{12,13)}、親水基の水への親和力、疎水基間の凝集力、及びそのバランスに支配されている。また、単分子膜は分子が二次元の集合状態であるので、単純化された条件で物性がわかり、界面現象を支配する吸着層に関する知識をえることができ、更に化学・医学・生物学多方面にわたる応用例が多いこと¹⁴⁻¹⁸⁾からも、両親媒性リグニン誘導体の特性を解析する 1 つとして、その製膜性を検討することは重要である。

PEGGE-AL(13,4)、PEGGE-AL(22,2)について種々の濃度のクロロホルム溶液で製膜を試みた。分子量は AL の $M_w = 1800$ と、EO 含量測定から求めた PEG 量をもとに以下の式から算出した。

$$M = M_{PEG} \times PEG_{mol/AL1mol} + 1800$$

M_{PEG} : PEGGE の分子量

$PEG_{mol/AL1mol}$: AL 1mol に対する PEG の付加 mol 数

その結果、PEGGE-AL(13,4)、PEGGE-AL(22,2)それぞれ $M = 7800$ 、 $M = 5200$ となった。

製膜性の検討の結果、PEGGE-AL(13,4)では 17 mg/mL を 250 μ L、PEGGE-AL(22,2)では 40 mg/mL を 200 μ L 滴下したとき圧縮可能な膜に特徴的なグラフが与えられた。結果をそれぞれ Fig.32、33 に示す。圧縮していった膜が崩壊に達するグラフを得るのに、かなりの試料を必要としたことから、一部が水に溶解していると考えられる。さらに、膜の様子を観察するために、PEGGE-AL(22,2)で調製した膜を表面圧 5 mN/m のところで親水処理したガラス基板上に Langmuir-Blodgett (LB) 法により転写し、原子間力顕微鏡 (AFM) で観察した。結果を Fig. 34 に示す。楕円形の凝集体がいくつかあり、球状ミセルの様な形になっているように見えた。両親媒性リグニン誘導体で調製した LB 単分子膜の TOF-SIMS による表面分析により、水面上の PEGGE-AL の薄膜が水面上に親水性の

PEGGE を、空気中に疎水性の AL を二次元的に配向した単分子膜構造をとっていることが確認されており¹⁹⁾、今回調製した膜も同様の構造をとっていることが予想され、膜を圧縮したことで局所的に歪みが生じ、そこに球状ミセルのような楕円体が形成されたのではないかと考えられる。

今後、PEGDE-AL の膜との比較を行うことで界面での状態を把握することができるので、単官能化の影響を調べる意味でも単分子膜についての検討は大変重要といえる。

4. 結言

本研究では、両親媒性リグニン誘導体の界面活性能に着目し、界面活性剤としての利用の可能性を示すことを目的とした。界面活性能を評価するために、HLB 値の算出と、表面張力の測定を行い、さらに、生分解性や LB 単分子膜製膜性についても検討した。その結果、以下の結論を得た。

本研究で調製した両親媒性リグニン誘導体は、親水 - 疎水基の割合を示す HLB 値が 11 ~ 14 を示し、乳化剤や洗剤としての使用に好適な値となった。

また、界面活性能のひとつである表面張力の測定の結果、PEGDE は殆ど水の表面張力を低下させなかったが、n が 9 以上の PEGDE とリグニンとの反応物は顕著に低下させ、臨界ミセル濃度 (CMC) における最小表面張力は 40 mN/m となった。一方、PEG 系市販界面活性剤である TritonX-100 は、同条件での表面張力が 32 mN/m となり、リグニン誘導体は市販品より弱い界面活性能を示した。これは、PEGDE は二官能エポキシ化合物のために、リグニン分子を架橋し、水面に安定な薄膜が形成されず、表面張力の低下が抑制されていることに起因すると予想された。そこで、架橋反応を起こさない単官能のエポキシ化合物 (PEGGE) を合成して、PEGGE-AL を調製した結果、同程度の EO 含量の PEGGE-AL のほうが PEGDE-AL より低い CMC で、低い表面張力を示した。また、高分子界面活性剤により表面張力低下には長時間要することが示されているため、自動表面張力計を用いて、表面張力の経時変化を調べた。Triton X-100 の CMC における表面張力は顕著な経時変化を示さなかったが、リグニン誘導体では著しい低下を示し、約 100 分後に平衡値に達した。この時の測定値は、前述の測定より 10 mN/m 程度低下した。リグニン誘導体の中では、PEGGE-AL が最も小さな値を示し、TritonX-100 より低い 28 mN/m となった。

さらに生分解性試験において、両親媒性リグニン誘導体は、原料の AL より高い生分解度を示し、また、分解が 2 段階を示したため、AL、PEG それぞれの画分が段階的に分解されることが示唆された。

また、LB 単分子膜製膜性について検討した結果、PEGGE-AL で圧縮可能な膜が調製でき、その両親媒的性質が確認された。

以上の結果より、本研究で開発した両親媒性リグニン誘導体は、環境調和型界面活性剤として有用であるとの結論に達した。その用途は、需要の多い洗剤や乳化剤を始め、高分子という特性を活かし、乱流抑制剤²⁰⁾や土壌を掘削するときの助剤²¹⁾など幅広く考えられ、リグニンを大量に有効利用できることが本研究により示唆された。今後、クラフトリグニンなどその他の単離リグニンでも両親媒性リグニン誘導体の調製と機能評価を行い、本研究で開発した非イオン性リグニン界面活性剤調製法が他の単離リグニンにも適用できることを示し、リグニンの界面活性剤としての利用を目的として研究を展開する予定である。

5. 謝辞

本研究を行うに当たり、懇切丁寧に指導していただいた浦木康光准教授ならびに生方教授に深く感謝致します。そして、様々な面においてお力添えを頂きました森林総研の久保智志博士に感謝申し上げます。また、多方面でお世話になりました木質生命化学研究室の諸氏に感謝致します。

そして、電子顕微鏡観察においてご指導頂いた生物組織解析センターの伊藤利章技官、表面張力経時変化測定において、装置の提供をはじめご協力頂いた名古屋大学生命農学研究科生物圏資源学専攻生物材料科学講座森林化学研究室福島和彦教授、松下泰幸准教授に深く感謝致します。

6. 参考文献

- 1) Uraki Y., Sano Y., Sasaya T. (1991) Cooking of hardwoods with organosolv pulping in aqueous acetic acid containing sulfuric acid at atmospheric pressure. *Jpn TAPPI J* 45(9) : 1018-1024
- 2) Uraki Y., Ishikawa N., Nishida M., Sano Y. (2001) Preparation of amphiphilic lignin derivatives as a cellulose stabilizer. *Journal of Wood Science* 47(4) : 301-307
- 3) Morgan P.W. (1946) Determination of ethers and esters of ethylene glycol : a modified alkoxy analysis. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 18 : 500-504
- 4) Siggia S., Starke A.C., Stahl C.R. (1958) Determination of oxyalkylene groups : in glycols and glycol and polyglycol ethers and esters. *J. Chromatogr.* 30 : 115
- 5) 日本化学会 編 : 実験化学講座 (第5版) 28巻 : ナノテクノロジーの化学 : 丸善
- 6) 北原文雄ほか : 界面活性剤 物性・応用・化学生態学 : 講談社サイエンティフィク
- 7) 辻井薫 : 応用界面・コロイド化学ハンドブック: エヌ・ティー・エス
- 8) 高橋越民ほか : 界面活性剤ハンドブック : 工学図書
- 9) Nahrngbauer I. (1997) Polymer-Surfactant interaction as revealed by the time dependence of surface tension. The EHEC/SDS/Water system. *Langmuir* 13(8) : 2242-2249
- 10) Gerike P., Fischer W. K. (1979) A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests1. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 3 : 159-173
- 11) 岩澤康裕ほか : 界面ハンドブック: エヌ・ティー・エス
- 12) Rogalska E., Bilewits R., Brigaut T., El Moujahid C., Foulard G., Portella C., Ste'be' M.-J. (2000) Formation and properties of Langmuir and Gibbs monolayers: a comparative study using hydrogenated and partially fluorinated amphiphilic derivatives of mannitol *Chem. Phys. Lipids.* 105 : 71-91
- 13) Vollhardt D., Melzer V. J. (1997) Phase Transition in Adsorption Layers at the Air-Water Interface: Bridging to Langmuir Monolayers. *Phys. Chem. B* 101 : 3370-3375
- 14) Dynarowicks-La tka P., Dhanabalan A., Oliveira Jr O. N. (2001) Modern physicochemical research on Langmuir monolayers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 91 : 221-293
- 15) Vollhard D., Fainerman V. B. (2000) Penetration of dissolved amphiphiles into two-dimensional aggregating lipid monolayers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 86 : 103-151
- 16) Du X., Hlady V., Britt D. (2005) Langmuir monolayer approaches to protein recognition through molecular imprinting. *Biosens. Bioelectron.* 20 : 2053-2060

- 17) Chen X., Wang J., Liu M. (2005) Influence of surfactant molecular structure on two-dimensional surfactant–DNA complexes: Langmuir balance study. *J. Colloid Interface Sci.* 287 : 185-190
- 18) Hou Y., Jaffrezic-Renault N., Martelet C., Tlili C., Zhang A., Pernollet J.-C., Briand L., Gomila G., Errachid A., Samitier J., Salvagnac L., Torbiero B., Temple-Boyer P. (2005) Study of Langmuir and Langmuir-Blodgett films of odorant-binding protein/amphiphile for odorant biosensors. *Langmuir* 21 : 4058-4065
- 19) 臼倉ゆり子 : リグニン-炭水化物複合体の両親媒的性質とその構造模倣誘導体の解析 : 北海道大学農学研究院 2004年度 修士論文
- 20) Suksamranchit S., Sirivat A., Jamieson A. M. (2006) Polymer–surfactant complex formation and its effect on turbulent wall shear stress. *Journal of Colloid and Interface Science* 294 : 212-221
- 21) Audibert-Hayet A., Dalmazzone C. (2006) Surfactant system for water-based well fluids. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 288 : 113-120

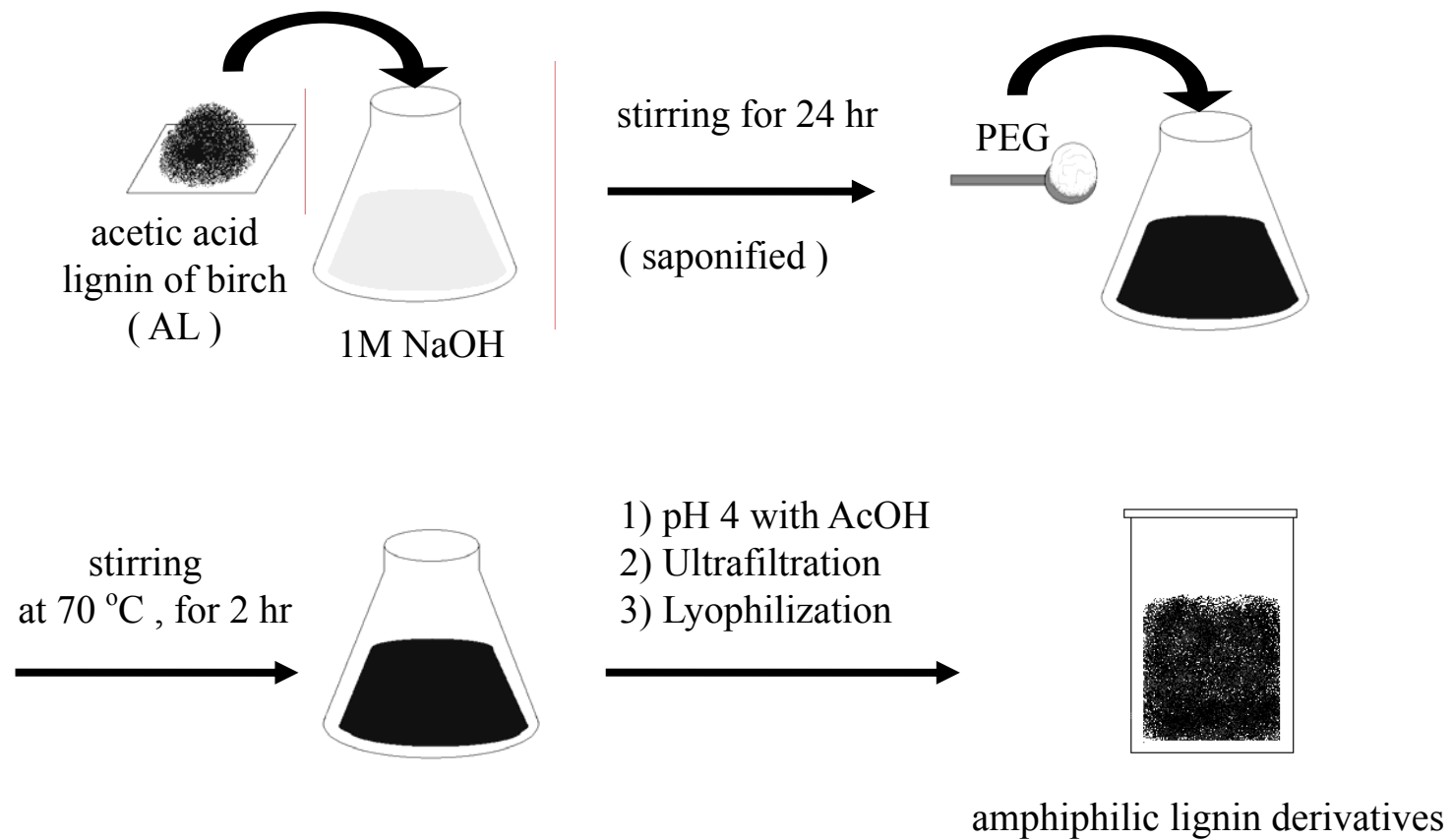


Fig.1 Preparation of amphiphilic lignin derivatives

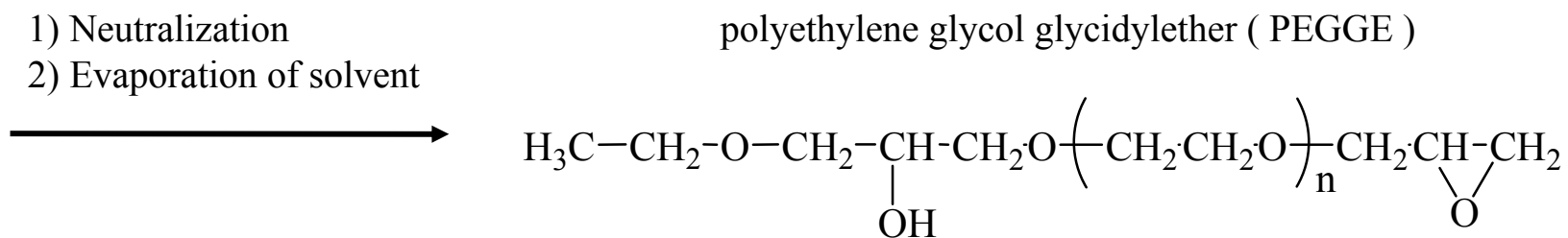
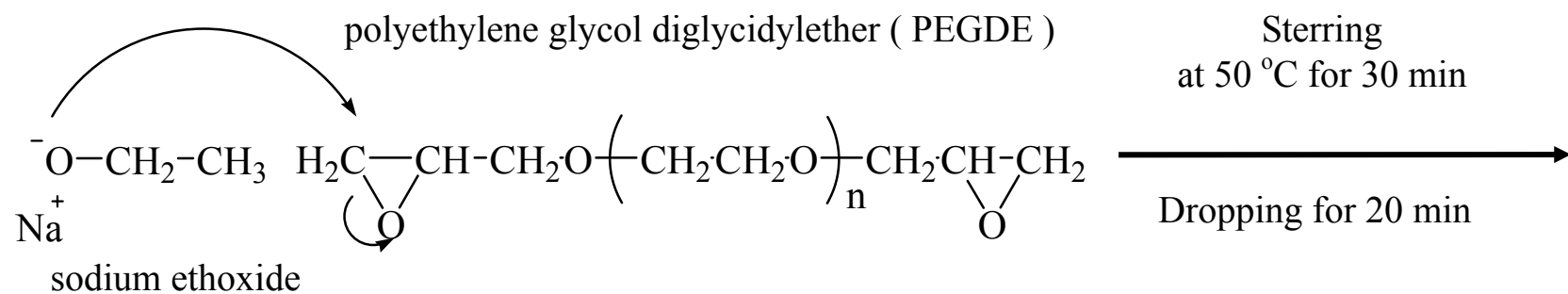


Fig.2 Monofunctionalization of PEGDE

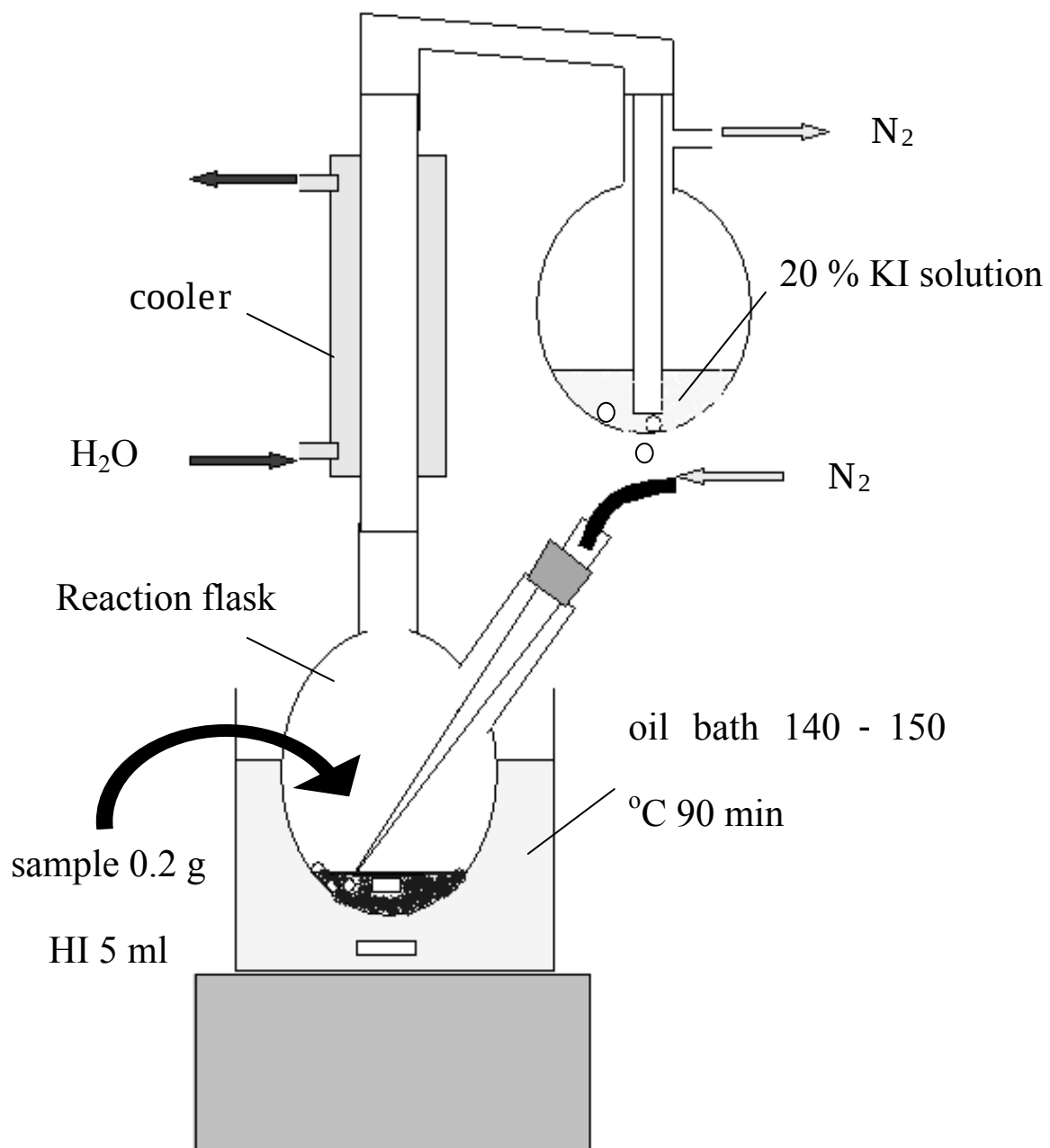


Fig.3 Apparatus for determination of PEG moiety
in amphiphilic lignin derivatives

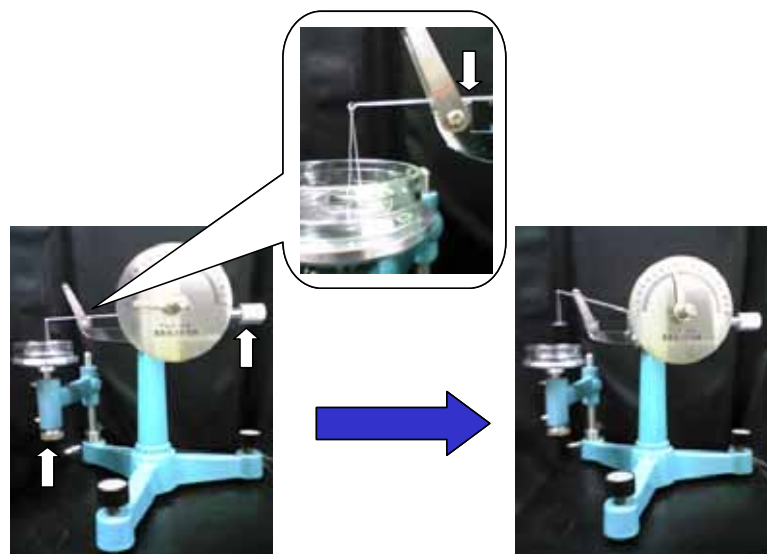
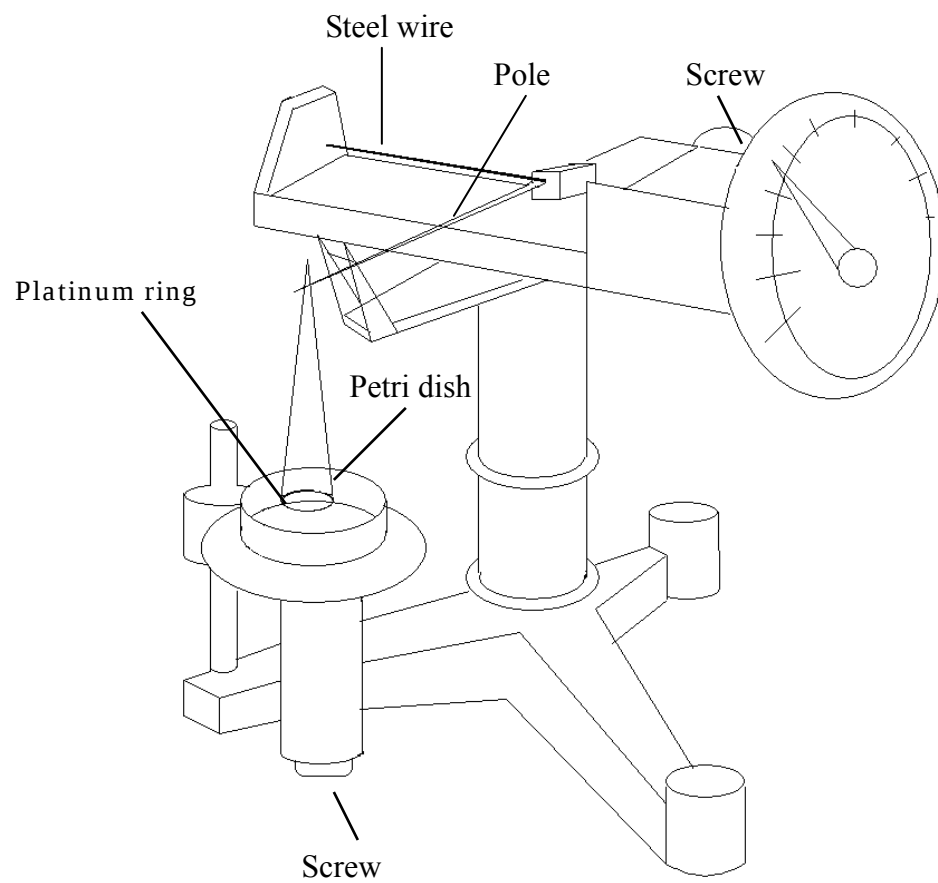


Fig.4 Du Nouy Surface Tensiometer

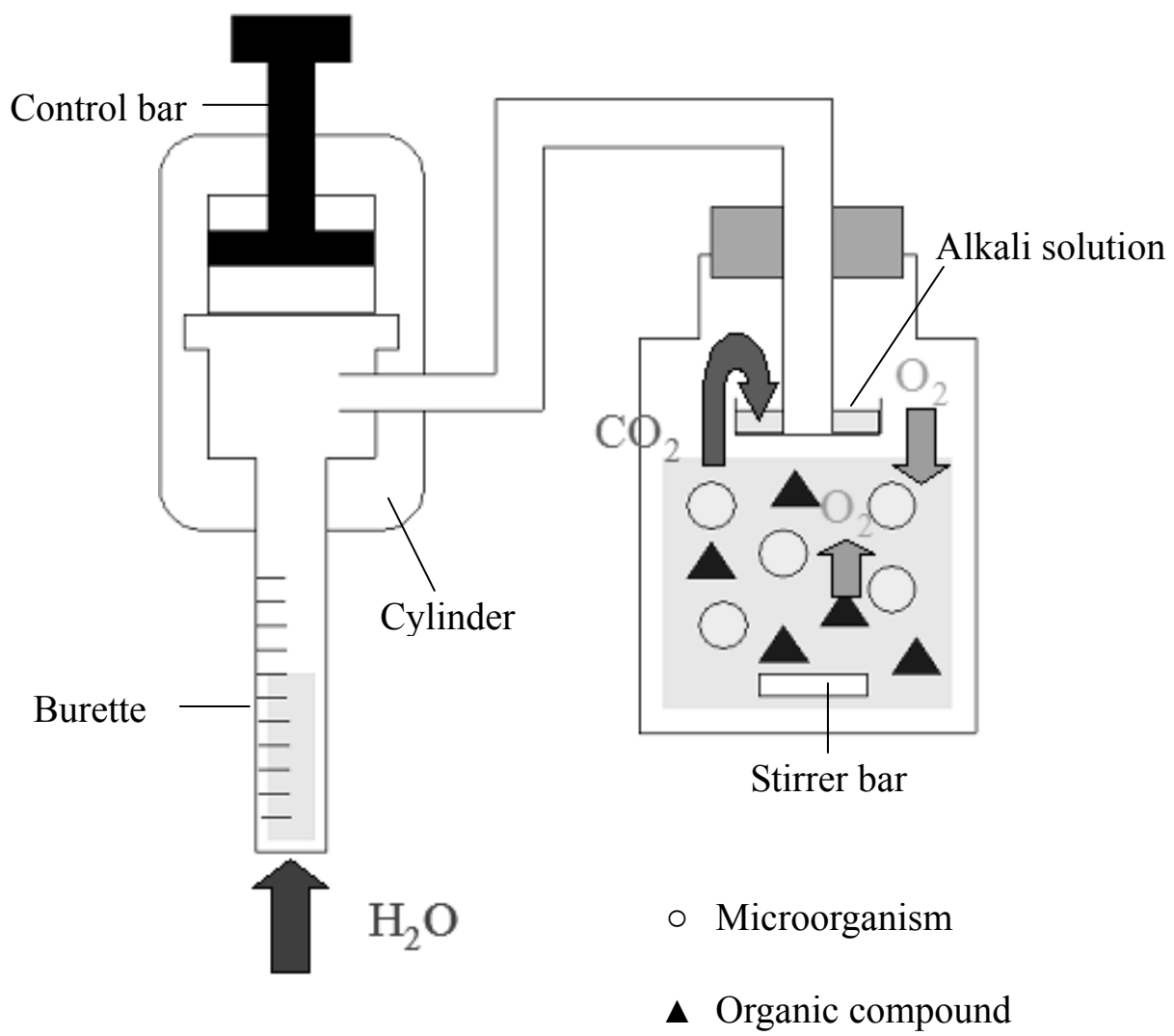


Fig.5 BOD tester

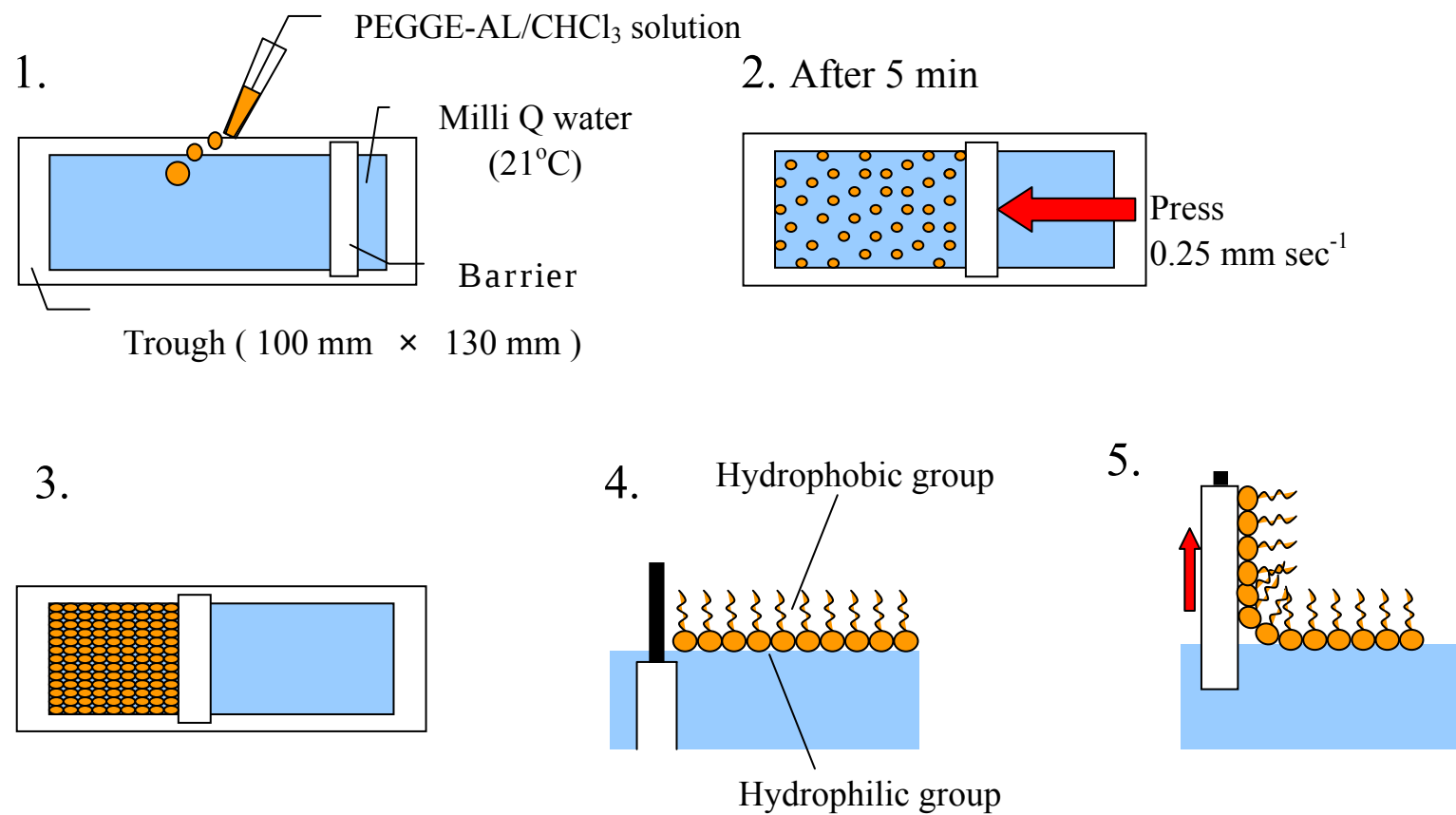


Fig.6 Apparatus for preparation of LB film

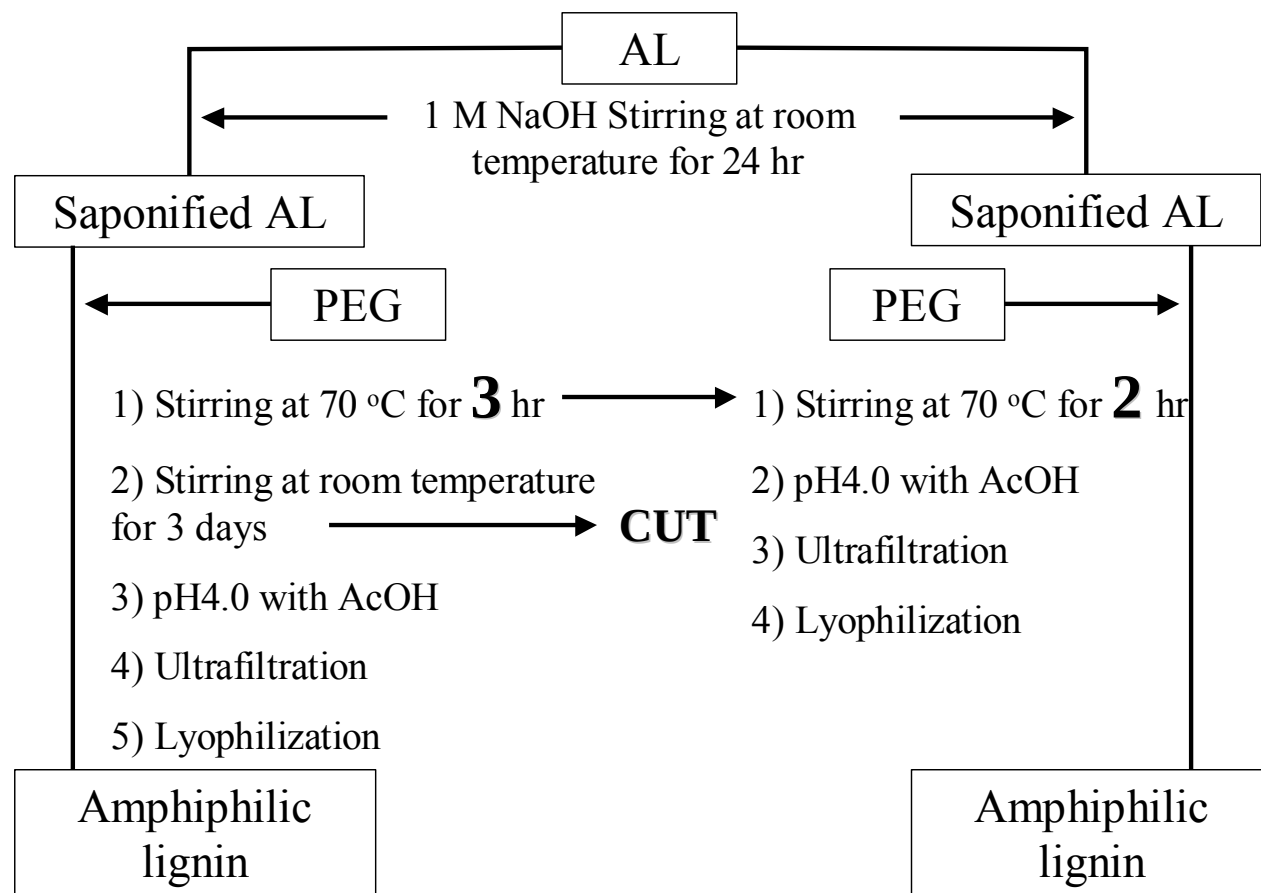


Fig.7 Improvement of preparation of amphiphilic lignin

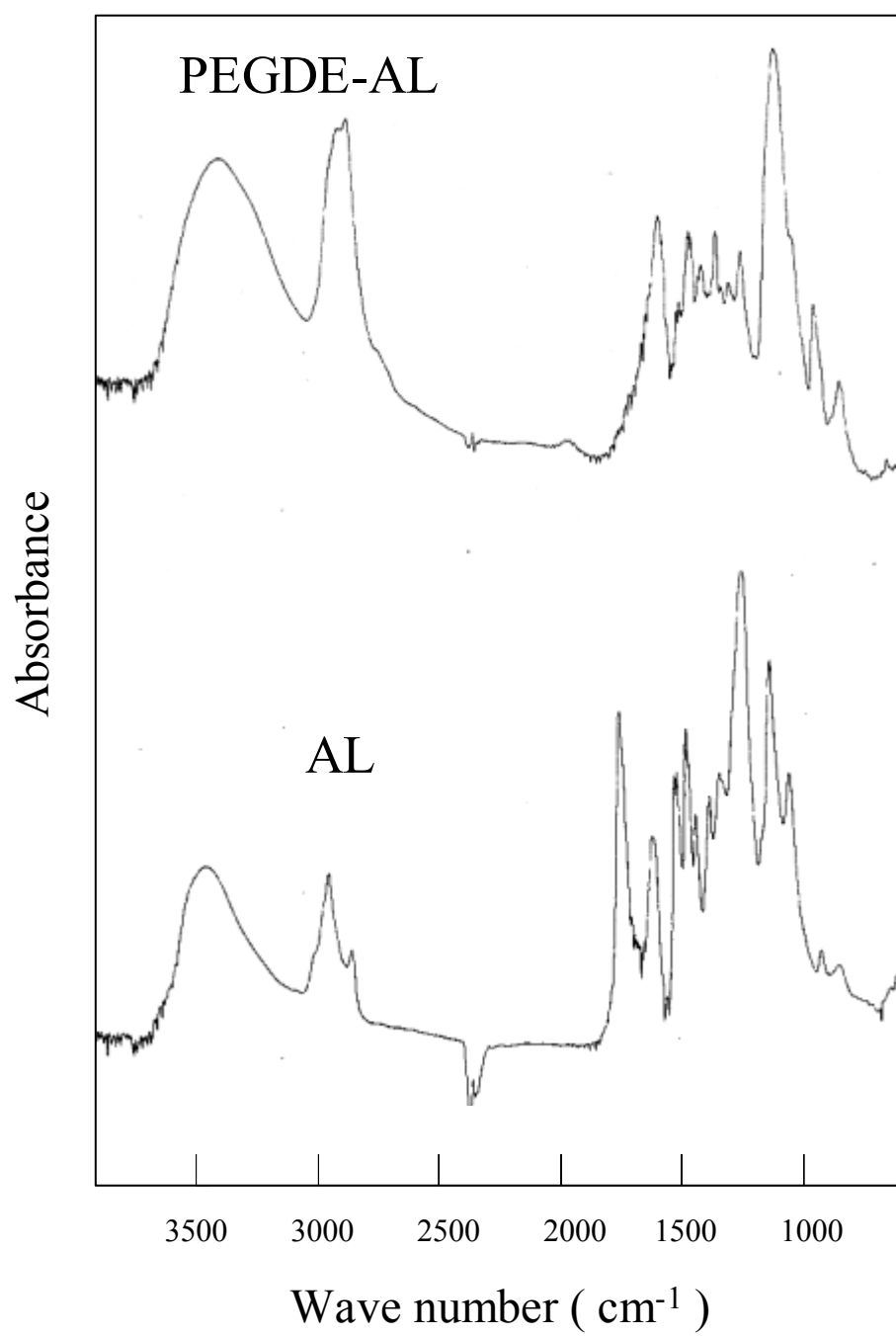


Fig.8 FT-IR spectra of AL and PEGDE-AL

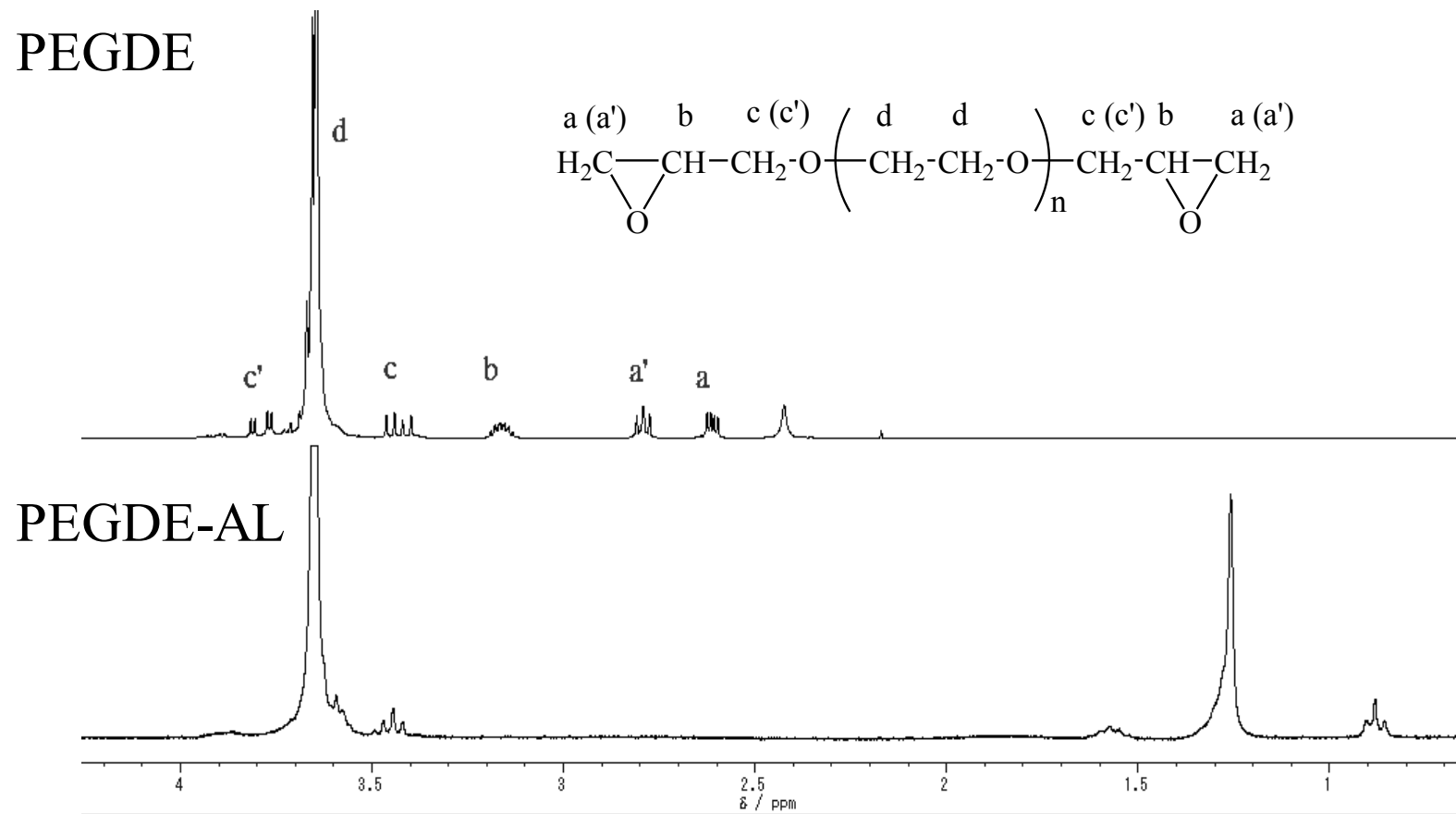


Fig.9 ^1H -NMR spectra of PEGDE and PEGDE-AL

	EO (%)	PEG mol/AL1mol
PEGDE AL (9, 1)	54.9	5.5
PEGDE AL (9, 1.5)	57.5	6.1
PEGDE AL (9, 2)	61.6	7.3
PEGDE AL (9, 3)	69.8	10.5
PEGDE AL (9, 4)	72.3	11.9
PEGDE AL (13, 1)	61.2	5.0
PEGDE AL (13, 2)	68.9	7.0
PEGDE AL (22, 1)	61.8	3.0
PEGDE AL (22, 2)	70.1	4.4
PEGGE AL (9, 2.5)	68.0	9.7
PEGGE AL (13, 2)	63.8	5.5
PEGGE AL (13, 3)	67.0	6.4
PEGGE AL (13, 4)	72.3	8.2
PEGGE AL (22, 2)	61.8	3.0

Table.1 Percentage of EO and PEG mol/AL1mol

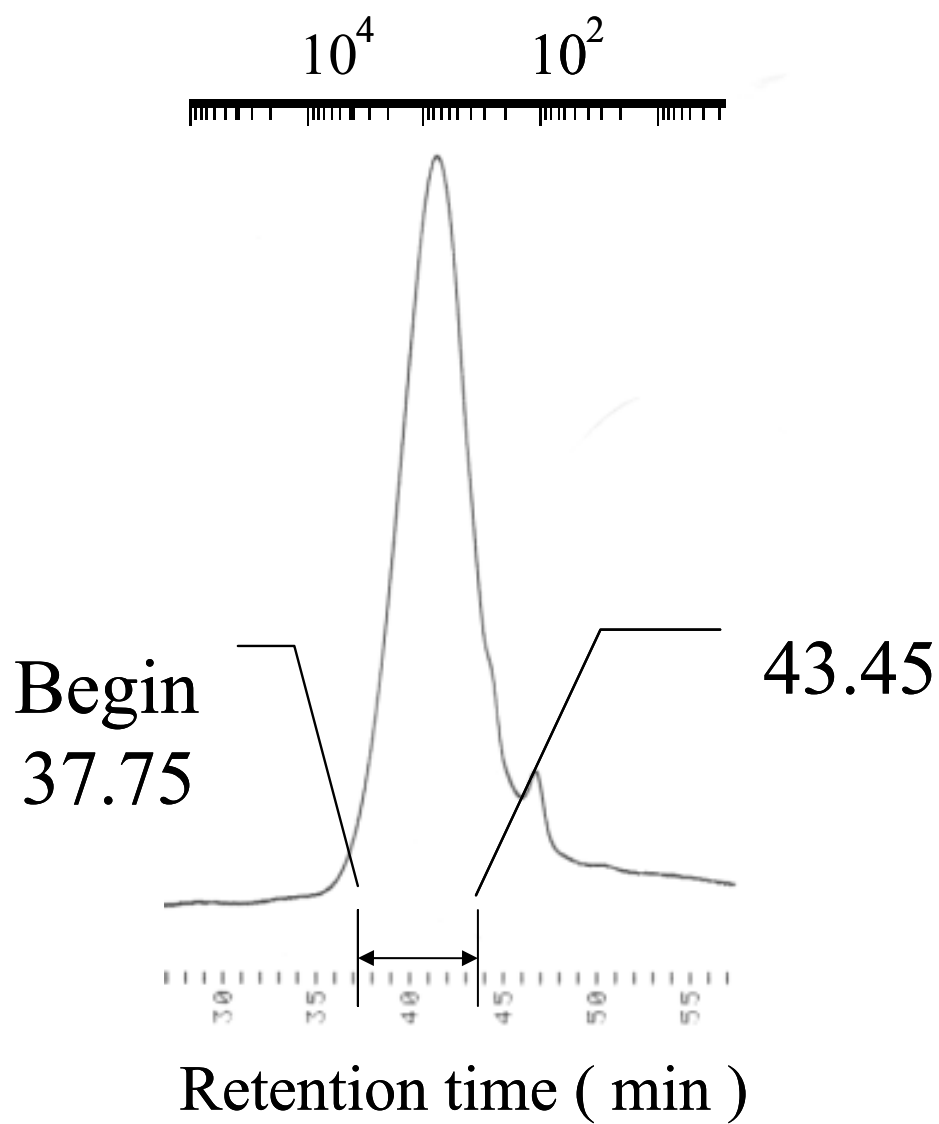


Fig.10 Size exclusion chromatograms of AL
by UV in THF at 40°C : flow rate 0.5 mL/min
: calculation 37.75 ~ 43.45 min

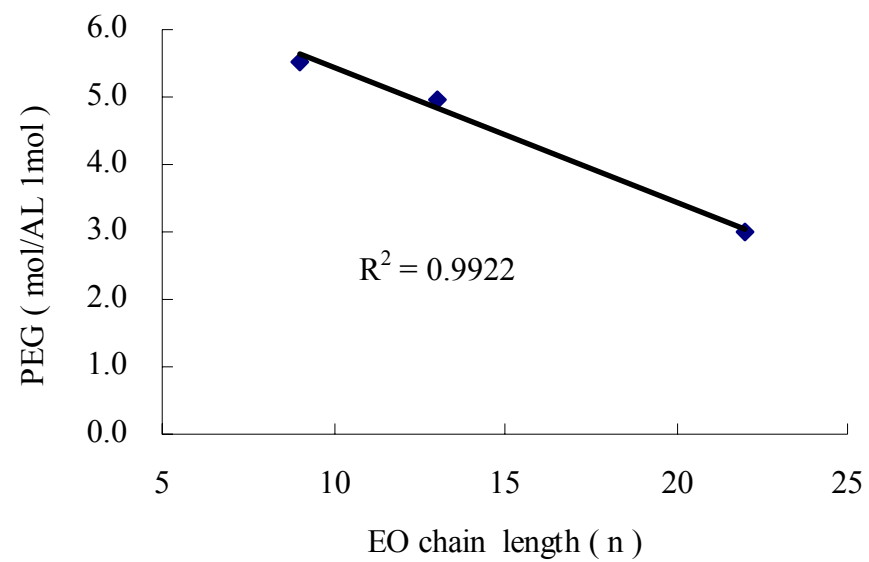


Fig.11 Negative linear relation of PEGDE (mol/AL1mol) and EO chain length

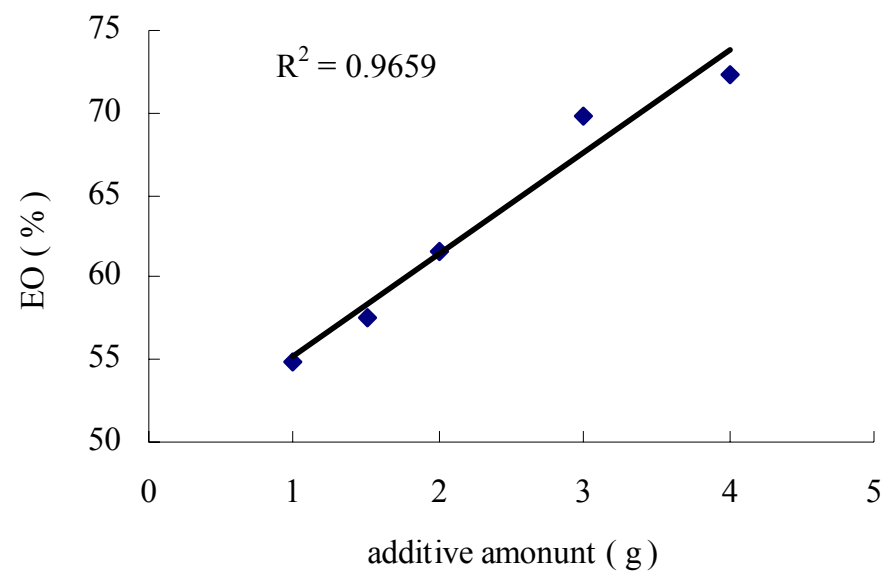


Fig.12 Positive linear relation of EO (%) and additive amount (g) of PEGDE-AL (n = 9)

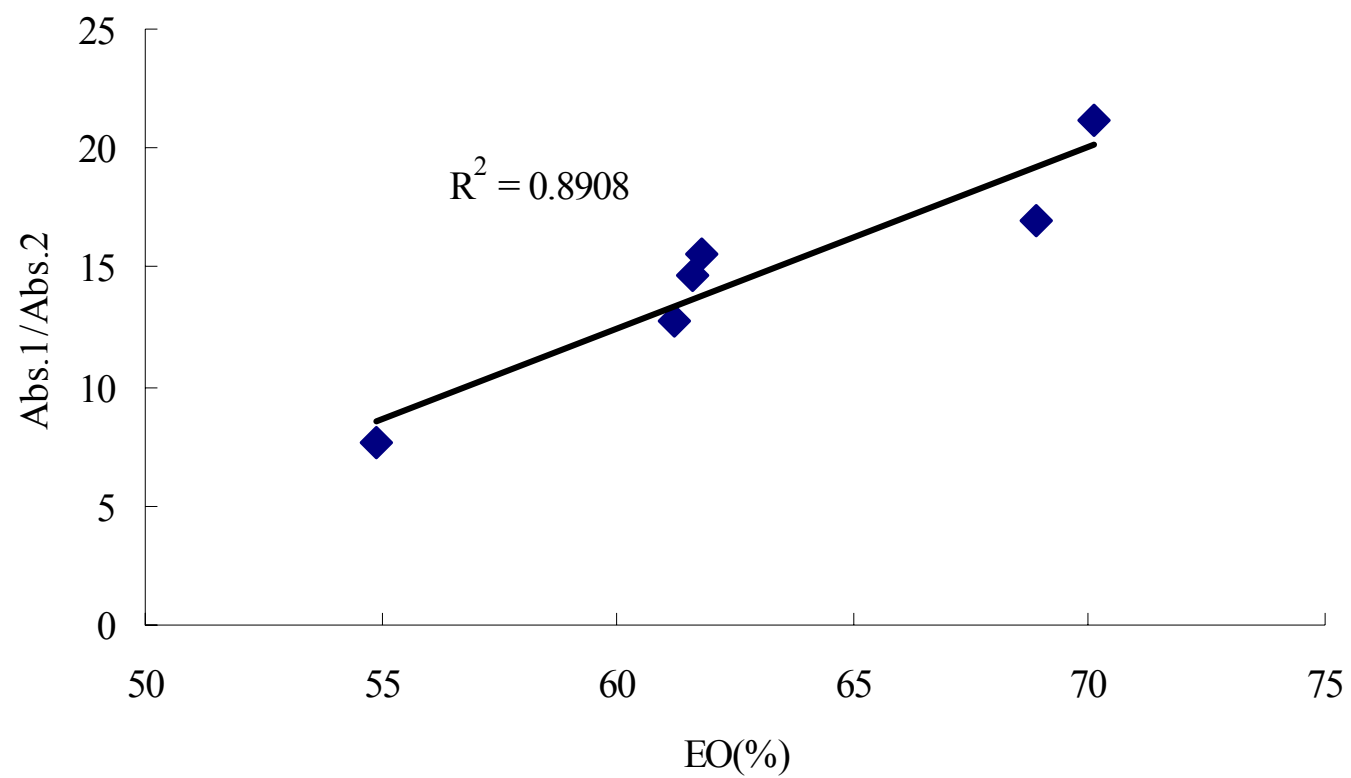


Fig.13 Quantitative determination of EO of PEGDE-AL by FT-IR

Area of HLB	Adjustability
3 ~ 6	W/O emulsification
7 ~ 9	Moistening Infiltration
8 ~ 15	O/W emulsification
13 ~ 15	Abstersion
15 ~ 18	Solubilization

Table.2 Relation of HLB and adjustability

	HLB
PEGDE-AL (9, 1)	11.0
PEGDE-AL (9, 1.5)	11.5
PEGDE-AL (9, 2)	12.3
PEGDE-AL (9, 3)	14.0
PEGDE-AL (9, 4)	14.5
PEGDE-AL (13, 1)	12.2
PEGDE-AL (13, 2)	13.8
PEGDE-AL (22, 1)	12.4
PEGDE-AL (22, 2)	14.0
PEGGE-AL (9, 2.5)	13.6
PEGGE-AL (13, 2)	12.8
PEGGE-AL (13, 3)	13.4
PEGGE-AL (13, 4)	14.5
PEGGE-AL (22, 2)	12.4

Table.3 HLB of PEGDE-AL and PEGGE-AL

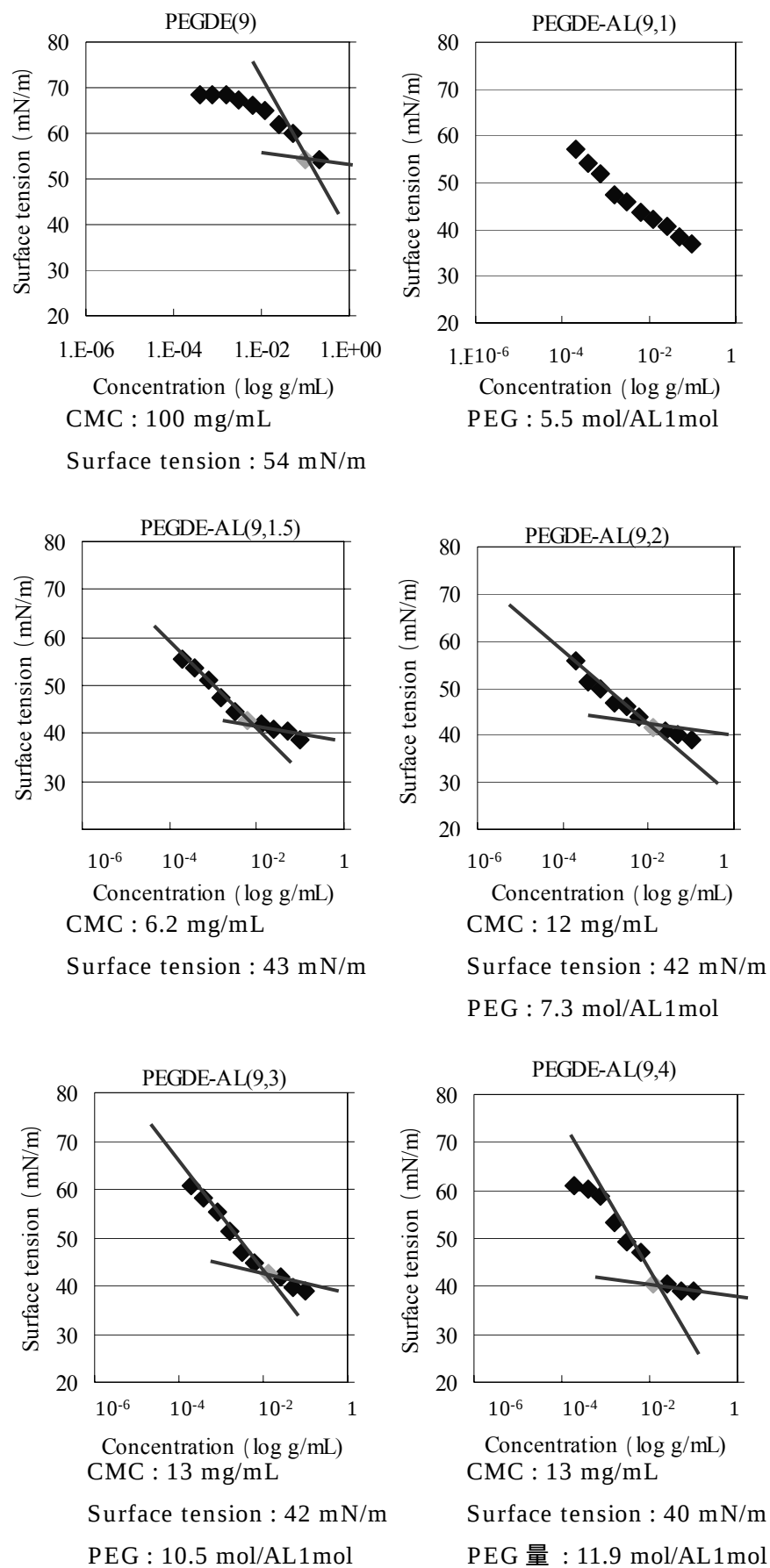


Fig.14 Surface Tension of PEGDE-AL (n=9) aqueous solution

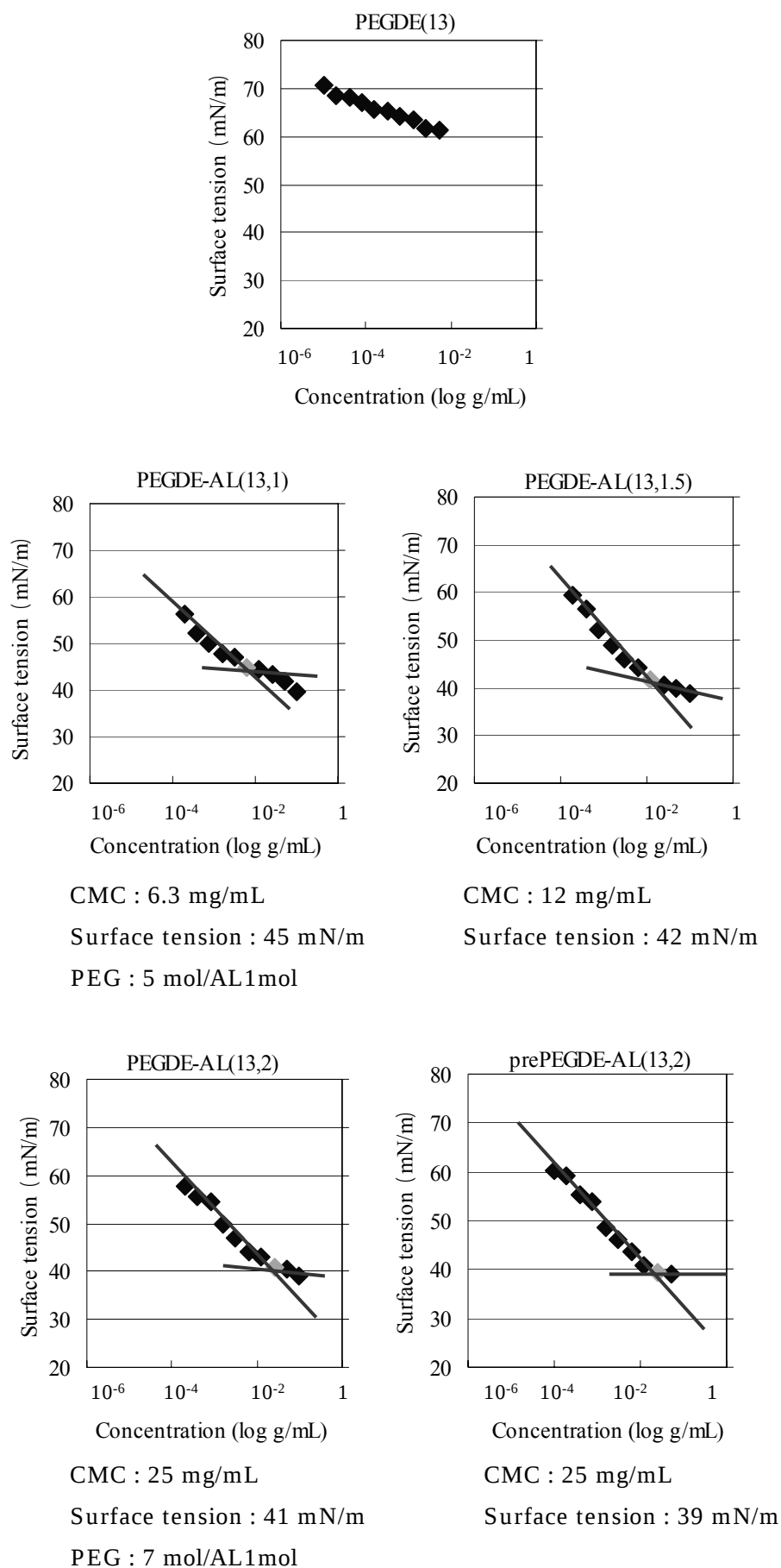


Fig.15 Surface Tension of PEGDE and PEGDE-AL (n=13) aqueous solution

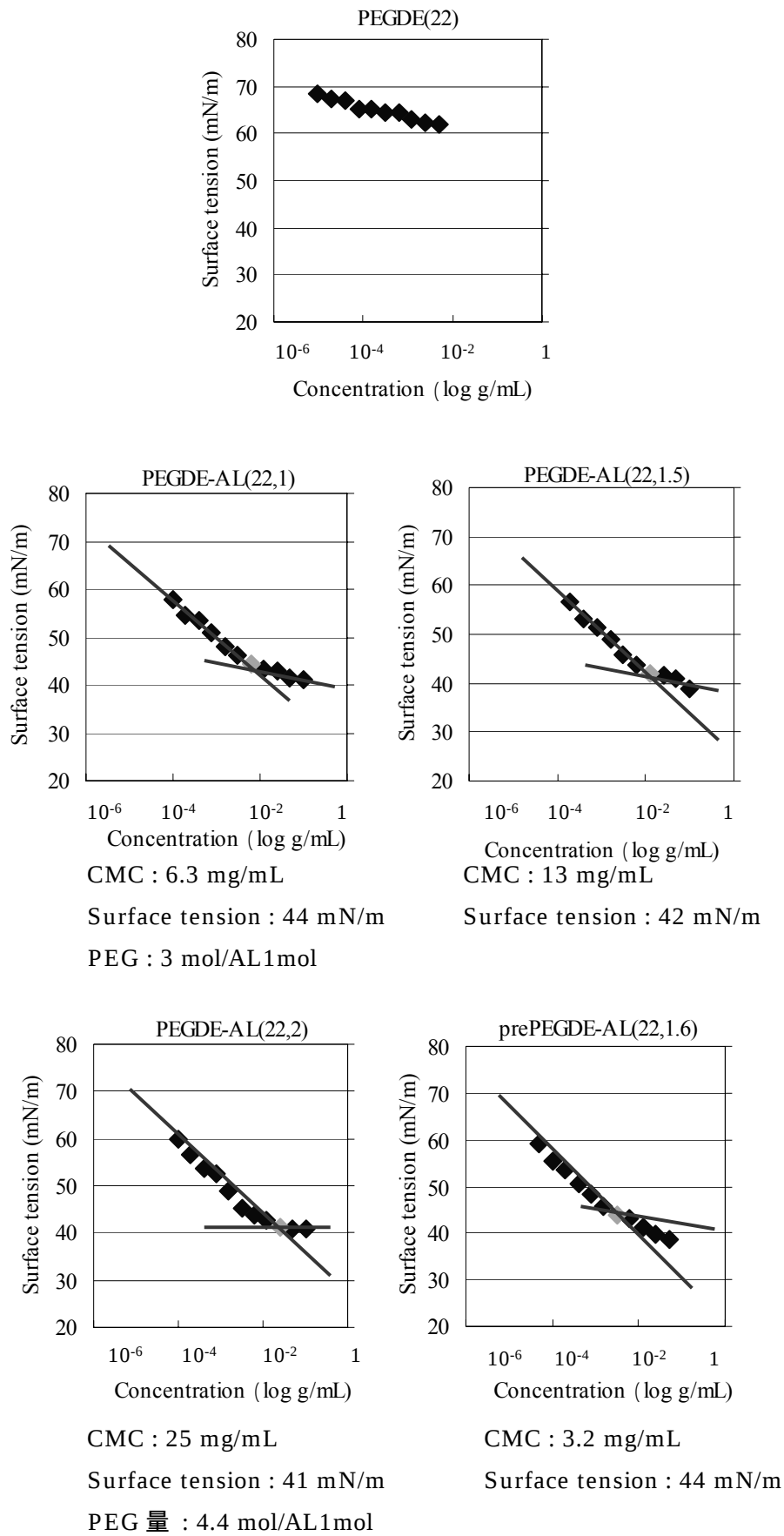


Fig.16 Surface Tension of PEGDE and PEGDE-AL (n=22) aqueous solution

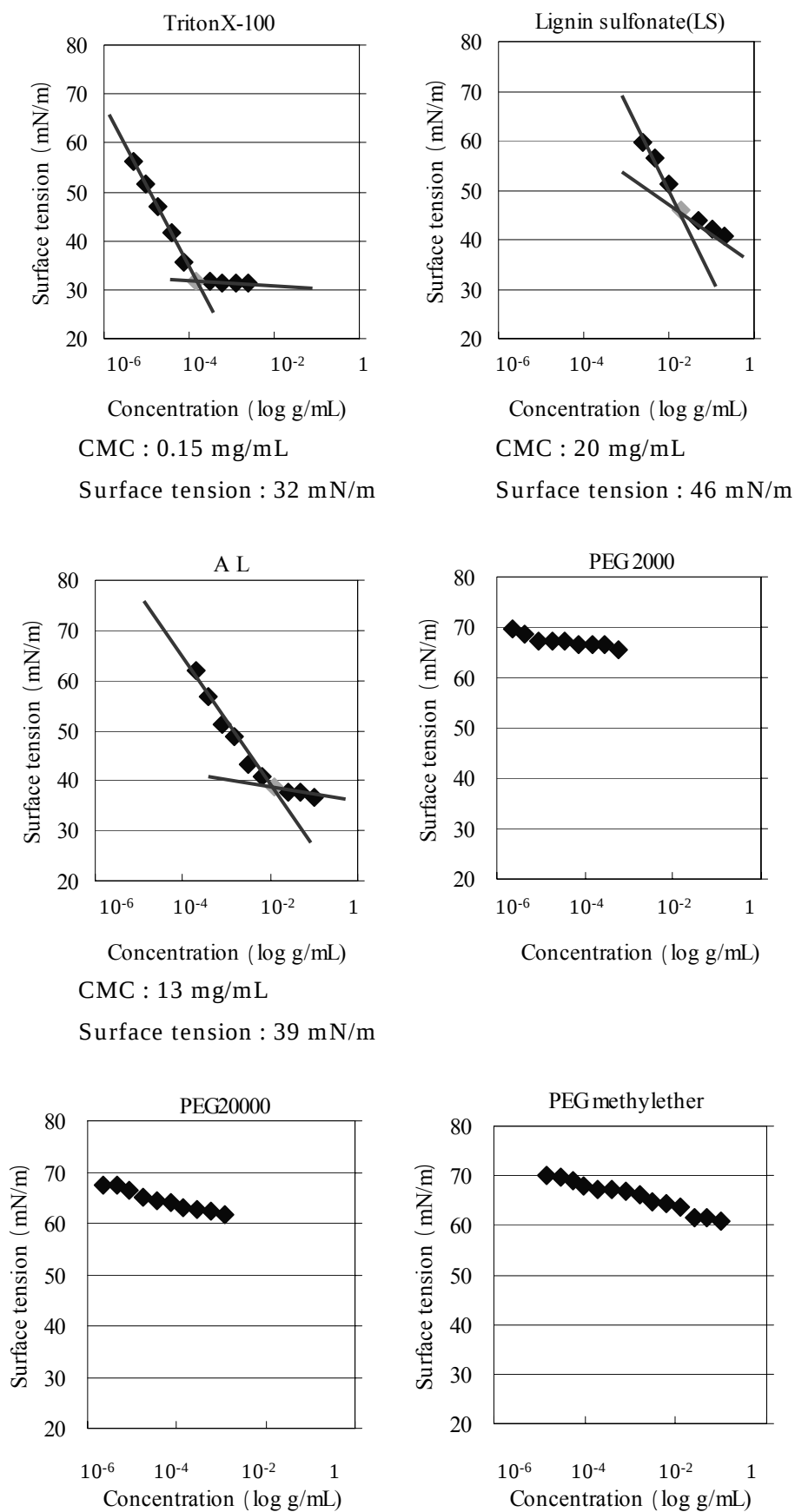


Fig.17 Surface Tension of various samples aqueous solution

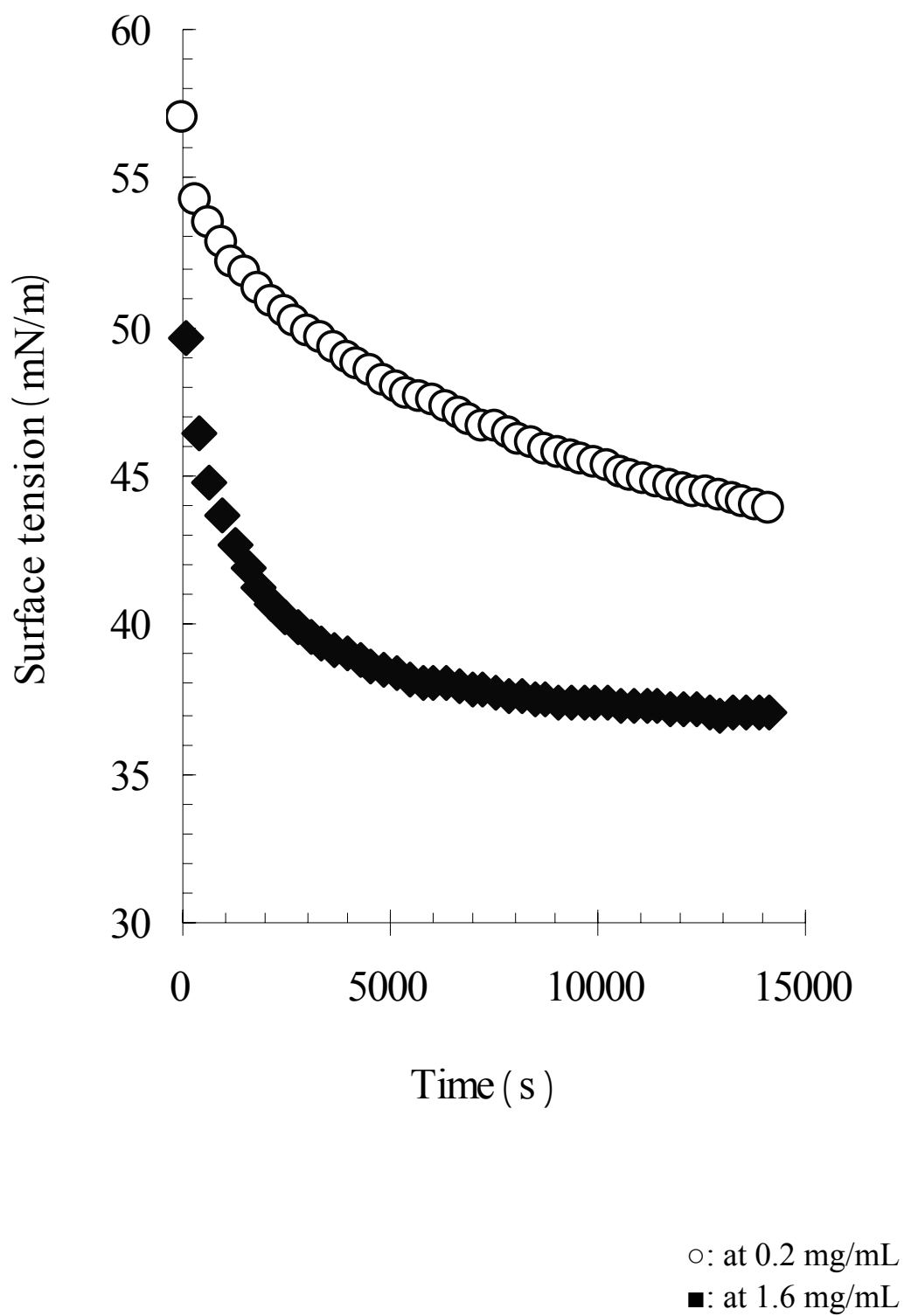


Fig.18 Time course of surface tension of PEGDE-AL(13,1)

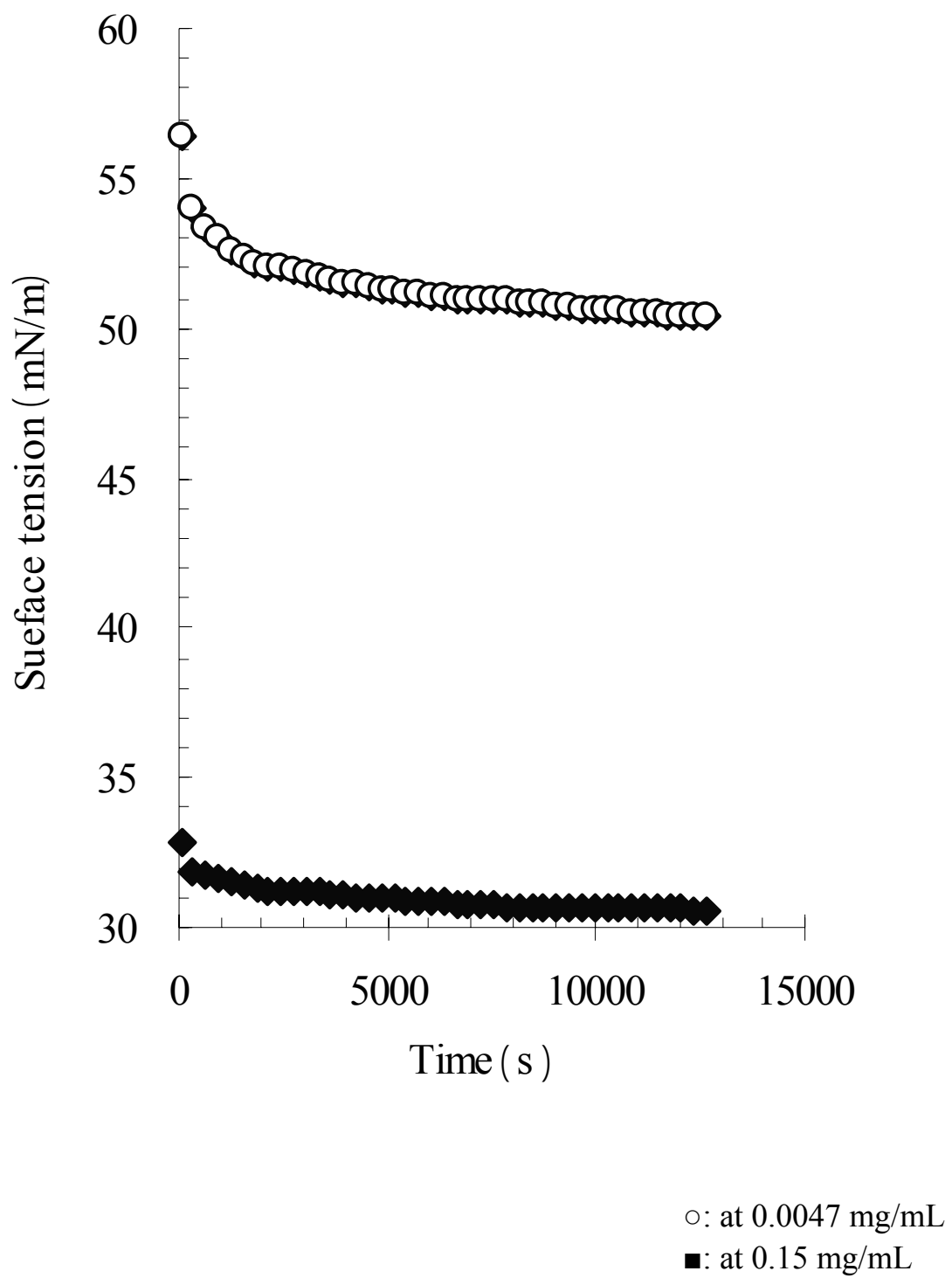


Fig.19 Time course of surface tension of TritonX-100

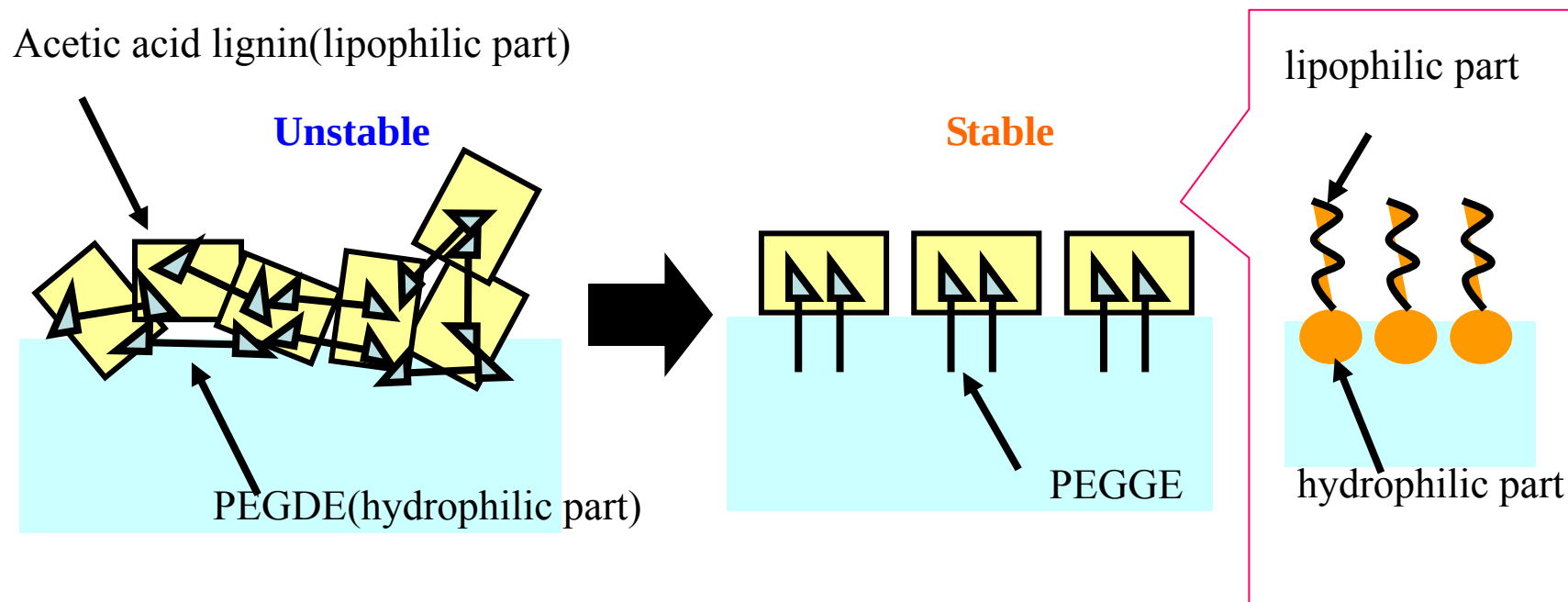


Fig.20 Proposed structure of PEGDE-AL and PEGGE-AL

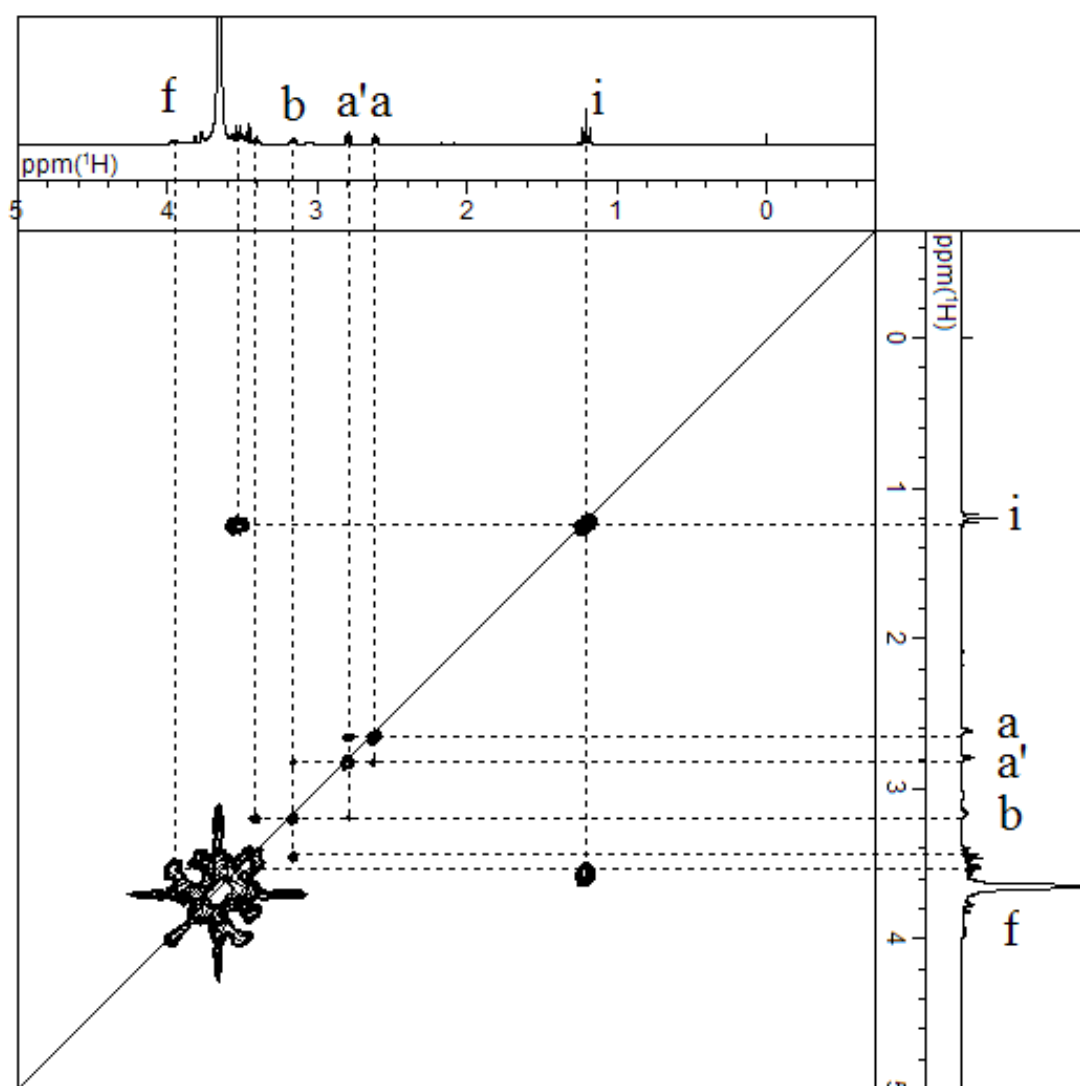


Fig.21 COSY spectra of PEGGE-AL

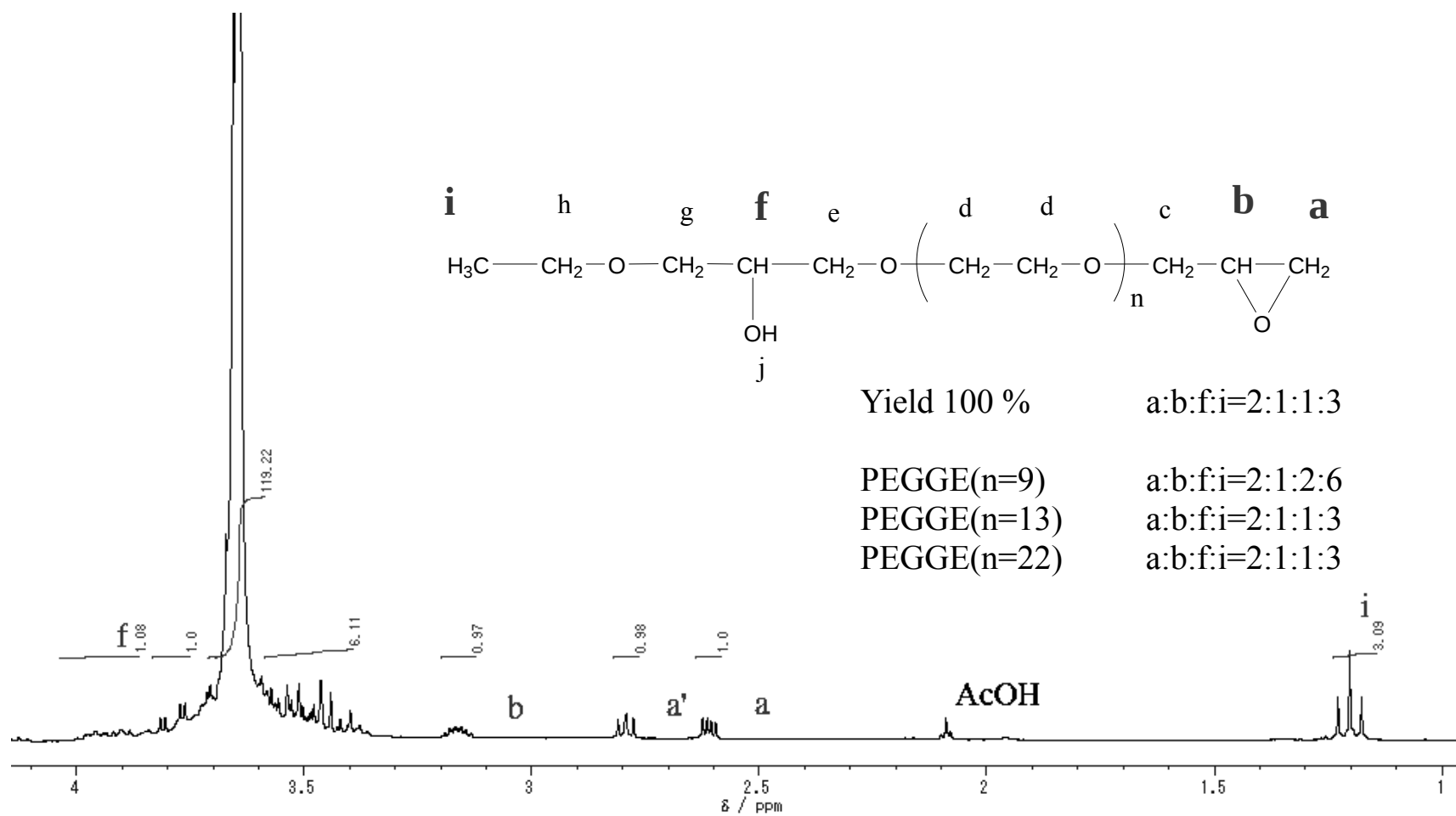


Fig.22 ^1H -NMR spectra of PEGGE-AL

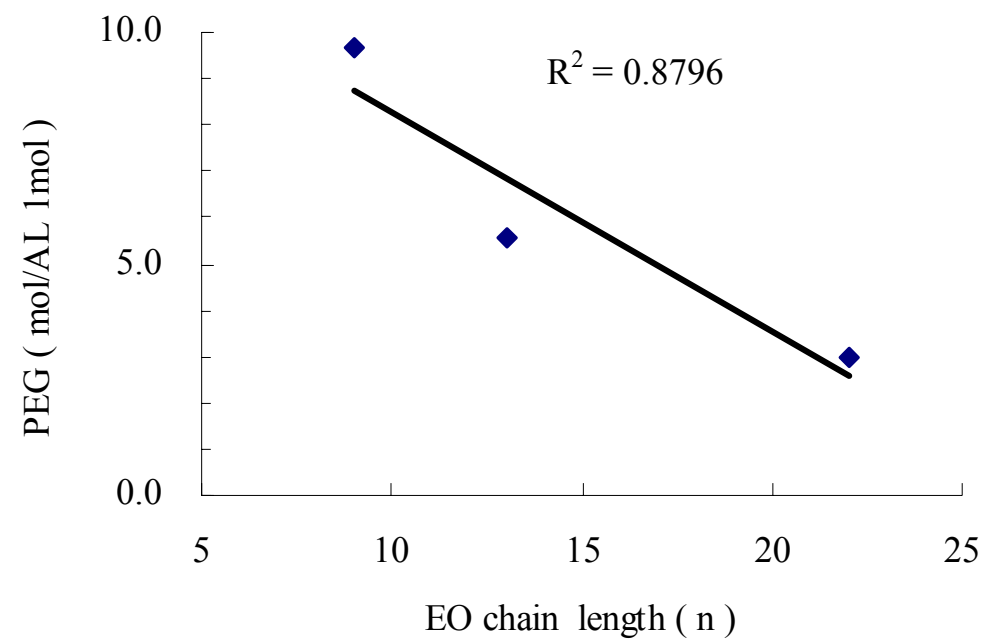


Fig.23 Negative linear relation of PEGGE (mol/AL1mol) and EO chain length

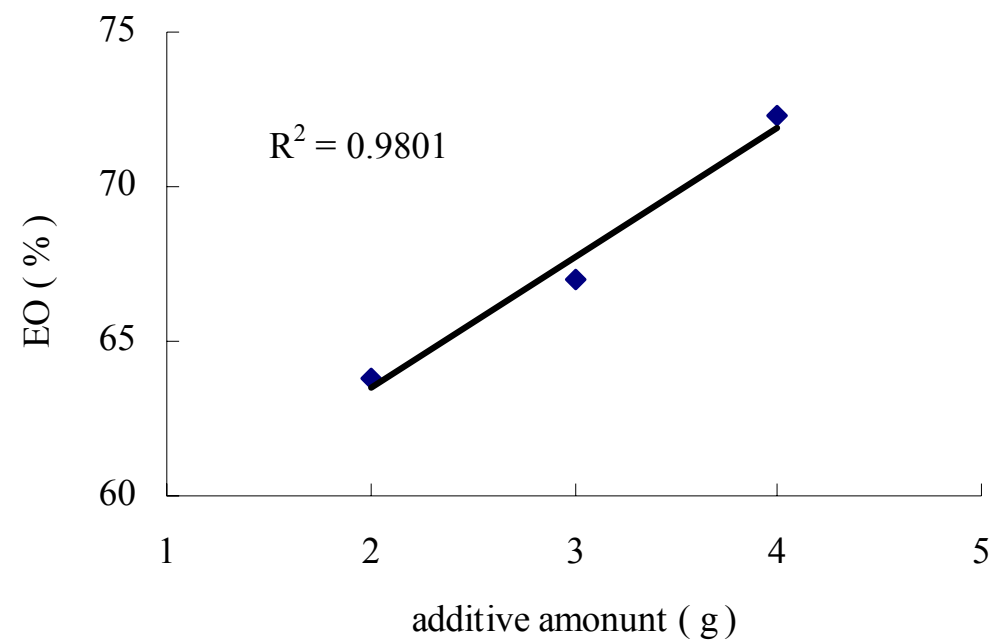


Fig.24 Positive linear relation of EO (%) and additive amount (g) of PEGGE-AL (n = 13)

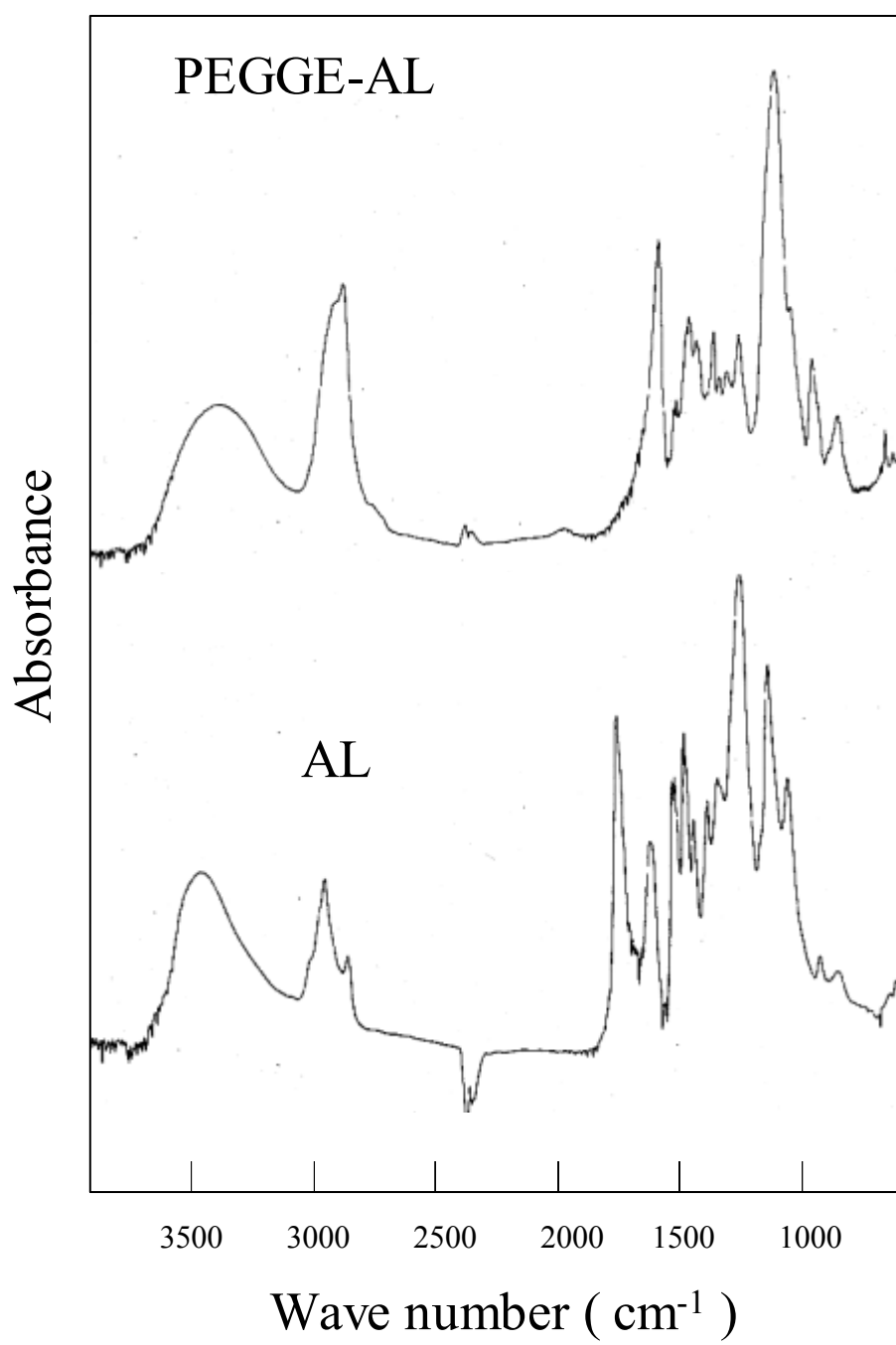


Fig.25 FT-IR spectra of AL and PEGGE-AL

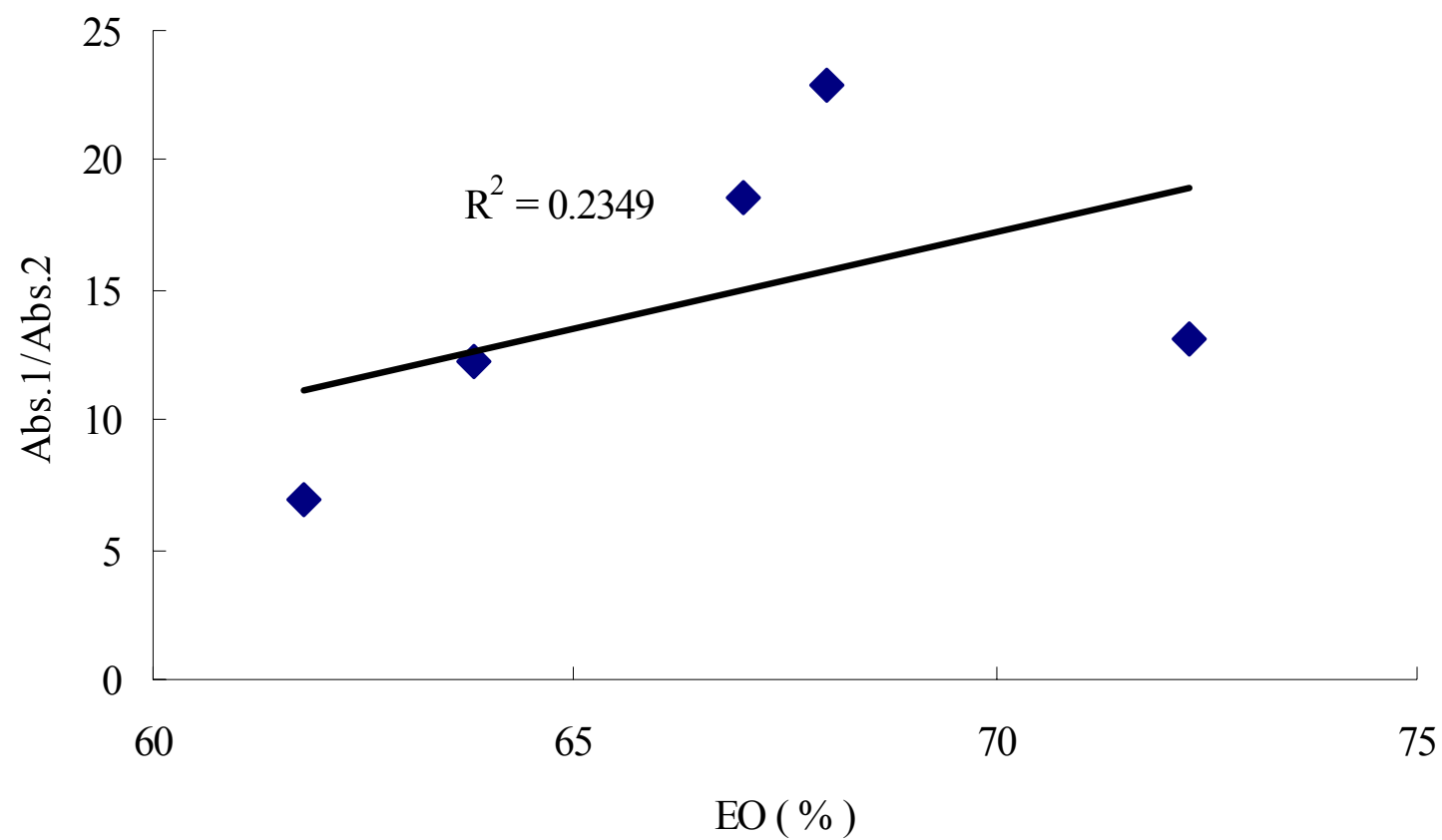


Fig.26 Quantitative determination of EO of PEGGE-AL by FT-IR

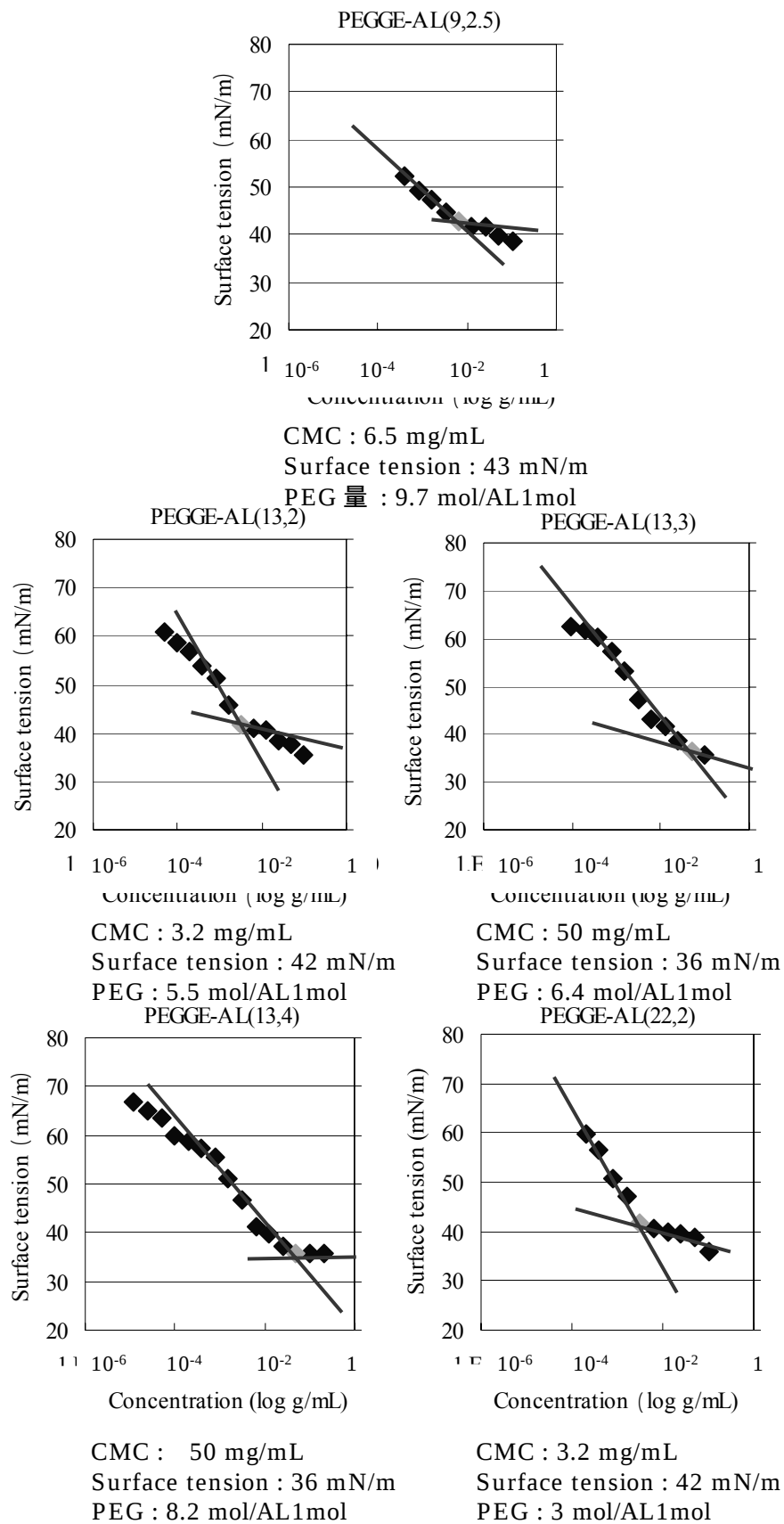


Fig.27 Surface Tension of PEGGE-AL (n=9,13,22)
aqueous solution

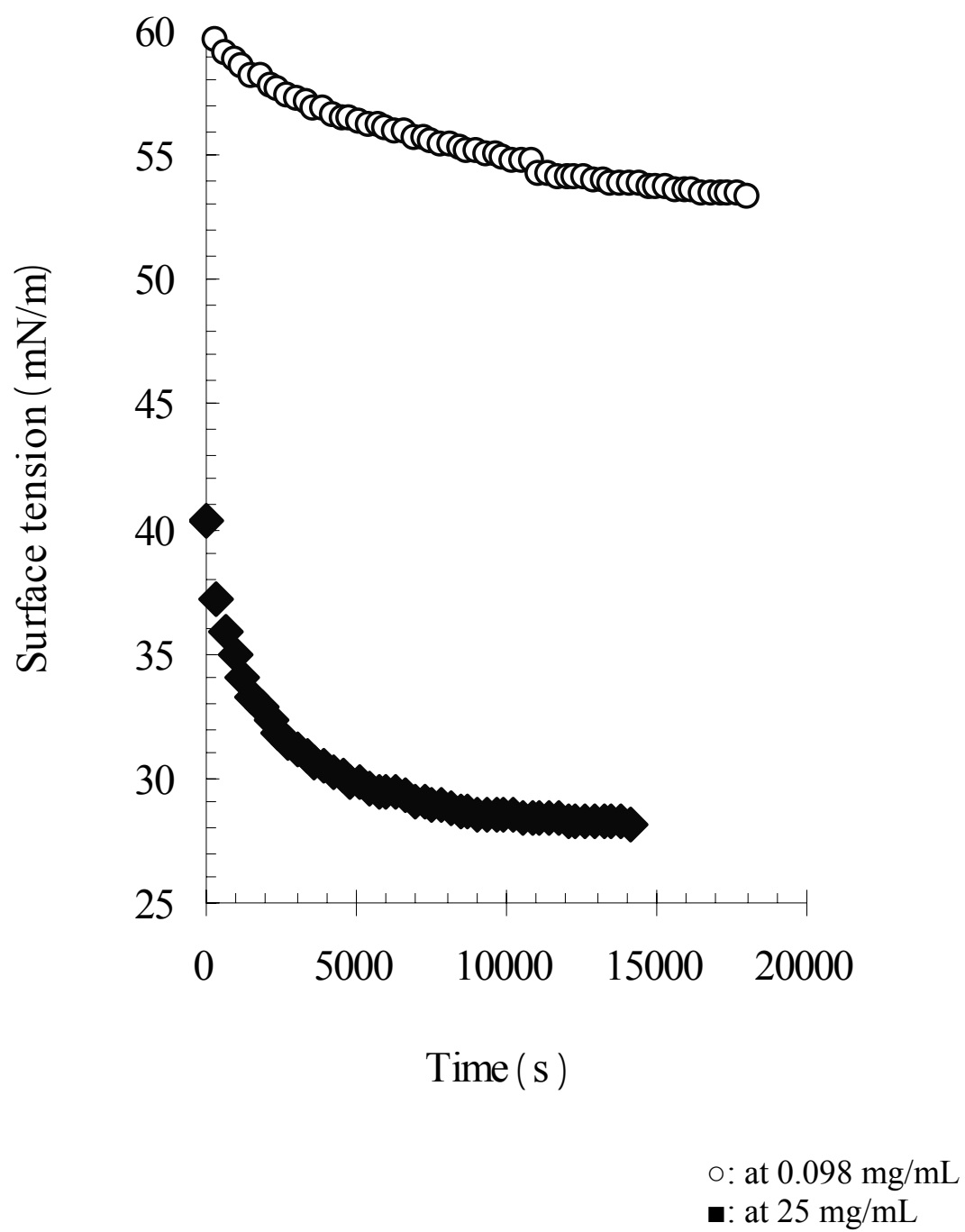


Fig.28 Time course of surface tension of PEGGE-AL(13,4)

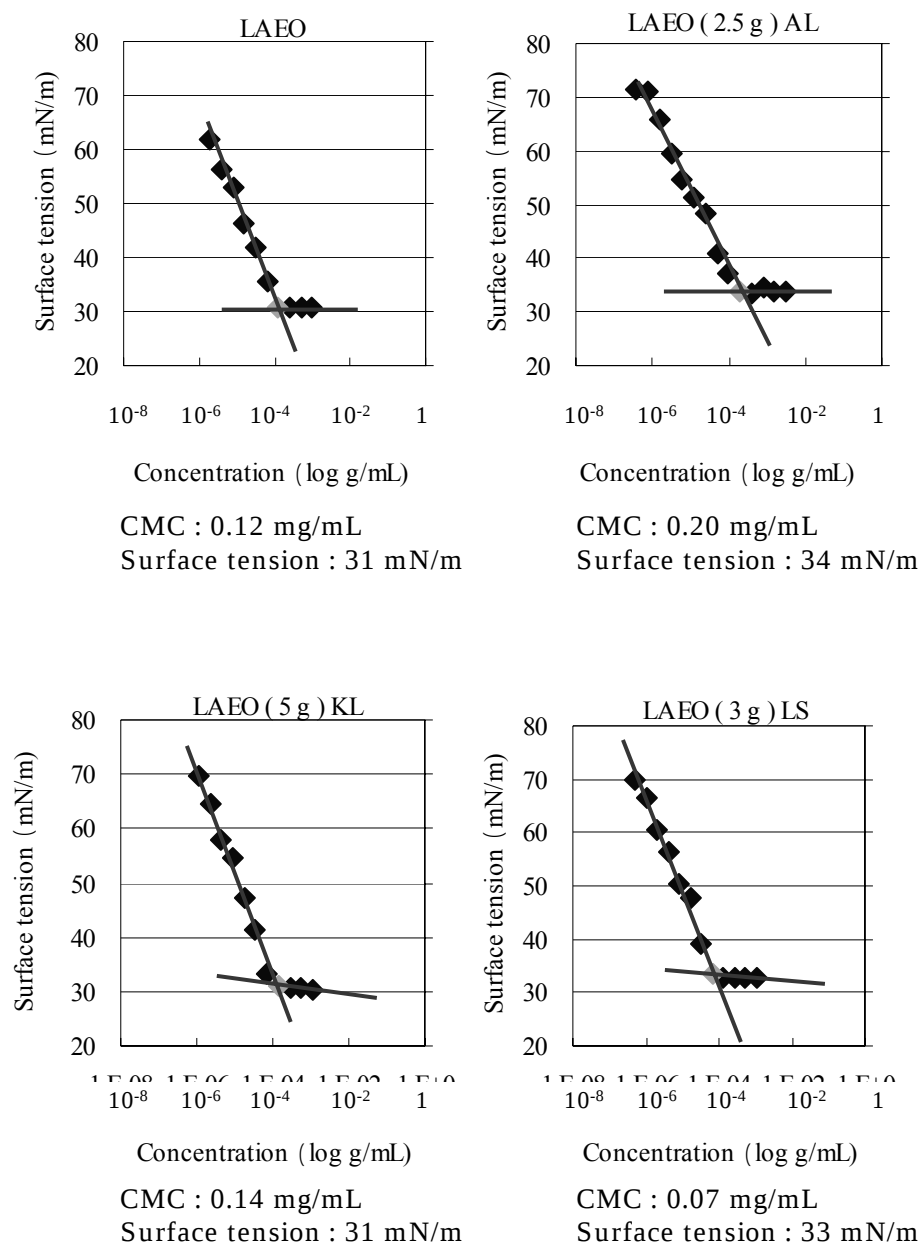


Fig.29 Surface Tension of LAEO and LAEO-Lignin aqueous solution

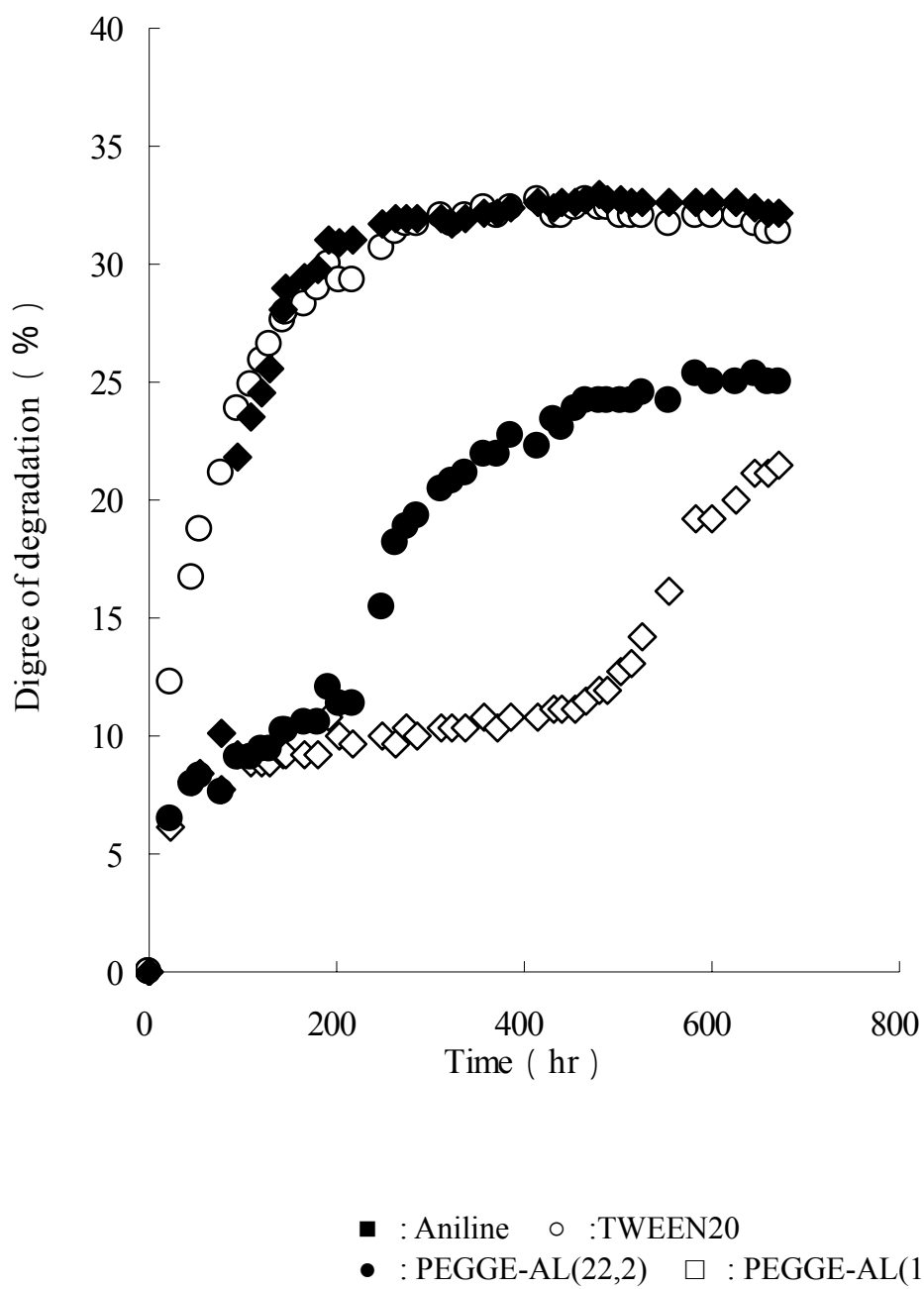


Fig.30 Biodegradation of PEGGE-AL and TWEEN20 from BOD test

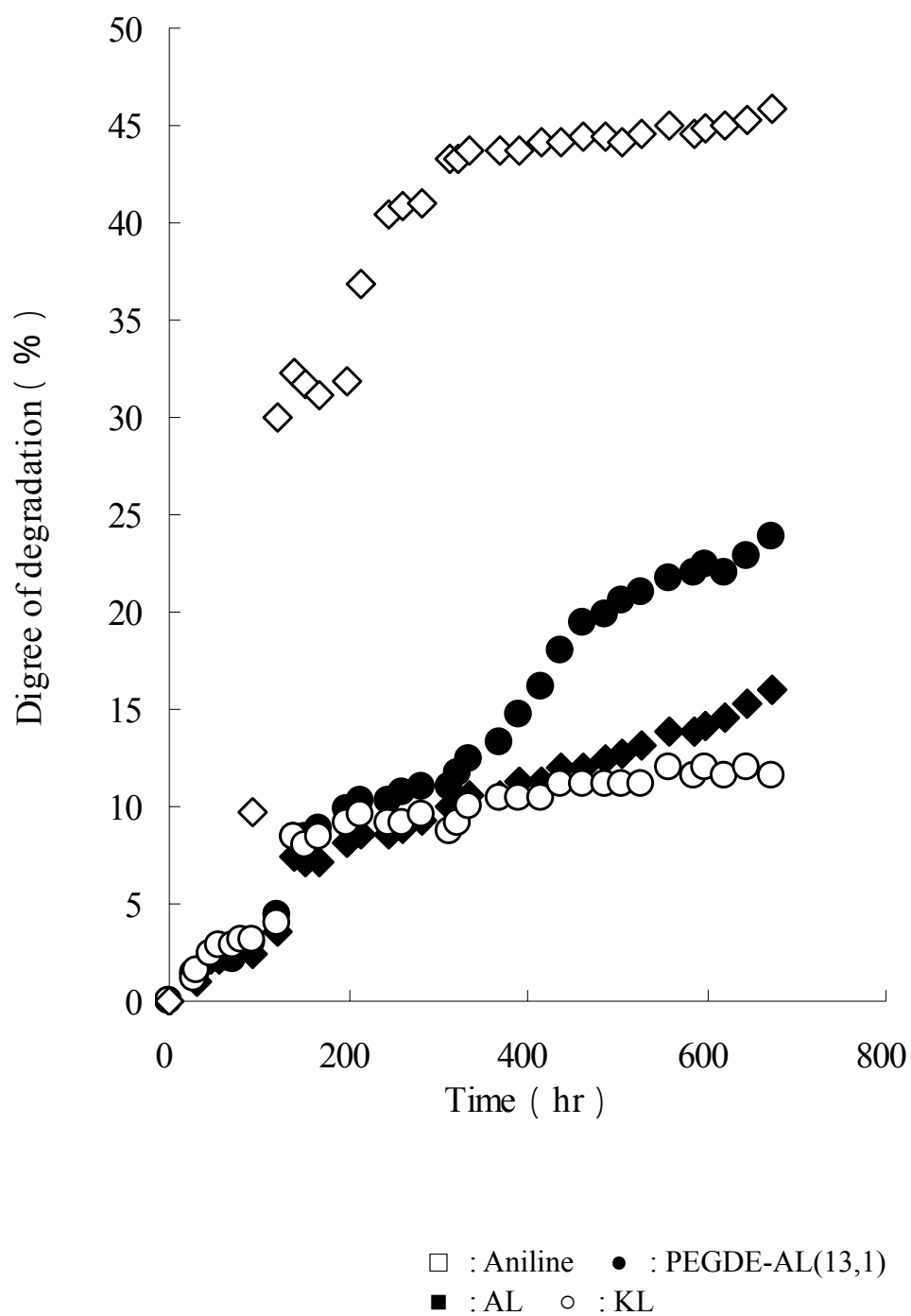


Fig.31 Biodegradation of PEGDE-AL and AL and KL from BOD test

	PEGGE-AL(13,2)	PEGGE-AL(22,2)	PEGDE-AL(13,1)	AL	KL	TWEEN20	Aniline
ThOD (mg)	34.07	34.65	35.63	36.92	32.86	38.37	61.94
Percent by mass (%)							
C	54.68	53.59	54.60	62.30	56.72		
H	7.26	7.36	6.98	5.72	5.34		
N	0.00	0.00	0.00	0.00	0.75		
O	34.34	35.23	34.71	31.88	32.19		
Ash	3.72	3.82	3.71	0.10	5.00		
Composition formula							
C	10	10	11	11	11	29	6
H	16	17	17	12	12	57	7
N	0	0	0	0	0	0	1
O	5	5	5	4	5	13	0

Table.4 ThOD , Percent by mass and Composition formula

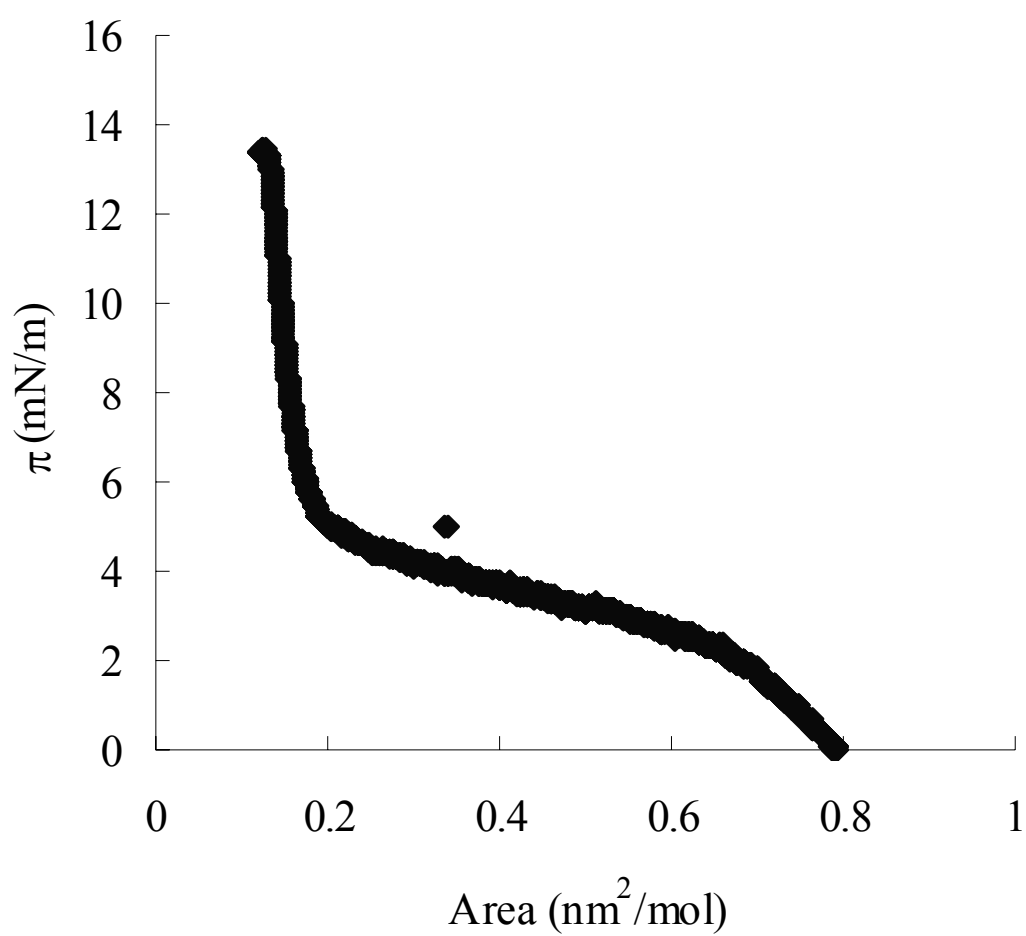


Fig.32 Surface pressure (π) - Area (A) isotherm of PEGGE-AL(13,4)

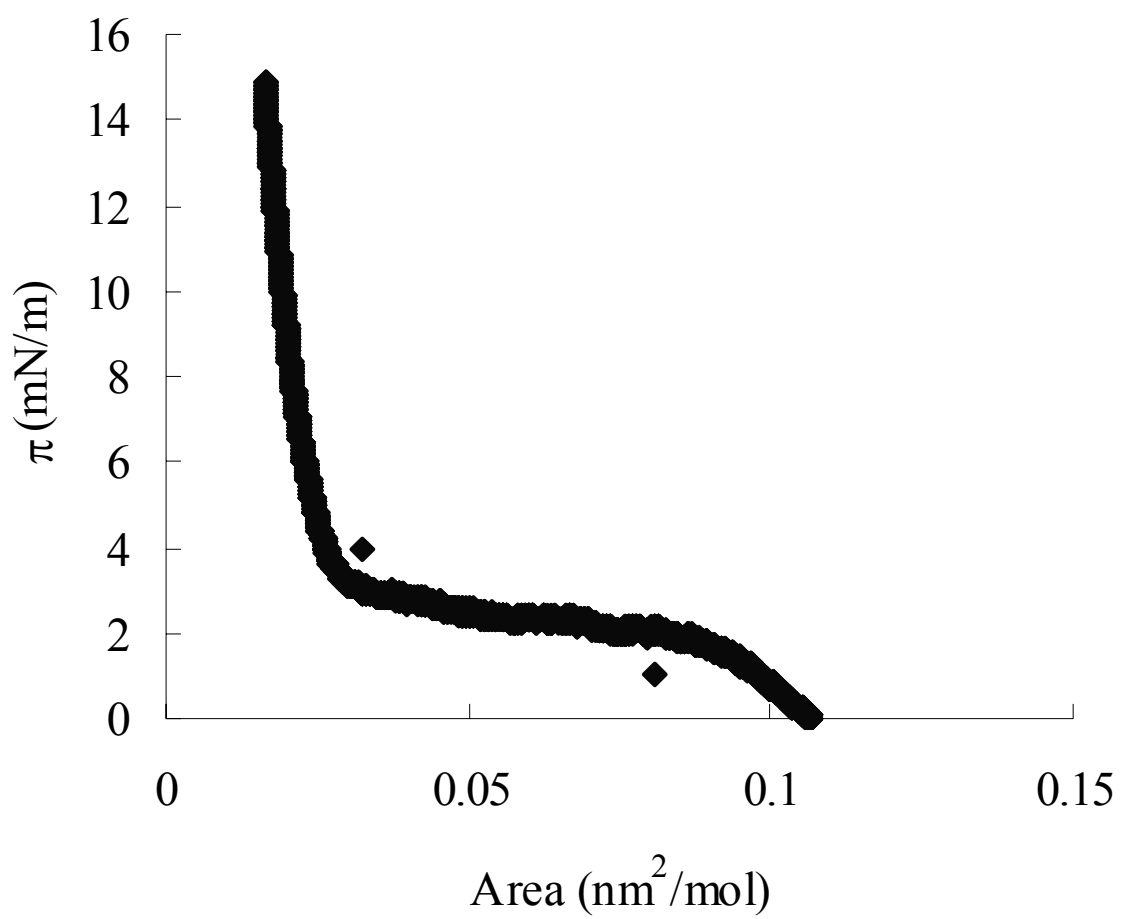


Fig.33 π -A isotherm of PEGGE-AL(22,2)

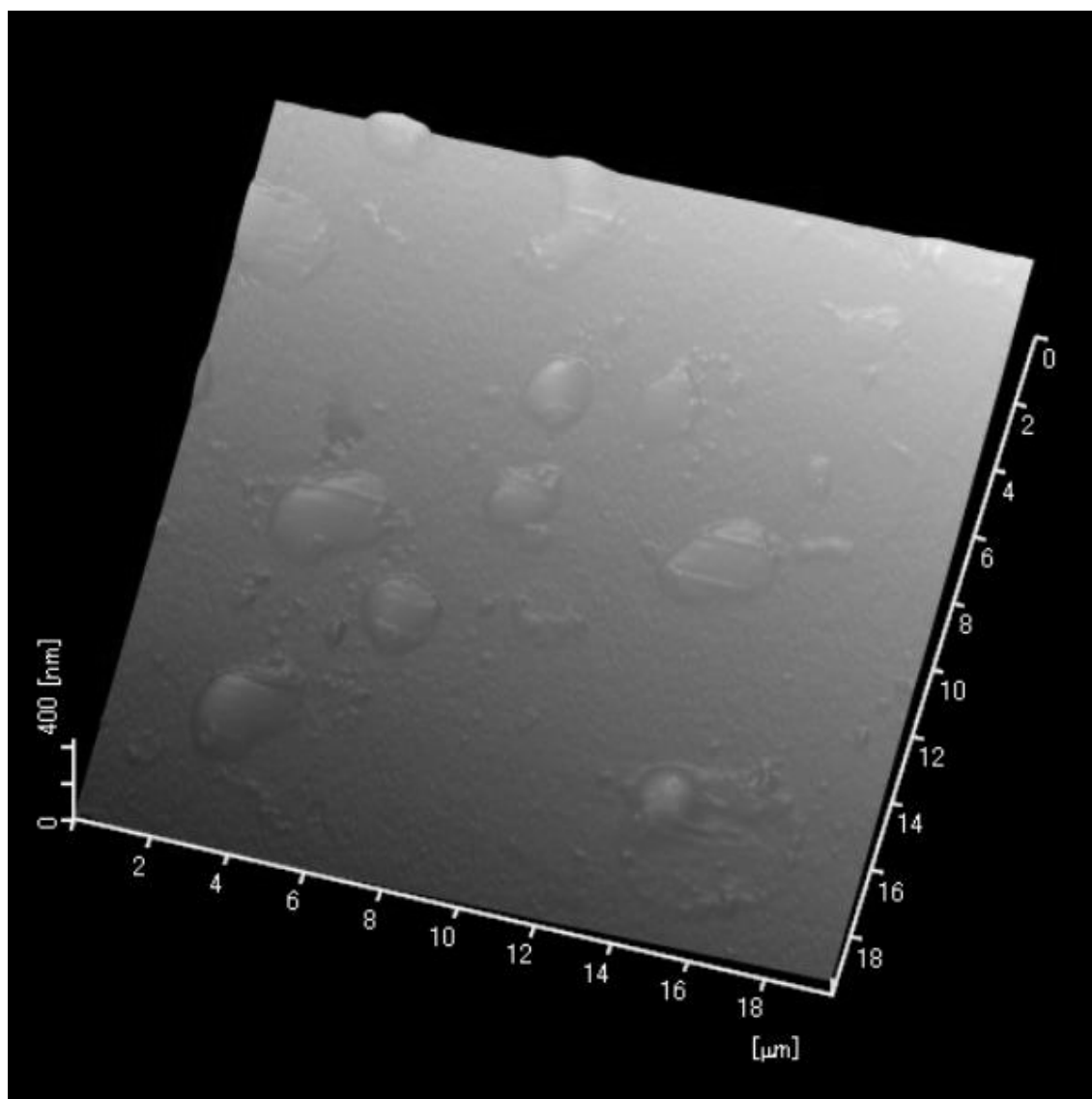


Fig.34 Atomic Force Microscopic (AFM) image of PEGGE-AL LB film prepared at 5 mN/m