

リグニンの電解メディエーターシステム酸化反応

謝 冰^{1*}

Electrolytic Mediator System Oxidation Reaction of Lignin

Bing Xie^{1*}

概要

バイオリファイナリーは、再生可能な木質バイオマスを有用な化学品やエネルギー源に変換する技術であり、持続可能社会の構築に向けた研究が進められている。リグニンは木質バイオマスの主要成分の一つであり、その利用は、バイオリファイナリーの経済性の向上とバイオマス由来芳香族化成品生産システムの確立に重要である。そのため、近年、複雑な高分子構造を持つリグニンを効率的に分解する手法の開発が注目されている。筆者は従来の高温高圧法に代わる温和な触媒法として、電解メディエーターシステム (electrolytic mediator system; EMS) に着目し、その可能性を探る研究を進めてきた。本報では、その結果を紹介する。

1. はじめに

持続型社会の構築に向けて、化石資源に代えて再生可能資源である木質バイオマスを様々な有用化成品に変換するバイオリファイナリーシステムの開発研究が世界的に加速している。木質バイオマスの主要成分であるリグニンは、地球上で最も豊富に存在する芳香族ポリマーであることから、高性能プラスティックや燃料等に活用可能な芳香族系化成品の再生可能原料として期待されている。しかし、難分解性の C–C 及び C–O–C 結合からなる複雑かつ多様な高分子構造に起因して、現在の主なリグニンの利用は、パルプ工業の廃棄物として、サーマルリサイクルに活用されているに留まる。今後のリグニンの高度利用に向けて、複雑多様なリグニンを化学構造が明確な芳香族低分子化合物へと効率的に分解する反応手法の開発が強く求められている¹⁻³⁾。

高温、高圧、過酷な酸性またはアルカリ性条件を用いる従来の方法では、多くの不要な副生成物や副反応が生じることが多い⁴⁾。リグニンから特定のファインケミカルを効率的に製造するには、リグニン内の特定の結合を選択的にターゲットにすることが望まれている²⁾。そのため、最近の研究では、より温和な条件下で選択性を達成する触媒法の開発に焦点が当たられている^{1,2,5)}。その中で、酵素反応と電解反応が注目されている。リグ

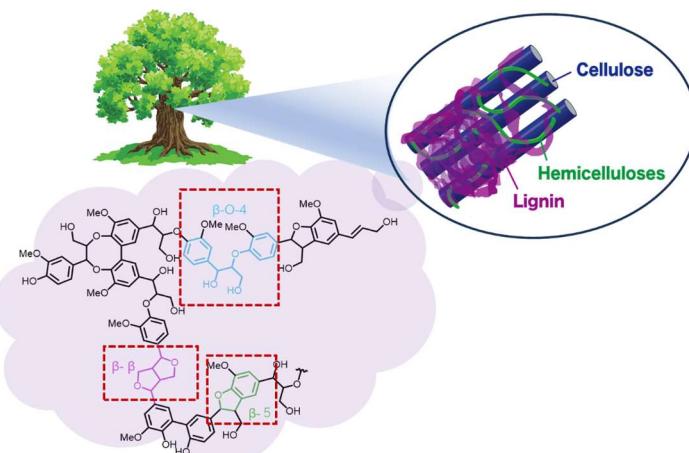


図 1. リグニンの基本構造

2024年8月28日受理。

¹〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圈研究所 森林代謝機能化学分野

* E-mail: xie.bing.3p@kyoto-u.ac.jp

ニンは自然界で木材腐朽菌により、常温常圧の温和な反応条件で分解されている⁶⁾。この生体反応を模倣した反応として、酵素ラッカーゼとメディエーターを用いる laccase mediator system (LMS) 酸化反応がある⁷⁾。メディエーターとは、ラッカーゼと基質との間で電子キャリアとして働く分子のことであり、ラッカーゼによって酸化された後、酵素の触媒ポケットから拡散し、リグニン基質を酸化する。LMS は、ラッカーゼ単独よりも強力な触媒となる。さらに、異なるメディエーターが様々なメカニズムで作用するため、メディエーターの種類が反応の選択性に影響する^{7,8)}。しかしながら、LMS は、酵素反応であるため、反応が遅い、反応条件やメディエーターの選択が制限される、阻害物質の影響を受ける、酵素が高コストであるといった欠点を持つ。

上記の LMS の欠点を克服する有力な手法として、LMS の酵素反応を電極反応に置き換えた電解メディエーターシステム (electrolytic mediator system; EMS) が注目を集めている。LMS と同様に EMS においても、メディエーターが反応の選択性や効率を向上させる役割を果たす (図 2)。実際に、LMS メディエーター⁹⁾、ポリオキソメタレート (POM)¹⁰⁾、ヨウ化物イオン¹¹⁾などを用いたリグニンモデル化合物や単離リグニンの電気酸化に関する研究が報告されている。しかし、EMS におけるメディエーターの最適な選択に関する知見は不足している。特に、メディエーターの種類によってリグニンの

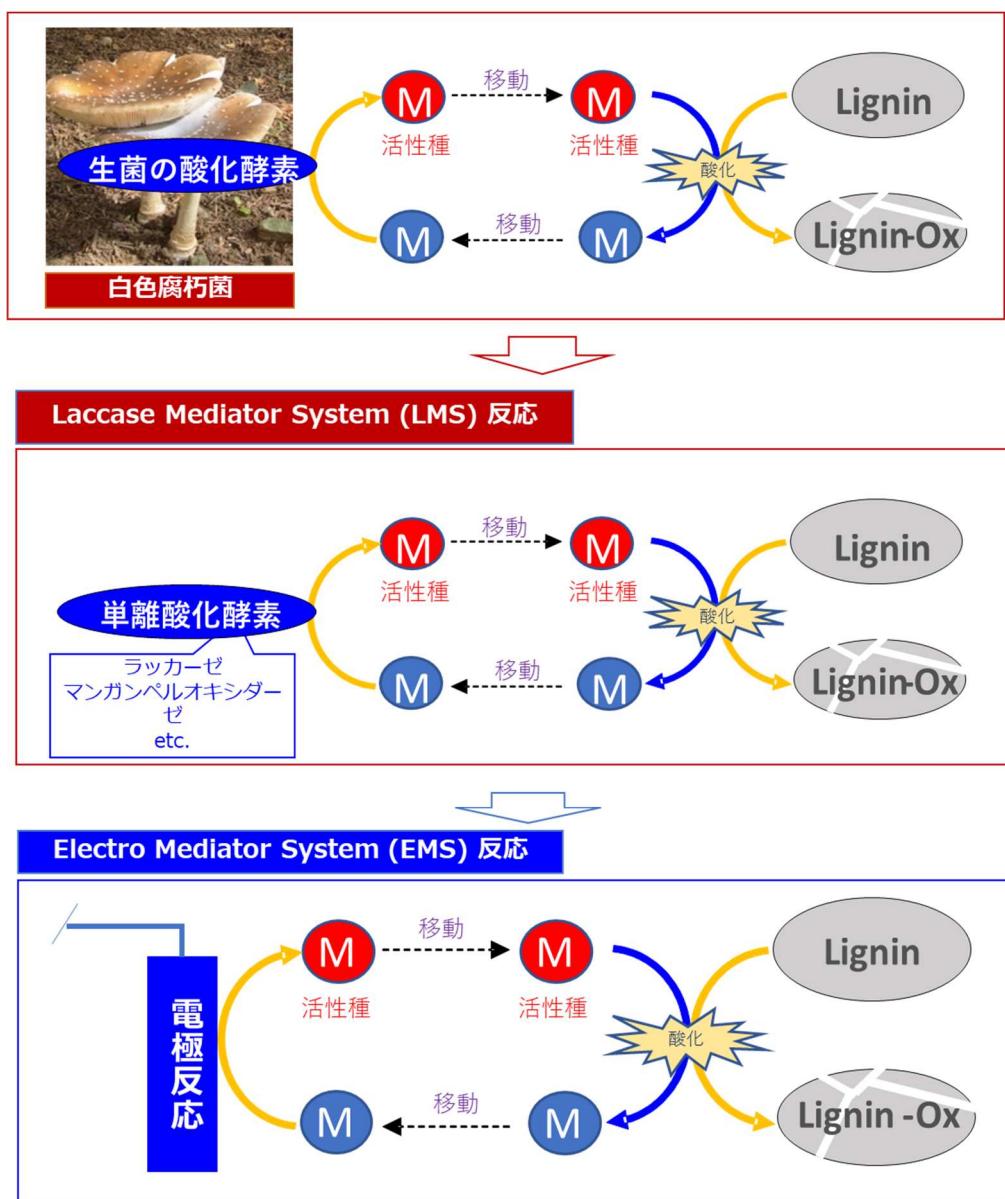


図 2. 生体反応を模倣する LMS 反応と EMS 反応を用いたリグニンの酸化分解反応

異なる部分構造に対する反応性がどのように変化するのかは未解明である。そこで、筆者は、各種メディエーターを用いたリグニンモデル化合物（リグニン二量体モデルや人工リグニン）の EMS 酸化を検討し、リグニンの効率的な電解酸化を促進するメディエーターを探索するとともに、メディエーターに依存したリグニンの電解反応の特徴を詳しく調べた。本報は、それに関する結果を紹介する。

2. ラッカーゼメディエーターを用いた EMS 酸化¹²⁾

まず、リグニンの LMS 酸化で用いられる各種メディエーターの EMS 酸化への適合性と反応特徴を検討した。各種ラッカーゼメディエーターのサイクリックボルタモグラム (CV) を利用したスクリーニングから、EMS 酸化に利用可能なメディエーターを見出すとともに、各メディエーターの安定性や反応性を最大化する反応条件を見出した。

次に、選定した 3 種類のメディエーター（図 3）を用いて、リグニンの主要結合様式である $\beta-O-4$, $\beta-5$, $\beta-\beta$ 結合を有する二量体モデル化合物と高分子モデルとして人工リグニン (G-DHP) の EMS 酸化を行い、反応生成物の構造を多次元 NMR、GC-MS、GPC、FT-IR 等を用いて詳細に調べた。その結果、検討した 3 種類のメディエーター (PZH、NHPI、ABTS) がリグニンの効率的な分解を仲介すること、さらに、それらが $\beta-O-4$, $\beta-5$, $\beta-\beta$ 結合に対して、異なる反応性を示すことを明らかにした。中でも ABTS は、高いリグニン酸化活性を示し、 $\beta-O-4$ と $\beta-\beta$ を優先的に高効率に酸化することから、リグニンの EMS 酸化分解に活用する有望なメディエーターとして期待された。

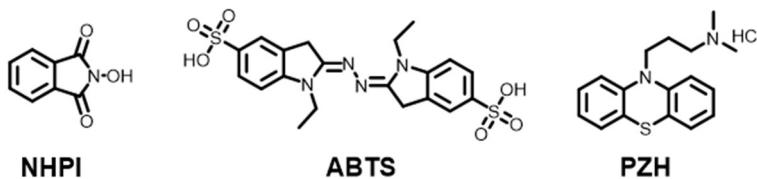


図 3. 本研究で用いたラッカーゼメディエーター

3. マンガンペルオキシダーゼメディエーターを用いた EMS 酸化

LMS 以外のバイオミメティックなリグニン分解システムとして、MLS (MnP/lipid peroxidation system) がある¹³⁾。脂質由来のペルオキシラジカルは、マンガンペルオキシダーゼ (manganese peroxidases, MnP) による不飽和脂肪酸の過酸化によって形成され、リグニンの非フェノール性部分構造を分解可能であることが報告されている^{14, 15)}。筆者は、MnP メディエーターであるリノール酸 (LA) を用いた EMS 酸化について検討した。結果として、上記の LMS メディエーターを用いた EMS 酸化反応と比較すると、MnP メディエーター LA を単独で用いた場合の EMS 酸化では、高分子リグニン (G-DHP) の酸化はそれほど効率的ではなかったものの、LA に加えて、LMS メディエーターの一種である HBT を併用することで、G-DHP の電解酸化効率が大きく向上することを見出した。また LA/HBT 系 EMS では、特に $\beta-O-4$ 結合と $\beta-5$ 結合の分解が促進されることも分かった。これらの結果から、HBT は LA ラジカルの生成を促す共酸化剤として機能していることが示唆され、LA/HBT を用いた電解酸化法は有望なリグニン分解法であることが示唆された。

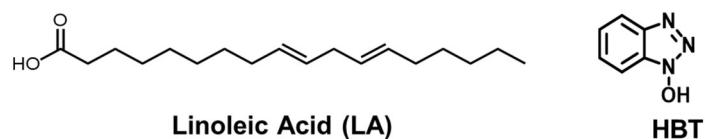


図 4. 本研究で用いたマンガンペルオキシダーゼメディエーター

4. 金属錯体メディエーターを用いた EMS 酸化¹⁶⁾

これまで、ラッカーゼやマンガンペルオキシダーゼなどの酵素反応で用いられるメディエーターを検討してきたが、適用できる酸化電位に限界があった。そこで、酵素反応では利用できないより高い酸化電位を持つ遷移金属錯体メディエーターの探索を行った。中心金属（鉄あるいはマンガン）と配位子（ビピリジンやアセチルアセトン）の組み合わせを変えた各種遷移金属錯体（図 5）を合成し、リグニン二量体モデルと人工リグニンの電解酸化における反応性について詳しく検討した。結果として、遷移金属錯体によるリグニンの分解反応は、中心金属と配位子の組み合わせに大きく依存すること、中でも、鉄ビピリジン錯体

[Fe(bpy)₃] が特に高いリグニンの酸化活性を示すことを見出した。また、これまで検討してきた酵素分解系メディエーターとは対照的に、鉄ビピリジン錯体は、主要なリグニン結合様式である $\beta-O-4$ 、 $\beta-5$ 、 $\beta-\beta$ 結合のすべてを効率的に分解するということも分かった。

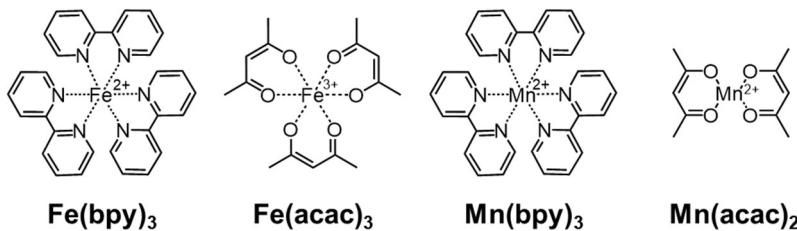


図 5. 本研究で用いた遷移金属錯体メディエーター

5. おわりに

以上のように、様々なメディエーターを用いたリグニンモデル化合物の EMS 酸化を検討し、ABTS (ラッカーゼメディエーター)、LA/HBT (マンガンペルオキシダーゼ・ラッカーゼメディエーター併用系)、鉄ビピリジン (遷移金属錯体メディエーター) など、リグニンの効率的な酸化分解を仲介するメディエーターを複数見出すとともに、各メディエーターが、リグニンの異なる結合様式に対して、大きく異なる反応選択性も示すということを明らかにした。これらの研究結果は、温存なリグニンの酸化分解反応システムとしての EMS 酸化の有効性を実証し、リグニンの EMS 反応の理解を深めるとともに、リグニンの修飾やバイオマス処理への応用の可能性を提供するものである。特に、各メディエーターがリグニンの異なる結合様式に対して示す反応選択性は、将来的なプロセス設計において重要な要素となるであろう。今後、EMS 反応条件の更なる最適化、新たなメディエーターの探索、単離リグニンや木材などのバイオマス試料への適用など、さらなる研究が必要である。

参考文献

- 1) Karkas, M. D.; Matsuura, B. S.; Monos, T. M.; Magallanes, G.; Stephenson, C. R. Transition-metal catalyzed valorization of lignin: the key to a sustainable carbon-neutral future. *Org. Biomol. Chem.*, 14 (6), 1853-1914, 2016.
- 2) Rinaldi, R.; Jastrzebski, R.; Clough, M. T.; Ralph, J.; Kennema, M.; Bruijnincx, P. C.; Weckhuysen, B. M. Paving the Way for Lignin Valorisation: Recent Advances in Bioengineering, Biorefining and Catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 55 (29), 8164-8215, 2016.
- 3) Guadix-Montero, S.; Sankar, M. Review on Catalytic Cleavage of C-C Inter-unit Linkages in Lignin Model Compounds: Towards Lignin Depolymerisation. *Top. Catal.*, 61 (3-4), 183-198, 2018.
- 4) Sun, Z.; Fridrich, B.; de Santi, A.; Elangovan, S.; Barta, K. Bright Side of Lignin Depolymerization: Toward New

- Platform Chemicals. *Chem. Rev.*, 118 (2), 614-678, 2018.
- 5) Christopher, L. P.; Yao, B.; Ji, Y. Lignin biodegradation with laccase-mediator systems. *Front Energy Res*, 2, 12, 2014.
 - 6) Pollegioni, L.; Tonin, F.; Rosini, E. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.*, 282 (7), 1190-1213, 2015.
 - 7) Munk, L.; Sitarz, A. K.; Kalyani, D. C.; Mikkelsen, J. D.; Meyer, A. S. Can laccases catalyze bond cleavage in lignin? *Biotechnol. Adv.*, 33 (1), 13-24, 2015.
 - 8) Du, X.; Li, J.; Gellerstedt, G. r.; Rencoret, J.; Del Río, J. C.; Martínez, A. T.; Gutiérrez, A. Understanding pulp delignification by laccase–mediator systems through isolation and characterization of lignin–carbohydrate complexes. *Biomacromolecules*, 14 (9), 3073-3080, 2013.
 - 9) Bosque, I.; Magallanes, G.; Rigoulet, M.; Karkas, M. D.; Stephenson, C. R. J. Redox Catalysis Facilitates Lignin Depolymerization. *ACS Cent Sci.*, 3 (6), 621-628, 2017.
 - 10) Liu, W.; Cui, Y.; Du, X.; Zhang, Z.; Chao, Z. S.; Deng, Y. L. High efficiency hydrogen evolution from native biomass electrolysis. *Energy Environ. Sci.*, 9 (2), 467-472, 2016.
 - 11) Gao, W.-J.; Lam, C. M.; Sun, B.-G.; Little, R. D.; Zeng, C.-C. Selective electrochemical CO bond cleavage of β-O-4 lignin model compounds mediated by iodide ion. *Tetrahedron*, 73 (17), 2447-2454, 2017.
 - 12) Xie, B.; Tobimatsu, Y.; Kamitakahara, H.; Takano, T. Reaction Selectivity in Electro-oxidation of Lignin Dimer Model Compounds and Synthetic Lignin with Different Mediators for the Laccase Mediator System (PZH, NHPI, ABTS). *Acs Sustain Chem Eng.*, 10 (20), 6633-6641, 2022.
 - 13) Watanabe T, K. S., Enoki M, et al. . Formation of acyl radical in lipid peroxidation of linoleic acid by manganese-dependent peroxidase from Ceriporiopsis subvermispora and Bjerkandera adusta. *Eur. J. Biochem.*, 267 (13), 4222-4231, 2000.
 - 14) Bao W, F. Y., Jensen Jr K A, et al. Oxidative degradation of non-phenolic lignin during lipid peroxidation by fungal manganese peroxidase. *FEBS Lett.*, 354 (3), 297-300, 1994.
 - 15) Bermek H, Li K, Eriksson K E L. Studies on mediators of manganese peroxidase for bleaching of wood pulps. *Bioresource Technology*, 85(3): 249-252, 2002.
 - 16) Xie, B.; Tobimatsu, Y.; Narita, K.; Yokohata, S.; Kamitakahara, H.; Takano, T. Electro-Oxidation of Lignin Model Compounds and Synthetic Lignin with Transition-Metal Complexes (Manganese and Iron Complexes). *Acs Sustain Chem Eng*, 10 (50), 16701-16708, 2022.

著者プロフィール



謝 氷 (Bing Xie)

<略歴> 2023 年京都大学農学研究科博士後期課程修了（農学博士）／同年生存圏研究所ミッション専攻研究員、現在に至る。<研究テーマと抱負>新規なリグニン分解反応系の開発とリグニン改変植物への適用。<趣味、一言など>ミステリー小説、民俗研究。