

研究ノート

CaCCO プロセス由来糖化後残渣からのアルカリ可溶性リグニン抽出条件最適化

山岸 賢治\*<sup>1</sup>, 趙 鋭<sup>1</sup>, 池 正和<sup>1</sup>, 関 笛<sup>1</sup>, 我有 満<sup>2</sup>, 徳安 健<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立研究開発法人農業・食品産業技術研究機構食品研究部門

〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

<sup>2</sup>国立研究開発法人農業・食品産業技術研究機構中央農業研究センター

〒861-1192 茨城県つくば市観音台2-1-18

**Optimization of extraction efficiency of alkali soluble lignin from solid residue derived from CaCCO process.**

Kenji Yamagishi\*<sup>1</sup>, Rui Zhao<sup>1</sup>, Masakazu Ike<sup>1</sup>, Di Guan<sup>1</sup>, Mitsuro Gau<sup>2</sup>, Ken Tokuyasu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food Research Institute, NARO(NFRI), 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

<sup>2</sup> Central Region Agricultural Research Center, NARO, 2-1-18 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602

**Abstract**

The application of CaCCO(Calcium Capturing by Carbonation(CO<sub>2</sub>)) biomass pretreatment procedure to *Erianthus* produces a lignin-rich solid residue as a by-product. We optimized lignin extraction conditions to utilize the solid residue as a source of alkali-soluble lignin (ASL). An increase in NaOH concentration in the range of 25–150 mM led to an increase in the extraction efficiency of ASL dose dependently. Time-course analysis of ASL solubilization showed that the extraction efficiency of ASL of unpretreated *Erianthus* increased in a time-dependent manner. In contrast, a large amount of ASL was extracted immediately after NaOH was added to the solid residue, suggesting that ASL in the solid residue had already been partially degraded in the Ca(OH)<sub>2</sub>-treated process. The contaminants, such as glucon and xylan in the solid residue were only one-tenth of that of the unpretreated *Erianthus*. These data suggested that the solid residue was preferable as a lignin source to unpretreated *Erianthus* in terms of the degree of purity.

Keywords: CaCCO process, *Erianthus*, solid residue, alkali-soluble lignin

---

\* 連絡先 (Corresponding author), yamagisi@affrc.go.jp

水酸化カルシウム前処理後にCO<sub>2</sub>中和を行うことを特徴としたCaCCO (Calcium Capturing by Carbonation (CO<sub>2</sub>)) プロセスは、草本原料を前処理した後の繊維質洗浄、薬液分離が不要で、澱粉や蔗糖を含む稲わら中の糖源を逃さない糖化工程を有する。我々は本技術とバイオマス糖化酵素のオンサイト生産技術を組み合わせ、地域資源を活用した糖液、バイオエタノール生産産業を創出することを目指している<sup>1)~3)</sup>。一方、本プロセスにおいては未分解繊維、リグニン、中和反応によって生じる炭酸カルシウム等を含む固形残渣が発生するため、その処理法が解決すべき課題の一つとなっている。そこで本研究においては、固形残渣中に含まれるリグニンに着目した。リグニンは現在のところ、工業原料として安定的に供給できる体制が整っておらず、その特性を活かした製品の展開が未確立であることから十分に活用されていないが、耐熱、絶縁性樹脂、活性炭等精力的に用途開発が進められている<sup>4)~8)</sup>。また、バイオマスから回収する糖源のみではコスト的に引き合わない場合において、リグニンの付加価値が解決策の一つになる可能性が指摘されている<sup>9)</sup>。そこで本研究では、固形残渣の利活用とリグニン供給系を構築することを目的として、アルカリ可溶性リグニン (以下ASL) 抽出条件の最適化を行った。リグニンの抽出材料には草本系バイオマスであるエリアンサスを用いた。エリアンサスは年間乾物収量5トン/10アール程度の高い乾物生産性を示し、永続的に生産性を維持し、更に構成成分の灰分割合が6.5パーセントと少ない特徴を持つ有望なセルロース系資源作物である<sup>10)</sup>。

## 実験方法

### 1. 供試材料

エリアンサスJES1 (出願番号28299, 国立研究開発法人農業・食品産業技術研究機構九州沖縄農業研究センター (KARC) 育成) はKARCにおいて収穫後天日乾燥にて保存されたものを使用した。成分分析 (セルロース, キシラン, 酸不溶性リグニン (Klason リグニン), 酸可溶性リグニン, 灰分) は, National Renewable Energy Laboratory (NREL) の分析フローに従って行った<sup>11)</sup>。

### 2. エリアンサスのCaCCO処理

エリアンサス乾燥重量1000 gにCa(OH)<sub>2</sub> 150 g, 及び水1000 gを加え、湿式粉碎装置 (可搬型植織機 (シ

ンコーサービス)) によって混和及び植物組織の解織を行った後、120 °C 1時間熱処理を行った。その後CO<sub>2</sub>を加えてCa(OH)<sub>2</sub>を中和後、糖化酵素Cellic CTec2 (Novozymes Co. Ltd.) 65 g (9.5 FPU/g-バイオマス) を添加して40 °C 72時間糖化反応を行い、糖化液を遠心分離操作で除いた残渣をリグニン抽出材料とした。<sup>11)</sup>

### 3. エリアンサス糖化後残渣からのASL抽出操作

糖化後残渣 (乾燥重量0.5 g相当, 含水率73 %) に3.2 mlのH<sub>2</sub>Oを添加し、固形物の9倍量H<sub>2</sub>Oが添加されたスラリーを調製した。5 N NaOHを所定量添加し、最終濃度25 mM-1000 mMとした。室温で2時間往復振盪 (200往復/分) し、添加直後、30分後、120分後に0.1 mlずつサンプリングして遠心上清の280 nmにおける吸光度を測定した。各NaOH濃度におけるASL抽出量は、遠心上清中の280 nmにおける吸光度と、精製したエリアンサスASL標品の比吸光度 ( $E^{1\%}_{1\text{cm}}$  (280 nm) : 192.1) から求めた。ASL抽出率は以下の式により求めた (遠心上清の280 nm吸光度から求めたASL量 (mg) / (糖化後残渣の乾物量 (500 mg) × (Klason リグニン+酸可溶性リグニン含有率) × 100 (%)

### 4. 糖化後残渣と無処理エリアンサスを出発材料としたASL抽出量の比較

糖化後残渣及び無処理エリアンサス (ウィレーミルにより1 mmスクリーンを通した粉末) 乾燥重量1 g相当にH<sub>2</sub>Oを添加し、固形物の17倍量H<sub>2</sub>Oが添加されたスラリーを調製した。5 N NaOHを添加して最終濃度を100 mMとし、上記 (3) の方法で経時的にASL抽出率を測定した。

### 5. エリアンサス糖化後残渣, 及び無処理エリアンサスを出発原料としたASLの調製

2. の方法で調製した糖化後残渣 (乾燥重量15 g相当, Klasonリグニン+酸可溶性リグニン 合計6.3 g含有) に対し、150 mMのNaOH溶液 (135 ml) を加えてASLを抽出した。残渣の洗浄と残存したリグニンの再可溶化を兼ねて50 mMのNaOH溶液 (135 ml) を再度添加後抽出操作を行い、両抽出液に5M HClを添加して弱酸性にすることでASLを沈殿させた。沈殿物は希HCl (2 mM) で洗浄して塩 (NaCl) を除き、凍結乾燥によって乾燥重量2.8 gのASLを回収した。比較対象として、上述した無処理エリアンサス (乾燥重量30 g相当, Klasonリグニン+酸可溶性リグニン10.3 g含有) から同じ方法で2.1 gのASLを得た。

## 6. ASLの化学成分, 平均分子量, 芳香族組成分析

化学成分を分析するため, 両試料を72 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 更に9 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ で酸分解し, 酸沈殿物重量から難溶性高分子であるKlasonリグニン含量を決定した. 酸沈殿物は一定量の灰分を含むため, 酸沈殿物を秤量後灰化して再度秤量し, その差分をKlasonリグニン重量とした. リグニンの分解産物であり, 低分子の芳香族化合物である可溶性リグニン含量は, 酸分解物上清の205 nm吸光度を測定し, 既報に従い決定した<sup>1)</sup>. 酸分解物上清中のグルコース, キシロース含量は市販キットで定量した(グルコースC-IIテストワコー(和光純薬工業株式会社), キシロース定量キット(メガザイム社)). 灰分含量は, 試料を600 °C 5時間灰化して定量した. 平均分子量はゲル濾過HPLCにより, TSKgel  $\alpha$ -M及び $\alpha$ -3000GPCカラムを用いて測定した(溶媒及び流速: DMSO, 0.5 ml/min). 検出には示差屈折計を用い, 分子量Miのリグニン分子がNi個存在すると仮定した各試料の数平均分子量(Mn)及び重量平均分子量(Mw)は以下の式により求めた [ $\text{Mn} = (\sum \text{MiNi}) / (\sum \text{Ni})$ ,  $\text{Mw} = (\sum \text{Mi}^2\text{Ni}) / (\sum \text{MiNi})$ ]. リグニン基本骨格中の芳香族組成は, リグニン解析において一般に用いられるアルカリ性ニトロベンゼン酸化法を用いて分析した. すなわち, トルエン/エタノールで脱脂した乾燥試料0.1 gに2 M NaOH 3.5 mL, ニトロベンゼン 0.2 mLを加え, 170 °C 2時間反応後クロロホルムで溶媒抽出を行った. 強アルカリ条件下で水相に, 酸性条件下でクロロホルム相に移行する画分を回収し, GC/MS解析(GC6890, Agilent Technologies)によって主要な芳

香族性化合物を同定した.

## 実験結果及び考察

### 1. ASL抽出に必要なNaOH濃度の検討

我々はCaCCO処理を用いた糖化発酵プロセスの開発において, 稲わらと共にエリアンサスを出発材料として用いている. 本研究で用いたエリアンサスJES1は, 乾燥重量あたり約33 %のセルロース, 約21 %のキシランと共に, 約25 %のリグニン(Klasonリグニン及び酸可溶性リグニンの総和)を含む<sup>11)</sup>. 糖化反応の結果, グルカン, キシランが可溶化したため残渣中のリグニン含有率は約39 %に上昇し, リグニンを抽出する上で有利となった<sup>12)</sup>.

リグニンは, フェノール性水酸基(C6)がプロパン鎖(C3)と結合したリグニン核構造(C6-C3単位)から成る巨大高分子化合物であり, 水系, 有機溶媒系への溶解度が極めて低い. そのため, 酸分解(硫酸等), アルカリ処理(NaOH,  $\text{NH}_3$ 等), 有機溶媒抽出(メチルイソブチルケトン, エタノール等), 水熱処理等種々の方法がリグニンを溶解, 抽出する方法として提案されているが<sup>9)</sup>, 本研究では操作の容易さ, 設備投資に要する費用等を勘案し, NaOHによるアルカリ抽出法を用いた. NaOHによる草本系リグニン抽出は多くの事例が報告されており, 例えばスウィートソルガムから500 mM NaOH, 90 °C 2時間加熱によってASLを得た例がある<sup>13)</sup>. 糖化後残渣に25 mM ~ 1000 mMのNaOH溶液を加え, ASLを抽出するため最低限度必要なNaOH濃度を検討した(図1). ASL抽出率は, 各

エリアンサス糖化後残渣 0.5 g(乾燥重量相当)  
(Klason リグニン : 39.4 %, 酸可溶性リグニン : 2.5 %)

3.2 ml  $\text{H}_2\text{O}$  添加, 混和(固形物: $\text{H}_2\text{O}$ =1 : 9)

5 M NaOH 添加, 混和  
(最終濃度 25-1000 mM)

室温, 0分~120分  
往復振盪(200回/分)  
0分, 30分, 120分後にサンプリング,  
遠心(上清)の280 nmにおける吸光度測定

\*ASL抽出率=  
(280 nmにおける吸光度から換算したリグニン重量(mg)/  
糖化後残渣乾物重量(mg) × リグニン含有率) × 100(%)

\*エリアンサス Klason リグニン標品(E1%1cm(280 nm) : 192.1)  
リグニン含有率 = Klason リグニン 86.3 % + 酸可溶性リグニン 2.8 % = 89.1 %

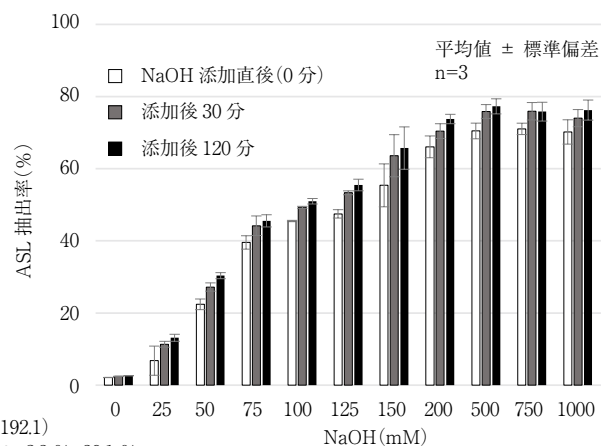


図1 エリアンサスASL抽出操作のフローチャート, 及びASL抽出に要するNaOH濃度の検討

NaOH濃度におけるASL抽出重量に対する、糖化後残渣中のリグニン重量（Klasonリグニンと酸可溶性リグニンの合計）の比率（%）として求めた。その結果、NaOH濃度が150 mMまではASL抽出率が濃度依存的に上昇したが、200 mM以上ではNaOHを添加しても抽出率はそれほど上昇しなかった。よって、以降の試験はNaOH濃度50 mM ~ 150 mMの範囲内で行った。

## 2. ASL抽出量の経時変化、及び無処理エリアンサス粉末と糖化後残渣の比較

NaOH等の強アルカリは、フェノール性水酸基からプロトンを奪うことでフェノキシラジカルに変え、その後の連鎖反応によりC3中の $\beta$ -o-4共有結合を開裂することで低分子化を導くと考えられている。そのため、アルカリ添加後の反応時間を延長すればそれだけ抽出効率が上昇すると予想したが、実際には糖化残渣へのNaOH添加直後に大部分のASLが抽出され、30分、120分振盪しても抽出効率は僅かしか上昇しなかった（図1）。この現象を検証するため、糖化後残渣に100 mM NaOHを添加し、室温、振盪0分~1200分のASL抽出率を遠心上清中の280 nm紫外吸収を指標として見積もった（図2）。比較対象としては、植繊機による解繊、及びウィレーミルによる粉末化処理のみを行ったエリアンサス（無処理エリアンサス）を用いた。その結果、無処理エリアンサスではNaOH添加直後のASL抽出率が7.8%であるのに対し、1200分後は2.8倍の21.6%に上昇した。一方糖化後残渣では、NaOH添加直後のASL抽出率は48.2%であり、無処理エリアンサス（7.8%）と比較し6.2倍の値となった。しかしながら、1200分振盪後のASL抽出率は57.3%であり、殆ど増加しなかった。この理由としては、糖化後残渣は強アルカリであるCa(OH)<sub>2</sub>との混合、及び120℃1時

間の熱処理を受けたものであることが考えられる。Ca(OH)<sub>2</sub>によりリグニンが部分的に低分子化、可溶化するが、その後の糖化工程でCO<sub>2</sub>により強アルカリが中和（Ca(OH)<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> → CaCO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O）されることで、可溶化したリグニンが再度不溶化した可能性がある。低分子化したリグニンは中性、酸性条件下では水溶性が低いが、強アルカリ条件下ではフェノール性水酸基OHがO<sup>-</sup>に解離することで水溶性が上昇する。そのため、NaOHの添加により速やかに可溶化したと推察している。工業的スケールでリグニンを回収する際、短時間で抽出が可能であれば小規模の設備を繰り返し使用できる。そのため、糖化後残渣はリグニン抽出の出発材料として、無処理エリアンサスより有利であると思われる。

## 3. 糖化後残渣、及び無処理エリアンサス由来ASLの化学分析

上記の検討により糖化後残渣からのASL抽出条件が定まったため、ASLを実際に抽出してその回収率、化学成分、芳香族組成、平均分子量を解析した。図3の方法で糖化後残渣（乾燥重量15 g相当、Klasonリグニン+酸可溶性リグニン 合計6.3 g含有）から、150 mMのNaOH溶液を用いてASL2.8 gを抽出した（図3）。比較対象として、上述した無処理エリアンサス（乾燥重量30 g相当、Klasonリグニン+酸可溶性リグニン10.3 g含有）から同じ方法で2.1 gのASLを得た。糖化後残渣には一定量のグルカン、キシランが未分解物として残存しているため、それらが不純物としてASLに含まれる可能性がある。そのため、分解上清中グルコース、キシロース含量を定量した。成分分析の結果、糖化後残渣から抽出したASLは、未処理エリアンサスから抽出したASLと比較し、不純物であるグルカン、キシラ

糖化後残渣、無処理エリアンサス 1 g(乾燥重量相当)

↓

5 M NaOH 溶液添加(固形物:H<sub>2</sub>O=1:17), 最終濃度 100 mM

↓

室温, 0分~1200分往復振盪(200回/分)

↓

経時的にサンプリング, 遠心上清の280 nmにおける吸光度測定

※無処理エリアンサスリグニン含有率  
(Klason リグニン 31.6%, 酸可溶性リグニン: 2.6%)

※無処理エリアンサス調製法:  
植繊機処理したエリアンサス→  
ウィレーミルによる粉末化(1 mm スクリーンパス)

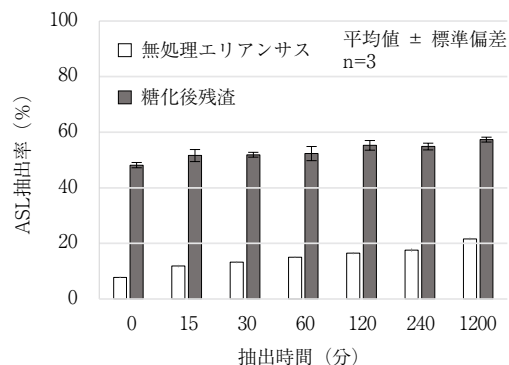


図2 糖化後残渣、無処理エリアンサスからのASL抽出フローチャートとASLの抽出率

エリアンサス糖化後残渣(乾燥重量 15 g 相当, 含水率 73 %)  
(Klason リグニン + 酸可溶性リグニン 6.3 g 含有)



図3 エリアンサス糖化後残渣からのASL回収フローチャート, 及び回収リグニンの形状

ンが少ないことが示された (表 1). NaOH等の強アルカリでリグノセルロース原料を処理すると, 特にキシランの可溶化が起こり, ASLと共に酸性条件下で沈殿することが予想される. CaCCO法で調製した糖化後残渣では, キシランの多くがCa(OH)<sub>2</sub>によって可溶化し, 更に糖化酵素によって分解され多糖液となると思われる. 糖化前のエリアンサス原料のキシロース含量が23.7%であり, 糖化後残渣では7.4%に低下していることも, キシランの分解が起こっていることを示している<sup>11)</sup>. そのため, 結果的にASLが高純度になるものと推測している. リグニンを何らかの工業原料として利用する上では, 高純度であるほど応用範囲が広がるため, その点からも糖化後残渣はリグニン抽出材料として好適であると考えられる. なおリグノセルロース資源の糖化後残渣から, 脂肪族多価アルコールと加熱処理の組み合わせによってリグニンを抽出する方法が提案されており, その場合でも多糖類の含有率が減少することで純度が大幅に上昇することが報告されている<sup>14)</sup>.

リグニンはその由来, 抽出方法等によって化学構造が大きく異なり, 用途も化学構造によって変わる可能性がある. そのため, リグニンの主要な化学的特性である芳香核構造と分子量の分布を調べた (分析は東レリサーチセンターに依頼). リグニン芳香核構造中のフェノール性水酸基 (C6) はメトキシ基の結合数によってG型, S型, H型の3種類に分けられ (表 2),

表 1 ASLの組成分析結果

	グルコース	キシロース	Klason リグニン	酸可溶性 リグニン	灰分
糖化後残渣 ASL	0.4 %	0.6 %	86.3 %	2.8 %	0.6 %
無処理 エリアンサス ASL	4.6 %	6.6 %	73.4 %	3.9 %	N.D.

表 2 糖化後残渣、無処理エリアンサス由来ASLの芳香核構造分析

	G 型	S 型	H 型
エリアンサス糖化後残渣 ASL	44.0 %	36.3 %	10.3 %
無処理エリアンサス ASL	31.6 %	39.6 %	8.4 %

GC/MS における主な検出物:

G 型 (バニリン, バニリン酸)

S 型 (シリンガアルデヒド, シリンガ酸)

H 型 (4-ヒドロキシベンズアルデヒド)

※G 型, S 型, H 型比率 = 各型ピーク面積合計

/ GC/MS 全ピーク面積

核構造の違いにより化学反応性が異なる. 例えばエリアンサス等草本系リグニンに多く含まれるH型は, 芳香環のオルト位にメトキシ基を有しておらず, 広葉樹に多く含まれるS型は両オルト位がメトキシ化されている. そのため, 活性の高いオルト位の炭素原子を利用する上では, H型を多く含むリグニンが有利である<sup>6)</sup>. 糖化後残渣, 無処理エリアンサス各々から抽出したASLをアルカリ性ニトロベンゼン酸化法によって分解し, GC/MSによってリグニン核構造を調べたところ, 両者ともH型を多く含む, 草本系リグニンに特徴的な核構造を有していた (表 2). 糖化後残渣由来ASLはG型の含有量が多少高かったが (44.0% (糖化後残渣由来) vs. 31.6% (無処理エリアンサス由来)), その理由は不明である.

リグニンの分子量も抽出材料, 抽出法によって大きく変動するため, その特性を規定する重要な要素である. そのため糖化後残渣, 無処理エリアンサス各々から抽出したASLの分子量をゲル濾過法により測定した (図 4). 糖化後残渣由来ASLは, 無処理エリアンサス由来ASLと比較し, 数平均分子量, 重量平均分子量共にやや高い分子量を示した. その原因は不明であるが, 表 1 に示される通り, 糖化後残渣由来ASLは低分子である酸可溶性リグニンの含量 (2.8%) が, 無処理エリ

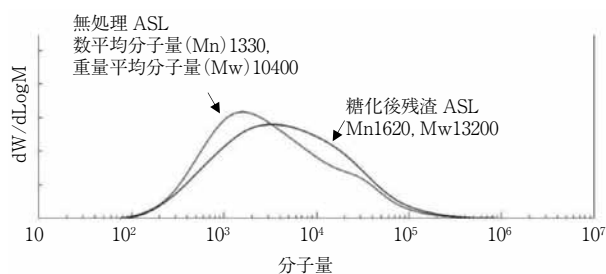


図4 糖化後残渣、及び無処理エリアンサ由来ASLの数平均、及び重量平均分子量測定結果

アンサ由来ASLの酸可溶性リグニン含量 (3.9 %) より低い。そのことが、平均分子量の値を押し上げた可能性がある。

## 結 論

エリアンサのCaCCO処理に伴い副生成物として排出される固形残渣は、無処理エリアンサと比較し短時間でリグニン抽出が可能であり、抽出率も高い。更にグルカン、キシランの混在が少なく純度が高いことから、リグニンの供給材料として無処理エリアンサより有利である。

## 要 約

CaCCOプロセスは、草本茎葉バイオマス<sub>2</sub>をCa(OH)<sub>2</sub>と混和、加熱後にCO<sub>2</sub>中和を行い、酵素糖化を行うことを特徴とする処理方法である。本法においてエリアンサを処理すると、糖化液と共にリグニンを多量に含む固形分が発生する。そこで、糖化後残渣を利用することを目的として、アルカリ可溶性リグニン(ASL)の回収方法最適化を行った。ASLの抽出に必要なNaOH濃度を検討した結果、150 mM程度までは濃度依存的に抽出率が増加した。無処理のエリアンサ原料ではNaOHの添加後、時間経過と共にASL抽出率が増加するのに対し、糖化後残渣ではNaOHの添加直後に多量のASLが溶出した。そのため、糖化後残渣中のASLは前処理工程のCa(OH)<sub>2</sub>処理によって構造変化が起こっていることが示唆された。また、無処理のエリアンサ原料から抽出したASLは不純物であるグルカン、キシランを含んでいるのに対し、糖化後残渣由来ASLのグルカン、キシラン含有量はその1/10であった。このことは、原料からアルカリ可溶性リグニンを直接抽出するよりも、糖化後残渣を利用したカスケード利

用を行う方が高品質の精製物を与えるという可能性を示している。

本研究は、農林水産省委託プロジェクト「地域資源を活用した再生可能エネルギー等の利活用技術の開発」「草本を利用したバイオエタノールの低コスト・安定供給技術の開発」によって行われました。

## 文 献

- 1) Shiroma, R., Park, J. Y., Al-Haq, M. I., Arakane, M., Ike, M. and Tokuyasu, K., RT-CaCCO process: An improved CaCCO process for rice straw by its incorporation with a step of lime pretreatment at room temperature, *Bioresour. Technol.*, **102**, 2943-2949 (2011).
- 2) Park, J. Y., Shiroma, R., Al-Haq, M. I., Zhang, Y., Ike, M., Arai-Sanoh, Y., Ida, A., Kondo, M. and Tokuyasu, K., A novel lime pretreatment for subsequent bioethanol production from rice straw-calcium capturing by carbonation (CaCCO) process. *Bioresour. Technol.*, **101**, 6805-6811 (2010).
- 3) Park, J. Y., Seyama, T., Shiroma, R., Ike, M., Srichuwong, S., Nagata, K., Arai-Sanoh, Y., Kondo, M. and Tokuyasu, K., Efficient recovery of glucose and fructose via enzymatic saccharification of rice straw with soft carbohydrates. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 1072-1077 (2009).
- 4) Ragauskas, A. J., Beckham, G. T., Bidy, M. J., Chandra, R., Chen, F., Davis, M. F., Davison, B. H., Dixon, R. A., Gilna, P., Keller, M., Langan, P., Naskar, A. K., Saddler, J. N., Tschaplinski, T. J., Tuskan, G. A. and Wyman, C. E., Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. *Science*, **344**, 1246843 (2014).
- 5) Cannatelli, M. D. and Ragauskas, A. J., Conversion of lignin into value-added materials and chemicals via laccase-assisted copolymerization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **100**, 8685-8691 (2016).
- 6) ハリマ化成株式会社, 地方独立行政法人大阪市立工業研究所. 大橋康典, 扇剛士, 木村肇, 松本明博, 大塚恵子. 変性リグニンおよびそれを含有する熱硬化性樹脂成形材料. 特開2014-084450
- 7) 飯田孝彦, 中石真名美, 萩原利哉, 山野宏司, 瓦田研介. 草本系リグニンから調製した活性炭の細

- 孔構造と吸着性能, 東京都立産業技術研究センター研究報告, 第6号, 26-29 (2011).
- 8) 高野俊幸, リグニンの利用に向けて, ネットワークポリマー, Vol. 31, 213-223 (2010).
- 9) Narron, R. H., Kim, H., Chang, H. M., Jameel, H., Park, S., Biomass pretreatments capable of enabling lignin valorization in a biorefinery process. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **38**, 39-46 (2016).
- 10) 我有満, 高井智之, 桂真昭, 山下浩, 2008年九州沖縄農業研究センター成果情報
- 11) Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Crocker, D., Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL), USA, 2008.
- 12) 農林水産省委託プロジェクト 地域資源を活用した再生可能エネルギー等の利活用技術の開発「草本を利用したバイオエタノールの低コスト・安定供給技術の開発」成果集 (印刷中)
- 13) Sun, S. L., Wen, J. L., Ma, M. G. and Sun, R.C., Structural elucidation of sorghum lignins from an integrated biorefinery process based on hydrothermal and alkaline treatments. *J. Agric. Food. Chem.*, **62**, 8120-8128 (2014).
- 14) 花王株式会社, 長沢晋也, リグニン分解物の製造方法. 特開2015-6999