

氏 名	ほり かわ よし き 堀 川 祥 生
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1692 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 森 林 科 学 専 攻
学位論文題目	Characterization of native cellulose by FTIR spectroscopy combined with deuteration / rehydrogenation technique (重水素化-再水素化法を併用したフーリエ変換赤外分光評価による天然セルロースのキャラクタリゼーション)
論文調査委員	(主 査) 教 授 杉 山 淳 司 教 授 西 尾 嘉 之 教 授 中 野 隆 人

### 論 文 内 容 の 要 旨

セルロースを合成する生物は樹木を含む高等植物をはじめ、海藻、水生藻類、バクテリアや動物界のホヤにいたるまで多種に及ぶが、それぞれが合成するマイクロフィブリルの構造は普遍的ではなく多様である。申請者は赤外分光法と結晶内重水素化-再水素化法を併用した新しい構造解析方法を考案した。従来法と大きく異なる新規な点は、まず結晶を完全に重水置換した後、水熱処理による水素原子の結晶内部への再置換度について処理温度をパラメータとして評価した点である。この方法から得られた新規の知見や主な内容は以下の通りである。

1. フーリエ変換赤外分光測定によるセルロースマイクロフィブリル面配向の再検討: セルロースマイクロフィブリルの構造特性の一つである面配向は従来X線解析により識別されてきた。多様なセルロース生産物について面配向のスクリーニングを可能にするため、非破壊で迅速な測定が利点である赤外吸収分光法による検出法の確立を目的とした。面配向が既知のセルロース試料の比較検討の結果、 $1400-1300\text{cm}^{-1}$ の赤外吸収パターンから面配向の識別が可能であることを見出した。さらに、結晶内重水素化-再水素化実験や二軸高配向試料を用いた偏光スペクトル解析により、面配向に対応する赤外吸収振動の帰属を行った。

2. 重水素化-再水素化法とフーリエ変換赤外分光法によるバロニアセルロースマイクロフィブリルのアクセシビリティとサイズの検討: 結晶内重水素化後、再水素化によるセルロースマイクロフィブリルへのプロトンアクセシビリティの測定を試みた。まず、セルロース試料を結晶内重水素化し、室温で蒸留水につけ結晶表面の重水酸基のみを水酸基に再置換した。FTIR測定により水酸基振動吸収と重水酸基振動吸収からR値  $\{OD/(OD+OH)\}$  と定義し、結晶内部と表面を分離して評価した。標準試料として、既報によりマイクロフィブリルを構成している分子鎖の詳細が明らかなバロニアセルロースを用い、実験値と理論値を比較した。次に、昇温過程における結晶内部への再水素化を詳しく調べ、再水素化温度と変換率の関係を明らかにした。

3. 赤外分光法により明らかとなったマイクロフィブリルの横断面形状の種特異性: 2で得られた結果を元に、様々な生物種が合成するセルロースを結晶内重水素化した後、室温で蒸留水に浸漬して結晶表面のみを再水素化した。これらの再水素化率とマイクロフィブリルサイズとの関係を比較検討するため、同様の試料についてX線解析を行い、回折強度曲線から結晶領域幅の指標となる半値全幅を算出した。R値と半値全幅の間にはよい相関が得られたことから室温で再水素化した値からセルロースマイクロフィブリルサイズを見積もれることを示した。次に、温度上昇を伴う再水素化を行い、その過程を解析した。ホヤ類など大きなマイクロフィブリル径を持つものは高いR値から始まり、完全に再水素化が終了するには $250^{\circ}\text{C}$ 程度の高温が必要であった。一方、木材由来のセルロースでは比較的低いR値から始まり $210^{\circ}\text{C}$ あたりで再水素化が終了した。興味深いことにチリモでは高いR値から始まったが、高等植物と同じ程度の $210^{\circ}\text{C}$ で再水素化が終わった。このことから、チリモセルロースマイクロフィブリルは大きな結晶サイズを持つ一方で、結晶中心部へのアクセスが速いことからフラットな

断面形状が示唆された。電子顕微鏡回折コントラスト像からこの形状は確認され、再水素化評価からマイクロフィブリルの断面サイズおよび断面形状観察の可能性が示された。

4. マイクロフィブリル内における $I_{\alpha}$ ・ $I_{\beta}$ 結晶の局在：結晶内重水素化後、温度上昇を伴う再水素化を行うことにより、結晶内部から表面部にかけての情報を段階的に抽出することに成功した。まず $I_{\alpha}$ リッチであるグラウコシステイスセルロースを高温水蒸気処理により $I_{\beta}$ へ不完全変態させ、このマイクロフィブリル内 $I_{\alpha}$ ・ $I_{\beta}$ 結晶の局在を調べた。するとFTIRスペクトルの重水酸基振動吸収帯における $I_{\beta}$ 特異的なバンド $2437\text{cm}^{-1}$ がまず水酸基へ再置換され、次に $I_{\alpha}$ 特異的なバンド $2415\text{cm}^{-1}$ が再水素化された。この結果から、グラウコシステイス由来の不完全変態セルロースは結晶中心部に $I_{\alpha}$ が局在し、これを取り囲むように $I_{\beta}$ が分布していることが明らかとなった。次に、天然セルロースとしてバロニアセルロースを結晶内重水素化、続いて再水素化処理し、そのプロセスに注目した。すると先ほどとは異なり重水酸基振動吸収帯における $I_{\beta}$ 特異的なバンド $2437\text{cm}^{-1}$ と $I_{\alpha}$ 特異的なバンド $2415\text{cm}^{-1}$ がほぼ同様の比率で再水素化された。また、水酸基振動吸収帯における $I_{\beta}$ 特異的なバンド及び $I_{\alpha}$ 特異的なバンドも同様に表れてきた。このことから、天然由来のセルロースでは、スキン-コアのような明瞭な高次構造ではないことが明らかとなった。すなわち、いくつかの報告にある結晶中心部に $I_{\beta}$ が局在し、結晶表面には $I_{\alpha}$ が分布しているという天然セルロースのモデルでは説明できないと結論付けた。

### 論文審査の結果の要旨

セルロースの結晶構造解析の歴史は古く、X線回折、電子線回折、核磁気共鳴、赤外・ラマン吸収により研究され、近年では放射光X線や中性子の利用により、セルロースの結晶多形構造、特に水素結合様式が解明されるに至って、その理解は飛躍的に進歩している。一方で、利用するためのバイオマスとして、多種多様なサンプルの構造を効率よく高精度で評価する必要が生じてきている。本論文では後者の立場から、広く構造評価に利用されているFTIRを用い、結晶内重水素化法を併用することにより、セルロース結晶構造に関する新しい解析方法を提案し、またいくつかの新しい知見を得ている。評価される主な点は以下の通りである。

1) FTIRスペクトルの $1400\text{-}1300\text{cm}^{-1}$ 領域からセルロース面配向の識別が可能であることを明らかにした。このことから、FTIRの迅速な解析によりセルロースマイクロフィブリル面配向の分類分けやスクリーニングの可能性が示唆された。

2) 面配向が既知の標準サンプルを詳細に解析することで面配向に対応する赤外吸収領域の内、未帰属であった $1372$ と $1355\text{cm}^{-1}$ の吸収がOH変角振動であり、繊維軸方向の振動であることを明らかにした。

3) 結晶内重水素化後、室温で再水素化した時のR値からセルロースマイクロフィブリルサイズが測定できることを見出した。

4) 結晶内重水素化後、温度上昇を伴う再水素化は、結晶断面サイズだけでなく、結晶の断面形状までも推定できる可能性を示唆した。

5) 結晶内重水素化-再水素化を併用したFTIRスペクトルをモニタリングすることにより結晶内部の $I_{\alpha}$ と $I_{\beta}$ の局在観察方法を開発した。

6)  $I_{\alpha}$ から $I_{\beta}$ への結晶変態は結晶表面から内部へ起こることを見出した。

7) 天然セルロースとして用いたバロニアセルロースでは、 $I_{\alpha}$ と $I_{\beta}$ の局在はスキン-コアのような明瞭な高次構造ではないことが明らかとなった。

以上のように、本論文は天然セルロースマイクロフィブリルにおける諸性質、結晶断面サイズ、断面形状、面配向、結晶相の局在を結晶内重水素化-再水素化処理とFTIRを併用し、セルロースのアクセシビリティをマイクロフィブリルの構造と関連付けたもので、木材構造学、生物材料科学、高分子化学ならびにセルロース科学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成20年2月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。