

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月10日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22380093

研究課題名（和文） 木質細胞壁全溶解システムを用いた細胞壁各構成成分の性状と相互作用の解明

研究課題名（英文） Analysis of chemical nature and interaction of cell wall components by the use of wood cell wall solvent system

研究代表者

松本雄二（ MATSUMOTO Yuji ）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：30183619

研究成果の概要（和文）：

全 62 種の樹木のリグニンと糖分析の結果、ヘミセルロースのキシラン/マンナン比とリグニンのシリンギル比の間には、シリンギル比（リグニンの非縮合型芳香核中のシリンギル核の割合）が 0 である針葉樹を含めて一定の相関が成り立つことが分かった。細胞壁溶解法を用いて分画した広葉樹細胞壁の各区分においても、リグニン構造のシリンギル比とヘミセルロースのキシラン/マンナン比との間にきわめて明瞭な相関が存在することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

By the analysis of totally 62 wood species, a certain relationships between syringyl ratio (proportion of syringyl nuclei in lignin uncondensed type aromatics) and xylan / mannan ratio. This relationship was also found in hardwood cell wall fractions obtained by the use of wood cell wall solvent system developed by the authors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2011 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2012 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：細胞壁、リグニン、溶解、木質、ヘミセルロース、キシラン、シリンギル

1. 研究開始当初の背景

申請者はリグニン化学構造の幅広い多様性を研究する過程で、多様性を貫く法則性を見出してきた。リグニン化学構造に多様性とともにある一定の法則性があるのであれば、植物細胞壁中でリグニンと密接に関連しあって存在するヘミセルロースにも、対応した多様性と法則性が見出されるのではないかと考えられた。しかし、リグニン化学構造との対応においてヘミセルロース構造の多様

性と法則性を見出す試みは、なされていなかった。

2. 研究の目的

リグニン化学構造の多様性と法則性に対応して、異なった樹種間で、あるいは、同一樹種内の異なった部位、異なった細胞壁部位間で、ヘミセルロース構造がどのように異なっているかを調べる。

3. 研究の方法

本研究室において確立した細胞壁溶解法を用いて細胞壁構成成分を分画し、各分画におけるリグニン化学構造とヘミセルロース構造の対応を調べる。幅広い種類の広葉樹・針葉樹を試料として用いて、リグニン化学構造とヘミセルロース構造の対応を調べる。

4. 研究成果

14種の針葉樹、48種の広葉樹と言う広い範囲の多様な樹種のリグニン化学構造ならびに多糖類の構造解析を行い、リグニン構造と多糖類の構造との関係を追及した。また、異なった濃度のLiClを含むDMSOを用いて、細胞壁を分画する手法を確立した。が示唆されるなど、重要な情報が得られた。

まず、木質細胞壁を構成する多糖類の構造とリグニン構造の関係を多様な樹種間で比較した結果、リグニン構造の指標としてシリングル比をとった場合、シリングル比が高くなるにつれ、セルロースの量は影響を受けないが、ヘミセルロースの量は増加すること、また、ヘミセルロースのうちキシランの割合が明瞭に増加することがわかった。その成果を受けて、全細胞壁溶解法を用いて、細胞壁構成成分を非破壊的に分画する試みを行った。分画の方法としては、二種類の手法、即ち、**stepwise extraction**と**individual extraction**を行った。ともにDMSO中のLiCl濃度を0から6%まで段階的にあげた溶液を用いるが、前者は、LiCl濃度の低い溶液に溶解しなかった部分をLiCl濃度を上げた溶液に溶解させ、その非溶解部分をさらにLiCl濃度を上げた溶液に溶かす、と言う逐次分画法であり、後者は、LiCl濃度が異なったDMSOへの溶解部分と非溶解部分を、各LiCl濃度ごとにそれぞれ別々に調製する分画法である。

この二つの分画方法を、ブナおよびアカマツに適用し、得られた各フラクションの多糖類の構造、リグニン構造を厳密に分析した。その結果、広葉樹においては、リグニン構造のシリングル比を横軸にすえることにより、ヘミセルロースのキシラン/マンナン比との間にきわめて明瞭な相関が存在すること、そして、この相関を、異なった樹種の比較にも広げた結果、キシラン/マンナン比とシリングル比の相関は、シリングル比が0である針葉樹を含めても成り立つことが分かった。

ついで、広葉樹細胞壁において、リグニンのきわめて近傍にあるヘミセルロースの構造に着目し、上記で見出された芳香核構造比-キシラン/マンナン比の相関が確認されるかどうかを調べた。リグニンの極めて近傍にあるヘミセルロースの構造を調べ

るには、リグニンが高濃度で存在するフラクション、すなわち、単離リグニンを調製することが必要である。この目的で、収率を異にする単離リグニンを、上記の細胞壁溶解法とセルラーゼ処理を組み合わせることで調製し、そこに含まれるリグニンとヘミセルロースの構造解析を行った。その結果、リグニンの極めて近傍にあるヘミセルロースの構造は、上記の相関に当てはまらないことが分かった。それは、上記の相関は高分子同士の間であり、一方、お互いに近傍にあるリグニンおよびヘミセルロースの構造は、リグニン-多糖結合に直接関与しているものだからであると考えた。

これらの当初予定していた研究を行うとともに、新しく見出した溶媒系を用いて、木材あるいは高リグニン含有パルプからのリグニンの単離を試みた。その結果、この溶媒系によって膨潤させた木材あるいはパルプをセルラーゼ処理することにより、きわめて高収率でリグニンを単離できる事が明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Takayuki Yamagishi, Tomoya Yokoyama, Tohihiro Yamada, Yuji Matsumoto. “IR-SNOM analysis of occluding substances in lumina of xylem elements in sapwood of *Quercus serrata* attacked by *Platypus quercivorus*” *Analytical Sciences*, 29(4), 411-415 (2013) 査読有
2. Takayuki Yamagishi, Tomoya Yokoyama, Tohihiro Yamada, Yuji Matsumoto. “Structure of cell wall components in the sapwood of *Quercus serrata* Thunb. attacked by *Platypus quercivorus*.” *Phytochemistry, J. Wood Chem. Technol.*, 32(4), 294-303 (2012) 査読有
3. Zhiguo Wang, Shilin Liu, Yuji Matsumoto, Shigenori Kuga. “Cellulose gel and aerogel from LiCl/DMSO solution” *Cellulose, Cellulose* 19, 393-399 (2012) 査読有

4. Yu Huang, Linshan Wang, Yuesheng Chao, Deded Sarip Nawawi, Takuya Akiyama, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto. "Analysis of lignin aromatic structure in wood based on the IR spectrum" *J. Wood Chem. Technol.*, **32** (4), 294-303 (2012) 査読有
 5. Takaaki Imai, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto. "Revisiting the mechanism of β -O-4 bond cleavage during acidolysis of lignin. Part 5: On the characteristics of acidolysis using hydrobromic acid" *J. Wood Chem. Technol.*, **32** (2), 165-174 (2012) 査読有
 6. Kineo Takeno, Tomoya Yokoyama, and Yuji Matsumoto. "Effect of solvent on the β -O-4 bond cleavage of a lignin model compound by *tert*-butoxide under mild conditions" *BioResources*, **7** (1), 15-25 (2012) 査読有
 7. Takaaki Imai, Tomoya Yokoyama, Yuji Matsumoto. "Revisiting the mechanism of β -O-4 bond cleavage during acidolysis of lignin. Part 4: Dependence of acidolysis reaction on the type of acid" *J. Wood Sci.*, **57** (3), 219-225 (2011) 査読有
 8. Hiroaki Ito, Takaaki Imai, Knut Lundquist, Tomoya Yokoyama, Yuji Matsumoto. "Revisiting the Mechanism of β -O-4 Bond Cleavage during Acidolysis of Lignin. Part 3: Search for the rate-determining step of a non-phenolic C₆-C₃ type model compound" *J. Wood Chem. Technol.*, **31** (2), 172-182 (2011) 査読有
 9. Tomoya Yokoyama and Yuji Matsumoto. "Revisiting the Mechanism of β -O-4 Bond Cleavage during Acidolysis of Lignin. Part 2: Detailed Reaction Mechanism of a Non-Phenolic C₆-C₂ Type Model Compound" *J. Wood Chem. Technol.*, **30** (3), 269-282 (2010) 査読有
 10. Zhiguo Wang, Tomoya Yokoyama, Yuji Matsumoto. "Dissolution of Ethylenediamine Pretreated Pulp with High Lignin Content in LiCl/DMSO without Milling" *J. Wood Chem. Technol.*, **30** (3), 219-229 (2010) 査読有
 11. Hiroshi Niimura, Tomoya Yokoyama, Satoshi Kimura, Yuji Matsumoto, Shigenori Kuga. "AFM observation of ultrathin microfibrils in fruit tissues" *Cellulose*, **17** (1), 13-18 (2010)
- [学会発表] (計4件)
1. Yuji Matsumoto. "For the better understanding of quantitative relationships between chemical structure and reactivity of lignin" The 4th International Conference on Pulping, Papermaking and Biotechnology, Nanjing, China. 2012/11/7
 2. Yuji Matsumoto. "Toward the comprehensive understanding of the relationships between lignin structure and its reactivity" Lignobiotech-II Symposium, Fukuoka, Japan, 2012/10/14
 3. Yuji Matsumoto. "Stereo structure of β -O-4 linkage of Eucalyptus lignin and its relation to pulping reaction" 第5回国際ユーカリパルプ会議, Porto Seguro, Brazil, 2011/05/10
 4. Yuji Matsumoto. "Ozonation analysis for the stereo chemistry of lignin" Teanjin, China 2011/06/10
6. 研究組織
(1) 研究代表者

松本雄二 (MATsumoto, Yuji)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：30183619

(2) 研究分担者

横山朝哉 (YOKOYAMA, Tomoya)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授
研究者番号：10359573

秋山拓也 (AKIYAMA, Takuya)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教
研究者番号：50553723

(3) 連携研究者

()