

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450244

研究課題名(和文)粘弾性と細胞壁成分の多様性にもとづく新たな材質指標の確立

研究課題名(英文) Establishment of new wood-quality parameter based on the variation of viscoelasticity and cell-wall microstructure

研究代表者

山下 香菜 (YAMASHITA, Kana)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：60353900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：スギの材質変動に及ぼす細胞壁構造を解明するため、ヘミセルロースに着目して、グルコマンナン/ガラクトグルコマンナン(GM/GGM)とアラビノグルクロノキシラン(AGX)を分離精製し、糖組成、側鎖構造、分子量分布、溶出挙動を調べた。成熟材の早材と晩材とで、主要成分比、糖組成、GM/GGMの糖組成と分子量分布の相違は小さかったが、AGXの側鎖置換度と分子量分布、GM/GGMとAGXの溶出挙動に相違が認められ、晩材の方が強固な細胞壁骨格を形成していることが示唆された。熱処理によって粘りが低下した材では、AGX分子量の低下やセルロースマイクロフィブリルの構造崩壊が生じていた。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the cell wall microstructure affecting wood quality, hemicellulose structure and its assembly with cellulose were studied using earlywood (EW) and latewood (LW), and air-dry wood and heat-treated wood for Japanese cedar. Glucomannan/galactoglucomannan (GM/GGM) and Arabino-4-o-methylglucuronoxylan (AGX) were isolated. The differences between EW and LW were small in chemical components, sugar compositions, and GM/GGM structure. The side-chain substitution and chain-length composition of AGX were higher in LW. The elution analysis suggested that there were more hemicellulose forming strong hydrogen bonds in LW. Therefore, it was suggested that highly assembled hemicellulose would form stronger framework in LW. In the heat-treated wood, chain-length of AGX became shorter than the air-dry wood. Breaking down of cellulose microfibril structure were observed. Those changes in the cell wall microstructure might decrease the viscosity of wood.

研究分野：木質科学

キーワード：細胞壁微細構造 粘弾性 ヘミセルロース グルコマンナン ガラクトグルコマンナン アラビノグル
クロノキシラン スギ

1. 研究開始当初の背景

生物材料である木材では材質のバラツキが大きい。その理由として、樹種・品種・個体によって遺伝的に固有な特性を有すること、若齢時に形成される未成熟材で材質が安定しないなど生育段階で形成される木部の性質が変化すること、木部形成が生育条件や気象条件などの環境に対応して変化することが挙げられる。

有用植物では成長や品質管理等を目的として育種選抜が行われるが、近年、遺伝子解析技術の進展に伴って遺伝子情報の収集が進められ、木部形成段階においてどのような遺伝子が発現し、発現にどのような外的要因が影響を及ぼすのかを明らかにすることも可能となりつつある。しかし、このような研究を進めるためには、遺伝的背景が明らかな試料を用いて分子レベルで細胞壁構成成分の生合成・体積過程およびその変動を明らかにする必要がある。

木材は瞬間的に変形する弾性と、時間とともに連続して変形する粘性を併せ持つ。針葉樹造林木の主な用途は構造用で、強度性能を明らかにすることが求められてきたことから、強度的性質の指標となるヤング率(弾性)では、簡便で非破壊的な評価手法が確立されて多くのデータが収集され、主な変動要因が密度やセルロースの配向方向(マイクロフィブリル傾角)であることも明らかにされた。一方で、時間軸に伴って変形が進行するクリープなど粘性の情報は少なく、材料間におけるバラツキの程度や要因が明らかにされていない。

木材加工では乾燥割れを生じさせないためのドライイングセットや、水分を有する材料を加熱して軟化させ容易に変形させた上で形状固定するなど、粘性を利用した技術が実用化されている。しかし、材料の適性や加工条件の決定は経験に頼る部分が大きく、科学的に材料の加工特性、粘弾性、その要因となる細胞壁の構造を明らかにすることが重要である。

2. 研究の目的

木材の粘弾性は細胞壁の主成分であるセルロース、ヘミセルロース、リグニンの分子構造に大きく起因すると考えられる。中でも、ヘミセルロースは、セルロースとリグニンの双方と結合し、水分との吸着性が高く、熱で軟化しやすいため、木材の寸法安定性や粘弾性に大きく関与すると考えられる。

針葉樹ヘミセルロースの主要成分は、D-グルコース残基とD-マンノース残基が(1-4)結合した主鎖に側鎖としてD-ガラクトースが結合したグルコマンナン/ガラクトグルコマンナン(GM/GGM)で、ガラクトース残基の含有量が低い部分はGM、高くて水可溶性部分がGGMとされる。次いで多いのは、D-キシロース残基が(1-4)結合した主鎖に4-O-メチルグルクロン酸とL-アラビノース残基が側

鎖として結合するアラビノグルクロノキシラン(AGX)である。細胞壁形成過程について、GM/GGMはセルロースマイクロフィブリル(CMF)の表層に最初に沈着してその後形成される複合構造の足場を形成し、AGXはGM/GGMとともにCMFの周囲に集積するというモデルが提唱されている。本研究では、ヘミセルロースの構造解析に取り組み、GM/GGMとAGXを分離精製して、それぞれの分子量分布や側鎖構造、セルロースとの結合を調べた。日本の代表的な造林樹種であるスギのクローンを試料として、早材と晩材の相違、未成熟材と成熟材の相違を調べた。また、熱処理によるヘミセルロース集積状態の変化の解明に取り組んだ。

3. 研究の方法

(1) 早材と晩材におけるヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態

スギ品種リュウノヒゲの成熟材を用いた。早材と晩材を切り分けて木粉(40-80メッシュ)を作成し、エタノール:ベンゼン混液で抽出して脱脂木粉を調製した。

クラッソン法でリグニン量を定量し、加水分解物に含まれる全糖量と糖組成を求めた。Wise法でホロセルロースを調製して温水抽出し、飽和BaOH水溶液とKOH水溶液でAGXを分離精製した。残渣から3%ホウ酸を含む18%NaOH水溶液でGMを分離精製した。AGXとGMそれぞれの中性糖組成をHPLCで分析した。AGXとGMそれぞれの分子量分布を分析した。18%NaOH水溶液による溶出とWise法による脱リグニンを4回繰り返して、各段階で溶出したヘミセルロース糖鎖画分と、その残渣をクラッソン法で72%硫酸加水分解した濾液の中性糖を分析した。

(2) 未成熟材と成熟材におけるヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態

リュウノヒゲの人工乾燥した正角材の半径方向位置3カ所から、10mm(T)×20mm(R)×180mm(L)の無欠点試験体を作製し、たわみ振動試験と曲げ試験を行った。その後、(1)と同様の方法で木粉を作成、脱脂木粉を調製し、主要化学成分比を調べた。AGXとGMを分離精製して、NaOH水溶液で溶出したヘミセルロース糖鎖画分の中性糖分析を行った。

(3) 熱処理がもたらすヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態の変動

リュウノヒゲの成熟材で辺材の、天然乾燥材、95人工乾燥材、95人工乾燥材を12016時間あるいは16016時間熱処理を施した人工乾燥/熱処理材を用いた。上記(2)と同様無欠点試験体を作製してたわみ振動試験と曲げ試験を行った。その後、(1)と同様の方法で木粉を作成、脱脂木粉を調製して、主要化学成分比、中性糖分析、AGXとGMの分離と精製、AGXとGMの分子量分布、NaOH水溶液で溶出したヘミセルロース糖鎖画分の

中性糖分析を行った。

4. 研究成果

(1) 早材と晩材におけるヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態

主要化学成分比

早材に比べて晩材の方が、セルロースがやや多く、リグニンとヘミセルロースはやや少なく(表 1)、ヘミセルロースの中での GM/GGM と AGX の割合はほぼ同じであった。ホロセルロースの糖組成は、晩材の方が、アラビノースとガラクトースがやや少なく、グルコースがやや多かった(表 2)。

GM/GGM の単糖組成と分子量分布

分離精製した GM/GGM の単糖組成比 (Man:Glc:Gal) は、早材で 2.7:1:0.1、晩材で 2.6:1:0.1 であった。GM の分子量分布において早材と晩材の違いはわずかだった(図 1)。

AGX の側鎖置換度と分子量分布

分離精製した AGX における側鎖置換度は、キシロース 100 分子あたりのグルクロン酸が早材 33.9 個、晩材 28.6 個、キシロース 100 分子あたりのアラビノース側鎖が早材 12.1 個、晩材 10.6 個で、いずれも晩材で低かった。AGX の分子量分布は、早材と晩材ともに 250kDa と 30kDa あたりにピークがあった。低分子の占める割合は明らかに早材の方が高かった(図 2)。

GM/GGM と AGX の溶出挙動

GM/GGM と AGX のそれぞれについて、18%NaOH 水溶液による溶出と Wise 法による脱リグニンを 4 回繰り返して各段階で得られたヘミセルロース画分の糖組成を調べた。前半で溶出された画分は細胞壁の他の成分との結合が弱く、後半で溶出された画分は結合がより強く、4 回までに溶出されずに 72%硫酸で加水分解された画分 (E) は CMF と強く結合して細胞壁骨格を形成していたと考えられる。本実験では、1~4 回目の溶出画分(A~D)はいずれも早材の方が多く、特に 2 回目の画分 (B) で顕著であった(図 3)。これに対して、72%硫酸加水分解画分 (E) は、晩材で明らかに多かった。

以上の結果から、早材と晩材における主要化学成分の相違はわずかで、ヘミセルロースにおける GM/GGM と AGX の割合はほぼ同じであるが、細胞壁の集積状態についてみると晩材では CMF に結合する GM/GGM と AGX が増加しており、ヘミセルロースが高密度で集積した強固な細胞壁骨格を形成していることが示唆された。

表 1 リュウノヒゲ成熟材の主要成分比

	早材	晩材
セルロース (%)	45.0±1.2	48.3±1.7
リグニン (%)	32.5±0.3	29.5±0.5
ヘミセルロース (%)	22.2±1.7	21.8±1.6
GM/GGM (%)	68.1±1.5	68.6±2.4
AGX (%)	31.9±1.5	31.4±0.8

GM/GGM と AGX はヘミセルロースの中での割合

表 2 リュウノヒゲ成熟材の中性糖組成

	早材	晩材
マンノース (%)	13.9±0.8	13.2±1.2
アラビノース (%)	2.4±0.2	1.8±0.6
ガラクトース (%)	4.1±0.2	2.8±0.6
キシロース (%)	8.7±0.8	8.7±1.6
グルコース (%)	71.0±0.5	73.4±2.1

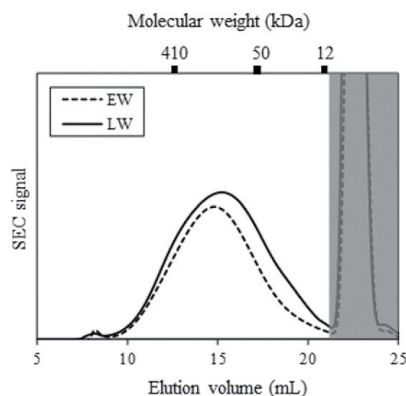


図 1 リュウノヒゲ成熟材の GM 分子量分布
EW:早材、LW:晩材

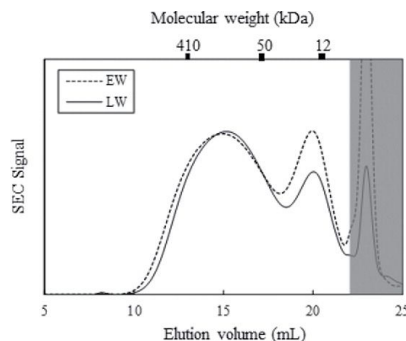


図 2 リュウノヒゲ成熟材の AGX 分子量分布
EW:早材、LW:晩材

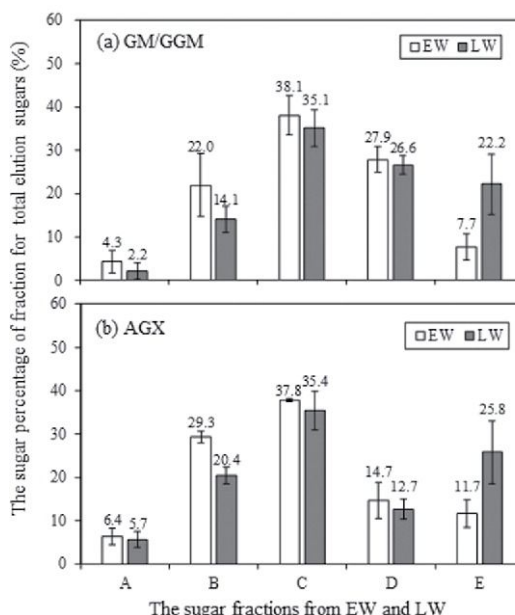


図 3 リュウノヒゲ成熟材における GM/GGM と AGX の溶出挙動
A~D :18%NaOH 水溶液による溶出画分、E:溶出残渣

(2) 未成熟材と成熟材におけるヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態

物性試験

髄周辺の未成熟材 A と外側の B、C を比べると、A では密度は高かったが、ヤング率が低く、せん断弾性係数と損失正接が高く、曲げ仕事量が大きかった。これらはスギの未成熟材と成熟材の相違について既に報告されているのと同様の傾向であった。

表3 リュウノヒゲ未成熟材(A)と成熟材(B、C)におけるたわみ振動と曲げ試験結果

	A	B	C
気乾密度(kg/m ³)	476	411	425
ヤング率(GPa)	8.56	11.5	11.8
せん断弾性係数(GPa)	1.18	0.72	0.89
損失正接	9.45	6.57	5.96
曲げ強度(N/mm ²)	78.5	78.8	86.6
曲げ仕事量(N・mm)	2698	1909	2155

A: 髄周辺、B: Aの外側、C: Bの外側

主要化学成分比

髄周辺の未成熟材 A では外側の B、C に比べてセルロースがやや少なく、ヘミセルロースがやや多かった。ヘミセルロースの中では、GM/GGM が少なく、AGX が多かった。スギの未成熟材では繊維長が短く、マイクロフィブリル傾角が大きいが、化学組成においても若干の相違があることがわかった。

表4 リュウノヒゲ成熟材(A)と未成熟材(B、C)における主要成分比

	A	B	C
セルロース(%)	45.2	47.0	47.1
リグニン(%)	31.5	31.5	31.8
ヘミセルロース(%)	23.4	21.6	21.1
GM/GGM(%)	60.8	68.2	67.7
AGX(%)	39.2	31.8	32.2

A、B、C: 表3と同じ

GM/GGM と AGX はヘミセルロースの中での割合

溶出画分の中性糖分析

NaOH の濃度 3 段階 (6%、12%、18%) で溶出を行った。GM/GGM における溶出割合は、6% NaOH で約 20% に対して、12% NaOH と 18% NaOH では約 40% となり、高濃度の方が多かった。一方、AGX では、6% NaOH で約 60% と多く、NaOH 濃度が高くなるにつれて減少する傾向であった。部位別の相違は、GM/GGM ではほとんど認められなかったが、AGX では樹幹の内側から外側に向かうにつれて低濃度での溶出量が減少する傾向であった。

GM/GGM と AGX とともに 18% NaOH 溶出画分の残渣に中性糖が認められたことから、18% NaOH 溶出後も僅かながらセルロースに吸着していることが確認された。その量は樹幹の内側から外側へ向かうにつれて増加したことから、外側の方がヘミセルロースとセルロースは強固に結合していたことが示唆された。

(3) 熱処理がもたらすヘミセルロースの構造と細胞壁集積状態の変動

物性試験

天然乾燥材、95 人工乾燥材、その 120 熱処理材と 160 熱処理材を比較すると、比ヤング率は僅かに増加したが、比せん断弾性係数、比曲げ強度、比例限度までの曲げ仕事量はほぼ同じだった。しかし、比例限度以降の曲げ仕事量は、気乾材に比べて 95 人工乾燥材と 120 熱処理材で減少し、160 熱処理材ではさらに減少して、粘性が低下していた。

主要化学成分比

セルロース、ヘミセルロース、リグニンの主要成分比、ヘミセルロースの成分比、単糖組成においては、4 試料間で明確な変動は見られなかった。

GM/GGM の単糖組成と分子量分布

天然乾燥材に比べて 95 乾燥材では、分子量分布のピークが高分子側に移行していたことから、分子鎖が凝集して高分子化している可能性が示唆された。一方で、160 熱処理材では大きく低分子側に移行しており、GM/GGM 分子の開裂が生じた可能性が考えられた。グルコース 1 分子あたりのマンノース平均置換度は、天然乾燥材に比べて乾燥材、熱処理材で減少する結果であったが顕著な差ではなかった。

AGX の単糖組成と分子量分布

(1) で得られた結果と同様に、AGX ではどの試料においても、低分子と高分子の 2 つのピークが見られた。160 熱処理材では高分子側のピークが低分子側に移行していたことから、AGX の高分子領域は熱処理によって主鎖の開裂が引き起こされたことが推測された。キシロース 100 分子あたりのアラビノース側鎖の平均置換度は、熱履歴が増すにつれて減少したことから、AGX の側鎖構造が熱による影響を受けやすいと推測された。

GM/GGM と AGX の溶出挙動

GM/GGM と AGX とともに、脱リグニン前の NaOH 溶出量は熱履歴とともに増加した。脱リグニン 1 回後の溶出量は、天然乾燥材に比べて 95 人工乾燥材で少なく、120 と 160 の熱処理で熱履歴が増すにつれて増加する傾向があった。GM/GGM の分子量分布の変動と類似の傾向であり、95 乾燥材でヘミセルロースの集積状態が強固になる現象が起こった可能性が考えられた。

最も大きな熱履歴を受けた 160 熱処理材では他の 3 試料に比べて、溶出後の残渣に含まれるセルロース吸着画分の割合が少なかった。また、この試料では GM/GGM と AGX を分離精製した時に溶出したセルロース由来のグルコース量が特に多かったことから、セルロースマイクロフィブリルの構造崩壊も進んでいた可能性がある。このように熱処理によってヘミセルロースとセルロースの細胞壁集積構造が変化したことが、比例限度以降の曲げ仕事量が小さい、粘りが少ない材料となった原因として考えられる。

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1件)

Kurata Y, Mori Y, Ishida A, Nakajima M, Ito N, Hamada M, Yamashita K, Fujiwara T, Tonosaki M, Katayama Y, Variation in hemicellulose structure and assembly in the cell wall associated with the transition from earlywood to latewood in *Cryptomeria japonica*, Journal of Wood Chemistry and Technology, 査読有, Vol.38, pp.254-263, 2018

[学会発表](計4件)

櫻田寛治、樋口悠、毛利嘉一、志水一允、片山義博、山下香菜、久保島吉貴、藤原健、外崎真理雄、木材の人工乾燥/熱処理がもたらす細胞壁へミセルロースの集積状態の変動に関する研究 -細胞壁へミセルロース化学構造の変動-、第67回日本木材学会大会、2017年

樋口悠、櫻田寛治、毛利嘉一、志水一允、片山義博、山下香菜、久保島吉貴、藤原健、外崎真理雄、木材の人工乾燥/熱処理がもたらす細胞壁へミセルロースの集積状態の変動に関する研究 -熱乾燥処理が与える木材細胞壁複合構造の変動-、第67回日本木材学会大会、2017年

樋口悠、渡邊航也、毛利嘉一、志水一允、片山義博、山下香菜、久保島吉貴、藤原健、外崎真理雄、木材の人工乾燥/熱処理がもたらす細胞壁へミセルロースの集積状態の変動に関する研究、第66回日本木材学会大会、2016年

関根寛人、田原健太郎、志水一允、片山義博、毛利嘉一、山下香菜、久保島吉貴、藤原健、外崎真理雄、ボカスギの全成長過程(心材、辺材)の早材・晩材細胞壁形成の変動に伴う細胞壁成分の化学構造の多様性に関する研究、第65回日本木材学会、2015年

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山下 香菜(YAMASHITA, Kana)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森

林総合研究所・主任研究員等

研究者番号: 60353900

(2)研究分担者

片山 義博(KATAYAMA, Yoshihiro)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号: 10214339

久保島 吉貴(KUBOJIMA, Yoshitaka)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森

林総合研究所・主任研究員等

研究者番号: 40353669