

木材細胞壁中のセルロース結晶の性状とその分布の解明

木材化工部 片岡 厚・大越 誠・木口 実・近藤哲男

1. はじめに

木材の最主要成分が結晶化したセルロースであることはよく知られている。従って、木材の物理的・化学的性質を理解し、制御するためには、木材セルロースの結晶性状に関する知識を深める必要がある。本研究では、セルロースの研究分野における最新の成果を踏まえ、木材セルロースを新たな観点から解析した結果、木材の内部には熱力学的な安定性の異なる2種類のセルロース結晶が存在するという新知見を得たのでここに紹介する。

木材セルロースを含めた天然セルロースについては、半世紀以上にもわたり、セルロースⅠという単一の結晶構造を有すると信じられてきた。しかし、1980年代になると大きな転機が訪れ、天然セルロースが、熱力学的に準安定なⅠ₀。相と、より安定なⅠ_β相から成る複合結晶であることが判明したのである。さらに、両相の存在比が生物種によって異なることも示された。このことにより、木材においては、セルロースⅠ₀とⅠ_βがいかなる比率で存在しているのか、さらにその比率は木材の内部において単一であるのかあるいは多様性を有するののかという問題の解決が急務となったのである。しかしこのような解析は容易でない。木材の内部構造は複雑であり、多段階にわたる階層構造を区別しなければならないからである。

木材は、二次木部細胞が蓄積した細胞壁の集合体であり、針葉樹においては仮道管、広葉樹では木部繊維、道管などの細胞壁がその主体となっている。これらの細胞壁はさらに、図1Aに示すようなミクロの層状構造を有しており、仮道管と木部繊維の場合、細胞の拡大あるいは伸長成長期間に形成される一次壁(P)と、細胞寸法の一定化後に堆積する二次壁の各層(S₁, S₂, S₃)に細分される。セルロースはこれら細胞壁層の最主要成分として生成され、結晶化し、ついには壁層の骨格を形づくるのであるが、各壁層が形成される間、特に一次壁と二次壁が形成される間においては、生体内の物理化学的環境が異なると予想されることから、セルロース結晶化のメカニズムが異なる可能性がある。このため、木材の内部におけるⅠ₀とⅠ_βの比率を解明するためには、細胞壁層を区別してセルロースを解析する必要がある。しかし、微尺領域におけるセルロース結晶の解析は困難であり、このような研究は従来行われていなかった。

(右側上へ)

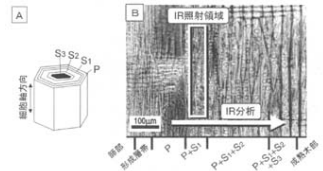


図1. 仮道管細胞壁構造の模式図 (A) 及びスギまさ目切片上に配列した細胞壁形成中の仮道管 (B) P：一次壁、S₁；S₂；S₃：二次壁外層；中層；内層
(拡大図50KB)

そこで本研究では、顕微FT-IRを用いた新たな分析手法を開発し、壁層を区別したセルロース結晶の解析を可能とした。その結果、一次壁と二次壁とでは、Ⅰ₀とⅠ_βの存在比が異なるのみならず、セルロースの結晶性も異なるという新たな知見が得られたのである。これは、木材細胞壁の外層と内層に位置するセルロースが熱力学的な安定性を異にすることを示しており、木材に生じる様々な反応のメカニズムを解明、制御するための基礎知見となるものである。本研究の結果はさらに、一次壁と二次壁のセルロースが物理化学的に異なる環境下で結晶化したことを示しており、生体高分子の高次構造形成メカニズムという観点においても重要な知見である。結晶形と結晶性に起こった変化は、一次壁のセルロースが結晶化する過程において、分子鎖の配列秩序と結晶構造を同時に決定するような強い物理力の作用があることを示唆するものであった。この物理力の起源としては、細胞の拡大成長に伴う応力の関与が想定されるが、このことについては、現在さらなる検討が続いているところであり、その詳細は別の機会に明らかにしたいと考えている。

2. 壁層別のセルロース分析

針葉樹材の大部分をなす仮道管の細胞壁について、一次壁と二次壁の各層を区別してセルロースを分析するため、以下のようにして顕微FT-IRを用いた。まず、図1Bに示すように、スギ及びヒノキの形成層帯と成熟木部の間にある分化中木部から、まさ目方向（年輪の直径方向）の切片を得て、セルロースを精製し、凍結乾燥した。まさ目切片上には、一次壁(P)を形成している仮道管から、二次壁各層(S₁, S₂, S₃)を堆積している仮道管までが成熟の順に現れる(図中で縦方向に並ぶ繊維が仮道管である)。そこで、同図のようにIR照射領域を絞り、細胞壁の形成段階(P, P+S₁, P+S₁+S₂, P+S₁+S₂+S₃)を特定してセルロースを分析した。

(左側下へ)

3. 結晶形の変化

図2に、スギ及びヒノキから得たスペクトルを示す。セルロースⅠ₀の指標となるIR吸収は750cm⁻¹に、Ⅰ_βについては710cm⁻¹に現れることが知られている。図2において、スギ及びヒノキのいずれの場合も、Ⅰ₀に特異的な750cm⁻¹の吸収は、一次壁のみからなる仮道管のセルロース(P)に現れたが、その後、二次壁が堆積すると(P+S₁, P+S₁+S₂, P+S₁+S₂+S₃)減少した。一方、Ⅰ_βに特異的な710cm⁻¹の吸収は、一次壁においては明瞭でないが、二次壁の堆積後にはショルダーとして現れた。この結果から、一次壁セルロースは二次壁に比べてⅠ₀に富むことが分かる。さらにピーク分離により、Ⅰ₀：Ⅰ_βの比を求めたところ、一次壁では約 50：50、二次壁堆積後では約 20：80の値が得られた。以上の結果から、一次壁はⅠ₀に富む一方、二次壁はⅠ_βを主体とすることが判明した。完成した細胞壁においては二次壁がより厚層であるため、全体としてⅠ_β主体になると考えられる。

4. 結晶化度の変化

次に、ヒノキ仮道管のセルロースについて、IR法結晶化度を求めた結果を図3に示す。右軸に示したのは、その値をX線法結晶化度に換算した数値である。図3において、一次壁形成中(P)に約2.7(X線法換算70%)であったIR法結晶化度は、二次壁の堆積とともに(P+S₁, P+S₁+S₂, P+S₁+S₂+S₃)減少し、約2.1(同60%)で一定となった。これは、一次壁セルロースが二次壁に比べて結晶性が高いことを示している。なおこの結果は、既往のX線法による報告と一致しない。IR法結晶化度については、セルロース分子鎖の運動性が如何に束縛されているかという観点から、分子鎖の配列秩序の程度を示しているともいえるため、結晶格子に加わる分子鎖の量比を推定するX線法結晶化度とは必ずしも一致しない可能性がある。いずれにせよ上記の結果は、仮道管一次壁におけるセルロース分子鎖の高い配列秩序を示している。なお、他の植物の一次壁について、NMR法によりセルロースの結晶性を解析した例においても同様の結果が得られており、X線法結晶化度との不一致が指摘されている。

以上の結果から、仮道管の一次壁セルロースがⅠ₀に富みその結晶性(あるいは分子鎖の配列秩序)が高いと考えられること、一方、二次壁ではⅠ_βを主体とすることが判明した。すなわち、仮道管の細胞壁には2種のセルロースが存在し、一次壁と二次壁は熱力学的な安定性の異なるセルロースを有していることが分かった。

5. おわりに

木材における分解、燃焼、劣化といった種々の反応のメカニズムを考えるとき、個々の細胞壁の最外層から進行する反応と、逆に向こう側から進行する反応を想定する必要がある。一次壁は細胞壁の最外層であり、二次壁はその内側に存在する。仮道管細胞壁の外層部が熱力学的に準安定なセルロースⅠ₀に富み、内層部がより安定なⅠ_βに富んでいたことは、上記メカニズムを考える上で非常に興味深い事実である。すでにⅠ₀はⅠ_βに比べて酵素分解性が高いことが報告されており、今回の結果は、木材における反応メカニズムの解明、制御のための基礎知見となるものである。

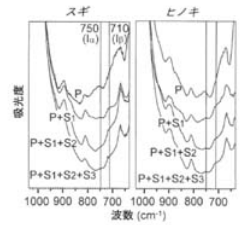


図2 細胞壁形成中の仮道管セルロースから得たFT-IRスペクトル (拡大図32KB)

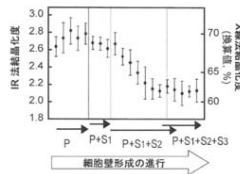


図3 ヒノキ仮道管の細胞壁形成過程におけるセルロース結晶化度の変化(各プロットは6カ所の平均値と標準偏差) (拡大図36KB)