

ユーカリ材リグニンの組織化学的手法による分析

学位論文内容の要旨

広葉樹リグニンは主にシリングルプロパン(S)単位とグアイアシルプロパン(G)単位から構成される。切片を用いる組織化学的手法により、道管や木部繊維など木部を構成する要素の細胞壁リグニンの構成比(S/G 比)や濃度の不均一性を明らかにすることができる。リグニンの構成比の不均一性は、パルプの蒸解や漂白過程など木材の材質に影響を与える重要な因子となる。したがって、各構成要素細胞壁でのリグニンの構成比の不均一性を明らかにすることは重要である。しかしながら、これまでにリグニンの構成比の不均一性が明らかにされた樹種は依然限られているのが現状である。

早生樹であるユーカリ属は、パルプ用材として現在世界各国で植林されている。ユーカリ材リグニンの性質について、化学的分析による知見は多く得られているが、組織化学的手法による知見はほとんど得られていない。そこで本論文では、ユーカリ材の各構成要素細胞壁間や樹種間でのリグニンの構成比の不均一性についての詳しい知見を得ることを目的とし、組織化学的手法により解析を行った。方法は、シリングルリグニンの検出に有効なモイレ反応スペクトル法とグアイアシルリグニンの検出に有効な紫外線(UV)顕微分光法及び電子顕微鏡法を用いた。

1) リグニンの組織化学的分析に対するポリフェノール類の影響の解明と抽出条件の検討

ユーカリ材にはアルカリ可溶のポリフェノール類が多量に含まれており、リグニンの化学分析の結果に影響を与える。しかしながら、組織化学的手法に対するポリフェノール類の影響についてはほとんど知見が得られていない。そこで、ユーカリ属 2 種(*Eucalyptus camaldulensis* と *E. globulus*)を供試木として用いてアルカリ抽出を行い、アルカリ抽出前後の組織化学的手法による分析結果の違いを検討し、組織化学的手法に対するポリフェノール類の影響について調べた。その結果、両樹種ともアルカリ抽出後に、全ての構成要素細胞壁でモイレ反応後の可視光吸収スペクトルの 520 nm 付近での極大吸収波長（赤紫に呈色）での吸光度が減少した。しかしながら、極大吸収波長自体は変化しなかった。特に道管壁や放射系細胞壁で、モイレ反応スペクトル法によるリグニン分析の結果にポリフェノール類の影響が顕著であった。一方、UV 顕微分光法の結果については、ポリフェノール類の影響は認められなかった。

そこで組織化学的手法におけるリグニン分析を行う際のアルカリ抽出条件を検討するために、0.1% から 10%までの各 NaOH 濃度での抽出を行い、木粉の化学分析と切片の組織化学的分析を行った。その結果、1%以上のアルカリ濃度ではクラークソンリグニン量はほとんど変化しなかった。また高濃度のアルカリ溶液では、Lignin-carbohydrate complexes や多糖類が細胞壁から抽出される可能性が考えられた。さらに、高濃度のアルカリ抽出では細胞壁の膨潤が観察され、アルカリ処理により抽出されたポリフェノール類が再び細胞壁成分と結合する可能性が示唆された。これに対し、モイレ反応スペクトル法において、1%未満の NaOH 濃度ではポリフェノール類が十分に除去できなかった。し

たがって、ユーカリ材において組織化学的方法によりポリフェノール除去後のリグニン分析を行う場合、前処理として 1% NaOH、105°C、1h が妥当であると決定した。

2) リグニンおよびポリフェノール類の細胞壁中の分布

1) の実験により、ポリフェノール類がユーカリ材の木部繊維壁や道管壁などの木部構成要素細胞壁に存在することが明らかとなった。そこで分解能の高い透過型電子顕微鏡(TEM)法を用いて、*E. camaldulensis* の当年に形成された木部の各構成要素細胞壁に存在するポリフェノール類の細胞壁レベルでの分布を、アルカリ抽出前後の結果を比較することで観察した。その結果、ポリフェノール類は、木部繊維壁ではほぼ均一に存在し、道管壁では細胞壁全体、とくに細胞壁中央部に多く存在した。木部繊維間細胞間層セルコーナー部では、細胞壁側や細胞間層セルコーナー部の内側にポリフェノール類が存在していた。さらにユーカリ材で観察されるベスチャード壁孔においては、ベスチャーがアルカリ処理により抽出されたため、主にポリフェノール類が堆積していることが明らかとなった。ユーカリ材では各構成要素細胞壁でポリフェノール類の分布や存在状態が異なるといえる。これまでの知見から、ポリフェノール類は着色物質として心材に多く含まれていることが報告されているが、本論文により、ユーカリ材においては分化直後の木部にもポリフェノール類が存在することが明らかにされた。この結果から、ユーカリ材では細胞壁形成中にリグニンが堆積すると同時にアルカリ可溶のポリフェノール類も堆積している可能性が示唆された。

3) 同一地域に生育するユーカリ属のリグニン構造の樹種間変異

1) で確立した条件でアルカリ抽出を行った後、モイレ反応スペクトル法によりユーカリ材の各構成要素細胞壁のリグニンの構成比(S/G 比)を分析した。試料は、同一地域に生育するユーカリ属 11 種を用いた。その結果、アルカリ抽出後にユーカリ属 11 種でリグニンの構成比の各構成要素間と樹種間の変異が明らかとなった。ユーカリ属 11 種は、木部繊維壁は S 単位を多く含む道管壁は G 単位を多く含むタイプ(3 種)と、木部繊維壁、道管壁ともに S 単位を多く含むタイプ(8 種)の 2 つに分類された。また同一樹種で生育環境の異なる個体のリグニン構成比はほとんど同じであった。一方、同一の生育環境で生育したユーカリ属 11 種の前産地の違いとリグニンの構成比の違いを比較したところ明確な傾向を明らかにすることはできなかった。各木部要素細胞壁間で比較すると、木部繊維壁のリグニンの構成比は樹種間変異がみられなかったが、道管壁では樹種間変異がみられた。道管壁のリグニンの構成比の樹種間変異が生じる原因については、木化中の各構成要素細胞壁のリグニンの堆積開始から終了するまでの期間の違いまたはリグニン生合成経路の違いに起因すると考えられる。一方、道管壁のリグニンの構成比の違いと細胞形態(細胞径や細胞壁厚)の違いとの関連性は認められなかった。さらに、全ての樹種の木部繊維壁、道管壁、木部繊維間細胞間層セルコーナー部で S 単位に構造の似たポリフェノール類が、また放射柔細胞中には G 単位に構造の似たポリフェノール類が内容物として存在していることが明らかとなった。

以上の結果から、本論文では、アルカリ抽出後にユーカリ材リグニンの組織化学的分析を行うことにより、ユーカリ材の各構成要素細胞壁でのリグニンの構成比の不均一性とその樹種間変異、さらには細胞壁レベルでのポリフェノール類の分布を明らかにした。これらの結果から、パルプ材としてユーカリ材を有効利用する上での材質指標を示すことができたと考える。またリグニンとポリフェノール類が分化直後の木部の細胞壁に存在するという結果は、木部細胞壁形成過程の新しい知見であるといえる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	藤川清三
副査	教授	寺澤実
副査	教授	佐野嘉拓
副査	助教授	船田良

学位論文題名

ユーカリ材リグニンの組織化学的手法による分析

本研究は155ページ、5章からなる和文論文で、他に5編の参考論文が添えられている。

広葉樹リグニンは主にシリングルプロパン(S)単位とグアイアシルプロパン(G)単位から構成される。リグニンの量や構造は木材の材質に影響を与えるが、これまでにリグニンの構成比(S/G比)の不均一性が明らかにされた樹種は限られており、依然知見が不十分である。本論文では、パルプ用材として現在世界各国で植林されているユーカリ材の、木部を構成する各要素細胞間や樹種間での細胞壁リグニンの構成比の不均一性についての詳しい知見を得ることを目的とし、組織化学的手法により解析を行った。切片を用いる組織化学的手法は、道管や木部繊維など木部を構成する要素の細胞壁リグニンの構成比や濃度の不均一性を明らかにすることができる有効な手法である。本論文においては、S単位の検出に有効なモイレ反応スペクトル法とG単位の検出に有効な紫外線(UV)顕微分光法および透過型電子顕微鏡(TEM)法を用いた。

1) リグニンの組織化学的分析に対するポリフェノール類の影響の解明と抽出条件の検討：ユーカリ材にはアルカリ可溶のポリフェノール類が多量に含まれている。そこで、ユーカリ属2種(*Eucalyptus camaldulensis* と *E. globulus*) から分析用試料を採取し、アルカリ抽出を行い、リグニンの組織化学的手法に対するポリフェノール類の影響について調べた。その結果、両樹種とも全ての構成要素細胞壁、特に道管壁や放射柔細胞壁でモイレ反応後の可視光吸収スペクトルに影響が認められた。一方、UV顕微分光法の結果については、ポリフェノール類の影響は認められなかった。そこで組織化学的手法におけるリグニン分析を行う際のアルカリ抽出条件を検討した。その結果、1%以上のアルカリ濃度ではクラソンリグニン量はほとんど変化しなかったが、Lignin-carbohydrate complexes や多糖類が細胞壁から抽出される可能性が認められた。これに対し、モイレ反応スペクトル法において、1%未満のNaOH濃度ではポリフェノール類が十分に除去できなかった。したがって、ユーカリ材において組織化学的方法によりポリフェノール除去後のリグニン分析を

行う場合、前処理として 1% NaOH、105℃、1h が妥当であると決定した。

2) リグニンおよびポリフェノール類の細胞壁中の分布：分解能の高い TEM 法を用いて、*E. camaldulensis* の当年に形成された木部の各構成要素細胞壁に存在するポリフェノール類の細胞壁内の分布を観察した。その結果、ポリフェノール類は木部繊維壁ではほぼ均一に存在し、道管壁では細胞壁全体、とくに細胞壁中央部に多く存在した。木部繊維間細胞間層セルコーナー部では、細胞間層セルコーナー部の細胞壁側や内側に存在していた。さらにベスチャード壁孔のベスチャーにもポリフェノール類が堆積していることが明らかとなった。ユーカリ材では各構成要素細胞壁でポリフェノール類の分布や存在状態が異なるといえる。ポリフェノール類は着色物質として心材に多く含まれていることが報告されているが、本論文によりユーカリ材においては分化・成熟中の木部にもポリフェノール類が存在することが明らかにされた。この結果から、ユーカリ材では細胞壁形成中にリグニンが堆積すると同時にアルカリ可溶のポリフェノール類も堆積している可能性が示唆された。

3) 同一地域に生育するユーカリ属のリグニン構造の樹種間変動：1) アルカリ抽出を行った後、モイレ反応スペクトル法により同一地域に生育するユーカリ属 11 種の各構成要素細胞壁のリグニンの構成比 (S / G 比) を分析した。その結果、アルカリ抽出後にユーカリ属 11 種のリグニンの構成比の各構成要素間と樹種間の変異が明らかとなった。ユーカリ属 11 種は、木部繊維壁に S 単位が多く含まれ道管壁には G 単位が多く含まれるタイプ(3 種)と、木部繊維壁、道管壁ともに S 単位が多く含まれるタイプ(8 種)の 2 つに分類された。また、木部繊維壁のリグニンの構成比は樹種間変異がみられなかったが、道管壁では樹種間変異がみられた。道管壁のリグニンの構成比の樹種間変異が生じる原因については、木化中の各構成要素細胞壁のリグニンの堆積開始から終了するまでの期間の違いまたはリグニン生合成経路の違いに起因すると考えられる。さらに、全ての樹種の木部繊維壁、道管壁、木部繊維間細胞間層セルコーナー部で S 単位に構造の似たポリフェノール類が存在し、また放射柔細胞中には G 単位に構造の似たポリフェノール類が内容物として存在していることが明らかとなった。

本論文では、アルカリ抽出前後にユーカリ材リグニンの組織化学的分析を行うことにより、ユーカリ材の各構成要素細胞壁でのリグニンの構成比の不均一性とその樹種間変異、さらには細胞壁レベルでのポリフェノール類の分布を明らかにした。以上の結果から、パルプ材としてユーカリ材を有効利用する上での材質指標を示すことができたと考える。またリグニンとポリフェノール類の分化・成熟中の木部細胞壁における存在状態は、樹木木部細胞壁の構造や成分および細胞壁形成過程の新しい知見であるといえる。

よって審査員一同は、渡邊陽子が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。