

## THz-TDS によるセルロース系材料の結晶性評価



稲垣 哲也

(名古屋大学大学院生命農学研究科 生物システム工学研究室)

王 晗 (名古屋大学・西オーストラリア大学国際連携生命農学専攻)

### 1. はじめに

天然セルロースは細胞膜上のセルロース合成酵素複合体で重合され結晶化する<sup>1)</sup>。高等植物では、数十本の分子鎖が合成されるモデルが一般的で、幅3-4nmのマイクロフィブリルが基本単位として考えられている。天然セルロースはセルロースIという結晶構造を持ち、 $I_\alpha$ 型と $I_\beta$ 型で構成されている。バクテリアや緑藻海藻では $I_\alpha$ 型が主成分であるのに対して、木材やホヤセルロースでは $I_\beta$ 型が主成分である。木材はセルロース・ヘミセルロース・リグニンという3つの化学成分から主に構成される。木材を構成する細胞壁は層構造になっており、細胞の外側から細胞間層(I層)、一次壁(P層)、二次壁の外層(S-1層)、中層(S-2層)、内層(S-3層)に分けられる。各壁層は、セルロース分子が集合して結晶化した細長い糸状のマイクロフィブリルと呼ばれる構造と、それらの間を埋めているヘミセルロース・リグニンからなるマトリックスで構成されていることが知られている。このマイクロフィブリルが結晶性の構造単位を形成しており、木材の密度や強度的性能と高い相関関係にある。また木材は放湿・吸湿することで力学的性能などが変化するが、セルロース結晶性は木材の吸脱着性能にも影響を与える。通常木材中の結晶性は①結晶化度と②マイクロフィブリル傾角度(MFA: microfibril angle)によって評価される。MFAとは細胞壁とセルロースマイクロフィブ

リルの成す角度のことで、木材中の未成熟材ではMFAが大きく、成熟材ではMFAが小さいことが知られている。またこのMFAは木材の強度的性質に大きく影響を及ぼす。

このようにセルロース系材料の結晶性の評価は非常に重要であり、これまで赤外分光法や各種回折法によりその性質が調べられてきた。セルロースは分子内・分子間水素結合を形成して結晶を形成するが、赤外領域に観察されるCH基準振動による吸収は、水素結合状況によってピークがシフトする。このように赤外分光法では水素結合を介して結晶性を評価しているといえる。一方電子線、X線および中性子回折法による結晶性評価では、回折光を観察することで各結晶多型の構造を精密に把握することが可能となる。X線を中心とした各種回折法は、結晶構造の把握には非常に適しているといえる。

ところで木材中の「結晶量」は通常、X線回折チャートから得られる「結晶化度」によって評価される。セルロースのX線回折チャートの例を図1に示す。セルロースでは複数の格子面間隔からの干渉ピークが表れる。ここから通常Segal法や面積法によって結晶化度が評価される。Segal法とは200面と110面の間の極小値と200面の極大値との比率を評価する手法であり、面積法とはカーブフィッティングにより各結晶格子面からの面積強度と非晶由来の面積強度を算出し、その比率を

評価する手法である。このように結晶化度では、各格子面からの回折強度を一緒くたに取り扱っている。そのため結晶化度は結晶性の指標として利用可能であるものの、「結晶量」としては評価できない。そのため異なる試料間（例えば木材とセルロース）での結晶化度の比較は適切ではない。

そこで我々はセルロース系材料の結晶性評価にテラヘルツ時間領域分光法（THz-TDS）を利用することを考えた。テラヘルツ波（THz）は遠赤外線領域にある周波数範囲0.1-10THzの電磁波であり、そのエネルギーはセルロース結晶の格子振動（フォノン）に相当する。つまりTHz領域には結晶由来のピークが存在している。Ermolinaらが報告しているように、非晶スクロースでは $10-80\text{cm}^{-1}$ に全く吸収ピークが観察されないにも関わらず、結晶セルロースでは同領域に多くの吸収ピークが表れる<sup>2)</sup>。そこで我々は、THz-TDSによる新たな結晶性評価手法の構築を目指し研究を展開している。ここでは、これら研究で得られた2つの内容について紹介したい。

## 2. THz-TDS による結晶多型評価

前述のように、天然セルロースは2種類の結晶構造( $I_\alpha$ 型,  $I_\beta$ 型)を持ち、その比率は生物によって異なる。また、セルロースは化学処理によって結晶構造が変化することもよく知られており、天然セルロース繊維を農アルカリ溶液で短時間処理した後、これを水洗、乾燥させることで、セルロースIIが得られることが知られている（マーセル

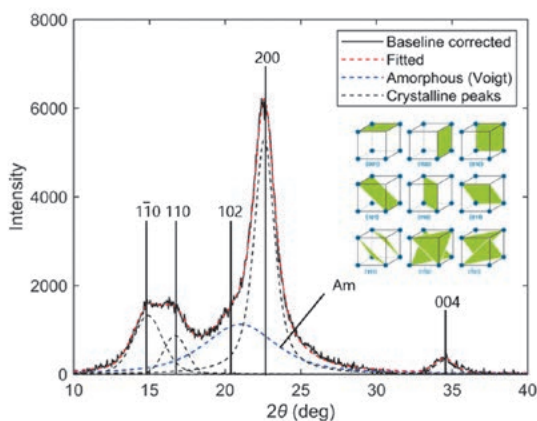


図1. セルロース X 線回折チャートの例

化処理)。一度セルロースIIが形成されるとセルロースIには再変態しない(不可逆的)。結晶多型によってX線の回折ピーク位置は変化する。ここでは、これら結晶多型をTHz-TDSによって評価できるかを調査した。①藻類(主に $I_\alpha$ 型)・樹木(主に $I_\beta$ 型)から抽出した異なる $I_\alpha$ ,  $I_\beta$ 比率を有するセルロース試料(*Glaucocystis nostochinearum*, *Valonia*, *Cladophora*, *Boergesenia*, *Oocystis*, *Halocynthia*)および②セルロース結晶構造を変化させるため、異なる濃度のNaOH溶液でマーセル化処理したMCC(マイクロクリスタリンセルロース)試料を準備した。上記2種類のセルロース試料から厚さ約0.3mm程度のペレットを作成した。各試料の寸法を測定後、THz時間領域分光器(日邦プレジジョン製Tera Prospector-Kit model)を用いて、積算回数100回で各試料につき3回透過測定を行った。また、X線回折装置(リガク製RINT-Ultima IV)を用いて、 $2\theta = 5\sim 40^\circ$ 範囲で各試料につきXRD測定を行った。

図2(A)に異なる $I_\alpha$ ,  $I_\beta$ 比率を有するセルロース試料のTHz吸収スペクトル(1.7-2.6THz)を示す。ここからセルロース $I_\alpha$ 型(2.38THz)および $I_\beta$ 型(2.13THz)由来の特徴的な吸収が存在することが確認できた。また、その吸収ピークの強度は $I_\alpha$ の含有量と高い相関関係にあることを確認した(図2(B))。さらに、NaOH溶液でセルロース結晶粉体をマーセル化処理したサンプルのX線回折チャートおよびTHz吸収スペクトルを図3に示す。

NaOH溶液濃度12%以上でX線回折チャートとセルロース吸収スペクトルの両方が特異的に変化した。これはマーセル化処理によってセルロースIがセルロースIIへと遷移したことが原因である。特にTHz領域におけるセルロースII由来の吸収ピーク(1.32THz, 1.76THz, 2.77THz)を特定した。このことから、THz-TDSによって試料の結晶多型を評価できることが示された<sup>3, 4)</sup>。

## 3. THz-TDS による結晶多型評価

本研究ではTHz-TDSによる新たな結晶量評価

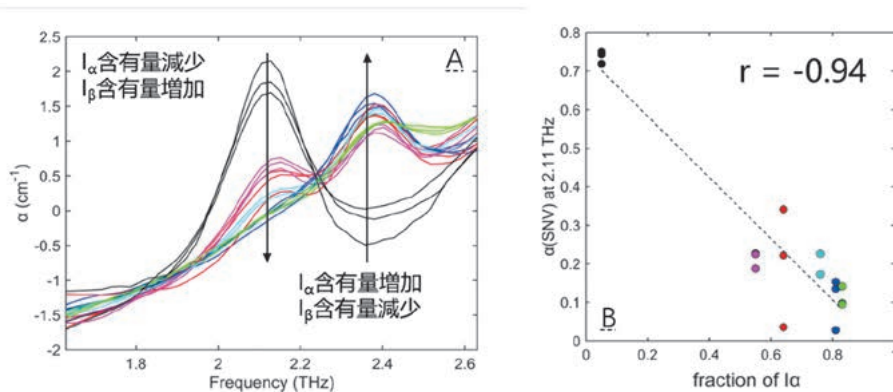


図2 (A) 試料の THz 吸収係数スペクトルおよび (B) 2.11THz における吸収係数と  $I_\alpha$  比率の関係

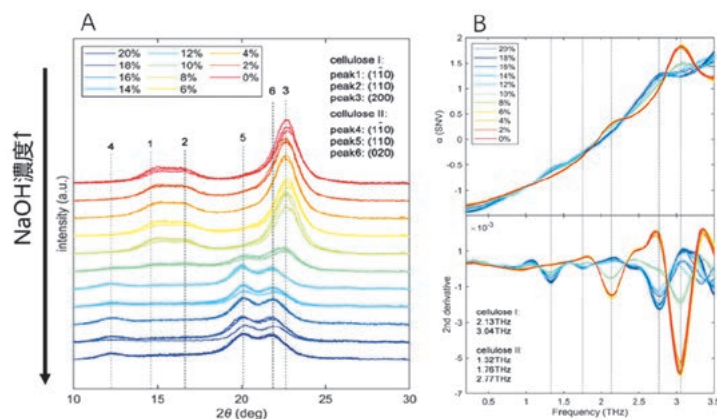


図3 マーセル化処理した試料の (A) X線回折チャートおよび (B) THz 吸収スペクトル

手法の確立を目指して実験を行った<sup>5)</sup>。結晶量を変化させるため、異なる時間でボールミル処理をほどこしたセルロース結晶パウダー (Avicel 0, 12, 24, 48, 72, 144時間とヒノキ材 *Chamaecyparis obtusa* 0, 6, 12, 24, 32, 48, 72, 144時間0.075g) を用意し、40MPa で直径14 mm 厚さ0.3 mm 程度のペレットを作成した。このペレットを各処理時間で3枚作成した。また、疑似木材パウダーとして酢酸有機溶媒によって抽出したリグニン (Guangzhou ESUN bio tech co., LTD) を重量比率 0, 25, 50, 75, 100% で Avicel セルロースと混合し、セルロース試料と同じ手順でペレットを作成した。各試料の寸法を測定後、THz-TDS (日邦プレジジョン製 Tera Prospector-Kit model) を用いて、積算回数100回で各試料につき3回透過測定を行った。リファレンスは試料を置かずに測定の前後で2回測定した。また、試料水平型 X 線回折装置 (リガク製 RINT-Ultima IV) を用いて、

$2\theta=5\sim 40^\circ$  範囲で各試料につき XRD 測定を行った。

疑似木材、セルロース及びヒノキ材試料の THz 領域における吸収スペクトルを図4に示す。いずれの試料でも 3 THz 付近で吸収ピークが見られた。その後2.8-3.3THz 範囲を切り取ってベースライン補正後、面積強度を計算した。また得られた XRD 回折パターンをピーク分離し、結晶性由来のピークと全体ピーク的面積比率から結晶化度を算出した。算出した結晶化度と疑似木材のリグニン含有量及びセルロース、ヒノキ材のボールミル時間の関係を図5に示す。

疑似木材サンプルの THz 領域の吸収強度とリグニン含有量には高い負の線形関係が見られた。また、セルロースとヒノキ材サンプルの THz 領域の吸収強度はボールミル時間の増加によって減少することが確認できた。上記の結果から THz-TDS を用いて木材などのセルロース系材料の結



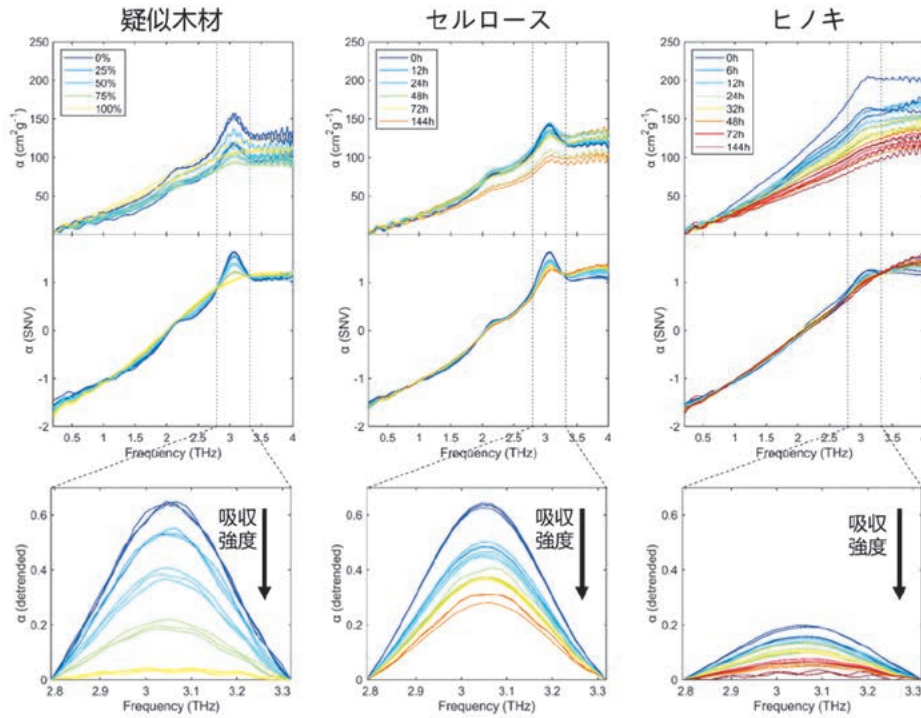
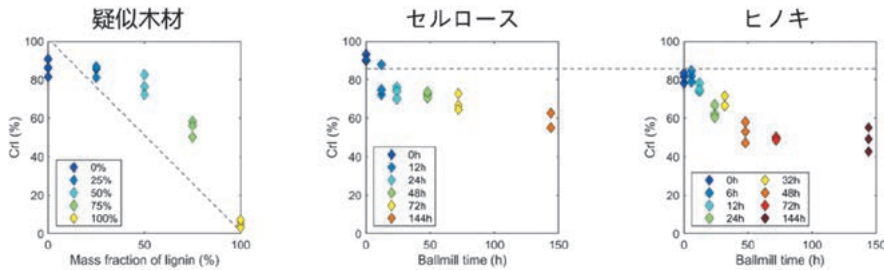


図4. 各試料のTHz吸収スペクトル

**XRD非晶性由来のピークをフーリエ級数で近似した結果:**



**THz吸収スペクトル2.77-3.34THzの積分強度結果:**

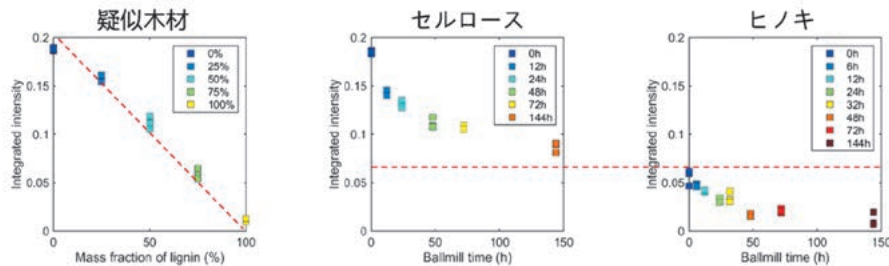


図5. XRDによる結晶化度とTHz面積強度の比較

晶化度を評価できることが示唆された。また、XRD 結果から算出した疑似木材の結晶化度はリグニン含有量の増加と非線形関係にあったが、THz 領域の吸収強度はリグニン含有量の増加によって線形的に減少した。このことから、XRD では相対的な結晶化度が得られるのに対して、THz

領域における吸収はセルロースの絶対的な結晶量を反映することが示唆された。

上記のように XRD では結晶構造の厳密な決定に非常に有用ではあるものの、結晶量評価には解決すべき課題があった。これを THz-TDS によって解決できることが示された。

## 謝辞

本研究は JSPS 科研費21H02255の助成を受けたものです。また X 線回折測定には名古屋大学アイソトープ総合センターの機器を利用しました。ここに感謝の意を表します。

## 引用文献

- 1) 杉山淳司, 堀川祥生, 木材学会誌, 54, 49-57 (2008).
- 2) Ermolina, I., Darkwah, J., & Smith, G., *AAPS PharmSciTech*, 15, 253-260 (2014).
- 3) Han Wang, Satoru Tsuchikawa, Tetsuya Inagaki, *Cellulose*, 27, 9767-9777 (2020).
- 4) Han Wang, Satoru Tsuchikawa, Tetsuya Inagaki, *Cellulose*, 29, 3143-3151 (2022).
- 5) Han Wang, Satoru Tsuchikawa, Tetsuya Inagaki, *Cellulose*, 28, 5293-5304 (2021).