

SEC/MALLS分析によるセルロース試料の分子量分布測定と構造解析に関する研究

著者	小野 祐子
学位授与年月日	2018-02-27
URL	http://doi.org/10.15083/00077397

論文の内容の要旨

氏 名 小野 祐子

論文題目 SEC/MALLS 分析によるセルロース試料の分子量分布測定と
構造解析に関する研究

研究の背景、目的

高分子の分子量測定法として、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) に多角度光散乱検出器 (MALLS) を検出器として用いる絶対分子量測定法が確立されている。しかし、セルロースの SEC/MALLS による分子量測定については、以下の課題がある。①SEC/MALLS 測定において絶対分子量算出に必要な溶液固有の定数 dn/dc 値 (屈折率増分) は示差屈折率検出器を用いて測定するが、この方法で得られた dn/dc 値を用いて SEC/MALLS 測定を行った結果は予想されるセルロースの分子量や注入試料量と異なる。②SEC/MALLS 測定には凝集のない分子分散した希薄セルロース溶液が必須だが、セルロース溶液の調製は容易ではない。一般に SEC/MALLS 測定に用いられているセルロース溶剤は、塩化リチウム/N,N-ジメチルアセトアミド (LiCl/DMAc) であり、試料溶解には溶媒置換前処理が必要となる。そのため、正確な濃度のセルロース溶液の調製は難しく、 dn/dc 値の測定を困難にしている。③LiCl/DMAc に溶解できる試料が低分子量セルロース、溶解パルプ、広葉樹パルプに限定されている。本研究では、セルロース試料の SEC/MALLS 測定における課題を解決し、測定方法と測定試料調製方法を確立することを目的とした。さらに、SEC/MALLS 分析結果から様々なセルロース試料の分子量分布や分子構造を解析し、樹木セルロース特有の構造についての知見を得ることも目的とした。

「セルロースの dn/dc 値に関する研究」

市販のマイクロファイブリル化セルロース (MFC) をさらに解繊処理した微小マイクロファイブリル化セルロース (F-MFC) は溶媒置換せずに 8% LiCl/DMAc に直接溶解することで正確な濃度のセルロース溶液の調製が可能となり、セルロースの dn/dc 値の測定を行うことができた。Off-Line RI 測定法と SEC/MALLS 測定法 (100%回収率法) の 2 つの測定方法により dn/dc 値を求め

た。その結果、Off-Line RI 測定法は、セルロースやキチンなどの dn/dc 値の測定には適さなかった。アミロースやプルランは、DMAc 溶液中と 1% LiCl/DMAc 中の dn/dc 値が異なり、SEC/MALLS 分析において、Off-Line RI 測定法により得られた dn/dc 値を用い分子量既知のプルランの分子量測定を行うと、DMAc 中では表示の分子量値と一致したが、1% LiCl/DMAc 中では一致しなかった。2 測定法においてプルランとセルロースの 1% LiCl/DMAc 中での dn/dc 値はそれぞれと近似値となることから、両多糖で溶解機構は同じであると推察できる（表 1）。以上の結果から、セルロースの 1% LiCl/DMAc 中での dn/dc 値は 0.131 mL/g（SEC/MALLS 測定法から算出した値）と決定した。

表 1 様々な試料の DMAc 及び 1% LiCl/DMAc 溶液の dn/dc 値

solute	solvent	dn/dc (mL/g)	
		SEC/MALLS/RI	off-line RI
cellulose	1% LiCl/DMAc	0.131	0.065
chitin	1% LiCl/DMAc	0.138	0.091
amylose	1% LiCl/DMAc	0.130	—
amylose	DMAc	0.095	—
pullulan	1% LiCl/DMAc	0.125	0.069
pullulan	DMAc	0.091	0.091
cellulose acetate DS2.9	1% LiCl/DMAc	0.040	0.042
cellulose acetate DS2.9	DMAc	—	0.040
poly(styrene)	1% LiCl/DMAc	0.150	0.148
cellobiose	1% LiCl/DMAc	—	0.067
LiCl	DMAc	—	0.390

「セルロースのモデルとしてのプルランの LiCl/DMAc 中での溶解機構に関する研究」

$^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H-}^1\text{H DQCOSY}$ 、 $^1\text{H-}^{13}\text{C HMQC}$ 測定により、プルランの DMAc 溶液と LiCl/DMAc 溶液中での全てのプロトンとカーボンのケミカルシフトを決定することができた。プルランの DMAc 溶液中での構造は、LiCl の有無により異なることが $^1\text{H-NMR}$ スペクトルの C-OH プロトンのケミカルシフトの違いから明らかになった（図 1）。LiCl の存在によりプルランの全水酸基の解離度は上がり、均一な安定構造となっていた。1% LiCl/DMAc 中での dn/dc 値がプルランと同様の挙動を示すセルロースを含むグルコースを基本骨格とする多糖の水酸基と Li^+ と Cl^- イオン間の相互作用が、セルロース等が DMAc 溶媒には不溶であるが、LiCl/DMAc 溶液中では溶解に至る一因だと推察できる。

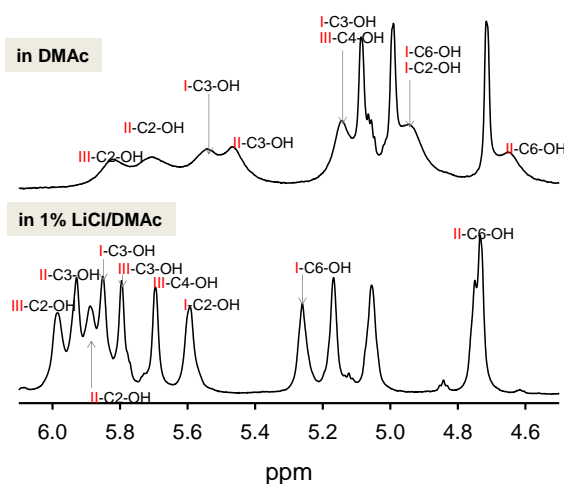


図 1 DMAc 及び 1% LiCl/DMAc 中でのプルランの水酸基の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

「難溶解セルロース試料の SEC/MALLS 測定に関する研究」

これまで、針葉樹漂白クラフトパルプ (SBKP) や高結晶化度のホヤセルロースや海藻セルロースは LiCl/DMAc に溶解することはできなかった。しかし、EDA 浸漬及びメタノール溶媒置換を経ることで、これらの試料の溶液調製が可能になり、SEC/MALLS 測定も可能となった。その結果、様々なセルロース試料の分子量や分子構造が明らかになった。ホヤや海藻セルロースの分子量は大きく、SBKP 以外のセルロース試料は全てフレキシブルな直鎖ランダムコイル状であった。しかし、SBKP のみは、分岐状高分子構造を示した (図 2)。

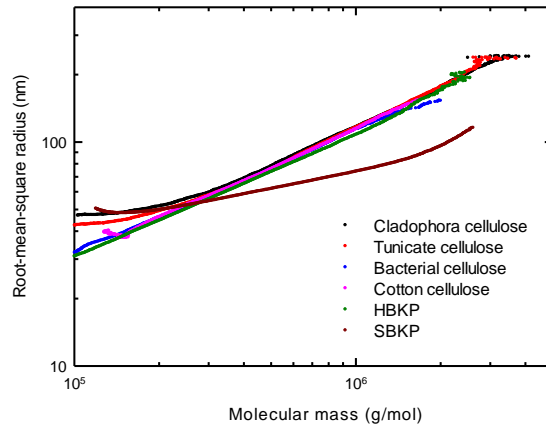


図 2 様々な由来のセルロース試料とパルプのコンフォメーションプロット

「木材由来ホロセルロースの SEC/MALLS 測定に関する研究」

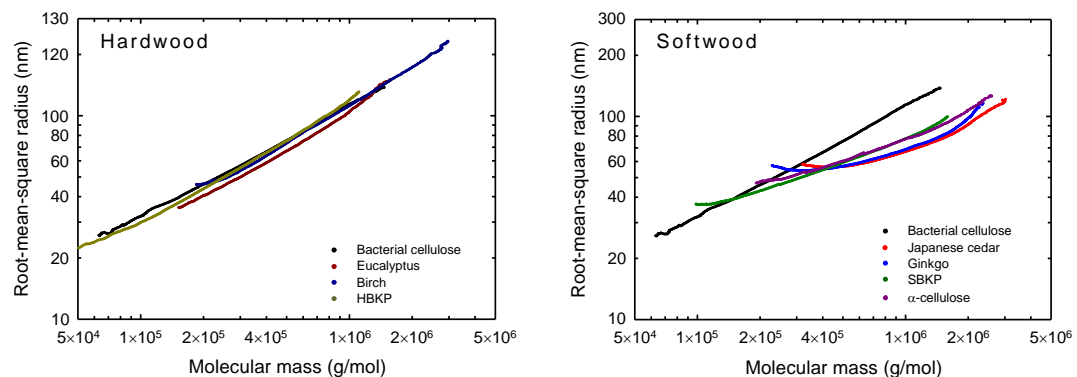


図 3 ホロセルロースのコンフォメーションプロット

EDA 浸漬法を用いて様々な由来の木材ホロセルロースを溶解し、SEC/MALLS 分析を行うことができた。広葉樹試料と針葉樹試料の SEC/MALLS 測定結果は明瞭に異なり、広葉樹の高分子量領域の分子構造は高純度セルロース試料と同じフレキシブルな直鎖ランダムコイル状であった。一方、針葉樹試料は広葉樹試料よりも分子量が大きく、高分子量領域の分子構造は分岐状を示した (図 3)。この分岐構造は、構成糖分析や UV 検出器測定結果からセルロースーリグニン-グルコマンナン結合による枝分かれ構造であると推察できた。また、この分岐構造は針葉樹由来の α -セルロースや

SBKP 中でも維持され、アルカリ抽出やクラフトパルプ化漂白工程でも切断できない強硬な化学結合であった。

「針葉樹試料のコンフォメーションに関する研究」

調製方法を変えたスギ木粉の SEC/MALLS 分析や構成糖分析の結果から、広葉樹セルロースやバクテリアセルロースなどと同様の直鎖状セルロースを、針葉樹から調製するには、アルカリ処理前に希酸加水分解-脱リグニン処理を行うことが必須であった。先に希酸加水分解-脱リグニン処理を行うことで、フェノール型リグニン構造が増加し、後のアルカリ条件下処理によりフェノール型リグニンと多糖との α -エーテル結合が切断される。それにより、分岐構造の要因となるグルコマンナンとリグニンを同時に効果的にセルロースから除去できるのではないかと考えられる。

「オンライン粘度測定によるセルロース試料の構造解析及び粘度法によるセルロース分子量測定方法に関する研究」

SEC/MALLS 装置に粘度検出器を付属させ、各種セルロース試料の固有粘度と分子量を同時に測定し、セルロース試料の 1% LiCl/DMAc 溶液の Mark-Houwink-Sakurada プロットを作成した (図 4)。1% LiCl/DMAc 中で直鎖ランダムコイル状のセルロース試料の極限粘度は、

$[\eta]=0.08 M_w^{0.75}$ (cm³/g) となった。また、2つの異なる原理の測定方法 (静的光散乱と粘度測定) により得られたセルロース試料の溶液中での分子構造解析結果は一致した。Mark-Houwink-Sakurada プロットとレオメータによる還元粘度測定の結果から、セルロースの 0.5M 銅エチレンジアミン溶液の一点法による粘度測定から得られる分子量値 (M_v) は、異なる由来でも直鎖ランダムコイル状のセルロース試料であれば、同じ係数の Mark-Houwink-Sakurada 式を用いて M_v を算出し、比較して問題ないが、針葉樹試料のような分岐構造の可能性がある場合は係数が異なる点を考慮すべきである。

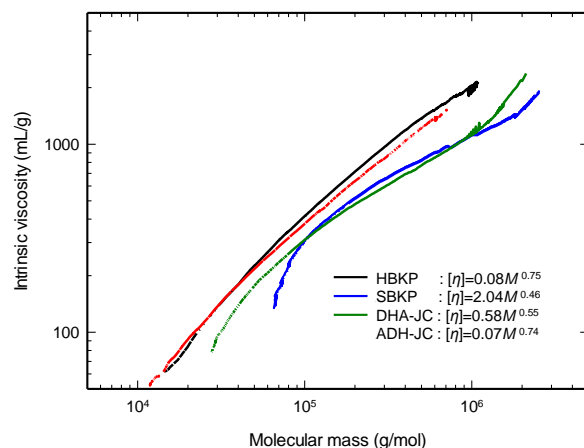


図 4 セルロース試料の Mark-Houwink-Sakurada プロット