

(様式 11)

平成 26 年 8 月 20 日

学 位 論 文 審 査 要 旨 (課程博士)

東京農工大学大学院工学府長 殿

審査委員	主査	大野 弘幸	印
	副査	中村 暢文	印
	副査	朝倉 哲郎	印
	副査	小関 良宏	印
	副査	養王田 正文	印
	副査		印

学位申請者	生命工学専攻 平成 24 年度入学 学籍番号 12831202
	氏 名 黒田 浩介
申請学位	博 士 (工学)
論文題目	Direct Analysis of Cellulose in Polar Ionic Liquids 極性イオン液体中のセルロースの直接解析
論文審査要旨 (2000 字程度) セルロースは地球上で最も豊富に存在するバイオマスであるが、その難溶性が応用を阻んでいた。極性イオン液体は常温・短時間でセルロースを溶解する唯一の溶媒であることからバイオマスの有効利用のための溶媒として期待されている。しかしながら、イオン液体を用いたセルロースの抽出や加水分解反応について解析する手法は未開拓であった。そのためイオン液体の能力について評価することができず、イオン液体の構造や反応条件を最適化することが難しかった。本論文では、 ¹ H NMR の溶媒および高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の移動相として極性イオン液体を適用することで、イオン液体によって抽出されたセルロースや加水分解したセルロースの解析法を確立しており、その内容についてまとめた。 第 1 章「セルロース溶媒としての極性イオン液体」 序論として極性イオン液体を用いたセルロース系バイオマスの化学変換について知見をまとめた。さらにセルロースの抽出・加水分解反応における従来の解析手法の問題点をまとめた。これにより、“極性イオン液体を解析用の溶媒として利用し、セルロースの抽出・加水分解反応を解析する”という本研究の意義について述べた。	

(様式 11)

第 2 章「重水素化していないイオン液体中でのセルロースの ^1H NMR 解析：セルロースの溶解挙動の解析」

(1)交換性のプロトンを持つ OH 基のシグナルの観測、(2) 多様なイオン液体への適応、以上 2 点を可能とするため、重水素化していないイオン液体中に溶解したセルロースの ^1H NMR 測定を可能にする手法をまとめた。重水素を用いずに分解能調整を行う No-D NMR 法および溶媒由来の大きなシグナルを消去できる WET 法を用いてシグナルの観測を試みた結果、OH 基を含めたセルロースに由来するシグナルを観測できることを示した。そこでさらに、イオン液体とセルロース間の相互作用について解析を行った結果、セルロースの 6 位の OH 基にイオン液体が強力に水素結合し、セルロースの分子間水素結合を切断することが溶解するための要因であることをはじめて NMR レベルで明らかにした。

第 3 章「イオン液体で抽出した多糖類の組成解析」

第 2 章で確立したイオン液体中での ^1H NMR 解析法を用い、イオン液体でバイオマスから抽出した多糖類の組成を解析した。抽出物のモデルとしてセルロースとキシランの混合物をイオン液体中に溶解し、 ^1H NMR 測定を行った結果、セルロースとキシランのシグナルを独立して観測できることを示した。次いで、小麦外皮からの抽出物の解析を行った結果、スルホン酸系のイオン液体はキシランのみを選択的に抽出でき、その抽出能力は亜リン酸系のイオン液体、酢酸系のイオン液体をやや上回ることが確認され、バイオマスから有用多糖類を選択的に抽出可能であることを示した。

第 4 章「イオン液体を移動相とする HPLC(HPILC)による解析：イオン液体で抽出した多糖類の分子量分布解析」

イオン液体はその高い粘性から HPLC の移動相としては不適であるとされてきたが、低粘性のイオン液体を移動相とし、超低流速に設定することでイオン液体を移動相として適用できることを明らかにした。また、各種分子量のプルラン標準サンプルの測定を通じて、イオン液体を移動相とした場合でも分子量に基づいた解析が可能であることも示した。次いで由来の異なるセルロースの測定を行い、バクテリアルセルロースから微結晶セルロースまで分子量の異なる一連の試料について、分子量分布が解析できることを示した。さらに植物バイオマスから抽出したセルロースの分子量分布について解析を行った結果、抽出温度を上昇させると得られるセルロースの量と分子量が増大することを示した。

第 5 章「イオン液体中で加水分解したセルロースの分子量分布の解析」

第 4 章で確立した手法を用いて、イオン液体中で加水分解したセルロースの分子量分布を測定している。はじめに、加水分解したセルロースのモデルとしてセルロース(未反

応物)とグルコース(最終生成物)を混合したサンプルを作製し、測定を行った。その結果、イオン液体を移動相とした場合にもピークの面積および高さから定量できることを示した。次いで、水中で酵素によって加水分解反応させたセルロースをイオン液体中へ溶解し、**HPILC**によって解析した。セロビオヒドラーゼによってセルロースからセロビオースへと変換される過程、 β -グルコシダーゼによってセロビオースからグルコースへと変換される過程を観測した。最後にイオン液体中でセルロースを超音波によって分解し、そのサンプルについて経時的な測定をおこなった。その結果、ピークのシフトが観測され、これがランダムな分解反応であることを定量的に示した。

第6章「総括」

得られた成果を要約し、本研究の総括を行っている。

これらの結果は、極性イオン液体を **NMR** の溶媒や **HPLC** の移動相として適用することで、イオン液体に可溶化したセルロースの解析法を新たに構築できたことを示しており、その意義は極めて高いと判断された。