

令和元年6月30日現在

機関番号：50102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05802

研究課題名(和文)セルロースナノファイバー表層への分子認識機能付与とその作用機序

研究課題名(英文)Preparation and mechanism of the nano-fibrillated bacterial cellulose with molecular recognition ability

研究代表者

甲野 裕之 (Kono, Hiroyuki)

苫小牧工業高等専門学校・創造工学科・准教授

研究者番号：70455096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：セルロースナノファイバー(CNF)は繊維径が4～100 nmな高アスペクト比のセルロース繊維を指す。優れた特性を示すため、樹脂との複合化における優れたフィラーとしての応用が期待されている。CNFと樹脂の複合化を達成するには、CNF表層水酸基を他の疎水性置換基に置き換える工夫が必要となる。本研究では水系溶媒下におけるCNF表層シランカップリング改質とその構造評価法について検討を行なった。メチルメトキシシランを用いて反応の最適化を行い、表層選択的に疎水化可能な条件を決定した。得られた疎水化CNFは反応前後において繊維形態を維持し、クロロホルムに分散可能であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水に分散したCNFに対して、乾燥や溶媒置換に伴う凝集を避けて、直接表層改質可能なシランカップリング反応は今後有益なものとなる。様々な官能基を有するシランカップリング剤を作用させることで、疎水化だけでなく、アニオン化、カチオン化等の性質をCNF表層に付与できる。さらに有機溶媒に分散可能であるため、これら官能基を開始点とする有機反応を適用することも可能となり、プラスチック代替への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Hydrophobic nano-fibrillated bacterial cellulose (NFBC) was prepared by use of an efficient silylation process in water. The starting material of NFBC was obtained by aerobic agitating cultivation of cellulose producing bacterium (*Gluconacetobacter intermedius* NEDO-01) in a medium supplemented with sodium carboxymethyl cellulose. The NFBC was heterogeneously silylated by methyltrimethoxysilane (MTMS) sols in the acidic water (pH4), and a series of the silylated NFBC was prepared by changing feed amount of MTMS sols. Structural characterization of these samples using FTIR, solid-state NMR, and WAXS revealed that the optimal condition for the selective silylation of the surface layer of NFBC. The optimally silylated NFBC was well dispersed in chloroform, and the nano-fibril structure was retained in the solvent.

研究分野：構造多糖類、高分子化学、構造機能相関

キーワード：セルロースナノファイバー 疎水性改質 核磁気共鳴 バクテリアセルロース 機能化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

セルロースナノファイバー (CNF) は一般的に繊維径が 4~100 nm、繊維長が数~数十 μm の微細かつ、高アスペクト比のセルロース繊維を指す。高強度、高弾性率、低熱膨張性、超比表面積など優れた特性を示すため、樹脂との複合化における優れたフィラーとしての応用が期待されている。一方、CNF 表層には多数の水酸基が規則的に配列しており、乾燥時や貧溶媒中では CNF 繊維間の水素結合形成により凝集する課題が残る。よって工業用途に使用する場合、CNF を化学的に改質する必要がある。例えば、CNF と樹脂の複合化を達成するには、樹脂内部に CNF を完全に均一分散させることは困難であり、樹脂の疎水性に合わせて CNF 水酸基を他の疎水性置換基に置き換える工夫が必要となる。CNF 中の全ての水酸基を置換することは容易であるが、その場合、CNF 内部に広がるセルロース水酸基の水素結合ネットワークが切断され、高強度、高弾性特性が急激に低下する。よって CNF の特長を保持し、改質するには表層水酸基の選択的誘導体化が重要となる。

2. 研究の目的

一般にセルロースの誘導体化は水酸基のエステル化、エーテル化が主なものであり、置換基種の選択により様々な物性を付与することが可能である。しかしこれら誘導体化の殆どはトルエン等の有機溶媒中で分散状態で行なわれ、最終的に溶媒に溶解した状態で得られている。水分散した CNF を有機溶媒中で誘導体化するには、水からアルコール類を経て、目的とする反応有機溶媒に置き換えるまで、何度も煩雑な溶媒置換を繰り返す必要がある。さらに溶媒置換過程において CNF 繊維の凝集は避けることができず、誘導体化以前に CNF の特長が低下する。よって CNF を誘導体化するには CNF 繊維を直接誘導体化できる水を溶媒とする有機反応が最適であるが、水分子と CNF 水酸基が競争的に誘導体試薬と反応するため、そこで水系溶媒下における CNF 表層シランカップリング改質とその構造評価法について検討を行なった。

3. 研究の方法

MTMS は水溶性であり、pH=4 程度の酸の存在下で加水分解してシラノールを生成する (図 1)。反応系にセルロース分子鎖が存在すれば、セルロース水酸基によるシラノール Si 核への求核置換反応が生じる。さらにシラノール水酸基間でもカップリングが生じ、セルロース表層でシロキサン結合を介してシロキサンゾルが形成する。つまり CNF 分散水溶液中で MTMS を作用させれば、CNF 表層水酸基がシロキサンゾルでコートされた表層疎水化 CNF (SiCNF) が合成できると予想した。pH4 に調製した 0.5 (w/v) % CNF 分散液 200mL (CNF 乾燥質量 1g) に対し、130、50、70mmol の MTMS を加え、室温下で 4 時間反応させた。透析により未反応の MTMS とオリゴシロキサンを除去し、順に SiCNF 1-3 を得た。構造解析を固体 NMR、FTIR、X 線回折で行い、各種顕微鏡等で形態観察を行なった。

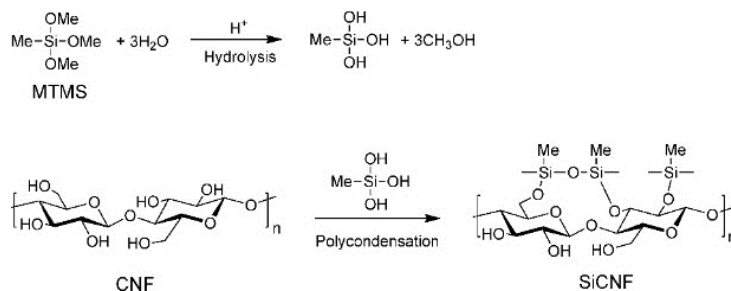


図 1 メチルトリメチルシラン (MTMS) を用いた CNF の表層疎水改質

4. 研究成果

構造解析

本反応は CNF とメチルシラノール間での固-液不均一状態で進行する反応であり、その収率はいずれもほぼ 100%となった。水酸基の置換状態は FTIR や固体 ¹³C NMR によって決定した。FTIR スペクトル上に CNF の吸収に加え、Si-CH₃ 変角振動 (1262、902 cm^{-1}) と Si-OH 変角振動 (777 cm^{-1}) の吸収が検出された (図 2)。さらにこれら吸収強度が合成時に添加した MTMS 量の増加に伴い増加していることから、MTMS 量によって表層化学修飾量が制御できることが確認できた。

置換度は DD/MAS NMR によって行った (図 3)。110~55 ppm にセルロース各炭素原子の共鳴線が現れ、SiCNF では 0 ppm にメチルシランのメチル炭素共鳴線が検出された。CNF を構成するグルコ

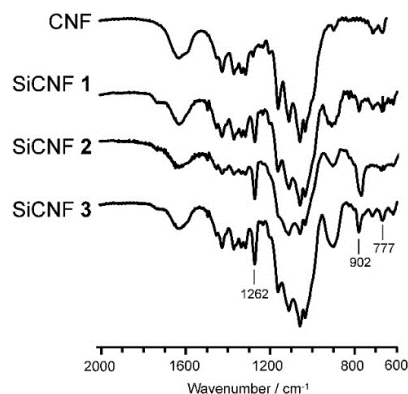


図 2 SiCNF 1-3 の FT-IR スペクトル

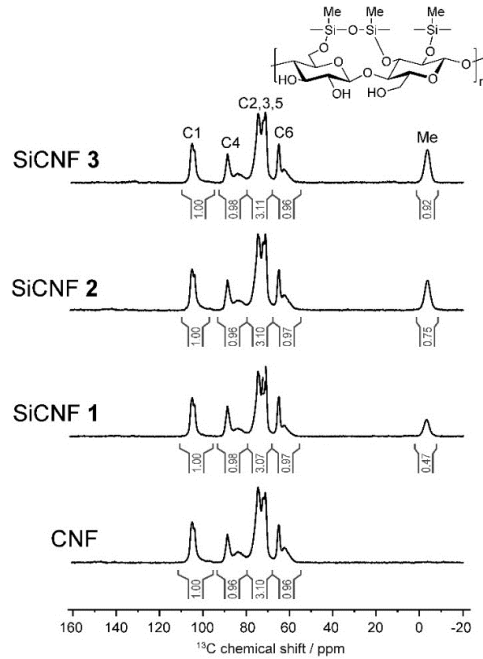


図3 CNF と SiCNF 1-3 の固体 ^{13}C DD MAS NMR スペクトルと積分値

ース1 残基あたりに置換したメチルシランの分子数を求めるには、105 ppm のセルロース C1 共鳴線の積分値を 1 としたときのメチル炭素の積分値から求めた。一般にグルコース 1 残基あたりの置換基数を置換度と呼ぶが、メチルシラノールの場合、CNF および他のメチルシラノールの水酸基と反応できるため、モル置換度 (MS) となり、SiCNF 1-3 の MS は順に 0.47、0.75、0.92 であった。表層水酸基だけが選択的に化学修飾されているかを X 線回折 (XRD) によって評価した。CNF 内部の水酸基が置換された場合、セルロースの分子間および分子内水素結合が切断され、結晶性の低下と非結晶部の増加が検出される。一般に CNF の XRD では $2\theta = 14.6^\circ, 16.4^\circ, 22.8^\circ$ にセルロース I 型結晶の (11-0), (110), (200) 面の回折が現れ、非結晶成分はハローとして 18° 付近にピークを持つブロードな成分として検出できる (図 4)。SiCNF と CNF の回折図を比較すると、いずれも同一のパターンとなり、CNF のシランカップリング反応によって内部の CNF 構造は全く変化していないことが確認された。

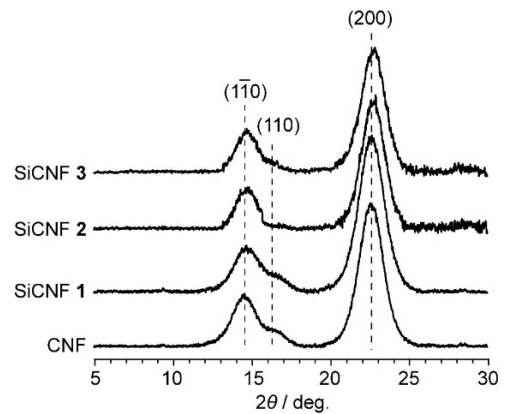


図4 CNF と SiCNF 1-3 の XRD 回折図

ダイナミクス

MTMS から生じるメチルトリシラノールの 3 個の水酸基がセルロース水酸基と反応した場合、残りの 2 個の水酸基が新たな反応点となって、メチルトリシラノールが反応していく (図 1)。その結果、過剰量の MTMS を反応系に添加すると、CNF 表層にメチルシロキサンゾルが積層する。大過剰のメチルシロキサン相に CNF が埋没したような形態となり、CNF の特長は低下する。固体 NMR によって求めた MS 値は CNF 径に依存するため、表層がどの程度改質されたかを見積もるには CNF 相と表層シロキサン相の界面状態を明らかにする必要がある。そこで、固体 NMR を用いた ^1H の回転系でのスピン格子緩和時間 ($T_{1\rho\text{H}}$) での評価を行なった。 $T_{1\rho\text{H}}$ 測定により 2 種類以上のポリマーから構成される通常 2 種類のポリマー間では ^1H スピン拡散が生じており、 $T_{1\rho\text{H}}$ 値はそのスピン拡散の度合いを示した時定数である。通常の ^{13}C CP/MAS NMR 実験では、 ^1H 核 90° パルスにより ^1H 磁化を X-Y 平面に倒し、CP を介して ^1H 磁化から ^{13}C 磁化を発生させて NMR 信号を得る。 $T_{1\rho\text{H}}$ 測定では ^1H 核 90° パルス後の X-Y 平面にある ^1H 磁化を高出力パルスで一定時間スピンロックさせた後に CP を行なう。スピンロック時間を順次変化させることで、 ^1H 核と格子との間で生じるスピン拡散緩和現象を ^{13}C 磁化を通じて検出する。

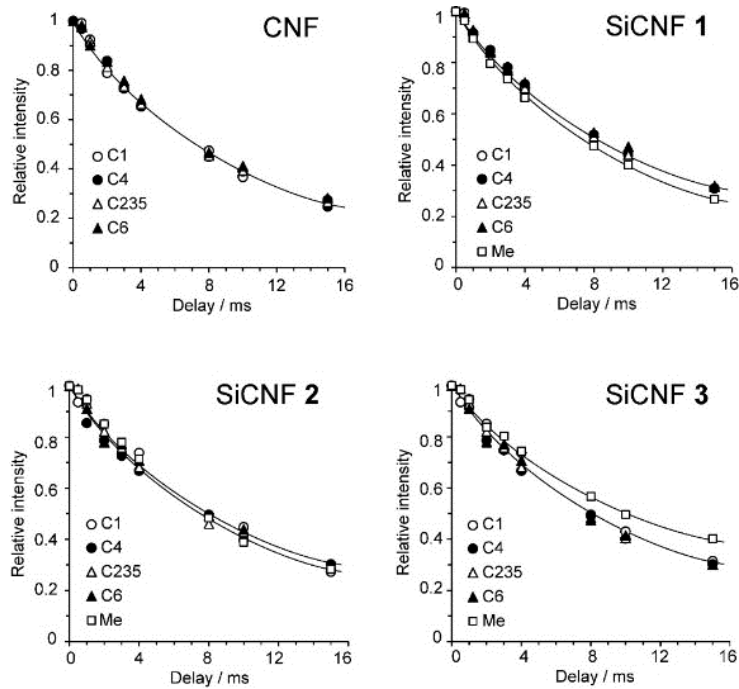


図5 CNF および SiCNF 1-3 の $T_{1\rho H}$ 緩和曲線

実際に SiCNF 2 を用いてスピンロック時間を変化させて固体 NMR スペクトルを得た (図 5)。スピンロック時間の延長に伴い、 ^1H 磁化がスピン拡散により減衰し、得られる共鳴線強度は減少した。拡散速度の違いにより ^{13}C 原子核ごとにその挙動は異なり、各積分区間で各共鳴線の積分値を求め、スピンロック時間が 0 の時の積分値を 1 としてプロットすると図 5 の曲線が得られた。次式の指数関数で近似し、各 ^{13}C 核の $T_{1\rho H}$ 値を求めた。

$$I(t) = I(0) \exp(-t / T_{1\rho H})$$

ここで $I(t)$ はスピンロック時間 $t=t$ のときの共鳴線積分値、 $I(0)$ はスピンロック時間 $t=0$ のときの積分値である。CNF の場合、分子鎖を形成するグルコース環の 6 個の炭素原子は互いに同一相 (セルロース) であり、全ての共鳴線が同一の緩和曲線を描いた。この曲線を指数近似することで $T_{1\rho H}=10.4$ ms となった。同様に SiCNF 1-3 のセルロース炭素の $T_{1\rho H}$ 値は 10.6 ~ 10.9 ms となり、SiCNF のセルロースは CNF のときと同一の ^1H スピン拡散挙動であった。一方、SiCNF 1 と 2 のメチル炭素の $T_{1\rho H}$ 値は順に 10.4 ms、10.7ms と CNF の $T_{1\rho H}$ 値と一致したが、SiCNF 3 のメチル炭素の $T_{1\rho H}$ は 14.8 ms と急激に増大した。この結果は SiCNF 1 と 2 の表層にあるメチルシロキサンは CNF とスピン拡散可能な距離 (一般に 2 ~ 3 nm 程度) に存在しているが、SiCNF 3 の大部分は CNF とスピン拡散しないことを示している。言い換えると SiCNF 1 と 2 ではメチルシロキサンが CNF と同一相を形成しており、SiCNF 3 ではセルロースとメチルシロキサンが明らかに独立した相を形成していることが明らかであった。つまり SiCNF 3 は CNF に対して MTMS が大過剰であり、シロキサンは CNF 表層とは化学結合しているものの、シロキサンが CNF とスピン拡散できない程度の厚みを持って存在していると言える。SiCNF 3 のメチル基の $T_{1\rho H}$ が 14.8ms と CNF よりも高い値であることは、シロキサンが三次元的なネットワーク構造を持ち、CNF よりも運動性が拘束されていること表していた。

溶媒分散性

SiCNFBC は CNF 表面がメチルシロキサンで改質されているため、CNF と比較して疎水性を示す。CNF と SiCNFBC 1-3 を 1(w/v)% で水および各種有機溶媒に加え、攪拌すると図 6 のような分散状態になった。

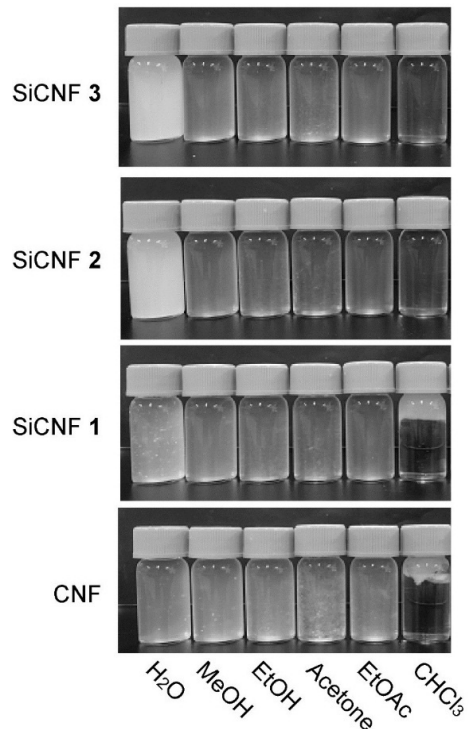


図6 SiCNF1-3 の溶媒分散性

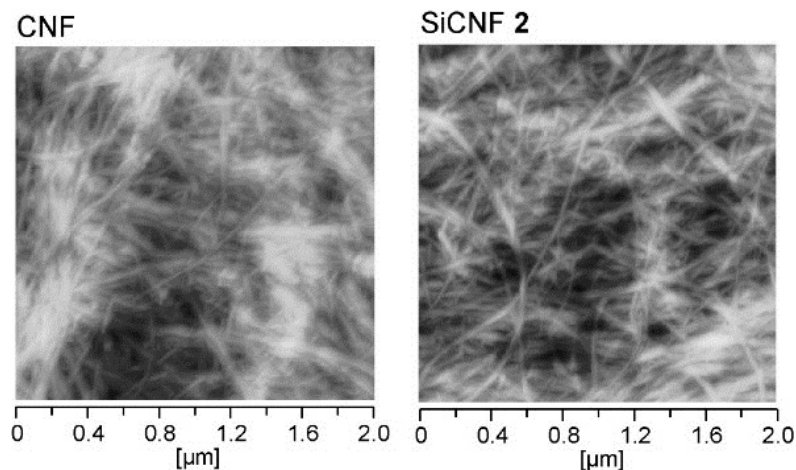


図7 水分散 CNF とクロロホルム分散 SiCNF 2 の繊維形態

CNF は水中で均一に分散しているが、アルコールやアセトン中では溶媒極性の低下に伴い凝集し、析出する。クロロホルムでは完全凝集し、上部で分離した状態になる。SiCNF 1 (MS=0.47) ではアルコールやアセトンでは均一な分散状態を維持していたが、クロロホルムでは CNF 同様に凝集した。よって SiCNF 1 では水酸基の一部が表層に残存し、繊維間で水素結合が形成されたといえる。一方、水酸基が高度に置換された SiCNF 2 (MS=0.75) および 3 (MS=0.92) ではアルコールやアセトン類で分散状態を示し、クロロホルム中には透明な分散液となる。逆に水中では繊維間で疎水性相互作用が働き、凝集した状態となった。

原子間力顕微鏡 (AFM) によって観察を行なったところ (図7)、水分散した CNF の繊維径は 20–50 nm 程度であった。クロロホルム分散した SiCNF 2 もまた同様の繊維形態を示した。よって水系溶媒でのシランカップリング反応は完全不均一反応で進行し、反応プロセスにおける CNF 繊維の凝集や膨潤が無い利点があることを示していた。

4.4. まとめ

以上の結果、水に分散した CNF に対して、乾燥や溶媒置換に伴う凝集を避けて、直接表層改質可能なシランカップリング反応は今後有益なものとなる。様々な官能基を有するシランパッキング剤を作用させることで、アニオン化、カチオン化等の性質を CNF 表層に付与できる。さらに有機溶媒に分散可能であるため、これら官能基を開始点とする有機反応を適用することも可能となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

Yukari Numata, Hiroyuki Kono, Akane Mori, Ryota Kishimoto, Kenji Tajima, Structural and rheological characterization of bacterial cellulose gels obtained from *Gluconacetobacter* genus, *Food Hydrocolloids* (査読有), 92, 233-239 (2019) doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.060.

Kenji Tajima, Ryo Kusumoto, Ryota Kose, Hiroyuki Kono, Tokuo Matsushima, Takuya Isono, Takuya Yamamoto, Toshifumi Satoh, One-step production of amphiphilic nano-fibrillated cellulose using a cellulose-producing bacterium, *Biomacromolecules* (査読有), 18, 3432-3438 (2017) doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01100.

Yukari Numata, Hiroyuki Kono, Minato Tsuji, Kenji Tajima, Structural and mechanical characterization of bacterial cellulose-polyethylene glycol diacrylate composite gels, *Carbohydrate Polymers* (査読有) 173, 67-76 (2017) doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.077.

Hiroyuki Kono, Cationic flocculants derived from native cellulose: Preparation, biodegradability, and removal of dyes in aqueous solution, *Resource-Efficient Technologies* (査読有) 3(1) 55-63 (2017) doi.org/10.1016/j.reffit.2016.11.015.

Hiroyuki Kono, Kota Ogasawara, Ryo Kusumoto, Kazuhiro Oshima, Hisaho Hashimoto, Yuuichi Shimizu, Cationic cellulose hydrogels cross-linked by poly(ethylene glycol): Preparation, molecular dynamics, and adsorption of anionic dyes, *Carbohydrate Polymers* (査読有) 150, 241-249 (2016) doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.011.

〔学会発表〕(計5件)

Hiroyuki Kono, Taiki Uno, Ryota Kishimoto, Tokuo Matsushima, Kenji Tajima, Nano-fibrillated bacterial cellulose with hydrophobic surface characteristics by heterogeneous silylation, 4th International Symposium on Bacterial Nanocellulose. 2019年10月3日「Porto (Portugal)」

辻崎晴人, 岸本亮太, 藤田彩華, 松島得雄, 田島健次, 甲野裕之, 疎水変性ナノフィブリル化

バクテリアセルロースの開発、日本化学会北海道支部 2019 年夏季研究発表会、2019 年 7 月 20 日「北海道・苫小牧市」

辻崎晴人、岸本亮太、藤田彩華、松島得雄、甲野裕之、田島健次、ナノフィブリル化バクテリアセルロースの表層アセチル化改質、セルロース学会第 26 回年次大会、2019 年 7 月 12 日「福岡県・福岡市」

Taiki Uno, Ryota Kishimoto, Hiroyuki Kono, Tokuo Matsushima, Kenji Tajima, Preparation and characterization of nano-fibrillated bacterial cellulose with hydrophobic surface characteristics, 3rd International Conference of Science of Technology Innovation 2018, 2018 年 10 月 5 日「新潟県・長岡市」

Haruto Tsujisaki, Taiki Uno, Ryota Kishimoto, Sayaka Fujita, Hiroyuki Kono, Tokuo Matsushima, Kenji Tajima, Surface modification of nano-fibrillated bacterial cellulose by the esterification reactions, 3rd International Conference of Science of Technology Innovation 2018, 2018 年 10 月 5 日「新潟県・長岡市」

〔図書〕(計 1 件)

甲野裕之、(担当:共著, 範囲:第 9 章 天然系材料ナノファイバーの他材料への分散、複合化、調製技術 第 3 節 セルロースナノファイバーの表面改質), ナノファイバーの製造・加工技術とその応用事例, (株)情報技術協会, 印刷中.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：田島 健次

ローマ字氏名：TAJIMA Kenji

所属研究機関名：北海道大学

部局名：工学研究院

職名：准教授

研究者番号(8桁)：0 0 2 7 1 6 4 3