

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K04997

研究課題名（和文）流動場分離法に立脚したナノセルロースの長さ・形状評価手法の確立

研究課題名（英文）Development of characterization method of nano-cellulose by field flow fractionation method

研究代表者

加藤 晴久（Kato, Haruhisa）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・計量標準総合センター・主任研究員

研究者番号：10462839

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：液中で異方性形状を取るナノ材料の長さ分布・形状を高精度に評価する手法の確立に係る研究を実施した。具体的には流動場分離法によるナノセルロース等の異方性材料の長さ・形状による分級精度を検証し、さらに分級試料について電子顕微鏡ならびに偏光解消動的な光散乱手法を用いた並進拡散係数と回転拡散係数評価を実施し、異方性のあるナノ材料の測定精度や評価手法の信頼性・妥当性検証を行い、異方性ナノ材料の長さ分布・形状計測基盤の確立を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究における異方性材料の流動場分離法と散乱法の併用による材料の形状評価原理が構築されたことは、今後の学術的研究分野における異方性材料の分級法適用展開として波及に貢献する。また将来的に金属ロッド材料やナノチューブ材料をはじめとするナノ・バイオ材料の液中構造評価技術の大幅な改善による工業的新規材料開発の促進に直結させることが可能であり、ナノ・バイオテクノロジー産業の近未来的な活性化へ大きく関与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We established a method for highly accurately evaluation of the shape of nanomaterials that have an anisotropic shape in liquid phase. Specifically, we verified the classification accuracy based on the length and shape of anisotropic materials such as nanocellulose by the field-flow fractionation method, and further analyzed the classified samples by depolarized dynamic light scattering method to evaluate translational/rotational diffusion coefficients. After the comparison between the results by depolarized dynamic light scattering and electron microscope, the measurement accuracy of anisotropic nanomaterials in liquid phase were verified. The well establishment of a length / shape measurement platform for anisotropic nanomaterials was achieved.

研究分野：ナノ計測

キーワード：流動場分離法 偏光解消動的な光散乱法 電子顕微鏡 異方性材料 形状

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在のナノ・バイオテクノロジー業界では必ずしも真球状物質を取り扱っているわけではなく、異方性を持つナノ材料における長さ分布や形状をフォーカスした高機能性ナノ材料の開発や無機・有機コンポジットのハイブリッドナノ材料開発を急速に展開しつつある。これは金ロッドを代表とするロッド状材料の光化学的特性がその形状に大きく影響を受ける (J.R.G. Navarro et al. *Nanophotonics*, 2016)、ポリマー材料とナノ粒子を複合したソフトナノマテリアル形状が製薬特性に影響する (K. Li et al. *RSC Adv.*, 2016) など、形状性を利用した実材料作製を根幹とした画期的な材料開発研究戦略が国内外で展開されつつあることに裏付けられる。また近年注目を集めている CNT 等チューブ状ナノ材料の人体への有害性懸念に端を発したナノリスク問題では、チューブ状材料の剛直性や形状が有害性に大きく影響を与えたとの報告がある (H. Nagai et al. *PNAS*, 2011)。このことは、異方性ナノ材料の優れた物理化学特性を発揮しつつ、そのリスク性を正確に議論するためには、長さ分布・形状評価する技術は非常に重要な研究・技術要素であることを意味する。実際このような異方性ナノ材料の典型例であるナノセルロースはその高い生体適合性と様々な機能性材料への利用価値から近年注目を集め、日本国を支える新たな新規材料として期待されるものの、長さ分布・形状評価技術の停滞から、いま一步、構造制御に伴う新規材料としての付加価値を見出せずにいるのが実情である。

現在このような異方性ナノ材料の長さ分布解析ならびに形状観測に最も利用されている手法としては、透過型電子顕微鏡や走査型電子顕微鏡に代表される顕微鏡による直接観察が挙げられる。しかしながら当手法は 1) コスト (装置、分析工数)、2) 結果のばらつき (個人差技量)、3) 測定結果のアンサンブル性の低さと、ナノ材料のサイズならびに形状評価手法としては数多くの弱点を抱える。また動的光散乱法をはじめとする多くの液中計測法は球状仮定でのサイズ算出法であり、形状が各種原理の計測装置におけるサイズ算出の結果に大きく寄与することは知られているが、計測技術が進展している現在においてさえ当問題は未解決である。当問題を解決するために、異方性ナノ材料の長さ分布や形状を評価するアンサンブル性高く手法として、古典的な X 線・光散乱パターンによる評価 (静的レーリー散乱やミー散乱、小角 X 線散乱) (H. Kato et al. *Mol. Biosys.*, 2010) や偏光解消動的散乱法 (S. Badaire et al. *Langmuir*, 2004.) に代表される所謂散乱解析による形状評価技術が現在でも検討されている。しかしながら、当測定技術を用いた長さ・形状評価では、測定対象試料にサイズ分布 (直径分布・長さ分布) が存在することから、極めてアーティファクトな影響を与え、信頼性が大幅に低下する重大な欠点をもつ。すなわち、過去に当該方法論の妥当性検証に用いられてきたナノ材料として代表される金ナノロッド等の円筒形材料は合成ナノ材料であるために必ずある程度の長さ・形状分布を持ち、この分布が散乱解析による評価結果に影響を与えてしまっていることは否めない。このことは過去の研究における散乱解析における散乱関数フィッティングの適切な選択に重大な問題を与えている。

2. 研究の目的

本研究では異方性ナノ材料として注目されるナノセルロース等に焦点を置いた分級と計測技術を組み合わせた新規評価基盤確立を目的とした研究を実施する。すなわち、材料の拡散速度の違いにより分級を実施する流動場分離法を利用し、新規に長さ・形状による分級理論を構築し、さらに長さ・形状分布幅の制御された分級試料に対し、散乱解析手法 (動的・静的) や顕微鏡に基づく精確計測・解析手法を検討することで、高精度な液中形状評価基盤の確立を目標とする。

具体的には、1) 流動場分離法を用いたナノセルロース等の異方性材料の長さ・形状分離法の確立、2) 分級試料における (偏光解消) 動的散乱法を用いた最適な角度依存性評価関数の選択等の測定精度最適化や適応性の検討、3) 静的散乱法や走査型顕微鏡を用いた分級試料の形状解析の実施と光散乱法測定結果の比較による散乱関数フィッティング理論の最適化と各測定法の適用範囲の体系化、を実施する。本研究は、現在その長さ・形状 (凝集体構造を含む) 評価法開発が切望されているナノセルロース等の異方性形状材料について、長さ分布・形状評価を達成し、今後のナノセルロース開発の発展への一石を投じることを意味している。

3. 研究の方法

本課題はナノセルロースの長さ分布・形状評価手法を確立するための 3 課題構成としている。課題 1 は流動場分離法によるナノセルロースの長さ・形状依存分級手法の確立である。流動場法による異方性材料の分級原理の解明は未だ達成されていないことから異方性ナノ材料の拡散係数 (回転ならびに並進) に基づく目的形状の最適な分級原理を解明する。課題 2 では、課題 1 で長さならびに形状がある程度整えられたナノセルロース分級試料の偏光解消動的散乱評価を実施し、同時に走査型顕微鏡による統計的形状

評価を実施することで、ナノセルロースのアスペクト比や長さ・構造による最適な角度依存性評価関数を評価し、その測定精度や信頼性と適用性を検討するとともに、課題1の分離原理に対する形状の分離因子について、より定量的に議論する。最後に課題3として、課題1、2で分級調製ならびに計測評価されたナノセルロース試料に対し、静的レーリー散乱解析等更なる評価を実施し、静・動的散乱や顕微鏡法間の相関比較を実施することで分級処理を用いたナノセルロース長さ分布・形状評価手法・解析法の体系化確立を目標とする。

4. 研究成果

(1) ナノセルロース等の異方性ナノ材料の評価を散乱法や顕微鏡法で精確評価するためには、前段に分級法を用い、ある程度の長さならびに形状を整える必要がある。長さ・形状分布が散乱法における評価精度や顕微鏡法評価におけるアンサンプル評価への影響を与えることは明快であり、一方でナノセルロースはサイズ範囲が広いことからサイズ排除クロマトではその広いサイズ範囲を網羅した分級を行うことはできない。そこで本検討課題では広い分級範囲をもつ流動場分離法をナノセルロース等の異方性ナノ材料分級に適用させ、走査型電子顕微鏡や偏光解消動的散乱測定等を用いたナノセルロースの液中形状評価の実施試料を最適に分級するための異方性ナノ材料における長さ・形状依存分級法としてお適用性に関しての検討を実施した。流動場分離法は材料のサイズに依存した拡散速度の違いで分級する方法であるものの、ナノセルロースのような異方性形状の材料では、通常の球状粒子の分級原理とは異なり、単純な並進拡散が流動場分離に影響を与えておらず、回転拡散すなわち形状が分級に影響を与えることが推察されることから、系統的に分級された試料を用いた異方性ナノ材料の流動場分離分級の可否を実証することがまずの本研究課題の目標である。

図1ではFFFによる分散ナノセルロースの分級結果、多角度光散乱検出器 (MALS) の90度検出された光散乱強度フラクトグラムを提示している。

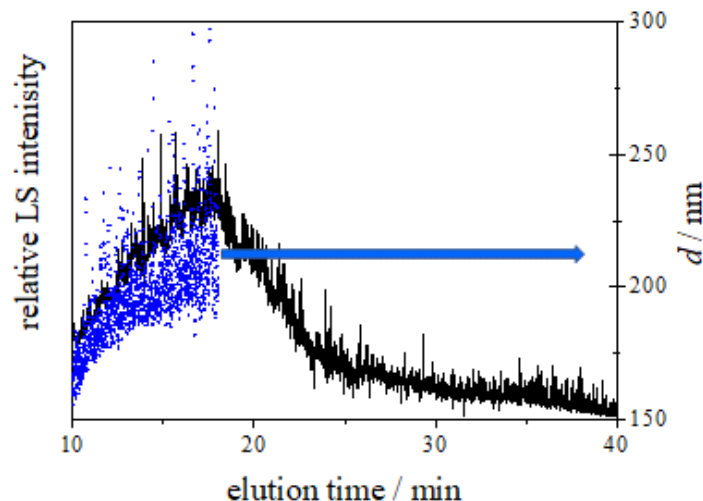


図1にFFFによる分散ナノセルロース試料のフラクトグラムを示す。検出器としては多角度光散乱検出器 (MALS) を使用して居り、図中の黒い実線は90度散乱強度をプロットしたものをフラクトグラムとして記載している。また、青点は球状関数でフィッティングを掛けた静的散乱解析によるサイズを疑似的に提示している。このようにある流出時間ごとに、何らかのフラクトグラムが示されたことから、これらの試料を分取し、その大きさを電子顕微鏡にて評価を行った。評価結果を図2に示す。

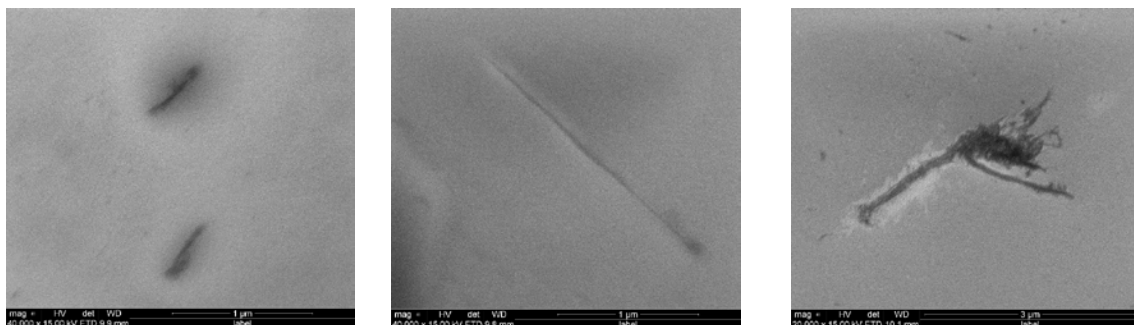


図2. 分取されたaのセルロースの評価結果：左図 (10-20 min)、中央図 (20-30 min)、右図 (30-40 min) において分取された試料における電子顕微鏡画像。

図中に示されるように FFF により、ナノセルロースはその長さに依存して分級されていることが確認できる。流出時間が短い分級成分については凝集はほぼなく短い状態を保っており、一方、流出時間の長い分級成分については凝集が進んでおり、その長さも $3\ \mu\text{m}$ と大きい。このように FFF により長さ分級を実施することで、長さ・径・アスペクト比などの形状に関わる要素を評価するうえで、その精度を保証しうる前処理法としての技術の実証とその精度確認を達成した。

(2) FFF により分級されたナノセルロース等の異方性形状を持つナノ材料の評価において、分散状態のまま、すなわち液中に分散された試料を乾燥することなく、形状評価することは理想である。このことを実証するために、金ナノロッドを用いた実証評価を行った。図 3 に示される様々な長さを持つ金ナノロッド試料について FFF 分級を実施し、まずはその長さならびに径を整えた試料を作製した。

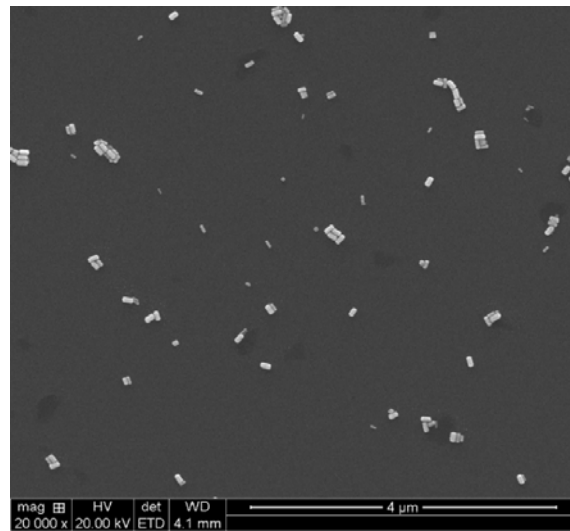


図 3 FFF 分級前の金ナノロッドの形状分布の電子顕微鏡イメージ

さらに本試料について FFF 分級を実施し、特定の長さならびに径を持つ試料として調整した各試料について図 4 に示す。

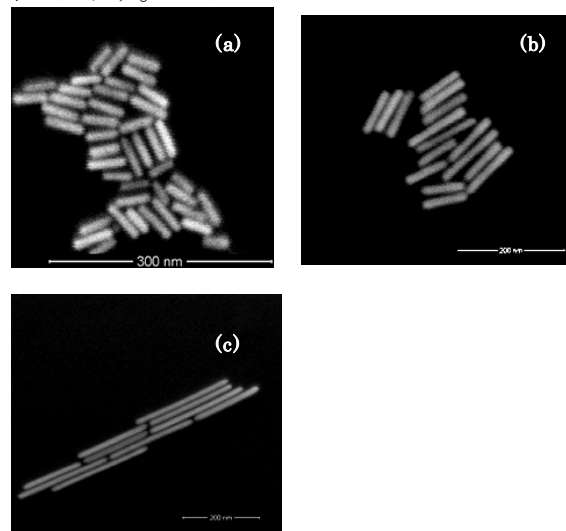


図 4 分級された試料におけるそれぞれの試料における電子顕微鏡イメージ。(a) GN1、(b) GN2、(c) GN3

このように分級された試料に対して、偏光解消動的散乱法と走査型透過顕微鏡測定を実施し、その測定精度についての議論を行った。具体的には動的散乱装置の入射光側に偏光子を設置し、各散乱角度において計測された自己相関関数から求まる緩和時間と散乱ベクトルの二乗値をプロットし、その傾きから並進拡散係数、切片から回転拡散係数を求める。流動場分離は材料の拡散速度の違いを分級要素とすることから、偏光解消動的散乱より求められた回転・並進拡散係数に対する流れ流動場分離法を用いたナノセルロース分級における長さならびに形状分離への相関影響を定量的に評価した。さら

に偏光解消動的散乱法にて求められた並進ならびに回転拡散係数から、Kirkwood-Riseman 理論や Tirado 理論等の形状評価理論式を適用し、分級されたナノセルロースの長軸・短軸長を算出した。表 1 ではこのような 2 種類の手法で評価されたアスペクト比の比較結果を示した。偏光解消動的散乱で評価されたアスペクト比は DDLS の下付け文字で表記されており、FE-SEM で評価された結果と比較した結果をまとめている。

表 1 偏光解消動的散乱ならびに走査型電子顕微鏡で評価された異方性試料のアスペクト比評価結果

	aspect ratio _{DDLS}	aspect ratio _{FE-SEM}
GN1	4.1 ± 0.3	3.9 ± 0.9
GN2	6.0 ± 0.6	6.3 ± 1.8
GN3	15.5 ± 0.3	17.4 ± 5.5

表中に示されているように、FFF 分級試料において実測された 2 種類の手法の評価結果の合致度は非常に高く、液中のままで計測が可能な偏光解消動的散乱法は精度の高い電子顕微鏡における計測値と非常に合致する計測値を与えることが確認された。このように FFF 分級を併用させることで、異なる計測法を用いた形状評価において測定法間の計測値を保証する因子を与えるという意味で、重要な役割を果たすということが証明された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 加藤晴久
2. 発表標題 Determination of number-based size distribution of particles using field-flow fractionation
3. 学会等名 , 20th International Symposium on Field- and Flow-Based Separations (国際学会)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 加藤晴久
2. 発表標題 Liquid phase characterization of nanomaterials by observation of particulate diffusion phenomena
3. 学会等名 IAAM Award Lecture-2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 加藤晴久	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 25
3. 書名 Characterization of Nanoparticles: Measurement Procedures for Nanoparticles, Field-flow-fractionation (FFF) with various detection system	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----