

令和 2 年 6 月 24 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07809

研究課題名（和文）還元性末端に着目したセルロースナノファイバー耐熱化法の開発

研究課題名（英文）Development of thermal resistance technology of cellulose nanofibers focusing on the reducing ends

研究代表者

秀野 晃大（Hideno, Akihiro）

愛媛大学・紙産業イノベーションセンター・講師

研究者番号：30535711

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、セルロースナノファイバー（CNF）の機能化による用途拡大を目指し、CNFの熱分解に関わる解析およびセルロースで蓄積された知見を活かす事で、CNFの熱分析に関する基礎的知見の拡充を行うと共にCNFの耐熱化を図るものである。CNFの熱分解には、セルロースの還元性末端に加えて、CNFに微量に含まれるヘミセルロースの影響が大きい事を示すと共に、酵素処理によって選択的にヘミセルロースを除去した結果、CNFの形状を維持した状態で、熱分解開始温度の上昇が可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CNFは、植物繊維から調製可能な高機能バイオマス素材であるが、高温時の着色や強度低下など熱安定性に問題を抱えていた。多くのCNFには、純度100%のセルロースはなく、ヘミセルロースが含まれている事に着目し、CNFの熱安定性に、セルロースの還元性末端だけでなく、ヘミセルロースが関与している事を明らかにした。さらにヘミセルラーゼによる選択的な除去によって、CNFの形態を維持したまま熱安定性を向上させる事に成功した。また、CNFの熱安定性が向上する事で、これまで着色する事によって制限されていた意匠用途に発展させる事が可能と考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aims to expand the basic knowledge of thermal analysis of CNFs and to improve the heat resistance of CNFs by utilizing the accumulated knowledge on thermal degradation of cellulose and CNFs. In this study, it was found that hemicellulose in CNF has a significant influence on the thermal decomposition of CNF in addition to the reducing end of cellulose. Moreover, thermal stabilizing CNF was succeeded by removing hemicellulose in the enzymatic treatment resulted in increasing the thermal decomposition temperature while maintaining its shape without fragmentation.

研究分野：農学 森林圏科学 木質科学

キーワード：セルロース ヘミセルロース ナノファイバー 還元性末端 酵素処理 熱分解 耐熱化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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) とは、約 3~100 nm 程度の超極細結晶性セルロース繊維を指す物質で、ここ数年の間に高機能先端材料として急速に注目を集めた。基本的に大部分の植物バイオマスから調製可能であり、地球上で最も豊富な有機物のセルロースから成る。東京大学の磯貝教授や京都大学の矢野教授らによって、CNF 調製方法が世界に先駆けて開発された事 (例えば Saito et al., 2006; Abe et al., 2007) で、研究開発の波が広がり、平成 26 年に内閣府が発表した成長戦略にもその研究開発促進が明記された。一説によると、CNF は鋼鉄の 1/5 の重量で、5 倍の強度があるとされ、高強度軽量の産業資材として自動車部品などへの用途が期待されている (Yano, 2010)。

CNF の用途開発における大きな課題の一つとして、熱安定性の向上がある。例えば、樹脂に CNF を混ぜることで軽量化・高強度化を達成すると共に化石資源由来の材料を天然繊維に置き換える事ができるが、通常 200-270°C 前後で樹脂混練が行われる為、混練時におこる CNF の着色やダメージが問題視されており、その対策が求められている。また、CNF のシート化や薄板を製造する際に、乾燥時の着色も問題になると考えられる。

一方、Saka や Kawamoto らの研究によると、Avicel (微結晶性セルロース粉末) の還元性末端を消失させることで、約 200-280°C 付近における熱分解に対して著しく安定化するという結果を得ており、還元性末端の熱分解がセルロースの脱水、着色、炭化に重大な影響を与えていると示唆している (例えば河本, 2015)。彼らは還元性末端および非晶領域における熱分解などが微結晶界面でおこることで、セルロースの熱分解が活性化されるという機構を提案している。

CNF 製造とは、セルロースを含む繊維をナノスケールまで解繊する工程であり、その過程において還元性末端の増大と部分的な非晶領域の増大を誘発する可能性が大きい。すなわち、セルロースは、解繊され、ナノ化されるほど、熱分解温度が低下し、比較的低温で着色、熱分解を起こすと推測される。実際に、セルロースをマイクロフィブリル化することで、熱安定性が大きく低下することが報告されており (Quievy et al., 2010)、一般的にマイクロフィブリル化セルロースよりもさらに解繊された CNF の熱安定性が低いことは想像できる。しかし、上記のようにセルロースの熱分解については、有用な知見が蓄積されているものの、最近研究開発が活発化している CNF の熱分解については、系統的且つ詳細な解析は殆ど行われておらず、耐熱化に向けた研究例も限られていた。

### 2. 研究の目的

約 3~100 nm 程度の極細セルロース繊維であるセルロースナノファイバー (CNF) が、先端高機能材料として注目されているが、用途開発における目標の一つとして、熱安定性の向上が挙げられる。しかし、CNF の熱分解については、系統的且つ詳細な解析は殆ど行われていない。また、CNF の耐熱化に関する研究例も限られており、簡便且つ効果的手法の開発が必要である。

我々は、柑橘類の内果皮や、コットン、パルプなどから CNF 調製に関する研究を行ってきた結果、コットンについてはナノ解繊しても結晶化度および熱分解温度を殆ど低下せず、他の素材由来 CNF より熱分解温度が高い事を明らかにしている。CNF 耐熱化に向けた有用な知見が隠されている可能性がある。さらに申請者はこれまで、多くのセルロース系バイオマスの熱分解挙動を解析し、セルロースの熱分析に関してノウハウや基盤データを蓄積してきた (例えば Hiden et al., 2008, 2014)。そこで、これまでに蓄積した熱分解特性の基盤データ等を活用して、CNF の熱分解特性を詳細に解析すると共に、耐熱化法の開発に挑む事を着想した。

本研究では、各種セルロース原料から自前で調製した CNF に関して、これまでに蓄積した熱分解特性の基盤データを活用して、(1) 耐熱性の高かったコットン由来 CNF の解析とその応用、(2) CNF の耐熱化法の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は、CNF の機能化による用途拡大を目指し、CNF の熱分解に関わる解析およびセルロースで蓄積された知見を活かし、CNF の熱分析に関する基礎的知見の拡充を行うと共に CNF の耐熱化を図るものであり、当初、下記の 3 つのサブテーマについて検討する予定であった。

(1) 比較的熱分解温度の高いコットン由来 CNF の熱安定化要因の解析

(2) CNF の還元性末端のグリコシル化による熱安定化の検討

しかし、上記研究を進める過程において、CNF に含まれる結晶性セルロース以外の成分が熱分解に大きく影響する事が明らかになった。そこで、当初の計画にはなかったが、

(3) CNF の耐熱性向上を目指し、CNF の酵素処理による非セルロース成分の除去について検討した。

### 4. 研究成果

(1) コットン由来 CNF の熱安定化要因の解析と、セルロースの還元性末端の定量法について検討した。コットンボールおよび乾燥コットンから、セルラーゼ処理および機械的解繊によって調製した CNF の熱分解および結晶化度を調べた結果、セルラーゼ処理によって、コットン原料の中では熱分解温度が相対的に低下したが、他原料に比べると熱分解温度は高い傾向にあった (図 1)。本結果は、CNF の熱安定性について、CNF 製造プロセスによるダメージの影響だけでなく、原料の組成や物性の影響が大きい事を示している。特に、コットンは高結晶性セルロースの繊維

であり、非晶領域やセルロース以外の成分が他の材料と比べ微少である事が重要と示唆される。

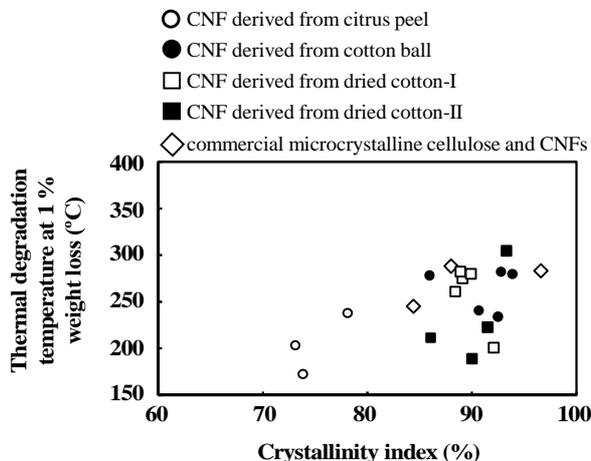


図 1 各種 CNF の結晶化度と熱分解温度

(2) 各種 CNF の還元性末端と熱分解挙動の関係を調査すると共に、CNF の還元性末端の選択的反応を試みた。還元性末端の定量法として、銅イオンの還元能を利用する BCA( bicinchoninic acid ) 法を選択し、呈色反応により測定した。市販 CNF における比較では、高い還元性を有する試料は、Differential thermogravimetric curve (DTG 曲線) のピークトップ温度が低く、還元性と熱分解温度に関係が見られた。しかし、広葉樹漂白パルプからグラインダーで調製した CNF の還元性は比較的良かったにも関わらず、熱分解温度も低い値を示しており、市販 CNF を含めて還元性と熱分解特性の関係を一括りに整理する事は困難であった。CNF の熱分解には、セルロースの還元性末端に加えて、セルロース以外の成分の影響が大きい事がわかった。CNF の還元性末端を選択的に修飾する手法として、セルロースの還元性末端に無水糖を付加する手法 ( Li et al., 2018 ) を試みた。既往の条件で、市販 CNF を原料に調製し、熱分析を行ったところ、予想に反して無処理の CNF よりも熱分解温度が大きく低下した。還元性末端を修飾する事で、寧ろ熱分解の起点になった可能性が考えられる。CNF の熱安定性向上における還元性末端の選択的な化学修飾法については、さらなる検討が必要である。

(3) CNF の熱安定化を目指し、ホットスターラー式加熱反応装置を用いて、市販 CNF をグリセロールやその他溶媒中で 180°C、1 時間反応させたところ、熱分解開始温度の上昇が確認された。しかし、一部のサンプルでは還元性の上昇が確認された。また、水酸化ナトリウム溶液中で反応させたところ、還元性が低下すると共に、熱分解開始温度が増加した ( 図 2 )。還元性を有し、セルロースと比べて熱分解温度の低いヘミセルロースなどが溶出された為と考えられる。

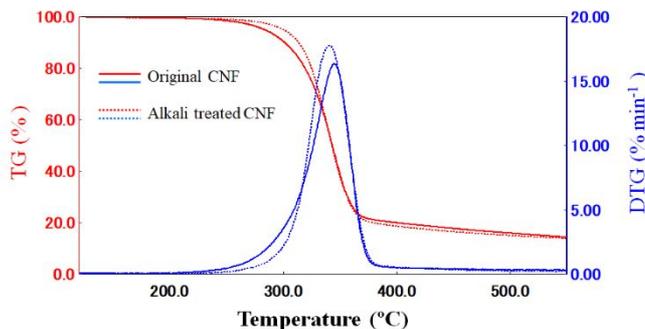


図 2 CNF の熱分解に与えるアルカリ処理の効果

(4) CNF の還元性と熱分解の関係性から、市販の CNF にセルロースの還元性末端の他に、セルロース以外の成分 (特にヘミセルロース) で還元性を有し、熱分解温度を大きく低下させる事や、非晶セルロースの存在によっても熱分解温度の低下が示唆された為、酵素処理による非晶セルロースおよびヘミセルロースの除去を検討した。酵素を使用する際は、至適 pH を維持するため、通常、緩衝液を用いるが、CNF に対して緩衝液中で酵素処理を行ったところ、CNF の熱分解温度が大きく低下した ( 図 3 )。緩衝液中の成分を CNF から完全に除去する事が困難であったと考えられる。そこで、緩衝液を使わないセルラーゼ処理を行ったところ、全体的に熱分解温度が上昇した。セルラーゼ処理によって、CNF に含まれる微量の非晶セルロースやヘミセルロースが除去されたと考えられる ( 図 3 )。さらに、緩衝液を使わず、数種類の市販ヘミセルラーゼを用いた酵素処理を行っても、同様に CNF の熱分解温度が上昇した ( 図 4 )。ヘミセルラーゼの種類によっては、熱分解重量減少率 10% の熱分解温度を約 10 上昇させるに至った。酵素の種類や反応条件を検討する事で、CNF の熱分解温度をさらに上昇させる事ができる可能性がある。ま

た、当初予定にはない試みであったが、CNF よりも熱分解温度の高い高分子を混ぜることで、CNF の熱分解温度が上昇することを確認した。CNF の用途によっては、添加剤として本高分子を適用できる。

CNF の酵素処理が形態に与える影響を調べたところ、セルラーゼ処理では CNF が断片化したのに対し、ヘミセルラーゼ処理では形態や繊維長を維持した (図 5)。結果的に、ヘミセルラーゼの種類を選別する事で、CNF の形態を保持した状態で熱分解温度を上昇させる事に成功した。構成糖分析の結果から、CNF に含まれる全てのヘミセルロースが除去されているわけではなく、一部のキシランが除去された事による熱安定性の向上であった。ヘミセルロースの局在性に関して、熱安定性の寄与に関わる領域を疑わせる結果であった。本処理 CNF の構造的特徴や他の物性についてはさらなる試験が必要である。しかしながら、酵素処理では現在の結果を大きく超える熱分解温度の向上は望めない可能性が高く、本プロジェクト終了後も引き続き酵素処理 CNF の特性を調査すると共に酵素処理および化学処理の併用、高分子の複合化など検討を進める予定である。

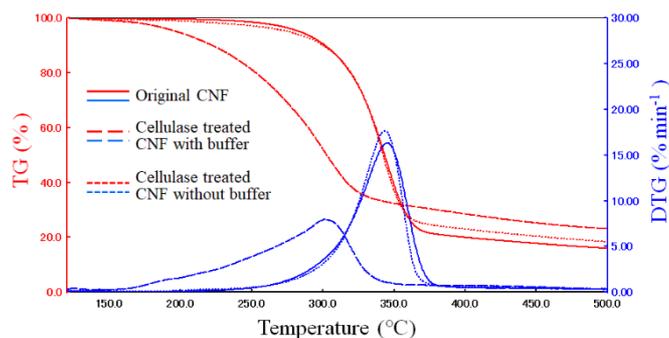


図 3 CNF の熱分解に与えるセルラーゼ処理および緩衝液の効果

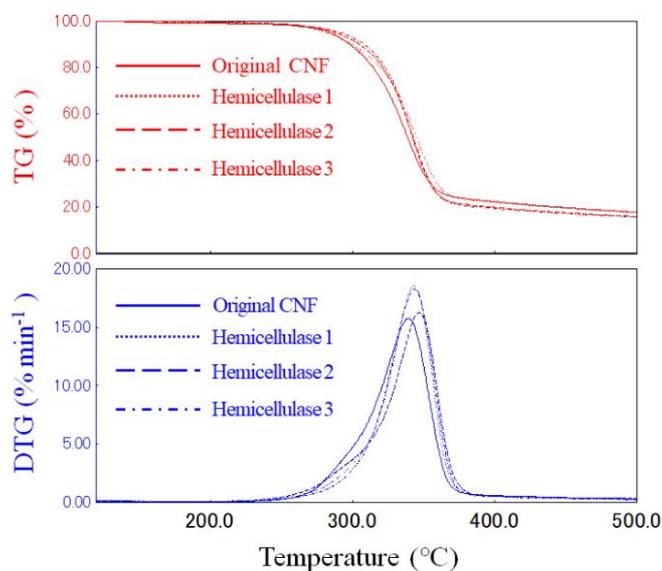


図 4 CNF の熱分解に与えるヘミセルラーゼ処理の効果

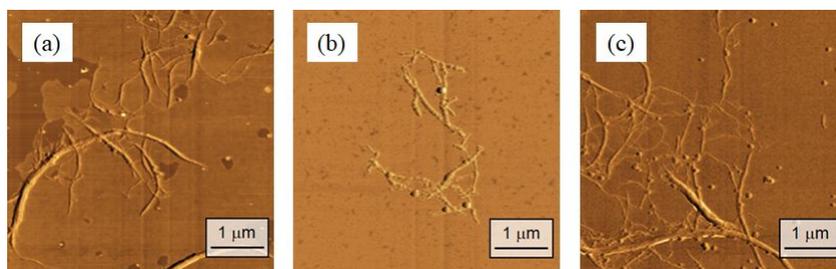


図 5 CNF の形態に与える酵素処理の効果

(a) Original CNF, (b) Cellulase treated CNF, (c) Hemicellulase treated CNF

< 引用文献 >

- Saito, T., Nishiyama, Y., Putaux, J. et al., *Biomacromol.*, 7, 1687-1691(2006)
- Abe, K., Iwamoto, S., Yano, H., *Biomacromol.*, 8, 3276-3278 (2007)
- 矢野浩之, *機能紙研究会誌*, 49, 15-20 (2010)
- 河本晴雄, *木材学会誌*, 61, 1-24 (2015)
- Quievy, N., Jacquet, N., Sclavons, M., Deroanne, C., Paquot, M., Devaux, J., *Ploym. Degrad. Stab.*, 95, 306-314 (2010)
- Hideno, A., Aoyagi, H., Ogbonna, J.C., Tanaka, H., *Energy Fuels*, 22, 120-122 (2008)
- Hideno, A., Abe, K., Yano, H., *J. Food Sci.*, 79, N1218-N1224 (2014)
- Li, G., Noguchi, M., Serizawa, K., Shoda, S., *Chimia*, 72, 874-881 (2018)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akihiro Hiden0	4. 巻 13
2. 論文標題 Thermal degradation behavior of ball-milled Miscanthus plants and its relationship to enzymatic hydrolysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BioResources	6. 最初と最後の頁 6383-6395
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1537/biores.13.3.6383-6395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 秀野晃大	4. 巻 2
2. 論文標題 熱分析による植物バイオマスの簡易評価法及び有効利用法の開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 72-75
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 秀野晃大	4. 巻 44
2. 論文標題 柑橘類果皮由来セルロースナノファイバーの特性および用途開発に向けた検討	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 四国紙パ研技術ニュース	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akihiro Hiden0*, Kentaro Abe, Hiroyuki Yano, Hiromi Uchimura	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Characterization of nanofibers from Japanese orange inner peels prepared using pectinase and diluted alkali	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本エネルギー学会誌	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） in press	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 秀野 晃大	4. 巻 25
2. 論文標題 熱分析によるセルロース系バイオマスの簡易評価	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cellulose communications	6. 最初と最後の頁 24-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hideno, A.*	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparison of the thermal degradation properties of crystalline and amorphous cellulose, as well as treated lignocellulosic biomass	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 BioResources	6. 最初と最後の頁 6309-6319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15376/biores.11.3.6309-6319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hideno, A.*, Abe, K., Uchimura, H. and Yano, H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Preparation by combined enzymatic and mechanical treatment and characterization of nanofibrillated cotton fibers	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Cellulose	6. 最初と最後の頁 3639-3651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10570-016-1075-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hideno, A.*	4. 巻 230
2. 論文標題 Short-time alkaline peroxide pretreatment for rapid pulping and efficient enzymatic hydrolysis of rice straw	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 140-142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="http://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.058">http://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.058</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 秀野晃大	4. 巻 23
2. 論文標題 第23回欧州バイオマス会議および展示会 (EUBCE2015) レポート	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Cellulose Communications	6. 最初と最後の頁 34-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Akihiro Hiden0
2. 発表標題 CHARACTERIZATION OF RESIDUE DURING ENZYMATIC HYDROLYSIS OF ALKALINE-PEROXIDE-TREATED BIOMASS BY THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS
3. 学会等名 22nd International Symposium on Analytical and Applied Pyrolysis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiro HIDENO*, Kentaro ABE, Hiroyuki YANO, Hiromi UCHIMURA
2. 発表標題 Characterization of nanofibers from Japanese orange inner peels prepared using pectinase and diluted alkali
3. 学会等名 6th Asian Conference on Biomass Science (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 熱分析によるアルカリ過酸化水素処理バイオマスの キャラクターゼーション
3. 学会等名 第27回日本エネルギー学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiro Hiden*, Takuma Fuchikawa, Tsugio Yatsuzuka, Hiromi Uchimura
2. 発表標題 Preparation of nanofibers from Japanese orange peel using a high-pressure homogenizer equipped with automatic pressure control system
3. 学会等名 2nd International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts & Environmental Sustainability (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 柑橘類果皮由来セルロースナノファイバーの特性および用途開発に向けた検討
3. 学会等名 四国紙パルプ研究協議会平成30年度第1回講演会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 セルラーゼの加水分解を受けたセルロース系残渣の熱分解挙動
3. 学会等名 第14回バイオマス科学会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihiro Hiden, Hiromi Uchimura, Kentaro Abe, Hiroyuki Yano
2. 発表標題 Thermal decomposition properties and reducing ability of nanofibrillated cellulose fibers
3. 学会等名 The 4th International Cellulose Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 ほどよく分かるセルロースナノファイバー ~特性と拡がり、関連する分析について~
3. 学会等名 アプリ開発のためのセルロースナノファイバー勉強会(株式会社島津製作所)(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 セルロースナノファイバーの還元性および熱分解特性の解析
3. 学会等名 第13回バイオマス科学会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大
2. 発表標題 加水分解酵素を用いた地域バイオマスからのセルロースナノファイバー調製およびその熱分解特性
3. 学会等名 第2回 繊維学会西部支部若手講演会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秀野晃大(発表者)、阿部賢太郎、内村浩美、矢野浩之
2. 発表標題 ペクチナーゼを用いて調製した柑橘類果皮由来セルロースナノファイバーの特性
3. 学会等名 ナノファイバー学会第7回年次大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 秀野晃大（発表者）、内村浩美、阿部賢太郎、矢野浩之
2. 発表標題 地域セルロース資源から酵素を用いて調製したセルロースナノファイバーの特性
3. 学会等名 セルロース学会第23回年次大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 秀野晃大（発表者）
2. 発表標題 稲わらの熱分解および酵素糖化に対するアルカリ過酸化水素処理の効果
3. 学会等名 第25回日本エネルギー学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 秀野晃大（発表者）
2. 発表標題 熱分析によるセルロースおよびリグノセルロースの簡易評価
3. 学会等名 第12回バイオマス科学会議
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 宇山浩（監修）(第9章：秀野晃大)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 株式会社シーエムシー出版	5. 総ページ数 217 (p.94-p.108の全15ページを担当)
3. 書名 セルロースナノファイバー製造・利用の最新動向（第9章 ナノセルロースの分析・評価法）	

1. 著者名 磯貝明 編 担当箇所：秀野晃大，内村浩美，阿部賢太郎，矢野浩之	4. 発行年 2016年
2. 出版社 株式会社シーエムシー・リサーチ	5. 総ページ数 245 (担当箇所12ページ)
3. 書名 ナノセルロースの製造技術と応用展開 (第8章 酵素を用いた地域セルロース資源からのセルロースナノファイバー調製に向けた取り組み)	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 微細繊維脱液装置	発明者 内村 浩美，藪谷 智規，秀野 晃大， 他6名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許6653891	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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
---------------------------	-----------------------	----