

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：34511

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580236

研究課題名(和文) ナノ食品 - 木質パルプから構造制御されて得た機能性食品材料 -

研究課題名(英文) Nano food - structurally designed functional food made from wood pulp -

研究代表者

山根 千弘 (Yamane, Chihiro)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号：70368489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：セルロース/水酸化ナトリウム水溶液から世界で初めての再生セルロース食品材料の研究を行った。再生セルロースを食品として展開するためには、セルロース溶液からの再生セルロースの構造形成機構を解明することが先決である。それをベースに食品としての望ましい構造に制御し、さらに付加価値を高めるために生理機能を明らかにする必要がある。本申請では、(1)分子シートが構造形成初期に形成することを高輝度X線(Spring-8)により実験的に証明し、(2)分子シートの形成を多糖により抑制することで結晶化度が低く、食感の良い構造を調製でき、(3)生理機能の解明のための基盤となる表面エネルギーを計算化学的に明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Food materials prepared from cellulose aqueous sodium hydroxide solution have been studied for the first time in the world. In order to create new food materials made of regenerated cellulose, the mechanism of structure formation from cellulose solution, suitable structure for the food materials and physiological functions of the materials have to be clarified. The following results have been obtained by this study: (1) the starting structure from the solution was proved to be a molecular sheet detected by synchrotron X-ray scattering (Spring-8); (2) poly saccharides prevented the molecular sheet tightly forming, which resulted in the structure of low crystallinity with excellent oral sensation; (3) surface energy of regenerated cellulose was calculated using computational procedure as scientific basis to investigate physiological functions of the food materials.

研究分野：再生セルロースの構造と応用に関する研究

キーワード：セルロース 再生セルロース 構造 構造形成 分子動力学 機能性食品 食物繊維 パルプ

1. 研究開始当初の背景

セルロースはグルコースあたり3つの水酸基を持ち、化学構造的には水に溶けてもおかしくはない。しかし、多様な水素結合が高度に発達しているため、セルロースは一般的な溶剤に溶けないと長年信じられてきた。ところが、申請者らはサルファイト法溶解パルプに爆砕法などを施し、セルロースの分子内水素結合を一部開裂させることにより、セルロースを水酸化ナトリウム水溶液に可溶化することに成功した。当初は、セルロース/水酸化ナトリウム水溶液から衣料用繊維を調製する検討を行い、ビスコースレーヨン繊維の代替となる再生セルロース繊維を得ることに成功した。この間、論文 27 報、特許 35 報(海外 4 報)の発表をした。

申請者らの発見を受けて、再生セルロース産業の発達しているヨーロッパで、その関連研究がヨーロッパ共同体の基盤的研究プロジェクトのひとつ( " BIOCELSOL " ,総額約 4 億円)として 2004 年~2007 年の期間行われていた。また、申請者らの指導を基に中国武漢大学で繊維化の研究がなされている。しかし、これは衣料用レーヨン繊維の代替を目的とした研究であり、食品分野の研究開発は当研究室以外世界的にもおこなわれていない。食品への展開がなされない理由は、研究の実施主体が繊維・高分子研究者なためであろう。

このプロセスの最も大きな特徴は、セルロースと水と水酸化ナトリウムしか使用しないため、得られたセルロース成形体は法律的に可食なことである。従来のセルロース成形体の調製には二硫化炭素、銅アンモニアなど法律的に食品への使用が許可されていない薬品が使われているため、本申請で得られるものは世界で唯一の法律的に可食なセルロース成形体といえる。従来からも微結晶セルロースや微細繊維状セルロースなど食品添加物として使用されている例はあるが、従来品は溶解してその形や構造を任意にコントロールすることができないため、その使用範囲・量はきわめて限定されている。具体的には、食感が極めて悪いため、いわゆる添加剤としての使用しかできず、食品として大量に食することは不可能である。

2. 研究の目的

前述のように木質パルプから世界で始めて法的に可食なセルロース成形体が調製可能になったが、食感的にも可食で、かつ新機能を持つものにしなければならない。そのため研究期間内に、構造形成機構を解明し、食品として望ましい構造にするための制御技術を構築し、最終的には、新たな食品としての機能、すなわちナノ食品の生理機能と物理機能を明らかにする。

(1) セルロース溶液からの構造形成機構の解明

最終的な構造・物性に対して、溶解状態からのセルロースの構造形成過程が極めて重要

な意味を持つ。古くからセルロースの溶解状態や最終的な固体構造は良く検討されてきたが、溶液から固体に至る構造形成過程はブラックボックスで何もわかっていなかった。申請者らは分子動力学計算を用いて、水中という極めて単純化された系ではあるが、図 1 のような構造形成モデルを提案した。本研究では、単純化されたモデル系から現実的な系に拡大する。

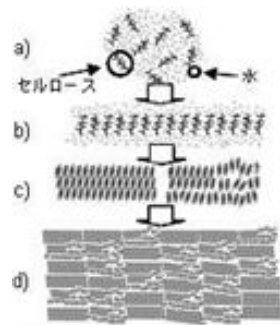


図 1 構造形成モデル

(2) ナノ食品の構造解明と構造制御

ナノ複合体(図 2 に示す食品材料)について、そのでんぷんとの複合状態は、お互いサブミクロン以下で分散していることがわかったが、それらの相互作用や分子分散状態などは未検討である。分子レベルでの複合状態を明らかにするとともに、その制御技術を確立する。構造形成メカニズムについて、実験とコンピュータ・シミュレーションを組合せて解明し、精密構造制御技術を確立し、食材として望ましい特性との関連を明らかにする。

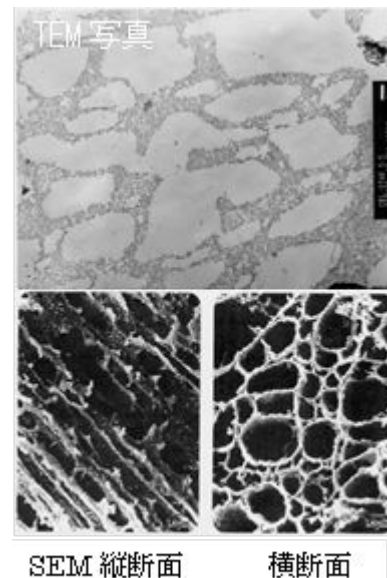


図 2 ナノ複合体

(3) ナノ食品の生理機能と物理機能

最終的には、セルロースをナノ複合化することによる、生理機能(脂質吸収抑制、血糖上昇抑制、味・臭気などの風味、カロリー低減効果または代謝・消化吸収の有無など)や

物理機能(粘度特性,食感,各種物質の吸着,熱水安定性)への影響を解明し,ナノの意義付けを行うことが目的である。これらの機能はセルロースの固体表面と第3物質との相互作用により発現する。本研究期間での目標は,セルロースの表面状態を計算機化学的に解明することである。

### 3. 研究の方法

前記のように本研究課題の目標を(1)構造形成機構の解明;(2)ナノ食品の構造解明と構造制御;(3)ナノ食品の生理機能と物理機能のように定めた。次にそれぞれの目標に対して,研究の方法を示す。

#### (1) 構造形成機構の解明:

申請者は以前より,水中という極めて単純化されたモデル系ではあるが,セルロースの構造形成メカニズムを提案してきた。これらの検討は分子動力学計算により行ったが,基本的にこの方法を踏襲した。現実に近い溶解および凝固系に,様々な分子シートを配置して,その安定性や分子内・分子間水素結合,主鎖,側鎖のコンフォメーション,ピラノースリングの傾きなどのパラメーターを測定し構造形成を推測した。同時に実験的にナノ食品を調製し,実験的に得られたナノ食品の構造パラメータと比較しながら検討を進めた。このように分子動力学計算と実験を組合せて構造形成機構を明らかにした。セルロースの剛直性は多糖類の中で際立っている。セルロースの結晶性の高さは,このセルロース分子鎖の剛直性に起因するものであり,この剛直性は主鎖のコンフォメーションの分布で判断できると考える。この分布幅(と

の分布)を求め,セルロース分子の本質を明らかにした。

#### (2) ナノ食品の構造解明と構造制御:

ナノ複合体は,セルロース/水酸化ナトリウム水溶液に,食用多糖を一緒に溶解し,セルロース/食用多糖/水酸化ナトリウム水溶液とした上で,凝固(構造制御)を行い調製される。今まで,セルロースと食用多糖は,お互いサブミクロン以下でブレンドしていることや,電子顕微鏡写真で示すようにきわめて多孔質なことがわかったが,分子レベルの複合状態や相互作用についてはほとんど何も検討されていない。そこで,セルロース溶液に多糖を混合溶解し,凝固剤の特性を系統的に変化させて,系統的に構造が異なるセルロース成形体を調製し,ナノ複合体の構造や相互作用の解析を進めるとともに,計算科学的手法も組合せて,精密構造制御へとつなげた。計算科学的手法については,アミロースとセルロースの相互作用に関して先行して検討を開始しており,この方法論が十分適用可能なことを確認している。

#### (3) ナノ食品の生理機能と物理機能

ナノ食品の生理機能は例えば,脂質吸収抑制,血糖上昇抑制,味・臭気などの風味,カロリーー低減効果または代謝・消化吸収の有無

などが挙げられる。これらの機能はセルロースの固体表面と第3物質との相互作用により発現する。したがって,まず,分子動力学でセルロース結晶面の表面エネルギーを検討した。その後,様々な機能を発現させると考えられる第3物質との相互作用を検討する。

### 4. 研究成果

木質パルプを水酸化ナトリウム水溶液に溶解する技術を見出し,世界で始めて法的に可食なセルロース成形体が調製可能になったが,食感的にも可食で,かつ新機能をもつものにならなければならない。そのため,本研究課題の目標を(1)構造形成機構の解明;(2)ナノ食品の構造解明と構造制御;(3)ナノ食品の生理機能と物理機能のように定めた。次にそれぞれの目標に対して得られた成果を示す。

#### (1) 構造形成機構の解明:

今までの研究結果から,セルロース溶液からの構造形成は,まずセルロース分子がグルコピラノース平面同士の疎水性の相互作用によりシート状の分子集合体を形成し,次にこのシートが水素結合により積層し結晶や非晶などの二次構造を形成してなされるとされる。疎水性の相互作用で形成した分子シートが積層して結晶化するとしたら,この分子シートの状態が得られる再生セルロースの結晶性を支配するはずである。そこで,凝固剤として水より誘電率の低いアセトンを用いること,また,セルロースとの相互作用が期待できるアミロースをブレンドし,分子動力学検討と,実際の実験を行い,分子シートの状態と結晶性の相関を調べた。まず分子動力学計算では,アセトン中では分子シートは分断し,表面積を最小とするような凝集状態となった。また,アミロースのブレンドでは,セルロースとアミロースのピラノースが相互に重なり合い,セルロースの分子シートは分断された。このような構造からは,結晶性が低い再生セルロースが予想される。また,セルロース分子鎖の主鎖のコンフォメーションの分布は広く,分子内水素結合は低く,分子間水素結合は発達していた。これらはすべて,最終的に得られるセルロースの結晶化度が低くなることを示唆している。一方,実験による検討において,アセトンを沈殿剤として用いることや,アミロースなどの多糖をセルロース・水酸化ナトリウム水溶液系にブレンドすることで,極めて結晶性の低いセルロースが得られた。このように分子シートの状態が再生セルロースの結晶性に影響を及ぼすことが確認でき,セルロース溶液からの構造形成機構のほぼ全容を明らかにすることができた。

一方最近,重合度700の再生セルロースから,直径30nmの超微粒子が調製された。もしセルロースが従来からいわれているように伸びきり分子鎖であったのなら,重合度700のセルロース分子の長さは350nmにもな

り、とても 30nm の粒子の中に納まらない。これは、セルロース分子鎖が折れ畳まれていることを示している。したがって、折れ畳み分子鎖による分子シート構造の可能性を検討する必要がある。この検討を行うために、24 年度はアクセルリス社製の科学計算用ソフトウェア、Materials Studio Ver. 6.1 を購入した。検討の結果、グルコースリングのリングコンフォメーションが通常のイス形からボート形に変わること、たった一つのボート形グルコースリングでセルロース分子鎖は 180° の折れ畳が可能なることを見出し、その折れ畳分子鎖からなる分子シートが伸びきり鎖からなる分子鎖と同等な挙動をすることを確認し、今までの検討手法がそのまま使えることを確認した。

セルロース/水酸化ナトリウム水溶液は高温状態でゲル化する。そこで当該溶液の昇温過程（ゲル化過程）を SPring-8 の高輝度放射光 X 線で追跡した。まず断面の Guinier プロットから、ゲル化が進んだ時点でもセルロース分子鎖が 1 本で存在している可能性が指摘された。一方、厚みの Guinier プロットでは、ゲル化の進行にしたがってシート状物の厚さが増加する様子が観察された。そして最終的にセルロース 型の結晶ピークが広角領域に観察された。すなわち、我々が提案している疎水性の相互作用により形成したシート状の分子集合体が架橋点となってゲル化が開始され、その架橋点（結晶核のようなもの）に分子シートが積層してゆき、ついに結晶が生じるといふ、より詳細なメカニズムを提案できた。

#### (2) ナノ食品の構造解明と構造制御

前述のように、多糖をブレンドすることにより分子シートの形成が抑制され、結晶性が低下し、大幅な構造制御が可能となった。特にコンニャクグルコマンナンをナノブレンドすることにより、食感が著しく向上し、ノンカロリー食品材料として展開できる見通しを得た。このノンカロリー食品材料については、再生セルロース繊維のメーカーである、オーミケンシ株式会社と共同で研究開発中である。なお、この麺類は、全く新しい製法で作られたものではあるが、食品として展開できることを厚生労働省に確認することができた。

#### (3) ナノ食品の生理機能と物理機能

一方、グルコマンナンによるセルロースの結晶性の低下や想定する生理機能は、セルロースと他成分との相互作用により発現されるはずであるから、その相互作用を解明することが重要である。これは、本研究課題で平成 24 年度に購入した科学計算用ソフトウェアを使用して検討した。まず、検討の基盤として、セル II 結晶の親水性結晶面である（1 - 10）結晶面をコンピュータ上に設置して、その表面エネルギーを計算した。（1 - 10）結晶面の表面エネルギーは 46mN/m であり、実測値と極めて近似していた。（1

- 10）面は、再生セルロースの表面に平行に面配向する結晶面なので、計算値と実測値が近似するのは極めて合理的な結果である。今後は他成分との相互作用を明らかにし、望ましい構造を提案してゆくとともに、生理機能との相関を検討してゆく。

#### (4) 得られた成果のインパクトと今後の展望

前記の検討により、世界で初めてのセルロース系食品材料を提案することができた。今までも微結晶セルロースや微細繊維状セルロースなど食品にごく少量添加して、食品に分散安定性や増粘性を付与する、食品添加剤はあった。しかし、食感が極めて悪いため、大量に食することはできず、食品材料としての展開はできなかった。ナノ食品の出口分野の一つとしてまずは、グルコマンナンとセルロースの複合体の事業化検討を継続する。これにより、極めてカロリーの少ない食品材料が提供できる。すなわち、これは、現在先進国で問題となっているメタボリックシンドロームへの対応や、糖尿病患者に対する治療食としても展開可能である。今後はセルロースのノーカロリー性に加え、生理機能の探索を継続する。今までのセルロースとは構造的に異なっており、大量に食することになるので、今までとは異なった機能が期待できる。本研究のコンピュータシミュレーションにより、再生セルロース表面の表面エネルギーを計算できるようになった。すなわち、セルロースと第 3 物質との相互作用を計算できるようになり、新たな機能の発現を科学的に追求できる基盤ができたといえる。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 12 件)

C. Yamane, Structure formation of regenerated cellulose from its solution and resultant features of high wettability, Nordic Pulp and Paper Research Journal, 30, (2015), 78-91 査読有.

DOI: 10.3183/NPPRJ-2015-30-01-p078-091

C. Yamane, K. Abe, M. Satho, and H. Miyamoto, Dissolution of cellulose nanofibers in aqueous sodium hydroxide solution, Nordic Pulp and Paper Research Journal, 30, (2015) 92-98 査読有.

DOI: 10.3183/NPPRJ-2015-30-01-p092-098

H. Miyamoto, U. Schnupf, K. Ueda, and C. Yamane, Dissolution mechanism of cellulose in a solution of aqueous sodium hydroxide revealed by molecular dynamics simulations, Nordic Pulp and Paper Research Journal, 30, (2015), 67-77 査読有.

DOI: 10.3183/NPPRJ-2015-30-01-p067-077

宮本ひとみ, 山根千弘, 上田充夫, 岡島邦彦, ボールミル処理により調製した羊毛

の高次構造と染着性, 繊維学会誌, 70, (2014) 8-13 査読有.

DOI: 10.2115/fiber.70.8

H. Miyamoto, M. Tsuduki, C. Yamane, M. Ueda, K. Okajima, Influence of dyestuffs on the crystallinity of a bacterial cellulose and a regenerated cellulose, *Textile Research Journal*, 84, (2014) 1147-1158 査読有.

DOI: 10.1177/0040517513517960

C. Yamane, H. Miyamoto, D. Hayakawa, and K. Ueda, Folded-Chain Structure of Cellulose II Suggested by Molecular Dynamics Simulation, *Carbohydr. Res.*, 379, (2013) 30-37 査読有.

DOI: 10.1016/j.carres.2013.06.012

H. Miyamoto, C. Yamane and K. Ueda, Structural changes in the molecular sheets along (hk0) planes derived from cellulose I by molecular dynamics simulations, *Cellulose*, 20, (2013) 1089-1098 査読有.

DOI: 10.1007/s10570-013-9915-5

A. Tabara, C. Yamane and M. Seguchi, Adsorption mechanism for xanthene dyes to cellulose granules, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 76(5), (2012) 870-874 査読有.

DOI: 10.1271/bbb.110634

D. Hayakawa, K. Ueda, C. Yamane, H. Miyamoto, F. Horii, Molecular dynamics simulation of the dissolution process of a cellulose triacetate-II nano-sized crystal in DMSO, *Carbohydr. Res.*, 346, (2011) 2940-2947 査読有.

DOI: 10.1016/j.carres.2011.10.019

H. Miyamoto, C. Yamane, M. Seguchi, K. Ueda and K. Okajima, Supermolecular structure of cellulose/amylose blends prepared from aqueous NaOH solutions, *Carbohydr. Res.*, 346, (2011) 807-814 査読有.

DOI: 10.1016/j.carres.2011.01.037

A. Tabara, C. Yamane, M. Abe and M. Seguchi, Adsorption of xanthene food additive dyes to cellulose granules, *Cellulose*, 18(1), (2011) 45-55 査読有.

DOI: 10.1007/s10570-010-9462-2

H. Miyamoto, C. Yamane, M. Seguchi, K. Okajima, Comparison between cellulose blend films prepared from aqueous sodium hydroxide solution and edible films of biopolymers with possible application for new food materials, *Food Sci. Technol. Res.*, 17, (2011) 21-30 査読有.

DOI: 10.3136/fstr.17.21

〔学会発表〕(計5件)

M. Seguchi<sup>1</sup>, A. Tabara, C. Yamane, Effects of size of cellulose granules on dough rheology, microscopy, and breadmaking properties, 6th International

Dietary Fiber Conference, 2 June 2015, Les Salons De L'Aveyron, Paris (France).

山根千弘(招待講演), セルロースの食品応用への基本的考え方, 日本穀物科学研究会, 2015年5月16日, 神戸女子大学三宮キャンパス(兵庫県神戸市)

山根千弘(招待講演), コットンギャップを埋める再生セルロースの構造設計と制御, 繊維学会 研究所長会議 講演会, 2015年5月15日, ラフォーレ琵琶湖(滋賀県守山市)

H. Miyamoto, C. Yamane, M. Seguchi, Cellulose/starch blend films prepared from aqueous sodium hydroxide solution as new food materials with characteristic features in comparison to other edible films, Starch Round Table, 1 October 2013, Albuquerque, New Mexico (USA).

C. Yamane, H. Miyamoto, K. Okajima, Edible regenerated cellulose prepared from cellulose/aqueous sodium hydroxide solution, The EPNOE 2011 International Polysaccharide Conference, 31 August 2011, Wageningen (Netherlands).

〔図書〕(計3件)

著者名、出版社名、書名、発行年(西暦)及び総ページ数(共著の場合は最初と最後の頁)を記入すること。

山根千弘 他, 技術情報協会, セルロースナノファイバーの調製, 分散・複合化と製品応用, 第3章 第1節 セルロースの構造的特徴とナノファイバーの物性制御, 2015, PP.191-198.

山根千弘 他, 講談社, セルロースのおもしろ科学とびっくり活用, 2012, PP. 16,17; PP. 58,59; PP. 78,79; PP. 196,197.

山根千弘 他, 技術情報協会, セルロースナノファイバーの樹脂への分散技術と応用事例~解繊・前処理技術から配向制御まで~ 第1章第2節セルロースの構造的特徴と制御方法, 第5章第4節セルロースナノファイバーの食品用途への展開, 2012, PP. 12-21; PP. 228-237.

〔その他〕

ホームページ等

<http://achieve.kobe-wu.ac.jp/kwuhp/KgApp?section=300000&kyoinId=yimiggoggy>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山根 千弘 (YAMANE, Chihiro)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号: 70368489

### (2) 研究分担者

上田 一義 (UEDA, Kazuyoshi)

横浜国立大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号: 40223458