

機関番号：33919

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23655147

研究課題名(和文) 環境低負荷型バイオマスセルロースの分解・高機能化技術の開発

研究課題名(英文) Development of degradation and functional technique of cellulose with low environmental burden

研究代表者

大浦 健 (Ohura, Takeshi)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号：60315851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではメカノケミカル反応を利用してセルロースの分解と表面修飾について検討した。水中におけるセルロースを機械的破壊した結果、セルロース表面から分子レベルで進行していることが明らかとなった。次にセルロースとメタクリル酸2-ヒドロキシエチル(HEMA)を真空中試験管内で機械的破壊を行ったところ、セルロース-HEMAのブロック共重合体の生成が確認された。さらにベンジルセルロースを用いてHEMAと反応させたところ、重合したHEMAの立体規則性に変化が見られた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the degradation and surface modification of cellulose using mechano-chemical reaction. The mechano-chemically degradation of cellulose proceeded from the surface at the molecular level. Next, mechano-chemical reaction of cellulose and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) in a tube under vacuum showed the production of block copolymer of cellulose-block-poly(HEMA). Furthermore mechano-chemical reaction of benzyl cellulose and HEMA in a tube under vacuum also produced the block copolymer, whereas the tacticity of HEMA polymerized varied as compared with the case of cellulose.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・環境関連化学

キーワード：メカノケミカル セルロース HEMA 立体規則性 ブロック共重合体

1. 研究開始当初の背景

セルロースはグルコースを単位ユニットとした高分子であり、地球上で最大の再生可能資源である。セルロース分解によるグルコースの生産技術や、セルロースの機能改質はバイオマスの有効利用の観点から極めて重要な課題である。これまで、木質系セルロースの分解に関しては、金属触媒、酸・アルカリ法、超臨界水法など古くから数多く行われているが、これらの方法は環境負荷が大きく、セルロース分解に普及しているとは言い難い状況である。一方、セルロースの機能改質としては、セルロース側鎖の改変(グラフト化)に限られていた。

以前より合成高分子の分子鎖運動解析や表面修飾法の一つに機械的粉碎による方法が知られていた。真空下で機械的粉碎方法で処理された高分子化合物は、いずれも主鎖が選択的に分解されていた。さらに、切断末端がラジカル種を形成していることが確認されている。従って、この機械的粉碎技術をセルロースに適応すれば主鎖の分解が進行し、セルロースのナノ粒子化や分解産物として -グルコースやセロピオースなどの糖の生成が期待できる。さらに、粉碎処理後のセルロースをラジカル開始剤として用いれば、新規ブロック型セルロース共重合体の創製が期待できる。いわゆる究極的グリーン触媒「紙触媒」としての利用が期待できる。

2. 研究の目的

セルロース分解によるグルコースの生産技術や、セルロースの機能改質はバイオマスの有効利用の観点から極めて重要な課題である。これまで、木質系セルロースの分解に関しては、金属触媒、酸・アルカリ法、超臨界水法など古くから数多く行われているが、これらの方法は環境負荷が大きく、セルロース分解に普及しているとは言い難い状況である。

一方、合成高分子の分子鎖運動解析や表面修飾法の一つに機械的粉碎による方法が知られていた。真空下、機械的粉碎方法で処理された高分子化合物は、いずれも主鎖が選択的に分解されていた。さらに、切断末端がラジカル種を形成していることが確認されている。従って、この機械的粉碎技術をセルロースに適応すれば主鎖の分解が進行し、セルロースのナノ粒子化や分解産物として -グルコースやセロピオースなどの糖の生成が期待できる。さらに、粉碎処理後のセルロースをラジカル開始剤として用いれば、新規ブロック型セルロース共重合体の創製が期待できる。本申請研究は、バイオマスセルロースの簡易・環境低負荷を志向した主鎖分解法の開発、分解によるナノ粒子化、新規複合材料の創製を目指す。

3. 研究の方法

(1) 機械的粉碎によるセルロースナノ粒子

化

セルロースのナノ粒子化を試みるために水中での機械的粉碎を行った。具体的には微結晶セルロース(20 μ m: Aldrich)を以下に示す方法で機械的破壊を行った。10mL ねじ口試験管にアルミナボール HD-2(直径 2mm)0.95gを入れ、微結晶セルロース、溶媒 2mL を添加した。今回、溶媒は MilliQ 水を用いた。振盪機(振盪 300rpm、振幅 40mm、SHAKER SA-300: ヤマト科学)を用い、室温常圧条件下で振盪による機械的破壊を行った。所定時間振盪後に試料をエッペンドルフチューブに移し、遠心分離機で 12,000rpm、10 分間の遠心分離を行い、上澄みを 0.2 μ m フィルターに通した。クロロホルム溶媒の Sample は振盪後、MilliQ 水を加えボルテックス後、同様の手順で水層を回収した。濾滓は 80 オープンで一晩乾燥させ、デシケータ内で保存し、上澄みは 4 にて保存した。反応によって得られた分解産物を LC/MS、分解後のセルロースを SEM を用いて解析した。

(2) メカノケミカル反応による主鎖型セルロースブロック共重合体の合成

メカノケミカル反応によるセルロース-b-PHEMA は以下に示す方法で行った。乾燥処理を行ったセルロース 20mg とアルミナボール HD-2(直径 2mm)20 粒(約 0.4g)を硬質ガラス管(200mm, 10mm)に入れた。活性炭を用いて重合禁止剤を除いたメタクリル酸 2-ヒドロキシエチル(HEMA)を 20mg 添加し、真空ラインへ接続した。真空ラインに接続されたガラス管内の気体を除去し、その後真空ラインに接続したままガラス管を液体窒素中に浸し凍らせ、液体窒素から取り出し解凍する(freeze-pump-thaw 法)工程を 3 回繰り返し、試料中の溶存気体を除去した。真空引きした Sample 管を溶封し真空ラインから切り離れた。ガラス管を振盪機により 0~6 時間、室温条件下で機械的破壊を行い、メカノケミカル反応を進行させた。機械的破壊後のガラス管を開封し、粉末試料を取り出しナスフラスコに入れた。メタノールを添加し、還流装置に接続し、50 、2 時間攪拌した。試料とメタノールの混合された分散状態の溶液をねじ口試験管に写し、遠心分離機にて遠心分離 3,000rpm \times 10 分間を行った。未反応 HEMA が含まれる上澄みメタノール層を取り除いた。混合溶液をすべて遠心分離に掛けた後、メタノールを加え、ボルテックス、遠心分離を行い、メタノール層を捨てる工程を 2 回繰り返し洗浄した。濾滓を 80 のオープンで 1 日乾燥させ、合成物を得た。合成物は FTIR ならびに 1 H-NMR にて構造解析を行った。

(3) メカノケミカル反応による立体規則性重合

メカノケミカル反応によるセルロースブロック共重合体を合成するとき、重合開始点となるセルロースに嵩高い置換基を導入す

ることで、重合高分子の立体規則性の制御を試みた。そこで本研究ではベンジル機の導入を試み、既報に従いベンジルセルロースを製し、HEMA とのメカノケミカル反応を試みた。

4. 研究成果

(1) セルロースのナノ粒子化

経時的なセルロースの機械的破壊に伴いセルロース粒子の分散性が向上することが確認された(図 1)。流体中の粒子の沈降速度は粒径に比例するため、機械的破壊を行うことでセルロース粒子の微粒子化が経時的に進行したことが示唆された。

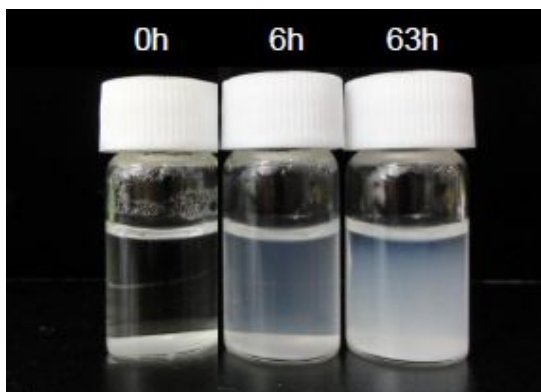


図1. 2日間静置した後のセルロース粒子沈降
左から機械的破壊0h, 6h, 63h

SEM 測定により 10 ~ 200 μm 程度の様々な粒径をもつ粒子が確認された。図 2a は機械的破壊前のセルロース粒子表面を、図 2b は 90 時間機械的破壊を行ったセルロース粒子表面を表している。機械的破壊の前後を比較すると粒子表面の起伏が大きくなっていることが確認された。これら表面の様子からセルロース粒子表面構造の破壊が起こっていることが確認された。

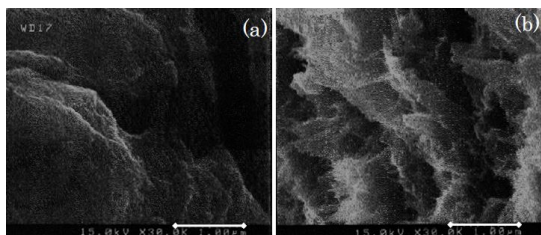


図 2. セルロース機械的破壊後の SEM 写真
(a) 0h, (b) 90h

セルロースの機械的破壊前(0 時間)と機械的破壊後(90 時間)の LC/MS で調べた結果、0 時間、90 時間ともに確認された糖は、フルクトース、グルコース、グルコース二糖体であった。LC/MS による定量結果、0 時間では定量下限値以下のフルクトースと 0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のグルコース、二糖体が 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 検出された。機械的破壊を 90 時間行った試料からはフルクトースが 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、グルコースが 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、二糖体が 3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ が検出された。検出された糖はいずれも 0 時間にも検出され、

90 時間には増加する傾向がみられた。以上のことから、セルロースの主鎖分解が起こり、切断された糖が検出されたものであると推測される。したがって、セルロースの機械的破壊は巨視的な高次構造の破壊のみならず、一次構造にまで及ぶことが示唆された。

(2) メカノケミカル反応による主鎖型セルロースブロック共重合体の合成

微結晶セルロースを HEMA 共存下で 3 時間機械的破壊を行った後の合成物の FTIR スペクトルを図 3 に示す。

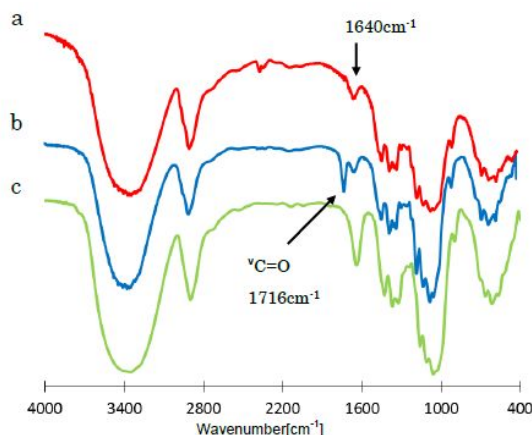


図3. セルロース合成物確認 FTIR スペクトル
(a)セルロース, (b)セルロース-b-PHEMA,
(c)セルロース+HEMA(ビーズ無し)

微結晶セルロースの FTIR スペクトルは典型的なセルロースの FTIR スペクトルであった(図 3a)。合成物から得られた FTIR スペクトルには、微結晶セルロースのみの機械的破壊試料からはみられない吸収ピークが 1716 cm^{-1} に得られた(図 3b)。この 1716 cm^{-1} の吸収ピークは HEMA 由来のカルボニル基の吸収ピークであると考えられ、未反応の HEMA を洗浄によって取り除いていることから、合成物の FTIR スペクトルの 1716 cm^{-1} 由来するピークはセルロースと HEMA が結合していることを示している。また、セルロースと HEMA を混合し、ビーズを入れずに機械的破壊を行った試料から得られた FTIR スペクトルにはカルボニル基と思われる吸収ピークは確認されなかった(図 3c)。したがって、FT-IR スペクトルからセルロースとビーズが接触することによって、主鎖切断が起こり、セルロース-b-PHEMA が合成されたことが示唆された。さらに合成産物を既報に従いアセチル化し、 $^1\text{H-NMR}$ 測定に供した。得られた $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを図 4 に示す。

トリアセチルセルロースから得られた $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおける $\delta=1.94\text{-}2.17\text{ppm}$ のピークはアセチル基と帰属され、 $3.68\text{-}5.10\text{ppm}$ をグルコピラノース環のプロトンピークとして帰属された(図 4)。合成物から得られた $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおける PAEMA 鎖のピーク b($\delta=4.29\text{ppm}$) 位のメチレンプロトン(- CH_2)、ピーク c($\delta=4.16\text{ppm}$)は 位のメ

チレンプロトン、ピーク d(=1.71-1.88ppm) は PAEMA 主鎖のメチレンプロトン(-CH₂)、ピーク e(=0.88-1.26ppm) は PAEMA 側鎖のメチルプロトン(-CH₃)と帰属された。よって ¹H-NMR スペクトルからもセルロース-b-PHEMA が合成されたことが確認された。

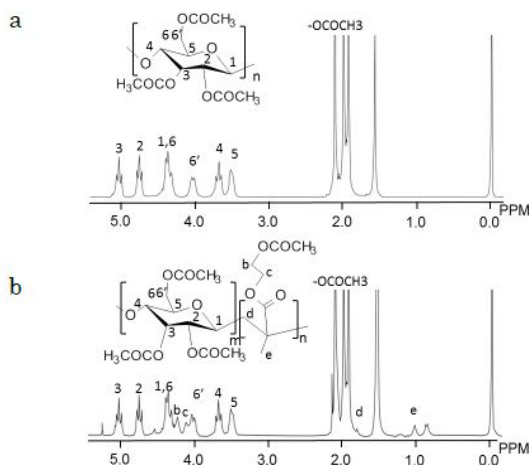


図4. ¹H-NMR による合成物の測定
(a)セルローストリアセテート (CTA)
(b)CTA-b-PAEMA

微結晶セルロースの HEMA 存在下における機械的破壊の経時的変化を FTIR によって追跡した(図5)。HEMA 共存下で機械的破壊を行わず、洗浄処理のみを行ったもの(図5a)と、セルロースと HEMA のメカノケミカル反応を1時間行ったもの(図5b)と、同様に3時間行ったもの(図5c)と、5時間行ったもの(図5d)を比較したところ、1時間反応を行ったものと、3時間反応を行ったものと、5時間反応を行ったものからは 1710cm⁻¹ に HEMA 由来と思われるカルボニル基の伸縮振動の吸収が得られた。1710cm⁻¹ のカルボニル基の吸収ピ

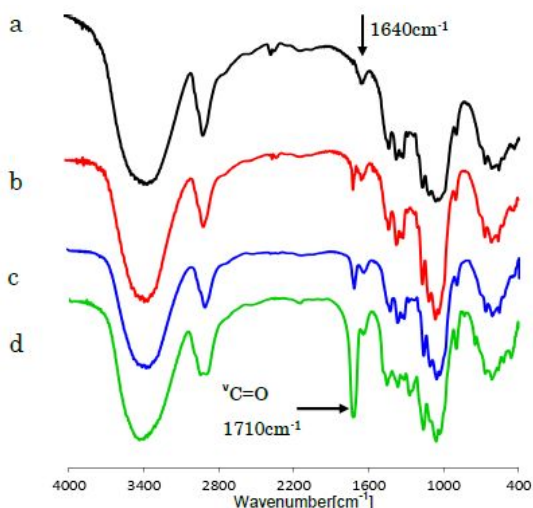


図5. 反応時間におけるFT-IRスペクトル
(a)セルロース(Cell, 0h),
(b)Cell-b-PHEMA(1h),
(c)Cell-b-PHEMA(3h),
(d)Cell-b-PHEMA(5h)

ークは 1640cm⁻¹ のセルロース由来の吸収ピークと比較し、経時的に高い値を示した。HEMA の重合が進行することにより、HEMA 由来のカルボニル基の吸収ピークが大きくなることが考えられるため、セルロース-b-PHEMA の合成は経時的に進むことが示唆された。

(3)メカノケミカル反応による立体規則性重合

ベンジルセルロースの分子構造を図6に示す。

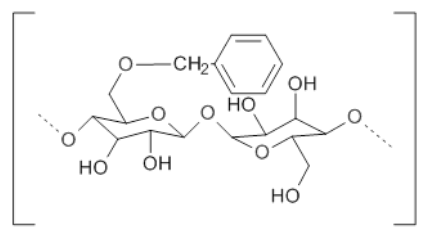


図6. ベンジルセルロースの分子構造

既報に従いベンジルセルロースの合成を行い、反応生成物の ¹H-NMR スペクトルを解析した結果、4.6ppm 付近に図6で示したベンジル基のメチレンに由来するピークが観測された(図7)。また、7.3ppm にベンジル基のピークが見られた(図7)。この結果、本実験においてベンジルセルロースの合成に成功したと判断した。

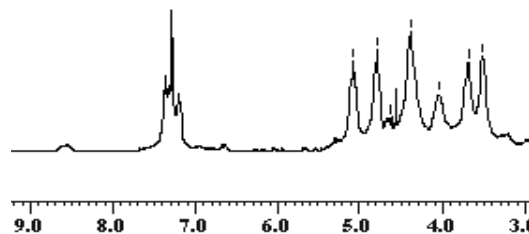


図7. ベンジルセルロースの ¹H-NMR スペクトル

次にベンジル化における反応時間を変化させ、ベンジル基の置換度(DS)が異なる3種のベンジルセルロースを合成した。そこで、3種のベンジルセルロースを用いて HEMA のメカノケミカル反応を実施した。

セルロース-b-PHEMA の重合体は3時間重合で Isotactic の割合が増加するが、6時間重合で減少した。セルロースの代わりにアセチルセルロースを用いて HEMA の重合を行ったところ、¹H-NMR では PHEMA に由来するピークが確認されなかったことから、アセチルセルロースでは分子鎖の開裂によるラジカルの生成が乏しかったと思われる。次に、DSが1未満(DS<1)のベンジルセルロースでは3時間ならびに6時間重合を行った生成物(図8(2))と、DSが1以上(DS>1)では3時間重合を行った生成物において Syndiotactic の割合が増加した(図8(3))。また、Isotactic の割合が重合時間を増加させることにより

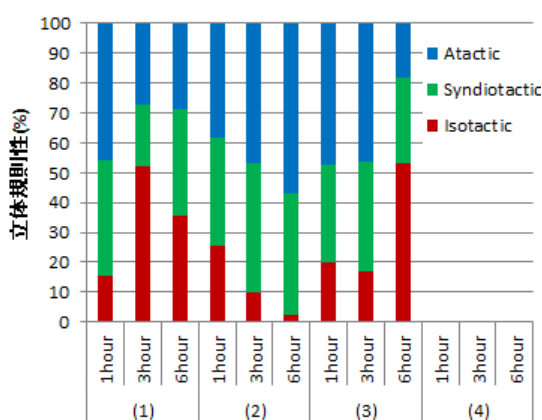


図8. 立体規則性(1)Cellulose,
(2)Benzylcellulose DS<1,
(3)Benzylcellulose DS>1,
(4)Acetylcellulose

減少することから、ベンジルセルロースを用いた重合では Syndiotactic に優先的に配列される可能性があると考えられる。また、DS>1 の 6 時間重合を行った生成物において Isotactic の割合が急激に増加したのは溶媒を用いない重合であることから十分に反応が行われなかった可能性があると考えられる(図 8(3), 6 時間)。以上のことからベンジルセルロースは Syndiotactic の立体規則性を持った重合体の合成に効果があることが示唆された。今後はベンジルセルロースを利用し立体制御を行った新規素材開発の可能性があると考えられる。しかし、不均一重合であることから再現性を得ることが難しい点が課題となるだろう。

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 4 件)

M. Sakaguchi, M. Makino, T. Ohura, T. Iwata: The correlation between the ionic degree of covalent bond comprising polymer main chain and the ionic yield due to mechanical fracture. *Polymer*, 査読有, 55, 1917-1919 (2014) DOI: 10.1016/j.polymer.2014.02.056

T. Ohura, Y. Tsutaki, M. Sakaguchi: Novel synthesis of cellulose-based diblock copolymer of poly(hydroxyethyl methacrylate) by mechano-chemical reaction. *Sci. World J.*, 査読有, 2014, 127506 (2014). DOI: 10.1155/2014/127506

M. Sakaguchi, M. Makino, T. Ohura, T. Iwata: Mechanoanions produced by mechanical fracture of bacterial cellulose: Ionic nature of glycosidic linkage and electrostatic charging. *J. Phys. Chem. A*. 査読有, 116, 9872-9877 (2012). DOI: 10.1021/jp306261k

M. Sakaguchi, T. Ohura, T. Iwata, Y. Enomoto-Rogers: Nano cellulose particles covered with block copolymer of cellulose and methyl methacrylate produced by solid mechano chemical polymerization. *Polym. Degrad. Stab.*, 査読有, 97, 257-263 (2012). DOI:10.1016/j.polyimdegradstab.2011.12.022

[学会発表](計 7 件)

坂口真人, 牧野正和, 大浦 健, 岩田忠久: 真空中 77 K における高分子粉体の摩擦帯電機構, 第 37 回静電気学会, 2012 年 9 月 10 日, 千葉

M. Sakaguchi, T. Ohura, T. Iwata, Yukiko Enomoto-Rogers: Cellulose nano-particles covered with poly(methyl methacrylate) chains of block copolymer of cellulose and methyl methacrylate produced by mechano chemical polymerization. 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), 22nd - 27th July, 2012, Madrid, Spain

M. Sakaguchi, M. Makino, T. Ohura, T. Iwata: Electrostatic Charging of Polymers: Generation Mechanism. 244th ACS National Meeting, August 19-23, 2012. Philadelphia, Pennsylvania.

津滝雄作, 坂口真人, 大浦 健: メカノケミカル反応によるセルロース新規ジブロック共重合体の合成, 日本化学会第 92 春季年会, 神奈川, 2012 年 3 月

津滝雄作, 坂口真人, 岩田忠久, 大浦 健: 機械的破壊によるセルロースの主鎖分解に関する研究, 第 20 回環境化学討論会, 熊本, 2011 年 7 月

坂口真人, 大浦 健, 岩田忠久: 微結晶セルロース-メチルメタクリレートブロック共重合体の合成とキャラクタリゼーション, 第 18 回セルロース学会, 長野, 2011 年 7 月

坂口真人, 大浦 健, 岩田忠久: セルロースの機械的破壊による -1,4 グリコシド結合の不均一切断に伴うマクロアニオンの生成, 第 60 回高分子学会年次大会, 大阪, 2011 年 5 月

[図書](計 1 件)

M. Sakaguchi, T. Ohura, T. Iwata: Diblock Copolymers of Cellulose and Poly(methyl methacrylate) Initiated by Radicals Produced by Mechanical Scission of Cellulose. In *Functional Materials from Renewable Sources* (Falk Liebner, Thomas Rosenau, Eds.), ACS Symposium Series, Volume 1107, Chapter 7, pp 133-147, (2012).

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

大浦 健 (Takeshi Ohura)
名城大学・農学部・准教授
研究者番号：60315851

(2)研究分担者

坂口 真人 (Masato Sakaguchi)
静岡県立大学・環境科学研究所・教授
研究者番号：40113328