

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25712020

研究課題名(和文)セルロースナノ材料の界面設計と三次元構造化

研究課題名(英文) Interfacial design and 3D building-up of cellulosic nanomaterials

研究代表者

横田 慎吾 (Yokota, Shingo)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30600374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,600,000円

研究成果の概要(和文)：結晶性ナノセルロースの反応性向上のためのアルカリ活性化について詳細に検討した。その結果、数%程度の水酸化ナトリウム水溶液による前処理によって、ナノセルロース表面の水酸基が活性化され、未処理時には全く反応が進行しなかった表面化学改質が可能となった。セルロース分子が配向したネマチックオーダーセルロース膜の表面グラフト重合によってスチレンオリゴマーの導入に成功した。微生物が産生するファイバーの堆積挙動を可視化したところ、未修飾の場合とは優位にことなる結果が得られた。ナノ物質との相互作用を制御するテンプレートとしての応用展開に期待が持たれた。

研究成果の概要(英文)：Activation of hydroxyl groups on the surface of crystalline nanocelluloses was investigated in order to improve their chemical reactivity. In this study, the pre-treatment of nanocelluloses with an aqueous NaOH solution was investigated. In the moderate condition, hydroxyl groups on the surface of nanocelluloses were activated via swelling with alkali treatment, resulting in a successful efficient modification like a carboxymethylation in an aqueous system. Hydrophobic styrene oligomers were introduced onto the surface of nematic ordered cellulose (NOC) has alternately-aligned amphiphilic molecular tracks on its surface, but the wettability of the modified NOC was changed by UV-irradiation. The morphology of cellulose nanofibers on the modified NOC exhibited different from those on an original NOC. This may be due to hydrophobic interactions between nanofibers and hydrophobic groups of the modified NOC surface.

研究分野：セルロース材料化学

キーワード：セルロース ナノファイバー 水中カウンターコリジョン ネマチックオーダーセルロース リビングラジカル重合 表面・界面

1. 研究開始当初の背景

生体組織や生物素材の優れた「物性・機能」は、その階層的に構築された「構造」に起因する。この天然にみられる「構造と機能」の相関性に関する知見は、次世代のものづくりの良い道標となるが、特にナノ～マイクロサイズへのビルドアッププロセスの制御が近年課題となっており、積み上げるナノ物質（ビルディングブロック）と構造形成を誘発する足場基材（テンプレート）の表面特性の制御が鍵因子となっている。

その中で最近、ナノサイズのビルディングブロックとして優れた物性を有する「ナノセルロース」が注目されている。ナノセルロースは、樹木をはじめとする生物体に内包されている繊維状ナノ物質であり、通常得られるマイクロ繊維をナノ微細化することにより単離される。いくつかのナノ微細化法が提案されているが、近藤らの開発した水中カウンターコリジョン（ACC）法〔文献 1,2〕によって得られるナノファイバー（ACC-ナノセルロース）は、サイズや形態がナノレベルで制御可能であり、また他のナノセルロースとは異なるユニークな表面特性を有する。そのため、高次構造形成のためのビルディングブロックとして注目されている。

他方、ボトムアップ的な構造構築に欠かせない足場材料として、ネマチックオーダーセルロース（NOC）に関心が集まっている。NOC は、セルロース溶液より調製された水膨潤セルロースゲルの一軸延伸によって得られ、ユニークな表面特性を有する分子配向シートであり、両親媒性の分子レール構造を有することを特徴とする。これまでに、微生物ナノファイバーやバイオミネラルの配向堆積を誘発するテンプレートとして極めて優れた機能を有することが見出されている。

多糖材料の機能デザインにおいて、化学的なアプローチは極めて重要である。例えば、多糖グラフト膜の分子（側鎖官能基）設計により、種々の界面特性（ぬれ特性や動物細胞応答性）の制御が可能である。また、ACC-ナノセルロースや NOC について、それらの分子配向、結晶性、ナノ形態、表面ナノ形状などに影響を与えることなく、表面の化学修飾を試みたところ、以下の成果が得られている。

結晶性を損なうことなく、ACC-ナノセルロース表面のみを酢酸エステル化することに成功した。得られた表面酢化セルロースナノファイバーは、疎水性基を導入したにも関わらず出発ファイバーと比較してより良好に水に分散した。すなわち、簡便な表面化学改質によって、ナノファイバーの自己集合特性を制御できる可能性が見出された。

NOC 表面の水酸基が一軸配列した構造（分子レール）を活かし、表面開始リビングラジカル重合による化学改質を試みたところ、NOC 由来の配向を維持したまま、精密なポリメタクリル酸メチルのグラフト重合

に成功した。シートの z 軸方向への分子設計が可能となり、三次元ナノパターンを有する新規テンプレートとしての展望が開かれた。

2. 研究の目的

本研究は、セルロース系ナノ材料の界面構造を制御することによって、新しい三次元高次構造体の構築と機能創出を目指すものである。そのために、ナノビルディングブロックとテンプレートの表面化学修飾によって表面ポテンシャルエネルギーを変化させ、ナノ物質間の界面相互作用の制御を図る。

具体的には、ACC-ナノセルロースの酢化反応の知見と解析技術を基板として、より簡便かつ安心・安全な水系での表面分子設計を図った。すなわち、通常困難である水系での表面化学改質について、前処理としてアルカリ処理による OH 基の活性化を試みた。

次に、NOC 表面の両親媒性分子レールを活かし、水系での重要なファンデルワールス力を介した物質体積を促すべく、疎水性官能基を側鎖に有するスチレンオリゴマー鎖の表面グラフト重合を試みた。得られたスチレン導入 NOC 表面に対して、UV 照射を施すことによって表面ぬれ性を変化させ、微生物由来のセルロースナノファイバーとの相互作用について評価した。

3. 研究の方法

3 - 1 - 1 . ACC-ナノセルロースの調製

1 wt% 木質由来の微結晶セルロース(フナセル®)懸濁水を ACC 処理に供した。ACC 処理は、ノズル径 160 μm のチャンバーを用いて噴射圧力 200 MPa とし、衝突回数を 60 pass とした。得られた ACC-ナノセルロース分散水を遠心分離により μm オーダーの物質を沈殿除去した 3)。

3 - 1 - 2 . アルカリ処理

0.2 wt% の ACC-ナノセルロース分散水 10 g に NaOH を 1 wt% ~ 12.5 wt% となるように加え、60 °C で 1 時間攪拌した。このアルカリ処理の後、脱イオン水で遠心分離 - 再分散によって溶媒置換し、凍結乾燥ののち、広角 X 線回折(WAXD)測定に供した。

3 - 1 - 3 . カルボキシメチル化反応

上記で得られたアルカリ活性化試料を脱イオン水で遠心分離によって溶媒置換したのち、モノクロロ酢酸(最終濃度 20 wt%、pH 12)を添加して、45 °C で 4 時間反応に供した。その反応液を pH 7 になるまで遠心分離により脱イオン水で洗浄し、生成物を得た。その精製物をフーリエ変換赤外分光法(FT-IR)および電導度測定に供した。

3 - 1 - 4 . CM 化 ACC-ナノセルロース分散状態の評

CM 化した ACC-ナノセルロースを脱イオン水に分散させ、ゼータ電位測定に供した。pH 4 または pH 10 に調整(HCl aq または NaOH aq を添加)し、室温で 30 分攪拌して得られた分散水を遠心分離(2.4 kG、10 分、25 °C)後、

ACC-ナノセルロースの分散状態を検討した。

3 - 2 - 1 .NOCの表面化学改質

カルボン酸プロミドを用いて重合開始基を導入したNOCを、スチレン、2-ブロモイソ酪酸エチル、4,4'-ジニル-2,2'-ビピリジン、塩化銅(Ⅰ)を溶解させた重合溶液中に浸漬させ、Ar雰囲気下にて110℃で1時間反応させ、洗浄・真空乾燥を行った。得られた重合溶液中のスチレンオリゴマーの重合度をサイズ排除クロマトグラフィーによって測定した。スチレンオリゴマー導入NOC(S-NOC)に対して、所定の条件でUV照射(254nm)を行った。種々の処理を行った各NOC基板は、原子間力顕微鏡(AFM)観察、X線光電子分光法(XPS)、水の接触角測定に供された。

3 - 2 - 2 .S-NOC上での酢酸菌走行と観察

NOCと8時間UV照射したS-NOC(UV8-S-NOC)上に酢酸菌(*Gluconacetbacter xylinus*: ATCC 53582)を接種し、光学顕微鏡によるタイムラプス観察(10秒毎)を行った。観察後、基板上的ナノファイバーを四酸化オスmium(4%)を用いて固定処理し、エタノールシリーズで精製ののち、凍結乾燥させ、電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM)観察に供した。

4 . 研究成果

4 . 1 . ACC-ナノセルロースの表面活性化を介したCM化

このプロセスの要点は、i)アルカリ処理によるACC-ナノセルロース表面に存在する水酸基の活性化、ii)表面活性化ACC-ナノセルロースへのCM基の導入である。まず、ACC-ナノセルロース表面のアルカリ活性化を検討した。水洗、乾燥された処理試料のX線回折プロファイルにおいて、比較的低濃度のNaOHで処理した場合、試料は天然結晶と類似の回折パターンを示した。NaOH濃度10wt%以上の試料についてはACC-ナノセルロース中の結晶構造が一部変態したことが示唆された。一般に、完全に結晶変態させるセルロースへのNaOHによるアルカリ処理は、比較的過酷な条件(21.5wt%、20℃、24時間)6)であるが、本研究で行ったNaOH処理はセルロース結晶内に浸透が至らない条件(低濃度、高温、短時間)であったため、NaOHが結晶に浸透して作用した領域は、結晶表面から一定の範囲に留まったものと推定された。次に、活性化処理を施したACC-ナノセルロース表面における水系でのCM基の導入を検討した。CM化反応後のIRスペクトルで示されるように(図1)、アルカリ未処理の試料ではCM化前後で変化がほとんど認められなかった。一方、比較的軽微な5wt%でアルカリ処理を施した試料でも、C=O基(カルボキシレート)由来の吸収バンド(1598、1718 cm^{-1})が検出された。また、アルカリ処理を施した試料では、

ACC-ナノセルロース表面へのCM基の導入が電導度滴定より示唆された。この試料は未反応のものよりも比較的強く負に帯電していることがゼータ電位測定によって示された。これは、ACC-ナノセルロース表面のカルボキシル基がCOO-型として存在しているためと考えられる。pH4、7、ならびに10で表面CM化ACC-ナノセルロース分散水を比較的穏やかな遠心分離に供したところ、酸性条件下では上清画分に分散するナノセルロース量が減少した。これは、ACC-ナノセルロース表面のカルボキシル基の解離度がpHにより変化したためと考えられる。すなわち、pH4ではCOOH型としてCM基が存在し、繊維間の静電反発が減少し、水素結合の形成が増加することによって凝集沈殿したものと推定される。以上の結果は、表面活性化処理により水系でCM基が導入されたACC-ナノセルロースが調製されたことを示す。また、表面CM化によりpHに応答する自己組織化特性の発現が示唆された。

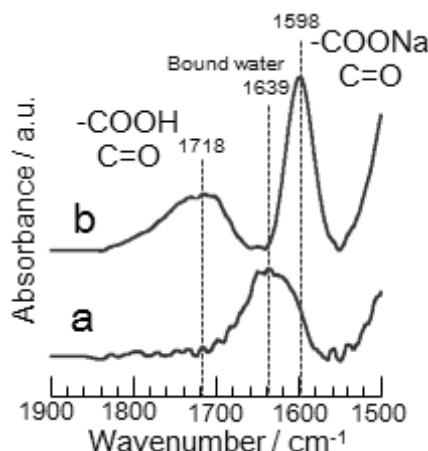


図1 カルボキシメチル化反応に供したACC-ナノセルロースの赤外分光スペクトル(a: 未処理、b: 5% NaOHによる活性化処理後)

4 . 2 . スチレン鎖導入NOCのセルロースナノファイバーとの相互作用の評価

サイズ排除クロマトグラフィーとXPS分析より、NOC表面に重合度約6のスチレンオリゴマーの導入が示された。水の接触角はNOCで約71°、S-NOCで約88°であった。さらにS-NOCに対してUVを照射したところ、経時的にぬれ性は低下し、UV8-S-NOCの接触角は約37°となった。各表面改質後のAFM観察の結果、表面の配向パターンならびに粗さに有意差は認められなかった。したがって、NOC配向した表面形態を変えることなく、スチレン鎖を導入し、さらにその表面の親水性/疎水性を変化させたこととなる。

UV8-S-NOC上で酢酸菌を培養したところ、セルロース主鎖の配向方向への酢酸菌の走行挙動が観察された。その走行速度を算出したところ、約3.6 $\mu\text{m}/\text{min}$ であり、NOC上での値(約4.5 $\mu\text{m}/\text{min}$)と比べて低い値が示された。酢酸菌の走行速度は分泌ナノファイバ

ーの基板への吸着力に起因することから NOC 上とは異なる吸着機構を示していることが示唆された。そこで FE-SEM によって基板上の分泌ナノファイバーの形態を観察した結果、セルロース分子鎖の配向方向に沿って吸着したりボン状の分泌ナノファイバーの形態が NOC 上では扁平であったのに対して、UV8-S-NOC 上ではねじれながら吸着していた(図 2)。このテンプレート上のファイバー形態の違いは、分泌ナノファイバーと基板との界面相互作用において疎水性官能基が影響している可能性が示された。すなわち、両親媒性ナノ物質の堆積パターンを制御可能な足場材料としての応用展開に期待が持たれた。

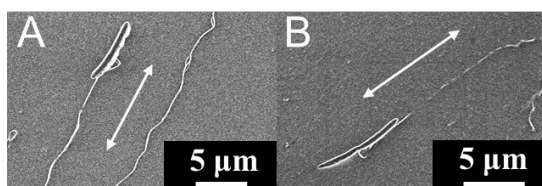


図 2 表面改質前後の NOC 基板上で培養した酢酸菌と分泌されたセルロースナノファイバーの FE-SEM 像 (A: 改質後、B: 改質前)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kunio Tsuboi, Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Difference between bamboo- and wood-derived cellulose nanofibers prepared by the aqueous counter collision method, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 査読有, 2014, 29(1), 69-76.
DOI:10.3183/NPPRJ-2014-29-01-p069-076

〔学会発表〕(計 18 件)

Airi Nishimoto, Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Surface activation of ACC-nanocellulose for chemical modification in an aqueous system, 251st American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2016.03.13, San Diego (USA).

横田 慎吾, 西元 愛里, 近藤 哲男, 水系反応による ACC-ナノセルロースの表面化学改質, 第 66 回日本木材学会大会, 2016.03.27, 名古屋大学 (名古屋市).

Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Chemical modification of cellulose nanofibers via surface activation in an aqueous dispersion system, 2016 EMN Cellulose Meeting, 2016.03.08, Taipei (Taiwan).

Keita Kamada, Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Pickering emulsion stabilized using amphiphilic cellulose nanofibers prepared by the aqueous

counter collision method, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015, 2015.12.19, Honolulu (USA).

三浦 巧貴, 横田 慎吾, 近藤 哲男, 表面化学改質によって変化するネマチックオーダーセルロース上での酢酸菌走行パターン, セルロース学会第 22 回年次大会, 2015.07.09, 北海道大学 (札幌市).

三浦 巧貴, 横田 慎吾, 近藤 哲男, 表面化学改質セルロース配向テンプレート上で酢酸菌が産生するナノセルロース, 第 52 回化学関連支部合同九州大会, 2015.06.27, 北九州国際会議場 (北九州市).

西元 愛里, 横田 慎吾, 近藤 哲男, 水中対向衝突法によって調製されたセルロースナノファイバーの反応性を向上させる表面活性化, 第 65 回日本木材学会大会, 2015.03.18, タワーホール船堀 (東京).

Shingo Yokota, Shiro Sakoda, Tetsuo Kondo, Interfacial molecular design of nematic ordered cellulose templates for epitaxial nanodeposition, International Symposium on Wood Science and Technology 2015, 2015.03.16, Tokyo (Japan).

Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Surface reactivity in an aqueous system of bio-nanofibers prepared by the aqueous counter collision method, International Symposium on Fiber Science and Technology (ISF2014), 2014.09.29, Tokyo (Japan).

西元 愛里, 横田 慎吾, 近藤 哲男, アルカリ処理によるセルロースナノファイバー表面の反応性の向上, 第 21 回日本木材学会九州支部大会, 2014.09.12, パレア熊本 (熊本市).

横田 慎吾, 近藤 哲男, 水中対向衝突法により調製されたセルロースナノファイバーの表面化学反応特性, セルロース学会第 21 回年次大会, 2014.07.19, 鹿児島大学 (鹿児島市).

西元 愛里, 横田 慎吾, 近藤 哲男, アルカリ処理による水分散セルロースナノファイバーの表面活性化, 第 51 回化学関連支部合同九州大会, 2014.06.28, 北九州国際会議場 (北九州市).

平田 愛美子, 宇都宮 ひかり, 永島 綾, 横田 慎吾, 近藤 哲男, 溶存酸素下で酢酸菌が産生するセルロースナノファイバーの水中カウンターコリジョン法によるナノ微細化挙動, 第 64 回日本木材学会大会, 2014.03.14, 愛媛大学 (松山市).

Shingo Yokota, Shiro Sakoda, Tetsuo Kondo, Interfacial design of nano-sized and nano-structured cellulose materials by chemical modification, The 3rd EPNOE 2013 International Polysaccharide Conference, 2013.10.24, Nice (France).

平田 愛美子, 宇都宮 ひかり, 永島 綾, 横田 慎吾, 近藤 哲男, 酢酸菌産生セルロースナノファイバークラスタからの"Cellulose nanoanemone"の創製, 第20回日本木材学会九州支部大会, 2013.09.03, 九州大学(福岡市).

佐小田 史朗, 横田 慎吾, 近藤 哲男, リビングラジカル重合によりネマチックオーダーセルロース表面に調製されるPMMAの密度に依存した種々の分子トラック, セルロース学会第20回年次大会, 2013.07.19, 京都大学(宇治市).

佐小田 史朗, 横田 慎吾, 近藤 哲男, セルロース基板上に一軸配向したPMMAブラシのナノ表面構造, 第50回化学関連支部合同九州大会, 2013.07.06, 北九州国際会議場(北九州市).

Shingo Yokota, Tetsuo Kondo, Surface acetylation of cellulose-based nanofibers prepared by aqueous counter collision, The 17th International Symposium on Wood, Fibre and Pulping Chemistry, 2013.06.13, Vancouver (Canada).

〔図書〕(計1件)

横田 慎吾, ナノセルロースの製造技術と応用展開, シーエムシー・リサーチ, 第111編 海外におけるナノセルロース研究の最新動向 第12章 界面活性剤-セルロースナノクリスタルにより安定化された Pickering エマルジョン, 2016.

〔その他〕

ホームページ等

<http://biomat.agr.kyushu-u.ac.jp/>

<http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/K003860/research.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横田 慎吾 (YOKOTA, Shingo)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号: 30600374