

戦略的創造研究推進事業 CREST

研究領域

「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力  
強化と生産物活用のための基盤技術の創出」

研究課題

「新規セルロース系ナノ素材の表面構造および集  
積構造制御による炭素マテリアルストリームの創成」

## 研究終了報告書

研究期間 平成25年10月～平成31年03月

研究代表者：磯貝 明

(東京大学大学院農学生命科学研究科、  
教授)

## § 1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TOCN) は、製紙用木材漂白クラフトパルプの TEMPO 触媒酸化前処理で得られる繊維状の TEMPO 酸化セルロースを、水中で軽微な解繊処理することで得られる。TOCN は 3nm と超極細均一幅で、高アスペクト比(長さ/幅の比率)、高結晶性を有している新規バイオ系ナノ素材であり、その特有の表面ナノ構造と自己組織化挙動を活かすことによって、豊富な木質バイオマス由来の TOCN を先端材料に利用するため、理学-農学-工学融合型の体制で研究プロジェクトを開始した。このように TOCN による森林から先端産業への新たな炭素マテリアルストリームを創成し、材料として CO<sub>2</sub> 由来のセルロースを蓄積することで、世界の共通課題である低炭素・循環型社会システムの構築と関連する科学技術の新展開をめざしている。グループ全体の協働体制と各グループの役割分担を明確化するとともに、これまでに以下の研究結果を得た。

TOCN の水中での解繊度を上げることにより、新たに針状で長さが 200nm 以下の短い、TEMPO 酸化セルロースナノクリスタル (TEMPO-CNC) の調製方法を見出した。これまでの TOCN に加えて、新しいナノセルロース試料として基礎および応用展開が期待される。

セルロース原料、その TEMPO 触媒酸化、水中解繊処理して TOCN が得られる各過程で絶対分子量および分子量分布を、多角度光散乱検出器を用いるサイズ排除クロマトグラフィー (SEC/MALLS) 法により正確に求める方法を構築し、酸化反応条件と得られる TEMPO 酸化セルロースの分子量の関係、水中解繊処理時間と得られる TOCN の分子量の関係を明らかにすることができた。また、希薄 TOCN/水分散液のせん断粘度、固有粘度測定から、TOCN の平均長さを評価する方法を見出した。

TOCN は、その表面に高密度で規則的にカルボキシ基の Na 塩が存在する。その表面カルボキシル基の対イオンをアルキルアンモニウム塩に変換することで、効率的に TOCN の疎水化が達成できることが明らかになった。また、親水性で耐水性の無い TOCN-COONa 型フィルムを塩化鉄(III)あるいは塩化アルミニウム水溶液に浸漬することで、含水湿潤状態での弾性率、引張破断強度が顕著に向上した。また、TOCN フィルム中のカルボキシ基の対イオンをカルシウムあるいはアルミニウムイオンに交換することで、高湿度下でも高い酸素バリア性が発現した。さらに、対イオンを銀イオン、銅イオンに交換することで超消臭機能が発現した。このように、TOCN 表面のカルボキシ基の水系での効率的かつ簡便な対イオン交換処理によって、TOCN フィルムの物性を大きく制御可能であることが明らかになった。

TOCN を含む新規バイオ系ナノ材料の調製と特性解析としては、超低密度、透明、高強度、超低熱伝導率の TOCN エアロゲル、ポリ乳酸、ポリアクリルアミド、ナノクレイ、三酢酸セルロースとの複合化、アルキルケテンダイマーとの複合化等を検討し、TOCN の特性を活用した優れた複合化効果の発現が確認できた。

さらに、結晶性セルロースマイクロフィブリル表面のセルロース分子のコンフォメーション解析、木材セルロース試料の乾燥条件が希酸加水分解処理後の分子量分布による影響からセルロースマイクロフィブリルの長さ方向に周期的に存在する非晶領域の形成機構に関する知見、および針葉樹セルロースの分岐構造の定量的評価と安定性の解析などセルロースの基礎科学に関連して新たな知見を得ることができた。

セルロースが微小な繊維として合成される仕組みを解明するために、組換え体タンパク質によるセルロース合成酵素の機能解析実験系を構築した。合成された精製セルロースは、高分子量であることを確認したが、天然セルロースとは異なる構造を有していた。さらに、本実験系を用い、セルロース合成酵素の変異体の合成活性の分析を行った。その結果は、結晶化過程が、大変複雑なタンパク質内ネットワークによっていることを示していた。また、ヘミセルロース存在下でセルロース由来と考えられ生成物が観察され、ヘミセルロースが合成直後のセルロースの高次構造に影響を及ぼすことが示された。

セルロースマイクロフィブリルは、酸や酵素加水分解の過程で、重合度が急激に 200 程度にまで低下してその後一定値となり、微結晶セルロースとして得られることが知られている。その要因

が試料の乾燥履歴と密接に関連することを見だし、より高分子量・高アスペクト比のセルロースナノファイバーを調製することができた。関連して、ポプラの未乾燥試料からセルロースを精製し、希酸加水分解物を TEMPO 触媒酸化し、SEC/MALLS 法によって重合度を測定した。その結果、希酸加水分解後の TEMPO 酸化物の TOCN 長は、明らかに分子量よりも大きな値を示した。これは、ナノファイバー内において、非晶領域が分子軸方向にそろって存在しているわけではないということを示している。また、セルロース精製過程において、脱ヘミセルロース処理後の乾燥処理が、セルロースの周期的非晶領域生成の原因となっていることが示された。木材由来のセルロースで欠陥構造のマイクロフィブリル内分布を評価するために、TOCN の電子顕微鏡写真から欠陥構造の可視化を検討したところ、欠陥構造の局在化の積極的な証拠は得られず、欠陥構造はマイクロフィブリル上で分散して存在する可能性がある。

TOCN を出発素材として、新規高機能ナノ複合材料設計を進めた。具体的には、エレクトロニクス材料や医療材料への展開を目的に、TOCN-銀複合材料、TOCN-コラーゲン複合材料を調製した。得られた TOCN 含有ナノ複合材料の物性や機能発現機構を解析するために、原子間力顕微鏡を用いて TOCN の構造や分散性を評価し、力学物性や熱特性、光透過性などを評価し、構造と物性の相関について解析を行った。さらに、細胞の接着性、増殖性を評価することで医療用足場材料へのヒドロゲルとしての応用について検討を行い、優れた効果が見いだされた。また、コラーゲンと TOCN を組み合わせて乾燥させた複合化エアロゲルは三次元足場材料として応用可能であることが示された。

続いて、ナノダイヤモンド(ND)を充填材として用い TOCN をマトリックスとした ND/TOCN 複合材料の創製を検討した。作製した ND/TOCN 複合材料の力学物性、光学特性等について評価を行った結果、TOCN の持つ透明性を維持しつつ、ND の持つ高力学物性を付与した新規ナノ複合材料の作製に成功した。また、モンモリロナイト(MMT)を充填材として用い TOCN をマトリックスとした MMT/TOCN ナノ複合材料の創製も試みた。複合材料の界面を通じた応力伝達機構の観点から、セルロースナノファイバーの構造と、充填材としての補強効果の関係について X 線回折法を利用した検討を行った。その結果、複合材料中でナノ分散した MMT と TOCN の間で効率的に応力が伝達されたことが明らかとなった。さらに、銀ナノワイヤを充填した TOCN 複合材料の高熱伝導率化機構の X 線的解析に取り組み、ナノワイヤの配列により複合材料の面内方向の高い熱伝導率を達成した。また、リパーゼ内包各種 TOCN クライオゲルを利用した油吸収分解材としての機能評価に取り組み、優れた効果の発現を確認した。

## (2) 顕著な成果

### <優れた基礎研究としての成果>

#### 1. TEMPO 酸化セルロースナノクリスタルの調製方法の開発

概要： TOCN の水中解繊処理を進めることで、これまでの長さ 300nm 以上の TEMPO 酸化セルロースナノファイバーと異なり、約 3nm と超極細均一幅で長さ 200nm 以下の針状の「セルロースナノクリスタル」の調製方法を開発した。カナダにて実用化されている従来の濃硫酸を用いる調製する方法に比べ、高収率で、超極細均一幅、表面にイオン交換可能なカルボキシ基を高密度で有しており、分散液の高濃度化が可能であるため、新たなナノセルロース試料として、今後基礎および応用研究が進められると考えられる。

#### 2. TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの表面ナノ構造制御方法の構築

概要： TOCN 表面に高密度で存在するカルボキシ基の対イオンを各種アルキルアンモニウム塩に交換することで、効率的に表面疎水化が達成できることを見出した。また、カルシウム塩、マグネシウム塩、アルミニウム塩、鉄塩に交換することで、耐水性が発現し、高湿度下での高い酸素バリア性も見られた。このように、対イオン交換という簡便で効率的な表面ナノ構造制御により、TOCN に新たな機能付与が可能であることを見出した。

#### 3. 針葉樹セルロースにグルコマンナンの分岐構造が存在することの発見

概要： 多角度光散乱/サイズ排除クロマトグラフィーを用いるセルロース、酸化セルロース、酸化

セルロースナノファイバーの分子量、分子量分布解析を通じて、綿セルロース、広葉樹セルロース、草本セルロース、バクテリアセルロース、ホヤセルロース、海藻セルロースは従来通り、分岐の無い直鎖状高分子であることが確認できた。一方、コケ、シダ、裸子植物(イチョウ)、針葉樹(スギ)の高分子量セルロース分子には、高密度でグルコマンナンの分岐構造が存在することが判明した。植物セルロースの従来の化学構造説を覆す結果であり、植物分化とも関連する学術的な研究成果である。

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

#### 1. TEMPO 酸化セルロースから多様な形状のナノセルロースを調製する方法の構築

概要: 植物セルロース繊維(製紙用木材パルプ)から、繊維状の TEMPO 酸化セルロースを製造する世界最大のプラントがすでに国内で稼働している。この TEMPO 酸化セルロースから、水中解繊処理条件を変えることで、形状の異なるセルロースナノネットワーク、完全孤立分散し、超極細長繊維のセルロースナノファイバー、完全孤立分散し超極細短繊維のセルロースナノクリスタルの製造方法を構築した。いずれもイオン交換可能なカルボキシ基を高密度で有しており、多種多様な高機能ナノセルロースとしての応用展開が期待される。

#### 2. TOCN/水分散液から透明、高強度、高断熱性の多孔体調製方法の構築

概要: 水分散液中で TOCN が液晶状の自己組織化構造を形成して完全ナノ分散化している特性を利用し、その分散状態を維持しながら水を超臨界点乾燥によって除去することで、透明、高強度、高断熱性の新規エアロゲルに変換できることを見出した。このような優れた断熱性のエアロゲルは、省エネが求められる移動体、居住空間、宇宙空間で利用が期待されており、今後関連分野での実用化が期待される。本論文は *Angewandte Chemie International Edition* の最優秀論文に選ばれ、その号の表紙を飾った。

#### 3. TEMPO 酸化セルロースの複合化による高機能新規材料の創成

概要: TOCN についてはこれまで、各種天然および合成高分子との複合化、ナノクレイ、銀ナノワイヤ、カーボンナノチューブ、銀ナノワイヤ等との複合化を検討し、優れた機能と複合化効果が発現することを見出した。これらの複合化検討結果は、実験室レベルでのモデル実験の成果であるが、TOCN のナノ複合化における高いポテンシャルが見出されたことから、複合化方法、各種界面活性剤の添加利用などを通じて、実用化に近いプロセスでの検討が進むものと考えられる。

< 代表的な論文 >

1. Michiko Shimizu, Tsuguyuki Saito, Akira Isogai, "Bulky quaternary alkylammonium counterions enhance the nanodispersibility of 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl-oxidized cellulose in diverse solvents", *Biomacromolecules*, vol. 15, pp. 1904-1909, 2014
2. Yuri Kobayashi, Tsuguyuki Saito, Akira Isogai, "Liquid-crystalline nanocellulose aerogels for high-performance heat insulators with optical transparency and mechanical toughness", *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 53(39), pp. 10253-10544, 2014
3. Michiko Shimizu, Tsuguyuki Saito, Akira Isogai, "Water-resistant nanocellulose films with inter-fibrillar cross-linkages via multivalent metal ions", *Journal of Membrane Science*, vol. 500, pp. 1-7, 2016
4. Yaxin Zhou, Tsuguyuki Saito, Lennart Bergstöm, Akira Isogai, "Acid-Free Preparation of Cellulose Nanocrystals by TEMPO Oxidation and Subsequent Cavitation", *Biomacromolecules*, vol. 19, pp. 633-639, 2018

5. Akira Isogai, Tuomas Hänninen, Shuji Fujisawa, Tsuguyuki Saito, "Catalytic Oxidation of Cellulose with Nitroxyl Radicals under Aqueous Conditions", Progress in Polymer Science, vol. 86, pp. 122-148, 2018

## § 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

### ①「磯貝」グループ

研究代表者: 磯貝 明 (東京大学大学院農学生命科学研究科 教授)

研究項目

- ・効率的イオン交換条件の検討
- ・イオン交換によるナノ構造挙動解析
- ・イオン交換によるスイッチ機能発現機構解析
- ・構造体中のナノエレメント配向度の評価方法および制御方法の検討
- ・対イオンの構造によるナノエレメントの配向度解析
- ・自己組織化の速度論および安定性解析

研究過程で発生した新たな研究項目

- ・各種ホロセルロースの TEMPO 触媒酸化と TOCN の構造解析
- ・TEMPO 酸化セルロースおよび TOCN の分子量/分子量分布解析
- ・希薄 TOCN/水分散液のせん断粘度、固有粘度からの TOCN の長さ評価方法の検討
- ・TEMPO 酸化セルロースの乾燥によるナノ分散化性の向上
- ・TOCN エアロゲルの調製と特性および構造解析
- ・植物セルロースの分子量分布解析と針葉樹セルロースの分岐構造解析
- ・セルロースナノファイバーと基材高分子間での界面制御機構の解析
- ・TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの耐熱性向上の検討
- ・セルロースマイクロフィブリルの表面剥離による固体セルロースのコンフォメーション解析
- ・TEMPO 酸化セルロースナノクリスタルの調製とナノ構造解析

### ②「杉山」グループ

主たる共同研究者: 杉山 淳司 (京大大学生存圏研究所 教授)

研究項目

- ・セルロースマイクロフィブリルの形成機構の分析
- ・セルロースマイクロフィブリルの周期的欠陥構造の解析

### ③「西野」グループ

主たる共同研究者: 西野 孝 (神戸大学大学院工学研究科 教授)

研究項目

- ・セルロース系ナノ複合材料の構造設計、調製および物性解析と応用展開
- ・有機-無機複合化、有機-有機複合化による TOCN 含有ナノ複合材料の設計
- ・各種 TOCN ナノ複合体の機械物性・熱および光学特性解析および評価
- ・TOCN-コラーゲン複合体エアロゲルの創製と細胞足場材料への展開
- ・銀ナノワイヤ充てん TOCN 複合材料の作製と熱伝導性評価
- ・TOCN/MMT 複合材料の X 線回折による応力伝達解析
- ・種々の表面物性の TOCN クライオゲルを利用したリパーゼの油吸収分解能評価

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

Lars Berglund(スウェーデン 王立工科大学 教授)

Lennart Bergström(スウェーデン スtockホルム大学 教授)