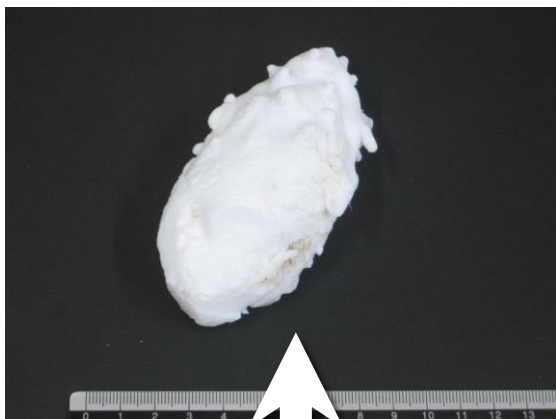


ナノセルロース表面荷電基の 簡便かつ迅速な定量法の開発

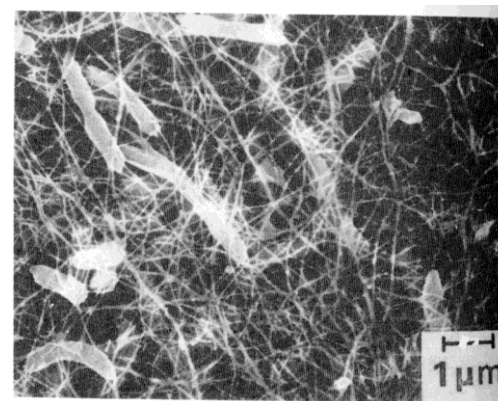
信州大学繊維学部 化学・材料学科
教授 荒木 潤

JST新技術説明会
2021年8月3日

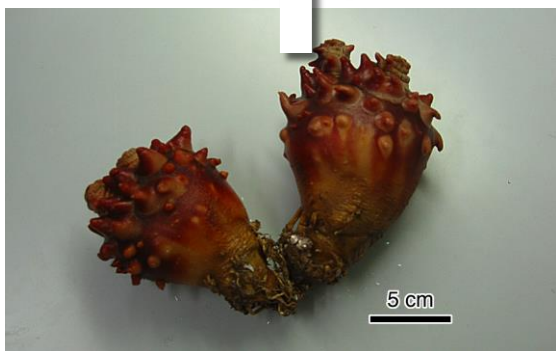
ナノセルロース材料の特徴



コットンボール



酢酸菌セルロース



食用ホヤ

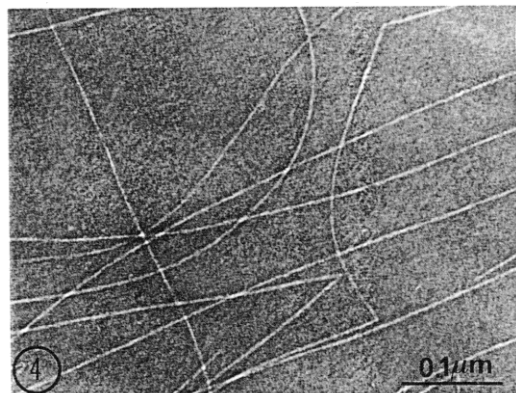


(ナタデココ)

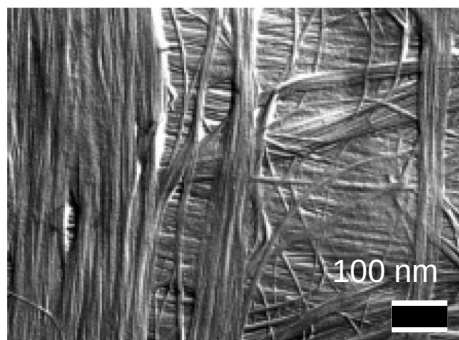


- 地球上に最も豊富に存在する天然高分子（推定1000億 t / 年）
- 高等植物（木材・綿・麻）や藻類（緑藻類）の細胞壁
- 動物（ホヤの外套膜）
- 細菌の菌体外生産物（酢酸菌の吐き出す繊維→ナタデココ）

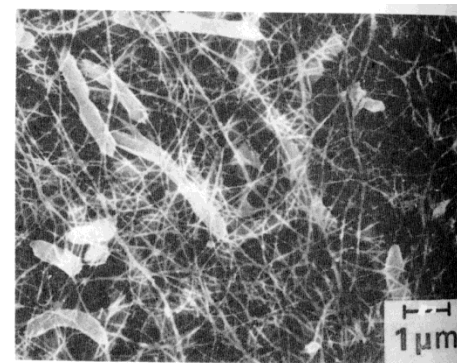
ナノセルロース材料の特徴



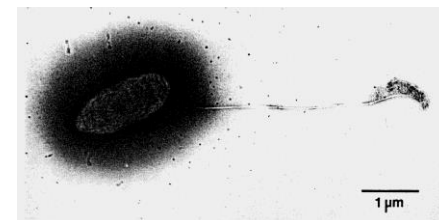
マルメロ種子中の
セルロースマイクロフィブリル
幅 2–3 nm
(D. Reis et al., *Biol. Cell.* **1991**, 73, 173–178)



バロニア（海藻の一種）の細胞壁中に
あるセルロースマイクロフィブリル
幅 約20 nm
(Kim, N. H. et al. *Biomacromolecules*
2006, 7, 274–280より改変)



酢酸菌セルロース
断面積 10 × 50 nm



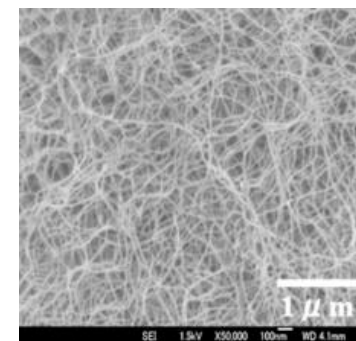
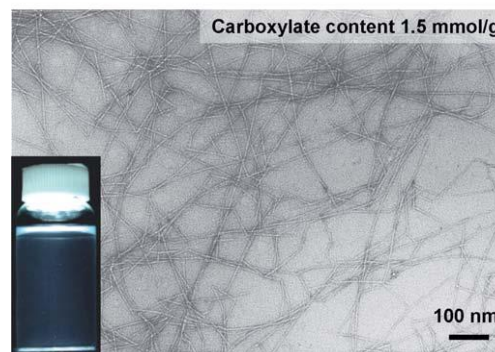
- 高結晶性の微細繊維（マイクロフィブリル）を構成している。
マイクロフィブリルの中でセルロース分子は一方向に並んでいる（配向）
- 幅は2～10 nm（木材・高等植物）、約20 nm（ホヤ・藻類）、
10 × 50 nm（バクテリアセルロース）
- 長さは数 μm ～ 10 μm以上とされている

ナノセルロース材料の特徴



セルロースマイクロフィブリル

TEMPO酸化処理¹⁾
粉碎処理²⁾
水中対抗衝突³⁾



セルロースナノファイバー(CNF)

- 様々な手法を用いて、天然セルロースのマイクロフィブリルを、生体内に存在する形状のまま抽出
- 幅が数 nm～20 nm、長さ～十数μm程度の準結晶性長繊維

1) Isogai et al., *Nanoscale* **2011**, 3, 71–85.

2) 矢野浩之、日本ゴム協会誌、**2012**, 85, 376–381.

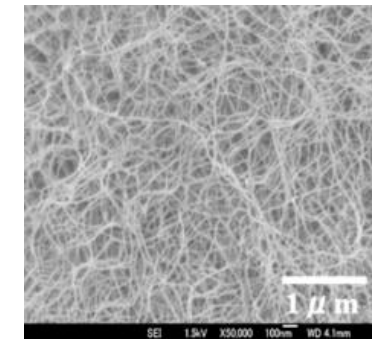
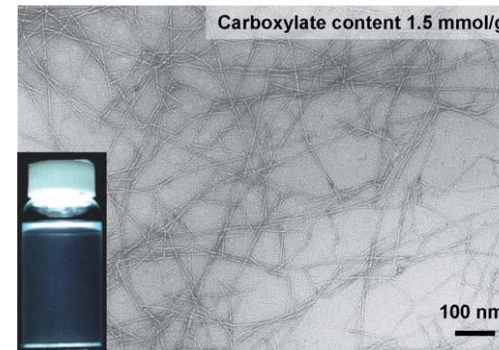
3) 近藤哲男、木材学会誌、**2008**, 54, 107–115.

ナノセルロース材料の特徴



セルロースマイクロフィブリル

TEMPO酸化処理¹⁾
粉碎処理²⁾
水中対抗衝突³⁾



セルロースナノファイバー(CNF)

- CNW (CNC) とは、CNFが塩酸・硫酸処理によって短く切断された棒状微粒子 (コロイド) である
- 幅が数 nm~20 nm、長さ~十数μm程度の準結晶性長繊維

1) Isogai et al., *Nanoscale* **2011**, 3, 71–85.
2) 矢野浩之、日本ゴム協会誌、**2012**, 85, 376–381.
3) 近藤哲男、木材学会誌、**2008**, 54, 107–115.

従来技術とその問題点

- ナノセルロース試料の表面にはさまざまな荷電基が導入される

- カルボキシ基 ($-\text{COOH}$)
TEMPO酸化による表面酸化反応
木材由来セルロースは生来もっている

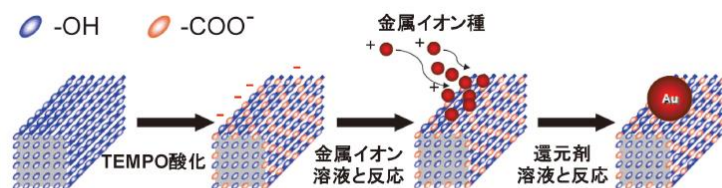


図9 TEMPO 酸化 CNF 表面への金属イオンおよび金属ナノ粒子の担持イメージ
(河崎雅行、成形加工、2016)

- 硫酸エステル基 ($-\text{OSO}_3\text{H}$)
硫酸加水分解によるCNW調製の際に表面に導入
CNWを硫酸処理すると制御して導入可能
- その他、リン酸エステル基、 $-\text{SH}$ 基、4級アンモニウム基、 etc.

- ナノセルロースの各種物性は表面荷電基量に大きく影響される
(ex. 粘性、液晶形成、イオン担持能、グラフト反応点……)

種々の官能基の制御された導入に加え、
導入された官能基量の定量がきわめて重要

表面官能基定量の重要性

官能基名	酸性度	性質・物性への影響
硫酸エステル基 ($-\text{OSO}_3\text{H}$)	強酸性	粒子・ナノファイバー間の反発制御 分散・凝集性 粘性コントロール
カルボキシ基 ($-\text{COOH}$)	弱酸性	反発制御・分散・凝集性 粘性 反応点（他の分子の付加反応） 金属イオン担持能
リン酸エステル基 ($-\text{OPO}_3\text{H}$)	強酸性	粒子・ナノファイバー間の反発制御 粘性コントロール 分散・凝集性
メルカプト基 ($-\text{SH}$)	弱酸性	反応点（他の分子の付加反応・ジスルフィド結合形成による $-\text{SH}$ 基どうしの架橋）

種々の官能基の制御された導入に加え、
導入された官能基量の定量がきわめて重要

従来技術とその問題点

ナノセルロース試料の表面荷電基 ($-\text{COOH}$, $-\text{OSO}_3\text{H}$ etc.) 定量法

1) 酸一塩基滴定法 (従来法として最も一般的)

- 強酸性基および弱酸性基を個別に定量可能
- 比較的多量の試料が必要 (数百mg/回)
- 官能基酸性化のための前処理が長時間で煩雑
- 自動化のためには高価な滴定装置が必要
- 一試料の試料測定時間が長時間 (1~2 時間/回)



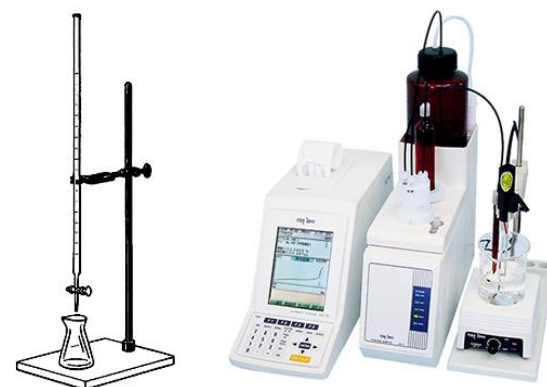
<https://www.toadkk.co.jp/>

新技術の特徴・従来技術との比較

ナノセルロース試料の表面荷電基 ($-\text{COOH}$, $-\text{OSO}_3\text{H}$ etc.) 定量法

1) 酸一塩基滴定法 (従来法として最も一般的)

- 強酸性基および弱酸性基を個別に定量可能
- 比較的多量の試料が必要 (数百mg/回)
- 官能基酸性化のための前処理が長時間で煩雑
- 自動化のためには高価な滴定装置が必要
- 一試料の試料測定時間が長時間 (1~2 時間/回)



<https://www.toadkk.co.jp/>

2) 色素吸着法 (かつてTAPPI標準法として存在)

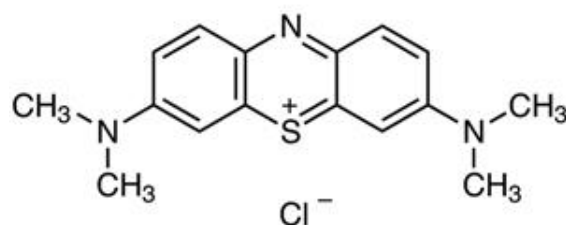
ナノセルロース材料の表面官能基定量法として、
色素吸着法を再度活用できないだろうか……?



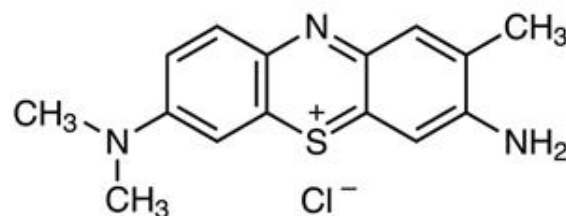
<https://www.jasco.co.jp/>

新技術の特徴・従来技術との比較

カチオン性色素とアニオン性荷電基の1:1吸着を利用した定量
かつてはTAPPI標準法に採用されていたが、手順の煩雑さのために除外された



メチレンブルー (MB)
※TAPPIで採用されていたのはこちら

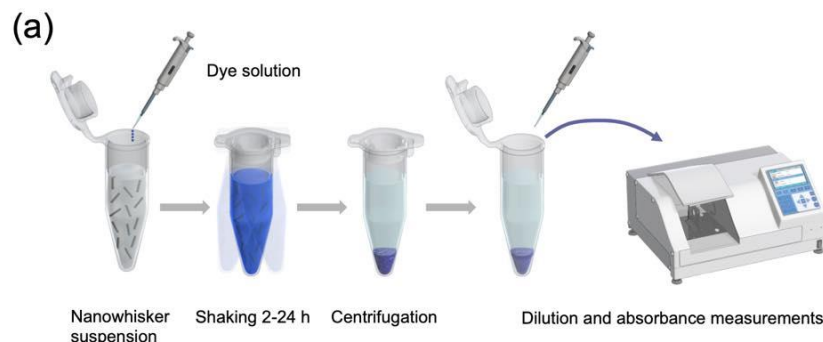


トルイジンブルーO (TBO)
別名Basic Blue 17

予備実験ではMBよりTBOがより良好な定量性を示したため、TBOを用いてさらに検討

新技術の特徴・従来技術との比較

- 1) ナノセルロース水懸濁液に過剰の色素（トリイジンブルーO）を添加して2時間振盪。表面官能基と色素分子は1:1の化学量論比で吸着する
- 2) 遠心分離で得られた上清を適宜希釈して可視光吸光度から濃度測定
- 3) 色素減少量が官能基量に相当



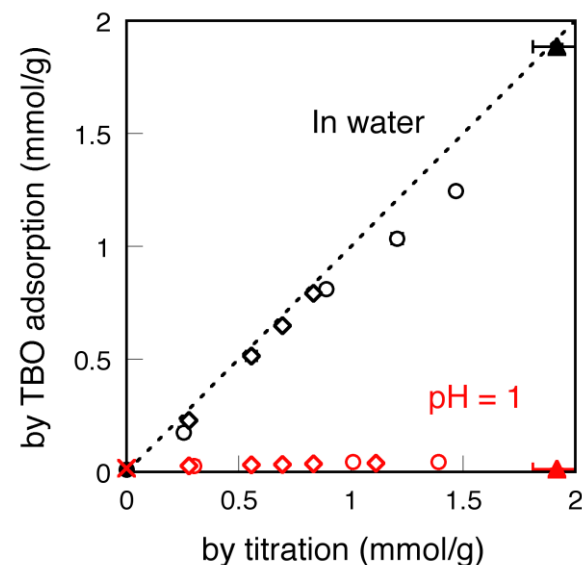
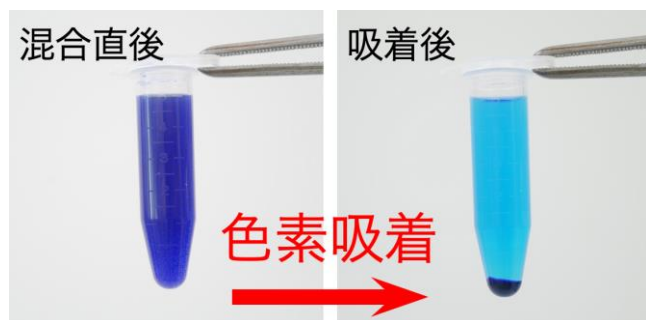
(a) 純水中（ $\text{pH} = 7$ ）の測定
 $-\text{COOH}$ と $-\text{OSO}_3\text{H}$ の両者を測定
 （ $-\text{COOH}$ のみの試料はこちらだけでOK）



(b) $\text{pH} = 1$ （ 0.1 M HCl ）下の測定
 $-\text{COOH}$ は解離しないので色素が吸着せず、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ のみに吸着
 $-\text{OSO}_3\text{H}$ のみが定量される

(a)－(b)により $-\text{COOH}$ が定量

新技術の特徴・従来技術との比較

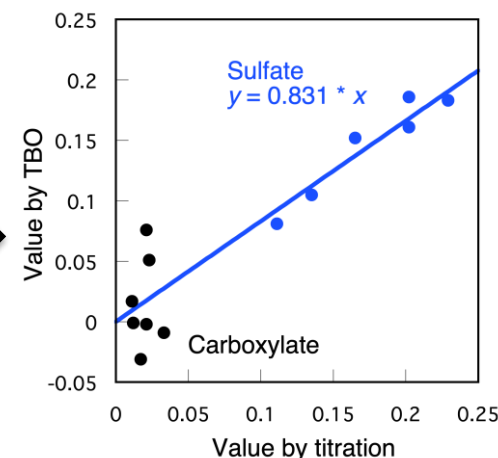
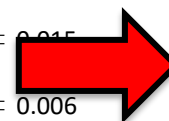


滴定および色素吸着による
-COOH基量の比較

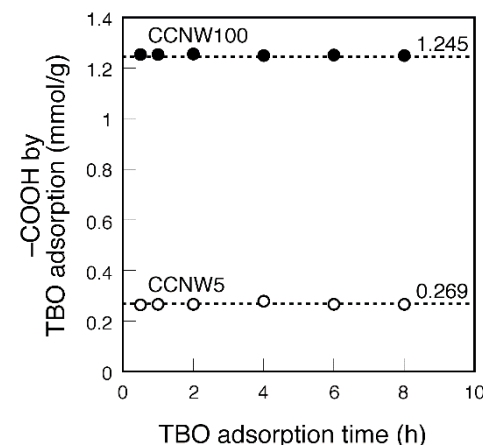
- 色素吸着と滴定の値は極めてよく一致。ばらつきも少ない。
- pH = 1下ではTBO吸着により定量した-COOH量は無視できるレベル。期待通り-COOHへの吸着は起こっておらず、-OSO₃H基のみの定量が可能であることを示唆

新技術の特徴・従来技術との比較

SCNWs	Cellulose starting materials	Sulfate group content (mmol/g)		Carboxyl group content (mmol/g)	
		by titration	by TBO adsorption	by titration	by TBO adsorption
C-70C20M	Cotton	0.229 ± 0.008	0.183 ± 0.003	0.017 ± 0.000	-0.031 ± 0.007
C-45C30M	Cotton	0.111 ± 0.000	0.081 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.017 ± 0.014
C-45C60M	Cotton	0.135 ± 0.001	0.105 ± 0.002	0.012 ± 0.000	-0.001 ± 0.015
C-50C60M	Cotton	0.165 ± 0.000	0.152 ± 0.003	0.021 ± 0.002	-0.027 ± 0.006
C-60C60M	Cotton	0.201 ± 0.001	0.186 ± 0.013	0.033 ± 0.007	-0.009 ± 0.018
W-45C60M	MCC	0.202 ± 0.001	0.161 ± 0.001	0.023 ± 0.001	0.051 ± 0.008
W-70C10M	SBKP	0.283 ± 0.001	0.231 ± 0.001	0.021 ± 0.000	0.076 ± 0.006



- 異なる $-\text{OSO}_3\text{H}$ および $-\text{COOH}$ 含量をもつ種々の試料に対して定量を実施
概ね滴定の結果と傾向が一致
- 吸着は迅速。最速30分、長くとも2時間で定量的に吸着完了



振とう時間を変えた際のみかけ $-\text{COOH}$ 基量の変化

新技術の特徴・従来技術との比較

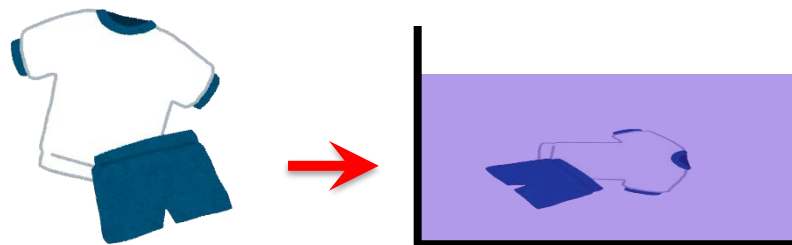
- とともに弱酸である-COOH基と-SH基が共存している場合

- 滴定では識別不可能
- 色素吸着では-SH基の影響なしに-COOHを定量可能 (pH = 7では-SH基は解離しないため)

CNW: -SHシリカ 重量比	-COOH (滴定)	-COOH (色素)
1:0	1.206 ± 0.025	1.034 ± 0.008
1:0.2	1.250 ± 0.029	1.049 ± 0.010
1:0.5	1.189 ± 0.013	1.032 ± 0.014
1:1	1.246 ± 0.006	1.008 ± 0.010

※ カルボキシ化CNWsと、-SH含有シリカ (SiliaMets® Thiol, 1.52 mmol/g) を様々な比で混合

- 滴定が困難な試料 (大きい布試料など) も定量可能
(武部、荒木他、日本木材学会講演、2021)



新技術の特徴・従来技術との比較

ナノセルロース試料の表面荷電基 ($-\text{COOH}$, $-\text{OSO}_3\text{H}$ etc.) 定量法

1) 酸一塩基滴定法 (従来法として最も一般的)

- 強酸性基および弱酸性基を個別に定量可能
- 比較的多量の試料が必要 (数百mg/回)
- 官能基酸性化のための前処理が長時間で煩雑
- 一試料の試料測定時間が長時間 (1~2 時間/回)
- 自動化のためには高価な滴定装置が必要



<https://www.toadkk.co.jp/>

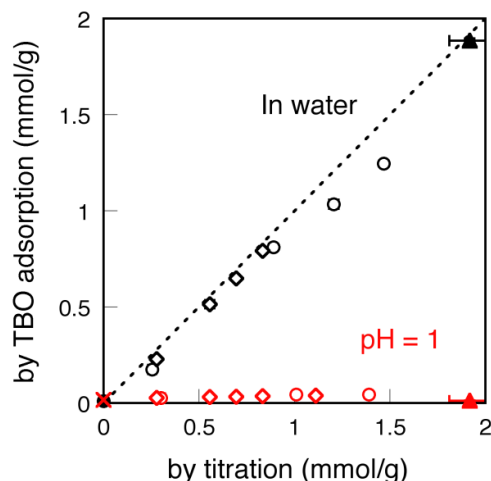
2) 色素吸着法 (かつてTAPPI標準法として存在)

- 試料量は極めて微量 (0.5~2.5 mg/回)
- 強酸性基および弱酸性基を個別に定量可能
- 複数の弱酸性基が存在していても定量可能
(例: $-\text{COOH}$ と $-\text{SH}$)
- 汎用の吸光光度計のみで迅速に多数の試料を
定量可能 (100試料/日でも可能!)



<https://www.jasco.co.jp/>

新技術の特徴・従来技術との比較



滴定および色素吸着による
-COOH基量の比較

50本振盪中！



測定へ

- 色素吸着と滴定の値は極めてよく一致・強酸性・弱酸性基を定量可能
- とともに弱酸である-COOH基と-SH基が共存していても、-SH基の影響なく-COOHを定量可能 (pH = 7では-SH基は解離しないため)
- 吸着は2時間で完了。その後は吸光度測定のみ。100本／日の測定可能
- 布地のような大型試料も定量可能

荒木 潤、特願2020-160645。高分子学会プレスリリース。 Araki, J. *Cellulose* in press.

表面官能基定量の重要性

官能基名	酸性度	性質・物性への影響
硫酸エステル基 ($-\text{OSO}_3\text{H}$)	強酸性	粒子・ナノファイバー間の反発制御 分散・凝集性 粘性コントロール
カルボキシ基 ($-\text{COOH}$)	弱酸性	反発制御・分散・凝集性 粘性 反応点（他の分子の付加反応） 金属イオン担持能
リン酸エステル基 ($-\text{OPO}_3\text{H}$)	強酸性	粒子・ナノファイバー間の反発制御 粘性コントロール 分散・凝集性
メルカプト基 ($-\text{SH}$)	弱酸性	反応点（他の分子の付加反応・ジスルフィド結合形成による $-\text{SH}$ 基どうしの架橋）

種々の官能基の制御された導入に加え、
導入された官能基量の定量がきわめて重要

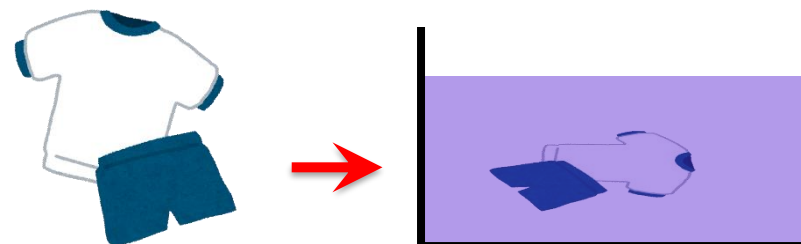
想定される用途

本法の広い普及により、

- ナノセルロースに詳しくない（新規参入の）企業であっても、
- 安価で汎用の吸光光度計のみを用いて、
- 混合するだけで特殊な技術を必要とせず、
- 一度に多量の試料（数十本～100本／日）を、
- 現場のライン上などどこでも

ナノセルロースの分析を可能にすることができる！

布地などの大型試料の表面官能基
定量にも応用可能。



実用化に向けた課題・企業への期待

- 本分析法のパッケージキット化を目指す。
- 色素の標準溶液の提供が最重要ポイントであり、ここをクリアできれば後はユーザー側で「混ぜて振るだけ」で分析が可能になる。
- 容量分析グレードでの色素溶液の製造ならびに供給、色素の長期保存および安定性の担保などのために試薬メーカーとの共同開発を期待。
- 読んでその通りに混ぜるだけで分析が行える、マニュアルの整備。
- 分析可能な試料の種類・条件・官能基の範囲などの見極め。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：表面荷電基定量方法および
表面荷電基定量キット
- 出願番号：特願2020-160645
- 出願人：国立大学法人信州大学
- 発明者：荒木潤

産学連携関連情報

第70回高分子学会 年次大会 広報委員会パブリシティ賞を受賞

https://main.spsj.or.jp/koho/koho_top.php

学会発表番号：1Pf076

混ぜて振るだけ！“蒼の色素”でナノセルロースの表面化学構造を分析

同賞は「その発表内容が学術、技術、又は産業の発展に寄与するものであり対外的に発表するにふさわしいと認められたもの」です（学会HPより）。

お問い合わせ先

株式会社信州TLO



T E L 0268 - 25 - 5181

F A X 0268 - 25 - 5188

e-mail info@shinshu-tlo.co.jp