

総説

TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの調製と特性解析

磯貝 明*

Preparation and Characterization of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers

Akira ISOGAI*

1. 緒言

日本では1年間に消費している木材とほぼ同じ量が毎年国内の森林で生産されている。しかし、依然として輸入材の比率は70%を超えており、国産材は有効利用されているとは言い難い。国産の間伐材や林地残材の利用量増加は、京都議定書で目標とした「管理された森林吸収分によるCO₂削減量」の達成、地域林業の活性化、木質バイオマス利用による持続的循環型社会の構築等に寄与する。そのため、近年では国産材を利用した住宅や大型公共建造物の建設促進、木質バイオマス系液体燃料（バイオエタノール、バイオディーゼル等）、木材チップの燃焼による発電・暖房システムの導入等に向けて産官学で個別にあるいは大型共同プロジェクトとして検討されている。

国産材利用の新しい流れを構築する道筋のひとつが、木材を高付加価値部材に変換することであり、新しい出口分野の創成による木質バイオマス利用分野の拡大である。その変換対象部材が、第3期科学技術基本計画に示された重点4分野、推進4分野の最先端領域に対応可能であれば、新しい産業の創成、日本固有の技術の育成や雇用拡大等の波及効果を期待できる。

木質バイオマスの三主成分はセルロース、ヘミセルロース、リグニンであり、その中で均一な化学構造を有するセルロースは地球上で最も多量に生物生産され、樹木中に蓄積されている高分子で、場合によっては石油系合成高分子に代替可能な、あるいはそれを超える優れた特性を有している。しかし、木部細胞壁中のセルロースは、幅が約4nmで高結晶性、高弾性率のセルロースミクロフィブリル（30～40本のセルロース分子からなる束）を形成し、図-1に示す階層構造のうちセルロース分子に次ぐ最少エレメントとして樹木自らの生命を外的応力や生物アタックから長期間守っている。さらに、セルロースミクロフィブリルはその表面でリグニン、ヘミセルロース成分と分子～ナノレベルで複合化し、強固で安定な木部細胞壁構造を形成している。したがって、天然セルロースは化学的あるいは酵素や生物的改質、変換が元々困難な素材であり、そのような性質を発現するように長い歴史の中で生合成システムが築き上げられてきた。

セルロースを優れた素材に変換できたとしても、そのプロセスで高温高压、高エネルギー消費、有機溶剤使用や多量の薬品を消費し、同様に多量の処理すべき洗浄排液が出るのであれば、そのプロセスは現在の社会では受け入れられない。さらに、セルロースのような生物由来の素材には

* 東京大学大学院農学生命科学研究科生物材料科学専攻製紙科学研究室
Lab. of Cellulose, Pulp and Paper Science, Department of Biomaterials Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

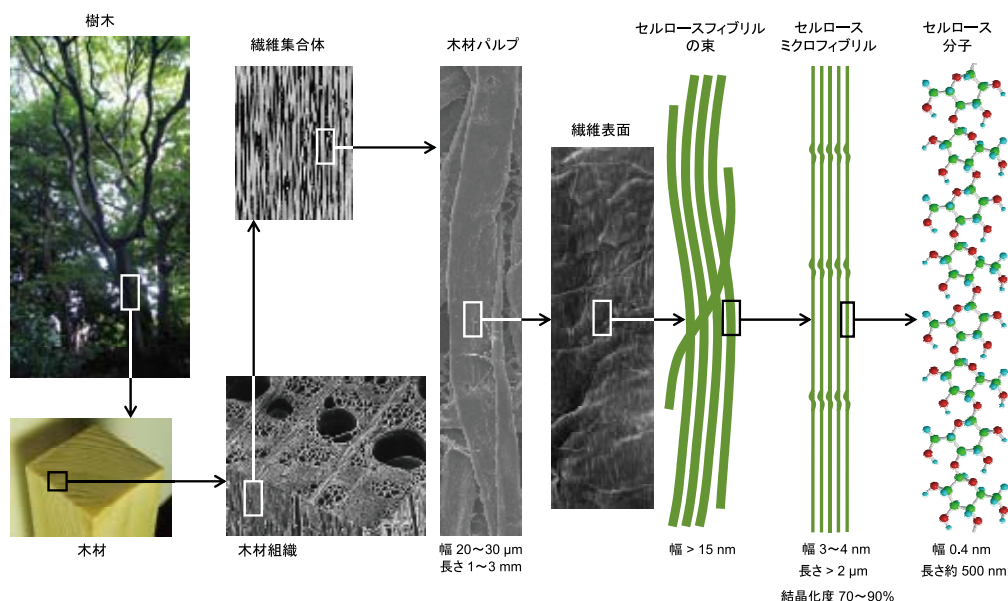


図-1 木材セルロースの樹木中での階層構造⁵⁾
Fig. 1. Hierarchical structure of wood cellulose⁵⁾

特性のばらつきや分布があり、工業用部材として特性基準の変動範囲内に制御するのは一般に困難である。すなわち、木質バイオマスを高機能先端部材に変換して利用分野を拡大するには「素材変換プロセス」に何らかの「ブレークスルー技術」が必要であり、その変換プロセスには「環境適合性」が不可欠で、得られた素材の特性基準は使用環境や要求特性に耐えうる範囲の「均一性」を有していることが求められる。

当研究室では、多糖の化学的改質による高機能材料への変換研究の一環として1996年よりTEMPO触媒酸化反応に取り組んできた。TEMPOは2,2,6,6-テトラメチルピペリジニル-1-オキシラジカルの略で(図-2)、水溶性の安定ニトロキシルラジカルである。セルロースのTEMPO触媒酸化では、有機溶剤を用いることなく水を媒体とし、常温常圧の反応でセルロースのC6位の1級水酸基を選択的にカルボキシル基のナトリウム塩に変換することができる。この

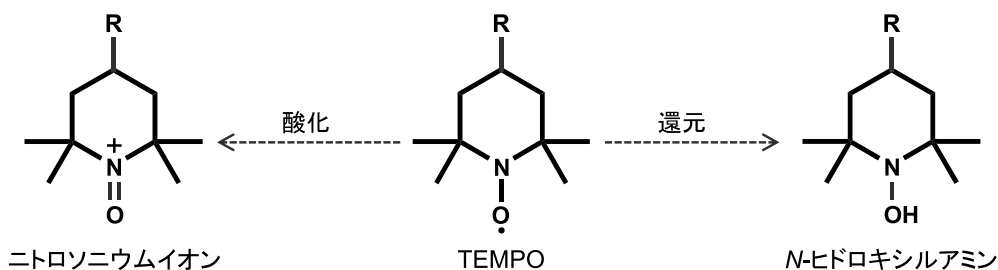


図-2 TEMPOの化学構造とその酸化および還元型構造
Fig. 2. Chemical structures of TEMPO, oxidized TEMPO and reduced TEMPO

ように酵素反応類似的な温和な条件というプロセスの環境適合性を有していながら短時間で進行するため、多糖の位置特異的な化学構造変換反応として産業レベルでの利用が期待できる。この手法を用いることにより木材セルロースを、約 4nm で均一幅の高結晶性ナノファイバーに変換することに成功した。本報告ではその「TEMPO 酸化セルロースナノファイバー」の調製と特性および応用展開の可能性について、これまでの研究成果をまとめて紹介する。なお、本報告の一部は既に別の総説にて紹介している¹⁻⁵⁾。

2. 1 級アルコール性水酸基の TEMPO 触媒酸化

図-2 の左端に示す酸化型でプラスの荷電を有する TEMPO⁺ (ニトロソニウムイオン型構造) が、水に溶解した低分子化合物の 1 級アルコール性水酸基を選択的に酸化し、アルデヒド基を経てカルボキシル基に変換できることが既に報告されていた⁶⁻⁸⁾。反応機構としては、pKa が 13 以上で解離度の低い 1 級アルコール性水酸基の僅かな水中での電離により生成する R-O⁻ と

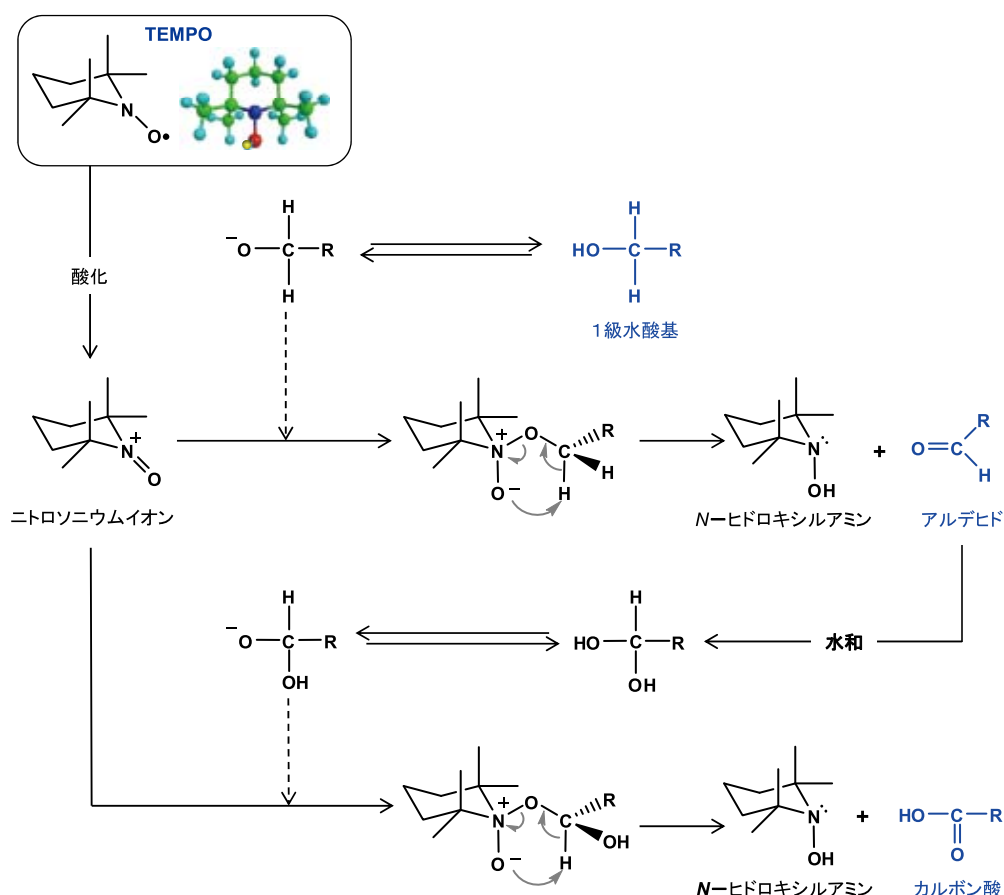


図-3 酸化型 TEMPO⁺ による 1 級アルコール性水酸基のアルデヒド基, さらにカルボキシル基への酸化機構⁵⁾
Fig. 3. Oxidation mechanism of primary hydroxyls to carboxylate groups via aldehydes by cationic oxidized TEMPO⁵⁾

酸化型の TEMPO^+ が結合し、還元型 TEMPO ($N\text{-OH}$ 型：図-2 右端) として離れる際に、アルデヒド基に変換する。生成したアルデヒド基は水中で水和型構造を形成し、その OH 基の僅かな電離によって生成する R-O^- に再度酸化型 TEMPO^+ が結合し、還元型 TEMPO として離れる際にカルボキシル基に変換する (図-3) ^{5,9)}。アルコール性水酸基および水和型のアルデヒド基の OH 基の電離はアルカリ側で進むため、 TEMPO 触媒酸化による 1 級アルコール性水酸基のカルボキシル基への酸化は弱アルカリ性条件で進みやすい。しかし、この酸化型 TEMPO^+ イオンによる 1 級アルコール性水酸基の酸化では、酸化対象のアルコール性水酸基と等モル以上の多量の TEMPO^+ を添加しなければならない。

一方、オランダの食品栄養科学研究所の de Nooy らは、水溶性のグルカン (グルコースを構成糖とする多糖) であるアミロデキストリン、プルラン、ポテトデンプンを弱アルカリ性水溶液に溶解させ、触媒量の TEMPO と臭化ナトリウムを加え、次亜塩素酸ナトリウムを共酸化剤 (主酸化剤) として低温～常温で処理することにより、これらの水溶性多糖の C6 位の 1 級水酸基を選択的にほぼ全てカルボキシル基に変換できることを報告した ¹⁰⁻¹³⁾。この手法では触媒量の TEMPO 用い、共酸化剤である次亜塩素酸ナトリウムによって反応系内で常に酸化型 TEMPO^+ を循環させて生成させることができ、塩化ナトリウムのみが副生する。この pH10 付近の $\text{TEMPO}/\text{NaBr}/\text{NaClO}$ 系触媒酸化をセルロースに適用した際、C6 位の 1 級水酸基が酸化されてカルボキシル基に変換する機構を図-4 に示す ⁵⁾。

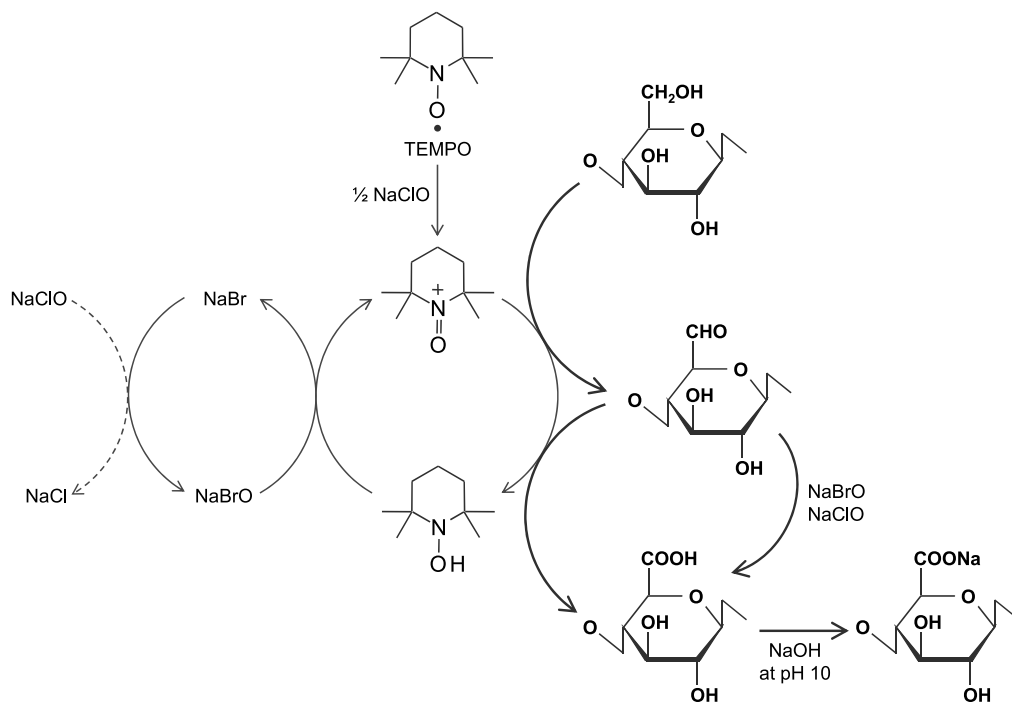


図-4 pH10での $\text{TEMPO}/\text{NaBr}/\text{NaClO}$ 系酸化によるセルロースの 1 級水酸基のカルボキシル基への酸化機構 ⁵⁾

Fig. 4. Selective oxidation of C6-primary hydroxyls of cellulose to C6-carboxylates via C6-aldehydes by $\text{TEMPO}/\text{NaBr}/\text{NaClO}$ system at pH 10⁵⁾

図-3に示すように、TEMPO 触媒酸化によるアルコール性水酸基の酸化プロセスでは、酸化型の TEMPO^+ と電離した R-O^- 基間の結合と開裂のプロセスを必ず経る。TEMPO は蝶の羽のように4つのメチル基を有する化学構造であるため、その立体障害により二級アルコール性水酸基よりも1級アルコール性水酸基に選択的に結合-脱離することによってアルデヒド基を経てカルボキシル基へと酸化する。なお、TEMPO 自身は Ames 試験陰性で、安全性が報告されているが¹⁴⁾、図-2、図-4の還元型の TEMPO は *N*-ヒドロキシルアミン構造であり、発がん性等が報告されている。しかし、TEMPO の場合には、*N*-ヒドロキシルアミン構造は不安定で、空気中の酸素によってほとんど全てが1電子酸化されて安定な TEMPO (ニトロキシルラジカル構造)として存在する。

3. セルロースの TEMPO 触媒酸化

水に溶解しないセルロースの TEMPO 触媒酸化では、出発セルロースによって得られる酸化生成物の化学構造や特性が著しく異なる。結晶性の低いレーヨン繊維等の再生セルロース、アル

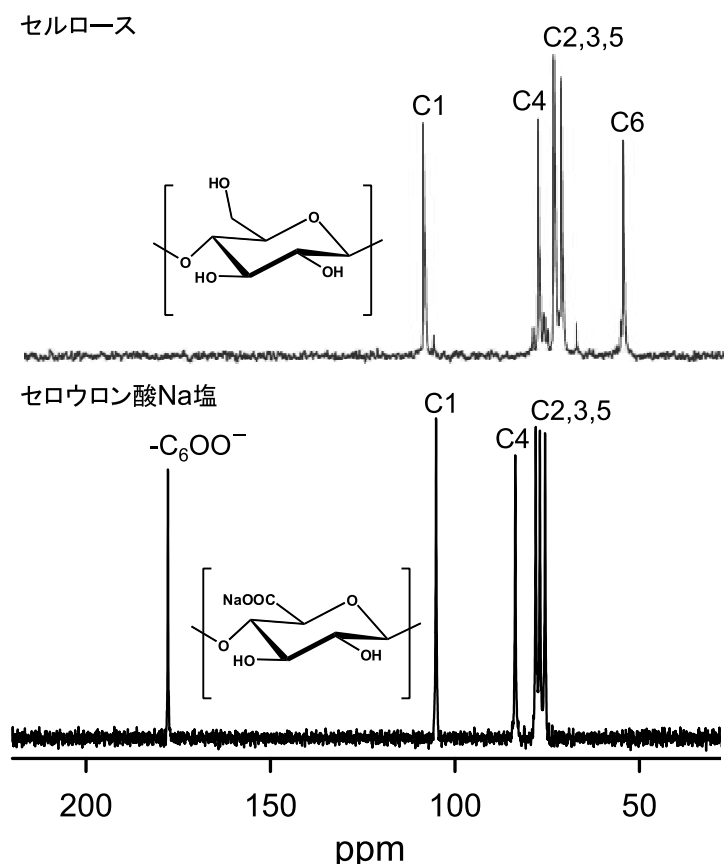
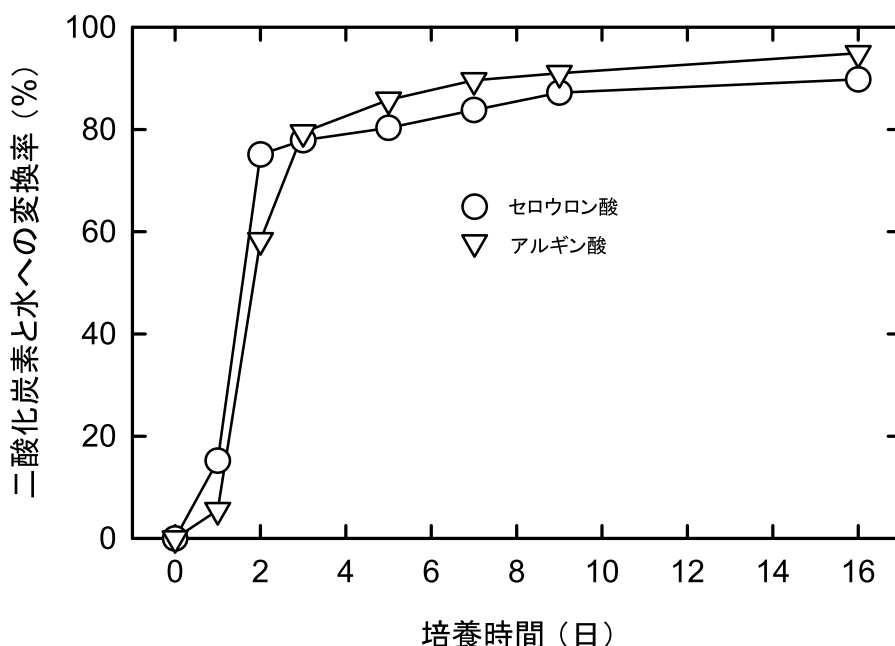


図-5 低分子量セルロースおよび再生セルロースの TEMPO 触媒酸化で得られる水溶性セロウロン酸の ^{13}C -NMR スペクトル^{5,60)}

Fig. 5. ^{13}C -NMR spectra of cellulose (DP 7) dissolved in $\text{DMSO}-d_6$ and cellouronic acid dissolved in D_2O . Cellouronic acid is prepared from regenerated cellulose by a TEMPO/NaBr/NaClO system at pH 10^{5,60)}



図－6 セロウロン酸およびアルギン酸の土中埋め込み試験による CO_2 への生物代謝性²³⁾

Fig. 6. Bio-metabolizability of cellouronic and alginic acids, evaluated as total organic carbon by soil-embedding test²³⁾

カリ膨潤（マーセル化）セルロース，ボールミル粉碎して分子量を低下させ非晶化した天然セルロースを TEMPO 触媒酸化した場合には，水溶性の高分子酸化生成物が定量的に得られることを見出した¹⁵⁻²¹⁾。図－5 には，重水素化ジメチルスルホキシド ($\text{DMSO}-d_6$) に溶解した重合度 7 の低分子量のセルロース²²⁾と，重水 (D_2O) に溶解した再生セルロースの TEMPO 酸化物の ^{13}C -NMR スペクトルを示す¹⁵⁾。TEMPO 酸化物には，セルロースの C6 位の 1 級水酸基に対応する 64ppm 付近のシグナルが完全に消失し，対応して 177ppm 付近にカルボキシル基の Na 塩のシグナルが現れている。すなわち，セルロース中のグルコースユニットの C6 位の 1 級水酸基が酸化され，全てがグルクロン酸ユニットに変換することができた。この均一な化学構造を有する新規 (1 → 4)- β -ポリグルクロン酸を「セルウロン酸 (cellouronic acid)」と命名し¹⁵⁾，この化学構造の均一性，水溶性，生分解性に注目して，高分子電解質としての特性，酸化反応機構，分子量変化，pH および温度安定性，分解酵素の単離－構造解析の検討等を進めた²³⁻²⁸⁾。セルウロン酸はアルカリ性では不安定だが，酸性条件では比較的安定であり，キャストフィルムは酸素バリア性を有することを見出した²⁹⁾。最近ボールミル粉碎処理により非晶化した天然セルロースを TEMPO 触媒酸化して得られる水溶性のセルウロン酸 Na 塩を，生分解可能な洗剤用の高分子ビルダー（水道水中のカルシウムイオンを取り込み，Na イオンに交換することで洗濯効率を上げる添加剤）として利用する特許が報告されている³⁰⁾。

一方，TEMPO 触媒酸化を製紙用の漂白クラフトパルプや高純度のリンターセルロース，パケテリアセルロース等の天然セルロースに適用した場合には，相当量のカルボキシル基を導入でき

るが、水溶性の酸化物を高収率で得ることはできない。しかし、後述するようにこの場合には TEMPO 酸化セルロースナノファイバーに変換できることが明らかになった。

4. セロウロン酸の生分解性

水溶性のセロウロン酸は、セルロースの TEMPO 触媒酸化という人工的な有機化学反応によって初めて得られる新規 (1 → 4)-β-ポリグルクロン酸 Na 塩であり、自然界で存在が確認されたという報告はない。セロウロン酸は精製された純粋なセルラーゼ、ペクチナーゼ等の酵素では分解されないが、多数の酵素が混在している市販の粗酵素セルラーゼによって分解されて分子量が低下する。すなわち、粗酵素セルラーゼ中に含まれる微量混在酵素によって分解されることが明らかになった。また、土中埋め込み試験の結果、昆布の成分として自然界に存在するアルギン酸と同程度に、土中細菌によって二酸化炭素と水にまで生物代謝されることが判明した (図-6)²³⁾。

セロウロン酸を分解する細菌を土中からスクリーニングし、分解酵素を精製・単離して分解機構を解析したところ、ペクチンやアルギン酸と同様、リアーゼ型 (β-脱離により C4 位と C5 位に二重結合を形成してグリコシド結合が開裂する機構) であることが明らかになった。さらに、セロウロン酸鎖をランダムに切断するエンド型のセロウロン酸リアーゼ (CUL-I: cellouronate

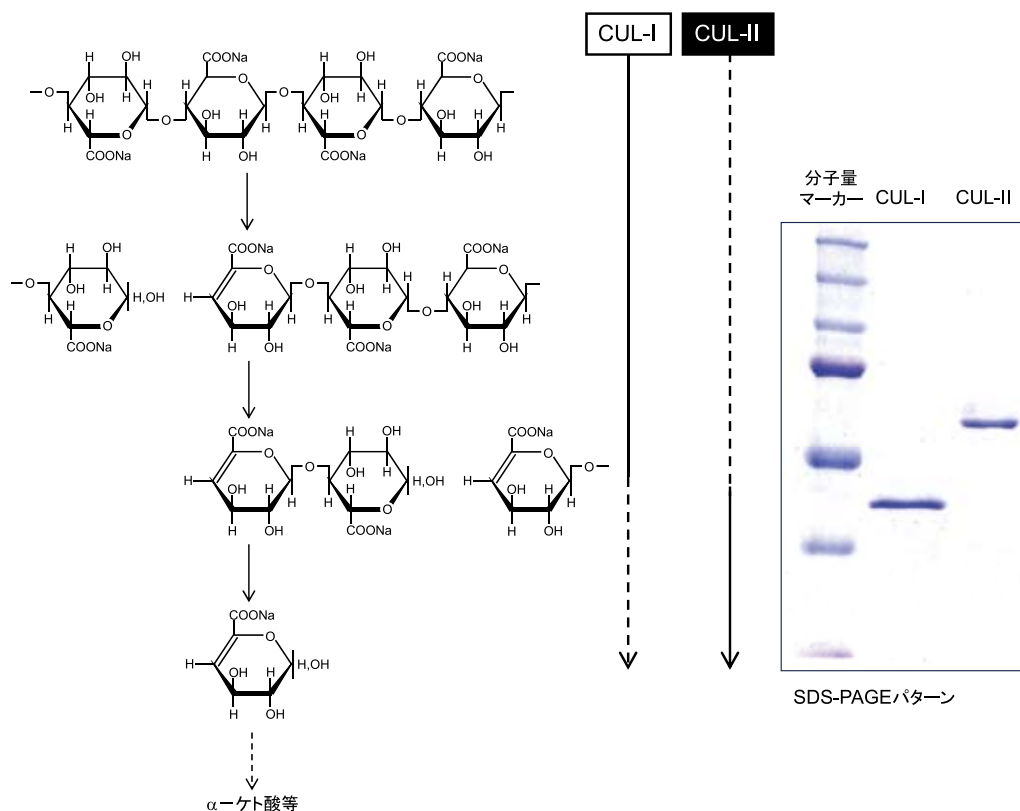


図-7 エンド型およびエキソ型のセロウロン酸リアーゼの SDS-PAGE パターンとセロウロン酸の分解機構³²⁾

Fig. 7. Degradation mechanism of cellouronic acid by endo- and exo-type cellouronate lyases and their SDS-PAGE pattern³²⁾. Reproduction of illustration from ref. 32 with permission from Springer (© Springer 2008)

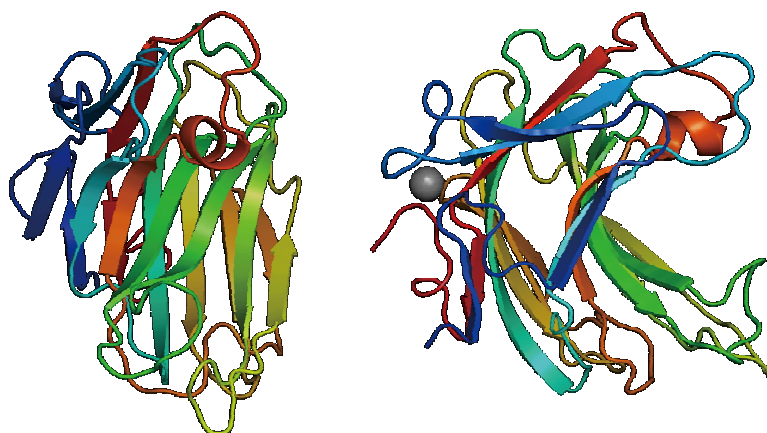


図-8 *Trichoderma reesei* 由来のセロウロン酸リアーゼの構造³⁴⁾

Fig. 8. Structure of endo-type cellouronate lyase originally formed by *Trichoderma reesei*³⁴⁾

lyase-type I) と、セロウロン酸の末端からグルクロン酸ユニットを順次切断していくエキソ型のセロウロン酸リアーゼ (CUL-II: cellouronate lyase-type II) の二種類が単離-精製され (図-7)、分子量や pH あるいは温度安定性等を検討した^{31,32)}。

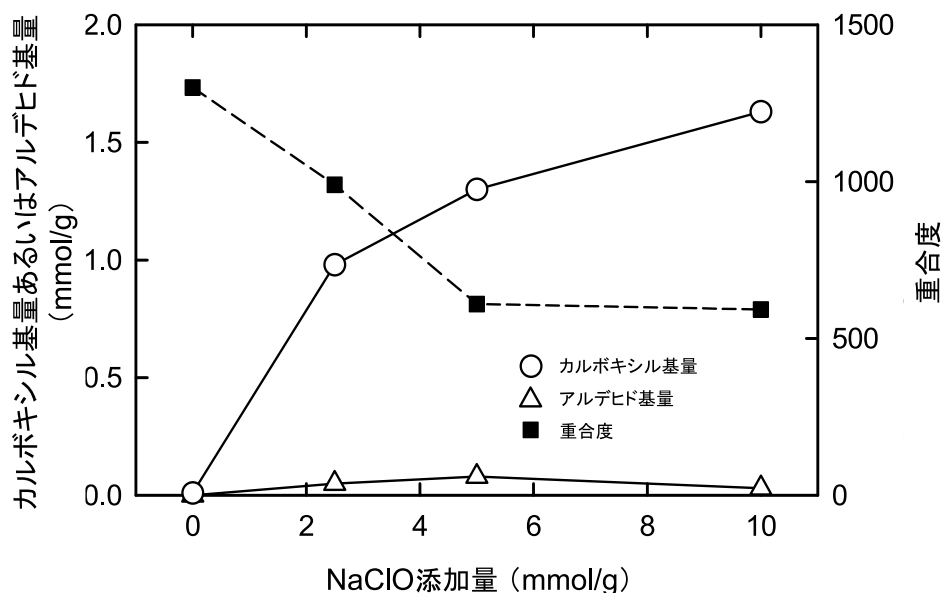
セロウロン酸を唯一の炭素源とした場合、セルロースを分解する白色腐朽菌で全遺伝子情報が明らかになっている *Trichoderma reesei* も、セロウロン酸をエンド型に分解するリアーゼ型酵素 (TrGL) を生産して資化する。そこで、常法に従って TrGL のアミノ酸配列を明らかにし、TrGL をコードする cDNA を酵母に組み込んで大量生産させた TrGL から単結晶を作製してその構造を解析した。その結果、図-8 に示すように、セロウロン酸分子が入り込む溝 (cleft) が確認でき、丸で示すカルシウムイオンが酵素の構造安定化に寄与している^{33,34)}。

セロウロン酸を酵素分解して代謝する菌が自然界に多数存在することは、セロウロン酸自身が自然界に存在していることを示唆している。セロウロン酸は生分解されやすく不安定なため、これまで天然物として単離精製されなかった可能性がある。また、自然界には、セロウロン酸に類似した構造を有する多糖の存在が報告されており³⁵⁾、それを分解する酵素がセロウロン酸も分解する可能性もある。

一方、以上の結果は、TEMPO 酸化セルロースを生分解可能な環境適合型の材料として利用可能である反面、使用中に菌によって分解され変質してしまう可能性がある。したがって、材料として使用中は安定で菌によって分解・変質することなく、使用後に土中埋め込み処理等で初めて生分解性が発現するようなスイッチ機能の付与が必要となる。

5. 天然セルロースの TEMPO 触媒酸化

TEMPO 触媒酸化反応を、製紙用の漂白クラフトパルプや綿由来のリンターセルロース、ラミー、バクテリアセルロース等の高結晶性の各種天然セルロースに適用した場合には、酸化物中に相当量のカルボキシル基を導入できるが、どのような酸化条件でも水溶性のセロウロン酸を高収率で得ることはできない^{5,15,36-38)}。また、酸化後のセルロースを光学顕微鏡、電子顕微鏡で観察したところ、元の天然セルロースの繊維形態やフィブリル構造を維持していた³⁷⁾。次亜塩素



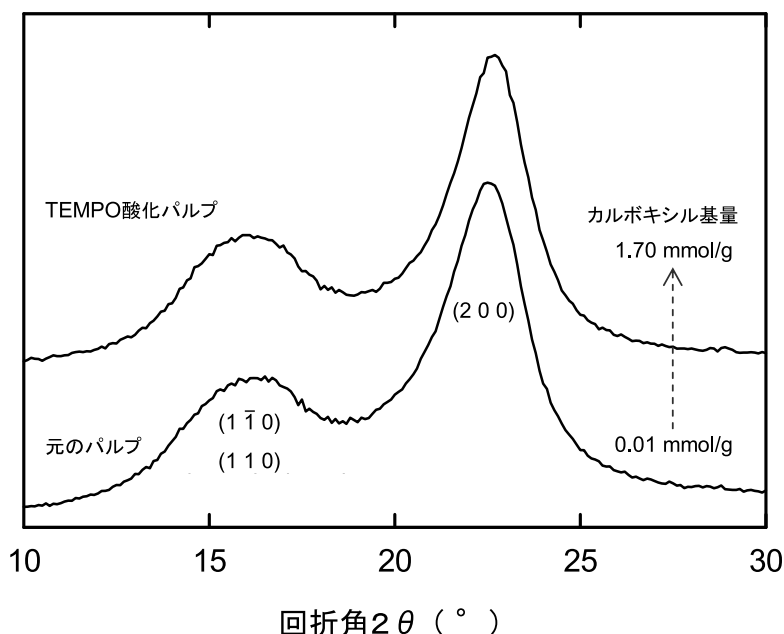
図－9 針葉樹漂白クラフトパルプを pH10 で TEMPO/NaBr/NaClO 系酸化した際の NaClO 添加量と酸化生成物のカルボキシル基量，アルデヒド基量，重合度の関係⁵⁾

Fig. 9. Carboxyl and aldehyde contents, and degree of polymerization of water-insoluble products of softwood bleached kraft pulp oxidized by a TEMPO/NaBr/NaClO system at pH 10 with various amounts of NaClO⁵⁾

酸ナトリウムの添加量の増加によってカルボキシル基量が増加して短繊維化が起こっているが、著しい水膨潤性は認められない。

したがって、TEMPO 触媒酸化によってカルボキシル基量を増加させた製紙用パルプは目詰まり等の問題なく、製紙の濾過－脱水工程でシートを作製することができる。アニオン性のカルボキシル基が増加しているため、各種カチオン性添加剤の定着効率を高めてシートの湿潤紙力やサイズ性等の機能付与効率を向上させることができる^{39,40)}。また、TEMPO 触媒酸化反応過程でパルプ繊維表面に中間体として生成する C6- アルデヒド基（図－4）を最大量になるように制御することで繊維間ヘミアセタール結合を効率的に形成し、湿潤紙力向上効果を付与することができた⁴¹⁻⁴³⁾。

図－9 には、元々 0.01mmol/g のカルボキシル基を有する製紙用の針葉樹漂白クラフトパルプ（セルロース含有量約 90%，ヘミセルロース含有量約 10%）に対して、NaClO の添加量を変えて TEMPO/NaBr/NaClO 系の触媒酸化を pH10 で行った場合の結果を示す。TEMPO 触媒酸化後でも元の繊維形状は変わらず、水不溶の TEMPO 酸化物としての回収率は 90% 以上となる。この繊維状酸化物中には少量のアルデヒド基と共に、最大で 1.7mmol/g 程度のカルボキシル基を導入することができ、重合度は元の半分ほどに低下する⁵⁾。なお、カルボキシル基量はセルロース試料の電導度滴定曲線から定量できる。また、TEMPO 酸化セルロース中のアルデヒド基は、pH4～5 の条件下に亜塩素酸ナトリウム（NaClO₂）で追酸化処理することにより選択的にカルボキシル基に酸化される。したがって、NaClO₂ 処理前後の試料を電導度滴定し、NaClO₂ によ



図－10 針葉樹漂白クラフトパルプとその TEMPO 触媒酸化物の X 線回折パターン⁵⁶⁾

Fig. 10. X-ray diffraction patterns of softwood bleached kraft pulps before and after TEMPO-mediated oxidation⁵⁶⁾. Reproduction of image from ref. 56 with permission from American Chemical Society (© ACS 2009)

る追酸化処理して増加した分のカルボキシル基が、追酸化前の試料に存在していたアルデヒド基量とみなすことができる³⁷⁾。

図－9の結果から、元の針葉樹漂白クラフトパルプの170倍量までカルボキシル基を導入可能であるが、酸化処理後でも元のパルプと同じセルロースⅠ型の結晶化度、結晶幅を有し、同じ繊維形状を維持している(図－10)^{5,44)}。この結果は、TEMPO触媒酸化によって生成したC6-カルボキシル基が結晶性のセルロースマイクロフィブリル内部ではなく、フィブリル表面にのみ位置選択的に生成していることを示している⁴⁵⁾。そのモデル構造を図－11に示す⁵⁾。木材セルロースのマイクロフィブリル幅は約4nmであり(図－1)、断面を正方形と仮定すると1本のセルロースマイクロフィブリルは約36本のセルロース分子からなる。そのうち、20本はマイクロフィブリル表面に存在し、16本分が結晶内部となる。すなわち木材セルロース分子の半分以上は結晶性マイクロフィブリルの表面に存在する。

十分な TEMPO 触媒酸化条件では、図－11に示すようにセルロースマイクロフィブリル表面に露出している C6 位の 1 級水酸基(セルロース分子鎖のグルコースユニット 2 個に 1 個の C6 位が交互にフィブリル表面に露出している)がほぼ全てカルボキシル基の Na 塩に酸化されると推定した。実際、各種天然セルロースの X 線回折パターンから Scherrer 式によって結晶性マイクロフィブリルの幅を求め、その大きさからマイクロフィブリル表面に露出している C6 位の 1 級水酸基量を計算すると、TEMPO 触媒酸化で生成した最大カルボキシル基量とほぼ一致していた(図－12)⁴⁶⁾。結晶幅の大きな海藻セルロースでは、比表面積(単位重量当たりの表面積)が小さ

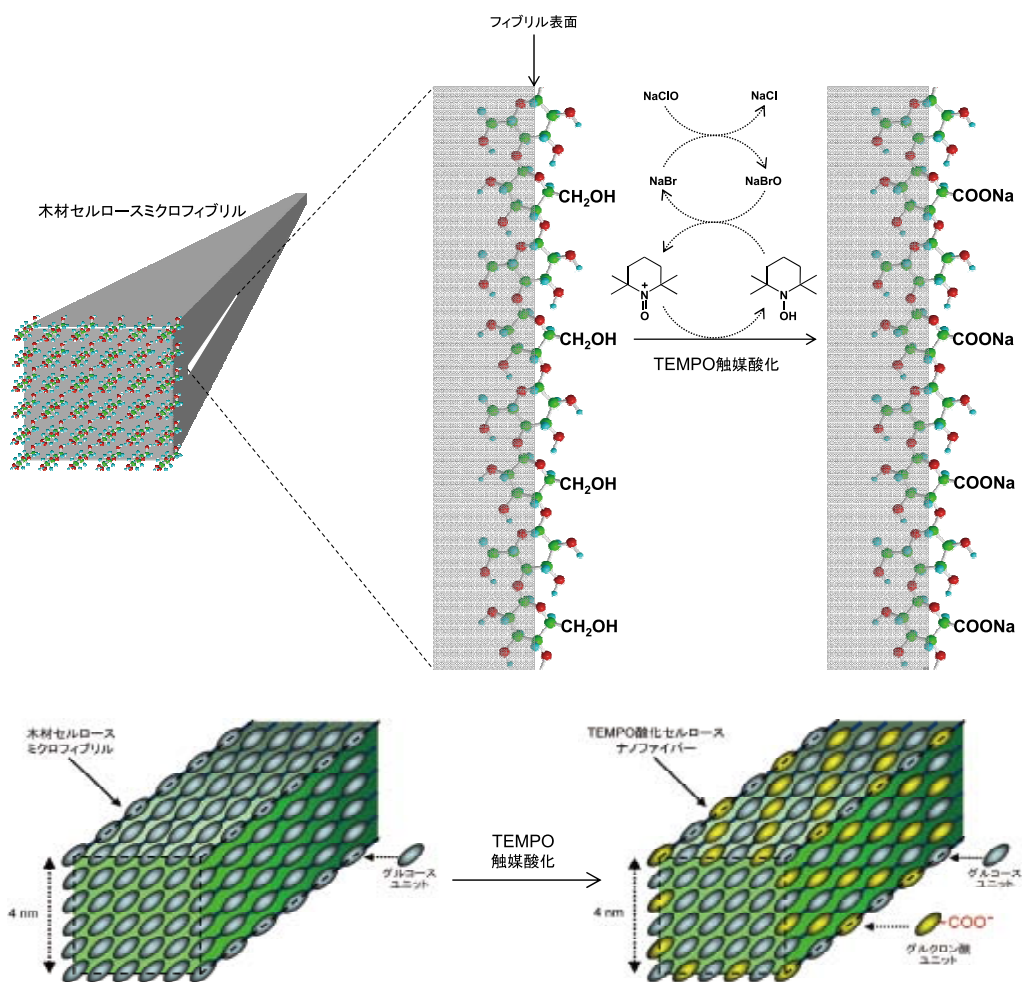
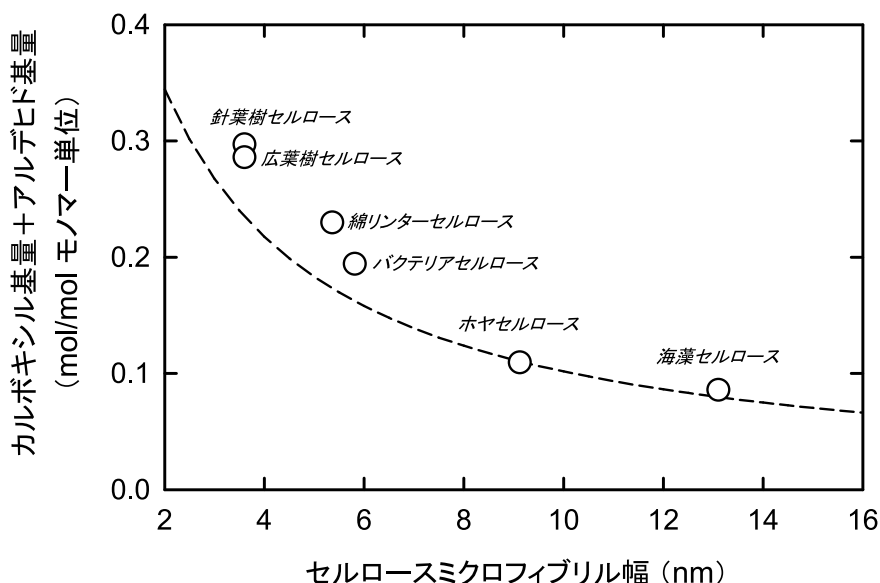


図-11 TEMPO 触媒酸化による木材セルロースマイクロフィブリル表面の化学構造変化のモデル図⁴⁶⁾

Fig. 11 Systematic model of wood cellulose microfibril before and after TEMPO-mediated oxidation⁴⁶⁾.
Reproduction of image from ref. 46 with permission from American Chemical Society (© ACS 2010)

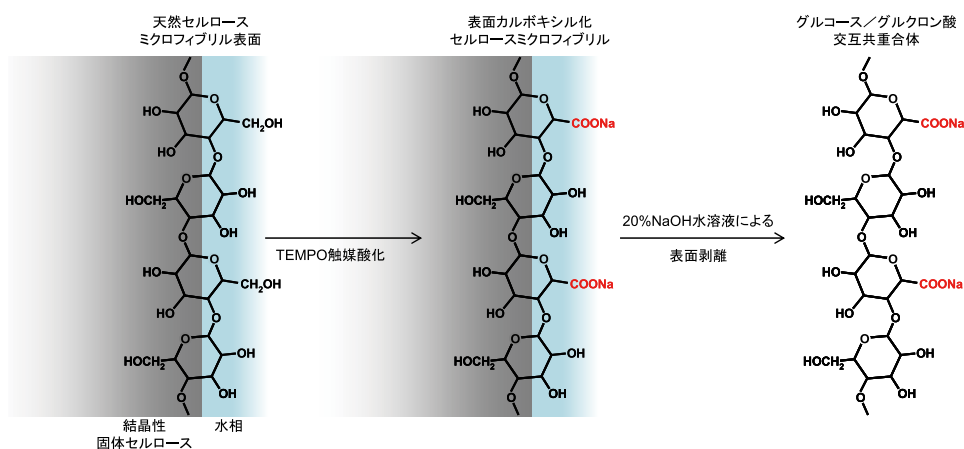
くなるために表面に露出している単位重量当たりの C6 位の 1 級水酸基量が少なく、結晶幅の小さな木材セルロースは逆に多くなる。

さらに、TEMPO 触媒酸化セルロースをアルカリ水溶液で抽出することで得られる水可溶成分の化学構造を解析したところ、図-13 のようにグルコースとグルクロン酸が交互に共重合した新規水溶性多糖が得られた⁴⁷⁾。この結果も、TEMPO 触媒酸化が天然セルロースの結晶性マイクロフィブリル表面に露出している C6 位の水酸基を選択的に酸化し、C6-カルボキシル基に変換するという図-11 の機構の妥当性を支持していた。すなわち、天然セルロースの TEMPO 触媒酸化では、元のセルロース I 型の結晶構造、結晶化度を変化させることなく、マイクロフィブリル表面に高密度でカルボキシル基を導入できる（最大 1.7 個のカルボキシル基/nm²）、極めて特徴



図－12 各種天然セルロースのX線回折パターンによるマイクロフィブリル幅から計算したマイクロフィブリル表面に露出したC6位の1級水酸基量と、TEMPO触媒酸化反応によって生成した最大カルボキシル基量の関係⁴⁶⁾

Fig. 12. Relationships between cellulose microfibril width of various native celluloses and the maximum amount of C6-oxidized groups (carboxylate and aldehyde groups) formed by a TEMPO/NaBr/NaClO system at pH 10. The line shows the relationship between the amount of C6 primary hydroxyls exposed on cellulose microfibril surfaces calculated from cellulose microfibril width⁴⁶⁾. Reproduction of image from ref. 46 with permission from American Chemical Society (© ACS 2010)



図－13 TEMPO触媒酸化した天然セルロースのNaOH可溶分のうち、水可溶成分の化学構造と、その結果から推定されるTEMPO酸化セルロースマイクロフィブリル表面の化学構造⁴⁷⁾

Fig. 13. Chemical structure of water-soluble fraction in aq. NaOH-extracts of TEMPO-oxidized native celluloses, and that of TEMPO-oxidized native cellulose surfaces anticipated thereof⁴⁷⁾. Reproduction of image from ref. 47 with permission from Gesellschaft Deutscher Chemiker (© GDCh 2010)

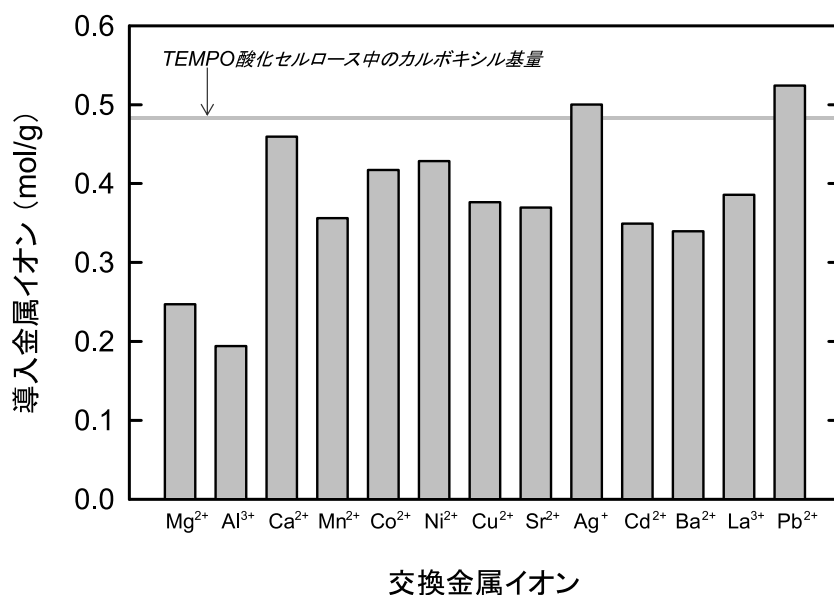


図-14 TEMPO 酸化セルロース中のカルボキシル基の Na 塩をイオン交換処理して導入された金属イオンの量⁴⁸⁾
 Fig. 14. Molar ratio of metal ions introduced into TEMPO-oxidized cellulose by ion-exchange treatment of sodium carboxylate groups⁴⁸⁾

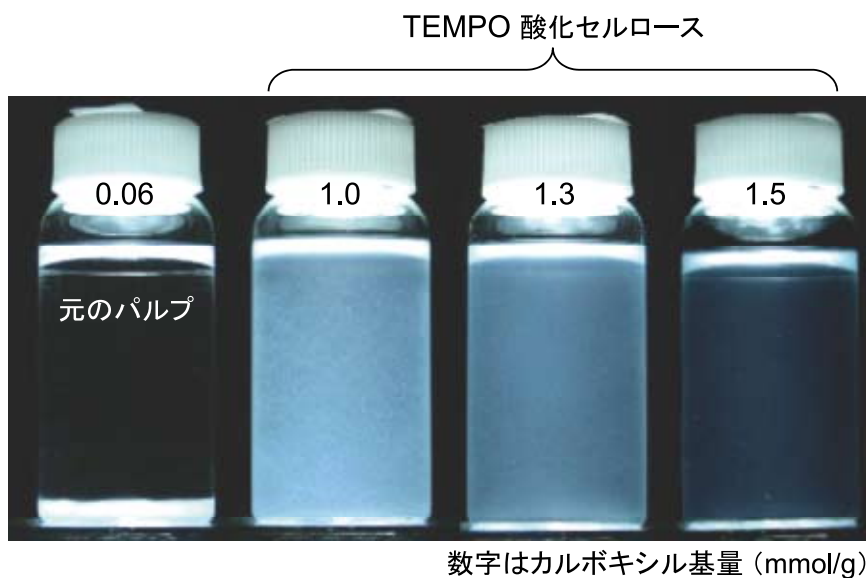


図-15 広葉樹漂白クラフトパルプ由来の TEMPO 酸化セルロースのカルボキシル基量と水中解繊処理後の光透過度の関係⁴⁴⁾

Fig. 15. Relationship between carboxylate content of TEMPO-oxidized hardwood bleached kraft pulp and light transmittance of aqueous dispersion after mechanical disintegration under the same conditions⁴⁴⁾

的な天然セルロースの化学改質と言える。

また、TEMPO 酸化セルロース中のカルボキシル基の Na 塩は、簡単な対イオン交換処理で Ca イオン、銀イオン、銅イオン等の別の金属イオンへと変換できる（図－14）^{48,49)}。このように対イオン交換した TEMPO 酸化セルロースから各種金属ナノ粒子の「その場合合成」が可能であり、高効率かつ安定な触媒機能の付与が可能となった⁵⁰⁾。したがって、TEMPO 酸化セルロースのカルボキシル基の対イオン変換により、親水性の制御や撥水性付与、抗菌作用、生分解性制御、分散性や凝集性の制御、触媒機能の付与等の多種多様な物性変化、機能付与が可能となる。このように TEMPO 酸化セルロースは簡便な処理で改質可能な化学構造を有している。

6. TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの調製

TEMPO 触媒酸化反応後でも元の繊維形態を保っている酸化セルロースを水に分散させ、家庭用ミキサーあるいは超音波ホモジナイザーによりせん断力をかけると、導入したカルボキシル基量によって透明で高粘度のゲルに変換できる^{5,44,51)}。せん断処理条件にも依存するが、製紙用の広葉樹漂白クラフトパルプを出発試料とした場合にはカルボキシル基量が 1.5mmol/g 以上で透明ゲルとなり（図－15）、針葉樹漂白クラフトパルプでは、1.0mmol/g 以上で透明ゲルとなる。広葉樹漂白クラフトパルプには C6 位のない疎水性のキシランを主なヘミセルロースとして含有しているために高めのカルボキシル基量が必要であり、針葉樹漂白クラフトパルプ中の主なヘミセルロースはセルロースと同様に TEMPO 触媒酸化可能な C6 位の 1 級水酸基を有するグルコマンナンであるため、低めのカルボキシル基量でも透明ゲル化が可能となる。

せん断処理で透明となった TEMPO 酸化漂白クラフトパルプのゲルを希釈して乾燥させ、透過型電子顕微鏡で観察すると、約 4nm の均一幅で、長さ数ミクロンに達する高アスペクト比（長さ／幅の比率）のほぼ完全に個々に分散したナノファイバーが確認できる（図－16）^{5,44,51)}。すなわち、図－1 に示すセルロースの階層構造のうち、セルロース分子に次ぐ最小エレメントである高結晶のセルロースミクロフィブリル単位に水中で完全ナノ分散可能となる。ナノ分散した TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの幅は可視光の波長よりも十分に小さいために透明となる。完全ナノ分散せず、光の波長以上の凝集体が存在する場合には白濁して見える。また、得られたナノ分散ゲルの波長に対する光透過度から、ナノファイバー幅を計算によって求めることができ、図－16 の場合には電子顕微鏡画像から求めた値と一致した⁵²⁻⁵⁴⁾。

これまで、セルロース繊維を水に分散させ高圧ホモジナイザーや石臼式のグラインダー、水中対向衝突等の機械処理により一部ナノフィブリル化する手法は報告されていたが、幅 4nm のセルロースミクロフィブリル単位にまで損傷少なく、完全にナノ分散させる方法は見出されていない。これは、図－1 に示すようにミクロフィブリル内ばかりではなく、ミクロフィブリル間にも直接、あるいはリグニン、ヘミセルロースを介して間接的に無数の水素結合が形成されており、機械的なせん断力だけではそれらを完全に切断することができないためである。

一方、TEMPO 触媒酸化では、図－11 に示すように、フィブリル表面にマイナス荷電を有する C6-カルボキシル基の Na 塩が高密度で生成する。水中では、フィブリル間の強力な荷電反発および浸透圧効果（高密度のカルボキシル基の Na 塩部分を水で希釈しようとして水分子が強引に入り込むことによりフィブリル間隙を広げようとする力）が効果的に作用し、極めて軽微な解繊処理によって、完全ナノ分散が可能となる（図－17）⁵⁵⁾。ナノ分散した TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの表面荷電の目安であるゼータ電位は水中で -80mV であり、負電荷の値が

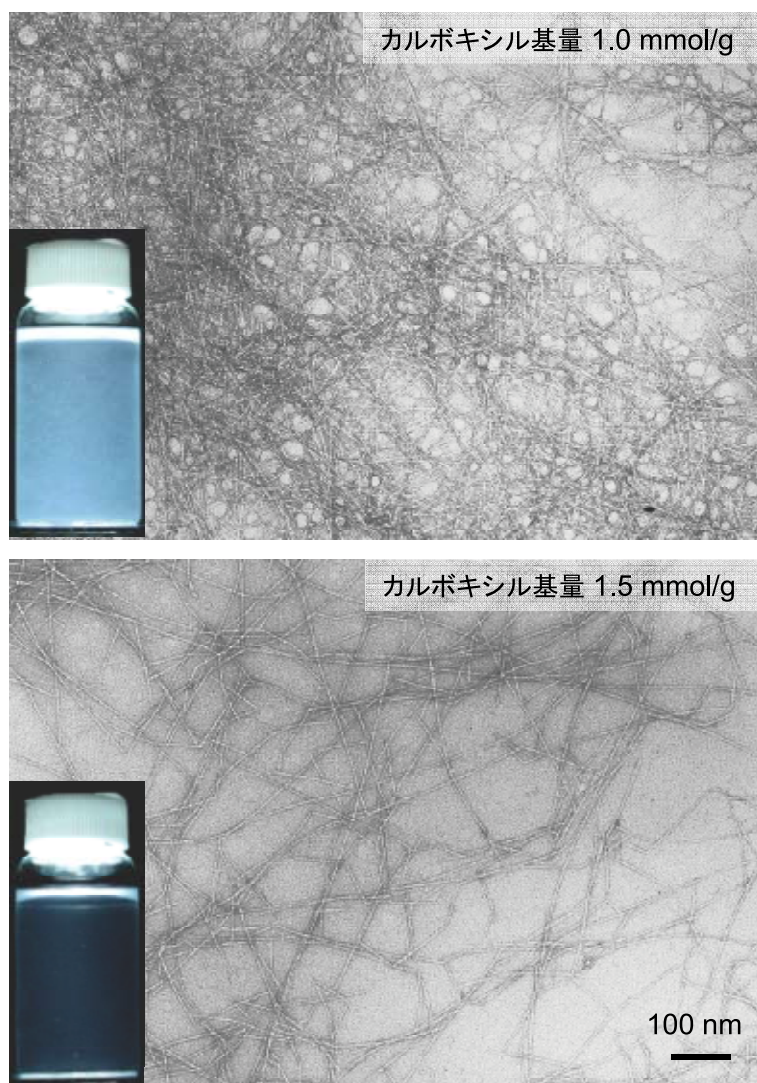


図- 16 広葉樹漂白クラフトパルプ由来の TEMPO 酸化セルロース（カルボキシル基量 1.5mmol/g）を水中解繊処理して得られるナノファイバーの電子顕微鏡画像⁴⁴⁾

Fig. 16. Transmission electron microscopy image of nanofibers prepared from TEMPO-oxidized cellulose with 1.5 mmol/g carboxylate content by mechanical disintegration in water. The TEMPO-oxidized cellulose was prepared from hardwood bleached kraft pulp by a TEMPO/NaBr/NaClO system at pH 10⁴⁴⁾. Reproduction of image from ref. 44 with permission from American Chemical Society (© ACS 2007)

極めて大きい^{5,56,57)}。

なお、図- 12 に示すように、TEMPO 酸化セルロースの水中解繊処理によって得られる完全分散ナノファイバーの幅は、天然セルロースの種類によってほぼ一定である。しかし、長さ方向は TEMPO 酸化反応条件、解繊条件（解繊方法、解繊温度および解繊時間等）によって異なり、

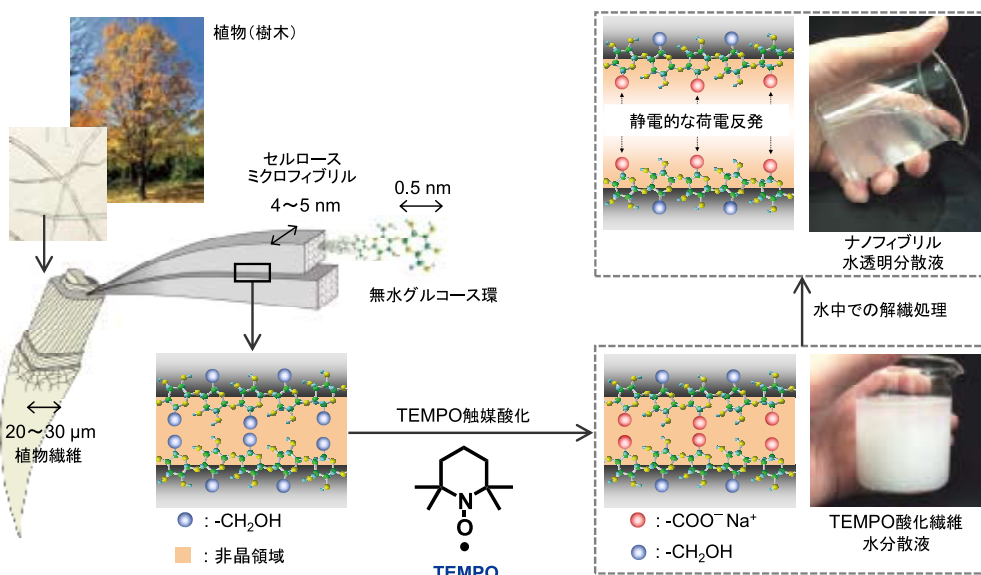


図- 17 TEMPO 酸化木材セルロースマイクロフィブリルが完全ナノ分散するメカニズム⁵⁵⁾

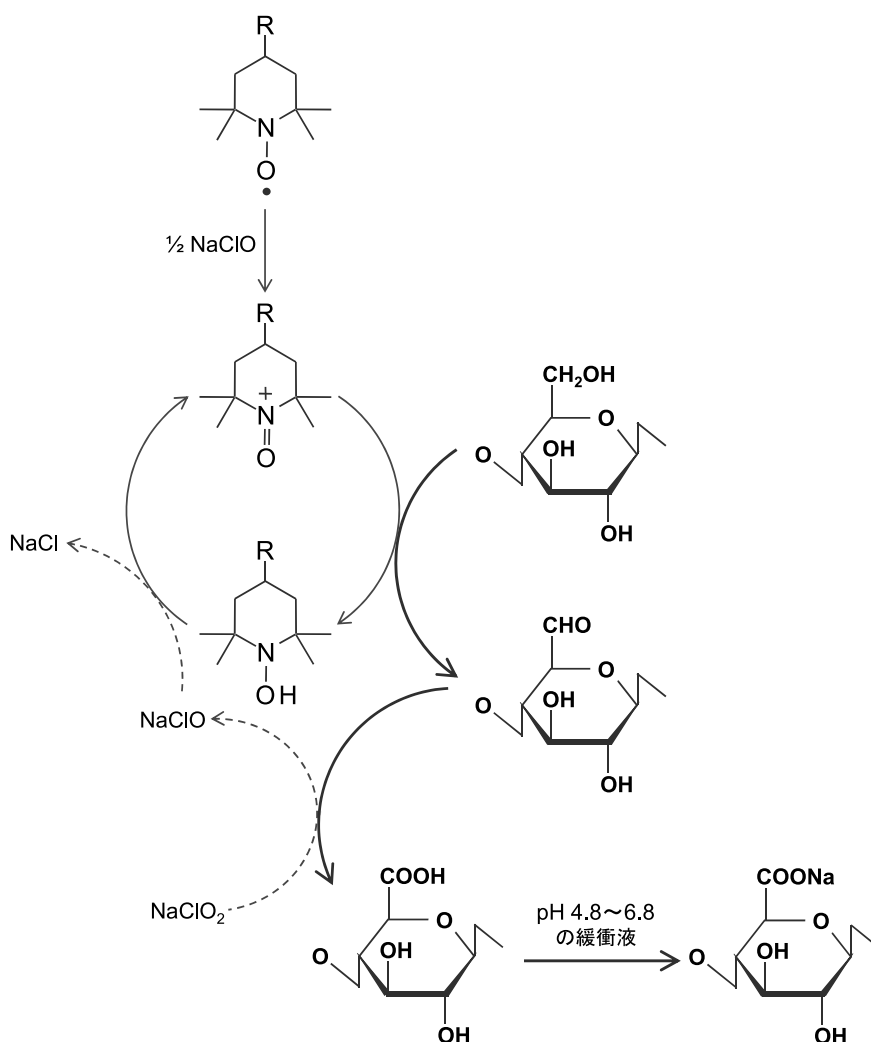
Fig. 17. Mechanism of nano-fibrillation of TEMPO-oxidized wood cellulose in water by electrostatic repulsion and/or osmotic effect between oxidized cellulose microfibrils, working efficiently in water⁵⁵⁾

長さおよび長さ分布を一定範囲内に制御することは現状では困難である。TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの長さ・長さ分布評価法については、電子顕微鏡画像、原子間力顕微鏡画像から測定することも可能である。しかし、希釈した TEMPO 酸化セルロースナノファイバーゲルの粘弾性挙動から、高分子溶液の粘弾性理論と表面荷電効果を導入することで、ナノファイバーの長さをある程度正確に評価できる⁵⁸⁾。

7. TEMPO 酸化反応条件の検討

これまでは、pH10 で TEMPO/NaBr/NaClO 系の酸化反応を用いて天然セルロースからのナノファイバー化を検討してきたが、図- 9 に示すように、水中ナノ分散に必要なカルボキシル基量に至る酸化条件では、副反応によるセルロース鎖の切断—分子量低下が避けられない⁵⁾。これは、pH10 の弱アルカリ性条件下の TEMPO 酸化反応条件であるため、①中間体として生成する C6- アルデヒド基部分 (図- 4,9) の β 脱離反応による低分子化、②生成した C6- カルボキシル基部分の β 脱離反応による低分子化、③ TEMPO 酸化反応中に副生する活性ラジカル種等によるセルロース鎖の開裂等が原因となっている^{24,28)}。また、C6- アルデヒド基の存在は、少量でも加熱乾燥時に着色の原因となり、フィブリル間でヘミアセタール結合を形成するので、解繊処理過程でのナノ分散化を阻害する。そこで、天然セルロースの TEMPO 触媒酸化反応そのものの再検討を行った。

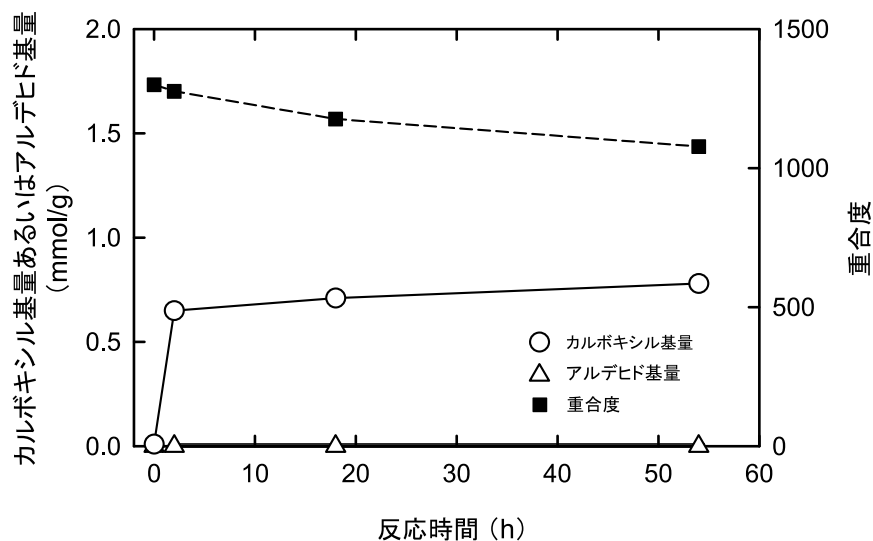
弱酸性～中性条件で亜塩素酸ナトリウム (NaClO₂) を主酸化剤とすることで、中間体となる C6- アルデヒド基を反応系内で全てカルボキシル基に酸化することができる (図- 18)⁵⁹⁻⁶²⁾。この TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系の触媒酸化システムを用いた場合には、60℃ 程度の加熱と比較



図－18 弱酸性～中性付近での TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系酸化によるセルロースの1級水酸基のカルボキシル基への酸化機構⁵⁾

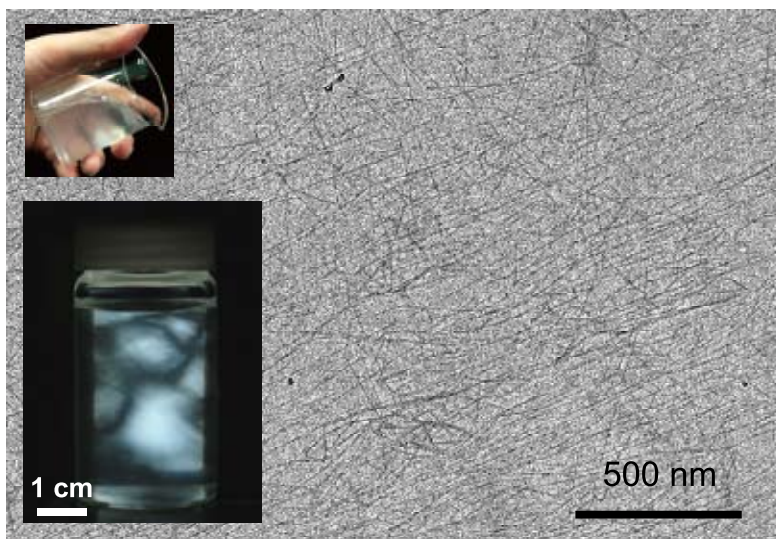
Fig. 18. Oxidation mechanism of C6 primary hydroxyls of cellulose to carboxylate groups by TEMPO/NaClO/NaClO₂ system under neutral conditions⁵⁾

的長時間の反応が必要となり、生成するカルボキシル基量は最大でも 1mmol/g 程度で、カルボキシル基の導入効率は高くない（図－19）⁵⁶⁾。しかし、アルデヒド基が全く存在せず、反応系が中性～弱酸性であるために TEMPO 酸化反応中の β 脱離反応による低分子化は抑えられる。また、得られた酸化セルロースを加熱処理しても着色はほとんどなく、0.8mmol/g 程度の少量のカルボキシル基量でも、水中解繊処理によって損傷の少ない、高アスペクト比の TEMPO 酸化セルロースナノファイバーが得られる（図－20）^{5,56,63)}。透明で流動性のあるゲルで、2枚の偏光板に挟むことで図－20 のような複屈折が観察されれば、ナノ分散状態と判断できる⁶⁴⁾。



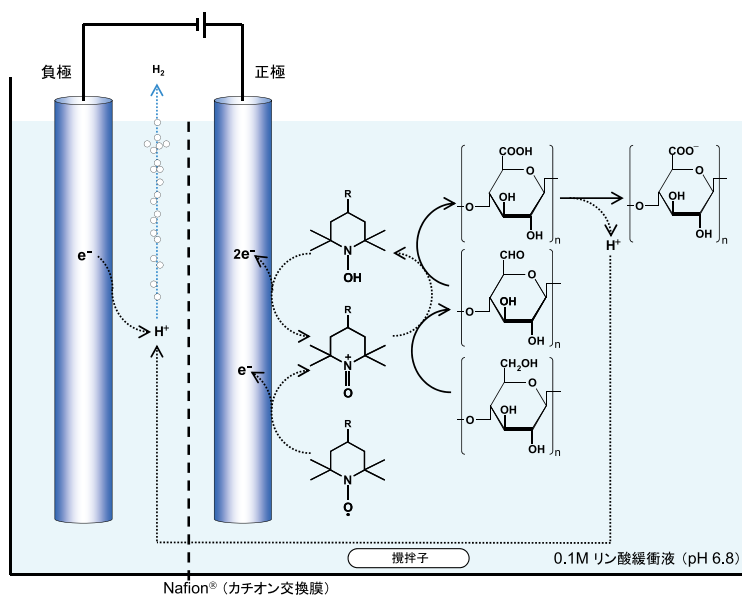
図－19 針葉樹漂白クラフトパルプを中性で TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系酸化した際の反応時間と酸化生成物のカルボキシル基量，アルデヒド基量，重合度の関係⁵⁾

Fig. 19. Relationship between reaction time and either carboxyl/aldehyde content or degree of polymerization of oxidized products prepared from hardwood bleached kraft pulp by a TEMPO/NaClO/NaClO₂ system under neutral conditions⁵⁾



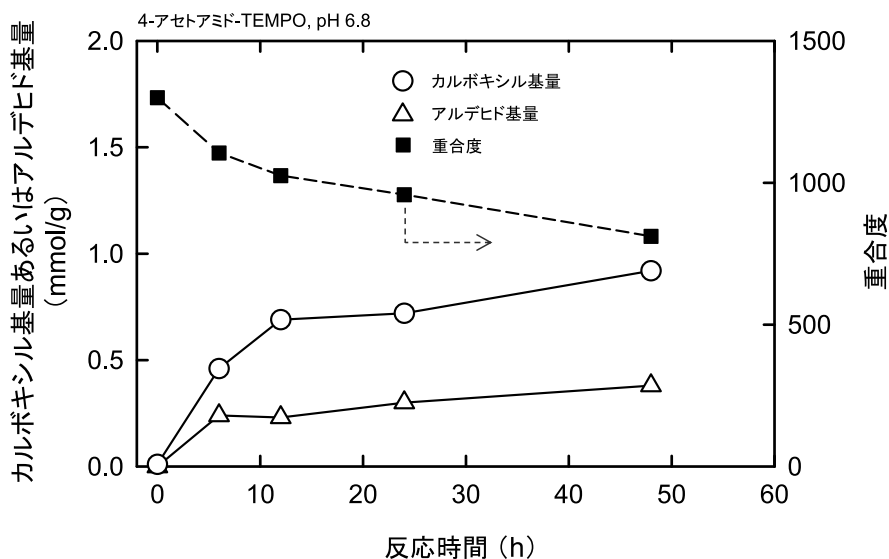
図－20 広葉樹漂白クラフトパルプを中性で TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系酸化し，カルボキシル基量が 0.8mmol/g の酸化物を水中解繊処理して得られるナノファイバーの回折コントラスト法による透過型電子顕微鏡画像⁵⁶⁾

Fig. 20. Transmission electron microscope images of nanofibers prepared from TEMPO-oxidized cellulose with 0.8 mmol/g carboxylate content by mechanical disintegration in water. The images were taken by the diffraction contrast method. The TEMPO-oxidized cellulose was prepared from hardwood bleached kraft pulp by a TEMPO/NaClO/NaClO₂ system under neutral conditions⁵⁶⁾. Reproduction of image from ref. 56 with permission from American Chemical Society (© ACS 2009)



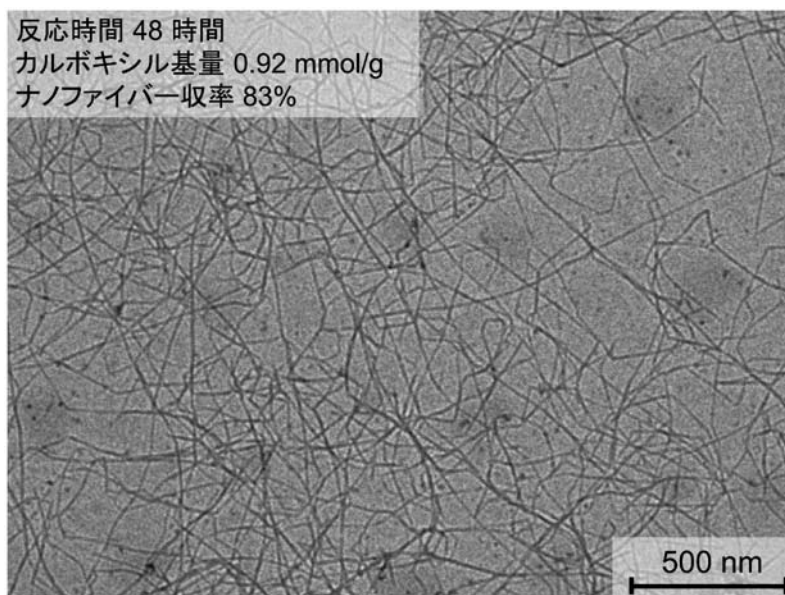
図－21 TEMPO 電解触媒酸化のスキーム⁶⁷⁾

Fig. 21. Scheme of selective oxidation of C6 primary hydroxyls of cellulose by TEMPO electro-mediated oxidation in water⁶⁷⁾. Reproduction of image from ref. 67 with permission from American Chemical Society (© ACS 2010)



図－22 針葉樹漂白クラフトパルプを中性で4-アセトアミド-TEMPO 電解触媒酸化した際の反応時間とカルボキシル基量，アルデヒド基量，重合度の関係⁶⁸⁾

Fig. 22. Relationships between reaction time of softwood bleached kraft pulp by 4-acetamido-TEMPO electro-mediated oxidation under neutral conditions and either carboxylate/aldehyde content or degree of polymerization of the oxidized products⁶⁸⁾



図－23 針葉樹漂白クラフトパルプを中性で4-アセトアミド-TEMPO電解触媒酸化し、カルボキシル基量が1mmol/gの酸化物を水中解繊処理して得られるナノファイバーの透過型電子顕微鏡画像⁶⁸⁾

Fig. 23. Transmission electron microscopy image of nanofibers prepared from TEMPO-oxidized cellulose with 1 mmol/g carboxylate content by mechanical disintegration in water. The TEMPO-oxidized cellulose was prepared from softwood bleached kraft pulp by electro-mediated oxidation with 4-acetamido-TEMPO under neutral conditions⁶⁸⁾. Reproduction of image from ref. 68 with permission from Springer (© Springer 2011)

NaClO や NaClO₂ 等の塩素系の共酸化剤を用いない方法として、4-アセトアミド-TEMPO電解触媒酸化が報告されていた⁶⁵⁻⁶⁷⁾。本法では、正電極で還元型4-アセトアミド-TEMPOの電子を受け取ることで、電気エネルギーによって繰り返し酸化型4-アセトアミド-TEMPO⁺に変換でき、負電極から水素が発生する(図－21)⁶⁷⁾。この方法を製紙用の漂白クラフトパルプに適用したところ、一定量のカルボキシル基の生成、相当量のアルデヒド基の生成、一定程度の低分子化が認められた(図－22)⁶⁸⁾。この図から、塩素系の共酸化剤であるNaClO、NaClO₂がTEMPO酸化系に存在する場合には、中間体として生成するC6-アルデヒド基を、TEMPO触媒酸化反応を経ずにC6-カルボキシル基へ直接酸化する反応があることを示している(図－4,18参照)。4-アセトアミド-TEMPO電解触媒酸化したセルロースには、ナノ分散化を阻害する相当量のアルデヒド基が存在しているが、解繊処理によって十分に水中ナノ分散化が可能であった(図－23)⁶⁸⁾。

上記のほか、TEMPO以外の各種ニトロキシルラジカル化合物の触媒機能の検討⁶⁹⁾、4-アセトアミド-TEMPOの安定性の検討⁷⁰⁾、リグニンを木材成分とほぼ同等量含む機械パルプのサーモメカニカルパルプのTEMPO触媒酸化によるナノファイバー調製の検討⁷¹⁾等を行った。TEMPO誘導体類の中では、TEMPO、4-アセトアミド-TEMPO、4-メトキシTEMPOが、効率的なカルボキシル基の生成と高いナノ分散効果を示した(図－24)⁶⁹⁾。塩素系共酸化剤を用いない酵素を用いる方法の一環として、TEMPO/ラッカーゼ/酸素系⁷²⁾、TEMPO/ペルオキシ

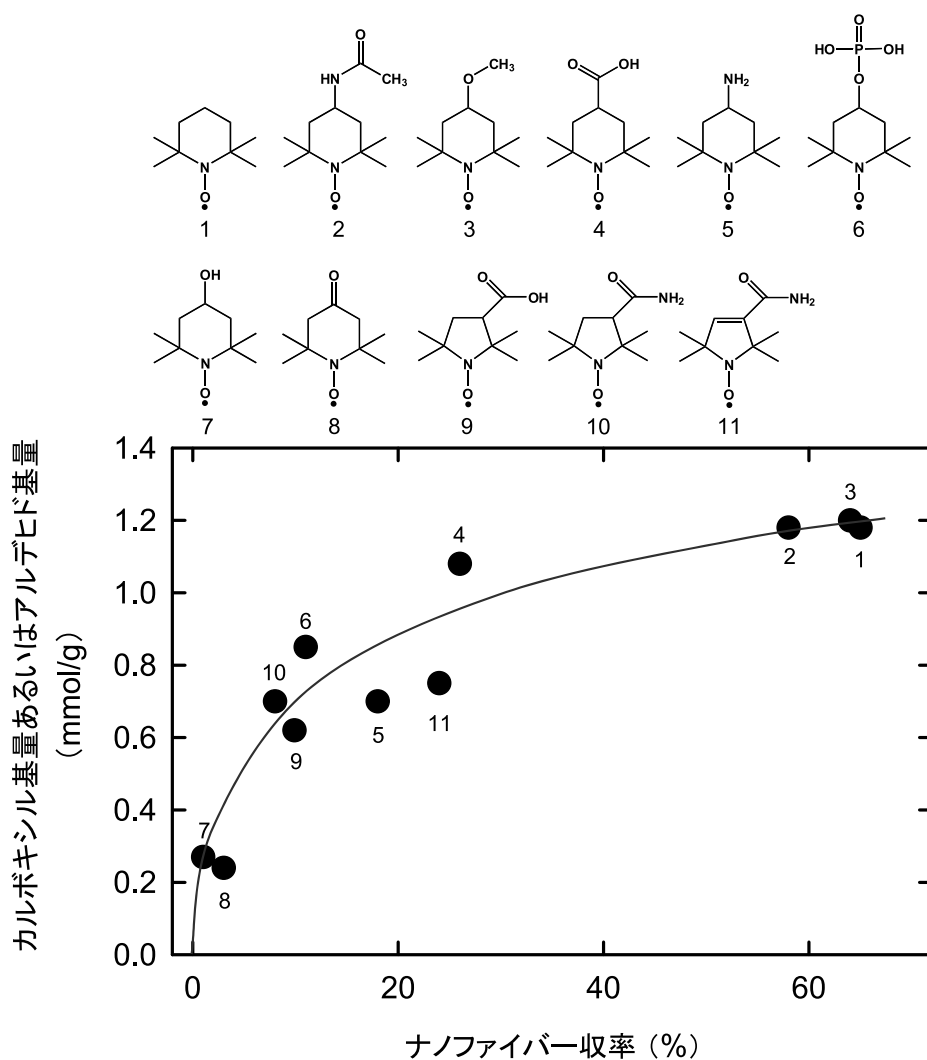


図-24 各種 TEMPO 誘導体類による針葉樹漂白クラフトパルプの pH10 での NaBr/NaClO 系酸化による酸化生成物のカルボキシル基導入量と水中解繊処理によるナノ分散収率の関係⁶⁹⁾

Fig. 24. Relationship between carboxylate content and nanofiber yield of TEMPO-oxidized softwood bleached kraft pulps prepared using different TEMPO derivatives by the NaBr/NaClO system at pH 10⁶⁹⁾. Reproduction of image from ref. 69 with permission from Elsevier (© Elsevier 2010)

ダーゼ / 過酸化水素系¹³⁾も検討したが、酸化セルロース中のカルボキシル基量は他の酸化反応系に比べて著しく低かった。それぞれの TEMPO 触媒酸化反応の特徴を生かした適用を検討する必要がある。

8. TEMPO 酸化セルロースの有機溶剤中でのナノ分散化

カルボキシル基が Na 塩型構造を有している TEMPO 酸化セルロースは、水中での軽微な解繊





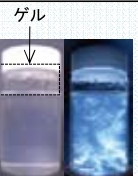
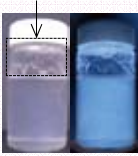
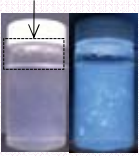
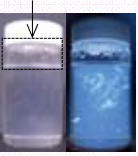


	DMAc	DMF	DMI	NMP	DMSO
TEMPO酸化 セルロース-COOH					
ナノ分散性	+	+	+	+	±
TEMPO酸化 セルロース-COONa					
ナノ分散性	-	-	-	-	+

図- 25 TOCN の各種有機溶剤中でのナノ分散化挙動（+：ナノ分散化，-：凝集，±：解繊直後はナノ分散化しているが時間経過とともにゲル化）⁵⁷⁾

Fig. 25. Nano-dispersibility of TEMPO-oxidized cellulose in organic solvent. + Dispersible, - non-dispersible, ± first dispersible and then gelation occurs with lapse of time⁵⁷⁾. Reproduction of image from ref. 57 with permission from American Chemical Society (© ACS 2011)

処理によって完全ナノ分散が可能で、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー（TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofiber：以下 TOCN と略す）が得られる。TOCN の利用として、既存石油系合成高分子あるいはポリ乳酸等のバイオプラスチックとの複合化による軽量高強度材料分野がある。ナノ材料に関する総説によれば、プラスチックに複合化するナノ材料のアスペクト比、弾性率、体積分率（複合化量）により、その複合材料の強度を予測できる⁷³⁾。結晶化度が高いために約 140GPa と高弾性率⁷⁴⁾で、高アスペクト比の TOCN を、凝集させずにナノ分散状態を維持できれば 1% 以下の少量添加で複合材料の強度を 2 倍以上に向上できる可能性がある。

石油系およびバイオ系プラスチックの多くは加熱成形されているが、有機溶剤に可溶な高分子も多い。実際には効率や環境負荷の関係から有機溶剤を用いてナノ複合材料を製造することはないが、TOCN のナノ複合化材としての潜在的特性を実験室レベルで解析するためには、有機溶剤中で TOCN をナノ分散化させて各種高分子との複合材料を調製して評価することが必要となる。そこで、TOCN の有機溶剤中でのナノ分散性を検討した。

図- 25 に示すように、カルボキシル基の Na 塩型の TOCN では DMSO 中でナノ分散し、カルボキシル基を COOH 型に変換した場合には、多くの高沸点非プロトン性極性溶剤中でもナノ分散することが判明した⁵⁷⁾。有機溶剤中でナノ分散している TOCN のゼータ電位を測定したところ、-60 ~ -80mV と十分な負電荷を有しており、これらの有機溶剤中で TOCN のカルボキシル基が電離し、荷電反発によってナノ分散状態を維持していることが明らかになった。各種有機溶剤を網羅的に検討した結果、用いる有機溶剤の誘電率（TOCN のカルボキシル基の解離度に関与）と、粘度（ナノ分散安定性に関与）で TOCN のナノ分散の可否を説明することができた。

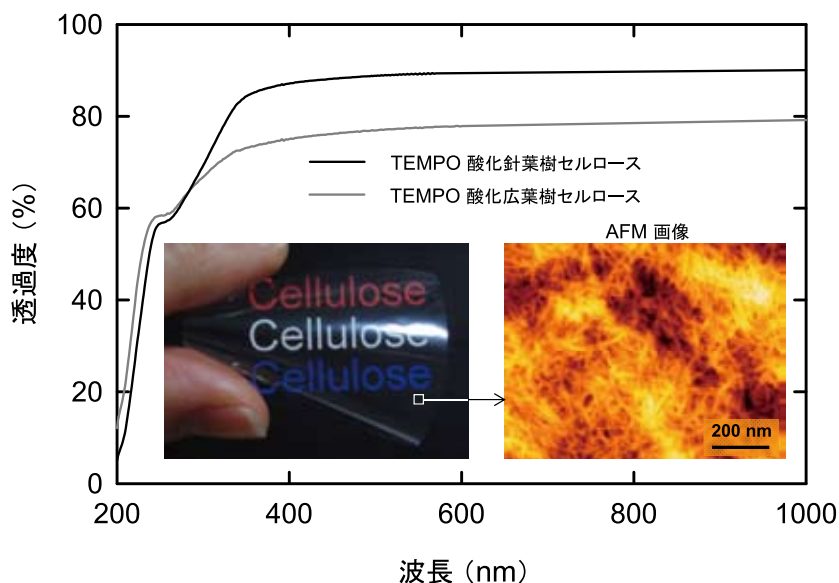


図-26 TOCN フィルムの光学透明性とフィルム表面の原子間力顕微鏡画像⁷⁵⁾

Fig. 26. Optical transparency of TOCN film and its surface AFM image⁷⁵⁾. Reproduction of images from ref. 75 with permission from American Chemical Society (© ACS 2009)

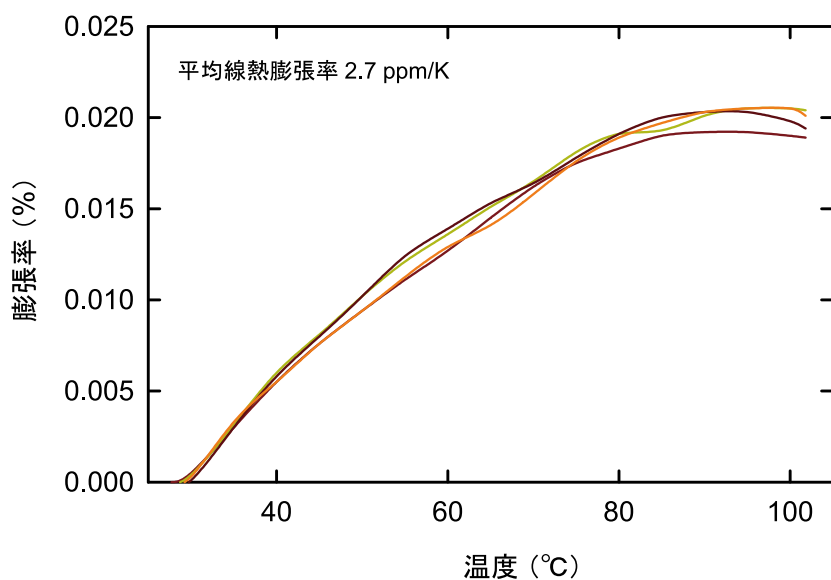
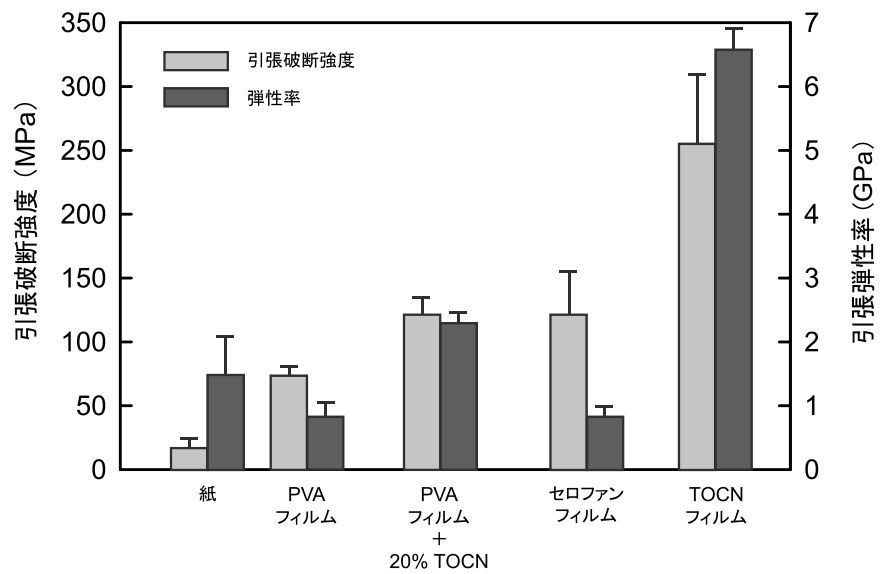


図-27 TOCN フィルムの乾燥加熱処理による寸法変化⁷⁵⁾

Fig. 27. Thermal expansibility of TOCN film under dry conditions⁷⁵⁾. Reproduction of image from ref. 75 with permission from American Chemical Society (© ACS 2009)



図－28 TOCN フィルムおよび関連材料の弾性率と引張破断強度⁵⁾
Fig. 28. Mechanical properties of TOCN film and its related material⁵⁾

9. TOCN フィルムの特性^{5,56,75,76)}

TOCN/水分散液をキャストー乾燥させることで、TOCN の自立フィルムが得られる。TOCN フィルムは高い光学透明性、柔軟性を有し（図－26）、高結晶性の TOCN をエレメントにしているために乾燥状態での熱処理による変形が極めて少ない。線熱膨張率は 2.7ppm/K でガラスの約 8ppm/K よりも低く安定であり（図－27）、エレクトロニクスデバイスとしての必要条件を満たしている。TOCN フィルムの力学物性としては、紙やセロファンフィルムよりも高い弾性率、

表－1 TEMPO 酸化セルロースフィルムの力学特性比較⁵⁶⁾
Table 1. Mechanical properties of TOCN films prepared by two different methods⁵⁶⁾

	TEMPO 酸化セルロース調製方法	
	TEMPO/NaBr/NaClO pH10	TEMPO/NaClO/NaClO ₂ pH7
重合度	500	1030
フィルム密度 (g/cm3)	1.45	1.47
引張破断強度 (MPa)	222	312
引張破断伸び (%)	7.0	11.5
引張ヤング率 (GPa)	6.2	6.5

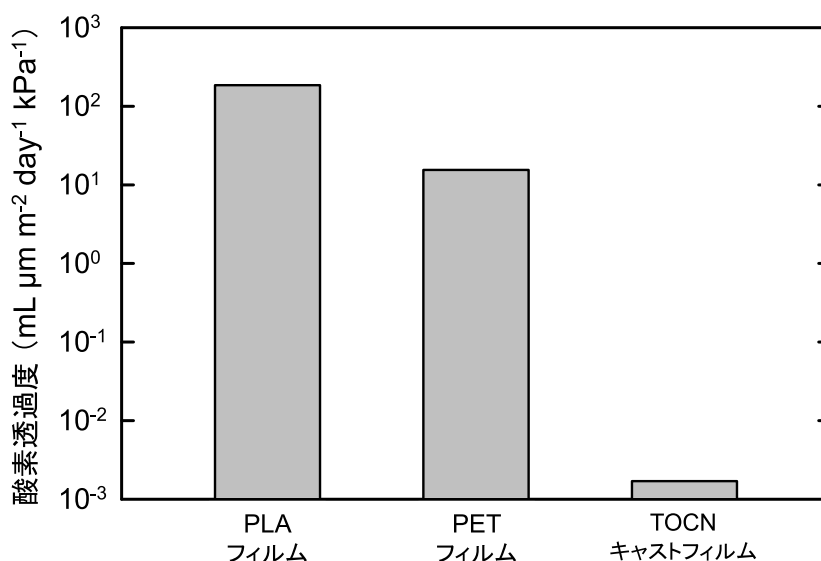


図-29 乾燥状態でのポリ乳酸フィルムおよび TOCN フィルムの酸素透過度^{75,76)}

Fig. 29. Oxygen permeability of poly(lactic acid) and TOCN films under dry conditions^{75,76)}

引張強度を示し、ポリビニルアルコール (PVA) に 20% 程度混合させることで、TOCN/PVA 複合フィルムは高弾性率、高強度となる (図-28)。中性の TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系酸化で得られる TOCN フィルムは、pH10 の TEMPO/NaBr/NaClO 系酸化で得られる TOCN フィルムと同等密度、同等弾性率だが、重合度が高いために高引張破断強度、高破断伸びとなる (表-1)⁵⁶⁾。

また、乾燥状態での TOCN フィルムの酸素透過度が $0.002 \text{ mL } \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ 以下と極めて低く、アルミニウム蒸着したエチレン-ビニルアルコール共重合体 (EVOH) フィルムと同等の酸素バリア性が見出された (図-29)。EVOH フィルム同様、測定環境の相対湿度の増加に伴って酸素透過度も増加してしまう (すなわち酸素バリア性が低下してしまう) が、様々な方法によって改良が進んでいる。TOCN フィルム表面の原子間力顕微鏡 (AFM) 画像から、TOCN が面内にランダムに分布していてもあたかも空隙があるように見える (図-26)。しかし、陽電子消滅法による空隙構造解析から、実際には極めて空隙サイズが小さいために酸素分子の透過を防いでいることが判明した。すなわち、TOCN/水分散液を乾燥させてフィルム化する過程で、TOCN 間の空隙が最小になるように、最密充填構造を形成しながらフィルムが形成される。水分散液中で TOCN 間に働く強い荷電反発により乾燥過程でも自己組織化構造を維持し、TOCN が最密充填したフィルムを形成すると考えられる⁷⁷⁾。植物による再生産可能なセルロースから、酸素バリア性の高い、低線熱膨張率の透明フレキシブルフィルムが得られることから、高機能包装部材やエレクトロニクス分野での応用展開が期待される。

TOCN フィルムの欠点の一つに、親水性の C6-カルボキシル基の Na 塩が高密度で存在するため、耐水性に劣る点が挙げられる。しかし、紙のサイズ剤、はっ水化剤として用いられているアルキルケテンダイマー (AKD) で表面処理することにより、水滴接触角を安定的に (すなわち時間経過に関わらず) 90°以上に維持でき、表面疎水化処理が可能となる (図-30)。

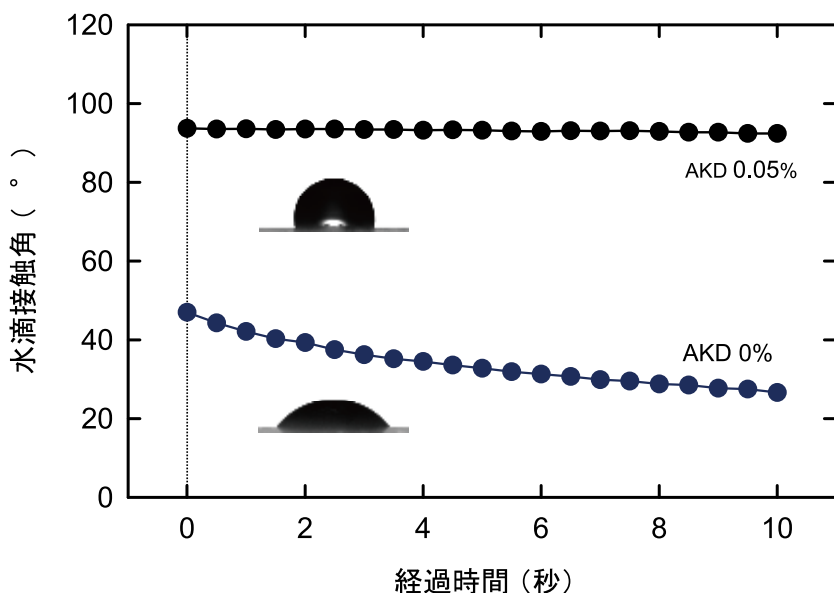


図-30 アルキルケテンダイマー (AKD) の表面処理による TOCN フィルムの疎水化⁷⁵⁾

Fig. 30. Time-dependent changes in water-contact angle on TOCN and alkylketene dimer-treated TOCN films⁷⁵⁾. Reproduction of image from ref. 75 with permission from American Chemical Society (© ACS 2009)

10. 他のナノセルロース類との比較

図-1に示すように、セルロースが高結晶性のマイクロフィブリルの集合体である特徴を生かし、製紙用パルプを一部フィブリル化する「叩解」は、紙の物性を効率的に制御する技術として製紙産業によって利用されている。孤立したマイクロフィブリルが一部交差した部分で水素結合したネットワークゲル構造を有するバクテリアセルロースは高価だが優れた特性を有する。そこで、同じ特性を木材セルロースで発現させることを目的として、水に分散させた木材パルプを高圧ホモジナイザーで繰り返し処理あるいはグラインダー処理し、高度にフィブリル化したマイクロフィブリル化セルロース (microfibrillated cellulose : MFC) の製造および利用研究が行われ⁷⁸⁻⁸⁰⁾、固形分濃度 2% 程度 (残り 98% が水) の MFC ゲルが市販されている。

世界の動向としては、2000 年代初頭からセルロースを水中で機械的に解繊処理して得られる「ナノセルロース類」の基礎および応用展開が急激に進められた。その背景には、各種ナノテクノロジーの進展、バイオ系ナノ素材としての環境適合性、ナノコンポジット材料の軽量高強度発現、製紙産業による新しいパルプの利用分野拡大の必要性等が要因となっていた。

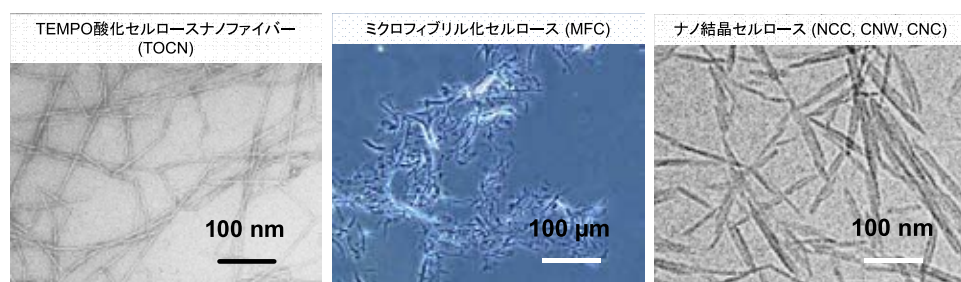
ナノ化技術によって表-2のようにナノセルロース類を分類することができる⁵⁾。硫酸加水分解処理と水中解繊処理の組合せで得られるナノセルロースは、ナノ結晶セルロース (nanocrystalline cellulose : NCC)、セルロースナノウィスカー (cellulose nanowhisker : CNW)、セルロースナノ結晶 (cellulose nanocrystal : CNC) と異なる表現で使用されている。これらは、精製した高等植物セルロースあるいは製紙用パルプを約 64% の硫酸で加熱処理することで、大部分が酸加水分解して可溶化し、固形分回収率 50% 以下の残渣部分には 0.3mmol/g

表-2 TEMPO 酸化セルロースナノファイバー, ミクロフィブリル化セルロース, ナノ結晶セルロース間の比較
Table 2. Comparison between TOCN, MFC and NCC

	TEMPO 酸化セルロース ナノファイバー(TOCN)	ミクロフィブリル化セル ロース (MFC)	ナノ結晶セルロース (NCC, CNW or CNC)
製造方法	漂白木材パルプの TEMPO 触媒酸化と, 酸 化物の水中での軽微な解 繊処理	セルロース/水分散液の 繰返し解繊処理 (一部セ ルラーゼ処理, カルボキ シメチル化処理を併用)	64% 硫酸によるセルロ ースの酸加水分解と水中 解繊処理: 硫酸の処理方 法, 錆問題が課題
固形分収率	> 90%	~100%	< 50%
形状	3-4nm の均一幅, 長さは 数 μm , 固形分濃度 < 3%, 長さ・長さ分布制御が課 題	10-20000nm の不均一 幅, 不完全フィブリル化, 固形分濃度 < 3%	5-10nm の不均一幅, 長 さ < 100nm 紡錘形, 一部凝集体, 低 重合度
解繊エネルギー	< 2kwh/kg	200-400kwh/kg	?
応用展開分野	包装用その他のガスバリ アフィルム, 表示体, 分 離膜, ヘルスケア, ナノ フィラー, コンポジット 等	コンポジット用ナノフィ ラー, ろ過助剤	コンポジット用ナノフィ ラー, ろ過助剤
独自性と検討国	日本の独自技術 スウェーデン, 米国, カナダが検討	日本, スウェーデン, フィンランドが検討	カナダ, フランスが検討

以下の硫酸エステル基が導入される。この残渣部分を水中で解繊処理することで, NCC 間に荷電反発力が作用し, ナノ分散化が達成される^{81,82)}。その形状は, 図-31 の電子顕微鏡画像から, 不均一な大きさの紡錘形で太い部分の幅が 5 ~ 10nm, 長さは 100nm 以下でアスペクト比は小さい。セルロースの重合度も酸加水分解を受けるために 200 ~ 300 程度と低下する。大部分が硫酸によって酸加水分解して可溶化するため, その部分が剥離して紡錘形となっている。この NCC をナノ充填材 (フィラー) として高強度軽量複合材料として利用する研究が, カナダの FPIInnovation⁸³⁾, フランスの CERMAV を中心として精力的に進められている。

一方, スウェーデンの INNVENTIA, 王立工科大学 (KTH), フィンランドの技術研究開発センター (VTT), Aalto 大学, 米国 Main 大学, 京都大学, 九州大学では, 木材セルロースの効率的なナノフィブリル化技術の開発と, 複合化による軽量高強度材料の開発を産学官連携で進めている。スウェーデンの INNVENTIA のグループは, ①木材パルプを軽微にカルボキシメチル化することで, フィブリル間のマイナスイオン荷電反発を促進させてナノ分散に要する解繊エネルギーを低減化する方法⁸⁴⁾, ②軽微なセルラーゼ処理することで解繊エネルギーを低減化する方法⁸⁵⁾, ③カチオン性高分子をフィブリル表面に吸着させてプラス荷電反発を促進させて解繊エネルギーを低減させる方法⁸⁶⁾等を検討している。ナノセルロース生産としては世界で初めて日産 100kg



図－31 TOCN, MFC, NCC の電子顕微鏡あるいは光学顕微鏡画像^{5,44,81)}

Fig. 31. Electron microscopy or optical images of TOCN, MFC and NCC (CNW or CNC)^{5,44,81)}. Reproduction of images from ref. 44 and 81 with permission from American Chemical Society (© ACS 2007) and Springer (© Springer 1998), respectively

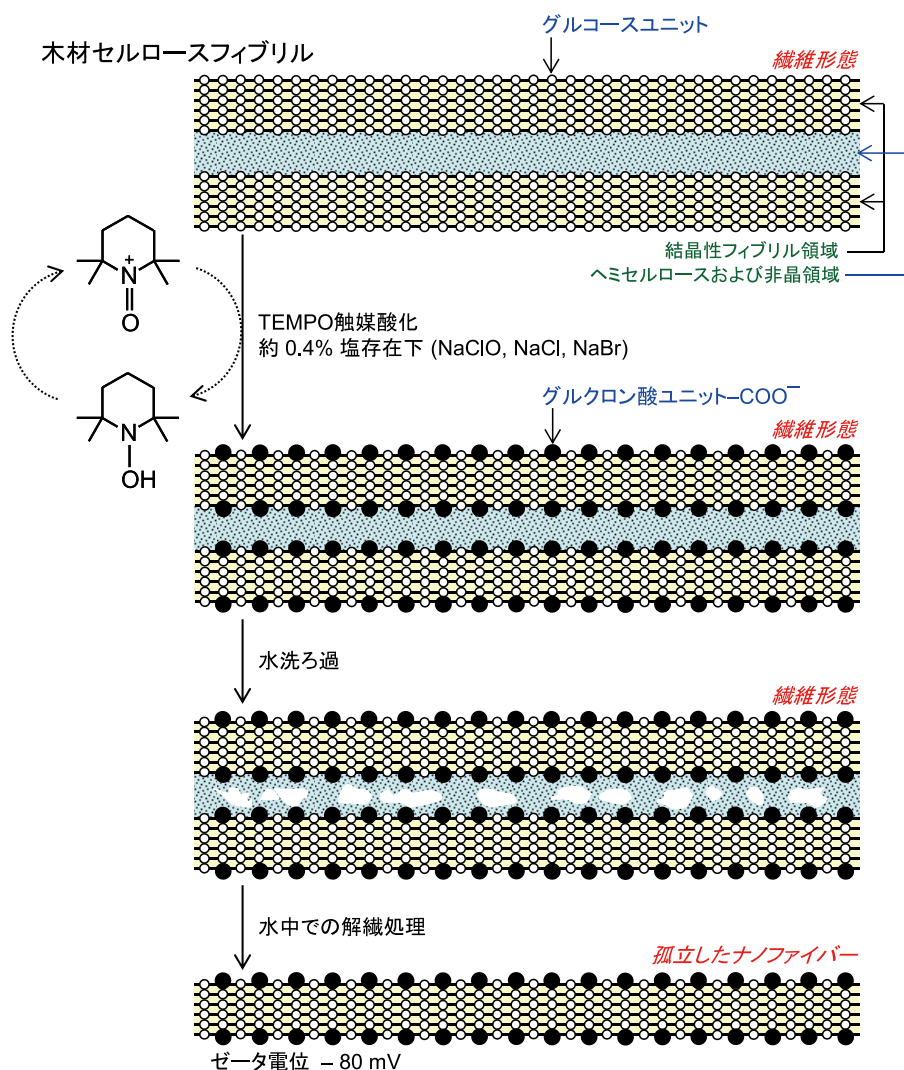


図－32 スウェーデン INNVENTIA で2011年に稼働した日産100kgのナノセルロース製造プラントと得られるナノセルロースおよび透明フィルム⁸⁷⁾

Fig. 32. The pilot plant to produce 100kg nanocellulose per day, installed in INNVENTIA, Sweden, the nanocellulose and transparent film produced⁸⁷⁾

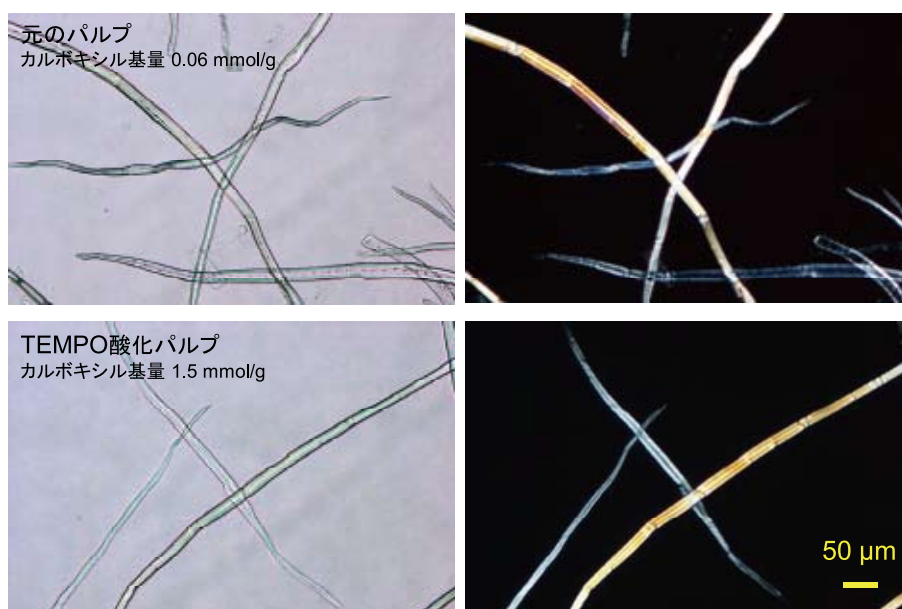
レベルのパイロットプラントを稼働している（図－32）⁸⁷⁾。

京都大学では、二軸混練装置による解繊と高分子との同時複合化処理、石臼タイプのグラインダーによる解繊効率の向上等を検討しており、九州大学では、水中対向衝突によるナノセルロースの調製と特性解析を進めている。図－31 には、市販の MFC の光学顕微鏡画像を示す。一部はナノフィブリル化が進行しているが、ミクロンレベルの未解繊部分が残存しており、完全ナノ分散にまでは至っていない。



図－33 木材セルロースミクロフィブリルのモデル構造と TEMPO 酸化反応の効率向上機構およびナノ分散化の効率向上機構⁵⁾

Fig. 33. Model structure of wood cellulose microfibril, and mechanisms of efficient TEMPO-mediated oxidation and the following nano-fibrillation in water⁵⁾



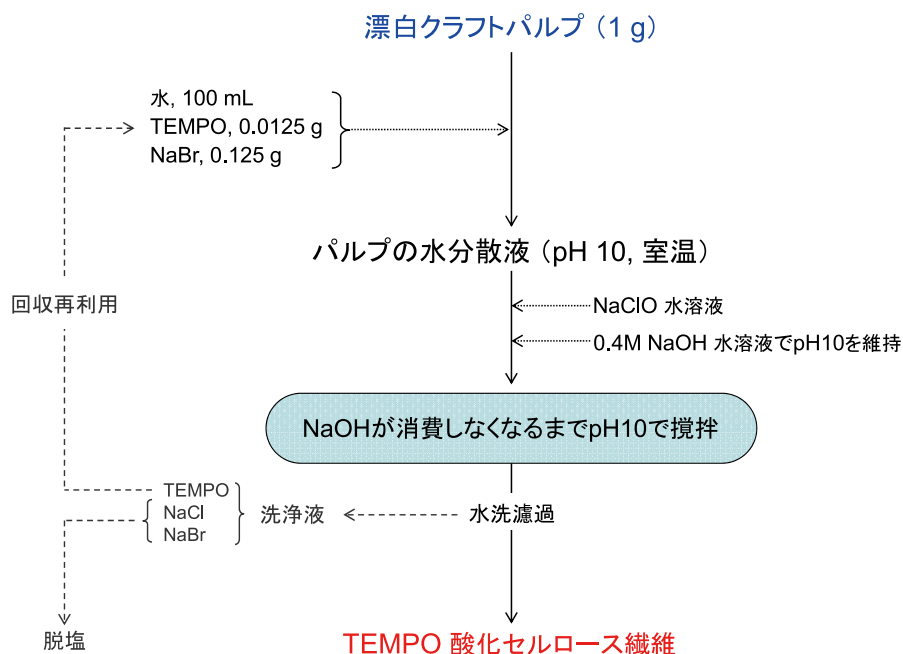
図－34 広葉樹漂白クラフトパルプのTEMPO触媒酸化前後の光学顕微鏡画像。カルボキシル基量は0.06mmol/gから1.5mmol/gに増加⁴⁴⁾

Fig. 34. Optical microscope images of hardwood bleached kraft pulps before and after TEMPO-mediated oxidation. Carboxylate content increased from 0.06 to 1.5 mmol/g by the oxidation, and images were taken in water⁴⁴⁾. Reproduction of image from ref. 44 with permission from American Chemical Society (© ACS 2007)

TOCNの特徴をまとめると(表－2)、TEMPO触媒酸化で化学的に改質されたセルロースは、そのフィブリル表面にマイナス荷電を有するC6-カルボキシル基のNa塩が高密度で存在するために、軽微な水中解繊処理で完全ナノ分散が可能となる。木材セルロースからは幅約4nmと均一幅で高アスペクト比の新規バイオ系ナノファイバーが得られる¹⁻⁵⁾。

11. 産業用バイオ系ナノ素材としてのTOCNの特性

最も効率的にTEMPO触媒酸化反応が進み、水中解繊処理で完全ナノ分散可能なTOCN製造用セルロース原料は、高純度で高価なリンターセルロース、ラミー、バクテリアセルロース等ではない。セルロース以外にヘミセルロースを10%程度含有している製紙用の漂白クラフトパルプが最も適しており、TOCNを産業用新規バイオ系ナノ素材として利用する上では有利である¹⁻⁵⁾。図－3に示すように、TEMPO触媒酸化によってカルボキシル基を生成するためには、酸化型のTEMPO⁺イオンが必ずセルロースマイクロフィブリル表面に露出しているC6位の1級水酸基に結合－脱離しなければならない。木材由来の製紙用漂白クラフトパルプのようにセルロースマイクロフィブリル間にスポンジのようなヘミセルロース層が存在することにより、このTEMPO⁺が容易に浸透でき、フィブリル表面にあるC6位に結合－脱離してC6-カルボキシル基の生成が円滑に進むものと考えられる(図－33)。リンターセルロースのように高純度セルロースの場合には、セルロースマイクロフィブリル間に非晶性の層が少なく、TEMPO⁺が浸透しにくいために、効



図－35 木材パルプから pH10 の TEMPO/NaBr/NaClO 系触媒酸化による TEMPO 酸化セルロースの調製スキームと洗浄排液からの TEMPO の回収再利用⁵⁾

Fig. 35. Preparation scheme of TEMPO-oxidized cellulose from bleached kraft pulp by a TEMPO/NaBr/NaClO system at pH 10 and recycling of TEMPO from washing effluent⁵⁾

率的なカルボキシル基の導入と水中解繊処理による完全ナノ分散化が困難になると考えられる⁵⁾。

一方、木材漂白クラフトパルプの TEMPO 触媒酸化によってカルボキシル基量は元のパルプの 30 ～ 170 倍程度にまで増加するが、TEMPO 触媒酸化反応過程の攪拌処理では図－15 のような著しい水中での膨潤－ゲル化は起こらず、図－34 に示すように元の木材パルプの繊維形態を維持している⁴⁴⁾。完全ナノ分散化による高粘度透明ゲルの調製は、短時間ではあるが強力な解繊処理で初めて達成できる。したがって、TEMPO 酸化パルプは通常の水による洗浄－濾過－圧搾処理によって添加薬品類の洗浄除去－精製が可能であり、固形分濃度 30% 程度に圧搾して未乾燥状態で運搬することができる。運搬後に、その場で水を加えて解繊し、ナノ分散化することになる。さらに、水洗濾過－圧搾した洗浄排液から脱塩によって高価な TEMPO を回収－再利用することが可能であり、産業用バイオナノ素材として TOCN の低価格化につながる (図－35)。

以上のように、製紙用漂白クラフトパルプを TOCN 製造用のセルロース原料として用いることが最適であれば、コスト的、環境的にも有利となる。漂白クラフトパルプ製造工程は、木材チップからセルロースを効率的に単離精製するプロセスで、様々な環境負荷低減技術が組み込まれている。パルプ化の際の薬品回収技術、バイオマスエネルギーの回収発電技術、多段階だが効率的な漂白技術、環境基準を満たす漂白排水処理技術等が確立されており、乾燥 1kg 当たり 60 円程度とコスト的な優位性がある。

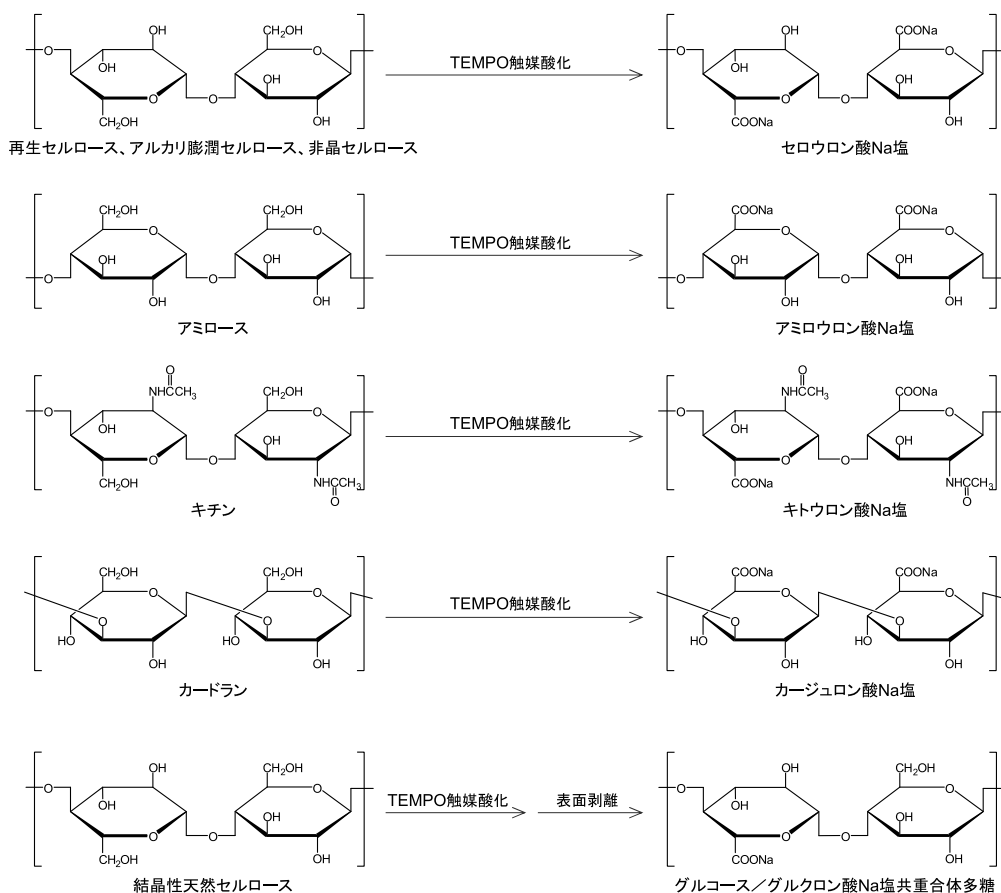


図- 36 多糖の TEMPO 触媒酸化による化学構造変化

Fig. 36. Changes in the chemical structure of various polysaccharides by TEMPO-mediated oxidation in water

12. 他の多糖の TEMPO 触媒酸化とナノフィブリル化

TEMPO 触媒酸化反応は、TOCN 調製を目的とした天然セルロースへの適用以外にも、多糖の 1 級水酸基を選択的、効率的にカルボキシル基へ変換する手法として利用できる (図- 36)。セルロースと同様結晶性の高い α -キチンに適用すれば、酸化条件が十分であれば C6 位が全てカルボキシル基の Na 塩となった水溶性のキトウロン酸⁸⁸⁾が、酸化条件を制御すれば TEMPO 酸化キチンナノファイバーが得られる^{89,90)}。デンプンの TEMPO 触媒酸化では、(1 \rightarrow 4)- α -ポリグルクロン酸 Na 塩であるアミロウロン酸が²⁶⁾、(1 \rightarrow 3)- β -グルカンであるカードラン、パラミロンに適用すれば水溶性の (1 \rightarrow 3)- β -ポリグルクロン酸 Na 塩 (カージュロン酸) が定量的に得られる^{61, 91)}。クロマトグラフィー用セルロースビーズに中性の TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系酸化を適用すれば、セルロースビーズの表面フィブリル構造を維持したまま、カチオン交換基としてのカルボキシル基を導入することができる (図- 37)⁹²⁾。

さらに、図- 11 で示すように、フィブリルの表面に高密度でマイナス荷電基を導入することで TOCN の完全ナノ分散が可能になることから、キチンミクロフィブリル表面に高密度でプラ

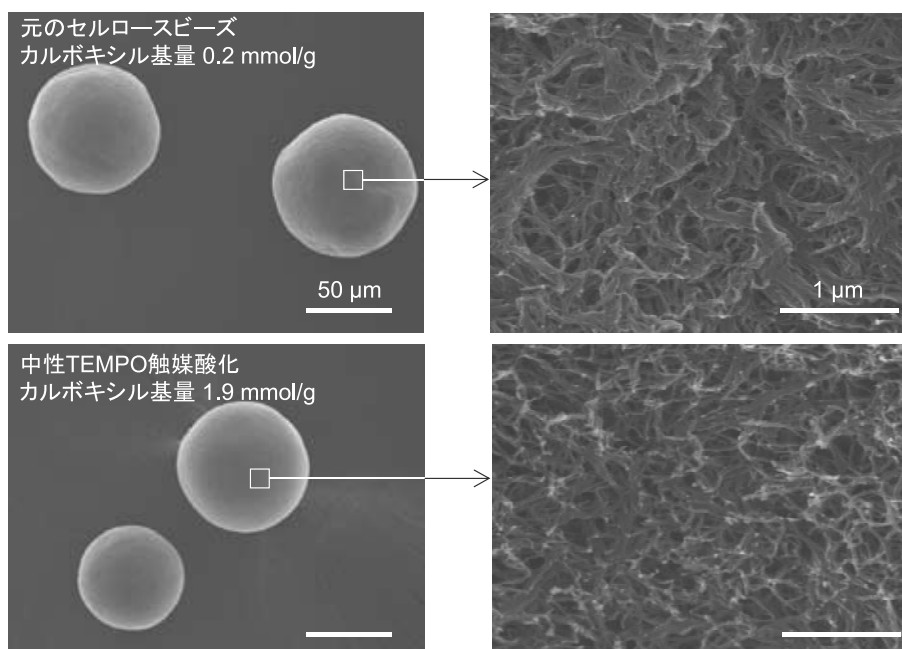


図- 37 クロマトグラフィー用の再生セルロースビーズへの中性系での TEMPO/NaClO/NaClO₂ 酸化前後での電子顕微鏡画像⁹²⁾

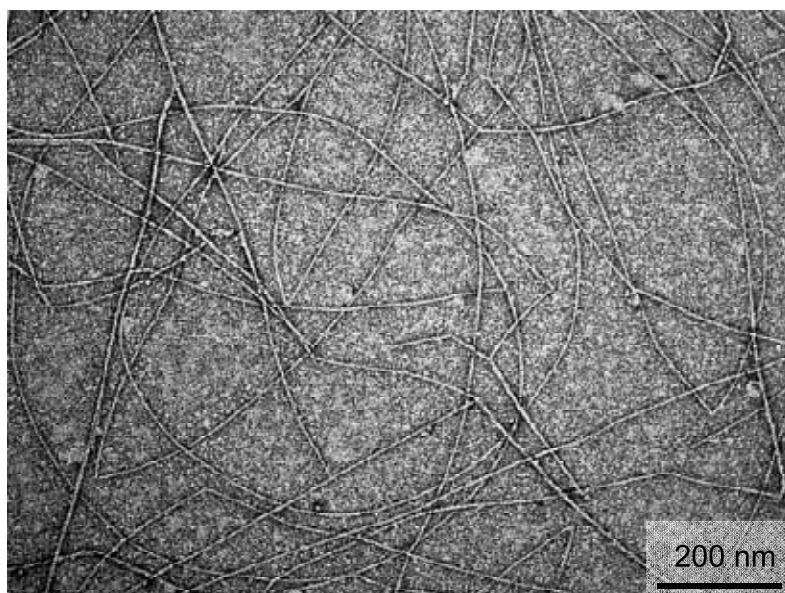
Fig. 37. Scanning electron microscopy images of cellulose beads for chromatography before and after oxidation by a TEMPO/NaClO/NaClO₂ system under neutral conditions⁹²⁾. Reproduction of image from ref. 92 with permission from Springer (© Springer 2009)

ス荷電を生成させることができれば、TOCN と逆のプラスの荷電反発によりキチンフィブリルをナノ分散化できる。イカの腱から精製した β -キチンには精製過程で生じる C2- アミノ基が存在するため、pH3 ~ 4 の酸性水溶液中で C2- アミノ基をプラス荷電のアンモニウム塩型にすれば解繊処理するだけで化学処理することなく、幅約 4nm で高アスペクト比の β -キチンナノファイバーが得られる (図- 38)⁹³⁾。一般的に入手可能なカニエビ由来の α -キチンはこの方法ではナノ分散できない。しかし、フィブリル表面を部分的に脱アセチル化処理することによって C2- アミノ基量を増加させ、pH3 ~ 4 の水中で解繊処理することにより、完全ナノ分散化が可能となった (図- 39)⁹⁴⁾。

キチンナノファイバーも TOCN 同様の特性を有しており、産業用部材としての応用展開が可能ではある。しかし、食品加工工場で排出されるカニエビの殻からキチンを単離精製するプロセスに、効率性や環境負荷という観点から課題があり、精製キチンは乾燥 1kg 当たり数千円と高価である。したがって、TOCN よりも高付加価値の機能性ナノファイバーとしての利用に限定される。

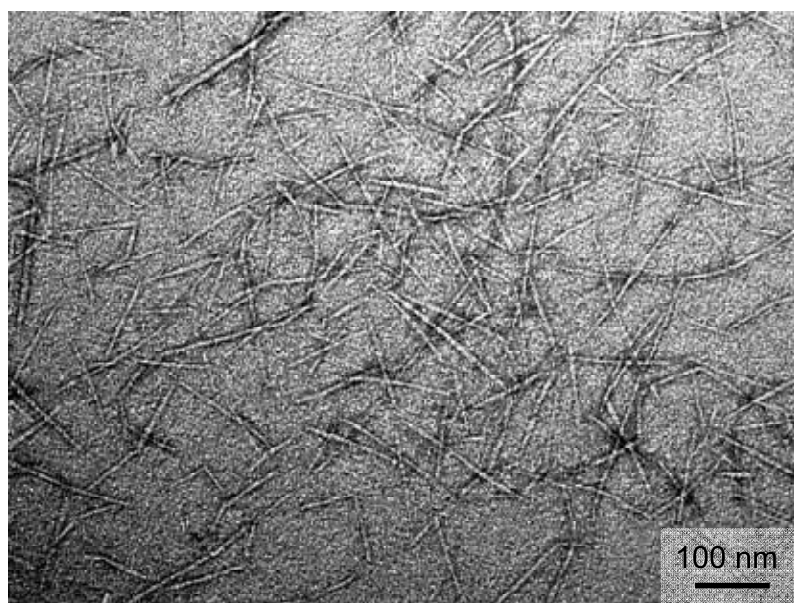
13. TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの応用展開

代表的なナノクレーと高分子との複合化による物性改善、機能付与とそのメカニズムについては既に総説で紹介されており、ナノ複合化による高強度軽量材料、酸素バリア性フィルム、透明



図－38 弱酸性中で解繊処理するだけで得られる β -キチンナノファイバーの電子顕微鏡画像⁹³⁾

Fig. 38. Transmission electron microscopy image of chitin nanofibers prepared by disintegration of purified β -chitin in water at pH 3-4⁹⁰⁾. Reproduction of image from ref. 93 with permission from American Chemical Society (© ACS 2008)



図－39 部分的に脱アセチル化した α -キチンを弱酸性中で解繊処理することにより得られる α -キチンナノファイバーの電子顕微鏡画像⁹⁴⁾

Fig. 39. Transmission electron microscopy image of chitin nanofibers prepared from partially de-acetylated α -chitin by disintegration in water at pH 3-4⁹⁴⁾. Reproduction of image from ref. 94 with permission from Elsevier (© Elsevier 2010)

光学用フィルム、電池のキャパシターやセパレーター、機能性分離膜、人工骨等の医療分野、ヘルスケア関連、高効率触媒担持体等が出口分野として期待されている⁷³⁾。TOCN を含むナノセルロース類についても、石油系あるいはバイオ系プラスチックとの複合化による物性改良、高強度化の検討、酸素バリアフィルムとしての検討が盛んに進められている⁹⁵⁻¹⁰¹⁾。複合化以外では、TOCN を用いた精密エアフィルターの検討^{102,103)}、嵩高剤添加によるシート密度低下効果の検討¹⁰⁴⁾、TOCN の紡糸による高強度繊維製造の検討¹⁰⁵⁾などが報告されている。

一方、TOCN キャストフィルムが乾燥状態で優れた酸素バリア性を有していたことから（図 - 29）⁷⁵⁾、高いガスバリア性が求められる食品および医薬品用包装用透明フィルムへの応用展開が期待されている。すなわち、バイオプラスチックと TOCN を複合化させることにより、生分解性があり、カーボンニュートラルで環境に優しく、なおかつ酸素を通さないために中身の食品・医薬品の酸化を防ぎ、使用可能期限の長期化による食品・医薬品の有効利用、量的確保を図ることができる。

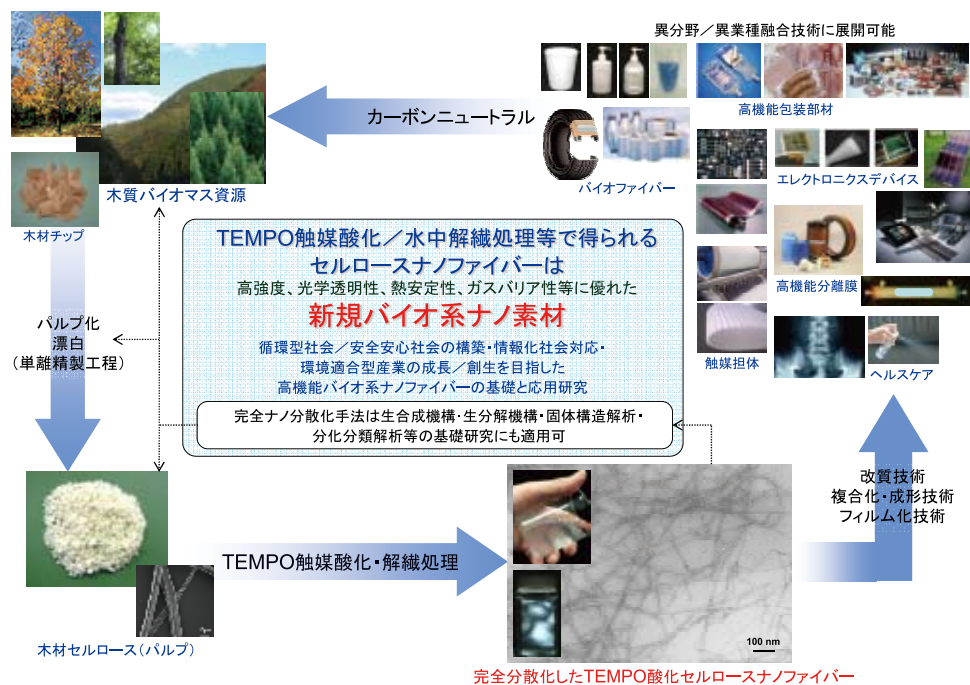
多くの製品は包装容器と一体化されており、特に食品・医薬品用包装材のほとんど全てが使用後は廃棄 - 焼却処分される。プラスチック系一般廃棄物および産業廃棄物の総量 971 万トン/年（2008 年）に占める容器包装材は約 486 万トンとその比率は高い。プラスチック系廃棄物の約 65% が焼却処理されているため、年間約 1020 万トンの CO₂ 排出量の要因となっている¹⁰⁶⁾。したがって、包装容器材料の一部を石油系プラスチックから、バイオマス部材に変換することにより、使用後の廃棄燃焼プロセスでの CO₂ 排出量の低減とともに、製造プロセス段階での CO₂ 排出量の低減も可能となる。また、国内の石油系プラスチックの年間出荷数量のうち包装用フィルム・容器は約 210 万トンで約 1 兆円の市場規模を占めている^{107,108)}。これらの一部が TOCN を含むバイオマス系包装部材に代替利用されることで、新しい市場を形成できる。

そこで 2007 年より、「セルロースシングルナノファイバーを用いた環境対応型高機能包装部材の開発」というテーマで、日本製紙(株)、花王(株)、東京大学により NEDO が支援するナノテク・先端部材実用化研究開発のステージ I のプロジェクトを進めてきた。現在、日本製紙(株)、花王(株)、凸版印刷(株)が上記プロジェクトのステージ II として、① TEMPO 酸化パルプ製造の高効率化、② TOCN の長さ/長さ分布制御技術の構築、③ TOCN の安全性の評価方法の確立、④ TOCN のさらなる性能向上、⑤ TOCN/水分分散液の高濃度化、⑥最終包装材料までのロール to ロール加工プロセスの検討など、実用化に向けた研究開発を進めている¹⁰⁹⁾。

14. まとめと今後の課題

新規バイオ系ナノファイバーである TOCN が有する、カーボンニュートラルなバイオマス素材としての環境適合性、常温常圧水系 TEMPO 触媒反応というバイオマス変換プロセスの環境適合性、極めて低い解繊エネルギーというナノ分散処理工程の省エネ等により、TOCN は「環境適合性がありながら高機能部材として応用展開が可能な新規バイオナノ素材」である。さらに TOCN は、日本発の独自技術に基づいており、出口分野から木質バイオマス利用を促進するためのブレークスルー技術となり得る基本的特性を有している。

前述した環境適合型の高機能包装部材への利用に向けた検討が進められているが、TOCN には酸素バリア性以外でも優れた特長が見出されつつあり、幅広い先端部材分野への応用展開を目指して共同研究を進めている。包装部材以外として、エレクトロニクス、産業用バイオ系ファイバー、医療材料、ヘルスケア、触媒担体、環境適合型の水あるいは空気清浄濾過材などへの利用



図－40 木材バイオマス由来の TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの先端部材への利用による循環型社会基盤の構築¹⁻⁴⁾

Fig. 40. Overall concept of wood biomass utilization cycle to high-tech materials and devices using TEMPO-oxidized cellulose nanofibers for establishment of a sustainable society¹⁻⁴⁾

を検討している。木質バイオマスを原料とする TOCN の利用分野の拡大は、異業種異分野融合型の産業の創成、森林産業の強化育成と関連する雇用の促進、国産材の利用促進、管理された森林による CO₂ 吸収量の確保、循環型社会の構築等の波及効果が期待できる（図－40）。

しかし、現状では TOCN 調製および特性解析の基礎および応用展開分野にはまだ多くの解明すべき、あるいは克服すべき課題がある。副反応の解明、より効率的な新規触媒酸化反応の検討、TOCN の長さ・長さ分布の制御技術の開発、TOCN の高固形分濃度化方法の開発、TOCN と他の高分子との複合化による物性向上とナノ分散状態の評価などが挙げられる。現在の工業生産レベルで求められる「均一性、安定性、欠陥の分散による高信頼性、厳しい特性基準評価・管理」という、生物由来の多様性、多分散性、不均一性とはトレードオフの関係にある素材制御という必要条件も克服しなければならない。

一方、植物セルロースをダメージ少なく完全ナノ分散できる TEMPO 触媒酸化反応は、透過型電子顕微鏡あるいは原子間力顕微鏡によるミクロフィブリルの新しい評価方法として提案できる^{47,110)}。植物セルロースミクロフィブリルの構造、生合成機構にはまだ多くの未解明な基礎的課題が残されており、本完全ナノ分散化手法がこれらの課題解決の糸口となる可能性もあり、セルロース科学、多糖化学、樹木および植物学等の基礎的分野での解析手法としての適用も重点的に検討する必要がある。

謝 辞

本研究は、継続的に支援いただいた日本学術振興会科学研究費補助金、NEDO ナノテク・先端部材実用化研究開発補助金、および各社との共同研究で進めてきました。これまで実験を担当していただきました多くの大学院生および共同研究者、当研究室関連の教員の方々のご支援・ご協力に感謝いたします。

要 旨

2,2,6,6- テトラメチルピペリジニル -1- オキシラジカル (TEMPO) を用いることにより、多糖の 1 級水酸基を選択的にカルボキシル基に変換できる。この TEMPO 触媒酸化反応を木材パルプに適用すると、マイクロフィブリル表面に露出している C6 位の 1 級水酸基を選択的に酸化でき、カルボキシル基の Na 塩が生成する。十分なカルボキシル基量を有する TEMPO 酸化木材セルロースを水中で解繊処理することで、約 4nm の均一幅で、長さ数ミクロンの（凝集せずに）孤立したナノファイバーに変換できる。TEMPO 酸化によりマイクロフィブリル上に高密度で負電荷が生成するため、水中で荷電反発、浸透圧効果が作用し、高アスペクト比で高結晶性の TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TOCN) が得られる。TOCN/水分散液からキャスト成形したフィルムは高い光学透明性、極めて低い酸素透過度と線熱膨張率、高強度等の特性を有する。TOCN は豊富な木質バイオマスから製造可能であり、環境適合型の新規バイオナノ素材として、食品医薬品用の高ガスバリア包装用材料、表示体フィルム、電子部材、ヘルスケア材料等の先端分野への利用が期待される。

キーワード：セルロース・ナノファイバー・TEMPO・マイクロフィブリル・木材セルロース

引用文献

- 1) 磯貝 明 (2009) TEMPO 酸化セルロースナノファイバー. 高分子 **58**: 90-91.
- 2) 磯貝 明 (2009) 環境対応型新規バイオナノ先端部材開発－ TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの調製と応用展開－. *Green Spirits* **5**: 3-10.
- 3) 磯貝 明 (2009) 新規バイオ系ナノ材料の基礎および応用展開－ TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの表面構造と機能－. 表面 **47**: 339-350.
- 4) 磯貝 明 (2010) 環境適合型新規バイオ系ナノ先端部材：TEMPO 酸化セルロースナノファイバー. バイオプラジャーナル **39**: 12-17.
- 5) ISOGAI, A., SAITO, T., and FUKUZUMI, H. (2011) TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale* **3**: 71-85.
- 6) 宮沢健夫, 遠藤 剛 (1986) ニトロキシラジカルを用いる合成反応. 有機合成化学 **44**: 1134-1144.
- 7) GOLDSTEIN, S., and SAMUNI, A. (2007) Kinetics and mechanism of peroxy radical reactions with nitroxides. *J. Phys. Chem. A* **111**: 1066-1072.
- 8) ADAM, W., SAHA-MÖLLER, C. R., and GANESHPURE, P. A. (2010) Synthetic applications of nonmetal catalysts for homogeneous oxidations. *Chem. Rev.* **101**: 3499-3547.
- 9) BAILEY, W. F., BOBBITT, J. M., and WIBERG, K. B. (2007) Mechanism of the oxidation of alcohols by oxoammonium cations. *J. Org. Chem.* **72**: 4504-4509.
- 10) DE NOOY, A. E. J., BESEMER, A. C., and VAN BEKKUM, H. (1995) Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans. *Carbohydr. Res.* **269**:

- 89-98.
- 11) DE NOOY, A. E. J., BESEMER, A. C., VAN BEKKUM, H., VAN DIJK, J. A. P. P., and SMIT, J. A. M. (1996) TEMPO-mediated oxidation of pullulan and influence of ionic strength and linear charge density on the dimensions of the obtained polyelectrolyte chains. *Macromolecules* **29**: 6541-6547.
 - 12) BRAGD, P. L., BESEMER, A. C., and VAN BEKKUM, H. (2001) TEMPO-derivatives as catalysts in the oxidation of primary alcohol groups in carbohydrates, *J. Mol. Catal.* **170**: 35-42.
 - 13) BRAGD, P. L., VAN BEKKUM, H., and BESEMER, A. C. (2004) TEMPO-mediated oxidation of polysaccharides: survey of methods and applications. *Top. Catal.* **27**: 49-66.
 - 14) <http://www.koeichem.com/pdf/tempo.pdf>
 - 15) ISOGAI, A., and KATO, Y. (1998) Preparation of polyuronic acid from cellulose by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* **4**: 153-164.
 - 16) ISOGAI, T., YANAGISAWA, M., and ISOGAI, A. (2009) Degrees of polymerization (DP) and DP distribution of cellouronic acids prepared from alkali-treated celluloses and ball-milled native celluloses by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* **16**: 117-127.
 - 17) 磯貝 明 (2000)「セルロースの事典」所収, セルロース学会編, 朝倉書店, pp.153-156.
 - 18) 磯貝 明 (2001)「セルロースの材料科学」, 東大出版会.
 - 19) ISOGAI, A. (2001) "Chemical modification of cellulose" in "Wood and cellulosic chemistry", Ed. by HON, D. N.-S., Marcel Dekker, New York, pp.599-625.
 - 20) 磯貝 明 (2003)「セルロースの科学」所収, 磯貝 明 編, 朝倉書店, pp.56-66.
 - 21) ATALLA, R. H., and ISOGAI, A. (2005) "Recent developments in spectroscopic and chemical characterization of cellulose", in "Polysaccharides, 2nd Ed.", Marcel Dekker, New York, pp.170-192.
 - 22) ISOGAI, A., and USUDA, M. (1991) Preparation of low-molecular weight celluloses using phosphoric acid. *Mokuzai Gakkaishi* **37**: 339-344.
 - 23) KATO, Y., HABU, N., YAMAGUCHI, J., KOBAYASHI, Y., SHIBATA, I., ISOGAI, A., and SAMEJIMA, M. (2002) Biodegradation of β -1,4-linked polyglucuronic acid (cellouronic acid). *Cellulose* **9**: 75-81.
 - 24) SHIBATA, I., and ISOGAI, A. (2003) Depolymerization of cellouronic acid during TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* **10**: 151-158.
 - 25) SHIBATA, I., and ISOGAI, A. (2003) Nitroxide-mediated oxidation of cellulose using TEMPO derivatives: HPSEC and NMR analyses of the oxidized products. *Cellulose* **10**: 335-341.
 - 26) KATO, Y., MATSUO, R., and ISOGAI, A. (2003) Oxidation process of water-soluble starch in TEMPO-mediated system. *Carbohydr. Polym.* **51**: 69-75.
 - 27) SHIBATA, I., YANAGISAWA, M., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2006) SEC-MALLS analysis of cellouronic acid prepared from regenerated cellulose by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* **13**: 73-80.
 - 28) FUJISAWA, S., ISOGAI, T., and ISOGAI, A. (2010) pH and Temperature stability of cellouronic acid. *Cellulose* **17**: 607-615.
 - 29) KATO, Y., KAMINAGA, J., MATSUO, R., and ISOGAI, A. (2005) Oxygen-permeability and biodegradation of polyuronic acids prepared from polysaccharides by TEMPO-mediated oxidation. *J. Polym. Environ.* **13**: 261-266.
 - 30) YOSHIMURA, T., and OKUTSU, M. (2009) JP 2009-263641, JP 2009-263642.
 - 31) KONNO, N., HABU, N., MAEDA, I., AZUMA, N., and ISOGAI, A. (2005) Cellouronate (β -1,4-linked polyglucuronate) lyase from *Brevundimonas* sp. SH203: Purification and characterization. *Carbohydr. Polym.* **62**: 589-596.
 - 32) KONNO, N., ISOGAI, A., HABU, N., and IHASHI, N. (2008) Purification and characterization of exo-type cellouronate lyase. *Cellulose* **15**: 453-463.
 - 33) KONNO, N., IGARASHI, K., HABU, N., SAMEJIMA, M., and ISOGAI, A. (2009) Cloning of the *Trichoderma reesei* cDNA encoding a glucuronan lyase belonging to a novel polysaccharide lyase family. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**: 101-107.
 - 34) KONNO, N., ISHIDA, T., IGARASHI, K., FUSHINOBU, S., SAMEJIMA, M., HABU, N., and

- ISOGAI, A. (2009) Crystal structure of polysaccharide lyase family 20 endo- β -1,4-glucuronan lyase from the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *FEBS Lett.* **538**: 1323-1326.
- 35) DA COSTA, A., MICHAUD, P., PETIT, E., HEYRAUD, A., COLIN-MOREL, P., COURTOIS, B., and COURTOIS, J. (2001) Purification and properties of a glucuronan lyase from *Sinorhizobium meliloti* M5N1CS (NCIMB 40472). *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 5197-5203.
- 36) SAITO, T., YANAGISAWA, M., and ISOGAI, A. (2005) TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. SEC-MALLS analysis of water-soluble and -insoluble fractions in the oxidized products. *Cellulose* **12**: 305-315.
- 37) SAITO, T., and ISOGAI, A. (2004) TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromolecules* **5**: 1983-1989.
- 38) SAITO, T., OKITA, Y., NGE, T. T., SUGIYAMA, J., and ISOGAI, A. (2006) TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. Microscopic analysis of fibrous fractions in the oxidized products. *Carbohydr. Polym.* **65**: 435-440.
- 39) KITAOKA, T., ISOGAI, A., and ONABE, F. (1999) Chemical modification of pulp fibers by TEMPO-mediated oxidation. *Nord. Pulp Paper Res. J.* **14**, 274-279.
- 40) KITAOKA, T., ISOGAI, A., and ONBE, F. (2000) Rosin sizing of pulps modified by TEMPO-mediated oxidation. *Nord. Pulp Paper Res. J.* **15**: 177-182.
- 41) SAITO, T., and ISOGAI, A. (2005) Novel method to improve wet strength of paper. *TAPPI J.* **4** (3): 3-8.
- 42) SAITO, T., and ISOGAI, A. (2006) Introduction of aldehyde groups on surfaces of native cellulose fibers by TEMPO-mediated oxidation. *Colloids Surfaces A* **289**: 219-225.
- 43) SAITO, T., and ISOGAI, A. (2007) Wet strength improvement of TEMPO-oxidized cellulose sheets prepared with cationic polymers. *Ind. Eng. Chem. Res.* **46**: 773-780.
- 44) SAITO, T., KIMURA, S., NISHIYAMA, Y., and ISOGAI, A. (2007) Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* **8**: 2485-2491.
- 45) SAITO, T., SHIBATA, I., ISOGAI, A., SUGURI, N., and SUMIKAWA, N. (2005) Distribution of carboxylate groups introduced into cotton linters by the TEMPO-mediated oxidation. *Carbohydr. Polym.* **61**: 414-419.
- 46) OKITA, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2010) Entire surface oxidation of various cellulose nanofibrils by TEMPO-mediated oxidation. *Biomacromolecules* **11**: 1696-1700.
- 47) HIROTA, M., FURIHATA, K., SAITO, T., KAWADA, T., and ISOGAI, A. (2010) Glucose/glucuronic acid alternating copolysaccharide prepared from TEMPO-oxidized native celluloses by surface-peeling. *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**: 7670-7672.
- 48) SAITO, T., and ISOGAI, A. (2005) Ion-exchange behavior of carboxylate groups in fibrous cellulose oxidized by the TEMPO-mediated system. *Carbohydr. Polym.* **61**: 183-190.
- 49) FUKUZUMI, H., SAITO, T., OKITA, Y., and ISOGAI, A. (2010) Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polym. Degrad. Stab.* **95**: 1502-1508.
- 50) KOGA, H., TOKUNAGA, E., HIDAKA, M., UMEMURA, Y., SAITO, T., ISOGAI, A., and KITAOKA, T. (2010) Topochemical synthesis and catalysis of metal nanoparticles exposed on crystalline cellulose nanofibers. *Chem. Commun.* **46**: 8667-8569.
- 51) SAITO, T., NISHIYAMA, Y., PUTAUX, J.-L., VIGNON, M., and ISOGAI, A. (2006) Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* **7**: 1687-1691.
- 52) CARR JR. M. E., SHEN, L. I., and HERMANS, J. (1977) Mass-length ratio of fibrin fibers from gel permeation and light scattering, *Biopolymers* **16**: 1-15.
- 53) CARR JR. M. E., and HERMANS, J. (1978) Size and density of fibrin fibers from turbidity, *Macromolecules* **11**: 46-50.
- 54) HANTGAN, R. R., and HERMANS, J. (1979) Assembly of fibrin. A light scattering study, *J. Biol. Chem.* **254**: 11272-11281.
- 55) SAITO, T. and ISOGAI, A. (2008) Nanowerk,

- <http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=8695.php>
- 56) SAITO, T., HIROTA, M., TAMURA, N., KIMURA, S., FUKUZUMI, H., HEUX, L., and ISOGAI, A. (2009) Individualization of nano-sized plant cellulose fibrils by direct surface carboxylation using TEMPO catalyst under neutral conditions. *Biomacromolecules* **10**: 1992-1996.
 - 57) OKITA, Y., FUJISAWA, S., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2011) TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils dispersed in organic solvents. *Biomacromolecules* **12**: 518-522.
 - 58) ISHII, D., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2011) Viscoelastic evaluation of average length of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation. *Biomacromolecules* **12**: 548-550.
 - 59) ZHAO, M., LI, J., MANO, E., SONG, Z., TSCHAEN, D. M., GRABOWSKI, E. J. J., and REIDER, P. J. (1999) Oxidation of primary alcohols to carboxylic acids with sodium chlorite catalyzed by TEMPO and bleach, *J. Org. Chem.* **64**: 2564-2566.
 - 60) HIROTA, M., TAMURA, N., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2009) Oxidation of regenerated cellulose with NaClO₂ catalyzed by TEMPO and NaClO under acid-neutral conditions. *Carbohydr. Polym.* **78**: 330-335.
 - 61) TAMURA, N., HIROTA, M., SAITO, T., ISOGAI, A. (2010) Oxidation of curdlan and other polysaccharides by 4-acetamide-TEMPO/NaClO/NaClO₂ under acid conditions. *Carbohydr. Polym.* **81**: 592-598.
 - 62) HIROTA, M., TAMURA, N., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2010) Water dispersion of cellulose II nanocrystals prepared by TEMPO-mediated oxidation of mercerized cellulose at pH 4.8. *Cellulose* **17**: 279-288.
 - 63) SAITO, T., HIROTA, M., TAMURA, N., and ISOGAI, A. (2010) Oxidation of bleached wood pulp by TEMPO/NaClO/NaClO₂ system: effect of the oxidation conditions on carboxylate content and degree of polymerization. *J. Wood Sci.* **56**: 227-232.
 - 64) DE SOUZA LIMA, and M. M., BORSALI, R. (2004) Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications. *Macromol. Rapid Commun.* **25**: 771-787.
 - 65) LIAIGRE, D., BRETON, T., and BELGSIR, E. M. (2005) Kinetic and selectivity control of TEMPO electro-mediated oxidation of alcohols. *Electrochem. Commun.* **7**: 312-316.
 - 66) BARBIER, M., BRETON, T., SERVAT, K., GRAND, E., KOKOH, B., and KOVENSKY, J. (2006) Selective TEMPO-catalyzed chemicals vs. electrochemical oxidation of carbohydrate derivatives. *J. Carbohydr. Chem.* **25**: 253-266.
 - 67) ISOGAI, T., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2010) TEMPO electro-mediated oxidation of polysaccharides and regenerated cellulose fiber. *Biomacromolecules* **11**: 1593-1599.
 - 68) ISOGAI, T., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2011) Wood cellulose nanofibrils prepared by TEMPO electro-mediated oxidation. *Cellulose* **18**: 421-431.
 - 69) IWAMOTO, S., KAI, W., ISOGAI, A., SAITO, T., and IWATA, T. (2010) Comparison study of TEMPO-analogues compounds on oxidation efficiency of wood cellulose for preparation of cellulose nanofibrils. *Polym. Degrad. Stab.* **95**: 1394-1398.
 - 70) PATEL, I., OPETNIK, M., BOHMDORFER, S., BECKER, M., POTTHAST, A., SAITO, T., ISOGAI, A., and ROSENAU, T. (2010) Side reactions of 4-acetamido-TEMPO as the catalyst in cellulose oxidation systems. *Holzforschung* **64**: 549-554.
 - 71) OKITA, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2009) TEMPO-mediated oxidation of softwood thermomechanical pulp. *Holzforschung* **63**: 529-535.
 - 72) ARENDS, I. W. C. E., LI, Y.-X., and SHELDON, R. A. (2006) Stabilities and rates in the laccase/TEMPO-catalyzed oxidation of alcohols, *Biocatal. Biotransform.* **24**: 443-448.
 - 73) PAUL, D. R., and ROBESON, L. M. (2008) Polymer nanotechnology: nanocomposites. *Polymer* **49**: 3187-3204.
 - 74) IWAMOTO, S., KAI, W., IWATA, T., and ISOGAI, A. (2009) Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. *Biomacromolecules* **10**: 2571-2576.
 - 75) FUKUZUMI, H., SAITO, T., KUMAMOTO, Y., IWATA, T., and ISOGAI, A. (2009) Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation.

- Biomacromolecules* **10**: 162-107.
- 76) FUJISAWA, S., OKITA, Y., FUKUZUMI, H., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2011) Preparation and characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films with free carboxyl groups. *Carbohydr. Polym.* **84**: 579-583.
 - 77) OHTA, S., INASAWA, S., KOIKE, O., FUJITA, M., and YAMAGUCHI, Y. (2009) Formation of well-aligned thin films of rod-like nanoparticles via solvent evaporation: A simulation study. *Appl. Phys. Exp.* **2**: 065002.
 - 78) HERRICK, F. W., CASEBIER, R. L., HAMILTON, J. K., and SANDBERG, K. R. (1983) Microfibrillated cellulose: morphology and accessibility. *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polym. Symp.* **37**: 797-813.
 - 79) TURBAK, A. F., SNYDER, F. W., and SANDBERG, K. R. (1983) Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polym. Symp.* **37**: 815-827.
 - 80) TANIGUCHI, T., and OKAMURA, K. (1998) New films produced from microfibrillated natural fibres. *Polym. Int.* **47**: 291-294.
 - 81) DONG, X. M., REVOL, J-F., and GRAY, D. G. (1998) Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. *Cellulose* **5**: 19-32.
 - 82) BECK-CANDANEDO, S., ROMAN, M., and GRAY, D. G. (2005) Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules* **6**: 1048-1054.
 - 83) http://www.fpinnovations.ca/home_e.htm
 - 84) PÄÄKKÖ, M., ANKERFORS, M., KOSONEN, H., NYKÄNEN, A. AHOLA, S., ÖSTERBERG, M., RUOKOLAINEN, J., LAINE, J., LARSSON, P. T., IKKALA, O., and LINDSTRÖM, T. (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules* **8**: 1934-1941.
 - 85) HENRIKSSON, M., HENRIKSSON, G., BERGLUND, L. A., and LINDSTRÖM, T. (2007) An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *Eur. Polym. J.* **43**: 3434-3441.
 - 86) AULIN, C., Ahola, S., Josefsson, P., Nishino, T., Hirose, Y., Sterberg, M., and Wågberg, L. (2009) Nanoscale cellulose films with different crystallinities and mesostructures—their surface properties and interaction with water. *Langmuir* **25**: 7675-7685.
 - 87) Beyond #3 (2008), #2 (2010), #1 (2011).
http://www.innventia.com/templates/STFIPage_____7245.aspx
 - 88) KATO, Y., KAMINAGA, J., MATSUO, R., and ISOGAI, A. (2004) TEMPO-mediated oxidation of chitin, regenerated chitin and N-acetylated chitosan. *Carbohydr. Polym.* **58**: 421-426.
 - 89) FAN, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2008) Chitin nano-fibers/whiskers prepared by TEMPO-mediated oxidation of α -chitin. *Biomacromolecules* **9**: 192-198.
 - 90) FAN, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2009) TEMPO-mediated oxidation of β -chitin to prepare individual nanofibrils. *Carbohydr. Polym.* **77**: 832-838.
 - 91) TAMURA, N., WADA, M., and ISOGAI, A. (2009) TEMPO-mediated oxidation of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans. *Carbohydr. Polym.* **77**: 300-305.
 - 92) HIROTA, M., TAMURA, N., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2009) Surface carboxylation of porous regenerated cellulose beads by 4-acetamide-TEMPO/NaClO/NaClO₂ system. *Cellulose* **16**: 841-851.
 - 93) FAN, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2008) Preparation of chitin nanofibers from squid pen beta-chitin by simple mechanical treatment under acid conditions. *Biomacromolecules* **9**: 1919-1923.
 - 94) FAN, Y., SAITO, T., and ISOGAI, A. (2010) Individual chitin nano-whiskers prepared from partially deacetylated α -chitin by fibril surface cationization. *Carbohydr. Polym.* **79**: 1046-1051.
 - 95) SYVERUD, K., and STENIUS, P. (2009) Strength and barrier properties of MFC films. *Cellulose* **16**: 75-85.
 - 96) JOHNSON, R. K., ZINK-SHARP, A., RENNECKAR, S. H., and GLASSER, W. G. (2009) A new bio-based nanocomposite: fibrillated TEMPO-oxidized celluloses in hydroxypropylcellulose matrix.

- Cellulose* **16**: 227-238.
- 97) LI, Z., RENNECKAR, S., and BARONE, J. R. (2010) Nanocomposites prepared by in situ enzymatic polymerization of phenol with TEMPO-oxidized nanocellulose. *Cellulose* **17**: 57-68.
 - 98) KAI, W., IWAMOTO, S., AKAMATSU, K., NAKAO, S., ISOGAI, A., and IWATA, T. (2010) Enhanced interlayer interaction in cellulose single nanofiber and poly (L-lactic acid) layered films by plasma-initiated surface grafting of poly (acrylic acid) onto poly (L-lactic acid) films. *Polym. Degrad. Stab.* **95**: 1004-1010.
 - 99) EICHHORN, S. J., DUFRESNE, A., ARANGUREN, M., MARCOVICH, N. E., CAPADONA, J. R., ROWAN, S. J., WEDER, C., THIELEMANS, W., ROMAN, M., RENNECKAR, S., GINDL, W., VEIGEL, YANO, H., ABE, K., NOGI, M., NAKAGAITO, A. N., MANGALAM, A., SIMONSEN, J., BENIGHT, A. S., BISMARCK, A., BERGLUND, L. A., PEIJS, T. (2010) Current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *J. Mater. Sci.* **45**: 1-13.
 - 100) HABIBI, Y., LUCIA, L. A., and ROJAS, O. J. (2010) Cellulose nanocrystals: Self-assembly, and applications. *Chem. Rev.* **110**: 3479-3500.
 - 101) EICHHORN, S. J. (2011) Cellulose nanowhiskers: promising materials for advanced applications. *Soft Matter* **7**: 303-315.
 - 102) 石塚雅規, 齋藤継之, 江前敏晴, 磯貝 明 (2010) 解繊した TEMPO 触媒酸化パルプの抄紙. 紙パ技協誌 **64**: 437-447.
 - 103) 石塚雅規, 齋藤継之, 江前敏晴, 磯貝 明 (2010) パルプ繊維の TEMPO 触媒酸化がシートの粒子捕捉特性あるいはイオン交換特性に与える影響. 紙パ技協誌 **64**: 889-902.
 - 104) MUKAI, K., and ISOGAI, A. (2011) Characterization of handsheets prepared from TEMPO-oxidized pulps with de-bonder. *Sen'i Gakkaishi* **65**: 22-26.
 - 105) IWAMOTO, S., ISOGAI, A., and IWATA, T. (2011) Structure and mechanical properties of wet-spun fibers made from natural cellulose nanofibers. *Biomacromolecules* **12**: 831-836.
 - 106) プラスチック製品・廃棄物・再資源化フロー図 (2008) (社)プラスチック処理促進協会 : http://www2.pwmi.or.jp/siryo/flow/flow_pdf/flow2009.pdf
 - 107) 化学工業統計年報及び月報 (2009) 経済産業省, http://www.meti.go.jp/statistics/tyo/seidou/archives/pdf/H19/kagaku_H19.pdf
 - 108) プラスチック製品統計確報 (2008) 経済産業省, <http://210.255.160.185/keisan/statistics/data/h2d719j.html>
 - 109) NEDO Website (2009,2010), <http://app3.infoc.nedo.go.jp/informations/koubo/press/EF/nedopress.2009-02-10.5277370827/>, <http://app3.infoc.nedo.go.jp/informations/koubo/kaiken/BE/nedopressorder.2009-02-10.0007481708/cellulose.pdf>, <http://www.tech.nedo.go.jp/PDF/100012422.pdf>, <https://app3.infoc.nedo.go.jp/informations/koubo/press/EF/nedopress.2010-03-08.1836169159/besshi.pdf>
 - 110) YAMAMOTO, M., SAITO, T., ISOGAI, A., KURITA, M., KONDO, T., TANIGUCHI, T., KAIDA, R., BABA, K., and HAYASHI, T. (2011) Enlargement of individual cellulose microfibrils in transgenic poplars overexpressing xyloglucanase. *J. Wood Sci.* **57**: 71-75.

(2011 年 5 月 9 日受付)

(2011 年 7 月 11 日受理)

Summary

Selective conversion of primary hydroxyls of polysaccharides to carboxyl groups can be achieved by TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidiny-1-oxyl radical)-mediated oxidation in water under moderate conditions. Fundamental and application studies of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers and their related researches are reviewed primarily based on the results obtained in our laboratory and by collaborations. When TEMPO-mediated oxidation in water is applied to bleached wood kraft pulps for papermaking, C6-carboxylate groups are efficiently and position-selectively formed on surfaces of wood cellulose microfibrils. TEMPO-oxidized wood celluloses having sufficient amounts of sodium carboxylate groups can be converted to individualized cellulose nanofibers with almost uniform widths of 4 nm and lengths $>1\ \mu\text{m}$ by mild mechanical disintegration in water. Electrostatic repulsion and/or osmotic effect efficiently work between anionically charged TEMPO-oxidized wood cellulose microfibrils, resulting in the formation of the individual nanofibers with high aspect ratios and high crystallinity. Cast films prepared from the TEMPO-oxidized cellulose nanofiber (TOCN)/water dispersions have high optical transparency, extremely low oxygen permeability, low thermal expansion coefficients, high strengths and other unique properties. The new cellulose-based nanofiber films are expected to be applied as transparent packaging materials with high oxygen barrier for foods and medicines, flexible display panels, electronic devices, health cares and others. Thus, TOCNs prepared from abundant wood biomass have great potential as novel bio-based nanofibers in state-of-the-art material fields required for establishment of sustainable society.

Key words: Cellulose, Nanofiber, TEMPO, Microfibril, Wood cellulose