

TEMPO 触媒酸化法および有機電解酸化法を用いた
セルロースの化学改質に関する研究

磯貝拓也

**TEMPO 触媒酸化法および有機電解酸化法を用いた
セルロースの化学改質法に関する研究**

目次

第 1 章	TEMPO 触媒酸化を用いたセルロースの化学改質とその利用について	1
第 2 章	再生セルロースの TEMPO 触媒酸化およびその高次構造に関する検討	9
2-1	背景	10
2-2	再生セルロースおよびマーセル化セルロースの LODP と TEMPO 触媒酸化	11
2-2-1	緒言	11
2-2-2	実験	12
2-2-3	結果および考察	16
2-2-4	結論	37
2-3	非晶セルロースの TEMPO 触媒酸化	40
2-3-1	緒言	40
2-3-2	実験	41
2-3-3	結果および考察	42
2-3-4	結論	49
第 3 章	有機電解酸化法を用いた各種セルロースの TEMPO 触媒酸化	53
3-1	背景	54
3-2	カードランおよびアミロデキストリンの有機電解酸化	56
3-2-1	緒言	56
3-2-2	実験	56
3-2-3	結果および考察	58
3-2-4	結論	66
3-3	再生セルロースの有機電解酸化	67
3-3-1	緒言	67
3-3-2	実験	67
3-3-3	結果および考察	69
3-3-4	結論	79
3-4	有機電解酸化法を用いたセルロースナノファイバーの調製	80
3-4-1	緒言	80
3-4-2	実験	82

3-4-3 結果および考察	85
3-4-4 結論	99
第 4 章 総括	103

第 1 章

TEMPO 触媒酸化を用いたセルロースの化学改質とその利用について

1-1 緒言

セルロースの特徴とその利用について

生態系の観点に立てば物質は常に循環し続けているものである。しかしながら、必要なエネルギーのほとんどを化石燃料に頼り、不要物を単純に廃棄し続けてきたこれまでの産業構造は、この原則から大きく逸脱したものであった。結果として現在、人類は温暖化・環境汚染・ゴミ問題といった地球規模の問題に直面しているだけでなく、近い将来における化石燃料そのものの枯渇、という事態にまで陥っている。この状況を打開するため、再生産可能な資源であるバイオマスの利用が強く望まれており、中でも最大の蓄積量を誇るセルロース系材料の高機能化に関する研究は、資源循環型社会への移行を目指す様々な取り組みの中で、ひととき重要な役割を担っている。

セルロースは二酸化炭素と水を原料として光合成されたブドウ糖（グルコース）を構成単位とした多糖類であり、その化学構造（一次構造）から「セルロースは D-グルコピラノースが β -1,4 グリコシド結合したホモ多糖類」と定義される。セルロースは植物が自らの支持体とするため細胞壁に蓄積し、植物体の主成分となることから、地球上に最も大量に存在するバイオマスである。

一方、セルロース分子中の水酸基に対する導入可能な官能基の種類の多さ、そして置換度・置換基分布・分子量・分子量制御による物性の多様性から、これまでに化学改質によるセルロースの高機能化についてはきわめて多くの報告がある¹⁾。同様に酸化反応によるセルロースの化学改質についても、パルプ化・漂白反応における多糖の分子量低下制御の検討とともに多くの研究例がある。しかし、セルロースは水・汎用有機溶媒に対し不溶であり、化学的に安定で強固な結晶構造を保持していることから成型性の低さが障害となっており、機能性材料としての利用は限定的なものであった。

近年、天然多糖類の化学改質または高機能化を目指す取り組みとして、常温・常圧・水系媒体といった酵素反応のようにマイルドな条件下で基質に対し位置選択的酸化を行う反応法が、低エネルギー・環境調和性の点で、高い注目を集めている²⁾。1990年代に入り、2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシラジカル（TEMPO）に代表される安定なニトロキシラジカルが市販されるようになり、TEMPO を用いたラジカル重合反応、触媒的酸化反応は前述のコンセプトにマッチした化学改質法として盛んに検討された。とりわけ糖化学・多糖類化学においては TEMPO 触媒酸化による 1 級水酸基の選択的な酸化に関する多くの報告がなされ、糖化学の新しい分野を切り拓くこととなった

3)-6)。

セルロースの TEMPO 触媒酸化

TEMPO による 2 級アルコール性水酸基の酸化反応機構については、反応速度の解析や中間体の構造解析などの結果から、共酸化剤の作用によって *in situ* で生成した 1-オキシソピペリジウム塩とアルコール性水酸基との反応によって生成する 3 通りの中間体によって進むことが提案されている (Fig.1-1、1-2)⁷⁾。律速段階は中間体からの酸化物の脱離であり、セルロースなどの高分子多糖の場合、この中間体の立体障害により 1 級と 2 級アルコール性水酸基間での酸化選択性、すなわち、1 級アルコール性水酸基のみの酸化が進行する。反応液を pH10 に制御し、共酸化剤および主酸化剤として NaBr および NaClO を用いた TEMPO 触媒酸化を多糖類に適用すると、多糖類分子中の C6 位に存在する 1 級水酸基のみが位置選択的に酸化され、ポリウロン酸を高収率で得られることが Nooy らによって既に報告されている³⁾。

筆者の所属する研究室では、TEMPO 触媒酸化を用いたセルロースの化学改質に関してこれまで精力的に取り組んできた。実際にセルロース繊維を水中に分散し、TEMPO を触媒量加え、NaBr と NaClO による共酸化を pH10 付近で進めることにより、C 6 位の 1 級アルコール性水酸基を選択的に酸化してカルボキシル基に変換することに成功している⁸⁾。以下図 Fig.1-3 にその反応系図を示す。セルロースに対して TEMPO 触媒酸化を行った場合、その扱うセルロース試料に応じて酸化の程度および得られる酸化物の形態は異なることがこれまでに報告されており、再生セルロース、マーセル化処理を施したセルロースでは全ての C 6 位アルコール性水酸基が完全に酸化されてカルボキシル基となり、水溶性の β (1 \rightarrow 4) ポリグルクロン酸、すなわちセロウロン酸が生成するが⁸⁾⁻¹⁰⁾、天然セルロースを TEMPO 触媒酸化で処理した場合、そのカルボキシル基導入は一部にとどまり、水溶性のセロウロン酸は得られない¹¹⁾⁻¹⁴⁾。これは扱うセルロース試料の結晶化度に反映されるアクセシビリティの違いや、分子内・分子間水素結合構造の違いに由来していると考えられる。この反応の特徴は①pH10.5 の水系媒体反応、②必要となる TEMPO が触媒量で済む、③安価な次亜塩素酸を共酸化剤として用いることが可能、④高い収率、⑤高い酸化反応選択性、⑥得られる酸化生成物の構造の均一性等が挙げられる。

水溶性のセロウロン酸を、代表的な水溶性セルロース誘導体であるカルボキシメチルセルロース (CMC) と比較すると、CMC では、膨潤したアルカリセルロース固体と液体試薬間の不均一反応で、セルロース水酸基への置換反応によって CM 基が導入される。従って、グルコース残基の 3 つの各水酸基間、および 1 分子内、各分子鎖間の置換基分布の変動による溶液物性が不安定だが、セロウロン酸のような均一構造の場合には、安

定した物性および新たな機能の発現が期待できる。応用としては、セロウロン酸に特有の生理活性機能、保湿剤としての利用、高分子電解質としての機能、ポリイオン錯体の形成が考えられる。また、セロウロン酸は均一な化学構造を持つ β -1,4 ポリグルクロン酸であり、天然界ではこれまで見出されていない物質である。しかし、植物系多糖であるアルギン酸と同レベルの生物分解性および生物代謝性をもつことがわかっており、CMC より遥かに高い分解性を示す¹⁵⁾。また、セロウロン酸を特異的に分解する酵素の存在も見出されている¹⁶⁾。

セルロース由来の新規水溶性高分子として様々な利用法が期待されるセロウロン酸であるが、その調製過程においては、分子量制御、単離・洗浄プロセスの単純化、試薬の回収等が課題として挙げられる。特に TEMPO 触媒酸化反応系では生成物の分子量の低下が避けられず¹⁷⁾、CMC 等と比較して低分子量のものしか得られていないことからこの課題点の克服が求められている。この低分子化の要因としては、弱アルカリ性条件下で反応中間体として生成する C6 位アルデヒド基が β -脱離反応を引き起こし、セルロース分子鎖が切断されるメカニズムが提唱されている^{5),18)}。また、セロウロン酸を天然セルロースから調製することは出来ず、必ず溶解・再生処理や高濃度アルカリ処理（マーセル化処理）等、環境負荷の高い化学的前処理が不可欠である点も問題となっている⁸⁾。

近年 4-アセトアミド TEMPO を触媒として用い、反応液を pH4-7 に制御し、共酸化剤および主酸化剤として NaClO および NaClO₂ を用いた新しい TEMPO 触媒酸化法が報告されている¹⁹⁾。再生セルロースに対しこの pH4-7/4-アセトアミド TEMPO/ NaClO/NaClO₂ 酸化を適用すると、従来法に比較して低分子化を抑制することが可能となり^{20),21)}、比較的高重合度のセロウロン酸を調製出来ることも報告されている²²⁾。しかし根本的な低分子化の回避には至っておらず、反応時間の長さや加熱を必要とする点等、反応法の更なる改善が求められている。

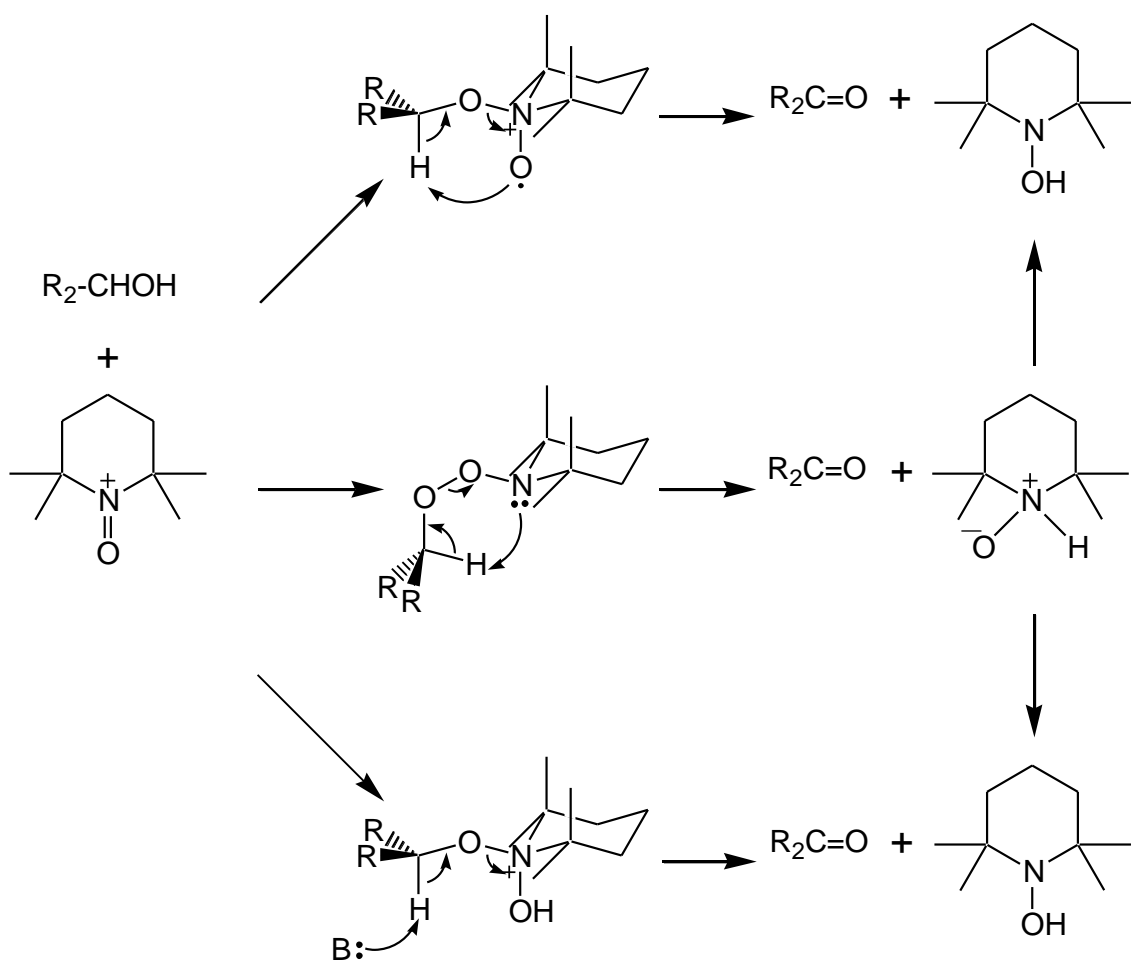


Fig.1-1 Oxidation mechanism of primary alcohol by TEMPO

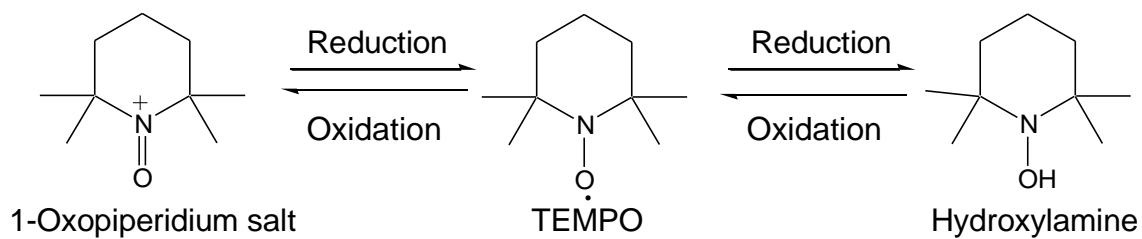


Fig.1-2 Oxidation and reduction of TEMPO-related compounds.

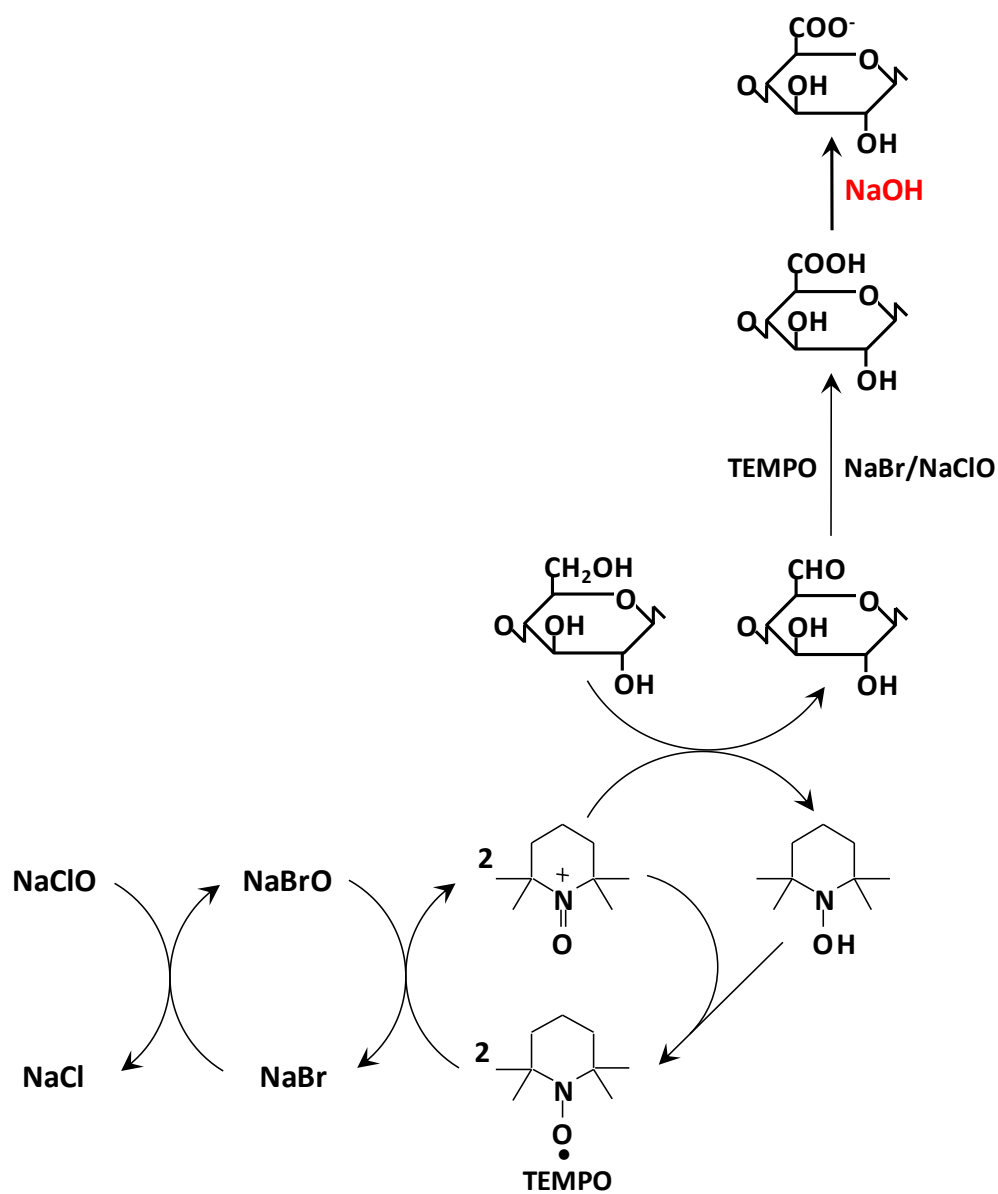


Fig.1-3 Oxidation mechanism of cellulose by TEMPO/NaBr/NaClO system.

本論文の目的

これまでの検討から、TEMPO 触媒酸化によるセロウロン酸の調製においては、出発試料となるセルロースの高次構造の違いが重要な因子となることが見出された。そこで筆者は、様々なセルロース系試料からのセロウロン酸の調製を行い、生成したセロウロン酸の重合度と出発試料となるセルロース試料の高次構造の関係を詳細に検討した。重合度を評価する手段としては主に多角度光散乱検出器とサイズ排除クロマトグラフィーを組み合わせた SEC-MALLS（サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱検出器）法を選択した。

また、TEMPO 触媒酸化における様々な課題点を克服するため、各種セルロース系試料に対し共酸化剤および主酸化剤を一切用いない新規 TEMPO 触媒酸化反応による化学改質法の確立を目指した。

参考文献

- 1) Isogai A (2000) Chemical modification of cellulose. Wood and cellulosic chemistry, 2nd ed.; Marcel Dekker: New York, 599-625
- 2) Atalla, R. H.; Isogai, A. Polysaccharides, structural diversity and functional versatility. Recent developments in spectroscopic and chemical characterization of cellulose, 2nd ed.; Marcel Dekker: New York, 2005; pp 170-192.
- 3) de Nooy, A. E. J.; Besemer, A. C.; van Bakkum, H. *Carbohydr. Res.* 1995, 269, 89-98.
- 4) Bragd, P. L.; van Bakkum, H.; Besemer, A. C. *Top. Catal.* 2004, 27, 49-66.
- 5) de Nooy A. E. J., Besemer A. C., van Bakkum H, van Dijk J. A. P. P., Smit J. A. M. *Macromolecules* **29**, 1996, 6541-6547
- 6) de Nooy A. E. J., Pagliaro M, van Bakkum H, Besemer AC, *Carbohydrate research* **304** (2): 1997, 117-123
- 7) 井口 勉、松本繁章、鳥居 滋 *有機合成化学協会誌* 1993, **51**, 910-920.
- 8) Isogai, A.; Kato, Y. *Cellulose* 1998, **5**, 153-164.
- 9) Kato, Y.; Kaminaga, J.; Matsuo, R.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2004, **58**, 421-426.
- 10) Shibata I, Isogai A, *Cellulose* 2003, **10**, 335-341
- 11) Saito, T.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2004, **5**, 1983-1989.
- 12) Saito, T.; Nishiyama, Y.; Putaux, J.-L.; Vignon, M.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2006, **7**, 1687-1691.

- 13) Saito, T.; Kimura, S.; Nishiyama, Y.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2007, **8**, 2485–2491.
- 14) Saito T, Hirota M, Tamura N, Isogai A. *J Wood Sci* 2010, **56**:227–232.
- 15) Kato Y, Habu N, Yamaguchi J, Kobayashi Y, Shibata I, Isogai A, Samejima M, *Cellulose* 2002,**9** (1), 75-81.
- 16) Konno N, Habu N, Maeda I, Azuma N, Isogai A. *Carbohydrate polymers* 2006, **64**(4): 589-596.
- 17) Shibata I, Isogai A, *Cellulose* 2003, **10** (2), 151-158
- 18) Potthast A, Schiehser S, Rosenau T, Kostic M *Holzforschung* 2009, **63**:12–17
- 19) Zhao, M., Li, J., Mano, E., Song, Z., Tschaen, D. M., Grabowski, E. J. J., Reider, P. J. *Journal of Organic Chemistry* 1999, **64**, 2564–2566.
- 20) Tamura N, Hirota M, Saito T, Isogai A *Carbohydr Polym* 2010, **81**:592–598
- 21) Saito, T.; Hirota, M.; Tamura, N.; Kimura, S.; Fukuzumi, H.; Heux, L.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2009, **10**, 1992–1996.
- 22) Hirota, M.; Tamura, N.; Saito, T.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2009, **78**, 330–335.

第 2 章

再生セルロースの **TEMPO** 触媒酸化およびその高次構造に関する検討

2-1 背景

TEMPO 酸化によって得られるセロウロン酸の重合度について

天然セルロースを TEMPO 触媒酸化した場合、セルロースマイクロフィブリル結晶の表面のみが酸化されるが¹⁾⁻⁴⁾、再生セルロース、マーセル化処理を施したセルロースでは試料中の全ての C6 位 1 級水酸基が完全に酸化されてカルボキシル基となり、水溶性の β -(1 \rightarrow 4)ポリグルクロン酸（セロウロン酸）が生成する⁵⁾⁻⁷⁾。このように、セルロースの種類によって、TEMPO 触媒酸化により得られる酸化物に違いが生じる原因として、出発物質の高次構造の違い、すなわちセルロース試料の由来による結晶構造の違いが考えられる。このように、セロウロン酸調製ための出発物質となるセルロース系試料を選定する場合は、セルロースの結晶構造を念頭に置かなければならない。

当研究室ではこれまで様々なセルロース系試料を用いセロウロン酸の調製条件の検討を進めてきた。具体的には出発試料となるセルロース試料の選定、TEMPO 触媒酸化適用時の試薬添加量などを変えることによって、調製されたセロウロン酸の物性がどのように変化するかを調べた。物性を評価する手段としては多角度光散乱検出器とサイズ排除クロマトグラフィーを組み合わせた SEC-MALLS（サイズ排除クロマトグラフィー—多角度光散乱検出器）法を選択した。その結果、再生セルロースであるビスコースレーヨンから得られたセロウロン酸の重合度 (DP) は 40 程度であることがわかった⁸⁾。この値が、セルロースを希酸加水分解したときに得られるレベルオフ重合度 (LODP) の値とよく一致していることから⁹⁾⁻¹⁴⁾、TEMPO 触媒酸化による低分子化機構がセルロース分子鎖の高次構造を何らかの形で反映しているのではないかと考えた¹⁵⁾。一方、マーセル化セルロース試料からもセロウロン酸を調製することが可能であり、そのレベルオフ重合度は 80 程度であることが報告されている^{12),13)}。よって、これを出発物質として用いた場合、その値に対応した、より高い重合度を持つセロウロン酸が調製可能なのではないかと予想した。そこで本章では様々なセルロース系試料からセロウロン酸を調製し、出発物質の結晶構造および LODP と得られたセロウロン酸の重合度の関係に関する基礎的な知見を得ることを目標とした。

2-2 再生セルロースおよびマーセル化セルロース LODP と TEMPO 触媒酸化

2-2-1 緒言

高等植物から得られる天然セルロースあるいはそれらを溶解・再生したセルロースに希酸加水分解処理を行うと、直ちに重合度(DP)が大幅に低下した後、それ以上低分子化が進まず一定の値となることが知られており、このDPの値がレベルオフ重合度(LODP)と呼ばれる^{10),12),14)-17)}。この現象はセルロース分子鎖が結晶領域と非結晶領域を交互に形成しているモデルによって説明されている。希酸加水分解処理を行うとまず非結晶領域が直ちに分解し、希酸加水分解に抵抗性のある結晶領域のみが保存され、この結晶領域のDPがLODPに相当すると考えられている。これまでの研究で、天然セルロース、マーセル化セルロースおよび再生セルロースのLODPはそれぞれ200-300、40-90および30-60と報告されている^{10),13),14),18)-27)}。このLODPの値とTEMPO触媒酸化における低分子化機構の関連性を調べるため、様々なセルロース試料およびマーセル化セルロース試料を実際に希酸加水分解しその重合度を調べた。重合度を評価する手段としては多角度光散乱検出器とサイズ排除クロマトグラフィーを組み合わせたSEC-MALLS法を選択した²⁸⁾⁻³⁰⁾。

2-2-2 実験

セルロースのマーセル化処理

出発物質として天然セルロース由来であるリンター・微結晶セルロース粉末 (CF11)、再生セルロースであるテンセル・ベンリーゼの 4 種類のセルロース試料を用意した。これらのセルロース試料を 20% 水酸化ナトリウム水溶液に 24 時間浸漬した後、洗浄液が中性になるまで蒸留水で洗浄し、凍結乾燥したものをマーセル化セルロース試料とした (再生セルロースを処理した場合、正確にはマーセル化ではなく濃アルカリ浸漬処理であるが、本論文では便宜上マーセル化として扱う)。この際セルロース試料の一部が 20% 水酸化ナトリウムに溶解するため、マーセル化処理後の収率を測定した。また、マーセル化が完全に進行しているかどうかを確認するため X 線回折パターンの測定を行った。さらに、マーセル化された各種セルロース試料がどの程度の重合度であるかを測定するため、粘度法を用いて重合度を測定した。

マーセル化セルロース試料および再生セルロース試料の希酸加水分解

前項で調製したマーセル化セルロース試料を、1 M 塩酸を用い 105℃にて 1 時間および 3 時間処理し、各種セルロース希酸加水分解物を調製した。また、比較のために再生セルロース 2 種 (テンセルとベンリーゼ) の希酸加水分解も同様に行った。希酸加水分解後に洗浄液が中性になるまで試料を蒸留水で洗浄した後、真空乾燥器を用いて絶乾重量を測定し、希酸加水分解後の収率を算出した。またここでもマーセル化が完全に進行しているかどうかを確認するため X 線回折パターンの測定を行った。こうして得られた希酸加水分解物の重合度について SEC-MALLS を用いて分析した。

TEMPO 酸化によるセロウロン酸の調製

前項で調製した各種マーセル化試料および再生セルロース試料を出発物質とし、TEMPO 触媒酸化によりセロウロン酸を調製した。まず各試料 1 g を精秤し、それに対して脱イオン水 100ml、TEMPO0.025g、NaBr0.25g を加えた。0.5M NaOH を調製し、それを用いて AUTO pH STAT のスイッチを入れてパージを 5 回行った。モード設定は、pH10.5、NaOH 滴下量 MAX0.2mL、MIN0.002mL とした。ここに次亜塩素酸ナトリウム(9%)を 10mL 添加し、溶液の pH を 1M 塩酸で 10.5 に戻してから pH スタットをスタートさせた。なお、この反応系において 1 g の試料を完全に酸化するのに必要な NaClO の量は 10.21mL となっている。水酸化ナトリウムが消費しなくなった時点で反応停止と

みなし、(溶液は清澄化する) 1M 塩酸で pH 7 に調整した。SB40 ロートで吸引ろ過をし、ろ液に等量以上のエタノールを加えてセロウロン酸を析出させ、5℃、40×100rpm で 5 分間遠心分離してセロウロン酸を回収した。これを脱イオン水に再び溶解させてからエバポレーターを用いて水温 40℃で溶液中のエタノール成分をとばした後(エタノールが含まれていると凝固点降下を引き起こすため) 試料を凍結乾燥した。こうして得られたセロウロン酸の重量から収率を算出し、その分子量を SEC-MALLS システムにより測定した。

マーセル化セルロース試料の X 線回折

マーセル化天然セルロース、再生セルロース、マーセル化再生セルロース試料およびその希酸加水分解物各 0.1g を 750MPa で 1 分間プレスしペレット状に成型したものを X 線回折パターン測定用の試料とした。測定機器は Cu-K α 放射線($\lambda = 0.15418$ nm) ニッケルフィルター付き Rigaku RINT 2000 を用い、回折角度 5°-35° の範囲で反射法により行った。得られた回折パターンから、既報に基づき各試料の結晶化度を計算した^{31),32)}。

粘度法によるマーセル化セルロース試料の重合度測定

マーセル化処理を施した各試料の重合度について粘度法を用いて測定した。操作手順は以下の通りである。

まず各種マーセル化セルロース試料 0.04g を精秤しバイアルビンに入れた。そこにイオン交換水 10mL と市販の 1.0mol/L 銅エチレンジアミン溶液 10mL を加え、マグネチックスターラーで攪拌しながら室温で 1 時間放置し試料を溶解させた。また、ブランクとしてイオン交換水 10mL と市販の 1.0mol/L 銅エチレンジアミン溶液 10mL の混合溶液を調製した。得られた銅エチレンジアミン溶液 10mL をキャノンフェンスケ型粘度計に流し込み、25℃の恒温水槽中で測定を行った。測定は各試料につき 3 回ずつ行った平均値を採用し ブランクから開始し、すべての試料を測定した後再びブランクを測定することでデータの再現性を確認した。

サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALLS)測定

マーセル化セルロース酸加水分解物の分子量測定

今回の測定においてはサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を行う際に溶離液として有機溶媒を用いる必要があるため、まず初めに各種セルロース希酸加水分解物を溶媒置換した。

溶媒置換はまず試料を蒸留水に 24 時間浸漬し、吸引ろ過および洗浄処理を合計 2 回行った。続いてアセトンに 24 時間浸漬し、吸引ろ過および洗浄の処理を合計 2 回行った。さらに DMAc に 24 時間浸漬したのち吸引ろ過、洗浄を合計 2 回を行い最後に 24 時間真空乾燥したものを溶媒置換済み試料とした。こうして調製した試料を 8wt% LiCl/DMAc に溶解させたのち、さらに DMAc で希釈して 1wt%LiCl/DMAc の 0.2%セルロース溶液とした。

得られたサンプルの重量平均分子量(Mw)、数平均分子量(Mn)、重量平均重合度(DPw)、数平均重合度(DPn)および分子分散度(Mw/Mn)を測定するために、1%LiCl/DMAc を溶離液としたサイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALLS)測定を行った。SEC システムはオンラインデガッサー(DGU-12A; Shimadzu, Japan)、高圧ポンプ(LC-10ADVP; Shimadzu)、サンプル注入器(Model 7125; Rheodyne, U.S.A.)、屈折率検出器(RID-10A; Shimadzu)から構成されているものを使用した。カラムは KD-806M・KD-804・KD-803 (Shodex) の三種類を用いた。SEC パターンは流速 0.5 ml/min で検出した。MALLS の設定に関しては、 dn/dc の値を 0.091 とし、各パラメータを算出した。この SEC-MALLS システムは先に述べた通常の SEC システムにカラム(GF-7M; Shodex, Japan)、カラムオープン(CTO-10ACVP; Shimadzu)及び MALLS 検出器(miniDAWN, $\lambda=690\text{nm}$; Wyatt technologies, U.S.A.)を付属したものを使用した。データの取得及び処理は ASTRA ソフトウェア(Wyatt technologies)によって行った。試料のセルロース酸加水分解物溶液 (0.2%) のインジェクション量は 100 μl 、流速 0.5ml/min、カラム温度及び屈折率検出器の温度は 40°C、MALLS 検出器のセル温度は室温にそれぞれ設定した。サンプル注入の前に、ポリスチレン (分子量=30000) による MALLS 検出器と屈折率検出器の較正及び正規化を行った。サンプルは 0.02 μm フィルターを通して注入した (凝集体を除くため)。得られた溶出パターンおよび分子量プロットからそれぞれ重量平均分子量、数平均分子量および多分散度を算出した。

セロウロン酸の分子量測定

TEMPO 触媒酸化により得られた生成物の重量平均分子量(Mw)、数平均分子量(Mn)、重量平均重合度(DPw)、数平均重合度(DPn)および分子分散度 (Mw/Mn) を測定するために、0.1M NaCl 水溶液を溶離液としたサイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALLS)測定を行った。SEC システムはオンラインデガッサー(DGU-12A; Shimadzu, Japan)、高圧ポンプ(LC-10ADVP; Shimadzu)、サンプル注入器(Model 7125; Rheodyne, U.S.A.)、カラム、屈折率検出器(RID-10A; Shimadzu)から構成されているもの

を使用した。SEC パターンは流速 0.5 ml/min で検出した。MALLS の設定に関しては dn/dc の値を 0.125 とし、各パラメータを算出した。この SEC-MALLS システムは先に述べた通常の SEC システムにカラム(SB-806M; Shodex, Japan)、カラムオーブン(CTO-10ACVP; Shimadzu)及び MALLS 検出器(miniDAWN, $\lambda=690\text{nm}$; Wyatt technologies, U.S.A.)を付属したものを使用した。データの取得及び処理は ASTRA ソフトウェア(Wyatt technologies)によって行った。試料のセロウロン酸水溶液 (0.1%) のインジェクション量は 100 μl 、流速 0.5ml/min、カラム温度及び屈折率検出器の温度は 40°C、MALLS 検出器のセル温度は室温にそれぞれ設定した。サンプル注入の前に、プルランスタンダード (分子量=22800 Shodex p-20) による MALLS 検出器と屈折率検出器の較正及び正規化を行った。サンプルは 0.02 μm のフィルターを通して注入した (凝集体やごみを除くため)³³⁾。得られた溶出パターンおよび分子量プロットからそれぞれ重量平均分子量、数平均分子量および多分散度を算出した。

また今回試料がセロウロン酸であることから 205nm にカルボキシル基由来の UV 吸収ピークを持つと考えられるため、フォトダイオードアレイ (PDA) による UV 吸収スペクトルも同時に測定した。

核磁気共鳴(NMR)スペクトル測定

TEMPO 酸化によって得られた生成物の化学構造解析手法の一つとして、 ^{13}C -NMR スペクトルパターンを Bruker AC-300 核磁気共鳴装置 (Bruker Optics Inc.)によって得た。測定用溶媒は重水を用い、内部標準としてはトリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム塩を使用し、測定の積算回数は 20,000 回とした。

2-2-3 結果および考察

2-2-3-1 セルロースのマーセル化処理と LODP に与える影響について

粘度法による各種マーセル化セルロース試料の重合度および収率測定

Table2-1 に粘度法により算出された各種マーセル化セルロース試料の重合度およびマーセル化処理による収率を掲載した。マーセル化処理の際にセルロース試料の一部が濃アルカリ中に溶解してしまう現象が確認された^{34), 35)}。収率の上で最もロスが大きいのはベンリーゼであったが、それでも 8 割以上はマーセル化物として回収された。各種マーセル化セルロース試料の重合度を測定したところ CF11 が最も小さいという結果になった。これは CF11 がもともと天然セルロースを希酸加水分解処理してパウダー状に調製された試料のためである。しかしながら、マーセル化処理のみを行った段階においてすべての試料が 200 以上の重合度を保持していることが確認された。

Table 2-1 Yield and viscosity average degree of polymerization (DP_v) of the mercerized cellulose.

Sample	Yield (%)	DP_v
M-Linters	87	409
M-CF11	86	223
M-Tencel	97	447
M-Bemliese	81	380

M: Mercerized

マーセル化セルロース試料の X 線回折パターン

Fig.2-1、Fig.2-2 にマーセル化処理後の各試料の X 線回折パターン、その後希酸加水分解処理を行った試料の X 線回折パターンをそれぞれ示した。また X 線回折パターンから結晶化度を算出した結果を Table 2-2、Table 2-3 に示した。天然セルロース由来であるリンターおよび CF11 を含むすべてのセルロース試料においてセルロース II 型の回折パターンが得られたことから、本実験のマーセル化処理条件においてセルロースのマーセル化処理がセルロースの結晶系全体にわたり完全に進行していることが確認された。また、結晶化度においても各試料間に明瞭な差異は見られなかった。

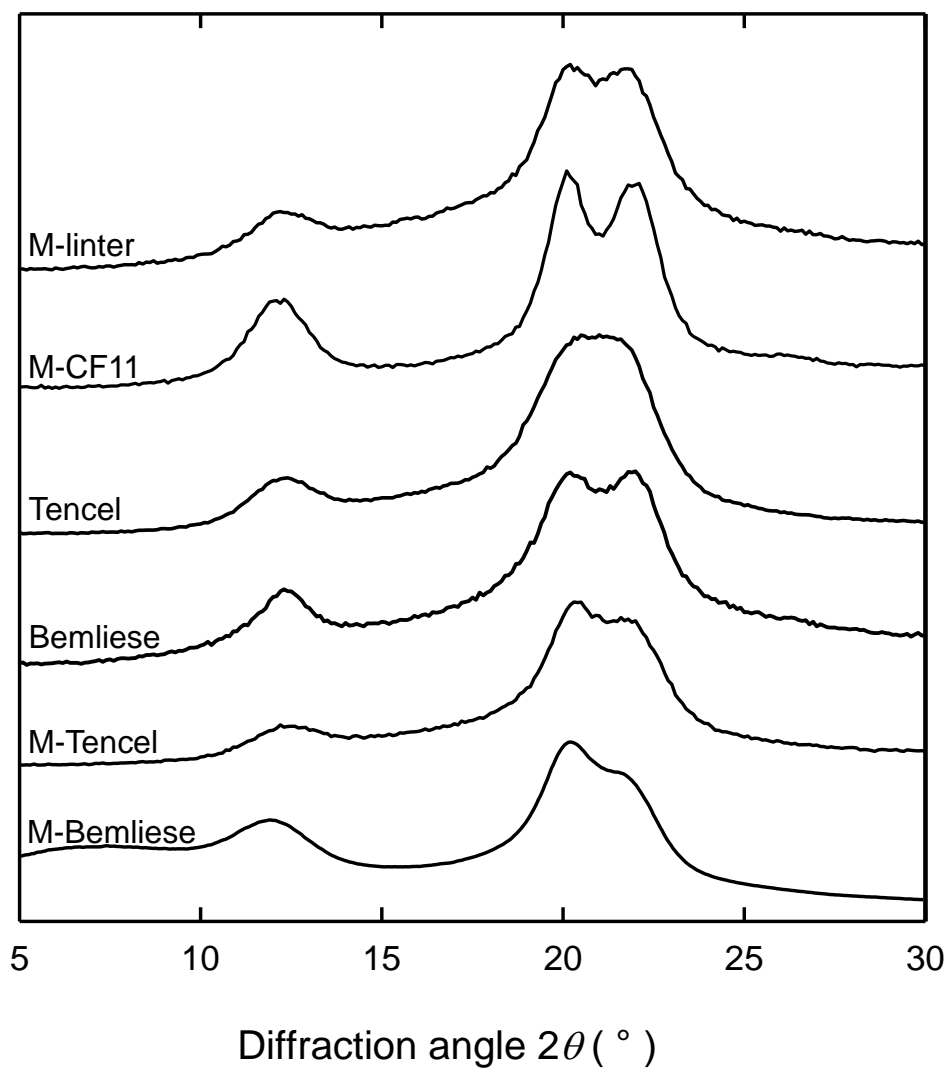


Fig. 2-1 X-ray diffraction patterns of 20% NaOH-treated native and regenerated celluloses and those of the original regenerated cellulose fibers.

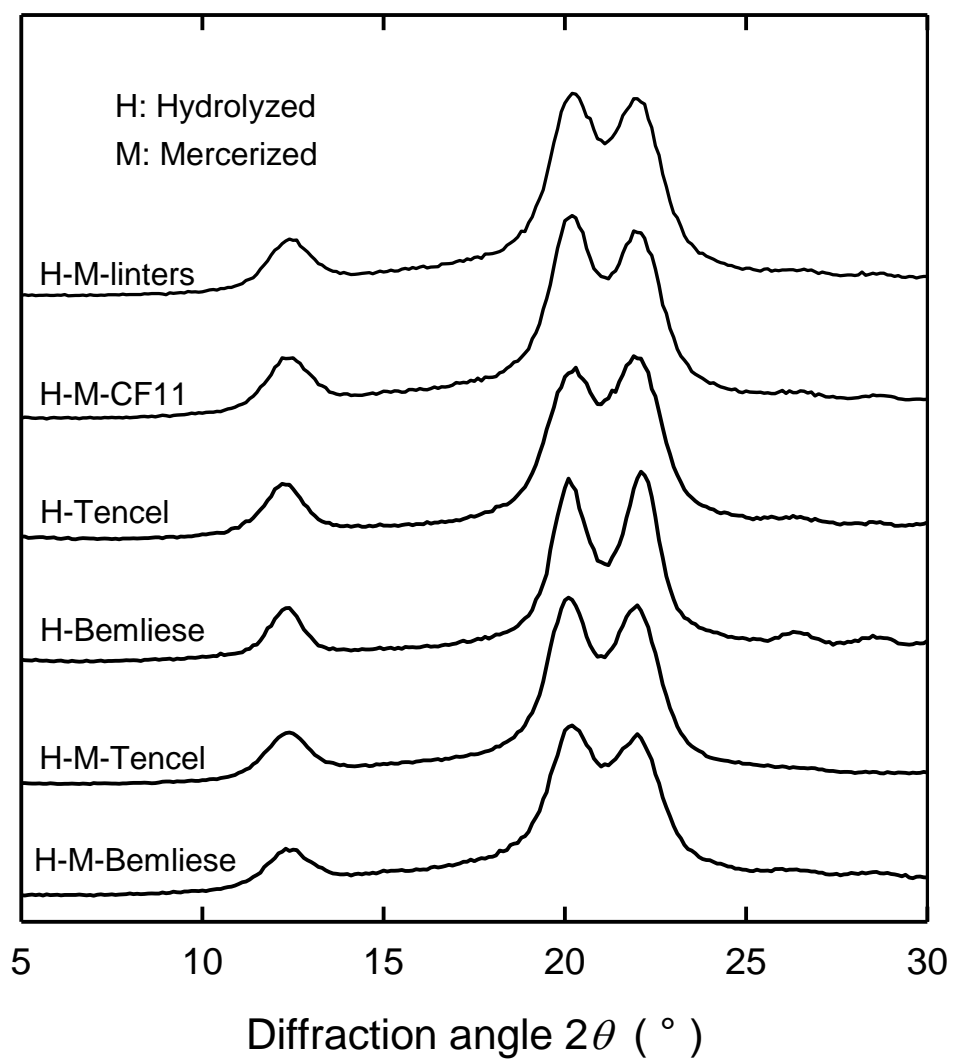


Fig. 2-2 X-ray diffraction patterns of the 3 h-acid hydrolyzed products

Table 2-2 Crystallinity index of cellulose II calculated from Fig. 2-1

Crystallinity index of cellulose II by Segal method	
M-linters	75%
M-CF11	84%
Tencel	79%
Bemliese	73%
M-Tencel	80%
M-Bemliese	75%

H: Hydrolyzed
M: Mercerized

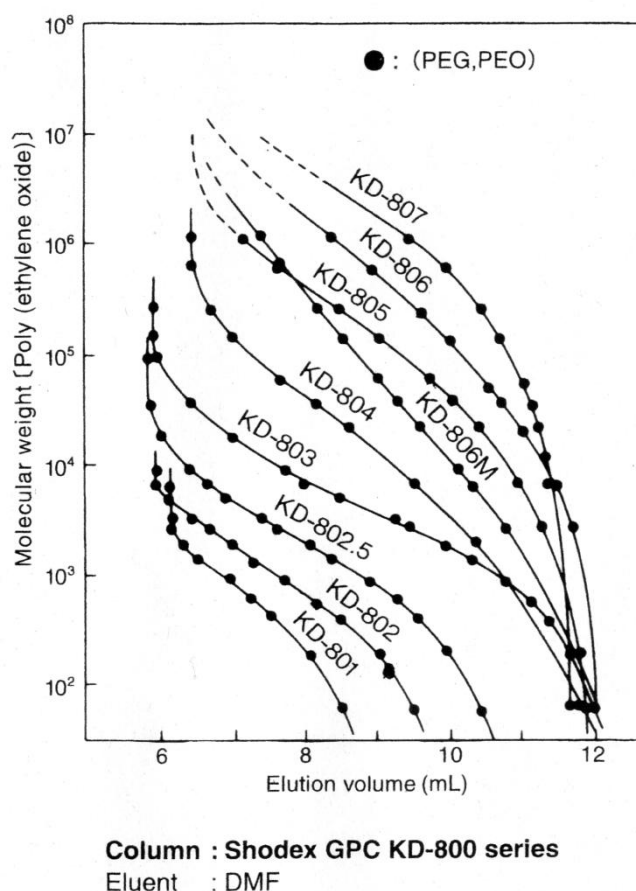
Table 2-3 Crystallinity index of cellulose II calculated from Fig. 2-2

Crystallinity index of cellulose II by Segal method	
H-M-linters	85%
H-M-CF11	84%
H-Tencel	88%
H-Bemliese	88%
H-M-Tencel	87%
H-M-Bemliese	84%

H: Hydrolyzed
M: Mercerized

カラムの種類による各試料希酸加水分解物の溶出パターンの違い

Fig.2-3,2-4,2-5 に各種 KD-800 シリーズのカラムにおいて測定した各試料希酸加水分解物の溶出パターンを示した。参考資料として KD-800 シリーズの軸正曲線を以下に示した。また、各カラムの排除限界分子量はそれぞれ次の通りである (KD-806M : 20,000,000、KD-804 : 400,000、KD-803 : 70,000)。今回測定の対象となるセルロース試料の希酸加水分解物をサイズ排除する際、より分離能の高いカラムを選択する必要があったためこれらのカラムで溶出パターンを比較したが、その結果どの試料においても KD-803 が最適であるという結果が得られた。具体的に述べると、KD-806 では判別が難しい二山分布のピークが、KD-804 や KD-803 ではより明確に分離されている。さらに KD-803 においては再生セルロースの希酸加水分解物の溶出パターンの二山分布型を最もはっきり示している。以上の結果から、今後の測定結果はカラム : KD-803 によって得られたデータについてのみ報告する。



参考資料 : KD-800 シリーズの軸正曲線 (Shodex カタログより)

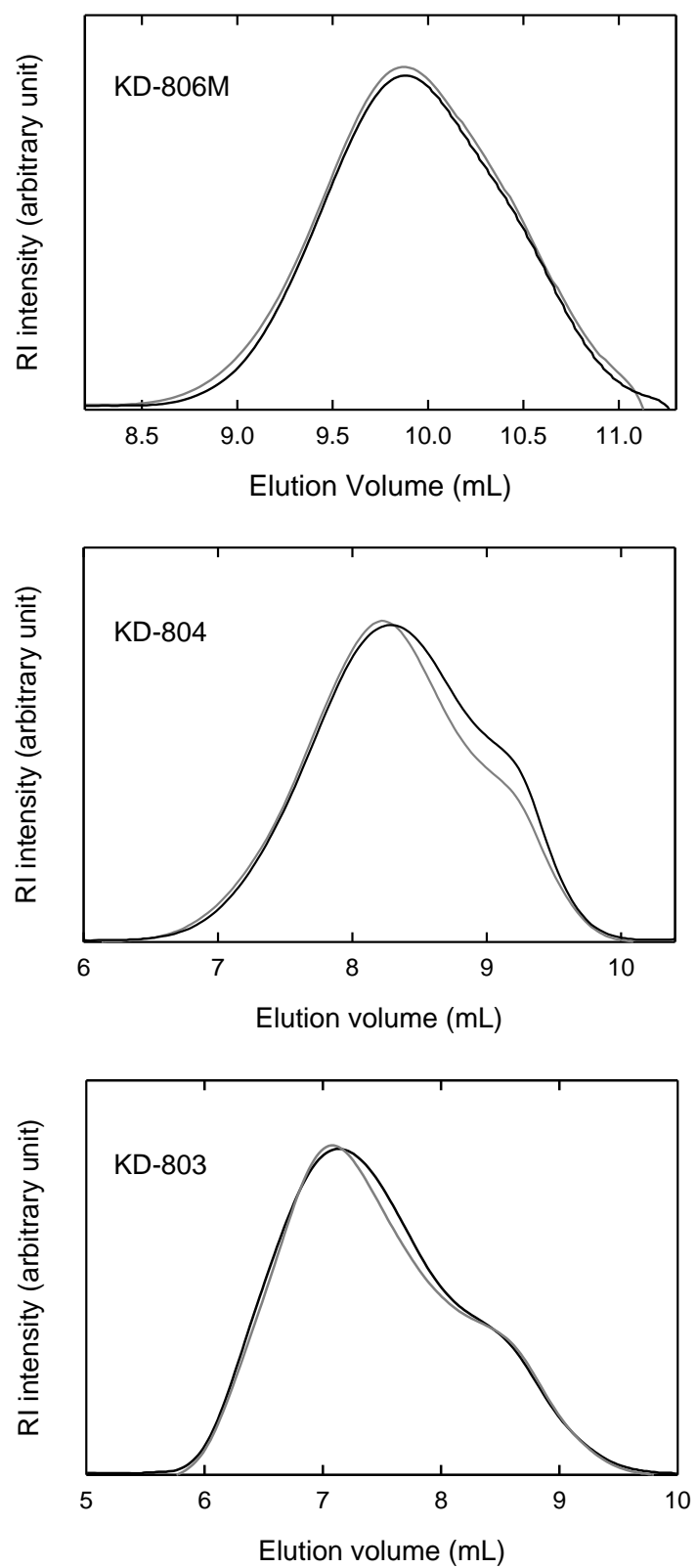


Fig. 2-3 SEC-elution patterns of hydrolyzed products obtained from linter (black color) and CF11 (dk. gray).

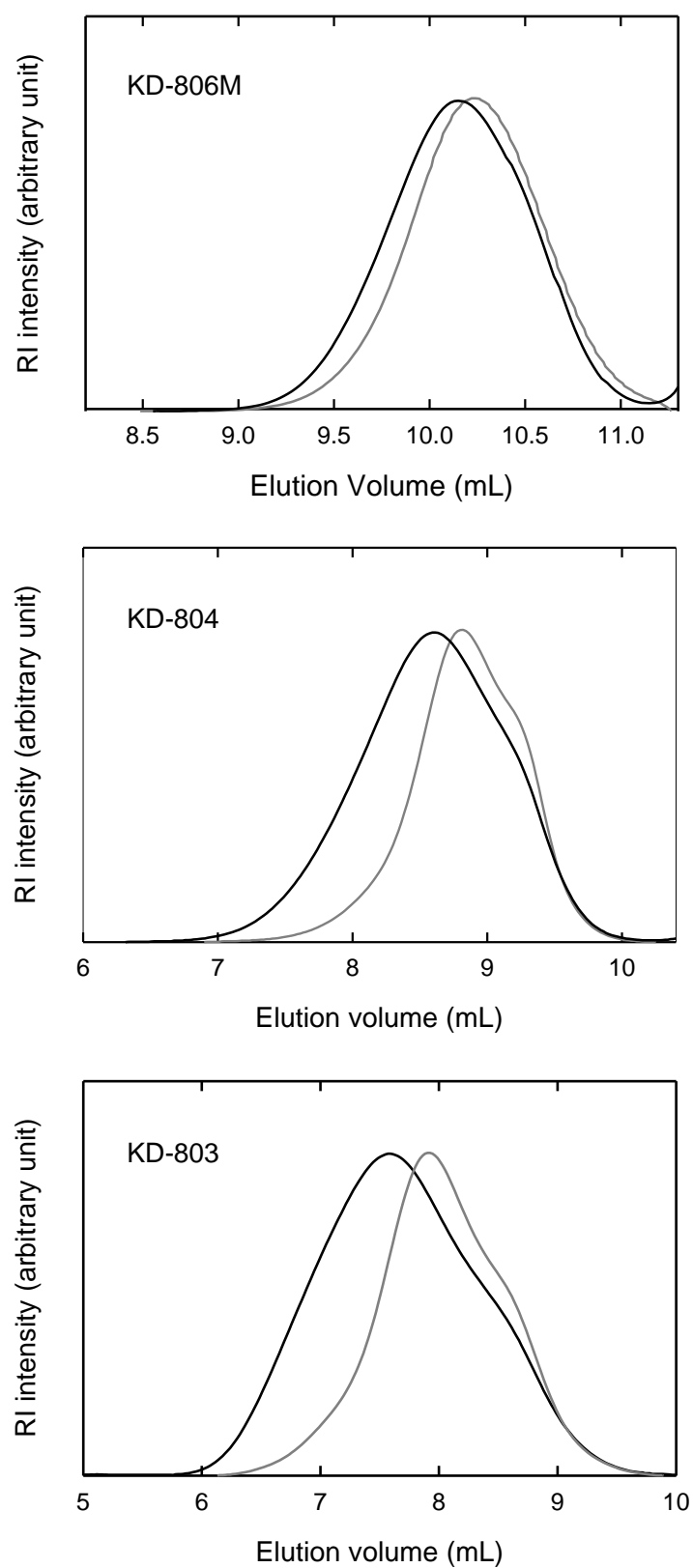


Fig. 2-4 SEC-elution patterns of hydrolyzed products obtained from Tencel (black color) and Bemliese (dk. gray).

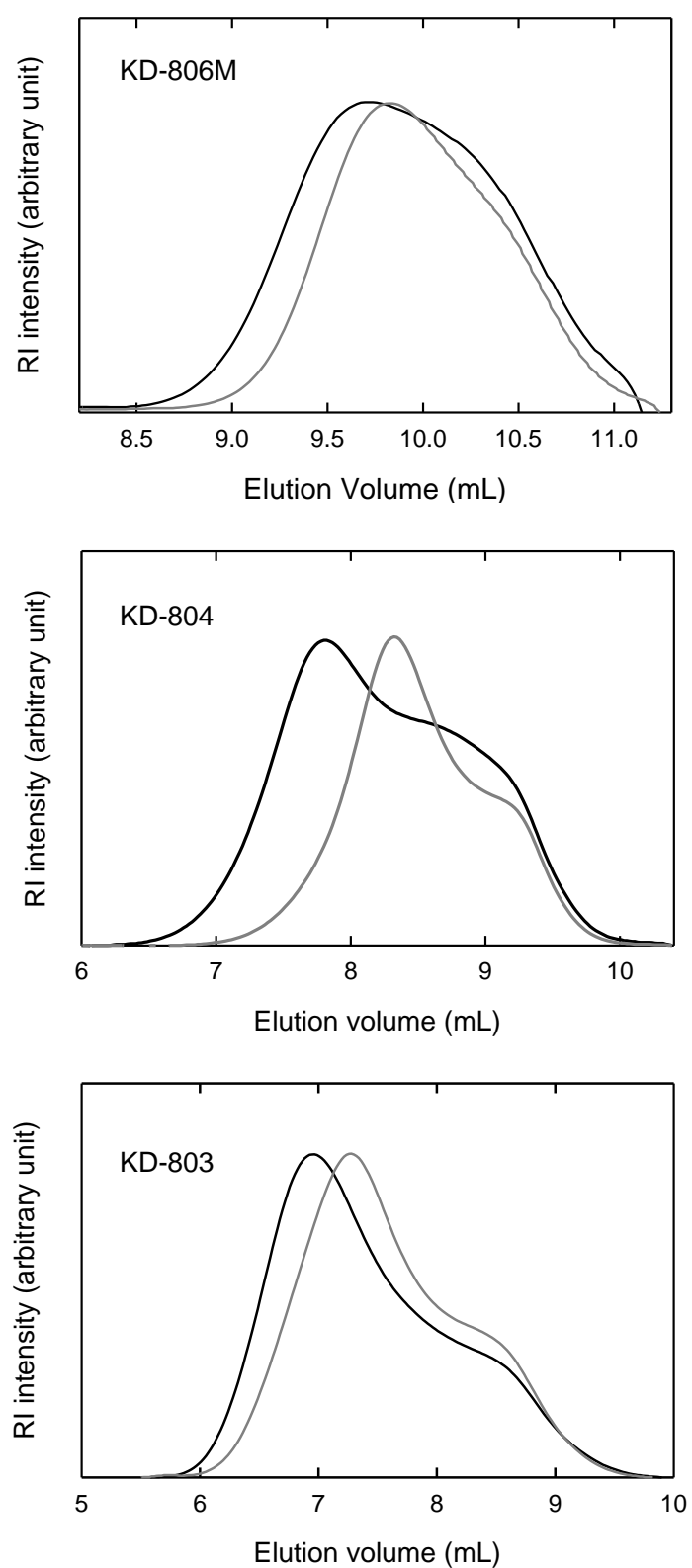


Fig. 2-5 SEC-elution patterns of hydrolyzed products obtained from mercerized Tencel (black color) and mercerized CF11 (dk. gray).

希酸加水分解時間による溶出パターンおよび分子量プロットの違い

Fig.2-6,2-7,2-8 に KD-803 カラムを用いて測定した、各試料 1 時間および 3 時間希酸加水分解物の溶出パターンを示した。どの試料においても 1 時間希酸加水分解物と 3 時間希酸加水分解物について、溶出パターンおよび分子量プロットにおいてはほとんど差異が見られない。次にこれらの溶出パターンから算出された DP_w および粘度法で測定した DP_v の値をもとにして、希酸加水分解処理による各試料の重合度変化の様子を Fig. 2-9 に示した。この結果から、本実験においてこれらのセルロース試料希酸加水分解物の重合度が確かにレベルオフしていることを確認した。

各種希酸加水分解物の溶出パターンについて

Fig.2-6,2-7,2-8 の結果から、すべての試料において二山型の分布を持つ溶出パターンが得られた。まず、Fig.2-6 のマーセル化天然セルロース希酸加水分解物については、リンター・CF11 共にほぼ同じ溶出パターンを得た。次に Fig.2-7 の再生セルロース希酸加水分解物についてであるが、他の試料ほど明瞭ではないものの、こちらも主成分と副成分からなる二山型の溶出パターンを得た。主成分の溶出位置はマーセル化天然セルロースの場合と比較すると低分子側にシフトしているが、副成分の溶出位置はほぼ同じであることがわかった。このことから、マーセル化天然セルロース希酸加水分解物に存在する副成分は、再生セルロース希酸加水分解物にも含まれる要素であることが判明した。また、同じ再生セルロース同士でもベンリーゼに比べてテンセルはより大きい LODP を持っていることがわかった。これはテンセルの製造工程における押し出し成型に由来するものと考えられる。この押し出し成型時により強くセルロース分子鎖が配向することによって、分子鎖方向の結晶幅がベンリーゼよりも大きくなったと推察される。

一方、再生セルロースをマーセル化（正確には濃アルカリ浸漬処理であるが）すると劇的な変化がもたらされる。Fig.2-8 におけるマーセル化再生セルロース希酸加水分解物の溶出パターンは非常に特徴的なものであることがわかる。希酸加水分解処理の前にマーセル化処理を行うことによって、溶出パターンの主成分が大きく高分子側にシフトしている。特にテンセルにおいては著しい変化がみられた。しかしながら低分子側の副成分の溶出位置はこれまでの試料とまったく同じ位置であった。このことから、再生セルロースの分子構造中の結晶領域に相当する部位で、マーセル化処理によって新たな構造が形成されていることが示唆された。またテンセルは酸化時間が長くなると見た目上溶出位置が高分子側にシフトしているが、これは酸化により非晶部位が除かれ結晶領域が保存されたためであると考えられる。

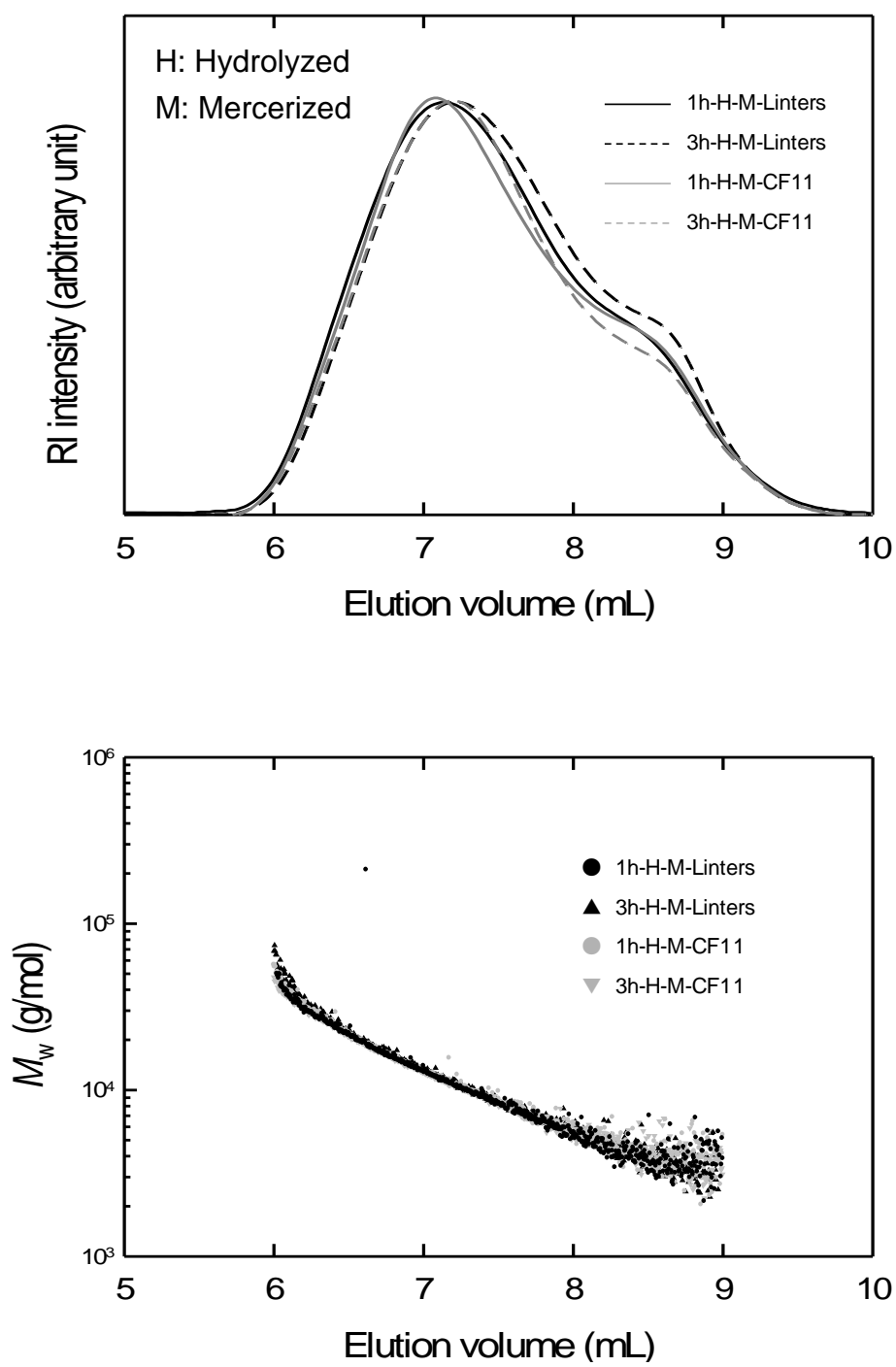


Fig. 2-6 SEC-elution patterns and Mw plots of hydrolyzed products of mercerized native celluloses.

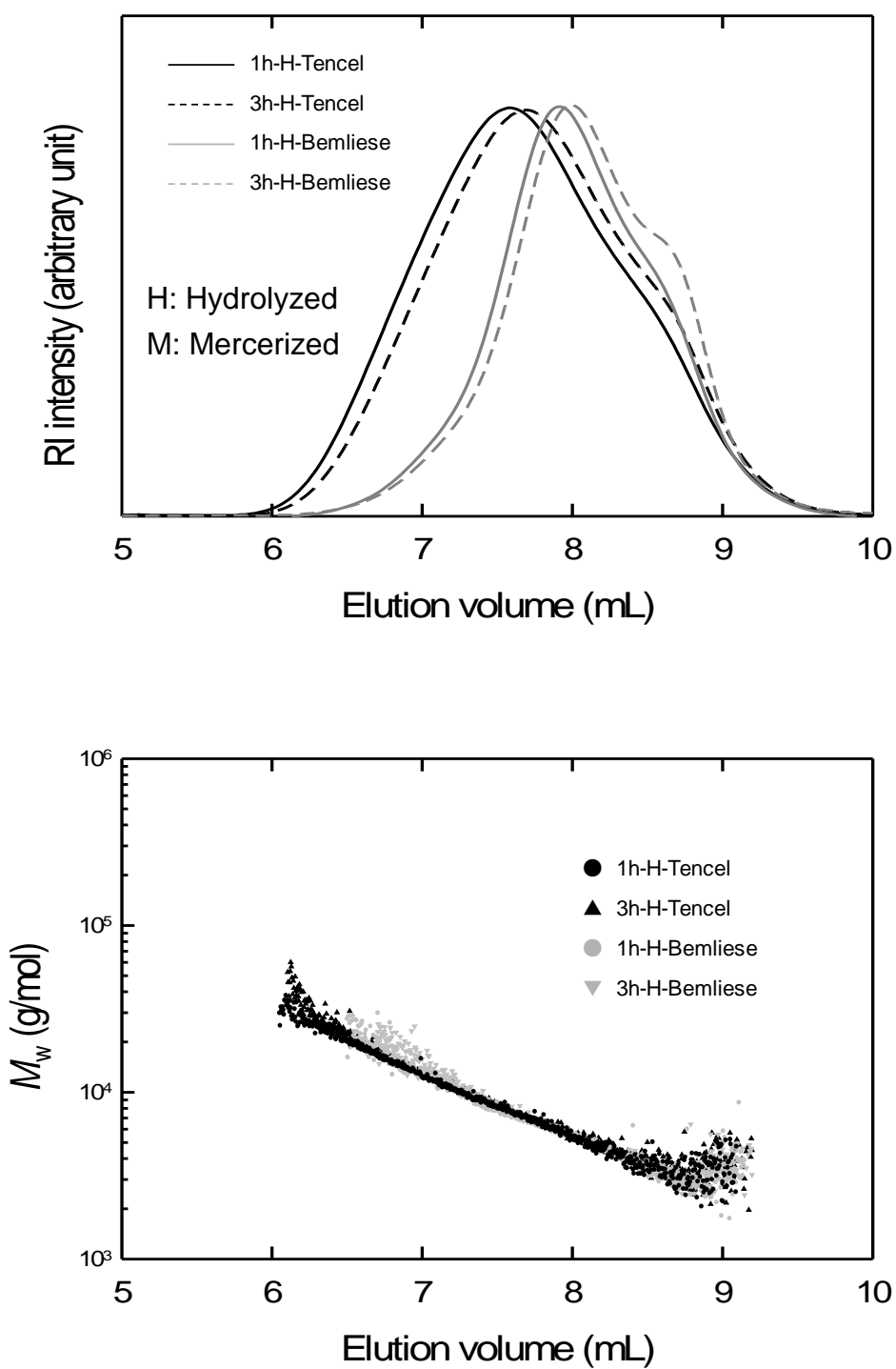


Fig. 2-7 SEC-elution patterns and M_w plots of hydrolyzed products of regenerated celluloses.

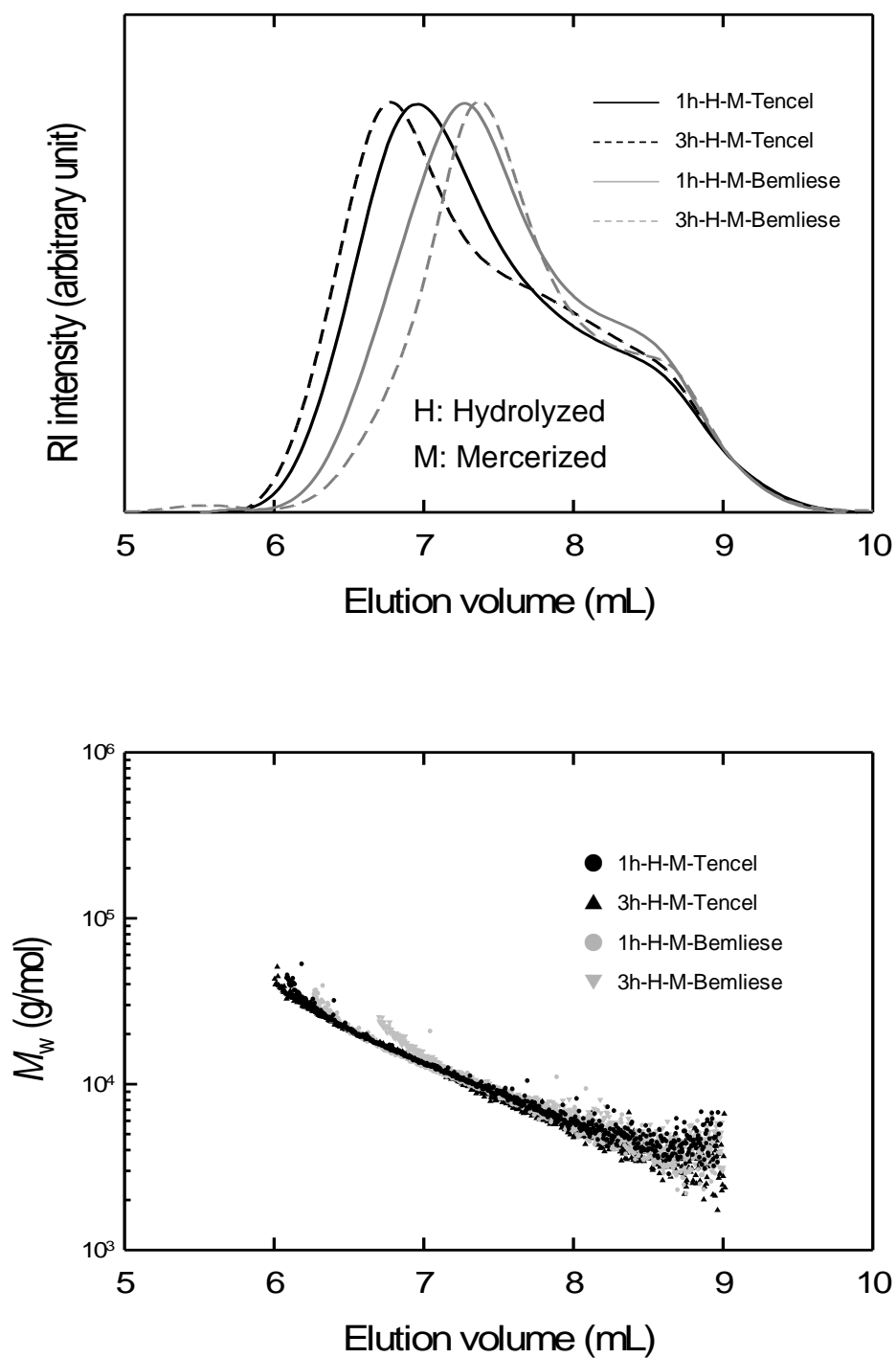


Fig. 2-8 SEC-elution patterns and M_w plots of hydrolyzed products of mercerized regenerated celluloses.

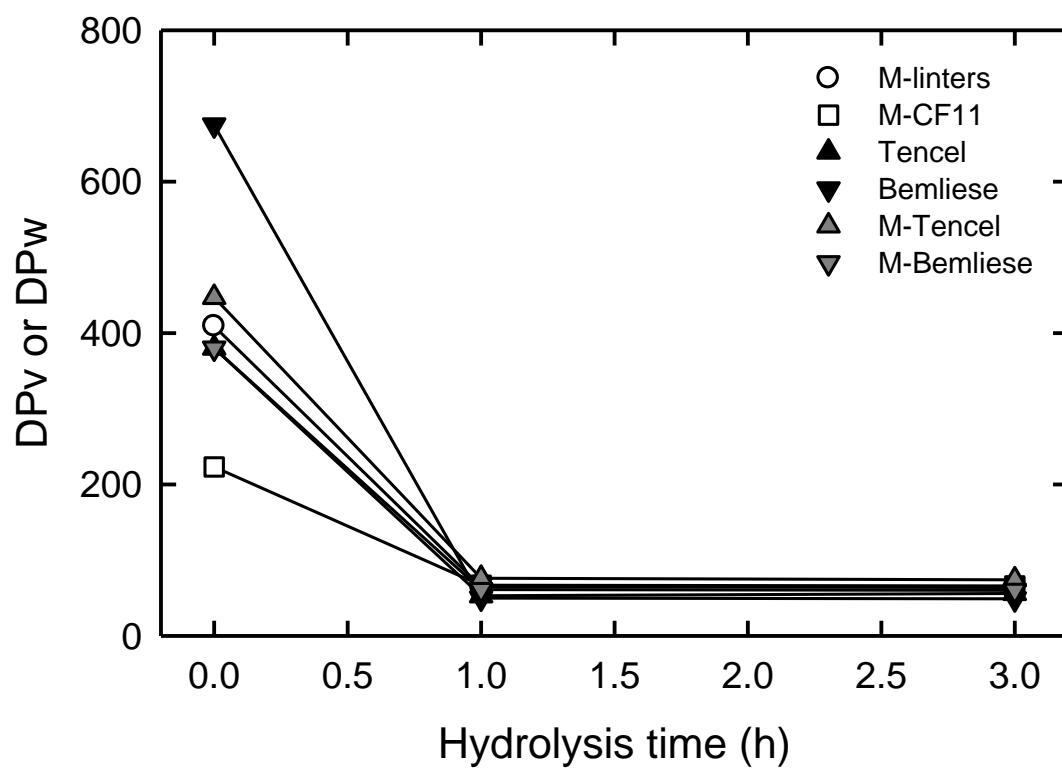


Fig. 2-9 Relationships between acid hydrolysis time and either DPv or DPw of cellulose II samples.

各溶出パターンのピーク分離と重合度

すべての試料で二山型の溶出パターンが得られたことから、これら二つの成分をより詳細に検討するために、ピーク分離ソフトを用いた解析法を試みた。Peak Fit v4 (jandel) を用いてクロマトグラフィーモード、ガウス分布近似にてそれぞれのピークを二つのピークに分離した結果を Fig. 2-10 に示した。すべての試料について等しく近似することができた。Table 2-4 には各希酸加水分解物試料の収率、溶出パターンから算出した重量平均重合度、数平均重合度および多分散度を示した。また、Table 2-5 には、各溶出パターンの分子量プロットと Fig. 2-10 のピーク分離の結果から、主成分・副成分それぞれのピークトップにおける重合度の値と、ピーク面積の割合を示した。

まず Table 2-4 について、マーセル化天然セルロース試料の重合度は 80 程度と報告されていたが、実際は 60~70 程度であることが判明した。また、再生セルロースの場合はマーセル化処理によって LODP が増大しており多分散度も大きくなっている。特にマーセル化テンセルの LODP はマーセル化リンターやマーセル化 CF11 を上回る大きさであることが判明した。Table 2-5 について、主成分と副成分の含まれる割合は試料によって違いがあることがわかった。また、どの試料においても副成分の溶出位置は同じであったが、そのピークトップの重合度は約 20 前後であることも判明した。この重合度約 20 の成分は全て試料に含まれていることから、セルロースが高次構造を形成する上で重要な単位のひとつになっていると考えられる。

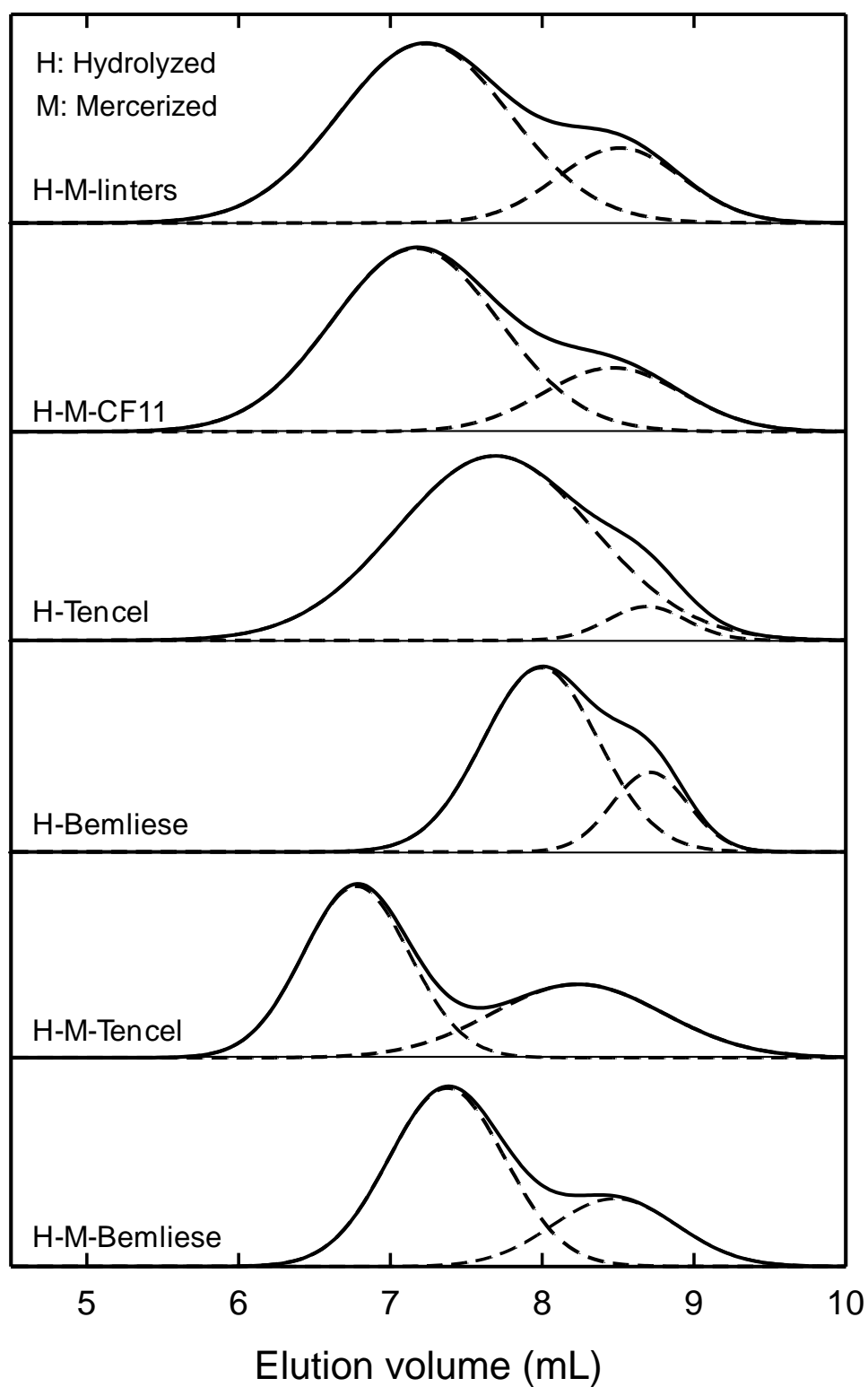


Fig. 2-10 De-convolution of SEC-elution patterns of hydrolyzed products of mercerized native and regenerated celluloses using Gaussian functions.

Table 2-4 DPw, DPn and DPw/DPn values of hydrolyzed products of mercerized native and regenerated celluloses and those of regenerated celluloses.

Sample	yield (%)	DPw	DPn	DPw/DPn
H-M-native cellulose				
Cotton linter	78	64	40	1.62
Whatman CF11	64	66	42	1.57
H-M-regenerated cellulose				
Tencel	80	74	46	1.59
Bemliese	81	60	41	1.45
H-regenerated cellulose				
Tencel	56	49	35	1.39
Bemliese	49	35	28	1.23

Table 2-5 Peak components and there area ratios in SEC elution patterns of hydrolyzed products of mercerized native and regenerated celluloses and those of regenerated celluloses.

Sample	DP of peak top #1 (area ratio)	DP of peak top #2 (area ratio)
H-M-native cellulose		
Cotton linters	68(77%)	19(23%)
Whatman CF11	70(78%)	20(22%)
H-M-regenerated cellulose		
Tencel	101(59%)	24(41%)
Bemliese	58(71%)	20(29%)
H-regenerated cellulose		
Tencel	44(93%)	18 (7%)
Bemliese	35(78%)	19(22%)

2-2-3-2. セロウロン酸の調製と物性について

マーセル化セルロース試料から調製されたセロウロン酸の物性解析

Fig.2-11 にマーセル化天然セルロースから調製したセロウロン酸の溶出パターンおよび分子量プロット、Fig. 2-12 にマーセル化再生セルロースから調製したセロウロン酸の溶出パターンおよび分子量プロット、Fig. 2-13 には比較として再生セルロースから調製したセロウロン酸の溶出パターンおよび分子量プロットをそれぞれ示した。また、SEC-MALLS の結果から算出した重量平均重合度、数平均重合度、多分散度および収率を Table 2-5 に示した。また、PDA 測定の結果、すべての試料においてセロウロン酸のカルボキシル基に由来する UV 吸収波長 205nm における吸収ピークが確認された。

まず Fig.2-11 でマーセル化リンター由来のセロウロン酸に着目すると、溶出パターンのピーク位置が他の試料に比べて高分子側に存在し、算出された重量平均重合度の値は 78 となり、当初予想した通りにマーセル化セルロースの高い LODP に対応した重合度を持つセロウロン酸が調製出来たことがわかった。CF11 についてもリンターよりは低いものの、通常再生セルロースから得られるセロウロン酸よりも高い重合度のものが得られたことが確認された。

しかし再生セルロースに関しては、予想と違う結果を得た。Fig.2-12 を見るとマーセル化テンセルおよびマーセル化ベンリーゼ由来のセロウロン酸の溶出ピークは Fig.2-11 の場合と比較しても明らかに低分子側に存在しており、Fig.2-13 の溶出パターンとほぼ等しくなってしまった。Table 2-5 の結果にある通り、その重合度は 40~50 未満程度であり、これは比較のために測定した通常の再生セルロース試料から調製されるセロウロン酸の重合度とほぼ等しいことがわかる。前項の LODP に関する実験結果でマーセル化によって再生セルロースの LODP が増大していたことから考えると、TEMPO 酸化においてはマーセル化によって新たに構成される高次構造は反映されなかったものと考えられる。なお、ここでも同じ再生セルロース同士でも由来によってセロウロン酸の重合度に違いが見られた。テンセルとベンリーゼを比較した場合、マーセル化処理の有無に関わらずテンセルのほうがより大きい重合度のセロウロン酸を生成していることが Table 2-5 から判明した。これはテンセルの製造工程における押し出し成形による強い配向性によると考えられる。このような高次構造の反映が希酸加水分解・TEMPO 酸化の両反応において共に確認された。

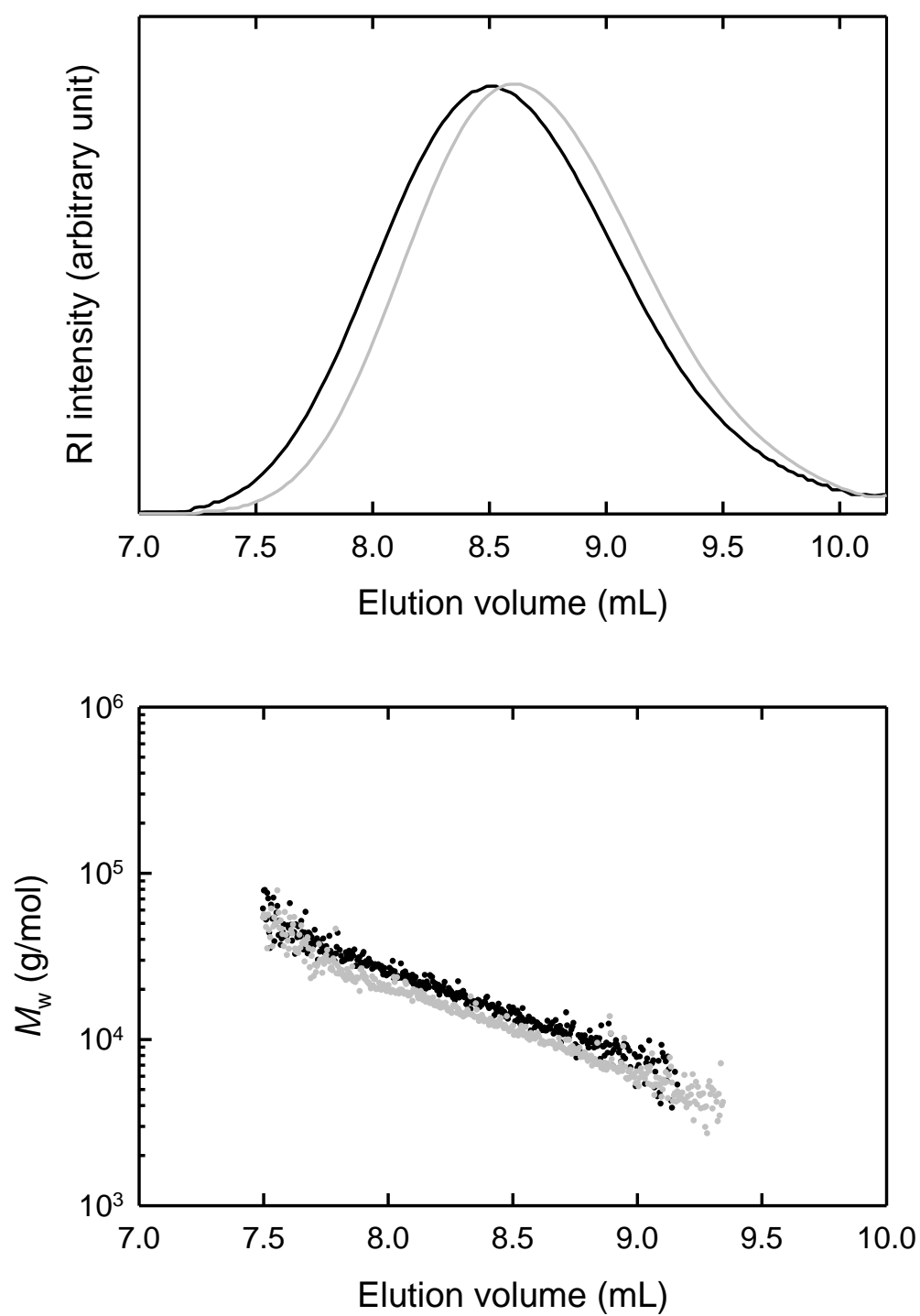


Fig. 2-11 SEC-elution patterns and M_w plots of cellouronic acid obtained from mercerized linter (black) and CF11 (dk. gray).

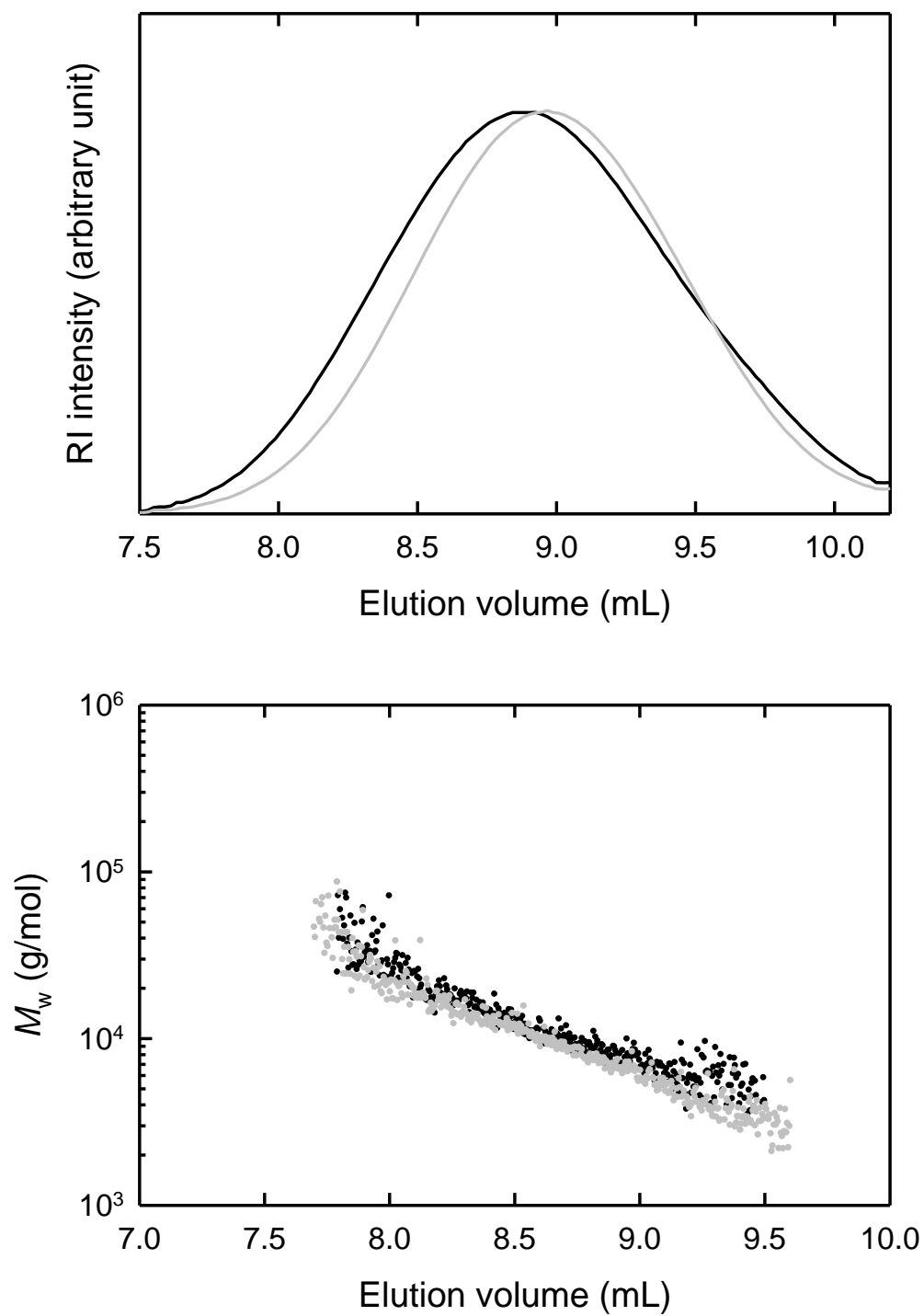


Fig. 2-12 SEC-elution patterns and M_w plots of cellouronic acid obtained from mercerized Tencel (black) and Bemliese (dk. gray).

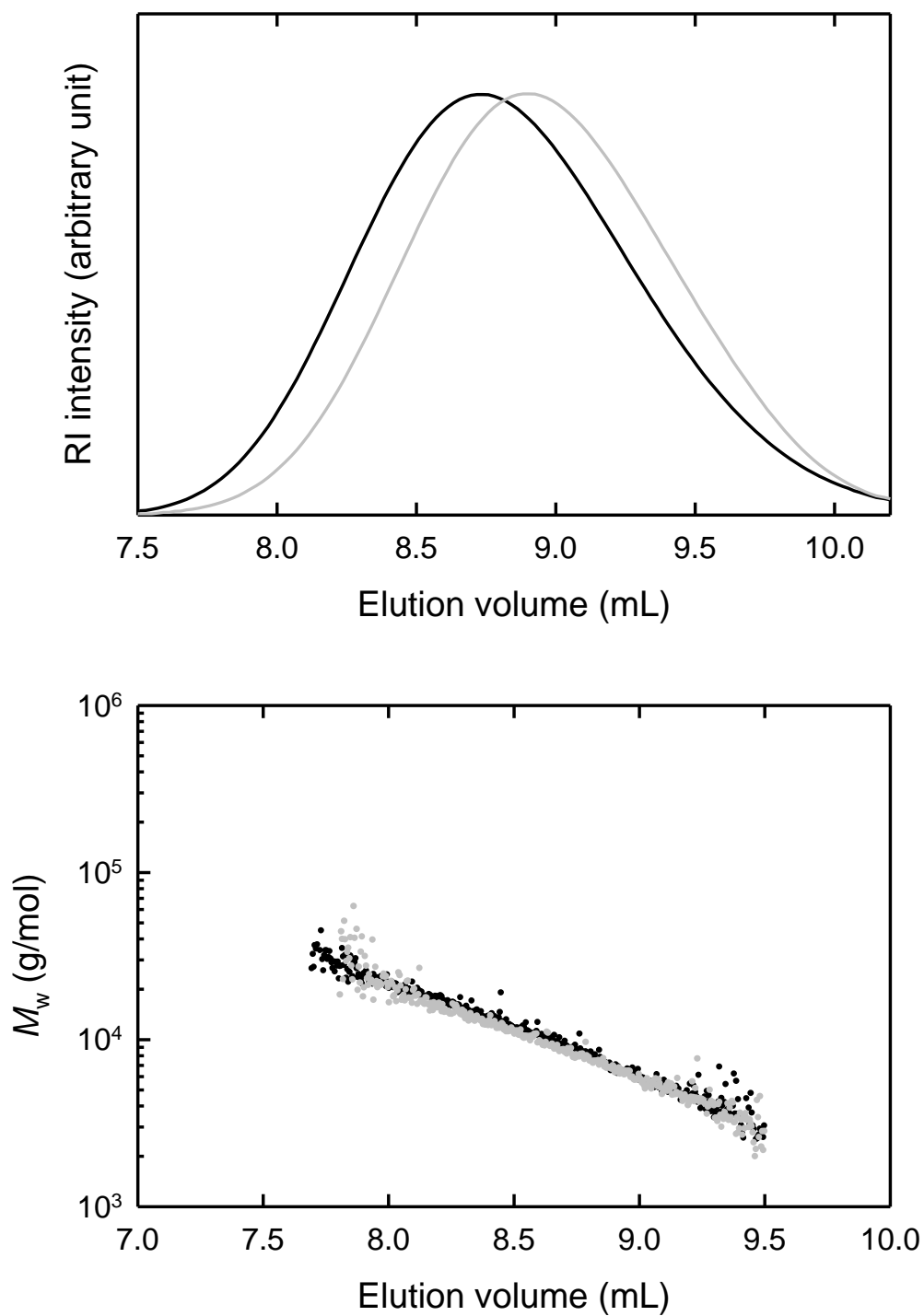


Fig. 2-13 SEC-elution patterns and M_w plots of cellouronic acid obtained from Tencel (black) and Bemliese (dk. gray).

Table 2-5 Yield, DPw, DPn and DPw/DPn values of cellouronic acid Na salt (CUA) prepared from various cellulose II samples by TEMPO-mediated oxidation.

Sample	Yield (%)	DPw	DPn	DPw/DPn
CUA- M- linter	87	78	57	1.37
CUA- M- CF11	84	54	39	1.39
CUA- M- Tencel	89	48	38	1.28
CUA- M- Bemliese	90	42	32	1.31
.....				
CUA- Tencel	88	47	33	1.42
CUA- Bemliese	94	37	27	1.37

2-2-4 結論

各種セルロース試料の LODP について

マーセル化セルロース試料およびその希酸加水分解物の重合度について、SEC-MALLS を用いることによって詳細に検討することが出来た。既報によればマーセル化セルロース試料の LODP は 70~90 程度であるとされていたが^{12),13)}、セルロースの希酸加水分解物の重合度は溶出パターンにおいて二山型になり、多角度光散乱による分子量測定結果は 60~70 程度となった。また今回より分離能の高いカラム：KD-803 を用いた結果、この二山型のピークのうち副成分に当たる低分子側の画分は再生セルロース試料の希酸加水分解物中にも含まれている要素であることが判明した。この画分のピークトップの重合度は約 20 であり、セルロースの由来に寄らず全ての試料に存在していることから、セルロースの高次構造を形成するうえで何らかの構造単位を反映していると考えられる。また、マーセル化（濃アルカリ浸漬処理）再生セルロース希酸加水分解物の SEC 溶出パターンはマーセル化天然セルロースの場合とほぼ同じであることが判明した。このことは、マーセル化によって再生セルロースの LODP の値が増大したと言うに等しい現象である。溶出パターン上では副成分である低分子側の画分の位置は変わらずに主成分のピークトップが大きく高分子側にシフトしていることから、マーセル化処理によって再生セルロースの結晶領域にあたる部分で新たな高次構造が形成されたといえる。そしてその構造はほぼ同一の溶出パターンを与えたことから判断するに、天然セルロース由来のものと同じであると推察される。

マーセル化セルロース試料から調製したセロウロン酸について

これまでの検討において再生セルロースから調製されるセロウロン酸の重合度は由来となる再生セルロース自身の LODP に対応する値であることが判明していたので、より大きい重合度を持つマーセル化セルロース試料を出発試料とすることで、その値に対応した、より大きな重合度を持つセロウロン酸が調製されることを期待した。実際にマーセル化天然セルロースから重合度の大きいセロウロン酸を調製することに成功した。しかしながら、前項の検討で再生セルロースの LODP がマーセル化処理によって増大していたにも拘らず、そこから調製されたセロウロン酸はもとの再生セルロース自身もつ LODP に等しい値であった。このことから、再生セルロースのマーセル化処理によって生じた新たな高次構造は希酸加水分解処理による低分子化においては反映されるが TEMPO 触媒酸化による低分子化においては反映されないものであることが判明した。

再生セルロースの希酸加水分解と TEMPO 触媒酸化の低分子化挙動のまとめ

マーセル化再生セルロースにおいて、希酸加水分解したときと TEMPO 触媒酸化したときでは生成物の低分子化傾向に違いが見られた。このことを説明するために、Fig.2-14 のようなモデル図を考えた。まず高濃度のアルカリ浸漬処理によって膨潤することにより準結晶領域の分子鎖が伸張する。しかし、この時点ではまだ結晶サイズの変化は起きていない。しかし 105℃において希酸加水分解処理を行った場合、高温条件下で分子鎖が切れる際に、伸張した分子鎖同士が新たに対合する可能性を考えた。もともと存在する結晶領域の両端付近ではより分子鎖の方向がそろい易いため、多くの場合は結晶の長さが伸長し、結果的に LODP の増大に寄与する (Fig.2-14 中の①)。また、結晶領域の近傍ではない準結晶領域でも、高温化で希酸加水分解処理を行うことによって局所的に分子鎖がそろい、結晶形として希酸加水分解後も残存するモデルを考案した。これが希酸加水分解物から得られた溶出パターンの副成分 (=DP20) に相当する成分である (Fig.2-14 中の②)。この成分は単純に再生セルロースを希酸加水分解してもわずかに含まれていることから、Fig.2-14 中の②はマーセル化処理無しでも起こりうる現象である。しかしながら、マーセル化処理によって準結晶領域の分子鎖が伸び広がり、より起こりやすくなっていると考えられる。実際の測定結果からも、マーセル化した場合には副成分の割合が上昇している。以上のことから、既報の希酸加水分解処理では高温条件下分子鎖切断により結晶の伸張が推察されるため、単純に LODP の値をもとの試料の結晶サイズとして議論すべきではない、という結論に達した。

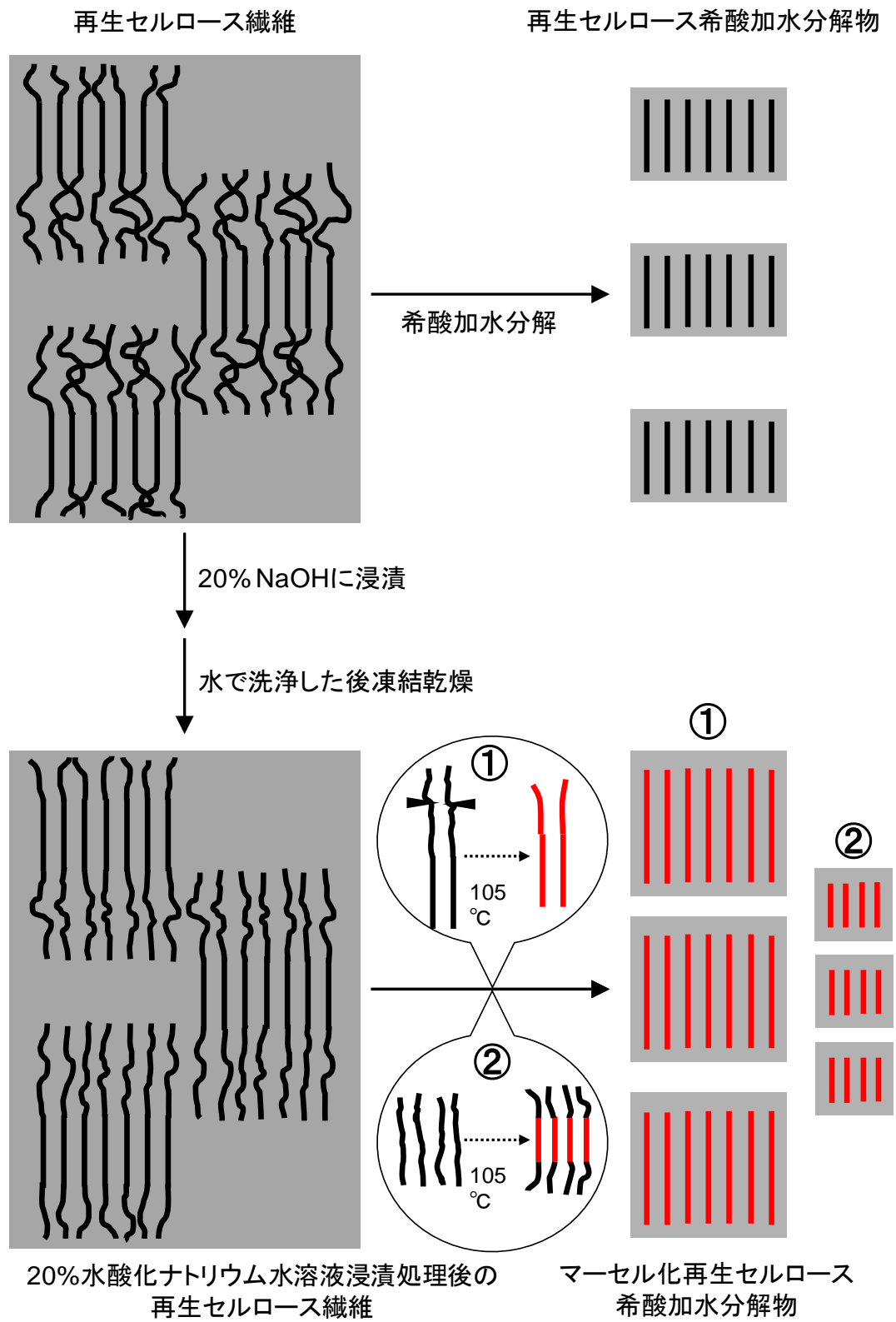


Fig.2-14 Rearrangement mechanism of mercerization and hydrolysis.

2-3 非晶セルロースの TEMPO 触媒酸化

2-3-1 緒言

非晶セルロース試料への TEMPO 触媒酸化の適用

これまでに述べてきたようにセロウロン酸が低分子化した値が 40 程度と、LODP と非常に近い値になるのは再生セルロース分子の高次構造を何らかの形で反映しているものと考えられる。また、天然セルロースの TEMPO 触媒酸化がマイクロフィブリル表面のみへのカルボキシル基導入にとどまる理由はセルロース I 型の結晶性によるものであると予想される^{1)-3),5)}。一方、天然セルロースを液体アンモニア処理することで得られるセルロース III 型結晶試料を出発物質としてセロウロン酸を調製する手法も既に報告されている^{36),37)}。このように出発物質であるセルロース系試料の結晶性の違いがセロウロン酸の調製において重大な影響を及ぼすことは明らかである。

一方、天然セルロースをボールミル処理によって物理的に粉砕すると、セルロース I 型の結晶性が失われた非晶セルロースを得ることが知られている³⁸⁾。近年より効果的な粉砕能力を持つ遊星型を始めとしたボールミルが一般的に市販・利用されるようになった。セルロースをこれらのボールミル機器で粉砕前処理することで、酵素加水分解や化学改質の効率が改善されることが報告されている³⁹⁾⁻⁴³⁾。

そこで、天然セルロースをボールミル処理し、セルロース I 型結晶を粉砕・非晶化しそれを出発試料とすれば、溶解・再生や液体アンモニア処理といった溶媒を用いた化学的前処理を行わずともセロウロン酸を調製できるのではないかと考えた。本検討ではセルロース I 型結晶を持つリンターおよび微結晶セルロース粉末 (CF11) をボールミル粉砕処理したものを出発試料とし、セロウロン酸の調製を行った。また、セルロース・ヘミセルロース・リグニン複合体であるサーモメカニカルパルプ (TMP) に対し、TEMPO 触媒酸化を適用可能であることが報告されているため⁴⁴⁾、本検討においても木材チップをボールミル粉砕したものに対する TEMPO 触媒酸化も試みた。

2-3-2 実験

機械粉碎による非晶性セルロースの調製

コットンリンターおよび CF11 を瑪瑙製容器と玉を用い、室温下で 3-24 時間遊星型ボールミル処理(P-7, Fritsch Co. Japan)を行った。また、スギ由来の木粉を室温で 4 時間振動型ミルにより粉碎処理し(MB-1, Chuo Kakoki Co. Japan)、微粉碎スギ木粉を得た。こうして得られた粉碎試料の結晶型および分子量に対する影響を調べるため、前項と同様の手法を用いて X 線回折パターン測定および粘度平均重合度測定を行った。

非晶性セルロースに対する TEMPO 触媒酸化の適用

ボールミル処理により得られた非晶セルロース 1g に対し、脱イオン水 100ml、TEMPO0.025g、NaBr0.25g を加え、次亜塩素酸ナトリウム水溶液(9%)を 15mL 加え、後の処理は前項に倣い TEMPO 触媒酸化を行い、セロウロン酸は調製した。反応後、水不溶分は遠心分離によって除去し、得られた水可溶成分については、前項に倣い NMR 測定および SEC-MALLS システムによる分子量測定を行った。

2-3-3 結果および考察

ボールミル処理したセルロース試料の X 線回折パターン

Fig.2-15 にリンター・CF11 のそれぞれのボールミル処理時間で得られた粉砕試料に対する X 線回折パターンを示した。両試料において、処理時間が長くなるに従い結晶化度が低下していることが確認できた。結晶化度を前述の方法で算出したところ、リンターでは、0, 3, 6, 12, 24 時間処理に対し 0.36, 0.12, 0.09, 0.02、CF11 では 0.40, 0.25, 0.14, 0.09, 0.00 であった。このことから、ボールミル処理によってセルロース I 型結晶構造が崩壊し、12 時間および 24 時間処理時にはほぼ完全に非晶化していることが分かった。

また、Fig.2-16 にはオリジナルのスギ粉末およびその 4 時間ボールミル処理物の X 線回折パターンを示した。こちらの試料においても粉砕処理により結晶化度が低下し、非晶化が進行していることが確認された。

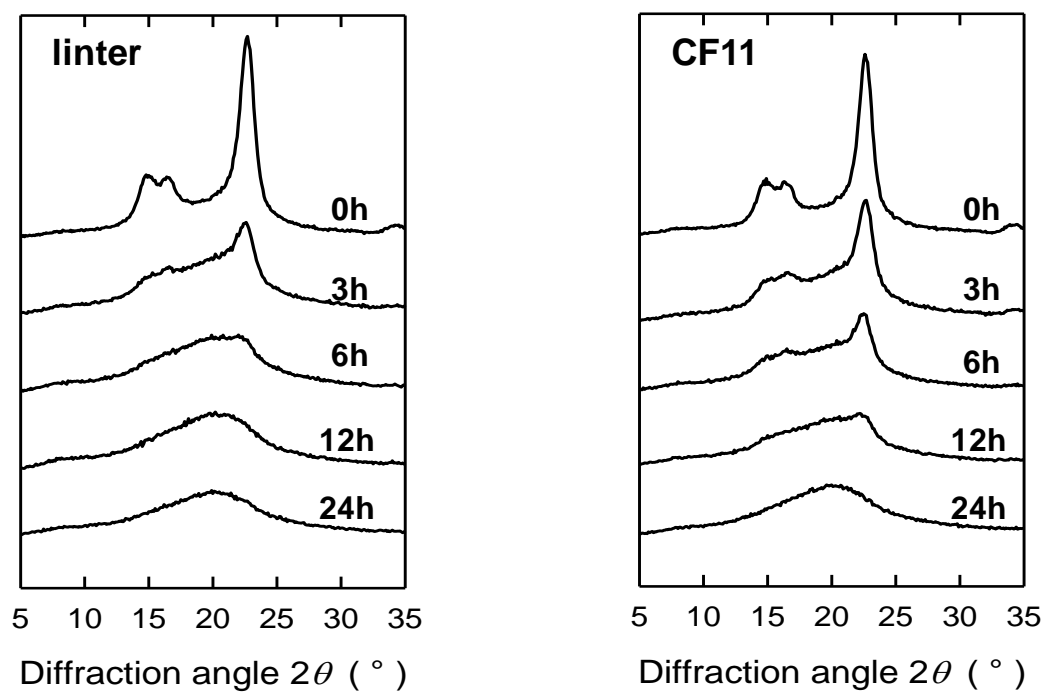


Fig. 2-15 X-ray diffraction patterns of cotton linters and CF11 ball-milled for various times.

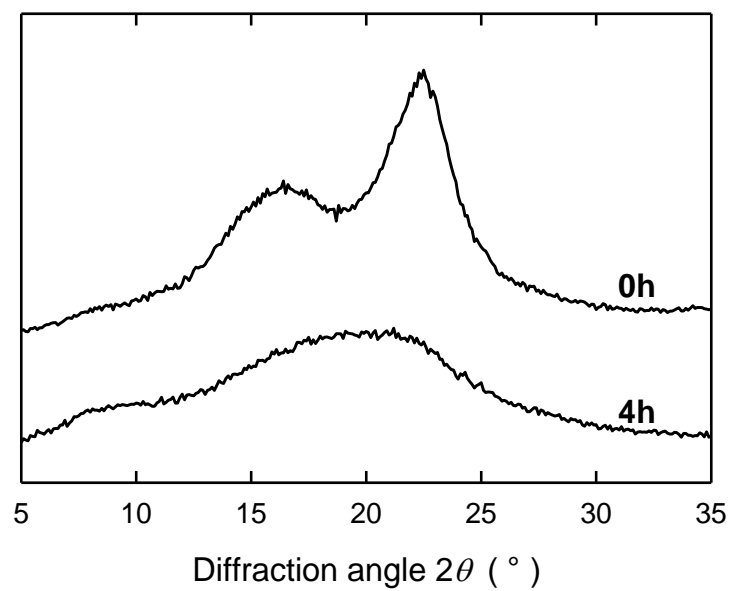


Fig. 2-16 X-ray diffraction patterns of the Japanese cedar saw dust before and after ball-milling for 4 h

非晶セルロース由来のセロウロン酸の ^{13}C -NMR および SEC-MALLS 測定結果

各種粉砕セルロースから TEMPO 触媒酸化により得られた水可溶化成分の ^{13}C -NMR スペクトルを Fig.2-16、2-17 に示した。図のスペクトルから、セルロースの C6 位が TEMPO 触媒酸化によって選択的にカルボキシル基へと変換されていることは明らかである。よって、実際に化学的な前処理無しに天然セルロースの高結晶性を消失させることにより、そこからセロウロン酸を調製することに成功した。しかしながら ^{13}C -NMR スペクトル上には帰属出来ないピークも散見されることから、反応中に分子鎖の切断による低分子化を始めとした副反応が進行していることも示唆された。

次に Fig.2-18 にリンター由来非晶セルロースから調製したセロウロン酸の SEC 溶出パターンおよび分子量プロット、Fig.2-19 に CF11 由来非晶セルロースから調製したセロウロン酸の SEC 溶出パターンおよび分子量プロットをそれぞれ示した。前項の X 線回折パターンの結果からボールミル処理による粉砕時間が長くなるほど非晶化が進行するため、それに伴い水可溶分として回収されるセロウロン酸の収率が上昇していた。また今回の条件で調製されたセロウロン酸の重合度は 80 程度で、再生セルロースから得られるセロウロン酸の重合度 40 と比較すると比較的重合度が高いものであった。一方粘度平均重合度 (DP_v) の測定結果から粉砕処理自体が試料の低分子化を引き起こすことが判明した。特にボールミル処理を 24 時間行くと低分子化が激しく起こるため、収率は高いものの得られるセロウロン酸の重合度も小さくなることが判明した。

一方、スギ木粉由来の非晶セルロースから得られたセロウロン酸の重量平均重合度は 168、収率は 55% であった。この試料にはもともとリグニンやヘミセルロースが含まれているため、高純度セルロースから調製したセロウロン酸に比べて収率は 55% 程度と低くなっている。また、非晶セルロースから調製されたセロウロン酸は非常に広い分子量分布を持っていることが、溶出パターンおよび多分散度から確認された。これは非晶セルロースがこれまでのような化学処理によって調製されたセルロース試料と違い、機械処理によって不均一に低分子化が起こったため、もともと広い分子量分布を持っていたと考えられる。

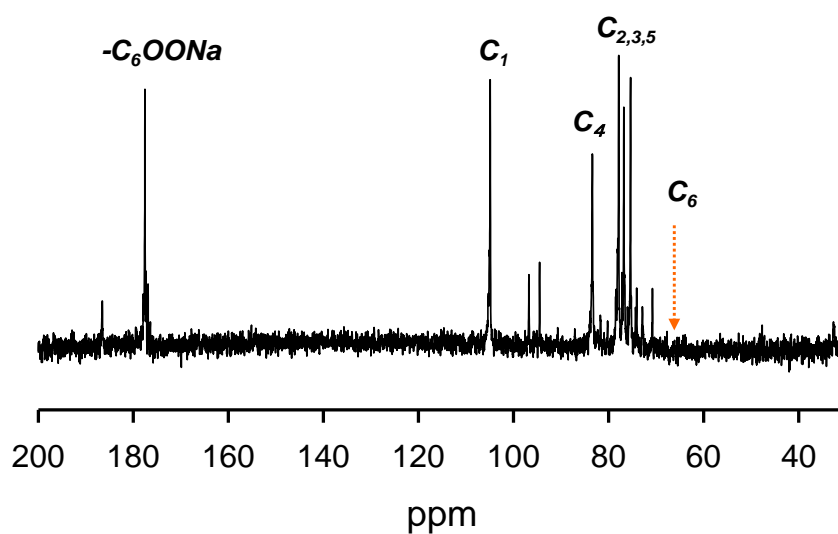


Fig. 2-16 ^{13}C -NMR spectra of TEMPO-oxidized products prepared from 12 h-ballmilled cotton linters cellulose.

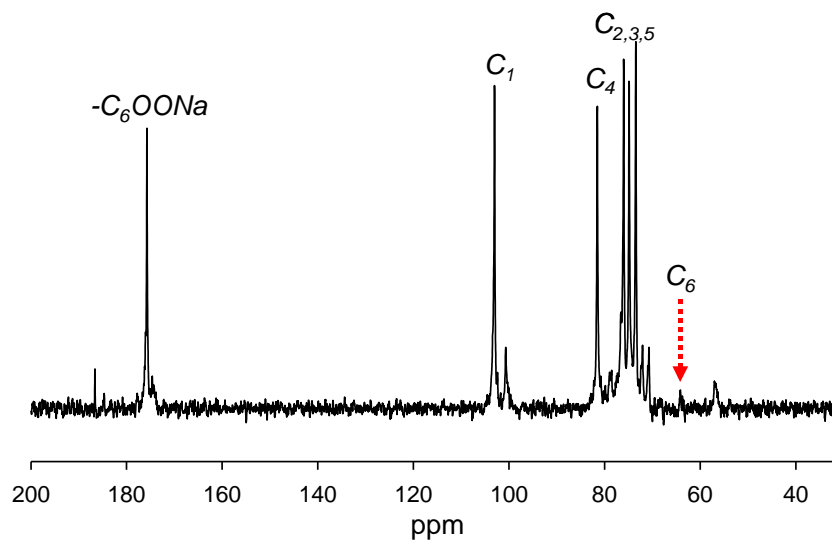


Fig. 2-17 ^{13}C -NMR spectra of TEMPO-oxidized products prepared from ball-milled Japanese cedar oxidized for 2 h.

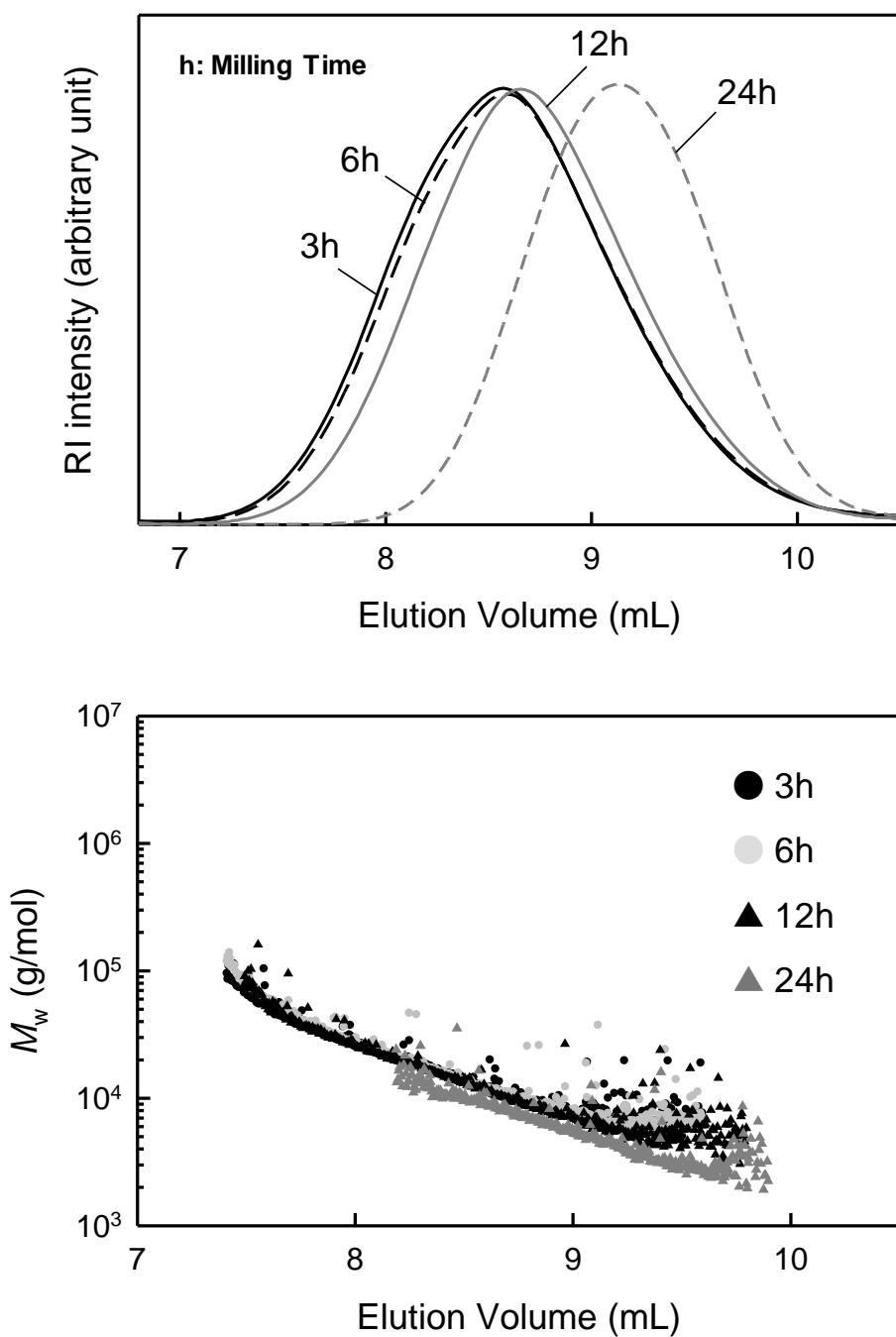


Fig. 2-18 SEC-elution patterns and M_w plots of cellouronic acid obtained from pulverized linter.

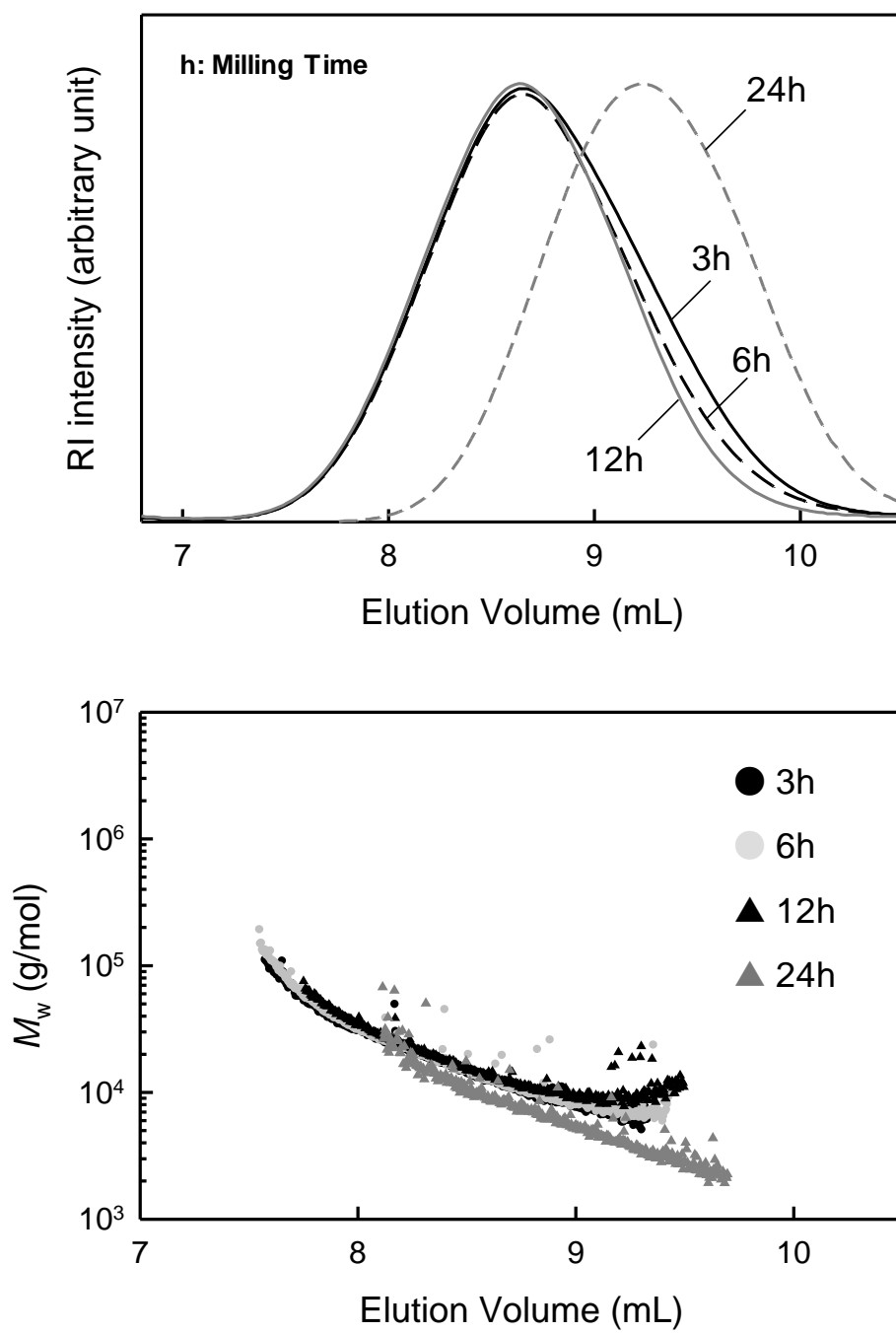


Fig. 2-19 SEC-elution patterns and M_w plots of cellouronic acid obtained from pulverized CF11.

Table 2-6 DPv of ball-milled cellulose and Yield, DPw, DPn and DPw/DPn values of cellouronic acid Na salt (CUA) prepared from ball-milled cotton linters and Whatman CF11 by TEMPO-mediated oxidation.

		CUA	
Milling time (h)	DPv	Yield (%)	DPw
リンター			
0h	800		
3h	307	61	83
6h	209	72	80
12h	129	87	67
24h	63	90	28
CF11			
0h	200		
3h	189	43	72
6h	164	56	76
12h	113	77	82
24h	45	82	32

2-3-4 結論

これまでの検討でセロウロン酸調製の出発物質として利用可能な試料はすべて、天然セルロースを化学処理によって溶解再生あるいはマーセル化（半溶解）したものであった。TEMPO 触媒酸化の低分子化機構がもとのセルロース試料の高次構造を反映している以上、天然セルロースをそのまま出発試料として適用するのが最も理想的であると判断し、そのための手段として結晶領域の物理的粉碎を試みた。こうして得られた非晶セルロースを出発物質として TEMPO 触媒酸化を行ったところ、セロウロン酸を調製することに成功した。またリグニンやヘミセルロースが混在しているスギ粉末を試料とした場合でも調製が可能であった。スギ試料から得られたセロウロン酸を SEC-MALLS によって分析したところ非常に広い分子量分布を持っていることが判明した。これは出発試料である非晶セルロースの高次構造の規則性が、結晶領域の粉碎工程において失われているためであると考えられる。

参考文献

- 1) Saito, T.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2004, **5**, 1983–1989.
- 2) Saito, T.; Nishiyama, Y.; Putaux, J.-L.; Vignon, M.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2006, **7**, 1687–1691.
- 3) Saito, T.; Kimura, S.; Nishiyama, Y.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2007, **8**, 2485–2491.
- 4) Saito T, Hirota M, Tamura N, Isogai A. *J Wood Sci* 2010, **56**:227–232.
- 5) Isogai, A.; Kato, Y. *Cellulose* 1998, **5**, 153–164.
- 6) Kato, Y.; Kaminaga, J.; Matsuo, R.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2004, **58**, 421–426.
- 7) Shibata I, Isogai A, *Cellulose* 2003, **10**, 335–341
- 8) Shibata I, Yanagisawa M, Sato T, Isogai A *Cellulose* 2006, **12**:305–315
- 9) 磯貝 明 (著) セルロースの材料科学. 東京大学出版会(2001)
- 10) Battista OA, Coppick S, Howsmon JA, Morehead FF, Sisson W *Ind. Eng. Chem.* 1956, **48**:333–335.
- 11) Schurz J, John K *Cellulose Chem Technol* 1975, **9**:493–501
- 12) Yachi T, Hayashi J, Takai M, Shimizu Y. *J Appl Polym Sci Appl Polym Symp* 1983, **37**:325–34
- 13) Fan LT, Gharpuray MM, Lee Y-H Cellulose hydrolysis. In: Biotechnology Monographs 1987. Vol **3**, Springer, Tokyo
- 14) Einfeldt L, Gu ¨ nther W, Klemm D, Heublein B *Cellulose* 2005, **12**:15–24.
- 15) Chang M. *J.POLYMER SCI.: PART C*, 1971, **36**, 343–362
- 16) Sharples A. *Transactions of the Faraday Society* 1957, **53** (7): 1003–1013
- 17) Helena Håkansson, Per Ahlgren and Ulf Germgård. *Cellulose*, 2005, **12** :327–335
- 18) Nickerson RF, Harble JA *Ind Eng Chem* 1947, **39**:1507–1512
- 19) Battista OA *Ind Eng Chem* 1950, **42**:502–507
- 20) Rånby BG *Tappi J* 1952, **35**(2):53–58
- 21) Nelson ML, Tripp VW 1953 *J Poly Sci* **10**:577–586
- 22) Millett MA, Morre WE, Saeman JF *Ind Eng Chem* 1954, **46**:1493–1497
- 23) Sharples A *Trans Faraday Soc* 1958, **54**:913–917
- 24) Fischer EW, Herchenroder P, Manley RSTJ, Stamm M *Macromolecules* 1978 **11**:213–217
- 25) Shibasaki H, Kuga S, Onabe F, Brown RM Jr 1995 *Polymer* **36**:4971–4976
- 26) Shibasaki H, Kuga S, Okano T *Cellulose* 1997, **4**:75–87
- 27) Håkansson H, Ahlgren P *Cellulose* 2005, **12**:177–183
- 28) Yanagisawa M, Isogai A, *Holzforschung* 2007, **61** (3): 236–241

- 29) Yanagisawa M, Shibata I, Isogai A, *Cellulose* 2005, **12** (2): 151-158
- 30) Yanagisawa M, Shibata I, Isogai A, *Cellulose* 2004, **11** (2): 169-176
- 31) Wada M, Heux L, Sugiyama J (2004) *Biomacromolecules* **5**:1385–1391.
- 32) Segal L, Creely JJ, Martin Jr AE, Conrad CM (1959) *Textile Res J* **29**:786–794.
- 33) Shibata I, Yanagisawa M, Saito T, Isogai A, *Cellulose* 2006, **13** (1), 73-80
- 34) Fink HP, Philipp B, Zschunke C, Hayn M. *Acta Polymerica* 1992, **43** (5): 270-274
- 35) Hermans PH, Weidinger A. *Journal of Polymer Science* **6** 1951, (5): 533-538
- 36) Da Silva Perez D, Montanari S, Vignon MR *Biomacromolecules* 2003, **4**:1417–1425.
- 37) Habibi Y, Vignon MR *Cellulose* 2008, **15**:177–185
- 38) Hermans PH, Weidinger A *J Am Chem Soc* 1946, **68**:1138.
- 39) Tassinai T, Macy C *Biotechnol Bioeng* 1977, **19**:1321–1330.
- 40) Ryu DD, Lee SB, Tassinari T, Macy C *Biotechnol Bioeng* 1982, **24**:1047–1067.
- 41) Endo T, Kitagawa R, Hirotsu T, Hosokawa J *Kobunshi Ronbunshu* 1999, **56**(3):166–173
- 42) Mais U, Esteghlalian AR, Saddler JN, Mansfield SD *Appl Biochem Biotechnol* 2002, **98**:815–832.
- 43) Qiu WL, Endo T, Hirotsu T, *Eur Polym J* 2005, **41**(9):1979–1984
- 44) Okita, Y, Saito T, Isogai A, *Holzforschung* 2009, **63**, 529–535

第 3 章

有機電解酸化法を用いた各種セルロースの TEMPO 触媒酸化

3-1 背景

従来の TEMPO 触媒酸化法における課題

前項までの検討の結果、様々な由来を持つセルロース試料からセロウロン酸を調製することに成功した。しかしながら、pH10 で行う TEMPO 触媒酸化の場合、酸化反応に伴うセルロースやその他多糖類の著しい低分子化を抑制することは適わなかった。それらの試料から得られた水溶性ポリウロン酸の重合度は概ね 100 以下となり、天然セルロースに適用した場合でも、その重合度は 300 程度に低下した。セルロースやその他多糖類に対するこの著しい低分子化は、4-アセトアミド TEMPO/NaClO/NaClO₂ を用い pH 4-7 の条件下で酸化反応を進行させる手法によって、ある程度抑制出来ることが報告されている¹⁾⁻⁶⁾。しかしグリコシド結合自体が NaClO₂ に対しで安定ではないため、セルロースやその他多糖類の酸化反応中の部分的な低分子化は依然として避けられないままである。すなわち、NaClO や NaClO₂ によって引き起こされるこれら一連の副反応は、反応中の pH や主酸化剤等の条件によらず、従来の TEMPO 触媒酸化法を適用している限り避けられない。さらに言えば、環境的側面から鑑みても NaClO や NaClO₂ といった塩素系試薬の使用自体も好ましいとは言えない。

有機電解合成法を用いた TEMPO 触媒酸化

近年の環境問題に対する関心の高まりから、グリーンケミストリーに基づく分子変換技術が求められており、中でも電気化学的手法による有機化合物の合成、すなわち有機電解合成は環境に優しい優れた化学反応法として注目されている⁷⁾⁻¹¹⁾。有機電解合成とは文字通り『電気エネルギーによって有機合成をおこなう』手法であり、酸化剤や還元剤を必要とせず、電極と基質との間で直接電子授受を行う酸化還元プロセスであるため、本質的に廃棄物を伴わない環境調和型の有機合成法といえる。

有機電解合成の歴史は長く、古くは 1849 年の Kolbe 電解反応に始まる¹²⁾。しかし化学工業において有機電解合成が実用化に至るには、1964 年に 6,6-ナイロンの原料であるアジポニトリルの電解製造を可能にしたモンサント法が確立されるまで、長い年月を待たねばならなかった¹²⁾。この電解合成プロセスの実用化は化学工業における有機電解合成の地位を著しく向上させ、以来様々な分野から電気化学分野への参入が加速し、現在においては成熟した融合領域として飛躍的な発展を遂げつつある。

有機電解合成は電極と基質の間で直接電子の受け渡しをする直接電解法と、電極と基質の間での電子移動を媒介するメディエーターを用いる間接電解法に大別される。この

間接電解法におけるメディエーターとして **TEMPO** を用いた 1 級水酸基の選択的酸化法、すなわち有機電解酸化法について、既にいくつかの報告がある^{13),14),15),16),17),18),19),20)}。この **TEMPO** を用いた有機電解酸化の最大の特徴は、基質となる有機化合物を NaClO や NaClO_2 といった酸化剤を用いず、電気化学的エネルギーによって改質できることである。この **TEMPO** 電解触媒酸化において消費されるのは電気エネルギーと電解液中の水から供給される酸素だけである。したがって、従来の NaClO 、 NaClO_2 、 NaBr といった共酸化剤を用いた従来の **TEMPO** 触媒酸化に伴う多糖類試料の低分子化及び副反応等は電解酸化法を用いることによって回避できるのではないかと考えた。また、**TEMPO** を水系でメディエーターとして作用させるのに必要な電圧は 0.5V 程度と非常に小さく、消費する電気エネルギーは少量で済み、近年電気化学測定機器の発達により特定の電圧を安定してかけ続けることが可能な簡便な装置も市販されている。すなわち有機電解合成法を導入すれば、塩素系試薬を用いずに低エネルギーで **TEMPO** によるセルロースの高機能化を行うことが可能となり、よりグリーンケミストリー概念に適合した化学改質プロセスとなりうる。

TEMPO をメディエーターとして用いた間接電解のモデルを Fig.3-1-1 に示す。このプロセスでは電解液で満たされた電解セルに適当な電圧をかけることによって、アノード側で触媒である **TEMPO** が連続的に酸化され、次々と生じたニトロソニウムイオンが他の共酸化剤等を必要とせず、基質の 1 級水酸基を選択的に酸化する。**TEMPO** を始めとしたニトロキシラジカルの電気化学的性質に関してはサイクリックボルタンメトリー法を用いた詳細な検討結果が既に報告されている^{15),17)}。

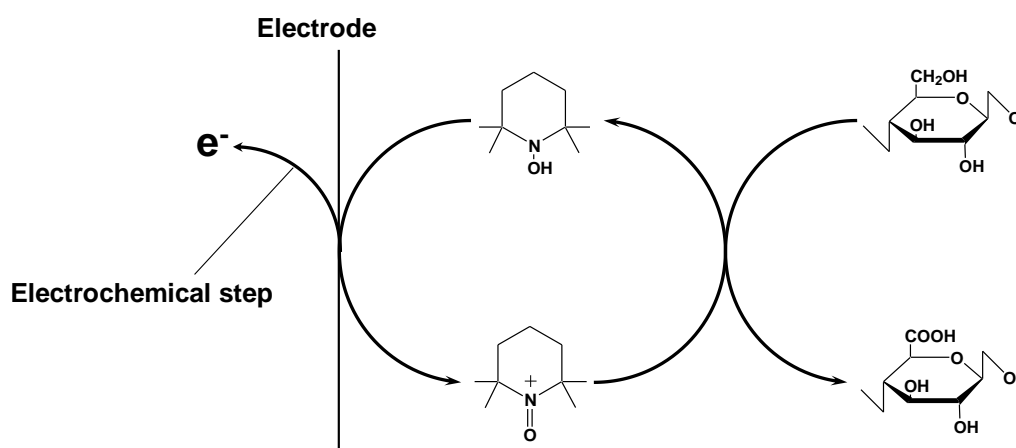


Fig. 3-1-1 Simplified mechanism of **TEMPO** electro-mediated oxidation of cellulose

3-2 カードランおよびアミロデキストリンの有機電解酸化

3-2-1 緒言

TEMPO を用いた有機電解酸化法の適用に関しては比較的低分子の化合物に対する報告がほとんどで、高分子、とりわけセルロースのように水にも汎用有機溶媒にも不溶な天然高分子に対する適用例は報告が無い。そこで本検討においては、セルロースと同様にグルコースをモノマーとしながらも、低結晶性かつ水中で膨潤し易いカードラン、およびアミロデキストリンを試料とし、それらの有機電解酸化による改質が可能であるかを確かめることから実験を開始した。カードランは (1→3)-β-グルカンで直鎖状の構造をもち、土壌細菌の一種である *Alcaligenes faecalis* によって菌体外に生産される多糖である。水には溶解しないが、アルカリ水溶液、DMSO、アミド系溶媒などには可溶である。アミロデキストリンは可溶性でんぷんともよばれ、でんぷんを希酸などで加水分解して得られる。室温では水不溶だが 80℃以上で熱水処理することによって水に溶解し、その後は室温に戻しても溶解状態を保つ。

カードランおよびアミロデキストリンを出発物質とした有機電解酸化は、弱酸性～中性条件下での TEMPO 触媒酸化においては試料の低分子化がある程度抑制されたという報告に基づき、pH 6.8 のリン酸バッファを電解液として用いることにした。また、中性付近で TEMPO よりもその誘導体である 4-アセトアミド TEMPO のほうが触媒としての活性が高いと報告されていたため^{1),5)}、pH6.8 条件下では 4-アセトアミド TEMPO をメディエーターとして用いることにした。

3-2-2 実験

試料：

市販のカードランおよびアミロデキストリン (Wako Pure Chemicals Co., Japan) を出発試料として用いた。4-アセトアミド TEMPO およびその他の試薬や溶液(Wako Pure Chemicals, Co. Japan)は試薬グレードのものを用了。

電流測定に関するシステム：

pH6.8 のリン酸バッファを電解液とし、4-アセトアミド TEMPO のサイクリックボルタンメトリーおよび有機電解酸化を実行した。測定は三電極系で行い、パソコンのカードソケット対応型ポテンショスタット(SDPS-511C, Syrinx Co., Japan)によって電圧を制御し、応答電流を記録した。サイクリックボルタンメトリーはビーカー内で行い、有機電解酸化はアクリル製の 2 層分離式電解セル中で行った。電解セルの容量は反応セルを 280cm³、カウンターセルを 120cm³ とした。参照電極には水銀/硫化水銀参照電極を用いた。白金電極(φ 0.5 mm × 23 cm)をカウンター電極、グラッシーカーボン電極(φ 3 mm × 5 cm)を作用電極として用い、それぞれのセルをカチオン交換膜(Nafion® N424, 22 cm²)によって隔てた。

4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化：

カードランおよびアミロデキストリン各 0.5g を出発物質とし、TEMPO 電解触媒酸化を試みた。既報をもとに Fig. 3-2-2 のような反応装置を作製した。出発物質および 4-アセトアミド TEMPO(430 mg, ca. 2 mmol)は反応セル内で pH6.8 の 0.1M リン酸緩衝液に浸漬・溶解させた。既報をもとにポテンショスタットモードの電圧は 0.50V (versus Hg|Hg₂SO₄|K₂SO₄) とし、反応セル中で磁気攪拌子による試料の攪拌を継続しながら室温で電解酸化を進行させた。反応時間についてカードランは 2 日、アミロデキストリンは 3 日とした。オリジナルのカードランおよびアミロデキストリンは室温で水に不溶であるが、反応開始後 1 ～ 2 日経過した時点で反応懸濁液の清澄化が確認された。反応終了後、酸化カードランおよび酸化アミロデキストリンを既報に基づいて^{1),6),21),22)}清澄液から分離・精製し凍結乾燥法で回収した。TEMPO 電解酸化中の応答電流は反応開始から終了まで、1 秒ごとに記録した。

SEC-MALLS 分析：

酸化カードランおよび酸化アミロデキストリン (各 1mg) を 0.1M 塩化ナトリウム水溶液(1mL)に溶解させ、SEC-MALLS 分析用の試料とした。また、オリジナルのアミロデキストリンを 80℃熱水処理により、前述と同じ濃度で 0.1M 塩化ナトリウム水溶液に溶解させ、分子量比較用の試料とした。調製した各試料水溶液はフィルター処理によって夾雑物を除去した。各試料の絶対分子量および分子量分布を、0.1M 塩化ナトリウム水溶液を溶離液として用いた多角度光散乱検出器(MALLS: DAWN EOS, λ=685 nm, Wyatt Technologies, U.S.A)付きサイズ排除クロマトグラフィーによって測定した。分離

用カラムとして、ポリヒドロキシメタクリレートを基材とした水系 SEC 用カラム (SB-806M HQ, 8 mm ϕ \times 30 cm, Shodex, Japan)を用いた。その他詳細な SEC-MALLS システムおよび分析プログラムの条件に関しては既報および前章で記述された方法に則った^{1),21)-23)}。酸化物およびオリジナルアミロデキストリンの 0.1M 塩化ナトリウム水溶液中での屈折率増分 (dn/dc) はそれぞれ 0.125 mL/g および 0.142 mL/g を適用した^{1),21)-23)}。

核磁気共鳴 (NMR) 分析：

酸化カードランおよび酸化アミロデキストリンの ^{13}C -NMR スペクトルを測定した。測定機器は JEOL Alpha 500 スペクトロメーター (JEOL, Japan) を用いた。溶媒として重水、内部標準試料としてトリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム塩 (Wako Pure Chemicals Co., Japan) を使用し、測定の積算回数は 20,000 回とした。

3-2-3 結果および考察

カードランおよびアミロデキストリンの TEMPO 電解触媒酸化：

サイクリックボルタンメトリーを行い、正方向および負方向への電位掃引を繰り返したところ、それに対応する酸化波及び還元波の安定したピークが確認された (Fig.3-2-1)。これは pH6.8 リン酸緩衝液中で適切な電位を与えてやることにより、4-アセトアミド TEMPO がオキソアンモニウム型およびヒドロキシルアミン型へと繰り返し安定的に変換されていることを示しており、塩素系試薬を用いずとも 4-アセトアミド TEMPO をオキソアンモニウム型へと変換し、基質となる試料の 1 級水酸基を選択的に酸化可能であることを示している。

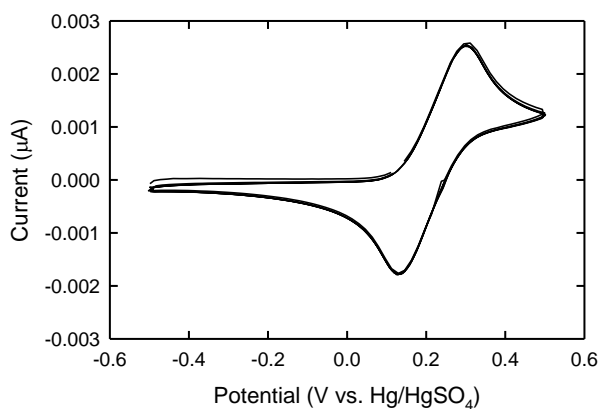


Fig. 3-2-1 Cyclic voltammogram of 4-acetamido-TEMPO at room temperature and pH 6.8.

4-アセトアミドTEMPOを用いた有機電解酸化の電解セルは既報¹⁷⁾に基づき Fig.3-2-2のように設計した。カードランおよびアミロデキストリンを設計したセルを用いて室温でTEMPO電解触媒酸化を行ったところ、電流値は酸化が進むに従って減少し2～3日で平衡に達した。酸化が進行するとともに、白金カウンター電極から水素の発生が確認された。反応開始直後は水不溶であったカードランおよびアミロデキストリンは、酸化が進行するにつれて水可溶となった。既に報告されている⁶⁾オリジナルカードランおよびアミロデキストリンの¹³C-NMRスペクトルデータと、得られた酸化物の¹³C-NMRスペクトルを比較した結果(Fig. 3-2-3)、各試料におけるC6位の1級水酸基の90%以上がカルボキシル基へと変換されていることが確認された。すなわち、pH6.8条件下で4-アセトアミドTEMPOをメディエーターとして用いた有機電解酸化によって水不溶性のポリマーであるカードランおよびアミロデキストリンを酸化することに成功した。一方、¹³C-NMRスペクトルにおいて未反応のC6位に由来するピークも確認されており、本検討の条件下では試料中の全てのC6位1級水酸基へのカルボキシル基導入には至らなかった。

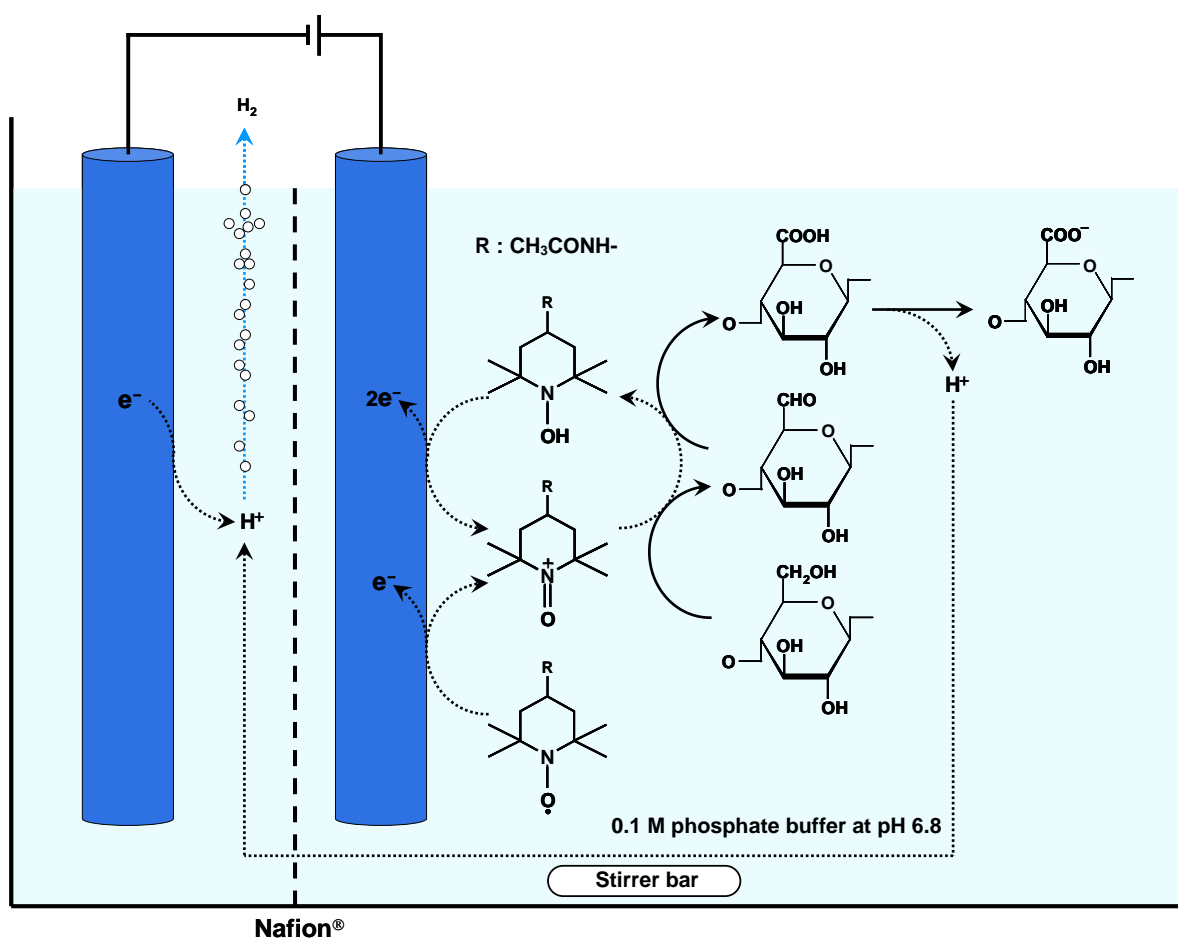


Fig. 3-2-2 Schematic representation of electro-mediated oxidation system with the 4-acetamido-TEMPO catalyst in the buffer at pH 6.8 for conversion of primary hydroxyls of cellulose to carboxylate groups via aldehydes.

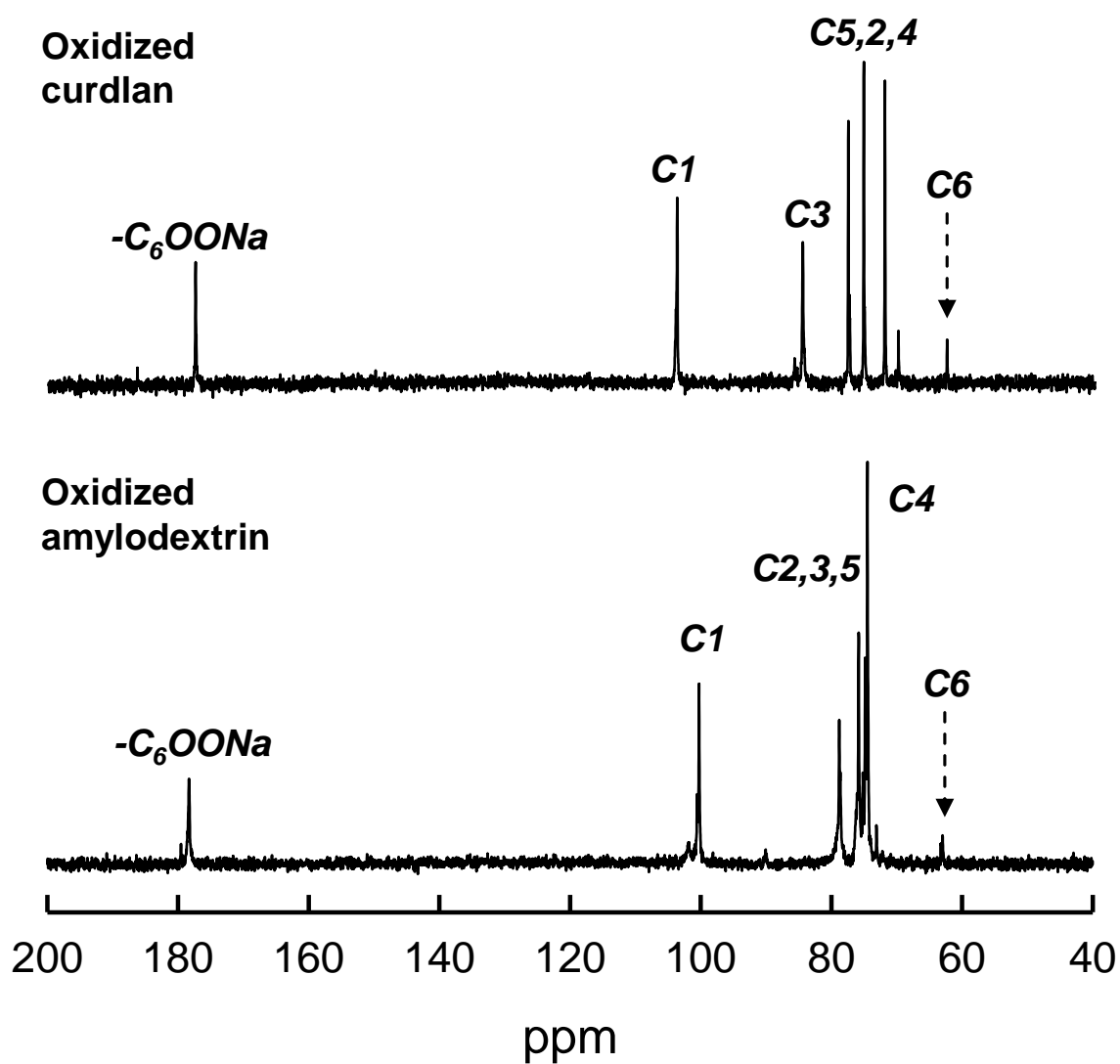


Fig. 3-2-3 ^{13}C -NMR spectra of the oxidized curdlan and amylopectrin dissolved in D_2O .

得られた酸化物の SEC-MALLS 分析結果：

TEMPO 電解触媒酸化によって得られた酸化カードラン・酸化アミロデキストリンおよびオリジナルアミロデキストリンの SEC 溶出パターンおよびそれに対応する分子量プロットを Fig.3-2-4 に示した。酸化カードラン・酸化アミロデキストリン共に本体以外の凝集ピークやショルダーピークの存在しない標準的な分子量分布パターンを持ち、光散乱の結果からは線形の分子量プロットが得られた。一方、オリジナルアミロデキストリンの SEC 溶出パターンは酸化した物に比較して低分子側に現れた。SEC の原理から考えれば酸化によってアミロデキストリンの分子量が増大したことになり、現象の理由説明が出来ない。しかし MALLS によって得られた分子量プロットを確認すると、同じ溶出ポイントで比較した場合、酸化アミロデキストリンの分子量は、オリジナルアミロデキストリンの分子量よりも低い値が算出されている。このようなことが起こる理由として二つの要因が考えられる。一つ目は、SEC において各試料は分子サイズ、すなわち分子の回転半径のサイズによって分離されるため、酸化アミロデキストリンの回転半径が見かけ上大きくなっているためである。すなわち酸化アミロデキストリンは導入されたカルボキシル基同士の分子内での静電反発力により、溶離液である 0.1M 塩化ナトリウム水溶液中で分子鎖がより広がったコンホメーションをとっており、オリジナルのアミロデキストリンに比べて見かけ上の回転半径が増大し、溶出位置が高分子量側にシフトしたと考えられる。二つ目はカルボキシル基の導入によって酸化アミロデキストリンがアニオン性の荷電を持つことにより、カラムの充填剤に対するアフィニティが変化した可能性がある。このような場合、正常な SEC 分離が行われず溶出位置がシフトする原因となり得る。

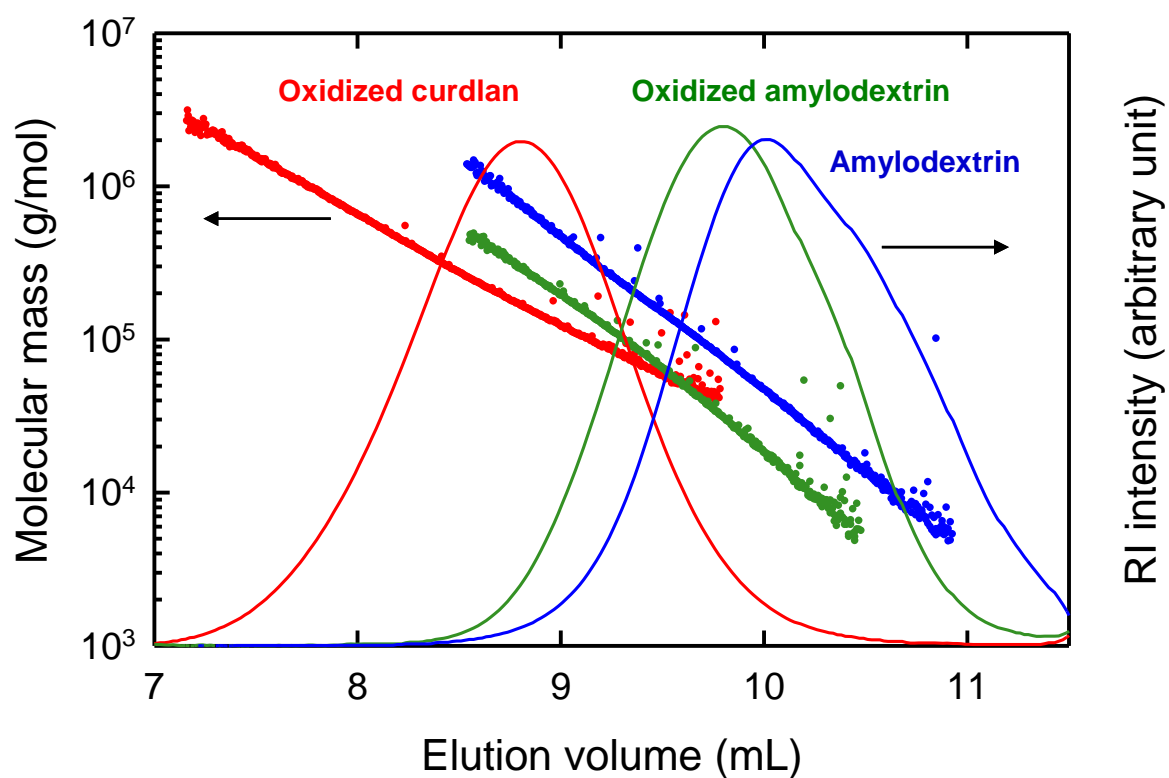


Fig. 3-2-4 SEC elution patterns and the corresponding molecular-mass plots of the original amylopectin and the oxidized curdlan and amylopectin.

SEC-MALLS の結果から算出された重量平均分子量(Mw)、数平均分子量(Mn)およびそれらに対応する重合度(DPw,DPn)、多分散度(Mw/Mn)の値を Table3-2-1 に示した。各試料における酸化後の重量収率は 90%以上であり、回収損失は透析その他の精製プロセスにおけるハンドリングロスと見なした。すなわち TEMPO 電解触媒酸化によってカードランおよびアミロデキストリンの酸化物が定量的に得られたことが示された。

オリジナルカードランの Mw は 1,100,000 (DPw 6,790) と報告されているため⁴⁾、酸化カードランの Mw が 268,000(DPw 1,380)であることから、TEMPO 電解触媒酸化中に試料の低分子化が進行しているのは明らかである。しかしながら、従来の pH10 条件下で行う TEMPO/NaBr/NaClO 酸化によって調製された酸化カードランの Mw が 17,000 (DPw 86)と報告されていることから⁴⁾、今回 pH6.8 条件下で TEMPO 電解触媒酸化により得られた酸化カードランは、pH10 で行う従来法と比較して低分子化が大幅に抑制され、高い重合度を維持していることが分かった。また、pH4.7 条件下で 4-acetamido-TEMPO/NaClO/NaClO₂ 酸化により調製された酸化カードランの Mw は 197,000 (DPw 1,020)と報告されており、この値と比較しても pH6.8 条件下の電解酸化における試料の低分子化抑制効果は高いと言える。アミロデキストリンに関しては、オリジナルの Mw が 60,000、酸化後の Mw が 53,900 であったことから、TEMPO 電解触媒酸化による若干の低分子化が確認された。

表の結果をまとめると酸化カードランおよび酸化アミロデキストリンを調製する際に、pH6.8 条件下・室温で行う 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を適用することによって酸化に伴う試料の低分子化を抑制できるものの、低分子化自体の回避には至らなかった。NaClO や NaClO₂ といった主酸化剤を使用していないにもかかわらず低分子化を回避できない理由として、C6 位の一級水酸基がカルボキシル化される際の間体として生じる C6 位アルデヒド基を基点とした β-脱離反応によるグリコシド結合の切断が考えられる。この反応は中性条件下でも起こりうることが報告されている²⁴⁾。

Table 3-2-1 Weight and number average molecular masses (M_w and M_n , respectively), the corresponding degrees of polymerization (DP_w and DP_n , respectively), M_w/M_n values and weight recovery ratios of the oxidized curdlan and amyloextrin, prepared by electro-mediated oxidation with the 4-acetamido-TEMPO catalyst.

Sample	M_w	(DP_w)	M_n	(DP_n)	M_w/M_n	Weight recovery (%)
Curdlan ^a	1,100,000	6,790	890,000	5,490	1.24	–
Oxidized curdlan	268,000	1,380 ^b	114,000	586 ^b	2.35	91
Amyloextrin	60,000	< 370	13,200	< 81	4.56	–
Oxidized amyloextrin	53,900	< 277 ^b	16,000	< 82 ^b	3.36	92

^a Determined using 1% LiCl/1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (LiCl/DMI) as the solvent and eluent by SEC-MALLS analysis. ⁴⁾

^b Although the original and oxidized amyloextrins have branch structures, DP_w and DP_n values were calculated on the assumption that these polysaccharides had linear structures.

3-2-4 結論

カードランおよびアミロデキストリンに対し pH6.8 リン酸緩衝液中・室温下で 4-アセトアミド TEMPO をメディエーターとした有機電解酸化反応を行ったところ、およそ 90% の C6 位水酸基がカルボキシル基へと変換され、水溶化物としてほぼ均質なポリウロン酸を調製することに成功した。反応に伴って試料の低分子化が進行したものの、従来の pH10 条件下 TEMPO/NaBr/NaClO 系によって得られる酸化物と比較すると明らかに低分子化が抑制されており、より高重合度の水溶性ポリマーが調製可能であることが判明した。

また、グルコースをモノマーとし比較的低結晶性のカードラン・アミロデキストリンの C6 位をカルボキシル基に変換出来たことから、本検討で用いた pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化をセルロースにも適用出来る可能性が示された。

3-3 再生セルロースの有機電解酸化

3-3-1 緒言

前項においてカードランおよびアミロデキストリンといった天然高分子に対し、pH6.8 リン酸緩衝液を用いた 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化による改質プロセスを適用可能であることが確かめられた。この手法は従来法に比較して、塩素系酸化剤を一切使用しない、および試料低分子化の抑制効果といった利点を備えている。そこで本項では電解触媒酸化の適用範囲を再生セルロースにまで広げた。しかし、市販の再生セルロース繊維であるビスコースレーヨンに対し pH6.8 条件下で 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を行ったところ、応答電流の変化から酸化反応の進行が示唆されたものの、セロウロン酸のような水可溶化成分は一切得られず、再生セルロースの形態にも変化がなかった。念のため pH10 の炭酸緩衝液を用いた TEMPO 電解触媒酸化も行ったが、結果は同様であった。これは従来の TEMPO/NaClO/NaBr 系、4-アセトアミド TEMPO/NaClO/NaClO₂ 系の酸化反応において再生セルロースが完全に水溶化しセロウロン酸へと変換されていた結果と全く異なっていた^{1),21),25)}。そこで本項では 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を行った後の再生セルロースを水不溶物として回収・洗浄し、カルボキシル基の導入量確認、重合度測定、光学顕微鏡による詳細な形態観察を行うこととした。

3-3-2 実験

試料：

再生セルロース繊維である市販のビスコースレーヨンを出発試料として用いた。4-アセトアミド TEMPO およびその他の試薬や溶液(Wako Pure Chemicals, Co. Japan)は試薬グレードのものをを用いた。

電流測定に関するシステム：

前項に準じた反応装置およびプロセスを適用した。

4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化：

ビスコースレーヨン 1.0g を出発物質とし、pH6.8 条件下で 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を試みた。各試料はハサミで裁断したものを用いた。反応装置は前項と同じものを用いた。出発物質および 4-アセトアミド TEMPO(430 mg, ca. 2 mmol)は反応セル内で pH6.8 の 0.1M リン酸緩衝液に浸漬し、反応セル中で磁気攪拌子による試料の攪拌を継続しながら、ポテンショスタットモード・0.50V (versus Hg|Hg₂SO₄|K₂SO₄) に設定し、室温で電解酸化を 3~45 時間行った。酸化反応に 45 時間供した後でも試料は水可溶化することなく見た目の形態は変化しなかったため、試料は蒸留水でろ過洗浄し凍結乾燥法で回収した。電解酸化中の応答電流は反応開始から終了まで、1 秒ごとに記録した。

カルボキシル基量およびアルデヒド基量測定：

得られた電解酸化再生セルロース繊維のカルボキシル基量を、既報に基づき電導度滴定法を用いて測定した^{2),3),26)-28)}。また、電解酸化再生セルロース中には 1 級水酸基のカルボキシル化の際に中間体として生じるアルデヒド基が残存していると予想されるため、アルデヒド基の定量も行った。電解酸化セルロースを亜塩素酸ナトリウムとともに室温・pH4-5 で 2 日間攪拌し、電解酸化再生セルロース中に含まれるアルデヒド基を選択的にカルボキシル基へと追酸化した。こうして得られた追酸化再生セルロースの全カルボキシル基を電導度滴定法によって測定し、追酸化前後のカルボキシル基量増分を、本来電解酸化再生セルロース繊維中に含まれていたアルデヒド基量と見なした^{2),3),26)-28)}。

その他分析および光学顕微鏡観察：

再生セルロース繊維および電解酸化再生セルロース繊維を 0.5M 銅エチレンジアミン溶液に溶解させ、既報に基づき粘度法により粘度平均重合度(DP_v)を測定した⁷⁾。0.5M 銅エチレンジアミン溶液はアルカリ性のため、試料中のアルデヒド基に起因する β-脱離反応により粘度測定中に分子鎖の切断を引き起こし、重合度が低下してしまう恐れがある。そこで、電解酸化再生セルロース繊維に関しては前項と同様の方法でアルデヒド基を選択的にカルボキシル基へと変換した追酸化再生セルロース繊維を測定用の試料とした²⁾。

オリジナルビスコースレーヨンおよび 45 時間電解酸化ビスコースレーヨン各 0.1g を 750MPa で 1 分間プレスしペレット状に成型したものを X 線回折パターン測定用の試料とした。測定機器は Cu-Kα 放射線(λ = 0.15418 nm) ニッケルフィルター付き Rigaku RINT 2000 を用い、回折角度 5°-35° の範囲で反射法により行った。得られた回折パターンか

ら、既報に基づき各試料の結晶化度を計算した^{29),30)}。

オリジナルビスコースレーヨンおよび45時間電解酸化ビスコースレーヨン各0.1gをネバードライのまま20℃で15分間遠心分離(1500g)し、以下の式に従って保水値(WRV)を算出した。

$$\text{WRV (\%)} = 100 \times (\text{Ww} - \text{Wd}) / \text{Wd}$$

Wwは遠心分離後の試料重量、Wdはさらにそれらを105℃で3時間処理し絶乾状態にしたものの重量である。

再生セルロース試料における電解酸化前後での形状変化を観察するため、オリジナルビスコースレーヨンおよび電解酸化ビスコースレーヨンを光学顕微鏡(BX-50 with a digital camera DP-20, Olympus, Japan)および偏光板を用いて詳細に観察を行った。また、水中で繊維の表面形状を観察するため、微分干渉顕微鏡(BX-51 with a digital camera DP-20, Olympus, Japan)による観察も行った。

オリジナルビスコースレーヨンおよび45時間電解酸化ビスコースレーヨン各0.01gを0.1%コンゴレッド水溶液または0.1%トルイジンブルー水溶液に10分間浸漬し染色処理を行った。染色終了後に余剰の染色液を蒸留水およびエタノールを用いてろ過洗浄により洗い流した^{2),3)}。染色処理後の試料について、光学顕微鏡(BX-50 with a digital camera DP-20, Olympus, Japan)を用いて形状および染色効果を詳細に観察した。

3-3-3 結果および考察

ビスコースレーヨンの電解酸化：

前章の結果に基づき、ビスコースレーヨンを室温・pH6.8条件下で4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化に供した。反応初期の電流値は12mA程度であったが、反応が進行するにつれて徐々に減少し、30時間ほど経過すると約1mAまで低下し、プラト一段階に達した(Fig.3-3-1)。これは試料である再生セルロース繊維のC6位酸化反応が進行していることを示している。

ここで注目すべきは、45時間経過し電流値がプラト一段階に達し、酸化反応が進行しているにもかかわらず、再生セルロースが水溶化せず、繊維形状が変化しなかった点である。この現象は従来のTEMPO/NaBr/NaClO系あるいは4-アセトアミドTEMPO/NaClO/NaClO₂系で得られていた結果とは全く異なるものである。すなわち、従

来の塩素系酸化剤を用いた TEMPO 触媒酸化法においては再生セルロースの C6 位は完全に酸化され水溶性のポリウロン酸へと変換されていたのに対し、再生セルロースを電解酸化した場合、水可溶化成分は全く得られないだけでなく、繊維形態も維持したままの電解酸化再生セルロースが水不溶成分として得られ、重量収率も 90%以上であった。ビスコースレーヨンに対しては酸化時間を延長し 7 日間反応を行ったが、繊維形状が崩れパウダー状になったものの、不溶分として重量収率 90%以上を保っていた。

すなわち、本検討で行った 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化は、重量損失無しに再生セルロースの繊維形状を保ち、カルボキシル化された再生セルロース繊維を調製することを可能とするプロセスであると予想した。

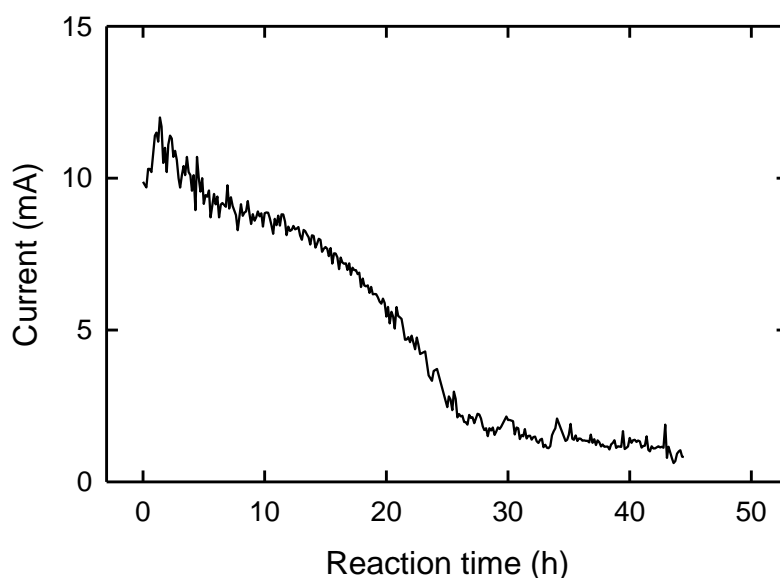


Fig. 3-3-1 Variation of the current with reaction time in electro-mediated oxidation of regenerated cellulose fiber at pH 6.8 with the 4-acetamido-TEMPO catalyst. Measured at room temperature and 0.5 V.

各種分析の結果：

反応時間に対する各試料のカルボキシル基／アルデヒド基導入量および DP_v 測定の結果を図に示した。3 時間あるいは 6 時間といった反応の初期段階においては、カルボキシル基量に比べて相対的にアルデヒド基量が多いことが分かった。反応が進むにつれてカルボキシル基量が増加していき、ビスコースレーヨンの場合 45 時間後には 1.1mmol/g のカルボキシル基および 0.64mmol/g のアルデヒド基が導入されていた。この結果から、4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化によって再生セルロース繊維上の C6 位水酸基がカルボキシル基およびアルデヒド基へ変換されていることが確認できた。一方ビスコースレーヨンの重合度はオリジナルが 306 であったのに対し、45 時間反応後には 114 まで低下していた。前述のカードランおよびアミロデキストリンの電解酸化の場合と同様、 $\text{pH}6.8$ 条件下でも起こりうる β -脱離反応に起因する重合度低下は避けられないことが示された²⁴⁾。

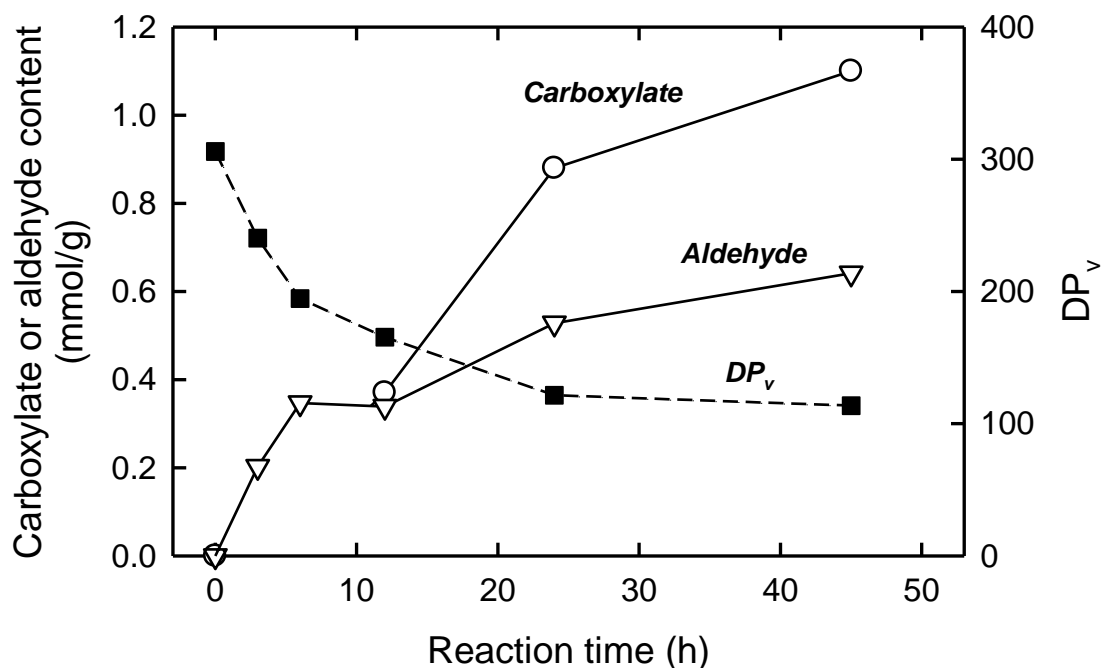


Fig.3-3-2 Relationships between reaction time and either carboxylate/aldehyde content or viscosity average degree of polymerization (DP_v) of the oxidized cellulose fibers.

ビスコースレーヨンの各酸化時間において、それまでに消費された総電荷量(C)を図の電流値の変化から計算し、その中で試料のカルボキシル基およびアルデヒド基形成に消費された電荷量の占める割合を電流収率として図に示した。反応時間が長くなるにつれて電流収率は低下し、45 時間反応後ではおよそ 67%となった。これは反応時間が長くなるにつれて未反応の C6 位一級水酸基が減少していく一方で 4-アセトアミド TEMPO のオキシアンモニウムイオン化が進行するため、結果的に過剰量のオキシアンモニウムイオン型4-アセトアミド TEMPO の生産に電荷が消費されてしまうためではないかと考えた。

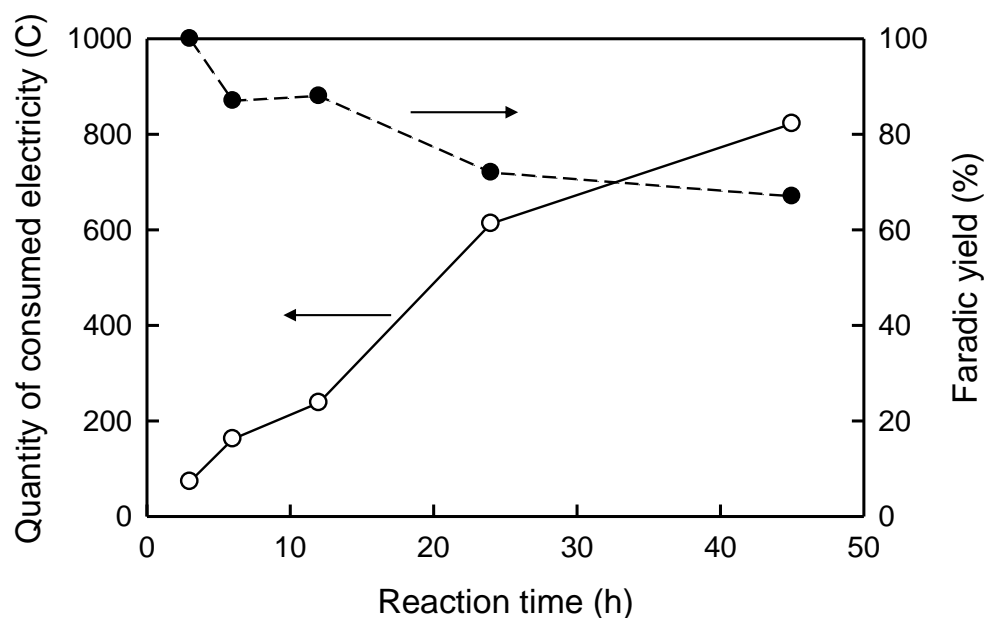


Fig.3-3-3 Relationships between reaction time and either quantity of consumed electricity or faradic yield from the consumed electricity to the formation of C6-oxidized groups in electro-mediated oxidation of the regenerated cellulose fiber at pH 6.8, room temperature and 0.5 V with the 4-acetamido-TEMPO catalyst.

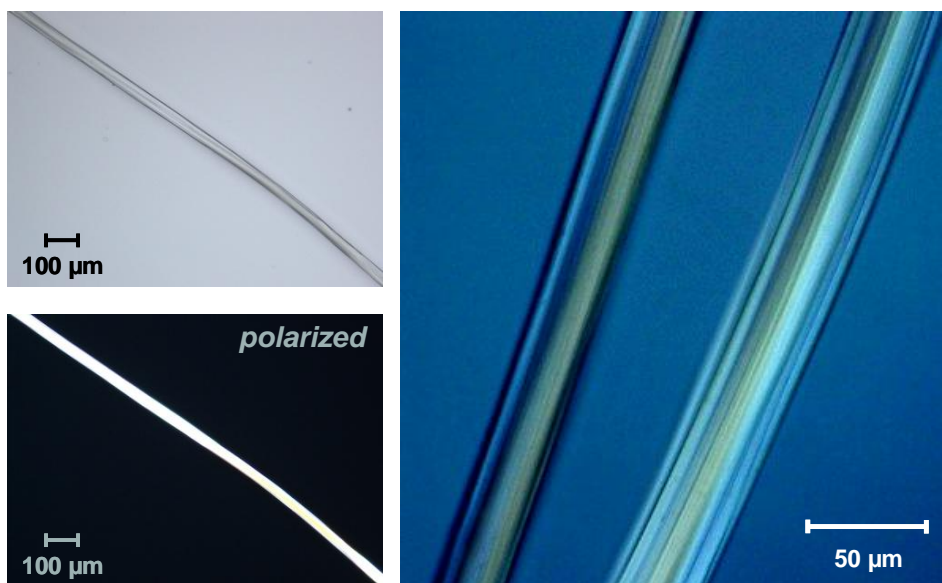
光学顕微鏡観察結果：

Fig.3-3-4 はオリジナルビスコースレーヨンおよび 45 時間電解酸化ビスコースレーヨンを水中に浸漬した状態で光学顕微鏡により観察・撮影した写真である。微分干渉顕微鏡による観察写真において、ビスコースレーヨン繊維に典型的な、繊維表面の縞模様が 45 時間酸化後の試料においても維持されていることがはっきり確認できた。さらには酸化による水中でのビスコースレーヨン繊維の膨潤および繊維径の増大も見られなかった。すなわち、カルボキシル基 1.1mmol/g およびアルデヒド基 0.64mmol/g が導入されたにもかかわらず、電解酸化ビスコースレーヨン繊維は部分的なフィブリル化も発生せず、その表面模様に至るまで構造が維持されていることがわかった。

従来の TEMPO 触媒酸化をビスコースレーヨンに適応した場合、主酸化剤である塩素系試薬の添加量を少量にコントロールすれば繊維状の酸化ビスコースレーヨンを得ることは可能であった。しかしその場合セルロース分子がセロウロン酸として溶けだしてしまうため繊維表面は維持されずダメージが進行し、導入されるカルボキシル基の量も 0.3mmol/g 程度と低い値にとどまるため³¹⁾、カルボキシル化再生セルロース繊維を調製するプロセスとしては 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化が最適である。

Fig.3-3-2 に示した電解酸化時間に対するカルボキシル基およびアルデヒド基導入量のパターンは、セルロース II 型の結晶形を持つ天然セルロースに従来法の TEMPO 触媒酸化を適用した場合とよく似ており、その際 C6 位に対するカルボキシル基の導入はセルロースミクロフィブリルの結晶表面において選択的に進行、結晶構造には全く変化が無いことが報告されている。また、Fig.3-3-4 の偏光写真から 45 時間酸化後でもビスコースレーヨン繊維が結晶性を保持していることも示された。これらの結果から電解酸化再生セルロース繊維について、カルボキシル基の導入部位はセルロース II 型結晶の表面に集中していると考えられる。

Original rayon



Oxidized rayon

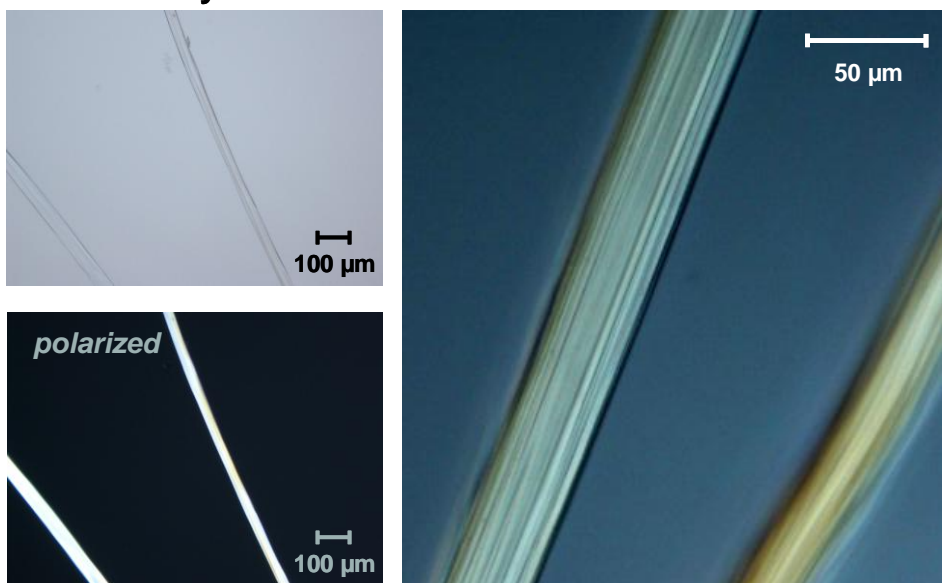


Fig.3-3-4 Optical microphotographs with and without cross-polarizers (left), and differential interference-contrast microphotographs (right) of the original and oxidized cellulose fibers (viscose rayon). The oxidized cellulose fiber was prepared by electro-mediated oxidation with the 4-acetamido-TEMPO catalyst at pH 6.8 and room temperature for 45 h.

Fig.3-3-5 にはオリジナルビスコースレーヨンおよび 45 時間電解酸化ビスコースレーヨンの X 線回折パターン結果を示した。両試料において、典型的なセルロース II 型結晶に由来する回折パターンが確認された。結晶化度はオリジナルビスコースレーヨンが 0.31 に対し 45 時間電解酸化後は 0.24 であった。これらの結果から、C6 位のカルボキシル基はほとんどがビスコースレーヨン繊維中の非晶領域とセルロース II 型結晶表面に形成されていると考えられる。しかし、相当量のカルボキシル基およびアルデヒド基が導入されていることから、一部の C6 位酸化は結晶内部にも進行しており、それによって若干の結晶化度の低下がもたらされた可能性がある。

保水値測定の結果は、オリジナルビスコースレーヨンが 46% であったのに対し、45 時間電解酸化ビスコースレーヨン 56% であった。すなわち、ビスコースレーヨン繊維の親水性あるいは吸水性は、電解酸化を通して導入されたカルボキシル基とそれに伴う若干の結晶化度の低下によって若干の増大が見られた。しかしながら、電解酸化によってカルボキシル基がほぼ 0 の状態から 1.1mmol/g まで飛躍的に増大したことと比較すると、この保水値の上昇の程度はあまり目立った変化とはいえない。既報において、pH10 条件下 TEMPO/NaBr/NaClO 系でコットンリンターを酸化した場合、カルボキシル基量が 0.02mmol/g から 0.76mmol/g まで増加したのに対し、保水値は 60% から 280% まで上昇していた²⁶⁾。すなわち、相当量のカルボキシル基が導入されているにもかかわらず電解酸化再生セルロースの親水性は明らかに抑制されている。この理由としては、電解酸化ビスコースレーヨン中に存在するアルデヒド基が近傍の水酸基と分子内または分子間でヘミアセタール結合を形成し、その結果として親水性の上昇あるいは電解酸化再生セルロース繊維の水中での膨潤が抑えられているのではないかと予想した。

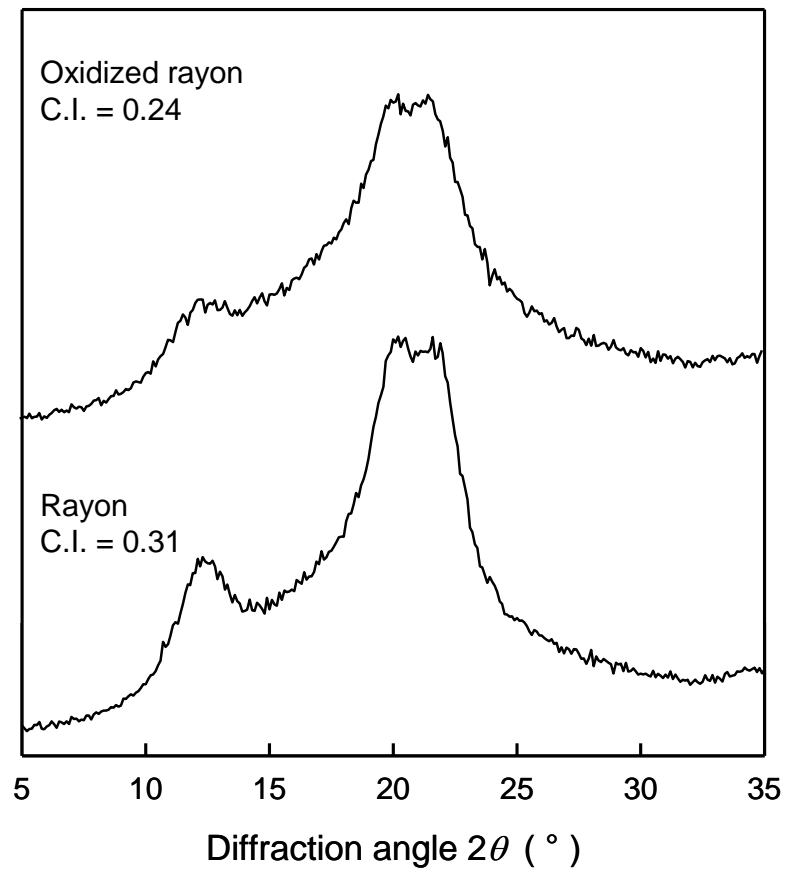


Fig.3-3-5 X-ray diffraction patterns of the original and oxidized cellulose fibers in Fig.3-3-4
C.I.: crystallinity index.

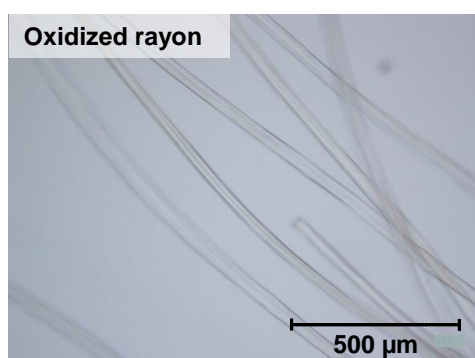
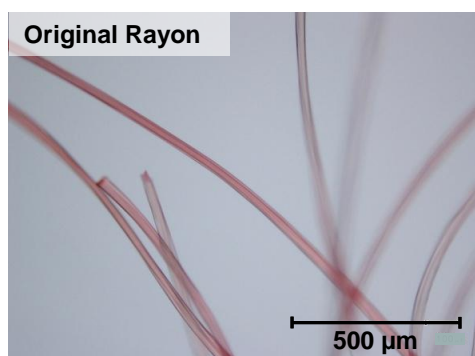
オリジナルビスコースレーヨンおよび 45 時間電解酸化ビスコースレーヨンのコンゴーレッドおよびトルイジンブルーによる染色写真を Fig.3-3-6 に示した。コンゴーレッドはセルロース分子の疎水部分に吸着する染料であるが³²⁾、電解酸化ビスコースレーヨンはコンゴーレッドによって染色されなかった。電解酸化ビスコースレーヨン中には、コンゴーレッド分子が疎水結合の形成のためにアクセス可能な未反応の C6 位水酸基がほとんど存在していないためと考えられる。その一方で、カチオン性染料であるトルイジンブルー³³⁾は電解酸化ビスコースレーヨンを均一に染色し、オリジナルビスコースレーヨンはほとんど染色されなかった。このことから、電解酸化によって導入されたカルボキシル基はビスコースレーヨン繊維上に均一に分布していることが確認された。

以上の結果から、室温・pH6.8 条件下 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を再生セルロースに適用すると、従来の TEMPO 触媒酸化で得られていたものとは全く異なった形状・特性を持つ電解酸化再生セルロース繊維が調製出来ることが分かった。すなわち 45 時間電解酸化後には相当量のカルボキシル基(1.1mmol/g)およびアルデヒド基(0.6mmol/g)が導入されていたにもかかわらず、興味深いことにオリジナルの繊維形状が表面模様に至るまで保持されていた。

このように電解酸化処理において再生セルロースの繊維形状およびセルロースⅡ型結晶構造が保持されたことの理由として、塩素系酸化剤の不使用が挙げられる。すなわち従来の TEMPO 触媒酸化においては、次亜塩素酸ナトリウムが反応中にセルロースの分子鎖を切断することによって結晶型が崩壊し、水溶性ポリマーであるセロウロン酸を得たのに対し、電解酸化法では塩素系酸化剤が反応中に存在しないため出発試料の構造が維持されたと考えられる。(なお、pH10 で再生セルロースの電解酸化を行っても同様の結果となることを確認済みである)

まとめると、本検討で行った 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化はセルロースの加工成型物である再生セルロースの 2 次改質を可能にするプロセスであると言える。この反応を用いることで、再生セルロース繊維を由来とする衣服・ガーゼ等の既製品に対し、水溶化による重量損失が無く繊維形状を維持したまま、カルボキシル基およびアルデヒド基を導入することが可能となる。

Stained with congo red



Stained with toluidine blue

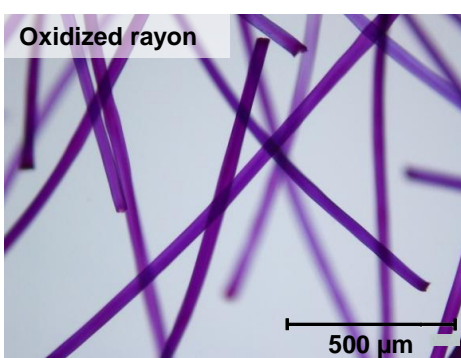
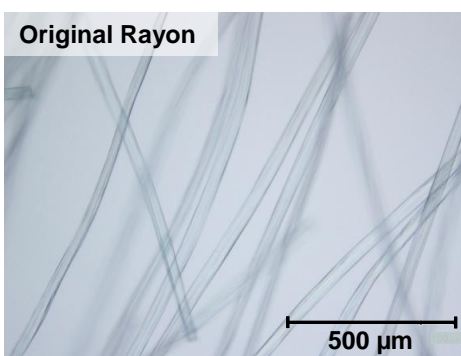


Fig.3-3-6 Optical microphotographs of the original and oxidized cellulose fibers shown in Figures 7 and 8, before and after the treatment with congo red or toluidine blue.

3-3-4 結論

再生セルロースであるビスコースレーヨンに対し pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化法を用いて 45 時間処理したところ、セロウロン酸のような水可溶化成分が一切得られず、オリジナルの繊維形態がその表面形状に至るまで保持された。一方で、C6 位の 1 級水酸基に対する酸化反応が進行し、相当量のカルボキシル基 (1.1mmol/g) およびアルデヒド基 (0.6mmol/g) が導入された。すなわち pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化はセルロースの成型加工物である再生セルロースに対しその形状を維持したままカルボキシル基およびアルデヒド基を導入するという 2 次改質を可能とする非常に特徴的な化学改質プロセスであり、本検討において得られたカルボキシル化再生セルロース繊維は従来の NaClO や NaClO₂ を主酸化剤とする TEMPO 触媒酸化法では調製不可能であった酸化物である。

3-4. 有機電解酸化法を用いたセルロースナノファイバーの調製

3-4-1 緒言

セルロースナノファイバーについて

天然セルロースは幅3-10nm、長さ数 μm という極細で高アスペクト比の結晶性マイクロフィブリルにより構成されている。一方でこの十年ほどの間、セルロースナノウィスカーあるいはマイクロ・ナノフィブリル化セルロースは、化学合成ファイバーと比較して再生産可能資源であり環境調和性が高く特徴的な性質を持つことから大きな注目を集めるようになった³⁴⁾。例えば天然セルロースを64%硫酸で酸加水分解したのち、その残渣を水中で分散処理することでセルロースナノウィスカーを調製することが出来る³⁵⁾。また、高圧ホモジナイザーおよびグラインダー処理を繰り返し行うことによって、木材セルロース/水スラリーからマイクロ・ナノフィブリル化セルロースを調製するプロセスが報告されている³⁴⁾。

近年当研究室では、TEMPO触媒酸化によってアニオン性の荷電を持つC6位カルボキシル基をセルロースマイクロフィブリルの表面に選択的に、高密度に導入し、家庭用ミキサーといった低エネルギーの分散処理を水中で施すことによって一本ごとに分散した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に成功した^{2),27),28),36)}。

これまで2種類のTEMPO触媒酸化システムが報告されており、ひとつはpH10条件下で行うTEMPO/NaBr/NaClO系システム^{25),27),28),37)}、もうひとつはpH4-7条件下で行うTEMPO/NaClO/NaClO₂システム^{2),4),5)}である。前者においてはNaClO、後者ではNaClO₂が主酸化剤としてそれぞれ用いられている。出発物質である天然セルロース試料としては漂泊クラフトパルプのような木質セルロースを用い、適切な条件でTEMPO触媒酸化を行うことでセルロースマイクロフィブリルの表面に露出したほぼすべてのC6位水酸基を選択的にカルボキシル基へと変換できる^{38),39)}。十分な量のカルボキシル基が導入されたTEMPO酸化木質セルロースは、水中で低エネルギーの分散処理を施すことで幅3-4nm、長さ1 μm 以上のセルロースナノファイバーとして安定に分散させることが可能である。TEMPO/NaBr/NaClO系 またはTEMPO/NaClO/NaClO₂系でそれぞれ調製したセルロースナノファイバーの物性的な違いに関してはレビューにて詳細に報告されている³⁶⁾。pH10条件下TEMPO/NaBr/NaClO系プロセスを木質セルロースに用いた場合、カルボキシル基導入は室温下で速やかに進行し約2時間で反応が終了するが、反応中間体であるアルデヒド基が少量残存し(<0.08mmol/g)、木質セルロース試料自体の顕著な低分子化も不可避

である。一方で、pH5-7条件下TEMPO/NaClO/NaClO₂系を用いると、低分子化が抑制される上に亜塩素酸ナトリウムの働きによって残存アルデヒド基が形成されない。しかしながら、カルボキシル基の導入量は0.8mmol/g以下と低くいうえ、反応時間が長く、より高い反応温度も要求される。

セルロースナノファイバー水分散液をキャスト成型することで、非常に透明性の高いフレキシブルなフィルムを作成することが出来る。このフィルムは非常に高い酸素バリア性を有し熱膨張率も低いことから、バイオマス由来の新規高ガスバリア性フィルムとして今後の展開が期待される⁴⁰⁾。

有機電解酸化の適用

C6位酸化セルロースの調製法としても一つの選択肢となり得るのが前章で行った有機電解酸化法である。有機電解酸化法では電気エネルギーによって、N-ヒドロキシルアミンすなわち還元型TEMPOの、N-オキソアンモニウム塩すなわち酸化型のTEMPOへの変換が水系で繰り返し行われるため、従来法のようなNaClOやNaClO₂といった塩素系の主酸化剤を一切用いずに反応が進行する。このようなTEMPOを用いた有機電解合成は1級水酸基を選択的に酸化するためのグリーンケミストリープロセスとして、既に様々な論文で報告されている^{15)-17),41),42)}。単糖あるいは二糖・三糖類に対しpH10の炭酸緩衝液を電解液としたTEMPO電解触媒酸化を行うと、それらのC6位カルボキシル化物が様々な収率(22-99%)で得られたことが報告されている^{15)-17),41)}。また、同様の方法でβ-シクロデキストリンおよびポテトスターチ中のC6位水酸基のうち、それぞれ74%および63%がカルボキシル基へと変換されたことも報告されている¹⁵⁾。

一方、前章においてカードランおよびアミロデキストリンにpH6.8条件下で4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化を適用したところ、大部分のC6位1級水酸基がカルボキシル化され、得られた酸化物の重合度も従来法に比較して非常に高いことが分かった⁴²⁾。さらに同様方法を市販の再生セルロース繊維であるビスコースレーヨンに適用したところ、相当量のカルボキシル基(1.1mmol/g)およびアルデヒド基(0.6mmol/g)がビスコースレーヨン試料中に導入されたにもかかわらず、繊維形状や繊維表面構造が維持されていた⁴²⁾。よって、このpH6.8条件下4-アセトアミドTEMPO触媒酸化は既報のpH10条件下の方法と比較してより特徴的な性質を持つ酸化物を生み出す可能性がある。

そこで本章では天然セルロースである針葉樹クラフトパルプ(SBKP)をpH10/TEMPO電解触媒酸化あるいはpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化の2通りの方法で酸化した。それぞれの方法で得られた酸化物に関して、酸化後の固形分収率、カルボキシル

基およびアルデヒド基導入量の測定、粘度法による分子量測定、X線回折パターンの測定を行い各種物性の比較を行った。また、各条件で得られた電解酸化SBKPに対し水中で分散処理を行いセルロースナノファイバーの調製を試みた。条件ごとにナノファイバーの分散状態を比較するため、ナノファイバー収率の測定及び透過型電子顕微鏡(TEM)による顕微鏡観察を行った。

3-4-2 実験

試料

未乾燥針葉樹クラフトパルプ(SBKP; Nippon Paper Ind., Japan)を木質系天然セルロース試料として用いた。SBKP はおよそ 90%のセルロースと 10%のヘミセルロースから成る。TEMPO,4-アセトアミド TEMPO およびその他の試薬や溶液類は市販の試薬グレードのものをを用いた(Wako Pure Chemicals, Co. Japan)。pH10 の炭酸緩衝液および pH6.8 のリン酸緩衝液を作成し、それらを電解液として用いた。

電流測定に関するシステム：

pH10 炭酸バッファ中での TEMPO および pH6.8 条件下での 4-アセトアミド TEMPO のサイクリックボルタンメトリーをカードソケット対応型ポテンシostat (SDPS-511C, Syrinx Co., Japan)を用いて行った⁴²⁾。有機電解酸化はポリメタクリル酸メチル製の 2 層分離式電解セル中で行い、電解セルの容量は反応セルを 280cm³、カウンターセルを 120cm³ とした。参照電極には水銀/硫化水銀参照電極を用いた。白金電極(ϕ 0.5 mm \times 23 cm)をカウンター電極、グラッシーカーボン電極(ϕ 3 mm \times 5 cm)を作用電極として用い、それぞれのセルをカチオン交換膜(Nafion® N424, 22 cm²)によって隔てた。

TEMPO または 4-アセトアミド TEMPO を用いた SBKP の有機電解酸化

TEMPO または 4-アセトアミド TEMPO を用いた有機電解酸化の電解セルの図を Fig.5-1 に示した。SBKP 1 g を出発物質とし TEMPO(300 mg, ca. 2 mmol)または 4-アセトアミド TEMPO(430 mg, ca. 2 mmol)とともに、反応セル内で pH10 の 0.1M 炭酸緩衝液または pH6.8 の 0.1M リン酸緩衝液に浸漬した。反応セル中で磁気攪拌子による試料の攪拌を継続しながら、ポテンシostatモード・0.50V (versus Hg|Hg₂SO₄|K₂SO₄) に設定し、室温で電解酸化を 6~48 時間行った。電解酸化中の電流値は反応開始から終了まで、1 秒ごとに記録した。得られた電解酸化 SBKP は蒸留水を用いてろ過洗浄し、未乾

乾燥状態で冷蔵保存（4 °C）した。また、試料の一部を凍結乾燥し各種分析に供した。

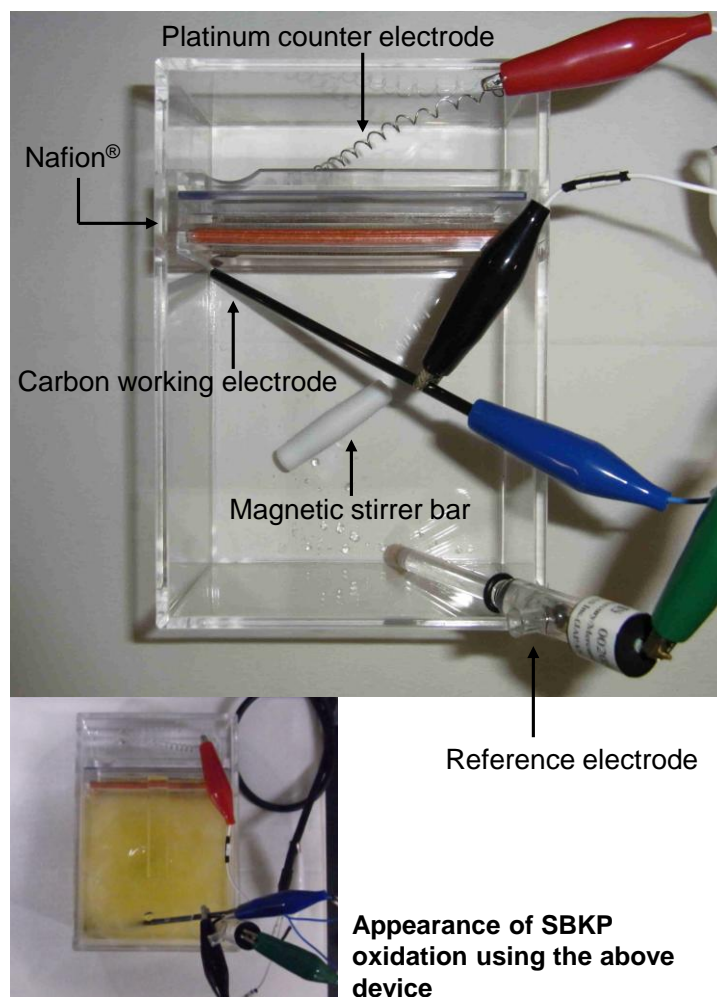


Fig. 3-4-1 A TEMPO electro-mediated oxidation device and appearance of SBKP oxidation using the device.

カルボキシル基量およびアルデヒド基量測定：

各種条件において得られた電解酸化 SBKP のカルボキシル基量を、既報に基づき電導度滴定法を用いて測定した。また、電解酸化 SBKP 中には 1 級水酸基のカルボキシル化の際に中間体として生じるアルデヒド基が残存していると予想されるため、アルデヒド基の定量も行った。亜塩素酸ナトリウムを pH4-5 で 2 日間室温にて反応を行い、電解酸化再生セルロース中に含まれるアルデヒド基を選択的にカルボキシル基へと追酸化した。こうして得られた追酸化再生セルロースの全カルボキシル基を電導度滴定法によって測定し、追酸化前後のカルボキシル基量増分を、本来電解酸化再生セルロース繊維中に含まれていたアルデヒド基量と見なした^{2),4),26)-28),36)}。

その他分析および光学顕微鏡観察：

オリジナル SBKP および各種条件で得られた電解酸化 SBKP を 0.5M 銅エチレンジアミン溶液に溶解させ、既報に基づき粘度法により粘度平均重合度(DP_v)を測定した²⁾。なお、0.5M 銅エチレンジアミン溶液はアルカリ性のため、試料中のアルデヒド基に起因する β-脱離反応により粘度測定中に分子鎖の切断を引き起こし、重合度が低下してしまう恐れがある。そこで、電解酸化再生セルロース繊維に関しては前項と同様の方法でアルデヒド基を選択的にカルボキシル基へと変換した追酸化再生セルロース繊維を測定用の試料とした^{2),4)}。

オリジナル SBKP および各種条件で得られた電解酸化 SBKP 各 0.1g を 750MPa で 1 分間プレスしペレット状に成型し、X 線回折パターン測定用の試料とした。測定機器はニッケルフィルター処理した Cu-Kα 放射線(λ = 0.15418 nm)モノクロメーター付き Rigaku RINT 2000 を用い、回折角度 5°-35° の範囲で反射法により行った。得られた回折パターンから、既報に基づき各試料の結晶化度を計算した^{29),30)}。

電解酸化 SBKP の機械的解繊処理と透過型電子顕微鏡観察

各種条件で得られた電解酸化 SBKP の 0.12%(w/v)懸濁液 20mL を蒸留水を用いて調製した。ダブルシリンダータイプのホモジナイザー(Physoctron NS-56, Microtec Niton Co. LTD., Japan)を用いて、先程の懸濁液を 10,000 rpm で 2 分間解繊処理を行った。ゲル状に膨潤した電解酸化 SBKP に対し、φ 7 mm プローブチップ付きの超音波ホモジナイザー(US-300T, Nihonseiki, Japan)を用いて、19.5 kHz・出力 300 W の条件でさらに 2 分間処理し、セルロースナノファイバー水分散液を調製した。未解繊部分を始めとした夾雑物は 13,000 g で 5 分間遠心分離を行うことで除去した。遠心分離前後でのセルロース濃度

を比較することで、電解酸化 SBKP 試料全体のうちナノファイバーとして分散した割合をナノファイバー収率として算出した。

遠心分離前の夾雑物未除去セルロースナノファイバー水分散液をセルロース濃度 0.01% (w/v) に調製し、TEM 観察用のグリッド（カーボンで被覆された銅グリッドでグロー放電処理済み）上にキャストした。過剰な水分はろ紙で吸収・除去し、試料は風乾状態とした。試料は透過型電子顕微鏡（JEOL JEM-2000EX）を用い加速電圧 100kV で観察した。観察画像は既報に基づき、染色法は用いず低線量被ばくの状態、明視野モードで回折コントラスト法により撮影した^{2),43)}。

3-4-3 結果および考察

TEMPO または 4-アセトアミド TEMPO を用いた SBKP の電解酸化

SBKP を pH10/TEMPO 電解触媒酸化あるいは pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化に供したところ、N-オキソアンモニウム化合物の生成により反応セル中の SBKP スラリーは黄色へと変化した（Fig.3-4-1）。反応の進行とともに、白金カウンター電極からは継続的に水素ガスの発生が見られた⁴²⁾。

pH10 炭酸バッファ中での TEMPO および pH6.8 条件下での 4-アセトアミド TEMPO のサイクリックボルタンメトリーの結果を Fig.3-4-2 に示した。TEMPO・4-アセトアミド TEMPO 共に緩衝液中で正方向および負方向への電位掃引を繰り返したところ、それに対応する酸化波及び還元波の安定したピークが確認された。これは TEMPO および 4-アセトアミド TEMPO 共に、オキソアンモニウム型およびヒドロキシルアミン型へと繰り返し安定的に変換されていることを示しており、本検討の条件において基質となる試料の 1 級水酸基を選択的に酸化可能であることを示している。一般的に酸化還元電位は酸化力および還元力の強さと相関があるため、サイクリックボルタンメトリーの酸化ピークおよび還元ピークにおける電位の平均からそれぞれの酸化還元電位を求めたところ、TEMPO の pH10 における酸化還元電位は 0.12V、4-アセトアミド TEMPO の pH6.8 における酸化還元電位は 0.22V であった。このように TEMPO および 4-アセトアミド TEMPO において酸化還元電位には若干の違いが見られたものの、後述のように SBKP 中の C6 位に対する酸化効率に大きな違いは見られなかった。すなわち、TEMPO およびその誘導体の SBKP 酸化効率は酸化還元電位の違いだけでは説明できないと言える⁴⁴⁾。

SBKP を pH10/TEMPO 電解触媒酸化に供した際の、電流値の変化を Fig.3-4-3 に示し

た。反応を 48 時間進行させたところ、電流値は約 8mA から 2mA 程度にまで減少した。
このグラフから電流値の減少がプラトーレベルに達したと判断し、本検討においては最大 48 時間で反応終了させることとした。

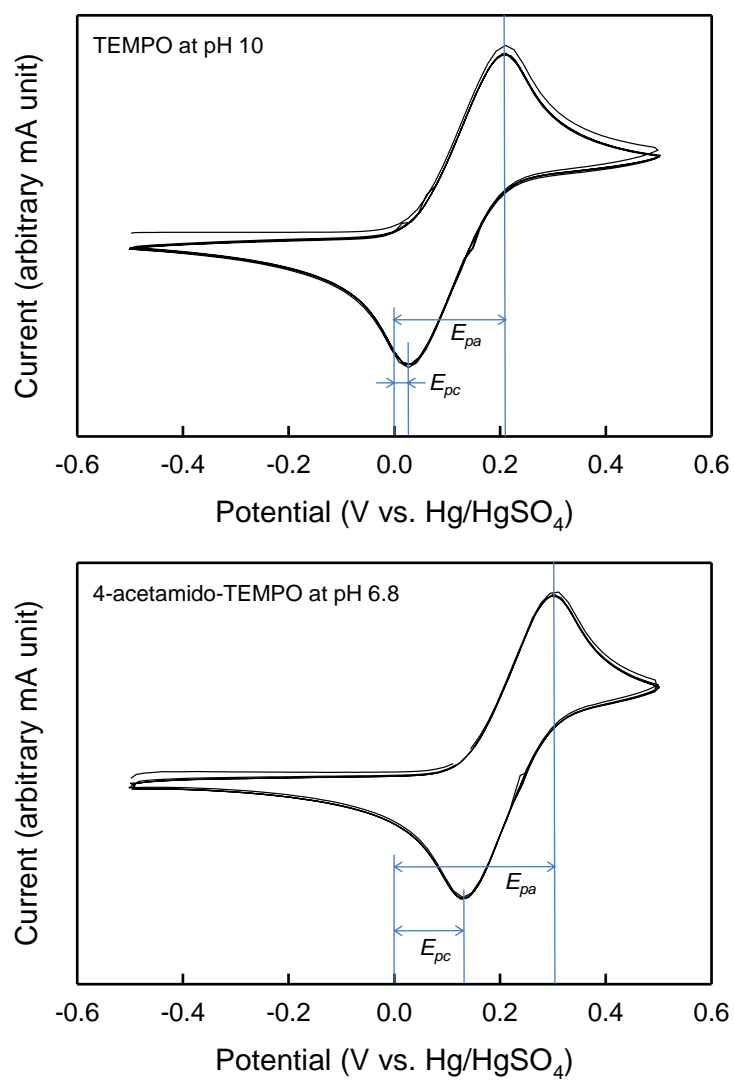


Fig. 3-4-2 Cyclic voltammograms of TEMPO and 4-acetamido-TEMPO in water at pH 10 and 6.8, respectively. E_{pa} and E_{pc} correspond to the oxidation and reduction potentials, respectively.

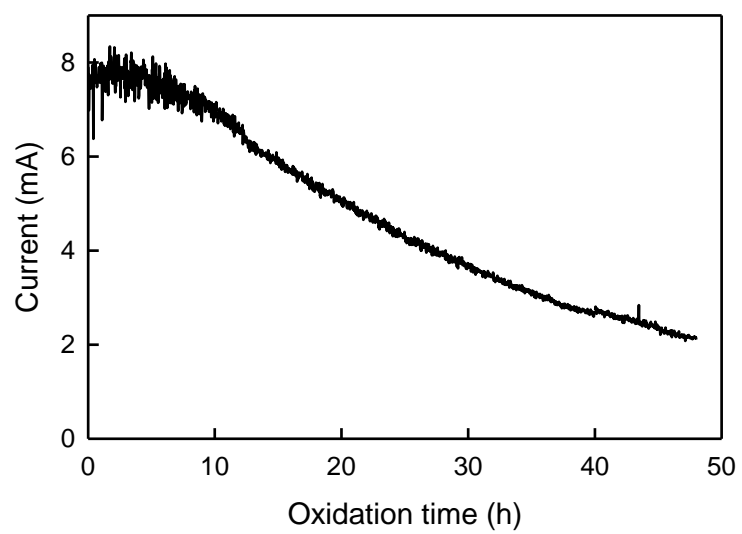


Fig. 3-4-3 Relationship between TEMPO electro-mediated oxidation time of SBKP at pH 10 and the corresponding current value.

電解酸化SBKPのカルボキシル基量およびアルデヒド基量：

各反応時間においてpH10/TEMPO電解触媒酸化またはpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化により導入されたカルボキシル基量・アルデヒド基量、および水不溶分として回収された固形分回収率をまとめてFig.3-4-4に示した。48時間反応後の固形分率回収率はpH10/TEMPO電解触媒酸化では83%、pH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化では93%となり、どちらの反応を用いても高い収率で電解酸化SBKPを調製できたことがわかった。これらの固形分回収の際の重量損失はヘミセルロースや低分子量のセルロース分子が低分子化して水可溶化したことに、ろ過洗浄の固形分回収過程で除去されてしまったことに起因し、この低分子化はpH10においてより顕著であることからpH10/TEMPO酸化システムにおける固形分回収率がpH6.8/4-アセトアミドTEMPOの場合と比べて低くなっていると考えられる。

カルボキシル基量に関しては反応時間が長くなるにつれて導入量が増えており、48時間後にはどちらのpH条件においてもおよそ1mmol/g程度が導入されていた。また反応条件に関わらず電解酸化SBKP中には相当量のアルデヒド基(0.17-0.38mmol/g)が残存していることが確認され、これは従来のpH10条件下でTEMPO/NaBr/NaClOシステムにより得られた酸化SBKP中のアルデヒド基量(<0.08mmol/g)と比較すると明らかに高い値である⁹⁾。この結果はTEMPO/NaBr/NaClOシステムにおいてC6位のカルボキシル化の過程で反応中間体として生じるアルデヒド基の酸化が、一部生じたBrO⁻あるいはClO⁻によって促進されていることを示している。しかしながら、図にも示してあるように塩素系主酸化剤やその他共酸化剤を一切用いない電解酸化法でも、相当量のカルボキシル基がSBKP中に導入されていることも確かである。すなわち、塩素系の主酸化剤無しに電解酸化で生じたTEMPOおよび4-アセトアミドTEMPOの酸化型であるオキソアンモニウム化合物単体でも、SBKP中のC6位1級水酸基を、アルデヒド基を経てカルボキシル基へと変換する能力があることは明らかである。結論として、水系・室温でSBKPに対しpH10/TEMPO電解触媒酸化またはpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化のどちらを用いた場合でも、相当量のカルボキシル基およびアルデヒド基が導入された電解酸化SBKPを調製でき、高い固形分収率で回収することが出来た。一方、必要な反応時間は48時間程度となり、従来のTEMPO/NaBr/NaClO系システムの反応時間が2時間以内であるのと比べると比較的長時間であることが分かった。

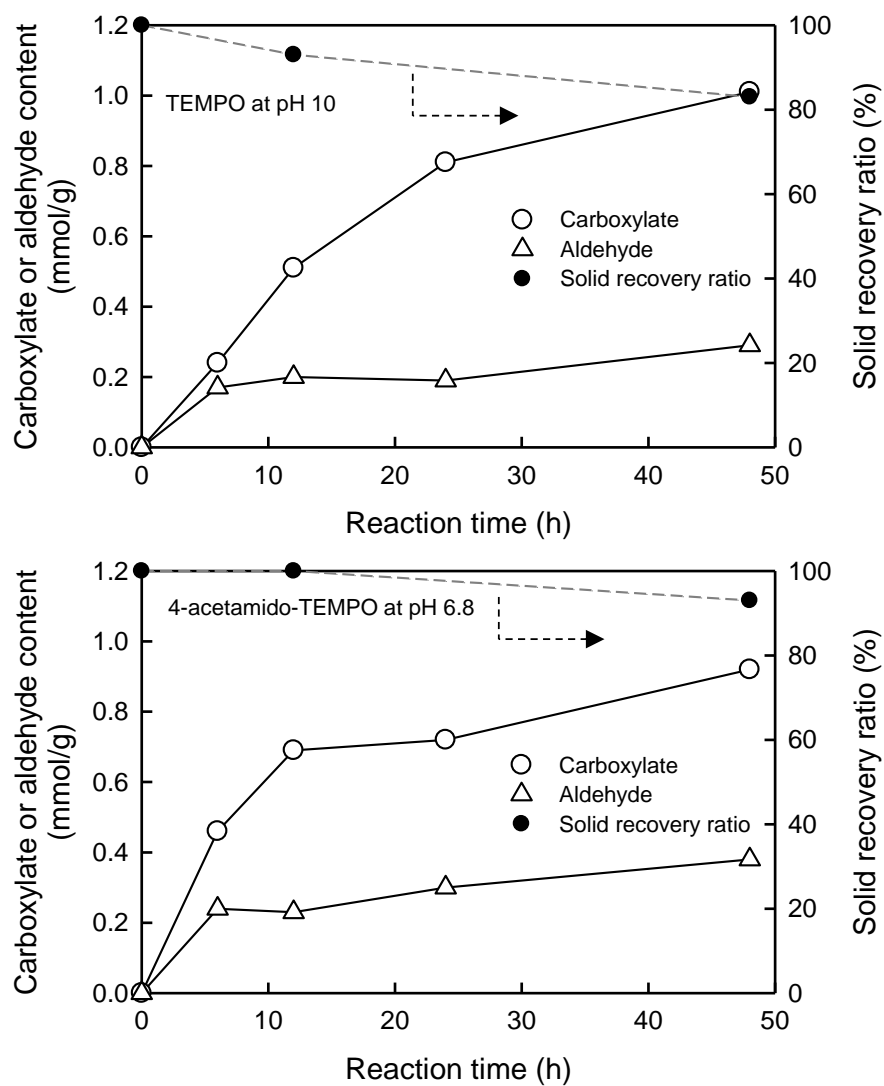


Fig. 3-4-4 Carboxylate and aldehyde contents and solid recovery ratio of oxidized SBKPs prepared at different reaction times by electrochemical method with TEMPO at pH 10 and 4-acetamido-TEMPO at pH 6.8.

SBKP の各酸化時間において消費された総電荷量(C)を Fig.3-4-3 の電流値の変化から計算し、その中で試料のカルボキシル基およびアルデヒド基形成に消費された電荷量の占める割合を電流収率として Fig.3-4-5 に示した。これらの図から、酸化時間が長くなるにつれて電流収率が低下していく様子が確認された。48 時間酸化後では、pH10/TEMPO 電解触媒酸化および pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化において C6 位の酸化のために消費された電荷量の割合はそれぞれ 41%および 54%であった。これは反応時間が長くなるにつれて未反応の C6 位一級水酸基が減少していく一方、TEMPO または 4-アセトアミド TEMPO のオキシアンモニウムイオン化が進行するため、結果的に過剰量のオキシアンモニウムイオン型 TEMPO または 4-アセトアミド TEMPO の生産に電荷が消費されてしまうためではないかと考えた。さらに反応時間が 24-48 時間の場合は前述の内容を考慮しても電流収率の損失が大きいことから、それ以外の副反応にエネルギーが費やされている可能性も考えられる。

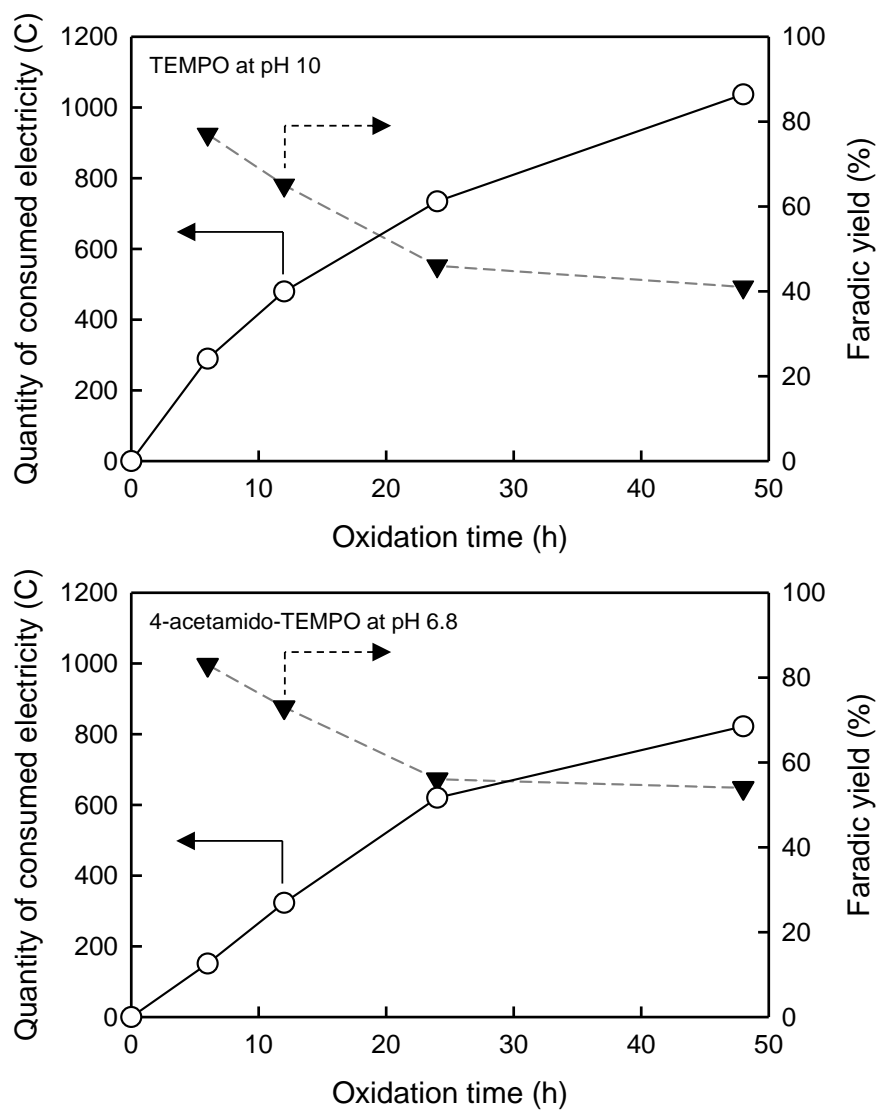


Fig. 3-4-5 Quantities of consumed electricity and the corresponding faradic yields at different oxidation times of SBKP by electrochemical reaction with TEMPO at pH 10 and 4-acetamido-TEMPO at pH 6.8. Yields are calculated from the quantity of consumed electricity and content of oxidized groups in SBKPs in Fig. 3-4-3.

電解酸化SBKPの粘度平均重合度と結晶構造

電解酸化時間と電解酸化SBKPの粘度平均重合度(DP_v)の関係をFig.3-4-6に示した。SBKPに対しpH10/TEMPO電解触媒酸化を48時間行った場合、オリジナルのDP_vが900程度であるのに対しおよそ200程度にまで低分子化が進行していた。低分子化の機構については、pH9-11/ TEMPO/NaBr/NaClO酸化において反応中間体として生じるC6位のアルデヒド基が弱アルカリ性条件下でβ-脱離反応を引き起こすことが報告されている^{24),45)}。また、TEMPO/NaBr/NaClO酸化プロセスにおいて副生成物として生じる活性ラジカル種が酸化セルロースあるいは酸化カードラン等において極度な低分子化を引き起こす要因の一つではないかという説も提唱されている^{6),36),46)}。一方で、SBKPのような天然セルロースにTEMPO触媒酸化を適用した場合セルロースマイクロフィブリル表面に露出したC6位のみが選択的に酸化されることが既に確かめられていることから³⁸⁾、pH10/TEMPO電解触媒酸化によって、セルロースマイクロフィブリル内部も含めた周期的に存在する⁴⁷⁾すべての非晶領域においてアルデヒド基が導入されたとは考えにくい。すなわちpH10/TEMPO電解触媒酸化において試料であるSBKPの激しい低分子化が引き起こされた原因は、SBKPの天然セルロースマイクロフィブリルの結晶の非晶領域に侵入できるほどサイズが小さい何らかのラジカル種（例えばOHラジカルのような）が電解酸化中の副反応により生じたのではないかと考えられる。

一方pH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化において、pH10/TEMPO電解触媒酸化と同程度のカルボキシル基が導入されたにもかかわらず試料の低分子化は顕著に抑制されていることが分かった。これはpH10条件と比較した場合、pH6.8条件下においてはアルデヒド基に起因するβ-脱離反応が抑制されているだけでなく、副生成物である活性ラジカル種の生成量が比較的少ないためではないかと考えた。まとめると、pH10/TEMPO電解触媒酸化と比較した場合、pH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化で得られる電解酸化SBKPは水系・室温下で同程度のカルボキシル基を導入できるにもかかわらず高い重合度を保持していた。

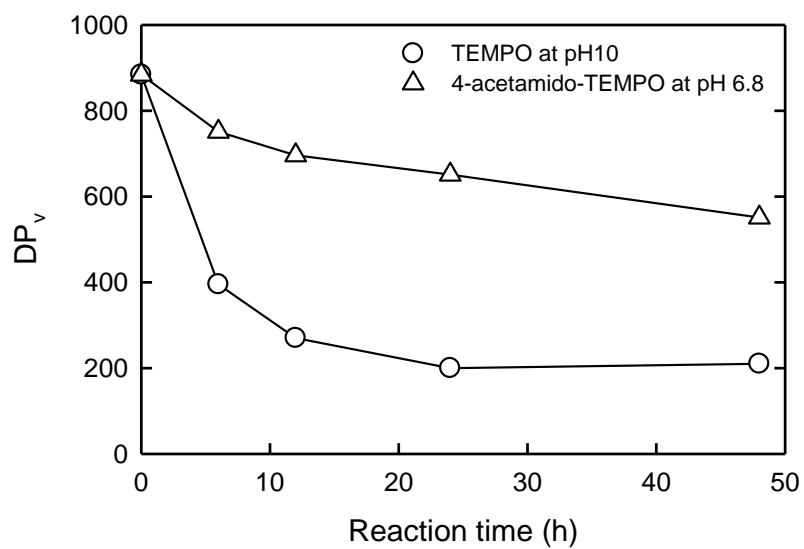


Fig. 3-4-6 DP_v values of oxidized SBKPs prepared at different reaction times by electrochemical method with TEMPO at pH 10 and 4-acetamido-TEMPO at pH 6.8.

オリジナルSBKP、およびpH10/TEMPO電解触媒酸化あるいはpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化によって得られた電解酸化SBKPのX線回折パターンをFig.3-4-7に示した。回折角度 $2\theta=13-18^\circ$ の(1 -1 0)面および (1 1 0)面に相当するピークが電解酸化によって若干変化しているものの、オリジナルのセルロース I 型結晶に由来するピークは電解酸化後でも維持されていることが確認された。さらに既報に基づき各X線回折パターンから結晶化度を求めたところ^{29),30)}、オリジナルSBKP、pH10/電解酸化SBKPおよびpH6.8/電解酸化SBKPに関して全て同じ値であり、電解酸化による結晶化度への影響は見られなかった。既報に基づきシェラー式を用いて(2 0 0)面に相当するピークの半値幅から結晶幅を算出したところ、全て3-4nmとなり、これに関しても電解酸化による影響は見られなかった。すなわち、従来のpH10/ TEMPO/NaBr/NaClO 法あるいはpH4-7/TEMPO/NaClO/NaClO₂法と同様に、TEMPO電解触媒酸化においてもセルロースのC6位水酸基の酸化はマイクロフィブリル結晶の表面にのみ選択的に進行していると考えられる^{36),38),39)}。

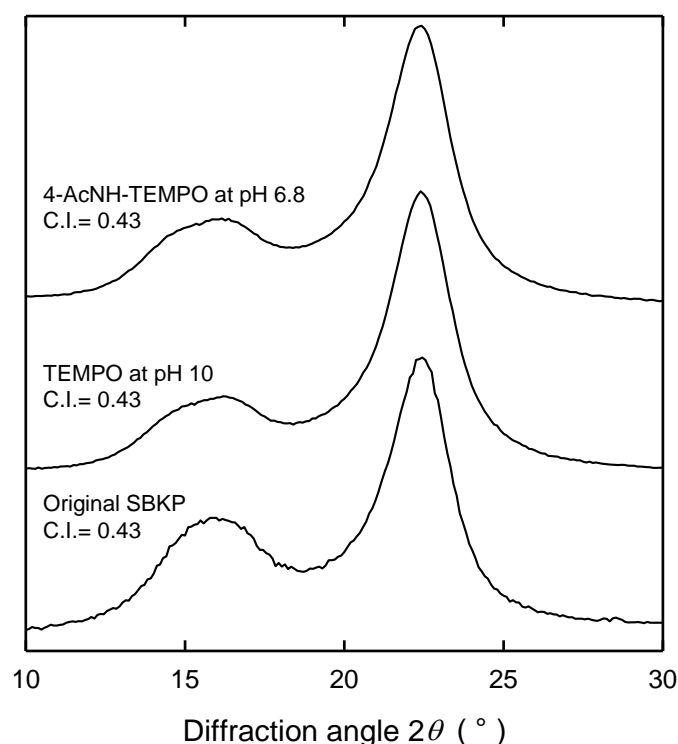


Fig. 3-4-7 X-ray diffraction patterns of the original SBKP and oxidized SBKPs prepared by electrochemical method for 48 h with TEMPO at pH 10 and 4-acetamido-TEMPO at pH 6.8. C.I: crystallinity index.

TEMPO電解触媒酸化セルロースナノファイバーの透過型電子顕微鏡観察

各種pH条件および反応時間で調製した電解酸化SBKPに対し、水中で機械的解繊処理を施した。48時間電解酸化を行ったSBKPからは高粘度で透明性の高いゲル状の分散液が得られた。一方で、6-24時間電解酸化SBKPを機械解繊処理して得られた水分散液は不透明であったが、これは未解繊部分が多く残されているためと考えられる。反応時間を長くするほどカルボキシル基導入量が増加するため、24時間反応まででは水中でマイクロフィブリル同士が静電的な反発によって安定に分散するために十分な量のカルボキシル基が導入されていないと考えられる。Fig.3-4-8にpH10/TEMPO電解触媒酸化、Fig.3-4-9にpH6.8電解触媒酸化によって各反応時間において得られたSBKPを同条件で水中解繊処理したものの透過型顕微鏡（TEM）観察写真を示した。これらのTEM観察写真は機械処理によって得られた各電解酸化SBKP水分散液を、未解繊夾雑物を除去せずにキャスト・乾燥したものを観察試料とし撮影した。一方、Fig.3-4-8および3-4-9に示されているナノファイバー収率は、機械処理後に得られた電解酸化水分散液から未解繊夾雑物を遠心分離によって除去し、試料全量に対する解繊部分の重量比として算出した。その結果、反応時間が長くなりカルボキシル基の導入量が増えるほど、ナノファイバー収率も上昇することがわかった。特に6時間または12時間の段階ではカルボキシル基量の低さからナノファイバー化もあまり進まず、TEM観察写真においても未解繊のバンドル状マイクロフィブリル束が随所にみられた。反応時間が進みおよそ0.9mmol/g以上のカルボキシル基が導入されると機械処理によるナノファイバー化が促進し、ナノファイバー収率は80%以上にまで上昇した。

TEM観察写真から判断すると、単離されたセルロースナノファイバーの長さは数 μm 程度と見積もられた。一方セルロースナノファイバーの平均幅をTEM観察写真から見積もったところ、約5-7nmであった。これは既報において酢酸ウラニル染色法によるTEM観察の結果TEMPO酸化セルロースナノファイバーの幅が3-4nmと報告されていることと比較すると若干大きい値となっている²⁸⁾。今回用いたTEM観察手法が回折コントラスト法であるため若干の焦点にずれが生じ、セルロースナノファイバーの幅長さが若干大きく観察されてしまったためと考えられる。両図において、セルロースナノファイバー上に折れ曲がり箇所が見られるが、これは水中で機械処理によるナノ分散を行った際にできたものと考えられる。Fig.3-4-8とFig.3-4-9を見比べると、特に48時間酸化の写真において顕著であるが、pH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化のものに比べてpH10/TEMPO電解触媒酸化によって得られたセルロースナノファイバーは明らかに折れ曲がり箇所が多く存在していた。前述の重合度測定の結果からpH10/TEMPO電解触媒

酸化によって得られた電解酸化SBKPは激しい低分子化が進行してファイバー自体がダメージを受けていることが判明しており、同じ機械処理を施した場合、より多くの折れ曲がり部分が生じたと考えられる。

結果として、本検討における2種類の電解酸化法を比較すると、pH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化によって得られた電解酸化SBKPは重合度および固形分回収率が高く、その後の機械処理を経て得られるセルロースナノファイバーもよりダメージ、すなわち折れ曲がり箇所の少ないものが得られることがわかった。

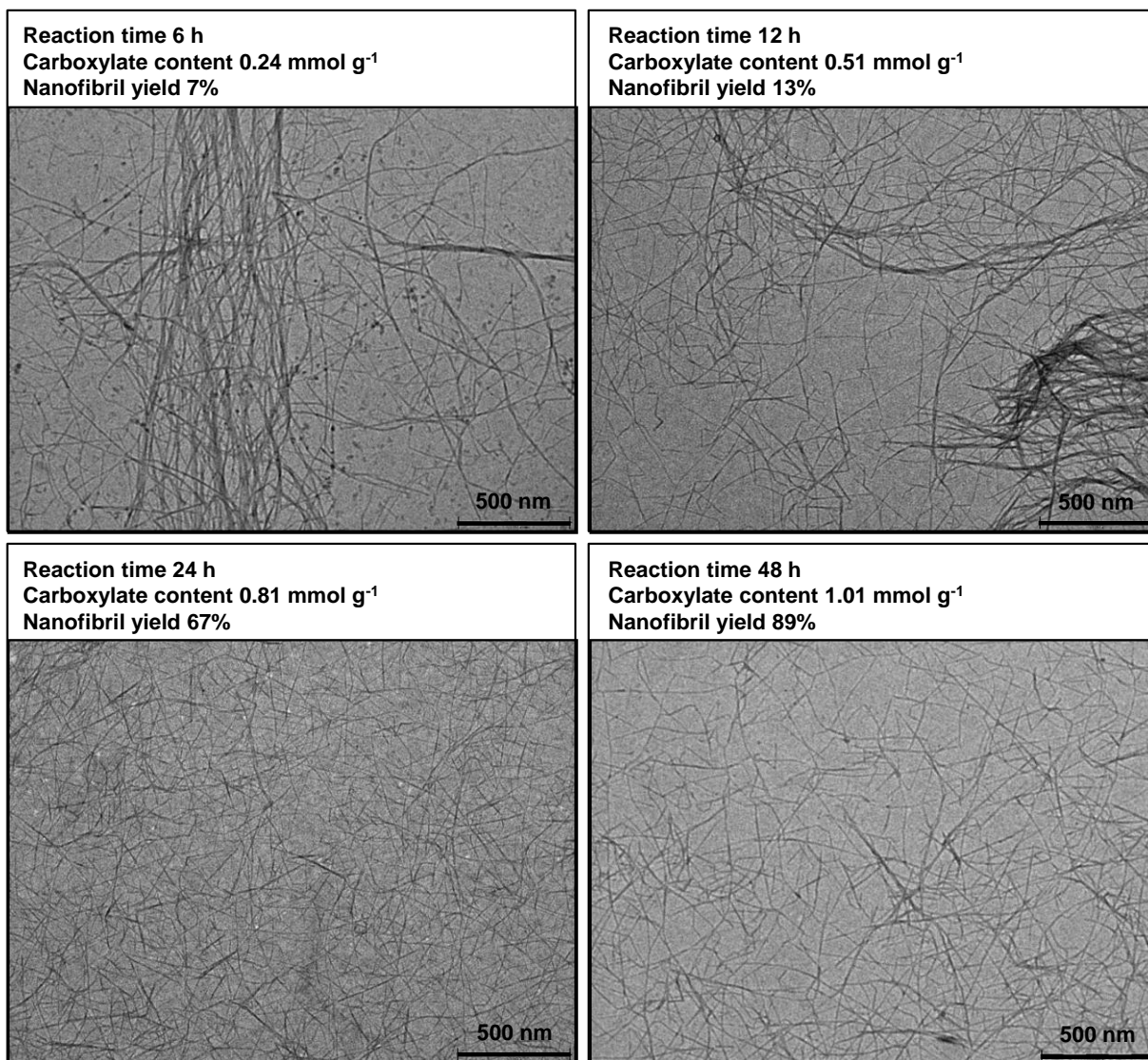


Fig. 3-4-8 TEM images of oxidized and then disintegrated SBKPs in water without centrifugation. Oxidized SBKPs were prepared by electrochemical method with TEMPO at pH 10 for 6–48 h.

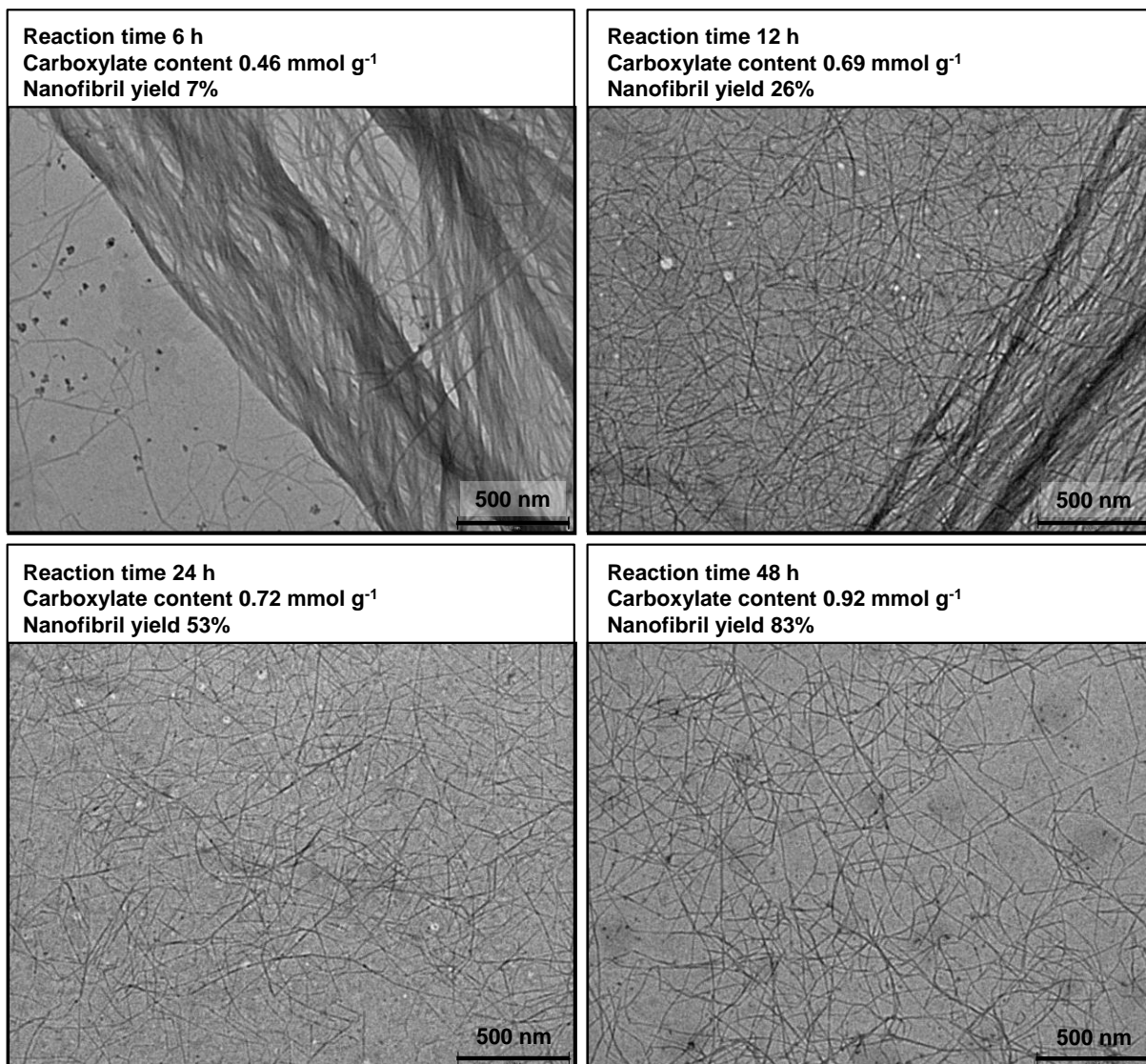


Fig. 3-4-9 TEM images of oxidized and then disintegrated SBKPs in water without centrifugation. Oxidized SBKPs were prepared by electrochemical method with 4-acetamido-TEMPO at pH 6.8 for 6–48 h.

3-4-4 結論

SBKPに対し、pH10炭酸緩衝液を電解液としたTEMPO電解触媒酸化を室温で48時間行ったところ、1.01mmol/gのカルボキシル基および0.29mmol/gのアルデヒド基をそれぞれ導入することに成功した。また、その際の固形分回収率は83%、粘度平均重合度は210であった。一方、pH6.8リン酸緩衝液を電解液とした4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化を同様の条件でSBKPに適用したところ、0.92mmol/gのカルボキシル基および0.38mmol/gのアルデヒド基をそれぞれ導入することに成功し、その固形分回収率は93%、粘度平均分子量は550であった。すなわち、pH10/TEMPO電解触媒酸化およびpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化のどちらの手法を用いてもSBKPに相当量のカルボキシル基およびアルデヒド基を導入することに成功したにもかかわらず、その材料特性には大きな違いが見られた。

X線回折パターンの結果から電解酸化後でもSBKPはセルロース I 型の結晶構造を保持しており、その結晶化度および結晶幅には全く変化が無かったことから、電解酸化におけるSBKPのC6位カルボキシル化は従来法のTEMPO触媒酸化と同様、セルロースミクロフィブリル結晶の表面に選択的に進行していることが示された。

TEM観察の結果から、電解酸化SBKPに対しを水中で解繊処理を施すと、試料の一部または大部分がミクロフィブリル一本ずつの単位でセルロースナノファイバーとして水中に分散できることが確認された。導入されたカルボキシル基量が0.9mmol/g以上になると、ナノファイバー収率は80%を超えていた。

本検討においてpH10/TEMPO電解触媒酸化およびpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化のどちらの手法を用いても、相当量のカルボキシル基およびアルデヒド基をSBKPのセルロースミクロフィブリル表面に導入する出来ることが判明し、結果として一切の塩素系酸化剤を用いることなく、セルロースナノファイバーの調製に成功した。

参考文献

- 1) Hirota, M.; Tamura, N.; Saito, T.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2009, **78**, 330–335.
- 2) Saito, T.; Hirota, M.; Tamura, N.; Kimura, S.; Fukuzumi, H.; Heux, L.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2009, **10**, 1992–1996.
- 3) Hirota, M.; Tamura, N.; Saito, T.; Isogai, A. *Cellulose* 2009, **16**, 841–851.
- 4) Saito, T.; Hirota, M.; Tamura, N.; Isogai, A. *J. Wood Sci.* 2010, **56**:227–232
- 5) Hirota, M.; Tamura, N.; Saito, T.; Isogai, A. *Cellulose* 2010, **17**, 279–288.
- 6) Tamura, N.; Hirota, M.; Saito, T.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2010, **81**:592–598.
- 7 Shono, T. *Tetrahedron* 1984, **40**, 811–850.
- 8) Comninellis, C.; Nerini, A. *J. Appl. Electrochem.* 1995, **25**, 23–28.
- 9) Hamnett, A. *Catal. Today* 1997, **38**, 445–457.
- 10) Zhang, Y.; Zhang, L.; Shuang, S.; Feng, F.; Qiao, J.; Guo, Y.; Choi, M. M. F.; Dong, C. *Anal. Lett.* 2010, **43**, 1055–1065.
- 11) Danaee, I.; Jafarian, M.; Mirzapoor, A.; Gobal, F.; Mahjani, M. G. *Electrochim. Acta* 2010, **55**, 2093–2100.
- 12) Nishiguchi, I.; Nonaka T. *Kagaku to Kyoiku* 1997, **45**, 124–133
- 13) Bragd, P. L.; van Bekkum, H.; Besemer, A. C. *Top. Catal.* 2004, **27**, 49–66.
- 14) Kishioka, S.; Ohki, S.; Ohsaka, T.; Tokuda, K. *J. Electroanal. Chem.* 1998, **452**, 179–186.
- 15) Schnatbaum, K.; Schafer, H. *J. Synthesis* 1999, **5**, 864–872.
- 16) Belgsir, E. M.; Schafer, H. *J. Electrochem. Commun.* 2001, **3**, 32–35.
- 17) Liaigre, D.; Breton, T.; El. Belgsir, E. M. *Electrochem. Commun.* 2005, **7**, 312–316.
- 18) Barhdadi, R.; Comminges, C.; Doherty, A. P.; Nedelec, J. Y.; O'Toole, S.; Troupel, M. *J. Appl. Electrochem.* 2007, **37**, 723–728.
- 19) Yoshida, T.; Kuroboshi, M.; Oshitani, J.; Gotoh, K.; Tanaka, H. *Synlett.* 2007, **17**, 2691–2694.
- 20) Comminges, C.; Barhdadi, R.; Doherty, A. P.; O'Toole, S.; Troupel, M. *J. Phys. Chem. A* 2008, **112**, 7848–7855.
- 21) Isogai, T.; Yanagisawa, M.; Isogai, A. *Cellulose* 2009, **16**, 117–127.
- 22) Tamura, N.; Wada, M.; Isogai, A. *Carbohydr. Polym.* 2009, **77**, 300–305.
- 23) Shibata, I.; Yanagisawa, M.; Saito, T.; Isogai, A. *Cellulose* 2006, **13**, 73–80.
- 24) Potthast, A.; Schiehser, S.; Rosenau, T.; Kostic, M. *Holzforschung* 2009, **63**, 12–17.
- 25) Isogai, A.; Kato, Y. *Cellulose* 1998, **5**, 153–164.

- 26) Saito, T.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2004, **5**, 1983–1989.
- 27) Saito, T.; Nishiyama, Y.; Putaux, J.-L.; Vignon, M.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2006, **7**, 1687–1691.
- 28) Saito, T.; Kimura, S.; Nishiyama, Y.; Isogai, A. *Biomacromolecules* 2007, **8**, 2485–2491.
- 29) Wada M, Heux L, Sugiyama J (2004) *Biomacromolecules* **5**:1385–1391.
- 30) Segal L, Creely JJ, Martin Jr AE, Conrad CM (1959) *Textile Res J* **29**:786–794.
- 31) Coseri, S.; Nistor, G.; Frascu, L.; Strnad, S.; Harabagiu, V.; Simionescu, B. C. *Biomacromolecules* 2009, **10**, 2294–2299.
- 32) Woodcock, S.; Henrissat, B.; Sugiyama, J. *Biopolymers* 1995, **36**, 201–210.
- 33) van de Ven, T. G. M.; Saint-Cyr, K.; Allix, M. *Colloids Surf., A* 2007, **294**, 1–7.
- 34) Eichhorn SJ, Dufresne A, Aranguren M, Marcovich NE, Capadona JR, Rowan SJ, Weder C, Thielemans W, Roman M, Renneckar S, Gindl W, Veigel S, Keckes J, Yano H, Abe K, Nogi M, Nakagaito AN, Mangalam A, Simonsen J, Benight AS, Bismarck A, Berglund LA, Peijs T (2010) Review: current international research into cellulose nanofibers and nanocomposites. *J Mater Sci* 45:1–33
- 35) Dong XM, Revol JF, Gray DG (1998) *Cellulose* **5**:19–32
- 36) Isogai A, Saito T, Fukuzumi H (2010) *Nanoscale* 2:in press. doi: 10.1039/c0nr00583e
- 37) de Nooy AEJ, Besemer AC, van Bekkum H (1995) *Carbohydr Res* **269**:89–98
- 38) Okita Y, Saito T, Isogai A (2010) *Biomacromolecules* **11**:1696–1700
- 39) Hirota M, Furihata K, Saito T, Kawada T, Isogai A (2010) *Angew Chem Int Ed* **49**:7670–7672
- 40) Fukuzumi H, Saito T, Iwata T, Kumamoto Y, Isogai A (2009) *Biomacromolecules* **10**:162–165
- 41) Parpot P, Servat K, Bettencourt AP, Huser H, Kokoh KB (2010) *Cellulose* **17**:815–824
- 42) Isogai T, Saito T, Isogai A (2010) *Biomacromolecules* **11**:1593–1599
- 43) Sugiyama J, Vuong R, Chanzy H (1991) *Macromolecules* **24**:4168–4175
- 44) Iwamoto S, Kai W, Isogai T, Saito T, Isogai A, Iwata T (2010) *Polym Degrad Stab* **95**:1394–1398
- 45) de Nooy AEJ, Besemer AC, van Bekkum H, van Dijk JAPP, Smit JAM (1996) *Macromolecules* **29**:6541–6547
- 46) Shibata I, Isogai A (2003) *Cellulose* **10**:151–158
- 47) Nishiyama Y, Kim UJ, Kim DY, Katsumata KS, May RP, Langall P (2003)

第 4 章

総括

総括

本研究では様々なセルロース系試料から **TEMPO** 触媒酸化によってセロウロン酸を調製し、出発試料の重合度および結晶構造と得られたセロウロン酸の重合度を比較することによって、元のセルロース試料の結晶構造に関する新たな知見を得た。また、天然セルロースを機械処理により粉碎した試料に **TEMPO** 触媒酸化を適用することにより、化学的前処理を用いずにセロウロン酸を調製することに成功した。一方、**TEMPO** 電解触媒酸化法によって、塩素系試薬を一切用いることなく天然セルロースからセルロースナノファイバーを調製することにも成功した。さらに **TEMPO** 電解触媒酸化法を再生セルロース繊維に適用したところ、オリジナルの繊維形状を保ったまま酸化を進行させることが可能となり、従来法では得られなかったカルボキシル化再生セルロース繊維の調製法を確立することが出来た。

再生セルロースの **TEMPO** 触媒酸化およびその高次構造に関する検討について

マーセル化セルロース試料およびその希酸加水分解物の重合度について、**SEC-MALLS** を用いることによって詳細に検討したところ、セルロースの希酸加水分解物の重合度は **SEC** 溶出パターンにおいて二山型になり、多角度光散乱による分子量測定結果は 60~70 程度となった。この二山型のピークのうち副成分に当たる低分子側の画分は再生セルロース試料の希酸加水分解物中にも含まれていることが判明した。この画分のピークトップの重合度は約 20 であり、セルロースの由来に寄らず全ての試料に存在していたことから、セルロースの高次構造を形成するうえで何らかの構造単位を反映していると考えられる。また、再生セルロースを高濃度アルカリ浸漬処理したのちに希酸加水分解すると、**LODP** の値が増大するという現象が確認された。溶出パターン上では副成分である低分子側の画分の位置は変わらずに主成分のピークトップが大きく高分子側にシフトしていることから、高濃度アルカリ処理によって再生セルロースの結晶領域にあたる部分で新たな高次構造が形成されたと考えられた。そしてその構造はほぼ同一の溶出パターンを与えたことから、高濃度アルカリ処理によって形成される高次構造は、天然セルロース由来であっても再生セルロース由来であっても同様のパターンを持っていると考えられる。

一方、**pH10/TEMPO/NaBr/NaClO** 酸化により再生セルロースから調製されるセロウロン酸の重合度は、由来となる再生セルロース自身の **LODP** に対応する値であると予測し、実際にマーセル化天然セルロースからは、ほぼ元の **LODP** に等しい重合度のセロウロン

酸を調製することに成功した。しかしながら、前項の検討で再生セルロースの LODP がマーセル化処理によって増大していたにも拘らず、そこから調製されたセロウロン酸はもとの再生セルロース自身をもつ LODP=40 に等しい値であった。このことから、再生セルロースのマーセル化処理によって生じた新たな高次構造は希酸加水分解処理による低分子化においては反映されるが TEMPO 触媒酸化による低分子化においては反映されないものであると考えた。

また、セルロース I 型結晶をもつ天然セルロースからセロウロン酸を調製するために、結晶領域の物理的粉碎を試みた。こうして得られた非晶セルロースを出発物質として TEMPO 触媒酸化を行ったところ、セロウロン酸の調製に成功した。このことから、必ずしも化学的前処理を用いたセルロース II 型結晶への変換処理を経ずとも、粉碎処理セルロースからセロウロン酸が調製出来ることが判明した。

有機電解酸化法を用いた各種セルロースの TEMPO 触媒酸化について

グルコースをモノマーとし、水不溶でありながらも比較的低結晶性の試料であるカードランおよびアミロデキストリンに対し pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を行ったところ、水溶化物としてほぼ均質なポリウロン酸を調製することに成功した。また、従来の pH10 条件下 TEMPO/NaBr/NaClO 系と比較すると大幅に低分子化が抑制されており、より高重合度の水溶性ポリマーが調製可能であることが判明した。

一方、再生セルロースであるビスコースレーヨンに対し pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化法を適用したところ、C6 位の 1 級水酸基に対する酸化反応が進行し、相当量のカルボキシル基 (1.1mmol/g) およびアルデヒド基 (0.6mmol/g) が導入されたにもかかわらず、水可溶化成分の溶出による重量損失も無く、オリジナルの繊維形態がその表面形状に至るまで保持された。すなわち pH6.8/4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化は、セルロースの成型加工物である再生セルロースに対し、その形状を維持したままカルボキシル基およびアルデヒド基を導入するという 2 次改質を可能とする非常に特徴的な化学改質プロセスであった。本検討において得られたカルボキシル化再生セルロース繊維は従来の NaClO や NaClO₂ を主酸化剤とする TEMPO 触媒酸化法では調製不可能であった酸化物である。

また、SBKP に対し、pH10/TEMPO 電解触媒酸化および pH6.8/ 4-アセトアミド TEMPO 電解触媒酸化を行った。どちらの反応法を用いてもおよそ 1mmol/g のカルボキシル基を導入することに成功し、さらに水中でホモジナイザー処理を行うことでセルロースナノファイバーとして水中で安定に分散させることに成功した。しかしながら、pH

10で調製された電解酸化SBKPに比べ、pH6.8のものは酸化後の固形分回収率が高く、低分子化が抑制されており、さらには得られたナノファイバーの形状にも差異があることから、その材料特性には大きな違いが見られた。

本検討においてpH10/TEMPO電解触媒酸化およびpH6.8/4-アセトアミドTEMPO電解触媒酸化のどちらの手法を用いても、相当量のカルボキシル基およびアルデヒド基をSBKPのセルロースマイクロフィブリル表面に導入する出来ることが判明し、結果として一切の塩素系酸化剤を用いることなく、セルロースナノファイバーの調製に成功した。

投稿論文

1. Isogai T., Yanagisawa M., Isogai A. Degrees of polymerization (DP) and DP distribution of dilute acid-hydrolyzed products of alkali-treated native and regenerated celluloses. *Cellulose* (2008) **15**:815–823
2. Isogai T., Yanagisawa M., Isogai A. 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* (2009) **16**:117–127
3. Isogai T., Saito T., Isogai A. TEMPO Electromediated Oxidation of Some Polysaccharides Including Regenerated Cellulose Fiber. *Biomacromolecules* (2010) **11**, 1593–1599
4. Isogai T., Saito T., Isogai A. Wood cellulose nanofibrils prepared by TEMPO electro-mediated oxidation. *Cellulose* (2010) doi:10.1007/s10570-010-9484-9
5. Fujisawa S., Isogai T., Isogai A. Temperature and pH stability of cellouronic acid. *Cellulose* (2010) **17**:607–615
6. Iwamoto S., Kai W., Isogai T., Saito T., Isogai A., Iwata T. Comparison study of TEMPO-analogous compounds on oxidation efficiency of wood cellulose for preparation of cellulose nanofibrils. *Polymer Degradation and Stability* (2010) **95**, 1394–1398

研究発表

1. 国際学会での発表（口頭発表）

○Isogai, T.; Saito, T.; Isogai, A. “Chemical modification of cellulose by TEMPO electro-mediated oxidation” Pacifichem 2010, Honolulu, Hawaii, USA, 2010, Dec.

2. 国際学会での発表（ポスター発表）

○Isogai, T.; Yanagisawa, M.; Isogai, A. “SEC-MALLS analysis of cellouronic acid” 2nd International Cellulose Conference ICC2007, Tokyo, Japan 2007, Oct.

○Isogai, T.; Isogai, A. "Degree of polymerization (DP) of cellouronic acid prepared from ball-milled native celluloses by TEMPO-mediated oxidation." ACS Salt Lake City, America 2009, Mar.

3. 国内学会での発表（口頭5件、ポスター5件）

A 口頭発表

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “各種マーセル化セルロース試料の酸加水分解挙動” 日本木材学会 N09-1145 秋田 2006年8月

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “セロウロン酸の調製と分子量測定” 1D10 繊維学会 千葉 2008年6月

○磯貝拓也、廣田真之、田村直之、齋藤継之、磯貝 明 “セロウロン酸の調製法と重合度に関する検討” K13 セルロース学会 北海道 2009年7月

○磯貝拓也、齋藤継之、磯貝 明 “再生セルロース繊維に対する有機電解酸化法の適用” 3B14 繊維学会 千葉 2010年6月

○磯貝拓也、齋藤継之、磯貝 明 “有機電解酸化法を用いたセルロースナノファイバーの調製” 1A31 電気化学会 神奈川 2010年9月

B ポスター発表

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “セロウロン酸の調製条件の検討”

P40 セルロース学会 東京 2006年7月

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “マーセル化セルロースに対するTEMPO触媒酸化の適用” P33 セルロース学会 静岡 2007年7月

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “TEMPO触媒酸化および希酸加水分解を用いたセ

ルロースの高次構造に対する考察” P49 セルロース学会 京都 2008年7月

○磯貝拓也、柳澤正弘、磯貝 明 “様々なセルロース試料を用いたセロウロン酸の調製とその重合度に関する考察” 26 第39回繊維学会夏季セミナー 滋賀 2008年9月

○磯貝拓也、齋藤継之、磯貝 明 “TEMPOを用いたセルロースの有機電解酸化”

P27 セルロース学会 2010年7月

謝辞

本博士論文は多くの方々のご指導ならびにご協力のもとで完成いたしました。この場をかりて以下の通り厚く御礼申し上げます。

本執筆者が在籍する製紙科学研究所の教授である磯貝明先生には、研究の基本方針から投稿用論文作成、学士論文、修士論文、そしてこの博士論文に至るあらゆる面においてご指導をいただきました。人生山あり谷ありということで研究以外の面でも大変お世話に、あるいはご迷惑をお掛けしましたが、今その全てに感謝しております。

また、准教授である江前敏晴先生、特任教授である木村実先生、助教の齋藤継之先生をはじめとした同研究室の皆様、および加藤友美子博士（凸版印刷）、柳澤正弘博士（住友化学）、吉田穰博士（花王）といった方々からも日々の実験やその解釈、あるいはデスクワークにおける助言など、多岐にわたりご指導いただきました。

サンプルの提供からデータの読み取りに関するご指導までいただいた生物素材科学研究所の和田昌久准教授、快く副査を引き受けてくださった高分子材料科学研究所の竹村彰夫准教授および岩田忠久准教授にはお忙しい中で時間を割いていただき大変お世話になりました。

言うまでもなく、その他数え切れないほどの多くの方々に協力していただき、今ようやくこの論文の結びを迎えることが出来ました。重ねて厚く御礼申し上げます。

最後に、博士課程の卒業に至るまで支援し続けてくれた両親に、この論文を捧げます。

2011.3.24 磯貝 拓也