



主催：京都大学バイオナノマテリアル共同研究拠点（経済産業省Jイノベ拠点）

<https://www.rish.kyoto-u.ac.jp/bionanomat/>

ナノセルロースジャパン(NCJ)

<https://www.nanocellulosejapan.com/>

共催：近畿経済産業局、地方独立行政法人京都市産業技術研究所、
環境省ナノセルロースプロモーション事業

日時：令和5年10月26日（木）13:00-17:10

プログラム

13:00 開会あいさつと趣旨説明

京都大学 生存圏研究所 矢野 浩之

13:10 - 14:15 セッション 1

ナノセルロース 1 本の乾燥と構造変化

藤澤 秀次 (Shuji FUJISAWA)

東京大学大学院 農学生命科学研究科 生物材料科学専攻

ナノセルロース 1 本の乾燥過程に伴う構造変化を、分子動力学シミュレーションと実験的手法を用い、原子レベルで解析した。

画像解析から見たセルロースナノファイバーの局所構造

小林 加代子 (Kayoko KOBAYASHI)

京都大学大学院 農学研究科 森林科学専攻

概主に原子間力顕微鏡の画像解析によって明らかになってきた、セルロースナノファイバーに生じる欠陥やねじれ等の局所構造と、その生成要因について紹介する。

精密特性診断に基づくナノセルロース材料化のための基盤技術開発

榊原 圭太 (Keita SAKAKIBARA)

国立研究開発法人産業技術総合研究所 機能化学研究部門

所属グループでは、精密材料診断に基づくナノセルロース材料化の基盤技術開発を進めている。本発表では、複合材料の構造観察など、最近の事例を紹介する。

質疑応答: セッション 1

14:25-15:50 セッション 2

2 D-NMR法を用いた木質バイオマスの化学修飾反応のモニタリング

安藤 大将 (Daisuke ANDOH)

秋田県立大学 木材高度加工研究所

木質バイオマス構造解析のための 2 D-NMR法を用いて、化学修飾における細胞壁成分の反応挙動を読み解く。発表では、分析手法とアセチル化反応の挙動に焦点をあて、紹介する。

イオン液体を用いたバガスパルプ再生セルロース繊維の開発

八木 伸一 (Shinichi YAGI)

京都工芸繊維大学 繊維学系

再生セルロース繊維はバイオマスの有効活用という観点からアパレル産業において注目されている。さとうきびの未利用資源「バガス」を活用した繊維の開発について発表する。

木材の組織構造を活用した機能材料・高性能材料および大型材料化に向けた生産プロセス

田中 聡一 (Soichi TANAKA)

京都大学 生存圏研究所

木材の組織構造を活用した機能材料・高性能材料について紹介するとともに、主に高性能材料の大型化に向けた生産プロセスに関する研究について紹介する。

キチンナノファイバーの表面改質による pH 変動に対する安定性制御

伊福 伸介 (Shinsuke IFUKU)

鳥取大学 工学研究科 化学・生物応用工学専攻

部分脱アセチル化キチンナノファイバーは中～塩基性条件では分散性が低下する。そこで第4級アンモニウムカチオン化により pH 変動に伴う分散安定性を向上させた。

質疑応答: セッション 2

16:00 – 17:05 セッション 3

人工タンパク質ナノブロックによる自己組織化超分子ナノ構造複合体の設計開発

新井 亮一 (Ryoichi ARAI)

信州大学 繊維学部 応用生物科学科・バイオメディカル研究所

多量体タンパク質を人工的に組み合わせたナノブロックを用いて、ナノスケールの自己組織化超分子複合体を設計開発するタンパク質工学研究等について紹介する。

バイオマテリアル創製における新興液体材料群「活イオン液体」の概念と機能

鈴木 栞 (Shiori SUZUKI)

北海道大学大学院 農学研究院 森林科学科

目的の反応に寄与するイオン、「活イオン」を高濃度を含む「活イオン液体」の概念とその特異物性を紹介し、バイオマテリアル創製における新奇反応場の可能性を共有したい。

バクテリアセルロースの合成機構解明に向けた生化学的アプローチ

近藤 辰哉 (Tatsuya KONDOH)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 果樹茶業研究部門 果樹生産研究領域

高結晶セルロースを作る酢酸菌のセルロース合成酵素研究を蛋白質の側面から紹介する。

質疑応答: セッション 3

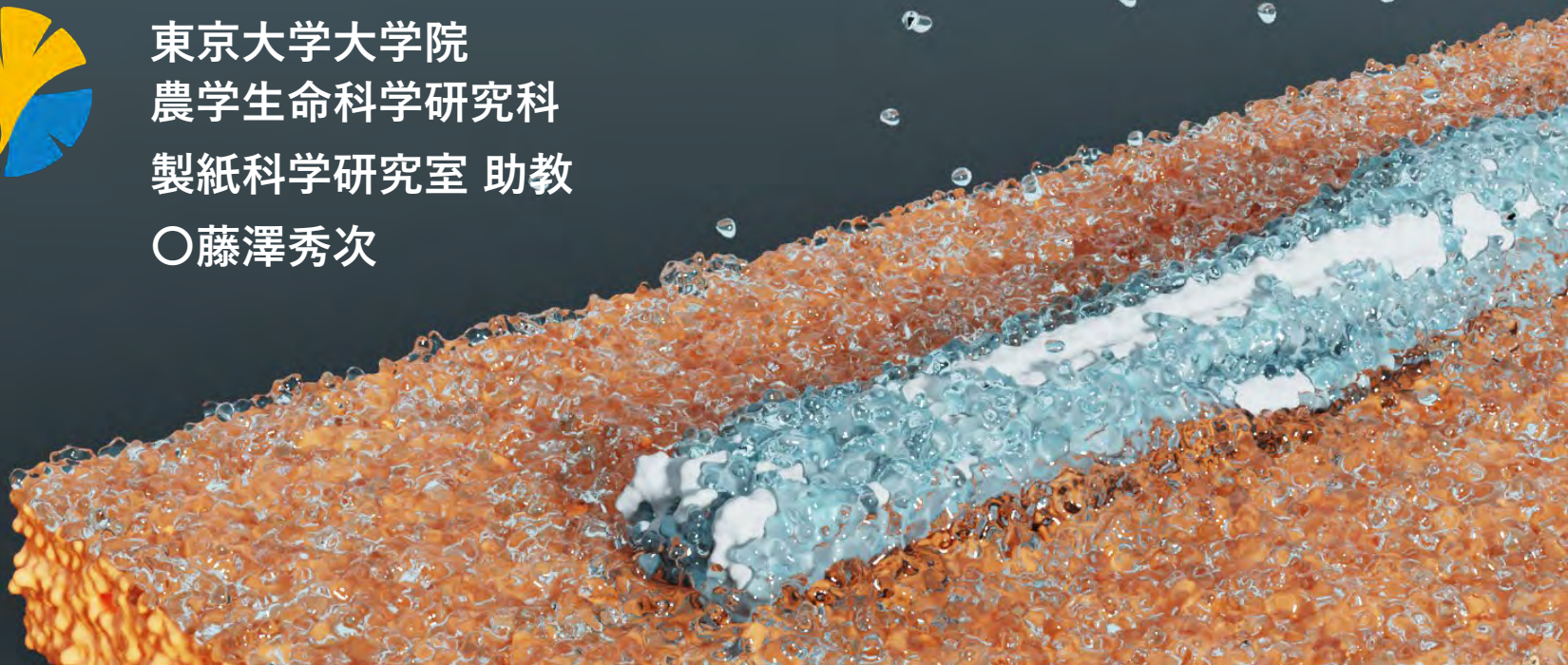
17:05 閉会のあいさつ

後援：紙パルプ技術協会、日本製紙連合会、公益社団法人日本材料学会関西支部、公益社団法人日本材料学会木質材料部門委員会、公益社団法人日本木材加工技術協会関西支部、一般社団法人日本接着学会、一般社団法人プラスチック成形加工学会、京都大学産官学連携本部、一般社団法人西日本プラスチック製品工業協会、SPE日本支部、関西イノベーションイニシアティブ（代表幹事機関公益財団法人都市活力研究所）、一般社団法人京都知恵産業創造の森、四国CNFプラットフォーム、ふじのくにセルロース循環経済フォーラム、薩摩川内市竹バイオマス産業都市協議会、晴れの国CNF連絡会、みやぎCNFプロジェクトチーム（順不同、予定）

ナノセルロース 1 本の乾燥と構造変化



東京大学大学院
農学生命科学研究科
製紙科学研究室 助教
○藤澤秀次



ねじれの局在化（乾燥状態）

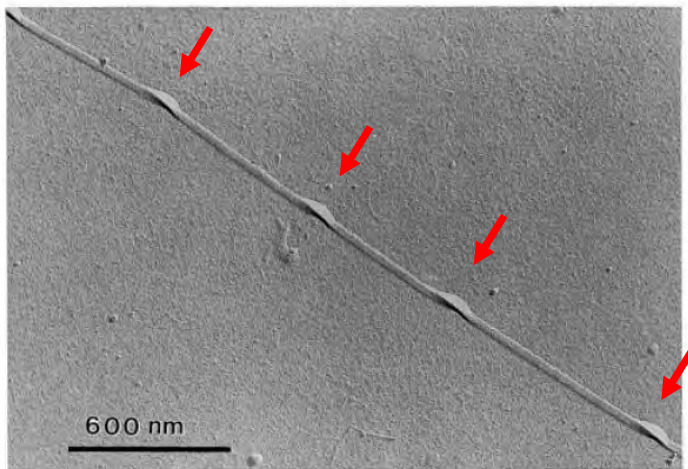


FIGURE 5. Transmission electron micrograph of a tungsten-tantalum shadowed sample of *Micrasterias denticulata* microfibrils. The microfibrils were dried down from a dilute aqueous suspension onto carbon-coated copper TEM grids, which had been treated with poly-L-lysine. The grid was shadowed at an angle of 45°. Four right-handed 180° twists are visible.

ねじれが局在化する様子

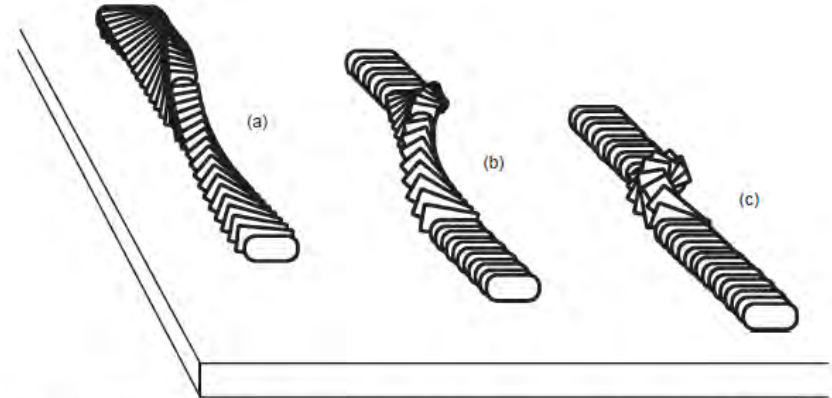


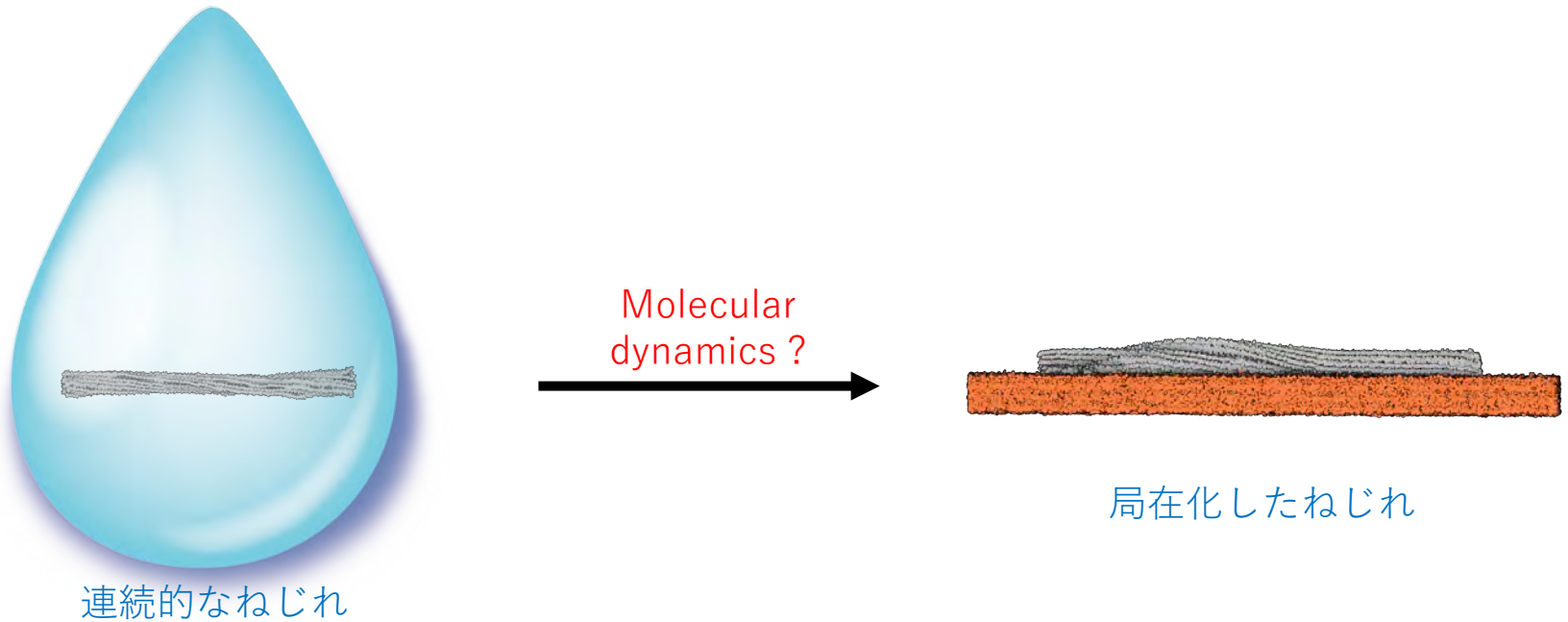
FIGURE 6. Sketch showing possible source of twisted regions in microfibril. (a) Initial smooth right-handed helix. As water evaporates, surface tension forces draw the microfibril onto the substrate, forcing the twist into shorter segments of the microfibril as shown in (b) and (c).

Hanley *et al.*, *Cellulose* 4, 209–220 (1997).

乾燥により、ねじれが局在化する

CNFの乾燥過程における構造変化

7

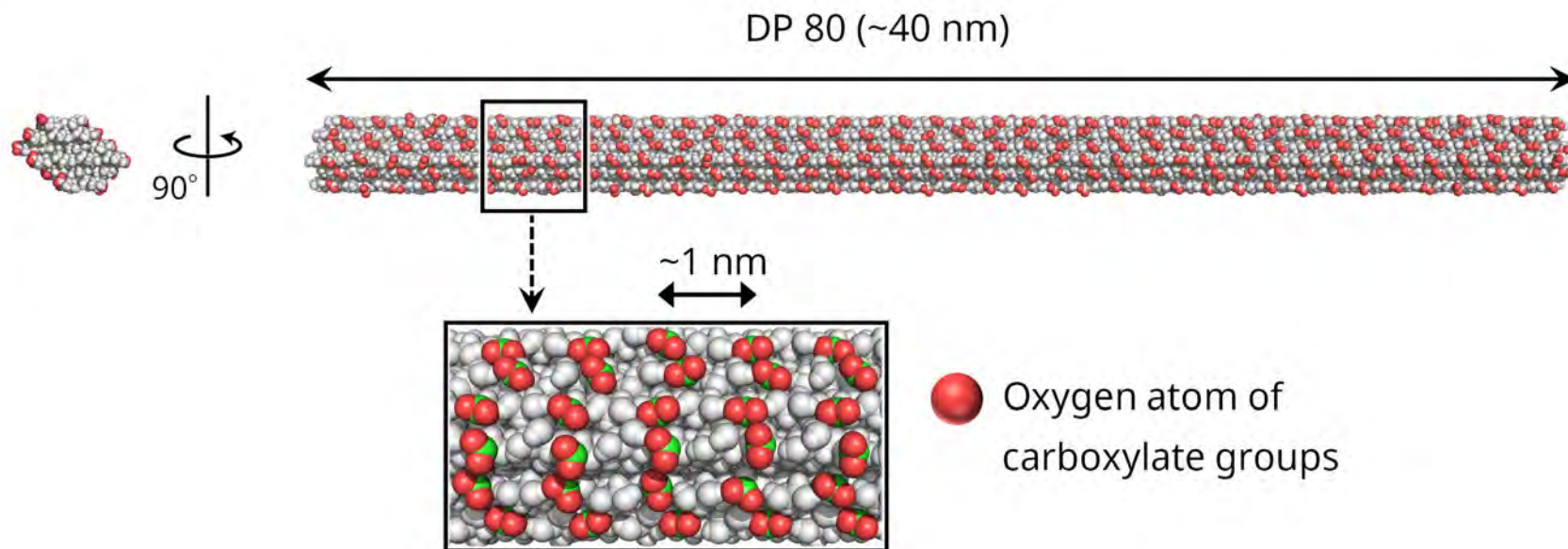


いつ、どのようにねじれが局在化するのか？

MD シミュレーション: CNFモデル

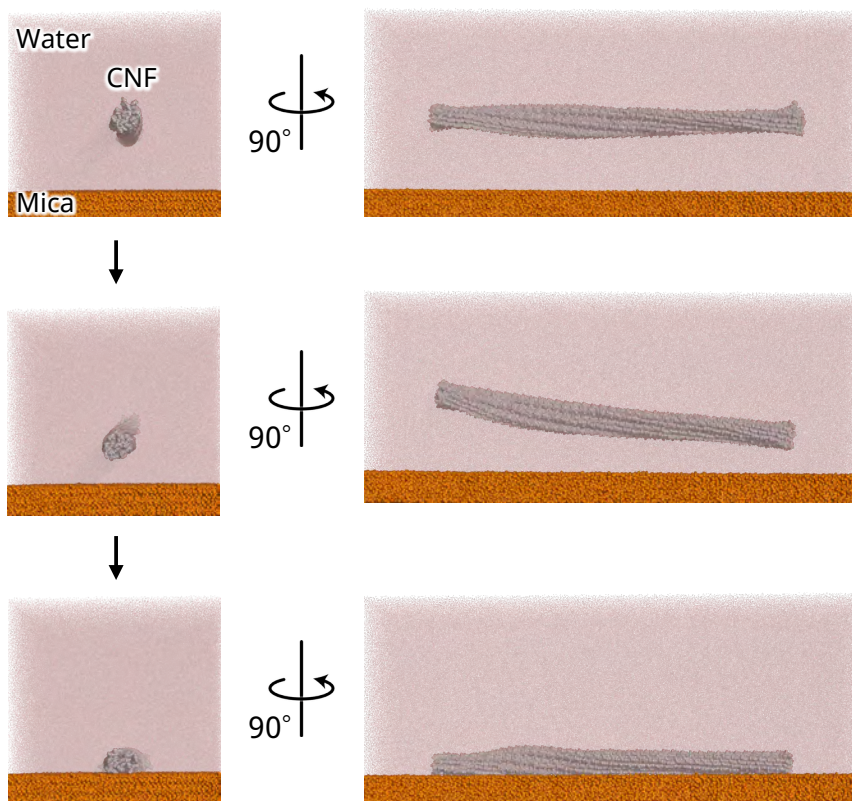
8

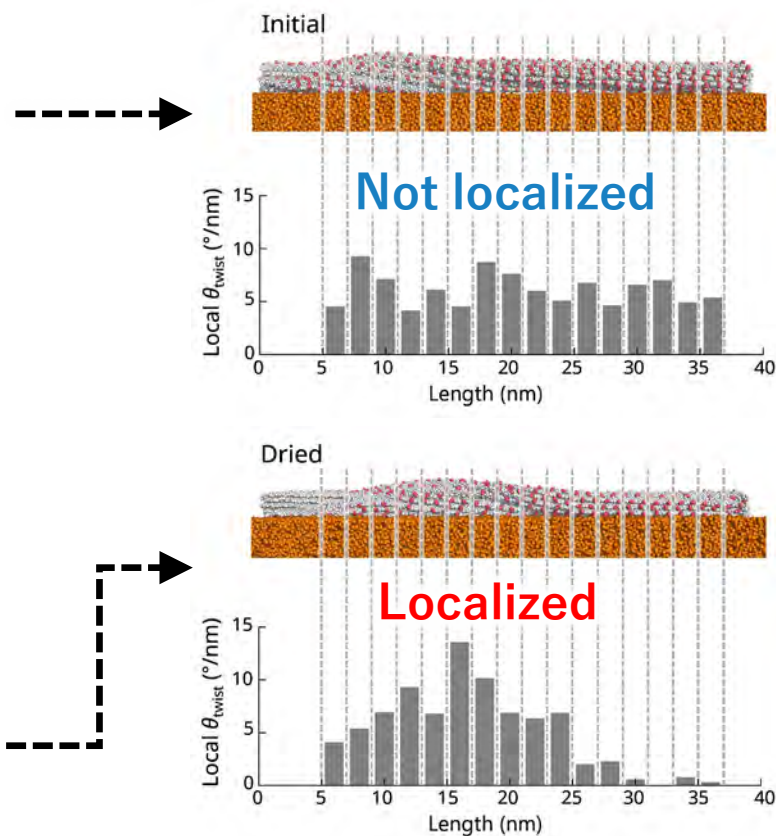
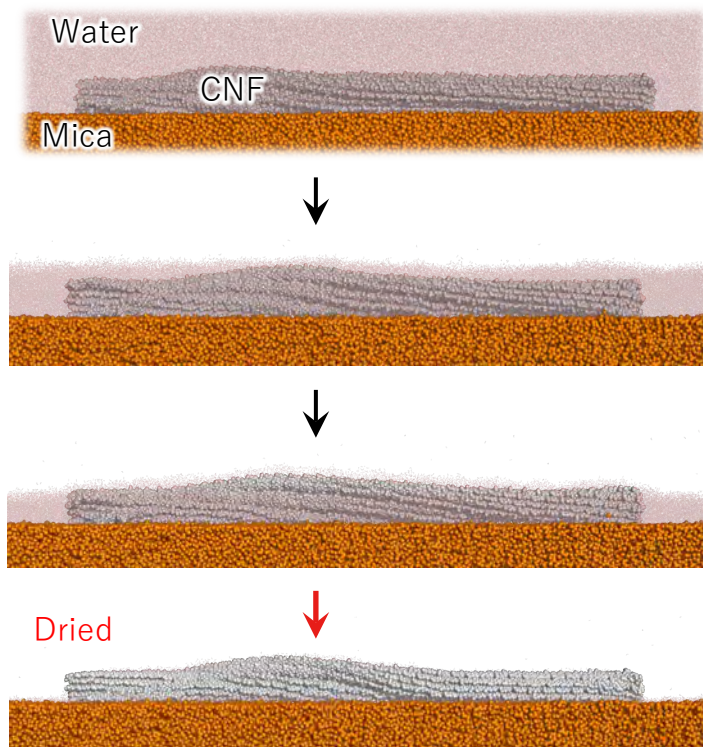
18本鎖 (2/3/4/4/3/2)



Daicho *et al.* *ACS Appl. Nano. Mater.*, **2018**, 1, 5774.
Fujisawa *et al.* *Small* **2023**, 19, 2302276.

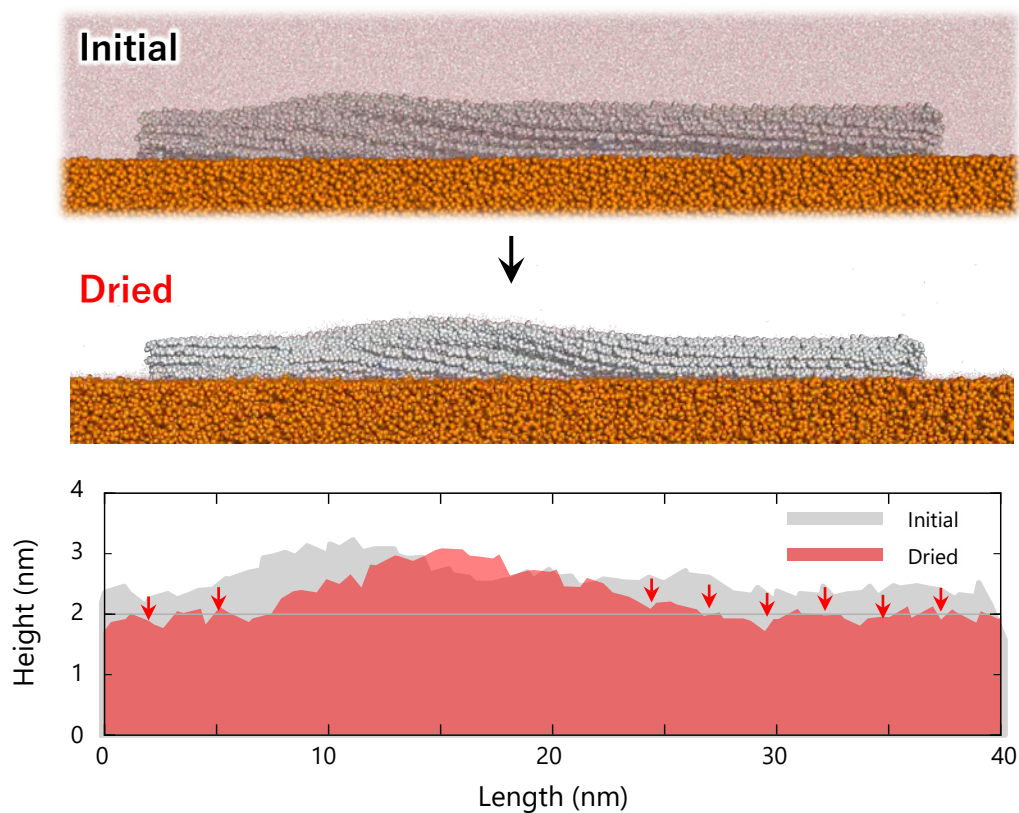
吸着の様子





乾燥の最終段階でねじれが局在化する

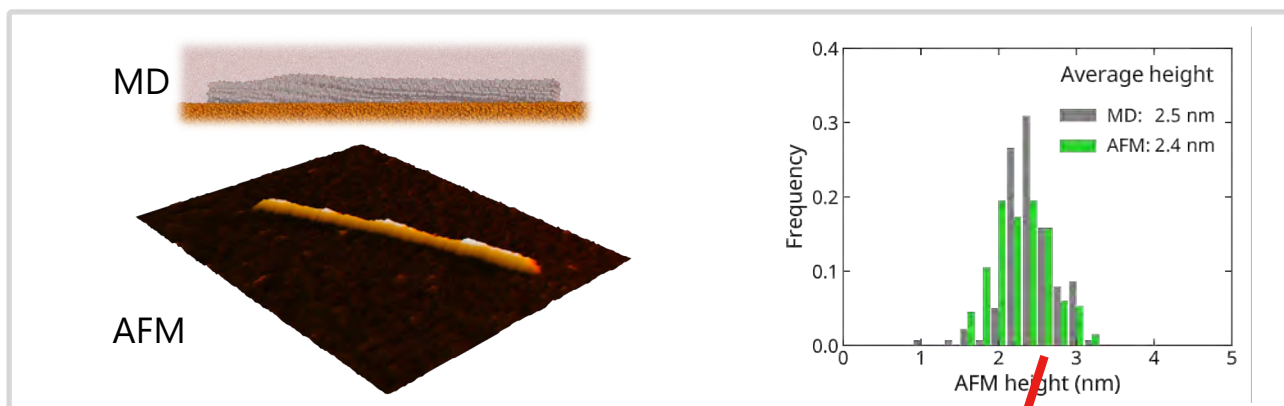
Fujisawa et al. *Small* **2023**, 19, 2302276.



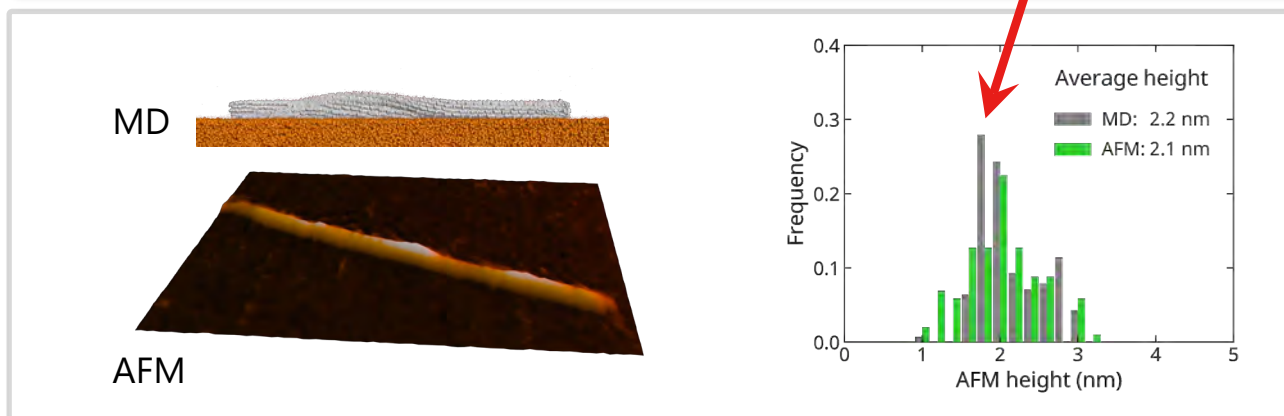
乾燥により高さプロファイルが変化

Fujisawa et al. *Small* **2023**, 19, 2302276.

液中



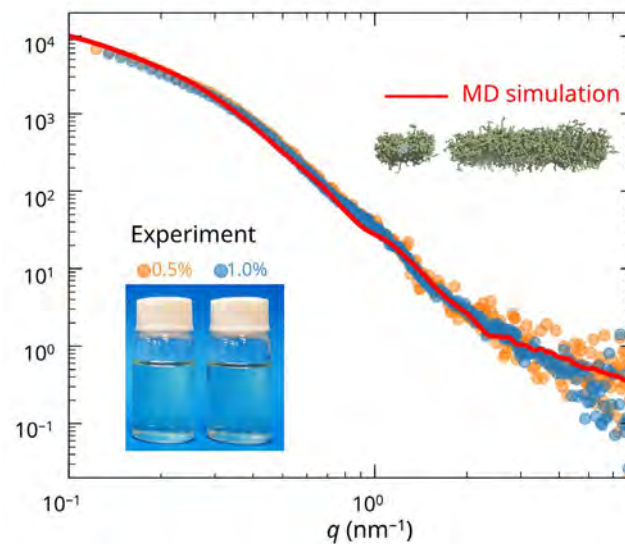
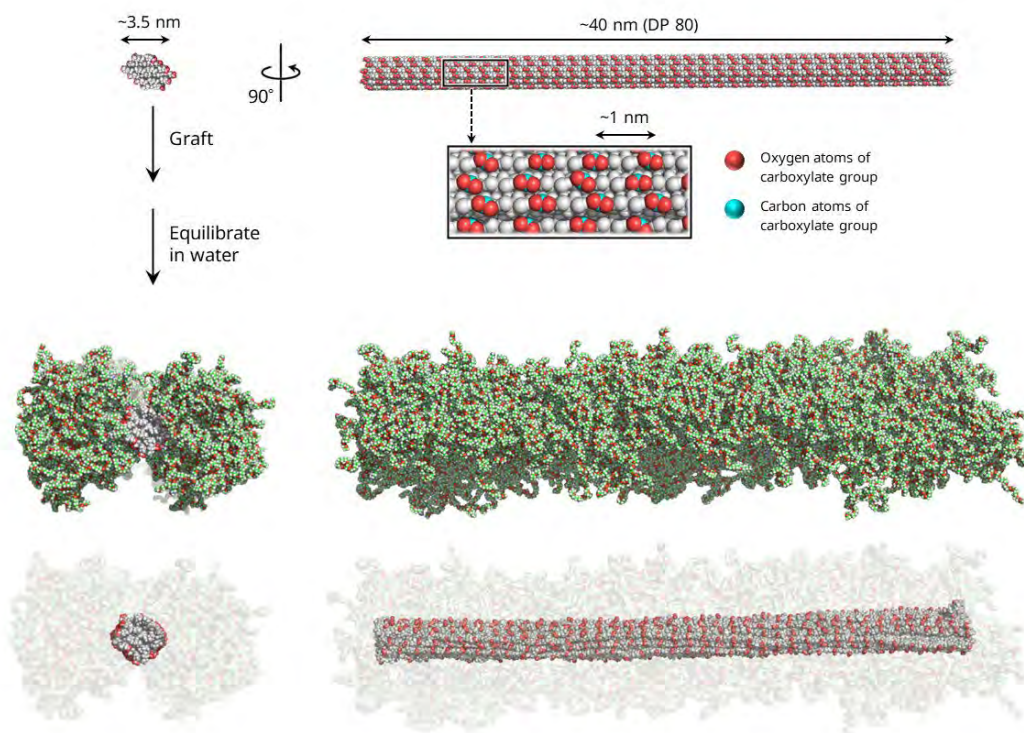
気中



シミュレーション結果が実験結果とよく一致 Fujisawa et al. *Small* 2023, 19, 2302276.

表面修飾CNFの構造

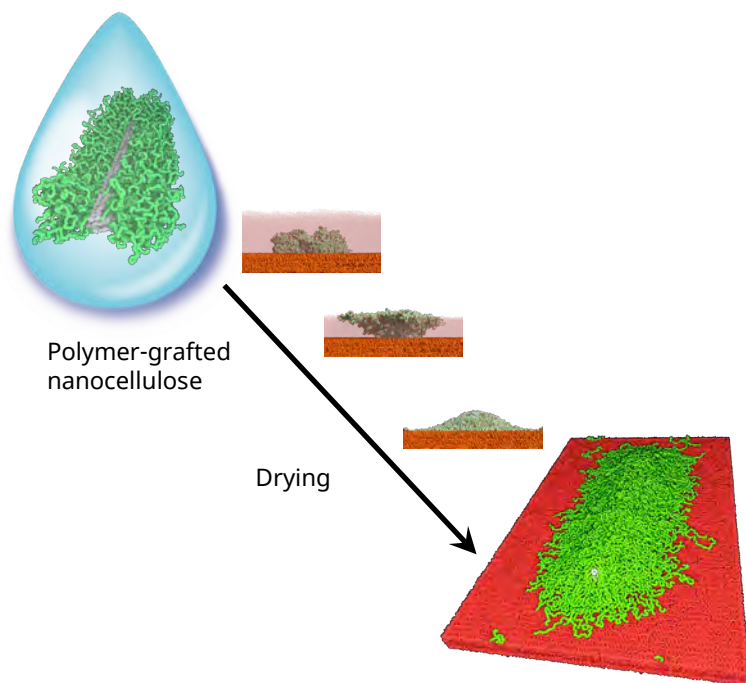
13



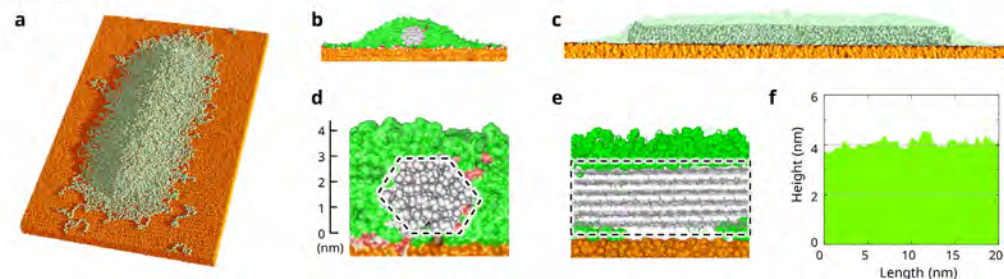
Fujisawa *et al. Nano Letters* **2023**, 23, 880.
Fujisawa *et al. Biomacromolecules* **2023**, 24, 3908.

表面修飾CNFの乾燥と構造変化

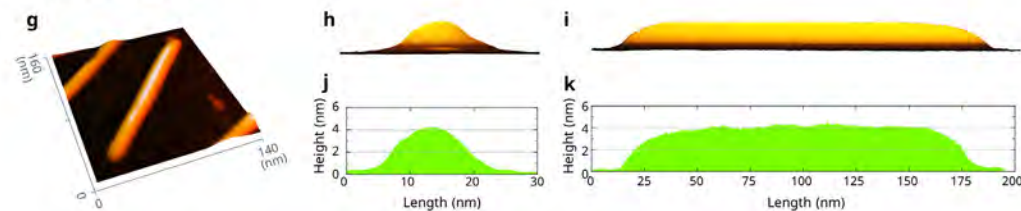
14



MD simulation



Experimental AFM



Fujisawa *et al. Nano Letters* **2023**, 23, 880.
Fujisawa *et al. Biomacromolecules* **2023**, 24, 3908.

製紙科学研究所の皆様



第一工業製薬株式会社
(TEMPO酸化パルプのご提供)

株式会社アントンパール・ジャパン
高崎 祐一 様
(SAXS測定とディスカッション)

東京大学
大長 一帆 様
(AFM測定とディスカッション)

金沢大学
福間 剛士 教授
Yurtsever Ayhan博士
(AFM測定とディスカッション)

2023年 10月26日

バイオナノマテリアルシンポジウム2023

ー アカデミアからの発信 ー

／第503回生存圏シンポジウム

@京都大学生存圏研究所木質ホール 3 階およびオンライン配信 (Zoom)

画像解析から見た セルロースナノファイバーの局所構造

京都大学大学院農学研究科

小林 加代子

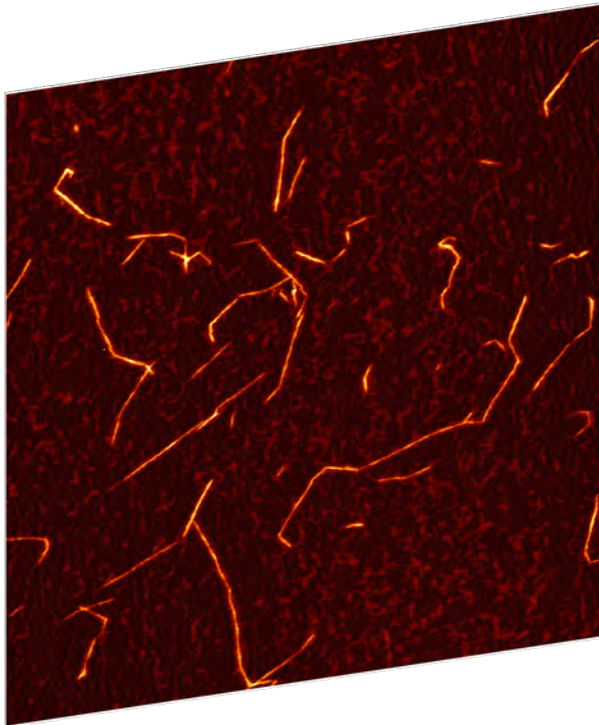


京都大学
KYOTO UNIVERSITY

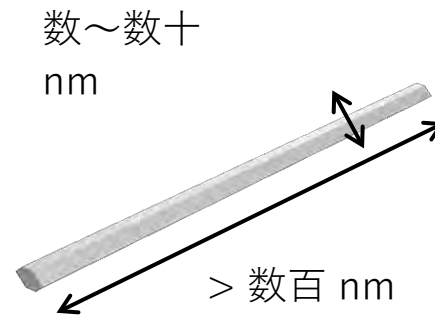


Faculty/Graduate School of
AGRICULTURE
KYOTO UNIVERSITY

セルロースナノファイバー1本をよく観察すると…



基本の形状モデル



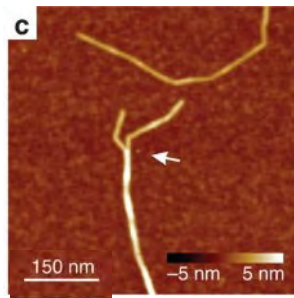
高アスペクト比

実際に観測される ナノファイバー

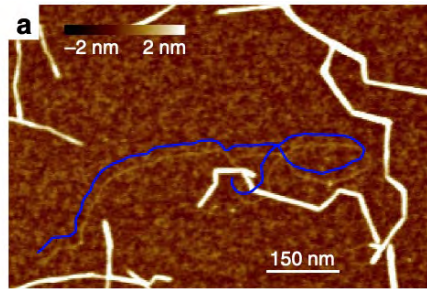


欠陥や変形を含む

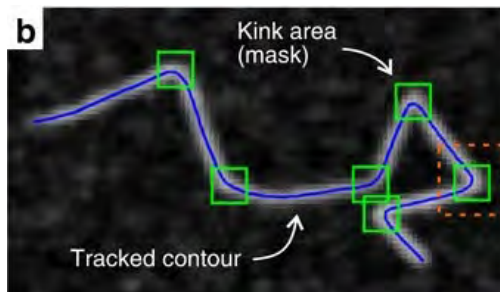
欠陥・局所構造の研究が進む



裂け目

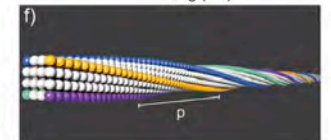
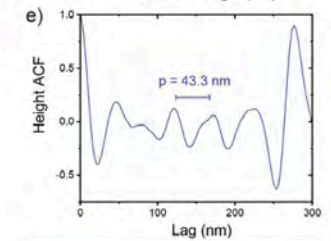
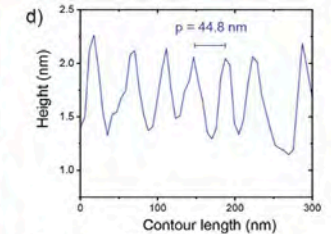
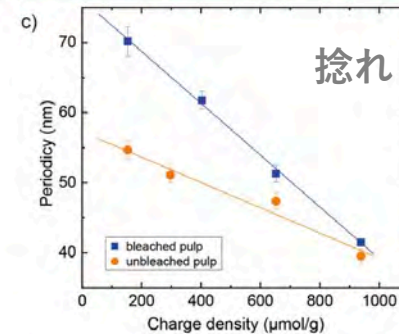
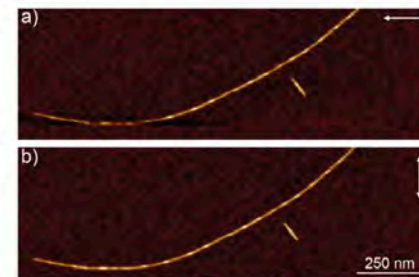


薄片



屈曲点

Usov et al. *Nat. Commun.* (2015)



Arcari et al. *Biomacromolecules* (2019)

捻れの部分で 結晶はどうなっているか？

ACS NANO

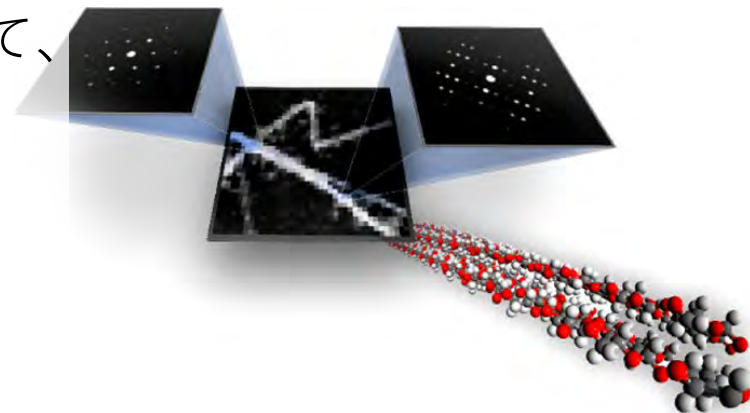
This is an open access article published under a Creative Commons Attribution (CC-BY) license, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the author and source are cited.

15, 2730–2737 (2021)

Local Crystallinity in Twisted Cellulose Nanofibers

Tom Willhammar*, Kazuho Daicho, Duncan N. Johnstone, Kayoko Kobayashi, Yingxin Liu, Paul A. Midgley, Lennart Bergström, and Tsuguyuki Saito*

STEM（走査型透過電子顕微鏡）を用いて、
セルロース1本から約 5 nmの分解能で
電子線回折を取得



試料：ホヤのセルロース
バクテリアセルロース

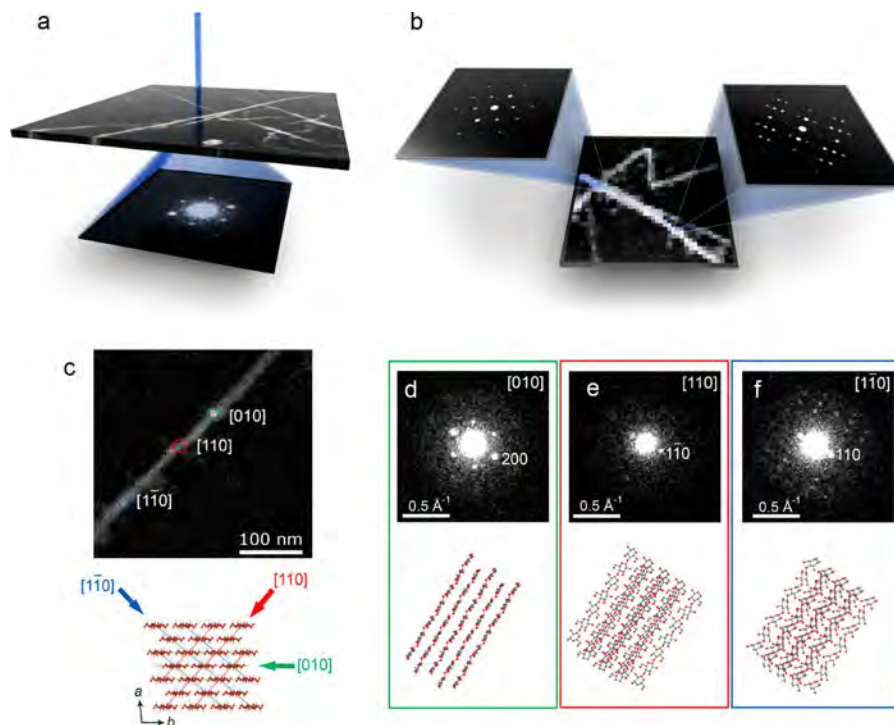
捻れの部分で 結晶はどうなっているか？

結果

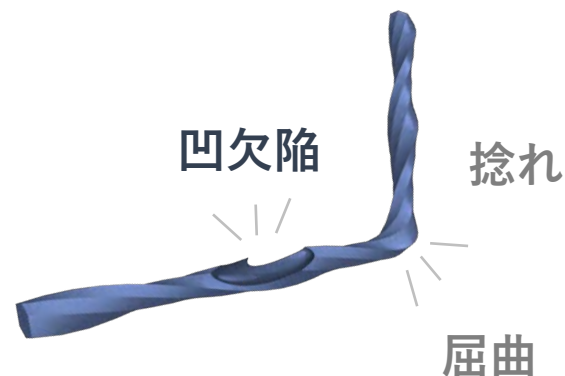
捻れた部分でも、
セルロースの結晶構造を
維持している。



セルロース結晶の頑強さ
が示された



セルロースナノファイバー表面 に生じた凹構造欠陥の解析



COMMUNICATION

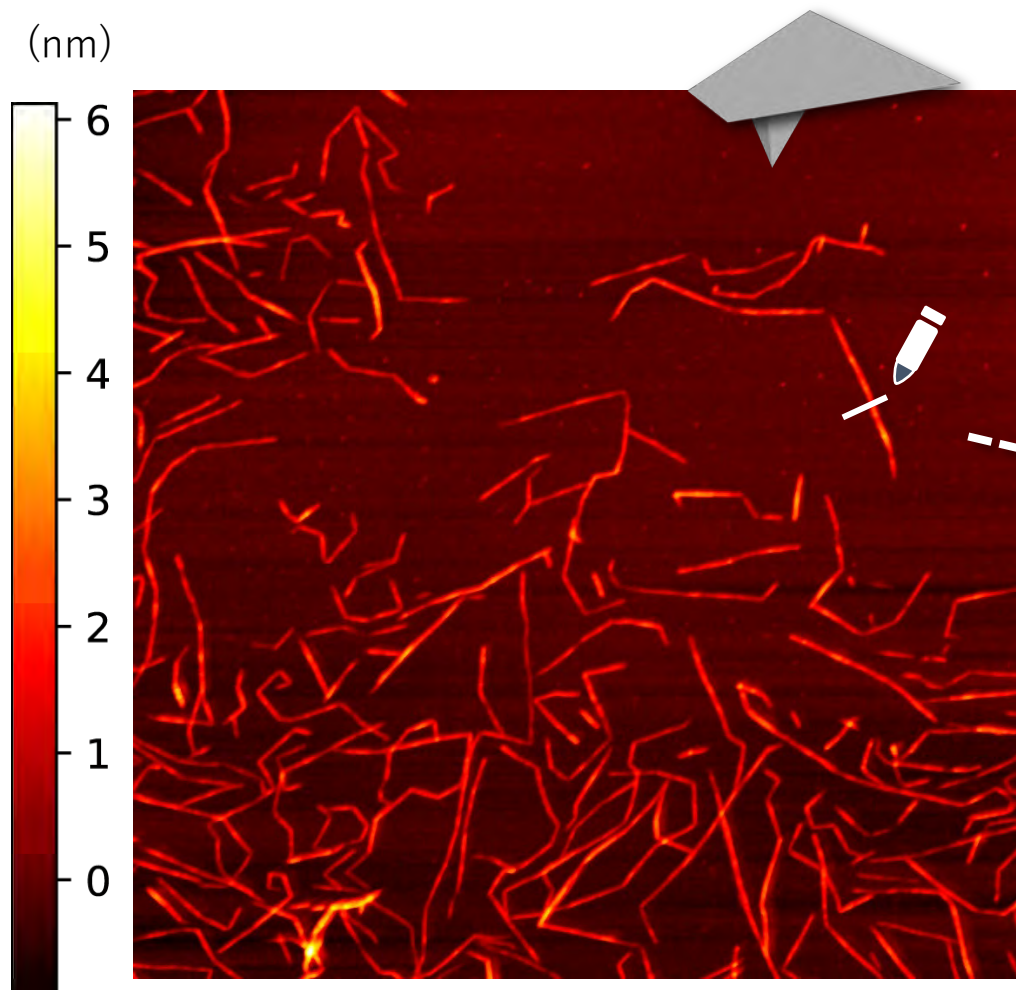
Atomic-Scale Dents on Cellulose Nanofibers: the Origin of Diverse Defects in Sustainable Fibrillar Materials

Tomoki Ito,^a Kazuho Daicho,^a Shuji Fujisawa,^a Tsuguyuki Saito,^{*a} and Kayoko Kobayashi^{*b}

Received 00th January 20xx,
Accepted 00th January 20xx

DOI: 10.1039/x0xx00000x

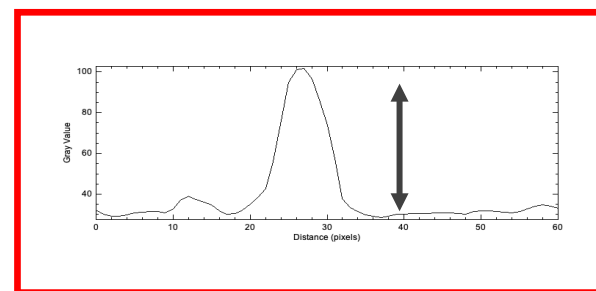
Nanoscale Horizons, accepted



研究の出発点は…

AFM像の解析は、**手動計測***が一般的

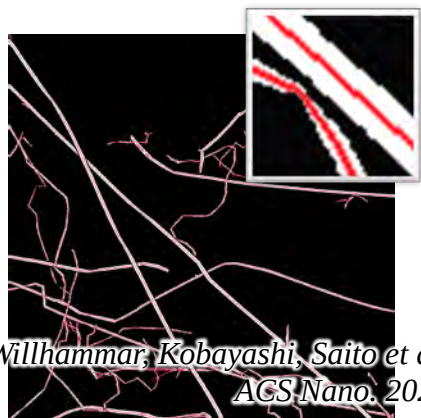
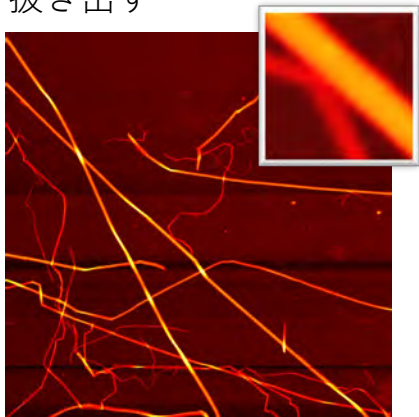
* 任意のCNFを選択し、手動で線を引く



AFM像に含まれる情報を
十分に引き出せているか？

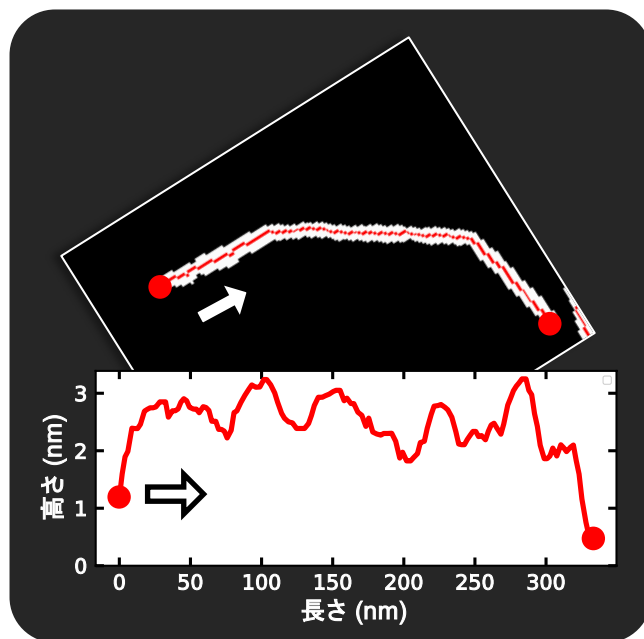
手動により任意の計測領域を選択する従来法から脱却し、
コンピュータによる画像処理を駆使して
画像全体から情報を抽出する

ファイバーの部位だけを
抜き出す

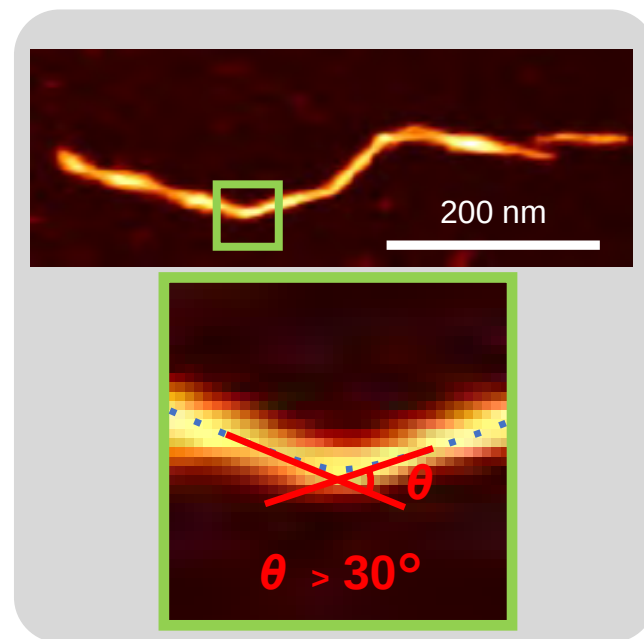


Willhammar, Kobayashi, Saito et al.
ACS Nano. 2021

長さ・高さをトラッキング



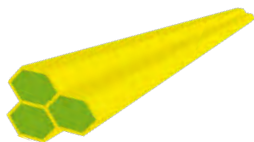
屈曲点 (kink) の検出



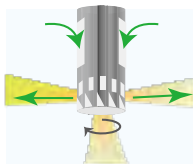
使用したサンプル

表面にカルボキシル基が導入された
セルロースナノファイバー (CNF)

TEMPO酸化パルプ
(提供：第一工業製薬株式会社)



二重円筒型
ホモジナイザー



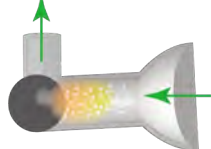
80 分

超音波ホモジナイザー



5 分

高圧ホモジナイザー



• 4 回

• 50 回



DC



US



HP4

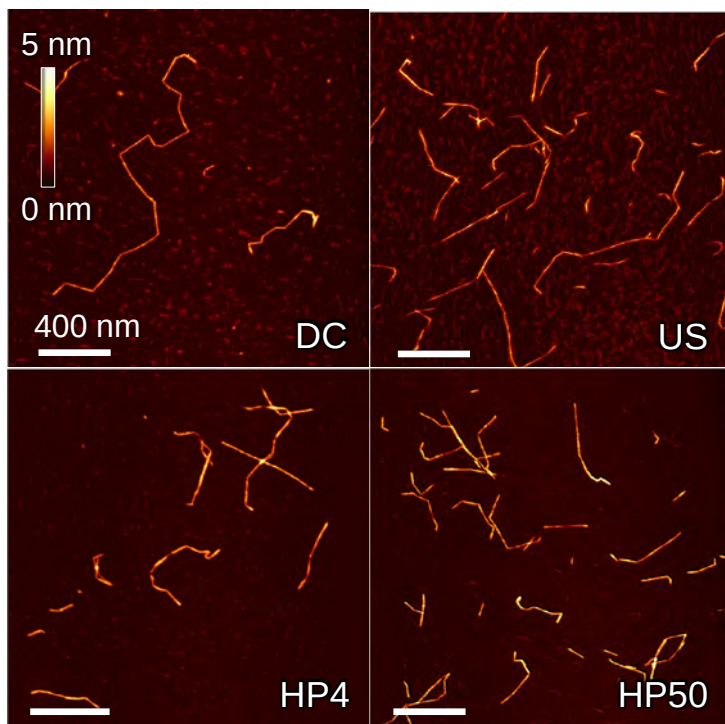


HP50

TEMPO酸化CNF



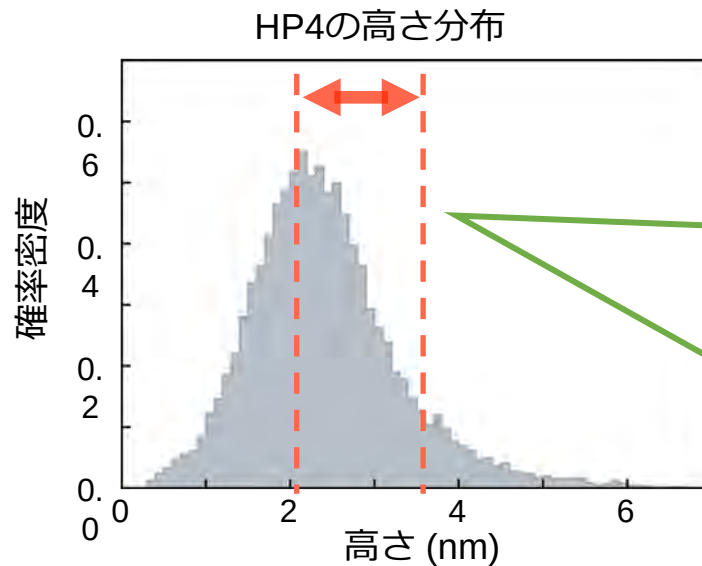
各サンプルから得られたAFM像



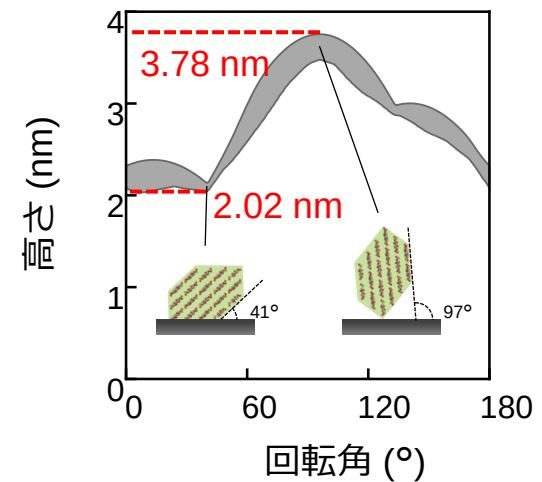
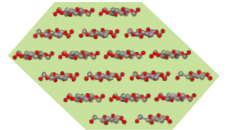
異なる解繊方法により、
様々な長さのCNFが得られた

	平均長さ (nm)		kink間の 平均距離 (nm)	
DC	1522.3	 長 短	122	 一定
US	544.4		114	
HP4	521.3		125	
HP50	375.9		122	

一方、高さは…？

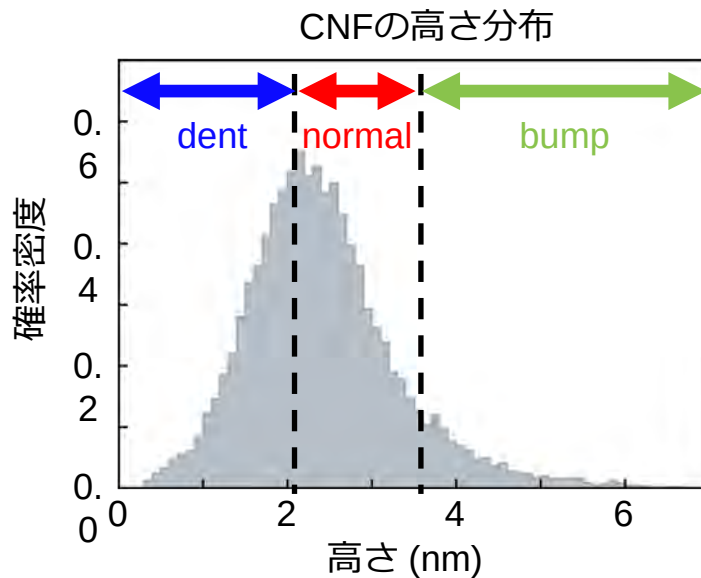


断面形状モデルから
推定される高さの範囲

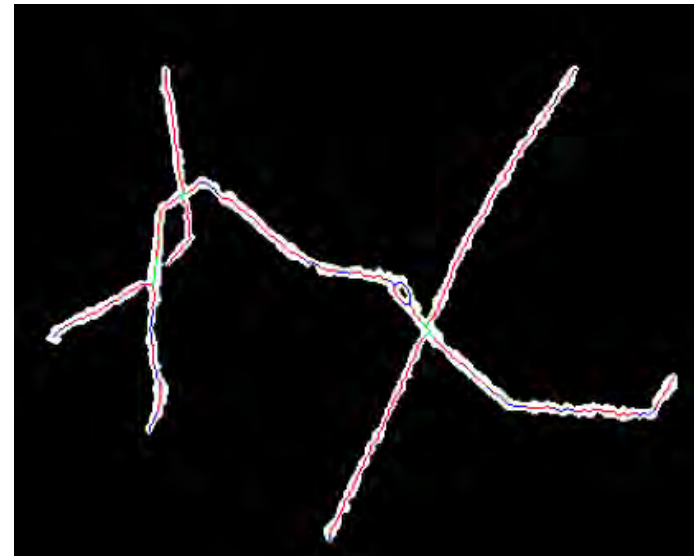


- サンプル間に大きな差はない
- 推定される高さの範囲から外れる領域が多く存在する

高さ分布のマッピング



■ dent ■ normal ■ bump



断面モデルより低い箇所は
局所的に存在



凹み (dent) が存在する
= 凹構造欠陥

凹構造欠陥は、どこに生じているか？

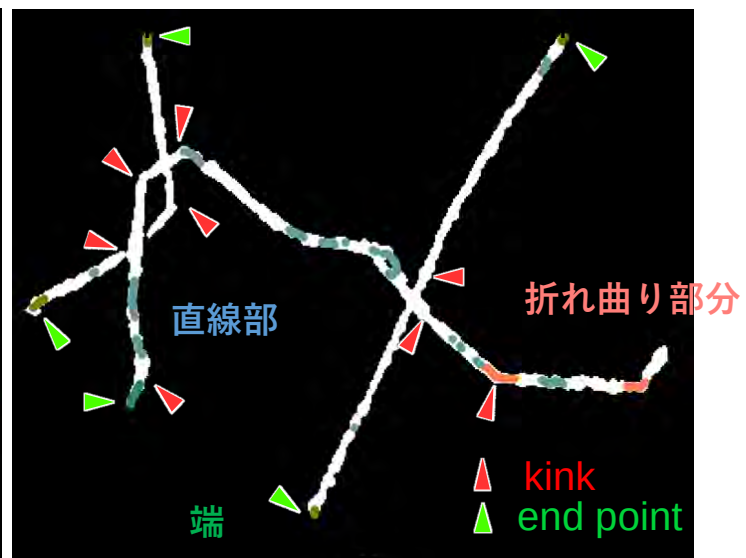
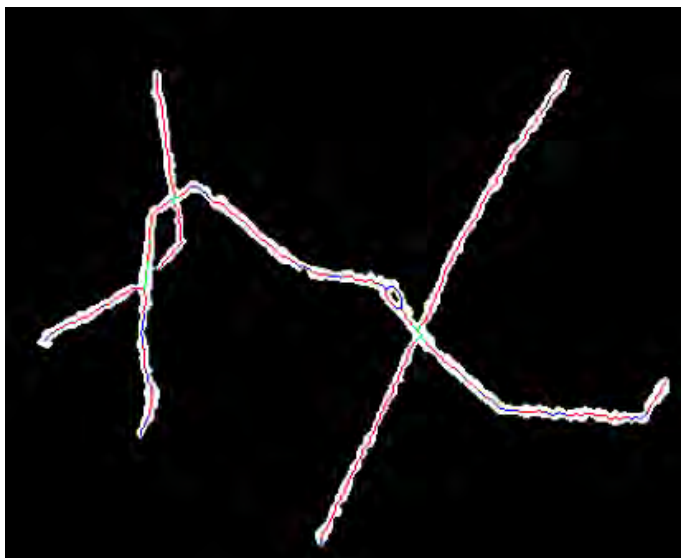
dent normal bump

at kink

at end

at kinked

on



凹構造欠陥の量・発生箇所をサンプル間で比較する

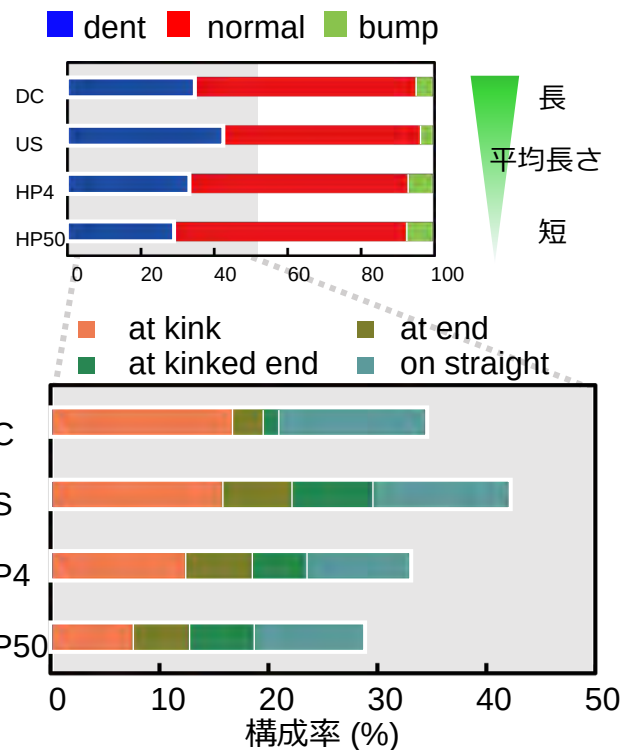
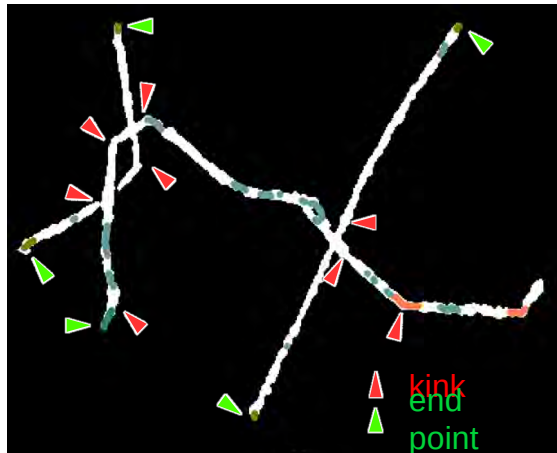
仮説：

解繊による断片化に伴い、
欠陥が増加する

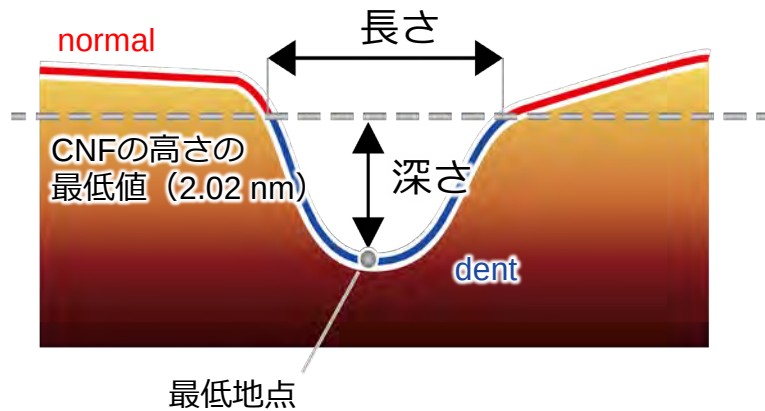


折れ曲りに発生した
凹構造欠陥で切断が起き、
むしろ欠陥は減少する

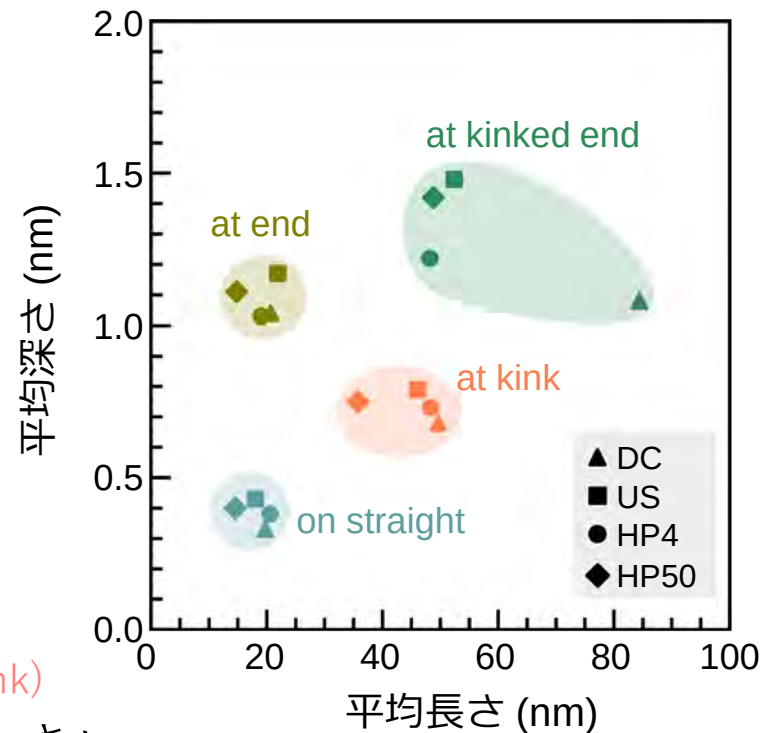
at kink at end
at kinked end on straight



凹構造欠陥の形状をサンプル間で比較する



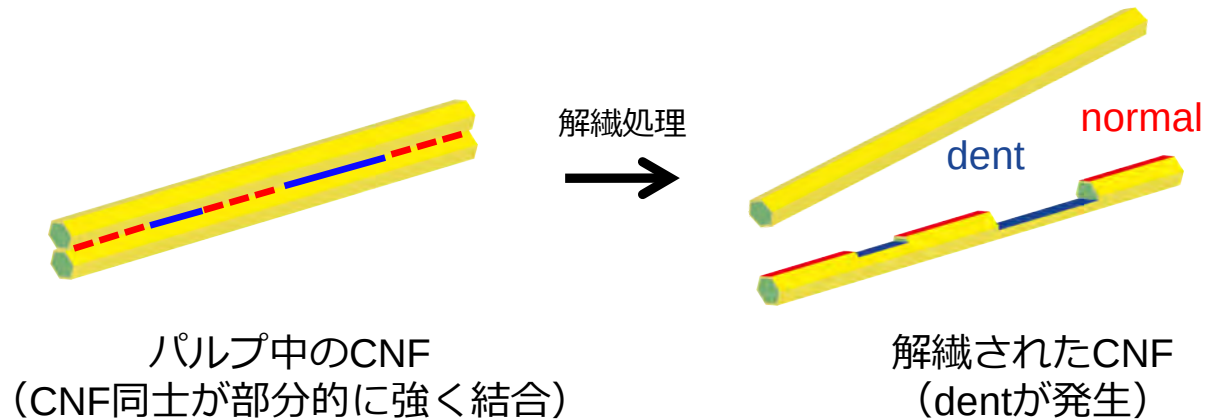
- サンプル間に大きな差はない
- 折れ曲り部分に生じる欠陥 (at kink) は直線部のもの (on straight) より大きい



Q. 凹構造欠陥はいつ発生しているか？

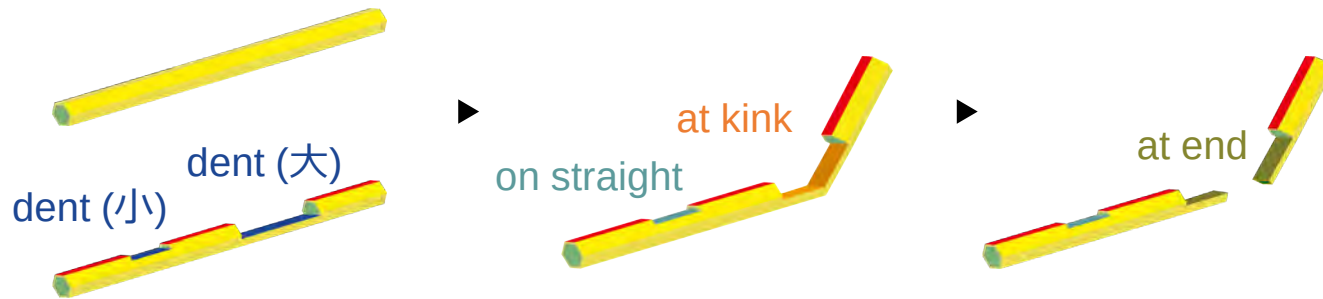
A. 少なくとも、分散したときにはすでに存在している

パルプ中で強く結合しているCNFの界面で発生か



Q. 解繊過程では何が起きているか？

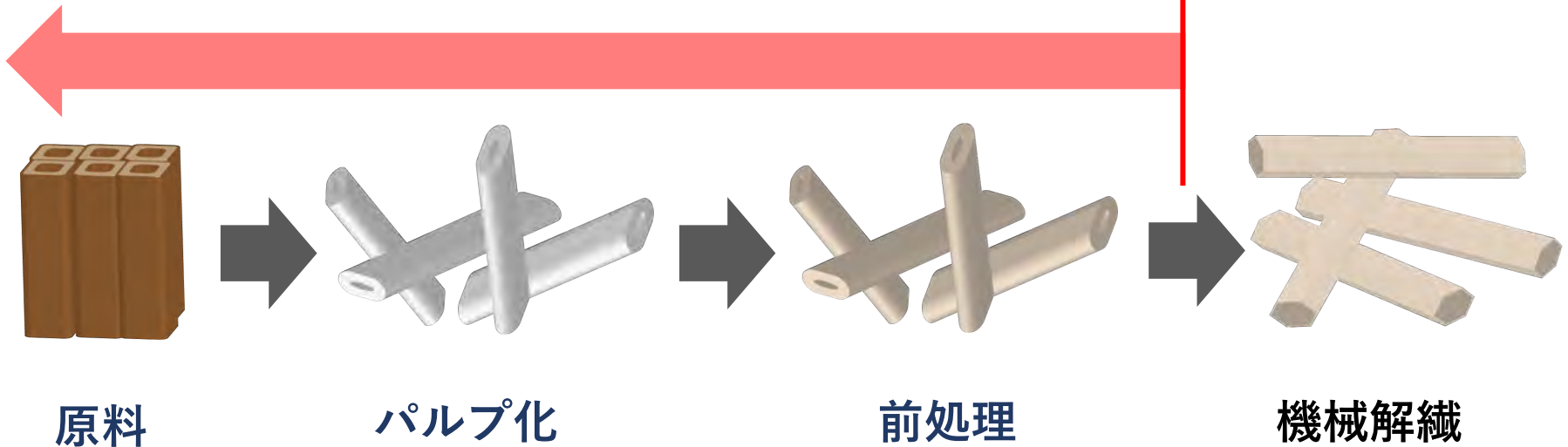
A. 凹構造欠陥が十分に大きいと、
そこを起点として折れ曲り→切断が起きる



今後、欠陥のないナノファイバーを作るためには、
凹構造欠陥の形成を回避することが重要？

欠陥生成メカニズムの解明に向けて

欠陥を抑えるためのポイントは
これより前の段階にある





京都大学
KYOTO UNIVERSITY

和田 昌久 教授
生物繊維学研究室メンバー



東京大学
THE UNIVERSITY OF TOKYO

伊藤 智樹 氏
大長 一帆 助教
藤澤 秀次 准教授
齋藤 継之 教授

Stockholm University

Dr. Tom Willhammar

DKS Co. Ltd.

2023/10/26 バイオナノマテリアルシンポジウム2023

－ アカデミアからの発信 － ／ 第503回生存圏シンポジウム

京都大学生存圏研究所木質ホール3階およびオンライン配信 (Zoom)

精密特性診断に基づくナノセルロース 材料化のための基盤技術開発



国立研究開発法人産業技術総合研究所
材料・化学領域 機能化学研究部門
セルロース材料グループ 榊原圭太

国立研究開発法人産業技術総合研究所 機能化学研究部門 セルロース材料グループ

スタッフ：榊原圭太 研究グループ長
井上誠一 主任研究員
神内直人 主任研究員
熊谷明夫 主任研究員
引間悠太 主任研究員
齋藤靖子 主任研究員
中山 超 研究員
テクニカルスタッフ：6人

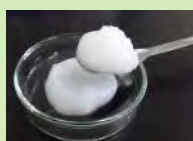
グループ概要：ナノセルロースの製造から構造・物性評価、機能解析、複合化、応用展開まで一貫して研究開発を進めることをモットーに、「作る-知る-使う」のサイクルによる技術開発を推進。



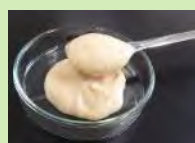
グループHP

<https://unit.aist.go.jp/ischem/ischem-clm/>

①作る



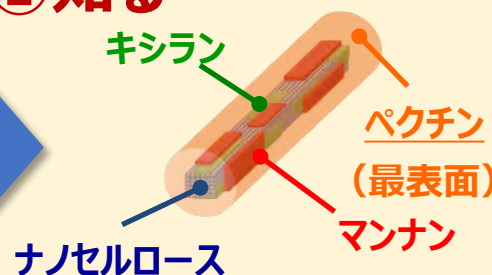
パルプ由来



木材由来 農産物由来

- 適切な前処理方法
- 解繊とコストのバランス

②知る



- 分子レベルの精密分析
- メカニズム解明

③使う

樹脂・ゴム補強
物質吸着
食品
etc.

- 表面制御・プロセス制御
- 強度以外の機能開拓
- データ駆動型材料開発

① ナノセルロースを作る

ナノセルロース製造装置（機械解繊法）

⇒ 太いセルロース繊維を機械せん断でほぐしていく！

ディスクミル

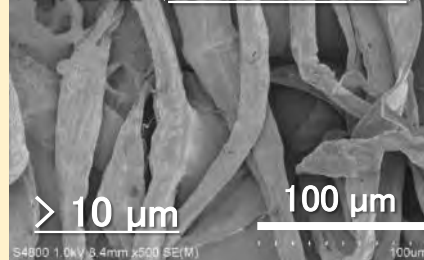


高圧ホモジナイザー

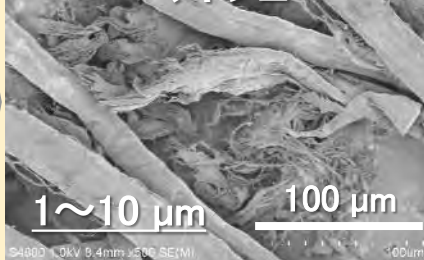


- 解繊前に各種原料（木材・植物・食品など）に適した**前処理**がある。
- **解繊処理を繰り返す**ことで、細く、均一化する。

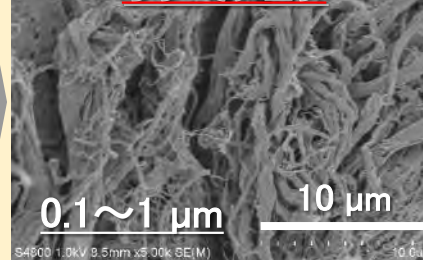
未処理（原料：パルプ）



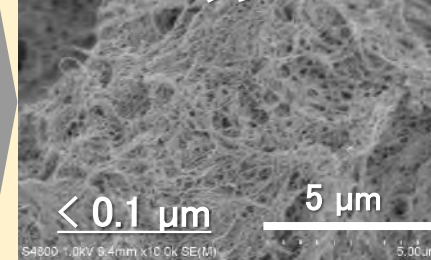
マイクロ



サブミクロン



ナノ



ディスクミル: 0回

1回

5回

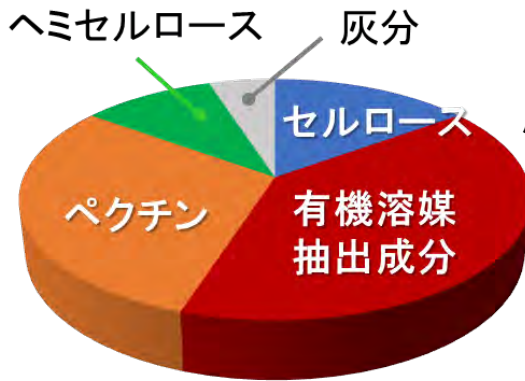
10回 + 高圧ホモジナイザー 3回

低コスト

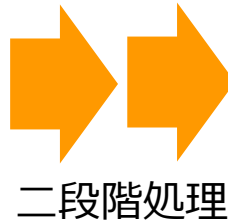
解繊処理のくり返し

高コスト

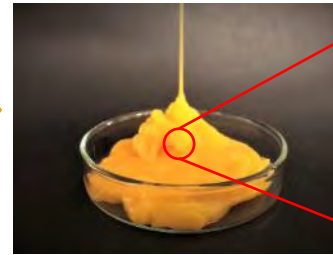
柑橘果皮から製造したナノセルロース



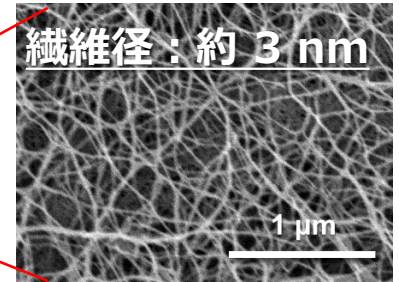
原料：柑橘果皮



二段階処理



柑橘由来
セルロースナノファイバー



柑橘特有の成分を保持

【特徴】

・少ない工程で製造可能

➡ コスト削減

・食品原料由来

➡ 高い安全性（食品、化粧品など）

・繊維径：数 nm

➡ 超微細（増粘・分散材料など）

・精製不要（薬品未使用）

➡ 原料由来成分を保持

柑橘果皮特有の成分により木質のナノセルロースにはない機能が付与可能

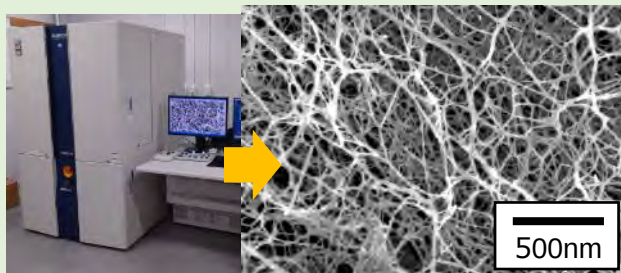
特願2018-064675「柑橘果皮由来ナノファイバー及びその製造方法」

② ナノセルロースを知る

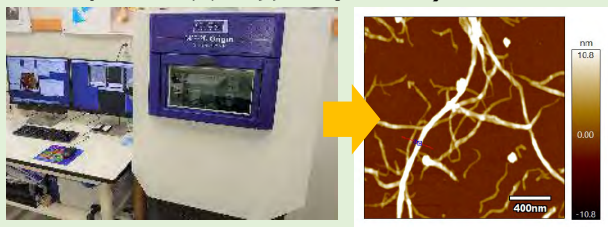
形態観察

よく見る！

超高分解能電子顕微鏡(SEM)
+ 元素マッピング検出器(EDS)



原子間力顕微鏡 (AFM)



前処理装置

ノウハウ

ウルトラミクロトーム、ダイアモンドワイヤーソー、オスミウムコーターなど

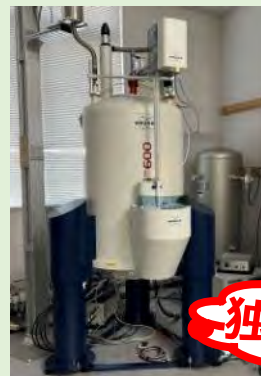


分子構造解析

精密診断！

構造解析

NMR(400, 600MHz)



パルスNMR



独自技術！

各種分光機器

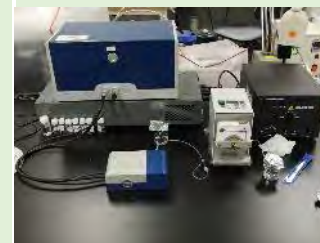


赤外 (IR) 近赤外 (NIR)
ラマン



紫外-可視(UV-vis)

水晶振動子マイ
クロバランス
(QCM)



分散安定性
評価装置



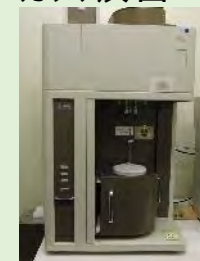
粒度分布計



レオメーター



ガス吸着



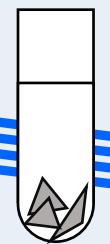
X線回折装置



独自の評価技術系を構築 (産総研・中国センターでしかできない測定)
多角的・総合的な分析・評価

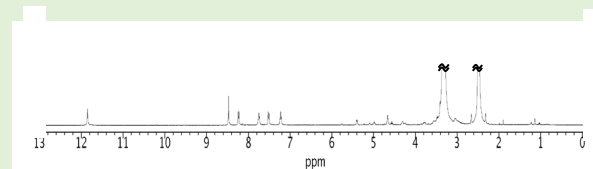
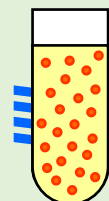
独自測定技術：ゲル状態NMR解析 ～溶かさずに溶液NMR測定～

ナノセルロース



溶液NMR分析不可
特性解明困難
材料開発遅延

改良型Gel-state NMR分析



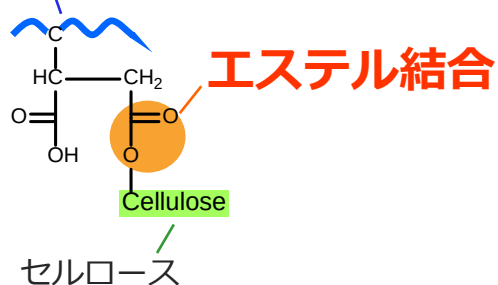
精密構造解析 分子間相互作用解析

構造解析可能に

1. ナノセルロースの特性解明

強度に関わる構造解明

相容化剤



顔料吸着機構の解明

セルロース



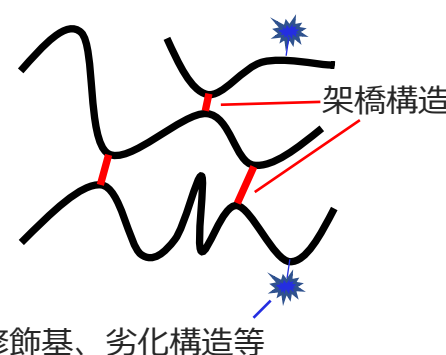
CH- π 水素結合



有機顔料

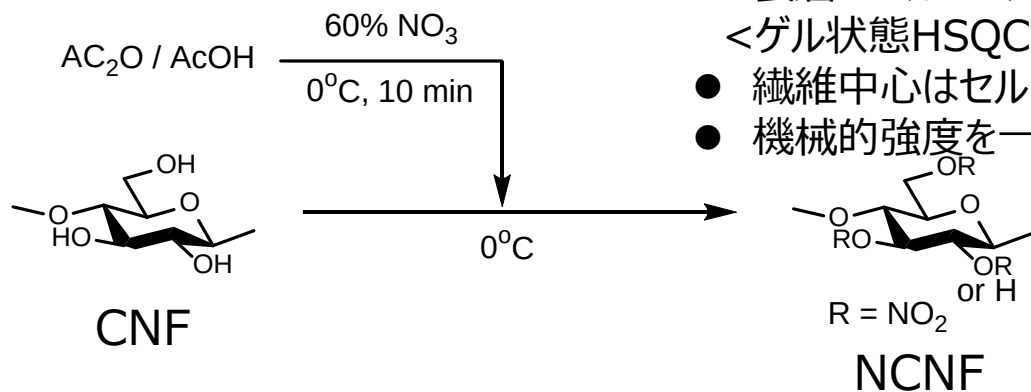
2. 合成高分子への展開

微小構造の精密解析

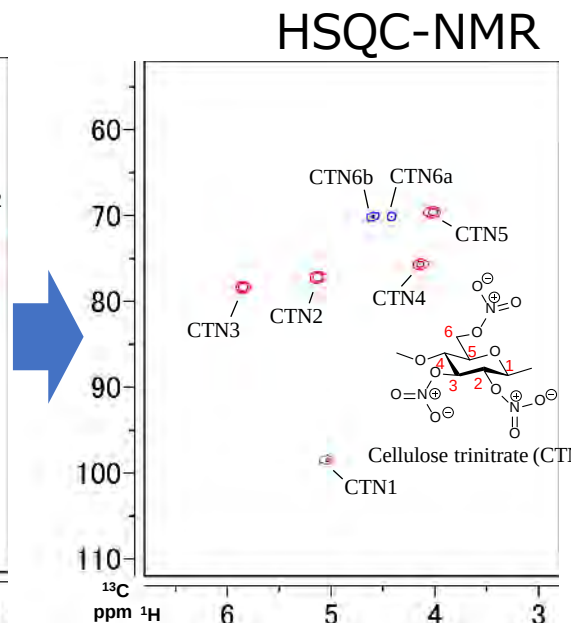
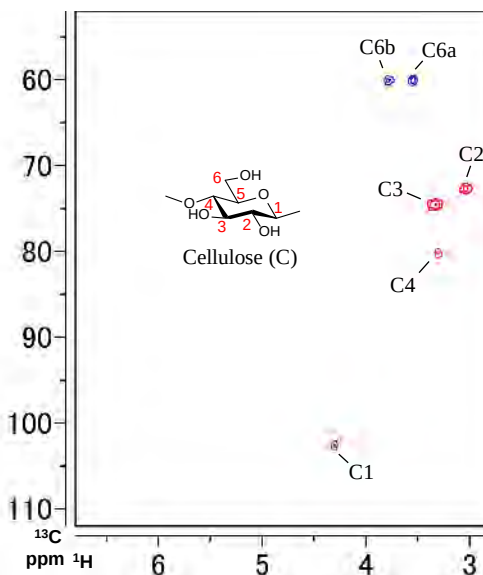
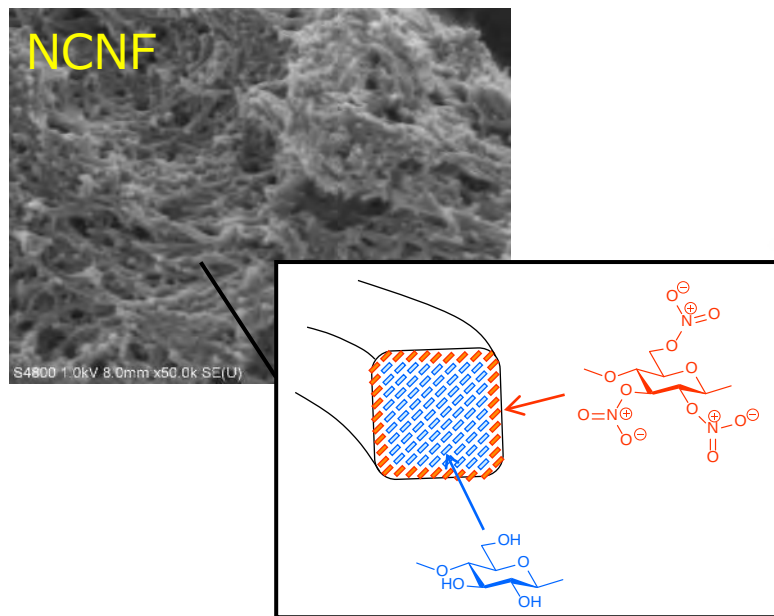


構造解析や分子間相互作用解析を通じて高機能性有機材料の開発促進

独自測定技術：ゲル状態NMR解析 ～ニトロエステル化CNFの構造評価～



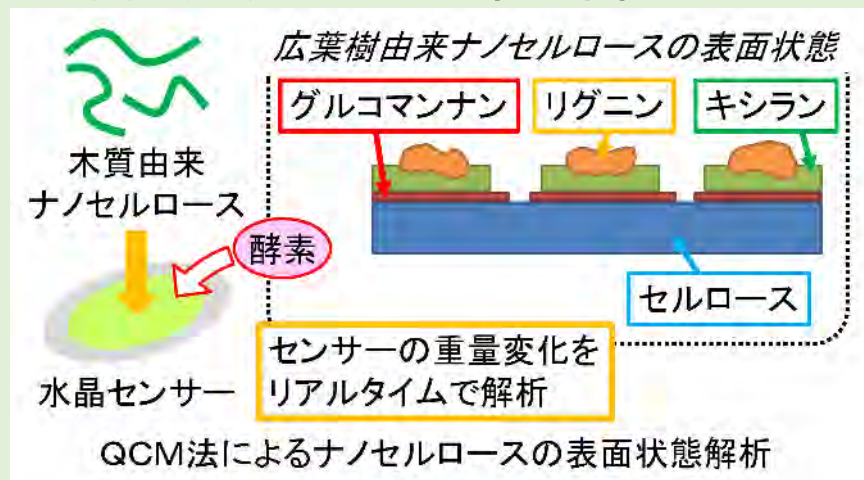
- CNFのナノ構造を保持
- 表層のセルロースを高置換度のニトロセルロースに変換
<ゲル状態HSQC-NMRにより説明>
- 繊維中心はセルロース結晶であり、セルロースが従来有する
- 機械的強度を一定以上保持と期待



独自解析技術：QCM法・沈降法

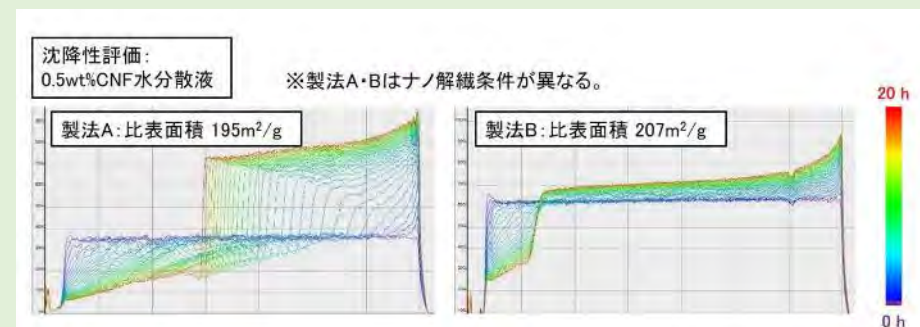
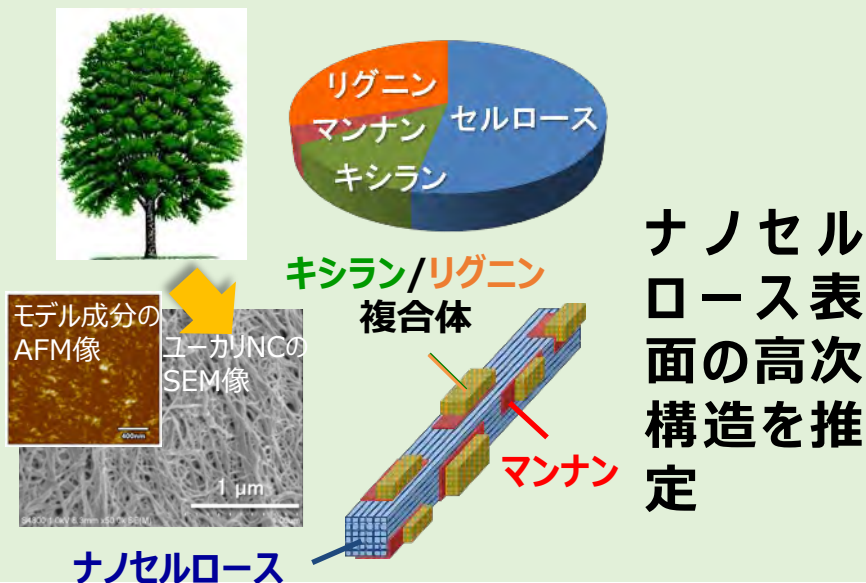
QCM法:

吸着、分解、表面粘弾性等



沈降法:

繊維幅、枝分かれ、毛羽立ち等

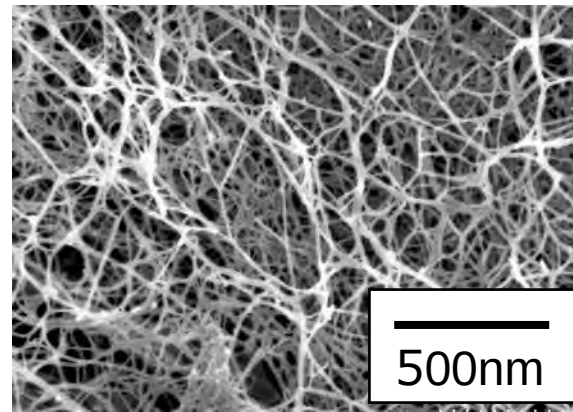


熊谷明夫ら, 紙パ技協誌、73, 66-73 (2019)

③ ナノセルロースを使う



電子顕微鏡画像



- 樹脂補強
- ゴム補強
- 物質吸着
- 食品
- 炭化
など

プロセス装置群

ミキサー



樹脂・ゴム混練機



2本ロール



加圧型ニーダー



4軸押出機



射出成型機



評価装置群

強度試験機



疲労試験



熱分析

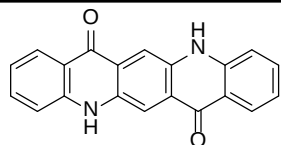


摩擦試験

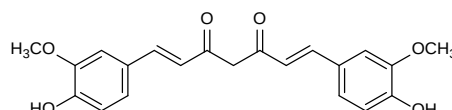


③使う：物質吸着

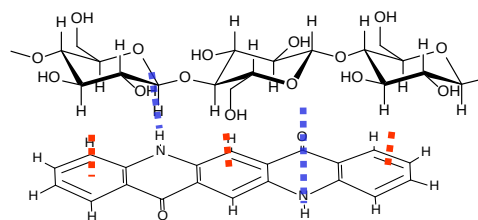
π共役平面分子



キナクリドン
赤色顔料

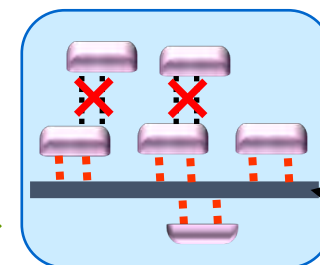


クルクミン
機能的物質



CH-O 水素結合

水素結合

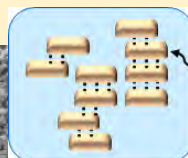
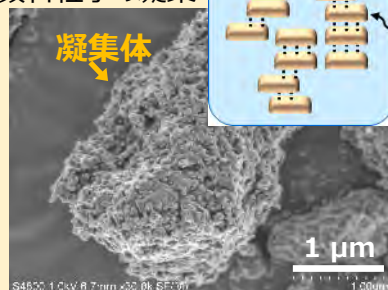


表面への吸着

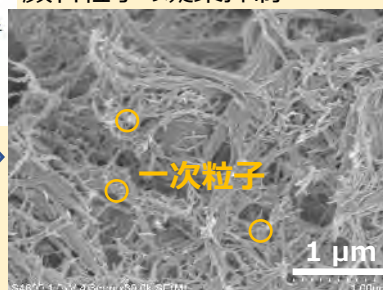
ナノセルロース

山陽色素（株）様との共同研究

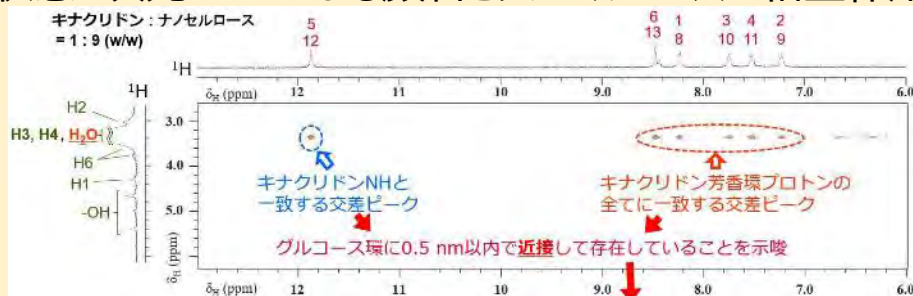
顔料粒子の凝集



顔料粒子の凝集抑制



ゲル状態2次元NMRによる顔料とナノセルロースの相互作用の解明



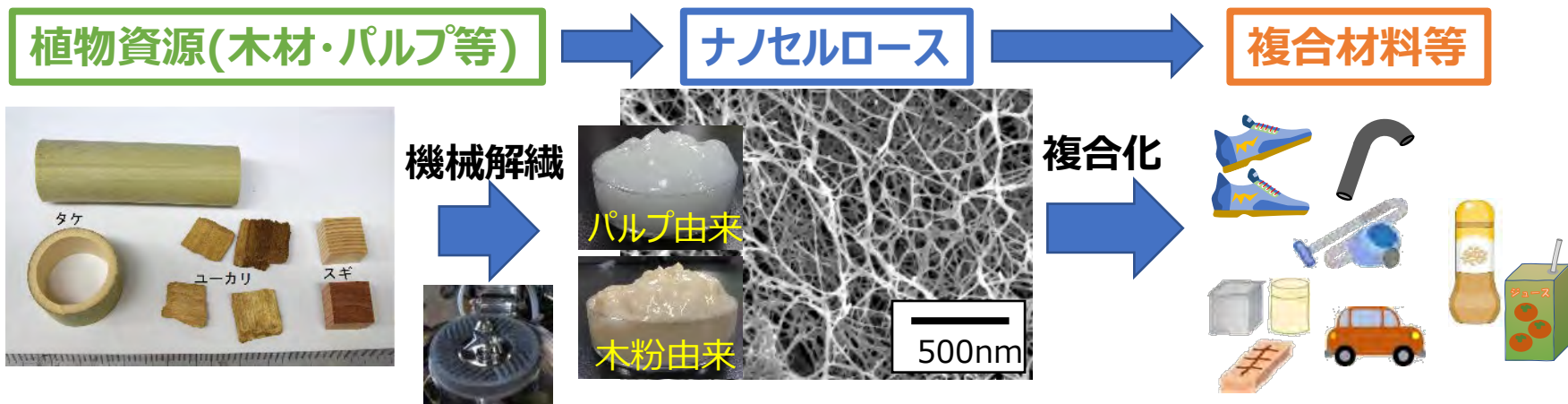
発泡ウレタン材料

CNF添加による発色性向上



顔料のみ ナノセルロース0.1wt%添加

③使う：機械学習による複合材料予測

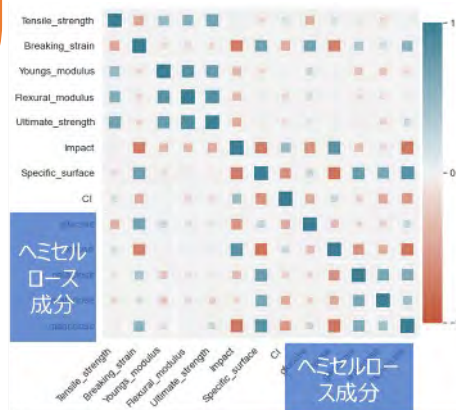


長年の蓄積データの活用：例) NEDO委託事業「ナノセルロースの特性評価」(2017-2019)

スペクトル (化学構造・成分比)
構造 (電顕・散乱)
物性 (比表面積・結晶化度etc)

分散性
力学物性

13検体 (原料樹木) x 13パラメータ (物性など)

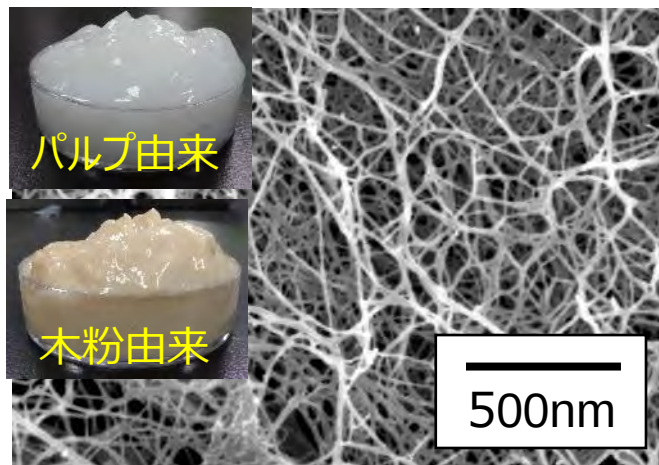


- 類似測定を由来とする相関
- 構造情報に関連する相関
- **意外な相関：ヘミセルロース成分と衝撃エネルギーの相関**

データ駆動型アプローチ

- ① 統計手法 (相関の高い記述子の抽出、Python)
- ② スペクトル情報の統計 (相関係数を用いた解析)
- ③ 多変量解析 (主成分分析など、Python)
- ④ 回帰分析 (主成分回帰など、Python)
- ⑤ 機械学習による予測および実証 (実験)

トピックス紹介：樹脂複合材料の構造解析



ナノセルロースに対するニーズの高まり

- 森林資源に由来する持続型資源。石油由来資源の代替や削減、炭素固定化など、**サーキュラーエコノミー社会実現のための重要な素材**。
- 優れた力学物性**を有し、軽量・高強度化、易リサイクル性、に優位。
- ナノ形状**を活かした新たな産業創出（分散剤、食品応用等）も期待。

主な用途： 樹脂・ゴム複合材料、補強材、分散剤、食品応用etc.

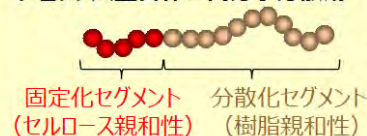
<樹脂複合化技術>

①界面制御¹⁾

- ブロック共重合体の添加によるNC表面の疎水化。
 - 溶融混練時の解繊・分散同時プロセス。
- ⇒PE系で高い補強。

界面制御技術

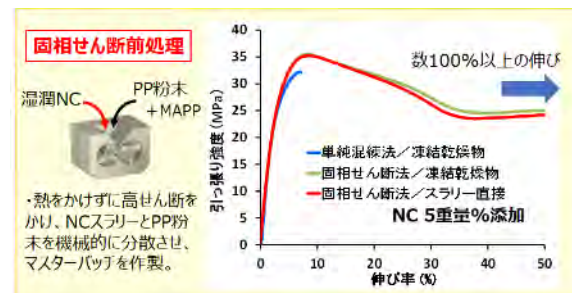
ブロック共重合体 = 高分子分散剤



[特徴] 多点相互作用による**高安定吸着性**（低分子界面活性剤との違い）

②プロセス制御²⁾

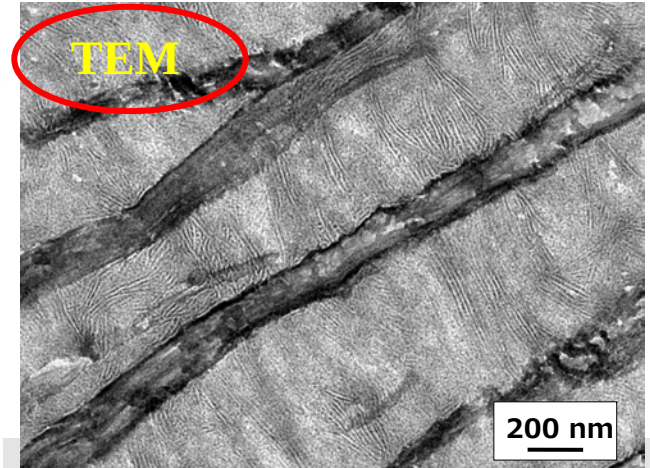
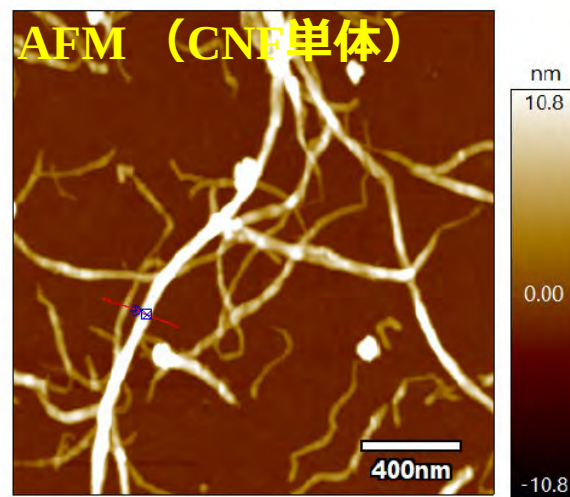
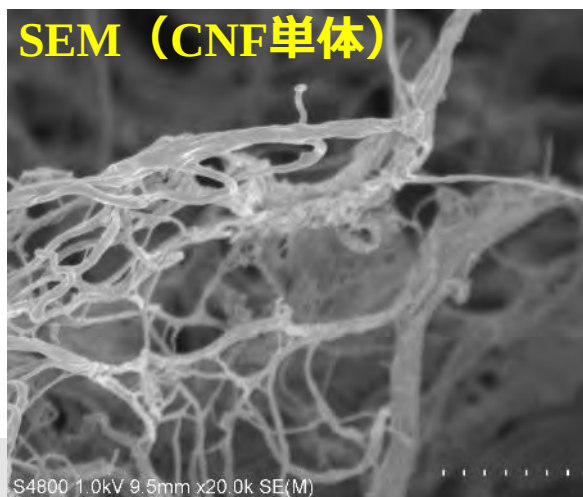
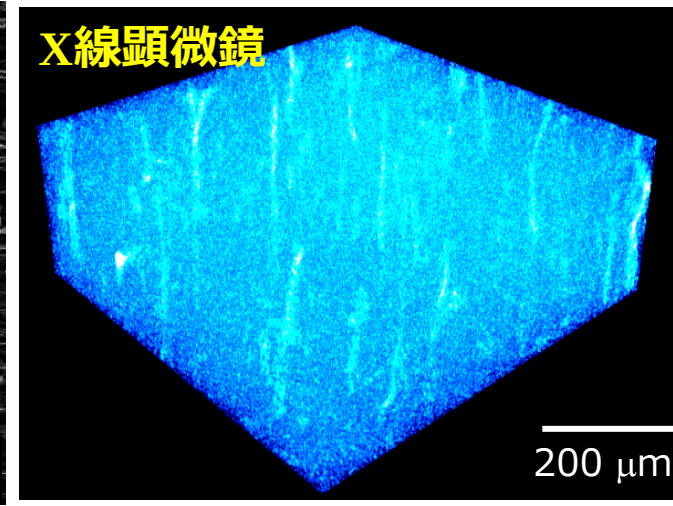
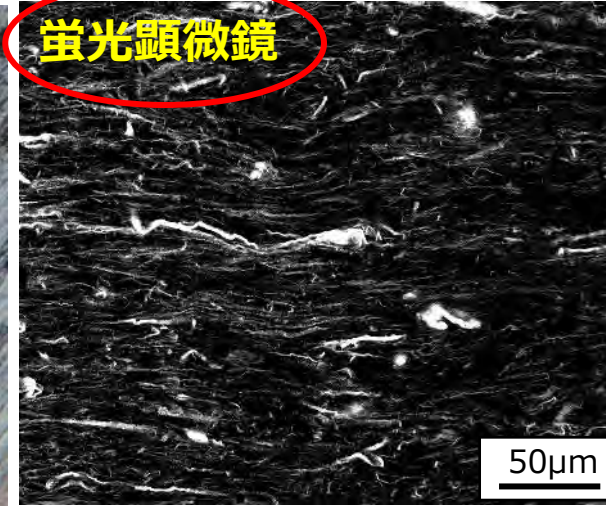
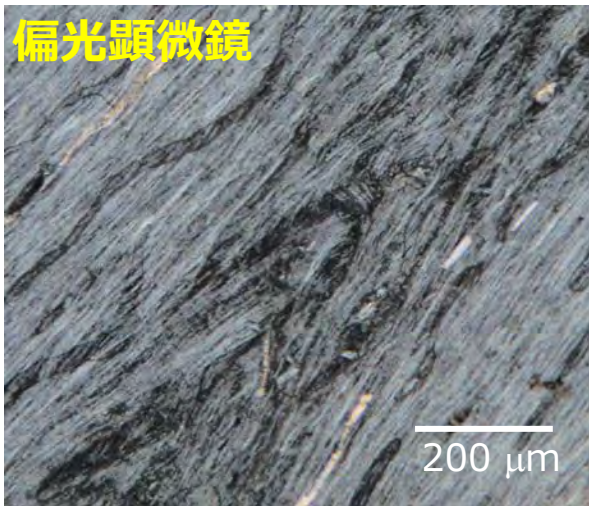
- 固相せん断前処理によりNCスラリーと樹脂粉末を固体状態で分散。
- 界面制御せずともNCの分散状態を維持。



トピックス紹介：樹脂複合材料の構造解析

樹脂中における補強NCが狙った形状を維持しているか？

複合材料内部におけるNCの構造や樹脂の高次構造、特性を明らかにできれば、さらなる高性能化や、靱性向上等の課題解決につながる！



トピックス紹介①：蛍光顕微鏡観察

NBKP
尿素
HDPE
蛍光分散剤

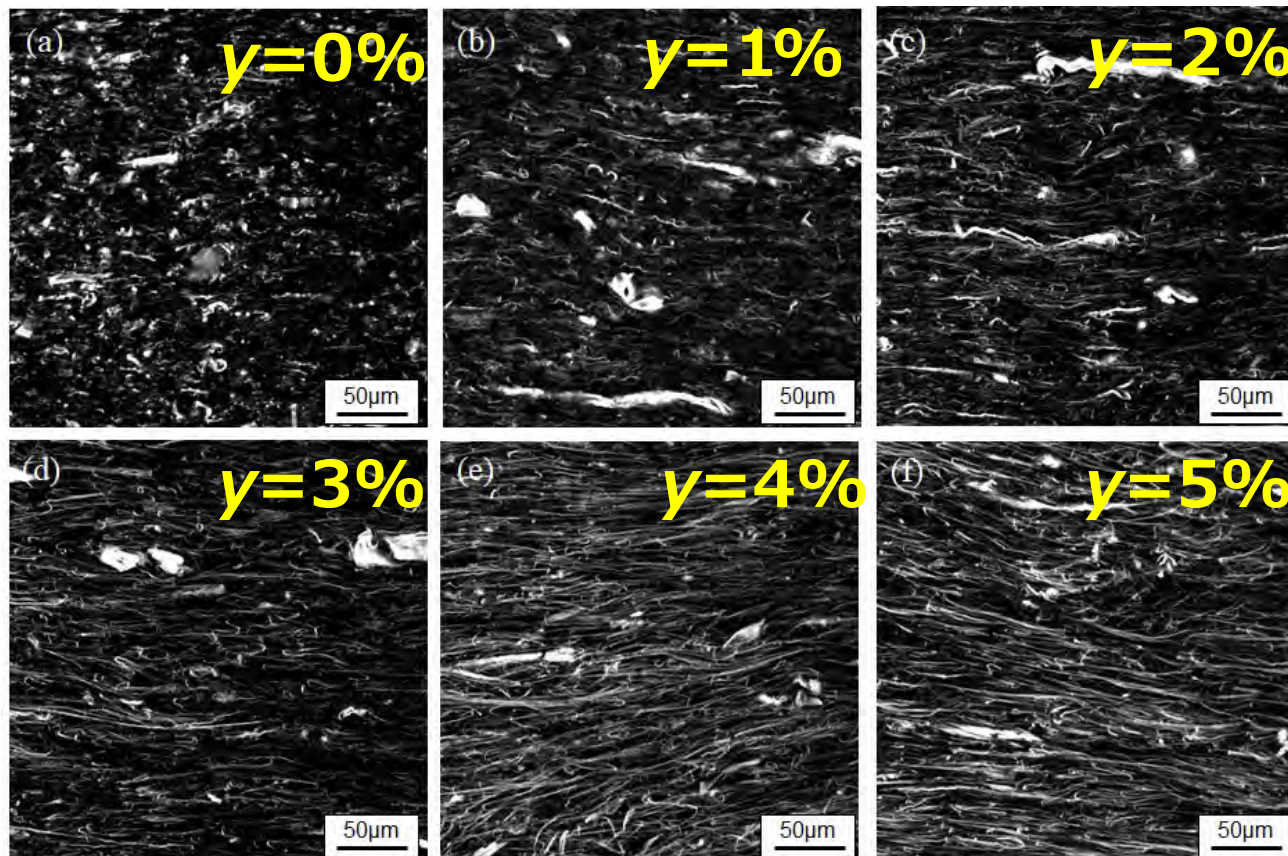
混練・成型
140℃

コンポジット

マイクローム

熱プレス

共焦点レーザー走査型顕微鏡観察



尿素割合 (γ) を添加することでNCの長さが増加していく挙動を可視化。

トピックス紹介①：蛍光顕微鏡観察

NBKP
尿素
HDPE
蛍光分散剤

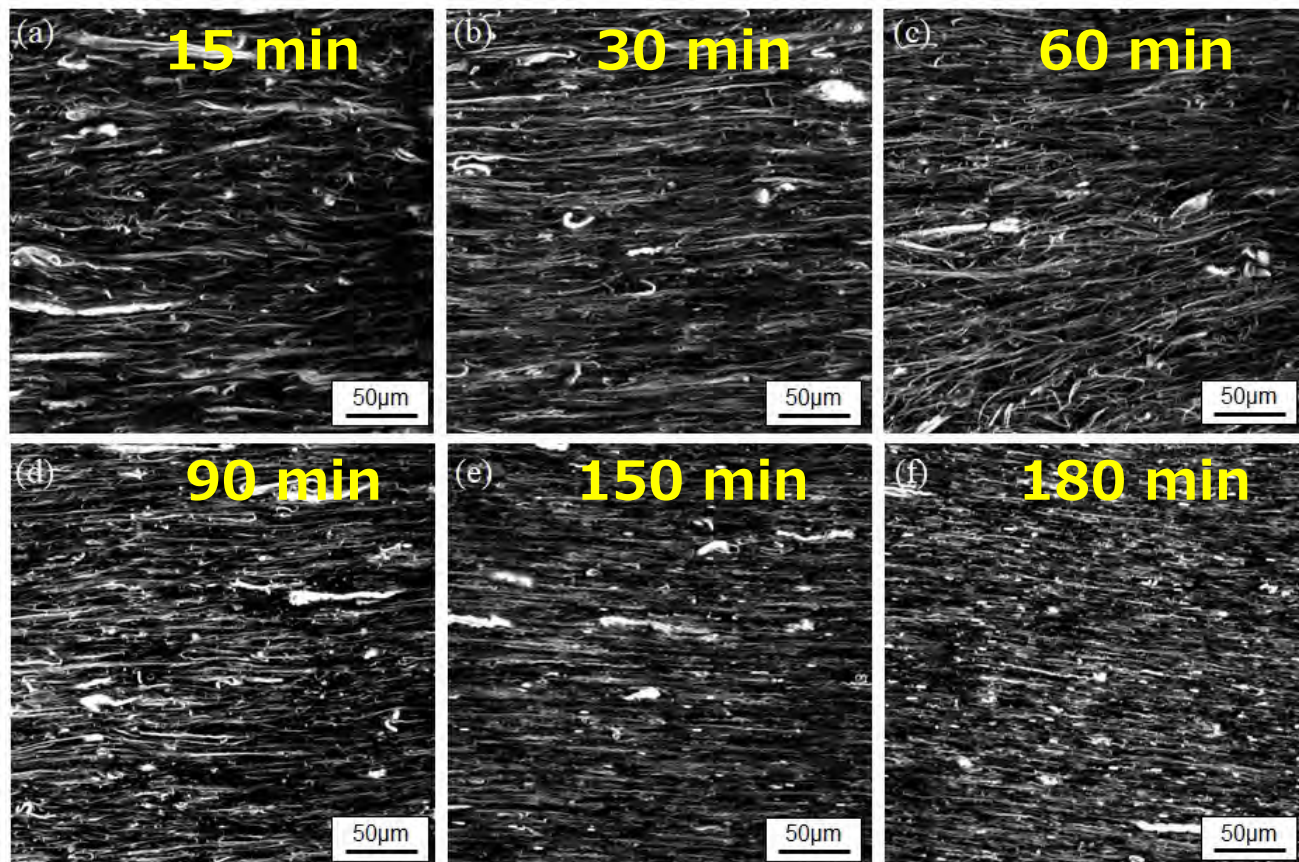
混練・成型
140℃

コンポジット

マイクローム

熱プレス

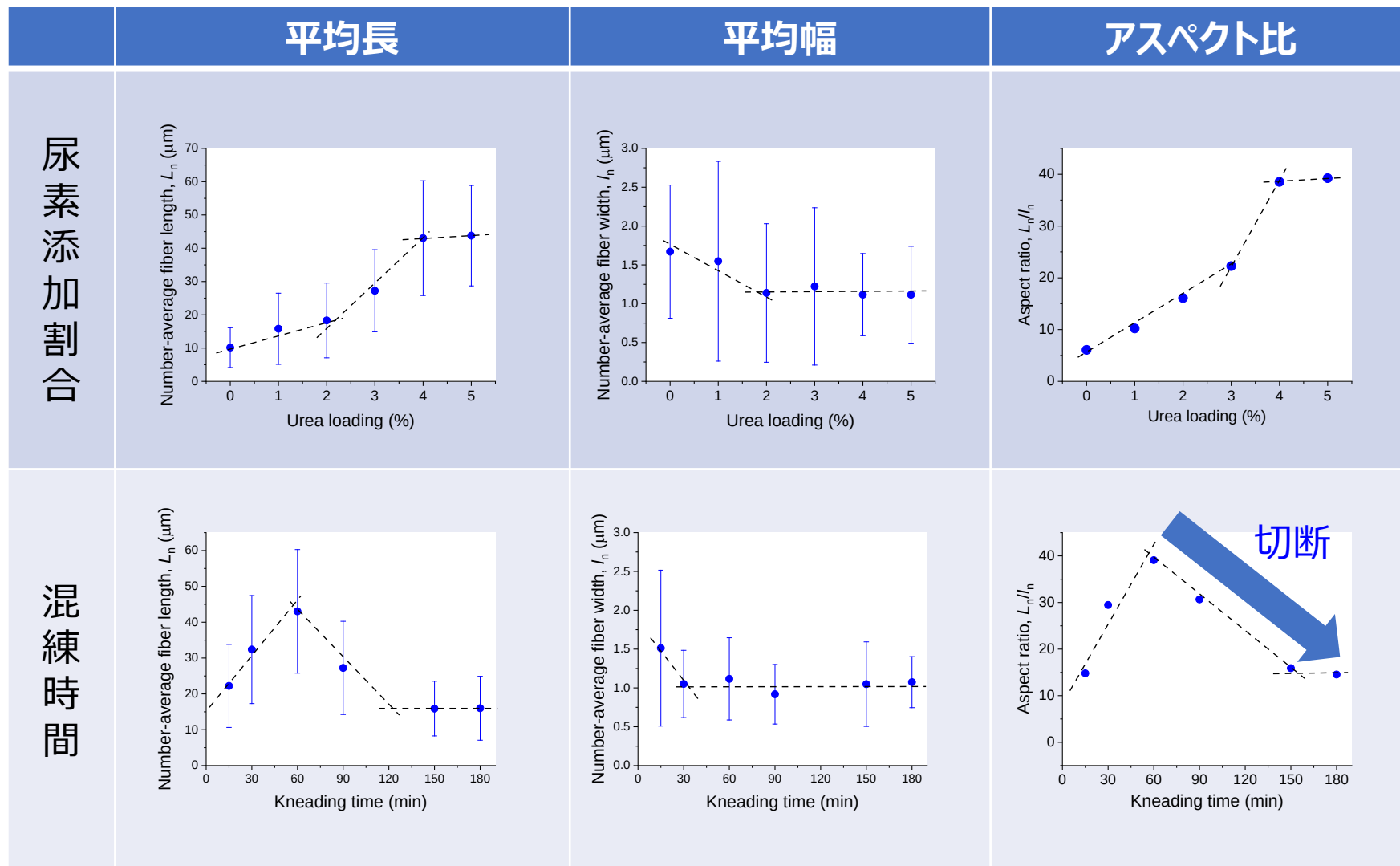
共焦点レーザー走査型顕微鏡観察



ニードー時間による変化を可視化。

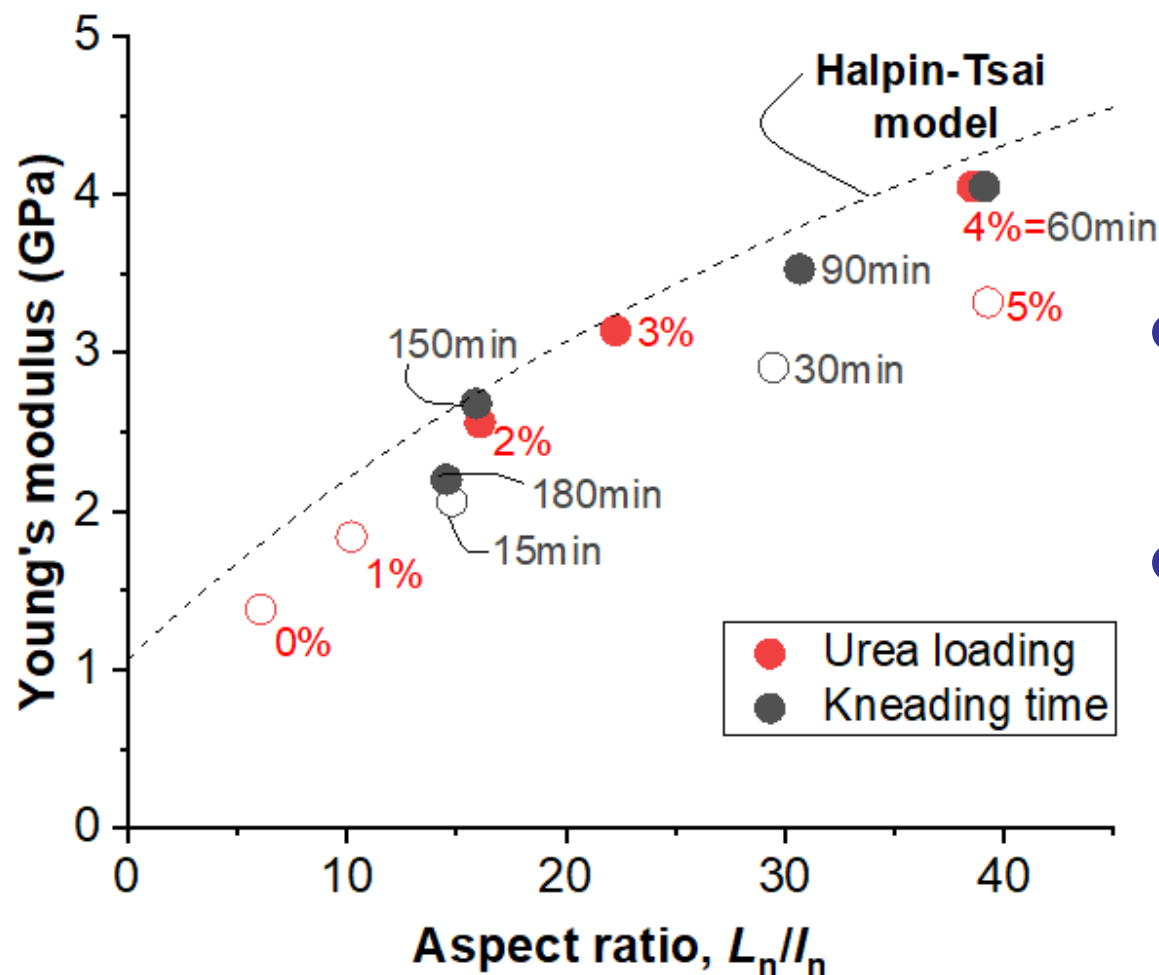
トピックス紹介①：蛍光顕微鏡観察

樹脂中のNCを観察できると、その形状（長さや幅、アスペクト比）が分かる。



トピックス紹介①：蛍光顕微鏡観察

樹脂中のNCを観察できると、理論式との相関が分かる。

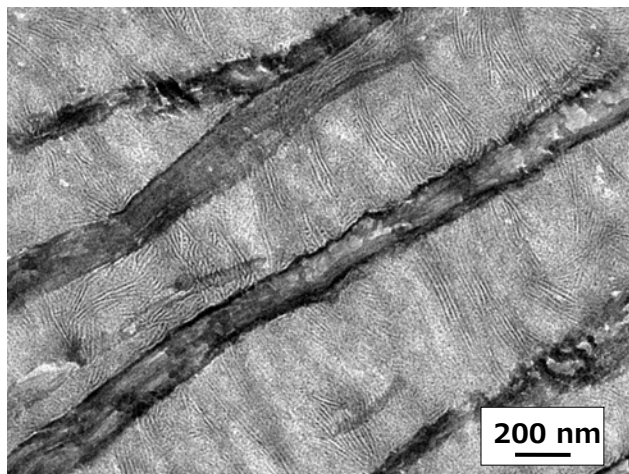


- 良好な複合材は理論式に従う力学物性を得られることを確認。
- 理論式を下回る時（図中○）、その要因（凝集、解繊不良、可塑化など）を可視化により考察。

Fig. アスペクト比とヤング率、およびHalpin-Tsai (H-T)理論式との相関。

トピックス紹介②：TEM観察

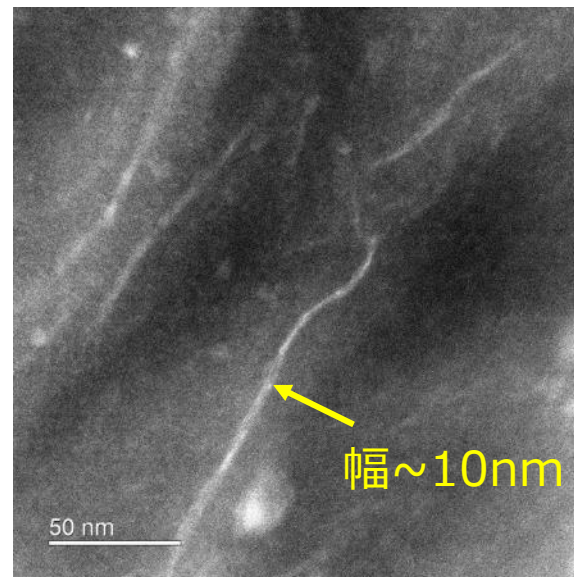
CNF複合樹脂のTEM像（Ru染色）¹⁾



1) ACS Appl. Mater. Interfaces, 2016, 8, 24893.

- 樹脂PEのラメラ、割と太めのCNFが明瞭に観測
- 幅 10-20nm 程度 のCNFはラメラ晶に隠れている可能性あり。

CNF複合樹脂のHAADF-STEM像（無染色）



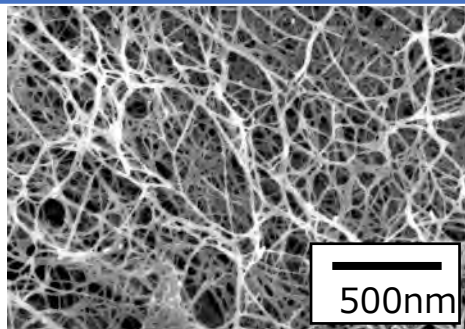
- より微細なCNFを観測
- 分析（EELSによる化学結合やEDによる結晶構造、トモグラフィ）との組み合わせ

今後の展開：

- ・ダメージレスTEM観察法による樹脂中のCNFの構造解析
- ・物性に影響するナノスケールの因子の特定

トピック紹介③：ナノセルロースの結晶核剤効果の解明

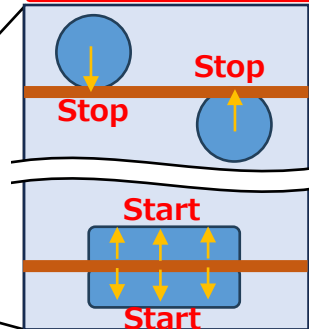
ナノセルロース(CNF)



複合材料



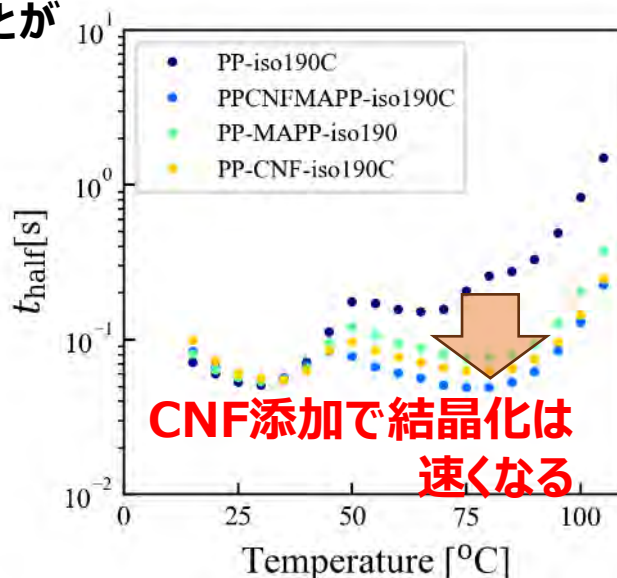
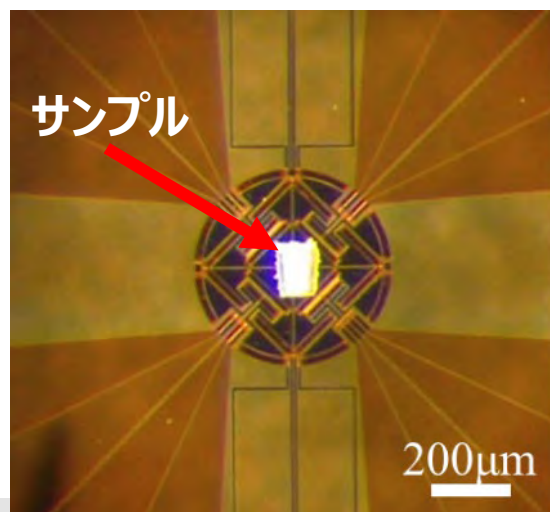
Q:高分子はどこから固まる？



CNFにぶつかって
結晶化がストップ？
→結晶化は遅くなる？

CNFを起点に
結晶が発生？
→結晶化は速くなる？

超高速DSCを用いると、CNF添加によって、高分子の結晶化が速くなるのか、遅くなるのかを正確に調べることができる



分析によりわかったこと：
CNF添加で結晶化は促進

CNFは高分子の結晶核となる

今後の展開：
・CNFの補強効果と結晶形態との関係を明らかにする
・複合材料の結晶化過程を制御する

まとめ

- ナノセルロースおよび木質材料に特化した独自の基盤技術の開発。
- 複合材料における高次構造解析と物性相関解析を推進。

要素技術開発

- 各種原料に適したナノセルロース製造技術の開発
- 分子構造、ナノ形態、分子物性の精密解析技術開発
- 分散化技術による高性能ゴム・樹脂複合材料の開発
- 食品系素材由来ナノセルロースの機能活用技術開発
- データ駆動型ナノセルロース材料最適化技術の開発

**技術相談やご見学を是非ご検討ください。
産総研と連携しませんか？！**

2D-NMR法を用いた木質バイオマスの 化学修飾反応のモニタリング

秋田県立大学 木材高度加工研究所

安藤 大将

様々な木材の利用

材をそのまま：構造材料



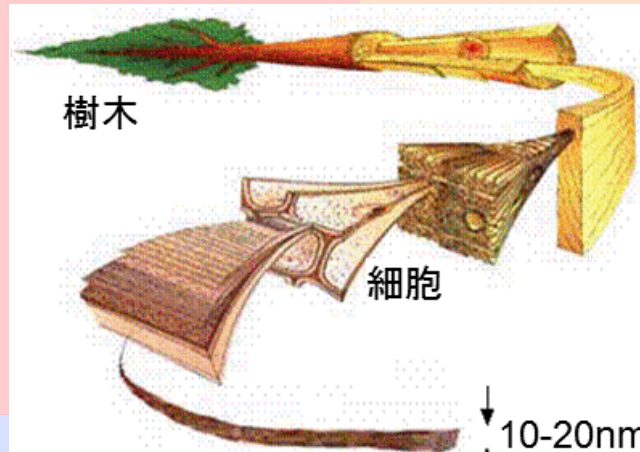
集成材



CLT



円筒LVL



木材

材を少し加工：木質材料



柔らかい木のベンチ



バネバネの椅子



WPC

材を解繊して：繊維材料

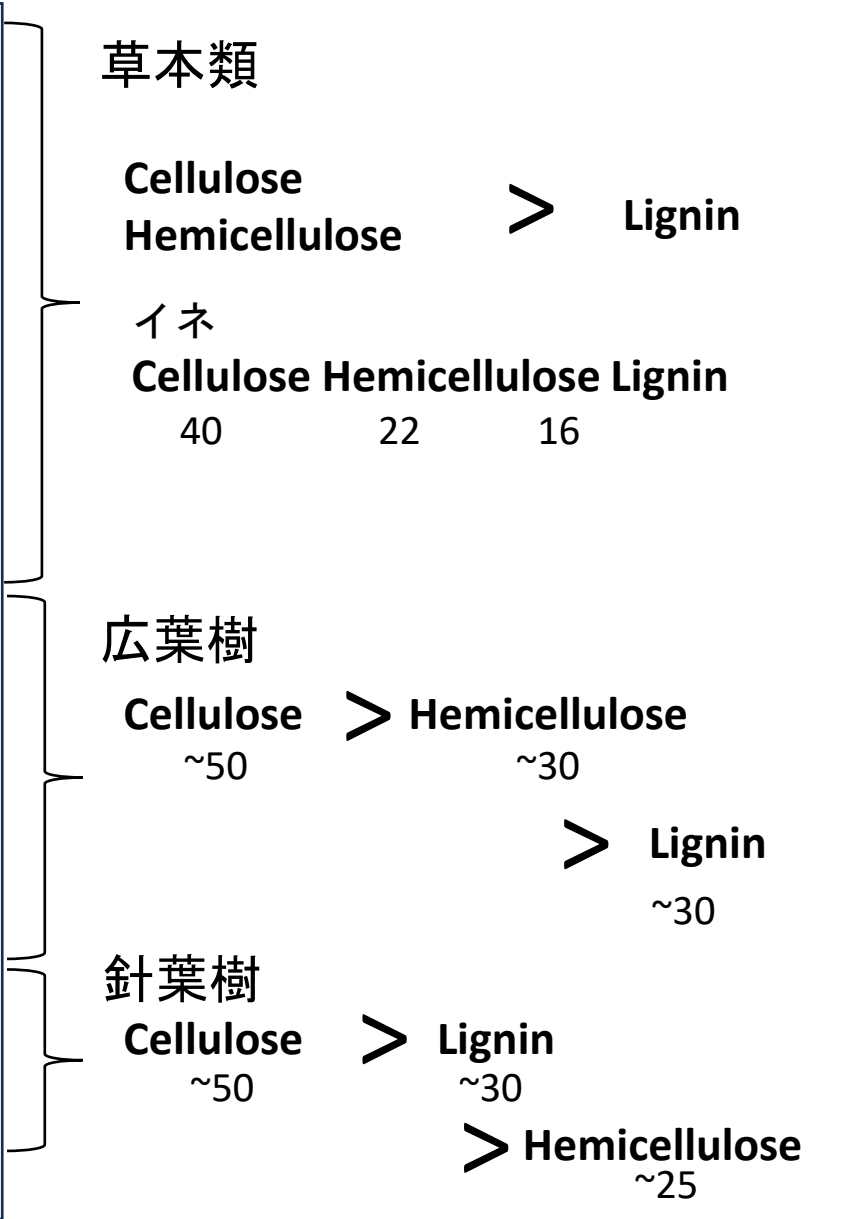
- ・ 紙
- ・ パルプ
- ・ 木粉
- ・ リグノセルロース材料

材を成分分離して：

- ・ バイオエタノール
- ・ バイオプラスチック
- ・ ナノファイバー

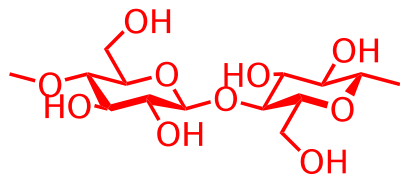
木材成分(細胞壁構成成分)の含有量

下記論文から引用している図のため、配布用には添付していません。



木材成分(細胞壁構成成分)の化学構造

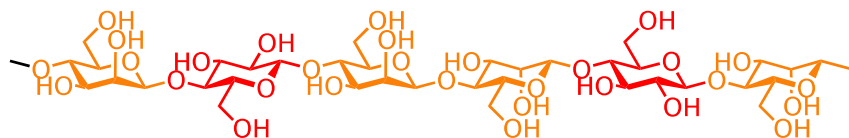
Cellulose



セロビオースが繋がったもの

Hemicellulose

Glucomannan(GlcとManからなるヘテロ多糖)



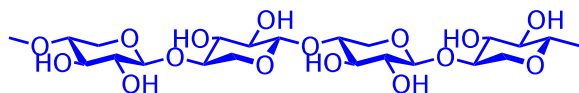
針葉樹: ガラクトグルコマンナン

Glc:Man=1:3~1:4、Manに部分的にAc基

広葉樹: グルコマンナン

Glc:Man=1:1~1:3

Xylan



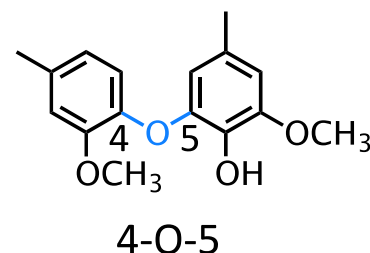
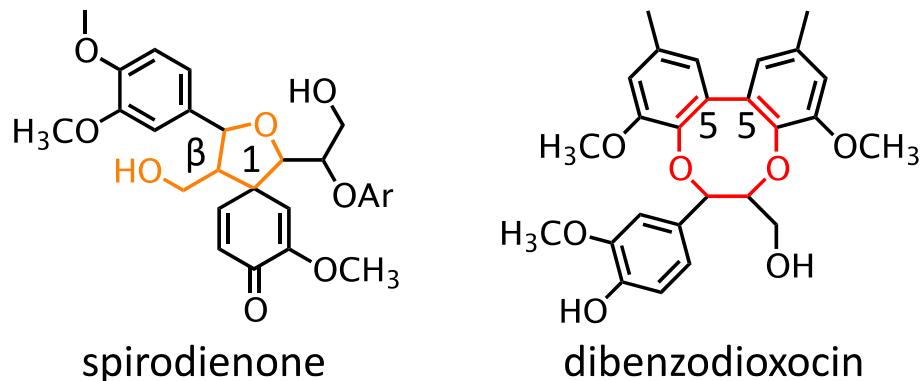
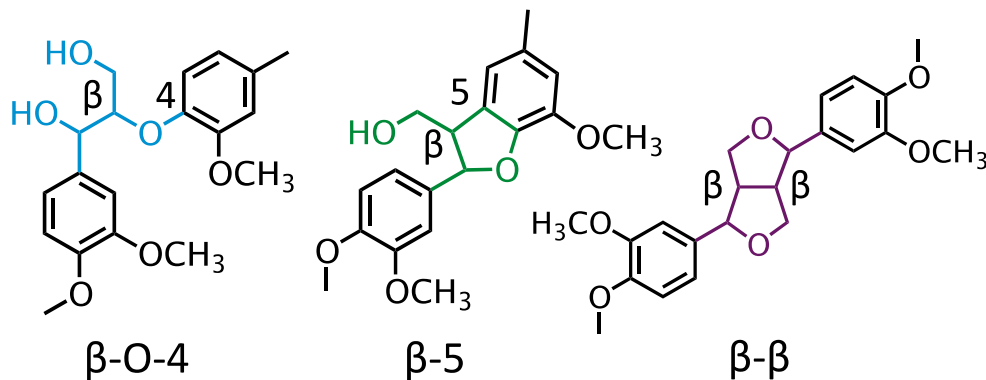
キシランの基本骨格

針葉樹: アラビノグルクロノキシラン

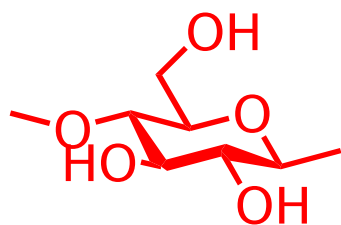
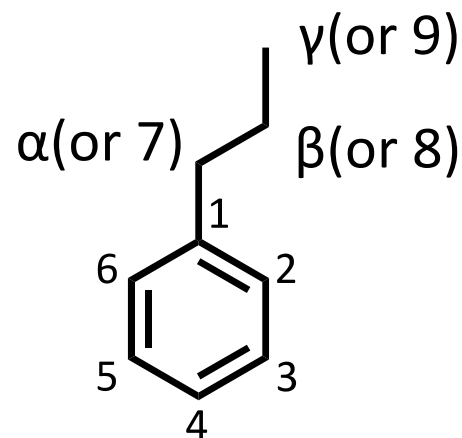
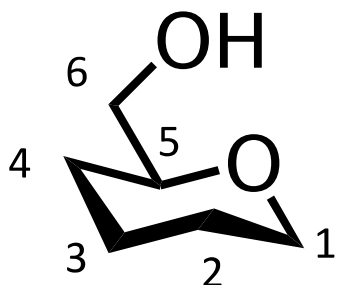
広葉樹: グルクロノキシラン (Ac基あり)

イネ科植物: アラビノキシラン

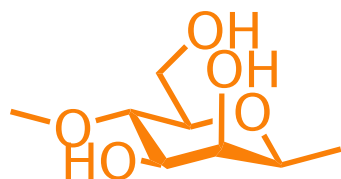
Lignin



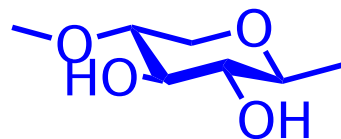
木材成分の基本の炭素骨格



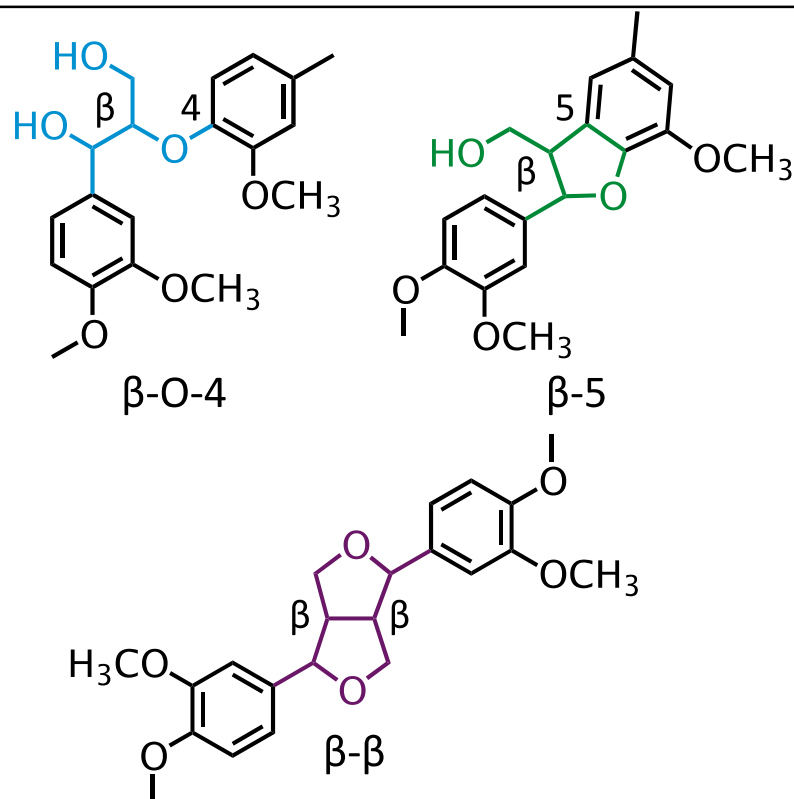
グルコース単位



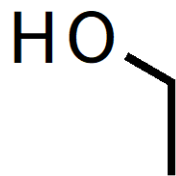
マンノース単位



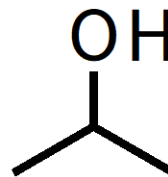
キシロース単位



木材成分の水酸基の種類

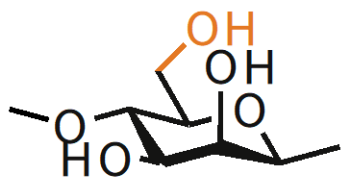
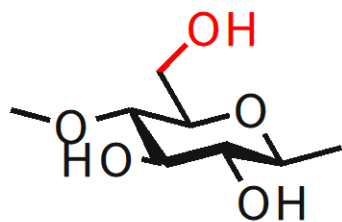


1 級水酸基

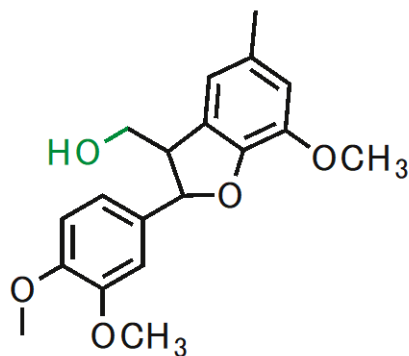
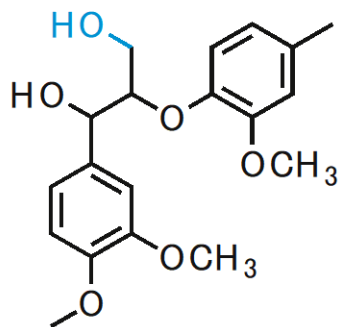


2 級水酸基

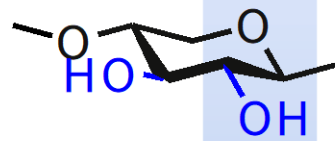
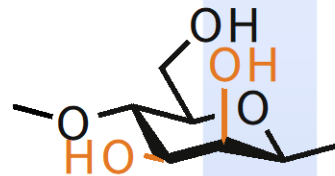
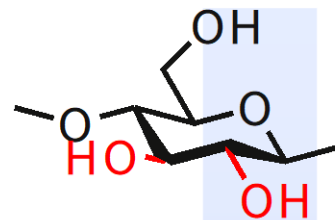
6 位の水酸基
6 位



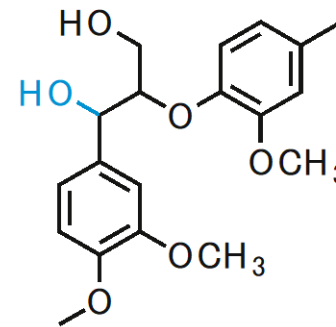
γ 位の水酸基



2,3 位の水酸基
3 位 2 位



α 位の水酸基



化合物の構造解析

- 元素分析 ▪ ▪ ▪ 元素組成比
- 質量分析 ▪ ▪ ▪ 分子量
- IR分析 ▪ ▪ ▪ 官能基の種類
- UV分析 ▪ ▪ ▪ 官能基の種類
- NMR分析

(1D-NMR(^1H -, ^{13}C -)、2D-NMR(COSY, HSQC, HMBC etc.)

▪ ▪ ▪ 炭素骨格

木質バイオマスの構造解析

既往の木材の構造解析

分解を伴う解析 → 分解物から元の構造を予測する。

元素分析、構成糖分析、Klason リグニン定量法、アセチルブロマイド法、ニトロベンゼン酸化、チオアシドリシス法、DFRC法 etc.

分解を伴わない解析 → 分解せず元の構造を予測する。

固体NMR分析、X線回折、GPC分析、IR分析、UV-vis分析 etc.

欠点 官能基位置の決定の難しさ → 溶液NMRの利用

試料特性

	木質バイオマス	バニリン(例)
溶解性	△～×	○
単離(精製)	×	○

バイオマスの溶解性の低さや分離の困難さ → 溶液分析には不向き

木材成分の2D-NMR法を用いた構造解析

KimおよびRalphにより開発された
木質バイオマス(細胞壁)のためのGel-state NMR法¹⁾

① 貧溶解性の解消

→試料を溶媒中に分散しゲル化

NMR分析前の前処理

木質バイオマス

↓ 遊星ボールミル処理

粉碎木質バイオマス

↓ 溶媒膨潤

ゲルサンプル

↓ NMR測定

バイオマスのNMRデータの取得

② 分離困難さの解消

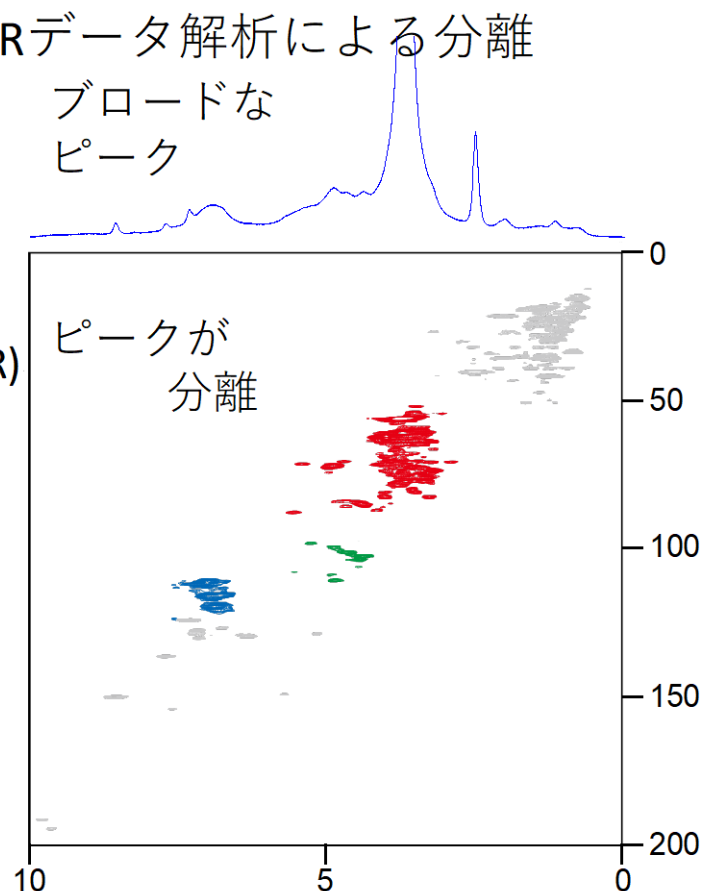
→2D-NMRデータ解析による分離

1D-NMR
(¹H-NMR)

ブロードな
ピーク

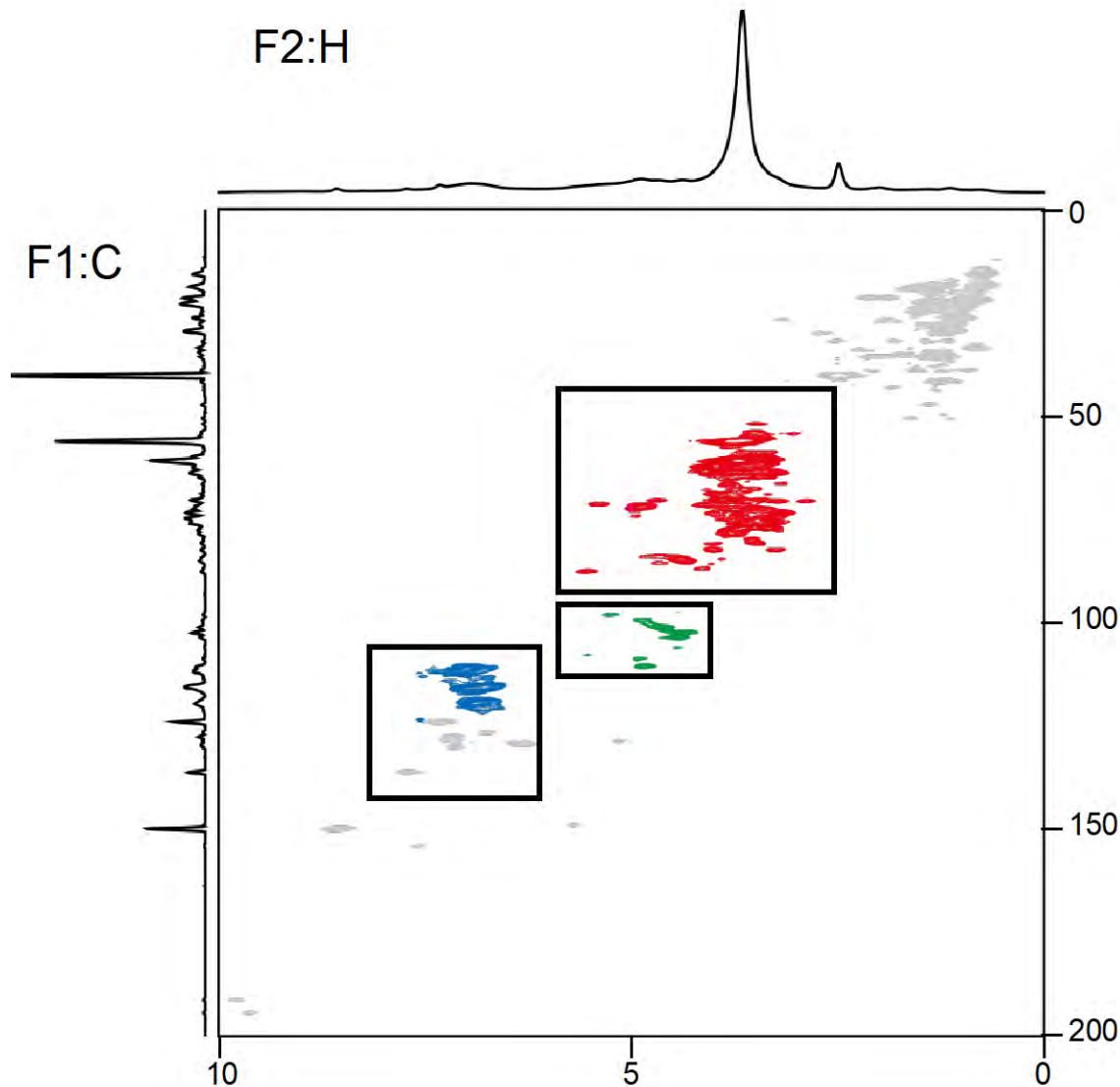
2D-NMR
(HSQC-NMR)

ピークが
分離



1) Kim, H. and Ralph, J., Org. Biomol. Chem., 2010, 8, 576-591

木材のための2DNMRを用いた構造解析



HSQCの利点：

^1H -および ^{13}C -NMRスペクトルでのシグナルのオーバーラップを解消することができる。

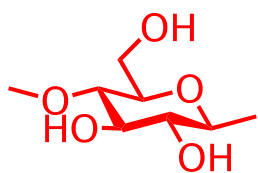
スペクトルの各領域：

側鎖領域(aliphatic region)：
多糖類のピラノース環
リグニンの側鎖領域

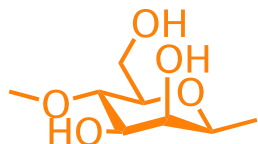
芳香核領域(aromatic region)：
リグニンの芳香核

アノマー領域(anomeric region)：
糖の還元末端

木材(*sugi*)のHSQC NMRスペクトル



Cellulose

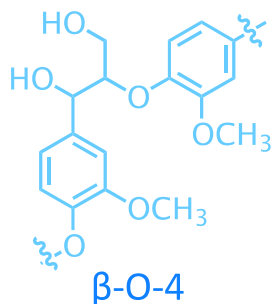


Glucomannan

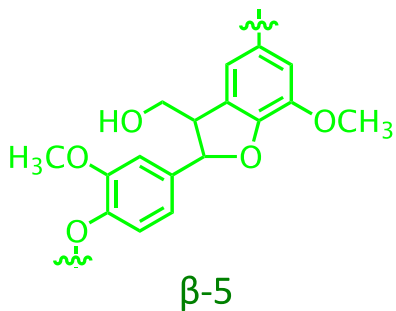


Xylan

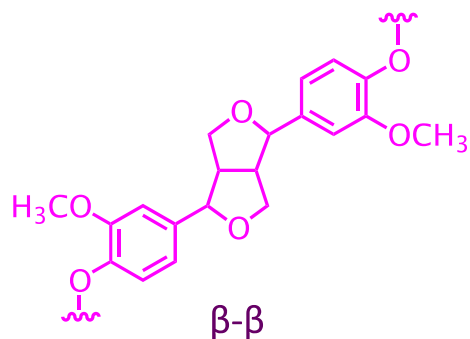
Polysaccharide



β -O-4

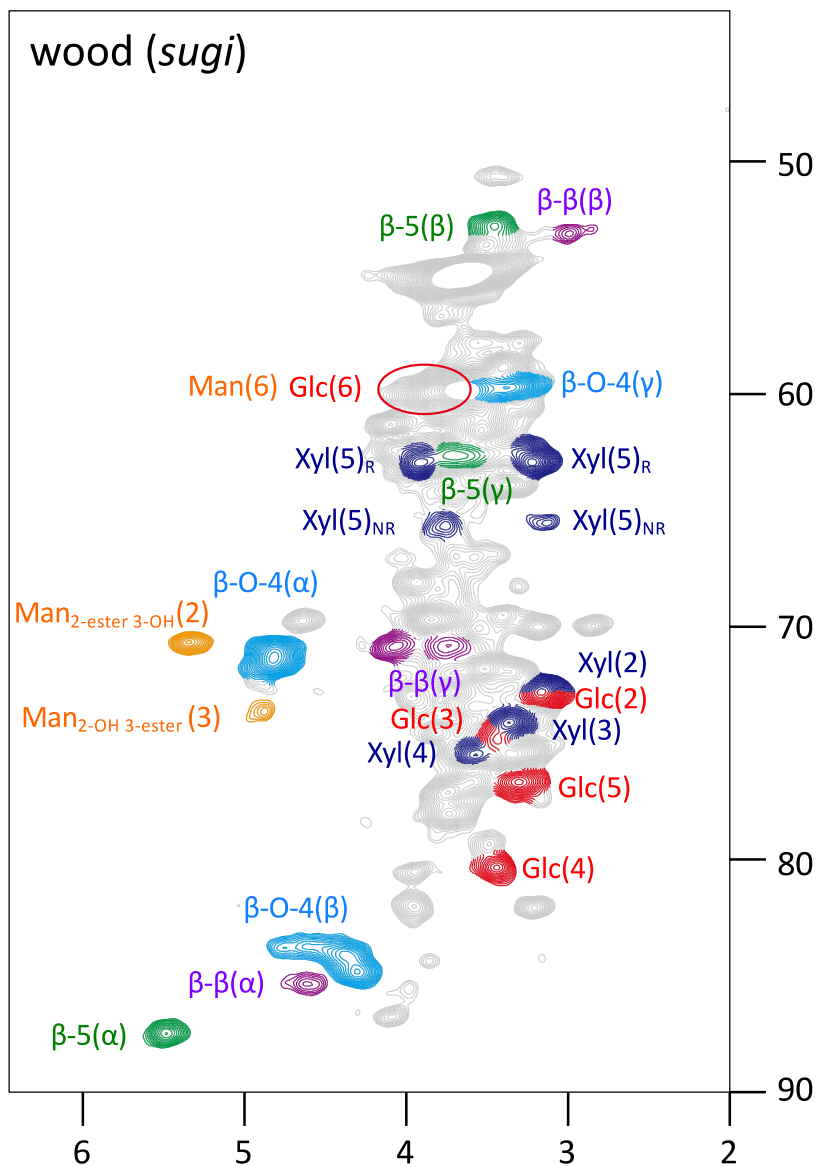


β -5



β - β

Lignin substructures



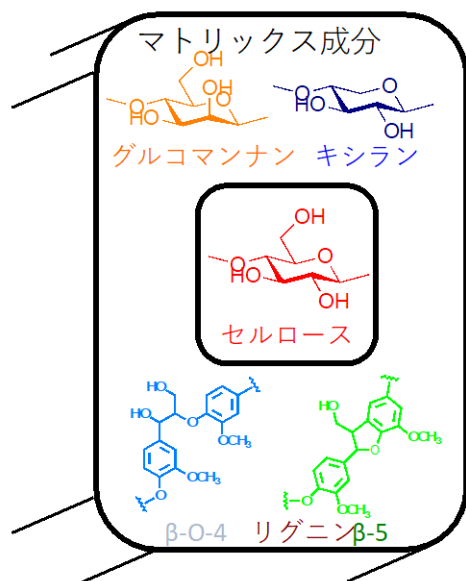
木質バイオマスのアセチル(Ac)化

目的：化学修飾反応挙動の解明

“どの成分のどの位置に官能基が導入されていくのか？”

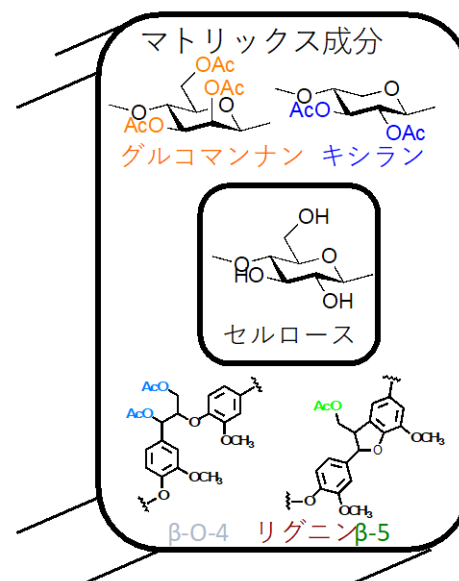
反応のモニタリング： 2D-NMR法を用いた構造解析

(試料) リグノセルロースファイバー(砕木パルプ由来)
(化学修飾) アセチル化



マトリックス成分
のAc化

①Ac化反応の追跡
②Ac化の耐熱性への効果



リグノセルロースファイバー

マトリックス変性
リグノセルロースファイバー

木質バイオマスのAc化

Polysaccharides

- primary -OH

Glc 6-OH

Man 6-OH

- secondary -OH

Man 2-OH

Man 3-OH

Xyl 2-OH

Xyl 3-OH

Lignin

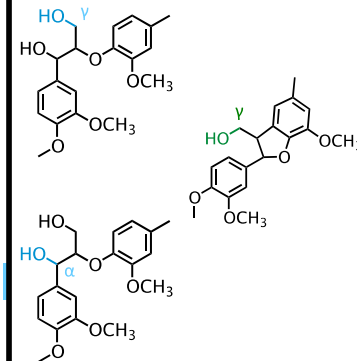
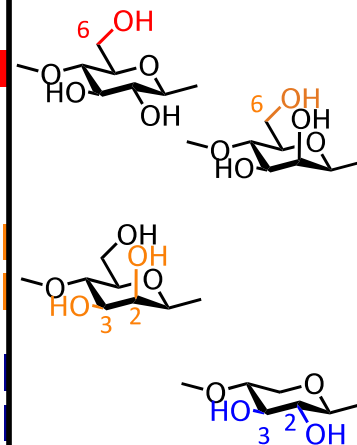
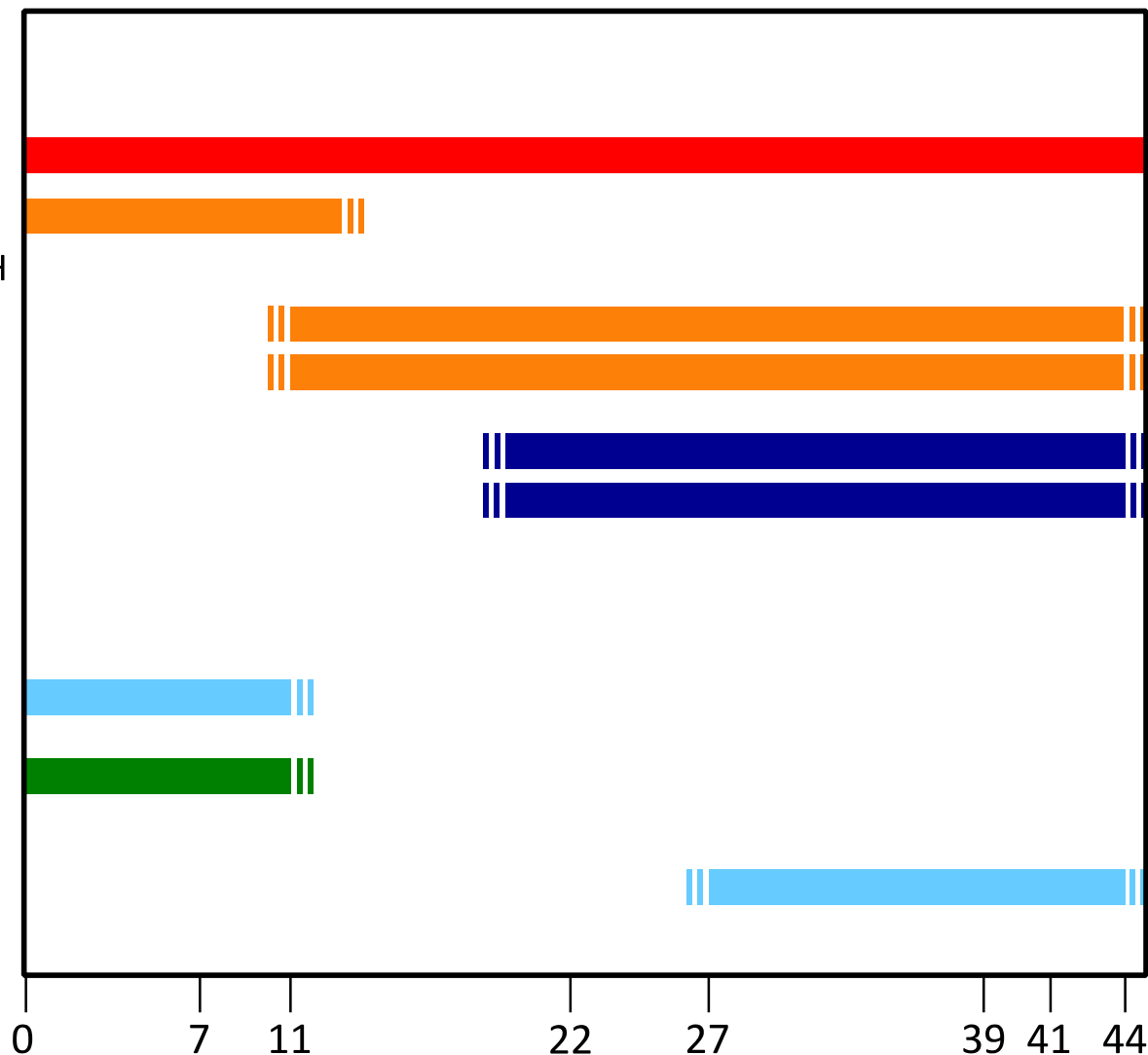
- primary -OH

β -O-4 γ -OH

β -5 γ -OH

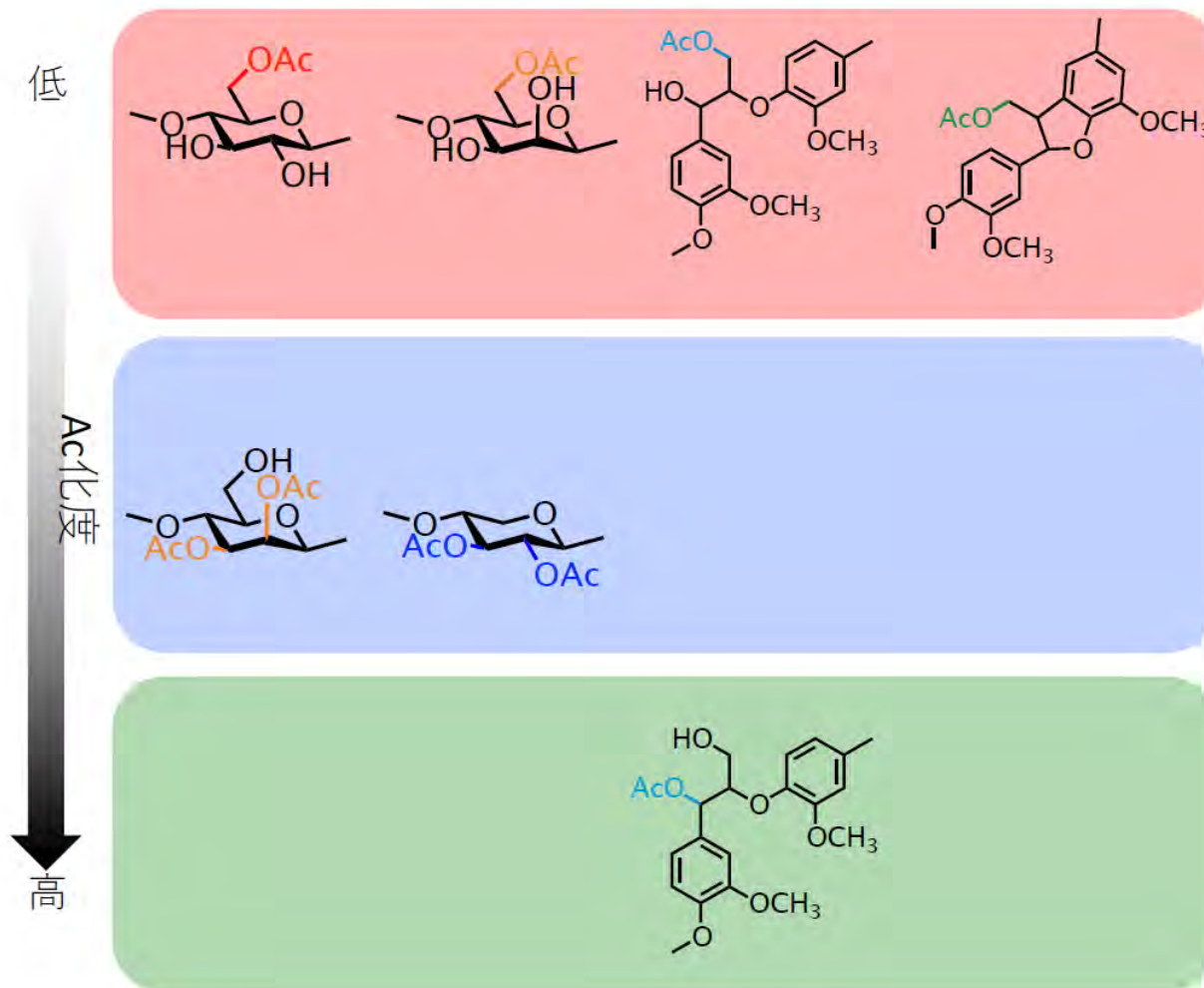
- benzylic -OH

β -O-4 α -OH



水酸基のAc化率(%)

木質バイオマスのAc化



リグニン+多糖類 [1級水酸基] → 多糖類 [2級水酸基] → リグニン [ベンジル位水酸基]
の順に反応が開始する。

Ac化木質バイオマスの耐熱性（TGA分析）

Ac化バイオマス (水酸基のAc化率 (%))	TGA分析	
	1%重量減少温度 (°C)	ピークトップ (°C)
0	207	358
7	228	361
11	221	362
22	222	356
27	234	363
39	236	365
41	238	366
44	238	366

Conclusion

▷ 木材成分について

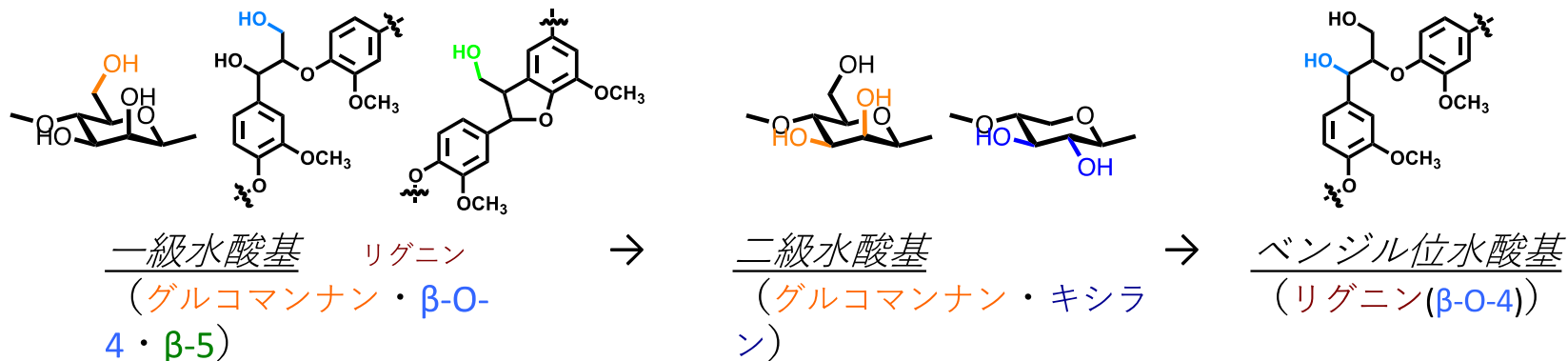
- ・ 炭素骨格に着目する
- ・ 多糖類は主にグルコース単位、マンノース単位、キシロース単位
- ・ リグニンは β -O-4、 β -5、 β - β 構造が主要結合

▷ 木材の構造解析(NMR分析)

- ・ ボールミル処理木粉をHSQC-NMR測定で解析
- ・ HSQC-NMR測定はC-H結合を検出可

▷ 木質バイオマスの Ac化

- ・ 1 級水酸基、2 級水酸基、ベンジル位水酸基の順に反応する



- ・ 1 級水酸基とベンジル位水酸基のAc化が耐熱性に効果的

イオン液体を用いたバガスパルプ 再生セルロース繊維の開発

八木 伸一

京都工芸繊維大学 繊維学系



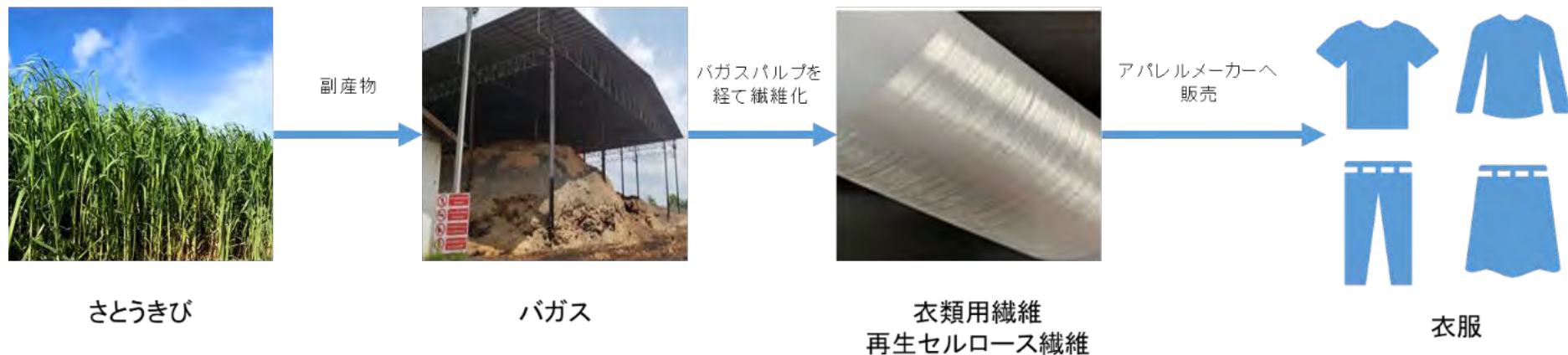
アパレル産業は環境汚染産業

→ 石油産業に次ぎ、2番目に環境負荷が高い産業

綿花等の繊維原料植物の栽培に多くの水を使用
石油を原料とした合成繊維が大量生産
使用済み衣類はリサイクルされず、燃焼や埋め立て処理

環境
問題

有効活用が模索されている、さとうきび未利用資源であるバガスによる解決を目指す



再生セルロース繊維 原材料

セルロース

食料・飼料供給と競合しない非食用のバイオマス資源

植物の光合成により大量に作られ、地球上に最も多く存在する多糖類

市場で流通する再生セルロース繊維（レーヨン、リヨセル）

原料が抱える問題

○レーヨンの原料となる竹は成長が早いですが、CO₂吸収能は低く、温暖化対策植物としては有用ではない。

○リヨセルの原料となるユーカリは植林面で課題を持った植物である。

ユーカリは「成長が早い」、「荒地でも育つ」、「植林しやすい」というメリットがあり、世界中で植林されているが、ユーカリは「周囲の植物の栄養分も消費する」、「土壌水分を多く吸収し蒸散させ、水を大量に消費して水源機能を低下させる」、「ユーカリが出す化学物質が周囲の植物の成長を抑制する」という課題がある。

従って、原料となるユーカリの生産方法まで考えると、必ずしも環境にやさしい繊維とは言えない。

バガス（サトウキビ搾汁残渣）

バガスは年間世界で1~3億トン製糖時の副産物として発生。
バガス発生量は、綿の年間生産量2,500万トンを超える。
綿を代替するポテンシャル量。

綿やユーカリは栽培に多くの水が必要であるが、さとうきびの栽培には綿やユーカリほど水を使用せず、繊維原料として環境負荷が低い素材。

また、さとうきびはCO₂吸収機能が高いため、カーボンニュートラルな素材として利用が期待できる。



再生セルロース繊維

ビスコースレーヨン → 水酸化ナトリウム水溶液（二硫化炭素）

銅アンモニアレーヨン → 銅アンモニア溶液

リヨセル → N-メチルモルフォリン-N-オキシド（NMMO）

課題

これらは環境に大きな負担を与える繊維化プロセスであり、またセルロースの溶解時に分子量低下や、爆発等の危険性がある

⇒イオン液体による再生セルロース繊維の調製

イオン液体の特徴

- ・ 室温でも液体で存在する塩
- ・ 蒸気圧は極めて低い
- ・ 不燃性
- ・ 一般に不揮発性、化学反応後の分離・再利用が容易

表. バガスパルプ再生セルロースと既存の再生セルロース繊維の比較

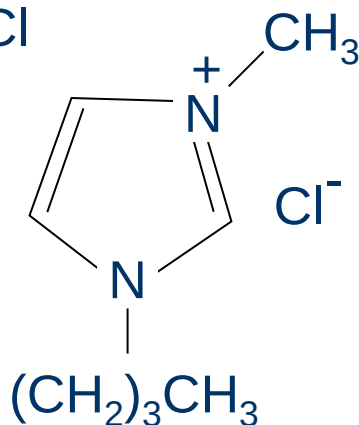
湿式紡糸法	本研究	既存繊維	
	バガスパルプ再生セルロース 繊維	レーヨン	リヨセル
原料	バガスパルプ(さとうきび)	竹パルプ	ユーカリパルプ
原料植物の特徴	CO ₂ 吸収能大きい	成長早い CO ₂ 吸収能小さい	成長早い 荒地でも育つ 生育に多量の水が必要
パルプ溶解溶媒	イミダゾリウム系イオン液体	水酸化ナトリウム 二硫化炭素	N-メチルモルホリンN-オキシド
溶媒特徴	再利用可 安全	人体や環境に有毒	再利用可 発火の可能性
溶媒回収率	99%	50%	99%

本研究によるバガスパルプ再生セルロース繊維は、再利用可能かつ安全なイオン液体を用いるため、従来のレーヨンやリヨセル等の再生セルロース繊維に比べ、製造面でもサステナブルな素材となり、優位性が高い。

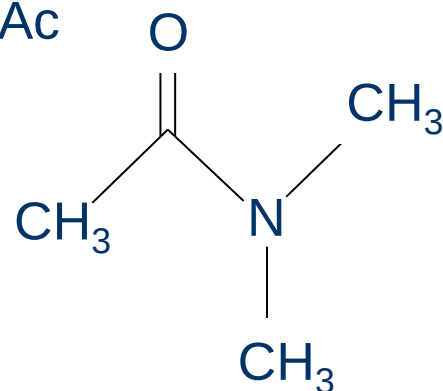
Experimental

- Material : cellulose powder $M_v : 6 \times 10^4$
Vacuum dried for 6 hr at 120°C
- Solvents : BMIMCl 1-Butyl-3-methylimidazolium chloride
98 % purity (mp. 67°C)
- Diluent : DMAc Dimethyl acetamide (water free)

BMIMCl



DMAc



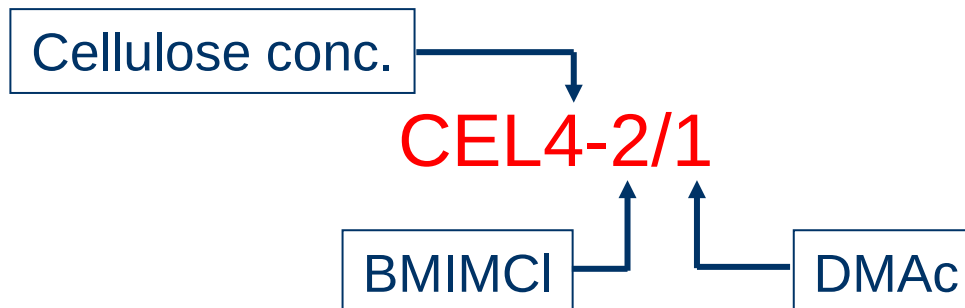
Cellulose Solutions in Ionic Liquid

Cellulose conc. {
4 wt%
7 wt%
10 wt%

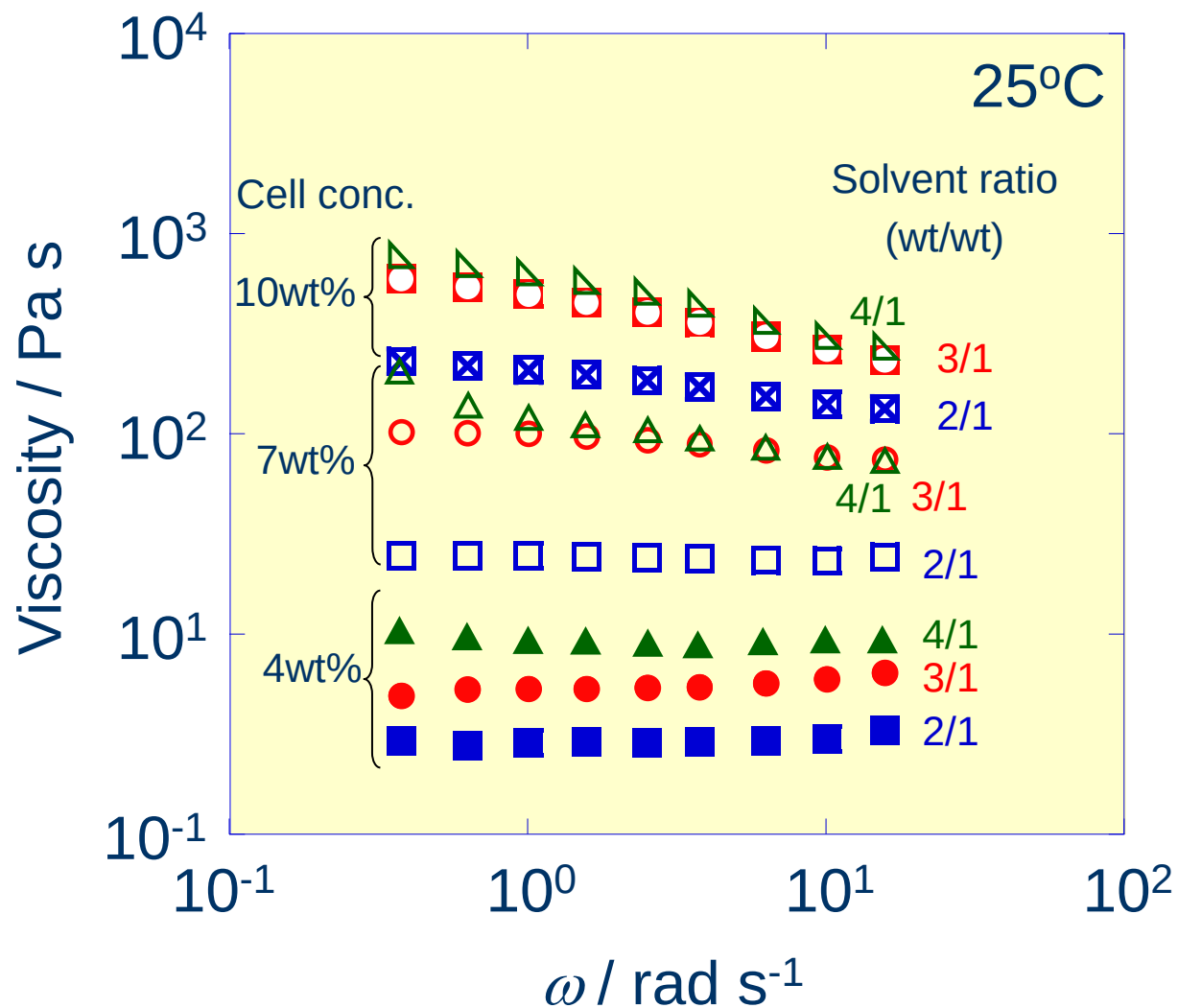
Solvent mixing ratio
(wt/wt) {
BMIMCl/DMAc = 2/1
BMIMCl/DMAc = 3/1
BMIMCl/DMAc = 4/1

9 cellulose solutions

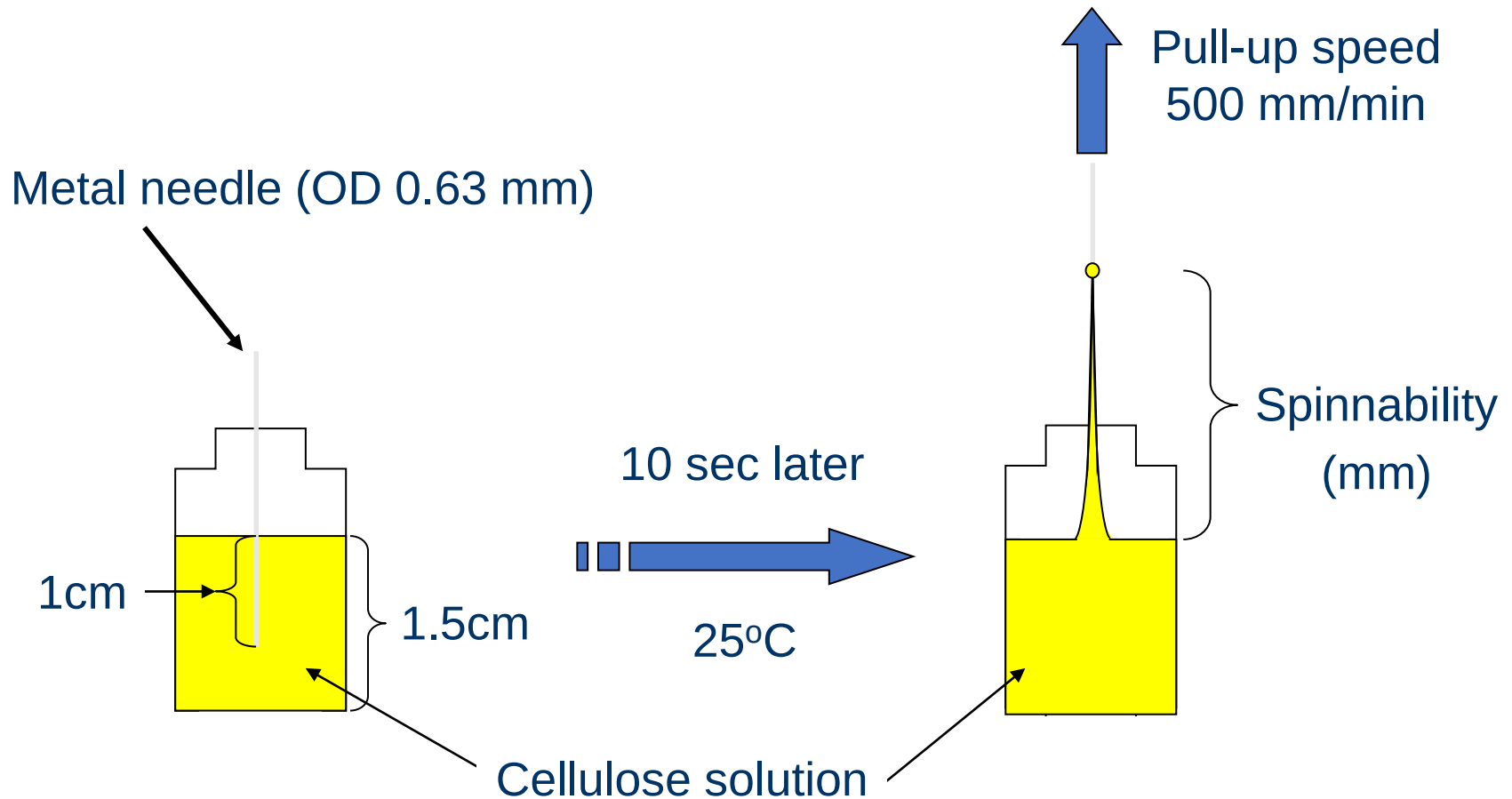
- Dissolution : Stirring for 1 hr at 120°C under vacuum



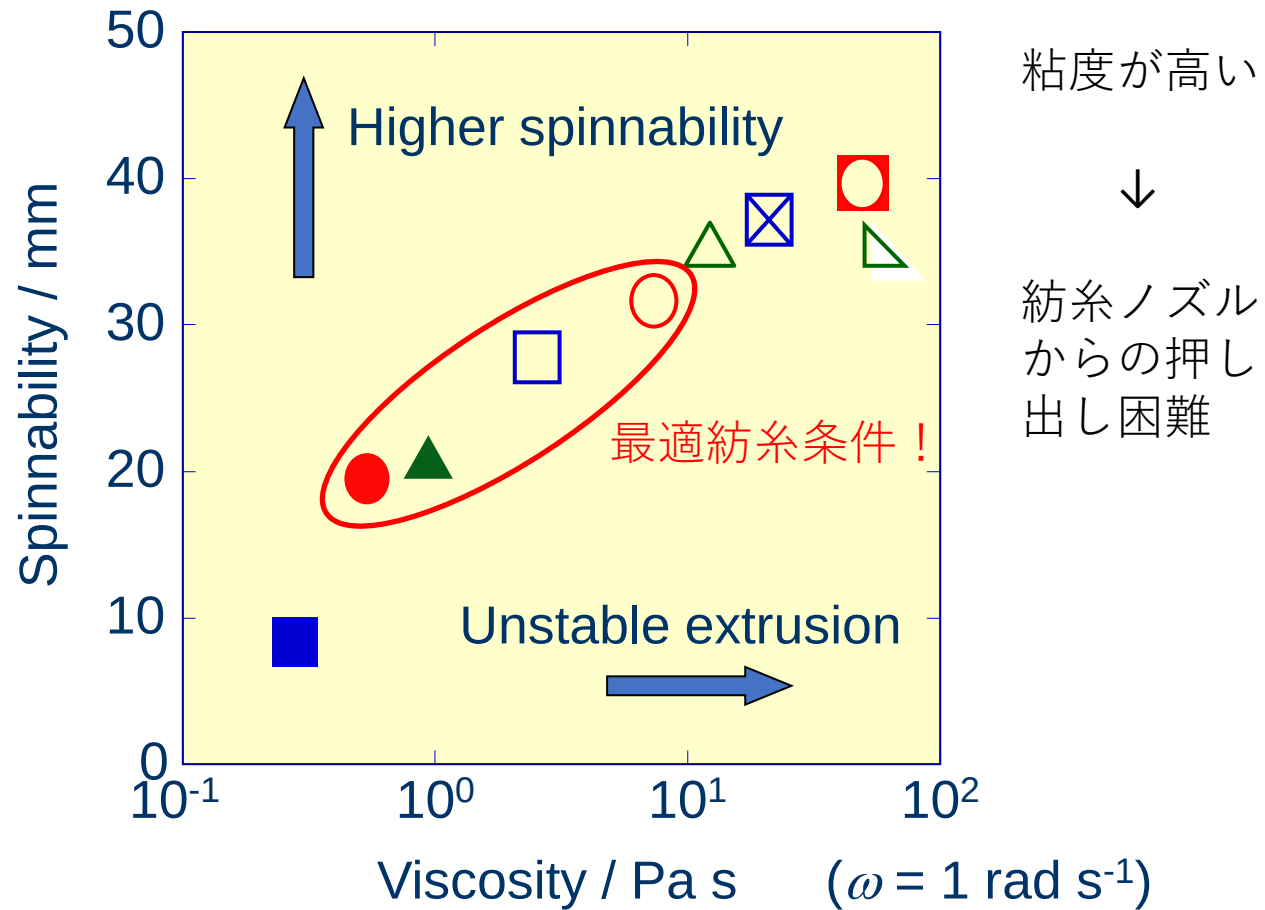
セルロース溶液粘度



曳糸性評価



粘度と曳糸性との関係

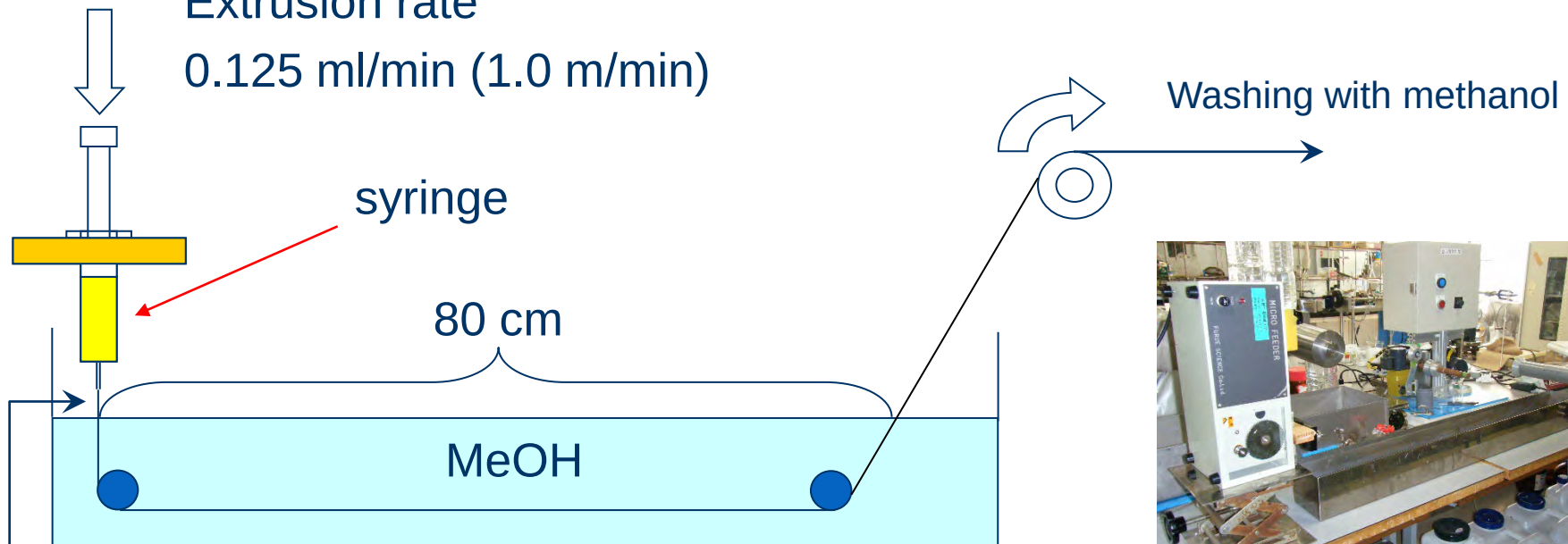


● CEL4-3/1
▲ CEL4-4/1

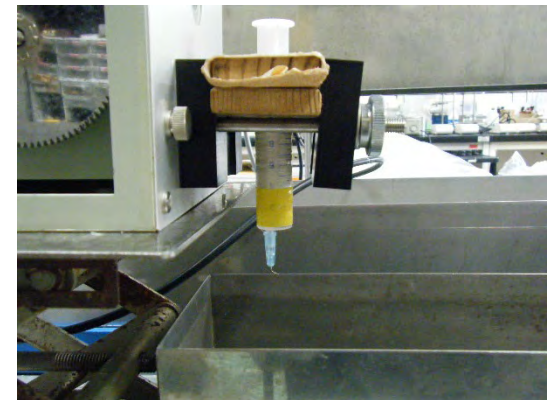
□ CEL7-2/1
○ CEL7-3/1

湿式紡糸装置

Extrusion rate
0.125 ml/min (1.0 m/min)



- Coagulant : Methanol (25°C)
- Nozzle : Needle (ID 0.40 mm)
- Air-gap : 2 mm



再生セルロース繊維表面

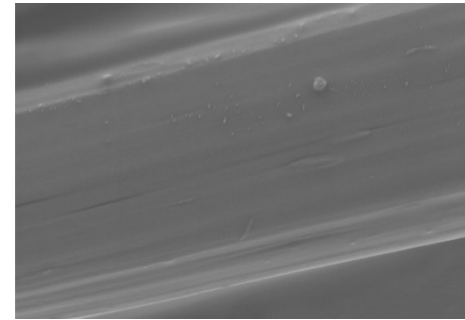
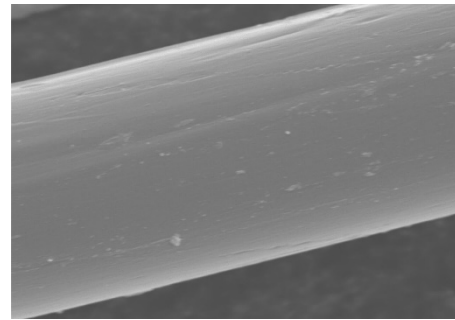
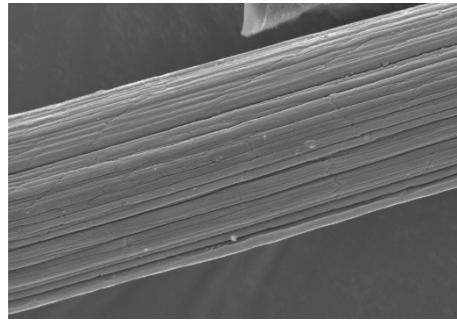
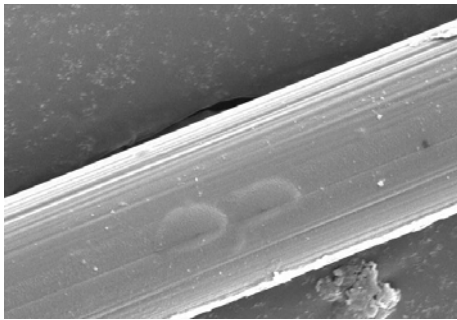
CEL4-3/1

CEL4-4/1

CEL7-2/1

CEL7-3/1

巻取速度 6.6 m/min



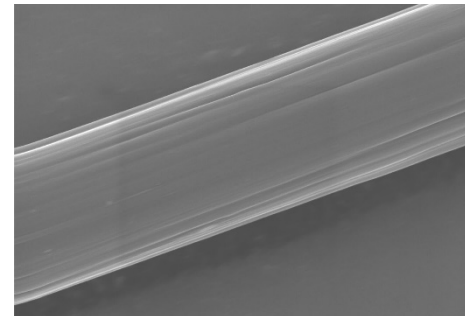
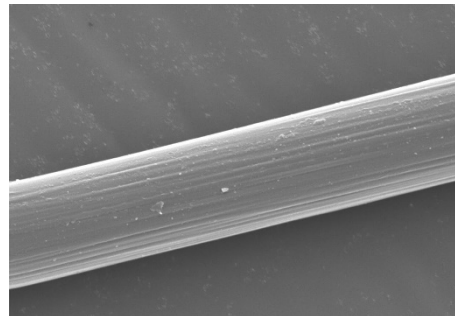
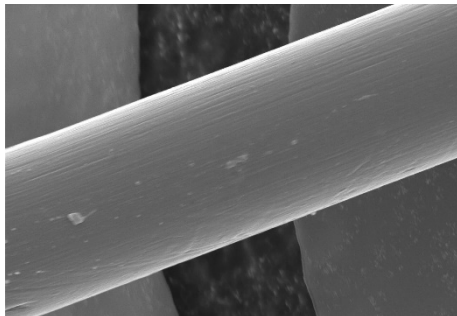
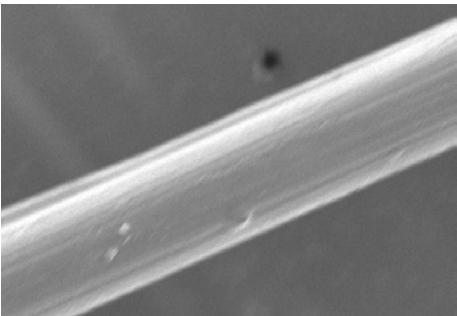
最大巻取速度

14.1 m/min

21.5 m/min

33.6 m/min

13.9 m/min



10μm

再生セルロース繊維断面

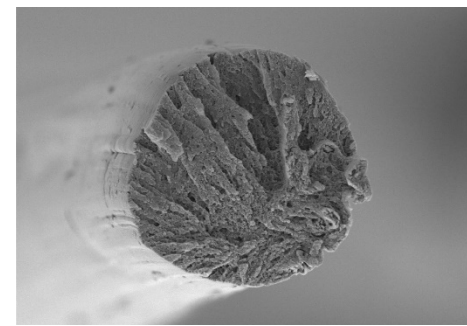
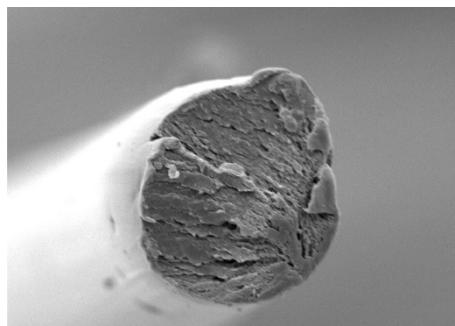
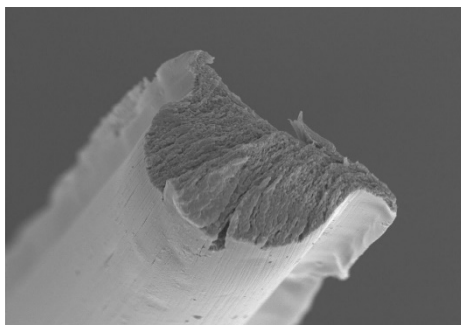
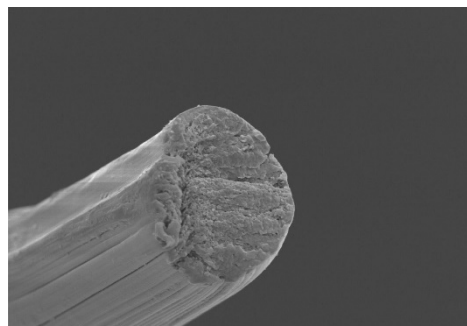
CEL4-3/1

CEL4-4/1

CEL7-2/1

CEL7-3/1

巻取速度 6.6 m/min

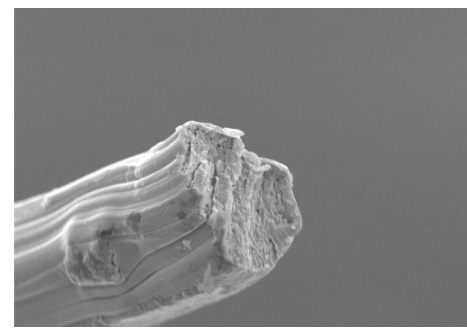
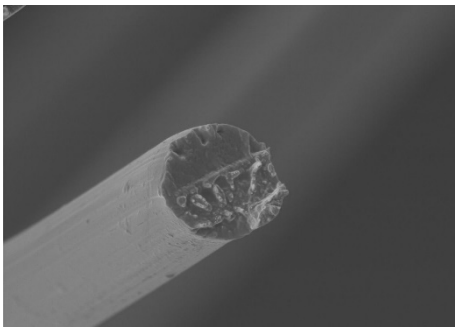
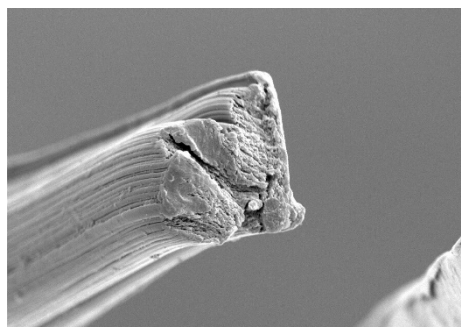
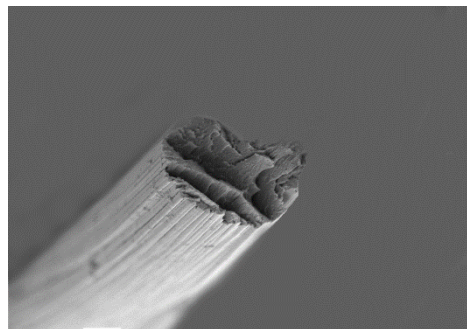


14.1m/min

21.5m/min

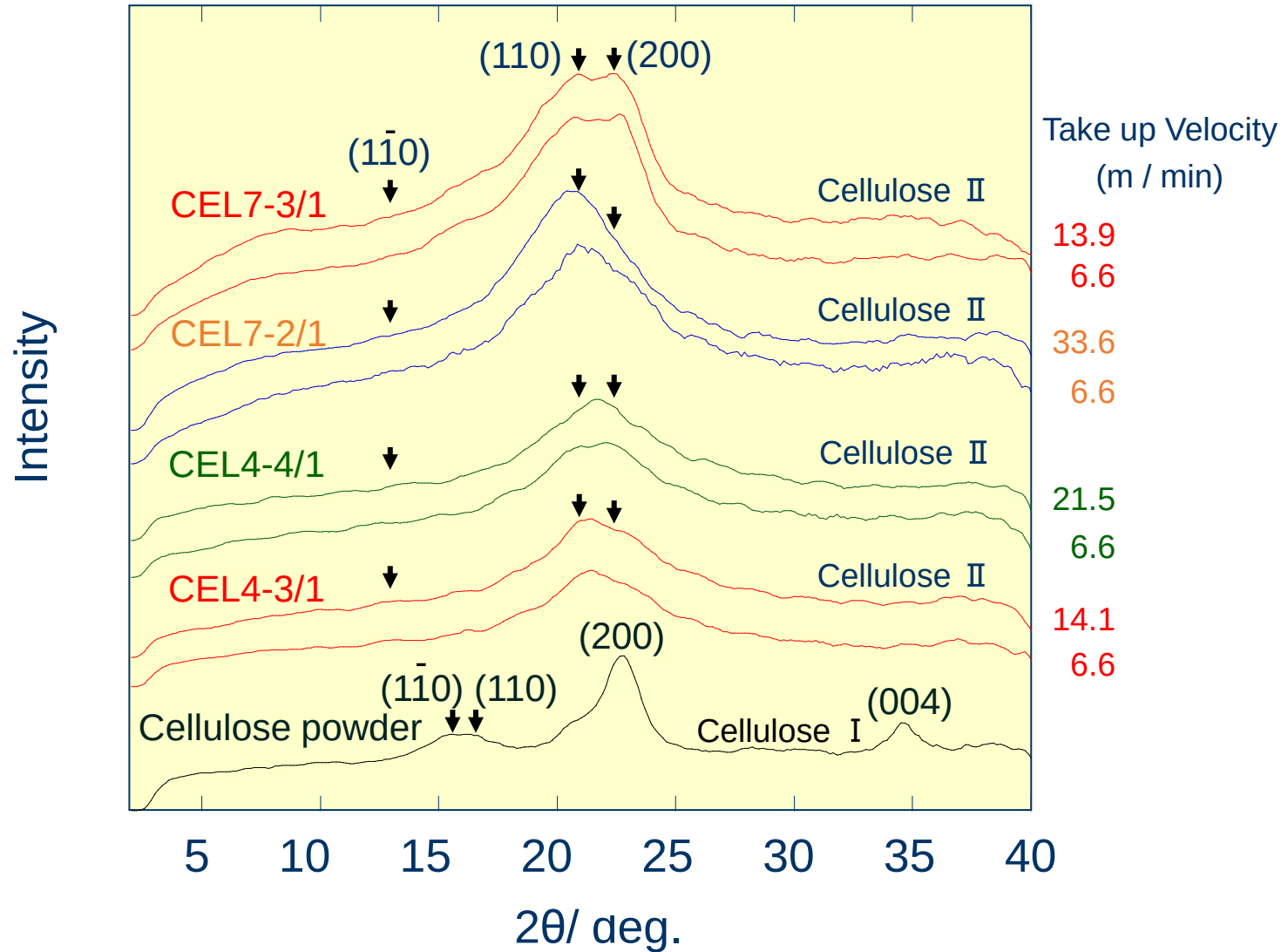
33.6m/min

13.9m/min



10μm

WAXD スペクトル

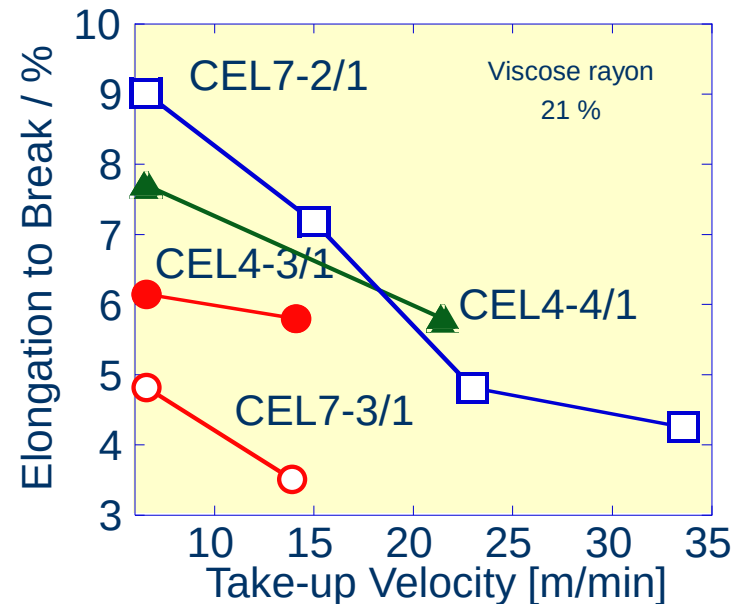
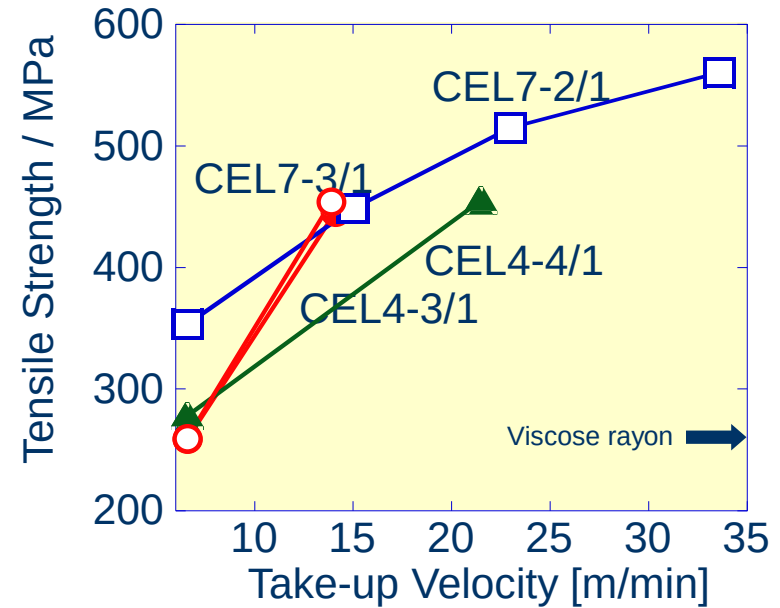
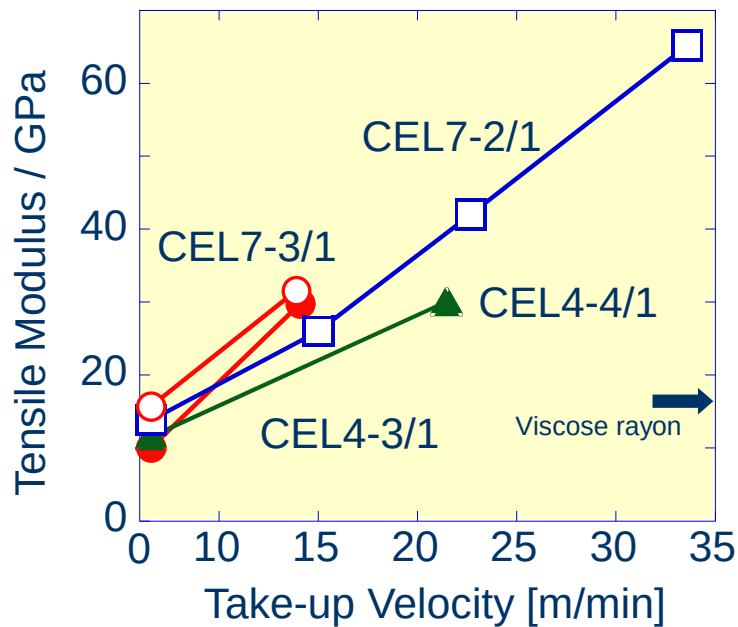


力学の性質

Reference

Viscose Rayon

Tensile strength 265 MPa
Tensile modulus 16.5 GPa
Elongation 21%



バイオナノマテリアルシンポジウム2023

京都大学生存圏研究所

2023年10月26日（木）

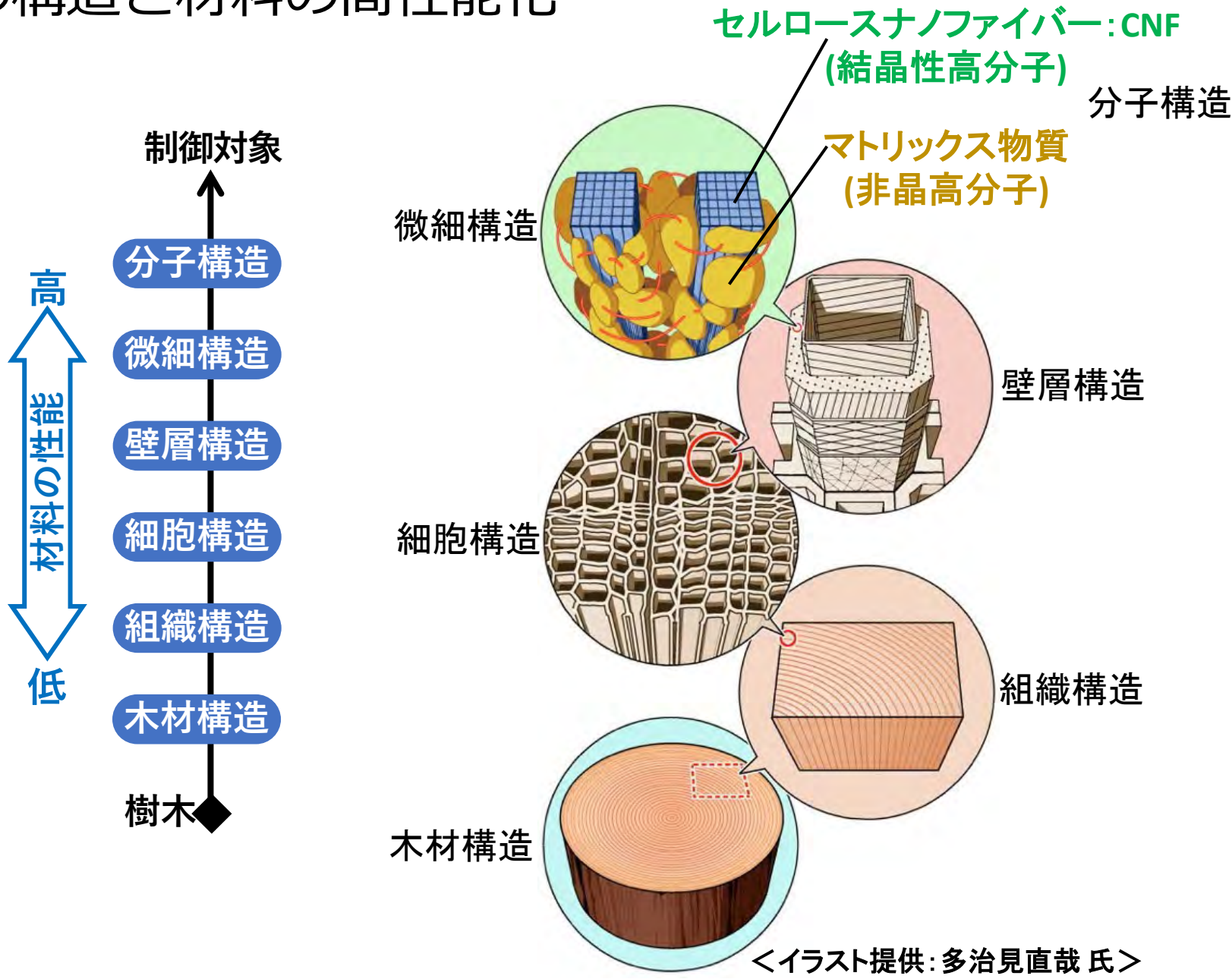
木材の組織構造を活用した機能材料・高性能材料と 大型材料化に向けた生産プロセス

京都大学生存圏研究所

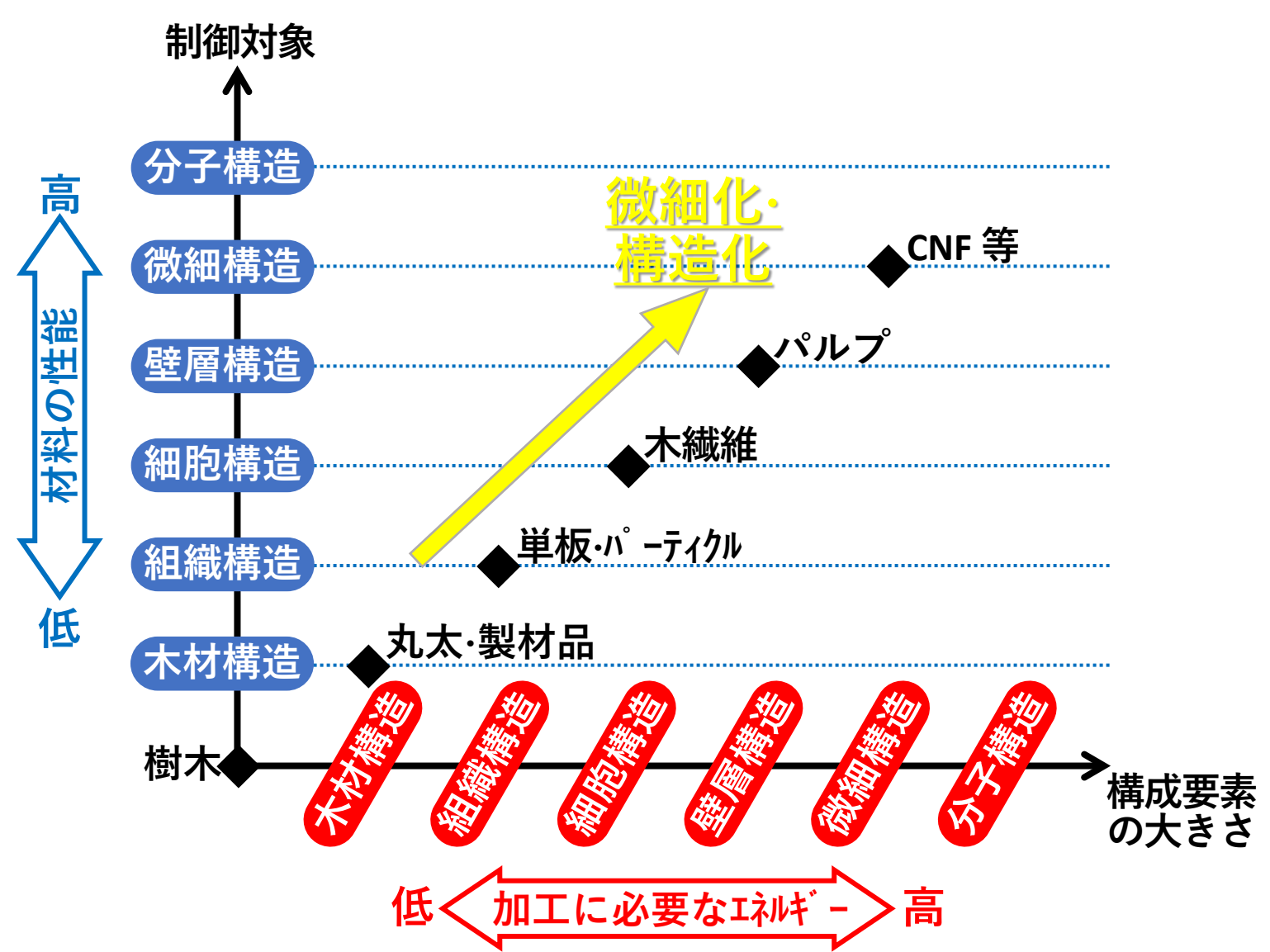
生物機能材料分野

田中 聡一

木材の構造と材料の高性能化

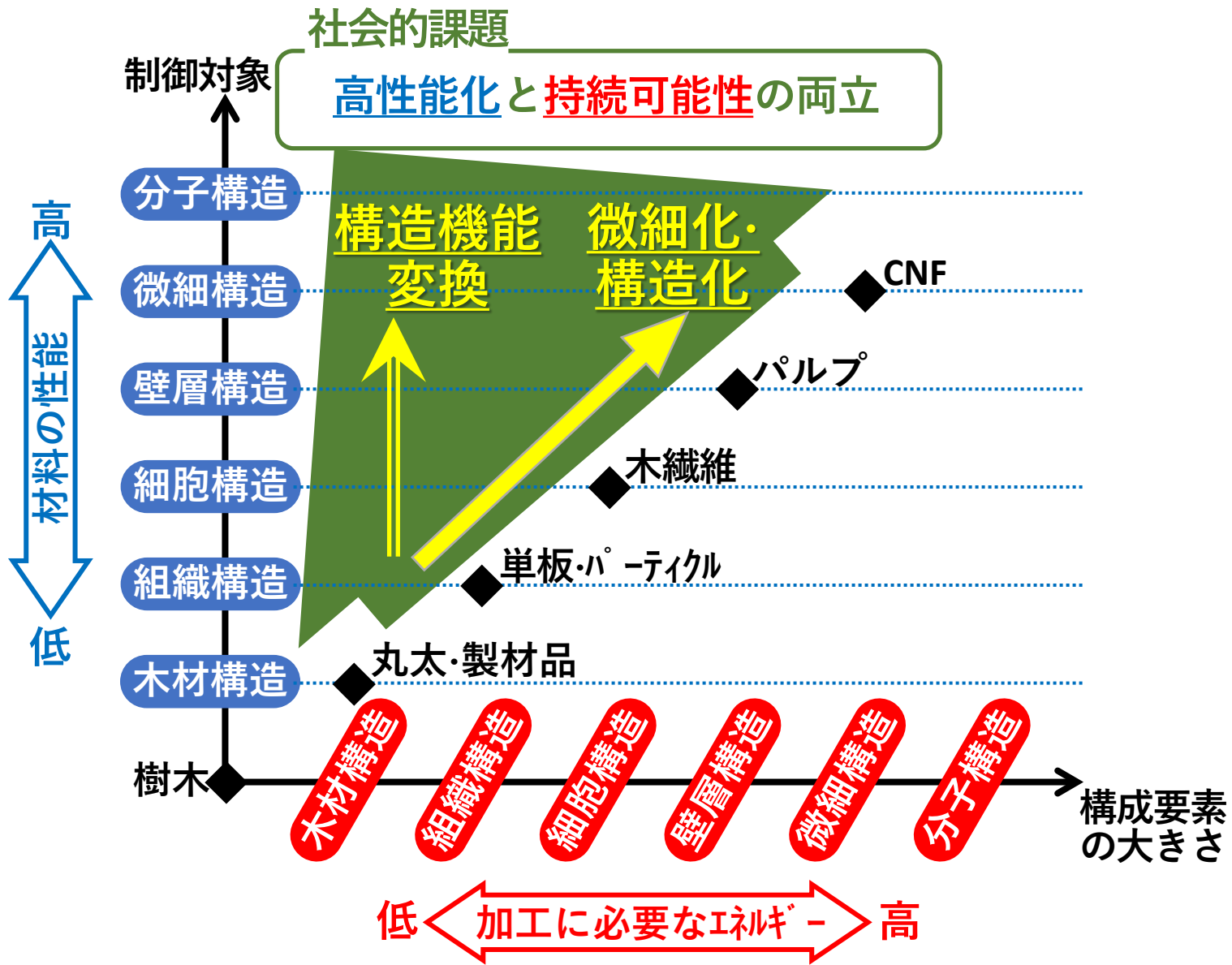


既存の木質系材料開発



これからの材料作りの方向性

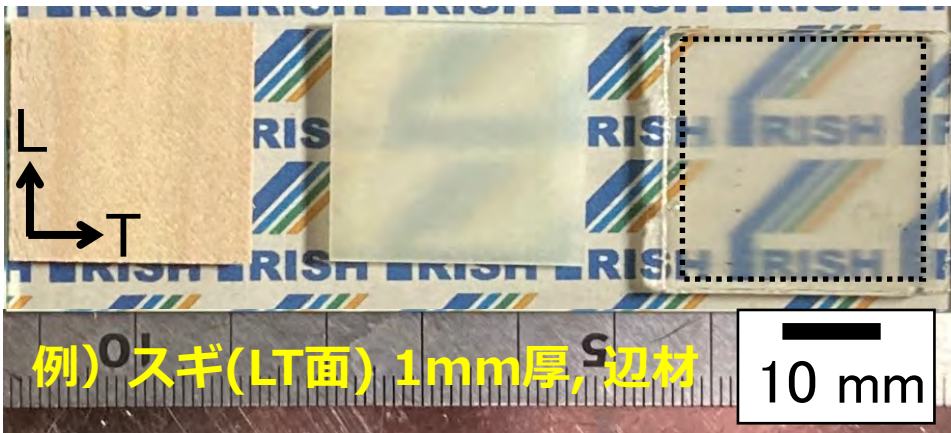
木材の組織構造を活用した構造機能変換



機能材料 木材の光学特性の発現

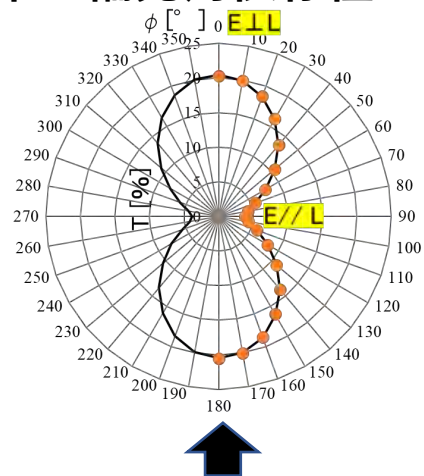
外観

(i) 木材 → (ii) 漂白後 → (iii) 樹脂充填後



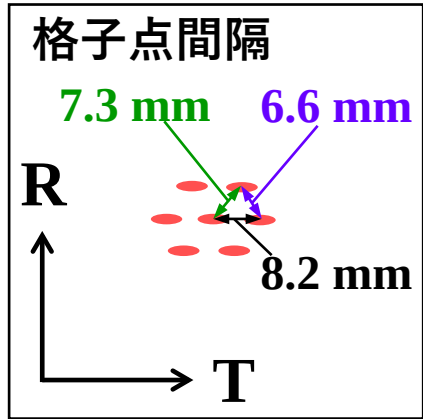
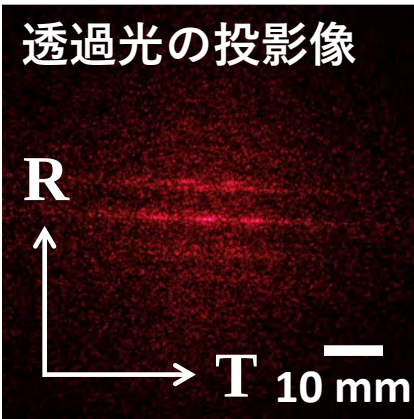
光物性(偏光性) 偏光子

透過率の偏光角依存性

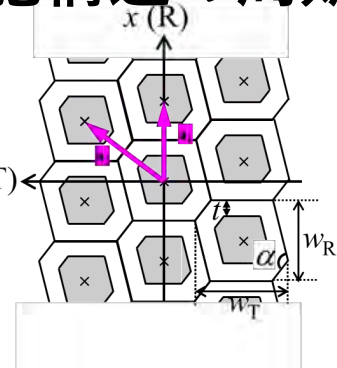


細胞壁構造に由来

光物性(回折性) 2D回折格子



細胞構造の周期性に由来

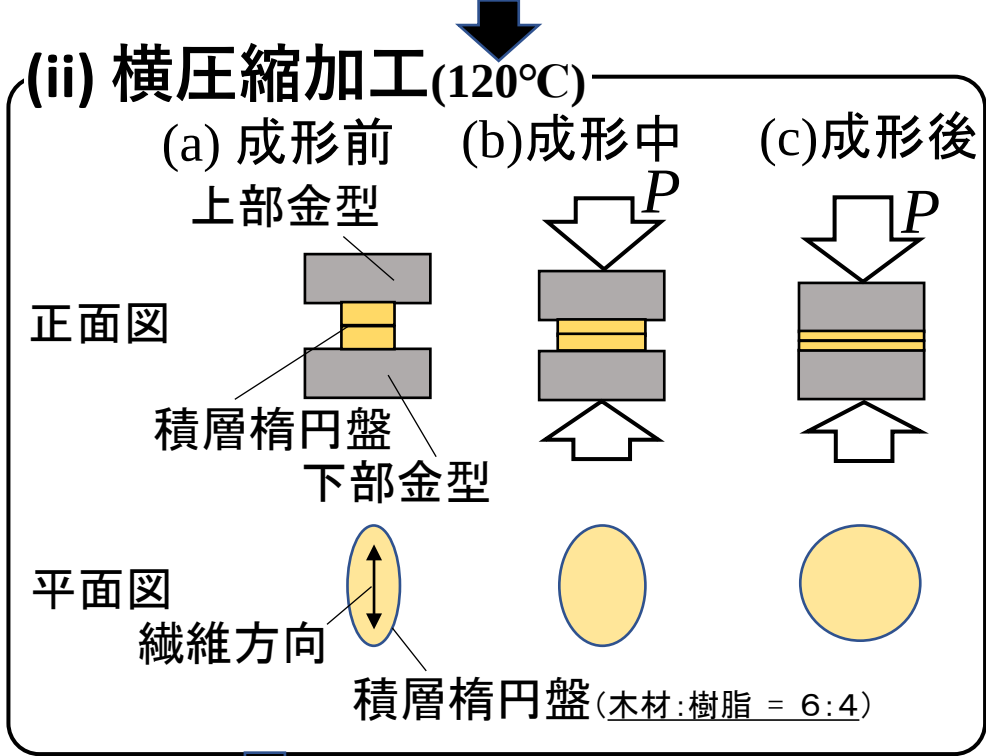


例) スギ(RT面) 1mm厚, 辺材

高性能材料 木材はそもそも高性能？

例) ヒノキの樹脂複合化・横圧縮加工

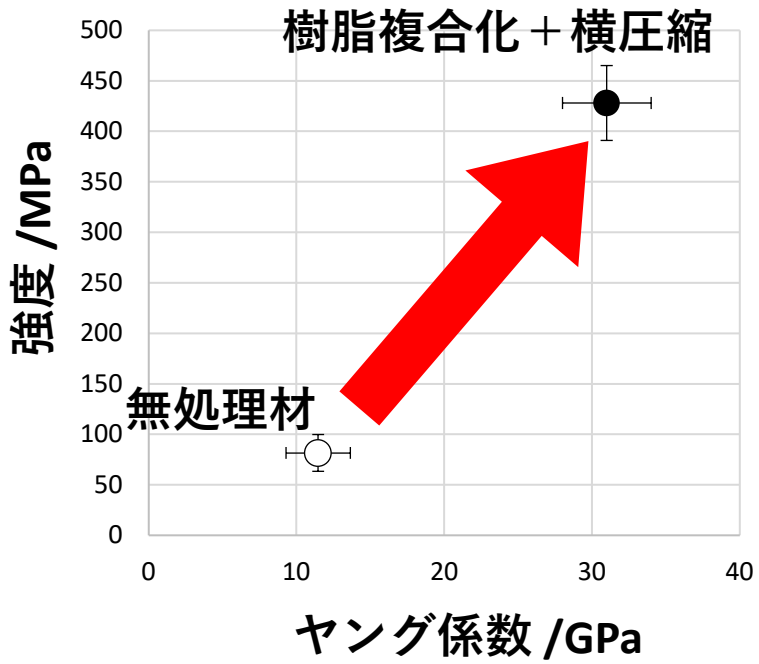
(i) 樹脂複合化
PF樹脂（30wt%水溶液）を減圧注入



(iii) 硬化(160°C)
成形後に
圧縮状態保持

(iv) 切削
円盤成形物
⇒ 短冊試料

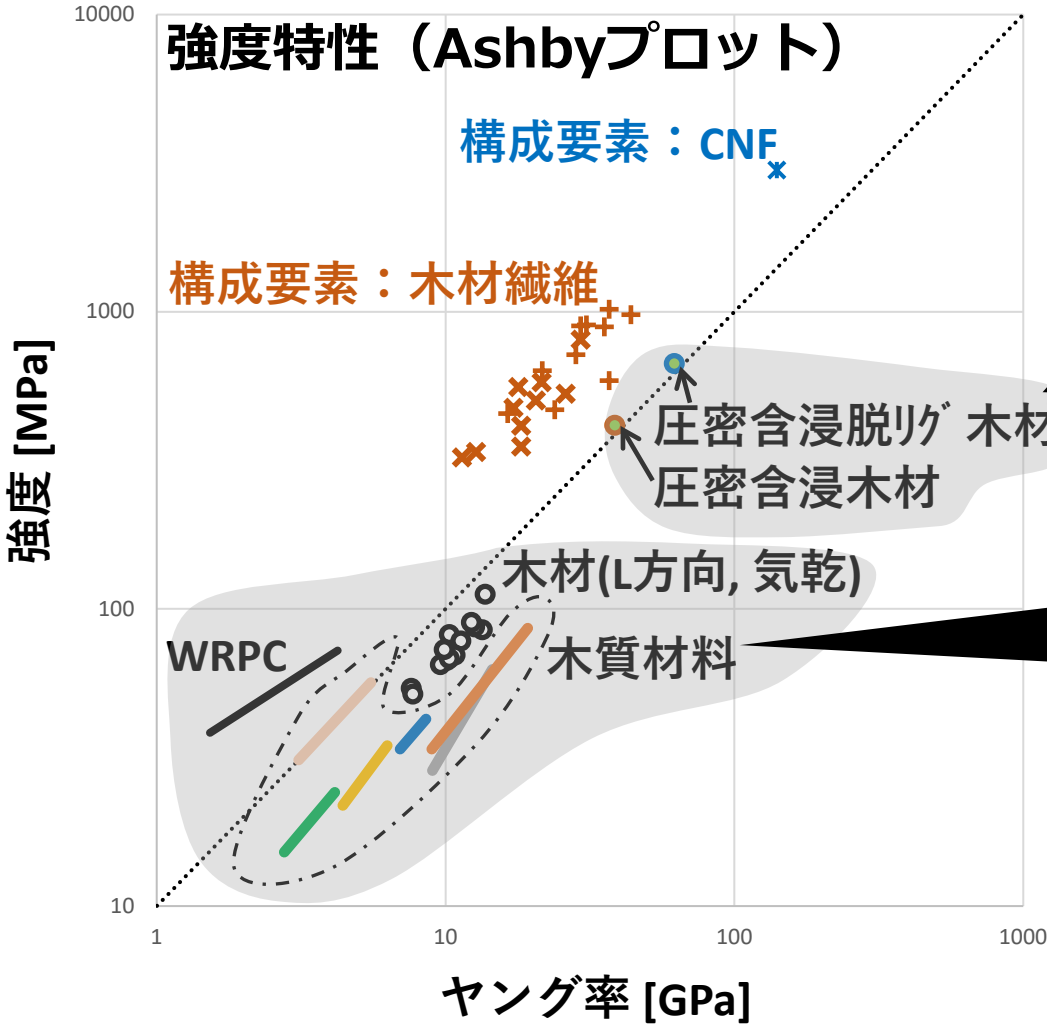
3点曲げ試験



樹脂複合化と横圧縮処理するだけで
ヤング係数も強度も相当高くなる。

では何が課題か？

高性能材料を大きく大量に作ること（⇔構造変換）が課題



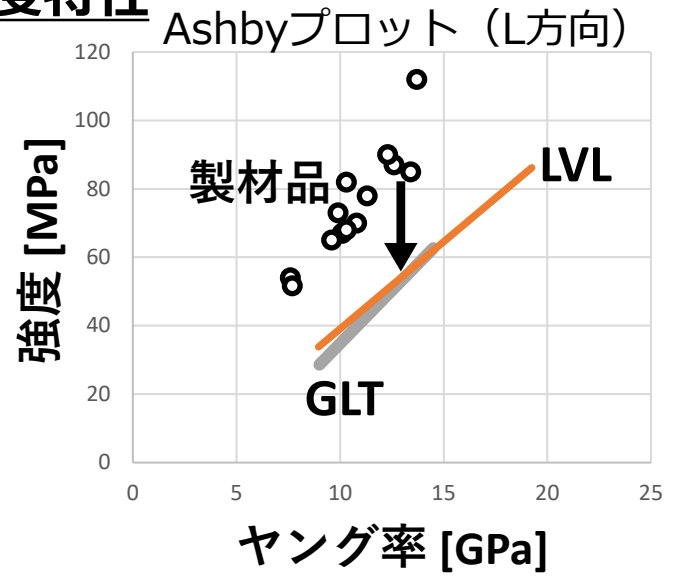
【長所】 高性能
【短所】 大きさに限度有
歩留まりが悪い
量産に向かない

【長所】 大型の製品を
歩留まりよく
量産可能
【短所】 性能は高くない

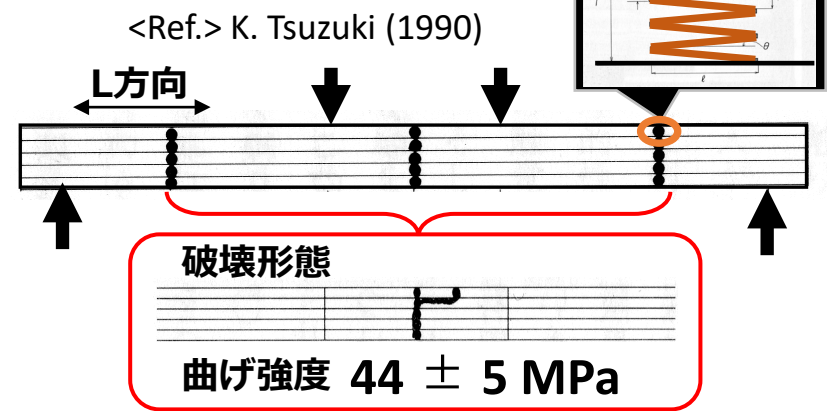
構造変換 大きく大量に作るための障壁：強度低下

① 接着層の存在：木質材料

強度特性

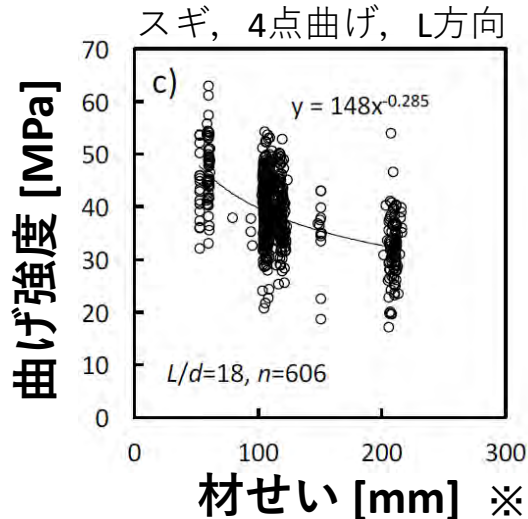


破壊形態



⇒接着層（特にL方向への接合）が欠陥となり、強度性能低下

② 寸法効果：木材（製材品）



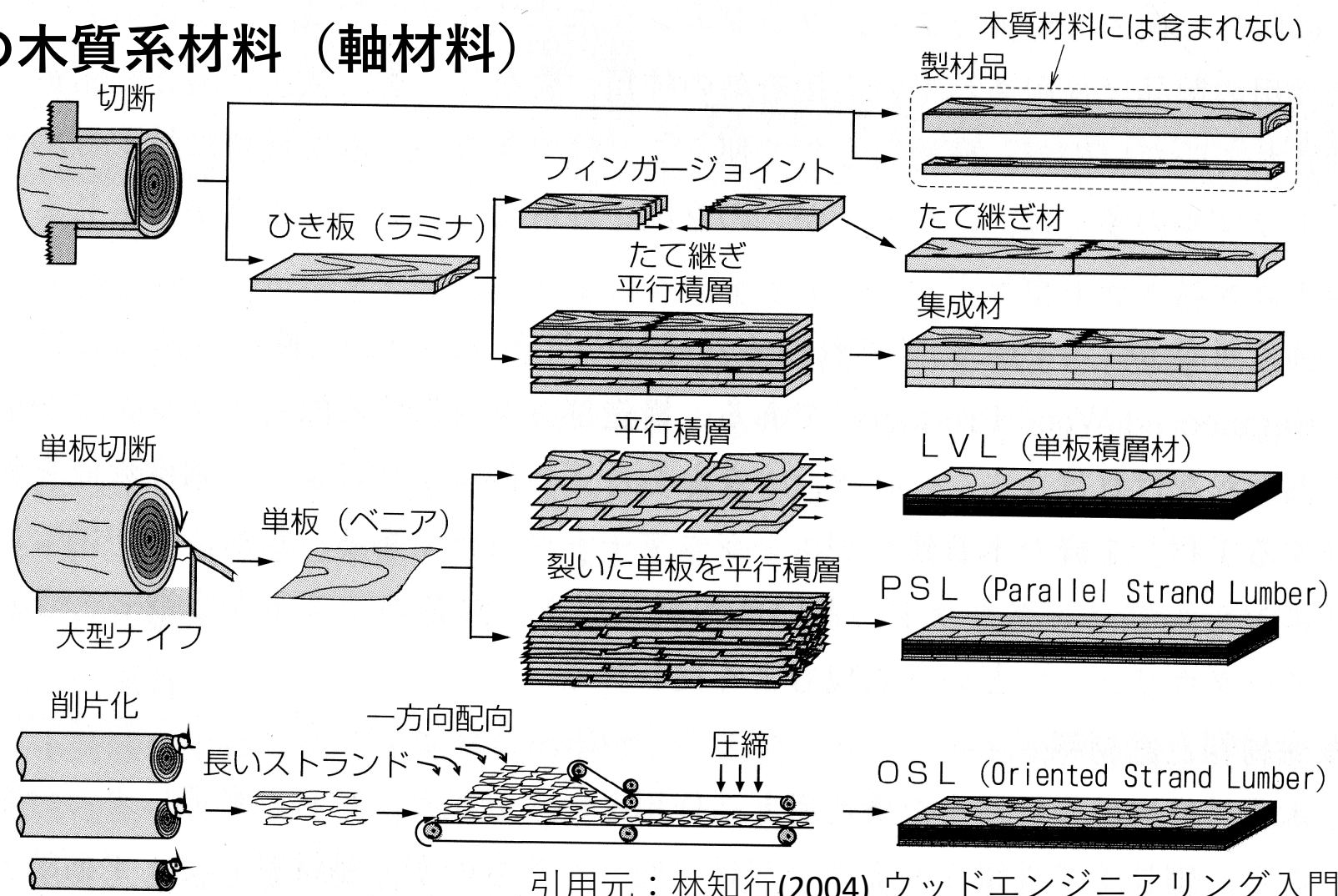
< Ref. > 井道ら(2020)

⇒大きい材ほど強度低下する

※ 但し、スパン／材せい＝18（一定）

強度低下の要因

既成の木質系材料（軸材料）



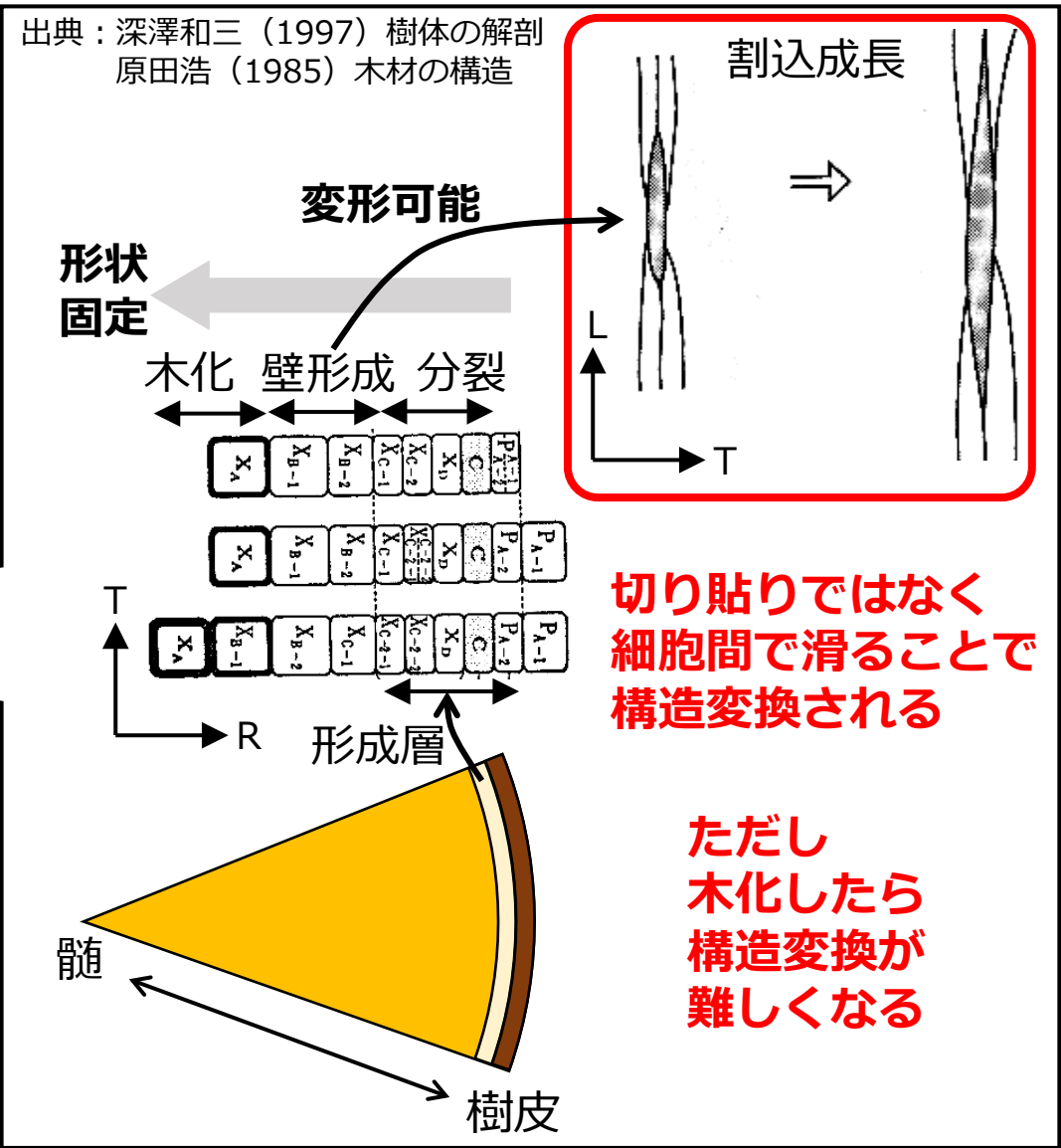
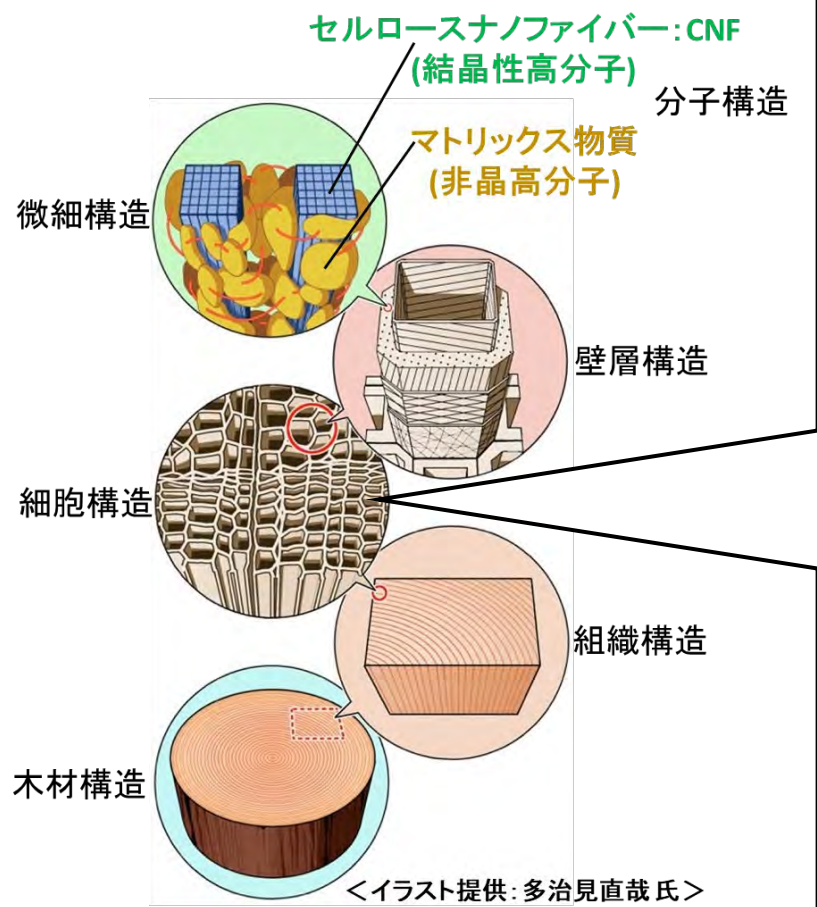
引用元：林知行(2004) ウッドエンジニアリング入門

共通のプロセス：(1) 切削 (2) 接着剤塗布 (3) 集成 (4) 外力

→ 切って貼るから弱くなる

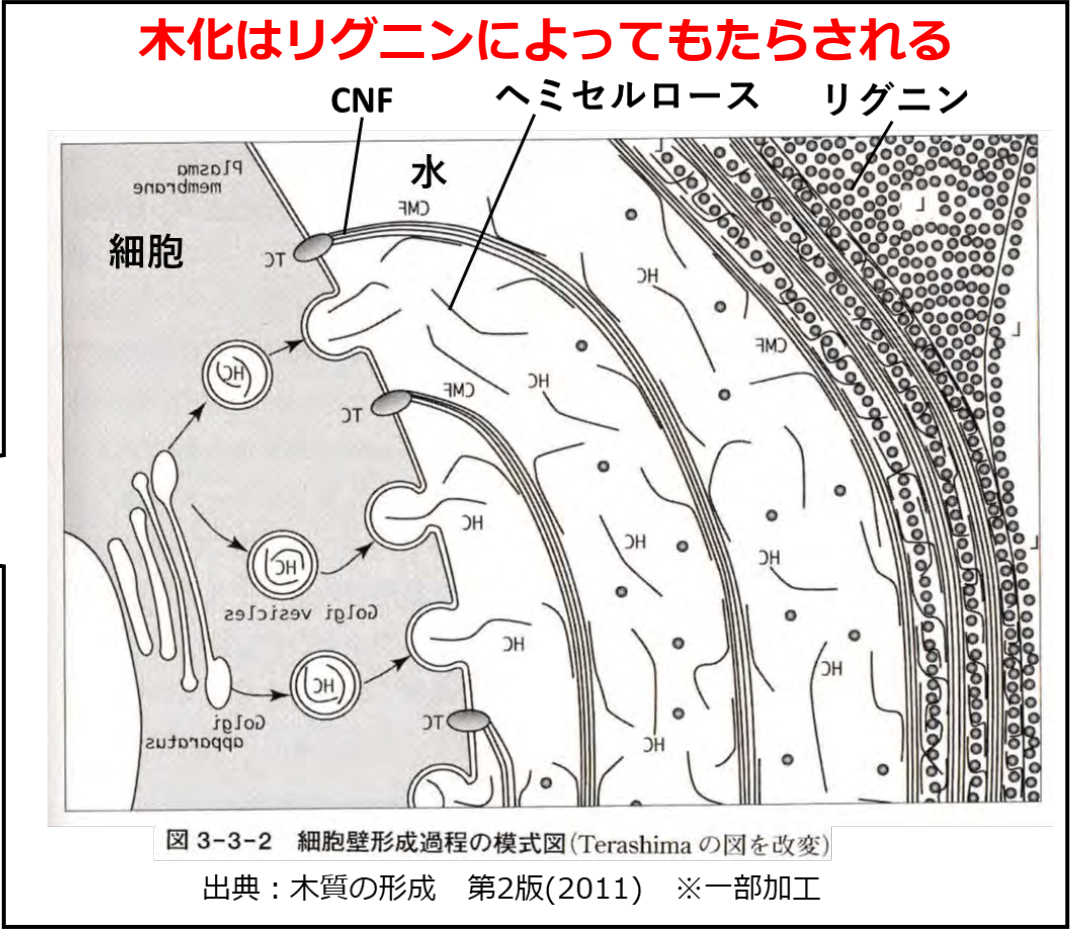
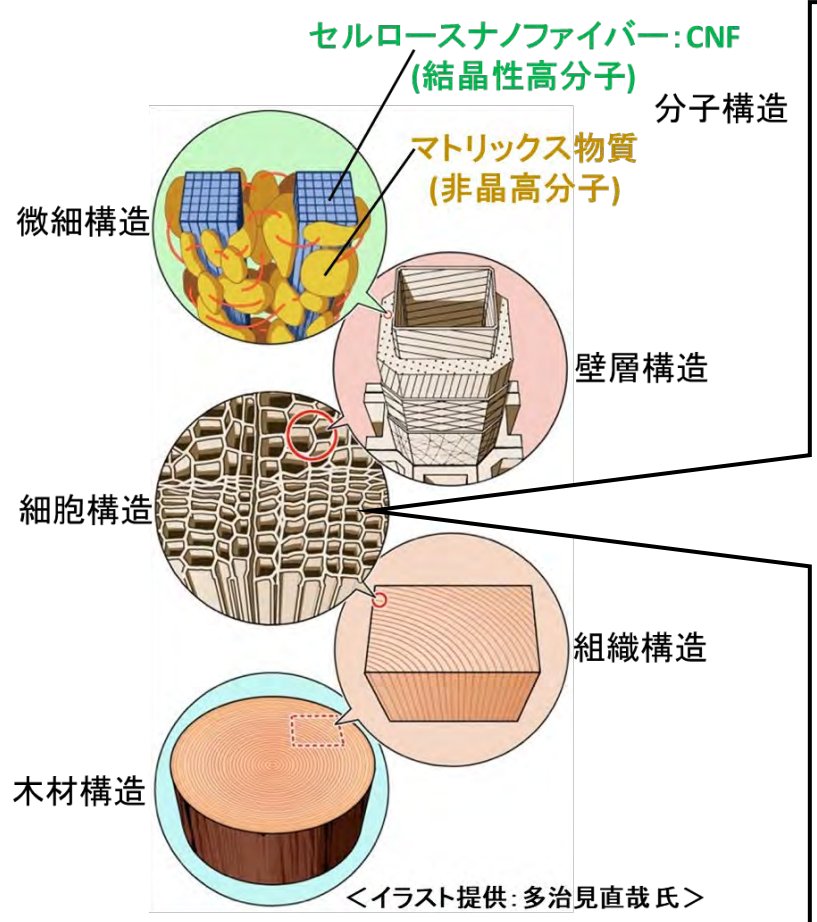
構造変換のヒント

樹木による木材の生産方法



構造変換のヒント

樹木による木材の生産方法



木化のキャンセル（脱リグニン）による構造変換の易化

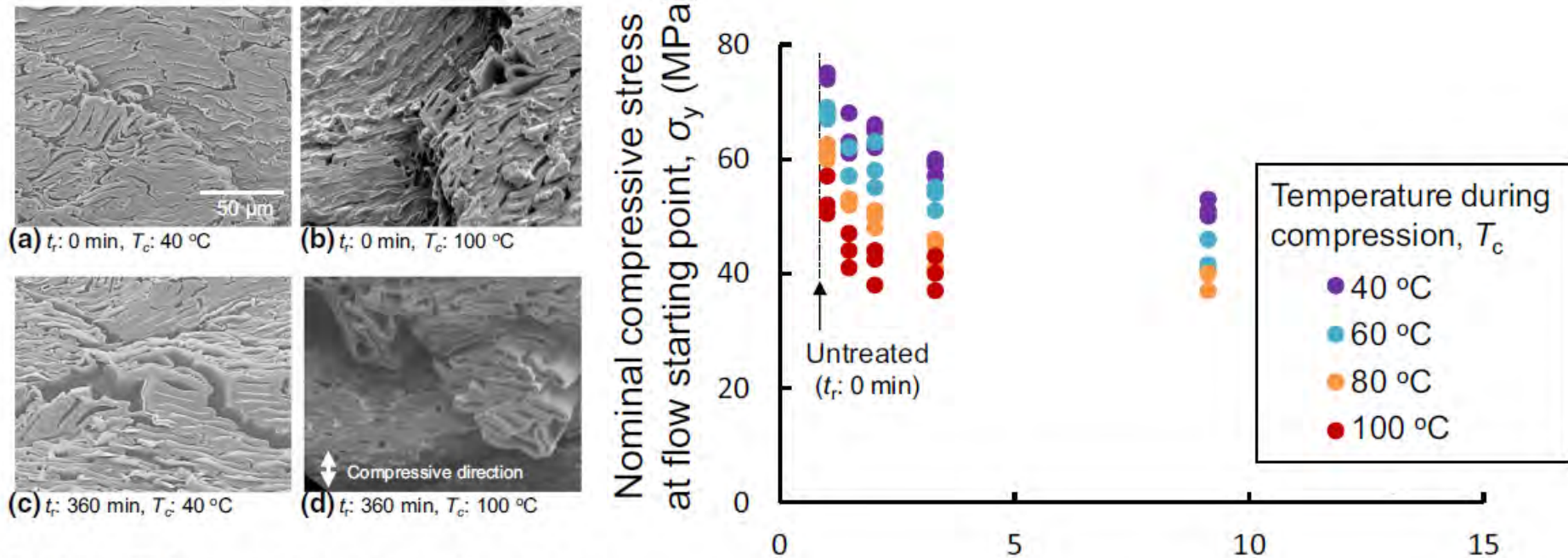


Fig. 11 The SEM images of the radial-tangential surfaces of untreated wood (UW, t_r =0 min) and delignified wood (DW, t_r =360 min) samples after free compression testing

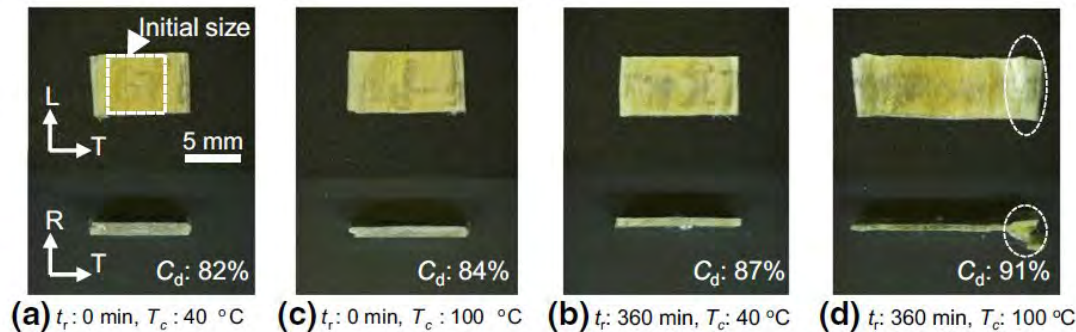
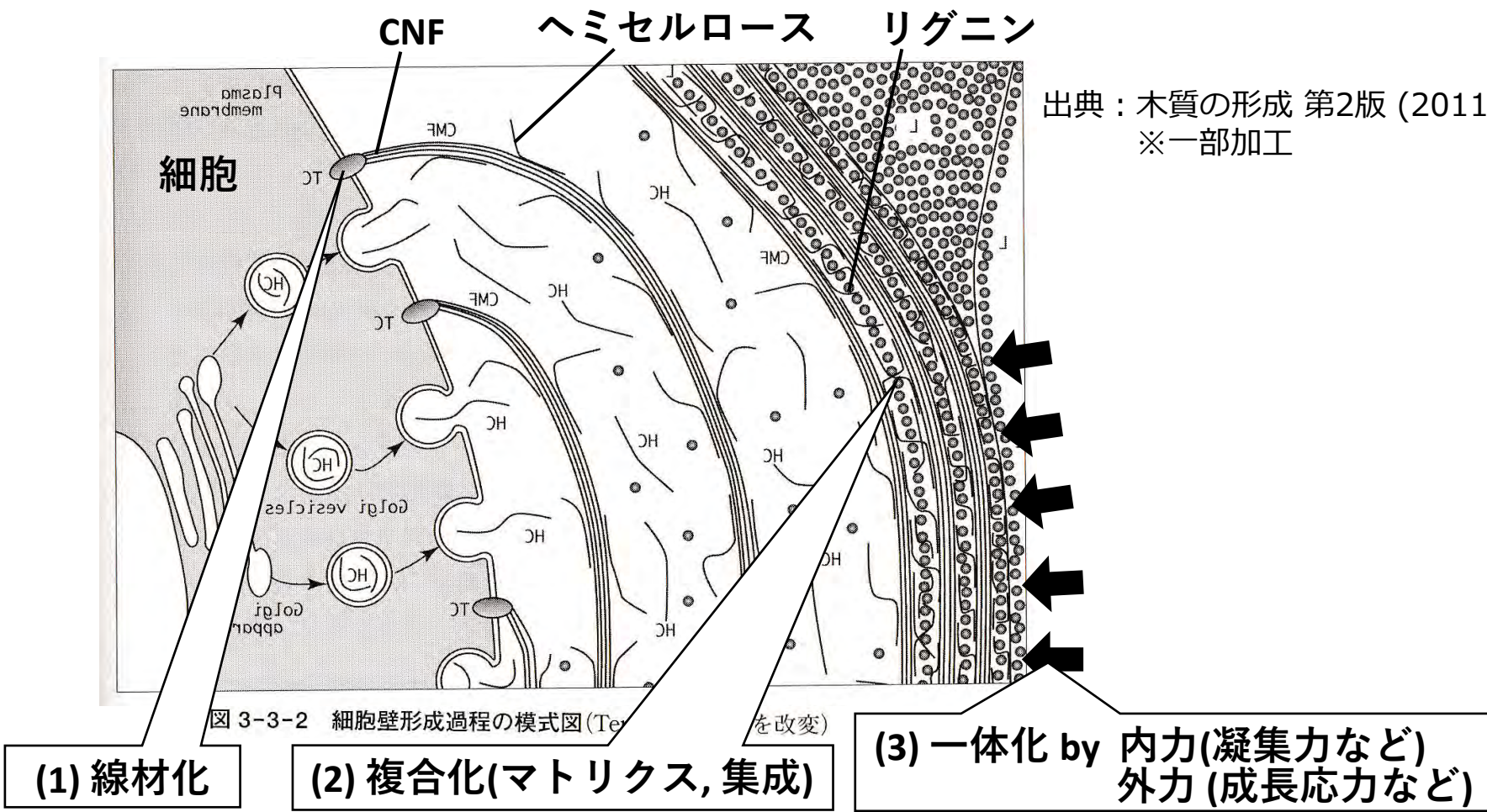


Fig. 10 Photographs of the untreated wood (UW, t_r =0 min) and delignified wood (DW, t_r =360 min) samples whose shape was fixed by drying post-free compression testing. The final compression ratio (C_d) is shown in each photograph. The part surrounded by the dotted line of the circle shows the sample protruding from the cylinders of the testing machine

構造変換のヒント

樹木の細胞壁形成プロセス



発表では構造変換のヒントを踏まえた加工プロセスについて紹介する

23年12月26日

バイオナノマテリアルシンポジウム2023

キチンナノファイバーの表面改質による pH変動に対する安定性制御

鳥取大学工学研究科
川本雅紀、伊福伸介



ナノキトサンについて

2



甲殻類



キチン粉末

脱アセチル化 → 解繊処理



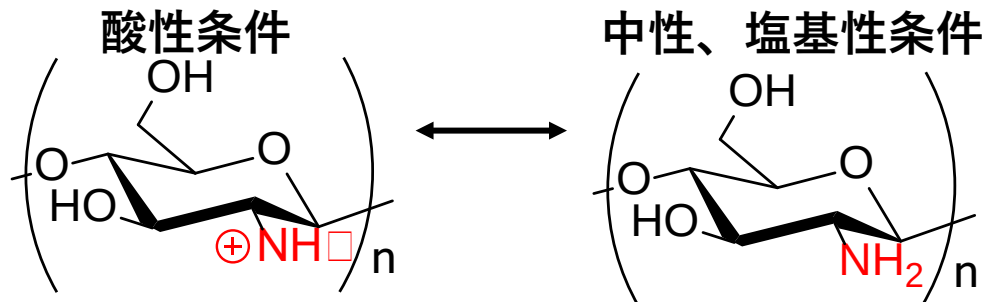
ナノキトサン(NCs)



ナノキチンを配合した化粧品

酸性条件下で正電荷を持ち
アニオン性物質を吸着→抗菌性
化粧品等に利用

NCsの課題



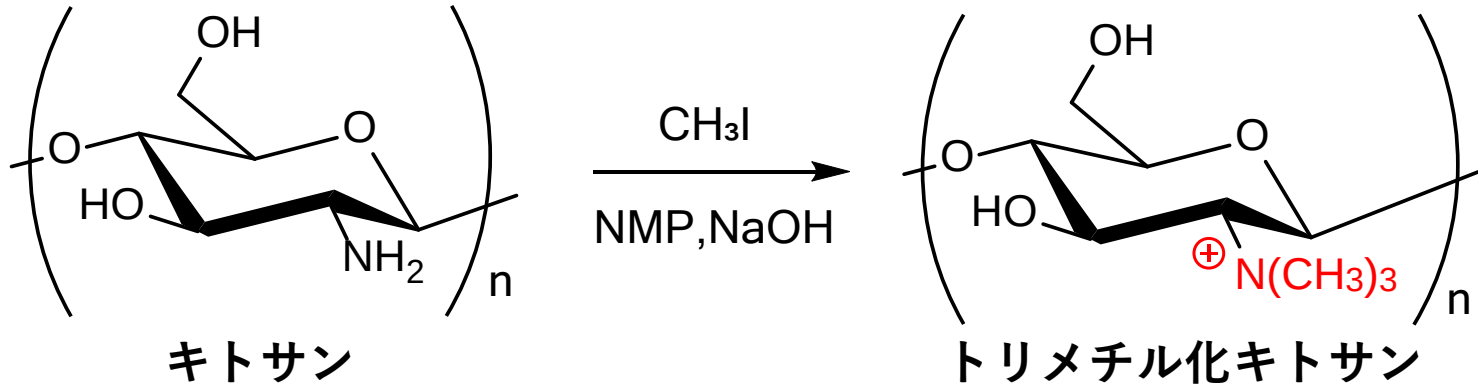
凝集したNCs

静電反発の寄与が得られないため分散性、抗菌性低下
→他製品との配合が限定

第四級アンモニウムカチオン

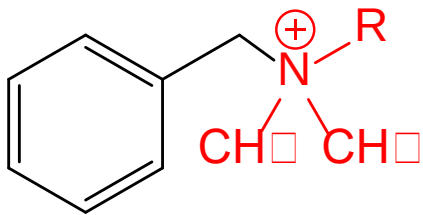
3

キトサンの第四級アンモニウム塩



K. Tsurugai, T. Hiraide *et al.*, *Senigakkaishi*, **1994**, 50, 215-220.

- $^+N(CH_3)_3$ により中性、塩基性条件下でも正に帯電
- 分散性の向上
- 中性、塩基性条件下でもアニオン性物質を吸着

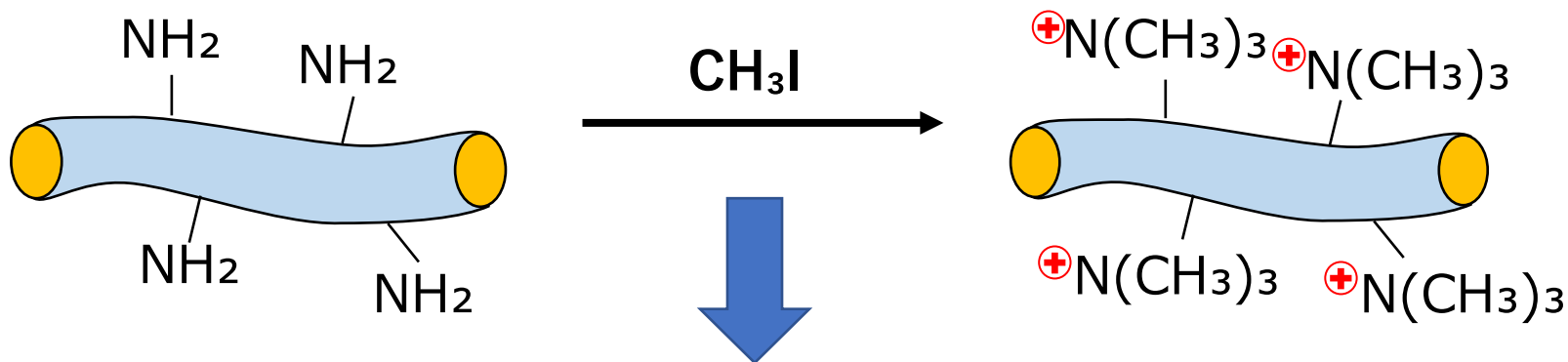


第四級アンモニウムカチオンの特性
・ 抗菌性を持ち、抗菌剤や消毒剤として使用

R = -C□H□□□□-C□□H□□

塩化ベンザルコニウム

NCsのトリメチル化



**NCsにpHの変動に依存しない
分散安定性と抗菌性の付与**

本研究の流れ

- ・ トリメチル化ナノキトサン(TMNCs)の調製
- ・ TMNCsの分散性、抗菌性の評価

TMNCsの調製

N-トリメチルアンモニウム化

ナスフラスコ

←表面脱アセチル化キチン
(2 g, DDA=33.2%)

←NMP(150 ml)

室温, 24時間攪拌

←20%(w/v) NaOH (10 ml)

←NaI (4.8 g)

←CH₃I (12.0 ml)

36°C, 9時間攪拌

(3時間ごとに20%(w/v)NaOH(10 ml),
CH₃I (5 ml)を添加)

エタノールで洗浄×3(遠心分離)

イオン交換

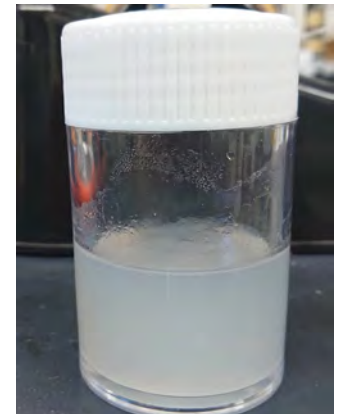
←10%(w/v) NaCl 水溶液 100 ml

60 °C, 24時間攪拌

蒸留水で洗浄×3(遠心分離)

解繊処理

適量蒸留水を加えて
ホモジナイザーで解繊処理
(7000 rpm, 1時間)



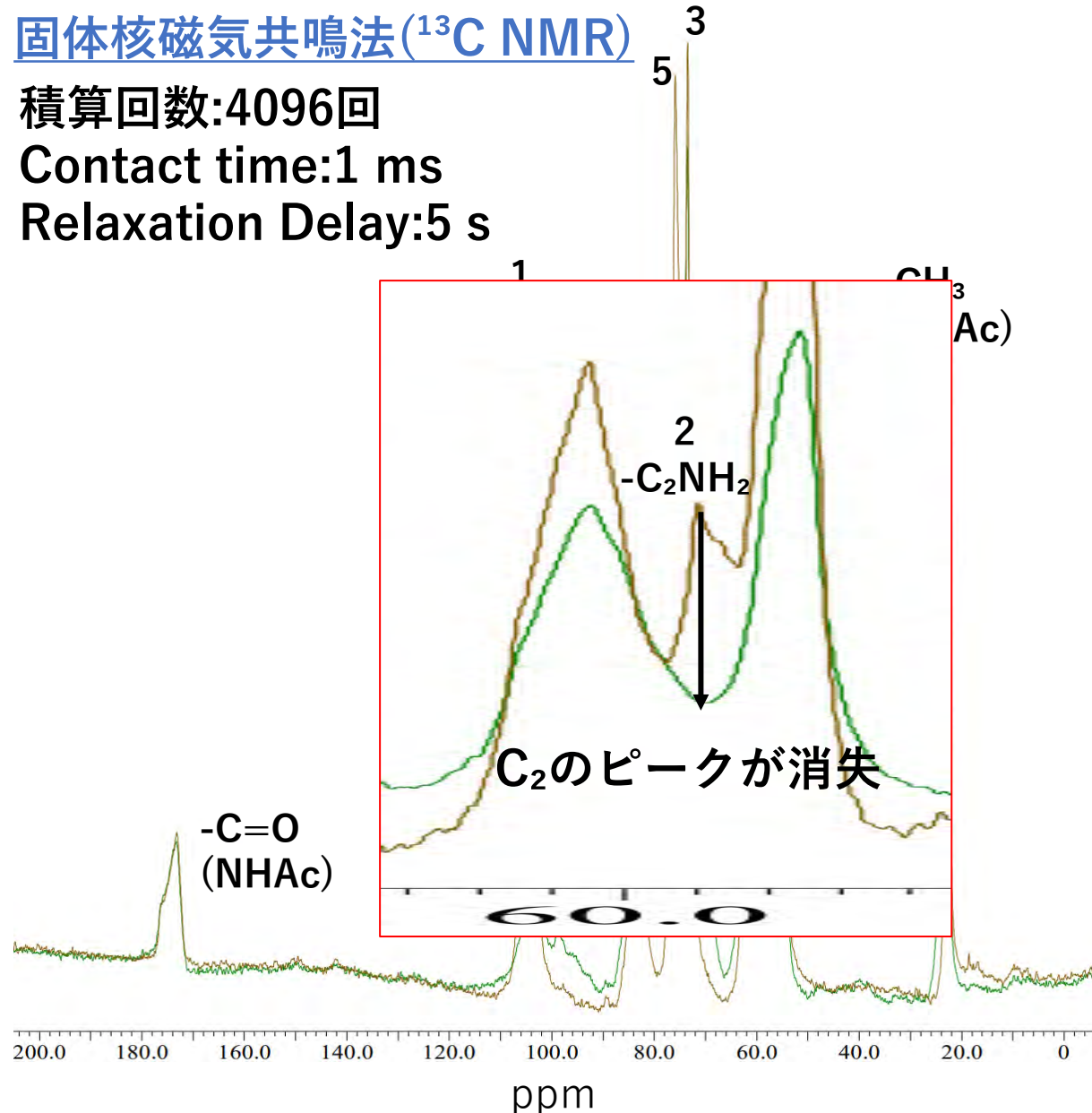
1 wt% TMNCs

固体核磁気共鳴法(^{13}C NMR)

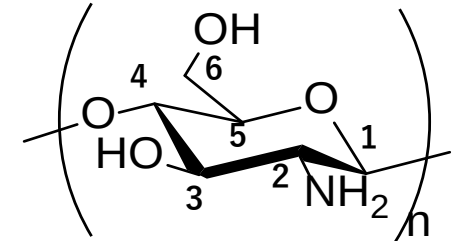
積算回数:4096回

Contact time:1 ms

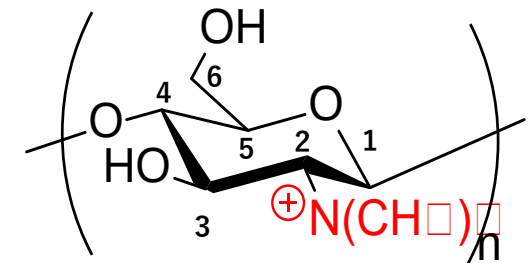
Relaxation Delay:5 s



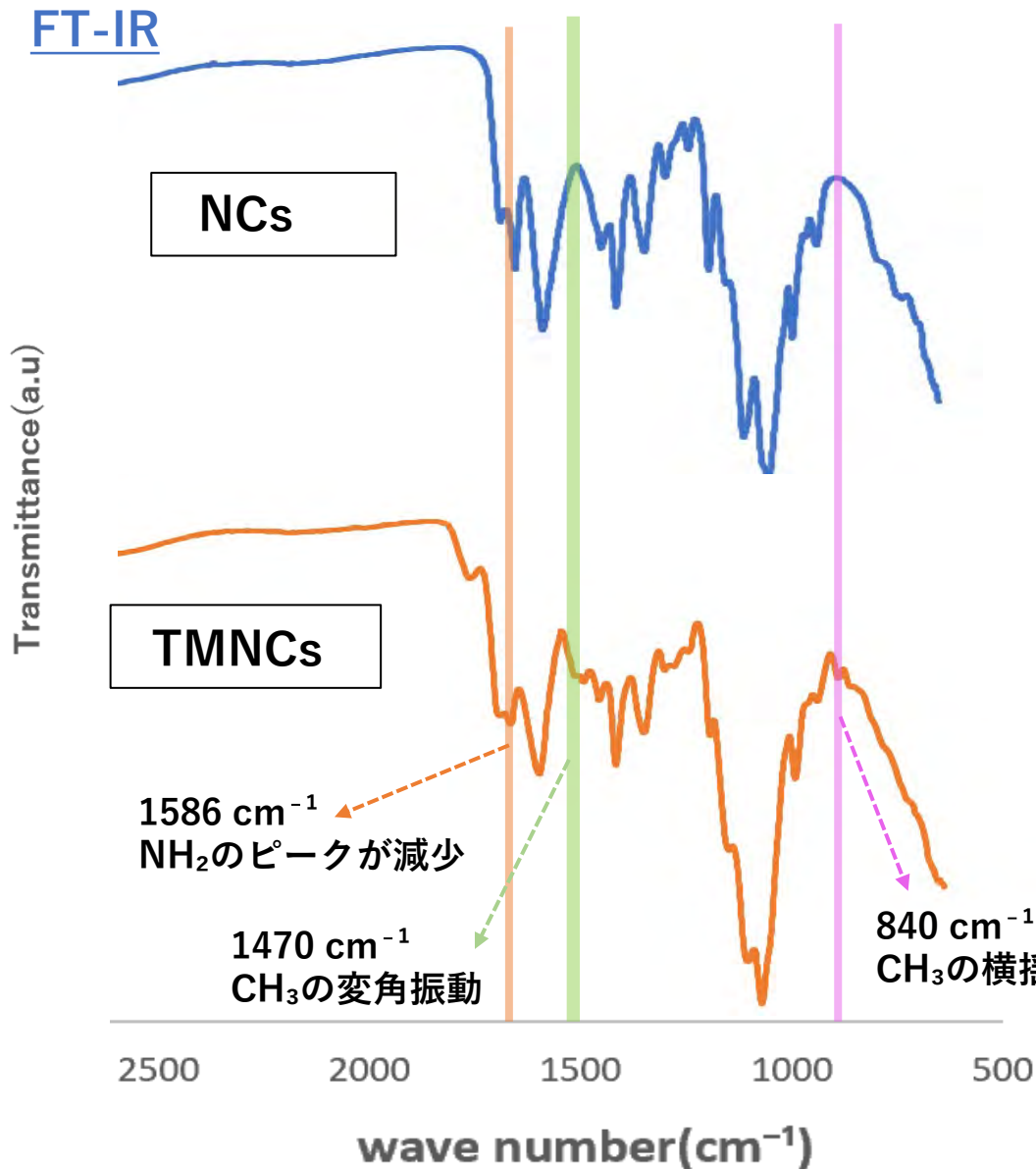
• NCs



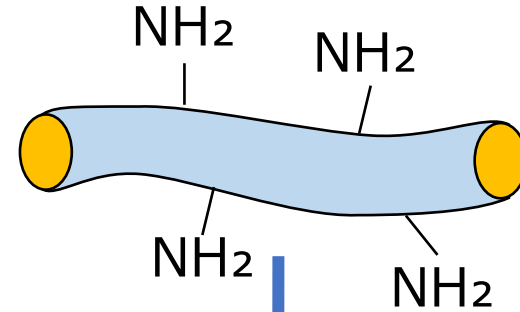
• TMNCs



トリメチル化が進行して
アミノ基のピークが消失

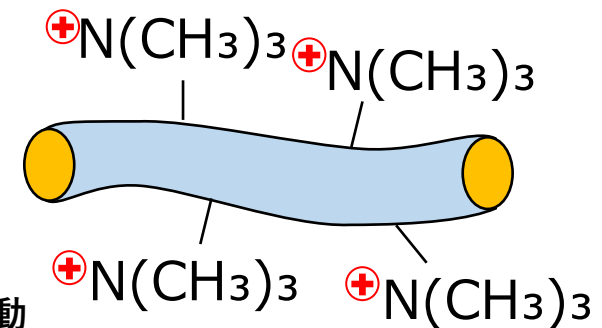


• NCs



CH₃I
NMP, NaOH

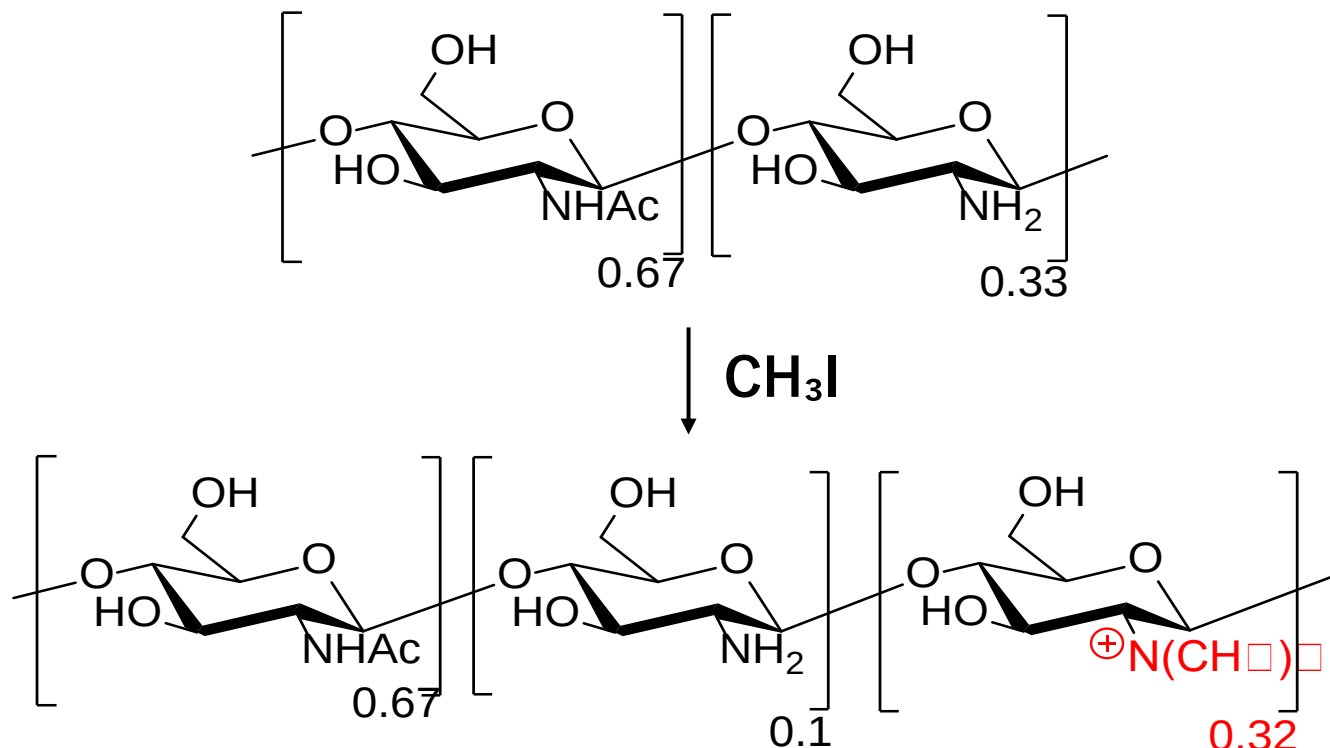
• TMNCs



⇒ NCsがトリメチル化

元素分析

TMNCsのトリメチル化度

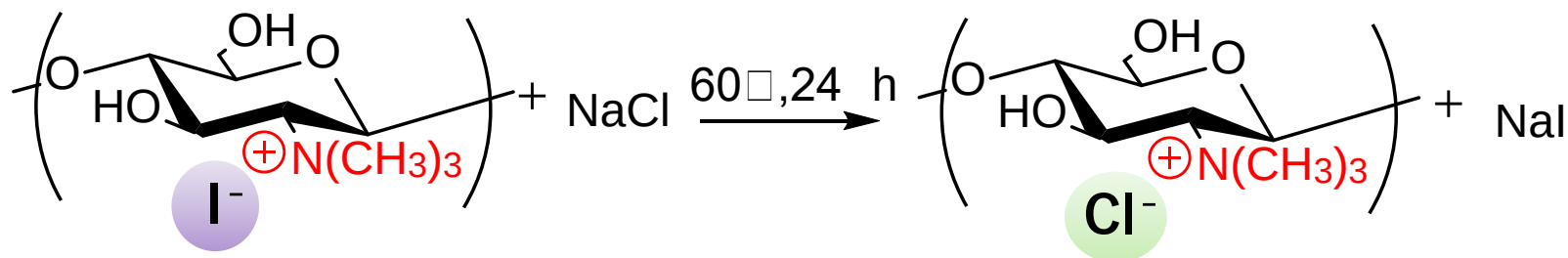


元素分析結果 C/N=7.115

$$\frac{C}{N} = \frac{12\{8 \times 0.67 + 6(0.33 - Y) + 9Y\}}{14(0.67 + 0.33 - Y + Y)} \quad Y=0.32$$

⇒ トリメチル化度 0.32

EDS



定量結果(Atom%)

	C	N	O	I	Cl
TMNCsI ⁻	69.36	9.76	17.46	2.15	0
TMNCsCl ⁻	67.68	6.59	23.60	0.13	1.75

対アニオンが I^- から Cl^- に交換

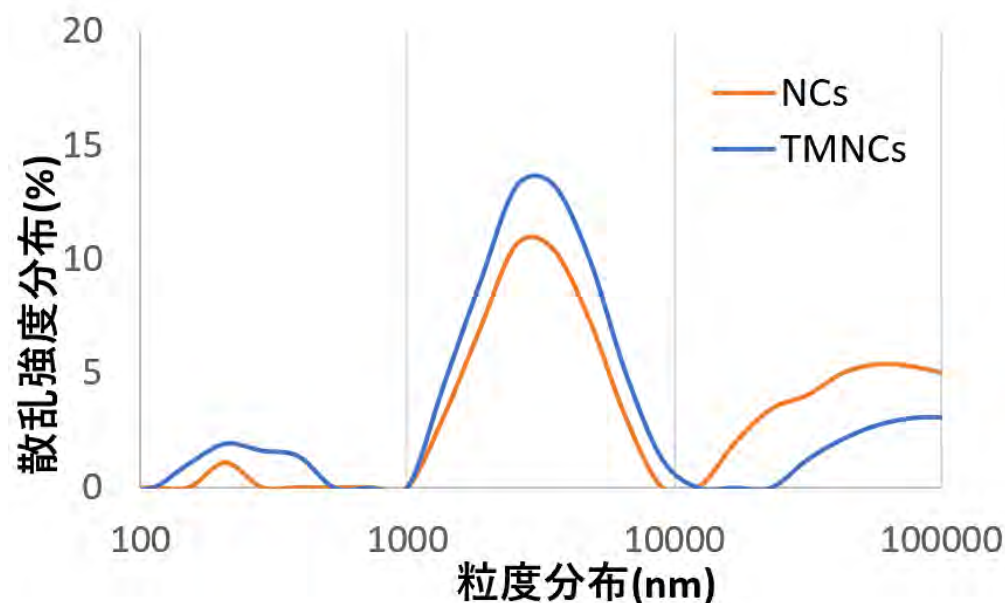
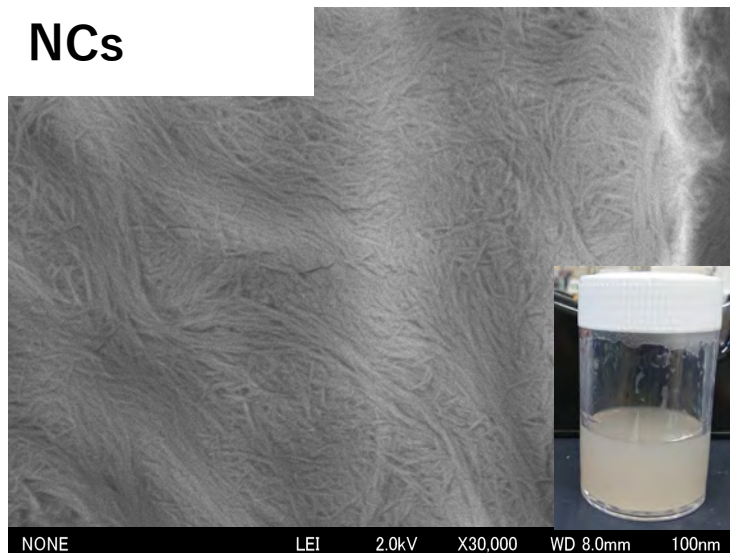
TMNCsの繊維形状と粒度分布

10

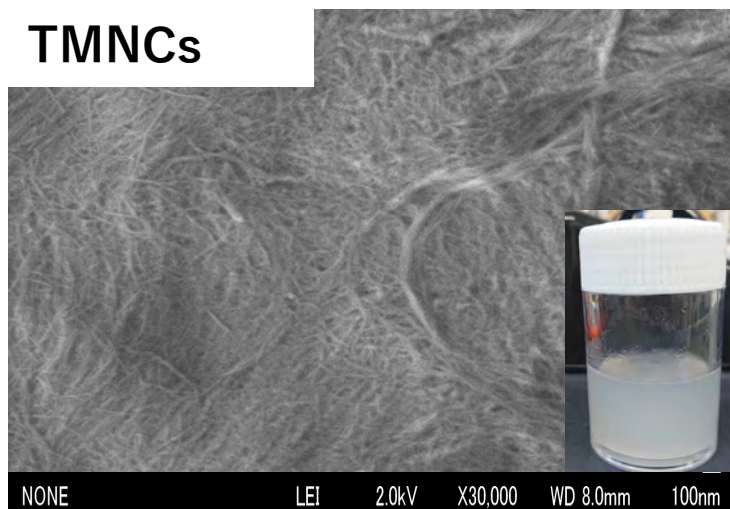
走査型電子顕微鏡(SEM) 30000 倍

動的光散乱法(DLS) 0.01 wt%分散液 pH 3

NCs



TMNCs

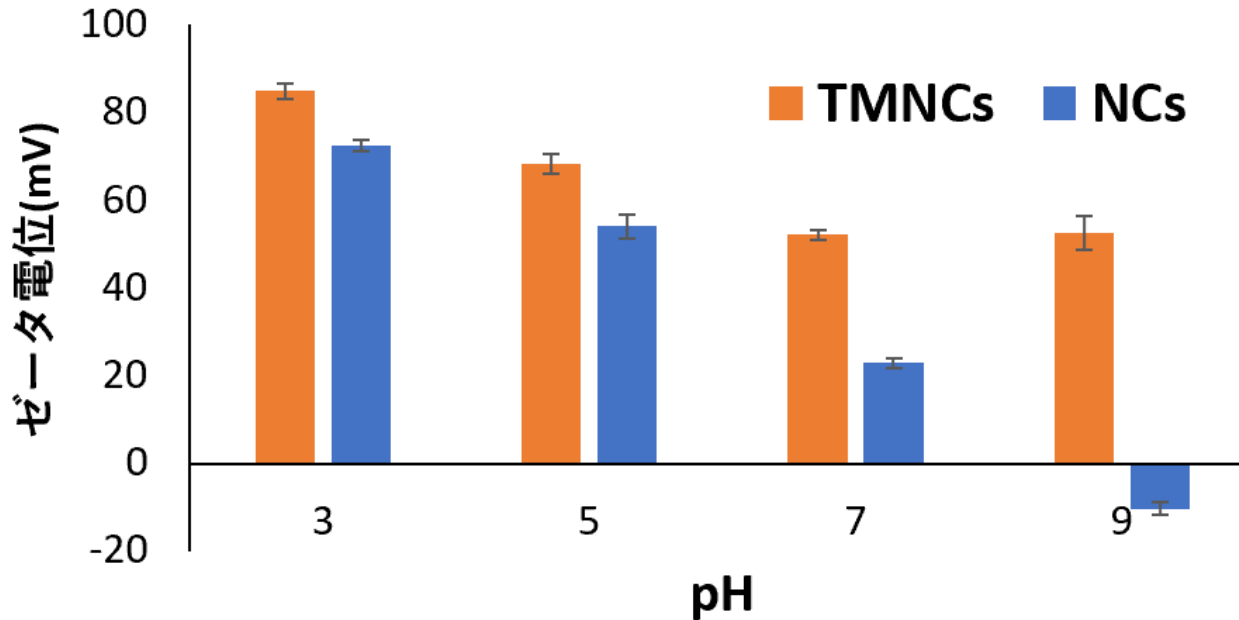


	NCs	TMNCs
平均繊維径	33.4 nm	27.0 nm
流体力学的直径	4723 nm	3047 nm

視野全体に繊維状物質を確認
TMNCsはNCsと比べてより解繊された

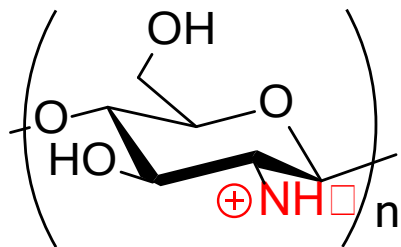
NCsとTMNCsのゼータ電位

0.1 wt%分散液

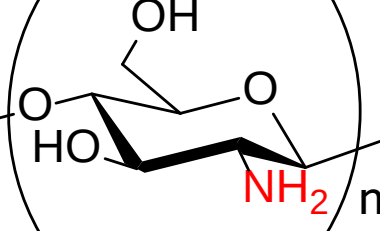


NCs

酸性条件

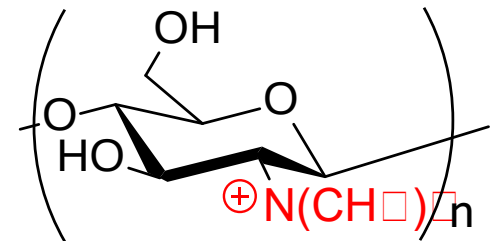


中性、塩基性条件



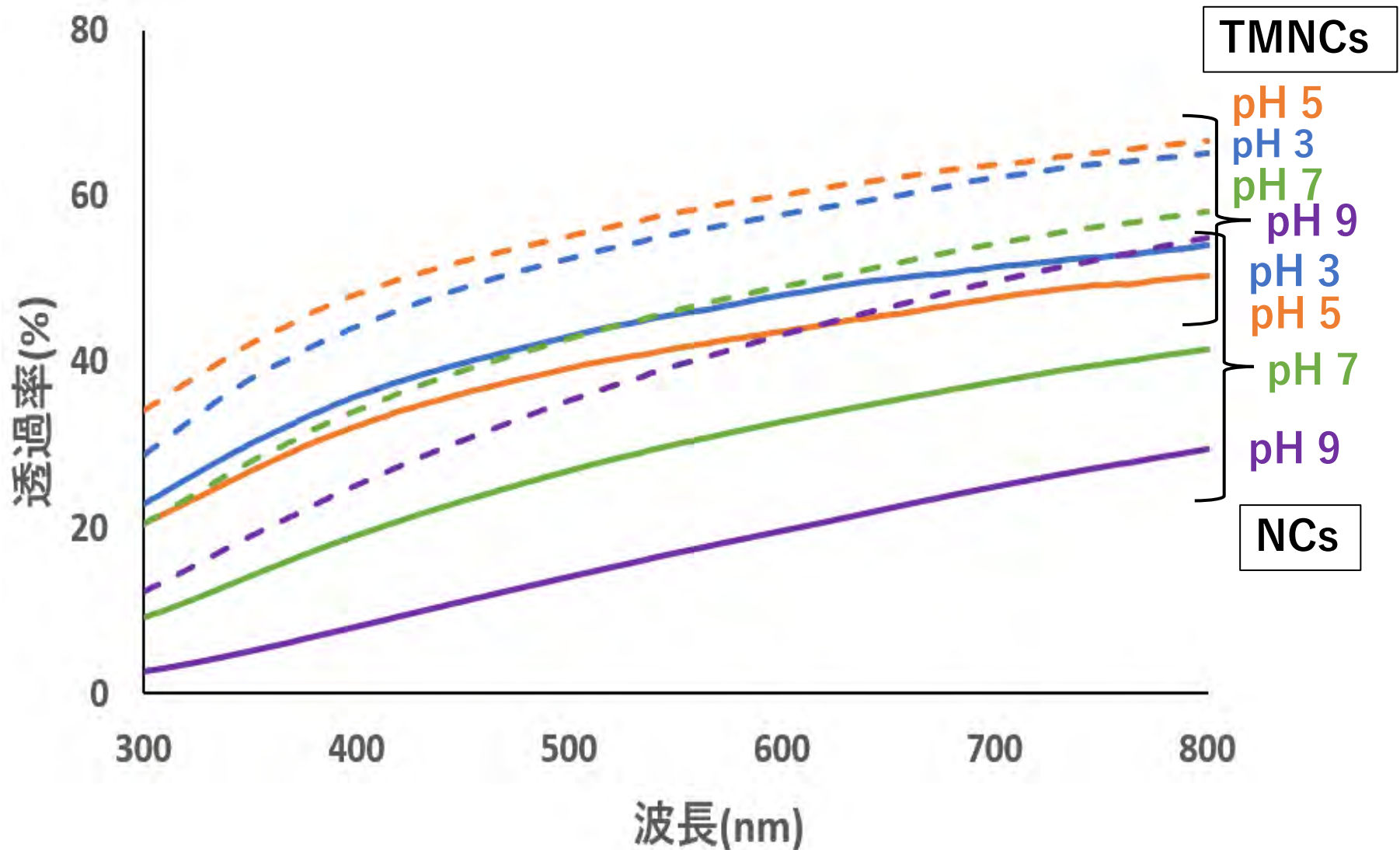
TMNCS

酸性、中性、塩基性条件

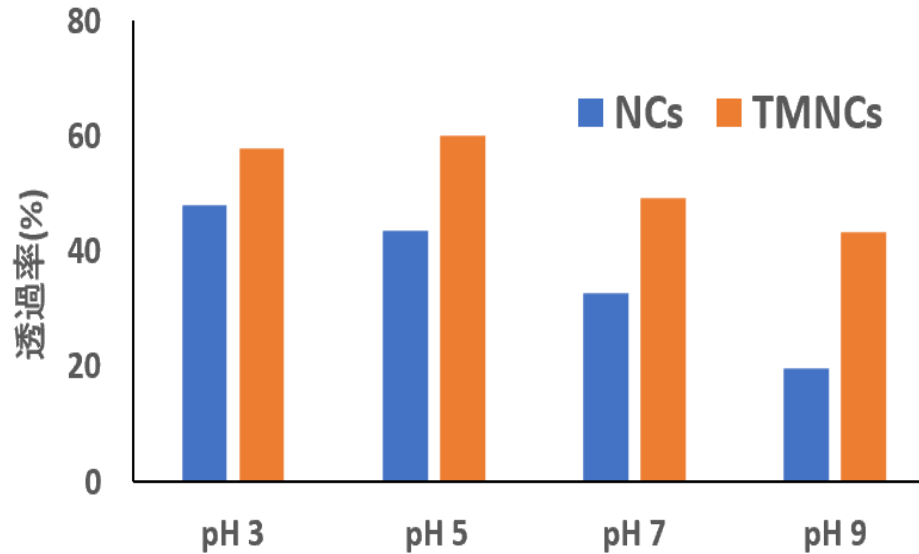


TMNCsはトリメチルアンモニウムカチオンによりpHに依存せずに正に帯電

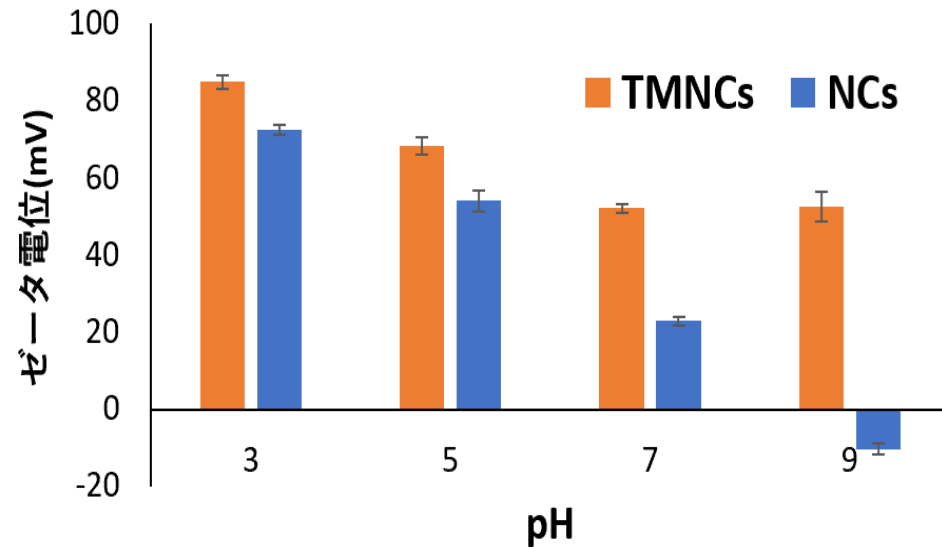
紫外可視分光法(UV-vis) 0.1 wt%分散液



透過率(600 nm)



ゼータ電位

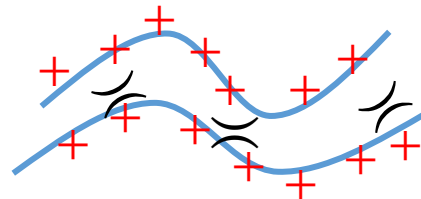


・ NCs



中性、塩基性条件下
では繊維が凝集

・ TMNCs



トリメチルアンモニウム
カチオンにより
繊維の凝集を防ぐ

⇒ TMNCsはNCsと比較して分散性が向上して透過率の減少を抑制

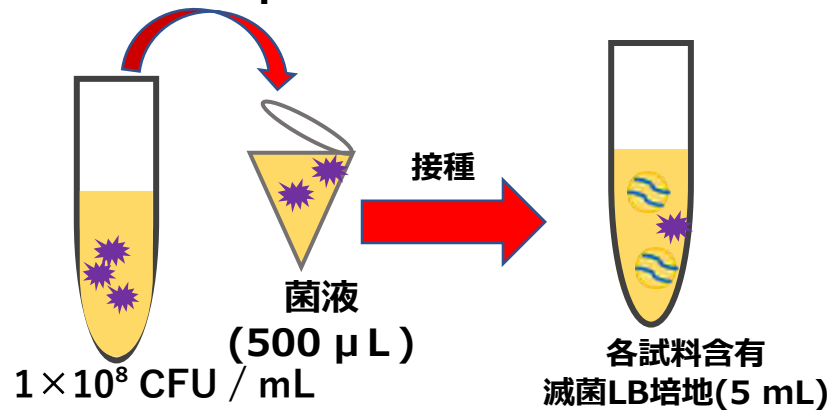
前培養

コントロール培地 (4 mL) に黄色ブドウ球菌を
植菌し、37°Cで振盪培養 (24 h)



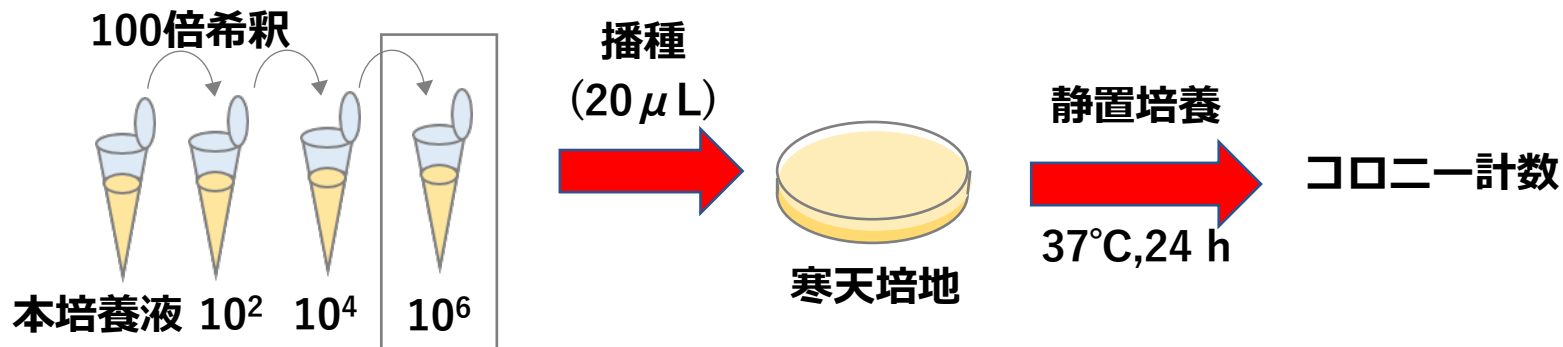
本培養

OD₆₀₀=1まで前培養した菌液500 μ Lを各試料含有LB液体培地
に加え、NaOH、HClでpH調整後に37°Cで振盪培養 (24h)



コロニー数の計測

希釈平板法により増殖した細菌のコロニー数を計測



黄色ブドウ球菌に対する抗菌性

15

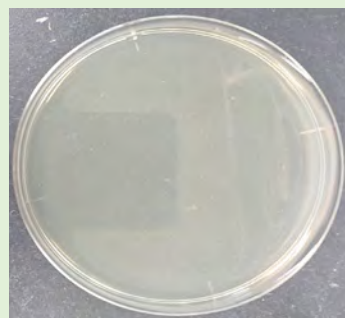
pH 3

pH 5

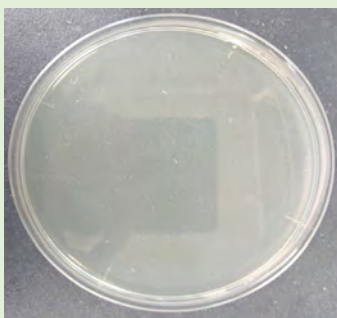
pH 7

pH 9

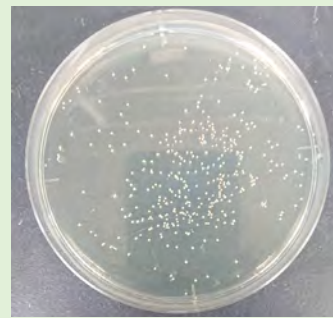
NCs



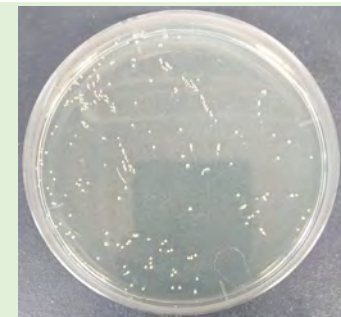
0個



0個

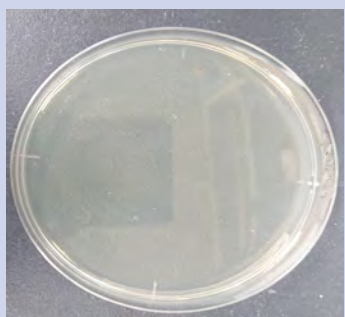


313個

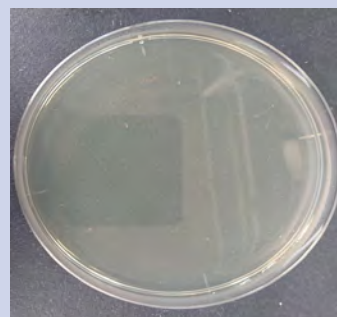


117個

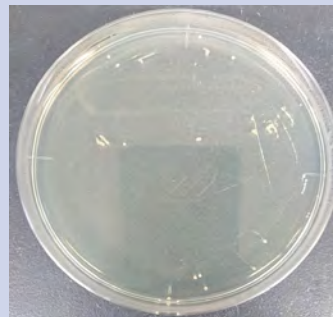
TMNCs



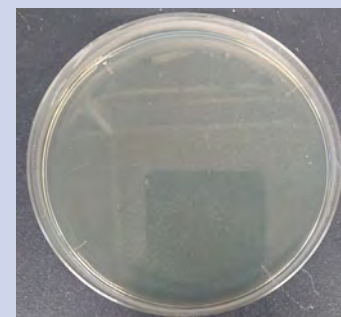
0個



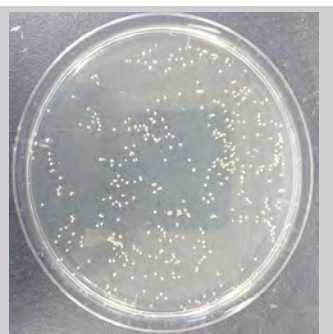
0個



18個



0個

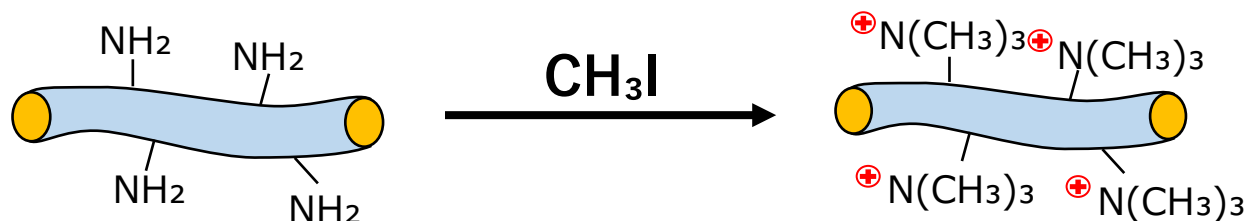


370個

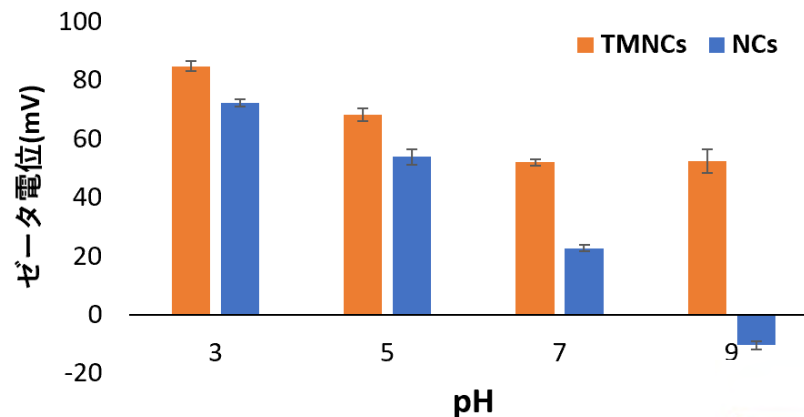
コントロール
(pH 7)

⇒ TMNCsはpH に依存せず黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を示した

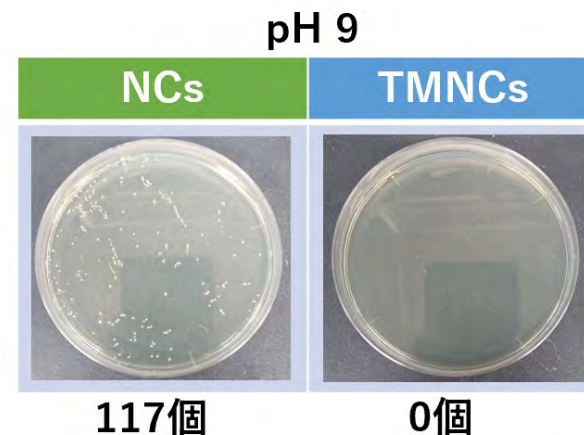
- NCsのトリメチル化に成功



- TMNCsはpHに依存せず正に帯電→分散性が向上



- TMNCsはpHに依存せず抗菌性を示した



人工タンパク質ナノブロックによる自己組織化 超分子ナノ構造複合体の設計開発

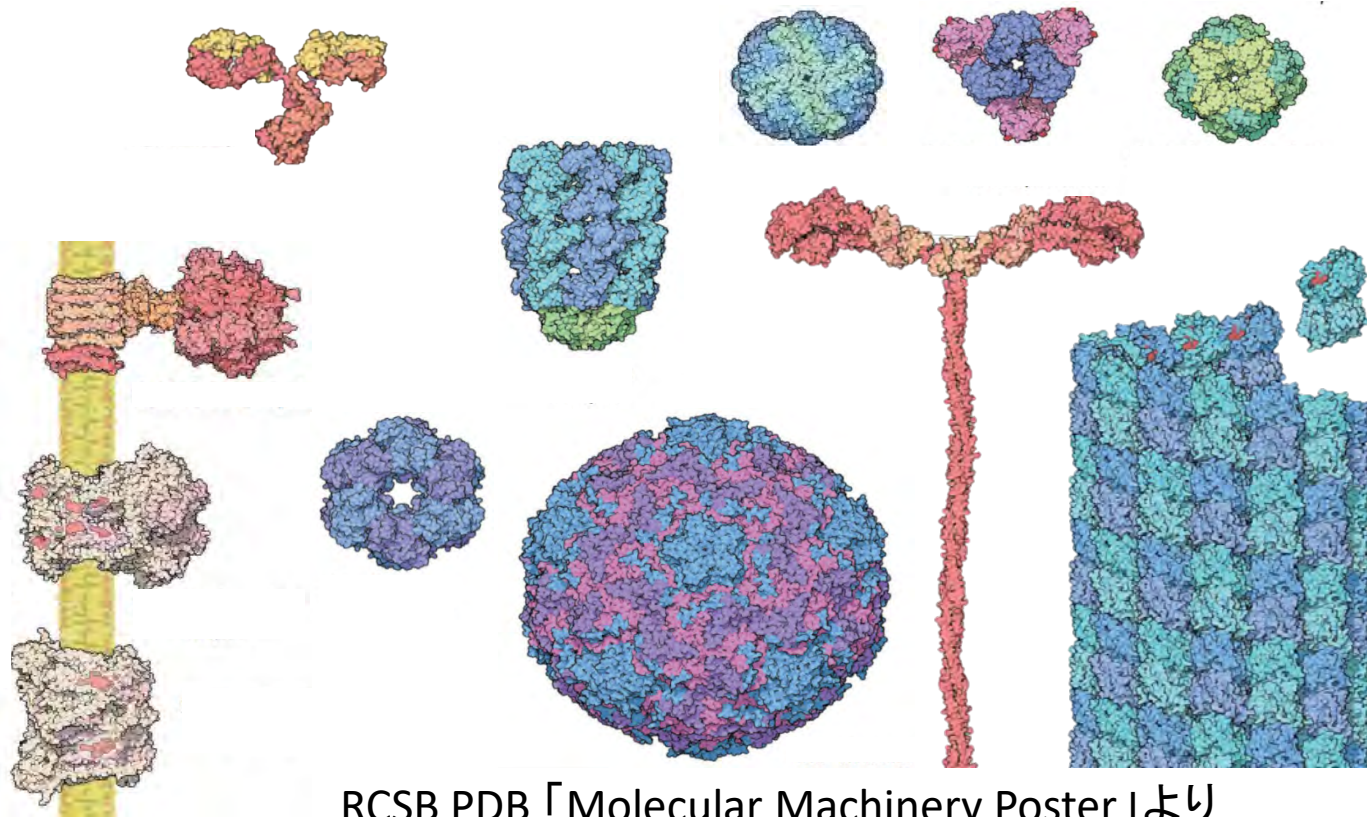


新井 亮一

信州大学 繊維学部 応用生物科学科

信州大学 先鋭領域融合研究群 バイオメディカル研究所

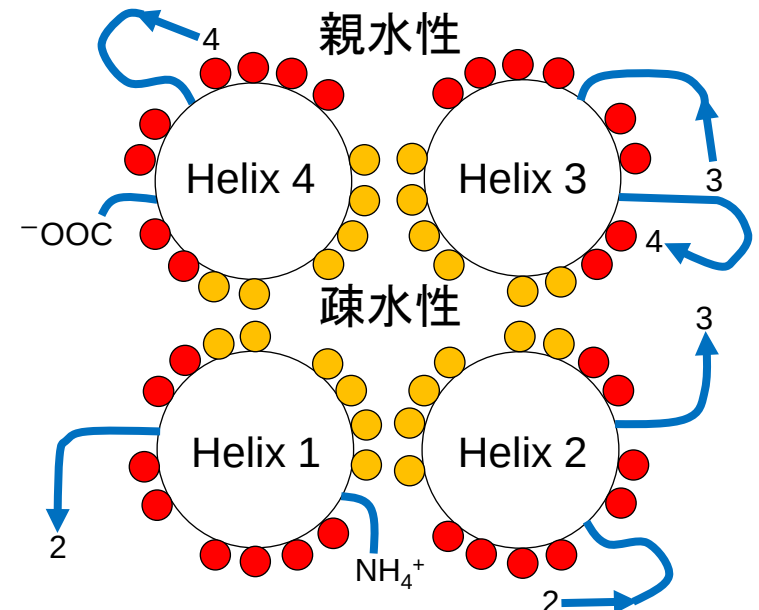
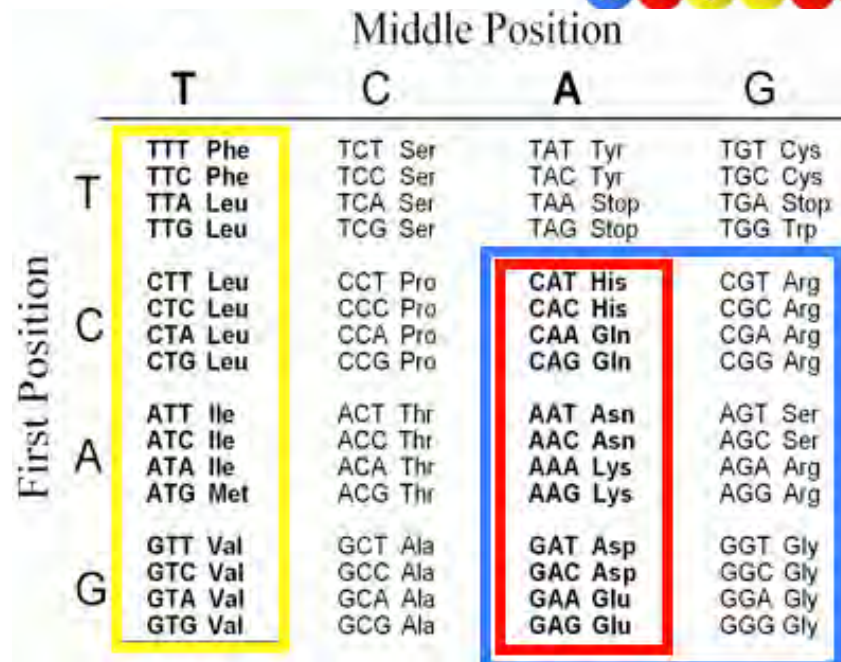
多くのタンパク質は複合体を形成して高度な機能を実現



RCSB PDB「Molecular Machinery Poster」より

バイオ医薬、グリーンケミストリー、ナノテクノロジー等への応用に向けて
人工タンパク質及び人工タンパク質複合体の自在な設計・開発は、
タンパク質工学の主な目標の1つ

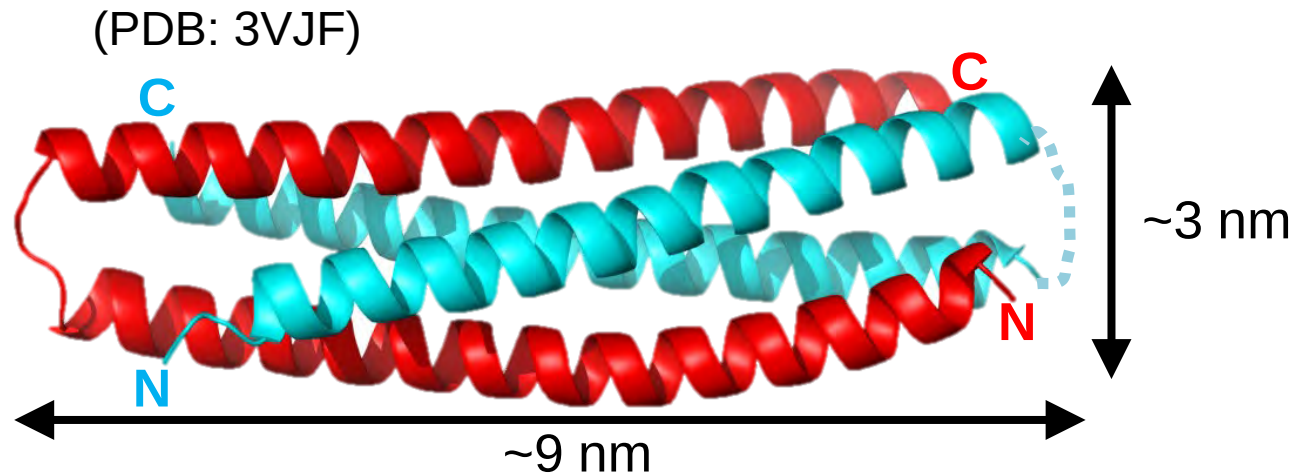
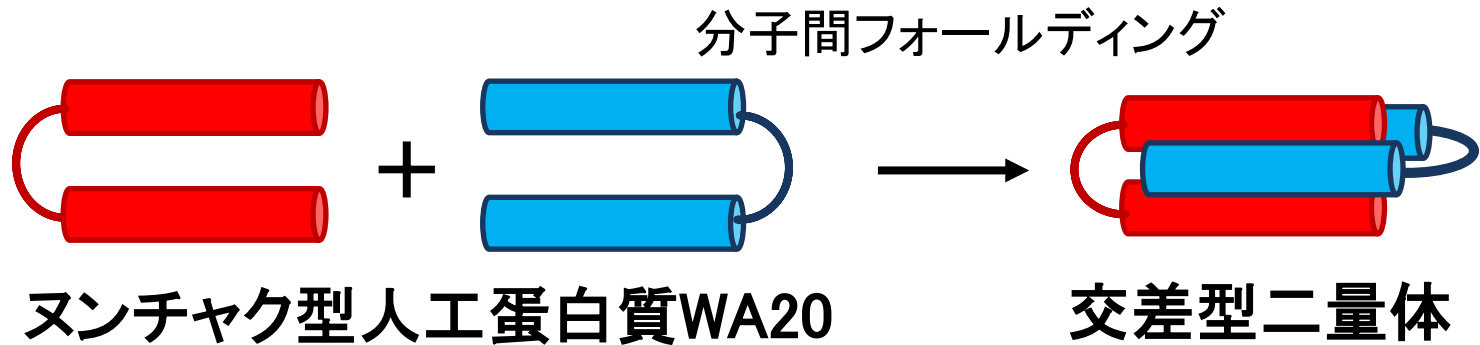
- 極性残基
- 非極性残基
- ループ残基



両親媒性ヘリックス

(Patel, S.C. et al., Protein Sci. 18, 1388–1400, 2009)

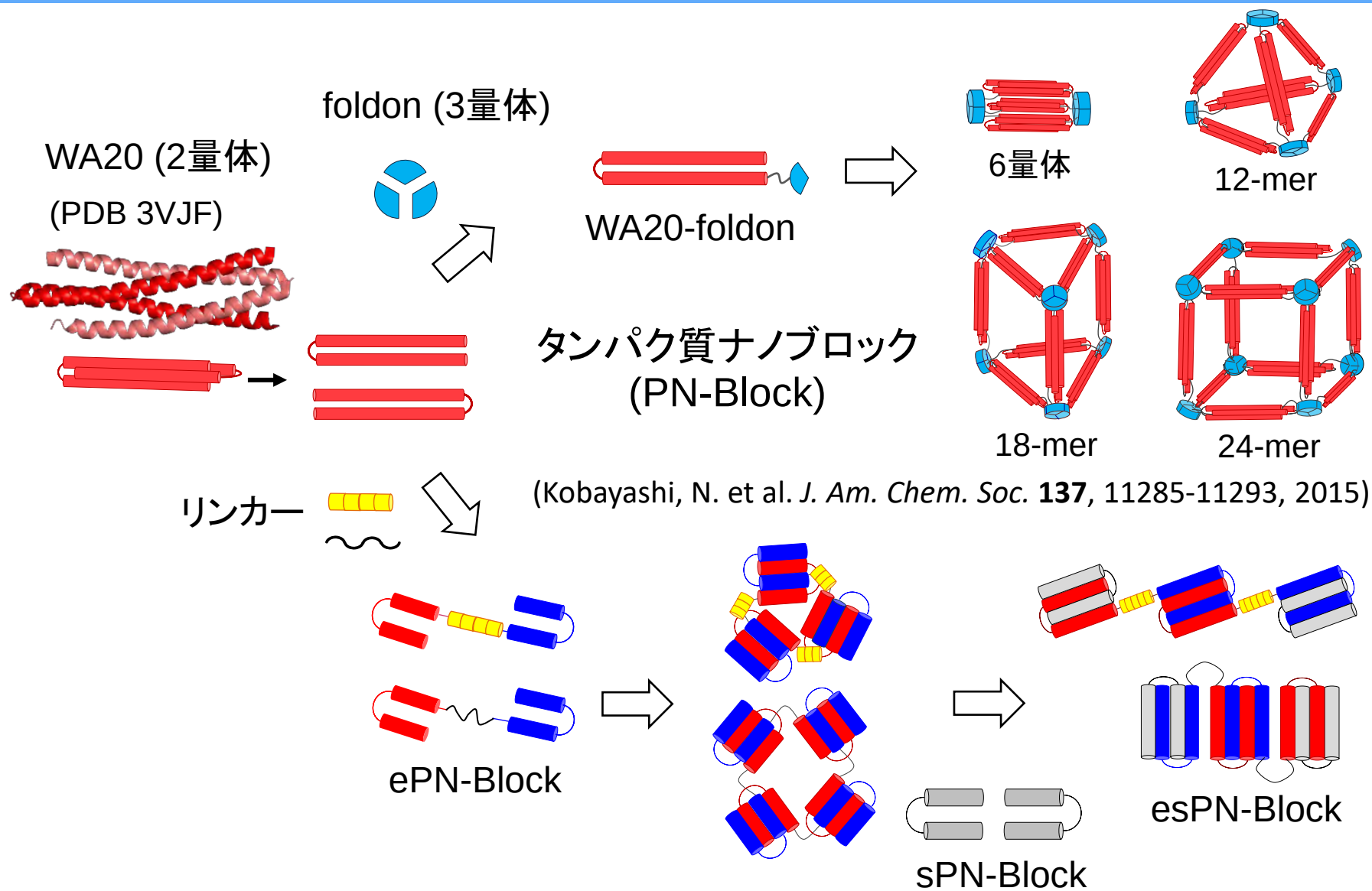
新規人工タンパク質WA20立体構造: 特徴的な二量体構造



(Arai, R. et al, *J. Phys. Chem. B*, **116**, 6789-6797, 2012)

特徴的な“クロスヌンチャク型”二量体構造
基本ブロックパーツとして、ナノ構造構築へ応用

タンパク質ナノブロック(PN-Blocks)の設計開発



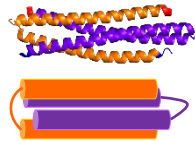
(Kobayashi, N. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 11285-11293, 2015)

(Kobayashi, N. et al., *ACS Synth. Biol.* **7**, 1381-1394, 2018)

レクチンナノブロックWA20-ACGの構築と超多価結合効果

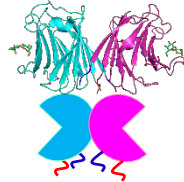
人工タンパク質 レクチン

PDB: 3VJF



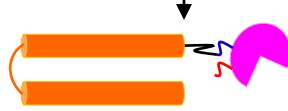
WA20
(2-mer)

PDB: 1WW6



ACG
(2-mer)

融合



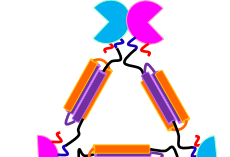
WA20-ACG
(LN Block)

自己組織化

レクチンナノブロック複合体



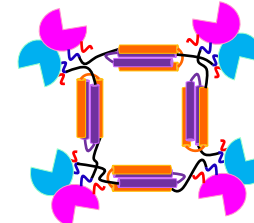
WA20-ACG
(2-mer)



WA20-ACG
(6-mer)



WA20-ACG
(4-mer)



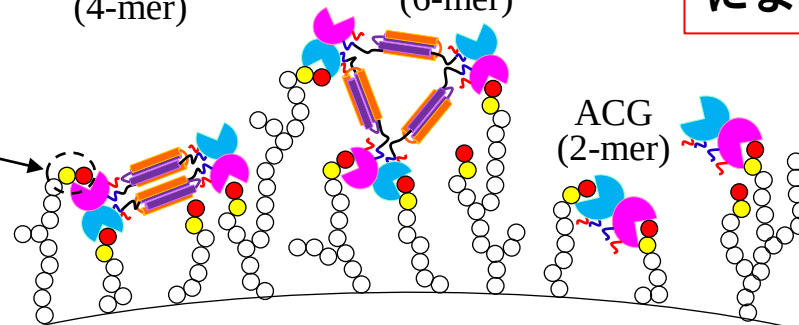
WA20-ACG
(8-mer)

多価結合効果

WA20-ACG
(4-mer)

WA20-ACG
(6-mer)

標的糖鎖



標的細胞

タンパク質ナノブロック戦略
によって多価結合性を強化

(Irumagawa, S. et al.,
Int. J. Mol. Sci. **23**, 676, 2022)

人工タンパク質ナノ粒子複合体TIP60設計開発構造解析

Sm-like protein

Myosin X coiled coil

5量体

2量体

融合タンパク質

TIP60

60量体

(共同研究: 慶應大 川上了史先生他)

クライオ
電顕構造

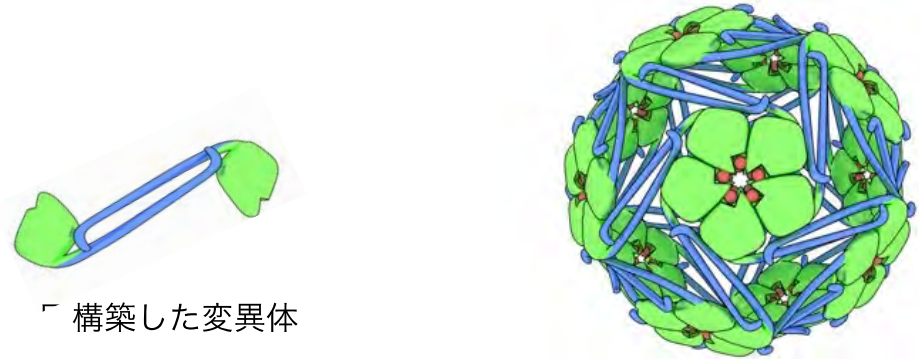
Mw: 17.8 kDa x 60 = 1068 kDa

~22 nm

(PDB: 7EQ9; EMD-31256)

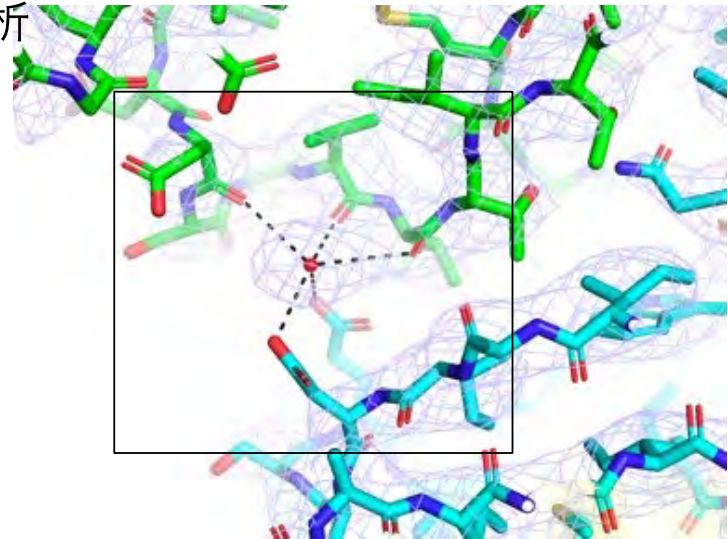
(Kawakami, N. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 12400, 2018; Obata, J. et al. *Chem. Commun.* 57, 10226, 2021)

金属イオン依存的に構造形成するTIP60変異体ナノ粒子



構築した変異体

クライオ電子顕微鏡による立体構造解析



(共同研究: 慶應大 大原直也さん、川上了史先生、KEK 安達成彦先生他)

(Ohara, N. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **145**, 216, 2023)



バイオマテリアル創製における 新興液体材料群「活イオン液体」の概念と機能

北海道大学 大学院農学研究院
鈴木 栞（すずき しおり）



活イオン液体の科学

※分担者

無機化学班
西直哉（京大）

物理化学班
岩橋崇（東工大）

応用電気化学班
岡弘樹（阪大）

有機化学班
鈴木栞（北大）

基礎電気化学班
芹澤信幸（慶應大）

生化学班
黒田浩介（金沢大）

※分担者

【領域代表】
応用電気化学班
山田裕貴（阪大）

研究期間：2023年度 NEW! ～ 2025年度

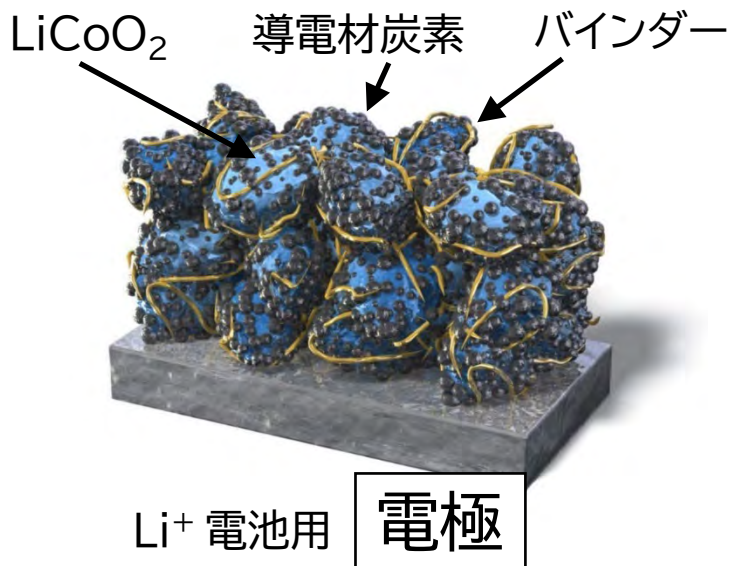


電気化学的な新概念「活イオン」

2/10

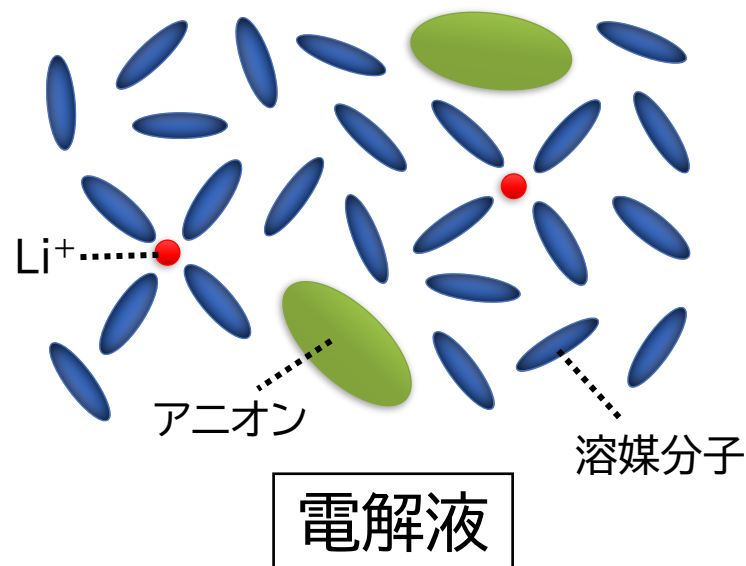
× 活・イオン液体 (Active Ionic Liquids)

○ 活イオン・液体 (Active Ion-Rich Liquids)



LiCoO₂ + 導電材炭素 + バインダー

活物質 = 反応する物質



Li⁺ + 導電材炭素 + バインダー

活イオン = 反応するイオン

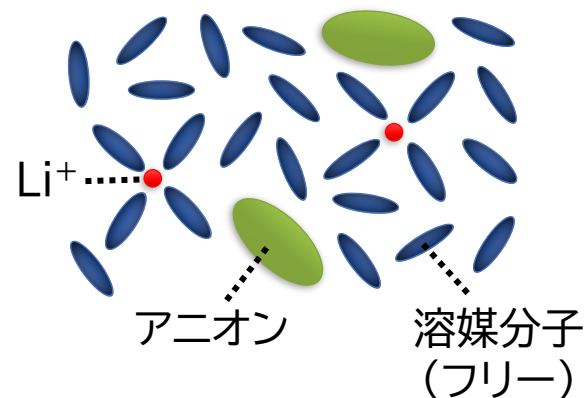


新奇電解液としての「活イオン液体」

3/10

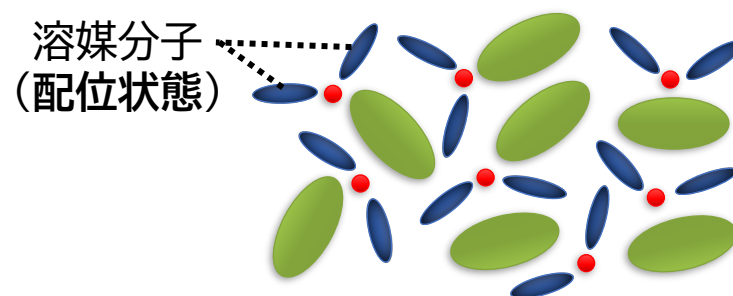
活イオン（反応イオン）が濃縮された液体

一般的な溶液



活イオン液体

高濃度



自由溶媒が不在

⇒ 様々な特異的機能

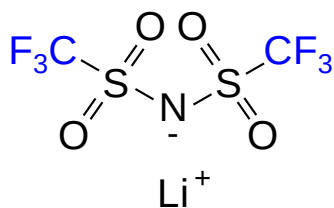
極少量の溶媒で Li 塩を液化



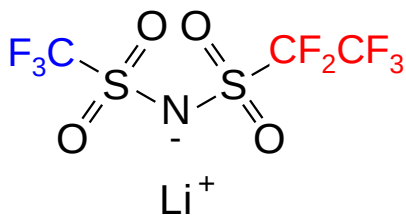
活イオン液体中の溶媒分子の物性変調

4/10

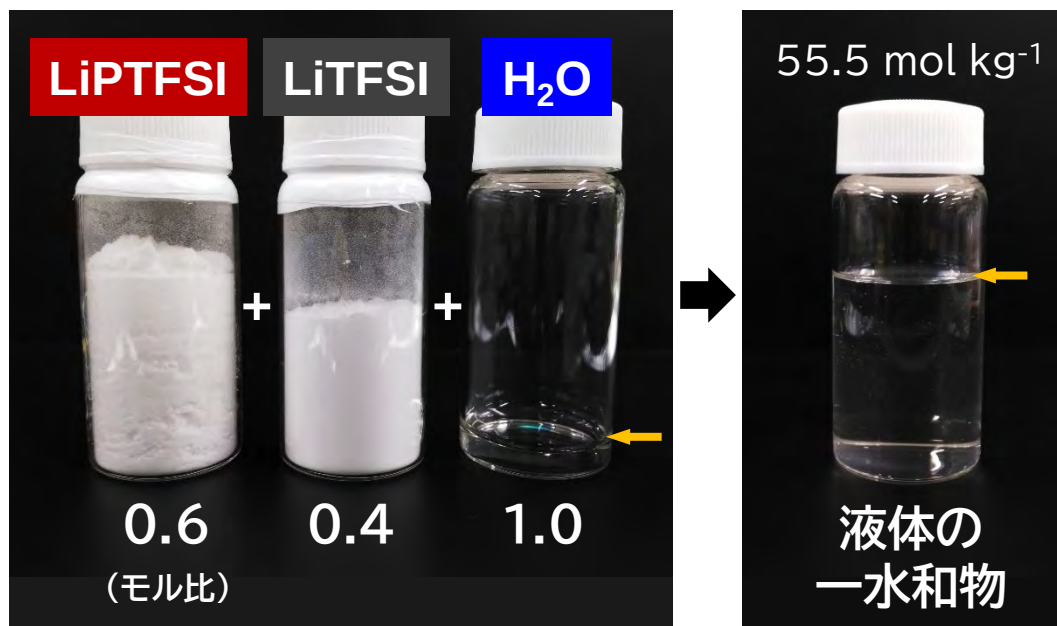
水系 活イオン液体 $\equiv$ 水和融体 (Hydrate Melt)



LiTFSI



LiPTFSI



Li塩－水和融体: $\text{Li}(\text{PTFSI})_{0.6}(\text{TFSI})_{0.4}\cdot\textcolor{red}{1}\text{H}_2\text{O}$

水の活量を変調 $\Rightarrow$ 高電圧下 ($\sim 5 \text{ V}$) での電気分解を抑制!

Yamada et al. *Nat. Energy* 1, 16129 (2016); *Electrochem. Commun.* 104, 106488 (2019)



本研究の位置づけ

5/10



山田先生 岩橋先生 芹澤先生 西先生

MISSION

電気化学の活イオンを
有機化学に落とし込め！

計画研究題目

活イオン液体の **溶解能**・**触媒能** の
本質的理解に基づく
「**有機化学**」反応場の創成



鈴木栞 (代表)

+

黒田先生 (分担)

有機/生化学における新概念として「活イオン」を定義し
広範な“有機物”を対象とした新たな反応場を創出する

【対象例】 天然高分子 (セルロース・リグニン・キチンなど)
生体高分子 (タンパク・酵素・酵母・細胞など)
低分子有機化合物 (食品/薬品関連成分など)



1) 溶媒

難溶性の高分子/低分子化合物を溶解し
均一系反応・成形加工・諸分析を可能にする「溶媒」

Suzuki et al. *Cellulose* 30, 2873 (2023); *Green Chem.* 24, 2567 (2022)

2) 触媒

ねらいの反応において、触媒として機能する「液体」

【反応例】酸加水分解、選択的エステル交換反応など

Suzuki et al. *RSC Adv.* 8, 14623 (2018); *J. Wood Sci.* 67 (2021)

3) その他

ゲル電解質の液体媒質（電解液）、細胞の凍結保存剤など

Suzuki et al. *Holzforschung* (2023) DOI: 10.1515/hf-2023-0067

Kuroda et al. *Commun. Chem.* 3, 163 (2020)



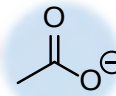
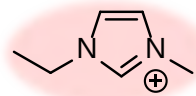
1) 溶解現象における「活イオン」

7/10

活イオン = 溶解に寄与するイオン = 溶媒和イオン

イオン液体 EmimOAc は、セルロースを溶解する

Rogers et al. *J. Am. Chem. Sci.* 124, 4974 (2002); *Green Chem.* 11, 645 (2009)



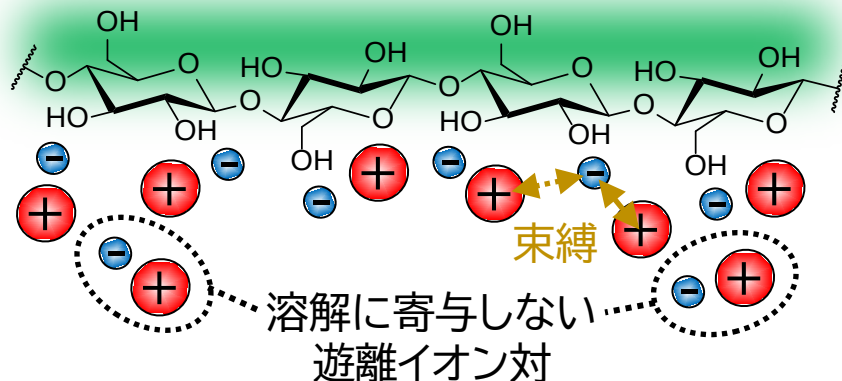
アニオンの塩基性
(水素結合受容能) が駆動力

EmimOAc 単独系

Shimizu et al. *J. Mol. Liq.* 279, 120 (2019)

19 wt% のセルロースを溶解 @室温

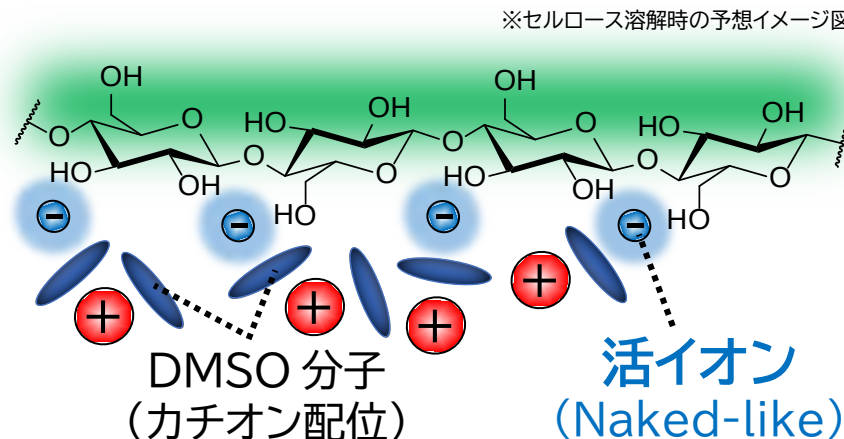
$\therefore \text{EmimOAc} : \text{OH}_{\text{Cellulose}} = 1 : 0.7$
(モル比)



EmimOAc/DMSO 混合系 (モル比 1:1.5)

22 wt% のセルロースを溶解 @室温

$\therefore \text{EmimOAc} : \text{OH}_{\text{Cellulose}} = 1 : 1.5$



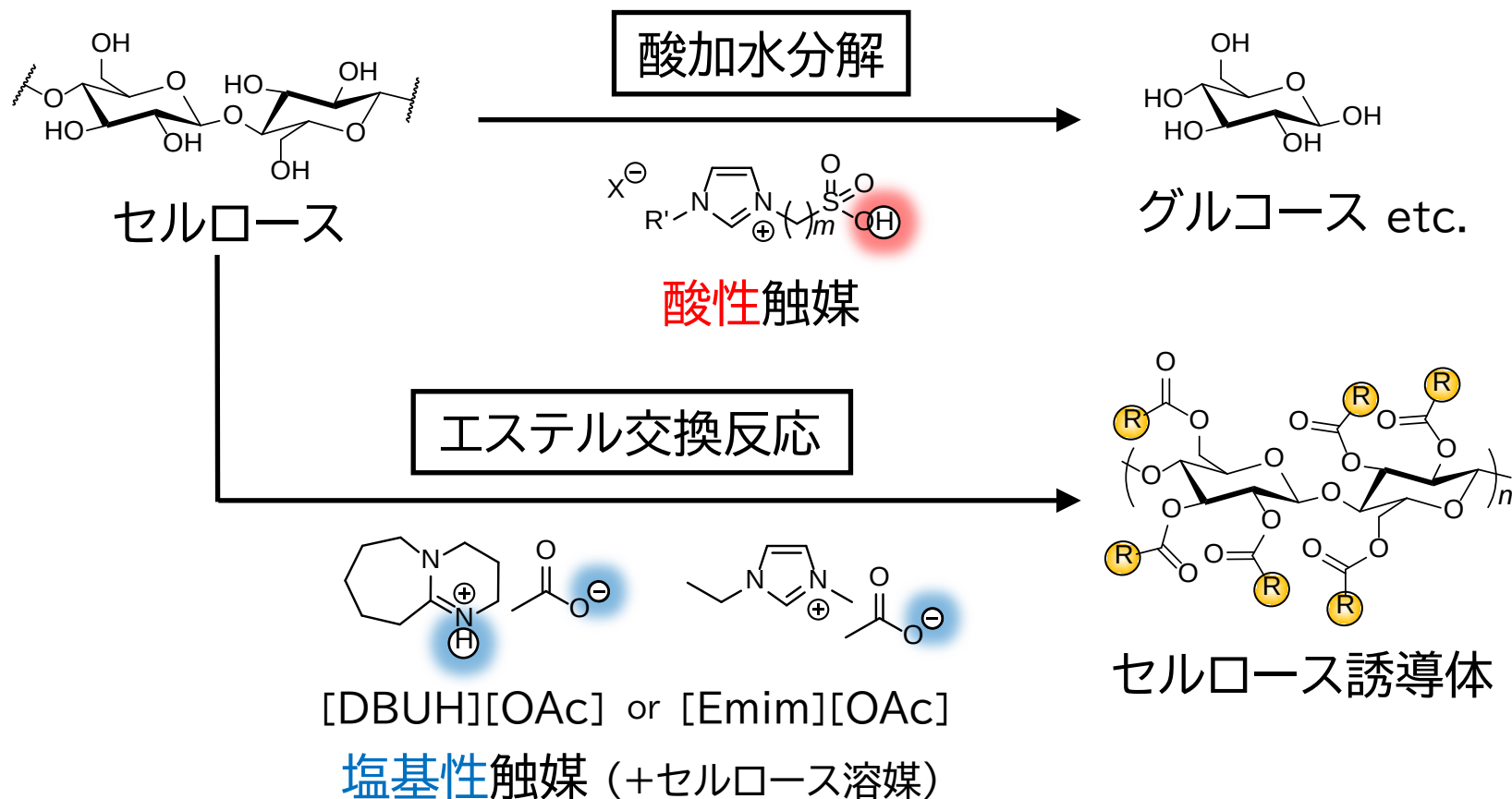


2) 触媒反応における「活イオン」

8/10

活イオン = 目的の反応を触媒するイオン

Suzuki et al. *Chem. Rec.* 23, e202200264 (2023)





温度で切り替え可能な「活イオン」

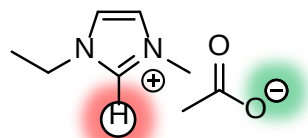
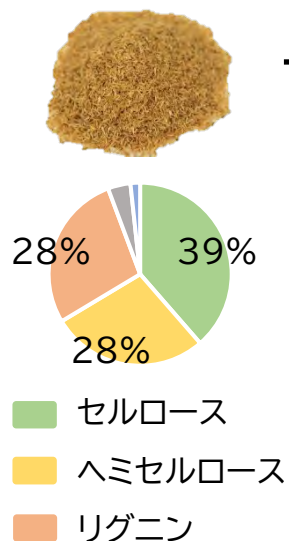
9/10

バガス粉末

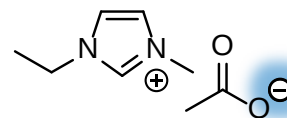
140 °C, 16 h

80 °C, total 1 h

反応後溶液

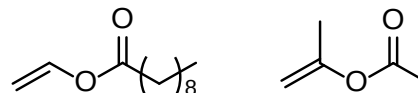


EmimOAc
/DMSO
(モル比 1 : 3.6)



アシルドナー

① 0.25 モル当量 / [OH]_{Bagasse} ② 過剰量



再沈殿溶媒: メタノール

- 多糖誘導体: 析出
- リグニン誘導体: 溶存



多糖誘導体

前処理の効果
熱分解温度 UP
力学的強度 UP

+



リグニン誘導体

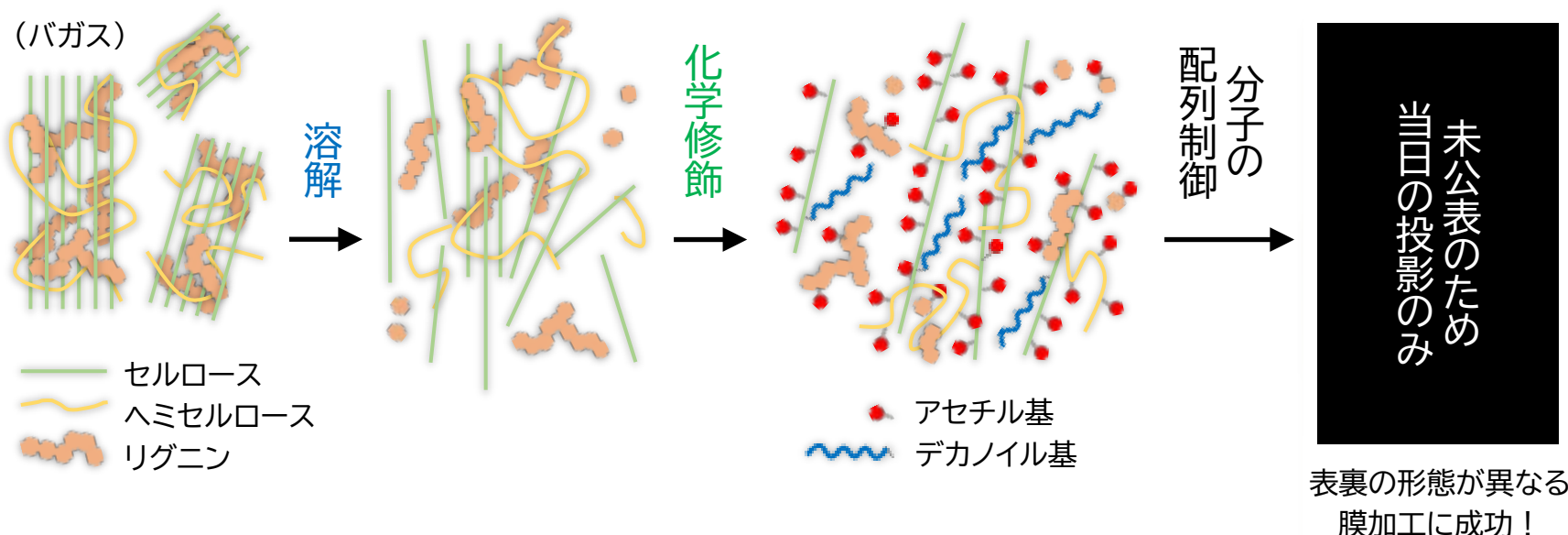


「活イオン液体」を用いた材料創製

10/10

活イオン液体：EmimOAc/DMSO

リグノセルロース系バイオマスの均一系化学修飾反応
を可能にする「溶媒」かつ「触媒」



リグノセルロース由来の“機能性”高分子材料の開発に向けて
活イオン液体にしか実現できない「新奇反応場」を創出します!



農研機構

バクテリアセルロースの合成機構解明に向けた 生化学的アプローチ

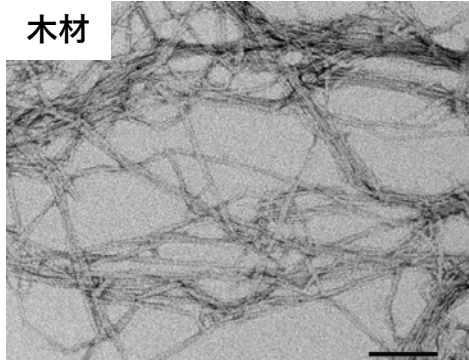
研究当時：京都大学生存圏研究所 マテリアルバイオロジー分野

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

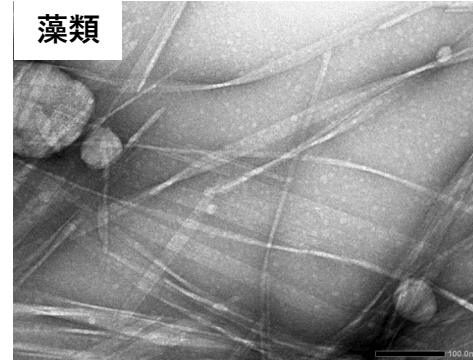
近藤辰哉

天然セルロース

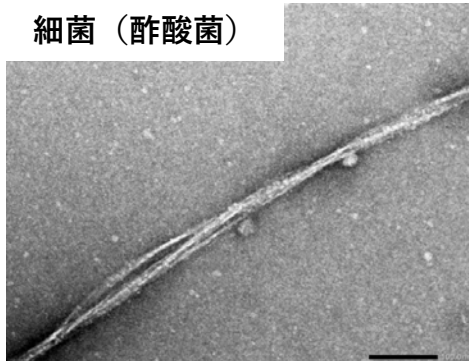
木材



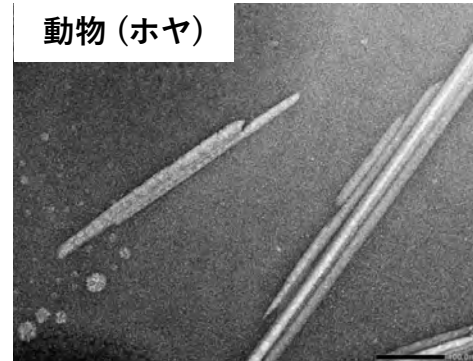
藻類



細菌（酢酸菌）



動物（ホヤ）



スケールバー = 100 nm

- ・天然セルロースはすべてI型結晶
- ・セルロース合成酵素によって作られる

セルロースの結晶弾性率

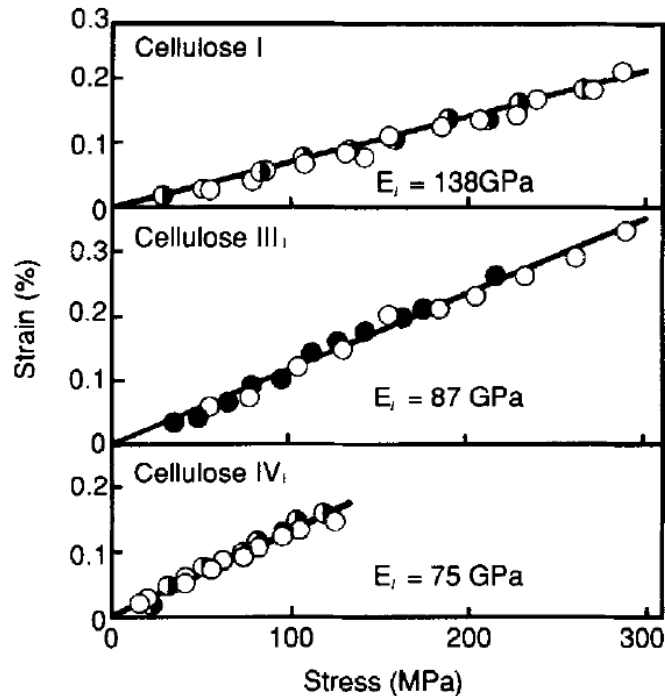


Figure 4. Stress σ -strain ϵ curves for (○) (040), (●) (060), and (◐) (080) planes of cellulose I series at 25°C.

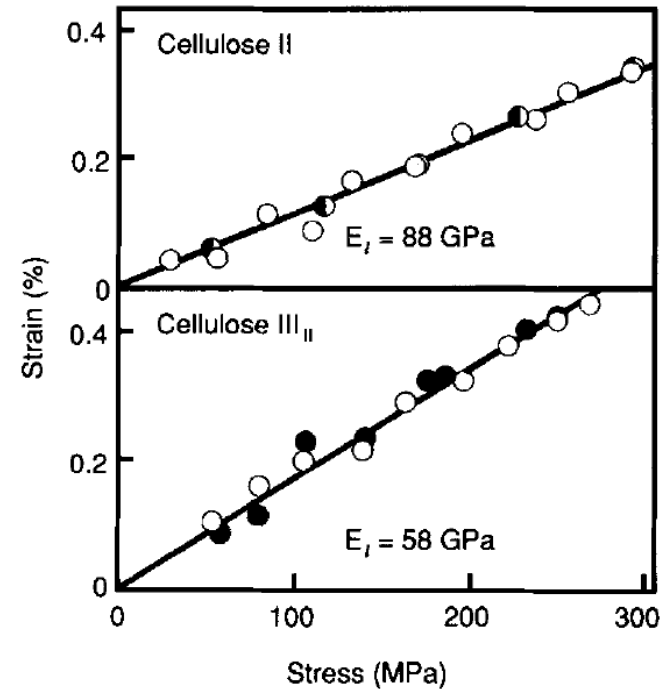


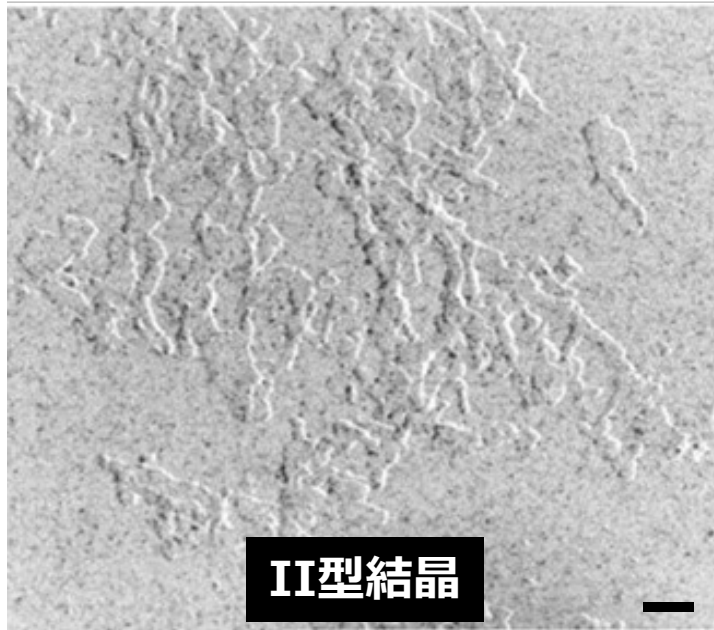
Figure 5. Stress σ -strain ϵ curves for (○) (020), (◐) (040), and (●) (060) planes of cellulose II series at 25°C.

Nishino *et al.* 1995, *J. Polym. Sci. B*

天然セルロースはセルロース合成酵素によって最も高強度な結晶型で合成される

人工合成セルロース

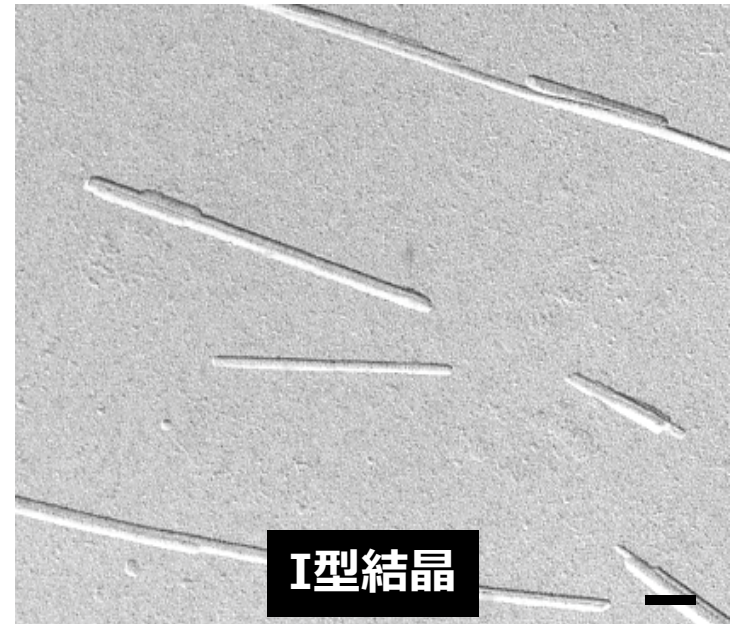
人工合成セルロース



II型結晶

Scale bar = 100 nm

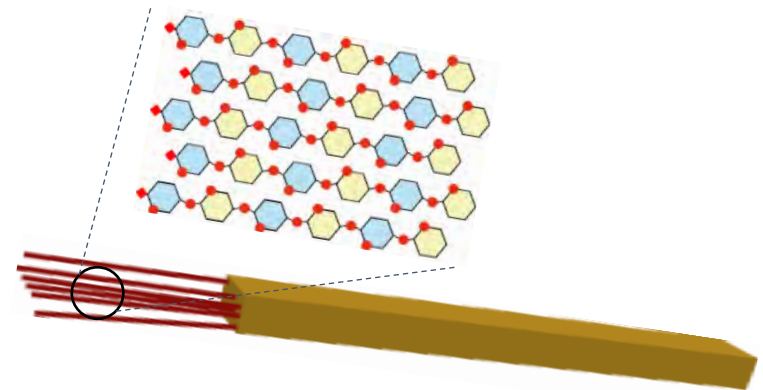
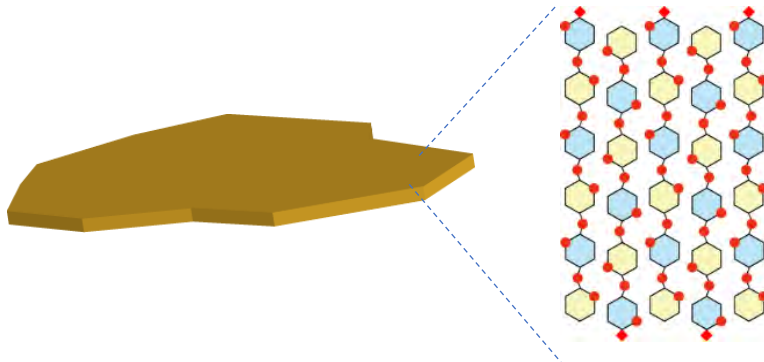
天然セルロース



I型結晶

Kobayashi et al. 2001, *Biomacromolecules*

β -1,4-グルカン鎖が逆並行（受動的）



β -1,4-グルカン鎖が並行（能動的）

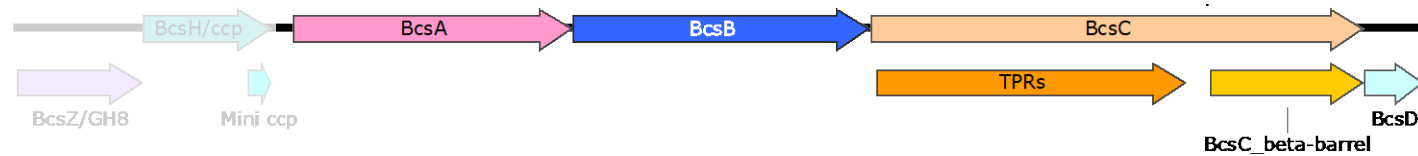
本研究の目的



バクテリアセルロース（BC）はどうやって作られるのか？

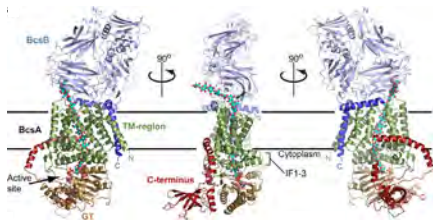
蛋白質間相互作用解析を主軸とした生化学的実験によって
バクテリアセルロース（BC）の合成機構を明らかにする

酢酸菌セルロース合成酵素の遺伝子クラスター



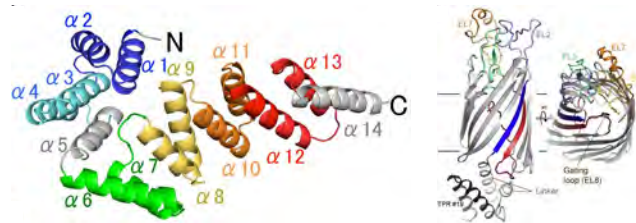
- BcsA: 触媒サブユニット(内膜貫通膜蛋白質)
- BcsB: 機能未知補助サブユニット(内膜膜蛋白質)
- BcsC: 排出サブユニット(テトラペプチドリピート:TPRs + 外膜貫通ドメイン: β -バレル)
- BcsD: ペリプラズム局在結晶化サブユニット

これら個々の立体構造はX線結晶によって明らかにされているが...



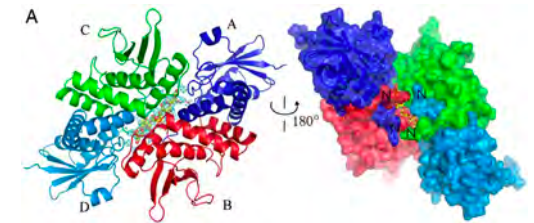
BcsAB

(Morgan et al., *Nature*, 2013)



BcsC TPRs and β -barrel

(Nojima et al., *Sci. Rep.*, 2017;
Acheson et al., *Structure*, 2019)



BcsD

(Hu et al.,
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2010)

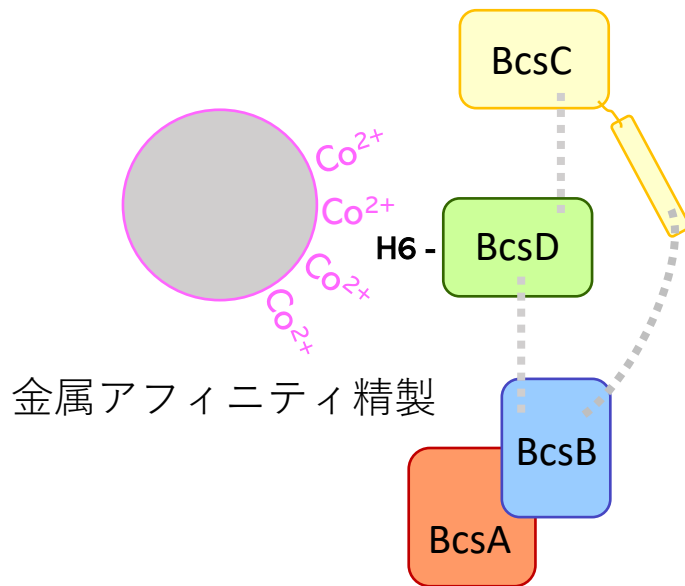
高分子量化したセルロースを繊維構造かつI型結晶として
合成する結晶化機能の情報は少ない

BcsABCD複合体の共精製

BcsABCDの大腸菌内での異種発現



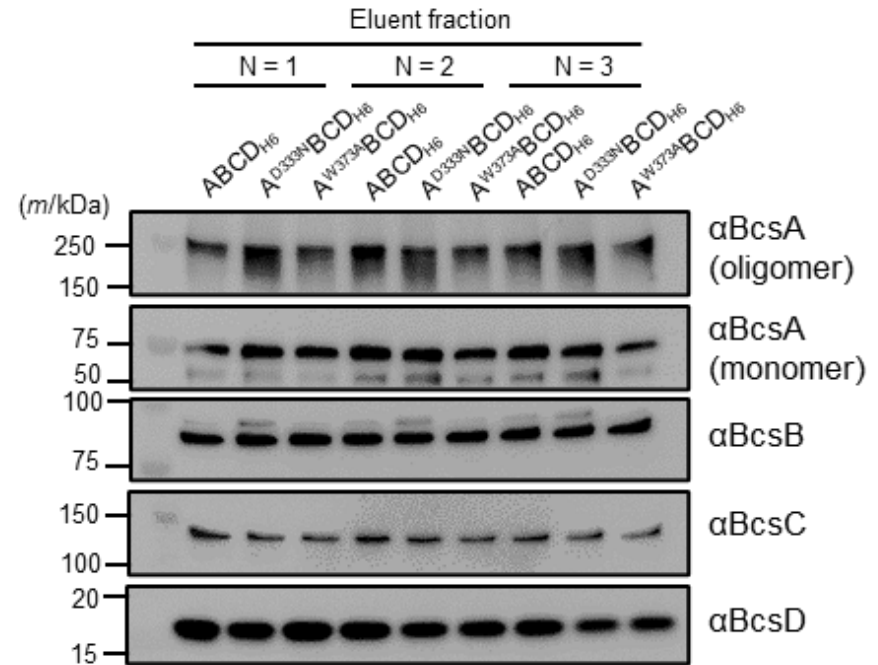
界面活性剤による可溶化



溶出

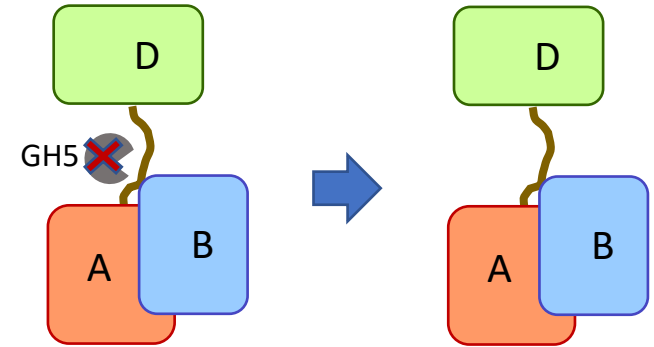
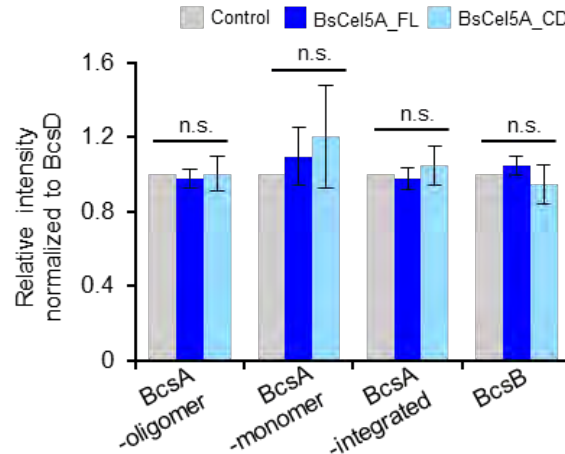
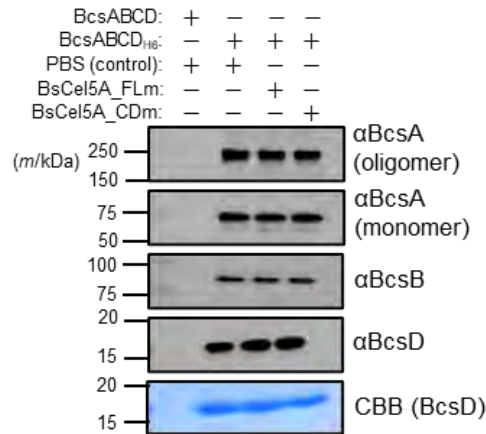
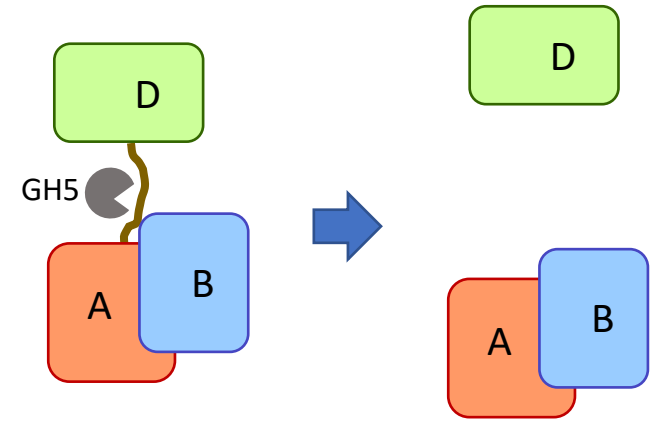
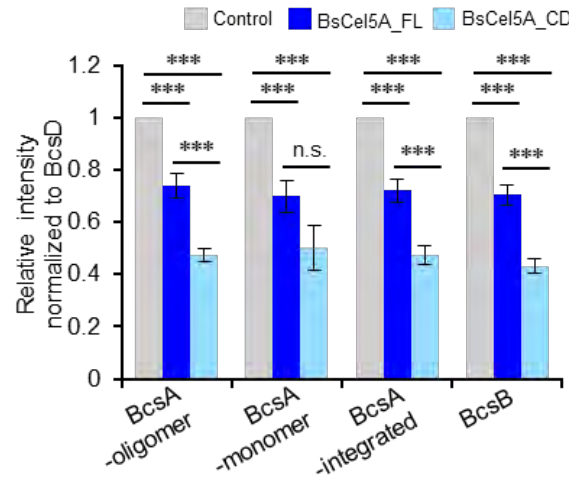
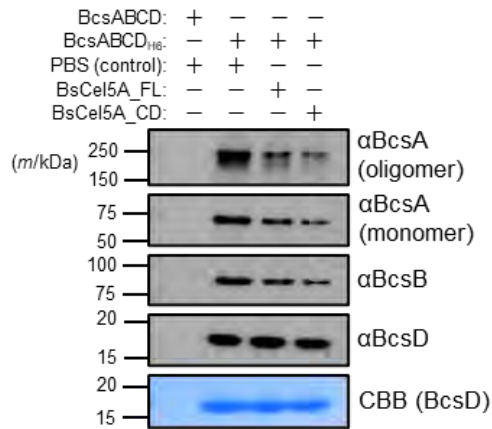
抗Bcs抗体によるウェスタンブロッティング

Kondo et al., FEBS Lett, 2022



BcsABCDの共精製に成功した

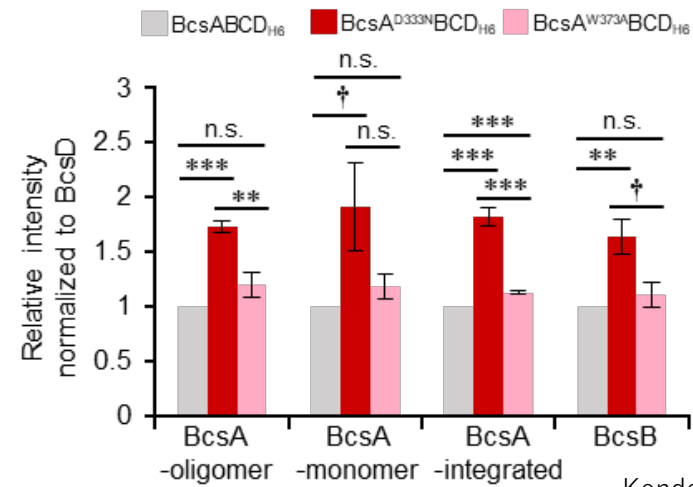
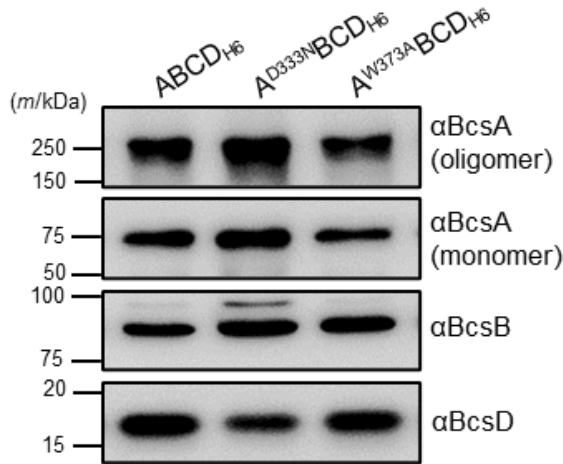
BcsABD複合体の結合様式解析



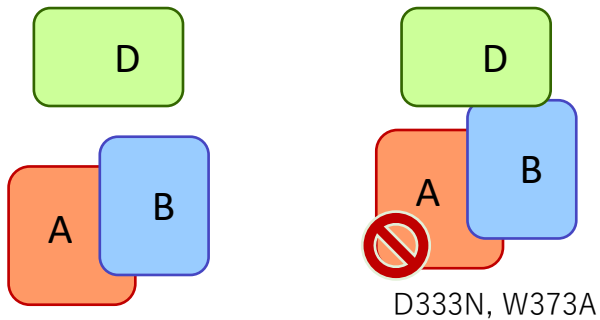
セルロース加水分解によりBcsAB複合体はBcsDから解離した

→ BcsABとBcsDはセルロース鎖を介して結合している

BcsABCD複合体の共精製

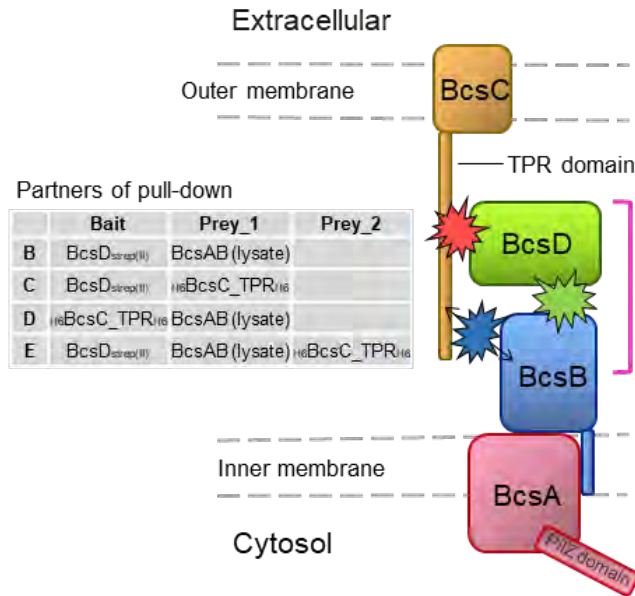


Kondo et al., FEBS Lett, 2022

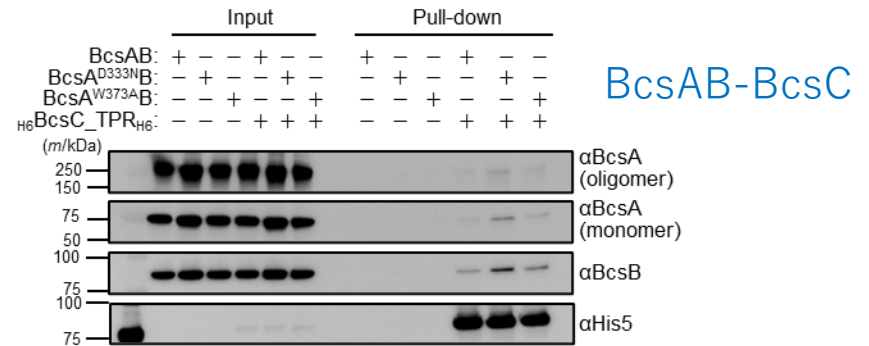
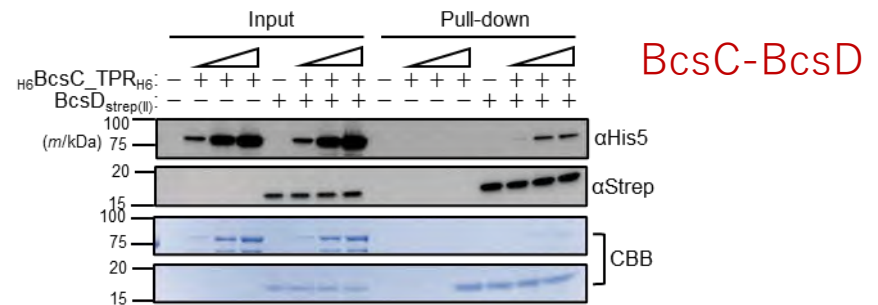
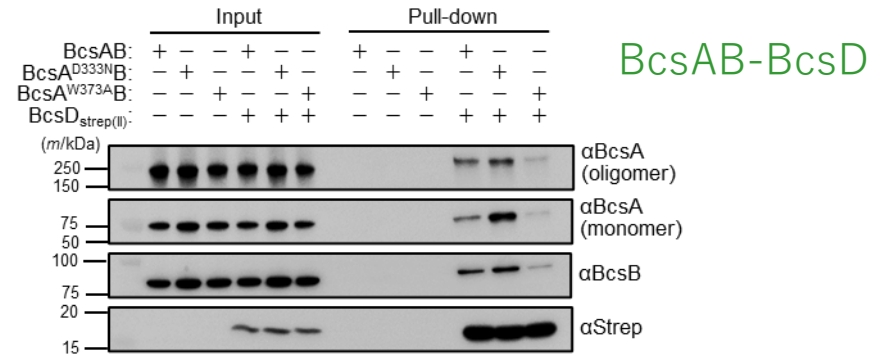
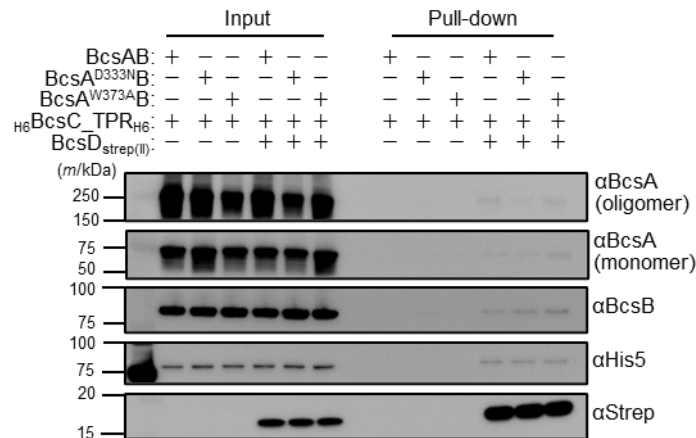


BcsAの活性残基を点変異（不活性化）することで
BcsABとBcsDの直接的結合が増加した

BcsABCDサブユニットのプルダウンアッセイ

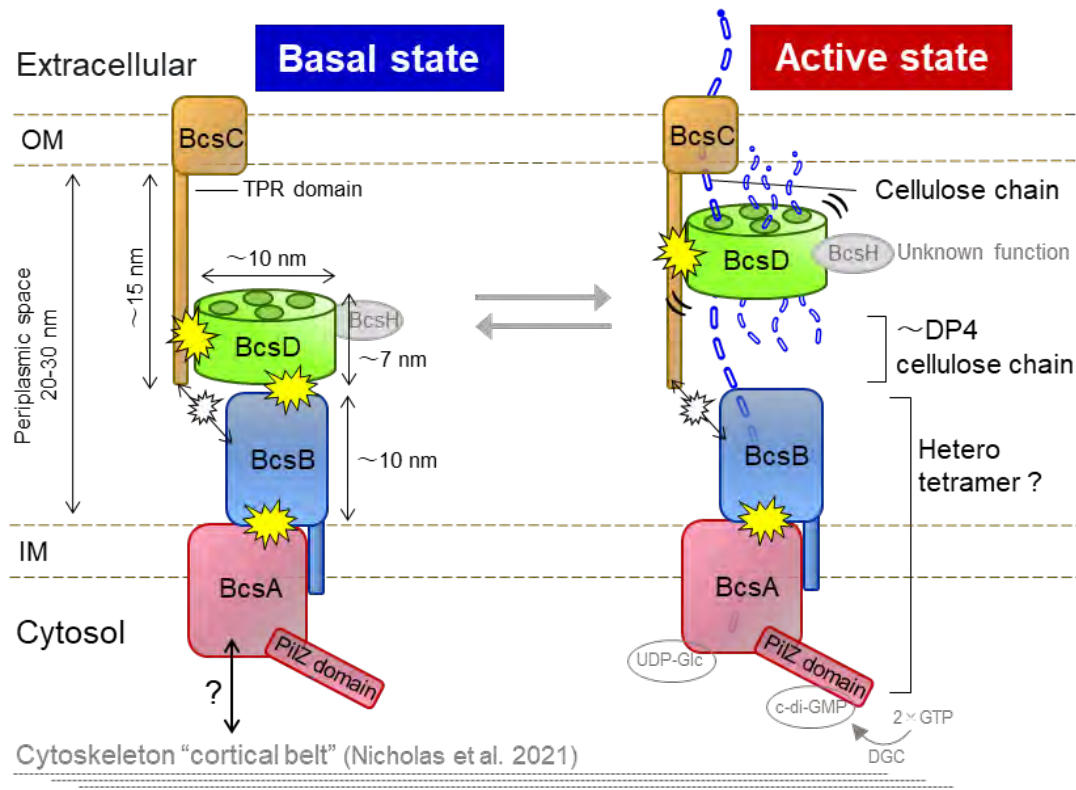


BcsAB-BcsC-BcsD



合成酵素複合体のメインサブユニットは互いに蛋白質間相互作用する

まとめ



Modified Kondo et al., FEBS Lett, 2022

基底状態：BcsDはBcsABと直接結合することで繋ぎ留められている

活性状態：BcsDはセルロース鎖を介してBcsABと結合している

BcsDの動的挙動が複合体全体を制御し、セルロースI型の合成機構に関与？

謝辞

京都大学生存圏研究所

今井友也 教授

鹿島騰真 博士（現：東京大学農学部）

北海道大学理学部

姚閔 教授

中村結衣 さん（研究当時）

野島慎吾 さん（研究当時）

北海道大学工学部

田島健次 准教授

岡睦基 さん（研究当時）

本研究は科研費（課題番号19H00950、15H04530）より助成を受けたものです。