

機能性膜としてのバクテリアセルロース膜の
製造と特性評価

知久達哉

目次

Summery	1
第1章 序論	3
第2章 N-Cl 化バクテリアセルロースの調製と極薄シート化	8
第3章 N-Cl バクテリアセルロースシートの耐水性評価	22
第4章 アミノエチル化バクテリアセルロースシートの調製とその強度特性	30
第5章 N-Cl 化バクテリアセルロースおよびLBKPの混抄紙の製造と特性評価	38
第6章 総括	42

謝辞

Summary

Cellulose is one of the sustainable biomass resource ; it is the most abundant organic polymer in nature. It is produced mainly by higher plant. In addition, it is known that some species of bacteria (*Acetobacter* sp., *Agrobacterium* sp., *Rhizobium* sp., *Sarcina* sp., *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Aerobacter* sp., *Azotobacter* sp.) produce cellulose. This cellulose is called bacterial cellulose (BC). BC is extremely pure and exhibits a higher degree of polymerization and crystallinity than the fibrous polymer from plant sources which composed with lignin, hemicellulose. The most remarkable property of BC is very thin width.

Main purpose of this study was the preparation and characterization of N-chlorinated BC and aminoethylated BC and its ultra-thin sheet making, and evaluation as functional BC membranes.

1 Preparation of N-chlorinated Bacterial Cellulose and its Ultra-thin Sheet-making

N-chlorinated BC (N-CIBC) was prepared by a three step reaction: cyanoethylation, carbamoylethylation and N-chlorination.

Cyanoethylated BC of DS (degree of substitution) 0.05 was prepared Michael addition with acrylonitrile at 40°C for about 2.5 hr. Carbamoylethylation of cyanoethylated BC readily proceeded by addition of H₂O₂ at room temperature (20°C) and reached DS 0.05 for about 1 hr. In the third step, carbamoylethyleted BC (CBBC) easily reacted with NaClO and gave N-CIBC. The dry tensile index of N-CIBC sheet (10 μm thickness) was about 1.7 times higher than that of a BC sheet, and the wet tensile index was about 3.6 times higher. By N-chlorination of BC, we could prepare sheets down to a thickness of 3 μm.

2. Evaluation of water-resistant properties of N-CIBC sheet

Wet tensile index of N-CIBC sheet increased about 2.2 times when degree of substitution (DS) was 0.025, and increased about 3.2 times when the DS was 0.05 comparing with BC sheet. Dimensional stability of N-CIBC sheet was also improved as compared with that of BC sheet. It is considered that remarkable improvement of water-resistance and dimensional stability by N-chlorination is attributed to the inter-fiber bond formation and the improvement of sheet-formation

3 Preparation of aminoethylated BC sheets and evaluation of their strength properties

The aminoethylated BC (AEBC) was prepared in a heterogenous system and strength properties of their fiber sheets were evaluated. AEBC was obtained by using the Hofmann reaction of CBBC. CBBC was prepared via cyanoethylation of BC and its hydrolysis by hydrogen peroxide. Cationization was confirmed by the method of acid orange dyeing and FTIR spectroscopy. The optimum NaOH concentration for the Hofmann reaction of CBBC was 1 mol/L. The dry and wet tensile strengths of AMBC sheets (thickness of 20 μm) were greater than those of BC sheet. Especially water-resistant and quick-drying properties were excellent.

4 Production and characterization of mixed sheet containing N-ClBC and LBKP

The mixed sheet containing N-ClBC and LBKP was prepared by changing the mixing ratio. Strength properties of their sheets were evaluated. Dry tensile index of mixed sheet increased about 1.3 times when the mixing ratio of N-ClBC was 1%. Wet tensile index increased by increasing mixing ratio. From this result, it was considered that N-ClBC fiber obtained by N-chlorination improved inter-fiber bonding. In addition, it is considered water-resistance was improved by the increase of N-Cl group in mixed sheets.

In conclusion, we could prepare water-resistance sheets by N-chlorination and aminoethylation and make thin membrane by the dispersion characteristics of N-ClBC. It is considered that N-ClBC is excellent material because of mixed sheet of low mixing ratio of N-ClBC showed improvement of water-resistance and strength.

第1章 序論

セルロースは循環可能なバイオマス資源の一つであり、自然界で最も多く生産される天然高分子である。そしてそれは紙、繊維、木材をはじめ、樹脂、塗料、食品、医薬品、化粧品、電化製品に至るまで我々の生活の多岐にわたり深く関わる製品の重要な構成原料の一つである¹⁾。セルロースは主に高等植物によって生産されている他に、動物のホヤの外殻膜の主成分であることや、微生物が生産することが知られている²⁾。

セルロースを生産する微生物として、*Acetobacter* 属、*Agrobacterium* 属、*Rhizobium* 属、*Sarcina* 属、*Pseudomonas* 属、*Achromobacter* 属、*Alcaligenes* 属、*Aerobacter* 属、*Azotobacter* 属などがある³⁾。この中でも本論文の供試菌株である酢酸菌 (*Acetobacter xylinum*) などはセルロースを菌体外に大量に産出することが知られている (Fig. 1.1)。このように微生物から算出されるセルロースはバクテリアセルロースと呼ばれている。

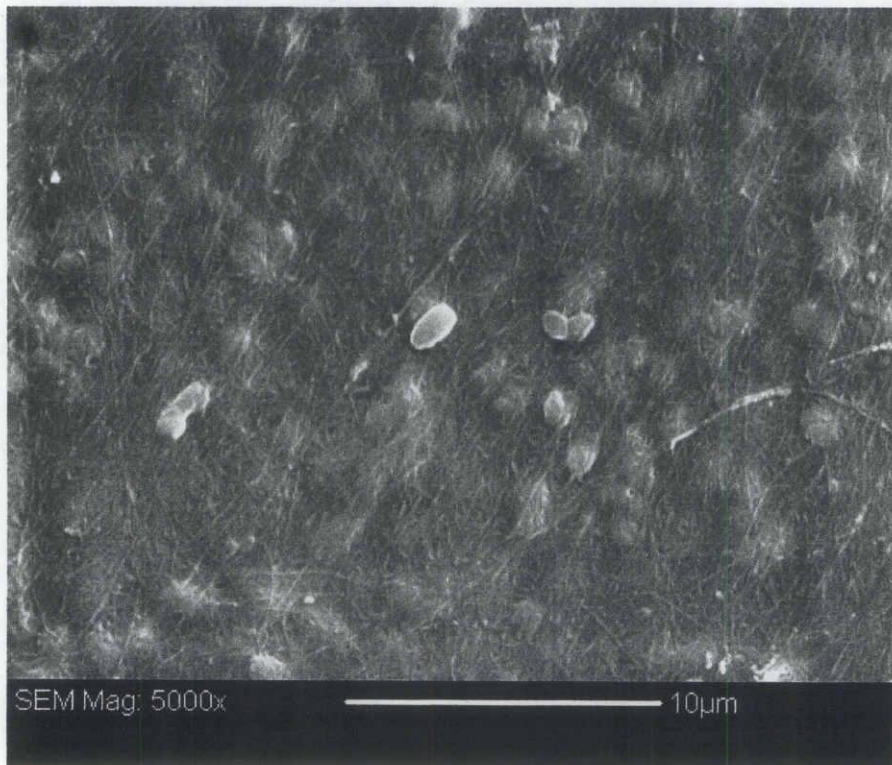


Fig. 1.1 SEM photograph of *Acetobacter xylinum*

バクテリアセルロースは静置培養法では、グルコース、フルクトース、スクロースなどを基質とする培養液へ酢酸菌を添加すると、ゲル状の膜（ペリクル）が培養液の表面に形成され、培養時間の経過とともに厚くなる。また、培養液の表面に形成されたペリクルが培養液中に水没し、培養液の表面にペリクルが無くなると、再び培養液の表面にペリクルが形成される。このペリクルは酢酸菌、バクテリアセルロース、培養液から構成されており、そのほとんどが培養液であり、バクテリアセルロース量は1%程度であり、極めて

含水率の高いペリクルである。

酢酸菌が産出するバクテリアセルロースが木材などの植物セルロース原料と異なる点としてヘミセルロースやリグニン等の非セルロース成分を含まず、高純度のセルロースが得られることである⁴⁾。植物体内でのセルロースの主な役割は細胞壁を構成し、植物体を支えることであり、植物の細胞壁にはセルロースのほかに、ヘミセルロースが存在する。また維管束を有する高等植物にはリグニンが存在している。そのため植物からセルロースを抽出するには脱リグニン処理を行う必要がある。一方バクテリアセルロースの場合、酢酸菌が形成するゲル状膜には、菌、培地成分と原料となるものを除けば、非セルロースが存在せず高純度のセルロースが得られる。また、バクテリアセルロースの最も注目すべき特徴は非常に微細なフィブリル構造を持つことである。

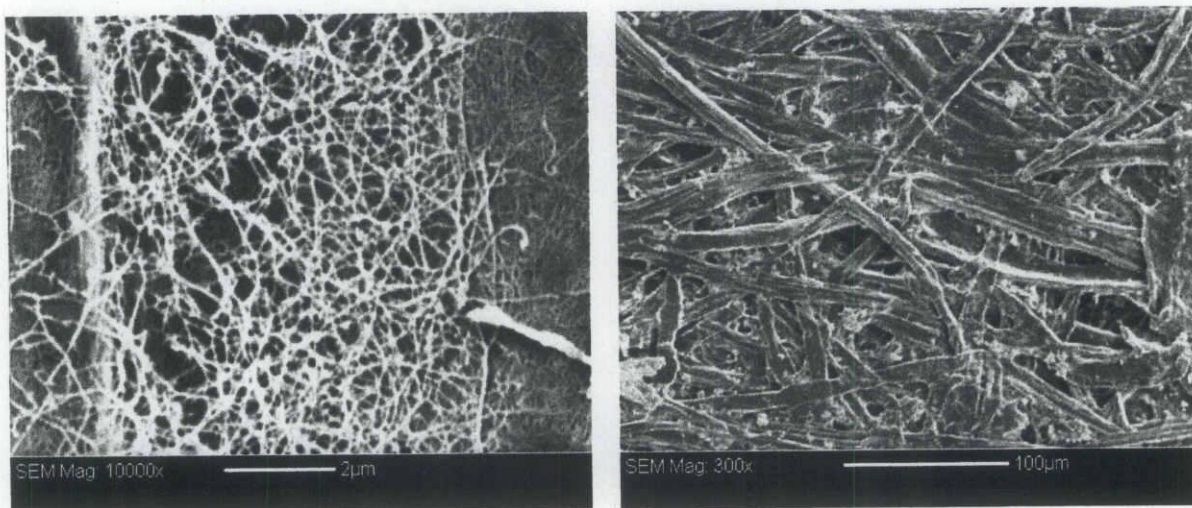


Fig. 1.2 SEM photographs of bacterial cellulose and LBKP

Left, bacterial cellulose; Right, LBKP

Fig. 1.2 にバクテリアセルロースと LBKP (広葉樹クラフトパルプ) の SEM 写真を示す。LBKP の繊維幅が数 μm であるのに対しバクテリアセルロースの繊維幅が数十 nm 程度である。このようにバクテリアセルロースが構築する網目構造は極端に細かいことがわかる。その他の特徴として高い結晶化度、重合度による優れた物理特性などが既に明らかにされており、バクテリアセルロースはナノレベルの新素材として注目されている。

バクテリアセルロースについての研究は植物由来のセルロース生産量に比べはるかに少ないことが現在でも課題になっているため生産性向上を目的とした論文が多く見られ⁵⁾⁻⁹⁾、利用についてもいくつかの報告がある。最も有名なものはナタデココでありバクテリアセルロースをシロップ漬けにして食品としたものである。また、他のポリマーとコンポジット化したものや¹⁰⁾⁻¹⁴⁾、紙力向上を目的として紙への添加も試みられている。澤渡¹⁵⁾はバク

テリアセルロースを女性用パンプスの中敷きとしての利用を検討し、好結果を得ている。またバクテリアセルロースをシート化したものは高弾性率を有することからスピーカーの振動板等に実用化されている¹⁶⁾。さらにバクテリアセルロースの利用拡大を目的として化学改質による機能化も試みられており、Kim ら¹⁷⁾は BC の表面アセチル化により、物理的性質の改善をはかっている。また根本、磯貝らは BC と同様にナノレベルの繊維幅を有するマイクロフィブリルセルロースを原料として TEMPO 酸化を行い、カルボキシル基を有する多孔質体の合成に成功している¹⁸⁾。

上記背景の中、本論文ではバクテリアセルロースの繊維を基材とし、繊維表面を化学改質することで機能性膜の調製し、特性評価することを目的とした。

第 2 章ではペリクルおよびスラリー状にしたバクテリアセルロースの化学改質として N-Cl 化バクテリアセルロースを調製するためにシアノエチル化、カルバモイルエチル化および N-Cl 化を行い、反応性について検討した。

第 3 章ではシアノエチル化、カルバモイルエチル化および N-Cl 化したバクテリアセルロースの強度特性について比較した。また N-Cl 化したバクテリアセルロースについては耐水性評価を行った。

第 4 章ではバクテリアセルロースのカチオン化を検討し、マイケル付加反応とホフマン反応を経由するアミノエチル化を試みた。

第 5 章では N-Cl 化したバクテリアセルロースと LBKP を混抄し、N-Cl 化バクテリアセルロースの機能性材料としての特性評価を行った。

最後に第 6 章ではこれら一連の研究を総括した。

文献

- 1) 上出健二,岡島邦彦 (2003). 機能性セルロース.セルロース誘導体, 普及版第 1 刷 pp.50-111,シーエムシー出版,東京
- 2) 柴崎秀樹,空閑重則 (1996).製紙用機能化材料としてのバクテリアセルロース.紙パ技誌.50(5) pp. 772-776.
- 3) 高井光男,藤原政司(2008). セルロースの事典(セルロース学会).微生物,新装版 pp.43-46,朝倉書店,東京
- 4) 高井光男 (1992).微生物セルロースの合成とその利用,SEN-I GAKKASHI 48(4) pp. 153-157

- 5) Kazuhiko Sameshima, Takaaki Nishimura and Norio Takamura (1991). Evaluation of Low Molecular Acids and Alcohols as the Carbon Source for the Production of Bacterial Cellulose, 6th International Symposium in Wood and Pulping Chemistry 67-72
- 6) Kazuhiko Sameshima, Takaaki Nishimura and Norio Takamura (1993). A Fundamental Study of Substrates for the Production of Bacterial Cellulose, 7th International Symposium in Wood and Pulping Chemistry 419-423
- 7) Takayasu Tsuchida and Fumihiko Yoshida (1997). Production of bacterial cellulose by agitation culture systems. *Pure and Applied Chemistry* 47(11) pp. 2453-2458
- 8) Hai-Peng Cheng, Pei-Ming Wang, Jech-Wei Chen and Wei-Teng Wu (2002). Cultivation of *Acetobacter xylinum* for bacterial cellulose production in a modified airlift reactor. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 35 pp. 125-132
- 9) S. Keshk, K. Sameshima (2006). Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. *Enzyme and Microbial Technology* 40 pp. 4-8
- 10) M. Takai, F. Nonomura, M. Fujiwara, J. Hayashi (1991). FILTRATION AND PERMEATION CHARACTERISTICS OF BACTERIAL CELLULOSE COMPOSITE. *SEN-I GAKKAISHI* 47(3) pp. 119-129
- 11) K. Tajima, H. Ito, M. Fujiwara, M. Takai, J. Hayashi (1995). Enhancement of bacterial Cellulose Productivity and Preparation of Branched Polysaccharide-Bacterial Cellulose Composite by Co-cultivation of *Acetobacter Species*. *SEN-I GAKKAISHI* 51(7) pp. 323-332
- 12) A.N. Nakagaito, S. Iwamoto, H. Yano (2005). Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites *Applied Physics A* 80 pp. 93-97
- 13) Kenji Tajima, Masashi Fujiwara, Mitsuo Takai and Jisuke Hayashi (1995). Synthesis of Bacterial Cellulose Composite by *Acetobacter xylinum* 1. *Mokuzai Gakkaishi* 41(8) pp. 749-757
- 14) Wolfgang Gindl, Jozef Kechkes (2004). Tensile properties of cellulose acetate butyrate composites reinforced with bacterial cellulose. *Composites Science and Technology* 64 pp. 2407-2413

15) 澤渡千枝(2010).酢酸菌が生産するセルロースとその利用/ナノからバルクまで.
Cellulose Communications 17(1) pp. 16-21

16) ソニー株式会社, 味の素株式会社(1993). 抄造体及び音響振動板並びにそれらの製造
方法. 特開平 5-247879

17) Dae-Young Kim, Yoshiharu Nishiyama, Shigenori Kuga(2002). Surface acetylation
of bacterial cellulose. Cellulose 9 pp. 361-367

18) 根本純司, 楚山智彦, 齋藤継之, 磯貝明 (2012). セルロースナノファイバーを用いた
多孔質シートの開発. 機能紙研究会誌 50 pp. 47-51

第2章 N-Cl化バクテリアセルロースの調製と極薄シート化

2.1 はじめに

本章では、バクテリアセルロースの機能化として化学改質 N-Cl 化バクテリアセルロースの調製を行った。N-Cl 化反応はシアノエチル化、カルバモイルエチル化、N-Cl 化の3段階からなり、植物セルロースではすでに試みられている¹⁾²⁾。そこで各反応性を検討するとともに極薄シートの作製を試みた。

2.2 実験方法

2.2.1 バクテリアセルロース (BC) の調製

本研究で使用した BC を調製するため、酢酸菌 (*Acetobacter xylinum* ATCC 10245 株) を用いた。Table 2.1 に示す Hestrin-Schramm (HS) 液体培地に 1% の寒天を加えた固体培地に保存した酢酸菌を採取し、200ml の HS 液体培地の入った 300ml 三角フラスコへ移植した。

Table 2.1 Composition of Hestrin-Schramm liquid culture medium

Glucose	Citric Acid	Na ₂ HPO ₄	Yeast Extract	Pepton	Initial pHs
1.0	0.1	0.3	0.5	0.5	6.0

培地は 28 °C、暗室にて 14 日間静置培養した。ここまですを前培養とする。前培養後、30ml の HS 液体培地の入った 100ml 三角フラスコに前培養後の培養液を 10ml 添加し、前培養と同条件で培養期間を変えて培養した。培養後、培養液表面に形成されたペリクルを回収し、1N NaOH 水溶液に浸漬させ、80 °C、1 時間湯煎し、菌体を溶解させた。その後 1% 酢酸水溶液で中和後、蒸留水で洗浄、浸漬させることで培地成分を除去して BC ペリクルを得た。また BC ペリクルをブレンダー (11,500rpm) で解繊しスラリー状にした BC (以後 BC スラリー) も調製した。

2.2.2 BC のシアノエチル化

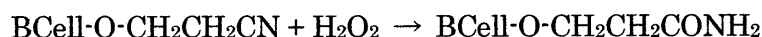
2.2.1 で得た BC ペリクル及び BC スラリーはセトン対水を 1 : 2 で混合した溶液中に分散させ、アクリロニトリルと NaOH をそれぞれ 0.42 mol/L、0.1 mol/L の濃度になるように添加し、反応温度 40 °C でマイケル付加を行った。反応式を次に示す。



ここで BCell-OH は BC の水酸基を表す。

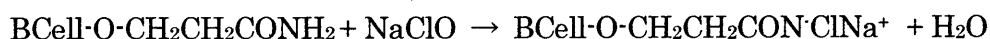
2.2.3 シアノエチル化 BC のカルバモイルエチル化

2.1.2 で得たシアノエチル化 BC を NaOH 0.1mol/L、H₂O₂ 0.3mol/L、室温 (20 °C)、40 °C の条件下で反応させた。反応式を次に示す。



2.2.4 カルバモイルエチル化 BC の N-Cl 化

2.2.3 で得たカルバモイルエチル化 BC を NaOH 0.1 mol/L、反応温度 0 °C の条件下で NaClO (反応液中での濃度 0.1 mol/L) と反応させた。反応式を次に示す。



2.1.5 反応の追跡

シアノエチル化反応におけるアクリロニトリルの付加量は反応時の BC のケルダール分解による窒素定量により求めた。カルバモイルエチル基ならびに N-Cl 基の定量はヨード法を用いた。なお各反応で得られた BC 誘導体は FT-IR (島津製作所製 8400S 型) により IR スペクトルを測定し、反応を確認した。

2.2.6 シート作製

BC ペリクルおよび各反応で得た BC ペリクル誘導体はプレス後、緊張状態で風乾した。また BC スラリーおよび各反応で得た BC スラリー誘導体はブレンダー (11,500 rpm) で解繊した後、pH 6.5 に調製したスラリーを Fig. 2.1 に示した装置で吸引ろ過し、手すき紙 (ハンドシート) を作製した。ハンドシートはプレス後、緊張状態で風乾し、薄葉シートを得た。

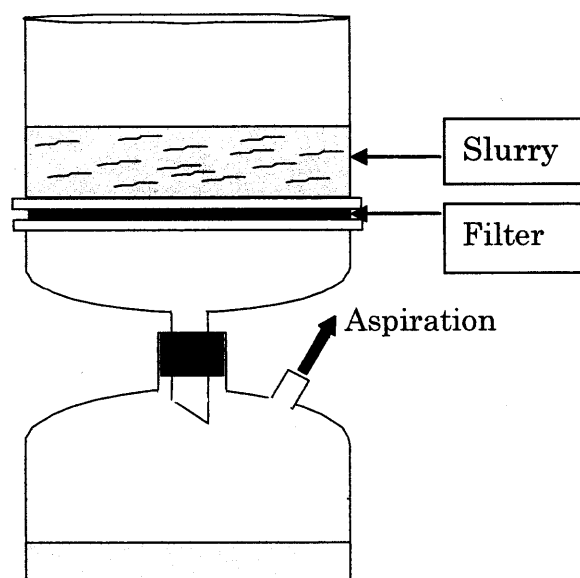


Fig. 2.1 Apparatus for preparing BC handsheets. Slurry was obtained by defibrating BC pellicle and BC derivatives pulp by blender (15000rpm). Filter used was PTFE (Polytetrafluoroethylene) filter PF020 (ADVANTEC).

2.2.7 引張強度試験

前述の膜及びハンドシートから、幅 10 mm の試験片を作製した。これを東洋精機製万能試験機に取り付け、スパン長 5 cm、引張速度 10 mm/min 乾燥引張試験を行った。また湿潤引張強度は試験片を 24 時間蒸留水中に浸漬後、ろ紙で過剰の水を拭き取り、上記試験機でただちに測定した。

2.3 結果および考察

2.3.1 BC のシアノエチル化 (CE 化)

Fig. 2.2 に BC の CE 化反応の一例を示す。CE 化反応の進行に伴い、繊維表面の疎水性が
ますことから、溶媒にはアセトンを用いた。反応は 40 °C で速やかに進行し、BC ペリク
ルは反応時間 1 時間で置換度(DS)約 0.1 反応時間 5 時間には約 0.14 となり、BC スラリー
は反応時間 1 時間で DS 約 0.04、反応時間 5 時間には DS 約 0.07 となった。実際には不
均一系での反応であることから、BC の結晶領域内部に反応は起こり難いと考えられ、反
応は主に繊維表面と非晶領域に限られるものと推察される。また、置換度の算出方法が BC
全体に均一に反応したものと計算しているため、反応部位、特に繊維表面付近の実際の置
換度は Fig. 2.2 よりも高いと考えられる。坂島らは多糖類のマイケル付加反応を速度論的
に検討し、1 級水酸基への付加が優先されることを明らかにした³⁾。本実験でも BC のグ
ルコース残基の C6 位の水酸基への CE 化が優先的に起きているものと考えられる。

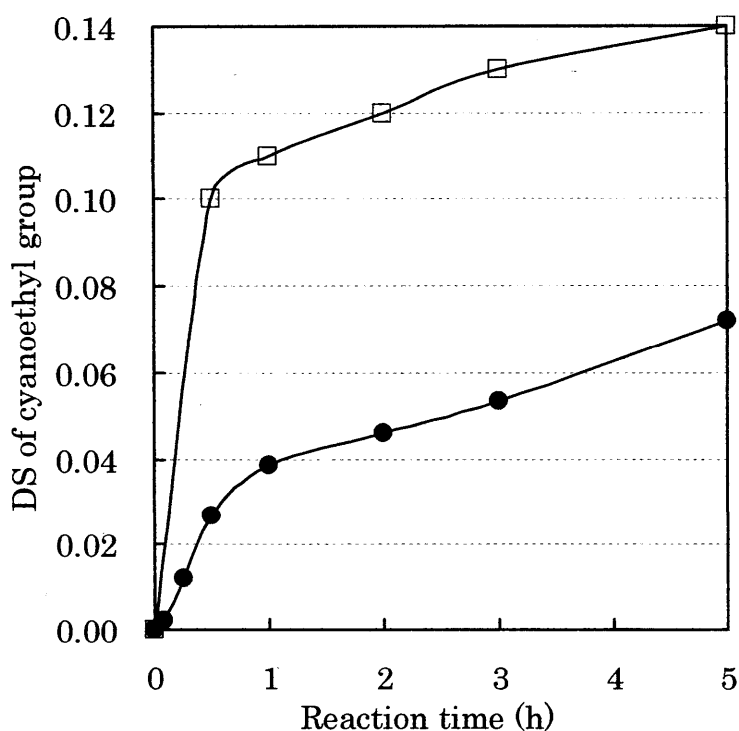


Fig. 2.2 Cyanoethylation of bacterial cellulose (CEBC). CEBC was prepared from BC which was reacted in the mixture (Aceton : H₂O = 1:2, NaOH 0.1 mol/L, CH₂=CHCN 0.42 mol/L) at 40°C. Symbols indicated BC condition : ●, slurry ; □, pellicle.

Note : DS : Degree of Substitution.

2.3.2 シアノエチル化 BC のカルバモイルエチル化 (CB 化)

CE 化 BC スラリー (CEBC) (DS0.05) の CB 化反応の一例を Fig. 2.3 に示した。反応は 20 °C の常温で速やかに進行し、60 分後に DS 0.05 に達した。また CE 化 BC ペリクルの CB 化においても速やかに反応が進行したが、静置状態で反応させると反応時に発生する酸素が CE 化 BC ペリクルの層中に侵入し、反応後も気泡が残る、あるいはペリクルの薄層を破裂させてしまった。そこで反応溶液を混ぜながら、さらに超音波装置で振動させることで、気泡によるペリクルの薄層の破裂を防いだ。

なお、CB 化には直接アクリルアミドをマイケル付加させる方法もあるが、CE 化に比べ反応速度が遅く、副反応としてアクリルアミドの加水分解も起こり易いことから⁴⁾、本実験では 2 段階での CB 化を選択した。

シアノエチル基の CB 化反応には過酸化水素を用いるが、この際セルロースの酸化分解が起こり易い。千手らはこの酸化分解を抑えるため KI の添加が有効であることを見出している⁵⁾。本実験でも KI を添加することにより 40 °C の比較的高温でも酸化分解を抑えて短時間で CB 化することができた。

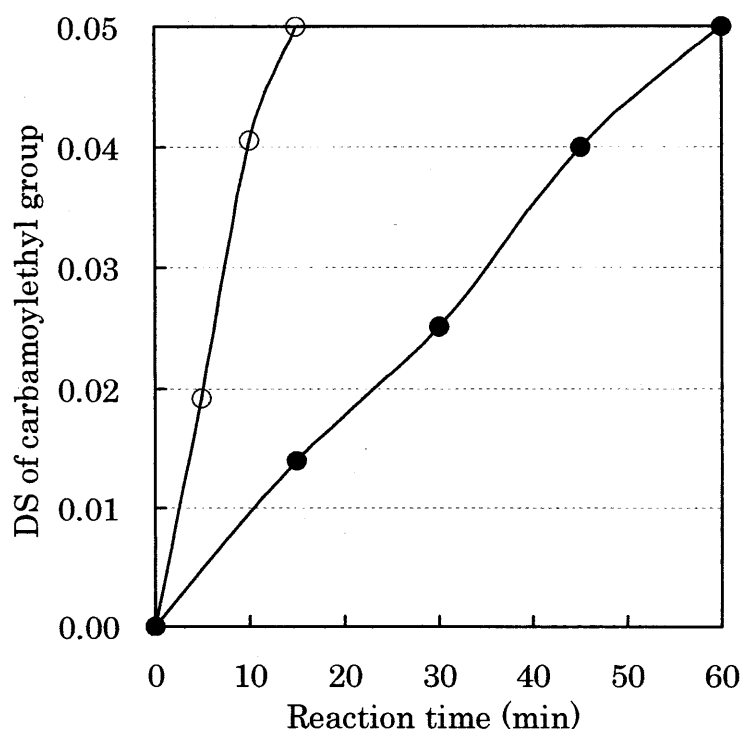


Fig. 2.3 Carbamoylethylation of CEBC (CBBC). CBBC was prepared from CEBC slurry which was reacted in the mixture (H_2O_2 0.3 mol/L, NaOH 0.1 mol/L). Symbols indicated reaction temperature : ●, 20 °C ; ○, 40 °C.

2.3.3 カルバモイルエチル化 BC の N-クロル化 (N-Cl 化)

Fig. 2.4 に DS 0.05 の CB 化 BC スラリー (CBBC) に対する N-Cl 化反応の一例を示した。N-Cl 化反応は 0 °C で約 1 時間、20 °C では約 15 分で完了することが分かった。なお N-Cl 化した BC は常温で長時間放置すると N-Cl 基量の低下が起きることから⁶⁾、シート作製は N-Cl 化反応終了後速やかに行った。

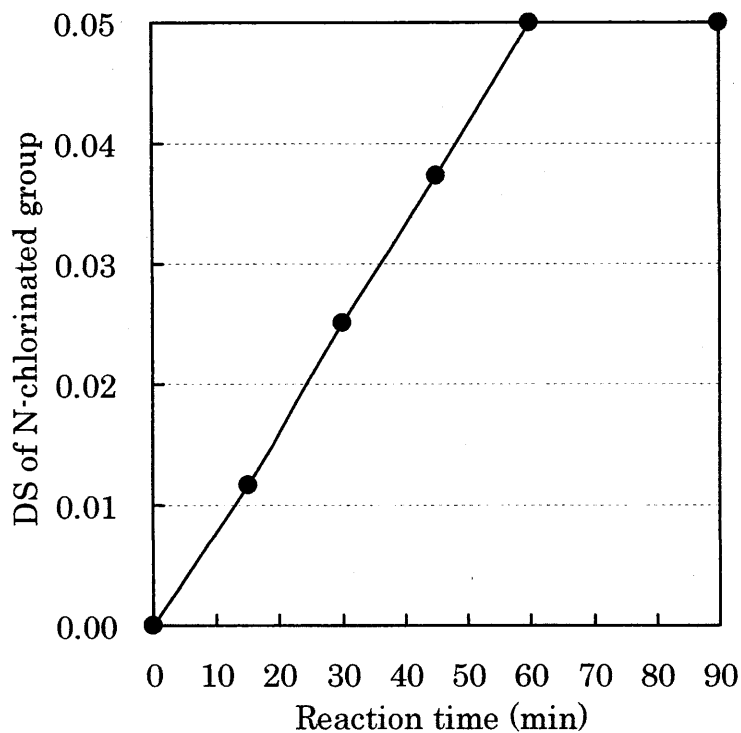


Fig. 2.4 N-chlorination of CBBC (N-CIBC). N-CIBC was prepared from CEBC slurry which was reacted in the mixture (NaClO 0.1 mol/L, NaOH 0.1 mol/L) at 0°C.

2.3.4 各種作製シートの FT-IR スペクトルの比較

各種改質 BC は従来の製紙に用いられる抄紙網ではシート化できないので、Fig. 2.1 に示した装置で手抄きシートを作製した。シート化した未改質の BC、CEBC、CBBC および N-Cl 化 BC (N-ClBC) の FT-IR スペクトルの比較を Fig. 2.5 に示した。ここで CEBC はニトリル基由来の 2260 cm^{-1} に吸収が現われており、CE 化の進行が確認された。さらに CBBC ではニトリル基由来の吸収ピークが消え、 1560 cm^{-1} および 1664 cm^{-1} に鋭い吸収ピークが出現した。これらはアミド基由来の吸収ピークと考えられる。N-ClBC は CBBC と類似のスペクトルが観察されたが、CBBC に比べ 1560 cm^{-1} のピークは減少し 1664 cm^{-1} のピークは増加した。前述したように N-Cl 基は不安定な官能基であり、アミノ基をはじめとして Fig. 2.6 に示す尿素結合やウレタン結合並びにアルキルアシル尿素結合等さまざまな反応が考えられる。なお木材由来のセルロース繊維の N-Cl 化シートの場合アルキルアシル尿素結合が繊維間結合反応の多くを占めるとされている²⁶⁾。FT-IR の結果とも考え合わせ、本実験でも同様の反応が起きているものと推察される。

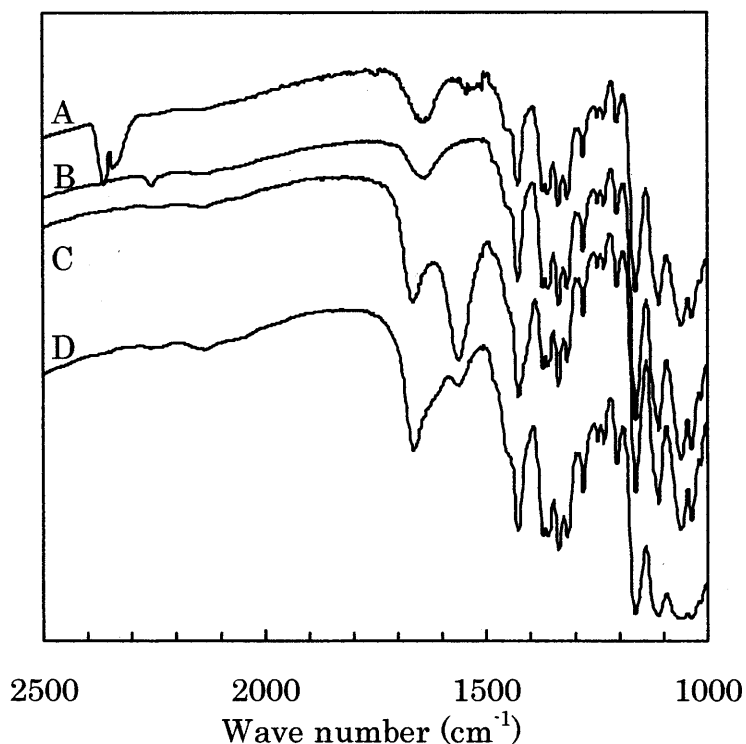
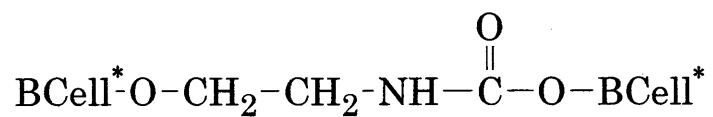


Fig. 2.5 FT-IR (Fourier Transform Infrared) spectra of bacterial cellulose and bacterial cellulose derivatives.

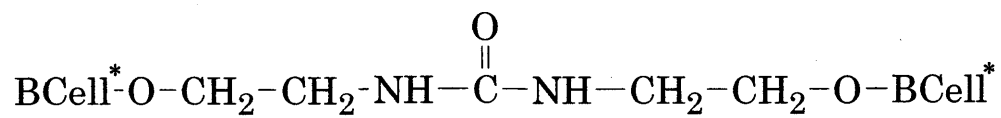
Note : A, Bacterial cellulose (BC); B, Cyanoethyl BC (CEBC) (DS 0.05);

C, Carbamoyl BC (CBBC) (DS 0.05); D, N-chlorinated BC (N-ClBC) (DS 0.05).

1. Urethane bond



2. Urea bond



3. Alkylacylurea bond

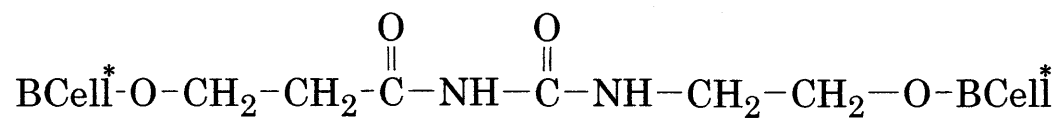


Fig. 2.6 Proposed inter-fiber bonding in N-CIBC sheet.

* BCell : Bacterial cellulose

2.3.5 各種作製シートの引張強度特性

BC ペリクルを N-Cl 化までの各改質段階後調製したペリクルの乾燥および湿潤引張強度を未改質のそれと比較して Table 2.2 に示した。なお Table 2.2 はペリクルの厚さを 10 μm に揃えて比較したものである。

Table 2.2 Dry and wet tensile index of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC pellicles
(thickness 10 μm)

Sheet	Condition	Tensile index(N·m/g)
BC	dry	129.63
	wet	82.28
CEBC ^{a)}	dry	109.29
	wet	7.20
CBBC ^{a)}	dry	41.69
	wet	5.39
N-CIBC ^{a)}	dry	64.99
	wet	13.57

a) DS of BC derivative pellicles was 0.09

乾燥引張強度は CE 化をすることで若干低下するが、CB 化をすることで BC と比較すると約 0.3 倍と極端に低下した。N-Cl 化することで若干向上したが、それでも BC のそれと約 0.5 倍という結果であった。また湿潤引張強度も同様に N-Cl 化することで CE 化、CB 化と比較すれば向上しているが、未改質に比べ明らかな低下が見られ、反応をさせることにより逆に乾燥および湿潤引張強度を低下させてしまう結果となってしまった。特に CB 化後の極端な引張強度の低下の原因は 2.3.2 に述べているように反応時に発生する酸素がペリクルの層に侵入することにより繊維間結合が切断されたこと、また CB 化と N-Cl 化を比較すると N-Cl 化することで強度の向上が見られることから置換基によって期待された強度の向上よりも大きな強度低下を引き起こしてしまったことが原因であると推察した。

次に BC スラリーおよび各改質段階後のシートを作製して引張強度特性を検討するにあたり、まずシート作成時に使用したブレンダーの性能を調査した。これはシート作製にお

いて解繊の度合いによりシートの地合への影響が高く、それはシートの引張強度だけでなく、各種強度を変化させるからである。そこで BC ペリクルから BC スラリーに解繊する工程が最も解繊すべきであることから、ブレンダーの使用時間を変えて解繊した後、シートを作製して、乾燥引張強度を測定して調査した。その結果を Fig. 2.7 に示す。

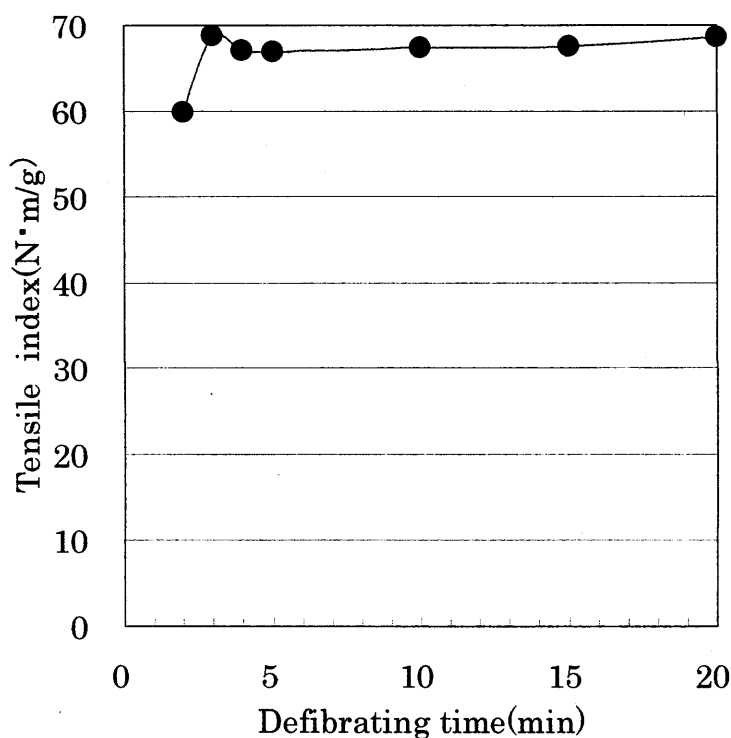


Fig. 2.7 Effect of dry tensile index of BC sheet by defibrating time. (thickness 20 μm)

解繊時間 1 分まではゲル状の BC が残り、シートを作製することができなかったが、2 分間以上解繊することでゲル状の BC はなくなり、シートを作成することができた。そして解繊時間 3 分間で引張強度が最大値を示し、その後はほぼ同じ強度を示した。以上の結果から本研究で使用したブレンダーは解繊時間 3 分以上行いシートを作製すれば、ブレンダーによる引張強度への影響は無いものと判断した。そこで本研究ではブレンダーによる解繊時間を 5 分間とした。

BC スラリーの N-Cl 化までの各改質段階で調製した BC 誘導体シートの乾燥および湿潤引張強度を BC シートのそれと比較して Table 2.3 に示した。なお Table 2.3 はシートの厚さを 10 μm 、20 μm に揃えて比較したものである。乾燥引張強度は CE 化および CB 化することにより若干低下するが、N-Cl 化により BC シートの約 1.7 倍 (厚さ 10 μm)、約 1.3 倍 (厚さ 20 μm) に向上した。また湿潤引張強度も CE 化および CB 化の段階で低下する

Table 2.3 Dry and wet tensile index of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC sheets

		Thickness	
		10 μ m	20 μ m
Reaction	Condition	Tensile index(N·m/g)	
BC	dry	33.12	67.16
	wet	6.29	15.36
CEBC	dry	24.12	46.50
	wet	3.22	16.50
CBBC	dry	26.69	55.81
	wet	4.31	24.55
N-CIBC	dry	57.30	89.94
	wet	22.45	34.73

a) DS of BC derivative pellicles was 0.09

が、N-Cl化により BC シートの約 3.6 倍 (厚さ 10 μ m)、約 2.3 倍 (厚さ 20 μ m) に向上した。N-Cl 化シートの大幅な乾湿強度向上は N-Cl 基による繊維間結合形成に起因するものと考えられるが、シートの地合い (繊維の分散状態) も影響しているように見受けられ

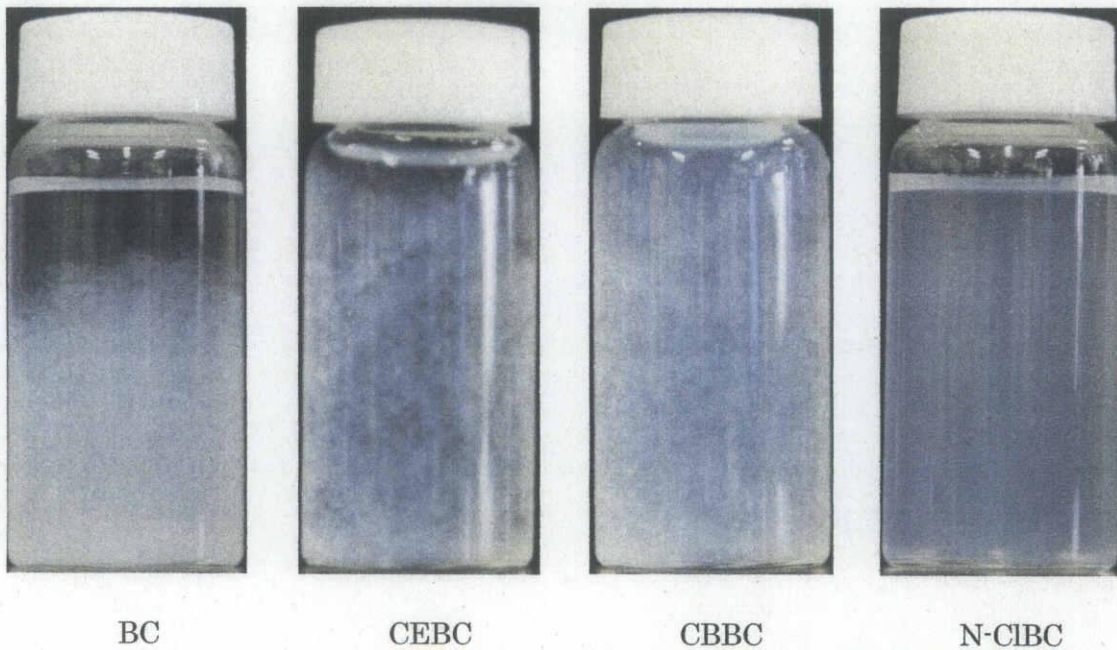


Fig. 2.8 Picture of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC slurries

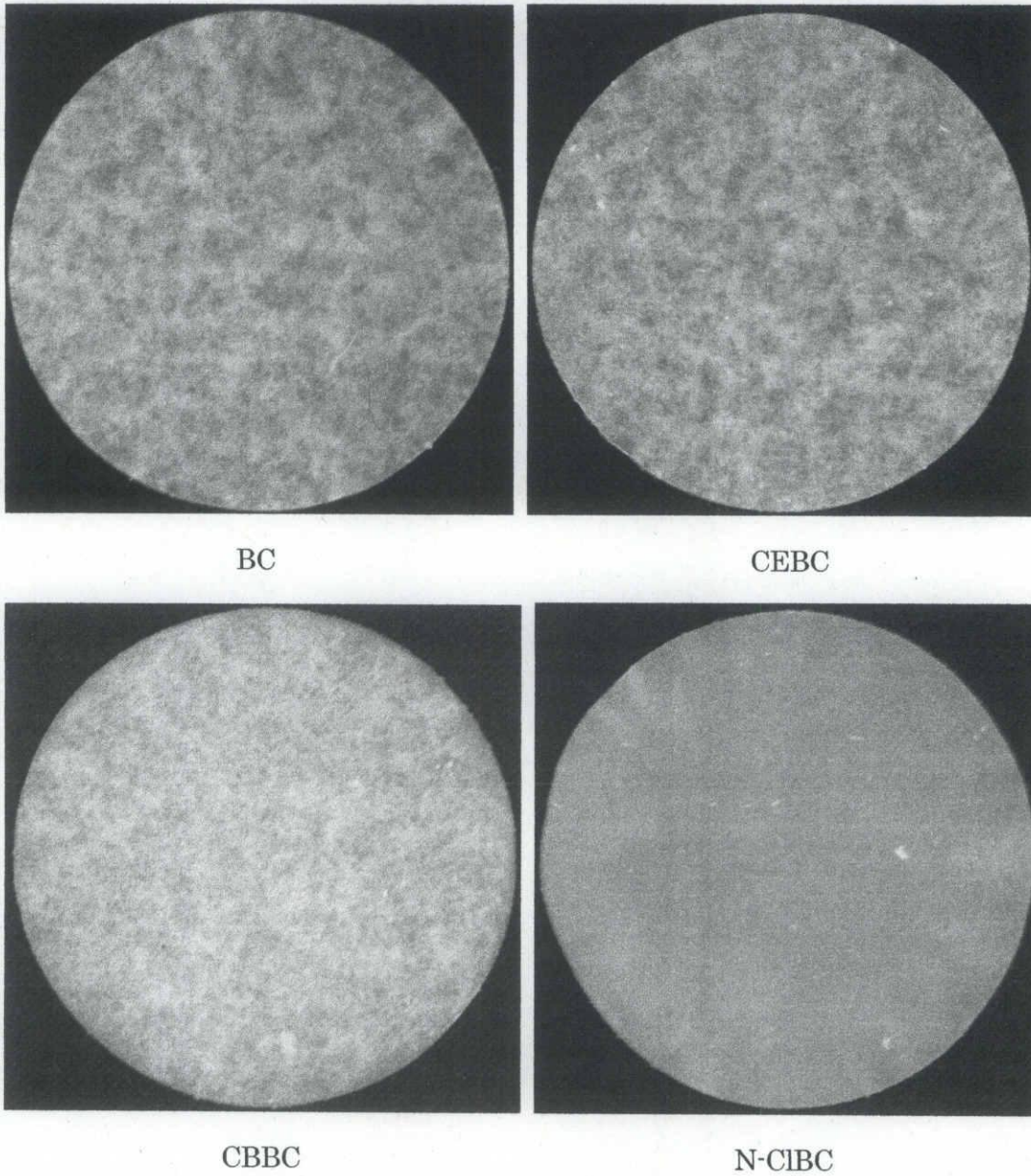


Fig. 2.9 Picture of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC sheets

た。Fig. 2.8 に BC 及び N-CI 化までの各化学改質した後、ブレンダーで解繊したときのスラリーの写真を示す。Fig. 2.8 は同じ重量の繊維が混合されており、BC、CEBC、CBBC の解繊後のスラリーは目視では差が観察されなかったが、N-CIBC は他のスラリーに比べより解繊されていることが明らかにわかる。また Fig. 2.9 にシートにした写真で示すように BC、CEBC、CBBC それぞれのシートは目視では差が見られなかったが、N-CIBC シートと比較すると明らかに N-CIBC の地合いの良さがわかる。

各シート表面の SEM 画像を Fig. 2.10 に示した。CE 化、CB 化、N-Cl 化と反応が進行するとともに結束繊維が減少していることが分かる。特に N-CIBC シートは結束繊維のない均一な線維で構成されており、このことも N-CIBC シートの乾燥および湿潤強度の向上

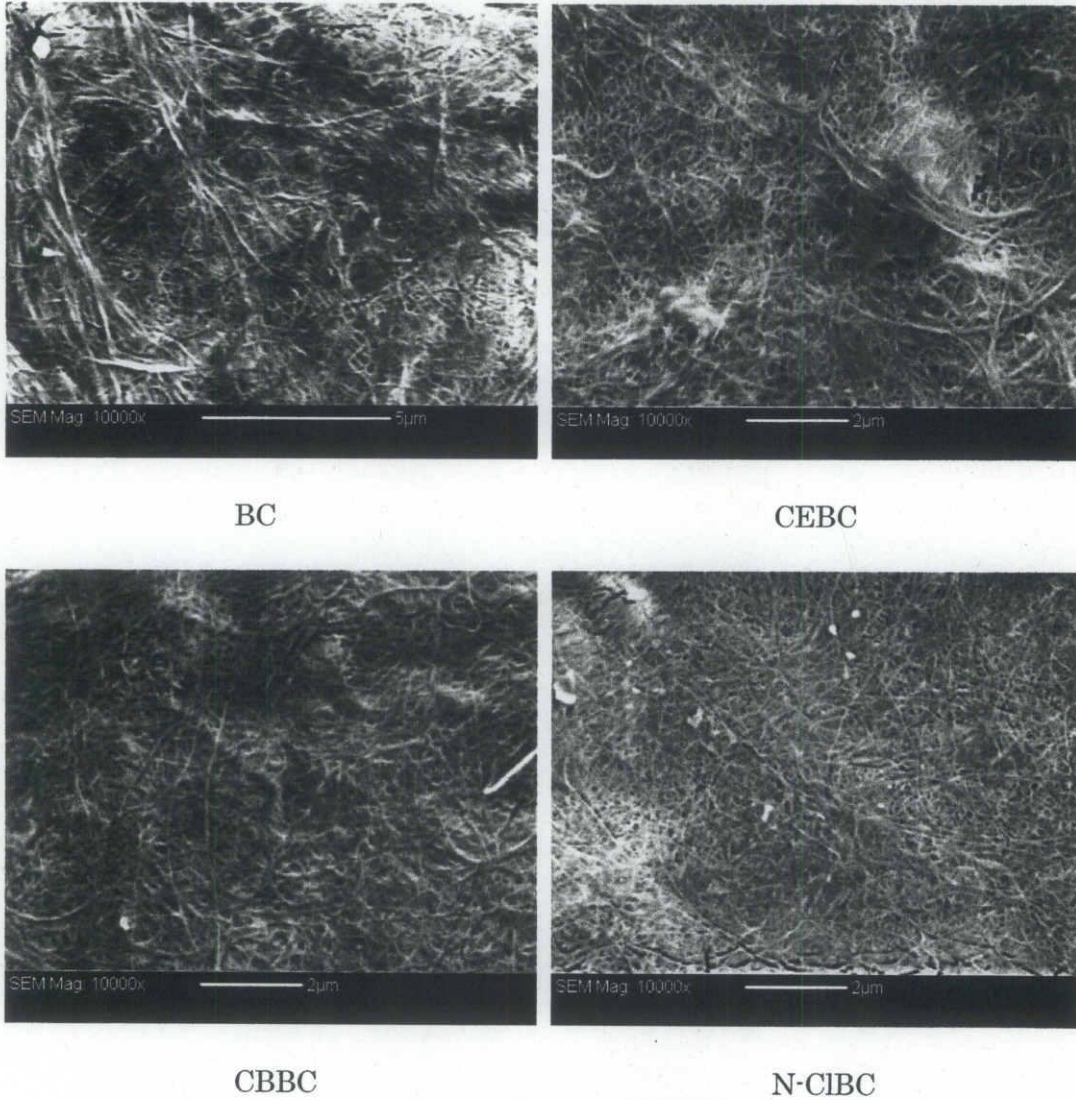


Fig. 2.10 SEM photographs of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC sheets

に寄与しているものと推察される。

筆者らはこれまで BC の薄葉シート化を検討してきたが、未改質の BC 繊維では厚さ 4~5 μm が限度であった。しかし N-CIBC を調製することにより厚さ 3 μm の薄葉シートを作製することが可能となった。

文献

- 1) 鈴木恭治 (1994). N-クロル化パルプより得られる耐水紙の強度特性と耐水化機構. 機能紙研究会誌 33 pp.31-36
- 2) 鈴木恭治 (2006). 不均一系でのセルロースの機能化とその利用. 機能紙研究会誌 45 pp.11-17
- 3) 坂島邦彦, 坂田功, 千手諒一 (1969). デンプンのシアノエチル化反応の速度論的研究. 工業化学雑誌 72(7) pp. 1552-1558
- 4) 坂島邦彦, 坂田功, 千手諒一 (1969). デンプンのカルバモイルエチル化反応の速度論的研究. 工業化学雑誌 72(7) pp. 1558-1564
- 5) 千手諒一, 矢野研一郎 (1982). アルカリ性過酸化水素によるシアノエチルセルロースの酸化分解とその分裂に対するヨードイオンの防御作用. 高分子論文集 39(11) pp. 693-698
- 6) 樋口光夫, 野間耕一, 千手諒一 (1971). カチオンパルプの製造とその2,3の特性について. 紙パ技協誌 25(4) pp. 187-195

第3章 N-Cl バクテリアセルロースシートの耐水性評価

3.1 はじめに

第2章で N-Cl 化した BC を抄紙することにより乾燥状態での引張強度が向上だけでなく湿潤状態においても引張強度が向上したことから耐水性が付与したと推察した。本章では引張強度だけでなくその他諸強度を測定することにより、耐水性の評価を詳細に検討した。

3.2 実験方法

3.2.1 BC の N-Cl 化

N-Cl 化 BC はシアノエチル化、カルバモイルエチル化および N-Cl 化の3段階の反応により調製した。シアノエチル化は酢酸菌 (*Acetobacter xylinum* ATCC 10245 株) を培養して得た BC のペリクルをブレンダー (11,500 rpm) で解繊した後、アセトン対水を 1:2 で混合した溶液中に分散させ、アクリロニトリルと NaOH をそれぞれ 0.42 mol/L、0.1 mol/L の濃度になるように添加し、反応温度 40°C でマイケル付加を行い、シアノエチル化 BC (CEBC) を得た。カルバモイルエチル化はシアノエチル化 BC を NaOH 0.1 mol/L、H₂O₂ 0.3 mol/L、室温(20°C)の条件下で反応させ、カルバモイルエチル化 BC (CBBC) を得た。CBBC を NaOH 0.1 mol/L、反応温度 0°C の条件下で NaClO (反応液中での濃度 0.1 mol/L) と反応させ、N-Cl 化 BC (N-CIBC) を得た。

3.2.2 シート作製

バクテリアセルロースおよび各反応で得たセルロース誘導体はブレンダー (11,500rpm) で解繊した後、pH6.5 に調整したスラリーを Fig. 2.1 に示す装置で吸引ろ過し、ハンドシート (60g/m²) を作製した。ハンドシートはプレス後、緊張状態で風乾した。

3.2.3 ハンドシートの強度及び耐水性評価

(a) 乾燥引張試験(JIS P 8113)

前述のハンドシートから幅 15mm の試験片を作製した。これを東洋精機製万能試験機に取り付け、スパン長 10 cm、引張速度 10 mm/min、23°C±1°C、相対湿度 50±2% 下で乾燥引張試験を行った。乾燥比引張強さは次の式によって算出した。

$$\text{乾燥引張強さ } S = F / \omega$$

S: 乾燥引張強さ(kN / m), F: 破断までの最大荷重(N), ω : 試験片の幅(mm)

$$\text{乾燥比引張強さ } I = S / g \times 10^3$$

I：乾燥比引張強さ, g：試験片の坪量(g/m^2)

(b) 破裂強さ試験(JIS P 8131)

ハンドシートから $100 \times 100\text{mm}$ の試験片を作製した。これをミューレン高圧形試験機に設置し、加圧装置によって圧力を試験片が破れるまで加え、その最大圧力を測定し、破裂強さを測定した。破裂強さは次の式によって算出した。

$$X = P / W$$

X：比破裂強さ($\text{kgf}/\text{cm}^2 \cdot \text{m}^2/\text{g}$), P：破裂強さ(kgf/cm^2), W：試験片の坪量(m^2/g),

(c) 耐折強さ試験(JIS P 8115)

ハンドシートから幅 15mm の試験片を作製した。これを MIT 試験機に長さ $110 \pm 5\text{mm}$ で設置し、 1.5kgf の荷重をかけ耐折回数を測定し耐折強さを測定した。耐折強さは次の式によって算出した。

$$FE = \log_{10} N$$

FE：耐折強さ N：耐折回数

(d) 湿潤引張強さ試験(JIS P 8135)

ハンドシートから幅 15mm の試験片を作製した。これを 24 時間蒸留水中に浸漬し、その後、ろ紙で過剰な水を取り除き、直ちに東洋精機製万能試験機に取り付け、スパン長 10cm 、引張速度 $10\text{mm}/\text{min}$ 、 $23^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 2\%$ 下で湿潤引張試験を行った。湿潤比引張強さは次の式によって算出した。

$$\text{湿潤引張強さ } Sw = F / \omega$$

Sw：湿潤引張強さ(kN/m), F：破断までの最大荷重(N), ω ：試験片の幅(mm)

$$\text{湿潤比引張強さ } Iw = S / g \times 10^3$$

Iw：湿潤比引張強さ, g：乾燥時の試験片の坪量(g/m^2)

(e) 寸法安定性試験

ハンドシートから長さ 10cm 、幅 15mm の試験片を作製し、24 時間蒸留水中に浸漬、 105°C 、2 分間の熱乾燥、24 時間風乾の乾湿繰り返し試験の際の寸法変化率を測定した。

3.3 結果及び考察

3.3.1 BC および各種改質 BC シートの特性

BC および各種改質 BC シートの各種強度を Table 1 に示す。CEBC および CBBC シートの各強度は、置換度を上げると CBBC シートの引張強度を除き向上するものの、BC シートと大差ない。しかし N-CIBC シートは置換度を上げると各強度が向上し、BC シートに比べ置換度 0.05 において乾燥引張強度が約 1.4 倍、破裂強さが約 2 倍、引裂強さが約 2.3 倍、耐折強さが約 2.8 倍、湿潤引張強度が約 3.2 倍向上した。また BC シートの乾燥引張強度に対する湿潤引張強さ残留率を求めると BC シートが約 12% であるのに対し N-CIBC シートは置換度 0.025 で約 28%、置換度 0.05 で約 42% であった。BC を N-CI 化することにより BC シートに比べ乾燥状態での各強度が向上するだけでなく、湿潤引張強度すなわち耐水性も向上することが示された。これらの結果は植物セルロースで試みられた結果と同様の傾向が示され¹⁾、特に耐折強さに関して BC の状態でも植物セルロースに比べ非常に優れており、各反応によりさらに向上することが示された。

Table 3.1 Strength properties of BC, CEBC, CBBC and N-CIBC handsheets

Sheets	DS*	Dry tensile index (N·m/g)	Wet tensile index (N·m/g)	Burst factor (kgf/cm ² ·m ² /g)	Tear index (mN·m ² /g)	Folding endurance (log ₁₀ N)**
BC	0	63.13	8.15	0.38	2.09	2.97
CEBC	0.025	56.72	7.14	0.30	3.02	2.79
	0.05	57.21	7.39	0.38	3.78	3.11
CBBC	0.025	65.72	6.68	0.26	2.13	3.26
	0.05	63.13	10.27	0.49	2.80	3.32
N-CIBC	0.025	67.09	18.17	0.59	3.61	3.33
	0.05	89.29	26.86	0.79	4.82	3.42

*D.S. (Degree of substitution): Number of corresponding functional group per glucose unit.

**Folding endurance was tested under a tension of 1.5kgf.

3.3.2 N-CIBC の耐水性

3.1 において、N-CIBC シートの湿潤引張強度が向上することが示された。そこで N-CIBC の耐水性についてさらに詳しく検討するため、シートの湿潤時の特性を経時的に測定した。

Fig. 3.1 に BC シートおよび N-CIBC (置換度 0.05) シートを水に浸漬した場合の浸漬時間と湿潤引張強度の関係を示す。BC シートおよび N-CIBC シート共に強度低下がみられたが、BC シートは浸漬期間 14 日目、N-CIBC シートは 28 日目以降明らかな強度低下がみられず、N-CIBC シートが BC シートの強度まで低下しないことが示された。

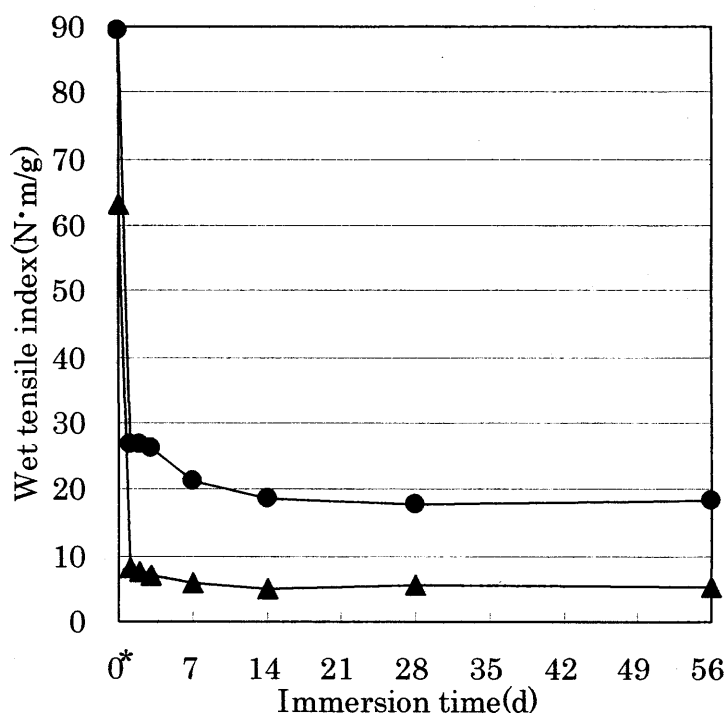


Fig. 3.1 Effect of immersion time in water on the wet tensile index of BC and N-CIBC sheets.

Symbols: BC sheet : ▲, N-CIBC (D.S. 0.05)sheet : ●.

* Tensile index of immersion time 0 is dry tensile index.

以上の結果より浸漬期間 28 日目以降の N-CIBC の湿潤引張強度 (17.7 N·m/g (28 days)) と BC の湿潤引張強度 (5.6 N·m/g (14 days)) の差 (12.1 N·m/g) が N-Cl 基による耐水性向上であり、浸漬したことによる急激な引張強度の低下、浸漬期間 28 日までの緩やかな引張強度の低下は水により水素結合がはずれることによると推察した。

Fig. 3.2に各シートを24時間浸漬後、水中から引き上げ、ろ紙で過剰の水を除いた後、 $23^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $50\pm 2\%$ 下で乾燥した時の引張強度の経時変化を示す。乾燥時間が経過するとともに BC シートおよび N-CIBC シートは含水率も低下し、引張強度が向上し、BCシートでは乾燥時間 11 分で浸漬前の乾燥引張強度と等しくなった。N-CIBC シートでは置換度 0.025 で 9 分、置換度 0.05 で 7 分と置換度を上げることにより浸漬前の乾燥引張強度と等しくなる時間が早くなる傾向が示された。

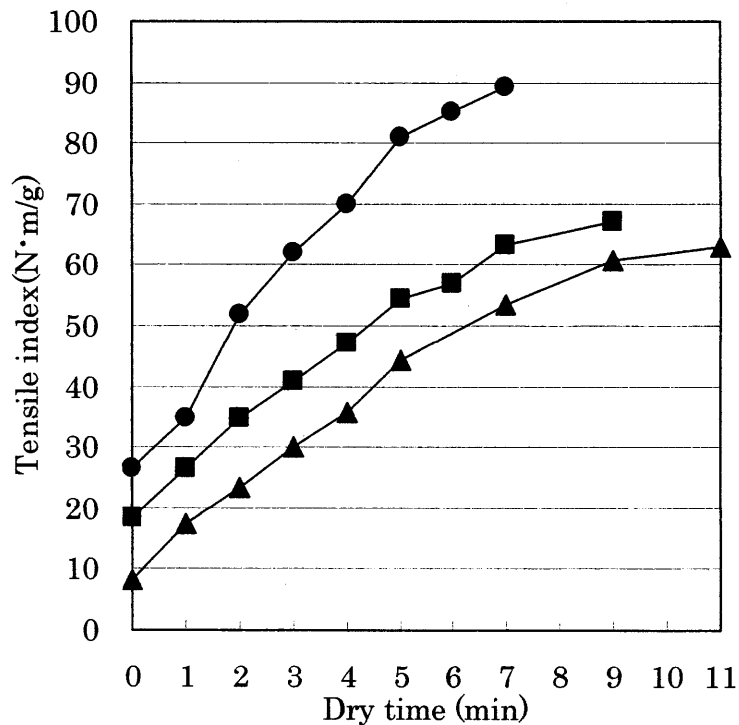


Fig. 3.2 Changes in tensile strength of sheets by leaving in an atmosphere of 23°C , 50%RH after 24 hours immersion in water.

Symbols: BC sheet : ▲, N-CIBC (D.S. 0.025)sheet : ■,

N-CIBC (D.S. 0.05)sheet : ●.

3.3.3 N-CIBC の寸法安定性

3.3.2 では N-Cl 化、置換度により耐水性、速乾性の向上が示されたが、この要因として N-Cl 化による吸水性の低下、繊維間結合数の増加によるものと推察した。そこで乾燥湿潤繰り返し試験による寸法変化率を測定し、その結果を Fig. 3.3 示す。BC シートの最大変化率は 4.0% であった。これに対し N-CIBC シートは置換度 0.05 で 2.4%、置換度 0.025 で 1.9% であり BC に比べ寸法変化率が減少したことが示された。

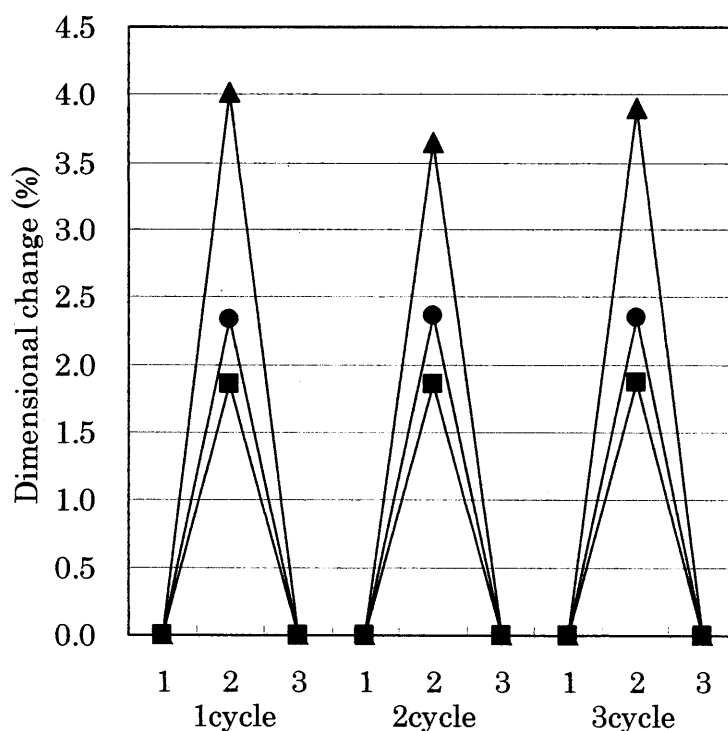


Fig. 3.3 Dimensional changes of BC and N-CIBC sheets by wet-dry cycle.

Notes : 1 : air dry, 2 : wet (24hr immersion), 3 : thermal dry (105°C, 2min)

Symbols: BC sheet : ▲, N-CIBC (D.S. 0.025)sheet : ■,

N-CIBC (D.S. 0.05)sheet : ●.

Fig. 3.4 に湿潤状態における寸法変化率の経時変化を測定した結果を示す。培養で得られた BC ペリクルは通常 BC の乾燥重量の 100~200 倍の水を含んでいるが²⁾、乾燥するとセルロース間の水素結合によって、フィブリルが強固に相互癒着し、再び水に入れても癒着が解除されない性質がある³⁾。BC シートは 14 日目、N-CIBC シートは BC シートに比べ緩やかに寸法変化率が上昇し 28 日目で最大変化率に到達し、BC の性質および N-Cl 化による寸法変化率の低下が示された。

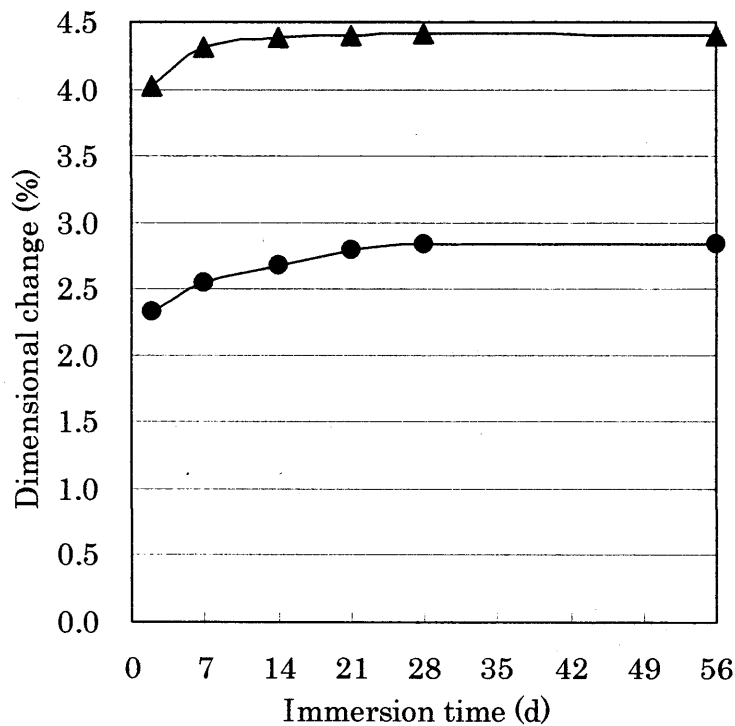


Fig. 3.4 Effect of immersion time in water on the wet dimensional changes of BC and N-CIBC sheets.

Symbols: BC sheet : ▲, N-CIBC (D.S. 0.05)sheet : ●.

以上の結果より N-CIBC シートの耐水性は N-Cl 化により BC に比べ解繊時の繊維の状態 (Fig.2.8)、シートの状態 (Fig.2.9) で示されたように地合が均一化され、Fig.3.1 に示した N-CIBC シートの湿潤引張強度が浸漬期間 28 日目まで緩やかに低下することから繊維間結合数の増加が推察され、さらに N-Cl 基によって繊維間結合強度を向上させたことにより、耐水強度および寸法安定性が向上したと考えられる。

文献

- 1) 鈴木恭治 (1994). N-クロル化パルプより得られる耐水紙の強度特性と耐水化機構. 機能紙研究会誌 33 pp.31-36
- 2) 柴崎秀樹,空閑重則 (1996).製紙用機能化材料としてのバクテリアセルロース.紙パ技誌.50(5) pp. 772-776.
- 3) 渡部乙比古(2008). セルロースの事典(セルロース学会).微生物,新装版 pp.556-563,朝倉書店,東京

第4章 アミノエチル化バクテリアセルロースシートの調製とその強度特性

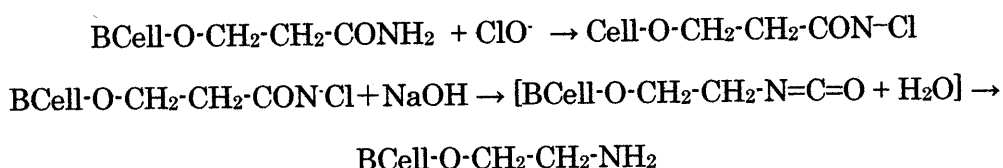
4.1 はじめに

第2章ではバクテリアセルロースの化学改質としてシアノエチル化、カルバモイルエチル化およびN-Cl化までの3段階の反応の検討、第3章ではその強度特性を詳細に検討してきた。本章ではバクテリアセルロースのカチオン化を目指し、カルバモイルエチル化BCからホフマン反応を経由するアミノエチル化を試みた。

4.2 実験方法

4.2.1 バクテリアセルロースのアミノエチル化

アミノエチル化BCは酢酸菌 (*Acetobacter xylinum* ATCC 10245 株) を培養して得たBCのペリクルをブレンダー (11,500 rpm) で解繊した後、シアノエチル化、カルバモイルエチル化を行い、カルバモイルエチル化BCを調製する。次にカルバモイル化BCにアルカリ条件下で次亜塩素酸ナトリウムを添加しN-Cl化後70 °Cに昇温しホフマン分解を行いアミノエチル化した。反応式を次に示す。



調製したBCell-O-CH₂-CH₂-NH₂は以後AE化BCと表記する。

4.2.2 染色法によるアミノ基定量

AE化BCのアミノ基定量は次の方法で行った。

0.05 mol/LのAcid orange7水溶液を1N硫酸によりpH2-3に調製する。この中に試料約0.1gを2時間浸漬し、染色を行う。そして、染色した試料から色素が出なくなるまで繰り返し洗浄を行う。その後、繊維に含まれる水分をできるだけ絞り、0.1N NaOH水溶液に2時間浸漬させAcid orangeを試料から脱着させる。脱着したAcid orange水溶液は弱酸性にした後、分光光度計により、波長490 nmでの吸光度を測定し、別に定めた検量線により定量を行った。なお比較のため染色後水洗した試料をシート化しFig. 4.1に示した。

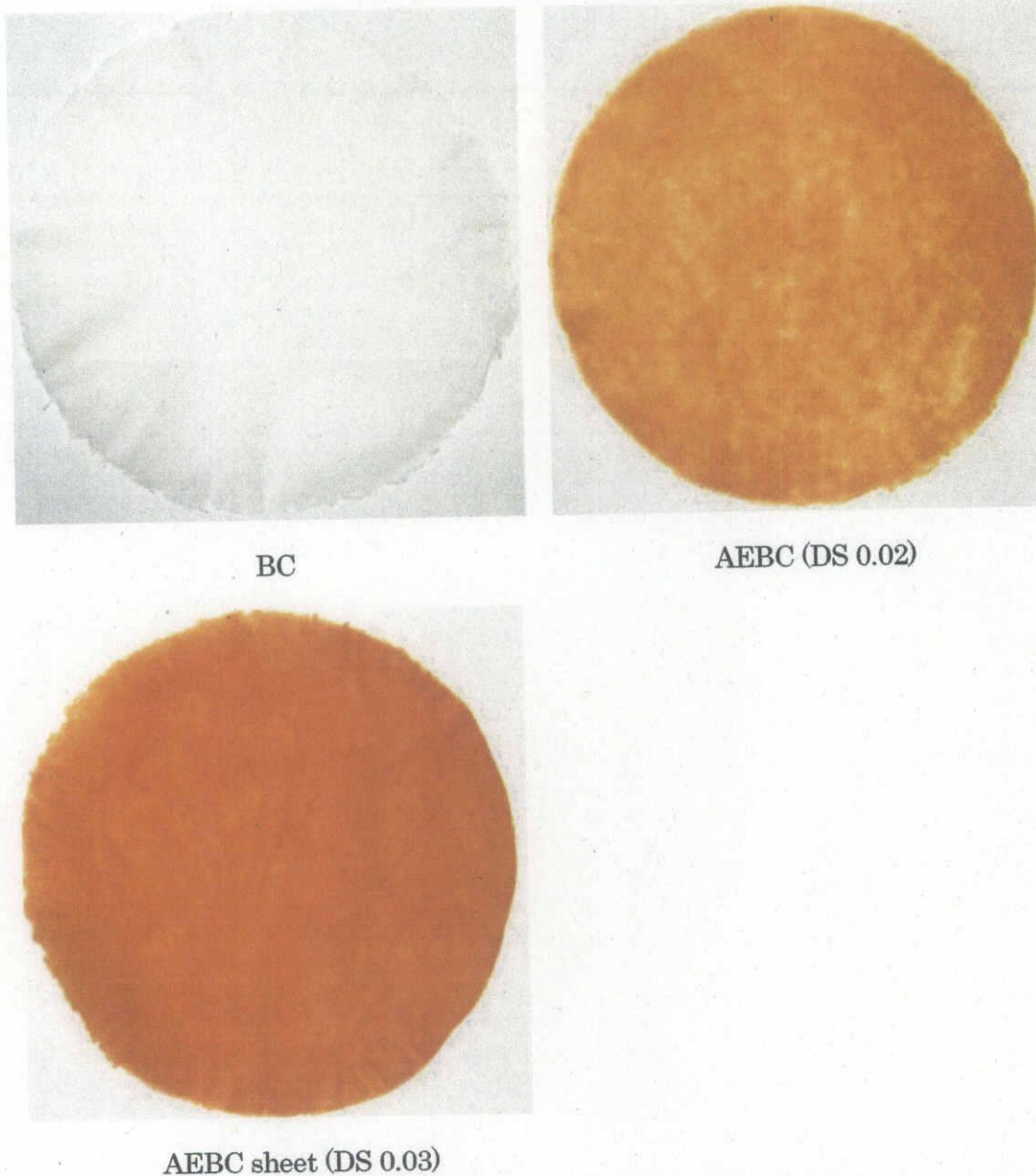


Fig. 4.1 BC and AEBC sheets after Acid orange treatment.

4.2.3 反応の追跡

N-Cl 化終了後、アセトンで次亜塩素酸ナトリウムを除去、NaOH 濃度を調節した後、試料の入ったビーカーを 70 °C のウォーターバスに漬ける瞬間を、AE 化反応の開始 0 分とした。以後 5 分、15 分、30 分、60 分に試料を抽出し、N-Cl 基量、アミノ基量をそれぞれヨード法と比色定量法により測定し、N-Cl 基の分解とアミノ基の生成過程を追跡した。

AE 化時の NaOH 濃度は 0.25N と 1N で行った。

4.2.4 作製シートの強度試験

各作製シートから幅 10 mm の試験片をとり、スパン長 40 mm、引張速度 5 mm/min で東洋精機製万能試験機にて引張強度試験を行った。湿潤引張強度は同サイズの試験片を蒸留水に 1 時間浸漬した後、ろ紙で余分な水分を拭き取り測定した。

4.3 結果および考察

4.3.1 アミノエチル化法の検討

ここで AE 化法について次の二通りの方法を試みた。

① N-Cl 化と AE 化を分けて行う方法

N-Cl 化終了後、蒸留水で繰り返し洗浄を行うことで次亜塩素酸 Na を除去した後、NaOH 濃度を調節し、70 °C の湯浴で AE 化を行う。

② N-Cl 化と AE 化を続けて行う方法

N-Cl 化終了後、少量のアセトンを加え、次亜塩素酸 Na を除去し、素早く NaOH 濃度を調節し、そのまま 70 °C に昇温し、AE 化を行う。

上記①、②の方法について AE 化を行った後、定性試験を試みた。定性は、スラリー状のまま酸性染料 Acid orange を添加し、繊維の着色の有無を調べた。また、吸引濾過装置で厚さ 20 μm のシートを作製し、FTIR で官能基のピーク検出を行った。

上記①と②の方法で AE 化を行った試料に対する Acid orange 染色の結果、方法①では染色されず、方法②のみ染色された。この原因はおそらく、①では洗浄に 20 分程度の時間がかかっているため、その間に温度が常温まで上昇し、AE 化の反応が開始されたが、洗浄により NaOH 濃度が低下したことから、AE 化がうまく起こらず、N-Cl 基が尿素系の結合やウレタン結合などに変化してしまったことが考えられる。これに対して②では次亜塩素酸ナトリウムをアセトンで取り除き、NaOH 濃度を調節した後すばやく昇温するため、AE 化にとって好条件であったと推察できる。

なお広葉樹由来の漂白パルプ繊維で同様の実験を行ったが、こちらでは①、②ともに Acid orange の染色が見られた。N-Cl パルプを洗浄する場合、吸引ろ過する時間が BC のそれに比べかなり早く、2 分程度で行うことができた。このため、洗浄も含め短時間で AE 化をスタートできたため、広葉樹由来の繊維では①でも AE 化が容易に起こったと考えられる。

Fig. 4.2は未改質BCと方法②で調製したAE化BCシートのFTIRスペクトルを示す。AE化BCの 1570 cm^{-1} 付近に未改質BCには見られないピークが検出された。この波長は1級アミンの示すピークに一致した。これらの結果からAE化が起こったことを確認できた。この結果から、以後のBCのAE化には方法②を用いた。

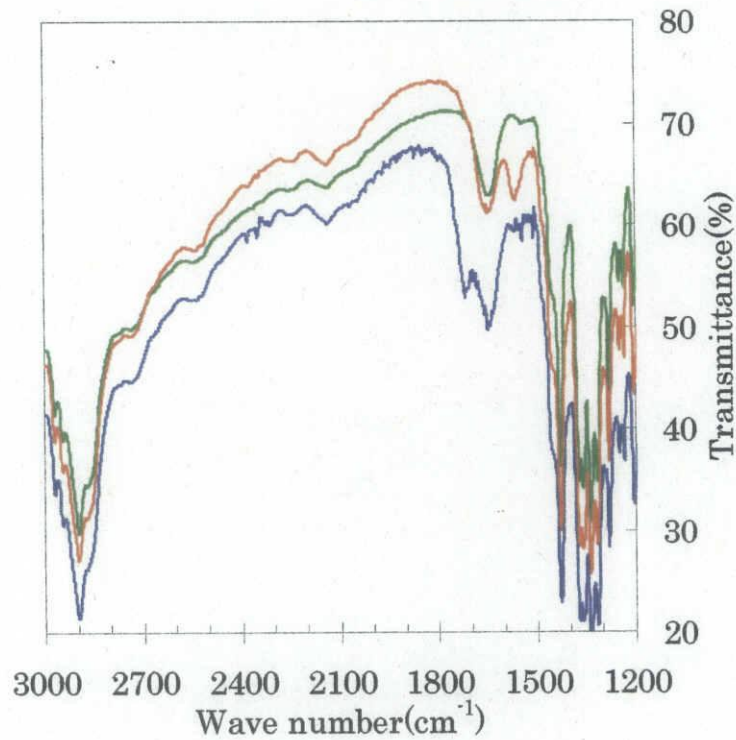


Fig. 4.2 FT-IR (Fourier Transform Infrared) spectra of bacterial cellulose and bacterial cellulose derivatives. Lines indicated FTIR spectra : green line, BC; blue line, N-chlorinated BC; red line, AEBC.

4.3.2 アミノエチル化反応の追跡

Fig. 4.3 は N-Cl 基分解とアミノ基生成の経時変化を示す。アミノ基の定量方法はケルダール法、バンスライク法、ニンヒドリン法などが知られている。アミノ基を含め、全窒素量を測定するケルダール法、多量の資料を必要とするバンスライク法など本研究には不適であると考え、本研究では定性試験でも使用した微酸性下では電気的吸引力によりアミノ基を吸着し、アルカリ性下では脱着する性質を持つ Acid red 7 を使用した。縦軸は試料 1g あたりの官能基量、横軸は時間を示す。NaOH 濃度が 1M のものはおよそ 30 分で、0.25M のものでも 60 分で N-Cl 基がほぼ分解し、反応が終了した。どちらの系列を見ても、反応前の N-Cl 基が全てアミノ基に分解しているわけではないことが分かる。このことから、アミノ基以外の副生成物が生じていることが推察された。アミド基が N-Cl 化を受け、それがイソシアネートを経て、OH と反応してアミンを生成するとされている。このイソシアネートとアミンとは極めて反応しやすいと報告されていることから主な副生成物は尿素系の結合やウレタン結合である²³⁾と考えられるが、Fig. 4.2 の FTIR からは結合形態が特定できなかった。

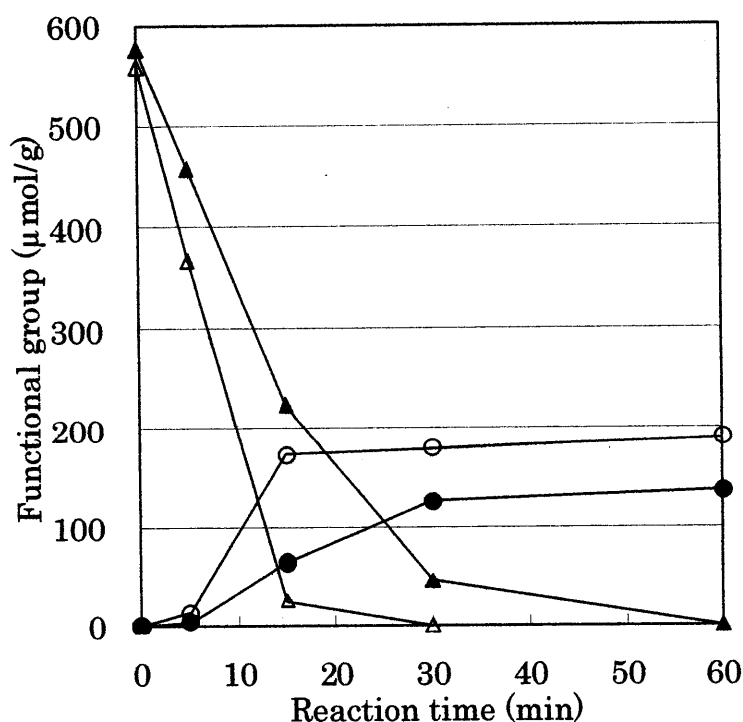


Fig. 4.3 Hofmann reaction of carbamoyl-ethylated BC. It was reacted in NaOH solution at 50 °C. Symbols indicated functional group : ●, amino group (0.25 mol/L NaOH); ○, amino group (1 mol/L NaOH); ▲, N-chloro group (0.25 mol/L NaOH); △, N-chloro

group (1 mol/L NaOH)

4.3.3 乾燥、湿潤引張強度試験

Table 4.1 にそれぞれの試料の乾燥・湿潤引張強度、乾燥強度向上率、湿潤強度率、湿潤強度向上倍率を示した。置換度 (DS) 0 から 0.03 までは置換度が上がるにすぎない、乾燥、湿潤強度ともに向上した。特に DS 0.03 の湿潤強度率は 107% と、未改質の乾燥強度よりも強くなるという結果が得られた。

DS 0.04 の試料で乾燥、湿潤強度が低下しているのは、AE 化時の NaOH 濃度を 2 mol/l と高くしたため、繊維がダメージを受けていることが考えられる。この結果より、アミノ化率と繊維のダメージを考慮すると、AE 化時の NaOH 濃度は約 1 mol/l が最適な濃度と言える。

DS 0.05 の試料は最もアミノ基を多く有し、AE 化時の NaOH 濃度を適当な濃度である 1 mol/l で行ったため、試料の中で最も強度が向上すると期待された。しかし、今回の結果からは乾燥、湿潤共に DS 0.03 のものよりも低かった。

Table 1 Strength properties of BC and aminoethylated BC sheets.

Sheets	DS ^{*1}	NaOH concentration ^{*2} (mol/l)	Dry tensile index (N·m/g)	Wet tensile index (N·m/g)	Dry strength increase (%) ^{*3}	Wet strength rate (%) ^{*4}
BC	0		40.47	24.13		
AEBC	0.02	0.3	44.59	35.66	10.2	88.1
AEBC	0.03	1	50.96	43.44	25.9	107.3
AEBC	0.04	2	40.45	22.37	0	55.3
AEBC	0.05	1	42.67	30.05	5.4	74.2

^{*1}DS (Degree of substitution): number of amino group per glucose unit.

^{*2}NaOH concentration (mol/L) at the Hofmann reaction.

^{*3}Dry strength increase (%) = $\{(\text{Dry tensile index of AEBC sheet} \div \text{Dry tensile index of BC sheet}) - 1\} \times 100$

^{*4}Wet strength rate (%) = $(\text{Wet tensile index of AEBC sheet} \div \text{Dry tensile index of BC sheet}) \times 100$

4.3.4 湿潤処理後放置時間と湿潤強度の関係

Fig. 4.4 は湿潤処理後放置時間と比引張強度の関係を示す。折れ線でつながれた強度の変化を見ると、未改質 BC では湿潤比引張強度が乾燥比引張強度と同等まで回復するのにおよそ 10 分程度かかっている。これに対して、置換度 0.03 の AE 化 BC は湿潤処理後放置時間 3 分程度で乾燥強度とほぼ同じ水準に回復した。このことから AE 化 BC は湿潤強度に強だけでなく、湿潤後も風乾により直ちに乾いて強度が回復する力、つまり速乾性に優れていることが分かった。

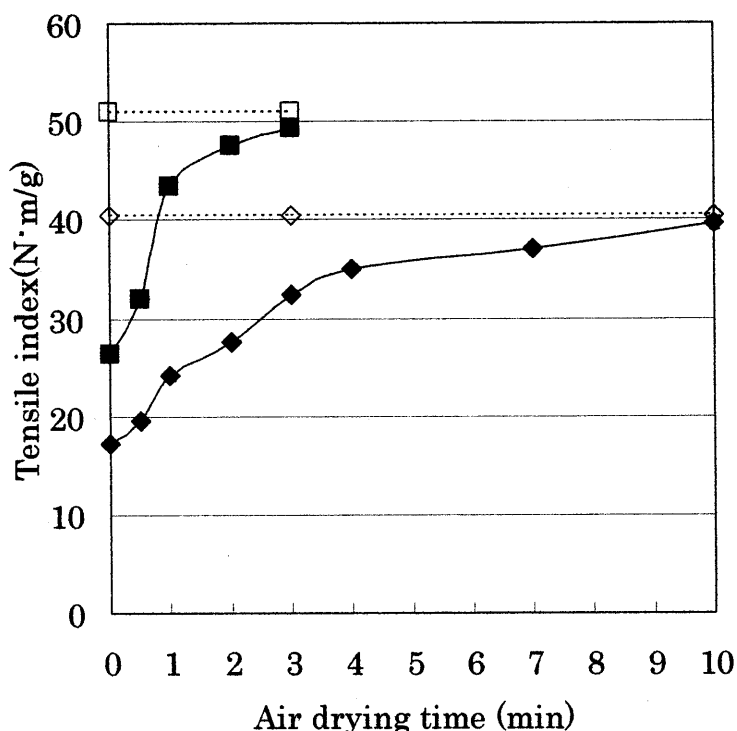


Fig. 4.4 Changes in breaking length of sheets by leaving in an atmosphere of 23 °C, 50 %RH after 24 hours immersion in water. Symbols indicated tensile index : ◆, BC sheet; ■, AEBC sheet(DS0.03); ◇, dry BC sheet; □, dry AEBC sheet(DS0.03)

以上の結果より ATCC10245 株から得られた BC 繊維に対し CE 化、CB 化、N-Cl 化を経て Hofmann 分解を行い、カチオン性の AE 化 BC を調製した。これは、Acid orange 染色と FTIR により確認できた。また、BC の AE 化では N-Cl 化後、アセトンで残存 NaClO を消去し、NaOH 濃度を調節し直ちに昇温する方法が適していることが分かった。

アミノ化率は AE 化時の NaOH 濃度を上げるほど向上した。しかし、引張強度試験の結果から繊維への影響を考慮すると、1mol/l 程度が最適な濃度であると考えられた。

AE 化 BC 繊維から得られたシートは未反応の BC シートに比べ、乾燥、湿潤強度が向上した。特に湿潤強度が優れており、良好な耐水性と速乾性を有していることがわかった。以上から AE 化 BC は耐水性・速乾性を有する新たなカチオン性素材としての利用が期待できる。

文献

- 1) N.Tahara, M.Tabuchi, K.Watanabe, H.Yano, Y.Morinaga, and F.Yoshinaga (1997). Degree Of Polymerization Of Cellulose From Acetobacter Xylinum BPR2001 Decreased By Cellulase Produced By The Strain. Bioscience Biotechnology Biochemistry 61(11) pp. 1862-1865
- 2) 田中浩雄, 千手諒一 (1976). ポリアクリルアミドのホフマン分解. 高分子論文集 33(6) pp. 309-316
- 3) 鈴木恭治 (2006). 不均一系でのセルロースの機能化とその利用. 機能紙研究会誌 45 pp.11-17

第5章 N-Cl化バクテリアセルロースおよびLBKPの混抄紙の製造と特性評価

5.1 はじめに

本章では第2章、第3章の結果よりBCをN-Cl化することにより低置換度においてもシートの耐水性が向上することが示された。耐水性の向上の要因の一つとしてBCの水酸基がN-Cl基によって繊維間結合強度を向上させたことと考えられた。そこでN-Cl化BCとLBKPの混抄紙作製した場合においてもN-Cl化BCによる耐水性の向上が示されるか検討した。

5.2 実験方法

5.2.1 N-Cl化バクテリアセルロースおよびLBKPの調製

N-Cl化BCは酢酸菌 (*Acetobacter xylinum* ATCC 10245 株) を培養して得たBCのペリクルをブレンダー (11,500 rpm) で解繊した後、シアノエチル化、カルバモイルエチル化、N-Cl化の3段階の反応により調製した。置換度の調整はシアノエチル化反応の際に行い、カルバモイルエチル化、N-Cl化では置換基を完全にそれぞれの官能基へと置換させて調製した。

LBKPは乾燥パルプを水に浸漬させ、製紙用離解機により離解した後、ナイヤガラ型ビーターで叩解をし、濾水度485mlのLBKPを調製した。

5.2.2 N-Cl化バクテリアセルロースおよびLBKPの混抄紙の作製

5.2.1で調製したN-Cl化BCはブレンダー (11,500rpm) で解繊した後、LBKPに添加し、製紙用離解機により離解・混合し、TAPPIスタンダードマシンで混抄紙 (60g/m²) を作製した。混抄紙はプレス後緊張状態で風乾した。

5.2.3 混抄紙の物性評価

混抄紙の強度および耐水性を評価するために乾燥引張試験 (JIS P 8113)、破裂強さ試験 (JIS P 8131)、引裂強さ試験 (JIS P 8116)、耐折強さ試験 (JIS P 8115)、湿潤引張強さ試験 (JIS P 8135)、寸法安定性試験を行った。

5.3 結果および考察

5.3.1 N-CIBC および LBKP 混抄シートの特性

本研究では N-CIBC および LBKP の混抄シートを作製し各強度測定を行い、N-CIBC の

Table 5 Strength and properties of N-CIBC / LBKP composite sheet

Sheets	LBKP : N-CIBC	Dry tensile Index (N·m/g)	Wet tensile Index (N·m/g)	Burst factor (kgf/cm ² · m ² /g)	Tear index (mN· m ² /g)	Folding endurance (log ₁₀ N)*
LBKP	100 : 0	54.34	0.10	0.05	3.41	1.34
LBKP +N-CIBC	99 : 1	71.68	0.25	0.07	3.15	1.32
LBKP +N-CIBC	95 : 5	70.97	0.93	0.09	3.33	1.30
LBKP +N-CIBC	90 : 10	68.69	1.24	0.10	3.99	1.40
LBKP +N-CIBC	80 : 20	89.36	2.21	0.16	4.25	1.88
LBKP+BC	95 : 5	50.61	0.85	0.08	5.60	0.73

Note : LBKP(c.s.freeness=485ml).

* Folding endurance were tested under a tension of 1.5kgf

混抄紙の調製および特性を検討した。混抄シートは坪量 60 g/m²になるように N-CIBC (置換度 0.05) と LBKP の混抄率を変えて作製した。Table 5 に示すように N-CIBC 混抄シートは LBKP

シートと比較すると 1%混抄するだけで乾燥引張強度の向上が示された。N-CIBC の混抄率で比較すると LBKP シートよりは向上を示したものの混抄率 10%までは混抄率による乾燥引張強度の向上は示されなかった。しかし混抄率を 20%にすると混抄率 1%に比べ約 1.2 倍、LBKP シートと比べ 1.6 倍と乾燥引張強度の向上が示された。湿潤引張強度では混抄率をあげることで向上し、混抄率 20%にすると LBKP シートと比べ約 8.8 倍向上

した。ここで BC 混抄率 5%シートの測定結果をみると、LBKP シートと比べ湿潤引張強度と引裂強さは向上するものの、その他の強度の向上は示されなかった。また同じ混抄率で BC と N-CIBC を比較すると特に N-CIBC の乾燥引張強度が向上していることがわかる。

5.3.2 N-CIBC および LBKP 混抄シートの寸法安定性

Fig. 5.1 に各シートの乾燥湿潤繰り返し試験による寸法変化率の結果を示す。N-CIBC 混抄率 10%までは LBKP シートと比べ寸法変化率の大きな変動がなかったが 20%になると寸法変化率が上がった。また BC 混抄率 5%シートは N-CIBC 混抄率 5%シートと比べ寸法変化率が高く最大で 1.95%であった。以上より N-CIBC を複合させることにより少量でも N-CIBC の特性を発揮し、強度の向上、耐水性を付与することが示された。

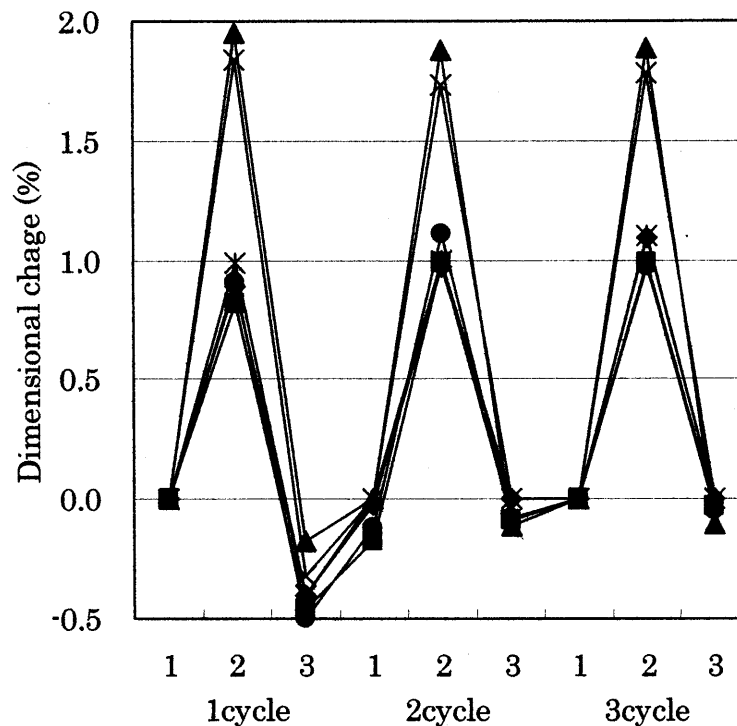


Fig.5.1 Dimensional changes of LBKP+N-CIBC sheet and LBKP+BC sheet by wet-dry cycle

Notes : 1 : air dry, 2 : wet (24hr immersion), 3 : thermal dry (105°C, 2min)

Symbols : ●, LBKP sheet ;

■, 99% LBKP + 1% N-CIBC sheet ;

◆, 95% LBKP + 5% N-CIBC sheet ;

*, 90% LBKP + 10% N-CIBC sheet ;

×, 80% LBKP + 20% N-CIBC sheet ;

▲, 95% LBKP + 5% BC sheet .

以上の結果よりこれまで BC の利用法としてコンポジット化等が検討されてきた。主な方法として培養液中に複合材を添加し、BC が生産されるときに複合される方法、BC ペリクルに複合材を浸透される方法などが報告され好結果を得ている¹⁾⁶⁾。また本章で試みたように BC ペリクルを解繊し混抄紙を製造する報告もある⁷⁾⁸⁾。これらの報告も踏まえ、本研究結果は BC を N-Cl 化することで BC にくらべより解繊され LBKP との各種強度、耐水性が向上した混抄紙を製造できたことで N-ClBC は複合材として利用が期待される。

文献

- 1) M. Takai, F. Nonomura, M. Fujiwara, J. Hayashi (1991). FILTRATION AND PERMEATION CHARACTERISTICS OF BACTERIAL CELLULOSE COMPOSITE. SEN-I GAKKAISHI 47(3) pp. 119-129
- 2) K. Tajima, H. Ito, M. Fujiwara, M. Takai, J. Hayashi (1995). Enhancement of bacterial Cellulose Productivity and Preparation of Branched Polysaccharide-Bacterial Cellulose Composite by Co-cultivation of Acetobacter Species. SEN-I GAKKAISHI 51(7) pp. 323-332
- 3) A.N. Nakagaito, S. Iwamoto, H. Yano (2005). Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites Applied Physics A 80 pp. 93-97
- 4) Kenji Tajima, Masashi Fujiwara, Mitsuo Takai and Jisuke Hayashi (1995). Synthesis of Bacterial Cellulose Composite by Acetobacter xylinum 1. Mokuzai Gakkaishi 41(8) pp.749-757
- 5) Wolfgang Gindl, Jozef Kechkes (2004). Tensile properties of cellulose acetate butyrate composites reinforced with bacterial cellulose. Composites Science and Technology 64 pp.2407-2413
- 6) 澤渡千枝(2010).酢酸菌が生産するセルロースとその利用/ナノからバルクまで. Cellulose Communications 17(1) pp. 16-21
- 7) 火置信也, 堀禎憲, 渡部乙比古, 森永康, 吉永文弘, 日比野良彦, 小倉利允 (1995). バクテリアセルロースの紙添加剤としての特徴. 紙パ技協紙 49(4) pp.171-176
- 8) ソニー株式会社, 味の素株式会社(1993). 抄造体及び音響振動板並びにそれらの製造方法. 特開平 5-247879

第6章 総括

機能性膜としてのバクテリアセルロース膜の製造と特性評価を行った。

第1章では、最近のバクテリアセルロース (BC) の利用と研究の動向について、バクテリアセルロースの概要とこれまでの報告および本研究の目的について述べた。

第2章では、BCの機能化の方法として化学改質を検討することとし、N-Cl化BCの調製と極薄シート化を行った。N-Cl化はシアノエチル化、カルバモイルエチル化、N-Cl化の3段階の反応によって行った。これら各種反応性についてはケルダール法、ヨード法およびFTIRで測定し、シアノエチル化は反応40°Cで速やかに進行し、反応時間5時間にはBCペリクルでは置換度0.14、BCスラリーでは置換度0.07となった。カルバモイルエチル化はシアノエチル化BC(置換度0.05)を反応温度20°C、1時間で完全に反応させることができ、N-Cl化はカルバモイルエチル化BC(置換度0.05)を反応温度0°C、1時間で完全に反応させることができた。極薄シート化において、未改質のBC繊維では厚さ4~5 μmが限度であった。しかしN-ClBCを調製することで解繊による繊維の分散状態が向上し、厚さ3 μmの薄葉シートを作製することが可能となり、加えて引張強度を向上させることが示された。

第3章ではN-Cl化BCシートの強度特性および耐水性について検討した。N-Cl化BCシートは比較的low置換度でも乾燥引張強度、破裂強さ、引裂強さ、耐折強さが向上した。耐水性については湿潤引張強度が向上し、蒸留水中への浸漬したときの経時変化では浸漬期間14日以降は強度の低下がみられなかった。また蒸留水中へ浸漬した後23°C±1°C、相対湿度50±2%下で乾燥した時の引張強度の経時変化では、乾燥時の引張強度と同じ強度を示す時間が短くなり、寸法安定性も向上した。以上のことからBCシートに比べ繊維が均一化され、速乾性が向上し、N-Cl基により繊維間結合強度も向上することにより、耐水性が向上したと推察した。

第4章ではBCのカチオン化により機能性を付与させることを目指し、カルバモイル化BCからホフマン反応を経由するアミノエチル化を試みた。アミノエチル化はN-Cl化終了後、加熱すれば脱塩素イオンをおこしてイソシアネート基になり、生成したイソシアネート基は直ちに分解してアミノ基になる。しかし副反応もおこりアミノ基以外の生成物となるため、次亜塩素酸ナトリウムの除去方法を蒸留水による除去方法とアセトンによる除去方法の2通りを検討した。その結果、アセトンによる除去方法を採用することで、次亜塩素酸ナトリウムの除去時間が短縮され、除去している間に官能基が結合してしまう軽減さ

せることができ、アミノ基が BC に存在することが確認できた。またこの副反応は水酸化ナトリウム濃度を変化させることによっても軽減させることが示された。ただし、乾燥、湿潤引張強度を行ったところ、良好な耐水性と速乾性を有しているシートを作製することができたが、反応時に水酸化ナトリウム濃度を高くすると繊維がダメージを受け、強度が低下することが考えられることから、アセトンで次亜塩素酸ナトリウムを除去し、水酸化ナトリウム濃度を調節し、直ちに昇温する方法が適していることがわかった。

第 5 章では本研究で最も耐水性が向上した N-Cl 化 BC と LBKP の混抄紙の強度特性および耐水性の検討をした。N-Cl 化 BC を 1% 混抄すると各強度の中で乾燥引張強度が最も向上し、混抄率を上げていくと湿潤引張強度の向上も示された。また寸法安定性も N-Cl 化 BC を混抄することで向上した。これらの傾向から N-Cl 化 BC は LBKP の繊維間結合を向上させ、混抄しても N-Cl 化 BC の持つ耐水性の効果を発現することが示された。

以上の研究結果から、バクテリアセルロースを N-Cl 化あるいはアミノ化により耐水性を付与することができ、特に N-Cl 化においては BC 繊維の分散状態を向上させることでより薄い膜の製造が可能となり、機能性（耐水性）膜の製造ができた。また、LBKP との混抄紙で低混抄率であっても強度の向上、耐水性を示したことから機能性材として優れていると考える。したがって本研究で調製した N-Cl 化 BC は特に今後、耐水性機能性膜、あるいは耐水性複合材としての利用が大いに期待される。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始御指導、ご鞭撻を賜った静岡大学農学部鈴木恭治先生に心から感謝いたします。また、本論文の審査にあたりお世話いただきました静岡大学農学部釜谷保志先生、岐阜大学応用生物科学部光永徹先生、信州大学農学部武田孝志先生に厚く感謝致します。

実験材料の提供及び有益なアドバイスをいただきました高知大学名誉教授鮫島一彦先生、常に暖かい御助言や実験の指導をしてくださった静岡大学農学部渡邊拓先生、実験装置の提供をいただきました静岡大学農学部山田雅章先生に深く感謝の意を表します。

本論文の研究を共に取り組んでいただいた、村田淳君に心より感謝の意を表します。最後に多年にわたり研究の支援をしていただいたバイオマス水環境科学研究室の皆様へ感謝いたします。