

トルイジンブルーO吸着法を用いたセルロースナノファイバーの表面官能基定量

川原和美¹、荒木潤²
1株式会社島津製作所、2国立大学法人信州大学 繊維学部

ユーザーベネフィット

- ◆ 1測定あたり数mg程度¹⁾の少量でセルロースナノファイバー表面官能基を簡便に定量できます。
- ◆ 定量の再現性が高く、属人性の低い結果が得られます。
- ◆ 紫外・可視分光光度計による1回の測定時間は非常に短いため、2.5時間程度*で50検体の定量が可能です。

*2.5時間程度は紫外・可視分光光度計による計測時間です。前処理手順に必要な時間や、測定前後のセル取り付け・取り外しに費やす時間は含みません。

■はじめに

セルロースは、植物細胞壁の主成分である多糖類の一種です。中でも繊維径4~100 nm、長さ数μm程度、アスペクト比100以上のセルロースはセルロースナノファイバー (Cellulose Nanofiber: CNF) と呼ばれ、最先端のバイオマス素材として注目されています。CNFは軽量かつ高強度であることに加え、高いガスバリア性や吸着性、透明性などの優れた機能を持ちます。また、植物由来であることから、生産や廃棄に関する環境負荷が小さい素材であり、今後は自動車部材、電子材料、包装材料などへの応用が期待されています。

CNFをはじめとするナノセルロース材料の表面には硫酸エステル基、カルボキシ基などの表面官能基を修飾することができます。様々な機能を付加でき、これらの表面官能基のイオン部分は水中では荷電基として機能し、水分散性を高めます。この表面荷電基の定量には、従来、伝導度滴定法が用いられてきました。この手法は汎用的ではありませんが、①必要試料量が数百mgと多い、②測定時間が長い、③目視での確認が必要、④作業者によって結果が異なる、などの課題があります。そのため、これらの課題を解決し、簡便かつ属人性の低い手法が求められています。今回は、信州大学 荒木潤教授のご協力により、島津紫外可視分光光度計を用いてトルイジンブルーO (TBO) 吸着法による表面官能基を定量した事例をご紹介します。

■トルイジンブルーO (TBO) 吸着法

TBOは塩基性の色素であり、細胞基質など様々な標本の染色に使用されています。TBOの構造を図1に示します。

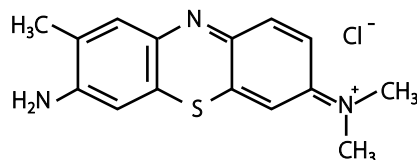


図1 TBOの構造式

この塩基性色素であるTBOがCNFの表面にあるアニオン性表面基（ここではカルボキシ基）に吸着することで、表面官能基の定量が可能となります^{1),2),3)}。なお、この手法を用いると、定量に必要な試料量はわずか数mg程度¹⁾となります。また、紫外・可視分光光度計を用いるために1回の測定時間が短く、2.5時間程度で50検体の定量が可能となります。なお、ここに示した時間は紫外・可視分光光度計による計測時間であり、前処理手順に必要な時間や、測定前後のセル取り付け・取り外しに費やす時間は含みません。

図2には、TBO吸着法における前処理工程を示します。なお、CNF懸濁液は粘性のある市販品を使用しました。

■前処理手順

- ① 試料濃度が2.5 wt/%となるように、CNF懸濁液を水で希釈し、超音波もしくはシェイカーなどを用いて10分間均一になるように攪拌する。
- ② ①で均一化したCNF水懸濁液0.1 ml、純水2.9 ml、TBO溶液2 mlを5 mlマイクロ遠心チューブに加える。
- ③ 振盪機を用いて、2時間振盪する。
- ④ 遠心分離機を用いて、回転数3500 rpm以上で10分間遠心分離を行い、懸濁物を十分に沈殿させる。



遠心分離後の色素吸着したCNF水懸濁液

- ⑤ マイクロピペットを用いて、④の上澄み液を0.45 ml採取し、4.05 mlの純水で10倍希釈する。



上澄み液を10倍希釈したCNF水懸濁液

図2 トルイジンブルーO吸着法を用いた前処理手順

■色素吸着したCNF上澄み溶液の スペクトル測定

前述で示した前処理を行なったCNF水懸濁液の上澄みについて、紫外可視分光光度計UV-1900iを用いて測定を行いました。今回測定したCNFは、安定なニトロキシラジカルである2,2,6,6-テトラメチルピペリジン1-オキシフリーラジカル (TEMPO) を用いたTEMPO酸化法で、表面にカルボキシ基を修飾させたCNFです。装置の外観を図3に、測定条件を表1に示します。また図4には、TEMPO酸化CNFの上澄み溶液の吸収スペクトルを示します。なお、定量に用いるTBOは測定に用いる石英ガラスに吸着する可能性があるため、複数回測定する場合にはディスポタイプのセルを使用することをお勧めします。



図3 UV-1900iの外観

表1 測定条件

装置	: UV-1900i
測定波長範囲	: 400 - 900 nm
データ間隔	: 1 nm
スキャン速度	: 高速
スリット幅	: 1 nm
光源切替波長	: 340 nm

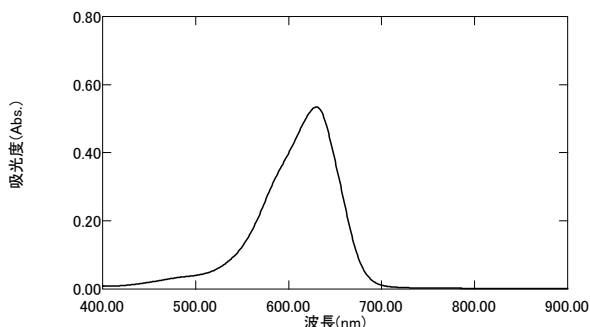


図4 TEMPO酸化CNFの上澄み溶液の吸収スペクトル

図4より、上澄み溶液は628 nmに吸収極大を示すことがわかります。この628 nmにおける吸光度値を用いて、表面官能基の定量が可能となります。

■表面官能基の定量

表面官能基の定量には式 (1) を用いて計算しました¹⁾。

$$S_{COOH} = \frac{(C_{TBO} \times 2 \times 10^{-3}) - \left(\frac{A_w}{\epsilon_w} \times 5 \times 10^{-2}\right)}{C_{CNF} \times v \times 10^{-3}}$$

$$= \frac{(C_{TBO} \times 0.2) - \left(\frac{A_w}{\epsilon_w} \times 5\right)}{C_{CNF} \times v} \times 10^4 \quad \dots (1)$$

Excellは、米国Microsoft Corporationの米国およびその他の国における登録商標または商標です。

ここで、 S_{COOH} はCNFの表面カルボキシ基量、 C_{TBO} は混合時のTBO溶液の濃度、 ϵ_w はTBO溶液のモル吸光係数、 C_{CNF} はCNF懸濁液の濃度、 v はCNF懸濁液の体積、 A_w は628 nmにおける吸光度を示します。本試料はカルボキシ基のみを持つ試料ですので、この計算で求められた表面全荷電基量が全カルボキシ基量に相当します。なお、計算には吸光度値や濃度を入力して簡便に定量可能なExcel[®]を用いて算出しました¹⁾。

紫外可視分光光度計を用いて測定した628 nmにおける吸光度値および上記計算式を用いて算出したカルボキシ基濃度 S_{COOH} を表2に示します。なお、測定および計算は繰り返し5回行いました。カルボキシ基濃度における、データのばらつきを表す指標の一つである変動係数 (CV) は0.0324であることがわかりました。

表2 定量結果

繰り返し回数	628 nmの吸光度値 (Abs)	S_{COOH} (mmol/g)
1	0.557	2.098
2	0.568	2.050
3	0.554	2.112
4	0.550	2.129
5	0.592	1.944
平均値		2.067
標準偏差 (SD)		0.067
変動係数 (CV) *		0.0324

*変動係数=標準偏差/平均値

■まとめ

トルイジンブルーO吸着法を用いてCNFの表面官能基の定量を行いました。紫外可視分光光度計とTBO溶液を用いることで、カルボキシ基量を簡便かつ迅速に定量することができました。この手法を用いることにより、CNFをベースとした製品の品質管理の効率化などが期待できます。

本アプリケーションの作成にあたり第一工業製薬株式会社 後居 洋介様には、試料のご提供など多大なるご協力をいただきました。心より感謝申し上げます。

<参考文献>

- 1) Jun Araki(2021),Cellulose vol. 28, 7707-7715(2021).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10570-021-04035-x>
- 2) Jun Araki(2022), Cellulose vol. 29, 8489-8490(2022)
- 3) Jun Araki, Minami Nakajima (2022), Cellulose vol. 30, 849-855 (2023)