

骨の模倣による高靱性複合材料の
開発を目指した有機高分子と
ヒドロキシアパタイトの複合化
(博士論文)

同志社大学大学院
理工学研究科 応用化学専攻
博士課程 (後期)

2020年度 1703番

奥田 耕平

第1章. 序論

1. バイオインスパイアード材料	1
2. 骨について	2
3. 骨から着想を得た複合材料	3
3.1. 有機高分子と HAP の複合化・成形方法	3
3.2. 親水性高分子と HAP の複合化	5
① コラーゲン	5
② キトサン	6
③ デンプン	6
④ アルギン酸	7
⑤ セルロース	7
⑥ ポリビニルアルコール	8
⑦ ポリアクリル酸	8
3.3. 脂溶性高分子と HAP の複合化	9
① ポリエチレン	9
② ポリ乳酸	9
③ ポリエチレンテレフタレート	10
④ ポリエーテルエーテルケトン	10
4. 先行研究のまとめと本研究の意義	10
5. 参考文献	12

第2章. リン酸化タピオカデンプンとヒドロキシアパタイトの複合化: リン酸基を介した有機-無機界面結合による複合体の機械的性質の向上

1. 緒言	16
2. 実験	17
2.1. 使用試薬	17
2.2. 測定機器	17
2.3. 実験方法	17
2.3.1. 共沈法による非糊化デンプンと HAP の複合化	17
2.3.2. 共沈法による糊化デンプンと HAP の複合化	18
2.3.3. 糊化 TS 粉末および PTS 粉末の調製	19
2.3.4. 複合体の収率	19
2.3.5. 複合体の無機重量分率	20
2.3.6. HAP の結晶子サイズ	20
2.3.7. 糊化 TS、PTS、また複合体粉末の成形	20
3. 実験結果及び考察	22

3.1. 複合体の収率	22
3.2. 複合体の無機重量分率	22
3.3. HAP の結晶子サイズ	24
3.4. 複合体の機械的性質	26
4. 結言	30
5. 参考文献	31

第3章. セルロースナノファイバーとヒドロキシアパタイトの複合化: マイナスに帯電したナノ繊維表面での結晶成長制御と配向性付与による複合体の機械的性質向上

1. 緒言	34
2. 実験	36
2.1. 使用試薬	36
2.2. 測定機器	36
2.3. 実験方法	36
2.3.1. 共沈法による TCNF と HAP の複合化と TCNF、HAP 単体の調製	36
2.3.2. 複合体の収率	38
2.3.3. 複合体の無機重量分率	39
2.3.4. HAP の結晶子サイズ	39
2.3.5. 複合体粉末の成形	39
3. 実験結果及び考察	41
3.1. 複合体の収率	41
3.2. 複合体の無機重量分率	42
3.3. HAP の結晶子サイズ	44
3.4. 複合体の機械的性質	47
3.5. 複合体の破壊	54
4. 結言	55
5. 参考文献	56

第4章. カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレートとヒドロキシアパタイトの共沈複合化: カルボキシ基を介した有機-無機界面結合の形成と疎水性主鎖骨格による複合体の耐水性向上

1. 緒言	59
2. 実験	61
2.1. 使用試薬	61
2.2. 測定機器	61

2.3. 実験方法	61
2.3.1. 共沈法による CPET と HAP の複合化	61
2.3.2. FT-IR 比較実験のための CPET ナトリウム塩の調製	63
2.3.3. 複合体の収率	63
2.3.4. 複合体の無機重量分率	63
2.3.5. HAP の結晶子サイズ	63
2.3.6. FT-IR 測定	64
2.3.7. CPET-HAP 複合体粉末の成形および複合体成形物の機械的性質	64
2.3.8. 複合体成形物の耐水性	65
3. 実験結果及び考察	65
3.1. 複合体の収率	65
3.2. 複合体の無機重量分率	66
3.3. HAP の結晶子サイズ	67
3.4. FT-IR 測定	70
3.5. 複合体成形物とその機械的性質	72
3.6. 複合体の耐水性	77
4. 結言	86
5. 参考文献	87
第 5 章. リン酸化タピオカデンプン-ヒドロキシアパタイト複合体のアシル化: 有機-無機界面結合形成と疎水性アシル基導入による耐水性向上	
1. 緒言	91
2. 実験	93
2.1. 使用試薬	93
2.2. 測定機器	93
2.3. 実験方法	93
2.3.1. 共沈法による IC _{feed} : 50、70 wt% の PTS-HAP 複合体の合成	93
2.3.2. PTS-HAP 複合体のアシル化	94
2.3.3. 複合体の無機重量分率とアシル化度	95
2.3.4. FT-IR における吸光度のピーク強度比	96
2.3.5. 複合体粉末の成形及び三点曲げ試験と耐水性試験	96
3. 実験結果	97
3.1. ビニルカルボキシレートによるアシル化とアシル化による PTS-HAP 複合体の重量変化	97
3.2. 複合体の熱的性質と無機重量分率から算出されたアシル化度	98
3.3. FT-IR の吸光度ピーク強度比から評価された複合体のアシル化の進行	101

3.4. アシル化複合体の機械的性質	104
3.5. 複合体の耐水性	107
4. 結言	111
5. 参考文献	112
第 6 章. カルボキシメチルセルロースと HAP の共沈複合化: 水溶性を活かした分子レベルでの HAP との複合化による機械的性質強化	
1. 緒言	115
2. 実験	117
2.1. 使用試薬	117
2.2. 測定機器	117
2.3. 実験方法	117
2.3.1. CMC と HAP の共沈複合化	117
2.3.2. 複合体の無機重量分率	118
2.3.3. HAP の結晶子サイズ	119
2.3.4 複合体粉末の成形及び三点曲げ試験	119
3. 実験結果及び考察	120
3.1. 複合体の収率	120
3.2. 複合体の無機重量分率	121
3.3. HAP の結晶子サイズ	123
3.4. 複合体の機械的性質	128
4. 結言	138
5. 参考文献	139
第 7 章. 総括	142
謝辞	148

第1章. 序論

1. バイオインスパイアード材料

石油枯渇や地球温暖化、海洋ゴミなど、様々な環境問題が深刻化している近年、持続可能な発展を目指す社会の実現にむけて、人や環境に優しく、かつ、優れた機械的性質をもつ材料の開発が注目されている。そのような材料として、すでに軽合金[1]や炭素繊維強化プラスチック[2]などの軽くて丈夫な低燃費材料が盛んに研究・開発されており、車や飛行機や建造物等に利用されている。しかし、これらの原料は貴重な金属資源や石油であり、かつ、その製造には高温・高圧などの激しい条件が必要とされるため、製造コストに懸念がある。一方で、地球上に豊富に存在する植物資源から得られるセルロースやリグニン、キチン・キトサン、デンプンなどから高強度なバイオマスプラスチックを開発する研究[3-7]も注目され始めているが、車や飛行機、建造物等の強度が必要とされる構造材料としては、その機械的性質は未だ十分ではない。

以上のように、現在製造されている材料には、未だに製造コストや性質等において、様々な課題が残されている。そこで、近年注目を集め始めているのが、骨や歯、貝殻に代表される「生体鉱物」から着想を得たバイオインスパイアード材料である[8]。生体鉱物は、タンパク質や多糖類などの有機高分子と、カルシウム・リン・鉄・ケイ素等を成分とした無機結晶からなる有機-無機複合体である。地球上に豊富に存在する資源から極めて穏やかな条件で生成されるにも関わらず、バイオミネラリゼーションによって規則的に有機層と無機層が配列・結合した構造をとり、有機高分子の柔軟性と無機結晶の剛直性の両方を併せ持つ。そのため、プラスチックのように容易に変形することもなければ、セラミックスのように脆性的に破壊されることなく、金属のような高い靱性を示す[9,10]。このような生体鉱物のナノ構造やその生成機構から着想を得て、有機高分子と無機結晶を様々な手法で複合化し、人工的に生体鉱物に匹敵、あるいはそれ以上の機能をもった材料を開発することが世界レベルで重要視され始めている。

Materials that is environment friendly with excellent mechanical properties

- **Light and durable fuel-efficient materials** (light alloys, carbon fiber reinforced plastics, etc.): **High cost**
- **Biomass plastics** (Cellulose, lignin, polylactic acid, etc.): **Less rigid**

Biological substances (Bones, teeth, shells, etc.):

- ① Generated under **mild conditions from biomass**
- ② **Small burden** on people and the environment
- ③ **Excellent mechanical properties**



➡ **Biomass derived structural materials via biomimetic approach**



Fig. 1. Significance of bioinspired materials compared with conventional materials

2. 骨について

最も身近な生体鉱物の 1 つとして、我々の体を支え、外力から内臓を保護している「骨」が挙げられる。骨の構造については、Barthelat らの総説[11]、骨の機械的性質については、Wagner の総説[12]で述べられている。また、コラーゲン繊維と HAP の界面については、Stock の総説[13]で解説されている。骨の表面は、緻密で高強度な皮質骨からなり、その内部はスポンジ状で柔軟な海綿骨からなっており、優れた軽量性と機械的性質の両方を実現している。骨の微視的なマイクロ構造は、その他生体鉱物と同様、有機層と無機層が規則正しく配列している。骨は、Fig. 2 のように、タンパク質とヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: HAP) からなる有機-無機ナノ複合体である。骨の組成は、HAP が 60%、タンパク質が 20%、水が 10%である。骨のタンパク質は、コラーゲン繊維と僅かな非コラーゲン性タンパク質からなる[11]。

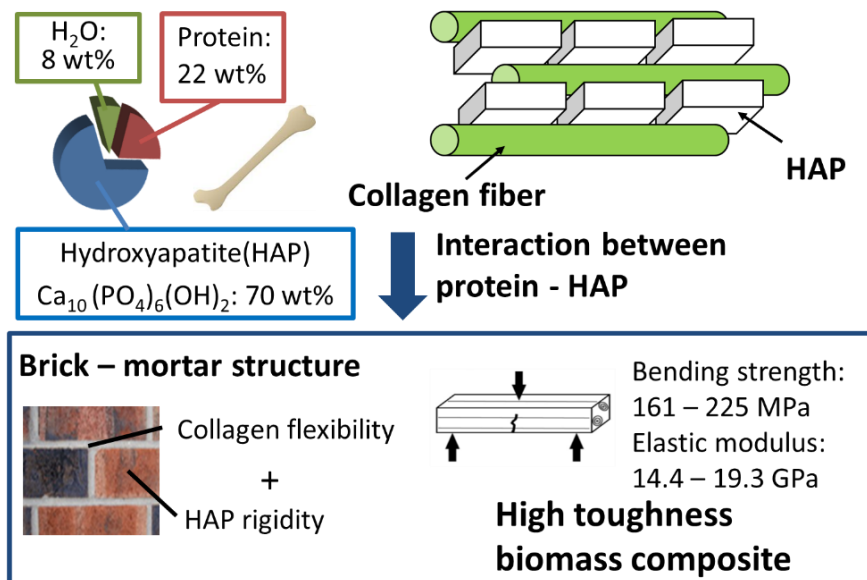


Fig. 2. Biomaterialization mechanism and brick-mortar structure of bones.

コラーゲンは、脊椎動物で最も多いタンパク質で、張力に対して強い不溶性繊維を形成する。骨に含まれるのは、I型コラーゲンで、分子量が約 258,000、太さ 1.23 nm、長さ 300 nm の 3 本のポリペプチド鎖から成る繊維構造をとっている。コラーゲンには、軟骨などに含まれるII型コラーゲン、血管に含まれるIII型コラーゲンなどが知られている。コラーゲンのアミノ酸組成は、3分の1がグリシン、15-30%がプロリンもしくは、4-ヒドロキシプロリンである[13]。非コラーゲンタンパク質は、カルボキシ基、リン酸基などを多くもつ。また、HAP は、六方晶型の結晶子からなり、 $a \cdot b$ 面はカルシウムカチオンが露出するため正に帯電しており、 c 面はリン酸アニオンが露出するため、負に帯電している[12]。コラーゲン繊維と HAP はナノレベルで規則正しく配列した「レンガ-モルタル構造」を形成しており、生成される HAP の結晶の形状は、 $50 \text{ nm} \times 25 \text{ nm} \times 1 \sim 4$

nm の板状結晶であり、その単位質量当たりの表面積は 210 m²/g である[12]。これは、ゼオライトやその他触媒に匹敵するほどの高比表面積であり、タンパク質と HAP の有機-無機界面相互作用がより広く形成される。ゆえに、骨は、タンパク質の柔軟性と、HAP の剛直性の両方を併せ持ち、優れた靱性を示す。その曲げ強度は、骨幹軸に対して垂直にかかる応力に対しては 161-225 MPa[14]であり、弾性率についても、5-22 GPa[15]と大きく、ガラス繊維で強化された石油由来エンジニアリングプラスチックをも凌ぐ機械的性質を示す。

3. 骨から着想を得た複合材料

3.1. 有機高分子と HAP の複合化・成形方法

骨のナノ構造や生成機構から着想を得て、骨のような、あるいは骨以上に優れた性質をもつ複合体を合成することは、自動車や建造物などの構造材料のみならず、人工骨や人工歯根などのバイオマテリアルへの活用や、骨の生成機構のさらなる解明など、様々な意義がある。これまで行われてきた有機高分子と HAP の複合化の研究は様々であるが、着目すべき点は Fig. 3 に示す①有機高分子の種類、②複合化方法、③成形方法の3点である。

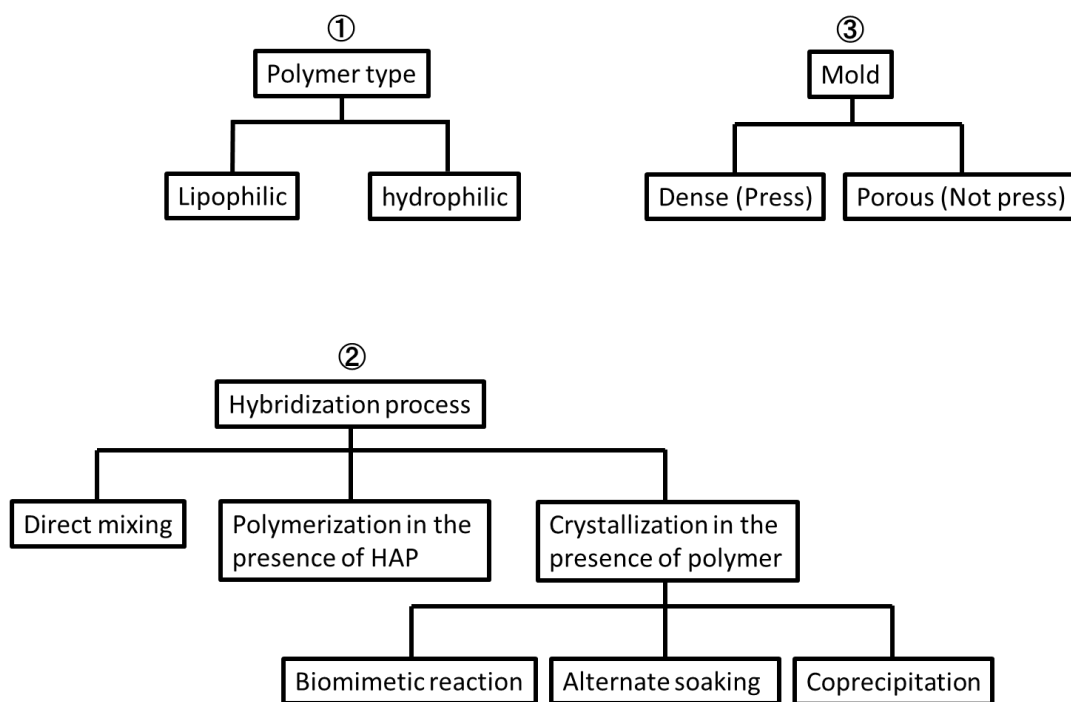


Fig. 3. Three protocols of synthesis of polymer-HAP composites.

①有機高分子の種類については、骨の有機主成分であるコラーゲンから始まり、コラーゲンを変性したゼラチン、キチンの脱アセチル化で得られるキトサン、またはデンプ

ン、セルロース、アルギン酸、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸などの親水性高分子、さらにはポリ乳酸やポリエチレン、ポリエーテルエーテルケトンなどの脂溶性高分子など、様々な有機高分子と HAP の複合化が行われてきた。

②複合化方法は、有機高分子と HAP を熔融、あるいは溶解させた状態で混練する物理的手法、また、化学的手法として、HAP 粒子存在下でモノマーを重合させ、より HAP と有機高分子を均一に複合化する方法、その逆に、共沈法[16]や交互浸漬法[17]、生体疑似液を用いた生体模倣反応[18]などに代表される、有機高分子存在下で HAP を結晶化させる複合化方法などが挙げられる。骨は、コラーゲン繊維の間隙でカルシウムイオンとリン酸イオンが反応し、非晶質のリン酸カルシウムが生成し、これが結晶化してヒドロキシアパタイトになることがわかっている。したがって、最もバイオミネラリゼーションに近い複合化方法は最後に述べた手法である。すでに Stupp らによって、バイオミネラリゼーションを模倣した有機高分子と HAP の複合化は総説が書かれている[18]。どのような複合化方法を選択するかは、有機高分子が水溶性か脂溶性であるかによって大きく分かれる。HAP は基本的に水溶液中で結晶化されるため、脂溶性高分子と HAP の複合化においては、混練法や HAP 粒子存在下でのモノマーの重合などによる複合化が行われ、水溶性高分子の場合は高分子が溶解あるいは分散した水溶液中での HAP の結晶化などの複合化が行われることが多い。

③成形方法は、得られた複合体をペースト状にし、これを鋳型に詰め込み、④そのまま乾燥させる方法と、⑤一軸加圧や等方圧成形、あるいは射出成型など、温度や圧力を加えて成形する方法に大別出来る。④の鋳型内での乾燥のみで得られた複合体の成形物は、内部に空隙が多く存在する多孔体となる。密に成形されていない分、圧縮成形や射出成型で得られたものとは比べて強度や弾性率は低いが、柔軟性に優れている。骨の内部を構成するスポンジ状の海綿骨に代わる人工骨、あるいは、エアロゲルなどの超軽量材料などの開発を目指した研究では、この成形方法が用いられることが多い。内部に空隙が多い分、生体内において体液や細胞の行き来がしやすく、ゆっくりと骨に置換される人工骨の開発としては、最も利用される成形方法と言える。対して、⑤の圧縮成形や射出成型によって得られたものは、空隙が少なく、密になっているため、強度や弾性率が大きい材料が得られやすい。

以上のおり、有機高分子と HAP の複合化の手段は多種多様であり、目的に応じて用いる高分子、複合化方法、成形方法を選択する必要がある。上記①で述べた各有機高分子について、HAP の複合化の先行研究の代表的なものを以下に記述する。以下に述べる主な高分子の構造を Fig. 4 に示す。

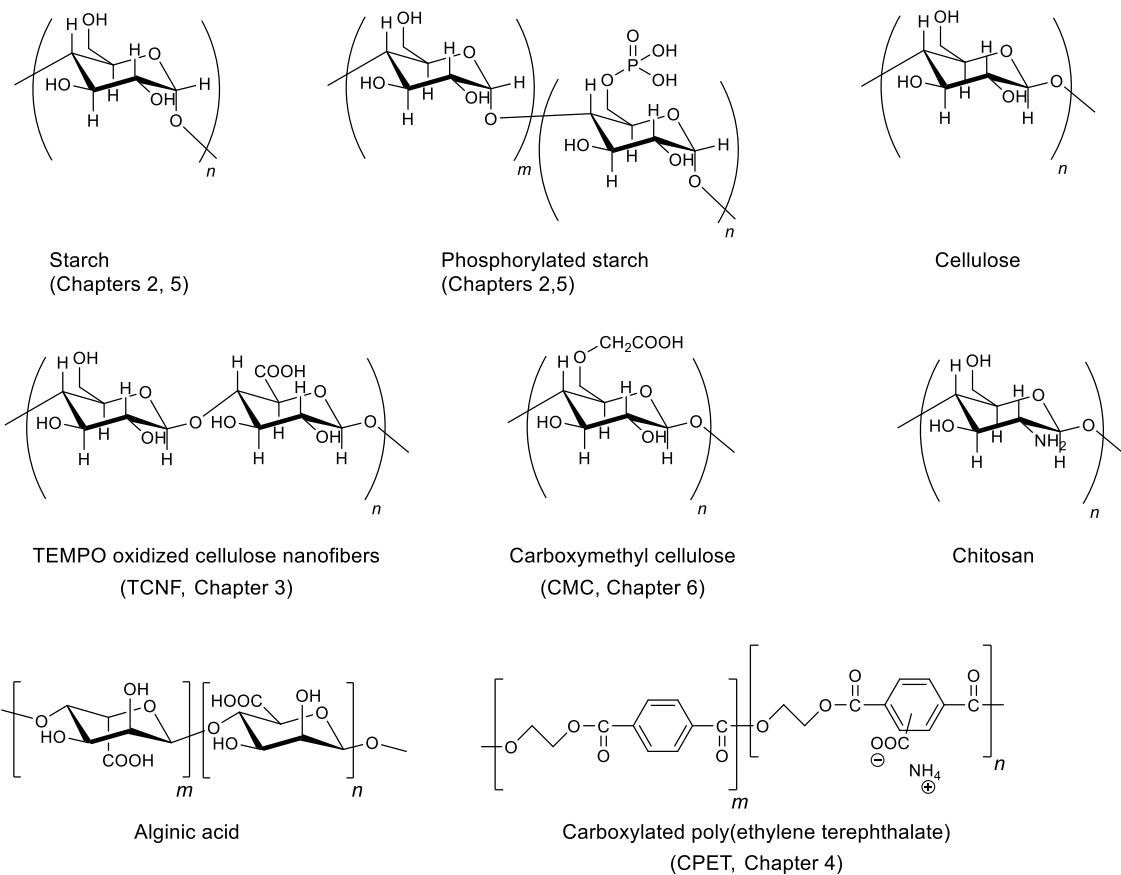


Fig. 4. Structures of the polymers employed in hybridization with hydroxyapatite.

3.2. 親水性高分子と HAP の複合化

① コラーゲン

骨の有機主成分はコラーゲンであることから、コラーゲン存在下での HAP の結晶化による複合化の研究は盛んに行われてきた。その中でも最も代表的な研究の 1 つとして、2001、また 2004 年に報告された菊池・田中らの共沈法によるコラーゲンと HAP の複合化が挙げられる[20, 21]。コラーゲンをリン酸水溶液中で分散させながら水酸化カルシウム分散液と 25、30、35、40 °C、また pH 7, 8, 9 で混合することで、コラーゲンと HAP の共沈複合化が行われた。得られた複合体の粉末を一軸加圧成形してから 200 MPa で 16 時間の冷間等方圧プレスで成形し、三点曲げ試験を行ったところ、曲げ強度は pH 9, 40 °C のときに最も大きくなり、その値は 40 MPa であった。ちなみに、このときの HAP の重量分率は 80 – 95 wt% であった。実際の骨の曲げ強度は、骨間軸に垂直にかかる応力に対して示す値は 161 -225 MPa[14]であり、この値と比較すると、決して骨に匹敵する材料が得られたとは言い難い。しかし、この研究では XRD によってコラーゲンのカルボキシ基と HAP のプラスに帯電した *a* 面が相互作用することで針状 HAP とコラーゲンの配向による機械的性質の向上が明らかにされた。2013 年に、Li ら[22]は、リ

ン酸化コラーゲンを疑似体液中に 37 °C で 10 日間浸漬させることで HAP と複合化し、非リン酸化コラーゲンと HAP の複合体の曲げ強度 32 MPa よりも大きい 45 MPa まで向上することを報告している。このことから、有機-無機界面結合を形成できる官能基の導入によって、複合体の機械的性質は向上することがわかった。

② キトサン

キチンの N-アセチル基を加水分解することによって得られるキトサンと HAP の複合化の研究は非常に多い。キトサンは純水に溶かすことはできないが、希酢酸などの酸性水溶液には溶解することが可能であるため、セルロースなどの水に溶解しない多糖類と比べると HAP との複合化が行いやすい多糖類の 1 つである。キトサンと HAP の複合化とその機械的性質について代表される先行研究の 1 つとして、2005 年に報告された Yubao ら[23]の研究が挙げられる。キトサンを 2 %酢酸水溶液に溶解し、室温でリン酸水溶液と水酸化カルシウム分散液を加え共沈複合化し、これを 2 日間熟成したのち、得られた複合体ペーストを鋳型で形にしてから 3 時間凝固剤中に浸漬させ、これを乾燥させることで複合体成形物を得た。HAP の重量分率 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100 wt%のものが合成され、70 wt%のものが最も圧縮強度が大きく、その値は 120 MPa であった。また、2012 年に Fang ら[24]は、キトサンの膜をカルシウムイオン水溶液、リン酸イオン水溶液、キトサン水溶液それぞれに浸漬を繰り返す、交互浸漬法でキトサンと HAP の複合化を行い、その圧縮強度は HAP の無機重量分率 50-70 wt%のときに最大となり、その値は先行研究を超える 170 MPa であった。このことから、単純な共沈法よりも、高分子表面上のみで HAP 結晶化させる複合化方法の方が、余分な HAP 単体を生成することなく、高分子-HAP 界面結合が形成された複合体を合成でき、機械的性質が向上することが考えられる。また、膜にすることでキトサンは配向し、その状態で HAP と複合化することで、より骨のような高配向の複合体が得られ、機械的性質もより強靱になったものと考えられる。さらに、2012 年に Zhang ら[25]は、Fang らと同様の浸漬法によってキトサン膜と HAP を複合化してから、これを、トリポリリン酸-リン酸三ナトリウム溶液中でキトサンを架橋することにより、曲げ強度 133 MPa の複合体の合成の成功を報告している。架橋構造の形成が複合体の機械的性質を向上させることを見出した。

③ デンプン

デンプンと HAP の複合化も盛んに行われており、2017 年に Miculescu らによって総説が書かれている。しかし、その多くはデンプン存在下での HAP の結晶成長について確認・評価したものであり、機械的性質を測定したものは少ない。また、その機械的性質も、現在報告されているものでは、キトサンやコラーゲンと HAP の複合体と比べ、低い圧縮強度を示している。例えば、2018 年 Koski ら[26]は、コーンスターチが糊化した水溶液中で HAP を分散させることでペーストを得て、3D プリンターによって得られ

た成形体の機械的性質について報告している。コーンスターチの重量分率が 3、5 wt% の HAP 複合体のうち、5 wt% のもののほうが、圧縮強度が大きく、その値は 10 MPa であった。このことから、デンプンの添加量を大きくするほど、複合体の機械的性質は向上すると結論付けられている。また、2015 年には、Shakir ら[27]によって、キトサンと HAP の共沈複合体にデンプンを配合することによって、圧縮強度が 5 MPa から 9 MPa まで向上することが報告されている。どちらの研究においても、HAP 同士、また、HAP と有機高分子を接着させるバインダーとしてデンプンは機能し、これは、デンプンがもつ熱水糊化性から由来するものと考えられる。

④ アルギン酸

アルギン酸はカルボキシ基を多く持つ多糖類であり、各単糖ユニットに 1 つずつカルボキシ基が存在するため、カルシウムカチオンなどの多価カチオンと反応することで物理ゲル化する。このようなカルボキシ基とカルシウムカチオンの反応を利用した HAP との複合化も行われてきたが、その多くはアルギン酸のゲル化を利用したドラッグデリバリーシステムのカプセルの開発や、アルギン酸存在下での HAP の結晶成長の確認と評価であり、機械的性質を評価したものはほとんどない。力学的特性に注目した研究としていくつか挙げられるものの 1 つとして、2015 年の Kim らの研究[28]がある。アルギン酸とキトサンと HAP を水溶液中で混合することで、アルギン酸のカルボキシ基が HAP、そして、キトサンのアミノ基のどちらとも相互作用し、アルギン酸を介してキトサンと HAP が結合した複合体を合成した。HAP の重量分率 70 wt% のときに圧縮強度は 13 MPa まで向上しており、この値は同様の条件で複合化・成形したキトサン-HAP 複合体よりも高い値を示していることから、キトサンと HAP の複合化において、アルギン酸はより両者を強く結合させるバインダーとしての利用が期待されると結論づけられている。

⑤ セルロース

セルロースは地球上に最も豊富に存在する植物由来多糖類であり、このセルロースから優れた材料を開発できれば、これからさらに重要視される持続可能な開発目標、SDGs の貢献に繋がる。セルロースと HAP の複合化の研究も盛んに行なわれているが、その機械的性質についてまとめられた代表的な研究の 1 つとして、2019 年に Ingole らによって報告された研究成果[29]が挙げられる。セルロースナノクリスタル、また、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー(TCNF)をリン酸水素二アンモニウムと水酸化カルシウムが溶解・分散した水溶液中で超音波処理することで HAP とそれぞれ共沈複合化し、得られた各粉末を一軸加圧成形した結果、セルロースナノクリスタルよりも、TEMPO 酸化セルロースナノファイバーと HAP の複合体の方が機械的性質は向上し、圧縮強度は 150 – 200 MPa であった。セルロースナノクリスタルよりも TEMPO 酸化セルロース

ナノファイバーの方が繊維状でアスペクト比も高く、HAP との接触面積が大きく、さらに、HAP と結合できるカルボキシ基を有していることから、より強靱な複合体が合成されたと結論づけられている。

⑥ ポリビニルアルコール

ここまではタンパク質や多糖類などの自然由来の親水性ポリマーを挙げてきたが、石油由来の親水性ポリマーと HAP の複合体も盛んに行われている。ポリビニルアルコール PVA と HAP の複合体で代表的な研究として、2008 年に報告された Pramanik らの研究[30]が挙げられる。リン酸化 PVA と HAP を水溶液中で混合することで、HAP の重量分率が 10 – 60 wt%の複合体が合成され、その引張強度は 13 – 26 MPa であり、HAP が多くなるほど機械的性質の向上が見られた。一般的に、高分子に対して HAP の量が増えるほど、均一に複合体化することが難しくなり、機械的性質は低下する。対して、このリン酸化 PVA は HAP の量が増大するほど機械的性質も向上しており、リン酸基と HAP の強力な結合が複合体の機械的性質を向上させるものと結論づけられている。石油由来ポリマーは地球温暖化や石油枯渇、海洋プラスチックゴミ問題などの懸念が多いが、自然由来ポリマーと違い、重合度や官能基の種類や量の調整が可能であるため、さらなる機能の向上などを検討するとき、魅力的な材料である。

⑦ ポリアクリル酸

ポリアクリル酸 PAA も石油由来ポリマーであるが、カルボキシ基を多くもち、カチオン性のイオンや高分子と相互作用を形成しやすいという点で、アルギン酸と類似する部分がある。ポリアクリル酸と HAP の複合体で代表的な研究として、2006、2015 年に報告された岩坪らの研究[31]が挙げられる。岩坪らは、PVA-PAA、キトサン-PAA、ゼラチン-PAA、HEMA-PAA ゲルをそれぞれ合成し、これをカルシウムカチオン水溶液、リン酸アニオン水溶液に交互に浸漬することで HAP と複合体化した。その中で最も引張強度が向上した複合体は PVA-PAA ゲル (HAP の重量分率 65 wt%) であり、その値は 80 MPa であった。

また、親水性高分子と HAP の複合体の先行研究において、最も高い引張強度をもつ複合体の合成に成功した研究として、2018 年に報告された Zhu らの研究[32]がある。Zhu らは、180 °C で 24 時間圧力容器中でリン酸水素二ナトリウム、塩化カルシウム、水酸化ナトリウムを反応させることで、長さ数百 μm 、直径 10 nm の非常に長く、アスペクト比の大きい HAP 結晶を合成した。この HAP 繊維を PAA と水溶液中で混合させてから、シリンジからゆっくりと無水エタノール中に導入することで、PAA-HAP 複合体繊維を合成した。HAP の重量分率が 20 wt%のとき、引張強度は 200 MPa 以上まで向上し、弾性率も 25 GPa と非常に高く、今までの先行研究はもちろん、十分骨に匹敵する機械的性質を有していた。

3.3. 脂溶性高分子と HAP の複合化

① ポリエチレン

最も古くに行われた脂溶性高分子と HAP の複合化の研究として、1981 年に報告された Bonfield らの研究[33]が挙げられる。HAP の体積分率 0 – 0.6 のポリエチレン PE と HAP の複合体を混練により合成し、その弾性率を測定すると、HAP の体積分率の増加とともに 1–12 GPa まで直線的に増加した。複合体の弾性率は混合則に従うことがわかったので、優れた熱可塑性を有する脂溶性ポリマーと HAP の混練による複合化の場合、有機/無機分率を調整することで、複合体の弾性率を容易に調整できることが初めて見出された。

② ポリ乳酸

ポリ乳酸は、デンプンの発酵によって得られる乳酸を重合することで得られるバイオマスポリマーであり、バイオマスでありながら熱可塑性を有するため、従来の石油由来プラスチックに代わる環境に優しい材料として期待されている。このポリ乳酸と HAP の複合化も盛んに行われている。

1992 年に、De Groot ら[34]は、HAP とモノマーの L-ラクチドを混合してから、これを重合することで、ポリ乳酸-HAP 複合体を合成している。無機重量分率が 0、30、50 wt%の複合体を合成したところ、それぞれ引張強度は 21.8、30.8、10.3 MPa であり、30 wt%のものが最も高い値を示した。このことから、各高分子、また、各複合化・成形方法において、適切な有機/無機重量分率が存在することがわかった。また、これらの複合体を山羊の体内、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で 3 週間浸漬させたところ、曲げ強度は 50 wt%まで低下した。このように水に接触させると機械的強度が低下するのは、この複合体のみで観測された現象ではなく、特に、先述した親水性高分子と HAP の複合体は、高湿度下や浸水によって構造が崩壊したり、機械的性質が低下したり、何かしらの化学処理を施さない限り、耐水性はかなり低い。ポリ乳酸やその他の脂溶性高分子は疎水性が高いため、その複合体も耐水性が高いものと一見考えられるが、脂溶性高分子は HAP と結合できるカルボキシ基やヒドロキシ基などの極性の高い官能基を持たないため、有機-無機界面の結合が形成しにくい。また、HAP の表面は正・負に帯電しているため、親水性が高い。ゆえに、相互作用を形成していない有機-無機界面に水が浸入しやすく、そこから構造の崩れが起こり、機械的性質も低下する。すなわち、複合化する高分子の疎水性が高くても、必ずしも複合体の耐水性が向上するとは限らないことが明らかにされた。

2001 年に春日ら[35]もポリ乳酸と HAP の複合化について報告している。ポリ乳酸をジクロロメタンに溶解した状態で HAP と混合し、得られた沈殿物を 180 °C、40 MPa で一軸加圧成形したところ、HAP の重量分率が 0–60 wt%まで大きくなるにつれて、曲げ

弾性率も 5 – 10 GPa まで向上した。ポリエチレン同様に、ポリ乳酸の場合でも、有機/無機分率によって複合体の機械的性質をコントロールできることが見出された。

③ ポリエチレンテレフタレート

ポリエチレンテレフタレート PET と HAP の複合化とその機械的性質の研究として最も代表的なものは、2008 年に Siriphannon らによって報告された研究[36]が挙げられる。HAP の粉末と環状オリゴエチレンテレフタレートをジクロロメタン溶液で混合し、鋳型内で 250°C で 24 時間、真空下で開環重合により PET が生成させることで HAP と複合化した。HAP 単体の圧縮強度は 8 MPa であったのに対して、HAP の重量分率が 50、60 wt%の複合体の圧縮強度は、それぞれ 29 MPa、17 MPa であり、機械的性質が向上することが見出された。この値は先行研究のキトサンと HAP の複合体と比べて低い。ポリエチレンやポリ乳酸、PET などの脂溶性高分子は、タンパク質や多糖類のように極性の高い官能基をもたないため、HAP と有機-無機界面の結合を形成しにくく、機械的性質も向上しにくいと考えられる。

④ ポリエーテルエーテルケトン

脂溶性高分子とヒドロキシアパタイトの複合化において、最も機械的性質の高い複合体の合成に成功した研究として、2020 年に J. Ma らによって報告されたポリエーテルエーテルケトン PEEK と HAP の複合化が挙げられる[37]。PEEK と HAP を混練により複合化し、これをホットプレスにより成形したところ、PEEK 単体よりも、HAP が 6.5、14.5 wt%の複合体の方が曲げ強度が向上し、PEEK 単体の曲げ強度 139 MPa から 143 MPa、155 MPa に増加した。PEEK はプラスチックの中でもとくに優れた機械的性質をもつため、HAP との複合体も他の高分子と比べてより高い機械的性質をもつものと想像できる。この複合体の HAP の重量分率は、実際の骨と比べてかなり小さく、HAP が PEEK を強化できるフィラーとして機能するかを確かめた研究と言える。ヒドロキシ基やカルボキシ基などの極性官能基を多く持つ親水性高分子は、HAP とより多く相互作用を形成できるため、HAP の重量分率が高くなっても、比較的強度は保たれる、あるいは向上するが、極性官能基を持たない脂溶性高分子については、HAP と相互作用を形成することが難しいため、骨の組成のように、あまりにも HAP が多すぎると、機械的性質、さらには耐水性も低下するものと考えられる。

4. 先行研究のまとめと本研究の意義

先行研究を俯瞰すると、ヒドロキシ基やカルボキシ基、リン酸基などの HAP と相互作用できる極性官能基をもつ有機高分子ほど、複合体の機械的性質がより向上する傾向にある。また、共沈法よりも、配向した高分子膜を交互浸漬法によって HAP と複合化する手法の方が、余分な HAP の生成が抑えられ、複合体の機械的性質も向上しやすい。

そして、一軸加圧成形ではなく、シリンジからの射出などの配向性を高める成形方法の方が、複合体の機械的性質は向上した。しかし、構造材料には、大量生産可能な優れた生産性が求められる。これらの複合化方法や成形方法は、共沈法や一軸加圧成形と比べて製造コストがかかる。簡易さ、製造コストの点においては、共沈法と一軸加圧成形が最も優れた複合化・成形プロセスと言える。

よって、本研究では、共沈法からより優れた機械的性質を持つ材料を開発することを目指し、植物資源から得られるデンプンやセルロースに、化学修飾によってリン酸基やカルボキシ基を導入し、これらを様々な条件で HAP と共沈複合化した。得られた共沈複合体粉末の無機重量分率や HAP の結晶性、高分子の結合状態を熱重量分析や X 線回折、フーリエ変換赤外分光法によって評価することで、高分子の化学修飾や共沈条件によって、有機-無機界面結合の形成がどのように変化するかを明らかにした。そして、これら複合体粉末を簡易な一軸加圧によって成形し、これらの機械的性質を三点曲げ試験によって評価することで、複合体の有機-無機界面結合の形成と機械的性質の関係を確かめた。また、複合体の機械的性質だけではなく、耐水性の向上も目指した。実際の骨は、親水性基を持つタンパク質と、表面が正・負に帯電している HAP で構成されているにも関わらず、水分量の多い体内においても吸水によって膨潤・崩壊することはない。コラーゲン繊維には、有機-無機界面結合を形成する親水性基だけではなく、プロリン、グリシン、アラニンなどの疎水性部分も存在する。これらの疎水性アミノ酸残基は合計 63 mol % 含まれており、コラーゲン繊維は親水性基と疎水性基の両方を併せ持つ両親媒性ポリマーと言える[38]。このことから、親水性基は HAP との結合形成による靱性の向上、疎水性基は有機-無機界面への水分子の侵入の制御を担っており、このようなコラーゲン繊維の親水/疎水バランスが骨に優れた靱性と耐水性の両方を付与しているものと考えられる。さらに、HAP 表面には、 4 nm^2 あたり 1 分子の割合でクエン酸が結合し、HAP 表面を疎水化されていることが明らかにされており、HAP 表面の修飾が骨の耐水性を高めているものと考えられる[39]。よって、本研究では、ただの疎水性ポリマーではなく、親水性基と疎水性基の両方を持ったポリマーと HAP の複合化、また、親水性ポリマーと HAP の複合体へ疎水性官能基を導入する化学修飾などを行い、有機-無機界面結合の形成と疎水性基の両立が、複合体の耐水性をどのように向上させるかを明らかにすることを目指した。

第 1 章では、本研究の背景や目的を述べた。第 2 章では、リン酸化タピオカデンプン (PTS) と HAP の共沈複合化を行った。タピオカデンプンのリン酸基の有無、HAP との共沈時のデンプンの糊化状態、複合体の無機重量分率によって、複合体の有機-無機界面結合の形成やその機械的性質がどのように変化するかを明らかにした。第 3 章では、ナノ繊維表面にカルボキシ基が導入された TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) と HAP の共沈複合化を行った。TCNF をリン酸アニオンと分散させた状態でカルシウムカチオンを加えるか、TCNF をカルシウムカチオンで架橋した状態でリン酸

アニオンを加えるか、また、そのときの共沈温度や複合体の無機重量分率、また、TCNFのナノファイバーの会合状態によって、複合体の有機-無機界面結合や複合体の機械的性質がどのように変化するか、第2章の分岐構造のPTSの結果と照らし合わせながら明らかにした。第4章では、耐水性の高い骨模倣複合材料の開発を目指し、両親媒性をもつカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) と HAP を共沈複合化した。共沈温度や熟成温度、複合体の無機重量分率によって、CPETの加水分解の起こりやすさや、有機-無機界面結合の形成、複合体の機械的性質及び耐水性がどのように変化するかを明らかにした。第5章では、第2章で合成したPTS-HAP複合体をアシル化することで、複合体の耐水性向上を目指した。PTS-HAP複合体の無機重量分率やアシル化温度、アシル基の種類によって、複合体の機械的性質や耐水性がどのように変化するかを確かめ、有機-無機界面結合と疎水性の両立できる最適なアシル化プロセスを明らかにした。第6章では、より高強度な骨模倣バイオマス複合体の合成を目指し、カルボキシ基を多く含むカルボキシメチルセルロース (CMC) と HAP の共沈複合化を行った。CMCをリン酸アニオンと溶解させた状態でカルシウムカチオンを加えるか、CMCをカルシウムカチオンと架橋させた状態でリン酸アニオンを加えるか、また、共沈時の高分子濃度や温度によって複合体の機械的性質がどのように変化するかを明らかにした。

第7章では、総括として、本研究で得られた知見や今後の課題について述べた。

5. 参考文献

- [1] Kumar, D.; Phanden, K. R.; Thakur, L. A review on environment friendly and lightweight Magnesium-Based metal matrix composites and alloys. *Mater. Today Proc.* 2021, 38, 359–364.
- [2] Hegde, S.; Shenoy, B. S.; Chethan, K.N. Review on carbon fiber reinforced polymer (CFRP) and their mechanical performance. *Mater. Today Proc.* 2019, 19, 658–662.
- [3] Wang, Q.; Cai, J.; Zhang, L.; Xu, M.; Cheng, H.; Han, C. C.; Kuga, S.; Xiaoe, J.; Xiaoe, R. A bioplastic with high strength constructed from a cellulose hydrogel by changing the aggregated structure. *J. Mater. Chem. A* 2013, 1, 6678–6686.
- [4] Zhou, S.-J.; Wang, H.-M.; Xiong, S.-J.; Sun, J.-M.; Wang, Y.-Y.; Yu, S.; Sun, Z.; Wen, J.-L.; Yuan, T.-Q. Technical Lignin Valorization in Biodegradable Polyester-Based Plastics (BPPs). *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2021, 9, 36, 12017–12042.
- [5] Wu, Q.; Mushi, N. E.; Berglund, L. A. High-Strength Nanostructured Films Based on Well-Preserved α -Chitin Nanofibrils Disintegrated from Insect Cuticles. *Biomacromolecules.* 2020, 21, 604–612.
- [6] Cui, C.; Shao, C.; Meng, L.; Yang, J. High-Strength, Self-Adhesive, and Strain-Sensitive Chitosan/Poly(acrylic acid) Double-Network Nanocomposite Hydrogels Fabricated by Salt-Soaking Strategy for Flexible Sensors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2019, 11, 42, 39228–39237.
- [7] Zhang, H.; Su, Z.; Wang, X. Starch-Based Rehealable and Degradable Bioplastic Enabled by

- Dynamic Imine Chemistry. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2022, 10, 26, 8650–8657.
- [8] Nakayama, M.; Kato, T. Biomimetic Colloidal Liquid Crystals: From Assembly of Hybrids Comprising Inorganic Nanocrystals and Organic Polymer Components to Their Functionalization. *Acc. Chem. Res.* 2022, 55, 1796–1808.
- [9] Iwase, K.; Mori, K. Crystal Structure, Microhardness, and Toughness of Biomimetic CaCO_3 . *Cryst. Growth Des.* 2020, 20, 3, 2091–2098.
- [10] Lei, Q.; Guo, J.; Kong, F.; Cao, J.; Wang, L.; Zhu, W.; Brinker, J. C. Biomimetic Cell Silicification: From Extracellular to Intracellular. *J. Am. Chem. Soc.* 2021, 143, 17, 6305–6322.
- [11] Barthelat, F.; Yin, Z.; Buehler, J. M. Structure and mechanics of interfaces in biological materials. *Nature Rev. Mater.* 1, 2016, 16007.
- [12] Weiner, S.; Wagner, D. H. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations. *Annual Rev. Mater. Sci.* 1998, 28, 271–298.
- [13] Stock, S. R. The Mineral-Collagen Interface in Bone. *Calcif Tissue Int.* 2015, 97, 262–280.
- [14] Albert, C.; Jameson, J.; Harris, G. Design and validation of bending test method for characterization of miniature pediatric cortical bone specimens. *Proc. Inst. Mech. Eng. H* 2012, 227, 105–113.
- [15] Rho, J.-Y.; Kuhn-Spearing, L.; Zioupos, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med. Eng. & Physics* 1998, 20, 92–102.
- [16] Stupp, S. I.; Ciegler, G. W. Organoapatites: materials for artificial bone. I. Synthesis and microstructure. *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, 26, 169–183.
- [17] Tachaboonyakiat, W.; Serizawa, T.; Akashi, M. Hydroxyapatite Formation on/in Biodegradable Chitosan Hydrogels by an Alternate Soaking Process. *Polymer J.* 2001, 33, 177–181.
- [18] Kim, H. M.; Kishimoto, K.; Miyaji, F.; Kokubo, T.; Yao, T.; Suetsugu, Y.; Tanaka, J.; Nakamura, T.; Composition and structure of apatite formed on organic polymer in simulated body fluid with a high content of carbonate ion. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2000, 11, 421–426.
- [19] Palmer, C. L.; Newcomb, J. C.; Kaltz, S. R.; Spoerke, E. D.; Stupp, S. I. Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired By Bone and Enamel. *Chem. Rev.* 2008, 108, 4754–4783.
- [20] Kikuchi, M.; Ikoma, T.; Itoh, S.; Matsumoto, N. H.; Koyama, Y.; Takakuda, K.; Shinomiya, K.; Tanaka, J. Biomimetic synthesis of bone-like nanocomposites using the self-organization mechanism of hydroxyapatite and collagen *Compos. Sci Technol.* 2004, 64, 819–825.
- [21] Kikuchi, M.; Itoh, S.; Ichinose, S.; Shinomiya, K.; Tanaka, J. Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo. *Biomaterials* 2001, 22, 1705–1711.
- [22] Zhou, Y.; Liu, Q.; Zhao, Z.; Wang, W.; Zheng, L.; Li, Z. Preparation and Characterization of

Phosphorylated Collagen and Hydroxyapatite Composite as a Potential Bone Substitute. *Chem. Lett.* 2013, 42, 83–85.

[23] Li, Z.; Yubao, L.; Aiping, Y.; Xuelin, P.; Xuejiang, W.; Xiang, Z. Preparation and in vitro investigation of chitosan/nano-hydroxyapatite composite used as bone substitute materials. *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, 2005, 16, 213–219.

[24] Zhang, C. Y.; Chen, J.; Zhuang, Z.; Zhang, T.; Wang, X. P.; Fang, Q. F. In Situ Hybridization and Characterization of Fibrous Hydroxyapatite/Chitosan Nanocomposite. *J. Appl. Polym. Sci.* 2012, 124, 397–402.

[25] Pu, X.-M.; Sun, Z.-Z.; Hou, Z.-Q.; Yang, Y.; Yao, Q.-Q.; Zhang, Q.-Q. Fabrication of chitosan/hydroxylapatite composite rods with a layer-by-layer structure for fracture fixation. *J. Biomed. Mater. Res. B*, 2012, 100B, 1179–1189.

[26] Koski, C.; Onuikie, B.; Bandyopadhyay, A.; Bose, S. Starch-hydroxyapatite composite bone scaffold fabrication utilizing a slurry extrusion-based solid freeform fabricator. *Additive Manufacturing* 2018, 24, 47–59.

[27] Shakir, M.; Jolly, R.; Khan, S. M.; Iram, e N.; Khan, M. H. Nano-hydroxyapatite/chitosan–starch nanocomposite as a novel bone construct, Synthesis and in vitro studies, *Int. J. Biol. Macromol.* 2015, 80, 282–292.

[28] Kim, H.-L.; Jung, G.-Y.; Yoon, J.-H.; Han, J.-S.; Park, Y.-J.; Kim, D.-G.; Zhang, M.; Kim, D.-J. Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite/alginate/chitosan composite scaffolds for bone tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2015, 54, 20–25.

[29] Ingole, V. H.; Vuherer, T.; Maver, U.; Vinchurkar, A.; Ghule, A. V.; Kokol, V. Mechanical Properties and Cytotoxicity of Differently Structured Nanocellulose-hydroxyapatite Based Composites for Bone Regeneration Application. *Nanomaterials* 2020, 10, No. 25.

[30] Pramanic, N.; Biswas, S. K.; Pramanik, P. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/poly (vinyl alcohol phosphate) nanocomposite biomaterials. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 2008, 5, 20–28.

[31] Iwatubo, T.; Kishi, R.; Miura, T.; Ohzono, T.; Yamaguchi, T. Formation of Hydroxyapatite Skeletal Materials from Hydrogel Matrices via Artificial Biomineralization. *J. Phys. Chem.* 2015, B119, 8793–8799.

[32] Yang, R.-L.; Zhu, Y.-J.; Chen, F.-F.; Qin, D.-D.; Xiong, Z.-C. Bioinspired Macroscopic Ribbon Fibers with a Nacre-Mimetic Architecture Based on Highly Ordered Alignment of Ultralong Hydroxyapatite Nanowires. *ACS Nano*, 2018, 12, 12284–12295.

[33] Bonfield, W.; Grynblas, M. D.; Tully, A. E.; Bowman, J.; Abram, J. Biomaterials, Hydroxyapatite reinforced polyethylene--a mechanically compatible implant material for bone replacement 1981, 2, 185–186.

[34] Verheyen, C. C.; Wijn, J. R.; Blitterswijk, C. A.; Groot, K. Evaluation of

hydroxyapatite/poly(L-lactide) composites: mechanical behavior. *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, 26, 1277–1296.

[35] Kasuga, T.; Ota, Y.; Nogami, M. Abe, Y. Preparation and mechanical properties of polylactic acid composites containing hydroxyapatite fibers. *Biomaterials* 2001, 22, 19–23.

[36] Siriphannon, P.; Monvisade, P. Poly(ethylene terephthalate)/hydroxyapatite biomaterials: Preparation, characterization, and in vitro bioactivity *J. Biomed. Mater. Res.* 2009, 27, 464–468.

[37] Ma, J.; Li, Z.J.; Xue, Y. Z. B.; Liang, X. Y.; Tan, Z. J.; Tang, B. Novel PEEK/nHA composites fabricated by hot-pressing of 3D braided PEEK matrix. *Adv. Composites Hybrid Mater.* 2020, 3, 156–166.

[38] Maestro, M. M.; Turnay, J.; Olmo, N.; Fernandez, P.; Suarez, D.; Paez, J. M. G.; Urillo, S.; Lizarbe, M. A.; Jorge-Herrero, E. Biochemical and mechanical behavior of ostrich pericardium as a new biomaterial. *Acta Biomater.*, 2006, 2, 213–219.

[39] Hu, Y.-Y.; Rawal, A.; Schmidt-Rohr, K. Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2010, 52, 22425–22429.

第 2 章. リン酸化タピオカデンプンとヒドロキシアパタイトの複合化: リン酸基を介した有機-無機界面結合による複合体の機械的性質の向上

1. 緒言

骨は、タンパク質とヒドロキシアパタイト (HAP: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) からなる有機-無機複合体である。タンパク質のほとんどはI型コラーゲン繊維であるが、非コラーゲン性タンパク質 (Non-collagenous protein: NCP) と呼ばれるその他タンパク質も存在しており、骨のバイオミネラル化に大きく関与している[1]。例えば、セリン残基とスレオニン残基の多くがリン酸化された骨シアロタンパク質は、リン酸基が HAP と相互作用することによって、HAP の結晶成長が制御され、骨の形成や機械的性質の向上に大きく貢献している [2,3]。このような骨の組成や生成機構を模倣することにより、骨のように優れた靱性や生体親和性を持つ複合材料の開発が期待されている[4-6]。

本研究では、骨の有機成分であるI型コラーゲン繊維が三重らせん構造をとり、かつ、その繊維表面にヒドロキシ基を多くもつ点、そして、NCP がリン酸基を多くもつ点に着目し、植物由来高分子であるデンプンと HAP の複合化による、高靱性バイオマス材料の開発を目指した。デンプンは、分岐構造のアミロペクチンと直鎖構造のアミロースからなる複合多糖類であり、コラーゲン繊維のように、それぞれ 2 重らせん構造をとる。また、デンプンのヒドロキシ基の一部は、グルコース単位の C6 および C3 ヒドロキシ基が酵素的にリン酸エステルに変換されており、リン酸基を有している[7]。また、化学的なリン酸化反応によってもリン酸基を導入でき、リン酸基含有量の調節が容易である[8]。さらに、デンプンは優れた生体親和性を有し、かつ、地球上に豊富に存在する植物資源である[9]。ゆえに、デンプンは、骨の模倣による高靱性バイオマス材料の開発において有効な有機高分子の 1 つと言える。

すでに様々な有機高分子と HAP が複合化されているが、その多くはゼラチン[10]やコラーゲン[11]、シルク[12]、キトサン[13-15]と HAP の複合化についてのものである。デンプンと HAP の複合化についてもわずかに報告されているが、その報告例は少ない。例えば、2015 年に Shakir ら[16]によって、キトサンと HAP の共沈複合体にデンプンを配合することによって、圧縮強度が向上することが報告されている。また、2018 年に Koski ら[17]は、コーンスターチが糊化した水溶液中で HAP を分散させることでペーストを得て、3D プリンターによって得られた成形体の機械的性質について報告している。しかし、どちらの研究においても、その圧縮強度は 10 MPa 程度であり、実際の骨の機械的性質よりも大きく劣るものであった。

Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Aoyama, Y. Coprecipitation of tapioca starch and hydroxyapatite. Effects of phosphorylation of starch on mechanical properties of the composites. *Results Mater.* 2019, 3, No. 100035.

本研究では、デンプンのリン酸基の有無、共沈複合化の際のデンプンの糊化状態、また、複合体の無機重量分率など、様々な複合化条件でタピオカデンプン及びリン酸化タピオカデンプンと HAP を共沈法により複合化した。そして、有機-無機界面の結合が十分に形成され、そして、複合体の機械的性質が大きく向上する最適な複合化条件を見出し、骨のように環境に優しく、かつ、優れた機械的性質をもつ高靱性バイオマス材料の開発を目指した。

2. 実験

2.1. 使用試薬

1) Tapioca starch (TS)

三和澱粉工業株式会社

2) Phosphorylated tapioca starch (PTS) (Phosphorus content: 0.01 %)

三和澱粉工業株式会社

3) Calcium chloride dihydrate

富士フィルム和光純薬株式会社

4) Disodium hydrogen phosphate

富士フィルム和光純薬株式会社

5) Sodium hydroxide

富士フィルム和光純薬株式会社

6) Acetone

富士フィルム和光純薬株式会社

7) Distilled water

Yamato Autostill WG250 によって蒸留したものを使用した。

2.2. 測定機器

1) 熱重量測定(TG)

株式会社島津製作所製の示差熱・熱重量同時測定装置(DTG-60)を用いて測定および解析を行った。

2) 粉末 X 線回折(XRD)

リガク株式会社製の全自動水平型多目的 X 線回折装置 SmartLab で測定し、PDXL2 で解析を行った。

3) 三点曲げ試験装置

株式会社マルトー社製の「MZ-250」を用いて測定および解析を行った。

2.3. 実験方法

2.3.1. 共沈法による非糊化デンプンと HAP の複合化

Fig. 1 にデンプンと HAP の共沈複合化のプロセスのスキームを示す。仕込み無機重量分率 IC_{feed} が 30、50、70 wt% になるよう、300 mL ビーカーに Table 1 に示した量のタピオカデンプン (TS) またリン酸化タピオカデンプン (PTS) をそれぞれ秤量し、0.2 M CaCl_2 水溶液を加え、25 °C で 1 時間、600 rpm の攪拌速度で攪拌した。その後、同攪拌速度を保ちながら 25 °C で 0.2 M Na_2HPO_4 水溶液と 1 M NaOH 水溶液の混合溶液を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、同温度同攪拌速度で 1 時間熟成した。その後、この溶液を 5 °C、12000 rpm で 10 ~ 15 分間遠心分離し、上澄み液を捨て、沈殿物を遠心管からとりだし、1000 mL の蒸留水中で分散させ、この分散溶液を再び同条件で遠心分離した。この操作を計 3 回繰り返すことで沈殿物を洗浄した。遠心分離によって洗浄・回収された沈殿物を 1000 mL のアセトンに加え、30 分以上攪拌してから吸引ろ過した。ろ紙上に残った粉末状の白色沈殿物を 300 mL ビーカーにうつし、100 °C で 1 時間真空乾燥した。その後、すり鉢でより細かい粉末にした。

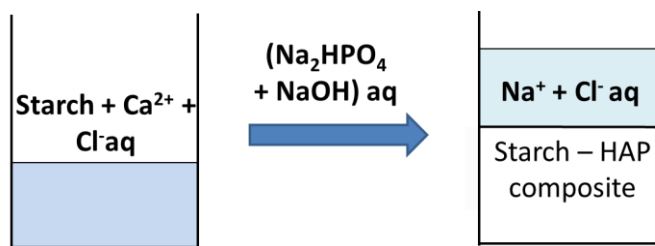


Fig. 1. Coprecipitation of starch and hydroxyapatite.

Table 1. Synthesis of Composites Composed of Non-gelatinized Starch and HAP

IC_{feed} (wt%)	30	50	70	30	50	70
Types of starch	TS	TS	TS	PTS	PTS	PTS
Starch (g)	3.29	3.03	0.71	9.87	3.05	1.41
0.2 M CaCl_2 aq (mL)	70	151	83	211	152	164
0.2 M Na_2HPO_4 aq (mL)	42	91	50	126	91	98
1 M NaOH aq (mL)	11	24	13	34	24	26

2.3.2. 共沈法による糊化デンプンと HAP の複合化

Fig. 1 のように、それぞれ IC_{feed} が 30、50、70 wt% になるよう、500 mL ビーカーに Table 2 に示した量だけ TS また PTS を秤量し、0.2 M CaCl_2 水溶液を加え、90 °C で 1 時間、600 rpm の攪拌速度で攪拌することで、TS また PTS が CaCl_2 水溶液中で糊化（ゾル化）していることを確認した。糊化とは、Fig. 2 に示すように、デンプンに含まれる分岐構造のアミロペクチンに水分子が侵入し、結晶性が失われ、膨潤（ハイドロゲル・ゾ

ル化) した状態のことを言う[18]。非糊化状態と糊化状態では、デンプンの構造や水分子及び各イオンとの相互作用の仕方も大きく異なり、共沈法によって得られる複合体の構造も大きく変化するものと考えられる。

この糊化 TS、及び PTS/CaCl₂ 水溶液を 25 °C になるまで放冷し、同攪拌速度、25 °C で 0.2 M Na₂HPO₄ 水溶液と 1 M NaOH 水溶液の混合溶液を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、同温度同攪拌速度で 1 時間熟成した。その後、2.3.1 の非糊化デンプンと HAP の複合化と同様の操作で沈殿物を洗浄・乾燥し、それぞれ回収した。

Table 2. Synthesis of Composites Composed of Gelatinized Starch and HAP

IC _{feed.} (wt%)	30	50	70	30	50	70
Type of starch	TS	TS	TS	PTS	PTS	PTS
Starch (g)	12.46	5.85	2.50	12.22	4.09	2.30
0.2 M CaCl ₂ aq (mL)	266	291	290	261	204	267
0.2 M Na ₂ HPO ₄ aq (mL)	160	175	174	156	122	160
1 M NaOH aq (mL)	43	47	47	42	33	43

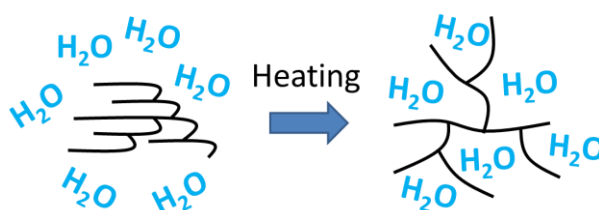


Fig. 2. Schematic representation of the gelatinization of starch.

2.3.3. 糊化 TS 粉末および PTS 粉末の調製

500 mL ビーカーに TS を 14.74 g 秤量し、蒸留水を 295 mL 加え、90 °C で 1 時間攪拌した。また、300 mL ビーカーに PTS を 14.92 g 秤量し、蒸留水を 298 mL 加え、90 °C で 1 時間攪拌した。TS 及び PTS がそれぞれ糊化していることを確認してから、25 °C まで放冷し、1000 mL ビーカーに移してからアセトンを 700 mL 加えた。これを吸引ろ過しながら 1000 mL のアセトンで洗浄し、脱水した。得られた塊状の沈殿物を 300 mL ビーカーに移し、それぞれ 100 °C で 1 時間真空乾燥してからすり鉢で粉末にした。

2.3.4. 複合体の収率

各複合体の収率を以下の式より算出した。

$$\text{収率} = (\text{実測収量} / \text{理論収量}) \times 100 \quad (\%)$$

ここで、理論収量は、



の式に従ってカルシウムイオンとリン酸イオンがすべて HAP に変化し、加えた澱粉はすべて複合体に取り込まれたとしたときの質量である。

2.3.5. 複合体の無機重量分率

各複合体粉末の実際の無機重量分率 IC は熱重量分析 TGA より算出した。室温から 100 °C までの重量減少を吸着水による減少、100~1000 °C までの重量減少を有機物の燃焼によるものと考え、以下の式より IC を算出した。昇温速度は 20 °C /min で行った。

$$\text{IC} = \frac{1000 \text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}}{100 \text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}} \times 100 \text{ (wt \%)}$$

2.3.6. HAP の結晶子サイズ

粉末 X 線回折の測定により得られた HAP ピークの半値幅から結晶サイズを検討した。結晶サイズ D は Scherrer の式より算出することが出来る。Scherrer の式は以下に示す。

$$D = \frac{0.9 \times \lambda}{B \cos \theta}$$

D は結晶が完全な球状の単結晶と仮定した場合の結晶の直径(Å)、λ は粉末 X 線回折の Cu / Kα線の波長 1.54056 (Å)、B は半値幅を radian 単位に換算した値、cos θ はピークの位置(2θ)より求めた値を radian 単位に換算した値である。

$$B_{(rad)} = B_{(deg)} \times \frac{\pi}{180}$$

本研究では、これらの算出に解析ソフト(Rigaku Data Analysis Software PDXL version2)を用いて行い、結晶子サイズを求めた。

2.3.7. 糊化 TS、PTS、また複合体粉末の成形

Fig. 3 に示すとおり、得られた各複合体粉末を長方形 (4×13 mm²) 金型に入れ、120 °C、120 MPa で 5 分間一軸加圧することで角柱型の成形物 (4×13× (2.3 - 3.0) mm³)



Fig. 3. Mold of composite powder by hot press and three-point bending test.

を作製した。その後、成形物の密度を求め、スパン $8 \times 10^{-3} \text{ m}$ 、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min で三点曲げ試験を行った。

各複合体の理論密度 $d_{calcd.}$ は以下の式から算出した。TS、PTS の理論密度はそれぞれ 1.5 g/cm^3 [19] であり、HAP の 3.2 g/cm^3 [20] とした。

$$d_{calcd.} = \left(\left(\frac{\text{有機重量分率}}{\text{多糖類の理論密度}} \right) + \left(\frac{\text{無機重量分率}}{\text{HAP の理論密度}} \right) \right)^{-1}$$

曲げ強度 σ_b 、曲げひずみ ε_b は以下の式より算出した。 L, P, t, w は Fig. 3 に示している。 s は、クロスヘッドの変位量である。また、弾性率 E_b 及び破壊エネルギー G_f は Fig. 4 のように応力-ひずみ曲線の傾き及び面積から求めた。

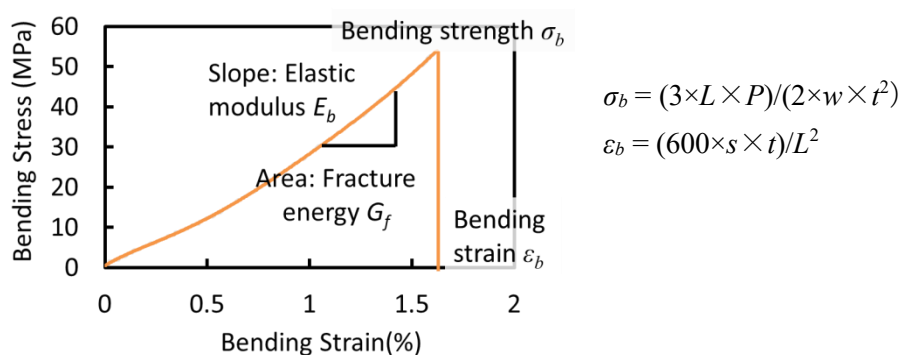


Fig. 4. Schematic representation of stress-strain curve.

3. 実験結果及び考察

3.1. 複合体の収率

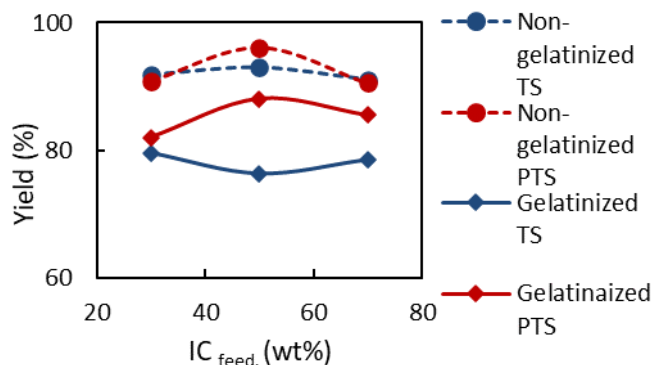


Fig. 5 に、各サンプルの収率を示す。

Fig. 5 のとおり、非糊化・糊化デンプンを比べると、非糊化の方が収率が高かった。共沈時、糊化デンプンは CaCl_2 水溶液中で溶解しており、HAP と共沈しなかったデンプンは遠心分離で回収され

Fig. 5. Yields of the composites.

ず、その分収率は小さくなる。対して、非糊化デンプンは CaCl_2 水溶液に溶解しておらず、その分、遠心分離で回収しやすいため、収率が大きくなったものと考えられる。また、非糊化・糊化デンプンどちらにおいても PTS の方が収率は高かった。このことから、 Ca^{2+} 捕捉能の高いリン酸官能基を持つデンプンほど、HAP と結合を形成し、共沈しやすいことがわかった。

3.2. 複合体の無機重量分率

Fig. 6 に各複合体の TG 曲線を示す。

Fig. 6 (a)~(d) の各サンプルの TG 曲線のとおり、各複合体について、それぞれ 100°C 付近まで吸着水の蒸発による重量減少がみられた。特に糊化 TS、PTS においてその重量減少が大きかったことから、TS 及び PTS が水を吸着・吸収しやすい糊化状態のまま HAP と共沈複合化されたものと考えられる。各複合体において $300\sim 400^\circ\text{C}$ で著しい重量減少が起こり、デンプンの燃焼が確認された。非糊化 TS、PTS、及び糊化 TS は、無機重量分率 IC によってほとんど熱分解温度が変化しなかったのに対して、糊化 PTS においては IC が大きいものほど熱分解温度が高くなった。糊化 PTS の方が HAP と複合化することで耐熱性が向上していることから、糊化 PTS は HAP とより有機-無機界面結合を形成したものと考えられる。

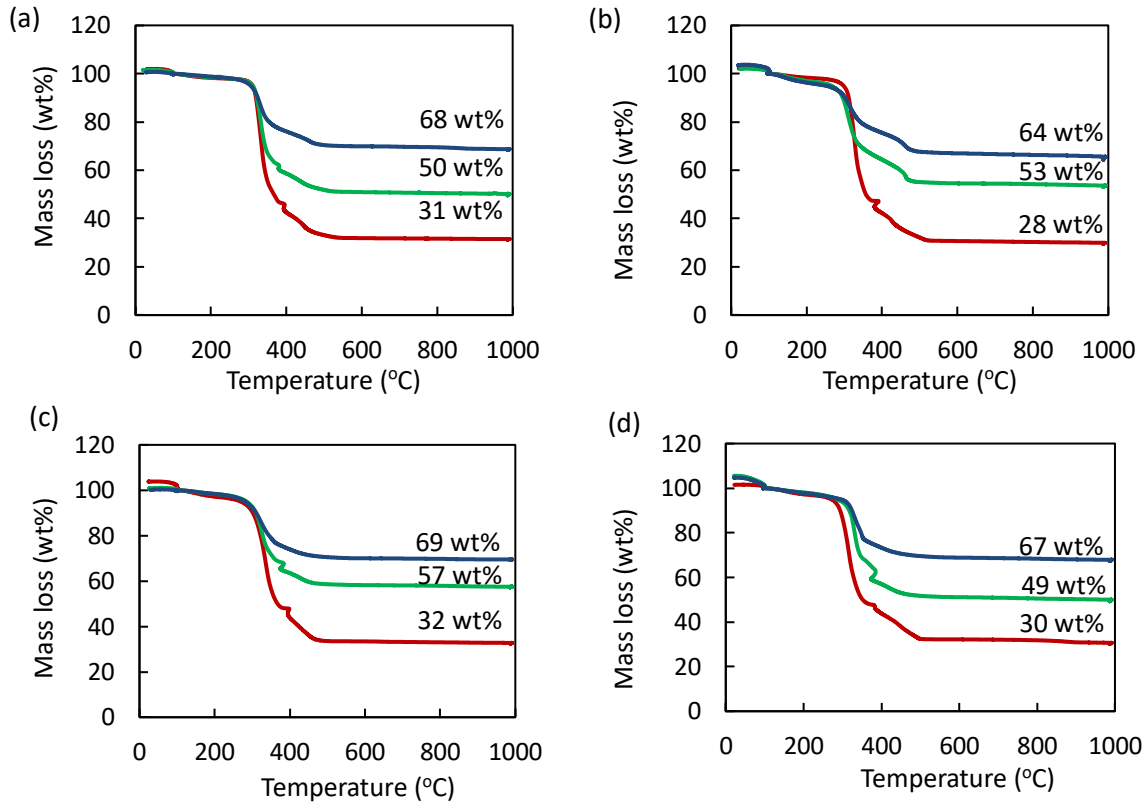


Fig. 6. TG curves of the composites, non-gelatinized TS (a), non-gelatinized PTS (b), gelatinized TS (c), and gelatinized PTS (d).

Fig. 7 に各複合体の無機重量分率 IC を示す。

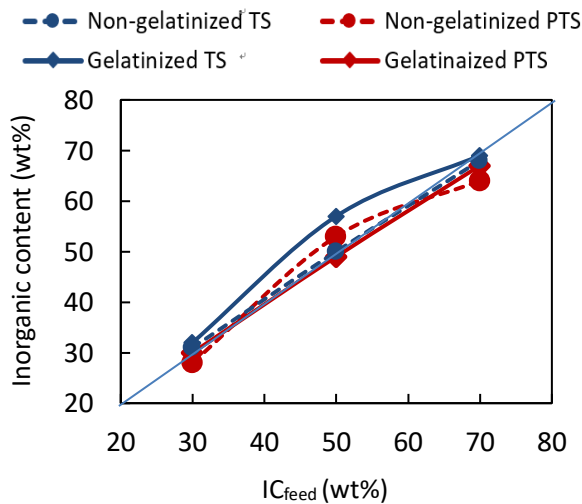


Fig. 7. Plot of inorganic contents of the composites determined by TGA against the calculated inorganic contents based on the feed ratios.

Fig. 7 のとおり、各 IC は、それぞれ IC_{feed} に近い値をとった。実際の無機重量分率が仕込み値に近いということは、水に不溶な高分子が HAP とともに混合物として回収されたか、HAP と結合を形成しながら共沈複合体として回収されたかの 2 つの可能性が考えられる。本研究においては、非糊化 TS 及び PTS が前者、糊化 TS 及び PTS が後者にあたるものと考えられる。糊化 TS は他の条件で合成したもの比べて IC の値が IC_{feed} よりも高いことから、親水性が高く、かつ、アニオン性の官能基をもたないデンプンは、HAP と結合を形成することなく、分離することが示唆された。

3.3. HAP の結晶子サイズ

Fig. 8 (a)、(b)に、非糊化 PTS 及び糊化 PTS 粉末、また、その各複合体の XRD パターンを示す。

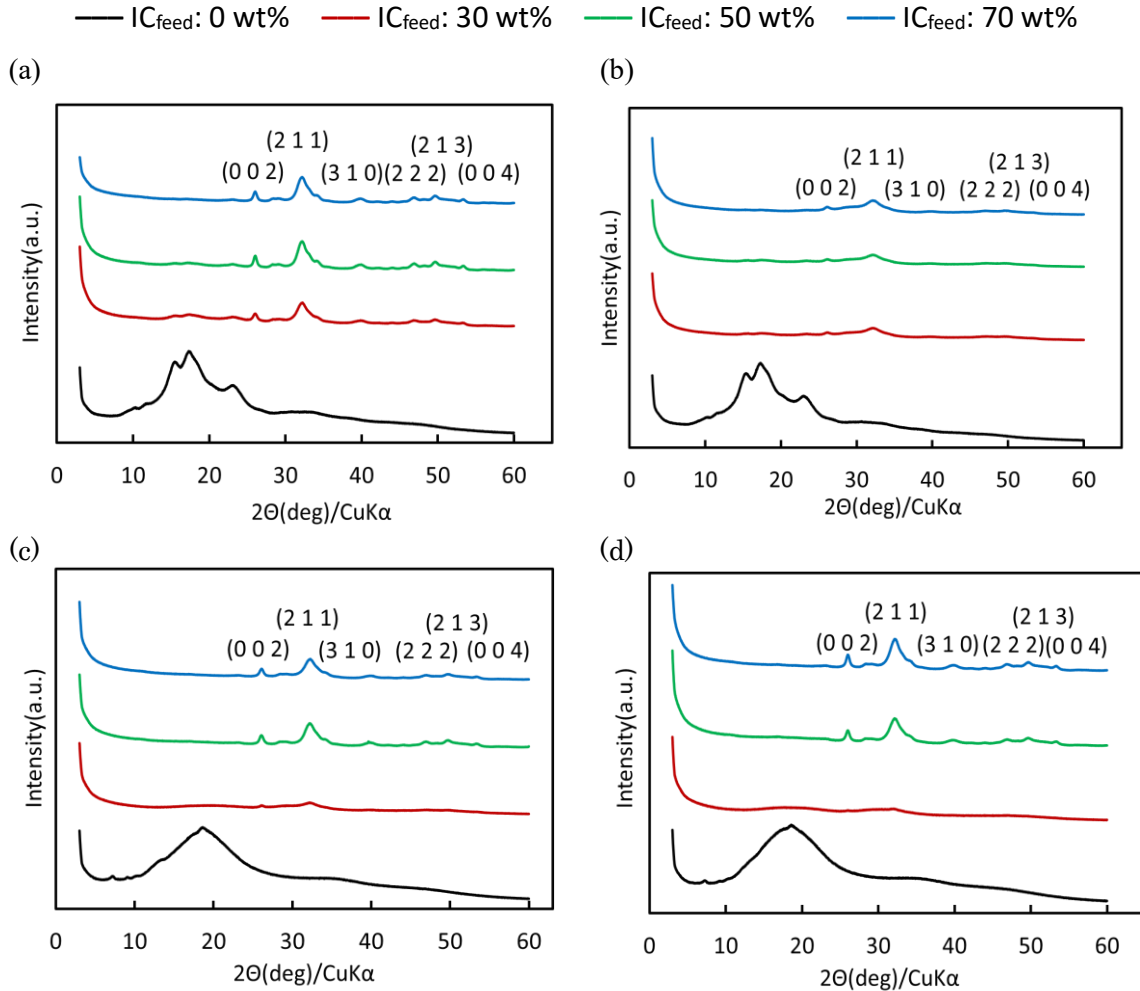


Fig. 8. XRD patterns of the composites, non-gelatinized TS (a), non-gelatinized PTS (b), gelatinized TS (c), and gelatinized PTS (b).

Fig. 8 の (a) ~ (d) の各複合体の XRD パターンのとおり、それぞれ HAP の特徴的なピークが得られており、生成されたリン酸カルシウムはアパタイト前駆体であるモネタイトやブルシャイトではなく、確かに HAP であることがわかった[21, 22]。

Fig. 8 のとおり、非糊化の TS、PTS、及びその複合体は 15-25° で比較的鋭いピークが現れているのに対して、糊化されたものについては 15-25° でそのピークが滑らかになっている。このことから、本研究での操作により、TS 及び PTS は、確かに結晶性をなくした糊化状態となり、かつ、デンプンの糊化状態が保たれた状態で HAP と共沈複合化されることがわかった。また、仕込み無機重量分率 $IC_{\text{feed}}: 30 \text{ wt}\%$ で得られたものについては、非糊化デンプンでは HAP のピークが強く出ているのに対して、糊化デ

ンプンではそれらのピークがブロードになっている。このことから、糊化デンプンでは、デンプンによる HAP の結晶成長制御が起こりやすい、つまり、デンプン表面で HAP が結晶成長された、すなわち、有機-無機界面結合が形成されやすかったものと考えられる。さらに、糊化 TS と糊化 PTS の IC_{feed} : 30 wt% を比較すると、TS よりも PTS のほうがピークが低下しており、リン酸基を導入することで、デンプンと HAP の結合が形成されやすくなったものと考えられる。

Fig. 9 に、上記 XRD パターンからシェラーの式より算出された各複合体中の HAP の結晶子サイズを示す。

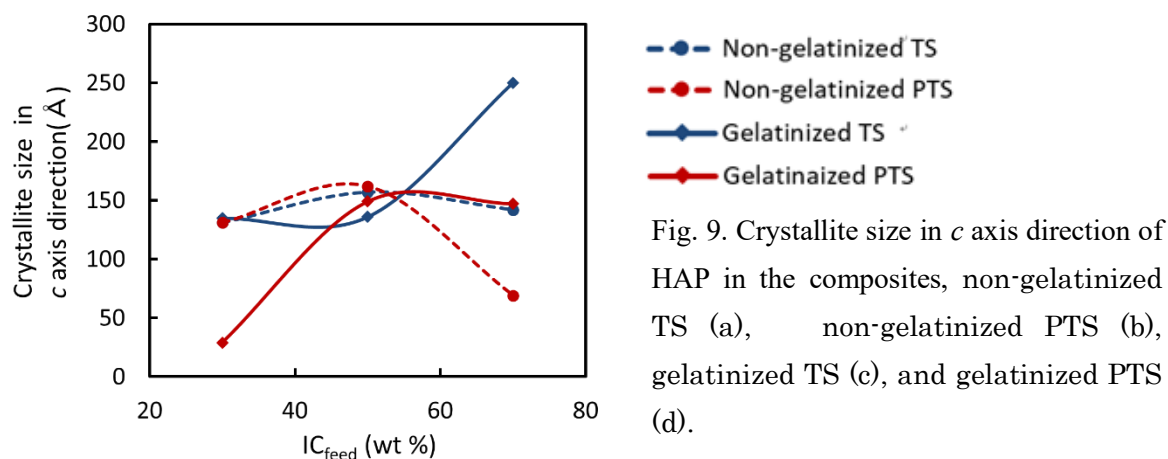


Fig. 9. Crystallite size in *c* axis direction of HAP in the composites, non-gelatinized TS (a), non-gelatinized PTS (b), gelatinized TS (c), and gelatinized PTS (d).

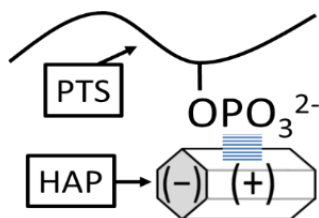


Fig. 10. Schematic representation of the control of HAP crystallization by phosphate groups of PTS.

Fig. 9 のとおり、非糊化、糊化の両方において、無機重量分率 IC が 70 wt% 付近のとき、リン酸基を含む PTS のほうが TS よりも HAP の *c* 軸方向の結晶子サイズは小さくなり、HAP の結

晶成長を抑制することがわかった。2016 年に Kusakabe らによって、ポリビニルアルコールにリン酸基を導入することで、XRD ピークが広くなり、HAP の結晶が小さくなるということが明らかにされている[20]。また、2013 年に Grondahl らは、HAP の結晶成長がアニオン性ポリマーによって阻害され、HAP の成長速度がヘパリン (-SO₃)、アルギン酸 (-CO₂)、リン酸化アルギン酸 (-OPO₃、-CO₂) の順に減少したことを報告している[23]。さらに、2016 年に Fang らは、HAP の結晶成長に対する多糖類の阻害効果は、ペクチン (-CO₂)、カラギーナン (-OSO₃)、キトサン (-NH₃)、アミロース (-OH) の順に減少することも報告している[24]。1990 年に Kawasaki らは、Fig. 10 のような六方晶 HAP の *a* 面表面では Ca²⁺が露出しているため、正に帯電、*c* 面表面では PO₄³⁻が露出しているため、負に帯電しており、等電点が 7 未満の酸性タンパク質は主に HAP の *a* 面に吸着し、等電点が 7 を超える塩基性タンパク質は主に *c* 表面に吸着すると報告している[25]。この HAP の正に帯電した *a* 面と高分子のカルボキシ基やリン酸基な

どのアニオン性の官能基が相互作用を形成し、HAPの結晶成長を制御しているものと考えられる。本研究においても、 IC_{feed} : 70wt%で合成された非糊化及び糊化PTSとHAP複合体はHAPの結晶子サイズが小さかったことから、左のFig. 10のように、PTSのリン酸基とHAPのa面が相互作用し、有機-無機界面結合を形成したものと考えられる。また、 IC_{feed} : 30 wt%で合成されたPTS-HAP複合体のHAPの結晶子サイズは、本研究において最も小さい値を示した。 IC_{feed} が小さい、すなわち、HAPに対してデンプンが多いとき、共沈時の水溶液の粘性は大きいため、HAPの結晶成長が阻害されたものと考えられる。

3.4. 複合体の機械的性質

Fig. 11に各サンプルの密度、Fig. 12に各サンプルの機械的性質を示す。

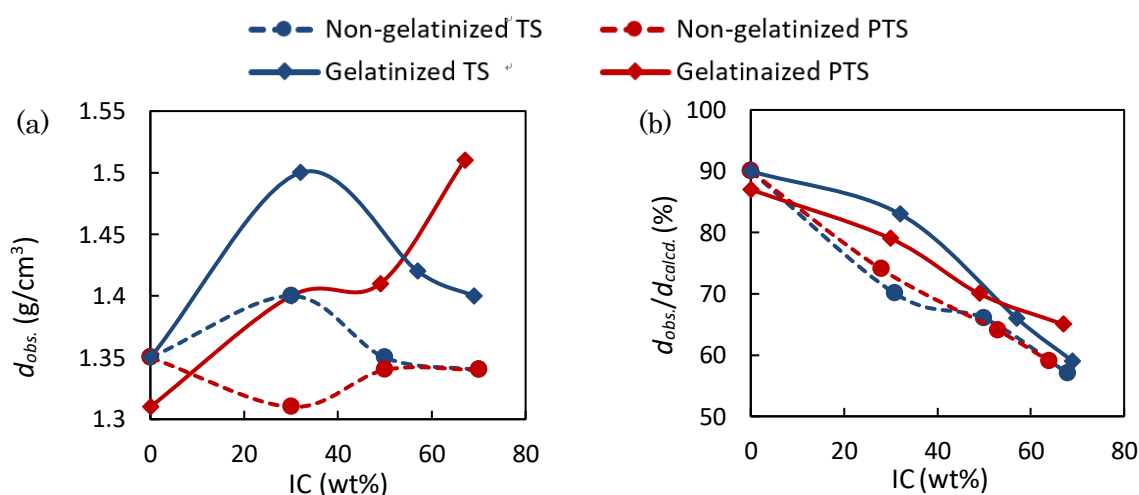


Fig. 11. Density of the molded composites, observed density (a), relative density (b).

Fig. 11 (a), (b)のとおり、どのデンプンにおいても無機重量分率ICが大きくなるほど密に成形されにくくなることがわかった。一般的にHAPなどのセラミックスを密に成形するには高温で焼結する必要があり、本研究の一軸加圧成形では密に成形できない。対して、熱可塑性プラスチックや吸着水を含んだデンプンなどの有機高分子は、熱を加えることで熱可塑性、比較的低い温度で密に成形できる。ゆえに、ICが増大するほど密に成形することが難しく、ICが小さいものほど密に成形されたものと考えられる。

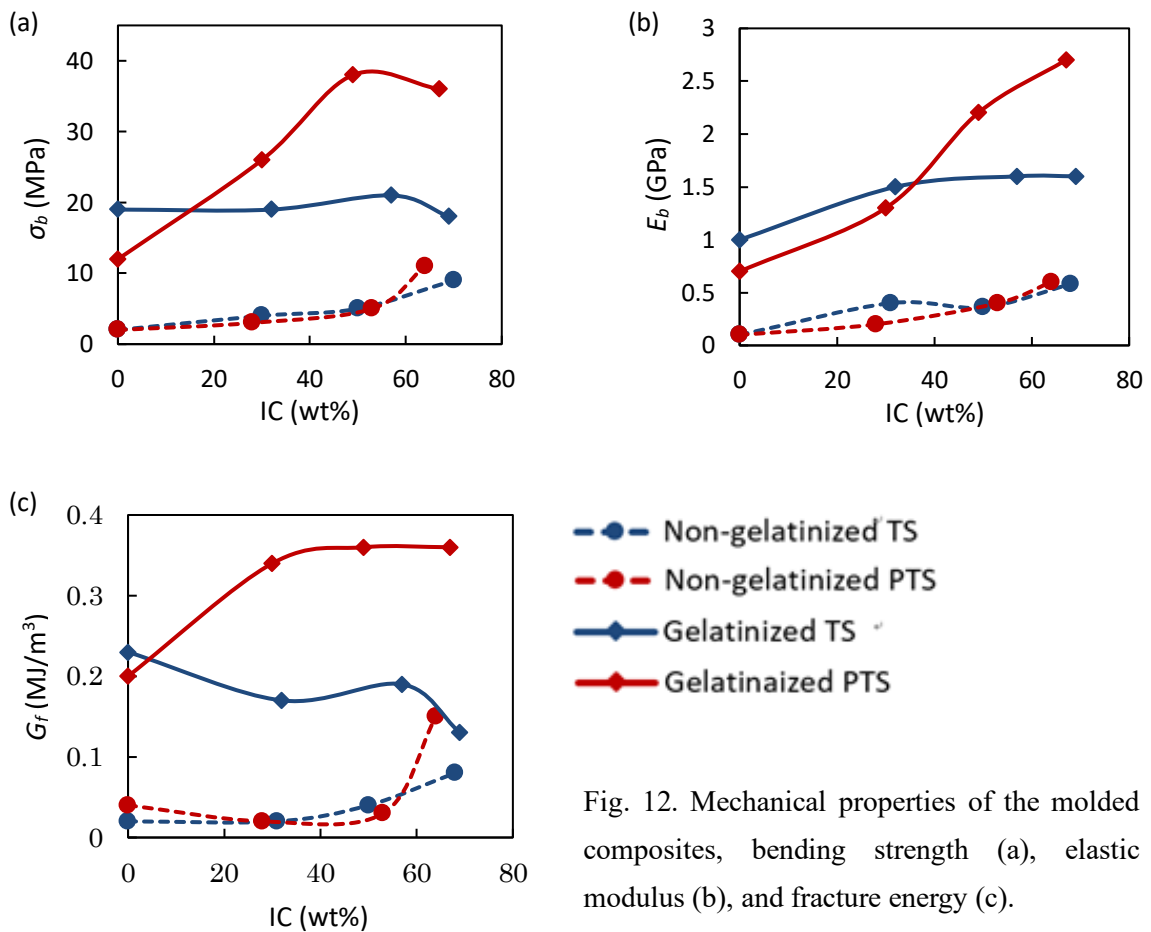


Fig. 12. Mechanical properties of the molded composites, bending strength (a), elastic modulus (b), and fracture energy (c).

Fig. 12 (a), (b), (c) に示すように、非糊化デンプンよりも糊化デンプンの方が曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーが大きかった。これは、非糊化デンプンよりも糊化デンプンの方が、熱可塑性を示し、Fig. 11 のように、より緻密に成形されたためと考えられる。また、非糊化デンプンは CaCl_2 水溶液中で膨潤しておらず、ゲル状態になっていないのに対して、糊化デンプンは CaCl_2 水溶液中で溶解しゲル化しており、Fig. 13 のように、 Ca^{2+} が膨潤したデンプン高分子内部に侵入しているものと考えられる。この状態で PO_4^{3-} を加え、HAP が生成されることで、HAP 単体とデンプン単体が単に混在している混合物ではなく、Fig. 13 のようなデンプンと HAP が均一に混ざり合った複合体が得られる。そのため、糊化デンプンと HAP の複合体の方が非糊化デンプンよりも有機相と無機相の接触表面積が多く、機械的性質が高くなったものと考えられる。

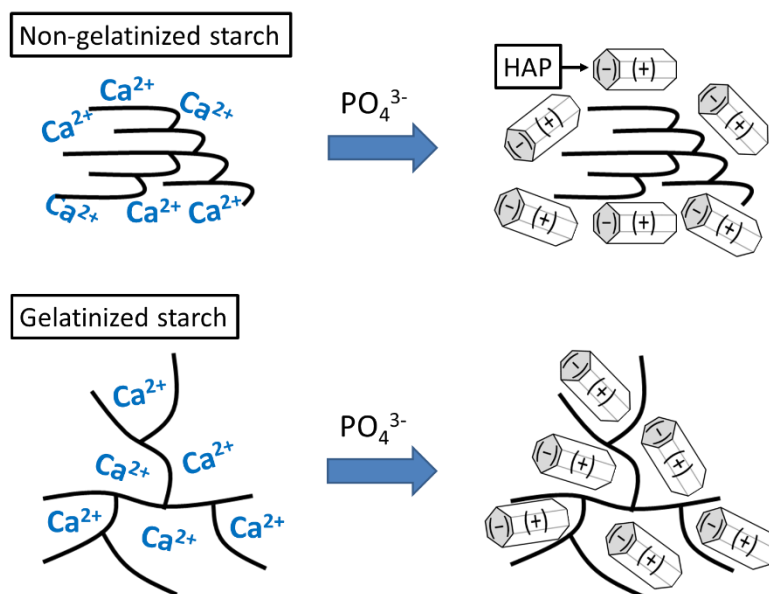


Fig. 13. Schematic representation of hybridization of non-gelatinized or gelatinized starch with HAP.

糊化 TS と糊化 PTS の複合体を比べると、糊化 PTS のほうがどの IC においても曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーが高く、官能基による有機-無機界面の結合の形成が複合体の機械的性質を向上させたと考えられる。また、糊化 PTS において、IC が 49 wt% のとき最も曲げ強度、破壊エネルギーが高く、HAP が少なすぎても多すぎても機械的性質は向上しないことがわかった。これは、Fig. 14 のように、デンプンに対して HAP が少なすぎると、HAP 由来のセラミックスの剛直性が付与されず、逆に、デンプンに対して HAP が多すぎると、デンプンと均一に共沈せず単体で沈殿する HAP が多くなり、その結果、密に成形されにくい HAP 単体が増え、機械的性質は低下するものと考えられる。すなわち、適切なデンプン/HAP 重量分率のときに最も PTS の柔軟性や成形性、そして HAP の剛直性が付与され、機械的性質が向上するものと考えられる。

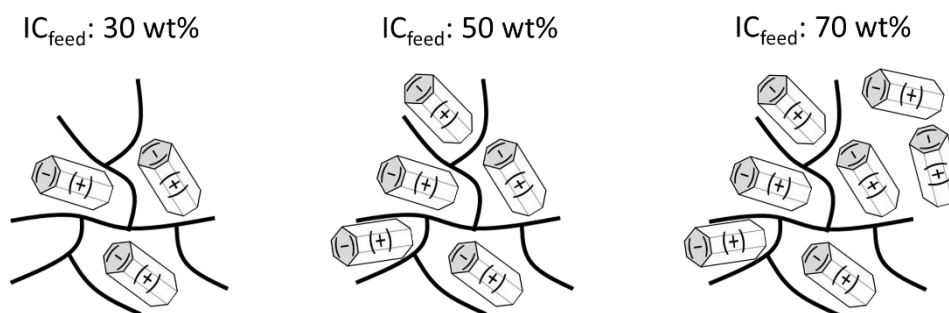


Fig. 14. Schematic representation of the inorganic contents of the composites

また、糊化 PTS-HAP 複合体の弾性率は、IC が大きくなるほど高くなり、その弾性率/IC の傾きは他のデンプンと比べて最も大きかった。1983 年に Schnur らによって、複合材料の弾性率における混合の法則： $E = E_f V_f + E_m V_m$ が報告されている[26]。本公式において、 E は複合体の弾性率、 E_f と E_m はそれぞれ HAP と PTS の弾性率、 V_f と V_m はそれぞれ HAP と PTS の体積分率を示している。糊化 PTS-HAP 複合体が最もこの法則に沿って IC の増大に伴って弾性率が向上していることから、糊化 PTS が最も HAP と均一に複合化されており、複合体の IC によって、PTS の柔軟性と HAP の剛直性の両方が機械的性質に反映されたものと考えられる。

Table 3 に各サンプルの機械的性質をまとめる。

Table 3. Mechanical Properties of Non-gelatinized TS-HAP Composites

Non-gelatinized TS-HAP				
IC (wt%)	0	31	50	68
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.35	1.39±0.03	1.34±0.01	1.35±0.03
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	1.5	1.8	2.04	2.35
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	90	70	66	57
ϵ_b (%)	2.3	1.4±0.2	1.9±0.3	2.5±0.3
σ_b (MPa)	2	3.8±0.5	4.8±0.7	9±1
E_b (GPa)	0.1	0.40±0.07	0.36±0.05	0.6±0.2
G_f (MJ/m ³)	0.02	0.023±0.006	0.04±0.01	0.083±0.003
N	1	3	3	3
Non-gelatinized PTS-HAP				
IC (wt%)	0	28	53	64
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.35	1.31±0.02	1.338±0.004	1.342±0.005
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	1.5	1.76	2.09	2.27
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	90	74	64	59
ϵ_b (%)	3.2	1.7±0.1	1.51±0.08	3.5±0.4
σ_b (MPa)	2	3.1±0.1	4.8±0.2	11±2
E_b (GPa)	0.1	0.19±0.01	0.37±0.04	0.61±0.09
G_f (MJ/m ³)	0.04	0.024±0.002	0.033±0.003	0.15±0.03
N	1	3	3	4
Gelatinized TS-HAP				
IC (wt%)	0	32	57	69
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.34±0.02	1.5±0.02	1.422±0.007	1.401±0.007
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	1.5	1.81	2.15	2.37

$d_{obs}/d_{calcd.}$ (%)	90	83	66	59
ε_b (%)	3.2±0.8	2.6±0.3	2.3±0.3	1.71±0.05
σ_b (MPa)	19.0±0.4	19.2±0.	21.9±0.6	18.5±0.5
E_b (GPa)	1.0±0.1	1.53±0.05	1.6±0.1	1.61±0.09
G_f (MJ/m ³)	0.23±0.04	0.17±0.01	0.19±0.01	0.136±0.004
N	3	3	3	3
Gelatinized PTS-HAP				
IC (wt%)	0	30	49	67
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.31±0.01	1.41±0.02	1.447±0.003	1.51±0.01
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	1.5	1.78	2.03	2.33
$d_{obs}/d_{calcd.}$ (%)	87	79	70	65
ε_b (%)	2.4±0.2	4.3±0.4	2.6±0.4	2.64±0.06
σ_b (MPa)	11.8±03	26±2	37±0.6	35±2
E_b (GPa)	0.71±0.03	1.3±0.1	2.5±0.3	2.7±0.06
G_f (MJ/m ³)	0.118±0.007	0.34±0.01	0.36±0.03	0.33±0.02
N	3	3	3	3

4. 結言

非糊化 TS、PTS、また糊化 TS、PTS をそれぞれ CaCl₂ 水溶液中で分散、また糊化させながら Na₂HPO₄・NaOH 混合水溶液を加えることで HAP と共沈複合化した。

収率は、非糊化デンブレン-HAP 複合体の方が高く、かつ、非糊化・糊化、それぞれにおいて、TS よりも PTS の方が収率が高くなった。また、TGA の結果、各複合体の無機重量分率 IC は仕込み無機重量分率 IC_{feed}に近い値をとり、重量分率の制御は容易であることがわかった。非糊化 TS、糊化 TS、非糊化 PTS は IC によって熱分解温度がほとんど変化しなかったのに対して、糊化 PTS は IC が高くなるほど熱分解温度が高くなった。XRD の結果、糊化 PTS-HAP 複合体は HAP の結晶成長が制御されており、リン酸基を介したデンブレンと HAP の結合を形成することがわかった。各共沈複合体粉末を 120℃、120 MPa で 5 分間一軸加圧成形することで試験片を作製し、3 点曲げ試験を行ったところ、IC_{feed}: 50 wt% で合成された糊化 PTS-HAP 複合体の機械的性質が最も高くなった。このことから、PTS を糊化状態で HAP と共沈複合化することで、膨潤した PTS 高分子内部で HAP が結晶化することで有機高分子と無機結晶表面の接触表面積は増大し、かつ、リン酸基を介した有機-無機界面の結合が形成され、機械的性質が向上することがわかった。さらに、余分な HAP が少なく、PTS の成形性・柔軟性と HAP の剛直性の両方を付与できる最適な複合体の IC は 50 wt% 前後であることがわかった。また、糊化 PTS-HAP は、複合材料の各成分の弾性率と体積分率の関係を示した混合の法則の公式に則って、IC の増大に伴い弾性率が高くなっていることから、PTS と HAP がより均一

に複合化されていることがわかった。

糊化 PTS と HAP の複合体は人や環境に低負荷な成分で構成されており、かつ、室温という極めて穏やかな共沈温度で合成されたにも関わらず、石油由来プラスチックであるポリプロピレンに匹敵する曲げ強度[27]をもつため、新規のエコマテリアル及びバイオマテリアルとしての利用が期待できる。

5. 参考文献

- [1] George, A.; Veis A. Phosphorylated proteins and control over apatite nucleation, crystal growth, and inhibition, *Chem. Rev.* 2008, 108, 4670–4693.
- [2] Ma, J.; Wang, J.; Ai, X.; Zhang, S. Biomimetic self-assembly of apatite hybrid materials: from a single molecular template to bi-/multi-molecular templates, *Biotechnol. Adv.* 2014, 32, 744–760.
- [3] Weiner, S.; Addadi, L. Design strategies in mineralized biological materials, *J. Mater.Chem.* 1997, 7, 689–702.
- [4] Palmer, L.C.; Newcomb, C.J.; Kaltz, S.R.; Spoerke, E.D.; Stupp, S.I. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel, *Chem. Rev.* 2008, 108, 4754–4783.
- [5] Bouville, F.; Maire, E.; Meille, S; Moorele, B.V.d.; Stevenson, A.J.; Deville S. D. Strong tough and stiff bioinspired ceramics from brittle constituents, *Nat. Mater.* 2014, 13, 508–514.
- [6] Barthelat, F., Yin, Z., Buehler, M.J. Structure and mechanics of interfaces in biological materials, *Nat. Rev. Mater.* 1 (2016) 16007.
- [7] Hejazi, M.; Fettek, J.; Koetting, O.; Zeeman, S.C.; Steup, M.; The laforin-like dual-specificity phosphatase SEX4 from arabidopsis hydrolyzes both C6- and C3- phosphate esters introduced by starch-related dikinases and thereby affects phase transition of α -glucans, *Plant Physiol*, 2010, 152, 711–722.
- [8] Blennowa, A.; Nielsena, T.; Baunsgaarda, L.; Mikkelsena, R.; Engelsena, B. S. Starch phosphorylation: a new front line in starch research. 2002, 7, 445–450
- [9] Miculescu, F.; Maidaniuc, A; Voicu, S.I.; Thakur V.K.; Stan, G.E.; Ciocan, L.T.; Progress in Hydroxyapatite. Starch based sustainable biomaterials for biomedical bone substitution applications, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2017, 5, 8491–8512.
- [10] Won, J.-E.; El-Fiqi, A.; Jegal, S.-H.; Han, C.-M.; Lee, E.-J.; Knowles, J.C.; Kim, H.-W. Gelatin-apatite bone mimetic co-precipitates incorporated within biopolymer matrix to improve mechanical and biological properties useful for hard tissue repair, *J. Biomater. Appl.* 2014, 28, 1213–1225.
- [11] Le, H.; Natesan, K.; Pranti-Haran, S. Mechanical property and biocompatibility of co-precipitated nano hydroxyapatite-gelatine composites, *J. Adv. Ceram.* 2015, 4, 237–243.
- [12] Zakharov, N.A.; Demina, L.I.; Aliev, A.D.; Kiselev, M.R.; Matveev, V.V.; Orlov, M.A.;

- Zakharova, T.V.; Kuznetsov, N.T.; Synthesis and properties of calcium hydroxyapatite/silk fibroin organomineral composites, *Inorg. Mater.* 2017, 53, 333–342.
- [13] Zhang, C.Y.; Chen, J.; Zhuang, Z.; Zhang, T.; Wang, X.P.; Fang, Q.F.; In situ hybridization and characterization of fibrous hydroxyapatite/chitosan nanocomposite, *J. Appl. Polym. Sci.* 2012, 124, 397–402.
- [14] Li, B.; Wang, X.; Ma, J.; Huang, L.; Preparation of phosphorylated chitosan/chitosan/hydroxyapatite composites by co-precipitation method, *Adv. Mater. Res.* 2009, 79–82, 401–404.
- [15] Onoki, T.; Nakahira, A.; Tago, T.; Hasegawa, Y.; Kuno, T.; Novel low temperature processing techniques for apatite ceramics and chitosan polymer composite bulk materials and its mechanical properties, *Appl. Surf. Sci.* 2012, 262, 263–266.
- [16] Shakir, M.; Jolly, R.; Khan, S. M.; Iram, e N.; Khan, M. H. Nano-hydroxyapatite/chitosan–starch nanocomposite as a novel bone construct, Synthesis and in vitro studies, *Int. J. Biol. Macromol.* 2015, 80, 282–292.
- [17] Koski, C.; Onuiké, B.; Bandyopadhyay, A.; Bose, S. Starch-hydroxyapatite composite bone scaffold fabrication utilizing a slurry extrusion-based solid freeform fabricator, *Additive Manufacturing* 2018, 24, 47–59 (2018).
- [18] Jenkins, P J; Donald, A M. Gelatinisation of Starch: a Combined SAXS/WAXS/DSC and SANS Study, *Carbohydrate Research*, 1998, 308, 133–147.
- [19] Gevaudan, A.; Chuzel, G.; Didier S.; Andrieu, J. Physical properties of cassava mash International, *J. Food Sci. Tech.* 1989, 24, 637-645
- [20] Kusakabe, A.; Hirota K.; Mizutani, T.; Crystallisation of hydroxyapatite in phosphorylated poly(vinyl alcohol) as a synthetic route to tough mechanical hybrid materials, *Mater. Sci. Eng.* 2017, C 70, 487–493.
- [21] Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites. *Am. Mineral.* 1989, 74, 870–876.
- [22] Peters, F.; Schwarz, K.; Epple, M. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochim. Acta* 2000, 361, 131–138.
- [23] Coleman, R.J.; Jack, K.S.; Perrier S.; Grondahl L.; Hydroxyapatite mineralization in the presence of anionic polymers, *Cryst. Growth Des.* 2013, 13, 4252–4259.
- [24] Fang, W.; Zhang, H.; Yin, J; Yang, B.; Zhang, Y.; Li, J; Yao, F. Hydroxyapatite crystal formation in the presence of polysaccharide, *Cryst. Growth Des.* 2016, 16, 1247–1255.
- [25] Kawasaki, T.; Niikura, M.; Kobayashi, Y. Fundamental study of hydroxyapatite high-performance liquid chromatography. III. Direct experimental confirmation of the existence of two types of adsorbing surface on the hydroxyapatite crystal. *J. Chromatogr. A* 1990, 515, 125–148.

- [26] Schnur, D.S.; Lee, D.; Stiffness and inelastic deformation in acrylic-titanium composite implant materials under compression, *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, 17, 973–991.
- [27] Purasuchikku Dokuhon 22nd ed. 2019 (PLASTICS AGE Co. Ltd.)

第 3 章. セルロースナノファイバーとヒドロキシアパタイトの複合化: マイナスに帯電したナノ繊維表面での結晶成長制御と配向性付与による複合体の機械的性質向上

1. 緒言

第 2 章では、骨のように有機-無機界面結合を形成できる有機高分子として、リン酸化タピオカデンプンと HAP を複合化した。デンプンはヒドロキシ基を多く持ち、HAP との結合の形成や、共沈複合化[1]に最適な水溶性を示した。しかし、骨の有機主成分であるコラーゲンは繊維構造をとるのに対して、デンプンは直鎖構造のアミロースと分岐構造のアミロペクチンを含むため、骨のような有機相と無機相からなるレンガ-モルタル構造の形成は難しく、その機械的性質も皮質骨と比べて低かった[2]。よって、本研究では、森林資源から得られるセルロースナノファイバーの繊維表面を 2,2,6,6-テトラメチル-1-ピペリジニルオキシラジカル (TEMPO) によって酸化した TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) に着目した。

TCNF は TEMPO 酸化によりマイクロフィブリル表面のグルコースの 6 位のヒドロキシ基の半分がカルボキシ基に酸化された森林資源由来のナノ繊維である[3]。骨の有機主成分であるコラーゲン繊維の表面にもカルボキシ基は存在し、オステオカルシンなどの非コラーゲン性タンパク質もカルボキシ基を含んでいる。さらに、2007 年に Reid らは固体核磁気共鳴 (NMR)により、骨のコラーゲン繊維と HAP の界面では、グリコサミノグリカンやプロテオグリカンなどのカルボキシ基をもつ多糖類が多く存在していることも明らかにしている[4]。その他ポリマー中での HAP の結晶成長におけるポリマーのアニオン基の役割について、すでに複数の研究が報告されており[5-8]、これらの有機高分子は HAP の結晶成長の制御と有機-無機界面の結合の形成を担っているものと考えられている[9-14]。

TCNF は有機-無機界面結合を形成するカルボキシ基や、共沈複合化に必要とされる水分散性を司るヒドロキシ基を多くもち、さらに、コラーゲン同様に繊維構造をとる。幅が 3 ~ 4 nm、長さが数 μm であり、コラーゲン繊維の構造 (幅 1.23 nm、長さ 300 nm) に非常に類似している[15, 16]。以上のことから、TCNF は、骨のように有機相と無機相が規則正しく配列・結合したレンガ-モルタル構造を形成することが大いに期待できる。さらに、TCNF は地球上に豊富に存在する森林資源から大量に得ることが出来るため、骨模倣材料の有機成分における理想のバイオマス材料と言える。

2019 年に Kokol らによって、音響化学的方法による TCNF、またはセルロースナノクリスタルと HAP の複合化の研究が報告されている。得られた複合体成形物の圧縮強度は 167 MPa であり、実際の皮質骨に匹敵する強度を示したことから、TCNF のカルボキ

Okuda, K.; Mizutani, T.; Hirota, K.; Hayashi, T.; Zinno, K. Nonbrittle Nanocomposite Materials Prepared by Coprecipitation of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers and Hydroxyapatite. ACS Sustainable Chem. Eng. 2021, 9, 158–167.

シ基と繊維構造が複合体の機械的性質を向上させる重要な役割を果たすことが証明された[17]。しかし、その複合化条件は限られたものであり、TCNF 存在下での HAP の結晶成長が反応条件によってどのように変化し、その結果、複合体の機械的性質がどのように変化するかは未だ明らかにされていない。

本研究では、より簡易な複合化方法である共沈法により TCNF と HAP を複合化し、そのときの温度や濃度、さらには TCNF と HAP の重量比などの複合化条件によって複合体の機械的性質がどのように変化するかを明らかにし、骨のように優れた機械的性質をもつ TCNF-HAP 複合体を合成できる最適な共沈複合化条件を見出すことを目指した。

2. 実験

2.1. 使用試薬

- 1) TEMPO oxidized cellulose nanofiber (TCNF) 2.2 wt% in water

第一工業製薬会社

- 2) Calcium chloride dihydrate

富士フイルム和光純薬株式会社

- 3) Disodium hydrogen phosphate

富士フイルム和光純薬株式会社

- 4) Sodium hydroxide

富士フイルム和光純薬株式会社

- 5) Acetone

富士フイルム和光純薬株式会社

- 6) Distilled water

Yamato Autostill WG250 によって蒸留したものを使用した。

2.2. 測定機器

- 1) 熱重量測定(TGA)

株式会社島津製作所製の示差熱・熱重量同時測定装置(DTG-60)を用いて測定・解析した。

- 2) 粉末 X 線回折(XRD)

リガク株式会社製の X 線回折装置 SmartLab で測定し、PDXL2 で解析を行った。

- 3) 三点曲げ試験装置

株式会社マルトー社製の「MZ-250」を用いて測定および解析を行った。

- 4) 走査型電子顕微鏡(SEM) 及びエネルギー分散型 X 線分光解析 (EDX)

株式会社日立ハイテクサイエンス製の TM3030 を用いて観察を行った。

2.3. 実験方法

2.3.1. 共沈法による TCNF と HAP の複合化と TCNF、HAP 単体の調製

【共沈手順と共沈温度及び無機重量分率の効果】

本研究では、Fig. 1 のとおり、TCNF+PO₄³⁻分散水溶液に Ca²⁺水溶液を加えることで複合体を得る Method A、また、TCNF+Ca²⁺分散水溶液に PO₄³⁻水溶液を加えることで複合体を得る Method B の 2 種類の共沈手順で TCNF-HAP 共沈複合体を合成した。仕込み無機重量分率 IC_{feed} はそれぞれ 70、90 wt% の 2 通り行なった。

① 0.5 wt% TCNF 水分散液の調整

まず、IC_{feed}: 70 wt% では、500 mL ビーカーに 2.2 wt% の TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) 水溶液を 36.91 g (TCNF 重量: 0.81 g) を秤量してから蒸留水を 126 mL 加えた。また、IC_{feed}: 90 wt% では、500 mL ビーカーに 2.2 wt% の TEMPO 酸化セル

ロースナノファイバー (TCNF) 水溶液を 9.55 g (TCNF 重量: 0.21 g) を秤量してから蒸留水を 32 mL 加え、それぞれ 90 °C で 30 分間以上 600 rpm の回転速度で攪拌することでそれぞれ必要量の 0.5 wt% TCNF 水分散液を調製した。

② TCNF と HAP の共沈複合化

Method A では、これらの分散液それぞれに 0.2 M Na_2HPO_4 水溶液 57 mL と 1 M NaOH 水溶液 15 mL の混合溶液を加え、共沈温度 25、40、70、90 °C で 20 分間 600 rpm の回転速度で攪拌した。その後、同温度同攪拌速度を保ちながら 0.2 M CaCl_2 水溶液 94 mL を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間同温度、同攪拌速度で熟成した。

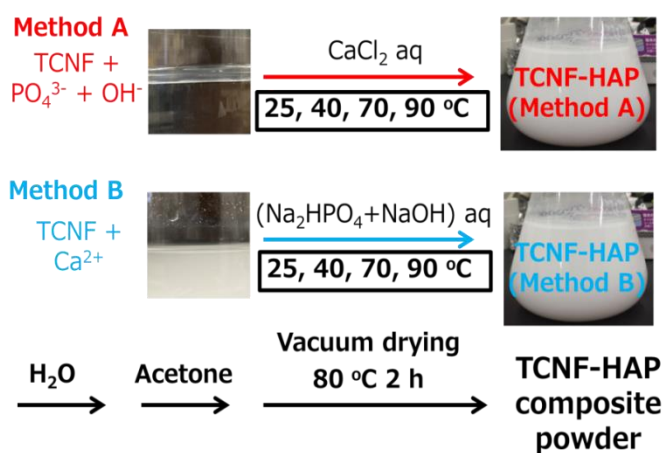


Fig. 1. Hybridization of TCNF and HAP by coprecipitation process: Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites.

Method B では、 IC_{feed} : 70、90 wt%ともに、上記と同様の条件でそれぞれ 0.5 wt% TCNF 水分散液を調製し、これらの分散液に 0.2 M CaCl_2 水溶液 94 mL を加え、共沈温度 25、40、70、90 °C で 20 分間 600 rpm の回転速度で攪拌した。このとき、 Ca^{2+} によって TCNF 表面のカルボキシ基が架橋[18, 19]され、全体的に半濁化した。このことから、Method A、B では、HAP と共沈複合化するときの TCNF の構造やイオンとの相互作用の状態が異なるものと考えられる。そ

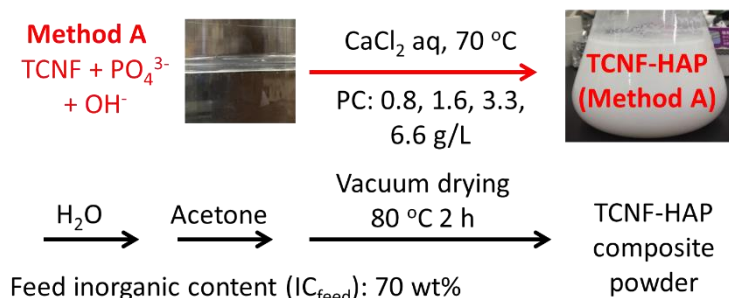
その後、同温度同攪拌速度を保ちながら 0.2 M Na_2HPO_4 水溶液 57 mL と 1 M NaOH 水溶液 15 mL の混合溶液を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間同温度、同攪拌速度で熟成した。

得られた各複合共沈物を約 1000 mL の蒸留水で吸引ろ過することで洗浄した。その後、約 1000 mL のアセトンを加えてから吸引ろ過することで共沈物を脱水してから 80 °C で 2 時間以上真空乾燥した。その後、すり鉢でより細かい粉末にした。

【結晶成長時の高分子濃度の効果】

高分子濃度 PC が 0.8 g/L における共沈殿：1000 mL ビーカーに 2.2 wt% TCNF 水分散液を 22.7 g (TCNF 重量: 0.5 g) を秤量してから蒸留水を 177 mL 加えた。そして、それぞれ室温で 10 分間以上 600 rpm の回転速度で攪拌した。この分散液に、 IC_{feed} : 70 wt% になるように 0.05 M Na_2HPO_4 水溶液 139 mL と 0.25 M NaOH 水溶液 37 mL の混合溶液を加え、70 °C で 20 分間 600 rpm の回転速度で 15 分間攪拌した。その後、Fig. 2 のように

同温度同攪拌速度を保ちながら 0.05 M CaCl₂ 水溶液 94 mL を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間同温度、同攪拌速度で熟成した。



得られた各複合共沈物を約 1000 mL の蒸留水で吸引ろ過しながら洗浄した。その後、約 1000 mL のアセトンを加えてから吸引ろ過することで共沈物を脱水し、濾紙上に残った沈殿物を 80 °C で 2 時間以上真空乾燥した。その後、すり鉢でより細かい粉末にした。

Fig. 2. Hybridization of TCNF and HAP by coprecipitation process: Effects of the polymer concentrations during crystal growth.

PC: 1.6、3.3、6.6 g/L についても、以下の Table 1 に示した 2.2 wt% TCNF 水分散液、蒸留水、CaCl₂ 水溶液、Na₂HPO₄ 水溶液、NaOH 水溶液の容量・濃度で同様の操作を行うことにより合成した。

Table 1. Coprecipitation Conditions for Preparation of TCNF–HAP Nanocomposite Powder: Effects of the Polymer Concentrations during Crystal Growth

PC(g/L)	0.8	1.6	3.3	6.6
2.2 wt% TCNF (g)	22.7	45.5	90.9	181.8
TCNF (g)	0.5	1	2	4
H ₂ O (mL)	177	154	109	18
Na ₂ HPO ₄ aq (mL)	139 (0.05 M)	139 (0.1 M)	139 (0.2M)	139 (0.4 M)
NaOH aq (mL)	37 (0.25 M)	37 (0.5 M)	37 (1 M)	37 (2 M)
CaCl ₂ aq (mL)	232 (0.05 M)	232 (0.1 M)	232 (0.2 M)	232 (0.4 M)

【TCNF、HAP 単体の調製】

HAP 単体は、TCNF の非存在下での Method A、70 °C の条件で合成した。

TCNF 単体は、2.2 wt% TCNF 水分散液に約 1000 mL のアセトンを加えることで TCNF を沈殿させ、これを吸引ろ過し、真空中 80 °C で 2 時間乾燥した後に粉末化した。

2.3.2. 複合体の収率

各複合体の収率を以下の式より算出した。

$$\text{収率} = (\text{実測収量 } Y_{\text{obs.}} / \text{理論収量 } Y_{\text{calcd.}}) \times 100 \quad (\%)$$

2.3.3. 複合体の無機重量分率

各複合体粉末の無機重量分率は熱重量分析 (TGA) より算出した。室温から 100 °C までの重量減少を吸着水による減少、100 °C から 1000 °C までの重量減少を有機物の燃焼によるものと考え、以下の式より無機重量分率 IC を算出した。昇温速度は 20 °C /min で行った。

$$IC = \frac{1000\text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}}{100\text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}} \times 100\text{ (wt \%)}$$

2.3.4. HAP の結晶子サイズ

粉末 X 線回折 (XRD) の測定により得られた 26°、39° のピークの半値幅から HAP の (0 0 2) 方向、(3 1 0) 方向の結晶サイズを検討した。結晶サイズ L は Scherrer の式より算出した。Scherrer の式は以下に示す。

$$L = \frac{0.9 \times \lambda}{B \cos \theta} \quad B_{(rad)} = B_{(deg)} \times \frac{\pi}{180}$$

λ は粉末 X 線回折の Cu / $K\alpha$ 線の波長 1.54056 (Å)、 B は半値幅を radian 単位に換算した値、 $\cos \theta$ はピークの位置 (2θ) より求めた値を radian 単位に換算した値である。変換は以下の式で行った。本研究では、これらの算出に解析ソフト (Rigaku Data Analysis Software PDXL version2) を用いて行い、結晶子サイズを求めた。

2.3.5. 複合体粉末の成形

Fig. 3 のように、得られた粉末を長方形のロット ($4 \times 13\text{ mm}^2$) を有する金型に入れ、120 °C、120 MPa で 5 分間一軸加圧し、角柱型の成形物 ($4 \times 13 \times (1.5 - 2.0)\text{ mm}^3$) を得た。その後、成形物の密度を求め、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min で三点曲げ試験を行った。

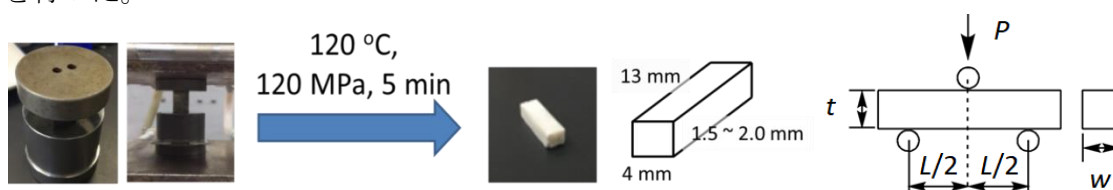


Fig. 3. Mold of composite powder by hot press and three-point-bending test.

複合体の理論密度は以下の式から算出した。また、TCNF の理論密度は 1.6 g/cm^3 [20]、HAP が 3.2 g/cm^3 [21] として計算した。

$$d_{calcd.} = \left(\left(\frac{\text{有機重量分率}}{\text{TCNF の理論密度}} \right) + \left(\frac{\text{無機重量分率}}{\text{HAP の理論密度}} \right) \right)^{-1}$$

曲げ強度 σ_b 、曲げひずみ ε_b は以下の式より算出した。 L, P, t, w は Fig. 3 に示している。 s は、クロスヘッドの変位量である。また、弾性率 E_b 及び破壊エネルギー G_f は、Fig. 4 のように、応力-ひずみ曲線の傾き及び面積から求めた。

$$\sigma_b = (3 \times L \times P) / (2 \times w \times t^2) \quad \varepsilon_b = (600 \times s \times t) / L^2$$

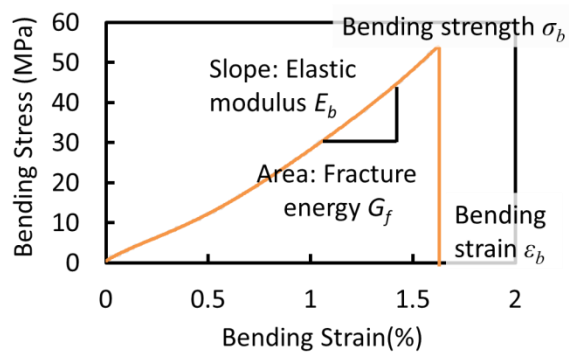


Fig. 4. Schematic representation of stress-strain curve.

3. 実験結果及び考察

3.1. 複合体の収率

Fig. 5 のとおり、Method A、B とともに、 IC_{feed} : 70 wt%の方が 90 wt%よりも収率が高かった。また、 IC_{feed} : 70、90 wt%どちらにおいても、Method Aの方がBよりも収率が高くなった。

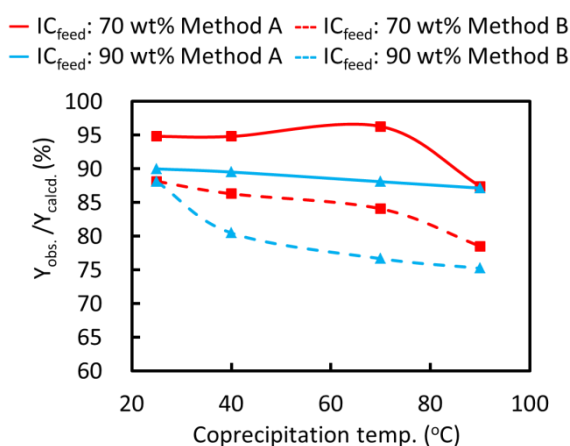


Fig. 5. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on yield of the composites.

うことであり、その沈殿物中には HAP 単体よりも TCNF-HAP 共沈複合体の方が多く存在していたものと考えられる。また、 IC_{feed} : 70、90 wt%の両方において、Method Aの方がBよりも収率が高かった。このことから、Method BよりもMethod Aの方がより均一に TCNF と HAP が複合化されたことが示唆された。

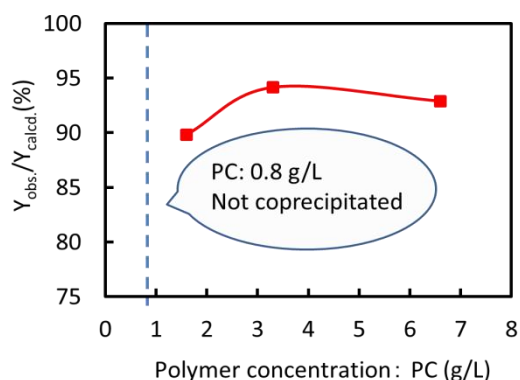


Fig. 6. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on the yield of the composites (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

本実験で用いた濾紙の孔径は 1 μm であり、HAP 単体の大半は濾紙を通り抜け除去され、その収率はおよそ 50%前後であった。ゆえに、得られた沈殿物中に TCNF と HAP の共沈複合体だけではなく、複合化されていないフリーな HAP 単体も存在している場合、その HAP 単体の多くは濾紙上に残ることなく、濾液へ除去されるものと考えられる。

よって、 IC_{feed} : 70 wt%の方が 90 wt%のものより収率が高いということは、濾紙上により多く沈殿物が残っていたとい

Fig. 6 のとおり、高分子濃度 PC が 1.6 g/L 以上ではその他の条件と同様に TCNF と HAP が共沈し、その共沈物は容易に濾過でき、大過剰の蒸留水で洗浄しながら濾過できた。しかし、PC: 0.8 g/L の場合、熟成後の溶液に共沈物は確認できず、全体的に半濁状に分散していた。この溶液を他の条件同様に濾過・洗浄したところ、すぐに濾紙はつまり、分離が不可能であった。これに大過剰のアセトンを加えたところ、濾紙のつまりは軽減され、濾過速度が向上した。このことから、水溶液側に余分な TCNF 単体がより

多く存在していたものと考えられる。つまり、PC: 0.8 g/L という、あまりにも高分子

濃度が低い条件においては、TCNF 表面上で HAP が結晶成長しにくく、TCNF と HAP が均一に複合化されることがなく分離し、共沈が起こりにくいことが示唆された。

3.2. 複合体の無機重量分率

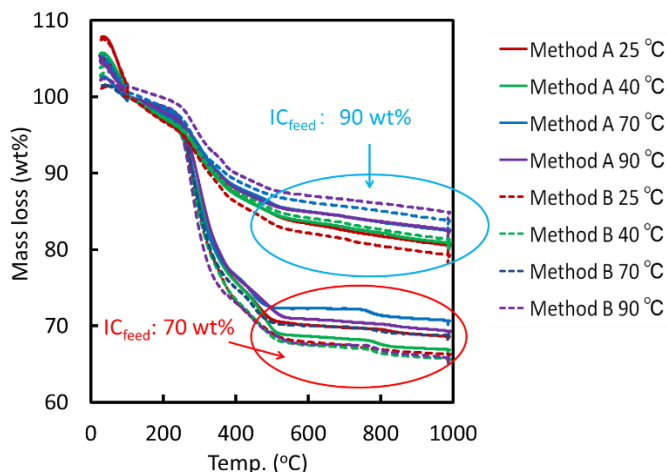


Fig. 7. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on the TG curves of the TCNF-HAP composites.

で観察されることが報告[22]されており、熱分解温度はセルロースの結晶化度に依存すると報告されている[23]。このことから、HAP との複合化により、TCNF の結晶化度や配向性に変化が現れたものと考えられる。740-980 °C においても複合体の重量減少が確認できるが、これは、HAP の脱ヒドロキシル化によるものと考えられる[24]。

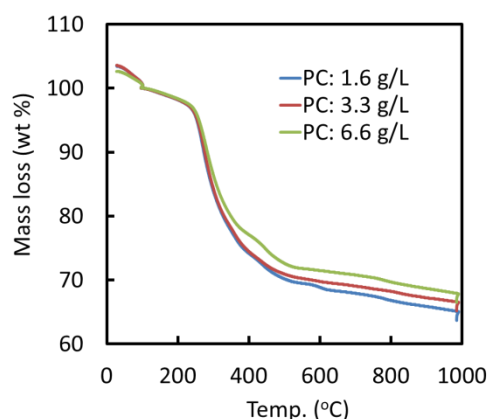


Fig. 8. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on the TG curves of the TCNF-HAP composites (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

Fig. 7-9 のとおり、各サンプルにおいて、100 °C 付近で粉末に吸着されていた水の蒸発が確認された。また、およそ 327-363 および 443-492 °C 辺りで熱分解による重量減少が見られた。TCNF 単体の熱分解による重量減少は 308-379 °C 辺りで確認されており、複合体中の TCNF の方が TCNF 単体よりも高い熱分解温度を持つことが示された。

微結晶性セルロースの DTA の発熱ピークが 300 および 440 °C

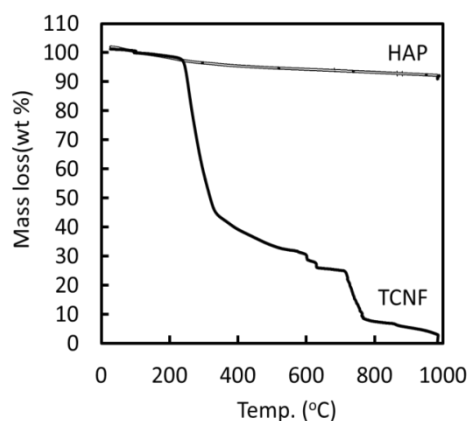


Fig. 9. TG curves of the HAP and TCNF.

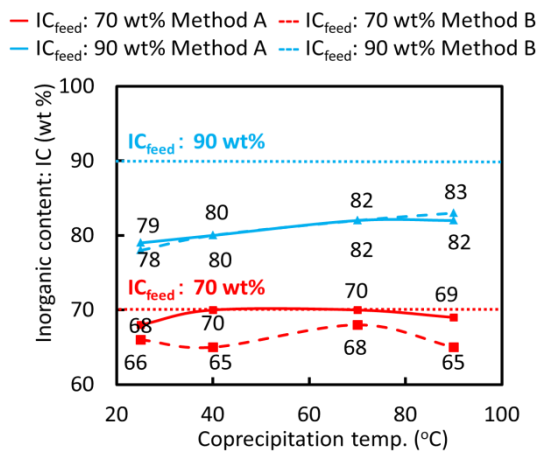


Fig. 10. Effects of coprecipitation protocols, temperature, and inorganic contents of the composites on inorganic contents of the composites determined by TGA.

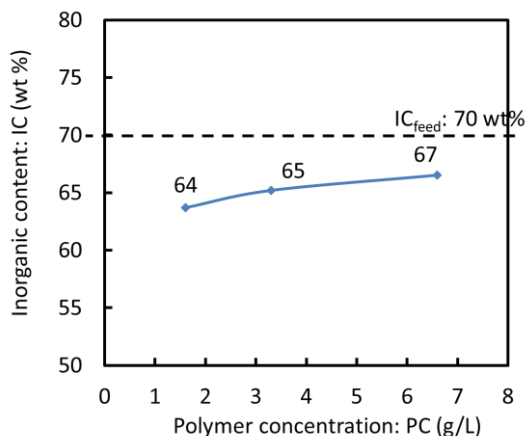


Fig. 11. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on inorganic contents of the composites determined by TGA (Method A, 70 °C, $IC_{feed}: 70 \text{ wt}\%$).

沈しやすいものと考えられる。

Fig. 10 のとおり、Method A、Method B の両方において、 $IC_{feed}: 90 \text{ wt}\%$ より $70 \text{ wt}\%$ のものの方が、無機重量分率 IC が仕込み値 IC_{feed} に近い値をとった。

もし、沈殿物中に TCNF と複合化されていない HAP 単体が存在していれば、その HAP の多くは濾紙から通り抜け、除去される。その場合、収率はもちろん、無機重量分率も仕込み値よりも小さくなると考えられる。よって、 $IC_{feed}: 90 \text{ wt}\%$ より $IC_{feed}: 70 \text{ wt}\%$ で得られた IC の方がそれぞれ IC_{feed} に近いため、 $IC_{feed}: 70 \text{ wt}\%$ で得られたもののほうが TCNF と HAP が均一に複合化されたものと考えられる。

また、 $IC_{feed}: 70, 90 \text{ wt}\%$ の両方において、Method B よりも Method A で得られた IC の方が IC_{feed} に近かった。よって、Method B よりも Method A の方がより均一に TCNF と HAP が複合化されたものと考えられる。

Fig. 11 のとおり、高分子濃度 PC が大きくなるほど、無機重量分率 IC も増大し、仕込み無機重量分率 $IC_{feed}: 70 \text{ wt}\%$ に近い値を示した。先述の Fig.6 の収率の結果のとおり、収率も高分子濃度 PC が増大するほど高くなったことから、HAP の結晶成長時の高分子濃度が高いほど、TCNF と HAP が共

3.3. HAP の結晶子サイズ

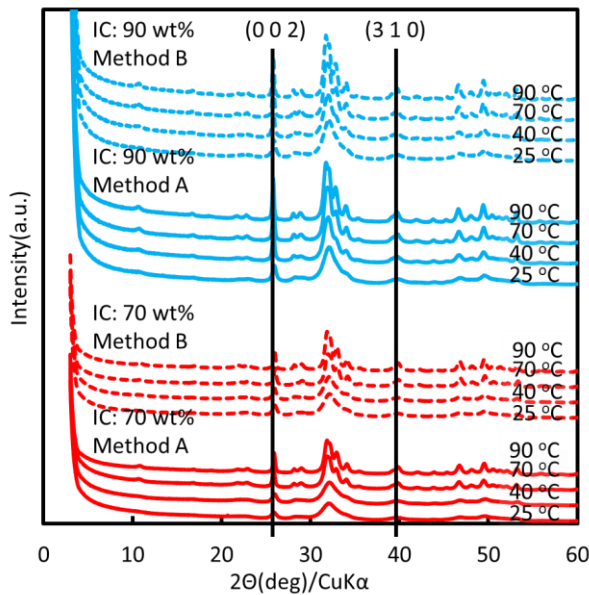


Fig. 12. Effects of the coprecipitation protocols, temperature, and inorganic contents of the composites on the XRD patterns of TCNF-HAP composites.

沈温度 70 °C 以上では、*c* 軸方向の結晶子サイズは Method A の方が大きくなるのに対して、*a* 軸方向の結晶子サイズは Method B の方が大きくなった。これら複合体中での *c* 軸・*a* 軸方向の結晶成長のしやすさをさらに議論するためにアスペクト比 (*c/a*) を算出したところ、Fig. 14 のとおり、IC_{feed}: 70、90 wt% の両方において、共沈温度 70 °C 以上では Method A の方が (3 1 0) 方向、すなわち *a* 軸方向への結晶成長が阻害されており、アスペクト比 (*c/a*) が大きくなることがわかった。

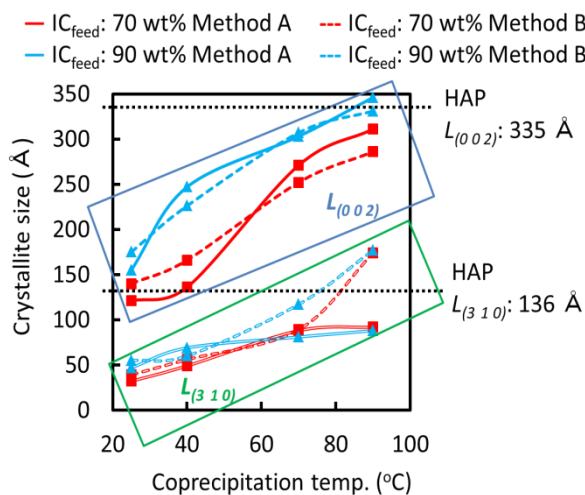


Fig. 13. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on crystallite size of HAP in the composites.

Fig. 12 にいろいろな条件で共沈させた複合体粉末の XRD を示す。どの条件においてもそれぞれ HAP の特徴的なピークが得られており、生成された無機結晶は別種のリン酸カルシウムではなく、HAP であることがわかった[25, 26]。

Fig. 13 のとおり、IC_{feed}: 90 wt% の方が 70 wt% で得られたものよりも結晶子サイズが大きくなった。これは、TCNF に対して生成する HAP の量が多くなるほど、TCNF と相互作用せず、水溶液側で単独で結晶成長する HAP が増え、その分、結晶成長の制御が起こりにくくなり、結晶子サイズが大きくなったものと考えられる。

IC_{feed}: 70、90 wt% の両方において、共

1990 年に Kawasaki らは、Fig. 15 のような六方晶 HAP の *a* 面表面では Ca²⁺ が露出しているため、正に帯電、*c* 面表面では PO₄³⁻ が露出しているため、負に帯電しており、等電点が 7 未満の酸性タンパク質は主に HAP の *a* 面に吸着し、等電点が 7 を超える塩基性タンパク質は主に *c* 表面に吸着すると報告している[27]。また、2001 年に Sato らは、HAP の結晶配向はラングミュア-プロジェクト膜の規則的なカルボキシ基によって制御できることを報告した[28]。

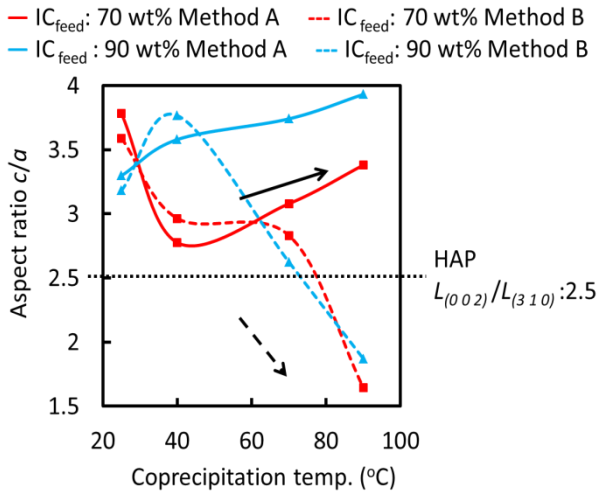


Fig. 14. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on aspect ratio(c/a) of HAP crystallite in the composites.

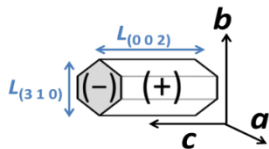


Fig. 15. Crystallite of hydroxyapatite.

すなわち、TCNF の繊維表面にはアニオン性のカルボキシ基が多く存在しているため、HAP のカチオン性の a 面とカルボキシ基-カルシウムカチオン間相互作用を形成できると考えることができる。そのような相互作用が形成された場合、

Fig. 16 のように、HAP の結晶子の a 軸方向への結晶成長は阻害され、アスペクト比 (c/a) は大きくなるものと考えられる。

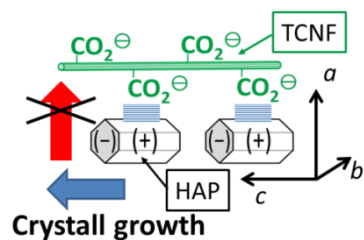


Fig. 16. Schematic representation of the control of HAP crystallization by carboxyl groups of TCNF.

よって、 $IC_{feed.}$: 70、90 wt%の両方において、Method B より Method A の方が TCNF のカルボキシ基と HAP の a 面のカルシウムカチオンが相互作用を形成しており、有機-無機界面の安定化に寄与していると考えられる。

Fig. 17 のように、Method B では、最初に TCNF が Ca^{2+} で架橋された状態で HAP が結晶成長する。このとき、TCNF は互いにランダムな方向に向けた状態で凝集される。このような状態で HAP が生成されるため、HAP の配向性も低く、アスペクト比 (c/a) も低下したものと考えられる。対して Method A では、TCNF と PO_4^{3-} 、 OH^- が均一に分散した状態で HAP が生成される。HAP の結晶核が生成されると同時に、HAP の a 面と TCNF のアニオン性のカルボキシ基が相互作用を形成し、その部分から HAP が TCNF に沿って結晶成長するものと考えられる。よって、Method B と比べて、Method A では HAP の配向性は高くなり、アスペクト比 (c/a) が大きくなったものと考えられる。このような Method A、B の複合化形態をそれぞれ

さらに、2000 年に Rhee と Tanaka は、HAP の結晶成長が、カルボキシ基や硫酸基などのアニオン性官能基を持つコンドロイチン硫酸によって阻害され、これらのアニオン性基が HAP 結晶の表面に吸着することで結晶成長が阻害されることを報告している。これらの研究はすべて、有機高分子の陰イオン基が HAP の (100) 表面に吸着され、結晶サイズが制御されたことを示唆している[29]。

「結晶性複合化： Crystalline hybridization」、「非晶性複合化： Amorphous hybridization」と命名する。

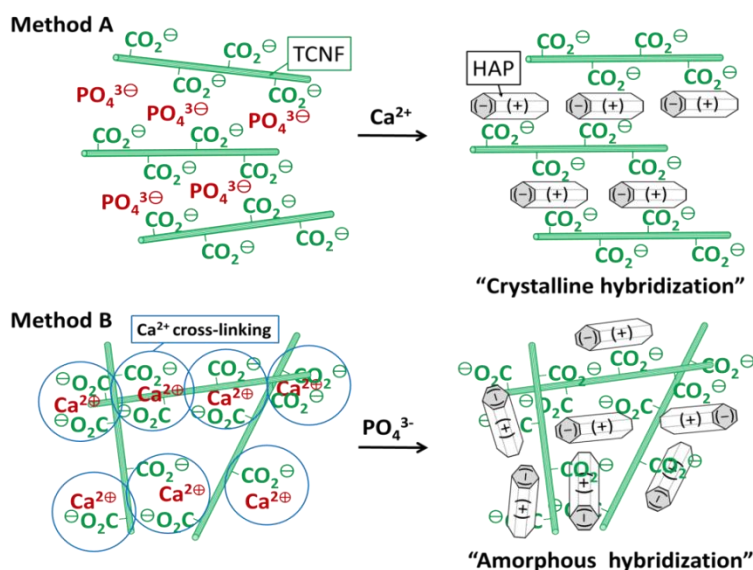


Fig. 17. Schematic representation of two protocols of hybridization.

Fig. 18 のとおり、どの PC 条件においてもそれぞれ HAP の特徴的なピークが得られたことから、生成された無機結晶は別種のリン酸カルシウムではなく、HAP であることがわかった[25, 26]。

Fig. 19 より、PC: 1.6 g/L のものが最もアスペクト比 (c/a) が大きくなった。Fig. 20 に示すように、あまりにも PC が低すぎると、HAP が TCNF とは関係のない部分で単独で成長し、TCNF 近傍で HAP が結晶成長することが出来ず、共沈複合化が起こりにくくなる。しかし、あまりにも PC が高すぎると、TCNF 同士が会合し、TCNF 近傍で

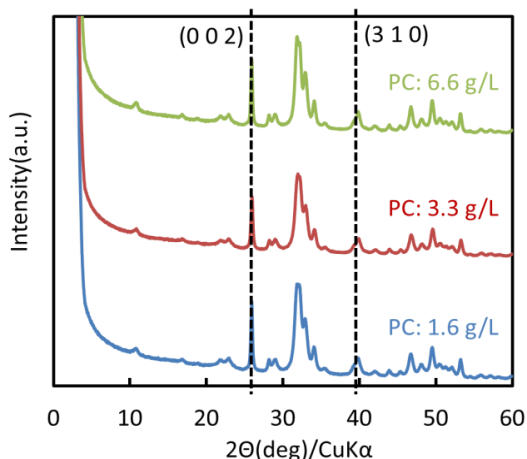


Fig. 18. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on XRD patterns of TCNF-HAP composites (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

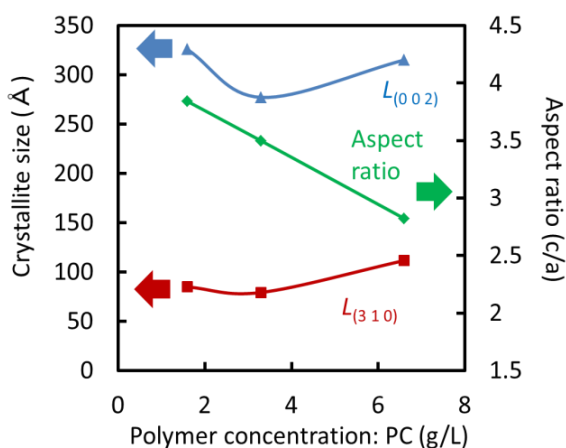


Fig. 19. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on the crystallite sizes and the aspect ratios (c/a) of HAP in the composites (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

HAP が均一に結晶成長しにくくなる。ゆえに、PC には、最適値が存在し、PC: 1.6 g/L のときに最も HAP が TCNF 近傍で均一に結晶成長しやすくなり、アスペクト比 (c/a) が最も大きくなったものと考えられる。

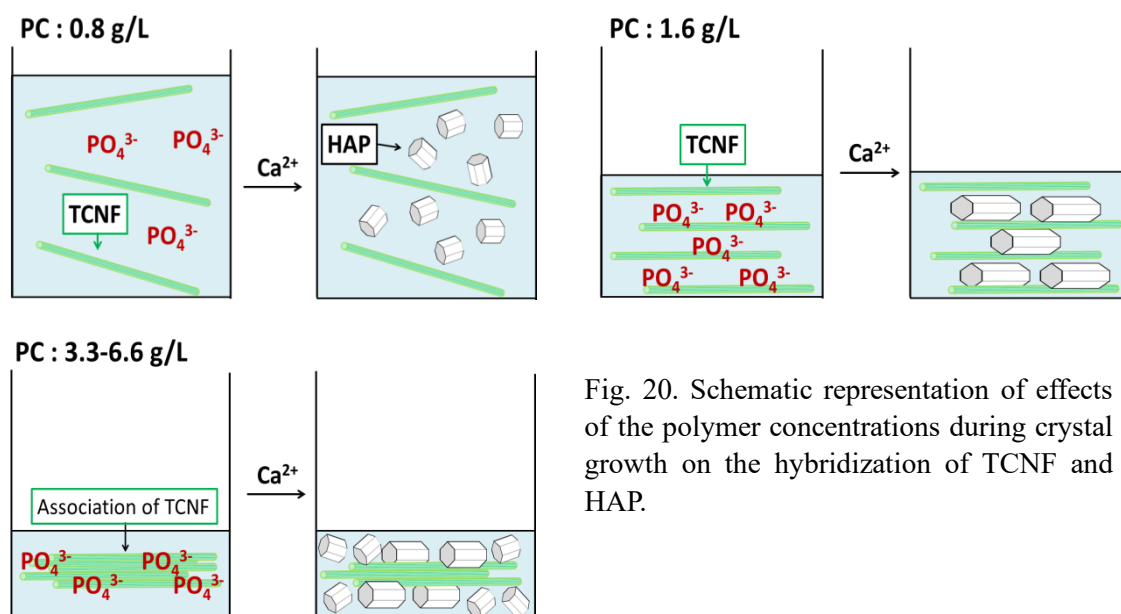


Fig. 20. Schematic representation of effects of the polymer concentrations during crystal growth on the hybridization of TCNF and HAP.

3.4. 複合体の機械的性質

— IC_{feed}: 70 wt% Method A - - - IC_{feed}: 70 wt% Method B
 — IC_{feed}: 90 wt% Method A - - - IC_{feed}: 90 wt% Method B

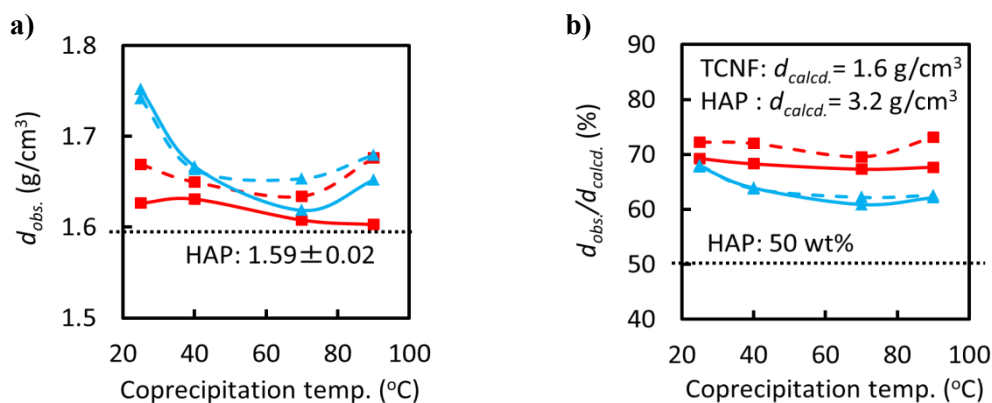


Fig. 21. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites ((a): observed density (b): relative density).

Fig. 21 に TCNF-HAP 複合体を $120^{\circ}C$ 、 $120 MPa$ で一軸加圧成型した成形体の密度 (a)、相対密度 (b) を示す。Method A、B の両方において、IC_{feed}: 70 wt% のほうが 90 wt% のものより密に成形された。一般的に HAP のような無機物を密に成形するには高温高压などの焼結処理が必要とされる。実際に、本研究で得られた HAP 単体の相対密度も 50% 程度である。また、TCNF やデンプンのような水と親和するポリマーは、ホ

ットプレス時に水分を含んでいれば熱可塑性を示し、比較的密に成形される[2]。よって、 IC_{feed} : 90 wt%よりも HAP が少なく、TCNF が多い IC_{feed} : 70 wt%の方が密に成形されたものと考えられる。また、 IC_{feed} : 70 wt%において Method B の方が Method A よりも密に成形されている。これも Fig. 10 からわかるように、Method B の方が Method A よりも IC が小さく、その分 Method A よりも密に成形されたものと考えられる。

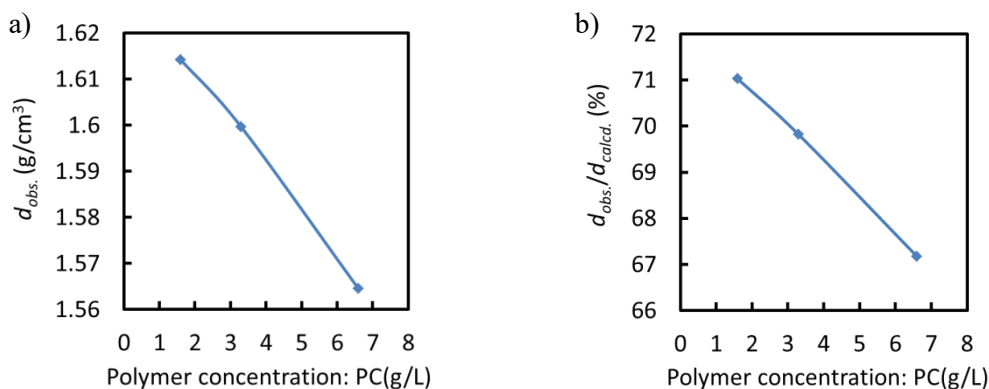


Fig. 22. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on the density of the composites ((a): observed density (b): relative density) (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

Fig. 22 (a)、(b)のとおり、PC が増大するほど成形性は低下した。Fig. 10 のとおり、PC が増大するほど IC は大きくなっており、その分、緻密に成形しにくくなったものと考えられる。また、Fig. 19 のとおり、PC: 1.6 g/L のときアスペクト比 (c/a) は最も

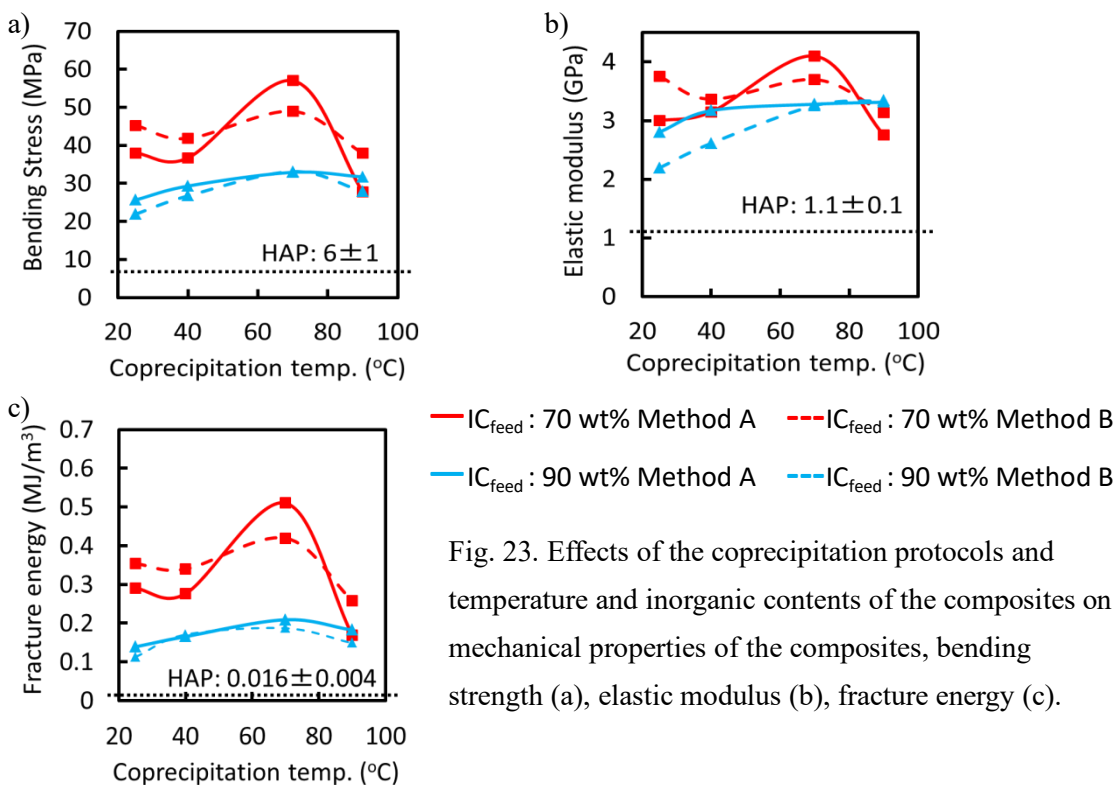


Fig. 23. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on mechanical properties of the composites, bending strength (a), elastic modulus (b), fracture energy (c).

大きく、Fig. 20 のように、有機-無機界面相互作用がより形成されており、成形性の低い HAP 単体が少ないものと考えられる。以上のことから、PC: 1.6 g/L のものが最も IC が低く、かつ、有機-無機界面の相互作用がより多く形成されており、TCNF と相互作用していない成形性の低い HAP 単体が少ないため、より緻密に成形されたものと考えられる。

Fig. 23 (a)、(b)、(c)のとおり、Method A、B とともに、IC_{feed.}: 70 wt% のほうが 90 wt% よりも各共沈温度において曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーが大きかった。これは、IC_{feed.}: 70 wt% のほうが 90 wt% のものよりも密に成形されており、成形物内部に空隙が少なく、その分機械的性質が向上したためと考えられる。また、IC_{feed.}: 70 wt% の方が 90 wt% よりも TCNF がより多く存在しており、TCNF の靱性が複合体に付与されたためと考えられる。

IC_{feed.}: 70 wt% において、Method B は共沈温度によって機械的性質が極端に変化することはなかったが、Method A は共沈温度 70 °C のときに最も曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーが向上し、本研究で得られた複合体の中で最大の値を示した。このことから、Fig. 17 のように、Method A のときに TCNF と HAP が結合・配向した結晶性複合化が起こりやすく、機械的性質が向上したものと考えられる。

しかし、HAP が TCNF に対して多すぎず、かつ、有機-無機界面の相互作用が形成されているものほど機械的性質が向上するのであれば、最も高いアスペクト比 (c/a) をもつ IC_{feed.}: 70 wt%、Method A、共沈温度 25 °C で得られたものが最も機械的性質が向上するはずである。Fig. 24 のとおり、HAP の結晶子が小さければ小さいほど、HAP 結晶子の c 面間で破壊が起こりやすくなるため、機械的性質は低下するものと考えられる。対して、HAP の結晶子が c 軸方向に長ければ長いほど、HAP 結晶子の a 面間の破壊が起こりにくく、機械的性質は向上したものと考えられる。

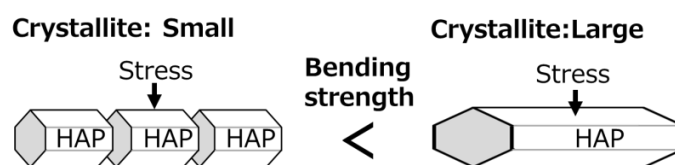


Fig. 24. Relationship of mechanical property and crystallite size of HAP.

しかし、その場合、最も機械的性質が向上するのは、IC_{feed.}: 70 wt% において c 軸方向の結晶子サイズが最大である IC_{feed.}: 70 wt%、Method A、共沈温度 90 °C の複合体であると考えられる。Method A、共沈温度 90 °C では、TCNF は他の条件と比べて、より長い時間、90 °C で Na₂HPO₄、NaOH 混合水溶液中で分散された。セルロースナノファイバーは高温・高 pH 水溶液中下ではその繊維構造が崩壊しやすく、特に、TCNF は、その繊維表面が TEMPO 酸化によりカルボキシ基が導入されているため、親水性がより高くなっており、繊維構造の崩壊がより起こりやすいものと考えられる[30]。

ゆえに、 IC_{feed} : 70 wt%、Method A、共沈温度 90 °C においては、HAP の結晶成長が促進される一方で、TCNF の繊維構造が崩壊し、機械的性質が低下したものと考えられる。

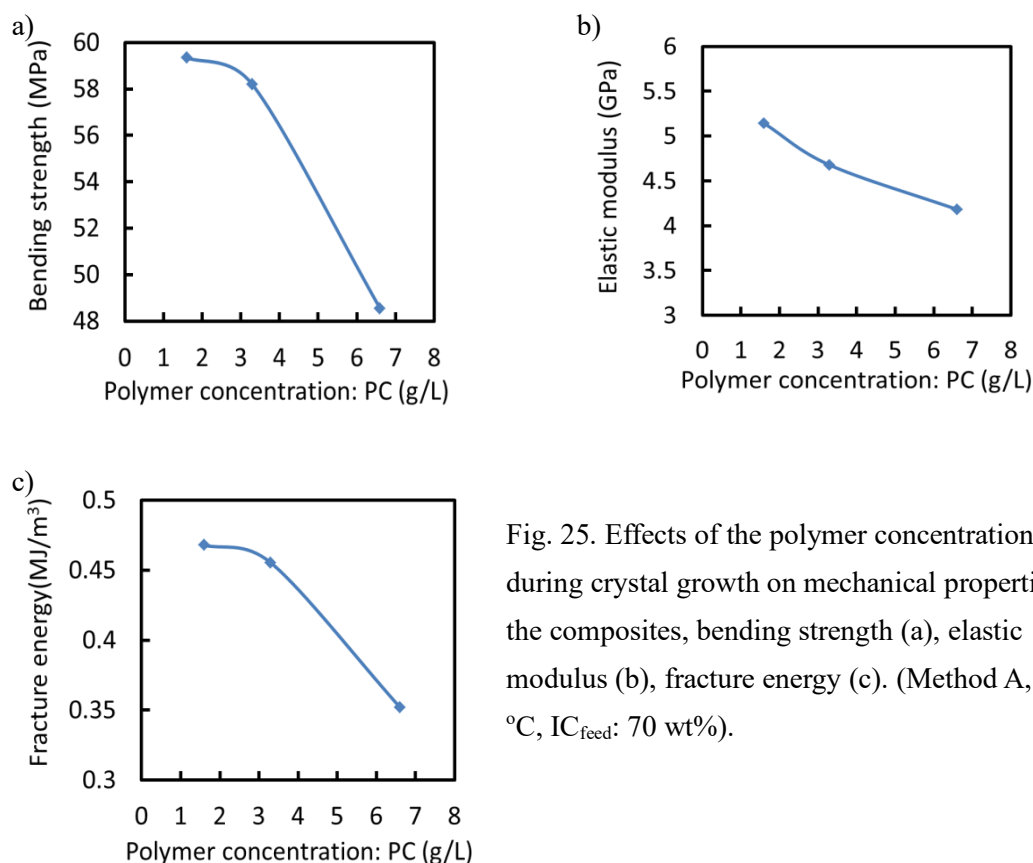


Fig. 25. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on mechanical properties of the composites, bending strength (a), elastic modulus (b), fracture energy (c). (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

Fig. 25 (a)、(b)、(c)のとおり、PC が小さいものほど曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーが大きくなった。Fig. 17 のとおり、PC: 1.6 g/L のときに HAP 結晶子のアスペクト比 (c/a) は最も大きくなったことから、Fig. 20 に示した通り、PC: 1.6 g/L のときに最も有機-無機界面の相互作用が形成され、機械的性質が最も向上したものと考えられる。

Method A、共沈温度 70 °C、 IC_{feed} : 70 °C の条件で得られた複合体の曲げ強度は 57 ± 2 MPa、弾性率は 4.1 ± 0.1 GPa、破壊エネルギーは 0.51 ± 0.03 MJ/m³ であった ($n=11$)。骨は機械的異方性をもつため、配向方向に対して横・縦方向に加わる応力によって、その機械的性質は異なる。牛の皮質骨においては、配向方向に対して垂直方向に加わる応力に対する曲げ強度は 251 MPa、弾性率は 16.1 GPa である[31]。これらの値と比較すると、本研究で得られた複合体の機械的性質は皮質骨に匹敵しているとは言い難い。しかし、牛の皮質骨において、配向方向に対して平行な向きに加わる応力に対して示す曲げ強度は 57 MPa、弾性率は 6.4 GPa であり、Method A、共沈温度 70 °C、 IC_{feed} : 70 °C で得られた複合体と同程度である。今回の成型体では、TCNF や HAP が異方的に配向するよう

な操作は行っておらず、平均化した力学的な性質が測定されていると考えられる。また、Table 2 のとおり、石油由来プラスチックと比べると、その曲げ強度は高密度ポリエチレンやポリプロピレンを遥かに凌ぎ、ポリ塩化ビニリデンや ABS 共重合樹脂に匹敵した。また、弾性率は PET や PMMA を凌いだ[32]。Table 3, 4 に、本研究で得られた全サンプルの機械的性質をまとめる。

Table 2. Comparison of Bending Strength (σ_b), Elastic modulus (E_b), and Density (d) of the Composite Compact with Those of Petroleum-derived Plastics

	σ_b (MPa)	E_b (GPa)	d (g/cm ³)
TCNF - HAP (Method A, 70 °C, IC _{feed} : 70 wt%)	57±2	4.1±0.1	1.59±0.01
HD-PE	20	0.88	0.95
PP	37	1.35	0.91
PVdC	29 - 44	—	1.65 - 1.72
ABS	64	2.5	1.05
PET	96 - 131	2.4	1.29 - 1.40
PMMA	118	3.7	1.3

Table 3. Effects of the Coprecipitation Protocols, Temperature, and Inorganic Contents of the Composites on Mechanical Properties of the Composites

IC _{charge}	70	70	70	70
Method	A	A	A	A
Coprecipitation temp. (°C)	25	40	70	90
IC (wt%)	68	70	70	69
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.62 ± 0.02	1.63±0.01	1.59 ± 0.01	1.60±0.03
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	2.35	2.39	2.39	2.37
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	69	68	67	68
ϵ_b (%)	1.9 ± 0.1	1.73±0.07	2.27 ± 0.07	1.60±0.2
σ_b (MPa)	38 ± 2	37±1	57 ± 2	28±1
E_b (GPa)	1.2 ± 0.1	1.4±0.1	1.2 ± 0.1	0.8±0.1

E_{b2} (GPa)	3.0 ± 0.1	3.1 ± 0.2	4.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2
G_f (MJ/m ³)	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.17 ± 0.02
n	7	4	11	4
IC _{charge}	70	70	70	70
Method	B	B	B	B
Coprecipitation temp. (°C)	25	40	70	90
IC (wt%)	66	65	68	65
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.67 ± 0.01	1.65 ± 0.02	1.63 ± 0.02	1.68 ± 0.02
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	2.31	2.29	2.35	2.29
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	69	71	69	73
ϵ_b (%)	2.0 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2	1.56 ± 0.08
σ_b (MPa)	45 ± 1	42 ± 1	49 ± 2	38 ± 1
E_{b1} (GPa)	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.4	0.8 ± 0.1	1.6 ± 0.2
E_{b2} (GPa)	3.8 ± 0.1	3.37 ± 0.06	3.7 ± 0.3	3.1 ± 0.2
G_f (MJ/m ³)	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.01	0.42 ± 0.03	0.26 ± 0.02
n	4	4	4	4
IC _{charge}	90	90	90	90
Method	A	A	A	A
Coprecipitation temp. (°C)	25	40	70	90
IC (wt%)	79	80	82	82
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.75 ± 0.01	1.67 ± 0.01	1.62 ± 0.01	1.65 ± 0.01
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	2.58	2.61	2.66	2.66
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	68	64	61	62
ϵ_b (%)	1.03 ± 0.06	1.55 ± 0.08	1.30 ± 0.04	1.24 ± 0.02
σ_b (MPa)	21.9 ± 0.2	26.7 ± 0.9	33 ± 2	28 ± 2
E_{b1} (GPa)	2.3 ± 0.3	1.2 ± 0.1	1.80 ± 0.08	1.5 ± 0.2
E_{b2} (GPa)	2.2 ± 0.2	2.61 ± 0.07	3.3 ± 0.3	3.3 ± 0.3

G_f (MJ/m ³)	0.11±0.01	0.17±0.01	0.19±0.01	0.15±0.01
n	3	3	3	3
IC _{charge}	90	90	90	90
Method	B	B	B	B
Coprecipitation temp. (°C)	25	40	70	90
IC (wt%)	78	80	82	83
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.741±0.002	1.66±0.01	1.653±0.004	1.680±0.008
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)	68	64	62	63
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)	2.56	2.61	2.66	2.68
ϵ_b (%)	1.2±0.1	1.34±0.04	1.52±0.07	1.33±0.08
σ_b (MPa)	26±1	29.3±0.9	33±2	32±2
E_{b1} (GPa)	1.7±0.2	1.44±0.06	1.32±0.07	1.7±0.3
E_{b2} (GPa)	2.8±0.2	3.2±0.2	3.3±0.1	3.3±0.4
G_f (MJ/m ³)	0.14±0.01	0.17±0.01	0.21±0.02	0.182±0.007
n	3	3	3	3

Table 4. Effects of the Polymer Concentrations during Crystal Growth on Mechanical Properties of the Composites

PC (g/L)	0.8	1.6	3.3	6.6
IC (wt%)		64	65	67
$d_{obs.}$ (g/cm ³)		1.61±0.02	1.60±0.01	1.564±0.004
$d_{calcd.}$ (g/cm ³)		2.27	2.29	2.33
$d_{obs.}/d_{calcd.}$ (%)		71	70	67
ϵ_b (%)	Not coprecipitated	2.13±0.06	1.9±0.1	1.8±0.1
σ_b (MPa)		59±1	58±2	49±2
E_b (GPa)		5.1±0.3	4.68±0.07	4.2±0.2
G_f (MJ/m ³)		0.47±0.02	0.45±0.04	0.35±0.04
n		6	4	4

3.5. 複合体の破壊

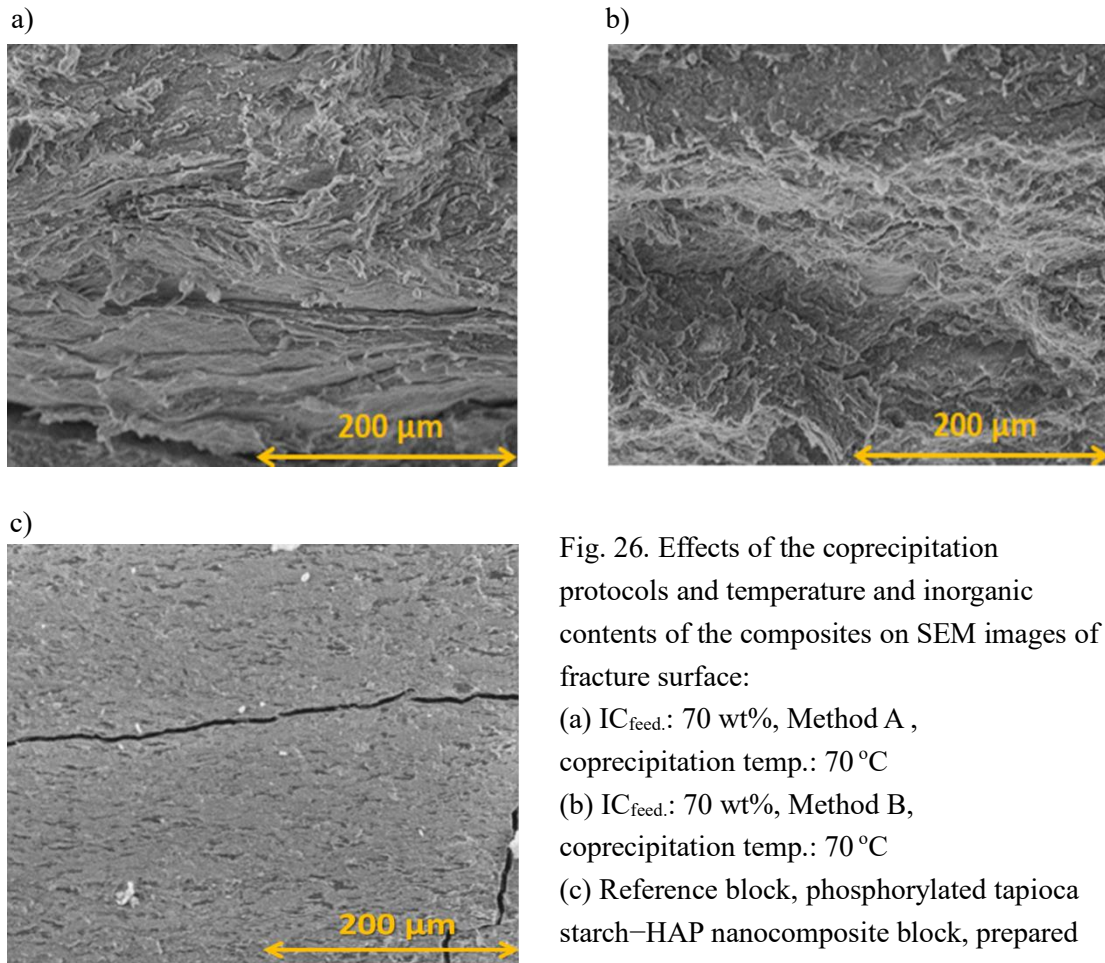


Fig. 26. Effects of the coprecipitation protocols and temperature and inorganic contents of the composites on SEM images of fracture surface:

(a) IC_{feed} : 70 wt%, Method A, coprecipitation temp.: 70 °C

(b) IC_{feed} : 70 wt%, Method B, coprecipitation temp.: 70 °C

(c) Reference block, phosphorylated tapioca starch–HAP nanocomposite block, prepared by coprecipitation at 70 °C

Fig. 26 に成形体の三点曲げ試験での破面の SEM 像を示す。Fig. 26(c) のとおり、リン酸化タピオカデンプンと HAP の複合体は滑らかでクラックの入った脆性的な破面 [2]であるのに対して、Fig. 26(a), (b)の TCNF と HAP の複合体は凹凸の激しい非脆性的な破面であった。この破断は、ラットの脛骨の層状骨の破断面によく類似している [33]。このことから、TCNF により複合体の靱性が向上することが分かった。分岐構造のリン酸化タピオカデンプンと異なり、TCNF は直鎖構造であり、かつ、セルロース分子が数十本束なっているため、より複合体中で骨のコラーゲン繊維のような機能を発現するものと考えられる。さらに、(a)、(b)の繊維構造を比較すると、Method A で得られた(a)の方が Method B で得られた(b)よりも繊維構造が長く、かつ、TCNF の積層構造が見られた。繊維構造の長さは約 $140 \pm 30 \mu\text{m}$ であり、TCNF の繊維長数 μm よりもはるかに長い[3]。このことから、Method B よりも Method A で得られた複合体の方が TCNF と HAP がより規則正しく配向しており、Fig. 17 に示したような結晶性複合化が行われたものと考えられる。

Fig. 27 に破面の Ca と C の分布を EDS によって観測した写真を示す。PC: 1.6~6.6 g/L で得られた各複合体について、Fig. 26 (a)のような TCNF の積層構造が確認された。さらに、EDS の結果、PC が増大するほど、赤（炭素 C）色が局所的に多くなり、TCNF の凝集が確認された。対して、PC: 1.6 g/L については、赤色と青色（カルシウム Ca）が比較的均一に混在していた。以上のことから、PC: 1.6 g/L のときに最も TCNF と HAP が均一に複合化され、有機-無機の結合・配向性の高い結晶性複合化が行われたものと考えられる。

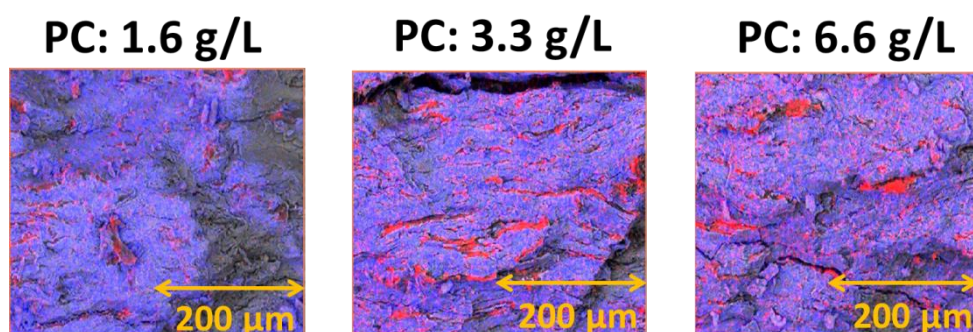


Fig. 27. Effects of the polymer concentrations during crystal growth on SEM images of fracture surface (Red: C, Blue Ca) (Method A, 70 °C, IC_{feed} : 70 wt%).

4. 結言

本研究では共沈法による TCNF と HAP の複合化において、Method A、B の 2 種類の共沈手順を比較した。Method A では Ca^{2+} カチオンを TCNF と PO_4^{3-} の水分散液に加えることで、Method B では PO_4^{3-} アニオンを TCNF と Ca^{2+} の水分散液に加えることで、それぞれ共沈複合体を合成した。また、仕込み無機重量分率 IC_{feed} : 70、90 wt% の 2 通り行った。XRD より、共沈温度が 25 ~ 90 °C まで高くなるほど、HAP の結晶子サイズは大きくなるが、Method A では a 軸方向の結晶成長が制御されており、TCNF のカルボキシ基と HAP の a 面が有機-無機界面相互作用を形成しやすいことがわかった。また、TGA より、 IC_{feed} : 70 wt%の方が 90 wt%より仕込み値に近い値をとり、TCNF と HAP が分離することなく均一に複合化されることも分かった。

最も高い曲げ強度と弾性率、破壊エネルギーを示したのは、最も有機-無機界面の相互作用が形成されており、かつ、TCNF と HAP が分離することなく均一に複合化された IC_{feed} : 70 wt%、Method A、共沈温度 70 °C で得られた複合体であった。破面の SEM 写真を比較すると、分岐構造のリン酸化タピオカデンプンと HAP の複合体と比べて、TCNF と HAP の複合体の破面は非脆性的であり、TCNF の繊維構造が HAP 複合体の靱性を向上させることを見出した。さらに、Method A で合成された複合体の破面には、長さ約 140 μm の TCNF の積層構造が確認され、高い配向性を示した。このことから、Method A では結晶性複合化 (Crystalline hybridization)、Method B では非晶性複合化

(Amorphous hybridization) を起こりやすいことがわかった。

TCNF の構造を制限することなく HAP と共沈できる Method A、TCNF と HAP を分離させることなく均一に複合化できる IC_{feed}: 70 wt%、TCNF の繊維構造や有機-無機界面の結合を保ちながら HAP を十分に結晶成長できる共沈温度 70 °C のときに最も靱性の高い複合体が形成された。これらの複合体は環境に低負荷な材料であるにも関わらず、石油由来プラスチックである ABS や曲げ強度、PMMA の弾性率をもつため、新規のバイオマス機械材料としての利用が期待できる。

5. 参考文献

- [1] Stupp, S. I.; Ciegler, G. W. Organoapatite: Materials for artificial bone. I. Synthesis and microstructure. *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, 26, 169–183.
- [2] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Aoyama, Y. Coprecipitation of tapioca starch and hydroxyapatite. Effects of phosphorylation of starch on mechanical properties of the composites. *Results Mater.* 2019, 3, No. 100035.
- [3] Isogai, A.; Saito, T.; Fukuzumi, H. TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale* 2011, 3, 71–85.
- [4] Wise, E. R.; Maltsev, S.; Davies, M. E.; Duer, M. J.; Jaeger, C.; Loveridge, N.; Murray, R. C.; Reid, D. G. The Organic-Mineral Interface in Bone Is Predominantly Polysaccharide. *Chem. Mater.* 2007, 19, 5055–5057.
- [5] Fujisawa, R.; Tamura, M. Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front. Biosci.* 2012, 17, 1891–1903.
- [6] Morimune-Moriya, S.; Kondo, S.; Sugawara-Narutaki, A.; Nishimura, T.; Kato, T.; Ohtsuki, C. Hydroxyapatite formation on oxidized cellulose nanofibers in a solution mimicking body fluid. *Polym. J.* 2015, 47, 158–163.
- [7] Embery, G.; Rees, S.; Hall, R.; Rose, K.; Waddington, R.; Shellis, P. Calcium- and hydroxyapatitebinding properties of glucuronic acid-rich and iduronic acid-rich glycosaminoglycans and proteoglycans. *Eur. J. Oral Sci.* 1998, 106, 267–273.
- [8] Coleman, R. J.; Jack, K. S.; Perrier, S.; Grondahl, L. Hydroxyapatite Mineralization in the Presence of Anionic Polymers. *Cryst. Growth Des.* 2013, 13, 4252–4259.
- [9] Brennan-Speranza, T. C.; Conigrave, A. D. Osteocalcin: An Osteoblast-Derived Polypeptide Hormone that Modulates Whole Body Energy Metabolism. *Calcif. Tissue Int.* 2015, 96, 1–10.
- [10] George, A.; Veis, A. Phosphorylated Proteins and Control over Apatite Nucleation, Crystal Growth, and Inhibition. *Chem. Rev.* 2008, 108, 4670–4693.
- [11] Tracy, R. P.; Shull, S.; Riggs, B. L.; Mann, K. G. The osteonectin family of proteins. *Int. J. Biochem.* 1988, 20, 653–660.
- [12] Morgan, S.; Poundarik, A. A.; Vashishth, D. Do Non-collagenous Proteins Affect Skeletal

Mechanical Properties? *Calcif. Tissue Int.* 2015, 97, 281–291.

[13] Fantner, G. E.; Adams, J.; Turner, P.; Thurner, P. J.; Fisher, L. W.; Hansma, P. K. Nanoscale Ion Mediated Networks in Bone: Osteopontin Can Repeatedly Dissipate Large Amounts of Energy. *Nano Lett.* 2007, 7, 2491–2498.

[14] Poundarik, A. A.; Diab, T.; Sroga, G. E.; Ural, A.; Boskey, A. L.; Gundberg, C. M.; Vashishth, D. Dilatational band formation in bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012, 109, 19178–19183.

[15] Isogai, A.; Kato, Y. Preparation of polyuronic acid from cellulose by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* 1998, 5, 153–164.

[16] Saito, T.; Isogai, A. TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacromolecules* 2004, 5, 1983–1989.

[17] Ingole, V. H.; Vuherer, T.; Maver, U.; Vinchurkar, A.; Ghule, A. V.; Kokol, V. Mechanical Properties and Cytotoxicity of Differently Structured Nanocellulose-hydroxyapatite Based Composites for Bone Regeneration Application. *Nanomaterials* 2020, 10, No. 25.

[18] Dong, H.; Snyder, J. F.; Williams, K. S.; Andzelm, J. W. Cation-Induced Hydrogels of Cellulose Nanofibrils with Tunable Moduli. *Biomacromolecules* 2013, 14, 3338–3345.

[19] Kubo, R.; Saito, T.; Isogai, A. Preparation and characterization of carboxylated cellulose nanofibrils with dual metal counterions. *Cellulose* 2019, 26, 4313–4323.

[20] Yano H.; Omura H.; Honma Y.; Okumura H.; Sano H.; Nakatsubo F., Designing cellulose nanofiber surface for high density polyethylene reinforcement, *Cellulose* 2018, 25, 3351-3362

[21] Kusakabe A.; Hirota K.; Mizutani T., Crystallisation of hydroxyapatite in phosphorylated poly(vinyl alcohol) as a synthetic route to tough mechanical hybrid materials, *Mater. Sci. Eng.* 2017, C 70, 487–493

[22] Szczesniak, L.; Rachocki, A.; Tritt-Goc, J. Glass transition temperature and thermal decomposition of cellulose powder. *Cellulose* 2008, 15, 445–451.

[23] Ciolacu, D. E.; Popa, V. On the thermal degradation of cellulose allomorphs. *Cellulose Chem. Technol.* 2006, 40, 445–449.

[24] Wang, T.; Dorner-Reisel, A.; Mueller, E. Thermogravimetric and thermokinetic investigation of the dehydroxylation of a hydroxyapatite powder. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2004, 24, 693–698.

[25] Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites. *Am. Mineral.* 1989, 74, 870–876.

[26] Peters, F.; Schwarz, K.; Epple, M. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochim. Acta* 2000, 361, 131–138.

[27] Kawasaki, T.; Niikura, M.; Kobayashi, Y. Fundamental study of hydroxyapatite high-performance liquid chromatography. III. Direct experimental confirmation of the existence of two

- types of adsorbing surface on the hydroxyapatite crystal. *J. Chromatogr. A* 1990, 515, 125–148.
- [28] Sato, K.; Kogure, T.; Kumagai, Y.; Tanaka, J. Crystal Orientation of Hydroxyapatite Induced by Ordered Carboxyl Groups. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, 240, 133–138.
- [29] Rhee, S.-H.; Tanaka, J. Effect of Chondroitin Sulfate on the Crystal Growth of Hydroxyapatite. *J. Am. Ceram. Soc.* 2000, 83, 2100–2102.
- [30] Okano, T; Sarko, A. Mercerization of cellulose. II. Alkali–cellulose intermediates and a possible mercerization mechanism. *Appl. Poly.* 1985, 30, 325–332.
- [31] Albert, C. I.; Jameson, J.; Harris, G. Design and validation of bending test method for characterization of miniature pediatric cortical bone specimens. *Proc. Inst. Mech. Eng., Part H: J. Eng. Med.* 2013, 227, 105–113.
- [32] Purasuchikku Dokuhon 22nd ed. 2019 (PLASTICS AGE Co. Ltd.)
- [33] Weiner, S.; Addadi, L. Design strategies in mineralized biological materials. *J. Mater. Chem.* 1997, 7, 689–702.

第4章. カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレートとヒドロキシアパタイトの共沈複合化: カルボキシ基を介した有機-無機界面結合の形成と疎水性主鎖骨格による複合体の耐水性向上

1. 緒言

第2, 3章では、高靱性バイオマス材料の開発を目指し、リン酸化タピオカデンプン、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) などの植物由来親水性高分子とヒドロキシアパタイト (HAP: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) を共沈複合化した[1,2]。これらのポリマーは高い親水性をもつため、水溶液中で溶解・分散させながら HAP を結晶成長させることで、容易に共沈複合体を得ることができた。得られた TCNF-HAP 複合体は、骨のように優れた靱性を持っていたことから、ポリマーの親水性基と HAP の相互作用、そしてポリマーの直鎖構造が複合体の靱性を高めることがわかった[2]。しかし、これらの複合体成形物は、ポリマーの親水性が高すぎるため、多湿な環境や水中では容易に膨潤・崩壊するなど、耐水性の低さが課題となった。構造材料及び生体材料には、水分によって容易に変形・劣化することのない優れた耐水性が求められる[3]。ゆえに、複合体の耐水性の向上は実用化の点において、必要不可欠なものと考えられる。

一般的に、疎水性の高い複合体を合成する場合、ポリエチレンやポリエチレンテレフタレート (PET)、ポリ乳酸などの疎水性ポリマーと HAP の複合化が考えられる。しかし、Ritchie らは、疎水性ポリマーであるポリ乳酸と HAP を混錬法によって複合化したが、この成形物を 37°C の湿った空気にさらすと、曲げ強度が 10~20% まで低下した[4]。つまり、高疎水性ポリマーと HAP を複合化すれば、必ずしも高い耐水性をもつ複合体が得られるとは限らないということが明らかにされている。骨は、コラーゲン繊維及びオステオカルシンやオステオポンチンなどのヒドロキシ基やカルボキシ基、リン酸基を多くもつタンパク質と HAP からなる有機-無機複合体である[5-8]。これらのアニオン性官能基は、正に帯電した HAP の *a* 面と有機-無機界面相互作用を形成するため[9]、骨に柔軟性と剛直性の両方を兼ね備えた優れた靱性を与えている[10]。しかし、骨は、このような極性基を多く持つタンパク質と、表面が正・負に帯電している HAP で構成されているにも関わらず、水分量の多い体内においても吸水によって膨潤・崩壊することはない。コラーゲン繊維には、有機-無機界面結合を形成する親水性基だけでなく、プロリン、グリシン、アラニンなどの疎水性部分も存在する。これらの疎水性アミノ酸残基は合計 63 mol % 含まれており、コラーゲン繊維は親水性基と疎水性基の両方を併せ持つ両親媒性ポリマーと言える[11]。このことから、親水性基は HAP との結合形成による靱性の向上、疎水性基は有機-無機界面への水分子の侵入の制御を担ってお

Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Numamoto, Y. Enhanced toughness of hydroxyapatite-poly(ethylene terephthalate) composites by immersion in water. *Mater. Adv.* 2021, 2, 5691–5703.

り、このようなコラーゲン繊維の親水/疎水バランスが骨に優れた靱性と耐水性の両方を付与しているものと考えられる。さらに、HAP 表面には、 4 nm^2 あたり 1 分子の割合でクエン酸が結合し、HAP 表面を疎水化されていることが明らかにされており [12]、HAP 表面の修飾が骨の耐水性を高めているものと考えられる。

本研究では、このようなコラーゲン繊維の親水/疎水バランスに着目し、Fig. 1 のカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) と HAP を共沈複合化した。CPET は PET のフェニレン部分にカルボキシ基が導入されているため、疎水骨格と親水性官能基の両方をもつ。この親水性官能基であるカルボキシ基が HAP の結晶成長制御や有機-無機界面結合の形成を担い、疎水骨格は耐水性向上の役割を果たすと考えた。PET と HAP の複合化については様々な研究がすでに報告されている [13-18] が、カルボキシ基が導入されたことで両親媒性を示す CPET と HAP の複合化は、本研究が初めてである。PET と HAP の複合化においては、PET が水に分散・溶解しにくいいため、PET 基板表面にのみ HAP をコーティングする交互浸漬法 [19] や、PET の熱可塑性を利用した熱的混練がほとんどである。対して、CPET はカルボキシ基を有している分、水に容易に分散するため、共沈法によって HAP と容易に複合化でき、構造材料に必要とされる大量生産に向いている。本研究では、この CPET を共沈時/熟成時の温度、また、有機/無機重量分率など、さまざまな共沈条件で HAP と複合化し、HAP と結合していない余分なカルボキシ基が存在せず、有機-無機界面の結合が十分に形成され、そして、高い耐水性をもつ複合体を合成できる最適な複合化プロセスを明らかにした。

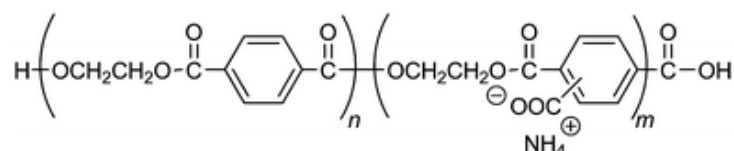


Fig. 1. Carboxy group-containing polyethylene terephthalate bearing $-\text{COO}^- \text{NH}_4^+$ groups in 14–22% of the phenylene groups (CPET).

2. 実験

2.1. 使用試薬

- 1) Carboxy group-containing polyethylene terephthalate bearing $-\text{COO}^-\text{NH}_4^+$ groups in 14–22% of the phenylene groups (CPET) 25 wt% in water, pH 6.5~8.5, molecular weight: *ca.* 3000, PLAS COAT Z-730[®] 互応化学工業株式会社
- 2) Calcium chloride dihydrate
富士フィルム和光純薬株式会社
- 3) Disodium hydrogen phosphate
富士フィルム和光純薬株式会社
- 4) Sodium hydroxide
富士フィルム和光純薬株式会社
- 5) Distilled water
Yamato Autostill WG250 によって蒸留したものを使用した。

2.2. 測定機器

- 1) 熱重量測定(TG)
株式会社島津製作所製の示差熱・熱重量同時測定装置(DTG-60)を用いて測定および解析を行った。
- 2) 粉末 X 線回折(XRD)
リガク株式会社製の全自動水平型多目的 X 線回折装置 SmartLab で測定し、PDXL2 で解析を行った。
- 3) フーリエ変換赤外スペクトル (FT-IR)
JASCO FT/IR-4600 分光計で KBr 法により測定および解析を行った。
- 4) 紫外線可視吸収スペクトル (UV-Vis)
光路長 1 cm の石英キュベットを使用して、Agilent 8453 紫外可視分光光度計で測定および解析を行った。
- 5) 三点曲げ試験装置
株式会社マルトー社製の「MZ-250」を用いて測定および解析を行った。
- 6) 走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像
日立ハイテクノロジー SU8020 走査型電子顕微鏡で、三点曲げ試験によって破壊された成形物の破面を観察した。

2.3. 実験方法

2.3.1. 共沈法による CPET と HAP の複合化

Fig. 2 に CPET と HAP の共沈複合化のプロセスのスキームを示す。複合体の仕込み無機重量分率 IC_{feed} が 30、50、70 wt%になるよう、300 mL ビーカーに Table 1 に示した量

の 25 wt% CPET 水分散液を秤量し、0.2 M Na_2HPO_4 水溶液と 1 M NaOH 水溶液の混合水溶液を加え、rt (室温) で 10 分間攪拌した。その後、rt、または 70、90 °C で 0.2 M CaCl_2 水溶液を 0.06 mL/s の滴下速度で加え、CPET と HAP を共沈した。滴下終了後、rt で共沈したものは rt、70、90 °C で、70 °C で共沈したものは 70 °C で、90 °C で共沈したものは 90 °C で 1 時間熟成した。すなわち、共沈/熟成温度 = rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C の条件で、それぞれ IC_{feed} : 30、50、70 wt% で CPET と HAP を共沈し、15 種類の CPET-HAP 共沈複合体を合成した。得られた共沈物を 1000 mL ビーカーに移し、これに 1000 mL の蒸留水を加え、吸引濾過した。吸引濾過後、1000 mL の蒸留水をさらに加え、これを濾過することで、沈殿物の洗浄を行った。ろ紙上に残った沈殿物を rt で終夜真空乾燥してから、乳鉢で粉末化し、この粉末を 80 °C で 2 時間真空乾燥した。

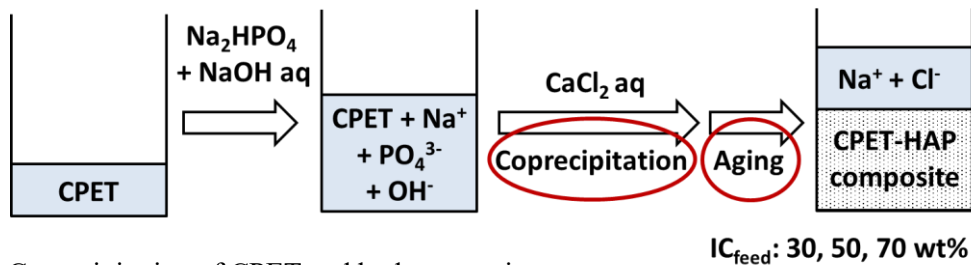


Fig. 2. Coprecipitation of CPET and hydroxyapatite.

Table 1. Synthesis of the CPET-HAP Composites

IC_{feed} (wt%)	Coprecip. temp. (°C)	Aging temp. (°C)	25 wt% CPET aq (g)	0.2 M Na_2HPO_4 aq (mL)	1 M NaOH aq (mL)	0.2 M CaCl_2 aq (mL)
30	rt	rt	21.76	70	19	116
50	rt	rt	9.32	70	19	116
70	rt	rt	4	70	19	116
IC_{feed} (wt%)	Coprecip. temp. (°C)	Aging temp. (°C)	25 wt% CPET aq (g)	0.2 M Na_2HPO_4 aq (mL)	1 M NaOH aq (mL)	0.2 M CaCl_2 aq (mL)
30	rt	70	21.76	70	19	116
50	rt	70	9.32	70	19	116
70	rt	70	4	70	19	116
IC_{feed} (wt%)	Coprecip. temp. (°C)	Aging temp. (°C)	25 wt% CPET aq (g)	0.2 M Na_2HPO_4 aq (mL)	1 M NaOH aq (mL)	0.2 M CaCl_2 aq (mL)
30	rt	90	21.76	70	19	116
50	rt	90	9.32	70	19	116
70	rt	90	4	70	19	116

IC _{feed} (wt%)	Coprecip. temp. (°C)	Aging temp. (°C)	25 wt% CPET aq (g)	0.2 M Na ₂ HPO ₄ aq (mL)	1 M NaOH aq (mL)	0.2 M CaCl ₂ aq (mL)
30	70	70	21.76	70	19	116
50	70	70	9.32	70	19	116
70	70	70	4	70	19	116

IC _{feed} (wt%)	Coprecip. temp. (°C)	Aging temp. (°C)	25 wt% CPET aq (g)	0.2 M Na ₂ HPO ₄ aq (mL)	1 M NaOH aq (mL)	0.2 M CaCl ₂ aq (mL)
30	90	90	21.76	70	19	116
50	90	90	9.32	70	19	116
70	90	90	4	70	19	116

2.3.2. FT-IR 比較実験のための CPET ナトリウム塩の調製

500 mL ビーカーに 25 wt% CPET 水分散液 50 mL と 5 M NaCl 水溶液 100 mL を加え、混合した。これにアセトン/蒸留水 = 1/1 (v/v) 混合溶液を加え、CPET ナトリウム塩沈殿物を得た。デカンテーションにより上澄みを除去し、蒸留水を 400 mL 加えて、白色沈殿物を得た。500 mL の蒸留水で洗浄しながら吸引濾過し、濾紙上に残った沈殿物を少量のメタノールで洗浄した。この白色沈殿物を 80 °C で 1 時間真空乾燥した。

2.3.3. 複合体の収率

各複合体の収率を以下の式より算出した。

$$\text{収率} = (\text{実測収量} / \text{理論収量}) \times 100 \quad (\%)$$

2.3.4. 複合体の無機重量分率

各複合体粉末の実際の無機重量分率 IC は熱重量分析 TGA より算出した。rt から 100 °C までの重量減少を吸着水による減少、100~1000 °C までの重量減少を有機物の燃焼によるものと考え、以下の式より IC を算出した。昇温速度は 20 °C /min で行った。

$$\text{IC} = \frac{\text{1000 °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量(g)}}{\text{100 °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量(g)}} \times 100 \quad (\text{wt} \%)$$

2.3.5. HAP の結晶子サイズ

粉末 X 線回折の測定により得られた HAP ピークの半値幅から結晶サイズを検討した。結晶サイズ D は Scherrer の式より算出することが出来る。Scherrer の式は以下に示す。

$$D = \frac{0.9 \times \lambda}{B \cos \theta}$$

D は結晶が完全な球状の単結晶と仮定した場合の結晶の直径(Å)、 λ は粉末 X 線回折の Cu / $K\alpha$ 線の波長 1.54056 (Å)、 B は半値幅を radian 単位に換算した値、 $\cos \theta$ はピークの位置(2θ)より求めた値を radian 単位に換算した値である。

$$B_{(rad)} = B_{(deg)} \times \frac{\pi}{180}$$

本研究では、これらの算出に解析ソフト(Rigaku Data Analysis Software PDXL version2)を用いて行い、結晶子サイズを求めた。

2.3.6. FT-IR 測定

CPET ナトリウム塩及び、CPET-HAP 複合体について、500~4000 cm^{-1} まで KBr 法で測定を行い、1720-1725 cm^{-1} のエステルの伸縮ピークの半値幅 (FWHM) を確認した。

2.3.7. CPET-HAP 複合体粉末の成形および複合体成形物の機械的性質

Fig. 3 に示すとおり、得られた各複合体粉末を長方形 ($4 \times 13 \text{ mm}^2$) 金型に入れ、120 °C、120 MPa で 5 分間一軸加圧することで角柱型の成形物 ($4 \times 13 \times (2.3 - 3.0) \text{ mm}^3$) を作製した。その後、成形物の密度 d を求め、スパン $8 \times 10^{-3} \text{ m}$ 、クロスヘッドスピード 0.5 mm / min で三点曲げ試験を行った。

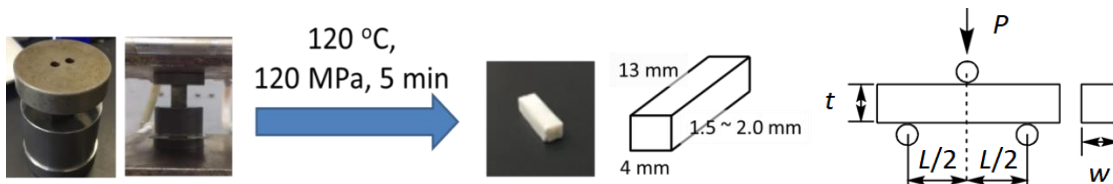


Fig. 3. Mold of composite powder by hot press and three-point bending test.

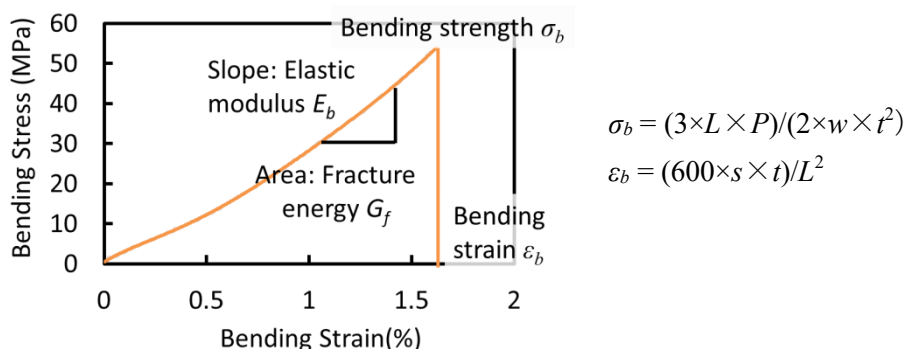


Fig. 4. Schematic representation of a stress-strain curve.

曲げ強度 σ_b 、曲げひずみ ϵ_b は Fig. 4 の式より算出した。 L, P, t, w は Fig. 3 に示している。 s は、クロスヘッドの変位量である。また、弾性率 E_b 及び破壊エネルギー G_f は Fig. 4 のように応力-ひずみ曲線の傾き及び面積から求めた。

2.3.8. 複合体成形物の耐水性

成形物を蒸留水 20 mL に rt で 24 時間、または 37 °C で 1 週間浸漬した。水に浸した後、成形物をキムワイプで拭い、表面の水分を取り除き、成形物の重量変化 $\Delta w/w$ を求めた。

$$\Delta w/w = (\text{増加重量} / \text{乾燥重量}) \times 100 (\%)$$

また、浸水後の成形物の機械的性質を三点曲げ試験により求めた。さらに、浸漬中に溶解した CPET の量を評価するために、成形物の浸漬後の水溶液の紫外可視吸収スペクトルを測定した。8 mg/L CPET アンモニウム塩水溶液は、240 nm で 0.44 の吸光度を示したことから、浸漬後の水溶液に溶解した CPET 濃度は 240 nm の吸光度から算出した。

3. 実験結果及び考察

3.1. 複合体の収率

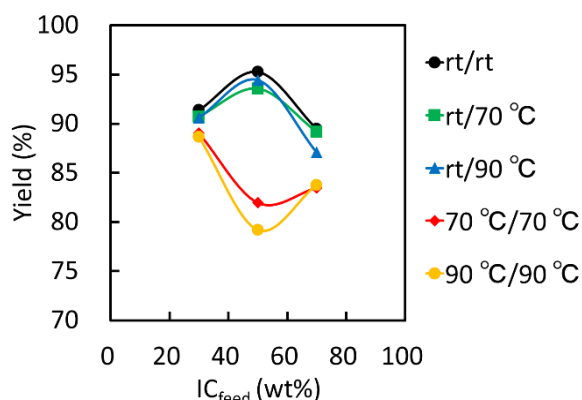


Fig. 5. Yields of the composites.

Fig. 5 に、各複合体の収率を示す。

Fig. 5 のとおり、それぞれ共沈/熟成温度が低いものほど、収率が高くなることがわかった。共沈時は、CPET と PO_4^{3-} 、OH が水溶液中で分散・溶解しており、より高温下で CPET 主鎖のエステル結合がアルカリ加水分解されやすくなる [20]。CPET が加水分解を受けたことで生成される低重合度のオリゴマー、またはモノマーは水に溶解しやすく、HAP と共沈することが難しくなる。HAP と共沈しなかったオリゴマー、またはモノマーは、濾過の際に濾液と共に濾紙を通り抜け除去されるため、収率が低下したものと考えられる。対して、rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C で得られた複合体は、 PO_4^{3-} 、OH 混合水溶液中で CPET がアルカリ加水分解されにくく、rt/70 °C、rt/90 °C においても、熟成時には OH は HAP の生成のため消費されるため、重合度が低下することなく、CPET と HAP がより共沈したものと考えられる。

3.2. 複合体の無機重量分率

Fig. 6 に各複合体の TG 曲線を示す。

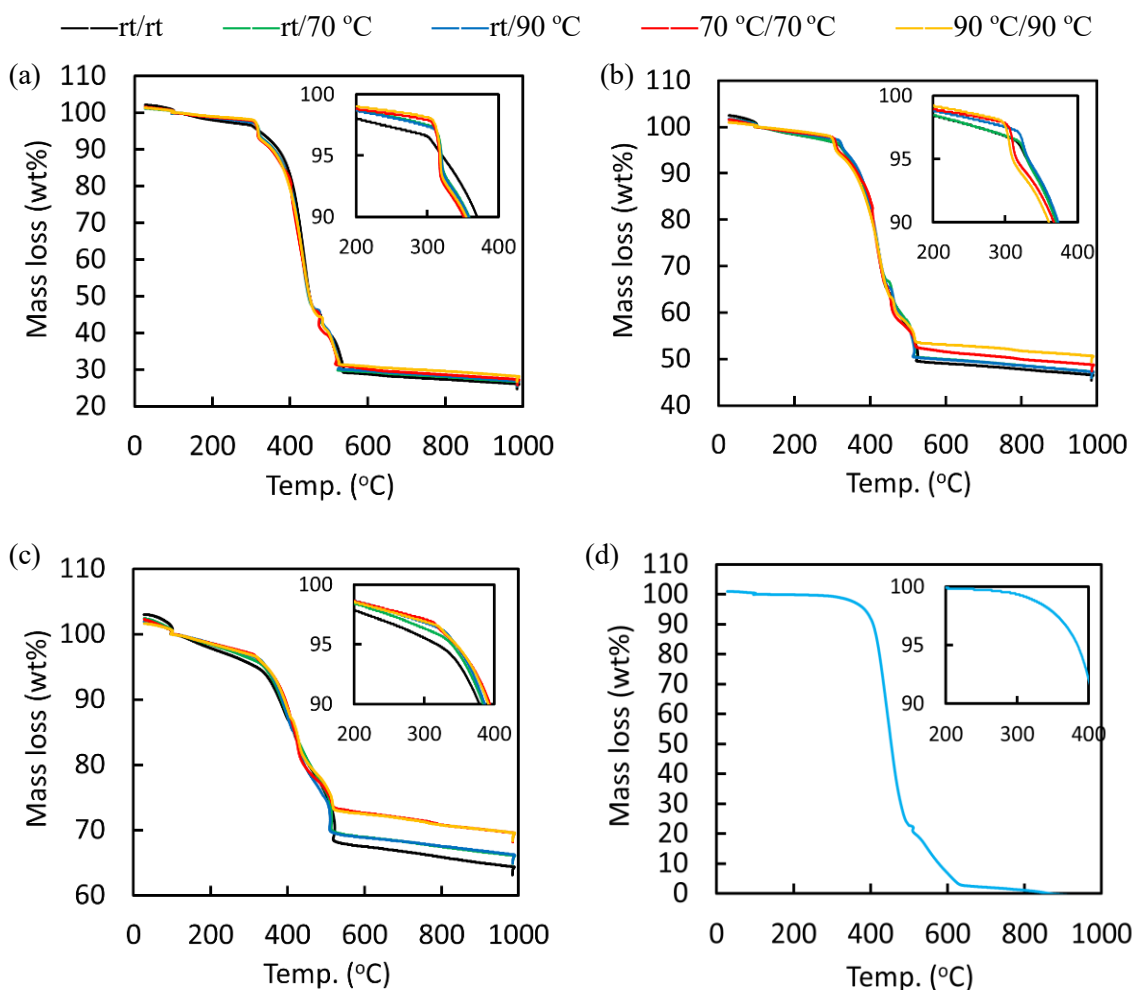


Fig. 6. TG curves of the composites. IC_{feed} : 30 wt% (a), 50 wt% (b), 70 wt% (c), 0 wt% (d).

Fig. 6 a)~d)の各複合体の TG 曲線のとおり、それぞれ 100 °C 付近まで吸着水の蒸発による重量減少がみられた。また、300~400 °C で著しい重量減少が起こり、CPET の燃焼が確認された。特徴的な現象として、 IC_{feed} : 30、50、70 wt%において、共沈/熟成温度 = rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C で合成された複合体の熱分解温度よりも、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で合成されたものの方が熱分解温度が低かった。一般的に、アルカリ加水分解を受け重合度の低下したポリエステルほど、熱分解温度は低下する[21]。よって、収率の低下から判断しても、より高い共沈温度で合成された複合体中の CPET は、 $PO_4^{3-} + OH^-$ 水溶液中でアルカリ加水分解を受けたものと考えられる。

Fig. 7 に、各複合体の熱重量分析によって測定された無機重量分率 IC を示す。

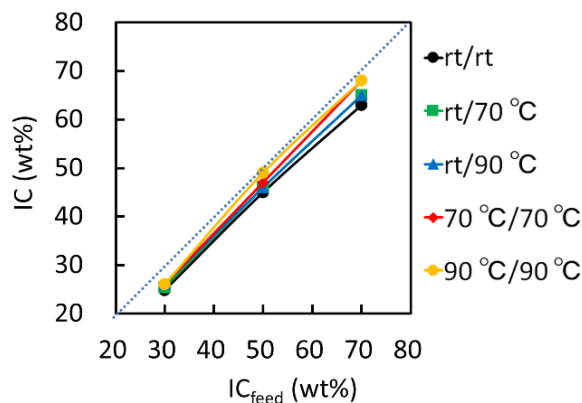


Fig. 7. Inorganic contents of the composites determined by TGA (from 30 to 1000 °C).

CPET 存在下では、カルボキシ基との相互作用により HAP が十分に結晶成長できないためと考えられる。

3.3. HAP の結晶子サイズ

Fig. 8 に各複合体の XRD パターン、HAP 結晶子の *c* 軸方向の結晶子サイズとそのアスペクト比 (*c/a*)、また、CPET による HAP の結晶成長制御のイメージを示す。

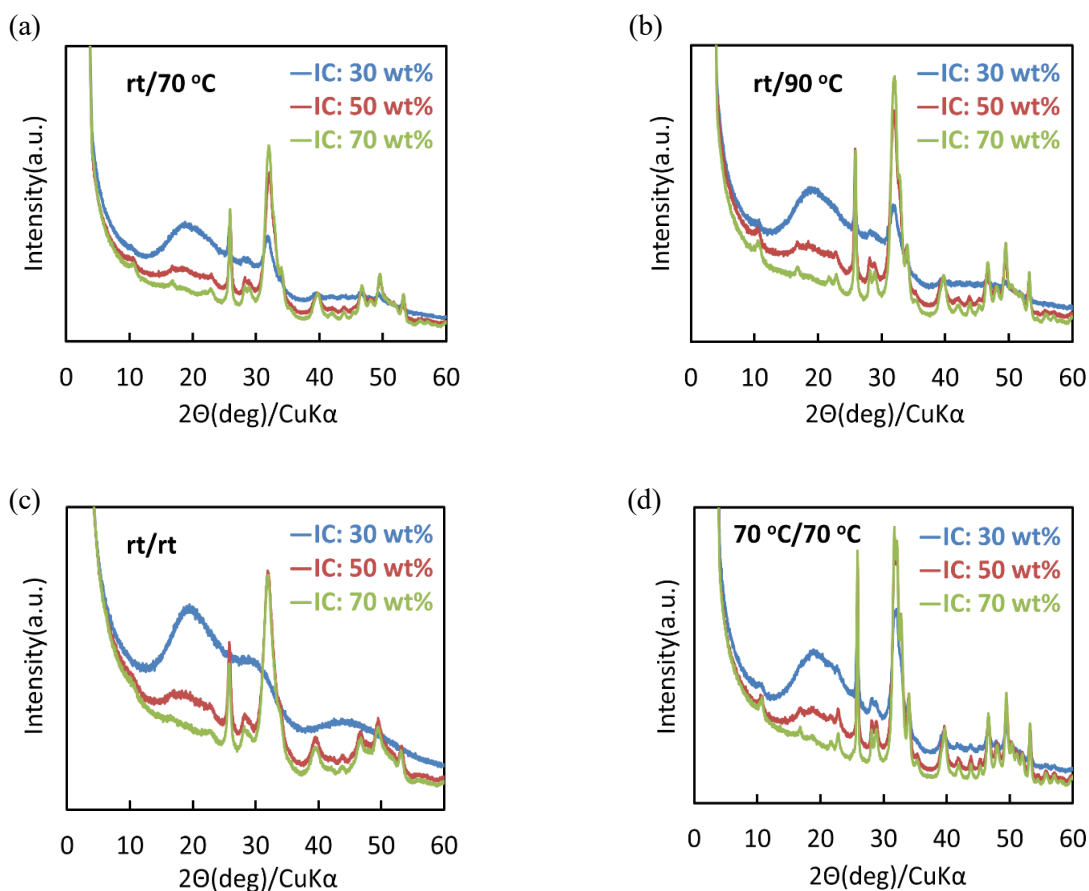


Fig. 7 のとおり、より高い共沈温度で合成されたものほど、IC は大きくなった。IC が大きいということは、HAP に対して共沈した CPET が少ないということである。よって、収率及び熱分解温度の低下と照らし合わせても、より高い共沈温度では HAP との共沈と並行して、CPET の加水分解も進行し、CPET が部分的に濾液とともに除去されたものと考えられる。また、各複合体について、 IC_{feed} より IC が小さくなった。これは、

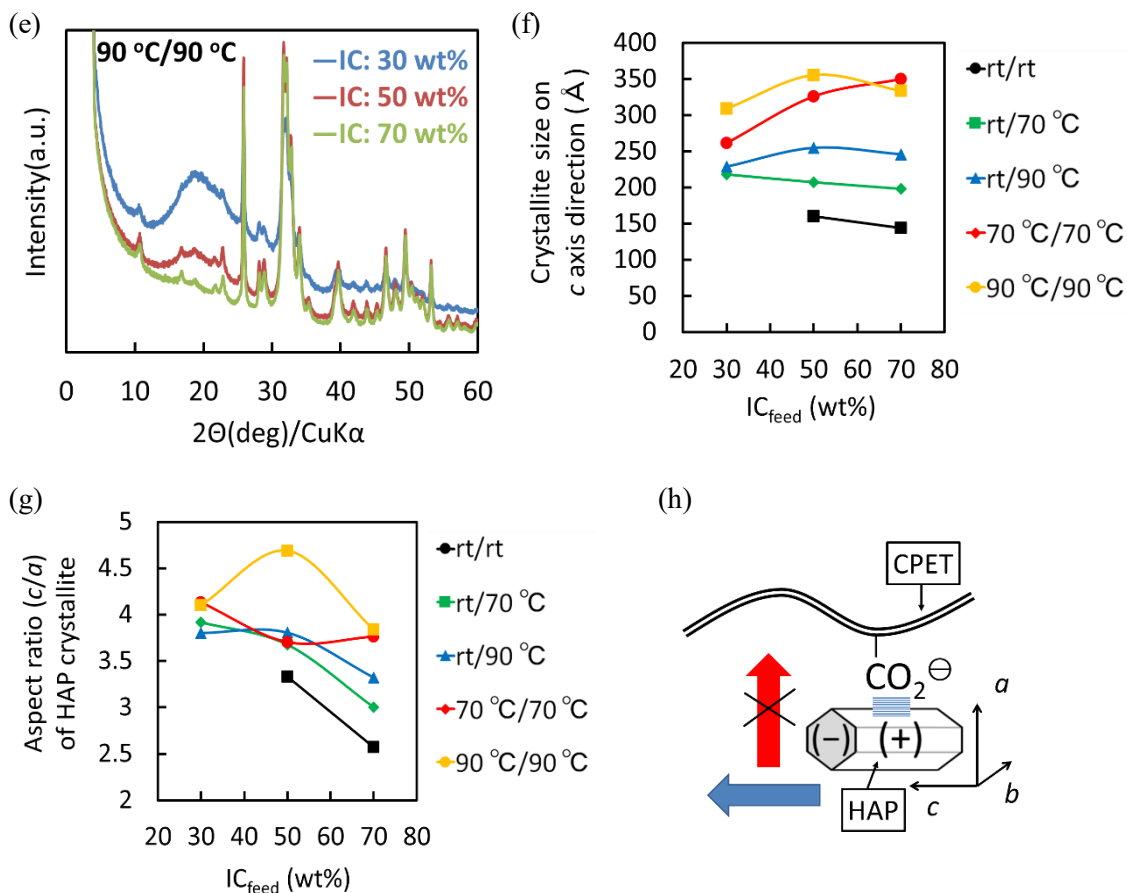


Fig. 8. XRD patterns of the composites, coprecipitation temperature/aging temperature = rt/rt (a), rt/70 °C (b), rt/90 °C (c), 70 °C/70 °C (d), 90 °C/90 °C (e). Crystallite size in *c* axis direction (f) and aspect ratio (*c/a*) (g) of HAP crystallite in the composites. Schematic representation of the control of HAP crystallization by carboxyl groups of CPET (h).

Fig. 8 の(a~e)の各複合体の XRD パターンのとおり、それぞれ HAP の特徴的なピークが得られており、生成されたリン酸カルシウムは、アパタイト前駆体であるモノタイトやブルシャイトではなく、確かに HAP が生成されたことがわかった[22,23]。しかし、各共沈/熟成温度条件において、仕込み無機重量分率 IC_{feed}: 30 wt%では HAP のピークが弱くなった。特に、共沈/熟成温度 = rt/rt、IC_{feed}: 30 wt%で得られた複合体については、HAP のピークが確認できず、アモルファスなリン酸カルシウムが生成されたことがわかった。

Fig. 8 (f) のとおり、HAP の *c* 軸方向の結晶子サイズは、共沈/熟成温度が低いものほど小さくなった。rt/rt で得られた IC_{feed}: 30 wt%の複合体では HAP ではなく、アモルファスなリン酸カルシウムが生成されたため、結晶子サイズの算出は不可能であった。

このことから、共沈温度が高いものほど CPET は加水分解を受けやすくなる一方で、HAP の結晶成長はより促進されることがわかった。

Fig. 8 (g) のとおり、各共沈/熟成温度条件において、 IC_{feed} が小さいものほど、アスペクト比 (c/a) が大きくなった。Fig. 8 (h) のように、CPET のカルボキシ基が HAP の a 面と相互作用を形成すると、HAP の a 軸方向の結晶成長は阻害される。そのため、HAP は c 軸方向にのみ結晶成長しやすくなり、アスペクト比 (c/a) の大きい針状構造をとりやすくなる[24-26]。 IC_{feed} : 70 wt% のとき、このアスペクト比 (c/a) が小さくなったことから、CPET に対してあまりにも生成される HAP の量が多すぎると、Fig. 9 のように、CPET のカルボキシ基と相互作用を形成することなく、水溶液側で単独で $a \cdot b \cdot c$ 軸の全方向に結晶成長する HAP が多くなるものと考えられる。

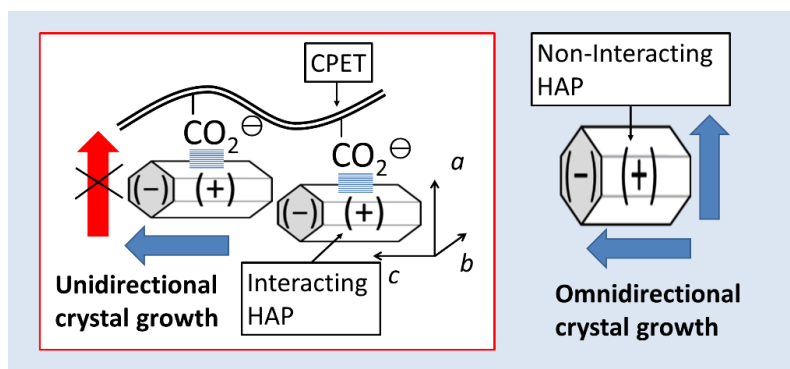


Fig. 9 Schematic representation of the omnidirectional crystal growth of HAP without forming interactions in the coprecipitations at feed inorganic contents of 70 wt%

共沈/熟成温度がより高いものは、HAP のアスペクト比 (c/a) がより大きくなった。このことから、共沈温度が低いものは、Fig. 10 (a) のように CPET 高分子鎖同士が部分的に会合しており、HAP との接触表面積が小さくなったものと考えられる。対して、共沈時の温度が高いものほど、アルカリ加水分解も並行して起こりやすくなるものの、CPET 高分子鎖同士の会合がより少なくなり、Fig. 10 (b) のように水溶液中でより均一に分散し、HAP と相互作用できる接触表面積がより増大し、より多くの CPET 高分子鎖のカルボキシ基が HAP の a 面と相互作用を形成したものと考えられる。

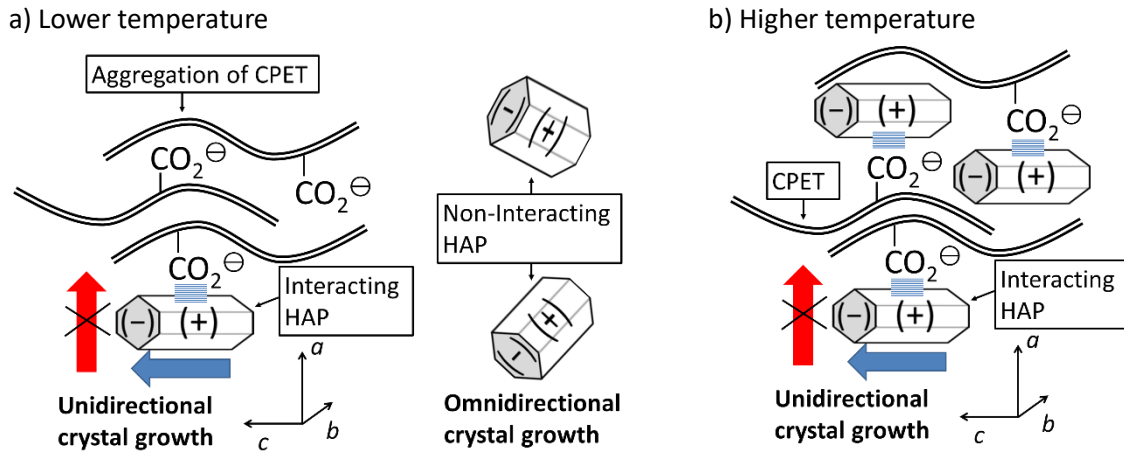


Fig. 10. Schematic representation of the relationships between coprecipitation/aging temperature and aggregation of CPET and crystal growth control of HAP. Lower temperature (a), higher temperature (b).

さらに、より高い共沈温度では、CPETがより多くアルカリ加水分解を受けており、低分子量のオリゴマーやモノマーはHAPと共沈しにくく、濾液と共に除去されるものの、Fig. 11のように、加水分解を受けた後のポリマー末端にはカルボキシ基が存在しているため、CPETのカルボキシ基の量がさらに多くなる。さらに、重合度が低下した分、ポリマーとHAPの接触表面積は増大するため、よりHAPの a 軸方向の結晶成長がカルボキシ基によって制御され、アスペクト比 (c/a) が増大したものと考えられる。

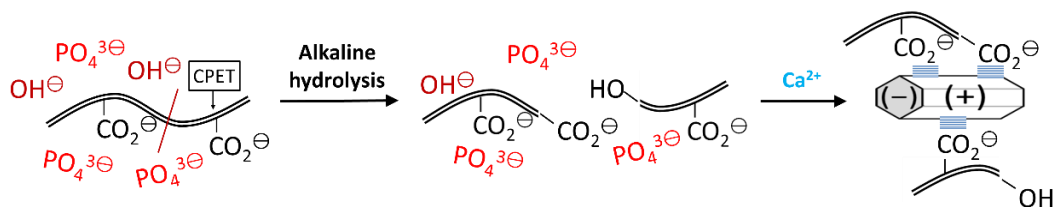


Fig. 11. Schematic representation of relationship between hydrolysis of CPET and crystal growth control of HAP.

共沈/熟成温度 = $90^\circ\text{C}/90^\circ\text{C}$ の条件において、 IC_{fed} : 50 wt% のときに最も HAP のアスペクト比は増大した。このことから、Fig. 9 のように、CPET のカルボキシ基と相互作用できずに単独で全方向に結晶成長する HAP が少なく、かつ、HAP が十分に c 軸方向に結晶成長できるだけのイオンが供給されたときに、HAP のアスペクト比 (c/a) はより大きくなるものと考えられる。

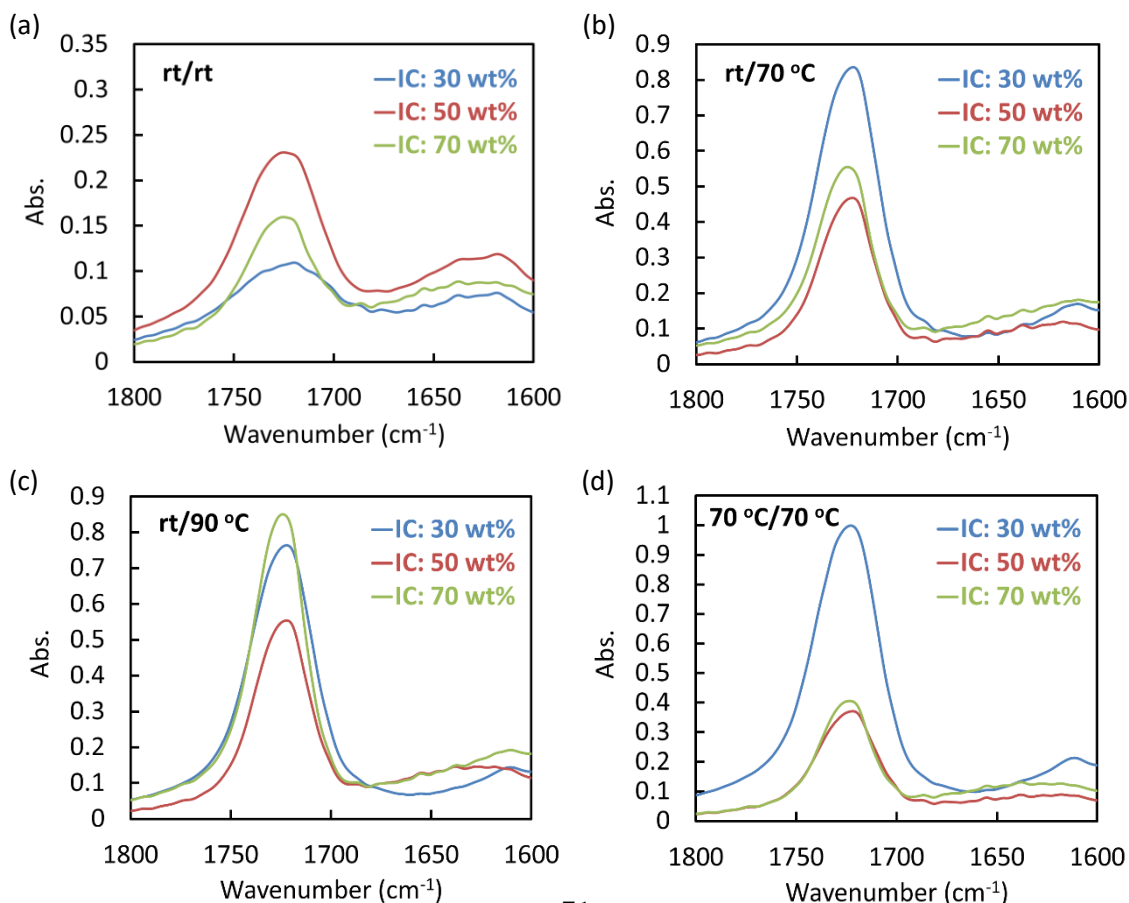
3.4. FT-IR 測定

Fig. 12 に各複合体の FT-IR スペクトルと、 $1720\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$ のエステル伸縮振動のピー

クの半値幅 (FWHM) を示す。

FT-IR によるポリエステルの構造解析において、 $1720\sim 1725\text{ cm}^{-1}$ のエステル伸縮ピークの FWHM が大きいものほど、CPET がより多くの配座異性体をとっており自由度が高く、FWHM が小さいものほど、CPET の構造がより固定されており、結晶性が高くなっているものと評価できる[27]。Fig. 12 (f) のとおり、CPET ナトリウム塩と比べて、各共沈/熟成温度条件で得られた複合体のエステル伸縮ピークの FWHM は、 IC_{feed} が大きくなるほど小さくなった。このことから、HAP が CPET のカルボキシ基と相互作用を形成し、CPET をより固定し、結晶性を高めたものと考えられる。

共沈/熟成温度 = rt/rt で得られた複合体は、他の共沈/熟成温度条件と比べて大きいエステル伸縮ピークの FWHM を示した。よって、 rt/rt で合成された複合体の CPET は、より自由な構造をとっていた、つまり、HAP による固定化が行われにくかった、すなわち、CPET-HAP 相互作用の形成がより少なかったものと考えられる。対して、 $70\text{ }^{\circ}\text{C}/70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $90\text{ }^{\circ}\text{C}/90\text{ }^{\circ}\text{C}$ で得られた複合体は、アルカリ加水分解により重合度が低下し、自由度が高くなっているにも関わらず、その FWHM は他共沈/熟成温度条件で得られた複合体の FWHM とほぼ同じ、あるいはより小さい値であった。よって、より高い共沈/熟成温度で合成された複合体は、CPET の重合度がアルカリ加水分解により低下しているが、それによって生じた低分子量のポリマーは、それぞれ HAP と相互作用を形成しているものと考えられる。



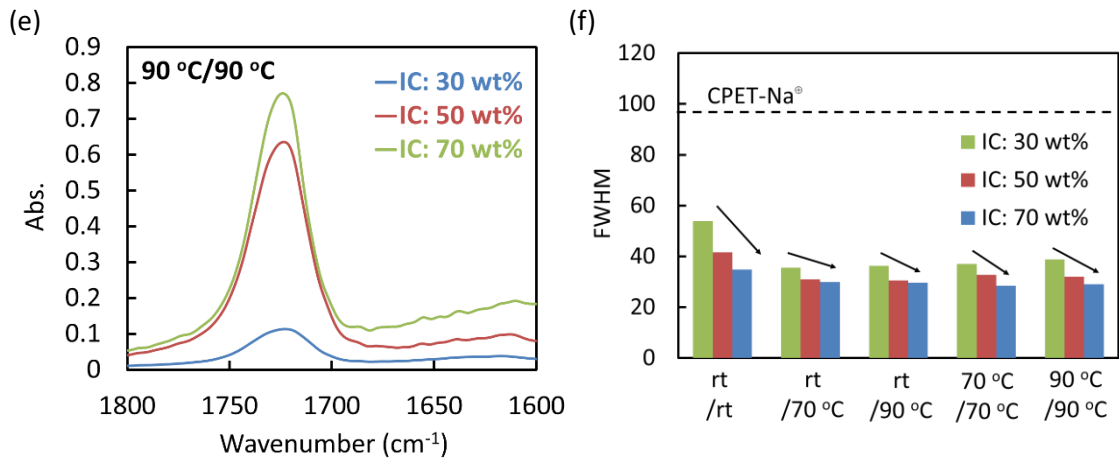


Fig. 12. The infrared spectra of the composites, coprecipitation/aging temperature = rt/rt (a), rt/70 °C (b), rt/90 °C (c), 70 °C/70 °C (d), 90 °C/90 °C (e). FWHM of the ester carbonyl stretching at 1720-1725 cm⁻¹ of the composites and CPET-Na⁺ (f).

3.5. 複合体成形物とその機械的性質

各複合体成形物の透明性を示した写真を Fig. 13 に示す。

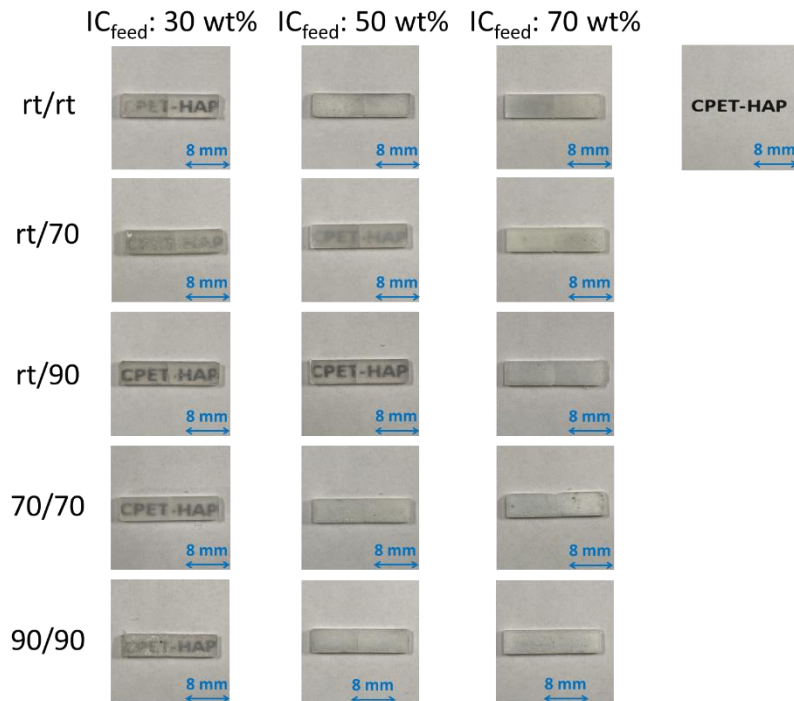


Fig. 13. Photographs showing the transparency of the molded composites with 1.6 mm thickness on a paper printed with "CPET-HAP".

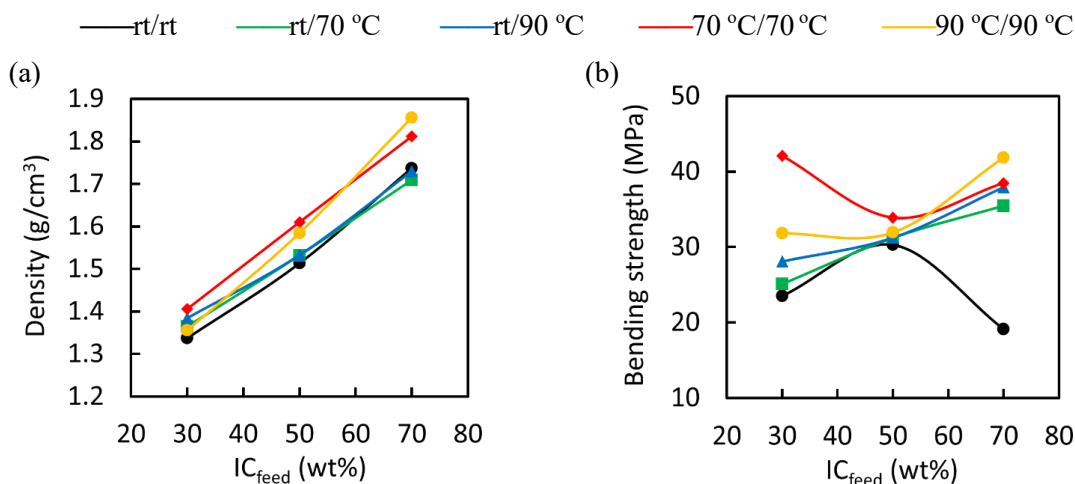
第2、3章のリン酸化タピオカデンプン[1]、TEMPO酸化セルロースナノファイバー[2]とHAPの複合体成形物は完全な不透明な白色であったのに対して、CPET-HAP複合体は、IC_{feed}: 30、50 wt%において比較的高い透明性を示した。HAP、PETの屈折率は、それぞれ1.641、1.57 [28, 29]であり、比較的近い値をとる。複合体のHAPの結晶のサイズは、15-35 nmと可視光の波長よりも短く、光の散乱は、レーリー散乱で扱える。散乱強度 I は、

$$\frac{I}{I_0} = \frac{9\pi^2}{2} (1 + \cos^2\theta) \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 1} \right)^2 \frac{V^2 N}{\lambda^4}$$

ここで、 I_0 は、入射光の強度、 θ は、入射光と観測方向の間の角、 $m = n_1/n_2$ は、散乱体と媒質の屈折率の比、 V は散乱体の体積、 N は単位体積あたりの散乱体の数、 λ は、光の波長である。HAPとCPETでは、屈折率の比が1に近く、光の散乱が弱いと考えられる。そのため、IC_{feed}: 30、50 wt%においては、複合体に透明性が付与されたものと考えられる。IC_{feed}が大きい、つまり、HAPが多い複合体においては、透明性はなく、白濁としていた。HAPが透明性を示すのは、水晶のように単結晶になっている場合のみである[30]。本結晶化方法では白濁な多結晶のHAPしか生成されない。そのため、IC_{feed}が大きくなるほど、複合体はより白濁化したものと考えられる。

各共沈/熟成温度条件において、IC_{feed}: 30 wt%のときは、ほとんどの複合体が透明性を示した。PETは結晶性ポリマーであるが、熱を加えることで非晶質構造をとり、これをそのまま急冷すると非晶質構造が保たれ、透明なPETが得られる[31]。本研究では、120 °C、120 MPaの一軸加圧成形後、複合体成形物を徐冷ではなく、rtでそのまま急冷したため、CPETの割合が多いIC_{feed}: 30 wt%のとき、複合体は透明性を示したものと考えられる。

IC_{feed}: 50 wt%において、共沈/熟成温度 = rt/rtのものは白濁化、rt/70 °C、rt/90 °Cのものは半透明化、70 °C/70 °C、90 °C/90 °Cのものは白濁化した。rt/rtで得られた複合体は、Fig. 7のHAPのアスペクト比 (c/a)、Fig. 12のエステル伸縮ピークのFWHMが示



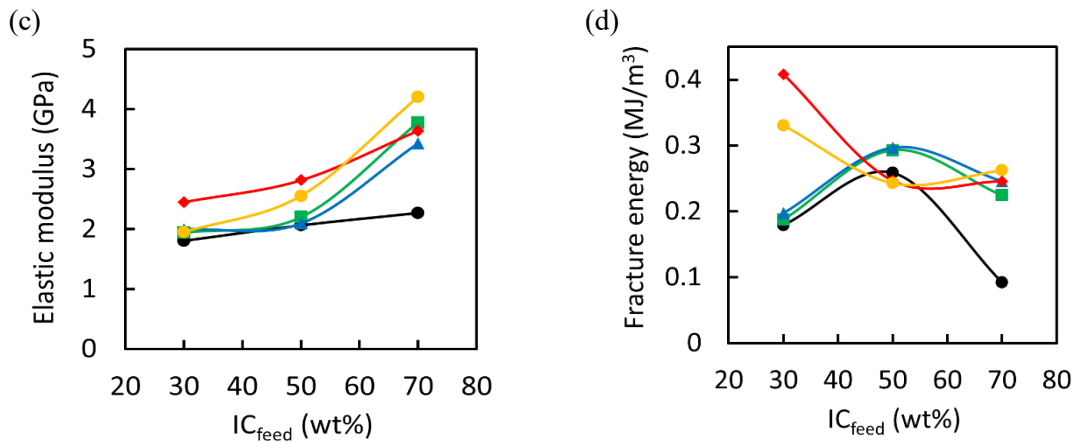


Fig. 14. Mechanical properties of the composites, density (a), bending strength (b), elastic modulus (c), fracture energy (d).

すように、CPET と HAP が均一に複合化されておらず、CPET と相互作用を形成していない余分な HAP がより多く存在したものと考えられる。その結果、複合体全体に十分に CPET の透明性が付与されず、HAP 由来の白濁化が起こったものと考えられる。rt/70 °C、rt/90 °C では、共沈時は rt での複合化であるが、その後の熟成時ではより高温になっているため、CPET と HAP の均一性が向上し、CPET の透明性が付与されたものと考えられる。しかし、CPET と HAP の均一性から判断すると、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で得られた複合体成形物も半透明になるものと考えられるが、実際には透明性は失われ、白濁化した。これは、Fig. 7 の HAP のアスペクト比 (c/a)、Fig. 11 のエステル伸縮ピークの FWHM が示すように、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C では CPET と HAP がより多く相互作用を形成したため、CPET の結晶性が向上し、加熱による非晶性構造への転移が起こりにくくなったためと考えられる。

各複合体の密度と三点曲げ試験で評価した機械的性質を Fig. 14 に示す。

Fig. 14 (a) のとおり、各共沈/熟成温度条件において、IC_{feed} が高いものほど、密度も高くなった。これは、無機重量分率、すなわち CPET に対する HAP (密度: 3.2 g/cm³) の量が増えたためと考えられる。一般的に、無機物は熱可塑性を持たないため、焼結などの高温高圧処理を施さなければ緻密に成形することは難しい。よって、複合体中の無機物の割合が増大するほど、その複合体を緻密に成形することは難しくなる。しかし、各複合化条件で得られた CPET-HAP 複合体は、密度/IC_{feed} の傾きがそれぞれ直線的であったことから、熱可塑性ポリマーである CPET が HAP 間を接着するバインダーとして機能したものと考えられる。その中でも特に、共沈温度が 70、90 °C で得られたものは、密度/IC_{feed} の傾きが大きかったことから、Fig. 10、11 のように、

CPET が HAP 表面と相互作用をより多く形成し、より均一に CPET が HAP 間を接着したものと考えられる。

Fig. 14 (b)のとおり、各 IC_{feed} において、共沈温度が rt のものよりも、70、90 °C の物の方が、曲げ強度は増大した。無機物である HAP は熱可塑性を持たないため、単体では緻密に成形することはできず、本成形条件では曲げ強度が数 MPa の非常に脆い成形物となる[2]。よって、複合体中に CPET と相互作用を形成していない HAP が多くなるほど、HAP 単体が不純物として働き、複合体の曲げ強度は低下するものと考えられる。ゆえに、共沈温度が rt のものよりも、Fig. 10、11 のように CPET と HAP が均一に複合化された共沈温度 70、90 °C のものの方が余分な HAP 単体が少なく、曲げ強度が向上したものと考えられる。

Fig. 14 (c)のとおり、各共沈/熟成温度条件において、 IC_{feed} が高くなるほど、弾性率は向上した。特に、共沈温度 70、90 °C のものは、弾性率/ IC_{feed} の傾きが大きくなった。複合体中の無機物の割合と弾性率の関係について、1983 年に Schnur らによって、複合材料の弾性率における混合の法則： $E = E_f V_f + E_m V_m$ が報告されている[32]。本公式において、 E は複合体の弾性率、 E_f と E_m はそれぞれ HAP と CPET の弾性率、 V_f と V_m はそれぞれ HAP と CPET の体積分率を示している。Fig. 14 (c)のとおり、共沈温度 70、90 °C のものは、無機重量分率の増大に伴って弾性率が向上していることから、共沈/熟成温度が高いものほど、Fig. 10、11 のように CPET と HAP が均一に複合化され、有機-無機界面相互作用を形成したものと考えられる。また、共沈温度 70、90 °C で得られた複合体の CPET は、アルカリ加水分解により重合度が低下しているが、一般的に、アルカリ加水分解を受け、重合度が小さくなったポリエステルは曲げ強度や弾性率は低下する[33]。それにも関わらず、より高い共沈/熟成温度で得られた複合体の方が高い曲げ強度及び弾性率を有していたことから、低い共沈/熟成温度で得られた複合体よりも均一性・結合性の高い複合体が得られたものと考えられる。

Fig. 14 (d)のとおり、共沈/熟成温度 = 70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で合成された複合体は、 IC_{feed} : 30 のときに最も破壊エネルギーが高く、 IC_{feed} の増大に伴って破壊エネルギーは低下した。対して、共沈/熟成温度 = rt/rt 、 $rt/70$ °C、 $rt/90$ °C で得られた複合体は、 IC_{feed} : 50 wt% のときに最も破壊エネルギーが高くなった。共沈/熟成温度 = 70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で得られた複合体は、CPET と HAP が互いに相互作用し、均一に複合化されたため、 IC_{feed} が高くなるほど弾性率がより向上した。しかし、Fig. 15 の凹凸の少ない破面から見ても判断できるように、CPET-HAP 複合体は、第 3 章の TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) -HAP 複合体のような高い靱性[2]を示すことはなく、脆性的に破壊された。共沈/熟成温度 = 70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で合成された複合体では、確かに CPET と HAP が均一に複合化されており、CPET と HAP の接触表面積がより広がったものと考えられる。しかし、CPET は、TCNF のようなナノ繊維構造を持たないため、 IC_{feed} の増大に伴い、よりセラミックスのような脆性破壊が起こりやす

くなったものと考えられる。対して、共沈/熟成温度 = rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C で得られた複合体は、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C のものと比べて、CPET と HAP の均一性が低い、つまり、CPET 高分子鎖同士が部分的に会合を残しており、HAP が過剰でない IC_{feed}: 50 wt% のときに、最も破壊エネルギーが向上したものと考えられる。

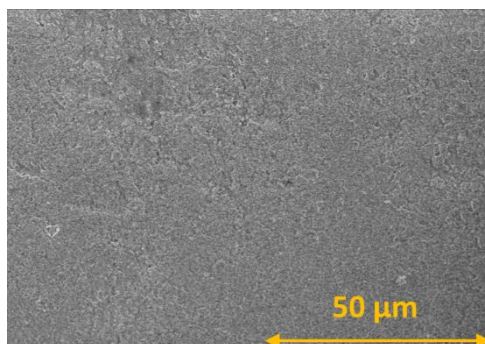


Fig. 15. SEM image of the fracture surface after three-point bending test of composite obtained at coprecipitation/aging temperature = 90 °C/ 90 °C, IC_{feed}: 50 wt%.

Table 2 に各複合体の機械的性質をまとめる。

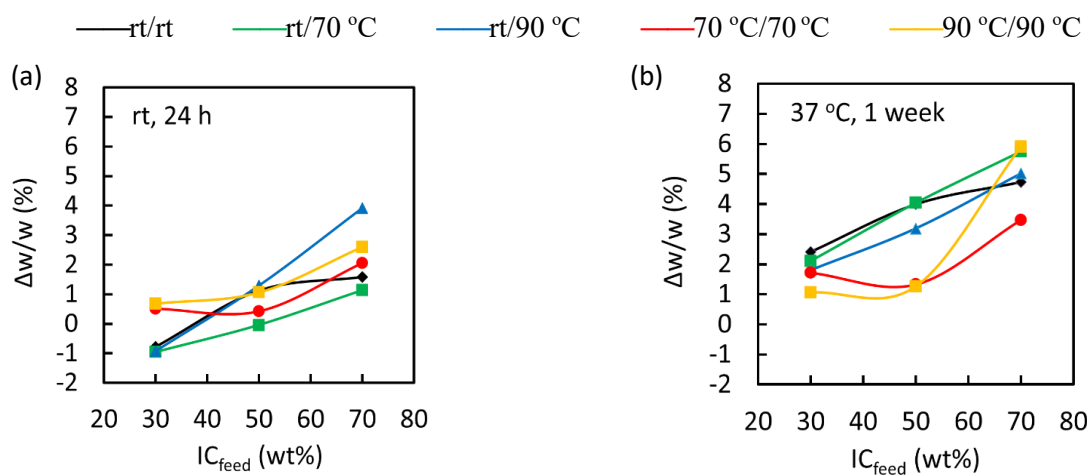
Table 2 Mechanical Properties of the CPET-HAP Composites.

Coprecipitation/Aging temperature = rt/rt			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
d (g/cm ³)	1.337±0.006	1.51±0.01	1.74±0.03
ϵ_b (%)	2.0±0.1	2.16±0.06	1.09±0.06
σ_b (MPa)	24±1	30±1	19.2±0.5
E_b (GPa)	1.8±0.2	2.1±0.2	2.3±0.1
G_f (MJ/m ³)	0.18±0.01	0.259±0.005	0.092±0.006
N	3	4	3
Coprecipitation/Aging temperature = rt/70 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
d (g/cm ³)	1.365±0.004	1.532±0.005	1.71±0.03
ϵ_b (%)	1.7±0.1	2.2±0.2	1.7±0.2
σ_b (MPa)	25±2	31.2±0.4	35±2
E_b (GPa)	1.94±0.08	2.2±0.2	3.8±0.7
G_f (MJ/m ³)	0.19±0.02	0.293±0.007	0.22±0.04
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = rt/90 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70

d (g/cm ³)	1.38±0.01	1.533±0.009	1.73±0.01
ε_b (%)	1.7±0.1	2.41±0.08	1.7±0.1
σ_b (MPa)	28±4	31.2±0.6	37.9±0.5
E_b (GPa)	2.0±0.1	2.1±0.1	3.43±0.06
G_f (MJ/m ³)	0.20±0.04	0.297±0.007	0.25±0.01
N	3	4	3
Coprecipitation/Aging temperature = 70 °C/70 °C			
IC_{feed} (wt%)	30	50	70
d (g/cm ³)	1.406±0.004	1.61±0.01	1.81±0.02
ε_b (%)	2.3±0.2	1.8±0.1	1.5±0.1
σ_b (MPa)	42±2	34±2	38±1
E_b (GPa)	2.45±0.08	2.82±0.07	3.6±0.2
G_f (MJ/m ³)	0.41±0.06	0.25±0.02	0.26±0.02
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = 90 °C/90 °C			
IC_{feed} (wt%)	30	50	70
d (g/cm ³)	1.36±0.02	1.58±0.01	1.86±0.02
ε_b (%)	2.89±0.06	1.8±0.2	1.59±0.04
σ_b (MPa)	32±1	32±2	42±1
E_b (GPa)	1.95±0.08	2.55±0.01	4.20±0.07
G_f (MJ/m ³)	0.33±0.01	0.24±0.03	0.26±0.01
N	4	3	3

3.6. 複合体の耐水性

Fig. 16 に各成形物を 24 時間 rt の蒸留水、また、1 週間 37 °C の蒸留水に浸漬した後の質量変化と、UV-Vis から算出された、水溶液へ溶解した CPET の濃度を示す。



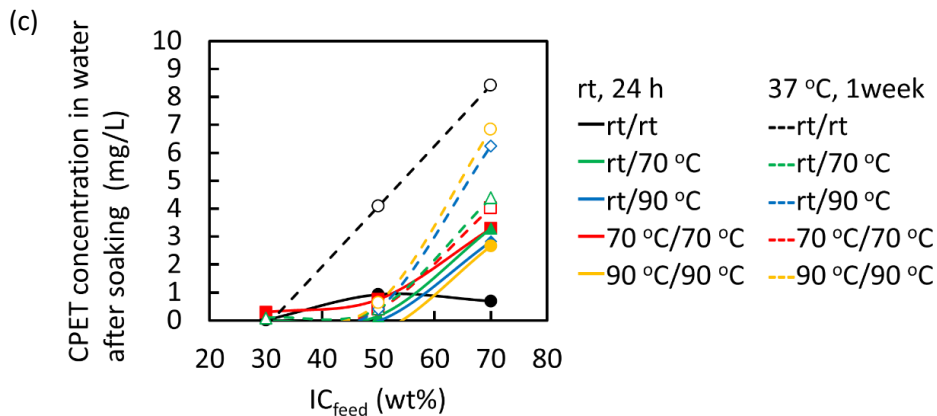


Fig. 16 Weight increase $\Delta w/w$ (%) of the composites after soaking in water at room temperature for 24 h (a), and at 37 °C for 1 week (b). CPET concentration in water after soaking determined spectrophotometrically by UV-vis absorption spectroscopy (c).

Fig. 16 (a, b)のとおり、rt で 24 時間蒸留水に浸漬した場合と、37 °C で 1 週間蒸留水に浸漬した場合のどちらにおいても、各共沈/熟成温度条件に関わらず、 IC_{feed} が小さいものほど重量変化が小さく、 IC_{feed} が増大するほど重量変化も大きくなった。

浸水後の重量増大のほとんどは、水の吸収によるものである。Fig. 8 (g) の HAP のアスペクト比 (c/a) の結果からも判断できるように、 IC_{feed} が小さいものは、より多くの HAP が CPET のカルボキシ基と相互作用を形成し、カルシウムカチオンの正に帯電した HAP の a 面が CPET の疎水性骨格でコーティングされたものと考えられる。その結果、 IC_{feed} : 30 wt%では HAP の表面がより疎水化されており、水の吸収が抑えられたものと考えられる。しかし、共沈/熟成温度 = rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C で得られたものは、浸水によって逆に重量が減少している。Fig. 16 (c)の UV-vis の結果のとおり、各複合体は、浸水によって CPET が溶解している。よって、 IC_{feed} : 30 wt%で得られた複合体は、確かに CPET のカルボキシ基によって HAP の表面がコーティングされているため、疎水性が高く、水を吸収しにくかったが、Fig. 17 (a)のように、HAP と相互作用をしていない余分な CPET が部分的に溶解し、複体内から水溶液側へ溶出したため、重量が僅かに減少したものと考えられる。 IC_{feed} : 70 wt%で得られた複合体は、Fig. 8 (g) の HAP のアスペクト比 (c/a) の結果の通り、CPET によって表面をコーティングされていない HAP が多く、その余分な親水性の高い HAP 表面が Fig. 17 (b)のように水と親和したため、より水を吸収し、重量が増大したものと考えられる。

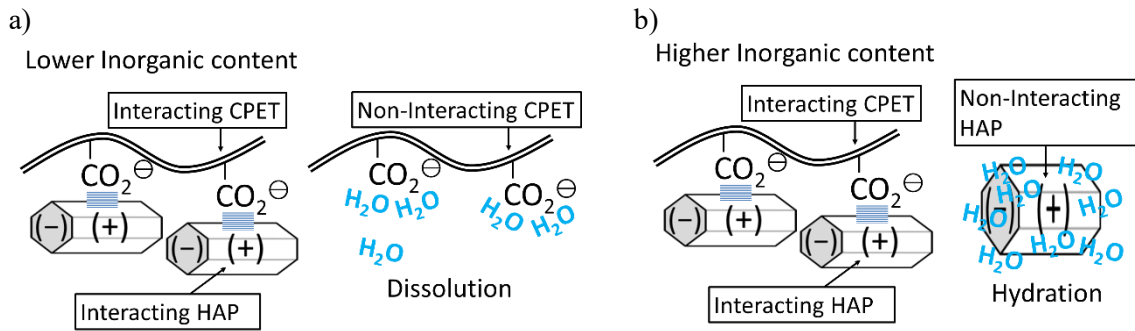
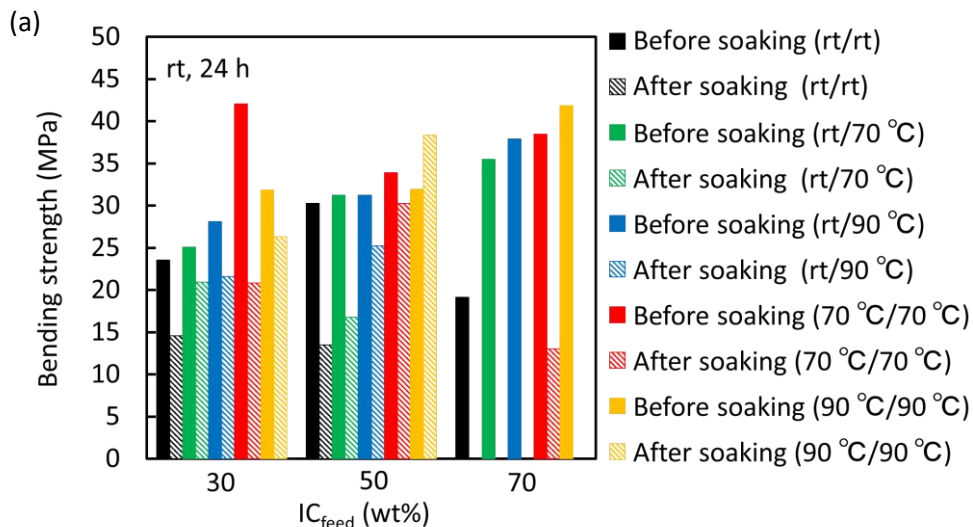


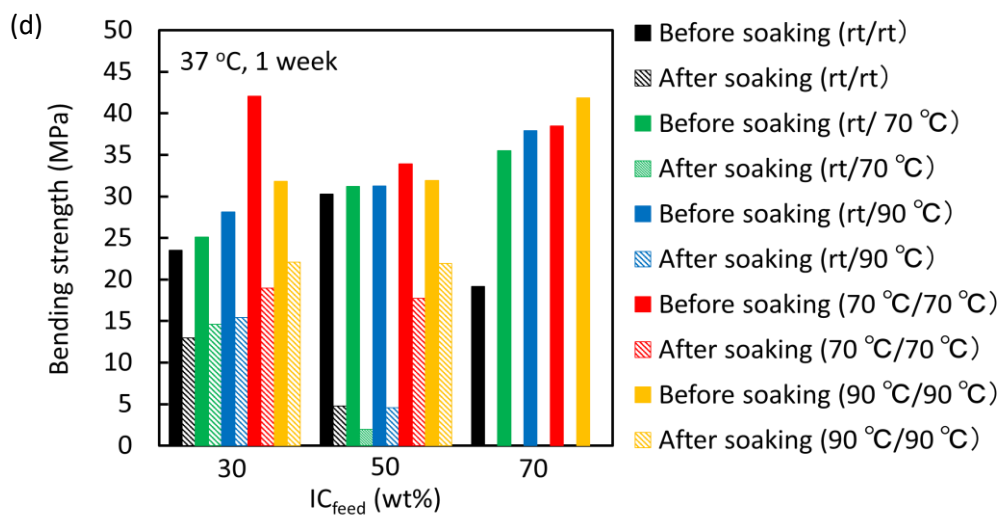
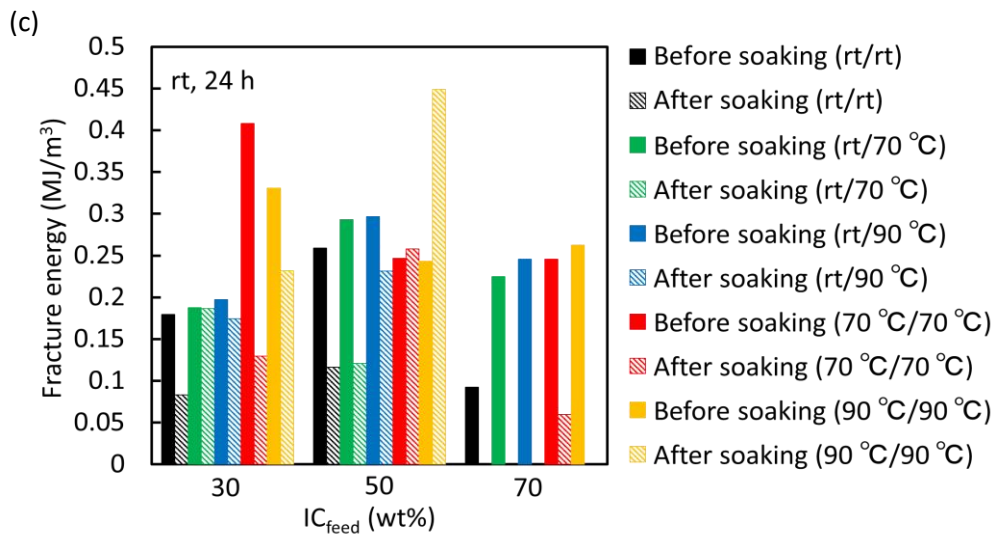
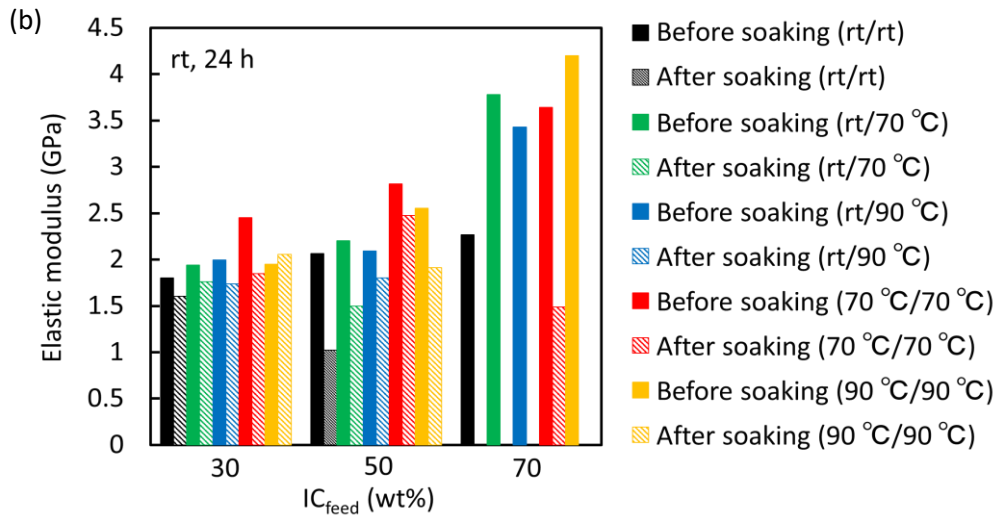
Fig. 17. Schematic representation of dissolution of CPET not interacting with HAP in the composites with lower inorganic contents and hydration of HAP not interacting with CPET in the composites with higher inorganic contents.

また、同じ IC_{feed} : 30 wt%でも、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で得られた複合体は、浸水による重量変化がより 0 に近かったことから、余分な HAP と水分子の水和による吸水も起こりにくく、かつ、余分な CPET の溶解も少なかったものと考えられる。さらに、Fig. 16 (c) の UV-vis の結果のとおり、 IC_{feed} : 30、50 wt%において、rt/rt で得られたものは、CPET の溶解量が最も多かった。これらの結果から鑑みても、より高い共沈/熟成温度で得られた複合体ほど、余分な CPET 及び HAP 単体が少なく、CPET と HAP が均一に相互作用を形成しているものと考えられる。

各共沈/熟成温度条件において、rt で 24 時間浸漬したものよりも、37 °C で 1 週間浸漬したものの方が、浸水によって重量が増大した。これは、より高温で長時間、複合体成形物を蒸留水に浸すことにより、複合体成形物が水分子とより頻繁に接触し、成形物内部に水分子が拡散しやすくなったためと考えられる。

Fig. 18 に、rt で 24 時間、また 37 °C で 1 週間浸漬した後の複合体成形物の機械的性質の変化を示す。





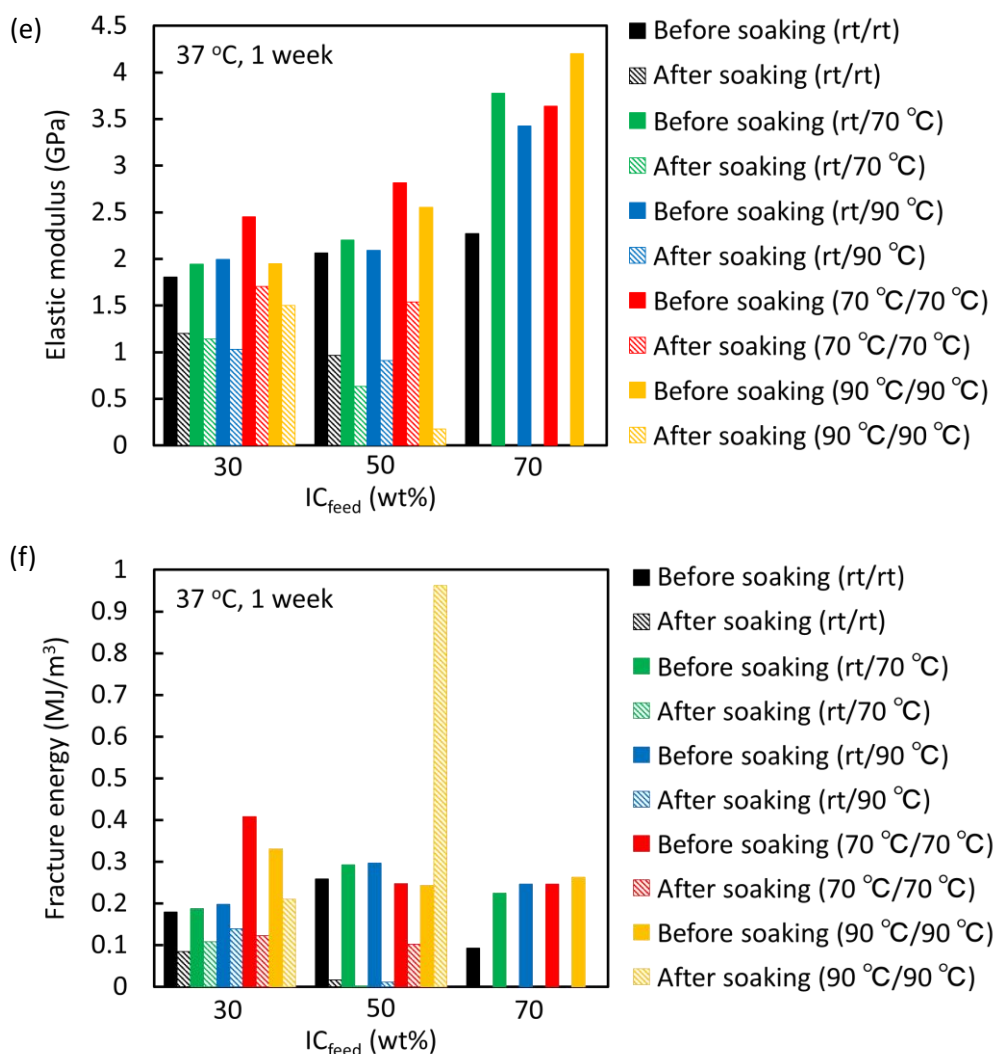


Fig. 18. Mechanical properties of the composites before and after soaking in water. (a) and (d) bending strength, (b) and (e) elastic moduli, (c) and (f) fracture energies. (a)–(c) samples were soaked in water at room temperature for 24 h. (e)–(f) samples were soaked in water at 37 °C for 1 week.

Fig. 17 (a, c)、のとおり、rt の蒸留水に 1 時間浸した後、ほとんどの複合体成形物は曲げ強度と破壊エネルギーが低下したのに対して、共沈/熟成温度 = 90 °C/90 °C、IC_{feed}: 50 wt% で得られた複合体は、逆に曲げ強度と破壊エネルギーが向上した。また、70 °C/70 °C、IC_{feed}: 50 wt% で得られた複合体も、浸水によって曲げ強度こそ低下したものの、破壊エネルギーは向上した。Fig. 17 (b) のとおり、90 °C/90 °C、IC_{feed}: 30 wt% の複合体以外、全ての複合体の弾性率は浸水によって低下した。Fig. 16 (a) のとおり、各複合体はそれぞれ水を吸収しており、この水が複合体に柔軟性を付与したものと考えられる。より低い共沈/熟成温度で合成された複合体は、Fig. 8 の HAP のアスペクト比 (*c/a*) の結果のとおり、CPET と HAP の相互作用が少なく、その分、より水が侵入

しやすく、柔軟性を付与すると同時に、成形物内部の部分的な崩壊も招き、曲げ強度及び破壊エネルギーが低下したものと考えられる。対して、より高い共沈/熟成温度で合成された複合体は、より多く有機-無機界面結合を形成しているため、水を吸収しながらも、成形物内部の構造が有機-無機界面結合によって保たれ、強度と柔軟性の両方が付与され、靱性が向上したものと考えられる。特に、37°Cで1週間の耐水性試験において、ほとんどの複合体成形物は水を吸収しすぎて機械的性質が低下したにも関わらず、Fig. 19の応力-歪み曲線のとおり、90°C/90°C、IC_{feed}: 50 wt%で合成された複合体成形物は、吸水によって破壊エネルギーが著しく向上した。さらに、その他共沈/熟成温度条件で得られた複合体成形物は浸水前後に関わらず脆性的に破壊されたのに対して、この37°Cで1週間蒸留水に浸漬した後の90°C/90°Cで得られた複合体成形物は、三点曲げ試験によって脆性破壊されることなく、第3章のTEMPO酸化セルロースナノファイバー(TCNF)-HAP複合体同様、曲がるだけであった[2]。

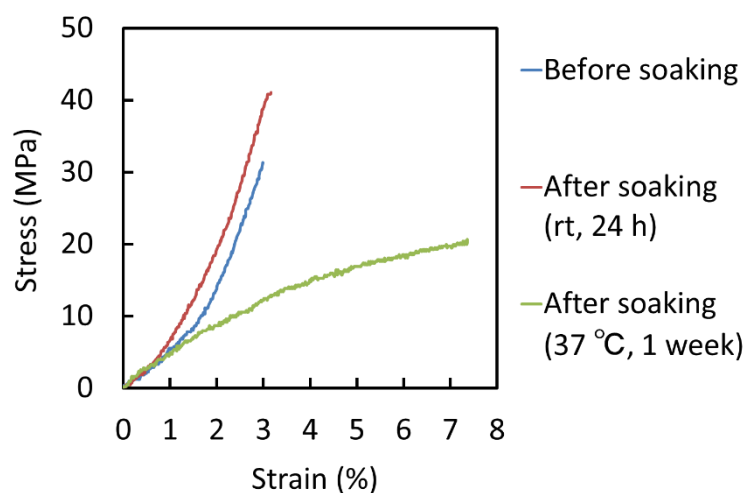


Fig. 19. Stress-strain curves of the molded composite synthesized at coprecipitation/aging temperature = 90 °C/90 °C before and water soaking in water at room temperature for 24 h and at 37 °C for 1 week.

また、Fig. 20に示すように、rt、24時間および、37°C、1週間浸漬後の90°C/90°C、IC_{feed}: 50 wt%の複合体成形物の三点曲げ試験後の破面（37°C 1週間浸漬後のものについては、三点曲げで破断できないため、その他成形物の三点曲げ試験同様、圧縮成形時の圧力加えた方向と同じ方向に力を加えて中央を曲げ、人力で破断した）は、浸水前よりも非脆性的であり、より骨の破面に近づいた。以上のことから、90°C/90°Cで合成された複合体のように、より多く有機-無機界面結合が形成されたものほど、吸水によって成形物内部の構造が崩壊することなく柔軟性が付与され、靱性が向上することがわかった。実際の骨も内部に水分を8 wt%含んでおり、この水の存在が骨の靱性を高める要因の1つであることが明らかにされている[34]。

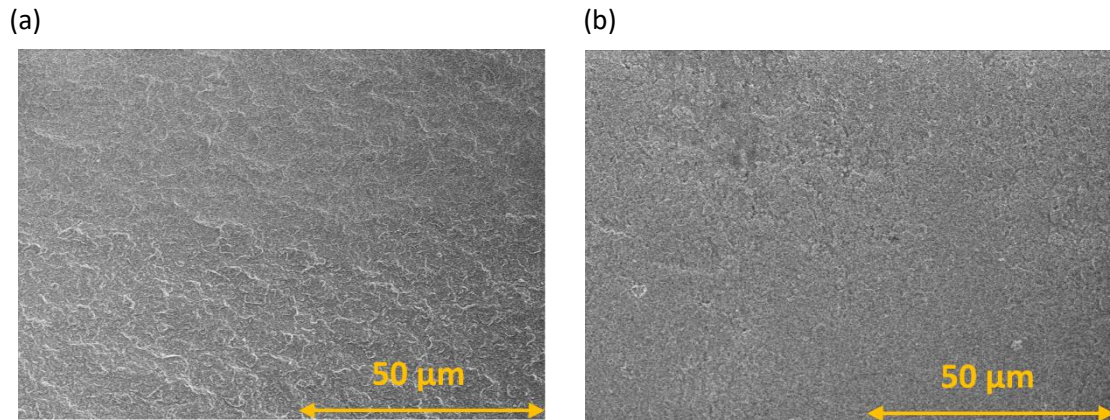


Fig. 20. SEM images of the fracture surface after three-point bending test of composite obtained at coprecipitation/aging temperature = 90 °C/ 90 °C, IC_{feed}: 50 wt% soaked in water at room temperature for 24 h (a) and at 37 °C for 1 week (b).

IC_{feed}: 30 wt%で合成された複合体は、浸水による水の吸収量は少なかったが、曲げ強度・弾性率・破壊エネルギーはそれぞれ僅かに低下した。これは、HAPの少ない複合体は、HAPと相互作用していないCPETが多く、このCPETが親水によって成形物外部へ溶出され、成形物内部に空隙が残るためと考えられる。IC_{feed}: 70 wt%においては、共沈/熟成温度条件に関わらず、複合体の曲げ強度・弾性率・破壊エネルギーは著しく低下した。IC_{feed}: 70 wt%で得られた複合体には、CPETと相互作用していない余剰な浸水性の高いHAPが多いため、より水を吸収しやすく、成形物内部の構造がより崩壊したものと考えられる。

rtの蒸留水に24時間浸漬した後の複合体成形物の機械的性質をTable 3、37 °Cの蒸留水に1週間浸漬した後の複合体成形物の機械的性質をTable 4にまとめる。

Table 4. Mechanical Properties of the Composites Soaked in Water at Room Temperature for 24 h

Coprecipitation/Aging temperature = rt/rt			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
d_{obs} (g/cm ³)	1.331±0.0004	1.54±0.01	1.82±0.03
ϵ_b (%)	1.3±0.1	1.69±0.08	0
σ_b (MPa)	15±2	14±2	0
E_b (GPa)	1.6±0.1	1.0±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.083±0.008	0.12±0.03	0
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = rt/70 °C			

IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.382±0.0008	1.53±0.03	1.608±0.009
ϵ_b (%)	1.8±0.1	1.6±0.3	0
σ_b (MPa)	21.0±0.2	17±1	0
E_b (GPa)	1.8±0.2	1.5±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.19±0.02	0.12±0.02	0
N	3	3	3

Coprecipitation/Aging temperature = rt/90 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.376±0.0006	1.597±0.004	1.73±0.03
ϵ_b (%)	1.8±0.3	2.2±0.14	0
σ_b (MPa)	22±3	25±2	0
E_b (GPa)	1.7±0.2	1.8±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.17±0.05	0.23±0.03	0
N	3	3	3

Coprecipitation/Aging temperature = 70 °C/70 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.391±0.001	1.62±0.02	1.87±0.02
ϵ_b (%)	1.4±0.2	2.0±0.1	1.0±0.3
σ_b (MPa)	21±1	30±1	13.1±0.5
E_b (GPa)	1.8±0.3	2.5±0.1	1.5±0.2
G_f (MJ/m ³)	0.130±0.009	0.26±0.01	0.06±0.01
N	3	3	3

Coprecipitation/Aging temperature = 90 °C/90 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.369±0.007	1.64±0.02	1.81±0.01
ϵ_b (%)	2.4±0.2	2.8±0.3	0
σ_b (MPa)	26±2	38±2	0
E_b (GPa)	2.1±0.2	1.9±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.232±0.009	0.45±0.05	0
N	3	3	3

Table 4. Mechanical Properties of the Composites Soaked in Water at 37 °C for 1 week

Coprecipitation/Aging temperature = rt/rt			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.38±0.02	1.56±0.02	1.82±0.03
ε_b (%)	1.46±0.09	0.6±0.2	0
σ_b (MPa)	13±2	5±1	0
E_b (GPa)	1.20±0.07	1.0±0.2	0
G_f (MJ/m ³)	0.08±0.02	0.017±0.009	0
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = rt/70 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.39±0.02	1.5420±0.0008	1.79±0.03
ε_b (%)	1.6±0.4	0.13±0.08	0
σ_b (MPa)	15±3	2±1	0
E_b (GPa)	1.14±0.09	0.6±0.3	0
G_f (MJ/m ³)	0.11±0.04	0.002±0.001	0
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = rt/90 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.378±0.004	1.587±0.0008	1.830±0.008
ε_b (%)	2.1±0.2	0.45±0.05	0
σ_b (MPa)	15.4±0.9	4.6±0.7	0
E_b (GPa)	1.03±0.08	0.9±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.14±0.01	0.011±0.003	0
N	3	3	3
Coprecipitation/Aging temperature = 70 °C/70 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70
$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.39±0.01	1.61±0.02	1.74±0.03
ε_b (%)	1.54±0.05	1.2±0.1	0
σ_b (MPa)	19±1	18±1	0
E_b (GPa)	1.7±0.2	1.5±0.1	0
G_f (MJ/m ³)	0.123±0.008	0.10±0.01	0
N	5	5	5
Coprecipitation/Aging temperature = 90 °C/90 °C			
IC _{feed} (wt%)	30	50	70

$d_{obs.}$ (g/cm ³)	1.371±0.009	1.60±0.03	1.79±0.04
ε_b (%)	2.2±0.2	7.43±0.05	0
σ_b (MPa)	22±1	22.0±0.9	0
E_b (GPa)	1.50±0.02	0.18±0.01	0
G_f (MJ/m ³)	0.21±0.03	0.96±0.01	0
N	3	3	3

第2章のリン酸化タピオカデンプン-HAP 複合体[1]について、IC_{feed}: 30、50、70 wt% のときはそれぞれ浸水による重量変化 $\Delta w/w$ は、210、132、100 %であり、浸水後の機械的性質も非常に柔軟で数 MPa で容易に凹みが生じるものであった。これらの植物由来ポリマーと比べると、CPET-HAP 複合体の耐水性は圧倒的に高いものと言える。

CPET のフェニレン部分には 14~22 mol %カルボキシ基が導入されており、ユニット 4.55~7.14 個に 1 つの COOH が存在している。分子軌道計算で構造を最適化した CPET の繰り返し単位をもとにすると、繰り返し単位の長さは、O-O の距離 10.946 Å、また、繰り返し単位の幅は、フェニルの H-H の距離 4.292 Å に H の vdW 半径の 2 倍 1.2 Å を加えて 6.7 Å となる。ゆえに、繰り返し単位 (-CO-C₆H₄-COOCH₂CH₂O-) の面積は、10.9 × 6.7 = 73.03 Å² であるため、73.03 Å² × (1/0.22) ~ 73.03 Å² × (1/0.14) = 3.3 ~ 5.2 nm² 当りに COOH が 1 つ存在することになる。この値は、骨の HAP 表面に結合しているクエン酸 1 分子が占有する HAP 表面の面積 4 nm²[12] とよく類似している。このような CPET のカルボキシ基の占有面積と、HAP がもつ結合サイトの面積の一致も、複合体の耐水性の高さに大きく関与している可能性がある。

4. 結言

本研究では、骨の有機主成分であるコラーゲン繊維が親水性基・疎水性基の両方をもつことに着目し、疎水性ポリエステル骨格と親水性カルボキシ基の両方をもつカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート CPET と HAP を様々な条件で共沈複合化することで、骨のように高い耐水性をもつ材料の開発を目指した。CPET のアンモニウム塩水溶液をそれぞれ Na₂HPO₄・NaOH 混合水溶液と混合し、これに CaCl₂ 水溶液を加え、これを熟成することで、CPET-HAP 共沈複合体を合成した。共沈/熟成温度は、rt/rt、rt/70 °C、rt/90 °C、70 °C/70 °C、90 °C/90 °C、仕込み無機重量分率 IC_{feed} はそれぞれ 30、50、70 wt% のものを合成した。

共沈/熟成温度 = 70 °C/70 °C、90 °C/90 °C で得られた複合体は、他条件で得られたものよりも収率が低く、かつ、熱重量分析の結果、熱分解温度もより低下していた。このことから、より高い共沈/熟成温度では、CPET 主鎖のエステル結合が加水分解を受け、重合度が低下していることを示唆した。また、XRD の結果、90 °C/90 °C、IC_{feed}: 50 wt% の複合体が最も HAP のアスペクト比 (c/a) が小さく、かつ、加水分解を受けて自由度

が高くなっているにも関わらず、FT-IR で得られた $1720\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$ のエステル伸縮ピークの FWHM が小さかった。このことから、より高い共沈/熟成温度、適切な有機/無機重量比で共沈複合化することで、最も CPET と HAP は均一に複合化され、CPET のカルボキシ基と HAP の a 面の相互作用がより多く形成されることがわかった。

得られた複合体粉末を $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 120 MPa で一軸加圧成形し、その曲げ強度・弾性率・破壊エネルギーを三点曲げ試験によって評価した。より有機-無機界面結合を形成した $70\text{ }^{\circ}\text{C}/70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $90\text{ }^{\circ}\text{C}/90\text{ }^{\circ}\text{C}$ で得られた複合体は、それぞれ機械的性質が高く、かつ、複合材料の各成分の弾性率と体積分率の関係を示した混合の法則の公式に最も則った。

得られた複合体成形物を rt で 24 時間、または $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1 週間蒸留水に浸漬し、質量変化と機械的性質の変化から耐水性を評価した。ほとんどの複合体は浸水によって機械的性質が低下するものの、膨潤・崩壊することなく、デンプンやセルロースとの複合体と比べて高い耐水性を示した。特に $90\text{ }^{\circ}\text{C}/90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{IC}_{\text{feed}}: 50\text{ wt}\%$ の複合体は、 rt で 24 時間蒸留水に浸した後、逆に曲げ強度が向上し、 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1 週間蒸留水に浸した後は、曲げ強度は低下したものの、構造を保ちながら柔軟性が付与され、破壊エネルギーが著しく向上した。さらに、三点曲げ試験によって脆性破壊されることなく、優れた靱性を示した。以上のことから、最も有機-無機界面結合を形成できる共沈/熟成温度 = $90\text{ }^{\circ}\text{C}/90\text{ }^{\circ}\text{C}$ のときに、複合体の機械的性質及び耐水性が向上することがわかった。

複合体を構造材料、または生体材料として実用するには、機械的性質はもちろん、耐水性の高さが求められる。ポリマーの親水/疎水バランス及びその共沈複合化条件と複合体の機械的性質・耐水性の関係がより明確化されれば、HAP と複合化するポリマーをカルボキシメチル化やアシル化などの化学修飾によって親水/疎水バランスを調整し、これを最適な条件で HAP と共沈複合化することにより、さらに骨のように優れた靱性と耐水性を併せ持つ複合材料の開発が期待できる。

5. 参考文献

- [1] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Aoyama, Y. Coprecipitation of tapioca starch and hydroxyapatite. Effects of phosphorylation of starch on mechanical properties of the composites. *Results Mater.* 2019, 3, No. 100035.
- [2] Okuda, K.; Mizutani, T.; Hirota, K.; Hayashi, T.; Zinno, K. Nonbrittle Nanocomposite Materials Prepared by Coprecipitation of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers and Hydroxyapatite. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2021, 9, 158–167.
- [3] Theocaris, P. S.; Papanicolaou, G. C.; Kontou, E. A. Interrelation between Moisture Absorption, Mechanical Behavior, and Extent of the Boundary Interphase in Particulate Composites. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1983, 28, 3145–3153.
- [4] Neuendorf, R. E.; Saiz, E.; Tomsia, A. P.; Ritchie, R. O. Adhesion between biodegradable polymers and hydroxyapatite: Relevance to synthetic bone-like materials and tissue engineering

scaffolds. *Acta Biomater.*, 2008, 4, 1288–1296.

[5] Duman, E.; Kehribar, E. S.; Ahan, R. E.; Yuca, E.; Seker, U. O. S.; Biom mineralization of Calcium Phosphate Crystals Controlled by Protein. Protein Interactions. *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2019, 5, 4750–4763.

[6] Kirkham, J.; Brookes, S. J.; Shore, R. C.; Wood, S. R.; Smith, D. A.; Zhang, J.; Chen, H.; Robinson, C. Physico-chemical properties of crystal surfaces in matrix-mineral interactions during mammalian biomineralization. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2002, 7, 124–132.

[7] Boskey, A. L. Phosphoproteins and Biomineralization, Phosphoproteins and Biomineralization. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.*, 1999, 144, 189–192.

[8] Ibsen, C. J. S.; Gebauer, D.; Birkedal, H. Osteopontin Stabilizes Metastable States Prior to Nucleation during Apatite Formation. *Chem. Mater.*, 2016, 28, 8550–8555.

[9] Zoch, M. L.; Clemens, T. L.; Riddle, R. C. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone*, 2016, 82, 42–49.

[10] Li, J.; Baker, B. A.; Mou, X.; Ren, N.; Qiu, J.; Boughton, R. I.; Liu, H. Biopolymer/Calcium Phosphate Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Adv. Healthcare Mater.*, 2014, 3, 469–484.

[11] Maestro, M. M.; Turnay, J.; Olmo, N.; Fernandez, P.; Suarez, D.; Paez, J. M. G.; Urillo, S.; Lizarbe, M. A.; Jorge-Herrero, E. Biochemical and mechanical behavior of ostrich pericardium as a new biomaterial. *Acta Biomater.*, 2006, 2, 213–219.

[12] Hu, Y.-Y.; Rawal, A.; Schmidt-Rohr, K. Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2010, 52, 22425–22429.

[13] Siriphannon, P.; Monvisade, P. Poly(ethylene terephthalate)/hydroxyapatite biomaterials: Preparation, characterization, and in vitro bioactivity. *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, 2009, 88A, 464–469.

[14] Mosavi-Mirkolaei, S. T.; Najafi, S. K.; Tajvidi, M. Physical and Mechanical Properties of Wood-Plastic Composites Made with Microfibrillar Blends of LDPE, HDPE and PET. *Fibers Polym.*, 2019, 20, 2156–2165.

[15] Hibino, Y.; Oyanea, A.; Shitomi, K.; Miyaji, H. Technique for simple apatite coating on a dental resin composite with lightcuring through a micro-rough apatite layer. *Mater. Sci. Eng., C*, 2020, 116, 111146.

[16] Sughanthy, S. A. P.; Ansari, M. N. M.; Atiqah, A. Dynamic mechanical analysis of polyethylene terephthalate/hydroxyapatite biocomposites for tissue engineering applications. *J. Mater. Res. Technol.* 2020, 9, 2350–2356.

[17] Zhang, X.; Zhao, S.; Mohamed, M. G.; Kuo, S.-W.; Xin, Z. Crystallization behaviors of poly(ethylene terephthalate) (PET) with monosilane isobutyl-polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS). *J. Mater. Sci.* 2020, 55, 14642–14655.

[18] Tian, Y.; Yang, Y.; Tan, J.; Ding, D.; Song, Z.; Tao, Q.; Zheng, X.; Hu, T.; Gong, X.; Wu, C.

- Ionization.liquid-crystalline polymer synergistically reinforced poly(ethylene terephthalate) due to interfacial compatibilization by ion-dipole interactions. *J. Appl. Polym. Sci.* 2021, 138, e50127.
- [19] Ogomi, D.; Serizawa, T.; Akashi, M. Bioinspired organic-inorganic composite materials prepared by an alternate soaking process as a tissue reconstitution matrix. *J. Biomed. Mater. Res.* 2003, 67A, 1360–1366.
- [20] Prorokova, N.; Chorev A.; Kuzmin S.; Vavilova S.; Prorokov V. Chemical Method of Fibrous Materials Surface Activation on the Basis of Polyethylene Terephthalate (PET). *Chemistry and Chemical Tech.* 2014, 8, 293–302.
- [21] Zhang, S.; Song, X.; Zhang, D.; Tian, Y. Kinetics of the hydrolytic depolymerization of poly(ethylene terephthalate) under microwave irradiation. *Polymer J.* 2011, 43, 811–815.
- [22] Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites. *Am. Mineral.* 1989, 74, 870–876.
- [23] Peters, F.; Schwarz, K.; Epple, M. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochim. Acta* 2000, 361, 131–138.
- [24] Kawasaki, T.; Niikura, M.; Kobayashi, Y. Fundamental study of hydroxyapatite high-performance liquid chromatography. III. Direct experimental confirmation of the existence of two types of adsorbing surface on the hydroxyapatite crystal. *J. Chromatogr. A* 1990, 515, 125–148.
- [25] Sato, K.; Kogure, T.; Kumagai, Y.; Tanaka, J. Crystal Orientation of Hydroxyapatite Induced by Ordered Carboxyl Groups. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, 240, 133–138.
- [26] Rhee, S.-H.; Tanaka, J. Effect of Chondroitin Sulfate on the Crystal Growth of Hydroxyapatite. *J. Am. Ceram. Soc.* 2000, 83, 2100–2102.
- [27] Melveger, A. J. Laser-Raman study of crystallinity changes in poly(ethylene terephthalate). *J. Polym. Sci. Part A-2*, 1972, 10, 317–322.
- [28] Ivanova, A. A.; Surmeneva, M. A.; Surmenev, R. A.; Depla, D. Influence of deposition conditions on the composition, texture and microstructure of RF-magnetron sputter-deposited hydroxyapatite thin films, *Thin Solid Films* 2015, 591, 368–374.
- [29] Nakamura, H.; Shirakawa, Y.; Kitamura, H.; Yamada, T.; Shidara, Z.; Yokozuka, T.; Nguyen, P.; Takahashi, T.; Takahashi, S. Blended polyethylene terephthalate and polyethylene naphthalate polymers for scintillation base substrates, *Radiat. Meas.*, 2013, 59, 172–175.
- [30] Ioku, K.; Yoshimura, M. Stoichiometric apatite fine single crystals by hydrothermal synthesis. *Phos. Res. Bull.* 1991, 1, 15–20.
- [31] Lin, Y.; Bilotti, E.; Bastiaansen, W.M.C.; Peijis, T. Transparent semi-crystalline polymeric materials and their nanocomposites: A review. *Polym. Eng. Sci.* 2020, 60, 2351–2376.
- [32] Schnur, D.S.; Lee, D.; Stiffness and inelastic deformation in acrylic-titanium composite implant materials under compression, *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, 17, 973–991.

[33] Mael, A.; Maelenn, G. L.; Pierre G. Y. L.; Petr D. Impact of hydrolytic degradation on mechanical properties of PET - Towards an understanding of microplastics formation. *Polym. Degrad. and Stab.* 2019, 161, 175–182.

[34] Olszta, J. M.; Cheng, X.; Jee, S. S.; Kumar, R.; Kim Y. Y.; Kaufman. J. M.; Douglas, P. E.; Gower, B. L. Bone structure and formation: A new perspective. *Mater. Sci. Eng.* 2007, R 58, 77–116.

第 5 章. リン酸化タピオカデンプン-ヒドロキシアパタイト複合体のアシル化: 有機-無機界面結合形成と疎水性アシル基導入による耐水性向上

1. 緒言

第 2、3 章では、骨のナノ構造や生成機構の模倣による高靱性バイオマス材料の開発を目指し、リン酸化タピオカデンプン (PTS) [1]、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) [2]を骨の無機主成分ヒドロキシアパタイト (HAP: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) と複合化した。これらの複合体は、石油由来エンジニアリングプラスチックに匹敵する強度や弾性率、靱性を示したが、親水性の高いヒドロキシ基を多くもつため、耐水性の低さが課題となった。ゆえに、第 4 章では、骨の有機主成分であるコラーゲン繊維の親水/疎水バランス[3]や、HAP 表面をコーティングしているクエン酸[4]等をモデルにし、両親媒性ポリエステルであるカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) を HAP と共沈複合化した[5]。従来の疎水性高分子と HAP の複合体は、有機-無機界面結合を形成できないため、その界面に水が侵入し、高分子が高い疎水性を持っていたとしても、複合体の耐水性が向上するとは限らなかった[6]。CPET-HAP 複合体は、CPET のカルボキシ基と HAP が結合し、HAP 表面が疎水性の高い CPET 主鎖に覆われることで、浸水によって膨潤・崩壊しなかった。それどころか、構造を保ちながら水分を適切量吸収し、柔軟性と強度が両立し、骨のような靱性が発現するなど、優れた耐水機能を示した。実際の骨も、細孔、または有機層、あるいは有機-無機界面に 10 wt%ほど水が存在している。この骨を高温真空中で脱水すると、靱性が低下し、脆性破壊され[7]、強度も 166 MPa から 105 MPa に低下したことから、水分は骨の靱性において重要な役割を果たすものと考えられる [8]。

CPET の親水/疎水バランスは、吸水による複合体の靱性向上を可能にしたが、CPET は石油由来プラスチックであり、石油枯渇や環境負荷の点において懸念がある [9, 10]。そこで、本研究では、植物由来のポリマーと HAP から骨模倣高耐水性複合材料を開発することを目指し、アシル化 PTS-HAP 複合体の合成を行った。デンプンのアシル化反応は、デンプンの親水性のヒドロキシ基が疎水性アシル基に置換され、デンプンに熱可塑性や耐水性が付与されるため、食品包装やその他の用途のバイオベース材料への応用の可能性について多く研究されている[11-14]。アシル化剤の原料であるカルボン酸は、地球上に豊富に存在する植物から得られるバイオマス資源[15]である。さらに、アシル化デンプンは、優れた生分解性をもつ[16]ことも示されており、環境に与える負荷が小さい。このアシル化デンプンと HAP を複合化すれば、耐水性の向上が期待できるが、アシル化デンプンは極性が低いため、水に溶解・分散させることが難しく、その複合化

Okuda, K.; Aoyama, Y.; Hirota, K.; Mizutani, T. Effects of Hydration on Mechanical Properties of Acylated Hydroxyapatite–Starch Composites. *ACS Appl. Polym. Mater.* 2022, 4, 3, 1666–1674

方法は熱的な混練や、有機溶媒中での分散混合に限られる。有機溶媒中で HAP と共沈させるプロセスも考えられるが、HAP の生成は基本的にはアルカリ水溶液中で行われ、高 pH 下では、アシル化デンプンのエステル結合がアルカリ加水分解によって切断され、アシル基がヒドロキシ基に戻ってしまう。そこで、まずは共沈法により、リン酸基を介して有機-無機界面結合が形成された第 2 章の PTS-HAP 複合体を合成し、これをアシル化するというプロセスを考えた。このプロセスであれば、すでに HAP と複合化されている PTS をそのままアシル化 PTS に修飾することができるため、容易にアシル化 PTS-HAP 複合体が合成できる。しかも、Fig. 1 のように有機-無機界面結合を形成していない、耐水性の低下の要因となる余分なヒドロキシ基のみを選択的にアシル化でき、CPET-HAP 複合体のように、有機-無機界面結合によって HAP 表面に疎水性ポリマーがコーティングされたナノ構造の形成が期待できる。今まで、骨の生成機構を模倣した様々なポリマーと HAP の複合化研究が報告されてきた[17-25]が、複合体を合成してから、これをアシル化する試みは本研究が初めてである。一般的に、デンプンのアシル化反応はカルボン酸塩化物や無水カルボン酸とピリジンなどの塩基触媒存在下で行われるが、副生した塩化水素やカルボン酸によって HAP が分解されてしまうため、本研究ではカルボン酸ビニルと塩基触媒存在下でのアシル化反応[11]を行った。アシル化する複合体の無機重量分率、アシル化温度、導入するアシル基の種類によって、複合体中の PTS のアシル化度、そして、複合体の機械的性質と耐水性がどのように変化するかを確かめ、骨模倣バイオマス複合体の耐水性を向上させるアシル化反応プロセスを明らかにすることを旨とした。

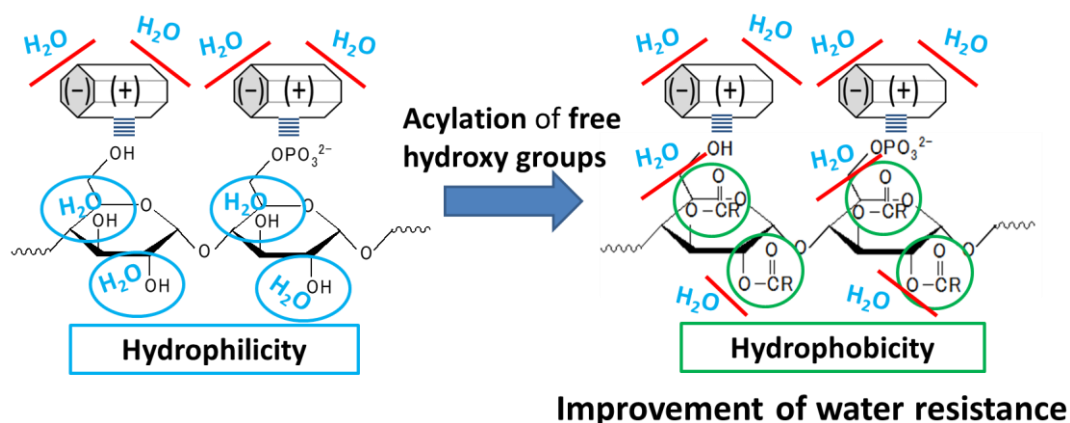


Fig. 1. Schematic representation of the improvement of the PTS-HAP composite by acylation of free hydroxy groups of PTS.

2. 実験

2.1. 使用試薬

- 1) Phosphorylated tapioca starch (PTS) (Phosphorus content: 0.01 %)

三和澱粉工業株式会社

- 2) Calcium chloride dihydrate $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 147.01$

富士フィルム和光純薬株式会社

- 3) Disodium hydrogen phosphate $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 141.96$

富士フィルム和光純薬株式会社

- 4) Sodium hydroxide $\text{NaOH} = 40.00$

富士フィルム和光純薬株式会社

- 5) Distilled water $\text{H}_2\text{O} = 18.02$

Yamato Autostill WG250 によって蒸留したものを使用した。

- 6) Dimethyl sulfoxide (DMSO) $\text{C}_2\text{H}_6\text{SO} = 78.13$

富士フィルム和光純薬株式会社

- 7) Potassium carbonate $\text{K}_2\text{CO}_3 = 138.205$

富士フィルム和光純薬株式会社

- 8) Methanol $\text{CH}_3\text{OH} = 32.04$

富士フィルム和光純薬株式会社

2.2. 測定機器

- 1) 熱重量測定(TGA)

株式会社島津製作所製の示差熱・熱重量同時測定装置(DTG-60)を用いて測定および解析を行った。

- 2) 粉末 X 線回折(XRD)

リガク株式会社製の全自動水平型多目的 X 線回折装置 SmartLab で測定し、PDXL2 で解析を行った。

- 3) 三点曲げ試験装置

株式会社マルトー社製の「MZ-250」を用いて測定および解析を行った。

- 4) フーリエ変換赤外分光光度計

JASCO 日本分光の FT/IR-4600 を用いて、KBr 錠剤法により測定を行なった。

2.3. 実験方法

2.3.1. 共沈法による IC_{feed} : 50、70 wt% の PTS-HAP 複合体の合成

仕込み無機重量分率 IC_{feed} : 50 wt% の複合体を合成するときは、リン酸化タピオカデンプン (PTS) を 9 g、 IC_{feed} : 70 wt% の複合体を合成するときは PTS を 3.86 g をそれぞれ 1000 mL ビーカーに秤量し、各ビーカーに 0.2 M CaCl_2 水溶液を 448 mL 加え、90 °C で

1 時間、600 rpm の攪拌速度で攪拌した。その後、同攪拌速度を保ちながら一旦室温になるまで放冷し、その後、70 °C で 0.2 M Na_2HPO_4 水溶液 268 mL と 1 M NaOH 水溶液 72 mL の混合溶液を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、同温度同攪拌速度で 1 時間熟成した。

得られた IC_{feed} の異なる各 PTS-HAP 複合共沈物を吸引ろ過しながら 1000mL の蒸留水で洗浄した。その後、1000 mL のアセトンを加えてから吸引ろ過することで共沈物を脱水してから 80 °C で 2 時間以上真空乾燥した。その後、すり鉢でより細かい粉末にした。

上記と同じ操作で 10 個の同サンプルを合成し、これらの粉末を全て混合し、1 つのサンプルとして用いた。

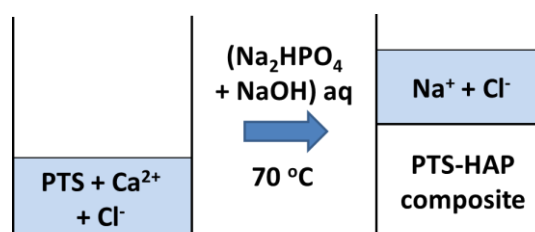


Fig. 2. Hybridization of PTS and HAP by a coprecipitation process.

2.3.2. PTS-HAP 複合体のアシル化

100 mL の反応容器に、 IC_{feed} : 50、70 wt% の各 PTS-HAP 複合体粉末を 2.5 g、DMSO を 50 mL、 K_2CO_3 を 0.5 g を加え、酢酸ビニル (VAc) 10.50 g、安息香酸ビニル (VB) 18.30 g、ラウリン酸ビニル (VL) 27.16 g をそれぞれ加えた。その後、それぞれ 25、40、60、80、100、120 °C で還流しながら 8 時間反応させ、アセチル化、ベンゾイル化、ラウロイル化を行なった。反応終了後、反応溶液を室温にまで放冷してから 1000 mL ビーカーに移し、500 mL のメタノールを加え、沈殿物が生じたことを確認してから、これを吸引濾過した。濾紙上に残った沈殿物に、1000 mL のメタノールを注ぎながら吸引ろ過することで、未反応のカルボン酸ビニルと DMSO を除去した。引き続き、1000 mL の蒸留水を注ぎながら吸引濾過することで、未反応の K_2CO_3 を除去した。濾紙上に残った沈殿物に再び 1000 mL のメタノールを加え、これを濾過することで、沈殿物を脱水した。回収した沈殿物を 80 °C で 2 時間以上真空乾燥し、その後、すり鉢でより細かい粉末にした。得られた粉末の重量を測定し、アシル化による複合体の重量増大率 = (収量/仕込み値) $\times 100$ (%) を算出した。

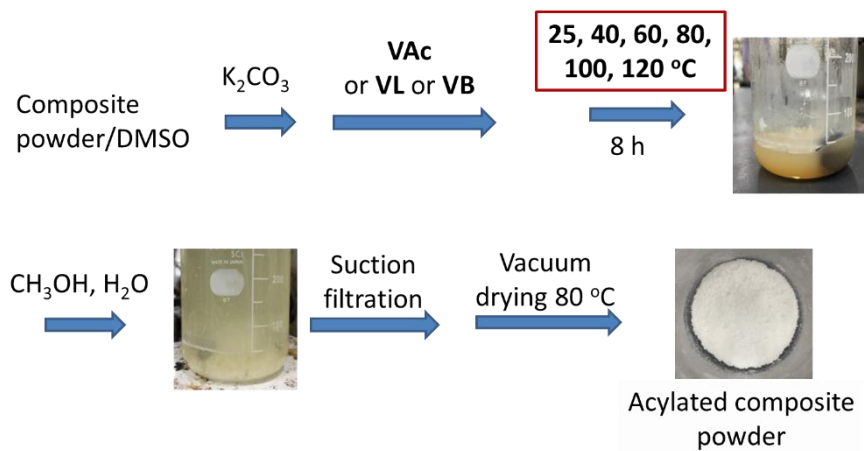


Fig. 3. Acylation (acetylation, benzoylation, lauroylation) of the PTS-HAP composites.

2.3.3. 複合体の無機重量分率とアシル化度

各アシル化複合体粉末の無機重量分率は熱重量分析 (TGA) より算出した。室温から 100 °C までを吸着水蒸発、100 °C から 1000 °C までを有機物燃焼による重量減少とし、以下の式より無機重量分率 I.C. を算出した。昇温速度は 20 °C /min で行った。

$$IC = \frac{1000\text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量(g)}}{100\text{ °C まで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量(g)}} \times 100\text{ (wt \%)}$$

本研究で行ったアシル化反応は塩基性条件下で行われているため、理論的には HAP は分解されることはない。ゆえに、上記のアシル化反応によって HAP の重量が変動することはほとんどないと考えられる。すなわち、アシル化によって無機重量分率が低下するのであれば、それは無機物の重量減少ではなく、有機物の重量増大、すなわち、有機重量分率の増大によるものである。この有機物の重量変化を PTS のヒドロキシ基がアシル基に置換されたことによっておこるものと考え、アシル化後の複合体の無機重量分率 IC_{after} は、(アシル化前の無機重量分率 IC_{before}) / (複合体 100 g をアシル化した後の全重量) のパーセントで表すことができるため、複合体 100 g 中の置換されたヒドロキシ基のモル数 X は、以下の式で求められる。 IC_{before} 、 IC_{after} はアシル化前、アシル化後の無機重量分率、 M_{OH} はヒドロキシ基の分子量 (17 g/mol)、 M_{acy} はアシルオキシ基の分子量を示す (アセトキシ基: 59 g/mol、ベンゾイルオキシ基: 121 g/mol、ラウロイルオキシ基: 199 g/mol)。

$$IC_{\text{after}} = \frac{100 \times IC_{\text{before}}}{100 - (M_{\text{OH}} \times X) + (M_{\text{acy}} \times X)}$$

複合体 100 g 中の PTS のヒドロキシ基のモル数 Y は複合体の有機重量分率を PTS の

グルコース単位の分子量で割って、グルコース単位あたりのヒドロキシ基の数 3 をかけた値になるため、以下の式のようになる。 M_{AGU} は PTS の単位グルコースあたりの分子量 (162 g/mol) を示す。

$$Y = \frac{3 \times (100 - IC_{\text{before}})}{M_{AGU}}$$

単位グルコース当たりのアシル基に置換されたヒドロキシ基の数 (置換度 DS) は複合体 100 g 中のアシル化されたヒドロキシ基のモル数 X をアシル化される前の全ヒドロキシ基のモル数 Y で割り、それに 3 をかけた値であるため、以下のような式で表せる。

$$DS = \frac{100 \times (IC_{\text{before}} - IC_{\text{after}})}{IC_{\text{after}} \times (M_{\text{acy}} - M_{\text{OH}})} \times \frac{M_{AGU}}{(100 - IC_{\text{before}})}$$

2.3.4. FT-IR における吸光度のピーク強度比

フーリエ変換赤外分光計 (FT-IR) で得られた $1720 \sim 1752 \text{ cm}^{-1}$ のピークから各アシル基のエステル伸縮振動の吸光度、 563 cm^{-1} のピークから HAP のリン酸アニオンの吸光度を測定し、エステル/リン酸アニオン吸光度比を算出し、アシル化反応温度上昇による複合体のアシル化の進行を評価した。

2.3.5. 複合体粉末の成形及び三点曲げ試験と耐水性試験

未アシル化複合体及びアシル化温度 80、100、120 °C で得られた各アシル化複合体粉末をそれぞれ長方形 ($4 \times 13 \text{ mm}^2$) 金型に入れ、120 °C、120 MPa で 5 分間一軸加圧成形することで角柱型の成形物 ($4 \times 13 \times (1.5 - 2.0) \text{ mm}^3$) にした。その後、成形物の密度を求め、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min で三点曲げ試験を行った。



Fig. 4. Mold of composite powder by hot press and three-point-bending test

曲げ強度 σ_b 、曲げひずみ ε_b は以下の式より算出した。 L, P, t, w は Fig. 4 に示している。 s は、クロスヘッドの変位量である。また、弾性率 E_b 及び破壊エネルギー G_f は Fig. 5 のように応力-ひずみ曲線の傾き及び面積から求めた。

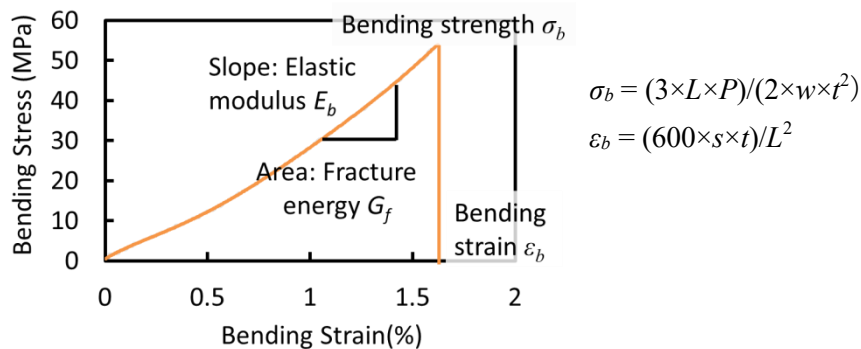


Fig. 5. Schematic representation of a stress-strain curve.

成形物を蒸留水 20 mL に rt で 24 時間浸漬した。浸漬後、成形物をキムワイプで拭き、表面の水分を取り除き、成形物の重量変化 $\Delta w / w$ を求めた。

$$\Delta w / w = (\text{増加重量} / \text{乾燥重量}) \times 100 (\%)$$

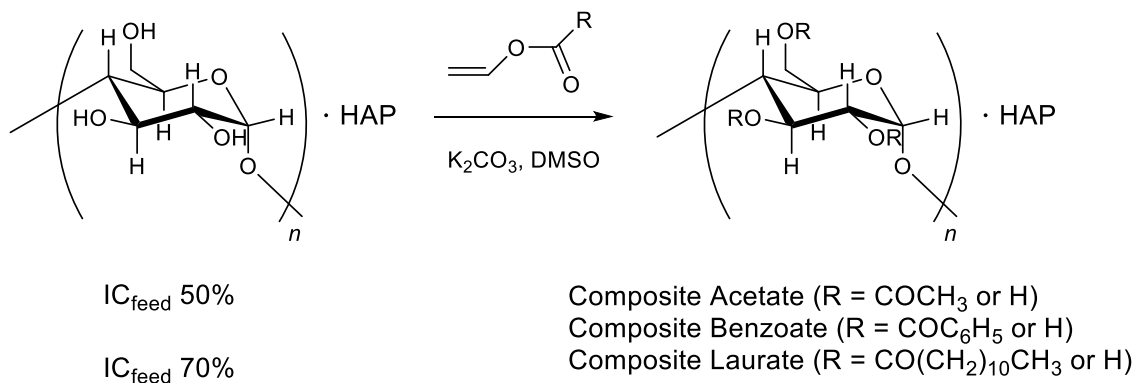
また、浸水後の成形物の機械的性質を三点曲げ試験により求めた。

3. 実験結果

3.1. ビニルカルボキシレートによるアシル化とアシル化による PTS-HAP 複合体の重量変化

まず、IC_{feed}: 50、70 wt% の PTS-HAP 複合体を 2 章で述べた方法によって合成した。その理論収量は、それぞれ $18 \times 10 = 180$ g、 $12.86 \times 10 = 128.6$ g であり、実測値はそれぞれ 165 g (収率: 92%)、121 g (収率: 94%) であった。

PTS-HAP 複合体粉末 (IC_{feed} = 50, 70%) を DMSO に分散させ、ビニルカルボキシレートを加えて加熱し、デンプンのヒドロキシ基のアシル化を行った (Scheme 1)。反応溶媒としては、DMF やトルエンも検討したが、DMSO を用いた場合が最もアシル化の進行が速かった。また、多糖類のアシル化の方法として、無水カルボン酸-ピリジン



Scheme 1. Acylation of PTS-HAP composites with vinyl carboxylates.

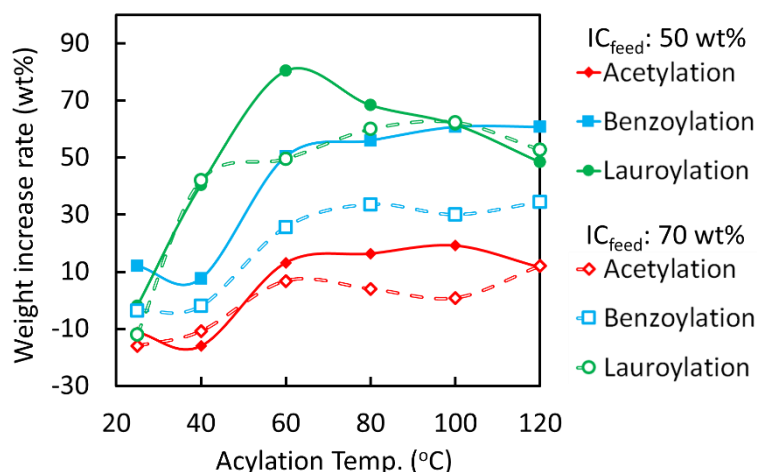


Fig. 6. The weight increase rate of the composites by acylation.

を用いる方法も試みたが、生成するカルボン酸によって部分的に HAP が溶解したので、酸を副生しないビニルカルボキシレートを用いる方法を採用した。

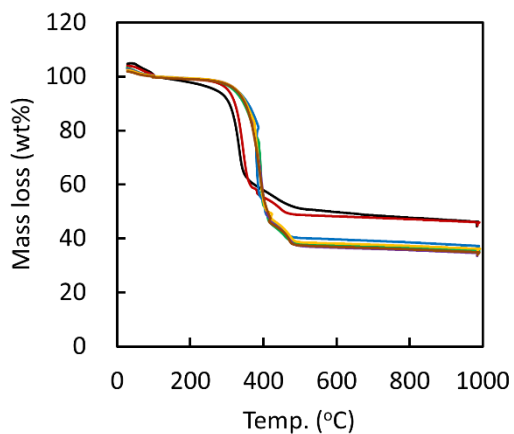
各アシル化複合体の重量増大率 = (アシル化後重量/アシル化前重量) × 100 (%) を Fig. 6 に示す。Fig. 6 のとおり、アシル化温度が高くなるほど重量も増大した。このことから、各反応において、反応温度が高くなるほど、PTS のヒドロキシ基 (分子量 17 g/mol) がアシルオキシ基 (アセトキシ基: 59 g/mol、ベンゾイルオキシ基: 121 g/mol、ラウロイルオキシ基: 199 g/mol) に置換された、すなわち、よりアシル化反応が進行したものと考えられる。室温においては重量が低下したが、これは、反応の進行率が低く、かつ、生成物の洗浄等によって部分的に生成物が損失されたためと考えられる。また、IC_{feed}: 50、70 wt% どちらにおいても、重量の増大率はアセチル化 < ベンゾイル化 < ラウロイル化の順に高くなった。アシルオキシ基の分子量の大きさは、アセトキシ基 < ベンゾイルオキシ基 < ラウロイルオキシ基の順であるため、ラウロイル化のときに最も重量が増大したものと考えられる。各アシル化において、IC_{feed}: 70 wt% の複合体よりも、50 wt% のものの方がアシル化による重量増大率が高くなる傾向にあった。これは、IC_{feed}: 50 wt% の複合体の方が、アシル基に置換されるヒドロキシ基をもつ PTS が多いためと考えられる。

3.2. 複合体の熱的性質と無機重量分率から算出されたアシル化度

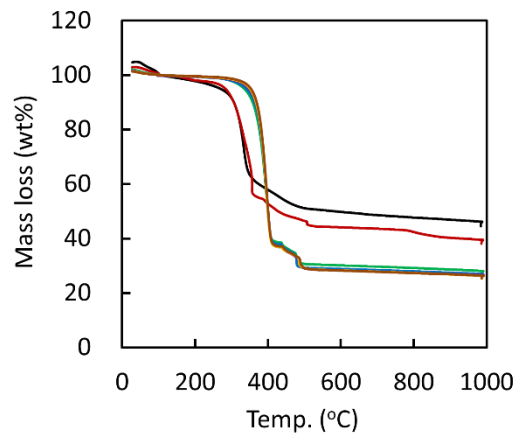
Fig. 7 に各サンプルの TG 曲線を示す。

— Before acylation — rt — 40 °C — 60 °C — 80 °C — 100 °C — 120 °C

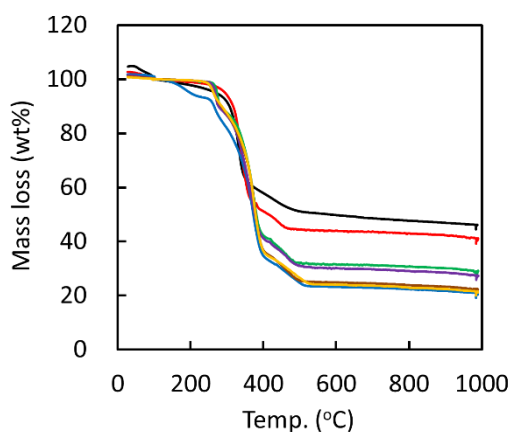
(a) IC_{feed}: 50 wt%, Acetylation



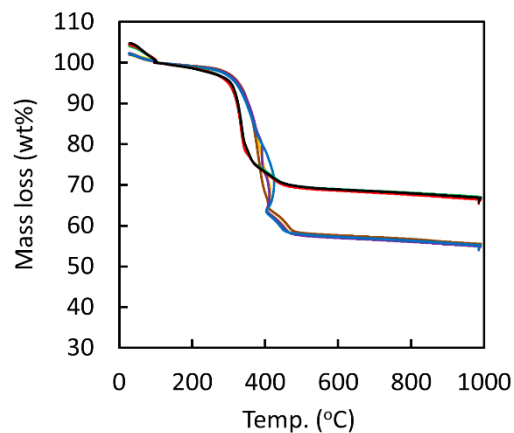
(b) IC_{feed}: 50 wt%, Benzoylation



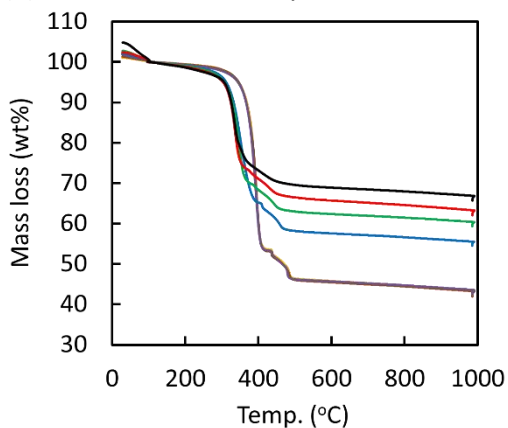
(c) IC_{feed}: 50 wt%, Lauroylation



(d) IC_{feed}: 70 wt%, Acetylation



(e) IC_{feed}: 70 wt%, Benzoylation



(f) IC_{feed}: 70 wt%, Lauroylation

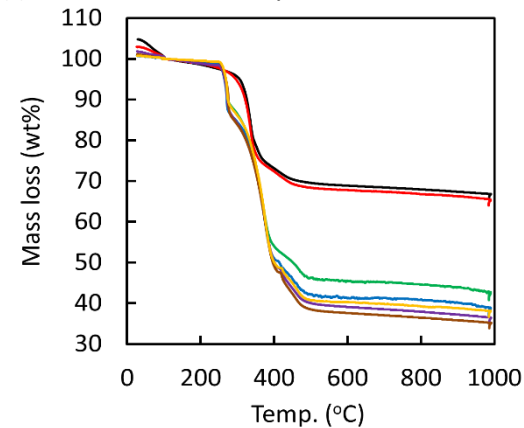


Fig. 7. The TG curves of the composites before and after acylation. Acetylation (a), benzoylation (b), lauroylation (c) of the composites with IC_{feed}: 50 wt%. Acetylation (d), benzoylation (e), lauroylation (f) of the composites with IC_{feed}: 70 wt%.

Fig. 7 (a)~(f)のとおり、アシル化前の IC_{feed} : 50、70 wt% の PTS-HAP 複合体と比べて、40 °C 以上でアシル化された複合体は、それぞれ加熱による重量減少が大きくなった。この重量減少から、複合体のアシル化前後の無機重量分率を後述する。

IC_{feed} : 50、70 wt% の両方において、アセチル化、ベンゾイル化では、アシル化複合体の熱分解温度はアシル化前と比べてより高くなった。これは、PTS のヒドロキシ基がアシル基に置換されることで、PTS の脱ヒドロキシル化が起こる割合が低下したためと考えられる[26]。しかし、ラウロイル化したものについては、逆に熱分解温度が低くなった。これは、ラウリン酸ビニルの沸点が 285 °C であることから、反応せず、かつ、本研究での洗浄方法では除去されきれなかったラウリン酸ビニル (VL) がアシル化複合体粉末に残存していたためと考えられる。ラウロイル基は長鎖のアルキル基をもつため、より疎水性が高く、洗浄中、メタノール及び蒸留水中で分子間同士がより強く疎水性相互作用を形成し、いっきに凝集した。この凝集に未反応の VL も巻き込まれ、洗浄によって除去されにくくなり、アシル化複合体粉末に残存し続けたものと考えられる。

Fig. 8 に TG 曲線から求められた無機重量分率 IC、Fig. 9 に、アシル化による IC の低下から算出された置換度 DS を示す。

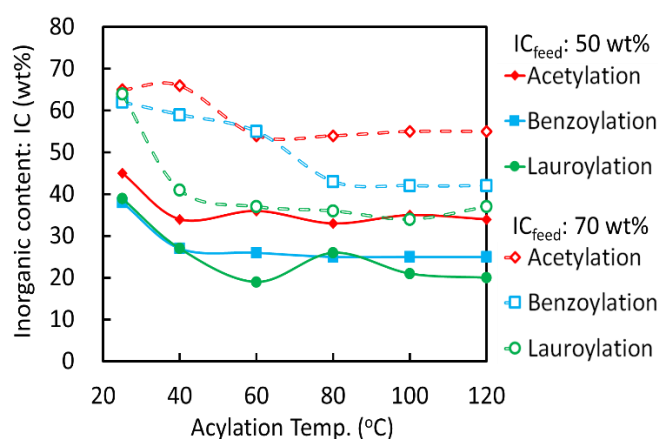


Fig. 8. Inorganic contents of the acylated composite calculated by thermogravimetric analysis.

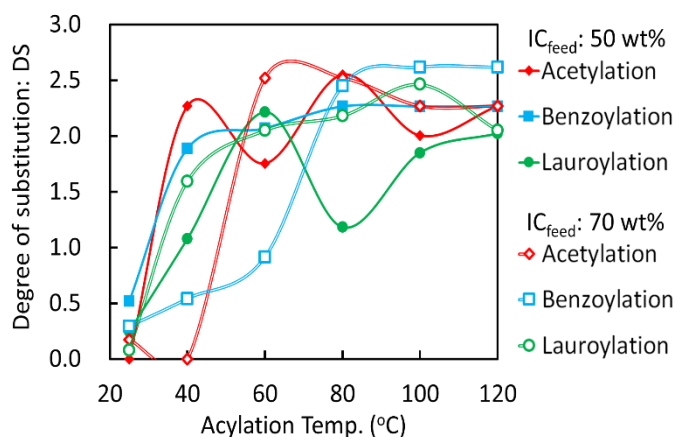


Fig. 9. The degree of substitution (DS) of acylated composites calculated from changes in inorganic contents.

IC_{feed}: 50、70 wt%で合成された PTS-HAP 複合体の IC は、それぞれ 45、66 wt%であった。Fig. 8 のとおり、アシル化温度が室温のときは、置換度は 0~0.5 の間であるが、40 °C 以上では、ほとんどの複合体において置換度が向上した。IC_{feed}: 50 wt%の複合体と IC_{feed}: 70 wt%の複合体のアセチル化、ベンゾイル化を比べると、IC_{feed}: 50 wt%の複合体の方がより低温でアシル化反応が進行していることがわかる。これは、IC_{feed}: 70 wt%のアセチル化、ベンゾイル化においては、複合体の HAP が多い分、HAP と相互作用を形成している PTS のヒドロキシ基が多く、その HAP がヒドロキシ基と K₂CO₃ 及びカルボン酸ビニルの反応を阻害したためと考えられる。IC_{feed}: 50 wt%のラウロイル化は、アシル化温度と置換度の相関が不安定であったが、これは、洗浄によって除去されなかった VL が複合体中に残存しており、この VL が実際に PTS とエステル結合を形成しているラウロイル基量の正確な算出を妨げているためと考えられる。

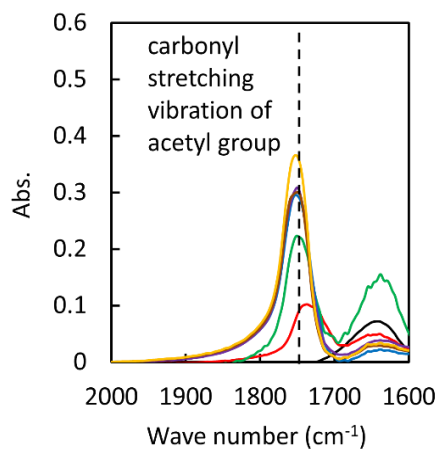
各アシル化複合体について、DMSO 溶媒中で 120 °C で 8 時間アシル化反応を行ったにもかかわらず、DS は 3 に達することがなかった。このことから、より強く HAP と相互作用を形成している PTS のヒドロキシ基は、アシル化されることなく HAP に保護されたものと考えられる。すなわち、アシル化 PTS と HAP と複合化するのではなく、PTS-HAP 複合体を合成してから、これをアシル化することで、有機-無機界面相互作用を保ちながら余分なヒドロキシ基を選択的にアシル化できることが示唆された。

3.3. FT-IR の吸光度ピーク強度比から評価された複合体のアシル化の進行

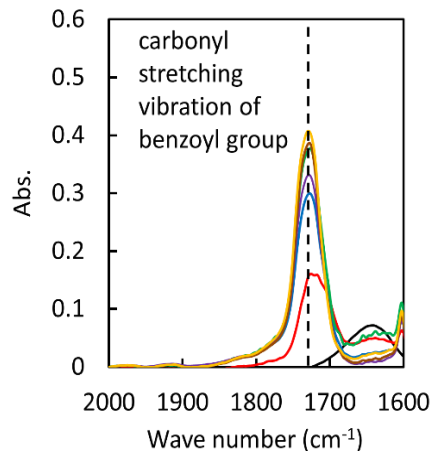
Fig. 10 に、各サンプルの 1600-2000 cm⁻¹ のカルボニル伸縮振動領域の FT-IR スペクトル、Fig. 11 に 1720~1752 cm⁻¹ の (アシル基のエステル伸縮の吸光度) / (563 cm⁻¹ の HAP のリン酸アニオン) の吸光度比を示す。

— Before acylation — rt — 40 °C — 60 °C — 80 °C — 100 °C — 120 °C

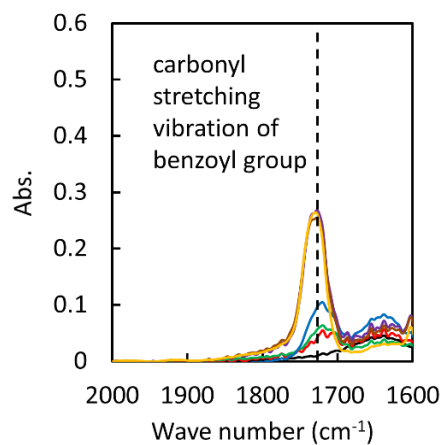
(a) IC_{feed}: 50 wt%, Acetylation



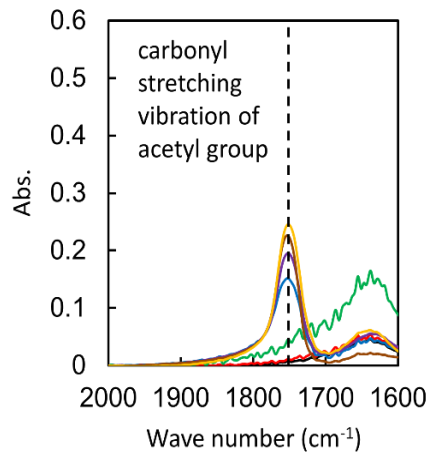
(b) IC_{feed}: 50 wt%, Benzoylation



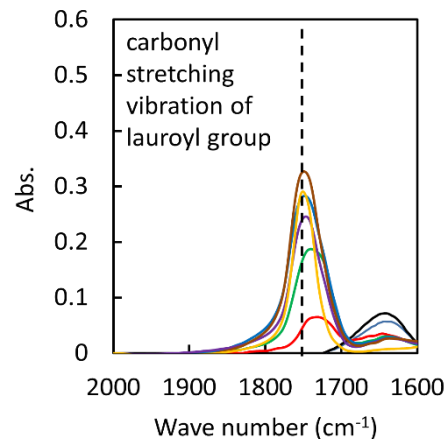
(c) IC_{feed}: 50 wt%, Lauroylation



(d) IC_{feed}: 70 wt%, Acetylation



(e) IC_{feed}: 70 wt%, Benzoylation



(f) IC_{feed}: 70 wt%, Lauroylation

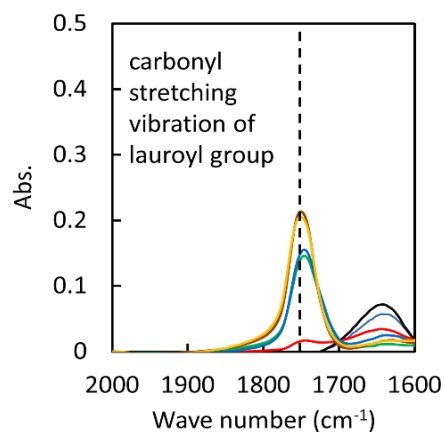


Fig. 10. The infrared spectra of the composites before and after acylation . Acetylation (a), (d), benzoylation (b), (e), lauroylation (c), (f) of the composites with IC_{feed}: 50, 70 wt%.

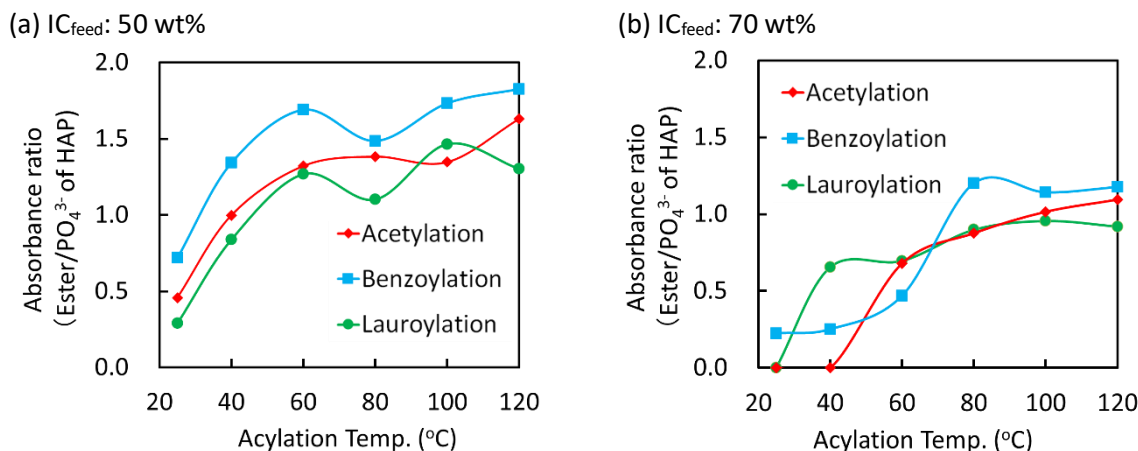


Fig. 11. The absorbance ratio at the ester carbonyl signal (1750 cm^{-1} , acetate; 1728 cm^{-1} , benzoate; 1749 cm^{-1} , laurate) to the HAP phosphate bending signal at 563 cm^{-1} .

Fig. 10 のとおり、アセチル化された複合体は 1750 cm^{-1} 、ベンゾイル化されたものは 1728 cm^{-1} 、ラウロイル化されたものは 1749 cm^{-1} にそれぞれエステル伸縮振動ピークが得られた。このことから、ラウロイル化複合体については熱分解温度から判断して、未除去のラウリン酸ビニルが残存している可能性があるが、少なくともアセチル化、ベンゾイル化の条件で得られた複合体については、確かに複合体中の PTS がアシル化されたことがわかった。

Fig. 11 のとおり、各条件において、アシル化温度の高いものほど吸光度比（エステル/HAP のリン酸基）が高くなった。同じ IC_{feed} 内において、HAP のリン酸基に対してエステル伸縮振動ピークの吸光度が高くなるということは、それだけ複合体中にアシル基が多く存在する、すなわち、複合体中の PTS のヒドロキシ基がより多くアシル基に置換されたことを意味する。Fig. 8 の無機重量分率 IC から算出された DS と比べて、アシル化温度が高くなるほどアシル化がより進行するという部分は一致しているが、わずかに傾向が異なる部分もある。これは、TG から得られる IC は有効数字 2 桁程度であり、さらに、DS を算出する際には（アシル化前の IC）－（アシル化後の IC）の項があるため、さらに精度は低下することが起因しているものと考えられる。また、これらの DS 値は、アシル化反応によって HAP が反応しない、また、その後の洗浄によってアシル化 PTS は除去されない、未反応のカルボン酸ビニルは存在しないことを前提とした値である。実際は、アシル化の際に複合体中の HAP のリン酸アニオンが K_2CO_3 の炭酸アニオンあるいは、カルボン酸ビニルの一部から生じたカルボン酸アニオンに置換される、または、アシル化によって有機-無機界面結合をなくしたアシル化 PTS や HAP が濾紙を通り抜ける、あるいは濾紙にくっつき、濾紙とともに除去されるなど、様々な損失の可能性もある。以上のような、アシル化 PTS/HAP 比を不正

確にする要因が混在しているため、Fig. 9 の DS と Fig. 11 のエステル/HAP のリン酸アニオンの吸光度比には不一致の部分が存在するものと考えられる。

3.4. アシル化複合体の機械的性質

Fig. 12 に各アシル化複合体成型物の密度、三点曲げ試験で評価した機械的性質、および、三点曲げ試験の応力-ひずみ曲線を示す。

アシル化前の IC_{feed}: 50、70 wt %の複合体の密度はそれぞれ、 1.55 ± 0.01 、 1.72 ± 0.01 g/cm³、曲げ歪みは 2.07 ± 0.09 、 1.8 ± 0.1 、曲げ強度は 41.8 ± 0.5 、 47.3 ± 0.5 MPa、曲げ弾性率は 3.6 ± 0.3 、 4.9 ± 0.1 GPa、破壊エネルギーは 0.32 ± 0.02 、 0.301 ± 0.008 MJ/m³（それぞれ n = 3）であった。

Fig. 12 (a)のとおり、各アシル化反応において、IC_{feed}: 50 wt %よりも IC_{feed}: 70 wt %のものの方が密度が高くなった。これは、Fig. 7 のとおり、各アシル化反応において、IC_{feed}: 50 wt %よりも IC_{feed}: 70 wt %の方が密度が PTS よりも大きい HAP がより多く複合体中に存在しているためと考えられる。各アシル化反応を比較すると、IC_{feed}: 50、70 wt %どちらにおいてもアセチル化>ベンゾイル化>ラウロイル化の順に密度が大きくなった。これも、Fig 8 のとおり、アシル化複合体中に含まれている HAP の量がアセチル化>ベンゾイル化>ラウロイル化の順に大きいためと考えられる。また、アセチル基、ベンゾイル基、ラウロイル基を比べると、アセチル基の方が立体的な嵩張りが小さいため、その分、より緻密にされたことも要因の1つと考えられる。

Fig. 12 (b)のとおり、各アシル化反応において、IC_{feed}: 70 wt %よりも IC_{feed}: 50 wt %のものの方が曲げ歪みが大きくなった。これは、Fig. 8 のとおり、IC_{feed}: 70 wt %よりも IC_{feed}: 50 wt %の方が、アシル化複合体中、より剛性の高い HAP がアシル化複合体中に少なく、より柔軟なアシル化 PTS の方が多く存在しているため、その分、アシル化 PTS の柔軟性が発現したのと考えられる。各アシル化反応を比べると、ラウロイル化>ベンゾイル化>アセチル化の順に曲げ歪みが大きかった。これは、ラウロイル化複合体の方がアセチル化複合体と比べて、複合体中の HAP の重量分率が小さいためと考えられる。また、Fig. 12 (c)、(d)、(e)のとおり、ラウロイル化複合体は曲げ強度、弾性率もアセチル化、ベンゾイル化複合体と比べて小さかったことから、ラウロイル基は、アセチル基、ベンゾイル基と比べて長鎖のアルキル基をもつため、PTS 高分子鎖間、また、有機-無機界面の相互作用が低下したのと考えられる。

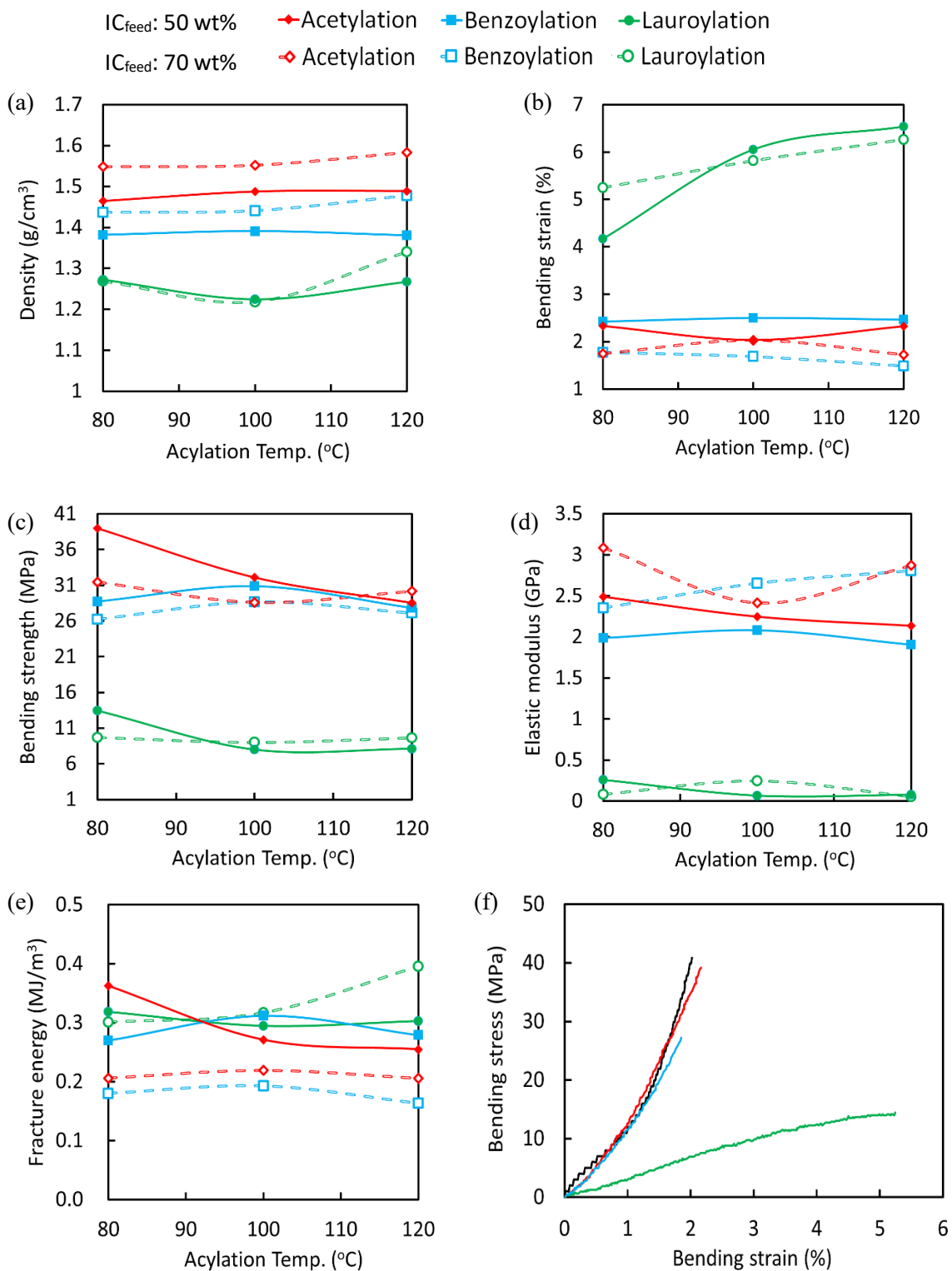


Fig. 12. The mechanical properties of the acylated composites. Density (a), bending strain (b), bending strength (c), elastic modulus (d), fracture energy (e), stress-strain curves of the composite with $IC_{\text{feed}}: 50 \text{ wt\%}$ synthesized at acylation temperature $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (black: before acylation) (f).

ラウロイル化複合体の曲げ強度はアセチル化複合体、ベンゾイル複合体よりも小さかったものの、Fig. 12(e)のとおり、破壊エネルギーは、IC_{feed}: 50 wt%では、アセチル化複合体、ベンゾイル化複合体と同程度、IC_{feed}: 70 wt%ではアセチル化複合体、ベンゾイル化複合体よりも高くなった。このことから、確かに、ラウロイル化複合体は、立体的に嵩高いラウロイル基が導入されることで、高分子鎖間、有機-無機間の相互作用が低下するものの、長鎖アルキル基の導入によってポリエチレンのような柔軟性が付与され、靱性は向上したものと考えられる。

各サンプルの無機重量分率と置換度、そして機械的性質を Table 1、2 にまとめる。

Table 1. Inorganic Content (IC), Degree of Substitution (DS), Density (*d*), and Mechanical Properties of the Composites with IC_{feed}: 50 wt% Before and After Acylation^a

Acylation temp. (°C)	Acylation			Benzylation		
	80	100	120	80	100	120
IC (wt%)	33	35	34	25	25	25
DS	2.6	2.0	2.3	2.3	2.3	2.3
<i>d</i> (g/cm ³)	1.46 (1)	1.488 (8)	1.489 (5)	1.382 (5)	1.391 (7)	1.381 (2)
ϵ_b (%)	2.3 (1)	2.03 (9)	2.3 (1)	2.4 (3)	2.50 (7)	2.46 (8)
σ_b (MPa)	39 (3)	32 (1)	29 (1)	28.7 (8)	30.9 (8)	27.8 (5)
<i>E_b</i> (GPa)	2.5 (1)	2.25 (6)	2.1 (1)	1.99 (5)	2.08 (8)	1.9 (2)
<i>G_r</i> (MJ/m ³)	0.36 (4)	0.27 (2)	0.25 (2)	0.27 (3)	0.312 (8)	0.28 (2)
<i>n</i>	3	5	4	3	4	3

Acylation temp. (°C)	Lauroylation			Before acylation
	80	100	120	
IC (wt%)	26	21	20	45
DS	1.2	1.8	2.0	0
<i>d</i> (g/cm ³)	1.272 (5)	1.224 (4)	1.267 (4)	1.55 (1)
ϵ_b (%)	4.2 (6)	6.1 (2)	6.5 (3)	2.07 (9)
σ_b (MPa)	13.4 (8)	8.0 (5)	8.1 (6)	41.8 (5)
<i>E_b</i> (GPa)	0.26 (5)	0.067 (5)	0.08 (1)	3.6 (3)
<i>G_r</i> (MJ/m ³)	0.32 (6)	0.29 (4)	0.30 (3)	0.32 (2)

<i>n</i>	3	3	3	3	3	
^a Numbers in parentheses are standard errors of the mean in the least significant digits.						
Table 2. Inorganic Content (IC), Degree of Substitution (DS), Density (<i>d</i>), and Mechanical Properties of the Composites with IC _{feed} : 70 wt% Before and After Acylation ^a						
	Acetylation			Benzoylation		
Acylation temp. (°C)	80	100	120	80	100	120
IC (wt%)	54	55	55	43	42	42
DS	2.5	2.3	2.3	2.5	2.6	2.6
<i>d</i> (g/cm ³)	1.548 (7)	1.552 (8)	1.58 (2)	1.44 (2)	1.4411 (7)	1.478 (5)
ε_b (%)	1.7 (1)	2.0 (2)	1.72 (9)	1.8 (1)	1.686 (5)	1.5 (1)
σ_b (MPa)	31 (2)	29 (2)	30.2 (8)	26.2 (9)	28.7 (8)	27.1 (6)
<i>E_b</i> (GPa)	3.1 (2)	2.4 (2)	2.9 (2)	2.4 (2)	2.7 (1)	2.81 (7)
<i>G_f</i> (MJ/m ³)	0.21 (2)	0.22 (3)	0.21 (1)	0.18 (1)	0.193 (4)	0.163 (9)
<i>n</i>	4	4	4	4	4	3

	lauroylation			Before acylation
Acylation temp. (°C)	80	100	120	
IC (wt%)	36	34	37	66
DS	2.2	2.5	2.1	0
<i>d</i> (g/cm ³)	1.27 (3)	1.22 (4)	1.341 (7)	1.72 (1)
ε_b (%)	5.3 (3)	5.8 (4)	6.3 (3)	1.8 (1)
σ_b (MPa)	9.7 (5)	9.0 (4)	9.6 (3)	47.3 (5)
<i>E_b</i> (GPa)	0.08 (2)	0.2 (1)	0.053 (2)	4.9 (1)
<i>G_f</i> (MJ/m ³)	0.301 (3)	0.32 (5)	0.40 (2)	0.301 (8)
<i>n</i>	3	3	3	3

^aNumbers in parentheses are standard errors of the mean in the least significant digits.

3.5. 複合体の耐水性

Fig. 13 に各サンプルの浸水による重量変化を示す。

アシル化前の IC_{feed}: 50、70 wt% の PTS-HAP 複合体の浸水による重量変化 $\Delta w/w$ は、それぞれ 120.7 ± 0.4 ($n = 3$)、 135 ± 3 ($n = 3$) であり、著しく膨潤した。

Fig. 13 のとおり、各複合体の $\Delta w/w$ は 13 % 以下であり、未アシル化複合体のような著しい膨潤が起こることはなかった。各アシル化において、IC_{feed}: 70 wt% よりも、50 wt% のもののほうが浸水による重量変化が小さかった。浸水による重量変化のほとん

どは複合体成形物の吸水によるものである。よって、無機重量分率 IC が大きいものほど、より水を吸収しやすいものと考えられる。HAP の表面は正負に帯電しており、疎水性高分子に表面を覆われていない HAP が多いほど、複合体の親水性は高くなる。すなわち、IC が大きすぎると、PTS のリン酸基や HAP と相互作用できていない余分な HAP が多く、その結果、浸水によってより水を吸収したものと考えられる。

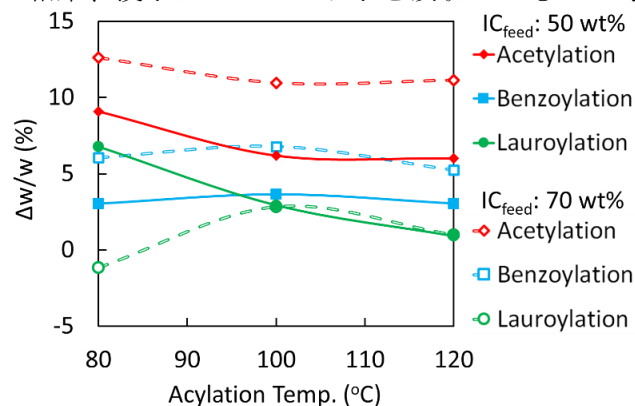
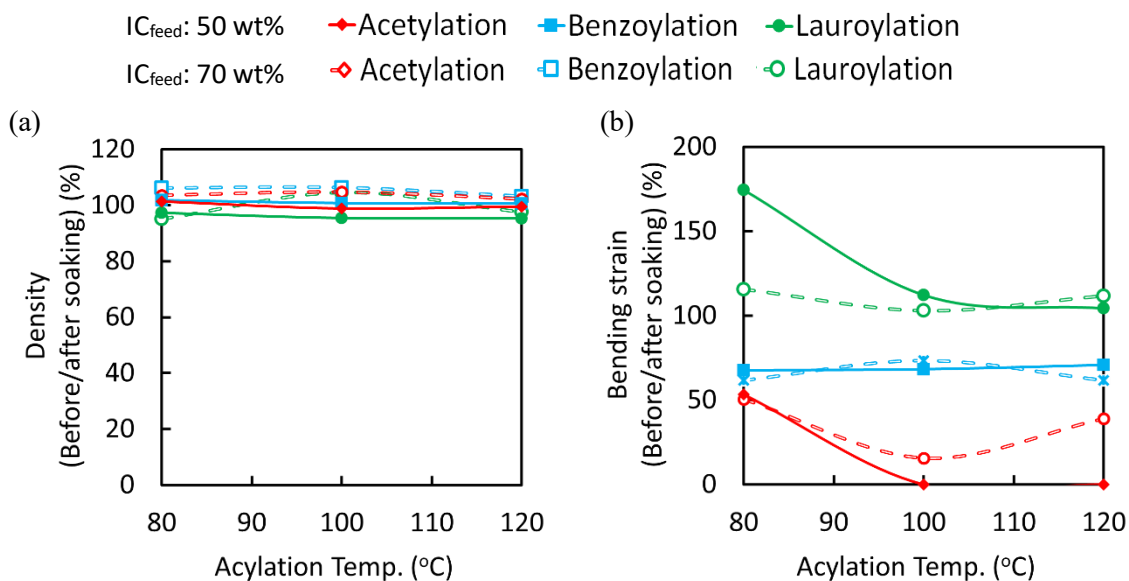


Fig. 13. Weight increase $\Delta w/w$ (%) of the composites after soaking in water at room temperature for 24 h.

IC_{feed}: 50、70 wt%の両方について、ラウロイル化>ベンゾイル化>アセチル化の順に吸水による重量変化は大きく、ラウロイル体が最も高い疎水性を示した。ラウロイル化されたものは IC が小さく、かつ、より疎水性の高いラウロイル基をもつため、最も疎水性が向上したものと考えられる。IC_{feed}: 70 wt%、アシル化温度 80 °C のラウロイル化複合体は、逆に浸水によって重量が減少しているが、これは、ラウロイル化複合体にわずかに残存した VL が、大過剰の水に対して、部分的に溶解し、成形物外へ溶出されたためと考えられる。

Fig. 14 に各アシル化複合体の機械的性質の浸水前/浸水後の比率を示す。



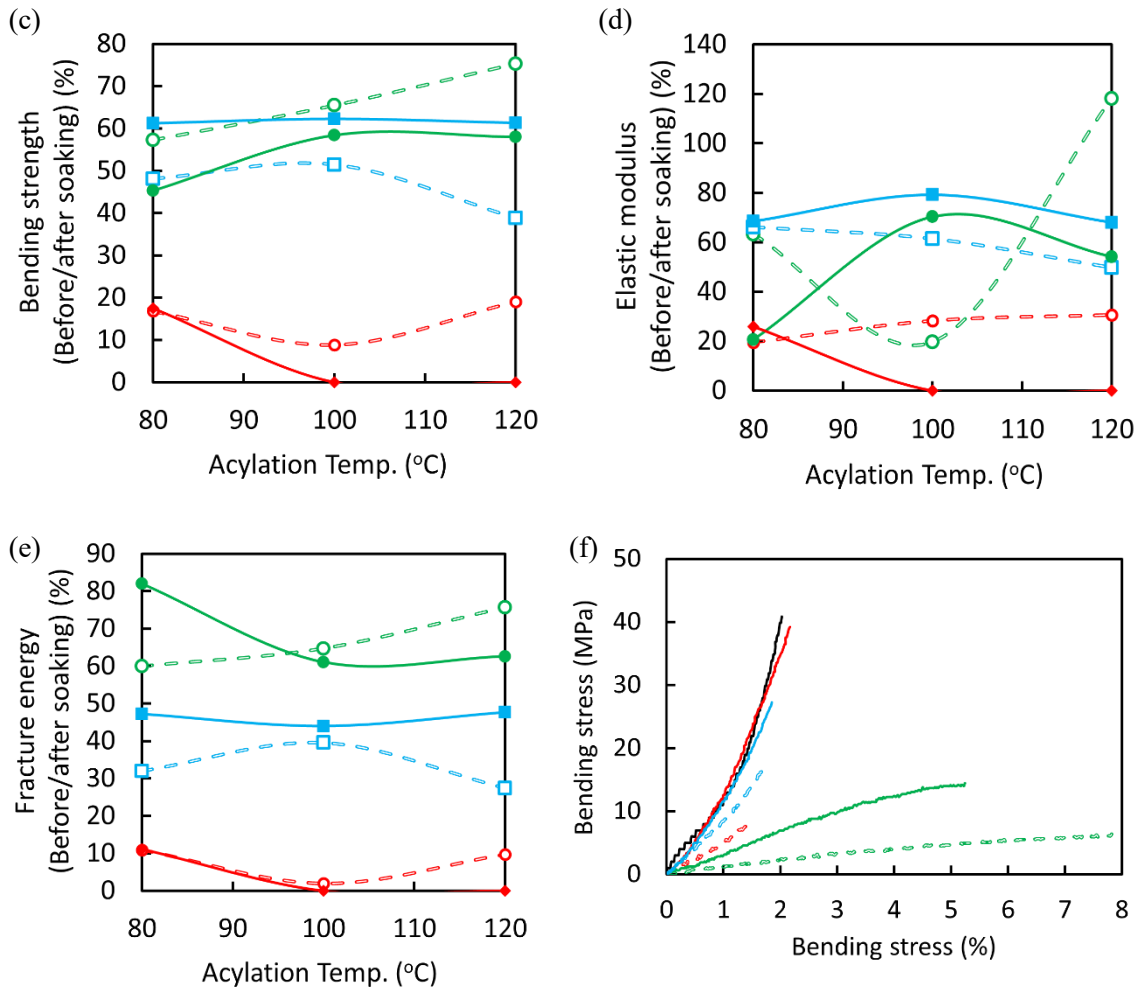


Fig. 14. The ratios of the mechanical properties of the acylated composites after/before soaking. Density (a), bending strain (b), bending strength (c), elastic modulus (d), fracture energy (e), stress-strain curves of the composite with IC_{feed} : 50 wt% synthesized at acylation temperature 80 °C (black: before acylation) (f).

アシル化前の複合体については、 IC_{feed} : 50、70 wt%ともに、浸水によって著しく膨潤し、柔軟になりすぎて、三点曲げ試験による機械的性質の評価が不可能であった。

Fig. 14 (a)のとおり、浸水によって密度は大きく変動しなかった。

Fig. 14 (b)、(c)のとおり、アセチル化複合体は浸水によって曲げ歪みが著しく低下したのに対して、ベンゾイル化複合体は曲げ歪みの低下が抑えられ、ラウロイル化したものは、逆に曲げ歪みが向上した。アセチル化複合体はベンゾイル化、ラウロイル化複合体と比べてより多く水を吸収しており、その結果、成形物内部で部分的な崩壊が起り、より速い段階で破壊されるようになったものと考えられる。特に、Fig. 14 (f)の応力-歪み曲線のように、ラウロイル化複合体は、ベンゾイル化複合体のように浸水

によって脆くなることがなかったことから、骨のように成形物に含まれる水分が複合体の靱性を向上させたものと考えられる。

Fig. 14 (d)のとおり、IC_{feed}: 70 wt%、アシル化温度 120 °C のラウロイル化各複合体を除き、ほとんどの複合体の弾性率は浸水によって低下した。しかし、Fig. 14 (e)のとおり、ラウロイル化複合体は、浸水による破壊エネルギーの低下が比較的抑えられていた。このことから、アセチル化、ベンゾイル化複合体と比べて、ラウロイル化複合体の方が、成形物内部の構造を保ちながら水を吸収できたものと考えられる。

Table 3, 4 に浸水後の各サンプルの密度、吸水率、機械的性質をまとめる。

Table 3. Water Absorption ($\Delta w/w$), Density (d), and Mechanical properties (ϵ_b , σ_b , E_b , G_f) of acylated Composite with IC_{feed}: 50 wt% After Soaking in Water^a

Acylation temp. (°C)	Acetylation			Benzoylation		
	80	100	120	80	100	120
$\Delta w/w$ (%)	9.1 (6)	6.2 (4)	6.0 (9)	3.0 (7)	3.7 (1)	3.0 (2)
d (g/cm ³)	1.46 (1)	1.471 (4)	1.483 (3)	1.41 (1)	1.402 (2)	1.390 (4)
ϵ_b (%)	1.2 (2)	0	0	1.6 (1)	1.7 (2)	1.7 (1)
σ_b (MPa)	6.8 (5)	0	0	17.6 (6)	19.2 (4)	17 (1)
E_b (GPa)	0.64 (2)	0	0	1.4 (1)	1.65 (8)	1.3 (2)
G_f (MJ/m ³)	0.040 (7)	0	0	0.128 (9)	0.14 (1)	0.13 (2)
n	4	3	3	4	3	3

Acylation temp. (°C)	Lauroylation			Before acylation
	80	100	120	
$\Delta w/w$ (%)	6.8 (3)	2.9 (9)	0.9 (4)	120.7 (4)
d (g/cm ³)	1.24 (2)	1.169 (9)	1.21 (3)	1.28 (3)
ϵ_b (%)	7.3 (6)	6.8 (1)	6.8 (4)	0
σ_b (MPa)	6.1 (1)	4.66 (4)	4.7 (5)	0
E_b (GPa)	0.054 (7)	0.047 (3)	0.042 (2)	0
G_f (MJ/m ³)	0.26 (2)	0.180 (4)	0.19 (3)	0
n	3	3	3	3

^aNumbers in parentheses are standard errors of the mean in the least significant digits.

Table 4. Water absorption ($\Delta w/w$), density (d), and mechanical properties (ϵ_b , σ_b , E_b , G_f) of acylated Composite with IC_{feed}: 70 wt% After Soaking in Water^a

Acylation temp. (°C)	Acetylation			Benzoylation		
	80	100	120	80	100	120
$\Delta w/w$ (%)	12.6 (4)	11 (1)	11 (1)	6 (1)	6.8 (4)	5.2 (9)
d (g/cm ³)	1.60 (1)	1.627 (8)	1.621 (8)	1.53 (2)	1.53 (2)	1.53 (2)
ε_b (%)	0.9 (1)	0.32 (5)	0.7 (2)	1.1 (1)	1.2 (1)	0.9 (1)
σ_b (MPa)	5.3 (5)	2.5 (4)	6 (1)	12.6 (8)	15 (1)	10.6 (6)
E_b (GPa)	0.60 (9)	0.68 (6)	0.9 (2)	1.6 (1)	1.6 (2)	1.4 (2)
G_f (MJ/m ³)	0.023 (4)	0.004 (1)	0.020 (6)	0.058 (7)	0.08 (1)	0.045 (7)
n	3	3	3	3	3	3

Acylation temp. (°C)	Lauroylation			Before acylation
	80	100	120	
$\Delta w/w$ (%)	-1 (2)	3 (2)	1.0 (3)	136 (3)
d (g/cm ³)	1.21 (3)	1.274 (9)	1.309 (9)	1.36 (2)
ε_b (%)	6.1 (2)	6.0 (2)	7.0 (4)	0
σ_b (MPa)	5.6 (1)	5.90 (1)	7.3 (2)	0
E_b (GPa)	0.05 (2)	0.048 (4)	0.06 (2)	0
G_f (MJ/m ³)	0.180 (6)	0.205 (7)	0.30 (3)	0
n	3	3	3	3

^aNumbers in parentheses are standard errors of the mean in the least significant digits.

4. 結言

本研究では骨の有機主成分であるコラーゲン繊維の親水・疎水バランスをモデルにし、リン酸化タピオカデンプン PTS と HAP の複合体の余分なヒドロキシ基のみを選択的に疎水性アシル基に置換することで、複合体の耐水性向上を目指した。

PTS-HAP 複合体粉末を DMSO 溶媒中、K₂CO₃ 存在下で酢酸ビニル、安息香酸ビニル、ラウリン酸ビニルと室温～120°C で反応させ、アセチル化、ベンゾイル化、ラウロイル化を行った。より高い温度でアシル化することにより、複合体の重量は増大し、無機重量分率 IC は低下した。IC の低下、すなわち、有機重量分率の増大から置換度 DS を算出したところ、各アシル化反応において、アシル化温度の高いものほど DS が大きくなった。また、アシル化前の IC の高いものほど、アシル化は進行しにくいことがわかった。120°C、8 時間というアシル化条件においても、DS は 3 に達することがなかったことから、PTS と HAP を複合化してからこれをアシル化することで、HAP と相互作用を形成していない余分なヒドロキシ基のみを選択的にアシル化できた可能性が高い。FT-

IR の結果、各アシル化複合体についてエステル基の伸縮ピークが得られたことから、確かに複合体はアシル化されたことがわかった。

アシル化後、複合体の曲げ強度や弾性率は低下したものの、柔軟性は向上し、浸水によって著しく膨潤することはなくなった。浸水後の機械的性質も比較的保たれ、特に、ラウロイル化複合体は浸水によって柔軟性が向上するなどの機能を発現した。

PTS と HAP は地球上に豊富に存在する植物資源と鉱物資源から得られ、カルボン酸ビニルの原料であるカルボン酸も植物から精製することができる。また、この複合体を合成してからアシル化することで HAP 表面と結合したまま、HAP 表面を疎水性コーティングするプロセスは、セルロースやアルギン酸、グルコマンナン、PVA など、ヒドロキシ基を有する高分子と HAP の複合体であれば応用可能である。よって、骨のように高靱性/高耐水性バイオマス材料開発のための新プロセスとして、応用が期待できる。

5. 参考文献

- [1] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Aoyama, Y. Co-precipitation of tapioca starch and hydroxyapatite. Effects of phosphorylation of starch on mechanical properties of the composites. *Results in Materials* 2019, 3, 100035.
- [2] Okuda, K.; Mizutani, T.; Hirota, K.; Hayashi, T.; Zinno, K. Nonbrittle Nanocomposite Materials Prepared by Coprecipitation of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers and Hydroxyapatite. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2021, 9, 158–167.
- [3] Maitland, M. E.; Arsenault, A. L. A correlation between the distribution of biological apatite and amino acid sequence of type I collagen. *Calcif. Tissue Int.* 1991, 48, 341–352.
- [4] Hu, Y. Y.; Rawal, A.; Schmidt-Rohr, K. Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 52, 22425–22429.
- [5] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Numamoto, Y. Enhanced toughness of hydroxyapatite-poly(ethylene terephthalate) composites by immersion in water. *Mater. Adv.* 2021, 2, 5691–5703.
- [6] Neuendorf, R. E.; Saiz, E.; Tomsia, A. P.; Ritchie, R. O. Adhesion between biodegradable polymers and hydroxyapatite: Relevance to synthetic bone-like materials and tissue engineering scaffolds. *Acta Biomaterialia* 2008, 4, 1288–1296.
- [7] Samuel, J.; Sinha, D.; Zhao, J. C.; Wang, X. Water residing in small ultrastructural spaces plays a critical role in the mechanical behavior of bone. *Bone* 2014, 59, 199–206.
- [8] Nyman, J. S.; Roy, A.; Shen, X.; Acuna, R. L.; Tyler, J. H.; Wang, X. The influence of water removal on the strength and toughness of cortical bone. *J. Biomech.* 2006, 39, 931–938.
- [9] Cozar, A.; Echevarria, F.; Gonzalez-Gordillo, J. I.; Irigoien, X.; Ubeda, B.; Hernandez-Leon, S.; Palma, A. T.; Navarro, S.; Garcia-de-Lomas, J.; Ruiz, A.; Fernandez-de-Puelles, M. L.; Duarte, C. M. Plastic debris in the open ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014, 111,

10239–10244.

[10] Mohrig, D. Deep-ocean seafloor islands of plastics. *Science* (Washington, DC, U. S.) 2020, 368, 1055.

[11] Winkler, H.; Vorwerk, W.; Rihm, R. Thermal and mechanical properties of fatty acid starch esters. *Carbohydr. Polym.* 2014, 102, 941–949.

[12] Akampumuza, O.; Wambua, P. M.; Ahmed, A.; Li, W.; Qin, X. H. Review of the applications of biocomposites in the automotive industry. *Polym. Compos.* 2017, 38, 2553–2569.

[13] Whistler, R. L.; Hilbert, G. E. Mechanical properties of films from amylose, amylopectin and whole-starch acetate. *Ind. Eng. Chem.* 1944, 36, 796–798.

[14] Wolff, I. A.; Davis, H. A.; Cluskey, J. E.; Gundrum, L. J.; Rist, C. E. Preparation of films from amylose. *Ind. Eng. Chem.* 1951, 43, 915–919.

[15] Wu, Q.; Bao, X.; Guo, W.; Wang, B.; Li, Y.; Luo, H.; Wang, H.; Ren, N. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: Current advances and perspectives. *Biotech. Adv.* 2019, 37, 599–615.

[16] Aburto, J.; Alric, I.; Thiebaud, S.; Borredon, E.; Bikiaris, D.; Prinos, J.; Panayiotou, C. Synthesis, characterization, and biodegradability of fatty-acid esters of amylose and starch. *J. Appl. Polym. Sci.* 1999, 74, 1440–1451.

[17] Bonfield, W.; Grynblas, M. D.; Tully, A. E.; Bowman, J.; Abram, J. Hydroxyapatite reinforced polyethylene - a mechanically compatible implant material for bone replacement. *Biomaterials* 1981, 2, 185-186.

[18] Mayer, G. Rigid Biological Systems as Models for Synthetic Composites. *Science* 2005, 310, 1144–1147.

[19] Palmer, L. C.; Newcomb, C. J.; Kaltz, S. R.; Spoerke, E. D.; Stupp, S. I. Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired By Bone and Enamel. *Chem. Rev.* 2008, 108, 4754–4783.

[20] Munch, E.; Launey, M. E.; Alsem, D. H.; Saiz, E.; Tomsia, A. P.; Ritchie, R. O. Tough, Bio-Inspired Hybrid Materials. *Science* 2008, 322, 1516–1520.

[21] Nudelman, F.; Sommerdijk, N. A. Biomineralization as an inspiration for materials chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 6582–6596.

[22] Li, J.; Baker, B. A.; Mou, X.; Ren, N.; Qiu, J.; Boughton, R. I.; Liu, H. Biopolymer/Calcium Phosphate Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Adv. Healthcare Mater.* 2014, 3, 469–484.

[23] Cheng, Q.; Jiang, L.; Tang, Z. Bioinspired Layered Materials with Superior Mechanical Performance. *Acc. Chem. Res.* 2014, 47, 1256–1266.

[24] Ma, J.; Wang, J.; Ai, X.; Zhang, S. Biomimetic self-assembly of apatite hybrid materials:

From a single molecular template to bi-/multi-molecular templates. *Biotech. Adv.* 2014, 32, 744–760.

[25] Wegst, U. G.; Bai, H.; Saiz, E.; Tomsia, A. P.; Ritchie, R. O. Bioinspired structural materials. *Nature Materials* 2015, 14, 23–36.

[26] Ojogbo, E.; Blanchard, R.; Mekonnen, T. Hydrophobic and Melt Processable Starch-Laurate Esters: Synthesis, Structure–Property Correlations. *J. Poly. Sci. PART A: Poly. Chem.* 2018, 56, 2611–2622.

第 6 章. カルボキシメチルセルロースと HAP の共沈複合化: 水溶性を活かした分子レベルでの HAP との複合化による機械的性質強化

1. 緒言

第 2、3 章では、骨のナノ構造や生成機構の模倣による高靱性バイオマス材料の開発を目指し、リン酸化タピオカデンプン (PTS) [1]、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) [2] を骨の無機主成分ヒドロキシアパタイト (HAP: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) と複合化した。これらのバイオマスポリマーは、リン酸基、またカルボキシ基と HAP が相互作用を形成することで、複合体の機械的性質を高めることがわかった。特に、TCNF-HAP 複合体は石油由来エンジニアリングプラスチックであるアクリロニトリル-ブタジエン-スチレン (ABS) 共重合樹脂の曲げ強度やポリメタクリル酸メチル (PMMA) の曲げ弾性率に匹敵し、さらに、骨のような繊維のネットワーク構造を形成することで、より骨に近い靱性を示した[2]。しかし、牛の皮質骨の最高曲げ強度は 251 MPa、最高弾性率は 16.1 GPa[3]であり、これらの値と比較すると、PTS はもちろん、TCNF-HAP 複合体の機械的性質は決して高くない。しかも、確かにこの複合体は ABS 共重合樹脂や PMMA には匹敵する機械的性質は示したが、ポリカーボネートやナイロン、また、ガラス繊維強化ナイロンなど、その他さらに優れた機械的性質をもつ石油由来エンジニアリングプラスチックの曲げ強度や弾性率には及ばなかった。そこで本研究では、より優れた機械的性質をもつ骨模倣バイオマス複合体の合成を目指し、カルボキシメチルセルロース (CMC) と HAP の共沈複合化を提案した。

CMC は、森林資源から豊富に得られるセルロースのヒドロキシ基が、アルカリ触媒とクロロ酢酸によってカルボキシメチル基に置換されたカルボキシ含有セルロースである。毒性が低く生体適合性が高く、かつ、水溶性をもつため、増粘剤、乳化安定剤、界面活性剤などの食品分野、また、医療分野や製紙分野など、幅広い用途をもつバイオマス資源である[4-7]。Salama は、セルロース/リン酸カルシウム複合体の総説[8]を報告している。CMC と HAP の複合化では、骨組織工学、薬物送達、有毒物質の吸着剤などの用途については盛んに研究されているが、その複合体の機械的性質についてはほとんど着目されていない。本研究では、CMC がカルボキシ基やヒドロキシ基などの HAP と相互作用を形成できる官能基を多く持つ点、そして、水に分子レベルまで溶解する優れた水溶性に着目した。骨の有機主成分であるコラーゲン繊維の表面にもカルボキシ基は存在し、オステオカルシンなどの非コラーゲン性タンパク質もカルボキシ基を含んでいる。さらに、2007 年に Reid らは固体核磁気共鳴 (NMR) により、骨のコラーゲン繊維

Okuda, K.; Shigemasa, R.; Hirota, K.; Mizutani, T. In Situ Crystallization of Hydroxyapatite on Carboxymethyl Cellulose as a Biomimetic Approach to Biomass-Derived Composite Materials. ACS Omega 2022, 7, 12127–12137.

維と HAP の界面では、グリコサミノグリカンやプロテオグリカンなどのカルボキシ基をもつ多糖類が多く存在していることも明らかにしている[9]。その他ポリマー中での HAP の結晶成長におけるポリマーのアニオン基の役割について、すでに複数の研究が報告されており[10-13]、これらの有機高分子は HAP の結晶成長の制御と有機-無機界面の結合の形成を担っているものと考えられている[14-19]。また、TCNF-HAP 複合体は、TCNF のナノファイバー構造によって確かに優れた靱性を示した。しかし、実際の骨は、有機主成分であるコラーゲンナノファイバーの表面だけではなく、内部にも多くの HAP が結晶化している[20]。TCNF と HAP の複合化では、TCNF を PO_4^{3-} 水溶液中で分散させながら Ca^{2+} を加えることで共沈複合化したが、このプロセスでは TCNF 内部にまで PO_4^{3-} は浸透しておらず、TCNF 表面にしか HAP は結晶成長しない。すなわち、有機-無機界面結合を形成していない HAP 単体が多く存在しており、この余分な HAP が複合体の曲げ強度や弾性率を低下させた可能性が高い。対して、CMC は、水溶液中でナノファイバー構造をとらず、水に分子レベルで溶解しやすいため、CMC 高分子鎖と PO_4^{3-} が均一に溶解し、この状態で Ca^{2+} を加えて HAP を結晶成長させれば、TCNF-HAP 複合体よりも有機-無機界面相互作用を形成した HAP が多くなり、より高い強度や弾性率をもつ複合体を合成できるものと考えた。本研究では、CMC と HAP がより均一に複合化され、有機-無機界面相互作用を形成できる共沈手順、温度、濃度を明らかにし、より優れた機械的性質をもつバイオマス複合体の合成を目指した。

2. 実験

2.1. 使用試薬

1) Sodium carboxymethylcellulose (CMC) DS: 0.5~0.8, DP: 500

富士フイルム和光純薬株式会社

2) Calcium chloride dihydrate $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 147.01$

富士フイルム和光純薬株式会社

3) Disodium hydrogen phosphate $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 141.96$

富士フイルム和光純薬株式会社

4) Sodium hydroxide $\text{NaOH} = 40.00$

富士フイルム和光純薬株式会社

5) Acetone

富士フイルム和光純薬株式会社

6) Distilled water $\text{H}_2\text{O} = 18.02$

Yamato Autostill WG250 によって蒸留したものを使用した。

2.2. 測定機器

1) 熱重量測定(TGA)

株式会社島津製作所製の示差熱・熱重量同時測定装置(DTG-60)を用いて測定および解析を行った。

2) 粉末 X 線回折(XRD)

リガク株式会社製の全自動水平型多目的 X 線回折装置 SmartLab で測定し、PDXL2 で解析を行った。

3) 三点曲げ試験装置

株式会社マルトー社製の「MZ-250」を用いて測定および解析を行った。

4) 走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像

日立ハイテクノロジー SU8020 走査型電子顕微鏡で、三点曲げ試験によって破壊された成形物の破面を観察した。

2.3. 実験方法

2.3.1. CMC と HAP の共沈複合化

【共沈手順と共沈温度の効果】

本研究では、Method A、B の 2 通りの共沈手順で CMC と HAP を複合化した。まず、CMC 1.00 g と蒸留水 199 g を 500 mL ビーカーに入れ、90 °C で 30 分間攪拌してから室温まで放冷することで、0.5 wt% CMC 水溶液を調製した。

Method A では、0.5 wt% CMC 水溶液に 0.2 M Na_2HPO_4 69.7 mL と 1 M NaOH 18.6 mL の混合水溶液を加え、室温、50、70、90 °C で 15 分攪拌してから、それぞれ同温度で 0.2

M CaCl₂ 水溶液 116.0 mL を 0.06 ml/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間攪することで熟成した。

Method B では、Method A とは逆で、0.5 wt% CMC 水溶液に先に 0.2 M CaCl₂ 水溶液 116.0 mL を加えた。このとき、CMC のカルボキシ基が Ca²⁺ によって架橋されることで、水溶液が半濁した。この半濁液を室温、50、70、90 °C で 15 分攪拌してから、それぞれ同温度で 0.2 M Na₂HPO₄ 69.7 mL と 1 M NaOH 18.6 mL の混合水溶液を 0.06 ml/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間攪することで熟成した。

Method A、B、両方において、熟成後、室温まで放冷し、得られた白濁の分散液を 1000 mL ビーカーに移し、500 mL の水/アセトン = 1/1 (v/v) 混合溶液を加え、白色沈殿物が生じたことを確認してから、これを吸引濾過した。濾紙上に残った白色沈殿物に水/アセトン = 1/1 (v/v) 混合溶液を 1000 mL 加え、これを吸引ろ過することで、沈殿物の洗浄を行った。濾紙上に残った白色粉末をアセトンで脱水し、これを吸引濾過してから 500 mL ビーカーに移し、80 °C で 2 時間真空乾燥した。仕込み無機重量分率 IC_{feed} は、Method A、B とともに、70 wt% で行った。

【高分子濃度の共沈殿複合化に対する効果】

1000mL ビーカーに蒸留水を 200mL 加え、そこに高分子濃度 PC : 0.83、1.6、3.3、6.6、9.9、13.2 g/L に応じて、CMC を 0.50、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 g を秤量して加えた。それぞれ 90 °C で 30 分間以上 600 rpm の回転速度で攪拌することで CMC 水溶液を調製した。その後、室温まで放冷し、これらの分散液の PC に応じて、それぞれ Na₂HPO₄ 水溶液(0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 M) 139.4 mL と NaOH 水溶液 (0.25、0.50、1.0、2.0、3.0、4.0 M) 37.2 mL の混合溶液を加え、共沈温度 70 °C で 15 分間 600 rpm の回転速度で攪拌した。その後、同温度同攪拌速度を保ちながら Na₂HPO₄ 水溶液と同濃度の CaCl₂ 水溶液 232.0mL を 0.06 mL/s の滴下速度で加えた。滴下終了後、1 時間同温度、同攪拌速度で熟成した。その後、室温まで放冷し、500 mL の水/アセトン = 1/1 (v/v) 混合溶液を加え、白色沈殿物が生じたことを確認してから、これを吸引濾過した。濾紙上に残った白色沈殿物に水/アセトン = 1/1 (v/v) 混合溶液を 1000 mL 加え、これを吸引ろ過することで、沈殿物の洗浄を行った。濾紙上に残った白色粉末をアセトンで脱水し、これを吸引濾過してから 500 mL ビーカーに移し、80 °C で 2 時間真空乾燥した。仕込み無機重量分率 IC_{feed} は、70 wt% で行った。

2.3.2. 複合体の無機重量分率

各アシル化複合体粉末の無機重量分率は熱重量分析 (TGA) より算出した。室温から 100 °C までを吸着水蒸発、100 °C から 1000 °C までを有機物燃焼による重量減少とし、以下の式より無機重量分率 I.C. を算出した。昇温速度は 20 °C /min で行った。

$$IC = \frac{1000 \text{ °Cまで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}}{100 \text{ °Cまで昇温し 10 分間ホールドしたときの質量 (g)}} \times 100 \text{ (wt \%)}$$

2.3.3. HAP の結晶子サイズ

粉末 X 線回折の測定により得られた HAP ピークの半値幅から結晶サイズを検討した。結晶サイズ D は Scherrer の式より算出することが出来る。Scherrer の式は以下に示す。

$$D = \frac{0.9 \times \lambda}{B \cos \theta}$$

D は結晶が完全な球状の単結晶と仮定した場合の結晶の直径(Å)、 λ は粉末 X 線回折の Cu / $K\alpha$ 線の波長 1.54056 (Å)、 B は半値幅を radian 単位に換算した値、 $\cos \theta$ はピークの位置(2θ)より求めた値を radian 単位に換算した値である。

$$B_{(rad)} = B_{(deg)} \times \frac{\pi}{180}$$

本研究では、これらの算出に解析ソフト(Rigaku Data Analysis Software PDXL version2)を用いて行い、結晶子サイズを求めた。

2.3.4 複合体粉末の成形及び三点曲げ試験

Fig. 1 のように、得られた粉末を長方形のスロット (4×13 mm²) を有する金型に入れ、120 °C、120 MPa で 5 分間一軸加圧し、角柱型の成形物 (4×13× (1.5 - 2.0) mm³) を得た。その後、成形物の密度を求め、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min で三点曲げ試験を行った。

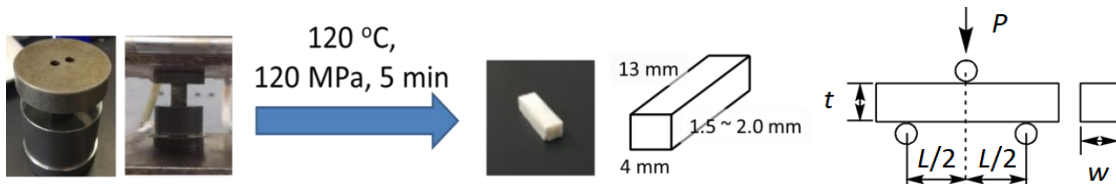


Fig. 1. Mold of composite powder by hot press and three-point-bending test.

複合体の理論密度は以下の式から算出した。また、CMC の理論密度は 1.6 g/cm³ [21]、HAP が 3.2 g/cm³ [22]として計算した。

$$d_{calcd.} = \left(\left(\frac{\text{有機重量分率}}{\text{CMC の理論密度}} \right) + \left(\frac{\text{無機重量分率}}{\text{HAP の理論密度}} \right) \right)^{-1}$$

曲げ強度 σ_b 、曲げひずみ ε_b は以下の式より算出した。 L , P , t , w は Fig. 1 に示している。 s は、クロスヘッドの変位量である。また、弾性率 E_b 及び破壊エネルギー G_f は、

Fig. 2 のように、応力-ひずみ曲線の傾き及び面積から求めた。

$$\sigma_b = (3 \times L \times P) / (2 \times w \times t^2) \quad \varepsilon_b = (600 \times s \times t) / L^2$$

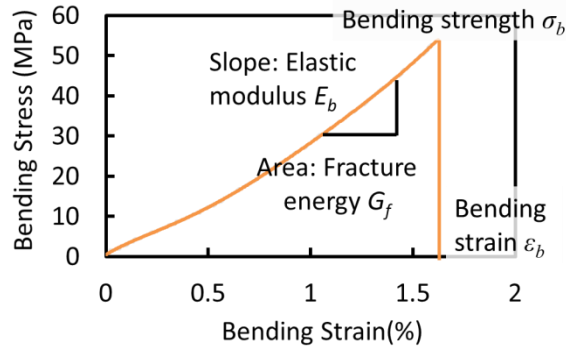


Fig. 2. Schematic representation of mechanical parameters determined by a stress-strain curve.

3. 実験結果及び考察

3.1. 複合体の収率

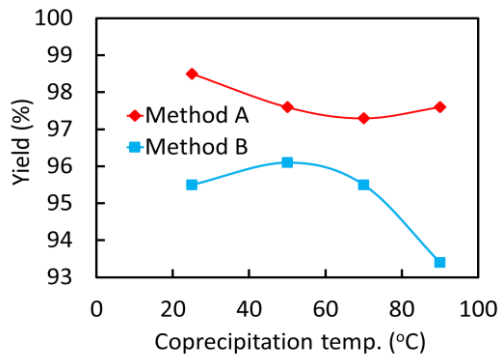


Fig. 3. Effects of the coprecipitation protocols and temperatures on the yield of the composites.

【共沈手順と共沈温度の効果】

Fig. 3 に共沈手順及び共沈温度と複合体の収率の関係を示す。Fig. 3 のとおり、どの共沈温度においても、Method B よりも、A の方が収率が高くなった。この結果は、第3章の TCNF と HAP の複合化における収率の結果と同じ傾向である[2]。このことから、Method A の方が HAP が十分に生成されており、かつ、CMC 高分子鎖近傍で HAP が結晶成長したものと考えられる。Method B では、先に CMC が Ca^{2+} で架橋されている。もし、この Ca^{2+} が CMC と結合したまま PO_4^{3-} と反応しなかった場合、余った PO_4^{3-} は、元々 CMC のカルボキシ基の対カチオンであったナトリウムカチオンとともに洗浄・濾過で除去される。その結果、仕込み値よりも生成される HAP が少なくなり、複合体の収率が低下したものと示唆される。

Method A、B とともに、より高い共沈温度で合成されたものほど、わずかに収率が低下した。これは、温度を高くするほど CMC と HAP 結晶表面との結合が弱まり、互いに結合していない CMC や HAP 結晶が存在するので、洗浄・濾過によってこれらが除去されたためと思われる。

【高分子濃度の効果】

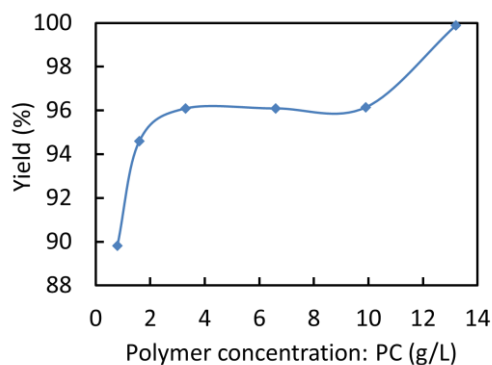


Fig. 4. Effects of the polymer concentrations on the yields of the composites (Method A, 50 °C).

Fig. 4 に高分子濃度 PC と複合体の収率の関係を示す。

Fig. 4 のとおり、PC が高いものほど、収率は高くなった。PC: 0.8、1.6 g/L のものは、水/アセトン混合溶液の体積比が 1/2 (v/v) のときに初めて沈殿・洗浄できたのに対して、PC: 3.3 g/L 以上のもは水/アセトン = 1/1 (v/v) で容易に沈殿・洗浄できた。このことから、より高い濃度、つまり、CMC に対して水が少ないときほど、CMC 上で HAP の不均一結晶核生成が起こりやすくなり、CMC と HAP が共沈しやすかったものと考えられる。

3.2. 複合体の無機重量分率

【共沈手順と共沈温度の効果】

Fig. 5 に各共沈手順及び共沈温度で得られた複合体の TG 曲線と、共沈手順及び共沈温度と無機重量分率 IC の関係を示す。

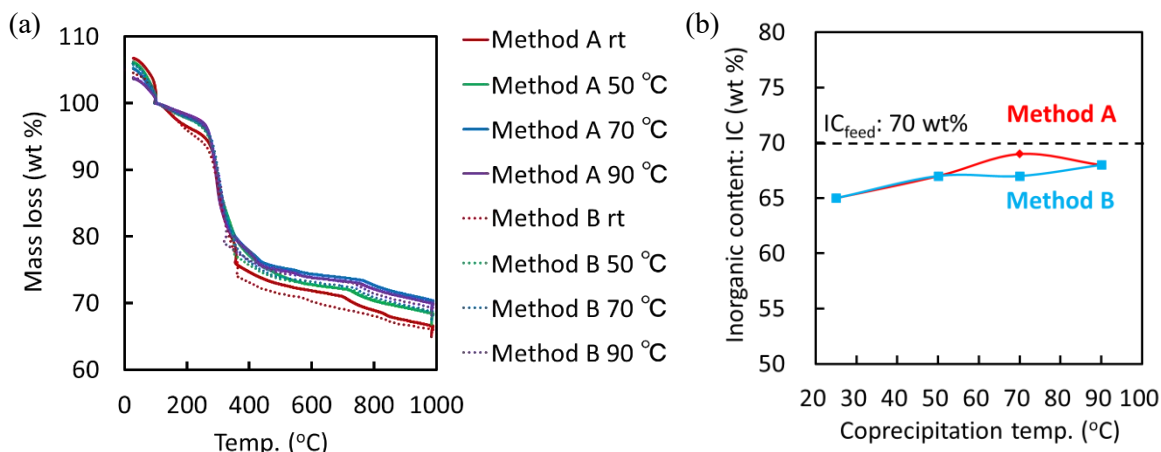


Fig. 5. Effects of the coprecipitation protocols and temperatures on the TG curves (a) and the inorganic contents (b).

Fig. 5 (a) のとおり、各複合体について、300 °C 付近と 700 °C 付近からの CMC の熱分解による重量減少が見られた。Method A 及び B での共沈温度室温で得られた複合体については、830 °C 付近で僅かな重量減少が見られた。これは、CMC の—COONa 基、または—COOCa 基が CMC の熱分解後に炭酸塩として残存し、これらが脱炭酸したことによるものと考えられる[23]。共沈温度 50 °C 以上で得られた複合体については、

Method A、B ともに、830 °C 付近での脱炭酸による重量減少は見られなかった。CMC のみを熱分解すると 830 °C の重量減少がみられることから、50 °C 以上で共沈したサンプルの TG において、830 °C の重量減少が観測されないことは、これらの複合体中には、HAP に結合していない CMC は存在せず、複合化が効率よく起こっていることを示唆している。このことから、共沈温度室温で合成されたものは、Fig. 6 (a) のように、Na⁺、あるいは Ca²⁺ とイオン結合している CMC のカルボキシ基がより多く存在しており、共沈温度 50 °C 以上においては、Fig. 6 (b) のように、Na⁺、あるいは Ca²⁺ と形成している CMC のカルボキシ基が少なく、HAP とより相互作用を形成していた CMC のカルボキシ基がより多く存在していた可能性が示唆される。

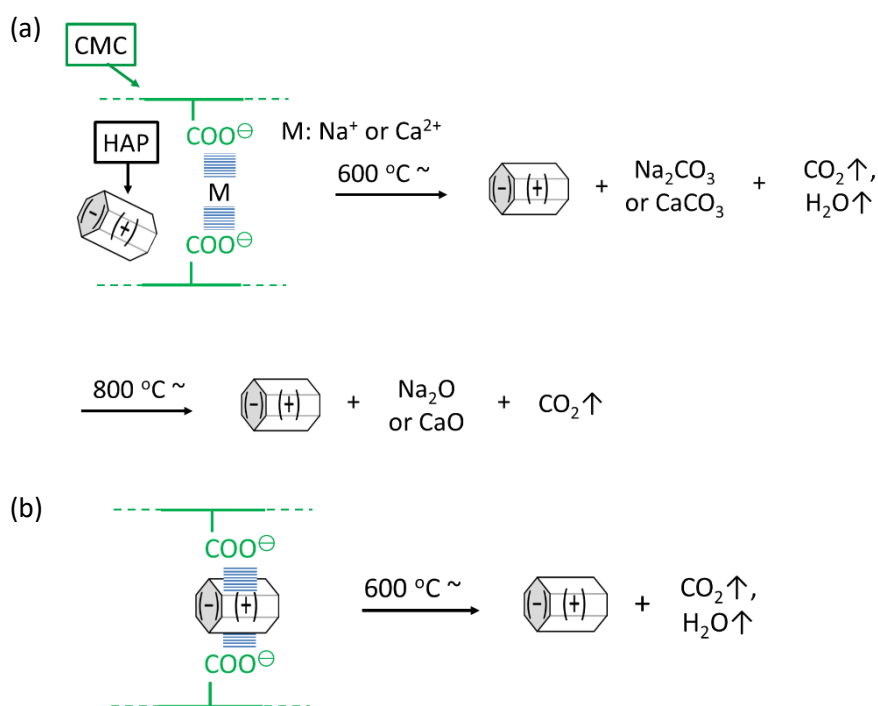


Fig. 6. Schematic representation of the relationship between the thermal behavior and the carboxyl groups of CMC and HAP interactions of the composites synthesized at lower (a) or higher (b) coprecipitation temperature.

Fig. 5 (b) のとおり、Method A、B ともに、共沈温度が高くなるほど、わずかに IC が高くなった。これは、Fig. 3 の収率の結果からも示唆されたとおり、より高温のときに HAP 結晶表面へ吸着した CMC が脱着しやすくなり、そのまま洗浄・濾過によって除去されたためと考えられる。

【高分子濃度の効果】

Fig. 7 に各 PC で得られた複合体の TG 曲線と、PC と IC の関係を示す。

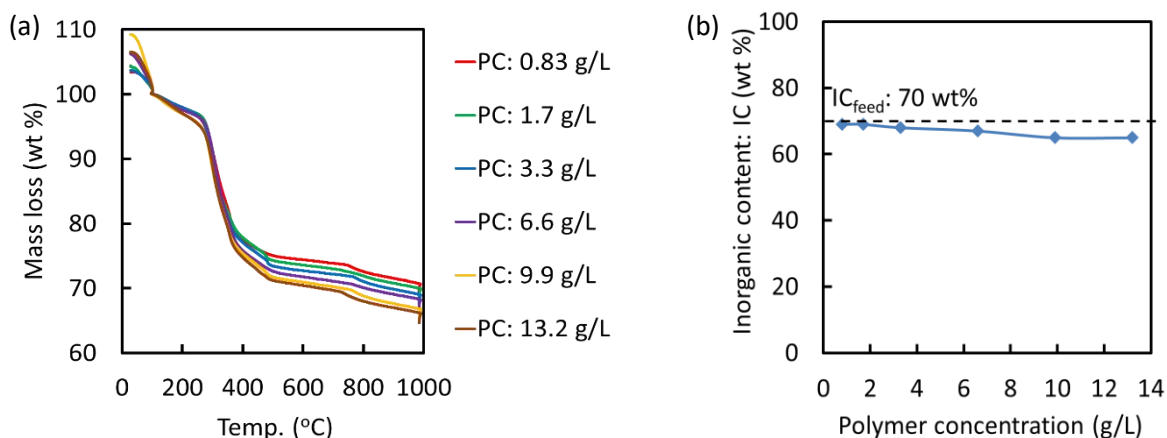


Fig. 7. Effects of the polymer concentration on the TG curves (a) and the inorganic contents (b) (Method A, 50 °C).

Fig. 7 (a)のとおり、PCに関わらず、Fig. 5 (a)の共沈温度 50 °C 以上で得られた複合体とほぼ同じ熱的性質を示した。各複合体について、800 °C 以上での脱炭酸による重量減少が見られなかったことから、Method A、B の共沈温度室温で合成された複合体より CMC のカルボキシ基と HAP がより相互作用を形成したものと考えられる。

Fig. 7 (b)のとおり、PCが高くなるほど、わずかに IC は低くなった。これは、Fig. 4 の収率の結果からも示唆されたとおり、PC が高いものほど、CMC 高分子鎖上で HAP の結晶核生成が起こりやすく、より多くの CMC が HAP と共沈したためと考えられる。

3.3. HAP の結晶子サイズ

【共沈手順、共沈温度の効果】

Fig. 8 に XRD パターンと HAP の *c* 軸方向の結晶子サイズ、アスペクト比 (*c/a*) を示す。Fig. 8 (a) のとおり、Method B、共沈温度 rt を除き、各条件においてそれぞれ HAP の特徴的なピークが得られ、生成された無機結晶は別種のリン酸カルシウムではなく、HAP であることがわかった[24, 25]。Method B、共沈温度 rt では、最初に Ca²⁺が CMC のカルボキシ基に捕らえられた状態であり、かつ、温度も低いため、結晶成長が起こりにくい。そのため、結晶性の高い HAP ではなく、アモルファスなリン酸カルシウムが生成されたものと考えられる。

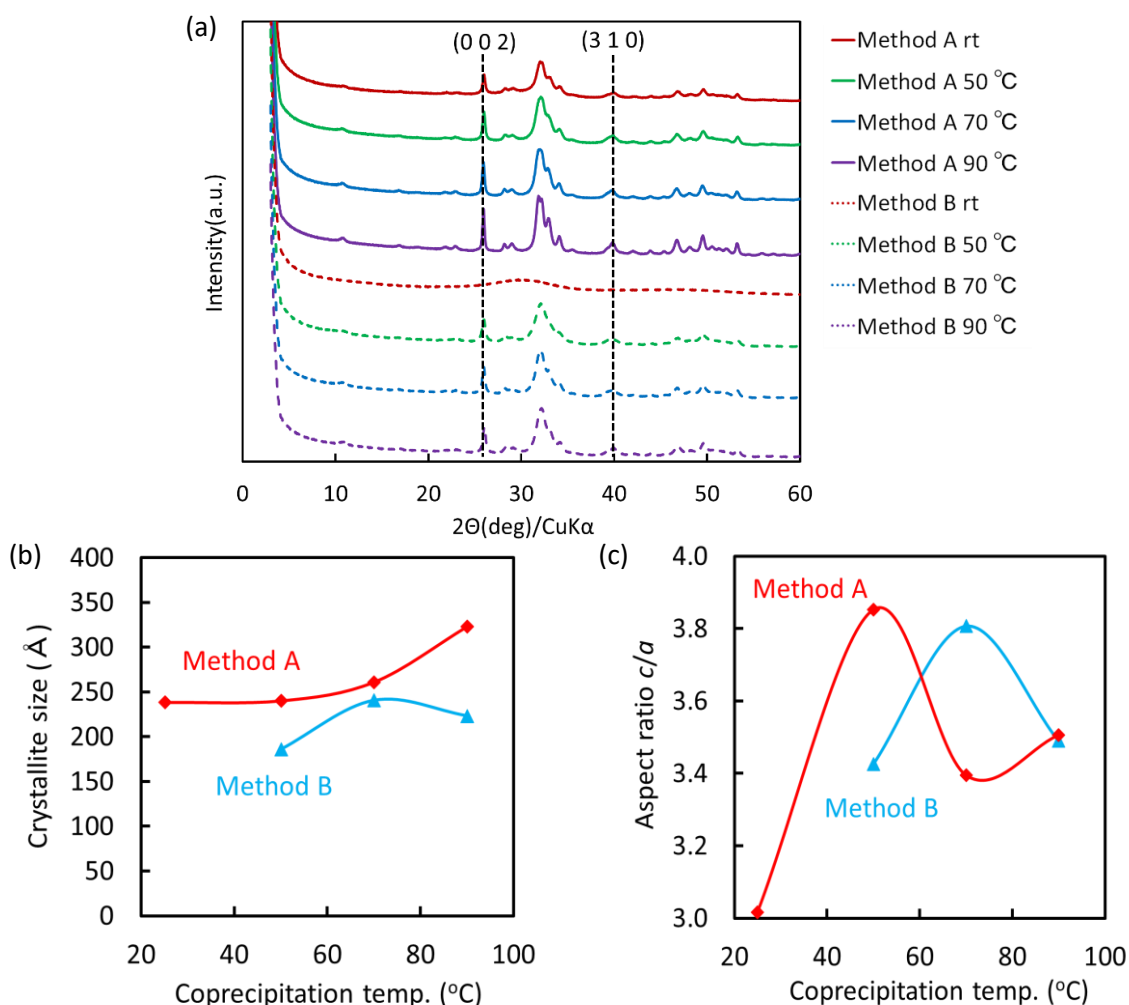


Fig. 8. Effects of the coprecipitation protocols and temperature on the XRD patterns (a) and the crystallite size on c axis direction (b), aspect ratio (c/a) (c) of the HAP in the composites.

Fig. 8 (b)のとおり、各共沈温度において、Method B よりも A の方が HAP の c 軸方向の結晶子サイズが大きくなった。また、Fig. 8 (c)のとおり、Method A では共沈温度 50 °C のとき、Method B では共沈温度 70 °C のときに最もアスペクト比 (c/a) が大きくなった。第 3、4 章の TCNF と HAP[2]、カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレートと HAP[26]の複合化と同様、HAP のアスペクト比 (c/a) が大きいということは、その分、Fig. 9 のように、 a 軸方向の結晶成長が制御され、 c 軸方向にのみ結晶成長したものと考えることができる。HAP の a 面は Ca^{2+} によって正に帯電しており、 c 面は PO_4^{3-} によって負に帯電している。ゆえに、CMC の負に帯電しているカルボキシ基と HAP の正に帯電した a 面が相互作用を形成するほど、HAP のアスペクト比 (c/a) は大きくなる。すなわち、HAP のアスペクト比 (c/a) が大きいということは、その複合体はより多く有機-無機界面相互作用を形成したものと評価できる[27-29]。

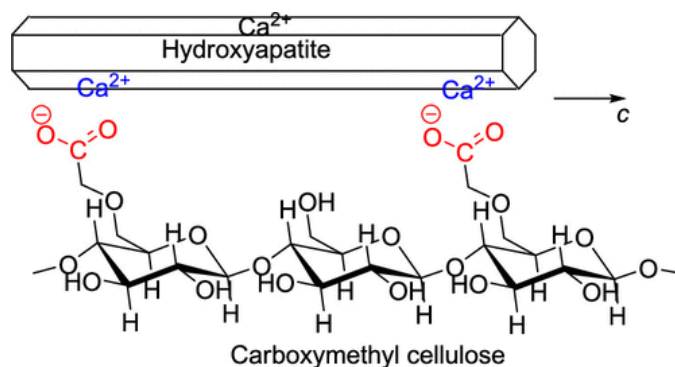
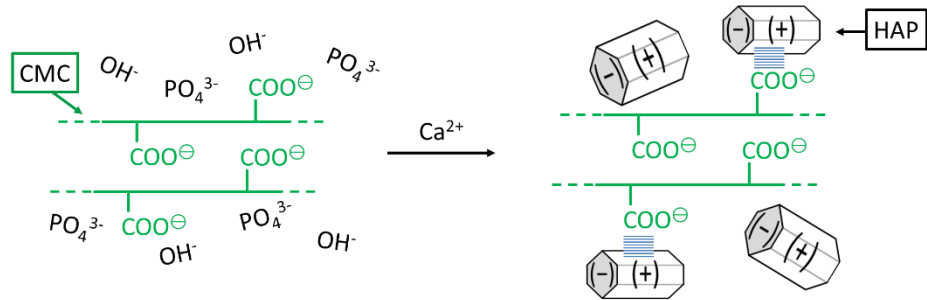


Fig. 9. Schematic representation of the control of HAP crystallization by carboxyl groups of CMC.

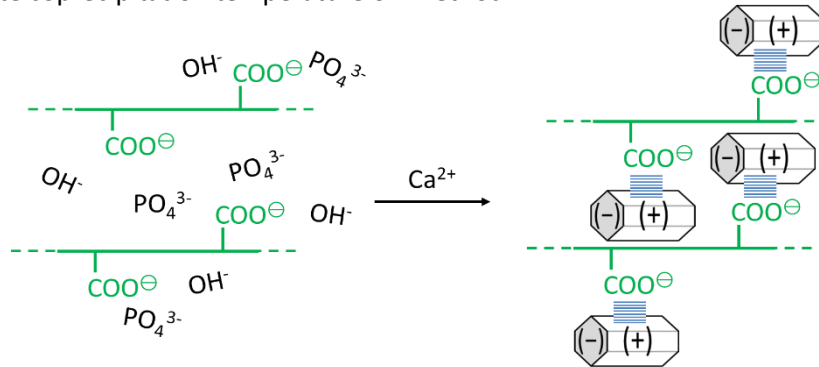
Method A は、Method B よりも低い温度でアスペクト比 (c/a) が最大になり、70°C 以上では逆に減少している。これは、Fig. 10 (a)のように、あまりにも温度が低すぎると、CMC 高分子鎖同士が会合したまま PO_4^{3-} 、 OH^- と十分に溶解されず、CMC と HAP の接触表面積が減少し、CMC のカルボキシ基による HAP の結晶成長制御が起こりにくくなったためと考えられる。逆に、温度が高すぎると、Fig. 3 の共沈温度増大に伴う収率の低下、Fig. 5 (b)の共沈温度増大に伴う無機重量分率の増大からも示唆されるように、Fig. 10 (c) のように、CMC のカルボキシ基と HAP 結晶表面の相互作用が形成されにくくなるため、HAP の結晶成長が制御されにくかったものと考えられる。よって、Method A においては、Fig. 10 (b)のように、CMC が会合しすぎることなく、かつ、有機—無機界面の相互作用が保持できる共沈温度 50°C のときに、最も CMC のカルボキシ基と HAP の a 面の相互作用が形成され、アスペクト比 (c/a) が最も向上したのと考えられる。

Method B において、HAP のアスペクト比 (c/a) が最も大きくなったのは、共沈温度 70°C のときであり、Method A の場合よりも高い温度が必要とされた。Method B は最初に CMC 高分子鎖のカルボキシ基が Ca^{2+} と強く結合しており、CMC- Ca^{2+} 架橋物として安定している。そのため、Fig. 11 のように、より低温度下では、CMC と結合している Ca^{2+} と PO_4^{3-} 、 OH^- の反応がおこりにくく、CMC- Ca^{2+} 架橋物と、CMC と相互作用を形成していない HAP 単体の混合物がより多く生成される。ゆえに、CMC と結合した Ca^{2+} と PO_4^{3-} 、 OH^- を反応させるには、より高い温度が必要とされるため、Method A と比べて、HAP のアスペクト比 (c/a) を向上させるのに必要な温度がより高くなったものと考えられる。

(a) Lower coprecipitation temperature on Method A



(b) Appropriate coprecipitation temperature on Method A



(c) Higher coprecipitation temperature on Method A

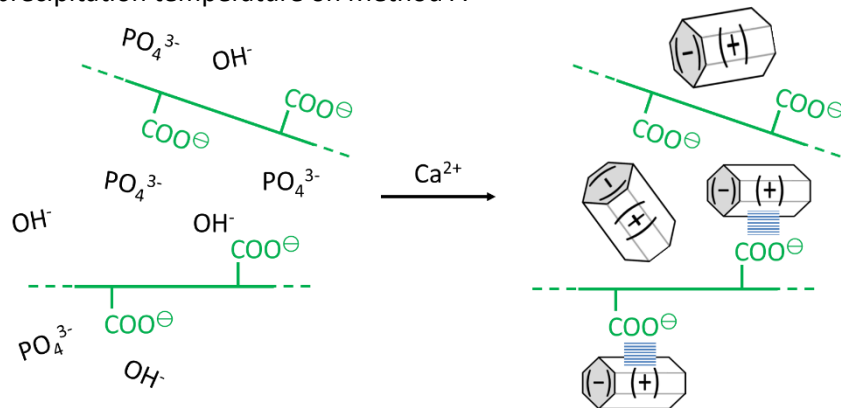
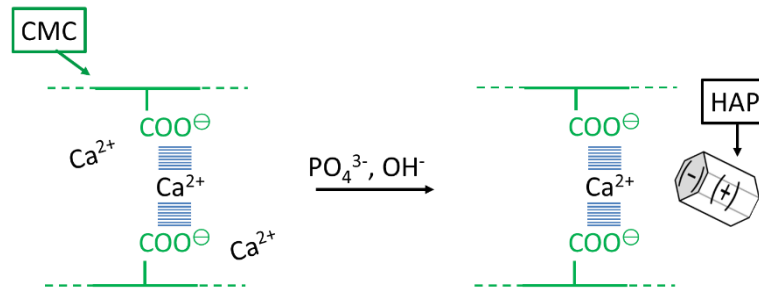


Fig. 10. Schematic representation of the hybridization of CMC and HAP with Method A at lower (a), appropriate (b), and higher (c) temperature.

(a) Lower coprecipitation temperature on Method B



(b) Higher coprecipitation temperature on Method B

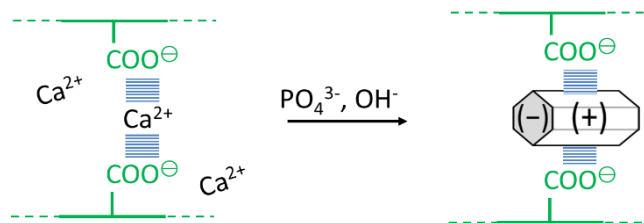
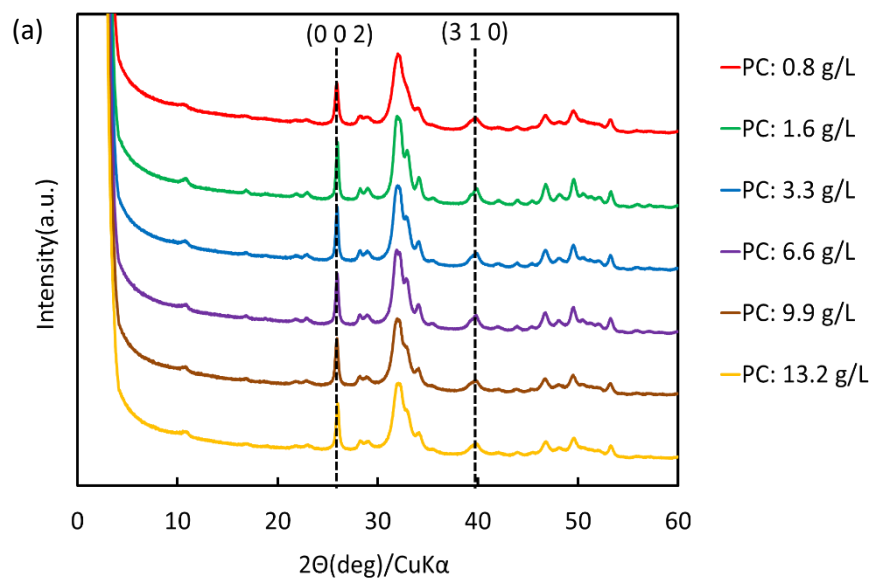


Fig. 11. Schematic representation of the hybridizations of CMC and HAP on Method B at lower (a), and higher (b) temperature.

【高分子濃度の効果】

Fig. 12 にいろいろな CMC 濃度で合成した各複合体の XRD パターンと HAP の c 軸方向の結晶子サイズ、アスペクト比 (c/a) を示す。



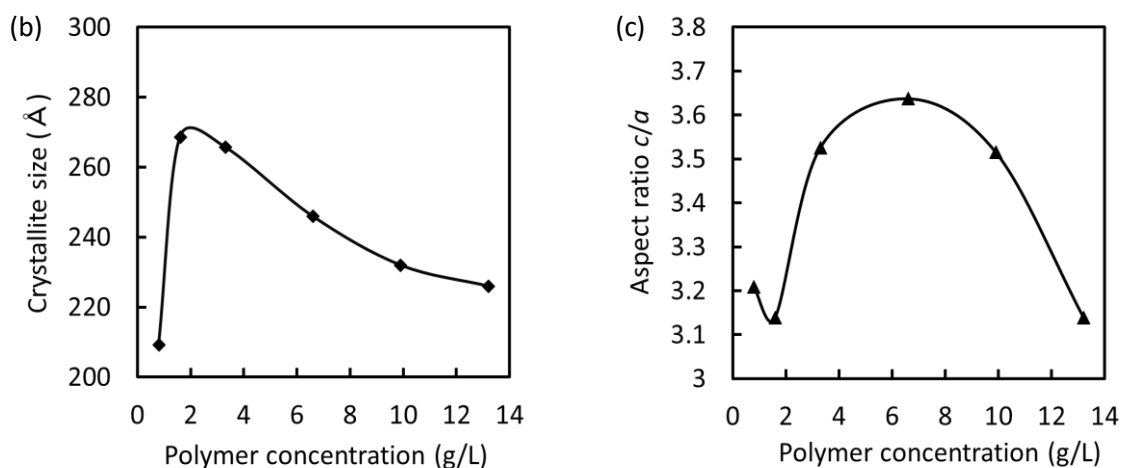


Fig. 12. Effects of the polymer concentration on the XRD patterns (a) and the crystallite size on c axis direction (b), aspect ratio (c/a) (c) of the HAP in the composites (Method A, 50 °C).

Fig. 12 (a) のとおり、各条件においてそれぞれ HAP の特徴的なピークが得られ、生成された無機結晶は別種のリン酸カルシウムではなく、HAP であることがわかった[24, 25]。

Fig. 12 (b) のとおり、PC: 0.8 ~3.3 g/L では、PC が高くなるほど、HAP の結晶子サイズは大きくなり、PC: 3.3 g/L 以上では、逆に結晶子サイズは低下した。PC: 0.8 g/L では、CMC の濃度だけではなく、各イオン濃度も最も低いため、十分に HAP が結晶成長ができず、結晶子サイズも最も小さくなったものと考えられる。ゆえに、PC を高くするほど、つまり、各イオン濃度を高くするほど、結晶子サイズも向上したものと考えられる。しかし、PC: 3.3 g/L 以上では、PC を大きくするほど、各イオン濃度も増大するが、CMC の濃度も増大しているため、CMC との相互作用によって HAP の結晶成長が制御され、結晶子サイズが低下したものと考えられる。

Fig. 8 (c) のとおり、PC: 3.3~9.9 g/L のときに、HAP のアスペクト比 (c/a) はより大きくなった。よって、Fig. 4 の収率の結果、Fig. 6 の IC の結果からも示唆されたとおり、第 3 章の TCNF と HAP の共沈複合化同様、PC が低すぎると、CMC と各イオンに対して水が多すぎるため CMC 高分子鎖近傍で HAP が結晶成長できず、逆に、PC が高すぎると、CMC 高分子鎖同士の会合が起こり、CMC 高分子鎖近傍で HAP が結晶成長できない。そのため、CMC が溶解しすぎることなく、かつ、会合しすぎることのない適切な PC のときに最も HAP が CMC 高分子鎖上で結晶成長できたものと考えられる。

3.4. 複合体の機械的性質

【共沈手順と共沈温度の効果】

Fig. 13 に、Method A, Method B それぞれの共沈手順における成形体の密度と各複合

体の機械的性質の共沈温度（25~90℃）に対するプロットを示す。

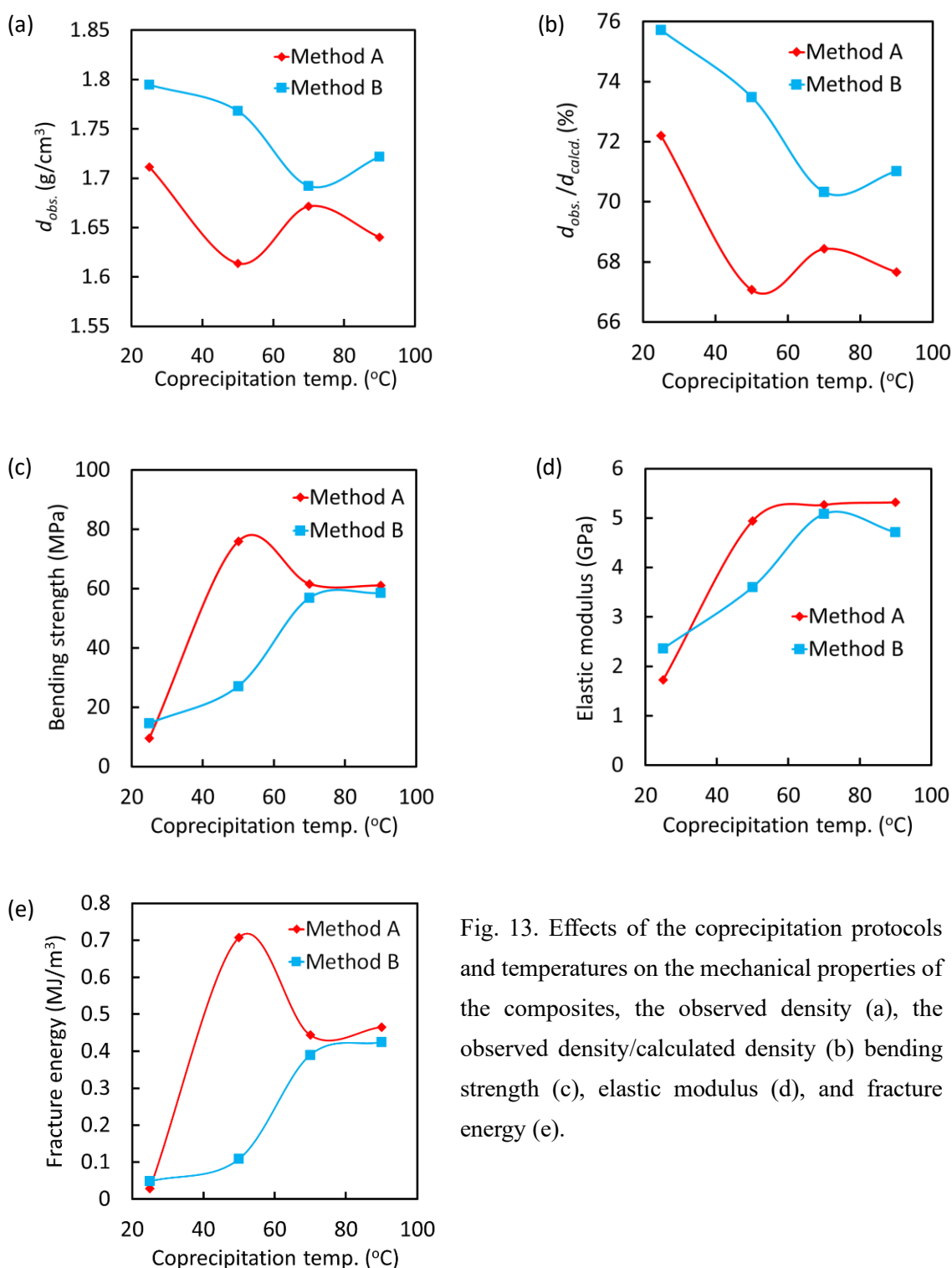


Fig. 13. Effects of the coprecipitation protocols and temperatures on the mechanical properties of the composites, the observed density (a), the observed density/calculated density (b) bending strength (c), elastic modulus (d), and fracture energy (e).

Fig. 13 (a)、(b)のとおり、Method A、B の両方において、共沈温度が低いものほど、相対密度 $d_{obs.}/d_{calcd.}$ は大きくなった。また、各共沈温度において、Method A よりも Method B の方がより緻密に成形された。これは、HAP の結晶子サイズに由来するものと考えら

れる。Fig. 8 (b)のとおり、Method A より、B で得られた複合体の HAP 結晶子の方が小さく、結晶子サイズが小さいものほど、結晶子同士の接触表面積が大きい。そのため、Method B の方が結晶子間で空隙が生じにくく、より緻密に成形されたものと考えられる[30]。

機械的性質に関しては、Fig. 13 (c)~(e)に示すとおり、Method B の方が緻密に成形されたにも関わらず、Method A の方が曲げ強度、弾性率、破壊エネルギーとも高かった。Method A では、Fig. 8 (c)のとおり、HAP のアスペクト比 (c/a) が最も大きくなった共沈温度 50 °C のとき、Method B では、HAP のアスペクト比 (c/a) が最も大きくなった共沈温度 70 °C のときに最も機械的性質が向上した。このことから、CMC のアニオン性のカルボキシ基と、正に帯電した HAP の a 面が相互作用を形成するほど、複合体の機械的性質はより向上するものと考えられる。Method A、共沈温度 50 °C と、Method B、共沈温度 70 °C で得られたの HAP 結晶子のアスペクト比 (c/a) は、ほぼ同じ値であったが、Method A、共沈温度 50 °C で得られた複合体の方がより高い機械的性質を示した。これは、HAP の c 軸方向の結晶子の長さ由来するものと考えられる。Fig. 14 のとおり、HAP の結晶子が c 軸方向に長ければ長いほど、HAP 結晶子の a 面間の破壊が起こりにくくなる。そのため、より HAP 結晶子の c 軸方向の結晶子サイズが大きい Method A、50 °C で得られた複合体の方が高い機械的性質を示したものと考えられる[31, 32]。

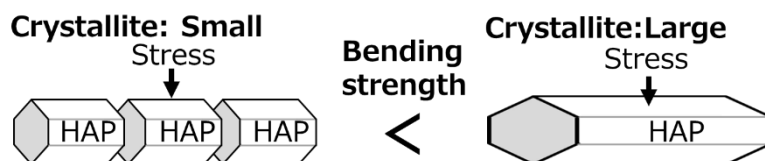


Fig. 14. Relationship of mechanical property and crystallite size on c axis direction of HAP.

三点曲げ試験後の各複合体成形物の破面の SEM 写真を Fig. 15 に示す。

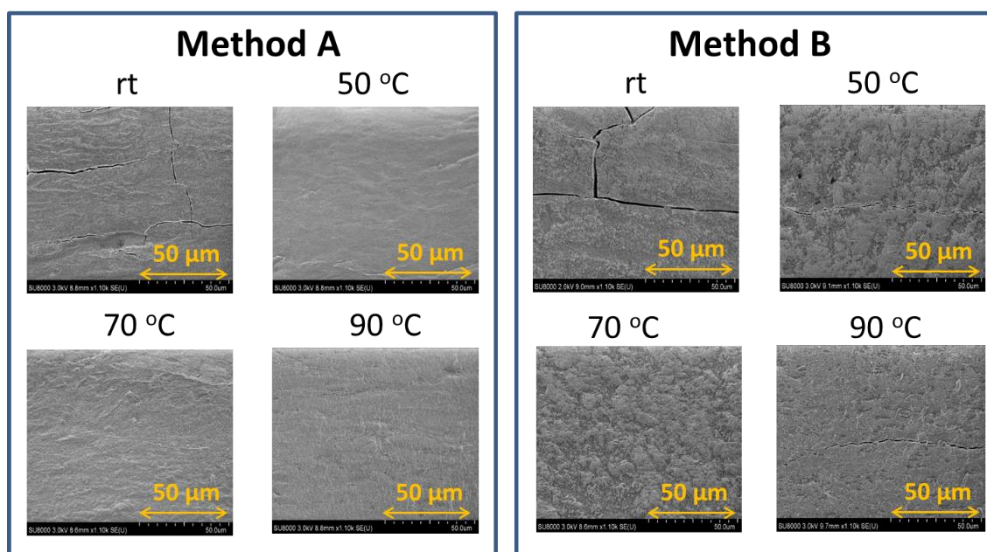


Fig. 15. Effects of the coprecipitation protocols and temperature of the composites on the SEM images of the fracture surface.

Fig. 15 のとおり、Method A、B ともに、共沈温度 rt で得られた複合体の破面は、クラックが多数入っており、非常にもろかった。このことから、CMC と相互作用を形成していない HAP 単体が多く、その HAP 単体から破壊が起きたものと考えられる。また、Method B は、Method A と比べて、各共沈温度において破面に凹凸が多く、より非脆性的であった。これは、CMC 高分子鎖同士が Ca^{2+} による架橋によって会合し、その分、CMC の柔軟性が増大したためと考えられる。最も高い機械的性質を示した Method A、50 °C で得られた複合体成形物の破面は、その他のものと比べて、より凹凸のすくない、均一で滑らかであった。このことから、Method A、50 °C で得られた複合体ほど CMC と HAP が均一に複合化されたものと考えられる。

【高分子濃度の効果】

Fig. 16 に、PC と複合体の密度と機械的性質の関係を示す。

Fig. 16 (a)、(b) のとおり、PC: 0.8 ~ 3.3 g/L 間では、PC が大きくなるほど相対密度 $d_{\text{obs}}/d_{\text{calcd}}$ は低下したが、PC: 3.3 g/L 以上では、PC が大きくなるほど $d_{\text{obs}}/d_{\text{calcd}}$ は大きくなり、より緻密に成形された。Fig. 12 (b) のとおり、HAP の結晶子サイズも、PC: 0.8 ~ 3.3 g/L までは PC が大きくなるほど HAP の結晶子サイズが大きくなり、PC: 3.3 g/L 以上では、PC が大きくなるほど結晶子サイズは低下した。よって、共沈手順と共沈温度の効果における、Fig. 8 (b) の HAP の c 軸方向の結晶子サイズと Fig. 12 (a)、(b) の複合体の密度の関係と同様、結晶子が小さいものほど、結晶子同士の接触表面積が大きく、結晶子間に空隙が少なくなり、より緻密に成形されたものと考えられる [30]。

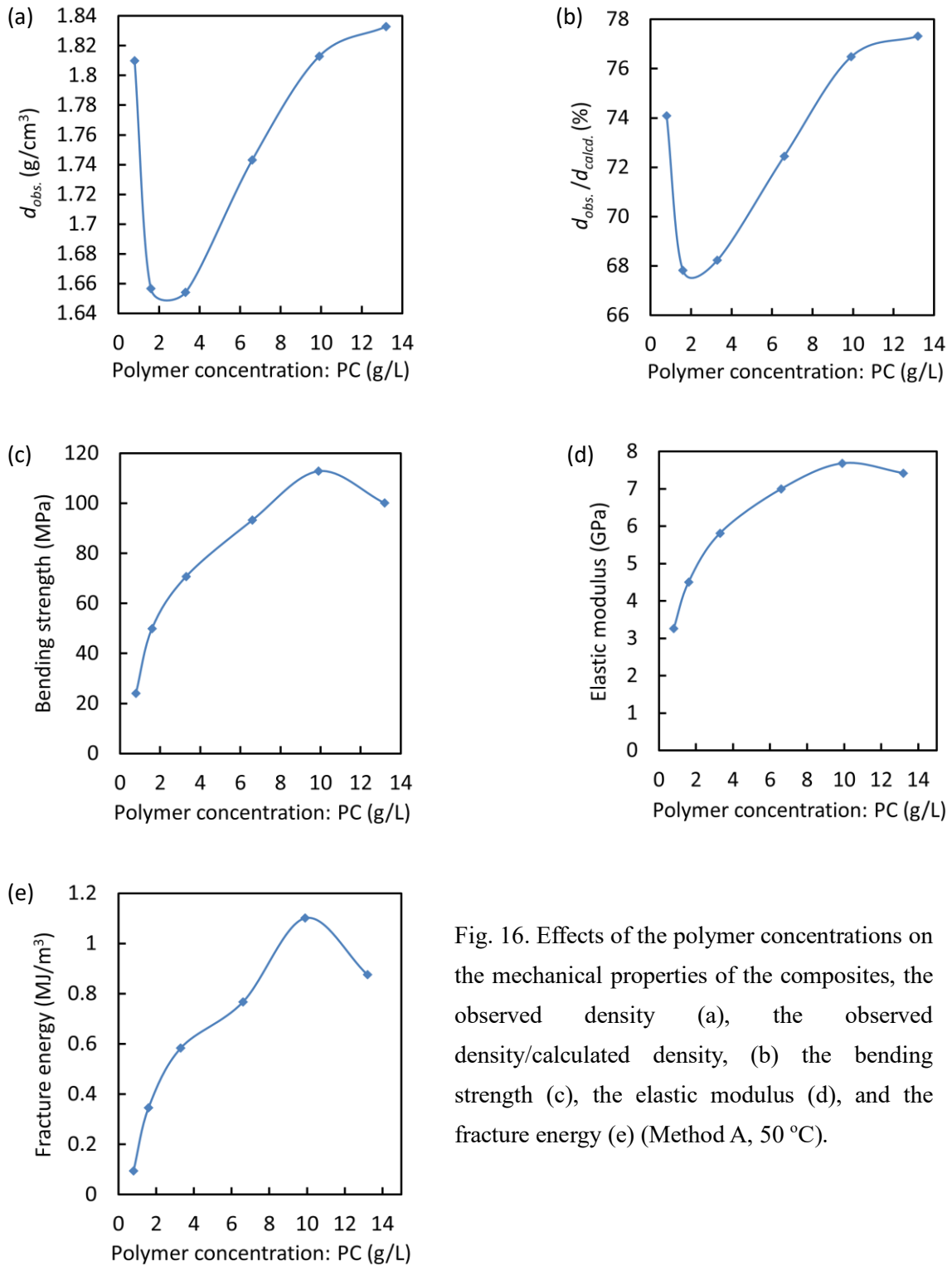


Fig. 16. Effects of the polymer concentrations on the mechanical properties of the composites, the observed density (a), the observed density/calculated density, (b) the bending strength (c), the elastic modulus (d), and the fracture energy (e) (Method A, 50 °C).

また、Fig. 16 (c)~(e)のとおり、HAP の結晶子サイズのアスペクト比 (c/a) が最も大きくなった PC: 3.3~9.9 g/L のときに、最もそれぞれ機械的性質が向上した。しかし、PC: 9.9 g/L より、PC: 6.6 g/L で得られた複合体の HAP 結晶子の方が高いアスペクト比

を有していたにも関わらず、PC: 6.6 g/L より、PC: 9.9 g/L のものの方が高い機械的性質を示した。さらに、PC: 13.2 g/L のものは、PC: 0.8、1.6 g/L のものと同じくらい HAP 結晶子のアスペクト比 (c/a) が小さいにも関わらず、PC: 6.6 g/L の複合体と同程度の機械的性質を有していた。これは、複合体の緻密さに起因するものと考えられる。一般的に、複合体はより緻密に成形されるほど、曲げ強度及び弾性率は向上する。PC: 9.9、13.2 g/L で得られたものは、PC: 1.6 g/L 以上で合成された複合体の中では、最も HAP の結晶子サイズが小さく、PC: 6.6 g/L のものと比べてより緻密に成形された。そのため、PC 9.9 g/L は、PC: 6.6 g/L とほぼ同程度の HAP 結晶子のアスペクト比 (c/a) と PC: 6.6 g/L の複合体以上の緻密さを兼ね備えたため、最も機械的性質が向上したものと考えられる。しかし、PC: 13.2 g/L のものについては、確かにより緻密に成形はされたが、アスペクト比 (c/a) と緻密さは PC: 0.8 g/L で合成されたものと同程度であるにも関わらず、PC: 9.9 g/L の次に優れた機械的性質を示した。これは、CMC 高分子鎖同士の会合が起因しているものと考えられる。PC: 0.8 g/L のものは、より CMC 高分子鎖が水溶液中で溶解しているのに対して、PC: 13.2 g/L では CMC 濃度が高い分、CMC 高分子鎖同士がより会合しているものと考えられる。会合している分、HAP と接触できる面積が低下し、HAP 結晶子のアスペクト比 (c/a) は減少するが、第 3 章の TCNF のようなナノファイバー構造を部分的に形成でき、その分、有機高分子由来の柔軟性が付与され、機械的性質が向上したものと考えられる。実際に、Fig. 17 に示す三点曲げ試験後の破面の SEM 写真のとおり、PC: 0.8 g/L で得られた複合体成形物の三点曲げ試験後の破面は、滑らかで脆性的であるのに対して、PC: 9.9、13.2 g/L で得られたものは、第 3 章の TCNF-HAP 複合体のように、凹凸の激しい破面であり、クラックの伝達を CMC-HAP の界面の結合で妨げていることがわかった。以上のことから、HAP のアスペクト比 (c/a)、また複合体の緻密さだけではなく、CMC のカルボキシ基と HAP の a 面の相互作用を形成しながら、かつ、CMC 高分子鎖同士も適切に会合できる、最適な共沈手順、共沈温度、高分子濃度によって、複合体の機械的性質は著しく向上することがわかった。

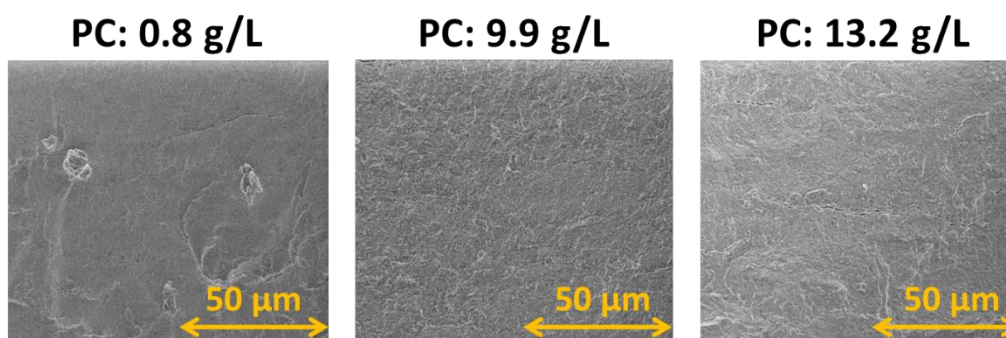


Fig. 17. Effects of the polymer concentrations on the SEM images of the fracture surface (Method A, 50 °C).

以上の結果をまとめると、Fig. 18 に示すように、共沈手順、共沈温度、CMC 濃度、有機-無機仕込比などを変化させることで、CMC の会合状態、不均一核生成/均一核生成の割合、HAP の結晶成長速度、CMC と HAP の吸着などに影響を与え、その結果、複合体の性質である HAP の結晶子サイズ、アスペクト比、有機-無機界面の結合などが変化し、機械的性質が変化したものと考えられる。

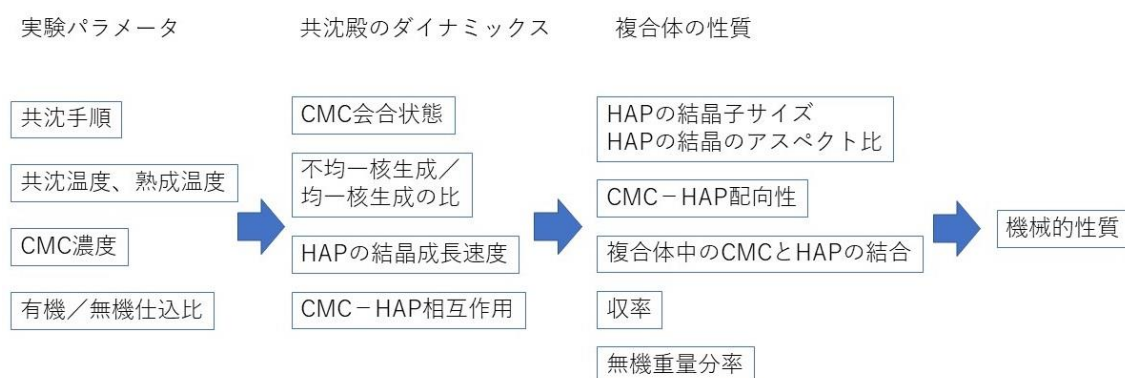


Fig. 18. Schematic representation of the relationship between experimental parameters and the properties of the composites.

Table 1 に最適条件で合成した CMC-HAP 複合体の密度、機械的性質を、デンプン-HAP、TEMPO 酸化セルロース-HAP、カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート-HAP 複合体のデータと比較した。Table 1 のとおり、PC: 9.9 g/L で得られた複合体の曲げ強度は 113 ± 2 MPa、曲げ弾性率は 7.7 ± 0.3 GPa、破壊エネルギーは 1.10 ± 0.01 MJ/m³ ($n=5$) であり、リン酸化タピオカデンプン (PTS)、TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF)、カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) と HAP の複合体と比べ、機械的性質の著しい向上が見られた。これは、第 2、5 章のリン酸化タピオカデンプン (PTS) が分岐構造をとるのに対して、CMC は直鎖構造をとるため、針状 HAP とより規則正しく配列・結合したレンガ・モルタル構造をとるためと考えられる。また、PTS や第 3 章の TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF)、第 4 章の両親媒性ポリマーであるカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) と比べて、CMC はより多くのカルボキシ基をもち、かつ、 PO_4^{3-} 、 OH^- 水溶液中において分子レベルで溶解でき、高分子鎖と HAP の接触表面積が増大し、より有機-無機界面相互作用が形成されたためと考えられる。すなわち、CMC の直鎖構造、豊富なカルボキシ基、そして、その高い水溶性が、複合体の機械的性質を高めたものと考えられる。

Table 1. Comparison of Bending Strength (σ_b), Elastic modulus (E_b), and Density (d) of the CMC-HAP Composite Compact with Those of The Other Polymer-HAP Composites.

	d (g/cm ³)	σ_b (MPa)	E_b (GPa)	G_f (MJ/m ³)
CMC-HAP				
(Method A, Coprecip. temp.: 50 °C, PC: 9.9 g/L, IC: 65 wt%)	1.81 ± 0.02	113 ± 2	7.7 ± 0.3	1.10 ± 0.01
PTS-HAP				
(Method B, Coprecip. temp.: 70 °C, PC: 11.4 g/L, IC: 45 wt%)	1.55 ± 0.01	41.8 ± 0.5	3.6 ± 0.3	0.32 ± 0.02
PTS-HAP				
(Method B, Coprecip. temp.: 70 °C, PC: 4.9 g/L, IC: 66 wt%)	1.72 ± 0.01	47.3 ± 0.5	4.9 ± 0.1	0.301 ± 0.008
TCNF-HAP				
(Method A, Coprecip. temp.: 70 °C, PC: 1.6 g/L, IC: 64 wt%)	1.61 ± 0.02	59 ± 1	5.1 ± 0.3	0.47 ± 0.02
CPET-HAP				
(Method A, Coprecip. temp.: 90 °C, PC: 11.0 g/L, IC: 49 wt%)	1.58 ± 0.01	32 ± 2	2.55 ± 0.01	0.24 ± 0.03
CPET-HAP				
(Method A, Coprecip. temp.: 90 °C, PC: 4.8 g/L, IC: 68 wt%)	1.86 ± 0.02	42 ± 1	4.20 ± 0.07	0.26 ± 0.01

Table 2 に最適条件で合成した CMC-HAP 複合体の機械的性質を、牛の皮質骨のデータと比較した。Table 2 のとおり、この複合体と実際の皮質骨を比較した場合、牛の皮質骨においては、配向方向に対して垂直方向に加わる応力に対する曲げ強度は 251 MPa、弾性率は 16.1 GPa[3]であるため、本研究で得られた複合体の機械的性質は、PTS、TCNF、CPET 複合体同様、皮質骨に匹敵しているとは言い難い。しかし、牛の皮質骨において、配向方向に対して平行な向きに加わる応力に対して示す曲げ強度は 57 MPa、弾性率は 6.4 GPa であり、これらの値と比べると、本研究で得られた複合体は圧倒的に高い機械的性質を示した。本研究で得られた複合体成形物は、CMC-HAP 複合体が異方的に配向するような操作は行っておらず、平均化した力学的な性質が測定されていると考えられる。ゆえに、積層成形や、エレクトロスピンニング法によって複合体に骨のような機械的異方性を付与すれば、皮質骨に匹敵、あるいはそれを凌駕する機械的性質をもつ複合体成形物が得られることが期待できる。

Table 2. Comparison of Bending Strength (σ_b), Elastic modulus (E_b), and Density (d) of the CMC-HAP Composite Compact with Those of Bovine Cortical Bone.

	CMC-HAP (9.9 g/L)	Cortical bone (transverse)	Cortical bone (longitudinal)
σ_b (MPa)	113 ± 2	43 – 63	161 – 225
ε_b (%)	2.56 ± 0.06	0.9 – 1.4	1.3 – 1.5
E_b (GPa)	7.7 ± 0.3	4.7 – 7.9	14.4 – 19.3
G_f (MJ/m ³)	1.10 ± 0.01	0.3 – 1.5	6.6 – 15.2

Table 3 に最適条件で合成した CMC-HAP 複合体の密度、機械的性質を、石油由来プラスチックのデータと比較した。Table 3 のとおり、石油由来プラスチックと比べると、PC: 9.9 g/L で得られた複合体の曲げ強度はポリメタクリル酸メチル (PMMA) やナイロン 66 (PA66) の曲げ強度、また弾性率はガラス繊維強化ナイロン 6 (GF30-PA6)、さらに、熱硬化性プラスチックである木粉含有フェノール樹脂 (PF)、メラニン樹脂 (MF) [33] に匹敵する弾性率を示した。これらのプラスチックは石油が原料であり、かつ、生分解性が低く、さらに、焼却処分の際には大量の二酸化炭素を排出する。さらに、ガラス繊維については、その製造に高温・高圧などの膨大なエネルギーを要するため、石油枯渇や地球温暖化、海洋ゴミなどの様々な環境問題の懸念がある。対して、CMC と HAP は地球上に豊富に存在する森林資源と鉱物資源から大量に得られ、かつ、人や環境に与える負荷が小さいにも関わらず、これらのプラスチック材料に匹敵する機械的性質を示した。よって従来の石油由来エンジニアリングプラスチック等に代わる、新規のバイオマス構造材料としての利用が期待できる。

Table 3. Comparison of Bending Strength (σ_b), Elastic modulus (E_b), and Density (d) of the CMC-HAP Composite Compact with Those of Petroleum-derived Plastics

	σ_b (MPa)	E_b (GPa)	d (g/cm ³)
CMC-HAP (PC: 9.9 g/L)	113 ± 2	7.7 ± 0.3	1.81 ± 0.02
PVdC	29 - 44	—	1.65 - 1.72
PMMA	118	3.430	1.19
PA66	118	2.8	1.14
PA6-GF30	212	7.3	1.36
PF(containing wood flour)	49-98	7.0-8.4	1.34-1.45
MF(containing wood flour)	70-112	7.8	1.47-1.52

Method A, Method B の手順で共沈温度 rt~90°Cで合成した各複合体の密度、機械的性質を Table 4 にまとめる。また、Method A、共沈温度 50°Cで、CMC の濃度を 0.8~13.2 g/L で合成した各複合体の密度、機械的性質を Table 5 にまとめる。

Table 4. Effects of the coprecipitation protocols and temperature on Mechanical Properties of the Composites

Method	A	A	A	A
Coprecip. temp. (°C)	rt	50	70	90
$d_{\text{obs.}}$ (g/cm ³)	1.71 ± 0.02	1.61 ± 0.01	1.67 ± 0.03	1.640 ± 0.008
$d_{\text{obs.}}/d_{\text{calc.}}$ (%)	72	67	68	68
ϵ_b (%)	0.62 ± 0.04	2.50 ± 0.09	1.96 ± 0.06	2.11 ± 0.08
σ_b (MPa)	9.6 ± 0.3	76 ± 2	62 ± 5	61 ± 3
E_{b2} (GPa)	1.7 ± 0.1	4.9 ± 0.2	5.3 ± 0.5	5.3 ± 0.4
G_f (MJ/m ³)	0.029 ± 0.001	0.71 ± 0.05	0.44 ± 0.03	0.4654 ± 0.007
n	3	5	6	4
Method	B	B	B	B
Coprecip. temp. (°C)	rt	50	70	90
$d_{\text{obs.}}$ (g/cm ³)	1.79 ± 0.02	1.768 ± 0.005	1.69 ± 0.02	1.72 ± 0.009
$d_{\text{obs.}}/d_{\text{calc.}}$ (%)	75	73	70	71
ϵ_b (%)	0.68 ± 0.08	0.91 ± 0.04	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.1
σ_b (MPa)	15 ± 2	27 ± 2	57 ± 7	59 ± 5
E_{b2} (GPa)	2.36 ± 0.06	3.60 ± 0.02	5.1 ± 0.6	4.7 ± 0.3
G_f (MJ/m ³)	0.05 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.39 ± 0.06	0.42 ± 0.05
n	3	3	4	6

Table 5. Effects of the Polymer Concentrations on Mechanical Properties of the Composites

PC (g/L)	0.8	1.6	3.3	6.6	9.9	13.2
$d_{\text{obs.}}$ (g/cm ³)	1.81 ± 0.04	1.66 ± 0.03	1.65 ± 0.01	1.74 ± 0.02	1.81 ± 0.02	1.83 ± 0.01
$d_{\text{obs.}}/d_{\text{calc.}}$ (%)	74	68	68	72	76	77
ϵ_b (%)	0.89 ± 0.1	1.94 ± 0.06	2.25 ± 0.1	1.74 ± 0.07	2.56 ± 0.06	2.30 ± 0.1
σ_b (MPa)	24 ± 2	50 ± 3	71 ± 2	93 ± 3	113 ± 2	100 ± 4
E_{b2} (GPa)	3.3 ± 0.01	4.5 ± 0.2	5.8 ± 0.2	7.0 ± 0.3	7.7 ± 0.3	7.4 ± 0.3
G_f (MJ/m ³)	0.09 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.58 ± 0.05	0.77 ± 0.04	1.1 ± 0.01	0.88 ± 0.06
n	3	4	4	5	5	5

4. 結言

本研究では、より優れた強度、弾性率、靱性をもつ骨模倣バイオマス複合体の合成を目指し、森林資源から豊富に得られ、かつ、カルボキシ基を多く持つ親水性直鎖状高分子であるカルボキシメチルセルロース (CMC) と骨の無機主成分であるヒドロキシアパタイト (HAP) を共沈複合化した。

共沈複合化における共沈手順、共沈温度、また高分子濃度 (PC) によって複合体の機械的性質がどのように変化するかを明らかにすることを目指し、 $\text{CMC} + \text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^-$ 水溶液に Ca^{2+} 水溶液を加える Method A、 $\text{CMC} + \text{Ca}^{2+}$ 水溶液に PO_4^{3-} 、 OH^- 水溶液を加える Method B の両方の共沈手順により、それぞれ共沈温度を室温、50、70、90 °C で複合化を行った。また、Method A、共沈温度 50 °C の条件で、PC: 0.8, 1.6, 3.3, 6.6, 9.9, 13.2 g/L でそれぞれ CMC と HAP を共沈複合化した。共沈手順、共沈温度、CMC の濃度は、いずれも、複合化に大きな影響を与え、成形体の機械的性質も変化した。Method A、B を比較すると、収率は、各共沈温度において Method A で得られたものの方が高く、共沈温度を高くするほど、Method A、B ともに、収率は低下した。また、PC を高くするほど、収率は高くなった。

熱重量分析により無機重量分率を (IC) を求めたところ、Method A、B ともに、共沈温度を高くするほど IC は高くなった。また、PC を高くするほど、IC は低下した。X 線回折により各複合体中の HAP の *c* 軸方向の結晶子サイズとアスペクト比 (*c/a*) を求めたところ、Method A、B ともに、共沈温度が高くなるほど、HAP の結晶子サイズは大きくなった。また、各共沈温度において、Method B よりも Method A の方が結晶子サイズは大きくなった。アスペクト比 (*c/a*) は、Method A では共沈温度 50 °C、Method B では 70 °C のときに最大になったことから、Method B より Method A の方が、CMC のアニオン性のカルボキシ基と HAP の正に帯電した *a* 面が相互作用を形成して複合化することがわかった。また、PC: 3.3~9.9 g/L のときに最もアスペクト比が増大したことから、CMC 高分子鎖の濃度が低すぎると、CMC 上での HAP の結晶核生成が起こりにくい、CMC 濃度が高すぎると、CMC 高分子鎖同士が会合するので、結晶核生成に有効なカルボキシ基の数が減少し、適切な CMC 濃度のときに、CMC 高分子鎖表面で HAP が結晶成長しやすくなることがわかった。

各複合体粉末を 120 °C、120 MPa で一軸加圧により角柱型の成形物を用意し、三点曲げ試験により各複合体成形物の機械的性質を求めたところ、Method A、B を比較すると、Method A、共沈温度 50 °C のときに最も高い機械的性質を示した。また、Method A、50 °C で得られた複合体成形物の三点曲げ試験後の破面は、その他条件のものとは比べて、最も破面に凹凸が少なく、より CMC と HAP が分子レベルで均一に複合化されたことがわかった。このことから、CMC と PO_4^{3-} 、 OH^- が均一に溶解し、適切な温度で Ca^{2+} を加えることで有機-無機界面相互作用を保ちながら HAP を十分に結晶成長できることがわかった。以上のように、共沈手順は、共沈時の CMC の会合状態やコンフォーマーの分

布、共沈温度は、不均一核生成と均一核生成の割合、CMC と HAP の結合、CMC の会合状態、CMC 濃度は、CMC の会合状態、不均一核生成と均一核生成の割合などに影響を与えることで、複合体の機械的性質に関連することが示された。Method A、50°C、PC: 9.9 g/L で得られた複合体は、本研究において最も優れた機械的性質を示した。その複合体成形物の破面は、TEMPO 酸化セルロースナノファイバーTCNF のように、やや凹凸があり、より非脆性的であった。これらのことから、複合体の機械的性質をさらに向上させるには、有機-無機界面相互作用の形成のみならず、高分子同士の適切な会合も必要であることがわかった。

本研究で得られた複合体は、地球上に豊富な森林資源と鉱物資源から得られる CMC と HAP から構成されており、かつ、簡易な共沈複合化、熱間一軸加圧成形で得られ、かつ、人や環境に与える負荷も小さい。それにも関わらず、皮質骨の骨幹軸方向に対して並行に加わるときに示す機械的性質や、ポリメタクリル酸メチルやナイロン 66 の曲げ強度、ガラス繊維強化ナイロン 6 の弾性率に匹敵、また、凌駕する機械的性質を示した。以上のことから、本研究で得られた CMC-HAP 複合体は従来の高強度材料に代わる新規のバイオマス材料としての利用が期待できる。また、本研究で得られたより優れた機械的性質をもつ骨模倣複合体を合成するための複合プロセスは、その他の有機高分子に応用可能であるため、骨の模倣による高靱性複合材料の開発のさらなる発展につながるものと考えられる。

5. 参考文献

- [1] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Aoyama, Y. Coprecipitation of tapioca starch and hydroxyapatite. Effects of phosphorylation of starch on mechanical properties of the composites. *Results Mater.* 2019, 3, No. 100035.
- [2] Okuda, K.; Mizutani, T.; Hirota, K.; Hayashi, T.; Zinno, K. Nonbrittle Nanocomposite Materials Prepared by Coprecipitation of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers and Hydroxyapatite. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2021, 9, 158–167.
- [3] Albert, C. I.; Jameson, J.; Harris, G. Design and validation of bending test method for characterization of miniature pediatric cortical bone specimens. *Proc. Inst. Mech. Eng., Part H: J. Eng. Med.* 2013, 227, 105–113.
- [4] Heinze, T.; Koschella, A. Carboxymethyl ethers of cellulose and starch - A review. *Macromol. Symp.* 2005, 223, 13–39.
- [5] Kamel, S.; Ali, N.; Jahangir, K.; Shah, S. M.; El-Gendy, A. A. Pharmaceutical significance of cellulose: a review. *eXPRESS Polym. Lett.* 2008, 2, 758–778.
- [6] Chang, C.; Zhang, L. Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. *Carbohydr. Polym.* 2011, 84, 40–53.
- [7] Rahman, M. S.; Hasan, M. S.; Nitai, A. S.; Nam, S.; Karmakar, A. K.; Ahsan, M. S.; Shiddiky,

M. J. A.; Ahmed, M. B. Recent developments of carboxymethyl cellulose. *Polymers* 2021, 13, 1345.

[8] Salama, A. Cellulose/calcium phosphate hybrids: New materials for biomedical and environmental applications. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, 127, 606–617.

[9] Wise, E. R.; Maltsev, S.; Davies, M. E.; Duer, M. J.; Jaeger, C.; Loveridge, N.; Murray, R. C.; Reid, D. G. The Organic-Mineral Interface in Bone Is Predominantly Polysaccharide. *Chem. Mater.* 2007, 19, 5055–5057.

[10] Fujisawa, R.; Tamura, M. Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front. Biosci.* 2012, 17, 1891–1903.

[11] Morimune-Moriya, S.; Kondo, S.; Sugawara-Narutaki, A.; Nishimura, T.; Kato, T.; Ohtsuki, C. Hydroxyapatite formation on oxidized cellulose nanofibers in a solution mimicking body fluid. *Polym. J.* 2015, 47, 158–163.

[12] Embery, G.; Rees, S.; Hall, R.; Rose, K.; Waddington, R.; Shellis, P. Calcium- and hydroxyapatitebinding properties of glucuronic acid-rich and iduronic acid-rich glycosaminoglycans and proteoglycans. *Eur. J. Oral Sci.* 1998, 106, 267–273.

[13] Coleman, R. J.; Jack, K. S.; Perrier, S.; Grondahl, L. Hydroxyapatite Mineralization in the Presence of Anionic Polymers. *Cryst. Growth Des.* 2013, 13, 4252–4259.

[14] Brennan-Speranza, T. C.; Conigrave, A. D. Osteocalcin: An Osteoblast-Derived Polypeptide Hormone that Modulates Whole Body Energy Metabolism. *Calcif. Tissue Int.* 2015, 96, 1–10.

[15] George, A.; Veis, A. Phosphorylated Proteins and Control over Apatite Nucleation, Crystal Growth, and Inhibition. *Chem. Rev.* 2008, 108, 4670–4693.

[16] Tracy, R. P.; Shull, S.; Riggs, B. L.; Mann, K. G. The osteonectin family of proteins. *Int. J. Biochem.* 1988, 20, 653–660.

[17] Morgan, S.; Poundarik, A. A.; Vashishth, D. Do Non-collagenous Proteins Affect Skeletal Mechanical Properties? *Calcif. Tissue Int.* 2015, 97, 281–291.

[18] Fantner, G. E.; Adams, J.; Turner, P.; Thurner, P. J.; Fisher, L. W.; Hansma, P. K. Nanoscale Ion Mediated Networks in Bone: Osteopontin Can Repeatedly Dissipate Large Amounts of Energy. *Nano Lett.* 2007, 7, 2491–2498.

[19] Poundarik, A. A.; Diab, T.; Sroga, G. E.; Ural, A.; Boskey, A. L.; Gundberg, C. M.; Vashishth, D. Dilatational band formation in bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012, 109, 19178–19183.

[20] Olszta, M. J.; Cheng, X.; Jee, S. S.; Kumar, R.; Kim, Y.; Kaufman, M. J.; Douglas, E. P.; Gower, L. B. Bone structure and formation: A new perspective. *Mater. Sci. Eng. R* 2007, 58, 77–116.

[21] Yano H.; Omura H.; Honma Y.; Okumura H.; Sano H.; Nakatsubo F., Designing cellulose nanofiber surface for high density polyethylene reinforcement, *Cellulose* 2018, 25, 3351-3362.

[22] Kusakabe A.; Hirota K.; Mizutani T., Crystallisation of hydroxyapatite in phosphorylated

poly(vinyl alcohol) as a synthetic route to tough mechanical hybrid materials, *Mater. Sci. Eng.* 2017, C 70, 487–493.

[23] Moussa, I.; Khiari, R.; Moussa, A.; Belgacem, N. M.; Mhenni, F. M. Preparation and Characterization of Carboxymethyl Cellulose with a High Degree of Substitution from Agricultural Wastes. *Fibers and Polymers* 2019, 20, 933-943.

[24] Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites. *Am. Mineral.* 1989, 74, 870–876.

[25] Peters, F.; Schwarz, K.; Epple, M. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochim. Acta* 2000, 361, 131–138.

[26] Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Numamoto, Y. Enhanced toughness of hydroxyapatite–poly(ethylene terephthalate) composites by immersion in water. *Mater. Adv.* 2021, 2, 5691–5703.

[27] Kawasaki, T.; Niikura, M.; Kobayashi, Y. Fundamental study of hydroxyapatite high-performance liquid chromatography. III. Direct experimental confirmation of the existence of two types of adsorbing surface on the hydroxyapatite crystal. *J. Chromatogr. A* 1990, 515, 125–148.

[28] Sato, K.; Kogure, T.; Kumagai, Y.; Tanaka, J. Crystal Orientation of Hydroxyapatite Induced by Ordered Carboxyl Groups. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, 240, 133–138.

[29] Rhee, S.-H.; Tanaka, J. Effect of Chondroitin Sulfate on the Crystal Growth of Hydroxyapatite. *J. Am. Ceram. Soc.* 2000, 83, 2100–2102.

[30] Zeid, E. F. A.; Ibrahem, A. I.; Ali, M. A.; Mohamed, A.A. W. The effect of CdO content on the crystal structure, surface morphology, optical properties and photocatalytic efficiency of p-NiO/n-CdO nanocomposite. *Results in Physics* 2019, 12, 562–570.

[31] Sha, Z. D.; Quek, S. S.; Pei, Q. X.; Liu, Z. S.; Wang, T. J.; Shenoy, V. B.; Zhang, Y. W. Inverse Pseudo Hall-Petch Relation in Polycrystalline Graphene. *Scientific Reports* 2013, 4, 5991.

[32] Lee, H.; Yamaguchi, K.; Nagaishi, T.; Murai, M.; Kim, M.; Wei, K.; Zhang, K. Q.; Kim, S. I. Enhancement of mechanical properties of polymeric nanofibers by controlling crystallization behavior using a simple freezing/thawing process. *RSC Adv.* 2017, 7, 43994–44000.

[33] Purasuchikku Dokuhon 22nd ed. 2019 (PLASTICS AGE Co. Ltd.).

第7章. 総括

本論文では、人や環境に優しく、かつ、優れた機械的性質を持つ材料の開発を目指し、高靱性バイオマス複合体である骨のナノ構造やその生成機構から着想を得て、様々な有機高分子と骨の主成分ヒドロキシアパタイト (HAP: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) を共沈複合化した。

第2章では、タピオカデンプン (TS)、また、リン酸化タピオカデンプン (PTS) と HAP の共沈複合化を行った。TS と比べて、PTS-HAP 複合体の方が収率は高く、無機重量分率 IC も仕込み無機重量分率 IC_{feed} に近い値をとり、そして、HAP の結晶子サイズも低下したことから、高分子のリン酸基が効率的な共沈殿に寄与し、HAP の結晶成長を制御することがわかった。また、複合体の機械的性質も、TS-HAP 複合体よりも PTS-HAP 複合体の方が高く、かつ、IC の増大に伴って弾性率も増大し、複合体の混合の法則を最も満たしたことから、高分子のリン酸基が HAP と結合を形成し、機械的性質を向上させることがわかった。また、TS、PTS の両方において、非糊化状態で共沈複合化された複合体よりも、糊化状態で得られた複合体の方が機械的性質は向上した。このことから、高分子と HAP の接触表面積が大きくなるほど、複合体の機械的性質も向上することがわかった。PTS-HAP 複合体の曲げ強度は最高 37 MPa 程度であり、実際の皮質骨と比べると、その強度は圧倒的に低い。しかし、これらの PTS-HAP 複合体は、室温という低い共沈温度で合成されている。第3章の TEMPO 酸化セルロースナノファイバー (TCNF) や第4章のカルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET)、第6章のカルボキシメチルセルロース (CMC) は、共沈温度を高くすることで、その曲げ強度が向上している。ゆえに、PTS-HAP 複合体についても、共沈温度をより高くすることで、その曲げ強度をさらに向上されるものと考えられる。また、リン酸化度や、共沈時の高分子濃度などはもちろん、デンプンのアミロペクチン/アミロース重量分率によっても、複合体の機械的性質の向上は期待できる。アミロペクチンは分岐構造であるのに対して、アミロースは直鎖構造をとる。骨の有機主成分であるコラーゲンも直鎖の繊維構造であることから、よりアミロース含有率の高いデンプン (小麦やくず、サゴなど) と HAP を共沈複合化することで、より高い機械的性質をもつ複合体の合成も期待できる。デンプンは、セルロースやキチン・キトサンと同様、地球上に豊富に存在するバイオマス資源の1つである。しかし、セルロースやキチン・キトサンと異なり、デンプンは可食な多糖類である。そのため、これらの複合体は、食品添加物などとしての応用も可能である。一方、これからの世界レベルでの食糧危機の可能性を考えると、構造材料として利用することに懸念も生じる。しかし、セルロースやキチン・キトサンを水溶液に溶解するためには、特別な化学修飾や塩基、また酸を用いる必要がある。しかし、デンプンの場合、熱水のみで容易に水溶液中で膨潤・溶解できるため、HAP との共沈複合化が容易である。また、デンプンがもつ分岐構造は、セルロースやキチン・キトサンでは得られない柔軟性や熱可塑性、成形性の付与など、様々な可能性を秘めている。ま

た、糊化デンプンも、室温で放冷することで、再び室温では水に不溶な非糊化デンプンに戻る。このような熱応答性を利用した、スイッチ型生分解性材料など、様々な応用展開が期待できることが示された。

第3章では TCNF と HAP を共沈複合化した。第2章の PTS と異なり、TCNF は骨の有機主成分であるコラーゲン同様、繊維構造をとるため、さらなる HAP との結合・配向及び複合体の機械的性質の向上を目指した。 Ca^{2+} カチオンを TCNF と PO_4^{3-} の水分散液に加える Method A、 PO_4^{3-} アニオンを TCNF と Ca^{2+} の水分散液に加える Method B の両方の共沈手順を室温、40、70、90 °C で行った。また、それぞれ IC_{feed} : 70、90 wt% の2種類の複合体を合成した。Method A では *a* 軸方向の結晶成長が制御されており、TCNF のカルボキシ基と HAP の *a* 面が有機-無機界面相互作用を形成しやすいことがわかった。 IC_{feed} : 90 wt% より 70 wt% のときの方が、複合体の IC は IC_{feed} に近い値をとったことから、あまりにも TCNF に対して HAP を多くしすぎると、有機と無機を均一に分散して複合化することが難しくなることがわかった。最も高い曲げ強度と弾性率、破壊エネルギーを示した IC_{feed} : 70 wt%、Method A、共沈温度 70 °C で得られた TCNF-HAP 複合体について、その破面の SEM 写真を比較すると、第2章の分岐構造の PTS-HAP 複合体と比べて、TCNF と HAP の複合体の破面は非脆性的であり、TCNF の繊維構造が HAP 複合体の靱性を向上させることを見出した。さらに、Method A で合成された複合体の破面には、長さ約 140 μm の TCNF の積層構造が確認され、高い配向性を示した。このことから、Method A では結晶性複合化 (Crystalline hybridization)、Method B では非晶性複合化 (Amorphous hybridization) を起こりやすいことがわかった。TCNF の構造を制限することなく HAP と共沈できる Method A、TCNF と HAP を分離させることなく均一に複合化できる IC_{feed} : 70 wt%、TCNF の繊維構造や有機-無機界面の結合を保ちながら HAP を十分に結晶成長できる共沈温度 70 °C のときに最も靱性の高い複合体が形成された。TCNF-HAP 複合体は、環境に低負荷な素材からなるにも関わらず、石油由来プラスチックである ABS 共重合樹脂の曲げ強度、PMMA の弾性率をもつため、新規のバイオマス機械材料としての利用が期待できるが、その機械的性質は皮質骨の強度や弾性率には至っていない。本研究で得られた複合体成形物は、TCNF-HAP 複合体が異方的に配向するような操作は行っておらず、平均化した力学的な性質が測定されていると考えられる。ゆえに、積層成形や、エレクトロスピンニング法によって複合体に骨のような機械的異方性を付与すれば、皮質骨に匹敵、あるいはそれを凌駕する機械的性質をもつ複合体成形物が得られることが期待できることが示された。

第4章では、カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレート (CPET) と HAP を共沈複合化した。本研究では、骨の有機主成分であるコラーゲン繊維が親水性基・疎水性基の両方をもつことに着目し、疎水性ポリエステル骨格と親水性カルボキシ基の両方をも

つ CPET と HAP を複合化することで、骨のように高い耐水性をもつ材料の開発を目指した。共沈/熟成温度が高いものほど、収率が低く、かつ、熱分解温度もより低下したことから、より高い共沈/熟成温度では、CPET 主鎖のエステル結合が加水分解を受け、重合度が低下していることがわかった。また、XRD の結果、90°C/90°C、IC_{feed}: 50 wt% の複合体が最も HAP のアスペクト比 (c/a) が小さく、かつ、加水分解を受けて自由度が高くなっているにも関わらず、FT-IR で得られた 1720-1725 cm^{-1} のエステル伸縮ピークの FWHM が小さかった。このことから、より高い共沈/熟成温度、適切な有機/無機重量比で共沈複合化することで、最も CPET と HAP は均一に複合化され、CPET のカルボキシ基と HAP の a 面の相互作用がより多く形成されることがわかった。実際に、これらの複合体は、低温度で共沈複合化されたものよりもその機械的性質が高く、かつ、複合材料の弾性率と各成分の体積分率が直線関係になるという混合の法則の式に最も則った。得られた複合体成形物を室温で 24 時間、または 37°C で 1 週間蒸留水に浸漬したところ、機械的性質は低下するものの、デンプンやセルロースの複合体と比べて、膨潤・崩壊することなく、高い耐水性を示した。特に 90°C/90°C、IC_{feed}: 50 wt% の複合体は、室温で 24 時間蒸留水に浸した後、逆に曲げ強度が向上した。37°C で 1 週間蒸留水に浸した後は、曲げ強度は低下したものの、構造を保ちながら柔軟性が付与され、破壊エネルギーが著しく向上した。さらに、三点曲げ試験によって脆性破壊されることなく、優れた靱性を示した。複合体を構造材料、または生体材料として実用化するには、機械的性質はもちろん、耐水性の高さが求められる。ポリマーの親水/疎水バランス及びその共沈複合化条件と複合体の機械的性質・耐水性の関係がより明確化されれば、CPET のみならず、HAP と複合化するポリマーをカルボキシメチル化やアシル化などの化学修飾によって親水/疎水バランスを調整し、これを最適な条件で HAP と共沈複合化することにより、さらに骨のように優れた靱性と耐水性を併せ持つ複合材料の開発が期待できることが示された。

第 5 章では、第 2 章で合成したリン酸化タピオカデンプンとヒドロキシアパタイトの複合体 (PTS-HAP 複合体) の耐水性向上を目的として、複合体のアシル化を行った。第 4 章の CPET と HAP の複合化同様、骨の有機主成分であるコラーゲン繊維の親水・疎水バランスをモデルにし、リン酸化タピオカデンプン PTS と HAP の複合体の余分なヒドロキシ基のみを選択的に疎水性アシル基に置換することで、複合体の耐水性向上を目指した。PTS-HAP 複合体粉末を DMSO 溶媒中、 K_2CO_3 存在下で酢酸ビニル、安息香酸ビニル、ラウリン酸ビニルと室温~120°C で反応させ、アセチル化、ベンゾイル化、ラウロイル化を行った。より高い温度でアシル化することにより、複合体の重量は増大し、無機重量分率 IC は低下した。IC の低下、すなわち、有機重量分率の増大から置換度 DS を算出したところ、各アシル化反応において、アシル化温度の高いものほど DS が大きくなった。また、アシル化前の IC の高いものほど、アシル化は進行しにくいことがわ

かった。120 °C、8 時間というアシル化条件においても、DS は 3 に達することがなかったことから、PTS と HAP を複合化してからこれをアシル化することで、HAP と相互作用を形成していない余分なヒドロキシ基のみを選択的にアシル化できた可能性が高い。FT-IR の結果、各アシル化複合体についてエステル基の伸縮振動ピークがアシル化反応の温度が高くなるほど増大したことから、確かに複合体はアシル化されたことがわかった。

アシル化後、複合体の曲げ強度や弾性率は低下したものの、柔軟性は向上し、浸水によって著しく膨潤することはなくなった。浸水後の機械的性質も比較的保たれ、特に、ラウロイル化複合体は浸水によって柔軟性が向上するなどの新しい機能を発現した。PTS と HAP は地球上に豊富に存在する植物資源と鉱物資源から得られ、カルボン酸ビニルの原料であるカルボン酸も植物から得ることができる。また、この複合体を合成してからアシル化することで HAP 表面と結合したまま、HAP 表面を疎水性コーティングするプロセスは、セルロースやアルギン酸、グルコマンナン、PVA など、ヒドロキシ基を有する高分子と HAP の複合体であれば応用可能である。よって、骨のように高靱性/高耐水性バイオマス材料開発のための新プロセスとして、応用が期待できる。

第 6 章では、セルロースとクロロ酢酸から得られるカルボキシメチルセルロース (CMC) と HAP の共沈複合化を行った。CMC の水溶性を活かし、有機層と無機層がより均一に分散し複合化された、より優れた強度、弾性率、靱性をもつ骨模倣バイオマス複合体の合成を目指した。第 3 章の TCNF と HAP の共沈複合化と同様に、共沈複合化における共沈手順、共沈温度、また高分子濃度 (PC) によって複合体の機械的性質がどのように変化するかを明らかにすることを目指し、 $\text{CMC} + \text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^-$ 水溶液に Ca^{2+} 水溶液を加える Method A、 $\text{CMC} + \text{Ca}^{2+}$ 水溶液に PO_4^{3-} 、 OH^- 水溶液を加える Method B の両方の共沈手順により、それぞれ共沈温度を室温、50、70、90 °C で複合化を行った。また、Method A、共沈温度 50 °C の条件で、PC: 0.8, 1.6, 3.3, 6.6, 9.9, 13.2 g/L でそれぞれ CMC と HAP を共沈複合化した。共沈手順、共沈温度、CMC の濃度は、いずれも、複合化に大きな影響を与え、成形体の機械的性質も変化した。Method A、B を比較すると、収率は、各共沈温度において Method A で得られたものの方が高く、共沈温度を高くするほど、Method A、B ともに収率が低下した。また、PC を高くするほど、収率は高くなった。IC は、Method A、B ともに、共沈温度を高くするほど高くなり、PC を高くするほど低下した。結晶子サイズは、Method A、B ともに、共沈温度が高くなるほど大きくなった。また、各共沈温度において、Method B よりも Method A の方が結晶子サイズは大きくなった。アスペクト比 (c/a) は、Method A では共沈温度 50 °C、Method B では 70 °C のときに最大になったことから、Method B より Method A の方が、CMC のアニオン性のカルボキシ基と HAP の正に帯電した a 面が相互作用を形成して複合化することがわかった。また、PC: 3.3~9.9 g/L のときに最もアスペクト比が増大したことから、CMC

高分子鎖の濃度が低すぎると、CMC 上での HAP の結晶核生成が起こりにくい、CMC 濃度が高すぎると、CMC 高分子鎖同士が会合するので、結晶核生成に有効なカルボキシ基の数が減少し、適切な CMC 濃度のときに、CMC 高分子鎖表面で HAP が結晶成長しやすくなることがわかった。機械的性質は、Method A、共沈温度 50 °C のときに最も高くなった。また、Method A、50 °C で得られた複合体成形物の三点曲げ試験後の破面は、その他条件のものとは比べて、最も破面に凹凸が少なく、より CMC と HAP が分子レベルで均一に複合化されたことがわかった。このことから、CMC と PO_4^{3-} 、 OH^- が均一に溶解し、適切な温度で Ca^{2+} を加えることで有機-無機界面相互作用を保ちながら HAP を十分に結晶成長できることがわかった。以上のように、共沈手順は、共沈時の CMC の会合状態やコンフォーマーの分布、共沈温度は、不均一核生成と均一核生成の割合、CMC と HAP の結合、CMC の会合状態、CMC 濃度は、CMC の会合状態、不均一核生成と均一核生成の割合などに影響を与えることで、複合体の機械的性質に関連することが示された。Method A、50 °C、PC: 9.9 g/L で得られた複合体は、本研究において最も優れた機械的性質を示した。その複合体成形物の破面は、TEMPO 酸化セルロースナノファイバーTCNF のように、やや凹凸があり、より非脆性的であった。これらのことから、複合体の機械的性質をさらに向上させるには、有機-無機界面相互作用の形成のみならず、高分子同士の適切な会合も必要であることがわかった。

本研究で得られた複合体は、地球上に豊富な森林資源と鉱物資源から得られる CMC と HAP から構成されており、かつ、簡易な共沈複合化、熱間一軸加圧成形で得られ、かつ、人や環境に与える負荷も小さい。それにも関わらず、皮質骨の骨幹軸方向に対して並行に加わるときに示す機械的性質や、ポリメタクリル酸メチルやナイロン 66 の曲げ強度、ガラス繊維強化ナイロン 6 の弾性率に匹敵、また、凌駕する機械的性質を示した。以上のことから、本研究で得られた CMC-HAP 複合体は従来の高強度材料に代わる新規のバイオマス材料としての利用が期待できる。また、本研究で得られたより優れた機械的性質をもつ骨模倣複合体を合成するための複合プロセスは、その他の有機高分子に応用可能であるため、骨の模倣による高靱性複合材料の開発のさらなる発展につながるものと考えられる。

以上の第 2~6 章の結果のとおり、植物由来、石油由来に関わらず、適切な有機高分子の直鎖構造、リン酸基やカルボキシ基の導入量、共沈温度、共沈時の高分子濃度、複合体の有機/無機重量分率、共沈の手順によって有機-無機界面相互作用はより形成され、複合体の機械的性質がより向上することがわかった。また、有機高分子の親水/疎水バランスが、HAP との結合と疎水性の付与を両立させ、耐水性を向上させることがわかった。本研究で得られた、複合体の機械的性質を向上させる有機高分子の構造、化学修飾、共沈プロセス、また、複合体の耐水性を向上させる有機高分子の親水

／疎水バランスや、親水性高分子-HAP 複合体のアシル化反応は、骨の模倣による高靱性バイオマス材料の新しい開発指針となることが期待できる。

謝辞

本研究を進めるにあたり、研究の計画と遂行に懇切丁寧なご指導とご鞭撻を賜り、また、研究者として、人間としての成長の機会を与えて頂いた同志社大学理工学部 水谷 義 教授に心より厚く御礼申し上げます。

学位論文審査において、副査として御指導をして頂きました、同志社大学理工学部 加藤 将樹 教授・古賀 智之 教授に深く感謝致します。

複合体の成形について助言頂きました同志社大学理工学部 廣田 健 教授、タピオカデンプン及びリン酸化タピオカデンプンを供給して頂き、かつ、デンプン-HAP 複合体のアシル化について助言頂きました三和澱粉工業株式会社の青山 安宏氏、TEMPO 酸化セルロースナノファイバーを供給して頂きました第一工業製薬株式会社の林 孝幸氏・神野 和人氏、カルボキシ基含有ポリエチレンテレフタレートを提供して頂きました互応化学工業株式会社の沼本 佑介氏に心より感謝致します。

本研究にご協力頂いた、生体機能化学研究室卒業生 Raphael Kim さん、川上 将平さん、川口 勇司 さん、中村 紗也佳 さん、原田 萌里 さん、金 鏡洙 さん、中村 美桂 さん、安澤 沙彩 さん、田野 達也 さん、吉満 啓紳 さん、佐野 裕大 さん、重政 凌亮 さん、松岡 慧悟 さん、ZHAO Yaoqi さん、尾崎 亮河 さん、楠 三奈さん、田付 綾音 さんに心より感謝いたします。

最後に、どんなときも私を全力で支えて下さった私の家族に心より感謝いたします。