(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2007 年11 月29 日 (29.11.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/136086 A1

(51) 国際特許分類:
C08L 67/04 (2006.01) *C08L 101/16* (2006.01)
C08K 7/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/060503

(22) 国際出願日: 2007 年5 月23 日 (23.05.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-143091 2006 年5 月23 日 (23.05.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人 九州大学 (KYUSHU UNIVERSITY, NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目１０番１号 Fukuoka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 近藤 哲男 (KONDO, Tetsuo) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目１０番１号 国立大学法人 九州大学内 Fukuoka (JP).

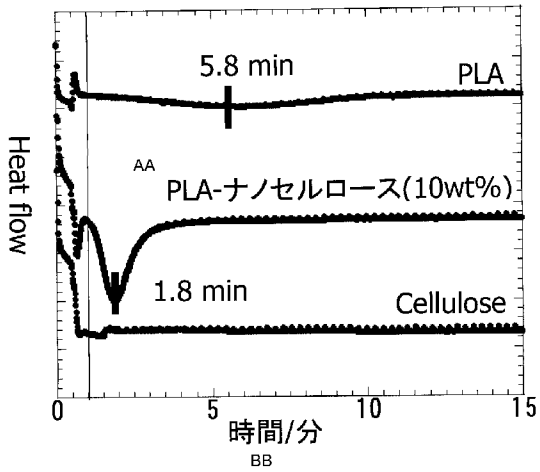
(74) 代理人: 社本 一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

[続葉有]

(54) Title: MATERIAL COMPRISING POLYLACTIC ACID AND CELLULOSE FIBER

(54) 発明の名称: ポリ乳酸とセルロース繊維とを含有する材料



AA PLA-NANOCELLULOSE (10 wt%)
BB TIME/MIN

(57) Abstract: Disclosed is a biodegradable resin composition comprising 75% by weight or more of polylactic acid, wherein the composition further comprises a cellulose nanofiber in an amount of 0.05 to 10% by weight based on the amount of polylactic acid. The cellulose nanofiber is preferably produced by the counter impact treatment of a cellulose, and more preferably produced by the counter impact treatment of a bacterial cellulose. A molded article manufactured using the resin composition has good molding processability and excellent heat resistance and strength, since the cellulose nanofiber has an activity of promoting the crystallization of polylactic acid.

(57) 要約: 本発明は、ポリ乳酸75重量%以上を含む分解性の樹脂組成物であって、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を含む、樹脂組成物を提供する。セルロースナノ繊維としては、セルロースを対向衝突処理して得られたものが好ましく、またバクテリアセルロースを対向衝突処理して得られたものである

[続葉有]

WO 2007/136086 A1

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

ことがさらに好ましい。本発明の樹脂組成物を用いて製造された成形加工品は、セルロースナノ繊維のポリ乳酸の結晶化を促進する作用により、成形加工性が良好であり、また耐熱性と強度とにおいて優れる。

明 細 書

ポリ乳酸とセルロース繊維とを含有する材料

技術分野

[0001] 本発明は、ポリ乳酸樹脂組成物及びその成形加工品に関する。より詳細には、セルロースを対向衝突処理することにより得られるセルロースナノ繊維を用いて、ポリ乳酸樹脂を改質する方法に関する。

背景技術

[0002] 高強度、低熱膨張率、高耐熱性で、幅50nm厚さ10nm程度のきわめて細いセルロースナノ繊維が、微生物の一種である酢酸菌により産生される。各菌体より産生されたナノ繊維は、すぐに三次元ネットワークを形成し、ペリクルと呼ばれる膜状物となる。

[0003] 最近、本発明者らが報告した水中対向衝突処理は、水中で天然繊維試料に高圧をかけて高速で対向衝突させることによって、試料表面から相互作用のみを開裂させ、簡便なナノ微細化を可能にする手法である(特許文献1)。処理自体はケミカルフリーかつ低エネルギーで行われる。この手法を上記のペリクルに適用すると、まずペリクルのネットワークが外れ、バクテリアセルロース(BC)ナノ繊維は、水中に分散することになる。その結果、その比表面積が高く、高い吸着力を発揮したセルロースナノ繊維(=ナノセルロース)が得られるものと期待される。現在、バクテリアセルロース(BC)ナノ繊維の用途としては、セルロースナノ繊維被膜で基材表面を被覆することにより、基材表面の改質に用いることなどが検討されている(特許文献2)。

[0004] 一方、米国において、合成高分子の代替材料として、ポリ乳酸の使用が自動車業界などでは半ば義務付けられている。しかし、構造材料としてポリ乳酸は、低い熱軟化点や「もろさ」等の致命的な欠点がある。このような欠点を補うべく、ミクロフィブリル化セルロースとポリ乳酸の複合化についての研究がなされ、ポリ乳酸単独の3倍以上の強度と弾性率を示したと報告されている(非特許文献1)。また、マトリックスとしてのポリ乳酸と補強材としての微結晶セルロースとを用いた生分解性の材料についての研究が報告されている(非特許文献2)。

特許文献1:特開2002-142796号公報

特許文献2:特願2006-25869号

非特許文献1:Yano, H. and Nakahara, S.: J. Mater. Sci., 39, 1635 (2004)

非特許文献2:A.P.Mathew, K.Oksman, M.Sain, J Appl Polym Sci. 97, 2014 (2005)

発明の開示

[0005] しかしながら、前者(非特許文献1)により得られる材料は、耐熱性が低いと考えられる。また後者(非特許文献2)では、充分な機械強度が得られていない。これは、セルロース繊維とPLA(ポリ乳酸)との界面の相互作用が充分ではないからであると考えられる。

[0006] 本発明者らが研究している水中対向衝突処理セルロースナノ繊維は、ただサイズがナノという小さいことばかりでなく、水中対向衝突のもう一つの効果である比表面積の向上された繊維である。そのため、前者の報告において用いられているミクロフィブリル化セルロースより比表面積が10^3倍以上高いと推察される。

[0007] そこで、本発明者は、水中対向衝突処理という独創的な手法を用いて調製したセルロースナノ繊維をポリ乳酸分子と複合化し、ポリ乳酸/セルロース繊維ナノコンポジットを容易に、かつ低エネルギーで創製することを試み、本発明を完成した。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図1は、100℃で保持したときの結晶化による発熱ピークを示したグラフである。

[図2]図2は、120℃で保持したときの結晶化による発熱ピークを示したグラフである。

[図3]図3は、120℃で保持したときの結晶化による発熱ピークを示したグラフである。

[図4]図4は、ポリ乳酸試料の結晶化の様子を示した偏光顕微鏡写真図である。

[図5]図5は、セルロースナノ繊維を添加したポリ乳酸試料の結晶化の様子を示した偏光顕微鏡写真図である。

発明の詳細な説明

[0009] 本発明は、ポリ乳酸75重量%以上を含む分解性の樹脂組成物であって、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%(例えば0.1～5重量%、0.5～2.5重量%)のセルロースナノ繊維を含む、樹脂組成物を提供する。セルロースナノ繊維は、セルロースを対向衝突処理して得られたものであることが好ましく、また、バクテリアセルロースを対向衝突処理して得られたものがさらに好ましい。

[0010] 本明細書でいう「ポリ乳酸」は、特別な場合を除き、乳酸単位の繰り返しを含むポリマーをいい、これには乳酸ホモポリマー、乳酸コポリマー(例えば、乳酸－ヒドロキシカルボン酸共重合体)、並びに乳酸ホモポリマー及び乳酸コポリマーの混合物であるポリマーブレンド又はポリマーアロイを含む。ポリ乳酸は、Ｌ－乳酸、Ｄ－乳酸、ＤＬ－乳酸、乳酸の環状2量体であるラクタイド乳酸又はそれらの混合物を原料として用いて製造することができる。また、乳酸コポリマーは、上記のＬ－乳酸等と、ヒドロキシカルボン酸として、グリコール酸、３－ヒドロキシ酪酸、４－ヒドロキシ酪酸、４－ヒドロキシ吉草酸、５－ヒドロキシ吉草酸、６－ヒドロキシカルボン酸、ヒドロキシカルボン酸の環状エステル中間体(例えば、グリコール酸の2量体であるグリコライド、６－ヒドロキシカプロン酸の環状エステルであるε－カプロラクトン)及びそれらの混合物を用いて製造することができる。

[0011] 本発明の「ポリ乳酸」は、生分解性を有し、かつ成形加工が可能であれば、特に用いられるポリ乳酸の割合、分子構成、分子量に制限はない。一般に、成型加工が可能であるためには、樹脂組成物中の樹脂成分の重量平均分子量は1～50万であり、より好ましくは3～40万であり、さらに好ましくは5～30万である。本発明には、重量平均分子量が13万であるものを好適に用いることができる。

[0012] 本発明の樹脂組成物においては、上記の分子量のポリ乳酸を、例えば75重量%以上含むようにすることができる。実質的に、ポリ乳酸及びセルロースナノ繊維のみからなるポリ乳酸含有樹脂組成物であって、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%(例えば0.1～5重量%、0.5～2.5重量%)のセルロースナノ繊維を含む樹脂組成物は、本発明の例である。また本発明の樹脂組成物には、ポリ乳酸及びセルロースナノ繊維以外に、従来の樹脂組成物に添加されるような種々の添加剤を添加してもよい。本発明においては、ポリ乳酸として、乳酸ホモポリマーを、特に好適に用いることができる。

[0013] 本明細書で単に「セルロース」というときは、特別な場合を除き、由来、製法、性状等に限定はなく、植物由来セルロース、バクテリアセルロース、動物由来セルロース、セルロース繊維、結晶セルロース等を含む。

[0014] 本明細書において「セルロースナノ繊維」というときは、平均幅及び平均厚みが100nm以下であるセルロース繊維をいう。セルロース繊維の平均幅及び平均厚みは、光

散乱装置、レーザー顕微鏡、電子顕微鏡等の当業者には周知の手法によって計測することができる。平均幅は、計測される長さのうち、長いほうのものを数点、例えば10～200点、好ましくは30～80点を測定し、その平均値をとったものである。平均厚みは、計測される長さのうち、短いほうのものを数点、例えば10～200点、好ましくは30～80点測定し、その平均値をとったものである。本発明において用いられるセルロースナノ繊維の好ましい例は、平均幅及び平均厚みが、バクテリアセルロースと同等か、それ以下（例えば平均幅25nm以下、好ましくは20nm以下、より好ましくは15nm以下、さらに好ましくは8～12nm）であり、平均厚み8～12nmである。

[0015] 本明細書でいう「バクテリアセルロース」は、特別な場合を除き、微生物が生産するセルロース（β－1，4－グルコシド結合を主たる結合形式とする多糖）をいい、特に示した場合を除き、ゲル状膜の形態のもの（ペリクル）を指す。バクテリアセルロースは、当業者にはよく知られた方法により、製造することができる。セルロース産生菌としては、アセトバクター キシリナム（Acetobactor xylinumあるいはGluconacetobactor xylinusとも呼ばれる）、アセトバクター パスツリアヌム（Acetobactor pasteurianum）、アセトバクター ランセンス（Acetobactor rancens）等の酢酸菌、サルシナ ベントキュリ（Sarcina ventriculi）、バクテリウム キシロイデス（Bacteirum xyloides）、シュードモナス（Pseudomonas）属菌、アグロバクテリウム（Agrobacterium）属菌等を用いることができる。用いる培養液及び培養条件等は、当業者であれば、適宜決定することができる。

[0016] 本明細書において、「対向衝突（処理）」というときは、特別な場合を除き、多糖類の分散液を一対のノズルから70～250MPaの高圧でそれぞれ噴射させると共に、その噴射流を互いに衝突させてセルロース繊維を粉砕する、湿式粉砕方法をいう。この方法の詳細は、特開2005－270891に開示されている。

[0017] 対向衝突処理は、超高圧水の衝突エネルギーを利用して、材料を超微粒化する湿式微粒化方法である。他の粉砕化方法、ビーズミル、ジェットミル、撹拌機、高圧ホモジナイザー等と比較し、様々な優れた利点を有する。例えば、粉砕媒体を使用しないため媒体の磨耗粉の混入がなく、また媒体攪拌式より均一でシャープな粒度分布が得られ、さらに連続処理、大容量化が容易、大気との接触時間が少なく、処理品の酸化を極力抑えることができる等の点を挙げることができる。

[0018] 対向衝突処理のための装置としては、高圧洗浄装置又は粉砕・分散・乳化等のための高圧ホモジナイザー装置を利用することができる。

[0019] 対向衝突処理の際、セルロースは水に懸濁される。セルロースは、必要に応じ、予め粉砕してもよい。懸濁液の分散濃度は、分散スラリーとして配管を通過するのに適当な濃度であることが好ましく、0.1～10質量%が好ましい。

[0020] 対向衝突処理においては、分散液を一対のノズルから70～250MPaの高圧でそれぞれ噴射させると共に、その噴射流を互いに衝突させて粉砕する。その処理においては、上記一対のノズルから噴射される分散液の高圧噴射流の角度を、噴射流同士が各々のノズル出口より先方の一点で適正な角度において衝合衝突するように調整するか、又は高圧流体の噴射回数を調整して粉砕回数を調整することにより、セルロース繊維の平均粒子長を1／4以下又は10μmにまで粉砕することができる一方で、セルロースの重合度の低下を抑制することもできる。

[0021] 衝合角度θとしては、95～178°、例えば、100～170°とすることができる。95°より小さい場合、例えば90°で衝合するようにすると、構造的に衝合分散液はチャンバーの壁部分に直接衝突してしまう部分が生じやすくなり、1回の衝突でセルロースの重合度の低下が10%を超えることが多くなる。一方、178°より大きい場合、例えば衝合が180°、すなわち正面対向して衝突させる場合には、その衝突のエネルギーが大きく、1回の衝突での重合度の低下が激しくなることがある。

[0022] また、衝突回数としては、1～200回、例えば、5～120回、～60回、～30回、～15回、～10回とすることができる。粉砕回数が多いと、セルロースの重合度の低下が10%を超えることがある。

[0023] 衝合角度及び／又は衝突回数は、セルロースの分解効率等を加味して、適宜設計することができる。衝合角度及び／又は衝突回数の調整により、衝突処理後のセルロースの平均粒子長が、処理前の1／4以下、1／5～1／100、1／6～1／50、1／7～1／20とすることができる。同様に、平均粒子長は、10μm以下、0.01～9μm、0.1～8μm、0.1～5μmとすることができる。セルロース繊維は、平均粒子長に対して直角方向に粒子幅が存在することになる。この幅を平均粒子幅というが、これも、衝合角度及び／又は衝突回数の調整により、10μm以下、0.01～9μm、0.1～8μmとする

ことができる。

[0024] 対向衝突処理は、回数を重ねるに従い、処理物の温度が上昇するので、一度衝突処理された後の処理物は、必要に応じ、例えば、4～20℃、又は5～15℃に冷却してもよい。対向衝突処理装置に、冷却のための設備を組み込むこともできる。

[0025] また、本発明において、処理物から特にセルロース繊維が細かくなった部分だけを取り出す方法として、例えば、遠心分離が挙げられる。処理物を遠心分離して、上澄みを分取することにより、平均粒子長1μm未満のセルロース微粒子を得ることができる。

[0026] なお、対向衝突処理していないバクテリアセルロース自体は、繊維がネットワークしたゲル上の強固な膜(ペリクル)を形成しており、PLAとは混合することができない。

[0027] 本発明に好適に用いるためには、セルロースナノ繊維は、数十ナノサイズの繊維であるとよい。水中対向衝突の回数をかえることによって、簡便に迅速にナノオーダーでの繊維幅をコントロールできる。通常、バクテリアセルロースについては5回以上の対向衝突で、ナノサイズまでセルロース繊維は微細化され、それ以上の回数の衝突は、微細化に加えて、表面状態の改質に寄与することとなる。繊維のサイズがナノオーダーであれば、そのサイズのみならず、水中対向衝突による繊維表面の毛羽立ち、即ち繊維表面の比表面積の増加が、得られる樹脂組成物に良好な成形加工性、耐熱性及び強度といった効果をもたらすと考えられる。

[0028] 対向衝突回数によりナノ繊維の比表面積を制御することができることから、ナノオーダーで幅を変えた種々の起源のセルロース繊維が本発明に適用可能である。例えば、バクテリアセルロース表面は、同じセルロース分子で構成されていても、集合状態が三斜晶(トリクリニック)のIα(アルファ)と呼ばれる結晶形態をとる。一方、植物由来の表面の分子の集合形態は、Iβ(ベータ)と呼ばれる単斜晶の結晶形態をとる。そのため、ナノ繊維におけるそれぞれの表面の性質が異なってくる。本発明に種々のセルロース繊維を適用する場合は、セルロース素材の起源によって表面特性が異なることを考慮するとよい。

[0029] 本発明の樹脂組成物は、ポリ乳酸とセルロースナノ繊維とを混合(ブレンド)することにより製造することができる。ポリ乳酸に対し、セルロースナノ繊維を均一に分散させ

るためには、通常、水の添加が必要である。水中対向衝突の段階で混合すれば、ナノ分散が可能となる。バクテリアセルロースとPLAのブレンド懸濁水を対向衝突で、細分化と同時にナノ分散させれば、均一な混合物が得られたかどうかは、そのまま目視で確認することができる。

[0030] 本発明の樹脂組成物におけるポリ乳酸とセルロースナノ繊維との混合比は、様々とすることができるが、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%（例えば0.1～5重量%、0.5～2.5重量%）のセルロースナノ繊維を添加することにより、後述するような効果を発揮することが可能である。対向衝突させて得られるセルロースナノ繊維表面は、ナノサイズの毛羽立ちに加えて、分子サイズ（サブナノメートルサイズ）の毛羽立ちも生じているため、それらをあわせた比表面積がおおきく、強力な吸着力を発揮しうる。そのため、ナノ繊維の効果が現れるのに、大きな添加量は、そもそも必要としないと思われる。他方、比較的多量（例えば10重量%を超える）のセルロースナノ繊維の添加は、200℃で樹脂組成物が完全溶融しないため、成型加工上の困難性が増す場合がある。多量の添加は、セルロースナノ繊維と相互作用していないポリ乳酸の領域のみが部分的に溶融するだけで、繊維と相互作用している領域は、その強い相互作用のため相溶性が高く、ポリ乳酸単独ではもはや結晶化できない領域となっていると推測される。すなわち、添加量を大きくするとセルロースナノ繊維の性質（300℃まで熱安定）に、より依存してくるものと推察される。このような点を考慮すると、多量のナノ繊維の添加により、従来のポリ乳酸とは異なる観点での強度（構造の熱安定性、ヤング率等）の提案が可能となる。

[0031] 本発明の樹脂組成物を用いて製造された成形加工品は、セルロースナノ繊維のポリ乳酸の結晶化を促進する作用により、成形加工性が良好であり、また耐熱性と強度とにおいて優れる。

[0032] 本発明者の検討によれば、100℃で保持した際のポリ乳酸の結晶化に基づく発熱ピークまでの時間（＝結晶化誘導時間）は、ポリ乳酸単体では5.8分であったが、ポリ乳酸に対して10重量%のセルロースナノ繊維を添加することにより1.8分まで短縮できた（実施例参照）。これは、セルロースナノ繊維がポリ乳酸に対して結晶核剤として働いたと考えられる。従来、ポリ乳酸の特性を十分に発現させるためには、結晶化のた

めの成形後のアニール処理が必要であり、生産性が低いという課題があった。すなわち、ポリ乳酸の結晶化はきわめて緩慢で、遅いものであり、成型加工ののちに製品化する段階でも、実は結晶化が終了していず、そのため期待通りの耐熱性を示すに至っていなかった。しかしながら、セルロースナノ繊維により、結晶化が迅速に進行すると、成型加工の段階で今まで以上に結晶化が促進され、より耐熱性の高い樹脂製品を得ることが可能となる。

[0033] 本発明の樹脂組成物を用いて製造された成形加工品の耐熱性は、加熱下での引張強度、荷重たわみ温度によって評価することができる。

[0034] さらに本発明者の検討では、本発明の樹脂組成物の溶融成型物の引張強度は、汎用プラスチックの引張強度に劣らなかった(実施例参照)。ポリ乳酸に対するマイクロ微結晶セルロースの混合比が高くなるにつれて、引張強度は低下したとの報告があるが(非特許文献2参照)、本発明においては、ポリ乳酸にセルロースナノ繊維を添加することで引張強度が増加しうる。この差違は、同じセルロースであっても、セルロースナノ繊維には、マイクロ微結晶セルロースとは異なったポリ乳酸との相互作用が存在することによると考えられる。

[0035] 本発明の樹脂組成物を用いて製造された成形加工品は、分解性に優れている。分解性(「生分解性」と表現されることもある。)は、有機材料に関し、特定の目的に使用している期間は目的に合致した材料特性を保持し、目的終了後又は廃棄後は、自然環境下又は生体内環境下において、脆弱化する機能をいう。分解性の評価は、当業者であれば適宜行うことができる。例えば、JIS K 6950(ISO 14851)プラスチック－水系培養液中の好気的究極生分解度の求め方(閉鎖呼吸計を用いる酸素消費量の測定による方法)、JIS K 6951(ISO 14852)、プラスチック－水系培養液中の好気的究極生分解度の求め方(発生二酸化炭素量の測定による方法)、JIS K 6953(ISO 14855)プラスチック－制御されたコンポスト条件下の好気的究極生分解度および崩壊度の求め方(発生二酸化炭素量の測定による方法)等によって評価することができる。

[0036] したがって、本発明は、ポリ乳酸に対して0.05～5重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の結晶化を促進する方法;ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ

乳酸含有樹脂組成物の耐熱性を向上する方法;ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の強度を向上する方法;並びにポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の成形加工性を改善する方法も提供する。

[0037] 本発明は本発明の樹脂組成物からなる、成形加工品を提供する。成形加工は、インフレーション成形、カレンダー成形、バルーン成形、ブロー成形、圧縮成形、射出成形、押出成形等、種々の工程により実施可能である。本発明の樹脂組成物は、上記のように、アニール処理のような特別な工程を用いることなしに、従来の汎用樹脂について適用される従来の成形サイクルで成形でき、かつ得られた成形加工品は、耐熱性に優れ、充分な強度を有している。したがって、本発明の成形加工品は、内装材、衝撃吸収材、汎用プラスチック、食品容器として用いることができる。また、バクテリアセルロースナノ繊維を用いた本発明の樹脂組成物は、バクテリアセルロースの生体適合性を生かした生体材料(再生医療足場など)への適用も期待できる。

実施例

[0038] 1. 方法

1.1 試料の調製

〔セルロースナノ繊維〕

アセトバクター キシリナム(Acetobactor xylinumあるいはGluconacetobactor xylinus)(生産菌株:ATCC 53582)を培養して(バクテリアセルロース培養のための培地の調製方法は、Hestrin, S. & Schramm, M. (1954) Biochem. J. 58, 345-352に従った。)得られたセルロースペリクルを、そのまま1cm角サイズに裁断して、水に懸濁させた後、対向衝突(使用機器 アルチマイザー(スギノマシン製)、圧力 200MPa、衝突回数 20回、懸濁液の固形濃度 約0.4%)に供することで、セルロースナノ繊維懸濁液を得た。

[0039] 得られた懸濁液を凍結乾燥し、セルロースナノ繊維として以下の引張実験及び熱分析(手順1)に用いた。

[0040] また、衝突回数を60回としたことを除いて、上記と同様の方法によってセルロースナ

ノ繊維懸濁液を調製し、熱分析(手順2)に用いた。

[0041] 〔引張試験用〕

以下の手順で調製した。粉末ポリ乳酸は、数平均分子量9万、重量平均分子量13万のもの(ユニチカ製、製品名テラマック)を用いた。

[0042] (1) 粉末ポリ乳酸に対向衝突処理で得たセルロースナノ繊維(ポリ乳酸に対して1重量%)を加える。

[0043] (2) 脱イオン水を加え、粉末ポリ乳酸とセルロースナノ繊維をよく混ぜる。

[0044] (3) 105℃乾燥により試料から水分除去する。

[0045] (4) 試料を200℃で溶融させ、金枠で成型する。

[0046] (5) 成型物を水冷し、試験片を得る。

[0047] (6) 引張試験器により引張強度を測定する。

[0048] 〔熱分析用〕

以下の二つの手順で調製した。

[0049] 手順1

(1) 粉末ポリ乳酸と脱イオン水、対向衝突処理で得たセルロースナノ繊維(ポリ乳酸に対して10重量%)をよく振り混ぜる。

[0050] (2) 液体窒素で試料を急速凍結する。

[0051] (3) 凍結した試料を凍結乾燥する。

[0052] (4) 乾燥した試料をDSCにより熱分析する。

[0053] 手順2

ポリ乳酸粉末2gにセルロースナノ繊維懸濁液を、ナノセルロース繊維の重量が0.2g又は0.02gになるように加えた。次いで、それぞれに脱イオン水を400mL加え、20000rpmで1分間、高速ホモジナイザーで懸濁させた。この懸濁液を3000rpmで10分間遠心分離を行い、沈殿物を回収し、40℃で乾燥させ、ポリ乳酸とナノセルロースとの比率(重量)が、10:1及び100:1(ポリ乳酸:ナノセルロース)の試料を得た。

[0054] また、比較として、セルロースナノ繊維に代えて、高分子の改質添加剤として汎用されているタルクを添加した試料を以下のようにして調製した。

[0055] ポリ乳酸粉末2gにタクル(和光純薬工業株式会社製)0.2g又は0.02gを加えた。次い

で、それぞれに脱イオン水を400mL加え、そして、20000rpmで1分間、高速ホモジナイザーで懸濁させた。得られた懸濁液を3000rpmで10分間遠心分離を行い、沈殿物を回収し、40℃で乾燥させ、ポリ乳酸とタクルとの比率が、10:1又は100:1(ポリ乳酸:タクル)である二つの比較試料を調製した。

[0056] 1.2 引張強度試験

ストログラフE-S(東洋精機製作所製)を用いて、試験片(厚さ0.8 mm 幅4-5 mm 長さ: 6-7 mm)の引張強度を測定した。試料の引張速度は、5 mm/minで行った。

[0057] 1.3 結晶化に由来する発熱ピークが表れるまでの時間(=結晶化誘導時間)

DSCを用いて、上記手順1で調製した試料を200℃で5分間保持した後に、200℃/minで100℃まで降温し、100℃における結晶化誘導時間を測定した(図1参照)。

[0058] また、上記手順2で調製した試料及び比較試料をDSC(PERKIN ELMER / DSC7)用のサンプルパンに約2±0.1 mg入れ、それを3個ずつ用意した。これらのサンプルパンを用いて、DSCで、200℃で3分間保持した後に、200℃/minで120℃まで降温し、15分間等温結晶化を行い、120℃における結晶化誘導時間を測定した(ポリ乳酸:ナノセルロース及びポリ乳酸:タルクが100:1の試料については図2、10:1の試料については図3を参照)。

[0059] 結晶化誘導時間とは、等温結晶化を行ったときに結晶化に基づく発熱ピークが表れるまでの時間をさす。結晶化誘導時間が短いほど、ポリ乳酸は、結晶化しやすいことを示しており、結晶化のしやすさは、ポリ乳酸の成形速度や耐熱性の向上に繋がる。

[0060] 2. 結果と考察

2.1 引張強度

表1では、本実験で用いたポリ乳酸、ポリ乳酸/セルロースナノ繊維コンポジットと汎用プラスチック、ポリ乳酸/マイクロ微結晶セルロースコンポジットの引張強度を比較している。表1が示すように、ポリ乳酸に対するマイクロ微結晶セルロースの混合比が高くなるにつれて、引張強度は低下している。しかしながら、本実験においては、ポリ乳酸にセルロースナノ繊維を添加することで引張強度が増加した。このことは、同じセルロースであっても、セルロースナノ繊維には、マイクロ微結晶セルロースとは異なった

ポリ乳酸との相互作用が存在することを示唆している。また、汎用プラスチックの引張強度と比較しても、ポリ乳酸/セルロースナノ繊維コンポジットの引張強度は、それらに劣らない強度を有している。

[0061] [表1]

表1. 本実験で用いたポリ乳酸、ポリ乳酸/ナノセルロースと汎用プラスチック、ポリ乳酸/マイクロ微結晶セルロースの引張強度の比較

			引張強度 / MPa
本実験（最大値）	ポリ乳酸(PLA)		46.7
	PLA-ナノセルロース(1wt%)		49.3
文献値	‡PLA-マイクロ微結晶セルロース(0%)		49.6
	‡PLA-マイクロ微結晶セルロース(10%)		38.2
	‡PLA-マイクロ微結晶セルロース(15%)		37.8
	‡PLA-マイクロ微結晶セルロース(25%)		36.2
	*汎用	PET	56.8
		PS	47.0
		PP	30.3
		PE	11.8

‡A.P.Mathew, K.Oksman, M.Sain, J Appl Polym Sci.(2005),97,2014
*「ポリ乳酸グリーンプラスチックの開発と応用」(株) フロンティア出版
PET:ポリエチレンテレフタレート、PS:ポリスチレン、
PP:ポリプロピレン、PE:ポリエチレン

2.2 結晶化誘導時間

結果を図1～図3に示した。

[0062] 図1に示されるように、100℃で保持した際のポリ乳酸の結晶化に基づく発熱ピークまでの時間(＝結晶化誘導時間)は、ポリ乳酸単体では5.8分であったが、セルロースナノ繊維を添加することにより1.8分まで短縮できた。これは、セルロースナノ繊維がポリ乳酸に対して結晶核剤として働いたと考えられる。従来、ポリ乳酸の特性を十分に発現させるためには、結晶化のための成形後のアニール処理が必要であり、生産性が低いという課題があった。この点について、本実験結果は、セルロースナノ繊維に

よってポリ乳酸の結晶化が促進され、アニール時間を大幅に短縮でき、生産性が改善できることを示唆している。また、ポリ乳酸の結晶化が促進されることで、耐熱性も向上すると推測される。

[0063] 図2及び図3に示されるように、120℃保持した際の結晶化誘導時間は、ポリ乳酸に対して1重量%のセルロースナノ繊維を添加した試料では平均1.9分、10重量%のセルロースナノ繊維を添加した試料では平均1.5分であった。これは、いずれも、比較としたタルク添加試料より短時間であった。なお、図2及び図3において、それぞれ、(1)～(3)がセルロースナノ繊維添加試料の発熱挙動を示したものであり、(4)～(6)がタルク添加試料の発熱挙動を示したものである。

[0064] 3. ポリ乳酸結晶化挙動の観察

ポリ乳酸のみの試料、及びセルロースナノ繊維(圧力を100MPa、衝突回数を5回としたことを除いて、上記と同様の方法によって作製したセルロースナノ繊維懸濁液を乾燥して得た)をポリ乳酸に対して1重量%添加して調製した試料について、結晶化挙動の観察を行なった。

[0065] ポリ乳酸のみの試料及びセルロースナノ繊維を添加した試料を、それぞれ200℃で溶融させた後、120℃で等温結晶化させた。そして、等温結晶化が始まってから一分おきに、結晶化の様子を偏光顕微鏡で撮影した。図4及び図5に撮影した写真を示す(図中、各写真右下のバーは100μmのスケールである)。図4及び図5が示すように、セルロースナノ繊維を添加した試料(図5)は、ポリ乳酸のみの試料(図4)よりも結晶形成が早く行われている。これは、セルロースナノ繊維がポリ乳酸の結晶核剤として機能し、ポリ乳酸の結晶化速度を向上させていることを意味している。

[0066] 4. 結論

対向衝突処理で得たセルロースナノ繊維をポリ乳酸とブレンドすることで、ポリ乳酸の引張強度が向上しさらに、セルロースナノ繊維がポリ乳酸の結晶核剤となりポリ乳酸の結晶化速度を向上させることがわかった。このようにセルロースナノ繊維は、構造材料として重要なポリ乳酸の耐熱性、強度を向上させ、その上ポリ乳酸の生分解性は維持される。以上のことからポリ乳酸の利用分野を拡大する上で、セルロースナノ繊維とのブレンドは非常に有効な手段であると言える。

請求の範囲

[1] ポリ乳酸75重量%以上を含む分解性の樹脂組成物であって、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を含む、樹脂組成物。

[2] セルロースナノ繊維が、セルロースを対向衝突処理して得られたものである、請求項1に記載の樹脂組成物。

[3] セルロースナノ繊維が、バクテリアセルロースを対向衝突処理して得られたものである、請求項2に記載の樹脂組成物。

[4] 請求項1～3のいずれか1項に記載の樹脂組成物からなる、成形加工品。

[5] ポリ乳酸に対して0.05～5重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の結晶化を促進する方法。

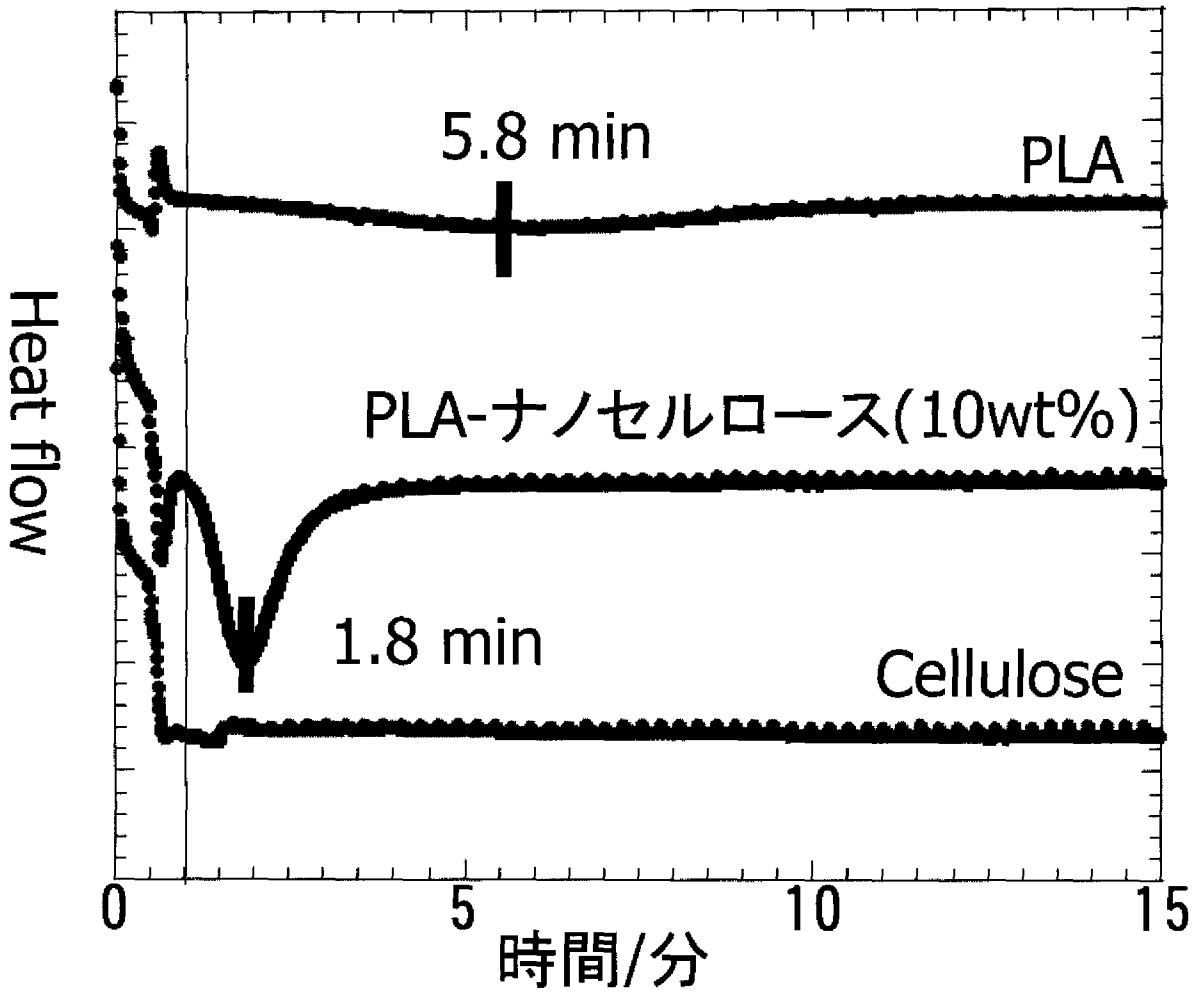
[6] ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の耐熱性を向上する方法。

[7] ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の強度を向上する方法。

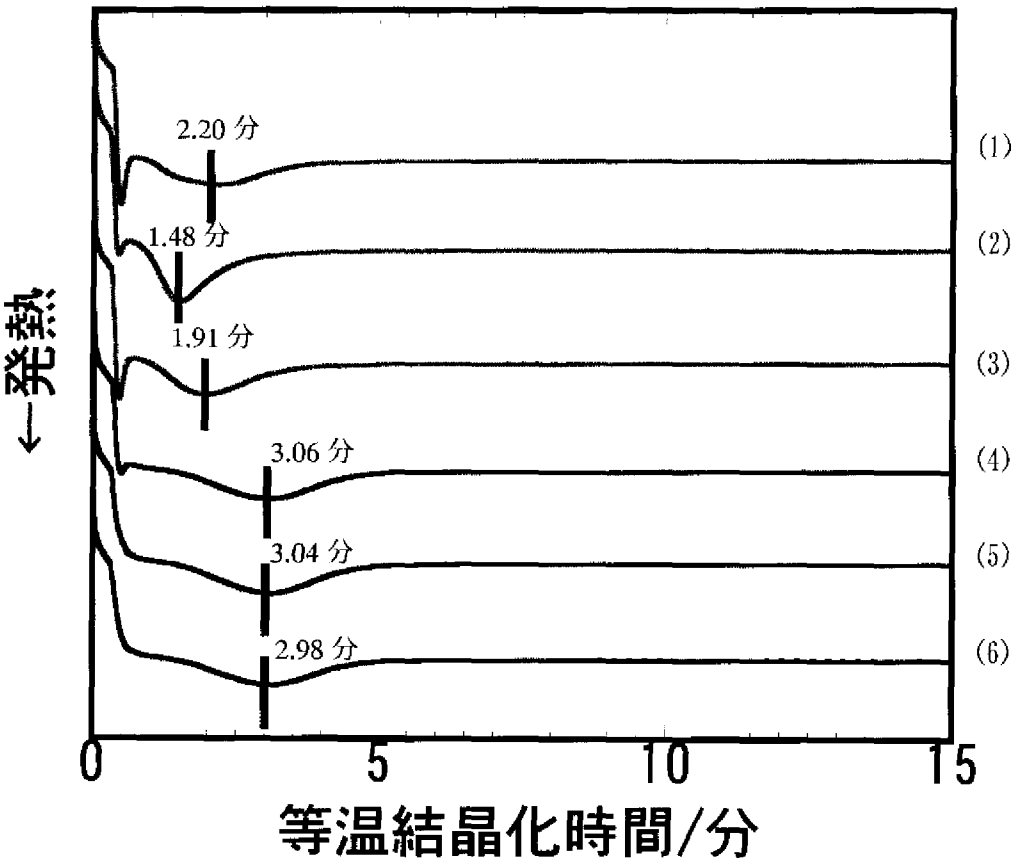
[8] ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を添加することを特徴とする、ポリ乳酸含有樹脂組成物の成形加工性を改善する方法。

[9] ポリ乳酸及びセルロースナノ繊維からなるポリ乳酸含有樹脂組成物であって、ポリ乳酸に対して0.05～10重量%のセルロースナノ繊維を含むものである、樹脂組成物。

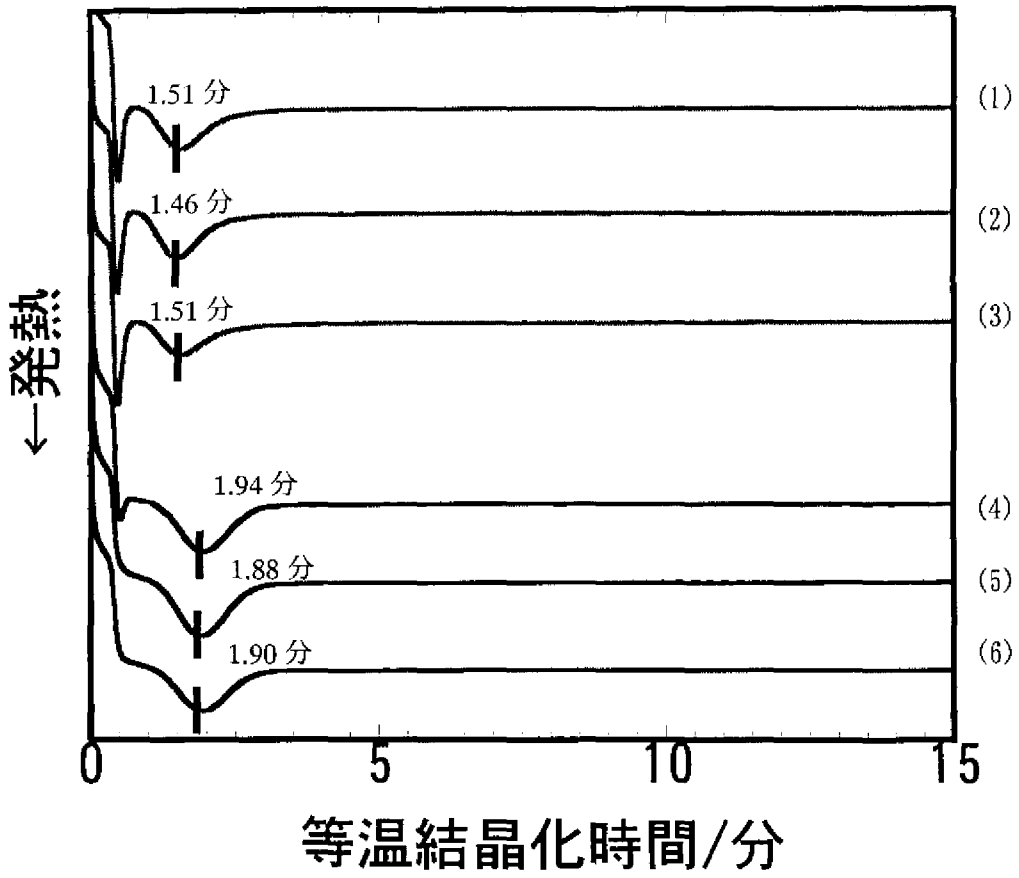
[図1]


5.8 min
PLA
PLA-ナノセルロース(10wt%)
1.8 min
Cellulose
Heat flow
0
5
10
15
時間/分

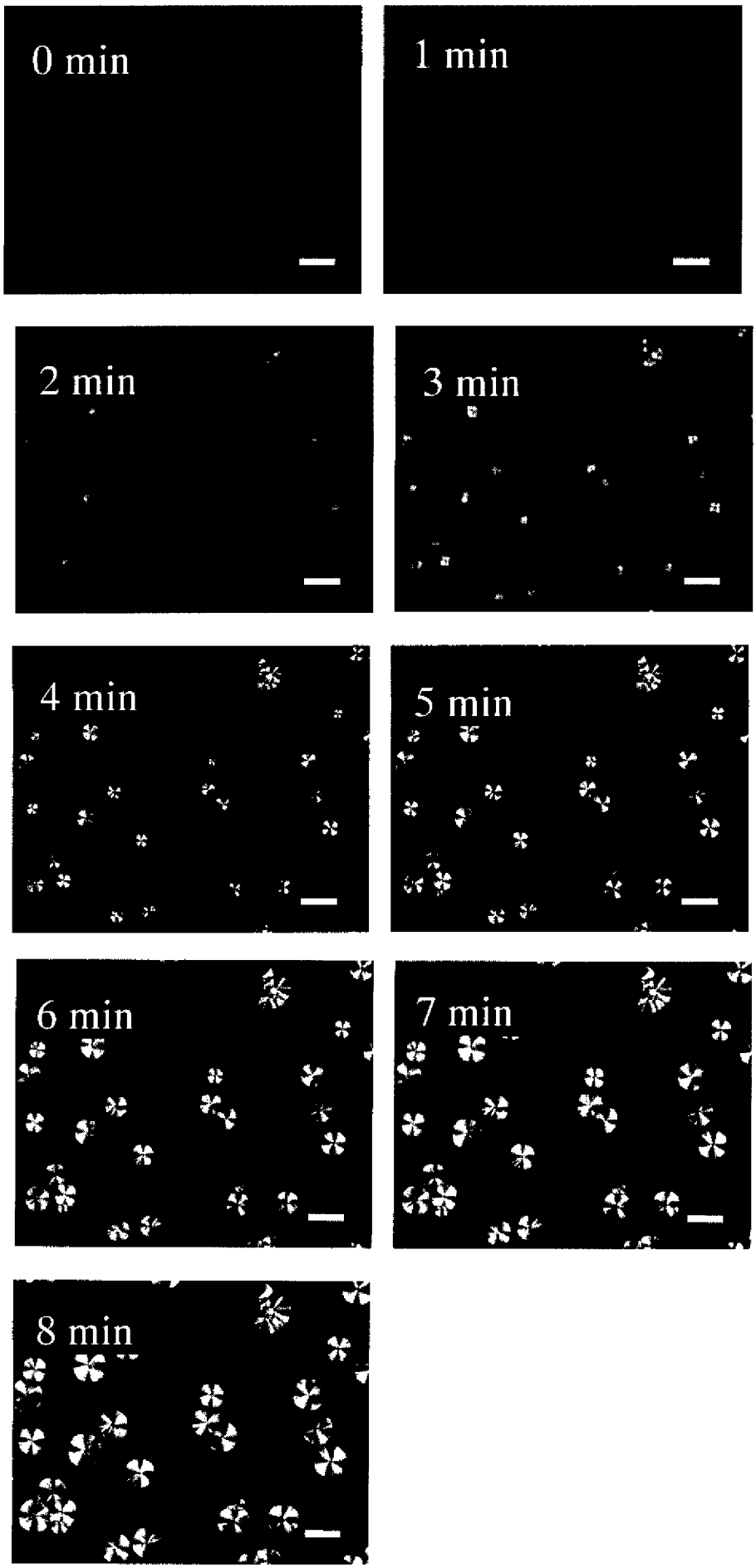
[図2]


2.20 分
1.48 分
1.91 分
3.06 分
3.04 分
2.98 分
(1)
(2)
(3)
(4)
(5)
(6)
←発熱
0
5
10
15
等温結晶化時間/分

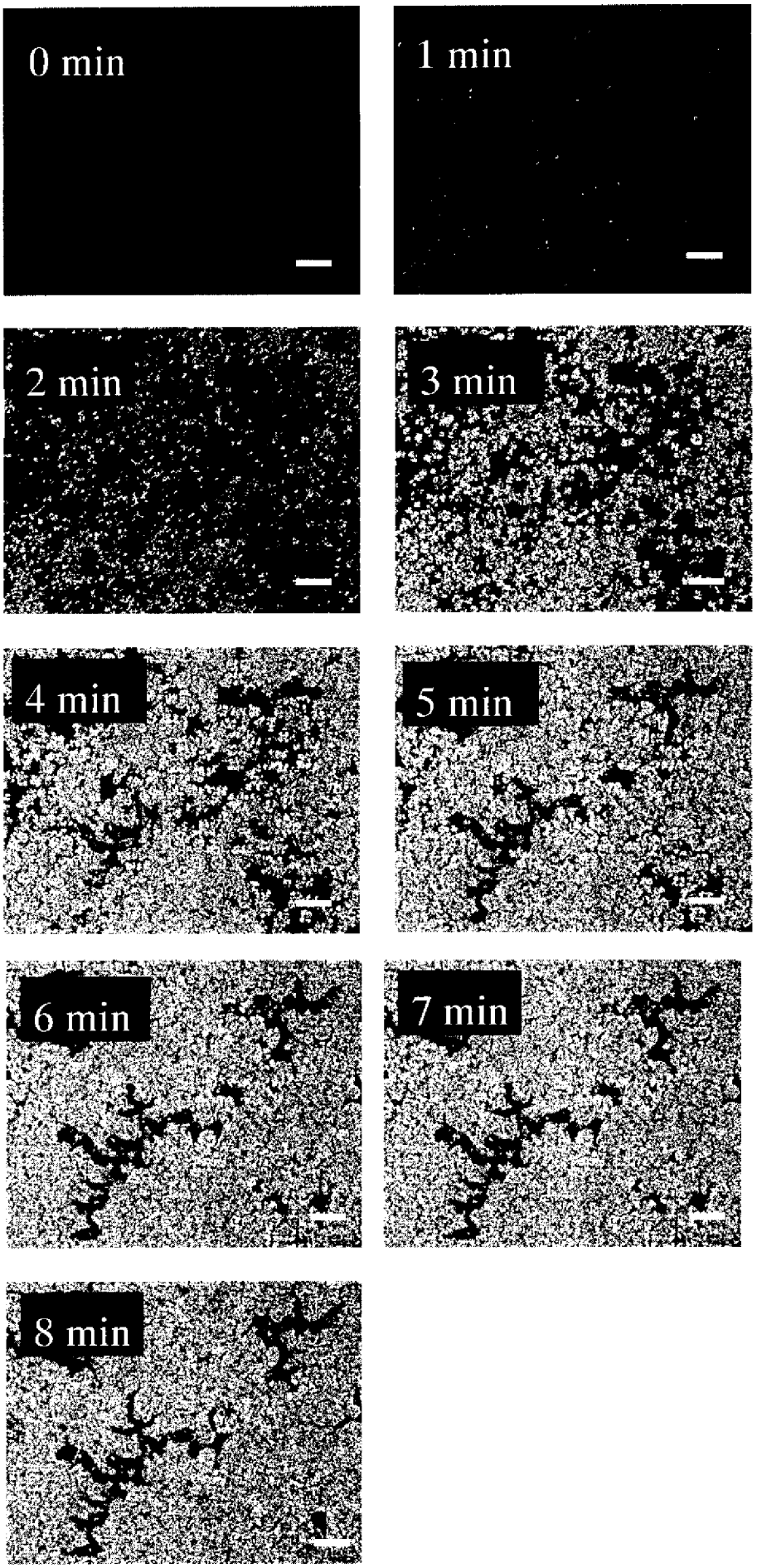
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/060503

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C08L67/04(2006.01)i, *C08K7/02*(2006.01)i, *C08L101/16*(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C08L67/00-08, C08L101/00-16, C08K7/00-28

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2005-35134 A (Toray Industries, Inc.), 10 February, 2005 (10.02.05), Claims; Par. Nos. [0014] to [0018], [0026]; examples (Family: none)	1,4-9 2,3
X Y A	JP 2005-42283 A (Kansai Technology Licensing Organization Co., Ltd.), 17 February, 2005 (17.02.05), Claims; Par. No. [0053]; examples & WO 2005/003450 A1	1,4-8 2,3 9
X Y A	JP 2006-8972 A (KRI, Inc.), 12 January, 2006 (12.01.06), Claims; Par. No. [0052]; examples (Family: none)	1,4-8 2,3 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
06 July, 2007 (06.07.07)	17 July, 2007 (17.07.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/060503

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2005-270891 A (Tetsuo KONDO), 06 October, 2005 (06.10.05), Claims & EP 1582551 A1 & US 2005/0236121 A1	2,3 1,4-9
Y A	JP 6-218878 A (Director General, Agency of Industrial Science and Technology), 09 August, 1994 (09.08.94), Par. No. [0009] & US 5306550 A & DE 4121085 A1	3 1,2,4-9
P,A	JP 2007-112859 A (Nissan Motor Co., Ltd.), 10 May, 2007 (10.05.07), Full text (Family: none)	1-9
A	JP 2005-60691 A (Mitsubishi Plastics, Inc.), 10 March, 2005 (10.03.05), Full text & EP 1652874 A1 & US 2006/0202391 A1 & WO 2005/012398 A1	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/060503

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The invention of claim 1 relates to a composition comprising polylactic acid and 0.05 to 10% by weight of "a cellulose nanofiber". The invention of claim 5 relates to a method for promoting the crystallization by adding 0.05 to 5% by weight of "a cellulose nanofiber" to polylactic acid. The invention of claim 9 relates to a composition comprising polylactic acid and 0.05 to 10% by weight of "a cellulose nanofiber". These inventions shear such a common technical feature that they relate to a composition comprising polylactic acid and 0.05 to 5% by weight of "a cellulose nanofiber" or a method for promoting the crystallization of the composition.

(continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

the

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

However, the technical feature is already disclosed in the documents listed in Box. C, and therefore cannot be regarded as "a special technical feature". Thus, the present international application involves three inventions.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０６０５０３

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C08L67/04(2006.01)i, C08K7/02(2006.01)i, C08L101/16(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C08L67/00-08, C08L101/00-16, C08K7/00-28

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２００７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００７年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

WPI

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
X Y	JP 2005-35134 A（東レ株式会社）2005.02.10 特許請求の範囲、【００１４】－【００１８】、【００２６】、実施例（ファミリーなし）	1，4-9 2，3
X Y A	JP 2005-42283 A（関西ティー・エル・オー株式会社）2005.02.17 特許請求の範囲、【００５３】、実施例 & WO 2005/003450 A1	1，4-8 2，3 9

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 ０６．０７．２００７	国際調査報告の発送日 １７．０７．２００７
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｊ　３４４６ 小出　直也 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４５７

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
X Y A	JP 2006-8972 A（株式会社ＫＲＩ）2006.01.12 特許請求の範囲、【００５２】、実施例（ファミリーなし）	1，4-8 2，3 9
Y A	JP 2005-270891 A（近藤　哲男）2005.10.06 特許請求の範囲 & EP 1582551 A1 & US 2005/0236121 A1	2，3 1，4-9
Y A	JP 6-218878 A（工業技術院長）1994.08.09 【０００９】 & US 5306550 A & DE 4121085 A1	3 1，2，4-9
P，A	JP 2007-112859 A（日産自動車株式会社）2007.05.10 全文（ファミリーなし）	1-9
A	JP 2005-60691 A（三菱樹脂株式会社）2005.03.10 全文 & EP 1652874 A1 & US 2006/0202391 A1 & WO 2005/012398 A1	1-9

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０６０５０３

第Ⅱ欄　請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの２の続き）

法第8条第3項（ＰＣＴ17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

１．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、

２．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

３．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ は、従属請求の範囲であってＰＣＴ規則6.4(a)の第２文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲１に係る発明は、ポリ乳酸と０．０５～１０重量％の「セルロースナノ繊維」を含有する組成物に関する発明であり、請求の範囲５に係る発明は、ポリ乳酸に０．０５～５重量％の「セルロースナノ繊維」を添加する結晶化を促進する方法の発明であり、請求の範囲９に係る発明は、ポリ乳酸と０．０５～１０重量％の「セルロースナノ繊維」からなる組成物に関する発明である。これらは、ポリ乳酸と０．０５～５重量％の「セルロースナノ繊維」からなる組成物または該組成物の結晶化促進方法という点で技術的特徴を共有するが、該技術的特徴は、Ｃ．欄に示された文献に記載があることから、「特別な技術的特徴」であるとは認められず、よって、この国際出願に三の発明があると認められる。

１．☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

２．☑ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

３．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

４．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。