

論文の内容の要旨

生物材料科学専攻

平成 25 年度博士課程 進学

氏名 内藤 フィリップ邦夫

指導教員名 岩田 忠久

論文題目 キチンとキトサンの結晶転移過程およびキトサンの固体構造解析

自然界で最も多く生産されている高分子である多糖類は構造多糖類と貯蔵多糖類に大別される。構造多糖類の代表例として植物の細胞壁の主成分であるセルロース、節足動物の外骨格、真菌類の細胞壁などの主成分であるキチンが知られている。キチンの誘導体であるキトサンは様々な有機酸、無機酸溶液に容易に溶解するため溶解・再生による繊維やフィルムなどへの形態加工や、溶媒中での反応による誘導体化が可能であり、材料としての応用性が高い。また、キトサンは生理活性、生体適合性、細胞接着性等の性質を有することから、抗菌材料、細胞培養足場、遺伝子デリバリーなどの先端医療、化粧品、食品添加剤、農薬などの分野で積極的な基礎研究、および応用研究が行われているバイオマスである。キトサンはセルロースやキチン同様、繊維結晶として存在する。そして、複数の結晶形をとることが知られている。固体構造は物性と密接な関係にあるため構造そのもの、および構造がどのような条件でどのように転移するかは材料としての基礎的知見として重要である。そこで、本研究では 1. キチンからキトサンへの変換プロセスにおける結晶転移、2. キトサン多結晶の詳細な X 線結晶構造解析 3. キトサンの結晶多形間の転移、具体的には水和型キトサンおよびキトサン-カルボン酸複合体から無水型キトサンへの転移、4. 再結晶化させたキトサンの構造に関して研究を行った。以下にその概要を示す。

キチンからキトサンへの結晶転移過程

ズワイガニ (*Chionoecetes Opilio*) の臍から α -キチン試料を調製し、各濃度・時間でアルカリ処理を行って X 線回折測定実験を行った。キチンはアルカリと複合体を形成し、この複合体は結晶性であることが分かった (図 1b)。この複合体は六方晶の単位格子中に繊維方向に 3 回らせんの構造をとると考えられる。また、脱アセチル化処理を経て得られたアルカリ膨潤キトサンも同様に結晶性を示すことが分かった (図 1c)。アルカリ膨潤キトサンを段階的に濃度の薄いアルカリ溶液に浸漬していくと徐々に水和型キトサンへ結晶転移が進行していくが、7 N-3 N の濃度範囲で X 線回折パターンに新たな構造由来と考えられるパターンが現れた。このことから、アルカリ-キトサンから水和型キトサンへの転移にはこれまで知られていなかった中間体構造が存在することを明らかにした。

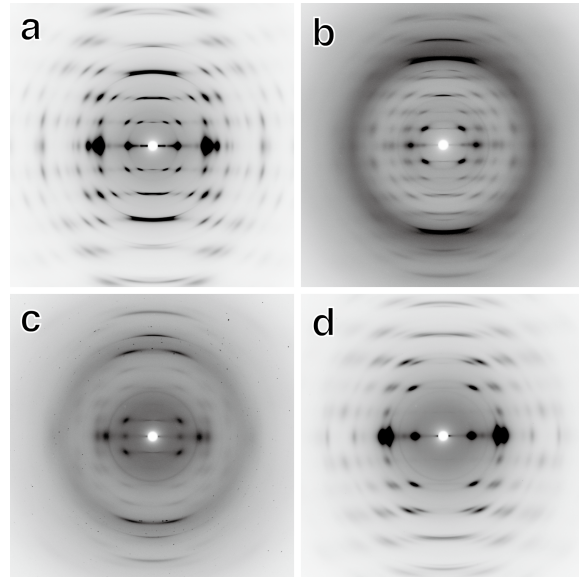


図 1. 典型的な α -キチン (a), アルカリ-キチン (b), アルカリ-キトサン (c), 水和型キトサン (d) の繊維 X 線回折図。

キトサンの結晶構造解析

脱アセチル化されたキトサンの初期構造である水和型キトサンおよび熱水処理によって得られる無水型キトサンについてシンクロトロン放射光を用いた繊維 X 線回折を行い、結晶構造解析を行った。

水和型キトサンは単位格子モデルの決定に至らず、より複雑なモデルで解析を進めることが必要であるとの結果が得られた。

無水型キトサンは高分解能 X 線回折図から空間群は $P2_12_12_1$ と決定でき、 hkl と kh 回折の区別が可能であり (図 2)、これまで曖昧であった分子鎖シートの配列を決定できた。また、フーリエ差分図から自由度の高い O6 のコンフォメーション (gt) の直接決定を行った。最終的に、経験に基づく分子構造の制限を極力排した高精度な解析 (分解能 1.17 Å、155 個

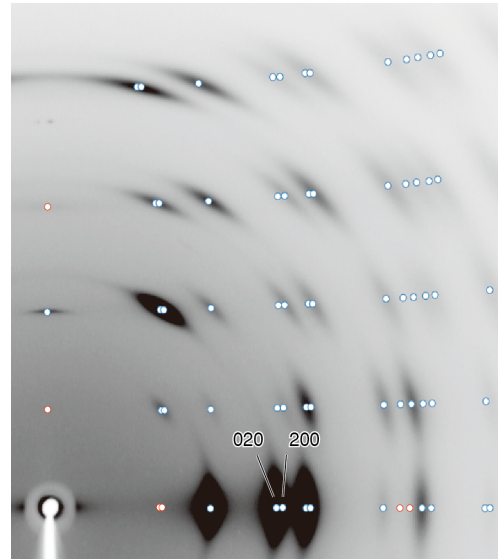


図 2. 無水型キトサンの繊維 X 線回折図と単位格子から計算された回折点のプロット。赤点は $P2_12_12_1$ における禁制反射を示す。

の回折点について、 $R1 = 0.129$) を行うことができた。図 3 に無水型キトサンの結晶構造を示す。無水型キトサンは斜方晶の単位格子 [$a = 8.129(7) \text{ \AA}$, $b = 8.347(6) \text{ \AA}$, $c = 10.311(7) \text{ \AA}$] 空間群 $P2_12_12_1$ 中に 2 本の分子鎖が逆平行にパッキングされており、 $N...O6$ の水素結合によって安定化されている ac 面に平行な分子鎖シートが b 軸方向にスタックした構造をとっている。この構造はセルロース II、III の分子鎖シート構造と非常に類似しており、シート間の強い水素結合の有無がセルロース結晶よりも対称性の高い $P2_12_12_1$ を実現させていると考えられる。

水和型キトサンおよびキトサン-カルボン酸複合体の無水型キトサンへの結晶転移

水和型キトサンから無水型キトサンを得る方法として知られている熱水処理とキトサン-カルボン酸複合体を経由する 2 種類の方法について、温度と処理時間を変化させて、X 線回折によってその転移挙動を調べた。水和型キトサンは 200°C 以下の温度条件では、完全に無水型キトサンに転移することはなく、それ以上の温度で急速に無水型キトサンへの転移が進行した (図 4)。この水和型構造の安定性は他の多糖類と比べて特異的であり、水分子とキトサンの間に水素結合による強い相互作用が存在すると考えられる。

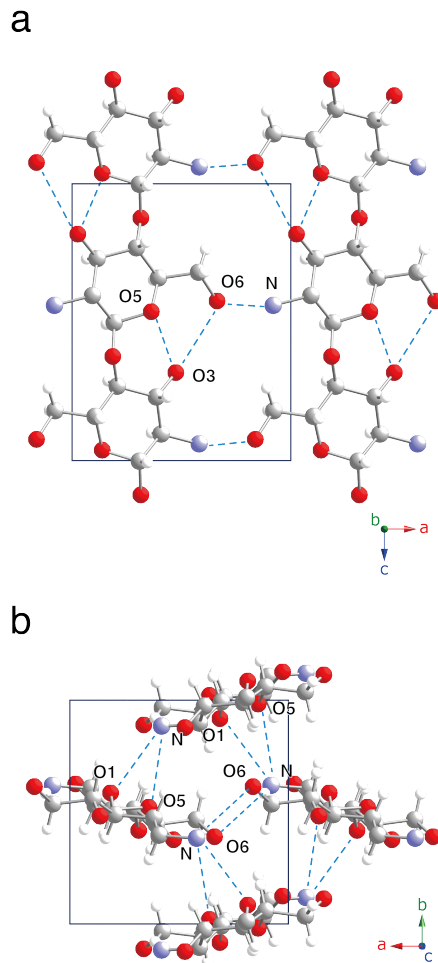


図 3. 無水型キトサンの結晶構造の (a) b 軸方向、および (b) c 軸方向の投影図。青点線は水素結合を示す。

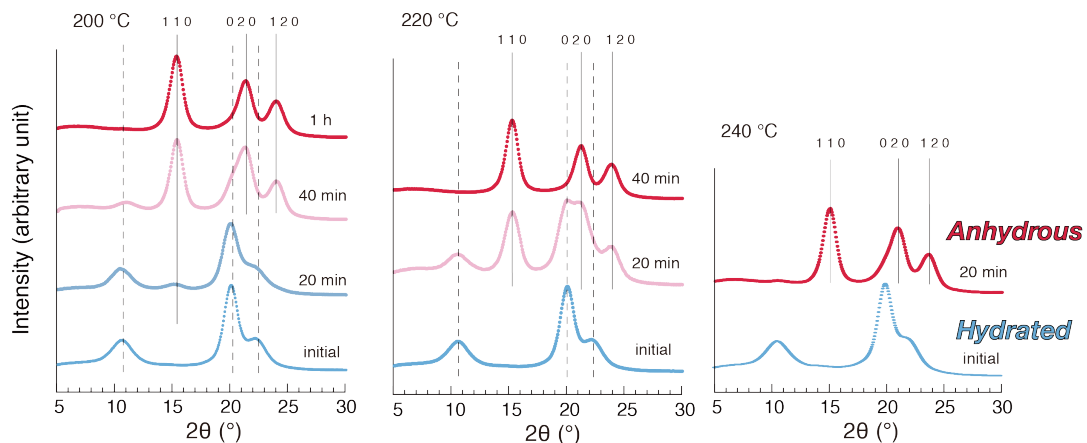


図 4. 各温度、時間で熱水処理を行った水和型キトサン試料の X 線回折プロファイル。

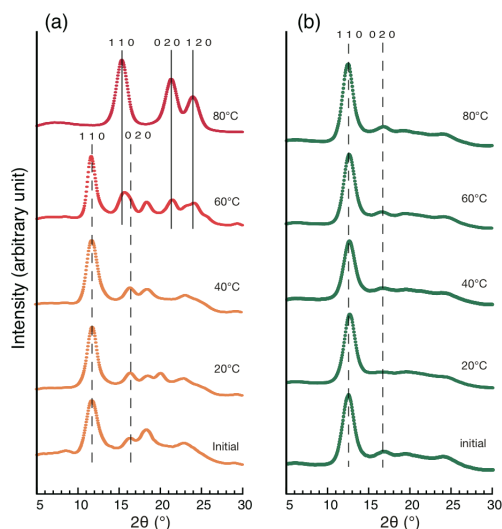


図 5. 相対湿度 100%条件下、各温度で 1 時間熱水処理を行ったキトサン-カルボン酸複合体試料の X 線回折プロファイル。

再結晶化させたキトサンの構造

低分子化したキトサンを異なる温度、分子量で再結晶化させ、結晶構造、形態の違いについて調べた。

再結晶化はキトサン水溶液（最終濃度 0.25%）にアンモニア水溶液を添加して pH10 程度にすることで行った。DP20-50 の低分子量キトサンは 125°C 以上で分子量によってサイズの異なるラメラ結晶を形成した（図 6）。100°C 以下の再結晶化物はいずれも粒状の凝集体構造が得られ、形態は似通っているものの、粉末 X 線回折プロファイル（図 7）は異なる傾向を示し、75°C、100°C の再結晶化物は完全な無水型キトサンのプロファイルを示していた一方で 25°C、および 50°C の再結晶化物は水和型および無水型構造が混合したプロファイルを示していた。そして、0°C ではどちらにも帰属できない未知のプロファイルを示していた。以上から、25-100°C の範囲下で再結晶化させたキトサンは形態に変化は無いものの、再結晶化温度によって結晶構造の組成に差が生じることが分かった。

同様に、ギ酸、および酢酸のキトサンとの複合体の相対湿度 100%条件下での転移について調べた。両複合体は X 線回折図から類似した構造をとることが分かるが、無水型キトサンへの転移は酢酸複合体でのみ進行し、ゲスト分子サイズによる安定性に違いが見られた（図 5）。

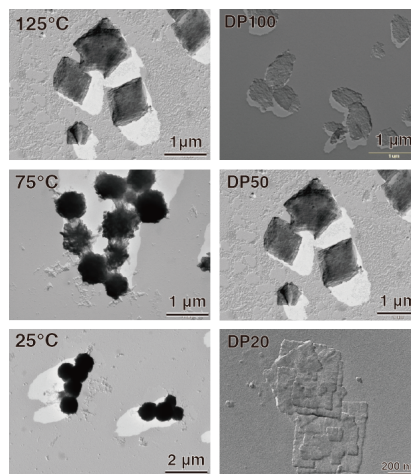


図 6. 各温度（左段、DP50）、および各分子量（右段、125°C）で再結晶化させた低分子量キトサン電子顕微鏡像。

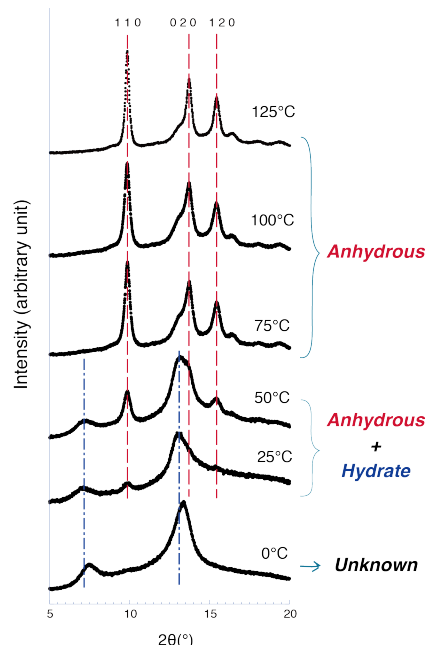


図 7. 各温度で再結晶化させた低分子量キトサン (DP 50) の X 線回折プロファイル。