

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 内藤 フィリップ邦夫

キトサンは昆虫や甲殻類の外骨格の構成成分であるキチンのアセトアミド基の脱アセチル化によって得られる直鎖の多糖類である。その一次構造はpoly- β -1,4-D-glucosamineで表され、キチンやセルロースと比較して2位の炭素の官能基だけが異なる構造となっている。カチオン性の高分子であるキトサンは、生体適合性、生理活性、抗菌性を有し、医療、農業、機能性材料などの分野での応用研究が精力的になされており、天然由来の材料として多様かつ高度な利用が期待できるが、高機能な材料創製のためには、材料としての基本的な情報である結晶構造およびその転移挙動を明らかにする必要がある。そのような背景を踏まえ、本博士論文では、(1) 脱アセチル化処理過程におけるキチンとキトサンの結晶転移、(2) 水和型キトサンから無水型キトサンへの転移過程、(3) キトサンのシンクロトン放射光を用いた高分解能の繊維X線回折を用いた構造解析、(4) 低分子量化したキトサンの再結晶化に関する研究を行った。

第1章の序論に引き続き、第2章では、ズワイガニ (*Chionoecetes Opilio*) の腱から α -キチン試料を調製し、各濃度・時間でアルカリ処理、および完全脱アセチル化処理を行い、キチンからアルカリ-キチンへの膨潤、およびアルカリ-キトサンの水洗による水和型キトサンへの転移について、X線回折測定実験を行い、各過程の結晶転移について明らかにした。得られた回折図から、キチンはアルカリ膨潤によって繊維方向に3回らせんの周期をとる結晶性の複合体を形成すること、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類似した3回らせんをとる複合体結晶であることを明らかにした。さらに、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30%–10%NaOHの濃度範囲で3回らせんをとる新たなX線回折パターンが現れ、9%で完全に2回らせん構造をとる水和型キトサンに転移した。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結晶転移過程には3回らせんをとる中間体構造が存在することを明らかにした。いずれの転移過程でもアルカリ膨潤は2回らせんと3回らせん間での構造変化が起きていた。以上のように、キチンからキトサンへの変換過程における複数の構造変化を明らかにした。

第3章では、これまでいくつかの結晶構造解析の報告があるものの、分子鎖シートの配置について曖昧さの残る無水型キトサンについて、シンクロトン放射光によって得られた高分解能データを用いて、X線構造解析を行い結晶構造の再検討を行った。高分解能データにより、分子鎖シートが *ac* 面にそって配置すると決定でき、構造解析は155個の回折(分解能1.17 Å)で行い、信頼度因子は $R1 = 0.129$ で行うことができた。得られた構造について、無水型キトサンは $O3-H\cdots O5/O6$ の分子内結合水素結合が存在し、 $O6\cdots N$ の分子間水素結合によってシート構造が形成されており、シート間は $N-H\cdots O5/O3$ の分子間水素結合

により安定化している。このシート構造は O6 が同じ *gt* のコンフォメーションをとるセルロース II、セルロース III₁ と類似していることが分かった。以上のように、無水型キトサンについてこれまでより信頼度の高い構造解析を行い、その構造を基に水素結合様式や類似した多糖構造との分子鎖パッキングの比較などの詳しい考察を行った。

第4章では、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転移をX線回折によって調べた。水和型キトサンの熱水処理による結晶転移は200°C付近で急速に進行することが分かった。これは、他の多糖類に関する報告と同様に、この温度域で水素結合が不安定化するためであると考えられ、水分子とキトサン分子間には水素結合による強い相互作用が存在することを明らかにした。さらに、相対湿度100%条件下でキトサン-酢酸複合体の転移が温度条件の上昇に伴って無水型キトサンに転移したのに対し、ギ酸複合体はほぼ変化しなかったことから、キトサンと酸との相互作用によって転移挙動が異なることを明らかにした。このように、複数のキトサン結晶間の転移挙動について詳細な検討を行い、どのような条件で結晶の転移が起こるかを明らかにした。

第5章では、低分子量化したキトサンを様々な条件で結晶化させ、その形態と構造について調べた。塩酸加水分解によって重合度 20、50、100 程度の低分子量キトサンを調製し、再結晶化を行った。再結晶化は 0.3%キトサン水溶液をアンモニア水添加により pH 10 程度とすることで行った。75°C、100°C、125°C 条件の再結晶化物は、無水型キトサンの X 線回折パターンを示し、25°C、50°C では無水型と水和型の X 線回折パターンが混在していた。また、125°C 条件で異なる重合度で再結晶化させた試料は DP = 20 では厚み 20 nm 程度の単層のラメラが一様に得られ、DP = 50 では厚さ 300 nm 程度の積層したラメラが一様に得られた。一方、DP = 100 ではラメラ形状は得られず、X 線回折から得られる結晶サイズも低下していることが分かった。以上から、低分子量キトサンの高次構造、および結晶構造は生成条件に大きく依存することを明らかにした。

以上、本論文では、キチンとキトサンの脱アセチル化処理に伴う構造変化を明らかにする共に、これまで未解決であったキトサンの三次元結晶構造を解明することに成功した。さらに、キトサンとカルボン酸複合材料の構造形成機構やキトサン単独の結晶構造寄稿に関して多くの新たな知見を得ることに成功した。よって、審査員一同は、博士論文に値するとの結論に達した。