藤森科学技術振興財団
研究実施概要報告書

（西暦）　2024 年　5 月　31 日

公益財団法人藤森科学技術振興財団
理事長　藤森 明彦　殿

藤森科学技術振興財団の助成金による研究が終了しましたので、下記のとおり報告をいたします。

所属機関　国立大学法人　東京農工大学
職　　名　准教授
氏　　名　赤木 友紀　（印）

【提出書類】

（1）研究実施概要報告書（本紙）
　添付書類（A4 版 3 枚以内）：研究状況を示す写真等の資料

（2）収支報告書
　添付書類：助成金を充当した経費の領収書
　　　　　　領収書を添付しない場合：支払一覧表と支払部門担当者確認署名

(1) テーマ　　※スペースが足りない場合は、枠を追加いただいて構いません。

再生可能なキトサンゲル実現のための分解と合成方法の検討

(2) 本研究の期間

（西暦）　2023 年 4 月 〜　2024 年 3 月

(3) 本研究の目的

本研究では、再生（分解→再反応）可能なキトサンゲルの実現を目指し、 分解したキトサン断片(二次モノマー)の精査、及びマイルドな条件下でキトサンゲルの再合成手法を見出すことを目的とする。

キトサンは、甲殻類に含まれる天然素材であるキチンを酸・アルカリ処理することで得られる。環境に優しく、加えて生体適合性を有することから、工学、農学的利用のみならず医学、歯学、薬学等への応用も期待されている。中でもキトサンを骨格とするゲルは、生分解性を有するために多くの研究報告がなされている。一方で、分解・再重合による再生可能な資源としてのキトサンゲルの検討は行われていない。そこで本研究では、キトサンゲルの分解から生じた二次的なモノマーの精査を行うとともに、分解したキトサンゲルを任意の大きさに再構成する方法論を探索する。さらに、再構成したゲルの評価方法は報告されていないため、本課題にて検討を行う。

(4) 本研究の概要

キチン、キトサンは、年間約 1000 億トン合成されている豊富な生物資源であり、農業分野や食品分野を中心に広く活用されている。国内外に限らず、キチン、キトサンは、安価で豊富に入手することが可能である一方で、甲殻類の殻の廃棄量が再利用率よりも遥に多く、廃棄処理に多額の費用がかかる。キチン・キトサンのポテンシャルの高さは多くの文献により報告されており、この性質を有効に活用し様々な分野へ展開することによって、廃棄量、及び廃棄処理費用の低減が期待される。

医療応用の観点からは、生体適合性、生分解性を有するキトサンがもたらす利点は大きく、中でもキトサンゲルの研究報告は多い。一方で、ゲルは分解が進むと、網目構造が変化し力学特性が低下することが知られている。そこで、本研究課題では、用途に合わせた力学特性や構造を維持しながら、任意の時間、形状・サイズを維持でき、さらに分解が進んだ後でも、作成時の状態に修復可能な方法論の検討およびその評価方法の確立を目指した。

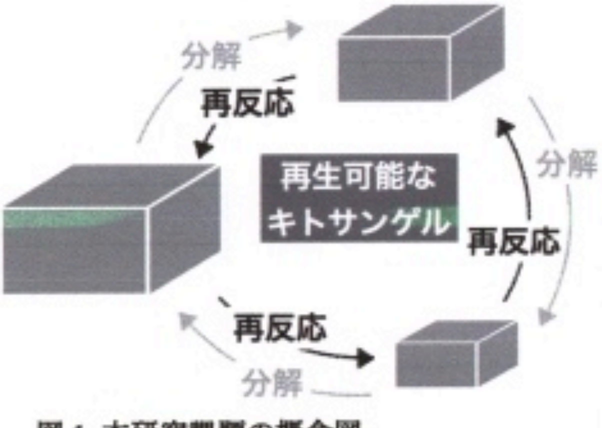

図 1 本研究課題の概念図

本申請課題の鍵は、「分解」と「再重合」にある。分解:キトサンは、生分解性高分子であり、水中でマイルドな条件で分解することが確認されている。分解段階に応じて再重合を行うことで、消失するまでの時間の延長やサイズの増大等の調整が可能となり、キトサンの応用範囲が拡大できることが期待される。また、材料としてのキトサンゲルの応用を考えた際には、力学特性の維持が極めて重要である。通常のゲルは、バルク分解と呼ばれる系全体で分解が進行するために体積が膨張し、最終的に消失する分解挙動を示す。バルク分解では、分解に伴う力学特性の低下を避けることができない。一方で、申請者が検討を進めてきた表面分解では、表面から溶解するように分解するため、ゲル自体の力学特性を維持しながら分解を促すことが可能となる。表面分解において、ゲル

の網目サイズが作成時から大きく変化しない点についても、表面のみで再反応を進めるための重要な要素となる。再重合: ゲルの表層に新たなゲル層を作成する方法としは、大きく 3 つ考えられる。1. 低分子(モノマー)から重合する方法、2. 中分子から重合する方法、3. 作成時と同様の高分子から重合する方法、である。この 3 つの方法は、表面分解の抽出物を再利用する意図も含まれている。しかしながら、過去に表面分解を示すゲルについての研究報告はなく、どのような抽出物が得られるか明らかでないため、本研究課題において、抽出物の精査を並行して行うこととした。

(5) 本研究の内容及び成果

本申請課題の目的は、再生（分解→再反応）可能なキトサンゲルの実現を目指し、分解したキトサン断片(二次モノマー)の精査、及びマイルドな条件下でキトサン合成手法を見出すことである。

具体的には、以下の 3 つの実験を遂行した。

1) 表面分解により生じたキトサン断片の精査

様々な条件で作成したキトサンゲルを異なる pH の溶液に浸し、1 か月間膨潤実験を実施した。任意の時間で溶液を交換し、得られた外液については、直ちに凍結乾燥した。得られた物質に対して、^{1}H NMR 測定、HPLC 測定、FT-IR 測定を行い、分解物質の同定を行った。

2) 再重合/再反応方法の検討

再構成のための重合/反応方法については、以下の 3 通りを検討した。

① キトサンのモノマーである D-グルコサミンから、ゲル表面にキトサンゲルの層を構築

② 二次モノマー(モノマーが数個連なった物質)同士の反応により、ゲル層を構築

③ 作成時と同様のキトサン/ゲニピン溶液を補填し、ゲル層を構築

3) 再構築したキトサンゲルの力学特性と構造解析

再構成前のゲルの評価: 通常のキトサンゲルを作成し、圧縮試験により弾性率および破断歪みの評価を行った。また、表面およびバルク中心からサンプルを採取し、FT-IR 測定を行った。再構成後のゲルの評価: 2)で示した 3 種類の方法で実施したゲルに対し、引張試験、引裂試験、および FT-IR 測定を実施する。

上記の実験から得られた成果を以下の通りである。

1) 表面分解により生じたキトサン断片の精査

ゲルの膨潤率は、外液のバッファーの pH によって、その傾向が異なることが確認された。弱酸性では体積が膨張し、中性付近では体積一定、弱塩基性では体積が減少した。また、凍結乾燥により得られた抽出物は、バッファー成分が多く含まれており、同定が困難であった。目的の分解挙動を示すゲルにおいては、いずれの測定においても抽出物にキトサン由来のピークが見られないことが確認された。

2) 再重合/再反応方法の検討

①-③の方法の中から、本研究期間では②および③の検討を中心に進めた。ゲルの再構築の方法としては、予め作成したゲルに対し、各条件のキトサン/ゲニピン溶液を補填することで、ゲルを任意のサイズまで増大させた。本研究課題では、予め作成するキトサンの分子量が 15k g/mol に対し、補填するキトサン/ゲニピン溶液には、②1.6k g/mol のキトサン分子、③15k g/mol のキトサン分子を用いた。得られた結果から、15k g/mol から形成される網目に対し、③同じ分子量である 15k g/mol の時に、意図するサイズのゲルが再構築されることが確認された。

3) 再構築したキトサンゲルの力学特性と構造解析

再構築したゲルの評価方法としては、圧縮試験により実施した。再構築前後の弾性率を測定することにより、再構築による網目構造への影響を調べた。また、より詳細に再構築前、再構築後の網目構造を評価するために、くさび形の治具を用い、再構築前後で各 2 箇所ずつの弾性率および破断ひずみの測定を行った。その結果、予め作成したゲルと後から増加したゲル部位の境目の弾性率について、前者の方が予測より高く、一方で、後者の値は低下したことが確認された。再

構築ゲルの評価方法は、これまでに報告がないため、その妥当性を調べるために破壊確率の評価も実施した。

(6) 本研究の考察

本課題で重要となるのが、まず分解方法である。pH によって分解挙動が異なることが確認されたが、これは、キトサンの酸性定数が酸性領域(pH3-4)にあり、プロトン化しているアミンが多いほど、膨潤率が高くなったと考えられる。また、抽出物の測定から、分解物にキトサンが観測されなかった。今後、抽出した物質からバッファー成分を除去し、より詳細に調べる必要があるが、表面分解によって、表面のキトサンが低分子量まで分解したために、高分子量のキトサンが検出されなかった可能性が考えられる。

再重合の方法については、予め作成するキトサンの分子量が 15k g/mol に対し、③同じ分子量である 15k g/mol の時に、意図するサイズのゲルが再構築されることが確認された。再重合時の分子量が短すぎると、先に作成したゲルの網目構造に流出してしまう、もしくは、同じ濃度の溶液でとゲル化濃度を超えずゲルが作成できない、等の理由が考えられる。

再構築したゲルに対する力学試験から、予め作成したゲルと後から増加したゲル部位の境目の弾性率について、前者の方が予測より高く、一方で、後者の値は低下したことが確認された。これは、後から加えたゲル溶液内のゲニピンが、前者の構造内に流れ込んだため弾性率が増大し、流出した側のゲルの弾性率が低下したと推測される。

上記の結果から、予め作成したゲルの条件と、後に再重合する際に加える溶液の条件を調整することによって、一度分解が進んだ後でも、当初の力学特性を維持したゲルを再構築できる可能性が示唆された。

(7) 共同研究者（所属機関名、役職、氏名）

該当なし

(8) 本研究の成果の公表先

学会発表

1. 斎藤恵利佳、赤木友紀、表面分解型ゲル実現に向けたキトサンゲルの作製条件および分解環境の検討、2024/6/12-14
2. 岩永莉奈、赤木友紀、持続可能な材料実現に向けた再構成キトサンゲルの検討、2024 年繊維学会年次大会、2024/6/12-14

［注］この報告書を当財団のホームページ等に掲載します。予めご了承ください。