

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 16 日現在

機関番号：17104

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660107

研究課題名(和文) 氷晶テンプレート法による海洋由来の天然高分子からの機能性ナノファイバー創製

研究課題名(英文) Chitosan Nanofiber fabrication by freeze casting

研究代表者

脇坂 港 (WAKISAKA, MINATO)

九州工業大学・生命体工学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00359944

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：キトサンの低濃度溶液を基板上に超音波噴霧で吹き付け、液体窒素を用いて急速凍結させた後の凍結乾燥体には、配向性を持つナノ繊維が観察された。凍結速度が速いほど繊維径が小さくなる。また、キトサンの分子量によっても繊維径が変化する。さらに、溶液噴霧と氷晶鋳型法によって、アルギン酸やカラギーナン、ヒアルロン酸といった他の水溶性高分子からのナノ繊維を生成可能である。

研究成果の概要(英文)：Aligned chitosan nanofibers exhibiting diameters smaller than 100 nm were easily prepared by combining ultrasonic atomization with freeze casting. A major advantage of this approach is the use of distilled water as main solvent. Scanning electron microscopy demonstrated that fiber diameter and morphology mainly depended on the atomizing tools, freezing temperature, and chitosan solution viscosity. Minimum diameter and uniform orientation were achieved using an electric flosser as an atomizing tool, liquid nitrogen as a coolant, 0.4 wt% aqueous chitosan solution (molecular weight = 22 kDa), and a small amount of lactic acid as solvent at zero degrees Celsius. The resulting chitosan nanofibers may find application in biomedical and food engineering. Moreover, this new technology may be applicable to other natural and synthetic water-soluble polymers.

研究分野：食品工学

キーワード：キトサン ナノファイバー 凍結乾燥

1. 研究開始当初の背景

ナノファイバーは、そのユニークな物理化学的および機械的な特性により、複合材料やエネルギー貯蔵、触媒担体として注目されている。炭素系ナノファイバーの原料は、従来ポリアクリロニトリルやエチレンガスなど枯渇性の化石資源由来であり、再生可能な資源への転換が望まれており、陸上の木質系リグノセルロースを原料とする研究例が報告されている。一方、キトサンに代表される海洋由来の天然高分子も資源量は豊富であり、さらにはカニやエビの殻などキトサンが含まれる水産加工残渣など未利用バイオマスをナノファイバー原料として活用することも可能である。

ナノファイバー製造プロセスとして、エレクトロスピニング法が現在主流である。エレクトロスピニング法は、繊維の材料となるポリマーを溶剤に溶かし、注射器などの容器に入れて高電圧を印加し、ポリマー溶液を電極上に噴出させて不織布状にナノファイバーを作成する紡糸技術である。欠点としては、ポリマーを溶解するために一般的に有機溶剤を使用する点や処理速度の遅さ、配向性の制御が困難な点が挙げられる。そこで、有機溶剤不使用で連続処理を可能にする技術として、凍結を利用したマイクロ構造化手法である氷晶テンプレート法(氷晶分離誘発自己集合法やクリオゲル法とも呼ばれる)に着目した。ただし、これまでにサブミクロンサイズの報告例は少ない。

申請者は、氷結晶が溶質を除外しながら成長することにより濃縮を達成する凍結濃縮¹や、懸濁固形物を含む水溶液の清澄化を達成する凍結融解法の開発²に取り組んできた経験および知見の蓄積がある。それらに基づいて氷晶テンプレート法におけるナノスケールの構造制御を考察すると、凍結速度やポリマーの濃度など凍結条件がナノ構造形成に大きく寄与しているのではないかという仮

説が考えられる。また、氷晶テンプレート法によるリグニン水溶液からのナノファイバー形成に関する論文³からもこの仮説の妥当性が示唆されている。

2. 研究の目的

凍結を利用したマイクロ構造化手法である氷晶テンプレート法により、海洋由来の天然高分子であるキトサンからのナノファイバー創製に関して、凍結速度やポリマー水溶液の濃度などの凍結条件と構造さらにその物性との相関を評価することを目的とする。

3. 研究の方法

試料には、分子量の異なるキトサンおよび水溶性多糖類(アルギン酸、カラギーナン、ヒアルロン酸、 β 1,3グルカン)を用い、それぞれに対応する溶媒で溶液に調製した。実験手順としては、所定の濃度に調製したキトサン溶液を噴霧器で吹き付け、冷媒で冷却した基板上で凍結させた後に、凍結乾燥を行った。凍結乾燥体を電子顕微鏡で観察し、画像解析ソフトにより繊維径を測定した。

4. 研究成果

凍結速度(異なる冷媒と溶液温度の組合せ)の影響について検討した結果を図1に示す。

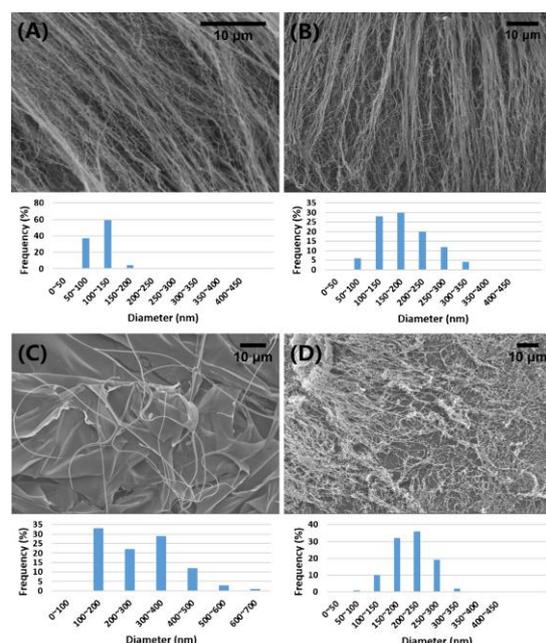


図1. キトサンナノ繊維(凍結速度の影響)

凍結速度が大きい場合に、繊維径が小さく、さらに配向性を持つキトサンナノファイバーが得られた。凍結速度が小さくなるにつれ、配向性は失われ、層状構造を形成した。

キトサン濃度の影響について検討したところ、図1に示す通り、低濃度溶液 (0.4 (A) ~ 0.8 (B) wt%) では、ナノファイバーの形成が確認されるのに対して、1.6wt% (C) では、層状構造へと変化し、それ以上の濃度 (D) では層状構造が厚みを増す傾向が確認された。

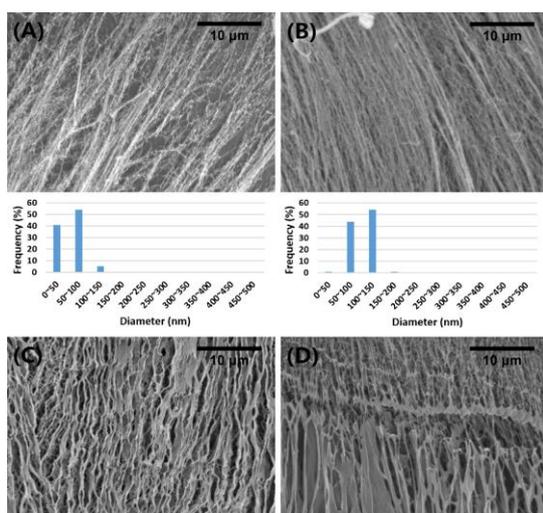


図2. キトサンナノ繊維 (濃度の影響)

キトサンの分子量と溶媒の影響について検討した結果を図3に示す。

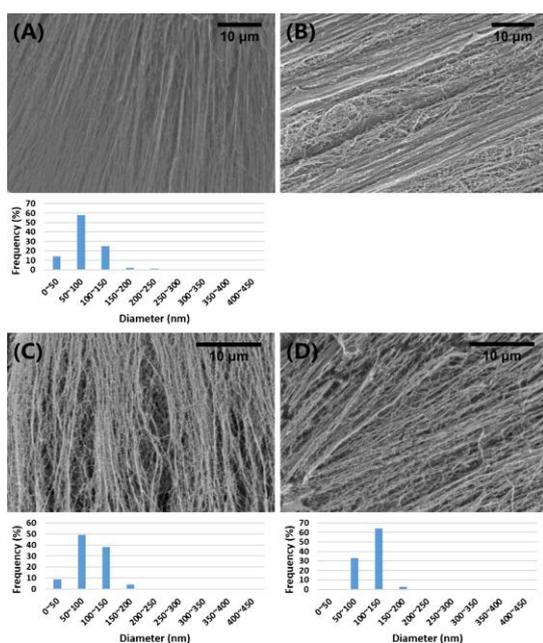


図3. キトサンナノ繊維 (分子量の影響)

図3は、(A) 15 kDa・乳酸、(B) 420 kDa・乳酸、(C) 22 kDa・ギ酸、(D) 22 kDa・酢酸の結果である。分子量が低い (22kDa以下) 場合に、繊維径100nm前後のナノファイバーを形成した。一方、溶媒として三種類の酸 (ギ酸、酢酸、乳酸) を比較したところ、繊維径にはいずれも影響を及ぼさない。

溶液を噴霧するツールとして、超音波式噴霧器 (A)、霧吹き (B)、エアブラシ (C)、噴霧なし (凍結乾燥のみ) (D) を比較した結果を図4に示す。超音波噴霧器を用いた場合のみ、配向性を有する微細な繊維状構造が得られた。

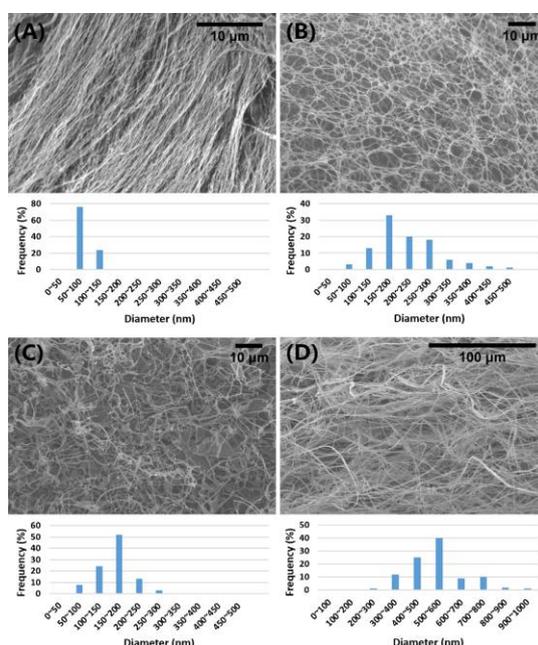


図4. キトサンナノ繊維 (噴霧手法の影響)

いくつかの水溶性多糖類に本手法を適用したところ、多糖類の種類によって、繊維径は異なるものの、ナノファイバーの形成が確認できた (表1)。

表1. 各種多糖類ナノファイバーの繊維径

Polysaccharides	Average diameter
0.2wt% alginate	137.93 ± 45.22 nm
0.2wt% β-1,3-glucan	194.66 ± 58.44 nm
0.2wt% hyaluronic acid	171.18 ± 36.93 nm
0.4wt% hyaluronic acid	197.91 ± 31.28 nm
0.1wt% κ-carrageenan	418.98 ± 99.01 nm
0.1wt% starch	123.86 ± 31.33 nm

以上のまとめとして、本研究では、海洋由来の天然高分子であるキトサンの水溶液からの溶液吹き付けと氷晶テンプレート法の組合せによるナノファイバー創製に関して、凍結速度やポリマー水溶液の濃度などの操作条件と構造さらにその物性との相関を網羅的に評価した。低濃度(0.4 wt%)に希釈したキトサン溶液をシリコンウェハー上に超音波噴霧機で吹き付け、液体窒素を用いて急速に凍結させた後に凍結乾燥させた構造体を走査型電子顕微鏡で観察したところ、配向性を持つナノサイズの繊維状構造(平均繊維径約100nm)が確認された。ここで、キトサンを溶解させる際に使用する酸の種類やキトサンの分子量により、得られる繊維径が異なった。また、凍結速度が繊維状構造の形成に大きく影響を及ぼし、凍結速度が速いほど繊維径が小さくなることを確認した。さらに、本法を適用することにより、アルギン酸やカラギーナン、ヒアルロン酸水溶液からもナノサイズの繊維状構造形成を確認しており、他の水溶性高分子に対しても、本手法の適用可能性が示唆された。キトサンをはじめとする海洋由来の天然高分子多糖類には、イオン性の官能基を有するものが多く、生理的活性をはじめとする優れた機能性素材としての可能性がナノファイバー化により大きく拓かれる可能性がある。将来的には、単独のポリマーだけでなく、ポリマー同士や他の薬物、金属などとの複合化について検討することにより、食品包装、創傷被覆、薬物担持や細胞足場材料など幅広い分野への産業応用が可能になると期待される。

<引用文献>

- ①脇坂港、白井義人、凍結濃縮技術とその最近の動向、日本冷凍空調学会論文集、2001、18(4)、1-11
- ②篠原 英介、脇坂 港、白井 義人、凍結融解法による食品ごみ糖化液からの固形分除去、

日本食品工学会誌、2009、10(1)、63-68

③Jonathan Spender et al., Method for Production of Polymer and Carbon Nanofibers from Water-Soluble Polymers, Nano Letters. 2012, 12, 3857-3860

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

① Wang, Y., & Wakisaka, M. (2015). Chitosan nanofibers fabricated by combined ultrasonic atomization and freeze casting. Carbohydrate Polymers、査読有、Vol. 122, 18-25.

doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.080

②Wang Yihan, Wakisaka Minato. (2014) Recent Development of Nanofiber Fabrication Techniques and Its Applicability to Chitosan Progress in Chemistry, 査読有、Vol. 26 Issue (11): 1821-1831

DOI: 10.7536/PC140636

[学会発表] (計1件)

①WANG Yihan, 脇坂港、溶液吹き付けと凍結乾燥を組み合わせたキトサンナノファイバー製造、日本食品工学会年次大会、つくば国際会議場(茨城県)(2014年8月7日)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

脇坂港 (WAKISAKA, Minato)

九州工業大学・大学院生命体工学研究科

・准教授

研究者番号：00359944