

平成20年3月30日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19560691  
 研究課題名（和文） シリカナノ粒子表面への生物忌避性物質の固定化と海洋材料への防汚性の付与  
 研究課題名（英文） Immobilization of capsaicin onto silica nanoparticel and the application of the silica to antifouling agent  
 研究代表者  
 坪川 紀夫（NORIO TSUBOKAWA）  
 新潟大学・自然科学系・教授  
 研究者番号：20018675

## 研究成果の概要：

シリカナノ粒子表面へ導入したイソシアネート基とカプサイシンの水酸基との反応により、カプサイシンが粒子表面へ固定化できることを見出した。また、カプサイシン固定化シランカップリング剤を用いても粒子表面へカプサイシンが固定化できることを明らかにした。さらに、カプサイシン固定化シリカはカプサイシンと同様の刺激性を持つことをマウスを用いた刺激性試験により確認した。また、カプサイシン固定化シリカは各種塗料中や樹脂中へ容易に、しかも均一に分散する性質を持つことも見出した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：材料工学

科研費の分科・細目：複合材料・物性

キーワード：シリカナノ粒子、表面グラフト、ポリアミドアミン、シロクロライド基、イソシアネート基、生物忌避性、カプサイシン、固定化、

## 1. 研究開始当初の背景

船舶などの海洋材料において、フジツボや牡蠣などの付着が大きな問題となっている。従来、防汚剤には有機スズ化合物が用いられていたが、環境汚染の問題で、使用が全面禁止された。したがって、現在、比較的環境の汚染が少ない亜酸化銅や金属錯体などが用いられている。しかし、これらの防汚剤は、効果は十分でなく、しかも重金属の海中への

溶出という問題を含んでいる。

ところで、生物忌避性を持つカプサイシンが環境にやさしく効果が高い海洋材料の防汚剤として利用できることを見出された。しかし、カプサイシンには、塗料への分散性や溶解性がほとんどないことや、塗料からの溶出が非常に速いことが大きな問題点となっている。また、カプサイシンを多量に塗料中に混練すると、材料の物性を著しく低下させ

るという問題にも直面している。

一方、我々はシリカなどの無機ナノ粒子表面への機能物質の固定化について検討してきた。

## 2. 研究の目的

本研究では多分岐ポリアミドアミンへのカプサイシンやカプサイシン類似生物忌避性物質の固定化と、この様なシリカを複合化した高分子材料表面や塗料表面の生物忌避性について検討し、安全で安心な海洋材料や船底塗料への応用展開について検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) シリカ表面へグラフトした多分岐ポリアミドアミン (PAMAM) へのカプサイシンの固定化

反応装置に、アミノ基を導入したシリカ (Silica-NH<sub>2</sub>) 15.0 g を加え、装置内を窒素置換した後、攪拌しながらアクリル酸メチル (MA) 5.0 g を噴霧した。その後、装置内を窒素置換し、50 °C で 20 時間反応させた。反応後、未反応の MA を減圧除去した。次いで、攪拌しながらエチレンジアミン (EDA) 5.0 g を噴霧し、50 °C で 20 時間反応させた。反応後、未反応の EDA、及び脱離するメタノールを減圧除去した。さらに、この操作を繰り返すことにより、粒子表面から PAMAM を逐次的に生長させた。

次に、スターラーバーを入れた試験管に PAMAM グラフトシリカを 50 mg、トルエンを 5 mL、ヘキサメチレンジイソシアネートを 2 滴加えた。これを窒素雰囲気下で、攪拌しながら 40 °C で反応させた。

30 分後に、反応容器中へカプサイシンを 0.1 g 加えた。これを窒素雰囲気下で、攪拌しながら 40 °C で 4 時間反応させた。反応後、生成物をアセトン、THF で繰り返し洗浄後、デシケーター中で減圧乾燥して保存した。

### (2) カプサイシンの固定化カップリング剤を用いる固定化

スターラーバーを入れた 100 mL ナス型フラスコに、カプサイシン 0.1 g、及び (3-イソシアネートプロピル)トリエトキシシラン (IPTES) 0.04 mL、トルエン 10 mL を加えた。フラスコに塩化カルシウム管を取り付けた還流冷却管を取り付け、フラスコ内を窒素置換した後、マグネチックスターラーで攪拌しながら 80 °C で反応させた。その反応液中へシリカナノ粒子 0.5 g を加え、塩化カルシウム管を取り付けた還流冷却管をフラスコに取り付け、フラスコ内を窒素置換した後、マグネチックスターラーで攪拌しながら 110 °C で 24 時間反応させた。

反応後、生成物をトルエンで繰り返し洗浄・分離した後、デシケーター中で減圧乾燥した。

## 4. 研究成果

### (1) シリカ表面へグラフトした PAMAM へのカプサイシンの固定化

#### ① シリカ表面への PAMAM のグラフト

アミノ基を導入したシリカ表面 MA を噴霧することにより Michael 付加反応を行い、1 等量のアミノ基を 2 等量のメチルエステル基に変換した。反応後、未反応の MA を減圧除去した。次いで、EDA を噴霧することにより、2 等量のメチルエステル基を 2 等量のアミノ基に変換した。すなわち、この 2 段階の反応で、アミノ基量が 2 倍となる。反応後、未反応の EDA および脱離するメタノールを減圧除去した。さらに、この操作を繰り返し、シリカ表面のアミノ基から PAMAM を逐次的に成長させた。

その結果、上記反応を繰り返すことにより、粒子表面から PAMAM が成長し、グラフト率は反応繰り返し回数 6 回で 94.7% に達した。

#### ② カプサイシンの固定化

PAMAM グラフトシリカへのカプサイシンの固定化にあたり、その足場として PAMAM グラフトシリカへのイソシアネート基の導入を行った。イソシアネート基の導入は、PAMAM グラフトシリカをヘキサメチレンジイソシアネートで処理し、PAMAM 末端のアミノ基とヘキサメチレンジイソシアネートで処理することにより行った。

ついで、シリカ表面へ導入したイソシアネート基とカプサイシンを反応させることにより、粒子表面へカプサイシンを固定化した (反応式 1)。



Table 1 に PAMAM グラフトシリカへ固定化されたカプサイシンの量を示した。固定化されたカプサイシンはヘキサメチレンジイソシアネートを導入したシリカ 1 g に対して 0.1 mmol であることがわかった。

ところで、カプサイシンの生物忌避活性について試験した報告がすでになされている。この報告書では、マルチウェルプレートを用いたフジツボキブリス幼生の付着試験を行ったところ、48時間後のフジツボ幼生の付着数が半分となるカプサイシン濃度は 1.56  $\mu\text{g/mL}$  であることが報告されている。

本研究で固定化されたカプサイシン量はヘキサメチレンジイソシアネートを導入したシリカ 1 g に対しておよそ 30 mg であることから、シリカへのカプサイシンの固定化量については十分であると考えられる。

**Table 1 Amount of immobilized capsaicin onto HMDI introduced silica**

Immobilized capsaicin	
%	mmol/g
2.8	0.1

Silica-PMAM-NCO, 50 mg; toluene, 5.0 mL; capsaicin; 0.1 g; 40°C; 4 h.

### ③ カプサイシン固定化の確認

PAMAM グラフトシリカにカプサイシンが固定化されたことを熱分解 GC-MS を用いて確認した。Figure 1 にカプサイシンを固定化したシリカとヘキサメチレンジイソシアネートを導入したシリカ、およびカプサイシンの熱分解ガスクロマトグラムを示した。熱分解 GC において、ヘキサメチレンジイソシアネートを導入したシリカでは PAMAM グラフトシリカでは発生しなかった熱分解ガスが検出された。なお、この熱分解ガスはカプサイシンの熱分解ガスクロマトグラムにおいても検出された。

カプサイシンを固定化したシリカとカプサイシンの熱分解ガスクロマトグラムにおいて、保持時間 11.3 分のピークにおけるマススペクトルを測定し、得られたマススペクトルを Figure 2 に示した。カプサイシンを固定化したシリカとカプサイシンの熱分解ガスのマススペクトルはよく一致した。また、分子量 137 のピークはカプサイシンの分解により生じたものと分子量が一致した。

以上の結果から、PAMAM グラフトシリカにカプサイシンが固定化できることが確認できた。

### (2) カプサイシンの固定化カップリング剤を用いる固定化

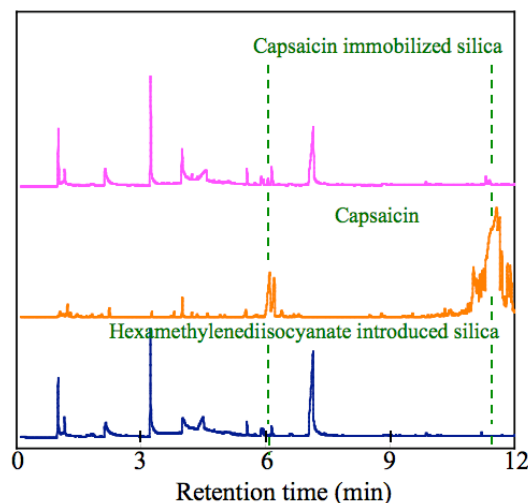
#### ①カプサイシンの固定化カップリング剤の合成

まず、シランカップリング剤 IPTES のイソシアネート基とカプサイシンのヒドロキシル基とを反応させることによる、カプサイシンを固定化したシランカップリング剤 (IPTES-Capsaicin) の合成について検討した。

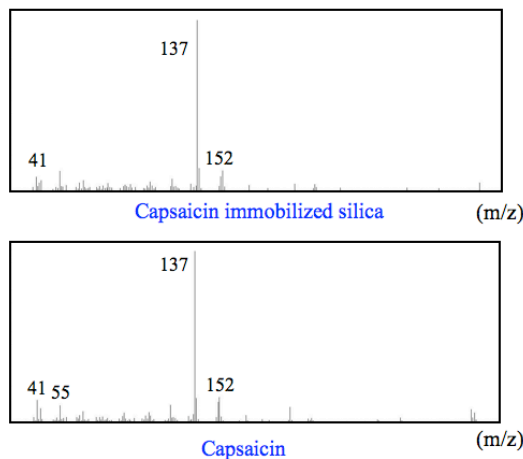
カプサイシン、IPTES-Capsaicin、及び IPTES

の IR スペクトルを比較検討した結果、カプサイシンを固定化したシランカップリング剤の IR スペクトルにおいて 1750  $\text{cm}^{-1}$  付近にカプサイシン及びシランカップリング剤の IR スペクトルには認められないウレタン結合に由来する吸収が認められた。

以上の結果から、カプサイシンとシランカップリング剤がウレタン結合を介して結合していることが確認できた。



**Fig.1 GC of thermal decomposition gas of capsaicin immobilized silica**



**Fig.2 MS of thermal decomposition gas of capsaicin immobilized silica**

#### ②シリカ表面とカプサイシン固定化シリカとの反応

カプサイシンを固定化したシランカップリング剤のエトキシシリル基とシリカナノ粒子のシラノール基とを縮合反応させることによる、シリカ表面へのカプサイシンの固定化について検討した (反応式 2)。

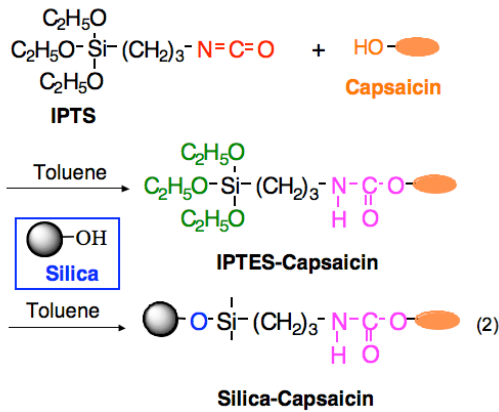
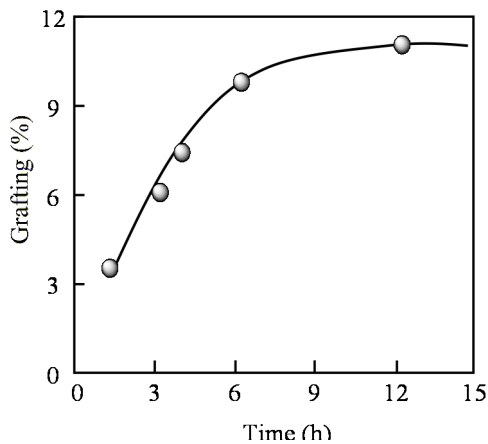


Figure 3にTGAから算出したシリカ表面へのカプサイシンの固定化率と反応時間との関係を示した。カプサイシンの固定化率は時間とともに増加し、反応時間 12 時間ではほぼ一定になることが分かった。



**Fig.3 Relationship between reaction time and grafting of capsaicin**

また、シリカナノ粒子表面へのカプサイシンの固定化は熱分解 GC-MS で確認した。

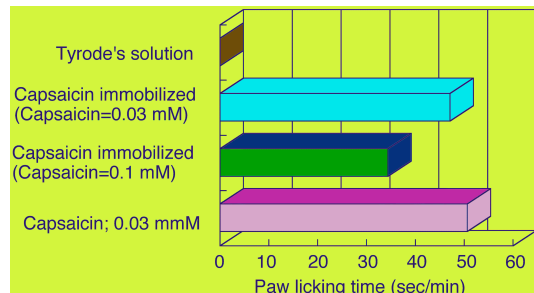
その結果、カプサイシンを固定化したシリカ、及びカプサイシンの熱分解ガスクロマトグラムの保持時間 4.2 分において、同様の熱分解ガスが検出された。そこで、この保持時間 4.2 分におけるカプサイシンを固定化したシリカ、及びカプサイシンの熱分解ガスのマススペクトルを測定した結果、カプサイシンを固定化したシリカとカプサイシンのマススペクトルはよく一致した。

以上の結果から、PAMAM グラフトシリカにカプサイシンが固定化できることが確認できた。

(3)カプサイシン固定化シリカの刺激性の確認

①ポーリック試験

マウスの足の裏に、カプサイシン、及びカプサイシン固定化シリカを注射して、マウスが痛みのため、足の裏を舐める回数で刺激の比較を行った。実験の結果を Figure 4 に示した。

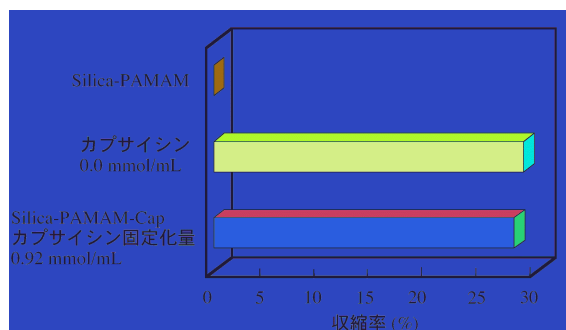


**Fig.4 Paw licking test of capsaicin-immobilized silica**

Figure 4 から分かるように、タイロド液を注射されてもマウスは全く足の裏を舐めなかった。これに対して、カプサイシン固定化シリカ（固定化カプサイシン量：0.03mM）と固定化しないカプサイシンを注射した場合は、マウスは同程度の回数足の裏を舐め、シリカに固定化してもカプサイシンは刺激性を保持することが分かった。

②マグヌス試験

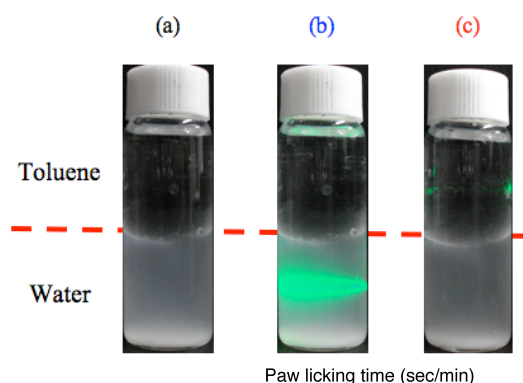
Figure 5 には、カプサイシン固定化シリカの刺激性を評価するため、モルモットの腸管を用いてマグヌス試験を行った結果を示した。未処理のシリカの存在下では腸管の収縮はほとんど起こらなかった。これに対して、カプサイシン固定化シリカとシリカ表面に固定化された量と等量のカプサイシンを添加したところ、腸管の収縮率はそれぞれ 28.8%及び 28.9%であった。これにより、シリカに固定化されているカプサイシンが、純粋なカプサイシンと比較してほぼ同程度の活性を維持していることがわかった。



**Fig.5 Maguns test of capsaicin-immobilized silica**

(4)カプサイシン固定化シリカの分散性評価  
Figure 6 にカプサイシンを固定化したシリカ

のトルエン／水の二相系へ加え激しく振り混ぜた後、静置したときの結果を示した。



**Fig.6 Dispersibility of capsaicin- immobilized silica in binary phase of toluene and water. Green laser was irradiated to (b) water phase and (c) toluene phase**

これから分かるように、カプサイシン固定化シリカは親水性を示し、水相へ安定に分散するが、トルエン中へは全く分散しないことが分かった。

(5)カプサイシン固定化シリカを分散させた船底塗料の防汚性評価

カプサイシン固定化シリカを分散した船底塗料をステンレス板に塗布して、海水中へ沈め、6ヶ月後フジツボ等の付着状態を観察した。

その結果、カプサイシン固定化シリカを添加しても、著しい防汚効果は認められなかった。

従って、カプサイシン固定化シリカ表面からカプサイシンを徐放させる必要のあることが分かった。

## 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1件)

① N. Tsubokawa, Surface grafting of polymers onto nanoparticles in solvent-free dry-system and applications of polymer-grafted nanoparticles as novel functional hybrid materials, *Polymer Journal*, 39 (10), 983-1000 (2007).

[学会発表] (計8件)

① 斎藤智哉、韋 鋼、白井久美、山内 健、坪川紀夫、ポリアミドアミングラフトシリカナノ粒子へのカプサイシンの固定化及びその特性、第15回複合材料界面シンポジウム、2007年4月26日、京都。

② T. Saitoh, W. Gang, K. Shirai, T. Yamauchi, N.

Tsubokawa, Immobilization of capsaicin onto hyperbranched poly(amidoamine)-grafted silica nano- particle and its biorepellent property, 4<sup>th</sup> International Symposium on Advanced Materials in Asia-Pacific Rim, 2007年7月14日、新潟。

③ 斎藤智哉、韋 鋼、白井久美、山内 健、坪川紀夫、ポリマーグラフトシリカナノ粒子表面へのカプサイシンの固定化とその特性、高分子討論会、2007年9月20日、名古屋。

④ 河原崇史、白井久美、山内 健、坪川紀夫、ナノ粒子表面グラフト鎖への生理活性物質の固定化、平成19年度北陸地区高分子若手研究会、2007年11月16日、富山。

⑤ 坪川紀夫、生理活性物質を固定化したポリマーグラフトナノ粒子の合成と特性、日本化学会第88春季年会(招待講演)、2008年3月28日、東京。

⑥ 河原崇史、山内 健、坪川紀夫、シリカナノ粒子表面への生理活性物質の固定化とその特性評価、第19回複合材料界面シンポジウム、2008年4月24日、長野。

⑦ 鈴木英司、山内 健、坪川紀夫、シリカナノ粒子表面への機能付与、第27回無機高分子研究討論会、2008年11月7日、東京。

⑧ 坪川紀夫、機能性ナノ粒子の合成と応用、第16回ファイラーシンポジウム、2008年11月18日、京都。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坪川 紀夫 (NORIO TSUBOKAWA)  
新潟大学・自然科学系・教授  
研究者番号：20018675

### (2) 研究分担者

なし