

グリーンサーファクタントのミセル-ナノファイバー転移を用いた機能性素材開発

東京農業大学 生物産業学部食香粧化学科

小河 重三郎

1. はじめに

界面活性剤は工業製品として食品、化粧品、医薬品をはじめ様々な分野で広く利用されている。多様な成分と混ぜ合わせる必要があるそれらの分野における機能性素材の開発には、構成単位を作る物質の合成化学、それらを組み立てるナノ技術、さらに複数種類のコンポーネントを巧妙に組み合わせる複合材料構築技術の確立が必要不可欠である。¹⁾

また、石油系由来の界面活性剤に代わり、持続可能なバイオマス資源を用いて合成される界面活性剤であるグリーンサーファクタントの活用は、持続可能な開発目標（SDGs）やカーボンニュートラルの達成において重要と考えられる。²⁾ 代表的なグリーンサーファクタントの一つであるアルキルグリコシドは糖質部とアルコールが *O*-グリコシド結合により連結した糖脂質であり、ヒトに対し低刺激で、また環境中で容易に生分解されるヒトと環境に優しい素材として工業的に利用されている。³⁾ アルキルグリコシドは *D*-グルコースを原料とするアルキルポリグルコシドやアルキルグルコシドなど洗浄剤、可溶化剤として広く活用されているが、*D*-ガラクトースを原料とするアルキルガラクトシドは水への溶解性が顕著に低く、洗浄剤等の利用は難しく、その利用に際しては別の切り口が必要と考えられる。それぞれの化合物構造を図 1 に示した。アルキルグルコシドとアルキルガラクトシドは異性体の関係である。

生物資源としてとらえた際、*D*-ガラクトースは自然界に豊富に存在する糖質であり、藻類、植物、酪農廃棄物などに広く存在する。⁴⁾ 酪農廃棄物あるいは乳糖からは酵素加水分解と *D*-グルコースの除去により *D*-ガラクトースを得ることができるが、アルコール存在下において、酵素触媒を用いて直接的にアルキル β -*D*-ガラクトシド（ C_nGal ：*n* は炭化水素鎖長）を合成できることは特筆すべき工程と言える（図 2）。温和な条件を用いた環境調和型の反応による製造可能性は産業化において期待がもたれる。

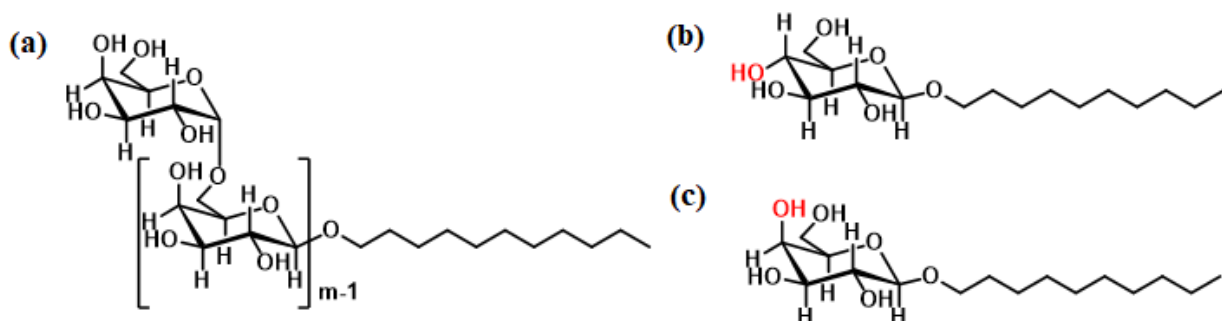


図 1. グリーンサーファクタントであるアルキルグリコシド。(a) アルキルポリグリコシド、(b) アルキル β -*D*-グルコシド、(c) アルキル β -*D*-ガラクトシド（ C_nGal ）。ここではアルキル基はデシル基として記述した。グルコースとガラクトースは単糖の 4 位の水酸基と水素の位置が反対の異性体である。

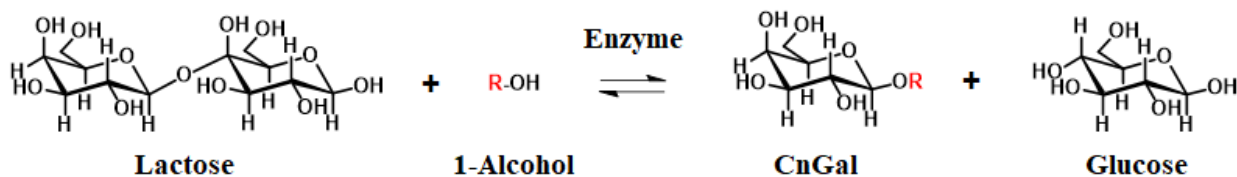


図 2. ラクトースを原料とするアルキル β -D-ガラクトシド (CnGal) の酵素的合成。R は炭化水素鎖。

ガラクトースを親水部とするアルキルグリコシドである CnGal は、他の異性体のアルキルグリコシド類に比べて常温において析出しやすいため通常界面活性剤としての利用性は低いと捉えられるが、最近 CnGal 特有の挙動も明らかとなってきた。^{5,6)} 例えば、D-ガラクトースと 1-オクタノールを縮合して得られる C8Gal は、水中で加温することでミセル構造を形成するが、冷却し析出させると、サブミクロン直径からなるナノファイバーを与えることが明らかとなっている。⁵⁾ ファイバー素材は化粧品を始めとする分野で先端素材として注目され、パルミトイルペプチド-18 から作られるナノファイバージェル[®]は化粧品用材料として使用されている。広く工業利用がなされているアルキルグルコシドの異性体である CnGal と水を用いて温和な温度変化のみを活用して創出する自己組織化ファイバー素材は産業化において有用となることが期待される。

2. C8Gal のミセル-ファイバー転移

界面活性剤は希薄水溶液から徐々に界面活性剤濃度を上昇させていくと、臨界ミセル濃度 (CMC) 以上においてミセルという親水部を水側に疎水部を内側に向けた会合体を形成する。⁷⁾ このミセルは水に難溶性色素や油、香料成分を取り込み、結果的に水中での溶解度を向上させる。この現象を可溶化といい、化粧水の製造に活用されている。⁷⁾ また、界面活性剤は冷却しクラフト温度境界線という温度以下になると析出し、水和物固体と言われるコアゲル相を形成する。⁸⁾ 著者らは C8Gal と水中でのコアゲル状態について検討を行い、キセロゲルにおける構造観察や光学顕微鏡観察からサブミクロン直径のナノファイバーを形成することが見出してきた。^{5,9)} このファイバー結晶は自重で落下しないような強度を示すハイドロゲル状態を与えるが、加熱するとミセルとなってゾルに戻るため、すなわち温度変化による可逆的なミセル-ファイバー (あるいはハイドロゲル) 転移が確認された (図 3)。

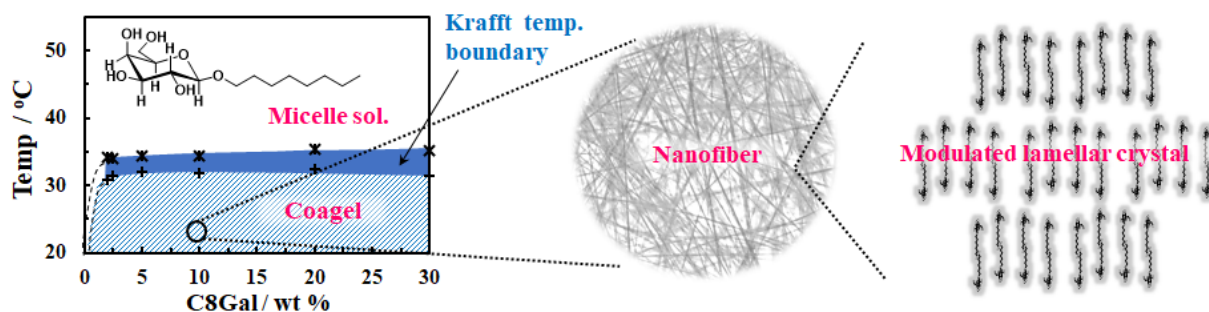


図 3. C8Gal-水混合系相図およびクラフト温度境界温度以下でのナノファイバー形成の関係を示した図。

ファイバー構造はクラフト温度境界線以下の温度領域で、ミセル会合体から C8Gal 結晶の核が生成し、ファイバー状に成長したことが考えられるが、ファイバーを構成する結晶は規則的な配列構造体である。そのため、前述した油や香料、あるいは色素を可溶化したミセル状態からファイバー結晶が形成される際、それらが結晶中に取り込まれるか、あるいは排出されるかは様々な要因によって決定されることが考えられる。界面活性剤分子と特異的な相互作用を与える成分であれば会合体として組み込まれる得ることや、結晶間の隙間にトラップされるような状態も考えられる。このような点については依然として挑戦的な課題だというふうに捉えられるに違いない。

他方で、C8Gal のファイバーは C8Gal 2 分子に対し 1 分子が含まれる 0.5 水和物結晶から構成される。⁶⁾ この水和物結晶は配向膜試料に対し微入射 X 線回折測定を適用し、さらに二次元検出器で X 線の回折斑点を確認した結果、多くの単結晶 X 線構造解析から知られてきた糖脂質の結晶構造の経験則に反した、不整合状態の結晶であることが明らかとされた。^{6,10)} 詳細の構造は不明であるが、C8Gal の二分子膜会合体が不整合な状態で繋がり形成された結晶であることが考えられている (図 3 右)。^{6,9)} 不整合ドメインが他物質との相互作用を与える (高いエネルギーを有する) ドメインであれば、水に難溶な成分をミセル中に可溶化させた後で冷却してファイバー構造を形成する時に、他成分は不整合間に特異的に取り込まれ結晶状態を安定化できる可能性が期待される。その結果、新しい機能性素材の開発が達成できることが期待できる。

3. CnGal の合成

化合物合成は既報⁵⁾と同様、1, 2, 3, 4, 6-ペンタアセチル β -D-ガラクトピラノシドを原料として合成した。すなわち、1, 2, 3, 4, 6-ペンタアセチル β -D-ガラクトピラノシド (2.5 g, 6.4 mmol) と 1-アルコール (15.0 mmol) をジクロロメタン (60 mL) 中、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル (2.43 mL, 15.0 mmol) 触媒下、常温で攪拌しながら 6 h 反応させ、続いて飽和 NaHCO₃ aq. を加えクエンチした。CH₂Cl₂ で抽出した後、溶液を無水 Na₂SO₄ で乾燥した後、濾別により得たる液をロータリーエバポレーターにより濃縮した。得られた反応混合物を分取用シリカゲルクロマトグラフィー (酢酸エチル : ヘキサン = 1 : 3 または 4) で精製し、1-O-アルキル-2,3,4,6-テトラアセチル β -D-ガラクトピラノシドを得た。このテトラアセテートをメタノール (3.8 mL) に溶解した後、ナトリウムメトキシドメタノール溶液 (91 mM: 0.7 mL) を滴下した。一晚攪拌後、陽イオン交換樹脂で中和し、濾別によりろ液を得た。得られたろ液を加熱下でロータリーエバポレーターで濃縮した後、メタノールおよび酢酸エチルを良溶媒および貧溶媒とした再沈殿、アセトン-ヘキサンを用いた再結晶、および分取用シリカゲルクロマトグラフィー精製 (メタノール : クロロホルム = 1 : 6) を行うことで精製 CnGal を得た。高い純度であることは ¹H-NMR スペクトル測定により決定し、文献値と一致することを確認した。

4. デシル β -D-ガラクトシド (C10Gal) の可溶化

初めに様々な CnGal (n = 6, 8, 10, 11, 12) の水中での挙動について目視観察や溶液についての絶対散乱強度 (単位 kcps) と粒子径分布強度 (単位%) 等について調査した。その結果、n = 11 以上とする炭化水素鎖長の CnGal は水中での溶解性が著しく低く、n = 10 とする C10Gal

が加温により溶解しミセルを形成し、また冷却した際に良好なファイバーを形成することが確認された。そこで、C10Gal に対して様々なファイトケミカル（カロテノイド、クルクミノイド、クロロフィル、フェオフィチン、ポリフェノール類など）について可溶化およびファイバー形成を確認した（図 4）。本報告ではクルクミンの場合について代表例として紹介する。クルクミンは溶液状態において発光を与えることが知られている。¹¹⁾ また分子は対称構造からなるため、ガラクトースとクルクミンが相互作用を与える場合、ガラクトースのキラリティーによりねじれが生じ、円偏光二色性吸収や円偏光発光が観察できることを期待した。円偏光二色性発光を示す素材はセンシングやイメージング用途での利用が期待されている。¹²⁾

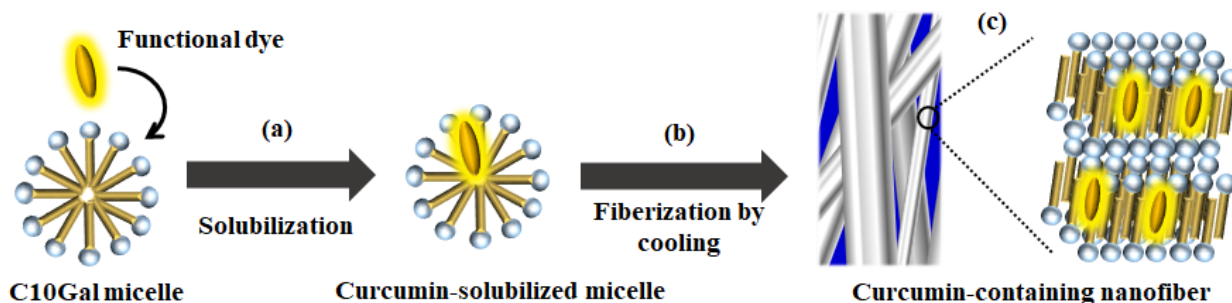


図 4. 本研究の取り組み：C10Gal のミセル-ファイバー転移による機能性ファイバーの作製。
(a) 可溶化、(b) ファイバー化、(c) ろ過によるファイバー粉体の回収。

C10Gal 水溶液にクルクミンを添加して 50℃に加温し超音波洗浄器で超音波照射を行った結果、水溶液は水に難溶なはずのクルクミンにより着色した。興味深いことに添加するクルクミン粉体は発光を与えなかったが、クルクミンの着色に伴い 365 nm の紫外線下顕著な発光を与えた。これはクルクミンが C10Gal ミセル中に溶解することで発光特性を示したことが考えられた（図 5）。このような挙動は、C10Gal の CMC 以上の濃度から確認できたことから、クルクミンが C10Gal ミセルにより可溶化された状態であると結論付けられた。なお、クルクミン可溶化ミセル水溶液に対し円偏光二色性吸収（CD）スペクトル測定を行った結果、測定濃度範囲においてクルクミン由来の吸収スペクトルに対する楕円率変化は確認されなかった。クルクミンが C10Gal 可溶化ミセル中でガラクトース部と強い相互作用を与えていることは確認できなかった。

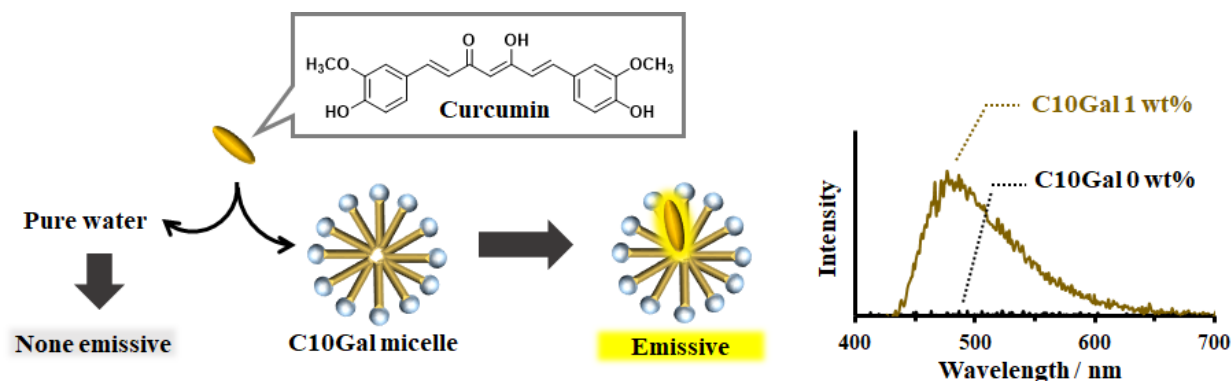


図 5. 発光スペクトルによる 50℃での C10Gal ミセル中へのクルクミンの可溶化挙動の確認（ $\lambda_{ex} = 365 \text{ nm}$ ）。

5. クルクミン含有 C10Gal ファイバーの形成観察

C8Gal はサブミクロン直径を示すナノファイバーを形成することが確認されているが、⁵⁾ C10Gal も良好なファイバーを形成することが確認された。結晶は非常に湾曲したものも確認されており、ファイバーの柔軟性が確認された (図 6a)。

少量のクルクミンを添加した可溶化ミセルからファイバーを形成させた場合の蛍光顕微鏡観察結果は明視野画像と蛍光画像は重なり合うことからファイバー内にクルクミンは均質に取り込まれていることが強く示された (図 6b)。すなわち、可溶化ミセルからのクルクミン含有ファイバーの調製に成功した。また、クルクミン含有ファイバーを含むハイドロゲルは加温により可溶化ミセルに戻りまた冷却するとクルクミン含有ファイバーを形成するように、その変化は可逆的であった。このような可逆性は温度応答型材料に利用できる可能性がある。

ところで、クルクミンの配合量を多くした際、顕著に異なる挙動が確認された。すなわち、可溶化ミセル状態と考えられた 50℃の C10Gal ミセル溶液は桐山ろ過により大部分が除去され、溶液状態ではないことが判った。また、ろ過することなく冷却して得た析出物は微細化されているもののファイバーではあることが確認された (図 6c)。このような特徴は、可溶化ミセルと被可溶化物の混合状態は単純ではなく、条件に応じて変動し得るものであることを強く指示している。

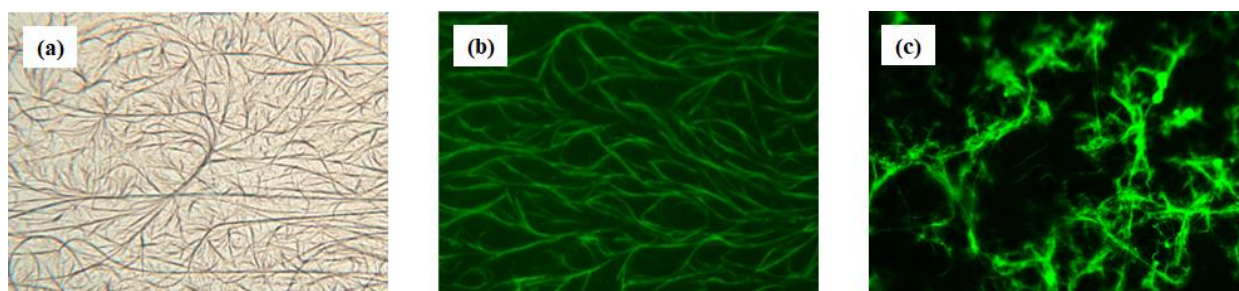


図 6. ハイドロゲル中の C10Gal ファイバーに関するモフォロジー観察。(a) C10Gal ファイバーの光学顕微鏡画像、(b) 少量のクルクミンを含有した C10Gal ファイバーと(c) 多量のクルクミンを含有した C10Gal ファイバーの蛍光顕微鏡画像。

6. クルクミン含有 C10Gal ファイバーの構造および性状評価

クルクミン含有ファイバーのハイドロゲルはメンブレンフィルターろ過を行うことで簡単に脱水され、着色粉体が回収された。この粉体について X 線回折測定を行った結果、クルクミン含有 C10Gal ファイバーを形成する C10Gal の結晶構造はクルクミン含有量によって変化することが確認された。すなわち、少量のクルクミンを含有する場合、クルクミン無添加下で観察される C10Gal 水和物結晶のままであったが、多量のクルクミンを含有させた場合、明瞭に異なる回折ピークが確認された。これは C10Gal とクルクミンが特異的な相互作用により付加体を形成したものと推察される。リン脂質と有効成分の付加体形成は報告されているが、¹³⁾ 界面活性剤とクルクミンの付加体形成はあまり知られていない。クルクミンの発光波長はクルクミンの含有量に応じて若干長波長側に推移したが、いずれも高い発光量子収率が確認され、高発光性粉体が得られたことが判った (図 7)。しかし、クルクミン-C10Gal コンポジット粉体

とシリコングリースとを混合させた試料に対し円偏光二色性発光スペクトル測定を行った結果、円偏光発光は確認できなかった。これは、ガラクトース部位とクルクミン間で強い相互作用を形成していないことや、クルクミンのような柔らかい分子では仮に相互作用が生じていても捻じれ状態は安定的に形成されないことなど考えられた。

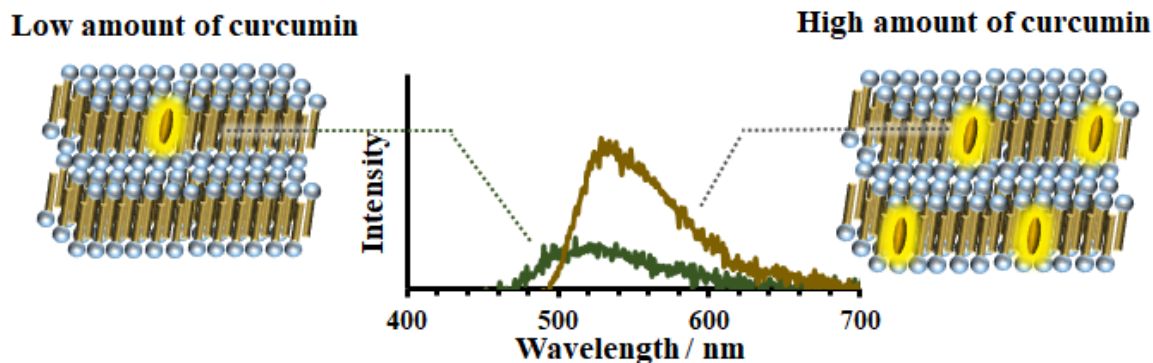


図 7. クルクミン含有 C10Gal 粉体の発光スペクトル ($\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$)。

7. まとめ

今回、我々は機能性色素を C10Gal ミセル中に可溶化させ、さらに冷却することで機能性色素含有発光性ファイバー素材の構築に成功したことについてクルクミンを一例として紹介した。この際、X 線回折測定から C10Gal-クルクミン付加体構造の形成が示唆され、C10Gal とクルクミンとの関係は可溶化側と被可溶化側という明確な関係にはなく、混合状態によって特異な構造体を形成することが判った。また、本稿では割愛したが、ファイトケミカルの構造に応じて、C10Gal との混合状態は異なることが強く示唆されている。これらの理解を深めることで、複数種類のコンポーネントを効果に組み合わせる複合材料構築技術の確立が実現されるものと考えられた。今後、C10Gal 以外のグリーンサーファクタントにおいてもミセル-ファイバー転移の有効性を検証していきたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人天野工業技術研究所から多大な援助をいただきました。粉体の円偏光発光および円二色性吸収の測定には、広島大学自然科学研究支援開発センター (N-BARD) にご協力いただきました。溶液の円偏光二色性吸収スペクトル、粉体の X 線回折測定は北見工業大学共同利用設備ステーションの共用設備を利用しました。発光量子収率測定は千葉大学共用機器センターを利用しました。ここに厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Ariga, K. Composite Nanoarchitectonics towards method for everything in materials science. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, 1-22 (2024)
- 2) Wang, L., & Queneau, Y. Carbohydrate-based amphiphiles: resource for bio-based surfactants. *Green Chem. Chem. Eng.*, 349-383 (2019)
- 3) von Rybinski, W., & Hill, K. Alkyl polyglycosides—properties and applications of a new class of surfactants. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 37, 1328-1345 (1998)

- 4) Chen, Q., Xu, W., Wu, H., Guang, C., Zhang, W., & Mu, W. An overview of D-galactose utilization through microbial fermentation and enzyme-catalyzed conversion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1-10 (2021)
- 5) Ogawa, S., Koga, M., Asakura, K., Takahashi, I., & Osanai, S. Coagel prepared from aqueous octyl β -D-galactoside solution. *J. Surfactants Deterg.*, 20, 255-261 (2017)
- 6) Ogawa, S., Ozaki, Y., & Takahashi, I. Structural insights into solid-to-solid phase transition and modulated crystal formation in octyl- β -D-galactoside crystals. *ChemPhysChem*, 17, 2808-2812 (2016).
- 7) 日本油化学会編, 界面と界面活性剤—基礎から応用まで (改訂版第2版), 2009年4月
- 8) Laughlin R. G., The characteristic features of surfactant phase behavior. In: Laughlin RG (ed), *The Aqueous Phase Behavior of Surfactants*. Academic Press, London (1994)
- 9) Ogawa, S. Aqueous sugar-based amphiphile systems: Recent advances in phase behavior and nanoarchitectonics. *J. Oleo Sci.*, 72, 489-499 (2023)
- 10) Ogawa, S., & Takahashi, I. Structural characterization of perpendicularly aligned submicrometer-thick synthetic glycolipid polycrystalline films using conventional X-ray diffraction. *Crystals*, 7, 356 (2017)
- 11) Erez, Y., Presiado, I., Gepshtein, R., & Huppert, D. Temperature dependence of the fluorescence properties of curcumin. *J. Phys. Chem. A*, 115, 10962-10971 (2011)
- 12) Cho, N. H., Guerrero-Martínez, A., Ma, J., Bals, S., Kotov, N. A., Liz-Marzán, L. M., & Nam, K. T., Bioinspired chiral inorganic nanomaterials. *Nat. Rev. Bioeng.*, 1, 88-106 (2023)
- 13) Maiti, K., Mukherjee, K., Gantait, A., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. Curcumin-phospholipid complex: preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. *Int. J. Pharm.*, 330, 155-163 (2007)