

Feature Article

特集論文

第2回 堀場雅夫賞 受賞者論文

赤外分光法とX線回折法による生分解性高分子の C-H \cdots O水素結合の研究

— "弱い水素結合" が結晶構造安定化と熱的挙動に果たす役割 —

佐藤 春実

本研究では、赤外(IR)分光法とX線回折法を併せ用いて代表的な生分解性高分子であるポリヒドロキシブタン酸 (PHB: poly(3-hydroxybutyrate)) に着目し、その結晶構造や熱挙動を研究し、PHB結晶構造中にC-H \cdots O=C相互作用が存在することを世界で初めて見出した。このC-H \cdots O=C相互作用は、最近注目されている“弱い水素結合”の一種である。筆者は、この水素結合の強度や温度変化をCH伸縮振動バンドとC=O伸縮振動バンドのわずかなシフトや強度変化から研究した。バンドの解析には2次微分や差スペクトル等を駆使した。また、量子化学計算の結果も参考にした。C-H、C=O伸縮振動のバンドの波数からC-H \cdots O=C水素結合の強度を研究し、強度変化から温度上昇と共に水素結合が切れていく様子を調べた。C-H \cdots O=C水素結合は、2本のらせん構造をとる2本のポリマー鎖を結びつけて結晶構造を安定化させていると考えられる。PHBの特異な分子鎖の折りたたみ構造や結晶構造の安定化並びに共重合体の高結晶化度に、このC-H \cdots O=C相互作用が重要な役割を果たしていることを確認した。

はじめに

化石資源より大量生産されるプラスチックは、日常生活の中で幅広い分野にわたり利用されている重要な材料であるが、その多くは自然環境中で分解されないため、その廃棄物による環境汚染が問題となっている。生分解性ポリマーは、環境への負荷が少なく、資源枯渇問題やゴミ問題の解決策として有効であり、また地球温暖化の原因となっているCO₂の削減に大きく貢献することができる。生分解性ポリマーの研究は国内外で盛んに行われているが^{[1]-[4]}、生合成や生分解性など実用、応用面に関する研究が先行し、結晶化などの基礎物性に関する研究は、あまり進んでいない。そこでIR分光法とX線回折法を用いて生分解性ポリマーであるポリヒドロキシブタン酸 (PHB) の結晶構造とその熱挙動などの基礎物性に関する研究を行った。

生分解性ポリマー

生分解性ポリマーは、微生物によって作られるポリマー、植物によって作られる天然のポリマー、ポリ乳酸に代表される化学合成で作られる合成ポリマーに分類される。微生物由来の生分解性ポリマーの代表であるPHBは、結晶格子の a 軸方向に分子鎖が折りたたんで結晶が成長するといった特異な結晶成長をすることが知られている^{[5], [6]}。図1に、PHBとその共重合体の構造式を示す。筆者らはIR分光法とX線回折法を用いてPHBの結晶構造とその熱挙動を詳細に調べることで、PHBの特異な結晶成長機構を解き明かすことを試みた。その中でPHB結晶構造中にC-H \cdots O=C水素結合が存在することを見出した。C-H \cdots O=C水素結合は、最近、タンパク質や核酸などでも見い出され、その重要な働きに注目を集めている。

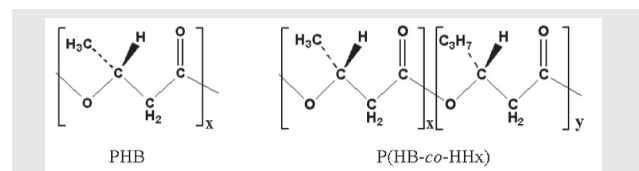


図1 ポリヒドロキシブタン酸(PHB) とその共重合体の構造式

C-H...O水素結合

最近, C-H...O水素結合がタンパク質や核酸の構造の安定化, 更には, タンパク質-核酸の相互認識, 酵素-基質相互作用, 生体分子遷移状態の安定化などにおいて重要な機能を担っているという報告が相次いで発表されている。例えばシトシン-グアニン(C・G) やウラシル-アデニン(U・A) 塩基対は, 通常のN-H...O水素結合のみならず, C-H...O水素結合を含む3つの水素結合によって安定化されている。タンパク質については数多くのタンパク質結晶について詳細な解析が行われ, C-H...O水素結合が普遍的に存在することがわかってきた。

本研究の大きな特色の一つは, 生体高分子以外的高分子で初めてC-H...O=C水素結合が存在することを見出し, IR分光法とX線回折法を併せ用いてC-H...O=C水素結合の強さとその変化に伴う格子定数の熱的挙動を捕らえた点である。

生分解性ポリマーの結晶構造とC-H...O=C水素結合

図2(a)にPHBの結晶構造を示す^{[7], [8]}。PHBの結晶系は

斜方晶系, 格子定数は $a=5.76 \text{ \AA}$, $b=13.20 \text{ \AA}$, $c=5.96 \text{ \AA}$ (繊維軸) で, すべての結晶軸に対して2回らせんの対称性を有する空間群 $P2_1 2_1 2_1-D_2^4$ の結晶構造を持つ。X線回折測定からヒドロキシヘキサ酸(HHx) との共重合体P(HB-co-HHx) (図1) もすべて同じ斜方晶系の結晶構造を持つことが確認できた^{[9]-[12]}。この結晶構造で注目すべき点は, C=O基の酸素原子とCH₃基がらせんの外向きに配位した格好になっており, CH₃基とC=O基の酸素原子の距離がかなり短くなっている点である(図2(b))。1973年にPHBの結晶構造解析が行われた当時は, 誰もCH₃基とC=O基の酸素原子が近接しており, C-H...O=C水素結合していることには気がつかなかった。それを初めて指摘したのは筆者である^{[9]-[18]}。ここで注意しなければならないのは, C=Oの酸素原子がCH₃基の3本C-H基と等距離にあるのではなく, そのうちの1つと特に近い距離(2.63Å)にあるという点である。この距離は酸素原子と水素原子のそれぞれのファンデアワールス半径の和である2.72Åよりも短い(この時X線結晶解析ではH原子の位置が不明確なため, C-H結合距離を1.09ÅとしてCH₃基を回転させながら最短のC-H...O間距離を求めた) このことは, 酸素原子と水素原子間には弱い相互作用(CH...O=C水素結合) が存在することを示唆して

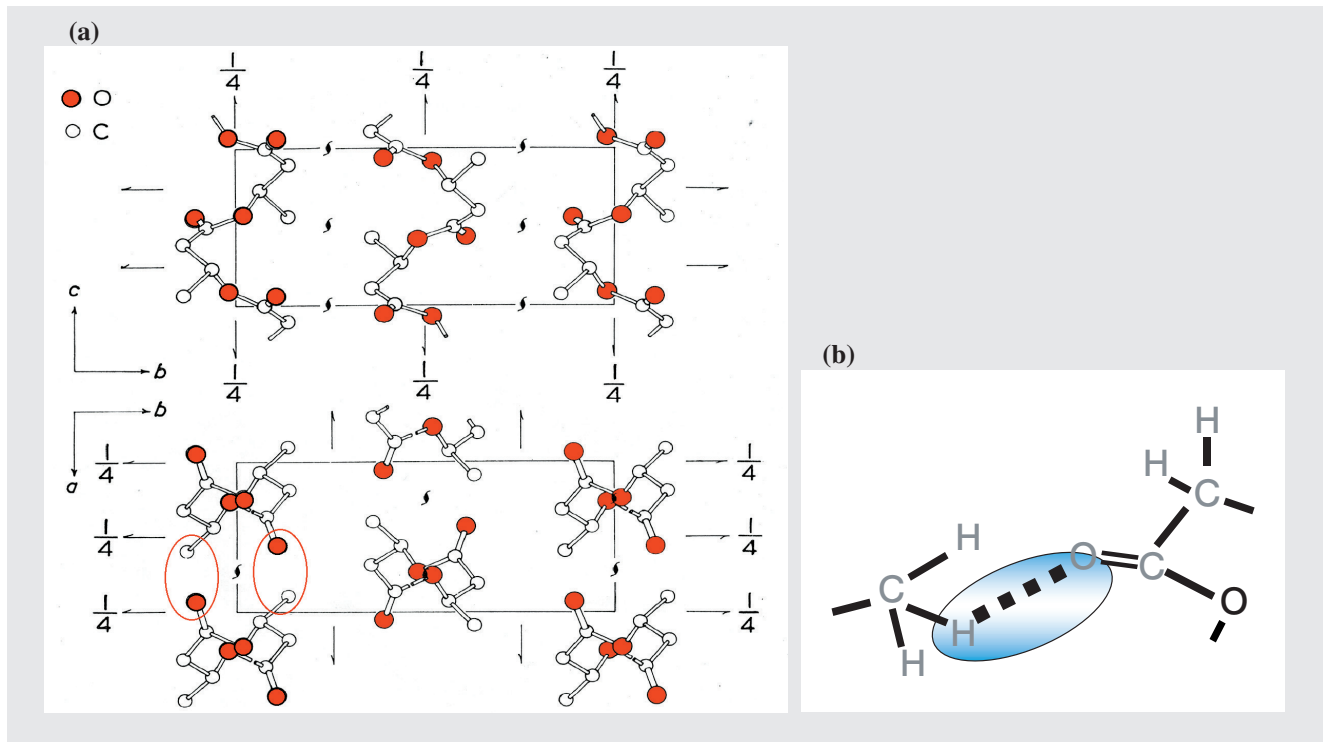


図2 PHBの結晶構造
(a) 対象要素の配置 (b) C-H...O=C水素結合の模式図

↗ : 紙面に垂直ならせん軸
← : 紙面に平行ならせん軸(数字の記載されていないものは, 単位格子の高さ0と1/2に, 1/4と記載されているものは, 高さ1/4と3/4に, らせん軸がある)

いる。筆者らはPHBのX線回折の温度変化測定を行い、格子定数 a の温度変化の方が b よりも大きいことを見出した。また格子定数 a に関係する面間隔は温度上昇に伴い、室温から徐々に広がることも見つけた。それらの観測と系の結晶構造(図2(a))を考慮して、筆者らは、 a 軸上に沿って隣接するC=O基とCH₃基との間に弱い相互作用(C-H...O=C水素結合)が存在し(図2(b))、その相互作用が温度上昇と共に次第に弱くなり、 a 軸方向の面間隔が広がると結論した。

IR分光法の進歩とスペクトル解析

赤外分光法を用いると、CH伸縮振動とC=O伸縮振動のバンドからC-H...O=C水素結合を直接研究することができる。すなわち、それらの波数からC-H...O=C水素結合の強度を、強度の温度変化からC-H...O=C水素結合の切れていく様子を詳細に調べることができる(図3)。これらのシフトは非常に小さいものであり、従来の赤外分光法ではそのような小さいシフトを検出することができなかった。最近のFT-IRの進歩によって2次微分や差スペクトルなどを駆使して、非常に高精度なスペクトル解析ができるようになったため、わずかなシフトも議論することができるようになった。図3(a)(b)は、PHBのIRスペクトルのCH伸縮振動領域(3050-2850 cm⁻¹)の温度変化とその2次微分(3050-2950 cm⁻¹)スペクトルである。図3(a)(b)を比較してもわかるように原スペクトル(a)では、

わずかな“肩”としてしか現れないバンドが2次微分スペクトル(b)では下向きのピークとしてはっきりと観測され、しかも温度と共に次第に低波数シフトする様子が手に取るようにわかる。また、量子化学計算によってもC-H、C=O伸縮振動バンドのシフトを確認した。本研究の特色・意義の一つは、“弱い水素結合”を最先端のFT-IRの能力を最大限に用いて研究した点にある。IRスペクトルの詳細な解析によって、共重合体やポリマーブレンドでC-H...O=C水素結合がPHBホモポリマーとわずかに異なっていることも見出した。IRスペクトルの温度変化から、分子鎖中でC-H...O=C水素結合が切れていく、あるいは再生していく様子を明瞭に捉えることができた。このような現象をモニタした例はこれまでになく、著者らは世界で初めてこの観測に成功した。

CH₃縮重伸縮振動は、通常は2980-2960 cm⁻¹に観測される。PHBは3010-2960 cm⁻¹の領域に少なくとも5本のバンドを示す(図3)。5本のバンドのうち3009、2996、2974、2967 cm⁻¹のバンドは結晶構造によるもの(温度上昇と共に強度が弱くなる)、2984 cm⁻¹のバンドはアモルファス状態によるもの(温度上昇と共に強度が強くなる)に帰属される。ここで注目されるのは3009 cm⁻¹のバンドの波数である。通常のCH₃縮重伸縮振動の振動数に比べるとかなり高波数である。これはC-H...O水素結合が存在する大きな証拠と考えられる。

一方、C=O伸縮振動領域を見てみると、PHBは結晶状態によるバンドを1723 cm⁻¹に(このバンドは温度上昇と共に弱くなる)、アモルファス部分によるブロードなバンドを

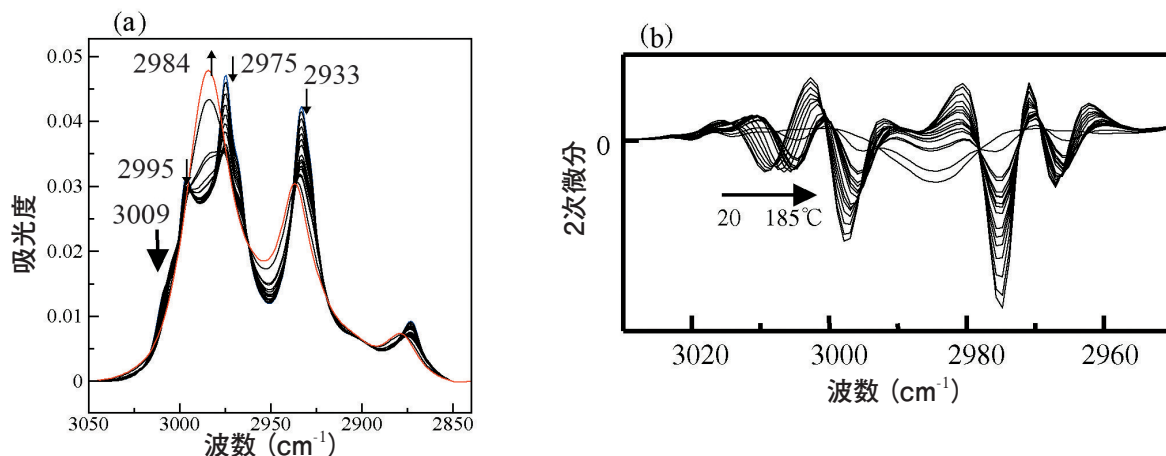


図3 PHBの赤外スペクトルのCH伸縮振動領域の(a) 温度変化(20~185℃)と(b) その2次微分

～1740 cm^{-1} に(温度上昇と共に強くなる) 示す。通常、エステル系のC=O基は～1750 cm^{-1} 付近にC=O伸縮振動を示すので、PHBの結晶状態によるC=Oバンドはかなり低波数シフトとしていることになる。これもやはりC-H \cdots O=C水素結合の証拠と考えられた。

筆者らは更に、C-H \cdots O=C水素結合と振動スペクトルの関係を明らかにするためにPHBのモデル化合物($\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$)について量子化学計算を行い、その最安定構造とCH, C=O伸縮振動数を求めた。図4に、計算により得られた最安定構造の一つを示す。この構造は、2分子間で2つのC-H \cdots O水素結合を形成する構造となっており、X線結晶解析で得られたPHBの構造とよく似ている。C-H基とC=O基の距離は2.56 Å、構造安定化のためのエネルギーは1.22 kcal/molである。このダイマー形成によるC=O伸縮振動の波数シフトは低波数側に17 cm^{-1} であり、実測値(～1740–1723=17 cm^{-1})に極めて近いものであった。

モデル構造の構築

筆者は、赤外分光法、量子化学計算、X線回折法の研究結果を総合して図5(a)に示すようなPHBの結晶のラメラ

構造モデルを考えた。PHB及びその共重合体の結晶構造では、図5に示すようにらせん構造間にペアでC-H \cdots O=C水素結合を組んでおり、それが結晶構造を安定化させていると考えられる。

PHBのラメラの厚さは、X線小角散乱の測定から約5.2 nmであることがわかっている^[19]。筆者らは、図5に示すように分子鎖間にa軸に沿ってC-H \cdots O=C水素結合が存在すると考えている。ラメラ厚から考えると、おそらく7～8個のC-H \cdots O=C水素結合がペアで存在すると思われる。PHB共重合体ではラメラ厚はおよそ半分まで減少し、代わりにアモルファスの厚みが増大する。HHxが10%(mole)以上含むランダム共重合体でもある程度の結晶化度を保ち、またそのラメラ厚はかなり薄いものでありながら結晶構造を形成するのは、おそらく、らせん間に働くC-H \cdots O=C水素結合によるものであろう。PHBの結晶形成過程は、まず分子鎖がa軸方向に成長した薄片状のラメラが成長し、次にそれらが自己組織化により結晶構造を形成すると思われる。筆者らはPHBの結晶構造形成がa軸方向に進む理由の一つには、a軸方向に存在するC-H \cdots O=C水素結合が関与しているのではないかと推察している。

ここでPHBの結晶構造と、代表的なポリマーであるポリ

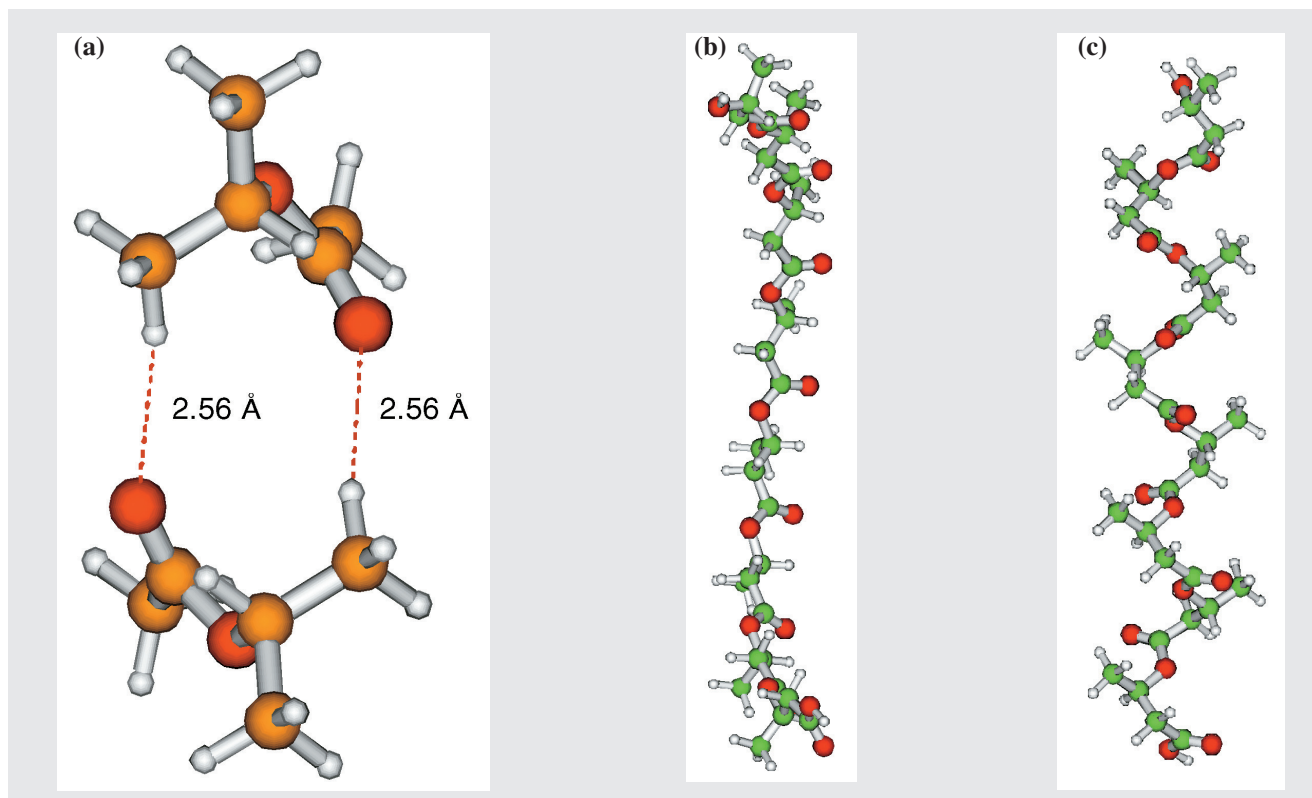


図4 量子化学計算(B3LYP/6-31+G(d,p))による最安定構造とCH \cdots O間の距離(2.564 Å)の見積もり
(a) モデル化合物($\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$)2分子 (b) PHB平面ジグザグ構造のモデル (c) PHBらせん構造のモデル

エチレンとナイロンとの結晶構造を比較してみよう。汎用高分子の代表ともいえるポリエチレン(PE)は、最も簡単な構造を持つポリマーである。その結晶構造は、分子鎖が折りたたまって薄板状の単結晶(これをラメラと呼ぶ)を形成し、複数のラメラがねじれながら重なって球状の組織(これを球晶と呼ぶ)を形成している。希薄溶液から析出したPE単結晶の場合、その折りたたみは(110)面方向に沿って進んでいく。一方、PHBは(110)面方向ではなく、(110)と(110)面の間を逆方向に交互に折りたたみながら(a 軸方向に)進むことが報告されている。しかしながら、なぜPHBは分子鎖の折りたたみが a 軸方向に進むのかは、依然わかっていない。著者らは、この理由の一つにPHB結晶構造中にみられるC-H \cdots O=C水素結合の存在が関与しているのではないかと考えている。また、よく知られているように、ナイロンでは主鎖中のアミド基が分子鎖間でN-H \cdots O水素結合を形成するため、強度が大きく、耐摩擦性、弾性に優れ、高い融点を持つ。例えば、ナイロン66の結晶構造中には結晶学上の a 軸方向にN-H \cdots

O水素結合が存在し、結晶構造の安定化を図っている。N-H \cdots O水素結合はC-H \cdots O=C水素結合に比べるとその結合エネルギーは4倍以上もあり、このような強い水素結合の場合には、温度上昇に伴う格子間隔の膨張がみられない。一方、PHBのように弱い水素結合(C-H \cdots O=C水素結合)の場合は、温度上昇と共に弱い水素結合は切断され、格子間隔の広がりがみられるのである。

おわりに

このように、IR分光法とX線回折法を併せ用いて、生分解性ポリマーの結晶構造中におけるC-H \cdots O水素結合の存在とその役割について研究を進めてきた。今後、C-H \cdots O水素結合のみならず、“弱い水素結合”と呼ばれる一連の水素結合の研究が大きく発展するものと考えられる。PHB結晶構造中に存在するC-H \cdots O水素結合の果たす役割について更に研究を深め、PHB以外のポリマー

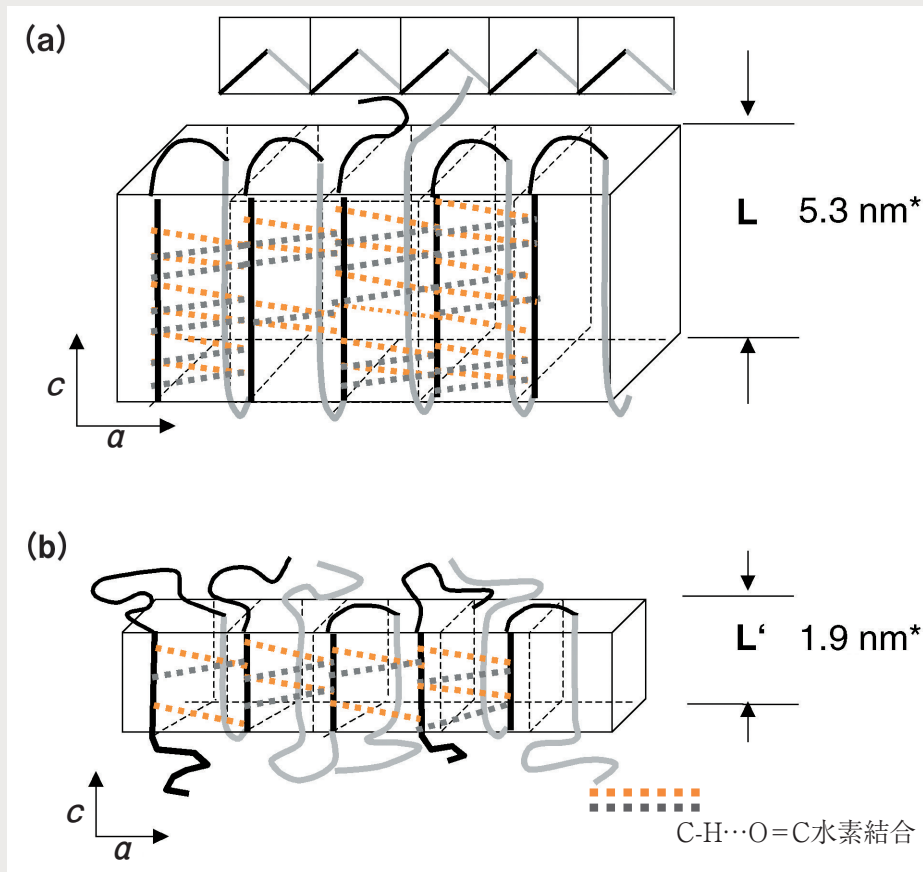


図5 IRスペクトルの結果に基づいて提案した (a) ポリヒドロキシブタン酸(PHB) (b) その共重合体の結晶構造のモデル
C-H \cdots O=C水素結合がらせんを結び付けて結晶構造を安定化させている。
*: 参考文献[19]

においても、C-H \cdots O水素結合のような弱い相互作用の存在とその役割についての研究を進めていきたいと考えている。

また、PHBの特異な結晶成長機構を解き明かすことにより、結晶化度や結晶化速度などの物性をコントロールし、製品劣化の原因として大きな壁となっている2次結晶化の進行を抑え、用途に応じた製品開発への発展が期待される。生分解性ポリマーの結晶構造に見られるC-H \cdots O水素結合の役割を明らかにすることで、ポリマーの結晶構造に関する新しい知見を与えてくれるものと期待される。これらの研究にIR分光法が重要な役割を果たすことは言うまでもない。

参考文献

- [1] Y. Doi, A. Steinb_chel Eds., *Biopolymers*, Wiley-VCH (2001).
- [2] 辻秀人, 筏義人, ポリ乳酸-医療・製剤・環境のために-, 高分子刊行会 (1997).
- [3] 辻秀人, 生分解性高分子材料の科学, コロナ社 (2002).
- [4] 筏義人 編著, 生分解性高分子の基礎と応用, アイピーシー (1999).
- [5] R. H. Marchessault, J. Kawada, *Macromolecules*, **37**, 7418 (2004).
- [6] T. Iwata, M. Shiromo, Y. Doi, *Macromol. Chem. Phys.*, **203**, 1309 (2002).
- [7] M. Yokouchi, Y. Chatani, H. Tadokoro, K. Teranishi, H. Tani, *Polymer*, **14**, 267 (1973).
- [8] J. Cornibert, R. H. Marchessault, *J. Mol. Biol.*, **71**, 735 (1972).
- [9] H. Sato, M. Nakamura, A. Padermshoke, H. Yamaguchi, H. Terauchi, S. Ekgasit, I. Noda, Y. Ozaki, *Macromolecules*, **37**, 3763 (2004).
- [10] H. Sato, R. Murakami, A. Padermshoke, F. Hirose, K. Senda, I. Noda, Y. Ozaki, *Macromolecules*, **37**, 7203 (2004).
- [11] H. Sato, J. Dybal, R. Murakami, I. Noda, Y. Ozaki, *J. Mol. Struct.*, **35**, 744-747 (2005).
- [12] H. Sato, A. Padermshoke, M. Nakamura, R. Murakami, F. Hirose, K. Senda, H. Terauchi, S. Ekgasit, I. Noda, Y. Ozaki, *Macromol. Symposia*, **220**, 123 (2005).
- [13] 佐藤春実, 尾崎幸洋, 日本結晶学会誌, **46**, 426-432 (2004).
- [14] 佐藤春実, 尾崎幸洋, 高分子加工, 53巻5号, 10-21 (2004).
- [15] 佐藤春実, 尾崎幸洋, C-H \cdots O水素結合 -注目される"弱い相互作用"の役割-, 現代化学, 5月号, 24-31 (2005).
- [16] J. Zhang, H. Sato, I. Noda, Y. Ozaki, *Macromolecules*, **38**, 4274 (2005).S
- [17] J. Zhang, H. Sato, H. Tsuji, I. Noda, Y. Ozaki, *J. Mol. Struct.* **249**, 735-736 (2005).
- [18] H. Sato, K. Mori, R. Murakami, Y. Ando, I. Takahashi, J. Zhang, H. Terauchi, F. Hirose, K. Senda, K. Tashiro, I. Noda, Y. Ozaki, *Macromolecules*, **39**, 1525 (2006).
- [19] H. Abe, Y. Doi, H. Aoki, T. Akehata, *Macromolecules*, **31**, 1791 (1998).



佐藤 春実

Harumi Sato

関西学院大学大学院理工学研究科
 関西学院大学環境調和型高分子研究センター
 博士研究員
 工学博士