

酵素反応によって改質したキトサンによる グラフト化ポリエチレン板の接着

日大生産工(院) ○高橋 淳
日大生産工 平田 光男・山田 和典

【緒論】

自然界で生体が行う機能性物質の形成やその機能に着目し、イガイやフジツボなどの海洋付着性生物の付着機構や生物由来のタンパク質の単離やこれらの特徴を模倣した合成タンパク質の合成に関する研究が 90 年代初頭から盛んに行われている。イガイはジヒドロキシフェニルアラニン(DOPA)残基を含むタンパク質を分泌し、酵素反応により DOPA 残基中のジフェノール基を反応性の高い α -キノン残基へと酸化させ、さらに分泌したタンパク質中のアミノ基と架橋反応することによって岩などに付着する。一方、接着性タンパク質を利用する研究も行われているが、その単離精製の困難さ、精製過程での分子量の低下、コスト高などの問題から研究の進行が制限されているのが現状である。一方、G. F. Payne らは、酵素チロシナーゼが DOPA をキノン酸化し、形成した α -キノンをアミノ基と高い反応性を示すことに着目し、酵素反応を利用したキトサンの改質や有効利用に関する幅広い研究を行っている¹⁾。

これに対して、我々はポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)などの疎水性汎用高分子材料へのメタクリル酸やアクリル酸などの親水性モノマーの光グラフト重合による表面改質に関する研究を行い、表面の親水化や接着性の向上などの点で研究成果を得てきた²⁾。

上述の研究を基に、本研究ではチロシナーゼの酵素反応によって改質したキトサン溶液をグラフト化 PE 板の接着に応用し、酵素反応によって改質したキトサン溶液の接着剤としての可能性に着目した。マッシュルームチロシナーゼの酵素反応によってドーパミンから生成した α -キノンをさらにキトサンとの反応を利用し、接着剤としての利用性を検討するとともに光グラフト重合による PE 板表面の親水化の効果について評価した。

【実験】

＜試料および光グラフト重合＞

厚さ 1.0 mm, 密度 0.921 g/cm³ の低密度ポリエチレン(LDPE)板を用いた。増感剤であるベンゾフェノン塗布した LDPE 板をモノマー水溶液に浸漬し、60℃で 400 W 高圧水銀灯からの紫外線を照射することによりメタクリル酸(MAA)とアクリル酸(AA)を光グラフト重合した。

＜接着強度測定＞

ドーパミン 10mM を含む pH5.8~6.0 の C1100 キトサン溶液 (アミノ基濃度:30 mM) 100 cm³ に 60 U/cm³ となるようにチロシナーゼを添加し、酵素反応を開始させた³⁾。

酵素反応を開始させた後、所定時間ごとに上述のキトサン溶液をグラフト量 30 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ の MAA グラフト化 LDPE(LDPE-g-PMMA)板に塗布した。そして、接着面積が 12.5×12.5 mm になるように 2 枚の LDPE-g-PMMA 板を重ね合わせて固定し、25℃で 24 時間、30℃で 24 時間キトサン溶液を硬化させた。その後、引張り強度測定装置を用いてせん断速度 3.0 mm/s での引張りせん断力を測定し、接着強度を算出した。さらに、酵素反応によって改質したキトサン溶液を反応時間 45 分でグラフト量の異なる LDPE-g-PMMA 板に塗布した後、上述と同様の方法で接着強度を測定し、グラフト重合時のモノマー濃度とグラフト量の接着強度への影響を評価した。

【結果および考察】

10mM のドーパミンを含むアミノ基濃度 30mM の C1100 キトサン溶液にチロシナーゼを加えて酵素反応を開始させ、所定時間ごとにグラフト量約 30 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ の LDPE-g-PMMA 板に塗布した後、キトサン溶液を硬化させた際の酵素反応時間に対する接着強度の変化を図 1 に示す。接着強度は酵素反応時間とともに上昇し、45 分で最大となった。この条件でキトサン溶液

Adhesion of grafted polyethylene plates with enzymatically modified chitosan

Jun TAKAHASHI, Mitsuo HIRATA and Kazunori YAMADA

の粘性は反応開始後約2時間で急激に上昇するので⁴⁾, LDPE-g-PMAA板に塗布したキトサン溶液はグラフト層中に浸透しながら硬化すると考えられる。しかし、酵素反応時間が長くなると、粘性の上昇によってグラフト層内への浸透が制限され、接着強度が徐々に低下すると考えられる。また、酵素反応を開始したキトサン溶液中にLDPE-g-PMAA板を浸漬させると、キノンタンニングにより表面が黒茶色に変色したことから、酵素反応によって形成したキノンのPMAAグラフト鎖との反応も接着強度上昇の要因の1つと考えられる。

モノマー濃度0.5~1.5Mで調製したグラフト量の異なるLDPE-g-PMAA板に酵素反応時間45分でC1100キトサン溶液を塗布し、同様に接着強度を測定した結果を図2に示す。接着強度はグラフト重合時のモノマー濃度に関わらず高グラフト量で上昇したが、モノマー濃度が高いほど、高グラフト量で接着強度が急激に上昇した。本研究で行ったグラフト重合はラジカル重合によって進行するので、ラジカル重合の素反応機構を用いてグラフト鎖の数と長さについて議論できる。つまり、グラフト重合時のモノマー濃度が高いほど生長反応が進行し、より長いグラフト鎖が形成するので、同一グラフト量ではモノマー濃度が低いほど短いグラフト鎖が数多く形成すると考えられる。図2に示すように低濃度で調製したLDPE-g-PMAA板ほど接着強度が低グラフト量で上昇したことから、短いグラフト鎖を数多く形成することが低グラフト量で高い接着強度を得る1つの要因と考えられる。LDPE-g-PMAA板では高グラフト量において接着強度が約600 kPaで一定となったので、AAグラフト化LDPE(LDPE-g-PAA)板について同様に接着強度測定を行った結果、低グラフト量で接着強度が上昇し、高グラフト量では基質破壊が観察され、AAのグラフト重合がMAAより基質表面に限定される、低グラフト量でLDPE板表面を被覆する、含水性の高いグラフト層が形成するなどの要因が効果的に作用したと考えられる。

以上の結果から、LDPE板を基質として酵素反応によって改質したキトサン溶液が接着剤として利用できることを見出し、高い接着強度を得るには光グラフト重合によるLDPE板の表面改質が効果的であることを明らかにした。

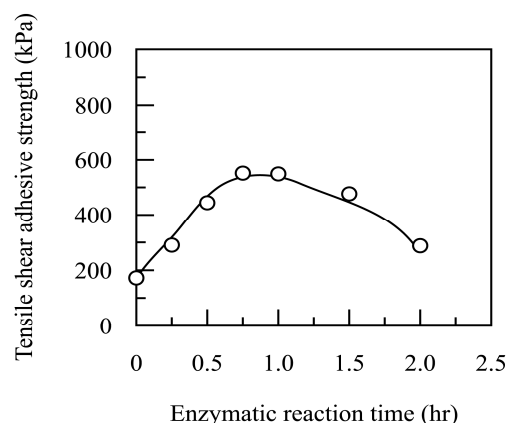


Figure 1 Change in the tensile shear adhesive strength of the LDPE-g-PMAA plates coated with enzymatically modified C1100 chitosan solutions with the enzymatic reaction time.
MAA concentration : 1.0 M

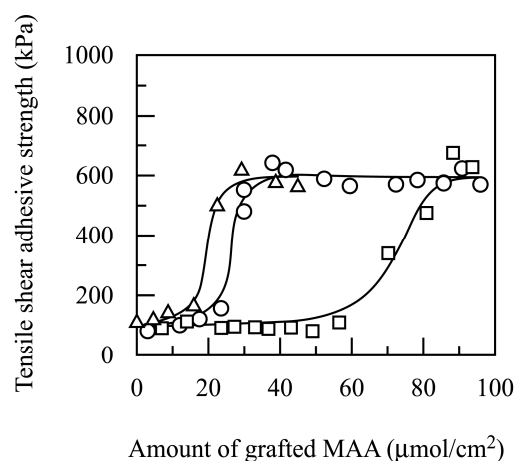


Figure 2 Changes in the tensile shear adhesive strength of the LDPE-g-PMAA plates coated with enzymatically modified C1100 chitosan solutions with the amount of grafted MAA
MAA concentration (M) –
△: 0.5, ○: 1.0, □: 1.5

【参考文献】

- 1) G. Kumar, J. F. Bristow, P. J. Smith, G. F. Payne, *Polymer*, **41**, 2157 (2000).
- 2) K. Yamada, J. Kimura, M. Hirata, *J. Appl. Polym. Sci.*, **87**, 2244 (2003).
- 3) K. Yamada, T. Chen, G. Kumar, O. Vesnovsky, L. D. T. Topoleski, G. F. Payne, *Biomacromolecules*, **1**, 252 (2000).
- 4) K. Yamada, T. Aoki, N. Ikeda, M. Hirata, *J. Appl. Polym. Sci.*, **104**, 1818 (2007).