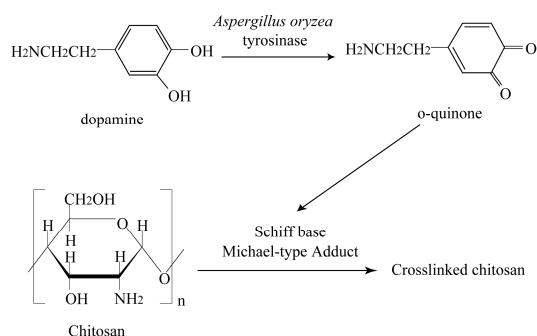


酵素反応によって改質したキトサン溶液の接着剤への応用

日大生産工(院) ○山上 翔
日大生産工 山田 和典

【緒論】

多くの接着剤の主成分は水に難溶であるため、低沸点の有機溶媒が用いられているが、有機溶媒の人体や環境への影響が懸念されている。これまでに海中でのフジツボやイガイなどの付着や甲虫類の外皮硬化機構に着目し、キトサンの耐水性接着剤としての利用に関する研究を行ってきた¹⁾。さらに本研究ではドーパミンと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接着剤とした低密度ポリエチレン(LDPE)板の接着を検討した。しかし、LDPE板はその表面が疎水性であるため、化学的な親水化前処理が必要であり、そこでメタクリル酸(MAA)やアクリル酸(AA)などのカルボキシル基含有ビニルモノマーの光グラフト重合による表面の親水化を行った。そして、酵素反応によって改質したキトサン溶液を用いた接着強度をグラフト重合時のモノマー濃度と温度や含水量、ぬれ性、表面化学組成などの表面特性と関連づけて評価した。



Scheme 1 Depiction of the reaction mechanism used in this study to create an enzymatically modified chitosan adhesive.

【実験】

〈光グラフト重合〉

LDPE板(結晶化度: 0.921g/cm³, 厚さ: 1.0mm)に増感剤であるベンゾフェノン塗布した後、MAAとAAをモノマー濃度と温度を変えて光グラフト重合した²⁾。含水量は30℃の純水中に24

時間浸漬したグラフト化LDPE板の重量増加から求め、ぬれ性はグラフト化LDPE板表面での純水に対する接触角から評価した。表面化学組成はX線光電子分光装置Shimadzu ESCA-3400を用いて測定したC1sとO1sスペクトルから求めた強度比O1s/C1sから評価した。

〈せん断引っ張り強度測定〉

ドーパミン(10mM)を含むキトサン(和光純薬(株)製C300)溶液(アミノ基濃度: 30mM)に麹菌由来のチロシナーゼ(月桂冠(株)製, 60U/cm³)を加えることによって酵素反応を開始させた。反応時間45分でキトサン溶液をグラフト化LDPE板に塗布し³⁾、接触面積が12×12mm²となるように重ね合わせた後、室温で24時間さらに30℃で24時間保持し、3.0mm/sでのせん断引っ張り接着強度を測定した。

〈グラフト鎖とキノンとの反応性〉

グラフト化LDPE板を麹菌チロシナーゼ(60U/cm³)を含むドーパミン溶液(10mM)に浸した後、純水で洗浄し、減圧乾燥した。ESCAを用いて強度比N1s/C1sを求めた。

【結果および考察】

LDPE板へのMAAとAAのグラフト量はグラフト重合時のモノマー濃度と重合温度に関わらず、UV照射時間とともに増加し、モノマー濃度が高いほど高いグラフト量が得られた。また、MAAがメチル基を有し、LDPE板との親和性が高いために、MAAグラフト量はAAよりも高くなった。さらに重合温度が高いほどグラフト重合の生長反応が速くなるため、高温ほど高いグラフト量が得られた。

MAAグラフト化LDPE(LDPE-g-PMMA)板のcosθとO1s/C1sはグラフト量とともに増加し、いずれも同じグラフト量で一定となった。また、含水量はグラフト量とともに増加し、グラフト重合時のモノマー濃度が低いほど高い値を示した。これらの結果から、低モノマー濃度でのグ

Application of enzymatically modified chitosan solutions as adhesive

Shou YAMAGAMI, and Kazunori YAMADA

ラフト重合によって短いグラフト鎖が形成すると、グラフト層が高い含水性を示すと考えられ、ぬれ性はグラフト層表面近傍のカルボキシル基量によって決定されることが明らかとなった。LDPE-g-PMAA 板の接着強度は図 1 に示すように低モノマー濃度で調製した試料では低グラフト量で上昇した。含水性の結果と併せると、低モノマー濃度で形成したグラフト層の方がキトサン溶液が浸透しやすいと考えられる。

一方、グラフト重合時の温度が低いほどぬれ性や表面組成は低グラフト量で上昇し、より高い値で一定となった。これは重合温度が高いほどグラフト鎖が基質内部に進行し、グラフト層中のグラフト鎖の密度が低くなることを示す。つまり、重合温度が低いほどグラフト鎖の密度が高くなり高い含水性を示すので、低グラフト量で高い接着強度が得られた。またグラフト重合時の温度が低いほど、グラフト重合が基質表面に限定されたためと考えられる。

LDPE-g-PAA 板では高グラフト量で基質破壊が起こるほどの接着強度が観察された(図 1 の◆印)。AA のグラフト重合は MAA に比べてその位置がより LDPE 板表面に限定され、形成したグラフト層が高い含水性を示したので、グラフト層内へキトサン溶液がより浸透しやすくなったと考えられる。そこで、グラフト鎖のキノンとの反応性を評価するため、チロシナーゼを含むドーパミン溶液に LDPE-g-PMAA, LDPE-g-PAA とメタクリル酸-2-ヒドロキシエチル(HEMA)グラフト化 LDPE 板を浸漬させた。LDPE-g-PHEMA 板以外のグラフト化 LDPE 板は形成したキノンの吸着によって着色し、さらに図 2 に示したように C1s スペクトル中での 288.5eV のピークと

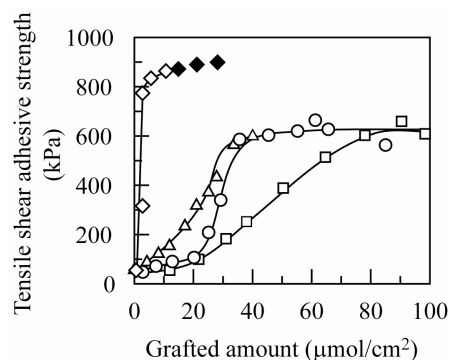


Figure 1 Changes in tensile shear adhesive strength with the grafted amount for LDPE-g-PMAA (Δ , $\circ$, $\square$) and LDPE-g-PAA ($\diamond$) plates prepared at 0.5 (Δ), 1.0 ($\circ$, $\diamond$), and 1.5 ($\square$) M.

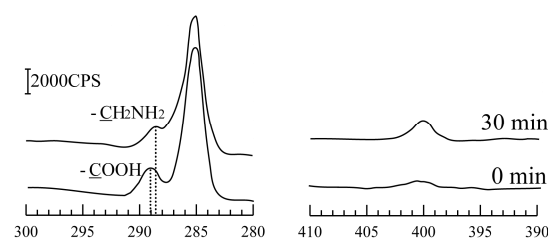


Figure 2 C1s and N1s spectra of the LDPE-g-PMAA plate ($G=41.7 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$) incubated in a dopamine (10 mM) solution containing tyrosinase ($60 \text{ U}/\text{cm}^3$).

Table 1 ESCA analysis of the grafted LDPE plates incubated in a dopamine (10 mM) solution containing tyrosinase ($60 \text{ U}/\text{cm}^3$).

Sample	Grafted amount ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	O1s / C1s	After incubation	
			O1s / C1s	N1s / C1s
LDPE-g-PMAA	12.3	0.083	0.115	0.044
LDPE-g-PMAA	41.7	0.312	0.271	0.075
LDPE-g-PAA	11.3	0.298	0.301	0.128
LDPE-g-PHEMA	40.4	0.345	0.383	—

Incubation in a dopamine (10mM) solution containing tyrosinase ($60 \text{ U}/\text{cm}^3$)

N1s ピークから、形成したキノンが PMAA と PAA グラフト鎖に結合したことがわかった。

また、LDPE-g-PMAA 板において高グラフト量の方が N1s/C1s 値が上昇し、また LDPE-g-PMAA 板よりも LDPE-g-PAA 板の方(グラフト量 $11.3 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$)が高い N1s/C1s 値が示したことから、接着強度が上昇する要因として酵素反応によって形成したキノンがキトサンのアミノ基だけでなくグラフト鎖中のカルボキシル基と反応したことが考えられる。

【結論】

酵素反応によって改質したキトサン溶液を用いて MAA や AA の光グラフト重合によって表面改質した LDPE 板を接着することができ、LDPE-g-PAA 板では基質破壊が観察された。また、グラフト重合の位置を LDPE の表面近傍に限定し、短いグラフト鎖を形成させることでより低グラフト量で接着強度を向上させることができた。

【参考文献】

- 1) K. Yamada, T. Chen, G. Kumar, O. Vesnovsky, L. D. T. Topoleski, G. F. Payne, *Biomacromolecules*, **1**, 252 (2000).
- 2) K. Yamada, S. Takeda, M. Hirata, *J. Appl. Polym. Sci.*, **103**, 493 (2007).
- 3) K. Noto, S. Matsumoto, Y. Takahashi, M. Hirata, K. Yamada, *J. Appl. Polym. Sci.*, **113**, 1963 (2009).