

ポリフェノールオキシダーゼによって改質したキトサン溶液のゲル化と
グラフト化ポリエチレン板の接着

日大生産工(院) ○森川 湧起

日大生産工 木村 悠二 山田 和典

【緒論】

近年、揮発性有機溶媒の人体や自然環境への影響を懸念し、有機溶媒を使用しない天然系接着剤が注目されている。天然系接着剤として、海洋付着性生物の接着性タンパク質、フィブリン、大豆タンパク質などが挙げられる。しかし、フィブリンは人間の血清から作られ血液の贈与に依存していること[1]や大豆タンパク質は耐水性が低いなどの欠点が挙げられる[2]。本研究では、フジツボなどの海洋付着性生物の接着性タンパク質と低分子化合物と天然高分子による反応を模倣した甲虫類の外皮形成機構に注目し、ポリフェノールオキシダーゼ(PPO)の酵素反応によって形成したキノン化合物を介してゲル化したキトサン溶液を接着剤として使用することで、グラフト化ポリエチレン板の接着性を評価した。

【実験】

〈粘度測定〉

分子量の異なる4種類のキトサンを塩酸水溶液(pH 2.6~3.0)に溶解させた後、アミノ基濃度が10~50 mMになるように希釈し、水酸化ナトリウムを加えることでキトサン溶液のpHを5.8~6.0とした。ドーパミン10 mMまたはアドレナリン10mMを含むpH 5.8~6.0のキトサン溶液(アミノ基濃度10~50 mM)に酵素濃度が10~20 U/cm³となるようにPPOを加え、30°Cで酵素反応を開始させた。反応開始後、回転粘度計を用いて経時的に粘度を測定した。

〈光グラフト重合〉

厚さ1.0 mmの低密度ポリエチレン(PE)板に光増感剤であるベンゾフェノン溶液を塗布した後、濃度1.0 Mのメタクリル酸(MAA)またはアクリル酸(AA)水溶液に浸漬させ、60°Cで400 W高圧水銀

灯から紫外線を照射することで光グラフト重合を行った。光グラフト重合前後の重量変化からグラフト量を算出し、グラフト化PE板を24時間純水中に浸漬させて含水量を算出した。

〈引張りせん断強度測定〉

所定時間ごとに酵素反応によって改質したキトサン溶液をMAAグラフト化PE(PE-g-PMAA)またはAAグラフト化PE(PE-g-PAA)板に塗布した後、重ね合わせて固定し(接着面積: 12×12 cm²)、室温で24時間、さらに30°Cで24時間硬化させた。その後、せん断速度3.0 mm/sで引張りせん断強度測定を行い、接着強度を算出した。

〈IR測定〉

ドーパミン10 mMとPPO10 U/cm³混合溶液にグラフト化PE板を所定時間浸漬させた。浸漬前後の板のグラフト層を削り取りKBr法でIR測定を行い、グラフト鎖とキノン化合物との反応性を評価した。

【結果および考察】

ドーパミン存在下でPPOによってキトサン溶液を改質すると、キトサンのアミノ基濃度、分子量が高いほど短時間で粘度が上昇し、高粘性の液体またはゲル状になった。ドーパミン(10 mM)+PPO(10 U/cm³)混合溶液の所定時間における吸光度測定の結果より、酵素反応によってキノンが形成したことがわかり、ドーパミン(10 mM)+PPO(10 U/cm³)混合溶液に所定時間浸漬させたキトサンフィルムの吸光度測定の結果よりキノンとキトサンが反応した。これら2つの要因から酵素反応によって形成したキノンを介してキトサンが架橋してゲル化したと考えられる。また、アドレナリン存在下でPPOによってキトサン溶液を改質すると粘度の上昇が遅い結果が得られ

Gelation of chitosan solutions modified by polyphenol oxidase and their use for adhesion of grafted polyethylene plates

Yuki MORIKAWA, Yuji KIMURA and Kazunori YAMADA

た．PPOの基質特異性によりアドレナリンはキノン酸化しにくく、キトサンのアミノ基との架橋反応が進行しにくかったためと考えられる．

MAAとAAのグラフト量は紫外線照射時間とともに上昇し、含水量はグラフト量とともに上昇した．モノマー濃度0.5~1.5 MでAAを光グラフト重合すると、モノマー濃度が低いほど高い含水性を示した．これより疎水性であったPE板が親水性に表面改質されたことがわかった．酵素反応で改質したキトサン溶液をグラフト化PE板に塗布したときの接着強度は未グラフトのPE板に塗布したとき(39 kPa)より高くなった．グラフト化PE板は酵素反応によって改質したキトサン溶液がグラフト層中に浸透し、グラフト層中でゲル化が進行するためと考えられる．

キトサンのアミノ基濃度を变化させて同グラフト量のPE-g-PMAA板に塗布すると、強い接着強度を得る条件としてPPO濃度 10 U/cm³、アミノ基濃度 30 mM、反応時間20分と決定した．また、キトサンのアミノ基濃度を一定にキトサンの分子量を変化させて同グラフト量のPE-g-PMAA板を接着させた結果を図1に示す．分子量が高いほど接着強度が高く、分子量153.2万のキトサン溶液を20分間酵素反応によって改質させた際に最も高い接着強度(740 kPa)が得られた．キトサンの

分子量153.2万、キトサンのアミノ基濃度30 mM、PPO濃度 10 U/cm³の条件でPE-g-PAA板を接着させると、モノマー濃度が低いほど低グラフト量で高い接着強度が得られ、基質破断が観察された．AAは α メチル基を持たないためMAAに比べて親水性であり、PEとの親和性が低く、グラフト重合の位置がより基質表面に限定されるためと考えられる．さらに、モノマー濃度が低いほど短いグラフト鎖が形成し高い含水性を示すため、より低グラフト量で破断したと考えられる．また、アドレナリンを基質として酵素反応によって改質したキトサン溶液を使用して所定時間ごとに同グラフト量のPE-g-PMAA板に接着させると反応時間2時間で最も高い接着強度を得た．この条件で、グラフト量の異なるPE-g-PAA板を接着させると、低いグラフト量で基質破断が観察された．また、ドーパミン(10 mM)とPPO(10 U/cm³)混合溶液にグラフト化PE板を所定時間浸漬させ、浸漬前後の板のIR測定を行った．IR測定による解析から浸漬前後でN-H変角振動が1540 cm⁻¹から1526 cm⁻¹にシフトした．ドーパミン+PPO混合溶液に浸漬させたグラフト化PE板が茶褐色に変色したことに加えて酵素反応によって形成したキノンは溶液のゲル化だけでなくグラフト鎖のカルボキシル基と反応することがわかり、これらの要因が接着強度の上昇に関与すると考えられる[3]．

【結論】

ドーパミンまたはアドレナリンを基質として酵素反応によって改質させたキトサン溶液をグラフト量の異なるグラフト化PE板に塗布するとPE-g-PAAの接着では基質破断が観察された．また、接着強度が上昇する要因として酵素反応によって改質させたキトサン溶液がグラフト層に浸透することに加え、グラフト鎖のカルボキシル基とキノン化合物が反応するためと考えられる．

【参考文献】

- 1) Z. Dan, D. Srinivasan, *J. Appl. Polym. Sci.*, **135**, DOI: 10.1002/app.40451 (2014).
- 2) K. Li, S. Peshkova, X. Geng, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **81**, 487-491 (2002).
- 3) K. Yamada, T. Chen, G. Kumar, O. Vesnovsky, L. D. Topoleski, G. F. Payne, *Biomacromolecules*, **1**, 252-258 (2000).

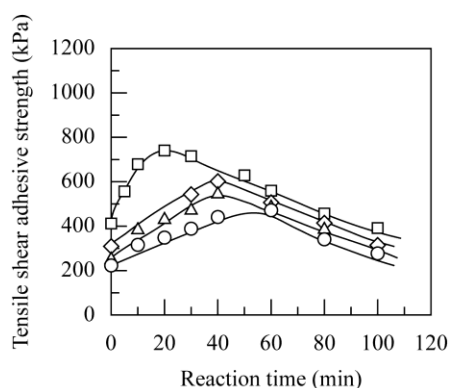


Figure 1 Variations in the tensile shear adhesive strength with the reaction time for a PE-g-PMAA plates with the grafted amount of 30 μ mol/cm² prepared at 60°C and 1.0 M. A chitosan solution at the amino group concentration at 30 mM was modified by PPO at 10 U/cm³ in the presence of dopamine at 10 mM. Molecular weight of chitosan (g/mol): ○ : 0.615 $\times$ 10⁶, ◇ : 0.975 $\times$ 10⁶, △ : 1.243 $\times$ 10⁶, □ : 1.532 $\times$ 10⁶.