

キトサンとポリアクリル酸の IPN 複合体の調製に関する基礎的研究
 前田 良輔^{†*}, 二文字 真一[†], 杉村 和紀[‡], 上高原 浩[‡], 西尾 嘉之[‡]

Basic research on the preparation of composite materials of chitosan and polyacrylic acid by IPN.
 Ryosuke MAEDA^{†*}, Shin-ichi NIMONJI[†], Kazuki SUGIMURA[‡], Hiroshi KAMITAKAHARA[‡] and
 Yoshiyuki NISHIO[‡]

Abstract

In this study, chitin, a marine biomass, was purified from the exoskeleton of red shrimp and further converted to chitosan with various degrees of deacetylation (*DD*). This was used as a base material and composited with polyacrylic acid using the IPN method by photopolymerization. The product of the conjugation was obtained as a gel, which was lyophilized to give an IPN dry gel. The swelling degree (*SR*) of this final product with water and methanol was examined. The characteristics of the obtained gel were that the *SR* for water was 600 to 1000 (6 to 10 times to its own dried weight) and the *SR* for methanol was 200 to 500 (2 to 5 times to its own dried weight). In the characterization by FT-IR, the effect of *DD* on the IPN dry gel was hardly seen, however the IPN composites with chitosan having a greater *DD* and PAA was inferior to the absorption of both water and methanol using the *SR* as an index. This is because chitosan with a large *DD* has a large number of free amino groups, and therefore has a contracted structure due to electrostatic interaction and network formation by a cross-linking agent. SEM observation of the obtained dried gel, it has a pleated surface structure, which is presumed to be the common surface state of the complex by IPN.

Key words: Chitin, Chitosan, Polyacrylic acid, Degree of deacetylation, Interpenetrating polymer network (IPN).

1. 諸言

海産系バイオマスであるキチン (poly β(1→4)-2-acetamide-2-deoxy-β-D-glucose) は、Fig. 1(a)に示すように木質系バイオマスであるセルロース (Fig. 1(c)) と類似の化学構造を持つ。キチンは、自然界に広く分布し、甲殻類の外骨格や菌類、昆虫類に多く含まれており¹⁾、その年間生成量はセルロースに次ぐ 10 億~100 億トン²⁾にのぼり、新規材料の基材として非常に注目を集めている。セルロースと異なりカニやエビなどの外骨格が主原料であるため、その効率的な回収が難しく、キチンへの精製も過酷な条件や長時間の処理が必要なため、利活用の面での最大のネックとなっている。さらに、キチンは C2 位がアセトアミド基 (-NHCOCH₃) であるため、C3 位の水酸基と C2 位のアセトアミド基の分子内および C6 位の水酸基が水を介する分子間の水素結合³⁾により、非常に結晶性が高く、水や汎用な有機溶媒には溶解しない。このように、原料からの精製および溶解性の低さは、キチンに関する研究の大きな課題となっている。一方、キチンの魅力は、莫大な生成量だけではなく、天然由来であるため生分解性、生体適合性等に優れ、さらに分子内に窒素原子を有する多糖であるため、その反応性や吸着性が優れることがあげられる。さらにキチン (Fig. 1(a)) を濃アルカリで処理すると脱アセチル化が進行しキトサン (Fig. 1(b)) となる。キトサンは、C2 位の脱アセチル化により遊離のアミノ基 (-NH₂) に変換されるため、キチンに比べて幾分結晶性が緩和され塩酸水溶液や酢酸水溶液などの酸性媒体に溶解し、アミノ基の存在により抗菌性を示すようになる⁴⁾。このようにキトサンはキチンの持つバイオマスとしての性質を残しつつ、より高機能な素材としてキチンに比べて多くの研究が行われている。セルロースやキチン・キトサンといった天然高分子は、合成高分子にはない多くの優れた性質を持っており、それらの莫大な生成量と合わせて考えると、非常に潜在能力を秘めた魅力的な素材であるといえる。これ

までキチン・キトサンは、無機、有機、高分子物質などとの複合化によって、フィルム、繊維、微粒子、ナノファイバー、多孔質ビーズ等の形で医療品、食品、農業、水処理等の幅広い分野での研究・応用がなされている⁵⁾⁻⁸⁾。

本研究では、廃棄物から高機能材料を開発することも重要なコンセプトの一つとして捉えており、大分県宇佐市の水産加工会社から入手した赤エビ (*Metapenaeopsis barbata*) の加工廃棄物中に含まれる外骨格よりキチンを精製し、これをキトサンに変換し研究の基材とした。またキトサンと複合化する異種ポリマーとして、カルボキシル基を有するアニオン性の合成高分子であり、吸水性樹脂や凝集剤として利用されているポリアクリル酸 (PAA) を取り上げた (Fig. 2)。これら 2 種類の基材の複合化を行うため、相互侵入高分子網目 (IPN) 法を用い、複合材料の創製を目標とし、複合化形成における脱アセチル化度 (*DD*) の影響を評価した。

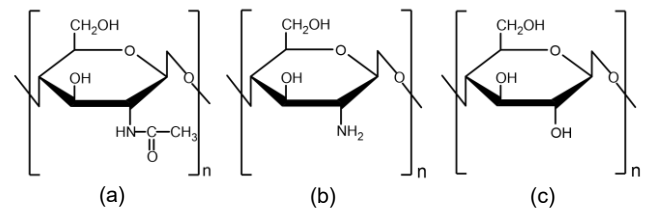


Fig. 1 Chemical structures of (a) chitin, (b) chitosan and (c) cellulose.

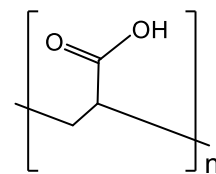


Fig. 2 Chemical structure of PAA.

[†] 北九州高専, [‡] 京都大学大学院農学研究科

* Corresponding author

2. 実験方法

2.1 キトサンの精製

キトサンの精製は、大分県産赤エビの殻を原料とし、初めに Hackman 法⁹⁾を改良した方法¹⁰⁾でキチンを精製した。そのキチンをバイアル瓶中で 40wt%水酸化ナトリウム水溶液中を用い 25~35 °C水浴中で所定時間処理し、様々な DD を有するキトサンを得た。

2.2 キトサンと PAA の IPN 法による複合化

DD70, 86, 94%のキトサンを0.2 M酢酸水溶液を用いて 1%溶液となるようにそれぞれ入念に溶解した。アクリル酸モノマー (AA, ナカライテスク (株) 製) は重合禁止剤除去用カラム (Sigma-Aldrich製) を用いてモノマー中の重合禁止剤を除去し、使用まで冷暗所で保存した。キトサン溶液に重合開始剤として2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオフェノン (HMPPH, 東京化成工業 (株) 製)、架橋剤としてエチレングリコールジメタクリラート (EGDMA, 東京化成工業 (株) 製) それぞれ0.5wt%となるように添加した。次に、重合禁止剤を除去したAAをイオン交換水で希釈し、20wt% AA水溶液を調製した。続いて、混合比がキトサン/AA=10/90~40/60(wt/wt)となるように各溶液をテフロンシャーレに流延し、室温・遮光下で30分以上マグネチックスターラーを用いて攪拌し均一なキトサン/AA混合溶液を得た。その後ダイヤフラムポンプを用いてベルジャー内で2 h脱気処理を行い、テフロンシャーレをタッパー内に静置し、ラップで覆った後、タッパー内を窒素雰囲気とし、暗室チャンバー内でランプ光源と試料端の間が5 cmとなるように調整し、UV照射 ($\lambda=350$ nm) を2 h以上行い、AAモノマーの光重合を行った。得られたゲルはイオン交換水で入念に洗浄し淡褐色透明なIPNゲルを得た。またゲルは凍結乾燥を行い、IPN乾燥ゲルとした。

2.3 IPN 乾燥ゲルの膨潤性試験

2.2で述べた方法で調製したIPN乾燥ゲル (キトサン (DD70, 86, 94) /PAA=40/60) およびPAA単独の試料をイオン交換水およびメタノールに浸漬し、浸漬時間に対する膨潤率 (Swelling ratio : SR) の関係を調べた。サンプルを所定量量りとり、溶媒をサンプルが浸るくらい加え、15分~24 hの様々な時間で浸漬し、浸漬後の試料の表面の水を穏やかに除去した後質量を測定した。実験は3回以上行い、平均値を結果とした。膨潤率は以下の(1)式を用いて算出した。ここで W_s および W_d はそれぞれ膨潤状態および乾燥状態でのゲルの質量を表している。

$$SR[\%] = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

W_s : weight of swollen sample [g]

W_d : weight of dried sample [g]

2.4 試料の分析方法

得られた乾燥ゲルの評価は主にフーリエ変換型赤外分光法 (FT-IR, 日本電子 (株) 製 JNM-ECS400) および走査型電子顕微鏡 (SEM, 日本電子 (株) 製 JSM-6510LA) を用いて行った。

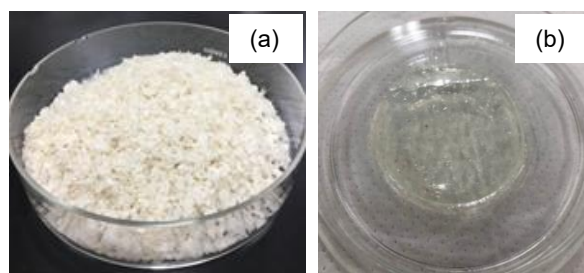


Fig. 3 Photographs of purified chitin (a) and chitosan/PAA IPN gel (b).

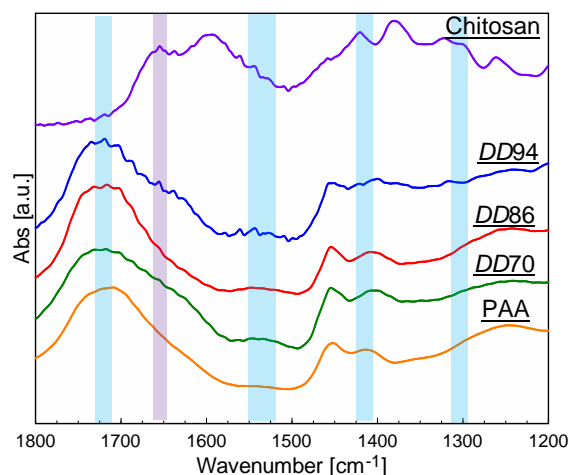


Fig. 4 FT-IR spectra of IPN composite samples with chitosan having various DD and PAA.

3 結果と考察

3.1 キトサンの精製

キチンは Fig. 3(a)に示すように白色のフレークとして夾雑物を可及的に除去した後のエビ殻に対して収率 10~15%で得られた。キトサンへの変換は 40wt%水酸化ナトリウム水溶液による処理時間と処理温度によって約 20 (未処理, キチン) ~95%の幅広い DD の範囲で制御することが可能である¹¹⁾。

3.2 キトサンと AA の IPN による複合化

混合比がキトサン/AA=10/90~40/60(wt/wt)の場合、Fig. 3(b)に示すような均一なゲルが得られたが、キトサンの割合がこれ以上ではゲル化しなかった。Fig. 4 に混合比 40/60 の試料の FT-IR 測定の結果を示す。図内の水色のハッチングはアクリル酸由来のピークであり 1710 cm^{-1} 付近のピークはカルボン酸 C=O 伸縮振動、1547 cm^{-1} 付近のピークは COO⁻非対称伸縮振動、1446 cm^{-1} 付近のピークは CH₂ 変角振動、1300 cm^{-1} 付近のピークは C-O 伸縮振動のピークに帰属される¹²⁾⁻¹⁴⁾。そして 1630 cm^{-1} 付近には弱いキトサンの amide I由来のピークが確認できるが、この IPN における複合化で AA(COOH) : キトサン (NH₂)含有量がモル比で 99.7:0.3 とキトサンの存在率が非常に小さいため FT-IR での検出が困難であったと考えられる。このため明らかな DD の影響は確認できなかった。

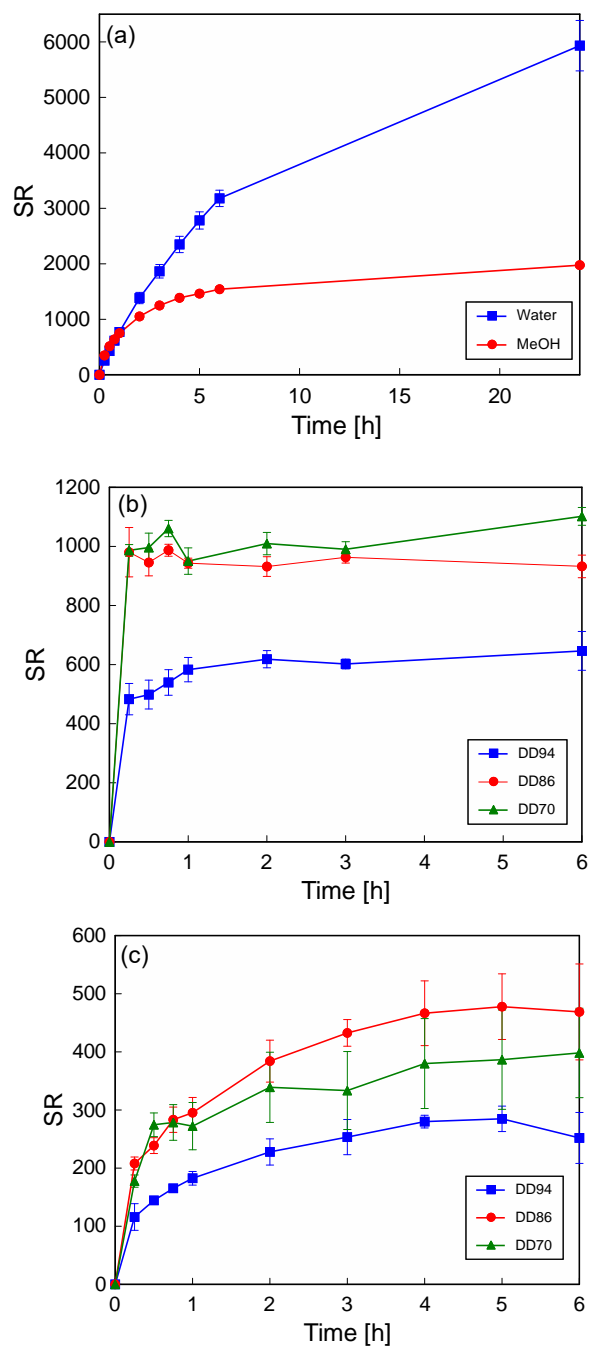


Fig. 5 Timecourses of swelling ratio (SR) at r.t., (a) dried PAA gel with water and methanol, (b) dried chitosan/PAA IPN composite with water, and (c) dried chitosan/PAA IPN composite with methanol.

しかしながら、IPN 乾燥ゲルを種々溶媒や pH の高い水溶液などで膨潤させたサンプルでは FT-IR に明確な変化が表れるため¹²⁾、今後の検討課題である。

3.3 IPN 乾燥ゲルの膨潤性試験

膨潤性試験の結果を Fig. 5 に示す。Fig. 5(a) は PAA 単独の乾燥ゲルの水およびメタノールへの膨潤性試験の結果である。水に含浸させた場合、時間の経過と共に膨潤率が

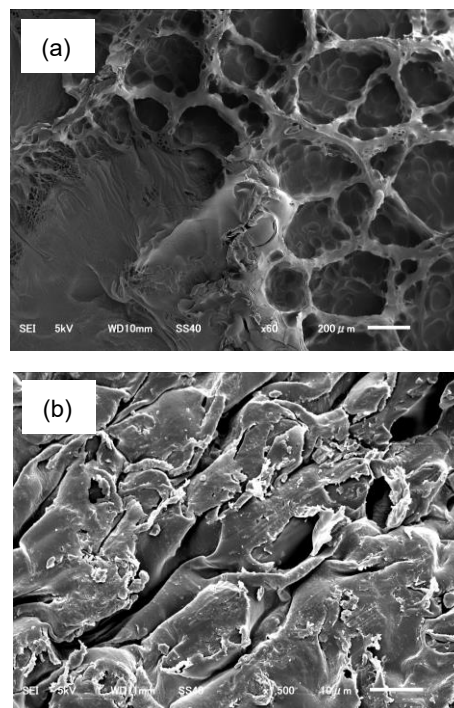


Fig. 6 SEM images of (a) PAA dried gel and (b) dried chitosan/PAA IPN composite.

上昇し、24 時間経過しても平衡膨潤には到達せず、自重の 55 倍以上の水を吸収することが分かった。またメタノールに浸漬した場合、24 h で自重の 15 倍以上のメタノールを吸収しており、水と比べると膨潤率は低下するものの良い吸収性を示した。Fig. 5(b) は様々な DD を有するキトサンと PAA の IPN 乾燥ゲル(キトサン (DD70, 86, 94)/PAA=40/60)における水に対する膨潤性試験の結果である。図から明らかなように DD が比較的低い試料の方が吸水性が優れており、DD70%の試料では 6 h 後に自重のおよそ 10 倍の水を吸収しており、DD94%の試料では自重のおよそ 6 倍の水を吸収した。そしていずれも PAA 単独ゲルに比べて膨潤率は低く、およそ 1 h 後には平衡膨潤に達していることが分かる。Fig. 5(c) は様々な DD を有するキトサンと PAA の IPN 乾燥ゲル(キトサン (DD70, 86, 94)/PAA=40/60)におけるメタノールに対する膨潤性試験の結果である。水に対して SR がおよそ 600~1000 で推移したことと比べて、メタノールでは SR がおよそ 200~500 の範囲で推移した。また、膨潤速度の観点で考察すれば、初期における水に対する膨潤速度はメタノールに比べて非常に大きく、分子サイズの効果であると考えられる。DD の影響について、水およびメタノールのいずれに対しても DD の低い IPN ゲルのほうが高い膨潤率を有することが分かった。これは DD の低い領域ではキトサンの含有率が小さいため、遊離アミノ基の割合の減少によって NH₃⁺が減少し、ポリマー間の静電相互作用による凝集、およびアミノ基に対する架橋度が低下することにより、分子内および分子間のネットワーク形成が緩慢になるため、水やメタノールの浸透を促進したことによるものと考えられる。

3. 4 IPN 乾燥ゲルの SEM 観察

Fig. 6(a)に PAA 単独の乾燥ゲルの SEM 観察の結果を示す。メッシュ状の表面が確認でき、分子内への吸水に伴い水の輸送に適していると考えられる。また、**Fig. 6(b)**にトサン (DD94%) と PAA の IPN 乾燥ゲルの SEM 観察の結果を示した。PAA 単独の乾燥ゲル表面より粗いひだ状になっていることが分かる。これは、UV 照射を利用した光重合を用いた IPN 複合化合物の特徴のひとつで、ひだ状表面をしていることから、水を取り込むことが有利になると考えられる¹⁵⁾。

4. 結言

本研究では、海産系バイオマスであるキチンを赤エビの外骨格から精製し、さらにそれを様々な脱アセチル化度を有するキトサンに変換した。これを基材として、ポリアクリル酸と光重合による IPN 法を用いて複合化した。複合化による生成物はゲルとして得られ、これを凍結乾燥により IPN 乾燥ゲルとした。この最終生成物の水およびメタノールに対する膨潤率 (SR) を調べた。得られたゲルの特徴として、水に対する SR が 600~1000 (自重の 6~10 倍) であり、メタノールに対しては SR が 200~500 (自重の 2~5 倍) であった。また、FT-IR による評価では、IPN 乾燥ゲルに対する DD の影響はほとんど見られなかったが、膨潤率を指標とした水やメタノールの吸収性に対して、DD の小さいキトサンと PAA の IPN 複合体の方が SR が大きいことが明らかとなった。これは、DD が小さいキトサンには遊離アミノ基の割合が少なくなっており、そのため静電的相互作用や架橋剤によるネットワーク形成が緩慢となり、水やメタノールの吸収性が向上したためと考えられる。得られた乾燥ゲルの SEM 観察の結果、ひだ状の表面構造であり、光重合を用いた IPN 複合体の共通の表面状態と推測される。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、原料である赤エビの外骨格を含む原料を、乾燥状態で十分な量をご提供下さった、大分県宇佐市 (有) 上野水産関係各位には、心よりの謝意を表します。

6. 参考文献

- 1) Muzzarelli, R. A. A : *Chitin*, Pergamon Press, New York, p.6 (1977).
- 2) 平野茂博 : キチン, キトサンの利用, シーエムシー, p.201 (1982).
- 3) Carlstorm, D : Crystal structure of α -chitin, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, 669-683 (1957).
- 4) 内田 泰 : キチン・キトサンの抗菌性, 月刊フードケミカル, 22 (1988).
- 5) P. K. Dutta *et al.*, *J. Sci. Ind. Res.*, **63**, 20 (2004).
- 6) M. Rinaudo, *Prog. Polym. Sci.*, **31**, 603 (2006).
- 7) C. K. S. Pillai *et al.*, *Prog. Polym. Sci.*, **34**, 641 (2009).
- 8) 吉村昌也, 鶴谷良一; 「創傷保護材からアキレス腱の再建まで活用できる」、*ibid*, pp.88-92.
- 9) Hackman, R.H.; *Austr. J. Biol. Sci.* 7168 (1954)
- 10) 前田ら, 北九州工業高等専門学校研究報告, 第 51 号, 65-69 (2018).
- 11) 二文字ら, 北九州工業高等専門学校研究報告, 第 52 号 45-48 (2019).
- 12) T. T. Nge *et al.*, *J. Appl. Polym. Sci.*, **83** 1025-1035 (2002)
- 13) Q. Wei *et al.*, *J. Macromol. Sci. Part A: Pure and Applied Chemistry*, **48**, 135-141 (2011)
- 14) M. Todica *et al.*, *ACTA PHYSICA POLONICA*, **128**, 128-135(2015)
- 15) T. T Nge *et al.*, *J. Appl. Polym. Sci.* **92** 2930-2940 (2004)

(2020 年 11 月 4 日 受理)