

α -キチン構造に及ぼす摩砕処理効果

*大島 和浩

Ball milling effects on the structure of α -chitin

Kazuhiro Oshima

Abstract

The original α -chitin powders were milled in a ball mill under several conditions. The chemical modification and the powdering characteristics were investigated. The amorphous particles of α -chitin obtained by ball milling for 100 minutes, and scission of the main chain of the α -chitin occurred at a time.

The fine powders of α -chitin ($<10\mu\text{m}$) were obtained in the initial step of milling, and aggregated particles formed with extend the milling time. The obtained amorphous chitin was regenerated α -crystalline structure in amorphous region by soaking in water.

1 緒言

近年、セルロースにおいてその新規利用法確立に繋がる機械的処理方法として、遊星型ボールミルを用いた「摩砕処理」が注目されている。木質材料の酵素分解前処理に摩砕処理が有用であることは比較的古くから知られていた¹⁾。加えて最近、セルロース繊維の摩砕処理により、従来の酸加水分解法に比べてはるかに容易かつ高効率に非晶性微小粒子が得られ、さらにポリエチレングリコールやポリカプロラクトンといった水素結合能を有する合成高分子と同時に摩砕処理することにより、特長的な固相反応（メカノケミカル反応）に起因して分子間相容性に富んだ多糖-合成高分子複合体が得られることが明らかとされた²⁻⁴⁾。

α -キチンは海老や蟹など甲殻類の甲羅に含まれる天然多糖である。北海道特有海産廃棄物である蟹甲殻の有効利用という観点からもその利用法拡充が期待されているバイオマス資源であり⁵⁾、その構造は*N*-アセチル-D-グルコサミンの β -(1,4)-グリコシド結合からなる直鎖状高分子である。これはD-グルコースの β -(1,4)-結合からなるセルロースとよく類似しており、可溶化溶剤や分子内水酸基の化学修飾反応において、セルロースで得られた知見をキチンに応

用できる例も少なくない⁶⁾。摩砕により高結晶性 α -キチンの非晶化、低分子量化が可能となれば、溶解、誘導体合成、さらには直接的な固体利用用途を広げる有用な前処理方法となる可能性がある。遠藤らは既に本手法がキチンやコラーゲンなどセルロース以外の天然高分子類にも適用可能であることを示している⁷⁾。しかしキチンにおいて摩砕処理がその分子構造に与える効果、さらには微粒子生成過程についてその詳細は明らかとされていない。

本報では、蟹甲殻由来 α -キチンを試料として遊星型ボールミルを用いて摩砕処理を行い、機械的エネルギーがキチン結晶構造および分子量に与える効果、またキチン微小粒子形成挙動について検討した結果を報告する。

2 実験

2-1 試料

α -キチンは関東化学株式会社製（粉末状、脱アセチル化度 10%、粘度平均分子量 298,000）のものをハックマン法⁸⁾により精製した後、50℃で 24 時間以上真空乾燥して使用した。

ジメチルスルホキシドほか汎用試薬は関東化学株式会社製特級をいずれもそのまま使用した。

2-2 遊星型ボールミルによる摩砕処理

遊星型ボールミルは、フリッチェ社製 puluerisette 6 を使用した。試料セルおよびボールはチ化珪素製、セル容積 80 cm³、ボールは 1 cm³ のものを 30 個用いた。単位処理あたりに用いるキチン量 1.0 g、セル回転速度は 350 rpm とし、処理時間 4 分毎に 1 分の冷却時間を設け所定時間摩砕処理を行った。以下原試料である α -キチンを P-Ch、摩砕処理キチンを M-Ch とそれぞれ略記する。

2-3 測定

広角 X 線回折測定は日本電子株式会社製 JDX-3532 を用いて行った。管電圧 40kV、管電流 40mA、測定域 $2\theta = 5 \sim 40^\circ$ とした。

SEM 観察は、日本電子株式会社製 JSM-6300F を使用した。試料スパッタリング時間は 15 秒とし、測定電圧 2.0kV、電流 12 μ A とした。

キチン分子量は定法⁹⁾に従って、50%水酸化ナトリウム水溶液中で脱アセチル化した後粘度法により測定した。

3 結果と考察

広角 X 線回折測定により得られた P-Ch および M-Ch の WAXD パターンを Fig.1 に示した。P-Ch では、 $2\theta = 9.4, 19.3, 23.4$ および 26.3° に特徴的なピークが現れた。これはそれぞれ(200), (110), (130), (140)に由来するものであり、 α -キチン結晶構造についての既報の結果によく一致する¹⁰⁾。

キチンやセルロースにおいて、X 線回折ピークの

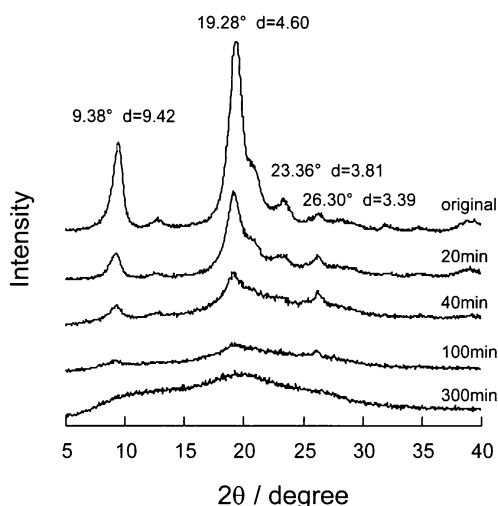


Fig. 1 WAXD patterns of original (P-Ch) and milled α -chitin (M-Ch)

大きさはその結晶性を反映する。摩砕処理 20 分では回折ピークの強度は原試料に対して急激に減少しており、摩砕処理によりその α 型結晶構造が破壊され、同時に非晶領域が増大していることが明らかである。摩砕処理時間が長くなるにつれ回折ピークはさらにブロード化し、さらなる非晶化の進行を示している。結晶性変化は処理時間 40~100 分までに顕著であり、100 分を超えると非晶性ハローのみが観察された。すなわち本処理条件下においては、100 分以上の処理で完全にアモルファスなキチンが得られることがわかった。

Fig.2 に P-Ch および M-Ch の粘度平均分子量 [Mv] と摩砕処理時間との関係を示した。キチンは摩砕により急激に低分子量化し、セルロース同様、摩砕により与えられるエネルギーが分子内・分子間水素結合切断と同時に主鎖グリコシド結合を開裂することがわかった。分子量変化は摩砕処理初期に著しく、ほぼキチンがアモルファスとなる 100 分処理では [Mv] = 62,000 程度と原試料に対して 20% にまで減少した。以降処理時間を延長しても分子量にほとんど変化はない。キチンにおいてその分解限界分子量の存在を示す報告は見受けられないが、セルロースの酸加水分解においてはその分解生成物重合度が 200~300 で一定となる¹¹⁾ ことが知られており、摩砕処理によっても重合度 150~200 程度に下限が存在することが報告されている³⁾。

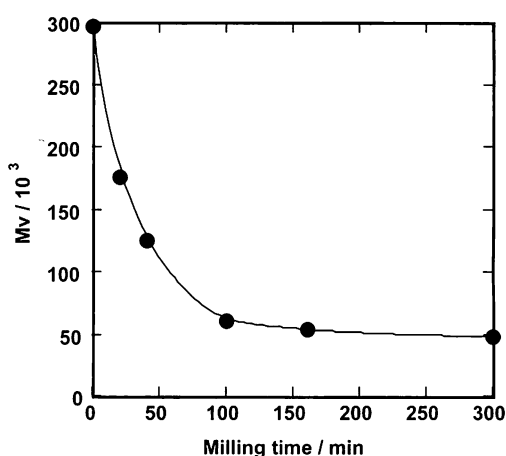


Fig. 2 Viscosity-average molecular weight of M-Ch versus milling time.

P-Ch および処理時間 100, 300 分 M-Ch の SEM 写真を Fig.3 に示した。いずれも測定試料内で平均的に認められる粒子形状を例示した。ただし粒子全

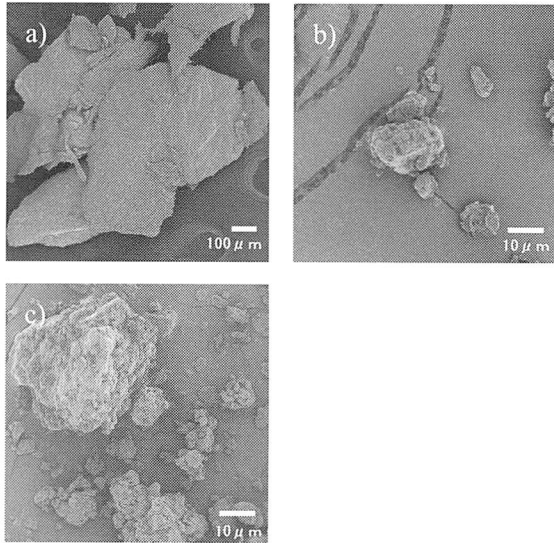


Fig. 3 SEM photographs of M-Ch powders: (a) original α -chitin, (b) M-Ch (milling time = 100 min), (c) M-Ch (milling time = 300 min).

体を写真内に捉える目的から P-Ch のみ倍率が異なっている。また写真中に見られる帯状の溝は試料台接着に用いたカーボンテープ表面の亀裂である。

図中(a) P-Ch の粒子表面は平滑であり、その直径は 1mm 程度であった。M-Ch では直径 1 μm 以下の極めて微細な粒子と、10 μm を超える比較的大型の粒子が観察された。平均的には 100 分処理試料が最も大型粒子の割合が低く、その粒子径は 15~20 μm 程度であった(写真 b)。さらに処理時間を延ばすと大型粒子が占める割合が増大し、300 分処理では(c)に示すような直径 40 μm を超える粒子が多数観察された。

セルロースのボールミル処理においては、摩砕初期に 10 μm 以下の微粒子(一次粒子)が生成し、長時間の処理によって生じる大型粒子はこの一次粒子表面間の水素結合形成に起因して凝集形成される「二次粒子」であることが示されている³⁾。M-Ch 大型粒子もまた微小粒子凝集体状であることは Fig. 3 から間違いない。そこで、キチン凝集構造における微小粒子間水素結合の効果を検討するため、水およびセルロースの分子内水素結合を切断する性質を有することが知られているジメチルスルホキシド(DMSO)中に生成微粒子を浸漬し、超音波照射による粒子分散を試みた。1 時間浸漬(静置)試料、およびこれに 1 時間超音波照射した粒子 SEM 写真を Fig.4 (a)~(d)に示す。水中浸漬では大型粒子同士がさらに凝集し、「三次構造」的な粒子形状を示し

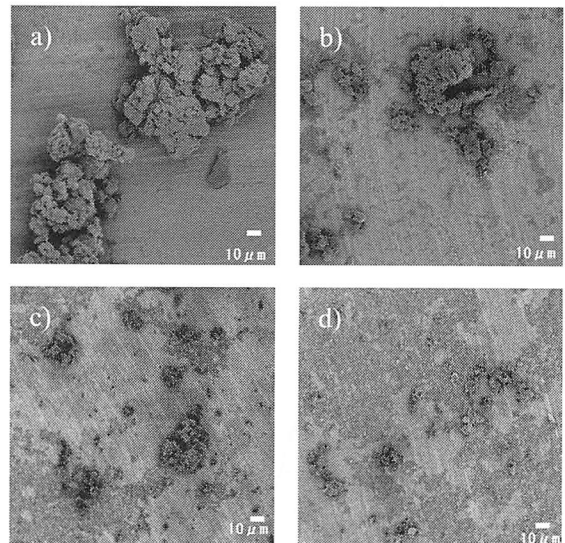


Fig. 4 SEM photographs of M-Ch (milling time = 300 min) powders: (a) soaked in water for 1 hour, (b) applied supersonic wave to (a) for 1 hour, (c) soaked in DMSO for 1 hour, (d) applied supersonic wave to (c) for 1 hour.

た。超音波照射によっても凝集形状は維持され一次粒子への分散はほとんど認められなかった。これに対して DMSO 浸漬においては水浸漬試料と大きく異なり、単純浸漬下では粒子は再凝集を起こすことなくほぼ乾燥時の状態を維持し、さらに超音波照射によって大型粒子は分散して直径 1 μm 程度の一次粒子生成が多数観察された。水および DMSO 浸漬下での超音波分散挙動に明確な差が生じたことから、二次粒子形成は単なる一次粒子の物理的圧着によるものではなく、微小粒子表面間の水素結合形成が大きく寄与していると考えられる。

300 分処理 M-Ch を 1 時間水中に浸漬した後真空乾燥して得た試料の WAXD パターンを Fig.5 に示した。M-Ch の水浸漬試料では、 $2\theta = 9.1$ および 26.2° にややブロードながらも明確な回折ピークが現れ、この WAXD パターンは 40 分処理 M-Ch とほぼ一致した。すなわち M-Ch は水への浸漬により、分子内に α 型結晶構造領域を再構築する。同様の再結晶化は浸漬溶媒として水以外にメタノール、エタノールなど高親水性溶媒を用いた場合に認められ、アセトン、ベンゼンへの浸漬では非晶構造に変化はなかった¹²⁾。親水性溶媒分子が M-Ch 内非晶領域に入り込みキチン分子内水酸基と相互作用を形成し、乾燥による溶媒分子脱離を経て分子内水酸基間で水素結合を再生、結果結晶構造が部分的に再構築すると推察される。溶解、あるいは高度な膨潤といった過程を

経ることなく、固体粒子の単純な溶媒浸漬のみでその結晶性が変化するという挙動はキチン系材料において他に例がなく、この結果は摩砕生成粒子独特の特性として興味深い。

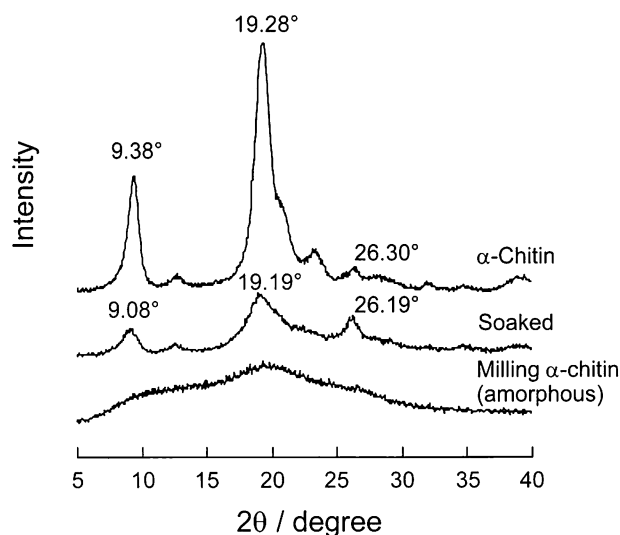


Fig. 5 WAXD patterns of P-Ch, M-Ch and soaked M-Ch in water for 1 hour.

4 まとめ

遊星型ボールミルを用いた摩砕処理により、高結晶性 α -キチンは容易に微細化可能であり、100分以上の処理により完全にアモルファスなキチン微粒子が得られた。同時に主鎖グリコシド結合の開裂も生じ、アモルファス化 M-Ch においてはその分子量は原試料に対して 20%以下にまで低下した。

得られる微粒子は 10 μm 以下の一次粒子、およびその凝集体である二次粒子の二種からなり、長時間の処理はむしろ二次粒子の生成を促進した。凝集は単なる物理的圧着によるものではなく、粒子表面間の水素結合形成がこれに寄与している。以上の結果は、既に明らかとされているセルロースの摩砕における物理的・化学的変化の挙動とよく一致した。

M-Ch 分子内の非晶領域は未処理 α -キチンに比べて水素結合形成能に富み、水や親水性有機溶媒への浸漬で非晶領域内に α -型結晶構造を再構築することがわかった。

参考文献

- 1) 夜久富美子, エネルギー・資源, **5**, 180(1985)
- 2) 村木永之助, 夜久富美子, 田中龍太郎, 越島哲夫, 木材学会誌, **36**, 584 (1990)
- 3) 遠藤貴士, 北川良一, 広津孝弘, 細川純, 高分子論文集, **56**, 166 (1999)
- 4) 遠藤貴士, 繊維と工業, **57**, 216 (2001)
- 5) "最後のバイオマス キチン・キトサン" キチン・キトサン研究会編 (1992) 技報堂出版
- 6) "キチン・キトサンハンドブック" キチン・キトサン研究会編 (1995) 技報堂出版
- 7) "四工研ニュース" 四国工業技術研究所編 **84**, 4 (1996)
- 8) R. H. Hackman., *Austral. J. Biol. Sci.*, **7**, 168 (1954)
- 9) "キチン・キトサン実験マニュアル" キチン・キトサン研究会編, 68 (1991) 技報堂出版
- 10) R. Minke, *J. Biol. Sci.*, **120**, 169 (1978)
- 11) J-M. Lauriol, J. Comtat, P. Forment, F. Pla and A. Robert, *Horzforschung*, **41**, 165 (1987)
- 12) 大島和浩, 山崎理絵, 木村悟隆, 鈴木秀松, 第 51 回高分子学会北陸支部研究発表会要旨集, 253 (2002)

(平成16年12月14日受理)