

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3593024号
(P3593024)

(45) 発行日 平成16年11月24日(2004.11.24)

(24) 登録日 平成16年9月3日(2004.9.3)

(51) Int. Cl.⁷

C08B 37/08

F I

C08B 37/08

A

請求項の数 6 (全 12 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2000-330084 (P2000-330084)</p> <p>(22) 出願日 平成12年10月30日 (2000.10.30)</p> <p>(65) 公開番号 特開2002-128802 (P2002-128802A)</p> <p>(43) 公開日 平成14年5月9日 (2002.5.9)</p> <p>審査請求日 平成13年5月11日 (2001.5.11)</p> <p>特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年5月1日 財団法人繊維工業研究協会発行の「繊維工業研究協会報告 第10巻」に発表</p>	<p>(73) 特許権者 591040236 石川県 石川県金沢市鞍月1丁目1番地</p> <p>(73) 特許権者 397014189 有限会社松川化学 東京都墨田区向島1丁目24番12号101</p> <p>(74) 代理人 100096105 弁理士 天野 広</p> <p>(72) 発明者 新保 善正 石川県金沢市泉野町1丁目16番26号</p> <p>(72) 発明者 木水 貢 石川県金沢市戸水町口1番地 石川県工業試験場内</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
--	--

(54) 【発明の名称】 多糖類の低分子化方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

キチン、キトサン及びそれらの誘導体のうちのいずれかからなる多糖類を1000気圧から4000気圧の高圧条件下で処理することにより解重合することを特徴とする低分子化方法。

【請求項2】

摂氏0度から200度の温度条件下で前記多糖類を処理するものであることを特徴とする請求項1に記載の低分子化方法。

【請求項3】

蒸留水中で前記多糖類を処理するものであることを特徴とする請求項1又は2に記載の低分子化方法。

【請求項4】

前記多糖類に加水分解または、酸化分解を施すものであることを特徴とする請求項1乃至3のいずれか一項に記載の低分子化方法。

【請求項5】

前記多糖類を過酸化剤で処理するものであることを特徴とする請求項1乃至4のいずれか一項に記載の低分子化方法。

【請求項6】

前記過酸化剤は、過ホウ酸ソーダであることを特徴とする請求項5に記載の低分子化方法。

10

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、キチン、キトサンなどの多糖類を低分子化する低分子化方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

セルロース、キチン、キトサン及びその誘導体は、保湿力が優れており、その他にキチン、キトサンとその誘導体には抗カビ性、抗細菌性、抗ウイルス性、生体適合性、金属イオン吸着性、低コレステロール剤など様々な作用が確認され、かつ、生分解性であり、この材料を利用した応用製品が数多く開発されている。

10

【0003】

キトサンはカニやエビの甲殻類の外皮を形成しているキチンの脱アセチル化物である。脱アセチル化処理中にキチン主鎖の切断も起こるため、分子量低下を伴いながらキトサンが得られる。アミノ多糖であるキトサンは反応性に富むと同時に抗菌性やキレート形成能やその他多くの性能を持ち、特に、化粧品、医薬中間体、食品添加剤、農薬、固定化酵素担体（ビーズ）などへ低分子量キトサンが応用されてきた。例えば、キチン・キトサン研究会編「キチン、キトサンハンドブック」（技報堂、1995）に記載されている。一般に、酸加水分解により低分子キトサンを得ている。

【0004】

例えば、特開平9-31104号公報には、キトサンを酸溶液中に乳状コロイドとし、コロイド化した微粒子状のキトサンを、強酸により加水分解することを特徴とする低分子キトサン及びキトオリゴ糖の製造方法が記載されている。

20

【0005】

一方、多糖類の一つであるセルロースやポリエステルを超臨界流体による分解過程が近年注目されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

従来の多糖類の低分子化方法においては、濃塩酸等によって、単糖まで加水分解されていた。キトサンを濃塩酸で加水分解した場合、反応系が不均一であるために、キトサン鎖の端から分解が進みやすく、キトサンの大部分はD-グルコサミンの単糖まで分解されてしまい、重合度が比較的大きいオリゴ糖や低分子キトサンを効率よく製造することは困難であった。

30

【0007】

また、従来の化学薬品及び酵素による低分子化方法においては、水系において常圧で室温から100度までの温度条件下で数時間から約1日以上長時間を要していた。

【0008】

特開平9-31104号公報においては、実施例においてキトサンを水に分散し、塩酸を添加し、50～80度で2時間攪拌を行い、溶解活性化させ、その後、攪拌をしながら過酸化水素と濃塩酸を加え、乳状コロイドとした。次に遠心分離により脱水を行い、その脱水したキトサングルを、濃塩酸に強く攪拌しながら加え、80度で5～6時間分解反応させている。この方法においても、長時間を要していた。なお、圧力については、特に限定されていない。また、化学的処理を行っているため、脱塩、脱色などの精製を十分に行われなければならない、廃液の処理も行われなければならないなど、処理に困難を極めていた。

40

【0009】

一方、キチン、キトサンは、熱による融解を起こさないため、酸や有機溶剤などに溶解させ溶液化して、成型、混合、塗布などを行い、利用している。しかし、該溶液は、その分子量によって粘度が異なるため、高分子量のを溶液化すると高い粘度のため利用しにくいという問題を有していた。

【0010】

このことから、本発明は、従来技術の問題点を解決し、化学的処理を用いないで物理的処

50

理を行う簡単な処理操作で、効率よく、かつ短時間に行う低分子化方法を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】

前記目的を達成するため、請求項1に記載された発明は、キチン、キトサン及びそれらの誘導体のうちのいずれかからなる多糖類を1000気圧から4000気圧の高圧条件下で処理することにより解重合することを特徴とする低分子化方法に関する。キチン、キトサンなどの多糖類の高分子材料を低分子化し、その分子量を制御し、開発用途に合わせた加工性のよいものを製造することができる。また、従来、低分子化に長時間要していたが、本発明を用いることにより、数分から数十分程度の極めて短時間に低分子化できるため効率的に低分子化処理を行うことができるものである。さらに、低分子化に伴う、該分子量の制御を容易にすることもできる。

10

【0012】

前記多糖類は、キチン、キトサン及びそれらの誘導体のうちのいずれかであることが好ましい。本発明は、高分子材料である多糖類に用いることができるが、その中でも天然に大量に存在している甲殻類の外皮を形成しているキチン、キトサン及びそれらの誘導体について低分子化を図るものである。

【0013】

前記高圧条件は、100気圧以上であることが好ましい。高圧処理法は常圧処理法と比較して極めて短時間で目的の低分子化を達成することができ、その制御も容易にすることができる。また、高圧処理法は、従来の化学的処理に変わって物理的処理方法で解重合することになり、化学的処理により生じていた廃液が生じなくなるため環境面でも有効な処理方法であるといえることができる。

20

【0014】

前記高圧条件は、1000気圧から4000気圧であることが好ましい。1000気圧下の処理では、低分子化の時間依存性が大きく、換言するとキトサン分子量を制御し易く、収率も比較的大きい。より高圧になると数分から数十分という極めて短時間で更に低分子化を達成することができる。一方で、超高圧条件下では、大きな重量損失を伴う。重量損失の原因は超高圧処理中に単糖であるD-グルコサミンが生成するためである。

【0015】

請求項2に記載するように、摂氏0度から200度の温度条件下で前記多糖類を処理するものであることが好ましい。超臨界流体条件とはやや異なるが、常温、超高圧という極限状態においても、キチンやキトサンの解重合反応は容易に進行するものであった。

30

【0016】

請求項3に記載するように、蒸留水中で前記多糖類を処理するものであることが好ましい。蒸留水のみで、高圧処理した場合でも、解重合が生じ、分子量又は固有粘度の低下を引き起こすこととなった。

【0017】

請求項4に記載するように、前記多糖類に加水分解または、酸化分解を施すものであることが好ましい。加水分解または、酸化分解には、硫酸、塩酸、ギ酸などの酸や、水酸化ナトリウム、過ホウ酸ソーダなどの塩基を用いる化学的処理を施すことによっても解重合反応を起こすことができる。

40

【0018】

請求項5に記載するように、前記多糖類を過酸化剤で処理するものであることが好ましい。過酸化剤で処理することにより、超高圧条件でも解重合が生じ、低分子化が促進されるものである。

【0019】

請求項6に記載するように、前記過酸化剤は、過ホウ酸ソーダであることが好ましい。

【0020】

多糖類を含有した溶液は、その分子量によって粘度が異なるため、より効果的な利用を図

50

るためには、高分子量の材料を低分子化し、またその分子量を制御し、その開発用途に合わせて加工性の良いものを選択することが重要となるため、本発明により低分子化に伴う副産物の生成を制御することにより、加工性の向上を図ることができるものである。

【0021】

以上の低分子化方法は、極めて短時間に低分子化を効率よく処理し、しかもその分子量を容易に制御することができる有効的方法である。

【0022】

【発明の実施の形態】

以下に、本発明の実施の形態について説明するが、本発明の範囲はこれに限定されるわけではない。

10

【0023】

多糖類のキチンおよびキトサンを原試料とし、以下の方法により解重合を行うことができる。

【0024】

キチンおよびキトサン粉末を過ホウ酸ソーダ水溶液の入った容器に入れ密封し、高圧条件下(1000~4000気圧)で10分から30分処理して解重合した。これにより得られた固体試料を水洗後、凍結乾燥して目的の低分子化したキチン及びキトサンを得ることができる。また、過ホウ酸ソーダ水溶液に代えて蒸留水のみを使用することもできる。

【0025】

過酸化剤としては、過ホウ酸ソーダのほか、過酸化ナトリウム、過酸化水素なども使用することができる。

20

【0026】

得られた低分子化アミノ多糖類およびその誘導体は抗菌作用、各種医用材料、高分子医薬、化粧品材料、分離膜材料、粒状多孔質材料(液体クロマトグラフィー用担体等)及び水処理剤として使用されつつある。

【0027】

また、上記の低分子化法により副産物として生成されるオリゴマーについては、セルロースはブドウ糖、セロピオースなどで食品、医療分野等の様々な分野で利用されており、キチン、キトサンのオリゴマーはキチン、キトサンと同様な作用並びに健康増進作用が知られておりその利用が期待されている。

30

【0028】

【実施例】

以下、実施例を具体的に説明する。

【0029】

片倉チッカーン(株)製のキトサン(脱アセチル化度96%)及びキチンを原試料とし、次の方法により解重合を行った。

【0030】

まず、キトサン粉末(又は、キチン粉末)0.25gを5%過ホウ酸ソーダ水溶液50mlの入ったポリエチレン袋に入れ密封し、超高压装置((株)杉野マシン製,ISSK-1)のシリコン浴に挿入し55で圧力1,000~4,000atm、時間10~30分処理して解重合を行った。

40

【0031】

その後、室温で処理液をガラスフィルター濾過して固液を分離し、濾液はHPLC分析に供し、固体試料は十分水洗後、凍結乾燥して分子量や収率などを測定した。

【0032】

また、5%過ホウ酸ソーダ水溶液に代えて蒸留水のみを使用した場合も併せて解重合を行った。

【0033】

<キトサンの分子量測定>

0.1M酢酸/0.2M塩化ナトリウム水溶液を溶媒に用いキトサンを溶解する。ウベロ

50

ーデ型粘度計でキトサン溶液の粘度を25 で測定し固有粘度を求め、以下のMark-Houwink式(キチン・キトサン研究会編「キチン、キトサンハンドブック」(技報堂、1995))から粘度平均分子量M(又は、重合度DP)を算出した。

【0034】

【数1】

$$[\eta] = 1.81 \times 10^{-3} \cdot M^{0.93} \quad (1)$$

10

【0035】

ここで、 $[\eta]$ の単位はml/gである。脱アセチル化度がほぼ100%であると考え、重合度DPは次式で与えられる。

【0036】

【数2】

$$DP = M / 161 \quad (2)$$

20

【0037】

<高速液体クロマトグラフィー測定(HPLC)>

東ソ(株)製高速液体クロマトグラフィーHLC803D、カラム:東ソTSK-GEL AMIDE-80(300mm)を用いた。「食品新素材有効利用技術シリーズNo.1」(菓子総合技術センター編、1999)に報告されている方法に準拠しオリゴ糖の分析を行った。25 で溶離液CH₃CN/H₂O/5M AcOK(70/30/0.25)を流速0.7ml/minで流し、1回の測定に100μl使用して示差屈折計検出器により測定した。標準キトサンオリゴ糖混合物(Chitosan Oligosaccharides Mixture、No.800105、Seikagaku Co.)の5%水溶液の測定結果を基に各種解重合試料の濾液の分析を行った。また、キチンに 30

【0038】

<赤外線吸収スペクトル測定>

Nicolet MAGNA 560を用いて原試料及び解重合試料のFTIR測定をKBr錠剤法により行った。

【0039】

以下、その分析結果を説明する。

【0040】

1. 解重合による重量損失について説明する。

40

【0041】

図1に超高压解重合処理によるキトサンの重量損失を、図2にキチンの重量損失を示す。両者とも処理時間には依存しないが、圧力が高いほど損失量は大きくなり処理圧力に依存している。図1及び図2において、3000atm、55、過ホウ酸ソーダ水溶液で処理を行ったところ、キトサンの重量損失は44%であるのに対して、キチンは16%と低い。この重量損失の原因は、主として解重合過程におけるオリゴマーの生成によるものである。このことから、キチンとキトサンを比較した場合に、キトサンは、重量損失が大きいため、オリゴマー生成量が多いが、それに対してキチンの方は、重量損失が小さいため、オリゴマー生成量が少ないことから、キチンはキトサンより解重合が進行していないものと考えられる。

50

【 0 0 4 2 】

2. 解重合による分子量変化について説明する。

【 0 0 4 3 】

図3に超高压解重合処理で得られたキトサンの分子量変化を、図4に超高压解重合処理で得られたキチンの固有粘度を示す。過ホウ酸ソーダ水溶液、55 で処理を行った。

【 0 0 4 4 】

キチンの固有粘度 (dl/g) はDMAc/NMP/LiCl (1/1/0.1) 混合溶媒を用いて25 の粘度測定から求めた。キチンの場合、固有粘度から分子量を算出するMark-Houwink式が報告されていないので、固有粘度の変化を示した。

【 0 0 4 5 】

超高压解重合処理で得られたキチン及びキトサンの分子量と固有粘度の反応前後の変化を表1に示す。

【 0 0 4 6 】

キトサン原試料の分子量は約1,090,000である(表1参照)。図3より、1000 atm、10分処理すると約138,000となり、分子量は約1/8に低下する。1000 atmで処理した場合、分子量は処理時間とともに大きく低下するが、3000 atmおよび4000 atmで処理した場合は、圧力が大きくなるにしたがって、最初の10分間で大きな分子量低下が起こる。これより、分子量は、3000 atmおよび4000 atmのときの方が、1000 atmのときよりも処理時間に依存する割合が低い。

【 0 0 4 7 】

その一方で、図1から重量損失は各処理圧力においてほぼ一定で時間に依存しない。しかし、図3で見られるように分子量は、一様に低下し、特に1000 atmの場合は、時間に依存しているのが顕著である。したがって、オリゴマー生成に起因すると思われる重量損失はどの処理圧力の場合でも短時間内に起こり10分以後ではほとんど起こらないと考えられる。一方、常圧で過ホウ酸ソーダ水溶液中で、8時間処理したキトサンの分子量は約100,000となり、図1の結果を参照すると1000 atm、18分処理で得られる分子量に対応している。これからわかるように同程度の分子量を生成するのに、常圧下では、8時間かかるのに対し、時間に依存する1000 atm処理下では、18分という極めて短時間で同じ効果を得ることができる点で、本方法は有用である。

【 0 0 4 8 】

キチン原試料の固有粘度は約5.1 (dl/g) (表1参照)であったが、図4に見られるように解重合(3000 atm)すると固有粘度は処理時間とともに減少し、10分後では約1.9 (dl/g)、30分後では約1.4 (dl/g)と、約1/3前後まで低下した。ここで得た固有粘度と粘度平均分子量の関係が、キトサンのMark-Houwink式(1)の指数 = 0.93と同一であると仮定すると、次式の関係が成り立つ。

【 0 0 4 9 】

【数3】

$$[\eta] \propto M^{0.93} \quad (3)$$

【 0 0 5 0 】

これは、1/3への固有粘度の低下はキチン分子量が約0.3(30%)に低下することに対応する。

【 0 0 5 1 】

キトサンの原試料は、1,090,000であったのに対し、3000 atm、30分処理後では、分子量は55,000となり、処理後の分子量が原試料の約1/20程度に低下している。したがって、キトサンよりキチンの分子量低下度合いの方が小さい。これは、キチンはキトサンよりも分子内及び分子間水素結合が多く存在し、このためキチンの解

10

20

30

40

50

重合が低くなったと考えられる。

【0052】

表1には、5%過ホウ酸ソーダ水溶液に代えて蒸留水のみを使用し、4000 atm、30分処理したときの解重合結果を示す。

【0053】

【表1】

	固有粘度 [η] (dl/g)		分子量	
	原試料	処理後	原試料	処理後
キチン	5.078	4.001	-	-
キトサン	7.477	5.074	1,090,000	721,000

10

【0054】

表1の結果から、重量損失について、キトサンの分子量は、約1/3程度の369,000減少した。これを、同条件下における過酸化剤である過ホウ酸ソーダを用いたときと比較してみると、図1より過ホウ酸ソーダを用いたときは、キトサンの分子量は、約1/21程度の1,040,000減少している。これより、低分子化においては、過ホウ酸ソーダのような過酸化剤の存在が必要であることがわかった。

20

【0055】

また、キチンは、固有粘度の低下が観測された。原試料と処理後の固有粘度の差は、約1.08 (dl/g) で約1/5減少している。

【0056】

したがって、キチン、キトサンいずれの場合においても、過酸化剤に代えて蒸留水のみを使用しても分子量低下が生じ、低分子化が起こっている。つまり、超高圧水中処理 (NaBO₃ なし) のみでも解重合が生じている。

30

【0057】

しかし、分子量低下割合は、分子量比からキトサンで約33%、固有粘度比からキチンでは約21%が解重合したこととなり、蒸留水のみで高圧処理するよりも過酸化剤を使用し高圧処理した場合の方が、より低分子化を引き起こす割合が大きいことを示している。

【0058】

3. 解重合によるオリゴマーの生成について説明する。

【0059】

解重合処理した濾液中に損失重量に対応するオリゴマーが存在するかを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で解析した。図5に標準キトサンオリゴ糖混合物の5%水溶液の測定結果を示す。1、2、3量体は鋭いピークで現れているが、4量体以上のオリゴマーはやや分離が悪くブロードな曲線として現れた。

40

【0060】

図6に3000 atm、10~30分処理液のHPLC曲線を示す。いずれも保持時間4分付近からベースラインが負側に振れ、分析物の終了を意味すると考えられる。したがって、分析曲線は保持時間3.6分付近のブロードなシングル・ピーク (保持時間の近接する2つのピークの重なり) のみ観測された。これは、標準試料の1量体、すなわち、D-グルコサミンに相当している。したがって、D-グルコサミンの末端基の僅かな違いか、または、D-グルコサミン分子内の水酸基やアミノ基の配置 (コンホメーション) の僅かな違いのある混合物が生成したものと思われる。

【0061】

50

図7に4000 atm、30分水中処理濾液のHPLC曲線を示す。この場合もNaBO₃水溶液処理濾液と同様の結果を得た。

【0062】

図8にキチンオリゴ糖の標準試料、キチン解重合処理(4000 atm、20分処理及び30分水中処理)濾液のHPLC曲線を示す。いずれの結果もキトサン解重合過程と同様に単糖であるN-アセチル-D-グルコサミンのみが観測された。

【0063】

これらの結果は、キトサン及びキチンとも解重合初期にオリゴマーを生成して水溶液中に溶解し、55の超高压下で単糖まで引き続き解重合することを示唆している。

【0064】

4. 原試料及び解重合試料のFT-IRについて説明する。

【0065】

図9に原試料、常圧8時間処理試料、1000 atm、10分処理試料(1000 atm、10分)、及び4000 atm、30分処理試料(4000 atm、30分)のそれぞれのキトサンについて赤外吸収スペクトル測定を行った結果を示す。キトサン原試料に見られる特徴的な吸収帯として1655 cm⁻¹のアミド1吸収、1600 cm⁻¹にアミノ基の吸収、及び1155 cm⁻¹と1260 cm⁻¹に糖特有のエーテルによる吸収バンドがすべての処理試料にも現れている。また、それぞれの赤外吸収曲線は全波数領域にわたり違いはほとんど見られなかった。したがって、解重合処理においてグルコサミン環構造を破壊することはなく、エーテル結合部位で解重合が起きていると推測される。

【0066】

5. 以上の実験結果から、常圧下でキチン、キトサンを処理するよりも、高压、特に3000~4000 atmの超高压条件下で処理を行うことにより、極めて短時間で低分子化を行えることとなった。また、キチン及びキトサンともに解重合初期にオリゴマーを生成して水溶液中に溶解し、超高压下で単糖まで引き続き解重合することが可能となった。これにより、解重合を制御することが容易になった点で極めて有用である。

【0067】

【発明の効果】

本発明によれば、化学的処理を用いずに物理的処理を行うため処理操作が簡単で、かつ極めて短時間で多糖類の低分子化を図ることができる。また、本発明の低分子化方法により低分子化することにより粘度を低くすることが可能となり、解重合を制御することが容易になった点で極めて効果的である。その結果、低分子化アミノ多糖類およびその誘導体は抗菌作用、各種医用材料、高分子医薬、化粧品材料等に应用できることとなった。また、低分子化法により副産物として生成されるオリゴマーについては、様々な分野で利用されることが期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】超高压解重合処理によるキトサンの重量損失を示すグラフである。

【図2】超高压解重合処理によるキチンの重量損失を示すグラフである。

【図3】超高压解重合処理で得られたキトサンの分子量変化を示すグラフである。

【図4】超高压解重合処理で得られたキチンの固有粘度変化を示すグラフである。

【図5】標準キトサンオリゴ糖混合物の5%水溶液のHPLC曲線である。

【図6】3000 atm、10~30分処理液のHPLC曲線である。

【図7】4000 atm、30分水中処理濾液のHPLC曲線である。

【図8】キチンオリゴ糖の標準試料、キチン解重合処理(4000 atm、20分処理及び30分水中処理)濾液のHPLC曲線である。

【図9】キトサンについての赤外吸収スペクトル測定結果である。

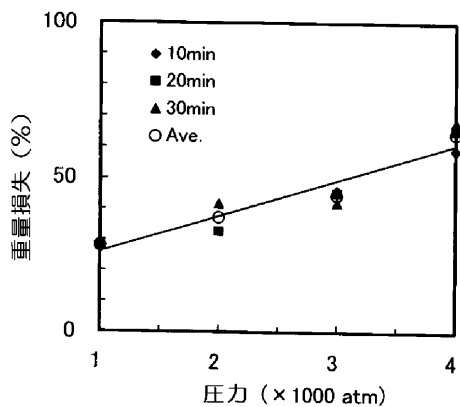
10

20

30

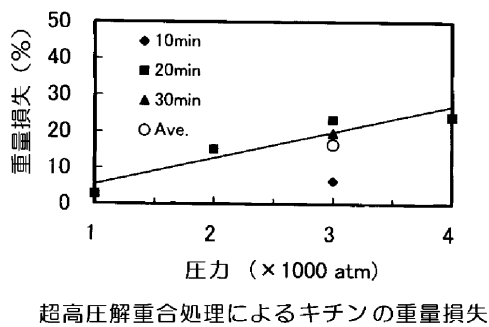
40

【 図 1 】



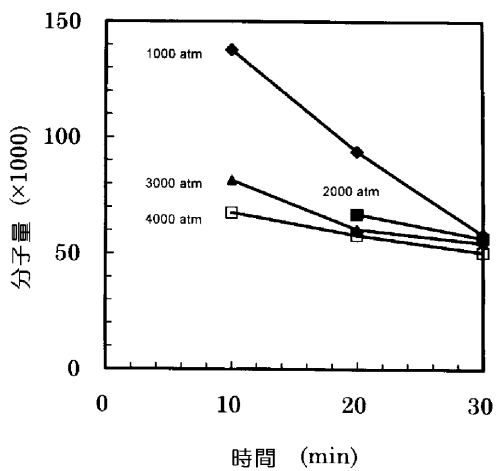
超高压解重合処理によるキトサンの重量損失

【 図 2 】



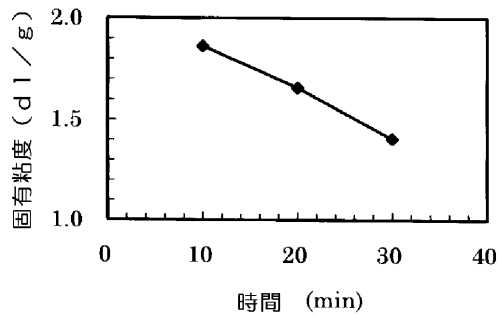
超高压解重合処理によるキチンの重量損失

【 図 3 】



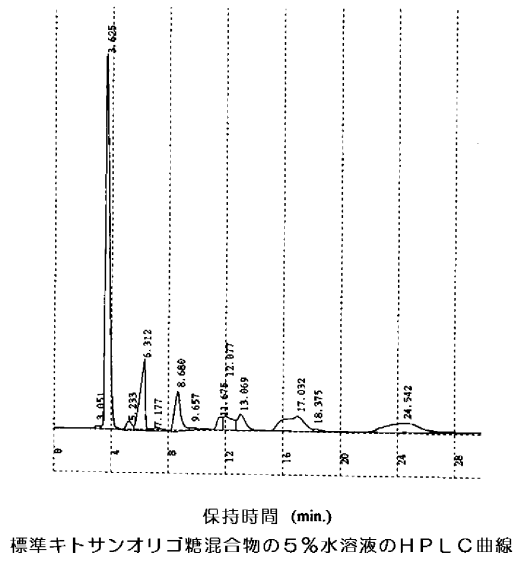
超高压解重合処理で得られたキトサンの分子量変化

【 図 4 】

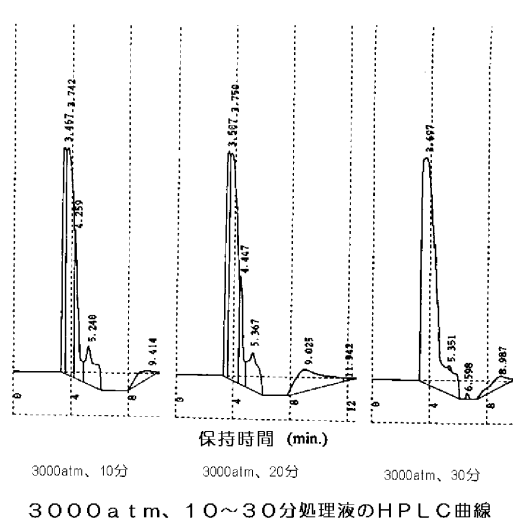


超高压解重合処理で得られたキチンの固有粘度変化

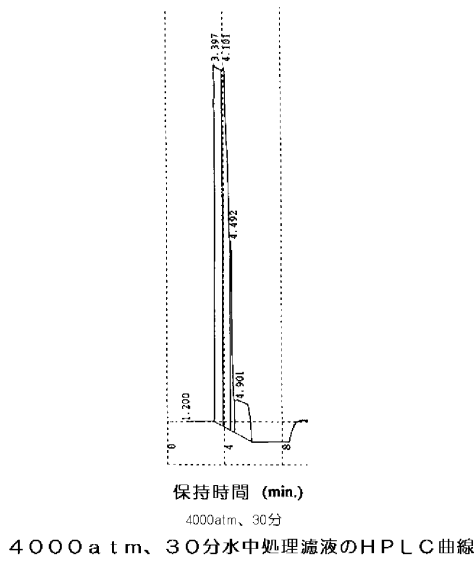
【 図 5 】



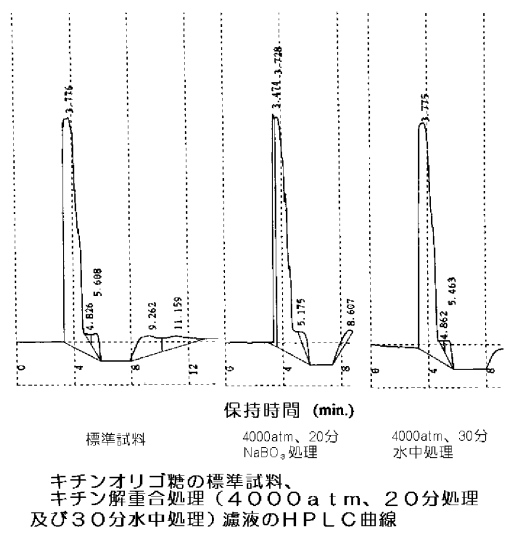
【 図 6 】



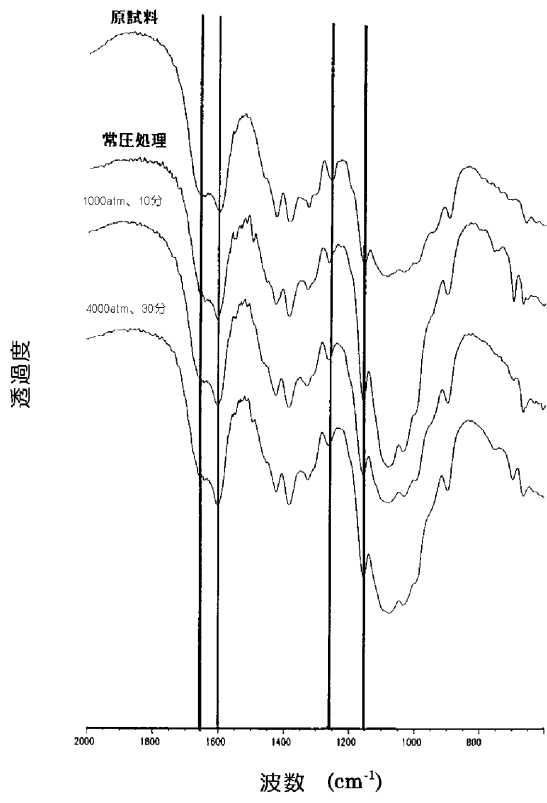
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



キトサンについての赤外吸収スペクトル測定結果

フロントページの続き

(72)発明者 桜井 謙資

福井県福井市舞屋町5 - 16 - 1

(72)発明者 松川 伸也

東京都墨田区向島1丁目24番12号101

有限会社松川化学内

(72)発明者 東 陽一

愛知県蒲郡市鹿島町ドドメキ19 - 8

審査官 田名部 拓也

(56)参考文献 特開2000 - 186102 (JP, A)

特開昭61 - 040303 (JP, A)

特開2002 - 105101 (JP, A)

特開2001 - 288201 (JP, A)

特開2001 - 213902 (JP, A)

桜井、東、木水、超高压を利用するキトサンの解重合挙動、繊維工業研究協会報告、2000年
5月 1日、第10巻、23-32

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

C08B 1/00 - 37/18