一般報文

(平成3年6月21日受理)

キトサンコーティングしたセロファンフィルムの性質

四国工業技術試験所 細川 純・吉原 一年・西山 昌史
新興人化成株式会社 綱島 肇*・森本 侃*

PROPERTIES OF CELLOPHANE FILMS COATED WITH CHITOSAN

Jun Hosokawa^{*1}, Hajime Tsunashima^{*2}, Kazutoshi Yoshihara^{*1},
Masashi Nishiyama^{*1}, and Sunao Morimoto^{*2}^{*1} Government Industrial Research Institute Shikoku, 2-3-3 Hananomiya-cho, Takamatsu, 761 Japan^{*2} Shinkohjin Kasei Co., Ltd., 1-1 Kohkoku-cho, Yatsushiro-shi, Kumamoto, 866 Japan

ABSTRACT: Coating of chitosan on cellophane was studied with the aim of giving new functional properties to cellophane film. The transparency and the water vapor transmission rate of cellophane were not lowered by the chitosan coating on cellophane. The adhesive strength between cellophane and chitosan layers was very high, and increased with the chitosan concentration of the coating layer at the alkali-treatment stage. The adhesive strength of 170 kgf/cm² was obtained when the chitosan concentration of the coating layer was 90%. Chitosan coating was not so effective in improving tensile and tearing strengths of cellophane. The chitosan layer readily absorbed silver ions, and the coating film bearing silver had antibacterial action against four pathogenic bacteria, namely *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Staphylococcus aureus*. Silver of 1500 ppm in the coating film was sufficient to prevent the propagation of the bacteria, while the coating film without silver did not have the discernible antibacterial action.

(Received June 21, 1991)

1. 緒 言

セロファンは透明性が高く透湿性のあるフィルムとして、現在包装用などに用いられているが、新しい機能を付加し難い素材である。一方、キトサンは透過膜[1]、良染色性[2]、医用材料[3]など、種々の機能を発現できる素材であるが、包装用フィルムの素材として用いるには高価である。そこでセロファン上にキトサンをコーティングして、両者の特長を生かしながら新しい機能を付与することを考えた。

レーヨン等の繊維にキトサンをコーティングし、良染色性を付与する試みについては Allan and Hirabayashi [4] が既に報告している。しかし、フィルムへのコーティングの場合、透明度などセロファン自身の特長を損なわず、剥離し難いキトサンコート層ができるようなコー

ティング法を調べる必要がある。また、コーティングされたセロファンに、良染色能以外にもどのような機能を付与できるか検討することも必要である。

そこで、我々はセロファンへのキトサンコーティング条件を検討した。また、得られたコーティングフィルムの機能付与として食中毒菌に対する抗菌性の包装用フィルムを考え、コーティング層への銀の吸着と抗菌性について検討を行ったので報告する。

2. 実 験

2.1 試 料

キトサンは(株)加ト吉製の海老殻由来キトサン10B(脱アセチル化度99%)を、またセロファンは厚さ20 μ mの市販セロファンフィルムを用いた。

2.2 コーティングフィルムの調製

キトサンの酢酸塩水溶液を調製し、スキーム1に示した工程で、グリセリンを水洗除去したセロファン上にキトサンコーティングを行った。すなわちキトサン酢酸塩水溶液(1.5%酢酸中3%キトサン)をセロファン上にコーティングした後、濃縮、アルカリ処理、水洗浄、グリセリン添加、乾燥し、調製した。キトサン塩のコーティング濃度を3%より大きくするのは高粘度のため困難であった。アルカリ処理は、コート層のキトサン酢酸塩を遊離のキトサンとし、水不溶性とするために必要であった。

コーティングフィルムへの銀の吸着は、15℃に保った 10^{-2} 、 10^{-3} 、及び 10^{-4} Mの硝酸銀水溶液500 mLに風乾1gのコーティング厚み5 μ mのフィルムを5分間浸漬することによって行い、フィルムを水洗後、乾燥して実験に供した。銀吸着フィルムからの銀の溶出は、20℃の蒸留水500 mL中に風乾1gのフィルムを入れ、24時間攪拌して行った。

Scheme 1. The procedure of chitosan coating on cellophane film.

2.3 分析・測定法

フィルムの引張強度はテンシロン型引張試験機を用い、試料幅15 mm、引張間隙100 mm、引張速度10 mm/minで測定した。フィルムの湿潤強度はフィルム試料片を水に湿したのち測定した。コート層の付着強度の測定は付着面積1.5 cm²とし、JIS-K 5400, 8.7に準じた。フィルムの破裂強度、引裂き強度の測定はそれぞれJIS-P 8112及び8116に従った。

フィルムの透過率は可視光として600 nm、紫外光として300 nmを用いて測定し、この可視光の透過率を透明度とした。赤外スペクトルはゲルマニウムエレメントを用いた多重表面反射法により測定した。

フィルム中の銀量はJIS-K 0101, 16.4に従って一定風乾重量のフィルムを灰化したのち、6 M 硝酸で溶解し、

水溶液を原子吸光分析法で定量して算出した。

抗菌性試験は大腸菌(*Escherichia coli* IFO 3301)、サルモネラ菌(*Salmonella typhimurium* IFO 14209)、ビブリオ菌(*Vibrio parahaemolyticus* IFO 12711)、及びブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* IFO 14462)の4種の食中毒菌を日水製薬(株)製のハートインフュージョン寒天平板培地上に植菌し、1 cm 径のフィルムをコート面を下にして培地上に置き、24-72時間30℃で培養し、菌の増殖状態を観察した。

3. 結果及び考察

3.1 コーティングの際のキトサン濃度の影響

キトサンの酢酸塩水溶液をセロファンにコーティングした後、濃縮し、アルカリ処理をする。その濃縮したキトサン酢酸塩水溶液の濃度(キトサン濃度と略する)がコーティングフィルムの性質に与える影響を検討した。

図1-3にコート層8 μ mのフィルムの透明度、引張強度と伸び及びコート層の付着強度について調べた結果を示す。コーティングフィルムの透明度はキトサン濃度が高いほど高く、セロファンと同様の透明なコート層を得るには、アルカリ処理前にキトサンを90%以上、即ちほぼ乾燥状態に濃縮しておく必要があった。3%キトサン濃度では、アルカリ処理によってコート層は白濁したゲル状キトサンとなり、乾燥後も透明にはならなかった。これは一旦ゲル化したキトサン層は、そのゲル構造に由

Fig. 1. Effect of concentration of coating layer at alkali-treatment on transparency of coating film. Temp. at concentration: 50℃. Thickness of coating layer: 8 μ m.

Note: The symbols on right side refer to transmittances of cellophane film.

Fig. 2. Effect of concentration of coating layer on tensile strength and elongation of coating film. Temp. at concentration: 50 °C. Thickness of coating layer: 8 μ m.

Fig. 3. Effect of concentration of coating layer on adhesive strength between chitosan and cellophane layers. Temp. at concentration: 50 °C. Thickness of coating layer: 8 μ m.

来する不均一相が乾燥後も残存することを意味する。一方、紫外光の透過率もコート層の濃縮と共に増大したが、90%濃度でもセロファンと比較すると低かった。

引張強度は図2に示すようにキトサンコート層の濃度が低いほど低下したが、これも不均一相ではコート層の強度が上がらないためであろう。また、伸びはキトサン

Fig. 4. Effect of temp. at concentration on transparency and tensile strengths of coating film. Thickness of coating layer: 13 μ m. Concentration of layer at alkali-treatment: 90%.

濃度が高いとわずかながら増大した。

キトサンコート層とセロファンとの間の付着強度は図3に示したようにキトサン濃度が高くなるとともに増加し、90%濃度では170 kgf/cm²の値が得られた。なお、試験片の作成に用いたエポキシ樹脂とセロファンとの付着強度は280 kgf/cm²であり、キトサン-セロファン間の付着強度はエポキシ樹脂の60%に相当する大きいものであった。このように、キトサン-セロファン間の付着強度は適切な条件下では非常に大きい、不均一相をもつコート層では著しく低下することが分かった。そこで以後、アルカリ処理前のキトサンコート層の濃度は90%とした。

3.2 濃縮温度がフィルム物性に及ぼす影響

前項でコーティングのキトサン濃度がフィルムの物性に影響することが分かったので、次に濃縮温度が及ぼす影響を検討した。図4に透明度と乾燥・湿潤フィルムの引張強度を示す。透明度に関しては、濃縮温度を110°Cまで上げてもセロファンと同程度であった。しかし、引張強度は濃縮温度が90°C以上になるとやや低下した。これは、濃縮温度が高いとセロファン自体の強度が低下するためと思われる、適切な濃縮温度は50-70°Cと分かった。そこで、以後の濃縮操作は50°Cで行うことにした。

3.3 コーティング層の厚さの影響

コーティングフィルムの強度等の性質はコート層に大きく依存すると思われる。そこで、コート層の厚さとフィルムの透明度、強度との関係を調べ、図5に示す。透

Fig. 5. Effect of thickness of coating layer on transparency and tensile strengths of coating film. Temp. at concentration: 50 °C. Concentration of layer at alkali-treatment: 90%.

Fig. 6. ATR-IR spectra of chitosan film and chitosan layer of coating film.

明度はコート層厚みが15 μm でも90%あった。しかし、強度はコート層が厚いとむしろ低下し、コーティングによる強度向上はなかった。コーティングと同様な条件で製作したキトサンフィルムの引張強度は約600 kgf/cm^2 でセロファンより小さく、キトサンコーティングによる引張強度への寄与は単に加法的なものと言えよう。

図6には薄いコート層(5 μm)をもつフィルムの赤外表面反射スペクトルの測定結果を示すが、コート面のスペクトルはキトサンのスペクトルと完全に一致しており、5 μm のコート層でも十分にセロファン面は覆われていることが明らかである。また前述したようにコート層の付着強度は非常に大きく剝離もないため、コート層が薄くとも何等支障はないと思われる。

Table 1 Physical Properties of Coating Film

Tensile strength (kgf/cm^2)	810
Wet tensile strength (kgf/cm^2)	210
Bursting strength (kgf/cm^2)	3.4
Tearing strength (gf)	Direction av. 4.8
Elongation (%)	18
Transparency (%)	91
Water vapor transmission rate ($\text{g/m}^2 \cdot 24 \text{ h}$)	2470

Note: Coating concentration: 90%. Temp. at concentration: 50 °C. Film thickness: ca. 25 μm (Coating layer: 5 μm thick).

キトサンの濃度約90%となるよう50°Cで濃縮、アルカリ処理したコート層5 μm のセロファンフィルムを調製し、その性質を表1に示す。この条件下で測定すると、セロファンの特長である透明度や透湿性を損わず、良好にコーティングできることが分かった。なお、コーティングフィルムの強度は全体的に市販セロファンよりも低かったが、これはセロファンに洗浄・濃縮・アルカリ処理・乾燥などの処理を行ったためである。

このように、本実験のキトサンコーティングのアルカリ処理に伴う濃縮や乾燥を行う工程は複雑でもあり、セロファン母材の強度も低下する。そこでアルカリ処理の不要なコーティング工程については、今後さらに検討を進める予定である。

3.4 銀吸着したコーティングフィルムの抗菌性

さて、キトサンコーティングによるセロファンフィルムの機能開発のひとつとして抗菌性の付与が考えられる。

最近、銀を含有させたゼオライトを含む抗菌性包装用フィルムを製造する試みが見られるように[5-7]、銀イオンは人体への害が少なく、強力な抗菌作用を示す[7]。キトサンはそれ自身でも抗菌性があるとされるが[8-11]、銀イオンなどの重金属を吸着して安定なキレートを容易に形成する性質[12]もあり、キトサンコート層は銀を担持させるのに適している。そこで、前述の条件で作成したコーティング厚み5 μm のフィルムに銀イオンを1500, 4800, 18000 ppm 吸着させ、その抗菌性を検討した。

銀を吸着させた直後はフィルムは無色だが、銀濃度が高い場合は露光によって速やかに薄紫色を呈した。しかし、フィルムの銀濃度が4800 ppm 以下ではほとんど呈色せず、透明度も低下しなかった。

3.4.1 コーティングフィルムの抗菌性

大腸菌、サルモネラ菌、ビブリオ菌、ブドウ球菌に対するセロファン、銀未吸着コーティングフィルム及び銀

吸着コーティングフィルム(銀濃度1500, 4800, 18000 ppm)の抗菌性を検討した。銀吸着させたフィルムは露光したものを用いた。なおこれらのフィルムは湿った状態では酸素透過性があり、これらの通性嫌気性菌はフィ

ルム接触面下の環境でも十分増殖し得る。

写真1に、ブドウ球菌の24時間後の増殖状態を示す。銀吸着コーティングフィルムの場合は接触面に菌がほとんど増殖せず、また溶出透明斑が生じて明らかに抗菌性が認められる。一方、セロファンと銀未吸着コーティングフィルムでは溶出透明斑はなく、フィルムに接触した面にも菌が多く増殖している。

それぞれのフィルムの4種の菌に対する抗菌性について、植菌48時間後のフィルム接触面の菌増殖状態及びフィルム外部の透明斑の大きさを調べて表2に示す。セロファンでは、接触面でも透明斑に関しても抗菌性は全くなかった。銀未吸着コーティングフィルムにも透明斑はなく、接触面には4種の菌とも増殖しており、抗菌性がなかった。

溶解したキトサン塩は、フザリウム等の植物病原菌類や食中毒菌に対して抗菌性を示すとされる[9-11]。しかし、キトサンコーティングフィルムを用いた本実験では4種の食中毒菌に対する抗菌性は認められなかった。鶴谷ら[13]はキトサンフィルムを調製して大腸菌とブドウ球菌に対する抗菌性を調べ、溶出性の抗菌性はなく、接触の抗菌性は酢酸塩型キトサンフィルムの場合だけに認められると報告している。本実験のキトサンコーティングフィルムには接触の抗菌性も認められなかったが、これはコート層がアルカリ処理・水洗によって遊離型キトサンになっているためと思われる。

一方、銀吸着フィルムは表2に示すように、フィルムの銀濃度が一番低い1500 ppmでも全ての菌に対して溶出透明斑が生じ、十分な抗菌性が認められた。この抗菌

Photo 1. Observation of anti-microbial test of coating film.

Center: cellophane,

Lower: cellophane coated with chitosan, Absorbed Ag 0 ppm,

Right: cellophane coated with chitosan, Absorbed Ag 1500 ppm,

Upper: cellophane coated with chitosan, Absorbed Ag 4800 ppm,

Left: cellophane coated with chitosan, Absorbed Ag 18000 ppm.

Table 2 Anti-microbial Test for Chitosan Coating Film Absorbing Ag

Ag content (ppm)	Cellophane 0	Coating 0	Coating 1500	Coating 4800	Coating 18000
<i>Escherichia</i>					
Growth under film	++	++	+-	-	-
Inhibition zone (mm)	0	0	0.4	1.5	1.7
<i>Staphylococcus</i>					
Growth under film	++	++	+-	-	-
Inhibition zone (mm)	0	0	0.9	2.7	3.0
<i>Salmonella</i>					
Growth under film	++	++	-	-	-
Inhibition zone (mm)	0	0	0.9	2.7	3.0
<i>Vibrio</i>					
Growth under film	++	++	+-	-	-
Inhibition zone (mm)	0	0	0.2	0.7	1.2

Note: Observation was carried out 48 h after inoculation.

Table 3 Release of Ag from Coating Film to Distilled Water

Ag concentration of film (ppm)	Loss of Ag from film (%)
0	—
1500	3.3
4800	10.9
18000	22.2

Note: 1 g film/500 mL distilled water; Stirring for 24 h at 20°C.

性は72時間後も継続していた。

3.4.2 フィルムからの銀の溶出

平板培地での実験で溶出透明斑があったが、これは銀が培地に溶出しているためと考えられる。そこで蒸留水を用い、銀のフィルムから水への溶出について検討した。表3に示すようにフィルムからの銀の溶出率は、フィルムの銀濃度を低くすれば小さくなることが分かった。これはキトサンの銀イオンに対する強い吸着性[12]、高いキレート平衡定数によると推定される。銀濃度1500 ppmのフィルムでは水中に溶出した銀の濃度はこの実験条件下で0.1 ppmであり、アメリカの飲料水質基準の0.05 ppm[7]と比べて2倍高かった。しかし、フィルム中の銀濃度を低くすれば銀の溶出をさらに抑制できるため、このコーティングフィルムは抗菌性包装用として興味ある素材と言えよう。

4. 結 論

キトサンをセロファンにコーティングしたフィルムは、引張、引裂き等の強度改善効果はなかったが、セロファンの透明度や透湿性を損なうことなく良好なコート層が得られた。セロファンとキトサンコート層との間の

付着強度はアルカリ処理前のキトサン濃度が高いほど強く、90%濃度では170 kgf/cm²に達した。

大腸菌、サルモネラ菌、ビブリオ菌、ブドウ球菌に対するフィルムの抗菌性はキトサンコーティングだけでは認められなかったが、コート層に銀イオンを吸着させることによりフィルムの銀濃度1500 ppmで十分な抗菌性を付与できた。

引用文献

1. K. Sakurai, K. Kobayashi, and T. Takahashi, *Sen'i Gakkaishi*, **45**(1), 22-26 (1989)
2. T. Seo, S. Hagura, T. Kanbara, and T. Iijima, *J. Appl. Polym. Sci.*, **37**, 3011-3027 (1989)
3. キチン、キトサン研究会編、「キチン、キトサンの応用」, 技報堂, p 104 (1990)
4. G. G. Allan and Y. Hirabayashi, *Cellulose Chem. Technol.*, **18**, 83-87 (1984)
5. 高橋 務, *FOOD PACKAGING*, **1985** (5), 83-86 (1989)
6. 落合信哉, 合成樹脂, **35**(10), 17-22 (1989)
7. 工業技術会編・発行, 「食品の鮮度保持と保存技術Ⅱ」, P 213 (1989)
8. C. R. Allan and L. A. Hadwiger, *Exp. Mycol.*, **3**, 285 (1979)
9. 内田 泰, 井爪正人, 三宮正博, 大宝 明, 農芸化学会年次大会講演要旨集, p 547 (1987)
10. 内田 泰, フードケミカル, **1988** (2), 22-29 (1988)
11. D. F. Kendra and L. A. Hadwiger, *Exp. Mycol.*, **8**, 276 (1984)
12. T. Koshijima, R. Tanaka, E. Muraki, A. Yamada, and F. Yaku, *Cellulose Chem. Technol.*, **7**, 197 (1973)
13. 鶴谷勝正, 吉川 斌, 田島純一, 石井美治, 繊維学誌, **47**(4), 190-197 (1991)