

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12241

研究課題名(和文)マトリックス重合によるケラチン複合体の生成

研究課題名(英文)Preparation of keratin composite by matrix polymerization

研究代表者

梶山 幹夫(KAJIYAMA, Mikio)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：40191978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：鶏羽を構成する主成分はケラチンというタンパク質で、タンパク質中のイオウとイオウとが架橋している。イオン液体に亜硫酸ナトリウムを添加した系を用いると鶏羽を全て溶解することができ、ケラチンに含まれるイオウを起点にアクリルを重合して複合体を調製することができる。本研究では3通りの重合法を実施・分析し、イオウ以外に酸素も起点として、ケラチンに連結しているアクリル鎖の密度を上げたところ、アクリル鎖の耐熱性を高めることができた。

研究成果の概要(英文)：Major component of chicken feather is keratin protein. Two sulfur atoms are crosslinked each other in keratin. Ionic liquid with sodium sulfite can completely dissolve feather keratin. Keratin composite is prepared by polymerization of acrylic monomer initiated from sulfur atom of keratin. 3 kinds of polymerization were used for preparation of keratin composite. When not only sulfur but also oxygen was used for the initiation of polymerization, density of acrylic graft became higher. The glass transition temperature for grafted acrylic polymer was enhanced by high graft density.

研究分野：グリーン・環境科学

キーワード：ケラチン複合体 ガラス転移温度 アクリルグラフト共重合

### 1. 研究開始当初の背景

羊毛や羽毛、毛髪などの主成分であるケラチンは、分子間(および分子内)にシスチンのジスルフィドによる化学架橋を持つため不溶不融の高分子であり、ケラチンを取り出すためにはケラチン分子のどこかを切断する必要がある。還元剤を用いて、ジスルフィド結合をふたつのメルカプト基に切断することにより、水で抽出できる状態にして取り出す方法が一般的である。メルカプトンの反応性は高いものの、過剰に存在する還元剤と似た性質を持つため、その利用は限定的であった。近年ある種のイオン性溶媒中で羊毛を 150 に加熱すると、ほかに試薬を追加することなく溶解することが見出された。ジスルフィド結合がホモリシスを起こしていると考えられる。ホモリシスによって生成するイオウラジカルもメルカプトン同様反応性が高く、加熱によるホモリシスでは他に高活性な成分が存在しない。

### 2. 研究の目的

高分子の存在下で別の高分子を重合する重合方法を広義のマトリックス重合という。ひとつ目の高分子と、ふたつ目の高分子あるいはその原料の単量体とが相互作用をおよぼすため、マトリックス重合を行うことで比較的容易に高分子複合体を得ることができる。本研究では、ケラチンがイオン性溶媒中でホモリシスを起こしている状況証拠のひとつとして、ケラチンをマトリックスとしたマトリックスラジカル重合を行い、生成する高分子を解析する。一般にイオウラジカルはラジカル重合を開始しないが、生長中の高分子ラジカルと結合しラジカル重合を停止する。またイオウラジカルは、その不対電子を与えれば還元剤として働き、電子を奪えば酸化剤として働く。溶媒や重合開始剤等の反応条件を検討することによって、極性の高いケラチンに極性の低い高分子が結合し、どのような複合体が得られるかを明らかにする。また、ケラチン中にはジスルフィド結合をもつシスチンが約 5mol%含まれているほか、水酸基を持つセリンが 15mol%程度含まれている。ケラチンを単純にアシル化するとシスチン由来のメルカプト基とセリン由来の水酸基の双方がアシル化し、それぞれ、チオエステルとエステルとに転換できる。アシル化剤に臭化 2-プロモイソブチリルを用いてメルカプト基と水酸基のところに臭素を導入すると、ケラチンと高分子とを結合する点が増える。化学構造の違いが及ぼす影響についても明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 原料

脱脂・洗浄した鶏羽をオゾン水処理した後粉砕した鶏羽粉末を農事組合法人工ヌチン様より提供を受け、加熱乾燥し使用した。

#### (2) 反応媒体のスクリーニング

鶏羽粉末を溶媒に溶解した後透析膜により溶媒および低分子成分を除去し、析出した水に不溶性のケラチンの収量および分子量を測定した。

#### (3) ケラチンマトリックス存在下でのビニル系モノマーのラジカル重合

鶏羽粉末を溶媒に溶解した後モノマーおよびラジカル開始剤を加え、チッ素雰囲気下加熱かくはんした。重合溶液を水 - メタノール混合溶媒中に投入し、生成した沈殿を口別乾燥した。

#### (4) 原子移動ラジカル(RAFT)重合によるケラチン - アクリルグラフト共重合体

鶏羽粉末を亜硫酸ナトリウムとともにイオン性溶媒に溶解した後、臭化 2-プロモイソブチリルを滴下し、鶏羽ケラチン側鎖の官能基を臭素化した。単離した臭素化ケラチンをジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、リガンド、モノマー、臭化銅(Ⅰ)をこの順に加え共重合を行った。重合溶液を水 - メタノール混合溶媒中に投入し、生成した沈殿を口別乾燥した。

#### (5) 可逆的付加開裂連鎖移動(RAFT)重合によるケラチン - アクリルグラフト共重合体

鶏羽粉末を亜硫酸ナトリウムとともにイオン性溶媒に溶解した後、二硫化炭素と三級アミンとを加え鶏羽ケラチン中のシステインに二硫化炭素を付加した。この溶液に 2-プロモプロピオン酸エチルを加え、ジチオチオカルバマート基を持つケラチン連鎖移動剤を得た。単離したケラチン連鎖移動剤を DMSO に溶解し、モノマーと開始剤とを加え重合を行った。重合溶液を水 - メタノール混合溶媒中に投入し、生成した沈殿を口別乾燥した。

### 4. 研究成果

#### (1) 反応媒体のスクリーニング

イオン性溶媒の塩化 1-アリル-3-メチルイミダゾリウム(AMIC)に亜硫酸ナトリウムを添加した系を用いると鶏羽を全て溶解することができ、再生したケラチンの収量および分子量の低下を抑えられることが確認できた。

#### (2) ケラチンマトリックス存在下でのビニル系モノマーのラジカル重合

溶媒として AMIC に亜硫酸ナトリウムを添加した系では、アクリル酸エチルやメタクリル酸メチルは重合が進行したが、極性の低いスチレンは溶媒系から分離し重合が進行しなかった。スチレンを重合するためには DMSO に過剰量の亜硫酸ナトリウムを加えてケラチンを溶解した系を用いる必要があったが収率は低かった。得られた複合体は DMSO とイオン性溶媒とに可溶であったが、湿式製膜することはできなかった。

#### (3) RAFT 重合によるケラチン - アクリルグラフト共重合体

鶏羽および臭素化したケラチンのフーリエ変換赤外分光分析(FT-IR)の結果を Figure

1 に示す。臭化 2-プロモイソブチリル由来のカルボニルの吸収が  $1740\text{cm}^{-1}$  に存在する。また、アセトンによって単独重合体を除去したアクリル酸エチル、メタクリル酸メチル、アクリル酸 *tert*-ブチル、スチレンを重合した共重合体の FT-IR を Figure 2 に示す。アクリルモノマーを用いた場合はアクリルの強い吸収が、スチレンを用いた場合は芳香族特有の吸収がみられる。

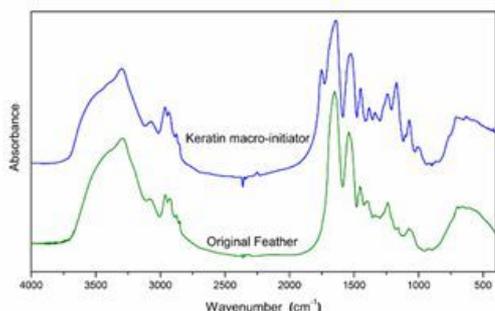


Figure 1. 鶏羽および臭素化したケラチンの FT-IR.

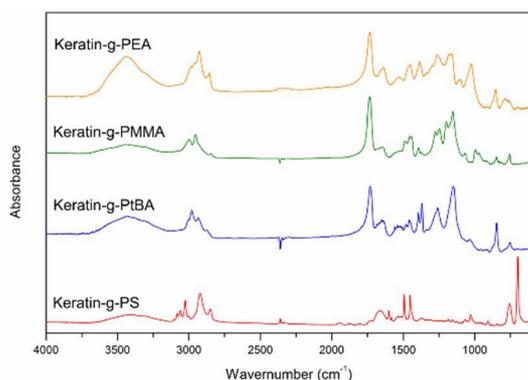


Figure 2. RAFT 重合によるケラチングラフト共重合体の FT-IR.

FT-IR によりケラチンに導入した臭素を開始点としてアクリルやスチレンがグラフト共重合していることがわかった。Figure 3 に示差走査熱量測定 (DSC) の結果を示す。

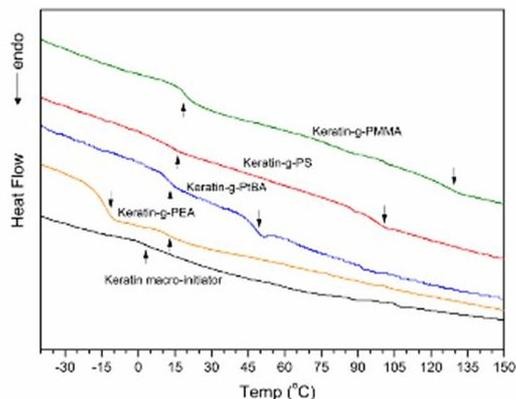


Figure 3. RAFT 重合によるケラチングラフト共重合体の DSC.

いずれのグラフト共重合体においても、グラフト共重合体のガラス転移によるものと思

われるベースラインのシフトが 2 か所に見られた。15 付近のシフトは共重合前のケラチンにも認められ、ケラチン成分由来のガラス転移だと考えられる。スチレン (PS) を用いた共重合体 (赤線) ではスチレン成分のガラス転移が 95 に認められ、この温度はポリスチレン単独重合体のガラス転移温度に近い。アクリル系モノマーを用いたグラフト共重合体では、メタクリル酸メチル (PMMA)、アクリル酸 *tert*-ブチル (PtBA)、アクリル酸エチル (PEA) のガラス転移がそれぞれ、125, 46, -17 に存在したが、これらの値は単独重合体のガラス転移温度と比べて 20 以上高い。グラフト共重合体のケラチン成分を硫酸酸性下加水分解して得られたグラフト鎖のガラス転移温度は、例えば PMMA で 113 と 10 以上低下した。アクリル系モノマーを用いた RAFT 重合体では、アクリルグラフト鎖とケラチン主鎖とが相互作用した結果、アクリルグラフト鎖の分子運動が制限されているものと考えられる。また、いずれのグラフト共重合体も有機溶媒に不溶で、製膜することはできなかった。

(4) RAFT 重合によるケラチン - アクリルグラフト共重合体

イオウ化合物の多くは IR 不活性であるため、FT-IR によるジチオカルバマートの検出はできなかったが、プロトン核磁気共鳴でケラチン以外のジチオカルバマート残基の脂肪族水素を確認した。ケラチン連鎖移動剤存在下にアクリルモノマーをラジカル重合したところ、アセトン不溶部の重量が増加した。アセトン可溶部の分子量は 18000 ~ 30000 であり、ジチオカルバマートによる連鎖移動を考えると、ケラチンにグラフト共重合体として連結しているアクリル鎖も同程度の分子量を持つと考えられる。(3) のグラフト共重合体と異なり、(4) で得られたグラフト共重合体のアクリル成分のガラス転移温度は上昇しなかった。アクリル鎖とケラチン鎖との単純な相互作用であれば同様にガラス転移温度が上昇してしかるべきである。(3) ではシスチン残基以外にもセリン残基にグラフトすると思われるのに対し、(4) ではシスチン残基にのみグラフトできるので、両者ではグラフト鎖の密度が異なる。密度が高いためにグラフト鎖の運動が制限され(3) のガラス転移温度が上昇したと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Sikai Chen and Mikio Kajiyama, Preparation and properties of keratin-based copolymers from feather keratin, Asian Conference on Adhesion 2016, 2016 年 6 月 16 日, 東京工業大学 (東京都・

目黒区).

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

梶山 幹夫 (KAJIYAMA, Mikio)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：40191978