

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560923

研究課題名(和文) 新規な刺激応答型ミセル形成ポリマーの開発による疎水性有機物分離システムの構築

研究課題名(英文) Development of separation system of hydrophobic endocrine disruptor by preparing novel stimuli responsive polymers to form unimolecular micelles

研究代表者

迫原 修治 (SAKOHARA, Shuji)

広島大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80108232

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：新規なpH応答型および温度応答型ユニマーミセル形成ポリマーを開発した。pH応答型は2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム(NaAMPS)とpHの上昇に伴って疎水化するモノマーとの共重合体である。これを多孔性支持体にグラフトした吸着材は、内分泌攪乱化学物質のビスフェノールAをpHスイングによって可逆的に吸着あるいは脱着した。また、温度応答型はNaAMPSと感温性のN-イソプロピルアクリルアミドマクロモノマーとの共重合体であり、温度の上昇によってミセルを形成し、低下によってミセルが崩壊した。これらの結果から、疎水性の内分泌攪乱化学物質の分離システム構築に関する指針が得られた。

研究成果の概要(英文)：Novel pH-responsive and thermos-responsive polymers, which formed unimolecular micelles, were developed. The pH-responsive polymers were synthesized by copolymerizing sodium 2-(acrylamide)-2-methylpropanesulfonate (NaAMPS) and pH-responsive monomers which became hydrophobic according to the increase in pH. The adsorbents, which was prepared by grafting these pH-responsive polymers on the inner surface of porous support, adsorbed or desorbed bisphenol-A, which is a representative endocrine disruptor, reversibly by pH swing. On the other hand, the thermos-sensitive polymers were synthesized by copolymerizing NaAMPS and thermos-sensitive N-isopropylacrylamide macro-monomer. These thermo-sensitive polymers formed micelles by increasing temperature, and the micelles were disrupted by decreasing temperature. From these results, the lodestar for the development of the separation system of hydrophobic endocrine disruptor was obtained.

研究分野：高分子工学

キーワード：ユニマーミセル pH応答型ポリマー 温度応答型ポリマー グラフトポリマー プラズマ開始重合 ビスフェノールA 吸着 疎水性相互作用

1. 研究開始当初の背景

刺激応答型ゲルを用いた新規な分離手法として、温度にตอบสนองして親・疎水転移する感温性ゲルを用いて内分泌攪乱化学物質のような疎水性物質を温度スイングによって吸・脱着するシステムが注目されている。これは、感温性ゲルを高温場(転移温度以上(疎水性))で疎水性相互作用によって疎水性物質を吸着させ、これを取出して低温場(転移温度以下(親水性))で脱着させる方法である。比較的制御が容易な温度によって吸・脱着が可能であり、従来の活性炭吸着法などのように吸着材の再生の際に2次廃棄物が発生しないことから、環境負荷の小さい技術として注目されている。しかし、この技術の大きな問題点は、環境中の内分泌攪乱化学物質のように濃度が低い場合には吸着分離に限界があることである。感温性ゲルに限らず、活性炭などの従来の吸着材においても同様な問題がある。これは吸着量と外部濃度との間に平衡関係が存在することによる。

この問題を解決する方法として、比較的長い疎水性側鎖の末端に-COONa基を持つ12-メタクリルアミドドデカン酸のナトリウム塩(NaMmD)と2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸のナトリウム塩(NaAMPS)を共重合したポリマー(poly(NaAMPS-co-NaMmD))の利用を検討してきた(図1参照)。このポリマーは、酸性の水中では-COONaがプロトン化されて-COOHとなるために側鎖は疎水基として作用し、単一高分子ミセルを形成する。一方、これをアルカリ水溶液中におくと脱プロトン化によって生じる-COO<sup>-</sup>イオン間の静電的反発によってミセルが崩壊する。このミセルは、非常に安定で、ミセルの疎水性ドメインに取込まれた疎水性物質は安定に保持される。そこで、このポリマーをプラズマ開始重合法によって親水化ポリオレフィン多孔体にグラフトした新規な吸着材を開発し、この吸着材を用いると低濃度の内分泌攪乱化学物質(ビスフェノールA(BPA))の分離が可能なることを明らかにしてきた。また、疎水性ドメインのみならず、ドメイン以外の疎水性側鎖にも疎水相互作用によって吸着が起こることを見だし、疎水性ドメインへの取り込み量にはミセルの形成速度の制御が重要なことを見いだした。

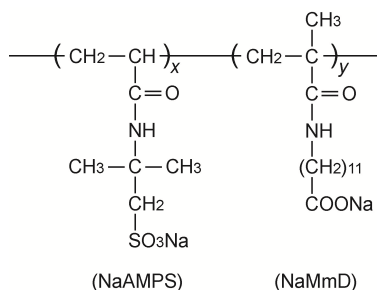


図1 poly(NaAMPS-co-NaMmD)の構造

一方、問題点として、BPAの吸着に対するpoly(NaAMPS-co-NaMmD)の最適なpHは9~10であり、若干高いことが挙げられる。分離システム構築のためには、所望のpHでの吸着操作を可能にする必要がある。また、pH応答型はミセル形成ポリマーの合成が比較的容易であり、分離システムの構築も容易であるが、pH制御に薬品が必要なこと、ポリマーの再生が煩雑であることなどの問題点がある。より高度な分離システムの構築には、pH応答型に代わって、温度応答型のユニマー-ミセル形成ポリマーの開発も必要である。

2. 研究の目的

本研究では、大きく分けて以下のような2つの目標を設定した。

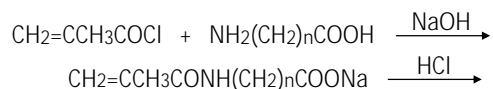
(1) これまで検討してきたNaMmDに加えて疎水性側鎖の長さ(図1中の-CH<sub>2</sub>-の数)の異なる疎水性モノマー、すなわち6-メタクリルアミドヘキサン酸のナトリウム塩(NaMmH)および8-メタクリルアミドオクタン酸のナトリウム塩(NaMmO)を新たに合成し、NaAMPSとの共重合ポリマーによるミセル形成に関して、ミセル形成に必要なpHを変えることが可能なことを確認する。さらに、これらの共重合ポリマーを多孔性のエチレンビニルアセテート(PEVA)樹脂にグラフトし、代表的な内分泌攪乱化学物質であるBPAの吸着特性を検討する。

(2) 温度応答型ミセル形成ポリマーの開発として、NaMmDのような疎水性として働くモノマーの代わりに感温性のN-イソプロピルアクリルアミド(NIPAM)マクロモノマーをNaAMPSと共重合したポリマーを検討する。そのためにNIPAMマクロモノマーの合成法を確立し、NaAMPSとの共重合ポリマーがNIPAMマクロモノマーの転移温度を境にミセルの形成・崩壊を起こすことを確認する。

3. 研究の方法

(1) 疎水性側鎖の長さの異なるNaMmHおよびNaMmOの合成

これらはMmHおよびMmOをそれぞれ水酸化ナトリウム(NaOH)で中和することによって得た。MmHおよびMmOは6-アミノヘキサン酸および8-アミノオクタン酸をそれぞれ塩化メタクリロイルと反応させることによって合成した。図2に反応スキームを示す。合成したMmHおよびMmOの構造は<sup>1</sup>H-NMR、GS-MS分析、元素分析によって確認した。



n=5: 6-methacrylamidohexanoic acid (MmH)

n=7: 8-methacrylamidooctanoic acid (MmO)

図2 MmHおよびMmOの合成スキーム

(2) NaAMPS と NaMmH あるいは NaMmO との共重合ポリマーの合成と pH 制御によるユニマーミセル形成の確認

NaAMPS は 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸 (AMPS) を NaOH で中和することによって得た。NaAMPS と NaMmH あるいは NaMmO との共重合ポリマー (poly(NaAMPS-co-NaMmH) あるいは poly(NaAMPS-co-NaMmO)) はラジカル重合によって合成した。合成の際のこれらのモノマーの濃度は  $175 \text{ mol/m}^3$  に固定した。

合成した共重合ポリマー中の各成分の割合は硫黄をベースとした元素分析によって求め、分子量はゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) によって測定した。また、これらの共重合ポリマー中の側鎖のプロトン化 (-COONa  $\rightarrow$  -COOH) が起こる pH は 0.25 N の塩酸 (HCl) を用いた滴定によって求めた。

さらに、共重合ポリマーの側鎖のプロトン化によるユニマーミセル形成の確認は、これらのポリマー水溶液の動的光散乱強度を測定することによって確認した。

(3) Poly(NaAMPS-co-NaMmH)、poly(NaAMPS-co-NaMmO) あるいは poly(NaAMPS-co-NaMmD) を PEVA にグラフトした吸着剤による BPA の吸着特性の検討

PEVA には平均細孔径  $20 \mu\text{m}$ 、空隙率 80%、厚さ 2 mm のものを用いた。発表論文に示したのと同様な方法でプラズマ開始重合法によって PEVA 内の細孔表面に共重合ポリマーをグラフトした。

吸着実験は、ポリマーをグラフトした PEVA を直径 20 mm のディスク状に成形し、発表論文に示してある透過装置に設置し、所定濃度および所定 pH に調整した BPA 水溶液を流し、透過前後の BPA 濃度を分光光度計で測定して BPA の吸着量を求めた。

(4) NIPAM マクロモノマーの合成法の検討

合成は二段階からなる。第一段階で、連鎖移動剤に 2-アミノエタンチオール塩酸塩 (AETHCl) を用いたラジカル重合により末端にアミノ基を持つ NIPAM オリゴマーを合成し、続く第二段階で、末端のアミノ基と塩化アクリロイルを反応させ、末端に 2 重結合を導入した NIPAM マクロモノマーを合成した。図 3 に合成スキームを示す。この合成手順では、未反応物および反応副生成物の除去が重要であり、本研究ではこの点を工夫した。NIPAM マクロモノマーの分子量は元素分析あるいは GPC から求めた。

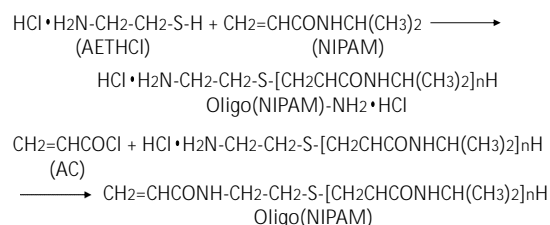


図 3 Oligo(NIPAM)の合成スキーム

(5) NaAMPS と NIPAM マクロモノマーとの共重合ポリマーの合成と温度制御によるミセル形成の確認

合成はラジカル重合によって行い、NaAMPS と NIPAM マクロモノマーのモル比を 9 : 1 として合成した。生成したポリマー中のこれらの成分の組成は元素分析によって求めた。また、転移温度はポリマー水溶液の透過度の温度依存性を測定して求めた。加温によるミセルの確認は、ブルーレーザーを用いた低濃度水溶液のチンダル光の観察および動的光散乱の測定によって行った。

#### 4. 研究成果

(1) MmH および MmO の合成の確認

図 4 に MmH の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを示す。また、表 1 に元素分析および分子量  $M_w$  の測定結果を示す。これらの結果から MmH の合成が確認された。MmO についても合成されたことが同様な手法で確認された。

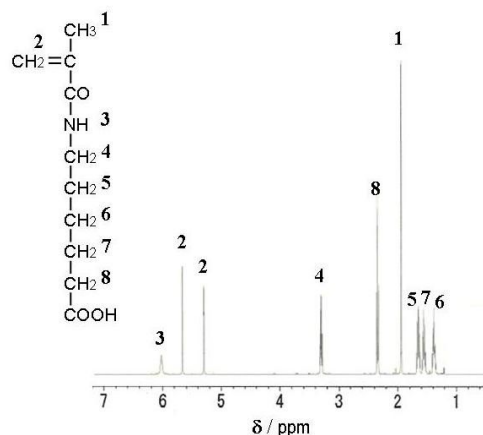


図 4 MmH の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル

表 1 MmH の元素分析結果および分子量

	Elementary analysis			$M_w$
	C	H	N	
Theoretical	60.28	8.60	7.03	199
Found	59.85	8.45	6.79	199

(2) poly(NaAMPS-co-NaMmH)、poly(NaAMPS-co-NaMmO) および poly(NaAMPS-co-NaMmD) の合成と側鎖のプロトン化

表 2 に、合成したこれらのポリマー中の各成分の割合を示す。また、表 3 にこれらのポリマーの分子量  $M_w$  および分散度  $M_w/M_n$  を示す。ほぼ仕込組成通りにポリマーが合成されており、分子量および分布に大きな違いは見られない。

表 2 合成ポリマー中の各成分の割合

A	B	Feed		Polymer	
		A	B	A	B
NaAMPS	NaMmH	50	50	46	54
NaAMPS	NaMmO	50	50	43	57
NaAMPS	NaMmD	50	50	45	56

表3 合成ポリマーの分子量

polymer	$M_w \times 10^{-4}$	$M_w/M_n$
poly(NaAMPS-co-NaMmH)	66	2.2
poly((NaAMPS-co-NaMmO)	79	2.2
poly(NaAMPS-co-NaMmD)	70	2.6

図5に、これらのポリマーの滴定曲線を示す。変曲点でプロトン化が起きていると考えられる。Poly(NaAMPS-co-NaMmD)のプロトン化はpHが約9で起きているのに対して、poly(NaAMPS-co-NaMmH)およびpoly(NaAMPS-co-NaMmO)のプロトン化はほぼ中性域で起きている。

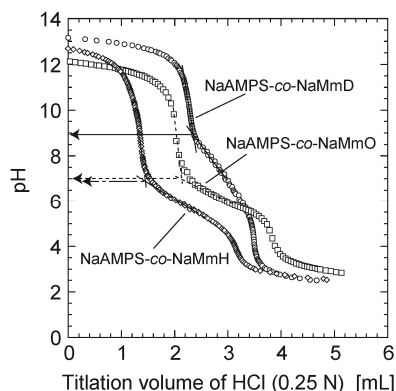


図5 合成ポリマーの滴定曲線

図6は、これらのポリマー水溶液の動的光散乱強度のpH依存性を示したものである。Poly(NaAMPS-co-NaMmD)の場合はpHの低下に伴いpH9付近から、またpoly(NaAMPS-co-NaMmO)の場合はpH7付近から急激に散乱強度が増加しており、プロトン化によりミセルが生成したことが伺える。なお、疎水性側鎖が短いpoly(NaAMPS-co-NaMmH)の場合はこのような散乱強度の増加は認められなかった。疎水性側鎖の長さが低下するとミセルの形成が起りにくいことが分かる。

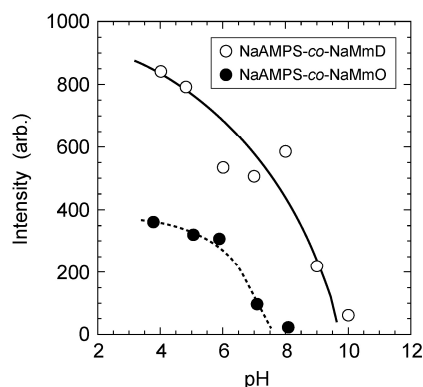


図6 光散乱強度のpH依存性

動的光散乱強度から求めたミセルの平均径はpoly(NaAMPS-co-NaMmD)の場合が6.8 nm、poly(NaAMPS-co-NaMmO)の場合が11.2 nmであった。これは既往のユニマーミセルの研究結果とほぼ同程度の値であり、ユニマーミセルが生成していると考えられる。なお、

側鎖が長いpoly(NaAMPS-co-NaMmD)の方が平均径が小さいが、これはNaMmOに比べてNaMmDの疎水性が強いためと考えられる。

(3) poly(NaAMPS-co-NaMmH)、poly(NaAMPS-co-NaMmO)およびpoly(NaAMPS-co-NaMmD)をグラフトしたPEVAのBPA吸着特性

図7に、溶液のpHとBPAの吸着量の関係を示す。いずれのポリマーの場合も高pH領域ではほとんど吸着が起っていないが、これはBPAが解離し、負に帯電してポリマーとの静電反発が起きているためと考えられる。pHが9以下になるといずれのポリマーの場合も急激にBPAの吸着量が増加している。Poly(NaAMPS-co-NaMmD)の場合はミセルの形成と一致しているが、poly(NaAMPS-co-NaMmH)およびpoly(NaAMPS-co-NaMmO)の場合はこのpHではミセルの形成は起っていない。これはNaMmHおよびNaMmOの疎水性部分への吸着と考えられる。なお、poly(NaAMPS-co-NaMmO)の場合はpH7付近でBPAの吸着量が増加しているが、これはミセルの形成によるものと思われる。これに対して、poly(NaAMPS-co-NaMmH)の場合はプロトン化が起こるpH付近での明確な吸着量の増加はみられない。

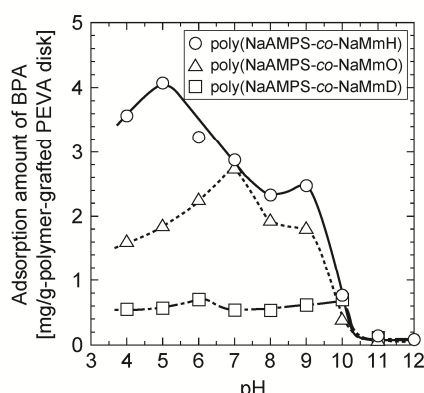


図7 BPA吸着量とpHの関係

図8に、ミセルの疎水性ドメインに取り込まれているBPAの吸着量と、側鎖の疎水性部分に取り込まれたものも含めた全吸着量をプロトン化前後のpHで測定した結果を示す。Poly(NaAMPS-co-NaMmH)の場合はいずれのpHでも疎水性ドメインへのBPAの吸着量は非常に低い。このことは、プロトン化してもミセルが形成されないことを示している。一方、poly(NaAMPS-co-NaMmO)の場合はプロトン化が起っていないpH8の場合はBPA吸着量は多いが、ミセルが形成されていないために疎水性ドメインへの取り込みはほとんどない。一方、プロトン化が起きているpH7ではほとんどが疎水性ドメインに取り込まれている。なお、poly(NaAMPS-co-NaMmD)の場合、プロトン化が起きているpH6の場合に疎水性ドメインへの取り込み量が低下しているが、これはミセルの形成が素早く起こるために十分ミセル内に取り込まれないためと考えられる。

以上のことから、pH 応答型ミセル形成ポリマーを用いた内分泌攪乱化学物質の分離システムの構築が可能と考えられる。このような分離システムはこれまでに例がなく、非常に独創性のあるシステムであり、今後は実用化に向けた検討が必要である。

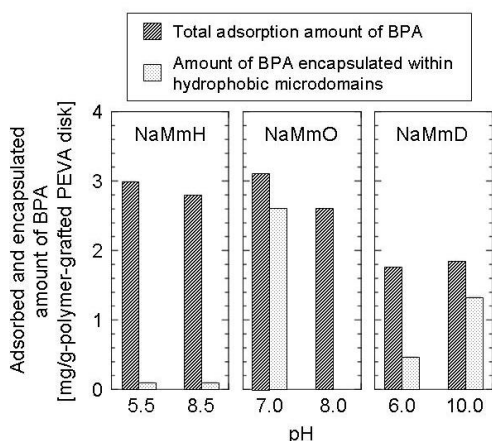


図8 ミセルの疎水性ドメインへのBPAの取り込み量と全吸着量

#### (4) NIPAM マクロモノマーの合成の確認

表4にNIPAMと連鎖移動剤のAETHClの組成比が5:2で合成したNIPAMマクロモノマーのCHNおよびCHNS元素分析の結果を示す。このポリマーはNIPAMの約10量体からなると仮定すると、S原子を1個と仮定した場合の各原子数は実測値とほぼ一致した。なお、HとOの原子数が実測値と推算値にずれがあるが、H:O=2:1に近い値であることから、不純物として水が含まれていると考えられる。これから求めたNIPAMマクロモノマーの分子量は1315であった。一方、標準資料にポリスチレンを用いたGPCによる分子量の測定も行ったが、その場合の分子量は2021であった。

表4 NIPAMマクロモノマーの元素分析結果

	CHN	CHNS	原子数(実測)	原子数(推算)
C	55.1%	55.6%	67.7	67.8
H	9.5%	10.0%	139.8	124.1
N	11.0%	11.1%	11.6	11.5
S		2.2%	1.0	1.0
O			20.5	11.5

表5にNIPAMとAETHClの組成比を変えて合成したポリマーの分子量の測定結果を示す。分子量はGPCで測定したものである。AETHClの割合が高くなるほど分子量が低下しており、分子量の調整が可能といえる。

表5 NIPAMとAETHClの組成比と分子量の関係

NIPAM : AETHCl	$M_n$	$M_w$	$M_w/M_n$
5 : 0.5	3548	7084	1.99
5 : 1	2821	4558	1.61
5 : 2	2021	3051	1.50
5 : 3	1589	1902	1.25

図9に、種々の分子量のNIPAMマクロモノマー水溶液の透過度の温度依存性、すなわち転移温度の測定結果を示す。分子量が低下すると転移温度が増加している。

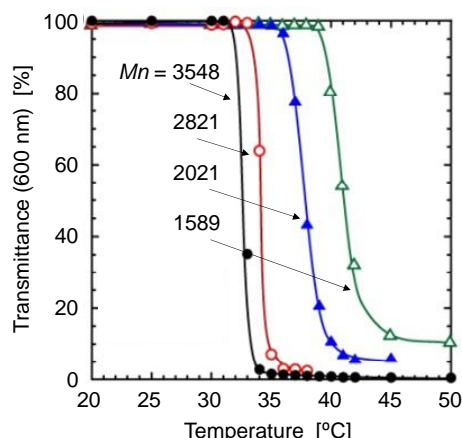


図9 NIPAMマクロモノマー水溶液の転移挙動

#### (5) NaAMPSとNIPAMマクロモノマーとの共重合ポリマーの特性

表6に共重合ポリマーのCHNおよびCHNS元素分析結果を示す。なお、NIPAMマクロモノマーはNIPAMと1AETHClの比を5:2で作成したものをを用いた。Na原子が9個と仮定した場合の各原子数は実測値とほぼ一致した。すなわち、共重合組成は仕込組成とほぼ一致している。ただし、不純物としては水が含まれていると考えられる。

表6 共重合ポリマーの元素分析結果

	CHN	CHNS	原子数(実測)	原子数(推算)
C	45.9%	45.8%	130.7	130.8
H	8.2%	7.8%	247.8	232.0
N	9.1%	9.0%	20.6	20.5
S		8.9%	10.0	10.0
O			20.5	11.5
Na			9.0	9.0

図10にチンダル光の観察結果を示す。十分稀薄な溶液を用いているが、ポリマーの転移温度を超えるとはっきりとしたチンダル光が観察されることから、ミセルの形成が示唆される。また、この時のミセルの平均径は約160nmであった。比較的大きく、単一ポリマーである確認は取れていないが、分布は単分散であり、比較的シャープであることから単分散の可能性が高いと考えられる。

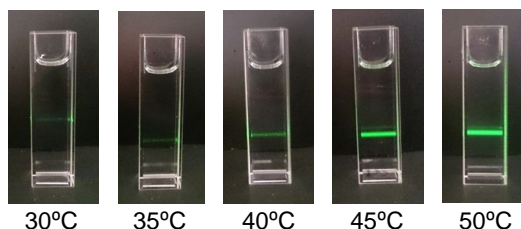


図10 ポリマー水溶液の加温によるチンダル光の観察

以上のことから、温度応答型のミセル形成ポリマーが合成できた可能性は高いといえる。今後は、pH 応答型と同様に支持体へのグラフトなど、実用化を目指した検討が必要である。

#### 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)

[雑誌論文](計 3 件)

Koji Teramoto, Toshiyuki Harada, Shuji Sakohara, Adsorption of bisphenol-A by pH-responsive polymer grafted on porous polyethylene vinyl acetate disk: Effect of the side-chain length of hydrophobic component in polymer on adsorption, 査読有, *Chem. Eng. J.*, 258 (2014) 386–393, 10.1016/j.cej.2014.07.100

Koji Teramoto, Sho kimata, Toshiyuki Harada, Shuji Sakohara, Functional adsorbent as endocrine disruptor using pH-responsive polymer grafted on porous ethylene vinyl acetate disk, 査読有, *Chem. Eng. J.*, 246 (2014) 114–121, 10.1016/j.cej.2014.02.048

Koji Teramoto, Sho Kimata, Toshiyuki Harada, Makoto Chuman, Shuji Sakohara, Separation of bisphenol-A by unimolecular micelles formed by pH-responsive polymer grafted onto polypropylene nonwoven fabrics, 査読有, *Chem. Eng. J.*, 236 (2014) 490–497, 10.1016/j.cej.2013.10.056

[学会発表](計 1 2 件)

Koji Teramoto, Toshiyuki Harada, Shuji Sakohara, Effect of side-chain length of hydrophobic component in pH-responsive copolymer on bisphenol-A adsorption, 10<sup>th</sup> International Conference on Separation Science and Technology, 2014 年 11 月 1 日, 奈良県新公会堂

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, ユニマーミセルを形成する pH 応答型ポリマーを用いた機能性吸着材の開発, 分離技術会年会 2014, 2014 年 5 月 31 日, 名古屋大学

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, ビスフェノール A の吸着挙動に及ぼす pH 応答型ポリマーのアルキル鎖長の影響, 化学工学会第 79 年会, N317, 2014 年 3 月 20 日, 岐阜大学

原田敏幸, 寺本広司, 迫原修治, pH 応答型ユニマーミセル形成ポリマーの側鎖長のミセル形成への影響, 化学工学会第 45 回秋季大会, ZE2P27, 2013 年 9 月 17 日, 岡山大学

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, pH 応答型ユニマーミセル形成ポリマーの側鎖長の BPA 吸着挙動への影響, 化学工学会第 45 回秋季大会, U205, 2013 年 9 月 17 日, 岡山大学

Koji Teramoto, Toshiyuki Harada, Shuji

Sakohara, Separation of Bisphenol-A by pH-Responsive Unimolecular Micelles Grafted on Porous Polyolefin, 9th World Congress of Chemical Engineering, MoP-T1-190, 2013 年 8 月 19 日, Coex, Seoul, Korea

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, pH 応答型ユニマーミセルのコンフォメーションとビスフェノール A の吸着特性, 分離技術会年会 2013, S4-3, 2013 年 5 月 24 日, 日本大学

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, pH 応答型ユニマーミセルのコンフォメーションに及ぼす pH の影響, 化学工学会第 78 年会, E319, 2013 年 3 月 19 日, 大阪大学豊中キャンパス

Koji Teramoto, Toshiyuki Harada, Takehiko Gotoh, Takashi Iizawa, Shuji Sakohara, Separation of endocrine disruptor by pH-responsive unimolecular micelles grafted on porous material, 10th Japan-Korea Symposium on Materials & Interfaces, P-25, 2012 年 11 月 8 日, Kyoto, Japan

Shuji Sakohara, Separation Technology Using Stimuli-Responsive Polymers and Gels, 19th Regional Symposium on Chemical Engineering (RSCE2012), Plenary lecture, 2012 年 11 月 7 日, Bali, Indonesia

寺本広司, 原田敏幸, 迫原修治, pH 応答型単一高分子ミセル形成に及ぼす長鎖アルキル側鎖の鎖長の影響, 化学工学会第 44 回秋季大会, V301, 2012 年 9 月 21 日, 東北大学

寺本広司, 木全 彰, 原田敏幸, 迫原修治, pH 応答型ミセル形成ポリマーによるビスフェノール A の吸脱着挙動, 分離技術会年会 2012, S3-2, 2012 年 6 月 2 日, 関西大学

[図書](計 1 件)

中野義夫, 後藤健彦 (掲載順 100 番目), 迫原修治 (掲載順 101 番目), 他 175 名, エヌ・ティー・エス, *ゲルテクノロジーハンドブック*(2014) 908 (523–527)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

迫原 修治 (SAKOHARA, Shuji)  
広島大学・大学院工学研究院・教授  
研究者番号: 8 0 1 0 8 2 3 2

##### (2) 研究分担者

飯澤 孝司 (IIZAWA Takashi)  
広島大学・大学院工学研究院・准教授  
研究者番号: 6 0 1 3 0 9 0 2

後藤 健彦 (GOTOH Takehiko)  
広島大学・大学院工学研究院・助教  
研究者番号: 1 0 2 7 4 1 2 7