

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13903

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19001

研究課題名(和文)新規生分解性ポリウレタンライブラリーの構築と分解菌のスクリーニング

研究課題名(英文)Biodegradable polyurethanes and the screening of degradation microbes

研究代表者

高須 昭則(Takasu, Akinori)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30303697

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文): クリック重合を駆使して2種類のジアンヒドロ糖 [1,4:3,6-ジアンヒドログリシトール (IS)、マンニトール (IM)] を主骨格としたポリ(ウレタン-チオエーテル)の生物化学的酸素要求量(BOD)を測定し、生分解性に及ぼすジアンヒドロ糖のジアステレオマーの影響を調査した。それらのガラス転移点を測定したところそれぞれ36度と31度であった。この結果から、ジアンヒドロ糖成分を導入することでポリ(ウレタン-チオエーテル)の高いガラス転移点と生分解性を同時に実現できることがわかった。さらにポリ(ウレタン-チオエーテル)を炭素源に活性汚泥を培養することでその分解酵素や分解菌の探索を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上述の通り、ポリウレタンにポリカプロラクトンジオール(香西ら、高分子論文集 2005)やポリ乳酸ジオール(田中ら、特開2015-218298号公報)などのポリエステルブロックおよび植物由来成分(ひまし油など)生分解性のエステル結合(橋本ら、ポリウレタン国際技術振興財団報告書、2017)を導入した研究は報告されているものの、ウレタン結合そのものの生分解性<<学術的な問い>>に焦点を当てた研究例は、まったく存在しない。当該分野の急務の課題となっているマイクロプラスチック問題の解決とポリウレタンの生分解性という学術的な興味を兼ね備えた挑戦的研究(萌芽)である。

研究成果の概要(英文): We prepared dianhydro sugar-based diacrylate monomers, D-2,5-di-O-(urethane ethylene acrylate)-1,4:3,6-dianhydroglucitol (A0IIS) and -1,4:3,6-dianhydromannitol (A0IIM), via the respective reaction of 1,4:3,6-dianhydroglucitol (isosorbide; IS) and 1,4:3,6-dianhydromannitol (isomannide; IM) with 2-isocyanatoethyl acrylate (A0I). The thiol-Michael polyaddition of the two dianhydro sugar-based diacrylate monomers with several dithiols proceeded to give poly(ester-urethane)s with the expected structures. All the poly(ester-urethane)s had single glass transition (T_g) values between 32 and 36 °C. In biodegradation tests using an activated sludge, they showed 8-32% of biodegradation, respectively, after 28 days. Using a conditioned sludge activated by poly(ester-urethane)s, degradation enzyme was characterized by SDS-PAGE.

研究分野：高分子化学

キーワード：ポリウレタン 生分解性 活性汚泥 ジアンヒドロ糖 バイオマス クリック重合 酒石酸 立体化学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

昨今のマイクロプラスチック問題を背景に生分解性高分子の新展開が急務の課題となった。21世紀を迎え問題となった温室効果ガスの問題では、植物由来の原料を用いたバイオベースポリマーを普及させることで急場をしのぐことができたが、マイクロプラスチック問題解決のためには、機能性の高分子自体が生物学的に分解しないと解決できない状況である(特に海洋生分解)。この半世紀で合成化学・酵素化学を駆使した生分解性ポリエステルが数多く報告され、ポリ乳酸を代表例として現在では全プラスチックの15%程度が生分解性のプラスチックに置き換わっているが、時代の変革や研究者の世代交代などが原因となって、この問題に高分子化学分野は十分に対応できていないのが現状である。ポリウレタン材料は、高い弾性率をはじめ、ポリエステルと並ぶ機能性高分子である。ポリカプロラクトンジオールなどのポリエステルブロックを積極的に組み込んだポリ(エステル-ウレタン)などの生分解性に関しては報告及び確認されているものの、ウレタン結合そのものの生分解性を必要とする完全生分解性ポリウレタンは世界レベルで全く報告されていない。

2. 研究の目的

最近、申請者はグルコースから誘導される1,4:3,6-ジアンヒドログリシトールとジイソシアネート(ジフェニルメタンジイソシアネート:MDI)の重付加反応から合成したポリウレタンの活性汚泥中での生分解性試験を行ったところ、試験後40日で60%の生分解度を示すことを発見した(第70回高分子学会発表)。本研究では、同種のポリウレタンを化学合成し、その生分解性を精査する(生分解性ポリウレタンライブラリーの構築と普遍性の探求)と同時に分解酵素の解析及び分解菌を同定する。

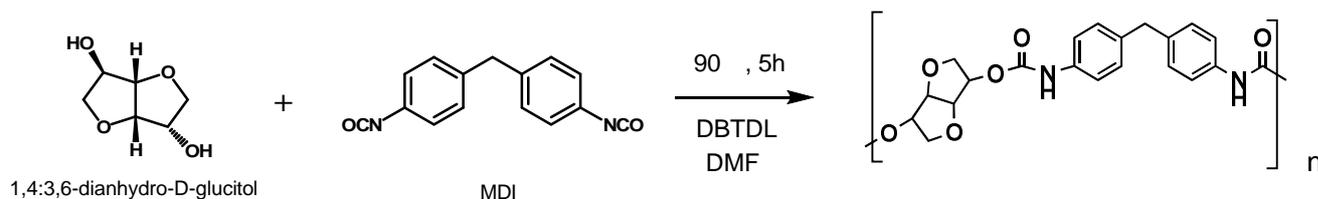


図1. 生分解性を示したポリウレタンの構造

3. 研究の方法

2種類のジアンヒドロ糖 [1,4:3,6-ジアンヒドログリシトール (IS)、マンニトール (IM)]を主骨格としたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生物化学的酸素要求量 (BOD)を測定し、生分解性に及ぼすジアンヒドロ糖のジアステレオマーの影響も調査した。はじめに、IS とアクリル酸 2-イソシアナトエチル (AOI)を反応させ、IS 含有ジアクリレート (AOIIS)を合成した。同様にIM と AOI から IM 含有ジアクリレートも得た。合成したジアクリレ

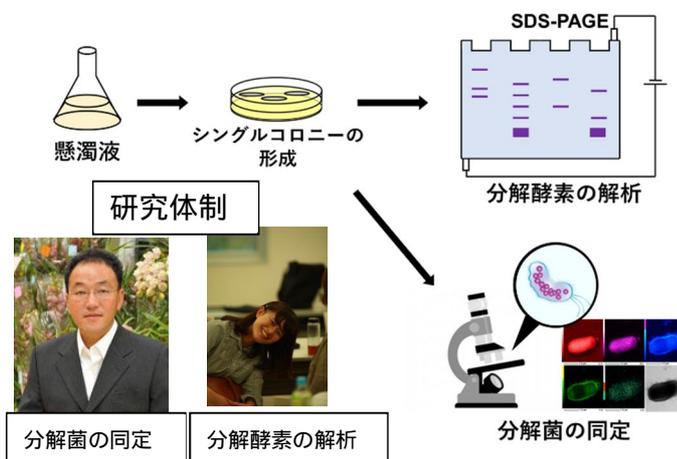


図2. ポリウレタン分解酵素の解析と分解菌の同定

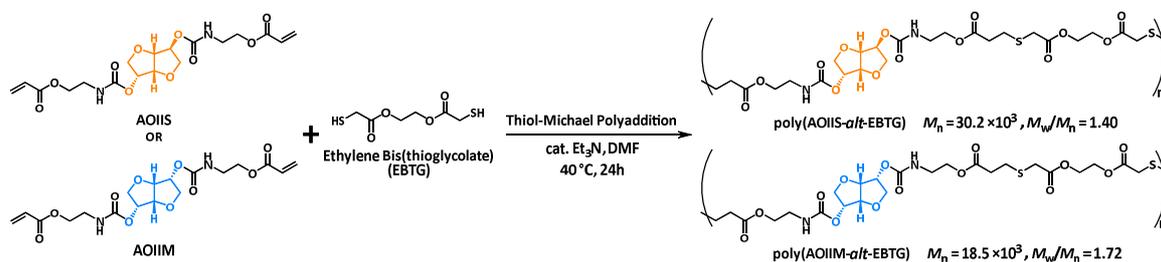
ートと等量のエチレンビス(チオグリラート) (EBTG)を用いて、チオールマイケル重付加を行った。得られたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生分解性を活性汚泥および馴化培養液を用いた BOD 測定によって 評価した。馴化培養液は AOIIS 含有ポリ(ウレタン - チオエーテル)の繰り返し単位にあたるモデル化合物の BOD 測定終了後の試験懸濁液を培養して調製した。また、ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分解菌の探査も行った。

4. 研究成果

(1) ジアンヒドロ糖を原料としたジアクリレートのチオールマイケル重付加によるポリ(ウレタン - チオエーテル)の合成と生分解性

【緒言】

マイクロプラスチック問題を背景に新規生分解性高分子の創製が求められている。一方で、再生可能資源として注目されている糖誘導体のジアンヒドロ糖を用いた生分解性高分子の報告例は数少なく¹⁾、ポリウレタンの生分解性についてはいまだ報告例はない。当研究室では、ジアンヒドロ糖をウレタン結合で介したジアクリレートとジチオールとのチオールマイケル重付加によってポリ(ウレタン - チオエーテル)の簡便な合成に成功し、その生分解性について報告した²⁾。そこで本研究では、2種類のジアンヒドロ糖 [1,4:3,6-ジアンヒドログリシトール (IS)、マンニトール (IM)]を主骨格としたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生物化学的酸素要求量(BOD)を測定し、生分解性に及ぼすジアンヒドロ糖のジアステレオマーの影響を調査した。



図式 1. ジアンヒドロ糖を含むポリ(ウレタン - チオエーテル)の簡便な合成

【実験】

はじめに、IS とアクリル酸 2-イソシアナトエチル (AOI)を DMF 溶媒下で 60 °C・48 時間攪拌し、IS 含有ジアクリレート (AOIIS)を合成した。また、AOIIS 同様に IM と AOI から IM 含有ジアクリレートを得た。次に、合成したジアクリレートと等量のエチレンビス(チオグリラート)(EBTG)を触媒のトリエチルアミン(Et₃N)と共に DMF に溶解させ、40 °C・24 時間チオールマイケル重付加を行った (図式 1)。得られたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生分解性を活性汚泥および馴化培養液を用いた BOD 測定によって評価した。馴化培養液は AOIIS 含有ポリ(ウレタン - チオエーテル)の繰り返し単位にあたるモデル化合物の BOD 測定終了後の試験懸濁液を培養して調製した。

[結果・考察]

合成したポリ(ウレタン - チオエーテル)の BOD 測定の結果を図 3 に示す。活性汚泥を用いた場合のポリ(AOIS-*alt*-EBTG)とポリ(AOIIM-*alt*-EBTG)はそれぞれ 9%と 13%の生分解度を示した。また、馴化培養液を用いた場合のポリ(AOIS-*alt*-EBTG)とポリ(AOIIM-*alt*-EBTG)はそれぞれ 36%と 59%の生分解度を示した。したがって、馴化操作によってポリ(ウレタン - チオエーテル)を生分解する微生物の割合が増加した馴化培養液を用いたため、全体的に生分解度が高くなったと考えられる。また、活性汚泥および馴化培養液を用いた両方の BOD 測定においても IS より IM 含むポリ(AOIIM-*alt*-EBTG)の生分解度の方が高いことから、ポリ(ウレタン - チオエーテル)の生分解における IM の基質特異性が示唆された。さらに、種々のジチオールを用いたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生分解度試験によって生分解性に及ぼすジアンヒドロ糖のジアステオマーの影響をより詳細に検討し、またポリアクリルアミド電気泳動による微生物の探査を行った結果、23kDa 付近に分解酵素由来とみられるタンパク質の積算が確認でき分解菌の単離及び同定に関する有用な結果が得られた。

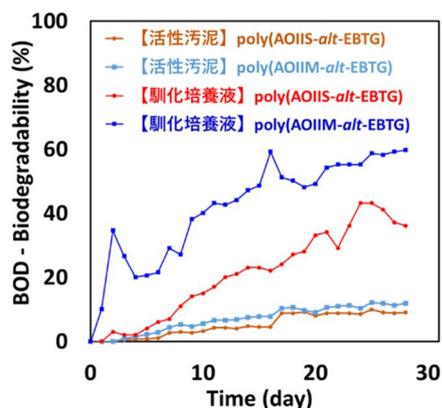


図 3. ジアンヒドロ糖を含むポリ(ウレタン - チオエーテル)の活性汚泥中での生分解 (試験温度 25 °C) .

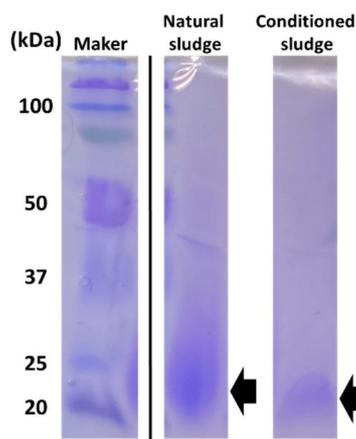


図 4. 分解酵素のポリアクリルアミドゲル電気泳動結果

計画通りに研究が遂行できたためこれらの研究結果を踏まえ、引き続き 2 種類のジアンヒドロ糖 [1,4:3,6-ジアンヒドログリシトール (IS)、マンニトール (IM)]を主骨格としたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生 BOD を測定し、生分解性に及ぼすジアンヒドロ糖のジアステオマーの影響を調査した。高い熱的性質と生分解性を目指して IM とメルカプト酢酸のエステル化反応を行い、ジチオール成分にもジアンヒドロ糖を導入した (MAIM)。合成したジアクリレートと等量の MAIM を用いてチオールマイケル重付加を行い目的のポリ(ウレタン - チオエーテル)を合成し、核磁気共鳴スペクトルにより構造を確認した。分子量測定はサイズ排除クロマトグラフィーを用いて行った。得られたポリ(ウレタン - チオエーテル)の生分解性を活性汚泥を用いた BOD 測定によって評価した。合成したポリ(ウレタン - チオエーテル)の BOD 測定の結果、活性汚泥を用いた場合のポリ(AOIS-*alt*-MAIM) (分子量 8 千)とポリ(AOIIM-*alt*-MAIM) (分子量 9 千)はそれぞれ 32%と 29%の生分解度を示した。それらのガラス転移点を測定したところそれぞれ 36 °C と 31 °C であった。この結果から、ジアンヒドロ糖成分を導入することでたポリ(ウレタン - チオエーテル)の高いガラス転移点と生分解性を同時に実現できることがわかった。

(2) 酒石酸ユニットを含むポリ(エステル-チオエーテル)の合成と生分解

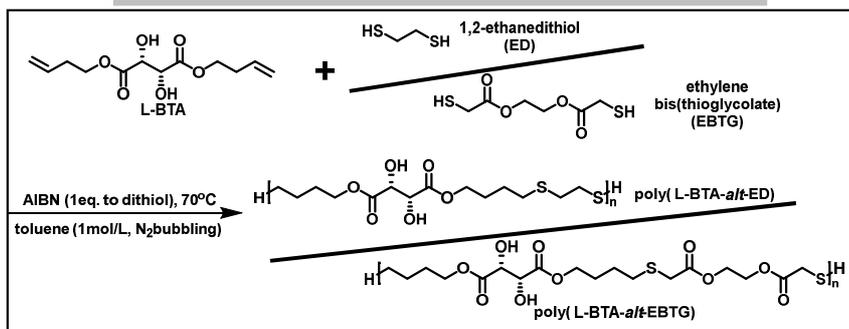
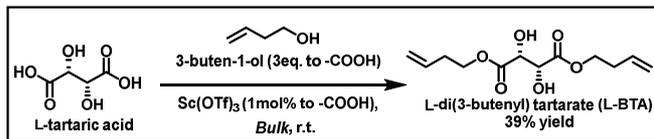
[緒言]

上述の研究結果から生分解性ポリウレタンの研究には立体化学が生分解性に及ぼす影響を検証する必要があることがわかった。当研究室では、水酸基を有するリンゴ酸ユニットを用いた、ポリ(エステル-チオエーテル)の合成により、ポリエステルに生分解性をもたせることを可能と

し、新たな生分解性高分子の創生を目指してきた。³⁾本研究ではより高い生分解性を目指し、リンゴ酸の代替としてより多くの水酸基を有する酒石酸を用い、ポリ(エステル-チオエーテル)を合成しその生分解性を調査した。この研究を通し、高分子の水酸基数や立体化学が生分解性に与える影響を明らかにすることで生分解性ポリウレタンの考察にフィードバックしようと考えた。

[実験および結果・考察]

L-酒石酸と 3-ブテン-1-オールを用い、Sc(OTf)₃を触媒とした室温かつバルク条件下での縮合反応によるエステル化を行った。得られたジアルケンモノマー(BTA)を用い、チオールエンクリック反応を介してラジカル付加重合によるポリ(エステル-チオエーテル)の合成を行った(図式 2)。得られ



た高分子で生物学的酸素要求量(BOD)試験を行ったところ、ポリ(L-BTA-*alt*-ED)で 8%、ポリ(L-BTA-*alt*-EBTG)で 32%の生分解度を確認した。また、高分子の立体化学と生分解性の相関を調査するため、酒石酸の立体異性体(L 体,D 体,*meso* 体)を用いてジアルケンモノマーを合成し、同様にポリ(エステル-チオエーテル)を得た。ジチオールとしてエチレンビス(チオグリコラート)(EBTG)を用い、ポリ(L-BTA-*alt*-EBTG)、ポリ(D-BTA-*alt*-EBTG)、ポリ(*meso*-BTA-*alt*-EBTG)の 3 種類の高分子を得た。得られた高分子についても同様に BOD 試験を行ったところそれぞれ 32%、70%、43%の分解を示し、生分解性においてエナンチオ選択性またジアステレオ選択性が示唆された (図 5)。⁴⁾

図式 2. 酒石酸を含むポリ(エステル-チオエーテル)の合成

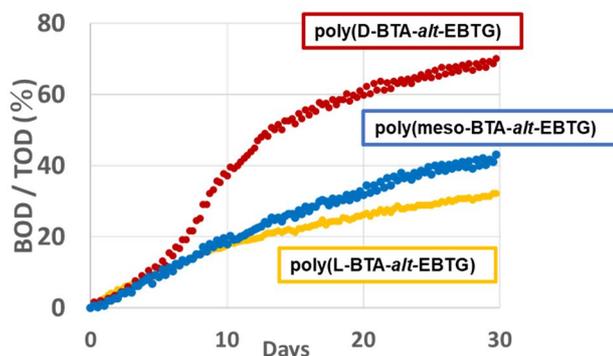


図 5. 酒石酸を含むポリ(エステル-チオエーテル)の活性汚泥中での生分解 (試験温度 25 °C) .

[参考文献]

- 1) Okada, M.; Aoi, K.; Yokoe, M. *Kobunshi Ronbunshu*, **2005**, 62(4), 147-157.
- 2) Takeuchi, S.; Takasu, A. *ACS Appl. Polym. Mater.*, **2022**, (4), 4486-4494.
- 3) Sato, Y.; Takasu, A. *ChemistrySelect* **2021**, 6(35), 9503-9507.
- 4) Imamura, R.; Oto, K.; Kataoka, K.; Takasu, A. *ACS Omega.*, in press

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuka Sato, Akinori Takasu	4. 巻 6
2. 論文標題 Synthesis of L-Malic Acid Based Poly(ester-thioether)s via Thiol-Ene Click Polymerization and Their Biodegradability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ChemistrySelect	6. 最初と最後の頁 9503-9507
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/slct.202101160	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuka Takeuchi, Akinori Takasu	4. 巻 4
2. 論文標題 Synthesis and Biodegradability of Poly(ester-urethane)s via Thiol-Michael Polyaddition of Dianhydro Sugar-Based Diacrylates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Applied Polymer Materials	6. 最初と最後の頁 4486-4494
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsapm.2c00466	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ryota Imamura, Kota Oto, Kaho Kataoka, and Akinori Takasu	4. 巻 8
2. 論文標題 Synthesis and Biodegradability of Tartaric Acid-Based Poly(ester-thioether)s via Thiol-Ene Click Polymerization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.2c07627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片岡佳穂, 高須昭則
2. 発表標題 酒石酸ユニットを含むポリエステル-チオエーテルのチオールエンクリック反応と生分解
3. 学会等名 第52回中部化学関連学協会支部連合秋季大会（静岡大学（オンライン））
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内涼風, 高須昭則
2. 発表標題 ジアンヒドロ糖を主骨格とするポリ(エステル-チオエーテル)の合成と生分解性
3. 学会等名 第52回中部化学関連学協会支部連合秋季大会 (静岡大学(オンライン))
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内涼風, 高須昭則
2. 発表標題 ジアンヒドロ糖を主骨格とするポリ(エステル-チオエーテル)の合成と生分解性
3. 学会等名 第70回高分子討論会 (東京理科大学(オンライン))
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡佳穂, 高須昭則
2. 発表標題 ジアンヒドロ糖を用いたポリウレタンの合成と生分解性
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤佑香, 高須昭則, 内山翔子, 森本 修
2. 発表標題 リンゴ酸ユニットを含むポリ(エステル-チオエーテル)の合成と生分解性
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会 (オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内涼風, 高須昭則
2. 発表標題 ジアンヒドロ糖を原料としたジアクリレートのチオールマイケル重付加によるポリ(ウレタン-チオエーテル)の合成と生分解性
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会 (オンライン)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片岡佳穂, 高須昭則
2. 発表標題 酒石酸ユニットを含むポリ(エステル-チオエーテル)の合成と生分解
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会 (オンライン)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kota Ota, Akinori Takasu	4. 発行年 2021年
2. 出版社 CRC Press, Taylor & Francis Group	5. 総ページ数 8
3. 書名 Online Encyclopedia of Polymers, Polymeric Materials, and Polymer Technology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------