

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月14日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22310056

研究課題名（和文） 自然の機能を利用した循環型抗菌水質保持・環境浄化システムの開発

研究課題名（英文） Development of Recycling-oriented, Antibacterial Environmental Cleanup System based on Natural Function

研究代表者

細矢 憲（HOSOYA KEN）

京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・教授

研究者番号：00209248

研究成果の概要（和文）：エポキシ樹脂を基材とする共連続体を種々の条件で合成し、それらに表面処理を種々行うことにより、抗菌タンパク質が有する機能を模倣しつつ、極めて迅速な pH 変化に基づく抗菌機能の2つの機構を有する水質浄化媒体の開発に成功した。抗菌能はエポキシ樹脂共連続体に含まれる官能基の種類、含有量によって変化することが明らかとなり、これにより、抗菌機能発現の速度、程度を制御することが可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Antibacterial, co-continuous media were prepared based on epoxy resins. Various surface modifications effectuated antibacterial activities imitating antibacterial polypeptide as well as rapid antibacterial activities based on pH change of the solution. The functional groups as well as those content affected antibacterial activities and using this technique, the control of antibacterial activities was possible.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
2011年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2012年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学，環境技術・環境材料

キーワード：抗菌・光分解・水質浄化・高分子多孔体・自然の機能

1. 研究開始当初の背景

止水は放置すると腐る！これは潜在的、あるいは後発的なバクテリアの繁殖が原因の一つになっている。例を挙げれば、切り花の水、洪水後の泥水、観賞魚の水、エアコンからの排水等。

この腐敗の抑制には、主に2つの手法が挙げられる。

- (1) バクテリア自体の除去（抗菌，制菌）
- (2) バクテリアの餌となりうる物質の除去

（繁殖の抑制）

一般には、抗菌剤の散布投与や、水のろ過によって対応されているが、いずれも一過性の措置であり永続性を得ることは不可能に近い。また、低分子抗菌剤には耐性を持つ菌もあり、一般的な手法となり得ない場合もある。なにより、種々の面から抗菌剤投与は環境負荷を増す。

一方、生体内では、細菌の感染から自身を守るために「抗菌ペプチド」が機能している。

配向した親水性部位と疎水性部位を有する抗菌ペプチドは、細菌の細胞膜を攻撃対象とすることで活性を発現する。細胞膜と相互作用したペプチドは膜構造の破壊やポア構造の形成により、膜電位の消失や細胞質の漏出を誘導することで細菌を殺す。この天然の機能を模倣した合成高分子も報告されていて、カチオン性基（主にアンモニウム基）と疎水性部位が配向することで同様の抗菌機能を発現するとしている。このように、より抗菌機能が求められる中で、環境負荷を与えない固体の抗菌材料の開発が求められていた。

2. 研究の目的

本研究は、以下に示す4つの小目的より構成される。すなわち、

- (1) **自発給水が可能**な共連続構造を有する高分子多孔質媒体を自在に棒状、板状で開発する。
- (2) 高分子表面にカチオン性基および剛直な部位を配置し、**固体表面抗菌性**を発現させる。
- (3) 多孔性高分子に**環境汚染物質（溶液、ガス状）**を吸着可能なサイトを構築する。
- (4) **光触媒をハイブリッド化**し、補足物質の光分解による媒体自浄作用を付与する。

これらの小目的の相互の達成により、水を自発的に吸い上げることにより、抗菌、有害物質捕捉能を効率的に発現し、これら捕捉物質を光分解により自浄する。すなわち、自然エネルギーを利用した循環型抗菌水質保全・環境浄化システムを構築することを本研究の目的としている。

3. 研究の方法

本研究では、申請者が単独で下記の4項目について詳細に検討を実施し、最後に複合化を行った。

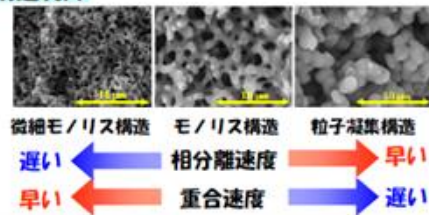
- (1) ジエポキシ化合物とジアミンの組合せ、重合条件等を種々変化させ多孔体の細孔構造制御を行い、棒状あるいは板状の共連続構造エポキシ樹脂多孔体を調製する手法の確立。

☆本実施項目は下記の2つの検討項目に細分化し実施した。

①・ジエポキシ化合物とジアミンの組合せ、重合条件制御に基づく細孔構造制御

現在までの検討で、モノマーの組合せが同じでも、重合条件変化により右上図のような色々なマイクロ構造を持つ多孔体が生成することが分かっている。図中央の構造がいわゆる共連続構造であり、これを「モノリス構造」と呼ぶが、図の右側の粒子凝集構造を含め、どの構造が多孔体の毛管現象に基づく自発給水

構造制御



に適した構造かを、主に吸水率、吸水速度の面から詳細に検討した。その結果に基づき、種々のモノマーの組合せに対して、自発吸水を可能にするエポキシ樹脂多孔体の開発手法を確立した。

②・棒状あるいは板状の形状をもつ共連続構造エポキシ樹脂多孔体の調製

前述の切り花水質保持の場合には棒状が好ましいが、水槽内やエアコン内部では薄い板状の多孔体が必要とされる。また、泥水の浄水においては、吸い上げと水の移動を目的として逆U字型が必要とされる。このように、使用する場面に応じた成形性が必須である。一方で、反応誘起相分離を利用した多孔体の調製では一般に反応場の影響を容易にうけて細孔構造が変化してしまう。これらの相反する事項を調整し、種々の形状を有する共連続構造エポキシ樹脂多孔体の合成方法を確立した。なお、多孔質化溶媒を除去するプロセスにおいて、有機溶媒を用いない手法の開発を併せて検討した。

- (2) エポキシ樹脂多孔体の抗菌機能の解明とその最適化を図る一方で、細胞が通過する多孔質体の細孔径制御による細胞の大きさに基づく「種選択的」抗菌機能発現の可能性を検討した。

☆本実施項目は下記に示す3つの項目に細分化して実施した。

①・抗菌機能のメカニズム解明

前述のように、抗菌合成高分子は4級アミン（3級アミンの報告有り）と比較的配向性の高い剛直な疎水性基の交互構造を有している。本研究で開発するエポキシ樹脂多孔体においては、架橋により3級アミンが生成するが、この3級アミンのままでも現在までに確認している抗菌現象が発現するのか？あるいは、4級化することで抗菌機能が増幅されるのか？を検討し、化学種と抗菌機能の関連を明らかにした。用いる菌はグラム陰性菌の大腸菌やグ

ラム陽性菌を用い、第三者機関での評価を併せて求めることで詳細かつ客観的に検討した。

②・**抗菌機能の最適化**

アミノ基と疎水性基の種や、その存在割合を変化させることで、抗菌機能にどのような影響を与えるのか？を詳細に検討した。細菌の細胞膜に影響を与えるためには、どのような官能基が必要なのか？ジエポキシ化合物を3官能や4官能に変えた場合についても検討を行い、アミノ基の密度と抗菌作用との関係についても検討を行い、上記①とも併せて抗菌機能の最適化を図った。

③・**菌選択性の発現**

抗菌ポリマーは細菌の細胞表面と相互作用することにより細胞膜を破壊し抗菌性を発現するとされている。一方、本研究で開発するエポキシ樹脂多孔体においては、その固体表面と細菌との接触が抗菌性発現に不可欠と考えられる。このため共連続型高分子多孔体の細孔内部に入る細菌は死滅するが、細孔内に入れない細菌は残るのでは？と予想される。雑菌を用いた予備検討においては、エポキシ樹脂多孔体の細孔構造の違いにより、死滅する菌が変化するというデータも得られている。本検討では、この細孔径に基づく種選択的な抗菌機能発現の可能性について検討を加えた。

- (3) 疎水性有機化合物、親水性天然物、重金属等の環境汚染物質を水中や気相から捕捉することが可能な多孔体「表面」の認識部位（疎水性、親水性、イオン交換機能）の構築

①・**疎水性有機化合物、親水性天然物に対する保持能の検討**

細菌の餌となりうる有機物質を除くことも制菌の一つの手法であること、さらには、水質浄化には環境汚染物質（アルキルフェノール等）や天然毒物（貝毒、藍藻毒）などの除去も必要であることから、本研究で開発するエポキシ樹脂多孔体が本来有している有機化合物に対する捕捉能の検討を行った。エポキシ樹脂骨格内には、疎水性基だけではなく、親水性の水酸基も存在し、疎水・親水両方の性質を併せ持つことから、予備検討からも疎水性、親水性両方の化合物に対する保持特性が明らかになってきており (K. Hosoya, et. al., Chromatographia,

70, 699 - 704 (2009))、ここではさらにエポキシ樹脂多孔体のモノマーを変化させることや、表面官能基を介した表面修飾を行うことで、水中のみならず気相からのVOCの捕捉も視野に入れて検討を行った。さらに、実際の水質浄化で捕捉された化合物についての同定も実施した。

②・**除きたい物質のみの捕捉除去**

極めて重要な課題である。申請者らは従来法の分子インプリント法とは異なる表面インプリント法を開発し (T. Kubo, K. Hosoya, et. al., Macromolecules, 42, 2911 - 2915 (2009)), この手法を用いることで、分子選択的な捕捉能の付与について検討した。ターゲット分子は、実際の水質悪化に寄与する物質（本研究を通して明らかにする）を選択するが、イオン交換基の導入も可能であるため、重金属もそのターゲットに含むことが可能である。いずれにしても希薄成分であることから、分子選択性の付与は必須である。

- (4) 光触媒とエポキシ樹脂多孔体のハイブリッド化について検討し、多孔質内の毛管現象による「流れ」で棒先端に移動した物質の光分解が可能かの検討

①・**光触媒のハイブリッド化と光分解自浄機能の検討**

エポキシ樹脂多孔体棒を水に挿した場合、水は棒上端まで上昇し蒸散する。従って、保持された物質も分解物も時間差はあれ、棒上部に移動する。これを放置すればいわゆる破瓜となるが、棒先端および光の当たる部分に光触媒を導入することで、これらの物質を分解すれば、循環型の浄化システムが可能となる。要素法は既に開発済みであり、(細矢他 特願2007-36331(2007年2月16日)) エポキシ樹脂多孔体とハイブリッド化することで、酸化チタンや硫化亜鉛を混入させ、その機能について検討を実施した。

4. 研究成果

方法に挙げた項目に従って研究成果を示す。

- (1) ジエポキシ化合物とジアミンの組合せ、重合条件等を種々変化させ多孔体の細孔構造制御を行い、棒状あるいは板状の共連続構造エポキシ樹脂多孔体を調製する手法の確立。

①・**ジエポキシ化合物とジアミンの組合せ、重合条件制御に基づく細孔構造制御**

② ▪ 棒状あるいは板状の形状をもつ共連続構造エポキシ樹脂多孔体の調製

図1に示すように、異なるモノマーの組み合わせにより、細孔構造、および全体の形状を変化させて共連続体を得ることが可能となった。

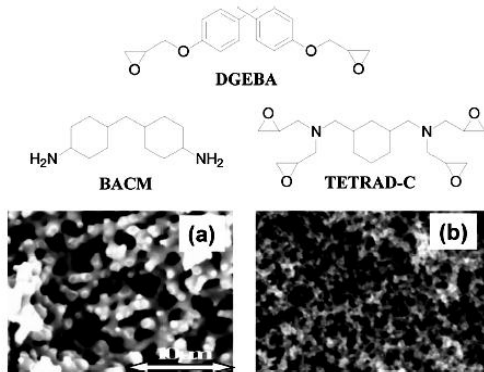


図1 モノマーとポリマー構造

また、元素分析により、妥当なポリマーが得られていることを確認した。

(2) エポキシ樹脂多孔体の抗菌機能の解明とその最適化

- ① ▪ 抗菌機能のメカニズム解明
- ② ▪ 抗菌機能の最適化
- ③ ▪ 細孔径に基づく種選択的な抗菌機能発現の可能性についての検討

基本的にポリマーに含まれるN原子の割合が高い方が、抗菌性の発現が高いことが明らかとなった。また、その中でもNを4級化することにより、抗菌機能は飛躍的に増大した。

図2に4級化に用いたハロゲン化アルキルによる影響を示すが、4級化に用いたハロゲン化アルキルのアルキル鎖長が長くなるほど、高い抗菌機能(図中での菌数の減少)が発現することが明らかとなった。これは、細胞膜かく乱の抗菌機構と矛盾しない結果である。

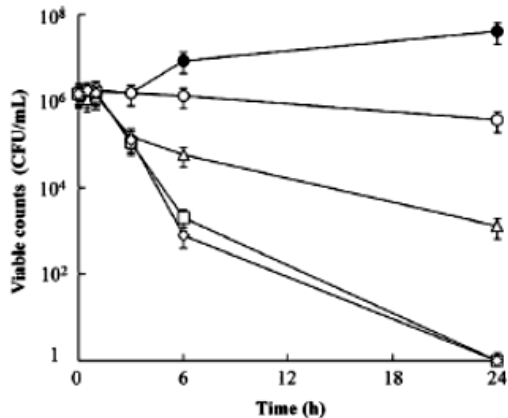


図2 アルキル基と菌数減少状況 (●コントロール, ○メチル, △エチル, □

ブチル, ◇オクチル)

また、4級化に用いる酸の抗菌機能への影響を図3に示すが、塩酸△を用いたとき、際だって迅速な菌数の低下、つまり、抗菌機能の発現が確認された。初期速度で比較すると塩酸>臭素>ヨウ素の結果となったが、24時間ではそもそも抗菌性のあるヨウ素が臭素を上回る結果となった。

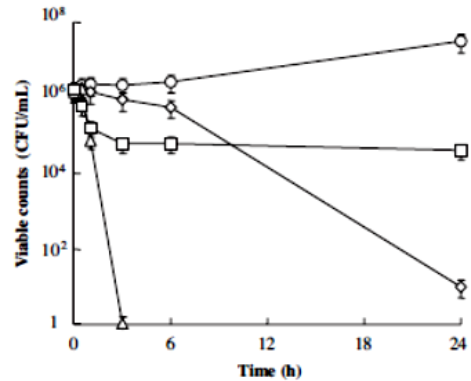


図3 用いた酸と菌数減少状況 (○コントロール, △HCl, □HBr, ◇HL)

この原因を詳細に検討したところ、図4に示すように、塩酸を用いた場合には、大腸菌溶液中のpH(図中では●)が急激に低下し、このことで菌数が一気に低下したものと考えられる。図中では、菌数の減少割合をバー表記しており、バーが高い方で抗菌能が高い事を意味している。

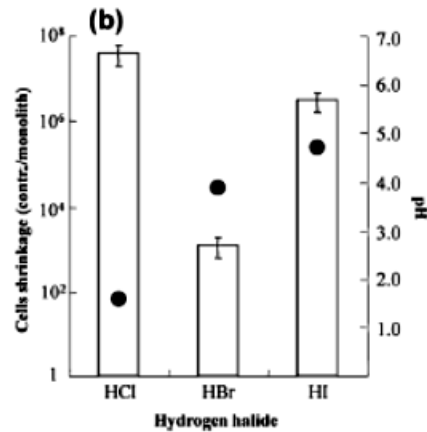


図4 pHと菌数減少割合 (●がpH)

上記の結果から、2つの抗菌機構に基づく抗菌機能の最適化に成功したと考えている。なお、現段階で、細孔径と菌選択性についての検討には妥当な結果を得るに至っていない。

(3) 疎水性有機化合物, 親水性天然物, 重金

属等の環境汚染物質を水中や気相から捕捉することが可能な多孔体「表面」の認識部位（疎水性、親水性、イオン交換機能）の構築

- ① ▪ 疎水性有機化合物, 親水性天然物に対する保持能の検討
- ② ▪ 分子選択性の付与

表面分子インプリント法の妥当性を検討した結果、ビスフェノール A, ポリ塩素化ビフェニル, 多環芳香族などの疎水性物質, および, 貝毒や, 抗うつ剤などの親水性の高い化合物, いわゆる PPCPs に対する選択的捕捉能, また, ベンゼン, トルエン, クロロホルムなどの揮発性有機溶剤に対する選択的捕集能の発現を確認することが出来た。

これらは極めて広範囲にわたる化合物であり, 申請者が示した分子認識発現機構の一般論が多く化合物の捕捉に有効であることを示せたものと考えている。今後, 様々な物質に対する応用を計画している。

- (4) 光触媒とエポキシ樹脂多孔体のハイブリッド化について検討し, 多孔質内の毛管現象による「流れ」で棒先端に移動した物質の光分解が可能かの検討

図5に示すように, 酸化チタンを光触媒に用いて, モデル化合物としてメチレンブルーを用いて行った光分解挙動の検討では, メチレンブルーが光照射により繰り返し固体表面で分解可能であることが示された。図中▲が固体表面上の酸化チタンによる分解挙動

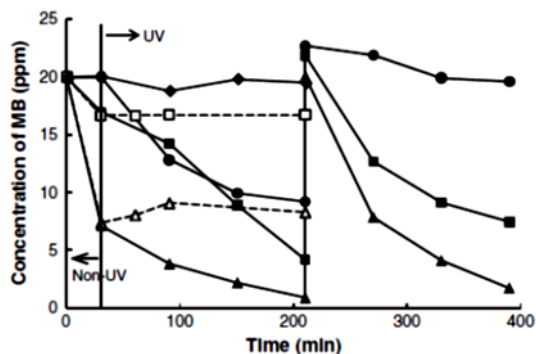


図5 酸化チタンによる光分解挙動

上記の結果を総合して, 図6に示すように, 毛細管現象で水を自発的に吸水し, サイホンの原理で動力を用いずに水を連続的に浄化するシステムの開発に成功した。浄水の分析では, 汚染水の中に含まれていた有機物質を有意に吸着除去し, また, 浄水中には菌体が発見されないことが明らかとなった。



図6 動力を用いない浄水システム

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17件)

- ① ▪ T. Kubo, K. Yasuda, Y. Tominaga, K. Otsuka, and K. Hosoya, Antibacterial Activities Effectuated by Co-continuous Epoxy-based Polymer Materials. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 107, 53 - 58 (2013). 査読有
DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.01.043
- ② ▪ K. Hosoya, Simple LC using New Macroporous Polymers *Chromatography*, 34, No. 1, 1 - 22 (2013). 査読有
http://chromsoc.jp/Journal/pdf/34-1_1.pdf
- ③ ▪ Y. Watabe, T. Kubo, T. Tanigawa, Y. Hayakawa, K. Otsuka, and K. Hosoya Trace level determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river water with automated pretreatment HPLC. *J. Sep. Sci.*, 2013, 36, 1128 - 1134 (2013). 査読有
DOI: 10.1002/jssc.201201096
- ④ ▪ T. Tanigawa, T. Kubo, and K. Hosoya, Specific chromatographic retentions on polymer pore-surface of macroporous spongy monoliths. *Chem. Lett.*, Vol.41, No.10, pp.1265-1266, (2012). 査読有
DOI: 10.1246/cl.2012.1265
- ⑤ ▪ Y. Tominaga, T. Kubo, K. Yasuda, K. Kato, K. Hosoya,

Development of Molecularly Imprinted Porous Polymers for Selective Adsorption of Gaseous Compounds.

Micropor. Mesopor. Mater. 156, 161 - 165 (2012). 査読有

DOI: 10.1016/j.micromeso.2012.02.020

- ⑥ ▪ T. Takahashi, K. Odagiri, A. Watanabe, C. Watanabe, T. Kubo, and K. Hosoya, Solid phase extraction element based on epoxy polymer monolith for determination of polar organic compounds in aqueous media. *J. Separation Sci.*, 34, 2925 - 2932 (2011). 査読有
DOI: 10.1002/jssc.201100409
- ⑦ ▪ Y. Tominaga, T. Kubo, and K. Hosoya, Surface Modification of TiO₂ for Selective Photodegradation of Toxic compounds. *Catalysis Communications*, 12, 785 - 789 (2011). 査読有
DOI: 10.1016/j.catcom.2011.01.021
- ⑧ ▪ T. Kubo, Y. Tominaga, K. Yasuda, S. Fujii, F. Watanabe, T. Mori, Y. Kakudo, and K. Hosoya, Spontaneous water cleanup using epoxy-based polymer monolith. *Anal. Methods*, 2010, 2, 570 - 574 (2010). 査読有
DOI: 10.1039/C0AY00102C

[学会発表] (計 5 7 件)

- ① ▪ High selective separation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) by the molecularly imprinted polymer adsorbents
T. Kubo, K. Hosoya, K. Otsuka, PITTCON2013, Philadelphia (USA), 16, March 2013 (Poster)
- ② ▪ 機能性高分子多孔体の開発とクロマトグラフィー分析の簡便化
細矢 憲, 第 23 回クロマトグラフィー科学会議, 岐阜, 2012 年 11 月 (受賞講演)
- ③ ▪ 官能基間距離認識を利用した親水性化合物の選択的な捕捉
安田紘治, 久保拓也, 細矢 憲, 大塚浩二, 第 19 回クロマトグラフィーシンポジウム, 東京, 2012 年 5 月 24 日 (ポスター)
- ④ ▪ 抗菌性を有する新規多孔性高分子の開発
安田紘治, 久保拓也, 細矢 憲, 第 33 回日本バイオマテリアル学会大会, 京都, 2011 年 11 月 15 日 (口頭)
- ⑤ ▪ Basic study of macroporous spongy monolith on HPLC separation and its

application for effective concentration of PAHs

T. Kubo, T. Tanigawa, K. Kato, Y. Watabe, Y. Tanaka, K. Hosoya, HPLC2011, Budapest (Hungary), 20, June 2011 (Poster)

- ⑥ ▪ New monolithic chromatographic materials based on organic polymers
K. Hosoya, FRONTIER-2010, Albi (France), 16, December 2010 (Invited Speaker)
- ⑦ ▪ 抗菌効果を有する新規高分子多孔質体の開発
安田紘治, 久保拓也, 細矢 憲, 資源・素材学会東北支部秋季大会, 仙台, 2010 年 11 月 19 日 (口頭)
- ⑧ ▪ みちかな水環境のための高分子多孔質体の開発
細矢 憲, 第 21 回クロマトグラフィー科学会議, 西宮, 2010 年 10 月 16 日 (招待講演)

[その他]

ホームページ等

- ① ▪ <http://www.kpu.ac.jp/cmsfiles/contents/0000001/1645/13.pdf>
- ② ▪ <http://chromsoc.jp/Secretariat/pdf2/profile2012.pdf>
- ③ ▪ http://www2.kpu.ac.jp/life_environ/poly_mat_design/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細矢 憲 (HOSOYA KEN)

京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・教授

研究者番号 : 00209248