

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2013～2016

課題番号：25340097

研究課題名（和文）表面吸着因子の解析による生分解性材料の生分解性制御に関する研究

研究課題名（英文）Study on suppressing the biodegradability of biodegradable polymers

研究代表者

山野 尚子（YAMANO, Naoko）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・主任研究員

研究者番号：20358279

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,900,000円

研究成果の概要（和文）：生分解性材料の生分解性を制御することを目的として種々の官能基で修飾したポリマーを作成し評価を行った。作成したポリマーの生分解性の違いは付加された官能基による表面構造に由来する疎水性親水性に起因すると考えられた。生分解性抑制効果は界面活性剤の共存で消失させることが可能であった。これらの生分解抑制は実験室内だけでなく土壌海洋などの環境中でも効果があることを確認した。今後ポリマーの構造および使用環境を選択することにより生分解性を制御した材料開発への応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Biodegradable polymers have been developed as green materials. However, when they are used for a long time, long-term stability is important and biodegradability is undesired. Polyamide 4 (PA4) is a biodegradable polymer that can be produced from biomass. Various functional groups were introduced to biodegradable polymers (PA4 and PCL). Hydrophobic groups like long-chain fatty acid as a terminal group suppressed biodegradability of polymers. Adding hydrophilicity with methylation accelerated biodegradation even if the polymer suppressed biodegradability by long-chain fatty acid terminal. The alteration of the hydrophobicity of the polymers was directly related to the suppression of the biodegradability. Polymers that suppressed biodegradability degraded with surfactants.

研究分野：環境材料

キーワード：生分解性材料 生分解性制御 バイオベース ポリアミド

1. 研究開始当初の背景

石油から合成された高分子材料は耐久性があり腐らず安価であるため大量に生産消費されている。その結果、人の生活圏だけで無く海洋深海や極圏での未分解の微少プラスチックの存在が近年報告されるなど、種々の環境問題を引き起こしている。この問題を解決する一つの手段として環境中で生分解する生分解性ポリマーがあり種々の材料が開発されている。しかしながら生分解性は利点である反面、製品として利用する場合はその生分解性が用途を制限する短所にもなり得る。一方、低炭素社会実現のため、石油由来では無くバイオマスからの高分子材料の生産も求められている。社会のニーズが生分解そしてバイオマスへと多様化する中で、「バイオマス由来の生分解しない材料・生分解性を制御可能な材料」の開発が必要である。

2. 研究の目的

我々はポリマーに長鎖脂肪酸を末端付加すると生分解性が制御されることを見いだしている。この技術を基に、ポリマーの構造と生分解性、および、ポリマーと分解に関与する酵素・微生物との関係を、表面吸着の面から解析することによりその機構を解明し、種々のポリマーの生分解速度を任意に制御する技術を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ポリマーの合成および試料調製

ポリアミド4 (PA4)は2-ピロリドンの開環重合により合成した。末端に官能基を持つPA4は開始剤に各種塩化物を用いて合成した。パラホルムアルデヒドで加熱することによりメチロール化を行った。ポリカプロラクトン(PCL)は分子量の異なる二種類のPCL (HMW:和光 Mw 10万、LMW:ダイセル、ブラクセル H1P Mw 2万)を用いた。PCLとステアロイルクロリドをクロロホルム中で反応させメタノールで再沈殿させ精製した。PCL末端へのステアロイル基(C18)の導入率はNMRで確認した。不織布は電解紡糸法で作成した。

(2) 生分解性評価

合成したポリマーの生分解性は活性汚泥および酵素を用いて評価した。JIS K6950に記載されている無機培地に各種ポリマー粉末を分散させ、微生物源としては標準活性汚泥(化学物質評価研究機構)を使用し、BOD測定装置を用いてJIS K6950に準拠した方法にて生分解に伴う酸素消費量を測定することにより生分解試験を行った。PCLの酵素加水分解試験は、PCLにリパーゼ(アマノAK)を加えて45℃で反応させた後、ろ液の全有機炭素量(TOC)を測定し得られた可溶化したポ

リマー量より酵素分解量を求めた。

生体内分解試験はラット(♂、8週齢)の背面を切開し、試料は皮下に電界紡糸により作成した不織布として埋入した。一定期間後に試料を取り出し溶剤で洗浄した後、HFIPによる抽出にてポリマーを回収し、NMRのピーク強度からポリマーの残存量、分解率を求めた。

(3) 各種分析

疎水性は接触角により評価した。トリフルオロエタノールに溶解したポリマー(濃度5mg/ml)、0.05mLをスピンコーターを用いてスライドガラス上にコーティングし、接触角を測定した。

4. 研究成果

(1) 親水疎水性を制御したポリマー

炭素数の異なる脂肪酸、フェニル基、ポリエチレングリコール(PEG)をPA4の末端または中央に持つ構造のポリマーを合成した。末端にC18を持つポリマーは生分解を抑制されたが、長鎖脂肪酸鎖がポリマーの中央部分に位置する場合は生分解を受けた。フェニル基やPEGを付加したポリアミド4では生分解性を抑制する効果は見られなかった。これらの生分解抑制効果は、それぞれのポリマーの接触角から求めた疎水度と相関を持っていた。X線光電子分光分析(XPS)によるポリマー表面の観察を行ったところ、C18を末端に持つPA4ではアセチル基(C2)と比べて、ポリマー表面にメチレン鎖由来の炭素が多く存在する一方、アミド結合由来の窒素の存在比が低くなっており、ポリマー表面に存在するC18が疎水度および生分解抑制に関与していることが示された。生分解が制御されたC18PA4とパラホルムアルデヒドを反応させメチロール化を行い、ステアロイル基とメチロール基を持つポリマーを作成した。パラホルムアルデヒド量を変えることによりメチロール化度の異なるポリマーを合成した。PA4の末端にステアロイル基を導入すると生分解が抑制されたが、生分解抑制効果があるメチロール基を導入すると、その導入率に応じて親水性が増し、逆に生分解が促進されるという結果が得られた。しかしメチロール基の導入率がさらに上がると、生分解は抑制された。同様の結果がベンゾイル基を導入したPA4(BPA4)でも得られた。

PCLに関しては、分子量の異なる二種類のPCLを用い、ステアロイルクロリドをクロロホルム中で反応させ、C18PCLを合成し、末端への導入率はNMRで確認した。PA4の場合はステアロイル基の導入率はほぼ100%であるのに対し、PCLでは導入率は反応条件に依存し10-60%程度であり、その導入率に応じてポリマーの酵素加水分解が抑制された。

C18PCLの物性試験を行った結果、引張強度は元のPCLと変わらず、強度への影響は無かった。

(2) 評価法

吸着能を評価するため水晶発振子マイクロバランス測定法(QCM)と酵素活性を利用する方法を検討した。QCMによる吸着能評価は、電極上のポリマーの表面積を大きくすることによる改善を試みたが、吸着量が少なく定性的な評価は可能であったが定量的に評価することは難しかった。ポリマーに吸着したタンパク質を酵素活性で評価することを検討した。ポリマーにはPA4とナイロン6を用いプロテアーゼの吸着と酵素活性を測定した結果、PA4はナイロン6と比べるとタンパク吸着量が多くまた吸着された酵素は活性を残していた。C18を付加したC18PA4のタンパク吸着量、酵素活性はPA4より低かった。

(3) 分解試験

PA4およびC18PA4の実環境(土壌、海洋、生体内)での分解試験を行った。PA4は土壌や海洋中でも容易に生分解されたが、末端にC18を持ち表面構造が異なるC18PA4は環境中でも生分解が抑制されていた。生体内でのPA4の生分解試験はラットの背面皮下の不織布を埋入、回収したポリマーをNMR分析しその重量を求めた。その結果環境中だけでなく生体内でもPA4が生分解されること、C18PA4の生分解は抑制されていることを確認した。しかし生体内の生分解はポリマーの形状に大きく影響されるため今後より詳細に検討する必要がある。

(4) 界面活性剤の効果

生分解性ポリマーの末端に長鎖脂肪酸を付加することにより生分解性が抑制されその効果はポリマーの疎水度と相関を持つという結果が得られているため、生分解系に界面活性剤を共存させその効果を検討した。具体的にはC18PA4を活性汚泥、土壌、海水で分解試験する際にアニオン界面活性剤を添加した。その結果、界面活性剤を添加することにより生分解が抑制されていたC18PA4が生分解されるという結果を得た。両性イオンのCHAPS、非イオン系のTween40でC18PA4は生分解される結果となり、界面活性剤の効果は普遍性を持つことを明らかにした。一方、同じくアニオン系でもベンゼンスルホン酸は効果が弱くカチオン系のジメチルジステアリルアンモニウムクロリドでは効果は認められなかった。またこの効果はPA4だけでなく生分解が抑制されたC18PCLも界面活性剤添加により生分解された。PA4と同じく活性汚泥・海水・土壌分解の他、リパーゼを用いた酵素分解試験でも効果が認められた。

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4件)

N. Yamano, N. Kawasaki, M. Oshima and A. Nakayama. "Polyamide 4 with long-chain fatty acid groups Suppressing the biodegradability of biodegradable polymers." *Polym. Degrad. Stability*, 査読有, 108, 116-122 (2014)
DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.02.004>

H. Ando, N. Kawasaki, N. Yamano, K. Uegaki, A. Nakayama "Biodegradation of a poly(ϵ -caprolactone-co-L-lactide) visible-light-sensitive TiO₂ composite with an on/off biodegradation function." *Polym. Degrad. Stab.*, 査読有, 114, 65-71 (2015)
DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.02.003>

N. Yamano, N. Kawasaki, A. Nakayama. "Polyamide4-block-poly(vinyl acetate) via a polyamide4 azo macromolecular initiator: Thermal and mechanical behavior, biodegradation, and morphology." *J. Appl. Polym. Sci.*, 査読有, 132, 42466 (2015)
DOI: 10.1002/app.42466

N. Yamano, N. Kawasaki, S. Ida, Y. Nakamyama, A. Nakayama, "Biodegradation of polyamide 4 in vivo." *Polym. Degrad. Stab.*, 査読有, 137, 281-288 (2017)
DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.02.004>

[学会発表](計16件)

山野、川崎、中山 ポリアミド4の生分解とその制御、第2回 JACI/GSC シンポジウム 2013.6.7 メルパルク大阪(大阪府大阪市)

中山、川崎、山野 ポリアミド系コポリマーの生分解性、第2回 JACI/GSC シンポジウム 2013.6.7 メルパルク大阪(大阪府大阪市)

中山、川崎、山野、上垣、田所、弓場 2-ピロリドンを含むコポリエステルアミドの生分解、第62回高分子討論会 2013.9.12 金沢大学(石川県金沢市)

中山、川崎、山野 Control of biodegradation of polyesters, 4th International Conference on Biobased Polymers 2013.9.27 Hangyang Institute of Technology (ソウル、韓国)

中山、川崎、山野、中村、上垣 Biodegradation and stability of biobased polyamide 4 International Symposium for Green-Innovation Polymers 2014.3.6 近江町交流プラザ(石川県金沢市)

山野、川崎、中山 生分解性ポリマーの生分解性制御、日本農芸化学会 2014 年度大会

2014.3.28 明治大学(神奈川県川崎市)
中山、川崎、山野、上垣 ポリ乳酸コポリ
マーステレオコンプレックスの生分解、日本
農芸化学会 2014 年度大会 2014.3.28 明治
大学(神奈川県川崎市)

山野、川崎、中山 生分解性材料であるポ
リアミド4の生体内分解性を安全性評価、高
分子討論会 2014.9.24-26 長崎大学(長崎県
長崎市)

中山、川崎、山野、上垣 コポリ(L-乳酸/
グリコール酸)のステレオコンプレックスの
生分解性、日本農芸化学会 2015 年度大会
2015.3.27-29 岡山大学(岡山県岡山市)

安藤、中山、山野、川崎、上垣 生分解の
ON/OFFを切り替え可能にしたポリマー系ナノ
コンポジットの開発、日本農芸化学会 2015 年
度大会 2015.3.27-29 岡山大学(岡山県岡
山市)

山野、川崎、中山 生分解性ポリマーの修
飾による生分解性の制御、高分子学会年次大
会 2015.5.27 札幌コンベンションセンター
(北海道札幌市)

川崎、山野、中山、上垣 ポリアミド4
-block-ポリ酢酸ビニルの合成と物性、高分子
学会年次大会 2015.5.27 札幌コンベンシ
ョンセンター(北海道札幌市)

山野、川崎、中山 ポリアミド4の各種環
境での生分解、日本農芸化学会 2016 年度大会
2016.3.28 札幌コンベンションセンター(北
海道札幌市)

川崎、山野、中山 バイオ材料への応用を
目指したポリアミド4、JST 産総研新技術説
明会 2016.5.26 JST 東京本部別館(東京都)

山野、川崎、中山 生分解性を持つバイ
オベースポリマー:ポリアミド4、第5回
JACI/GSCシンポジウム 2016.6.3 ANA クラ
ウンプラザホテル神戸(兵庫県神戸市)

川崎、山野、中山 ポリアミド4-6 共重合
体の合成、物性、生分解性、第5回 JACI/GSC
シンポジウム 2016.6.3 ANA クラウンプラ
ザホテル神戸(兵庫県神戸市)

〔図書〕(計1件)

中山、川崎、山野 シーエムシー出版 進化
する医療用バイオベースマテリアル 2015
43-49

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称:ポリアミド4またはその共重合体を含
む医療材料及び使用
発明者:山野、川崎、中山
権利者:産総研
種類:特許権
番号:特願 2014-164681

出願年月日:2014.8.13

国内外の別:国内

名称:生分解性樹脂の樹脂組成物、分解制御
方法及び分解制御剤

発明者:安藤、中山、山野、川崎、上垣、黒
田

権利者:産総研、昭和電工

種類:特許権

番号:特願 2014-179975

出願年月日:2014.9.4

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山野 尚子(YAMANO Naoko)

産業技術総合研究所・バイオメディカル研
究部門・主任研究員

研究者番号:20358279

(2)研究分担者

中山 敦好(NAKAYAMA Atsuyoshi)

産業技術総合研究所・バイオメディカル研
究部門・主任研究員

研究者番号:10357676

川崎 典起(KAWASAKI Norioki)

産業技術総合研究所・バイオメディカル研
究部門・主任研究員

研究者番号:70344158