

メタクリルアミドと  $\epsilon$ -カプロラク톤の共重合体の合成と生分解性可児 浩，中山 敦好\*，川崎 典起\*  
相羽 誠一\*，山本 襄\*Synthesis and biodegradation of poly (methacrylamide-  $\epsilon$ -caprolactone)Hiroshi KANI, Atsuyoshi NAKAYAMA\*, Norioki KAWASAKI\*  
Sei-ichi AIBA\*, Noboru YAMAMOTO\*

## 抄 録

生分解性プラスチックは、環境問題などへの対策のひとつとして近年注目を集めている。しかし現在市販されているものは必ずしも價格的、物性的に満足できるものとは言えない。

今実験ではそれらの改良を目的として、比較的安価なモノマーであるメタクリルアミドと  $\epsilon$ -カプロラクトンより新規コポリエステルアミドを合成し、キャラクタリゼーションを行った。またそれらの生分解性についても評価試験を行った。

その結果、今回合成したポリマーは目的としたコポリエステルアミドであり、生分解性を持つことがわかった。

## 1. はじめに

プラスチックの使用量は年々増加し、それに従って廃棄量も増加してきている。しかしプラスチックは金属、ガラスに比べかさ高いため、埋め立て廃棄する場合は場所の確保や経費がかさむなどの問題が起こる。また焼却処理の場合にも燃焼熱が大きいため焼却炉の寿命を縮めたり、ダイオキシン等の有毒ガスの発生源になるなどの問題が発生する。さらに、使用済みのプラスチックが完全に回収されずかなりの量が自然環境下に散乱し蓄積されており、特に海洋に流出したプラスチックは海洋環境の美観を損なうだけでなく海洋生物にも被害を与えるようになってきている。これらの問題により欧米においては非分解性プラスチックの使用に対する規制を強めている。このようなプラスチック廃棄物の問題に対する対策の一つとして、プラスチックのリサイクルなどと共に環境への影響が小さいと考えられるプラスチック、すなわち微生物などにより容易に分解される生分解性プラスチックの開発が進められている。

生分解性プラスチックは既に数種が市販されており、一部

それらを使用した製品も出回ってきている。しかしながら現在市販されているプラスチックは必ずしも物性的に満足できるものではなく、また価格も汎用ポリマーに比べ高い。これらの問題点を改良するために、例えば価格面では安価なモノマーを使用することや、物性面ではホモポリマーでは満足できない点を他モノマーとの共重合により改善する等の試みがなされている。また、もう一つの重要な性能である生分解性プラスチックの分解性の評価はいくつかの方法<sup>1)</sup>により行われているが、その定量的な評価は難しく、まだ確立されているとは言い難い。例えば活性汚泥による生分解性試験はJIS<sup>2)</sup>およびASTM<sup>3)</sup>共に規定されている唯一の手法であるがその詳細は若干異なっている。

今実験では生分解性の合成高分子である新規コポリエステルアミドをメタクリルアミドおよび  $\epsilon$ -カプロラク톤を出発原料に水素移動開環重合により合成しキャラクタリゼーションを行うとともに、その生分解性を17.0ノスカピリパーゼおよび豚肝臓エステラーゼによる酵素加水分解法で評価した。また、その他のモノマーを用い合成した数種のコポリエステルアミド、コポリエステルについても、上記酵素加水分解試験および活性汚泥法による分解性評価を行った。

なお、本実験は中小企業企業技術指導員養成課程の一環と

\*工業技術院大阪工業技術研究所

して、工業技術院大阪工業技術研究所において行ったものである。

## 2. 実験方法

### 2.1 試薬

メタクリルアミド (MAA) は酢酸エチルに溶解後再結晶し用いた。 $\epsilon$ -カプロラクトン (CL) は減圧蒸留し用いた。開始剤の *n*-ブチルリチウム (*n*-BuLi), トリエチルアルミニウム ( $AlEt_3$ ), 水素化カルシウム ( $CaH_2$ ) は市販品をそのまま用い、*tert*-ブタノール (*tert*-BuOH) は蒸留し用いた。生成コポリマーの分別に用いたジエチルエーテル, 石油エーテル, ギ酸, クロロホルム, メタノールは市販品をそのまま用いた。触媒は主に *n*-BuLi と  $AlEt_3$  の 1 : 1 反応物を用いたが, その他  $CaH_2$ , *n*-BuLi, *n*-BuLi と *tert*-BuOH の 1 : 1 反応物も用いた。

### 2.2 装置

$^1H$  および  $^{13}C$  NMR はクロロホルム-*d* ( $CDCl_3$ ) または 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP) を溶媒として NMR (JOEL, JNM A-500,  $^1H$ : 500 MHz,  $^{13}C$ : 125 MHz) により測定した。赤外吸収スペクトル (IR) 測定は KBr 錠剤法または NaCl 結晶板上に試料を塗布し FT-IR (Nicolet, 710) により測定した。全有機性炭素量 (TOC) および無機性炭素量 (IC) は TOC 測定装置 (島津製作所, TOC-5000) により測定した。分子量はポリスチレンを標準に GPC (カラム: 東ソー TSKgel G3000H<sub>XL</sub>, G4000H<sub>XL</sub>) により求めた。

### 2.3 重合方法

重合は攪拌機, 塩化カルシウム管をつけた四つ口フラスコ中でアルゴン雰囲気下攪拌しながら行った。モノマーをフラスコに入れ攪拌しながら加熱し, MAA の融解後に触媒 (モノマー比 1 mol%) を加え, 150℃まで昇温し 4 時間反応を行った後降温した。このとき一部のサンプルには触媒失活を目的

に触媒相当量の酢酸を加えた。続いて反応物をクロロホルムまたはギ酸に溶解し, ジエチルエーテル, 石油エーテルを含むジエチルエーテルまたはメタノールで再沈殿させた。このポリマーをジエチルエーテル, 石油エーテル, メタノールまたは水で数回洗浄後真空乾燥しコポリマーを得た。

### 2.4 酵素加水分解

リン酸緩衝液 ( $KH_2PO_4/Na_2HPO_4$ , pH7.0) 2ml 中に合成したポリマー 25mg を分散させ 24 時間浸漬してリン酸緩衝液になじませたあと, リパーゼ (① *Rhizopus arrhizus* lipase, Boehringer Mannheim 社製, ② *Rhizopus delemar* lipase, 生化学工業社製, ③ *Candida cylindracea* lipase, 生化学工業社製, 各 250 units) またはエステラーゼ (豚肝臓由来, Boehringer Mannheim 社製, 100 units) を加え, 37℃で 24 時間静置して加水分解させた。0.2  $\mu$ m のテフロンフィルターによるろ過後水溶性分解物を TOC 測定装置で定量した。実験は 2 サンプルで行い, その平均値から酵素を入れないものおよび酵素のみの値を対照値とし, それらを差し引いて TOC 値とした。

### 2.5 活性汚泥による分解

Fig.1 に活性汚泥による分解試験装置のフローシートを示した。培養槽に培地 ( $KH_2PO_4$ : 17.0mg,  $K_2HPO_4$ : 43.5 mg,  $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ : 66.8mg,  $NH_4Cl$ : 3.4mg,  $MgSO_4$ : 22.5mg,  $CaCl_2$ : 27.5mg,  $FeCl_3$ : 1.0mg,  $(NH_4)_2SO_4$ : 40.0mg を蒸留水に溶解し 1l としたもの) 500 ml を入れポリマー 0.1g を分散させ, (財) 化学品検査協会より提供された標準活性汚泥 30ml を加え, 攪拌 (200rpm) しながら脱  $CO_2$  した空気で曝気 (30ml/min) を行い, 培養槽の排気をアルカリトラップ (0.025N NaOH 水溶液) に通しポリマーの分解によって発生した炭酸ガスを捕捉した。所定期間経過後アルカリトラップ中の無機性炭素量 (IC) を TOC 測定装置で定量した。その値からポリマーを入れない対照値を差し引いて IC 値とした。

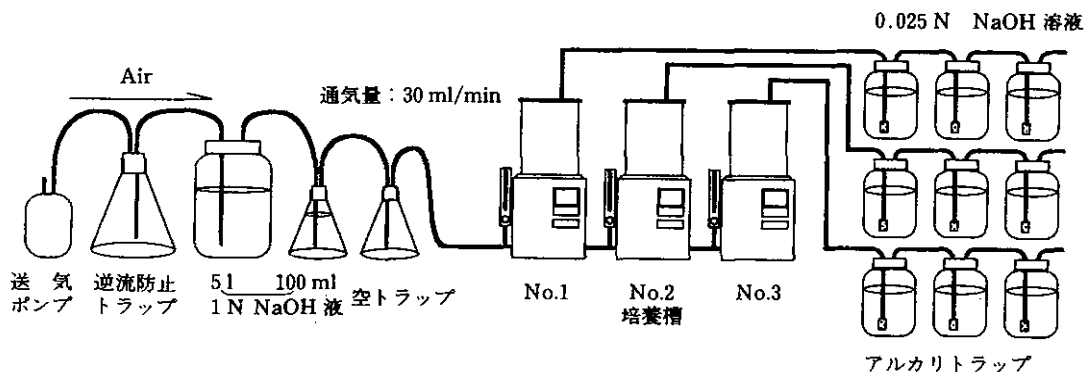


Fig.1 活性汚泥による分解試験装置のフローシート

## 3. 実験結果および考察

## 3.1 ポリマーの性質

今回の実験で合成したコポリマーを Table 1 に示した。これらのコポリマーは一部を除き精製時の真空乾燥により  $\text{CHCl}_3$  に難溶または不溶となり、それらについては GPC による分子量測定を行うことは出来なかった。 $\text{CHCl}_3$  に難溶または不溶となったポリマーの組成比は一部を除き赤外吸収スペクトルのエステルおよびアミドに起因するピークの強度比によって定量した。Fig.2 にポリマー（仕込みモル比：MAA/CL=30/70，触媒： $n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$ ）の赤外吸収スペクトルの一例を示した。1732 $\text{cm}^{-1}$  にエステル結合，1670 $\text{cm}^{-1}$  にアミド結合に起因する鋭い吸収が認められる。さらに重合反応（仕込みモル比：MAA/CL = 30/70，触媒： $n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$ ）中一定時間経過ごとに反応槽内から少量をサンプリングし

NMR 測定を行い，モノマーおよび反応生成物の経時変化を調べた。Fig.3 に反応開始から 4 時間経過後の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル，Fig.4 に経時変化の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを示した。Fig.3 のスペクトル中 2.35ppm 付近に CL のダイアドヘテロの  $\alpha$  メチレン，4.2ppm 付近に CL ダイアドヘテロの  $\epsilon$  メチレンが観測され，CL-MAA，MAA-CL の交差結合が存在することから共重合が起こっていることが確認できた。

Fig.4 に示したように反応開始後 10 分で  $\epsilon$ -カプロラクトンモノマーに起因する 1.8ppm，2.6ppm および 4.2ppm のシグナルは消失する。それに対し MAA モノマーに起因する 2.0ppm，5.4ppm 及び 5.8ppm のシグナルは徐々に弱くなり，4 時間の反応時間終了時にも観測することが出来た。このときの反応時間とモノマー転化率の関係を Fig.5 に，コポリマー中の MAA 含率および CL 平均連続鎖長の関係を Fig.6 に示した。また  $^1\text{H}$  および  $^{13}\text{C}$  NMR 測定より，反応系

Table 1 MAA と CL の共重合生成物

Feed MAA/CL(mol%)	Cat.	Yield <sup>a)</sup> (%)	Polymer comp. MAA/CL(mol%)
30/70	$n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$	3.7	11/89
70/30	$n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$	3.4	42/58
50/50	$n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$	16.4	19/81
50/50	$\text{CaH}_2$	39.0	18/82
50/50	$n\text{-BuLi}$	32.6	11/88
50/50	$n\text{-BuLi} + \text{tert-BuOH}$	6.4	19/81

a)  $\text{CHCl}_3$  可溶，ジエチルエーテル不溶部

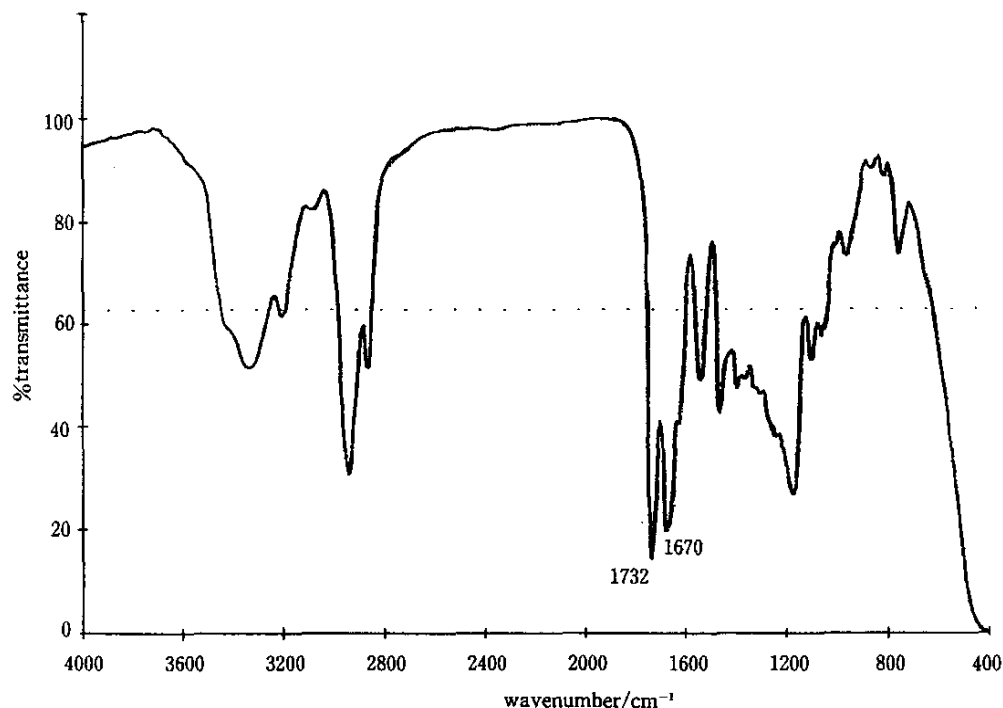


Fig. 2 ポリマーの赤外吸収スペクトル  
仕込みモル比：MAA/CL=30/70，触媒： $n\text{-BuLi} + \text{AlEt}_3$

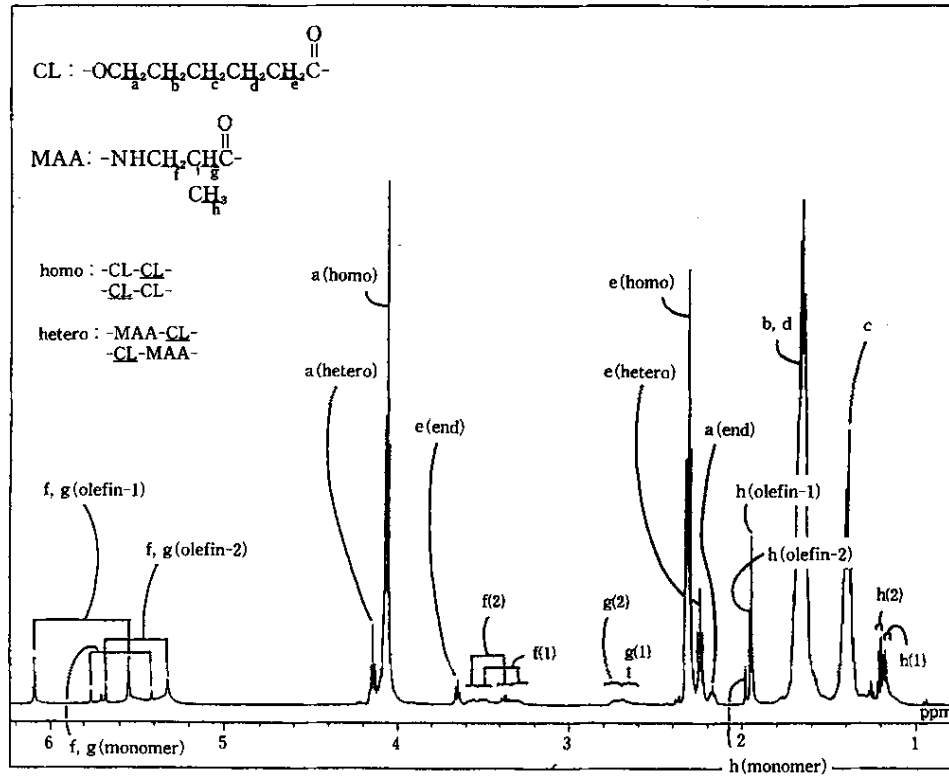


Fig. 3 ポリマーの<sup>1</sup>H NMR スペクトル

反応時間: 4 時間

仕込みモル比: MAA/CL=30/70, 触媒: n-BuLi+AlEt<sub>3</sub>

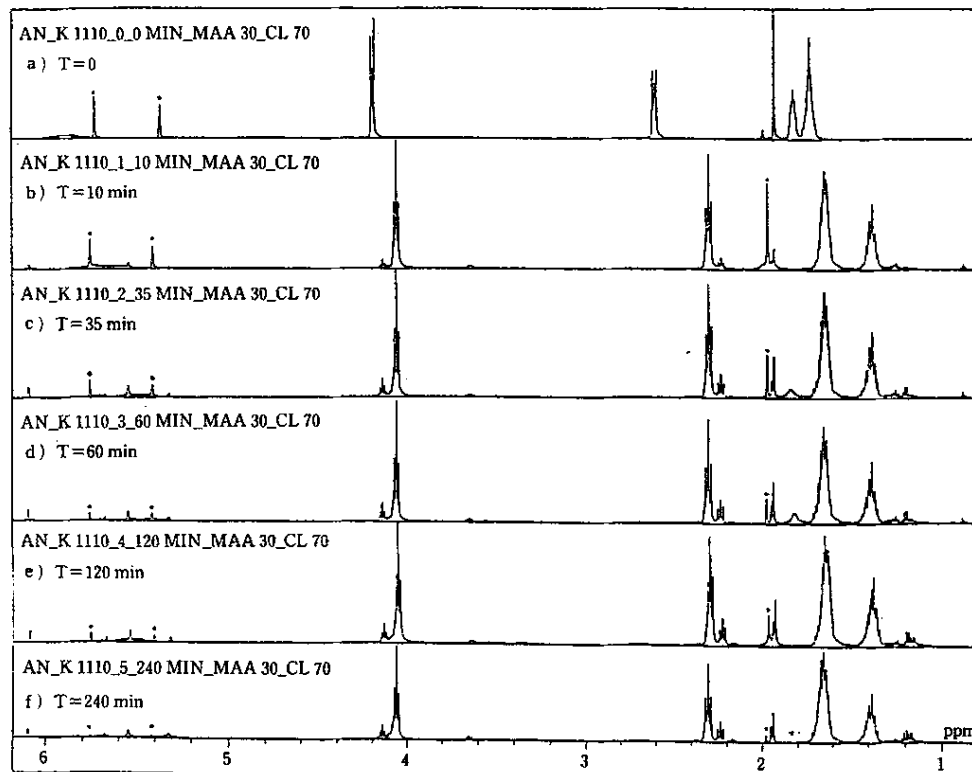


Fig. 4 <sup>1</sup>H NMR スペクトルの経時変化

反応時間: 4 時間

仕込みモル比: MAA/CL=30/70, 触媒: n-BuLi+AlEt<sub>3</sub>

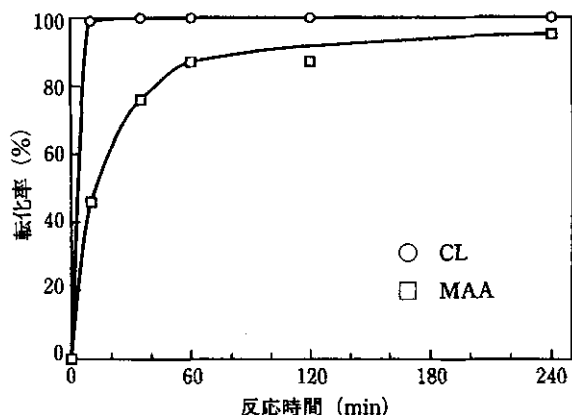


Fig. 5 反応時間とモノマー転化率の関係

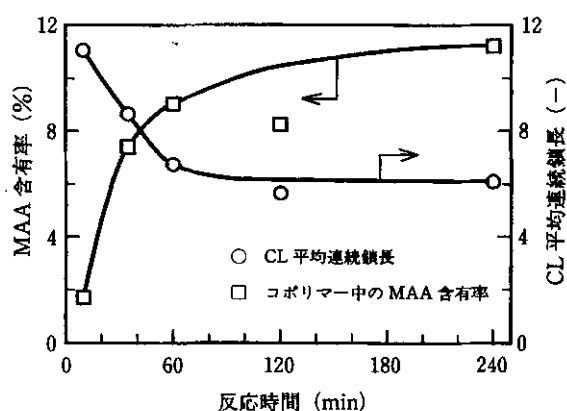
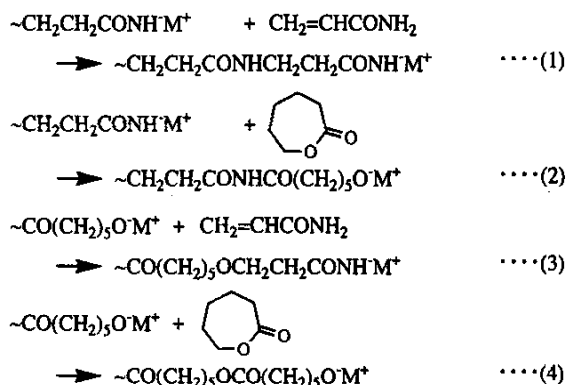


Fig. 6 反応時間とコポリマー中のMAA含有率およびCL平均連続鎖長の関係

中に末端に二重結合を持つオレフィン性生成物がかなりの量確認されたが、これがポリマー末端の二重結合であるか、反応副生成物によるものかは確認できなかった。反応直後にはCHCl<sub>3</sub>可溶であった試料が精製時の真空乾燥によりCHCl<sub>3</sub>に難溶または不溶となるのは、この二重結合が真空乾燥中に架橋していることが示唆される。

MAAと構造が類似しているアクリルアミドとCLの水素移動共重合の成長反応機構はScheme 1に示すように進行



Scheme 1 アクリルアミドとCLの水素移動共重合の成長反応機構<sup>3)</sup>

すると考えられている<sup>3)</sup>。さらにアクリルアミドは一部ビニル重合も行うと考えられる。しかし本実験で得られた試料の<sup>1</sup>Hおよび<sup>13</sup>C NMR測定とDEPT解析の結果、ポリマー分子鎖中にエステルおよびアミド結合は確認できたが、上記機構に従えば存在するはずの第二級酸アミド、エーテル結合および四級炭素は認められなかった。

以上の結果より、MAAとCLの共重合の反応機構は明らかにはならなかったが、目的物のコポリエステルアミドを合成できたことがわかった。

### 3.2 合成したコポリエステルアミドの酵素による生分解性

生分解性の評価法として、酵素により加水分解された水溶性分解生成物を全有機性炭素量(TOC)として測定し評価した。Fig.7にポリマー中のMAA含有率と分解率の関係を示した。酵素による分解性はクモノスカビリパーゼ(*Rhizopus arrhizus* lipase)、エステラーゼともにMAA含有率が15~20%で最大となる。これは次のように考えられる。これらの酵素はエステル結合に作用する酵素でありMAA含有率が高くなると相対的にエステル結合が減り分解率が低下する。またMAA含有率が低下するとエステル結合は増加するが、それに伴い結晶性が増大し、やはり分解率が低下することにより分解率が極大値を持つ。また、今回合成したポリマーのうち、CHCl<sub>3</sub>およびギ酸に溶解しないいわゆるゲル部も酵素加水分解を行った。その結果同程度のMAA含有率の他ポリマーに比べて分解率は低かった。これは分子同士の架橋による分解率低下と考えられる。

### 3.3 その他ポリマーのキャラクタリゼーションと生分解性評価

上記のMAA/CLコポリマー以外のコポリエステルアミドについても酵素分解、活性汚泥分解による生分解性評価を

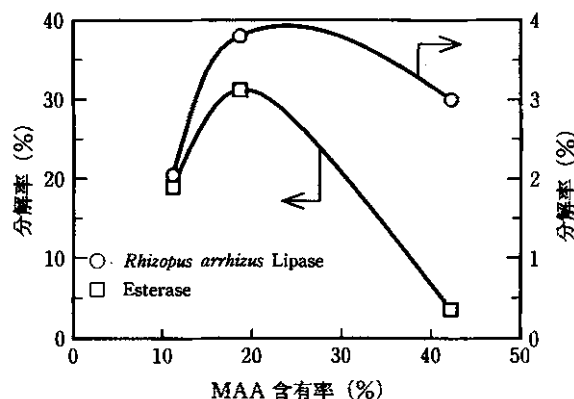


Fig. 7 ポリマー中のMAA含有率と分解率の関係  
 反応温度: 37°C, 反応時間: 24 hr. pH 7, polymer: 25 mg, lipase: 250 units (*Rhizopus arrhizus* lipase) 100 units (esterase)

Table 2 生分解性試験サンプル (コポリエステルアミド)

Monomer	酵素分解	活性汚泥分解
CL/PR <sup>a)</sup>	○	
CL/LLM <sup>b)</sup>	○	○
MVL <sup>c)</sup> /PR	○	
BL <sup>d)</sup> /PR	○	

a) PR:ピロリドン, b) LLM:ω-ラウロラクタム  
c) MVL:β-メチル-δ-バレロラクトン, d) BL:β-ブチロラクトン

行った。それらポリマーの一例を Table 2 に示した。

各種組成比の CL/ピロリドン (PR) コポリマーを各種リパーゼを用いて加水分解試験を行った結果を Fig.8 に、CL/ω-ラウロラクタム (LLM) の加水分解試験結果を Table 3 に示した。分解率に差はあるもののいずれの場合にもこれらのコポリマーがリパーゼにより生分解することがわかった。

次に各種コポリマーをエステラーゼを用い加水分解試験を行った結果を Table 4 に示した。CL/LLM コポリマーはリ

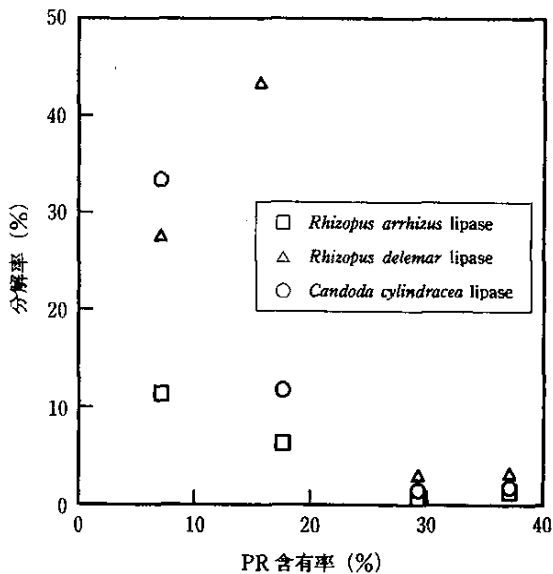


Fig. 8 CL/PR コポリマーのリパーゼによる加水分解試験結果  
反応温度: 37℃, 反応時間: 24 hr. pH 7,  
polymer: 25 mg, lipase: 250 units

Table 3 CL/PR コポリマーの各種リパーゼによる分解性

Composition	R.A.		R.D.		C.C.	
	TOC(ppm)	D(%)	TOC(ppm)	D(%)	TOC(ppm)	D(%)
CL/LLM 65/35	410	4.8	360	4.2	290	3.4
" 48/52	84	1.0	280	3.2	310	3.6
" 20/80	27	0.8	9	0.1	49	0.5

R.A.: *Rhizopus arrhizus* lipase  
R.D.: *Rhizopus delemar* lipase  
C.C.: *Candida cylindracea* lipase  
TOC: 全有機体炭素 (Total Organic Carbon)  
D: 分解率  
条件: pH 7, 37℃, 24 hr., polymer 25 mg, lipase 200 units

Table 4 各種コポリマーのエステラーゼによる分解性

copolymer	composition	TOC (ppm)
MVL/PR	29/71	3000
MVL/PR	16/84	140
BL/PR	8/92	70
CL/LLM	20/80	0
CL/LLM	48/52	0

TOC: 全有機体炭素 (Total Organic Carbon)  
PR:ピロリドン, LLM:ω-ラウロラクタム  
MVL:β-メチル-δ-バレロラクトン, BL:β-ブチロラクトン

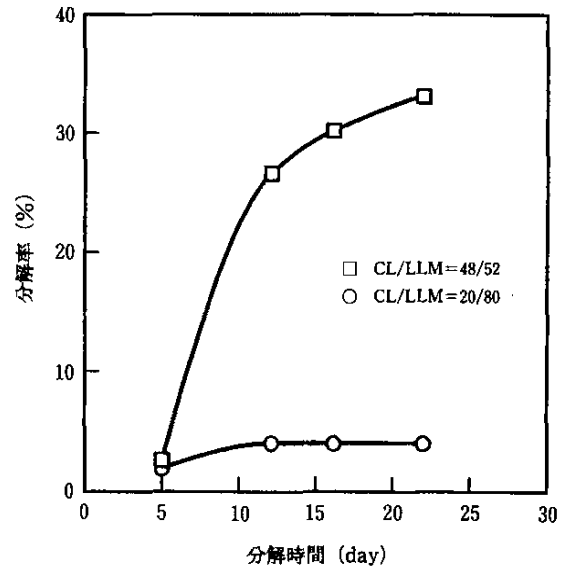


Fig. 9 CL/LLM コポリマーの標準活性汚泥分解試験結果

パーゼでは加水分解を受けたが、エステラーゼでは分解しなかった。

CL/LLM コポリマーについては標準活性汚泥による分解試験を行った。標準活性汚泥分解試験はポリマーが活性汚泥に分解され発生する炭酸ガスを NaOH 水溶液で捕捉し、それを無機性炭素 (IC) として測定し評価した。その結果を Fig. 9 に示した。組成比により分解率に差はあるが、活性汚泥により生分解を受けることがわかった。

以上の結果より今回実験に用いたコポリエステルアミドは

リパーゼにより分解されることがわかった。またエステラーゼによる加水分解試験及び活性汚泥による分解試験においても生分解性を確認することが出来た。

#### 4. まとめ

今実験ではモノマーに  $\epsilon$ -カプロラクトン, メタクリルアミドを用い新規生分解性ポリマーであるメタクリルアミド/ $\epsilon$ -カプロラクトンコポリマーを合成した。各種分析を行った結果, 合成したポリマーはコポリエステルアミドであることが確認できた。また, それらのコポリマーはクモノスカビリパーゼ及び豚肝臓エステラーゼを用いた酵素加水分解試験の結果それらによって酵素加水分解されることがわかった。

さらにその他のモノマーを用い合成したコポリエステルアミドについても各種酵素分解及び活性汚泥による分解試験を行い, それらの生分解性を確認することが出来た。

なお, 最後になりましたが山本襄主任研究官をはじめ今実習を行った機能性高分子研究室の皆様には大変お世話になりました。ここに改めてお礼を申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 例えば矢可部芳州, 合成樹脂, 39, No.5, 15 (1993).
- 2) JIS K6950 - 1994
- 3) ASTM D5209 - 92
- 4) 伊藤, 馬場, 山下, 工業化学雑誌, 68, 115 (1965).