

# 環境適応型分解性ポリエステル酵素分解における温度の影響

堤 主計\* 三好 桃子\* 川崎 叡\*

辻 久巳\*\* 塩見 正樹\*\* 早瀬 伸樹\* 中川 克彦\*

## The Effect of Temperature on Enzymatic Degradation of Environment-adaptable Copolyesters

Chikara TSUTSUMI\*, Momoko MIYOSHI\*, Satoshi KAWASAKI\*,  
Hisami TSUJI\*\*, Masaki SHIOMI\*\*, Nobuki HAYASE\* and Katsuhiko NAKAGAWA\*

We have been investigating about the influence affect degradability on enzymatic degradation of polyester. The factors which influence degradation has temperature, pH, enzymatic concentration, substrate specificity, metal ion, composition, crystallinity, and film thickness etc. and has been investigated about the influence. In effect of temperature, enzymatic degradation of biodegradable polyester has examined at 37°C and 60°C until now. In this work, enzymatic degradation was evaluated in the temperature range of 30°C to 70°C, the temperature dependency of enzyme was also examined. The environment-adaptable degradable polyesters were used poly(ethylene succinate) (PES), poly(butylene succinate) (PBS), poly(butylene succinate adipate) (PBSA), poly(butylene succinate lactate) (PBSL) and poly(butylene adipate terephthalate) (PBAT). Lipase AK, CA and PS were used for enzymatic degradation of degradable polyesters. Lipase was dissolved in 50 mM phosphate buffer (pH 7) at 5 U/mg polymer of concentration, and the solution was exchanged every 40 hours to maintain enzyme activity. PBS, PBSL and PBAT were difficult to be degraded with lipase PS, on the contrary, PES and PBSA were easily degraded such as lipase AK and CA. Furthermore, PBSA disappears completely over 40°C (except for 50°C) at 80 hours. Although the remaining weight of PBSA became half at 40°C for only 20 hours, the initial degradation was very slow at 50°C or 60°C until 20 hours. It is considered that the temperature dependency of lipase is about 40°C, and degradable polyester as PBSA were easily plasticized and hydrolyzed over 40°C.

### 1. 緒言

「軽い、強い、腐らない」特性のため、プラスチック製の容器やフィルム、合成繊維、合成ゴムなどの高分子化合物が石油などの化学資源を原料に安価に大量に生産され、成形加工性にも優れていたこともあり、人々の生活を豊かにしてきた。一方、これら合成高分子化合物の「腐らない」という特性のために様々な問題を引き起こしている。そのため、環境下へ散逸した場合、いつまでも分解されずに残り、環境汚染の要因となる<sup>[1]</sup>。また、従来プラスチックのほとんどが石油などの枯渇性の化石資源を原料としているため、化石資源の大量消費が地球温暖化や異常気象の原因となり、地球環境だ

けでなく、我々の体内の生態環境にも影響を与える大きな問題となっている<sup>[2]</sup>。以上のような問題から、自然環境下あるいは微生物や人体のような生体内において、分解される環境適応型分解性ポリマーの研究が進められている。前者は環境分解性ポリマー、後者は生体吸収性ポリマーとして分類されているが、両者とも安価に製造でき分子構造設計が容易な合成高分子は研究<sup>[3]-[5]</sup>や製品化が多くされており、他に天然由来高分子の特徴を活かし高分子反応により機能性を付加させた材料<sup>[6]-[8]</sup>も展開されている。これらポリマーは生体内外で分解性が評価されている。また、合成したポリマーの分解性を短時間で評価あるいは分解過程を解析するためにリパーゼなどの酵素を用いた酵素分解性も研究されている<sup>[9]-[11]</sup>。

平成27年10月27日受付 (Received Oct.27, 2015)

\*新居浜工業高等専門学校生物応用化学科 (Department of Applied Chemistry and Biotechnology, National Institute of Technology, Niihama College, Niihama, 792-8580 Japan)

\*\*新居浜工業高等専門学校ものづくり教育支援センター (Manufacturing Education Support Center, National Institute of Technology, Niihama College, Niihama, 792-8580 Japan)

ポリマーの酵素分解性は温度<sup>[12]</sup> や pH<sup>[13]</sup> など諸因子がポリマーや酵素に対して影響を及ぼしているために条件によって大きく異なる。

本研究室では環境適応型分解性ポリエステル<sup>[14]</sup>の酵素分解において、ポリマーの酵素分解性に及ぼす諸因子について研究しており、これまでに温度、酵素濃度、基質特異性、金属イオン、組成、結晶性、フィルム厚、pH (緩衝溶液) について検討してきた<sup>[14]-[16]</sup>。

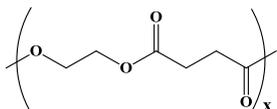
本研究は分解温度の範囲を 30~70°C として酵素分解性を評価し、酵素の温度依存性についても検討することを目的とする。実験では、現在市販されている環境適応型分解性ポリエステルのうちポリエチレンサクシネート (PES)、ポリブチレンサクシネート (PBS)、ポリブチレンサクシネートアジペート (PBSA)、ポリブチレンサクシネートラクテート (PBSL)、ポリブチレンアジペートテレフタレート (PBAT) の 5 種類を用いたリパーゼ AK、CA、PS による酵素分解試験を行った。温度上昇に伴い、加水分解は促進されやすくなるため、酵素を含まない緩衝溶液のみの加水分解試験も同時に実施した。さらに、走査型電子顕微鏡により分解後のサンプル表面を観察し、分解性について評価した。

## 2. 実験

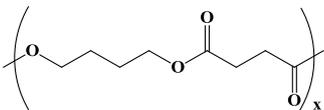
### 2-1. 試料

分解試験に使用した 5 種類の環境適応型分解性ポリエステルを以下に示す。表示は、ポリエステル名略称表記 (構成単位の組成比)、製造社名、商品名 (または略称表記) の順とする。構造式も併記している。

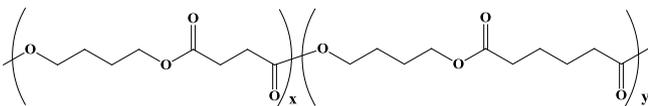
- PES (E/S 比 : 50/50)、(株)日本触媒、ルナーレ SE



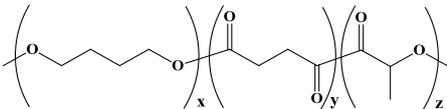
- PBS (B/S 比 : 50/50)、昭和高分子(株)、ビオノーレ 1001



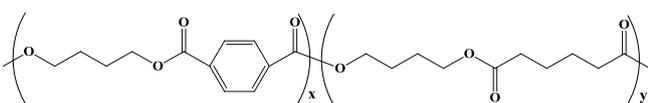
- PBSA (B/S/A 比 : 50/40/10)、同上、ビオノーレ 3001



- PBSL (B/S/L 比 : 48/50/2)、三菱化学(株)、Gspla AZ 91 T



- PBAT (B/A/T 比 : 50/26/24)、BASF、エコフレックス



クロロホルム ((株)トクヤマ製) は、モレキュラーシーブス (3A) (和光純薬工業(株)製) で脱水したものをを用いた。モレキュラーシーブスの脱水能力を上げるために電子レンジやヒートガンにより前処理を行い、脱水・活性化させた。

分解試験に用いた酵素として、Lipase AK (*Pseudomonas fluorescens* 由来、Amano 製、25 U/mg)、Lipase CA (*Candida antarctica* 由来、SIGMA 製、10 U/mg)、Lipase PS (*Burkholderia cepacia* 由来、Amano 製、30 U/mg) の 3 種類を用いた。リン酸二水素一ナトリウム、リン酸一水素二ナトリウムは和光純薬工業(株)製のものを使用した。

### 2-2. 高分子の諸物性の測定

ポリエステルの熱的特性 (融点 ( $T_m$ )、ガラス転移点 ( $T_g$ )、融解熱 ( $\Delta H_m$ ) は、(株)リガク製の示差走査熱量計 (Thermo Plus 2 / DSC8230) を用いて測定した。測定は昇温速度 10 °C/min、窒素雰囲気下で行い、 $T_m$  と  $\Delta H_m$  は 1st ヒーティング、 $T_g$  は 2nd ヒーティングにおいて決定した。

分解試験に用いるポリエステルの数平均分子量 ( $M_n$ ) および分子量分布 ( $M_w/M_n$ ) は、(株)日立製作所製 GPC (D-2520、カラム温度 40°C、示差屈折計 (RI) 検出器) により、溶離液としてクロロホルム (HPLC 用) を用いて流速 1 ml/min で、標準ポリスチレンによる検量線を作成し決定した。分離用カラムは K-804L (Shodex) を、ガードカラムとして K-G (Shodex) を用いた。

ポリエステルの構成する各構成単位の組成比は 400 MHz (BRUKER AVANCE III HD400) の核磁気共鳴装置を用い、<sup>1</sup>H NMR 測定により決定した。

分解後のサンプル表面は、走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope : SEM) (JEOL JSM-6510LA) により観察し、分解性の違いを評価した。

### 2-3. リン酸緩衝溶液の調整

リン酸二水素一ナトリウム ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4=119.98$ ) 2.995 g を 500 ml のイオン交換水に溶解させ、同様に、リン酸一水素二ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4=141.96$ ) 3.549 g を 500 ml のイオン交換水に溶解させ、両水溶液を混合し、pH メーターで確認しながら 50 mM リン酸緩衝溶液 (pH 7.0) を調製した。

### 2-4. 酵素分解試験

各リパーゼをポリマー 1 mg 当たり 5 U の濃度になるようにリン酸緩衝溶液 (pH 7.0) にサンプル管瓶 (50 ml) 中で溶解させ、各分解温度に達するまで恒温水槽中に約 15 分間放置した。溶剤キャスト法により作製したフィルムを精密電子天秤で 30 mg ( $\pm 5$  mg) になるように精秤し、網目約 1×1 mm のポリエチレンメッシュシートの袋に封入した後、上記酵素溶液に入れ分解試験を行った。分解はサンプル管瓶を往復振とう (100 rpm/min) しながら行った。酵素溶液はリパーゼの失活を防ぐために 2 日おきに交換した。ポリマーサンプル

ルは20時間ごとに取り出し水洗後、十分に水分を取り除き、真空乾燥を3時間行った。酵素分解試験後のサンプルの重量を精秤し、残存重量率により分解性を評価するとともにSEMによる表面観察も行った。

### 3. 結果および考察

#### 3-1. 酵素分解試験におけるリパーゼの温度の影響

現在市販されている環境適応型分解性ポリエステル各種リパーゼによる酵素分解試験を行い、ポリエステルの分解におけるリパーゼの温度の影響について検討した。酵素分解試験に使用した環境適応型分解性ポリエステルとして、PES、PBS、PBSA、PBSL、PBATの合計5種類を用いた。用いたポリエステルの物性を表1に示す。酵素はエチレン、ブチレン系ポリエステルの分解用酵素として3種類のリパーゼ(AK、CA、PS)を用いた。

Table 1. Properties of biodegradable polyesters

Polymer <sup>a)</sup>	$M_n$ <sup>b)</sup> ×10 <sup>4</sup>	$M_w/M_n$ <sup>b)</sup>	$T_m$ <sup>c)</sup> °C	$\Delta H_m$ <sup>c)</sup> J/g	$T_g$ <sup>c)</sup> °C
PES (50/50)	9.36	3.40	95.3	60.0	-7.3
PBS (50/50)	13.22	1.68	113.2	75.3	-33.1
PBSA (50/40/10)	6.42	1.72	93.6	53.2	-42.6
PBSL (48/50/2)	7.83	2.45	110.2	81.9	-31.8
PBAT (50/26/24)	4.44	2.33	119.6	11.9	-30.7

a) Composition of polyester was determined by <sup>1</sup>H NMR. b) Molecular weight was determined by GPC. c) Thermal property was determined by DSC.

Fig. 1はリパーゼPSによる40°Cにおける酵素分解試験の結果を示す。図の縦軸は残存重量率、横軸は分解時間を表している。これまでの37°Cでの分解結果と同様に、PBS、PBSL、PBATはリパーゼPSで分解されにくく、PESとPBSAは分解されやすかった。PBSAは20時間で約半分まで重量が減少しており、その後、分解速度は遅くなることなく80時間で完全に分解された。PESも同様に分解時間に比例するように重量が減少しており、120時間後に36%まで分解された。

Fig. 2は60°CにおけるリパーゼPSによる分解の結果を示す。40°Cの結果と同様に、PBS、PBSL、PBATはリパーゼPSによって分解されにくかった。対照的にPESとPBSAは先ほどの結果と同様に分解されやすくなっていたが20時間までの初期では40°Cのような分解はみられず、PBSAは80時間で、PESは120時間で完全に分解された。PESは40°C

の時よりも早く分解されていた。

ここで、PBSAやPESが40時間以降で極端に分解が早くなった理由を検討するため、40°Cと60°Cで加水分解試験を行った。それぞれの結果をFig. 3, 4に示す。棒グラフの白色は加水分解を示しており、白色と黒色を合わせたものが酵素分解の結果を示す。PESは40°Cと60°Cで加水分解性はほ

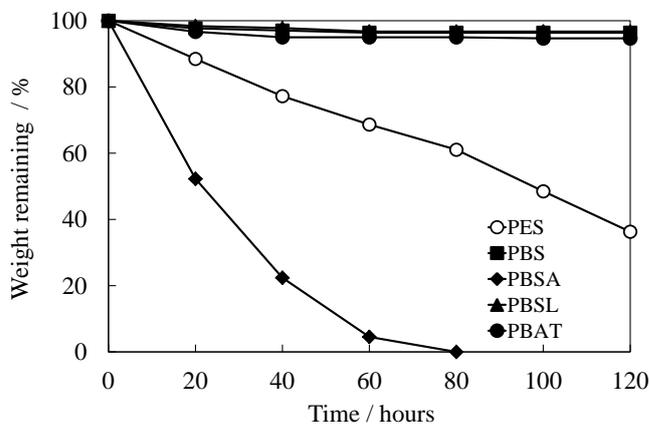


Fig. 1 Enzymatic degradation of biodegradable polyesters with lipase PS in phosphate buffer (pH 7.0) at 40°C.

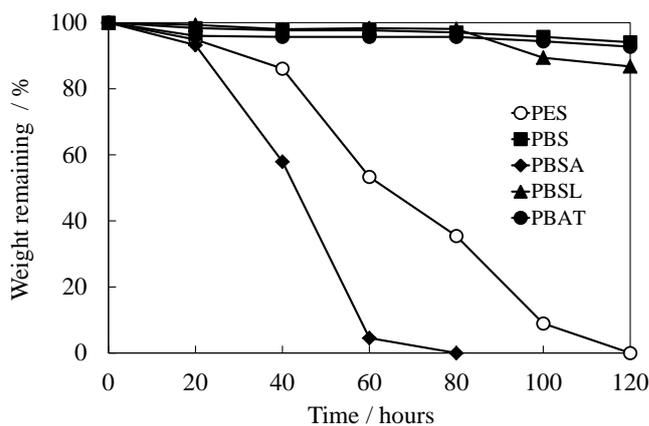


Fig. 2 Enzymatic degradation of biodegradable polyesters with lipase PS in phosphate buffer (pH 7.0) at 60°C.

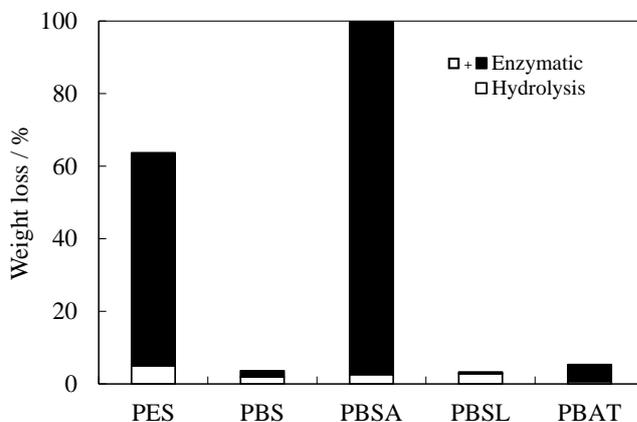


Fig. 3 Effect of temperature on degradation of polyesters with lipase PS at 40°C for 120 h.

とんど同じであることからリパーゼ PS は 60°C で PES を分解しやすかったことが考えられる。一方、PBSA は 60°C における加水分解性が高くなっていることから、リパーゼ PS の酵素活性も高くなっていることも考えられるが、40 時間以降で分解が極端に早くなった理由としては、加水分解がより早く進行したためだと考えられる。他のポリエステルにおいては、PBSL が 60°C で酵素分解性が向上していたが、これは 80 時間以降の重量減少、すなわち加水分解によるものと考えられる。50°C での分解試験は掲載していないが 60°C の結果と似ていることから、リパーゼ PS は 40°C 付近で酵素活性が高くなることが考えられる。

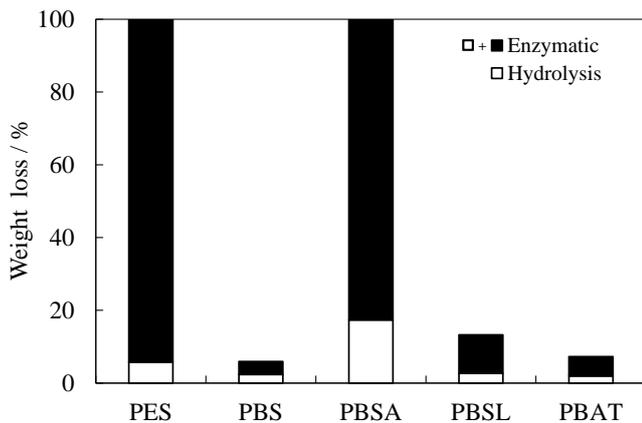


Fig. 4. Effect of temperature on degradation of polyesters with lipase PS at 60°C for 120 h.

### 3-2. 酵素分解における温度依存性の検討

前述の結果から分解温度を変えることにより分解性が異なっていたことから、分解温度をより広範囲 (30~70°C) に広げ、酵素の温度依存性について検討した。

Fig. 5 は 30~70°C の範囲でリパーゼ AK による分解を行った結果を示す。グラフより、PBSA が最も分解されやすく、その次に PES が分解されやすくなったことがわかった。分解試験の結果、PBSA は 70°C で最も早く分解されており、80 時間で完全に分解された。60°C における分解も同様に完全に分解しているが、完全に分解するまでの時間は 100 時間であった。このことから、PBSA は温度を上げることで、より分解されやすくなることが分かった。

次に、PES は 50°C で最も分解されやすくなっていた。これは酵素の温度依存性が 50°C であることを示しているが、PBSA の分解における温度依存の傾向とは異なっていた。本来であれば、酵素の温度依存性は同じ温度付近になるはずであるが、PBSA と PES を比べた場合、70°C と 50°C で大きく離れていた。ポリエステルの分解においては、酵素の温度依存の他にポリマーの熱的特性も大きく関与していると考えられる。そこで、両者の熱的特性を比較してみると、PBSA は  $T_m$  93.6°C、 $\Delta H_m$  53.2 J/g、 $T_g$  -42.6°C となっており、 $T_g$  は用いたポリエステルの中では最も低く、 $T_m$  は PES と同程度で

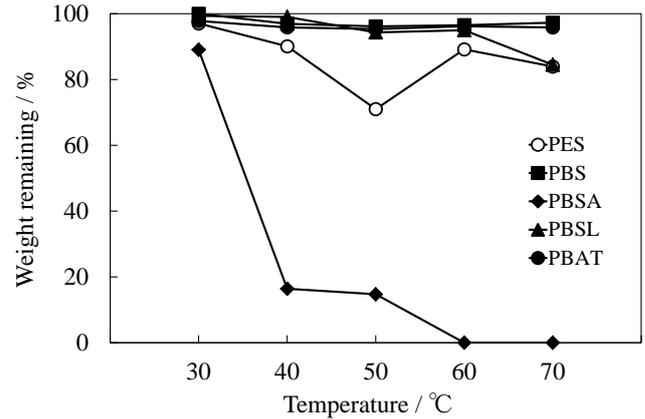


Fig. 5 Effect of temperature on enzymatic degradation of biodegradable polyesters with lipase AK for 120 h.

他のものよりもかなり低かった。一方、PES の熱的特性は、それぞれ 95.3°C、60.0 J/g、-7.3°C となっており、 $T_g$  は最も高い値を示していたが、 $T_m$  は低い値であった。分解試験の温度は  $T_g$  よりもかなり高い温度であるため、ポリエステルの熱的特性が分解温度に及ぼす影響として考える場合、結晶性の大きさを表す  $\Delta H_m$  も関係があるものと思われるが、 $T_m$  の方がかなり影響していると考えられる。それゆえ、 $T_m$  が低い PES や PBSA は分解温度が高くなるにしたがい、より分解性が向上したのは、酵素の温度依存というよりも  $T_m$  がポリマーの分解に影響を及ぼしているといえる。特に、 $T_m$ 、 $T_g$  ともに低い PBSA は、分解温度の影響を受けやすく、Fig. 5 からも明らかかなように 60°C 以上でポリマーの可塑化が急激に起こりやすくなり、酵素分解や加水分解が促進されたものと思われる。このことは、Fig. 4 からも同様のことがいえる。

PES は PBSA よりも  $T_g$  が高いこと以外に、分子量が大きいため PBSA よりも少し高い温度で加水分解されやすくなったのではないかと考えられる。50°C で分解が早くなった要因は、前述したように酵素の温度依存がこの付近にあることであるが、60°C での 120 時間後の残存重量率は 40°C とほぼ同じであり、60°C では 50°C よりも酵素活性が低下していることが分かる。しかしながら、70°C における残存重量率は 60°C よりも低く、60°C よりも分解が進行していることを示している。これは先ほども述べたようにポリマーの可塑化が起因しているものと思われる。

これら分解状況を観察するために分解サンプルの SEM による表面観察を行った。Fig. 6 は 50°C におけるリパーゼ AK による分解後のサンプル表面を観察した結果を示す。以前の結果<sup>[7]</sup>と同様に、分解が早い PES や PBSA は表面に大小の穴が観察できたが、分解が遅い PBS や PBAT は表面に小さな傷や亀裂は観察できたものの、分解によってできた穴や凹凸は観察することが出来なかった。PBSL は分解試験ではあまり分解されていなかったが、ポリマー表面に多くの小さな穴が観察できたことから、分解を継続すれば、急激な分解が起こる可能性も考えられる。

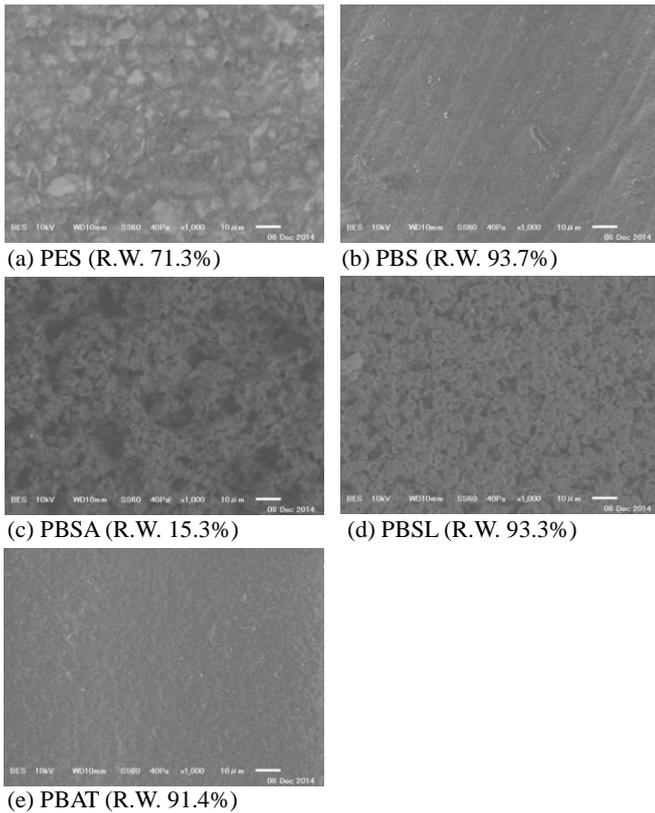


Fig. 6 SEM profile of surface of biodegradable polyesters degraded with lipase AK at 50°C for 120 h. R.W.: Remaining Weight. ×1000.

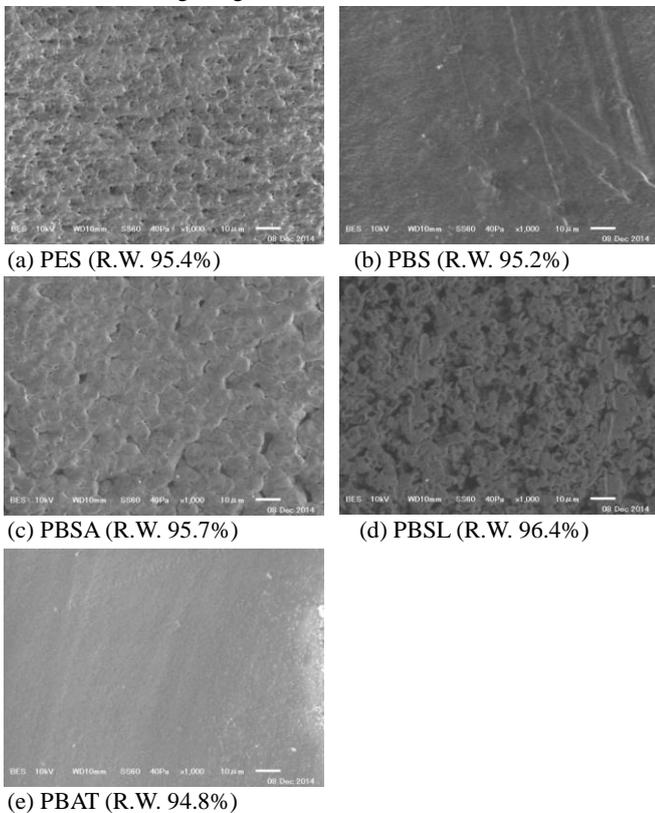


Fig. 7 SEM profile of surface of biodegradable polyesters degraded in phosphate buffer at pH 7.0 without lipase at 50°C for 120 h. R.W.: Remaining Weight. ×1000.

Fig. 7 に 50°C における加水分解後のサンプル表面を観察した結果を示す。PES はほとんど分解されていないサンプルにおいて、小さな穴が確認されたが、表面ではそれほど大きな凹凸はみられなかったことから、加水分解のみが進行していることが考えられる。PBSA も同様の結果となっていた。また、PBS や PBAT は多少重量が減少していたが、表面には小さな穴も確認することができなかった。PBSL はリパーゼ AK による分解後の表面と同じような形態であり、リパーゼ AK は PBSL をほとんど分解していないことが考えられる。

Fig. 8 は 30°C~70°C の範囲でリパーゼ CA による分解の結果を示す。PBS や PBAT は 50°C でやや分解されやすかったが、120 時間ではほとんど分解されていない。一方、PES、PBSA、PBSL は温度によって分解性に大きな変化がみられた。PES は 30°C でほとんど分解されていなかったが、温度上昇にともない分解性は大きく向上し、60°C の時に最も早く分解した。PES はリパーゼ AK による分解では、50°C で最も早く分解されており、60°C では極端に分解速度が遅くなっていたことから、至適温度は約 50°C とし、同様の考えから判断すると 60°C で酵素活性が最も高くなると予想できるが、本論文には掲載していないが、時間に対する分解曲線では 60°C の分解は 50°C よりも分解初期に急激な重量減少がみられたが、それ以降は減少が緩やかであった。したがって、50°C と 60°C の 120 時間後の結果は同じであっても、60°C では加水分解が優位に働いていると考えられ、50°C 付近で酵素活性は最も高くなると判断できる。

最も分解性の高い PBSA は 30°C においても 120 時間で 44% にまで分解されており、分解されやすいことがわかる。温度上昇にともない分解性は向上し、PBSA は 50°C と 60°C では 100 時間で、70°C では 60 時間で完全に分解された。リパーゼ AK による分解でも述べたように PBSA は 60°C 以上で加水分解が進行しやすいことを考慮すると、70°C において 60 時間という短時間で完全に分解されたことは、 $T_m$  に近い温度においてポリマーの可塑性が進行しているところに活性が低下しているリパーゼ CA が一気にポリマー内部にま

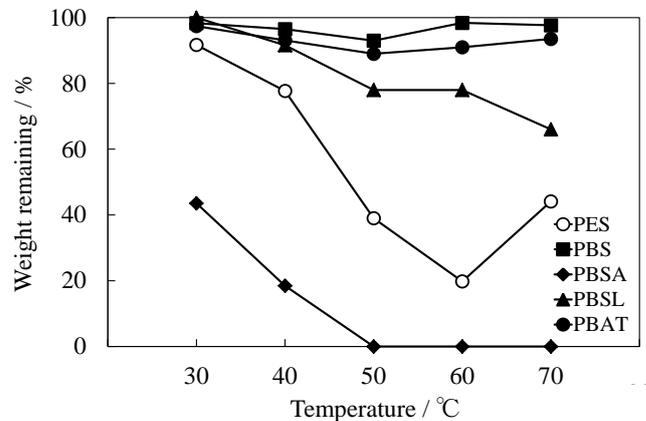
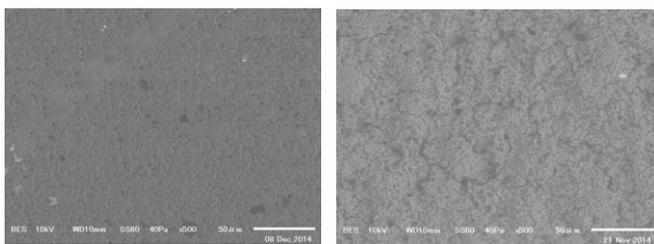


Fig. 8 Effect of temperature on enzymatic degradation of biodegradable polyesters with lipase CA for 120 h.

で浸透し、内部からの分解も起こっていると考えられる。

PBSL は 50°C と 60°C における 120 時間後の残存重量率は 78% で同じであり、70°C でやや低く 66% であった。PBSL は PBSA よりも  $T_m$ 、 $T_g$  ともに 10°C ほど高い程度で、分子量は約 1 万大きい。これら物性から判断して構成モノマー構造が類似していることを考えると PBSL の方が酵素分解は遅いことが予想でき実際に遅かった。ただ、熱的特性がほとんど同じであることから、分解温度の上昇にともない可塑化が進み、酵素が内部にまで浸透しやすくなり分解が向上したことが考えられる。さらに分解の遅い PBS や PBAT は、50°C でリパーゼ CA により最も分解されやすく、 $T_m$  や  $T_g$  が他のポリエステルより高いことから、加水分解されにくいいため、リパーゼ CA は 50°C 付近で活性が高くなると考えられる。

これら分解性を評価するために分解後のサンプルの表面を SEM により観察した。Fig. 9 にリパーゼ CA による (a) 50°C と (b) 70°C での分解後のサンプルを観察した結果を示す。写真から分かるように、50°C のときはポリマー表面に小さな穴や亀裂しか観察できなかったが、70°C では、多数の穴や亀裂、そして表面の凹凸も観察でき、よりフィルム内部にまで酵素が浸透しやすくなっていることがわかる。



(a) 50°C, 89.0% of R.W.

(b) 70°C, 66.0% of R.W.

Fig. 9 SEM profile of surface of PBSL degraded with lipase CA at (a) 50°C and (b) 70°C for 120 h.  $\times 500$ .

Fig. 10 は 30~70°C におけるリパーゼ PS による分解試験の結果を示す。PBS、PBSL、PBAT は温度を上げてほとんど変化が見られなかったが、60°C で少し分解されやすくなっていた。一方、PES や PBSA はリパーゼ AK や CA と同様に分解されやすく、PBSA は 40°C 以上 (50°C を除く) において 80 時間で完全に消失し、最も分解されやすかった。50°C では分解が少し遅く、100 時間で完全に分解された。30°C ではほとんど分解されておらず、この温度以下では活性が低くなるものと思われる。40°C と 60°C 以上では完全に分解されるまでの時間は同じであるが、時間に対する残存重量率の分解曲線は異なっており、40°C ではわずか 20 時間で約半分にまで分解されており、明らかに酵素による分解曲線であることが分かるが、50°C や 60°C では 20 時間までの初期の分解は非常に緩慢で、ほとんど分解が進んでいなかった (Fig. 1, 2)。ただし、50°C や 60°C の分解は 40 時間以降に急激な重量減少がみられ、100 時間あるいは 80 時間で完全に分解された。これは、酵素の温度依存性が 40°C 前後にあり、そ

れ以上では酵素活性が低下したが、ポリマーの可塑化が起こりやすい条件であったことから、先ほども述べたように活性の低下した酵素でもポリマー内部へ浸透しやすくなり、一気に酵素による加水分解が進行したものと考えられる。50°C よりも 60°C の方が分解が早かった理由として、50°C では酵素の活性が低下し、さらに、ポリマーの可塑化が十分でなかったためだと思われる。60°C の時に最も初期分解が遅かったが、70°C では 20 時間で 63% の残存重量率であり、初期分解が少し早かった。これは、分解を始めた時点から 70°C という温度のために可塑化が起こり、酵素活性は低いにもかかわらず、分解が進行したと考えられる。

PES は他のリパーゼを用いた分解試験同様に PBSA の次に分解されやすく、温度依存性の結果では 60°C で完全に分解された。また、リパーゼ CA による分解と同様に 30°C ではほとんど分解されず、温度上昇にともない分解が早くなったが、70°C では分解速度が遅くなった。このようになった理由としては、リパーゼ CA でも述べたようにポリマーの可塑化が大きく影響しているものと思われる。

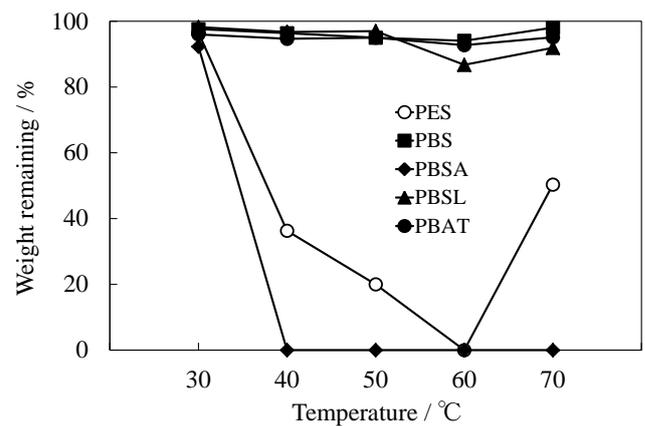
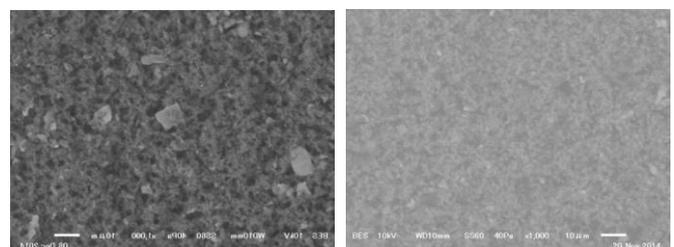


Fig. 10 Effect of temperature on enzymatic degradation of biodegradable polyesters with lipase PS for 120 h.



(a) 50°C, 19.9% of R.W.

(b) 70°C, 50.3% of R.W.

Fig. 11 SEM profile of surface of PES degraded with lipase PS at (a) 50°C and (b) 70°C for 120 h.  $\times 1000$ .

PES のリパーゼ PS による分解において、(a) 50°C と (b) 70°C で分解のされ方がどのように異なるか分解後のサンプルを SEM で表面観察した結果を Fig. 11 に示す。(a) では、酵素分解と思われる多数の小さな穴が見られ貫通している状態も観察することができた。しかし、残存重量率は異なるが、(b)

で見られた小さな穴は不定形でランダムな形をしており、表面に見える穴は一部異なっていた。以上のことから、70°Cでは完全な酵素による分解だけとは限られず、酵素分解よりも加水分解が優先しているのではないかと考えられる。

#### 4. 結論

本研究では、5種類の環境適応型分解性ポリエステルを用いた30~70°Cでのリパーゼによる酵素分解試験において、各温度での分解性とリパーゼの温度依存性について検討した。リパーゼは特性の異なる3種類を用いたが、リパーゼAK、CA、PSともにPBSAを最も分解しやすく、次いでPESが分解されやすかった。このうち、リパーゼCAは温度を上げると分解されにくいPBS、PBSL、PBATは50°Cで酵素分解と思われる重量減少が確認できた。全ポリエステルにおいて、60°C以上では分解が速くなる傾向がみられたが、これは酵素による分解よりも加水分解による分解であることがわかった。この加水分解性は、ポリエステルの $T_m$ や $T_g$ に起因していると思われる。PBSAは用いた3種類のリパーゼで分解されやすいため、温度を上げた分解試験において、酵素活性が低下しても分解されやすく、酵素分解と加水分解の双方が作用していることがわかった。PESはリパーゼCAとPSはPBSAと同じ分解形式であるといえるが、リパーゼAKによる分解では、酵素分解性がそれほど高くないため、温度を上げた分解試験では、酵素活性が低下し、さらに分解が遅くなり、加水分解を促進するまでには至らなかったといえる。これら分解試験の結果から、各リパーゼの至適温度は、概ねリパーゼAKが約50°C、リパーゼCAが約50°C、リパーゼPSが約40°Cであると推測できる。

#### 参考文献

- [1] 生分解性高分子材料, 土肥 義治, (株)工業調査会 (1990).
- [2] 入門生分解性プラスチック技術, 生分解性プラスチック協会(編著), オーム社 (2006).
- [3] W. Zhou, X. Wang, B. Yang, Y. Xu, W. Zhang, Y. Zhang and J. Ji, *Polym. Deg. Stab.*, 98 (11), 2177-2183 (2013).
- [4] J. Wang, L. Zheng, C. Li, W. Zhu, D. Zhang, G. Guan and Y. Xiao, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51 (33), 10785-10792 (2012).
- [5] I. W. Hamley, V. Castelletto, R. V. Castillo, A. J. Müller, C. M. Martin, E. Pollet and Ph. Dubois, *Macromolecules*, 38 (2), 463-472 (2005).
- [6] S. Kumari and G. S. Chauhan, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 6 (8), 5908-5917 (2014).
- [7] Y. Guo, X. Wang, X. Shu, Z. Shen and R.-C. Sun, *J. Agric. Food Chem.*, 60 (15), 3900-3908 (2012).
- [8] A. M. Stephan, T. P. Kumar, M. A. Kulandainathan and N. A. Lakshmi, *J. Phys. Chem. B*, 113 (7), 1963-1971 (2009).
- [9] T. Malwela and S. S. Ray, *Int. J. Biol. Macromol.*, 77, 131-142 (2015).
- [10] S. Schusser, M. Bäcker, M. Krischer, L. Wenzel, M. Leinhos, A. Poghossian, M. Biselli, P. Wagner and M. J. Schöning, *Procedia Eng.*, 87, 1314-1317 (2014).
- [11] A. Rodríguez-Contreras, M. Calafell-Monfort and M. S. Marqués-Calvo, *Polym. Degrad. Stab.*, 97 (4), 597-604 (2012).
- [12] K. Fukushima, D. Tabuani, M. Dottori, I. Armentano, J.M. Kenny and G. Camino, *Polym. Degrad. Stab.*, 96 (12), 2120-2129 (2011).
- [13] L. Zhou, D. Liang, X. He, J. Li, H. Tan, J. Li, Q. Fu and Q. Gu, *Biomater.*, 33 (9), 2734-2745 (2012).
- [14] 生分解性ポリエステルの酵素分解試験における諸因子の研究 (平成14年度卒業論文), 青山 祥子.
- [15] 生分解性ポリエステルの酵素分解における緩衝溶液の分解性に及ぼす影響 (平成17年度卒業論文), 小松 万記.
- [16] 環境適応型分解性ポリエステル共重合体の酵素分解における酵素濃度とpHの影響 (平成21年度卒業論文), 白石 春菜.
- [17] 生分解性ポリエステルの分解生成物の解析 (平成10年度卒業論文), 白石 美春.

