

# 自然環境中で分解する繊維 ～微生物産生ポリエステル繊維の作製と酵素分解性～

Preparation and Degradability of Microbial Polyester Fiber

加 部 泰 三・岩 田 忠 久

## はじめに

近年、自然環境へのプラスチック投棄が環境問題としてふたたび注目を集めている。洗顔や化粧品に添加されているマイクロプラスチックは浄水所などで濾過されず、自然環境中で分解されることがないため、有害物質の吸着や生態濃縮が進むこと。また、海洋に投棄されたストローが、ウミガメの鼻に刺さった写真などはセンセーショナルに報じられた。しかしながら、プラスチックは我々の生活になくてはならない材料となっており、プラスチックの使用を止めることはできない。このため、これらの問題に対する解決策が必要である。上記のような問題が議論されると、しばしば生分解性プラスチックが議論に上がる。本解説では、主に微生物が生産する樹脂である微生物産生ポリエステル (Polyhydroxyalkanoate: PHA) と PHA 繊維を中心に解説を行う。

## 環境問題と微生物産生プラスチック

生分解性樹脂とは、自然環境中で微生物などに分解され、水や二酸化炭素といった自然に近い物質まで分解される機能性(生分解性)を有するプラスチックのことである。自然環境中に放出されても分解することから環境にやさしいプラスチックとして知られている。環境に優しいプラスチックの中には、再生可能な資源(木材や生物資源などのバイオマス)を原料としているバイオマス由来プラスチックなどもある。ここで注意したいのが、生分解性プラスチックは必ずしもバイオマス由来プラスチックではない。このため、生分解性を有しながら、石油由来であることや、バイオマス由来プラスチックであっても生分解性を持っていないものもある。このように、環境にやさしいプラスチックと一括りにしても、生分解性をもつもの(自然環境中で分解するもの)と、持続可能な資源を使用したものでは別の概念であることに注意する必要がある(図1)。

微生物産生ポリエステル(Polyhydroxyalkanoate: PHA)は微生物が、植物油などのバイオマスを原料として、微生物生体内で作製するプラスチックである<sup>1,2)</sup>。一部の微生物はこのように PHA をエネルギー貯蔵物質(人間でいうところの脂肪)としてため込むのである



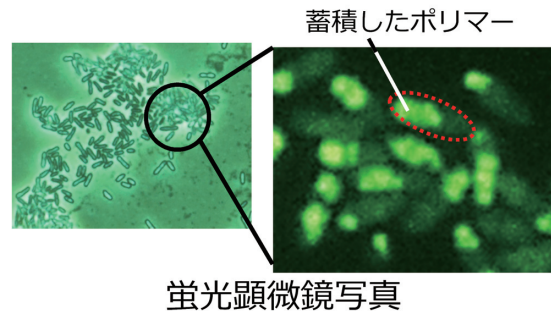
	石油由来	バイオマス由来
生分解性なし 	汎用性プラスチック	バイオマス由来プラスチック
生分解性あり 	石油由来生分解性プラスチック	バイオマス由来生分解性プラスチック(環境循環型)

図1 生分解性プラスチックとバイオマス由来プラスチック



蛍光顕微鏡写真

図2 PHA を含有する微生物の培養(上段)と PHA を含有している微生物の蛍光顕微鏡写真

(図2)。当然、生産した微生物自身はこの PHA を分解することが出来るのだが、PHA を生産しない微生物も PHA を分解する能力を有することがある。PHA を生産する菌は多くの土壌に存在するため、これらの死骸や生産した PHA を糧にする微生物も多いためだと考えられる。このように、PHA は『生分解性』と『バイオマス由来』という二つの性質を有しているため、自然の材料から作製され自然に還っていく環境調和型や環境循環型の材料といえる(図3)。

PHA の中でも最初に注目されたものは、最も単純な構造を有する poly[(R)-3-hydroxybutyrate](P3HB)

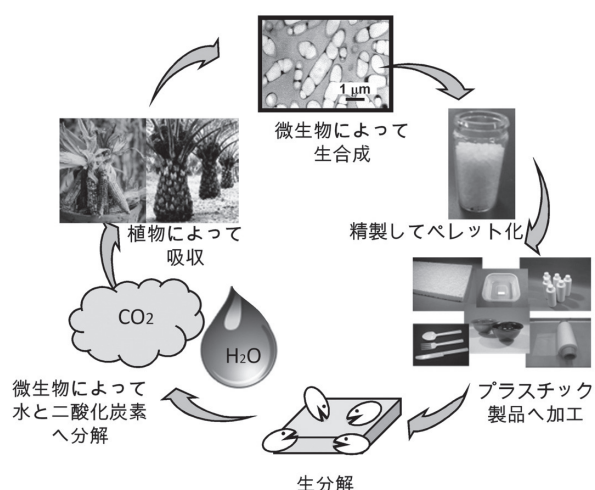


図3 PHAの生産、材料化、生分解の循環プロセス

という種類のものである。P3HBは、時間がたつとボロボロになってしまう性質を持っていたため、材料化するのが難しいと考えられてきた。このため、多くの研究者が、改善の手法を研究してきた。例えば、微生物の種類を選定、与える餌(砂糖、油、有機酸など。いわゆる炭素源)の選定、培養の方法、遺伝子組換え技術の活用、化学的な修飾、添加物の検討、加工法の開発や改善などである。このような、試みは現在でも精力的に取り組まれており、日々、微生物産生ポリエステル性能や生産性は向上している。

### 微生物産生ポリエステルの生産量と市場

PHAは、様々な化学構造を持つものがあり、150以上の化学構造が同定されているというが、その中でも、実用化に近いものはP3HB共重合体である。PHA共通の問題点として、上記で示した物性的な問題のほかに価格の問題がある。PHAの開発状況を系統的に調べた論文などは出版されていないが、いくつかの論文に記載されている情報が有用なので、以下に紹介させていただく。一般的な食品包装や成形品などに使用されるPEやPPなどのポリマーの価格は0.60~0.87

ドル/ポンド(1ポンド=0.45kg)前後であるが、PHA類の生産コストはこれの3~4倍高く、2.25~2.75ドル/ポンドの間と推定されている(2015年時点)<sup>3)</sup>。この高い生産コストは、高価格の炭素源(微生物に与えるエサ)や生産プロセスが不連続バッチ処理(培養し菌体を回収、その後、培養槽を空にして再度培養を行う)であること、水系からの分離、菌体とポリマーの分離や抽出、廃液の処理などが主な原因としてあげられる。これを改善する研究が多く報告されている<sup>4)</sup>。例えば、高価な炭素源ではなく、オリーブオイル工場の排水<sup>5)</sup>やバイオディーゼルを生産する際に排出されるグリセロールを含む廃棄水<sup>6)</sup>を活用するといった手法である。また、生産プロセスの改善や、PHAを含有する菌体を培養する過程で他の有用物質を同時に生産する手法<sup>7,8)</sup>も研究されている。世界の生産状況については表1に示すが、2017年の時点で、Bio-On Srl(イタリア): 10,000t、カネカ(日本): 3,500t、PHA Industrial S.A.(ブラジル): 3,000t、Shenzhen Ecomann Biotechnology(中国): 5,000t、SIRIM Bioplastics Pilot Plant(マレーシア): 2,000t、TianAn Biologic Materials Co.(中国): 10,000~50,000(中国)、Tianjin GreenBio Material(中国): 10,000tとなっており、世界中で年間合計約4万トンの規模で生産が行われている<sup>3)</sup>。また、生産量を開示していない企業も多々あることから、実際の生産量はこれよりも多いと予想される。市場調査会社のレポートによると、PHAの市場規模は2025年までに約1億1,915万ドルに達すると見込んでいるものもある。

### 微生物産生ポリエステルの熱的特性

上述したようにPHAの中でも最も単純で代表的な種類はP3HBである。P3HBはガラス転移点4℃、融点180℃を持ち結晶性示す(図4A)。結晶加速度が遅く、ガラス転移点が室温よりも低いため、結晶化度が低い場合、徐々に結晶化度が上昇していく。これは、時間経過とともに結晶化度が上昇し、経時劣化を引き

表1 世界中で生産されているPHAの生産状況<sup>3)</sup>

企業名	国	PHAの種類/形態	商品名	炭素源	生産量(トン/年)
Bio-On Srl.	イタリア	PHB, PHBV 粒子	minerv®-PHA	テンサイ	10,000
Kaneka Corporation	日本	PHB-PHHx	AONILEX®	植物油	3,500
PHA Industrial S.A.	ブラジル	PHB, PHBV mcl-PHA	VersaMer™ PHA	スクロース	3,000
Shenzhen Ecomann Biotechnology Co. Ltd.	中国	PHA pellets, resins, マイクロビーズ	AmBio®	砂糖orグルコース	5,000
SIRIM Bioplastics Pilot Plant	マレーシア	様々なタイプの PHA	-	パーム油排水, パーム油残渣	2,000
TianAn Biologic Materials Co. Ltd.	中国	PHB, PHBV	ENMAT™	ブドウ糖	10,000
Tianjin GreenBio Material Co.	中国	P(3, 4HB) フィルム, ペレット/スポンジペレット	Sogreen®	砂糖	10,000

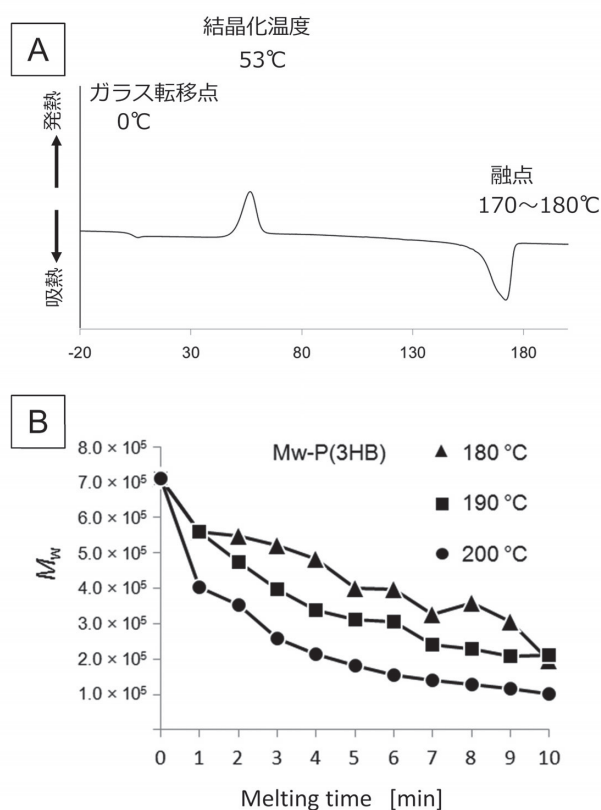


図4 (A)P3HBのDSC曲線、および(B)P3HBの溶融時における時間経過に伴う分子量の低下<sup>9)</sup>。分子量は重量平均分子量

起こす原因となる。しかしながら、成型工程に熱処理を加え、成型加工後の結晶化度を高めることで結晶化度の上昇と経時劣化を防ぐことが出来る。P3HBの熱分解温度はTGAで測定すると約270°Cを示す。しかしながら、実際はもっと低温で熱分解は進行する。図4BはP3HBを所定の温度で保持した場合の溶融時間と分子量の関係を表した図である<sup>9)</sup>。200°C周辺から熱分解の影響は顕著に表れる。このように融点と熱分解点に近い場合、溶融加工範囲が狭く、溶融加工がしづらい。あるいは、溶融成型したものの分子量が低くなっており、低物性になっていることも多々ある。

P3HBを使用して、材料作製を行う場合、最適な溶融加工条件を選択することが重要である。

P3HB共重合体はP3HBの中に3HBユニットとは異なるユニット(第二成分)が含まれるもので、基本的には第二成分の配置に規則性を持たないランダム共重合体であることが多い。代表的な第二成分としては、3-hydroxyvalyrate(3HV)、3-hydroxyhexanoate(3HH)、4-hydroxybutyrate(4HB)などがあげられる。それぞれ、poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalyrate](PHBV)、poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate](PHBH)、poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-4-hydroxybutyrate](P3HB4HB)、と表記する(図5)。3HHユニットや4HBユニットなどのほとんどの第二成分はP3HBの結晶構造に入ることが出来ず、P3HBが結晶を作る際には排斥される。このため、第二成分が多すぎる場合、結晶加速度や到達可能結晶化度の低下(結晶性の低下)、融点の低下を引き起こす。第二成分比率が33%を超えてくると3ユニット中1ユニットは排斥されるため結晶を作ることが難しくなり、常に非晶質状態となる。こうなると、P3HBのガラス転移点は4°CあるいはP3HB共重合体ではそれよりも低くなるので、室温下ではドロドロになり流動性を示すようになる。適切な量の第二成分が入った場合、結晶性がある程度低下し、経時劣化などが抑えられる。実際には、第二成分は完全にランダムというわけではなく、微生物の種類や育成環境などによって規則性を有しブロックライクになっていたり、異なる第二成分比率のブレンドになっていたりすることがある。P3HB共重合体の熱分解特性は第二成分が低い領域においてP3HBと差がない。上述したが、融点は共重合比率に従って下がるため融点と熱分解温度の差が広がり、溶融加工温度範囲を広げることにもつながる。第二成分として、3HVユニットはP3HBの結晶構造に取り込まれるユニークな性質を示す。このような現

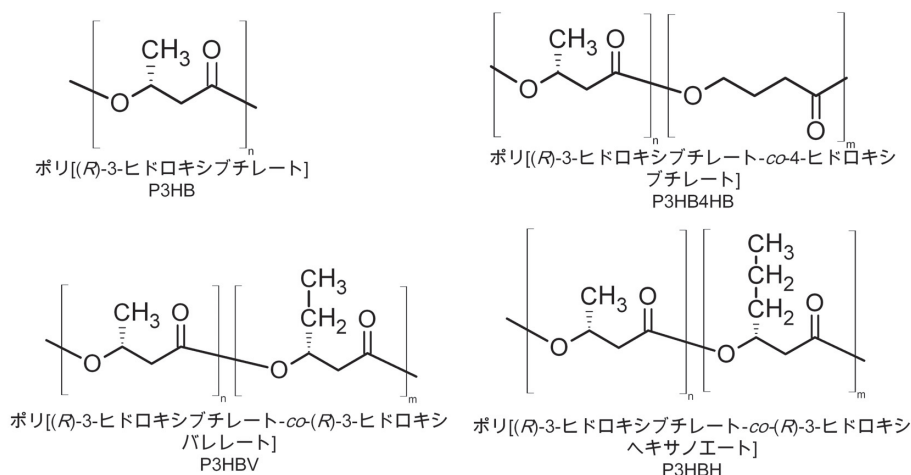


図5 P3HBおよびP3HB共重合体の化学構造

象を共結晶化といい、PHBVユニットはどのような第二成分比率でも結晶化する性質を示す。

### 微生物産生ポリエステルの繊維化と構造

PHAを用いた繊維化も多くの手法が試みられ、高強度化の原理なども分析が進んでいる。初めてP3HBの繊維化を報告したのは、1999年であり、Gordeyevらによって発表された<sup>10)</sup>。この時の引張強度は190 MPaであった。その後、Schmackらが高速溶融紡糸と熱延伸を組み合わせた方法<sup>11)</sup>、Yamaneらが二段階熱延伸法<sup>12)</sup>を報告するなどしてきた。多くの繊維化や延伸方法が試されたが、P3HBとその共重合体に有用な手法は「結晶形成後に延伸を行う手法」である。二段階熱延伸法、逐次延伸法、微結晶各延伸法、超高分子量P3HBブレンド延伸、中間熱処理延伸法などがあるが、そのすべての手法において結晶が存在している下での延伸によって高強度化を達成している。特に、高物性を目的に生合成された超高分子量P3HB<sup>13)</sup>(重量平均分子量300万以上)には二段階熱延伸法が適用可能であり、この時の引張強度は1.3 GPaと非常に高い値を示している<sup>14)</sup>。釣り具などのテグスの引張強度がおおよそ1 GPa程度なので、この繊維の強度が高い値であることがわかる。他には、通常分子量のP3HBに関する冷延伸法、PHBVに対する微結晶各延伸法<sup>15)</sup>、PHBHに対する中間熱処理延伸法<sup>16)</sup>など様々な高強度手法が開発されている。また、表2で示した引張強度

のいくつか(特に高強度なもの)は短い長さの繊維で達成された強度であることから、実用化を考えた場合、連続的な繊維に適用できるような作製プロセスを開発することが非常に重要になってくる(図6)。

上記のような方法で高強度化は達成されたが、どのようなメカニズムで高強度化が達成されるかについても分析が行われている。X線を用いた分析を行った結果、引張強度が低いP3HB繊維はらせん状の結晶構造のみが観察される( $\alpha$ 構造)。一方で、引張強度が向上した繊維に関しては、 $\alpha$ 構造に加えて、これらと異なる $\beta$ 構造の存在が示唆された。 $\beta$ 構造の存在量と引張強度は比例するので、おそらくこの $\beta$ 構造を発現させることが引張強度を向上させるカギであると考えられる<sup>17)</sup>。ベータ構造については、融点などは報告されているものの<sup>18)</sup>、結晶構造などは報告されていない。これは $\alpha$ 構造と比較してベータ構造の存在量が非常に少なく、また、明瞭な回折パターンを得ることが難しいためでもある(図7)。

### 異形繊維、ナノファイバー、生体適合性

P3HB共重合体は、溶融紡糸条件の調整や添加剤などを使用すると、比較的容易に溶融紡糸を行うことができ、異形ダイを使用した紡糸も可能である。図8は異型ダイを使用した場合に得られる繊維のSEM画像である。中空糸型、十字型、三角形型、星型と様々な形状の異形繊維を作成することが可能であり、このよ

表2 P3HBおよびP3HB共重合体繊維の力学物性

ポリマー	延伸方法	引張強度 [MPa]	破壊伸び [%]	弾性率 [GPa]
野生株産生P(3HB)	熱延伸 <sup>10)</sup>	190	54	5.6
	高速溶融紡糸 <sup>19)</sup>	330	37	7.7
	二段階熱処理 <sup>12)</sup>	310	60	3.8
	微結晶核延伸 <sup>20)</sup>	740	26	10.7
	二段階冷延伸 <sup>9)</sup>	630	46	9.5
超高分子量P(3HB)	二段階冷延伸 <sup>14)</sup>	1320	35	18.1
超高分子量P(3HB)/野生株産生P(3HB)ブレンド	二段階冷延伸 <sup>9)</sup>	740	50	10.6
P(3HB-co-8mol%-3HV)	微結晶核延伸 <sup>15)</sup>	1065	40	8.0
P(3HB-co-5.5mol%-3HH)	中間熱処理延伸 <sup>16)</sup>	552	48	3.8
P(3HB-co-8mol%-3HH)	二段階延伸 <sup>21)</sup>	220	50	1.5
ポリエチレン		400-800	8-35	3-8
ポリプロピレン		400-700	25-60	3-10
ポリエチレンテレフタレート		530-640	25-35	11-13

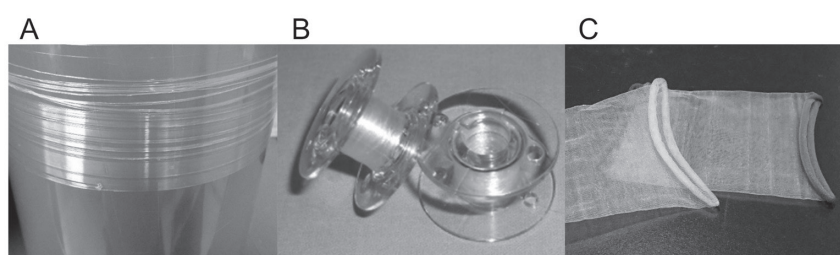


図6 PHBの(A)連続紡糸繊維、(B)ボビン巻き取ったPHA繊維、(C)PHA繊維で作られた編み込みネット

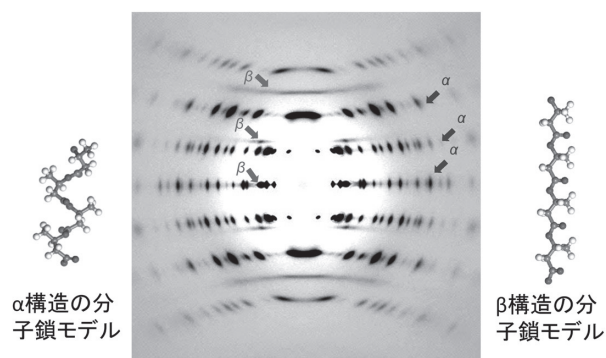


図7 P3HBのX線繊維図と二つの分子鎖モデル<sup>18)</sup>

うに作製した繊維の風合いは大きく変化する。P3HBおよびP3HB共重合体はエレクトロスピンニング法などによってマイクロファイバー、ナノファイバー形状にすることも可能である。P3HBやP3HB共重合体、特に第二成分として4HBを多く含むP(3HB-co-4HB)については、生体適合性が認められている。P3HB/4HBのナノファイバーをラットの体内に埋め込むと12週間程度で生体吸収されることが報告されている(図10)<sup>22)</sup>。

### 微生物産生ポリエステルの酵素分解性

P3HBは自然環境中に存在する様々な微生物が生産する酵素によって加水分解されることが報告されている。一方で、幅広い種類の脂肪族ポリエステルを分解する酵素の代表的な種類であるリパーゼでは分解されない。P3HBを特異的に分解するP3HB分解酵素は一般的なリパーゼと比較して、厳密な基質特異性を有している。P3HB分解酵素は吸着ドメインによりP3HBの結晶表面に吸着した後、触媒部位で分子鎖の切断を行う。このとき、結晶の表面からではなく側面から分解が進行する。また、分解速度は非晶質>β構造結晶



図8 異形ダイを使用して作製したPHBH繊維。左上がダイの形状

### P(3HB-co-7%-4HB)

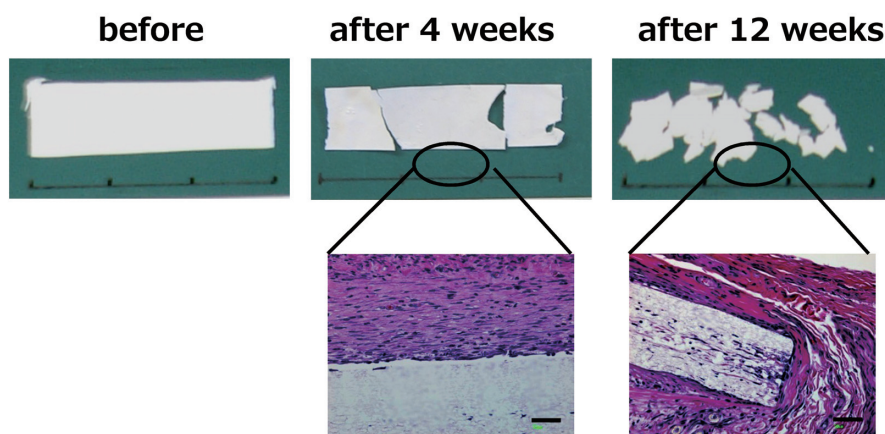


図9 P3HB/4HBナノファイバーの形状と生体内分解の様子<sup>22)</sup>

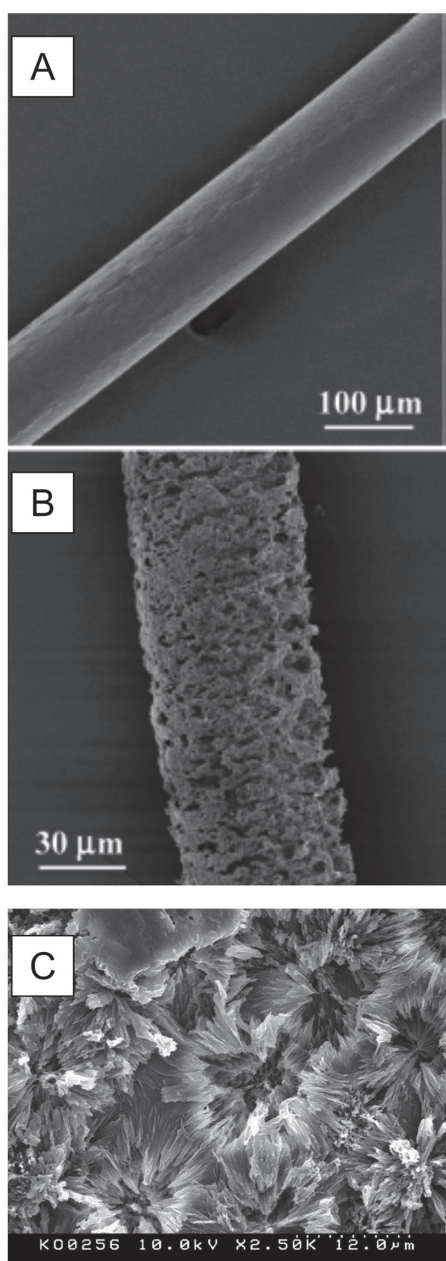


図10 (A)分解前、(B)分解後のP(3HB)繊維<sup>23)</sup>および(C)酵素分解された球晶構造のSEM画像

$\alpha$ 構造結晶の順番になっており、分解過程の繊維をSEMなどで観察すると非晶質が優先的に分解された様子が観察される(図10 A,B)<sup>23)</sup>。余談ではあるが、球晶構造を有するPHAフィルムに酵素分解を行うと非晶質のみが除去されることから内部構造を非常に明瞭に観察することができる(図10 C)。

生分解性を評価する時、フィルムなどの場合は分解された損失重量などを指標にするが、繊維は損失する重量が少なく、損失重量による評価は難しい。そこで、河川水を使用して実施した生物学的酸素要求量(BOD)試験の結果が報告されており、15日間ほどで80%の分解が認められている。一般的に、BOD試験では、微生物が生きていくために要求する酸素量20%部分が存在するため、BODの80%分解は完全分解を

意味する。その証拠に、全ての繊維は15日間で完全に分解した<sup>24)</sup>。

## おわりに

生分解性プラスチックやバイオマス由来プラスチックは先進国の環境に対する意識の向上と途上国などの急速な発展などを受けて活躍できる場が増えている。PHAはこれまで紡糸しづらく、経時劣化により物性が低下するなど使い勝手の悪いプラスチックであると考えられてきたが、遺伝子組み換え大腸菌を用いた様々な種類の共重合体の生合成、新規延伸法などの成型加工法の開発によって、フィルム、繊維、射出成型品への加工性やその物性は飛躍的に向上している。農業用マルチフィルムといった環境中で利用される分野や医療材料分野での大きな利用展開も期待でき、非常に今後の展開が楽しみな材料であるといえる。より一層の機能性、物性の向上をすすめるためには、生合成や生産プロセスなどの材料として上流の研究に加えて、構造や物性を制御し、その機能性を高めていく材料化(下流)の研究も同時に進めていくことが重要である。

## 参考文献

- 1) Sudesh, K.; Abe, H.; Doi, Y. *Prog. Polym. Sci.*, **25** (10), 1503-1555(2000).
- 2) Iwata, T. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**(11), 3210-3215(2015).
- 3) Kourmentza, C.; Plácido, J.; Venetsaneas, N.; Burniol-Figols, A.; Varrone, C.; Gavala, H. N.; Reis, M. A. M. *Bioengineering*, **4**(2), 55(2017).
- 4) Rodriguez-Perez, S.; Serrano, A.; Panti6n, A. A.; Alonso-Fari6nas, B. *J. Environ. Manage.*, **205**, 215-230(2018).
- 5) Kourmentza, C.; Ntaikou, I.; Lyberatos, G.; Kornaros, M. *Int. J. Biol. Macromol.*, **74**, 202-210(2015).
- 6) Hori, K.; Marsudi, S.; Unno, H. *Biotechnol. Bioeng.*, **78**(6), 699-707(2002).
- 7) Kumar, P.; Kim, B. S. *Bioresour. Technol.*, **269**, 544-556(2018).
- 8) Kumar, P.; Jun, H.-B.; Kim, B. S. *Int. J. Biol. Macromol.*, **107**, 2552-2558(2018).
- 9) Kabe, T.; Tsuge, T.; Hikima, T.; Takata, M.; Takemura, A.; Iwata, T., Chapter 5; Processing, Mechanical Properties, and Structure Analysis of Melt-Spun Fibers of P(3HB)/UHMW-P(3HB) Identical Blend. In *ACS Symposium Series; Biobased Monomers, Polymers, and Materials*, Smith, P. B.; Gross, R. A., Eds. American Chemical Society; Vol.

- 1105, 63-75 (2012).
- 10) Gordeyev, S. A.; Nekrasov, Y. P. *J. Mater. Sci. Lett.*, **18**(20), 1691-1692 (1999).
- 11) Schmack, G.; Jehnichen, D.; Vogel, R.; Tandler, B. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, **38**(21), 2841-2850 (2000).
- 12) Yamane, H.; Terao, K.; Hiki, S.; Kimura, Y. *Polymer*, **42**(7), 3241-3248 (2001).
- 13) Kusaka, S.; Iwata, T.; Doi, Y. *Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry*, **A35**(2), 319-335 (1998).
- 14) Iwata, T.; Aoyagi, Y.; Fujita, M.; Yamane, H.; Doi, Y.; Suzuki, Y.; Takeuchi, A.; Uesugi, K. *Macromol. Rapid Commun.*, **25**(11), 1100-1104 (2004).
- 15) Tanaka, T.; Fujita, M.; Takeuchi, A.; Suzuki, Y.; Uesugi, K.; Ito, K.; Fujisawa, T.; Doi, Y.; Iwata, T. *Macromolecules*, **39**(8), 2940-2946 (2006).
- 16) Kabe, T.; Hongo, C.; Tanaka, T.; Hikima, T.; Takata, M.; Iwata, T. *J. Appl. Polym. Sci.*, **132**(2), 41258 (2015).
- 17) Kabe, T.; Tsuge, T.; Kasuya, K.; Takemura, A.; Hikima, T.; Takata, M.; Iwata, T. *Macromolecules*, **45**(4), 1858-1865 (2012).
- 18) Kabe, T.; Tanaka, T.; Marubayashi, H.; Hikima, T.; Takata, M.; Iwata, T. *Polymer*, **93**, 181-188 (2016).
- 19) Schmack, G.; Tandler, B.; Vogel, R.; Beyreuther, R.; Jacobsen, S.; Fritz, H. G. *J. Appl. Polym. Sci.*, **73**(14), 2785-2797 (1999).
- 20) Tanaka, T.; Yabe, T.; Teramachi, S.; Iwata, T. *Polym. Degrad. Stab.*, **92**(6), 1016-1024 (2007).
- 21) Jikihara, Y.; Saito, T.; Yamane, H. *Sen'i Gakkaishi*, **62**(6), 115-122 (2006).
- 22) Ying, T. H.; Ishii, D.; Mahara, A.; Murakami, S.; Yamaoka, T.; Sudesh, K.; Samian, R.; Fujita, M.; Maeda, M.; Iwata, T. *Biomaterials*, **29**(10), 1307-17 (2008).
- 23) Iwata, T.; Aoyagi, Y.; Tanaka, T.; Fujita, M.; Takeuchi, A.; Suzuki, Y.; Uesugi, K. *Macromolecules*, **39**(17), 5789-5795 (2006).
- 24) 岩田忠久、高分子論文集, **60**(8) 377-390 (2003).



TAIZO KABE  
 公益財団法人高輝度光科学研究センター  
 利用研究促進部門 回折・散乱グループ  
 プ動的機能構造チーム 博士(農学)  
 〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都1-1-1  
 Tel: 0791-58-0802(内線3930)  
 E-mail: kabe@spring8.or.jp  
 〈専門〉 バイオマス由来プラスチックの  
 繊維化、材料化、放射光X線実  
 験法  
 〈趣味〉 食べること、ダイエット



TADAHISA IWATA  
 東京大学 大学院農学生命科学研究科  
 生物材料科学専攻 高分子材料学研究室  
 博士(農学)  
 〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1  
 東大農学部5号館402号室  
 Tel: 03-5841-5266 Fax: 03-5841-1304  
 E-mail: atiwata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp  
 〈専門〉 高分子材料学、生分解性プラス  
 チック、高分子構造  
 〈趣味〉 水泳、1000円以下のおいしい  
 ワイン