微生物産生ポリエステルの繊維化

Fiber Formation of Bacterial Polyesters

山 根 秀 樹

1. はじめに

多くの微生物は種々のポリエステルを生合成し、エネルギー貯蔵物質として菌体内に蓄積している。これらはすべてヒドロキシアルカン酸をモノマー単位とする高重合度の脂肪族ポリエステルであり、総称して「ポリヒドロキシアルカナート (PHA)」と呼ばれている。完全な微生物分解性を示すのみならず、熱可塑性で加熱成形が可能であること、また微生物に炭素源として与える糖や植物油が再生産可能資源から得られるため、グリーンポリマーの一つとして実用化が期待されている。これらの中で *Alcaligenes eutrophus* が産生する R-体の 3-ヒドロキシブタン酸 (3HB) のホモポリマーである高分子量の光学活性ポリエステル、poly(3-hydroxybutyrate) (P(3HB)) は融点が約 180℃ と現在実用化が進んでいるポリ乳酸とほぼ同程度であり、脂肪族ポリエステルの中では高い融点を持つ。

しかしながら、P(3HB) の繊維化には多くの問題が指摘されている。P(3HB) のガラス転移温度は室温以下であり結晶化速度も極めて低いため、熔融状態から室温への冷却時にほとんど結晶化せず非晶液体となる。この状態で結晶化すると粗大球晶の集合体からなる硬く脆い繊維となり、分子配向を促進する延伸工程などの塑性変形が非常に困難である。さらに、成形後に二次結晶化が起き、繊維物性が徐々に変化するとされている^{1,2)}。

P(3HB) の熔融紡糸に関する学術的な報告は 1999 年に Gordeyev ら³⁾ によってなされており、熔融紡糸と熱処理により引張強度 190MPa、引張弾性率 5.6MPa を有する繊維の作成に成功している。残念ながら 2 ページ程度の Letter であり、詳細な紡糸条件も高次構造も明らかにされていない。これに引き続き Schmack ら⁴⁾ は 2000~3500m/min 程度の高速紡糸で得られた繊維を延伸、熱処理することにより引張強度 330MPa、引張弾性率 7.7GPa の繊維を得たこ

とを報告しており、高次構造についてもある程度の解析を加えている。筆者らは比較的低純度の P(3HB) を熔融紡糸し、延伸、熱処理を施すことにより引張強度 310MPa、引張弾性率 3.8GPa の繊維を得ている⁵⁾。また、高純度の P(3HB) の紡糸ラインを急冷して得られた非晶繊維を延伸し、さらに熱処理することにより引張強度 425MPa、弾性率 5.3GPa の繊維を得ており、結晶化後の延伸により得られた繊維の高次構造との比較を行っている⁶⁾。

一方、P(3HB) の硬くて脆い性質を改善する試みもなされている。ICI 社は、*A. eutrophus* に炭素源としてブドウ糖とプロピオン酸を与えることにより 3-ヒドロキシブタン酸と 3-ヒドロキシ吉草酸との共重合体 P(3HB-co-3HV) が産生されることを見出している⁷⁻⁹⁾。この共重合化により、P(3HB) の脆性は改善され、共重成分による結晶化阻害のために粗大球晶の生成が抑制される。P(3HB-co-3HV) の繊維化は石川県工業試験場、東京工業大学、アクロン大学の共同グループによりなされている。可塑剤と結晶核剤を添加した P(3HB-co-3HV) を用い、紡糸ラインの加熱と延伸、熱処理により良好な力学的性質を有する繊維を得ており、その繊維化条件と高次構造、力学的性質が詳細に報告されている^{10,11)}。また、P(3HB) に対する可塑剤の探求もなされている。石川らはグリセリンのエステル鎖長の長いモノエステルおよびエステル鎖長の短いジ、トリエステルは P(3HB) と良好な相溶性を示し、P(3HB) の柔軟化に寄与することを報告している¹²⁾。

2. P(3HB) 繊維の高次構造と力学的性質

P(3HB) の結晶構造は、格子定数： $a = 0.576 \text{ nm}$ 、 $b = 1.32 \text{ nm}$ 、 c (繊維軸) $= 0.596 \text{ nm}$ 、空間群： $P2_12_12_1$ をとり、全ての結晶軸に対し 2 回らせんの対称性を有する斜方晶系の α 構造 (α 晶：図 1(a)) が知られている¹³⁻¹⁵⁾。単位格子中には 2 本の分子鎖が存在する。P(3HB)、P(3HB-co-3HV) ともに未延伸および低倍率の延伸繊維では α 構造を有する結晶を形成する。一方、高倍率までの延伸や張力下での熱処理を施すと β 構造 (β 晶：図 1(b)) と呼ばれる平面ジグザグ型の結晶¹⁶⁾ が現れ、繊維の力学的性質は β 晶の分率とともに向上することがほとんどの報告に述べられている^{4,5,10,11)}。Orts ら¹⁶⁾ によると、図 1(c) に示すように β 晶は α 晶ラメラ間に存在する非晶タイ分子鎖が α ラメラ間に拘束された状態で引き延ばされることによって発現する。ま

HIDEKI YAMANE
京都工芸繊維大学大学院 工芸科学研究科 助教授 Ph. D
〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町
Tel : 075-724-7824 Fax : 075-724-7337
E-mail : hyamane@kit.jp
専門 高分子科学、高分子レオロジー
趣味 園芸、野球

図1 P(3HB)の分子構造^{15,16)}と β 晶の発現機構

た、 α 晶のみからなる無配向フィルムを数週間伸張しておくで α 晶が無配向状態を保ったまま配向した β 晶が発現することより、 α 晶が β 晶に転移しているわけではないとしている。

Schmack ら⁴⁾および筆者ら⁵⁾のP(3HB)の溶融紡糸、Yamamoto ら¹⁰⁾およびFuruhashi ら¹¹⁾によるP(3HB-co-3HV)の溶融紡糸では、高速紡糸、結晶核剤の添加、紡糸ラインの加熱などの方法により紡糸ラインでの結晶化を促進しており、張力下での結晶化のためにある程度配向した結晶が生成し粗大球晶が生成しないため延伸が可能となっている。このような紡糸方法で得られたP(3HB)およびP(3HB-co-3HV)未延伸繊維はある程度配向した α 晶からなる構造を有しており、 β 晶由来の反射は観察されない。未延伸繊維を延伸すると α 晶はさらに高度に配向するが、赤道上に現れる α 晶の(110)反射の外側に β 晶に由来するブロードな反射が現れるようになる(図2(c)参照)。この β 晶に由来する反射は延伸倍率と共に強度が増大し、緊張下での熱処理によりさらに増大する⁵⁾。繊維の引張強度、弾性率は延伸倍率および熱処理により増大するため、 β 晶の発現が繊維の力学的性質と深い関係にあるものと推定できる。

3. 非晶状態での延伸によるP(3HB)繊維の構造

上記のように、P(3HB)およびP(3HB-co-3HV)の繊維化は紡糸ラインでの結晶化を促進することによりに成功している。しかしながら、一般のポリエステル、例えばPoly(ethylene terephthalate)のようにガラス転移温度が室温以

上にある高分子では、紡糸ラインの冷却により非晶のガラス状繊維を作成し、さらに延伸、熱処理により高度に配向した優れた力学的性質を示す繊維が作成されている。この場合には非晶分子鎖が延伸により配向し、配向した分子鎖が結晶化する。分子配向が結晶化に先立って起こるため、配向結晶化により結晶化速度が増大するのみならず、より欠陥の少ない結晶領域が得られる。

上記のような紡糸条件、すなわち非晶状態の繊維を作成し、これを延伸することにより作成したP(3HB)繊維がどのような高次構造を有し、力学的性質を示すかについ

て検討した⁶⁾。実験には結晶核剤や核剤となる不純物を含まない、高度に精製した分子量約420,000のP(3HB)を使用した。DSC測定による融解ピーク温度は約170であり、動的粘弾性測定によるガラス転移温度は約10である。紡糸ラインをドライアイス/メタノール(-40)で急冷し、直ちに23の室温で9.5倍に延伸した(第1延伸工程)。さらに25~65で1.5倍の延伸を行った(第2延伸工程)。

図2(a)に示す第1延伸工程のみを行った繊維の広角X線回折(WAXD)パターンを見ると、配向度の低い α 晶の反射が強く現れているが、 β 晶に由来する反射も矢印で示す様にわずかながら現れていることがわかる。第1延伸工程は非晶状態で行っているため、 α 晶ラメラ間の非晶タイ分子は存在しない。第1延伸工程での繊維の温度は測定できなかったが、-40で冷却し、直ちに室温で延伸しているためガラス転移温度の少し上の温度であると推定できる。従って、ラメラ間に拘束されている状態と同程度の低い易動度を持つ非晶分子鎖が引き延ばされ、 β 晶となったものと推定できる。同様な β 晶の発現は、岩田ら^{17,18)}による超高分子量P(3HB)の冷却直後の延伸によっても観察されており、Ortsらの提唱しているものと異なった β 晶の発現メカニズムがあり得ることを示している。

第1延伸工程後の繊維は結晶化度も低く、力学的性質も劣っている。この繊維を高温でさらに延伸すると、力学的性質は延伸温度と共に大きく向上する。第2延伸工程後の繊維のWAXD写真(図2(b))には配向した α 晶のパターンの中に β 晶の反射が非常に強く現れており、結晶化度も

図2 第一段延伸繊維(a)と第二段延伸繊維(b)のWAXDパターンおよびP(3HB)繊維の典型的な繊維パターン(c)

延伸温度と共に単調に増加する。P(3HB)繊維中の α 晶と β 晶の分率変化はWAXDの積分強度から下式を用いて決定できる¹⁹⁾。

$$J \propto \iint f(\theta, \phi) \sin^2 \theta \cos \theta \sin \phi d\theta d\phi$$

$$= A \int I(2\theta) d\theta \int I(\phi) d\phi \quad (1)$$

ただし

$$A = (\sin^2 \theta_p \cos \theta_p) / I_p \quad (2)$$

ここで、 J は単位体積中の微結晶数、 θ_p 、 I_p 、 $I(2\theta)$ 、および $I(\phi)$ はそれぞれ、赤道 2θ 方向ピーク角度、方位角 ϕ 方向ピーク強度、赤道 2θ 方向回折強度および方位角 ϕ 方向回折強度である。残念ながら、 β 晶の構造因子が不明であり β 晶分率の絶対値が決定されない。従って、第1延伸工程後の繊維の値で規格化し、各結晶相についての延伸温度に伴う相対的な変化のみを評価した。図3にDSCにより得られた延伸温度に伴う繊維の結晶化度と α および β 晶分率の変化を示す。第1延伸工程後の繊維の結晶化度ははたかだか30%程度であるが、第2延伸工程後にはそれが50~70%程度まで延伸温度と共に増加している。このような結晶化度の増加にも関わらず、 α 晶の分率はほとんど変化していない。一方、 β 晶の分率は延伸温度と共に単調に増加している。この β 晶が増加する傾向と、引張強度、弾性率が上昇する傾向は一致しており、他の多くの研究結果とほぼ一致している。

第2延伸工程での β 晶の発現メカニズムを解明するため、繊維の小角X線散乱(SAXS)パターンの変化を追跡した。図4(a)に示すように、どの繊維も子午線上に明確な2点パターンを示しているが、第1延伸工程後の繊維ではスポットが散漫で赤道方向にブロードになっていることより、フィブリル構造が発達しておらず、ラメラの規則性も低いことがうかがえる。第2段目の延伸を施すと、パターンはより明確となり、低温で延伸した繊維がほぼ円状のスポットを示すのに対し、延伸温度と共にスポットが液滴状に引き延ばされるようになる。また、中心に現れるスポットが延伸温度と共に赤道方向に引き延ばされたようになる。この結果より、低温での延伸ではラメラ間距離がほぼ一定

図3 P(3HB)繊維の延伸温度に伴う結晶化度および二つの結晶構造の分率

であるのに対し、高温での延伸ではその値に分布が生じるようになり、フィブリル構造がより発達していく様子がうかがえる。これらのSAXSパターンから得られた長周期の変化を図4(b)に示す。 α 晶とわずかな β 晶を含む第1延伸工程後の繊維をさらに延伸した場合、Ortsらの提唱しているメカニズムにより α ラメラ間の非晶タイ分子が引き延ばされて β 晶となるのであれば、ラメラ間距離の増大に伴い長周期が増大するものと予想される。しかしながら、低温での第2延伸工程を施した繊維の長周期は逆にわずかに減少している。一方、第2延伸温度が45℃を越えると、長周期は大きく増大し始める。

上述の β 晶分率と長周期の変化、およびSAXSパターンの変化より図5に示す様な β 晶発現メカニズムが考えられる。まず、第1延伸工程では非晶鎖が配向することにより α 晶の配向結晶化が起きるが、易動度の低い分子鎖

図4 P(3HB)繊維のSAXDパターン(a)と延伸温度に伴う長周期の変化(b)

図5 推定される β 晶発現機構

の延伸によりわずかに β 晶も発現する。この段階では結晶化度は低い。45℃以下の低温度での第2延伸工程では、 α 晶の周りに存在する自由な非晶鎖が引き延ばされ β 晶になる。このため α ラメラ間の非晶鎖が引き延ばされず長周期の変化は小さく、ラメラ間距離の分布も小さい。高温度で延伸すると、 β 晶はOrtsらの提唱するメカニズムにより α ラメラ間の拘束された非晶鎖の引き延ばしにより発現するようになり、ラメラ間距離は大きく増大する。ラメラ間距離に分布が生ずるのは、引き延ばされないラメラ間非晶鎖が存在するためであろうと思われる。

最近、遺伝子組み替え大腸菌により産生された超高分子量P(3HB)〔重量平均分子量 $M_w = 5.3 \times 10^6$ 〕の繊維化が理化学研究所の岩田らのグループと筆者との共同でなされている^{17,18)}。このP(3HB)繊維も溶融押出直後に急冷することにより非晶状態とし、これを低温で延伸した後にさらに高温度で延伸する事により得られている。分子量 $1 \sim 2 \times 10^6$ の超高分子量ポリエチレンは溶融押出が困難であることを考えると、さらに高分子量のP(3HB)が容易に溶融紡糸できたことは興味深いことであるが、60倍まで延伸された繊維は引張強度約1.3GPa、引張弾性率約18GPa、破壊伸び35%という驚異的な力学的性質を示している。

4. P(3HB)繊維の酵素分解性

P(3HB)およびその共重合体は菌体外分解酵素により生分解性を示す。他の多くの酵素分解性および加水分解性ポリエステルと同様にまず非晶鎖の分解が起こり、その後徐々に結晶領域が分解する。この結晶領域の酵素分解挙動はP(3HB)単結晶を用いて研究されており、結晶への酵素の吸着と分解の2段階の機構により起こることが明らかとなっている。酵素の吸着には明確な位置的特異性は確認されず、結晶表面全体に酵素が吸着している様子が観察されている。さらに酵素の吸着が結晶中の分子鎖の運動を向上

させているものと推定され、運動性の高まった分子鎖が結晶中から露出し、結晶の折り畳み面(ab面)よりむしろ側面及び分子鎖充填の弱い領域から分解されるものと推定されている^{20,21)}。

P(3HB)成形体の酵素分解挙動については、P(3HB)の成形が困難であるために溶液キャスト法によるフィルムを対象にした研究がほとんどであり、溶融成形されたフィルムあるいは繊維を対象にした研究報告は少ない。筆者らは、紡糸ラインで結晶化させ、延伸、熱処理したP(3HB)繊維の酵素分解性と高次構造との関係について検討している。

Commamonas testosteroni 由来のPHB分解酵素を含んだリン酸バッファー中に浸漬したP(3HB)延伸繊維の力学的性質の変化を図6に示す。これを見ると、予想に反し延伸倍率と共に力学的性質の低下は加速されている。こ

れは紡糸ラインで既に結晶化している繊維を延伸しているため、延伸に伴う結晶化度の増加があまりなかったこと、延伸により繊維直径が低下し表面積が増加したことによる結果であると思われる。一方、図7に示すように熱処理後の繊維では、繊維の酵素分解速度は熱処理条件に大きく依存している。定長熱処理を施した繊維および緊張下でも比較的低温度で熱処理した繊維(100MPa/100℃)は無熱処理繊維とほぼ同程度の分解速度を示すのに対し、最も優れた力学的性質を示した高温度(100MPa/125℃)で緊張熱処理した繊維の酵素分解速度は明らかに低下している。

前述のように、P(3HB)の延伸・熱処理繊維には α および β 型の二つの結晶構造が含まれる。広角X線回折法によりこれら二種類の結晶の酵素分解挙動について検討した。図8には延伸のみ、延伸・定長熱処理および延伸・緊張熱処理繊維の分解前後のWAXDパターンを比較している。分解前の繊維では $2\theta = 13.4^{\circ}$ 、 16.0° に α 晶由来の、 $2\theta = 19.7^{\circ}$ に β 晶由来の反射が観察できる。36時間の分解後には α 晶由来の反射はほとんど変化していないが、 β 晶由来の反射強度が大きく低下しているのがわかる。しかしながら、最も低い分解速度を示した100MPaの張力下125℃で熱処理した繊維に観察される β 晶由来の反射は36時間後にもほとんど変化していない。前述のP(3HB)結晶領域の分解機構から考えると、 α 晶と比較してやや乱れた構造を有すると考えられる β 晶の分解速度は高く、熱処理により、より安定な構造となるにつれその分解速度は低下するものと思われる。同様な結果は、Iwataらによる超高分子量P(3HB)繊維についても得られている¹⁸⁾。

5. おわりに

再生産可能な資源から得られる有機炭素源を特定の微生物に与えることにより、発酵合成という省エネルギープロセスで得られる微生物産生ポリエステルは、ポリ乳酸と同

図6 延伸繊維の分解に伴う力学的性質の変化
(a)引張強度、(b)引張弾性率、(c)破壊伸び

図7 熱処理繊維の分解に伴う力学的性質の変化
(a)引張強度、(b)引張弾性率、(c)破壊伸び

図8 種々の条件で熱処理したP(3HB)繊維の分解前後のWAXD赤道スキャン

様に環境負荷の極めて低い高分子材料として期待できる。現時点では、繊維化およびフィルム化に対するプロセスウインドウは非常に狭く、自由な物性制御が可能とはなっていない。しかしながら、今後、微生物産生ポリエステル製造技術の向上に伴う価格の低減、分子量や共重合組成の制御に対する技術がさらに進むことにより、成形加工技術の開発が多く行われるようになるものと期待される。

参考文献

- 1) G. J. M. De Koning and P. J. Lemstra, *Polymer*, 34, 4089 (1993)
- 2) M. Scandra, G. Ceccorulli and M. Pizzoli, *Macromol. Chem. Rapid Commun.*, 10, 47 (1989)
- 3) S. A. Gordeyev and Y. P. Nekrasov, *J. Mater. Sci. Lett.*, 18, 1691 (1999)
- 4) G. Schmack, D. Jehnichen, R. Vogel and B. Tandler, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 38, 2481 (2000)
- 5) H. Yamane, K. Terao, S. Hiki and Y. Kimura, *Polymer*, 42, 3241 (2001)
- 6) Y. Furuhashi, Y. Imamura, Y. Jikihara and H. Yamane, *Polymer*, 45, 5703 (2004)
- 7) P. A. Holmes, *Pys. Technol.*, 16, 32 (1985)
- 8) R. H. Marchessault, T. L. Bluhm, Y. Deslandes, G. K. Hamer, W. J. Orts, P. R. Sundararajan, M. G. Taylor, S. Bloembergen and D. A. Holden, *Makromol. Chem.*,

- Macromol. Symp.*, 19, 235 (1988)
- 9) G. S. O'Brien, *ANTEC'93*, 2443 (1993)
- 10) T. Yamamoto, M. Kimizu, T. Kikutani, Y. Furuhashi and M. Cakmac, *Int. Polym. Processing*, XII, 29 (1997)
- 11) Y. Furuhashi, H. Ito, T. Kikutani, T. Yamamoto and M. Cakmac, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 36, 2471 (1998)
- 12) 石川健次、土肥義治、**高分子学会予稿集**, 39, 2787 (1990)
- 13) K. Okamura and R. H. Marchessault, *Conformation of Biopolymers*, 2, 709, Academic Press, London (1967)
- 14) J. Cornibert and R. H. Marchessaults, *J. Mol. Biol.*, 71, 735 (1972)
- 15) M. Yokouchi, Y. Chatani, H. Tadokoro and K. Teranishi, K. Tani, *Polymer*, 14, 267 (1973)
- 16) W. J. Orts, R. H. Marchessaults, T. L. Bluhm and G. K. Hamer, *Macromolecules*, 23, 5368 (1990)
- 17) T. Iwata, Y. Aoyagi, M. Fujita, H. Yamane, Y. Doi, Y. Suzuki, A. Takeuchi and K. Uesugi, *Macromol. Rapid Commun.*, 25, 1100 (2004)
- 18) 田中稔久、青柳佳宏、土肥義治、岩田忠久、**繊維誌**, 60, 309 (2004)
- 19) 河原 豊、中島 茂、**繊維誌**, 48, 671 (1992)
- 20) T. Iwata, Y. Doi, T. Tanaka, T. Akehata, M. Shirono and S. Teramachi, *Macromolecules*, 30, 5290 (1997)
- 21) T. Iwata and Y. Doi, *Macromol. Chem. Phys.*, 200, 2429 (1999)

平成 17 年度 TES 受験講習会(東京会場)

主 催：日本繊維技術士センター(JTCC)東京支部 TEL & Fax : 03-5643-5112

日時と講習テーマ：

5/14(土) 基礎知識・繊維に関する一般知識 6/ 4(土) 事例の解析と再発の未然防止

5/21(土) 家庭繊維製品の製造と品質 6/11(土) 事例の解析と再発の未然防止

5/28(土) 家庭用繊維製品の流通・消費と消費者問題 6/25(土) 添削指導と質疑応答

会 場：(財)江東区地域振興会 江東区総合区民センター 江東区大島 4 丁目 5 番 1 号 TEL : 03-3637-2261

交通機関 JR 総武線亀戸駅下車 徒歩 10 分 都営新宿線西大島駅下車 A4 出口より徒歩 1 分

参加申込等の詳細については下記にお問い合わせ下さい

日本熱測定学会事務局 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 12-9 滋賀ビル 506

有限責任中間法人 日本繊維技術士センター(JTCC) 東京支部 TEL & FAX : 03-5643-5112

第 49 回日本学術会議材料研究連合講演会講演募集

共 催：日本学術会議材料工学研究連絡委員会、日本学術会議金属工学研究連絡委員会、(社)繊維学会ほか

担当世話学会：土木学会、日本材料学会

期 日：平成 17 年 9 月 15 日(木)、16 日(金)

会 場：京大会館(〒606-8301 京都市左京区吉田河原町 15-9 TEL : 075-751-8311)

講演内容：各種材料の微視的構造、物理的性質、化学的性質、力学的性質、合成・製造、加工と処理および構造物の強度、材料の諸物性、諸性質の測定と試験ならびに適切な使用、ライフサイクルを考慮したコスト分析などについての研究発表(一般およびオーガナイズド・セッション)を募集

申込締切期日：平成 17 年 6 月 3 日(金) 厳守 原稿提出期日：平成 17 年 8 月 5 日(金) 厳守

詳細については、下記にお問い合わせ下さい。

〒606-8301 京都市左京区吉田泉殿町 1-101 社団法人 日本材料学会 材料研究連合講演会係

TEL : 075-761-5321 FAX : 075-761-5325 E-mail jimu@jsms.jp

第 41 回熱測定討論会

主 催：日本熱測定学会 協 賛：(社)繊維学会ほか 会 期：平成 17 年 10 月 8 日(土)~10 日(祝・月)

会 場：九州大学箱崎キャンパス九州大学理学部、国際ホール、及び中央図書館視聴覚ホール(福岡市東区箱崎 6-10-1)

発表申込締切：平成 17 年 7 月 11 日(月) 発表要旨原稿締切：平成 17 年 8 月 31 日(水) 参加予約申込締切：平成 17 年 9 月 20 日(火)

詳細については下記にお問い合わせ下さい

日本熱測定学会事務局 〒101-0032 東京都千代田区岩本町 1-6-7 宮沢ビル 601 TEL : 03-5821-7120

FAX : 03-5821-7439 E-mail : netsu@mbd.nifty.com URL : http://www.soc.nii.ac.jp/jscta/index.html