

微生物産生ポリエステルを用いたポーラス繊維の作製と高機能化

加部 泰三*, 大村 拓*, 辻本 桜*, 岩田 忠久*

本研究では、再生可能資源を原料とする微生物産生ポリエステル(PHA)に着目し、特に柔軟性と加工性に優れたP(3HB)共重合体を用いた伸縮性ポーラス繊維の開発とその構造解析を行った。放射光X線散乱および高分解能3DX線顕微鏡を用いて、結晶配向、ラメラ構造、ポーラス構造などの高次構造変化を詳細に評価し、繊維の伸縮性がこれらの構造の可逆的変化に起因することを明らかにした。さらに、得られた繊維の医療用途への応用を想定し、結紮性の評価を行った結果、自己結紮性や結紮部サイズが小さくなるといった優れた特性が確認され、手術用縫合糸としての可能性が示唆された。

1. はじめに

現代社会において、プラスチックは生活のあらゆる場面で利用されており、我々の社会活動に不可欠な材料となっている。しかしながら、地球温暖化や資源枯渇といった環境問題が深刻化する中で、これまでの石油資源に依存した材料利用から、持続可能な資源へと転換する必要性が強く認識されるようになってきた。そのような中、再生可能資源であるバイオマスを原料として製造される「バイオマス由来プラスチック」⁽¹⁾が注目を集めている。

バイオマス由来プラスチックは、持続可能性の観点から高く評価されているものの、現時点で実用化に成

功している例は限られている。その主な理由としては、既存の石油由来の汎用プラスチックと比較して、力学物性や熱的特性などにおいて劣る場合があること、また、成形加工工程が十分に最適化されておらず、高い生産コストを要する点が挙げられる。これらの課題を克服し、社会実装を進めるためには、材料の高機能化を通じた用途拡大とともに、生産量の増大が不可欠である。

本稿では、数あるバイオマス由来プラスチックの中でも、微生物が体内で合成・蓄積するポリエステルである微生物産生ポリエステル(Polyhydroxyalkanoate: PHA)に注目する。とくに、我々の研究グループによ

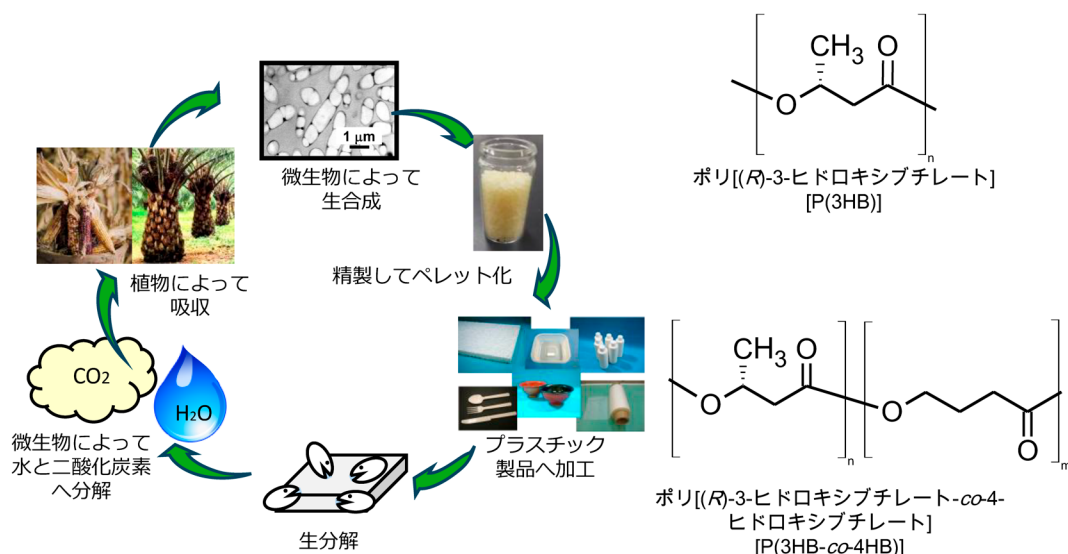


図1. 循環する微生物産生ポリエステル(PHA)のイメージとポリ [(R)-3-ヒドロキシブチレート] とポリ [(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート].

*東京大学大学院農学生命科学研究科

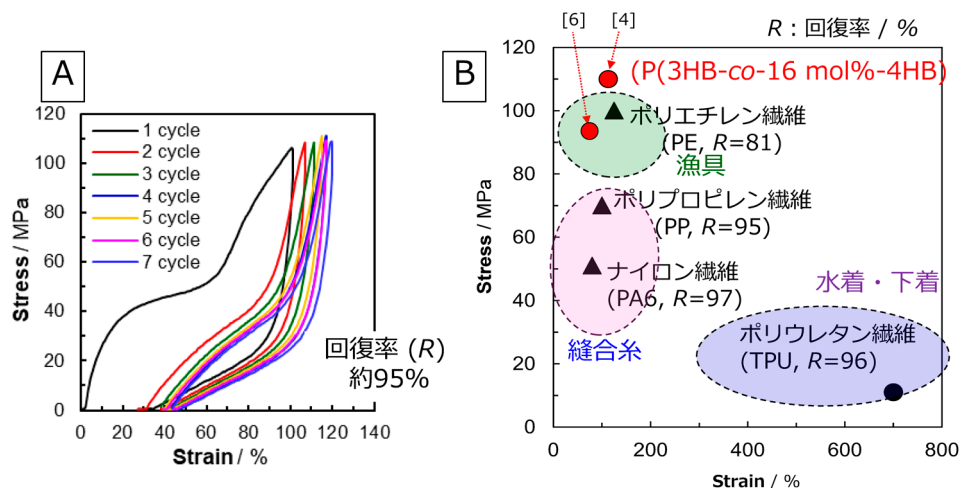


図2. (A) 伸縮性のあるP(3HB-co-4HB)繊維のサイクル試験結果, (B) および応力とひずみを基準とした上市されている伸縮性繊維および本研究の繊維.

り近年開発された, 伸縮性と多孔性という特異な構造的特徴を兼ね備えたPHA繊維について, その伸縮機構および繊維内部のポーラス構造に関する研究を行った. 本稿では放射光X線および高分解能3DX線顕微鏡を用い, 繊維の伸縮機構や微細構造に由来する機能性の解析結果について報告する.

2. PHAについて

まず, 微生物産生ポリエステル(Polyhydroxyalkanoate: PHA)⁽²⁾について解説する. PHAは, 糖や植物油といった再生可能資源を原料として, 微生物の体内で合成されるポリエステルであり, 使用後には自然環境中で微生物の作用により水と二酸化炭素へと分解される. したがって, PHAは「生分解性」と「バイオマス由来」という二重の特徴を有し, 環境調和型・環境循環型の材料として高く評価されている(図1). 近年では, 土壌や河川といった環境に加えて, 深海環境でもしっかりと分解される事が報告されている⁽³⁾. 加えて, 結晶性および熱可塑性を示す.

PHAの中でも, 最も代表的な構造を有するのがポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート](P(3HB))である. P(3HB)は高い結晶性を備えており, 繊維やフィルムといった成形加工に適した素材といえる⁽⁴⁾. しかしながら, 融点と熱分解温度が近く, 成形加工において取り扱いが難しいという課題を抱えている. このため, 実用面では, 第二成分を導入して融点を下げ, 結晶性と物性を制御したP(3HB)共重合体の方が広く用いられている.

P(3HB)共重合体は, 共重合比率の増加に伴って結晶性が低下し, 柔軟性や延伸性といった加工上の利点が付与される. このような構造制御により, 用途に応じた特性を持つ材料開発が可能となる. 我々の研究グループでは, P(3HB)共重合体を用いて, 特定のプロセス条件下で形成される伸縮性を有する繊維, さらに

多孔性を併せ持つ伸縮性ポーラス繊維を作製し, その特異な力学特性および構造特性の詳細な解析を進めてきた⁽⁵⁾⁻⁽⁸⁾. 次節以降では, これらの材料の性質と構造に関する最新の知見について述べる.

3. P(3HB)共重合体であるP(3HB-co-4HB)を用いた伸縮性繊維と伸縮時の高次構造変化^{(5),(7)}

P(3HB)共重合体はP(3HB)単体(P(3HB)ホモポリマー)よりも強度は低い柔軟な性質を持つことが知られている. 我々は, P(3HB)共重合体であるポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート](P(3HB-co-4HB))を結晶存在下で引き延ばす処理を施すことで伸縮性のある糸を作製できることを見出した(図2A). ここでいう伸縮性とは, 繊維を引き延ばしたのち, 荷重を除くと自発的に長さが初期長近くまで戻る性質のことを指す. 伸ばしたひずみ量に対して, どこまで戻るかを回復率 R と呼ぶ.

$$R = \frac{l_{\max} - l_r}{l_{\max} - l_0} \cdot 100$$

この時, $l_{\max}$, l_r , l_0 はそれぞれ繊維が最大に伸びた長さ, 荷重を除いた時の長さ, 伸ばす前の初期長である. 伸縮性のある糸は漁具やスポーツ衣料品, 最近ではストレッチジーンズなどの衣服にも使われている. 図2Bには既存の伸縮性繊維について引張強度(Tensile Strength)と伸び(Elongation)に応じてプロットしたものである. また, 回復率 R についても記述した.

図2Bには我々が開発した繊維も加えており, これは, 既存の漁具で使用しているものと遜色ない物性を有している. また, 注目したいのは, 医療用の手術用縫合糸で使われる伸縮性繊維の物性をも超えているという点である.

よい物性を示した, P(3HB-co-4HB)伸縮性繊維であるが, 材料としての信頼性を上げるには, どのような

機構で伸縮能が発現するかを明らかにする必要がある。最初に予想したのは、P(3HB)がハードセグメント、第二成分(4HBユニットや3HVユニット)がソフトセグメントとしてふるまっている、熱可塑性エラストマーのようなシステムである。ブロック共重合体のようなどちらかのモノマーが連鎖している場合、このような構造をとりうる。そこで、 ^{13}C -NMRを用い、カルボニル基の状態から連鎖構造の評価を行ったが、共重合体を構成する二つのモノマーユニットはほぼランダムに配置されており(ランダム共重合体)、ブロック共重合体のような伸縮機構ではないことが分かった⁽⁷⁾。

次に、結晶と非晶質分子鎖で形成される高次構造の

変化が伸縮性を出していると考えた。図3に伸縮前後の広角X線回折像を示す。配向したP(3HB-co-4HB)繊維は斜方晶系の結晶構造を有している(α 構造)(図3A)。これに対して、高い強度を有するP(3HB-co-4HB)繊維では α 構造に加えて、六方晶系の β 構造を示すことがある(図3B)。伸縮前の繊維からは α 構造結晶の配向パターンが検出されたが、伸長後の繊維には α 構造に加えて β 構造の結晶が見られた。伸縮前後で結晶構造の変化が観察されたことから、伸縮前後で内部構造が大きく変化すると考え、伸縮繊維性繊維を大型放射光施設に持ち込み、伸縮過程についてリアルタイム広角および小角X線散乱測定を行った。

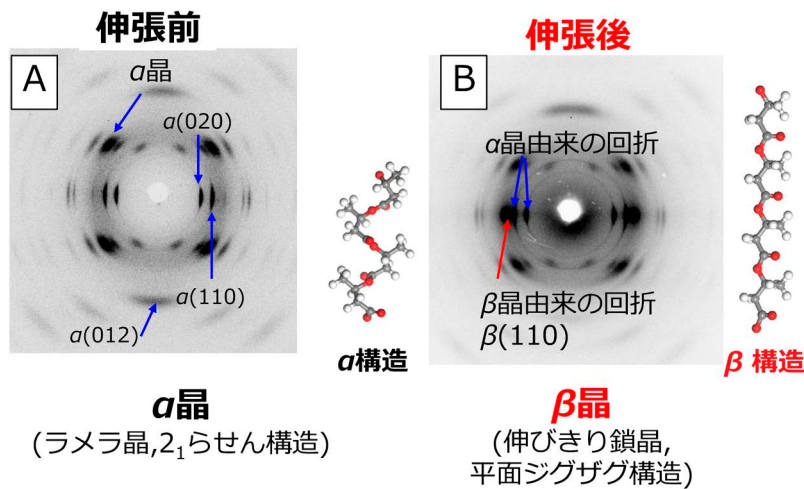


図3. P(3HB)およびP(3HB)共重合体の繊維で観察される広角X線回折図。(A) 典型的なP(3HB)の α 構造で形成される配向結晶に起因する回折パターン、(B) P(3HB)繊維の中で、高い強度を有する繊維によくあらわれる β 構造に由来する回折が α 構造の回折パターンに重なって出ているパターン。

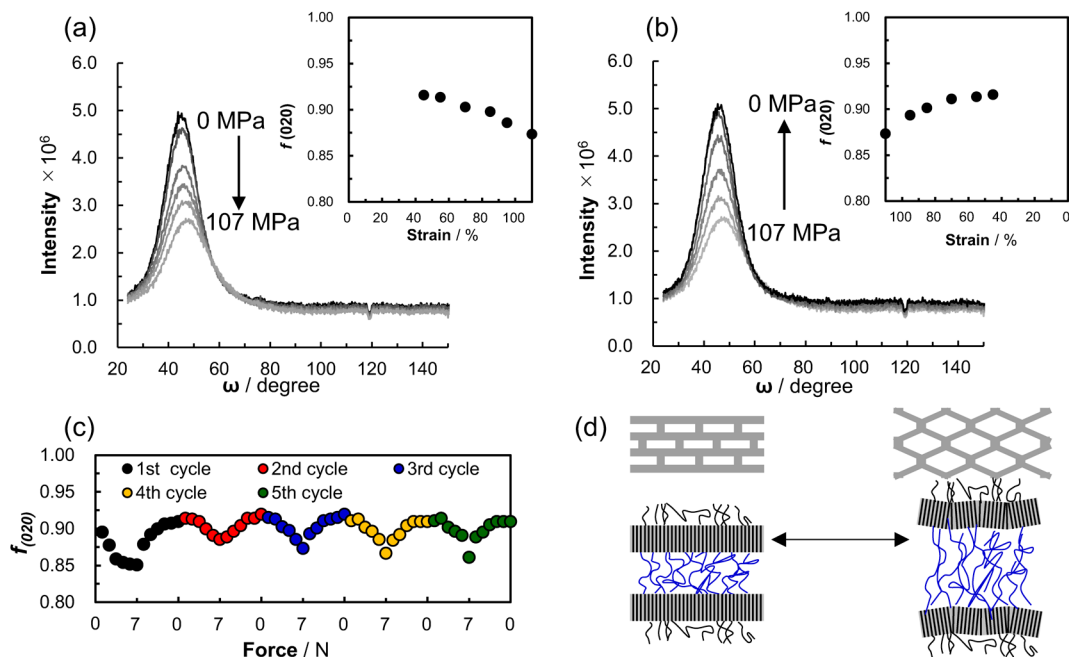


図4. 伸縮性繊維の回折点 $\alpha(020)$ の方位角プロット。(a)は伸長過程、(b)は収縮過程を表し、サイクル試験に対する方位角の動きを(c)に示す。(d)はこの結果から予想されるラメラ結晶が動くイメージ。Ref(7)の図を一部改変して使用。

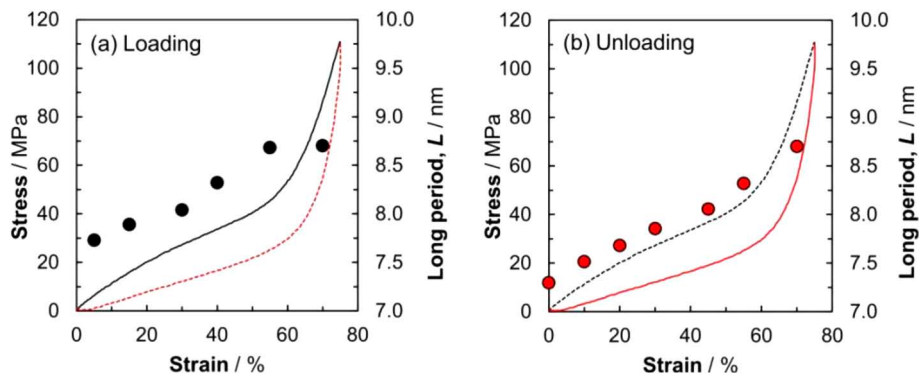


図5. 伸縮繊維における(a)伸長過程および(b)収縮過程のSS曲線とラメラ結晶の長周期。Ref(7)から引用。

図4はP(3HB-co-4HB)繊維の伸縮過程のリアルタイム広角X線回折図から算出された最も強い回折点である $\alpha(020)$ の方位角プロファイルである。図4(a)が伸長過程、図4(b)が収縮過程である。方位角プロファイルからは回折点の広がりを見積ることが出来、そこから結晶の配向度(高分子の板状結晶(ラメラ結晶)が繊維軸方向に対して、垂直にそろっている尺度)を見積もることができる。伸長過程に対する配向度を図4(c)に示した。この伸長過程において、ラメラ結晶は配向度が低下し、荷重を除くと元の配向度に戻る可逆変化を示した。これらをもとに構築したラメラの伸縮過程での動きのイメージを図4(d)に示す。また、各回折点の反射角から格子定数を求めた結果、伸長過程では結晶格子が引っ張る方向(=繊維軸方向)に引き伸ばされるように動いていることが明らかとなった。

繊維のように配向した高分子材料は、板状のラメラ結晶と非晶質鎖が互いに積層した周期構造(積層ラメラ構造)を作ることが知られている。また、これらの積層ラメラ構造がさらに周期構造を持った高次の構造を有していることがわかっている。P(3HB)共重合体繊維もこのような積層ラメラ構造を有することが知られているが、小角X線散乱からはこのラメラ結晶の周期(長周期)を見積もることができる。図5(a)には伸長過程、図5(b)には収縮過程の応力-ひずみ曲線図と共に、そのひずみにおける長周期をプロットした。長周期の動きとしては、伸長前が7.8 nmであり、もっとも伸長が進んだ時点で8.8 nmとなり、収縮後には7.8 nmになった。このように、長周期も、配向度や格子定数の変化と同様に、伸長過程で大きくなり、収縮過程で元のサイズに戻った。散乱データに自己相関関数を用いることで、ラメラ結晶の厚みも算出することができる⁽⁹⁾。ラメラ結晶は伸縮過程で大きな変化は見せず、つねに2.7 nm前後を示した。これらの結果から、ラメラ結晶は破壊されておらず、繊維の伸長に合わせて構造が可逆的に変化していることが明らかとなった。伸長前に対する伸長後の構造変化に着目すると、繊維方向と一致している格子定数は+2.5%増加し

ており、長周期は+22%の増加を示している。一方で、繊維全体の変化は+70%である。格子定数や長周期の変化は、繊維内でラメラ結晶がどの程度を占めるかを考慮しなければならないが、大まかに計算しても70%に到達しないことから、積層ラメラの外に非晶質や、積層ラメラがさらに集団を形成した高次構造、それらの配置が大きく変形していると考えられる。以上の結果から、P(3HB)共重合体伸縮性繊維の伸縮時における高次構造変化とともに、伸縮力の駆動力が構造の復元力によるものであることが明らかとなった。

4. P(3HB-co-4HB)ポーラス伸縮性繊維の作製と内部構造および機能性⁽⁸⁾

P(3HB)およびP(3HB)共重合体繊維の加工方法として、微結晶核延伸法⁽¹⁰⁾という手法がある。これは、溶融後、すぐに分子鎖が凍結するガラス転移点以下まで急冷し、その後ガラス転移点付近で保持したのちに延伸を行う方法である(図6)。この手法で作製された繊維は物性の向上に加えて、内部に多数の空孔(ポア)を有するポーラス繊維が作製できることが知られている。ポーラスの形成過程については、いくつかの研究報告があり、そちらを参照されたい⁽¹⁰⁾⁻⁽¹³⁾。我々は、

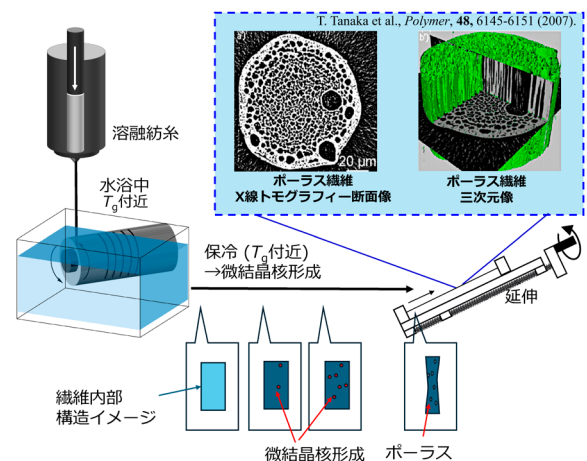


図6. 微結晶核延伸法の作製スキームと保冷時間の経過ともなう繊維内の構造イメージ、および(右上)内部のポーラス構造。右上の図はRef(11)を一部改変して使用。

前述のP(3HB-co-4HB)に対して、微結晶核延伸法を適用した結果、伸縮性のあるポーラス繊維を作製できることを見出した(以下、本文で用いるポーラス繊維はP(3HB-co-4HB)で作製したものを指す)。この伸縮性ポーラス繊維について、溶融急冷後の低温保持(ガラス転移温度付近 $\approx 4^{\circ}\text{C}$)過程における保冷時間を変更して作製した繊維のSEM観察結果を図7に示す。保冷時間が6時間まではポアの形成が認められないが、12時間以上になると、粗大なポア形成が認められる。さらに、保冷時間を延ばしていくと、内部のポアサイズは小さくなり、48–72時間経過したものは非常に微細なポアが多数存在する繊維を作製することができた。

また、繊維軸方向に平行に切断し、内部の構造を測定した(図8(a))。この切断面の観察と後述する高分

解能3DX線頭微鏡の結果から繊維内のポアは不連続孔であることがわかった。こちらの伸縮性ポーラス繊維についても、伸縮過程の各種分析を行った結果、伸長前後の結晶格子、長周期の変化は上述した結果と同様であることから、伸縮機構は同等である。一方、先ほどの繊維軸に沿って切断したサンプルを用い、小型の引張固定できる治具を作製し、伸長過程におけるポーラス繊維断面のSEM観察を行った(図8(a–e))。この結果、伸長時に、ポアのアスペクト比が増加するように変形していく挙動が観察された(図8(f))。このように伸縮性ポーラス繊維では、数~数百マイクロオーダーのポア変形も伸縮に寄与していると考えられる。

伸縮性ポーラス繊維の用途として、手術用の縫合糸を検討している。これは、P(3HB-co-4HB)に生体適合

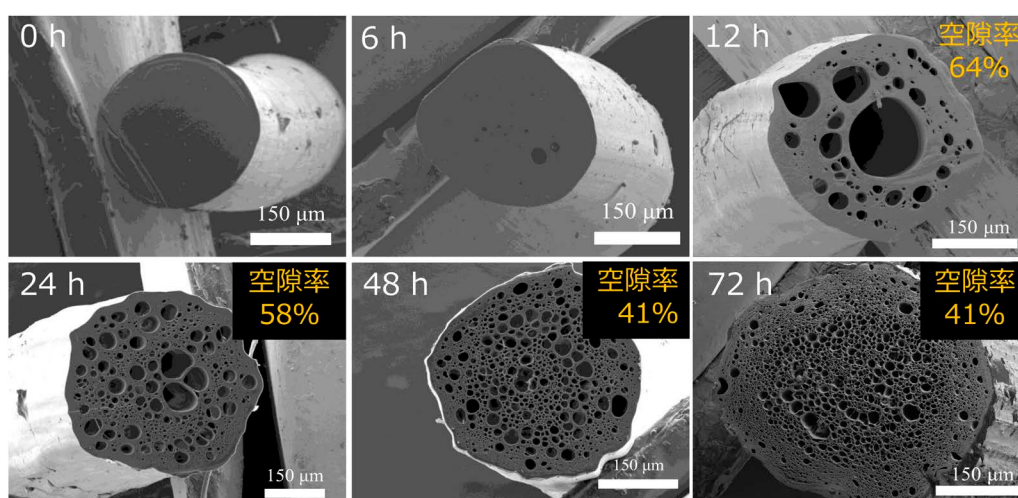


図7. 保冷時間の経過に伴うポーラス繊維の内部構造観察結果。Ref(8)の図を一部使用。

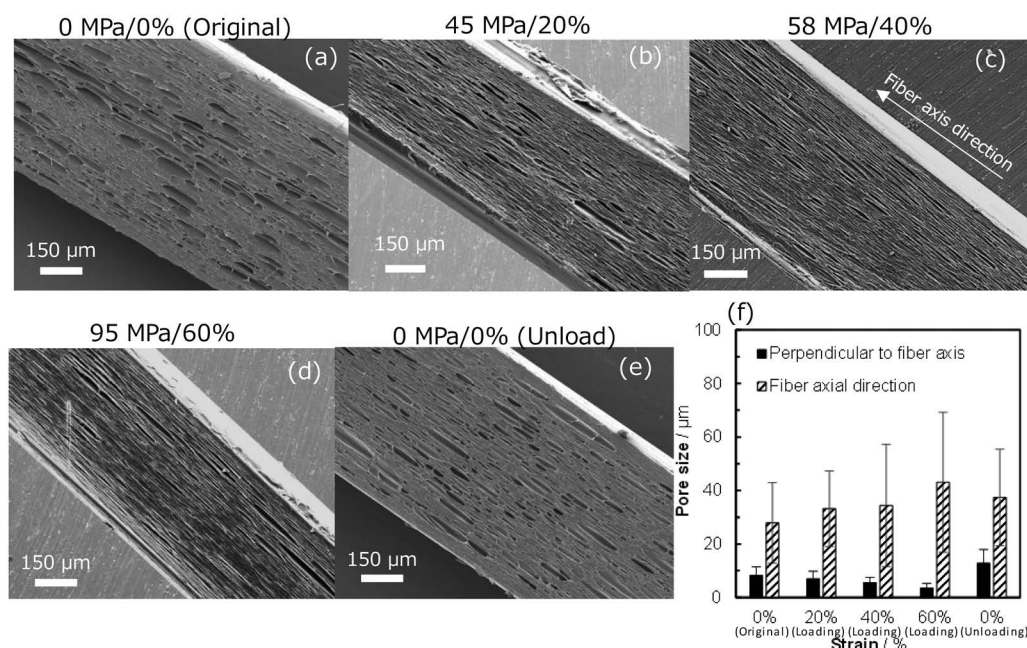


図8. SEMを用いた伸縮性ポーラス繊維における繊維軸方向活断面の観察。(a–d)は伸長過程であり、(e)は伸縮した後、(f)はSEM画像から計測した伸縮方向に対して平行および垂直方向のポアサイズ。Ref(8)から転載。

性があり、類似した化学構造を有するP(4HB)が生体吸収手術用縫合糸として上市されているためである。手術用縫合糸は患部の縫合に使う際、糸を結ぶ必要があるが、このような結ぶことを医学では結紮といい、結紮のしやすさ、ほどけない性質などを結紮性と呼ぶ。結紮部は結んだあと、ほどけないことが重要で、さらに結紮部のサイズが小さいほど生体に対する負担が小さい。伸縮性ポーラス繊維の場合、結紮後、伸縮性によって自己結紮し、さらに結紮することによりポアがつぶれ、結紮部が小さくなる。このような用途のアイデアは名古屋大学医学系研究科の平田らによって提案された⁽¹⁴⁾。実際に、この伸縮性P(3HB-co-4HB)ポーラス繊維、P(3HB-co-4HB)非多孔質繊維、P(4HB)

非多孔質繊維を、外科結びで結紮し、この結紮部をSEM観察したものが図9である。撮影方向によって形状が異なって見えるが同じ結び方で結んでいる。P(3HB-co-4HB)非多孔質繊維は、縦1.7 mm、横2.8 mm、P(4HB)非多孔質繊維は、縦1.2 mm、横2.3 mmであるのに対して、ポアを有している伸縮性P(3HB-co-4HB)ポーラス繊維では、縦0.9 mm、横1.3 mmと結紮部のサイズが小さくなっている。これは、ポアがつぶれたことに由来すると考えられるが、SEMでは直接的に内部構造の評価を行うことは難しい。そこで、リガクの高分解能3DX線頭微鏡(nano 3DX)を用いて内部構造の観察を行った。この装置は、ラボ機ながら非常に分解能が高く、ボクセルサイズは10 μm 以下まで小さく

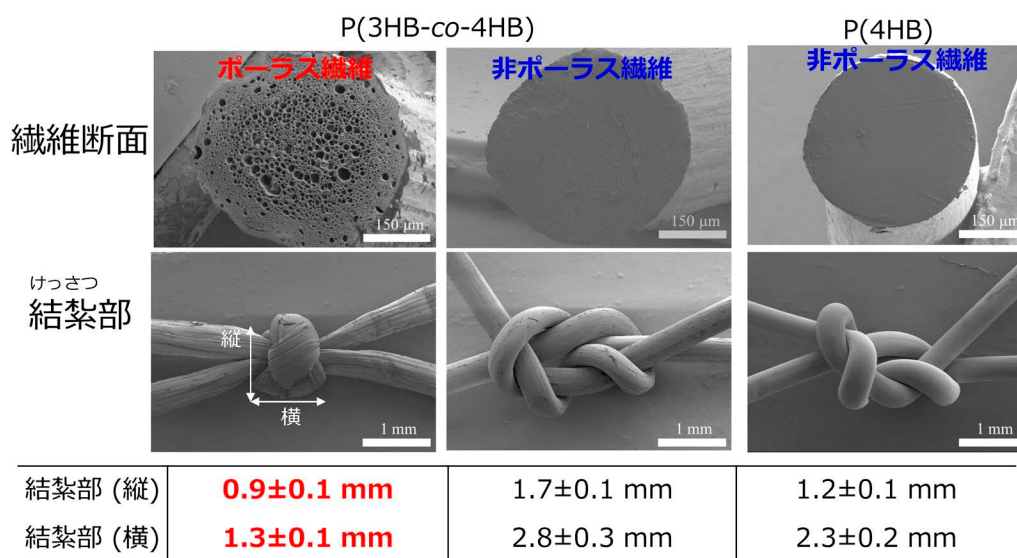


図9. P(3HB-co-4HB)を用いた伸縮性ポーラス繊維、非多孔質繊維、およびP(4HB)繊維の結紮部および結紮部サイズ。Ref(8)から一部転載。

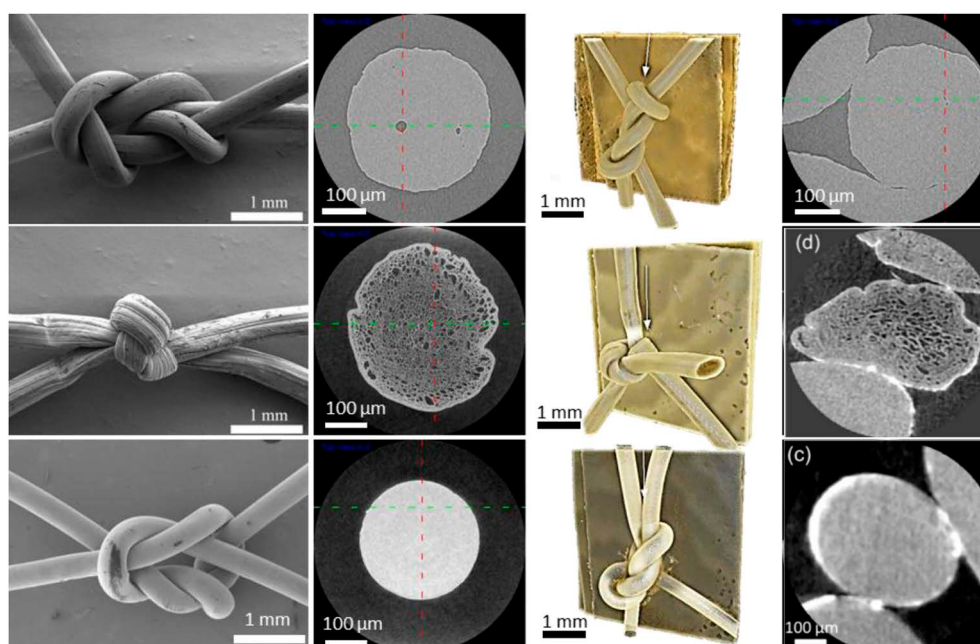


図10. 結紮部のSEM画像、結紮部より前の繊維CT断面画像、結紮部のCT画像、結紮部内部の繊維CT断面画像。Ref(8)から転載。

なる。図10にP(3HB-co-4HB)の非多孔質繊維、ポーラス繊維、P(4HB)の非多孔質繊維における測定結果を示す。画像は左から、結紮部のSEM画像、結紮部から外れている箇所の再構築断面図、CT測定から再構築した外観図、結紮部の繊維の再構築断面図である。この装置はX線透過像を再構築するものであり、ポーラス繊維においては、ポリマー部分とポアの空気部分の密度差が大きいため、きれいに再構成することができた。一方で、同じ密度差のポリマーが接している結紮部については、繊維の境界線があいまいになる。こちらは、リガクのX線研究所の方からアドバイスをいただき、SEM用の蒸着装置で繊維の表面に薄く金スパッタを行うことで、繊維境界面の密度差を出すことに成功した。これによって結紮部の繊維の断面を可視化することができた。各繊維の断面形状を比較すると、ポーラス繊維のみ、ポアがつぶれて大きく変形していることは明確である。また、図11は再構築した(A)CT像の外観、(B)樹脂部分を透過設定にしたのち、内部のポアサイズ別に色を付けた3Dヒートマップ図である。ポアが大きいほど、暖色になり、小さくなると寒色から最後は無色になる。結紮部の部分ではほとんどポアがつぶれており、結紮前の部分にはポアが残っていることが可視化された。同様に、結紮部の3D断面図(C)からもこの様子が観察される。以上の結果から、P(3HB-co-4HB)を用いて作製された伸縮性ポーラス繊維の伸縮過程の内部構造変化、および結紮部分の内部構造が観察され、結紮性の向上および手術用縫合糸としてのポテンシャルが示された。

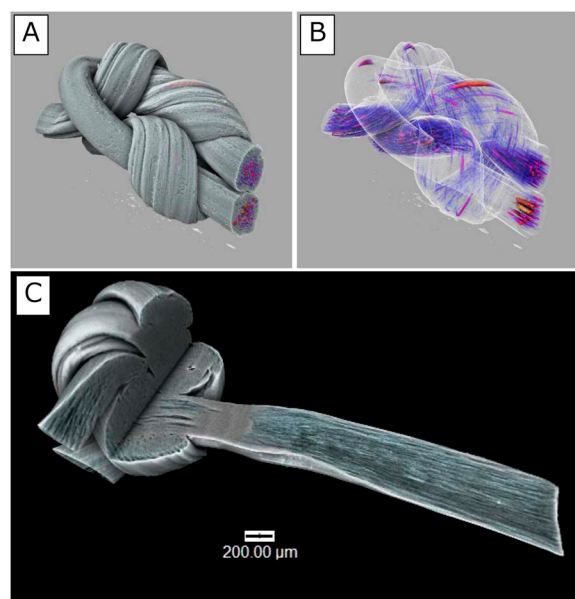


図11. CT画像をもとに再構築した3Dイメージ。結紮部における(A)表面を強調した画像、(B)ポアをサイズに応じてカラーリングし、ポリマー部分を透過させた3Dイメージ、(C)結紮部を切り出した3Dイメージ。

終わりに

バイオマス由来プラスチックは環境循環型材料として注目を集めているが、材料作製の製造技術やプロセスは未だ成熟段階には至っていない。これは、裏を返せば、新たな機能性や物性を引き出せる可能性が残されているともいえる。機能性の発見や物性改善は、用途開拓や使用量の増加を促すために、重要であり、この種の研究には高度分析機器が必要不可欠である。実際、近年では分析機器の機能や性能が上がることで、これまで未解明だった部分が明らかになってきている。最新の機器をうまく活用しつつ、バイオマス由来プラスチックの実用化および機能付与、高物性化を実施していく必要がある。

謝辞

本研究で用いたP(3HB-co-4HB)は三菱ガス化学によって提供されました。

引用文献

- (1) T. Iwata: Biodegradable and bio-based polymers: Future prospects of eco-friendly plastics, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54** (11) (2015), 3210–3215.
- (2) K. Sudesh, H. Abe, and Y. Doi: Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters, *Prog. Polym. Sci.* **25** (10) (2000), 1503–1555.
- (3) T. Omura, N. Isobe, T. Miura, S. i. Ishii, M. Mori, Y. Ishitani, S. Kimura, K. Hidaka, K. Komiyama, M. Suzuki, K.-i. Kasuya, H. Nomaki, R. Nakajima, M. Tsuchiya, S. Kawagucci, H. Mori, A. Nakayama, M. Kunioka, K. Kamino, and T. Iwata: Microbial decomposition of biodegradable plastics on the deep-sea floor, *Nat. Commun.* **15** (1) (2024), 568.
- (4) T. Kabe, T. Tsuge, K. Kasuya, A. Takemura, T. Hikima, M. Takata, and T. Iwata: Physical and structural effects of adding ultrahigh-molecular-weight poly [(R)-3-hydroxybutyrate] to wild-type poly [(R)-3-hydroxybutyrate], *Macromolecules*, **45** (4) (2012), 1858–1865.
- (5) T. Omura, K. Komiyama, A. Maehara, T. Kabe, and T. Iwata: Elastic marine biodegradable fibers produced from poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate] and evaluation of their biodegradability, *ACS Appl. Polym. Mater.*, **3** (12) (2021), 6479–6487.
- (6) K. Komiyama, T. Omura, T. Kabe, and T. Iwata: Mechanical properties and highly-ordered structural analysis of elastic poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate] fibers fabricated by partially melting crystals, *Polymer*, **247** (2022), 124772.
- (7) T. Omura, K. Komiyama, A. Maehara, T. Kabe, and T. Iwata: Real-time structural changes of poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate] Biodegradable Elastic Fibers by Using Synchrotron Radiation, *Sustainable Green Chemistry in Polymer Research. Volume 1. Biocatalysis and Biobased Materials*, American Chemical Society, 2023, pp.

- 217–236.
- (8) S. Tsujimoto, T. Omura, K. Komiyama, T. Kabe, A. Maehara, A. Murayama, H. Hirata, M. Suzuki, K.-i. Kasuya, D. Takahashi, and T. Iwata: Evaluation of the highly ordered structure, ligature, and enzymatic degradation of poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate] elastic porous fibers, *Biomacromolecules*, **25**(12) (2024), 7861–7868.
- (9) G. R. Strobl, M. J. Schneider, and I. G. Voigtmartin: Model of partial crystallization and melting derived from small-angle X-ray-scattering and electron-microscopic studies on low-density polyethylene, *J. Polym. Sci. Part B–Polym. Phys.* **18**(6) (1980), 1361–1381.
- (10) T. Tanaka, M. Fujita, A. Takeuchi, Y. Suzuki, K. Uesugi, K. Ito, T. Fujisawa, Y. Doi, and T. Iwata: Formation of highly ordered structure in poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate] high-strength fibers, *Macromolecules*, **39**(8) (2006), 2940–2946.
- (11) T. Tanaka, K. Uesugi, A. Takeuchi, Y. Suzuki, and T. Iwata: Analysis of inner structure in high-strength biodegradable fibers by X-ray microtomography using synchrotron radiation, *Polymer*, **48**(20) (2007), 6145–6151.
- (12) T. Tanaka, T. Yabe, S. Teramachi, and T. Iwata: Mechanical properties and enzymatic degradation of poly [(R)-3-hydroxybutyrate] fibers stretched after isothermal crystallization near T-g, *Polym. Degradat. Stab.*, **92**(6) (2007), 1016–1024.
- (13) R. A. Rebia, K. Shizukuishi, and T. Tanaka: Characteristic changes in PHBH isothermal crystallization monofilaments by the effect of heat treatment and dip-coating in various solvents, *Eur. Polym. J.*, **134** (2020), 109808.
- (14) A. Murayama, H. Yoneda, A. Maehara, N. Shiomi, and H. Hirata: A highly elastic absorbable monofilament suture fabricated from poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Sci. Rep.*, **13**(1) (2023), 3275.