

博士論文 (要約)

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]伸縮性繊維の
創製と大型放射光を用いた高次構造解析および海洋分解性評価

大村 拓

第 一 章.....	- 6 -
1.1. はじめに.....	- 7 -
1.2. 微生物産生ポリエステル:ポリヒドロキシアルカン酸 (PHA).....	- 8 -
1.2.1. ポリ[(R)-3-ヒドロキシブタン酸]: P(3HB).....	- 8 -
1.2.2. 熱物性と機械的物性.....	- 9 -
1.2.3. 代表的な PHA 共重合体の特徴と物性.....	- 10 -
1.2.4. 二種類の分子鎖構造とその結晶構造.....	- 11 -
1.3. 微生物産生ポリエステルの高強度繊維化.....	- 13 -
1.3.1. 冷延伸・二段階延伸法 (超高分子量 PHA).....	- 13 -
1.3.2. 微結晶核延伸法 (通常分子量 PHA).....	- 15 -
1.3.3. 冷延伸・二段階延伸法 (超高分子量ブレンド).....	- 17 -
1.3.4. 中間熱処理延伸法.....	- 17 -
1.4. 熱分解.....	- 18 -
1.4.1. n 次反応- n 次重量減少挙動 (積分解析法).....	- 19 -
1.4.2. ランダム分解に伴う重量減少挙動 (ランダム分解解析法).....	- 20 -
1.5. 微生物分解.....	- 21 -
1.5.1. 生分解性評価方法とその現状.....	- 21 -
1.5.2. 生物化学的酸素要求量 (Biochemical Oxygen Demand : BOD) 試験.....	- 23 -
1.5.3. BOD 生分解性試験の原理.....	- 25 -
1.6. 本研究の目的.....	- 28 -
1.7. 参考文献.....	- 30 -
第 二 章.....	- 38 -
2.1. 緒言.....	- 39 -
2.2. 実験方法.....	- 40 -
2.2.1. 材料.....	- 40 -
2.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の作製.....	- 40 -
2.2.3. フラクシオン分離.....	- 41 -
2.2.4. 分析・評価.....	- 41 -
2.2.4.1. 示差走査熱量測定 (DSC 測定).....	- 41 -
2.2.4.2. 熱流動評価 (フローテスター).....	- 41 -
2.2.4.3. X 線測定.....	- 42 -
2.2.4.4. サイクル試験.....	- 42 -
2.2.4.5. ゲル浸透クロマトグラフィー分析 (GPC).....	- 42 -
2.3. 結果と考察.....	- 43 -
2.3.1. P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱的性質.....	- 43 -
2.3.2. フラクシオン分離による P(3HB-co-4HB)の分画.....	- 44 -
2.3.3. DSC・広角 X 線リアルタイム同時測定.....	- 46 -
2.3.4. 熔融紡糸中の熱分解による分子量低下.....	- 48 -

2.3.5. P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の機械的物性	- 51 -
2.4. 結論.....	- 54 -
2.5. 参考論文.....	- 55 -
第 三 章.....	- 59 -
3.1. 緒言.....	- 60 -
3.2. 実験方法.....	- 61 -
3.2.1. 材料.....	- 61 -
3.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の作製.....	- 61 -
3.2.3. 分析・評価.....	- 62 -
3.2.3.1. 核磁気共鳴分光法分析 (^1H - and ^{13}C NMR).....	- 62 -
3.2.3.2. マイクロビーム広角 X 線回折測定	- 62 -
3.2.3.3. サイクル試験中の広角・小角 X 線リアルタイム同時測定	- 62 -
3.2.3.4. サイクル試験	- 63 -
3.3. 結果と考察.....	- 63 -
3.3.1. P(3HB-co-16 mol%-4HB)における 3HB ユニットと 4HB ユニットの連鎖分布	- 63 -
3.3.2. マイクロビーム X 線による伸縮性繊維内部の α 晶と β 晶の分布	- 65 -
3.3.3. サイクル試験時の β 晶に由来する回折強度の変化.....	- 67 -
2.3.4. 伸縮試験中の動的広角 X 線回折測定結果.....	- 69 -
3.3.4.1. 結晶サイズの変化.....	- 69 -
3.3.4.2. 結晶配向度の変化.....	- 70 -
3.3.4.3. 単位格子における変化.....	- 71 -
3.3.5. 伸縮試験中の動的小角 X 線散乱測定結果.....	- 74 -
3.3.6. X 線測定から考えられる伸縮過程の高次構造モデル.....	- 76 -
3.4. 結論.....	- 77 -
3.5. 詳細なデータ	- 79 -
3.6. 参考論文.....	- 81 -
第 四 章.....	- 84 -
4.1. 緒言.....	- 85 -
4.2.1. 材料.....	- 86 -
4.2.2. 等温熱分解.....	- 87 -
4.2.3. 分析・評価.....	- 87 -
4.2.3.1. 熱重量分析 (TGA).....	- 87 -
4.2.3.2. 核磁気共鳴分光法分析 (^1H - and ^{13}C -NMR).....	- 87 -
4.2.3.3. ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS).....	- 88 -
4.3. 結果と考察.....	- 88 -
4.3.1. 各昇温速度における種々の PHA の熱分解	- 88 -
4.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)の等温熱分解とその熱分解生成物	- 90 -
4.3.3. 熱分解生成物の同定	- 93 -

4.3.4. 熱分解回収物と熱分解残渣の比較	- 98 -
4.3.5. 動力学的解析に基づいた種々の PHA における熱分解挙動.....	- 100 -
4.3.5.1. ランダム分解解析法	- 100 -
4.3.5.2. 積分解析法	- 102 -
4.3.6. 予想される P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解機構	- 104 -
4.4. 結論.....	- 106 -
4.5. 参考論文.....	- 106 -
第 五 章.....	- 109 -
5.1. 緒言.....	- 110 -
5.2. 実験方法.....	- 110 -
5.2.1. 試薬.....	- 110 -
5.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維 (未延伸非ポーラス繊維、延伸非ポーラス繊維) の作製	- 111 -
5.2.3. P(3HB-co-16 mol%-4HB)延伸ポーラス繊維の作製	- 111 -
5.2.4. 高次構造の異なる P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維の環境分解試験.....	- 111 -
5.2.5. プレート計測法による生菌数測定およびクリアゾーン法による PHA 分解菌数測定.....	- 112 -
5.2.6. 分析・評価.....	- 113 -
5.2.6.1. 生物化学的酸素要求量 (BOD) 試験.....	- 113 -
5.2.6.2. 走査型電子顕微鏡 (SEM).....	- 113 -
5.2.6.3. ゲル浸透クロマトグラフィー分析 (GPC).....	- 114 -
5.2.6.4. 広角 X 線回折測定	- 114 -
5.3. 結果と考察.....	- 114 -
5.3.1. 作製した繊維の詳細.....	- 114 -
5.3.2. 淡水と海水による生分解速度の差異.....	- 116 -
5.3.3. P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維の形状が及ぼす海洋分解速度への影響.....	- 118 -
5.3.4. 生分解後の P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維	- 123 -
5.3.4.1. 繊維に付着した微生物	- 123 -
5.3.4.2. 生分解に伴う結晶化度の変化	- 124 -
5.3.4.3. 生分解に伴う分子量の変化	- 126 -
5.3.5. P(3HB-co-16 mol%-4HB)の BOD 試験.....	- 127 -
5.3.5.1. 東京湾の海水と三四郎池の池水を用いた P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維の BOD 試験(5.3.2 の重量減少結果に対する).....	- 127 -
5.3.5.2. 東京湾の海水を用いた P(3HB-co-16 mol%-4HB)粉末の BOD 試験	- 129 -
5.3.5.3. BOD 装置の違いによる BOD 生分解度への影響.....	- 131 -
5.3.5.4. 栄養源 (N, P) 添加による BOD 生分解度への影響	- 132 -
5.3.5.5. 使用するサンプル形状による BOD 生分解度への影響.....	- 135 -
5.4. 結論.....	- 136 -
5.5. 参考論文.....	- 137 -
第 六 章.....	- 140 -

6.1. まとめと今後の展望	- 141 -
6.2. 発表論文	- 147 -
6.3. 謝辞	- 149 -

第一章

序論

1.1. はじめに

耐久性に優れたプラスチックは、容器包装などの分野から高度な技術を要する電子機器などに至るまで、我々の生活のあらゆるところで使われており、必要不可欠なものとなっている。2015年には3億トンに達し、他の製造された材料の量をほぼすべて上回っており、歴史的な生産の伸びを記録している[1]。1950年代に始まったプラスチックの生産量に比べると約20倍にも急成長しており、その量は2017年時点で、累計83億トンである[2]。今後もプラスチックの生産量は増加していき、2036年には2倍、2050年までにはほぼ4倍になると予想されている[3]。このように、我々の生活に恩恵を与えてきたプラスチックも、国連環境計画 (UNEP) においては控えめに見積もって4兆円の負の影響があり、今後のプラスチックの生産量の増加に伴ってさらに増大すると予想されている。これは、年間3億トン発生していると推測されている廃棄物が原因である。この廃棄物は9%がリサイクル、12%が焼却、約80%が埋め立てもしくは自然環境へ流出してしまっている[4]。その中でも、毎年少なくとも800~1100万トンのプラスチックが海に流出 (毎分ゴミ収集車1台分のゴミが海に流出するほど) しており、何も対策を講じなかった場合、2050年には毎分ゴミ収集車4台分にまで増加すると予想されている[3,5]。

このように、海洋に流出した非生分解性プラスチックによる海洋汚染や海洋生物への悪影響が近年世界的な問題となっている。場所にも依存するが、漁具から発生するプラスチックごみは海洋ゴミの約10~90%であることが報告されている[6]。Jangらは年間に発生する韓国周辺の海洋ゴミの約75%を占めていること[7]や、Hammerらは外洋では約50~90%を占めていること[8]、そしてそのほとんどが繊維であることを報告している。漁具で使用される漁網や釣り糸、ロープは使用中に切れてしまい紛失もしくは遺棄されて、意図せずに海洋生物へ絡まって釣りを続けてしまうゴーストフィッシングサイクル (ゴーストギア) が世界的に問題視されている。これら漁網や釣り糸に現在使用されている石油由来非生分解性材料である、ポリエチレンテレフタレート (PET) やナイロン (PA) の密度は海水の密度よりも大きいため、切れてしまった後は海表面で浮遊するのではなく、海中もしくは深海底へ沈んでいく。つまり、被害は海中や海表面だけではなく海底にまで及ぶ恐れがある。

そこで、その解決策の一つとして、環境中の微生物によって、水と二酸化炭素にまで完全に分解される「生分解性プラスチック」の研究開発が注目を集めている。しかしながら、生分解性プラスチックでも種類によって分解性はそれぞれ異なる。この生分解性は、高温・高湿条件下のコンポスト分解、土壌分解、活性汚泥分解、河川・湖水分解、海洋分解、深海分解などに分別されるため、それぞれの生分解性プラスチックの特徴を把握しておく必要がある。微生物産生ポリエステルは、現在問題になっている海洋中でも分解性を有する数少ない生分解性プラスチックの一つであるため、とりわけ注目されている。

1.2. 微生物産生ポリエステル:ポリヒドロキシアルカン酸 (PHA)

1.2.1. ポリ[(R)-3-ヒドロキシブタン酸]: P(3HB)

植物がデンプンを貯蔵炭水化物として蓄積するのと同じように、自然界に存在する多くの微生物は、ポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) と呼ばれるポリエステルをエネルギー貯蔵物質として体内に蓄積する。微生物産生ポリエステルは、1925年にフランスのパスツール研究所で微生物培養中に Lemoigne 博士により発見され、光学的に100%R体の規則性を有する(R)-3-ヒドロキシブタン酸を繰り返しユニットとし直鎖状につながった、ポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート] (P(3HB))である[9]。P(3HB)はバイオマスから作られ、優れた生分解性を有しているため、環境調和型生分解性プラスチックである (Fig. 1-1)。

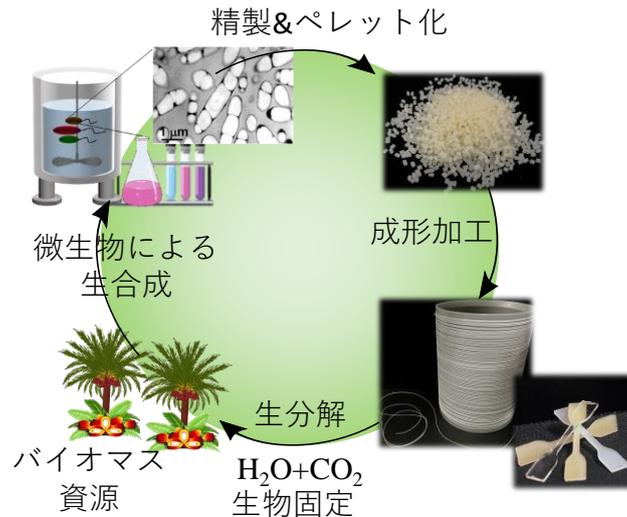


Fig. 1-1. Circulation system in biosynthesis, materialization and biodegradation of microbial polyesters : PHA.

1.2.2. 熱物性と機械的物性

P(3HB)の熱物性はポリプロピレン (PP) と同程度の融点 (180 °C) を持つ熱可塑性の生分解性プラスチックであり、熱成形加工が可能である。しかしながら、P(3HB)は180~200 °C の溶融プロセス下において熱安定性が低いため、分子量の著しい低下が起こり[10]、成形後の材料の物性に大きく影響してくる。これは、P(3HB)の熱分解開始温度が融点付近であるため、成形加工可能なプロセスウィンドウが非常に狭い。P(3HB)フィルム of 力学物性としては破壊強度 15~40 MPa、引張弾性率 3.5 GPa、破断伸び 5%と硬くて脆いことが知られている。さらに、ガラス転移点 (T_g) が 4 °C と室温よりも低いため、室温に置いておくと結晶化が進行 (二次結晶化) する。つまり、室温下で結晶性の高い脆い材料となり、経時劣化を引き起こすという欠点がある[11,12]。破断伸びは、溶融成形した直後では 45%前後で、1 日後では 20%、300 日後には 10%以下にまで低下する[13]。P(3HB)は優れた生分解性を有しているにもかかわらず、これらの理由により実用化が困難であった。

1.2.3. 代表的な PHA 共重合体の特徴と物性

上記の硬くて脆い物性を改善するための一つとして微生物による共重合体化が試みられてきた。PHA 高重合体は組み込む第二成分モノマーの種類や組成率を変えることにより、物性を制御することが可能となる (Table 1-1)。共重合体の代表的な例としては、3-ヒドロキシバレリル酸 (3HV) を導入したポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-(R)-3-ヒドロキシバレレート] (P(3HB-co-3HV))[14,15]や3-ヒドロキシヘキサノ酸 (3HH) を導入したポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-(R)-3-ヒドロキシヘキサノエート] (P(3HB-co-3HHx))[16,17], 4-ヒドロキシブタン酸 (4HB) を導入したポリ[(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))[18,19]などが挙げられる (Fig. 1-2)。これらの共重合体は、PHA の合成微生物に与える炭素源の量や種類を変えることで合成される。共重合体はそれぞれ、P(3HB-co-3HV)は硬くて強い、P(3HB-co-3HHx)は柔軟でしなやか、P(3HB-co-4HB)は柔軟で伸び縮みするという物性を有し、P(3HB)の硬くて脆い物性から変化する。第二成分として、3HV ユニットは3HB 連鎖部分の結晶中に取り込まれる共結晶化が起きることで、高結晶性の材料となる[20-22]。一方で、3HHx ユニットや4HB ユニットを第二成分として導入した場合、3HB 連鎖部分の結晶から3HHx ユニットや4HB ユニットが排斥される[23,24]。つまり、これら第二成分の比率が高まるほど結晶性が低下し、柔軟な材料となるだけでなく、二次結晶化による経時劣化もある程度抑制できる。さらに、共重合組成の比率に伴い P(3HB)に比べて融点が低下するため、熱分解による分子量低下が開始する温度 (約 180~200 °C) よりも十分低温で熱成形加工が可能となり、プロセスウィンドウが広がるというメリットもある。さらに興味深いことに、P(3HB-co-4HB)において、ある特定の4HB の組成比率である場合、ゴムのような伸縮性を発現する。これらのように、共重合体の種類や組成比率を制御することで、ポリプロピレン (PP) やポリエチレン (PE) のような汎用性プラスチックの物性を広範囲に網羅でき、生分解性プラスチックのより広範囲での応用に大きく貢献することが期待される。

Table 1-1. Mechanical properties of various PHA copolymer.

Sample	Tensile strength / MPa	Young's modulus / GPa	Elongation at break / %	T_m / °C	T_g / °C	X_c / %	Ref.
P(3HB)	43	3.5	5	178	4	60	[24]
P(3HB- <i>co</i> -9 mol%-3HV)	37	1.9	-	162	6	-	[25]
P(3HB- <i>co</i> -14 mol%-3HV)	35	1.5	-	150	4	-	[25]
P(3HB- <i>co</i> -25 mol%-3HV)	30	0.7	-	137	-6	-	[25]
P(3HB- <i>co</i> -5 mol%-3HHx)	43	-	5	151	0	42	[17]
P(3HB- <i>co</i> -10 mol%-3HHx)	21	-	400	127	-1	34	[17]
P(3HB- <i>co</i> -17 mol%-3HHx)	20	-	850	120	-2	26	[17]
P(3HB- <i>co</i> -7 mol%-4HB)	28	0.03	45	172	-2	50	[24]
P(3HB- <i>co</i> -16 mol%-4HB)	26	0.02	444	130	-7	45	[24]
P(3HB- <i>co</i> -26 mol%-4HB)	13	0.08	750	48, 111, 123	-14	20	[26]
P(3HB- <i>co</i> -51 mol%-4HB)	2.3	0.03	450	44	-27	3	[26]
P(3HB- <i>co</i> -82 mol%-4HB)	58	0.05	1320	52	-39	18	[27]
P(4HB)	104	0.15	1000	53	-48	34	[27]

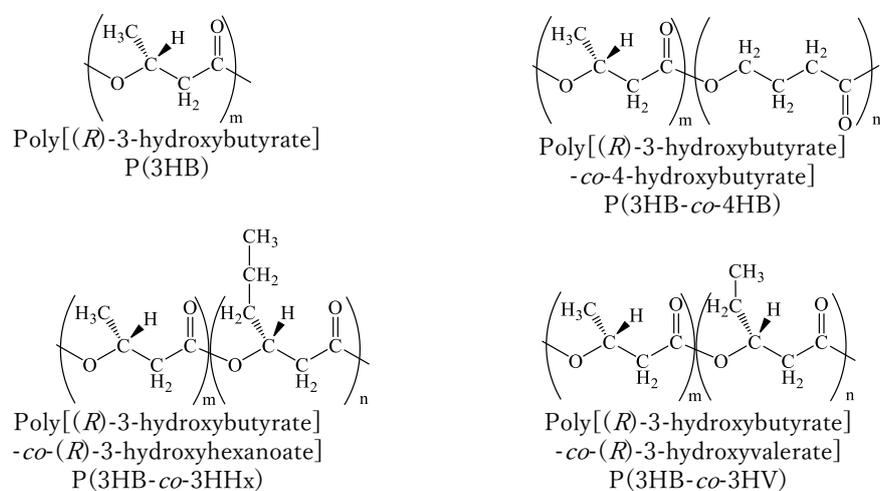


Fig. 1-2. Chemical structure of P(3HB) and typical P(3HB) copolymers.

1.2.4. 二種類の分子鎖構造とその結晶構造

微生物により生合成された P(3HB)は光学的に 100%*R* 体の規則性を有する(*R*)-3-ヒドロキシブタン酸 (3HB) を繰り返しユニットとし直鎖状につながった高結晶性のポリマーである。P(3HB)の結晶構造は、二種類存在する。1つ目は、通常の結晶化によ

って形成されるラメラ結晶を構成する最も安定な構造である、2 回らせんの分子鎖から形成される結晶は α 晶である。配向フィルムの X 線回折図[28–30]や単結晶の電子線回折図[28,29]、エネルギー計算[30–33]などの観点から、 α 晶は格子定数： $a = 0.567$ nm、 $b = 1.320$ nm、 c (繊維軸) = 0.596 nm、斜方晶系、空間群： $P2_12_12_1$ ($\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$)、単位格子内に 2 本の分子鎖が存在し、それぞれの分子鎖は 2 回らせんの対称性を有していることが報告されている (Fig. 1-3 (a))[33]。

2 つ目は、応力がかかった時に発現する平面ジグザグ構造の分子鎖から形成される β 晶である (Fig. 1-3 (b))。Orts らによって、PHA の共重合体の一種であるポリ[(*R*)-3-ヒドロキシブチレート-*co*-(*R*)-3-ヒドロキシバレレート] (P(3HB-*co*-3HV)) を氷浴中で高配向させたフィルム中において、2 回らせん構造の α 晶とは異なる構造が観察され、これが平面ジグザグ構造の分子鎖から形成される β 晶であることが初めて報告された[34]。その後、延伸された PHA の繊維やフィルムなどの広角 X 線回折図に多数観察されている[35–38]。 β 晶が観察されたこれらの PHA 部材は高い引張強度を示すことから、 β 晶は高強度化の一つの因子であると考えられている。Tashiro らは P(3HB) の β 晶の二次元結晶構造の解析を行い、格子定数： $a = b = 0.922$ nm、 c (繊維軸) = 0.466 nm、六方晶系、空間群： $P3_221$ ($\alpha=\beta=90^\circ$, $\gamma=120^\circ$) であることを示している[39]。

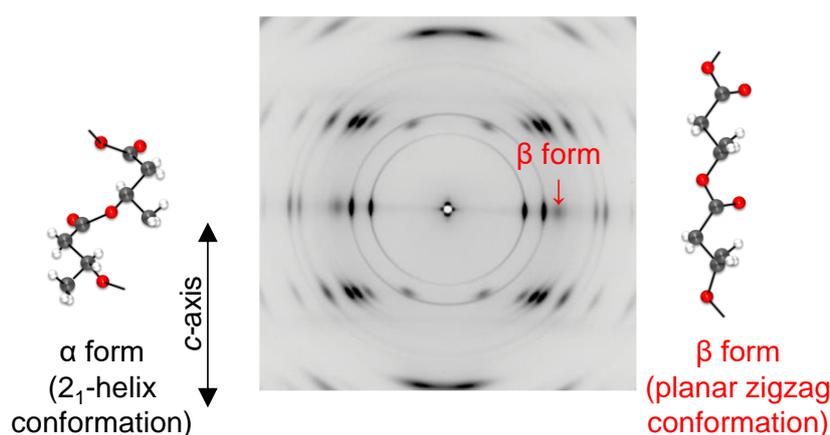


Fig. 1-3. Wide angle X-ray diffraction image of high-strength P(3HB) fiber and two kinds of molecular chain structures (α -form (2_1 helix conformation) and β -form (planar zigzag conformation)).

1.3. 微生物産生ポリエステルの高強度繊維化

1.3.1. 冷延伸・二段階延伸法 (超高分子量 PHA)

自然環境中に存在する微生物が合成する野生株産生 P(3HB)の重量平均分子量は約 60 万程度である。一般的に高分子材料の力学物性は分子量の増大とともに向上する。しかし、P(3HB)は上述したように、熔融プロセス下において分子量の著しい低下が起こるため、成形後の分子量をいかに確保するかが、高強度の P(3HB)部材を得るためのカギとなる。そこで Kusaka らは、P(3HB)合成菌である *Ralstonia eutropha* H16 由来の PHB 生合成遺伝子 (*phbCAB*) を導入した組み換え大腸菌 *Escherichia coli* XL1-Blue (pSYL 105) を用いて、培養条件を検討した。その結果、培地の pH が分子量に大きな影響を与えることが分かった。培地の pH を酸性にシフトすることにより、重量平均分子量 500~2000 万の超高分子量 P(3HB)の生合成に成功した[40]。

これまでに P(3HB)は結晶化速度が遅いことや、二次結晶化に伴う室温下での経時劣化、熔融プロセス下での熱分解による分子量低下が問題であり、熔融紡糸による繊維化は困難であった。最初に P(3HB)の繊維化に成功したのは、Gordeyev ら[41]であるが、破壊強度 190 MPa であり 400 MPa を超える汎用性プラスチックには遠く及ばなかった。Schmack ら[42]は 2000~3500 m/min の速さで高速巻取熔融紡糸を行った後、4~7 倍に延伸することにより、破壊強度 330 MPa、引張弾性率 7.7 GPa、破断伸び 37% の繊維を得ている。また、Yamane ら[35]は、28 m/min で熔融紡糸を行った後 110 °C で 6 倍に延伸、さらに 100 MPa の張力をかけた状態で熱処理をすることで結晶性を高め、破壊強度 310 MPa、引張弾性率 3.8 GPa、破断伸び 60%の繊維を得ている。Iwata らは、上述した分子量 530 万の超高分子量 P(3HB)を用いて、新たに開発した冷延伸法および二段階延伸法により、劇的な力学物性の向上に成功した。冷延伸法とは、完全に熔融されたポリマーが熔融紡糸機のノズルから吐出された直後、繊維をガラス転移点付近の氷浴中で急冷しながら巻き取ることで非晶質繊維を作製、そのまま氷浴中で延伸し、最後に熱処理を行うことで高結晶性の配向繊維を得る延伸法である。この延伸法により、室温下では硬くて脆い性質が原因で延伸などの加工が困難であった P(3HB)

を容易に加工することが可能となった。P(3HB)冷延伸繊維 (8 倍延伸) の破断伸びは 242%と未延伸の P(3HB)繊維の破断伸び 15%と比較して劇的な向上に成功した。つまり、室温でも 3 倍程度延伸が可能になる。そこで、冷延伸繊維を更に室温で延伸し、最後に熱処理を行って高結晶性の配向繊維を得る延伸法が二段階延伸法である。この冷延伸・二段階延伸法を組み合わせ、冷延伸時に 6 倍、二段階延伸時に 10 倍の総延伸比 60 倍にした P(3HB)繊維の力学物性は破壊強度 1320 MPa、引張弾性率 18.1 GPa、破断伸び 35%であり (Table 1-2)、生分解性および生体適合性を有する高強度繊維の作製に世界で初めて成功した[36,43]。

Table 1-2. Mechanical properties of fibers produced from PHA and versatile plastics.

サンプル	延伸方法	Tensile strength	Young's modulus	Elongation at break	Ref.
		/ MPa	/ GPa	/ %	
P(3HB)	熱延伸・熱処理	310	3.8	60	[35]
	冷延伸法・二段階延伸法	630	9.5	46	[43]
	微結晶核延伸法	740	10.7	26	[44]
超高分子量 P(3HB)	冷延伸法・二段階延伸法	1320	18.1	35	[36]
超高分子量ブレンド					
通常分子量 P(3HB)/超高分子量 P(3HB) (95/5 wt %)	冷延伸法・二段階延伸法	740	10.6	50	[45]
P(3HB-co-8 mol%-3HV)	微結晶核延伸法	1065	8.0	40	[46]
P(3HB-co-5.5 mol%-3HHx)	中間熱処理延伸法	552	3.8	48	[10]
P(4HB)	-	545	0.7	60	[47]
ポリ乳酸 (PLLA)		520~570	4~6	25-35	
ポリプロピレン (PP)		400~700	3~10	25~60	
ポリエチレン (PE)	-	400~800	3~8	8~35	
ポリエチレンテレフタレート (PET)		530~640	11~13	25~35	

1.3.2. 微結晶核延伸法 (通常分子量 PHA)

上述したように、Iwata らは超高分子量 P(3HB)を用いて、冷延伸・二段階延伸法により高強度繊維を作製した。しかしながら、超高分子量 P(3HB)はコストパフォーマンスに欠けるので、Tanaka らは超高分子量 P(3HB)を使用せず、通常分子量 (約 60 万程度) の野生株産生 P(3HB)からでも高強度繊維を作製できる、微結晶核延伸法を開発した。微結晶核延伸法とは熔融後のポリマーの急激な結晶化を抑制し、時間をかけてゆっくりと微小な結晶核を形成させ、その結晶を起点として分子鎖を高配向させる延伸法である。冷延伸法の手法と同様に、まず完全に熔融されたポリマーが熔融紡糸機から吐出された後、繊維をガラス転移点付近の氷浴中で急冷しながら巻き取ることで非晶質繊維を作製する。そのまま氷浴中で一定時間静置させることで微結晶を形成させ、その後室温で延伸、最後に熱処理を行い、高配向な繊維を得る。この微結晶核延伸法により、使用する材料の分子量に依存することなく、高強度繊維の作製を可能にした。その結果、市販されている通常分子量 P(3HB)からでも破壊強度 740 MPa を有する高強度繊維を作製することが可能となった[44](Table 1-2)。また、この微結晶核延伸法は、P(3HB)共重合体に対しても有効であった。P(3HB)共重合体の一つである、P(3HB-co-3HV)の繊維化に関してはこれまでいくつかの報告はあるが、破壊強度が約 200 MPa 程度と低いものであった。しかしながら、微結晶核延伸法により P(3HB-co-3HV)繊維を作製したところ、市販されている分子量 100 万程度の P(3HB-co-3HV)からでも破壊強度 1065 MPa と、超高分子量 P(3HB)から作製した繊維に匹敵する高強度繊維の作製に成功している [46](Table 1-2)。この微結晶核延伸法は微生物産生ポリエステルだけでなく、他のポリマーに対しても適用でき、簡便に高強度繊維を得ることが可能な延伸技術として期待できる。

冷延伸法・二段階延伸法と微結晶核延伸法で作製した繊維のうち、冷延伸法・二段階延伸法で作製した繊維の小角 X 線散乱図において、微結晶核延伸法で作製された繊維においては観察されず、赤道線上に大きなストリーク散乱が観察される (Fig. 1-4 (a), (b))。一般的に、高強度繊維の小角 X 線散乱図において、赤道線上に観察されるス

トリーク散乱は繊維内部のボイドに起因するものであると考えられているが、その直接的な証拠は示されていない。そこで Tanaka らは大型放射光を用いて非破壊で内部構造を可視化できる X 線トモグラフィーによる測定を行った。冷延伸法・二段階延伸法により作製された高強度繊維の内部は密に詰まっているのに対し、微結晶核延伸法で作製された高強度繊維の内部は数 μm の無数のポアが存在していることを世界で初めて明らかにした[48]。このポアの平均サイズおよび繊維断面の空隙率を考慮して破壊強度を再計算すると、約 2 倍の 2.2 GPa に達する。また、この無数のポアの存在により重量が約半分程度になっていることから、軽量かつ高強度の繊維の開発に成功したとも言えることができ、高強度を保ちながら軽量化が必要な分野ならびに、内部ポアに薬剤などを含浸させれば、生分解性機能と併用した薬剤徐放性の高機能繊維としての利用が期待できる。この微結晶核延伸方法は他のポリマーにも応用でき、簡便に高強度のポーラス繊維を得ることができる (Fig. 1-4 (d))。

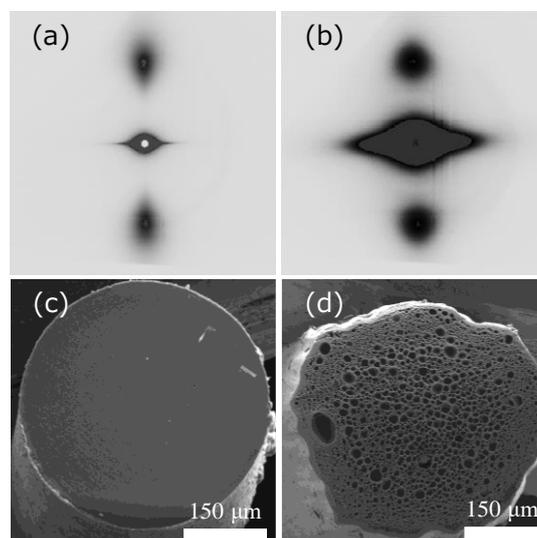


Fig. 1-4. SAXS images and SEM images of P(3HB-co-16 mol%-4HB) fiber produced by (a and c) cold-drawing and (b and d) cold-drawing after isothermal crystallization near T_g method.

1.3.3. 冷延伸・二段階延伸法 (超高分子量ブレンド)

超高分子量の P(3HB)を用いて高強度繊維の作製に成功したが、超高分子量体は汎用性に乏しく生産性が低いため、有効的に利用することが望まれる。そこで、ポリエチレンの成形でもよく行われる、超高分子量体を通常分子量体に少量ブレンドして通常分子量のポリマーの力学物性を向上させる方法も試みられてきた。野生株産生の通常高分子量 P(3HB) (約 60 万程度) に超高分子量 P(3HB)を 5 wt%ブレンドし、冷延伸・二段階延伸法を適用して繊維を作製したところ破壊強度は 740 MPa となり、超高分子量 P(3HB)は野生株産生 P(3HB)の力学物性向上に大きく寄与した (Table 1-2)[45,49]。

1.3.4. 中間熱処理延伸法

P(3HB)共重合体の一つである P(3HB-co-3HHx)は 28 年前、株式会社カネカの高砂工業所内の土壌から、新しいプラスチック生産菌として *Aeromonas caviae* FA440 株が発見されたことから始まった[50]。現在 P(3HB-co-3HHx)はパームオイルを原料に、株式会社カネカによって実用化されている PHA の一種である。一般的に市販されているものは 2 種類存在しており、第二成分である 3HHx の比率が 5 mol%のものでは、破断伸びは数%であるが、3HHx の比率が 10 mol%になると破断伸びが 400%まで向上する。これは上述したように、3HB 連鎖部分の結晶から 3HHx ユニットが排斥され、第二成分の比率が高まるほど結晶性が低下したためである。しかしながら、結晶性プラスチックにおいての力学物性の向上には、結晶化度が重要な因子となるので、結晶性が低い P(3HB-co-3HHx)に対して高強度化する新たな延伸法が求められる。そこで Kabe らは、中間熱処理延伸法を開発した。先ほどの冷延伸法により延伸繊維を得た後、一度熱処理 (中間熱処理) を施し、再度室温で二段階目の延伸、最後に再度熱処理を行って配向繊維を得る延伸法が中間熱処理延伸法である。中間熱処理の時間や延伸倍率を検討した結果、破壊強度 552 MPa、引張弾性率 3.8 GPa、破断伸び 48%まで向上し、しなやかではあるが高強度な繊維の開発に成功した[10] (Table 1-2)。

1.4. 熱分解

脂肪族ポリエステル¹の熱安定性を理解することは、成形加工やケミカルリサイクルの面で重要であることから、古くから研究されてきた[23,51–58]。最近では、プラスチックのケミカルリサイクルという観点から、脂肪族ポリエステル¹の熱安定性・熱分解に関する研究が再び重要視されている[56,59–72]。一般的に、高分子の熱安定性を評価するのは、特定の 2 つの温度範囲であると言われている。一つ目は低温域で、熱分解がゆっくりと進行するこの温度域は、高分子の成形加工にとって最も重要である。二つ目は高温域で、比較的短時間で高分子の分解が進行し、廃棄物の燃焼により熱エネルギーを回収するサーマルリサイクルや原料モノマーに還元する熱分解のケミカルリサイクルなどにとって非常に重要である。

多くの研究者が様々な手法を用いて、脂肪族ポリエステル¹の熱分解に関する研究をしてきたが、ほとんどの場合そのメカニズムには一貫性がない。この熱分解機構に一貫性がない理由の一つは、試料の分子量、水分、加水分解されたモノマーやオリゴマー、鎖末端の構造、残存金属などの要因が影響していることである。もう一つは、評価方法の違いによるものである。ほとんどの場合、高分子の熱分解は、示差熱・熱重量測定 (TGA) や示差走査熱量測定 (DSC) のような昇温法で評価されている。熱分解生成物である揮発性生成物の分析には、熱分解ガスマスクロマトグラフ (Py-GC/MS)、核磁気共鳴分光法 (NMR)、赤外分光法 (IR) などが用いられてきた。しかしながら、これらの評価方法は基本的に、熱分解によりどのような化合物が揮発しているのかという情報しか得られず、それらの結果から熱分解機構を推測するしかない。

このように、高分子の熱分解に関する研究は重要視されてはいるものの、評価方法の不一致や昇温過程の影響を考慮すること、いくつもの反応が同時に進行することなどの要素が多く存在しており、熱分解機構の把握をより一層困難にしている。しかし、ある温度域においては、ある特定の反応が優先的に進行することが仮定できる。このような、特定の高温領域での反応を精密に解析するには、上記の方法に加えて動力学解析が有効である。

1.4.1. n 次反応- n 次重量減少挙動 (積分解析法)

一般的に熱分解によって高分子が分解し、ガス化して重量減少が進行する場合、ある時刻 t において残存するサンプルの重量 W の初期重量 W_0 に対する割合 $w=W/W_0$ で表すと、一定温度 T における重量減少速度は以下の式で与えられる。

$$-\frac{dw}{dt} = kf(w) \quad (1)$$

ここで、 k は分解反応の速度定数で温度によって変化し、一般的に Arrhenius の(2)式で表される。

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (2)$$

E_a : 活性化エネルギー, A : 前置係数

$f(w)$ は反応機構を表現するもので、個々の反応によって異なるが、均一系反応では(3)式のように表すことができ、この時の n を反応次数と呼ぶ。これにならって、熱分解反応でも(3)式が成り立つものと仮定し、 n を見かけ上の反応次数と考える。

$$f(w) = w^n \quad (3)$$

(1)と(3)から以下の式が得られる

$$-\frac{dw}{dt} = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} w^n \quad (4)$$

昇温測定では温度 T を一定の速度 $\phi=dT/dt$ で昇温させる。したがって、(4)式は以下のように書き換えられる。

$$-\frac{dw}{w^n} = \frac{A}{\phi} e^{-\frac{E_a}{RT}} dT \quad (5)$$

反応率 $w=W/W_0$ は 1 から徐々に減少することと、温度 T は 0 から始まることを想定すると、(6)式ようになる。

$$-\int_1^w \frac{1}{w^n} dw = \frac{A}{\phi} \int_0^T e^{-\frac{E_a}{RT}} dT \quad (6)$$

ここから積分をすると以下の式となり、 w 対 T のグラフが描ける。

$n = 1$ のとき、

$$w = \exp \left[-\frac{AE_a}{\varphi R} p \left(\frac{E_a}{RT} \right) \right] = \exp(-A\theta) \quad (7)$$

$n \neq 1$ のとき、

$$w = \left[(n-1) \frac{AE_a}{\varphi R} p \left(\frac{E_a}{RT} \right) + 1 \right]^{\frac{1}{1-n}} = [(n-1)A\theta + 1]^{\frac{1}{n-1}} \quad (8)$$

ここで、

$$\theta = \int_{t_0}^t \exp \left(-\frac{E_a}{RT} \right) dt = \frac{E_a}{\varphi R} p \left(\frac{E_a}{RT} \right) \quad (9)$$

θ は(9)式で表され、「還元時間」と定義されている[73]。反応は温度と時間で決まるため、この温度と時間の因子を同時に取り込んだものを還元時間という。ここでは温度と時間を相互に入れ替えることが可能となるため、温度一定、時間一定などの予測が可能となり、昇温過程の反応を定温過程の反応に置き換えて考えることが可能となる。(ただし、一つの反応(活性化エネルギー)が変化しないことが条件) このように得られた、(7)式や(8)式について所定温度領域での w を $A\theta$ に対してプロット (重量減少 (反応率) vs 時間/温度/活性化エネルギー) することにより、各反応次数でのシミュレーションを得ることができる。得られたプロットと実際の熱分解曲線から得られた w と $A\theta$ の関係曲線を比較することで、反応次数 n および、前置係数 A を算出できる。しかしながら、積分解析法で得られる結果は、初期段階のシミュレーションプロットにおいてほとんど差が見られないことから、熱分解全体を通して起こる反応を把握するのに適している。

1.4.2. ランダム分解に伴う重量減少挙動 (ランダム分解解析法)

高分子の熱分解反応がランダムに進行する場合には、「熱分解=重量減少」とはならない。それはランダム分解後の分子量が大きすぎるため、ガス化に至らないからである。そのため、別の解析法が必要である。ランダム分解時の分解した結合の割合を α 、分解速度定数を k とすると、以下の式が成り立つ。

$$\frac{d\alpha}{dt} = kf(\alpha) = k(1-\alpha) \quad (10)$$

したがって、

$$\int_0^\alpha \frac{1}{1-\alpha} d\alpha = \int_0^t k dt = \frac{A}{\varphi} \int_0^T e^{-\frac{E_a}{RT}} dT \quad (11)$$

$$-\ln(1-\alpha) = \frac{AE_a}{\varphi R} p\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (12)$$

ここで、 α と重量残存率 w_L は以下の式で関係づけられる。

$$w_L = (1-\alpha)^{L-1} \left[1 + \alpha \frac{(N-L)(L-1)}{N} \right] \quad (13)$$

N : 初期重合度, L : 分解によって揮発しない最低繰り返しユニット数

このとき、高分子材料のほとんどが $N \gg L$ であると考えられるので、

$$w_L = (1-\alpha)^{L-1} [1 + \alpha(L-1)] \quad (14)$$

(12)式と(14)式から、

$$\ln \left[1 - (1-w_L)^{\frac{1}{L}} \right] = -\frac{2}{L} A\theta + \ln \left[e^{\frac{L}{2}A\theta} - (e^{LA\theta} - Le^{A\theta} + L - 1)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (15)$$

したがって、(15)式で L の値を決めれば、ある温度 T での w の変化が求まり、これは E_a と A の値によって変化することが分かる。ここから、(15)式の左辺と $1/T$ (θ を元に戻して) のプロットをすることによって、各反応のシミュレーションを得ることができる (ランダム分解解析法)。得られたプロットと実際の熱分解曲線から得られた結果を比較することで、ランダム分解が進行しているのか、また分解によって揮発しない最低繰り返しユニット数を見積もることができる。この解析法は、上記の積分解析法とは異なり、熱分解の初期段階が拡大して表現される解析法である。

1.5. 微生物分解

1.5.1. 生分解性評価方法とその現状

昨今の非生分解性プラスチックによる海洋汚染問題を受け、生分解性プラスチックが注目されている。その中でも特に、海でも生分解する海洋生分解性プラスチックが注目されている[74]。この海洋生分解性プラスチックの定義は、「出発原料は石油やバイオマスなどを問わず、海洋中で微生物により水と二酸化炭素にまで分解されるプラスチック」である。これまで研究開発が進み、国際規格化が存在する土壌分解[75,76]やコンポスト分解[77,78]、活

性汚泥分解[79,80]などと比較して、海洋では微生物数が少ないことや温度が低いことが原因で、既存の生分解性プラスチックでも分解されにくい傾向にある[81,82]。これまでも、国際標準化機構 (ISO) や米国試験材料協会 (ASTM)、経済協力開発機構 (OECD) が制定した ISO 18830 や ISO 19679、ASTM D6691-17、OECD TG 301A~F などが海洋生分解性を評価する国際規格として存在していた。しかし、近年のプラスチックによる海洋汚染に対する懸念が高まり、2020 年にも新たに海洋分解性を評価するための国際規格 ISO 22766 や ISO 22403 が発行された。このように、海洋生分解性プラスチックの評価方法や認証試験が国際規格で新たに定められたということは、既存の生分解性プラスチックに対しての分解性 (コンポスト分解、土壌分解、活性汚泥分解、河川・湖水分解、海洋分解、深海分解など) を詳細に分別し、環境流出時の影響を可能な限り低減するプラスチックを明確に選別し、使用していかないといけないということを意味する。

海洋環境におけるプラスチックの分解は、多くの要因 (微生物分解、光分解、加水分解、物理的破壊) が複雑に影響しあって同時に進行する。そのため、海洋環境下に流出したプラスチックの環境への影響については総合的に評価しなくてはならない。

- (1) 実環境下でのフィールド試験での崩壊度評価 (経時劣化、海水の成分、水深、微生物の数、季節による水温、日照変化など)
- (2) 実験室レベルでの生分解性評価 (生物化学的酸素要求量 (BOD) 試験)
- (3) 化学物質としての安全性評価

しかしながら、これら(1)~(3)に対してそれぞれの国際規格が存在しており、再現性に乏しい。この中でも、本研究と密接に関係する(2)の実験室レベルで行う生分解性評価の方法として生物化学的酸素要求量 (BOD) 試験がある。ISO 22766 が海洋“崩壊度”を評価した規格であるのに対し、ISO 22403 や OECD TG 301A~F では実験室レベルで海洋での“生分解性”を評価する規格である。この規格では微生物により代謝され、完全に無機化される時に生じた二酸化炭素の量を測定することで生分解性を評価する。

1.5.2. 生物化学的酸素要求量 (Biochemical Oxygen Demand : BOD) 試験

上述したように、海洋における生分解性プラスチックの評価方法としては、実環境中で行われるフィールド試験[83–86]、精製した単独酵素で行う酵素分解試験[87–90]、自然環境水中を用いた実験室内での試験[81,91–94]などがある。

生分解性プラスチックの環境分解性を知る上では実環境下で行うフィールド試験は欠かせない試験ではあるものの、長期間を要し、定量性や再現性が悪く、光分解や物理的破壊、その地域の環境状況や季節などにも影響される。さらに、実環境下で行われるフィールド試験では材料の「崩壊度」は評価できるものの、その材料が微生物により水と二酸化炭素にまで完全分解されているかは不明である。

精製した単独酵素を用いる酵素分解試験は実験室で行うため、反応条件を一定に保つことができ、安定的に実験結果を得ることができ、さらに反応溶液中の酵素分解生成物や分解速度を調べられることから、分解機構の解明には有効的である。しかしながら、緩衝液中で反応を行うため、自然環境中での分解を反映していないことや、酵素分解により生成したモノマーやオリゴマーなどがその後、微生物により代謝されて、水と二酸化炭素にまで完全分解されるかはフィールド試験の時と同様、不明である。

生分解性プラスチックの定義である「微生物により水と二酸化炭素にまで分解されるプラスチック」を考えると、材料が水と二酸化炭素にまで完全に分解されたことを確認することは非常に重要である。実験室で自然環境水中を用いた生分解試験を行うと、まずは自然環境中に存在する微生物が酵素を分泌し、酵素によりポリマーを分解する。その後、酵素分解された生成物を微生物が体内へと取り込み代謝することで、水と二酸化炭素にまで分解する。この生分解性を調べる方法として、微生物が有機物（加水分解後の水可溶物質）を分解するときに消費する酸素量を、分解時に発生した二酸化炭素量から間接的に測定する、生物化学的酸素要求量 (Biochemical Oxygen Demand : BOD) 試験や全有機炭素 (Total Organic Carbon : TOC) 試験などが挙げられる。しかしながら、これらの試験は閉鎖系の容器で行うことや、自然環境水中の微生物量が不均一であることから、再現性に乏しいなどの問題がある。

BOD 試験の再現性が乏しい理由の一つとして、自然環境中水の微生物が希薄状態で存在しているという点が挙げられる。この自然環境水中には、ポリマー分解に関与する微生物と分解に関与しない微生物が混在している。このような希薄状態の自然環境水から試験ボトルに環境水を取り分けると、各試験ボトルに存在する微生物の数は異なってくるのは当然のことながら、分解微生物が存在する試験ボトルにおいてはポリマーの分解が進行し、分解に関与する微生物がない試験ボトルではポリマーの分解は進行しないという問題が生じる。さらに、生分解するはずのプラスチックであっても、分解に関与する微生物がたまたま試験ボトル内に存在しないもしくは数が少ないと、あたかも生分解していないような結果が得られる (Fig. 1-5, Fig. 1-6)。

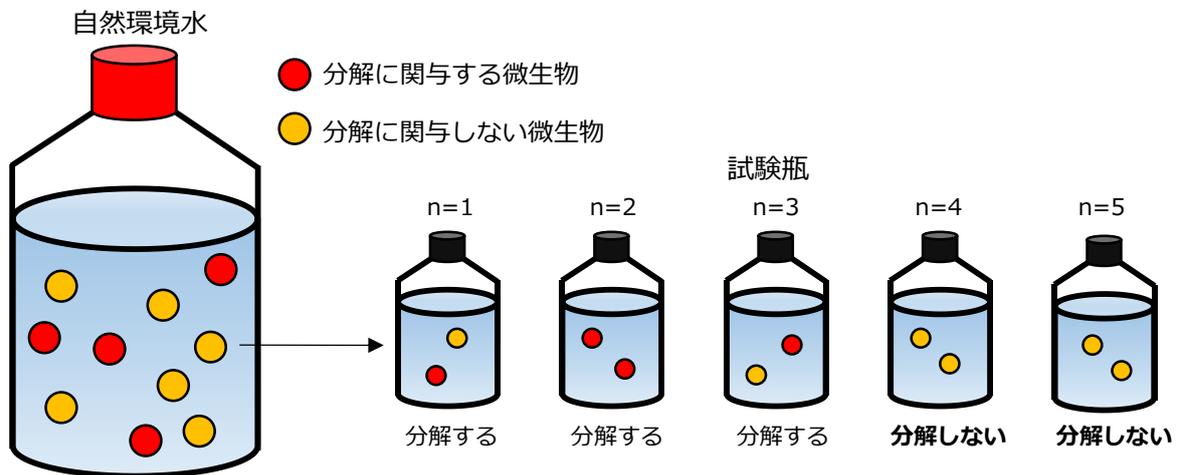


Fig. 1-5. Images of heterogeneous presence of microorganisms in each test bottle, which may occur when natural water is divided.

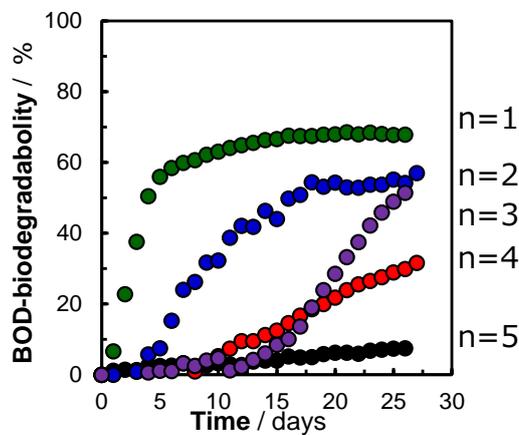


Fig. 1-6. Sample dependence of BOD-biodegradability.

このような問題を解決するために自然環境水を濃縮し、試験ボトルに取り分けるという方法も検討されている (Fig. 1-7)。しかしながら、これも微生物が過剰に存在する状態での BOD 試験のため、加速試験的な評価となりあまり推奨されていない。さらには、サンプルの形状や、結晶化度のバラつきなども BOD 試験結果の再現性が乏しい原因の一つである。

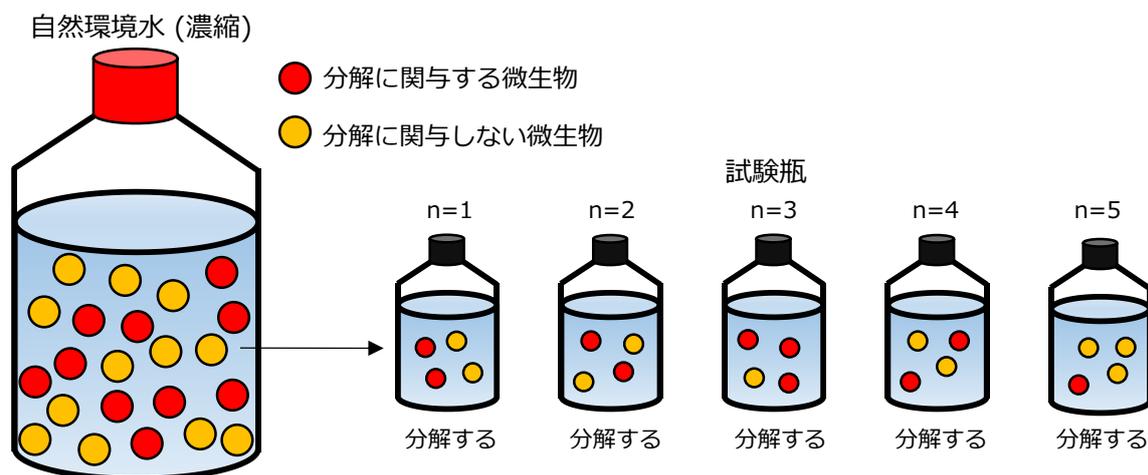


Fig. 1-7. Images of the homogeneous presence of microorganisms in each test bottle, which may occur when concentrated natural water is divided.

1.5.3. BOD 生分解性試験の原理

生分解性プラスチックの生分解過程は、以下の二種類に分けられる。

- (1) 低分子量化が誘導される分解過程
- (2) 生成した分解物が微生物により水と二酸化炭素に完全に無機化する過程

第一段階の分解過程では、微生物が生産する酵素によりポリマー主鎖が分解され、それに伴ってモノマー、ダイマーおよびオリゴマーなどの水可溶物質が生成する。第二段階目の過程では、酵素分解により生成した低分子量体の水可溶物質を、微生物が体内へ取り込むことで細胞質内での代謝を経由したエネルギー生産 (異化)、貯蔵物質の合成、一次及び二次代謝副産物の生成 (同化)、さらには分子の完全酸化によって水と二酸化炭素、メタン、窒素および塩などの排出 (無機化) が起こる (Fig. 1-8)。

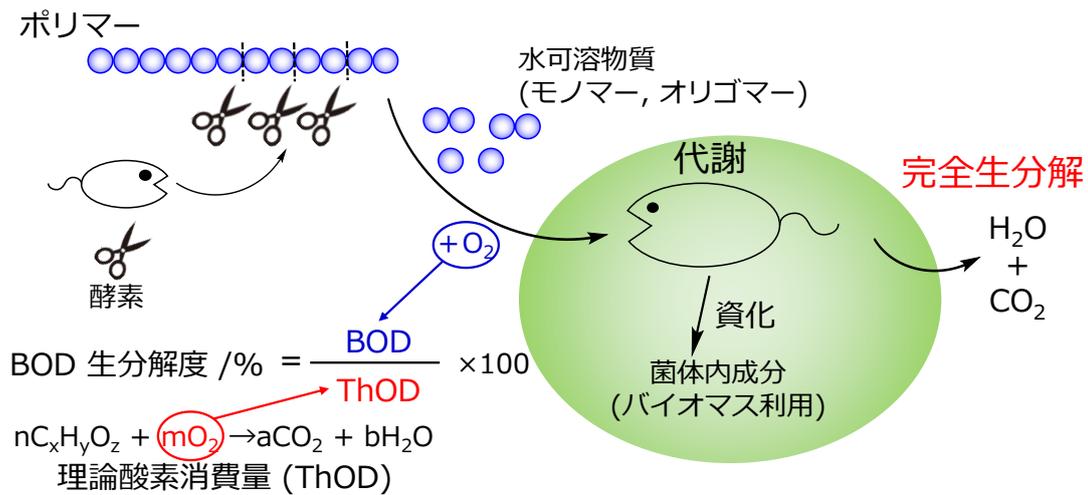
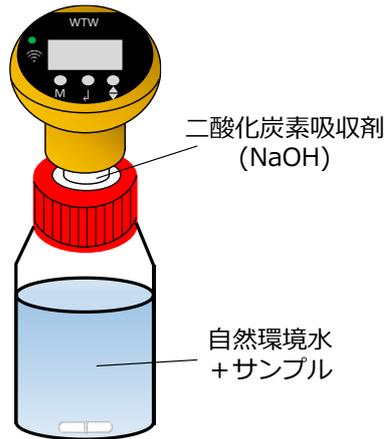


Fig. 1-8. Biodegradation steps and how to determine BOD biodegradability.

微生物の培養に必要な不可欠な炭素源として生分解性プラスチックを自然環境水中に加えると、微生物は体外に分泌する酵素により、ポリマーである生分解性プラスチックをモノマー、ダイマーおよびオリゴマーなどの水可溶物質にまで分解する。その後、低分子量化した水可溶物質を微生物が資化・代謝して最終的には水と二酸化炭素に変換する。BOD とは微生物の代謝活動に伴う酸素消費量のことである。BOD 装置では、微生物の代謝活動に伴って排出された二酸化炭素を、培養瓶内に設置したアルカリトラップ中の水酸化ナトリウムで吸収することで、培養瓶内の圧力が減少する。この時の圧力変化をセンサーで感知することにより、二酸化炭素の量が測定され、培養瓶内の酸素消費量を間接的に見積もることができる (Fig. 1-9)。



$M(O_2)$: 酸素の分子量 (g/mol)
 T_0 : 参照温度 (0 °C=273.15 K)
 T_m : 測定温度 (25 °C=298.15 K)
 V_t : 容器の体積 (250 mL)
 V_l : 水の体積 (mL)
 R : 気体定数 (8.31 (Pa · m³)/(K · L))
 α : 酸素のブンゼン吸収係数 0.03103 cm³/cm³
 $\Delta P(O_2)$: 圧力差 (測定ヘッドで測定した圧力差, Pa)

気体の状態方程式 ($PV = nRT$) を用いて変化した圧力より消費した酸素量を求める。

$$\text{酸素量 (mol)} = \frac{V(O_2) \times \Delta P(O_2)}{R \cdot T_m} \quad \text{酸素量 (mg)} = \frac{V(O_2) \times \Delta P(O_2)}{R \cdot T_m} \times M(O_2)$$

$$\text{BOD (mg/L)} = \frac{\text{酸素消費量 (mg)}}{\text{水の体積 (L)}} = \frac{\left[\frac{V(O_2) \times \Delta P(O_2)}{R \cdot T_m} \times M(O_2) \right]}{V_l} \quad \text{式(1)}$$

ここで、 $V(O_2)$ = 気相の体積 + 水中の酸素の体積
 = $(V_t - V_l)$ + 水中の酸素の体積

よって

$$\frac{V(O_2)}{V_l} = \frac{[(V_t - V_l) + \text{水中の酸素の体積}]}{V_l} = \frac{V_t - V_l}{V_l} + \alpha \frac{T_m}{T_0}$$

式(1)に代入して

$$\text{BOD} = \frac{M(O_2)}{R \cdot T_m} \left(\frac{V_t - V_l}{V_l} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \cdot \Delta p(O_2)$$

$$\text{BOD} = \frac{M(O_2)}{R \cdot T_m} \left(\frac{V_t - V_l}{V_l} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \cdot \Delta p(O_2)$$

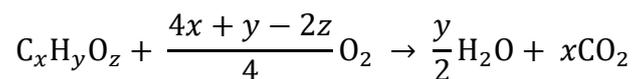
Fig. 1-9. Principle of the BOD sensor. (Calculation of oxygen demand from the change in pressure)

この BOD を用いた生分解度は以下の式で算出した。算出した BOD 生分解度を試験期間に対してプロットすることで、BOD 生分解曲線を得る。

$$\text{BOD-biodegradability (\%)} = \frac{\text{BOD}_s - \text{BOD}_b}{\text{ThOD}} \times 100$$

BOD_s (mg): サンプルを添加したときの BOD 測定値、 BOD_b (mg): ブランク試験の BOD 測定値

試験試料が理論的に水と二酸化炭素にまで分解されたときに必要な酸素量を理論酸素消費量 (Theoretical Oxygen Demand : ThOD) という。試料のモノマーユニット $C_xH_yO_z$ が理論的に水と二酸化炭素に分解されたときの化学式は以下である。



つまり、ThOD は以下の式から算出することができる。

$$\text{ThOD (mg)} = \frac{w \text{ (mg)}}{M \text{ (g/mol)}} \times \frac{4x + y - 2z}{4} \times 32 \text{ (g/mol)}$$

w : サンプルの重量 (mg)、 M : サンプルのモノマー分子量 (g/mol)

1.6. 本研究の目的

プラスチックによる海洋汚染が深刻化している近年、生分解性プラスチックが注目されている。その中でも、海洋分解性を示す微生物産生ポリエステル：PHA は特に注目されている。PHA は高分子科学や微生物科学などの様々な分野において、勢力的に研究が行われ、生合成プロセスから高強度の材料化、生分解に至るまで様々なことが明らかとなってきた。特に、高強度な材料化に関する研究は多く存在している。その中でも繊維に関する研究においては、単繊維としての利用を主な目的として、高強度かつ高弾性繊維の開発に注力されており、破断伸びは数%と非常に小さかった。しかしながら、強度が強いだけでは様々な用途への応用展開は難しい。特に漁具において魚に違和感を与えずに釣るためや、医療分野で可動域へ使用する手術用縫合糸などへの展開を考慮すると、強度に加え“伸縮性”は非常に重要な因子である。

そこで本研究では、PHA 共重合体の一種である P(3HB-co-4HB)を用いて、これまでは存在しない「生分解性を有した伸縮性繊維」を熔融紡糸により作製する。また、得られた繊維の伸縮機構を X 線高次構造解析により評価するとともに、種々の分解性 (熱分解・微生物分解) について調べることで、P(3HB-co-4HB)の材料としての実用性を示し、生分解性の伸縮性繊維という新規材料創出を目的とした。

第二章「新規熔融紡糸法による高強度かつ伸縮性を有するポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート]繊維の創製と物性および高次構造解析」では、融点以下で結晶を一部残存させたまま、非晶部が熔融流動する温度にて熔融紡糸法を開発した。得られた繊維は強度と伸縮性を両立できており、既存のエラストマー繊維である PE や PP、ナイロン (PA)、ポリウレタン (TPU) と同程度またはそれ以上の機械的物性を示した。

第三章「大型放射光を用いたリアルタイム X 線高次構造解析によるポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート]繊維の伸縮機構の解明」では、第二章で作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の伸縮機構を、大型放射光を用いて解明した。解析手法としては、(1)マイクロビーム X 線測定：繊維内部の二種類の分子鎖

構造 (2 回らせんの分子鎖から形成される α 晶と応力がかかった時に発現する平面ジグザグ構造の分子鎖から形成される β 晶) の分布と(2) *in situ* 広角・小角 X 線同時測定：繊維伸縮時の高次構造解析を行った。伸縮性には、非晶部 (ラメラ間に存在するランダムコイルのタイ分子やフリーな非晶) と β 晶の可逆的な転移が寄与していることを明らかにした。

第四章「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]の熱分解機構」では、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解機構を熱分解化合物の同定と動力学シミュレーションの観点から調べた。その結果、これまでランダム分解のみで進行すると考えられてきた P(3HB-co-4HB)の熱分解が、熱分解初期はランダム分解が進行し、それに続いて、途中から自己加速的な分解 (解重合) が進行することを明らかにした。P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解によって得られる化合物は 3HB 由来の *trans, cis*-CA と 4HB 由来の γ -ブチロラクトンとオリゴマーで、熱分解物回収率も 98%とほとんど 100%近い収率を示し、汎用性プラスチックのケミカルリサイクル性に比べて高いことが示され、P(3HB-co-16 mol%-4HB)は熱分解によるケミカルリサイクルが可能であることを示唆した。

第五章「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]の微生物分解性評価」では、東京湾の海水や三四郎池の環境水を用いて P(3HB-co-16 mol%-4HB) 繊維の生分解性を評価した。P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維は微生物の酵素分解により約 1 か月で 100%の重量減少を示した。酵素分解後に生成した水可溶物質が完全に二酸化炭素と水にまで完全生分解されているかを、生物化学的酸素要求量 (BOD) 試験により確認した。その結果、BOD 生分解度は約 1 か月で 70%を示し、P(3HB-co-16 mol%-4HB)は優れた海洋分解性を示した。また、P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維の高次構造や形状が与える海洋分解速度への影響を評価した。その結果、延伸繊維 (ポーラス) > 延伸繊維 (非ポーラス) > 未延伸繊維の順番に分解速度が速く、高次構造や形状により分解速度が制御できることが示唆された。

第六章「総括」では、以上の実験から得られた結果をもとに、P(3HB-co-16 mol%-

4HB)繊維の伸縮性に及ぼす分子鎖構造および高次構造についてまとめ、今後の展望や課題についてまとめた。

1.7. 参考文献

- [1] Plastics Europe., Plastics-the Facts 2016 An analysis of European plastics production, demand and waste data, *Plastics*. (2016).
- [2] A.L. Brooks, S. Wang, J.R. Jambeck, The Chinese import ban and its impact on global plastic waste trade, *Science Advances*. **4** (2018) 1–8.
- [3] World Economic Forum, The New Plastics Economy-Rethinking the Future of Plastics, *World Economic Forum: Geneva*, Switzerland. (2017).
- [4] R. Geyer, J.R. Jambeck, K.L. Law, Production, use, and fate of all plastics ever made, *Science Advances*. **3** (2017) 1–5. <https://www.science.org>.
- [5] The Pew Charitable Trusts, SYSTEMIQ, Breaking the Plastic Wave: A Comprehensive Assessment of Pathways Towards Stopping Ocean Plastic Pollution, 2020. <https://www.pewtrusts.org/en>.
- [6] L. Lebreton, B. Slat, F. Ferrari, B. Sainte-Rose, J. Aitken, R. Marthouse, S. Hajbane, S. Cunsolo, A. Schwarz, A. Levivier, K. Noble, P. Debeljak, H. Maral, R. Schoeneich-Argent, R. Brambini, J. Reisser, Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic, *Scientific Reports*. **8** (2018) 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22939-w>.
- [7] Y.C. Jang, J. Lee, S. Hong, J.S. Lee, W.J. Shim, Y.K. Song, Sources of plastic marine debris on beaches of Korea: More from the ocean than the land, *Ocean Science Journal*. **49** (2014) 151–162. <https://doi.org/10.1007/s12601-014-0015-8>.
- [8] J. Hammer, M.H.S. Kraak, J.R. Parsons, Plastics in the marine environment: The dark side of a modern gift, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **220** (2012) 1–44. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3414-6_1.
- [9] Lemoigne M, Etudes sur L'autolyse Microbienne Acidification par Formation D'acide β -Oxybutyrique, *Ann. Inst. Pasteur*. **39** (1925) 144–173.
- [10] T. Kabe, C. Hongo, T. Tanaka, T. Hikima, M. Takata, T. Iwata, High tensile strength fiber of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] processed by two-step drawing with intermediate annealing, *Journal of Applied Polymer Science*. **132** (2015) 1–8. <https://doi.org/10.1002/app.41258>.
- [11] M. Scandola, G. Ceccorulli, M. Pizzoli, The physical aging of bacterial poly(D- β -hydroxybutyrate), *Makromol. Chem., Rapid Commun*. **10** (1989) 47–50.
- [12] G.J.M. de Koning, P.J. Lemstra, D.J.T. Hill, T.G. Carswell, J.H. O'donnell, Ageing phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate] 1. A study on the mobility in poly [(R)-3-hydroxybutyrate] powders by monitoring the radical decay with temperature after γ -radiolysis at 77 K, *Polymer*. **33** (1992) 3295–3297.
- [13] G.J.M. de Koning, P.J. Lemstra, Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate]:

2. Embrittlement and rejuvenation, *Polymer*. **34** (1992) 4089–4094.
- [14] Y. Doi, A. Tamaki, M. Kunioka, K. Soga, Production of copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric and pentanoic acids, *Applied Microbiology and Biotechnology*. **28** (1988) 330–334. <https://doi.org/10.1007/BF00268190>.
- [15] Y. Doi, M. Kunioka, Y. Nakamura, K. Soga, Biosynthesis of Copolyesters in *Alcaligenes eutrophus* H16 from ¹³C-Labeled Acetate and Propionate, *Macromolecules*. **20** (1987) 2988–2991. <https://doi.org/10.1021/ma00178a006>.
- [16] T. Tsuge, Y. Saito, Y. Kikkawa, T. Hiraishi, Y. Doi, Biosynthesis and compositional regulation of poly[(3-hydroxybutyrate)-*co*-(3-hydroxyhexanoate)] in recombinant *Ralstonia eutropha* expressing mutated polyhydroxyalkanoate synthase genes, *Macromolecular Bioscience*. **4** (2004) 238–242. <https://doi.org/10.1002/mabi.200300077>.
- [17] Y. Doi, S. Kitamura, H. Abe, Microbial Synthesis and Characterization of Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyhexanoate), *Macromolecules*. **28** (1995) 4822–4828. <https://doi.org/10.1021/ma00118a007>.
- [18] S. Nakamura, Y. Doi, M. Scandola, Microbial Synthesis and Characterization of poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **25** (1992) 4237–4241. <https://doi.org/10.1021/ma00043a001>.
- [19] M. Kunioka, Y. Kawaguchi, Y. Doi, Production of biodegradable copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 4-hydroxybutyrate by *Alcaligenes eutrophus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*. **30** (1989) 569–573. <https://doi.org/10.1007/BF00255361>.
- [20] M. Scandola, G. Ceccorulli, M. Pizzoli, M. Gazzano, Study of the Crystal Phase and Crystallization Rate of Bacterial Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate), *Macromolecules*. **25** (1992) 1405–1410. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [21] P.A. Barker, P.J. Barham, J. Martinez-Salazar, Effect of crystallization temperature on the cocrystallization of hydroxybutyrate/ hydroxyvalerate copolymers, *Polymer*. **38** (1997) 913–919.
- [22] M. Sanchez Cuesta, J. Martinez-Salazar, P.A. Barker, P.J. Barham, H.H. Wills, Co-crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate), *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*. **27** (1992) 5335–5338.
- [23] M. Kunioka, A. Tamaki, Y. Doi, Crystalline and Thermal Properties of Bacterial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **22** (1989) 694–697. <https://doi.org/10.1021/ma00192a031>.
- [24] Y. Saito, S. Nakamura, M. Hiramitsu, Y. Doi, Microbial Synthesis and Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate), *Polymer International*. **39** (1996) 169–174.
- [25] Y. Doi, Microbial Synthesis and Properties of Polyhydroxy-alkanoates, *MRS Bulletin*. **17** (1992) 39–42.
- [26] K.H. Huong, C.H. Teh, A.A. Amirul, Microbial-based synthesis of highly elastomeric biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate) thermoplastic, *International Journal of Biological Macromolecules*. **101** (2017) 983–995. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.179>.
- [27] Y. Saito, Y. Doi, Microbial synthesis and properties of poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate)

- in *Comamonas acidovorans*, *International Journal of Biological Macromolecules*. **16** (1994) 99–104. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(94\)90022-1](https://doi.org/10.1016/0141-8130(94)90022-1).
- [28] R. Alper, D.G. Lundgren, W.A. Cote, Properties of Poly-3-Hydroxybutyrate. I. General Considerations Concerning the Naturally Occurring Polymer*, *Biopolymers*. **1** (1963) 545–556.
- [29] K. Okamura, Marchessault R.H., X-Ray Structure of Poly- β -hydroxybutyrate, *Conformation of Biopolymers*. (1967) 709–720. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4832-2843-3.50023-6>.
- [30] H. Wang, K. Tashiro, Reinvestigation of Crystal Structure and Intermolecular Interactions of Biodegradable Poly(3-Hydroxybutyrate) α -Form and the Prediction of Its Mechanical Property, *Macromolecules*. **49** (2016) 581–594. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b02310>.
- [31] J. Cobntbekt, R. H. Marchessault., Physical properties of poly- β -hydroxybutyrate: IV. Conformational analysis and crystalline structure, *Journal of Molecular Biology*. **71** (1972) 735–756.
- [32] S. Brückner, S. v. Meille, L. Malpezzi, A. Cesàro, L. Navarini, R. Tombolini, The structure of poly(D-(-)- β -Hydroxybutyrate). A Refinement Based on the Rietveld Method, *Macromolecules*. **21** (1988) 967–972. <https://doi.org/10.1021/ma00182a021>.
- [33] M. Yokouchi, Y. Chatani, H. Tadokoro, K. Teranishi, H. Tani, Structural studies of polyesters: 5 Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly(β -hydroxybutyrate), *Polymer*. **14** (1973) 267–272.
- [34] W.J. Orts, R.H. Marchessault, T.L. Bluhm, G.K. Hamer, Observation of strain-induced β form in poly(β -hydroxyalkanoates), *Macromolecules*. **23** (1990) 5368–5370. <https://doi.org/10.1021/ma00228a014>.
- [35] H. Yamane, K. Terao, S. Hiki, Y. Kimura, Mechanical properties and higher order structure of bacterial homo poly(3-hydroxybutyrate) melt spun fibers, *Polymer*. **42** (2001) 3241–3248. www.elsevier.nl/locate/polymer.
- [36] T. Iwata, Y. Aoyagi, M. Fujita, H. Yamane, Y. Doi, Y. Suzuki, A. Takeuchi, K. Uesugi, Processing of a strong biodegradable poly[(R)-3-hydroxybutyrate] fiber and a new fiber structure revealed by micro-beam x-ray diffraction with synchrotron radiation, *Macromolecular Rapid Communications*. **25** (2004) 1100–1104. <https://doi.org/10.1002/marc.200400110>.
- [37] Y. Nishiyama, T. Tanaka, T. Yamazaki, T. Iwata, 2D NMR observation of strain-induced β -form in poly[(R)-3-hydroxybutyrate], *Macromolecules*. **39** (2006) 4086–4092. <https://doi.org/10.1021/ma060291h>.
- [38] L. Gong, D.B. Chase, I. Noda, C.A. Marcott, J. Liu, D.C. Martin, C. Ni, J.F. Rabolt, Polymorphic Distribution in Individual Electrospun Poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] (PHBHx) Nanofibers, *Macromolecules*. **50** (2017) 5510–5517. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.7b01086>.
- [39] S. Phongtamrug, K. Tashiro, X-ray Crystal Structure Analysis of Poly(3-hydroxybutyrate) β -Form and the Proposition of a Mechanism of the Stress-Induced α -to- β Phase Transition, *Macromolecules*. **52** (2019) 2995–3009. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b00225>.
- [40] S. Kusaka, T. Iwata, Y. Doi, Microbial synthesis and physical properties of ultra-high-molecular-weight

- poly[(R)-3-hydroxybutyrate], *Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry*. **35** (1998) 319–335. <https://doi.org/10.1080/10601329808001980>.
- [41] S.A. Gordeyev, Y.P. Nekrasov, Processing and mechanical properties of oriented poly(β -hydroxybutyrate) fibers, *Journal of Materials Science Letters*. **18** (1999) 1691–1962.
- [42] G. Schmack, D. Jehnichen, R. Vogel, T. Tañdler, Biodegradable Fibers of Poly(3-hydroxybutyrate) Produced by High-Speed Melt Spinning and Spin Drawing, *J Polym Sci B: Polym Phys*. **38** (2000) 2841–2850.
- [43] T. Iwata, Y. Aoyagi, T. Tanaka, M. Fujita, A. Takeuchi, Y. Suzuki, K. Uesugi, Microbeam X-ray diffraction and enzymatic degradation of poly [(R)-3-hydroxybutyrate] fibers with two kinds of molecular conformations, *Macromolecules*. **39** (2006) 5789–5795. <https://doi.org/10.1021/ma060908v>.
- [44] T. Tanaka, T. Yabe, S. Teramachi, T. Iwata, Mechanical properties and enzymatic degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] fibers stretched after isothermal crystallization near T_g , *Polymer Degradation and Stability*. **92** (2007) 1016–1024. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.02.017>.
- [45] T. Kabe, T. Tsuge, K.I. Kasuya, A. Takemura, T. Hikima, M. Takata, T. Iwata, Physical and structural effects of adding ultrahigh-molecular-weight poly[(R)-3-hydroxybutyrate] to wild-type poly[(R)-3-hydroxybutyrate], *Macromolecules*. **45** (2012) 1858–1865. <https://doi.org/10.1021/ma202285c>.
- [46] T. Tanaka, M. Fujita, A. Takeuchi, Y. Suzuki, K. Uesugi, K. Ito, T. Fujisawa, Y. Doi, T. Iwata, Formation of highly ordered structure in poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate] high-strength fibers, *Macromolecules*. **39** (2006) 2940–2946. <https://doi.org/10.1021/ma0527505>.
- [47] D.P. Martin, S.F. Williams, Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: A strong flexible absorbable biomaterial, *Biochemical Engineering Journal*. **16** (2003) 97–105. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00040-8).
- [48] T. Tanaka, K. Uesugi, A. Takeuchi, Y. Suzuki, T. Iwata, Analysis of inner structure in high-strength biodegradable fibers by X-ray microtomography using synchrotron radiation, *Polymer*. **48** (2007) 6145–6151. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.07.063>.
- [49] T. Kabe, T. Tsuge, T. Hikima, M. Takata, A. Takemura, T. Iwata, Processing, mechanical properties, and structure analysis of melt-spun fibers of P(3HB)/UHMW-P(3HB) identical blend, in: *ACS Symposium Series, American Chemical Society*, 2012: pp. 63–75. <https://doi.org/10.1021/bk-2012-1105.ch005>.
- [50] Shunsuke Sato, Hisashi Arikawa, Shingo Kobayashi, Tetsuya Fujiki, Keiji Matsumoto, Process development of biodegradable polymer PHBH, *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **97** (2019) 66–74.
- [51] H. Nishida, M. Yamashita, N. Hattori, T. Endo, Y. Tokiwa, Thermal decomposition of poly(1,4-dioxan-2-one), *Polymer Degradation and Stability*. **70** (2000) 485–496.
- [52] R. Abate, A. Ballistreri, G. Montando, G. Impallomeni, Thermal Degradation of Microbial Poly(4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **27** (1994) 332–336. <https://doi.org/10.1021/ma00080a004>.
- [53] F.D. Kopinke, M. Remmler, K. Mackenzie, Thermal decomposition of biodegradable polyesters - I: Poly(β -hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **52** (1996) 25–38.

[https://doi.org/10.1016/0141-3910\(95\)00221-9](https://doi.org/10.1016/0141-3910(95)00221-9).

- [54] R.S. Lehrle, R.J. Williams, Thermal Degradation of Bacterial Poly(hydroxybutyric acid): Mechanisms from the Dependence of Pyrolysis Yields on Sample Thickness, *Macromolecules*. **27** (1994) 3782–3789. <https://doi.org/10.1021/ma00092a017>.
- [55] M. Kunioka, Y. Doi, Thermal Degradation of Microbial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **23** (1990) 1933–1936. <https://doi.org/10.1021/ma00209a009>.
- [56] Y. Aoyagi, K. Yamashita, Y. Doi, Thermal degradation of poly [(R)-3-hydroxybutyrate], poly[ϵ -caprolactone], and poly [(S)-lactide], *Polymer Degradation and Stability*. **76** (2002) 53–59.
- [57] B. Plage, H.R. Schulten, Thermal Degradation and Mass Spectrometric Fragmentation Processes of Polyesters Studied by Time-/Temperature-Resolved Pyrolysis-Field Ionization Mass Spectrometry, *Macromolecules*. **23** (1990) 2642–2648. <https://doi.org/10.1021/ma00212a008>.
- [58] R. Abate, A. Ballistreri, G. Montaudo, M. Giuffrida, G. Impallomeni, Separation and Structural Characterization of Cyclic and Open Chain Oligomers Produced in the Partial Pyrolysis of Microbial Poly(hydroxybutyrate)s, *Macromolecules*. **28** (1995) 7911–7916. <https://doi.org/10.1021/ma00127a043>.
- [59] H. Nishida, H. Ariffin, Y. Shirai, M. Hass, Precise Depolymerization of Poly(3-hydroxybutyrate) by Pyrolysis, *Biopolymers*. (2010) 369–386.
- [60] H. Ariffin, H. Nishida, Y. Shirai, M.A. Hassan, Anhydride Production as an Additional Mechanism of Poly(3-hydroxybutyrate) Pyrolysis, *Journal of Applied Polymer Science*. **111** (2009) 323–328. <https://doi.org/10.1002/app>.
- [61] D.D. Rajaratanam, H. Ariffin, M.A. Hassan, H. Nishida, Changes in diad sequence distribution by preferential chain scission during the thermal hydrolysis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), *Polymer Journal*. **48** (2016) 839–842. <https://doi.org/10.1038/pj.2016.28>.
- [62] H. Ariffin, H. Nishida, Y. Shirai, M.A. Hassan, Determination of multiple thermal degradation mechanisms of poly(3-hydroxybutyrate), *Polymer Degradation and Stability*. **93** (2008) 1433–1439. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.05.020>.
- [63] M. Omura, T. Tsukegi, Y. Shirai, H. Nishida, T. Endo, Thermal degradation behavior of poly(lactic acid) in a blend with polyethylene, *Industrial and Engineering Chemistry Research*. **45** (2006) 2949–2953. <https://doi.org/10.1021/ie051446x>.
- [64] H. Nishida, M. Yamashita, M. Nagashima, N. Hattori, T. Endo, Y. Tokiwa, Theoretical prediction of molecular weight on autocatalytic random hydrolysis of aliphatic polyesters, *Macromolecules*. **33** (2000) 6595–6601. <https://doi.org/10.1021/ma992102j>.
- [65] T. Omura, T. Goto, A. Maehara, S. Kimura, H. Abe, T. Iwata, Thermal degradation behavior of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate], *Polymer Degradation and Stability*. **183** (2021) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109460>.
- [66] H. Abe, Thermal degradation of environmentally degradable poly(hydroxyalkanoic acid)s, *Macromolecular Bioscience*. **6** (2006) 469–486. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600070>.

- [67] K.J. Kim, Y. Doi, H. Abe, D.P. Martin, Thermal degradation behavior of poly(4-hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **91** (2006) 2333–2341.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2006.04.011>.
- [68] K.J. Kim, Y. Doi, H. Abe, Effects of residual metal compounds and chain-end structure on thermal degradation of poly(3-hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **91** (2006) 769–777.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.06.004>.
- [69] Y. Shirai, H. Nishida, Selective Depolymerization of PLLA/LLDPE to L,L-Lactide by Pyrolysis, n.d.
- [70] T. Mori, H. Nishida, Y. Shirai, T. Endo, Effects of chain end structures on pyrolysis of poly(L-lactic acid) containing tin atoms, *Polymer Degradation and Stability*. **84** (2004) 243–251.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2003.11.008>.
- [71] H. Nishida, T. Mori, S. Hoshihara, Y. Fan, Y. Shirai, T. Endo, Effect of tin on poly(L-lactic acid) pyrolysis, *Polymer Degradation and Stability*. **81** (2003) 515–523.
[https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00152-6](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00152-6).
- [72] A.F. Mohd-Adnan, H. Nishida, Y. Shirai, Evaluation of kinetics parameters for poly(l-lactic acid) hydrolysis under high-pressure steam, *Polymer Degradation and Stability*. **93** (2008) 1053–1058.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.03.022>.
- [73] T. Ozawa, A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **38** (1965) 1881–1886.
- [74] T. Iwata, Biodegradable and bio-based polymers: Future prospects of eco-friendly plastics, *Angewandte Chemie - International Edition*. **54** (2015) 3210–3215.
<https://doi.org/10.1002/anie.201410770>.
- [75] A.N. Boyandin, S. v. Prudnikova, V.A. Karpov, V.N. Ivonin, N.L. Dõ, T.H. Nguyễn, T.M.H. Lê, N.L. Filichev, A.L. Levin, M.L. Filipenko, T.G. Volova, I.I. Gitelson, Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils, *International Biodeterioration and Biodegradation*. **83** (2013) 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.014>.
- [76] S. Vigneswari, N. Shuhada, B.T. Rashid, A.-A.A. Amirul, Bio-Degradation of Polyhydroxyalkanoates (PHA) Films in Soil and Lake Environment, 2019.
- [77] M. Hakkarainen, Aliphatic Polyesters: Abiotic and Biotic Degradation and Degradation Products, *Advances in Polymer Science*. **157** (2002) 114–138.
- [78] H.S. Yang, J.S. Yoon, M.N. Kim, Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimens, *Polymer Degradation and Stability*. **87** (2005) 131–135.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.07.016>.
- [79] A.-C. Albertsson, I.K. Varma, Aliphatic Polyesters: Synthesis, Properties and Applications, *Advances in Polymer Science*. **157** (2002) 2–40.
- [80] A.-C. Albertsson, R. Renstad, B. Erlandsson, C. Eldsaˆter, E. Eldsaˆter, S. Karlsson, Effect of Processing Additives on (Bio)degradability of Film-Blown Poly(ϵ -caprolactone), *J Appl Polym Sci*. **70** (1998) 61–74.
- [81] A. Nakayama, N. Yamano, N. Kawasaki, Biodegradation in seawater of aliphatic polyesters, *Polymer*

- Degradation and Stability*. **166** (2019) 290–299.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.06.006>.
- [82] T. Sekiguchi, A. Saika, K. Nomura, T. Watanabe, T. Watanabe, Y. Fujimoto, M. Enoki, T. Sato, C. Kato, H. Kanehiro, Biodegradation of aliphatic polyesters soaked in deep seawaters and isolation of poly(ϵ -caprolactone)-degrading bacteria, *Polymer Degradation and Stability*. **96** (2011) 1397–1403.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.03.004>.
- [83] H. Tsuji, K. Suzuyoshi, Environmental degradation of biodegradable polyesters 2. Poly(ϵ -caprolactone), poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate], and poly(L-lactide) films in natural dynamic seawater, *Polymer Degradation and Stability*. **75** (2002) 357–365. www.elsevier.com/locate/polydegstab.
- [84] T.G. Volova, A.N. Boyandin, A.D. Vasiliev, V.A. Karpov, S. v. Prudnikova, O. v. Mishukova, U.A. Boyarskikh, M.L. Filipenko, V.P. Rudnev, B. Bá Xuân, V. Vit Dũng, I.I. Gitelson, Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria, *Polymer Degradation and Stability*. **95** (2010) 2350–2359.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.08.023>.
- [85] T.G. Volova, A.N. Boyandin, A.D. Vasil'ev, V.A. Karpov, I. v. Kozhevnikov, S. v. Prudnikova, V.P. Rudnev, B.B. Xuân, V.V. Dũng, I.I. Gitel'zon, Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in the South China Sea and identification of PHA-degrading bacteria, *Microbiology*. **80** (2011) 252–260.
<https://doi.org/10.1134/S0026261711020184>.
- [86] Y. Doi, Y. Kanesawa, N. Tanahashi, Y. Kumagai, Biodegradation of microbial polyesters in the marine environment, 1992.
- [87] Y. Kumagai, Y. Kanesawa, Y. Doi, Enzymatic degradation of microbial poly(3-hydroxybutyrate) films, 1992.
- [88] Z. Gan, K. Kuwabara, H. Abe, T. Iwata, Y. Doi, The role of polymorphic crystal structure and morphology in enzymatic degradation of melt-crystallized poly(butylene adipate) films, *Polymer Degradation and Stability*. **87** (2005) 191–199.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.08.007>.
- [89] T. Iwata, Y. Doi, K.-I. Kasuya, Y. Inoue, Visualization of Enzymatic Degradation of Poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate] Single Crystals by an Extracellular PHB Depolymerase[†], *Macromolecules*. **30** (1997) 833–839. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [90] T. Iwata, Y. Doi, Morphology and Enzymatic Degradation of Poly(L-lactic acid) Single Crystals, *Macromolecules*. **31** (1998) 2461–2467. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [91] M. Suzuki, Y. Tachibana, J. ichiro Kazahaya, R. Takizawa, F. Muroi, K. ichi Kasuya, Difference in environmental degradability between poly(ethylene succinate) and poly(3-hydroxybutyrate), *Journal of Polymer Research*. **24** (2017). <https://doi.org/10.1007/s10965-017-1383-4>.
- [92] S. Kusaka, T. Iwata, Y. Doi, Properties and biodegradability of ultra-high-molecular-weight poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate] produced by a recombinant *Escherichia coli*, 1999.
- [93] P. Soulethone, Y. Tachibana, F. Muroi, M. Suzuki, N. Ishii, Y. Ohta, K. ichi Kasuya, Characterization of a mesophilic actinobacteria that degrades poly(butylene adipate-co-terephthalate), *Polymer*

Degradation and Stability. **181** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109335>.

- [94] K. Komiyama, T. Omura, T. Iwata, Effect of morphology and molecular orientation on environmental water biodegradability of poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate-*co*-(*R*)-3-hydroxyvalerate], *Polymer Degradation and Stability*. **193** (2021) 109719.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109719>.

第二章

新規溶融紡糸法による高強度かつ伸縮性を有する
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]繊維の
創製と物性および高次構造解析

2.1. 緒言

PHA の中でも、P(3HB-co-4HB)は優れた生体適合性・吸収性を有することから注目されている[1,2]。4HB モノマーは 3HB モノマーと異なり、側鎖にアルキル基がない直鎖の構造である。延性が 10%程度の P(3HB)ホモポリマーと比較して、P(4HB)は延性が 1000%以上であり、柔軟なポリマーである。そのため、P(3HB-co-4HB)の 4HB モル分率を変化させることで、硬いものから柔らかいものまで、様々な機械的物性と特性を有する材料を得ることができる。さらに、興味深いことに 4HB が~40 mol%の P(3HB-co-4HB)はゴムのように振る舞う[3,4]。ごく最近、我々のグループは、P(3HB-co-16 mol%-4HB)を用いて 2 倍に伸び縮みするフィルムの作製に成功し、そのフィルムにおける伸縮性のメカニズムを報告している。このことは、PHA の商業化と使用用途の拡大を広げる。つまり、P(3HB-co-4HB)から単一繊維を作製することで、伸縮性と生分解性、生体吸収性を活かした新たな領域への展開が期待できる。

PHA を実用化するのに足かせとなっているのが、熱的安定性が低いことである。熔融プロセス下での P(3HB)は融点 (180 °C 付近) 以上での熱安定性が低いため、180-200 °C の温度範囲の熔融プロセス下において、著しく分子量が低下する。これは得られた材料の機械的物性に大きく影響する。T. Kabe らも報告しているように、P(3HB)は成形温度である 200 °C において約 1 分間の等温処理を行うと、分子量は約半分以下に低下することが報告されている [5]。また、実プロセスを考えると 1 分間で熔融成形を行うことは不可能である。一方で、成形後のポリマーの分子量を担保するために、あらかじめ超高分子量体のポリマーを使用するという方法もある。しかし、超高分子量体のポリマーを使用する場合は熱流動性が悪くなるため、より高温での成形が考えられ、さらなる熱分解による分子量低下が考えられる。したがって、PHA の成形加工において最も重要なことは、いかに熔融成形中の熱分解による分子量低下を抑え、成形後の分子量を維持するかである。

そこで、分子量低下を抑制する繊維化のアプローチとしては、もともと超高粘度の超高分子量 PE の紡糸用に開発されたゲル紡糸である。E. M. Antipov らは、ゲル紡糸により、P(3HB-co-10 mol%-3HV)から引張強度 150 MPa、引張弾性率 1.1 GPa、破断伸び 168 %の繊維や、P(3HB-co-3HV-co-3HO)からは引張強度 59 MPa、引張弾性率 0.29 GPa、破断伸

び4400%の繊維が作製されたことが報告されている[6]。つまりゲル紡糸により、分子量低下を抑制したPHA繊維を開発した。さらに、得られたゲル紡糸繊維が顕著な伸縮性 (hard-elastic) を示すことを世界で初めて報告している。しかしながら、ゲル紡糸は1,2-ジクロロエタンなどの有機溶媒を使用して希薄濃度で作製するため、環境負荷や生産性に課題がある。これまで報告されているPHAの繊維は、熔融紡糸により高強度であるが破断伸びは50%以下の繊維とゲル紡糸による伸縮性の繊維であり、熔融紡糸により伸縮性の繊維の開発に関する報告はされていない。

熱分解による分子量の低下を抑制して熱成形することが、PHAの理想的な成形加工である。そこで本研究では、熱分解を抑制した新たな熔融紡糸を開発し、P(3HB-co-4HB)から単一繊維を作製する。P(3HB-co-16 mol%-4HB)に対して熔融紡糸を行ったところ、興味深いことに、結晶を一部残存させたまま融点以下でも熔融紡糸が可能であったため、この新しい熔融紡糸法の詳細と得られた繊維の物性を報告する。

2.2. 実験方法

2.2.1. 材料

P(3HB)は重量平均分子量約430,000でBiomer, Germanyから提供された。P(3HB-co-16 mol%-4HB)は重量平均分子量600,000で三菱ガス化学株式会社から提供されたものを精製せずに使用した。P(3HB-co-16 mol%-4HB)粉末をクロロホルムに溶解させたのち、キャストフィルムを作製した。

2.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の作製

P(3HB-co-16 mol%-4HB)キャストフィルム約1.5 gを130~190 °Cに設定した熔融紡糸機(model : IMC-19F8, 井元製作所, 日本)の炉の中に投入し、任意の時間熔融させたのち、押出棒で1 mm/secの速度で紡糸した。ダイはL/D = 3、ダイ径1 mmのものを使用し、1.8

m/mim の速度で室温にて巻き取った。その後、手で室温にてネッキング延伸することで 5 倍延伸繊維を得た。本実験で得られた繊維は熱処理を行わなかった。

2.2.3. フラクシオン分離

P(3HB-co-16 mol%-4HB)粉末を、既報の solvent/nonsolvent 法により分画した。まず、原試料約 1 g を 100 mL のクロロホルムに溶解し、室温で攪拌しながら所定の *n*-ヘキサンをゆっくりと加えた。遠心分離 (8000 rpm、15 分) により沈殿物を分離した。この後、沈殿物を回収し、残った溶液に所定の一定量の *n*-ヘキサンをゆっくりと加えた。任意の量の *n*-ヘキサンを加えても沈殿が生じなくなるまで、この操作を繰り返した。

2.2.4. 分析・評価

2.2.4.1. 示差走査熱量測定 (DSC 測定)

サンプルの熱物性は示差走査熱量測定装置 (DSC8500, Perkin Elmer, USA) を用いて窒素雰囲気下 (流速 30 mL/min)で行った。試料を約 5 mg をアルミニウムパンに入れ、昇温速度 10 °C/min で 200 °C まで昇温し、1 分間保持してサンプルを熔融させた。その後、200 °C/min で-50 °C まで急冷し、-50 °C で 1 分間等温処理した後、10 °C/min で-50 °C から 200 °C まで昇温した。

2.2.4.2. 熱流動評価 (フローテスター)

サンプルの熱流動開始温度はキャピラリーレオメーター (CFT-500EX、島津製作所、日本) を用いて、熱流動が始まる温度 (T_{flow}) を測定した。サンプル 1 g をバレルに投入し、ピストン (直径、10 mm) で大まかにプレスした。50 °C で 300 秒間予熱した後、5.0 MPa の一定圧力をピストンに加え、昇温速度 5 °C /min で加熱を開始した。バレル下のダイ (直径 1.0 mm、長さ 10 mm) からサンプルが押し出される温度を T_{flow} と定義した。

2.2.4.3. X線測定

2次元広角X線回折(WAXD)および小角X線散乱(SAXS)測定は大型放射光施設(SPring-8)のビームラインBL03XUで行った。X線の波長は0.1 nmで、2次元回折図はPILATUS3 S 1Mで記録した。WAXDとSAXSのカメラ長はそれぞれ189 mm、2278 mmであった。

さらに、*In situ* 広角X線回折(WAXD)測定は高感度示差走査熱量計(Thermo plus EVO II, リガク, 日本)を用いてDSC測定と同時に行った。50 °Cから10 °C/minで200 °Cまで昇温しながら、5 °C毎に1秒間X線を照射した。X線の波長は0.1 nmで、2次元回折図はSOPHIASで記録された。*In situ* WAXDのカメラ長は81 mmであった。

2.2.4.4. サイクル試験

引張試験と同様の条件でサイクル試験は行われた。繊維は初期長から100%引き伸ばされたひずみで荷重と除荷を繰り返した。回復度(Elastic recovery, R)は以下の式で計算された。

l_{max} : 繊維が最大に伸びた長さ, l_r : 回収後の繊維の長さ, l_0 : 初期長, ε : 相対ひずみ, ε_r : 相対残留ひずみ

$$R = \frac{l_{max} - l_r}{l_{max} - l_0} \times 100 = \frac{\varepsilon - \varepsilon_r}{\varepsilon} \times 100 \quad (1)$$

2.2.4.5. ゲル浸透クロマトグラフィー分析(GPC)

サンプルの重量平均および数平均分子量(M_w および M_n)および多分散度指数(PDI)は、40°Cのクロロホルム中でゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)(RID-20A 示差屈折率検出器、Shimadzu)を使用して測定した。Shodex カラム(K-806M、K-802)を使用し、流速は0.8 mL/minであった。ポリスチレン(PS)スタンダード(Shodex)を使用して検量線を作成した。

2.3. 結果と考察

2.3.1. P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱的性質

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱物性を調べるために、融点 (T_m) および熱流動開始温度 (T_{flow}) を示差走査熱量測定とフローテスターで測定した。Fig. 2-1 に P(3HB)と P(3HB-co-16 mol%-4HB)の DSC 曲線とフローテスター曲線を示す。P(3HB)の DSC 曲線 (Fig. 2-1 (a) 黒点線) において、170 °C 付近に一つの大きな吸熱ピークが観察され、P(3HB)の融点であることを意味している。一方で、P(3HB)の共重合組成として 4HB を組み込んだ P(3HB-co-16 mol%-4HB)の DSC 曲線 (Fig. 2-1 (a) 黒実線) においては、大きく分けて 100 °C 付近と 160 °C 付近に吸熱ピークが観察された。P(3HB-co-3HV)はヒドロキシブタン酸 (HB) とヒドロキシバレリル酸 (HV) の 2 つのモノマーは化学構造が類似しており、Sanchez-Eby uniform model で結晶化する。つまり、3HV ユニットを含む 3HB ユニットによって結晶相が形成される (いわゆる共結晶化) [7-10]。一方で、P(3HB-co-3HHx)や P(3HB-co-4HB)は第一章で記述したように、フローリー排除モデル (Flory exclusion model) に割り当てられる[10,11]。つまり、共重合体化でランダムに組み込まれた 4HB により、3HB ユニットから形成されるラメラの厚さが不規則になったため、結晶性と融点の低下、および幅広い融点を示したと考えられる。

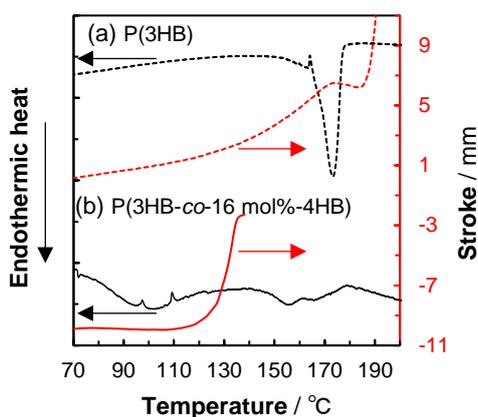


Fig. 2-1. DSC curve (black line) and thermal flow curve (red line) of (a) P(3HB) (dotted line) and (b) P(3HB-co-16 mol%-4HB) (solid line) expressed as displacement of a piston in a capillary rheometer.

それぞれの熱流動温度をキャピラリーレオメーターで測定した。各サンプルの熱流動開始温度はシリンダーに充填され、徐々に加熱された樹脂上のピストンの位置の変化として示している。P(3HB)のフローテスター曲線 (Fig. 2-1 (a) 赤点線) は P(3HB)の融点 (170 °C) を超えた温度 (185 °C) から、樹脂が熱流動を開始した。これは、P(3HB)の結晶が完全に熔融しないと、熱流動をしないことを意味している。一般的な結晶性高分子はP(3HB)ホモポリマーのように、樹脂の融点を超えてからしか熱流動しない。一方で、本研究では、P(3HB-co-16 mol%-4HB)において、160 °C 付近の2つ目の融点よりも低温 (113 °C) で樹脂が熱流動を開始することを見出した。これは、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の結晶性が低いことや多分散度 (PDI) が 2.9 と大きく、高分子量体と低分子量体が混合していることが寄与していると考えられる。これは、超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) の成形加工性を改善するために、低分子量ポリエチレン (PE) とブレンドする手法に類似している[12-17]。

2.3.2. フラクシオン分離による P(3HB-co-4HB)の分画

PHA 共重合体は微生物により生合成されるため、第二成分組成比率は均一ではない[18-22]。そのため、P(3HB-co-16 mol%-4HB)においても、3HB リッチなものや4HB リッチなものブレンドになっている可能性がある。そこで、P(3HB-co-16 mol%-4HB)のコモノマーユニットの分布を調べるために、クロロホルム/*n*-ヘキサンを用いて solvent/non-solvent systems でフラクシオン分離を行った。フラクシオン分離後に得られたサンプルの合計収率は 97 %であった。フラクシオン分離されたサンプルの組成比率や重量平均分子量、熱物性を ¹H と ¹³C NMR, ゲル濾過クロマトグラフィー (GPC), 示差走査熱量測定 (DSC) で分析した (Table 2-1)。今回使用した P(3HB-co-16 mol%-4HB)のコモノマーユニットの分布は、約 90 wt%が 4HB 組成比率 16~18 mol%で、これまで報告されている P(3HB-co-4HB)[23-25]と比較して、コモノマーユニットの分布が狭く均一である (Fig. 2-2 (a))。したがって、本実験で使用した P(3HB-co-16 mol%-4HB)の機械的物性は主に、4HB 組成比率 16~18 mol%の物が支配的であると考えられ

る。一方で、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の中に、4HB 組成比率が 10 mol%以下の P(3HB-co-4HB)は約 7 wt.%ほど存在している。これらの低 4HB 含率の P(3HB-co-4HB)融点は約 160 °C である (Fig. 2-2 (c)) ことから、Fig. 2-1 (c)に観察された 160 °C 付近の 2 つ目の融点に由来している。一方で、この 4HB 組成比率 16~18 mol%の P(3HB-co-4HB)は融点が存在せず、結晶性が著しく低い。これが、P(3HB-co-16 mol%-4HB)において、160 °C 付近の 2 つ目の融点よりも低温 (113 °C) で樹脂が熱流動を開始することに大きく起因していると考えられる。また、4HB の組成比率の増加に伴い、P(3HB-co-4HB)のガラス転移温度 (T_g) は低下する傾向となった。これは P(3HB)の T_g (0 °C 付近) と比較して、P(4HB)の T_g は-51 °C と低いためである。

Table 2-1. Fraction of P(3HB-co-16 mol%-4HB) with chloroform/n-hexane.

Sample fraction	Conc. of <i>n</i> -hexane / vol%	amt. of sample in fraction / wt%	4HB content / mol%	M_w × 10 ⁵	PDI	T_m / °C	ΔH_m / J g ⁻¹	T_g / °C	
Original	-	100	16.3	6.6	2.9	102.8	168.0	2.2	-6.9
1	50	1.3	3.1	10.7	2.2	173.0	-	63.6	-0.18
2	52	3.3	5.2	9.4	2.7	137.0	162.0	37.6	-5.04
3	54	1.2	9.5	9.2	1.0	136.8	161.5	36.6	-4.39
4	56	1.3	7.8	10.5	2.2	135.7	160.4	47.7	-3.06
5	58	69.3	16.3	8.6	1.9	-	-	-	-6.96
6	60	16.6	17.0	5.0	2.3	-	-	-	-7.4
7	62	3.89	17.7	1.4	1.3	-	-	-	-9.2

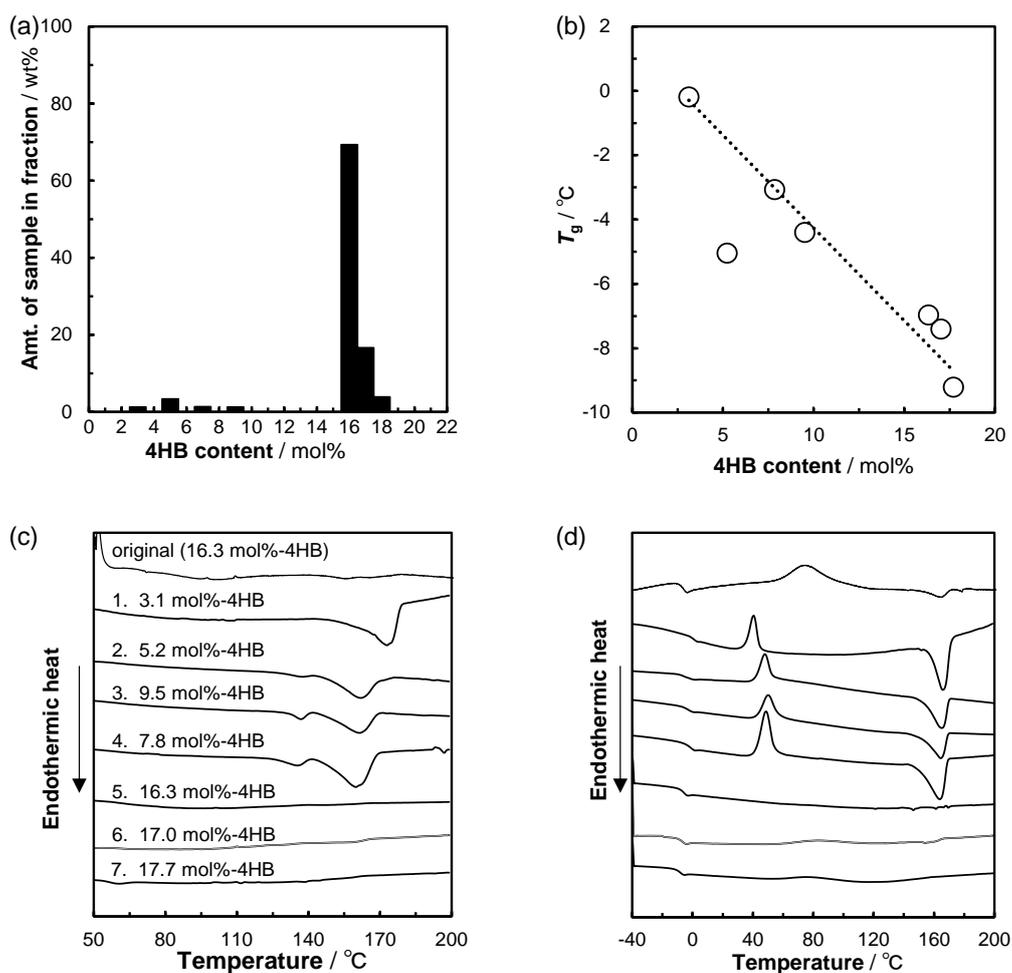


Fig. 2-2. DSC curve (black line) and thermal flow curve (red line) of (a) P(3HB) (dotted line) and (b) P(3HB-co-16 mol%-4HB) (solid line) expressed as displacement of a piston in a capillary rheometer.

2.3.3. DSC・広角 X 線リアルタイム同時測定

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の加熱時における結晶の溶融過程を調べるために *In situ* WAXD 測定と DSC 測定を同時に行った。加熱過程の二次元 WAXD (2D-WAXD) 図を Fig. 2-3 に示す。温度が 50 °C の時には明確なリングパターンが観察され、結晶が存在していることが確認できる。その後、Fig. 2-1 で観察された 100 °C 付近の融点を超えたあたりから、リングパターンの回折強度が弱まり、170 °C 付近の 2 つ目の融点を超えるとリングパターンが消失した。これは、結晶が全て溶融したことを意味している。Fig. 2-1 でも示したように、本研究で使用した P(3HB-co-16 mol%-4HB)の溶融成形は 113 °C 付近から可能である。しかしな

がら、Fig. 2-3 において、110~160 °C では結晶の存在を意味するリングパターンが観察されたことから、結晶が一部残存していても、熔融成形が可能であることを示唆している。

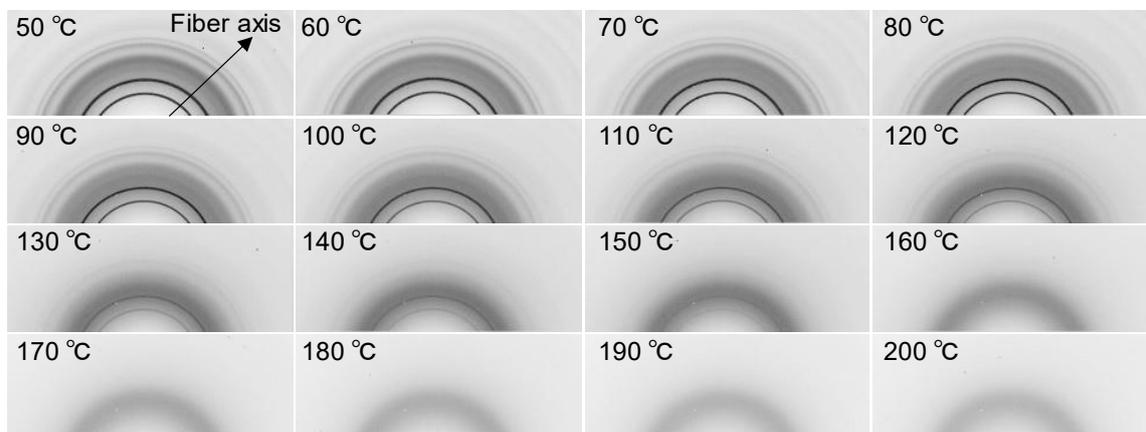


Fig. 2-3. 2D-WAXD images of P(3HB-co-16 mol%-4HB) at the heating rate 10 °C /min. Heating from 50 to 200 °C.

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の加熱時における結晶の変化の詳細を明確にするために、2D-WAXD 図を円環平均して得られる一次元 WAXD (1D-WAXD) プロファイルを図 2-4 に示す。斜方晶系の α 晶からなる P(3HB)のラメラ結晶の(020)面と(110)面に由来する回折が、温度の上昇に伴って強度が弱くなる様子が観察された[26]。また、(110)面のピークがシフトしているのは、結晶格子が熱膨張しているからである[27,28]。(020)面と(110)面の回折ピークは 160 °C まで確認でき、本研究で熔融紡糸した温度の 130~150 °C においても存在していた。したがって、本研究において 170 °C より低温で熔融紡糸が可能であるということは、一部結晶を残存させたまま非晶部分と共に熔融流動させていることが明らかとなった。

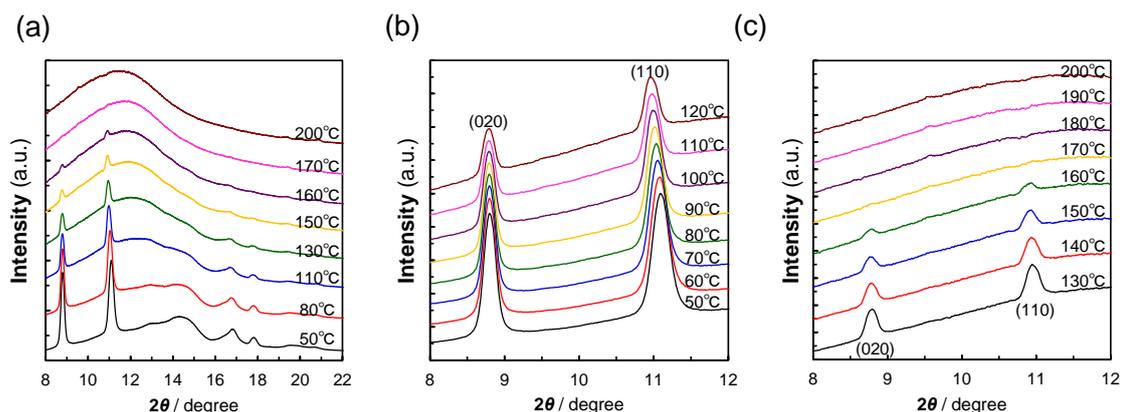


Fig. 2-4. 1D-WAXD profiles of P(3HB-co-16 mol%-4HB) at the heating rate 10 °C /min. Heating from (a) 50 to 200 °C, (b) 50 to 120 °C and (c) 130 to 200 °C respectively.

2.3.4. 熔融紡糸中の熱分解による分子量低下

各温度で熔融紡糸した際の GPC プロファイルを図 2-5 に、成形温度・時間の関係を図 2-6 (a) に示す。図 2-6 において、融点以下 (130 °C や 150 °C) で熔融成形した場合は、熔融時間を伸ばしても分子量変化は起こらないが、融点付近の 170 °C では熔融時間とともにわずかに減少し始め、通常の熔融成形を行う温度域である 190 °C においては、熔融成形時間が 1 分で著しい分子量低下が観察され、その後時間とともに著しい分子量低下が観察された。つまり融点以上である 160 °C 以上においては分子量が著しく低下する結果となった。加部らは、熱成形プロセス中で P(3HB) の著しい分子量低下が起こることを報告している[5]。また、P(3HB-co-5.5 mol%-3HHx) の熱加水分解でも同様の傾向であることを Dhurga らは報告している[29]。つまり、熔融プロセス下での熱的安定性が低い PHA に対して、今回開発した融点以下で紡糸するということは、大変有効的であると考えられる。

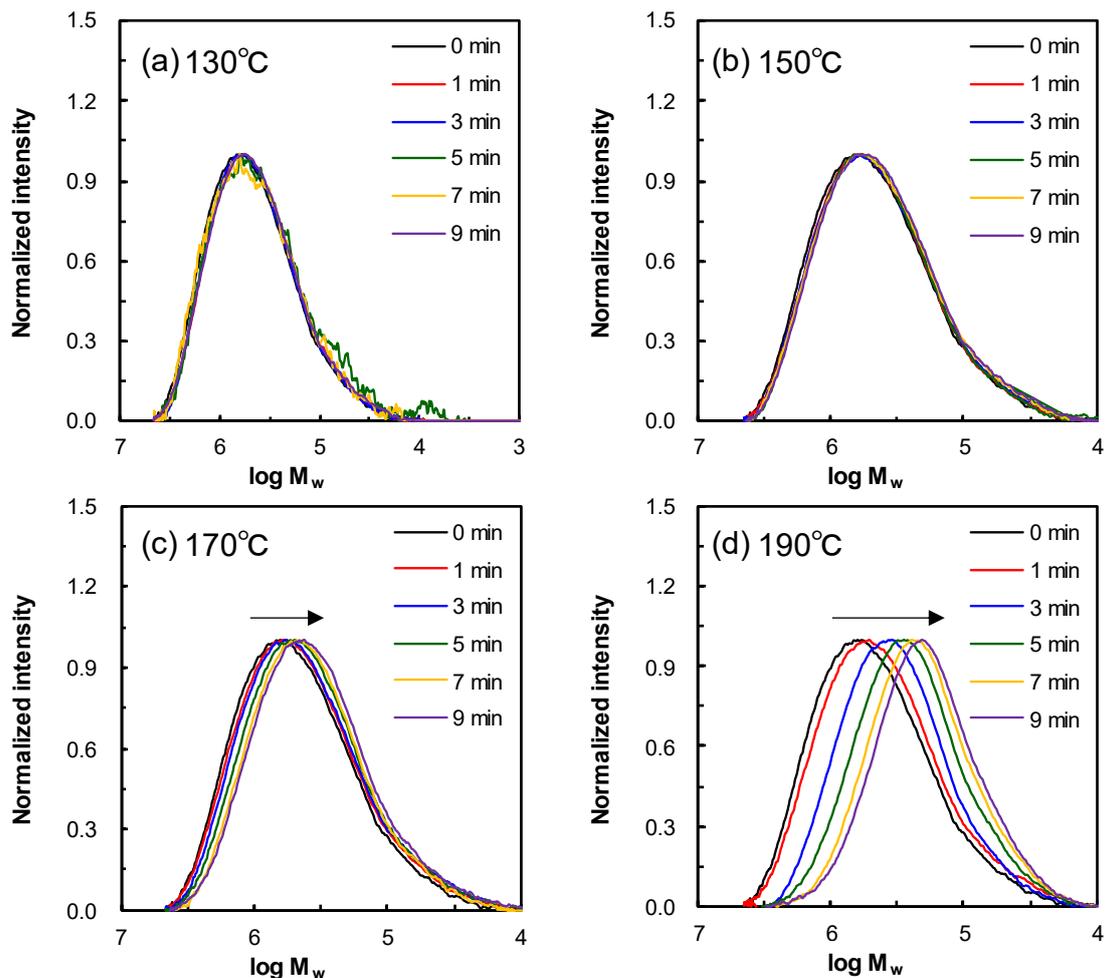


Fig. 2-5. Changes in GPC profiles of P(3HB-co-16 mol%-4HB) during melt spun at (a) 130 °C, (b) 150 °C, (c) 170 °C and (d) 190 °C.

$\ln M_w$ と熔融時間との関係を Fig. 2-6 (b)に示す。このプロットにおいて、 $\ln M_w$ と熔融時間が直線関係にあることは、熱分解は自己触媒的ランダム分解（生成したカルボキシ基が触媒として作用して、隣接するエステル結合を開裂する）で進行していることを示唆している[30]。反応速度定数 k は Nishida's method[29]を用いて算出し、 $\ln k$ と $1/T$ を使用して Arrhenius プロットを得た (Fig. 2-7)。ここから算出した活性化エネルギー E_a は 100.5 kJ/mol となり、他の文献で報告されている活性化エネルギー E_a : P(3HB) (122.5 kJ/mol)[31] や P(3HB-co-5.5 mol%-3HHx) (90.6 kJ/mol)[29]、P(3HB-co-16 mol %-4HB) (127.0 kJ/mol)[32]とほぼ近い値となったことから、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱安定性は P(3HB)ホモポリマーや他の PHA とほぼ変わらない結果となった。

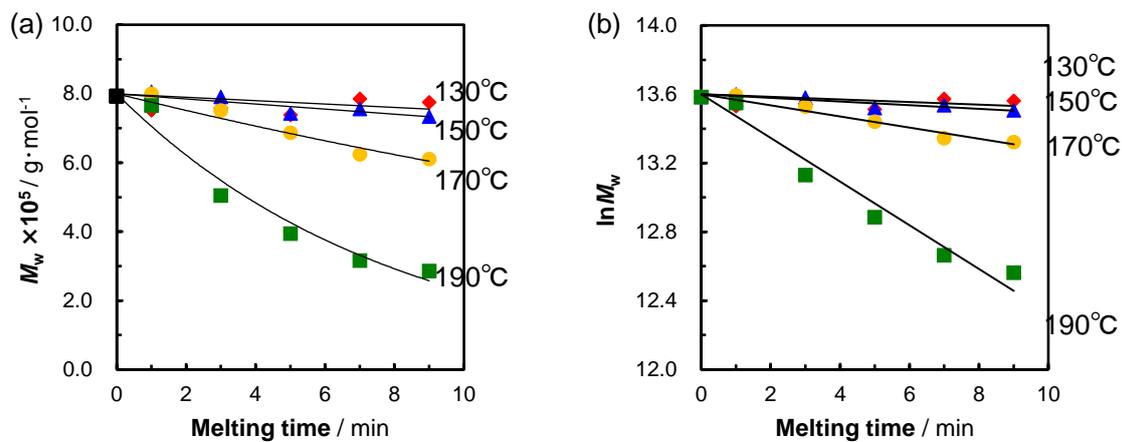


Fig. 2-6. (a) The relationships between weight-average molecular weight and (b) plots of $\ln M_w$ v.s. melt-spinning time for P(3HB-co-16 mol%-4HB) and melt-spinning time performed at temperature of 130-190 °C.

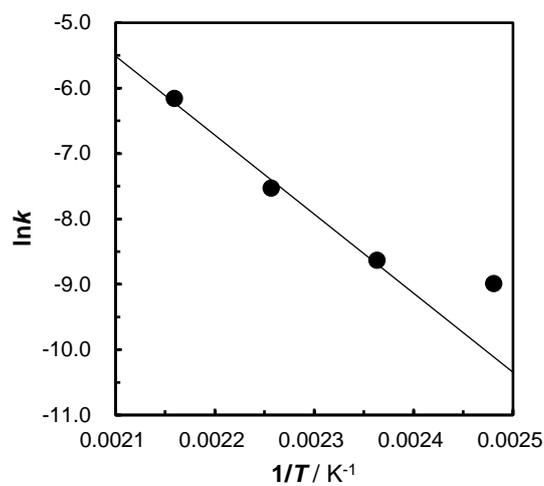


Fig. 2-7. Arrhenius plots for the thermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) during melt spun.

2.3.5. P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維の機械的物性

P(3HB-co-16 mol%-4HB)を各温度で熔融紡糸した繊維の応力-ひずみ曲線を Fig. 2-8 (a) に示す。また、機械的物性の詳細を Table 2-2 に示す。引張強度は 130 °C や 150 °C で結晶を部分的に残して熔融紡糸した繊維の機械的物性 (赤線、黒線) は、引張強度が約 70~80 MPa を示した。一方で、一般的な方法として、170 °C で結晶を全て熔融させて作製した繊維の機械的物性 (青線) は 42 MPa を示し、新規熔融紡糸法で作製した繊維の方が高強度であった。新規熔融紡糸法で作製した繊維は破断伸びが 100%を超えることから、破断での強度を換算すると真応力は約 200 MPa となる。これは、加部ら[5]が報告している P(3HB-co-5.5 mol%-3HHx)の冷延伸繊維の強度 200~400 MPa に迫る強度である。

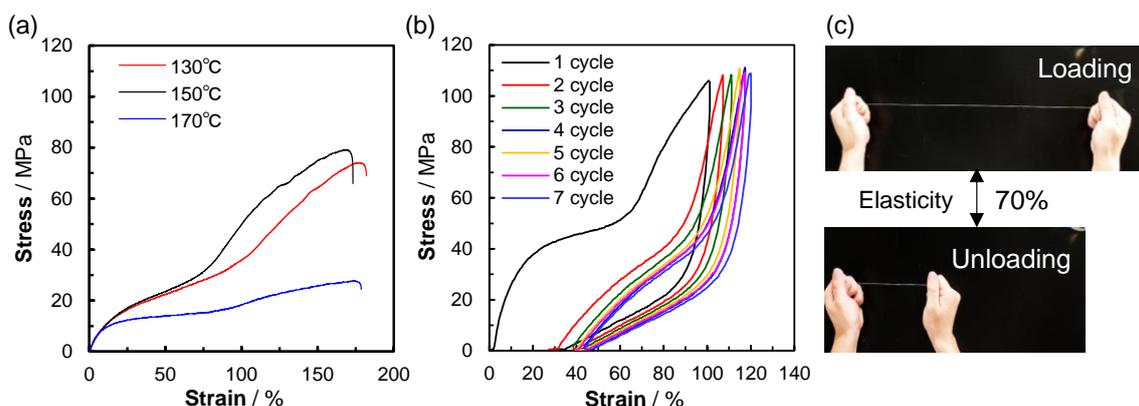


Fig. 2-8. (a) Tensile strain-stress curves of P(3HB-co-16 mol%-4HB) fibers melt spun at various temperature, (b) its hysteresis curve between 6.5 N (≈ 90 MPa) and 0 N (≈ 0 MPa) and (c) optical images of the elastic fiber.

Table 2-2. Mechanical properties of P(3HB-co-16 mol%-4HB) fiber obtained from various melt spun conditions.

Melt-spun temperature (°C)	Tensile strength (MPa)	True stress (MPa)	Young's modulus (GPa)	Elongation at break (%)	Strain energy (J/m^3)	Initial diameter (mm)
130	70.7 \pm 7.8	201.7 \pm 18.1	0.17 \pm 0.04	192 \pm 27	67 \pm 12	0.36 \pm 0.03
150	78.5 \pm 7.4	170.5 \pm 25.3	0.25 \pm 0.03	165 \pm 21	62 \pm 11	0.38 \pm 0.00
170	41.9 \pm 6.7	134.6 \pm 31.7	0.15 \pm 0.03	226 \pm 65	54 \pm 18	0.39 \pm 0.03

さらに、作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維は良好な伸縮性が観察された (Fig. 2-8 (b))。P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維は、応力をかけて伸ばした後除荷すると、わずか数パーセントの残留ひずみ (永久ひずみ) が残るものの、瞬時に元の形に回復した (Fig. 2-8 (c))。パラメーター R (回復係数) は式(1)を用いて算出した。つまり、 R 値が 100%に近いほど完全に元の状態に戻り、0 に近いと全く戻らないことを意味している。この時のヒステリシス回復度 R はサイクル試験を繰り返すほど 100%に近づき最終的に $R=92%$ を示した (Fig. 2-9)。本研究で得られた P(3HB-co-16 mol%-4HB)伸縮性繊維のヒステリシス回復度 R は、既存の伸縮性繊維である PP 繊維 ($R=82%$ at $\varepsilon=25%$)[33]、および PE 繊維($R=81%$ at $\varepsilon=80%$) ($R=81%$ at $\varepsilon=80%$)[34]、さらに代表的な伸縮性繊維であるポリウレタン繊維 (TPU, $R=96%$ at $\varepsilon=100%$)[35]結果とほぼ同等である。さらに強度においても、PP 繊維の引張強度 70 MPa や PE 繊維の引張強度 100 MPa と同程度であり、TPU 繊維の引張強度 11 MPa よりも高強度であった。加えて、その他の伸縮性繊維[36–38]の機械的物性やヒステリシス回復度 R と比較しても、遜色ない物性を示した (Table 2-3)。これら非生分解性の伸縮性繊維である PP 繊維やナイロン繊維などは、心臓などの可動領域を縫合する手術用縫合糸へ使用されている。本研究で作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維は、生体吸収性も有することが報告されていることから、術後に抜糸が不要な手術用縫合糸として非生体吸収性伸縮性繊維の代替として使用できる可能性がある。また、ごく最近 Y. Kawamura ら[4]が報告したように、 α 晶の間に存在しているタイ分子や、その周りに存在しているフリーな非晶部が、延伸により β 晶 (平面ジグザグ構造) へと転移し、除荷することにより β 晶が非晶部へと緩和されるということが P(3HB-co-16 mol%-4HB)の伸縮性に起因していると考えられる。伸縮機構に関しては第三章で詳細に説明する。

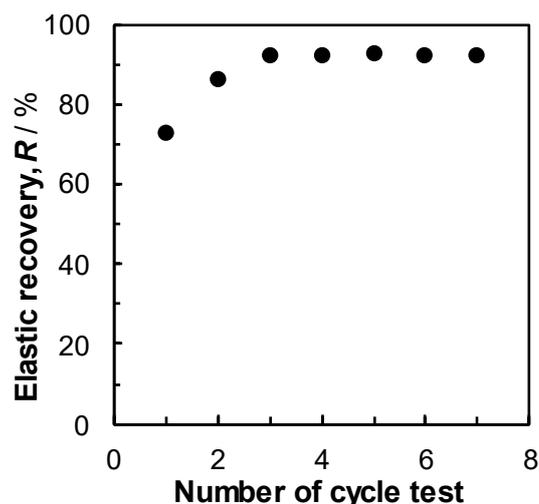


Fig. 2-9. The elastic recovery, R of P(3HB-co-16 mol%-4HB) elastic fiber calculated from eq.(1) at each cycle tests.

Table 2-3. Mechanical properties of various elastic fiber.

Sample	σ_{MAX} / MPa	E / GPa	ε_{MAX} / %	Elastic recovery, R	Reference
P(3HB-co-16 mol%-4HB)	110	0.3	113	92 (at $\varepsilon = 70\%$)	This work
PP	70	2.8	100-700	95 (at $\varepsilon = 75\%$)	[33]
PE	100	-	125	81 (at $\varepsilon = 80\%$)	[34]
POM	-	-	250	97 (at $\varepsilon = 70\%$)	[33]
PTT	683	2.5	45	95 (at $\varepsilon = 20\%$)	[36]
PA6	51	1.8	80	97 (at $\varepsilon = 1.3\%$)	[38]
TPU	11	0.006	700	96 (at $\varepsilon = 100\%$)	[35]

σ_{MAX} : Tensile strength, E : Young's modulus, ε_{MAX} : Elongation at break

PP : polypropylene, PE : polyethylene, POM : polyoxymethylene, PTT : poly(trimethylene terephthalate),

PA6 : polyamide6, TPU : thermoplastic polyurethane

作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB) 繊維の広角 X 線回折 (WAXD) と小角 X 線散乱 (SAXS) の二次元パターンを Fig. 2-10 に示す。2D-WAXD 図において、延伸した繊維は 2_1 ヘリックス構造 (α 晶) から成るラメラ結晶が配向したことを意味する回折が観察された。しかしながら、PHA の強度発現の主な因子である β 晶は確認されなかった。また、2D-SAXS パターンにおいても、延伸方向に対して周期構造を有することを示す、二点のスポット状の散

乱が子午線方向に観察された。X 線測定結果から得られた結晶化度 (X_c), 配向度 (f), 長周期 (L_p), ラメラ厚 (l_c) を Table 2-4 に示す。これらの結果から、成形温度は P(3HB-co-16 mol%-4HB) 繊維の高次構造に大きな影響は与えていないことが明らかとなった。つまり、結晶を部分的に残して熔融紡糸した繊維の機械的物性が、結晶を全て熔融させて作製した繊維の機械的物性よりも向上したのは、熱分解による分子量低下を抑制できたためである。

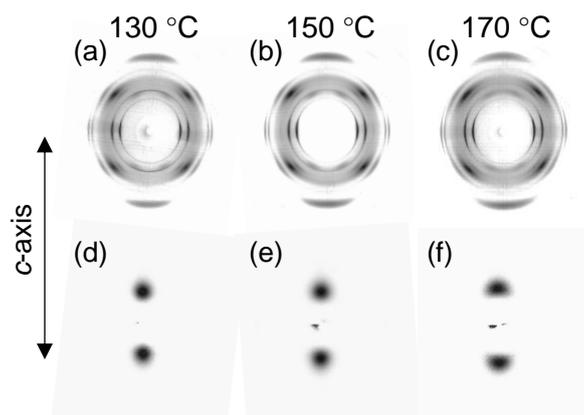


Fig. 2-10. 2D-WAXD and -SAXS images of P(3HB-co-16 mol%-4HB) fibers melt spun at (a and d) 130 °C, (b and e) 150 °C and (c and f) 170 °C.

Table 2-4. Highly ordered structure analyses of P(3HB-co-16 mol%-4HB) melt spun fibers.

Melt-spun temperature (°C)	Crystallinity (%)	(020) orientation $f_{(020)}$	Long period, L_p (nm)	Lamellar thickness, l_c (nm)
130	50.4±2.5	0.85±0.03	7.5±0.2	3.8±0.2
150	47.0±1.7	0.87±0.02	7.2±0.3	3.4±0.2
170	45.5±2.2	0.84±0.02	6.8±0.1	3.1±0.2

2.4. 結論

本章では、P(3HB-co-16 mol%-4HB)に対して、結晶を一部残存させたまま、非晶部が熔融流動する温度にて熔融紡糸した。この現象は、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の約 90%を構成している、4HB 組成比率 16~18 mol%の P(3HB-co-4HB)が非晶性であることが大きく起因している。P(3HB-co-16 mol%-4HB)の加熱時における結晶の熔融過程を調べるために *In situ* WAXD 測定を行った結果、結晶の回折ピークは本研究で熔融紡糸した温度の

130~150 °C においても存在していた。したがって、本研究において 170 °C より低温で熔融紡糸が可能であるということは、一部結晶を残存させたまま非晶部分と共に熔融流動させていることが明らかとなった。これは、熔融プロセス下での熱的安定性が低い PHA に対して、分子量低下を抑制できる有効的な熔融紡糸法である。さらに、得られた繊維は強度と伸縮性を両立できており、既存のエラストマー繊維と同程度の機械的物性を示した。

2.5. 参考論文

- [1] T.H. Ying, D. Ishii, A. Mahara, S. Murakami, T. Yamaoka, K. Sudesh, R. Samian, M. Fujita, M. Maeda, T. Iwata, Scaffolds from electrospun polyhydroxyalkanoate copolymers: Fabrication, characterization, bioabsorption and tissue response, *Biomaterials*. **29** (2008) 1307–1317. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.11.031>.
- [2] D.P. Martin, S.F. Williams, Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: A strong flexible absorbable biomaterial, *Biochemical Engineering Journal*. **16** (2003) 97–105. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00040-8).
- [3] K.H. Huong, C.H. Teh, A.A. Amirul, Microbial-based synthesis of highly elastomeric biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) thermoplastic, *International Journal of Biological Macromolecules*. **101** (2017) 983–995. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.179>.
- [4] Y. Kawamura, H. Gan, T. Kabe, A. Maehara, S. Kimura, T. Hikima, M. Takata, T. Iwata, Mechanism of Elastic Properties of Biodegradable Poly[(R)-3-Hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate] Films Revealed by Synchrotron Radiation, *ACS Omega*. **6** (2021) 7387–7393. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05662>.
- [5] T. Kabe, C. Hongo, T. Tanaka, T. Hikima, M. Takata, T. Iwata, High tensile strength fiber of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] processed by two-step drawing with intermediate annealing, *Journal of Applied Polymer Science*. **132** (2015). <https://doi.org/10.1002/app.41258>.
- [6] E.M. Antipov, V.A. Dubinsky, A. v. Rebrov, Y.P. Nekrasov, S.A. Gordeev, G. Ungar, Strain-induced mesophase and hard-elastic behaviour of biodegradable polyhydroxyalkanoates fibers, *Polymer*. **47** (2006) 5678–5690. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.04.111>.
- [7] M. Scandola, G. Ceccorulli, M. Pizzoli, M. Gazzano, Study of the Crystal Phase and Crystallization Rate of Bacterial Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Macromolecules*. **25** (1992) 1405–1410. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [8] P.A. Barker, P.J. Barham, J. Martinez-Salazar, Effect of crystallization temperature on the cocrystallization of hydroxybutyrate/ hydroxyvalerate copolymers, *Polymer*. **38** (1997) 913–919.
- [9] M. Sanchez Cuesta, J. Martinez-Salazar, P.A. Barker, P.J. Barham, H.H. Wills, Co-crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*. **27** (1992) 5335–5338.

- [10] M. Kunioka, A. Tamaki, Y. Doi, Crystalline and Thermal Properties of Bacterial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **22** (1989) 694–697. <https://doi.org/10.1021/ma00192a031>.
- [11] Y. Doi, S. Kitamura, H. Abe, Microbial Synthesis and Characterization of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), *Macromolecules*. **28** (1995) 4822–4828. <https://doi.org/10.1021/ma00118a007>.
- [12] C. Sawatari, M. Matsuo, Morphological and mechanical properties of ultrahigh-molecular-weight polyethylene/low-molecular-weight polyethylene blend films produced by gelation/crystallization from solutions, *Polymer*. **30** (1989) 1603–1614.
- [13] Y. Chen, X. Nie, H. Zou, M. Liang, P. Liu, Structure, and tensile properties change of LDPE/UHMWPE blends via solid state shear milling, *Journal of Applied Polymer Science*. **130** (2013) 2487–2493.
- [14] A.B. Boschetto, R. Franco, M. Scapin, M. Tavan, AN INVESTIGATION ON RHEOLOGICAL AND IMPACT BEHAVIOUR OF HIGH DENSITY AND ULTRA HIGH MOLECULAR WEIGHT POLYETHYLENE MIXTURES, *Eur. P&n. J.* **33** (1997) 97–105.
- [15] L. Xu, Y.F. Huang, J.Z. Xu, X. Ji, Z.M. Li, Improved performance balance of polyethylene by simultaneously forming oriented crystals and blending ultrahigh-molecular-weight polyethylene, *RSC Advances*. **4** (2014) 1512–1520.
- [16] P. Vadhari, T. Kyu, Effects of Mixing on Morphology, Rheology, and Mechanical Properties of Blends of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene With Linear Low-Density Polyethylene, *Polymer Engineering & Science*. **27** (1987) 202–210.
- [17] K.L.K. Lim, Z.A. Mohd Ishak, U.S. Ishiaku, A.M.Y. Fuad, A.H. Yusof, T. Czigan, B. Pukanszky, D.S. Ogunniyi, High-density polyethylene/ultrahigh-molecular-weight polyethylene blend. I. The processing, thermal, and mechanical properties, *Journal of Applied Polymer Science*. **97** (2005) 413–425.
- [18] L. Feng, T. Watanabe, Y. Wang, T. Kichise, T. Fukuchi, G.Q. Chen, Y. Doi, Y. Inoue, Studies on comonomer compositional distribution of bacterial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)s and thermal characteristics of their factions, *Biomacromolecules*. **3** (2002) 1071–1077. <https://doi.org/10.1021/bm0200581>.
- [19] F. Shi, R.D. Ashby, R.A. Gross, Fractionation and Characterization of Microbial Polyesters Containing 3-Hydroxybutyrate and 4-Hydroxybutyrate Repeat Units, *Macromolecules*. **30** (1997) 2521–2523. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [20] Y. Wang, S. Yamada, N. Asakawa, T. Yamane, N. Yoshie, Y. Inoue, Comonomer compositional distribution and thermal and morphological characteristics of bacterial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)s with high 3-hydroxyvalerate content, *Biomacromolecules*. **2** (2001) 1315–1323. <https://doi.org/10.1021/bm010128o>.
- [21] K. Ishida, Y. Inoue, Modal difference in comonomer-unit compositional distributions of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)s biosynthesized by two strains, *Ralstonia eutropha* and *Alcaligenes latus*, *Biomacromolecules*. **5** (2004) 1135–1140. <https://doi.org/10.1021/bm049908y>.
- [22] K. Ishida, Y. Wang, Y. Inoue, Comonomer unit composition and thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate)s biosynthesized by *Ralstonia eutropha*, *Biomacromolecules*. **2** (2001) 1285–1293.

<https://doi.org/10.1021/bm010115a>.

- [23] F. Shi, R.D. Ashby, R.A. Gross, Fractionation and Characterization of Microbial Polyesters Containing 3-Hydroxybutyrate and 4-Hydroxybutyrate Repeat Units, *Macromolecules*. **30** (1997) 2521–2523. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [24] K. Ishida, Y. Inoue, Modal difference in comonomer-unit compositional distributions of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)s biosynthesized by two strains, *Ralstonia eutropha* and *Alcaligenes latus*, *Biomacromolecules*. **5** (2004) 1135–1140. <https://doi.org/10.1021/bm049908y>.
- [25] K. Ishida, Y. Wang, Y. Inoue, Comonomer unit composition and thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate)s biosynthesized by *Ralstonia eutropha*, *Biomacromolecules*. **2** (2001) 1285–1293. <https://doi.org/10.1021/bm010115a>.
- [26] M. Yokouchi, Y. Chatani, H. Tadokoro, K. Teranishi, H. Tani, Structural studies of polyesters: 5 Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly(*p*-hydroxybutyrate), *Polymer*. **14** (1973) 267–272.
- [27] H. Zhu, Y. Lv, D. Shi, Y. Li, Z. Wang, Origin of the double melting peaks of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with a high HV content as revealed by *in situ* synchrotron WAXD/SAXS analyses, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*. **57** (2019) 1453–1461.
- [28] H. Sato, K. Mori, R. Murakami, Y. Ando, I. Takahashi, J. Zhang, H. Terauchi, F. Hirose, K. Senda, K. Tashiro, I. Noda, Y. Ozaki, Crystal and lamella structure and C-H···O=C hydrogen bonding of poly(3-hydroxyalkanoate) studied by X-ray diffraction and infrared spectroscopy, *Macromolecules*. **39** (2006) 1525–1531.
- [29] D.D. Rajaratanam, H. Ariffin, M.A. Hassan, H. Nishida, Changes in diad sequence distribution by preferential chain scission during the thermal hydrolysis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), *Polymer Journal*. **48** (2016) 839–842. <https://doi.org/10.1038/pj.2016.28>.
- [30] H. Nishida, M. Yamashita, M. Nagashima, N. Hattori, T. Endo, Y. Tokiwa, Theoretical prediction of molecular weight on autocatalytic random hydrolysis of aliphatic polyesters, *Macromolecules*. **33** (2000) 6595–6601. <https://doi.org/10.1021/ma992102j>.
- [31] H. Ariffin, H. Nishida, Y. Shirai, M.A. Hassan, Determination of multiple thermal degradation mechanisms of poly(3-hydroxybutyrate), *Polymer Degradation and Stability*. **93** (2008) 1433–1439. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.05.020>.
- [32] T. Omura, T. Goto, A. Maehara, S. Kimura, H. Abe, T. Iwata, Thermal degradation behavior of poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate], *Polymer Degradation and Stability*. **183** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109460>.
- [33] S.L. Cannon, G.B. McKenna, W. O Statton, Hard-Elastic Fibers (A Review of a Novel State for Crystalline Polymers), *J. POLYMER SCI.: Macromolecular Reviews*. **11** (1976) 209–275.
- [34] M. Miles, J. Petermann, H. Gleiter, Structure and Deformation of Polyethylene Hard Elastic Fibers, *Journal of Macromolecular Science, Part B*. **12** (1976) 523–534. <https://doi.org/10.1080/00222347608208660>.
- [35] V. Jašo, M. v. Rodić, Z.S. Petrović, Biocompatible fibers from thermoplastic polyurethane reinforced

- with polylactic acid microfibers, *European Polymer Journal*. **63** (2015) 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.041>.
- [36] Kang Young-Ah, Kim Kyoung-Hou, Zhao Xin, Lee Yang Hun, Structure and Mechanical Properties of PTT Fibers Obtained by CO₂ Laser Drawing and Secondary Contact Heater Drawing, *SENI GAKKAISHI*. **69** (2013) 107–117.
- [37] J. Hu, J. Lu, Y. Zhu, New developments in elastic fibers, *Polymer Reviews*. **48** (2008) 275–301. <https://doi.org/10.1080/15583720802020186>.
- [38] L. Mészáros, Elastic recovery of polyamide 6 matrix nanocomposites and their basalt fiber co-reinforced hybrids, *E-Polymers*. **17** (2017) 1–9. <https://doi.org/10.1515/epoly-2016-0310>.

第四章

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]の

熱分解機構

4.1. 緒言

第二章の結果や既存の研究においても、熔融プロセス下での熱安定性の低さが PHA の実用化への課題である。PHA の中でもホモポリマーである P(3HB)は融点 (180 °C 付近) と熱分解開始温度が近いこと、180-200 °C の成形温度範囲の熔融プロセス下において、著しく分子量低下が起きる。そこで、以前からその原因を突き止めるために P(3HB)の熱分解に関する研究が行われてきた。そして、その研究のほとんどが、P(3HB)はランダム分解で熱分解が進行していることを報告してきた[1-6]。しかしながら、Hidayah ら[7]は動力学解析や熱分解生成物の同定を行うことで、P(3HB)は(i)β 脱離によるランダム分解 (ii) 解重合の 2 段階の熱分解機構を有することを明らかにした。そして、この主要な P(3HB)熱分解生成物は、メタクリル酸に似た化学構造を有する不飽和脂肪酸であるクロトン酸である。クロトン酸はエステル誘導体化後に重合することでポリメタクリル酸メチル (PMMA) より高いガラス転移点 T_g を有する透明ポリマー (poly(alkyl crotonate) (PMeCr)) が得られる有用物質である [8,9]。最近、Takenaka and Abe らは、合成した PMeCr (122 °C) のガラス転移点 T_g はポリメチルメタクリレート (PMMA, 104 °C) よりも高く、PMeCr (359 °C) の 5%重量減少温度 $T_{d5\%}$ は PMMA (304 °C) よりも高いことを報告した[10]。このため、P(3HB)の熱分解挙動に関する研究は、資源やエネルギーの利用を最小限に抑えるケミカルリサイクルの観点からも非常に重要である。

本研究で用いている P(3HB-co-4HB)の共重合成分となる 4HB のホモポリマーにあたる P(4HB)の熱分解機構は P(3HB)の熱分解機構とは異なり、熱分解物解析から水酸基末端からのエステル交換反応による解重合により進行することが報告されている。このため、P(3HB-co-4HB)の熱成形加工を行う上で、熱分解挙動を把握することが重要となる。P(3HB-co-4HB)の熱分解はすでにいくつか報告例がある[11-15]。Nakamura ら[13]や Kunioka ら[11]は P(3HB-co-4HB) (4HB : 0-100 mol%) を等温熱分解して、分子量の熔融時間依存を観察することにより熱分解機構を研究した。彼らは、活性化エネルギー E_a と速度定数 K_d を求めることにより、P(3HB-co-4HB)の熱分解は β 脱離によるランダム分解であると結論付けた。一方で、Abate ら[12,14]は HPLC や FAB-MS (fast atom bombardment mass

spectrometry), FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy), ¹H-NMR (Proton nuclear magnetic resonance) などを用いて、P(3HB-co-80 mol%-4HB)の熱分解物を解析した。その結果、彼らは P(3HB-co-80 mol%-4HB)の熱分解は、2つの競争的ランダム分解: 3HB ユニットの β 脱離によるランダム分解と 4HB ユニットのエステル交換環化反応であると結論付けた。Kim ら[15]は、多重昇温速度法を用いて、P(3HB-co-93 mol%-4HB)の熱分解機構を報告している。彼らは、P(3HB-co-93 mol%-4HB)の熱分解は3段階で進行していると結論付けた。300 °C 以下では P(4HB)末端から解重合が進行し、P(4HB)ホモポリマーと同様の熱分解メカニズムである。しかしながら、4HB の解重合がコポリマー中にランダムに存在する 3HB ユニットの到達すると、4HB の解重合が停止する。300~350 °C においては、P(4HB)の β 脱離によるランダム分解が進行する。この温度で、3HB の β 脱離によるランダム分解も起こる。最終的に、350 °C 以上の温度では分子内エステル交換が進行すると結論付けている。これまで報告されている P(3HB-co-4HB)の熱分解に関する論文は、4HB 含有率が高い (80 mol%以上) P(3HB-co-4HB)を使用しており、ゴム状の性質を発現できる 4HB 含有率が低い P(3HB-co-4HB)の熱分解は報告されていない。さらに、P(4HB)も同様に、Hidayah らが報告しているような動力学解析を用いた報告はされていない。

熱分解は、複数の反応が同時に進行する 경우가多く、熱分解物の同定と得られた化合物から熱分解反応を決定するのは容易ではない。そこで本研究では、熱成形やケミカルリサイクルにおける熱分解制御に重要な、高温で進行する熱分解反応を精密に解析するために、多重昇温速度法を用いて、P(3HB)と P(4HB)と比較しながら、4HB 含有率が低い P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解機構を説明する。分解機構は、改良された積分分解解析法[16]およびランダム分解解析法[17]でプロットされたモデル曲線と比較して分析した。

4.2. 実験方法

4.2.1. 材料

P(3HB)は Biomer, Germany から提供された。P(4HB)は Tepha Inc., USA から購入した。これらのサンプルはクロロホルムから n-ヘキサンへ再沈精製し、真空乾燥させた。P(3HB-co-

16 mol%-4HB)は分子量 60 万程度で三菱ガス化学株式会社から提供されたものを精製せずに使用した。残存金属を除くために既存の論文[7]に従って、PHA/クロロホルム溶液を 1 M HCl 溶液で洗浄した。

4.2.2. 等温熱分解

200 mg 程度の P(3HB-co-16 mol%-4HB)をナス型フラスコに入れ、電気炉の中に設置した。電気炉の温度は熱分解温度である 310~360 °C で保持し、30 分間真空下で等温熱分解を行った。揮発成分を氷浴中でトラップし、アセトンに溶解させることで回収した。その後、ロータリーエバポレーターで溶媒を除去することで、白色針状の粉末と薄黄色液体の混合物を得た。得られた熱分解回収物、残渣は ¹H-, ¹³C-NMR, COSY, HMBC, HSQC および GC/MS で分析した。

4.2.3. 分析・評価

4.2.3.1. 熱重量分析 (TGA)

熱重量分析はマイクロ・マクロ熱重量測定装置 model:TGA-50 (島津製作所, 日本) を用いて、窒素雰囲気下 (50 mL/min)、昇温速度を $\phi = 2, 4, 6, 8, 10$ °C /min に設定し、30~550 °C の温度範囲で測定した。サンプルパンはアルミニウム製のものを使用し、リファレンスとした。

4.2.3.2. 核磁気共鳴分光法分析 (¹H- and ¹³C-NMR)

¹H-, ¹³C-NMR, COSY, HMBC, HSQC 測定は、核磁気共鳴分光分析 (NMR) model:500 MHz, JNM-A500 (JEOL, 日本) で行った。溶媒は重クロロホルム、内部標準物質としてテトラメチルシラン (TMS) を用いて室温で測定した。

4.2.3.3. ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) は、GC-2010 (島津製作所, 日本) および GC/MS QP2010 システムを用いて行った。分析に使用したカラムは、InertCap 5ms/Sil (30 m×0.25 mm) で、カラム温度は 40 °C で 3 分間保持した後、10 °C /min の昇温速度で 250 °C まで昇温し、250 °C で 16 分間保持した。この間、マススペクトルの測定は 2 回/s で行った。

4.3. 結果と考察

4.3.1. 各昇温速度における種々の PHA の熱分解

PHA は熱分解が進行しないはずの温度域において、分子量の低下は見られるが、重量減少は生じない。このことから、熱分解は進行しているが揮発成分まで分解されておらず、低分子量化されていないことが確認されている [3]。Doyle[18,19] および Ozawa[20]法を用いるために、異なる昇温速度 $\phi = 2, 4, 6, 8, 10$ °C /min で昇温重量減少測定を窒素雰囲気下で行った。Fig. 4-1 にサンプル残量 = 1 に規格化された TG 曲線 (P(3HB) : Fig. 4-1 (a), P(4HB) : Fig. 4-1 (b), P(3HB-co-16 mol%-4HB) : Fig. 4-1 (c)) と DTG 曲線 (P(3HB) : Fig. 4-2 (a), P(4HB) : Fig. 4-2 (b), P(3HB-co-16 mol%-4HB) : Fig. 4-2 (c)) を示す。すべての TG 曲線は昇温速度の増加に伴い、熱分解温度も高温側へシフトした。

A. Hidayah ら [1] が報告しているように、P(3HB) の熱分解は 280 °C 付近から開始し、310 °C 付近で残存重量は 0 に達した。Kim ら [15] が報告しているように、P(4HB) の熱分解は 300 °C 付近から開始し、360 °C 付近で残存重量は 0 に達した。一方で、P(3HB-co-16 mol%-4HB) は 290 °C 付近から開始し、330 °C 付近で残存重量は 0 に達した。すべての PHA において熱分解は、開始から終了まで、1 段階でスムーズに分解した。K. J. Kim ら [15] は P(4HB) および P(3HB-co-93 mol%-4HB) の熱分解は多段階で進行すると報告しているが、本研究で用いた P(3HB-co-16 mol%-4HB) の熱分解は 1 段階で進行した。熱分解後は、アルミニウムパン上に炭素質残渣が観察されなかったことから、PHA の熱分解物は 100 % 気化して重量減少に至っていることを示している。

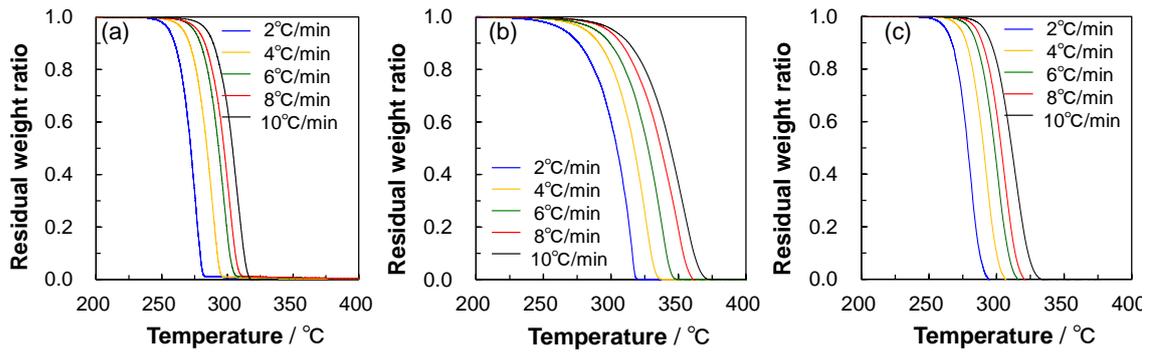


Fig. 4-1. Differential TG curves of (a) P(3HB), (b) P(4HB) and (c) P(3HB-co-16 mol%-4HB) degradation at multiple heating rates ($\phi = 2, 4, 6, 8, 10$ °C /min) in a constant N₂ flow (50 mL/min).

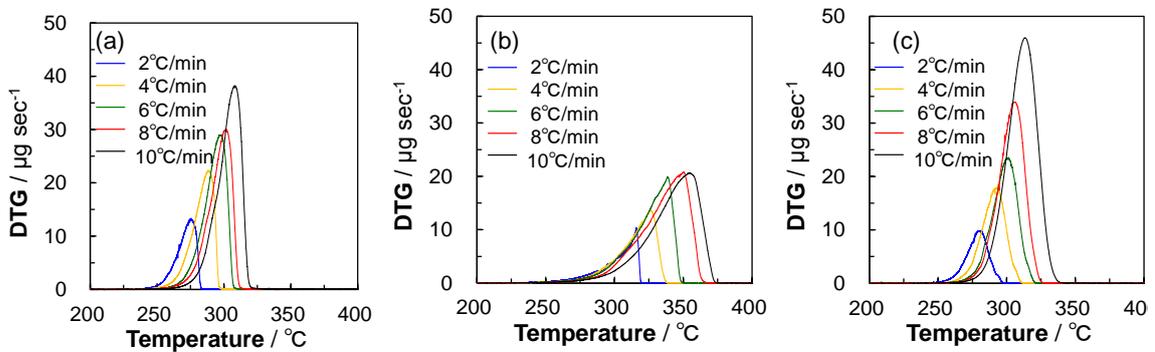


Fig. 4-2. Differential DTG curves of (a) P(3HB), (b) P(4HB) and (c) P(3HB-co-16 mol%-4HB) degradation at multiple heating rates ($\phi = 2, 4, 6, 8, 10$ °C /min) in a constant N₂ flow (50 mL/min).

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の見かけの活性化エネルギー E_a を残存重量に対してプロットした値を Fig. 4-3 に示す。それぞれの見かけの活性化エネルギー E_a は Ozawa's method[20] から計算され、 125.7 ± 2.2 kJ/mol (P(3HB)), 121.5 ± 4.4 kJ/mol (P(4HB)), 127.0 ± 5.0 kJ/mol (P(3HB-co-16 mol%-4HB)) であった。残存金属による PHA の熱分解への影響に関する論文がいくつか報告されており、残存金属があると見かけの活性化エネルギー E_a は低下する[7,21]。しかしながら、本研究で計算された見かけの活性化エネルギー E_a は A, Hidayah らや K. J. Kim らによって報告されている値と近い値となったことから、残存する金属による熱分解への影響はほとんどないと考えられる。また、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の見かけの活性化エネルギー E_a は P(3HB)や P(4HB)の結果と同様に、残存重量によらずほぼ一定であった。つまり、重量減少が一つの主要な

反応で進行していることを示唆している。しかしながら、反応が進行するにつれて若干、見かけの活性化エネルギー E_a の減少が見られた。これは、熱分解の進行に従って、反応が活性化していることを示唆している。

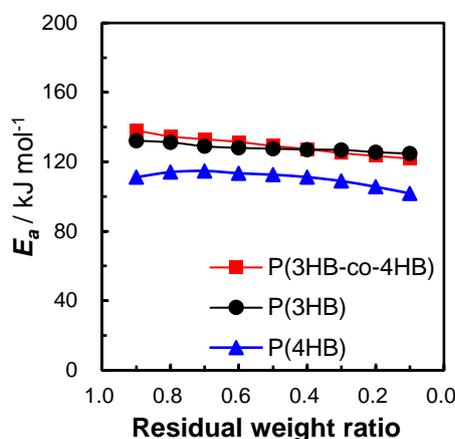


Fig. 4-3. Apparent activation energies, E_a (kJ/mol) of P(3HB), P(4HB) and P(3HB-co-16 mol%-4HB) at various residual weight fractions.

4.2.2. P(3HB-co-16 mol%-4HB)の等温熱分解とその熱分解生成物

電気炉内での等温熱分解はP(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解物を同定するために行った。種々の温度で 30 分間等温熱分解した後の詳細を Table 4-1 に示す。P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解は 30 分間の等温熱分解で 90~100%進行し、熱分解生成物のほとんどを回収することができた。また、等温熱分解時間 30 分において、反応温度を高くするほど熱分解が促進されて残渣が少なくなり、熱分解物回収率も 98%とほとんど 100%近い収率を示した。つまり、P(3HB-co-16 mol%-4HB)は熱分解によるケミカルリサイクルが可能であることを示唆している。汎用性プラスチックのポリエチレン (PE) のうち低密度ポリエチレン (LDPE) は 280 °C 以上の高温にさらされると、表面酸化により分解が促進され、熱分解の途中で有毒なアルデヒドと有機酸が煙として発生してしまう[22]。一方で、高密度ポリエチレン (HDPE) は 400 °C を超える温度で解重合することが報告されているが少量の低分子量生成物しか得られない。ガス化や低分子化合物が得られない代わりに、固体ワックスの混合物が回収される[23]。ポリプロピレン (PP) はケミカルリサイクル中に切断と再結合を繰り返すた

め非常に困難であり、500~900 °C の熱分解で得られる生成物は HDPE と同様の固形ワックスと炭化水素混合物が得られる。さらに、ポリ塩化ビニル (PVC) は約 360 °C で熱分解を開始する。主な副生成物としてベンゼンや塩酸、タールが得られるが、塩酸の発生が機器の腐食につながり、大きな問題である[24]。熱分解によるこれら汎用性プラスチックのケミカルリサイクルに比べ、熱分解による PHA のケミカルリサイクルは収率高く、上記のような問題がないため適していると考えられる。

Table 4-1. After isothermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) for 30 min.

Temperature / °C	Degradation / %	Yield / wt%	Loss / wt%	Residue / wt%
310-320	89.4±3.1	86.3±5.9	3.1±4.3	10.6±3.1
330-340	92.6±3.3	90.2±3.6	2.4±2.3	7.4±3.3
350-360	98.9±0.8	98.0±1.5	0.9±1.1	1.1±0.8

回収した熱分解物をガスクロマトグラフィー (GC/MS) で分析した結果を Fig. 4-4 に示す。すべての GC/MS クロマトグラムにおいて、ピーク A (6~8 分), ピーク B (15~17 分), ピーク C (21~22 分) の 3 つのピークが観察された。ピーク A (6~8 分) は EI-MS スペクトルにおいて、 $m/z = 68$ と 86 から、クロトン酸モノマーと γ -ブチロラクトンモノマーと帰属された。ピーク B (15~17 分), ピーク C (21~22 分) は EI-MS スペクトルにおいて $m/z = 69, 86, 103, 154, 171$ であることから、2~3 量体のオリゴマーに帰属される。これらの結果は、P(3HB-co-16 mol%-4HB) の熱分解中は一貫して、同じ化合物つまりクロトン酸モノマーと γ -ブチロラクトンモノマー、2~3 量体のオリゴマーが生成されていることを示唆している。A. Hidayah ら[1]や Y. Aoyagi ら[3]が報告しているように、P(3HB) の熱分解においては、クロトン酸モノマーと 2~3 量体のオリゴマーが生成される。一方で、K. J. Kim ら[15]が報告しているように、P(4HB) の熱分解においては、分解温度に依存するが、 γ -ブチロラクトンモノマーが主要な生成物である。P(3HB-co-16 mol%-4HB) の熱分解により得られるモノマーは、クロトン酸と γ -ブチロラクトンであるため、P(3HB) の熱分解機構と P(4HB) の熱分解機構が同時もしくは段階的に進行していることが示唆された。しかしながら、Fig. 4-1 で示したように、P(3HB-co-16 mol%-4HB)

の熱分解は 1 段階で進行しているため、3HB ユニットの熱分解機構と 4HB ユニットの熱分解機構が同時に進行している可能性が高いと考えられる。

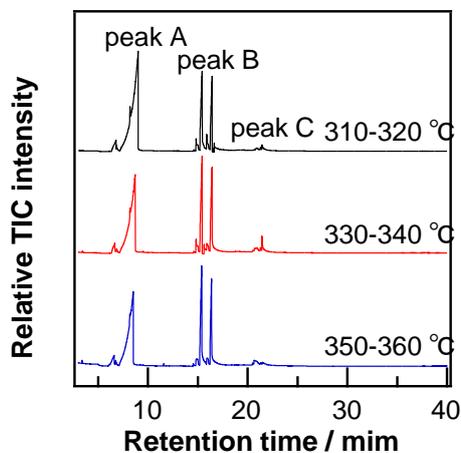


Fig. 4-4. TIC of Py-GC-MS of the pyrolyzates obtained from isothermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) *in vacuo* at various temperatures.

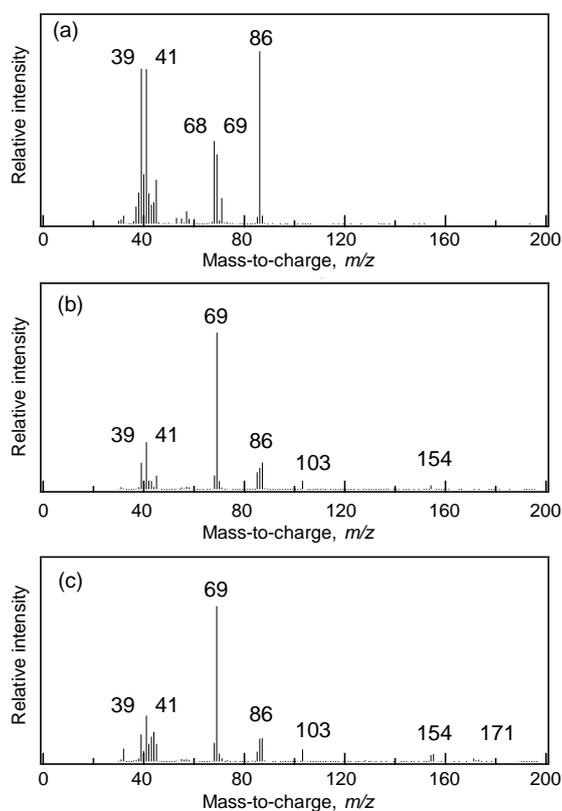


Fig. 4-5. Mass spectra of P(3HB-co-16 mol%-4HB) copolymer pyrolyzates at 310-320 °C. Mass spectrum of (a) peak A, (b) peak B and (c) peak C in Fig.4-4.

4.3.3. 熱分解生成物の同定

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の等温熱分解により得られた熱分解生成物および熱分解残渣の、より詳細な化学構造解析を行った。分解回収物はクロトン酸由来と考えられる針状結晶と γ -ブチロラクトンとオリゴマーの混合物由来と考えられる薄黄色の油状液体が観察された。この分解回収物を $^1\text{H-NMR}$ (Fig.4-6)と $^{13}\text{C-NMR}$ (Fig. 4-7), $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ (Fig. 4-8), $^1\text{H-}^{13}\text{C HSQC}$ (Fig. 4-9), $^1\text{H-}^{13}\text{C HMBC}$ (Fig. 4-10) で解析した。P(3HB)の分解生成物はすでに Hidayah ら[7]や Kopinke ら[25]によって帰属されているが、本研究では、 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ (Fig. 4-8), $^1\text{H-}^{13}\text{C HSQC}$ (Fig. 4-9), $^1\text{H-}^{13}\text{C HMBC}$ (Fig. 4-10) を用いることで再帰属した。得られた $^1\text{H-NMR}$ の積分値を計算することにより、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解生成物を同定した (Table 4-2)。P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解生成物は大きく分けてモノマーとオリゴマーの二種類であった。

P(3HB)の熱分解生成物と同様に、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の主な熱分解生成物は、3HB ユニットの由来するモノマーの *trans*-クロトン酸 (*trans*-CA) であることが確認された。他に得られたモノマーは *trans*-CA の光学異性体である *cis*-クロトン酸 (*cis*-CA) と 4HB ユニットの由来するモノマーの γ -ブチロラクトンが確認された。ここで、4HB のモノマーである 4-ヒドロキシブタン酸が観察されなかったのは、4-ヒドロキシブタン酸から安定で容易に開環しない五員環の γ -ブチロラクトンへと閉環したためであると考えられる。しかしながら、4HB ユニットの由来し、末端二重結合を有するブテン酸 (BA) に由来するピークはほとんど観察されなかった。これらのことから、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解生成物のモノマーは3HB ユニット由来のクロトン酸 (*trans*-, *cis*-) と 4HB ユニット由来の γ -ブチロラクトンの二種類である。クロトン酸は化粧品や工業用途ですでに使用されており、利用展開がすでに可能である。さらには、クロトン酸はエステル誘導体化後に重合することにより、有機ガラスで知られているPMMAより優れた熱物性を有する新規ポリマーを作製できることが報告されており[10]、より広範囲の利用展開が見込まれる。 γ -ブチロラクトンについても、すでに有機溶媒や試薬として幅広く利用されているため、ケミカルリサイクルが実現可能である。

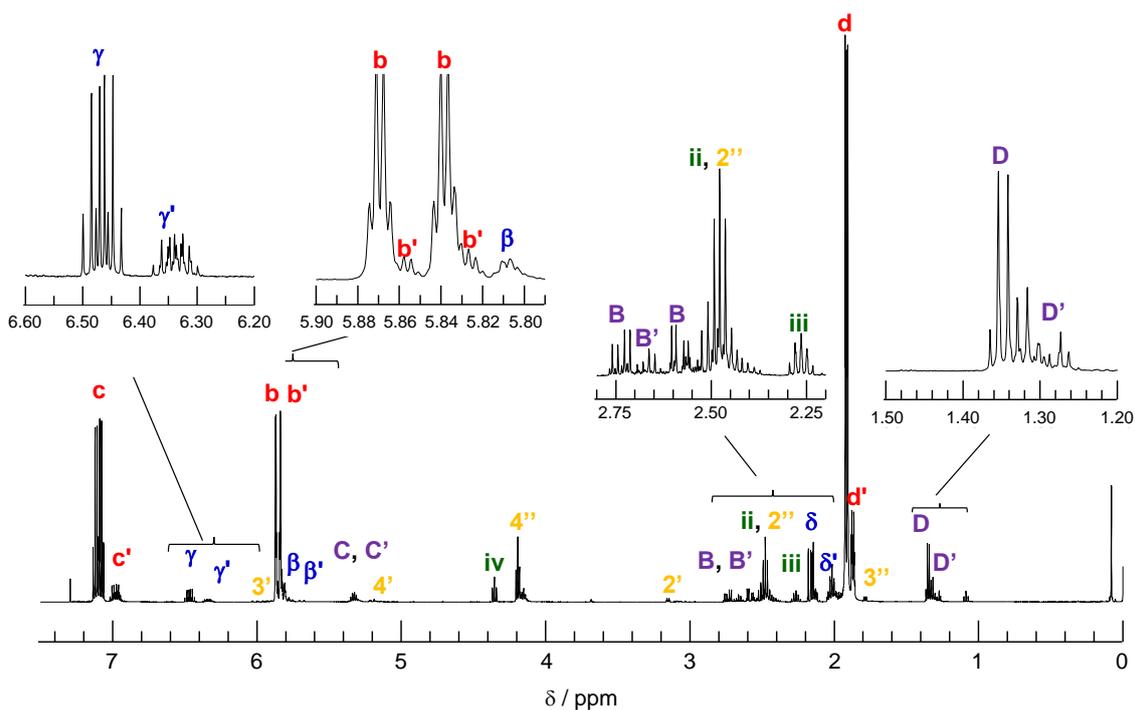


Fig. 4-6. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) spectrum of pyrolyzates obtained from isothermal degradation of P(3HB-*co*-16 mol%-4HB) *in vacuo* at 310-320 °C.

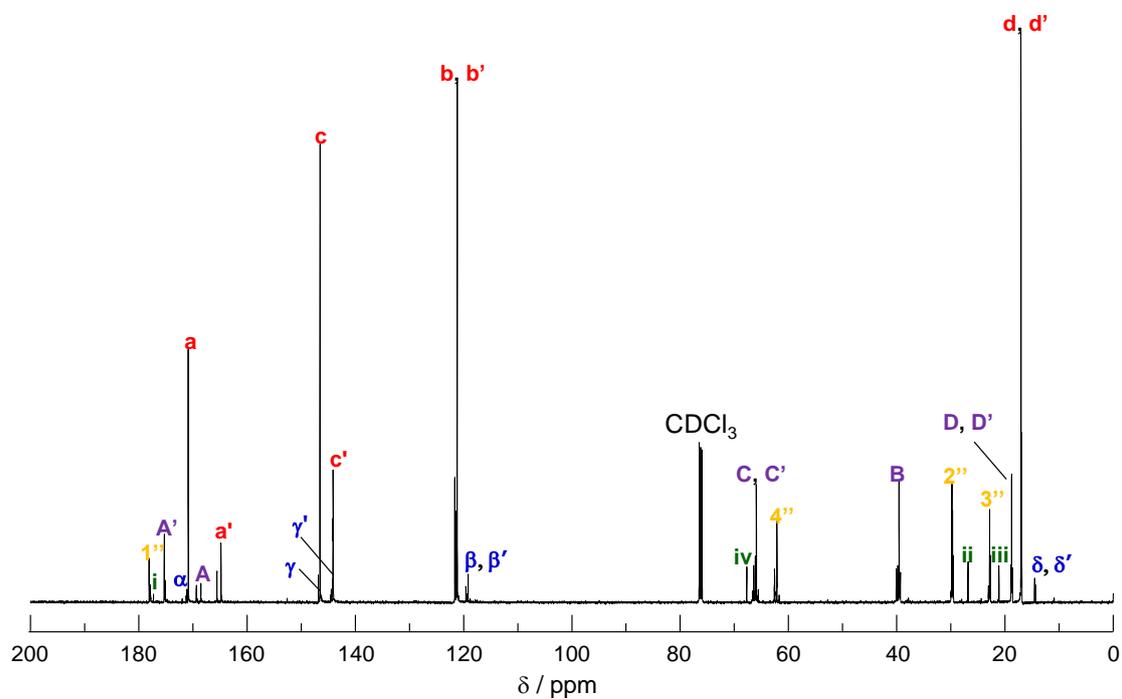


Fig. 4-7. $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz) spectrum of P(3HB-*co*-16 mol%-4HB) pyrolyzates obtained from isothermal degradation *in vacuo* at 310-320 °C.

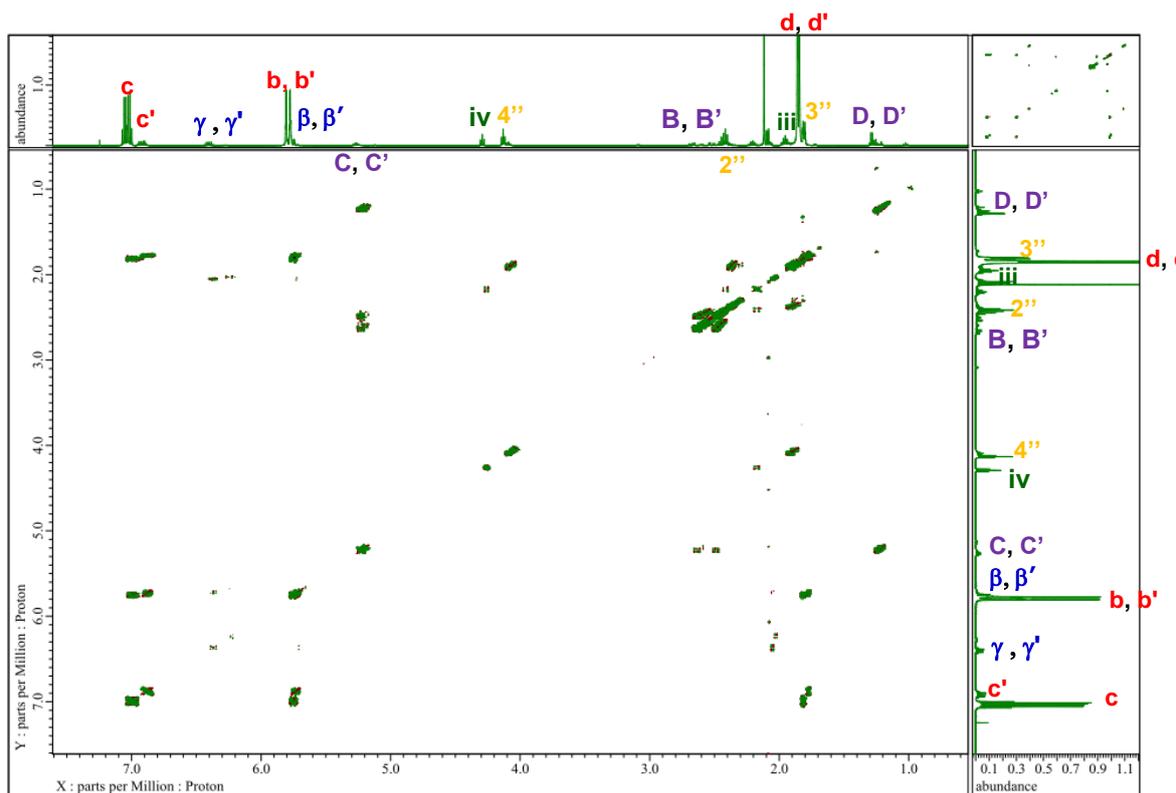


Fig. 4-8. 500 MHz ^1H - ^1H COSY spectrum of P(3HB-co-16 mol%-4HB) pyrolyzates obtained by thermal degradation *in vacuo* at 310-320 °C.

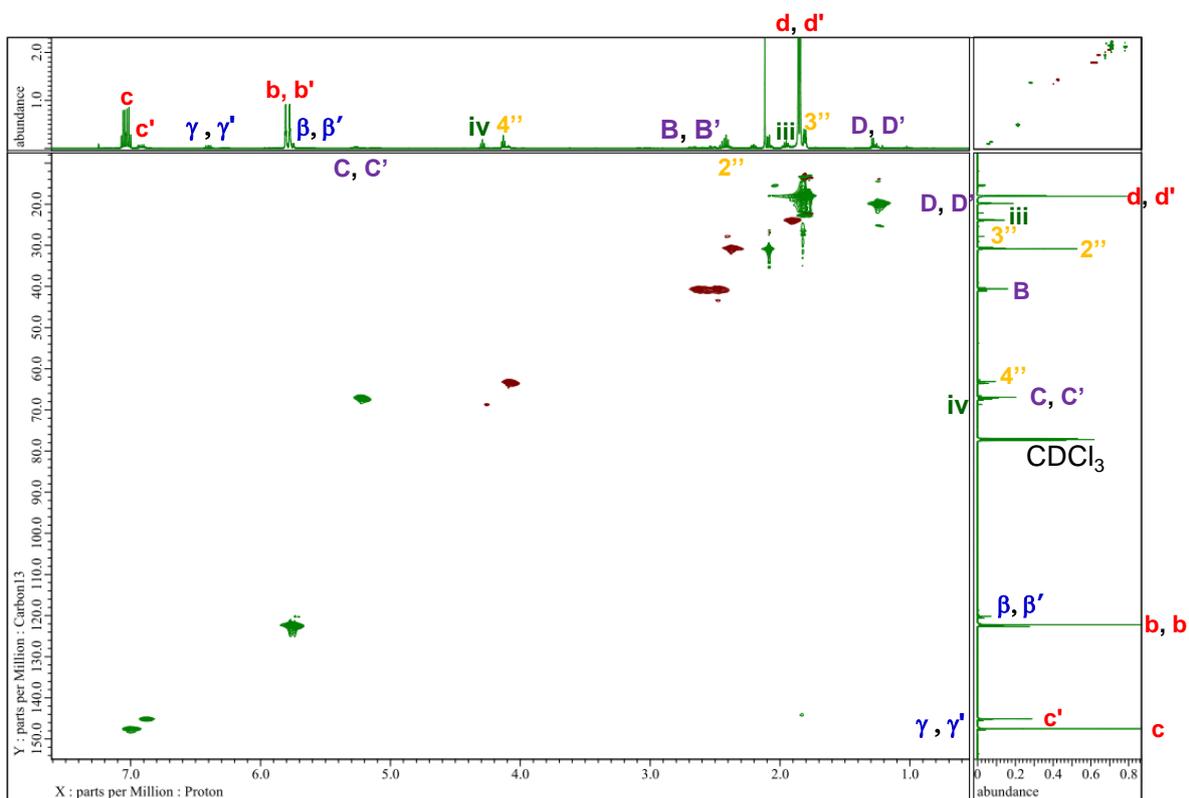


Fig. 4-9. 500 MHz ^1H - ^{13}C -HSQC spectrum of P(3HB-co-16 mol%-4HB) pyrolyzates obtained by thermal degradation *in vacuo* at 310-320 °C.

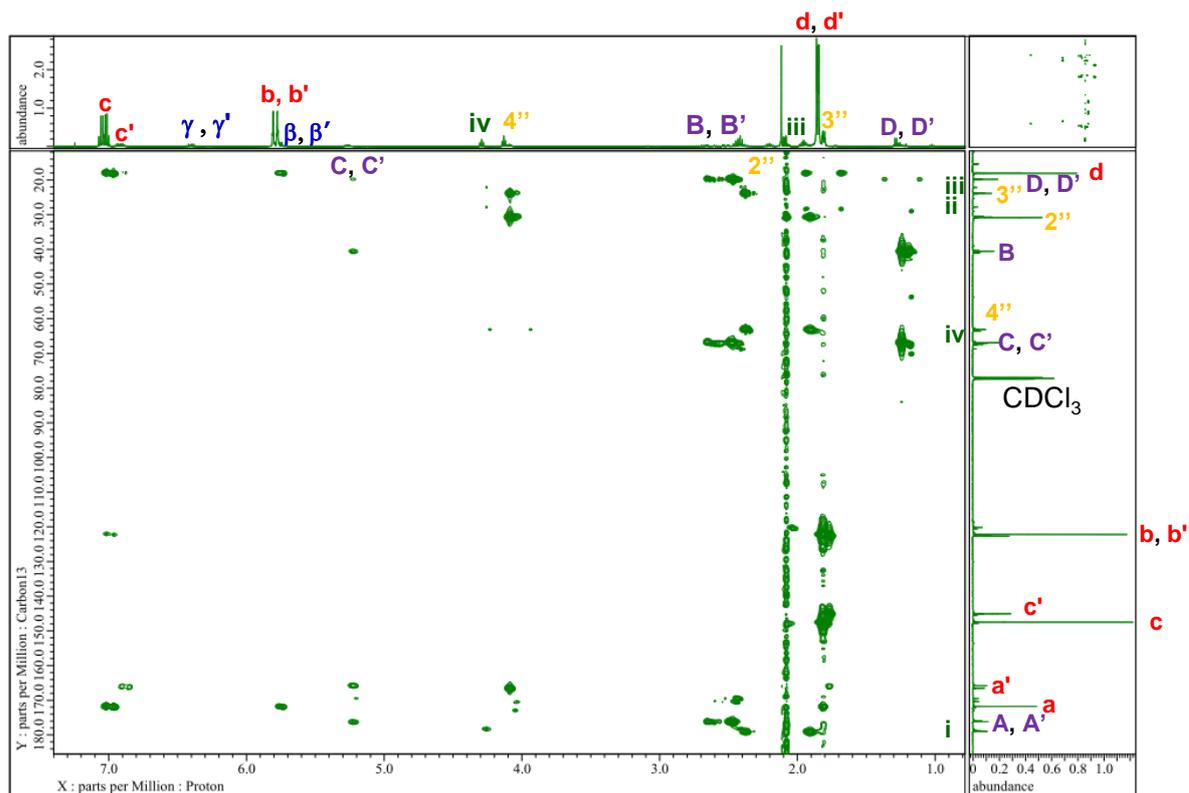


Fig. 4-10. 500 MHz ^1H -, ^{13}C -HMBC spectrum of P(3HB-co-16 mol%-4HB) pyrolyzates obtained by thermal degradation *in vacuo* at 310-320 °C.

Table 4-2. Assigned chemical structure of pyrolyzates obtained from isothermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) *in vacuo* at 310-320 °C.

	3HB derivation		4HB derivation	
	<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	-	
monomer				
oligomer (-OH terminal)				
oligomer (bulk)				
oligomer (-COOH terminal)				

^{13}C -NMR において、カルボニル炭素に由来する 170 ppm 付近のピークは 4 つ観察された。 ^1H - ^1H COSY (Fig. 4-8), ^1H - ^{13}C HSQC (Fig. 4-9), ^1H - ^{13}C HMBC (Fig. 4-10) の結

果から、この4つのカルボニル炭素に由来するピークは-OH末端と-COOH末端を有するオリゴマーであることが明らかとなった (Fig. 4-11)。-OH末端は主に3HBユニットに由来する *trans*-CA であることが確認され、*trans*-CA に結合する3HBもしくは4HBによってカルボニル炭素のピークが帰属できた。その他の-OH末端は3HBユニットに由来する *cis*-CA と4HBユニットに由来するブテン酸 (BA) が少量確認できたがほとんど観察されなかった。また、-COOH末端を有するオリゴマーの場合も同様に、bulkの3HBの隣に結合する3HBもしくは4HBによってピーク位置を帰属した。ここで興味深いことに、本研究で用いた P(3HB-co-16 mol%-4HB) は3HBリッチであるにもかかわらず、-OH末端のCAに結合している4HBユニットは3HBユニットとほぼ同量であることがわかった。つまり、2~3量体オリゴマーの *trans*-CA に結合しているユニットは4HBの確率の方が高い。これは、熱分解により進行している3HB連鎖の解重合が、コポリマー中にランダムに存在する4HBユニットに到達すると、3HBの解重合が停止し、その後ランダム分解によりCA-4HBがそのままガス化したことを示唆している。

(i) CA-3HB : Hidayah らが報告しているように、高分子末端から進行する解重合反応は、多数のクロトン酸を生成する反応を繰り返す。このメカニズムは、-OH末端CAのカルボキシ基が β 水素脱離を繰り返すことによる、カルボキシ基の自己加速したランダム分解 (auto-accelerated random degradation) である[7]。このとき、bulkの3HBにおけるカルボキシ基が β 水素に近く、正に帯電させるためこの反応を誘発している。

(ii) CA-4HB : 上記のCA-3HBとは異なり、bulkの4HBにおけるカルボキシ基は β 水素から遠く、影響が小さいと考えられる。つまり、bulkが3HBの時に比べ-OH末端CAのカルボキシ基による解重合の反応性が低下していることが示唆される。

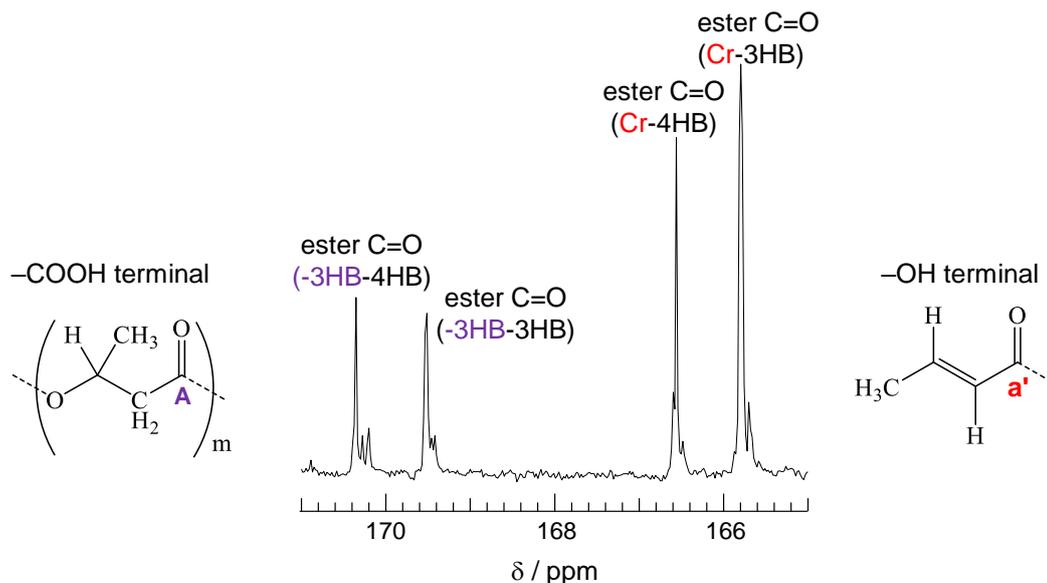


Fig. 4-11. ^{13}C -NMR (500 MHz) spectrum of pyrolyzates obtained from isothermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) *in vacuo* at 310-320 °C.

4.3.4. 熱分解回収物と熱分解残渣の比較

P(3HB-co-16 mol%-4HB)の等温熱分解において、モノマーもしくは 2~3 量体のオリゴマーがガス化して回収されていることを確認するために、残渣との比較を行った。 ^1H -NMR スペクトル (Fig. 4-12) において、分解回収物 (黒線) と残渣 (赤線) を比較した。得られた ^1H -NMR において、12 ppm 付近のカルボン酸のプロトンに由来するピークは分解回収物には観察され、残渣には観察されなかった。これは、分解回収物にはクロトン酸由来のカルボン酸が存在しており、残渣にはカルボン酸を有する分子つまり、クロトン酸が存在していないためである。また、7.1, 6.5, 5.8, 1.9 ppm 付近の ^1H -NMR スペクトルにおいても、分解回収物に観察されていたクロトン酸由来のピークが残渣には観察されなかった。しかしながら、7.0, 6.3, 5.8, 1.9 ppm 付近の ^1H -NMR スペクトルにおいては、分解回収物でも観察されていたオリゴマーに由来するピークが残渣にも観察された。さらに、もう一つのモノマーである γ -ブチロラク톤のピークも、残渣には観察されなかった。ここで、特筆すべき点は、4.2 ppm 付近の bulk の 4HB に由来するピークが残渣に多く存在していることである。これは、上述したように 3HB 連鎖の解重合がコポリマー中にランダムに存在する 4HB ユニットに到達すると、3HB

の解重合が停止していることを示唆している。

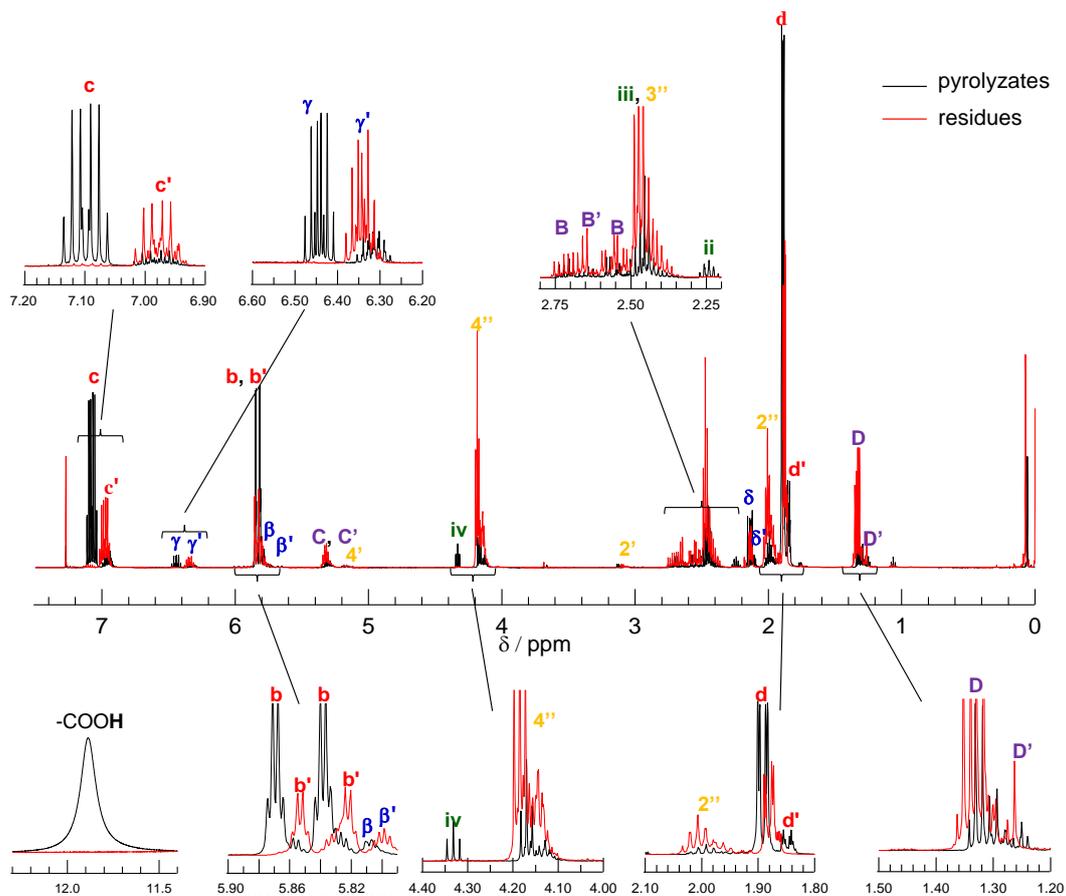


Fig. 4-12. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) spectrum of pyrolyzates (black line) and residues (red line) obtained from thermal degradation of P(3HB-co-16 mol%-4HB) *in vacuo* at 310-320 °C.

分解回収物と残渣の内訳を Fig. 4-13, Table 4-13 に示す。これまでの結果から、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解によって得られる化合物は 3HB 由来の *trans*, *cis*-CA と 4HB 由来の γ -ブチロラクトンとオリゴマーである。P(3HB-co-16 mol%-4HB)を等温熱分解した結果、分解回収物は主に、*trans*-CA が 50~60%回収される。反応温度を上げることで *trans*-CA の回収率が低下し、オリゴマーの回収率が増加する傾向となった。これは、反応温度を上げることで解重合ではなく、オリゴマー化するランダム分解が促進されたからであると考えられる。一方で、残渣にはモノマーは存在せず、オリゴマーのみが存在していた。また、そのオリゴマー量は反応温度を上げることで減少していく傾向となった。よって、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の等温熱分解においては、モノマーもしくは 2~3 量体のオリゴマーがガス化して重量

減少に至っていることが示唆された。

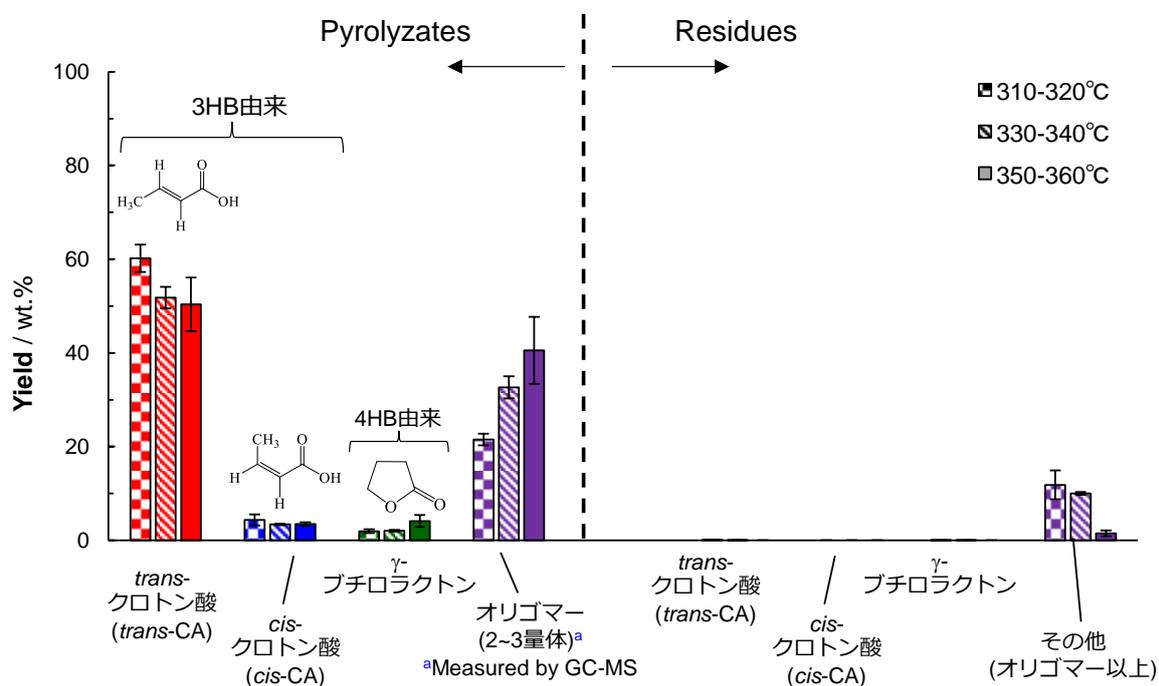


Fig. 4-13. ¹H-NMR analysis of obtained pyrolyzates and residues of P(3HB-co-16 mol%-4HB).

Table 4-3. ¹H-NMR analysis of obtained pyrolyzates and residues of P(3HB-co-16 mol%-4HB).

Temperature / °C	Pyrolyzates / wt%				Residues / wt%			
	trans-CA	cis-CA	γ-butyrolactone	oligomer	trans-CA	cis-CA	γ-butyrolactone	oligomer
310-320	60.2±2.9	4.4±1.2	2.0±0.4	21.5±1.2	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	11.8±3.1
330-340	51.8±2.3	3.4±0.2	2.1±0.2	32.6±2.4	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	10.0±0.3
350-360	50.4±5.7	3.5±0.4	4.1±1.3	40.5±7.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.5±0.6

4.3.5. 動力学的解析に基づいた種々の PHA における熱分解挙動

4.3.5.1. ランダム分解解析法

P(3HB-co-16 mol%-4HB)を含む PHA の熱分解重量減少に対する自己加速反応の影響を明らかにするために、Nishida らによって改良されたランダム分解解析法[17]と積分分解解析法[20,26]を使用して動力学的解析を行った。ランダム分解解析法の結果を Fig. 4-14 に示す (P(3HB) : Fig. 4-14 (a), P(4HB) : Fig. 4-14 (b), P(3HB-co-16 mol%-4HB) : Fig. 4-14

(c)。それぞれの動的パラメータ: $E_a = 125.7 \text{ kJ/mol}$, $A = 1.1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ (P(3HB)), $E_a = 121.5 \text{ kJ/mol}$, $A = 2.3 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ (P(4HB)), $E_a = 127.0 \text{ kJ/mol}$, $A = 3.3 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ (P(3HB-co-16 mol%-4HB)) を、モデル反応 : 0 次反応とランダム分解 (ランダム $L = 2\sim 4$, L は揮発しない最低の繰り返しユニット数[27]) に使用した。P(3HB) (10 °C /min) の熱分解は、初期段階ではシミュレーションプロットのランダム分解 ($L = 4$) に一致している。つまり、 L 値は揮発しない最低の繰り返しユニット数であるため、3 量体までが揮発していることとなる。Aoyagi らによると、Py-GC/MS の結果から P(3HB)の熱分解物はクロトン酸 (モノマー) と 2 量体、3 量体であると報告しており[3]、本シミュレーション結果と一致する結果となった。したがって既存の報告からも、P(3HB)の熱分解初期のランダム分解 ($L = 4$) は好ましい。P(4HB) (10 °C /min) の熱分解は初期段階からシミュレーションプロットの $n = 0$ に一致している。0 次重量減少は分子鎖の末端から分解する解重合によるものであると考えられている。つまり、P(4HB)は熱分解初期から 0 次重量減少、いわゆる解重合が進行していることになる。Kim らによると、Py-GC/MS の結果から P(4HB)の熱分解物は、主に γ -ブチロラクトンのみであると報告しており [15]、本シミュレーション結果と一致する結果となった。したがって既存の報告からも、P(4HB)の熱分解初期の 0 次重量減少による解重合は好ましい。P(3HB-co-16 mol%-4HB) (10 °C /min) の熱分解は初期段階ではシミュレーションプロットのランダム分解 ($L = 4$) に一致している。つまり、 L 値は揮発しない最低の繰り返しユニット数であるため、3 量体までが揮発していることとなる。Fig. 4-4 の GC/MS の結果からも、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解初期のランダム分解 ($L = 4$) は好ましい。

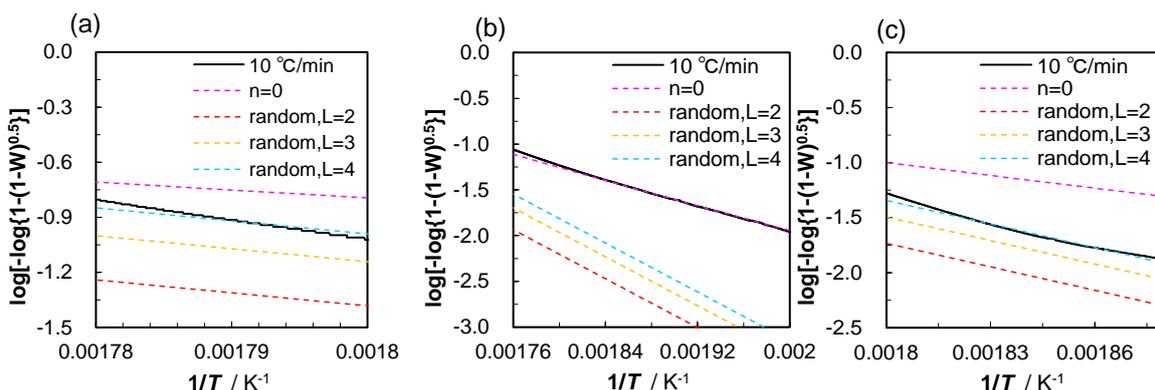


Fig. 4-14. Plots of $\log[-\log\{1-(1-w)^{0.5}\}]$ vs. $1/T$ for thermogravimetric data of (a) P(3HB) ($E_a=125.7$ kJ/mol, $A=1.1\times 10^9$ s $^{-1}$), (b) P(4HB) ($E_a=121.5$ kJ/mol, $A=2.3\times 10^7$ s $^{-1}$) and (c) P(3HB-co-16 mol%-4HB) ($E_a=127.0$ kJ/mol, $A=3.3\times 10^8$ s $^{-1}$) at heating rate of 10 °C /min and for model reactions. Model reactions : 0th-order ($n=0$) and random degradations (random $L=2\sim 4$).

4.3.5.2. 積分解析法

積分解析法の結果を Fig. 4-15 に示す (P(3HB) : Fig. 4-15 (a), P(4HB) : Fig. 4-15 (b), P(3HB-co-16 mol%-4HB) : Fig. 4-15 (c))。それぞれの動的パラメータ: $E_a = 125.7$ kJ/mol, $A = 1.8\times 10^9$ s $^{-1}$ (P(3HB)), $E_a = 121.5$ kJ/mol, $A = 6.5\times 10^7$ s $^{-1}$ (P(4HB)), $E_a = 127.0$ kJ/mol, $A = 1.5\times 10^8$ s $^{-1}$ (P(3HB-co-16 mol%-4HB)) を、モデル反応 : 0 次反応とランダム分解 (ランダム

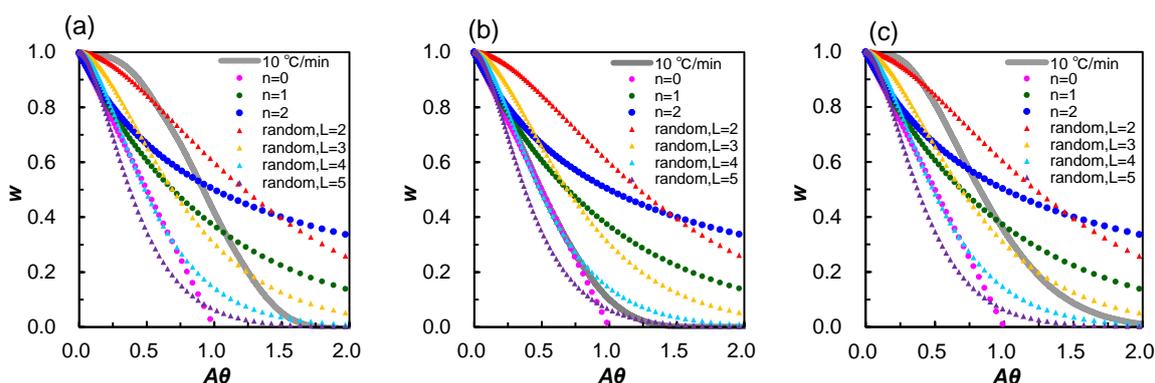


Fig. 4-15. Plots of w vs. $A\theta$ for thermogravimetric data of P(3HB) ($E_a=125.7$ kJ/mol, $A=1.8\times 10^9$ s $^{-1}$), (b) P(4HB) ($E_a=121.5$ kJ/mol, $A=6.5\times 10^7$ s $^{-1}$) and (c) P(3HB-co-16 mol%-4HB) ($E_a=127.0$ kJ/mol, $A=1.5\times 10^8$ s $^{-1}$) at heating rate of 10 °C /min and for model reactions. Model reactions : zero ($n=0$), 1st- ($n=1$) and 2nd-order ($n=2$), and random degradations (random $L=2\sim 5$).

$L=2\sim 4$, L は揮発しない最低の繰り返しユニット数[27]) に使用した。 $\theta = (E_d / \phi R)p(x)$ は「還元時間」と定義した[20]。P(3HB) (10 °C /min) の熱分解は初期段階ではランダム分解を示し、その後、重量減少曲線は $w > 0.2$ の範囲において、0 次シミュレーションプロットと平行な直線関係を示した。このシミュレーション結果は、Nishida らが報告している P(3HB)熱分解シミュレーション結果と一致している。一方で、P(4HB) (10 °C /min) の熱分解は興味深いことに、初期段階から 0 次シミュレーションプロットと一致していた。これは、P(4HB)が初期段階から継続して 0 次重量減少つまり、解重合が進行していることを示唆している。P(4HB)が分子鎖末端から解重合により熱分解していくことは Kim らによって報告されていた[15]が、本研究で初めて P(4HB)の熱分解は解重合するということを、動力的解析により明らかにした。P(3HB-co-16 mol%-4HB) (10 °C /min) の熱分解は P(3HB)と同様に、初期段階ではランダム分解を示し、その後、 $w > 0.2$ の範囲において、重量減少曲線は 0 次シミュレーションプロットと平行な直線関係を示した。

Flynn と Wall によると[28]、材料が 2 つの分解経路で揮発する場合、それぞれの経路 1 と経路 2 におけるアレニウスパラメータは E_{a1} と A_1 , E_{a2} と A_2 となり、反応機構 $f(w) = w^n$ は式 (1)で表される[29]。(n は反応次数)

$$\begin{aligned} - \int \frac{1}{f(w)} dw &= \frac{A_1}{\phi} \int \exp\left(-\frac{E_{a1}}{RT}\right) dT + \frac{A_2}{\phi} \int \exp\left(-\frac{E_{a2}}{RT}\right) dT \\ &= \frac{A_1 E_{a1}}{\phi R} p(x_1) + \frac{A_2 E_{a2}}{\phi R} p(x_2) \\ &= A_1 \theta_1 + A_2 \theta_2 \quad (1) \end{aligned}$$

もし、2 つの分解経路が異なる温度範囲で発生する場合、2 つの経路が連続した反応として観察されることがある。Fig. 4-15 において、0 次のシミュレーションプロットに平行な関係になるということは、 w に対して $A \theta$ が直線関係になるということである。つまり式 (1) において 0 次反応 ($n = 0$) とみなすべきであることを示唆している。したがって、Fig. 4-15 (a)と(c)で観測されたプロットにおいて、0 次シミュレーションと直線関係になるまでは、初期のランダム分解から 0 次重量減少へシフトするためのタイムラグ $A_1 \theta_1$ とみなすことができる。

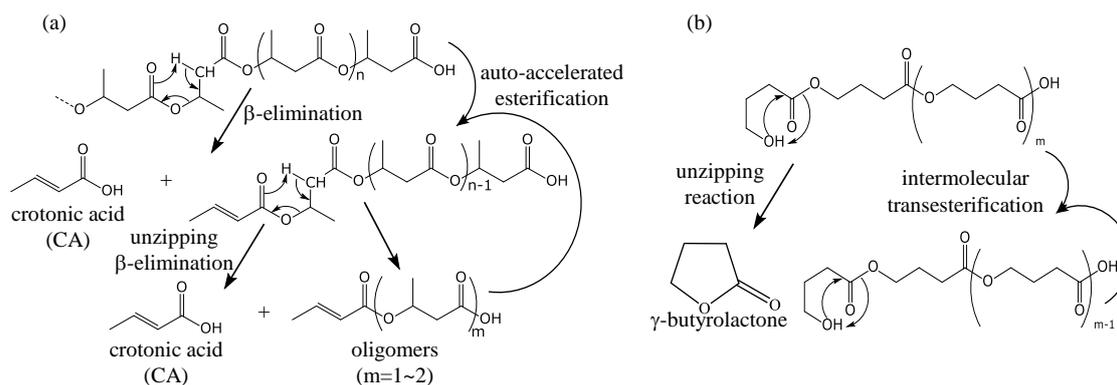
Hidayah らが提唱しているように、直線的な重量減少を示す 0 次重量減少は分子鎖末端

から分解が進行する解重合であることを意味する。つまり、本研究はこれまでランダム分解のみで熱分解が進行すると考えられてきた P(3HB-co-4HB)の熱分解が、(i) ランダム分解 (ii)解重合の 2 段階で進行していることを初めて明らかにした。

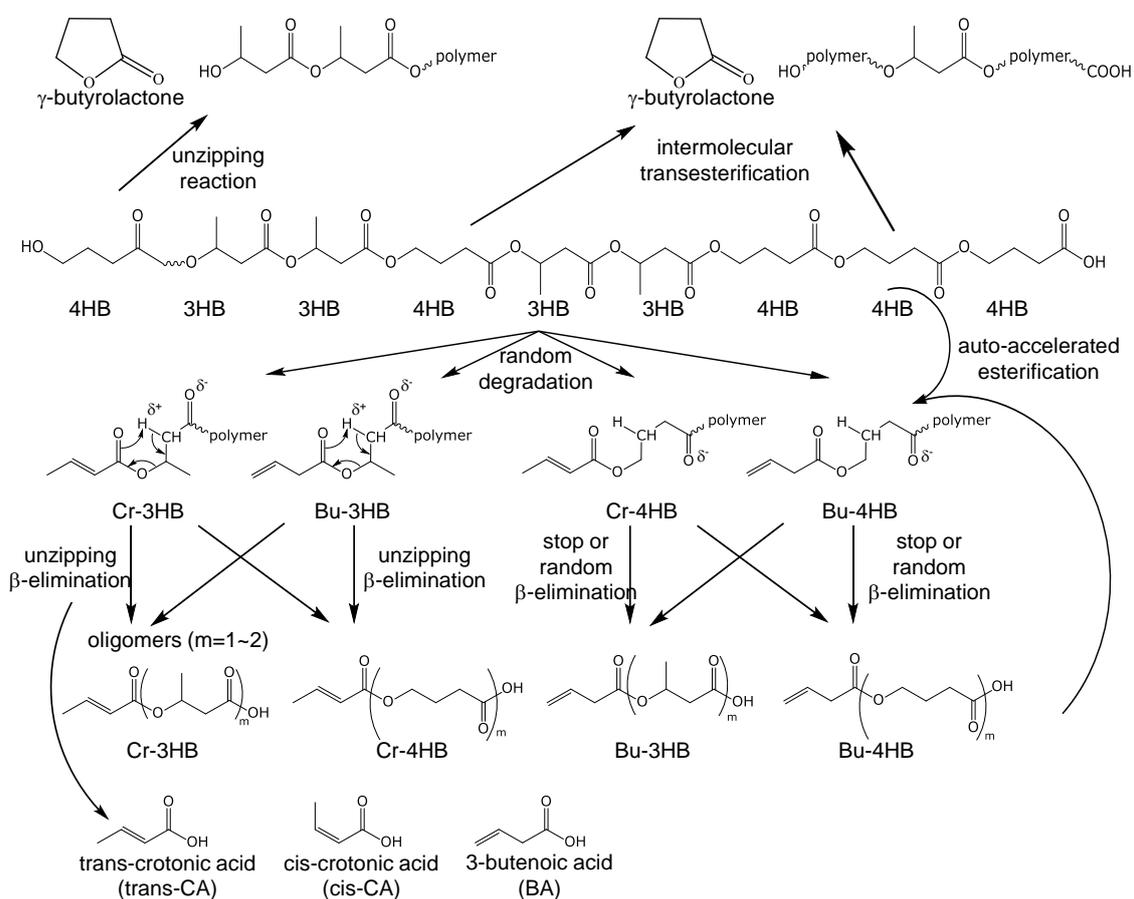
4.3.6. 予想される P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解機構

Hidayah[7]らや Nguyen[30]らも報告しているように、P(3HB-co-16 mol%-4HB)も P(3HB)と同様にまずはランダム分解が進行する。さらに同時に、4HB ユニットが環化反応もしくは分子内エステル交換反応により、 γ -ブチロラクトンが生成する。ランダム分解の結果、3HB または 4HB とクロトン酸ユニット (CA) または 3 ブテン酸 (BA) ユニットのそれぞれ末端に生成する。3HB および 4HB ユニットが末端の場合、遊離カルボン酸はプロトンを放出し、分解を加速する[31]。CA と BA が末端の場合には、bulk で 3HB ユニットと 4HB ユニットがそれぞれ結合する場合がある。CA に 3HB ユニットが結合した場合、P(3HB)ホモポリマーと同じ状況になる。つまり、bulk 3HB のメチレン基における β 位の C-H 結合は、隣接する γ 位のカルボニル基によって活性化される。結果として β 脱離による解重合が加速されて CA が連続的に発生する。一方で、CA に 4HB ユニットが結合した場合、bulk 4HB の β 位のメチレン基に隣接する γ 位はメチレン基である。つまり、bulk 4HB のメチレン基における β 位の C-H 結合は、隣接するメチレン基により、活性化されにくい。これは、反応の停止もしくは、より高温でのランダム分解を誘発する。その結果、CA-4HB や BA-4HB ユニットの 2~3 量体のオリゴマーが増加する。これは、BA が末端の場合でも同様であると考えられる。

以上の結果から、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の予想される熱分解機構は Scheme 4-2 (P(3HB) : Scheme 4-1 (a), P(4HB) : Scheme 4-1 (b))である。



Scheme 4-1. Reported thermal degradation pathways of (a) P(3HB)[7] and (b) P(4HB)[15].



Scheme 4-2. Expected thermal degradation mechanisms of P(3HB-co-16 mol%-4HB).

4.4. 結論

本章では、P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解機構を熱分解化合物の同定と動力学シミュレーションの観点から調べた。P(3HB-co-16 mol%-4HB)の熱分解初期はランダム分解が進行し、それに続いて、途中から自己加速的な分解が進行することが分かった。動力学的な解析から、熱分解による重量減少は分子鎖末端から分解が進行する0次重量減少、つまり、解重合が進行していることを提案した。さらに、3HB連鎖の解重合がコポリマー中にランダムに存在する4HBユニットに到達すると、3HBの解重合が停止していることが示唆された。これは、bulk 3HBのメチレン基における β 位のC-H結合は、隣接する γ 位のカルボニル基によって活性化されて、クロトン酸基の解重合を誘発するのに対して、bulk 4HBのメチレン基における β 位のC-H結合は、隣接するメチレン基により、活性化されにくいことに起因する。

4.5. 参考論文

- [1] H. Ariffin, H. Nishida, Y. Shirai, M.A. Hassan, Anhydride Production as an Additional Mechanism of Poly(3-hydroxybutyrate) Pyrolysis, *Journal of Applied Polymer Science*. **111** (2009) 323–328. <https://doi.org/10.1002/app>.
- [2] A. Gonzalez, L. Irusta, M.J. Fernández-Berridi, M. Iriarte, J.J. Iruin, Application of pyrolysis/gas chromatography/Fourier transform infrared spectroscopy and TGA techniques in the study of thermal degradation of poly (3-hydroxybutyrate), *Polymer Degradation and Stability*. **87** (2005) 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.09.005>.
- [3] Y. Aoyagi, K. Yamashita, Y. Doi, Thermal degradation of poly [(R)-3-hydroxybutyrate], poly [ϵ -caprolactone], and poly [(S)-lactide], *Polymer Degradation and Stability*. **76** (2002) 53–59.
- [4] R.S. Lehrle, R.J. Williams, Thermal Degradation of Bacterial Poly(hydroxybutyric acid): Mechanisms from the Dependence of Pyrolysis Yields on Sample Thickness, *Macromolecules*. **27** (1994) 3782–3789. <https://doi.org/10.1021/ma00092a017>.
- [5] B. Plage, H.R. Schulten, Thermal Degradation and Mass Spectrometric Fragmentation Processes of Polyesters Studied by Time-/Temperature-Resolved Pyrolysis-Field Ionization Mass Spectrometry, *Macromolecules*. **23** (1990) 2642–2648. <https://doi.org/10.1021/ma00212a008>.
- [6] H. Morikawa, R.H. Marchessault, Pyrolysis of bacterial polyalkanoates, *Canadian Journal of Chemistry*. **59** (1981) 2306–2313. <https://doi.org/10.1139/v81-334>.
- [7] H. Ariffin, H. Nishida, Y. Shirai, M.A. Hassan, Determination of multiple thermal degradation mechanisms of poly(3-hydroxybutyrate), *Polymer Degradation and Stability*. **93** (2008) 1433–1439.

<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.05.020>.

- [8] K. Ute, T. Tarao, T. Kitayama, Enhanced stereocontrol in disyndiotactic-specific group transfer polymerization of methyl crotonate - Stereochemical evidence of group transfer, *Polymer Journal*. **37** (2005) 578–583. <https://doi.org/10.1295/polymj.37.578>.
- [9] U. Koichi, T. Tarao, H. Koichi, Group Transfer Polymerization of Methyl Crotonate, *Polymer Journal*. **29** (1997) 957–958.
- [10] Y. Takenaka, H. Abe, Group-Transfer Polymerization of Various Crotonates Using Organic Acid Catalysts, *Macromolecules*. **52** (2019) 4052–4058. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b00272>.
- [11] M. Kunioka, Y. Doi, Thermal Degradation of Microbial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **23** (1990) 1933–1936. <https://doi.org/10.1021/ma00209a009>.
- [12] R. Abate, A. Ballistreri, G. Montaudo, M. Giuffrida, G. Impallomeni, Separation and Structural Characterization of Cyclic and Open Chain Oligomers Produced in the Partial Pyrolysis of Microbial Poly(hydroxybutyrates), *Macromolecules*. **28** (1995) 7911–7916. <https://doi.org/10.1021/ma00127a043>.
- [13] S. Nakamura, Y. Doi, M. Scandola, Microbial Synthesis and Characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **25** (1992) 4237–4241. <https://doi.org/10.1021/ma00043a001>.
- [14] R. Abate, A. Ballistreri, G. Montando, G. Impallomeni, Thermal Degradation of Microbial Poly(4-hydroxybutyrate), *Macromolecules*. **27** (1994) 332–336. <https://doi.org/10.1021/ma00080a004>.
- [15] K.J. Kim, Y. Doi, H. Abe, D.P. Martin, Thermal degradation behavior of poly(4-hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **91** (2006) 2333–2341. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2006.04.011>.
- [16] T. Mori, H. Nishida, Y. Shirai, T. Endo, Effects of chain end structures on pyrolysis of poly(*L*-lactic acid) containing tin atoms, *Polymer Degradation and Stability*. **84** (2004) 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2003.11.008>.
- [17] H. Nishida, M. Yamashita, T. Endo, Analysis of the initial process in pyrolysis of poly (*p*-dioxanone), *Polymer Degradation and Stability*. **78** (2002) 129–135.
- [18] C.D. Doyle, Kinetic Analysis of Thermogravimetric Data, *Journal of Applied Polymer Science*. **15** (1961) 285–292. <https://doi.org/10.1246/nikkashi.1989.1729>.
- [19] C.D. Doyle, Estimating isothermal life from thermogravimetric data, *Journal of Applied Polymer Science*. **6** (1962) 639–642. <https://doi.org/10.1002/app.1962.070062406>.
- [20] T. Ozawa, A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **38** (1965) 1881–1886.
- [21] K.J. Kim, Y. Doi, H. Abe, Effects of residual metal compounds and chain-end structure on thermal degradation of poly(3-hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **91** (2006) 769–777. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.06.004>.
- [22] T. Rn Andersson, B. Stålbom, B. Wesslén, Degradation of Polyethylene During Extrusion. II. Degradation of Low-Density Polyethylene, Linear Low-Density Polyethylene, and High-Density

Polyethylene in Film Extrusion, *Journal of Applied Polymer Science*. **91** (2004) 1525–1537.

- [23] A.R. Rahimi, J.M. García, Chemical recycling of waste plastics for new materials production, *Nature Reviews Chemistry*. **1** (2017) 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41570-017-0046>.
- [24] A. Lopez-Urionabarrenechea, I. de Marco, B.M. Caballero, M.F. Laresgoiti, A. Adrados, Catalytic stepwise pyrolysis of packaging plastic waste, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. **96** (2012) 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2012.03.004>.
- [25] F.D. Kopinke, M. Remmler, K. Mackenzie, Thermal decomposition of biodegradable polyesters - I: Poly(β -hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*. **52** (1996) 25–38. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(95\)00221-9](https://doi.org/10.1016/0141-3910(95)00221-9).
- [26] H. Nishida, M. Yamashita, N. Hattori, T. Endo, Y. Tokiwa, Thermal decomposition of poly(1,4-dioxan-2-one), *Polymer Degradation and Stability*. **70** (2000) 485–496.
- [27] R. Simha, L.A. Wall, Kinetics of chain depolymerization, *Journal of Physical Chemistry*. **56** (1952) 707–715. <https://doi.org/10.1021/j150498a012>.
- [28] J.H. Flynn, L.A. Wall, General Treatment of the Thermogravimetry of Polymers, *Journal of Research of the National Bureau of Standards - A. Physics and Chemistry*. **70** (1966) 487–523. <https://doi.org/10.6028/jres.070A.043>.
- [29] H. Nishida, H. Ariffin, Y. Shirai, M. Hass, Precise Depolymerization of Poly(3-hydroxybutyrate) by Pyrolysis, *Biopolymers*. (2010) 369–386.
- [30] S. Nguyen, G.E. Yu, R.H. Marchessault, Thermal degradation of poly(3-hydroxyalkanoates): Preparation of well-defined oligomers, *Biomacromolecules*. **3** (2002) 219–224. <https://doi.org/10.1021/bm0156274>.
- [31] H. Abe, Thermal degradation of environmentally degradable poly(hydroxyalkanoic acid)s, *Macromolecular Bioscience*. **6** (2006) 469–486. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600070>.

