

## 第 64 回高分子学会年次大会 に参加して

安居 潤 哉

Junya YASUI

物質化学専攻修士課程 2年

### 1. はじめに

今回、私は 2015 年 9 月 27 日から 29 日まで札幌市の札幌コンベンションセンターで開催された第 64 回高分子学会年次大会に参加し、ポスターでの研究発表を行った。発表題目は「*Ralstonia eutropha* を用いて生合成したブチレートおよびバリレートユニットをもつポリ(3-ヒドロキシアルカノエート)ブロック共重合体の物性評価」であった。

### 2. 研究内容

#### 2.1 背景

微生物の菌体内で蓄積される生分解性ポリエステルである poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) は結晶化度が高く、脆いという性質がある。これまで本研究室では微生物 *Ralstonia eutropha* (*R. eutropha*) によって、炭素源としてペンタン酸を用いた培養後に培地を入れ替え、グルコースによる培養を行うことで poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) と Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) の 2 つのユニットをもつ P(3HBV-*block*-3HB) 二元ブロック共重合体について報告したが、本報告ではペンタン酸、グルコースによる培養の後にもう一度ペンタン酸を用いた培養を行うことで三元ブロック共重合体を生合成し、その力学物性について組成と熱的性質との関係を考慮し検討を行った。

#### 2.2 実験

P(3HBV-*block*-3HB-*block*-3HBV) 三元ブロック共重合体の生合成は *R. eutropha* (NCIMB 11599) によって、第 1 段階の炭素源にペンタン酸、第 2 段階としてグルコース、第 3 段階にはもう一度ペンタン

酸を用いて窒素フリーの条件下で振とう培養することで行った。今回はペンタン酸で 72 時間、グルコースで 24 時間、さらに 2 回目のペンタン酸で x 時間培養を行うことで三元ブロック共重合体を生合成し、p72-g24-px と表記する。

### 2.3 結果と考察

生合成した PHA の 3HB および 3HBV の分率を求めるために、 $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルを測定した。Fig. 1 に、 $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルのカルボニル炭素のピークを示した。

ピークは 3 本に分裂しており、低磁場側から 3HV-3HV (VV), 3HB-3HV (BV) と 3HV-3HB (VB), そして 3HB-3HB (BB) の二連子に対応するカルボニル炭素のピークが観測されている。ピーク強度比から共重合体のランダム度を示す D 値を次式より求めた。

$$D = \frac{F_{BB} F_{VV}}{F_{BV} F_{VB}}$$

この式より求めた D 値を Fig. 1 に示した。D = 1 の場合はランダム共重合体、D が 1 より大きくなるほどよりブロック的な共重合体であるため、今回生合成した PHA は全てブロック共重合体である。しかし、2 回目のペンタン酸による培養の時間が長くなると、D 値は小さくなった。これは、ランダ

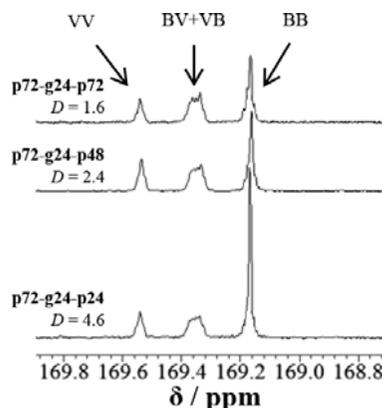


Fig. 1  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of PHA triblock copolymer biosynthesized by *R. eutropha*.

ム共重合体である 3HBV ユニットが 2 回目のペンタン酸による代謝で生合成され、増加しているからである。

p72-g24-p24 と p72-g24-p72 において GPC 測定を行い数平均分子量を求めると、2 回目のペンタン酸による培養時間が長くなるとともに大きくなった。本研究室では、ペンタン酸 72 h 培養の後に培地を入れ替え、グルコースによる培養を 24 h 行うことで生合成した p72-g24 二元ブロック共重合体について報告している。この p72-g24 における 3HBV および 3HB ユニットそれぞれの分子量をもとに、2 回目のペンタン酸による培養中に 1 回目のペンタン酸の代謝による 3HBV ユニットとグルコースの代謝による 3HB ユニットがエネルギー源として消費されないと仮定し、p72-g24-p24 と p72-g24-p72 における 2 回目のペンタン酸の代謝より得られた 3 HBV ユニットの分子量を求め、Fig. 2 に示した。

このとき、2 回目のペンタン酸による培養時間が長くなると 3HBV ユニットは増加することが確認できた。

次に三元ブロック共重合体の力学物性を測定した。

Fig. 3 は p72-g24, p72-g24-p24, p72-g24-p72 をキャストしたフィルムの応力-歪み曲線である。最大

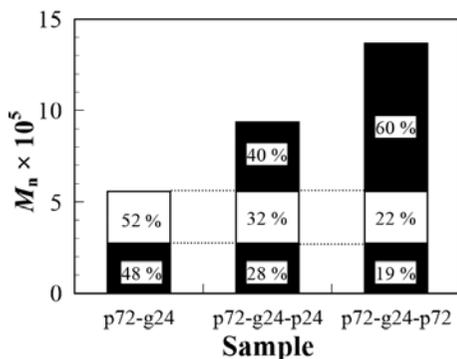


Fig. 2  $M_n$  of 3HB and 3HBV contents in PHA triblock copolymer biosynthesized by *R. eutropha*. □ : 3HBV unit, ■ : 3HB unit.

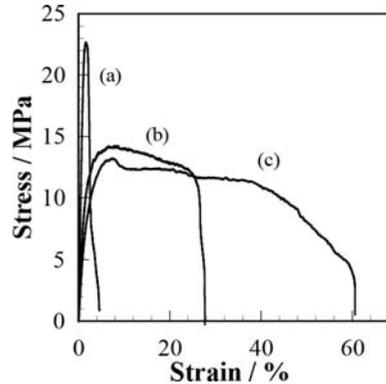


Fig. 3 Stress-strain curves of PHA triblock copolymer biosynthesized by *R. eutropha*. (a) : p72-g24, (b) : p72-g24-p24, and (c) : p72-g24-p72.

応力は三元ブロック共重合体の方が二元ブロック共重合体より小さくなった。また、ヤング率は最大応力と同様に二元共重合体よりも三元ブロック共重合体の方が小さくなった。これは、2 回目のペンタン酸による培養時間が長くなるにつれて 3HBV ユニットが増加し、結晶性の 3HB ユニットが減少することで最大応力とヤング率が減少したためだと考えられる。一方、破断点伸びは 2 回目のペンタン酸による培養時間が長くなるとともに増加し、いずれの三元ブロック共重合体も二元共重合体より破断点伸びが高いことが確認できた。これは、三元ブロック共重合体中のソフトセグメントである 3HBV ユニットが増加したため、フィルムに柔軟性が加わったことが考えられる。

## 2.4 総括

以上の結果より、三元ブロック共重合体の生合成は高収率で行うことができ、2 回目のペンタン酸を用いた培養の時間が長くなると、3HBV ユニットは増加した。また、破断点伸びが 2 回目のペンタン酸による培養の時間が長くなると増加したことから、三元ブロック共重合体が柔らかくなることを確認した。