

相分離法を用いたポリヒドロキシアルカノエート製
濾過膜の作製に関する研究

Study on Preparation of Polyhydroxyalkanoate Filtration
Membranes via Phase Separation Methods

田畑 一巖

Kazuyoshi TABATA

新潟大学大学院自然科学研究科博士後期課程

材料生産システム専攻

Doctoral Program in Advanced Materials Science and Technology

Graduate School of Science and Technology

Niigata University

目次

第1章 緒論	1
1.1 プラスチック廃棄物と海洋プラスチックの課題	1
1.2 バイオプラスチックおよび生分解性プラスチック	2
1.3 ポリヒドロキシアルカノエート	5
1.4 分離膜	9
1.4.1 分離膜の概要	9
1.4.2 有機系分離膜の製膜法	11
1.4.3 バイオプロセスにおける分離膜と課題	13
1.5 生分解性プラスチック製濾過膜	15
1.6 本研究の目的	17
引用文献	18
第2章 非溶媒誘起相分離法によるポリヒドロキシアルカノエート製 精密濾過膜の作製	23
2.1 緒言	23
2.2 材料と方法	25
2.2.1 使用試薬・材料	25
2.2.2 膜の作製	25
2.2.3 濾過実験	26
2.2.4 走査型電子顕微鏡観察	26
2.2.5 分解性試験	26
2.3 結果と考察	27
2.3.1 PHA 膜作製のための溶媒の選択	27
2.3.2 ポリマー濃度の影響	33
2.3.3 製膜温度の影響	35
2.3.4 PHA 膜の分解特性	39
2.4 結言	41

引用文献	42
第3章 結論	46
研究発表	49
謝辞	50

第1章 緒論

1.1 プラスチック廃棄物と海洋プラスチックの課題

近年、世界的な急速な人口増加、発展途上国の経済発展に伴い石油資源の消費や廃棄物の増加による環境汚染が問題となっている。廃棄物でもとりわけ石油由来の合成プラスチック廃棄物が課題となっている。世界のプラスチックの生産量は1964年～2014年の50年間で20倍以上に急増した。今後20年間でさらに倍増する予測がされている[1]。

さらに近年、プラスチック廃棄物の海洋への流出が大きな問題となっている。毎年少なくとも800万t分のプラスチックが海に流出していると見積もられており、重量ベースで海のプラスチックの量は、2050年までには魚の量を上回ると予測されている。また、海洋プラスチックの流出で発生するマイクロプラスチックは5mm以下の微細なプラスチックゴミであり、生態系へ影響を及ぼす可能性があり懸念されている[1-3]。マイクロプラスチックに含有する添加剤や海洋を浮遊する間に吸着するポリ塩化ビフェニル（PCB）などの化学物質が食物により生物体内に取り込まれ、生態系は大きな影響を及ぼすと懸念されている。

2015年に国連がミレニアム開発目標に続く2030年までの目標として採択した「持続可能な開発目標」（SDGs）の一つに海洋環境保全があり、2025年までにあらゆる種類の海洋汚染を防止し、大幅に削減することを掲げている[3]。

海洋プラスチックの課題解決に向けて、カナダ及び欧州諸国は海洋プラスチック憲章を承認した。我が国日本でも、国際的なプラスチック資源・廃棄物の課題に対応するために、プラスチック資源循環戦略を策定した[4]。

プラスチック資源循環戦略では、回避可能なプラスチックのF使用の合理化、使用後は、効果的・効率的なリサイクルシステムを通じて、持続可能な形で、循環利用を図ること、再生材・バイオプラスチックの利用促進が謳われている。

1.2 バイオプラスチックおよび生分解性プラスチック

石油由来の合成プラスチックの多くは自然環境中で分解されず、環境負荷や生態系へ影響を及ぼす要因となる。バイオプラスチックは石油由来の合成プラスチックの代替材料として注目されている。バイオプラスチックは環境調和型の環境にやさしいプラスチックであり、生分解性プラスチックとバイオマスプラスチックの総称である[5-7]。

生分解性プラスチックは通常の使用条件では一般的なプラスチックと同様に使用でき、使用後に環境中の微生物によって二酸化炭素と水まで完全に分解される。

バイオマスプラスチックは再生可能資源であるバイオマスを原料として製造されるプラスチックのことである。大気中の二酸化炭素を光合成により固定化した植物または木質バイオマスを出発原料としていることから、廃棄後に焼却されたとしても、発生した二酸化炭素は再度固定化されるというカーボンニュートラルなプラスチックである (Fig. 1-1)。代表的なバイオプラスチックを Table 1-1 に記した[5-7]。

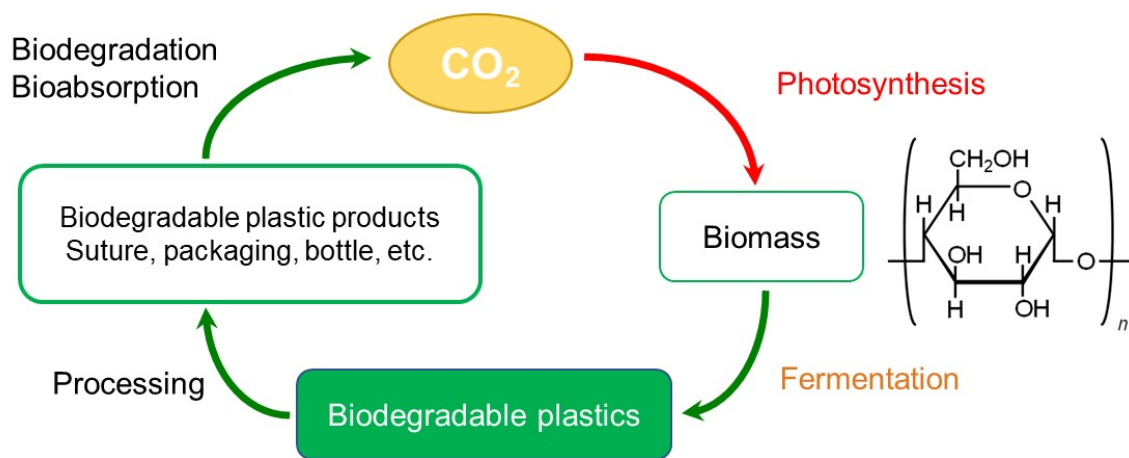


Fig. 1-1 Sustainability of biodegradable plastics

Table 1-1 Classification of plastics by degradabilities and resources.

	Biomass resources	Petroleum resources
Biodegradable plastics	Polylactic acid (PLA) Polyhydroxyalkanoate (PHA) Polybutylene succinate/adipate (PBS/PBSA) Polysaccharide ester derivative	Polycaprolactone (PCL) Polybutylene adipate terephthalate (PBAT) Polyglycolic acid (PGA)
Non-biodegradable plastics	Bio polyethylene Bio propylene Bio polyethylene terephthalate Bio polyamide	Polyethylene (PE) Polypropylene (PP) Polyethylene terephthalate (PET) Polystyrene (PS)

生分解性プラスチックは、生分解性という機能によって規定された材料であり、原料となる化合物の由来によらない。石油由来の合成プラスチックの中にも生分解性を示す素材もある。2005年に愛知で開催された愛・地球博においては、バイオマスプラスチックと生分解性プラスチックとの実用性と多様な再資源化の可能性を実証するプロジェクトが実施された。会場内では使い捨て容器やリターナブル食器のコンポスト分解とマテリアルサイクルが行われ、バイオプラスチックの知名度が向上し、多くの企業や研究機関でバイオプラスチックの研究開発が行われるきっかけとなった[5, 6]。しかし、生分解性プラスチックは既存の合成プラスチックと比較して、脆性が高いなど、物性面で劣る、コストが高い、成型加工が難しい等の理由により、一部の企業や研究者を除いてブームは終息した。しかしながら、海洋プラスチック問題に代表されるプラスチック廃棄物の課題を解決策の1つとして再び注目されている。生分解性プラスチックの利用分野を Table 1-2 に示した。

Table 1-2 Possible application of biodegradable plastics.

Field of application	Examples
Products used in natural environment	Multifilm Pods for seedlings Fishing threads, nets Materials for construction Outdoor leisure goods
Compostable commodity goods	Food packages, trays, containers Bottle Disposable bags Hygiene products Diapers
Medical use as bioabsorbable materials	Suture Scaffold for tissue engineering

自然環境中で使用される分野である農業水産用資材、土木建設用資材、野外レジャー用品や分別・回収により、リサイクルできない有機廃棄物の堆肥化（コンポスト化）に有用な食品包装用資材、衛生用品、日用品等が主に使用されている分野であるが、ポリ乳酸やポリヒドロキシアルカノエート、ポリグリコール酸等は生体適合性も有しているため、医療用素材や組織工学分野への応用もされている[5-7]。

ポリ乳酸(PLA)は最も研究が進んでいる生分解性プラスチックである。PLAは1932年にデュポン社のW. H. Carothersらによってはじめて化学合成が報告された[8]。PLAのモノマーは乳酸であり、バイオマスから微生物発酵により生産することができる。PLAは乳酸の脱水縮合反応を経て、ラクチドの開環重合または直接重合により合成される (Fig. 1-2) [6, 7]。

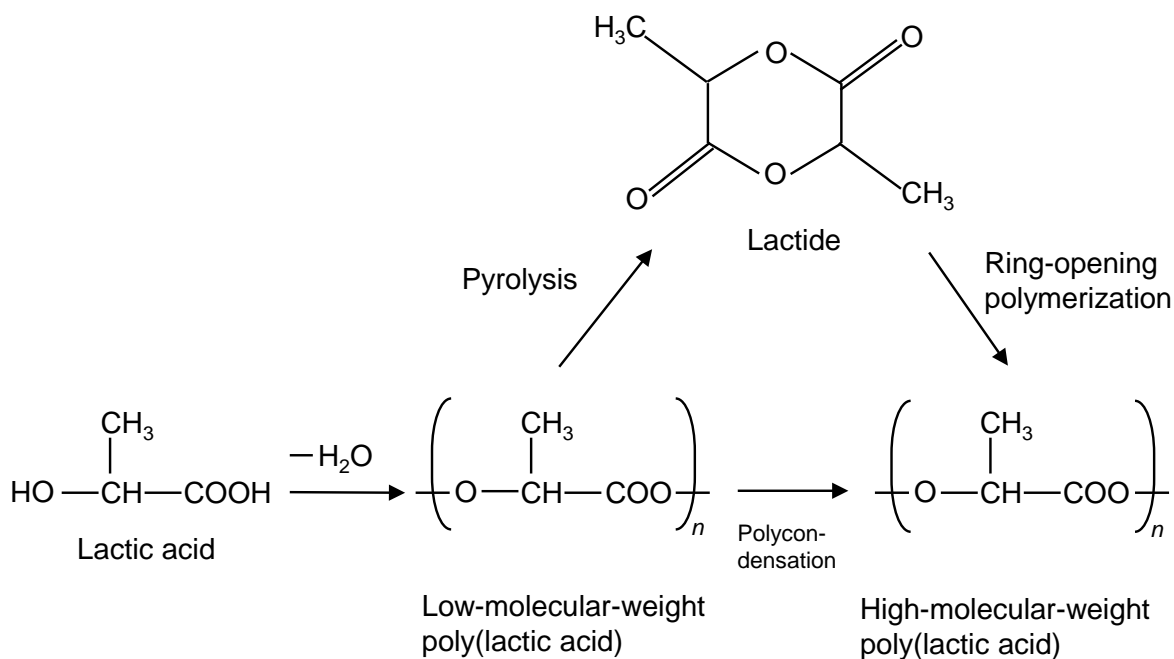


Fig. 1-2 Synthesis of high-molecular-weight poly(lactic acid).

PLA は合成プラスチックのポリスチレン (PS) やポリエチレンテレフタレート (PET) と同等の機械的物性を示すため、Table 1-2 に示した用途や医療用途以外にも、電子機器関連の部材としても使用されている[5]。しかしながら、PLA は、常温での生分解はほとんど起きず、コンポスト処理をする際は高温が必要であることや、ポリマー合成に化学的重合が必要なこと等の課題を抱えている[9]。

1.3 ポリヒドロキシアルカノエート

ポリヒドロキシアルカノエート (PHA) は、微生物によって産生されるポリエステルである。PHA は微生物にとって有機炭素の貯蔵物質であり、植物のデンプン、動物の脂質と同じ役割を担っている。PHA は糖、植物油、アルコールなどの異なる炭素源を基質として微生物細胞内で合成される[10-13]。PHA は水に不溶であり、クロロホルムや塩素系有機溶剤に可溶である。加水分解に耐性を持ち、紫外線に良好な耐性を示すが、酸や塩基に対する耐性をもたない。PHA は優れた生分解性があり、さらに生体適合性も有している[10]。

また、PLA とは異なり化学的重合の必要がなく、微生物細胞内で重合化される。PHA の一般式を Fig. 1-3 に示す。また、代表的な PHA を Table 1-3 に示した。

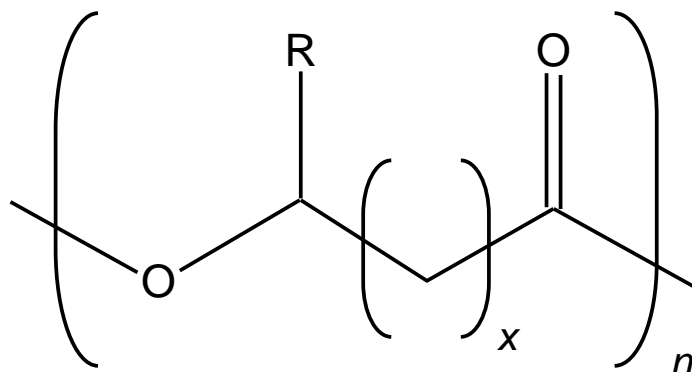


Fig. 1-3 The general chemical structure of PHA.
 x : length of alkyl chain; n : degree of polymerization.

Table 1-3 Classification of PHAs

x	R	PHA
0	H	poly(glycolic acid)
	CH ₃	poly(lactic acid)
1	H	poly(3-hydroxypropionate)
	CH ₃	poly(3-hydroxybutyrate)
	C ₂ H ₅	poly(3-hydroxyvalerate)
	C ₃ H ₇	poly(3-hydroxyhexanoate)
	C ₉ H ₁₉	poly(3-hydroxydodecanoate)
2	H	poly(4-hydroxybutyrate)
3	H	poly(5-hydroxyvalerate)

x ; length of alkyl chain

代表的な PHA は 3-ヒドロキシブタン酸のホモポリマーであるポリヒドロキシブチレート (PHB) である。PHB が微生物細胞内に存在することは、Lemoigne によって、1926 年に発見された[7]。PHB は微生物細胞内で合成される (Fig. 1-4)。

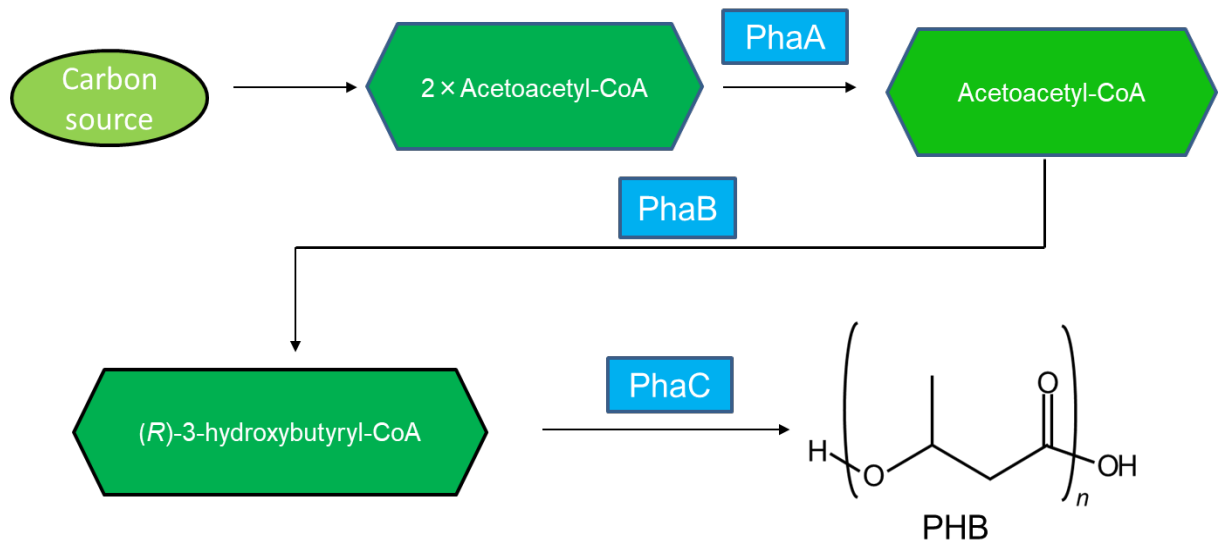


Fig. 1-4 The biosynthetic pathway of PHB.

まず、微生物細胞内でエネルギー源となる炭素源はアセチル-CoA に変換される。2 分子のアセチル CoA はチオラーゼ (β -ケトチオラーゼ、PhaA) により、アセトアセチル CoA に変換される。次に、NADPH を介しアセトアセチル CoA レダクターゼ (PhaB) により、(R)-3hydroxybutyryl-CoA へ変換される。産生した (R)-3hydroxybutyr-CoA は PHA シンターゼ (PhaC) の作用により、重合反応が行われて PHB を産生する[11, 12, 13]。

PHB はガラス転移温度 4 °C、融点 180 °C、破壊強度 43 MPa であり、ポリプロピレンと同程度の性質を示す。しかしながら、PHB の破壊伸び率はポリプロピレンと比較して著しく低い。さらに硬く脆い性質を示す。PHB は室温においては、結晶間に存在する非晶部の分子鎖が分子運動によって結晶部に取り込まれる二次結晶化が進行する。さらに、PHB は熔融成型時において熱分解温度と融点が接近しており、成型加工温度が狭い点も欠点としてあげられる。このため、PHB は単独での実用化が見送られてきた[7, 14, 15]。

PHB の欠点を改質するため種々の検討が取り組まれている。ポリエチレンをはじめとする汎用性ポリマーは延伸処理による物性改善が報告されている。野生型の微生物により産生される PHB の平均分子量は約 60 万程度であり、融点付近の温度において熱分解による極端な分子量の低下が起き、熱延伸処理を適用できない。近年、遺伝子組み換え微生物を利用した平均分子量 350 万以上の超高分子量の PHB が合成された。

この超高分子 PHB は熱延伸加工が可能であることがわかった。延伸した超高分子量 PHB フィルムは破壊強度と破壊伸びが向上し、汎用プラスチック程度まで性能が向上した[7, 16]。

一方、PHB へ第二成分を導入した共重合体ポリマーが開発されており、実用に耐えるしなやかなプラスチック素材が作り出されている。1981 年に ICI 社により、水素細菌 *Alcaligenes eutrophus* (*Ralstonia eutropha* などを経て、現在は *Cupriavidus necator* と命名されている[17]) を用いて、グルコースおよびプロピオン酸を炭素源として培養することで、菌体中に 3-ヒドロキシブタン酸と 3-ヒドロキシ吉草酸 (3HV) の共重合体である P(HB-co-3HV) (PHBV) を生産できることが見いだされ、バイオポールの名称で事業化された[7, 15]。PHBV は 3HV 比率が高くなるにつれてヤング率が低下し、しなやかなポリマー材料となる。土肥らは、グルコースとプロピオン酸からなる混合炭素源の比率を変化させることで、PHBV 内の 3HV 比率を 0~40 mol% で制御可能であること、さらにブタン酸とペンタン酸の混合炭素源では、混合比率により 3HV 比率を 0~95 mol% で制御が可能であることを見出した[18]。3HV 比率が 40 mol% では融点 76 °C、95 mol% では 107 °C と変化させることができるため、PHBV は PHB (融点 180 °C) と比べ成型が容易な長所がある。

土肥らは水素細菌 *A. eutrophus* を宿主とし、4-ヒドロキシブタン酸あるいは 4-クロロブタン酸を炭素源として、4-ヒドロキシブタン酸を取り込んだ共重合体ポリエステル P(HB-co-4HB) の合成が可能であることを報告した[19]。4HB は 3HV と比べ、結晶化しにくい性質があり、4HB 比率の増加とともに結晶化度が低下する。さらにガラス転移温度も 4 °C から -50 °C へ低下する。4HB 比率の上昇とともに破断伸びも増大し、60 mol% 以上になると、ゴム弾性を示し、PHB でみられる硬くて脆い性質から、弾性に富む性質を示すようになる[20]。

カネカ社は、3-ヒドロキシブチレート (3HB) と 3-ヒドロキシヘキサン酸 (3HHx) が共重合したポリマー P(3HB-co-3HHx) (PHBH) を商業生産しており、3HHx の共重合比率により、弾性などの物性を制御することで、ポリプロピレンやポリエチレンに近い柔軟な物性を実現している。さらに、3HHx の共重合により効率的に融点を下げることができる[7, 21]。主に欧州においてレジ袋への採用や、農業分野でのマルチ

フィルムへの展開が期待されている。

近年、PHA は様々な環境で優れた生分解性を示すため注目されている。PHA は包装、成形品、フィルムを含む多用途での使用や用途に応じた加工が可能である[10, 12]。

また、PHA は生体適合性も有しているため、医療用材料や再生医療分野への適用も期待されている[11-13, 22-24]。PHA は創傷被覆材や足場材料としての利用が報告されている[11, 23]。また、PHBV の微粒子とポリ乳酸-co-ポリグリコール酸共重合体との複合足場材料は細孔率 80%以上を有しており、PHBV 比率が増加することで、圧縮強度が向上することが確認されている[24]。

1.4 分離膜

1.4.1 分離膜の概要

1.1 に記載した通り、近年の人口増加やプラスチック廃棄物の課題に加え、21 世紀は「水の時代」になると予測されている。SDGs の目標にも「安全な水とトイレを世界中に」と掲げられており、水処理分野の取り組みが各分野で行われている。中でも膜分離技術は期待されている分野である。2015 年の予測では膜分離の市場は 2020 年までに 321 億 US ドルまで成長すると予測されている[9]。特に、アジア太平洋地域、北アメリカは主要な市場であり、今後は中東地域やアフリカ、ラテンアメリカも重要な地域となると予測されている。膜分離は主に水処理、淡水化、医薬分野、食品・飲料分野、化学プロセス分野での展開が期待される[9, 25, 26]。

分離膜は孔径によって、精密濾過膜 (MF)、限外濾過膜 (UF)、ナノ濾過膜 (NF)、および逆浸透膜 (RO) に分類することができる[25-27] (Fig. 1-5)。

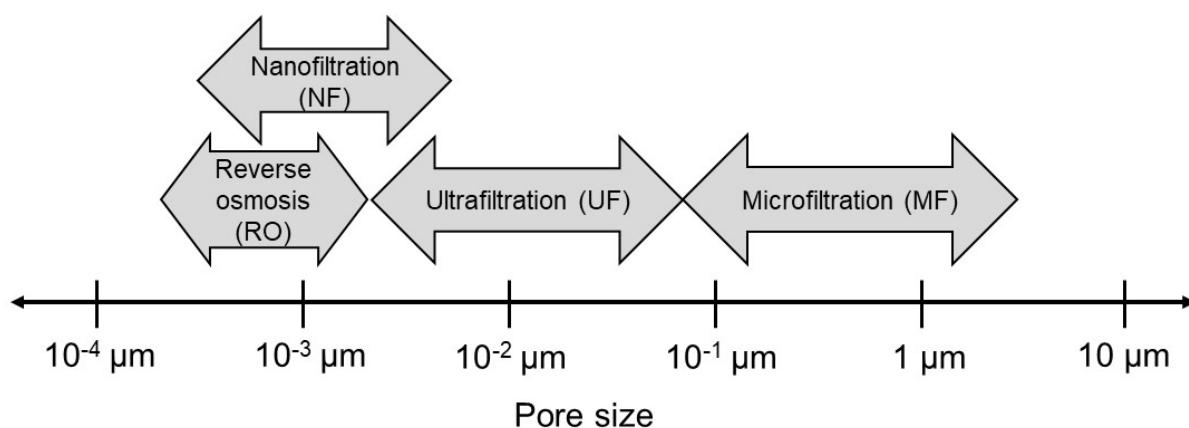


Fig. 1-5 Average pore size of the membranes used in different processes.

MF膜は0.1 μm～数 μmの粒子を分離できる分離膜であり、家庭用浄水器、バイオプロセス、食品工業分野、膜分離活性汚泥法 (Membrane Bioreactor, MBR) において、細菌や微粒子の分離・除去をするために使用されている。UF膜は2 nm～0.1 μmの細孔径を持つ多孔質膜であり、ウイルスやタンパク質の分離に用いられる。ナノ濾過膜は細孔径1～2 nmであり、膜素材表面に荷電を持ち、地下水や河川水からの有機溶媒や農薬の除去を目的とした浄水プロセスに多用されている。RO膜はオングストロームスケールの細孔径を有しており、海水の淡水化や半導体の洗浄に使用する超純水の製造に使用されている。

分離膜は有機系分離膜と無機系分離膜に大別される。有機系分離膜は芳香族ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE)、ポリスルホン (PS)、ポリビニリデンフルオライド (PVDF)、ポリプロピレン (PP)、ポリエチレン (PE)、ポリエーテルスルホン (PES) 等の石油由来の合成高分子や半合成高分子の酢酸セルロースで作製されている。芳香族系ポリマーは主にRO膜で、NF膜はPESやポリスルホン等が使用されている。無機系分離膜はアルミナやジルコニア、チタニウム、ゼオライトなどの無機材料やセラミックから作製されている。無機系分離膜は有機系分離膜と比較し耐薬品性に優れる長所を有している[9, 25-27]。

1.4.2 有機系分離膜の製膜法

有機系分離膜は主に相分離法、延伸法、トラック・エッチング法により作製される。中でも相分離法は比較的容易に多孔質膜を得られる手法である。相分離法は高分子溶液へ非溶媒（主に水）を取り込むことで、相分離を誘起する非溶媒誘起相分離法（NIPS法）と加熱した高分子溶液を冷却することで相分離を誘起する熱誘起相分離法（TIPS法）に大別される。NIPS法は1960年頃にカルフォルニア大学のロブとスリラーヤンが見いだした[28]。

NIPS法はポリマー溶液を金型等へキャストし、非溶媒へ浸漬する。浸漬後、膜表面から非溶媒が膜内に侵入する。非溶媒の侵入により、ポリマーの溶解性が低下し、析出する相分離現象が発生する。膜内の溶媒が非溶媒へ置き換わることでポリマーは相分離をした状態で凝固し、多孔質構造を有する膜を得ることができる（Fig. 1-6）。

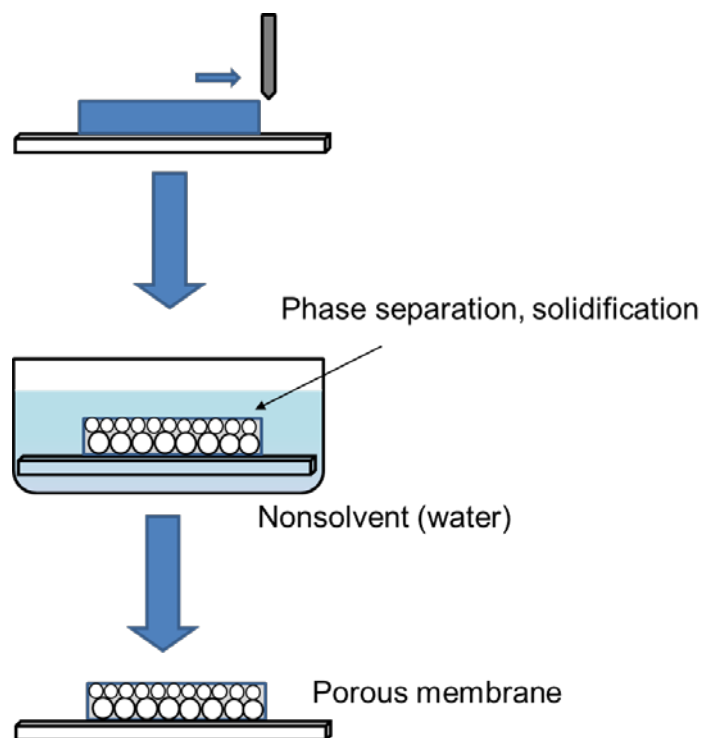


Fig. 1-6 Non solvent induced phase separation method (NIPS)

浸漬後、すぐに非溶媒が侵入する膜表面層はポリマーの凝集時間がないため、細孔径の小さい構造を形成し、緻密な層を形成する。一方、金型等に接した面は表面からの水の侵入が遅く高分子は十分に凝集するため、粗い多孔質構造を形成する。表面層は緻密層、裏面は多孔質層となる非対称膜が形成される。相分離の進行速度により、形成される膜構造が異なることが知られている[27, 29]。相分離が速く進行する場合は、より多孔な構造となり、指状の大きな孔を代表するマクロボイドも形成されやすい。一方、相分離が遅い場合は、スポンジ状構造となり緻密なスキン層が形成される傾向がある。よって、非溶媒と溶媒の親和性が高い場合は、相分離がはやく起こり、より多孔な構造になる傾向がある。NIPS 法は既に RO 膜、UF 膜、MF 膜の作製に工業的に広く利用されている[25-27, 29]。

TIPS 法は 1981 年に特許が出された比較的新しい手法である[25, 26, 30]。まず、沸点の高い溶媒を用いてポリマーを高温で融解させ均一な溶液とする。次にポリマー溶液を金型等へキャストし、急速に冷却する。

Fig. 1-7 に示す相図の binodal 線に達すれば、ポリマー希薄相と濃厚相に相分離する。その後、引き続き冷却することでポリマー希薄相が成長し、結晶化温度に達すれば固化し膜が得られる[25, 26, 29]。結晶性ポリマーの場合、ポリマーと溶媒間の親和性により、相図中の binodal 線と結晶化温度の位置関係は変化する。親和性が高い場合は、binodal 線が低下し、ポリマーの結晶化による固液相分離が起こり、得られる構造は球晶による粒子構造となる。

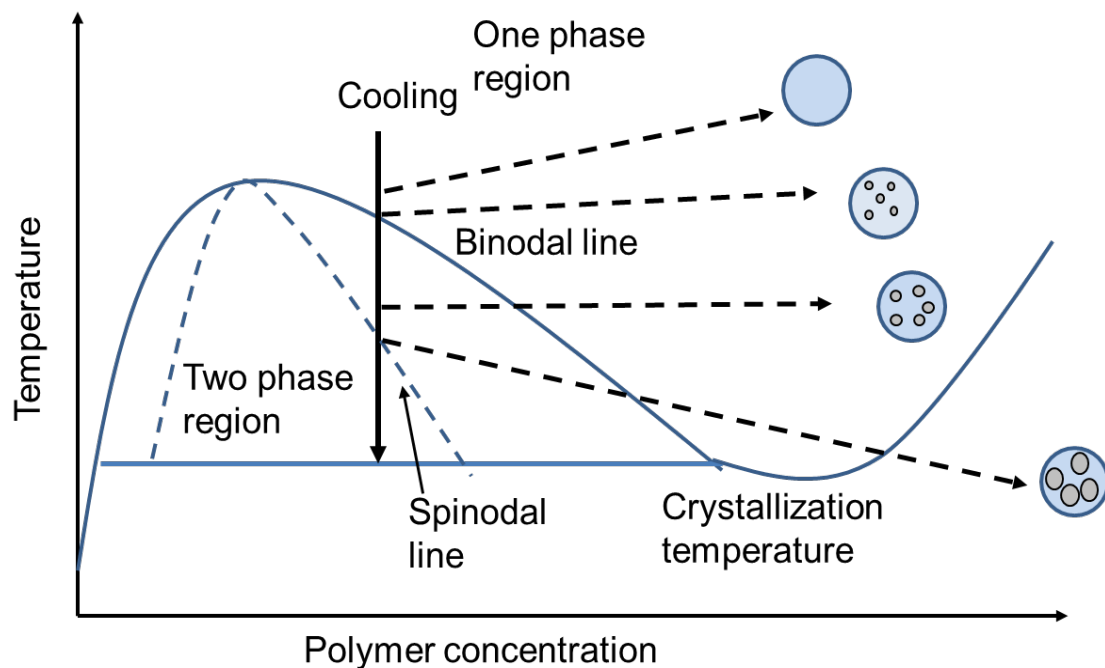


Fig. 1-7 Typical phase diagram of TIPS.

TIPS法の長所として、高温でポリマー溶液を調製するため、1) 常温では溶解しないようなポリマーと溶媒の組合せにも適用できる、2) 極端に大きなマクロボイドが形成しない、3) NIPS法では溶媒の他に非溶媒が必要であり、製膜制御が難しい場合もあるが、TIPS法は非溶媒が不要であり、温度変化のみで多孔質膜を得られる点からプロセス制御が比較的容易である[26, 29]。

1.4.3 バイオプロセスにおける分離膜と課題

バイオプロセス分野の中でも近年バイオ医薬品分野が拡大を続けている。バイオ医薬品は遺伝子組換え技術や細胞培養などバイオテクノロジーを利用し製造されるタンパク質、ペプチド、核酸等の医薬品であり、生物学的製剤とも呼ばれる。化学合成により製造される低分子医薬品と異なって分子量としては3,000~300,000程度の高分子である。1982年に世界初のバイオ医薬品である遺伝子組換えヒトインスリンが承認された[31, 32]。

2000年以降は抗体医薬品が次々に上市されるようになり、2016年には全世界の医薬品の売り上げ上位10品目のうち6品目に抗体医薬品が占めるようになった。日本

においても 2019 年に市販されているバイオ医薬品のうち半数近くを抗体医薬品が占めており、バイオ医薬品分野は今後も拡大していくと予測される[31, 32]。

バイオ医薬品の製造プロセスは大きく分けると、細胞を培養する培養工程、培養液から目的のタンパク質を分離・精製する工程、ウィルス除去工程、濃縮・バッファー交換工程（UF/DF 工程）、充填工程、製剤化工程からなる（Fig. 1-8）。

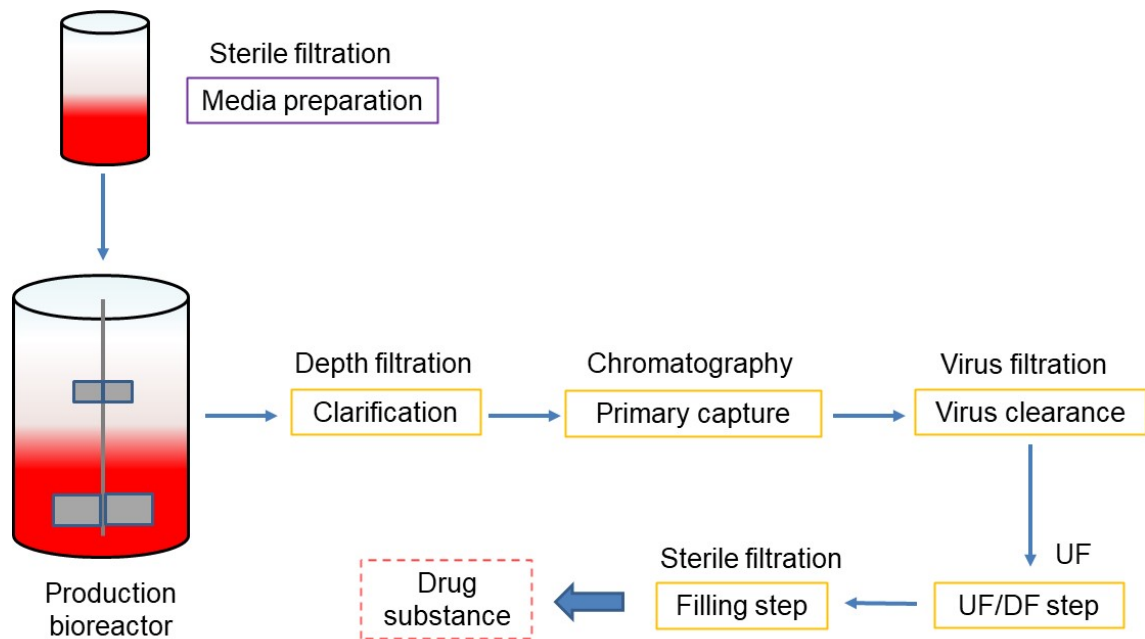


Fig. 1-8 Production of drug substance of biopharmaceuticals.

分離膜は主に製造で使用される培地、バッファー類の滅菌濾過や細胞分離工程、UF/DF 工程、ウィルス除去工程、充填工程に使用される[33, 34]。分離膜の材料としては、セルロースアセテート、ポリプロピレン、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリビニリデンフルオライド等が使用されている[33-35]。

近年はこれらの工程で使用される分離膜は、滅菌・洗浄操作が不要、設置が容易なこと、クロスコンタミネーションの回避の面からシングルユース製品の使用が進んでいる[33]。

使用された分離膜には細胞や細胞由来成分、DNA、タンパク質をはじめとする種々

の夾雑物を含んでおり、使用後に再使用するためには膜の洗浄操作が必要であり操作に手間がかかる。また、膜そのものの再利用が困難な場合は滅菌処理の後に廃棄処分される。

バイオプロセス分野や食品工業分野で使用される分離膜は石油由来の合成ポリマーが使用されており、使用後の再利用が困難であるため、産業廃棄物処理コストやプラスチック廃棄物を削減するための解決策が求められる。分離膜のポリマー材料をバイオプラスチックや生分解性プラスチックへ代替できれば、プラスチック廃棄物や産業廃棄物処理コストの削減が可能であり、持続可能な膜分離プロセスの実現を期待できる。しかしながら、分離膜のポリマー材料をバイオプラスチックや生分解性プラスチックへ代替するには多くの課題を抱えている。大きな課題としてはバイオプラスチックや生分解性プラスチックの加工性の難しいことや既存の石油由来の合成プラスチックと比較し製造コストが高いこと、機械的物性が弱いことがあげられる。バイオプラスチック製多孔質膜や生分解性プラスチック製多孔質膜の製膜では従来の合成プラスチック製多孔質膜と同じ相分離法が最もよく用いられている[9]。

1.5 生分解性プラスチック製濾過膜

生分解性プラスチック製濾過膜は使用後に残渣とともにコンポスト処理が可能であることから、バイオプロセス分野の分離膜として応用できればプラスチック廃棄物や処理コストの削減、持続可能な膜分離プロセスの実現につながると考えられる。本項では主に相分離法により作製された PLA 製濾過膜、PHA 製濾過膜の研究事例について記載する。

PLA 製濾過膜はいくつか報告されている。田中らは、TIPS 法により、1,4-ジオキサン-水混合溶媒系で、約 3 μm の細孔もつ PLA 製 MF 膜を作製した[36]。また、さらなる検討の結果、PLA 濃度を高めることで、バクテリアの阻止率が 60%に達し、TIPS による製膜を行う前に PLA 溶液を 2 分程度乾燥させることで、PLA 製 MF 膜の細孔径を小さくすることを見出した。菌体に対する阻止率は 99%に達した[37]。

民部らは、NIPS 法によって、非イオン性界面活性剤 Tween 80 を 1,4-ジオキサン PLA 溶液へ添加し、PLA 製 MF 膜を作製した。作製した PLA 製 MF 膜は指状構造を

持つ非対称膜で、菌体の阻止率は 99%であった[38, 39]。

守谷らは NIPS 法で溶媒にジメチルスルホキシド (DMSO) を用いることで、PLA 製の中空糸濾過膜を作製しており、高い透水性と分離性能を示した[40]。また、Gao らは、NIPS 法によりポリエチレンオキシド (PEO) を添加した PLA 溶液より、平膜状の PLA 製濾過膜を作製した。PEO 濃度を変化させることで、細孔の形態変化を見出し、 $225 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^2$ 以上の高い透水性を示し、BSA に対する阻止率は 90%を達成した[41]。Shen らは NIPS 法で、PLA-PEG-PLA トリブロック共重合体より PLA 製中空糸膜を作製した。共重合体中の PEG 組成はファウリングの低減効果があり、PEG の分子量を高めると、BSA の阻止率が 85%から 100%に向上した[42]。

PHA は機械的物性や加工性は PLA に劣るものの、微生物細胞内で生合成されるため、化学的重合が不要という、PLA より有利な点を有している。しかしながら、PHA 製分離膜の研究例は少ない。

Keawsupsak らは、NIPS 法により溶媒に *N*-メチル-2-ピロリドン (NMP) を使用し、PLA-PHBV、PLA-PBS、PLA-PBA ブレンド膜を作製した。透水性は $65.2 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ 、BSA に対する阻止率は 78.7%であり、PLA-PHBV ブレンド膜では透水性、機械的物性の向上が確認された[43]。

Mas らは、NIPS 法によりクロロホルムあるいはクロロホルムと非溶媒 (テトラヒドロフランおよびジメチルホルムアミド (DMF)) の混合溶液から、エタノールおよび水の混合溶液を非溶媒として、PHB および PHBV 製の濾過膜を作製した。プレート上にキャストされたポリマー溶液は、非溶媒へ浸漬する前に $20 \text{ }^\circ\text{C}$ で 60 秒間乾燥させた。作製した濾過膜は直径 $0.054 \text{ }\mu\text{m}$ のデキストラン 2,000,000 で評価した結果、保持率は 75%以下であった[44]。また、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて膜表面を観察することで膜孔サイズを評価し、孔径 $0.5 \text{ }\mu\text{m}$ の PHA 膜を作製したことを報告している[45]。

Villegas らはパーバレーション用途の PHB 膜を蒸発誘起相分離法 (EIPS 法) によって作製している。メタノール/メチル *tert*-ブチルエーテル (MTBE) の混合溶液の分離に PHB 膜を用いた結果、PHB 膜はメタノールを選択的に透過させることができた[46]。

Tmietto らは2種類の PHBV 製の分離膜を報告している[47,48]。1つ目は、NIPS 法により、溶媒に *N*-メチル-2-ピロリドン (NMP)、添加剤にエチレングリコール (EG)、非溶媒に水を使用し、PHBV 製 MF 膜を作製した。最適な作製条件の1つとして不織布担体を必要とした。細孔径は $0.64\ \mu\text{m}$ であり、カオリン溶液に対する阻止率は 90% であった[47]。2つ目は、蒸発誘起相分離法 (EIPS) によって、ポリエチレングリコール 8000 を含むクロロホルム溶液から作製された。不織布担体は不要であった。作製した膜は、大腸菌 *Escherichia coli* に対し 99.95%の阻止率を示し、細孔径は $0.8\ \mu\text{m}$ であった[48]。

1.6 本研究の目的

以上のようにマイクロプラスチックをはじめとするプラスチック廃棄物による環境汚染防止は SDGs の目標 1 つである海洋環境保全の面からも重要である。また、SDGs の目標には「安全な水とトイレを」が掲げられており、水処理分野では膜分離プロセスが期待されている。

分離膜の材料を石油由来の合成プラスチックから生分解性プラスチックやバイオマスプラスチックへ代替できれば、石油資源の消費節約、合成プラスチックの使用削減さらにプラスチック廃棄物や二酸化炭素排出量の削減が可能である。膜分離プロセスで使用されている分離膜の多くは、ポリプロピレン、ポリテトラフルオロエチレン、ポリスルホン、ポリビニリデンフルオライド、ポリエチレン、ポリエーテルスルホン等の石油由来の合成プラスチックで作製されている。バイオプロセス分野や食品工業分野で使用されている分離膜は、使用後に廃棄される課題がある。生分解性プラスチック製の分離膜を作製できれば、使用後のプラスチック廃棄物の削減、CO₂ 排出の削減さらにコンポスト処理が可能となり、持続可能な産業社会に向けた環境循環型の膜分離プロセスを開発できると考えられる。

本研究では生分解性バイオマスプラスチックである PHA に着目し、相分離法を用いて PHA 製多孔質膜を作製し、MF 膜へ応用することを目指した。第1章では、プラスチック廃棄物の課題、海洋プラスチック問題、生分解性プラスチック、ポリヒドロキシアルカノエート (PHA)、分離膜、生分解性プラスチック製分離膜の研究事例につ

いて概説した。第2章では、PHA製MF膜の作製を検討した。4種類の水溶性有機溶媒、製膜温度、ポリマー濃度を検討することで、最適な製膜条件を見出した。また、使用後のPHA製MF膜はコンポスト処理機による処理が想定されるため、高温加湿条件下での非酵素的な分解特性についても検証した。第3章では、本研究で得られた結果の総括と将来展望を述べた。

引用文献

- [1] 早水輝好、"海洋ごみとマイクロプラスチックに関する環境省の取組"、海洋ごみシンポジウム2016、東京、2016年12月
- [2] 中野かおり、"プラスチックごみをめぐる最近の動向 —海洋プラスチックごみ問題への取り組み—"、立法と調査、No. 406、48–57 (2018)
- [3] 環境省、"海洋プラスチック問題について"、2018年7月
- [4] 消費者庁、外務省、財務省、文部科学省、厚生労働省、農林水産省、経済産業省、国土交通省、環境省、"プラスチック資源循環戦略"、2019年5月
- [5] 日本バイオプラスチック協会編、"トコトンやさしいバイオプラスチックの本"、日刊工業新聞社、2009
- [6] 岩田忠久、"バイオプラスチックの現状と課題"、バイオサイエンスとインダストリー、78、442–447 (2020)
- [7] 日本化学会編、"持続可能社会をつくるバイオプラスチック バイオマス材料と生分解性機能の実用と普及へ向けて"、化学同人、2020
- [8] W.H. Carothers, G.L. Dorrough, F.J. van Natta, "Studies of polymerization and ring formation. X. the reversible polymerization of six-membered cyclic esters," J. Am. Chem. Soc., 54, 761–772 (1932)
- [9] F. Galiano, K. Briceño, T. Marino, A. Molino, K. V. Christensen, A. Figoli, "Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications," J. Membr. Sci., 564, 562–586 (2018)
- [10] E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, V. Alvarez, "Polyhydroxyalkanoate (PHA): review

- of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging," *Express Polym. Lett.*, 8, 791–808 (2014).
- [11] Z.A. Rans, S. Abid, I.M. Banat, "Polyhydroxyalkanoates: characteristics, production, recent developments and applications," *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 126, 45-56 (2018)
- [12] J.M.G. Alcântara, F. Distanto, G. Storti, D. Moscatelli, M. Morbidelli, M. Sponchioni, "Current trends in the production of biodegradable bioplastics: the case of polyhydroxyalkanoates," *Biotechnol. Adv.*, 42, 107582 (2020)
- [13] K. Sudesh, H. Abe, Y. Doi, "Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoate: biological polyesters." *Prog. Polym. Sci.*, 25, 1503–1555 (2000)
- [14] 浦上貞治、今川茂樹、原田正広、岩本晃、常盤豊、"生分解性プラスチック-ポリ-β-ヒドキシ酪酸／ポリカプロラク톤ブレンドポリマーの開発"、*高分子論文集*, 57, 263–270 (2000)
- [15] P.A. Holmes, "Applications of PHB – a microbially produced biodegradable thermoplastic," *Phys. Technol.*, 16, 32–41 (1985)
- [16] T. Iwata, "Strong fibers and films of microbial polyesters" *Macromol. Biosci.*, 5, 689–701 (2005)
- [17] P. Vandamme, T. Coenye, "Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 2285–2289 (2004)
- [18] 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." *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 28, 330–334 (1988)
- [19] Y. Saito, Y. Doi, "Microbial synthesis and properties of poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) in *Comamonas acidovorans*." *Int. J. Biol. Macromol.*, 16, 99-104 (1994).
- [20] Y. Doi, M. Kunioka, Y. Nakamura, K. Soga, "Nuclear magnetic resonance studies on unusual bacterial copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 4-hydroxybutyrate," *Macromolecules*, 21, 2722–2727 (1988)
- [21] Y. Doi, S. Kitamura, H. Abe, "Microbial synthesis and characterization of poly(3-

- hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyhexanoate)," *Macromolecules*, 28, 4822 (1995)
- [22] K.P. Luef, F. Stelzer, F. Wiesbrock, "Poly(hydroxy alkanate)s in medical application" *Chem. Biochem. Eng. Q*, 25, 287–297 (2015)
- [23] E.I. Shiashatskaya, E.D. Nikolaeva, O.N. Vinogradova, T.G. Volova, "Experimental wound dressings of degradable PHA for skin defect repair," *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 27, 165 (2016)
- [24] W. Huang, X. Shi, L. Ren, C. Du, Y. Wang, "PHBV microspheres -PLGA matrix composite scaffold for bone tissue engineering," *Biomaterials*, 31, 4278–4285 (2010)
- [25] 伊東章、トコトンやさしい膜分離の本、日刊工業新聞社、2010
- [26] 化学工学会分離プロセス部会編、"ここまできた膜分離プロセス –基礎から応用–"、最近の化学工学 63、化学工学会関東支部、2014
- [27] B.S. Lalia, V. Kochkodan, R. Hashaileh, N. Hidal, "A review on membrane fabrication: structure, properties and performance relationship," *Desalination.*, 326, 77–95 (2013)
- [28] S. Loeb, S. Souriajan, "Sea water demineralization by means of an osmotic membrane," *Advance in Chemistry*, 38, 117–132 (1963)
- [29] 松山秀人、"熱誘起相分離法による多孔質膜の作製と微細構造制御"、*膜*, 26 (3), 116–123 (2001)
- [30] A.J. Castro, "Methods for making microporous products," *U.S. Patent*, 4, 247,498 (1981).
- [31] 小林猛、田谷正仁編、本多裕之、上平正道、中島田豊、境慎司、清水一憲、"生物化学工学 バイオプロセスの基礎と応用 第2版"、東京化学同人、2019
- [32] 石川明子、川西徹、長野哲雄編、"バイオ医薬 基礎から開発まで"、東京化学同人、2020
- [33] A. L. Zydney, "New developments in membranes for bioprocessing – a review," *J. Membr. Sci.*, in press (<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2020.118804>)
- [34] G. R. Bolton, D. LaCasse, M.J. Lazzara, R. Kuriyel, "The fiber-coating model of biopharmaceutical depth filtration," *AIChE J.*, 51, 2978–2987 (2005).
- [35] R. van Reis, A. Zydney, "Bioprocess membrane technology," *J. Membr. Sci.*, 297, 16–50 (2007)

- [36] T. Tanaka, D.R. Lloyd, "Formation of poly (L-lactic acid) microfiltration membranes via thermally induced phase separation." *J. Membr. Sci.*, 238, 65–73 (2004).
- [37] T. Tanaka, M. Ueno, Y. Watanabe, T. Kouya, M. Taniguchi, D.R. Lloyd, "Poly(L-lactic acid) microfiltration membrane formation via thermally induced phase separation with drying," *J. Chem. Eng. Jpn.*, 44, 467–475 (2011).
- [38] H. Minbu, A. Ochiai, T. Kawase, M. Taniguchi, D.R. Lloyd, T. Tanaka, "Preparation of poly (L-lactic acid) microfiltration membranes by a nonsolvent-induced phase separation method with the aid of surfactants," *J. Membr. Sci.*, 479, 85–94 (2015).
- [39] H. Minbu, H. Mizuno, Y. Shibuya, A. Ochiai, M. Taniguchi, T. Tanaka, "Poly(L-lactic acid) depth filter membrane prepared by nonsolvent-induced phase separation with the aid of a nonionic surfactant," *J. Chem. Eng. Jpn.*, 52, 75–82 (2019).
- [40] T. Moriya, Y. Ohmukai, T. Satani, H. Matsuyama, "Preparation of poly(lactic acid) hollow fiber membranes via phase separation methods," *J. Membr. Sci.*, 342, 307–312 (2009).
- [41] A. Gao, F. Liu, H. Shi, L. Xue, "Controllable transition from finger-like pores to interconnected pores of PLLA membranes," *J. Membr. Sci.*, 478, 96–104 (2015)
- [42] P. Shen, A. Moriya, S. Rajabzadeh, T. Maruyama, H. Matsuyama, "Improvement of the antifouling properties of poly (lactic acid) hollow fiber membranes with poly (lactic acid)-polyethylene glycol-poly (lactic acid) copolymers," *Desalination*, 325 (2013),
- [43] K. Keawsupsak, A. Jaiyu, J. Pannoi, P. Somwongsa, N. Wanthausk, P. Sueprasita, C. Eamchotchawalit, "Poly(lactic acid)/biodegradable polymer blend for the preparation of flat-sheet membrane," *J. Teknol. (Sci. Eng.)*, 69, 99–102 (2014).
- [44] A. Mas, H. Jaaba, J. Sledz, F. Schue, "Membranes en polyhydroxybutyrate et poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) pour la microfiltration: Influence du non-solvant sur les propriétés hydrodynamiques," *Eur. Polym. J.*, 32, 427–433 (1996a)
- [45] A. Mas, H. Jaaba, J. Sledz, F. Schue; "Membranes en PHB, P(HB-co-9% HV), P(HB-co-22% HV) pour la microfiltration ou la pervaporation proprietes filtrantes et etat de surface," *Eur. Polym. J.*, 32, 435–450 (1996b)
- [46] M. Villegas, E.F. Castro Vidaurre, A.C. Habert, J.C. Cottifredi, "Sorption and

- pervaporation with poly(3-hydroxybutyrate) membrane: methanol/methyl *tert*-butyl ether mixtures," *J.Membr. Sci.*, 367, 103–109 (2011)
- [47] P. Tomietto, M. Carré, P. Loulergue, L. Paugam, J.L. Audic, "Polyhydroxyalkanoate (PHA) based microfiltration membranes: tailoring the structure by the non-solvent induced phase separation (NIPS) process," *Polymer*, 204, 122813 (2020)
- [48] P. Tomietto, P. Loulergue, L. Paugam, J.L. Audic, "Biobased polyhydroxyalkanoate (PHA) membranes: structure/performances relationship," *Sep. Purif. Technol.*, 252, 117419 (2020)

第2章 非溶媒誘起相分離法によるポリヒドロキシアルカノエート製精密濾過膜の作製

2.1 緒言

精密濾過膜はバイオプロセスや食品製造プロセスにおいて細胞や細胞由来の不溶成分から可溶成分を分離するために使用されている[1]。濾過膜は主にガラス繊維やポリスルホン、ポリフッ化ビニリデン、ポリアミドなどの石油由来合成ポリマーから製造される[1, 2]。バイオプロセス濾過膜は使用後に腐敗成分を含む産業廃棄物となる。

生分解性プラスチックは第1章で述べたように家庭ごみや産業廃棄物を削減することができ、非生分解性プラスチックよりも優れた点がある。また、生分解性バイオマスプラスチックを使用することで、石油資源の節約、CO₂排出量の削減に貢献することができる[3-5]。生分解性バイオマスプラスチック製の濾過膜は持続可能な社会実現のために環境負荷に配慮した濾過プロセス開発に役立つと考えられる[6]。

代表的な生分解性バイオマスプラスチックの1つとして第1章でも紹介したポリ乳酸 (PLA) があげられる。2004年以降、PLA製濾過膜の作製例がいくつか報告されている。田中らは約3 μmの細孔もつPLA精密濾過膜を熱誘起相分離法 (TIPS) によって1,4-ジオキサン-水混合溶媒系でPLA溶液から作製した[7]。TIPSを実施する前にポリマー溶液表面を乾燥させることによって孔径を小さくすることも可能であった[8]。またPLA精密濾膜は、非イオン性界面活性剤を含む1,4-ジオキサンを溶媒として用いたPLA溶液からの非溶媒誘起相分離法 (NIPS) によっても作製されている[9, 10]。PLA製中空糸限外濾過膜はジメチルスルホキシド[11]やポリエチレンオキシドを含有するNMP[12]を溶媒とするPLA溶液から作製されている。

本研究で用いたポリヒドロキシアルカノエート (PHA) は微生物によって産生される生分解性ポリエステルである。広義にはPLAやポリグリコール酸も含まれるが、微生物が産生するPHAは、種々の基質を炭素源として発酵法によりグラム陽性細菌やグラム陰性細菌によって産生される。乳酸を重合して生産されるPLAとは対照的に発酵生産されるPHAはポリエステルとして生産されるため、発酵プロセスの後の重合反応が不要である。代表的なPHAはポリヒドロキシブチレート (PHB) および

ポリ 3-ヒドロキシブチレート-co-3-ヒドロキシバリレート (PHBV) である[6]。

PHA を用いた膜も PLA 膜と同様に相分離法による作製例が報告されている。Mas らは、NIPS 法により、クロロホルム、クロロホルムと非溶媒（テトラヒドロフランおよびジメチルホルムアミド (DMF)）の混合溶液から、エタノールおよび水の混合非溶媒を凝固槽に用いて PHB および PHBV 膜を作製した。プレート上にキャストされたポリマー溶液を、非溶媒へ浸漬する前に 20 °C で 60 秒間乾燥した。直径 0.054 μm のデキストラン 2,000,000 で評価した膜の保持率は 75%以下であった[13]。また、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて膜表面を観察することで膜孔サイズを評価し、孔径 0.5 μm の PHA 膜を作製できたと報告している。

PHA 製多孔質膜は、組織工学用の足場材料や創傷治癒などの医療用途にも、相分離法によって開発されている。これらの膜の作製では、溶媒としては 1,4-ジオキサン[15]、ポリビニルピロリドン含有 NMP[16]、ジエチレングリコール含有クロロホルム[17]、メチルイソブチルケトン[18]等が使用されている。

2020 年に Tomietto らは製法の異なる 2 種類の PHA 製精密濾過膜を報告した。1 つ目の PHA 膜は、エチレングリコールを含む NMP を溶媒とする PHA 溶液から NIPS 法により作製されたが、この膜は不織布担体を必要とした[19]。2 つ目の PHA 膜は、ポリエチレングリコール 8000 を含むクロロホルム溶液から蒸発誘起相分離法 (EIPS) によって作製され、不織布担持体は不要であった。作製した膜は、大腸菌 *Escherichia coli* に対し 99.95%の阻止率を示した[20]。

一方、田中らのグループは以前の研究成果で常温ではポリマーを溶解しにくい有機溶媒を高温では溶媒として使用して精密濾過膜を作製できることを示している。ジメチルスルホキシド (DMSO) は 25 °C では PLA の非溶媒であるが、80 °C で溶媒として用いて NIPS 法により平膜状の PLA 精密濾過膜を作製した[21]。また、DMSO を用いた PLA 中空糸限外濾過膜の作製も報告されている[11]。上述の Mas らの研究において DMF は PHA の非溶媒として使用されていた[13]。その一方で DMF は 100 °C で PHB やポリ 3-ヒドロキシブチレート-co-3-ヒドロキシヘキサノエートを溶解することが知られている[23]。これらのポリマー溶液は室温で固化しゲル化するため、通常の NIPS 法には用いることができない。

本研究では、4種類の水溶性有機溶媒（DMF、1,4-ジオキサン、NMP、DMSO）を用いて室温よりも高い温度（40～60 °C）でキャストした PHA 溶液と 25 °C の水（非溶媒）を用いて NIPS 法による製膜を検討した。PHA 製多孔質膜を作製し、精密濾過膜として最適な溶媒などの製膜条件を見出した。

2.2 材料と方法

2.2.1 使用試薬・材料

ポリヒドロキシアルカノエート（PHA）はグッドフェロー（PH326300, Huntington, England, extrusion grade, “melt flow rate at 170 °C and 2160 g” = 3.0 g/10min, ASTM D-1238）より入手した。分析グレードの DMF、1,4-ジオキサン、NMP、DMSO は富士フィルム和光純薬工業（大阪、日本）から入手した。直径 0.3 μm のポリスチレンラテックスビーズは、シグマ・アルドリッチ（米国、MO、セントルイス）から入手した。すべての試薬は追加の精製をせずに使用した。

2.2.2 膜の作製

PHA を 100 cm³ フラスコで DMF、1,4-ジオキサン、NMP、または DMSO に溶解した。本研究では濃度は質量パーセントを用いて溶液を調製した。ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）製の攪拌子で攪拌し、ホットスターラー上で 85 °C、9 時間加熱してポリマーの溶解を行った。ポリマー濃度 20% の PHA-DMSO 溶液は溶解が遅かったため、ホットスターラー上で 85 °C、26 時間加熱攪拌した。

次に各ポリマー溶液を、両面テープで固定した 80 mm×80 mm PTFE フレーム付きのガラス板へキャストした。フレームの厚さは 0.5 mm であった。ポリマー溶液は 40 °C、50 または 60 °C の恒温水槽で保温した。また、ガラス板は恒温水槽と同じ温度であらかじめ保温した。余分なポリマー溶液をガラス板から除去した後、25±2 °C の水槽に、2 時間浸漬させた。作製した膜をガラス板から取り外して水で十分に洗浄した。膜は評価するまで水中で保管した。

2.2.3 濾過実験

濾過実験用のセル (Amicon model 8010, 4.1 cm², Millipore, Bedford, MA) を、無攪拌でデッドエンド濾過試験のために使用した。水は膜の濾過抵抗を測定するために用いた。濾過は、透過圧力 10 kPa、25±2 °C で行った。膜抵抗 R_m は、以下の式(1)および式(2)を用いて算出した。

$$J = \frac{dv}{dt} \quad (1)$$

$$R_m = \frac{\Delta P}{\mu J} \quad (2)$$

J は透過流束、 v は単位濾過膜面積あたりの透過量、 t は透過時間、 ΔP は膜間差圧、 μ は透過液の粘度を表す。25 °C における水の粘度は 0.89 mPa s とした[24]。0.3 μm ポリスチレンラテックスビーズの懸濁液を使用して、粒子の阻止率を測定した。濾過開始 30 分後に透過水の吸光度 660 nm を測定した。また、30 分で濾過が終了した場合は最初の 10 cm³ の透過水の吸光度 660 nm を測定した。

2.2.4 走査型電子顕微鏡観察

作製した膜を液体窒素へ浸漬させ、切断した。次に、サンプルホルダーへサンプルを垂直および水平に取り付けた。サンプルの表面にスパッタコーター (MPS-1S、真空装置) を使用して金-パラジウムをコートした。加速電圧 15 kV の走査型電子顕微鏡 (SEM、TM-1000、日立) を用いて、膜断面と膜表面を観察した[9, 12]。

2.2.5 分解性試験

作製した PHA 膜の分解性を調べるために、以報告した PLA 膜の場合と同様に非酵素的な分解性試験を行った[9]。膜サンプルを 10 mm×50 mm の長方形に切断し、引張試験用のサンプルとした。膜は湿潤条件下で湿潤させたワイプと共にガラスディッシュに密閉し保管した。膜は 25 °C または 60 °C で 3 日間放置した。次に、湿潤条件下で放置前後の膜サンプルの機械的強度を、引張試験により評価した。引張試験は、机上引張試験機 (EZ-S-500N、Shimazu) を用いて湿潤条件下で 25±2 °C で行った。ゲー

ジ長 30 mm、上昇速度を 1.0 mm/min にそれぞれ設定した。各条件について 4 サンプルを評価した。平均値間の統計的有意差は、片側ウェルチの t 検定を用いて評価した。危険率 $p < 0.05$ の場合、有意な差であると判定した。

2.3 結果と考察

2.3.1 PHA 膜作製のための溶媒の選択

本研究では、水溶性、化学構造、沸点の点から、DMF、1,4-ジオキサン、NMP、DMSO の 4 つの有機溶媒を用いて、NIPS 法による PHA 膜の作製を検討した。生産コストを考慮し、非溶媒として水を用いる場合、使用する溶媒は水への溶解性が必要である。ヒドロキシ基を持つ有機溶媒はポリエステル (PHA) が約 80~100 °C で溶解する際にアルコリスを引き起こす可能性が考えられるため、選定対象外とした。膜作製中の溶媒蒸発を最小限にするため、沸点 (bp) も考慮した。DMF (bp = 153 °C)、1,4-ジオキサン (bp = 102 °C)、NMP (bp = 202 °C) および DMSO (bp = 189 °C) は、高分子膜を作製する際に使用されることが多い有機溶媒である [25, 26]。

本研究で使用した PHA は押出成形用の市販品である。PHA は濃度 10% の場合、85 °C において 30 分以内に 4 種の有機溶媒中に溶解した。溶解後もポリマー溶液はわずかに濁っていた。各 10% PHA 溶液を 50 °C に冷却し、厚さ 0.5 mm PTFE フレーム付きのガラス板にポリマー溶液をキャストし、25 °C の水へに浸漬した。PHA の DMF 溶液からは平膜を作製することができたが、他の溶媒を用いた場合は PHA 溶液がガラス板から水槽に分散したため、平膜を作製することができなかった。次に 20% PHA 溶液を調製し、同様の手法で PHA 膜を作製した。DMF、1,4-ジオキサン、および NMP を溶媒として用いた 20% PHA 溶液から平膜が形成された。一方、DMSO を溶媒として用いたときの 20% PHA 溶液は高粘度のため 50 °C ではガラス板へキャストすることができなかった。

Fig. 2-1 に溶媒として DMF、1,4-ジオキサン、または NMP を用いた場合の PHA 濃度 10% または 20% の溶液から作製した膜断面の SEM 画像を示した。溶媒として DMF を用いた場合、10% または 20% PHA 溶液から作製した膜は非対称膜であり、表面に

薄い緻密層を有し、その下部には指状細孔の多孔質層を有していた (Fig. 2-1(a)と 1(b))。対照的に 1,4-ジオキサンを溶媒として用いた 20% PHA 溶液から作製した膜 (Fig. 2-1(c)) は、DMF 溶液から作製した膜と比べると多孔質な膜ではなかった。膜の厚さは約 200 μm であったが、型の深さ (PTFE フレームの厚さ) は 500 μm (0.5 mm) であった。同様の現象は非溶媒に水を用いて PLA の 1,4-ジオキサン溶液から作製した膜においても観察されている[9]。その場合と同様に非溶媒である水のポリマー溶液への拡散がポリマー溶液中の 1,4-ジオキサンの水への拡散よりも遅いと考えられる。そのため、製膜中のポリマー溶液の厚さが減少し、生成した膜の厚さも減少したと推察される。NMP を溶媒として用いた 20% PHA 溶液から作製した膜の断面は (Fig. 2-1(d)) は DMF 溶液から作製した膜の断面と似た構造であった。Fig. 2-2 は Fig. 2-1 で示した PHA 膜の表面観察結果を示している。DMF を溶媒として用いた 10% PHA 溶液から作製した膜は多孔質であったが、他の膜は多孔性が低いか、非多孔性であった。

Table 2-1 は、4 種類のポリマー溶液から作製した PHA 膜の濾過抵抗および 0.3 μm ラテックスビーズの阻止率を示す。10%ポリマーDMF 溶液から作製した PHA 膜の濾過抵抗は最も低かったが、ラテックスビーズの阻止率は約 60%であった。約 2 μm の表面細孔 (Fig. 2-2(a)) と薄い分離層 (Fig. 2-1(a)) を有する多孔質表面層は、低濾過抵抗と阻止率の要因と考えられる。ポリマー濃度を 20%まで増加させると、阻止率は 99%まで上昇し、濾過抵抗は 3 倍に増加した。これらの要因は、膜表面の細孔径の減少によるものと考えられる (Fig. 2-2(b))。1,4-ジオキサンを溶媒として用いた 20% PHA 溶液から作製した PHA 膜の濾過抵抗は、膜厚の減少 (Fig. 2-1(c)) と非多孔質な膜表面構造 (Fig. 2-2(c)) の結果から、予想通り最も高かった。20%ポリマーNMP 溶液から作製した膜の濾過抵抗は、20%ポリマーDMF 溶液から作製した膜と比較して 14 倍高かった。2つの膜の断面構造は類似していた (Fig. 2-1(b)および Fig. 2-1(d))。しかしながら、NMP 溶液から作製した膜の表面 (Fig. 2-2(d)) は、DMF 溶液から作製した膜の表面 (Fig. 2-2(b)) よりも多孔度は低かった。

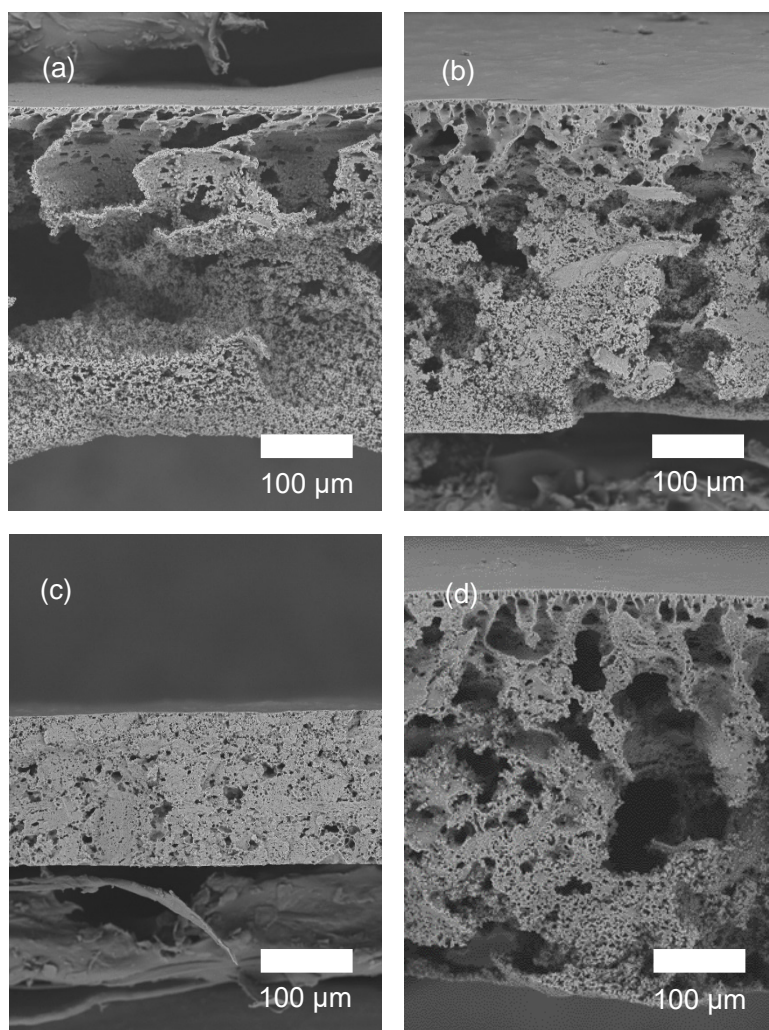


Fig. 2-1. Cross sections of the PHA membranes prepared from (a) 10% solution in DMF, (b) 20% solution in DMF, (c) 20% solution in 1,4-dioxane, and (d) 20% solution in NMP.

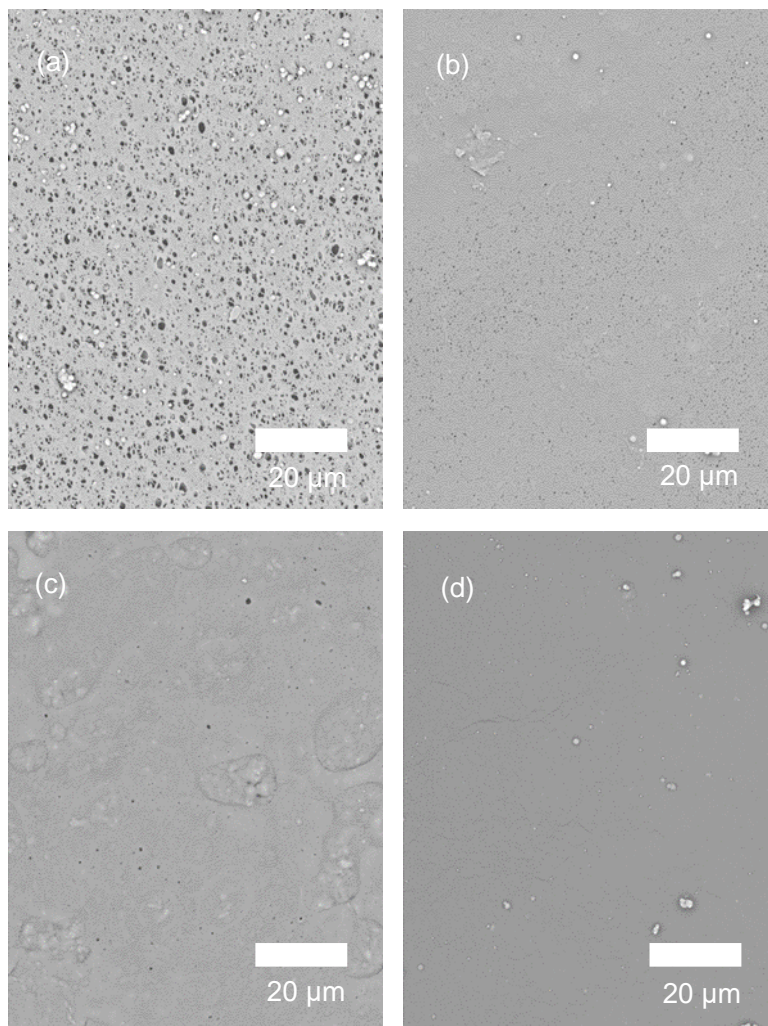


Fig. 2-2. Top surfaces of the PHA membranes prepared from (a) 10% solution in DMF, (b) 20% solution in DMF, (c) 20% solution in 1,4-dioxane, (d) and 20% solution in NMP.

Table 2-1 Membrane resistance and 0.3- μm particle retention of PHA membranes prepared from PHA solutions in different solvents.

Solvent	Polymer conc. [%]	Membrane resistance [m^{-1}]	Retention [%]
DMF	10	$(2.0 \pm 0.2) \times 10^9$	61.1 ± 9.9
1,4-Dioxane	10	_a)	_a)
NMP	10	_a)	_a)
DMSO	10	_a)	_a)
DMF	20	$(5.7 \pm 1.2) \times 10^9$	98.6 ± 0.3
1,4-Dioxane	20	$(7.3 \pm 2.1) \times 10^{13}$	_b)
NMP	20	$(7.8 \pm 3.6) \times 10^{10}$	84.4 ± 17.9
DMSO	20	_c)	_c)

a) No flat sheet membranes were formed after phase separation.

b) Filtration of latex suspensions could not be performed because of the high membrane resistance.

c) The polymer solution could not be cast on the mold because of its high viscosity.

近年、膜形成過程や作製した膜の性能に関して、用いる物質の分散力・極性・水素結合のそれぞれに関係付けられる3種類の溶解度パラメータを用いた考察が行われるようになってきている[27]。本研究で用いた市販品の PHA の組成は非開示であった。そこで代表的な PHA 類である PHB の溶解度パラメータを用いて PHB と溶媒・非溶媒の間の三次元的な距離を計算した[6] (Table 2-2)。寺田らは式(3)に示すハンセンの経験方程式を用いて PHB と各種溶媒間の溶解度パラメータの距離 $\ddot{u}R$ を計算している[28]。

$$\ddot{u}R = [4(i\delta_d - j\delta_d)^2 + (i\delta_p - j\delta_p)^2 + (i\delta_h - j\delta_h)^2]^{1/2} \quad (3)$$

ここで、 i と j はそれぞれ溶媒とポリマーを表す。 δ_d , δ_p , δ_h の値は順にファンデル

ワールスカ、極性、水素結合に関する溶解度パラメータである。Table 2-2 では溶媒の溶解度パラメータは参考文献[26]から引用したが、パラメータの 1 つに誤表記があったため、NMP と水のパラメータを追加して溶解度パラメータの距離を再計算している。

PHB と 4 種類の有機溶媒間の距離は 6.2–10.1 MPa^{0.5} であったが、膜構造と濾過特性は大きく異なっていた。PHB-DMF (6.6 MPa^{0.5}) と PHB-NMP (6.2 MPa^{0.5}) の距離は同程度であり、DMF と NMP の δ_d と δ_p の値は近い。このため、2 つの溶媒で作製された膜の断面構造が類似していたと考えられる。しかしながら、DMF の δ_h 値は PHB よりも高く、一方 NMP の値は PHB より低い。この違いがそれぞれの溶媒を用いて作製した膜の表面構造と濾過抵抗の違いの要因であると考えられた。濾過特性の点では DMF が 4 つの溶媒の中で最も良好な特性を示した。膜作製および膜特性に対する溶媒特性の影響を明らかにするためには NIPS 中のポリマー溶液の相分離および凝固挙動を含めた詳細な研究が必要と考えている。

Table 2-2 Solubility parameters and Hansen solubility parameter distances from PHB, δR

Polymer ^{a)} and solvents ^{b)}	δ [MPa ^{0.5}]	δ_d [MPa ^{0.5}]	δ_p [MPa ^{0.5}]	δ_h [MPa ^{0.5}]	δR [MPa ^{0.5}]
PHB	19.9	15.5	9.0	8.6	-
DMF	24.9	17.4	13.7	11.3	6.6
1,4-Dioxane	20.5	19.0	1.8	7.4	10.1
NMP	22.9	18.0	12.3	7.2	6.2
DMSO	26.6	18.4	16.4	10.2	9.5
Water	47.9	15.5	16.0	42.4	34.5

a) Ref. 28.

b) Ref. 26.

2.3.2 ポリマー濃度の影響

膜構造と濾過特性に対するポリマー濃度の影響を PHA の DMF 溶液を用いて詳細に検討した。Fig. 2-3 と Fig. 2-4 にはポリマー濃度 12-18% の DMF 溶液から作製した PHA 膜の断面構造と表面構造をそれぞれ示す。膜の断面構造は 10% および 20% のポリマー溶液 (Fig. 2-1(a) および 2-1(b)) から作製した膜と同様に上部に薄い緻密層を有する多孔質構造であった。

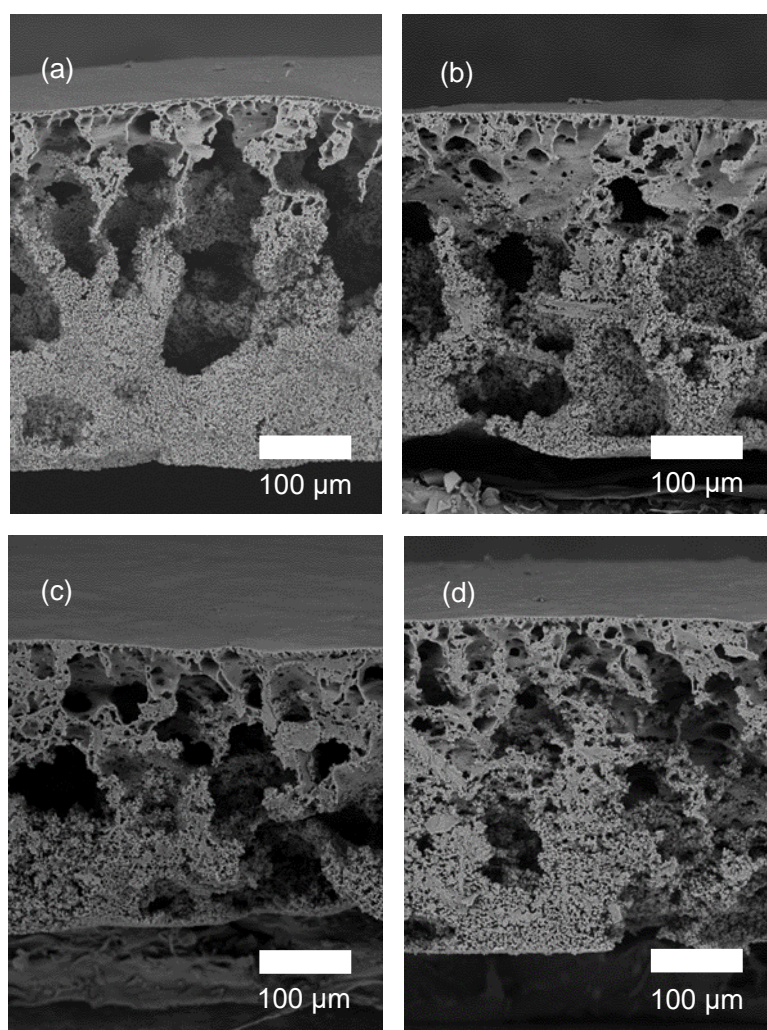


Fig. 2-3. Cross sections of the PHA membranes prepared from polymer solutions in DMF at polymer concentrations of (a) 12%, (b) 14%, (c) 16%, and (d) 18%. Casting temperature = 50 °C.

膜表面の細孔はポリマー濃度が上昇するにつれて小さくなった (Fig. 2-2(a), Fig. 2-4(a), Fig. 2-4(b), Fig. 2-2(b))。キャスト溶液中のポリマー濃度の増加に伴って作製した膜の細孔径が減少する例はよく知られている。たとえば、Betttahalli らは PLLA 中空糸膜の作製時にポリマー濃度を増加させると表面細孔径が減少することを示している[29]。NMP を溶媒として作製された PHBV 膜の表面細孔径もポリマー溶液中の PHBV 濃度を高めると減少することが報告されている[19]。

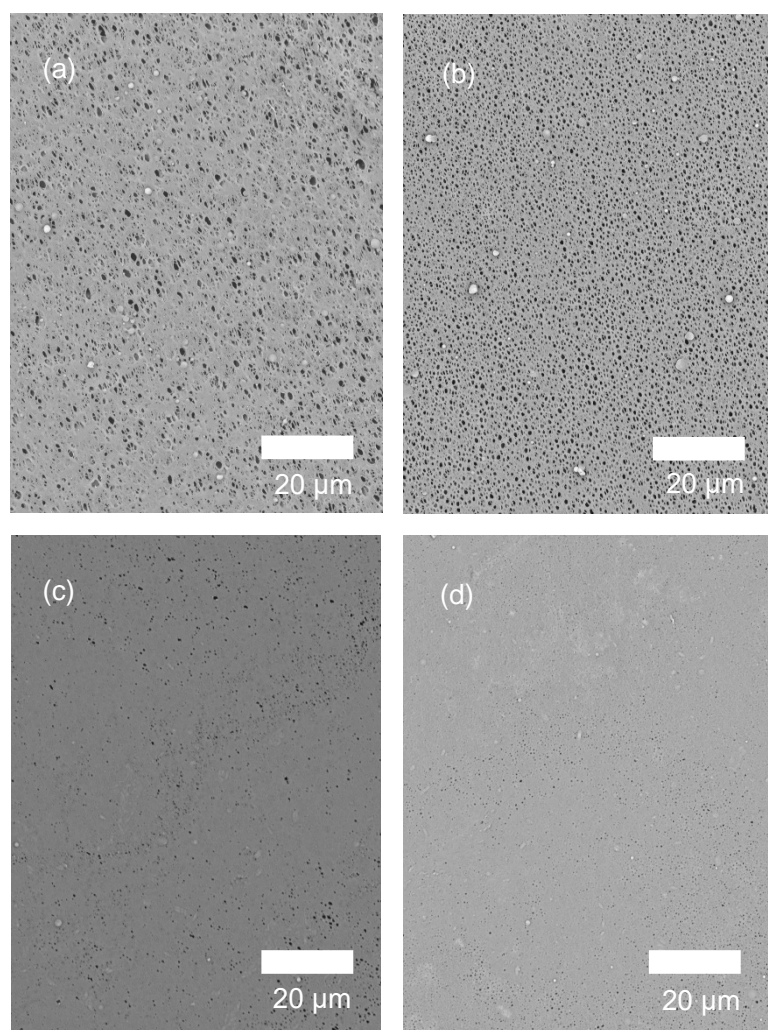


Fig. 2-4. Top surfaces of the PHA membranes prepared from polymer solutions in DMF at polymer concentrations of (a) 12%, (b) 14%, (c) 16%, and (d) 18%. Casting temperature = 50 °C.

細孔径の変化は膜の濾過特性に影響をおよぼした。濾過抵抗と 0.3 μm ラテックスビーズの阻止率はポリマー濃度の増加に伴い増加した (Fig. 2-5)。濃度 18% のポリマー溶液から作製した PHA 膜では濾過抵抗は $4.0 \times 10^9 \text{ m}^{-1}$ 、阻止率は 99% であった。

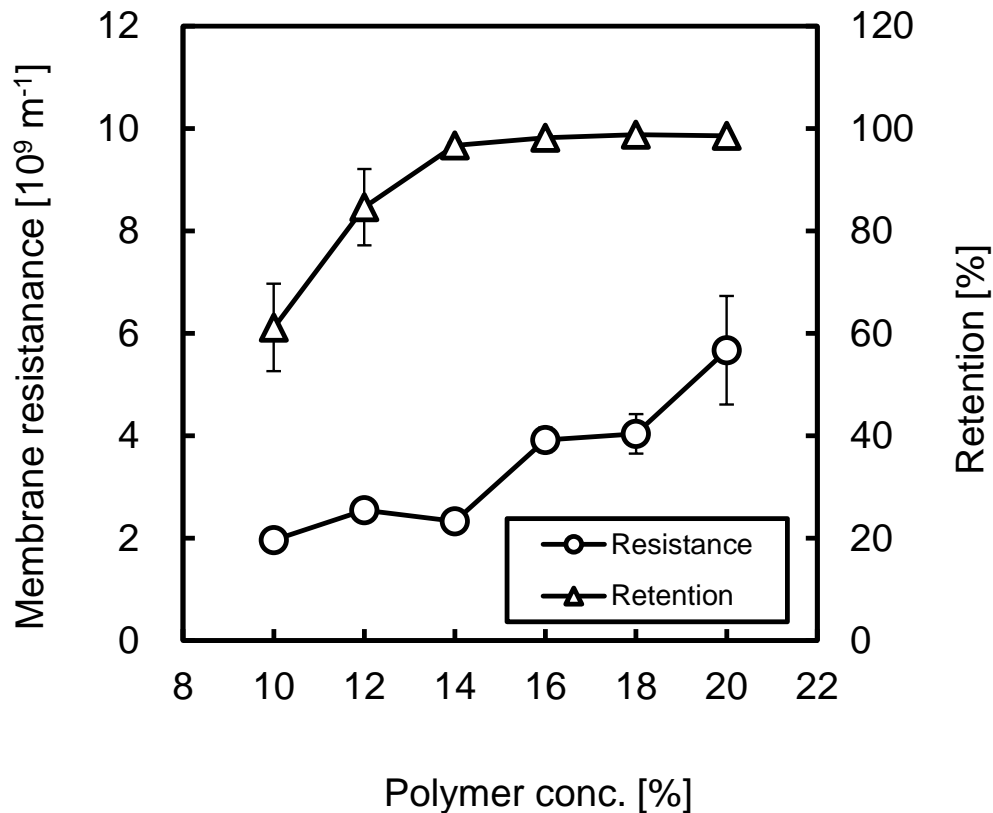


Fig. 2-5. Effect of polymer concentration on the membrane resistance and 0.3- μm particle retention of PHA membranes prepared from PHA solutions in DMF. Polymer concentrations: (a) 12%, (b) 14%, (c) 16%, and (d) 18%. Casting temperature 50 $^{\circ}\text{C}$.

2.3.3 製膜温度の影響

Fig. 2-6 はポリマー溶液を 40 $^{\circ}\text{C}$ および 60 $^{\circ}\text{C}$ で製膜した PHA 膜の断面構造を示す。両膜の構造は 50 $^{\circ}\text{C}$ で製膜した断面構造と似ていた (Fig. 2-3(d))。40 $^{\circ}\text{C}$ 、50 $^{\circ}\text{C}$ および 60 $^{\circ}\text{C}$ で作製した膜の表面形態は互いに似ていた (Fig. 2-7(a), Fig. 2-4(d), Fig. 2-7(b)) が、製膜温度の上昇に伴い、濾過抵抗は増加した (Fig. 2-8)。一方、製膜温度 60 $^{\circ}\text{C}$ で作製した膜の阻止率はわずかに低下した。製膜温度 60 $^{\circ}\text{C}$ で濾過抵抗が増加した要因

として2つの可能性が考えられる。1つは60℃で製膜した膜は全体の形態は50℃で製膜した膜と似ているが、最表層部分が緻密化した可能性である。高温では水を含むDMF中でのPHAの溶解度が増加するため、相分離が遅くなると考えられる。そのために製膜温度が高くなると最表層部分がより緻密化したと考えられる。もう1つの可能性はDMFの蒸発である。本研究におけるNIPSプロセスではポリマー溶液をキャスト後、ただちに水槽へ浸漬したが、浸漬までに約3秒が必要であった。DMFの蒸気圧は、25, 40, 50, 60℃でそれぞれ0.49, 1.356, 2.429, 4.044 kPaである[25, 30]。製膜温度が高い方が水へ浸漬の前の3秒間におけるDMFの蒸発量が多くなると考えられる。NIPS法による多孔質膜の作製においては相分離の前に部分的に溶媒を蒸発させる手法が用いられる場合がある(ドライウェット法)[31]。例えば、Koseoglu-ImerはNMPの蒸発(25–65℃, 60秒)がポリスルホン膜の特性および濾過性能に及ぼす影響を示した。細孔径、表面粗さ、透過性および膜の分画分子量値は蒸発温度の上昇に伴って著しく低下した。TIPS法でも相分離前の部分的な溶媒蒸発は孔径および透過性を減少させることが知られている[8, 33]。しかしながら、過剰な蒸発は粒子および高分子の阻止率を低下させることがある[8, 34]。本研究では意図的には溶媒のDMFを蒸発させていなかったが、60℃における阻止率の低下は膜表層の不均一な収縮とDMFが過剰に蒸発することによる細孔の部分的変形によるものであると考えられた[8]。以上の結果、PHA精密濾過膜の作製に最適な温度は50℃であった。

ここで、本研究で用いたDMFを溶媒とするPHA溶液を用いて製膜したPHA膜の構造の形成過程について、溶液の状態の温度変化とSEM観察により得られた膜の構造に基づいて考察する。調製した18%PHA溶液は85℃であってもわずかに濁っており、明確な曇点温度(相分離温度)を示さなかった。また、この溶液は25℃では固化したが40℃以上では固化しなかった。これらの結果より、キャストしたガラス板上でPHA溶液が25℃の水と接触したときに溶液の温度は低下したが、製膜温度(50℃)よりも少し低い温度(少なくとも40℃まで)ではNIPSが進行したと考えられる。続いて非溶媒と熱誘起相分離が同時に進行するようになり、緻密層と多孔質層を有する、NIPS法に特徴的な非対称膜構造が形成したと考えられる。

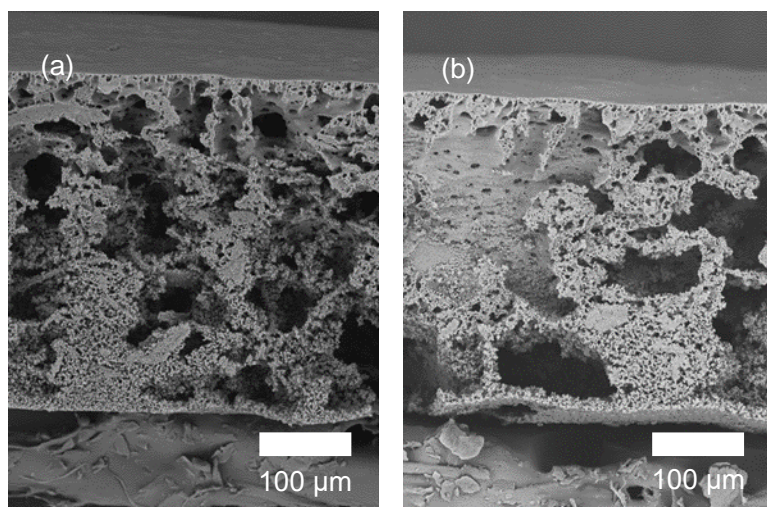


Fig. 2-6. Cross sections of the PHA membranes prepared from 18% PHA solutions in DMF at casting temperatures of (a) 40 °C and (b) 60 °C.

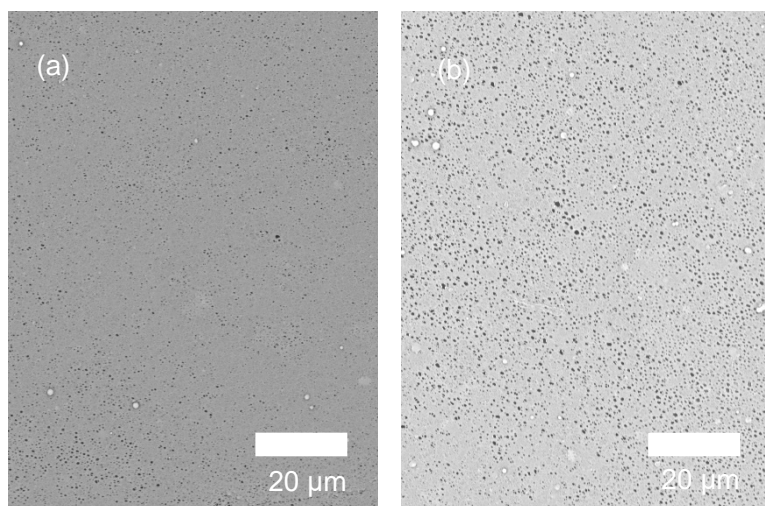


Fig. 2-7. Top surfaces of the PHA membranes prepared from 18% PHA solutions in DMF at casting temperatures of (a) 40 °C and (b) 60 °C.

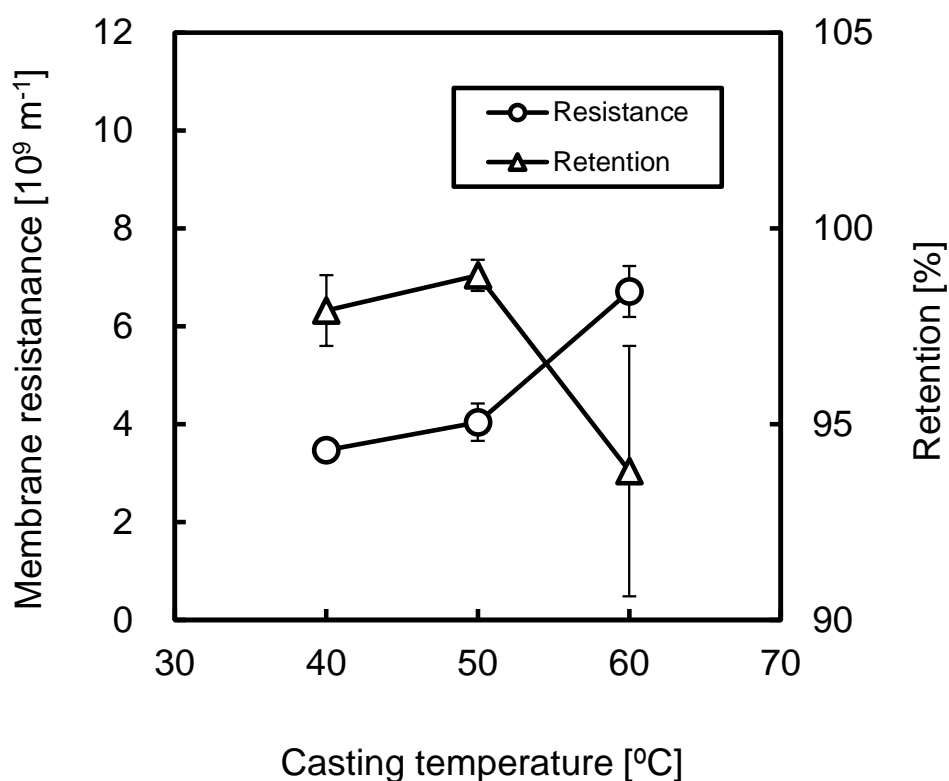


Fig. 2-8. Effect of casting temperature on the membrane resistance and 0.3- μm particle retention of PHA membranes prepared from 18% PHA solutions in DMF.

Table 2-3 では文献および本研究における PHA 製精密濾過膜の濾過特性を比較した。デキストラン 2,000,000 と大腸菌 *E.coli* 細胞の直径は製膜文献とは別の文献から得た [35, 36]。本研究で作製した膜の細孔径は既報の文献の細孔径と同程度であったが、濾過抵抗は最も低かった。すなわち、本研究では既報の膜と比較して性能の高い PHA 製精密濾過膜を開発することができた。

Table 2-3 Comparison of properties among microfiltration membranes of PHA prepared via phase separation methods

Phase separation method	Solvent/coagulation bath	Support	R_m [m^{-1}] (L_p , filtration temperature)	Pore size [μm] (measurement)	Ref.
60-s drying + NIPS	Chloroform/80% ethanol + 20% water	none	2.4×10^{12} ($3600 L m^{-2} d^{-1} atm^{-1}$, 20 °C)	0.054 ^{a)} (dextran 2000000 retention, 75%)	13
60-s drying + NIPS	Chloroform + tetrahydrofuran/80% ethanol + 20% water	none	5.5×10^{11} ($15800 L m^{-2} d^{-1} atm^{-1}$, 20 °C)	0.5 (SEM observation)	14
NIPS	NMP + ethylene glycol/water	nonwoven	7.8×10^{11} ($480 L m^{-2} h^{-1} bar^{-1}$, 22 °C)	0.64 (kaolin retention, 90%)	19
EIPS	Chloroform + PEG8000/none	none	1.8×10^{12} ($209.5 L m^{-2} d^{-1} bar^{-1}$, 22 °C)	0.8 ^{b)} (bacteria retention, 99.95%)	20
NIPS	DMF/water	none	4.0×10^9 ($1.01 \times 10^5 L m^{-2} h^{-1} bar^{-1}$, 25 °C)	0.3 (latex retention, 99%)	This study

a) Ref. 35.

b) Ref. 36.

2.3.4 PHA 膜の分解特性

生分解性 PHA 膜はコンポスト処理機で処理されることで、産業廃棄物の削減が期待される。PHA 膜の非酵素的な分解特性を引張試験により調べた。PHA はコンポスト

ト処理装置内や自然環境において微生物によって生分解されることが知られている。PHA は脂肪族ポリエステルであるため、コンポスト処理装置内の約 60 °Cにおいて非酵素的な分解も進行すると考えられる。Fig. 2-9 はインキュベート前後の PHA 膜の応力-ひずみ曲線の例を示している。曲線における初期の傾き（ヤング率）は、いずれのインキュベート条件でも同程度であった。一方、膜の破断伸びと引張強度は湿潤条件下で 60 °C で 3 日間インキュベートするとインキュベート前の半分に減少した。60 °C の場合と比較すると 25 °C で 3 日間インキュベートした条件での破断伸びの減少度はわずかであった。PHA 膜は PLA 膜[9]よりも延性が低かったが、破断ひずみの減少傾向は似ていた。60 °C で 3 日放置後の PHA 膜の破断ひずみは統計的に有意に低かった ($n=4, p<0.05$, Fig. 2-10。分解の進行を破断ひずみの低下で評価するため、片側検定を行った)。以上の結果から、本研究で開発した PHA 膜は 25 °C で濾過に使用可能であり、使用後には 60 °C のコンポスト処理装置により分解可能であることが示された。

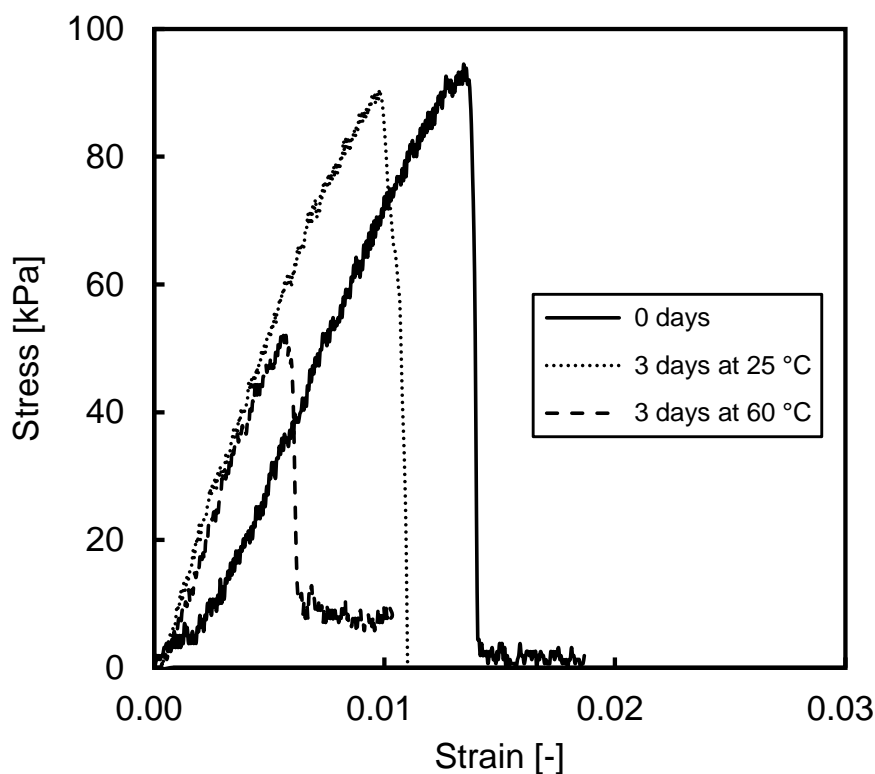


Fig. 2-9. Typical stress–strain curves in tensile testing of PHA membranes prepared from 18% PHA solutions in DMF at the casting temperature of 50 °C.

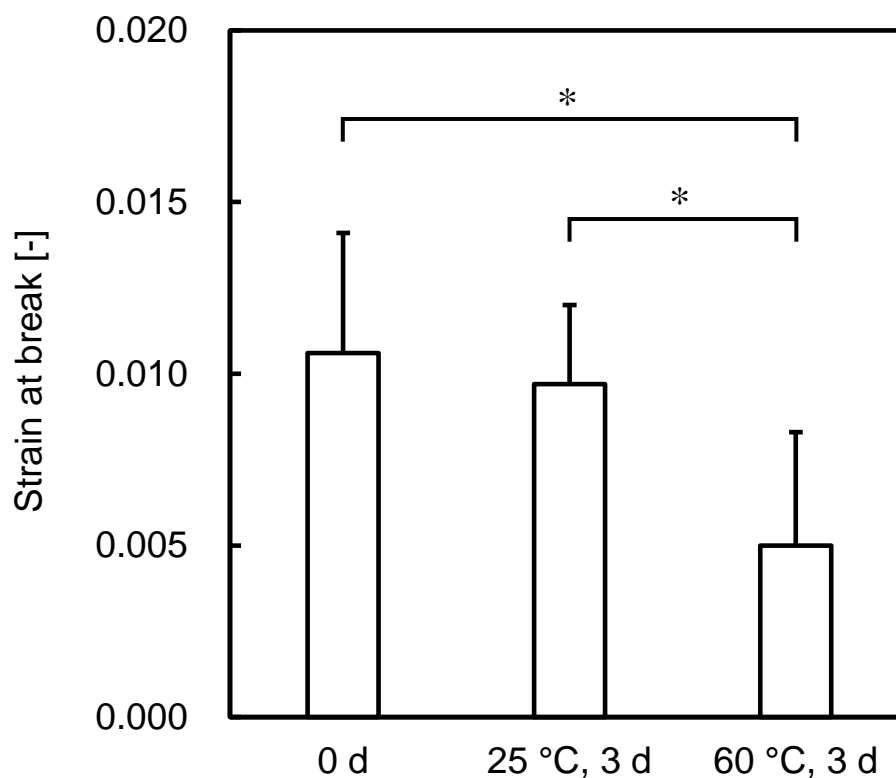


Fig. 2-10. Change in strain at break of PHA membranes prepared from 18% PHA solutions in DMF at casting temperatures of 25 °C and 60 °C in wet conditions. (*: $p < 0.05$)

2.4 結言

バイオマスから製造された市販品の生分解性ポリマーPHA製精密濾過膜をNIPS法によって開発した。検討の結果、DMFは膜の作製に最適な溶媒であることを明らかにした。次に、ポリマー濃度は細孔径を制御するための重要なパラメータであることがわかった。また、製膜温度は、細孔径と低濾過抵抗に関与する重要な因子であることを明らかにした。PHA製精密濾過膜はコンポスト処理機の処理温度60 °Cで分解可能であり、25 °Cでは安定であった。PHA製膜は、食品分野や生化学産業において、精密濾過プロセスに応用可能であり、これらの分野で実液によるさらなる検討を進めることで、環境に配慮した膜濾過プロセスの実現が期待される。生分解性バイオマスプラスチック製の膜は濾過プロセスにおける持続可能な社会実現の目標達成へ貢献することが期待される。

引用文献

- [1] R. van Reis, A. Zydney; "Bioprocess membrane technology," *J. Membr. Sci.*, 297, 16–50 (2007).
- [2] G.R. Bolton, D. LaCasse, M.J. Lazzara, R. Kuriyel; "The fiber-coating model of biopharmaceutical depth filtration," *AIChE J.*, 51, 2978–2987 (2005).
- [3] E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, V. Alvarez; "Polyhydroxyalkanoate (PHA): review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging," *Express Polym. Lett.*, 8, 791–808 (2014).
- [4] J.M.G. Alcântara, F. Distanto, G. Storti, D. Moscatelli, M. Morbidelli, M. Sponchioni; "Current trends in the production of biodegradable bioplastics: the case of polyhydroxyalkanoates," *Biotechnol. Adv.*, 42, 107582 (2020)
- [5] D.H. Vu, D. Åkesson, M.J. Taherzadeh, J.A. Ferreira; "Recycling strategies for polyhydroxyalkanoate-based waste materials: an overview," *Biores. Technol.*, 298, 122393 (2020)
- [6] F. Galiano, K. Briceño, T. Marino, A. Molino, K. V. Christensen, A. Figoli; "Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications," *J. Membr. Sci.*, 564, 562–586 (2018).
- [7] T. Tanaka, D.R. Lloyd; "Formation of poly (L-lactic acid) microfiltration membranes via thermally induced phase separation." *J. Membr. Sci.*, 238, 65–73 (2004).
- [8] T. Tanaka, M. Ueno, Y. Watanabe, T. Kouya, M. Taniguchi, D.R. Lloyd; "Poly(L-lactic acid) microfiltration membrane formation via thermally induced phase separation with drying," *J. Chem. Eng. Jpn.*, 44, 467–475 (2011).
- [9] H. Minbu, A. Ochiai, T. Kawase, M. Taniguchi, D.R. Lloyd, T. Tanaka; "Preparation of poly (L-lactic acid) microfiltration membranes by a nonsolvent-induced phase separation method with the aid of surfactants," *J. Membr. Sci.*, 479, 85–94 (2015).
- [10] H. Minbu, H. Mizuno, Y. Shibuya, A. Ochiai, M. Taniguchi, T. Tanaka; "Poly(L-lactic acid) depth filter membrane prepared by nonsolvent-induced phase separation with the aid

- of a nonionic surfactant," *J. Chem. Eng. Jpn.*, 52, 75–82 (2019).
- [11] T. Moriya, Y. Ohmukai, T. Satani, H. Matsuyama; "Preparation of poly(lactic acid) hollow fiber membranes via phase separation methods," *J. Membr. Sci.*, 342, 307–312 (2009).
- [12] A. Gao, F. Liu, H. Shi, L. Xue; "Controllable transition from finger-like pores to interconnected pores of PLLA membranes," *J. Membr. Sci.*, 478, 96–104 (2015)
- [13] A. Mas, H. Jaaba, J. Sledz, F. Schue; "Membranes en polyhydroxybutyrate et poly(hydroxybutyrate-*co*-hydroxyvalerate) pour la microfiltration: Influence du non-solvant sur les propriétés hydrodynamiques," *Eur. Polym. J.*, 32, 427–433 (1996)
- [14] A. Mas, H. Jaaba, J. Sledz, F. Schue; "Membranes en PHB, P(HB-*co*-9% HV), P(HB-*co*-22% HV) pour la microfiltration ou la pervaporation propriétés filtrantes et état de surface," *Eur. Polym. J.*, 32, 435–450 (1996)
- [15] Z.W. Dai, X.H. Zou, G.Q. Chen; "Poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyhexanoate) as an injectable implant system for prevention of post-surgical tissue adhesion," *Biomaterials*, 30, 3075–3083 (2009)
- [16] A. Marcano, N. Bou Haidar, S. Marais, J.-M. Valleton, A.C. Duncan; " "Designing biodegradable PHA-based 3D scaffolds with antibiofilm properties for wound dressings: optimization of the microstructure/nanostructure," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 3, 3654–3661 (2017)
- [17] R.T.H. Chan, H. Marc, T. Ahmed, R.A. Russell, J. Holden, L.J.R. Foster, "Poly (ethylene glycol) -modulated cellular biocompatibility of polyhydroxyalkanoate films," *Polym. Int.*, 62, 884–892 (2013)
- [18] A.A. Kehail, C.J. Brigham, "Anti-biofilm activity of solvent-cast and electrospun polyhydroxyalkanoate membranes treated with lysozyme," *J. Polym. Environ.*, 26, 66–72 (2017)
- [19] P. Tomietto, M. Carré, P. Loulergue, L. Paugam, J.L. Audic; "Polyhydroxyalkanoate (PHA) based microfiltration membranes: tailoring the structure by the non-solvent induced phase separation (NIPS) process," *Polymer*, 204, 122813 (2020)
- [20] P. Tomietto, P. Loulergue, L. Paugam, J.L. Audic; "Biobased polyhydroxyalkanoate

- (PHA) membranes: structure/performances relationship," *Sep. Purif. Technol.*, 252, 117419 (2020)
- [21] T. Tanaka, T. Nishimoto, K. Tsukamoto, M. Yoshida, T. Kouya, M. Taniguchi, D.R. Lloyd; "Formation of depth filter microfiltration membranes of poly(L-lactic acid) via phase separation," *J. Membr. Sci.*, 396, 101–109 (2012)
- [22] A. Turchetto, A. Casaro; "Gel-sol transition of poly(3-hydroxybutyrate) in dimerhylformamide," *Thermochim. Acta*, 269/270, 307–317 (1995)
- [23] B. Sobieski, L. Gong, S.R. Aubuchon, I. Noda, D.B. Chase, J.F. Rabolt; "Thermally reversible physical gels of poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate-*co*-(*R*)-3-hydroxyhexanoate]; part 1 gelation in dimethylformamide," *Polymer*, 131, 217–223 (2017)
- [24] W.M. Haynes (Eds.), *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 93rd ed., p. 6-1, CRC Press, Boca Ration, (2012)
- [25] J.A. Riddick, W.B. Bunger, T.K. Sakano; "Organic solvents, 4th ed.," John Wily & Sons, New York, (1986).
- [26] J. Brandup, E.H. Immergut, E.A. Grulke, eds.; *Polymer handbook 4th Ed.*, Wiley, (1999).
- [27] G.R. Guillen, Y. Pan, M. Li, E.M.V. Hoek; "Preparation and characterization of membranes formed by nonsolvent induced phase separation: a review," *Ind. Eng. Chem. Res.*, 50, 3798–3817 (2011)
- [28] M. Terada, R.H. Marchessault; "Determination of solubility parameters for poly(3 hydroxyalkanoates)," *Int. J. Biol. Macromol.*, 25, 207–215 (1999)
- [29] Bettahalli, N.M.S., H. Steg, M. Wessling, D. Stamatialis; "Development of poly(L-lactic acid) hollow fiber membranes for artificial vasculature in tissue scaffolds," *J. Membr. Sci.*, 371, 177–128 (2011)
- [30] X. Cui, G. Chen, X. Han; "Experimental vapor pressure data and a vapor pressure equation for *N,N*-dimethylformamide," *J. Chem. Eng. Data*, 51, 1860–1861 (2006)
- [31] D. Wang, J. Lai; "Recent advances in preparation and morphology control of polymeric membranes formed by nonsolvent induced phase separation," *Curr. Opin. Chem. Eng.*, 2, 229–237 (2013)

- [32] D.Y. Koseoglu-Imer; "The determination of performances of polysulfone (PS) ultrafiltration membranes fabricated at different evaporation temperatures for the pretreatment of textile wastewater," *Desalination*, 316, 110–119 (2013)
- [33] H. Matsuyama, M. Yuasa, Y. Kitamura, M. Teramoto, D.R Lloyd; "Structure control of anisotropic and asymmetric polypropylene membrane prepared by thermally induced phase separation," *J. Membr. Sci.*, 179, 91–100 (2000)
- [34] L. Gao, B. Tang, P. Wu; "An experimental investigation of evaporation time and the relative humidity on a novel positively charged ultrafiltration membrane via dry–wet phase inversion," *J. Membr. Sci.*, 326, 168–177 (2009)
- [35] J.K. Armstrong, R.B. Wenby, H.J. Meiselman, T.C. Fisher; "The hydrodynamic radii of macromolecules and their effect on red blood cell aggregation," *Biophys. J.*, 87, 4259–4270 (2004)
- [36] H.C. Berg; "*E. coli* in motion," p. 1, Springer-Verlag, New York, 2004
- [37] M.M. Smith, J.D. Aber; "Energy recovery from commercial-scale composting as a novel waste management strategy," *Appl. Energy*, 211, 194–199 (2018)

第3章 結論

過去 50 年間で世界のプラスチック生産量は 20 倍以上に急増し、今後もさらに増加すると予測されている。一方で、世界的な人口増加による消費、需要の増加にともないプラスチック廃棄物は増加している。近年ではプラスチックゴミの海洋への流出による海洋プラスチックが問題となっている。海洋プラスチックによる海洋汚染防止は SDGs の解決すべき課題にもなっており、防止に向け世界的に取り組んでいかなければならない。さらに、プラスチックの原料となる石油は限りのある資源である。石油消費によって排出される CO₂ 排出量の増加は地球温暖化の原因になり、CO₂ 排出抑制も取り組む必要がある。

プラスチック廃棄物の削減、CO₂ 排出抑制の観点から、バイオプラスチックや生分解性プラスチックを使用することでプラスチック廃棄物の削減、石油資源の節約さらに CO₂ 排出を抑制し、持続可能な社会実現に貢献することが期待される。

ポリヒドロキシアルカノエート (PHA) は微生物細胞内で合成されるポリエステルであり、様々な環境で優れた生分解性をもつ生分解性バイオマスプラスチックであり注目されている。

膜分離技術は、水処理分野、バイオプロセス分野、食品工業分野で使用されており分離膜の多くは石油由来の合成プラスチックが使用されている。バイオプロセス分野や食品工業分野では使用されている分離膜は、プラスチック廃棄物として処理される (Fig. 3-1)。

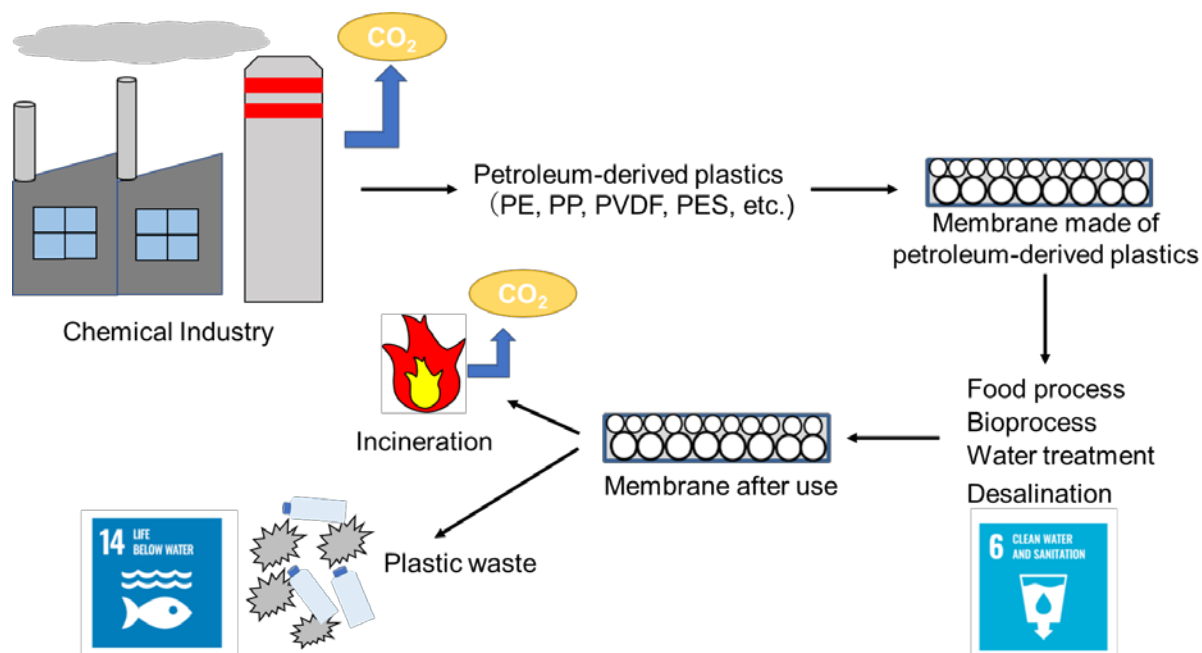


Fig. 3-1 Life cycle of petroleum-derived plastic membrane

本研究では、生分解性バイオマスプラスチックの PHA に着目し、相分離法により PHA 製多孔質膜を作製し、精密濾過膜へ応用することを目的とした。PHA 製分離膜の研究事例は少なく、優れた生分解特性をもつ PHA 製の分離膜を作製できれば、バイオプロセス分野や食品工業分野において、コンポスト処理機による使用後の分離膜の処理が可能となり、プラスチック廃棄物の削減につながり、環境に配慮した濾過プロセスの実現を期待できる。

本研究の結果、PHA 製精密濾過膜を NIPS 法によって開発した。検討の結果、DMF は膜の作製に最適な溶媒であることを明らかにした。また、ポリマー濃度は膜の細孔径を制御するための重要なパラメータであることがわかった。さらに、製膜温度は膜の細孔径と低濾過抵抗に関与する重要な因子であることを見出した。開発した PHA 製精密濾過膜は先行研究と比較し濾過抵抗が低く、 $0.3\ \mu\text{m}$ の粒子を 99% 阻止可能であり、優れた濾過特性を有していた。さらに作製した PHA 製精密濾過膜は $25\ ^\circ\text{C}$ においては安定的に使用でき、コンポスト処理機の処理温度 $60\ ^\circ\text{C}$ で分解可能であった。

本研究で作製した PHA 製膜をバイオプロセス分野や食品工業分野へ応用することで、環境に配慮した濾過プロセスの実現が期待される。すなわち、PHA はバイオマスを原料とし、微生物細胞内で合成される。バイオプロセス分野や食品工業分野で使用

された PHA 製精密濾過膜は、コンポスト処理機で分解処理される。

PHA 製精密濾過膜の分解により発生した CO₂ は植物により、炭素固定され、バイオマスの原料となる (Fig. 3-2)。石油資源の消費節約、プラスチック廃棄物の削減、CO₂ 排出抑制を期待でき、環境循環型の膜濾過プロセスの実現が期待される。

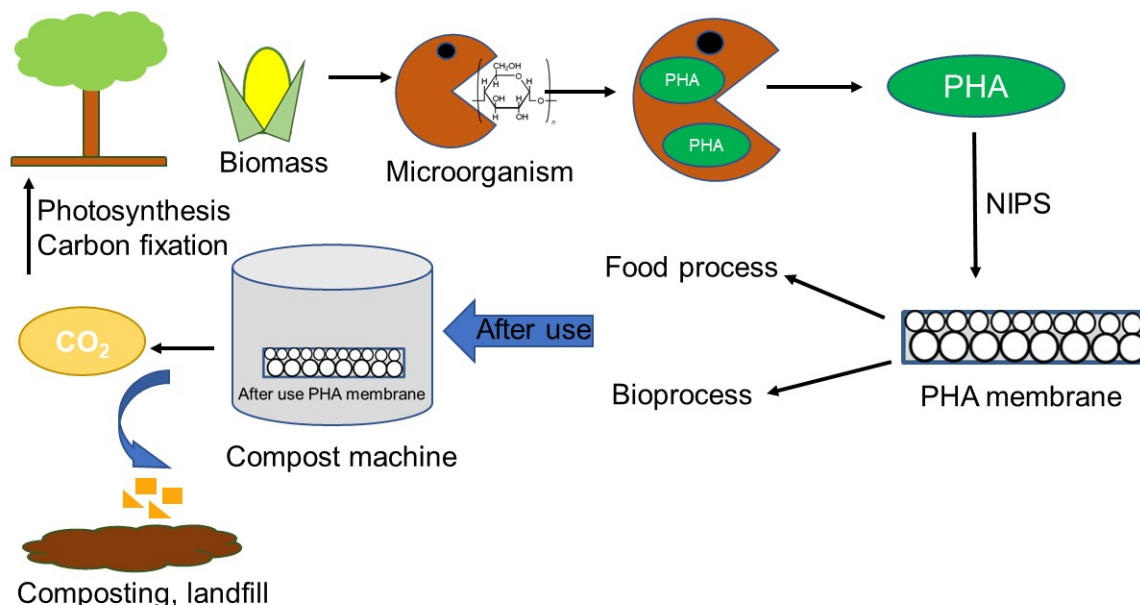


Fig. 3-2 The schematic of PHA membrane life cycle.

本研究では、最適な溶媒として DMF を使用したが、DMF 以外の環境に考慮したバイオ由来の溶媒を使用し、NIPS 法による製膜を検討することで、さらなる環境負荷低減を期待できる。また、バイオプロセス分野で使用されているシングルユース分離膜の多くは使用前にガンマ線やエチレンオキサイド処理等の滅菌処理がされており、バイオプロセス分野へ適用した場合、常温下での PHA 製精密濾過膜への滅菌処理が想定される。耐熱性やガンマ線滅菌耐性が求められ、物性の向上が必要である。

膜の物性改善には、無機粒子との複合化や PHA と同じバイオマスを原料としたセルロースとの複合化が考えられる。物性改善により、PHA の特徴である優れた生分解特性を持ち、耐熱性や耐滅菌性を有し、より応用に適した PHA 製精密濾過膜の創出が期待される。

研究発表

査読付き論文

- [1] Kazuyoshi Tabata, Toshiki Shibuya, Kousuke Karakida, Akihito Ochiai, Masayuki Taniguchi, and Takaaki Tanaka, "Preparation of polyhydroxyalkanoate microfiltration membranes via nonsolvent-induced phase separation methods," MEMBRANE, 45(6), 315–323 (2020)

国際会議発表

- [1] Toshiki Shibuya, Kazuyoshi Tabata, Akihito Ochiai, Masayuki Taniguchi, and Takaaki Tanaka, "Preparation of polyhydroxyalkanoate microfiltration membranes via phase separation methods," The 18th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress (APCChE 2019), PL311, Sapporo, 2019 年 9 月

国内学会発表

- [1] 田畑一巖、渋谷俊輝、落合秋人、谷口正之、田中孝明、"相分離法を用いたポリヒドロキシアルカノエート膜の作製"、日本膜学会第 41 年会、P-24、東京、2019 年 5 月
- [2] 田畑一巖、渋谷俊輝、柄木田航介、落合秋人、谷口正之、田中孝明、"ポリヒドロキシアルカノエート製精密濾過膜の作製"、日本膜学会第 42 年会、P-8、東京、2020 年 5 月

謝辞

本研究に対してご懇篤なご指導をいただきました新潟大学工学部教授 田中孝明先生に厚くお礼申し上げます。また、学位論文をまとめるにあたり、適切なお意見をいただきました同教授 山内健先生、同教授 木村勇雄先生、同准教授 大木基史先生、ならびに同准教授 落合秋人先生に感謝いたします。

三菱ガス化学株式会社ならびに協和キリン株式会社には、新潟大学大学院自然科学研究科にて社会人博士後期課程学生として学ぶにあたり、多くのご配慮をいただき、感謝しております。

最後に、一緒に実験と解析を進めていただいた田中研究室大学院生 渋谷俊輝氏、ならびに柄木田航介氏にお礼申し上げます。