

微生物を利用したバイオベースポリマーの一気通貫生産

京都工芸繊維大学繊維学系の麻生祐司教授らは、微生物を利用して環境調和型高分子材料となるバイオベースポリマー^(用語1)を一気通貫生産する技術を開発しました(図1)。フラスコを用いて好気下で糸状菌 *Aspergillus terreus* を培養してグルコースからイタコン酸^(用語2)(図2)を発酵生産しました。その途中で培養液に有機溶媒を添加してイタコン酸を有機溶媒層に抽出しました。発酵生産後、フラスコを密栓することで *A. terreus* の呼吸により培養系内の酸素を除去しました。そして、有機溶媒層に重合開始剤を添加してイタコン酸を重合させてポリイタコン酸を合成しました。本研究は、培養液からポリマー原料(モノマー)を単離することなく同一培養系内で重合させた初めての報告であり、バイオマスプラスチック^(用語3)生産の簡便化に寄与することが期待されます。

本研究成果は、2025年3月11日付けで「Bioprocess and Biosystems Engineering」(Springer Nature, Impact factor = 3.5)のオンライン版に掲載されました。

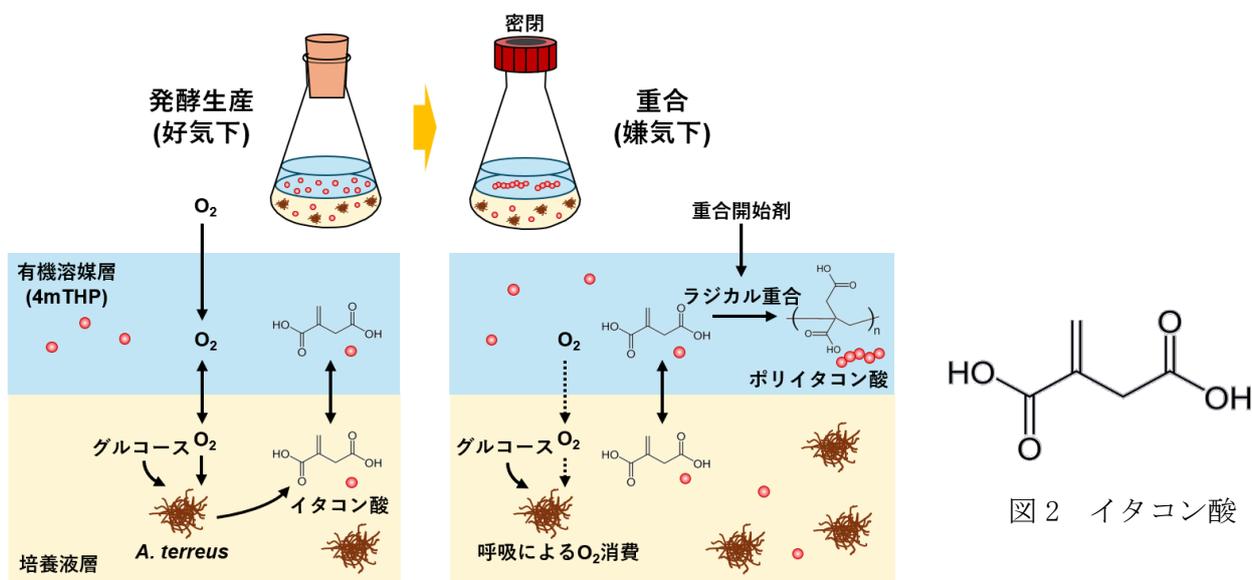


図1 本研究の概要

ポイント

- ◆ポリマー原料(モノマー)を発酵生産後、同一培養系内で重合してポリマーを作ることになりました。
- ◆培養液からモノマーを単離する工程が不要、また、微生物の呼吸を利用してモノマーの重合を促進するという点で従来の技術と異なります。
- ◆本技術はバイオマスプラスチック生産の簡便化に寄与します。

研究の背景

バイオマスプラスチックは生物資源から作られる環境に優しい高分子材料です。その原料であるモノマーは微生物を用いて発酵生産することができます。一方、培養液には培地成分や微生物の代

謝物などの夾雑物が含まれるため、培養液からモノマーを単離する工程が不可欠です。しかし、モノマーの単離工程はバイオマスプラスチック製造時の主な二酸化炭素生成源の一つとなっており、環境負荷の要因となっています。例えば、汎用バイオマスプラスチックのポリ乳酸の製造では二酸化炭素生成の1/4がモノマーの単離工程に起因するという報告もあります。したがって、モノマーの単離工程を省略し同一培養系内でモノマーを重合できれば二酸化炭素の生成を削減でき、環境調和型プロセスを実現できると考えられます。しかし、前述のように培養液には夾雑物が含まれているため、そのような環境はモノマーの重合反応に適しません。その克服には、①重合を制御できるモノマーを発酵生産する、②モノマーを培養系内で濃縮する、③重合反応を制御することがポイントとなります。

そこで、発表者らはラジカル重合^(用語4)により重合できるイタコン酸を有機溶媒存在下で発酵して有機溶媒層に濃縮するとともに培養液に含まれる夾雑物を部分的に取り除いた後、ラジカル重合を阻害する酸素をイタコン酸生産菌の呼吸によって除去することでイタコン酸の重合を促進しポリイタコン酸を合成するという技術を着想しました。

研究内容

はじめに、糸状菌 *Aspergillus terreus* を好気下で培養してグルコースからビニリデンモノマーであるイタコン酸を発酵生産しました。培養液を窒素雰囲気下で重合反応に供してもイタコン酸は重合しなかったことから、培養液に含まれる夾雑物がラジカル重合を阻害することがわかりました。そこで、培養液に含まれるイタコン酸を有機溶媒である 4-メチルテトラヒドロピラン(4mTHP)で抽出して再度重合したところ、重合反応の進行がある程度確認されました。したがって、4mTHP による抽出により培養液に含まれる夾雑物を部分的ではありますが除去できることがわかりました。

また、4mTHP を溶媒、2,2'-アゾビス(4-メトキシ-2,4-ジメチルバレロニトリル)を重合開始剤として、400 mM イタコン酸を窒素雰囲気下で 72 時間重合した結果、イタコン酸の転化率は 11.5%、合成されたポリイタコン酸の重量平均分子量(Mw)は 79.8×10^3 g/mol、分子量分布(MWD)は 1.26 となったことから、イタコン酸の重合に 4mTHP を溶媒として利用できることがわかりました。フラスコを用いて好気下で *A. terreus* を培養後、4 日目の培養液に 4mTHP を添加して合わせて 8 日間培養した結果、180 g/L のグルコースから 67.9 g/L (522mM) のイタコン酸が有機溶媒層に抽出されました。このとき、添加した 4mTHP は *A. terreus* のグルコース消費と呼吸に影響を与えませんでした。

次に、ブチルゴム栓を用いて培養後のフラスコを 1 日間密栓することで培養系内の酸素を *A. terreus* の呼吸により除去できることを酸化還元指示薬であるレサズリンを用いた呈色試験(紫色→無色に変化)により明らかにしました(図3)。

最終的に、イタコン酸の発酵生産から重合までの一連の操作を連続して行うことで同じフラスコ内でグルコースからポリイタコン酸を合成しました。その結果、47.1 g/L (362mM) のイタコン酸が発酵生産でき、重合によりイタコン酸の転化率は 13.8%、Mw は 9.1×10^3 g/mol、MWD は 1.24 となりポリイタコン酸が合成できたことを確認しました(図4)。



図3 レサズリンを用いた *A. terreus* による培養系内からの酸素除去の確認
(1 日間密栓後にレサズリンが紫色から無色になり培地の色(薄い黄土色)に変化)

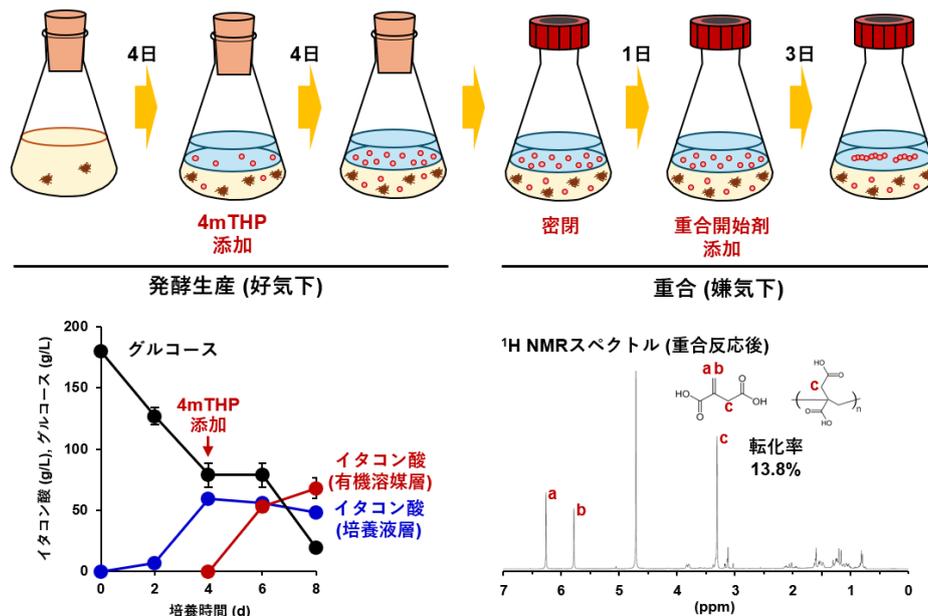


図4 同じフラスコ内でのグルコースからのポリイタコン酸の一気通貫生産

今後の展開

バイオマスプラスチックの生産においては、モノマーの発酵生産と重合反応は異なる工程として完全に切り分けられてきました。そのため、モノマーの単離工程が必須となり、バイオマスプラスチック製造時の主な二酸化炭素生成源となっていました。本研究はポリマーの生産性などに課題はあるものの、従来必要とされてきたモノマーの単離工程を省略するという誰も試みたことのない独創的な試みであり、バイオマスプラスチック製造のゲームチェンジングテクノロジーとなることを目指しています。また、発酵工学と高分子化学を融合させることで発酵技術のポテンシャルを向上させるとともに、二酸化炭素生成を削減し SDGs に貢献する挑戦的な試みです。得られた研究成果を基に「抽出発酵重合」という新しいポリマー合成技術の確立に取り組んでいきます。

謝辞

本研究は公益財団法人発酵研究所 一般研究助成 (G-2024-3-037) の支援を受けて実施されました。

用語解説

1. バイオベースポリマー

植物や動物などの生物由来の再生可能資源であるバイオマスから作られるポリマーのこと。

2. イタコン酸

プラスチックのほか、接着剤や塗料など種々の化学製品の原料として利用される化合物。ビニリデン基を有しラジカル重合により重合できるためビニリデンモノマーに分類できる。*A. terreus* を用いて工業的に発酵生産されており、バイオマスから得られる再生可能な工業原料として注目されている。今後、世界的な需要拡大が見込まれている。

3. バイオマスプラスチック

バイオマスから作られるプラスチックのこと。

4. ラジカル重合

反応性の高いラジカルを活性種とする連鎖反応により進行する重合のこと。多くの場合、開始剤によりラジカルを発生させて重合を開始させる。重合は、開始、生長、停止、連鎖移動の四つの素反応から成り立つ。一般に酸素は活性種と反応するため重合を阻害する。

論文情報

- ・ 雑誌名 : Bioprocess and Biosystems Engineering (Springer Nature)
- ・ 論文タイトル : A tandem conversion process for the synthesis of polyitaconic acid from glucose in the *Aspergillus terreus* culture
- ・ 著者 : 木下郁心、田中知成、麻生祐司
- ・ DOI 番号 : 10.1007/s00449-025-03139-z
- ・ 論文 URL : <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-025-03139-z>
- ・ オンライン掲載日 : 2025 年 3 月 11 日