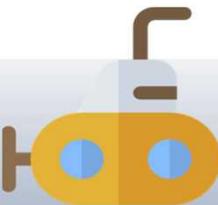
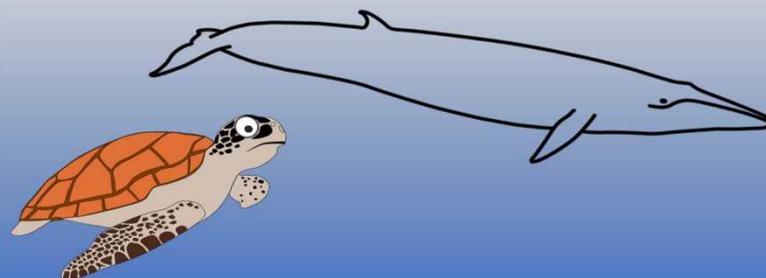
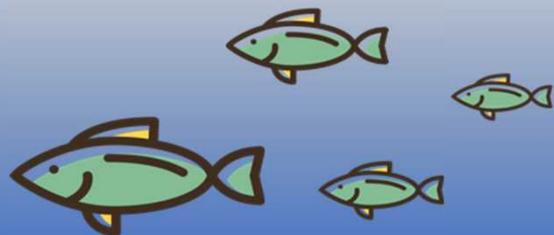
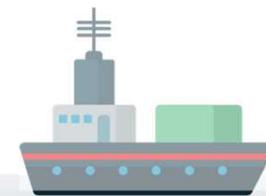


生分解開始スイッチ機能を有する海洋分解性 プラスチックの研究開発

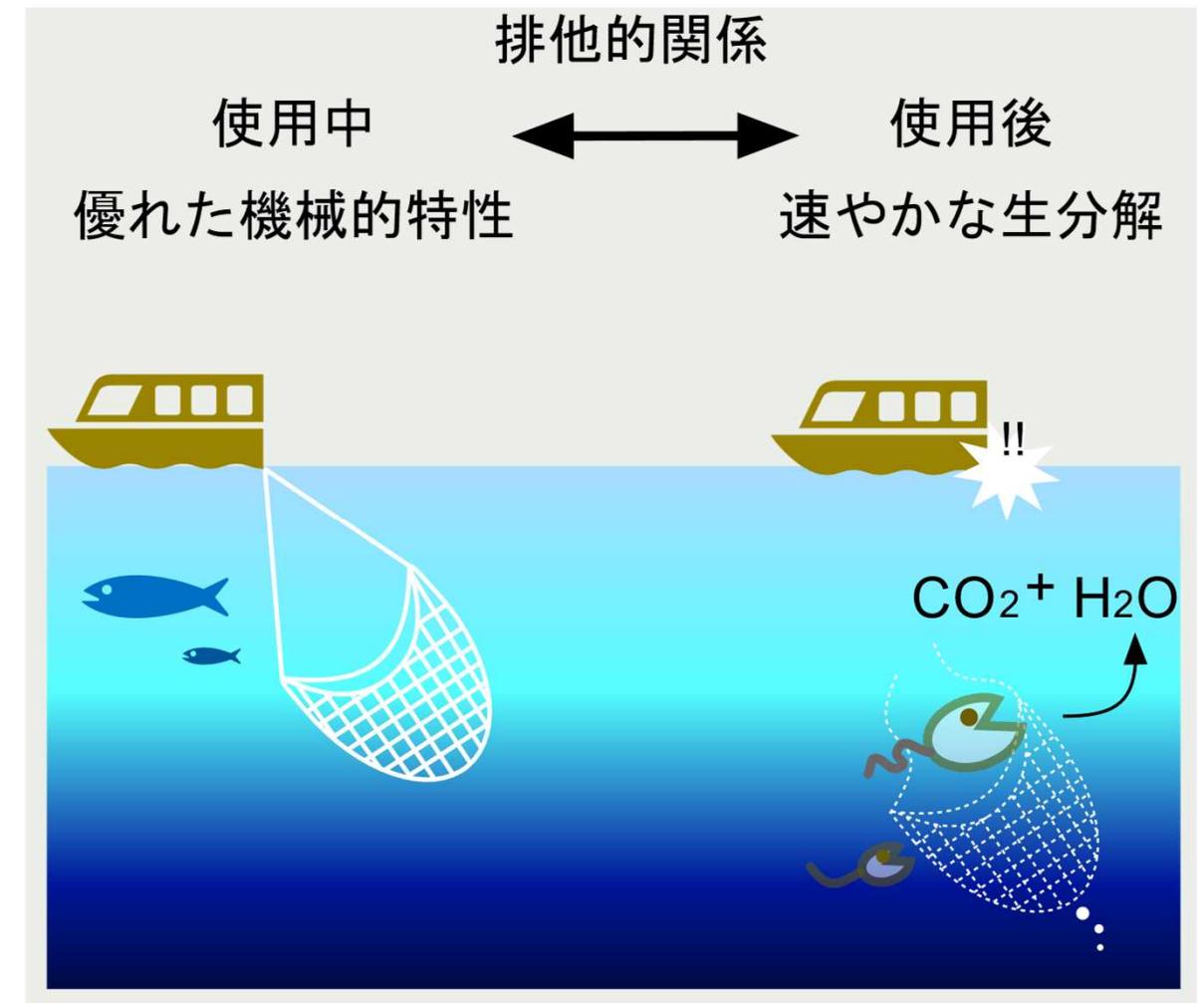
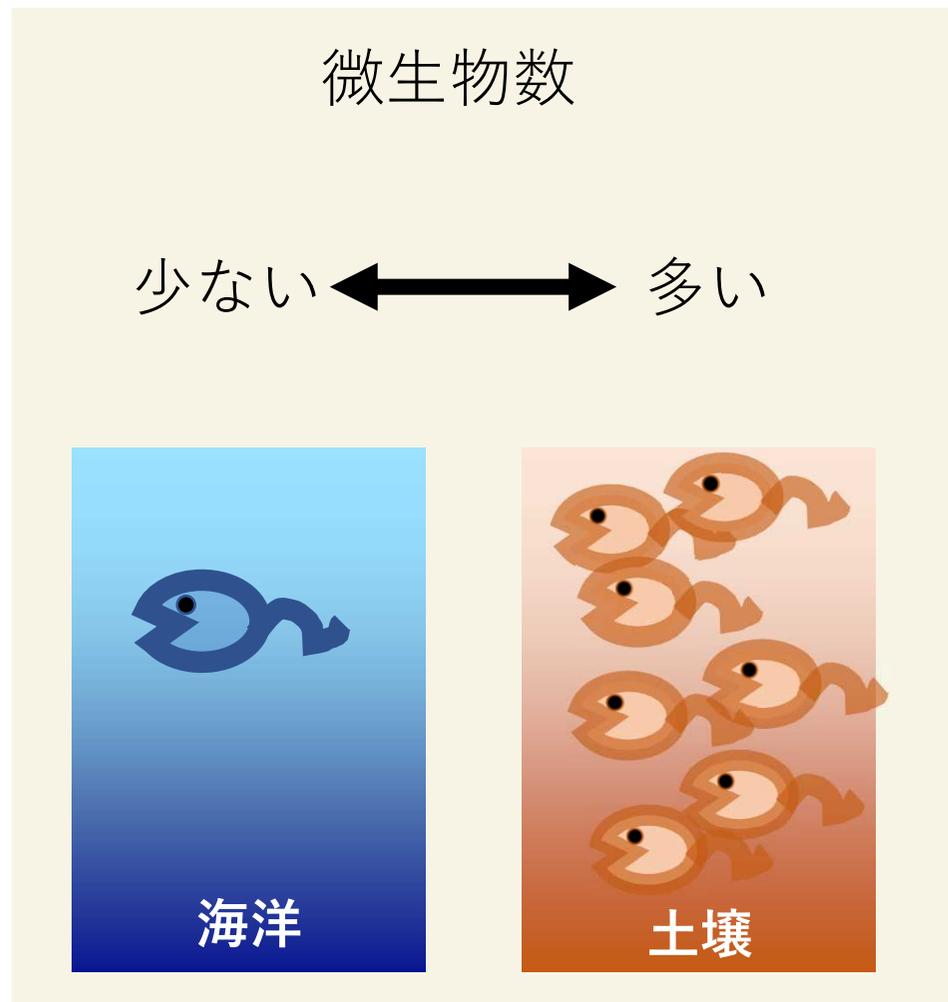


PM：粕谷健一

国立大学法人群馬大学 教授

PJ参画機関：群馬大学、東京大学、
東京工業大学、理化学研究所、海洋
研究開発機構

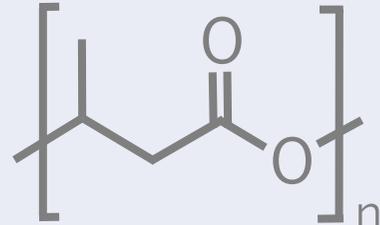
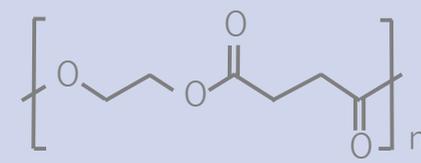
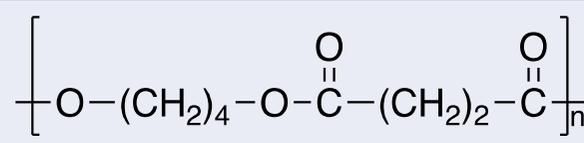
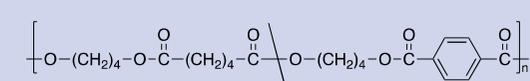
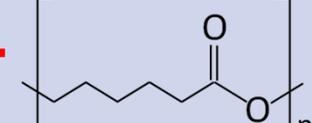
a. プロジェクト研究開発背景ー2つの課題



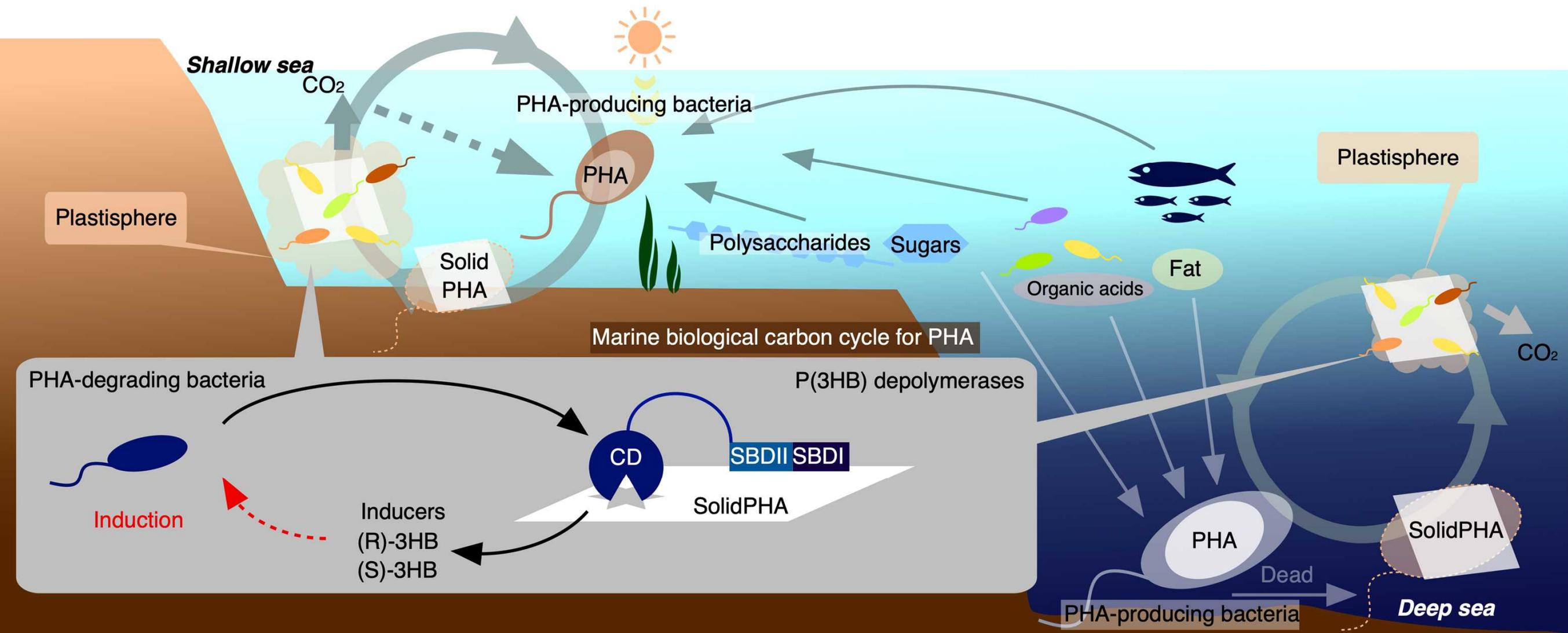
- 海洋の微生物が少ない。
- 海洋では生分解性プラスチックが生分解し難い。

- 生分解性プラスチックは使用中徐々に生分解する。

a. プロジェクト研究開発背景ー海洋生分解性プラは少ない

生分解性プラスチック	環 境 分 解 性		
	分解する	場所による	分解しない
PHAs  海洋分解 OK	分解する 土壌 淡水 汽水 海洋 活性汚泥 嫌気汚泥 コンポスト	-	-
PESu 	土壌 淡水 コンポスト 活性汚泥	-	海洋
PBSu 	コンポスト	土壌	海洋 活性汚泥 淡水
PBAT 	コンポスト	土壌	淡水 海洋
PLA 	コンポスト	土壌	海洋
PCL  海洋分解 OK	土壌 淡水 海洋 コンポスト	-	-

a. プロジェクト研究開発背景—PHAは海洋で分解する



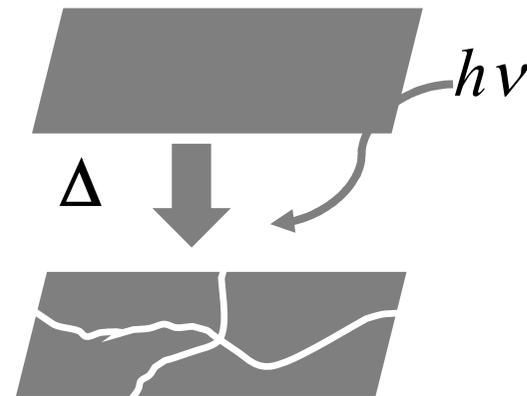
Polym J 53, 47–66 (2021)

PHAは海洋で生産され、生分解される。海洋での生物学的な炭素サイクルが成立している。

a. プロジェクト研究開発背景—生分解の仕組みと開発戦略

0. インタクト

1. 生物劣化, 非生物劣化
Abiotic and biotic

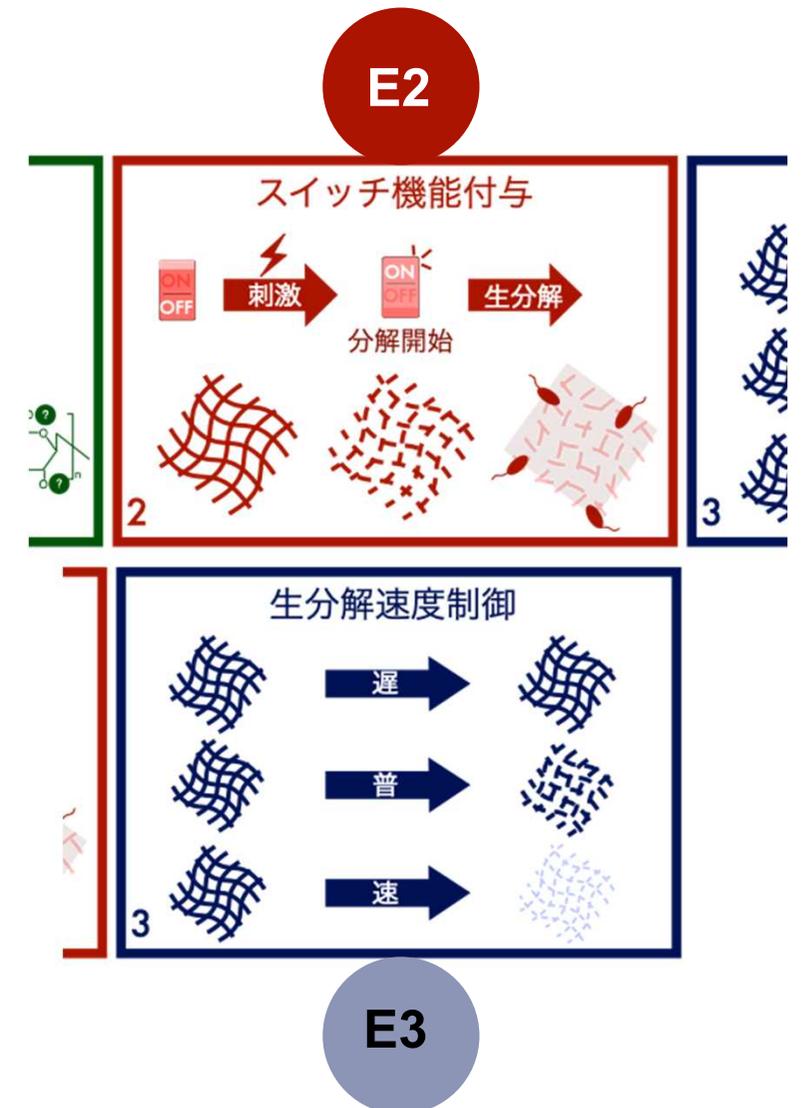
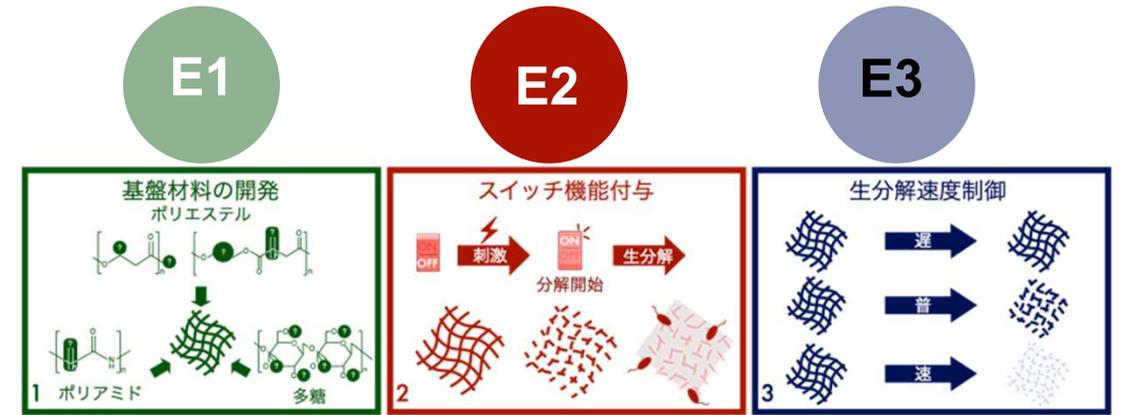
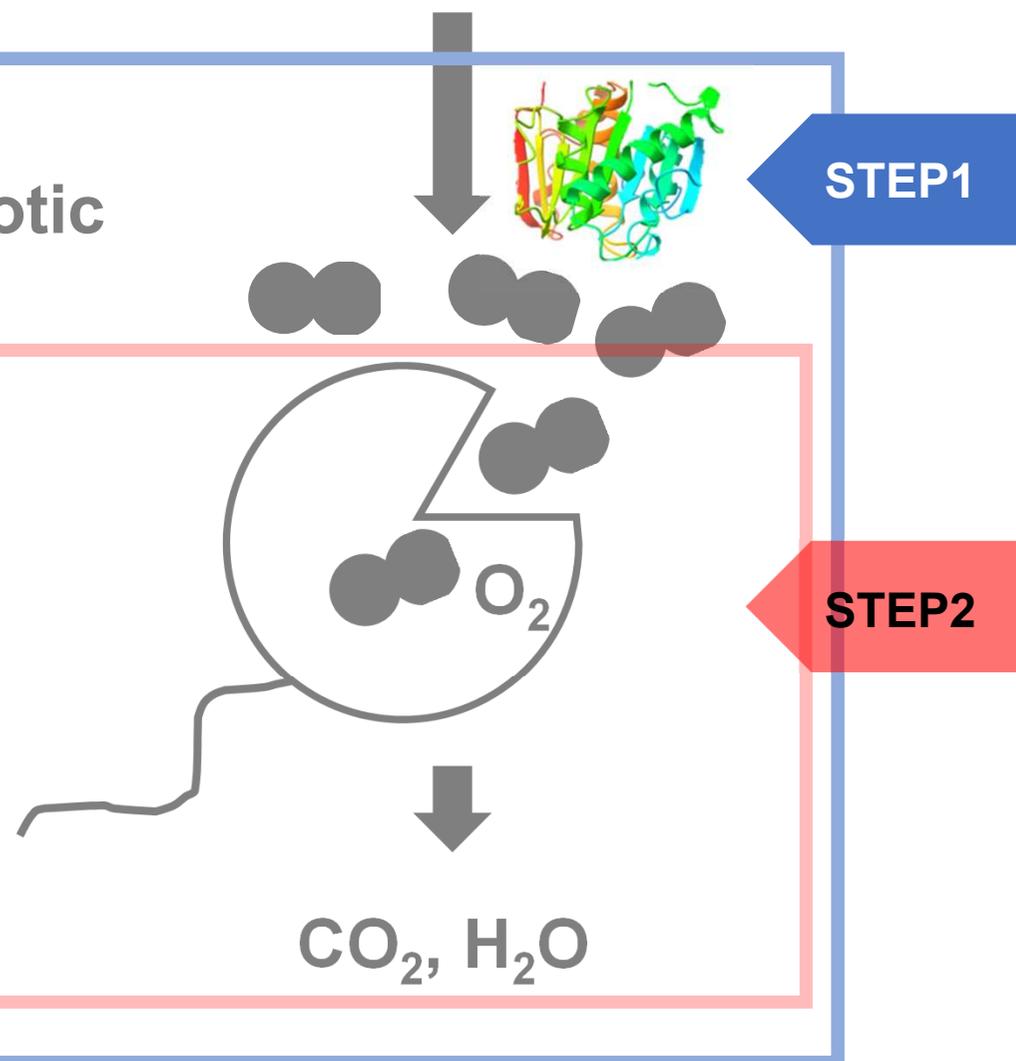


2. 低分子量化

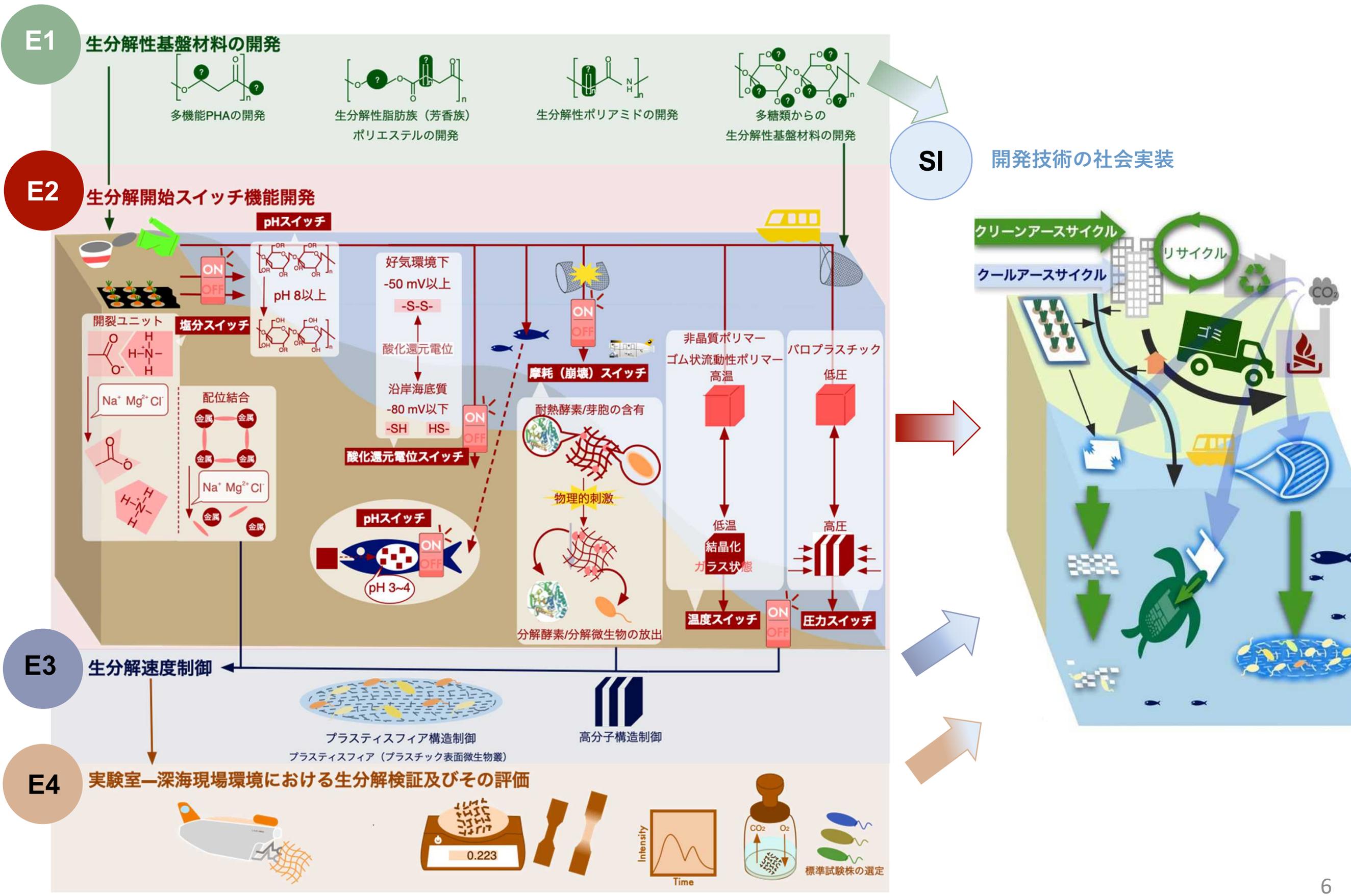
Abiotic and biotic

3. 無機化

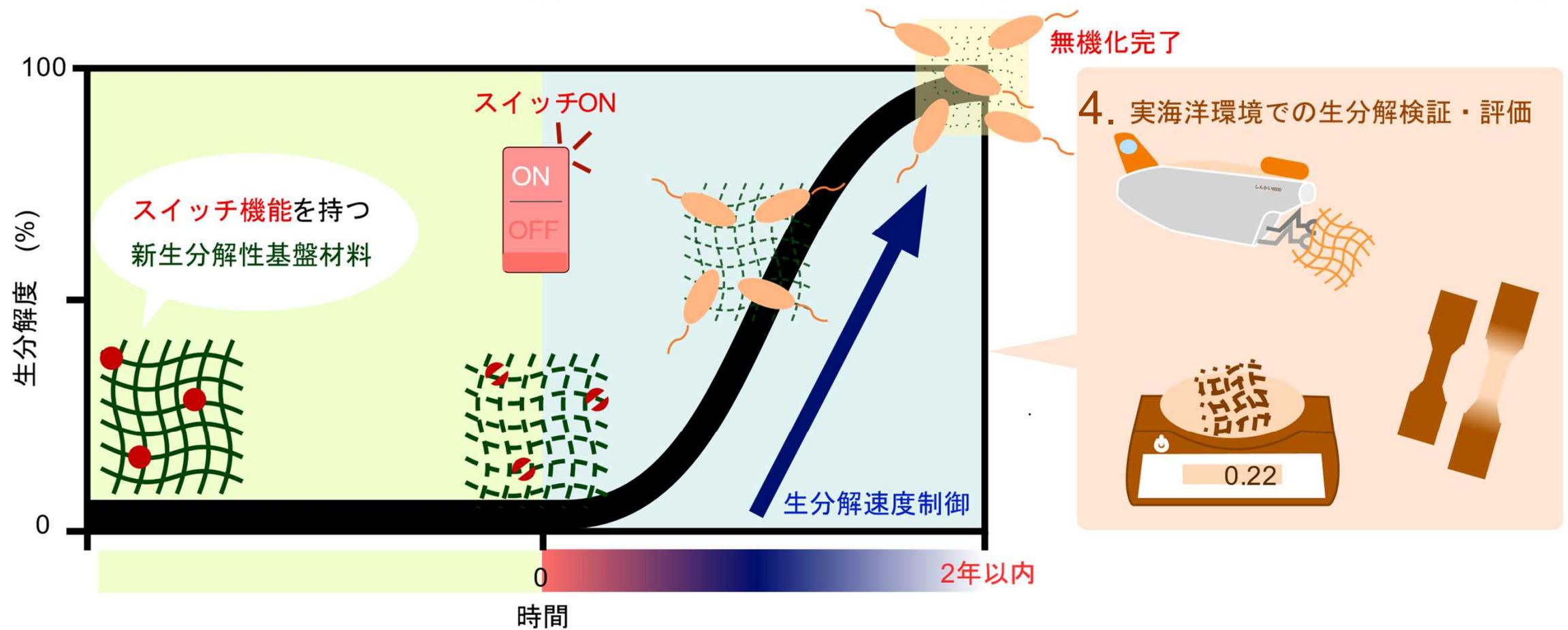
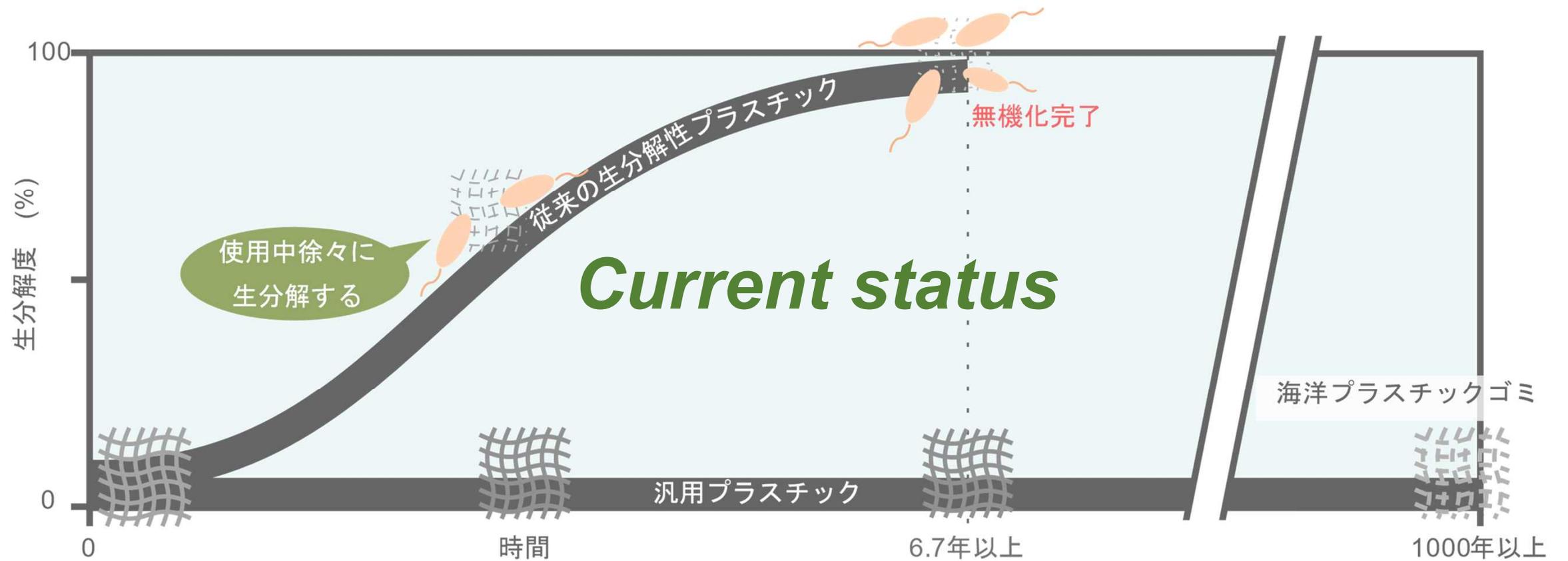
Microbial



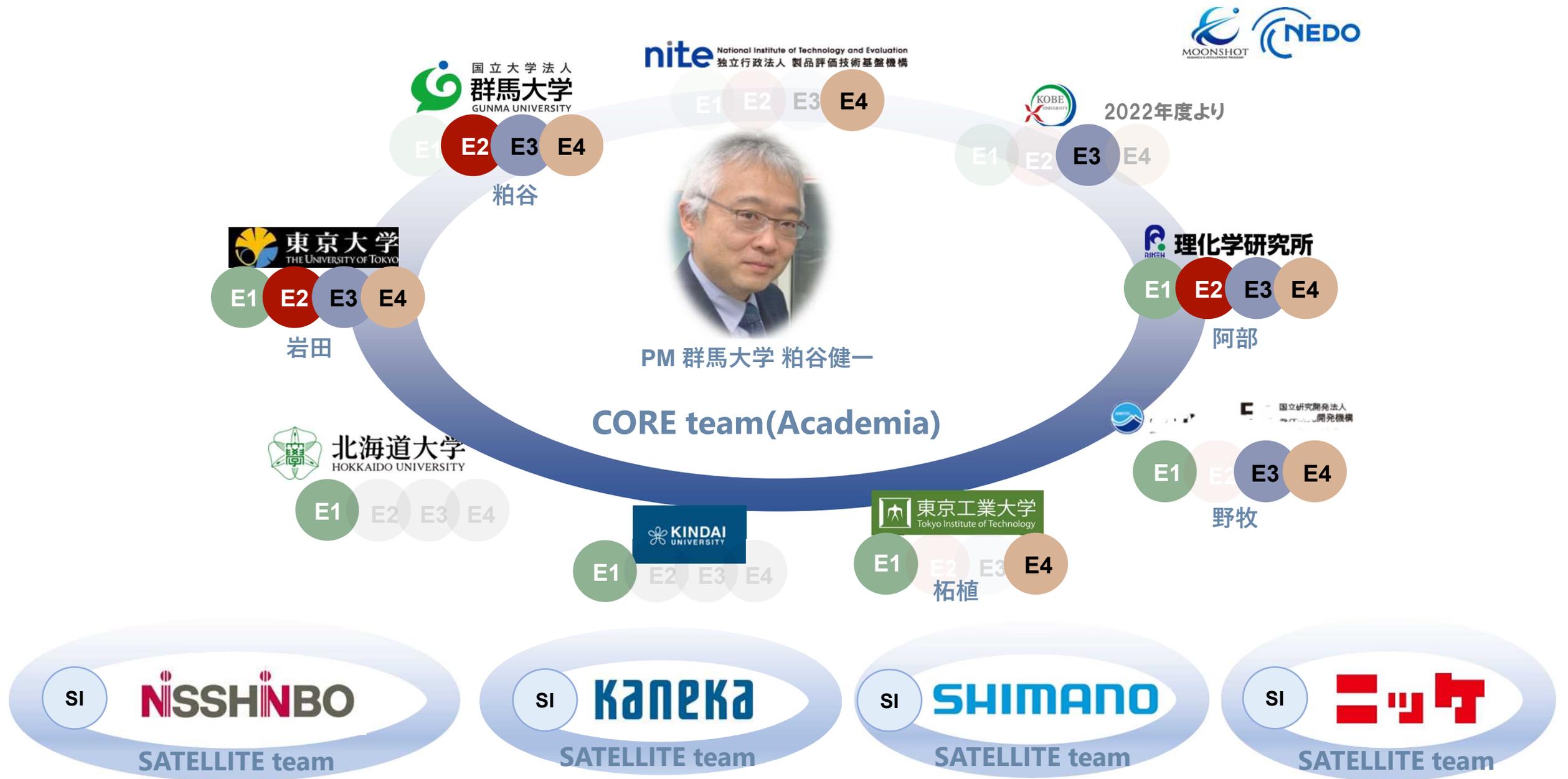
1. プロジェクト研究開発項目 (E1, E2, E3, E4, SI)



2. プロジェクトが目指す未来像



3. プロジェクト実施体制



SATELLITE teams (Companies and Academia)

2022年度より、開発技術の社会実装を加速するため、産学連携サテライトチームを結成

PMがプロジェクト内の要素技術のシステム化を推進するとともに、成果の最大化を目指し、チーム再編、テーマの選択と集中を行う。

その他、外部協力企業



ほか

4. 国際連携および国民との科学・技術対話

研究チーム1：



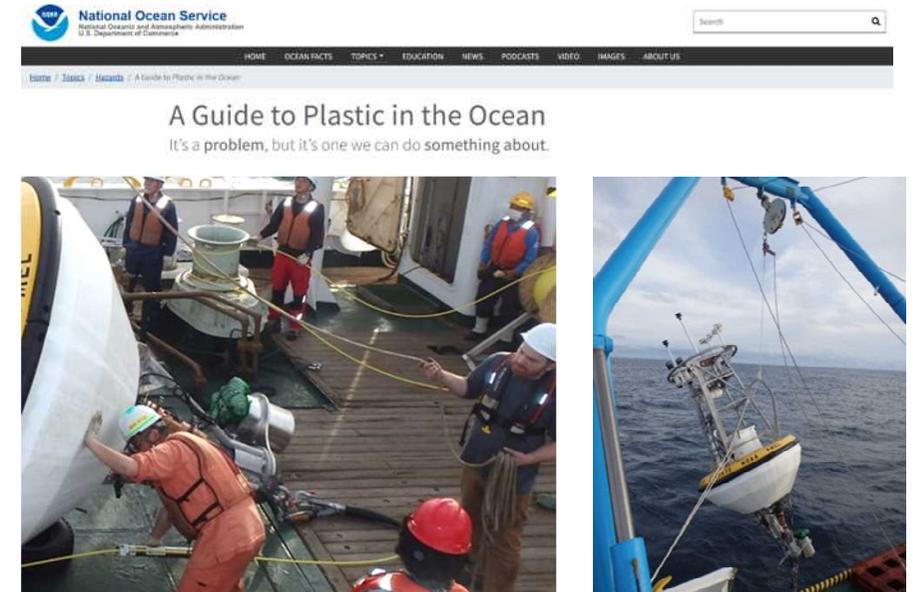
Patrick Berk, Research Scientist,
National Oceanic and Atmospheric
Administration (NOAA)



▶ 研究テーマ

海洋表層での生分解性プラスチック分解評価

2022年4月には北西太平洋の海洋表層に新規生分解性素材を設置。2024年1月に回収、再設置。



NOAAブイへの開発材料設置

研究チーム2：



Sudesh Kumar, Professor,
Universiti Sains Malaysia (USM)



▶ 研究テーマ

マングローブでの生分解性プラスチック分解評価



マングローブ内のプラスチックゴミ



@ Malindo, Penang,

マングローブ内での設置

NEDOムーンショット伊藤PJとの共同実施

- 東南アジア地域での試験実施・広報活動の展開
 - 海洋生分解性プラスチックの分解試験実施（マレーシア・タイ・インドネシア）
 - ワークショップ開催（タイ・マレーシア（予2024秋））



4. 国際連携および国民との科学・技術対話

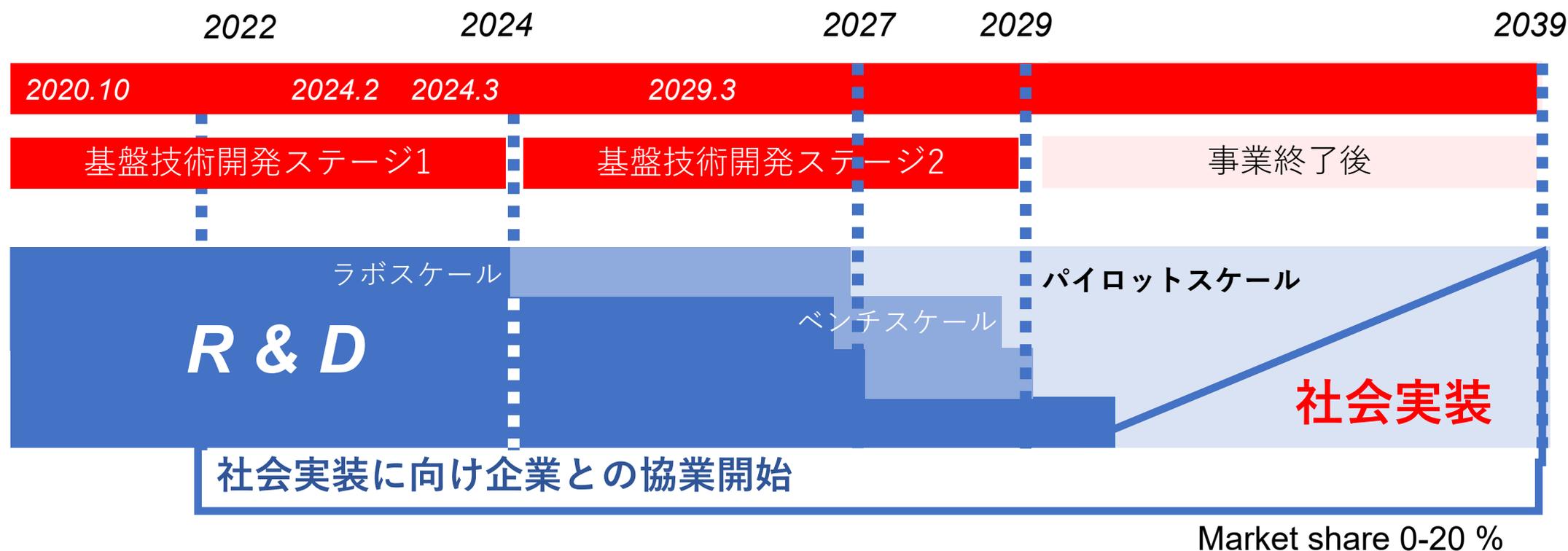


GIGAスクール×深海の一環として、全国の小学生2万4000人以上と、文部科学大臣らとオンライン生中継を行いながら、初島沖855 mに新規生分解性素材を設置。海洋プラスチック問題に対する意識を高めるとともに、新規生分解性プラスチックによる環境負荷低減を訴えた。



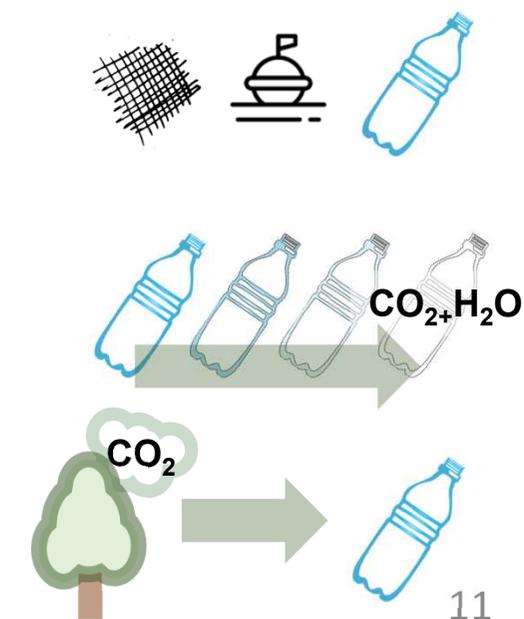
国立科学博物館 特別展 海 ー生命のみなもとー (2023/7/15-10/9 主催：JAMSTEC他) において、PJの成果物等を展示。海洋プラスチック問題に対する意識を高めるとともに、生分解性プラスチックによる環境負荷低減を訴えた。期間中、約30万人の参加者があった。

5. 開発スケジュール

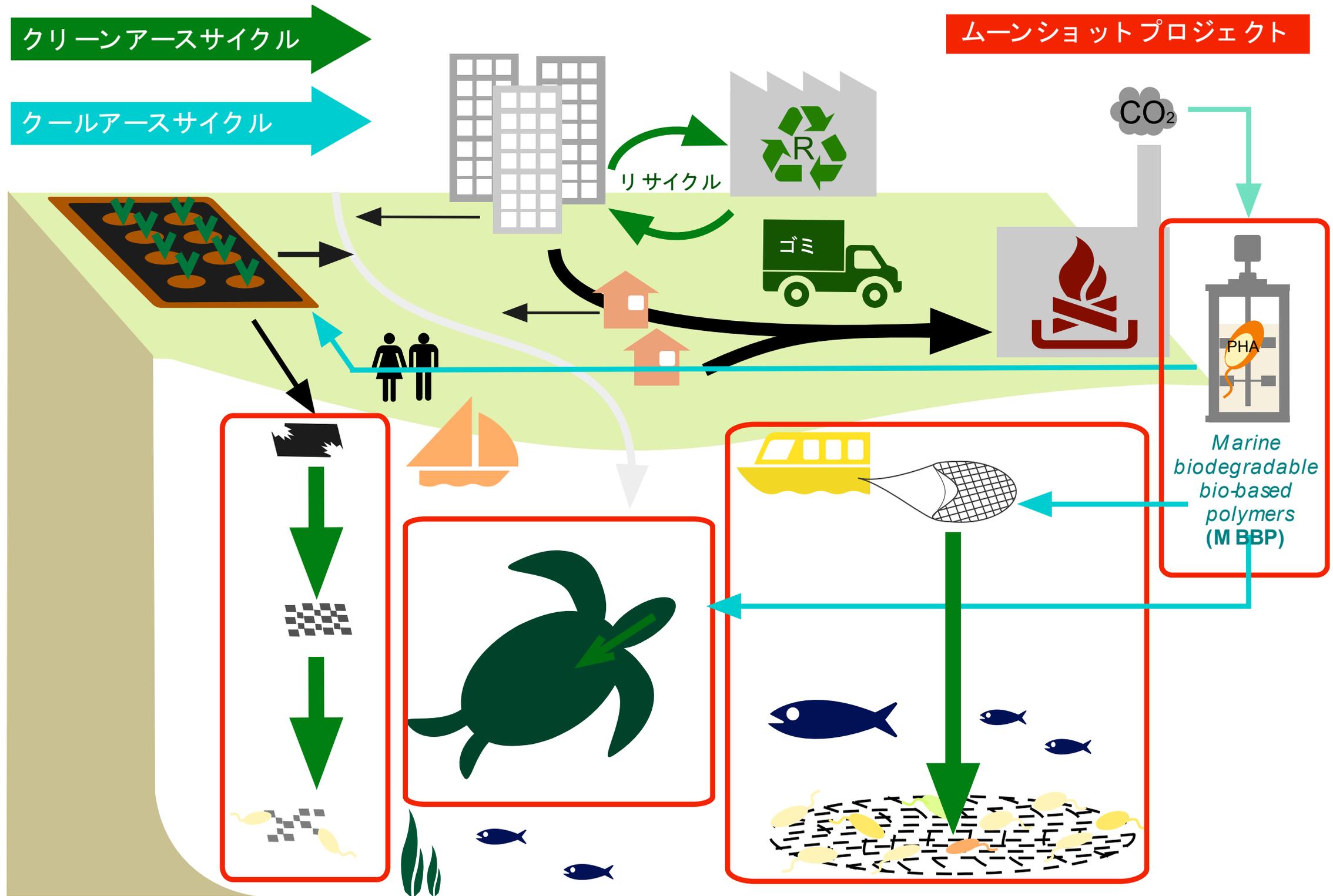


6. 最終開発目標（2029年度）

- ① スイッチング機能が発現した後、30°Cの海水において、半年で90%程度の生分解性能を有する新たな海洋生分解性プラスチック材料を、3種類以上創出する。
- ② 上記条件を満たすスイッチ機能を有する新規海洋生分解性プラスチックの深海を含む実海洋環境での生分解性を実証する。
- ③ バイオマス、二酸化炭素を主原料とした新規海洋生分解性基盤材料を創出する。



7. 社会実装のイメージ



8. 現時点の主な成果

海洋生分解性基盤素材の開発 (E1)



E1：基盤樹脂開発

PHA

機能化

強靱化

CO₂固定

多糖

可塑化/生分解性

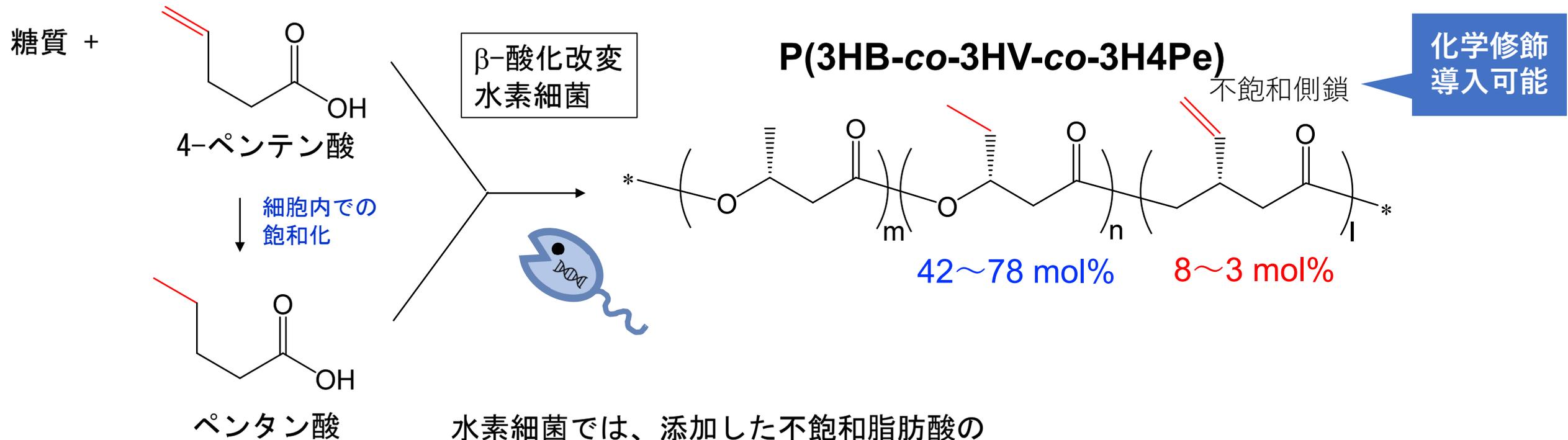
強靱化（成形性向上）

合成高分子

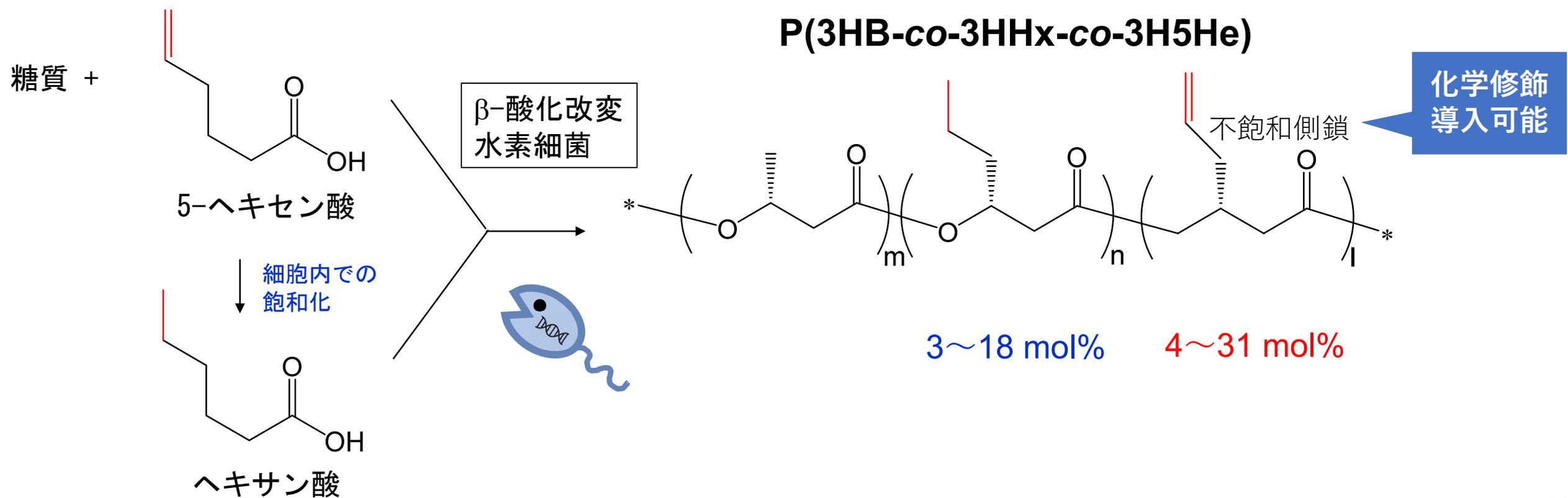
生分解性ビルディングブロック
ブロックポリマー

E1

スイッチング機能を組み込むための基盤材料開発

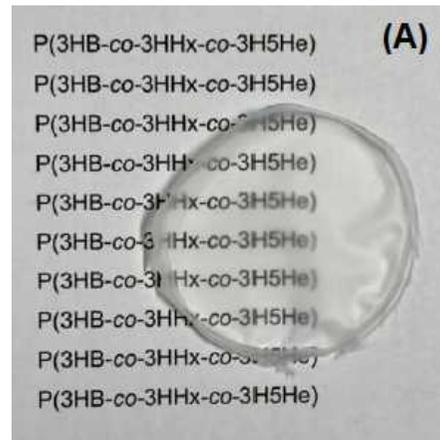
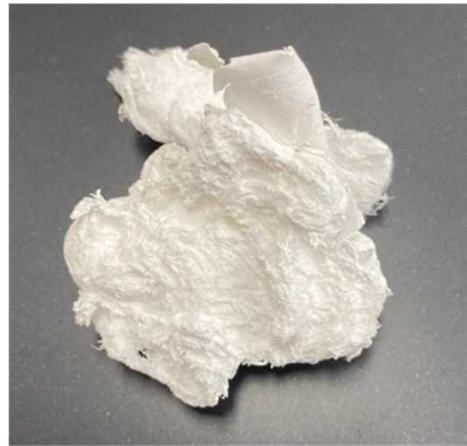


水素細菌では、添加した不飽和脂肪酸の末端二重結合が還元されて飽和脂肪酸になりやすい



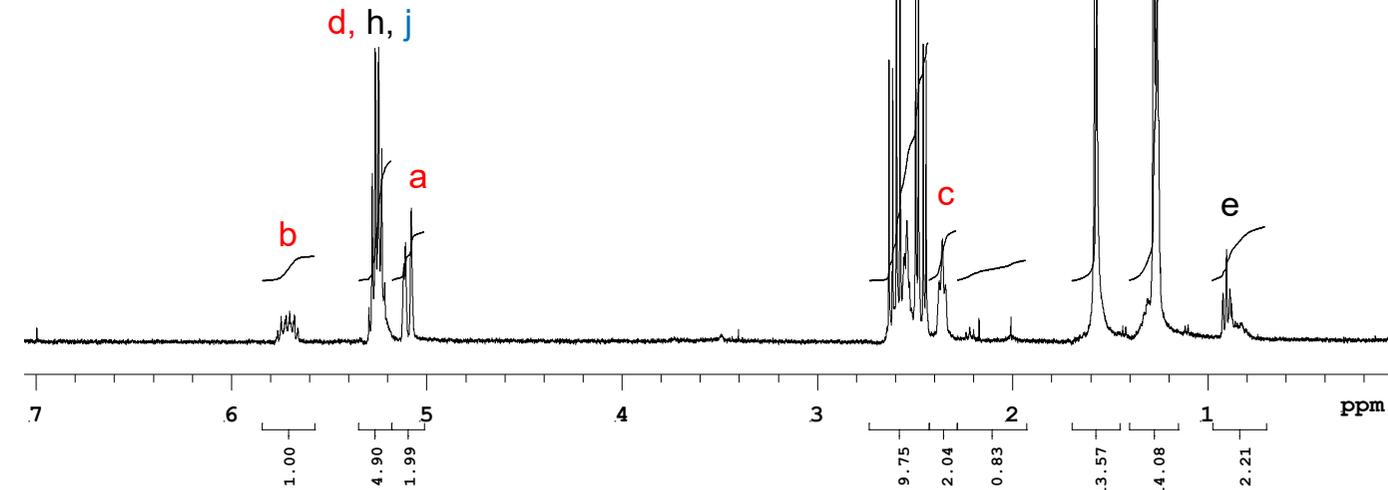
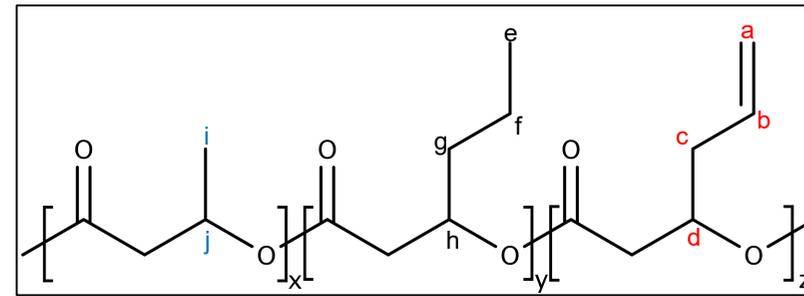
E1

スイッチング機能を組み込むための基盤材料開発

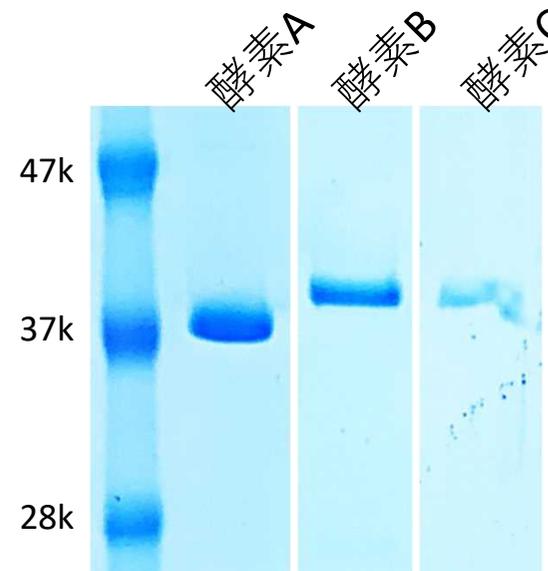
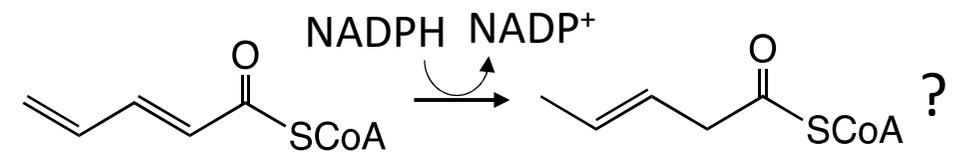


P(3HB-co-15.8% 3HHx-co-9.0 mol% 3H5He)
 Mw: 28.9×10^5 , PDI: 2.4, Tg: -1.6°C , Tm: 119°C
 Tensile strength: 14 MPa,
 Elongation to break: 1,158%

P(3HB-co-13mol% 3HHx-co-27mol% 3H5HE)

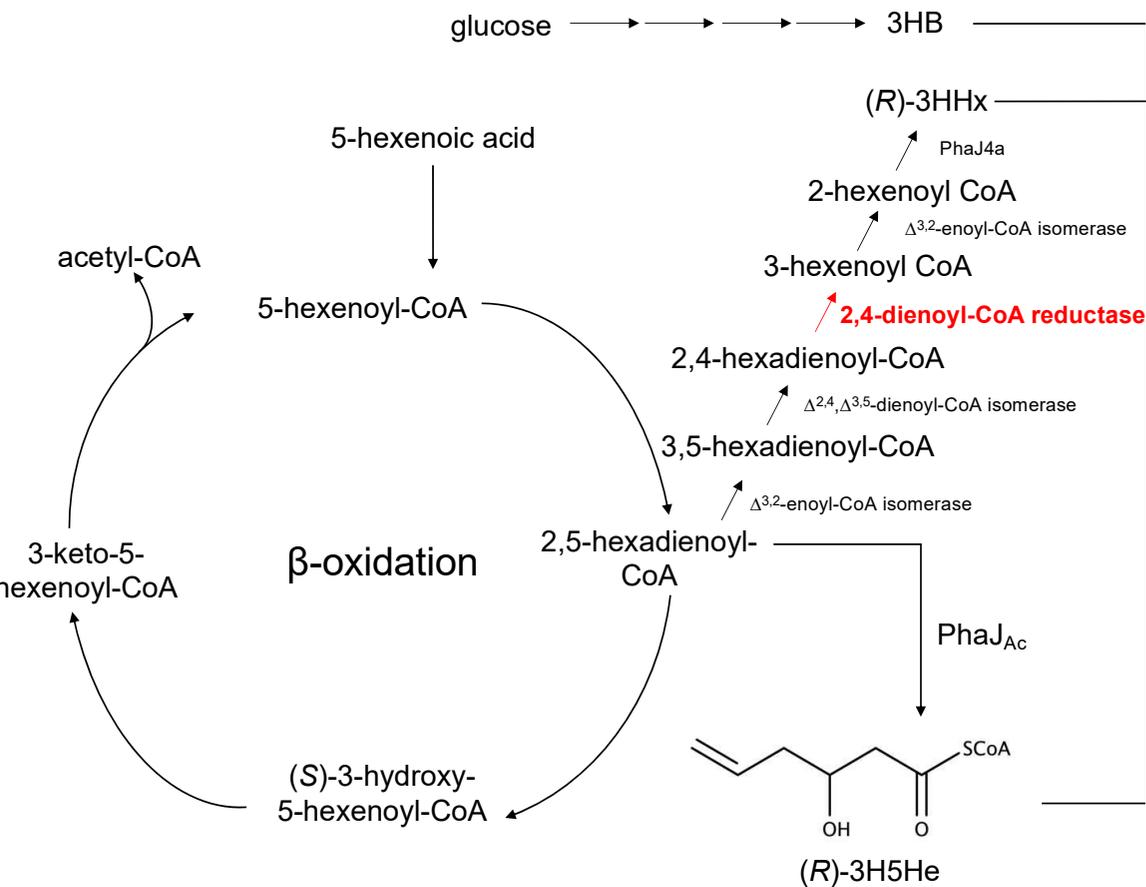


末端不飽和結合還元酵素の同定



E. coli 宿主による組換え型酵素

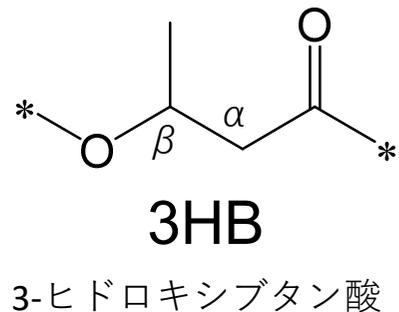
三重遺伝子破壊株：
 4-ペンテン酸添加培養
 →PHA生産量低下



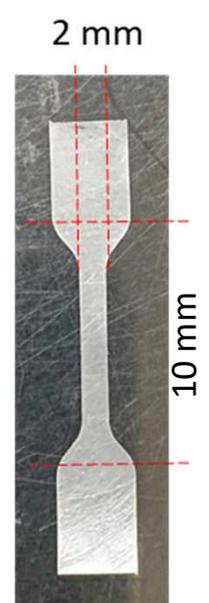
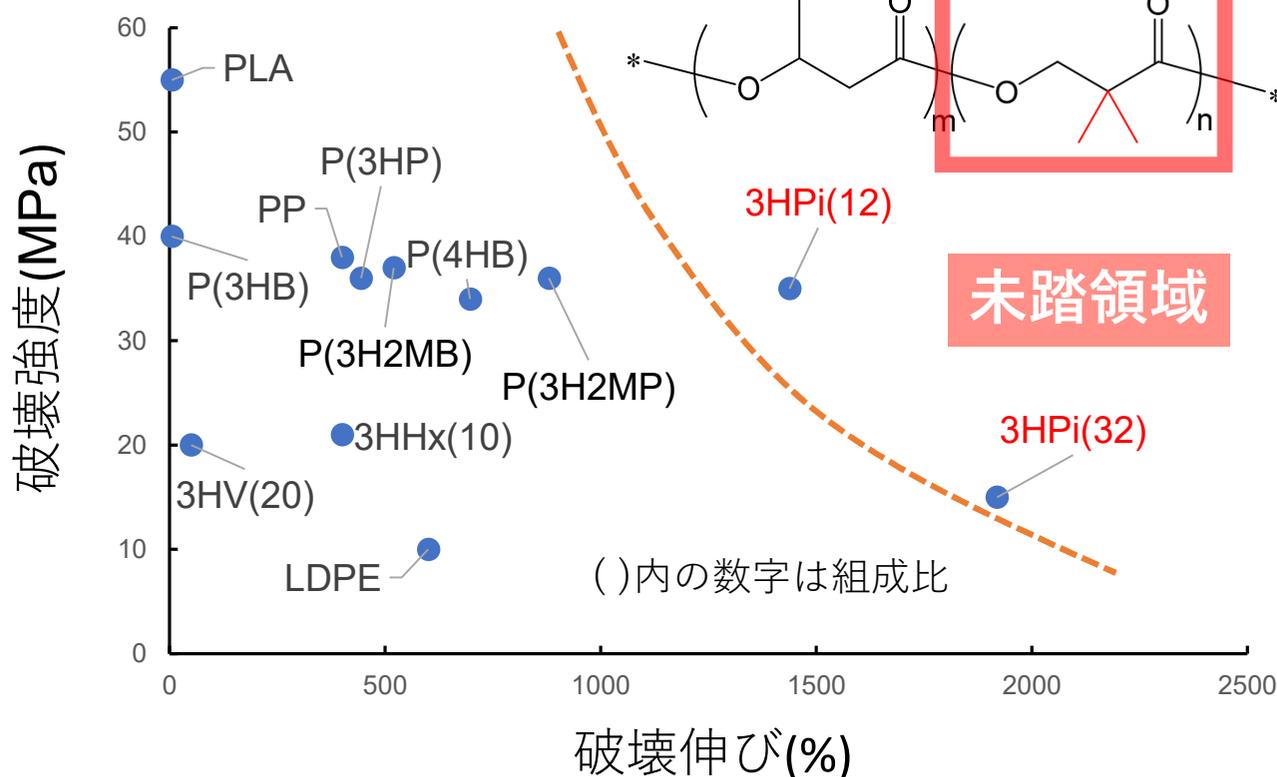
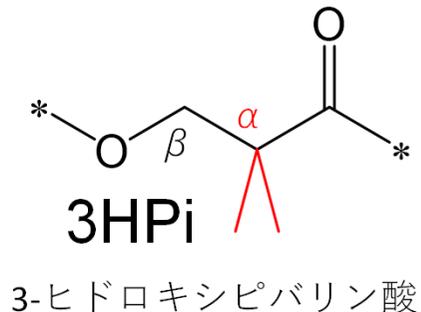
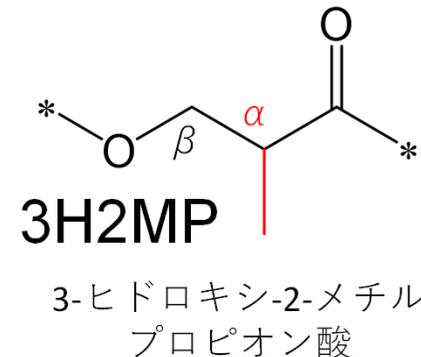
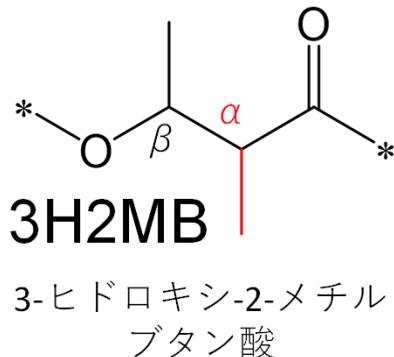
E1 スイッチング機能を組み込むための基盤材料開発

ナイロン66を上回るタフネス (80 MJ/m³) を実現する

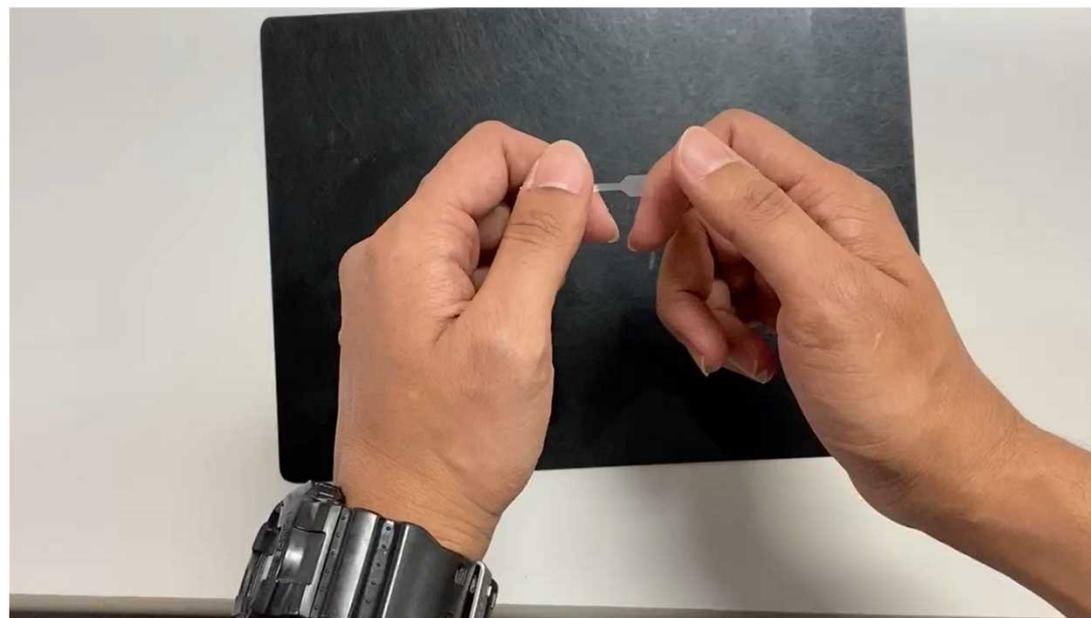
既存
モノマー



α 位メチル化
モノマー



靱性のある材料を開発



P(3HB-co-12 mol% 3HPi)

P(3HB-co-X)	T _g (°C)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	σ (MPa)	ε (%)	E (MPa)	Toughness (MJ/m ³)
12 mol% 3HPi	5	61,134	28	35	1438	306	306
32 mol% 3HPi	1	57	3	15	1919	219	150

3HPi : 3-ヒドロキシピバリン酸

E1

多糖類からの生分解性基盤材料の開発



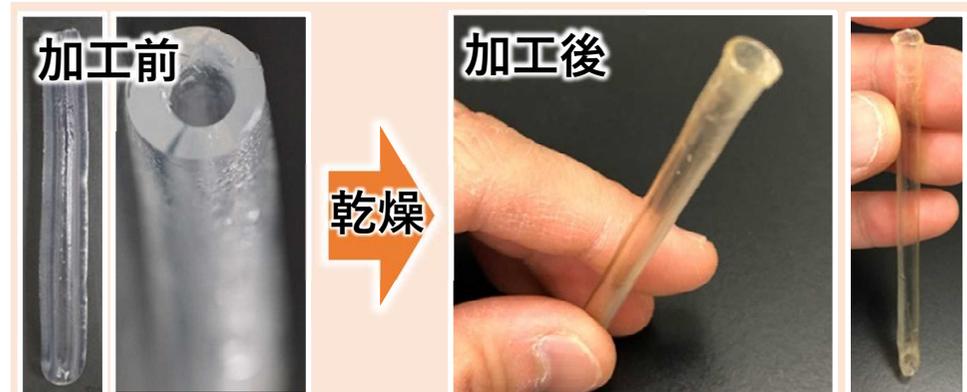
粉末状の原料（木の主成分であるセルロース）
を溶かして固める PCT/JP2020/039874

紙と完全に同一の素材でそれ以上の機能性

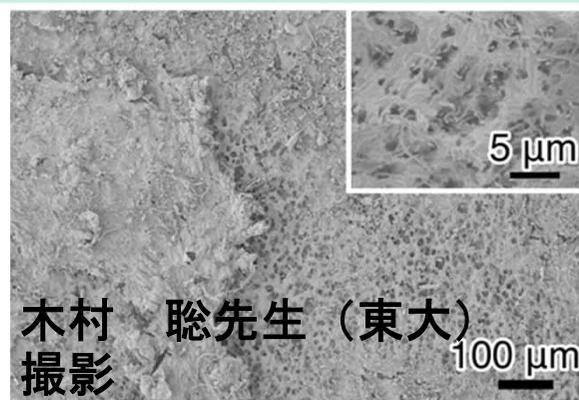
セルロースのみからなる透明カップ



撥水フィルムなどを内面に貼り付けせずとも、
水やホットコーヒーなど液体が漏れない



課題であった脆さを成形・加工技術の改良
により克服し、完全にキッチンのみからなる
複雑な形状の部材の調製に成功した

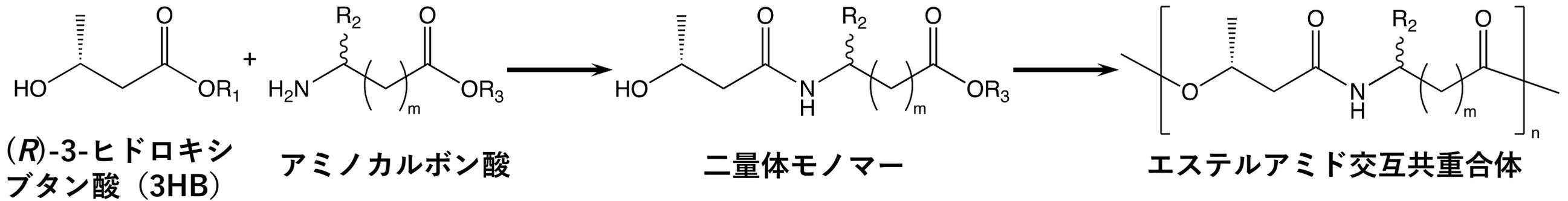


木村 聡先生（東大）
撮影

- 想定している実使用形状であるコップ型に成形
- コップ型セルロース部材が、深海底で半年足らずで半分程度に生分解されることを実証
- 部材表面で大量の分解微生物が穿孔している様子が観察できた

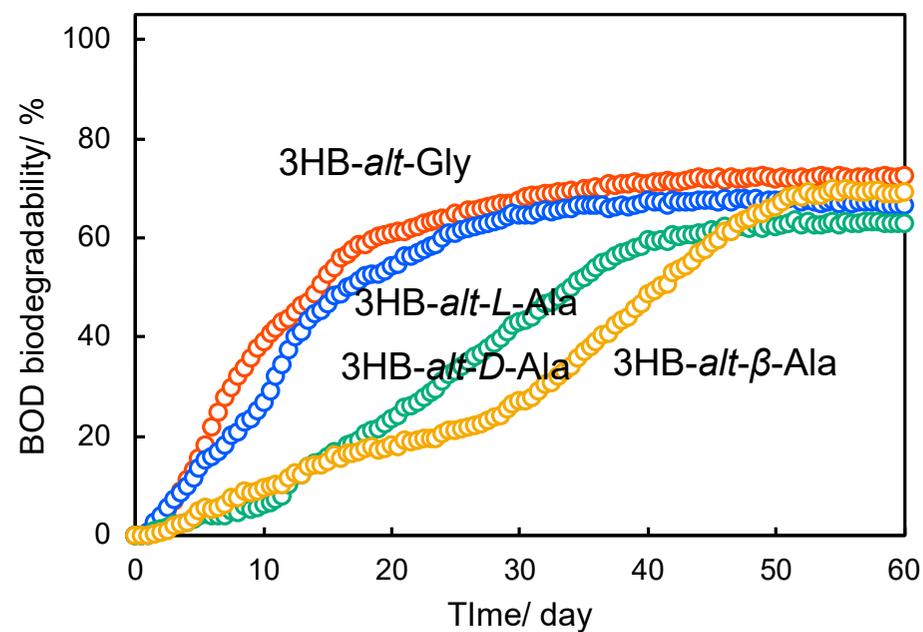
E1

生分解性ポリアミドの開発

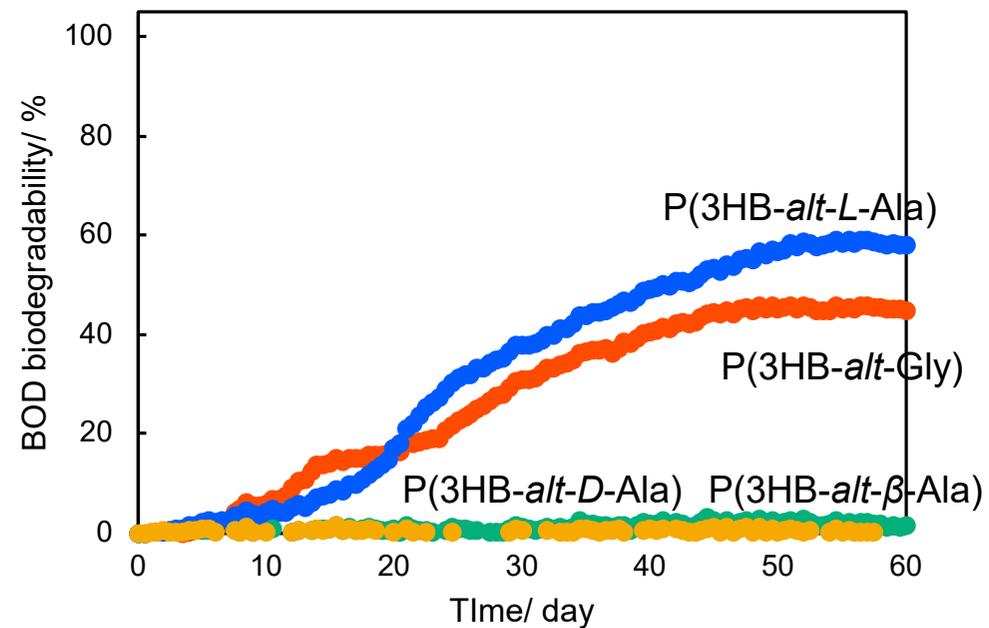


	$M_n / \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$	M_w/M_n	$T_g / ^\circ\text{C}$	$T_m / ^\circ\text{C}$	$T_{d5\%} / ^\circ\text{C}$	$X_c / \%$
P(3HB- <i>alt</i> -Gly)	14,100	1.6	80	162	245	40
P(3HB- <i>alt</i> -L-Ala)	12,400	1.2	80	n.d.	241	36
P(3HB- <i>alt</i> -D-Ala)	5,300	1.3	85	n.d.	242	42
P(3HB- <i>alt</i> - β -Ala)	16,700	1.3	55	150	248	34

原料二量体モノマー

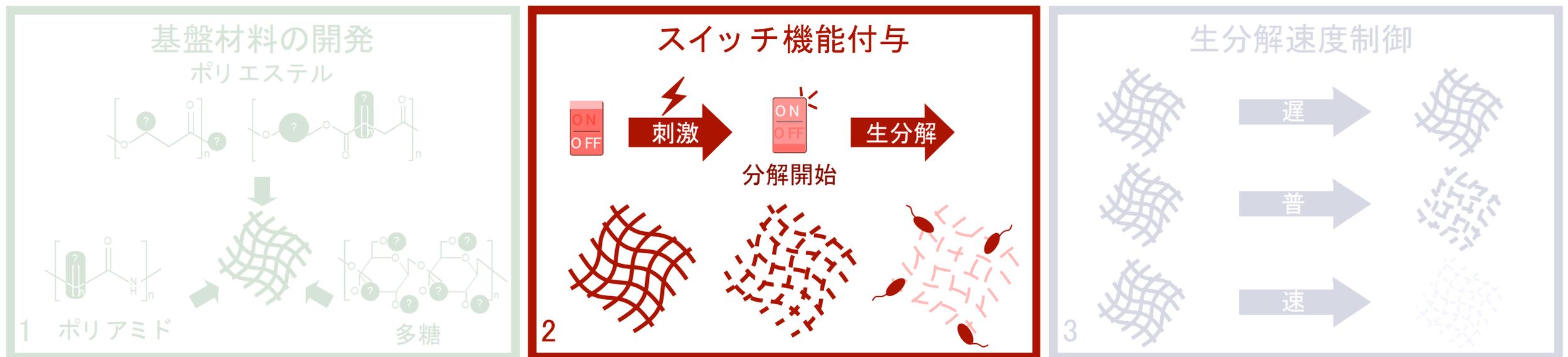


高分子量化ポリエステルアミド



8. 現時点の主な成果

生分解開始スイッチ機能の開発 (E2)



E2：スイッチ機能開発

pH

塩濃度

酸化還元電位

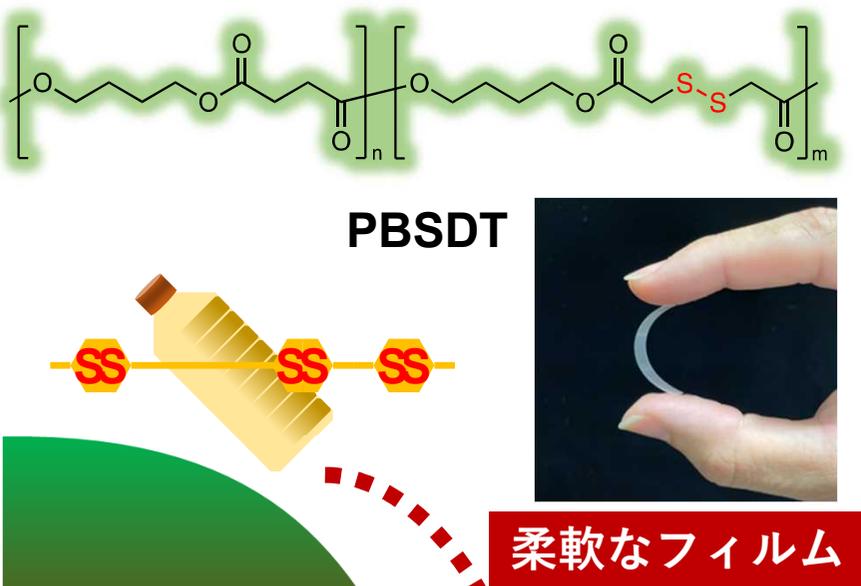
圧力

温度

摩耗

E2 酸化還元スイッチ

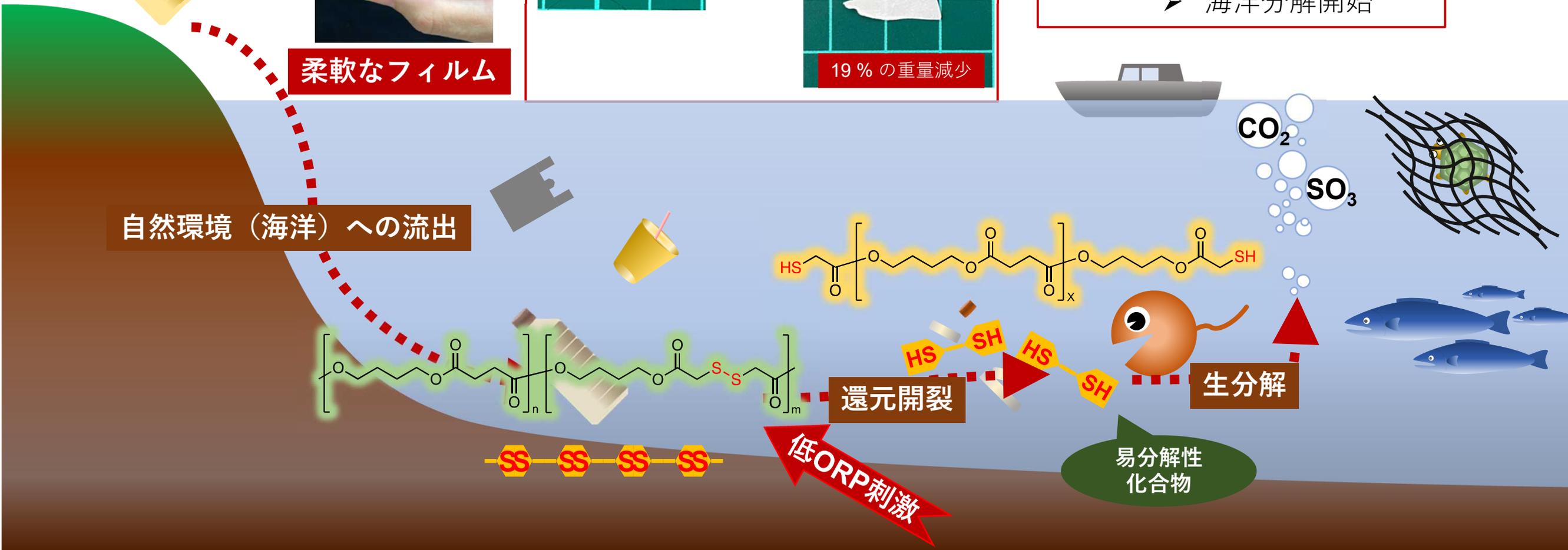
海底質での低ORP（還元環境電位）によりオンになる生分解開始スイッチ機能



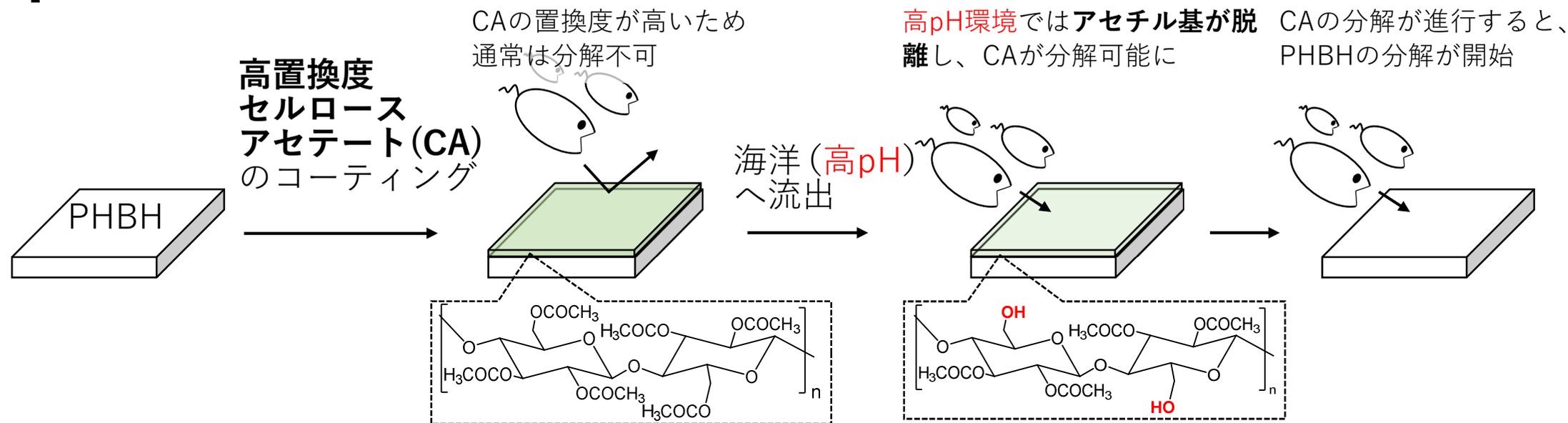
異なるORPでの分解試験

還元分解前	高ORP
3週間	低ORP (H ₂ S存在)
	19%の重量減少

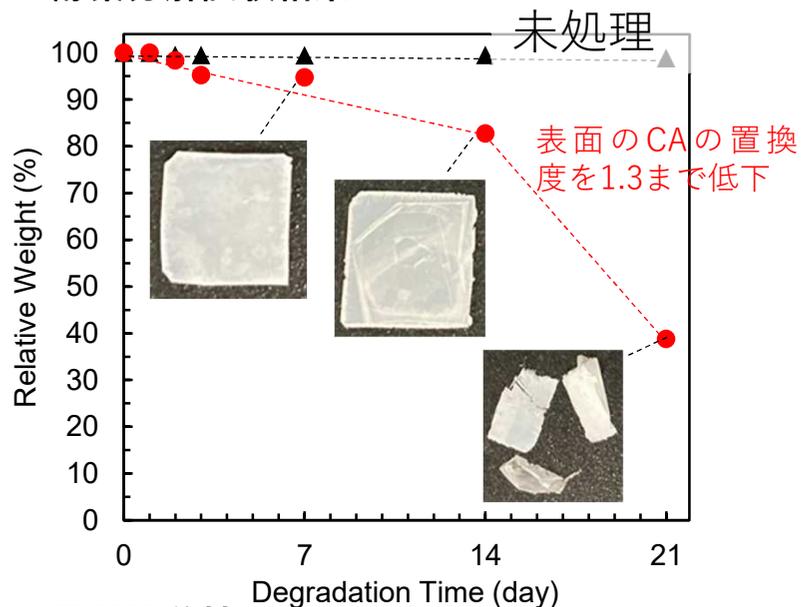
- PBSDT物性
 - PBSA類縁体
 - フィルム成形可能
 - 市販試薬から合成可能
- 通常海水中 = 非分解
- 海底（還元環境）
 - ジスルフィド結合開裂
 - 海洋分解開始



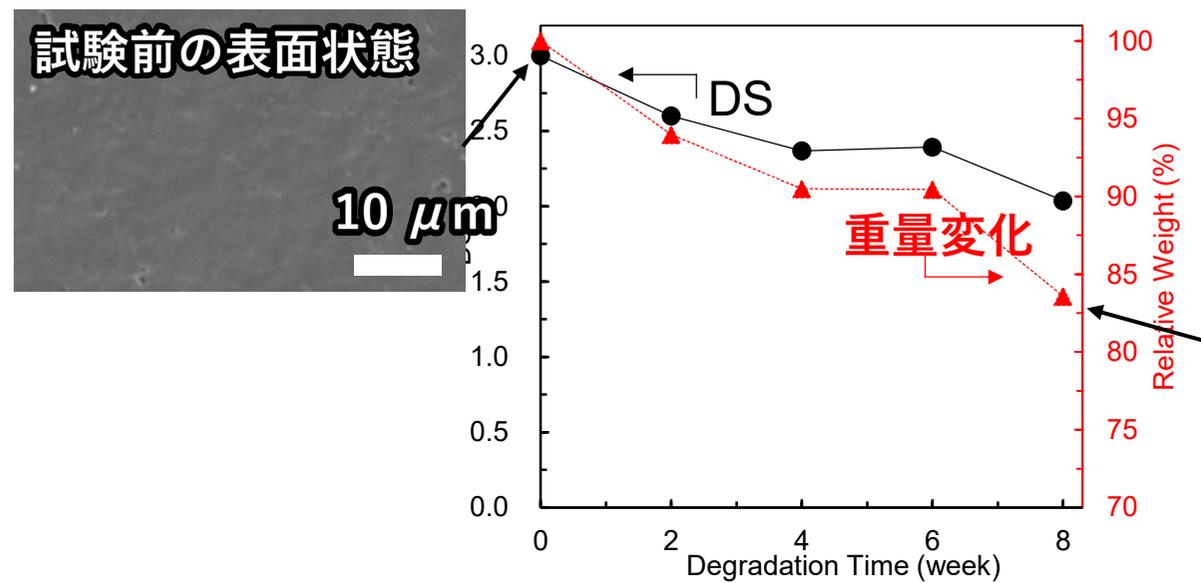
E2 pHスイッチ



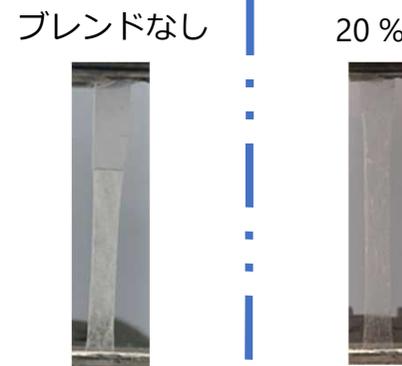
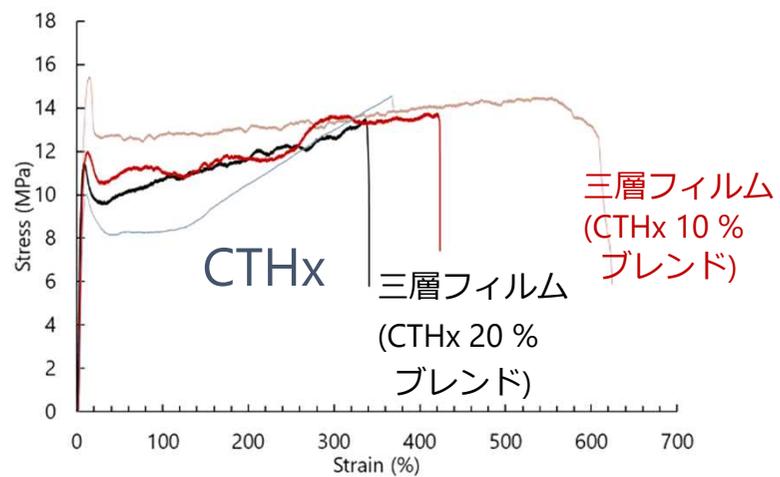
PHA分解酵素とセルラーゼによる酵素分解試験結果



海水での分解試験結果



層間接着性の向上に成功

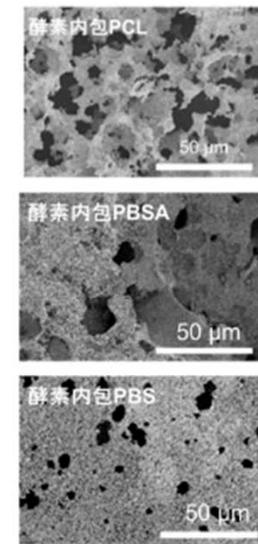
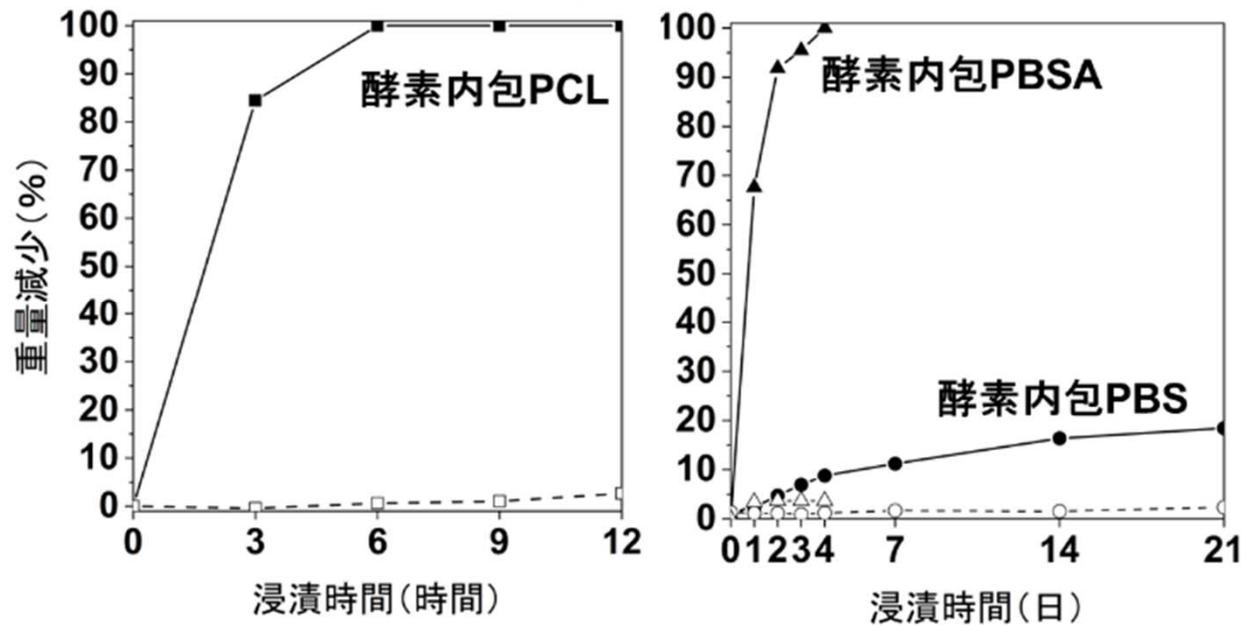


接着性向上による、基盤樹脂ベース物性発現

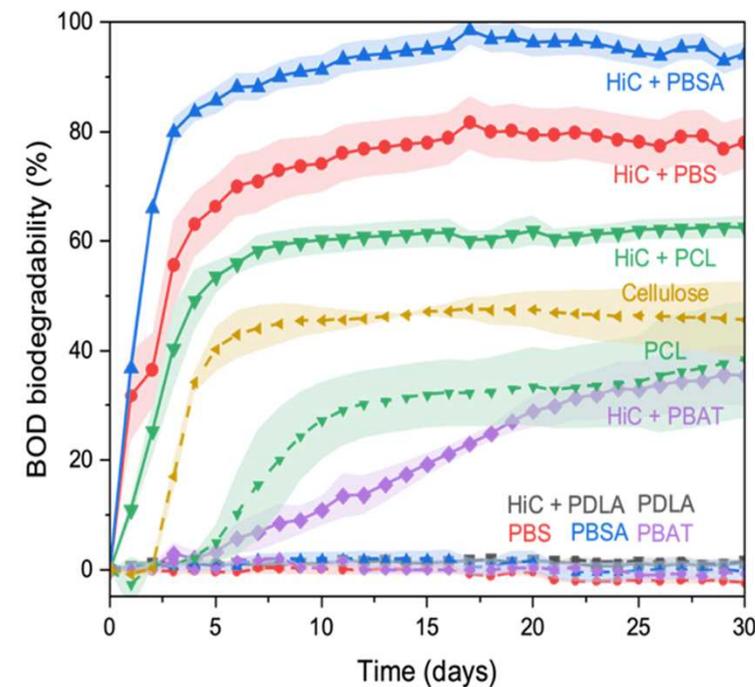
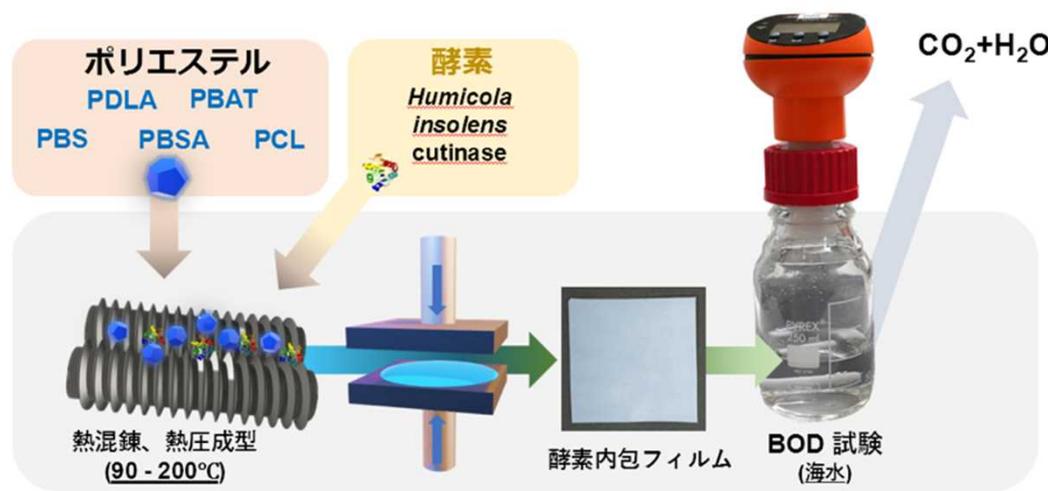
E2

摩耗スイッチ(酵素)

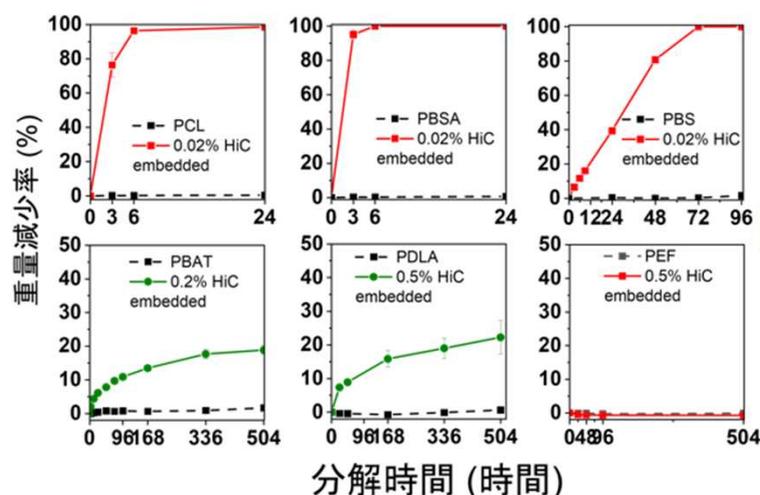
CaLBリパーゼ内包PCL・PBS・PBSAの水中分解



- PCL、PBS、PBSAでも溶融混練による酵素内包プラスチックの作製に成功
 - PCLは6時間、PBSAは3日間で完全に分解
 - PBSは21日間で20%の分解
- 酵素(リパーゼ)内包生分解性プラスチックを開発した**



クチナーゼを溶融混練した各種生分解性プラスチックの東京湾の海水中でのBOD生分解度曲線



分解時間の短縮に成功

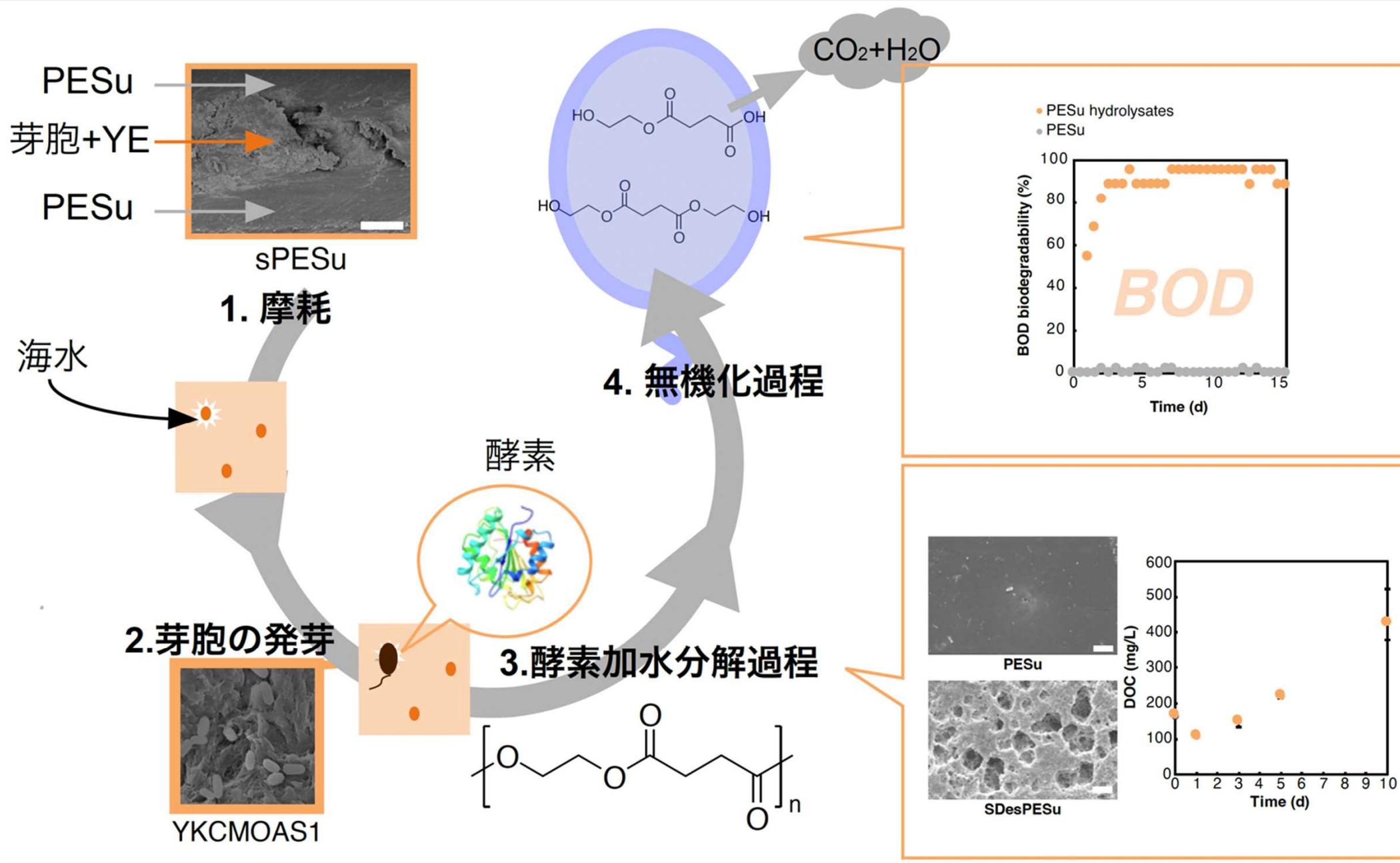
クチナーゼを溶融混練した生分解性プラスチックの水中分解

通常、生分解性プラスチックはほとんど海水中では分解しないが、酵素を内包するとセルロース以上に分解が起こることを証明

E2

摩耗スイッチ(芽胞)

生分解速度が遅い材料(潜在的な生分解性プラスチック)に当該材料の分解微生物を内包させる。材料が摩耗し、分解微生物が増殖型に戻り材料の分解が開始する。



芽胞形成細菌により海洋環境中で分解されたPESuは、最終的に海洋環境中で無機化された。

8. 現時点の主な成果

生分解速度制御技術の開発 (E3)



E3：生分解速度制御技術

加速

生物環境制御

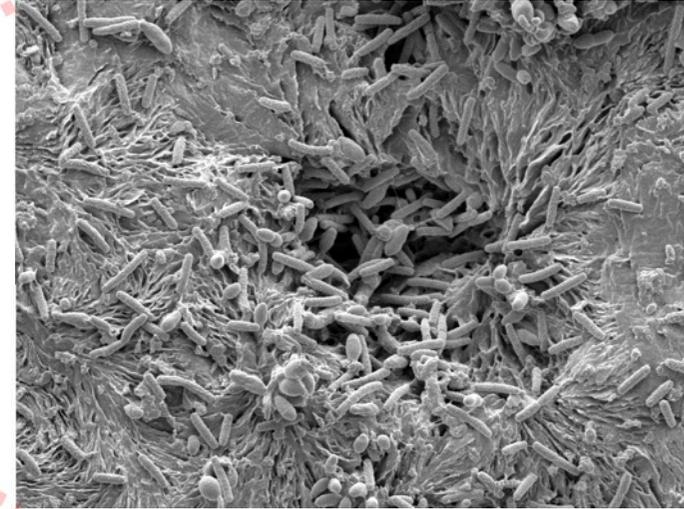
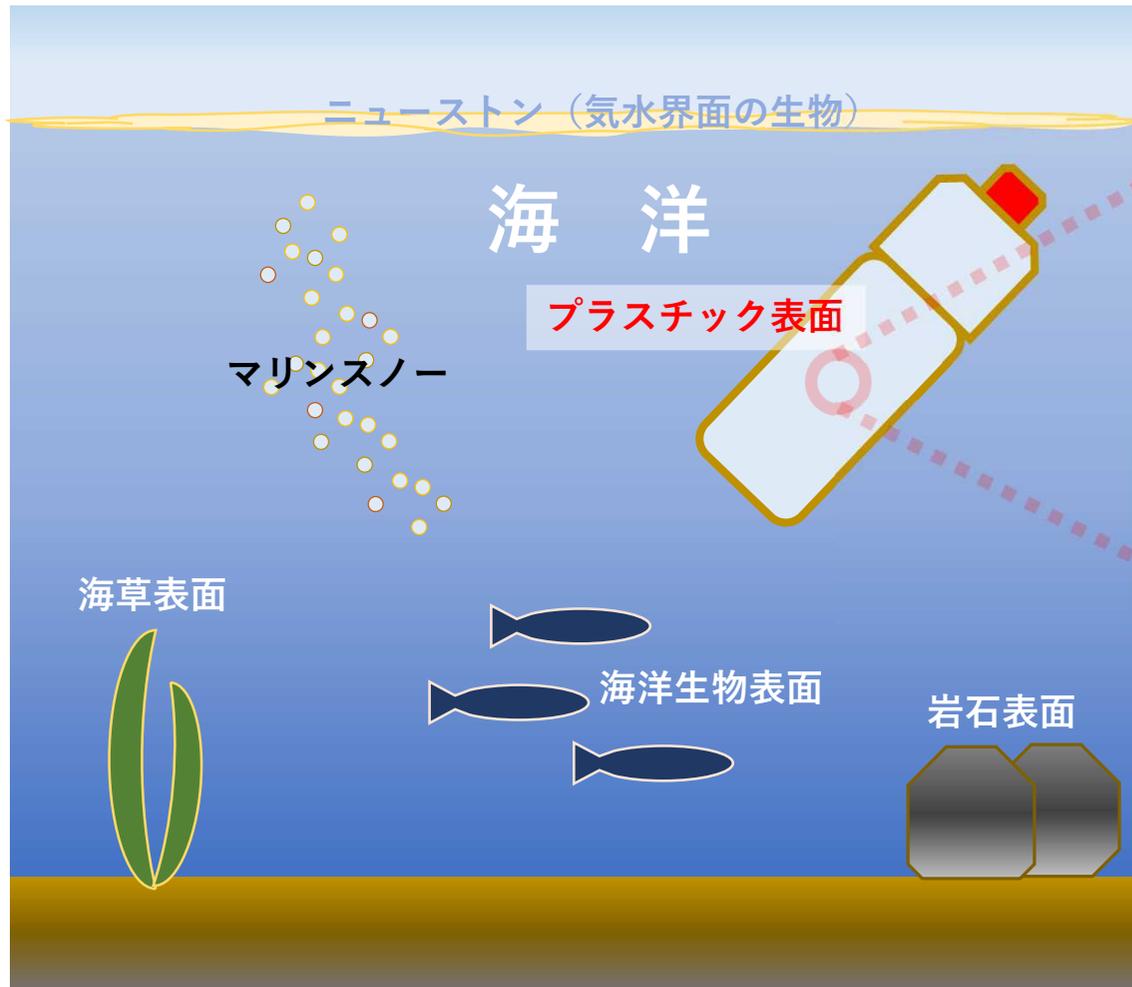
高分子構造制御

減速

高分子構造制御

E3

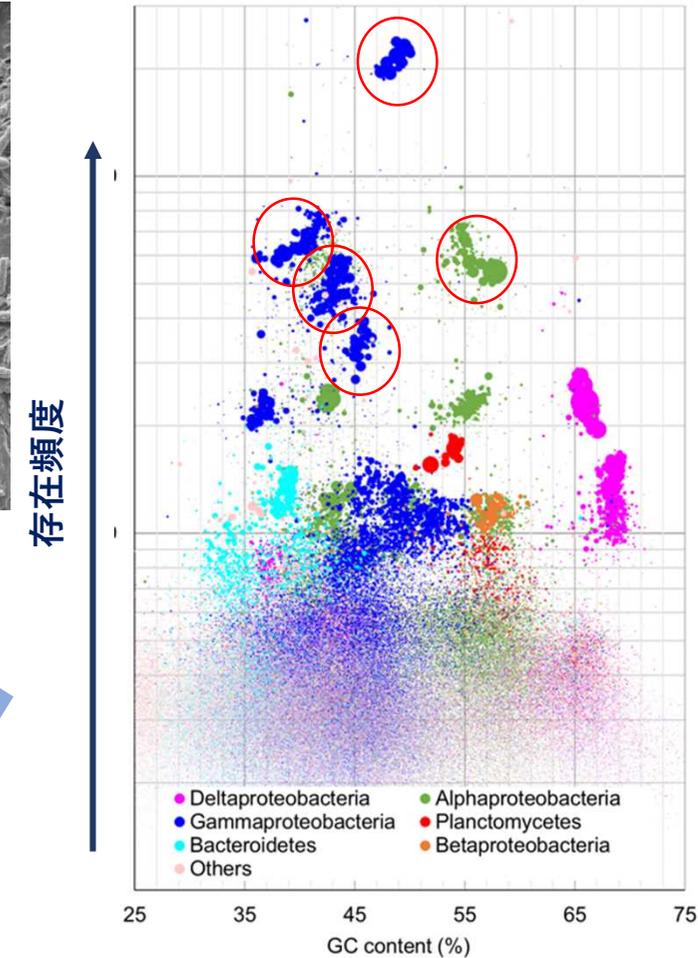
プラステイスフィア：プラスチック表面の微生物フローラ



プラステイスフィアの電子顕微鏡写真.

メタゲノム解析

プラステイスフィア内の微生物集積



存在頻度が高い微生物
 = **プラスチックの生分解に関わる微生物のゲノム情報**が得られる

プラスチックの生分解機構の解明し分解制御へ

海洋以外の環境(淡水)でも同様の実験を実施中

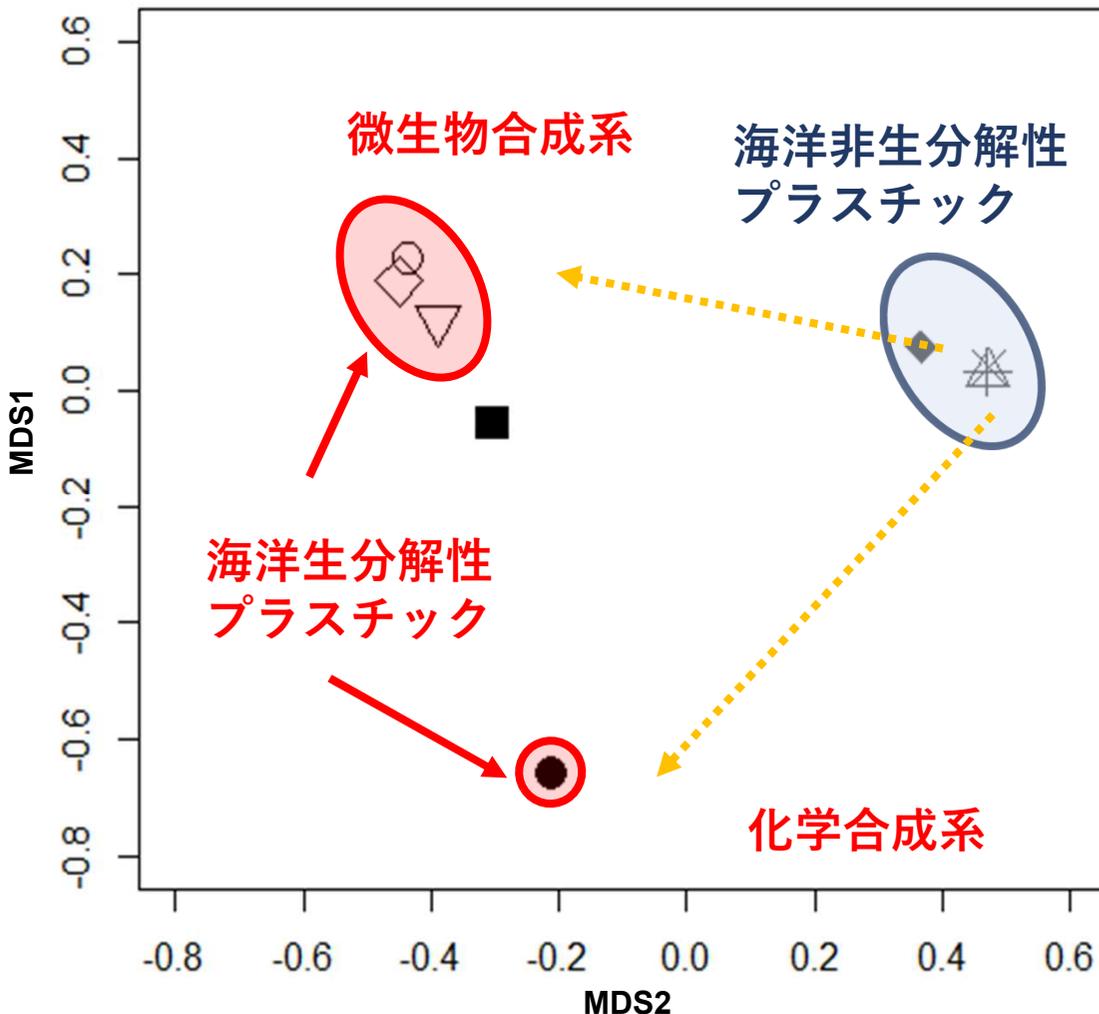


プラスチックネットに生分解性プラスチックを入れ、池に暴露



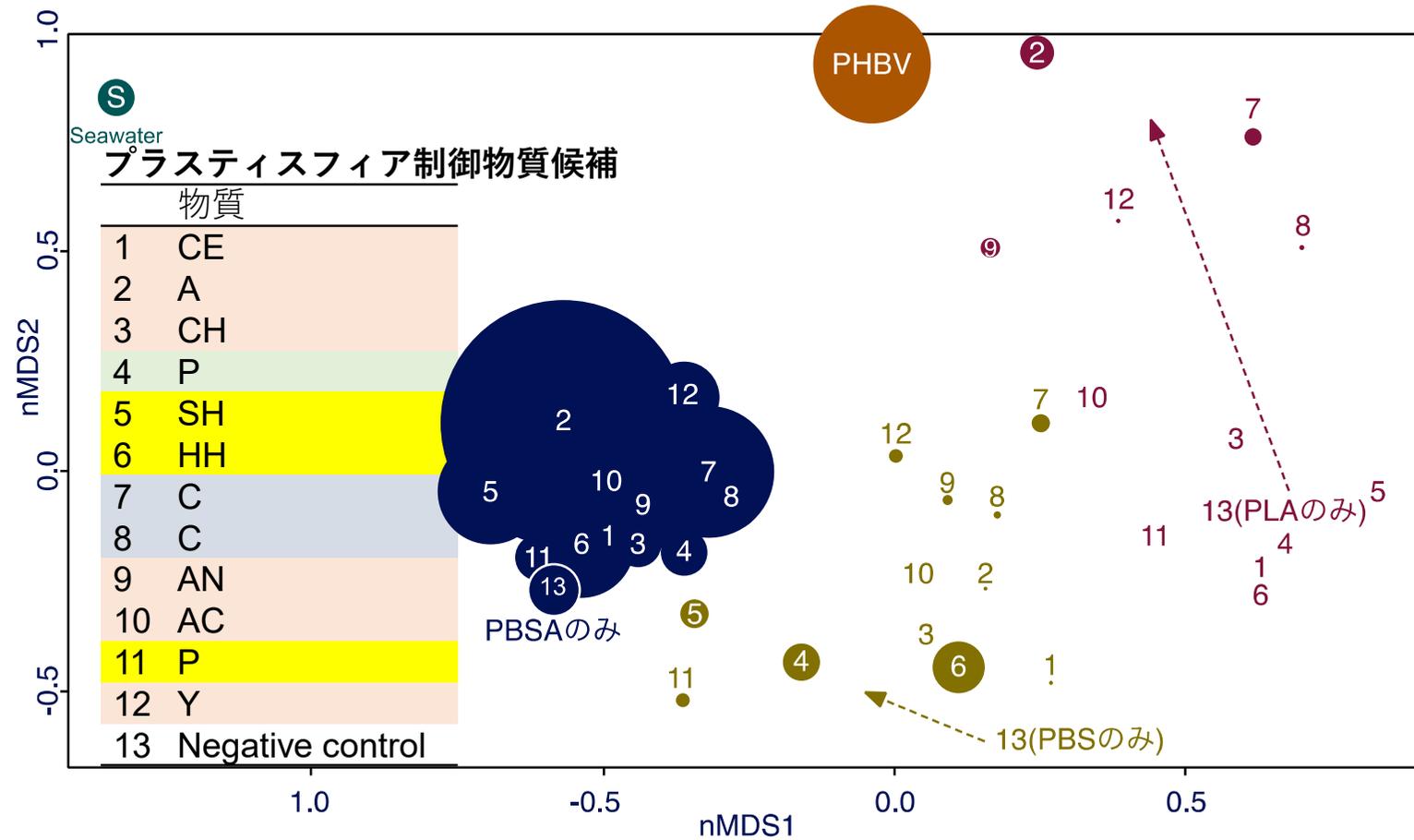
E3

プラスティスフィア：プラスチック表面の微生物フローラ



海洋非生分解性プラスチックのプラスティスフィアを生分解プラスチックのものに近づける。

→ 生分解性が向上する



Bray-Curtis指数に基づく非計量多次元尺度法(nMDS)による各フィルム表面微生物叢の類似性。

PBSA

No.2、No.5、No.6、No.7

PBSu

No.5、No.6 (BOD 生分解度から生分解を確認)

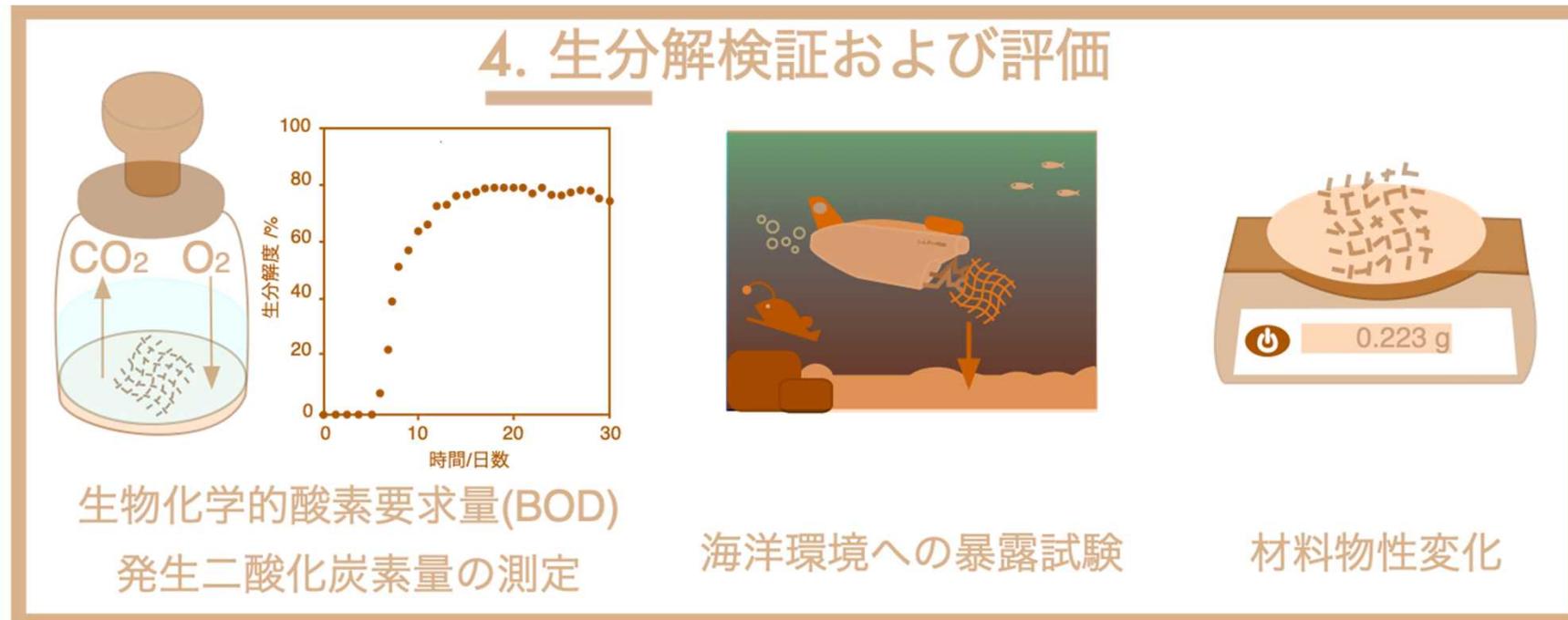
PLA

No.2、No.7、No.9

に対して分解速度上昇効果があった。

8. 現時点の主な成果

海洋生分解性の試験と評価 (E4)



E4：海洋生分解性試験と評価	実験室内	BOD試験系 人工海洋環境系
	海洋環境	沿岸海域 深海海域 表層海域

海洋現場/実験室内での生分解性検証実験

海洋生分解性検証実験の種類

● 実験室内試験



- 常圧（水槽, BOD）
- 加圧（加圧容器）



● 現場海洋環境



- 浅海環境
- 深海環境
- 外洋表層環境

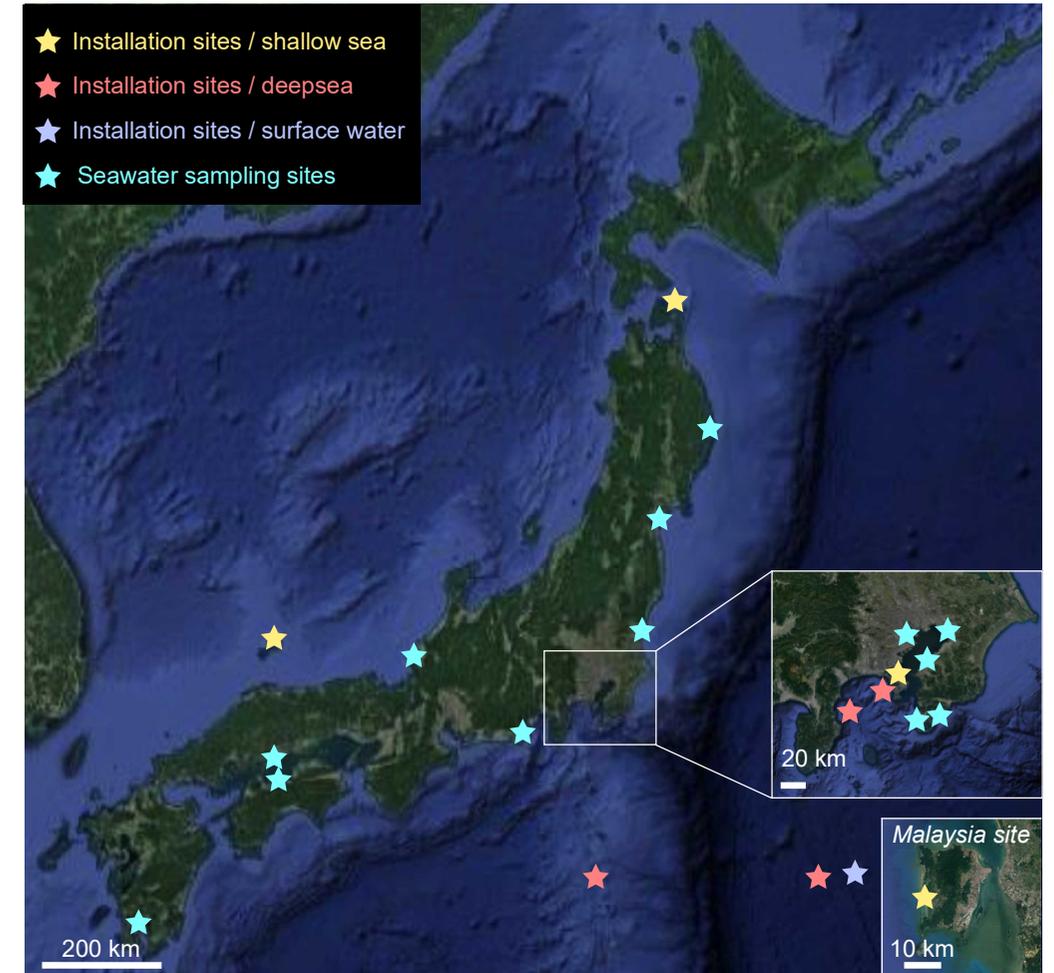


材料評価に用いている海洋現場および採水

- 深海 4点 ★
- 浅海 4点 ★
- 外洋洋上 1点 ★
- マングローブ 1点 ★
- 海水採取 13点 ★★

（うち1点は深海水が常時採取可能）

多様な実海域での生分解試験の実施



NEDO「海洋生分解性プラスチックの社会実装に向けた技術開発事業／海洋生分解性に係る評価手法の確立」国岡PJとの共同実施

- 深海での試験実施・情報交換
 - しんかい6500を利用した深海での実験
 - 推進委員会・合同ワークショップ開催（年4回）

NEDOムーンショット伊藤PJとの共同実施

- 東南アジア地域での試験実施・広報活動の展開・情報交換
 - 海洋生分解性プラスチックの分解試験実施（マレーシア・タイ・インドネシア）
 - ワークショップ開催（タイ・マレーシア（予2024秋））
 - 推進委員会・合同ワークショップ開催（年4回）



海洋現場での生分解性検証実験



潜水船による設置・回収作業



深海底に設置された
新素材を含むチャンバー



むつ研での設置作業

2020-2023年度に計7航海を行い、深海底に新規生分解性素材を設置。

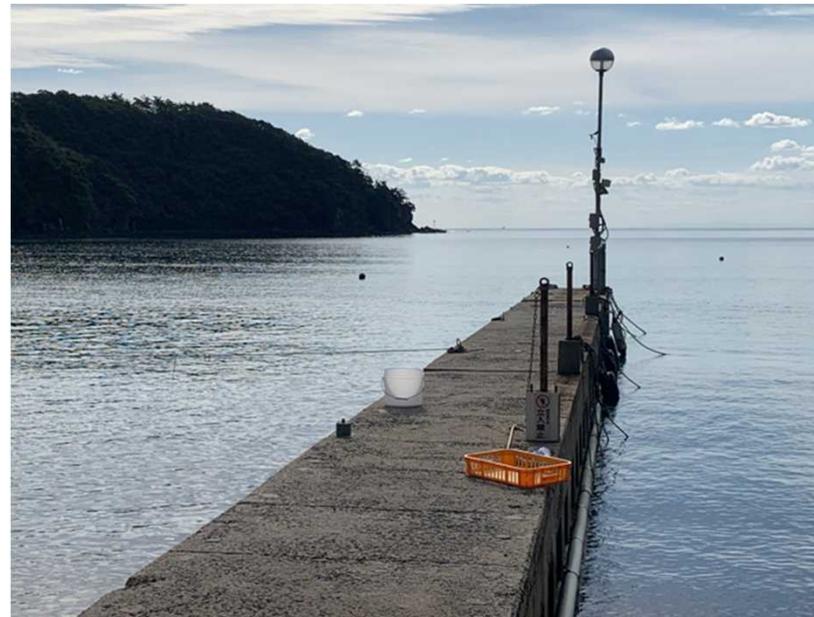
プラスチックごみの蓄積量が多い深海底での評価実験を行っているのは世界でも本プロジェクトのみであり、深海実環境での新素材の分解度を唯一正確に評価することができる。

設置から約半年～1年後に回収し、7項目の物性・化学試験の他、付着微生物のメタオミクス解析を行い、分解度とその分解プロセスを評価。

2023年12月からはJAMSTECのむつ研究所でも浸漬実験を開始。低温の沿岸環境での分解度を評価。



京都府農林水産技術センター
海洋センター



島根大学隠岐臨海実験所

2024年2月からは京都府海洋センターで浸漬実験を開始予定。
2023年10月から島根大学隠岐臨海実験所で浸漬試験を開始。掛け流し水槽での分解試験を開始。



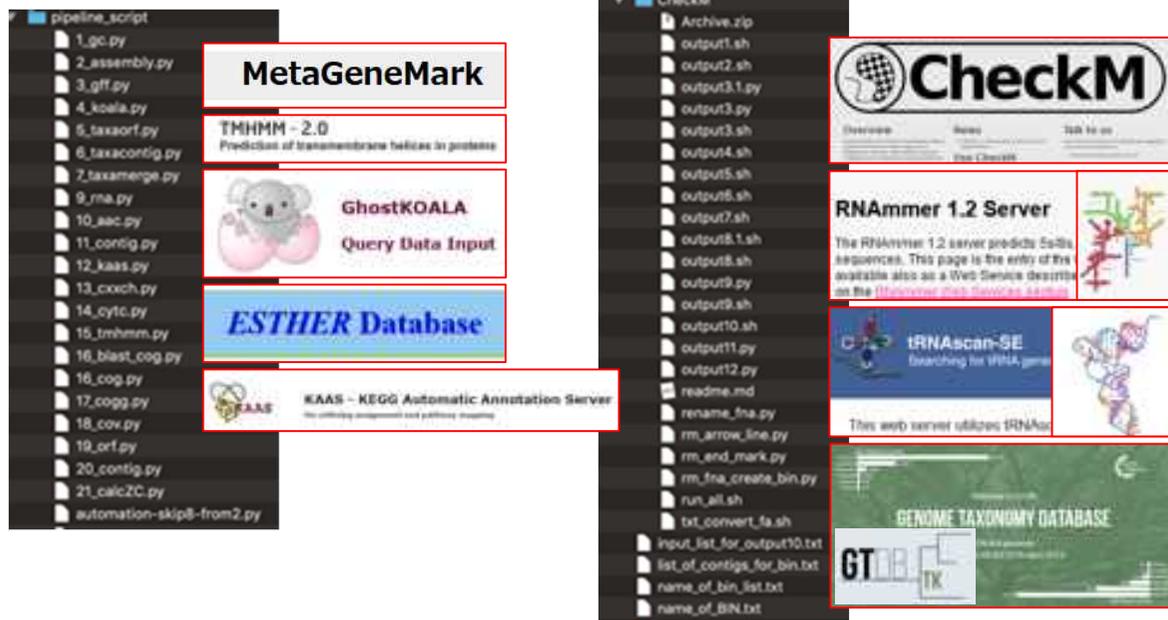
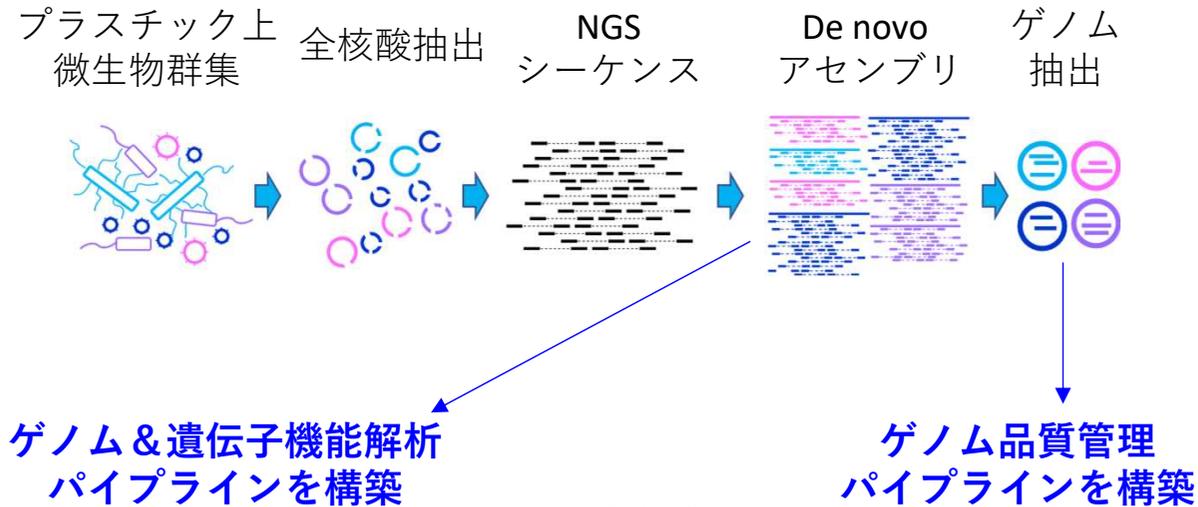
隠岐サイト試料
設置



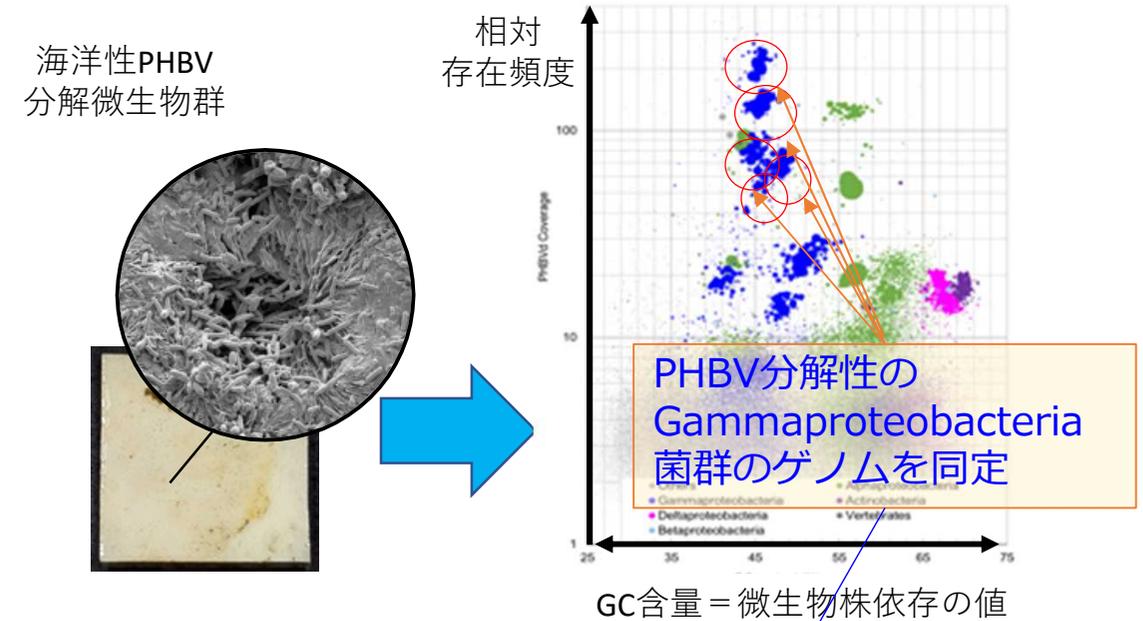
掛け流し水槽

生分解を引き起こす微生物叢のメタオミックス解析

解析パイプラインの構築



プラスティスフェアのメタゲノム解析



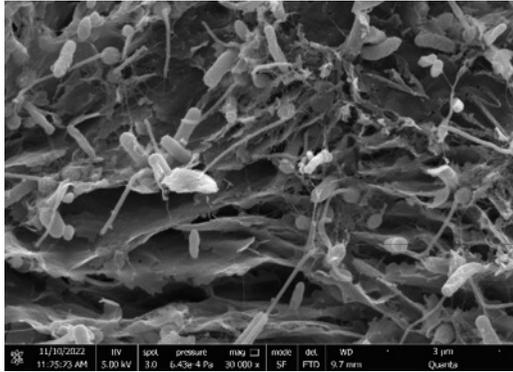
Function	ESTHER ID	Gamm1	Gamm2	Gamm3	Gamm4	Gamm5	Gamm6	Gamm7	Gamm8	Gamm9	Gamm10	Alph1	Alph2	Alph3	Alph4	Alph6	Act1	Delt1	Alph5
Esterase_phb	Esterase_phb	23	13	19	20	18	14	1	0	3	1	0	0	0	0	0	1	6	0
Abhydrolase_6	PHB_depolymerase_PhaZ	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Esterase_phb_PHAZ	Esterase_phb_PHAZ	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Thioesterase	Thioesterase	9	9	4	4	8	8	13	5	0	0	1	0	0	0	0	2	2	6
Lipase_2	Lipase_2	10	2	6	10	11	5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Abhydrolase_6	6_AlphaBeta_hydrolase	15	12	12	18	19	14	14	32	11	15	9	6	16	32	24	50	31	0
Bacterial_lipase	Bacterial_lip_FamI.3	4	0	1	3	2	1	2	2	2	1	5	5	10	0	25	1	0	3
AlphaBeta_hydrolase	AlphaBeta_hydrolase	2	5	2	2	4	4	1	3	3	0	6	3	5	3	4	9	8	0
Hormone-sensitive_lipase	Hormone-sensitive_lipase_like	1	0	1	2	1	4	0	1	8	1	2	0	1	9	7	12	6	0
Epoxide-hydrolase_like	Epoxide_hydrolase	2	2	1	2	1	1	1	0	5	0	0	0	1	3	3	10	5	0
Peptidase_S9	Prolyl_oligopeptidase_S9	3	1	3	4	3	0	2	10	0	1	0	0	0	4	0	0	3	2
Hydrolase_4	Proline_iminopeptidase	3	1	1	3	2	2	1	4	1	1	1	1	1	1	1	3	8	0
Dienelactone_hydrolase	Dienelactone_hydrolase	1	1	0	1	2	1	1	2	1	1	0	0	1	2	1	8	3	0

PHB depolymeraseを多くコードしている

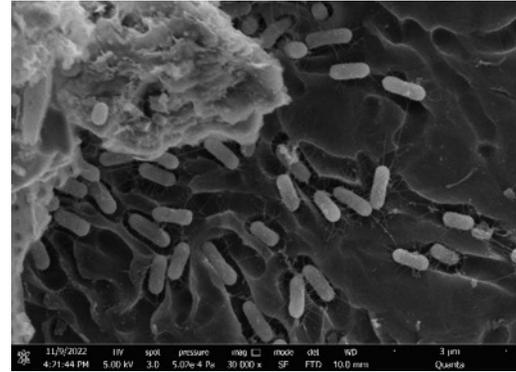
大量のデータを効率よく、高速に解析する手法を構築できた

メタオミックス解析により、海洋でPHBVを分解している Gammaproteobacteria とその分解遺伝子の候補を同定できた

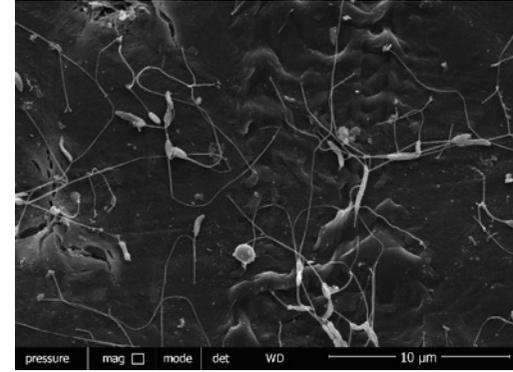
生分解を引き起こす微生物叢のメタオミックス解析



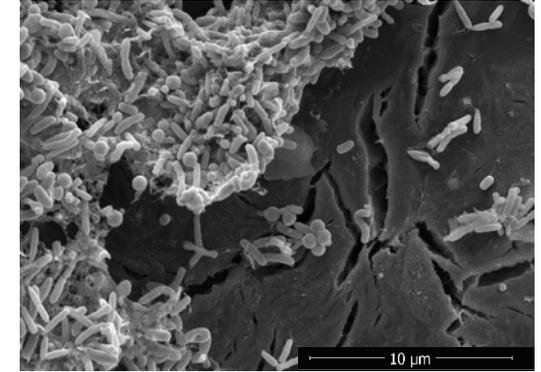
三崎沖・漸深海帯 (BMS)



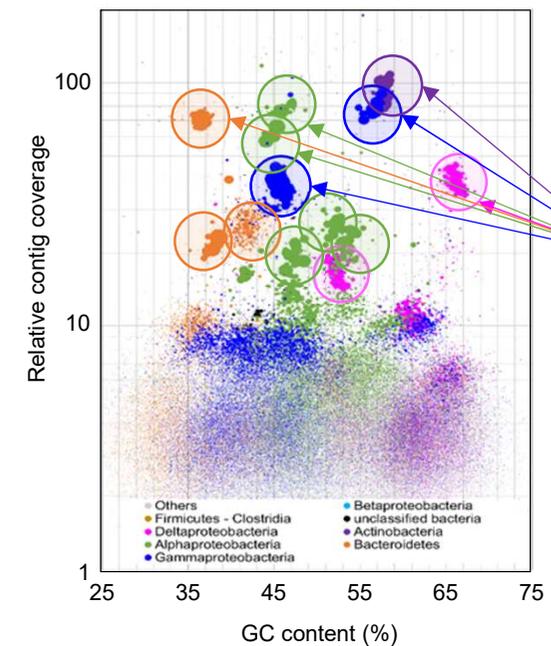
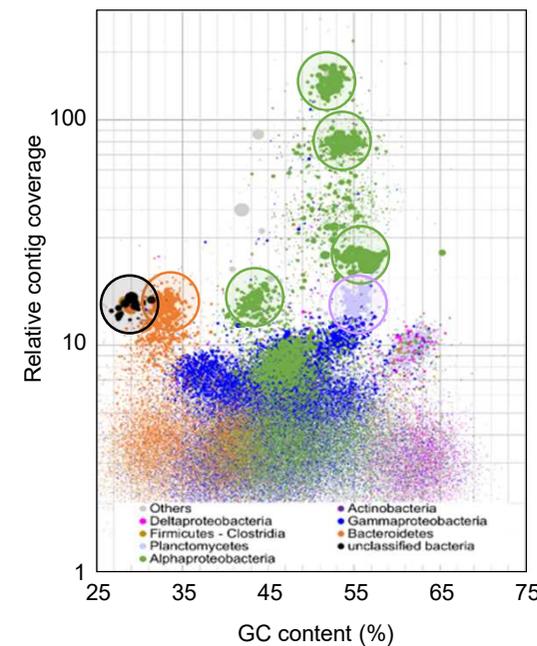
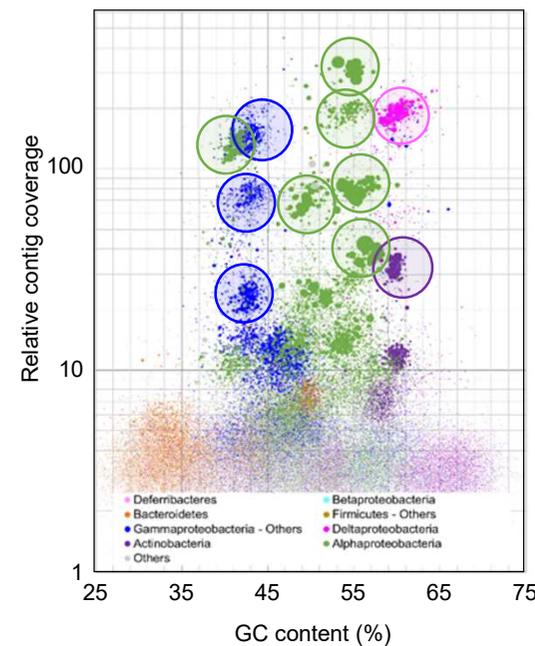
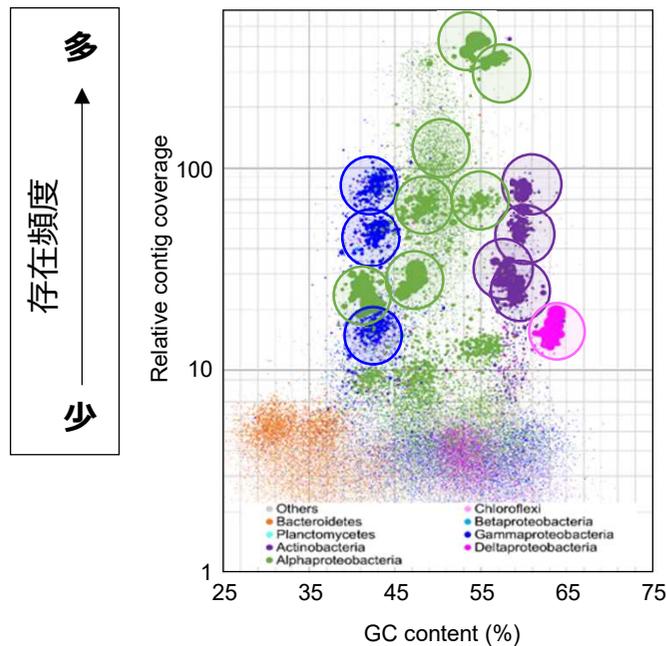
初島沖・冷湧水帯 (BHT)



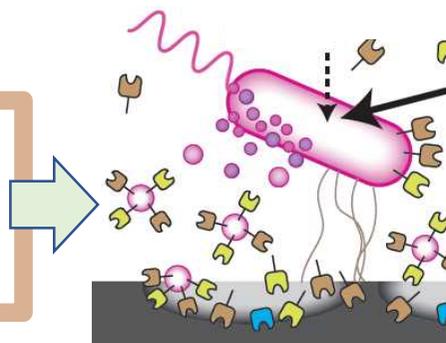
KEO西方・深海帯 (AKR)



明神海丘・熱水噴出域 (BMJ)



- ✓ 各海域で異なる種類の微生物を有するバイオフィームが形成されていた
- ✓ これらの微生物群集中の存在頻度が高い微生物のゲノム情報 (Metagenome-assembled genomes, MAGs) が得られた
 - 生分解に“直接”関与する微生物の増殖が起こっていると考えられる
 - プラスチックの分解に関わる酵素を同定し、生分解機構を明らかにする



実験室内での生分解度評価



生分解性プラスチック
有機炭素含有量
20%以上

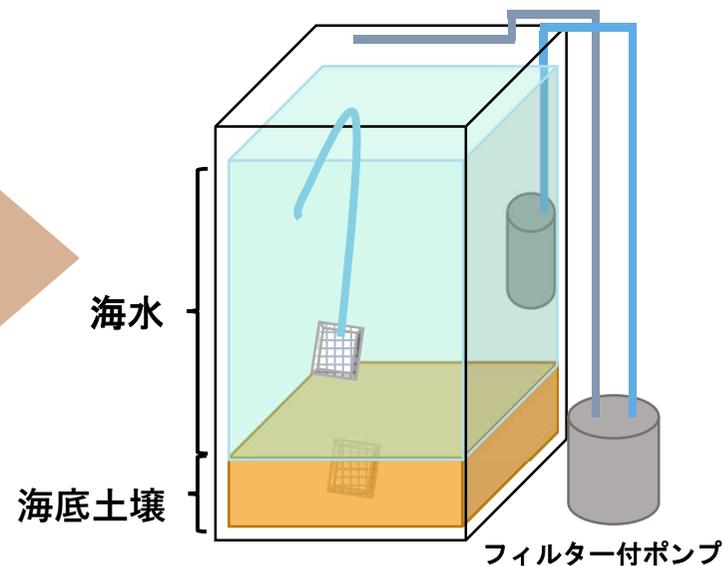
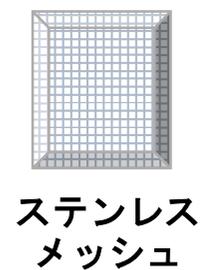
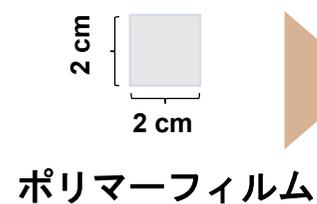


$$\text{生分解度}\% = \frac{O_2}{ThOD} \times 100$$

O_2 : 試験化合物の異化に使用された酸素要求 (BOD)

$ThOD$: 理論的酸素要求量

BOD生分解度測定



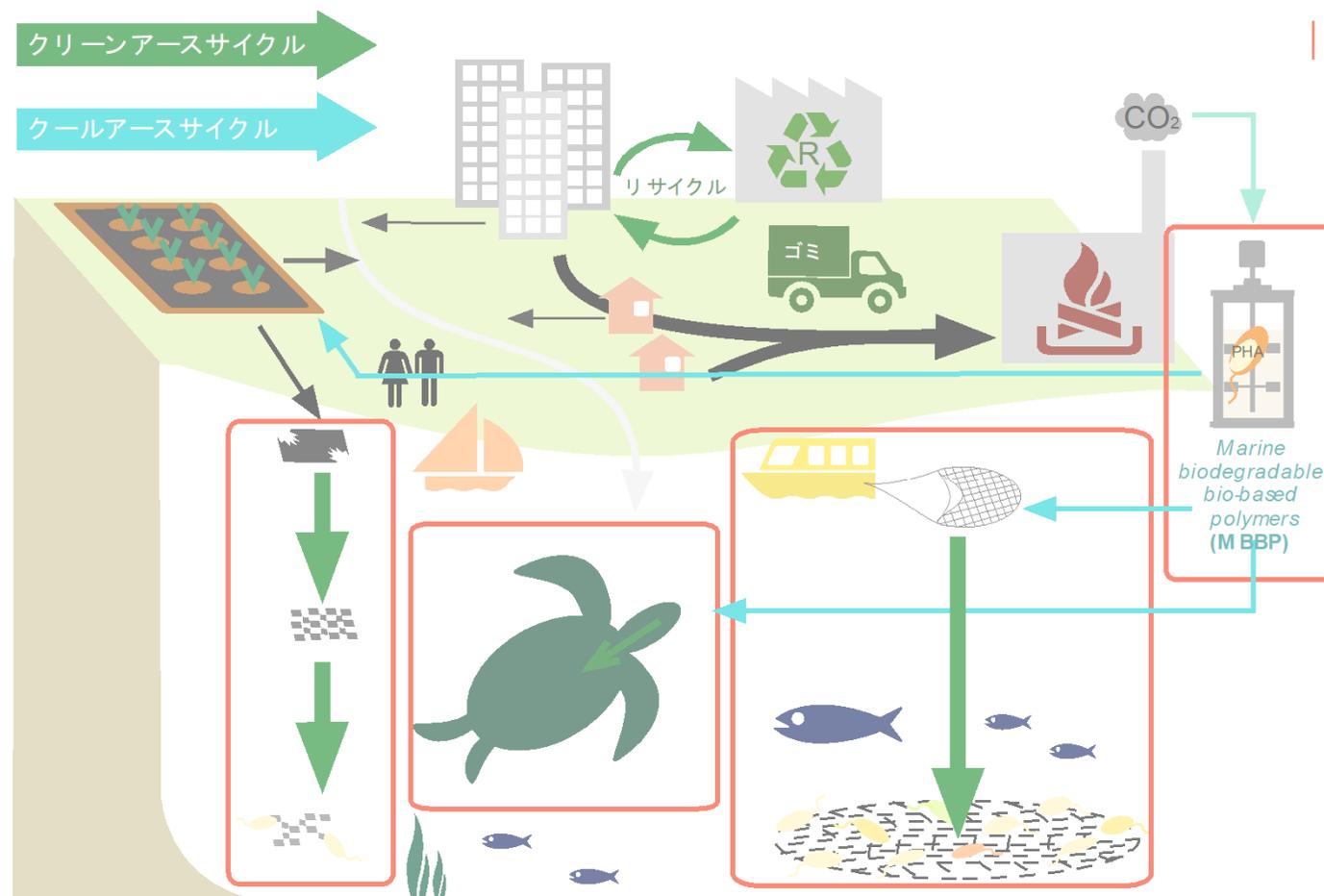
水槽試験

- 崩壊度評価
- 表面形態観察
- 材料物性評価
- プラスティスフィア解析

8. 現時点の主な成果

社会実装に向けた研究開発 (SI)

5. 開発技術の社会実装

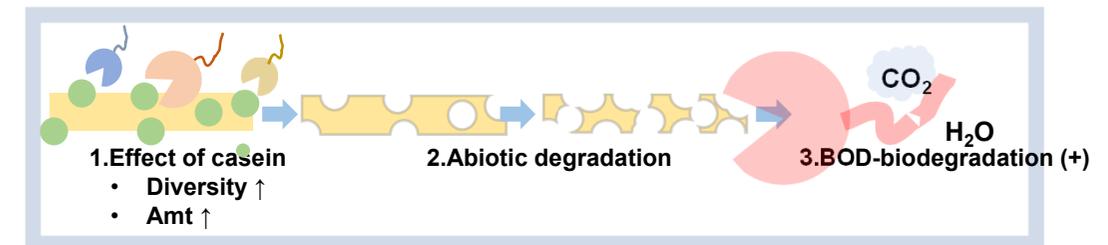


SI 社会実装に向けた研究開発

リード化合物による生分解性プラスチックの海洋での生分解速度制御

<リード化合物添加のコンセプト>

土壌中		微生物多い	⇒	生分解速い
海洋中		微生物少ない	⇒	生分解遅い



微生物を集め分解を促進させる
海洋分解促進剤を探索

● リード化合物の選定



候補

大豆由来量産品、
米ぬか、...

**大豆由来量産品(C,J,K)の添加
により良好な分解特性
(目標値：90%以上)**

● 生分解性樹脂への分解促進剤分散技術、成型技術の確立

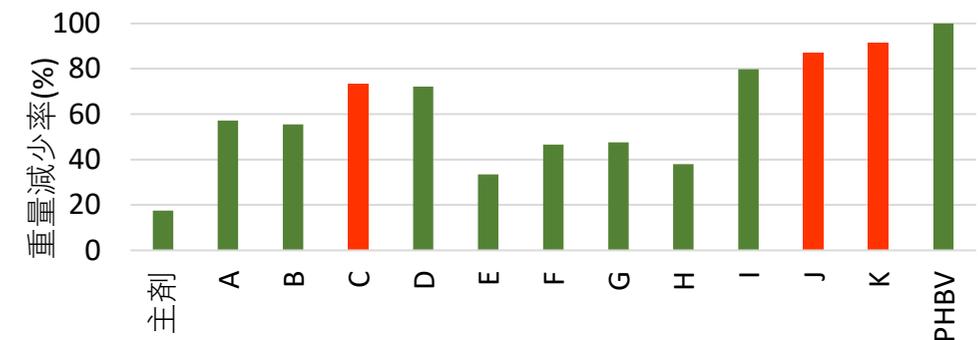
- ・インフレーション法でフィルム成形（包装用フィルム等を想定）
- ・第3成分の配合、組成最適化により分散状態を改善



分解特性と初期機械特性*を両立

*フィルムの機械特性： JIS Z1702の引張強度と伸び

リード化合物（A～K）添加樹脂の崩壊性試験
（水槽 3ヶ月， 各添加量10%）



種々の海水での崩壊性(4か月)

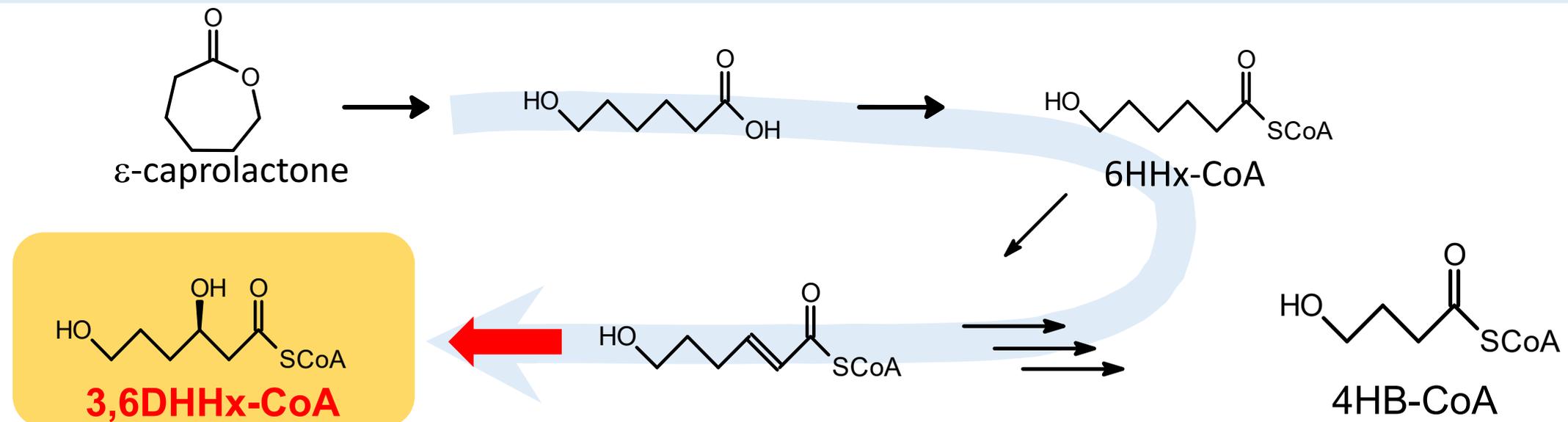


A:大豆由来品10% B:大豆由来品10%+ 第3成分5%
(サンプル厚さ: 50μm)

社会実装に向けた研究開発

スイッチ機能導入可能なPHAの合成

<側鎖に水酸基の導入されたPHAの生合成>



ε-caprolactoneから代謝によって生産される3,6DHHx-CoAを効率的に重合するPHA重合酵素を開発する

● 3,6DHH比率が2～3倍に向上したPHA重合酵素変異体の取得

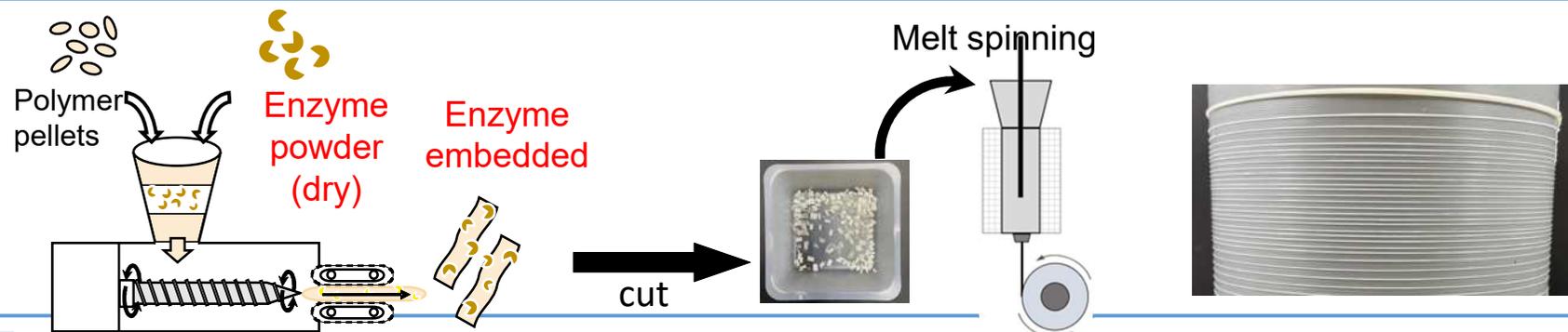
PHA重合酵素	乾燥菌体量 (g/L)	PHA量 (g/L)	3,6DHH比率 (mol%)
Control	5.86	3.86	3.34
変異A	2.94	0.59	10.4
変異B	4.80	3.09	2.91
変異C	4.50	2.80	4.24
変異D	4.96	2.30	9.02
変異E	5.40	3.27	6.51



SI 社会実装に向けた研究開発

産業用途で実用性のある物性を有する海洋時限生分解性繊維の製造技術開発

分解酵素の樹脂への包埋技術を活用し、高強度繊維に海洋分解性を付与する



● 生分解性ポリエステル繊維化

量産性と強度の観点からPBSとPBATを選定、紡糸条件の最適化によりPBSで引張強度650MPaを達成

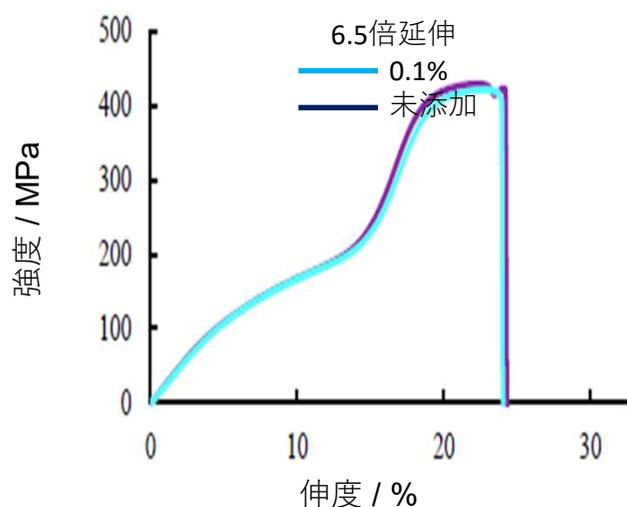
● 酵素量産技術の開発

耐熱性と分解活性を合わせ持つ酵素の量産を検討中

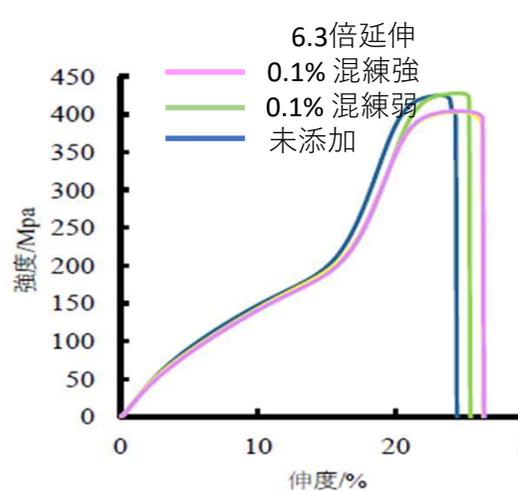
● 酵素添加技術の開発

酵素混練法の最適化により、酵素添加（0.1%）のPBS紡糸で繊維物性の低下抑制を達成

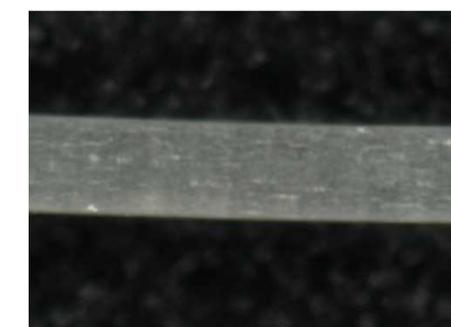
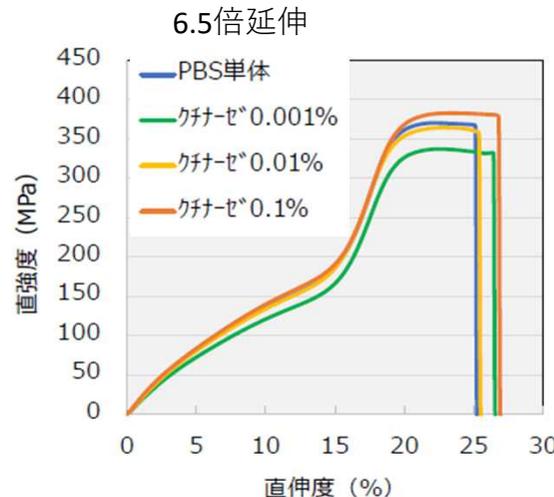
(1) リパーゼ添加



(2) アルブミン添加



(3) クチナーゼ添加



クチナーゼ 0.1%添加PBS糸

➡ 海洋生分解性評価へ

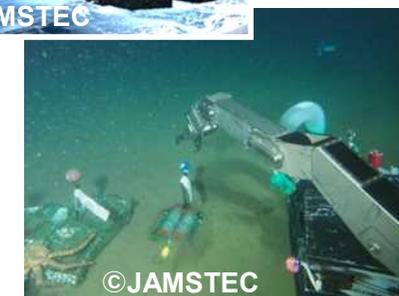
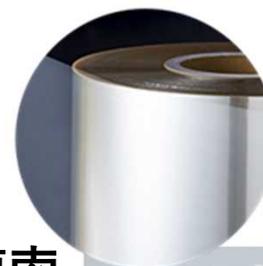
SI 社会実装に向けた研究開発

PJで開発した技術を基に、様々な企業と連携して海洋生分解性プラスチックの社会実装を推進



セルロース材料をパッケージ素材として機能付与・複合化したものの海洋生分解性を評価

→ 実用性とスイッチ機能の両立を模索



海洋生分解性プラスチックの評価法開発

フロー式を採用した正確な生分解度測定が可能な分析システムの開発と、海洋生分解性を有する新規材料の探索。



● その他、共同開発・サンプル提供等の協力企業

株式会社ダイセル **DAICEL**

ほか

クリーンアースな未来のために



ご清聴ありがとうございました

