Journal of Environmental Biotechnology
（環境バイオテクノロジー学会誌）
Vol. 4, No. 1, 5–17, 2004

総　説（特集）

バイオプロセスと生分解性プラスチック

Bioprocess and Biodegradable Plastics

常　盤　　豊
Yutaka Tokiwa

独立行政法人産業技術総合研究所　〒305–0046 茨城県つくば市東1–1–1　中央第 6
TEL: 029–861–6034　FAX: 029–856–4898
E-mail: y.tokiwa@aist.go.jp
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) Tsukuba Central 6, 1–1–1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305–8566, Japan

キーワード：バイオプロセス，生分解性プラスチック，ポリ（ラクチド），ポリ（3-ヒドロキシブチレート）
Key words: bioprocess, biodegradable plastic, poly(lactide), poly(3-hydroxybutyrate)

（原稿受付　2004年 5 月 5 日／原稿受理　2004年 6 月16日）

1. はじめに

最近，循環型社会の実現のために，化石資源に代わって，再生可能資源（バイオマス資源）からエネルギーや化学品素材（バイオマス製品）を生産する新たな産業の創成が期待されている。

表 1 に世界の主な植物資源と糖質換算量を示した。世界の穀物生産量は約19億トン/年であり，現状ではかなり余剰である。東アジア地域においてもバイオマス資源は豊富であり，適切に管理して用いると環境負荷が低いことから，バイオマス製品の原料としてたいへん有望である。バイオマス資源は，余剰農産物や未利用植物，農林水畜産廃棄物，生ゴミ・食品廃棄物にとどまらない。バイオマスは，化石資源とは異なり再生が可能な資源であるので，天然ゴムやパーム油等のように，製品を生産するのに適した原料（資源作物）を計画的に栽培できる利点がある。キャッサバやシュガーケーンなどのバイオマスを最適な技術によりバイオマス製品に変換することで，化石資源に依存しない新たな産業の創成が可能となる。化石資源については，石油鉱業連盟が2002年に，石油および天然ガスの商業生産可能期間をそれぞれ2050年，2061年までと試算している。

表 1．植物資源と糖質換算量。

植物資源	世界生産量（億トン/年）	糖質理論収量（%）	糖質換算量（億トン/年）
トウモロコシ	6.36	60	3.82
米	5.85	60	3.51
小麦	5.57	60	3.34
バレイショ	3.11	15	0.47
キャッサバ	1.88	20	0.38
サツマイモ	1.37	25	0.34
シュガーケーン	13.50	15	2.03
ビート	2.38	16	0.38

（2003 年 FAO 統計）

しかしながら，化石資源からバイオマス資源への原料転換にともなう生産プロセスについては，効率的なエネルギー使用技術の開発が必要である。

生分解性プラスチックの分野においても，カーギル・ダウ社は，米国産トウモロコシデンプンを原料とするポリ乳酸（ポリラクチド）の大量生産工場（年産14万トン規模）を2001年11月から稼働させている。また，トヨタ自動車は，シュガーケーンを原料に用いてポリラクチドの生産を検討し，ポリラクチドを利用した自動車部品等の開発を進めることを発表している。

余剰農産物を利用して乳酸というプラスチック原料の生産が，経済性および環境保全の面からも実現可能となってきた。余剰農産物の化学品素材への利用は，途上国の農業従事者の生活を向上させると同時に，環境破壊の防止にも寄与する。また，余剰農産物の新たな利用分野の開拓は，世界の植物資源の生産を維持，発展させるためにも必要となってきている。

ここでは，生分解性プラスチックの開発経緯と生分解機構について紹介するとともに，バイオマス資源からバイオプロセスによる乳酸など生分解性プラスチックの原料の生産に関する研究動向について述べる。

2. 生分解性プラスチックの開発経緯

生分解性プラスチックの研究は，1960年代後半から1970年代にかけて，公害問題と関連して，プラスチック廃棄物を微生物で処理することを目指し，プラスチック分解菌の探索が盛んに行われたことに始まる。しかし，ポリエチレンやポリプロピレンなどの汎用プラスチックを分解する微生物は発見できず，多くの研究者はこの分

野から去っていった。その後も，プラスチック生産量は増えつづけ，プラスチック廃棄物問題はますます深刻になっていった。そして，1989年頃から，使用後の処理がしやすいプラスチックとして生分解性プラスチックの開発が注目されてきた。

生分解性プラスチックの主な利点として，以下の①～⑤があげられる。

①使用後に環境中の微生物により水と二酸化炭素にまで分解されるので，環境への負荷が低減する。鳥や魚，カメなど野生生物への危害が減少する。プラスチックフィルムが電線に絡む，船舶の吸水口を詰まらせる，等のトラブルが減少する。美観を損ねることが減る。

②使用後，容器・包装資材などは，生ゴミなどとのコンポスト化により堆肥や土壌改良材として，大地に還元できる。循環型社会の実現に寄与する。

③農林水産資材（マルチフィルム，ポット，蔓ひも，植生ネット等）や建設資材（土のう袋, 杭, 型板等）は，使用後，回収や取り外しする必要がなく省力化に役立つ。

④埋め立て処理した場合，分解するので嵩が減少し埋め立て地の延命に役立つ。また，埋め立て地の跡地利用がしやすくなる。

⑤生分解性プラスチックは，微生物や酵素で分解してリサイクルしやすい。

生分解性プラスチックの①～⑤の利点は，生分解性プラスチックがカーボンニュートラルのバイオマスから生産されることにより，単に二酸化炭素の排出を抑制し，温暖化防止に寄与するということとは次元が異なることが理解できる。

生分解性プラスチックの代表的なものの化学構造を，図 1 に示した。これらは，すべて脂肪族ポリエステルと呼ばれるものである。脂肪族ポリエステルは，PET（ポリエチレンテレフタレート）と同じようにエステル結合で長く連なった高分子物質であるが，分子中に芳香環を含まないポリエステルである。微生物が生産するポリ（3-ヒドロキシブチレート）(PHB) をはじめ，石油を原料として合成されたポリ（ε-カプロラクトン）(PCL), ポリ（ブチレンサクシネート）(PBS) とその共重合体などがあげられる。また，デンプンなどの再生可能資源を原料としたものとしてポリ（L-ラクチド）(PLA) がある。さらに，PCL にデンプンをブレンド（混融）した生分解性プラスチックも欧州で広く使用されている。

生分解性プラスチックは，原料の面から，デンプンなどの再生可能資源と石油などの化石資源を使ったものの 2 つに分けられる。最近は，特に，再生可能資源を原料として発酵生産された乳酸を重合させた PLA の生産量が急増している。しかし，人口増（2001年現在63億人が2025年78億人，2050年88億人，2075年90億人，2100年84億人と推計されている[21]）や食肉需要の増大，異常気象等により，将来，デンプンなどの再生可能資源の供給不足も心配される。一方，石油などの化石資源は，今後とも化学品原料として重要な役割を果たしていくと思われるが，その相対的重要性は前述の商業生産可能期間によって次第に低下していくものと考えられる。図 2 には，化石資源および再生可能資源からの高分子素材の生産過程を示した。いずれの原料からも，生分解性の高分子素材が得られる。プロセスにおいても，安全性や省エネルギー効果の高い生体触媒（微生物や酵素）の利用が進むと思われる。

3. 生分解性プラスチックの分解機構

1）分解微生物の分布状況

脂肪族ポリエステルは水に不溶性の個体であるにもかかわらず，自然界に存在している多種多様な微生物によって容易に分解される。その原因はポリエステルを組み立てているエステル結合が，微生物の生産する酵素によって容易に分解されるためと考えられる。各種のポリエステルを分解する微生物の分布状態は，それぞれのポリエステルを乳白色に分散した寒天平板上に，透明域を周囲に形成したコロニーを計数することで行った[27]。その結果，地域の違いにあまり関係なく，一般的に PCL＝PHB＞PBS＞PLA の順に減少している[27,34,44,36]。これは1999年 5 月から20ヶ月間，各県の試験研究所を中心

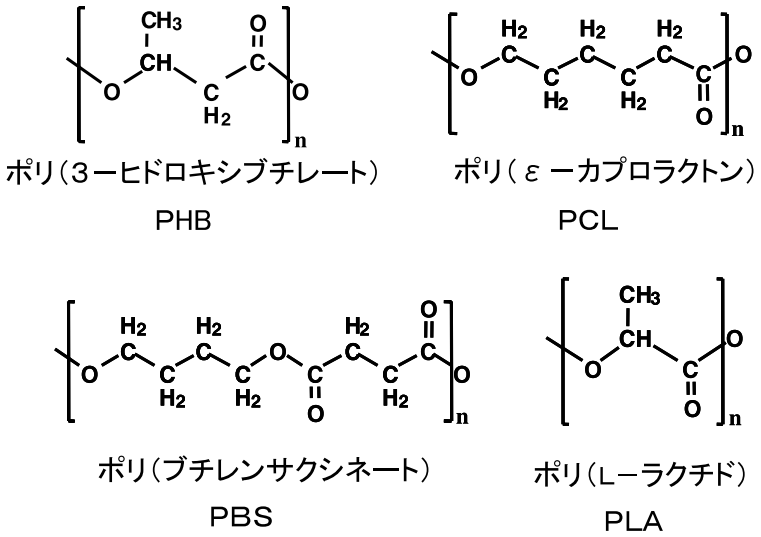

図 1．生分解性プラスチックの代表例。

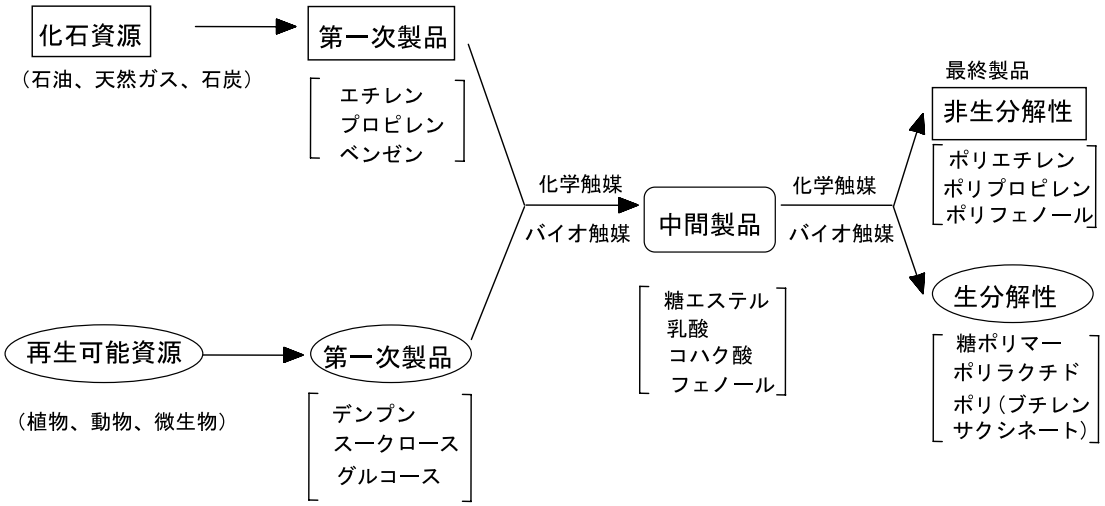

図 2．再生可能資源および化石資源からの高分子素材の生産過程。

とした57機関が参加して，全国91カ所で行われた生分解性プラスチックのフィールド試験の結果ともほぼ一致している。

しかし，土壌などの環境中に存在する微生物は，ほとんどがシャーレの寒天平板にコロニー（微生物の集落）を作らない。一般に，コロニーを作る微生物は，全体の１％以下であると言われている。また，土壌における存在数が少ない微生物は，サンプルを希釈して寒天平板に散布してコロニーを形成させることは実質的に不可能である。このことから，ポリエステル分解能を示す寒天平板上の微生物数の多少だけで，環境中におけるポリエステルの分解性を予測するのには限界があることが理解できる。一方，土壌や河川など種々の分離源から多くの研究者により単離された多種類の微生物が，微生物保存機関によって収集，整理されカルチャーコレクションとして保存されている。

そこで，系統的類縁関係の明確な種々の微生物を用いて，ポリエステル分解能のデータを蓄積し，微生物系統樹とポリエステル分解能の関係を明らかにする取り組みも行われている[54]。

2）ポリ（エチレンアジペート）(PEA: $[-OCH_2CH_2OOC(CH_2)_4CO-]_n$)

アジピン酸とエチレングリコールからなる PEA は，ポリウレタンや人工皮革の原料，可塑剤などとして使用されている。

1974年，筆者らは土壌より分離したカビ *Penicillium* 属の 14-3 株が低分子量 PEA（数平均分子量 Mn: 3,000）を分解することを見出した[45]。0.1％ PEA を唯一の基質として 30°C で 14-3 株を培養したとき，菌体の増殖とともに，PEA が急速に減少し，5 日後には完全に消失した。その途中で，培地中に水溶性有機物の蓄積が認められた。PEA は 14-3 株によりオリゴマーを経て，アジピン酸とエチレングリコールに分解されて資化されることがわかった。14-3 株は，PEA 以外にも種々の脂肪族ポリエステルにも生育できた。

14-3 株の PEA 分解酵素は，PEA など種々のポリエステルにより誘導生産された。合成高分子の PEA を分解する酵素は，未知の新しい酵素なのか，あるいは既に知られている酵素の一種なのかを明らかにするため，PEA 分解酵素を単一の蛋白質にまで精製してその基質特異性を調べた。その結果，PEA 分解酵素は，種々の飽和・不飽和脂肪族ポリエステルや脂環ポリエステルを分解するが，微生物由来の PHB や芳香族ポリエステルを分解しないことが明らかとなった。さらに，PEA 分解酵素はポリエステルの他に，種々の植物油や脂肪酸エステル等も分解することより，リパーゼの一種と考えられた[47]。

3）ポリ（ε-カプロラクトン）(PCL)

1976年，筆者らは土壌より分離したカビ *Penicillium* 属の 26-1 株 (ATCC36507) が高分子量 PCL (Mn: 25,000) を分解することを見出した[46]。0.1％ PCL を含む培地に胞子を接種して 30°C で培養した場合，PCL の減少につれて菌体は増殖し，培養 7 日目で最高に達した。PCL は12日後にはほとんど完全に消失した。3 日から 7 日までの培養液中に ε-ヒドロキシカプロン酸が検出されたので，PCL は 26-1 株により ε-ヒドロキシカプロン酸に分解され，資化されるものと考えられた。

PCL は人工的に合成された合成高分子であるが，好気・嫌気的環境や高温環境[40] などの自然環境中において容易に分解されることが，その後の研究で明らかになってきた。微生物にとって PCL は，植物の表層に存在しているクチンやスベリンなど天然ポリエステルの類似物として認識されていると考えられる[29]。

4）リパーゼおよびエステラーゼによる脂肪族ポリエステルの分解

1977年，筆者らは微生物由来のリパーゼや豚肝臓エステラーゼを精製してからポリエステル分解能を調べた。PEA や PCL は細菌，酵母，カビのリパーゼや豚肝臓エステラーゼにより分解された。また，脂環ポリエステルのポリ（シクロヘキシレンジメチルサクシネート）も分解された。しかし，芳香族ポリエステルは分解されなかった。これは，リパーゼやエステラーゼが高分子物質にも作用することを明らかにした最初の報告であった[48]。

脂肪族ポリエステルのリパーゼによる分解性には，そのポリエステルの融点 (Tm) が大きく影響する。微生物由来 PHB (Tm: 178°C) と PLA (Tm: 175°C) はリパーゼやエステラーゼでは分解されないが，それらのラセミ体は融点が低く，リパーゼやエステラーゼの作用を受けることが知られている。

一般に，脂肪族ポリエステルの融点が高くなるに従って酵素分解されにくくなる。固体状態の高分子物質においては，融点に関係する分子間凝集力や分子鎖の剛直性が大きな力を発揮し，機械的，化学的性質などを特徴づけるとともに生分解性をも決定する重要な因子であると考えられる。例えば，ナイロンの高融点は水素結合に基づく分子間凝集力が大きいことに起因し，芳香族ポリエステルの高融点は分子鎖の剛直性が大きいことに起因している。

筆者らは，脂肪族ポリエステルとナイロンあるいは芳香族ポリエステルとの共重合体を合成し，リパーゼによる分解性が分子間凝集力や分子鎖の剛直性の影響を顕著に受けることを明らかにした[49,50]。これらの共重合体は，現在，生分解性プラスチックとして欧米で工業生産されている。

5）ポリ（3-ヒドロキシブチレート）(PHB)

微生物由来 PHB は融点が 178°C と高いにもかかわらず，微生物によって速やかに分解される。また，PHB を分解する微生物は自然環境中に広く存在しており，湖沼の底泥や埋め立て地のような嫌気条件下でも速やか分解される特徴がある。Chowdhury は1963年に，PHB 分解菌として *Bacillus* 属や *Pseudomonas* 属，*Streptomyces* 属の菌株を見出している[3]。その後，多くの研究者が，種々の環境から種々の PHB 分解菌を分離している。

しかし，PHB を熱処理してフィルムに加工すると微生物による分解速度は，著しく小さくなる[26]。細菌 *Pseudomonas* 属 SC-17 株による PHB フィルムの分解パターンのモデルを図 3 に示した。微生物分解は，表面上に形成される微生物のコロニー（集落）による半球状分解（結晶と非結晶部分を区別しないで分解）と，微生物が分泌した酵素による選択的分解（非結晶部分をより速く分解）の二通りの機構で行われていることがわかった[28]。

Merrick らは，1964年に初めて，*Rhodospirillum rubrum* の菌体内から細胞内の PHB グラニュールを分解できる PHB デポリメラーゼを発見した[24]。菌体内由来の PHB デポリメラーゼはその分解機構が複雑で，溶媒抽出した PHB には作用できない。一方，菌体外の PHB デポリメラーゼは，*Alcaligenes* 属[43]，*Comamonas* 属[16]，*Pseudomonas* 属[25] 等の菌株から精製されており，PHB フィルムを速やかに分解することが報告されている。

最近，筆者らは，強力な PHB 分解菌として土壌から分離した *Streptomyces* 属に属する好熱性の MG 株が，培養液中に非常に強い耐熱性 PHB デポリメラーゼを生産することを見出した。この PHB デポリメラーゼは，医薬品等の原料となる光学純度の高い D-3-ヒドロキシ酪酸を PHB から生産するのに適していると思われる[2]。

6）ポリ β-プロピオラクトン (PPL: [-$OCH_2CH_2CH_2CO$-])

PPL は PHB デポリメラーゼとリパーゼの両方の酵素によって分解される特異的な脂肪族ポリエステルである。PPL を分解する微生物は自然界に広く分布しており，多くの PPL 分解微生物は，PCL や PHB も分解することができた。細菌 *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *B. circulans* などは PPL と PCL を分解することができた[30]。

7）ポリ（ブチレンサクシネート）(PBS)

PBS は 1,4-ブタンジオールとコハク酸から合成される高融点 (Tm: 114) の脂肪族ポリエステルであり，ポリエチレンに似た性質を持っており，すでに各種のフィルムや容器，発泡製品等に使用されている。高分子量 PBS はクモノスカビのリパーゼではほとんど分解されない。

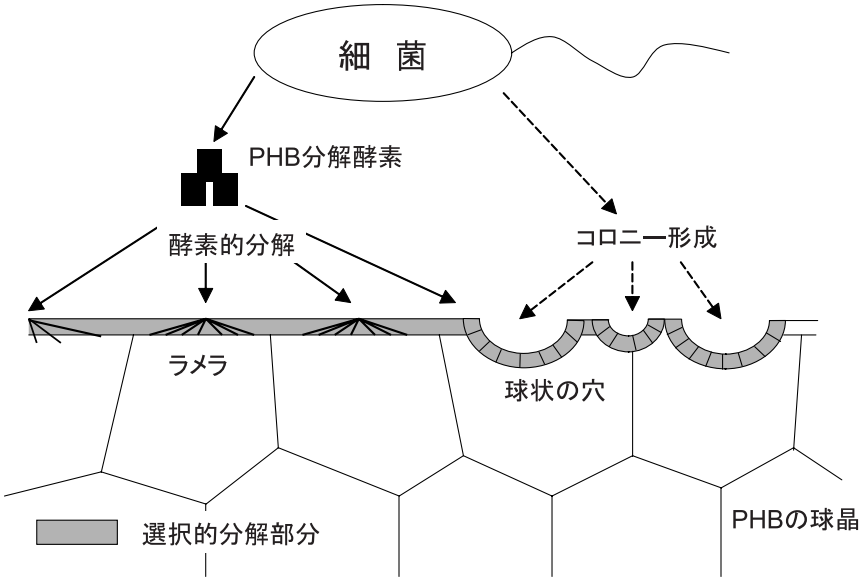

図 3．細菌による PHB 表面の分解機構。
（球状分解と選択的分解）モデル。

筆者らは，土壌から PBS 分解菌として分離した放線菌 *Amycolatopsis* 属の HT-6 株を選び，PBS (Mn: 57,400) の分解過程について調べた[4]。培養液中の0.1％ PBS は HT-6 株により培養初期に急速に分解され，4 日間で初期重量の80％が消失し，培養液中に 4-ヒドロキシ酪酸が蓄積した。培養途中で蓄積された 1,4-ブタジオールや 4-ヒドロキシ酪酸，コハク酸は培養12日後にはほとんど完全に HT-6 株に資化され，PBS 初期重量の30％に相当する菌体が得られた。この結果から，PBS はオリゴマーを経て構成単位の 1,4-ブタジオールとコハク酸に分解され，さらに 1,4-ブタジオールは 4-ヒドロキシ酪酸とコハク酸を経て HT-6 株により代謝されていくと考えられた。HT-6 株は PBS の他に PCL および PHB をもよく分解し資化したが，PLA は分解できなかった。また，HT-6 株が菌体外に分泌する粗酵素は PBS, PCL および PHB を分解することができた。

好熱性の放線菌 *Microbispora rosea*, *Excellospora japonica* および *Excellospora viridilutea* も PBS を 50°C で分解でき，PBS フィルムの非結晶部分が速く分解されることが知られている[11]。

8）ポリ（L-ラクチド）(PLA)

PLA (Tm: 175°C) は, 優れた機械的特性をもっている。すでに，繊維やフィルムとして製品化され，国内で 1 万トン程度が販売されていると推定され，PLA の新規市場が急成長する気配である。

しかし，フィールド試験の結果，PLA の分解速度は非常に遅いことが明らかになってきた。今まで，PLA の分解性については，加水分解と酵素分解について明らかになっているだけで，微生物分解については研究されていなかった。PLA を分解できる微生物の環境中における分布は非常に限定されている。1997年，筆者らは PLA を分解する放線菌（*Amycolatopsis* 属）の分離に初めて成功した[36]。この放線菌は, 30°C において, PLA フィルムを14日間で60％分解し，残りを小さく断片化した。この結果から，PLA は分子運動がたいへん小さいガラス転移温度 (Tg: 53～59°C) 以下でも微生物により分解されることが明らかとなった。その後，筆者らは，シルクフィブロインを分解する微生物として土壌から分離した菌株が，*Amycolatopsis* 属に属し，シルクフィブロインの他に PLA も分解できること[51]，*Amycolatopsis* 属に属する多くの菌株が PLA とシルクフィブロインを分解すること[37] をも見出した。

最近，*Amycolatopsis* 属の培養液から PLA 分解酵素を単一に精製し，この酵素が PLA に特異的に作用し，PHB や PCL, PBS は分解できないことを明らかにした[38]。また，PLA 分解酵素がシルクフィブロインやアラニンオリゴマーを分解することを明らかにした。このことは，PLA の L-乳酸ユニットと蛋白質の L-アラニンユニットの立体構造に類似性が高いためではないかと推察された。

さらに，系統的類縁関係の明確な放線菌を用いて，PLA の分解能を調べた。その結果，*Pseudonocardiaceae* 科およびその近縁属に属する *Amycolatopsis* 属，*Kibdelosporangium* 属，*Lentzea* 属，*Saccharothrix* 属および *Streptoalloteichus* 属の菌株に限って PLA 分解能があることを確認した。PLA の分解能を示した多くの菌株は，シルクフィブロインの分解能も示した。このことから，これらの放線菌は，化学合成された PLA を天然のシルクフィブロイン類似物として認識していると考えられた[13]。

Lentzea waywayandensis[14] や *Kibdelosporangium aridum*[15] は，PLA を強力に分解・資化できる能力を有しており，使用後の PLA 廃棄物の処理に有望と思われた。

一方，カビ *Tritirachium album* がゼラチン存在下で PLA フィルムをよく分解することも見出されている[12]。この *T. album* は PLA 分解酵素として古くから知られているプロテネース K の生産菌株でもある[23,56]。

9）ポリ *p*-ジオキサノン (PPDO: [-$OCH_2CH_2OCH_2CO$-])

PPDO は *p*-ジオキサノンの開環重合によって得られる脂肪族のポリエーテルエステルであり，抜糸不溶な手術用縫合糸に用いられている。PPDO を分解する微生物は自然界に広く分布している。土壌などから分離した PPDO 分解菌は，16S リボゾーム RNA 塩基配列による系統樹解析の結果，*Proteobacteria* の α および β subdivision に属する細菌が多かった[31]。PPDO は，PPDO を低分子化する細菌とその低分子化したものを食べる微生物（*Ralstonia* 属や *Duganella* 属などの菌株）との混合培養によって効率的に分解された[32]。

10）2-メチレン-1,3,6-トリオキソカン (MTC: [-$OCH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CO$-]) 系高分子

MTC はラジカル存在下で開環重合すると，分子鎖にエーテル結合を含む脂肪族ポリエーテルエステルが得られる。また，MTC は各種のビニルモノマーと共重合するので，ビニル系の高分子にエステル結合を導入し，それらに生分解性を付与することができる。MTC ホモポリマーをはじめ，MTC とスチレン，MTC と酢酸ビニルおよび MTC とビニルピロリドンからなる共重合体がリパーゼで分解されることが知られている[7,9]。さらに，光感受性モノマーであるメチルビニルケトンと MTC を共重合させ，光分解性と生分解性をあわせ持った高分子も開発されている[8]。

4. 生分解性プラスチックの処理技術

循環型社会を構築するために，生ゴミなどの有機質資源のコンポスト（堆肥）化技術が注目されている。使用後の生分解性プラスチックの処理方法として，生ゴミなどとともに堆肥（コンポスト）にして土壌改良材や肥料として大地へ戻すことが進んでいる。生分解性プラスチックは生ゴミからのコンポストの品質を向上させるものとして，その普及が期待されている。

独カッセル市（人口20万人）では, 生分解性プラスチックの包装材や容器を活用した生ゴミのコンポスト化を行っている。ここでは，種々の生分解性プラスチック原料から製造された，食品包装容器・フィルム，ナイフや皿などの食器類，ショピングバッグ，コンポスト袋など非常に多くの製品が用いられている。日本においては，群馬県板倉町や秋田県小坂町，北海道富良野市で，コン

ポスト化のための生ゴミ袋として PBS の共重合体やポリ乳酸等が使用されている。また，2005年 3 月から開催される愛知万博においても，会場で使用される生分解性プラスチックの食器具類や生ゴミ回収袋をコンポスト化して，農地や緑地に還元する計画が進められている。

一方，化学触媒や生体触媒を利用して生分解性プラスチックを解重合するケミカルリサイクルの研究も盛んに行われている[5,42]。PLA は加水分解や熱分解により乳酸やラクチドへ還元しやすく，ケミカルリサイクル性に優れた素材でもある。また，解重合，エステル（アミド）交換，再重合反応等を組み合わせ，回収されたナイロンやポリエチレンテレフタレート (PET) を新規の生分解性プラスチックとして再生するプロセスも開発されている。

5. バイオプロセスを利用した生分解性プラスチックの開発

最近，グリーンケミストリーの考えを取り入れ，製品を作る際には原料から生産，消費，廃棄，再利用にわたる全ての過程において，環境への負荷が最小になるように努力することが求められる。持続可能な循環型社会を実現するためには，バイオマス資源を工業製品の原料としてとらえるだけでは不十分である。バイオマス資源を生産する地域の人々の生活・文化の持続的な発展を通じた生態系の保護・管理もたいへん重要と思われる。

プラスチック工業の分野においても，再生可能なバイオマス資源を原料とした高分子素材の開発が期待されている。一方，人類は数千年前から，シカの角，象牙，べっ甲（ウミガメ・タイマイの甲羅）などナチュラルプラスチックと呼ばれるものを種々の形状に加工して使用してきた。また，19世紀には，天然ゴムの一種であるグッタペルカが絶縁物として海底電線に，カイガラムシの一種がつくる樹脂状物質がワニスや塗料に用いられてきた。19世紀半ばには，天然セルロースを化学修飾したニトロセルロースと樟脳からなるセルロイドが，プラスチックの第一号として登場してきた。このように，私たちはすでに古くから天然のバイオマスをさまざまな形で利用する技術を開発してきた。

バイオマスとバイオプロセスを利用して高分子素材を生産するには, 図 4 に示したように, 二つの方法がある。一つは，糖質などの再生可能資源を発酵原料に用いて，糖質などの化学構造をより単純な化学構造に変換して，高分子の単量体（モノマー）をつくる方法である。その例として，発酵 L-乳酸を原料としたポリ（L-ラクチド）がある。もう一つは，生分解性を有する高機能性高分子を開発するため，糖質などの元の化学構造と機能を生かして，酵素触媒を利用して新規の糖分岐高分子をつくる方法である。

1）ポリ（L-ラクチド）(PLA)

再生可能資源から PLA 製品ができるまでの全プロセスを図 5 に示した。バイオプロセスは，L-乳酸発酵液をつくる初期段階だけであり，その後に，精製 L-乳酸の

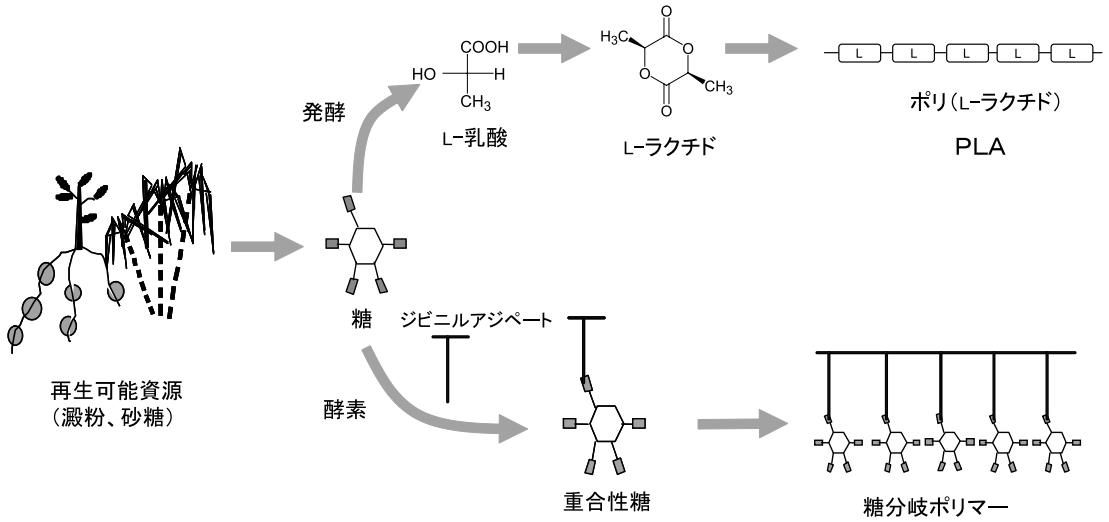

図 4．環境調和型高機能分子の生産。

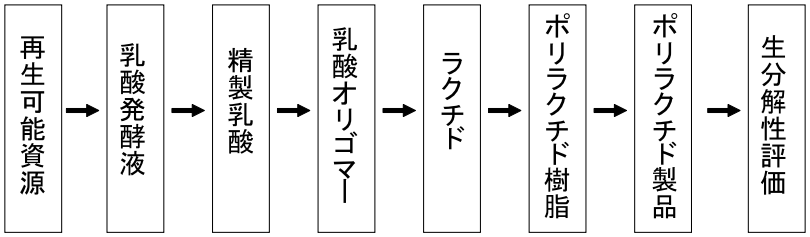

図 5．再生可能資源からのポリラクチド製品の開発プロセス。

製造，L-乳酸オリゴマーの合成，高純度 L-ラクチドの製造，PLA の合成，PLA 樹脂加工など多くの工程がつづく。このことから，再生可能資源からの PLA 製品の開発には，発酵生産技術の他にも，さまざまな高度技術の集積が必要なことが理解できる。

PLA を大規模生産するために，先ず，原料の乳酸が大量に必要になる。乳酸は世界で毎年約 8 万トンが生産され，その 9 割が発酵法で，残りは化学合成法で製造されている。

乳酸には L-乳酸と D-乳酸の光学異性体があるが，PLA の原料となる発酵 L-乳酸は，高い光学純度が求められる。D-乳酸が混じると PLA の物性は著しく低下し，プラスチックとして利用できなくなる。光学純度の高い L-乳酸を得るには，菌株の選定がたいへん重要である。*Lactobacillus rhamnosus* は光学純度の高い L-乳酸を高濃度に生産できることが知られている[1,19]。また，培地組成などの培養条件の制御も必要になってくる。

乳酸を発酵生産するための代表的な糖質原料としては，コーン，キャッサバ，コメ等からのデンプンと，シュガーケーンやビートからのスークロースがある（図 6）。

デンプンから乳酸を発酵生産するためには，先ず，デンプンをその構成成分のグルコースにまで分解（糖化）しなければならない。ホモ乳酸発酵では，1 分子のグルコースから解糖系を経て 2 分子の乳酸が得られる。工業的には，デンプンは酵素を使ってグルコースにまで糖化してから，乳酸菌により乳酸発酵させている。デンプンの糖化酵素として，デンプンの高分子主鎖（α-1,4 結合）をランダムに分解して糊化デンプンの粘度を急激に低下（液化）させる α-アミラーゼとデンプンの還元末端からグルコース単位で分解（糖化）するグルコアミラーゼが知られている。また，デンプンの分岐部分の結合（α-1,6 結合）を分解する酵素としてプルラナーゼが知られている。酵素による糖化条件は，デンプンの種類により異なるので，最適な酵素の組み合わせを見出すことが重要である。

米国ではエタノール発酵と同様に，コーンのデンプンが主に乳酸発酵の原料に利用されている。タイ国などの熱帯地域では，キャッサバ芋のデンプンが乳酸発酵の原料として注目されている。筆者らは，タイ国産のキャッサバデンプンを原料にして，エネルギー有効利用型の乳酸発酵技術の開発に取り組み，キャッサバデンプンが高濃度乳酸を生産するのに適していること見出している。

九州工業大学の白井らは，デパート，コンビニエンスストアー，ホテル，小学校，レストランなど北九州市の各事業所から排出された生ゴミを利用して，*L. rhamnosus* による L-乳酸の生産を検討している。生ゴミの場合，収集・運搬中に野生の乳酸菌による発酵が進み，D-乳酸が生成し，PLA の物性低下の原因になる。そこで，D-乳酸をプロピオン酸菌で乳酸発酵前に除去することを提案している。グルコアミラーゼと *L. rhamnosus* を同時に添加して乳酸発酵した結果，生ゴミの排出源によって異なるが生ゴミ重量（含水分）の約 5～19%の乳酸が得られている。生ゴミ中の糖分当たりにすると約 9 割が乳酸に転換されたことになる（2003年 2 月，生ゴミ精製乳酸化実証事業見学会説明）。

最近，日本の農林水産省は，国産の政府備蓄米140万トン（2003年10月）のうち古いものや輸入米の在庫（約100万トン）の一部を生分解性プラスチックの原料に活用する方針を明らかにしたため，それらのコメを利用した発酵乳酸の生産が話題になっている。

糖化デンプンからの乳酸の生産には，*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus* 等が利用されている。一方，未だ研究段階であるが，液化酵素（α-アミラーゼ）を有する乳酸菌を利用して液化と乳酸の生産を同時に行わせる手法も提案されている。液化酵素を有する乳酸菌として，*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus amylophilus* 等が知ら

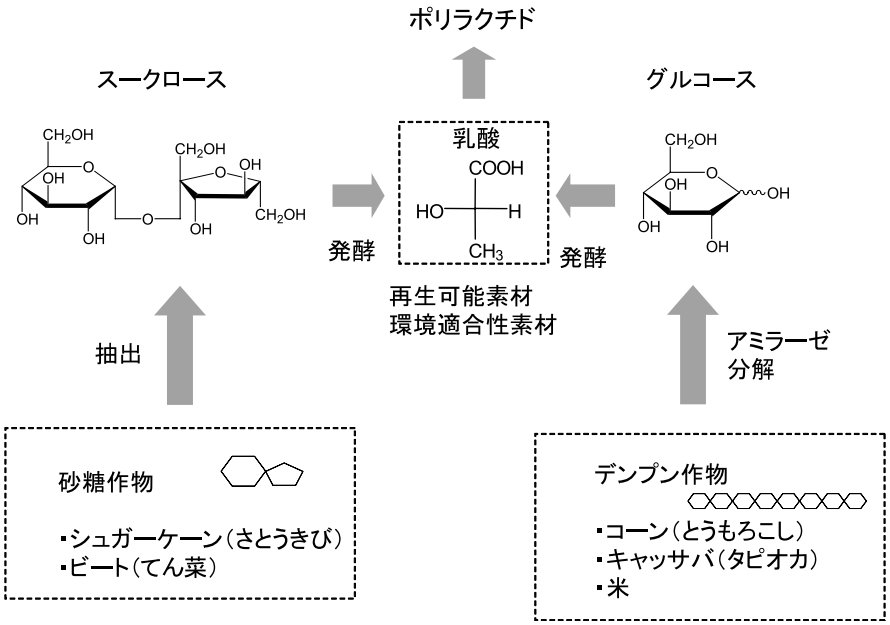

図 6．各種糖質原料からの乳酸発酵。

れている。

一方，バイオマス資源としては，熱帯•亜熱帯産のシュガーケーンもたいへん重要である。すでに，シュガーケーンからの発酵アルコールが，自動車用の燃料として，ブラジルで実用化されている。シュガーケーンは光合成の効率が高く，バイオマス生産には非常に優れた植物である。最近，シュガーケーンは過剰生産されており，シュガーケーンからの精製砂糖の国際価格が，キャッサバデンプンと比較して，同等か安くなっている。また，シュガーケーンから砂糖を生産する工程において，大量に副生する廃糖蜜（モラセス）は，従来，安価な発酵原料としてアルコール生産などに使われていたが，発酵後の排水処理のコストがかかり，また，河川などの環境汚染の原因となるため，その使用が制限されている。また，砂糖を原料に用いて，純度の高い乳酸が生産されている。砂糖を原料とした場合，酵素による糖化の必要がなく，スークロースから乳酸へ直接発酵転換でき，精製コストも安くなる利点がある。*L. delbrueckii* や *L. rhamnosus* が砂糖から効率的に乳酸を生産することが知られている。

その他，種々の農産廃棄物（小麦ふすま，麦藁，とうもろこしの芯，ダイズ繊維，アルファルファ，リグノセルロース等）から乳酸の発酵生産が検討されている。

PLA の原料である L-乳酸をバイオマス資源から効率的に生産するためには，①糖質濃度が高い場合は高濃度乳酸発酵，②糖濃度が低い場合は高速乳酸発酵，③光学純度の高い L-乳酸発酵，等の技術開発が重要である。

発酵した培養液から高純度の乳酸を得る方法として，図 7 に示したように，カルシウム沈殿法，蒸留法，限外ろ過膜法，溶媒抽出法，バイポーラ膜分離法[22] などがあるが，利用するバイオマス原料や中和剤によって適した方法を選ぶ必要がある。このプロセスはエネルギーを大量消費するので，コスト削減の面からも，エネルギー有効利用型技術の開発がたいへん重要である。

精製された高純度 L-乳酸は，図 8 に示すように，分子量3,000程度の乳酸オリゴマーを合成した後，高温，減圧下で乳酸オリゴマーからラクチド（乳酸の環状二量体）単位で昇華させて，ラクチドを合成する。ラクチドは，L-ラクチド，D-ラクチド，meso-ラクチド（L-乳酸と D-乳酸からなる環状二量体）および D,L-ラクチド（L-ラクチドと D-ラクチドのステレオコンプレックス）の 4 種類が生成する。ラクチドの精製は，融点や沸点，溶解度の違いによって行われる。図 8 からわかるように，ラセミ型の合成乳酸からは，PLA の原料となる L-ラクチドが得られない。そして，高分子量 PLA の生産は，一般に，L-ラクチドの開環重合法により行われている。(株)島津製作所は L-ラクチドの開環重合法による PLA の製造プラント（生産規模100～200トン）を1994年から稼働させていたが，2002年，島津製作所は PLA 事業をトヨタ自動車工業(株）に売却した。

一方最近，ラクチドの開環重合において，立体選択性の高い触媒が報告されている。将来，L-ラクチドや D-ラクチド，meso-ラクチドが混ざっていても高活性で立体選択性が高い触媒が開発されれば，発酵法や化学合成法により製造される乳酸の光学活性があまり問題にならなくなることも予想される。L-ラクチドと D-ラクチドの混合物からそれぞれ独立して PLA とポリ（D-ラクチド）を合成し，それらが互いにステレオコンプレクスを形成した高融点ポリラクチドを製造することも可能になるかもしれない。

2）ポリ（ブチレンサクシネート）(PBS)

発酵コハク酸（サクシネート）とコハク酸を還元して得られるブタンジオールから PBS の合成が可能である。

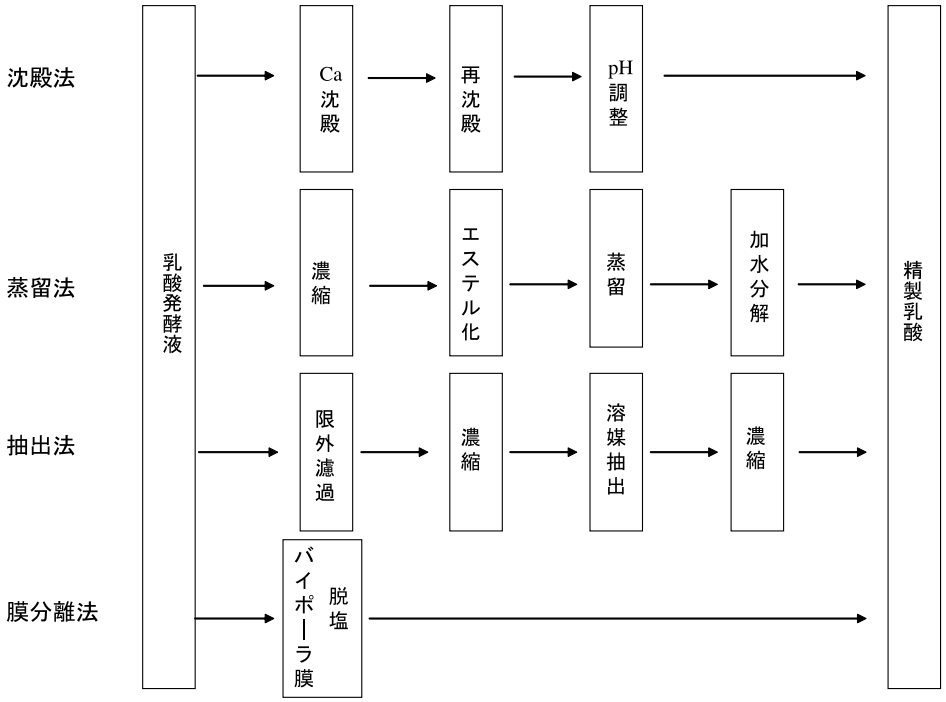

図 7．乳酸発酵液からの精製乳酸の製造方法。

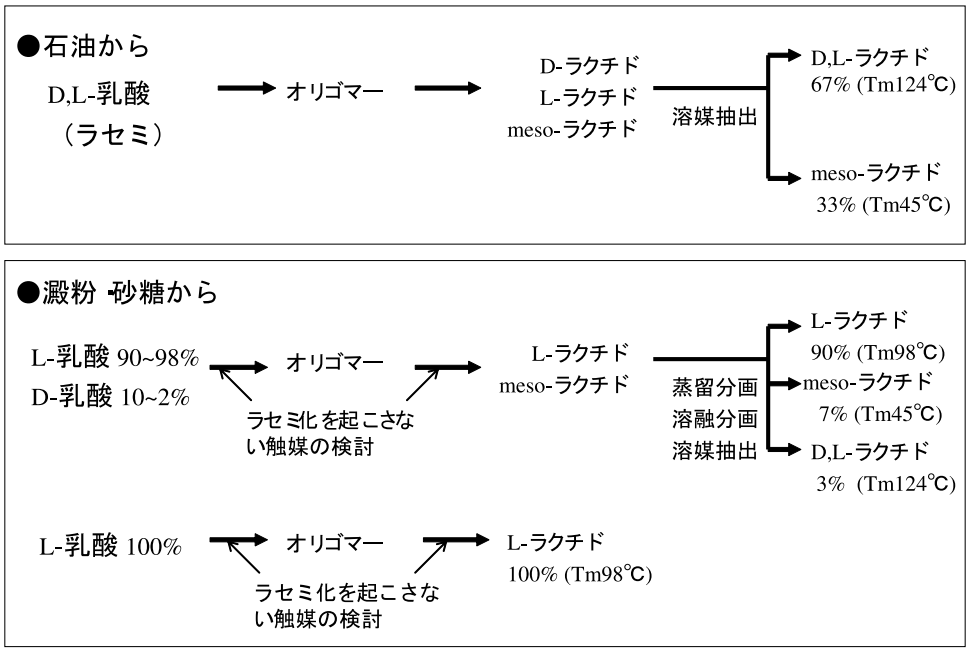

図 8．乳酸からのラクチドの製造方法。

2003年，三菱化学（株）は PBS の構成成分の一つであるコハク酸を，味の素（株）と共同してバイオマスから発酵法で生産することを検討すると発表した。

コハク酸は，細菌や糸状菌によりグルコースから生産することが検討されているが，他の有機酸の副生があり，収率が40%以下で，現在，工業生産はされていない。図 9 には，エタノールやアセトン，ブタノール，乳酸，コハク酸など，バイオマスからの生産が期待されるエネルギー原料や化学原料の糖質代謝における位置を示した。実際のコハク酸の発酵過程は，TCA サイクルの方向とは逆に，ピルビン酸あるいはフォスフォエノールピルビン酸からオギザロ酢酸，リンゴ酸，フマール酸を経て生産される。グルコースからコハク酸を生成する微生物として，グルタミン酸生産菌 *Brevibacterium flavum* や糸状菌 *Mucor rouxii* が知られている。フマル酸やクエン酸などの有機酸からコハク酸を生成する微生物として，*Bacterium succinicum* が知られている。

最近，牛のルーメンから分離された *Actinobacillus succinogeses* の 130ZT 株が種々の糖質から 7 %以上のコハク酸を生産することが報告されている[6]。また，遺伝子工学技術を駆使して改変した *E. coli* を用いて，コハク酸生産の収率を高めることも検討されている。

その他，生分解性プラスチックとは関係ないが，1,3-プロパンジオールや 1,2-プロパンジオールなど高分子原

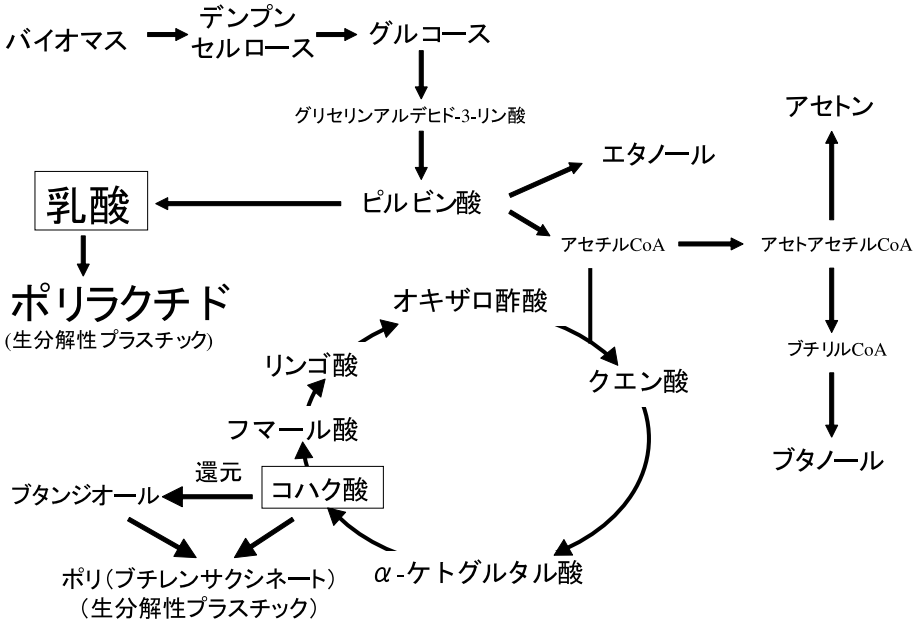

図 9．再生可能資源からの化学原料の生産例。

料のモノマーをバイオマスから生産する研究開発も活発に行われている。バイオマスからバイオプロセスにより各種化学原料を生産するため，ゲノム，トランスクリプトーム，プロテオーム，メタボローム等の技術を総動員した“システムバオテクノロジー”の取り組みも行われている[20]。

なお, コハク酸については, バイオプロセスを使わず, とうもろこし芯の酸分解により製造されるフルフラールを原料として生産する方法もある。

3）ポリ（3-ヒドロキシブチレート）(PHB)

筆者が1972年にプラスチックの微生物分解の研究を開始した時は，将来の食糧不足に備えて石油から微生物蛋白 (Single Cell Protein, SCP) を生産する研究が盛んに行われ，企業化も検討されていた。しかし当時，主婦連などの消費者団体からは，SCP を動物や人間に食べさせることには強い反対があった。現在は，石油からの SCP は消え去り，SCP の副生成物であった PHB が生分解性プラスチックとして新たな展開を見せている。

ある種の微生物はグルコースや脂肪酸などのバイオマスから，貯蔵物質として菌体内に PHB を蓄積する。PHB はプラスチックのような熱可塑性を示す高分子物質として興味がもたれ古くから研究が行われていた[10]。各種の脂肪酸などの炭素源を培養液に添加することにより，3-ヒドロキシ吉草酸など他の成分を含む共重合体ポリ（ヒドロキシアルカノエート）(PHA) が合成でき，PHB の物性改善が行われている[4]。PHA には共重合成分の側鎖の短い（炭素数 3～5 個）ものと長い（炭素数 6～15個）ものの 2 タイプがあり，前者は結晶性が高く，硬くて脆い性質であるが，後者は結晶性が低く柔らかく加工しやすい特性を持っている。最近，米国 P & G 社は，*Pseudomonas* 属の改良菌株を用いて生産した PHA を，“Nodax”という商品名で商業化している[33]。

PHB あるいは PHA の蓄積は，窒素源や無機塩類などを欠乏させて微生物の増殖を制限した場合に促進される。PHB 生産菌として，*Ralstonia eutropha* やメタノール資化性菌が知られており，グルコースやメタノールから培養液 1 リットルあたり120～140グラムの PHB が生産されている。しかし一般に，PHB 生産菌は，増殖制限下において PHB を蓄積するために，残存基質が多くなり収率が低下する問題がある。さらに，菌体内から PHB を効率的に回収し，精製するための技術開発が実用化のために必要である。

最近，PHB や PHA はプラスチック素材として使用するのではなく，バイオマスから光学活性をもった各種のヒドロキシ酸を生産するための中間体として利用することが提案されている。

4）ポリ（ε-カプロラクトン）(PCL) とデンプンのブレンド体

PCL は石油を原料としているが，PCL と糊化デンプンからなるブレンド体は，汎用タイプの生分解性プラスチックとして，すでに，イタリアやドイツでは生ゴミ用のコンポストバッグとして使用されている。

デンプンは，安価なバイオマスであり，かつ，組成が単純（アミロースとアミロペクチン），比較的均一な大きさの顆粒（数ミクロン～数十ミクロン），結晶性の高分子等の特徴を持っており，それ自体プラスチック素材としてたいへん有望である。デンプンの種類としては，コーンスターチやポテトスターチの他に，キャッサバ芋のタピオカデンプンやサゴ椰子のサゴデンプンなどの熱帯産デンプンも有望である。これらのデンプンは，工業用原料（資源作物）として増産することも可能であり，また，天候不順などによる食糧危機に備えるためにも生分解性プラスチック等の安定な工業用途への利用拡大が期待される。

筆者らは，世界に先駆けて，PCL と糊化デンプンのブレンド体の相構造を制御することにより耐水性と機械物性の優れたプラスチック素材を開発している[55]。また，PCL と粒状デンプンのブレンド体（デンプン含量40～85%）も開発している[35]。

5）糖分岐高分子

最近，重金属等の化学触媒に代わって，酵素触媒を用いて高分子素材を合成するプロセスの開発が盛んである。すでに，各種の脂肪族ポリエステルのほかに，ポリフェノール，ポリアニリン，ポリカーボネート，ポリアスパラギン酸などの開発が行われている。しかも，欧米では，再生可能資源からの生分解性高分子を消費者が強く求めている。今までにも，糖質から酵素触媒重合により一段階で糖含有ポリエステルを合成できることが知られているが，分子量が大きくならない，物性の改変がし

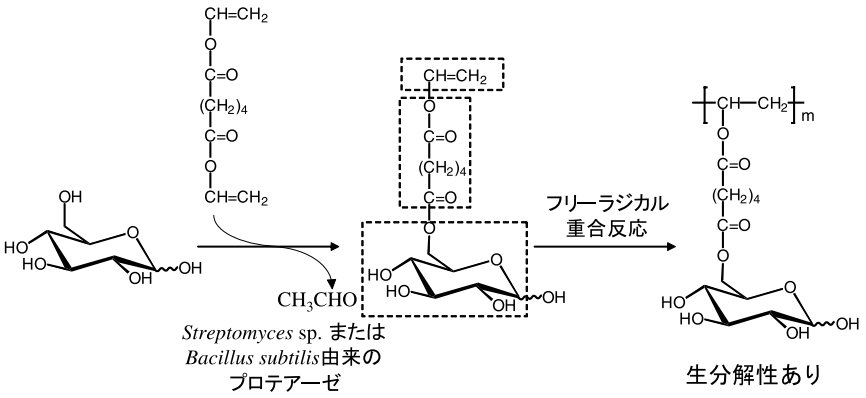

図10. 酵素による天然糖類からの新規高分子の合成。

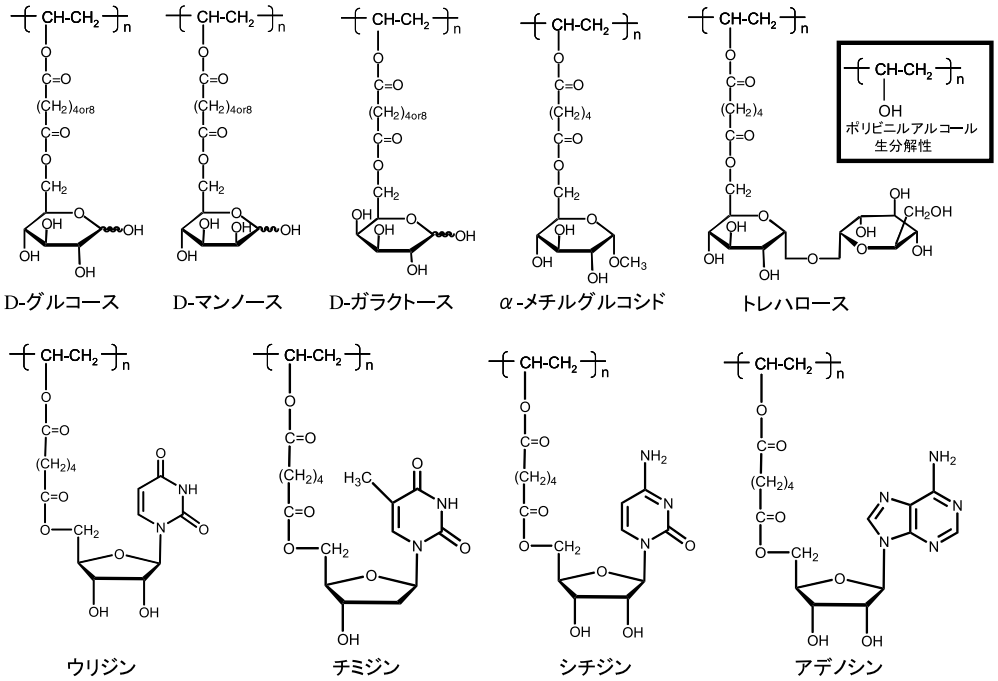

図11. 各種の糖・ヌクレオシド分岐高分子。

にくいなどの欠点があった。

筆者らは，天然に豊富に存在する糖質の有効活用を目的として，酵素触媒（プロテアーゼ，リパーゼ等）を利用して，新規の糖含有高分子を酵素・化学的に合成する方法を開発した[41]。この方法は2段階の反応で構成されている（図10）。先ず，酵素触媒の反応特異性を利用して，糖質の特定ヒドロキシル基とジビニルカルボン酸の片方のビニルエステルとの間で，エステル交換反応を行わせて糖の分岐をもつ重合性糖エステルを合成する。次に，得られた重合性糖エステルを化学触媒によりラジカル重合させて高分子を合成する。この方法は，種々の糖分岐を有する新規高分子をデザインするのに優れている。

具体的には，糖あるいはヌクレオシドとジビニルアジペートから，プロテアーゼを利用したエステル交換反応により，重合性糖エステルや重合性ヌクレオシドエステルを合成した後，ラジカル重合を行うと，図11に示したような，糖あるいはヌクレオシドの分岐をもった各種の高分子が得られる[17]。

同様な方法を用いて，糖以外にも各種の再生可能資源を原料に用いて，種々の新規高分子素材の開発が可能である。これらの高分子素材は，ポリアクリル酸やポリスチレンなどの主鎖を持った従来の糖分岐高分子とは異なり，ポリビニルアルコール骨格であるので生分解性を有している[52]。

また，酵素触媒を利用して得られた重合性糖・ヌクレオシドエステルは，他のビニルモノマーと共重合することにより，界面活性や温度感受性を有する高分子素材，非ウィルスベクター（核酸分子送達用担体）や酵素阻害剤，等としての応用も可能である[39,53]。

その他にも，これらの糖含有高分子は研究用試薬（細胞標識，蛋白質安定剤），医薬品（抗ウィルス，抗炎症，徐放性薬剤），細胞接着剤（人工肝臓），乳化安定剤（化粧品），ポリマー改質剤（相溶化剤，表面改質剤）等への応用が期待される。

さらに，還元糖の分岐をもつ高分子は，活性酸素やヒドロキシラジカルの生成能が強く，高分子の切断や架橋反応も行うことができる[18]。環境への負荷が少ない生分解性の糖含有高分子は，糖鎖工学分野においても，細胞やウィルス，抗原などの認識能を有した高機能性素材への道を拓くものとしてもその開発が期待される。今後，認識機能と触媒機能をもつ糖含有高分子（グリコザイムと命名）の設計も可能である。

6. 今後の課題

私たちはようやく，石油や再生可能資源を原料に利用して，自然界の物質循環に入るプラスチックを作る技術を手に入れた。地球にとって異物であったプラスチックを生態系が受け入れられる形（生分解性）に改良することができた。環境調和型高分子の誕生である。従来のプラスチックの利便性を残しながら，より天然高分子に近づいたと言える。

今後は，生分解性プラスチックの製造過程におけるエネルギー効率を高めるための技術開発が必要である。また，生分解性プラスチックの分解速度を制御する技術の確立も必要である。例えば，生分解しやすい PLA を作る技術である。

生分解性プラスチックは，機械物性，耐熱性，耐候性等に改良が加えられて高機能化していくと思われるが，酸化防止剤，紫外線吸収剤，ラジカル補足剤，酸補足剤など生分解性プラスチックに加えられた各種の添加剤が生分解にともなって外部にでてくるので，それらの安全性の確認が求められる。さらに，マルチフィルムやコンポストなど生分解性プラスチックを特定の場所に繰り返し使用した場合，農地など土壌の安全性，健全性を評価する手法の開発も，生分解性プラスチックを普及させる

ために必要と思われる。

生分解性プラスチックは，プラスチック分野だけでなく，肥料や農薬の遊離基材，医療材料，接着剤，塗料，印刷インク，糊料などに広く使用される高分子素材に育つことが期待され，これによって地球環境に対する異物が減少することが切望される。

環境問題や南北問題に関連して，従来の産・学・官とは異なる価値観をもった団体や組織が実力をつけ，各分野で活躍している。生分解性プラスチックに対して専門的な知識をもつ NPO や NGO の出現も，生分解性プラスチックの普及促進に重要な役割を果たすと思われる。社会や経済が質的な転換期にある現在，生産者の視点から生活者の視点への発想の転換が必要と思われる。

最後に，バイオマス資源からバイオプロセスによる生分解性プラスチックの開発において，新たに起こってきた問題について述べておく。それは，遺伝子組み換え技術を利用して改良・改変した作物，微生物および酵素の取り扱いの問題である。アジア各国や欧州では，非遺伝子組み換え産物の利用をセールスポイントにしている。生分解性プラスチックは，食糧や医薬と違って，遺伝子組み換え産物が体内に直接入ることがないのになぜ問題になるのか。それは，生分解性プラスチックそのものや生分解性プラスチックを用いた自動車や家電製品，衣類などを利用する生活者の意識の問題である。今後，生分解性プラスチックは大量に市場投入されてくると予想される。生分解性プラスチックを用いた製品を購入することによって，遺伝子組み換え産物の普及に協力するか否かを生活者一人一人が問われている。

文　献

1) Andrew, R.B., C.M.M. Franco, W. Zhang, and A.P.J. Middelberg. 1999. Growth and lactic acid production in batch culture of *Lactobacillus rhamnosus* in a defined medium. Biotechnology Letters 21: 163–167.
2) Calabia, BP., and Y. Tokiwa. 2004. Microbial degradation of poly(D-3-hydroxybutyrate) by a new thermophilic *Streptomyces* isolate. Biotechnol. Lett. 26: 15–19.
3) Chowdhury, A.A. 1963. Poly-β-hydroxybuttersaure abbauende bakterien and ezoenzyme. Arch. Mikrobiol. 47: 167–200.
4) Doi, Y., A. Tamaki, M. Kunioka, and K. Soga. 1988. Production of copolyesters of 3-hdroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric and pentanoic acid. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28: 330–334.
5) Fan, Y., H. Nishida, S. Hoshihara, Y. Shirai, Y. Tokiwa, and T. Endo. 2003. Pyrolysis kinetics of poly(L-lactide) with carboxyl and calcium salt end structures. Polym. Degrad. Stab. 79: 547–562.
6) Guettler, MV., D. Rumler, and MK. Jain. 1999. *Actinobacillus succinogenes* sp. nov., a novel succinic-acid-producing strain from the bovine rumen. Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 207–216.
7) Hiraguri, Y., and Y. Tokiwa. 1993. Synthesis of copolymers composed of 2-methylene-1,3,6-trioxocane and vinyl monomers and their enzymatic degradation. J. Polym. Sci. Part A, Polym. Chem. 31: 3159–3163.
8) Hiraguri, Y., and Y. Tokiwa. 1997. Synthesis of photodegradable polymers having biodegradability and their biodegradation and photolysis. Macromolecules. 30: 3691–3693.
9) Hiraguri, Y., and Y. Tokiwa. 2001. Synthesis of a novel water-soluble copolymer composed of 2-methylene-1,3,6-trioxocane and N-vinyl 2-pyrrolidone and its enzymatic degradation. Clean Prod. Processes 3: 303–306.
10) Holmes, PA., 1985. Applications of PHB- a microbially produced biodegradable thermoplastics. Phys. Technol. 16: 761–777.
11) Jarerat, A., and Y. Tokiwa. 2001. Degradation of poly (tetramethylene succinate) by thermophilic actinomycetes. Biotechnol. Lett. 23: 647–651.
12) Jarerat, A., and Y. Tokiwa. 2001. Degradation of poly(L-lactide) by a fungus. Macromol. Biosci. 1: 136–140.
13) Jarerat, A., H. Pranamuda, and Y. Tokiwa. 2002. Poly(L-lactide)-degrading activity in various actinomycetes. Macromol. Biosci. 2: 420–428.
14) Jarerat, A., and Y. Tokiwa. 2003. Degradation of poly(L-lactide) by *Saccharothrix waywayanensis.* Biotechnol. Lett. 25: 401–404.
15) Jarerat, A., Y. Tokiwa, and H. Tanaka. 2003. Poly(L-lactide) degradation by *Kibdelosporangium aridum.* Biotechnol. Lett. 25: 2035–2038.
16) Jendrossek, D., I. Knoke, RB. Habibian, A. Steinbuchel, and HG. Schlegel. 1993. Deradation of poly(3-hydroxybutyrate), PHB, by bacteria and purification of a novel PHB depolymerase from *Comamonas* sp. J. Environ. Polym. Degrad. 1: 53–63.
17) 北川　優，常盤　豊. 2000. 糖エステルを側鎖にもつ高分子の酵素・化学合成. 高分子論文集　57: 629.
18) Kitagawa, M., H. Fan, N. Konagaya, S. Shibatani, N. Kashimura, R. Kurane, and Y. Tokiwa. 2001. Generation of hydroxyl radicals from polymer containing reducing sugar branches in the presence of hydrogen peroxide. Macromol. Chem. Phys. 202: 231–235.
19) Kwon, S., P.C. Lee., E.G. Lee., Y.K. Chang, and N. Chang. 2000. Production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* with vitamin-supplemented soybean hydrolysate. Enzyme and Microbial Technology. 26: 209–215.
20) Lee, SY., SH. Hong, SH. Lee, and J. Park. 2004. Fermentative production of chemicals that can be used for polymer synthesis. Macromol. Biosci. 4: 157–164.
21) Lutz, W., W. Sanderson, and S. Scherbov. 2001. The end of world population growth. Nature 412: 543–545.
22) Madzingaidzo, L., H. Danner, and R. Braun. 2002. Process development and optimization of lactic acid purification using electrodialysis. J. Biotechnology 96: 223–239.
23) McDonald, RT., S. McCarthy, and RA. Gross. 1996. Enzymatic degradability of poly(lactide): Effects of chain stereochemistry and material crystallinity. Macromolecules 29: 7356–7361.
24) Merrick, JM., and M. Doudoroff. 1964. Depolymerization of poly β-hydroxybutyrate by an intracellular enzyme system. J. Bacteriol. 88: 60–71.
25) Nakayama, K., T. Saito, T. Fukui, Y. Shirakura, and K. Tomita. 1985. Purification and properties of extracellular poly(3-hydroxybutyrate) depolymerases from *Pseudomonas lemoigne*. Biochim. Biophys. Acta. 827: 63–72.
26) Nishida, H., and Y. Tokiwa. 1992. Effects of higher-order structure of poly(3-hydroxybutyrate) on its biodegradation. I. Effects of heat treatment on microbial degradation. J. Appl. Polym. Sci. 46: 1467–1476.
27) Nishida, H., and Y. Tokiwa. 1993. Distribution of poly(β-hydroxybutyrate) and poly(ε-caprolactone) aerobic.degrading microorganisms in different environments. J. Environ. Polym. Degrad. 1: 227–233.
28) Nishida, H., and Y. Tokiwa. 1993. Effects of higher-order structure of poly(3-hydroxybutyrate) on its biodegradation. II. Effects of crystal structure on microbial degradation. J. Environ. Polym. Degrad. 1: 65–80.
29) Nishida, H., and Y. Tokiwa. 1994. Degradation of poly(2-oxepanone) by phytopathogens. Chem. Lett. 1547–1550.
30) Nishida, H., S. Suzuki, and Y. Tokiwa. 1998. Distribution of poly(β-propiolactone) aerobic degrading microorganism in different environments. J. Environ. Polym. Degrad. 6: 43–58.
31) Nishida, H., M. Konno, A. Ikeda, and Y. Tokiwa. 2000. Micro-

bial degradation of poly(ρ-dioxanone). I. Isolation of degrading microorganisms and microbial decomposition in pure culture. Polym. Degrad. Stab. 68: 205–217.
32) Nishida, H., M. Konno, and Y. Tokiwa. 2000. Microbial degradation of poly(ρ-dioxanone). II. Isolation of hydrolyzates-utilizing microorganisms and utilization of poly(ρ-dioxanone) by mixed culture. Polym. Degrad. Stab. 68: 271–280.
33) Noda, I., M.M. Satkowski, A.E. Dowrey, and C. Marcott. 2004. Polymer alloys of Nodax copolymers and poly(lactic acid). Macromol. Biosci. 4: 269–275.
34) Pranamuda, H., Y. Tokiwa, and H. Tanaka. 1995. Microbial degradation of an aliphatic polyester with a high melting point, poly(tetramethylene succinate). Appl. Environ. Microbiol. 61: 1828–1832.
35) Pranamuda, H., Y. Tokiwa, and H. Tanaka. 1996. Physical properties and biodegradability of blends containing poly(ε-caprolactone) and tropical starches. J. Environ, Polym. Degrad. 4: 1–7.
36) Pranamuda, H., Y. Tokiwa, and H. Tanaka. 1997. Polylactide degradation by an *Amycolatopsis* sp. Appl. Environ. Microbiol. 63: 1637–1640.
37) Pranamuda, H., and Y. Tokiwa. 1999. Degradation of poly(L-lactide) by strains belonging to genus *Amycolatopsis*. Biotechnol. Lett. 21: 901–905.
38) Pranamuda, H., A. Tsuchii, and Y. Tokiwa. 2001. Poly(L-lactide)-degrading enzyme produced by *Amycolatopsis* sp. Macromol. Biosci. 1: 25–29.
39) Raku, T., and Y. Tokiwa. 2001. Synthesis of thermosensitive polymers containing sugar branches. J. Appl. Polym. Sci. 80: 384–387.
40) Sanchez, J.G., A. Tsuchii, and Y. Tokiwa. 2000. Degradation of polycaprolactone at 50°C by a themotolerant *Aspergillus* sp. Biotech. Lett. 22: 849–853.
41) Shibatani, S., M. Kitagawa, and Y. Tokiwa. 1997. Enzymatic synthesis of vinyl sugar ester in dimethylformamide. Biotechnol. Lett. 19: 511–514.
42) Takahashi, Y., S. Okajima, K. Toshima, and S. Matsumura. 2004. Lipase-catalyzed transformation of poly(lactic acid) into cyclic oligomers. Macromol. Biosci. 4: 346–353.
43) Tanio, T., T. Fukui, Y. Shirakura, T. Saito, K. Tomita, T. Kaiho, and S. Masamune. 1982. An estracellular poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from *Alcaligenes faecalis*. Eur. J. Biochem. 124: 71–77.
44) Tansengco, M.L., and Y. Tokiwa. 1998. Thermophilic microbial degradation of polyethylene succinste. World J. Microbiol. Biotech. 14: 133–138.
45) Tokiwa, Y., and T. Suzuki. 1974. Degradation of poly(ethylene adipate) by a Fungus. J. Ferment. Technol. 52: 393–398.
46) Tokiwa, Y., T. Ando, and T. Suzuki. 1976. Degradation of polycaprolactone by a Fungus. J. Ferment. Technol. 54: 603–608.
47) Tokiwa, Y., and T. Suzuki. 1977. Purification and some properties of polyethylene adipate-degrading enzyme produced by *Penicillium* sp. strain 14-3. Agric. Biol. Chem. 41: 265–274.
48) Tokiwa, Y., and T. Suzuki. 1977. Hydrolysis of polyesters by lipases. Nature 270: 76–78.
49) Tokiwa, Y., T. Suzuki, and T. Ando. 1979. Synthesis of copolyamide-esters and some aspects involved in their hydrolysis by lipase. J. Appl. Polym. Sci. 24: 1701–1711.
50) Tokiwa, Y., and T. Suzuki. 1981. Hydrolysis of copolyesters containing aromatic and aliphatic ester blocks by lipase. J. Appl. Polym. Sci. 26: 441–448.
51) Tokiwa, Y., M. Konno, and H. Nishida. 1999. Isolation of silk degrading microorganisms and its poly(L-lactide) degradability. Chem. Lett. 355–356.
52) Tokiwa, Y., H. Fan, Y. Hiraguri, and R. Kurane. 2000. Biodegradation of a sugar branched polymer consisting of sugar, fatty acid, and poly(vinyl alcohol). Macromolecules 33: 1636–1639.
53) Tokiwa, Y., T. Raku, M. Kitagawa, and R. Kurane. 2000. Preparation of polymeric biosurfactant containing sugar and fatty acid esters. Clean Prod. Process 2: 108–111.
54) Tokiwa, Y., and A. Jarerat. 2003. Microbial degradation of aliphatic polyesters. Macromol. Symp. 201: 283–289.
55) 常盤　豊，高木繁幸，小山政利．1997．糊化澱粉を含む生分解性プラスチック成形品及びその製造方法．特許公報，第2631050号（出願日1991年11月 7 日）．
56) Williams, DF. 1981. Enzymatic hydrolysis of polylactic acid. Engineering in Medicine, MEP Ltd. 10: 5–7.