(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年2月8日(08.02.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/029220 A1

(51) 国際特許分類:
*C08G 63/90* (2006.01) *C12P 7/62* (2022.01)
*C08L 101/16* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2023/022865

(22) 国際出願日： 2023年6月21日(21.06.2023)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-125872 2022年8月5日(05.08.2022) JP

(71) 出願人: 株式会社カネカ (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目３番１８号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 平野 優 (HIRANO, Masaru); 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町１－８ 株式会社カネカ内 Hyogo (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人 ＨＡＲＡＫＥＮＺＯ ＷＯＲＬＤ ＰＡＴＥＮＴ ＆ ＴＲＡＤＥＭＡＲＫ (HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK); 〒5300041 大阪府大阪市北区天神橋２丁目北２番６号 大和南森町ビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：
一 国際調査報告（条約第21条(3)）

WO 2024/029220 A1

(54) **Title:** METHOD FOR PRODUCING POLYHYDROXYALKANOATE AND USE THEREOF

(54) 発明の名称： ポリヒドロキシアルカノエートの製造方法およびその利用

(57) **Abstract:** The purpose of the present invention is to provide a method for producing a PHA having a low moisture content. The above is addressed by providing a method for producing a PHA that comprises a filter press filtration step for filtering an aqueous PHA suspension having a pH of 2.5-5.5 using a filtering material having an air permeability of 0.1-2.5 $cm^3/cm^2/min$, wherein the liquid density of the aqueous PHA suspension in the filtration step is 0.50-1.08 g/mL, and the filter press filtration step includes a compression step and an air blow step.

(57) 要約：本発明の目的は、含水率の低いＰＨＡの製造方法を提供することである。ｐＨ２．５～５．５のＰＨＡ水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する工程を含み、前記ろ過工程におけるＰＨＡ水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む、ＰＨＡの製造方法を提供することにより、上記課題を解決する。

# 明　細　書

## 発明の名称 ：

# ポリヒドロキシアルカノエートの製造方法およびその利用

## 技術分野

[0001]　本発明は、ポリヒドロキシアルカノエートの製造方法およびその利用に関する。

## 背景技術

[0002]　ポリヒドロキシアルカノエート（以後、「ＰＨＡ」と称する場合がある。）は、生分解性を有することが知られている。

[0003]　微生物が生成するＰＨＡは、微生物の菌体内に蓄積されるため、ＰＨＡをプラスチックとして利用するためには、微生物の菌体内からＰＨＡを分離・精製する工程が必要となる。ＰＨＡを分離・精製する工程では、ＰＨＡ含有微生物の菌体を破砕する、もしくはＰＨＡ以外の微生物由来成分を可溶化した後、得られた水性懸濁液からＰＨＡを取り出す。このとき、例えば、遠心分離、ろ過、乾燥等の分離操作を行う。

[0004]　ろ過を用いたＰＨＡの製造方法として、例えば、特許文献１には、ＰＨＡ発酵菌種を発酵培地に接種して発酵させる工程、発酵液を固液分離し、発酵上澄み液および菌体沈殿を得る工程、菌体を沈殿させて細胞壁を破砕し、かつ、細胞壁破砕物をプレコートしたフィルタを用いてプレートフレーム濾過し、ＰＨＡを得る工程、を含むＰＨＡの製造方法が開示されている。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0005] 特許文献1：中国特許第１１１５００６５０号明細書

## 発明の概要

## 発明が解決しようとする課題

[0006]　しかしながら、上述した技術で得られるＰＨＡは含水率が高く、その後の水分を揮発させるためにエネルギーが必要であり、さらなる改善の余地があ

った。

[0007] そこで、本発明の目的は、含水率の低いＰＨＡの製造方法、および含水率の低いＰＨＡ凝集塊を提供することにある。

## 課題を解決するための手段

[0008] 本発明者は、前記課題を解決すべく、鋭意検討を行った結果、ＰＨＡの製造において、ＰＨＡ水性懸濁液のｐＨ、ろ材の通気度、およびＰＨＡ水性懸濁液の液密度を制御して、特定のろ過工程を行うことにより、含水率の低いＰＨＡを得ることができるとの新規知見を見出し、本発明を完成するに至った。

[0009] したがって、本発明の一態様は、ｐＨ２．５～５．５のＰＨＡ水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する工程を含み、前記ろ過工程におけるＰＨＡ水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む、ＰＨＡの製造方法（以下、「本製造方法」と称する。）である。

[0010] また、本発明の一態様は、含水率が５．０～２５．０％（Ｗ．Ｂ．）である、ＰＨＡ凝集塊（以下、「本ＰＨＡ凝集塊」と称する。）である。

## 発明の効果

[0011] 本発明の一態様によれば、含水率の低いＰＨＡの製造方法、および含水率の低いＰＨＡ凝集塊を提供することができる。

## 図面の簡単な説明

[0012] [図1]本発明の一実施形態に係る実施例１－１および比較例２のろ布透過液の写真を示す図である。

## 発明を実施するための形態

[0013] 本発明の実施の一形態について、以下に詳細に説明する。なお、本明細書において特記しない限り、数値範囲を表す「Ａ～Ｂ」は、「Ａ以上、Ｂ以下」を意味する。

[0014] 〔１．本発明の概要〕

菌体内で造られるＰＨＡは、粒子径が１～２μｍ程度であるため、ろ過が困難であるとの課題があった。また、ＰＨＡの回収には遠心分離が主に用いられているが、分離形態は水性懸濁液となり、多量の水を含んだ状態でＰＨＡを回収する。水から分離してＰＨＡを回収するためには、水性懸濁液の水分を蒸発させる必要があり、大きなエネルギーが必要となる等、問題があった。ここで、ろ過を用いたＰＨＡの製造方法として、例えば、上述した特許文献１が知られている。特許文献１の技術では、ろ材をプレコートして、精製前（生物由来の残渣が多く残った状態）にろ過を実施しているため、操作が煩雑であり、得られたＰＨＡ凝集塊中に不純物が多いとの問題があることがわかった。また、特許文献１の技術では、含水率が十分に低くならないとの問題があることもわかった。

[0015] そこで、本発明者は、ＰＨＡの製造において、ＰＨＡの含水率の低減の観点から鋭意検討を行った結果、ＰＨＡ水性懸濁液のｐＨ、ろ材の通気度、およびＰＨＡ水性懸濁液の液密度を制御して、特定のろ過工程を行うことにより、含水率の低いＰＨＡを得ることができることを初めて見出した。具体的には、ＰＨＡ水性懸濁液のｐＨを、ＰＨＡが凝集するｐＨの範囲に調整し、凝集したＰＨＡをろ過により回収する技術を開発した。本製造方法によれば、含水率の低いＰＨＡを提供することができる。また、本製造方法によれば、ろ過助剤等の不純物を添加することなく含水率の低いＰＨＡの製造が可能であるため、不純物を低減できる。したがって、本製造方法は、ＰＨＡの工業的な製造において極めて有利である。

[0016] また、上述したような構成によれば、ろ過後の乾燥工程において必要な熱量や時間およびコスト、すなわちエネルギーを削減できる。これにより、例えば、目標７「すべての人々に手ごろで信頼でき、持続可能かつ近代的なエネルギーへのアクセスを確保する」等の持続可能な開発目標（ＳＤＧｓ）の達成に貢献できる。以下、本発明について詳説する。

[0017] 〔２．ＰＨＡの製造方法〕

本製造方法は、以下の工程を含む方法である：

・ｐＨ２．５～５．５のＰＨＡ水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する工程を含み、前記ろ過工程におけるポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む、工程（以下、工程（ｄ）と称する。）。

[0018] また、本発明の一実施形態において、本製造方法は、上記工程（ｄ）に加えて、以下の工程の少なくとも一つを含むことが好ましい。

・工程（ａ）：ＰＨＡを含む菌体のＰＨＡ以外の細胞由来成分を破壊および可溶化する工程であり、前記ＰＨＡの体積メジアン径が、０．５～５．０μｍである、工程（「可溶化工程」とも称する。）

・工程（ｂ）：前記工程（ａ）の後、遠心分離によりＰＨＡ水性懸濁液を回収する工程（「回収工程」とも称する。）

・工程（ｃ’）：前記工程（ｂ）で得たＰＨＡ水性懸濁液をｐＨ２．５～５．５に調製する工程（「調製工程」とも称する。）。

・工程（ｃ）：ＰＨＡ水性懸濁液の温度が、６０～１２０℃となるように加熱処理する工程（「加熱処理工程」とも称する。）。

・工程（ｅ）：前記工程（ｄ）で得られたＰＨＡを２０～１００℃で乾燥させる工程（「乾燥工程」とも称する。）。

・工程（ｆ）：前記乾燥させたＰＨＡを水系溶媒に再分散させる工程（「再分散工程」とも称する。）。

[0019] 本製造方法において、上記の各工程は、工程（ａ）、（ｂ）、（ｃ’）、（ｃ）、（ｄ）、（ｅ）、（ｆ）の順に行われることが好ましいが、目的に応じて、適宜順番を入れ替えることも可能である。例えば、工程（ａ）、（ｂ）の順番を入れ替えて、工程（ｂ）、（ａ）の順に行うこと、および、工程（ｃ’）、（ｃ）の順番を入れ替えて、工程（ｃ）、（ｃ’）の順に行うことができる。また、目的に応じて、工程（ａ）、（ｂ）、（ｃ’）および

（ｃ）を２回以上行うことも可能である。すなわち、例えば、工程（ｂ）、（ａ）、（ｂ）、または、（ｃ’）、（ｃ）、（ｃ’）といった順で行うことも可能である。なお、本明細書では、少なくともＰＨＡを含む水性懸濁液を、「ＰＨＡ水性懸濁液」と略して表記する場合がある。

[0020] （工程（ｄ））

本発明の特徴的な構成である工程（ｄ）について、まず説明する。

[0021] 本製造方法における工程（ｄ）では、ｐＨ２．５～５．５のＰＨＡ水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する。工程（ｄ）では、前記ろ過工程におけるＰＨＡ水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬである。また、工程（ｄ）では、前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む。工程（ｄ）により、含水率の低いＰＨＡが得られる。

[0022] 工程（ｄ）のフィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程とを含む。圧搾工程では、圧搾によりＰＨＡケーキを絞り、ＰＨＡケーキから水分を絞り出す。エアブロー工程では、前記ＰＨＡケーキからエアブロー空気により水を押し出す。圧搾工程およびエアブロー工程の二段階の脱水工程を経ることにより、含水率の低いＰＨＡ凝集塊を得ることができる。

[0023] 本発明の一実施形態において、エアブロー工程は、貫通エアブロー工程であり得る。

[0024] 本発明の一実施形態において、前記フィルタープレスろ過工程は、前記圧搾工程の前に、ろ室に原液（ＰＨＡ水性懸濁液）を供給する工程を含み得る。

[0025] 圧搾工程の圧力は、０．２～１．０ＭＰａが好ましく、０．２５～０．９ＭＰａがより好ましく、０．３～０．８ＭＰａがさらに好ましい。圧搾工程の圧力が０．２～１．０ＭＰａであることにより、ＰＨＡ凝集塊の含水率が低下するという利点を有する。

[0026] エアブロー工程におけるエアブロー圧力は、特に限定されないが、例えば、０．０１～１．５ＭＰａであり、０．０５～１．３ＭＰａであることが好

ましく、０．１０～１．０ＭＰａであることがより好ましい。エアブロー圧力が上記の範囲内であると、ＰＨＡ凝集塊の含水率が低下するという利点を有する。

[0027] エアブロー時間は、前記エアブロー圧力に応じて、適宜設定され得るが、例えば、１～５０分間であり、５～４０分間であることが好ましい。

[0028] フィルタープレスろ過を行う装置は特に限定されず、公知である任意の装置を使用し得る。

[0029] 工程（ｄ）で使用されるろ材としては、特に限定されないが、例えば、紙、ろ布（織布、不織布）、スクリーン、焼結板、素焼、高分子膜、パンチングメタル、ウェッジワイヤー等、種々の素材から選択可能である。価格、洗浄の容易さの観点から、好ましくは、ろ布が使用される。

[0030] 本明細書中では、１分あたりにろ材の単位面積（ｃｍ$^2$）を通過する空気量（ｃｍ$^3$）を通気度と称する。工程（ｄ）において、通気度は、０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであり、０．２～２．０ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎが好ましく、０．３～１．８ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎがより好ましく、０．５～１．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎがさらに好ましく、０．８～１．２ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎが特に好ましい。通気度が上記の範囲内であると、ろ液へのＰＨＡの漏洩率が低いという利点を有する。なお、本製造方法のろ過工程における通気度は、実施例に記載の方法で測定される。

[0031] 工程（ｄ）において、ＰＨＡ水性懸濁液の液密度は、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、０．６０～１．０５ｇ／ｍＬであることが好ましく、０．７０～１．０３ｇ／ｍＬであることがより好ましく、０．８０～１．０２ｇ／ｍＬであることがさらに好ましい。ＰＨＡ水性懸濁液の液密度が上記の範囲内であると、ろ液透過速度が高く、かつ、ＰＨＡ凝集塊中の含水率が低くなるという利点を有する。液密度が低い場合に、ろ液透過速度が下がるのは、空気を含むことによりＰＨＡ水性懸濁液の粘度が上がり、空気とＰＨＡとが相互作用して粘度が上がるためであると推察される。ＰＨＡ水性懸濁液の液密度は、例えば、空気を含ませることにより調整でき、空気の量を増やす

と、ＰＨＡ水性懸濁液の液密度は低下し、空気の量を減らすと、ＰＨＡ水性懸濁液の液密度は増加する。

[0032] 工程（ｄ）におけるろ液の固形分濃度は、１０００ｍｇ／Ｌ以下であることが好ましく、５００ｍｇ／Ｌ以下であることがより好ましく、２００ｍｇ／Ｌ以下であることがさらに好ましく、１００ｍｇ／Ｌ以下であることが特に好ましい。ろ液の固形分濃度が上記の範囲内であると、ＰＨＡ凝集塊の回収率が高いとの利点を有する。また下限については特に限定されず、例えば、０ｍｇ／ｍＬであってもよい。なお、本製造方法のろ過工程におけるろ液の固形分濃度は、実施例に記載の方法で測定される。

[0033] 本発明の一実施形態において、ろ材は、プレコートされていないことが好ましい。ろ材がプレコートされていないことにより、操作の煩雑性がなくなり、かつＰＨＡ中の不純物量を低減できるとの利点を有する。

[0034] 工程（ｄ）におけるＰＨＡ水性懸濁液の温度（ろ過時温度）は、２０～９５℃であることが好ましく、２５～９０℃であることがより好ましく、３０～８５℃であることがさらに好ましく、３５～７０℃であることが特に好ましい。ＰＨＡ水性懸濁液の温度が上記の範囲内であると、ろ液透過速度が高くなるという利点を有する。前記ろ液透過速度の増加は、温度上昇により粘度が上がる一方で、粒子径が大きくなるためであると推察される。

[0035] 本製造方法において、工程（ｃ）の加熱処理工程を含む場合、ろ過時のＰＨＡ水性懸濁液の温度が、前記加熱処理工程後の温度より、５℃以上低い温度であることが好ましく、８℃以上低い温度であることがより好ましく、１０℃以上低い温度であることがさらに好ましく、１２℃以上低い温度であることが特に好ましい。ろ過時のＰＨＡ水性懸濁液の温度が上記範囲内であると、高いろ液透過速度でＰＨＡのろ過が可能となるという利点を有する。また、前記加熱処理工程後に温度を下げる方法としては、特に限定されず、例えば、冷却装置による冷却、放冷等が挙げられる。

[0036] なお、工程（ｄ）において、「ｐＨ」については、後述する工程（ｃ’）の記載が援用される。

[0037] （工程（ａ））

本製造方法における工程（ａ）では、ＰＨＡを含む菌体のＰＨＡ以外の細胞由来成分を破壊および可溶化する。工程（ａ）により、前記細胞由来の不純物（細胞壁、タンパク質等）を破壊および除去することで、前記菌体から体積メジアン径が０．５～５．０μｍであるＰＨＡを効率的に回収できる。

[0038] ＜ＰＨＡ＞

本明細書において、「ＰＨＡ」とは、ヒドロキシアルカン酸をモノマーユニットとする重合体の総称である。ＰＨＡを構成するヒドロキシアルカン酸としては、特に限定されないが、例えば、３－ヒドロキシブタン酸、４－ヒドロキシブタン酸、３－ヒドロキシプロピオン酸、３－ヒドロキシペンタン酸、３－ヒドロキシヘキサン酸、３－ヒドロキシヘプタン酸、３－ヒドロキシオクタン酸等が挙げられる。これらの重合体は、単独重合体でも、２種以上のモノマーユニットを含む共重合体でもよい。

[0039] より詳しくは、ＰＨＡとしては、例えば、ポリ（３－ヒドロキシブチレート）（Ｐ３ＨＢ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシヘキサノエート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＨ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシバリレート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＶ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－４－ヒドロキシブチレート）（Ｐ３ＨＢ４ＨＢ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシオクタノエート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＯ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシオクタデカノエート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＯＤ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシデカノエート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＤ）、ポリ（３－ヒドロキシブチレート－コ－３－ヒドロキシバリレート－コ－３－ヒドロキシヘキサノエート）（Ｐ３ＨＢ３ＨＶ３ＨＨ）等が挙げられる。中でも、工業的に生産が容易であることから、Ｐ３ＨＢ、Ｐ３ＨＢ３ＨＨ、Ｐ３ＨＢ３ＨＶ、Ｐ３ＨＢ４ＨＢが好ましい。

[0040] また、繰り返し単位の組成比を変えることで、融点、結晶化度を変化させ、結果として、ヤング率、耐熱性等の物性を変化させることができ、かつ、

ポリプロピレンとポリエチレンとの間の物性を付与することが可能であること、および上記したように工業的に生産が容易であり、物性的に有用なプラスチックであるという観点から、３－ヒドロキシ酪酸と３－ヒドロキシヘキサン酸の共重合体であるＰ３ＨＢ３ＨＨがより好ましい。

[0041] 本発明の一実施形態において、Ｐ３ＨＢ３ＨＨの繰り返し単位の組成比は、柔軟性および強度のバランスの観点から、３－ヒドロキシブチレート単位／３－ヒドロキシヘキサノエート単位の組成比が、８０／２０～９９．９／０．１（ｍｏｌ／ｍｏｌ）であることが好ましく、８５／１５～９７／３（ｍｏｌ／ｍｏｌ）であることがより好ましい。３－ヒドロキシブチレート単位／３－ヒドロキシヘキサノエート単位の組成比が、９９．９／０．０１（ｍｏｌ／ｍｏｌ）以下であると、十分な柔軟性が得られ、８０／２０（ｍｏｌ／ｍｏｌ）以上であると、十分な硬度が得られる。

[0042] 工程（ａ）におけるＰＨＡの体積メジアン径は、当該ＰＨＡの１次粒子の体積メジアン径（以下、「１次粒子径」と称する。）の５０倍以下が好ましく、２０倍以下がより好ましく、１０倍以下がさらに好ましい。ＰＨＡの体積メジアン径が１次粒子径の５０倍以下であることにより、ＰＨＡ水性懸濁液がより優れた流動性を示すため、ＰＨＡの生産性が一層向上する傾向がある。

[0043] 本発明の一実施形態において、ＰＨＡの体積メジアン径は、例えば、優れた流動性が達成されるという観点から、０．５～５．０μｍが好ましく、１．０～４．５μｍがより好ましく、１．０～４．０μｍがさらに好ましい。ＰＨＡの体積メジアン径は、ＨＯＲＩＢＡ製レーザ回折／散乱式粒子径分布測定装置ＬＡ－９５０を用いて測定される。

[0044] なお、便宜上、ＰＨＡの体積メジアン径を工程（ａ）において規定しているが、通常、ＰＨＡの体積メジアン径は工程（ａ）以降も同様の値となる。したがって、体積メジアン径は、工程（ａ）～（ｄ）のいずれにおいて測定されてもよい。

[0045] ＜菌体（微生物）＞

工程（ａ）において用いられる微生物は、細胞内にＰＨＡを生成し得る微生物である限り、特に限定されない。例えば、天然から単離された微生物および菌株の寄託機関（例えば、ＩＦＯ、ＡＴＣＣ等）に寄託されている微生物、またはそれらから調製し得る変異体および形質転換体等を使用できる。例えば、ＰＨＡの一例であるＰ３ＨＢを生成する菌体としては、１９２５年に発見されたＢａｃｉｌｌｕｓ　ｍｅｇａｔｅｒｉｕｍが最初で、他にもカプリアビダス・ネカトール（Ｃｕｐｒｉａｖｉｄｕｓ　ｎｅｃａｔｏｒ）（旧分類：アルカリゲネス・ユートロファス（Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ　ｅｕｔｒｏｐｈｕｓ）、ラルストニア・ユートロファ（Ｒａｌｓｔｏｎｉａ　ｅｕｔｒｏｐｈａ））、アルカリゲネス・ラタス（Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ　ｌａｔｕｓ）等の天然微生物が挙げられる。これらの微生物ではＰＨＡが菌体内に蓄積されることが知られている。

[0046] また、ＰＨＡの一例である、ヒドロキシブチレートとその他のヒドロキシアルカノエートとの共重合体を生成する菌体としては、Ｐ３ＨＢ３ＨＶおよびＰ３ＨＢ３ＨＨ生産菌であるアエロモナス・キャビエ（Ａｅｒｏｍｏｎａｓ　ｃａｖｉａｅ）、Ｐ３ＨＢ４ＨＢ生産菌であるアルカリゲネス・ユートロファス（Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ　ｅｕｔｒｏｐｈｕｓ）等が挙げられる。特に、Ｐ３ＨＢ３ＨＨに関し、Ｐ３ＨＢ３ＨＨの生産性を上げるために、ＰＨＡ合成酵素群の遺伝子を導入したアルカリゲネス・ユートロファス　ＡＣ３２株（Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ　ｅｕｔｒｏｐｈｕｓ　ＡＣ３２，　ＦＥＲＭ　ＢＰ－６０３８）（Ｔ．Ｆｕｋｕｉ，Ｙ．Ｄｏｉ，Ｊ．Ｂａｔｅｒｉｏｌ．，１７９，ｐ４８２１－４８３０（１９９７））等がより好ましい。また、菌体は、上記以外にも、生産したいＰＨＡに合わせて、各種ＰＨＡ合成関連遺伝子を導入した遺伝子組換え微生物であっても良い。

[0047] ＜細胞由来成分の破壊および可溶化＞

工程（ａ）において、ＰＨＡを含む菌体のＰＨＡ以外の細胞由来成分を破壊および可溶化する方法は特に限定されない。

[0048] 本発明の一実施形態において、上記破壊および可溶化は、例えば、溶菌酵

素、タンパク質分解酵素（例えば、アルカリ性タンパク質分解酵素）を用いて行われる。

[0049] 本明細書において、「溶菌酵素」とは、菌体の細胞壁（例えば、ペプチドグリカン）を分解する（溶菌する）活性を有する酵素を意図する。

[0050] 本発明の一実施形態において、溶菌酵素は特に限定されず、例えば、リゾチーム、ラビアー、β－Ｎ－アセチルグルコサミニダーゼ、エンドリシン、オートリシン等が挙げられる。経済的に有利であるとの観点から、リゾチームが好ましい。これらの１種類を単独で使用してもよく、２種類以上を組み合わせて使用してもよい。

[0051] 溶菌酵素としては、市販品を用いることもでき、例えば、富士フイルム和光純薬株式会社製「リゾチーム」、「アクロモペプチダーゼ」等が挙げられる。

[0052] 本発明の一実施形態において、溶菌酵素の至適ｐＨは、当該溶菌酵素が細胞壁分解活性を有する限り特に限定されないが、例えば、５．０～１１．０であり、好ましくは６．０～９．０であり、より好ましくは６．０～８．０である。

[0053] 本発明の一実施形態において、溶菌酵素の至適温度は特に限定されないが、過度の加温を必要とせず、ＰＨＡの熱変化（熱分解）を防ぐことができるとの観点から、６０℃以下が好ましく、５０℃以下がさらに好ましい。至適温度の下限は特に限定されないが、過度の冷却操作が必要なく、経済的であるとの観点から、室温（例えば２５℃）以上であることが好ましい。

[0054] 本明細書において、「アルカリ性タンパク質分解酵素」とは、アルカリ環境下（例えばｐＨ８．５の溶液中）でタンパク質を分解する活性を有するタンパク質分解酵素を意図する。

[0055] 本発明の一実施形態において、アルカリ性タンパク質分解酵素は、アルカリ環境下でタンパク質を分解する活性を有する限り特に限定されず、例えば、セリン特異的タンパク質分解酵素（例えば、サブチリシン、キモトリプシン、トリプシン）、システイン特異的タンパク質分解酵素（例えばパパイン

、プロメライン、カテプシン）、アスパラギン酸特異的タンパク質分解酵素（例えば、ペプシン、カテプシンＤ、ＨＩＶプロテアーゼ）等が挙げられる。経済的に有利であるとの観点から、セリン特異的タンパク質分解酵素、とりわけ、サブチリシン（例えば、アルカラーゼ）が好ましい。これらの１種類を単独で使用してもよく、２種類以上を組み合わせて使用してもよい。

[0056] アルカリ性タンパク質分解酵素としては、市販品を用いることもでき、例えば、Ｎｏｖｏｚｙｍｅ社製「アルカラーゼ２．５Ｌ」；天野エンザイム株式会社社製「プロチンＳＤ－ＡＹ１０」および「プロテアーゼＰ「アマノ」３ＳＤ」；ダニスコジャパン株式会社製「マルチフェクトＰＲ６Ｌ」および「オプチマーゼＰＲ８９Ｌ」；新日本化学工業株式会社製「スミチームＭＰ」；ディー・エス・エムジャパン株式会社製「デルボラーゼ」；ナガセケムテックス株式会社製「ビオプラーゼＯＰ」、「ビオプラーゼＳＰ－２０ＦＧ」および「ビオプラーゼＳＰ－４ＦＧ」；ＨＢＩ株式会社製「オリエンターゼ２２ＢＦ」；ヤクルト薬品工業株式会社製「アロアーゼＸＡ－１０」等が挙げられる。

[0057] 本発明の一実施形態において、アルカリ性タンパク質分解酵素の至適ｐＨは、当該アルカリ性タンパク質分解酵素がアルカリ環境下で活性を有する限り特に限定されないが、例えば８．０～１４．０であり、好ましくは８．０～１２．０であり、より好ましくは８．０～１０．０であり、さらに好ましくは８．０～９．０であり、最も好ましくは８．５である。

[0058] 本発明の一実施形態において、アルカリ性タンパク質分解酵素の至適温度は、特に限定されないが、過度の加温を必要とせず、ＰＨＡの熱変化（熱分解）を防ぐことができるとの観点から、６０℃以下が好ましく、５０℃以下がさらに好ましい。至適温度の下限は、特に限定されないが、過度の冷却操作が必要なく、経済的であるとの観点から、室温（例えば、２５℃）以上であることが好ましい。

[0059] 本発明の一実施形態において、工程（ａ）における細胞由来成分の破壊および可溶化は、リゾチームおよびアルカラーゼを組み合わせて行われ得る。

[0060] 工程（ａ）における上記酵素処理時間は、酵素の種類、ｐＨ、温度等の条件により変わり得るが、例えば、１時間～８時間であり、２時間～６時間が好ましい。

[0061] なお、本製造方法におけるＰＨＡ水性懸濁液を構成する溶媒（「溶媒」は、「水性媒体」とも称する。）は、水、または水と有機溶媒との混合溶媒であってもよい。また、当該混合溶媒において、水と相溶性のある有機溶媒の濃度としては、使用する有機溶媒の水への溶解度以下であれば特に限定されない。また、水と相溶性のある有機溶媒としては特に限定されないが、例えば、メタノール、エタノール、１－プロパノール、２－プロパノール、１－ブタノール、２－ブタノール、ｉｓｏ－ブタノール、ペンタノール、ヘキサノール、ヘプタノール等のアルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル類；アセトニトリル、プロピオニトリル等のニトリル類；ジメチルホルムアミド、アセトアミド等のアミド類；ジメチルスルホキシド、ピリジン、ピペリジン等が挙げられる。中でも、メタノール、エタノール、１－プロパノール、２－プロパノール、１－ブタノール、２－ブタノール、ｉｓｏ－ブタノール、アセトン、メチルエチルケトン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、アセトニトリル、プロピオニトリル等が、除去しやすい点から好ましい。また、メタノール、エタノール、１－プロパノール、２－プロパノール、ブタノール、アセトン等が、入手容易であることからより好ましい。さらに、メタノール、エタノール、アセトンが、特に好ましい。なお、ＰＨＡ水性懸濁液を構成する水性媒体は、本発明の本質を損なわない限り、他の溶媒、細胞由来の成分、精製時に発生する化合物等を含んでいても構わない。

[0062] 本製造方法におけるＰＨＡ水性懸濁液を構成する水性媒体には、水が含まれていることが好ましい。水性媒体中の水の含有量は、５重量％以上が好ましく、より好ましくは、１０重量％以上であり、さらに好ましくは、３０重量％以上であり、特に好ましくは、５０重量％以上である。

[0063] （その他の工程）

本発明の一実施形態において、本製造方法は、工程（ａ）の前に、以下で示す工程を含んでいてもよい。

[0064] ＜工程（ａ１）＞

工程（ａ１）は、ＰＨＡを含む菌体を培養する工程である。

[0065] 工程（ａ１）において、菌体は、例えば、上記＜菌体（微生物）＞の項に記載した菌体が用いられる。

[0066] 工程（ａ１）において、菌体の培養方法は特に限定されないが、例えば、国際公開第ＷＯ２０１９／１４２７１７号の段落〔００４１〕～〔００４８〕に記載の方法が挙げられる。

[0067] ＜工程（ａ２）＞

工程（ａ２）は、前記工程（ａ１）で得られた菌体を不活化する工程である。本工程では、前記工程（ａ１）で得られた菌体を不活化し、不活化培養液を得る。

[0068] 工程（ａ２）において、不活化の方法は特に限定されないが、例えば、Ｐ３ＨＡを含有する菌体を含む培養液を、内温６０～７０℃で７時間、加熱および攪拌処理する方法が挙げられる。

[0069] ＜工程（ａ３）＞

工程（ａ３）は、前記工程（ａ２）で得られた不活化培養液の濃度およびｐＨを調整する工程である。工程（ａ３）は、主に、前記工程（ａ２）で得られた不活化培養液の粘度が高い場合に行われ、不活化培養液の濃度およびｐＨを調整して、不活化培養液の粘度を低下させる。工程（ａ３）により、工程（ａ）における可溶化を容易にする。

[0070] 工程（ａ３）において、不活化培養液の濃度およびｐＨを調整する方法は特に限定されず、当技術分野で用いられる任意の方法により行われる。例えば、不活化培養液に過酸化水素等を添加して、不活化培養液の濃度を調整できる。また、ｐＨを調整する方法としては、例えば、不活化培養液に塩基性化合物を添加する方法が挙げられる。塩基性化合物としては、特に限定されないが、アルカリ金属水酸化物またはアルカリ土類金属水酸化物が好ましく

、水酸化ナトリウムがより好ましい。塩基性化合物は、１種を単独で使用してもよく、２種以上を併用してもよい。

[0071] （工程（ｂ））

本製造方法における工程（ｂ）では、前記工程（ａ）の後、遠心分離によりＰＨＡ水性懸濁液を回収する。工程（ｂ）により、ＰＨＡ水性懸濁液中の前記細胞由来の不純物（細胞壁、タンパク質等）を除去できる。

[0072] 工程（ｂ）において、ＰＨＡ水性懸濁液の回収は、当該技術分野で公知である任意の遠心分離法により行われる。遠心分離の方法は、特に限定されないが、例えば、遠心沈降機、遠心脱水機等を用いた遠心分離が挙げられる。

[0073] 遠心沈降機としては、例えば、分離板型（例えば、ディスク型、セルフクリーニング型、ノズル型、スクリューデカンター型、スキミング型等）、円筒型、デカンター型の遠心沈降機が挙げられる。それぞれ沈降成分の排出の方法により、回分式と連続式がある。また遠心脱水機についても回分式と連続式とが挙げられる。これらの機器を用いることにより、比重差により、ＰＨＡを含む沈降物と、培養液成分とを分離することが可能である。

[0074] 工程（ａ）および（ｂ）により、最終製品に残留する不純物量が概ね決定されるため、これらの不純物は、できる限り低減させた方が好ましい。当然に、用途によっては、最終製品の物性を損なわない限り不純物が混入しても構わないが、医療用用途等、高純度のＰＨＡが必要とされる場合は、できる限り不純物を低減させることが好ましい。その際の精製度の指標としては、例えば、ＰＨＡ水性懸濁液中のＰＨＡ表面付着タンパク質量が挙げられる。当該タンパク質量は、好ましくはＰＨＡ重量当たり２０００ｐｐｍ以下、より好ましくは、１９００ｐｐｍ以下、さらに好ましくは、１８００ｐｐｍ以下、最も好ましくは、１７００ｐｐｍ以下である。ＰＨＡ水性懸濁液のＰＨＡ表面付着タンパク質量が上記の範囲内であると、漏洩率が高くなりすぎないという利点を有する。当該効果は、ＰＨＡ表面付着タンパク質量が少ないと、ＰＨＡ同士が纏まり易いためであると推察される。

[0075] （工程（ｃ’））

工程（ｃ’）において、遠心分離により回収されたＰＨＡ水性懸濁液は、通常、７を超えるｐＨを有する。そこで、本製造方法における工程（ｃ’）では、前記工程（ｂ）で得たＰＨＡ水性懸濁液をｐＨ２．５～５．５に調整する。工程（ｃ’）のｐＨ調整を行うことにより、工程（ｄ）のろ過における漏洩率が下がる。

[0076] 工程（ｃ’）において、ＰＨＡ水性懸濁液のｐＨは、２．５～５．５であり、２．６～５．０であることが好ましく、２．７～４．５であることがより好ましく、２．８～４．０であることがさらに好ましく、３．０～３．８であることが特に好ましい。ＰＨＡ水性懸濁液のｐＨが上記の範囲内であると、ろ過工程において、ろ液へのＰＨＡの漏洩率を高くすることなく、ろ液透過速度を向上させることができるという利点を有する。当該効果は、ＰＨＡが小さくなりすぎず、凝集し易いためであると推察される。また、ｐＨの上限については、ＰＨＡを加熱溶融した時の着色を低減する観点、ならびに加熱時および／または乾燥時のＰＨＡの分子量の安定性を確保し、分子量の低下を抑制する観点からもｐＨ５．５以下が好ましい。ｐＨの下限については、容器の耐酸性の観点から、ｐＨ２．５以上が好ましい。

[0077] 工程（ｃ’）において、ｐＨの調整方法は、特に限定されず、例えば、酸を添加する方法等が挙げられる。酸は、特に限定されず、有機酸、無機酸のいずれでもよく、揮発性の有無は問わない。より具体的には、酸としては、例えば、硫酸、塩酸、リン酸、酢酸等が使用できる。

[0078] 工程（ｃ’）において、ＰＨＡ水性懸濁液を加熱することが好ましい。加熱温度は特に限定されないが、例えば４０～９０℃が好ましく、５０～８０℃がより好ましく、６０～７０℃がさらに好ましい。工程（ｃ’）においてＰＨＡ水性懸濁液を加熱することにより、ｐＨを調整しやすくなるため、熱安定性の高いＰＨＡを得ることができる。

[0079] 本発明の一実施形態において、工程（ｃ）におけるｐＨ調整の後、工程（ｄ）を行うまでの間に、追加のｐＨ調整は実施しないことが好ましい。

[0080] （工程（ｃ））

本製造方法における工程（ｃ）では、ＰＨＡ水性懸濁液の温度が、６０～１２０℃となるように加熱処理する。工程（ｃ）により、ろ過時のろ液透過速度を高めることができる。

[0081] 工程（ｃ）において、ＰＨＡ水性懸濁液の温度が、６０～１２０℃になるように加熱処理することが好ましく、６２～１１８℃になるように加熱処理することがより好ましく、６５～１１５℃になるように加熱処理することがさらに好ましい。ＰＨＡ水性懸濁液の温度が上記の範囲内であると、ろ過時のろ液透過速度をより高めることができる。

[0082] 工程（ｃ）において、加熱処理する方法は、特に限定されないが、例えば、（ｉ）蒸気を用いてＰＨＡ水性懸濁液の入った容器を温める方法、（ｉｉ）オイルを用いてＰＨＡ水性懸濁液の入った容器を温める方法、（ｉｉｉ）蒸気をＰＨＡ水性懸濁液に直接投入する方法等が挙げられる。上記（ｉ）および（ｉｉｉ）の蒸気の温度、ならびに上記（ｉｉ）のオイルの温度は、工程（ｃ）におけるＰＨＡ水性懸濁液の温度が、６０～１２０℃になるような温度であれば特に限定されず、例えば、９５～１５０℃である。

[0083] （工程（ｅ））

本製造方法における工程（ｅ）では、前記工程（ｄ）で得られたＰＨＡを２０～１００℃で乾燥させる。工程（ｅ）により、ＰＨＡ水性懸濁液中の水分を蒸発させ、含水率を調整できる。

[0084] 工程（ｅ）において、ＰＨＡを乾燥させる方法は特に限定されないが、例えば、加熱、真空乾燥、常温乾燥等が挙げられる。好ましくは、適度な乾燥速度の観点から、加熱により行われる。乾燥時の熱媒体（例えば、熱風、ジャケット等）は、３０～９０℃が好ましく、４０～８０℃がより好ましく、５０～７０℃がさらに好ましい。

[0085] （工程（ｆ））

本製造方法における工程（ｆ）では、前記乾燥させたＰＨＡを水系溶媒に再分散させてＰＨＡ水性懸濁液を得る。工程（ｅ）に続いて、工程（ｆ）を行うことにより、元の粒子径（１次粒子径）と実質的に同一な粒子径を有す

るＰＨＡを含むＰＨＡ水性懸濁液が得られる。

[0086] 工程（ｆ）において、再分散の方法は特に限定されることなく、当技術分野で用いられる任意の方法により行われる。

[0087] 工程（ｆ）において、ＰＨＡの体積メジアン径は、工程（ａ）におけるＰＨＡの体積メジアン径と実質的に同一であれば特に限定されないが、例えば、０．５～５．０μｍが好ましく、１．０～４．５μｍがより好ましく、１．０～３．０μｍがさらに好ましい。本明細書中、「体積メジアン径が実質的に同一である」とは、工程（ａ）におけるＰＨＡの体積メジアン径との差が、１．０μｍ以下であることを意味する。

[0088] 前記工程（ｅ）および（ｆ）は連続して実施されてもよい。すなわち、工程（ｅ）で乾燥させたＰＨＡを、工程（ｆ）で再分散させて、ＰＨＡ水性懸濁液を得てもよい。本発明の一実施形態において、本製造方法は、前記ろ過工程で得られたポリヒドロキシアルカノエートを２０～１００℃で乾燥させる工程と、前記乾燥させたポリヒドロキシアルカノエートを水系溶媒に再分散させて、体積メジアン径が０．５～５．０μｍであるポリヒドロキシアルカノエートを含むポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液を得る工程と、を含む。

[0089] 〔３．ＰＨＡ凝集塊〕

本ＰＨＡ凝集塊は、含水率が５．０～２５．０％（Ｗ．Ｂ．）である。なお、ＰＨＡ凝集塊は、「ＰＨＡケーキ」、「ろ過ケーキ」または「ＰＨＡろ過ケーキ」と称することもある。

[0090] 本ＰＨＡ凝集塊の含水率は、５．０～２５．０％（Ｗ．Ｂ．）であり、５．５～２３．０％（Ｗ．Ｂ．）であることが好ましく、６．０～２１．０％（Ｗ．Ｂ．）であることがより好ましく、６．５～２０．０％（Ｗ．Ｂ．）であることがさらに好ましく、７．０～１９．０％（Ｗ．Ｂ．）であることが特に好ましい。本ＰＨＡ凝集塊の含水率が上記の範囲内であると、ＰＨＡ凝集塊がスラリー状ではなく、固体状となり、乾燥機に投入しやすいという利点を有する。なお、本ＰＨＡ凝集塊の含水率は、実施例に記載の方法で測

定される。

[0091] 本発明の一実施形態において、本ＰＨＡ凝集塊は、本製造方法により製造される。

[0092] 本ＰＨＡ凝集塊は、本発明の効果を奏する限り、本製造方法の過程で生じた、または除去されなかった種々の成分を含んでいてもよい。

[0093] 本ＰＨＡ凝集塊は、紙、フィルム、シート、チューブ、板、棒、容器（例えば、ボトル容器等）、袋、部品等、種々の用途に利用できる。

[0094] 本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

[0095] すなわち、本発明の一態様は、以下を含む。

＜１＞ｐＨ２．５～５．５のＰＨＡ水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する工程を含み、

前記ろ過工程におけるＰＨＡ水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、

前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む、ＰＨＡの製造方法。

＜２＞前記ろ過工程におけるろ液の固形分濃度が、１０００ｍｇ／Ｌ以下である、＜１＞に記載の製造方法。

＜３＞前記ろ材は、プレコートされていない、＜１＞または＜２＞に記載の製造方法。

＜４＞前記ろ過工程におけるＰＨＡ水性懸濁液の温度が、２０～９５℃である、＜１＞～＜３＞のいずれかに記載の製造方法。

＜５＞さらに、（ａ）ＰＨＡを含む菌体のＰＨＡ以外の細胞由来成分を破壊および可溶化する工程を含み、

前記工程（ａ）におけるＰＨＡの体積メジアン径が、０．５～５．０μｍ

である、＜１＞～＜４＞のいずれかに記載の製造方法。

＜６＞さらに、前記工程（ａ）の後、（ｂ）遠心分離によりＰＨＡ水性懸濁液を回収する工程を含む、＜５＞に記載の製造方法。

＜７＞前記ろ過工程で得られたポリヒドロキシアルカノエートを２０～１００℃で乾燥させる工程を含む、＜１＞～＜６＞のいずれかに記載の製造方法。

＜８＞前記エアブロー工程におけるエアブロー圧力が、０．０１～１．５ＭＰａである、＜１＞～＜７＞のいずれかに記載の製造方法。

＜９＞前記エアブロー工程におけるエアブローの時間が１～５０分である＜１＞～＜８＞のいずれかに記載の製造方法。

＜１０＞＜１＞～＜９＞のいずれかに記載の方法により製造したポリヒドロキシアルカノエートを、水系溶媒に分散させる工程を含む、ポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液の製造方法。

＜１１＞含水率が５．０～２５．０％（Ｗ．Ｂ．）である、ＰＨＡ凝集塊。

## 実施例

[0096] 以下、本発明を実施例に基づいてより詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。なお、実施例において、「ＰＨＡ」としては「Ｐ３ＨＢ３ＨＨ」を使用しており、実施例中の記載「ＰＨＡ」は、「Ｐ３ＨＢ３ＨＨ」と読み替えることもできる。

[0097] 〔測定方法〕

実施例および比較例における測定を、以下の方法で行った。

[0098] （ろ液固形分濃度）

適当量のろ液について、ガラスろ紙ＧＳ－２５（ＡＤＶＡＮＴＥＣ社製）にてガラスフィルターを使用して真空引きをした。次いで、そのろ紙を乾燥させた後の質量から、固形分濃度を算出した。

[0099] （ＰＨＡ凝集塊の含水率）

試験にて生成した脱水ケーキを、３等分または９等分し、各所から適当量採取した。次いで、１０５℃恒温乾燥器にて１５時間程度乾燥させ、乾燥前

後での質量の差から、ＰＨＡ凝集塊の含水率を算出した。

[0100] （通気度）

通気度はＪＩＳＬ１０９６に記載の方法で測定した。具体的には、フラジール型通気性試験機（パーミヤメーターＰ２　東洋精機製作所株式会社製）を用いて、傾斜型気圧計が１２５Ｐａを示すように、空気の吸い込み量を調節し、そのときの空気流量を測定した。

[0101] （液密度）

ろ過工程直前のＰＨＡ水性懸濁液をろ過時温度まで加温し、予め重量を測定しておいた２０ｍＬプラスチックシリンジ（テルモ製）に２０ｍＬ分吸引した。次いで、プラスチックシリンジと２０ｍＬ分の水性懸濁の重量を測定し、２０ｍＬプラスチックシリンジの重量を差し引いた重量（ｇ）を、液体の体積（２０ｍＬ）で除することにより、ろ過時温度における液密度を計算した。

[0102] （体積メジアン径）

ＰＨＡの体積メジアン径は、ＨＯＲＩＢＡ製レーザ回折／散乱式粒子径分布測定装置ＬＡ－９５０を用いて測定した。

[0103] （ろ過時温度）

ろ過時の温度は、Ｋ熱電対（ＡＤ５６０１Ａ　ＡＮＤ社製）を用いて、ＰＨＡ水性懸濁液をろ過器に投入する直前の温度を測定した。

[0104] （工程（ｃ’）におけるＰＨＡ水性懸濁液のｐＨ）

ｐＨ計（９６５２－１０Ｄ　ＨＯＲＩＢＡ製）を用いて測定した。ｐＨの測定位置は、ＰＨＡ水性懸濁液を撹拌翼などで流動状態にした状態で、酸の添加位置から最も離れたＰＨＡ水性懸濁液の位置にした。例えば、容器の壁面から酸を添加する場合は容器の中心のｐＨを測定した。

[0105] 〔実施例１〕

（菌体培養液の調製）

国際公開第ＷＯ２０１９／１４２７１７号に記載のラルストニア・ユートロファを、同文献の段落〔００４１〕～〔００４８〕に記載の方法で培養し

、ＰＨＡを含有する菌体を含む菌体培養液を得た。なお、ラルストニア・ユートロファは、現在では、カプリアビダス・ネカトールに分類されている。菌体培養液中のＰＨＡ（Ｐ３ＨＢ３ＨＨ）の繰り返し単位の組成比（３ＨＢ単位／３ＨＨ単位の組成比）は９４／６（ｍｏｌ／ｍｏｌ）であった。

[0106] （不活化）

前記で得られた菌体培養液を、内温６０～７０℃で７時間加熱および攪拌処理することにより滅菌処理を行い、不活化培養液を得た。

[0107] （粘度低下処理）

前記で得られた不活化培養液に対して、１重量％となるように、３５重量％過酸化水素（富士フイルム和光純薬製）を添加した。次いで、３０％水酸化ナトリウム水溶液を添加して、ｐＨを１１．０に調整した。溶液を６０℃で維持しつつ、３０％水酸化ナトリウム水溶液を添加し続けることにより、ｐＨを１１．０で１８０分間維持し、ＰＨＡ水性懸濁液を得た。

[0108] （酵素処理）

前記で得られたＰＨＡ水性懸濁液に対し、９５％硫酸を添加してｐＨを７．０±０．２に調整した。硫酸を添加したＰＨＡ水性懸濁液の固形分濃度を測定したところ、３０重量％であった。硫酸添加後、細胞壁中の糖鎖（ペプチドグリカン）を分解する酵素であるリゾチーム（富士フイルム和光純薬製）を、液中濃度が１０ｐｐｍとなるように添加して、５０℃で２時間保持した。その後、タンパク質分解酵素であるアルカラーゼ２．５Ｌ（Ｎｏｖｏｚｙｍｅ社製）を、液中濃度が３００ｐｐｍとなるように添加し、次いで、５０℃で３０％水酸化ナトリウムを添加して、ｐＨ８．５に調整しながら２時間維持した。

[0109] （アルカリ処理）

前記酵素処理液に対して、０．３重量％になるようにドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ、花王製）を添加した。その後、水酸化ナトリウム水溶液を用いて、ｐＨが１１．０±０．２となるように調整した。次いで、前記酵素処理液を遠心分離（４０００Ｇ、１０分間）した後、上清を除去して２倍濃縮

したＰＨＡ水性懸濁液を得た。前記濃縮ＰＨＡ水性懸濁液に、除去した上清と同量の水酸化ナトリウムを添加して再度遠心分離（４０００Ｇ、１０分間）して、上清を除去することを４回繰り返した。ＰＨＡの体積メジアン径は、２．２μｍであった。得られたＰＨＡ水性懸濁液中のタンパク質量は、１０００ｐｐｍであった。

[0110] （ｐＨ調整）

前記で得られたＰＨＡ水性懸濁液中の固形分濃度を２５重量％に調整し、６０℃で保持した。次いで、１０％硫酸を添加してｐＨを３．５に調整した。液密度は１．００ｇ／ｍＬであった。

[0111] （ろ過）

前記ＰＨＡ水性懸濁液を６３℃のウォーターバスに入れ、液温が６０℃になるように加温し、フィルタープレス機（ＩＳＤ型３６０、石垣社製）を用いてろ過を行った。ろ布は通気度１．０ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎのろ布（ＩＰ１９６Ｃ－１、石垣社製）を使用した。なお、使用したろ布は、プレコートされていない。ろ過は圧搾圧力０．７ＭＰａで実施し、エアブロー圧力を０．２～０．６ＭＰａに調整してエアブローを実施した。表１に、得られたろ液の固形分濃度とＰＨＡ凝集塊の含水率を記した。また、実施例１－１のろ布透過液の写真を図１に示した。

[0112] 〔比較例１〕

フィルタープレスろ過において、エアブローを実施しなかった以外は実施例１と同じ手法によりＰＨＡ凝集塊を得た。表１に、得られたろ液の固形分濃度とＰＨＡ凝集塊の含水率を記した。

[0113] [表1]

（表1）

| | エアブロー圧力 [MPa] | エアブロー時間 [min] | ろ液固形分濃度 [mg/L] | PHA 凝集塊含水率 [% (W.B.)] |
|---|---|---|---|---|
| 実施例1－1 | 0.2 | 24 | 10 以下 | 17.4 |
| 実施例1－2 | 0.3 | 25 | 10 以下 | 12.2 |
| 実施例1－3 | 0.4 | 15 | 10 以下 | 11.5 |
| 実施例1－4 | 0.6 | 13 | 10 以下 | 9.7 |
| 比較例1 | なし | - | 10 以下 | 33.1 |

[0114] 〔実施例２〕

酵素処理までは実施例１と同様の手法で酵素処理液を得た。前記酵素処理液に対して、０．２重量％になるようにＳＤＳを添加した。その後、水酸化ナトリウム水溶液を用いて、ｐＨが１１．０±０．２となるように調整した。次いで、前記酵素処理液を遠心分離（４０００Ｇ、１０分間）した後、上清を除去して２倍濃縮したＰＨＡ水性懸濁液を得た。前記濃縮ＰＨＡ水性懸濁液に、除去した上清と同量の水酸化ナトリウムを添加して再度遠心分離（４０００Ｇ、１０分間）して、上清を除去することを２回繰り返した。得られたＰＨＡ水性懸濁液中のタンパク質量は、３０００ｐｐｍであった。ＰＨＡの体積メジアン径は、２．２μｍであった。ｐＨ調整工程、ろ過工程は実施例１－２と同様の条件で実施し、ろ過ケーキを得た。ｐＨ調整工程後の液密度は１．００ｇ／ｍＬであった。得られたケーキ含水率（Ｗ．Ｂ．）は１３．１％であり、ろ布透過液固形分濃度は１０ｍｇ／Ｌ以下であった。

[0115] 〔実施例３〕

（菌体培養液の調製）

国際公開第ＷＯ２０１９／１４２７１７号に記載のラルストニア・ユートロファを、同文献の段落〔００４１〕～〔００４８〕に記載の方法で培養し、ＰＨＡを含有する菌体を含む菌体培養液を得た。なお、菌体培養液中のＰＨＡの繰り返し単位の組成比（３ＨＢ単位／３ＨＨ単位の組成比）は８０／２０～８８／１２（ｍｏｌ／ｍｏｌ）であり、より正確には８５／１５（ｍｏｌ／ｍｏｌ）であった。得られた菌体培養液を用いて、酵素処理工程においてリゾチームを添加しなかったこと以外は実施例１と同様の手法でろ過を実施した。なお、アルカリ処理工程後のＰＨＡの体積メジアン径は、２．３μｍであった。得られたＰＨＡ水性懸濁液中のタンパク質量は、１８００ｐｐｍであった。ｐＨ調整工程後の液密度は１．００ｇ／ｍＬであった。

[0116]

[表2]

(表2)

| | エアブロー圧力 [MPa] | エアブロー時間 [min] | ろ液固形分濃度 [mg/L] | PHA 凝集塊含水率 [% (W.B.) ] |
|---|---|---|---|---|
| 実施例３－１ | 0.3 | 15 | 10 以下 | 13.0 |
| 実施例３－２ | 0.4 | 15 | 10 以下 | 12.3 |

[0117] 〔比較例２〕

通気度３．０ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎのろ布（ＩＰ１２６Ｃ、石垣社製）を使用した以外は比較例１と同じ手法によりフィルタープレスろ過を実施した。図１にろ布透過液の写真を示す。通気度１．０ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎのろ布では粒子を通過させないが、通気度３．０ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎのろ布では粒子を通過させてしまうことがわかる。ろ液の固形分濃度は２０６０ｍｇ／Ｌだった。

[0118] 〔実施例４〕

実施例１－３で得られたＰＨＡ凝集塊を乾燥機（ＥＹＥＬＡ製、ＷＦＯ－７００）に入れ、６０℃で２４時間乾燥させた。乾燥させたＰＨＡ凝集塊を水に再分散させ、固形分濃度を１５重量％に調整した。１％ＮａＯＨ水溶液および１％$H_2SO_4$水溶液を用いてｐＨを７～９の間に調整し、攪拌を行い、ＰＨＡ水性懸濁液を作製した。３０分攪拌後にＰＨＡ水性懸濁液中のＰＨＡ粒子の粒子径を測定すると、体積メジアン径は２．８μｍであった。

[0119] 〔まとめ〕

以上より、本製造方法によると、ＰＨＡ凝集塊の含水率を大きく減少させることが可能であることがわかった。

## 産業上の利用可能性

[0120] 本製造方法は、簡便な操作で含水率の低いＰＨＡを製造することができることから、ＰＨＡの製造において有利に使用できる。また、本ＰＨＡ凝集塊は、農業、漁業、林業、園芸、医学、衛生品、衣料、非衣料、包装、自動車、建材、その他の分野に好適に利用することができる。

# 請求の範囲

[請求項1] ｐＨ２．５～５．５のポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液を、通気度が０．１～２．５ｃｍ$^3$／ｃｍ$^2$／ｍｉｎであるろ材を用いてフィルタープレスろ過する工程を含み、

前記ろ過工程におけるポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液の液密度が、０．５０～１．０８ｇ／ｍＬであり、

前記フィルタープレスろ過工程は、圧搾工程と、エアブロー工程と、を含む、ポリヒドロキシアルカノエートの製造方法。

[請求項2] 前記ろ過工程におけるろ液の固形分濃度が、１０００ｍｇ／Ｌ以下である、請求項１に記載の製造方法。

[請求項3] 前記ろ材は、プレコートされていない、請求項１または２に記載の製造方法。

[請求項4] 前記ろ過工程におけるポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液の温度が、２０～９５℃である、請求項１または２に記載の製造方法。

[請求項5] さらに、（ａ）ポリヒドロキシアルカノエートを含む菌体のポリヒドロキシアルカノエート以外の細胞由来成分を破壊および可溶化する工程を含み、

前記工程（ａ）におけるポリヒドロキシアルカノエートの体積メジアン径が、０．５～５．０μｍである、請求項１または２に記載の製造方法。

[請求項6] さらに、前記工程（ａ）の後、（ｂ）遠心分離によりポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液を回収する工程を含む、請求項５に記載の製造方法。

[請求項7] 前記ろ過工程で得られたポリヒドロキシアルカノエートを２０～１００℃で乾燥させる工程を含む、請求項１または２に記載の製造方法。

[請求項8] 前記エアブロー工程におけるエアブロー圧力が、０．０１～１．５ＭＰａである、請求項１または２に記載の製造方法。

[請求項9] 前記エアブロー工程におけるエアブローの時間が１～５０分である、請求項１または２に記載の製造方法。

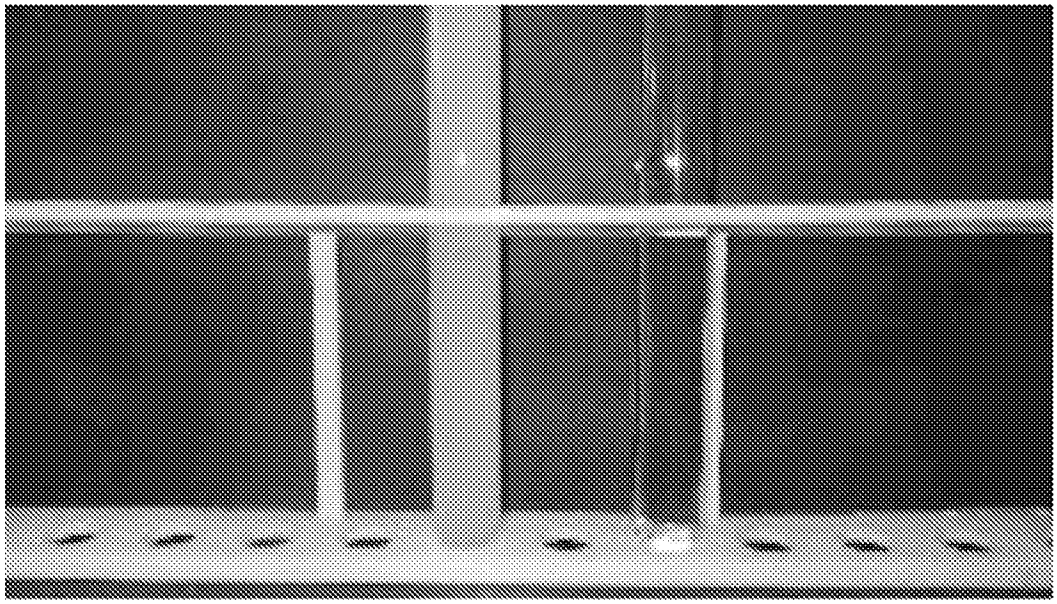
[請求項10] 請求項１または２に記載の方法により製造したポリヒドロキシアルカノエートを、水系溶媒に再分散させる工程を含む、ポリヒドロキシアルカノエート水性懸濁液の製造方法。

[請求項11] 含水率が５．０～２５．０％（Ｗ．Ｂ．）である、ポリヒドロキシアルカノエート凝集塊。

[図1]

図 1

比較例2　　実施例1-1



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/JP2023/022865**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

***C08G 63/90***(2006.01)i; ***C08L 101/16***(2006.01)i; ***C12P 7/62***(2022.01)i
FI: C08G63/90 ZBP; C12P7/62; C08L101/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08G63/90; C08L101/16; C12P7/62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | JP 2016-524926 A (BIO-ON S.P.A.) 22 August 2016 (2016-08-22)<br>claims, examples | 11 |
| A | | 1-10 |
| X | WO 2021/251049 A1 (KANEKA CORP) 16 December 2021 (2021-12-16)<br>claims, paragraph [0064], examples | 11 |
| A | JP 2021-88662 A (KANEKA CORP) 10 June 2021 (2021-06-10)<br>entire text | 1-11 |
| A | WO 2019/142717 A1 (KANEKA CORP) 25 July 2019 (2019-07-25)<br>entire text | 1-11 |
| A | WO 2010/067543 A1 (KANEKA CORP) 17 June 2010 (2010-06-17)<br>entire text | 1-11 |
| A | WO 2021/251162 A1 (KANEKA CORP) 16 December 2021 (2021-12-16)<br>entire text | 1-11 |

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| **04 August 2023** | **15 August 2023** |
| Name and mailing address of the ISA/JP<br>**Japan Patent Office (ISA/JP)**<br>**3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915**<br>**Japan** | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/JP2023/022865**

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | JP 2007-34128 A (CANON INC) 08 February 2007 (2007-02-08)<br>in particular, paragraph [0058] | 1-11 |
| P, A | JP 2023-76176 A (KANEKA CORP) 01 June 2023 (2023-06-01)<br>claims, examples | 1-11 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
**Information on patent family members**

International application No.
**PCT/JP2023/022865**

| Patent document cited in search report | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date (day/month/year) |
|---|---|---|---|
| JP 2016-524926 A | 22 August 2016 | US 2016/0168319 A1<br>claims, examples<br>WO 2015/015395 A1<br>EP 3027761 A1<br>AU 2014298034 A1<br>BR 112016001837 A<br>ES 2776149 T<br>IT MI20131276 A1 | |
| WO 2021/251049 A1 | 16 December 2021 | (Family: none) | |
| JP 2021-88662 A | 10 June 2021 | (Family: none) | |
| WO 2019/142717 A1 | 25 July 2019 | US 2020/0354696 A1<br>entire text<br>EP 3741858 A1 | |
| WO 2010/067543 A1 | 17 June 2010 | US 2011/0293938 A1<br>entire text<br>EP 2366794 A1<br>CN 102224251 A<br>ES 2624527 T | |
| WO 2021/251162 A1 | 16 December 2021 | CN 115768819 A | |
| JP 2007-34128 A | 08 February 2007 | US 2008/0241730 A1<br>paragraphs [0024], [0061], examples<br>KR 10-2007-0015052 A | |
| JP 2023-76176 A | 01 June 2023 | (Family: none) | |

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/022865

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））
C08G 63/90(2006.01)i; C08L 101/16(2006.01)i; C12P 7/62(2022.01)i
FI: C08G63/90 ZBP; C12P7/62; C08L101/16

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））
C08G63/90; C08L101/16; C12P7/62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|---|---|
| 日本国実用新案公報 | １９２２－１９９６年 |
| 日本国公開実用新案公報 | １９７１－２０２３年 |
| 日本国実用新案登録公報 | １９９６－２０２３年 |
| 日本国登録実用新案公報 | １９９４－２０２３年 |

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー* | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| X | JP 2016-524926 A (ビオ オン ソシエタ ペル アチオニ) 22.08.2016 (2016-08-22)<br>特許請求の範囲，実施例 | 11 |
| A | | 1-10 |
| X | WO 2021/251049 A1 (株式会社カネカ) 16.12.2021 (2021-12-16)<br>請求の範囲，[0064]，実施例 | 11 |
| A | JP 2021-88662 A (株式会社カネカ) 10.06.2021 (2021-06-10)<br>全文 | 1-11 |
| A | WO 2019/142717 A1 (株式会社カネカ) 25.07.2019 (2019-07-25)<br>全文 | 1-11 |
| A | WO 2010/067543 A1 (株式会社カネカ) 17.06.2010 (2010-06-17)<br>全文 | 1-11 |
| A | WO 2021/251162 A1 (株式会社カネカ) 16.12.2021 (2021-12-16)<br>全文 | 1-11 |

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

| 国際調査を完了した日 | 国際調査報告の発送日 |
|---|---|
| 04.08.2023 | 15.08.2023 |

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
久保　道弘 4J 4514

電話番号 03-3581-1101 内線 3457

C.　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー* | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| A | JP 2007-34128 A (キャノン株式会社) 08.02.2007 (2007-02-08)<br>特に[0058] | 1-11 |
| P, A | JP 2023-76176 A (株式会社カネカ) 01.06.2023 (2023-06-01)<br>特許請求の範囲，実施例 | 1-11 |

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/022865

| 引用文献 | 公表日 | パテントファミリー文献 | 公表日 |
|---|---|---|---|
| JP 2016-524926 A | 22.08.2016 | US 2016/0168319 A1<br>特許請求の範囲，実施例<br>WO 2015/015395 A1<br>EP 3027761 A1<br>AU 2014298034 A1<br>BR 112016001837 A<br>ES 2776149 T<br>IT MI20131276 A1 | |
| WO 2021/251049 A1 | 16.12.2021 | （ファミリーなし） | |
| JP 2021-88662 A | 10.06.2021 | （ファミリーなし） | |
| WO 2019/142717 A1 | 25.07.2019 | US 2020/0354696 A1<br>全文<br>EP 3741858 A1 | |
| WO 2010/067543 A1 | 17.06.2010 | US 2011/0293938 A1<br>全文<br>EP 2366794 A1<br>CN 102224251 A<br>ES 2624527 T | |
| WO 2021/251162 A1 | 16.12.2021 | CN 115768819 A | |
| JP 2007-34128 A | 08.02.2007 | US 2008/0241730 A1<br>[0024][0061]，実施例<br>KR 10-2007-0015052 A | |
| JP 2023-76176 A | 01.06.2023 | （ファミリーなし） | |