

II-497

汚泥の糖化・発酵に関する基礎的研究

京都大学工学部

学生員

宮田 篤

正員

宗宮 功

正員

小野芳朗

1. はじめに

都市下水処理場最初沈殿池生汚泥中には、多量のセルロースをはじめとする多糖類が含まれる。これらを分解する酵素あるいは菌を用いれば、グルコースを経て有価資源としてのエタノールを回収することが期待できる。本研究では、このプロセスにおける汚泥の前処理条件の検討、及び酵素の配合による相乗効果に関する検討をおこない、汚泥糖化のより効率的な条件を検討した。

2. 実験方法

本実験の基本プロセスは、汚泥の前処理、糖化、発酵の各過程よりなる。実験条件は表1に示すように設定した。前処理としての熱処理は、糖化過程で投入した酵素が汚泥中の細菌により分解されることを防ぐためにおこなった。プロテアーゼ処理及びアルカリ処理は、汚泥中のタンパク成分の分解、あるいは結晶セルロースの非晶化を目的としておこなった。

糖化過程では、各種セルラーゼ配合による相乗効果を期待し、cellulase 1または2と β -glucosidaseを配合した。また、汚泥中のセルロース以外の多糖類についてもアミラーゼ (α -amylase, glucoamylase) の添加により糖化を試みた。生成還元糖量はSomogyi法¹⁾により定量した。生成した糖液はパン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を加えエタノールを回収した。エタノール量は、Meissel氏発酵管による簡易法で測定した。

表1 実験条件

RUN	前 処 理	糖 化 (37°C, pH5, 48hr) 使 用 酵 素
1	熱 処 理 120°C 5分	cellulase 1*, β -glucosidase
2	プロテアーゼ処理	cellulase 2*, β -glucosidase
3	1%NaOH処理100°C3hr プロテアーゼ処理	
4	1%NaOH処理 100°C 0.5hr	cellulase 2
5	1%NaOH処理 100°C 1hr	
6	1%NaOH処理 100°C 3hr	
7		cellulase 2, β -glucosidase
8		cellulase 2, β -glucosidase, α -amylase
9		cellulase 2, β -glucosidase, α -amylase, glucoamylase

* cellulase 1 = *Aspergillus niger* 製

cellulase 2 = *Trichoderma viride* 製

3. 実験結果及び考察

表2に実験結果を示す。(RUN1では、最も生成糖濃度の高かった β -glucosidase/cellulase 1のunit比4について記した。) RUN1では、 β -glucosidase/cellulase 1のunit比を0, 0.25, 0.67, 4として添加した場合、 β -glucosidase組成比が大きい程糖化が促進された(図1)。図2に示したRUN2でプロテアーゼ前処理をおこなった場合、生成糖濃度は48時間で4300mg/lとなりRUN1の約2倍となった。さらにアルカリ処理(100°C, 3hr)を加えた場合、生成糖濃度は5500mg/lとなり、前処理の効果が認め

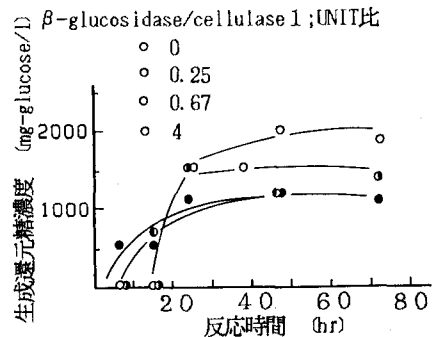


図1 糖化経時変化 (RUN1)

表2 実験結果

R U N	汚泥生成糖濃度生成 原液(48hr反応) の有 機物 濃度	エタノール (mg-glucose/l)	汚泥中の投入酵素 全糖から 還元糖へ生成還元糖 の糖化率(g-glucose/ g-albumin)	当り
1	3.4%	2000	0.08	3.25
2	3.2%	4300	0.24	4.88
3	3.2%	5500	0.37	6.25
4	5.1%	4500	0.19	3.76
5	5.1%	5000	0.21	4.18
6	5.1%	6300	0.27	5.79
7	5.1%	6200	0.26	5.70
8	5.1%	6500	0.28	5.43
9	5.1%	7800	0.33	6.52

られた。次に、RUN4～9の糖化の経時変化を図3に示す。RUN4、5、6でアルカリ処理の時間が長い程、生成糖濃度が大きくなった。またアルカリ処理後の酵素配合を検討したRUN6～9で特に糖化に効果を及ぼしたものはglucoamylaseの添加であり、最大で7800mg/lの還元糖を得、発酵により3200mg/lのエタノールを得た。また β -glucosidaseの添加は*Trichoderma viride*製のcellulase 2を使用する場合には大きな効果はなく、糖化率はRUN6と7ではほぼ同値であった。

図4に、RUN2～9の反応前後の炭素収支を 固形性と溶解性に分けて示す。アルカリ処理により固形性炭素の20～43%が溶解した。特にglucoamylaseを添加したRUN9は溶解性炭素が糖化後、全体の73%となった。またRUN3において、プロテアーゼ処理をほどこしてもアルカリ処理後の組成と大きな変化がみられなかった。

4. おわりに

本研究において、初沈生汚泥の糖化・発酵にはアルカリ処理による高分子物質の非晶化が効率的であること、*T. viride*製のセルラーゼが糖化に有効であること、 α -amylase、glucoamylase両酵素添加によりさらに高濃度糖液が得られることが分かった。

今後、汚泥の糖化発酵プロセスの実現に向けてセルラーゼ産生菌*T. viride*、アミラーゼ産生菌*Aspergillus oryzae*等の大量培養と、これらの菌による糖化法に関し検討する。

1) Somogyi, M. J. Biol. Chem., 195, 19, 1952

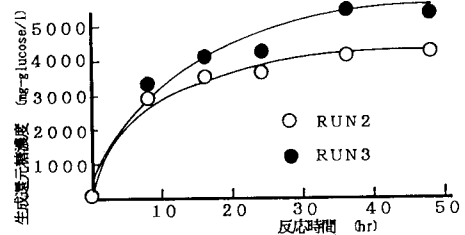


図2 糖化経時変化

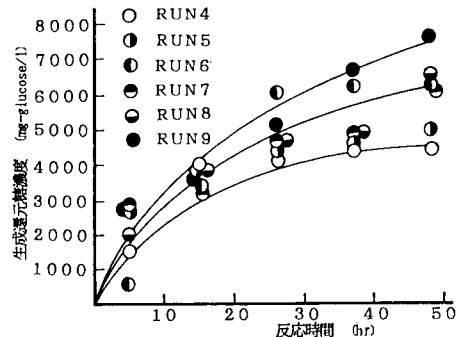


図3 糖化経時変化

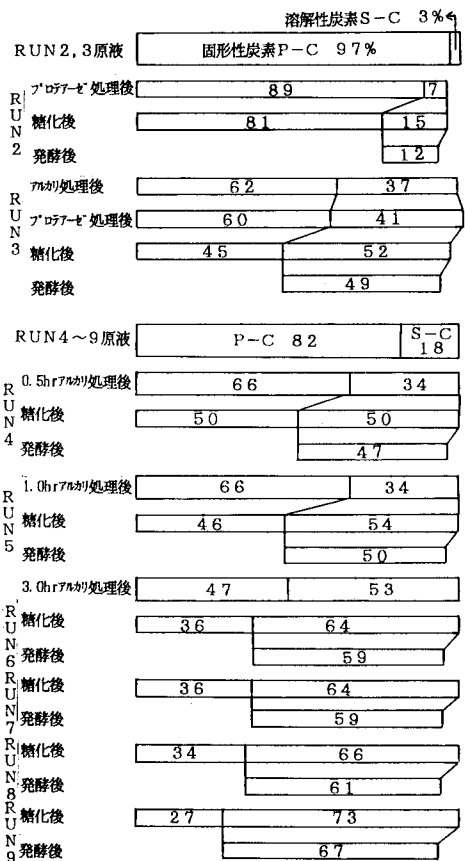


図4 炭素収支 (%)