

II-194 活性汚泥による共重合体ポリエステルの生産

大成建設(株) 正会員 友沢孝 斉藤祐二* 金子誠二

1. はじめに

微生物が菌体内にエネルギー貯蔵物質として生成するポリエステル類は、近年生分解性高分子材料として注目されている。このポリエステルはポリ3-ヒドロキシブチレート(以下P(3HB)と略す。)を中心とする共重合体である。P(3HB)ホモポリマーは脆性が高く、硬くてもろいが、3HBと4HB(4-ヒドロキシブチレート)、3HV(3-ヒドロキシバリレート)、3HA(3-ヒドロキシアリカノエート)などとの共重合体は柔らかくて弾力性にとむことから、成形加工が容易で応用範囲が広い。共重合体ポリエステルは基質炭素源となる有機酸の種類と配合を変えることにより生産できる。

筆者等は排水処理施設から発生する余剰汚泥の炭素源を利用して、有価資源であるこれらのポリエステルを生産回収するシステムの開発に取り組んでいる。活性汚泥によるP(3HB)生産の可能性および培養条件に関する基礎的検討については既に報告した¹⁾²⁾。排水処理施設ではたとえば汚泥の嫌氣的分解過程で各種の有機酸が種々の配合比で発生する。これらの基質炭素源を利用すれば付加価値の高い共重合体の生産が可能となる。そこで本実験では酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸を用いて種々の配合条件の基質を作成し、活性汚泥による共重合体ポリエステル生成の可能性を検討した。

2. 実験方法

実験に供した汚泥は終末処理場から採取した返送汚泥を、グルコース・硝酸・酵母エキス系基質で約1ヶ月間好気馴養したものを用いた。馴養汚泥を遠心分離機で集菌(5,000rpm×5min.)し、pH7のリン酸バッファで2度洗浄した後、同バッファでMLSS30,000(mg/l)に調整した。これと表-1に示す人工基質を各々150mlずつ500mlの三角フラスコに投入し、30℃恒温室のロータリー式振とう培養機(200rpm×35mm)で培養を行った。培養72時間経過後に各フラスコから汚泥を回収し、菌体内ポリエステルの抽出を行った。人工基質は炭素源として酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸をそれぞれ単独使用の場合と、これらを2種類配合した条件を設定した。

抽出処理は汚泥を凍結乾燥後、65℃でクロロホルム還流を一昼夜行い、抽出液にヘキサンを添加して析出させた。これをエバポレーターで濃縮し、さらにメタノールを用いて2回精製し60℃、1hrで乾燥させた。この抽出物の元素組成をCHNSコーダーで、融点を示差熱分析計(DTA)で、結晶化構造をX線回折で分析した。

3. 結果および考察

表-2に各条件の乾燥汚泥重量当りの抽出物生成量と示差熱分析結果を示す。生成量は基質炭素源によってばらつきがみられた。炭素数2、4の酢酸および酪酸の条件(No.1、3)では乾燥汚泥重量当り7.2、9.5%と他に比べて高い生成量を示した。吉草酸でも7.4%の値となった。しかしプロピオン酸100%の条件(No.2)や、プロピオン酸と他の脂肪酸と組み合わせた条件(No.5,8,9)では生成量は1、2%程度と低い。No.1(酢酸)、3(酪酸)、6(酢酸+酪酸)

表-1 人工基質組成

NO.	炭素源	配合(mol%)	濃度(g/l)	無機栄養塩類
1	Ac	100	20	MgSO ₄ ·7H ₂ O 1.0(g/l) FeSO ₄ ·7H ₂ O 15(mg/l) CuSO ₄ ·H ₂ O 0.27(mg/l) ZnSO ₄ ·6H ₂ O 1.33(mg/l) MnSO ₄ ·4H ₂ O 1.33(mg/l) CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.27(mg/l)
2	Pr	100		
3	n-But	100		
4	iso-Val	100		
5	Ac+Pr	50:50		
6	Ac+n-But	50:50		
7	Ac+iso-Val	50:50		
8	Pr+n-But	50:50		
9	Pr+iso-Val	50:50		
10	n-But+iso-Val	50:50		
11	n-But+iso-Val	20:80		
12	n-But+iso-Val	80:20		

注) Ac=酢酸, Pr=プロピオン酸, n-But=ノルマル酪酸, iso-Val=イソ吉草酸

表-2 分析結果

No.	基質組成	ポリエステル生成量1)(wt%)	吸熱ピーク(°C)
1	Ac(100)	7.12	172.9
2	Pr(100)	1.63	N.D.
3	But(100)	9.47	172.4
4	Val(100)	7.35	164.9
5	Ac(50)-Pr(50)	2.74	99.0
6	Ac(50)-But(50)	5.49	172.4
7	Ac(50)-Val(50)	2.54	166.6
8	Pr(50)-But(50)	2.12	164.9
9	Pr(50)-Val(50)	1.67	96.7
10	But(50)-Val(50)	2.17	166.6
11	But(20)-Val(80)	4.44	165.7
12	But(80)-Val(20)	0.84	169.0

注1) 乾燥汚泥重量当たり

で得られた抽出物は吸熱ピークが172.4～172.9℃でありP(3HB)と推察¹⁾できるが、他の条件ではばらついており特にNo.5(酢酸+プロピオン酸)やNo.9(プロピオン酸+吉草酸)では吸熱ピークが100℃以下となった。図-1は抽出物のX線回折像を吸熱ピーク値の順に示したものである。吸熱ピーク値の高いものでは面間隔距離が0.659nm($2\theta=13.3$)、0.525nm($2\theta=16.9$)、0.296nm($2\theta=30.2$)で鋭いピークがみられるが、これは3HB特有の面間隔距離である。吸熱ピーク値の低下に伴い回折ピークもブロード化し、3面間隔距離のピーク強度比も低下した。以上のことから吸熱ピーク値の低下に伴い、3HBに対する他のモノマーユニットの分率が上昇していることが示唆された。

そこで炭素、水素、酸素の組成分析結果をもとに計算によって3HBと他のユニットとの分率を求めた。本実験で使用した低級脂肪酸を基質炭素源として生成されるポリエステルは、既存の研究報告からP(3HB)、P(3HB-co-3HV)さらにP(3HB-co-3HA)であると考えられる³⁾。3HAのメチレン基の個数(1の場合3HVとなる。)および3HBと3HAの分率をパラメータとし、C、H、Oの組成比が実測値と最もよく合うものを選んだ。結果を表-3に示す。No.1、3、6はP(3HB)となり、吸熱ピーク値の結果およびX線回折結果とよく一致した。その他のケースのポリエステルはすべてP(3HB-co-3HV)共重合体と推定された。

表-4に基質炭素源の組み合わせからみたポリエステル生成量と3HV分率の関係を示す。ポリエステル生成量はプロピオン酸のケースを除いて単一の基質炭素源で培養した方が高くなっている。一方3HV分率は混合基質での培養のほうが高く、とくにプロピオン酸では3HV分率が20モル%以上を示している。また吉草酸を用いたケースはすべて3HVが生成されている。

以上の結果より低級脂肪酸を基質炭素源として、これらの配合を適切に制御すれば活性汚泥からP(3HB-co-3HV)の共重合体が生成できること、および3HV分率のコントロールにはプロピオン酸および吉草酸が有効であることがわかった。

<参考文献>

- 1) 斉藤、友沢；衛生工学論文集，Vol. 27, 1991
- 2) 友沢、斉藤；第28回下水道研究発表会講演集，投稿中，1991
- 3) 土肥義治編著；生分解性高分子材料，工業社，1990

*現在(財)地球環境産業技術研究機構に出向中。

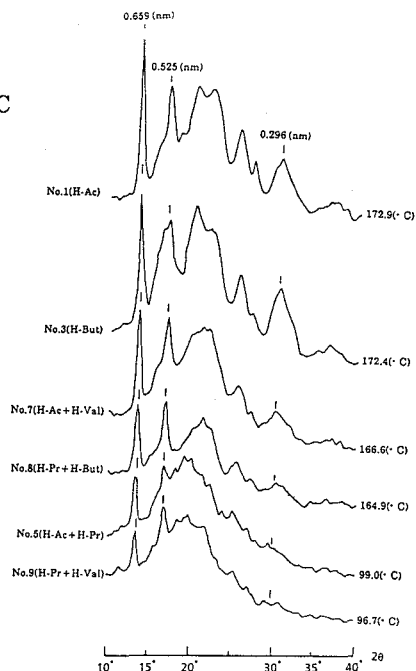


図-1 各抽出物質のX線回折像

表-3 分析結果および推定される共重合体組成

No.	組成 (wt%)			共重合体ポリエステル (推定)	3HB:3HA(3HV) (%) (推定)	
	C	H	O			
1	55.8	6.7	37.5	P(3HB)	100.0	0.0
2	55.8	7.6	36.6	P(3HB-co-3HV)	93.0	7.0
3	56.0	6.7	37.3	P(3HB)	100.0	0.0
4	56.2	7.1	36.7	P(3HB-co-3HV)	92.0	8.0
5	56.0	7.7	36.3	P(3HB-co-3HV)	76.0	24.0
6	55.6	6.5	37.8	P(3HB)	100.0	0.0
7	55.6	8.6	35.8	P(3HB-co-3HV)	84.0	16.0
8	56.6	8.0	35.4	P(3HB-co-3HV)	87.0	13.0
9	55.8	8.3	35.9	P(3HB-co-3HV)	78.0	22.0
10	56.6	7.2	36.2	P(3HB-co-3HV)	83.0	17.0
11	56.2	7.9	35.9	P(3HB-co-3HV)	82.0	18.0
12	57.3	7.0	35.7	P(3HB-co-3HV)	89.0	11.0

表-4 炭素源の組合せとポリエステル生成量、3HV分率
(C2:酢酸、C3:プロピオン酸、C4:酪酸、C5:吉草酸)

a) 基質炭素源とポリエステル生成量

	C2	C3	C4	C5
C2	7.1	2.7	5.5	2.5
C3		1.6	2.1	1.7
C4			9.5	2.2
C5				7.4

注) 数値は乾燥汚泥重量
当り wt%

b) 基質炭素源と3HV分率

	C2	C3	C4	C5
C2	0	24	0	16
C3		N.D.	13	22
C4			0	17
C5				8

注) 数値はmol%