

II-399

紅色非硫黄光合成細菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) の
炭素源の違いによる増殖の相違

東京大学工学部 学生員 中島典之
正会員 山本和夫

1.はじめに

排水処理の副生成物として有機物を回収する方法の一つに、汚泥の有効利用がある。その際、「量」という観点から、収率（除去有機物量に対する増殖菌体量）が高いことが望まれる。これは、排水中の有機物が気体（CO₂やCH₄）として放出されてしまう量を少なくすることも意味する。また、「質」という点では、一定の性質を持つ汚泥が生成されることが望ましい。この観点からは、純菌の利用ということも考えられる。

紅色非硫黄光合成細菌は、嫌氣的に光合成を行い、有機物を炭素源や電子供与体として利用できる。この細菌を純菌として排水処理に適用可能であれば、嫌氣性処理であるがメタン化させないという点で汚泥の収率も高くでき、また、汚泥の品質も高いという利点が生まれるのではないだろうか。そこで、図1のような処理プロセスも一案であろう。まず、流入水質の制御を目的とする酸生成槽（嫌氣）を前段として設ける。これにより、流入水中の有機物は低級脂肪酸に分解され、紅色非硫黄光合成細菌が取り込みやすくなる。次に、酸生成槽からの他の菌の混入を防ぎ純菌度を維持するための膜濾過を行った後、紅色非硫黄細菌槽（嫌氣、明条件）で排水を処理し、菌体を分離回収する。

本研究ではこのようなプロセスを想定し、今回はその基礎となる紅色非硫黄光合成細菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) の増殖特性、特に炭素源となる低級脂肪酸の違いによる増殖の相違、混合炭素源を用いた際の炭素消費の特性について実験を行った。

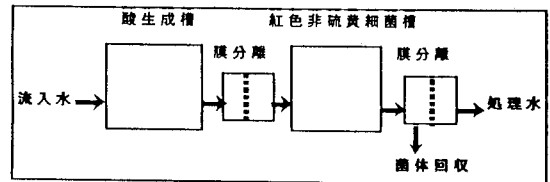


図1 処理プロセス概念図

2.実験結果と考察

今回用いた紅色非硫黄光合成細菌は、*Rhodobacter sphaeroides* （財）発酵研究所の菌株）である。ポリペプトンを主成分とする還元液で還元した後、各実験で用いる培地で馴養を行った（30℃、植え継ぎ2回、約2週間）。実験の際の培養容器としてキャップ付のセルを用い、25℃・光照射下で培養し、適宜、波長770nmでの吸光度（OD₇₇₀）を測定することにより増殖の経時変化を得た。照度は約1500luxである。

2-1. 炭素源の違いによる増殖の相違

表1に示すような6種類の単独あるいは混合炭素源を用いた。炭素源以外の基質成分は、「微生物の分離法」（R&Dプランニング、1986）p.840の光合成細菌用の基本培地Iに基づいている。植え継ぎ2回の馴養の後、最初の増殖実験の結果を図2に示す。さらにそれぞれ植え継ぎをしたものの増殖実験の結果を図3に示す。また、実験で得られた最大比増殖速度 μ_{max} (1/hour) と収率 $Y_{x/c}$ (mg菌体/mg消費炭素量) を表2に示す。

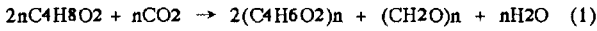
増殖速度について、プロピオン酸を単独で用いたものは他より遅いが、プロピオン酸を含む混合炭素源ではそのようなことは認められない。これは、プロピオン酸が*Rhodobacter sphaeroides* の生育に対して阻害作用があり、この阻害作用が酢酸の存在により解除された（1972北村¹⁾）ためであろう。しかし、*Rhodobacter sphaeroides* は一般にプロピオン酸を単独で用いたときは生育しない（又は、ほとんど生育しない）（例えば、1975小林²⁾）と言

表1 炭素源濃度【（）内は炭素濃度】（単位mg/l）

	セル1	セル2	セル3	セル4	セル5	セル6
	酢酸	プロピオン酸	酪酸	1:1:1	2:1:1	12:2:1
CH ₃ COONa・7H ₂ O	1000(176)	0	0	333(58.7)	500(88.2)	800(141)
CH ₃ COONa	0	470(176)	0	157(58.8)	118(44.2)	62.6(23.5)
CH ₃ COONa	0	0	400(174)	133(58.0)	100(43.6)	26.7(11.6)

われているが、今回の実験では、増殖速度こそ若干遅いものの最終的には他の炭素源と変わらないほどの生育が認められた。

収率は、酪酸単独のものが他に比べて高くなっている。これは酪酸を光同化する際（式（1））にはCO₂が必要であるためではないだろうか。



酪酸 PHB グリコーゲン

培地中にCO₂が十分溶解しており式（1）に基づいてCO₂固定があったと仮定して、消費炭素量にこのCO₂も含めて収率を計算し直すと、1.58（1回目）、1.57（2回目）（単位はmg菌体/mg消費炭素量）となり、他の炭素源との差がなくなる。

増殖の立ち上がりについては、1回の植え継ぎによる変化は認められなかった。また、単独炭素源のものよりも混合炭素源のものの方が、増殖の立ち上がり早いという傾向が見られる。

2-2. 混合炭素源を用いた際の炭素源消費の特性

用いた基質は、表1のセル4にあたるもの（1:1:1混合）である。

光照射下で培養していき、増殖途中の菌体懸濁液を孔径0.45μmの精密濾過膜で濾過し、その濾液中の各低級脂肪酸の濃度をガスクロマトグラフィーで測定した。

得られた結果が図4である。横軸が菌体増殖、縦軸が各低級脂肪酸の残存率の和である。

北村（1972）¹⁾が同様の実験を好気暗条件で行っているが、その場合と同様に嫌気明条件でも、酢酸およびプロピオン酸が先に消費され、その後で酪酸が消費されるという結果が得られた。

3. まとめ

これらの実験の結果から、前段に設ける酸生成槽の流出水中の低級脂肪酸構成比率は、紅色非硫黄光合成細菌の排水処理性能にあまり影響を及ぼさないとと言えるであろう。つまり酸生成槽に関して特に高度な処理性能は要求されないということになるのではないだろうか。今後は、紅色非硫黄光合成細菌の生育に対するH₂Sの阻害作用を調べ、その対策についても考えていきたい。

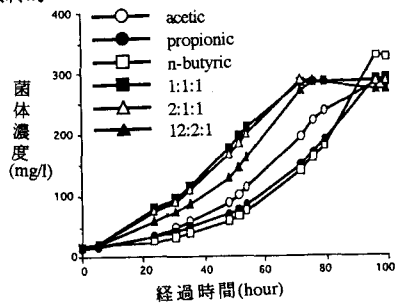


図2 増殖実験（1回目）

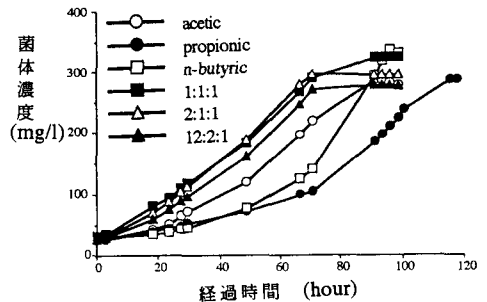


図3 増殖実験（2回目）

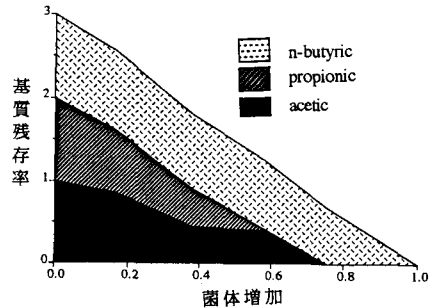


図4 基質消費特性

表2 最大比増殖速度と収率

		酢酸	プロピオン酸	酪酸	1:1:1	2:1:1	12:2:1
最大比増殖速度 ($\mu_{\max}$ (1/hour))	1回目	0.0346	0.0302	0.0339	0.0332	0.0333	0.0330
	2回目	0.0282	0.0222	0.0289	0.0263	0.0279	0.0281
収率Y _{X/c} (mg 菌体/mg消費 炭素量)	1回目	1.52	1.54	1.77	1.55	1.54	1.45
	2回目	1.49	1.50	1.77	1.53	1.54	1.45

文献

- 1) 北村 博：発酵協会誌，30（1972）
- 2) 小林達治：光合成細菌の基礎と応用Ⅰ，日本土壌肥科学会誌，Vol.46，No.3（1975）