

山梨大学工学部 正 平山けい子
 東京理科大学理工学部 西川 二郎
 山梨大学工学部 正 平山 公明

1.はじめに 酵母は広く環境中に存在し、様々な有機化合物の分解に関与している。また、酵母は菌体自体、細菌と比較して大型であり固液分離が容易であること、培養が容易で生育が比較的早く、低いpH、高濃度の負荷に耐え、回収される菌体がバイオマスとして利用できるなどの利点があるにもかかわらず、醸造酵母を除いては、ごく一部が研究対象とされているに過ぎない。そこで、筆者らは廃水処理への酵母の利用を目的として、野生酵母の一種である*Rhodotorula*属酵母によるフェノール類の分解に関して研究を行ってきた。今回、新たに、南極マクマードドライバレイ地域のバンダ湖上層水より分離した低温醗酵性酵母*Candida sp.*の、低温域における廃水処理への利用を試みた。

2.実験方法 酵母の分離および同定 南極マクマードドライバレイ地域のバンダ湖上層水の凍結試料(大妻女子大 松本源喜博士の提供による)より酵母を分離した。分離は好氣的条件下で平板塗抹法と単集落分離法を併用して行ない、純粋分離株を得た。酵母の分類同定は、主にThe Yeast, A Taxonomical Study 3版(1984)¹⁾に基いて行った。Coenzyme Q systemは、山田と倉石の方法²⁾により、GC含量は、Elderらの方法³⁾により測定した。

酵母の培養 酵母は、200ml三角フラスコ中のYM培地(酵母エキス 3g、麦芽エキス 3g、ペプトン 5g、ぶどう糖 10gを純水1L中に含む)50mlに1白金耳植菌し、130rpm、5℃で4日間回転振とう培養した。また、0~20℃における生育についても同様の条件で調べた。

人工下水の処理実験 酵母エキス、麦芽エキス、ぶどう糖を含む人工下水を調製し、処理実験を行なった。下水の組成を表1に示した。各人工下水のC/N/P比はほぼ等しく、濃度を変えて調製した。50mlの人工下水に前培養菌体を加え、3日間反応させ経時的にTOC、Kj-N、Total-Pを測定した。培養温度(液温)は0および5℃とした。

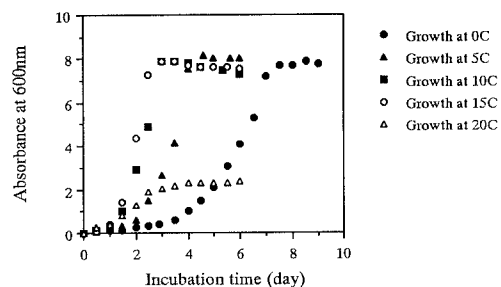
3. 結果及び考察 酵母の分類及び同定 バンダ湖上層水から8株の純粋分離株を得た。生化学的諸性質を調べたところ、分離された8株の酵母は、10~15℃付近に至適生育温度があり、DNase(+)、アルブチン分解性(+)、醗酵性(lactoseを除く)(+)、硝酸塩の資化性(+)、シクロヘキシミド感受性(+)、澱粉類似物質の生成(-)、生酸性(+)、ビタミン要求性(-)、NaCl耐性(0~5%)(+)、耐浸透圧性(50%ぶどう糖)(+)、油脂の分解性(+)、エステル生成(-)、ジアゾニウムブルーBによるコロニーの呈色反応(-)、ゼラチン液化試験(-)、ウレアーゼ活性(+))であった。Coenzyme Q systemは、Q8、GC含量は53.0%であった。顕微鏡による観察との結果から、分離された酵母はすべて、*Candida*属の同一新種と同定された。

酵母の生育に及ぼす温度の影響 図1に、0、5、10、15、20℃における*Candida sp.*の生育曲線を示した。*Candida sp.*は、10~15℃が最適生育温度であるが、0~5℃においても、増殖速度が若干低くなるものの10~15℃同様の菌体の生育が観察された。

Table 1 Composition of synthetic sewage

Constituent	Sewage1	Sewage2	Sewage3
Yeast extract (g)	4	1.3	0.7
Malt extract(g)	10	3.3	1.7
Glucose(g)	4	1.3	0.7
Tap water (ml)	1000	1000	1000
TOC(mg/l)	6800	2425	815
Kj-N(mg/l)	640	204	119
Total-P(mg/l)	145	50	28

pH6.5

Fig. 1 Effect of temperature on the growth of *Candida sp.*

人工下水の処理実験 表2-1から表4-2に、各人工下水の処理実験結果を示した。MLSS初濃度約2200mg/lで、TOC約6800mg/l、Kj-N約640mg/l、Total-P約145mg/lの人工下水1を処理したところ、TOC約75～80%、Kj-N約80%、Total-P約98%の除去率が得られた。また、TOC1gあたりの菌体生成量は0.9g、菌体の窒素含量は約6.7%（粗蛋白換算で約42%）であり回収される菌体のバイオマスとしての利用が期待される。人工下水2と人工下水3においても、ほぼ同様の除去率が得られ、今回用いた人工下水においてはTotal-Pの除去率が良好であった。今後、C/N/P比、炭素源および窒素源の種類を変えた処理実験を行なう予定である。

本研究の一部は、平成6年度文部省科学研究費の補助を受けて行なわれたことを記し、深謝申し上げます。

参考文献 1) Kreger-Van, Rij, N.J.W. ed. (1984) *The Yeasts, A Taxonomic Study*, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam. 2) 駒形和男編, 微生物の化学分類実験法(1982) 143-155, 学会出版センター, 東京. 3) Elder, R. T. et al. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **80**, 2432-2436.

Table 2 -1 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 1, 0°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	6919	0	631.7	0	148.7	0	2465
0.5	5925	14.4	468.7	25.8	118.5	20.3	3391
1	5000	27.7	386.4	38.8	101.3	31.9	4457
1.5	4066	41.2	283.5	55.1	58.2	60.9	5174
2	2932	57.6	251.5	60.2	6.5	95.6	5943
2.5	2672	61.4	160.0	74.7	5.0	96.6	6817
3	1703	75.4	144.0	77.2	2.2	98.5	7167

Table 2 -2 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 1, 5°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	6782	0	649.3	0	139.0	0	2096
0.5	5304	21.8	466.4	28.2	96.1	30.9	3312
1	3613	46.7	276.6	57.4	30.6	78.0	5325
1.5	2337	65.5	168.3	74.0	6.7	95.2	6555
2	1844	72.8	165.5	74.5	5.2	96.3	6931
2.5	1532	77.5	144.5	77.7	4.6	96.7	6742
3	1422	79.0	137.2	78.9	3.9	97.2	6808

Table 3 -1 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 2, 0°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	2301	0	195.9	0	50.7	0	2578
0.5	1656	28.1	137.2	30.0	29.9	41.0	3513
1	862	62.5	78.4	60.1	16.9	66.7	4256
2	608	73.6	50.6	74.3	6.5	87.2	4274
3	591	74.3	52.7	73.2	0	100	4256

Table 3 -2 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 2, 5°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	2549	0	213.0	0	48.9	0	2890
0.5	1197	53.0	111.0	47.9	26.1	46.6	4313
1	657	74.3	43.7	79.5	3.3	93.3	4612
2	648	74.6	43.5	79.6	0	100	4380
3	586	77.0	42.8	79.9	0	100	4297

Table 4 -1 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 3, 0°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	759	0	130.6	0	31.2	0	2535
0.5	270	64.4	88.2	32.5	14.3	54.2	3234
1	234	68.5	64.8	50.4	11.7	62.5	3164
2	228	70.0	32.7	75.0	2.6	91.7	3068
3	216	71.5	32.7	75.0	1.3	95.8	3024

Table 4 -2 Concentrations and % removal of TOC, Kj-N and Total-P (Sewage 3, 5°C)

Day	TOC		Kj-N		Total-P		MLSS (mg/l)
	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	(mg/l)	(%)	
0	871	0	106.0	0	24.4	0	2940
0.5	267	69.4	69.5	34.4	14.7	39.8	3453
1	251	71.4	32.3	75.6	0	100	3396
2	248	71.5	25.9	76.6	0	100	3287
3	234	73.9	24.3	77.1	0	100	3105