

II-587

紅色非硫黄細菌による有機性排水からのPHBへの質変換

東京大学工学部 学生会員 中島典之
正会員 山本和夫
栗田工業 彦坂拓自
東京大学工学部 正会員 大垣眞一郎

1. はじめに

筆者らは、有機性排水を光合成細菌の一種である紅色非硫黄細菌を用いて嫌気・光照射下で処理し、生じた菌体を回収して飼肥料や生分解性プラスチックの原料となるPHA (polyhydroxyalkanoate) の抽出源等として利用するという排水再資源化システムの開発を目的とした研究を行っている。この細菌は好気条件でも化学合成従属栄養的に生育できるが、嫌気・光照射下での光合成従属栄養的増殖の方が、排水中有機物をより多く菌体へ質変換し、温暖化ガスである二酸化炭素の放出を抑えるという利点があると考えられる。

PHAは微生物の菌体内エネルギー貯蔵物質であり、栄養条件等によって蓄積量が変わるとされている。本報告では、投与アンモニア態窒素濃度および投与炭素源の種類によって紅色非硫黄細菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) のPHB (poly-3-hydroxybutyrate) 含有率 (mgPHB / mg 菌体)、排水中有機物のPHB転換率 (mgC-PHB / mgC-投与炭素源) がどのように変化するかをバッチ実験により調べた。

2. PHB蓄積と投与アンモニア態窒素濃度

50mlの培地をアルミシールバイアルに入れ、N₂置換後、密栓しオートクレーブ滅菌した。培養は白熱灯と蛍光灯の照射下（照度約6400lux）、温度約32℃で行なった。炭素源は酢酸ナトリウム（3水和物）を濃度400mgC/lで用いた。アンモニア態窒素として硫酸アンモニウムをA:1、B:10、C:100、D:1000mg/lと濃度を変えて四つの条件で投与したが、植種菌体懸濁液中に含まれるアンモニア態窒素量が無視できない量であるため、図中では植種1日後のアンモニア態窒素濃度の実測値を示した。用いた *Rb. sphaeroides* は(財)醗酵研究所の菌株である。PHBは加熱分解・メチルエステル化しGCで分析し、菌体濃度は吸光度から換算した。また、菌体懸濁液およびその濾液のTOC、ICと、PHBの炭素換算量から炭素収支を取り、PHB転換率を求めた。

図-1にPHB含有率の経時変化、図-2に炭素収支の例（条件A）、図-3にPHB転換率を示した。

図-1から、PHB含有率は投与アンモニア態窒素量の影響をあまり受けていないことが認められた。PHB含有率は各条件とも最大で45%を超え、条件Dでは51%の蓄積率が得られた。図-3から、投与炭素源のPHB転換率は最大で59%を得た。

アンモニア態窒素は条件D以外では9日までに全て消費された。そこで、1～9日の（アンモニア態窒素の減少量）／（PHB以外の菌体中炭素の増加量）の比を取ると、条件Aでは0.046、条件Bでは0.089、条件Cでは0.199となる。菌体成分をC₅H₇O₂Nと仮定すると窒素／炭素の比は0.233となるが、A、Bは明らかにこの値より小さい。このことに対する説明は次の二通りが考えられよう。一つは窒素の不足

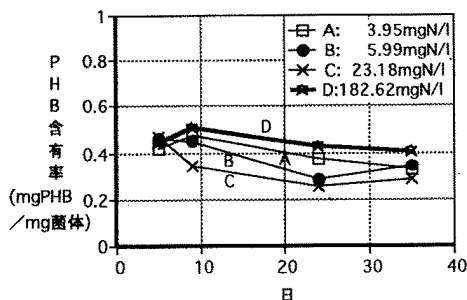


図-1 PHB含有率の経時変化

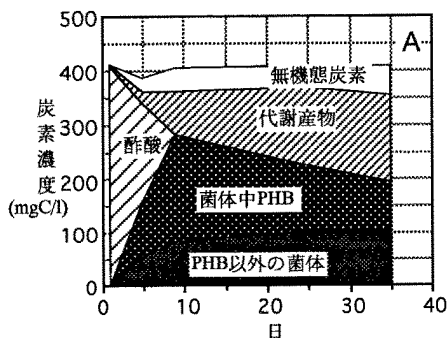


図-2 炭素収支の例（条件A (3.95 mgN/l)）

分を気相中の窒素の固定により補ったとする考え方で、もう一つは窒素を含まない他の菌体内貯蔵物質が蓄積したとする考え方である。前者に関しては、気相中窒素が培地中にすべて溶けるときの全窒素量を概算する（気相体積 18ml、気相はすべて窒素で標準状態と仮定）と 450mgN/l となり、量的に十分存在する。今回用いた株については確認していないが、光合成細菌には一般に窒素固定能があるため、この実験でも窒素不足分を気相から補った可能性が高い。その場合、この細菌は空気中から窒素を固定することにより窒素分の少ない排水でも、排水の処理、菌体・PHA 等への質変換を行うことができるということになる。後者の窒素を含まない他の菌体内貯蔵物質としては、たとえばグリコーゲンや他の種類の PHA などが考えられる。今後、それらの菌体内貯蔵物質についても検討の必要がある。

3. PHB 蓄積と炭素源の種類

上記と同様の培養条件で、炭素源の種類による PHB 蓄積の違いを調べた。用いた炭素源は、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸の各ナトリウム塩で、それぞれ濃度を 400mgC/l とした。酢酸以外を用いるときには無機炭素源が増殖に必要であるため炭酸水素ナトリウムを培地中に加えた。

図-4 に各炭素源を用いたときの PHB 含有率、図-5 に炭素収支を示した。PHB 含有率は酢酸、酪酸を用いたときに約 50%、プロピオン酸、吉草酸を用いたときに 30% 程度となった。投与炭素源の PHB 転換率は、それぞれ酢酸 61%、プロピオン酸 24%、酪酸 56%、吉草酸 22% となった。また、プロピオン酸、吉草酸を用いたときには PHV (poly-3-hydroxyvalerate) と思われるピークも GC で検出されており、今後、他の PHA モノマーについての検討も必要であろう。

4. 結論

紅色非硫黄細菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) の PHB 含有率および PHB 転換率と投与窒素濃度、投与炭素源の種類との関係についてバッチ実験で調べた。投与アンモニア態窒素濃度の PHB 含有率に対する影響は大きくなく、PHB 含有率は酢酸、酪酸を用いたときに約 50%、プロピオン酸、吉草酸を用いたときには 30% 程度となった。投与炭素源の PHB 転換率は、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸の中では酢酸が最も高く 61% となった。

謝辞

PHA の分析に関して、東京大学工学部都市工学科の佐藤弘泰助手に御教示いただいた。ここに謝意を表する。

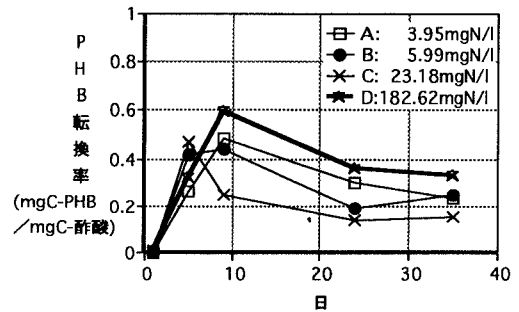


図-3 PHB転換率の経時変化

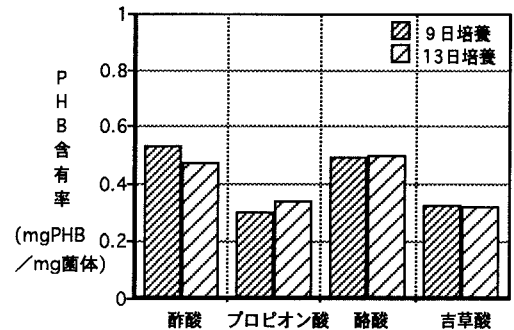


図-4 炭素源の種類とPHB含有率

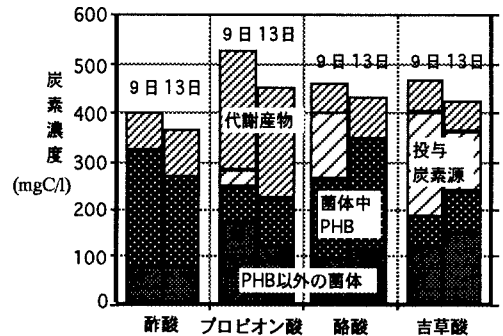


図-5 炭素源の種類と炭素収支