

VII-26

微生物産生ポリエステルの活性汚泥での生分解性

大成建設技術研究所 正会員 柴山雅子
同上 正会員 斎藤祐二

1. 目的

近年、化石資源から作られるプラスチックの多くはその耐久性故に様々な環境問題を引き起こしており、耐久性とともに生分解性を備えた新しい高分子材料が望まれている。現在ではすでに様々な生分解性高分子材料が商品化されており、西欧諸国ではその使用を行政指導している国々もある。我が国でも現在の廃棄物問題と相まって、生分解性材料がさらに普及するものと考えられる。生分解性高分子の中でも微生物が作るPHA（ポリヒドロキシ脂肪酸）は、優れた物性と生分解性を持つと言われている¹⁾。特に、3-ヒドロキシブチレート（3HB）と4-ヒドロキシブチレート（4HB）から成るPHAは共重合組成に応じて多様な物性を発現することから¹⁾、今後の進展が大いに期待される生分解性樹脂である。そこで本研究では、様々な組成範囲のP(3HB-co-4HB)共重合体の活性汚泥での分解特性を試験し、ポリマーの構造と生分解性との関係について検討した。

2. 試験方法

活性汚泥によるP(3HB-co-4HB)の生分解性を、以下の方法にしたがって試験した。

(1) P(3HB-co-4HB)の合成と調整：

*Comamonas acidovorans*²⁾を用いて組成の異なるP(3HB-co-4HB)を発酵合成した。これらのP(3HB-co-4HB)をソルベントキャスト法でフィルム化し各々1cm角に成形した。表-1に各P(3HB-co-4HB)フィルムのプロファイルを示す。

共重合組成 (mol%)		分子量		結晶化度	融点	フィルム重量
3HB	4HB	10 ⁻³ Mn	Mw/Mn	(%)	(°C)	
100	0	712.5	2.27	58±5	178.5	7.3
86	14	83.8	4.54	47±5	165.9	9.7
59	41	177.9	2.32	10±5	n.a.	8.7
31	69	140.7	2.49	11±5	n.a.	9.3
7	93	86.3	1.95	27±5	51.5	4.9

(2) 生分解性試験：生分解試験はJIS K 6950³⁾に準じて行った。なお、用いた活性汚泥は都市下水処理場から採取した返送汚泥をMLSS 30mg/Lに調整したものであり（培養液100mL）、供試ポリマーは、前記のP(3HB-co-4HB)フィルムである。培養温度25°Cの条件で攪拌による4週間の試験を行い、経日的なBODを測定することによって各共重合フィルムの生分解度を調べた。

3. 分析方法

a) 生分解度：P(3HB-co-4HB)フィルムの分子構造とその重量から算出した理論BOD値 [ThBOD] を元に、次式で決定した。

$$\text{生分解度}(\%) = 100 \cdot (S - B) / \text{ThBOD}$$

ここで、Sはフィルムを混合した系でのBOD値であり、Bはフィルムを含まない対照試験での値である。

b) P(3HB)分解菌の単離：0.1Mリン酸緩衝液に、P(3HB)パウダー1.5g/L、NH₄Cl 1.0g/L、MgSO₄·7H₂O 0.3g/Lを含むP(3HB)寒天培地（pH7.0）を用いた。生分解性試験28日後に各培養液をP(3HB)寒天培地に塗抹し、30°Cで2週間培養した。コロニー周辺にハローを形成したものをP(3HB)分離菌とした。なお、同様の培養液からC G Y培地で分離した菌数を生菌数とした。

4. 結果および考察

各P(3HB-co-4HB)フィルムの活性汚泥による分解試験結果を図-1に示す。共重合組成に応じて、分解開始時刻、分解速度が著しく異なる結果となった。図-2には、各フィルムの理論BOD値に対する28日後の生分解

度(%), 20%生分解度に要した期間(d)、さらに最大分解速度(mg-BOD/d)をまとめて示す。その結果、28日後の生分解度は、4HB分率の増加と共に38%から63%まで上昇した。一方、フィルムの分解速度は4HB分率の中間領域のフィルムほど速く、短時間の内に分解が生じている。近年、P(3HB)の分解酵素である菌体外PHBデポリメラーゼが種々の細菌から単離され、PHBデポリメラーゼによる分解は、ポリマーの結晶化度に大きく影響されることがすでに報告されている⁴⁾。表-1に示したように、本実験で用いたP(3HB-co-4HB)も組成の中間領域のものほど結晶化度が低いことから、これらの領域のフィルムの分解には細菌の菌体外PHBデポリメラーゼが大きく関与したものと推察される。

表-2に、各培養液中の生菌数ならびにP(3HB)分解菌数の結果を示す。生菌数に占めるP(3HB)分解菌の割合はすべての培養液とも1%以下であったが、フィルムの4HB分率の上昇に伴ってその占有率は低下する傾向が確認された。特に、P(3HB-co-93%4HB)フィルムの培養液からは全くP(3HB)分解菌が検出されなかった。本分離法では正確なP(3HB)分解菌数を把握できていない可能性もあるが、活性汚泥による分解性が非常に高いにも関わらず、4HB分率93mol%のP(3HB-co-4HB)フィルムの培養液からP(3HB)分解菌が検出されなかったことはたいへん興味深い。これは、4HB分率の高いP(3HB-co-4HB)に特異的に作用する他の酵素が活性汚泥の中に存在することを示唆するものである。

5. 結 論

P(3HB-co-4HB)共重合ポリエステルの活性汚泥での生分解性を調べた結果、以下のような知見が得られた。

- (1) 結晶化度の低いP(3HB-co-4HB)および4HB分率の高いP(3HB-co-4HB)は、活性汚泥によって速やかに生分解される。
- (2) 各フィルムの培養液に存在するP(3HB)分解菌の占有率は0.1%以下であった。また、4HB分率93mol%のP(3HB-co-4HB)の培養液からは、P(3HB)分解菌は検出されなかった。

[参考文献]

- 1) Y.Doï, *Microbial Polyester*, VCH Publisher, Inc.(1990)
- 2) Y.Saito, Y.Doï, *Int.J.Biol.Macromol.*, **16**, 99(1994)
- 3) JIS K 6950, プラスチック-活性汚泥による好氣的生分解度試験方法, (1994)
- 4) Y.Kumagaya, Y.Kanesawa and Y.Doï, *Makromol.Chem.*, **193**, 53(1992)

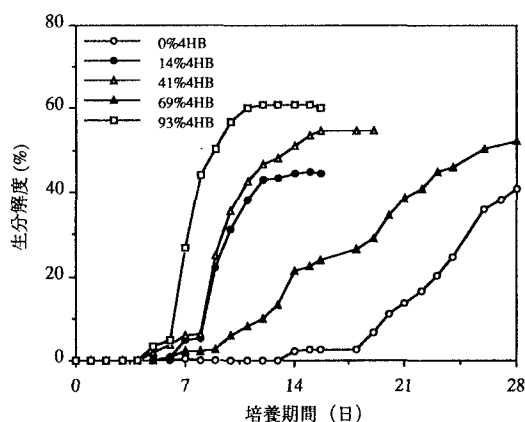


図-1 P(3HB-co-4HB)の活性汚泥による生分解試験結果

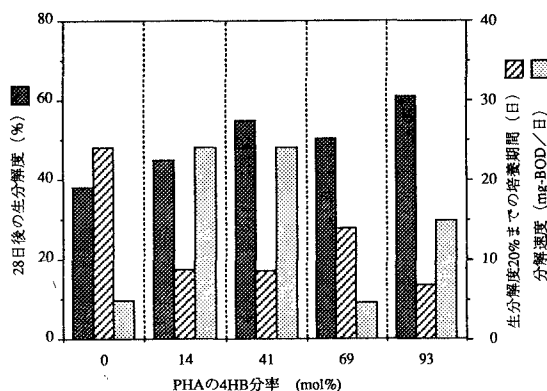


図-2 生分解試験結果

表-2 各培養液の生菌数およびP(3HB)分解菌

共重合組成 (mol%)		生分解度 (%)	SS (mg/L)	生菌数 (cells/mL)	P(3HB)分解菌 (cells/mL)	P(3HB)分解菌の占有率 (%)
3HB	4HB					
100	0	38	10	7860	8	0.10
86	14	46	30	23600	16	0.07
59	41	58	12	26800	8	0.03
31	69	55	60	25000	4	0.02
7	93	62	54	14400	n.d.	-