

山梨大工 正 平山けい子  
山梨大院 学 石川 覚之  
山梨大工 正 平山 公明

### 1. はじめに

近年、廃水処理において、酵母を使った研究が報告されている。酵母は細菌と比較して大型であり固液分離が容易、低いpH、高濃度の負荷に耐える、回収される菌体が栄養に富み、バイオマスとして利用できるなど様々な特徴を持っている。一方、硝酸性窒素を含む水処理にイオン交換樹脂が用いられているが、この樹脂の再生には高濃度の食塩水が使われることが多く、その廃水には、高濃度の硝酸性窒素と食塩が含まれる<sup>1,2)</sup>。この様な廃水の処理に対処するため、本研究では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された*Candida* sp.を用い、低温好気的条件下で塩分濃度0~20%での硝酸性窒素の除去を試みた。

### 2. 実験方法

本研究で使用した好冷性酵母*Candida* sp.は、10~15℃付近に至適生育温度があり、硝酸塩の資化性(+)ビタミン要求性(-)、NaCl耐性(0~5%) (+)、醗酵性(lactoseを除く)(+)、などが特徴の酵母である。*Candida* sp.の保存菌株をYM培地50~100mlに1白金耳加え5~10日間前培養した後、硝酸塩を窒素源にした簡易合成培地<sup>3)</sup>(表1) 100mlに菌体を約0.1 g(乾燥重量)加え、培養温度5℃、130rpmで振とう培養した。この培養液のNaCl濃度、pH、C/N比等の条件を変え、菌体量、培養液中の溶存有機炭素(TOC)、硝酸性窒素( $\text{NO}_3\text{-N}$ )を経時的に測定し、酵母の生育と $\text{NO}_3\text{-N}$ の除去の様子を調べた。また、窒素源を変えて菌体を培養し、菌体のアミノ酸分析を行なった。

### 3. 結果および考察

図1に、0、5、10、15、20、25℃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。25℃では、本酵母は増殖しなかった。低温での処理を目的とするため、以下の実験は5℃で行なった。

図2に、塩分濃度を0から20%に変えた場合の培地中の硝酸性窒素、TOC濃度および生育曲線を示した。*Candida* sp.は培養液中の塩分濃度が10%までは硝酸塩を90%以上除去できることがわかった。塩分濃度が0%の場合と比較すると、4%までは塩分の影響は観察されなかったが、8、10

Table 1. Composition of the synthetic medium containing nitrate as a sole nitrogen source.

| Constituent                               |        |
|-------------------------------------------|--------|
| Glucose                                   | 10g    |
| $\text{KNO}_3$                            | 780mg  |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | 1g     |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 500mg  |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 100mg  |
| NaCl                                      | 100mg  |
| Vitamin solution                          | 1 ml   |
| Diatilled water                           | 1000ml |

Vitamin solution (mg/ml) contains biotin 2, Ca-pantothenate 400, inositol 2000, thiamine-HCl 400, piridoxine-HCl 400, nicotinic acid 400 and p-aminobenzoic acid 200.

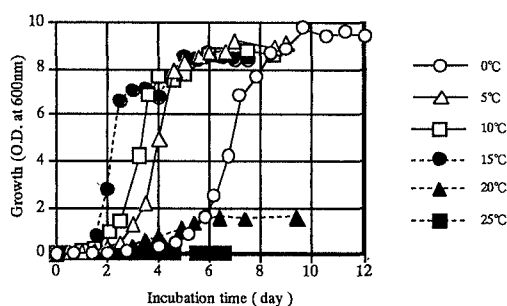


Fig. 1 Growth of *Candida* sp. at various temperature.

**Key words:** Antarctica; *Candida*; low temperature; nitrate; yeast.

〒400 甲府市武田4-3-11 山梨大学工学部土木環境工学科 Tel 0552-20-8595 Fax 0552-20-8770

%になると酵母の比増殖速度が遅くなり、同様にTOC除去、硝酸塩除去の速度も遅くなっていた。塩分濃度が15、20%では酵母がほとんど増殖しなかった。

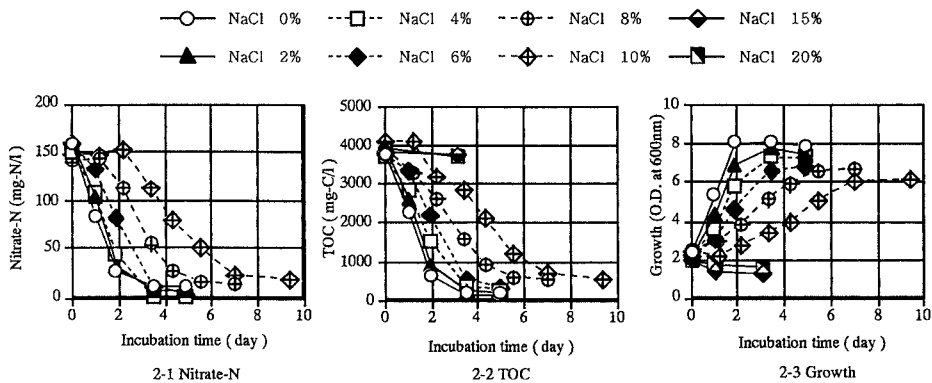


Fig. 2 Time course of nitrate removal, TOC and growth of *Candida* sp. under high salt conditions.

図3に、初期pHを変えた場合の*Candida* sp.による硝酸塩除去率を示した。pH3から7の範囲では、酵母はよく生育し、ほぼ同様な硝酸塩除去率（約90%）が得られた。pH1と2では除去率が低下した。

図4に、C/N比を5から40に変えた場合の*Candida* sp.による硝酸塩除去率を示した。C/N比が高くなると硝酸塩除去率も高くなり、C/N比40では、硝酸塩は完全に除去されていた。どの硝酸塩除去の実験においても、亜硝酸イオンは検出されなかった。

表2に異なった窒素源で培養した場合の菌体中のアミノ酸組成を示した。菌体のアミノ酸組成はいずれの窒素源でも違いはなく、グルタミン酸、グリシン、アラニンが比較的多く含まれていた。

#### 参考文献

- 1) van der Hoek et al., Appl. Microbiol. Biotech., 27, 199-205, 1987.
- 2) Yang et al., Wat. Res., 21, 989-997, 1995.
- 3) 酵母の分類と同定法、東京大学出版会, pp44-50, 1969.

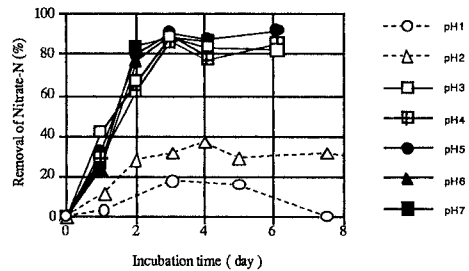


Fig. 3 Effect of initial pH on the removal (%) of nitrate by *Candida* sp.

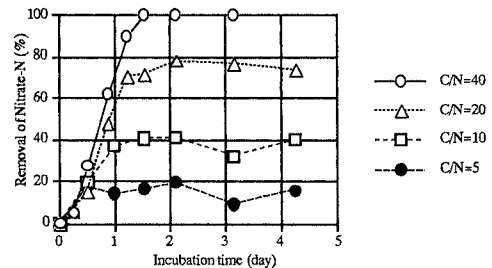


Fig. 4 Effect of C/N ratio on the nitrate removal (%) by *Candida* sp.

Table 2. Amino acid compositions of the cells of *Candida* sp. cultured on various nitrogen sources.

| Medium           | Nitrogen source        | Amino acid (mol %) |     |     |      |      |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|------------------|------------------------|--------------------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|                  |                        | Asp                | Thr | Ser | Glu  | Gly  | Ala  | Val | Met | Ile | Leu | Tyr | Phe | Lys | His | Arg | Pro |
| YM medium        | Pepton & Yeast extract | 7.9                | 5.1 | 8.3 | 12.5 | 10.8 | 13.8 | 3.1 | 0.9 | 2.4 | 7.6 | 2.3 | 3.4 | 8.7 | 2.3 | 6.0 | 5.0 |
| Synthetic medium | NH <sub>4</sub> -N     | 8.5                | 5.7 | 9.1 | 11.3 | 11.3 | 12.9 | 3.4 | 0.9 | 2.4 | 7.8 | 2.5 | 3.7 | 6.5 | 1.9 | 6.5 | 5.6 |
|                  | NO <sub>3</sub> -N     | 7.7                | 4.9 | 8.6 | 13.1 | 11.1 | 13.7 | 3.0 | 0.9 | 2.2 | 7.3 | 2.3 | 3.5 | 6.6 | 1.7 | 7.8 | 5.6 |