

活性汚泥による生分解性プラスチック生産 における原料組成の影響

高島 寛生¹・佐藤 弘泰²・味埜 俊³・松尾 友矩³

¹学生会員 工修 東京大学大学院生 工学系研究科 (〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1)

²正会員 工博 東京大学大学院助教授 工学系研究科 (〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1)

³正会員 工博 東京大学大学院教授 工学系研究科 (〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1)

微生物の炭素・エネルギー貯蔵物質として知られているPHA(Polyhydroxyalkanoate)は、生分解性プラスチックとして近年注目されている。このPHAを活性汚泥が生産することが知られており、活性汚泥によるPHA生産は、廃水からの有機物回収などの面で注目に値する技術である。本研究では、活性汚泥によるPHA生産、特にPHAの原料組成が活性汚泥のPHA生産に与える影響について実験的検討を行った。その結果、原料の酢酸・プロピオン酸比を制御することによって、生産されるPHAの3HB/3HV比を制御できる(3HV比は3~84%)こと、一般にPHA生産を阻害するとされる窒素共存下でも十分にPHA生産が行われることが明らかとなった。

Key Words : PHA, biodegradable plastics, activated sludge, 3HB, 3HV, material composition, non-nitrogen-limiting condition

1.はじめに

微生物にとって炭素・エネルギー貯蔵物質として知られるPHA(Polyhydroxyalkanoate)は、生分解性プラスチックの一種となるバイオポリエステルである。PHAの一種である3HB(3-ヒドロキシ酪酸)と3HV(3-ヒドロキシ吉草酸)の共重合体ポリエステルを*Alcaligenes eutrophus*に合成させ、生分解性プラスチックとして抽出・精製する技術は、既に実用化されている¹⁾。現在、様々なPHA蓄積細菌が知られており²⁾、それらの純粋培養系のPHA生産能力や生産されたPHAの物理的特性などが研究されている。

一方、活性汚泥、特に嫌気好気法で馴致された活性汚泥は、嫌気工程で有機物を摂取し、これをPHAとして蓄えることが知られている³⁾。活性汚泥により生分解性プラスチックを生産できれば以下のようなメリットが考えられるので、我々の研究グループでは以前から活性汚泥によるPHA生産の可能性について検討してきた^{4),5)}。

まず、有価物(生分解性プラスチック)の生産のために、石油・石炭など非再生資源でなく、余剰汚泥や排水を原料とすることができる。仮に、日本の下水BODを200mgBOD/l、日本人一人一日あたりの下水流入量を300l/day/人とすると、日本人の年間炭素排出量は約53万トンとなる。そして、この20%を

PHAとして回収すると年間38万トンのPHAが生産される。これは、現在埋め立てられているプラスチックゴミ量⁶⁾の約3%に相当する量である。

また、現在商業化されている*A. eutrophus*による生分解性プラスチック生産では、その生産コストが高いことが問題となっているが、活性汚泥による生分解性プラスチック生産では、リアクター設置や菌体入手のコストが純粋培養系に比べて低く、その分、生産コスト低下の可能性が生まれる。

更に、活性汚泥中には未知の微生物が数多く存在しているために、新種のPHA蓄積微生物の発見の可能性や、活性汚泥からPHA構成ユニットとして3H2MB(3-ヒドロキシ-2-メチル酪酸)や3H2MV(3-ヒドロキシ-2-メチル吉草酸)が新しく見つかった³⁾ように、新しい構造のPHAが得られる可能性がある。

しかし、活性汚泥によるPHA生産システムはまだ実用化段階ではない。我々は、その実用化のために研究を重ねており、本稿では、PHAの組成制御と窒素共存下でのPHA生産の2点について検討した結果を報告する。

PHAの組成制御については、現在までに主として*A. eutrophus*や*Pseudomonas oleovorans*について検討されてきた²⁾が、活性汚泥についてはあまり報告されていない。PHAの生分解性プラスチックとしての

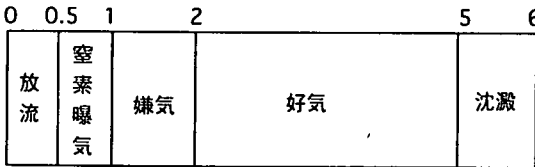
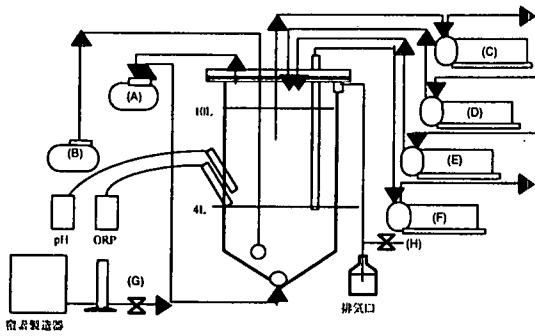


図-1 PHA蓄積微生物集積リアクター及びタイムスケジュール

(A) 循環エアポンプ (B) 好気用エアポンプ (C) 余剰汚泥引き抜きポンプ (D) 基質流入ポンプ (E) 流入水用ポンプ (F) 放流水用ポンプ (G) 窒素ガス供給バルブ (H) 気圧調整バルブ

表-1 濃縮基質の成分(TOC≒8000mgC/l)

成分	濃度 (g/l)
酢酸	7.05
プロピオン酸ナトリウム	7.80
ペプトン	6.00
酵母エキス	2.25
塩化カルシウム2水和物	0.88
塩化マグネシウム6水和物	9.07
塩化カリウム	4.20
塩化アンモニウム	1.76
硫酸アンモニウム	2.16
リン酸水素二カリウム	1.80

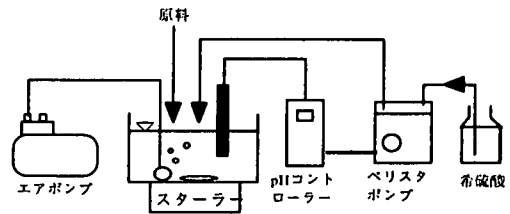


図-2 PHA生産バッチ実験概略図

特性はPHAの組成によって決定される。そして、PHAの組成は、PHA生産のための原料組成によって決定される。実際、*A. eutrophus*を酢酸と吉草酸を炭素源とし、その組成比を変化させることによって、生産されるP(3HB-co-3HV)の3HV比を0~95%まで制御することが知られている⁷⁾。本研究では、活性汚泥についても、原料組成を制御することによるPHA組成制御の可能性について検討した。

また、PHAの原料として下水や工場廃水などが利用できることは、リサイクルの面で有効である。しかし、下水や工場廃水には様々な窒素化合物が含まれていることが多い。一般的に、窒素共存下では、摂取された炭素はアミノ酸合成などに利用され、PHAは効率よく合成されないと考えられている。ただし、例外的な報告、つまり窒素共存下でもPHA生産が行われるという報告^{4), 8), 9)}もある。本研究では、窒素化合物としてアンモニア、ペプトン、酵母エキスの存在下でのPHA生産効率について検討した。

2. 実験方法

我々が想定している活性汚泥によるPHA生産シス

テムは、主に二つの工程で構成される。第一の工程は、「PHA蓄積微生物集積リアクター」である。このリアクターでは、通常の下水処理場のように下水中の有機物を除去すると同時に、PHA蓄積能の高い微生物を集積させることを目的としている。そして、このリアクターで馴致された活性汚泥を、第二の工程である「PHA生産リアクター」に移す。ここでは、PHA合成の原料を投与し、活性汚泥に効率よくPHAを蓄積させることを目的としている。

(1) PHA蓄積微生物集積リアクターの運転

PHA蓄積微生物集積リアクターでは、PHA蓄積微生物を集積させるために、活性汚泥を嫌気好気法で馴致した。

このPHA蓄積微生物集積リアクターとして、図-1のような容量10リットルの回分式リアクターを20℃の恒温室内に設置し、処理水放流工程30分、窒素曝気工程30分、嫌気工程1時間、好気工程3時間、沈澱工程1時間の合計6時間を1サイクルとしたタイムスケジュールで運転した。ただし、窒素曝気工程の初めの20分に水道水を流入させ、終わりの10分で酢酸・プロピオン酸・ペプトン・酵母エキスなどを含んだ濃厚基質(表-1)を投与した。酢酸やプロピオ

表-2 PHA組成制御の実験方法

	原料の組成 HAc : HPr (mgC : mgC)	原料投与量 (mgC/l)	共存する 窒素
		0, 6, 12, 24 時間後	
RunA-1	100 : 0		-
RunA-2	75 : 25	A-1 ~ A-4,	-
RunA-3	50 : 50	B-1 ~ B-4は	-
RunA-4	25 : 75	1000, 500,	-
RunA-5	0 : 100	500, 500.	-
RunB-1	100 : 0	A-5は	-
RunB-2	100 : 0	500, 300,	アンモニア
RunB-3	100 : 0	300, 300.	ペプトン
RunB-4	100 : 0		酵母エキス

ン酸は、PHA生産に適した基質であることが知られている。これら低級脂肪酸は下水や汚泥の嫌気性発酵によって生産することが可能である。そこで、本研究ではPHA蓄積微生物集積リアクターに供給する模擬下水は低級脂肪酸を主体とした。また、好気工程の終わりには余剰汚泥を引き抜いた。HRTは10時間、SRTは約5日に設定した。

(2)PHA生産バッチ実験

PHA蓄積微生物集積リアクターによって半年以上馴致した活性汚泥に対し、図-2に示すようなPHA生産バッチリアクターによるバッチ実験を行った。

嫌気好気法で馴致された活性汚泥は、前述したように嫌気で炭素源を摂取してPHAを生産するが、好気条件の方がPHA生産量が多いことは既に確認されている⁴⁾。従ってバッチ実験では、常に曝気を行って好気条件を保った。PHA生産バッチリアクターの容量は1リットルとした。原料は数回に分割して投与し、pHはpHコントローラーを用いて7.0~7.2になるように希硫酸により調整した。

また、PHA生産バッチ実験で用いた原料の組成や投与方法は、検討項目(PHAの組成制御と窒素共存下でのPHA生産)によって異なる。それぞれの実験における詳細は、以下の通りである。

a)PHAの組成制御(RunA-1~A-5)

PHAの組成制御を検討する実験では、原料として酢酸とプロピオン酸を使用した。そして、原料中のプロピオン酸分率の異なる5系列についてバッチ実験を行った。それぞれの系列におけるプロピオン酸分率はRunA-1は0%、A-2は25%、A-3は50%、A-4

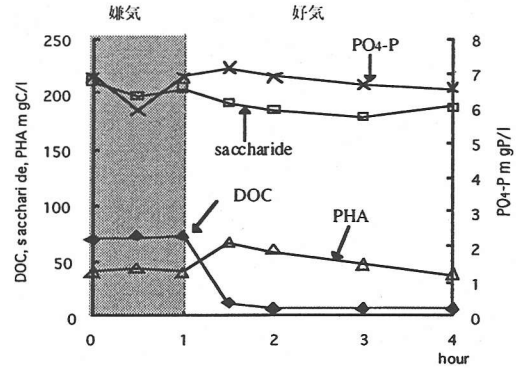


図-3 嫌気好気活性汚泥の代謝

は75%、A-5は100%と設定した。

原料の投与時間及び投与量について以下に示す。RunA-1からA-4までは共通で、バッチ実験開始から0, 6, 12, 24時間後にそれぞれ1000, 500, 500, 500mgC/lを投与し、A-5は実験開始から0, 6, 12, 24時間後にそれぞれ500, 300, 300, 300mgC/lを投与した(表-2)。

プロピオン酸のみを原料とするときに、高濃度ではプロピオン酸が呼吸などの阻害剤として働き、プロピオン酸摂取が観察されないという現象が生じる。そこで、予備実験を行った結果(データ省略)、プロピオン酸は500mgC/l以下では、阻害剤として作用しないことが明らかとなったので、A-5のような原料の投与方法をとった。

尚、この実験で用いた活性汚泥のMLSSは約1000mg/lであった。

b)窒素共存下でのPHA生産(RunB-1~B-4)

窒素共存の影響を調査する実験では、炭素源として全てのRunで酢酸を、窒素源として、RunB-2は硫酸アンモニウムを、B-3はペプトンを、B-4は酵母エキスを含む原料を用いた。また、対照実験としてB-1は窒素源を一切投与せず、酢酸のみを投与した。尚、B-2, B-3, B-4については、リン酸制限の影響も調べるために、リン酸(リン酸水素二カリウム)を投与した。

炭素源の投与時間及び投与量に関しては、全ての系列に共通で、実験開始から0, 6, 12, 24時間後にそれぞれ1000, 500, 500, 500mgC/lを投与した(表-2)。窒素源については、サンプリング時に上澄水の中のアモニア態窒素を測定し、窒素が枯渇しているときにはそれぞれのRunで用いた窒素源(100~150mg)を追加して投与するという手法を取った。

尚、この実験で用いた活性汚泥のMLSSは1500~2000mg/lであった。

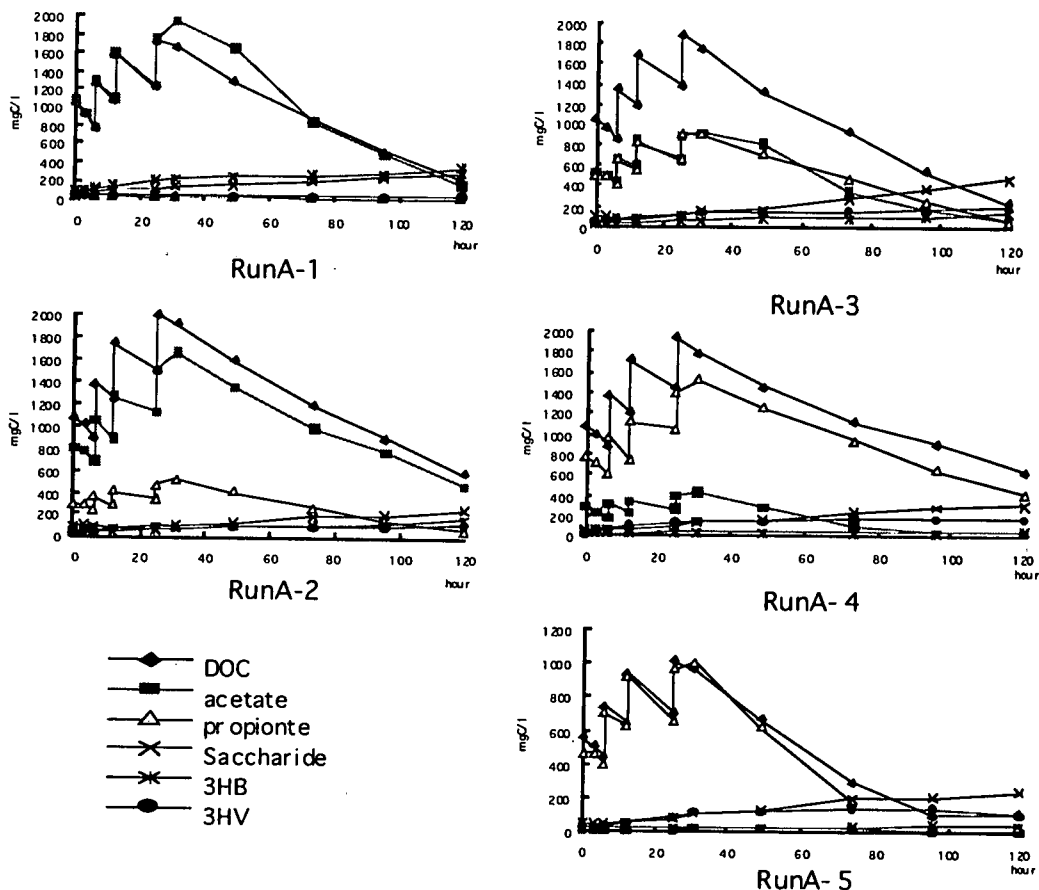


図-4 各系列 (RunA-1～A-5) における, DOC, 酢酸, プロピオン酸, 多糖類, PHAの挙動

(3)分析手法

a)PHA

佐藤らの方法¹⁰⁾に従い, 硫酸酸性下で過剰のメタノールと加熱することによりPHAを分解し, 構成モノマーのメチルエステルを生じさせ, これをガスクロマトグラフ (以下GC) により定性・定量した. 使用したGCは島津GC-14A/FIDで, カラムはGLサイエンス社のNeutrabond-1 (長さ30m, 内径250 μ m, 膜厚0.4 μ m)を使用した. 分析中の設定温度は, 検出器が250 $^{\circ}$ C, 注入口は230 $^{\circ}$ C, カラムは初期設定温度60 $^{\circ}$ Cで4分保持し, その後12 $^{\circ}$ C/分で220 $^{\circ}$ Cまで昇温し, 220 $^{\circ}$ Cで6分間保持した. また, 島津オートインジェクターAOC-14Aを用いて, 試料1 μ lをマイクロシリジによりスプリット注入 (スプリット比は1:20) する手法を取った.

b)TOC(DOC), 各種陰イオン, アンモニア態窒素

TOC(DOC)は島津TOC-500により, 各種陰イオン (NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , 酢酸, プロピオン酸)はWaters社のCIA(Capillary Ion Analyzer)により定量を

行った. また, アンモニア態窒素はセントラル科学社の窒素計HC-707N型により定量を行った.

c)多糖類, タンパク質

多糖類はフェノール-硫酸還元法¹¹⁾により, タンパク質はLowry-Folin法¹²⁾により定量を行った.

3.実験結果及び考察

(1)PHA生産に用いた活性汚泥の特性

今回, 活性汚泥を嫌気好気法で馴致したにもかかわらず, 通常の嫌気好気活性汚泥とは異なる性質を示していた. その挙動を図-3に示す. 通常の嫌気好気活性汚泥は, 嫌気工程で炭素源を摂取してPHAを生成するが, この活性汚泥は, 嫌気工程では一見何の代謝も行っておらず, 好気になると急速に炭素源を摂取しPHAとして蓄え, 炭素源が枯渇するとPHAを酸化分解してエネルギーを得るという代謝を行っ

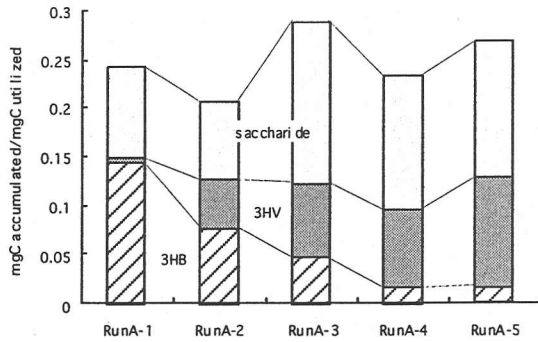


図-5 摂取された炭素源の蓄積物質への転換率

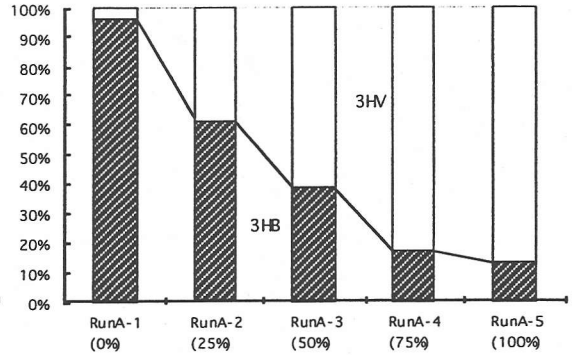


図-6 生産されたPHAの組成
括弧内は原料のプロピオン酸分率

ていることが分かる。このような代謝は、活性汚泥のPHA蓄積能力を高めるために、筆者らのグループが提案した微好気好気法⁵⁾の活性汚泥の代謝に似ているものだった。

(2)PHAの組成制御

RunA-1からA-5の各系列における、DOC、酢酸、プロピオン酸、多糖類、PHAの挙動について図-4に示す。

酢酸、プロピオン酸ともに効率よく摂取され、それに伴って、活性汚泥中にPHAや多糖類の蓄積が観察された。PHA蓄積時の乾燥汚泥重量 (MLSS) に対するPHA含有率の最大値を計算すると、Run5-1で33%、Run5-2で25%、Run5-3で19%、Run5-4で21%、Run5-5で19%という結果となった。酢酸のみを原料とするのに比べて、プロピオン酸を原料に加えることによってPHAの最大含有率は低下する傾向があった。岩本ら⁵⁾は、同様な活性汚泥によるPHA生産で、乾燥汚泥重量に対して最大62%のPHA含有率を示した。この値と比較すると、今回のPHA含有率は全体的には決して高い値ではない。

摂取された炭素源の蓄積物質への転換率を図-5に示す。この図より、どの系列においても7割以上が蓄積物質 (PHAまたは多糖類) 以外のものに転換され、PHAへの転換率は15%以下であったことが分かる。また、原料に酢酸だけではなくプロピオン酸を加えることによって、炭素源のPHAへの転換率は低下し、逆に多糖類への転換率は増加する傾向があった。プロピオン酸の添加が活性汚泥のPHA含有率や炭素源からのPHAへの転換率を減少させる理由は不明である。

また、生産されたPHAの組成を図-6に示す。この図から、原料のプロピオン酸分率を0から100%まで増加させると、生産される3HV分率は3から84%にまで増加することが明らかとなった。これは、活性

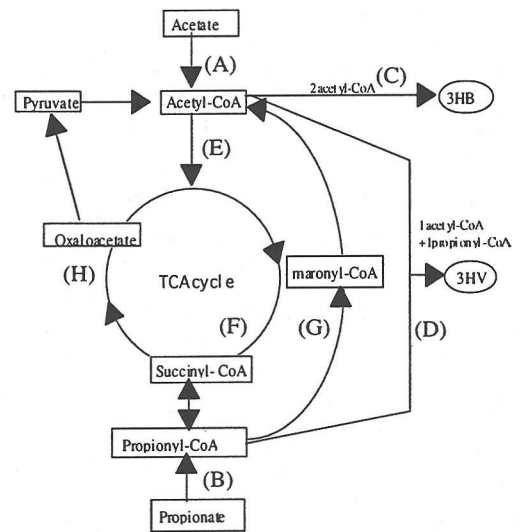


図-7 PHA合成代謝経路^{13), 14)}

汚泥によるPHA生産において、酢酸とプロピオン酸から3HV分率が3~84%の共重合ポリエステルP(3HB-co-3HV)が生産できること、換言すれば、非常に堅くてもろい性質から、柔らかくてゴム弾性を備えたプラスチックまで生産できることを示唆している。現在実用化されている*A. eutrophus*によるPHA生産でも、このような共重合ポリエステルが生産できることが知られて初めて実用化された¹¹⁾という経緯があり、生分解性プラスチックとしてのPHA生産の実用化には、共重合ポリエステルの組成制御は、必要不可欠な事項である。今回のPHA組成制御の結果によって、活性汚泥によるPHA生産の実用化の可能性が高まったと考えられる。

図-7にPHA合成に関わる代謝経路^{13), 14)}を示

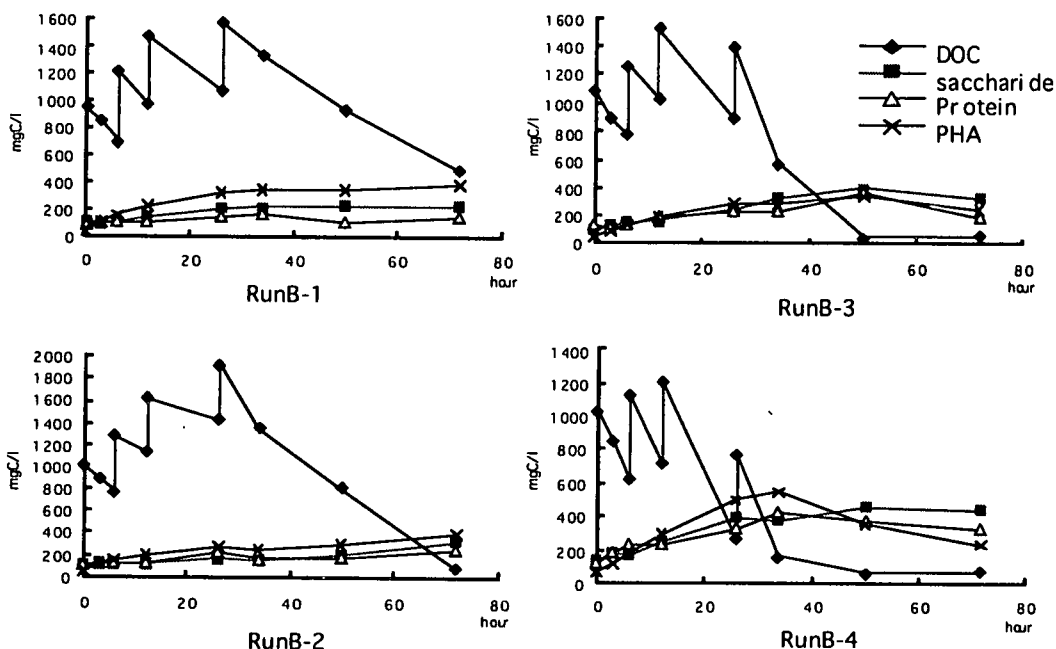


図-8 各系列 (RunB-1~RunB-4) におけるDOC, 汚泥内多糖類, タンパク質, PHAの挙動

した。摂取された酢酸とプロピオン酸は、それぞれアセチルCoA (経路A)とプロピオニルCoA (経路B)に転換される。このアセチルCoA2分子から3HB1分子が (経路C), またアセチルCoA1分子とプロピオニルCoA1分子から3HV1分子が (経路D)合成される。一方、アセチルCoAの一部はTCAサイクルに入り (経路E), 酸化されてエネルギー生産に使われたり、生合成の炭素源となったりするが、一部はスクシニルCoAを経てプロピオニルCoAに転換され得る (経路F)。反対に、プロピオニルCoAはマロニルCoA (経路G) 或いはオキサロ酢酸 (経路H) を経てアセチルCoAに転換され得る。このような、アセチルCoA・プロピオニルCoAからのPHA生成、両者間の相互交換、生合成反応へのエネルギーと炭素源の供給は、共通の代謝中間体を介して複雑に影響し合っており、その全体としての代謝制御は細胞内のNAD⁺/NADH比などの生理状態に強く依存している¹⁴⁾とされる。

プロピオン酸のみを炭素源としてPHAを生産させるときに、得られるP(3HB-co-3HV)の3HV分率は、*A. eutrophus*の場合は40%^{13), 15)}であると報告されているが、本研究の活性汚泥の場合は84%であった。このことから、*A. eutrophus*の方が活性汚泥より、プロピオニルCoAからアセチルCoAに転換する代謝経路を活発に利用していることが伺える。つまり、*A. eutrophus*と活性汚泥はプロピオン酸からの

PHA生成に関してそれぞれ異なる代謝制御を行っていることになる。*A. eutrophus*を利用して3HV分率40%以上のP(3HB-co-3HV)を得るためには、炭素源としてプロピオン酸ではなく吉草酸を使わなければならない^{7), 15)}。酢酸とプロピオン酸の組成を制御するだけで、より幅広い組成・物性のPHAを得られることは、活性汚泥を用いたPHA生産の利点の一つといえるだろう。

また、本研究では嫌気好気活性汚泥を用いたにも関わらず、嫌気好気活性汚泥が生産することが知られている3H2MBや3H2MVを構成モノマーとするPHA⁶⁾は、生産されなかった。この理由は不明である。

(3)窒素共存下でのPHA生産

窒素共存のPHA生産への影響を調査した実験における各系列のDOC, 汚泥内多糖類, タンパク質, PHAの挙動について図-8に示す。

各系列における炭素源の摂取速度の大きさを比較すると、RunB-1<RunB-2<RunB-3<RunB-4となった。これは、微生物が増殖する上で、より有利な条件が揃っている方が炭素源の摂取速度は大きいと解釈することができる。すなわち、RunB-1は微生物の増殖に必要な窒素源が含まれていない。RunB-2はアミノ酸合成に必要な窒素源としてアンモニアが共存している。RunB-3で共存しているペプトンに

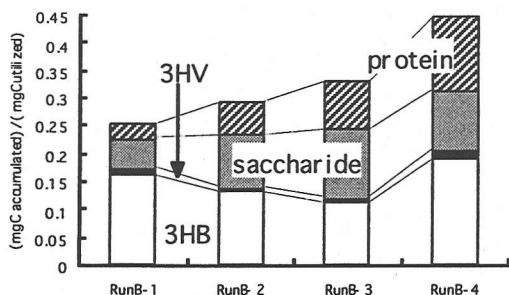


図-9 摂取された炭素源の各物質への転換率

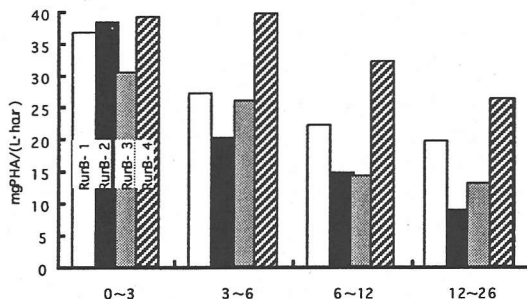


図-10 各時間帯におけるPHA合成速度

は多くのアミノ酸が含まれている。RunB-4で共存している酵母エキスにはアミノ酸に加えて、各種の代謝活性物質や微量栄養素が多く含まれている。実際に、炭素源のタンパク質への転換率は図-9に示すようにRunB-1<RunB-2<RunB-3<RunB-4の順で大きく、この順で増殖量が大きかった。

次に、PHA、汚泥内多糖類の蓄積状況に注目する。各系列における乾燥汚泥重量に対する最大PHA含有率は、RunB-1で26%、RunB-2で25%、RunB-3で20%、RunB-4で27%となった。これより、窒素が共存している系列でも、窒素制限された系列(RunB-1)に比べて若干PHA含有率は落ちるものの、十分にPHA合成が行われることがわかる。なお、図-9で摂取された炭素源の各蓄積物質への転換率を見ると、PHAへの転換率は、RunB-1とB-4はほぼ同じだが、RunB-2とB-3はそれらに比べて小さかった。また、多糖類は窒素共存下の方がより転換率が高かった。

各時間帯におけるPHA合成速度を図-10に示す。この図から、RunB-4におけるPHA合成速度が、他の系列より大きいことが分かる。RunB-4には酵母エキスが共存しているので、酵母エキスに含まれる何らかの物質により、活性汚泥のPHA合成が促進されたと考えられる。酵母エキスには他の系列には共存していないビタミンB群が、数多く含有されている。ビタミンB群にはPHA合成のための還元力を運ぶ補酵素が含まれており、その効果かもしれない。しかし、実際にビタミンが活性汚泥のPHA合成を促進しているかどうかは確かめてはいない。

4.成果と今後の展望

本研究で得られた知見を以下にまとめる。

・嫌気好気法で馴致された活性汚泥を、酢酸とプロピオン酸を唯一の炭素源として培養すると、3HB

(3-ヒドロキシ酪酸)と3HV(3-ヒドロキシ吉草酸)を構成モノマーとしたPHAが合成される。

・この時、炭素源のプロピオン酸分率を0%から100%まであげると、生産されるPHAの3HV分率が3%から84%まで増加する。

・嫌気好気活性汚泥は、窒素(アンモニア、ペプトン、酵母エキス)共存下でも効率よくPHAを合成する。

・酵母エキスが共存することにより、活性汚泥のPHA生産効率(最大PHA含有率、PHA転換率、PHA蓄積速度)は向上する。

これまで、岩本ら⁵⁾によって活性汚泥でも十分に高いPHA含有率が得られることが示されたが、本研究では、活性汚泥による生分解性プラスチック生産でもその組成制御は可能であることが示唆された。更に、PHA生産の原料に様々な窒素を含んだ排水も利用できる可能性が示唆された。活性汚泥による生分解性プラスチック生産技術は、社会における物質循環に寄与する新しい技術である。しかし、この技術を完全に実用化するには、活性汚泥のPHA生産効率の更なる向上、これまで観察された現象の再現性の確認、実験室レベルではなくより大規模な実廃水処理レベルでの研究が望まれる。そして、この技術が確立し、本研究がそれに貢献できることを切に願う。

参考文献

- Holmes, P. A.: Application of PHB: A Microbially produced Biodegradable Thermoplastic, Physics in Technology, Vol.16, pp. 32-36, 1985.
- Anderson, A. J., and Dawes, E. A.: Occurrence, Metabolism, Metabolic Role, and Industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates, Microbiological Reviews,

- pp. 450-472, Dec. 1990.
- 3) Satoh, H., Mino, T., and Matsuo, T.: Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes., *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 26, No.5-6, pp. 933-942, 1992.
 - 4) 上野俊洋, 佐藤弘泰, 味埜俊, 松尾友矩: 嫌気好気式活性汚泥による生分解性プラスチックPHAの好気的生産、*Polymer Preprints, Japan*, Vol. 42, No. 9, pp. 3673-3675, 1993.
 - 5) 岩本友里奈, 佐藤弘泰, 味埜俊, 松尾友矩: 微好気好気法で馴養された活性汚泥による生分解性プラスチック(Polyhydroxyalkanoate)の生産, *土木学会論文集*, No.573/VII-4, pp. 19-26, 1997.
 - 6) プラスチック処理促進協会資料.
 - 7) Doi, Y., Tamaki, A., Kunioka, M., and Soga, K.: Biosynthesis of an Unusual Copolyester (10 mol% 3-Hydroxybutyrate and 90 mol% 3-Hydroxyvalerate Units) in *Alcaligenes eutrophus* from Pentanoic Acid, *Journal of Chemical Society, Chemical Communication*, pp. 1635-1636, 1987.
 - 8) 齊藤祐二, 副島敬道, 友沢孝, 土肥義治, 紀谷文樹: 活性汚泥を用いる揮発性低級脂肪酸からの生分解性プラスチックの生産と評価, *土木学会論文集*, No.521/II-32, pp. 145-154, 1995.
 - 9) Kraak, M. N., Smits, T. H., Kessler, B., and Witholt, B.: Polymerase C1 Levels and Poly(3-Hydroxyalkanoate) Synthesis in Wild-Type and Recombinant *Pseudomonas* Strains, *Journal of Bacteriology*, Aug., Vol.179, No.16, pp. 4985-4991, 1997.
 - 10) 佐藤弘泰: PHAの測定とその意味, *環境微生物工学研究法*, 土木学会衛生工学委員会編, 技報堂出版, pp. 67-70, 1993.
 - 11) 日本薬学会編, *衛生試験法・注解*, 金原出版, 1990.
 - 12) 日本生物工学会編, *生物学実験*, 培風館, 1992.
 - 13) Doi, Y., Tamaki, A., Kunioka, M., and Soga, K.: Biosynthesis of Copolyesters in *Alcaligenes eutrophus* H16 from ¹⁴C-Labeled Acetate and Propionate, *Macromolecules*, 20, pp. 2988-2991, 1987.
 - 14) 日本生化学会編, *細胞機能と代謝マップ, I. 細胞の代謝・物質の動態*, 東京化学同人.
 - 15) Doi, Y., Tamaki, A., Kunioka, M., and Soga, K.: Production of copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric and pentanoic acids, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.28, pp. 330-334, 1988.

(1998. 8. 7 受付)

EFFECT OF RAW MATERIAL COMPOSITION FOR PRODUCTION OF BIODEGRADABLE PLASTICS BY ACTIVATED SLUDGE

Hiroo TAKABATAKE, Hiroyasu SATOH, Takashi MINO and Tomonori MATSUO

PHA(Polyhydroxyalkanoate) known as carbon storage polymer in microorganisms recently draws attention as a biodegradable plastic. It is known that the microorganisms in activated sludge can produce PHAs, and PHA production by activated sludge is worth being focused in the aspects of the recovery of organic from wastewater etc. In this research, the PHA production using activated sludge was investigated with special focus on the effect of substrate composition on the PHA structure and the influence of presence of nitrogen compounds on the PHA production efficiency. The results showed that the ratio of 3HB and 3HV monomers in the PHA produced was regulated (3HV ratio is 3 - 84%) by changing the ratio of acetate and propionate in substrate. It was also indicated that activated sludge can produce PHA under non-nitrogen-limiting condition. In general PHA production is inhibited under this condition.