

活性汚泥による長鎖脂肪酸の分解について

東北大学 正 松本順一郎
 東北大学 学 徐 鏡基
 東北大学 学 飯ヶ 洪安司
 東北学院大学 学 大澤 善明

1. はじめに

活性汚泥によるオリブ油中の脂肪酸の分解機構について回分実験によって検討したが、⁽¹⁾ n-ヘキサン抽出物質としての油分全体の消長のみを検討したもので、オリブ油中個々の構成成分である脂肪酸の分解挙動について未検討であった。そこで、今回は単一脂肪酸を用い、活性汚泥による分解機構に関して、実験を行った結果を報告する。

2. 実験方法

実験に用いた基質組成を表-1に示す。通常の長鎖脂肪酸は水に難溶性であるが、脂肪酸の10%程度の乳化剤Tween 80を加え、超音波機器でエマルジョンしたものを基質として用いた。表-2に本実験で用いた脂肪酸を示す。投入基質のpHは7.0である。植種汚泥はオリブ油で1年以上fll and drawの方式で十分馴致したものをを用いた。実験は、水温20℃、振とう速度125回/分、振幅2cmで振とう培養装置を用いて回分実験を行った。

まず、汚泥濃度約2500mg/lになるように同時に6本の500mlの坂ロフラスコに植種した。各フラスコに同じ濃度の脂肪酸を加えて、全量を150mlとした。初期脂肪酸濃度は100mg/lから1,000mg/lまで4段階に変化させた。振とうを開始して、反応時間が0, 12, 24, 48時間となるような時間間隔で、フラスコを振とう機器からはずして分析した。フラスコ内混合液中の全脂肪酸量を図-1のような手順で抽出し、分析した。

3. 実験結果および考察

図-2は、C_{14:0} ミリスチン酸、C_{16:0} パルミチン酸、C_{18:0} ステアリン酸の分解過程を示す経日変化を示す。図により、ミリスチン酸とパルミチン酸の回分初期において、急速に分解除去される事がわかる。また、その初期除去速度はC_{14:0}のミリスチン酸、C_{16:0}のパルミチン酸、C_{18:0}のステアリン酸の順に小さくなる。そこで、各脂肪酸の初期比除去速度の濃度依存性を次のように検討した。

先に報告したものと同一手法で、単一基質除去速度について適用されているMichaelis-Mentenの酵素反応速度式を用いた。

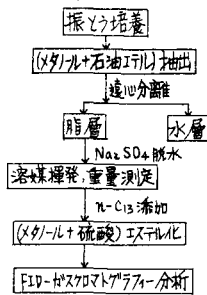
$$\mu = -\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = -\frac{\Delta S}{\Delta t} = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_m + S} \quad \text{--- (1)}$$

ここで、 μ : 基質の比除去速度 (1/day)

S : 基質の初期濃度 (mg/l)

μ_{max} : 基質の比除去速度の最大値 (1/day)

K_m : 飽和常数 (mg/l)



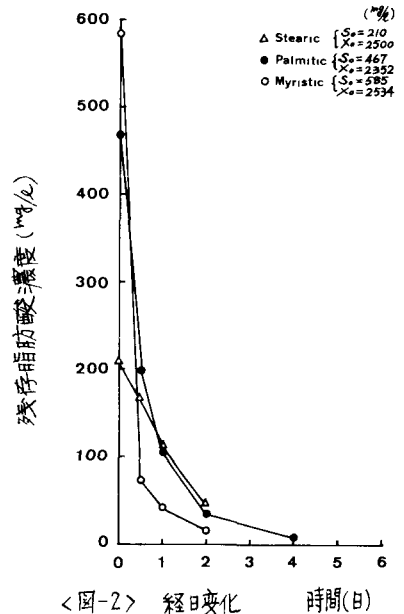
<図-1> 分析手順

表-1. 基質組成

Fatty Acid	1000 mg/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	500 mg/l
K ₂ HPO ₄	1600 mg/l
KH ₂ PO ₄	200 mg/l
MgSO ₄ 7H ₂ O	50 mg/l
CaCl ₂	50 mg/l
FeSO ₄ 7H ₂ O	20 mg/l
NaCl	20 mg/l

表-2. 脂肪酸

C _{14:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	Myristic
C _{16:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	Palmitic
C _{18:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	Stearic



<図-2> 経日変化 時間(日)

回分実験では、基質濃度と環境条件が時間とともに変化する非定常状態なので、汚泥の比基質除去速度に及ぼす基質濃度の影響は回分実験の初期速度から決定しなければならない。本実験では0時間から12時間までの回分初期の除去速度から比基質除去速度を計算した。(1)式を逆数変換すると(2)式のようなLineweaver-Burk plot式になる。

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{K_m}{v_{max}} \cdot \frac{1}{S} \quad \text{---- (2)}$$

(2)式に従って、実験結果を整理すると、図-3になる。C_{18:0}のステアリン酸の回分実験は現在継続中で、とりあえず今のところ得られた二点を使用した。直線は最小自乗法を用いて決定した。このようにして求められた最大比基質除去速度 v_{max} と飽和常数 K_m を用いて、Michaelis-Menten型に整理すると、比基質除去速度 v の基質依存性は図-4のようになる。

最大比基質除去速度 v_{max} は炭素数の増加とともに減少した事がわかる。これは、脂肪酸の水溶性の難易に関係していると考えられる。即ち、基質が細胞内で分解除去されるためには、細胞膜を透過するように、水溶性であるが、または、細胞外酵素によって水溶性になるものでなければならない。従って、水溶性の高い脂肪酸ほど分解されやすいことになる。表-3には、飽和脂肪酸の水に対して溶解度を示す。炭素の鎖長が長くなるほど、溶解度小さくなる。Loehrら(1968)は、脂肪酸の分解速度について、炭素数12から20までの飽和および不飽和脂肪酸を塩の形で与え、好気条件下で検討したが、ほぼそれと同じような傾向が得られた。即ち、炭素数14の脂肪酸最も分解されやすく、16、18、の順で炭素数が増加するに従って最大比基質除去速度 v_{max} が着しく減少する。また、飽和脂肪酸の分解に関するβ-酸化理論によると、飽和脂肪酸は炭素原子2個が単位になって酸化分解していくものと推定されている。回分実験では、ガスクロによる分析結果、混合液中 C_{14:0} のミスチン酸を基質として用いた回分培養の12時間目で、少量の C_{12:0} のラウリン酸が検出された。しかし、C_{16:0} のパルミチン酸と C_{18:0} のステアリン酸を基質として用いた回分実験では、そのような中間産物は見られなかった。

4. おすび

オリーブ油で馴致した活性汚泥による飽和長鎖脂肪酸の分解について脂肪酸の炭素数の増加とともに分解速度は小さくなる事が判明した。今後は、不飽和長鎖脂肪酸のオレイン酸、リノール酸を単一炭素源として、回分実験を行う予定である。

<参考文献>

- (1) 徐、松本; 土木学会第34回年次講演会概要集, II-276 (1979)
- (2) 徐、大久保、松本; 工業用水, No.245 (1979)
- (3) Loehr, R.C., and Roth, J.C., J.W.P.C.F. 40, R385, (1968)

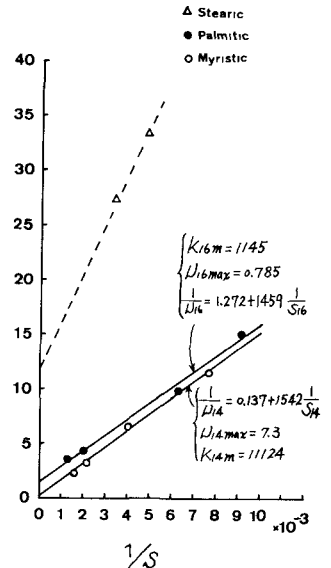


図-3> S と v の Lineweaver-Burk plot

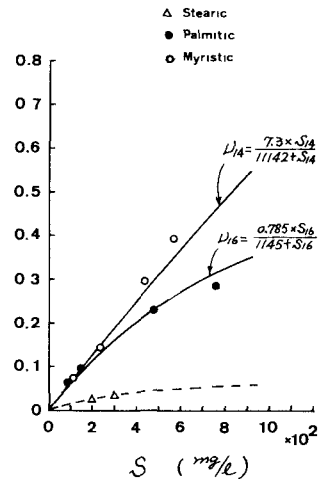


図-4> S と v の関係

表-3. 水に対して溶解度 (at 20°C)

脂肪酸	溶解度
ミスチン酸	0.0020
パルミチン酸	0.0007
ステアリン酸	0.0003