

東京大学大学院工学系研究科
東京大学環境安全研究センター

○中島典之
山本和夫

1 はじめに

著者らは、紅色非硫黄細菌を嫌気・光照射条件下で用い廃水中の有機物をできるだけ多く有価物（菌体）へと変換するシステムに関して研究している。光合成細菌の一つの科をなす紅色非硫黄細菌は、光合成従属栄養という特異な増殖形態により光エネルギーを用いて有機物を高収率で菌体へと変換し、その菌体は飼肥料や PHA (polyhydroxyalkanoate; 生分解性プラスチックの一種) の抽出源として有効であると考えられている。このシステムは、太陽光を利用することにより省エネルギー型の廃水処理になり、さらに、光合成従属栄養という特異な増殖形態により廃水中有機物のほとんどを菌体へと変換しうる、ということから温暖化ガス排出抑制型の廃水処理・資源化システムになると期待される。

本報では、酢酸、プロピオン酸、酪酸を単一炭素源とした際のバッチ実験の結果をもとに、紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter sphaeroides* による各炭素源からの PHB (poly-3-hydroxybutyrate) およびそれ以外の菌体成分の合成を定式化した。さらにこの式をもとに流入廃水の有機酸組成が回収菌体に与える影響を考察した。

2 バッチ実験

2.1 実験方法

バッチ実験は、容量約70mLのアルミシールバイアルを培養容器とし白熱灯照射下でウォーターバスにより温度を25℃に保って行った（図-1）。菌株は紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter sphaeroides* IFO12203を、また培地は光合成細菌用培地（星野ら、1986）をもとに炭素源を酢酸、プロピオン酸、酪酸の各ナトリウム塩とシーストエキストラを加えずに用いた。投与炭素源濃度は200又は400mgC/lとし、各炭素源につき3回の実験を行った。TOCは島津TOC-500で、各有機酸はHPLCを用いて定量した。菌体内のPHBは佐藤ら（1993）の方法で、蛋白はローリー法、糖はアントロン法でそれぞれ定量した。

2.2 実験結果

実験結果の一例を図-2に示した。他のすべての実験でも、投与炭素源消費後にPHBの減少が認められた。これは栄養塩類が十分にあるためであり、窒素源をできるだけ少なくした実験ではPHB含有率（mgC-PHB/mgC-菌体）は0.9程度まで上がり酢酸を消費した後もそのまま利用されることが分かっている（Nakajima *et al.*, 1997）。

3 菌体成分合成およびPHB消費の速度の計算と考察

図-2から分かるように栄養塩を十分に含むような廃水からのPHB生産を考えた場合には回収時期によって菌体成分組成が変動することになる。そこで、それぞれの炭素源からのPHBおよびその他の菌体成分（以下、基本菌体成分と呼ぶ）の比合成速度、PHBの比消費速度を

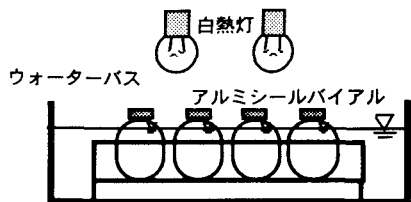


図-1 実験装置

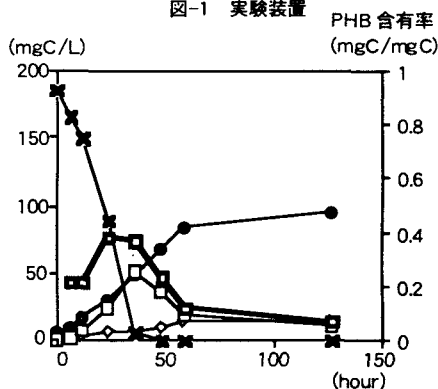


図-2 バッチ実験結果の例（炭素源：酢酸200mgC/L）

—×— 酢酸(mgC/L) —□— PHB(mgC/L)
—●— 菌体蛋白(mgC/L) —◇— 菌体糖(mgC/L)
—■— PHB 含有率(mgC/mgC)

バッチ実験の結果から計算する。

炭素源の比消費速度、PHBおよび基本菌体成分の比合成速度は以下の三式のように表した。

$$v_{S_n} = v_{S_nP} + v_{S_nB} \quad , \quad v_P = \sum_{i=1}^n v_{S_iP} \cdot Y_{S_iP} - v_{PB} - \frac{P}{B} k_d \quad , \quad v_B = \sum_{i=1}^n v_{S_iB} \cdot Y_{S_iB} + v_{PB} \cdot Y_{PB} - k_d$$

$$v_{S_n} \quad ; \quad \text{炭素源 } n \text{ の比消費速度 (mgC-炭素源/mgC-基本菌体成分/hour)} = -\frac{1}{B} \frac{dS_n}{dt}$$

$$v_P \quad ; \quad \text{PHBの比合成速度 (mgC-PHB/mgC-基本菌体成分/hour)} = \frac{1}{B} \frac{dP}{dt}$$

$$v_B \quad ; \quad \text{基本菌体成分の比合成速度 (1/hour)} = \frac{1}{B} \frac{dB}{dt}$$

$$v_{S_nP} \quad ; \quad \text{炭素源 } n \text{ の比消費速度 (PHB合成) (mgC-炭素源/mgC-基本菌体成分/hour)} = \frac{v_{S_nP}^{\max} \cdot S_n}{S_n + K_{S_nP}} f(I)$$

$$v_{S_nB} \quad ; \quad \text{炭素源 } n \text{ の比消費速度 (基本菌体成分合成) (mgC-炭素源/mgC-基本菌体成分/hour)} = \frac{v_{S_nB}^{\max} \cdot S_n}{S_n + K_{S_nB}} f(I)$$

$$v_{PB} \quad ; \quad \text{PHBから基本菌体成分への比合成速度 (mgC-PHB/mgC-基本菌体成分/hour)} = \frac{v_{PB}^{\max} \cdot (P_{\%} - P_{\%}^{\min})}{(P_{\%} - P_{\%}^{\min}) + K_{PB}} f(I)$$

S_n ; 炭素源 n の濃度 (mgC-炭素源/L)

P ; PHBの濃度 (mgC-PHB/L)

B ; 基本菌体成分の濃度 (mgC-基本菌体成分/L)

Y_{S_nP} ; 炭素源 n から PHB への収率 (mgC-PHB/mgC-炭素源)

Y_{S_nB} ; 炭素源 n から 基本菌体成分 への収率 (mgC-基本菌体成分/mgC-炭素源)

Y_{PB} ; PHB から 基本菌体成分 への収率 (mgC-PHB/mgC-炭素源)

k_d ; 死滅定数 (1/hour)

$f(I)$; 照度補正項 (後述)

$$P_{\%} \quad ; \quad \text{PHB含有率} = \frac{P}{P+B}$$

$P_{\%}^{\min}$; PHB含有率の下限

実験では明確な代謝産物の生成は認められず、また、死骸の再基質化に関しては実験データからの判断が難しかったため、ここでは代謝産物生成や死骸の再基質化は無視した。また、これらの要素には、炭素源の種類、炭素源濃度、菌体濃度、照度、PHB含有率、無機成分、温度、pHなどの因子が関与していると考えられるが、ここでは炭素源の種類、炭素源濃度、菌体濃度、照度、PHB含有率のみを考慮した。

死滅定数 k_d に関しては、嫌気暗条件下での吸光度の減少から $k_d = 5.9 \times 10^{-4}$ (1/hour) と計算した (data not shown)。照度補正項は、照度と最大比増殖速度に関する予備実験、Lambert-Beerの法則、吸光度と菌体成分組成の実験から得た関係から次式のように表した (誌面の制限により詳細な説明は省略する)。

$$f(I) = \frac{I_{avg} - 350}{2500 + (I_{avg} - 350)} \quad , \quad I_{avg} = \frac{2.303 \times I}{L \cdot \{0.00901 \times (0.4 \times P + B) + 0.0290\}} \left(1 - e^{-\frac{1}{2.303} L \cdot (0.00901 \times (0.4 \times P + B) + 0.0290)} \right)$$

I ; 容器表面での照度 (lx), L ; 光照射方向の深さ (cm)

バッチ実験の結果から v_{S_n} 、 v_P 、 v_B を計算し、これらと上記の死滅定数と照度補正項とから、 v_{PB} 、各炭素源の v_{S_nP} 、 v_{S_nB} が計算できる。その結果を図-3~5に示した。

現時点ではデータ数が十分でないためパラメータの信頼性が高いとは言い難く、また式形に関しても検討の余地があるが、このような解析により基質の組成や濃度の違いによる生産物の質と量を予測することが可能になると考えられる。

例として、上述のパラメータを完全混合連続槽に適用し、滞留時間72時間、表面照度8000lx、光照射方向深

さ3cmとしたときのPHBおよび菌体蛋白生産速度に与える有機酸組成の影響を示したのが図-6である。ここで、菌体蛋白量は基本菌体成分濃度を0.61倍する (Nakajima *et al.*, 1997) ことにより求めた。この結果から、酢酸中心の有機酸組成がPHB生産に適し、プロピオン酸中心の組成が飼料などの生産に適していると言える。

参考文献

星野ら (1986) 微生物の分離法：山里ら編, R&Dプランニング, pp.499-505
 佐藤ら (1993) 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.71-74
 Nakajima *et al.* (1997) ASIAN WATERQUAL'97 Proc. Vol. I, pp.830-837

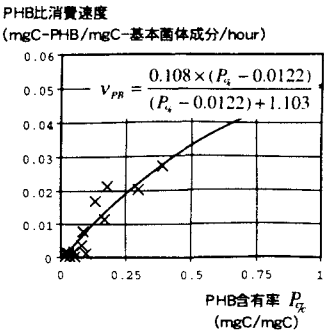


図-3 PHB比消費速度

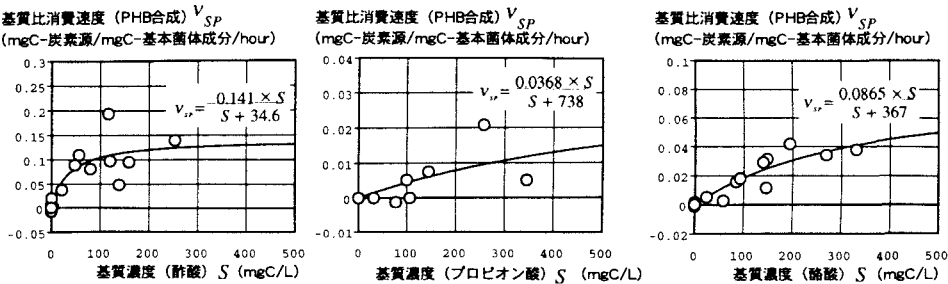


図-4 各炭素源に対する基質比消費速度 (PHB合成)

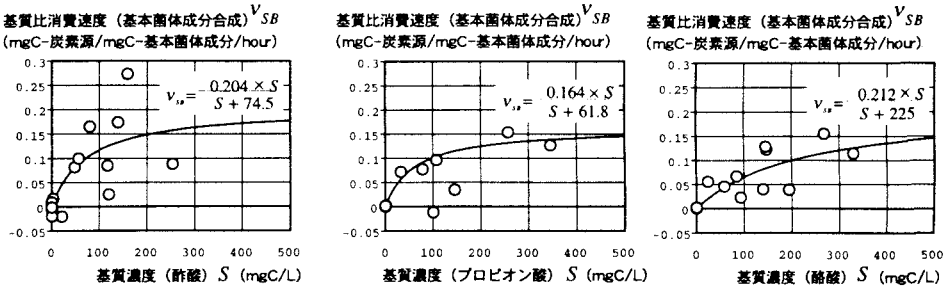


図-5 各炭素源に対する基質比消費速度 (基本菌体成分合成)

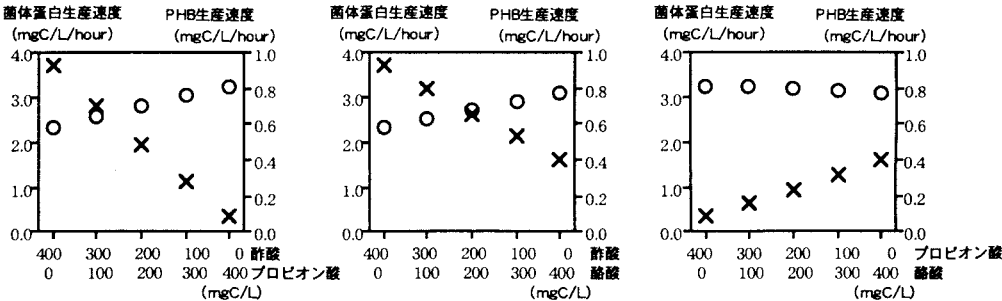


図-6 有機酸組成を変化させたときのPHB生産速度 (計算例)

○ 菌体蛋白生産速度 (mgC/L/hour) × PHB生産速度 (mgC/L/hour)