

可溶化有機物による有用微生物の生産

広島大学大学院工学研究科	学生会員	○野村典広
広島大学地域共同研究センター	正会員	今岡 務
広島大学大学院工学研究科	学生会員	波多野啓史
広島大学工学部	学生会員	原 稔
国税庁醸造研究所		家藤治幸
国立公衆衛生院	正会員	井上雄三

1. はじめに

わが国における産業廃棄物の排出量は年間約4億トンであり、下水汚泥などの汚泥が占める割合は40%以上と最も高いにもかかわらず、再資源化率はわずか約5%と極めて低い。これらの汚泥には高い割合で有機物質が含まれていることから、資源化にあたってはこれに着目した技術の開発が望まれる。

そこで、本研究では下水汚泥のような有機性廃棄物を加圧・加熱（オートクレーブ）処理で可溶化し、得られた処理液により付加価値の高い有用酵母を生産する新しい資源化手法の可能性について検討することを目的とした。

2. 実験方法

可溶化処理は、下水汚泥（余剰汚泥）、浄化槽汚泥（単独・合併処理浄化槽混合収集汚泥）、麦茶がら（麦茶抽出残滓）、飲料製造工場排水処理汚泥の4種の有機性廃棄物を供試試料として、オートクレーブ（東洋高圧製：ガラスオートクレーブ TAU1.0GH）を用いて行った。処理条件は、条件①：150℃、5気圧、30分、pH調整無し、および条件②：170℃、8気圧、30分（下水汚泥、排水処理汚泥は10分）、pH13に調整の2条件で行った。培養実験における培養対象の酵母および可溶化液等の培養液を表1に示す。ここで、オレンジジュースと牛乳は、賞味期限切れ返品等の廃棄飲料を意図した試料である。供試酵母としては、基質とされる炭素源がグルコースなどの単糖に限定される醸造用酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、でんぷん、有機酸なども基質として増殖でき、廃水処理にも用いられている *Hansenula fabianii* など4種を用いた、実験はL字型試験管に培養液を6ml注入し、酵母を 0.83×10^6 cells/mlの初期濃度で植菌して、30℃の恒温室において6日程度60rpmで振とう培養することにより行った。なお、増殖量は検鏡法により得た菌体数に、一個体当たりの菌体重量を乗じて求めた。培養後、培養液を固液分離し、液相中の炭素、窒素についても分析を行った。

3. 実験結果と考察

可溶化処理で得られた可溶化液のDOC濃度、全窒素濃度を表2に示す。一般的に酵母培養の培養液には、炭素源としてDOC濃度で5000mgC/l程度、窒素源

表1 培養対象の酵母と培養液

	Run I	Run II	Run III
培養液			
浄化槽汚泥可溶化液	○		○
下水汚泥可溶化液	○		○
麦茶がら可溶化液	○		○
排水処理汚泥可溶化液	○		○
鹿牛乳	○		
鹿O J	○		○
浄化槽汚泥可溶化液+グルコース (0.5%)	○		○
下水汚泥可溶化液+グルコース (0.5%)	○		○
排水処理汚泥可溶化液+グルコース (0.5%)	○		○
浄化槽汚泥可溶化液+YNB (0.33%)	○		○
下水汚泥可溶化液+YNB (0.33%)	○		○
排水処理汚泥可溶化液+YNB (0.33%)	○		○
鹿牛乳+YNB (0.67%)	○		
鹿O J+YNB (0.67%)	○		○
鹿O J (25%) + 高糖水 (75%)		○	○
鹿O J (25%) + 浄化槽汚泥可溶化液 (75%)		○	○
鹿O J (25%) + 下水汚泥可溶化液 (75%)		○	○
鹿O J (25%) + 麦茶がら可溶化液 (75%)		○	○
鹿O J (25%) + 排水処理汚泥可溶化液 (75%)		○	○
高糖水 (25%) + 浄化槽汚泥可溶化液 (75%)		○	○
高糖水 (25%) + 下水汚泥可溶化液 (75%)		○	○
高糖水 (25%) + 麦茶がら可溶化液 (75%)		○	○
高糖水 (25%) + 排水処理汚泥可溶化液 (75%)		○	○
培養酵母			
<i>Hansenula fabianii</i> 1640	○	○	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	○	○	○
<i>Candida utilis</i>	○	○	
<i>Saccharomyopsis fibuligera</i>	○	○	

※ 可溶化液の処理条件：Run I、Run IIは条件①、Run IIIは条件②。

※ 表、図中のO Jはオレンジジュースをさす。

※ グルコースは炭素源、YNBは窒素源。

	DOC濃度(mgC/l)		窒素濃度(mgN/l)	
	条件①	条件②	条件①	条件②
浄化槽汚泥	3225	3758	819	811
下水汚泥	1546	4384	387	1007
麦茶がら	5486	7563	135	216
排水処理汚泥	1977	4988	299	750

が 200~400mgN/l 程必要である。条件②による可溶化液の DOC 濃度は条件①よりも上昇し、溶存態の有機性炭素が増加したことが確認された。全窒素についてもほぼ全ての可溶化液で 200mgN/l 以上の濃度が得られ、酵母の培養液としての条件を量的には満たしていると考えられた。

次に培養実験 Run I, II のうち下水汚泥可溶化液、廃オレンジジュースを試料とし、排水処理酵母 *H.fabianii* を培養した結果を図 1, 図 2 に示す。図 1 で、下水汚泥可溶化液より下水汚泥可溶化液+グルコースでの増殖量が大きくなり、下水汚泥可溶化液の炭素源不足を示している。一方、下水汚泥可溶化液と下水汚泥可溶化液+YNB の増殖量を比較するとほぼ等しく、下水汚泥可溶化液中での酵母の増殖に対し窒素が制限因子とはなっていないことが確認された。また、廃オレンジジュースより廃オレンジジュース+YNB の増殖量が大きいことから、廃オレンジジュースでは炭素より窒素が不足していると考えられた。

Run I の結果を踏まえ、Run II では各種汚泥可溶化液と、廃オレンジジュースを混合したものを培養液とした。図 2 で廃オレンジジュース+蒸留水、蒸留水+下水汚泥可溶化液よりも廃オレンジジュース+下水汚泥可溶化液の増殖量が多い。これより、混合した培養液において下水汚泥可溶化液は窒素源として、廃オレンジジュースは炭素源として機能していたものと考えられた。Run I, II において他の酵母種、可溶化液についても同様の傾向が見られた。

Run III では、可溶化実験において pH 調整をして処理(条件②)した可溶化液を培養液として実験を行った。実験の目的が可溶化液の比較であることと、その利用用途の広さとの理由から酵母は *Saccharomyces cerevisiae* とした。条件①よりも条件②で処理した下水汚泥可溶化液の増殖量が大きくなり、より酵母培養に適した可溶化液が得られたことが認められた。また、pH 調整による酵母の増殖への悪影響はないといえる。廃オレンジジュースと混合した培養液での結果を見ると、条件①で処理した下水汚泥可溶化液よりも条件②で処理した下水汚泥可溶化液を混合したもののほうがより増殖し、こちらも条件②の可溶化によりより酵母培養に適した培養液が得られたことが確認された。また、他の可溶化液を混合した場合も同じ傾向が見られた。

3. 結論

本研究の結果、各種可溶化溶液および廃オレンジジュースは、酵母の培養液として利用できることが確認された。また、各種可溶化溶液と廃オレンジジュースを混合した場合、それぞれ単独よりも酵母の回収バイオマス量が増大できることを明らかにできた。加圧加熱処理に関しては、酵母が摂取しやすい形態に炭素を低分子化せうる処理条件の検討および培養液中の炭素の形態把握と定量が、今後の課題としてあげられる。

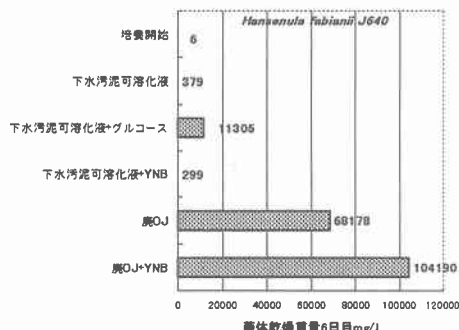


図1 菌体増殖量 (Run I)

※単位菌体重量: *H. fabianii*: 7.3×10^{-12} g 乾重/cell

S. cerevisiae: 2.1×10^{-11} g 乾重

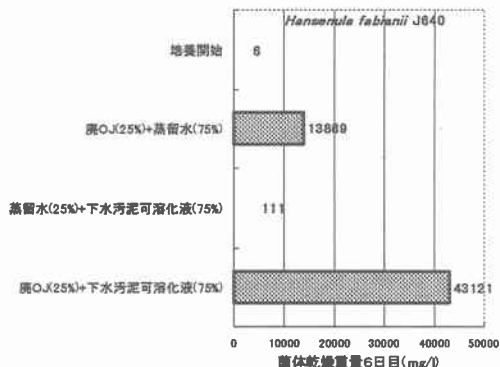


図2 菌体増殖量 (Run II)

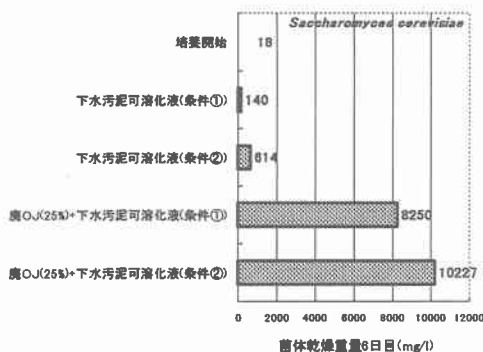


図3 菌体増殖量 (Run III)