

微生物を利用した生分解性プラスチックの高収率生産に関する研究

日大生産工 (院) ○清川 洋祐
日大生産工 神野 英毅

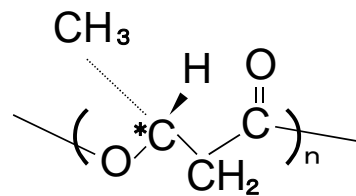
[緒言]

1996年の京都議定書の締結後、地球環境への意識が高まりつつあり、各国が協力して環境問題へと取り組み始めている。その中でCO₂排出権の取引が、ビジネスの一つとして成長している今、日常で多用される事の多いプラスチックの処分によるCO₂の排出のデメリットは、無視出来なくなりつつあるといえる。

プラスチックは丈夫で加工性に富み、また安価であるため現代社会において様々な産業分野で広く利用されている。しかし、大量生産が容易であるため、その廃棄量も極めて多く、それらの一般的な処理方法である焼却処分により、有害物質や温室効果ガスである二酸化炭素の発生を招く事は周知の通りである。また、環境中に投棄された場合は自然に分解されにくく、地中に埋められても長期間原型を留めてしまう事や、海洋などの自然環境中に不法投棄された場合の海洋生物による誤飲も報告されており生態系への影響は大きいと考えられる。

以上の理由から、近年では環境負荷の少ない生分解性プラスチックが注目されている。これらは、環境中に廃棄したとしても、土壌中の微生物により水と二酸化炭素に分解される。二酸化炭素を排出する点においては、従来のプラスチックと同じという意見もあるが、生分解性プラスチックは食物連鎖のサイクルを流れていく二酸化炭素を同化した物であり、大気の組成

を変化させない。その中でも、高い分解性を持つものの一つとして、微生物により産生されるpoly-β-hydroxybutyrate (以下PHB)が上げられる。そのPHBの構造をFig.1に示す。



* : Asymmetric carbon
Fig. 1 Structure of PHB

しかし、PHBの生産には、長い時間がかかり、高コストであるという欠点がある。

そこで、連続生産方法を含めた各種の実験により改善を図ったので、その結果を報告する。

[目的]

PHBの量産を行うために、三つの方向からのアプローチを考えている。

まず、より安価で効率の良い培地の検討。次に、生産プロセスの改善。

そして、新規菌体の探索である。研究は、この三つを柱として行った。

[使用菌体]

生産実験には、有機酸資化能力が高く、生育速度の速いため、産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに保管されている、三宅らによ

Study on the high yield production of biodegradability plastic by microbe

Yousuke KIYOKAWA, Hideki KOHNO

り茨城県つくば地域から単離された紅色非硫黄性光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を使用した。¹⁾

[実験方法]

保存菌体を、aSy 培地で満たした 20 ml 試験管に加え、30°C, 1.5 klux 条件下で 48 時間培養を行い、菌の活性化を行った。

その後、1.2 l メディウム瓶に先の試験管全量の培養液を加え aSy 培地で満たし 30°C, 5.0 klux 条件下で 24 時間培養し、菌の増殖を行った。次に、生産培地と前培養菌体液を等量混合し 600 ml 培養瓶で 30°C, 10 klux で pH を 8.5 に保持し実験を開始した。

培地の検討においては、窒素源を硫酸アンモニウムと尿素で比較し、96 時間培養を行い、八時間ごとにサンプリングし HPLC にて分析を行った。これは、*Rh. sphaeroides* RV 株による PHB 生産は、塩基側にシフトした pH が 8.5 のときに菌体内への PHB 蓄積量が最大になるという報告が鈴木らによってされているためである。²⁾

生産プロセスの改善においては、吸光度変化より培地の交換期を見極め、五回の連続生産を行った。これも同様にサンプリングを行い、HPLC にて分析を行った。

新規菌体の探索においては、偏性嫌気性光合成細菌の選択培地を用いて、30°C, 1.5 klux 条件下で培養を行い、湖沼サンプルから菌体を単離した。

[結果および考察]

まず、新規菌体の探索における結果、湖沼から嫌気性の光合成細菌の単離に成功し数サンプルを得たが、いずれも成長速度が本実験での使用菌体と比べ遙かに遅く、初期の選定条件を満たすものは無かった。

次に、培地における成分変化の影響検討においては、窒素源を硫酸アンモニウムと尿素の比較を行い、それぞれの生産量を Fig. 2 に示した。実験の結果、吸光度より求めた菌体増加において、尿素での増加速度は若干優れており、生産

量も尿素の方が優れていた。そのため今後の実験においては、窒素源を尿素として行う事を決定した。

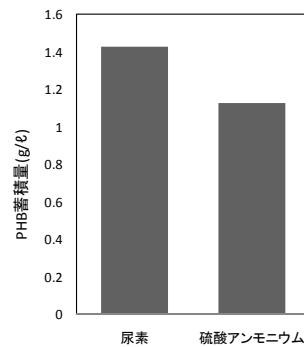


Fig. 2 窒素源の比較

最後に、連続生産方法の検討における 264 時間で計五回連続での生産実験から、その挙動について 8 時間毎のサンプリングにて解析した。その結果を Fig. 3 に示す。それを基に効率を比較すると、通常は前培養に二日、本培養に一日、生産培養に二日で、五日間で一サイクルとなるが、連続生産の場合、一回目は同様に五日間だが、その 75%w を回収し、残り二次生産が二日間で可能となり、長期になる程有利になる事が分かる。一ヶ月間 (30日間) での総生産量を比較すると、連続生産では 13.49g となり、通常の培養の 7.80g の約二倍となった。

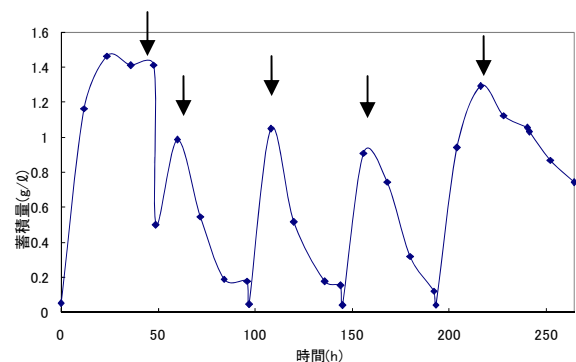


Fig. 3 連続生産におけるPHB蓄積量

[参考文献]

- 1)Miyake, J., et. al. : *J. Ferment. Technol.*, 64, 245-249 (1986)
- 2)Suzuki, T., et. al. : *Biotechnol. Lett.*, 17, 395-400 (1995)