

微生物利用による廃液からのプラスチックの生産に関する研究

日大生産工（院）○大竹 優, 日大生産工 神野 英毅

1 まえがき

生分解性プラスチックは、使用時には普通のプラスチックと同様に使用でき、廃棄されたときには、最終的に水と二酸化炭素にまで分解されて環境のサイクルに組み込まれることが可能なものである¹⁾。その中でも多くの微生物が産生する生分解性プラスチック²⁾の一つであるポリ-β-ヒドロキシブチレート（PHB）は特に分解性に優れている³⁾といわれており、早期の分解を目的とした場面での利用が期待されている。しかし微生物による生産は効率が悪く、高収率化が工業的生産への大きな課題となっている。また、微生物による生産の研究の多くは基質に試葉を用いた⁴⁾ときのものであり、工業化の際に同様に試葉を用いるとなると原材料コストがかさむ事は言うまでも無い。一方、人間は一人当たり一日に 1 kg のゴミを排出して生活をしている¹⁾といわれているが、その中の約 30 %は焼却処理に適さない含水率の高い生ゴミである⁵⁾。家庭用、産業用を問わず生ゴミ処理や廃液処理には多く微生物が用いられているが、その中に残存する有機酸や糖類など、様々な栄養素は利用されていないままである。実質的に原材料費のかからない食品工業の廃液や生ゴミなどを基質成分とした生産を行うと、安価な PHB 生産の実現が可能となる。本研究では有機酸からの PHB 菌体内蓄積能力に優れ、アンモニアへの耐性を有している光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株を用いた廃液からの PHB 生産の工業化に向けた実験と、生ゴミ中に存在する糖を迅速に乳酸化するために *Lactobacillus plantarum* を乳酸発酵菌体として加えた Co-culture での生産時間の短縮化と高収率化を目指した実験を行った。

2 実験方法

2-1 使用菌体

2-1-1 *Rhodobacter sphaeroides* RV 株

三宅らが茨城県つくば地域より単離した紅色非硫黄光合成細菌 *Rh. sphaeroides* RV 株⁷⁾を PHB 生産菌体として用いた。*Rh. sphaeroides* RV 株は PHB 蓄積能力に優れており、窒素飢餓条件下での菌体内への PHB 蓄積量は 60~80% となる。また、廃液に含まれるアンモニアへの耐性を持っており、有機酸資化能力に優れていることから、食品工業廃液や生ゴミからの PHB 生産に適していると考えられる。

2-1-2 *Lactobacillus plantarum*

Japan collection of microorganisms より供与された乳酸菌 *Lb. plantarum* を生ゴミ処理能力を向上させる為に乳酸発酵菌体として用いた。

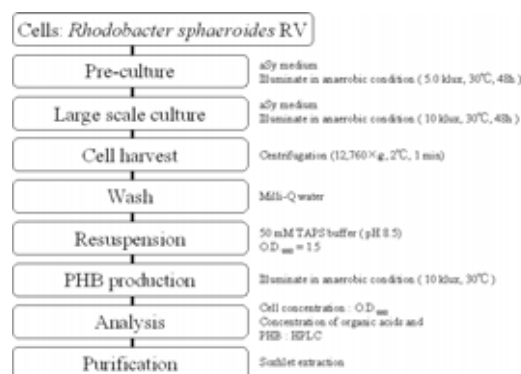


Fig 1 PHB production

3 結果

3-1 PHB 生産

混合菌体を用いた PHB の生産は、*Rh. sphaeroides* RV 株と *Lb. Plantarum* の混合比を①2:1、②1:1、③1:2、④0:1 に調製した 4 系での実験を行った。結果、サンプル①のときには、PHB の最高蓄積量に達する時間が 96 時間で、蓄積量は 7.8 g であった。②及び③のときには

72 時間で蓄積され、生産時間は *Rh. sphaeroides* RV 株のみでの培養から 48 時間の短縮がなされた。また、そのときの蓄積量は②、③それぞれ 8.6 g、8.1 g であった。④の *Lb. Plantarum* のみの培養では PHB の蓄積は確認されなかった。

3-2 PHB 生産時の基質有機酸量変化

モデル廃液からの PHB 生産を行ったときの基質中有機酸量の変化を測定した。そのときに特徴的な変化を示した乳酸とギ酸の変化について特に注目した。乳酸量は、*Rh. sphaeroides* RV 株のみの系では乳酸はすぐに消費されて、培養開始から 48 時間目には確認できなくなっていた。しかし *Lb. Plantarum* を混合した系では、乳酸菌の混合比が高いほど乳酸量の増大がみられた。乳酸量が最大になった時間は、*Rh. sphaeroides* RV 株と *Lb. Plantarum* の混合比が 2:1 のものでは培養開始から 48 時間目、1:1 と 1:2 のものでは 72 時間目であった。また、乳酸菌のみの系でも 96 時間目以降は乳酸量の減少が確認された。PHB 生産に利用されずに、菌体増殖量を抑制する有機酸の一つであるギ酸^{3), 6)}の蓄積量の測定結果では、*Rh. sphaeroides* RV 株のみの系ではギ酸量が培養開始から増加して、72 時間目には濃度が 50 mM で最大となり、その後もギ酸は消費されずに蓄積していた。しかし *Lb. Plantarum* を混合した系では、乳酸菌の割合が多いほどギ酸の蓄積量は下がり、*Rh. sphaeroides* RV 株と *Lb. Plantarum* の混合比が 2:1 のものでは 40 mM の蓄積、1:1 のものでは 32 mM、1:2 のものでは 31 mM であった。

4 考察

本実験では *Rh. sphaeroides* RV 株を使用した廃液からの PHB 生産に利用されていない成分を効率よく PHB の基質として利用可能な有機酸に変換し、生産性の向上と生産時間の短縮を図るために *Lb. plantarum* を乳酸発酵菌体として加えた混合培養系での PHB の生産を行った。

Rh. sphaeroides RV 株のみを使用したモデル廃液からの PHB 生産では、酢酸を炭素源とした標準的な培地での生産よりも 2 倍以上高い生産量を示したが、生産時間が長くなった。これは *Rh. sphaeroides* RV 株が基質として利用しにくい成分が含まれていることが原因

であると考えられた。そこで、*Rh. sphaeroides* RV 株が未利用の成分を利用可能なかたちに変換するために糖を有機酸化する能力に優れた菌体として *Lb. Plantarum* を混合した。

Lb. Plantarum を混合した系では、乳酸菌の混合割合が高いほど基質中に分泌される乳酸量が増大した。これは乳酸菌により未利用の糖類が乳酸に変換されたためであると考えられた。また、蓄積するギ酸量が減少したことから、*Rh. sphaeroides* RV 株のみでの培養よりも PHB 生産に適していることが確認された。

Rh. sphaeroides RV 株は有機酸資化能力に優れているが、生ゴミ中に含まれる糖類を基質として用いることが難しい菌体であるため、糖類を有機酸に変換する必要がある。乳酸菌が糖を有機酸化し、*Rh. sphaeroides* RV 株が有機酸を用いて効率よく PHB に変換することにより混合菌体系での生産実験では、生産時間を短縮することにより生産効率を高めることが可能になったと考えられた。

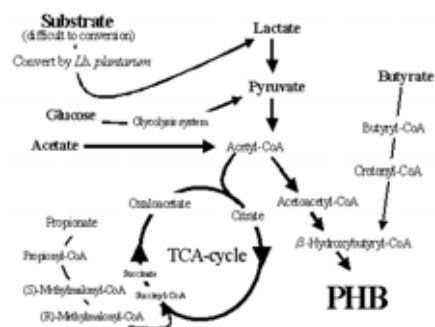


Fig 8. PHB biosynthesis

5 参考文献

- 1), 伊勢 直人 : 生ゴミ・有機性廃棄物のリサイクルと市場動向, 付録-171-202 (1995).
- 2), Rehm, B. H.A., Antonio, R. V., Spiekermann, P., Amara, A.A. and Steinbuchel, A., : *Biochemica et Biophysica Acta.*, 36522, 1-13 (2001).
- 3), 吉川 浩司 : 日本大学生産工学部 平成 13 年度 修士論文(2002).
- 4), Tohyama, M., Patarinska, T., Ziwen, Q and Shimizu, K., : *Biochem. Eng. J.*, 3571, 1-17 (2002).
- 5), 森 忠洋 : やってみませんか家庭でできる生ゴミの処理, 4-6 (1997).
- 6), 大竹 優 : 日本大学生産工学部 平成 13 年度 学士論文(2002).