

# *Rhodobacter sphaeroides* RV 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

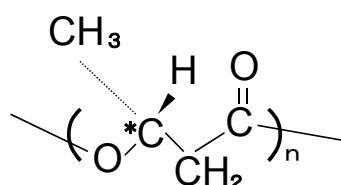
日大生産工（院）    ○清川 洋祐  
日大生産工            神野 英毅

## [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。

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。

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、土壤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自然界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 1 つとして、微生物により産生される poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (以下 PHB: Fig. 1) 上げられる。



\* : 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り、連続生産方法を含めた各種の実験により改善を試みたので、その結果を報告する。

## [目的]

PHB の低コスト化を行うために、本研究では、

1. 生活排水からの効率的 PHB 生産
2. 生産方法の改善

に焦点を置き、原材料の転換と、PHB 生産の研究を進めていく。

## [使用菌体]

実験には、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、*Rhodobacter sphaeroides* RV 株を使用した<sup>1)</sup>。

本菌は、三宅らにより茨城県つくば地域から単離された偏性嫌気性の紅色非硫黄性光合成細菌で、有機酸資化能力が高く、生育速度の速いため、本菌を使用した。

本菌は、菌体増殖にはやや酸性側の pH が 6.8 の時が最適であるが、PHB 生産は、塩基側にシフトした pH が 8.5 の時に最大になるという報告が鈴木らによってされている<sup>2)</sup>。

## [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℃、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℃、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

---

## Study on the High Yield Production of Biodegradability Plastic by *Rhodobacter sphaeroides* RV

Yousuke KIYOKAWA and Hideki KOHNO

600 ml 培養瓶で 30℃, 10 klux で pH を 8.5 に調整し実験を開始した。

## 1. 生活排水からの生産検討

生活排水の一例として、米の研ぎ汁をベースに pH を調整した生産培地を使用し 96 時間培養を行った。サンプリングは、8 時間ごとに行い HPLC にて各種有機酸の分析を行った。

## 2. 生産プロセスの改善

通常の培養では、48 時間目に PHB 生産量は最大となり、その後は菌体活動により減少していく。そこで、PHB 生産量が最大となる 48 時間目で、菌体培養液の 75% を回収し、同量の生産培地を加え、PHB 生産の連続培養を試みた。この場合も、上記と同様に 8 時間ごとのサンプリングと、有機酸分析を行った。

[結果および考察]

### 1. 米の研ぎ汁からの生産実験

培地中には培養前には確認されなかった、コハク酸、酢酸、ギ酸の存在が確認できた。徐々に濃度が上昇したコハク酸は、RV が代謝しやすい有機酸であるため、米の主成分である澱粉や糖等の炭素源の資化過程において生産されたと考えられる。PHB 生産に最も関係する酢酸濃度は、16 時間毎に大きく増減した。これは、PHB がエネルギー蓄積物質であり、資化しにくい物質を取り込み、代謝する際に PHB が分解され、酢酸が分泌されるためである。

PHB 生産量を Fig. 2 に示した。グラフから分かるように、通常得られるような大きなピークではなく、PHB 生産量は約 0.55 g/l であった。これは、上記の理由から 0.55 g/l で、PHB の生産と分解が平衡となったためと考えられる。

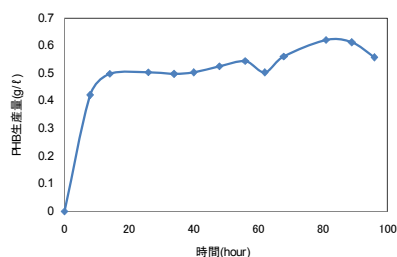


Fig. 2 米の研ぎ汁培地中のPHB生産量変化

## 2. 連続生産方法の検討

菌の回収と培地追加による 5 回の連続生産実験から、その挙動について HPLC にて分析した結果を 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 2 日、本培養に 1 日、生産培養に 2 日で、5 日間で 1 サイクルとなるが、連続生産の場合、1 回目は同様に 5 日間だが、その 75%w を回収し、残りで 2 次生産が 2 日間で可能となり、長期になる程有利になる事が分かる。30 日間での総生産量を 600 ml スケールの培養系で比較すると、連続生産では 13.49g となり、通常の培養の 7.80g の約 2 倍となった。

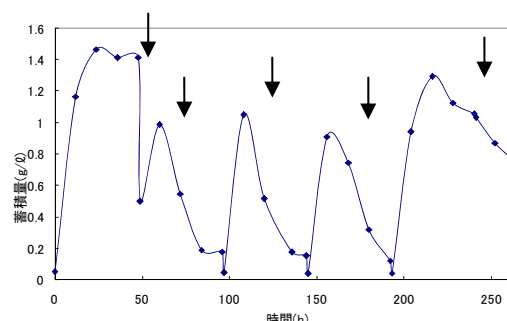


Fig. 3 連続生産におけるPHB蓄積量

[結論]

培養方法の改善による生産量の向上は、30 日間で比較した場合 Fig. 4 に示される様に約 1.5 倍の生産量となる。

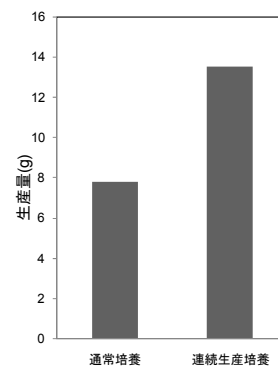


Fig. 4 30日間の総生産量比較

この方法は、回数を重ねるご

とに生産に有利となり、また、生ゴミ等の培地と組み合わせることにより、コスト面での向上も考えられ、本実験の目的である低コスト化が図れたと考えられる。

[参考文献]

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