

M304

硫酸ナトリウムを利用した *Saccharomyces cerevisiae* 包括 PVA ゲルビーズの作製

(九大院工)〇(学)池田薫子・(正)武井孝行*・(正)境 慎司・(正)井嶋博之・(正)川上幸衛

【緒言】

微生物は物質生産やバイオレメディエーションに用いられている。微生物の固定化は、その微生物の繰り返し使用を容易にし、有害物質から微生物を保護できるなどの利点を有している。

ポリビニルアルコール(PVA)は、安価で微生物に対する毒性がないため、微生物固定化用材料として広く用いられている。PVA ゲルビーズの調製法の一つに、微生物を懸濁した PVA 水溶液をホウ酸水溶液に滴下し、ホウ酸により PVA 分子を架橋する方法¹⁾がある。しかし、この方法では、ホウ酸が微生物に有害であるという問題がある。そこで、より低毒性なリン酸塩を用いて PVA 分子を架橋するリン酸塩架橋 PVA ゲルビーズが調製されている²⁾。

一方、近年、架橋剤として硫酸ナトリウムを用いた酵素固定化 PVA ゲルビーズ調製法が報告されている³⁾。本研究では、リン酸塩に代わる新たな微生物固定化用架橋剤として硫酸ナトリウムの有用性を評価することを目的とした。包括微生物には *Saccharomyces cerevisiae* (NBRC 0216)を用いた。

【実験方法】

1. PVA ゲルビーズの調製

・ホウ酸架橋 PVA ゲルビーズ

酵母を懸濁した 0.8%アルギン酸ナトリウム/10%PVA 水溶液を 100 mM 塩化カルシウム/飽和ホウ酸水溶液に滴下し、2時間攪拌した。

・リン酸塩架橋 PVA ゲルビーズ

酵母を懸濁した 0.8%アルギン酸ナトリウム/10%PVA 水溶液を 100 mM 塩化カルシウム/飽和ホウ酸水溶液に滴下し、1時間攪拌した。その後、1.0 M リン酸二水素ナトリウム水溶液に投入し、1時間攪拌した。この調製法は最も多く採用されている方法である。

・硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズ

酵母を懸濁した 0.8%アルギン酸ナトリウム/10%PVA 水溶液を 100 mM 塩化カルシウム/飽和ホウ酸水溶液に滴下し、30分間攪拌した。その後、硫酸ナトリウム水溶液(0.1 M、0.5 M、1.0 M または 1.5 M)に投入し、1.5時間攪拌した。

2. エタノール発酵試験

ゲルビーズ 1 g (湿重量) を 30°C、窒素雰囲気下において酵母培養培地 10 ml 中で培養した。エタノールはガスクロマトグラフィーを用いて定量した。

【結果と考察】

1. PVA ゲルビーズ粒径の比較

まず、ゲルビーズの耐久性の指標として、調製直後のゲルビーズの粒径を比較した (Table.1)。0.1 M 硫酸塩架

Table.1 調製直後のゲルビーズ粒径(n=90~120)

PVA ゲルビーズの種類	ゲルビーズ粒径 [mm]
ホウ酸架橋 PVA ゲルビーズ	2.32±0.17
リン酸塩架橋 PVA ゲルビーズ	2.35±0.16
0.1 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズ	3.19±0.25
0.5 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズ	2.53±0.19
1.0 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズ	2.33±0.19
1.5 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズ	2.31±0.14

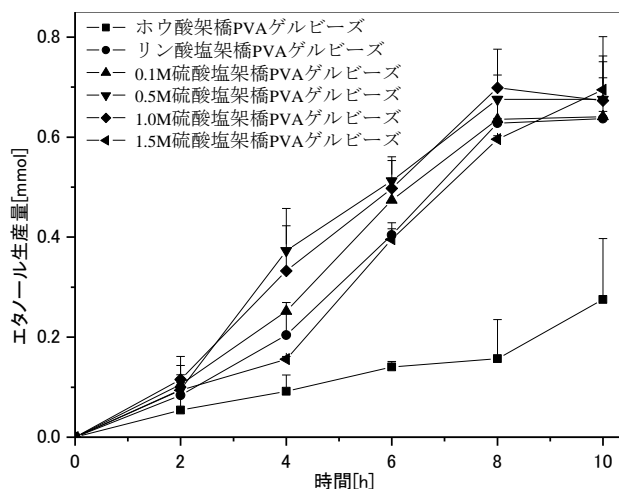


Fig.1 各ゲルビーズによるエタノール生産量(n=3, bars:SD)

橋 PVA ゲルビーズ以外のゲルビーズでは、違いは見られなかった。0.1 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズのみ粒径が大きかった。この原因は、PVA の架橋が不十分であるためと考えられる。

2. エタノール発酵試験

Fig.1 に各ゲルビーズでのエタノール生産量を示す。ホウ酸架橋 PVA ゲルビーズのエタノール生産速度は最も低かった。これは、ホウ酸により包括酵母が傷害を受けたためであると考えられる。一方、0.1 M、0.5 M および 1.0 M 硫酸塩架橋 PVA ゲルビーズのエタノール生産速度は、リン酸塩架橋 PVA ゲルビーズと同等、もしくはそれよりも高かった。

これらのことから、硫酸ナトリウムは微生物固定化 PVA ゲルビーズを作製するための新たな架橋剤として有用であることが示された。

【参考文献】

- 1) Kuo-Ying Amanda Wu et al, *Biotechnol. and Bioengineering*, 1992
- 2) Kuo-Cheng Chen et al, *Enzyme Microb. Technol.*, 16, 1994
- 3) Ani Idris et al, *Process Biochemistry*, 43, 331-338, 2008

*E-mail: takei@chem-eng.kyushu-u.ac.jp