

東京大学 学 〇長瀬 道彦
 東北大学 正 花本 啓祐
 東京大学 正 松尾 友矩

1. はじめに

嫌気性消化における蛋白質の分解過程については、主として揮発酸の生成によってとらえられているが、蛋白質の加水分解、アミノ酸の脱アミノ反応まで詳しく調べた例は少ない。本報は、実際のプロセスにおける蛋白質の分解機構とそれに伴う問題点を探るための前段階として行なった。カゼイン、アミノ酸を基質にした実験によって得られた若干の知見を報告するものである。

2. 実験方法

(1) 実験装置…実験は、ミルクで連続培養した汚泥を使ってすべてバッチ条件で行なった。装置としては、図-1に示される容量2ℓの反応槽あるいは容量約38 mlのバイアルを用い、温度は37±1℃に維持した。

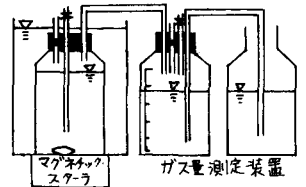


図-1. 実験装置

(2) 基質 蛋白質としては市販のカゼインを使用した。アミノ酸には、グリシン、アラニン、バリンの3種を選んだ。その他、グリシンとアラニン、グリシンとバリンを同時に基質にした実験も行なった。

(3) 分析方法…メタン生成量はガス量測定装置の読みと、ガスクロマトグラフィーによるガス組成とから算定した。遠沈上ずみ(3500rpm, 5分)に対してNH₃-N、アミノ酸、揮発酸を定量した。NH₃-Nはインドフェノール法¹⁾、アミノ酸はニンヒドリン法²⁾、揮発酸はガスクロマトグラフィーによった。

3. 実験結果および考察

(1) 蛋白質の分解…蛋白質の加水分解によって生じる種々のアミノ酸はほとんど上ずみ中には蓄積しなかった。また、図-2によって、アミノ酸のアミノ基のNはほぼ100% NH₃-Nとして回収されると考えられる。従って蛋白質の加水分解、更にアミノ酸の分解の程度が、NH₃-Nの推移によってだいたい評価しうるものと考えられる。

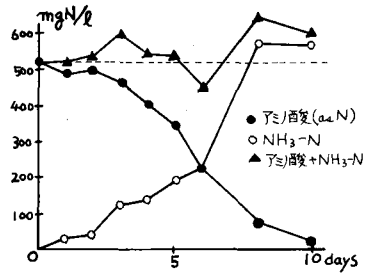


図-2. グリシンの脱アミノ過程

(2) アミノ酸の分解過程

① 蛋白質、アミノ酸からのNH₃生成…図-3に示されるように種々のアミノ酸から成るカゼインの方が、単一のアミノ酸であるグリシンよりも脱アミノによるNH₃の生成は速やかである。これは汚泥がミルクで馴致されていることにもよるが、後述するスティックランド反応の起きている可能性も示唆するものである。

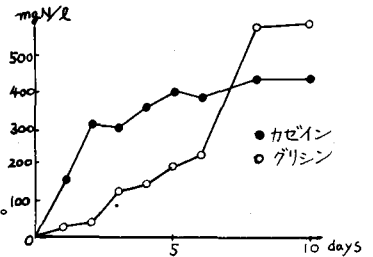


図-3. カゼイン、グリシンからのNH₃生成

② 単一アミノ酸の分解…アミノ酸の脱アミノによる酸生成速度、更にそれに続くメタンへの転換速度には、種類によってかなり差がある(図-4,5)。原因として考えられることは、汚泥の細菌相、各アミノ酸固有の分解経路である。

③ 2種のアミノ酸の同時分解…図-6に、バリンを単独で基質にした場合と、グリシンと同時に基質にした場合との、揮発酸生成のしかたの違いを示す。揮発酸の種類は同じだが、グリシンと組み合わせた方が、バリン単独の場合よりもイソ酪酸の生成が速く、高濃度に蓄積することがわかる。また酢酸の蓄積量はバリン単独の方が

大きくなる。
揮発酸への転換(CODに換算した累積値)も2種を組み合わせることにより、単独の場合よ

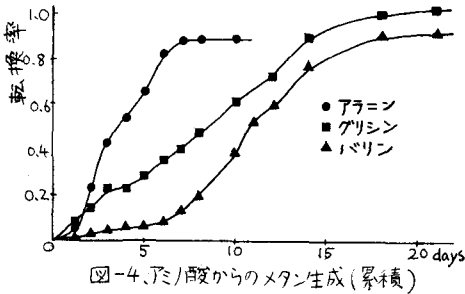


図-4. アミノ酸からのメタン生成(累積)

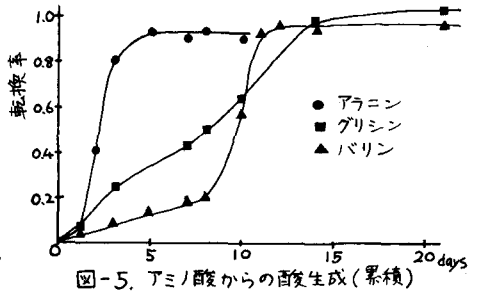
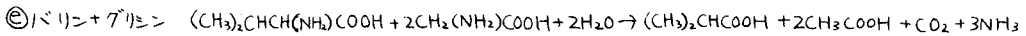
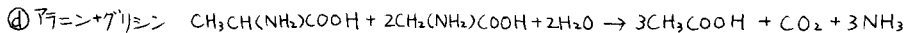
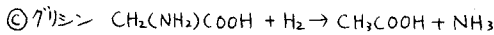
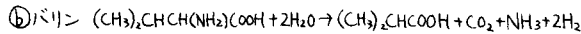
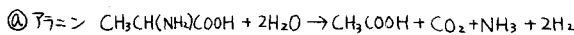


図-5. アミノ酸からの酸生成(累積)

りもかなり速くなっている(図-7)。アラニンの場合も、グリシンと同時に投与することにより、揮発酸への転換が若干促進されている。

④ 考えられるアミノ酸の分解経路…嫌気条件下でアミノ酸が脱アミノされる場合、 H_2 供与による脱アミノと H_2 受容体による脱アミノが共役するスティックランド反応によるのがふつうである³⁾。 H_2 供与体になるか、 H_2 受容体となるかは各アミノ酸によって決まっている。

本実験において、カゼインの分解、3種のアミノ酸の分解について得られた3の(2)の①~③の事実は、嫌気性消化においてスティックランド反応が起きている可能性を示すものであると考えられる。特に今回使った3種のアミノ酸の脱アミノ反応は以下のように表わすことができる(バリン、アラニンは水素供与体、グリシンは水素受容体になると考えられる)。



バリンとグリシンを組み合わせた場合、イソ酪酸の生成が活発化するの⑤の反応が起きているためだと考えられる。単独のアミノ酸の分解においては、メタン生成菌が共存することによって H_2 分圧が低く保たれる結果、脱アミノが促進される効果が期待できる。

4. まとめ

本研究では、嫌気性消化において蛋白質の分解の際スティックランド反応が起こっている可能性が示された。しかし各アミノ酸が単独で分解される場合も多く、今後更に実験事実を積み重ねていく必要がある。またメタン生成菌との H_2 授受の観点から検討を要するだろう。

<参考文献> 1) 日本海洋学会編;「海洋環境調査法」 恒星社厚生園(1979)

2) 日本生化学会編;「生化学実験講座 11 アミノ酸代謝と生体アミン(4)」東京化学同人(1976)

3) R.スタニエ他(高橋他訳);「微生物学(F)」培風館(1979)

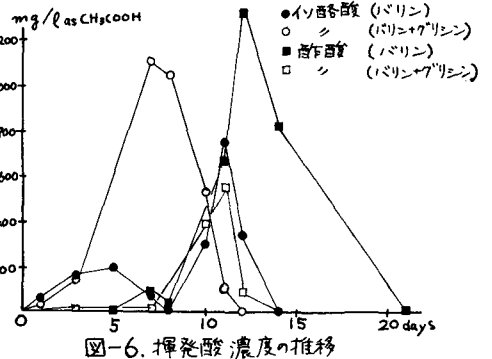


図-6. 揮発酸濃度の推移

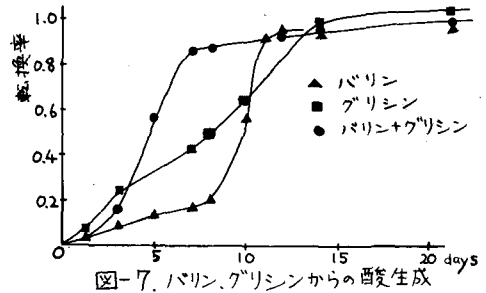


図-7. バリン、グリシンからの酸生成

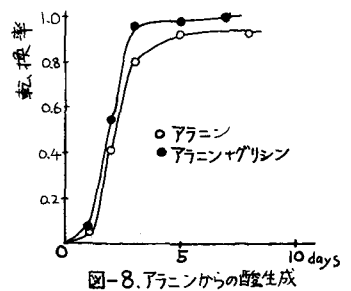


図-8. アラニンからの酸生成