

東京大学 学 ○長瀬 道彦

同上 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については、これまであまり詳細に調べられていない。筆者らは前報において、蛋白質とその加水分解生成物のアミノ酸の分解実験の結果を報告した。今回は、アミノ酸分解菌とメタン生成菌との相互作用に着目していくつかの実験を行なったので、知見を報告する。

2. 実験方法

スキムミルクで連続培養した汚泥を使って、実験はすべてバッチ条件で行なった。実験装置はFig. 1に示した、容量約120mlの採血管びん(バイアル)である。手順は、空のバイアルに基質を量りとり、汚泥を適量加えたのちゴムキャップを施し、空隙を混合ガス(N_2+CO_2)で置き換え、アルミシールで密封し、 $37\pm 1^\circ C$ の恒温槽に浸しておく、というものである。基質はアミノ酸3種(アラニン、バリン、ロイシン)と蛋白質3種(カゼイン、卵白アルブミン、ゼラチン)である。メタン生成を阻害する場合は、クロロホルムを添加した(添加量 $16.7\mu l/l$)。ガス発生量測定、ガスサンプリング、液体サンプリングには、それぞれ専用の注射器を用いた。分析項目はガス組成、揮発酸、 NH_4-N であるが、分析方法は前報の通りである。

Fig. 2に示されるように、揮発酸への累積転換率と NH_4-N 生成率とは、ほぼ同じ傾向を示すので、以下の議論では、揮発酸への転換率のみを使った。

3. 結果および考察

① 単独アミノ酸の分解に対するクロロホルムの効果—Fig. 3~5に

アラニン、バリン、ロイシンの3種のアミノ酸について、クロロホルムを添加した場合としない場合とで、酸生成がどのように違うかを示した(クロロホルムの添加によってメタン生成は100%近く阻害されている)。アラニンの場合、クロロホルムの添加によって酸への転換はほとんど影響を受けていない。しかし、バリンとロイシンでは、クロロホルム添加による酸生成の遅れはFig. 4, 5より明らかである。Fig. 6, 7には、アラニン、バリンから生成する揮発酸の濃度推移を示した。クロロホルム無添加時にはアラニンの分解生成物は酢酸のみであるのに対して、クロロホルム添加時にはプロピオン酸も同時に生成している。バリンの場合はクロロホルムを添加しても揮発酸の組成に大きな変化はないが、イソ酪酸と同程度の酢酸が蓄積するようになる。なお、クロロホルムを添加しても、バイアル空隙中には水素はほとんど検出されなかった。

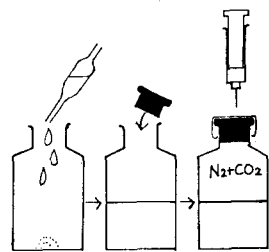


Fig. 1 実験装置

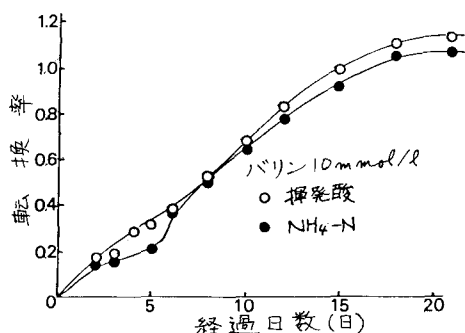
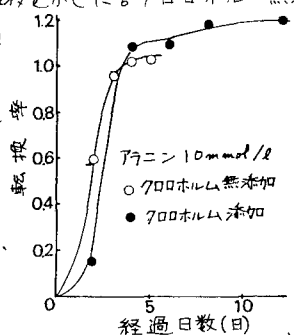
Fig. 2 酢酸生成と NH_4-N 生成

Fig. 3 アラニンからの酸生成

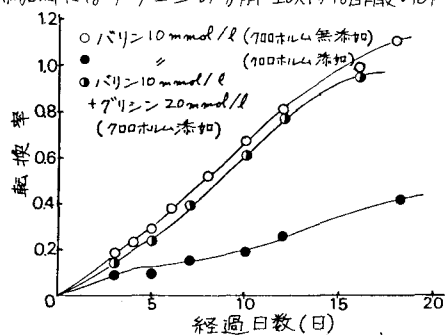
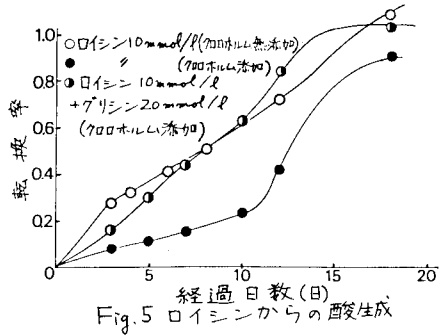


Fig. 4 バリンからの酸生成

② アミノ酸ペアの分解に対するクロロホルムの効果--- Fig. 4.

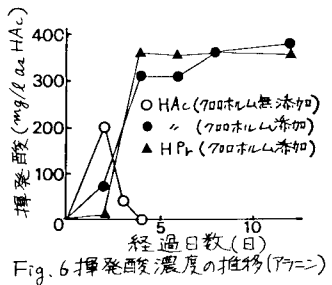
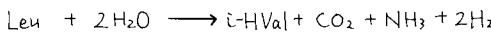
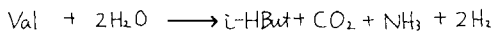
5には、それぞれバリン、ロイシンにグリシンを同時に加えたものにクロロホルムを添加した場合の酸生成過程もあわせて示した。どちらも単独の場合に比べて、クロロホルム添加時の酸生成阻害が小さくなっていることがわかる。アラニンでは、グリシンが存在すると、クロロホルム添加時にプロピオン酸の蓄積濃度が少し低下することが観察された。



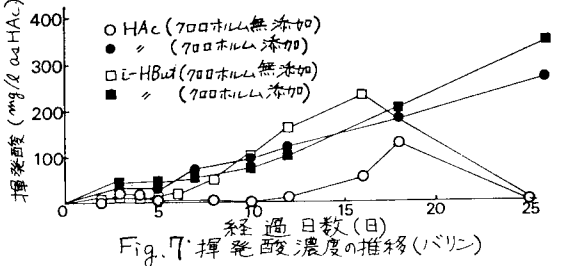
③ 蛋白質の分解に対するクロロホルムの効果--- Fig. 8には、3種の蛋白質からの酸生成に対するクロロホルムの効果を示した。

いずれの場合も、クロロホルム添加による酸生成阻害はほとんどないといっよいだろう。水素はやはりほとんど検出されなかった。

④ 考えられる、アミノ酸分解菌とメタン生成菌との相互作用--- アラニン、バリン、ロイシンは、*Clostridium* 属の細菌によって、水素受容体となるアミノ酸(グリシンなど)と組みあわせて次のように分解される。



実験①は、水素受容体となるアミノ酸が存在しなくても、メタン生成菌が水素受容体となることによって上の反応がおこるかどうかを調べようとしたものだが、クロロホルムを添加しても水素の蓄積がみられなかったため、直接の証拠は得られなかった。しかし、メタン生成が阻害されると、アミノ酸の分解経路が水素を出さないものに変えること、あるいは一旦生成した水素が *Clostridium*



aceteticum などによって酢酸に転換されることが考えられる。グリシンが存在すると、メタン生成阻害が酸生成に及ぼす影響が小さくな

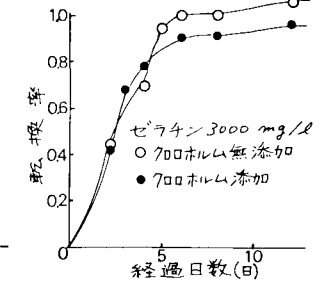
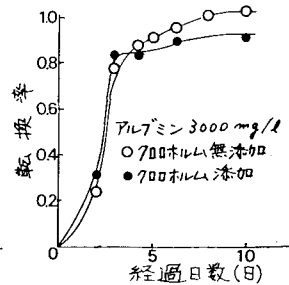
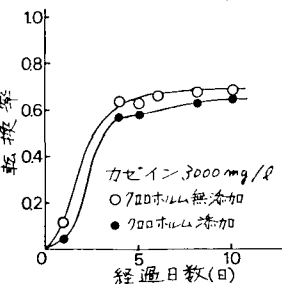


Fig. 8 蛋白質からの酸生成

たが、これはグリシンが水素受容体となったためであろう。蛋白質からの酸生成が、メタン生成阻害にかかわりなく発酵に起こったのは、アミノ酸の組みあわせ分解によるものと考えられる。

4. まとめ

アラニン、バリン、ロイシン等のアミノ酸の分解時には、メタン生成菌が水素受容体となっていることが考えられる。蛋白質などのように、適当なアミノ酸の組みあわせ分解では、アミノ酸の間で水素の授受が起こるので、メタン生成が阻害されても大きな影響は受けないであろう。

<参考文献> 長瀬、花木、松尾：土木学会第35回 年講