

VI-57 土壤微生物による高分子多糖の分解資化について

鴻池組 技術研究所 正 吉田清司
同 上 正 岡村昭彦
同 上 正 橘 敏明

1. はじめに

近年、地球環境問題がクローズアップされ、地球にやさしいということが、一つのトレンドになっている。筆者らは、先に環境浄化の観点から、有機高分子を主体にした軟弱性泥土改良剤の土壤微生物による分解性について報告したが¹⁾、掘削立抗のある地層から分離された細菌は、改良剤をまったく分解することができなかった。一方、ある物質を直接分解することができない細菌は、他の細菌によって分解された部分分解物や代謝産物等を資化利用することで間接的に物質分解に寄与することが知られている。そこで、今回、高分子多糖類を主成分とする泥土改良剤を用いて改良剤を直接分解することができる細菌（分解菌）と分解できない細菌（非分解菌）とを土壤から分離し、非分解菌による高分子多糖の資化分解について検討したので報告する。

2. 材料及び方法

2-1 材料

2-1-1 高分子多糖 高分子多糖は表-1に示す市販の泥土改良剤を水道水に溶解して、固形分を9,000rpmで遠沈除去しその上清を用いた。

2-1-2 培地 細菌の分離培養には、栄養培地（beef extract 3g, yeast extract 3g, polypeptone 10g、水道水 1ℓ、pH7.2）及び多糖を炭素源とした合成培地¹⁾を用いた。

2-1-3 細菌 多糖分解菌は表層土壌から分離し、非分解菌は地下18mの掘削土から分離した。

2-2 実験方法

2-2-1 培地の調製 培地はすべて115℃、20分間加熱処理を行った。平板培地は1ℓ当たり15gの寒天を添加して調製した。

2-2-2 細菌の分離 多糖分解菌は多糖を唯一の炭素源として常法に従って分離した。非分解菌は、平板栄養培地にコロニーとして生育したものを多糖を炭素源として調製した液体合成培地に接種し、30℃、48時間培養して培地の粘性低下のないことを確認して用いた。

2-2-3 培養 培養は、分離した細菌を栄養培地で前培養し0.2%多糖合成培地に1/100量接種し、30℃で振とう培養を行った。培養後培地をさらに継続培地として用いる場合は、菌体を遠沈除去した上清をオートクレーブ処理して用いた。

2-2-4 多糖の分解資化性の判断 多糖が細菌によって分解資化されたかどうかは前報¹⁾の方法、すなわち培養液の粘性低下、増殖に伴う濁りを示すOD

表-1 改良剤の物性

強熱減量 (%)	含水率 (%)	CaO (%)	その他	構成糖
50.4	6.2	40.1	9.5	ガラクトース及びマンノース

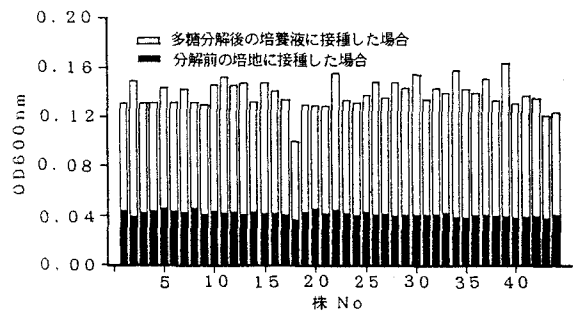


図-1 分解菌による多糖分解培養液での非分解菌の増殖

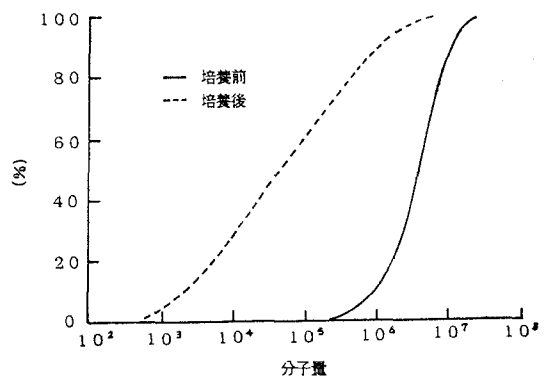


図-2 培養前及び培養後の高分子多糖の分子量分布

(Optical Density)の値、培養液のT O C減少を測定し判断した。

3. 結果及び考察

3-1 多糖分解後の培養液に非分解菌を接種した場合の生育

非分解菌44株を、多糖液体合成培地で48時間培養すると、生育を示すOD値は0.04~0.05を示し、分解を示す粘性の低下率は、ゼロであった。したがって非分解菌は本多糖を分解できないと考えられ、生育を示すODも本来計測されないはずである。今回ODの検出された理由としては、細菌が泥土改良剤に含まれる多糖の他の夾雑物を利用した可能性が考えられる。これらの株を分解菌を接種した多糖合成培地の24時間培養の遠沈上清に再び接種して、24時間培養後の生育をODによって調べてみると図-1に示す結果が得られた。44株のODはすべて0.1~0.16を示し、明らかに多糖分解後の炭素源を利用して生育したことが判る。このことは、これらの細菌が分解された多糖の部分分解物や代謝産物等を資化利用したものと推察された。

3-2 分解後の多糖の分子量分布 高分子

多糖は、分解菌によって低分子に分解されると考えられるが、分解菌による多糖合成培地の24時間培養液の分子量分布をゲルろ過クロマトグラフィーによって調べてみると、図-2に示す結果となった。分解前の多糖の分子量分布は $10^5 \sim 4.1 \times 10^7$ に分布していたものが、分解後は、 $2.8 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^7$ へと分子量が低分子域へと移行した。

3-3 分解菌と非分解菌との混合培養による

有機物濃度の変化 自然環境中では、分解菌と共に非分解菌も存在し、これらの細菌の混合系によって有機物は分解されている。物質分解過程では、分解産物が蓄積されるにしたがって分解速度が遅くなることが知られているが、この点、微生物による分解に関して検討してみた。3-1の結果によって非分解菌は、多糖の低分子物あるいは

代謝産物等を資化利用していると考えられるので分解菌による産生物質は、逐次減少すると考えられる。そこで混合系の場合と分解菌のみの場合の培養時の有機物減少速度をT O Cの減少で比較してみた。結果を図-3に示すが両培養ともT O Cの減少にはそれほど顕著な差は見られなかった。

3-4 分解菌単独及び非分解菌混合系の生育と培養液の粘性変化

分解菌単独及び非分解菌混合系による培養時の多糖合成培地における細菌の増殖及び培地の粘性変化を調べると図-4に示す結果が得られた。多糖の分解を示す培地の粘性低下の程度は、分解菌単独培養と混合系とでは、ほとんど差は見られないが、細菌の増殖に関しては、分解菌の増加が21時間程度でピークを示すのに対し、混合系の場合は依然増加傾向を示した。この理由としては、3-1で示した分解菌による多糖分解後の培養液で非分解菌が生育したことと符合するものと考えられる。

4. おわりに 非分解菌は、分解菌によって低分子化された多糖を資化利用できたが、その利用速度は、分解菌による多糖の分解速度に影響されるものと考えられる。

参考文献 1) 吉田、森下:土木学会第44回年次学術講演会 II-974~975(1989)

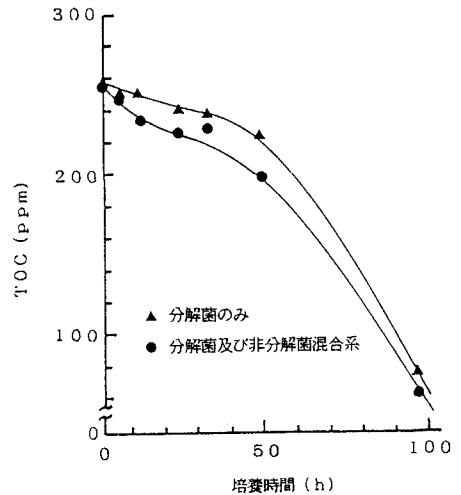


図-3 分解菌単独と非分解菌混合系による培地のT O C変化

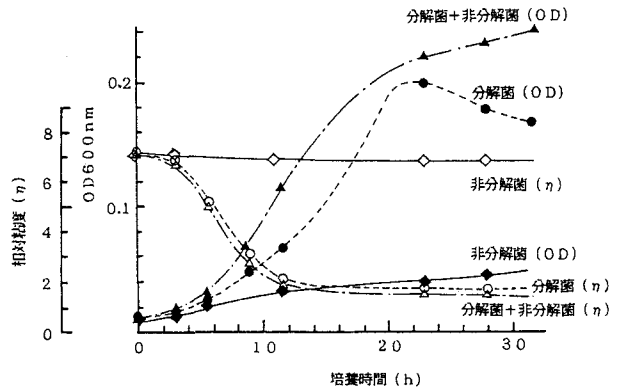


図-4 分解菌、非分解菌及び混合系の生育及び培養液の粘性変化