

II-499 感潮河川域における有機物の加水分解特性

九州大学工学部 学生員○永友功一 学生員 今村正裕
正員 大石京子 正員 楠田哲也

1. 目的

底泥部には有機物の多くが粒子態として供給され、それらの粒子態有機物は微生物により加水分解された後利用されていると考えられる。本研究では、感潮河川を対象として河川水中及び底泥層内での有機物に対する加水分解特性を酵素学的に検討した。微生物が普遍的に有していて比較的基質特異性が低い加水分解酵素であるエステラーゼ、プロテアーゼ、β-D-グルコシダーゼが作用する生分解性有機物を対象として加水分解速度を測定した。生分解性有機物を脂肪酸系、炭水化物系、蛋白質系に大別し、それぞれ基質としてFlourescein Diacetate (FDA)、4-Methylumbelliferyl β-D-Glucoside (MUF誘導体グルコース)、Hide Poeder Azure (HPA)の3種類を選択した。また2地点の河川水、底泥について測定を行い、深さ方向にそれらの分解特性を検討した。

2. 実験方法

佐賀県六角川の河口部(河口より約4Km)と、上流部の馬田橋付近(河口より約18Km)の両地点において採取した河川水(上流部:3853mgSS/l、河口部:5740mgSS/l)、底泥を試料とした。またコア状に採取した底泥を好気層(深さ0~0.5cm)、無酸素層(深さ1~2cm)、嫌気層(深さ4cm~6cm)に分け冷蔵庫に保存し、実験時に用いた。緩衝液として、現地において採取した底泥上層水(pH=7.8)を0.45μmのメンブレンフィルターで濾過して用いた。また、各々の試料に対して好気、無酸素、嫌気条件下で実験を行った。

FDAの加水分解酵素活性: 河川水45ml、乾燥泥5gと緩衝液45mlの混合液の試料に対してFDA溶液(2mg.FDA/ml.7μl)を0.25ml加え、温度を20℃に設定し、5時間振とう培養した。その後エステラーゼによる分解生成物であるフルオレッセンを波長490nmの吸光度で測定した¹⁾。

MUF誘導体グルコースの加水分解酵素活性: 河川水30ml、乾燥泥3gと緩衝液30mlの混合液の試料にMUF誘導体グルコース溶液(33.83mg/l)を0.2ml加え、温度を20℃に設定し、3時間振とう培養した。その後β-D-グルコシダーゼによる分解生成物であるMUFの蛍光度を励起波長340nm、蛍光波長450nmで測定した²⁾。

HPAの加水分解酵素活性: 河川水50ml、乾燥泥150mgと緩衝液50mlの混合液の試料に静菌剤としてトルエンを3ml、HPAを50mg加え、温度を35℃に設定し、24時間振とう培養した。微生物が有するプロテアーゼによって水に不溶性のHPAが分解されて生成した青色素の吸光度を波長595nmで測定した³⁾。

なお、これらの培養温度範囲内では活性への温度効果がアーレニウスの法則に従うものとして、HPAの分解速度を20℃における速度に補正した⁴⁾。

3. 結果及び考察

図-1に実験に用いた底泥試料の分析結果を示す。ここで測定した分析項目については、河口部底泥、上流部底泥間の性質に顕著な差はみられなかった。

図-2にFDAの加水分解速度の鉛直分布を示す。分解速度は河口部の河川水で254、底泥で24~29、上流部の河川水で196、底泥で22~26μg/g.drymud/hrであった。両地点での分解速度は底泥層内に比較して河川水中で高く、また6cmより浅い底泥内において鉛直方向に顕著な変化はみられなかった。

図-3にMUF誘導体グルコースの加水分解速度の鉛直分布を示す。分解速度は河口部の河川水で62.6、底泥で約1.3、上流部の河川水で68.5、底泥で約1.0μg/g.drymud/hrであった。本基質の分解速度も底泥層内に比較して河川水中で

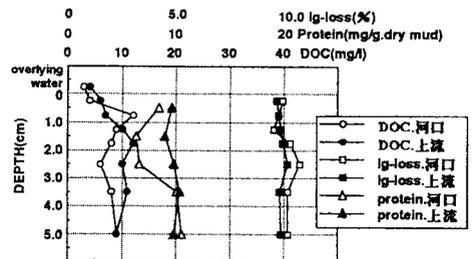


図-1. 上流部、および河口部底泥の分析結果

高い値を示した。また底泥層内において鉛直方向の変化はみられなかった。

図-4にHPAの加水分解速度の鉛直分布を示す。分解速度は河口部の河川水で0.8、底泥で3.5~6.2、上流部の河川水で0.9、底泥が3.0~4.2mg/g.drymud/hrであった。本基質の分解速度は河川水中よりも底泥層内で高い値を示した。また上流部底泥よりも河口部底泥の方が高い分解速度を示した。上流部および河口部底泥の間隙水中のアンモニア性窒素濃度の鉛直分布を図-5に示す。この図より明らかに河口部底泥の間隙水の方が高い濃度を示している。図-1に示した底泥の蛋白質含有量は両地点の間に明確な差は見られなかったが、図-4、図-5の結果より、河口域において、より分解速度の大きい蛋白質系の有機物が底泥中に供給されていると考えられる。また底泥層内の分解速度はFDA、MUFグルコースの場合 $1\sim 10^2 \mu\text{g/g.drymud/hr}$ オーダーであるのに比較して、HPAは 1mg/g.drymud/hr オーダーである。これより、底泥中に供給される生分解性有機物量は脂肪酸系、炭水化物系の物質より蛋白質系の物質が多いと考えられる。

従来の研究によると、グルコース等の炭水化物系の有機物は分解速度が蛋白質系の有機物のそれに比較して大きいので、水深の大きい湖などの水域では底泥に到達する以前に水界中で分解を受けるとされている。本実験の結果から、同様に対象河川域においても、脂肪酸系、炭水化物系の有機物は河川水中でより活発に分解されていると考えられる。一方、蛋白質系の有機物は底泥中に沈積した後にその多くが分解されていると考えられる。

また、底泥層内の分解速度に鉛直方向の変化がみられなかった事より、本実験が対象とした比較的浅い底泥層内ではこれらの有機物に対する分解は好気、嫌気条件には依存していないといえる。

4. まとめ

以上の結果をまとめると、

1. FDA、MUF誘導体グルコースに対する分解速度は底泥層内より河川水中の方が高かった。
2. 深さ数cm以浅の底泥層内において、有機物の分解速度は鉛直深さ方向に顕著な変化を示さなかった。
3. 対象域底泥は蛋白質系の有機物に対して最も高い分解活性を示した。また、その活性は上流部底泥よりも河口部底泥の方が高かった。

参考文献

- 1) Johan Schnurer, et al. Appl. and Env. Microbiol. 43, 1256-1261, 1982
- 2) Gary M. King. Appl. and Env. 373-380, 1986
- 3) Ryszard J. Chrost, et al. Arch. Hydrobiol. 107, 2, 145-165, 1986
- 4) 金野隆光ら、農環研報、1, 51-68, 1986

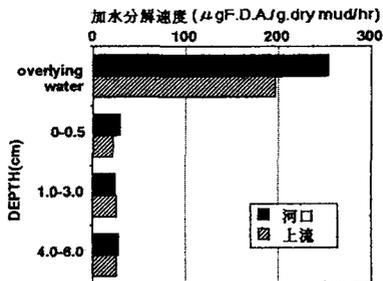


図-2 F.D.A.加水分解速度の鉛直分布

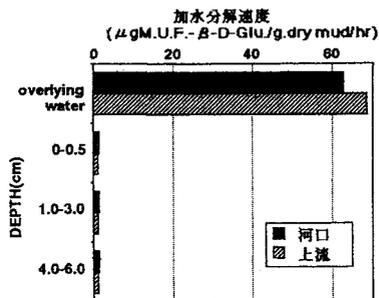


図-3 M.U.F.-β-D-Glucoside加水分解速度の鉛直分布

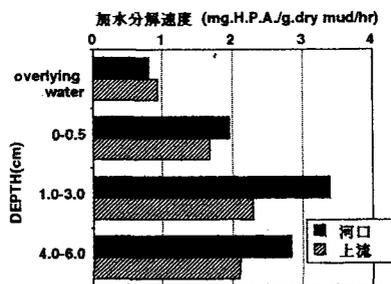


図-4 H.P.A.加水分解速度の鉛直分布

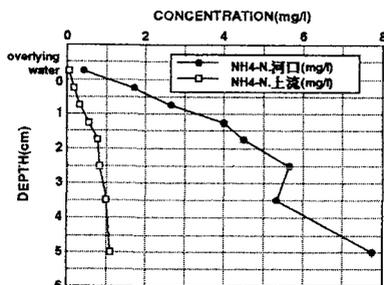


図-5 底泥間隙水中のアンモニア性窒素濃度の鉛直分布