

VII-126

固体有機物の嫌気性分解における微生物活性の熱的測定

中日本建設コンサルタント 正員 上田 充

京都大学大学院 学生員 林 信州

京都大学工学部 正員 寺島 泰

同上 正員 尾崎 博明

1. はじめに

嫌気性エコシステムにおける固体有機物の分解は、多種類の微生物の作用等により固体有機物は加水分解、酸発酵、メタン発酵などの過程を経て行われる。これらの過程において主要な役割を果たしている微生物の挙動を把握することは、固体有機物分解過程を解明するために不可欠である。そこで本研究では、後述する Bio Thermo Analyzer を用い、固体有機物を分解する過程における微生物の増殖を熱的に測定する方法について検討した。Bio Thermo Analyzer は微生物細胞の放出する代謝熱の測定により微生物活性を測定する装置である。^{1) 2)}

2. 実験装置および方法

Bio Thermo Analyzer は微生物細胞の放出する代謝熱の測定により微生物活性を測定する装置である。^{1) 2)} その原理図を図1に示す。この装置では、微生物の増殖によって放出された熱が電圧に変換されて読みとられ、この増殖サーモグラムを積分することによって微生物の菌数増殖を示す増殖曲線が算出される。本研究では、対象固体有機物として、まず、蒸留水に溶解させたグルコースおよびゼラチンを寒天を用いて固形化したものを試料として用いた。試料中の各物質の割合を表1に示す。さらに、リンゴの果肉部および熱凝固化した卵白を同様に検討試料とした。反応槽に試料、嫌気性消化汚泥の上澄み液と栄養培地の混合液、pH調整剤を入れ、窒素ガスを充填した後、40℃で30分間保温し、35℃に設定された Bio Thermo Analyzer を用いて測定を行った。反応槽の保温は伝熱係数を求める目的で行った。増殖曲線 $f(t)$ は、伝熱係数 K と増殖サーモグラム $g(t)$ を用いて $f(t) = g(t) + K \int g(t) dt$ と表される。

3. 実験結果および考察

寒天の量を一定にし、グルコース量を変化させた場合の結果を図2および図3に示す。図2の増殖サーモグラムは、微生物の増殖を表している。また、この増殖サーモグラムを積分したものが、図3の増殖曲線であり、相対的な増殖微生物量を表している。基質濃度が高いほど増殖が長時間におよび、また、微生物の相対量も大きくなった。図に示していないが、ゼラチンを用いた場合についても同様な結果が得られた。グルコース量を一定にし、寒天の量を変化させた場合の結果を図4および図5に示す。寒天の濃度が大きくなるほど、微生物の増殖開始時間の遅れが見られ、寒天のような高分子成分で固体構造が密なものほど、基質（グルコース）の溶出や加水分解速度が小さくなることが考えられる。しかし、図5の増殖曲線は概ね同じ曲線となっており、微生物の相対的増殖量という点では寒天濃度はあまり影響しなかった。ゼラチンの量を一定にし、寒天の量を変化させた場合の結果を図6および図7

表1 BTAを用いた実験における試料中の成分（蒸留水100mLに対して）及び測定時間

	蒸留水100mLに対する試料の成分とその量 (g)	
	グルコース	寒天
実験1 測定時間：30時間	グルコース 0 g	寒天 1 g
	グルコース 4 g	寒天 1 g
	グルコース 8 g	寒天 1 g
	グルコース 12.5 g	寒天 1 g
	グルコース 25 g	寒天 1 g
	グルコース 37.5 g	寒天 1 g
実験2 測定時間：30時間	グルコース 12.5 g	寒天 0.5 g
	グルコース 12.5 g	寒天 1.5 g
	グルコース 12.5 g	寒天 2.5 g
	グルコース 12.5 g	寒天 3.5 g
実験3 測定時間：36時間	ゼラチン 0 g	寒天 1 g
	ゼラチン 8 g	寒天 1 g
	ゼラチン 12.5 g	寒天 1 g
	ゼラチン 37.5 g	寒天 1 g
実験4 測定時間：50時間	ゼラチン 12.5 g	寒天 1 g
	ゼラチン 12.5 g	寒天 1.5 g
	ゼラチン 12.5 g	寒天 2 g
	ゼラチン 12.5 g	寒天 2.5 g

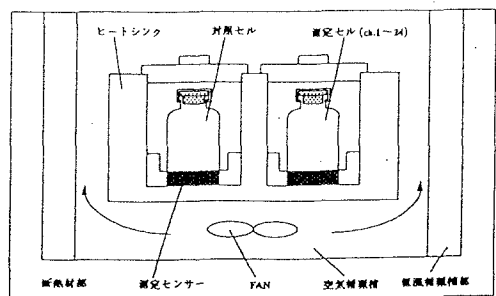


図1 BTA (Bio Thermo Analyzer) 測定装置

に示す。ゼラチンのような高分子成分はグルコースのような低分子成分より、寒天のメッシュによる影響を受けやすく、測定期間内の増殖サーモグラム（図6）では微生物増殖が顕著にはあらわれなかったが、図7の増殖曲線では寒天濃度が低いほど微生物の相対的増殖量が大きくかつ増加していく傾向が見られた。

以上の結果から、固体有機物分解過程における微生物の増殖は、基質濃度に依存すること、また、固体中低分子成分の分解は速やかに進行し、固体高分子成分の分解は緩慢にと進行すること、分解物質の固体構造に依存することが明らかになった。

さらに、リンゴの果肉部と熱凝固化した卵白を試料とした場合の結果を図8および図9に示す。リンゴの果肉部を試料とした場合の結果は、グルコースの結果と類似しており、また、熱凝固化した卵白を試料とした場合の結果は、ゼラチンの結果と類似していた。このことから、本研究で用いたグルコースやゼラチンを寒天により固形化した試料は、実際の炭水化物やタンパク質の模倣的な固体有機物としてみなすことができる。

～参考文献～

- 1) 高橋 克忠：“細胞レベルの現象の熱測定：特に微生物細胞に対する薬剤作用の解析を中心に”，熱測定，18（1）9-18，1991
- 2) 後藤みゆき、他：“食品腐敗および防腐剤研究における熱測定の応用”，食品の物性，第11集，41-52

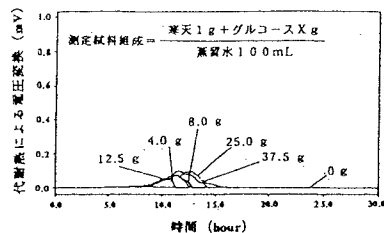


図2 グルコース量を変化させたときの増殖サーモグラム

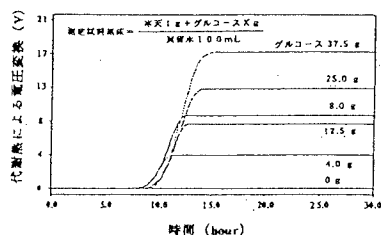


図3 グルコース量を変化させたときの増殖曲線

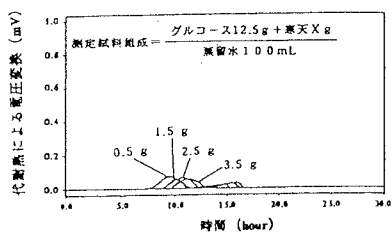


図4 寒天添加量異なる場合の増殖サーモグラム（グルコース量一定）

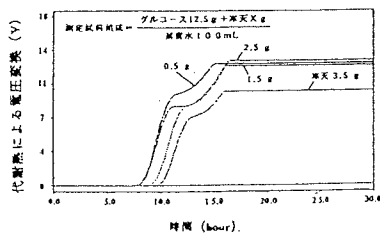


図5 寒天添加量異なる場合の増殖曲線（グルコース量一定）

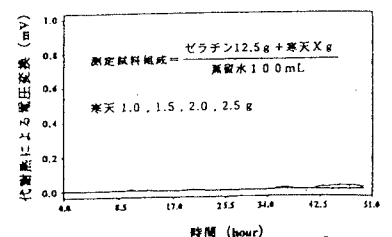


図6 寒天添加量異なる場合の増殖サーモグラム（ゼラチン量一定）

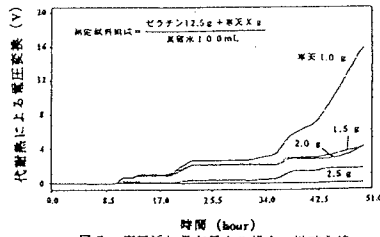


図7 寒天添加量異なる場合の増殖曲線（ゼラチン量一定）

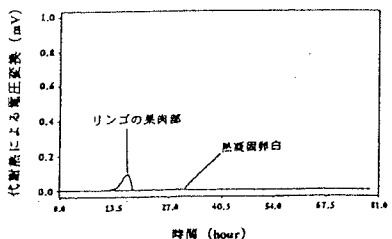


図8 リンゴの果肉部と熱凝固卵白を試料とした場合の増殖サーモグラム

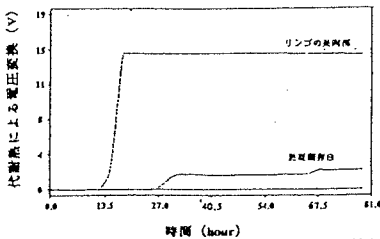


図9 リンゴの果肉部と熱凝固卵白を試料とした場合の増殖曲線