

可溶性有機物の嫌気性分解過程における微生物作用の評価

京都大学工学研究科 学生員 折戸真美

同上 学生員 林信州

同上 正員 寺島泰

同上 正員 越川博元

1.はじめに

嫌気生態系における有機物の分解過程を解明する上で、主な役割を果たしている微生物の挙動を把握することは重要である。本研究では嫌気性分解過程における微生物挙動を把握するためにより適切な指標を比較考察することを目的とした。微生物挙動を評価する指標としては、全生物量指標である MLSS、MLVSS、さらに生きているまたは活性をもつ微生物量の間接的な指標である ATP、微生物の代謝に対応する熱的測定を用いて評価を行った。

2.実験装置および方法

本実験は恒温槽実験とともに、微生物による微少な熱を測定することを目的として、BTA を用いた実験で構成した。

MLSS あるいは MLVSS と ATP の対応について検討することを目的としていることから、非生物的な SS 分の混入を避けるために、可溶性有機物であるグルコース及び可溶性でんぶんを基質として選択した。

2L のガラス瓶を反応槽として栄養培地及び基質を入れ、さらに嫌気性消化汚泥の上澄み液を添加した。反応槽にゴム栓をした後、ヘッドスペースを窒素で置換して密封し、35°C で保温した。この装置を図 1 に示す。この反応槽から経時にサンプリングし、単糖類量（アンスロン法による）、有機酸、ガス（組成及び発生量）、ATP、MLSS、MLVSS の各項目について測定を行った。

一方微生物の熱的測定¹⁾には 20mL のバイアル瓶を反応槽とし、図 2 に示す BTA (bio thermo analyzer) を用いて行った。BTA は微生物細胞の放出する代謝熱を測定するものであるが、その原理は微生物細胞の代謝に伴って放出される熱により測定センサーの上下面に生じた温度差を電圧として読み取るものである。なお BTA を用いた実験では栄養培地、基質及び植菌量は 2L のガラス瓶を用いた場合の 360 分の 1 に設定した。

3.実験結果及び考察

グルコース及び可溶性でんぶんを基質としたそれぞれの場合について、単糖類量、有機酸、メタン生成量の経時変化を図 3、6 に、MLSS、MLVSS と ATP の経時変化を図 4、7 に、熱変化速度曲線を図 5、8 に示す。ここで熱変化速度曲線とは熱量変化の微分型のことと、各時点において発生した熱量を表す。

グルコースを基質とした場合、図 3 から単糖類量は 16 時間目で急激に減少し、有機酸が生成していた。

キーワード：代謝、ATP、熱測定

連絡先 : 〒606-01 京都市左京区吉田本町 京都大学大学院工学研究科環境工学専攻

tel : 075-753-5171 fax : 075-753-5175

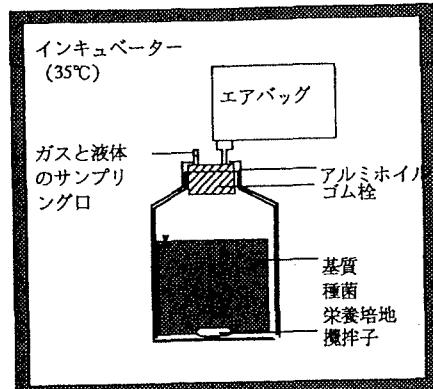


図 1 恒温反応槽実験装置

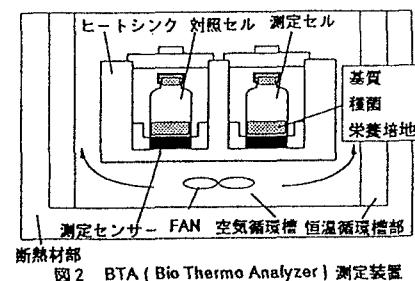


図 2 BTA (Bio Thermo Analyzer) 測定装置

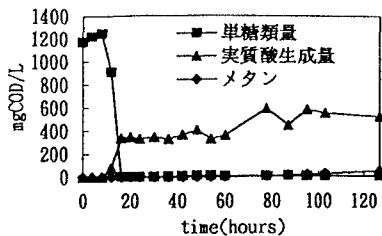


図3 単糖類量、実質酸生成量、メタン生成量の経時変化

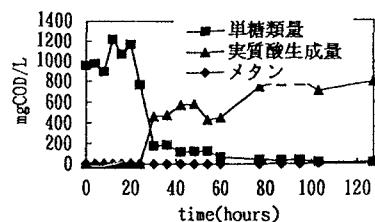


図6 単糖類量、実質酸生成量、メタン生成量の経時変化

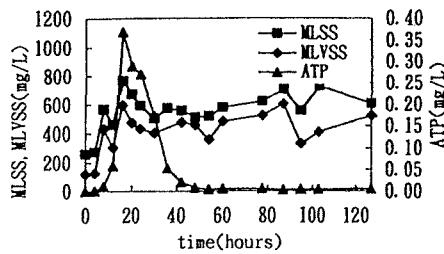


図4 MLSS, MLVSS, ATPの経時変化

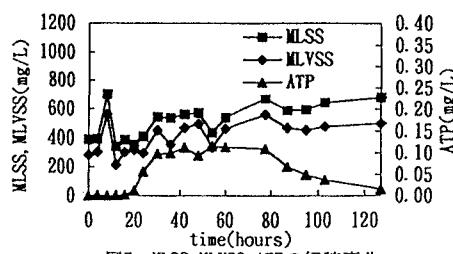


図7 MLSS, MLVSS, ATPの経時変化

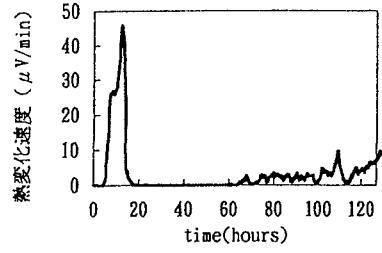


図5 热変化速度曲線

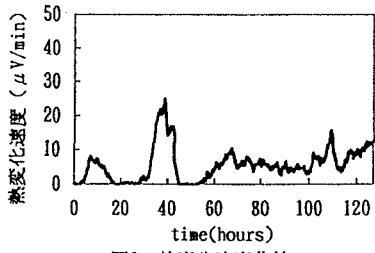


図8 热変化速度曲線

このとき図4よりATP濃度は16時間目で最大を示していることから、微生物、ここでは主として酸生成菌の活動が活発であると推察される。また、図5の熱変化速度曲線も同様に16時間目で最大を示していることより主として酸生成菌の活動が活発になっていると思われる。16時間目以降は基質の枯渢により酸生成菌の活動は弱くなりメタン生成が始まると考えられたが、ここではメタン生成はあまり進まなかったことが図3よりうかがえ、さらに図5においてATP濃度が検出されていないことからも反応が進行していないことが考えられた。しかし図5の熱変化速度曲線から微少な発熱があることが観察された。また図4よりMLSS、MLVSSは16時間で最大となっているもののそれ以後も変動が大きく、ピークが変化の一つに紛れてしまう可能性が大きい。一方ATPや熱変化速度曲線からは明らかなピークを読み取ることができ、微生物挙動を表す指標としてより適当であると考えられる。

図6～8に示すように可溶性でんぶんを基質とした場合も、グルコースを基質とした場合とほぼ同じ傾向を示しているが、図6より基質の分解及び酸生成の開始は25時間目を経過した時点からであり、グルコースの場合と比較して遅かった。これは可溶性でんぶんが多糖類であることが原因であると考えられた。

4.結論

以上の実験結果及び考察からATPや熱測定法は、微生物挙動を表す指標としてより適切であると考えられる。

参考文献：1)高橋克忠：生化学実験講座、第12巻、pp.19-37、日本生化学会編、1976