

底泥層内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. はじめに

本研究では、底泥層内の微生物群の種々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る加水分解酵素が作用する生分解性の基質として脂肪酸系、炭水化物系、蛋白質系の3種類の物質を選択し、これらに対する加水分解速度を測定した。2地点の底泥について測定を行い、深さ方向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)に分けて試料とした。これらを湿泥の状態冷蔵庫に保存し、必要時に用いた。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)を用いた。実験では緩衝液として、現地において採取した底泥上層水を0.45 μ m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。

実験① FDAの加水分解酵素活性: 乾燥泥質量5gに対して緩衝液45ml、FDA溶液(2mg.FDA/ml.aceton)を0.25ml加え、温度を20℃に設定し、振とう培養を5時間行った。数種の脂肪酸系有機物の加水分解酵素によるFDAの分解の結果生成したFlouresceinを波長490nmの吸光度で測定した¹⁾。

実験② MUF誘導体グルコースの加水分解酵素活性: 乾燥泥質量3gに対して緩衝液30ml、MUF誘導体グルコース溶液(33.83mg/l)を0.2ml加え、温度を17℃に設定し、振とう培養を3時間行った。 β -D-GlucosidaseによるMUF誘導体グルコースの加水分解の結果生成したMUFの蛍光度を励起波長340nm、蛍光波長450nmで測定した²⁾。

実験③ HPAの加水分解酵素活性: 乾燥泥質量150mgに対して緩衝液50ml、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、振とう培養を24時間行った。HPAは水に不溶性の蛋白質であり、微生物が有するproteaseによるHPAの加水分解の結果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Arrheniusの法則に従うものとして、各々の分解速度を20℃における速度として補正した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に実験①の結果を示す。FDAの加水分解速度は河口部底泥が24~29、上流部底泥が22~26 μ g/g.drymud/hrであった。これより、分解速度は6cm以上の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。また上流部、河口部底泥の間にも顕著な差はみられなかった。

図-3に実験②の結果を示す。MUF誘導体グルコースの加水分解速度は河口部底泥が約1.3、上流部底泥が約1.0 μ g/g.drymud/hrであった。両地点の底泥とも鉛直方向に分解速度は顕著な変化はみられなかった。しかし、河口部底泥の方が上流部底泥よりも若干高い分解速度

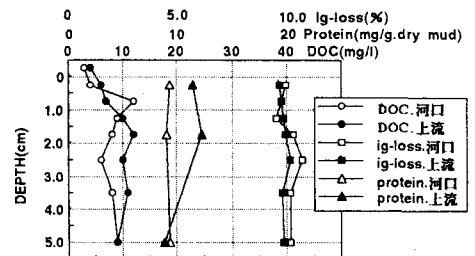


図-1 上流部、および河口部底泥の分析結果

を示したことより、微生物にとって易分解性である、炭水化物系の有機物の供給量は上流部よりも河口部の方が多いと考えられる。

図-4に実験③の結果を示す。HPAの加水分解速度は河口部底泥が3.5~6.2、上流部底泥が3.0~4.2mg/g.drymud/hrであり、両地点の底泥とも鉛直方向には明確な分解速度の変動傾向はみられなかったが、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。この図では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では両者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。

FDAの加水分解(図-2)、MUFグルコースの加水分解(図-3)速度が $\mu\text{g/g.drymud/hr}$ オーダーであるのに比較して、HPA(図-4)の分解速度は mg/g.drymud/hr オーダーであった。これより、脂肪酸系、炭水化物系、蛋白質系の生分解性有機物の底泥中への供給量を比較すると、蛋白質系の有機物供給量が最も多いと考えられる。一方、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、底泥に到達する以前に水界中で分解を受けていると考えることができる。

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が、それらの条件は分解速度に対して影響を与えなかった。従って有機物の分解は好気、嫌気といった環境条件には依存しておらず、供給される基質濃度に依存しているといえる。

4. まとめ

以上の結果をまとめると、

1. 底泥層内のアンモニア性窒素は上流部に比較して河口部の方が高い濃度を示した。
2. 河口部底泥は上流部底泥よりも粒子態蛋白質に対して高い分解速度を示した。
3. 深さ数cm以上の底泥層内においては、有機物分解速度は好気嫌気条件には影響を受けないことが解った。

参考文献

- 1) Johan Schnurer et al.: Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. Appl. and Env. Microbiol. 43, 1256-1261, 1982
- 2) Gary M. King: Characterization of β -Glucosidase Activity in Intertidal Marine Sediments. Appl. and Env. 373-380, 1986
- 3) Ryszard J. Chrost et al.: Enzymatic decomposition of organic matter by bacteria in an eutrophic lake. Arch. Hydrobiol. 107, 2, 145-165, 1986
- 4) 金野隆光ら: 土壌生物活性への温度影響の指標化と土壌有機物分解への応用、農環研報、1, 51-68, 1986

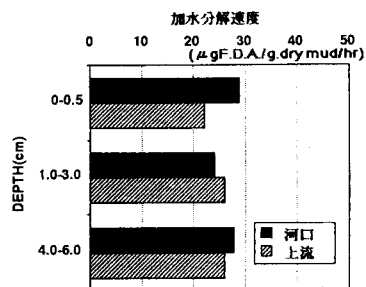


図-2 F.D.A.加水分解速度

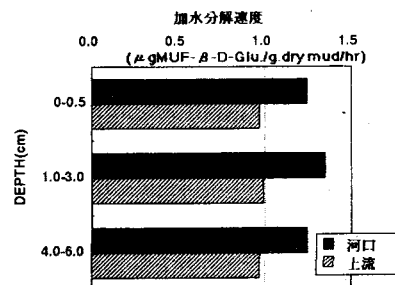


図-3 MUF-β-D-Glucose 加水分解速度

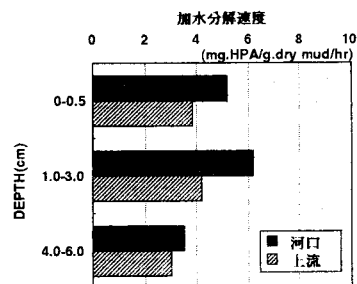


図-4 H.P.A.加水分解速度

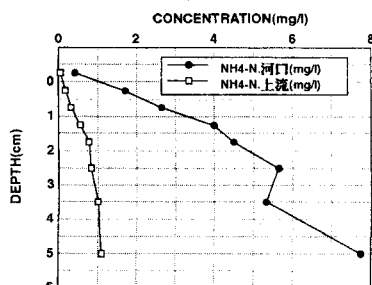


図-5 底泥間隙水中のアンモニア性窒素濃度