

E117

Bacillus subtilis を内包するマイクロカプセルのセルロース分解能力評価

【緒言】

サッチとは芝の刈かすや葉、茎、根などが堆積した層のことである。芝の生えた土壤にサッチが一定以上の厚みで蓄積することで、土壤や芝の根への空気、水、栄養源、農薬などの移行が妨げられ、芝の生育阻害が起こる。この問題点に対し、微生物(サッチ分解菌)を用いてサッチを分解・減容化する方法が提案されているが、日照、温度、降雨などの自然条件がサッチ分解菌の働きに大きく影響を及ぼし、十分かつ安定した効果が得られない。¹⁾

これを解決するため、サッチ分解菌をマイクロカプセル(MC)に内包することによりその効果を安定させる方法を検討した。MC化することで、環境変化からサッチ分解菌を守り、長期間に渡る微生物の放出ができ、その長期活性維持や効率的な芝生への定着が可能である。²⁾

本研究では、サッチ分解菌内包 MC を調製し、サッチの主成分であるセルロースの分解能を測定した。

【実験方法】

サッチ分解菌内包 MC の調製

MC 調製には、サッチ分解菌 *Bacillus subtilis* NBRC13719 を使用した。MC の調製は図 1 のスキームに従って行った。

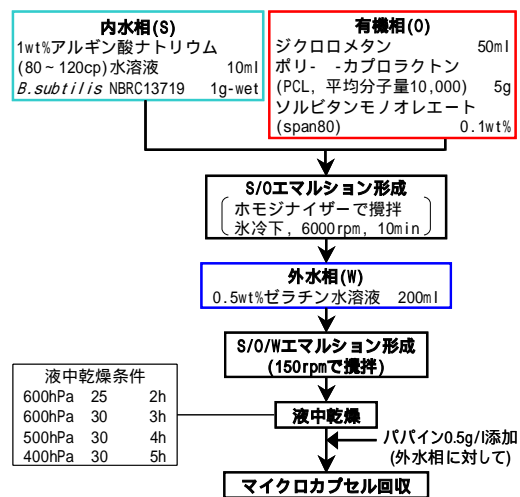


図 1 微生物無添加 MC 調製スキーム

サッチ分解菌内包 MC のセルロース分解能力評価

4 倍濃度の 702 培地 100ml を含んだ三角フラスコにシリコン栓をし、栓をした部分をアルミニウム箔で覆った。そのフラスコをオートクレーブにて滅菌し、室温に戻した後、フラスコ内の培地に調製した MC 3.5g を添加した。そして、そのフラスコを、インキュベーター内(30℃)に設置したバイオシェイカーで、170rpm, 2day 攪拌した後、濾過、洗浄して回収した。これにより、MC に内包されるサッチ分解菌の数を増加させる。

次に、粉末セルロース 0.25g、0.9wt% NaCl 水溶液 10ml

(鹿大院理工) (学)志岐雄寛・(正)吉田昌弘・(正)幡手泰雄
(宮崎大工)(正)塩盛弘一郎・(都城高専)(正)清山史朗

を含んだ試験管にシリコン栓をし、栓をした部分をアルミニウム箔で覆った。その試験管をオートクレーブにて滅菌して室温に戻した後、試験管内の混合液に、内包菌数増加操作を行ったサッチ分解菌内包 MC を 0.617g-wet 添加した。そして、その試験管を恒温振とう槽にて 30℃, 200rpm で振とうし、その後試験管内の混合液を濾過して回収したセルロースと MC の混合物を凍結乾燥させ、その乾燥重量を測定し、セルロース分解率を求めた。この分解率から MC のセルロース分解能を評価する。

【実験結果】

サッチ分解菌内包 MC の調製

調製した MC を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察し、撮影した写真を図 2 に示す。球状で、多孔質な MC が調製できたことが確認された。

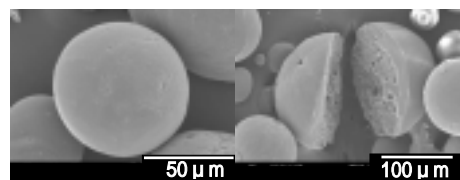


図 2 MC の SEM 写真(左:表面 右:断面)

サッチ分解菌内包 MC のセルロース分解能力評価

評価に用いた、セルロースと MC を含んだ混合液の振とう時間とセルロース分解率の関係を表 1、図 3 に示す。振とう時間の経過に伴い、セルロースの分解が進んでいることが分かる。このことより、サッチ分解菌 MC はセルロースを分解する能力を有することが確認された。

表 1 活性評価の結果

振とう時間[day]	混合物乾燥重量[g]	セルロース乾燥重量[g]	セルロース分解率[%]
0	0.709	0.162	0
1	0.689	0.142	12.3
2	0.688	0.141	13.0
3	0.664	0.117	27.8
4	0.649	0.102	37.0

セルロース乾燥重量[g] = 混合物乾燥重量[g] - 0.547(MC乾燥重量)[g]

Xdayのセルロース分解率[%] = $\left(1 - \frac{\text{Xdayのセルロース乾燥重量[g]}}{\text{0dayのセルロース乾燥重量[g]}}\right) \times 100$

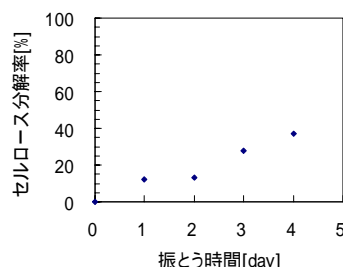


図 3 振とう時間とセルロース分解率の関係

【参考文献】

- 川端孝博ら, 特開 2007-129967
- K.J.Wu et al, *Proce. Biochem.*, Vol.42, pp.669-675 (2007)

*Tel/Fax : 099-285-8526

E-mail : myoshida@cen.cen.kagoshima-u.ac.jp