

4 5 土に潜む微生物によるデンプンの分解作用

1 はじめに

私たちはテレビや本、学校の授業などで環境問題について学んできた。水の汚染などに伴う土の変化は、様々な環境問題を引き起こしている(*1)。生物の授業で土の中には分解者（微生物）が生活し生物の遺体などを分解することを学んだ。しかし、その様子を実際に観察することはほとんどない。

私たちは土の中にはどのような微生物がいて、何をどの程度分解するのだろうか、またいろいろな水環境の土によって違いがあるのだろうかという疑問を抱いた。

中学校の授業でデンプンが分解されると糖ができることを学んだ。デンプンはヨウ素デンプン反応により、糖はベネジクト反応によって検出することができる。

そこで、ヨウ素デンプン反応やベネジクト反応を用いて土の中の生物によってどの程度デンプンが分解され、糖が生成されるのか時間を追って観察することにした。

観察する土は水の影響が異なると考えられる身近な山、川、海および学校の土を用いることにした。

特に、海砂については、温度やデンプン濃度を変えてさらに深く追求することにした。実験方法は、島 他 2002*2 に従った。

2 研究材料

実験に用いた土の採取地

・学校裏山の土（孟宗竹林）

学校の北東にある標高 100m 程度の小高い山で、数十年前は通学路ともなっていたというが、現在は道もなくほとんど人の入らない発達したモウソウチク林となっている。土の採取地は、竹林のやや深いところで、土はモウソウチクの落ち葉に覆

われ、水分を多く含んでおり黒色を呈している。地表から 10cm のところからシャベルを使って採取した。なお土には、落ち葉や雑草が少量入り込んだ。

・川の土（下田市稲生沢川 浄水場付近）

学校に供給される水の浄水場付近であるが、河川や道路工事を付近で行うこともあり、やや大きめの小石が多く混じった土砂が多く見られた。

・海砂（下田市鍋田）

筑波大学下田臨海実験センターが近くにあり海洋生物の研究の場となっている。夏場は海水浴客の訪れる小さな砂浜である。

・海砂（南伊豆町弓ヶ浜）・・・実験 2 で採取

白い砂で一面に覆われた弓状に広がる浜である。日本の渚百選にも選ばれ海水浴客も多い。海ガメの産卵地としても知られている。砂は河口に近いあまり人のいない場所から採取した。

※ 海砂はいずれの場所でも通常はほとんど海水が表面には届かない場所から採取した。

・校舎前の土（下田北高校旧校舎 3 棟とテニスコートの間）

あまり日当たりのよくない場所であり、表面に少しだが雑草が生えている。採取した土に雑草は混入していない。

3 研究方法

(1) 土による違い

島ら(2002)による方法を用い、次の手順で土の中の生物によるデンプンの分解の程度を時間を追って調べた。

① 採取した上記の土を、ゴミや枯葉などを除去し 40 g 計りとる。

- ② 10%デンプン溶液 200ml を酵素反応が活発であると考えられる 40℃に加熱し土 40g を加える。
- ③ 土を加えた 10%でんぷん溶液を 14 日間 40℃に保つ。
- ④ 毎日、デンプン溶液を 4ml 採取し、ろ過し、ろ液を煮沸して分解生成物を得た。分解生成物は密栓して冷蔵庫に保管した。
- ⑤ 14 日目に、ヨウ素デンプン反応とベネジクト反応により、デンプンの分解の程度と糖の生成を調べた。



図1 反応前



図2 反応後

〈ヨウ素デンプン反応〉

対照区：ブドウ糖・麦芽糖・デンプンの各 10% 水溶液 1ml に、ヨウ素・ヨウ化カリウム溶液を数滴加えて、変化を調べる。

実験区：日を追って採取した分解生成物についても、対照区と同様の方法で変化を調べる。

〈ベネジクト反応〉

ブドウ糖・麦芽糖・デンプンの各 10%水溶液 0.5ml に、ベネジクト液を 5ml ずつ加え、湯浴中で加熱する。分解生成物についても同様に行う。

(5 日目)、山の土 (6 日目) の順で反応がみられなくなっていた。対照実験 (デンプンのみ) ではヨウ素反応の低下はみられなかった。

(2) 海砂について

(温度・デンプン濃度の違い)

(1) と同様の実験を、鍋田浜(下田市)および弓ヶ浜(南伊豆町)の海砂を用いて、温度 (5℃・30℃・50℃)、デンプン濃度 (0.1%・1%・3%・10%) で行った。また、焼いた砂、砂をいれないデンプン用液を用いて対照実験とした。

	0日目	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目
裏山の土(竹林)	+++	+++	+++	++	++	+	-
川の土(稲生沢川)	+++	+++	++	++	+	-	-
校舎横の土	+++	++	+	-	-	-	-
海砂(鍋田浜)	+++	++	-	-	-	-	-
デンプン水溶液	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

4 結果

(1) 土による違い

〈ヨウ素デンプン反応〉

ブドウ糖・麦芽糖水溶液では変化がみられなかったが、10%デンプン水溶液では青紫色に変色した (図1, 2 左から麦芽糖・デンプン・ブドウ糖水溶液)。

分解生成物のヨウ素デンプン反応

表1が示すように、いずれの土でも、時間とともにヨウ素反応がなくなっていく。砂浜の砂では翌日から反応が小さくなり、2日目にはみられなくなった。以下、校舎横の土 (3日目)、川の土

7日目	8日目	9日目	10日目	11日目	12日目	13日目	14日目
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

表1 ヨウ素デンプン反応の結果

-:変化なし(淡黄色) +:わずかに灰色(灰色)
 ++:淡青色 +++:青紫色

〈ベネジクト反応〉

ブドウ糖・麦芽糖・デンプンのベネジクト反応

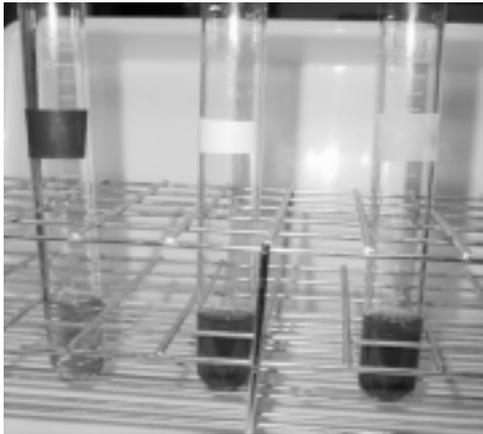


図3 左からデンプン・ブドウ糖・麦芽糖水溶液

デンプン水溶液では変化がみられなかったがブドウ糖・麦芽糖溶液では赤褐色の沈殿が生じた。

分解生成物のベネジクト反応

	0日目	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目
裏山の土(竹林)	-			-		+	
川の土(稻生沢川)	-			-	++	++	
校舎横の土	-	-	+	++		++	
海砂(鍋田浜)	-	-	+	++		+++	
デンプン水溶液	-			-		-	

7日目	8日目	9日目	10日目	11日目	12日目	13日目	14日目
-	-	-	-			-	
+++			+++			++	
+			+			+	
+++			+++			++	
-			-			-	

表2 ベネジクト反応の結果

- : 変化なし又は少量の青白色ないし白色の混濁 (尿酸塩またはリン酸塩による)
 - +: 緑色の混濁を呈し、管底に少量の黄色沈殿
 - ++: 黄色(オレンジ色)の沈殿
 - +++: 管底にこいオレンジないし赤色の沈殿
- 空欄は未検査

表2が示すように、いずれの土も数日後に反応がみられるようになり、その後、反応が小さくなった。砂浜の砂では2日目から反応がみられ始め、5日目まで反応が強くなり、13日目にはやや反

応が弱くなった。校舎横の土でも同様の傾向であるが、全体に反応が弱かった。川の土では4日目まで反応がみられなかった。山の土では5日目にわずかに反応がみられた。ヨウ素反応の減少とベネジクト反応の増大が対応していることがわかる。

(2) デンプン濃度, 温度による違い (海砂)

図4・5にヨウ素デンプン反応による結果, 図6~9にベネジクト反応による結果を示した。デンプン濃度を変えてもデンプンが分解され, それに伴って糖が生成された(図5・7)。また, その糖もゆっくりではあるがやがて減少した(図7)。

温度を変えた場合, 30℃で最も反応が早く, 次いで50℃, 5℃と続いた。5℃ではほとんど反応が見られなかった(図4・6)

焼いた砂を用いた場合(図8), デンプン溶液のみの場合(図9)はまったく変化が見られなかった。

今回, 調べた2ヶ所の砂では, いずれも同様の結果となった。

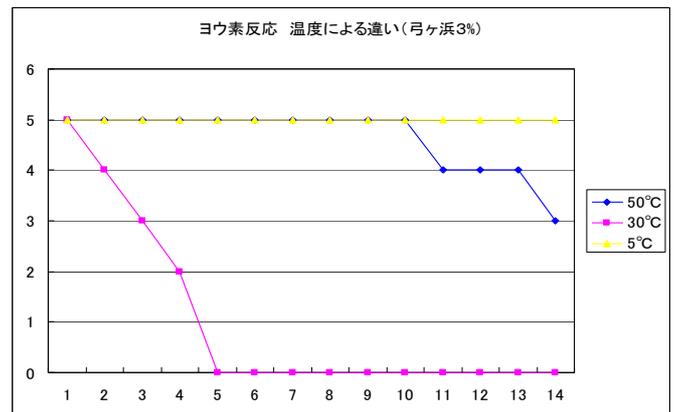


図4 温度による違い (弓ヶ浜 3%)

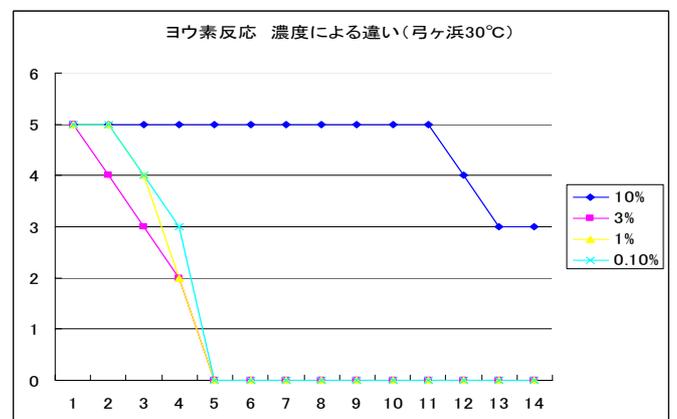


図5 濃度による違い (弓ヶ浜 30℃)

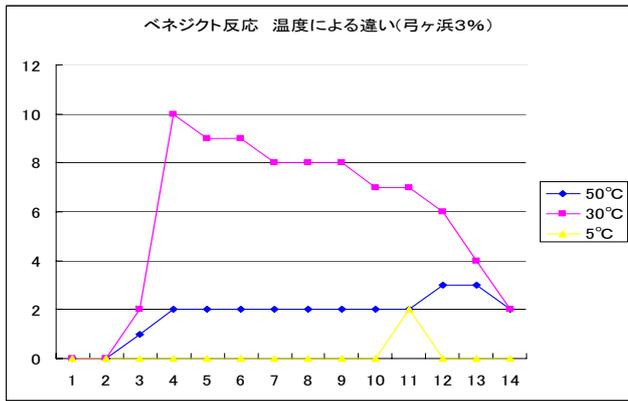


図 6 温度による違い (弓ヶ浜 3%)

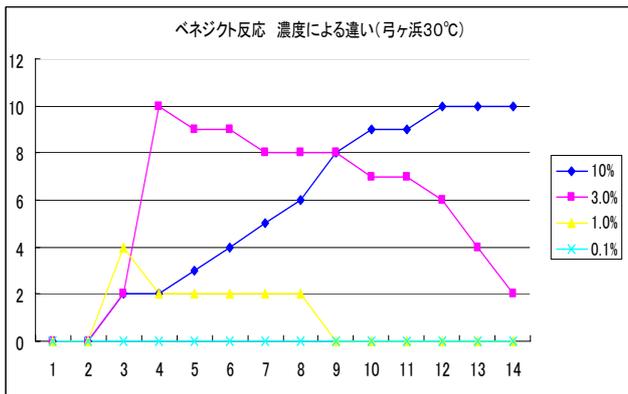


図 7 濃度による違い (弓ヶ浜 30°C)

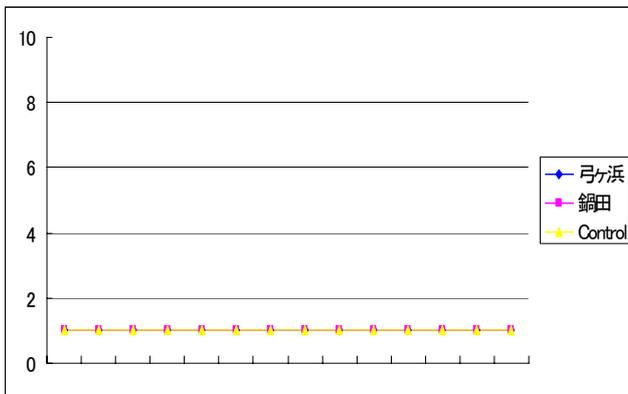


図 8 焼いた砂

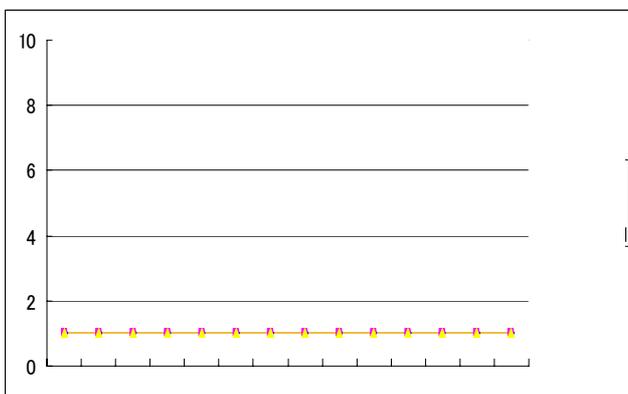


図 9 デンプン溶液のみ

5 考察

〈ヨウ素デンプン反応〉

山, 川, 海, 学校の土, いずれも時間とともにヨウ素反応が減少したことからデンプンが分解されていることがわかる。それに伴いベネジクト反応が増大している。対照区には変化が見られなかったことから, 土の中の微生物によってデンプンが分解され糖が生成されること, 分解されたデンプンから糖が生成されることを示している。

〈ベネジクト反応〉

山と学校の土は5日目を過ぎてから糖が減少している。また, 川と海の土でも13日目には若干減少していた。これは, デンプンを分解する微生物によってつくられた糖が, 他の糖を栄養とする微生物によって消費され尽くされたのではないかと考えられる。山と学校の土で糖の減少が早かった理由には, 糖を栄養とする微生物が多かったことが考えられる。

〈土の違いについて〉

実験結果で最も驚いたのは, 海砂のデンプンの分解速度が想像していたよりもはるかに早く, 山の土では遅かったことである。これは, 糖を栄養とする微生物とデンプンを分解して糖に変える微生物の共存する割合の違いが影響しているのではないかと考えられる。つまり, 海砂はデンプンを分解する能力の高い微生物が生息し, 糖を消費する微生物が少ない。一方, 山の土はデンプンを分解する生物と糖を多く消費する微生物が混在している。また, 川の土では, デンプンを分解する生物は生息するが, 糖を消費する生物は少なく, 校舎横の土ではデンプンを分解する能力の高い生物が生息し, 糖を消費する生物も生息すると考えられる。

〈実験条件について〉

今回の実験は10%デンプン水溶液に土を混ぜ40°Cの恒温条件で2週間反応させた。最初の実験を行った冬季, 土の温度が40°Cになるとは自然の状態では考えがたく, 実際よりもかなり早い速度で分解反応が起こっていたと予想される。また, 通常では増殖しない細菌が増殖したことも考えられる。

時間の都合で2週間まで変化を追ったが, 多くは糖が減少途中と考えられる。糖がなくなるまで

実験日数をさらに延長して観察する必要がある。

〈反応温度・デンプン濃度を変えたときの海砂の反応について〉

採取した2ヶ所の海砂のいずれの結果からも、デンプンが分解され、やがて糖の減少する様子がわかった。土の違いのところにも記した通り、海砂中にはデンプンを分解する能力の高い微生物が生息することがわかる。また、糖を分解する部分とは関わっている生物構成に違いがあると予想される。温度を変えた場合、30℃で最も反応が速く、ついで50℃、5℃と続いた。しかし、焼いた砂を用いた場合や、砂を入れない場合は変化がみられなかった。このことから、反応は砂自体の働きでなく、砂に生息する微生物によるものであることがわかる。また、その微生物は熱により死んでおり、熱に耐性をもつものではない。

〈実験を終えて〉

今回の実験で、デンプンの分解にどのような生物が関わっているのか具体的に生物名を知ることにはできない。しかしながら、様々な水環境の土にはそれぞれの場に応じた、分解者が存在することを実感した。そして、海の中には、山や川同様かそれ以上に、多くの微生物が存在し活発に活動していることを今回の実験を通して強く感じた。普段、私たちは、自分たちの生活する場に目が行きがちであるが、生命の源である海を舞台とした世界には、私たちの想像をはるかに超える未知の世界が広がっているのではないのだろうか。

関係する微生物を明らかにするために、現在、希釈平板法による培養(*3)をおこなっている。今後は、培養してできたコロニーを高倍率の光学顕微鏡や電子顕微鏡で観察することも有効であると考えている。

今回はデンプンの分解・糖の生成のみを調べたが、他の分解反応については知ることができなかった。土壌中には様々な細菌がいると考えられる。分解者のはたらきをあきらかにするためには、様々な観点から、より深く研究を進める必要がある。

6 おわりに

はじめは、うまくいくのだろうかといった不安も強かった今回の実験であるが、実験を続けるにつれて、微生物に対する興味も以前より強くなり、新たに知ることも多かった。微生物の働きがよく証明された結果がでたばかりでなく、結果から、新しい発見もあった。実験の結果を読み取り、さらに深く追求してみたいという気持ちも生まれた。一方で、仮設校舎で温度管理も難しく設備も不十分な中で、微生物を扱った実験を行うことの困難も感じている。

温度を一定にするための、恒温装置や、実験に使用した膨大な量のサンプル管をころよく貸していただいた下田南高校、松崎高校様に深く感謝いたします。研究をまとめるにあたって、文章も含め丁寧にアドバイスをいただき、研究をさらに深いものに導いてくださった後藤純一先生、微生物について不勉強な私たちに、希釈平板法等の実験手法も含め丁寧に教えていただいた静岡大学農学部の鮫島玲子先生、学習支援員としてお世話になっている筑波大学下田臨海実験センターの大澤雷大さんに深くお礼申し上げます。

7 参考文献

- *1 地球環境白書4「今「水」が危ない」 学習研究社
- *2 島弘則・宮崎三保子・池田誠 化学教育ジャーナル 10号 2002
- *3 安藤昭一「微生物実験マニュアル 第2版」 技報堂出版