

木質分解酵素活性からみた伐採材のコンポスト化における管理条件

大成建設(株) 技術研究所 正会員 帆秋利洋、高原誠吉
同 名古屋支店 正会員 中浦和博、布施光敏、濱田武人

1. はじめに

従来、コンポストは下水余剰汚泥や生ゴミ、家畜糞尿等の有機性廃棄物を発酵させるために用いられてきた技術である。本過程では、有機物の分解に伴って生じる呼吸熱によって、堆積物内部が通常 80℃程度まで温度上昇する。このような高温にさらすことの意義は、ひとつは分解活性が高まるためと、もうひとつは病害菌や害虫の卵を熱によって死滅させることにある。

一方、現在コンポスト化の対象としている原料は根株や枝葉等の伐採木材である。この木材に関しては、天然物の中でも分解しづらい高分子有機物であり、その分解菌の種類も少ない。木材分解菌で、最も有名な生物は担子菌類に分類される白色腐朽菌(*Phanerochaete*, *Coriolus* など)であり、これらはセルロース、ヘミセルロース、リグニンの全てを分解できる¹⁾。しかしながら、白色腐朽菌を代表する *Phanerochaete chrysosporium* は増殖至適温度が 39~40℃であり、そのリグニン分解活性の至適温度は 23~28℃と低い²⁾。また、好熱性放線菌(*Thermoactinomyces*, *Actinobifida*)と好熱性糸状菌(*Chaetomium*)もセルロースやヘミセルロースを分解できることが知られている。これらは好熱性といえども、60℃以上では増殖できず内生孢子を形成し休眠状態となる。従って、60~80℃のような高温まで到達したときに木質の分解は生じるのか疑問である。また、高温下でのコンポスト化の進行状態についても不明である。

そこで本報では、コンポスト化期間の短縮化を図ることを目的として、分解酵素の最適温度条件とその条件を維持するための方法について検討した。

2. 実験方法

セルロース分解菌は、中浦³⁾、布施⁴⁾の発表した現場内コンポスト化チップより、0.1M 酢酸 Na⁺バッファー(pH5.5)にて抽出した菌体をセルロースアگارプレート(6g/l 粉末セルロース, 1g/l NaNO₃, 1g/l KH₂PO₄, 0.5g/l MgSO₄ · 7H₂O, 0.5g/l 酵母エキス, 15g/l ガー)で分離した。粗酵素の抽出は、0.1M リン酸バッファー、pH5.5 に分離菌を懸濁し、遠心分離(3,500rpm, 4℃, 20分)した上清を細胞外酵素とし、ペレットをホモナイズして遠心分離後得た上清を細胞内酵素とした。セルロースの分解活性として、エンド型セルラーゼを、ヘミセルロースの分解活性としてエンド型キシラーゼをそれぞれ測定した。前者のアッセイ法は、0.2ml の酵素抽出液(2M 酢酸 Na⁺バッファー、pH4.5)に、0.2ml 基質(2M 酢酸 Na⁺バッファー、pH4.5)を添加し、vortex で激しく振蕩後、20~80℃、3分反応させた。1.0ml 停止液((pH 5.0; 40mg/ml 酢酸 Na, 5.2mg/ml 酢酸亜鉛, 95%EtOH 800 μ l, DW 200 μ l)を加え、10秒激しく振蕩した後、10分室温放置した。遠心分離(6,000rpm, 10分)した上清を 590nm の吸光度測定(HITACHI, U-3410)した。ブランクとして、反応前に停止液を加えたものも並行して測定し、サンプルとブランクの差の吸光度を活性として求めた。測定は、同一条件下で n=3 で測定し、その平均値を用いた。基質は、20mg/ml (2M 酢酸 Na⁺バッファー、pH4.5)に調整したアゾCMセルロース(BIOCON, Japan)を用いた。後者のアッセイ法は、バッファーとして 0.1M 酢酸 Na⁺バッファー、pH4.7 を、停止液に 95%EtOH をした点を除いては前者と同様の操作で測定した。基質は、0.2mg/ml 75% 化 Na を含む 20mg/ml アゾキシラン(BIOCON, Japan)を用いた。

チップ堆積山内部のガス濃度は、布施らの報告⁴⁾と同様に条件 A⁴⁾について測定した。チップ堆積山(H=3m)上部より 0.5m、中腹部、底部より 0.5m の位置で、堆積山側面より 0.5m、1.0m、1.5m 内部の酸素(O₂)と二酸化炭素(CO₂)の濃度分布を測定した。

伐採木材、コンポスト、木質分解菌、セルラーゼ、キシラーナーゼ

連絡先: 帆秋利洋 (〒275-0024 千葉県習志野市茜浜 3-6-2 大成建設(株)生物工学研究所 環境生物研究室

TEL; 0474-53-3901、FAX; 0474-53-3910、E-MAIL; toshihiro.hoaki@sakura.taipei.co.jp)

3. 結果および考察

発酵チップを原料に、分離された多くの菌が40℃以上で生育できなかった。その中で、糸状菌の木質分解酵素活性と温度の関係について調べた結果を図-1に示す。セルラーゼに関しては70℃、キシラナーゼに関しては60℃が分解のための至適温度であった。中浦らや布施らの報告^{3), 4)}のようにコンポスト化は高温下での反応を伴う。この高温下でのメリットは、反応速度が高まることにある。酵素活性は、温度が10℃上がると活性は2倍になるため、理論的には70℃では35℃に比較して約10倍速く分解されることになる。以上の知見より、コンポスト化初期段階では40℃以下で温度管理を行って分解菌を増殖をさせ、その後温度を60～70℃にまで上昇させて酵素活性を高めるよう高温状態を維持することが木質成分の分解促進化に有効であると判断された。

従来のコンポスト化製造過程では、呼吸熱の蓄積による昇温後に菌類の増殖のためのO₂が不足するため、堆積山内部を鋤返しすることが通説である。図-2は、チップ堆積山内部が最高温度に達し、しばらくその温度を維持している際の堆積山内部のO₂とCO₂の濃度分布を測定した結果である。本結果より、代謝ガスは側面からの距離に応じて濃度勾配を示しており、側面より1.5mの位置のO₂は約10%であった。破線で表示したようにこの勾配を辿ると側面より2mでO₂が消費されることになる。従って、堆積山内部は一辺(幅)を4m以下にすることで嫌気状態が回避できることを裏付けている。これは、チップの堆積状態(充填密度)にも依存すると考えられるが、今回の条件においては外気からのO₂供給が堆積山の内部にまで行き届いていると言える。すなわち、高温下での好気環境を維持させるためには、ただ単にチップの堆積状態の条件設定次第で対応できることが示唆された。

ここで、本結果はあくまでも一例であり、コンポスト化には複数の菌類が関与し、これらが発酵過程において変遷つしし分解が生じていると考えられる。従って、コンポスト化の発酵過程別に優先菌種を把握し、それらの菌の酵素活性より至適温度条件を見いだすことが必要と言える。また、セルラーゼとキシラナーゼの分解酵素には、今回測定したエンド型以外にエキソ型もあり、セルロースやヘミセルロースには結晶領域と非結晶領域とがあるため、活性だけでなくどの部分を分解しているかも重要と考えられる。従って、厳密な評価にはエキソ型の酵素活性も併せて測定し、それらの最終分解率をもって至適条件を探索することも今後の課題である。

4. まとめ

- 1) コンポスト化初期段階は30℃付近で管理し、その後60～70℃まで温度上昇させることが木質分解の促進化に有効であると判断された。
- 2) チップ堆積山の幅を4mに設定することで、高温状態を良好に維持することができる。

引用文献

- 1) 杉山純多著、3.植物生腐生菌類、「微生物の分離法」、R&Dプランニング、pp.160-166
- 2) VYAS, B.R.M., et al., Folia Microbiol. 39, pp.19-22 (1994)
- 3) 中浦和博ら、伐採材のコンポスト化における粉碎木片径の影響、本要旨集
- 4) 布施光敏ら、伐採材のコンポスト化における副資材の影響、本要旨集

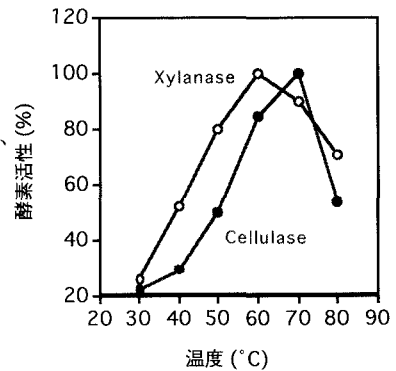


図-1 糸状菌のセルラーゼ(●)とキシラナーゼ(○)活性と温度の関係

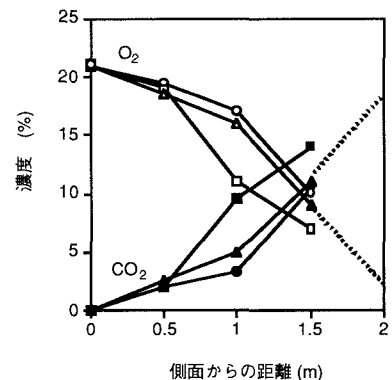


図-2 堆積山内部のガス濃度分布 (○●)上部、(△▲)中腹部、(□■)底部