

VII-46

毛髪分解菌のスクリーニングによる汚泥コンポストの品質向上に関する研究

八戸工業高等専門学校 学生会員○倭 常郎
 八戸工業高等専門学校 正会員 矢口 淳一
 八戸工業高等専門学校 柿崎 道子

1. はじめに

下水汚泥を好気醗酵させてコンポストにした時最後まで残存するのが毛髪である。現在、下水汚泥コンポスト製品中には毛髪が多く含まれ、農業利用者にとって使いづらいものとなっている。下水中の毛髪を物理的に除去するためには、目幅の狭いスクリーンを設置する方法があるが、毛髪除去が可能なスクリーンでは大きな浮遊物質は全て阻止されてしまうのでスクリーンはすぐに目詰まりを起こし、維持管理、コストの面で推奨できるものではない。このような現状から、下水汚泥コンポストに含まれる毛髪を効率的に除去する方法が必要であるといえる。

そこで、本研究では汚泥のコンポスト過程で毛髪を生物分解できればコンポスト製品の品質向上が図れると考え、毛髪分解活性の高い菌のスクリーニング（選別）実験を行った。

2. 実験材料および方法

実験方法の概要を図-1に示す。サンプルは、土壌、底泥、活性汚泥、特に養鶏場付近の土壌から収集した。表-1に寒天培地の組成を示す。分離培地は毛髪の主成分であるケラチン（東京化成製）と乳たんぱく質であるスキムミルク粉末（和光純薬製）を単一炭素源とする合成寒天培地の2種類で、寒天培地上で明白なハローを形成した菌株を純粋培養して単離した。分離菌株は長期保存のためスラント培養を行った。（一次スクリーニング）また文献等でケラチン分解活性が報告されている菌株10株以上を生物遺伝資源センターより購入した。

次に分離株のケラチン分解活性と毛髪分解活性を液体培養で測定した。液体培養では、表-1の培地から寒天を除き酵母エキスを1.0g/Lの濃度で添加したケラチン液体培地及びエタノールと水で洗浄し乾燥させた毛髪2g/Lに表-1の無機塩類、酵母エキスを添加した毛髪液体培地を使用し、温度30℃、回転数120rpm、期間約10日間の条件で50mLの坂口フラスコで振とう培養した。分解生成するアミノ酸をニンヒドリン試薬で定量し¹⁾、分離菌の活性を調査した。また液体培養終了後毛髪をラクトフェノールブルーで染色して顕微鏡で観察し、毛髪の分解状況を調べた。（二次スクリーニング）

3. 実験結果および考察

現在までにたんぱく質分解菌及びケラチン分解菌として分離した株は、約70株程度である。菌株の種類はバクテリア、放線菌、真菌類で、ほとんどがバクテリアであった。液体培養でケラチン分解や毛髪分解活性の高かった菌株を表-2に示す。分離源は主に土壌からのものが多く、腐敗したキノコから分離した菌株もあり、また購入株では、No.7の*Bacillus licheniformis* (IF014206)のみ活性が高かった。推定される属は*Bacillus*属が5株と半分を占めており、3株は放線菌であった。図-2に表-2で示した分離株のケラチン分

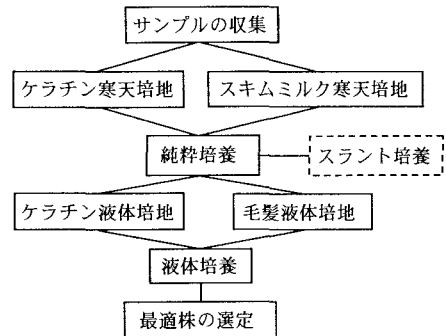


図-1 実験方法の概要

表-1 寒天培地の組成

K_2HPO_4	1.0g/L
KH_2PO_4	0.5g/L
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.025g/L
$CaCl_2$	0.025g/L
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.015g/L
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.005g/L
Keratin	10g/L
Skim milk	30g/L
agar	18g/L
pH 7.3	

解活性を示す。また図-3には毛髪分解活性を示す。ケラチン液体培地で最も活性が高かった株はNo.10の腐敗キノコから分離した株であり、ついでNo.9、No.4が良好なケラチン分解能を示した。また毛髪液体培地については、各分離株とも大きな差は見られなかった。

No.7の購入株については、ケラチン分解活性、毛髪分解活性ともに他の株より能力が劣っていた。図-4にNo.5株を液体培養した後顕微鏡で観察した毛髪写真を示す。毛髪の構造は多くの

表-2 スクリーニング結果の総括

	分離源	菌の形態	耐熱性	顕微鏡観察	推定される属
1	土壌	長桿菌		—	
2	土壌	桿菌・芽胞あり	○	+	<i>Bacillus</i>
3	河川底泥	球菌		++	
4	鳥糞	桿菌・芽胞あり	○	++	<i>Bacillus</i>
5	土壌	桿菌・芽胞あり	○	+++	<i>Bacillus</i>
6	腐葉土	桿菌・芽胞あり	○	++	<i>Bacillus</i>
7	購入株	桿菌・芽胞あり	○	+	<i>Bacillus licheniformis</i> (1F014206)
8	腐敗きのこ	菌糸状		+++	放線菌
9	土壌	菌糸状		+++	放線菌
10	腐敗きのこ	菌糸状		+++	放線菌

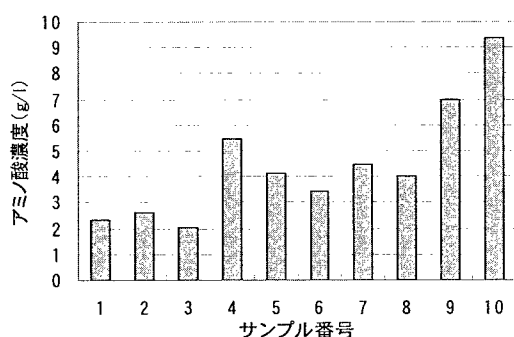


図-2 各分離株のケラチン分解活性

線維束からなり、それぞれの繊維束が互いに巻きついてロープ状になっている。ウロコ状の硬いキューティクルがこのロープ状の繊維束の周りに被覆し保護している²⁾。顕微鏡で観察した結果を表-2に示す。活性の高いNo.5、No.8、No.9、No.10の株は、観察したほとんど全ての毛髪で表面のキューティクルが剥離し保護されていた繊維束が露出していた。その他の菌株は、キューティクルが剥離していない毛髪も見られた。また *Bacillus* 属は熱に強い株であり、

コンポスト製造過程で発生する熱に耐えうる能力を持っていることからコンポスト製造における毛髪分解菌としてNo.5株は有望であると考えられる。

4. まとめ

液体培養及び毛髪の顕微鏡観察による毛髪分解菌のスクリーニング結果から、*Bacillus* 属と推定されるNo.5株、放線菌であるNo.8、No.9、No.10株が毛髪分解に有望な株であると推測される。今後は、これらの菌株が下水汚泥コンポスト過程で毛髪分解できるかどうか検討していきたい。本研究は、(財)東北建設協会の助成(2001-05)によって行われた。記して謝意を表す。

参考文献

- 1) 社団法人：日本生物工学会編 生物工学実験書 培風館 P6-P7 (1992)
- 2) 小山 次郎ら訳：レーニンジャーの新生化学(上) 廣川書店 P165-P185 (1984)

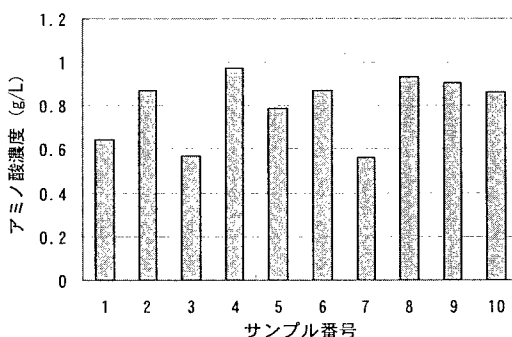


図-3 各分離株の毛髪分解活性

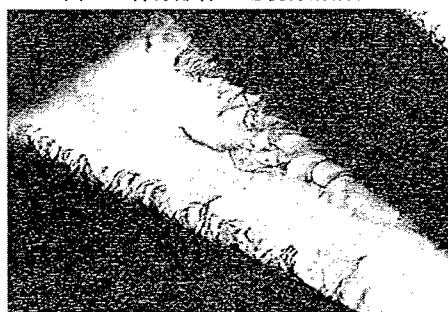


図-4 No.5株液体培養顕微鏡写真(×400)