

VII-55 分離培養された毛髪分解菌の諸特性

八戸工業高等専門学校 学生会員 ○ 倭 常郎

同上 正会員 矢口淳一

同上 後村勝美

1 はじめに

国土交通省では平成15年12月1日から下水汚泥資源化・先端技術誘導プロジェクト（LOTUS Project）として、スラッジ・ゼロディスチャージ技術の開発やグリーン・スラッジエネルギー技術の開発が始動している。¹⁾ 本研究では下水汚泥の有効利用手法の一つであるコンポスト化に注目し、下水汚泥コンポスト製品の品質上の問題点である毛髪の残存を改善し、コンポストの品質向上を目指した。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非常に使いづらいものとなっている。そこで汚泥のコンポスト過程で毛髪を生物学的に分解することができればコンポスト製品の品質向上が図れると考え、昨年は毛髪分解活性の高い菌をスクリーニングし有望株を3株ピックアップした。²⁾ 今回は、有望な3株に対して諸性質の検討を行い最適株の選定を行った。

2 実験材料および方法

スクリーニング実験で良好な結果を得ることができた有望菌株の3株に関しては、温度条件25℃で単独および2株、3株を混合した混合培養実験、温度設定を25℃、30℃、40℃、45℃、50℃の条件で液体培養した温度実験を行った。また液体培養前の毛髪をブレンダー（大阪ケミカル製）で回転数15,700rpm、5分および15分の条件で処理したケースと、超音波ホモジナイザー（50W、日本精機）で1分および3分の条件で処理したケースの4系統を毛髪前処理実験として温度条件25℃で行った。液体培地は二次スクリーニングで用いたケラチンおよび毛髪液体培地を使用した。²⁾

3 実験結果と考察

3.1 混合培養実験

二次スクリーニングで良好な結果を得ることができたNo.5株、No.9株、No.10株について菌株を混合して25℃、期間10日間の条件で液体培養を行い、菌株単独の場合と比較検討した。図-1に混合培養実験におけるアミノ酸生成速度を示す。ケラチン分解実験ではNo.9・No.10混合株が1.17g/L・dayと最も活性が高く、それぞれの単独培養と比較してNo.9株とNo.10株の間には混合効果が認められた。No.9株はNo.5株と混合培養した場合もアミノ酸生成速度が増加し、混合効果を確認することができた。一方No.5株は各分離株を混合したときよりNo.5株単独で培養したほうが活性が高くなり、No.5株に関しては菌の混合効果はみられなかった。特にNo.5株とNo.10株を混合した場合、各々の単独株よりアミノ酸生成速度が低下し、負の効果がみられた。これは3株の混合培養でも認められる。また毛髪分解実験でもNo.9・No.10混合株がアミノ酸生成速度0.26g/L・dayと最も活性が高くなったが、ケラチ

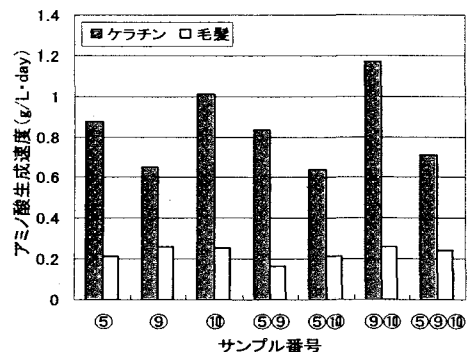


図-1 混合培養によるアミノ酸生成速度

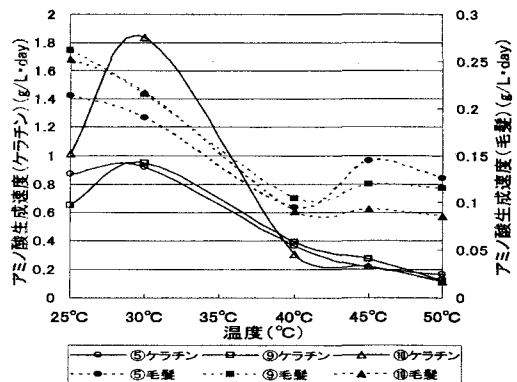


図-2 アミノ酸生成速度に及ぼす温度変化の影響

ン分解実験ほど混合効果はみられなかった。No.5 株との混合によるマイナス効果は毛髪分解実験でも観察された。

3.2 温度実験

液体培養実験を 25℃、30℃、40℃、45℃、50℃の温度条件で有望株について行い、アミノ酸生成速度を解析した。図-2 にアミノ酸生成速度に及ぼす温度変化の影響を示す。ケラチン分解実験に及ぼす温度の影響では、3 株とも 30℃でアミノ酸生成速度が最も速かった。温度 30℃の条件では、No.10 株がアミノ酸生成速度 1.834g/L・day と最も活性が高かったが、温度が上昇するにつれアミノ酸生成速度が遅くなり、40℃、45℃および 50℃の温度条件では 3 株のアミノ酸生成速度はほとんど変わらなかった。温度条件 30℃と 50℃のアミノ酸生成速度を比較して温度変化による速度低下率を算出すると、No.5 株が 82.1%、No.9 株が 87.6%、No.10 株が 93.6%であった。

毛髪由来のアミノ酸生成速度でも 3 株は同じ挙動を示し、25℃で最もアミノ酸生成速度が速く、40℃ではアミノ酸生成速度が最も低下した。また 3 株ともアミノ酸生成速度に大きな差はみられなかった。温度条件 25℃と 50℃のデータでケラチン分解実験と同様に速度低下率を算出すると、No.5 株が 33.9%、No.9 株が 46.1%、No.10 株が 60.6%となり、ケラチン、毛髪どちらに関しても No.10 株が高温領域に弱く、逆に No.5 株は温度上昇による速度低下率が最も小さかった。

3.3 前処理実験

液体培養前にブレンダーで 5 分もしくは 15 分間で破碎した毛髪と、超音波で 1 分および 3 分処理した毛髪を使用し、未処理の毛髪と比べ生成するアミノ酸濃度が変化するか調査した。図-3 に No.10 株における毛髪の前処理実験結果を示す。ブレンダーで処理した場合のアミノ酸生成速度は、未処理の 0.34 g/L・day と比べ 5 分間のブレンダー処理で 0.40 g/L・day、15 分間のブレンダー処理で 0.41 g/L・day とわずかながら効果が認められた。また超音波処理は、実施した実験条件下では効果が見られなかった。

前処理した毛髪を液体培養前に顕微鏡観察したところ、ブレンダー処理では毛髪表面に傷が見受けられたのに対し、超音波処理では変化が認められなかった。液体培養後の毛髪を顕微鏡で観察した結果、前処理なしで液体培養した毛髪と大きな差はみられなかった。しかしながら、液体培養後の毛髪をブレンダーで処理し、顕微鏡観察したところ毛髪が大きく破損し内部まで破断しているのを確認することができた。ブレンダー処理による破損の様子を写真-1 に示す。

4 まとめ

本研究で得られた知見を以下にまとめる。有望株の 3 株を混合培養実験、温度実験、前処理実験を行い諸性質を検討した結果、混合培養実験では No.9・No.10 株で混合効果が大きく認められ、温度実験では No.5 株が高温領域でもアミノ酸生成速度が低下しにくいことが確認できた。また前処理実験ではブレンダー処理でも超音波処理でもアミノ酸生成速度は未処理と比べ大きな変化はみられなかった。

参考文献

- 1) 国土交通省都市・地域整備局下水道部：汚泥有効利用に関するデータベース, <http://www.mlit.go.jp/crd/city/sewage/information/odeidb/031224db.html>
- 2) 倭常郎、矢口淳一：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，環境工学研究フォーラム講演集，第 40 回，pp156-158 (2003)

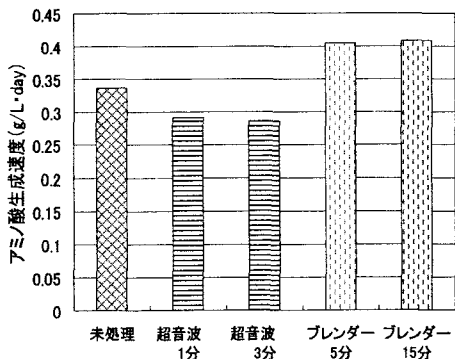


図-3 毛髪の前処理によるアミノ酸生成速度



写真-1 液体培養後にブレンダー処理した毛髪写真(×400)