

VII-31

高温性毛髪分解菌による下水汚泥コンポストの品質改善について

八戸工業高等専門学校 学生会員○竹谷 究

池野 憲吾

正会員 矢口 淳一

1. はじめに

近年、下水道の普及に伴い下水汚泥の排出量の増加は年々増加し、産業廃棄物の約2割を占めている。現在、下水汚泥の処分の状況は有効利用60%、埋立処分39%であり、環境問題や埋立地の不足から下水汚泥の有効利用が求められている。下水汚泥のコンポスト化は以前から行われてきたが、下水汚泥を発酵させてコンポスト化した時、コンポスト中に最後まで毛髪が分解されずに多く残存し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、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、コンポスト過程で使用できる毛髪分解菌のスクリーニングを行ってきた。しかし分離された菌株は高温では活性が低く、50℃以上の温度に達するコンポスト過程では十分機能できない。¹⁾ そこで、本研究では50℃以上の高温でも活性の高い毛髪分解菌のスクリーニングを行った。

2. 実験材料および方法

1) サンプル分離源 サンプルとしては、八戸高専土壌、鳥の糞、また高温性毛髪分解菌のため、青森・秋田県内の温泉地周辺の土壌を採取した。

2) 分離培地 分離培地の組成を表-1に示した。毛髪の主成分であるケラチン（和光純薬製）を単一炭素源とする合成寒天培地である。毛髪液体培地では50mlの坂口フラスコに洗浄・乾燥させた毛髪0.1gと酵母エキス1.0g/Lを含む表-1の無機塩類25mlを加えた。

3) スクリーニング方法 先ず、実験方法の概要を図-1に示した。一次スクリーニングとしては、サンプルを毛髪液体培地に少量添加して、50℃で1ヶ月以上集積培養した。ホモブレンダーで均一にした培養液を適宜希釈して表-1に示したケラチン寒天培地で平板培養した。そして、斜面培地でスラント培養して保存した。二次スクリーニングでは、分離菌株のケラチン分解活性と毛髪分解活性をケラチン液体培地と、毛髪液体培地で測定した。恒温振とう培養機で培養温度50℃、回転数120rpmの条件で約10日間坂口フラスコを振とう培養し、分解生成するアミノ酸をニンヒドリン試薬²⁾で定量した。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、毛髪の破損状況を調べた。

3. 実験結果および考察

一次スクリーニングの結果、現在までにケラチン分解菌として分離した株は約40株である。分離培養した菌株は液体培地でケラチン分解活性と毛髪分解活性を測定し、図-2にケラチン分解活性を、また図-3には毛髪分解活性をそれぞれ示した。分解活性はケラチンや毛髪が分解されて生成したアミノ酸生成速度で示した。ケラチン液体培地で最も活性が高かった株は八戸高専花壇の土壌から分離したK5株

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	5g/L
pH 7.3	

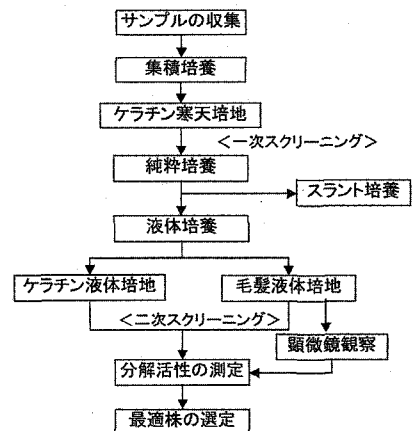


図-1 実験方法の概要

であり、他の菌株に比べて著しく良好なケラチン分解能を示した。また図3に示した分離株のなかでは、K17株が最も良好な毛髪分解能を示した。ケラチン分解活性と毛髪分解活性は必ずしも一致していないが、これは毛髪の主成分であるケラチンは分解できても、強固な三層構造をしている毛髪は分解しにくいためだと考えられる。

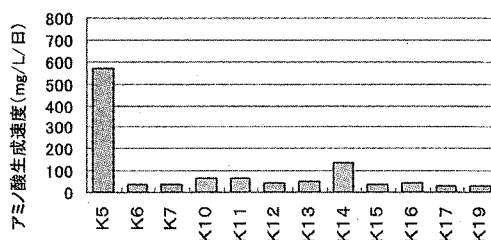
分離した40株のうち毛髪分解活性の高い7株の分解活性を、以前中温で分離した菌株¹⁾と比較して図4に示した。最も毛髪分解活性が高かった株は77.42(mg/L/日)のアミノ酸生成速度であった湯元温泉の土壌から分離したK35株であった。K29株、A34株も毛髪分解が高く、既存株の約二倍のアミノ酸生成速度を示した。図-5にK13株を毛髪液体培地で10日間振とう培養した後顕微鏡で観察した毛髪写真を示した。毛髪の構造は多くの線維束からなり、それぞれの繊維束が互いに巻きついてロープ状になっている。ウロコ状の硬いキューティクルがこのロープ状の線維束の周りに被覆し保護している³⁾。図-5から知られるようにK13株では、観察した一部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線維束が露出していた。同様の結果はK14株でも観察された。しかしその他の株についてはキューティクルの剥離などは確認できなかった。

4. まとめ

50℃における液体培養による高温性毛髪分解菌のスクリーニング結果から、K35、K29、A34株が50℃での毛髪分解において以前報告された既存の株よりも優れた毛髪分解性を示し、有望な株であると推測される。本研究の一部は、(財)前田記念工学振興財団研究課題名「毛髪分解による下水汚泥コンポストの品質向上」の助成によって行われた。記して謝意を表す。

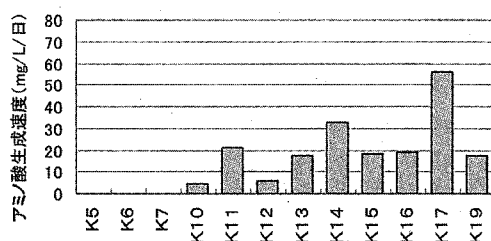
参考文献

- 1) 倭 常郎、矢口 淳：一土木学会 環境工学委員会 第40回環境工学研究フォーラム演集 p156-p158 (2003)
- 2) 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)
- 3) 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)



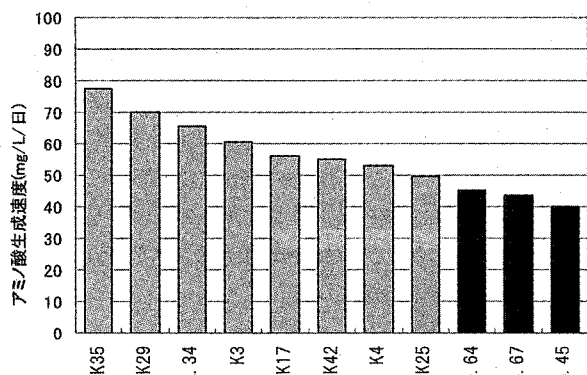
菌株番号

図2-分離株のケラチン分解活性



菌株番号

図3-分離株の毛髪分解活性



菌株番号

図4-毛髪分解能の優れた分離株と既存株の比較

No.45, 64, 67 株は文献1)の既存の菌株



図-5 K13株液体培養顕微鏡写真 (×400)