

# 乳酸発酵を基盤とする新規なバイオリサイクルシステムの 発見とその微生物生化学的解析

中山 亨

(東北大学大学院工学研究科 生物工学専攻)

## 【目的】

酸性高温条件下 (pH 3.5-6.5, 50-70 ) で長期間 (2 年以上) 持続する, 生ゴミの  
新規なバイオリサイクルプロセス (コンポスト化) を見いだした. このプロセスは酸  
性条件下で進行するという点で, 中性条件下で進行する従来の高速コンポスト化とは  
対照的であった. また, 本プロセスは悪臭発生も少なく, コンポスト化の維持管理も  
容易であり, 従来のプロセスにまつわる諸問題を解決しうるものとして期待されてい  
る. 本研究では, この新規なコンポスト化プロセスを維持する微生物フロアを PCR-  
変性濃度勾配ゲル電気泳動 (PCR-DGGE) 法や蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション  
(FISH) 法等により明らかにし, このコンポスト化が安定的に維持される原因につい  
て微生物生化学的な側面から考察を加えることを目的とした.

## 【研究方法】

本研究で用いたコンポスト化装置の 1 日あたりの最大許容生ゴミ負荷量は 5 kg であ  
った. 基質 (生ゴミ) を最初に加える前に, スターター微生物 (0.5 g, 耐酸耐熱性微生  
物および好熱好酸性微生物の混合培養物) と基剤 32 リットルをコンポスト化槽内で 1  
時間攪拌することにより, 均一に混合した. 新鮮な生ゴミの過剰な水分をざるで除去し,  
一定量 (4 kg) を槽内に毎日投与し, コンポスト化処理を行った. 主な投与物は食べ残  
しや加工残滓であり, 可食部分はすべてコンポスト化に供した. 動物の大きな骨, 貝殻,  
木片は投入しなかった. 生ゴミの繰り返し投与により, 槽内のコンポストの体積は徐々  
に増加するが, 一定時間ごとに適量のコンポストを除去して槽内のコンポストの容積を  
一定 (27 リットル) に保つようにした. コンポスト中の微生物フロアの PCR-DGGE  
解析は 520F (GTG CCA GCM GCC GCG G), 1400R (ACG GGC GGT GTG TRC), ならびに  
GC1400R (CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAC  
GGG CGG TGT GTR C) を用いて行った. FISH 解析は蛍光標識プローブ EUB338-FITC  
[5'-(fluo)GCT GCC TCC CGT AGG AGT-3'] および LAB-Cy3 [5'-(Cy3)GGT ATT AGC  
AYC TGT TTC CA-3'] を用いて行った. コンポストの有機酸組成は Photal CAPI-3200 マ  
イクロキャピラリー電気泳動装置 (大塚電子) を用いて分析した.

## 【結果】

調査期間中のコンポストの pH と温度はそれぞれ 5.5-5.6 および 60-65 であり, 本  
コンポスト化が好熱好酸性条件下で進行していることが示された. 図 1 に, 16S rDNA

(または 18S rDNA)の特異的増幅にデザインされたプライマーを用いてこのコンポストの微生物相の PCR-DGGE 解析を行った結果を示す。複数の DNA バンドが増幅され、その主なもの (1204A-D, 図 1) の塩基配列を決定した。これらの DNA バンドはいずれも *Lactobacillus* 属細菌の 16S rDNA の配列をもっており、高温条件下においてもこのコンポスト中では乳酸菌が優先種として存在し、有機物の分解に重要な役割を果たしていることが示唆された。本コンポスト化における乳酸菌の関与をより定量的に把握するため、FISH 解析を行った。その結果、本コンポスト 1 g 中には  $4.6 \times 10^7$  細胞の微生物が生息し、その 44-54% が乳酸菌特異的な蛍光プローブ (LABCy3) とハイブリダイズした。この結果は、乳酸菌が本コンポスト微生物の中で事実優先種となっていることを示している。コンポストの有機酸分析により、高レベル (最高 850 ppm) の乳酸や酢酸が検出され、乳酸発酵が起きていることが示唆された。また、コンポストの抽出液は大腸菌の生育を阻害し、コンポスト中にバクテリオシン様の物質が含まれていることも示唆された。

#### 【結論】

本研究において、乳酸菌を優先種とする微生物生態系がコンポスト中に安定に存在することが示された。これらの乳酸菌はおそらく、もともと生ゴミ中に存在し耐熱耐酸性もしくは好熱好酸性の菌種であり、好熱好酸性条件下で選抜されてきたと考えられた。このコンポスト化プロセスの高温条件、乳酸発酵によりもたらされる酸性条件、乳酸菌により生産されるバクテリオシンなどにより、このコンポスト化の円滑な進行を阻む有害微生物の生育が抑制され、乳酸菌を主体とする安定な微生物フロラが維持され、このコンポスト化の安定性の原因となっているものと考えられた。

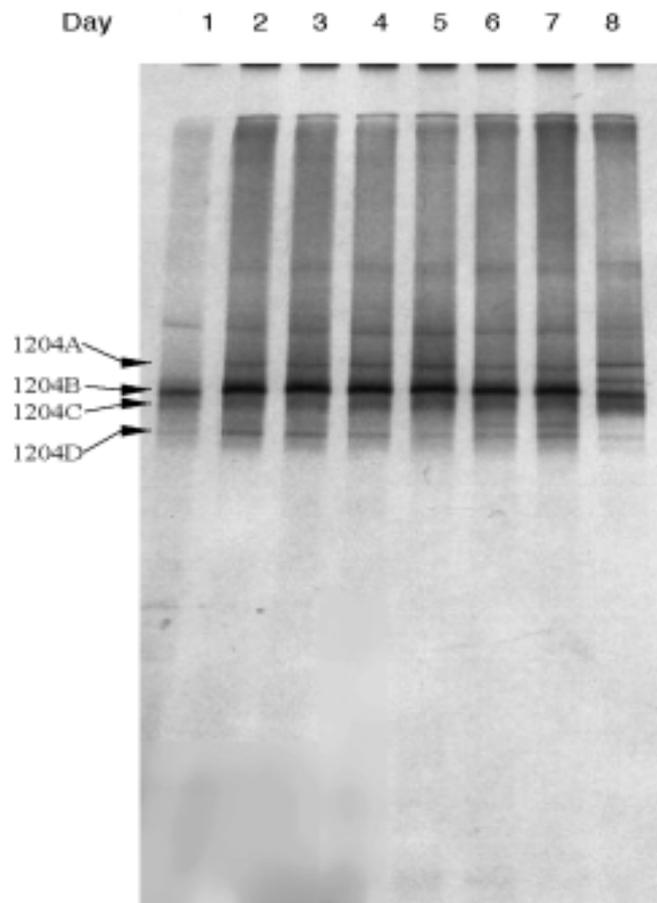


図 1. コンポスト化プロセスの PCR-DGGE 解析