

ヒノキに含まれる植物生育阻害物質の除去 および阻害物質の微生物への影響

吉田 清司

第一工業大学 自然環境工学科

Removal on plant growth inhibitor included in hinoki cypress and influence on microbe

Seiji YOSHIDA

Abstract

Keywords: *hinoki cypress extract, plant growth inhibitor, tannic acid, phenol, heat-treatment, alkali processing, composting, microbe*

The removal on a plant growth inhibitor included in hinoki cypress and influence on microbe was examined. Because a plant growth inhibitor may have an influence at the time of composting. As a result of experiment, the tannic acid and the phenol which were a plant growth inhibitor were able to remove a hinoki cypress by alkali processing and heat-treatment. Therefore I experimented on two ways. One of way mixed a raw hinoki cypress sawdust and garbage and cow dung and performed composting. Another mixed the hinoki cypress sawdust which did alkali processing and garbage and cow dung and performed composting. Compost temperature rose to 70 degrees Celsius, and both experiments understood that a microbe acted lively. Therefore, I understood that the microbe in the composting was not affected by the obstruction thing. Other hand, from the result of the germination examination of a kind of Chinese cabbage for inhibitor, the hinoki cypress extract provided from alkali processing and heat-treatment showed an obstruction effect for plant growth.

1. はじめに

本報告はスギおよびヒノキの間伐材をおが粉状にして、生ごみや畜ふん、集落排水汚泥等と共に混合し、堆肥化する新しい試みを行うのにあたり、特にヒノキに含まれるタンニンやフェノール物質等の植物生育阻害物質の除去方法の検討と阻害物質が生ごみ等の有機物を分解する微生物に影響を与えるかどうかについて検討したものである。

2. 実験方法

石井ら¹⁾はヒノキに含まれる植物生育阻害物質の除去方法について、熱的処理およびアルカリ溶出処理が有効であるとことを報告している。今回はこの二点について実験を行った。

2-1. 阻害物質の簡易測定法

アルカリ溶出方法によって溶出した液を分光光度計によってスキヤニングし、得られたピーク波長 277nm の吸光度 (OD₂₇₇) と液に含まれる阻害物質の一つであるタンニン酸濃度を folin-denis 法で測定し、OD₂₇₇ とタンニン酸濃度との関係を求めた。

2-2. 熱的処理方法

ビーカーに 1ℓの水を入れ、電気ヒータによって所定の温度に自動コントロール加温した後、50g のヒノキおが粉 (含水率 36%) を添加、攪拌し、経時的に液の OD₂₇₇ を測定した。

2-3. アルカリ処理法

ビーカーに 1ℓの水を入れ、Ca(OH)₂ および NaOH を添加して所定の pH に調製した後、50g のヒノキおが粉を添加、攪拌し、経時的に液の OD₂₇₇ を測定した。

2-4. 熱処理およびアルカリ処理後の溶出液およびおが粉が微生物および植物に及ぼす影響

2-4-1. 処理溶出液の微生物への影響

ヒノキおが粉を熱処理およびアルカリ処理した後の液を 0.22 μm の滅菌メンブランフィルターでろ過し、そのろ液 1ml を普通寒天培地に塗末した。この時、原液を滅菌水道水で 3 水準に薄めて実験した。一方、腐葉土 50g を 500ml の水道水に分散し、30 分後の上清を菌源として用い、希釈して普通寒天培地に塗末し、30℃で培養した。48 時間後のコロニー数を計測し、対照と比較した。

2-4-2. 処理溶出液の植物への影響

溶出液をシャーレに入れた脱脂綿にしみこませ、小松菜の種 20 粒を植種した。溶出液は硫酸および水酸化ナトリウムで中和して用いた。

2-4-3. 処理おが粉の細菌への影響

ヒノキおが粉を熱処理およびアルカリ処理した後、熱処理したヒノキおが粉はそのまま、一方、アルカリ処理したおが粉は硫酸によって中和 (pH8.0) した後、生ごみに見立てたペットフードと微生物源の腐葉土を混合し、30℃で培養した後、細菌の増殖を調べた。細菌数は普通

寒天培地にコロニーとして生育した数を培養基材の乾燥重量 g 当たりの数で表した。

2-5. 溶出阻害物質の吸着処理

アルカリ液によって溶出された植物生育阻害物質を活性炭の吸着材によって吸着処理した。ヒノキおが粉をアルカリ溶出した液 1ℓ に吸着材として用いた、ヒノキ炭および活性炭を添加し、経時的に液の OD₂₇₇ の変化を調べた。

2-6. 堆肥化実験

無処理のヒノキおが粉とアルカリ処理したヒノキおが粉を用いて約 3m³ の堆肥化実験を行った。堆肥化材料には、生ゴミ、牛糞およびエノキ菌床廃おが粉を用い、それぞれの配合は表-1 に示すとおりである。

表-1 ヒノキおが粉堆肥化実験配合表

| 原料名 | Case-1 (A) | Case-2 (B) | Case-3 (C) | 計 |
|----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 生ゴミ | 0.24m ³ (0.17t) | 0.24m ³ (0.17t) | 0.19m ³ (0.13t) | 0.68m ³ (0.48t) |
| エノキ廃オガ粉 | 0.35m ³ (0.21t) | 0.35m ³ (0.21t) | 0.28m ³ (0.16t) | 0.99m ³ (0.59t) |
| 牛糞+オガ粉 | 0.86m ³ (0.43t) | 0.86m ³ (0.43t) | 0.97m ³ (0.89t) | 2.69m ³ (1.35t) |
| ヒノキオガ粉 | | 1.44m ³ (0.43t) | | 1.44m ³ (0.43t) |
| 〃 (処理済み) | 1.44m ³ (0.43t) | | 1.46m ³ (0.44t) | 2.9m ³ (0.87t) |
| 尿素※1 | | | (10.2kg) | (10.2kg) |
| 過磷酸石灰※2 | | | (3.4kg) | (3.4kg) |
| 計 | 2.9m ³ (1.24t) | 2.9m ³ (1.24t) | 2.9m ³ (1.22t) | 8.69m ³ (3.72t) |

計算には次の値を用いた。ヒノキ: C/N=583, 水分率=30%, かさ比重=0.3, 処理済みヒノキ: C/N=?, 水分率=30%, かさ比重=0.3, 牛糞+オガ粉: C/N=28.9, 水分率=80%, かさ比重=0.5, 生ゴミ: C/N=16.8, 水分率=80%, かさ比重=0.7, エノキ廃オガ粉: C/N=29.6, 水分率=65%, かさ比重=0.6 鶏糞: C/N=7.9, 水分率=15.5%, かさ比重=0.6, 尿素※1は C/N を 30 に設定、過磷酸石灰※2は C/N を尿素的の 1/3 に設定

3. 結果および考察

3-1. 植物生育阻害物質の簡易測定法

阻害物質のタンニンやフェノール物質は高速液体クロマトグラフィーで測定できるが、手間と時間がかかりサンプル数が多くなると実用的とはいえない。そこでクロマトグラフィーに替わる簡便な測定方法について検討した。我々は溶液中のある物質が特定の波長を受けると吸収する性質のあることを経験する。ヒノキからの溶出液について、この現象が見られないかどうか調べた。その結果、図-1 に示すように 277nm の波長に吸光のピークが認められた。そこで、ヒノキおが粉を pH の異なるアルカリ溶液で処理して得られた溶出液の OD₂₇₇ と阻害物質の一つであるタンニン酸濃度を測定し、これらの相関性を調べてみると、図-2 に示す直線関係が得られた。この結果から、分光光度計による OD₂₇₇ を測定することによって阻害物質濃度を間接的に測定できることが明らかにな

った。

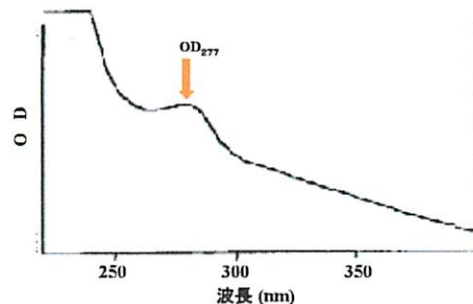


図-1 ヒノキ抽出液のスキニング

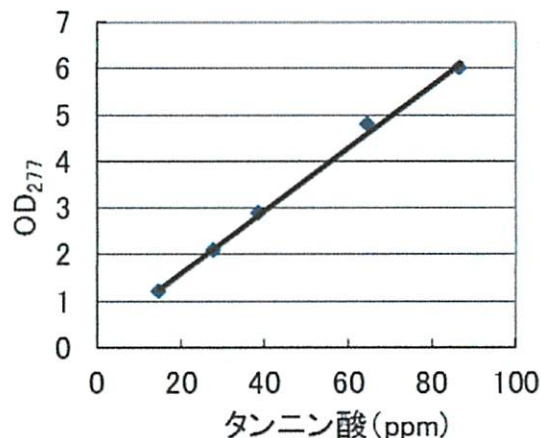


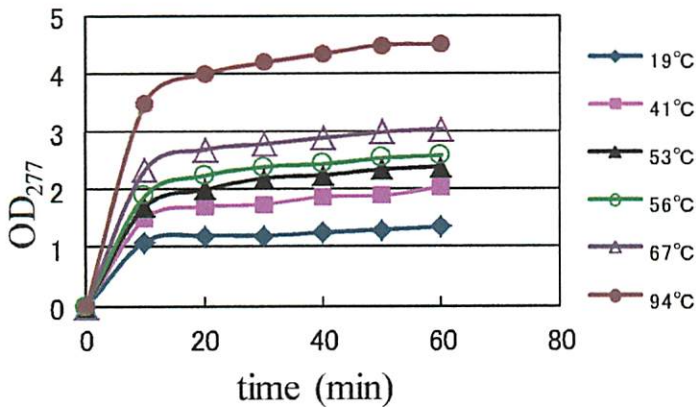
図-2 タンニン酸濃度と OD₂₇₇ の関係

3-2. 熱的処理方法

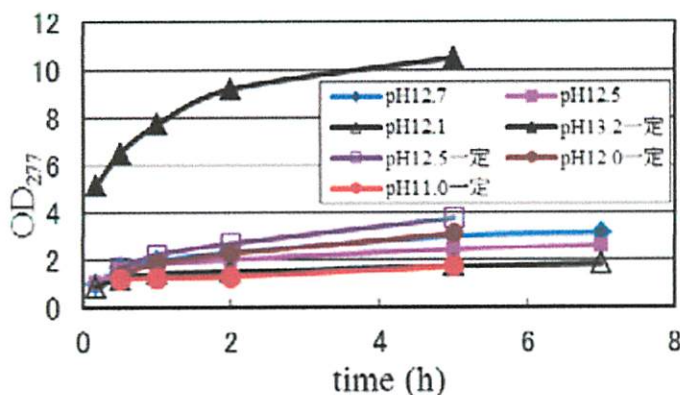
ヒノキおが粉を 19℃ から 94℃ に変化させた湯温で処理した OD₂₇₇ の変化を図-3 に示した。いずれも 10~30 分の加熱時間で、その湯温に対する阻害物質の溶出がほぼ完了することが分かった。したがって、この方法での阻害物質の除去を行うためには加熱時間を 30 分とれば十分であることが示唆された。また、温度による阻害物質の溶出濃度は温度が高いほど大きく、実験では 94℃ で最大となった。

3-3. アルカリ処理方法

アルカリ処理方法による阻害物質の溶出結果を図-4 に示した。ヒノキおが粉に対するアルカリ液の作用方法を 2 通りに分けて実験を行った。一つは作用液のアルカリ濃度を間接的に示す pH を実験開始時一定にしておいて、その後はヒノキおが粉から溶出するタンニン酸の酸性物質による pH の低下を無視して実験をおこなった。もう一つの方法は低下する pH の値を所定の pH に保持するために水酸化カルシウムおよび水酸化ナトリウム液を添加して実験を行った。水酸化カルシウムによる pH は 11.0 ~ 12.7 に変化させた。この場合、水酸化カルシウムの溶

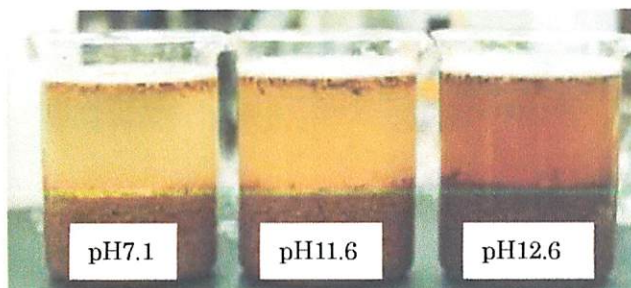


図—3 温度を変化させたときのヒノキ液抽出時間と OD₂₇₇ の関係



図—4 pH を変化させたときのヒノキ液抽出時間と OD₂₇₇ の関係

解度が低く、pH が 11 以上になる量を添加すると、未溶解部分が白濁した。また、pH を 13 以上にするために、水酸化ナトリウム溶液を用いた。実験の結果、pH を一定に、さらに、強アルカリに保持したほうが、植物生育阻害物質の溶出が容易に行われることが明らかになった。これは阻害物質が酸性物質であるために溶液の pH が高いほど酸性物質の影響を受けづらく、pH の低下が遅延するためと思われる。また、pH が 12.7 と 13.2 の間には阻害物質の溶出に大きな差が見られたが、これは、単にアルカリ濃度の差なのか、ナトリウム塩とカルシウム塩の差によるものか、今後の検討が必要である。図—5 に pH の差によるヒノキおが粉からのタンニン酸等の溶出状況を示した。



図—5 異なる pH 値によるヒノキ抽出液の色調の変化

3-4. 熱処理およびアルカリ処理後の溶出液と処理後のおが粉が微生物および植物に及ぼす影響

3-4-1. 処理溶出液の微生物への影響

溶出液による微生物への影響についての結果を表—2 に示した。実験に用いた溶出液は熱処理の場合は OD₂₇₇ 値が 4.2 のものを、アルカリ処理では 6.2 のものを用いた。いずれの溶出液にも同一オーダーの細菌が生育し、溶出液による細菌への影響はほとんどないと思われる。また、スギについても溶出条件をヒノキと同様に行ったものを実験に用いたが、ヒノキ同様、微生物への影響はほとんど認められない結果となった。

表—2 微生物を抽出液で培養した場合のコロニー発生数 (CFU/g)

| 原液 | 水 | ヒノキ熱処理液 | ヒノキアルカリ処理液 | スギアルカリ処理液 |
|-----|-----|---------|------------|-----------|
| 0 | 100 | 4.8 | 6.1 | 4.4 |
| 100 | 0 | 4 | 6.1 | 4.2 |
| 70 | 30 | 4.1 | 6.3 | 3.2 |
| 50 | 50 | 3.1 | 6.6 | 5 |
| 30 | 70 | 4.1 | 5.3 | 3.9 |

3-4-2. 処理溶出液の植物への影響

処理溶出液の植物への影響についての結果を表—3~5 および図—6~8 に示す。熱処理後およびアルカリ処理後の溶液はそれぞれ OD₂₇₇ の値が 4.2 および 6.2 のものを用い、スギについてはヒノキと同様にアルカリ処理した液を使用した。表—3~5 には処理原液を水道水で希釈した場合の小松菜の一週間後の発芽状況、莖の長さおよび葉の大きさを示したが、対照とした水道水のものに比べ、すべての項目について劣ることが明らかとなり、ヒノキおよびスギの抽出液成分の中に植物生育阻害物質のあることが裏付けられた。図—9 には溶出液による根の伸長状態を示したが、水のみ対照は根の伸長が認められるのに対して、ヒノキの熱処理およびアルカリ処理さらに、スギのアルカリ処理後の液はいずれも根の伸長が認められず、生育障害を受けることが認められた。しかし、小松菜の生育が悪い原因として、水酸化カルシウム溶液を硫酸で中和した後の塩類が影響しているのではないかという懸念もあり、ヒノキをアルカリ処理した水酸化カルシウム量とこれを中和するのに必要な硫酸で中和処理した液を作成して小松菜の生育試験を行った。結果を図—10 に示す。この結果から小松菜の発芽は塩類濃度に関係なく生育することが分かった。したがって、図—3~4 に示すようにヒノキおが粉を熱処理およびアルカリ処理して得られる褐色の抽出溶液には植物の生育を阻害する物質が含まれることが示唆される。また、溶液に抽出される植物生育阻害物質濃度は色調が濃くなるほど OD₂₇₇ の値が大きく、その状態は目視からも窺うことができる。

表—3 ヒノキ熱処理抽出液による小松菜の発芽試験

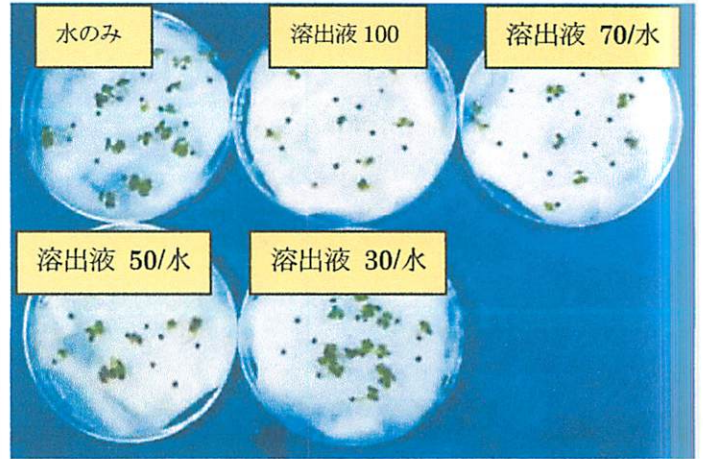
| 原液 | 水 | 発芽数 (個) | 茎長さ (mm) | 葉の大きさ (mm) |
|-----|-----|------------|-------------|---------------|
| 0 | 100 | 18 | 6.6-21.0 | 5.5-7.7 |
| 100 | 0 | 15 | 5.2-9.3 | 2.7-5.6 |
| 70 | 30 | 17 | 4.5-17.1 | 3.9-7.0 |
| 50 | 50 | 16 | 6.3-15.8 | 4.3-7.5 |
| 30 | 70 | 14 | 5.0-14.0 | 4.6-5.8 |

表—4 ヒノキアルカリ処理抽出液による小松菜の発芽試験

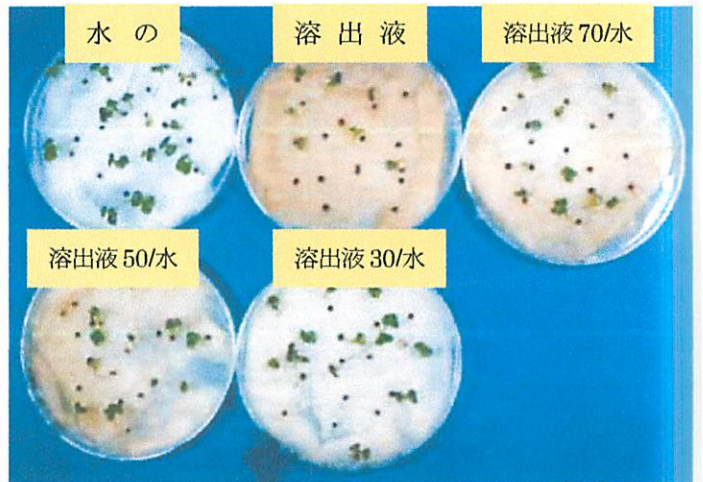
| 原液 | 水 | 発芽数 (個) | 茎長さ (mm) | 葉の大きさ (mm) |
|-----|-----|------------|-------------|---------------|
| 0 | 100 | 18 | 6.6-21.0 | 5.5-7.7 |
| 100 | 0 | 7 | 5.0-8.0 | 3.2-4.5 |
| 70 | 30 | 10 | 4.4-6.2 | 3.6-5.6 |
| 50 | 50 | 10 | 5.2-6.0 | 4.0-6.5 |
| 30 | 70 | 15 | 5.3-8.5 | 4.6-6.5 |

表—5 スギアルカリ処理抽出液による小松菜の発芽試験

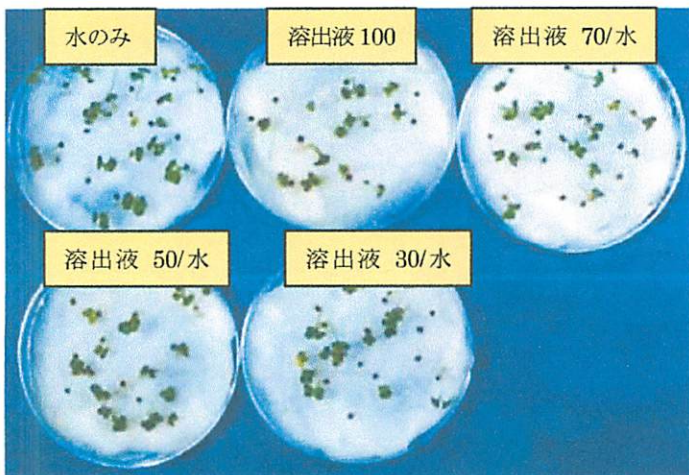
| 原液 | 水 | 発芽数 (個) | 茎長さ(mm) | 葉の大きさ(mm) |
|-----|-----|------------|----------|-----------|
| 0 | 100 | 18 | 6.6-21.0 | 5.5-7.7 |
| 100 | 0 | 7 | 3.6-5.2 | 3.6-4.7 |
| 70 | 30 | 11 | 5.0-6.5 | 4.1-5.7 |
| 50 | 50 | 11 | 5.8-13.1 | 4.0-6.4 |
| 30 | 70 | 14 | 5.0-17.3 | 4.2-5.5 |



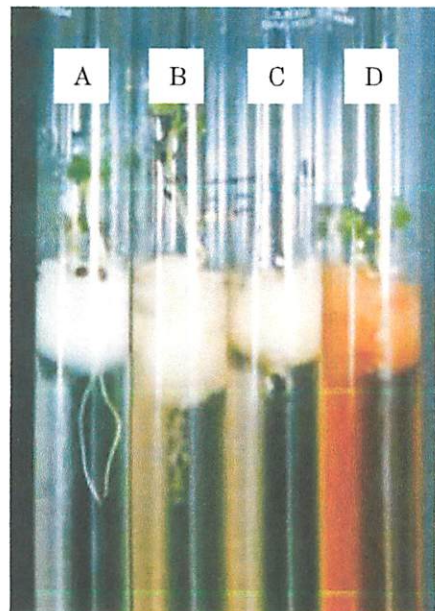
図—7 ヒノキアルカリ処理抽出液による小松菜の発芽試験



図—8 スギアルカリ処理抽出液による小松菜の発芽試験



図—6 ヒノキ熱処理抽出液による小松菜の発芽試験



図—9 各種処理液の小松菜根の伸長試験

A:水のみ B:ヒノキ熱処理液 C:ヒノキアルカリ処理液
D:スギアルカリ処理液



図—10 中和液による小松菜の発芽試験(Ca(OH)₂1.5g/l を H₂SO₄で pH7.2 まで中和した)

3-4-3. 処理おが粉の影響

表—6 は無処理おが粉および処理おが粉を基材とし、ペットフードを微生物の基質として培養した時の細菌数を調べた結果である。細菌の数は培養時間と共に増加しており、使用した基材の中で微生物が生育することが認められる。3-3-2. の結果からヒノキおよびスギの溶出成分が、少なくとも土壌細菌には完全なダメージを与えるものではないことを記述したが、表—6 が示す結果はヒノキ材を生ごみのような有機物を分解する細菌の基材に用いてもほとんど影響を与えないことを示すものである。このことは後に述べる小規模な堆肥化実験の結果とも一致するものである。

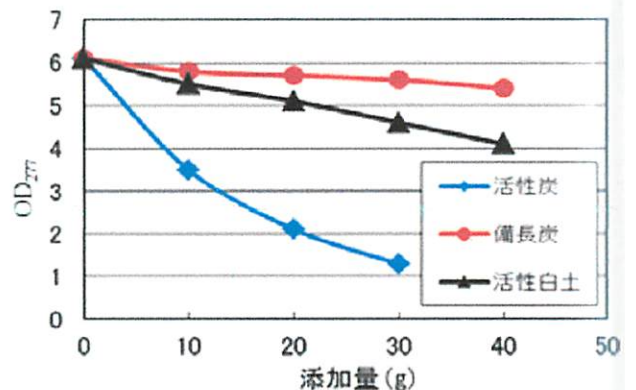
表—6 ヒノキおが粉を基材としたペットフード分解時の細菌数の変化

| 処理時間 (日) | | 0 | 4 | 7 | 21 |
|---------------|------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| ヒノキ熱処理 (94℃) | 菌数 (CFU/g) | 1.4x10 ⁸ | 2.4x10 ¹⁰ | 1.1x10 ¹¹ | 5.3x10 ⁸ |
| | 含水率 (%) | 66.1 | 68.4 | 71.8 | 70 |
| ヒノキオガ粉 無処理 | 菌数 (CFU/g) | 1.6x10 ⁸ | 6.0x10 ¹¹ | 2.0x10 ¹¹ | 5.8x10 ⁸ |
| | 含水率 (%) | 63.6 | 68.4 | 70.1 | 70.7 |
| ヒノキオガ粉 アルカリ処理 | 菌数 (CFU/g) | 1.4x10 ⁸ | 1.2x10 ¹² | 9.3x10 ¹¹ | 2.2x10 ⁸ |
| | 含水率 (%) | 65.6 | 70.3 | 70.1 | 69 |
| スギ 無処理 | 菌数 (CFU/g) | 1.4x10 ⁸ | 1.0x10 ¹² | 1.1x10 ¹⁰ | 1.9x10 ⁸ |
| | 含水率 (%) | 65 | 70.1 | 71 | 72 |

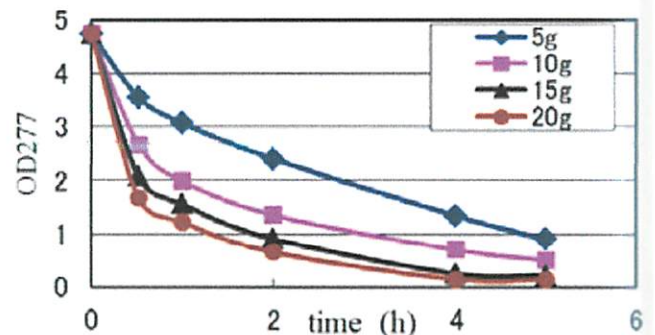
2-5. 溶出阻害物質の吸着処理

熱処理およびアルカリ処理後の液には植物生育阻害物質が溶出・濃縮される。溶出液に阻害物質が濃縮されていくと、おが粉からの阻害物質の溶出が徐々に困難になり、おが粉からの阻害物質の溶出に障害となる。そこで、濃縮された阻害物質を除去することが必要になる。ここでは、活性炭および木炭による吸着処理を検討した。結果を図 11~13 に示す。図—11 はアルカリ処理した液の阻

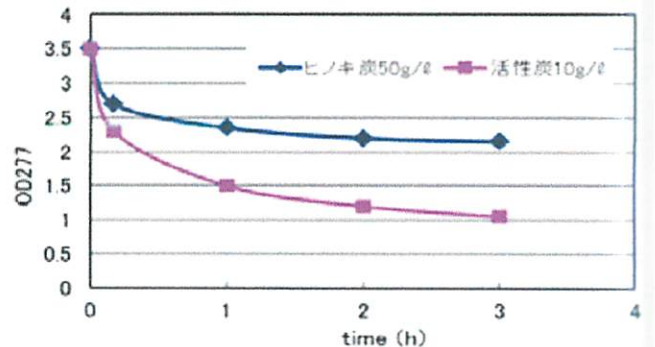
害物質を各種吸着材によって処理した結果を示したものである。この結果が示すように活性炭吸着処理が最も効率の良い方法であることが分かる。さらに、活性炭の添加量を変化させて調べた結果が図—12 である。活性炭の添加量を多くすれば、処理速度が速くなり、使用量が少なくても時間をかけることによって処理効果を上げることが可能である。また、木炭にも吸着能があることから、活性炭と木炭とを比較してみた。その結果を図—13 に示す。結果から、木炭を活性炭の 5 倍量使用しても遙か活性炭には及ばなかった。しかし、活性炭は高価であり、木炭との併用によって処理コストを低減するような方法を検討することも必要と考える。図—14 に活性炭および木炭によって吸着処理した処理水の状態を示す。



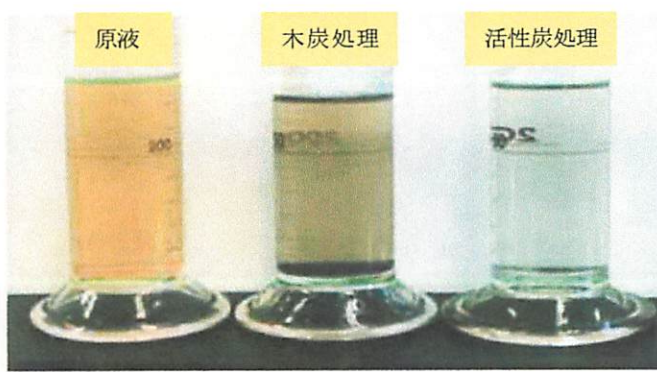
図—11 各種吸着材によるヒノキ抽出液の吸着



図—12 活性炭量を変化させたときの処理時間と OD₂₇₇ との関係



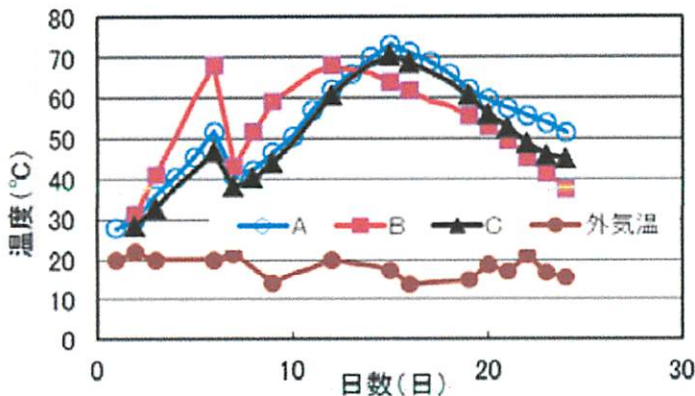
図—13 ヒノキ抽出液の木炭と活性炭による吸着時間と OD₂₇₇ との関係



図—14 木炭と活性炭処理後の色調状態

3-6. 堆肥化実験

アルカリ処理したヒノキおが粉およびヒノキおが粉に生ごみ、牛糞およびエノキ栽培後の菌床廃おが粉を混合して堆肥化実験を試みた。堆肥化の状態を把握する最も重要な指標として堆肥化温度が上げられる。その温度変化を調べた結果を図—15に示す。AおよびCはpH12の液で20時間アルカリ処理した後、硫酸で中和(pH8)したヒノキおが粉を、Bは無処理のヒノキおが粉をそれぞれ使用した。いずれのケースも生ごみ等を添加混合した後、温度が上昇し、Bのケースでは6日後に69.2°Cに達した。また、AおよびCについては約2週間後に温度がそれぞれ73.2および70.3°Cを記録し、微生物が活発に働いていることが確認された。したがって、当初懸念されたヒノキに含まれる阻害物質の微生物への影響はほとんど認められなかった。



図—15 堆肥化実験における堆肥温度と堆肥時間との関係 (A,B,Cは表—1に示す堆肥原料が異なることを示す)

3-7. 熱処理およびアルカリ処理のコスト比較

ヒノキおが粉から阻害物質を除去するために熱処理およびアルカリ処理について検討したが、これらの薬剤、エネルギーコスト比較を行った。比較は使用水量、ヒノキおが粉量、阻害物質溶出量が同等になる条件で行った。

溶出液の吸着処理および設備動力については今後詰めなければならない問題もあるため比較の対象から除外した。結果を表—7に示した。この結果から、アルカリ処理による方法は熱処理法に比べて約1/2のコストで済むことが推算された。

表—7 アルカリ処理と熱処理におけるコスト

| 処理方法 | アルカリ処理 | 熱処理 |
|-------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| おが粉処理量 | 2m ³ | 2m ³ |
| 処理時間 | 16時間 | 90°C×30分 |
| 処理液の量 | 5m ³ | 5m ³ |
| Ca(OH) ₂ 量 | 7.5kg | |
| 処理後のpH | 10.4(OD ₂₇₇ =5.2) | |
| Ca(OH) ₂ の単価 | 290円/kg | |
| 熱量 | | 90°Cに加熱8000kcal/m ³ |
| 灯油量 | | 9.5ℓ(灯油の熱量8,424kcal/ℓ) |
| 灯油単価 | | 1544円/18ℓ |
| コスト計算 | 7.5kg×290円/kg=2175円 | 9.5ℓ×85.7円/ℓ=4070円 |

4. 要約

4-1. タンニン酸やフェノール物質等の植物生育阻害物質の測定は分光光度計による波長277nmの吸光度を測定することによって測定できることが分かった。

4-2. ヒノキおが粉からの阻害物質の除去法として、熱処理法およびアルカリ処理法いずれもが有効である。除去能力の点ではアルカリ処理法のほうが大きい。

4-3. ヒノキおが粉からの溶出液が微生物および植物に及ぼす影響については、微生物に対してはほとんど影響が認められなかったが、植物に対しては小松菜の発芽試験結果から、熱処理およびアルカリ処理のいずれの溶出液も植物の生育阻害が認められた。

4-4. 溶出液の阻害物質の吸着処理に関しては活性炭処理が効果的である。しかしコストの面から一考を要する。一方、木炭にも活性炭同様、阻害物質の吸着効果が認められるので、コスト低減を図る上でその利用について吟味することも必要である。

4-5. 無処理およびアルカリ処理後のヒノキおが粉を基材として生ごみ、牛糞、エノキ菌床廃おが粉を混合した堆肥化実験の結果、いずれの堆肥化温度も70°C程度に上昇し、良好な堆肥化状態であり、微生物が活発に作用していることが推定された。したがって、有機物を分解する微生物はヒノキおが粉を基材として用いても影響を受けないことが分かった。

引用文献

- 1) 石井孝昭、門屋一臣:カラタチおよびイネの成長に及ぼすスギならびにヒノキ材中の生育阻害物質について、J.Japan.Soc.Hort.Sci.、62(2)、285-294、1993