

## 第2章 フィターゼによる堆肥中のフィチン酸の分解

### 2-1 はじめに

リン資源の節減と飼料に添加したリン酸塩による環境負荷軽減のために、フィターゼを飼料に添加して、フィチン態リンを無機リンに分解させて、飼料への無機リン酸塩の添加量を現在よりも大幅に削減し、リンの排泄量を低減する試みがなされている。そうすると、現在の飼料体系と異なり、単胃動物ふんに排出される無機リン酸塩が大幅に減少し、堆肥のリン酸肥料効果が激減すると予想される。そこで、家畜ふん尿堆肥の肥料価値を確保するために、排泄されたフィチン態リンの無機化を堆肥化過程で促進させることが重要になると考えられる。本章では、豚ふん堆肥及び鶏ふん堆肥を用いて、市販のフィターゼを添加することにより、堆肥に含まれるフィチン態リンを分解させて無機リンを遊離させ、これらのリン酸肥料効果をどの程度高められるかを検討した。検討に際しては施用堆肥に占める割合の高い牛ふん堆肥と植物質堆肥材料として多く使用されている稲わらも比較のために使用した。

### 2-2 実験材料及び方法

実験の手順は、図 2-1 の通りであり、具体的な測定方法は以下に示した。

#### 2-2-1 試料中のリンの形態別測定

牛ふん、豚ふんおよび鶏ふんを主材とした堆肥および稲わらを

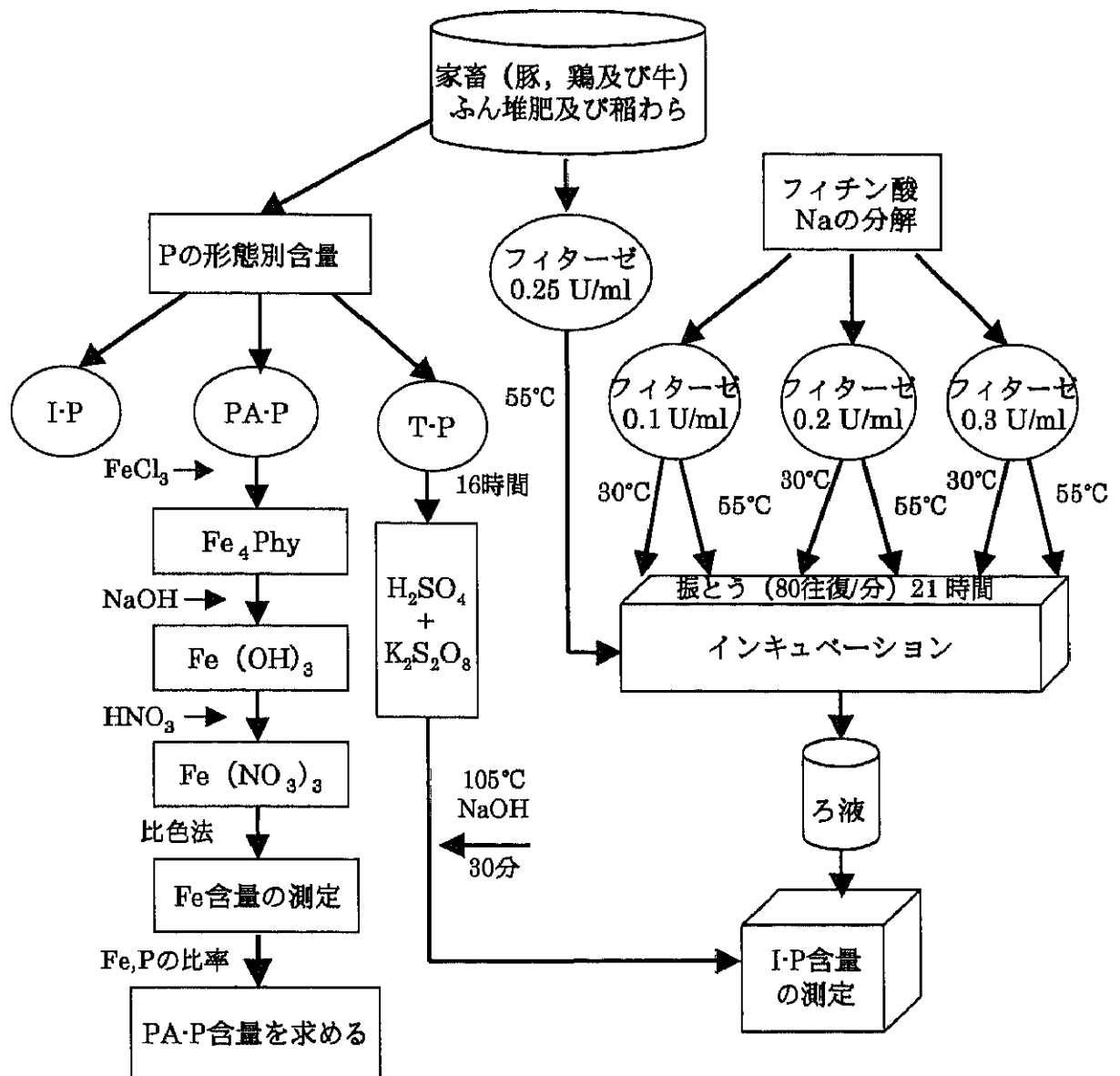


図 2-1 実験手順

供試した。これらの堆肥は任ら（2000）の強制堆肥化法で製造した。稲わらは収穫直後のものである。これらの材料を風乾した後、粉碎機で粉碎し、35メッシュのふるいにかけて、乾燥剤入りのデシケーターに保存した。試料中の無機リンと全リンの含量はAPHA・AWWA・WPCF（1976）の方法に従い、分光光度計（DR/4000, Hach社製, USA）で測定した。試料中のフィチン態リンの含量測定については、武政・土黒（1980）の方法に従った。

#### 2-2-2 市販のフィターゼによる市販のフィチン酸 Na の分解

武政・村上（1995）の方法に従い、標準基質としてコメ由来のフィチン酸 Na ( $C_6H_8O_{24}P_6Na_{12}$ , Sigma) およびフィチン酸分解酵素である小麦由来のフィターゼ (Sigma) を使用した。使用したフィターゼの活性単位は 0.04 U/mg である（活性単位 (U) は反応温度 55°C, pH5.15 で 0.0015 M のフィチン酸から 1 分間に遊離する無機リンのマイクロモル）。

0.01 M フィチン酸 Na 溶液 1 ml に対し異なる活性単位の酵素溶液 10ml を加えて、反応温度 55°C および 30°C の条件で 1 時間から 21 時間インキュベートしたのち、6%トリクロル酢酸溶液を用い、反応を停止させ、ろ過して、ろ液から 3 つのサンプルを採取し、無機リン含量を分光光度計で測定した。

#### 2-2-3 フィターゼによる供試材料中のフィチン態リンの分解

上述の実験における試薬のフィチン酸 Na の代わりに、乾物相当で 2 g の牛ふん、豚ふんおよび鶏ふんを主材とした堆肥および稲わらを供試した。0.25 U/ml のフィターゼ溶液 10 ml を添加し、55°C で 16 時間インキュベートした。

### 2-3 結果及び考察

表 2-1 は供試試料におけるリンの形態別含量を示す。供試試料中の全リン含量は、豚ふん堆肥の 26.4 mg/g から稲わらの 4.18 mg/g まで異なった。豚ふん堆肥で、全リンの含量が高かったのは、リン含量の高い飼料原料を用いていたことと、飼料に多量の無機リン酸塩が添加されていたためと推定される。無機リン含量は、牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び稲わらでそれぞれ 2.51, 6.34, 4.26, 2.25 mg/g であった。一方、フィチン態リンは、牛ふん堆肥で 0.33 mg/g ともっとも少なく、稲わらで 0.92 mg/g ともっとも高かった。また、稲わらでは、フィチン態リンの全リンに対する比率は 22.0%で、供試試料中もっとも高かった。これは、本実験に供試した稲わらのフィチン態リン含量が 0.092%であった（表 2-1）ことに起因する。この結果は藤原・岸本（1988）による稲わらのフィチン態リン酸（ $P_2O_5$ %）含量 0.02%という結果より高かった。本実験に使用した稲わらでは、完全にわらと他の部位が分けられず、わらに粉が混入した可能性があり、それが原因と考えられる。稲粉のフィチン態リン酸含量は比較的が高く 1.59%といわれる（藤原・岸本，1988）。

反応温度 55℃と 30℃においてフィターゼによって標準試薬のフィチン酸 Na から遊離されたリン量を図 2-2 及び図 2-3 に示す。結果が示すように、フィターゼによるフィチン態リンの分解は急速に進行し、フィターゼ添加量を多くすると、フィチン態リンの分解が促進される傾向が認められた。そして、7 時間以内にフィチン態リンの約 80%が分解された。本実験は数か月にもわたる堆肥化過程においてフィターゼがどの程度フィチン態リンを分解

表 2-1 供試試料におけるリンの形態別含量 (乾物当たり)

試料	牛ふん堆肥	豚ふん堆肥	鶏ふん堆肥	稲わら
T-P (mg P/g)	12.29	26.40	17.05	4.18
I-P (mg P/g)	2.51	6.34	4.26	2.25
PA-P (mg P/g)	0.33	0.87	0.41	0.92
I-P/T-P (%)	20.42	24.02	24.99	53.83
PA-P/T-P (%)	2.69	3.30	2.41	22.01

T-P: 全リン I-P: 無機リン PA-P: フィチン態リン

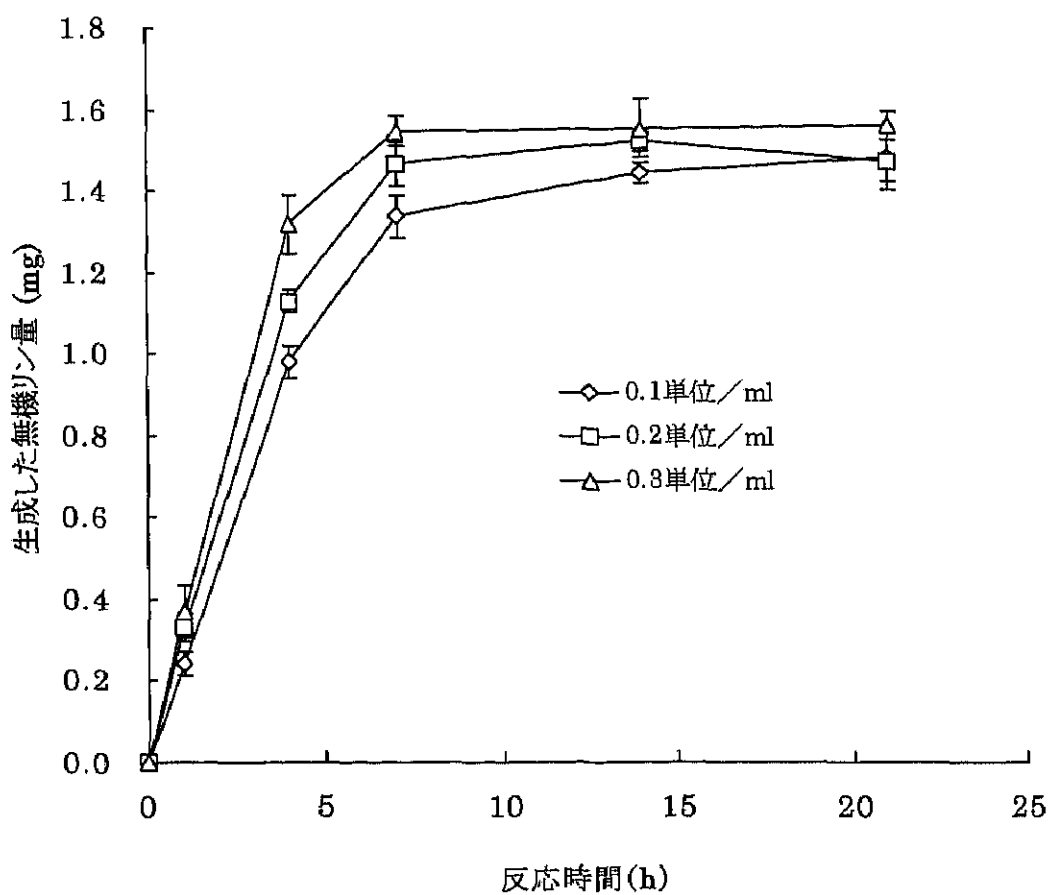


図 2-2 フィチン酸から無機リン生成量に及ぼすフィターゼの影響及び効果

反応温度： 55°C

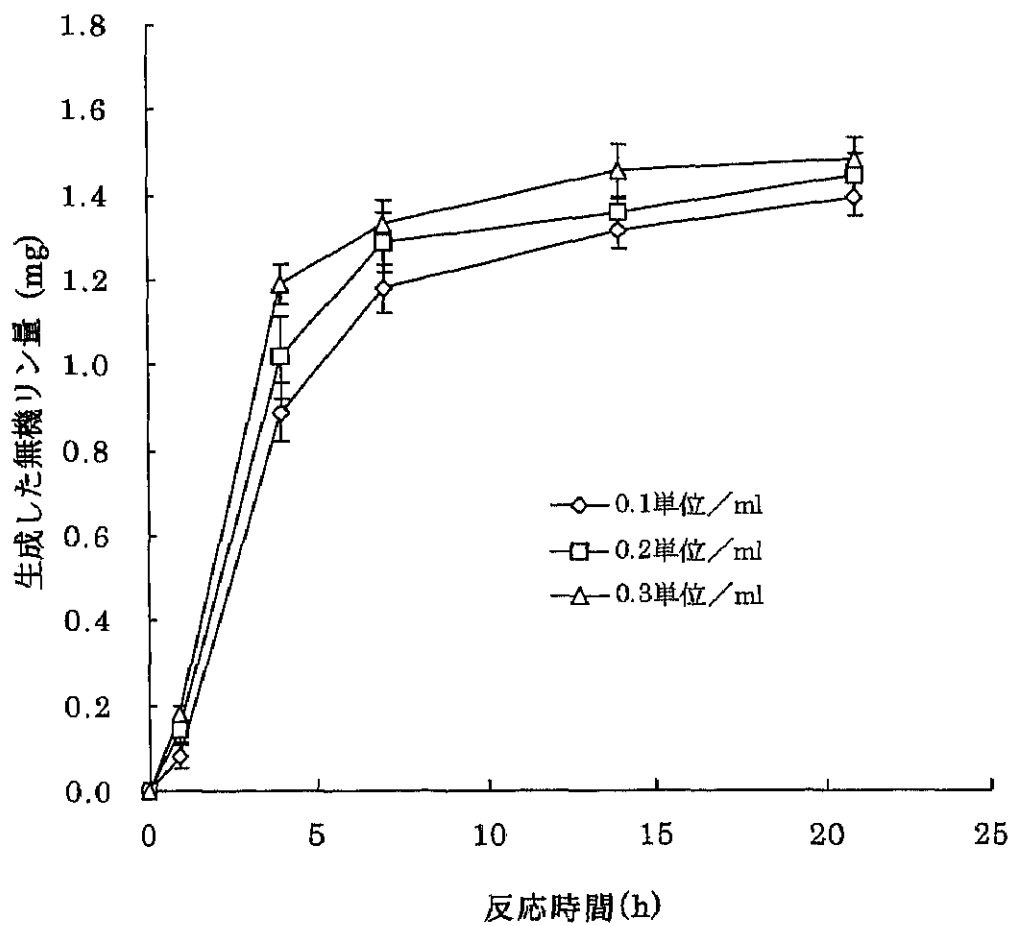


図 2-3 フィチン酸から無機リン生成量に及ぼすフィターゼの影響及び効果

反応温度： 30℃

できるかを想定して行なったものであるため、フィチン態リンの最終分解率を問題にした。本実験に使用した 0.01 M のフィチン酸 Na 1 g 中に含まれるリンの理論値は 1.84 mg であったが、実施したフィターゼ濃度および反応時間のいずれにおいても理論値の 85% までしか遊離できなかつた。同様な条件で武政・村上 (1995) が実施した実験も標準試薬フィチン酸 Na からのフィチン態リンを 90% しか遊離できなかつた。フィチン酸のもつ 6 分子のリン酸は、その 1 位から 6 位の化学結合部位によって、フィターゼ作用の受け易さが異なると言われており (武政・村上, 1995), ある位置のリン酸が解離しないままイノシトール 1 リン酸 (IP-1) からイノシトール 5 リン酸 (IP-5) の状態で存在していることが考えられる。

添加したフィターゼにより堆肥などの試料中から生成した無機リンは、55°C, 16 時間のインキュベーションで、牛ふん堆肥で 0.36 mg/g, 豚ふん堆肥で 0.86 mg/g, 鶏ふん堆肥で 0.39 mg/g, 稲わらで 1.04 mg/g であった (表 2-2)。これらの新たに生成された無機リン量は、試料のフィチン態リン含量 (表 2-1) とほぼ一致していることから、これらのリンの大部分はフィチン態リンから由来したものとみられる。これらの値は、酵素を添加する前の試料に存在した無機リンと比べて、それぞれ 14.3, 13.6, 9.2, 46.2% の増加となった (表 2-2)。

こうした結果は、堆肥化過程において市販フィターゼの添加によってフィチン態リンを効率良く分解できる可能性を示している。

これまでに、フィターゼを添加した餌で飼養した豚や鶏では、リンの排泄量が 30~50% 削減されることが報告されている



表 2-2 フィターゼ添加による供試試料の無機リン量の変化（乾物当たり）

試料	牛ふん堆肥	豚ふん堆肥	鶏ふん堆肥	稲わら
フィターゼ添加前の 無機リン量 (mg P/g)	2.51	6.34	4.26	2.25
無機リン増加量 (mg P/g)	0.36	0.86	0.39	1.04
無機リンの増加率 (%)	14.3	13.6	9.2	46.2

(Simons �ら, 1990; 武政ら, 1994; 斎藤, 1998)。これに基づいて試算を試みる。家畜ふんの堆肥化過程でリンのロスが一切なく, 排泄されたリンが全て堆肥にとどまると仮定する。フィターゼ添加飼料で飼養した豚や鶏のリンの排泄量がそれぞれ 30%と 50%減少したとすると, その堆肥のリン含量もその分減少することになる。山口・原田 (1996) が最近行なった堆肥成分の実態調査によると, 豚ふん堆肥のリン含量は平均で乾物当たり 5.8% ( $P_2O_5$ ) であり, これが 30%減少すると, 堆肥のリン含量は 4.1% ( $P_2O_5$ ) となる。家畜ふん堆肥中のリンの化学肥料に比べた肥効率は 60%とされている (倉島, 1983)。従って, 豚ふん堆肥(水分 70%として)10 t を施用したときに, 放出される無機態リンは, 現在の堆肥で 104 kg  $P_2O_5$  だが, 含量の 30%減少した堆肥では 74 kg  $P_2O_5$  となる。また, 鶏ふん堆肥の  $P_2O_5$  含量は平均 6.5%であり, これが半減すると, 3.25%となる。同様な計算を行なうと, 現在の鶏ふん堆肥 10 t からは 117 kg の無機  $P_2O_5$  が放出されるが, これが 59 kg  $P_2O_5$  に減少する。一方, 窒素やカリの排泄量には変化がないと考えられる。山口・原田 (1996) の平均値に従えば, 豚ふん堆肥 10 t から窒素 90 kg (肥効率 50%), カリ 78 kg (肥効率 90%) が排出され, 三要素のバランスが現在と大きくくずれることになる。鶏ふんでも同様である。今後, ますます高品位のリン鉱石が乏しくなり, リン肥料が高騰することが予想される。そうした状況下で, 本章の結果より, 堆肥中の無機リンの放出量を 10%増加することは, リン肥料節減の上で大切な技術となろう。

フィターゼによるフィチン態リンの無機リン促進技術は, 豚ふん堆肥や鶏ふん堆肥でも今後大切になろうが, リン含量の低い牛ふん堆肥や稲わら堆肥でより重要となろう。

日本では、稲作が重要な位置を占めているので、稲わらも多くなる。稲わらの無機リンと全リンの含量は低いが、フィチン態リンの含量は高い（表 2-1）。稲わらを主体とする堆肥を作り、フィターゼによって、フィチン酸を加水分解させ、利用可能な無機リン含量を多量に蓄積し、植物にとって速効的なリンの供給源を確保することが可能と考えられる。

世界のリン鉱石の埋蔵量は有限であり、堆肥中のフィチン酸を加水分解させることが実用化できれば、リン資源の有効利用という点からも環境汚染を減少させるという点からも有意義である。

## 2.4 まとめ

本章では，市販のフィターゼを牛ふん堆肥，豚ふん堆肥，鶏ふん堆肥及び稲わらに添加し，試料のフィチン酸からどの程度リンを遊離させ，有効化させることができるかを検討した。

試料にフィターゼを 1.25U/g 添加し，55℃で 16 時間インキュベートすることにより，試料中のフィチン酸から遊離した無機リンは，フィターゼ添加前の試料に存在した無機リンと比べて，牛ふん堆肥，豚ふん堆肥，鶏ふん堆肥，稲わらでそれぞれ 14.3, 13.6, 9.2, 46.2% 増加した。このように，市販フィターゼを添加することにより，家畜ふん堆肥や稲わらに含まれているフィチン酸を加水分解させ，その肥料効果を高める可能性が示された。

現状では植物と微生物由来フィターゼの生産が両方とも限られているため，生産コストが高く，排泄されたふんへのフィターゼ添加の実現には問題が残されている。これらの問題を考慮する上で，単胃動物に給餌して排泄されたフィターゼが一定の時間において，ふんに残ったフィチン態リンをある程度分解し続けるかの問題が注目される。次章において，フィターゼ添加飼料で給餌した豚から排泄されたフィターゼの残留効果を検討する。