

好熱性微生物の添加による堆肥化促進効果の検討

小林 宙*・中町康人・白石 誠・疇地勅和

Promotion of composting by addition of thermophilic bacteria

Hiroshi KOBAYASHI, Yasuhito NAKAMACHI, Makoto SHIRAIISHI and Tokikazu AZECHI

要 約

有機物分解能の高い好熱性微生物を添加して堆肥化を行い、堆肥化促進効果を検討した。また、添加微生物の同定を行った。

- 1 豚ふんの堆肥化において、好熱性微生物の添加により発酵温度の立ち上がりが早くなり、発酵促進効果が確認された。
- 2 添加微生物は *Geobacillus thermodenitrificans* と推定された。

キーワード： 好熱性微生物、堆肥化、豚ふん、発酵温度、堆肥化促進

緒 言

有機質肥料に対する注目や家畜排せつ物法の施行により、家畜ふんの堆肥化処理施設の普及が進んでいる。このような状況においては、家畜ふん堆肥の供給過剰が生じる可能性があり、一層の利用促進のためには、低コストで良質な堆肥の生産が求められている。

家畜ふんの堆肥化においては、有機物の分解により発酵が進行するが、有機物の分解をさらに促進させることができれば、堆肥化期間を短縮させることができると考えられる。

前報¹⁾において、堆肥化時の高温環境下で生育可能で有機物分解能の高い微生物を単離・選抜し、乳牛ふんの堆肥化における微生物添加の効果を検討した。その結果、微生物添加による効果は確認されなかった。

今回は、前報¹⁾で用いた微生物の一つを用いて、豚ふんに対する堆肥化試験を行い、微生物添加の効果を検討した。

試験 1 菌液添加量の相違が堆肥発酵に及ぼす影響

材料及び方法

1 単離微生物の培養

本試験には、前報¹⁾において単離・選抜後堆肥化試験の供した 212、020、HK094 のうち、最も早期に発酵温度が低下した HK094 1 株を用いること

とした。これは、切り返し後の発酵温度の早期低下は、有機物が早期に分解された可能性が考えられたためである。

HK094 の培養に使用した乳牛ふん浸出液は、乳牛ふんを蒸留水に 25% (w/v) の比率で混合したものを二重にしたガーゼでろ過し、ろ液を 121 °C で 20 分間オートクレーブを行った。さらに、2N Na₂CO₃ を用いて pH を 8.0 に調節した後、菌株を添加し 60 °C、22 時間、220rpm で振とう培養した。この培養液を菌液として用いた。

2 堆肥化試験

試験区を表 1 に示した。

原料は肥育豚舎から収集した豚ふんを 3.5kg 用い、副資材としておがくずを混合した。さらに、菌液 100ml 添加する菌液添加区 1 と菌液 200ml 添加する菌液添加区 2 を設定しそれぞれ十分に混合した。また対照区には菌液添加区 1 と等量の滅菌蒸留水 100ml を同様に添加した。

試験は小型堆肥化試験装置^{2) 3)}を用いて行った。堆肥化開始時の含水率はオガクズにより約 65% に調整し、装置への通気量は 0.45L/分とした。

切り返しは週 1 回行い、試験開始後 21 日目に試験を終了し、菌液の添加量が堆肥化発酵に及ぼす影響を評価した。

測定項目は、排気中アンモニア濃度、含水率、強熱減量、pH、NH₄⁺-N、NO_x-N、Kj-N とした。

発酵温度はデータロガーを用いて 1 時間毎に記録した。排気中アンモニア濃度は 1 日 1 回もしくは 2 回検知管を用いて測定した。含水率、強熱減

量、pH、NH₄⁺-N、NO_x-N、Kj-N は、試験開始時、7日後、14日後、21日後（試験終了時）の試料より、Kuroda らの報告²⁾に基づいて測定した。

表1 堆肥化試験における試験区の設定

	豚ふん (kg)	おがくず (kg)	菌液 (ml)	滅菌蒸留水 (ml)	初発水分 (%)
菌液添加区1	3.50	1.08	100	-	65
菌液添加区2	3.50	1.20	200	-	65
対 照 区	3.50	1.08	-	100	65

注：混合物から、それぞれ4.25kgを供試した。

結果及び考察

堆肥化試験中の発酵温度の推移を図1に示した。

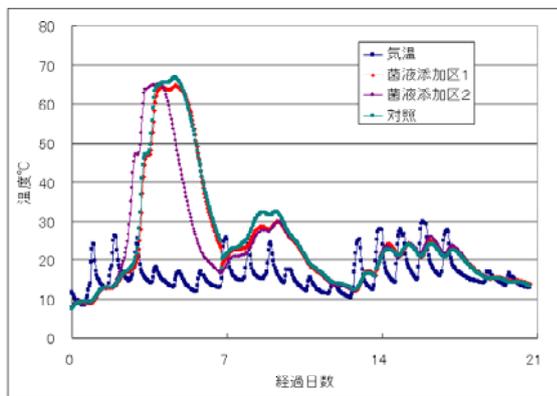


図1 発酵温度の推移

最高温度について3区ともほぼ同程度であったが、発酵温度の立ち上がりには差が見られた。菌液添加区2において、発酵温度の立ち上がりが早まり、菌液添加区1、対照区と比較して最高温度への到達が約半日程度早まった。

この結果は、用いた微生物の高い有機物分解能

が発揮され、堆肥化原料中の有機物が早期にかつ効率的に分解されたためと考えられた。しかしながら、表2に示した堆肥成分や図2の乾物残存率

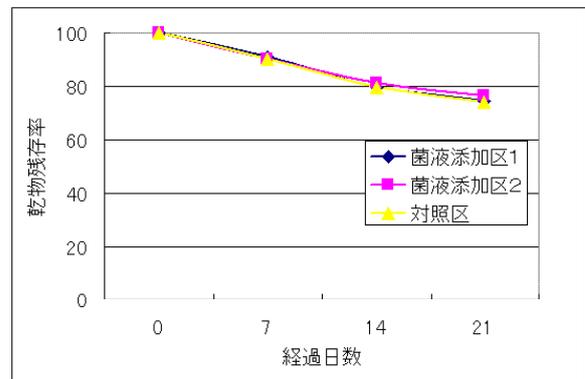


図2 乾物残存率の推移

からははっきりとした傾向は認められなかった。また、菌量添加区1及び2では、牛ふん浸出培養液が混合されていることから、これらが有機物源として作用した可能性もあることから、これらの検証が必要となった。

表2 堆肥成分

	p	H	含水率	灰分	有機物	Kj-N	NH ₄ -N	NO _x -N
菌液添加区1								
試験開始時	7.11		64.2	8.04	91.96	2.16	0.239	n. d.
試験終了時	8.07		59.9	9.59	90.41	2.05	0.157	0.018
菌液添加区2								
試験開始時	7.07		68.3	8.57	91.43	2.34	0.259	n. d.
試験終了時	8.82		65.5	10.36	89.64	2.25	0.164	0.037
対 照 区								
試験開始時	7.05		65.8	8.41	91.59	2.22	0.218	n. d.
試験終了時	9.03		63.9	10.40	89.60	2.25	0.216	0.016

試験2 牛ふん浸出液が堆肥発酵に及ぼす影響

材料及び方法

1 単離微生物の培養

微生物の培養は、試験1と同様の方法で行った。また、対照として菌を添加しない乳牛ふん浸出液も同様の方法で作成した。

2 堆肥化試験

試験区を表3に示した。

原料は肥育豚舎から収集した豚ふんを3.8kg用い、副資材としておがくずを混合した。さらに、菌液200mlを添加して十分に混合した。また対照区には菌液と等量の乳牛ふん浸出液を同様に添加

した。

試験装置と測定項目は試験1と同様な方法で行った。ただし試験期間については、堆肥化初期の発酵状況のみを確認するため発酵温度の低下が確認された時点で試験を終了した。

表3 堆肥化試験における試験区の設定

	豚ふん (kg)	おがくず (kg)	菌液 (ml)	乳牛ふん浸出液 (ml)	初発水分 (%)
菌液添加区	3.80	0.83	200	-	65
対照区	3.80	0.83	-	200	65

注：混合物から、それぞれ4.25kgを供試した。

結果及び考察

堆肥化試験中の発酵温度の推移を図3に示した。試験は堆肥発酵温度が気温とほぼ同程度となった8日目に終了した。

最高温度については両区でほぼ同程度であったが、試験1と同様に発酵温度の立ち上がりに差が見られた。すなわち、菌液添加区において、発酵温度の立ち上がりが早まり、対照区と比較して最高温度への到達が約1日程度早まった。この結果から、発酵温度の早期立ち上がりに培養液は影響していないことが確認された。

堆肥成分を表4に示した。乾物の減少率は菌液添加区で16.2%、対照区で14.2%といずれも菌液添加区で分解が促進されたと推察された。

よって、用いた微生物HK094は、堆肥化初期に高い有機物分解能があり、堆肥化原料中の有機物を効率的に分解できる微生物と推察された。

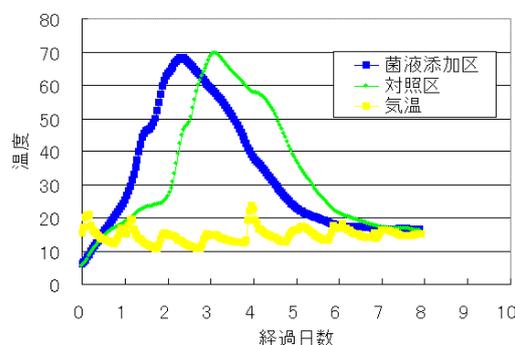


図3 発酵温度の推移

前報¹⁾では、乳牛ふんの堆肥化において微生物の効果を確認できなかったが、今回の試験においては微生物添加による効果が確認された。

この相違の原因については明らかにできなかったが、乳牛ふんと豚ふんに対して微生物の作用が異なること、また、HK094により分解されやすい有機物が豚ふん中に多いためではないかと考えられた。

表4 堆肥成分

	乾物減少率	pH	含水率	有機物	Kj-N	NH ₄ -N	NO _x -N
菌液添加区							
試験開始時	0	7.41	65.6	91.05	2.46	0.130	0.024
試験終了時	16.2	8.63	64.7	89.83	2.34	0.602	0.013
対 照 区							
試験開始時	0	7.34	64.8	91.66	2.32	0.167	0.006
試験終了時	14.2	8.66	64.4	90.01	2.33	0.588	0.013

試験3 分離微生物の同定

材料及び方法

培地中のコロニーよりDNAを抽出し、16S rRNA

遺伝子の塩基配列をシーケンサーにより解読した。得られた塩基配列をデータベースで検索して微生物の同定を行った。また、前報¹⁾で用いた微生物(020)についても行った。

結果及び考察

本試験で用いた微生物の16S rRNA 遺伝子の塩基配列を表4に示した。塩基配列をデータベースで検索して微生物の同定を行ったところ、*Geobacillus thermodenitrificans*と99%の相同性が確認された。*Geobacillus thermodenitrificans*は土壌より単離された好熱菌であることが確認されており⁴⁾、家畜ふん堆肥をはじめ、さまざまな環境で生育できることが確認された。

また、前報¹⁾で用いた微生物の一つ(020)の16S rRNA 遺伝子の塩基配列は表3のようになり、*Geobacillus toebii*と100%の相同性が確認され

た。*Geobacillus toebii*は干し草の堆肥や下水汚泥の堆肥に存在することが知られており、堆肥化環境において広く存在している菌であると考えられる。

本研究では、実験室規模での試験ではあったが、初期発酵の立ち上げに関与すると考えられる微生物の分離、培養に成功した。この分離微生物を豚ふん堆肥化に用いることにより速やかな堆肥発酵が行えると考えられた。

今後は実規模に対応した菌液の作成方法や効果的な分離微生物の利用法の検討が必要である。

表5 HK094 の16S rRNA 遺伝子塩基配列

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGC GGACCGAACGAGAGCTTGCTCTTGTTCGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG CAACCTGCCCGCAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACC AAAGACCGCATGGTCTTTGGTTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCGC GGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCCT GAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC AGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGA AGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTGAATAAGGC GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGAAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT AATACGTAGGGGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTC CTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGA CTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGT GGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAA GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCT AAGTGTTAGAGGGGTACACCCTTTAGTGCTGTAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCTGG GGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCAACAAGCGGTGG AGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCCCTGAC AACCAAGAGATTGGGCGTTCCTCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGATGGTT GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGCT CTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCACTCTAGAGGGACTGCCGGCTAAAAGTCGGAGGAAG GTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATG GGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCGCGAGGGGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGCTCTCAG TTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCA GCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGC TTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCCTTACGGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGC AAGTGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACC

(1518bp)

表 6 020 の 16S rRNA 遺伝子塩基配列

<p>GAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCG GACCGAACGGAAGCTTGCTTCTGTTTCGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT AACCTGCCCCGTAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACACCG AAGACCGCATGGTCTTTGGTTGAAAGGTGGCTTTTGTACTTACCGATGGGCCCGCG GCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCCTG AGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA GTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGAA GGTCTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAAGAAGTACCGTTCGAATAGGGCGG TACGGTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA TACGTAGGGGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCCC TTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACT TGAGTGCAGAAGAGGAGAGCGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGG AGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGC GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATCCCCTGGTAGTCCACCCCGTAAACGATGAGTGTTAAG TGTTAGAGGGGTTTTCCCTTTAGTGCTGTAGCTAACGCGTTAAGCACTCCGCTGGGGAG TACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCCCAAGCGGTGGAGCA TGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGACCCTTACCAGGTCTTGACATCCCCTGACAACC CTGGAGACAGGGCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCCTAG TTGCCAGCATTACAGTTGGGCACTCTAGGGGGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGC GGTACAAAGGGCTGCGAACC CGCGAGGGGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGCTCTCAGTTC GGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCA TGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCCCGCCGTCACACCACGAGAGCTTG CAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCCTTTAAGGGA</p>	(1463bp)
---	----------

謝 辞

本試験を実施するにあたり、微生物の同定を行っていただいた岡山大学大学院の河合教授に深謝いたします。

引用文献

- 1) 小林宙・白石誠・滝本英二・高取健治・疇地勲和(2008)：好熱性微生物を添加した乳牛ふんの堆肥化試験. 岡山総畜セ研報, 17, 57-61.
- 2) Kuroda K・Osada T・Yonaga M・Kanematu A・Nitta T・Mouri S・Kojima T(1996)：Emissions of malodorous compounds and greenhouse gases from composting swine feces. *Bioresource Technology*, 56, 265-271.
- 3) Hanajima D・Kuroda K・Fukumoto Y・Haga K (2000)：Enhancement of thermophilic stage

in cattle waste composting by addition of tofu residue. *Bioresource Technology*, 78, 213-216.

- 4) Ezeji TC・Wolf A・Bahl H(2005)：Isolation, characterization, and identification of *Geobacillus thermodenitrificans* HR010, an alpha-amylase and alpha-glucosidase producing thermophile. *Canadian Journal of Microbiology*, 51, 685-693.
- 5) Sung MH・Kim H・Bae JW・Rhee Sk・Jeon CO・Kim K・Kim JJ・Hong SP・Lee SG・Yoon JH・Park YH・Baek DH(2002)：*Geobacillus toebii* sp. Nov., a novel thermophilic bacterium isolated from hay compost. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 2251-2255.