

好熱性微生物を添加した乳牛ふんの堆肥化試験

小林 宙・白石 誠・滝本英二*・高取健治**・疇地勅和

Effect of addition of thermophilic bacteria on cattle feces composting

Hiroshi KOBAYASHI, Makoto SHIRAISHI, Eiji TAKIMOTO, Kenji TAKATORI and Tokikazu AZECHI

要 約

家畜ふんの堆肥化において有機物分解を促進できれば、発酵温度をさらに引き上げ、処理期間の短縮や安全性の増進に役立つと考えられる。そこで、有機物分解能の高い好熱性微生物を単離・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。

- 1 牛ふん堆肥及び豚ふん堆肥から 19 株の好熱性微生物を単離した。その中から有機物分解能が高いと考えられる 3 株を選抜した。
- 2 選抜した微生物を乳牛ふんに添加し、小型堆肥化試験装置で堆肥化を行った。
- 3 堆肥化試験の結果、微生物添加による堆肥化時の発酵温度上昇や堆肥化促進は見られなかった。また、微生物数を測定した結果、添加微生物は堆肥化開始時には好熱性微生物の大部分を占めていたが、その後は占める割合が低下していた。
- 4 微生物添加の効果が得られなかったのは、添加微生物が堆肥化過程を通じて優占種であり続けることができなかつたためと考えられた。

キーワード：好熱性微生物、堆肥化、乳牛ふん、発酵温度、堆肥化促進

緒 言

有機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が進んでいる。また、食品残さ等の有機資源の有効利用が求められ、利用法の一つとして家畜ふんとの混合堆肥化が行われるようになってきている。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、利用者のニーズに対応した堆肥生産が求められている。具体的には、耕種農家が家畜ふん堆肥の使用を始める条件として、高品質（完熟・雑草種子等無混入）であることや安価であることが、アンケート結果で上位に挙げられている¹⁾。

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し、同時に発酵熱が生じて高温となる。そこで、有機物の分解を促進させることができれば、堆肥化期間を短縮させるとともに、発酵温度をさらに引き上げることができ、堆肥の安全性の増進につながると考えられる。

本試験では、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。

材料及び方法

1 微生物の単離

微生物の単離に用いた培地は乳牛ふんより調製した。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、ろ液に 3% (w/v) の寒天を添加して 121 °C で 20 分オートクレーブした。さらに、2N Na₂CO₃ を用いて pH を 8.5 に調節した後、シャーレに分注した。

微生物の分離源には豚ふん堆肥 (A とする) を用いた。堆肥 10g に 90ml の滅菌生理食塩水を加え、氷冷下で 15000rpm、15 分ホモジナイズした。処理液を希釈し、100 μl を乳牛ふん寒天培地へ接種して 70 °C で培養した。得られたコロニーを単離して、純化を行った。

また、上記とは異なる豚ふん堆肥 (B とする) 及び牛ふん堆肥由来の微生物を対象として、乳牛ふん寒天培地にて 70 °C で培養を行い、生育できたものについても用いることとした。

2 有機物分解能による選抜

単離株を 8ml の乳牛ふん浸出液 (1 と同様に作成してガーゼを通したろ液を同様に pH 調整したもの) に 1 白金耳量接種し、60 °C、110rpm で 44 時間振とう培養した。培養前と培養後において、

有機物濃度の指標として培養液の COD_{Cr} を測定した。結果は培養前の COD_{Cr} を 100 とした相対値とし、値が低い株ほど有機物分解能が高いと判定した。

最終的に、有機物分解能が高い 3 株を選抜し、以下の堆肥化試験に用いることとした。

3 堆肥化試験

試験区を表 1 に示した。

原料は 3 日間自然乾燥させた乳牛ふん（表 1 では乳牛ふんと表記）及び 17 日間自然乾燥させた乳牛ふん（表 1 では乾燥乳牛ふんと表記）を用いた。副資材としておがくずを混合した。さらに、各微生物の菌液を添加して十分に混合した。なお、菌液は各微生物を乳牛ふん浸出液で 24 時間培養することにより作成した。また、対照区には菌液と等量の培地を添加した。

試験は小型堆肥化試験装置^{2) 3)}で行った。堆肥化開始時の含水率を約 71%とした。また、装置は 25 °C の恒温室内に設置し、装置への通気量を 0.451/分とした。

試験開始後 7 日後及び 14 日後に切り返しを行

い、同時に 150g を分析用にサンプリングした。試験開始後 21 日目に試験を終了した。

測定項目は発酵温度、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、BOD₅、好熱性微生物数、添加微生物数とした。

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、BOD₅ は、試験開始時、7 日後、14 日後、試験終了時の試料より、過去の報告²⁾に基づいて測定した。好熱性微生物数及び添加微生物数は、試験開始時、7 日後、14 日後、試験終了時の試料において測定した。好熱性微生物数は乳牛ふん寒天培地を用いた 60 °C の培養を行って、コロニーを計数して求めた。また、コロニーの中で性状が添加微生物に類似したものを添加微生物数として計数した。ただし、試験開始時の添加微生物数については、添加した菌液中の微生物数から計算して求めた。

表 1 堆肥化試験における試験区の設定

	乳牛ふん (kg)	乾燥乳牛ふん (kg)	おがくず (kg)	菌液 (ml)
対照区				100 (培地)
212 添加区	3.60	0.72	0.08	100 (212 菌液)
020 添加区				100 (020 菌液)
HK094 添加区				100 (HK094 菌液)

注：混合物より、4.25kg を使用した。

結 果

1 微生物の単離

単離された微生物の結果を表 2 に示した。

豚ふん堆肥 A より 16 株単離された。また、豚ふん堆肥 B 由来の 2 株及び牛ふん堆肥由来の 1 株が同様の条件で生育できることが確認された。

これらの計 19 株について、有機物分解能による選抜を行うこととした。

表 2 単離された微生物

分離源	微生物名	株数
豚ふん堆肥 A	001 002 003 004 005 006	16
	009 011 012 013 015 016	
	017 018 019 020	
豚ふん堆肥 B	211 212	2
牛ふん堆肥	HK094	1

2 有機物分解能による選抜

単離された 19 株の微生物について有機物分解能による選抜を行った。

まず、19 株を 9 株と 10 株に分けて行い、有機物分解能の高かった 5 株ずつを選抜した（1 次選抜）。その結果、212、003、006、013、017 及び 012、015、018、020、HK094 の 10 株を選抜した（データ省略）。

つづいて、これらの 10 株を対象とした有機物分解能による選抜を行った（2 次選抜）。2 次選抜の結果を図 1 に示した。有機物分解能の高い順に、212、020、018、015、HK094、012、017、006、013、003 となった。

ただし、018 及び 015 については 020 と由来が同じであり、同一微生物の可能性が考えられることを考慮し、以下の堆肥化試験には 212、020、HK094 の 3 株を用いることとした。

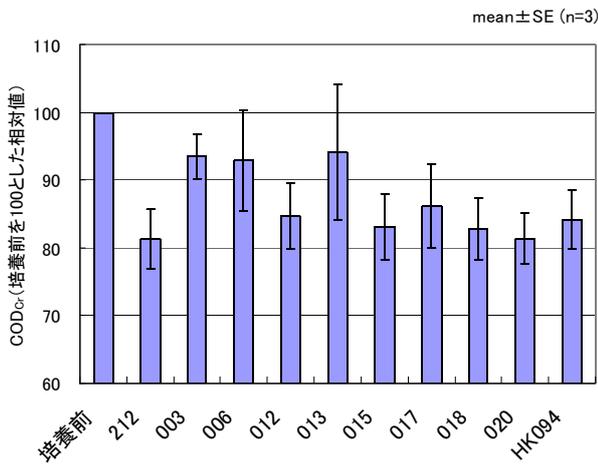


図1 有機物分解能による選抜(2次選抜)

3 堆肥化試験

発酵温度の推移を図2に示した。

各区とも試験開始後2日目までに最高温度に達した。最高温度は約 65 °Cであった。1回目の切り返し後は、対照区が約 48 °C、HK094 添加区が約 42 °Cまで上昇した。一方、212 添加区及び 020 添加区は約 36 °Cまで上昇した。2回目の切り返し後は、212 添加区と 020 添加区で温度上昇が見られ、どちらも約 37 °Cまで達した。一方、対照区と HK094 添加区では顕著な温度上昇は見られなかった。

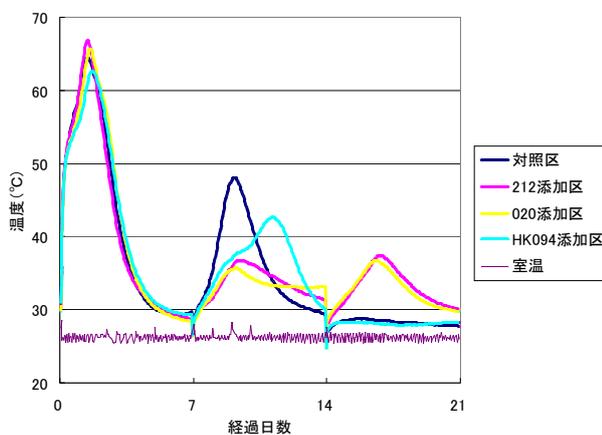


図2 発酵温度

排気中アンモニア濃度の推移を図3に示した。アンモニア濃度は各区とも試験開始後2日目に最高濃度に達した。各区の最高濃度には大きな差は見られなかった。

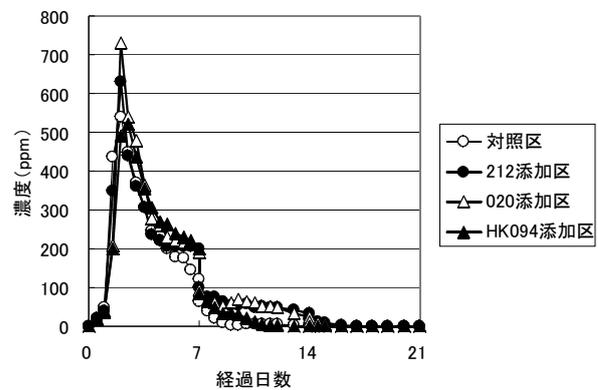


図3 アンモニア濃度

表3に含水率、強熱減量、pH、NH₄⁺-N、NO_x-N、Kj-Nの結果を示した。

含水率は試験期間を通じてほぼ一定で推移し、試験区による差は見られなかった。

また、強熱含量は堆肥化期間の進行に伴い減少した。試験区による差は見られなかった。また、この結果から、堆肥化物中の全強熱減量についても各区で差が見られなかった(データ省略)。

pH及びNH₄⁺-Nは各区とも1日目の切り返し時に高くなり、その後低下した。212 添加区と 020 添加区では低下が遅れたものの、試験終了時では各区ともほぼ同程度となった。

NO_x-Nは試験期間を通じてほとんど検出されなかった。

Kj-Nは堆肥化期間の進行に伴い増加した。試験区による差は見られなかった。また、この結果から、堆肥化物中の全窒素量についても差が見られなかった(データ省略)。

表3 堆肥成分

		重量	含水率	強熱減量	pH	NH ₄ ⁺ -N	NO _x -N	Kj-N
		(kg)	(%)	(% DM)		(% DM)	(% DM)	(% DM)
開始時	対照区	4.25	71.18	85.88	8.05	0.096	0.015	2.28
	212 添加区	4.25	71.36	86.02	8.05	0.101	0.012	2.36
	020 添加区	4.25	71.16	85.87	8.05	0.102	0.014	2.28
	HK094 添加区	4.25	71.05	85.95	8.07	0.096	0.011	2.23
1 回目切り返し	対照区	0.15	70.95	83.29	8.45	0.231	0.015	2.44
	212 添加区	0.15	71.20	83.94	8.58	0.346	0.004	2.49
	020 添加区	0.15	71.13	84.02	8.56	0.293	0.007	2.51
	HK094 添加区	0.15	71.01	83.97	8.53	0.302	0.004	2.44
2 回目切り返し	対照区	0.15	71.07	82.37	7.92	0.001	n. d.	2.67
	212 添加区	0.15	71.07	83.20	8.27	0.130	0.005	2.59
	020 添加区	0.15	71.18	82.74	8.22	0.123	0.002	2.58
	HK094 添加区	0.15	71.00	82.39	7.95	0.008	n. d.	2.67
終了時	対照区	3.03	71.13	81.25	7.86	0.002	n. d.	2.81
	212 添加区	3.06	71.92	81.30	7.98	0.005	0.002	2.93
	020 添加区	3.02	72.01	81.05	7.94	0.004	n. d.	2.90
	HK094 添加区	3.01	71.28	81.57	7.92	0.012	n. d.	2.90

BOD₅ を図 4 に示した。

BOD₅ は堆肥化期間の進行に伴い減少した。試験区による差は見られなかった。

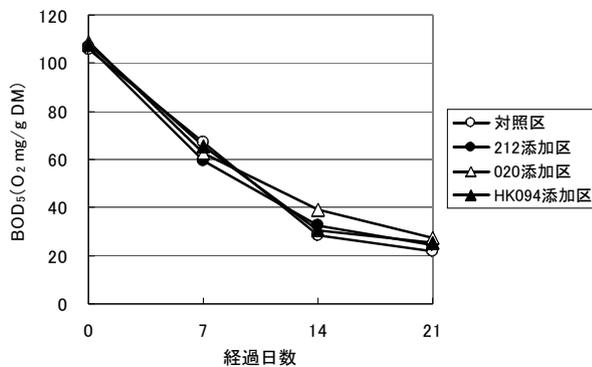
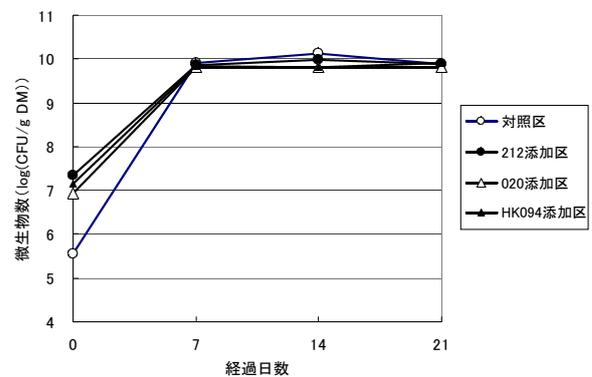
図4 BOD₅

図5 好熱性微生物数

好熱性微生物数の結果を図 5 に、添加微生物数の結果を図 6 に示した。

好熱性微生物数 (図 5) は、試験開始時には微生物を添加した区で対照区よりも多かった。1 回目の切り返し時には全区とも約 10¹⁰ となり、その後は一定で推移した。1 回目の切り返し時以降は試験区による差は認められなかった。

添加微生物数 (図 6) は試験開始時において約 10⁷ 前後であった。020 と HK094 は 1 回目の切り返し時に約 10⁸ となり、その後は一定で推移した。212 は 1 回目の切り返し時には検出できなかった (10⁷ 未満) もの、2 回目の切り返し時以降は 10⁷ のオーダーで推移した。

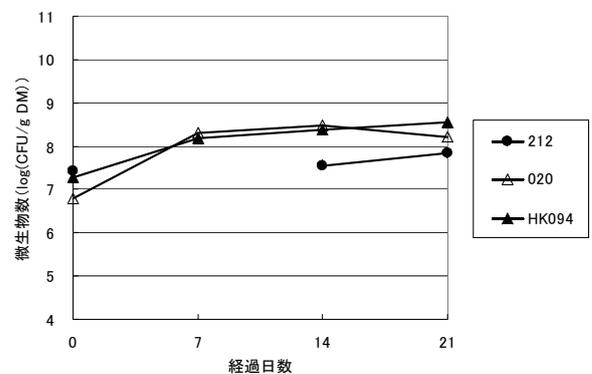


図6 添加微生物数

考 察

本試験では、高温で生育できて有機物分解能の高い微生物を添加して乳牛ふんの堆肥化試験を行い、発酵温度や堆肥成分に対する効果を検討した。

発酵温度（図2）の結果からは、微生物添加による発酵温度上昇効果は認められなかった。2回目の切り返し後、212 添加区と 020 添加区において発酵温度が対照区を上まわっていたが、これは両区における1回目の切り返し後の温度が低かったことから、代償的な温度上昇であると考えられた。

また、アンモニア濃度（図3）、堆肥成分（表3）、BOD₅（図4）の結果から、微生物を添加した区において対照区よりも堆肥化が促進されたとみなされるような結果は得られず、微生物添加による堆肥化促進効果は認められなかった。

微生物添加による効果が認められなかった要因として、添加微生物が好熱性微生物に占める割合が考えられた。微生物数（図5及び図6）の結果から、試験開始時においては添加微生物（約 10⁷ CFU/g DM）は好熱性微生物（約 10⁷ CFU/g DM）の大部分を占めていたが、1回目の切り返し以降は添加微生物（10⁷～10⁸ CFU/g DM）が好熱性微生物（10¹⁰ CFU/g DM）に占める割合は低くなった。添加微生物が優占種となり得なかったことが、その効果を僅かなものとしてしまったと考えられた。

また、微生物添加による効果が認められなかったその他の要因として、堆肥化環境において添加微生物の有機物分解能が発揮されなかった可能性が考えられた。本試験では微生物の有機物分解能を液体培養時のCOD減少率を指標として評価したが、堆肥化環境における有機物分解能を正確に評価できていないのではないかという可能性がある。しかしながら、Kuroda ら⁴⁾は液体培養で選抜したアンモニア低減菌の効果を堆肥化時においても発揮させている。そのため、本試験において微生物添加の効果を発揮させることができなかったのは、添加微生物が優占種となり得なかったことが主要因と推察された。

したがって、今後は微生物の添加量の増加や生育条件の最適化を行い、添加微生物が堆肥化過程において優占種となって発酵温度上昇や堆肥化促進効果が発揮されるように検討していきたい。

謝 辞

本試験を実施するにあたり、貴重なご助言及び分析手法のご指導をいただきました（独）畜産草

地研究所の鈴木氏、黒田氏、花島氏、福本氏、安田氏に深謝いたします。

引用文献

- 1) 猪股敏郎(2005)：生産堆肥の流通促進、利用拡大のための取り組み、畜産環境アドバイザー養成研修会資料（堆肥化処理・利用技術）、165-196.
- 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) Kuroda K・Hanajima D・Fukumoto Y・Suzuki K・Kawamoto S・Shima J・Haga K(2004)：Isolation of thermophilic ammonium-tolerant bacterium and its application to reduce ammonia emission during composting of animal wastes. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68, 286-292.

