

ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化 および環境負荷低減化技術の開発 (その2)

環境科学研究所¹・畜産試験場²・総合農業技術センター³・富士工業技術センター⁴・山梨大学⁵
長谷川達也¹・森 智和¹・吾郷 健一¹・高橋 照美²・山崎 修平³・上垣 良信⁴
寺澤 章裕⁴・御園生 拓⁵・金子 栄廣⁵・早川 正幸⁵

Composting of Livestock Waste and Reduction of Environmental Load Using Wine Compression Residues (2)

Institute of Environmental Sciences¹, Livestock Experiment Station², Agricultural Technology Center³,
Fuji Industrial Technology Center⁴, University of Yamanashi⁵
Tatsuya HASEGAWA¹, Tomokazu MORI¹, Ken-ichi AGO¹, Terumi TAKAHASHI², Shuhei YAMASAKI³,
Yoshinobu UEGAKI⁴, Akihiro TERASAWA⁴, Taku MISONOU⁵, Hidehiro KANEKO⁵ and Masayuki HAYAKAWA⁵

要 約

小型堆肥化実験装置を用いた検討により、豚ふんを原料とした堆肥作製において、ワイン製造にともなって生じるブドウ搾り滓（ワイン圧搾残渣）を、豚ふん1に対して0.2加えることにより、発生するアンモニアを低減できることを明らかにした。また、加えるブドウ搾り滓は冷凍した物と発酵させた物で大きな差のないことが判明した。畜産試験場の堆肥舎における実用規模の検討を行った。豚ふん1,260kgを原料とした第1区、豚ふん（1,260kg）をブドウ搾り滓（250kg）で覆った第2区（1回目の切り返し後、ブドウ搾り滓は豚ふんに混ぜ込まれる）を設定し、二週間おきに切り返しを行った。堆肥発酵期間中、温度記録計で発酵温度を随時測定した。悪臭物質としてアンモニア、硫化水素、低級脂肪酸を測定した。その結果、二つの試験区とも発酵温度に大きな差はなく順調に発酵が進行し、悪臭物質の発生はブドウ搾り滓を添加した第2区の方が対照の第1区より低かった。さらに、官能試験やニオイセンサでもブドウ搾り滓の効果が実証された。これらの悪臭物質低減作用に悪臭分解微生物の関与が考えられた。そこで、ブドウ搾り滓を加えた堆肥中に増殖している放線菌を解析し、21種の菌株を同定した。そのうち2種類の菌株（*Thermobifida fusca* 5-1-1株、*Saccharomonospora viridis* 5-1-2株）はブドウ搾り滓抽出液を加えると顕著に増殖が促進することが明らかとなった。さらに、この二つの菌株は、*in vitro*の検討において、豚ふんから発生するアンモニアを低減する効果のあることが明らかとなった。一方、ブドウ搾り滓に含まれているポリフェノール類が堆肥発酵過程の初期において、悪臭物質発生の低減作用に関連している可能性が示された。スイートコーンとナスを豚ふん+ブドウ搾り滓堆肥を使って栽培した結果、この堆肥の施肥効果は他の堆肥と比べて劣ることはなかった。ナス栽培圃場の土壤中微生物相を解析した結果、豚ふん+ブドウ搾り滓堆肥を施肥した区画では、作物の栽培に有用とされる放線菌やバクテリアが増殖し、逆にカビの増殖が抑制される傾向が示された。堆肥成分の土壌および浸透水への影響を検討した結果、豚ふん+ブドウ搾り滓堆肥を施肥した区画の土壌でナスの栽培後、リン酸濃度が他の試験区に比べ高くなっていった。浸透水中の銅、亜鉛、硝酸態窒素を分析した結果、ブドウ搾り滓添加に起因すると考えられる大きな変動は認められなかった。ブドウ搾り滓と豚ふんを処理する過程で発生する温暖化ガス（二酸化炭素、メタン、亜酸化窒素）に関してライフサイクルアセスメント（LCA）手法による評価を行った。ブドウ搾り滓を焼却処分する従来の方法と、ブドウ搾り滓を豚ふんに混ぜて堆肥を作製する場合を比較して解析した結果、ブドウ搾り滓を豚ふんに混ぜる方が地球温暖化に対する負荷が小さいと考えられた。従って、豚ふんを原料とした堆肥作りにブドウ搾り滓を加えると、堆肥発酵過程で発生する悪臭が低減でき、完成した堆肥の施肥効果は他の堆肥と比べ劣ることはなかった。ブドウ搾り滓添加に由来する環境負荷も問題ないレベルであった。

1. 緒 言

山梨県はブドウ、モモ、スモモの生産量が全国で一位を誇る果樹王国であり、さらにブドウから作られるワイン生産量においてもそのシェアは日本一である。しか

し、ワイン製造過程で生じる多量のブドウ搾り滓（ワイン圧搾残渣）の処理が問題となっている。これらブドウ搾り滓の一部は飼料、滓とりブランデー製造あるいは堆肥に利用されているが、その多くは有用な利用法が無く処分されているのが現状である。その一方で、ブドウ搾

り滓に含まれる機能性成分，特にポリフェノール類の抗菌作用や抗酸化作用，消臭作用は，昨今の健康食品ブームにおいて注目されている。一方，畜産農家では，周辺住民の混住化により悪臭を始めとする環境問題が重要な課題となっている。国や県において，これら問題の解決をめざしていくつかの対策が講じられているが，抜本的な解決には至っていない。

昨年度我々は，ブドウ搾り滓に着目し，これを豚ふんを原料として作られる堆肥の発酵過程に加えた¹⁾。その結果，発酵過程で発生する悪臭を低減することができた。そして，完成した堆肥の施肥効果は化学肥料と同等以上であった。今年度は，ブドウ搾り滓添加割合の基礎的検討，消臭メカニズム（悪臭分解微生物，ポリフェノール類），実用規模での施肥効果，施肥における土壌や浸透水への影響および堆肥発酵過程における温暖化ガス発生に関してさらに検討を行ったので報告する。

2. 実験方法

2-1 ブドウ搾り滓および豚ふん

ブドウ搾り滓：山梨県内のワインメーカーよりワイン製造過程で生じるワイン圧搾残渣（ブドウ搾り滓）を提供していただいた。このブドウ搾り滓は野外で，ビニールシートを掛け大気との接触を少なくする形で一ヶ月間常温で発酵させたもの（発酵ブドウ搾り滓）を用いた。なお，対照として発酵させずに冷凍保存し，使用前日に解凍したもの（冷凍ブドウ搾り滓）も用いた。

豚ふん：山梨県畜産試験場の豚房より採取したものをを用いた。



写真-1 豚（大ヨークシャー種）

2-2 小型堆肥化実験装置による検討

昨年と同様に小型堆肥化実験装置²⁾（かぐやひめ，富士平）を用い，豚ふんにブドウ搾り滓を加えた場合に発生する臭気量を検討した。



写真-2 集めた豚ふん



写真-3 小型堆肥化実験装置

2-2-1(1) 豚ふんとブドウ滓添加の割合の検討

豚ふん（第1区）：豚ふん2kgにオカグズを混合し含水率64%程度に調整し，これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は250mL/minにした。

豚ふん+冷凍ブドウ滓（第2区）：豚ふん2kgに，冷凍ブドウ搾り滓を0.4kg混ぜ（1:0.2），オカグズで含水量を64%に調整し，これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は330mL/minにした。

豚ふん+冷凍ブドウ滓（第3区）：豚ふん2kgに，冷凍ブドウ搾り滓を2kg混ぜ（1:1），オカグズで含水量を64%に調整し，これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は500mL/minにした。

堆肥化開始日を0日とし，7日，14日，21日目に充填した各試験区のサンプルを小型堆肥化実験装置から取り出して，均一に攪拌して切り返しを行い28日間発酵させた。堆肥化の発酵状況の目安として堆肥の内部温度をデータロガーで記録した。悪臭物質の指標としてアンモ

ニア濃度を検知管で測定した。

2-2-2) 冷凍ブドウ搾り滓と発酵ブドウ搾り滓の効果に関する検討

豚ふん (第1区) : 豚ふん 2 kgにオガクズを混合し含水率64%程度に調整し、これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は250mL/minにした。

豚ふん+冷凍ブドウ滓 (第2区) : 豚ふん 2 kgに、冷凍ブドウ搾り滓を 2 kg混ぜ (1:1)、オガクズで含水量を64%に調整し、これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は500mL/minにした。

豚ふん+発酵ブドウ滓 (第3区) : 豚ふん 2 kgに、発酵ブドウ搾り滓を 2 kg混ぜ (1:1)、オガクズで含水量を64%に調整し、これに完熟堆肥0.2kgを加えて小型堆肥化実験装置に充填した。通気速度の設定は500mL/minにした。

堆肥化開始日を0日とし、1週、2週、3週目に充填した各試験区のサンプルを小型堆肥化実験装置から取り出して、均一に攪拌して切り返しを行った。堆肥化の発酵状況の目安として堆肥の内部温度をデータロガーで記録した。悪臭物質の指標としてアンモニア濃度を検知管で測定した。



写真-4 発酵ブドウ搾り滓

2-3 堆肥作製

山梨県畜産試験場の堆肥舎で実験を行った。原料に使用した豚ふんはオガクズを加え、水分含量が70%になるように調整した。実験には二つの試験区を設定し堆肥化を行った。

第1区 : 豚ふんのみ、豚ふん1,260kgを原料とした。

第2区 : 豚ふん+発酵ブドウ滓Cover, 豚ふん1,260kgを発酵ブドウ搾り滓 (250kg) で覆った。ただし、最初の切り返し以降は豚ふんとブドウ搾り滓は混合される。

堆肥化開始日を0日として、二週間ごと (12日, 26日, 47日, 62日目) に重機 (ホイロローダー) で切り返しを行い、イオウ化合物ならびに低級脂肪酸の測定用サンプルをテドラバックおよびアルカリビーズ捕集管に採取した。また同時に発酵途中の堆肥の一部を採取し、発酵過程一堆肥サンプルとした。堆肥の発酵状況を把握するため堆肥中心部と表面の温度をデータロガーで記録した。発酵期間中のアンモニア発生量をパッシブ・ドジチューブ法で測定した。

2-4 堆肥発酵過程における堆肥のpH

pHは発酵過程一堆肥サンプル30gをそれぞれ300 mLの蒸留水に懸濁させ、ガラス電極を用いて測定を行った。

2-5 アンモニアの分析

直接法 : 検知管を用いて直接測定した。

パッシブ・ドジチューブ法 : 三日おきに午前中 (9時から12時) の3時間、アンモニア測定用パッシブ・ドジチューブを発酵過程の堆肥にセットして測定を行



写真-5 発酵途中の堆肥



写真-6 重機による切り返し

い、単位時間あたりのアンモニア発生量を算出した。

2-6 イオウ化合物の分析

サンプルの採取：切り返し時に発生した臭気を試料採取用ポンプを用いてテドラバック (1,000mL) に直接採取した。

硫化水素 (H₂S) の分析：キャピラリーカラム (Rtx-1, RESTEK) を装着したガスクロマトグラフィ (GC-2014, 島津) で分析を行った。なお検出器にはFPDを用い、検量線用の標準ガスはパーミエーター (ガステック) で調製した。

2-7 低級脂肪酸の分析

サンプルの採取：切り返し時に発生した臭気を試料採取用ポンプを用いてアルカリビーズ捕集管に直接採取した。

プロピオン酸, ノルマル酪酸, イソ吉草酸, ノルマル吉草酸：パックドカラム (Carbopack) および加熱気化試料導入装置を装着したガスクロマトグラフィ (GC-8A, 島津) で分析を行った⁵⁾。なお検出器にはFIDを用い、検量線は標準物質をアルカリビーズ捕集管に吸着させ、サンプルと同様に分析して算出した。



写真-7 臭気のサンプリング

2-8 官能試験 (三点比較式臭袋試験)

発酵過程-堆肥サンプル20gをそれぞれ500mLの密栓ガラスビンに入れ45℃で1時間静置し、その上部空間の気体を臭気試料とし、昨年と同様の方法で官能試験を行って臭気濃度を算出した^{1,4)}。また、ニオイセンサ (XP-329ⅢR, 新コスモス電機) で臭気試料を直接測定し、臭気レベルを読み取った。

2-9 ブドウ搾り滓を混ぜた豚ふん堆肥に増殖した放線菌の分離

昨年サンプリングした発酵過程-堆肥サンプル (切り返し5回目, 7回目) を風乾後, サンプル中の微生物

を滅菌精製水に懸濁させ, 放線菌選択培地Humic acid-vitamin agar (+Cycloheximide 50mg/L, Nalidixic acid 20mg/L) で培養して放線菌を分離した。なお, 培養温度は30℃と50℃の二つの条件で, それぞれ10日間培養した。分離した放線菌株について16S rDNA (およそ1,500bp) についてシーケンシングを行い, 系統樹を作製した。さらに, 16S rDNA塩基配列の相同性が98.5%以上の物を現既知株として同定した。

2-10 放線菌の増殖に対するブドウ搾り滓の影響

ブドウ搾り滓粉末10gを蒸留水100mLに混ぜ, 室温で6時間振とう抽出した後, 遠心分離してその上清をメンブランフィルターでろ過して, ブドウ搾り滓抽出液とした。このブドウ搾り滓抽出液50μLをペーパーディスク (直径8mm) にしみ込ませた。放線菌をcmYC agerに塗りつけ, そのシャーレの中心に上記のペーパーディスクを置いて50℃で3日間培養した。対照として蒸留水をしみ込ませたペーパーディスクを用いた。

2-11 テドラバック法による放線菌の悪臭低減効果

豚ふん5gに放線菌分離株 (*Thermobifida* sp.5-1-1, および*Saccharomonospora* sp.5-12) の懸濁液をそれぞれ接種し, テドラバックに入れ1Lの空気で満たし密栓した (写真-8)。50℃で培養しアンモニアおよびメルカプタン類を経日的に検知管で測定した。



写真-8 テドラバック法

2-12 ポリフェノール類の測定

サンプルを乾燥重量で4~8%になるように, 50%エタノール溶液にて調整し, 全体で20mLとする。これを恒温震とう器 (BW200, ヤマト) に設置し, 60℃で

100rpm震とうさせて約24時間抽出を行った。この抽出液中のポリフェノール類をペルオキシダーゼ・過酸化水素センサー法によるポリフェノール測定装置 (PA20, 東洋紡エンジニアリング) で測定した。測定されたポリフェノール類の量はカテキン量に換算して示した。

2-13 堆肥の成分分析 (重金属を含む)

昨年と同様に発酵終了堆肥 (完熟堆肥) を自然乾燥させた後、マッフル炉で乾式灰化してリン酸, 加里, マグネシウム, カルシウム, 銅, 亜鉛, 全炭素 (TC) および全窒素 (TN) を測定した。また, 含水率は堆肥等有機物分析法⁵⁾に従い測定した。

2-14 栽培試験 (ライシメーター)

ライシメーターを用いた栽培試験は, 総合農業技術センター (標高312m) で実施した。ライシメーターには灰色低地土を表層から70cmまで充填し, その下層には砂層と礫層を40cmずつ充填した。試験規模は一区25㎡, 反復なしとした。

春作として一重トンネルスイートコーン (甘々娘), 夏作として抑制ナス (千両2号) を作付けした。スイ

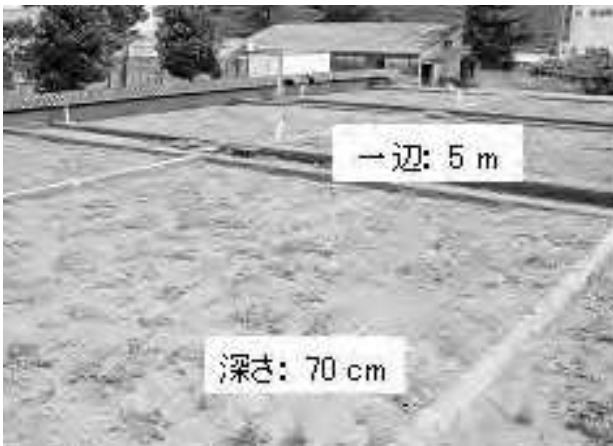


写真-9 作付け前のライシメーター



写真-10 播種44日後のスイートコーン

ートコーンの耕種概要は, 施肥: 2003年2月19日, 播種: 3月3日, 第1回追肥: 4月23日, 第2回追肥: 5月13日, 収穫調査: 6月17日であった。



写真-11 ライシメーターの貯水槽

ナスの耕種概要は, 施肥: 6月24日, 定植: 7月7日, 収穫開始: 7月21日, 収穫終了: 11月17日であった。ナスの収穫期間中は毎週月・水・金曜日に収穫調査を行った。各作の施肥量は堆肥を乾物相当量で1t/10a施用し, 堆肥から供給される養分量を考慮して県施肥基準量になるように化学肥料で加減した。収穫物の生重量を測定するとともに, 水分率を加熱減量法 (135℃で2時間乾燥) で求めて乾物収量を算出した。

ライシメーターの浸透水は貯水槽に集水し, 浸透水量を測定するとともに, 一定量ごとにプラスチック製容器に保存した。硝酸態窒素濃度の測定は浸透水サンプルを定量ろ紙でろ過し, ECが0.1mS/cm以下になるよう脱イオン水で希釈し, さらに0.2μmのメンブランフィルターでろ過した後, イオンクロマトグラフィーを用いて測定した。硝酸態窒素溶脱量は, 浸透水の硝酸態窒素濃度に浸透水量を乗じて求めた。

2-15 堆肥施用土壌中の微生物相の解析

堆肥を施用して作物を栽培した土壌を抜き取り, 1週間日陰で風乾させ放線菌, バクテリア, カビをそれぞれの選択寒天培地 (放線菌: 0.1% SDS処理後HV培地, バクテリア: TS培地, カビ: PDA培地) で培養してコロニー数をカウントした。なお, 培養は30℃で行った。

ポット (コマツナ): ワグネルポット (1/5000a) に市販細粒赤玉土を充填し, 各種堆肥 (豚ふん堆肥, 豚ふんブドウ滓Cover堆肥) を乾物として1t/10a相当量施用した。また, 化学肥料をそれぞれN, P₂O₅, K₂O換算で10aあたり20kg相当量施肥した。播種後2週間目にサンプリングした土壌を実験に用いた。

ライシメーター (ナス): 実験方法2-13で示した栽培試験において, ナス定植後, 0週, 5週, 9週, 13週

目に採取した土壌を実験に用いた。なお、豚ふん+ブドウ滓堆肥はCoverを用いた。

2-16 浸透水中の金属元素の測定

金属元素の分析は、浸透水の一定量に硝酸を加え、ICP-MS (4500, 横川アナリティカルシステムズ) で銅、亜鉛の測定を行った。

2-17 ブドウ搾り滓と豚ふんを処理する過程で発生する温暖化ガスに関するライフサイクルアセスメント (LCA)

ブドウ搾り滓を添加して堆肥を作製した場合 (ブドウ滓添加シナリオ) と、ブドウ搾り滓を添加せずに従来の方法で堆肥を作製した場合 (従来シナリオ) の2つを想定し、JEMAI-LCA PRO Ver.2を用いてそれぞれの環境影響についてLCAを行った。

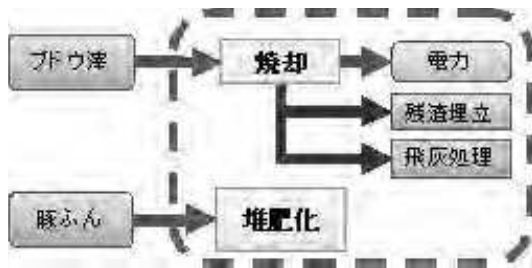


図-1 従来シナリオのプロセスフロー

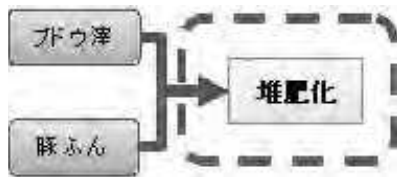


図-2 ブドウ滓添加シナリオのプロセスフロー

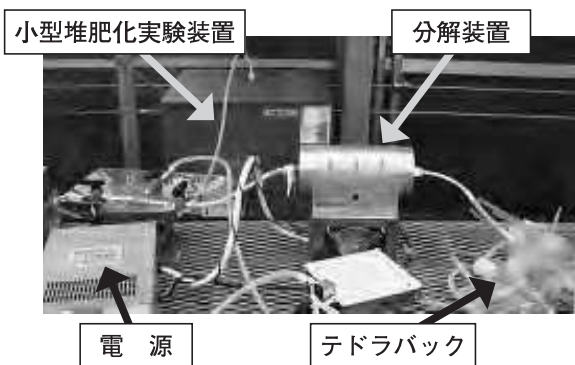


写真-12 小型堆肥化実験装置に連結した悪臭分解装置

小型堆肥化実験装置を用いた昨年度の研究から、この堆肥化処理システムの機能単位は、豚ふん 1 kgとブドウ搾り滓0.2kgを約30日間で処理するものとした。従来シナリオとブドウ搾り滓添加シナリオについて、評価の対象とするシステム境界をそれぞれ図-1および図-2に示した。図中の破線で囲った内部の各プロセスについて環境影響評価を行った。ここで、従来シナリオでは0.2kgのブドウ搾り滓を焼却によって処理しているため、焼却処理プロセスを追加して環境負荷の評価を行った。なお、本研究において評価する環境影響領域は地球温暖化とした。

小型堆肥化実験装置から発生するCO₂はハンディCO₂計 (GM70, Vaisala製) およびTCD検出器を装着したガスクロマトグラフィ (HP6890, Hewlett Packard製) を用いて実測し、焼却により発生するCO₂は焼却場のデータから推算した。他の温暖化影響物質であるCH₄やN₂Oの発生量は文献^{6,7)} および県内焼却場でのヒアリングを基に推定した。

2-18 工学的手法による悪臭物質の分解試験

銅-クロム酸化物触媒 (N201, 日揮化学) を100g



写真-13 吸引通気装置を備えた新堆肥舎と悪臭吸引用ブローワー