

アンモニアの測定結果を図-10に示す。アンモニアは1回目の切り返し時より2回目以降の切り返しの方が多く発生していた。これは図-4に示した発酵温度と関連していると考えられる。図-11には切り返し後の測定結果の推移を示した。

図-7から図-10に示した悪臭物質の発生量の実験区による違いを比較するため、実験期間内に測定できた臭気のそれぞれの総量を算出しグラフにした。その結果を図-12に示す。この結果から、ブドウ搾り滓を添加した第2区と第3区で悪臭物質の発生量が低減できることが明確に示された。第2区と第3区を比べた場合、悪臭物質の種類によりその効果の異なることも明らかとなった。

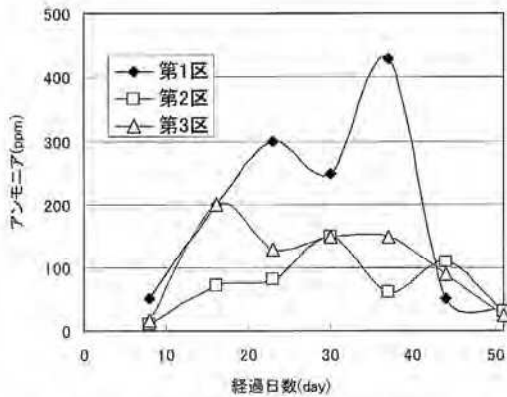


図-11 発生したアンモニアの推移

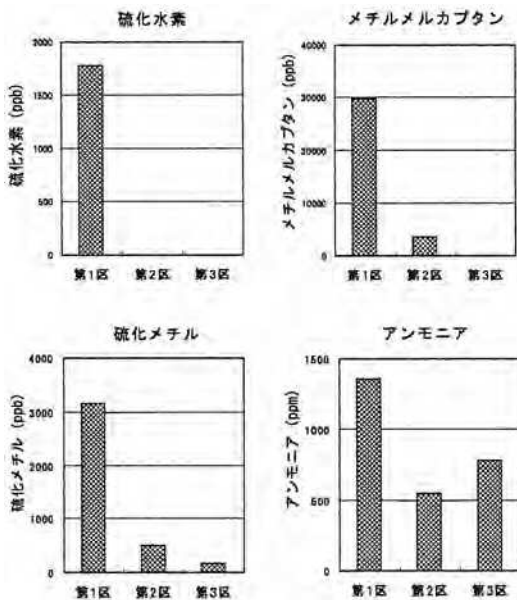


図-12 測定された悪臭物質の総量

3-3 官能試験

三点比較式臭袋試験法によりブドウ搾り滓添加による悪臭の官能試験を行った。その結果を図-13に示す。

第1区に比べ、明らかに第2区、第3区で臭気濃度が低くなることが示された。この結果は、悪臭の成分分析の結果と矛盾がなく、ブドウ搾り滓の効果が官能試験でも証明された結果となった。

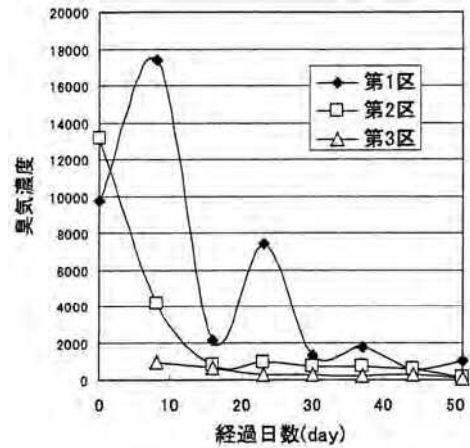


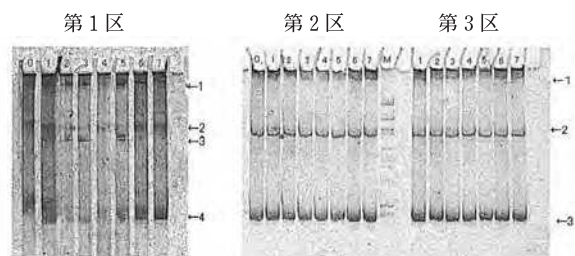
図-13 官能試験の結果

3-4 微生物相の解析

ある種の微生物には悪臭成分を分解する能力があり、これを利用した消臭技術がこれまでに報告されている⁸⁻¹²⁾。ブドウ搾り滓を豚ふんに加えることにより、堆肥の発酵過程における微生物相が変化し、悪臭を分解する微生物が増殖している可能性がある。そこで、堆肥発酵過程における微生物相の解析を行った。

3-4-1 DNAパターンによる微生物相の検討

近年の遺伝子操作技術の進歩により、微生物からDNAを抽出し、比較検討することは比較的容易である。DNAのパターンが異なれば微生物相が変化していることが考えられる。そこで、発酵過程-堆肥サンプルから微生物の全DNAを抽出した後、16S rDNAの部分塩基配列のPCR増幅産物をDGGE (変性剤濃度勾配電気泳動)法によって解析した。その結果、図-14に示すごとく、プライマーにC9F-350Rを用い、変性剤濃度を0~20%にした結果、明らかに第2区と第3区のDNA電気泳動パターンが第1区と異なることが示された。



各レーンの番号は切り返しの番号を示す。

図-14 DNAの電気泳動パターン

すなわち、ぶどう搾り滓を豚ふんに加え、堆肥を作成すると、発酵過程における微生物相が変化することが明らかとなった。

同様に、4種のプライマーセットを用いてDGGEを行った。そして、各堆肥区の違いを調べるために出現したバンドの数を比較した。表-1にそれぞれの実験区ごとに認められた共通なバンドの数を示し、表-2には異なるバンドの数を示した。表-2に示すごとく、第1区と第3区を比べた場合、異なるバンド数は10本と、他の組み合わせに比べて多かった。これは、豚ふんのみでの堆肥と豚ふんをぶどう搾り滓で覆った堆肥では微生物群集が特に異なることを示している。また、第2区と第3区でも異なるバンドが8本確認された。つまり、ぶどう搾り滓を最初から混合した堆肥とぶどう搾り滓を振りかけて一週間後に混合させた堆肥では、微生物群集の異なることが示された。すなわち、ぶどう搾り滓の添加方法を変えるだけで微生物群集が影響を受けることが明らかとなった。

表-1 共通なバンドの数 表-2 異なるバンドの数

	第1区	第2区	第3区
第1区		18	15
第2区	18		16
第3区	15	16	

	第1区	第2区	第3区
第1区		7	10
第2区	7		8
第3区	10	8	

次に、各堆肥試験区の堆肥熟成過程における微生物相のパターンの変化を調べた。堆肥熟成過程のバンド変化を表-3に示す。前期：0-2週目、中期：2-5週目、後期：5-7週目とした場合、それぞれの実験区において、堆肥化過程全体を通して存在するバンドが10-11本と最も多かったが、堆肥化の前期・中期・後期に消長するバンドもかなりの数存在することが示された。すなわち、堆肥熟成に伴って特定の微生物群集が出現・消失することがわかった。また、堆肥熟成過程におけるバンドの変動は実験区ごとで異なっていた。つまり、堆肥熟成に伴う微生物群集の変動は堆肥の種類によって異なるということが分かった。

表-3 堆肥成熟過程におけるバンド変化

	前中後 +++	前中後 +-	前中後 --	前中後 -+-	前中後 -++	前中後 --+
第1区	10	5	1	5	0	4
第2区	10	4	0	5	1	4
第3区	11	1	1	6	0	3

3-4-(2) 培養試験による微生物相の検討

DNAのパターン分析によりぶどう搾り滓の添加で微生物相が変化することが示されたため、培養試験による検討を行った。すなわち、発酵過程-堆肥サンプルを滅菌精製水に懸濁させ、放線菌、バクテリア、カビのそれぞれの選択培地に塗布して培養を行った。培養温度は実際の堆肥の発酵温度を考慮し50℃とした。その結果を図-15に示す。

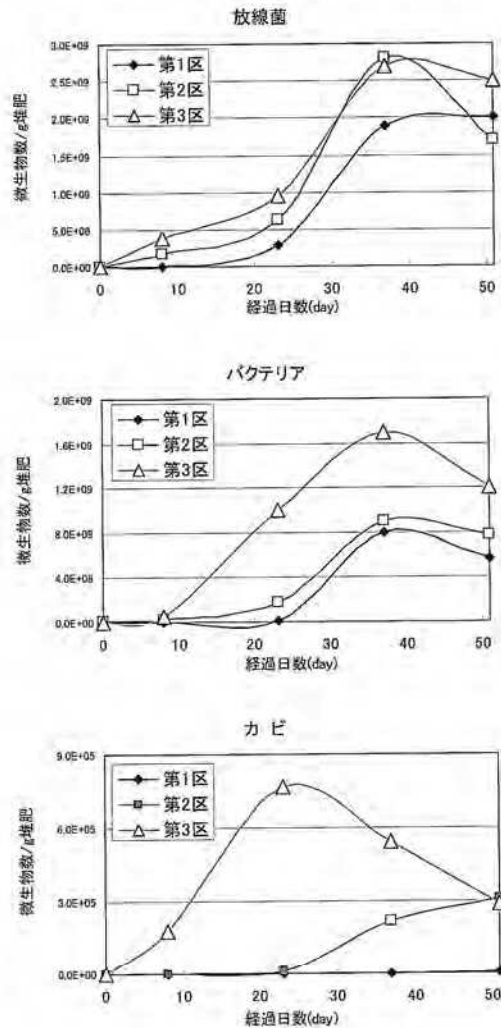


図-15 堆肥発酵期間における微生物数の推移

放線菌が第2区と第3区で、第1区に比べ多いことが明らかとなった。バクテリアは第3区が多かった。カビは第1区では全く認められないが、第3区では発酵の初期から、第2区では発酵の後半に多く認められた。

次に1回目の切り返し (Day 8) の時点で認められた放線菌についてさらに検討を行った。その結果を表-4に示す。これらの放線菌が悪臭分解作用を有するかは今後の検討課題である。

表一 4 堆肥中の高温性放線菌相 (切り返し1回目)

	堆肥1g (乾燥重量) 当りの放線菌数*					総計 (全微生物**中の割合)
	<i>Saccharomonospora</i>	<i>Thermomonospora</i>	<i>Thermoactinomyces</i>	<i>Streptomyces</i>	その他の属	
第1区	5.0×10^4	0	6.5×10^4	0	3.5×10^4	1.5×10^5 (11%)
第2区	8.4×10^7	8.0×10^7	5.0×10^6	2.0×10^6	1.0×10^7	1.7×10^8 (86%)
第3区	2.2×10^8	1.5×10^8	1.0×10^6	5.0×10^6	1.0×10^7	3.9×10^8 (89%)

*HV agar, 50°C, 10日間培養, **放線菌+バクテリア+カビ

3-5 ポリフェノール類の分析

ポリフェノール類には消臭作用のあることが知られており、ブドウ搾り滓中にも多く含まれている。そこで、豚ふんにブドウ搾り滓を加え、ポリフェノール類の測定を行った。豚ふん：ブドウ搾り滓は1：0.2とし、ポリフェノール類はカテキンに換算した。その結果、図-16に示すごとく、豚ふん中のポリフェノール類の量は2,210mg/kg、豚ふんにブドウ搾り滓を添加した場合は3,080mg/kgで、その差870mg/kgがブドウ搾り滓由来のポリフェノール類であると考えられた。ブドウ搾り滓には12,470mg/kgのポリフェノール類が含まれていた。豚ふん中にもポリフェノール類が存在するが、ブドウ搾り滓中のポリフェノール類とは種類が異なることが容易に推測できる。今後、ブドウ搾り滓に由来するポリフェノール類が堆肥製造過程で発生する悪臭の低減、あるいは微生物の増殖に関与するか検討を行っていきたい。

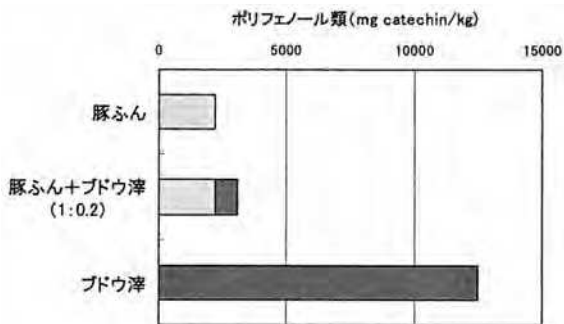


図-16 ポリフェノール類の量

3-6 堆肥の発芽試験および施肥試験

完成した堆肥について発芽試験を行った。その結果を図-17に示す。蒸留水の発芽数を100とした時の各区の発芽指数は、豚ふん堆肥で83%、豚ふん+ブドウ搾り滓堆肥で91%となり若干の差が見られたが、全て良好な結果であった。

コマツナを用いて堆肥の施肥効果についても検討を行った。図-18に示すように、ポット栽培によるコマツナの生育は、各堆肥を乾物として1t/10a単用した場合、化学肥料を単用して栽培した時と同等以上の収量が得られた。

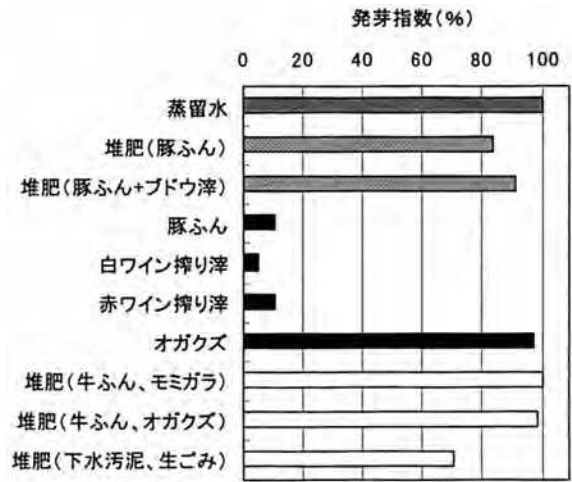


図-17 発芽試験の結果

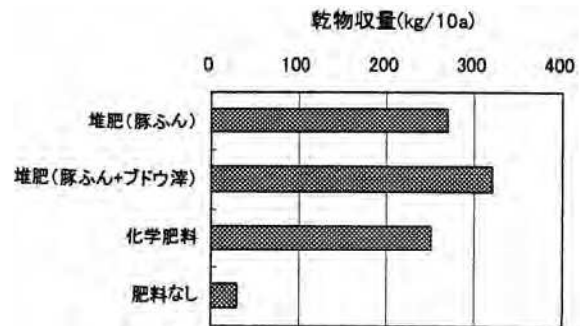


図-18 コマツナの乾物収量



写真-8 施肥試験 (ポット栽培)

堆肥由来の窒素成分吸収量は化学肥料を単用した場合よりも低い傾向が見られた。一方、リン酸と加里は化学

肥料単用区よりも高い吸収量を示し、効率よく吸収していることが示された。(表-5)

表-5 堆肥由来成分の吸収量 (kg/10a)

	窒素	リン酸	加里
堆肥 (豚ふん)	3.4	4.5	16.7
堆肥 (堆肥+ブドウ滓)	4.7	4.8	20.2
化学肥料	6.2	2.3	14.1

※化学肥料単用区の吸収量は化学肥料由来の成分

3-7 堆肥の成分分析

堆肥成分の分析を行った結果を表-6に示す。各処理区とも含水率が30%前後まで減少しており、過乾気味であったが、ブドウ搾り滓を添加した第2区および第3区では水分の減少が抑えられる傾向が見られた。窒素やリン酸および塩基類の含量は、ブドウ搾り滓を添加しなかった第1区と比較して、添加した第2区および第3区の方が低い傾向が見られたが、豚ふん堆肥として利用する上で、問題は無いと考えられた。

表-6 発酵過程における堆肥の成分含量

切り返し	0	1	2	3	4	5	6	7
経過日数	Day 0 5月11日	Day 8 5月19日	Day 16 5月27日	Day 23 6月4日	Day 30 6月11日	Day 37 6月18日	Day 44 6月25日	Day 51 6月1日
堆物 水分率(%)	第1区 64.9 第2区 67.1 第3区 64.9	第1区 64.7 第2区 61.1 第3区 62.9	第1区 53.9 第2区 58.0 第3区 59.9	第1区 46.7 第2区 57.4 第3区 45.9	第1区 45.1 第2区 55.1 第3区 38.8	第1区 39.9 第2区 42.4 第3区 42.6	第1区 37.7 第2区 34.0 第3区 32.4	第1区 26.9 第2区 37.1 第3区 32.2
pH (1:10)	第1区 7.1 第2区 6.9 第3区 7.1	第1区 7.3 第2区 7.7 第3区 8.1	第1区 8.4 第2区 7.8 第3区 8.8	第1区 8.8 第2区 8.3 第3区 8.3	第1区 8.9 第2区 8.5 第3区 8.9	第1区 8.8 第2区 8.9 第3区 8.9	第1区 8.8 第2区 9.2 第3区 9.0	第1区 8.7 第2区 9.0 第3区 8.7
tC(mS/cm) (1:10)	第1区 3.7 第2区 2.8 第3区 3.7	第1区 4.9 第2区 3.8 第3区 3.3	第1区 3.8 第2区 3.7 第3区 2.6	第1区 2.6 第2区 2.6 第3区 2.0	第1区 3.1 第2区 3.0 第3区 2.4	第1区 2.9 第2区 2.6 第3区 2.1	第1区 3.2 第2区 2.8 第3区 2.6	第1区 3.0 第2区 2.7 第3区 2.5
窒素含量(%)	第1区 3.3 第2区 2.6 第3区 3.3	第1区 3.0 第2区 2.9 第3区 2.7	第1区 2.5 第2区 2.5 第3区 2.6	第1区 2.6 第2区 2.1 第3区 2.7	第1区 2.7 第2区 2.7 第3区 2.5	第1区 3.1 第2区 2.7 第3区 2.6	第1区 3.1 第2区 2.8 第3区 2.8	第1区 3.0 第2区 2.8 第3区 2.5
アンモニア態 窒素(%)	第1区 0.32 第2区 0.36 第3区 0.52	第1区 1.06 第2区 0.03 第3区 0.94	第1区 0.89 第2区 0.06 第3区 0.56	第1区 0.56 第2区 0.60 第3区 0.30	第1区 0.43 第2区 0.68 第3区 0.24	第1区 0.26 第2区 0.29 第3区 0.21	第1区 0.22 第2区 0.25 第3区 0.22	第1区 0.16 第2区 0.19 第3区 0.15
硝酸態 窒素(%)	第1区 0.00 第2区 0.00 第3区 0.00	第1区 0.00 第2区 0.00 第3区 0.00	第1区 0.00 第2区 0.00 第3区 0.00	第1区 0.00 第2区 0.00 第3区 0.01	第1区 0.00 第2区 0.02 第3区 0.02	第1区 0.00 第2区 0.02 第3区 0.01	第1区 0.00 第2区 0.00 第3区 0.01	第1区 0.00 第2区 0.01 第3区 0.06
リン酸含量(%) P ₂ O ₅	第1区 4.6 第2区 2.9 第3区 4.6	第1区 5.4 第2区 5.1 第3区 5.0	第1区 4.2 第2区 4.0 第3区 4.2	第1区 5.1 第2区 2.7 第3区 3.8	第1区 5.2 第2区 3.7 第3区 3.8	第1区 5.6 第2区 3.7 第3区 3.7	第1区 5.5 第2区 3.2 第3区 3.9	第1区 7.3 第2区 2.4 第3区 3.8
加里含量(%) K ₂ O	第1区 2.1 第2区 1.7 第3区 2.1	第1区 2.2 第2区 2.0 第3区 1.8	第1区 2.1 第2区 2.0 第3区 1.9	第1区 2.1 第2区 2.2 第3区 2.0	第1区 2.1 第2区 2.3 第3区 1.9	第1区 2.4 第2区 2.3 第3区 2.0	第1区 2.5 第2区 2.3 第3区 2.2	第1区 2.6 第2区 2.6 第3区 2.3
石灰含量(%) MgO	第1区 1.7 第2区 1.0 第3区 1.7	第1区 1.9 第2区 1.6 第3区 1.4	第1区 1.7 第2区 1.4 第3区 1.5	第1区 1.7 第2区 1.3 第3区 1.3	第1区 1.8 第2区 1.3 第3区 1.3	第1区 2.2 第2区 1.4 第3区 1.2	第1区 2.1 第2区 1.5 第3区 1.5	第1区 2.4 第2区 1.4 第3区 1.2
石灰含量(%) CaO	第1区 4.3 第2区 3.6 第3区 4.3	第1区 4.5 第2区 4.8 第3区 5.8	第1区 4.3 第2区 3.8 第3区 5.3	第1区 5.1 第2区 3.1 第3区 4.7	第1区 4.2 第2区 3.7 第3区 4.8	第1区 5.0 第2区 3.5 第3区 4.3	第1区 5.3 第2区 4.1 第3区 5.6	第1区 5.8 第2区 4.1 第3区 4.7

※水分以外は全て乾燥あたりの値

堆肥を使用する場合、堆肥中の重金属の含量が問題となる。特に、ブタの排せつ物は牛や鶏に比べは重金属が多いことが知られている^{13, 14)}。また、ブドウの栽培において果樹農家はボルドー液を殺菌剤として使用することが多い。ボルドー液は硫酸銅 (CuSO₄) と生

石灰 (CaO) から作られるため、高濃度の銅を含んでいる。従って、豚ふんにブドウ搾り滓を加える場合、銅をはじめとして重金属含量を測定しておくことは重要である。図-19に堆肥中の重金属の測定結果を示す。堆肥に含まれている銅濃度は、第1区で84mg/kg、第2区で62mg/kg、第3区で60mg/kgであった。亜鉛濃度は第1区で536mg/kg、第2区で339mg/kg、第3区は299mg/kgであった。ブドウ搾り滓を加えた第2区と第3区の方が重金属濃度の低くなることが示された。この原因として、堆肥の発酵終了時においてもブドウ搾り滓が完全に分解していないため、第1区に比べ完成した堆肥の質量が多いためと考えられる。また、肥料取締法では銅の濃度が300mg/kg以上、亜鉛が900mg/kg以上含まれている場合に、表示が義務づけられているが、今回の実験で作られた堆肥は重金属量を心配しないで使えることが示された。ほかの重金属についても低い値であった。

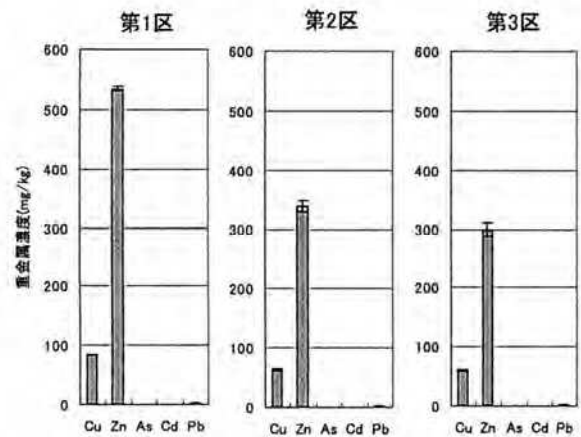


図-19 重金属含量

3-8 工学的手法による悪臭の分解

本研究では悪臭物質の分解の一つの手段として工学的手法の利用も視野に入れている。そこで本年度は実験室レベルで、マイクロ波と金属触媒を用いた分解法の検討を行った。

銅-クロム触媒を充填した石英管を円筒型マイクロ波照射装置にセットし、アンモニアガスを0.4L/minの流量で石英管の中を通過させた。その結果、80ppmあったアンモニアが石英管の出口では検出限界以下にまで分解されていた。(図-20)

このマイクロ波分解装置は電気エネルギーを効率よく熱エネルギーに変換できるため省エネルギーで分解できる。また、操作が用意で、100Vの家庭用電源で動き、小型なので持ち運ぶことも可能である。来年度から堆肥舎への設置を視野に入れ検討を行っていく予定である。

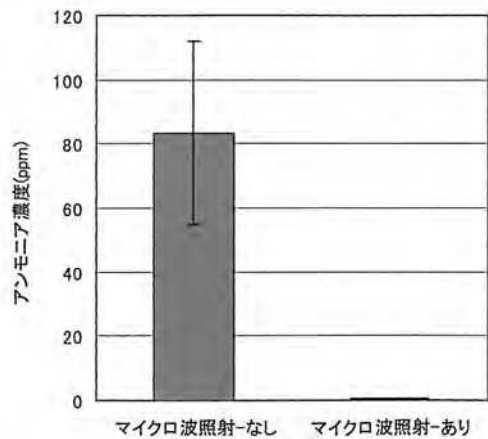


図-20 工学的手法によるアンモニアの分解

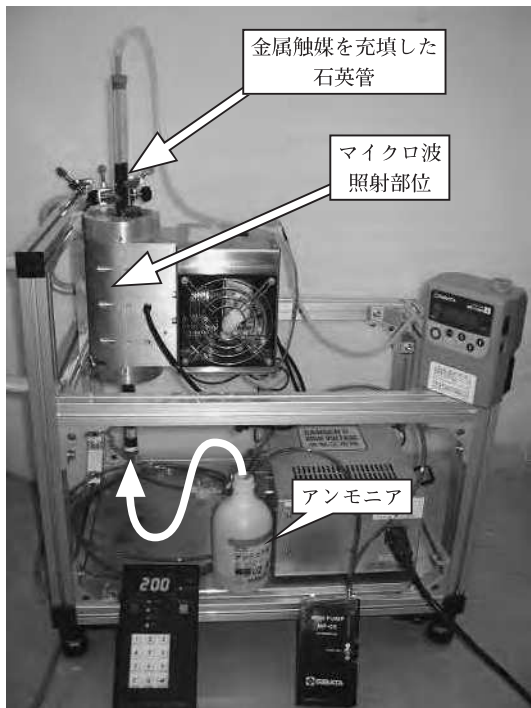


写真-9 マイクロ波分解装置

4. 考察

本研究は、まだ、初年度であるため一年目で明らかとなった留意点および今後の検討課題を以下に記す。実用規模の堆肥化実験は実験期間が2ヶ月間必要で、天候および温度に堆肥の発酵が左右されるため、季節変動を考慮した再現性の検討が必要である。ブドウ搾り滓の保存手段を考慮し、発酵させたブドウ搾り滓の利用を検討する必要がある。悪臭物質として、硫黄化合物とアンモニアの測定を行ったが、脂肪酸の測定も検討して行きたい。消臭作用の機構として、微生物とポリフェノール類の関与が考えられるが、これらの効果を実証する検討が必要である。工学的消臭装置としてマイクロ波と金属触

媒を用いる方法を検討したが、光触媒による方法も検討したい。そして、これらの消臭装置を堆肥舎で使用する場合のスケールアップに関する検討も必要である。さらに、2年目からは、臭気を集め物理的に吸着する吸引通気装置^{15, 16)}を備えた堆肥舎での検討、および、ライシメーターによる土壌・水系への堆肥成分の影響調査とライフサイクルアセスメントに関する検討も実施していく予定である。

5. 結言

山梨県ではワイン製造過程で生じる多量のブドウ搾り滓の処理が問題となっている。これらの一部は飼料、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、多くは有用な利用法が無く処分されている。我々はこのブドウ搾り滓に着目し、豚ふんを原料として作られる堆肥の発酵過程に、ブドウ搾り滓を加えた。その結果、発酵過程で発生する悪臭を低減できることができた。そして、豚ふんとブドウ搾り滓により作られた堆肥の施肥効果は化学肥料と同等以上であった。今後、ブドウ搾り滓添加による消臭メカニズムや、施肥における土壌や水系への環境負荷に関しても検討を行っていく予定である。

6. 謝辞

ブドウ搾り滓を快く提供してくださいましたマンズワイン株式会社には厚く御礼申し上げます。堆肥発酵過程の毎週の切り返しにおいて、重機（ホイローダー）の操作および臭気サンプルの輸送を担当していただきました畜産試験場の保坂幸次主任技能員、保坂和彦主任技能員ならびに村上高山氏、中山三男氏、深沢豊氏には大変お世話になりました。環境科学研究所の大森さおりさんと外川雅子さんには小型堆肥化実験装置での切り返し、ならびに重金属分析においてそれぞれお世話になりました。悪臭成分の分析においては、山梨県ワインセンターの原川守研究管理幹、小松正和研究員に御協力いただきました。心から感謝致します。また、コマツナの栽培試験および堆肥の成分分析においては、総合農業技術センターの望月久美子研究員、佐藤きよみさん、鈴木ゆかりさん、根津節子さんに御協力をさせていただきました。御礼申し上げます。

最後に、本研究のコーディネイターとして、適切な御助言ならびに御指導を数多くいただきました総合理工学研究機構乙黒親男特別研究員には心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 羽賀清典, 長田隆, 田中康雄, 黒田和孝, 花島大:

堆肥化実験装置，特許出願番号平成8年特許出願第235967号

- 2) 坂井隆宏，脇屋裕一郎，岩永到悦：茶がらを副資材として利用した豚ふんの堆肥化，日豚会誌，41：153-161，2002
- 3) 高橋正宏，泉 秀幸：硝酸カリウム添加が堆肥化に及ぼす影響，日畜会報，77：59-65，2006
- 4) 石黒辰吉：臭気の測定と対策技術，オーム社，2002
- 5) 日本土壌協会編：堆肥等有機物質分析法，2000
- 6) 土壌養分測定法委員会編：土壌養分分析法，1987
- 7) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課監修：ポケット肥料要覧2006，2007
- 8) 田中米実，林田晋策，本江元吉：糸状菌による畜産排泄物の処理，発酵工学，54：333-339，1976
- 9) 田中米実，林田晋策，本江元吉：真菌による鶏ふんの処理，発酵工学，55：134-140，1977
- 10) 田中米実，田中稔篤，南里信也，林田晋策：放線菌による畜産排出物の処理，発酵工学，56：788-793，1978
- 11) 太田欽幸，池田 貢：微生物による豚ふんの急速無臭化法，農芸化学，53：277-284，1979
- 12) 黒田和孝：家畜排せつ物の堆肥化における微生物を用いたアンモニア発生低減，資源環境対策，40：64-68，2004
- 13) 折原健太郎，上山紀代美，藤原俊六郎：家畜ふん堆肥の重金属含有の特性，土肥誌，73：403-409，2002
- 14) 高橋良三：豚ふん中の銅，亜鉛含量の低減に向けた飼料管理技術，日豚会誌，42：149-156，2005
- 15) 坂井隆宏，脇屋裕一郎，則武圭輔，四牟田修蔵，式町秀明：豚ふん堆肥化時に発生する臭気の活性汚泥曝気方法による脱臭，日豚会誌，42：157-164，2005
- 16) 開澤浩義：豚ふんの吸引式通気堆肥化と簡易脱臭技術，農業電化，59：28-33，2006

成果発表状況

学会発表

- 1) 長谷川達也，瀬子義幸：ブタの排せつ物中の重金属に関して，第9回MTノックアウトマウス研究会，八戸，2006
- 2) 齊藤奈々子，森 智和，長谷川達也，佐野慶一郎，金子栄廣：ブドウ滓を利用した家畜糞堆肥化の悪臭抑制効果，第39回化学工学会秋季大会，札幌，2007