

福岡県農業総合試験場特別報告

第38号

家畜糞堆肥調製時の臭気対策および 堆肥の新規機能性に関する研究

平成24年3月

福岡県農業総合試験場

(福岡県筑紫野市大字吉木)

SPECIAL BULLETIN
OF
THE FUKUOKA AGRICULTURAL RESEARCH CENTER
NO. 38

Studies of Management for Odor during Composting of
Livestock Manure and a new Utilization of Livestock Compost

by

Futoshi Koyama

THE FUKUOKA AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan

March 2012

家畜糞堆肥調製時の臭気対策および
堆肥の新規機能性に関する研究

小山 太

2 0 1 2

序

畜産は本県において農業産出額の 20%を占める基幹作目であるが、飼料や生産物価格の変動が大きく、不安定な経営体質にある。このため、畜産農家は常に規模拡大や高度先端技術の導入などによる増収、コスト削減を志向している。しかし、規模拡大に伴い、環境問題が近隣住民との間に生じ、特に、都市近郊型畜産の本県における悪臭問題は、経営を圧迫する大きな要因となっている。畜産経営の安定的な継続を図るためには悪臭問題の解決が喫緊の課題である。

本研究は、畜産経営より発生する臭気の低減化を目的に、豚糞尿堆肥化施設の実態を把握するとともに、畜産業から発生する臭気物質のひとつであるアンモニアを微生物と木質系資材によって低減することを試みたものである。いずれの対処法もアンモニアの低減に有効であることが明らかになった。また、本研究では、悪臭の発生源となる家畜糞堆肥の農地還元を促進するために堆肥の新たな活用法について検討し、堆肥化に関与する細菌が難分解性の塩素系農薬を分解することを明らかにした。これらの知見は畜産経営の安定とともに地域環境の保全を図るうえで有用な成果であることから、ここに特別報告として公表することとした。

なお、本研究は福岡県農業総合試験場と九州大学大学院生物資源環境科学府において 2007～2009 年度に実施した試験成績をとりまとめたものである。

本研究の遂行にあたり、御指導、御鞭撻を頂いた九州大学教授近藤隆一郎博士ならびに同准教授堤祐司博士に厚くお礼を申し上げます。

平成 24 年 3 月

福岡県農業総合試験場長

大神 良弘

目 次

第1章 緒論	1
第2章 家畜糞堆肥化施設における臭気物質発生状況	4
2. 1 序	
2. 2 養豚堆肥化施設における臭気物質発生状況	
第3章 家畜糞堆肥化過程で発生するアンモニア防止対策	19
3. 1 序	
3. 2 アンモニア低減微生物による豚糞堆肥化過程のアンモニア低減 ～小型堆肥化試験装置による室内試験～	
3. 3 アンモニア低減微生物による豚糞堆肥化過程のアンモニア低減 ～1m ³ 規模における屋外試験～	
3. 4 スギ樹皮のアンモニア吸着能を活用した鶏糞堆肥化過程のアンモニア低減	
第4章 家畜糞堆肥化微生物による残留性塩素系農薬の低減	39
4. 1 序	
4. 2 牛糞堆肥化過程におけるディルドリンの低減	
4. 3 牛糞堆肥化微生物によるディルドリン，エンドリン，ヘプタクロルの低減	
4. 4 ディルドリンを分解除去する堆肥化微生物の菌叢解析	
第5章 総合考察	55
摘 要	58
謝 辞	60
引用文献	61
Summary	66

第 1 章 緒 論

1. 福岡県における畜産環境の現状と課題

平成 22 年現在福岡県の畜産業は酪農 313 戸、肉用牛 233 戸、養豚 70 戸、採卵鶏 107 戸、肉用鶏 40 戸で一部を除いて家族経営を主体とした中小規模の経営が多い。一方、福岡県の人口は 500 万人を超え(福岡県 HP)、畜産農家と一般住民の混住化に伴う環境問題が多発している。平成 19 年の統計では悪臭に関する苦情が 38 件で污水に関する苦情が 8 件、ハエなどの衛生害虫に関する苦情が 6 件と続いている(福岡県農林水産部畜産課調)。福岡県で畜産経営を継続するためにはこれらの苦情に対処する必要がある。このため行政や指導機関が一体となった農家支援が数多く行われてきた。例えば、平成 11 年度に制定された「家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律」(農林水産省 HP)によって畜産農家が家畜排せつ物の野積み管理が禁止された。また同法によって畜舎排水の素堀管理が禁止された。このため、福岡県では平成 11 年から 16 年にかけて合計 16 億円をかけて県内農家の施設整備を推進した。これにより 16 年度までに野積み・素堀管理は解消し、地域環境の改善に貢献した。また、市町村でも様々なソフト事業が実施され、前原市(現:糸島市)では畜産農家に対する地域巡回指導を行い、悪臭対策指導を実施するとともに、講習会を年間 2 回実施し、市内の畜産農家の環境に対する意識を向上させた。しかし、このような取り組みにもかかわらず、苦情の件数は横ばいで経営中止に追い込まれる農家が出るなど依然環境問題は深刻である。これは、以前に比べ一般住民の環境に対する意識が高くなり、畜産農家に対して厳しい目が向けられているからにはほかならない。畜産農家は住民の厳しい目に耐えるよう環境保全につとめる必要があり、技術開発による農家支援の必要性は益々高くなっている。そこで著者はこれらの畜産環境の改善を目指した研究に取り組んだ。

2. 家畜糞尿の処理

家畜が排せつする糞尿は臭気、水質汚濁、衛生害虫という環境問題の発生源であり、畜産経営としては確実に処理する必要がある。しかし、糞尿の処理には施設整備および運転に要する費用がかかり、畜産物の価格低迷によって経営体質が弱体化している中小規模の畜産農家にとっては大きな負担となる。家畜糞尿は高水分であり、堆肥化に必要な好気条件を保つために水分調整材を混合するのが一般的である。水分調整材としては木質系資材のひとつであるオガクズが用いられるが、近年、輸入建材が増加し、製材過程で発生するオガクズが減少しているうえに、バイオマス原料としての需要の高まりもあってオガクズの供給が不足傾向にある。このため、糞尿へのオガクズの混合が不十分となり、堆肥化が進んでいない糞尿が施設内に滞留して臭気を発生させている。また、製品堆肥も品質が低く、農地への還元が停滞している。そこで、著者らは、水分調整材に水分が低下した製品堆肥を活用し、インバータ付きブローによって電気代を節約した運転方法を取り入れた乳牛の低コスト堆肥化処理法を開発した(小山 2007)。これにより、腐熟の進んだ堆肥を従来型に比べ 1/4~1/6 程度の電気代で調製できるようになった。しかし、この通気方式による堆肥化も発酵過程で大量にアンモニアが発生する。一般農家への普及を図るためには臭気対策を検討する必要がある。そこで、本研究では堆肥化処理過程で発生する臭気の実態について調査するとともに、特定臭気物質に対する対策を検討することとした。

3. 臭気問題の現状と対策

臭気は、環境問題のうち最も発生頻度が高い問題である。臭気問題に対し、環境省では平成 8 年に悪臭防止法を改正し、特定の臭気物質濃度ではなく人の嗅覚による評価法で規制することを追加した(環境省 HP)。これは従前の特定物質では対応できない都市型の複合臭に対する規制を強化するためのもので、特定物質よりも根本的な発生源対策が求められるようになった。しかし、畜産に起因する臭気物質は 136 種類あり(Hartung と Phillips 1994)、その発生実態や発生機構については一部の物質について明らかにされているのみである(O'NELL と Phillips 1991, 1992; Tanaka ら 1991; 鈴木ら 1991, 1992; Hartung と Phillips 1994)。特に、臭気物質は嗅覚への閾値濃度が低い物質が多く(O'NELL と Phillips 1991)、定量が困難なため実態の把握が十分にできていないのが現状である。近年、ガスクロマトグラフ質量分析計の普及によって低濃度の物質を高感度で測定する技術が進展してきた。そこで、本研究では新たな臭気対策開発を目的にガスクロマトグラフ質量分析計による臭気物質の発生状況を把握した。調査対象は畜産経営で最も臭気の発生源となっている豚糞尿処理施設とした。

アンモニアは畜産施設のうち糞尿堆肥化過程で顕著に発生する刺激臭である(鈴木ら 1991)。有機物の分解にともない有機態窒素が無機化されて発生する(山本ら 2003)ため、好気条件下では必ず発生する臭気物質である。アンモニアは大気中に拡散すると酸化されて硝酸となり酸性雨の原因となる(Hartung と Phillips 1994)ことから、欧州では温室効果ガスとともに畜産に対する規制を強めている。アンモニアの対策のうち微生物による低減化は多くの報告(田中ら 1995; 河原ら 1996; Kuroda ら 2004)があるが、堆肥化微生物の中から選抜された *Bacillus* 属微生物による低減効果(Kuroda ら 2004)について着目した。この報告では高いアンモニア低減効果を示したとしているが、窒素源のひとつである尿を加えていないこと、臭気吸着効果があると思われるオガクズを水分調整材として活用しているため、正確な脱臭効果を把握できない懸念がある。そこで本研究では、豚糞に尿を混合し、水分調整材としてパーライトを用いた。また、10L 規模の試験から、さらに 1m³ に試験規模を拡大して確認試験を実施し、*Bacillus* 属微生物によるアンモニア低減効果を明らかにした。

アンモニアガスを粉碎樹皮と接触させることで低減できるとした報告(樋口ら 2008)や、汚水ピットから揮発するアンモニアをイナワラが低減するという報告(Blanes-Vidal ら 2009)、樹皮に畜舎臭気を通気させることでアンモニア濃度を低減させる報告(Chen ら 2009)がある。しかし、樹皮を堆肥化処理における臭気対策に使用した事例はない。そこで、本研究ではスギ樹皮を供試してアンモニアの吸着能力を確認するとともに、10L 規模で鶏糞を堆肥化し、その過程で発生するアンモニアの低減効果を明らかにした。

4. 堆肥の利用拡大対策

畜産施設からの臭気を低減するためには発生源となる家畜糞尿を速やかに堆肥化し、農地へ還元する必要がある。堆肥は耕種農家に土壤改良資材として利用されるのが一般的である。農地土壤の維持増進のためには年間 1ha 当たり 20t の堆肥を投入することが推奨されている(福岡県農政部 2007)。現在の福岡県の家畜糞堆肥の生産量から算出すると、農地 1ha 当たりの供給可能量は 9t しかなく、地力維持増進のためにはさらに投入が必要な状況である。しかし、現状では家畜糞堆肥の利用は進まず、糞尿や堆肥が畜産施設周辺に滞留し、環境問題を発生させている。このため著者らは平成 10 年に耕種農家に対して「堆肥利用に関する意向調査」(福岡県農政部編 2000)として堆肥を使用しない理由や問題点などを聞き取った。この中で過半数の耕種農家から指摘されたのは、腐熟度の表示の必要性和散布に係る労力不足の問題であった。そこで、著者らは堆肥の品

質を簡易に判定するためにコマツナの茎長を測定することで腐熟度を評価する発芽インデックス法の適用を検討した(池田ら 2006; 池田と小山 2007)。また, 耕種農家が取り扱う堆肥のハンドリングを向上するためにエクストルーダを用いた家畜糞堆肥の成型化を試みた(小山ら 2004)。さらに, 肥料成分を高め施肥効果を有する土壌改良資材として成分調整成型堆肥を試作した(小山ら 2004)。しかし, 堆肥の流通をさらに促進するためには堆肥の有する機能に着目した新しい活用法を見出し, 利用拡大を図る必要がある。家畜糞堆肥は微生物により分解されており, 最終段階の製品にはこれらの微生物が大量に含まれていることが予想される。これらの微生物は貧栄養下での増殖が可能で, 高い有機物分解性を有することから, 難分解性有機汚染物質の低減効果があると考えられる。Antizar-Ladislao ら(2006)は堆肥化微生物が難分解性有機汚染物質である多環性芳香族炭化水素を分解すると報告した。また, Purnomo AS. ら(2010)はさらに難分解性で毒性の高い DDT の分解を堆肥化の中で実施した。DDT はストックホルム条約で残留性有機汚染物質(POPs)のひとつとして規制されている物質である。他に殺虫剤として使用されたことがあるドリノ剤やヘプタクロルなどもある。これらは現在, 国内のモニタリング調査で残留が散見されており(Otani ら 2006)汚染土壌の浄化技術開発に期待が寄せられている。これらの有機汚染物質が堆肥化微生物によって低減されることが可能になれば家畜糞堆肥の新しい効果として農地への利用拡大を図ることができる。そこで, 家畜糞を堆肥化するモデル試験を実施し, その原料にドリノ類およびヘプタクロルを添加してポリエステル製不織布に包んで埋設し, 堆肥化にともなって低減するか検討した。また, この堆肥化過程で生じる微生物叢を明らかにするためにクローニングライブラリー法(谷口ら 2004)による菌叢解析を実施した。

第2章 家畜糞堆肥化施設における臭気物質発生状況

2.1 序

混住化の進展や住民の環境に対する意識の高まりに伴い、畜産経営における臭気問題は深刻さを増しており、十分な臭気対策なしには経営が存続できない事態も生じている。臭気対策を講じる上でその発生動態を把握することが極めて重要であるが、畜産で発生する臭気は、窒素化合物、低級脂肪酸、硫黄化合物を中心とした136種類の物質から成る複合臭(HartungとPhillips1994)であり、物質ごとに理化学性や対処法が異なる。悪臭防止法(悪臭法令研究会編 2001)では22物質を規制対象としているが、畜産業に関連する臭気物質としてはアンモニア、硫黄化合物4物質、低級脂肪酸4物質、トリメチルアミンが指定されている。これらの臭気物質は糞尿が貯留する堆肥化施設において顕著に発生する(鈴木ら 1991)。養豚の糞尿処理施設において発生する臭気物質濃度について述べた報告(O'NELLとPhillips 1991, 1992; Tanakaら 1991; 鈴木ら 1991, 1992; HartungとPhillips1994)や発生源となる糞尿の臭気成分分析についての報告(YasuharaとFuwa 1977; Kerrら 2006)は多いが、施設内の糞尿と臭気物質との関連について述べた報告はなく、豚の糞尿堆肥化過程で発生する臭気物質の濃度についても明らかにされていない。そこで、本研究では一般的な豚糞尿堆肥化施設において発生する複合臭の成分を堆肥化過程別に調査し、その発生状況を明らかにした。また、発生源である糞尿を原料とした堆肥化物の臭気および理化学性状を併せて調査し、各臭気物質の発生との関係を検討するとともに当該施設の臭気対策について言及する。

2.2 養豚堆肥化施設における臭気発生状況

2.2.1 序言

臭気物質の測定は悪臭防止法で定められており、トリメチルアミンは硫酸で吸収後、強アルカリで脱離し、ガスクロマトグラフで分析される。また、硫黄化合物4物質は、低温濃縮後、ガスクロマトグラフで分析される。さらに、低級脂肪酸4物質は、アルカリ吸着後強酸で加熱脱離し、ガスクロマトグラフで分析される。既報(O'NELLとPhillips 1991, 1992; Tanakaら 1991; 鈴木ら 1991, 1992; HartungとPhillips1994)の臭気物質はこれらの手法に準じて分析されてきたが、ガスクロマトグラフの感度が低く、低濃度の定量が困難という問題がある。また、これらの規制物質以外の家畜糞尿由来の臭気物質は測定できない。

そこで、本研究ではガスクロマトグラフより検出感度が高く、対象物質以外の臭気物質について網羅的に測定できるガスクロマトグラフ質量分析計を用い、臭気の発生源である糞尿が回収される豚糞尿堆肥化施設内の臭気を対象に分析を試みた。

2.2.2 試験方法

1) 調査対象施設

福岡県内で母豚280頭の一貫経営を行う養豚農家の強制通気方式堆積型堆肥舎を調査した。当該施設の糞尿処理フローをFig. 2.1に示す。肥育豚房の下部に敷設したスクレッパーにより糞尿混合物が堆肥舎内に自動搬入されている。尿の一部は糞に混入して堆肥舎に搬入されるが、約80%は液状物として活性汚泥浄化槽で浄化処理される。また、繁殖雌豚舎の糞尿混合物はスラリー状に保管した後、高分子凝集剤(センカフロックSA4655C; センカ、大阪)を用いて凝集処理し、

圧搾式固液分離機(ツルミポンプティーボーグ 50PV2.75;鶴見製作所,大阪)で分離し,脱水ケーキとした。これらに水分調整材を混合後,通気管を床面に敷設した発酵槽(間口 3 m×高さ 2.2 m×奥行 7 m;Fig. 2.2)に詰め込みブローア(2.2 kW;昭和電機,大阪)を用いて連続通気した。

2)調査時の堆肥化条件

水分調整材として2週間強制通気した堆肥を返送堆肥として準備した。タイヤショベルを用いて糞尿混合物と脱水ケーキ,返送堆肥を容積比で1:2:3に混合した。2日間かけて貯留後,タイヤショベルを用いて再度混合し,発酵槽に堆積した。切り返しを7日後に実施し,さらに8日間堆積した。2009年2月1日から2月9日まで同様の作業を5回繰り返した。

3)固形物分析

①品温

バイメタル式温度計(長さ 90 cm;SATO,東京)を発酵槽断面中央部に水平に挿入し,定時に直読して堆積物の品温とした。

②一般成分分析

堆積して1日後,8日後,15日後に堆積斜面の深さ20 cmの位置から固形物を約1 kg採材した。60℃48時間通風乾燥し,減少した重量より水分含量を算出した。また,590℃で灰化させた減少量より,有機物含量を算出した。現物試料5 gにイオン交換水を45 mL加えて30分間振とうし,ガラス電極pH計でpHを測定した。また,現物試料2 gをケルダール分解後,セミマイクロ蒸留法(土壤養分測定法委員会編 1975)で全窒素を測定した。現物試料5 gを10%塩化カリウム水溶液で振とう抽出したろ液を用いてブレムナー法(Bremnerら 1965)によりアンモニア態窒素および硝酸態窒素を測定した。

③トリメチルアミン

現物試料5 gに1 mol・L⁻¹硫酸50 mLを加えて振とうし,ろ過(No.5A;アドバンテック,東京)した。このろ液を50%水酸化カリウム水溶液20 mLを入れたトリメチルアミン分析用分解瓶に注入し,窒素ガスを通気した。排ガスを液体アルゴンに浸した濃縮管(アミン濃縮用;ジェイサイエンス・ラボ,京都)に送り出し,低温濃縮した。1分間70℃で急加熱し,ガスクロマトグラフ質量分析計(TRACE GC Ultra-DSQ II;サーモクエスト,神奈川)に導入してトリメチルアミンを分析した。ガスクロマトグラフのカラムはPTA-5(30 m×0.32 mm×1.5 μm;スperlコ,ドイツ)を用い,カラム温度は50℃で2分間維持後,20℃・min⁻¹の速度で160℃まで昇温した。注入口温度は50℃,スプリット比は20:1に設定した。質量分析計の選択質量をm/z=59とした。

④硫黄化合物

現物試料5 gを2本連結させた通気瓶の入口側に入れ,出口側の通気瓶には0.1 mol・L⁻¹硫酸を入れた。サンプリングポンプ(GB101;ジェイサイエンス・ラボ,京都)で窒素ガスを0.5 L・min⁻¹で通気させ,その排ガスをテドラーバックに採取した。この排ガスを液体アルゴンに浸した濃縮管(硫黄化合物濃縮用;ヤナコ分析工業)に注入し,低温濃縮した。1分間70℃で急加熱し,ガスクロマトグラフ質量分析計(TRACE GC Ultra-DSQ II)に導入して硫黄化合物を分析した。ガスクロマトグラフのカラムはPLOT FUSED SILICA (30 m×0.32 mm×4 μm;バリアン,アメリカ)を用い,カラム温度は70℃で1分間維持後,15℃・min⁻¹の速度で205℃まで昇温した。注入口温度は130℃,スプリット比は10:1に設定した。質量分析計の選択質量を硫化水素 m/z=34,メチルメルカプタンと硫化メチ

ル $m/z=47$, 二硫化メチル $m/z=94$ とした。

⑤低級脂肪酸

現物試料 5 g にイオン交換水 50 mL を加えた後振り混ぜながら $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水酸化ナトリウム水溶液を加えて pH10 に調整した。これを 10 分間振とうし、5 分間遠心分離 (3000rpm) 後ガラス繊維ろ紙 (GS25; アドバンテック) でろ過した。ろ液 10 mL を凍結乾燥処理した後、3% 硫酸エタノール 5 mL を加えて 80℃ で 2 時間エチル化した。反応溶液を 2% 炭酸ナトリウム水溶液で中和した後イオン交換水 20 mL を加え、ジエチルエーテル 50 mL で 2 回抽出した。ジエチルエーテル層にイオン交換水 20 mL で 2 回洗浄後、無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて脱水した。ジエチルエーテル溶液はロータリーエバポレーターで 10 mL まで濃縮し、最後は窒素を吹付けて 5 mL まで濃縮し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (TRACE GC ULTRA-DSQ II) で測定した。ガスクロマトグラフのカラムは DB-WAX (0.32 mm×30 m, 1.50 μm , アジレントテクノロジー, アメリカ) を用い、カラム温度は 100℃ で 1 分間維持後、 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ の速度で 250℃ まで昇温し、1 分間維持した。注入口温度は 250℃, スプリット比は 20:1 に設定した。質量分析装置の選択質量をプロピオン酸エチル $m/z=74$, 酪酸エチル $m/z=88$, 吉草酸エチル $m/z=102$ とした。

⑥フェノールおよびクレゾール

現物試料 5 g に $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 塩酸 1 mL, メタノール 30 mL を加えて 10 分間振とう後ろ過した。残さは、さらに酢酸エチル 60 mL で 2 回振とう抽出 (10 分間) 後ろ過し、メタノール抽出液に合わせた。抽出液に 10% 塩化ナトリウム溶液 40 mL を加えて洗浄後、有機層を採取し無水硫酸ナトリウムで脱水した。ろ過後、5 mL まで濃縮し、シクロヘキサンを加えて正確に 10 mL とした後、その 4 mL をゲルろ過 (GPC) により精製した。GPC は GPC8100 (ジーエルサイエンス, 東京) により行い、カラムとして CLNpak EV-2000 ($\phi 20 \text{ mm} \times 400 \text{ mm}$, ジーエルサイエンス) を用いた。溶離液は酢酸エチルとシクロヘキサンを 3:7 で混合した溶媒で、溶離速度を $4.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 分取範囲を 70~110 mL に設定した。GPC 溶出液は 5.0 mL まで濃縮し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (TRACE GC ULTRA-DSQ II) で測定した。ガスクロマトグラフのカラムは DB-WAX (0.32 mm×30 m, 1.50 μm) を用い、カラム温度は 100℃ で 1 分間維持後、 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ の速度で 250℃ まで昇温し、1 分間維持した。注入口温度は 250℃, スプリット比は 20:1 に設定した。質量分析装置の選択質量をフェノール $m/z=94$, クレゾール $m/z=107$ とした。

⑦インドール, スカトール

現物試料 5 g にメタノール 30 mL を加えて 10 分間振とう後ろ過した。残さに酢酸エチルを 60 mL 加えて 2 回振とう抽出 (10 分間) 後ろ過し、メタノール抽出液に合わせた。抽出液に 10% 塩化ナトリウム溶液 40 mL を加えて洗浄後、有機層を採取し無水硫酸ナトリウムで脱水した。ろ過後 5 mL まで濃縮し、シクロヘキサンを加えて正確に 10 mL とした後、GPC (GPC8100) により精製した。GPC 溶出液は 5 mL まで濃縮し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (TRACE GC ULTRA-POLARIS Q, サーモクエスト) で測定した。GPC はフェノール, クレゾールの方法に準じた。ガスクロマトグラフのカラムは InertCap 5MS/Sil (0.25 mm×30 m, 0.25 μm , ジーエルサイエンス) を用い、カラム温度は 40℃ で 1 分間維持後、 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ の速度で 280℃ まで昇温し、2 分間維持した。注入口温度は 300℃, スプリット比は 20:1 に設定した。質量分析装置の選択質量をインドール $m/z=117$, スカトール $m/z=130$ とした。

4) 堆肥化施設の臭気採取および分析

底部に直径 10 mm の穴を穿孔したポリプロピレン製円形タッパー (直径 200 mm×高さ 150 mm)

を堆積物表層に逆向きに設置した。穿孔部にフレックスサンプラー(DC1-NA;近江オドエアサービス,滋賀)を接続してタッパー内の臭気を吸引し,10L 容テドラーバッグ(CD10;近江オドエアサービス)に採材した。

①アンモニア

テドラーバッグにガラス検知管(No.3M;ガステック,神奈川)を接続して吸引し,アンモニア濃度を測定した。

②トリメチルアミンおよび硫黄化合物

テドラーバッグ内のガスを固形物分析で得られた臭気と同様の方法で低温濃縮し,同条件で分析した。

③低級脂肪酸

低級脂肪酸用捕集管(ジューエルサイエンス)を採材したテドラーバッグに接続し,真空ポンプを用いて流速 $5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ で約 5 L 吸引濃縮した。この捕集管を FID 検出器付きガスクロマトグラフ(GC-15A;島津製作所,京都)に接続し,ギ酸(臭気分析用;和光純薬工業,京都)を $20\text{ }\mu\text{L}$ 加えて 180°C で加熱し,ガスクロマトグラフに導入した。分離用カラムとして低級脂肪酸用充填剤(ジューエルサイエンス)を充填したガラスカラム(長さ $1.6\text{ m}\times$ 内径 3 mm)を用いた。開始時 70°C とし, $12^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ の速度で 220°C まで昇温し, 15 分間維持した。ガスクロマトグラフの注入口および検出器温度は 230°C に設定した。

2.2.3 結果

1) 堆肥化原料の臭気物質

堆肥化の原料となる豚糞の水分,有機物含量, pH はそれぞれ 79% , 93% , 7.7 であり,糞尿を混合して脱水した汚泥ケーキでは 75% , 77% , 7.4 を示した(Table 2.1)。汚泥ケーキは,ケルダール窒素が 6.3% と高く,尿が大量に混入した影響と考えられる。水分調整を目的に混合した返送堆肥は豚糞尿を2週間強制通気処理したものであるが,水分が 41% ,有機物含量が 66% まで低下していた。

堆肥原料となる豚糞尿,脱水ケーキおよび返送堆肥から揮発または含有する臭気成分を Table 2.2 に示した。豚糞尿,汚泥ケーキからは高濃度のトリメチルアミンが発生した。また,硫黄化合物のうち硫化水素とメチルメルカプタンが発生した。いずれも,豚糞尿に比べ,汚泥ケーキからの発生が多かった。一方,返送堆肥からはトリメチルアミン,硫黄化合物はいずれもほとんど検出されなかった。堆肥原料の固形物から溶媒抽出した低級脂肪酸 4 物質のうち豚糞尿と汚泥ケーキにはプロピオン酸が $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\sim 4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, *n*-酪酸が $3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\sim 6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, *iso*-吉草酸が $0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\sim 0.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, *n*-吉草酸が $0.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\sim 0.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 検出された。返送堆肥に比べて $10\sim 100$ 倍量であり,堆肥化前の糞尿が低級脂肪酸の発生源であることが示唆された。糞便臭であるフェノール類,インドール類については低級脂肪酸と同様に溶媒抽出によって分析したが,豚糞尿,汚泥ケーキからは *p*-クレゾールが約 $11\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,インドールが $6\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}\sim 9\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,スカトールが $8\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}\sim 15\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 検出された。いずれの物質も返送堆肥からは検出されなかった。

2) 豚糞尿の堆肥化過程で発生する臭気

豚糞尿,汚泥ケーキおよび返送堆肥を混合して堆積した直後から品温が上昇し,2日後に最高品温 $61^{\circ}\text{C}\sim 65^{\circ}\text{C}$ に達した。その後緩やかに低下し,15日後に $26^{\circ}\text{C}\sim 37^{\circ}\text{C}$ となった(Fig.2.3)。堆肥化開始1日後,8日後,15日後の豚糞尿の水分,有機物含量,窒素含量はやや低下する傾

向が認められた (Table 2.3). pHは期間を通じて 8.1~9.0 を示した。

1 日後, 8 日後および 15 日後の豚糞尿から揮発または含有する臭気物質を堆肥原料と同様の方法で測定した (Table 2.4)。トリメチルアミンは堆積 1 日後には $7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 検出されたが, 8 日後には $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $0.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ に, 15 日後には $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ に低下した。また, 硫黄化合物については, 硫化水素は 1 回目の調査の 1 日後に発生した以外に検出されなかった。メチルメルカプタンは, 1 日後には $190 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $4300 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ の範囲で発生し, 8 日後には $40 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $1530 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ に, 15 日後には $20 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $220 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ に低下した。硫化メチルと二硫化メチル濃度は, 堆肥化 1 日後にそれぞれ $3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $45 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, $22 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ~ $400 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ を示した。いずれも 8 日後, 15 日後には段階的に減少し, 硫化メチルは検出されなかった。低級脂肪酸のうち, プロピオン酸と *n*-酪酸は期間を通じて発生し, 堆肥化に伴う減少は認められなかった。フェノール類はほとんど検出されなかったが, インドール, スカトールは堆肥化開始 1 日後と 8 日後に検出された。トリメチルアミン, 硫黄化合物同様, 堆肥化の進行とともに減少し, 15 日後にはほぼ検出されなかった。

堆肥化物の上層から発生する臭気物質をテドラーバッグに採材して分析した結果を Table 2.5 に示す。堆積 1 日後のアンモニアは $120 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $2240 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ を示し, バラツキが生じたものの極めて高濃度で発生することが明らかになった。8 日後は $18 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $185 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 15 日後は $2 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $7 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ となり堆肥化の進行とともに大幅に減少した。トリメチルアミンは, 1 日後に $20 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $3380 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ で, アンモニア同様バラツキがあるものの高い濃度で検出された。8 日後は $8 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $30 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ となり, 15 日後には検出されなかった。硫黄化合物のうち, 硫化水素は調査期間を通じ, 検出されなかった。メチルメルカプタン, 硫化メチル, 二硫化メチルはアンモニアやトリメチルアミンと同様に堆肥化 1 日後の濃度が高く, 8 日後には大幅に減少し, 15 日後にはほぼ検出されなかった。一方, 低級脂肪酸のうち *n*-吉草酸および *iso*-吉草酸は検出されなかったが, プロピオン酸と *n*-酪酸は僅かに検出された。堆肥化の進行とともに減少する傾向は認められず, 堆肥化期間中に生成していることが示唆された。

堆肥化物上層の臭気物質濃度測定値を平均し, 各物質の閾値濃度で除した閾希釈倍数値 (高原ら 1993) を算出した (Table 2.6)。堆肥化開始 1 日後はアンモニア, トリメチルアミン, メチルメルカプタン, 硫化メチル, 二硫化メチルの閾希釈倍数値が高かった。特に, トリメチルアミンが 42600, メチルメルカプタンが 62600 と高く, 嗅覚へ影響する主要臭気物質であるといえる。堆肥化 8 日後には各物質とも閾希釈倍数値は減少し, 15 日後には *n*-酪酸を除いて, ほぼ嗅覚に影響しない程度に低下した。

2.2.4 考察

全国の臭気に関わる苦情 16000 件のうち畜産業に起因するものは 10% を占め (環境省 HP; 平成 20 年度統計), 畜産の臭気問題は現在もなお解決にいたっていない重要な課題といえる。畜産業の臭気発生源は家畜, 糞尿および飼料 (Hartung と Phillips 1994) であるが, 発生源別の臭気を正確に把握することで確実な対策を講じることが可能となる。そこで, 本研究では養豚業の一般的な堆肥化施設を対象に各臭気物質の発生量を調査した。養豚堆肥化施設の調査を 5 回繰り返した結果は大きくばらついたが, 堆肥化初期段階ではアンモニア, トリメチルアミン, 硫黄化合物が極めて高濃度で発生することが明らかになった。これは, 周辺の臭気物質の影響を除外するために発生源の直上部の臭気を分析したことによるが, 発酵槽下部からの通気によって臭気物質が強制排出されたことも原因として考えられる。各臭気物質の閾値濃度から求めた閾希釈倍数値は堆肥化開始 1 日後のアンモニア, トリメチルアミン, メチルメルカプタン, 硫化メチル, 二硫化メチルが極めて高い値

を示し、これらの物質が豚糞尿堆肥化施設の臭気を形成していると考えられる。低級脂肪酸を除く各臭気物質濃度は1週間の堆肥化によって低下したことから、豚糞尿処理施設では速やかな堆肥化が臭気対策のために重要といえる。

堆肥化施設に搬入される糞尿の臭気物質を定量した結果、施設内で検出される臭気物質であるトリメチルアミンやプロピオン酸、*n*-酪酸、メチルメルカプタンが大量に検出されたことから、堆肥化施設内における主要な臭気発生源は豚舎から搬出された糞尿であるといえる。特に糞尿全量を混合し、液状で保管したものを搾汁した脱水ケーキの値は、豚舎からスクレッパーで搬出した糞尿の約2倍量を示した。尿の混入量の増加が臭気物質量の増加を引き起こすことは山本ら(2003)や尾上ら(2010)が報告している。豚が排せつする糞尿を分離回収できるスクレッパーは尿の糞への混入量を抑えることができるのに対し、脱水ケーキには尿が大量に混入することで大量の臭気物質が生じたと考えられる。また、この混合物は搾汁までの間、液状で保管されており嫌気微生物による分解産物(黒田 2006)として臭気物質が生成されたと考えられる。臭気発生防止のためには、糞尿の全量混合処理を避け、スクレッパーを装備した豚舎内で分離回収すべきであるといえる。一方、糞尿に水分調整材として返送堆肥を混合することで各臭気物質が大幅に低減した。太田と池田(1979)は豚糞に堆肥を混合すると高温性細菌が増加し、短期間に無臭化できると述べている。また、新田ら(1993)は返送堆肥混合によって糞尿中の臭気が低減することを小型堆肥化試験装置による試験で明らかにしているが、堆肥の臭気物質吸着によるものと述べている。低水分の堆肥を混合することで通気性を向上させて堆肥化を促進させるとともに、高温性微生物の増加や臭気吸着能向上により臭気を大幅に低減できることが確認できた。

畜産施設から発生する臭気物質濃度について調査した事例のうち、トリメチルアミンを測定した例は少ない(O'NEILLとPhillips 1992;HartungとPhillips 1994)。悪臭防止法ではガスクロマトグラフによる測定法が定められているが、本研究では、豚糞尿堆肥化施設のトリメチルアミンを測定するためにガスクロマトグラフ質量分析計を用いた。その結果、豚舎から搬出された糞尿や堆肥化初期段階の糞尿からはトリメチルアミンが大量に発生することが明らかになった。トリメチルアミンは尿中に排出され、糞が混合することでpHが上昇することに伴って揮発性する物質である(田中 1988)。HartungとPhillips(1994)は調査した豚舎内のトリメチルアミン濃度が $2.2\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ (大気)であったと報告しており、堆肥化初期段階の濃度とはほぼ一致した。糞尿貯留量が多い豚糞尿堆肥化施設を調査する場合にはトリメチルアミンを測定対象とする必要がある。

硫黄化合物のうち、悪臭防止法で規制対象となっている4物質のうち、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた本調査において顕著な発生が認められた物質はメチルメルカプタンである。これに対し、検出の報告が多い硫化水素(本多ら1992;Haradaら1993;塩入ら1996;北條ら2004)は豚舎から搬出された糞尿や脱水固形物から検出されたものの、堆肥化開始以降は検出されなかったことから、当該施設内では問題にならない臭気物質といえる。

低級脂肪酸は閾値濃度が低く、養豚施設で特異的に発生する物質のひとつとされている(田中1990)。本研究の結果、糞尿および堆肥化時の糞尿から大量に検出されたが、糞尿のpHが高かったことから、堆積物上部の濃度は低く、*iso*-吉草酸と*n*-吉草酸は検出されなかった。糞尿中の低級脂肪酸を揮発させないためにはpHを高く維持する必要があるといえる。また、トリメチルアミンや硫黄化合物のように堆肥化の進行に伴う減少が認められず、生成が示唆された。低級脂肪酸は嫌気下で生成される物質であり(田中 1988)、堆肥化期間中の通気が不十分だったことが原因として推察される。閉塞した通気管がないかを確認するとともに通気用ブローを増設し、通気量を増加させる必

要がある。

悪臭防止法ではフェノール類、インドール類物質は規制対象に指定されていないが、糞尿および堆肥化時の糞尿から検出された。糞中のフェノール類、インドール類の分析(Hobbs ら 1995; Kerr ら 2006)はあるが、大気中の分析例がなく本研究でも大気中の濃度については測定できなかった。糞尿を貯留する堆肥化施設の複合臭を形成している物質のひとつとして考えられることから、低温濃縮法とガスクロマトグラフ質量分析法などを組み合わせた定量を試みる必要がある。

2.2.4 小括

豚糞尿混合物からはトリメチルアミン、硫黄化合物、低級脂肪酸、フェノール類、インドール類が検出されたが、返送堆肥と混合することで各物質の濃度は大幅に減少した。これを通気方式で堆肥化することによりアンモニア、トリメチルアミン、メチルメルカプタン、硫化メチル、二硫化メチルが減少し、15 日後にはほぼ検出されなくなった。このことから、養豚堆肥化施設では豚舎から搬出した糞尿に返送堆肥を加えて速やかに堆肥化することで施設内から発生する臭気を防止できるといえる。

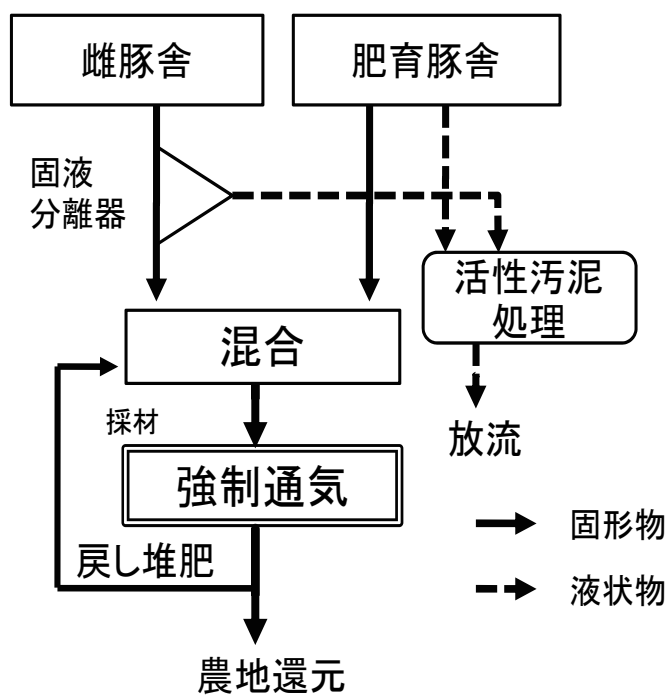


Fig. 2.1 調査対象施設の糞尿処理フロー



Fig. 2.2 通気発酵槽に堆積した堆肥原料

Table 2.1 堆肥原料の理化学性成分値

	moisture	Organic Matter	pH	Kj-N	NH ₄ -N	NO _x -N
	%	%		%	%	%
swine manure	79.4	92.5	7.7	3.5	1.3	ND
sludge cake	74.5	77.1	7.4	6.3	1.2	ND
maturing compost	41.3	65.7	8.8	4.4	0.5	ND

注)ND: not detected

swine manure: 豚糞尿, sludge cake: 汚泥ケーキ, maturing compost: 製品堆肥

organic matter: 有機物含量, Kj-N: ケルダール窒素, NH₄-N: アンモニア態窒素, NO_x-N: 硝酸態窒素
試験開始時に 1 回測定

Table 2.2 堆肥原料中の臭気物質含量

	Sulphides					Fatty acid					Aromatic hydrocarbons		Indole	
	Trimethylamine $\mu\text{ g}^{-1}$	H ₂ S $\mu\text{ g}^{-1}$	MM $\mu\text{ g}^{-1}$	DMS $\mu\text{ g}^{-1}$	DMDS $\mu\text{ g}^{-1}$	Propionic acid $\mu\text{ g}^{-1}$	Butyric acid $\mu\text{ g}^{-1}$	Isovaleric acid $\mu\text{ g}^{-1}$	Valeric acid $\mu\text{ g}^{-1}$	Phenol $\mu\text{ g}^{-1}$	p-Cresol $\mu\text{ g}^{-1}$	Indole $\mu\text{ g}^{-1}$	3Methyl-indole $\mu\text{ g}^{-1}$	
swine manure	32.8	7.4	6.1	1.0	0.1	2198	2967	301	398	1.0	10.5	5.7	7.8	
sludge cake	60.9	22.1	26.0	0.4	0.2	3685	6206	630	501	1.2	11.8	9.0	15.0	
maturing compost	3.3	ND	0.3	0.0	0.1	24	20	44	4	0.1	ND	0.2	0.1	

注) H_2S : 硫化水素, MM: メチルメルカプタン, DMS: 硫化メチル, DMS: 二硫化メチル

試験開始時に 1 回測定

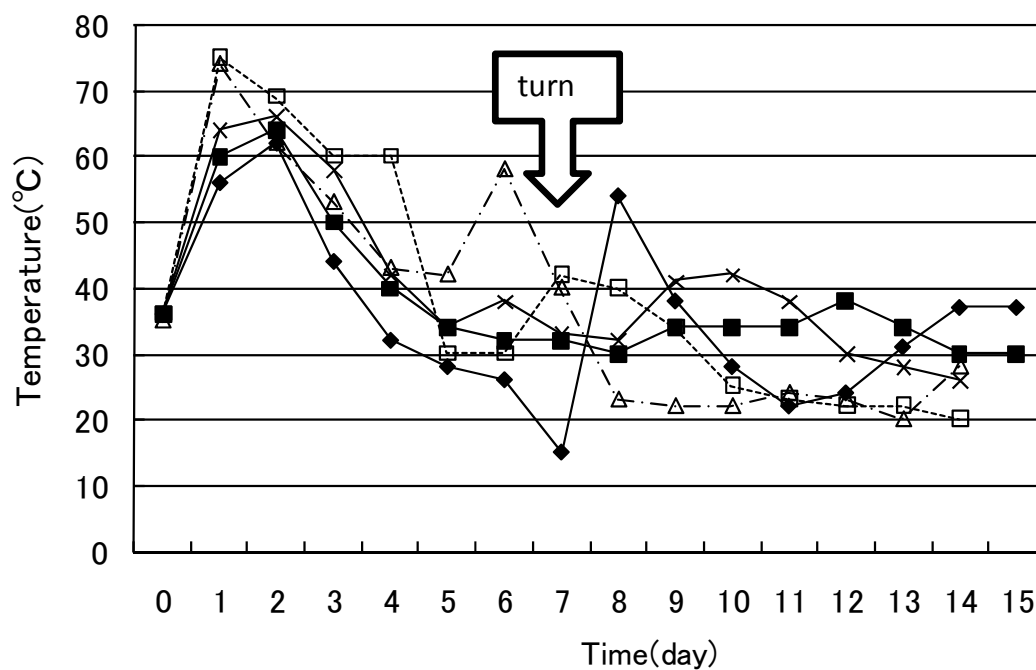


Fig. 2.3 堆肥原料の品温推移

堆肥化開始日:1; —◆— 2月1日, 2; —■— 2月3日, 3; —×— 2月5日, 4; ---□--- 2月7日, 5; —△-- 2月9日.

Table 2.3 堆積した豚糞尿の理化学性成分値

		moisture	Organic Matter	pH	Kj-N	NH ₄ -N	NO _x -N
		%	%		%	%	%
after 1 day	1	58.7	68.9	8.5	4.9	0.6	ND
	2	53.3	67.3	8.9	5.4	0.6	ND
	3	56.4	66.6	9.0	4.4	0.6	ND
	4	58.8	76.0	8.7	3.2	0.6	ND
	5	56.8	74.8	8.4	3.5	0.5	ND
after 8 days	1	54.5	68.9	8.2	4.5	0.4	ND
	2	54.2	66.1	8.1	4.5	0.5	ND
	3	49.5	64.6	8.6	4.4	0.4	ND
	4	62.7	74.1	8.2	4.0	0.4	ND
	5	49.5	70.5	8.7	3.0	0.4	ND
after 15 days	1	42.7	59.1	8.4	4.4	0.3	ND
	2	44.4	64.9	8.3	4.3	0.3	ND
	3	43.0	56.9	8.5	4.4	0.3	ND
	4	47.8	72.8	8.1	3.2	0.2	ND
	5	47.2	71.5	8.3	3.2	0.3	ND

ND: not detected

堆肥化開始日: 1; 2月1日, 2; 2月3日, 3; 2月5日, 4; 2月7日, 5; 2月9日

Table 2.4 豚糞尿堆積物に含有する臭気物質濃度

		Sulphides					Fatty acids					Aromatic hydrocarbons			Indole	
		Trimethylamine	H ₂ S	MM	DMS	DMDS	Propionic acid	Butyric acid	Isovaleric acid	Valeric acid		Phenol	p-Cresol		Indole	3Methyl-indole
		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
after 1 day	1	13.8	0.74	4.30	0.02	0.40	118	68	20	17		0.30	ND		3.10	1.85
	2	11.2	ND	0.59	0.03	0.03	99	42	41	15		0.33	ND		0.38	1.23
	3	13.2	ND	0.13	0.04	0.02	105	296	63	15		0.90	ND		5.78	3.48
	4	7.5	ND	0.79	0.05	0.03	26	36	15	18		0.35	ND		0.63	1.83
	5	9.2	ND	0.19	0.00	0.02	46	53	10	12		0.11	0.05		5.57	6.89
after 8 days	1	0.5	ND	1.53	0.03	0.22	53	41	10	13		0.08	ND		0.05	0.20
	2	0.2	ND	0.48	0.05	0.07	45	38	18	21		0.07	0.01		0.32	1.28
	3	0.7	ND	0.26	0.01	0.13	96	46	16	19		0.16	0.01		1.53	2.38
	4	0.6	ND	1.55	0.01	0.27	13	72	7	9		0.04	ND		ND	0.16
	5	0.4	ND	0.04	ND	0.00	132	135	9	9		0.05	ND		0.72	0.12
after 15 days	1	0.1	ND	0.22	ND	0.03	108	69	11	9		0.06	ND		0.06	0.09
	2	0.1	ND	0.02	ND	0.02	124	150	5	2		0.04	ND		ND	0.03
	3	0.3	ND	0.04	ND	0.01	17	41	8	1		0.06	ND		ND	0.02
	4	0.1	ND	0.03	ND	0.03	42	96	7	1		ND	ND		ND	ND
	5	0.2	ND	0.02	ND	0.01	29	63	3	1		ND	ND		ND	ND

ND: not detected

堆肥化開始日: 1; 2月 1 日, 2; 2月 3 日, 3; 2月 5 日, 4; 2月 7 日, 5; 2月 9 日

Table 2.5 豚糞尿堆積物の上部から発生する臭気物質の濃度

		Sulphides					Fatty acids				
		NH ₃	Trimethylamine	H ₂ S	MM	DMS	DMDS	Propionic acid	Butyric acid	Isovaleric acid	Valeric acid
		$\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$
after 1 day	1	760	1890	ND	980	590	470	2	4	ND	ND
	2	120	19	ND	20	14	8	1	2	ND	ND
	3	2240	3380	ND	17000	3260	3900	ND	11	ND	ND
	4	890	1140	ND	3030	610	750	1	1	ND	ND
	5	280	390	ND	880	140	270	1	1	ND	ND
after 8 days	1	18	8	ND	ND	2	11	1	2	ND	ND
	2	50	28	ND	ND	4	5	1	1	ND	ND
	3	45	25	ND	11	7	11	1	2	ND	ND
	4	125	30	ND	3	20	8	ND	2	ND	ND
	5	185	20	ND	34	2	32	17	3	ND	ND
after 15 days	1	2	ND	ND	ND	ND	ND	5	3	ND	ND
	2	5	ND	ND	ND	9	ND	2	8	ND	ND
	3	7	ND	ND	ND	ND	32	1	1	ND	ND
	4	2	ND	ND	ND	ND	ND	3	5	ND	ND
	5	4	ND	ND	ND	ND	ND	2	2	ND	ND

ND: not detected

堆肥化開始日: 1; 2月 1 日, 2; 2月 3 日, 3; 2月 5 日, 4; 2月 7 日, 5; 2月 9 日

Table 2.6 豚糞尿堆積物上部から発生する臭気物質の閾希釈倍数値

		Sulphides					Fatty acids				
	NH ₃	Trimethylamine	H ₂ S	MM	DMS	DMDS	Propionic acid	Butyric acid	Isovaleric acid	Valeric acid	
after 1 day	572	42619	ND	62600	308	491	0	19	ND	ND	
after 8 days	56	694	ND	137	2	6	1	11	ND	ND	
after 15 days	3	ND	ND	ND	1	3	0	21	ND	ND	
threshold value	1.5	0.032	0.41	0.07	3	2.2	5.7	0.19	0.078	0.037	

ND : not detected

threshold value: 閾値濃度 L・L⁻⁶

第3章 家畜糞堆肥化過程で発生するアンモニア防止対策

3.1 序

畜産に起因する臭気物質のうちアンモニアは特異な刺激臭を持った物質である。近年、アンモニアは臭気物質としてだけでなく、酸性雨の原因物質として欧州をはじめとして規制の動きが加速化している(Hartung と Phillips 1994)。アンモニアは揮発性、拡散性が高く、嗅覚への閾値濃度が0.1ppm と高い(O'NEILL と Phillips 1992)ものの、畜産施設において高濃度で発生する(Haga 1998)ことが知られている。また、家畜にとっては呼吸器系疾病の原因物質とされ、家畜の生産性を維持するためには畜舎内での発生を抑制する必要がある。家畜糞尿の分解に伴って発生し、堆肥化施設において特に高濃度で発生する。このため、本研究では家畜糞尿堆肥化過程で発生するアンモニアの低減を目的に、微生物による制御と木質系資材への吸着による抑制法について検討した。

3.2 アンモニア低減微生物による豚糞堆肥化過程のアンモニア低減 ～小型堆肥化試験装置による室内試験～

3.2.1 序言

アンモニアは、家畜糞尿中の尿酸態窒素がウレアーゼによって分解されて発生することが知られており(Muck 1982; Jongbloed と Lenis 1992)、微生物の制御によってアンモニアの生成を抑制し、堆肥化過程でのアンモニアガスの発生量を減少させることが期待されている。しかし、堆肥化過程での微生物は数や種類が多く、制御が困難である。また、堆肥化の初期段階では品温が70℃の高温に達するうえ、pHとアンモニア濃度が高くなるために微生物にとって生育が困難な環境となる。このため、特定の微生物の増殖とアンモニア低減効果について関連づけて述べられた報告は極めて少ない(松田と中西 1995; Kuroda ら 2004)。Kuroda ら (2004)は、堆肥化過程に生育する細菌から高温条件下でも生育でき、アンモニア濃度が高い条件で増殖する菌の中で最もアンモニア低減効果が高い *Bacillus* 属の TAT105 株を単離した。さらに、同株を添加した豚糞堆肥化過程で発生するアンモニアを40%抑制できると述べている。しかし、この報告では豚糞に水分調整材としてオガクズを使用した条件で検討されている。アンモニアの主たる発生源である尿が混入していないうえにオガクズが分解性を有する(尾上ら 2010)ために糞尿から発生するアンモニアの抑制効果を正確に評価するには問題が残る。そこで本研究では、豚糞に尿を20%混合した原料を対象に、分解や臭気の吸着が少ないパーライト(Haradaら 1993, 1998)を水分調整材に用いて TAT105 株を添加した10 L 規模の堆肥化を行い、アンモニア低減効果を評価した。

3.2.2 試験方法

1. 小型堆肥化試験装置による豚糞尿堆肥化試験

1) 堆肥原料

繁殖用雌豚10頭が排せつした糞と尿を別々に採取し、1日間室内で放置した。

糞の20%(w/w)に相当する尿と10%(w/w)に相当する脱イオン水を混合し、手で十分に攪拌した。さらに、糞の50%(w/w)に相当するパーライト(宇部興産, 山口)を混合して十分に攪拌した。

2) 添加微生物の培地調製および培養

豚糞 1 kg に 4 L の脱イオン水を加えて懸濁し、ガーゼ(綿 300 mm×300 mm)2 枚でろ過した。このろ液に $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ の濃度になるよう塩化アンモニウムを添加した。希塩酸を加えて pH を 6.0 に調整後、細菌培地用寒天末を 3.5% (w/w) になるよう加えて滅菌した。これに $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 炭酸ナトリウム水溶液を加えて pH を 7.2~7.4 に調整し、糞抽出物培地とした。

独立行政法人・産業総合研究所に寄託されている TAT105 株を糞抽出培地で 3 継代培養した。糞抽出物培地に寒天末を加えない液体培地を別途準備し、継代培養後のコロニーから植菌し、50℃で 20 時間振とう培養した。植菌しない無添加液体培地を準備し、対照区とした。

3) 堆肥化

植菌した液体培地または無植菌液体培地を 100 mL ずつ 5 kg の堆肥原料に添加して手で混合し、小型堆肥化試験装置(かぐやひめ; 富士平工業, 東京)に 4.5 kg 充填した。同装置を用いた試験法は Kuroda ら(1996)に準じ、中心部には温度測定用センサーを埋設し、自動測定した。密閉後、装置下部より $0.45 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ で連続通気した。排ガス口に結露水を回収するために 500 mL 容三角フラスコを接続し、さらにアンモニアガスを回収するために $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸を 250 mL 入れた洗気瓶を接続した。14 日後に装置を開封し、堆肥化試験を終了した。結露水、 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸中の窒素含量は既報(Kuroda ら 1996)に準じて分析した。

4) 排ガス中の臭気分析

通気開始から一定時間経過後に結露水回収用三角フラスコと洗気瓶を接続しているシリコンチューブを取り外し、装置からの排ガスを 10 L 容テドラーバッグ(CD-10; 近江オドエアサービス, 滋賀)内に採取した。排ガス採取後は再度三角フラスコと洗気瓶を接続した。バッグ内のアンモニア濃度をガス検知管(No.3M; ガステック, 神奈川)で測定した。高濃度の場合は活性炭を通過させた無臭空気希釈後測定した。

5) 固形物の一般成分分析

堆肥原料および試験終了後の固形物を採取後、速やかに分析に供した。

約 10 g の試料をろつぽに入れ、60℃で 48 時間通風乾燥した減少量より水分含量を求めた。これを 590℃で強熱処理した減少量を有機物含量とした。試料 10 g を 100 mL 容ポリ瓶に入れ、脱イオン水を 50 mL 加えて 30 分間浸透し、ガラス電極で pH を測定した。試料 2 g をケルダール分解後、セミクロ蒸留法(土壤養分測定法委員会編 1975)でケルダール窒素を測定した。試料 5 g に 10% 塩化カリウム水溶液を加えて 30 分間振とうし、ろ過(No.5A; アドバンテック, 東京)後、ブレムナー法(Bremner と Keeney 1965)で無機態窒素を測定した。

6) 高温性アンモニウム耐性細菌数の測定

固形物 1 g を供試し、滅菌した生理食塩水で適宜希釈した。専用培地 25 mL を直径 90 mm のシャーレに広げ、希釈試料をコンラージ棒で塗布後、60℃の培養器内で 20 時間培養した。平板中に生育したコロニー数を計測し、菌数とした。専用培地は脱イオン水に酵母エキス 0.5%, 塩化アンモニウム 0.5%, リン酸二ナトリウム 0.1%, リン酸一カリウム 0.03%, 酢酸ナトリウム 0.1%を溶解させ、豚糞抽出物培地と同様の方法で pH 調整を行い、細菌培地用寒天末を 3.5% になるよう加えた。

3.2.3 結果

試験開始直後から両区とも品温が急激に上昇し、48 時間後に最高品温に達した(Fig 3.1)。その後、急激に低下し、144 時間後にはほぼ外気温と同じ水準になった。TAT105 株添加区と対照区に

において品温推移の違いは認められず、両区とも同じ堆肥化を示したといえる。

排ガス中のアンモニア濃度の推移を Fig 3.2 に示す。対照区の排ガス中のアンモニアは試験開始 24 時間後から検出され始め、96 時間後に最高濃度 750 ppm に達した。その後低下し、216 時間後以降は 300 ppm の横ばいで推移した。これに対し、TAT105 株添加区の排ガスは 36 時間後からアンモニアが検出され始め、96 時間後に最高濃度 460 ppm に達した。216 時間後以降は 190 ppm 前後で推移した。

小型堆肥化試験充填前後の固形物の理化学的成分を Table 3.1 に示す。豚糞に尿とパーライトを混合した堆肥原料に培養液を加えた水分は 49%、有機物含量は 26%であった。また、pH は 7.5、ケルダール窒素は 1.1%であった。14 日間の堆肥化後の対照区と TAT105 株添加区は、水分がそれぞれ 45%、46%、有機物が 21%、22%でいずれも開始時に比べ低下した。pH は 8.9 と高くなり、ケルダール窒素は開始時とほぼ変わらなかった。両区ともアンモニア態窒素含量が開始時に比べやや高く、硝酸態窒素はいずれの区も検出されなかった。

開始時における固形物中の全窒素量を 100 とした場合の試験終了時における窒素の挙動を Table 3.2 に示す。両区とも固形物、排気途中で冷却されて生じる結露水、天井水およびアンモニア捕集用硫酸の中から 96%の窒素が回収された。なお、排汁は発生しなかった。結露水と天井水中から回収された窒素量は両区とも 2%未満で違いは認められなかった。TAT105 株添加区のアンモニア捕集用硫酸中の窒素量は 4%で対照区の 8%に比べ低下した。一方、固形物中の窒素量は 91%であり、TAT105 株添加区ではアンモニアとして大気中に放出されなかった窒素が固形物中に残存したと予想される。

TAT105 株を植菌し、20 時間振とう培養することで、培養液中の高温性アンモニウム耐性細菌数は 1.7×10^{11} CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ に増殖した。堆肥化期間中の高温性アンモニウム耐性細菌数は堆肥化開始時に対照区で 5.1×10^4 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ であったのに対し、TAT105 株添加区では 1.2×10^7 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ と 100 倍以上の菌数になった (Fig. 3.3)。品温の上昇とともに菌数は増加したが、最高品温時の 48 時間後に両区の菌数は低下し、その後は横ばいで推移した。TAT105 株添加区は 72 時間後以降は対照区より 10 倍量の菌数で推移した。

3.2.4 考察

アンモニアは悪臭防止法 (悪臭法令研究会編 2001) で規制されている物質のひとつであり、微生物による低減化技術の開発が強く望まれている。アンモニアは堆肥化施設から大量に発生するため、Kuroda ら (2004) は堆肥から高温性アンモニウム微生物を 124 株単離し、最もアンモニア態窒素低減能力の高い *Bacillus* sp. TAT105 株を選抜した。これを豚糞に添加して 4 kg 規模で堆肥化すると、堆肥化時に発生するアンモニアが 40%抑制できることを明らかにした。本研究では、この結果を再検証するとともに実用規模の堆肥化試験による実証を試みた。水分調整材として分解や吸着の懸念がない無機資材であるパーライト (Harada ら 1998) を用いた。また、既報においては考慮しなかった尿を尾上ら (2010) の報告を参考に人為的に 20%混合した。TAT105 株添加区と無添加区の窒素回収率はいずれも 96%であり、窒素の動態を定量的に把握できたといえる。この条件下では TAT105 株添加によって堆肥化試験装置から排出される窒素量は約 60%低減でき、揮散する窒素量に相当する窒素は固形物中に残存した。この結果、TAT105 株は揮散する窒素を大幅に低減する効果を有する細菌であることが確認できた。また、豚糞尿 1 kg 当たりから揮散する窒素量は 2.7 g であり、TAT105 株を添加することで揮散量は 1.2 g になると試算された。

既報 (Kuroda ら 2004) では堆肥化開始時に TAT105 株を添加することで高温性アンモニウム耐性細菌数が 10^7 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ になり, 堆肥化から 7 日後に 10^{10} CFU $\cdot$ g $^{-1}$ まで増加すると述べられているが, その増殖について明らかにされていない。本報では堆肥化期間中の高温性アンモニウム耐性細菌数の推移を経時的に計測した。TAT105 株添加区と無添加区はともに, 堆肥化開始後の品温上昇にともなって速やかに増加し, 最高品温時にやや低下し, その後はほぼ横ばいで推移することが明らかになった。TAT105 株を添加した系においては開始時においては無添加区に比べ 100 倍量であった菌数が, 品温上昇とともに, 品温ピーク後は無添加区に比べ 10 倍量の 10^8 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ で推移した。既報 (Kuroda ら 2004) では TAT105 株を添加区の 3 週後の高温性アンモニウム耐性細菌数が対照区の 10 倍量の 10^{10} CFU $\cdot$ g $^{-1}$ になると述べている。これに比べて高温性アンモニウム耐性細菌数が少なかったのは水分調整材としてパーライトを加えたために有機物含量が少なく, 増殖が劣ったものと考えられる。しかし, TAT105 株の添加により高温性アンモニウム耐性細菌数が対照区の 10 倍量で推移することは確認できた。TAT105 株は分子生物学的解析において高温菌 *Bacillus stearoothermophilus* および *Bacillus phycophilus* に近縁の *Bacillus* sp. であり (佐藤ら 2002), 類似する微生物は環境中に多数存在していると考えられる。このため, 堆肥化の進行とともに対照区においても高温性アンモニウム耐性細菌数が増加するが, 堆肥化開始時にアンモニア低減効果が高い TAT105 株を添加し, 高温性アンモニウム耐性細菌数を多く保つことで堆肥化期間中に揮発するアンモニアの抑制に寄与していると予想される。

3.2.5 小括

豚糞堆肥化時に発生するアンモニアの低減効果が報告されている *Bacillus* sp. TAT105 株を添加した豚糞尿を 10L 容の小型堆肥化試験装置内で堆肥化すると, 高温性アンモニウム耐性細菌数が堆肥化初期段階で無添加区の 10 倍量で推移し, 堆肥化期間中に発生するアンモニアが無添加区に比べて約 60% 減少した。

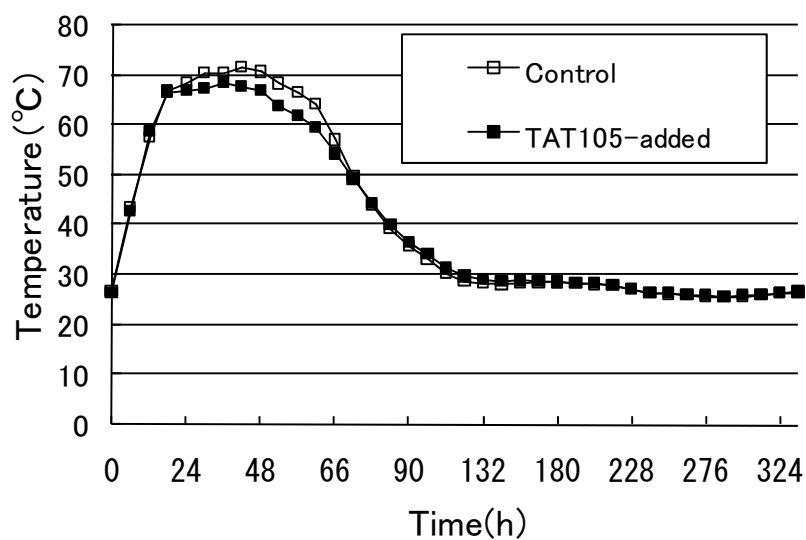


Fig 3.1 豚糞尿の堆肥化過程の品温推移

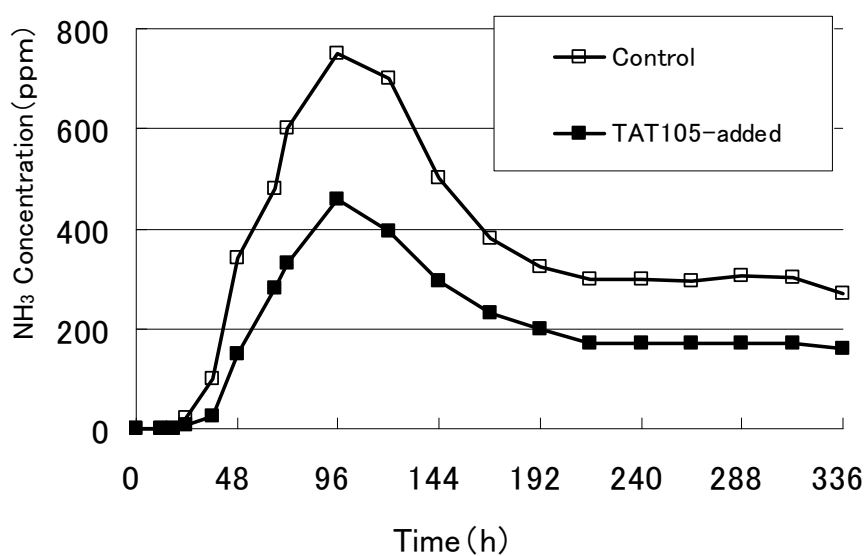


Fig 3.2 堆肥化期間における排ガス中のアンモニア濃度

注) ガス検知管で各 1 回測定

Table 3.1 堆肥化前後における堆肥原料の理化学性成分値

		Moisture %	Organic Matter %	pH	Total Nitrogen ¹⁾ %	NH ₄ -N %
Control	Initial	49.4	26.3	7.6	1.09	0.03
	Final	45.1	20.6	8.9	1.04	0.08
TAT105-added	Initial	49.2	25.8	7.5	1.09	0.03
	Final	45.6	21.9	8.9	1.12	0.07
Control ²⁾	Initial	63.7	—	6.8–7.2	2.52	0.20
	Final	59.8	—	7.5–7.8	2.93	0.03
TAT105-added ²⁾	Initial	63.7	—	6.9–7.3	2.54	0.21
	Final	58.7	—	7.8–7.9	3.06	0.05

¹⁾ Kjeldahl Nitrogen²⁾ Kuroda et al. 2004

Table 3.2 豚糞尿堆肥化期間における窒素の挙動

	Solid	Internal dew	External dew	Emitted gas	Total
Control	86.0	1.6	0.3	8.1	96.0
TAT105-added	91.4	1.0	0.2	3.6	96.2

注) Solid: 固形物中の全窒素

Internal dew: 装置天井部の結露水中のアンモニア態窒素

External dew: 排ガスの結露水中の全窒素

Emitted gas: 硫酸トラップ中の全窒素

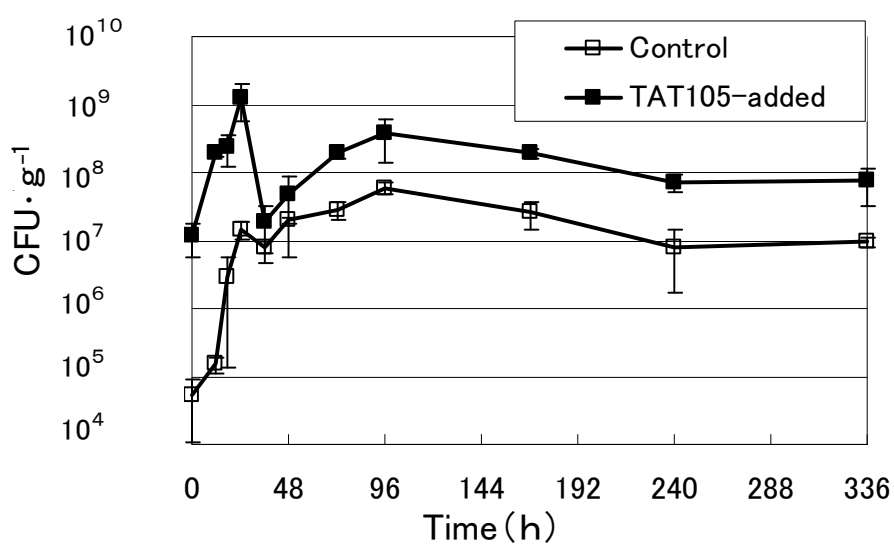


Fig. 3.3 小型堆肥化試験装置における豚糞尿堆肥化時の
高温性アンモニウム耐性微生物数の推移

3.3 アンモニア低減微生物による豚糞堆肥化過程のアンモニア低減

～1m³ 規模における屋外試験～

3.3.1 序言

Bacillus TAT105 株は、10L 規模の堆肥化試験において既報と同等のアンモニア低減効果を示した。しかし、実用規模における再現性について不明である。本研究では、パーライトと同様に分解しにくいモミガラを水分調整材とする 1 m³規模の豚糞尿混合物堆積試験を行い、実用規模における TAT105 株添加によるアンモニア低減効果を評価した。

3.3.2 試験方法

1)堆肥原料の調製

肥育豚舎のスクレッパーから搬出された豚糞尿混合物を採取し、屋内で 1 日間静置した。これに米モミガラを 50%(v/w)加えてタイヤショベルで攪拌後、1 m³ずつ 2 分割した。2 節と同様の方法で培養した TAT105 株添加液体培地と無添加培地をそれぞれの区に 8 L ずつ添加し、再度攪拌した。

2)堆肥化

幅 1 m×高さ 1 m×奥行き 1 m の箱形発酵槽に充填し、底部から 50 cm の中心部に温度センサーを設置して 24 時間毎に内部の温度を測定した。7, 14, 28, 42, 56 日後に堆積物を取り出して手で攪拌し、再充填した。84 日後に試験を終了した。

3)アンモニアガス測定

経時的に堆積物上部に 3.3 L 容丸形タッパウエアを被せ、容器内の空気をエアサンプラ (DC1-NA; 近江オドエアサービス) で 10 L 容テドラースバッグに吸引した。バッグ内のアンモニア濃度をガス検知管 (No.3M) で測定した。

4)固形物の一般成分分析および高温性アンモニウム耐性細菌数の測定

堆肥原料充填時および切り返し毎の固形物試料を約 500 g ずつ採取し、2 節と同様の方法で一般成分を分析するとともに高温性アンモニア耐性細菌数を測定した。

3.3.3 結果

堆肥化開始直後より両区とも品温が速やかに上昇し、堆肥化開始 9 日後に最高品温 70℃に達した (Fig. 3.4)。5 週以降、TAT105 株添加区の品温がやや高く推移するものの、顕著な違いは認められず、両区とも堆肥化微生物の活性は変わらないと判断できる。

堆肥化物から揮発するアンモニアは 1 回目の切り返しを行った 2 週目から 3 週目にかけて大量に発生した (Fig. 3.5)。両区とも最高品温に達した 9 日目にアンモニア濃度が最も高くなり、対照区が 250 ppm, TAT105 区が 150 ppm を示した。TAT105 株添加によって最高濃度が低くなることは小型堆肥化試験装置の結果と一致し、同菌株は豚糞尿堆肥化時のアンモニア発生を抑制できるといえる。なお、4 週以降のアンモニア濃度は両区とも 50 ppm 未満であった。

堆肥化物の理化学性成分は両区とも一般的な堆肥化における推移とほぼ一致しており、TAT105 添加による理化学性成分への影響はないといえる (Table 3.3)。

高温性アンモニウム耐性細菌数は堆肥化開始から緩やかに上昇し、8 週後には対照区が 1.2×10^8 CFU・g⁻¹, TAT105 株添加区が 1.9×10^8 CFU・g⁻¹ となり堆肥化初期には 10 倍量、後期にはほぼ同等の菌数となった (Fig. 3.6)。

3.3.4 考察

小型堆肥化試験装置による堆肥化では短時間に品温が低下するため、より実用規模に近い 1 m³ 規模の堆肥化において TAT105 株がどのように影響するかを調査した。実用性を考慮し、水分調整材としてモミガラを使用した。モミガラは炭素含量が低くケイ酸が多いうえ(池田 1986)、保水性が弱い(柳田ら 1995)ことから小型堆肥化試験に用いたパーライトと同様に分解や吸着の懸念はなかったと考えられる。小型堆肥化試験装置の試験と異なり、開始から 7 日間は品温が上昇するもののアンモニアはほとんど発生しなかった。この理由として、開始時の pH は 6.9 であり、尿酸態窒素をアンモニアに転換するウレアーゼの至適 pH 8.0 に達していなかったこと、通気処理を行わなかったために堆肥化開始時に低級脂肪酸が生成されてアンモニアが発生しなかったことが考えられる。7 日後に切り返しを行ったところ、pH は 8.4~8.8 となり 14 日まで高温を維持した状態で大量のアンモニアが発生した。1 m³ 規模では小型堆肥化試験装置で示された TAT105 株添加による大幅なアンモニア低減効果は認められなかったものの、品温上昇後のアンモニアガス発生ピーク時の濃度が約 40% 低下し、実用規模においてもアンモニア低減効果を有することが明らかになった。

3.3.5 小括

Bacillus sp. TAT105 株を豚糞尿に添加し、モミガラを混合して 1 m³ 規模に堆積した。TAT105 株を混合することでアンモニアガス最高揮発濃度が無添加の対照区に比べ約 40% 低下した。高温性耐アンモニウム微生物数に違いは認められなかった。

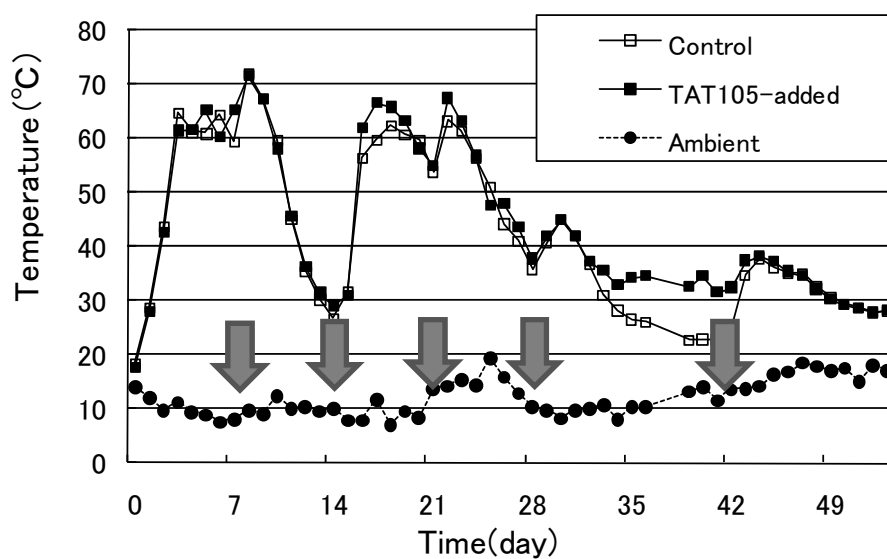


Fig. 3.4 1 m^3 規模の堆肥化における豚糞尿堆積物の品温推移
 注) 矢印: 切り返し作業

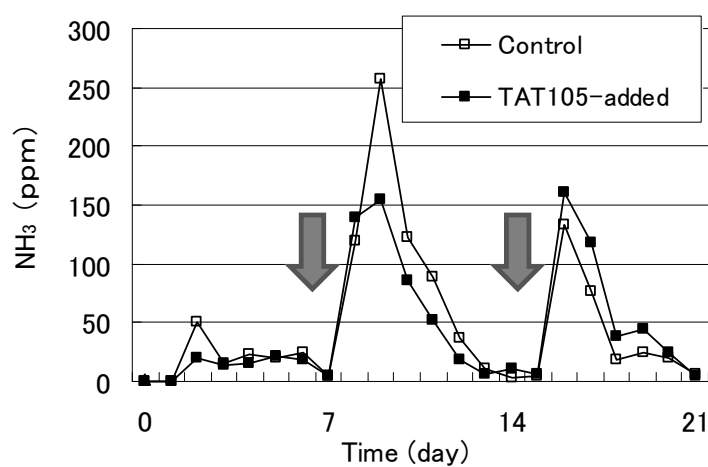


Fig. 3.5 1 m^3 規模の豚糞尿堆積物上部から揮発するアンモニア濃度
 注) 矢印: 切り返し作業

Table 3.3 1m³ 規模堆肥化試験における豚糞尿堆積物の理化学性成分値

			0W	1W	2W	3W	4W	6W	8W
Control	moisture	%	52.8	49.6	45.0	44.2	38.0	36.9	34.3
	OM ¹	%	82.7	81.1	79.5	78.0	76.4	76.2	75.8
	pH		6.9	8.4	8.8	8.7	8.7	8.3	7.9
	Kj-N	%	1.70	1.98	1.80	1.66	1.67	1.73	1.68
	NH ₄ -N	%	0.25	0.37	0.27	0.14	0.11	0.08	0.06
TAT105-added	moisture	%	51.6	49.9	44.8	41.4	38.0	37.2	33.9
	OM	%	82.5	80.9	79.4	77.9	76.4	76.3	76.0
	pH		6.9	8.4	8.8	8.7	8.6	8.3	7.8
	Kj-N	%	1.58	1.87	1.81	1.57	1.73	1.73	1.66
	NH ₄ -N	%	0.23	0.36	0.29	0.13	0.11	0.09	0.06

¹ OM: organic matter

² swine manure: moisture 72.0%, OM 85.9%, pH 7.00, Kj-N 3.72%, NH₄-N 0.56%
Rice hull: moisture 10.6%, OM 81.0%

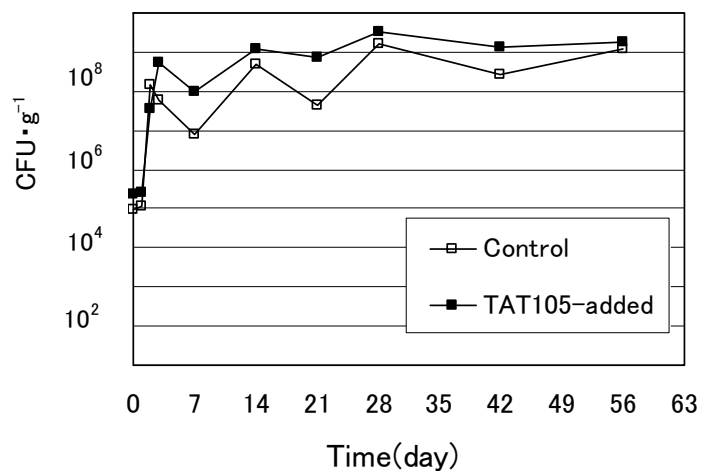


Fig. 3.6 1 m³ 規模の堆肥化における豚糞尿堆肥化時の
高温性アンモニウム耐性微生物数の推移

3.4 スギ樹皮のアンモニア吸着能を活用した鶏糞堆肥化過程のアンモニア低減

3.3.1 序言

樋口ら(2008)は、スギ樹皮のアンモニア低減効果を明らかにし、アンモニアを大量に発生させる畜産業への資材活用を提唱している。しかし、家畜排せつ物由来のアンモニアの脱臭にスギ樹皮を用いる事例は少なく(樋口ら 2008; 大原 2001; Chen ら 2009), その脱臭機構については言及されていない。近年, Chen (2009)らが豚舎からの臭気をスギ樹皮に接触させることにより高い脱臭効果を示すと報告した。この報告では脱臭装置に大気を導入する動力が必要であり, 零細な畜産農家において普及させることは困難である。また, 樹皮を家畜糞に混合して堆肥化することで発生する臭気が抑制できることも報告されている(蓮沼ら 2005)が, 大量の樹皮を用いる必要があり, 畜産農家にとって処理量が増大する問題が残されている。Blanes-Vidal ら(2009)は豚糞尿液状物上に浮上したワラによって, 豚糞尿由来の臭気物質を吸着・分解できると報告している。臭気発生源の表面を被覆するだけで臭気を抑制できれば安価な臭気対策として期待できる。しかし, アンモニアが発生している家畜糞などの表面を草木類残さで覆い, 発生量を抑えた事例はない。そこで本研究では, まず, スギ樹皮のアンモニア吸着能力を室内実験で確認した。次いで, 小型堆肥化試験装置に鶏糞を充填して堆肥化し, 大量のアンモニアが発生する条件で充填物の表面をスギ樹皮で被覆してアンモニア低減効果を調べた。また, スギ樹皮の理化学性状を明らかにすることによりアンモニア除去機構を推定した。

3.3.2 試験方法

試験 1 スギ樹皮のアンモニア除去能の測定

スギ樹皮を 105℃ で 2 時間乾燥後, 粉砕し(IKA 製, A11), 30~60 mesh の試料を得た。5 L 容のテドラーバッグ(近江オドエアサービス製, CD-10)を約 5 cm 程度カッターナイフで切り開き, スギ樹皮試料を 2 g 入れた。その後, 切り開いた部分をセロハンテープで塞ぎ, テドラーバッグのcockを開いて純空気を 4 L 注入した。これに 25%アンモニア水を 10 μ L 加えて, ドライヤーで加熱しながら手で振とうした。開始時から 5, 10, 15, 30, 70 分後にテドラーバッグ内部のアンモニア濃度をガス検知管(ガステック製, No.3M)を用いて測定した。低濃度のアンモニア測定には低濃度用ガス検知管(ガステック製, No.3L)を用いた。比較試料として乾燥処理活性炭(ナカライテスク製, AW-FW)を 2 g 入れたものと何も入れなかったテドラーバッグを準備し, 同様の処理および測定を行った。

試験 2 スギ樹皮被覆による鶏糞のアンモニアガス抑制効果

1) 鶏糞の堆肥化

種雄鶏(横斑プリマスロック種 300 日齢)の排出した新鮮糞をケージ下より採取し, 羽毛を除去後, 手で十分に攪拌した。尾上ら(2010)の方法に従って, 攪拌した鶏糞 10kg に 5kg のパーライト(宇部興産製)を加えてさらに攪拌し, 小型堆肥化試験装置(富士平工業製, かぐやひめ)に湿重で 4 kg ずつ充填した。植繊機(西邦機工製, SRM-50)で粉砕処理したスギ樹皮 あるいはスギ心材オガクズを湿重で 200 g ずつ鶏糞の上部に被覆, 静置した(Fig. 3.7)。この被覆量はそれぞれの水分よりスギ樹皮が乾重 181g, スギ心材オガクズが乾重 159g となった。被覆資材のない試験区を対照区とした。各装置を密閉後, 福岡県農業総合試験場の室内に静置し, 底部から 400 mL $\cdot$ min⁻¹の流量で 21 日間通気して堆肥化した。各装置からの排ガスを 500 mL 容三角フラスコに導入し, 結露水を回収した。さらに 6 mol $\cdot$ L⁻¹ 硫酸を 250 mL 入れた 500 mL 容ガス洗浄瓶を接続し, 排ガスを通過させ

た。

経時的に結露水回収用三角フラスコの排気部より排ガスを 10 L 容テドラーバッグに回収し、ガス検知管（ガステック製，No.3M）でアンモニア濃度を測定した。ガス検知管の測定可能範囲を超えた場合には無臭空気で希釈して測定した。22, 24, 26 時間後のアンモニア濃度を平均し、24 時間値とした。同様に 46, 48, 50 時間後の濃度を平均し 48 時間値、70, 72, 74 時間後を 72 時間値、118, 120, 122 時間後を 120 時間値、166, 168, 170 時間後を 168 時間値とした。統計処理は、対照群と処置群の 2 群間でのアンモニア濃度平均値を t 検定により有意差検定を行った。全ての検定の有意水準は危険率 5% 以下とした（SPSS Japan Inc，SPSS 15.0J for Windows）。小型堆肥化試験装置内の温度は底部より 10 cm の中央部に温度センサーを埋設し、自動記録型温度計（T&D 製，TR-71U）で自動測定した。

2) 鶏糞および被覆資材の化学分析

試験開始時と 21 日後の鶏糞および被覆資材の水分は 60℃の通風乾燥機内で 40 時間静置した重量減少量より求めた。有機物量は 590℃で 2 時間加熱した時の重量減少量より求めた。全炭素量は乾燥粉碎物を供試して小坂・本田・井積法（Kosaka ら 1959）に準じて測定した。pH は脱イオン水を加えて 30 分間振とうし、ガラス電極付き pH メーター（堀場製作所製，F-52）で測定した。全窒素含量はケルダール分解後、セミクロ蒸留法（土壤養分測定法委員会編）によって測定した。アンモニア態窒素および硝酸態窒素は、ブレムナー法（Bremner と Keeney 1965）を用いて測定した。試験終了後の結露水と小型堆肥化試験装置内に結露した天井水の容量を測定後、ブレムナー法でそれぞれの窒素含量を測定した。小型堆肥化試験装置底部より排出される排汁とガス洗浄瓶内の硫酸の容量を測定後、セミクロ蒸留法でこれらの窒素含量を測定した。

3) 被覆資材含有窒素の分析

被覆 21 日後のスギオガクズまたはスギ樹皮 5 g（湿重）に脱イオン水を加えて 30 分間振とう後、ろ液 5 mL をブレムナー法で測定し、水溶性窒素量とした。また、同試料を 60℃の通風乾燥機内で 48 時間乾燥させ、10% 塩化カリウム水溶液を加えて 30 分間振とうした。ろ液中のアンモニア態窒素をブレムナー法で測定し、イオン結合性窒素量とした。抽出残さを 150 mL の脱イオン水で洗浄し、60℃で 48 時間通風乾燥させた。これをケルダール分解後、セミクロ蒸留法で窒素含量を測定し、有機態窒素量とした。

4) 被覆資材の比表面積および陽イオン交換容量の測定

オガクズおよびスギ樹皮の比表面積は JISZ8830 に準じ、微粉碎試料（0.5 mm 以下，Retsch 製，ZM-1）約 0.2 g を MONOSORB（湯浅アイオニクス製）に供試し、ガス吸着法により求めた。また、試験 1 に供試した乾燥処理活性炭（ナカライテスク製，AW-FW）の比表面積も同様に測定した。

陽イオン交換容量（CEC）の測定は乾物粉碎試料 200 mg を供試して、井の子ら（1982）の方法に準じて行った。

3.3.3 結果

試験 1 スギ樹皮のアンモニア除去能

4 L の無臭空気にアンモニアを揮散させることにより 70 分間は 620 ppm のアンモニア濃度で安定した（Table 3.4）。この大気条件下でスギ樹皮を 2 g 加えて、接触させた結果、5 分後には 3 ppm 程度まで低下し、15 分後にはほぼ検出されなくなった。除去率は 99.5% で、70 分間脱離することなく経

過した。これに対し、活性炭は5分後に40%程度の除去率に達したところではほぼ平衡状態となった。

試験2 スギ樹皮被覆による鶏糞の堆肥化過程から発生するアンモニアガスの抑制効果

オガクズまたはスギ樹皮を鶏糞の表面に被覆し、堆肥化した場合の品温推移をFig. 3.8に示した。試験期間中の外気温は12~20℃であった。鶏糞は試験開始直後から品温が上昇し、最高品温63℃に達した。その後、緩やかに低下し、8日後には外気温とほぼ同じ温度になった。オガクズまたはスギ樹皮で被覆した鶏糞と被覆しなかった鶏糞との間に相違は認められなかったことから、いずれの装置内の鶏糞も同様の微生物活性を示したものと考えられる。

小型堆肥化試験装置の排ガス中に含まれるアンモニア濃度の推移をFig. 3.9に示す。アンモニアは堆肥化開始から1日後、すなわち最高品温到達後より発生が認められ、被覆しなかった対照区は3日後に2100 ppmに達した。その後緩やかに低下し、堆肥化を終了した21日後には950 ppmとなった。オガクズ被覆区は若干低減するものの対照区とほぼ変わらなかった。これに対し、スギ樹皮区は排ガス中のアンモニア濃度が低く、試験開始時から8日間は500 ppm以下で推移し、その後も800 ppm以下に留まった。1, 2, 3, 5, 7 日後のアンモニアガス濃度は、いずれもスギ樹皮被覆区が対照区、オガクズ被覆区に比べ有意に低下した。

試験前と21日後の鶏糞およびオガクズ、スギ樹皮の理化学性成分値をTable 3.5に示す。鶏糞は試験開始時より水分、有機物、全窒素量が低下した。また、pHとアンモニア態窒素量が高くなった。各区における鶏糞分析値の相違は認められず、被覆の有無に関わらず同じ堆肥化を示した。一方、被覆に用いたオガクズおよびスギ樹皮は、鶏糞から発生した水を吸収し、水分が大幅に上昇した。また、大量のアンモニアガスと接触することでpHが高くなり、全窒素、アンモニア態窒素量が上昇した。特に、スギ樹皮はオガクズに比べ全窒素およびアンモニア態窒素含量が高く、鶏糞から発生したアンモニアガスをより多く吸着したことが示唆された。スギ樹皮の全窒素量は試験開始時に0.48%であったが、アンモニアガスを吸着した試験終了時には4.16%を示した。被覆した両資材の有機物含量は試験前後ではほぼ変わらず、硝酸態窒素も検出されなかったことから、両資材とも堆肥化のような微生物分解を受けなかったと考えられる。

鶏糞中に残存またはアンモニアガスとして揮発した窒素量を算出した結果、パーライトを混合した鶏糞中には窒素が50.2~52.0 g 程度残存し、試験区間に違いは認められなかった(Table 3.6)。一方、アンモニアガスとして揮発した窒素量は被覆しなかった対照区で8.2 g、オガクズ被覆で6.8 g、スギ樹皮被覆区で2.7 gを示した。対照区の結露水回収量が多く、窒素量も多かったのに対し、オガクズ被覆区およびスギ樹皮被覆区は結露水量が少なく、回収した窒素量も少なかった。また、排汁はオガクズ被覆区で10 mL 発生しただけでほとんど発生しなかった。

被覆したオガクズおよびスギ樹皮に吸着された窒素を存在状態別に分けて示した(Table 3.7)。アンモニアガス吸着後のオガクズは1 g 当たり10 mg の窒素を含有するが、61%が水溶性窒素であり、イオン結合性窒素は12%、有機態窒素は21%に留まった。これに対し、アンモニア吸着後のスギ樹皮は1 g 当たり42 mg の窒素を含み、水溶性窒素は22%、イオン結合性窒素は23%、有機態窒素は47%であり、イオン結合性窒素と有機態窒素の含有率が高かった。

鶏糞を被覆したオガクズ、スギ樹皮の比表面積と陽イオン吸着能を示すCECをTable 3.8に示す。両被覆資材の比表面積は約 $1 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ で違いは認められなかったが、CECはオガクズが $15 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ であったのに対し、スギ樹皮は $78.5 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ と高い値を示した。

3.3.4 考察

スギ樹皮は静置条件下において活性炭に比べて高いアンモニア除去効果を示した。また、除去後はアンモニアが再検出されることがなかったことから、樹皮に吸着したアンモニアは脱離することはないといえる。本試験では大気 4 L 中のアンモニア濃度が 620 ppm であったことから、供試アンモニア量は 1.9 mg (1 気圧 0℃として) に相当する。このため、スギ樹皮は 1 g 当たり 0.9 mg 程度のアンモニアを吸着し、保持したといえる。樋口ら (2008) は、スギ樹皮のアンモニア飽和吸着量は湿潤状態で $29 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、乾燥状態で $4.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ と報告している。本報で供試したスギ樹皮はさらに大量のアンモニア吸着が可能と推察される。

樋口ら (2008) はアンモニアガスを通気させてスギ樹皮の吸着能を明らかにしたが、畜産業におけるアンモニアは他の臭気物質 (O'NEILL と Phillips 1991) や水蒸気、粉塵などを伴う。そのため、本報ではアンモニアが大量に発生する家畜糞堆肥化過程の再現を試みた。アンモニアは家畜糞尿中の有機態窒素がウレアーゼによって分解されて産生する臭気物質 (山本ら 2003) であるが、特に堆肥化過程で発生することが知られている (鈴木ら 1991)。このうち、尿酸を含有する鶏糞は特にアンモニアが大量に発生する (Tanaka ら 1991) ことから、鶏糞を原料に Kuroda ら (2004) の方法に従って堆肥化を試みた。鶏糞の堆肥化開始時より排ガス中のアンモニア濃度は短期間に上昇して 3 日後には最高濃度に達し 2000 ppm を上回ったが、スギ樹皮で被覆することによって同時期のアンモニア濃度を 500 ppm に抑えることができた。その後は被覆しなかった区と同水準になったが、アンモニアが高濃度で発生し、苦情発生の原因となる期間の対策資材として有効であることが示唆された。堆肥化試験装置に充填した鶏糞は乾重で 1.04 kg に相当する。被覆しなかった対照区のアンモニア揮散量は硫酸捕集窒素および結露水中の窒素測定結果より 9.5 g であったといえることから、21 日間の堆肥化期間中に鶏糞乾重 1 g あたり 9.1 mg のアンモニアが発生すると試算された。鶏糞の表面にスギ樹皮を被覆することで鶏糞から揮発するアンモニアと接触させたところ、排ガス中のアンモニア濃度は顕著に低下し、被覆したスギ樹皮 1 g 当たり 33 mg のアンモニアが低減された。これはアンモニアガスを接触させた既報 (樋口ら 2008) と同等の吸着量を示し、同じ木質系資材のオガクズ被覆区が $11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ であったのに比べ極めて高いアンモニア除去能を示した。

脱臭処理は、物理的吸着、薬液中和などの化学的処理および微生物による分解処理に分類できる (環境庁大気保全局大気生活環境室編 1999)。オガクズ脱臭では微生物による分解や資化が報告されている (村中ら 1999) が、スギ樹皮は試験期間中の有機物減少がほとんどなく微生物分解を受けていない。また、スギ樹皮の比表面積は、オガクズと同等の $1.16 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ を示し、活性炭の $874 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ に比べ大幅に少ない。このためスギ樹皮の吸着は活性炭が有する表面細孔への物理的吸着ではないと予想される。堆肥化終了後のオガクズおよびスギ樹皮の pH はいずれも 9.3 に達し、アンモニア態窒素がアンモニアガスとして発生する条件 (Hartung ら 1994) を満たした。低 pH のスギ樹皮に含まれるシリンガ酸、クマル酸等のフェノール酸 (佐藤 1985) にアンモニアが反応することで減少したと予想される。

アンモニア吸着後のオガクズおよびスギ樹皮に含まれる窒素の形態は、オガクズの水溶性窒素が 61%、イオン結合性窒素と有機態窒素の総和が 33% であったのに対し、スギ樹皮は水溶性窒素が 22%、イオン結合性窒素と有機態窒素の総和が 69% を占めた。スギ樹皮に吸着したアンモニアガスはイオン結合性あるいは有機態として保持されたものが明らかに多い結果となった。CEC は陽イオンの交換能力を示す指標である。佐藤 (1985) は針葉樹樹皮の CEC は $50 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ 、針葉樹樹皮堆肥の CEC は $86 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ と報告している。供試したスギ樹皮の CEC は $78.5 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ で

ありこれらの数値とほぼ一致した。オガクズ ($\text{CEC}: 15 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$) や活性炭 ($\text{CEC}: 6.2 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$) に比べ、スギ樹皮は高い陽イオン交換能によってアンモニアガスをイオン結合したものといえる。また、Hashida ら(2009)は、樹皮タンニンをアンモニア水処理することでタンニン骨格中のピロガロール核にアミノ基が導入されると述べている。有機態窒素の増加は、スギ樹皮とアンモニアを接触させることによりアミノ基として共有結合したことが考えられる。

豚舎内に拡散した臭気を吸引し、樹皮を充填した容器に導入することで臭気の低減効果を示した Chen らの報告(2009)に対し、臭気発生源に資材を被覆するだけの対策は簡便かつ低コストである。被覆後のスギ樹皮は堆肥化した鶏糞とともに土壌改良材として農地に還元(田近ら 1994)することができる。スギ樹皮は分解が遅く、フェノール酸などの有害物質を含むことから、大量に農地還元するためには長期間の堆肥化が必要となる。被覆したスギ樹皮が混合された鶏糞では、これらの影響が少なく短期間の堆肥化で施用が可能となる。ただし、樹皮のみを原料とする堆肥に比べ大幅に肥料成分が高くなり、施用にあたっては肥料成分を確認する必要がある。

3.3.5 小括

スギ樹皮はpHが低く、陽イオン交換能が高いことから、1 g あたり 0.9 mg 程度のアンモニアガスを吸着することができる。スギ樹皮を鶏糞堆積物の表面に被覆することで堆肥化過程から発生するアンモニアガスを $33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 吸着可能である。被覆による臭気対策は、脱臭装置に吸引する動力も不要で、安価な技術として有効である。製材工程で発生する有機性廃棄物であるスギ樹皮が畜産の臭気対策用資材として活用できることから、製材業および林業の振興に貢献できる。

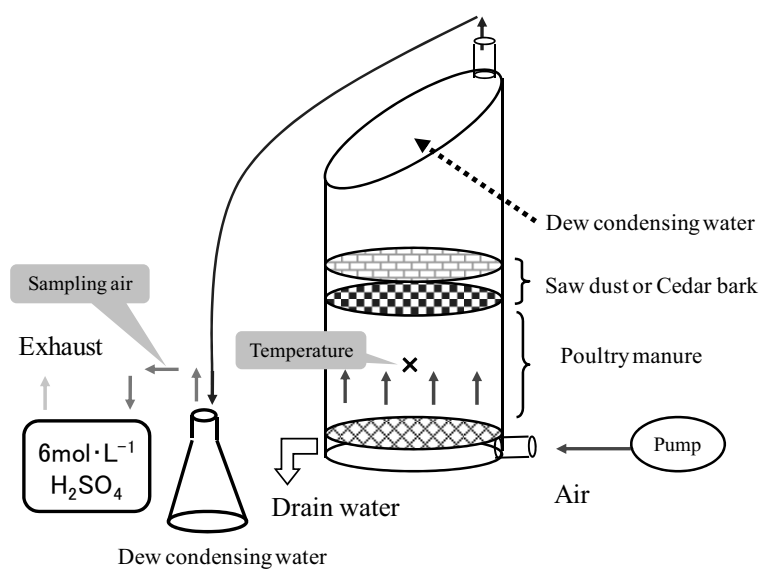


Fig. 3.7 小型堆肥化試験装置による鶏糞堆肥化試験の概要

Table 3.4 スギ樹皮のアンモニア吸着能

	0 min.	5 min.	15 min.	30 min.	70 min.
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
Control	620	620	620	620	620
Cedar bark	620	3.3 (99.5)	0.75 (99.8)	<0.5 (99.9)	<0.5 (99.9)
Activated carbon	620	400 (38.7)	380 (43.5)	360 (45.2)	340 (51.6)

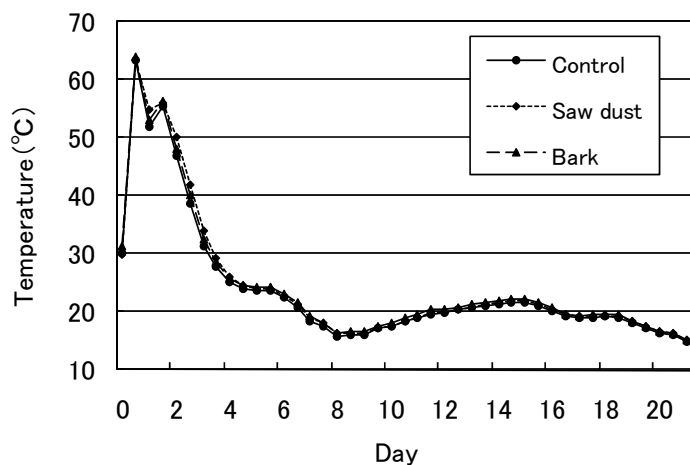


Fig. 3.8 鶏糞堆肥化過程における品温推移

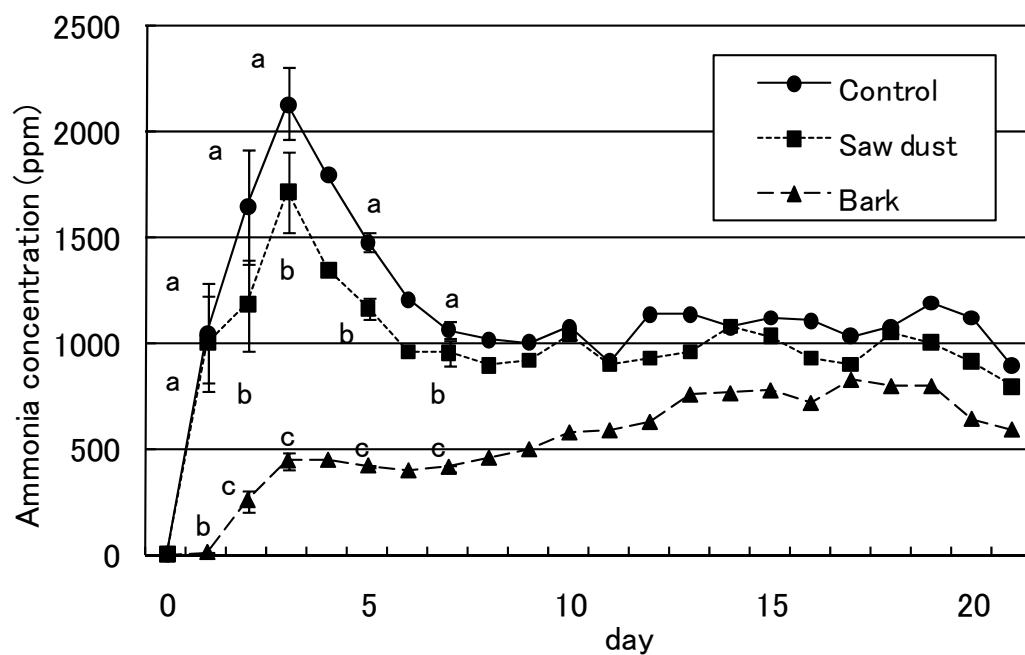


Fig. 3.9 鶏糞堆肥化期間における排ガス中アンモニア濃度の推移

注)同列異符号間に有意差有り($P < 0.05$)

Table 3.5 鶏糞，オガクズおよびスギ樹皮の理化学性成分値

		Moisture	OM	T-C	pH	T-N	NH ₄ -N
		%	%	%		%	%
(Before)							
Poultry manure		61.0	66.2	29.1	8.4	5.8	0.25
Poultry manure with perlite		39.0	28.6	13.0	8.5	2.6	0.11
Saw dust		20.4	99.2	48.1	7.2	0.1	0.00
Bark		9.5	96.1	46.2	4.5	0.5	0.01
(After)							
Poultry manure with perlite	control	37.5	21.6	11.6	9.2	2.3	0.35
Poultry manure with perlite	saw dust covered	37.5	22.1	11.8	9.2	2.2	0.38
Poultry manure with perlite	bark covered	36.6	22.9	11.6	9.2	2.2	0.33
Saw dust		42.1	97.0	46.4	9.3	1.0	0.58
Bark		37.0	95.5	45.8	9.3	4.2	1.69

注) OM:有機物含量, T-C:全炭素, T-N:全窒素, NH₄-N:アンモニア態窒素

Table 3.6 鶏糞堆肥化終了後の窒素の挙動

	Solid (Poultry manure with perlite)		Ammonia Gas ¹	Dew condensing water		Drain	
	g	g ²		g	mL ³	g	mL ³
Control	52.0	2283	8.2	1.3	213	0.0	0
Saw dust	50.9	2264	6.8	1.0	157	0.3	10
Bark	50.2	2298	2.7	0.8	163	0.0	0

注) 1.硫酸に捕集された窒素量より算出

2.試験終了時の堆肥原料残存量(乾物重)

3.試験終了時の回収量

Table 3.7 スギオガクズと樹皮に吸着した窒素の結合状態

	Total nitrogen $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	Water-soluble nitrogen $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	Ionic bonded nitrogen $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	Organic nitrogen $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
Saw dust	10.1	6.2 (61.1)	1.2 (11.8)	2.1 (21.1)
Bark	41.6	9.2 (22.1)	9.3 (22.5)	19.5 (46.9)

注) () 内は回収率

Table 3.8 スギオガクズ, 樹皮, パーライトおよび活性炭の

比表面積と陽イオン交換能

	Surface Area $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	CEC $\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$
Saw dust	1.02	14.9
Bark	1.16	78.5
Perlite	0.48	0.0
Activated carbon	873.6	6.2

第4章 家畜糞堆肥化微生物による残留性塩素系農薬の低減

4.1 序

家畜糞堆肥は農地土壌の地力維持増進資材であるが、成分や腐熟度が不安定であること、重く嵩があることからハンドリングの悪いことなどの理由(福岡県農政部 2000)から十分に使用されていないのが現状である。このため土壌改良効果以外の効能を考慮した新たな利用拡大を図る必要がある。

食品の安全性に対する消費者ニーズが高まり、使用者の罰則規定を盛り込んだ改正農薬取締法(農林水産省 HP)が 2002 年 3 月に施行された。さらに 2006 年 5 月には食品衛生法に基づく残留農薬の監視体制を拡大させたポジティブリスト制度(厚生労働省 HP)が施行された。このような農薬監視体制強化の中、30 年以上前に登録が失効しているドリ剤が野菜中から基準値以上検出される事例が報告されている(Hashimoto 2005)。

Antizar-Ladislao (2006)らは家畜糞の堆肥化過程で難分解性の多環性芳香族炭化水素が分解されることを報告した。Purnomoら(2010)は残留性有機汚染物質である DDT が牛糞の堆肥化過程で真菌類によって分解されることを報告している。そこで、本研究では堆肥の新しい機能を見だし、利用拡大を図る目的とし、塩素系農薬であり未だ農地での残留が問題となっているドリ剤を対象に堆肥化過程での減少を試み、堆肥化微生物による環境修復技術への適用について検討した。

4.2 牛糞堆肥化過程におけるディルドリンの低減

4.2.1 序言

ディルドリンは、ドリ剤のひとつであり登録が失効した 1975 年まで使用された殺虫剤である。土壌残留性が高く、土壌中での半減期は 5 年といわれている(Nagami1997)。ディルドリンの分解を試みた報告が多数ある(Matthews と Matsumura 1969; Matsumoto ら 2008; Kamei ら 2010)が、これらの報告は特定菌種による分解事例であり、微生物群集による分解についての報告はない。そこで残留性有機汚染物質である DDT が牛糞の堆肥化過程で真菌類によって分解される報告(Purnomo ら 2010)を参考に、本研究では塩素系農薬のひとつであるディルドリンを堆肥化過程に埋設し、堆肥化微生物によって低減できるかを検討した。

4.2.2 試験方法

1) 堆肥原料

搾乳牛の新鮮糞を採取し、パーライト 50%(w/w)(宇部興産, 山口), 米ぬか 5%(w/w), 完熟堆肥 5%(w/w)を加えて、手で十分に攪拌した。

2) 試薬調製および埋設試料の作製

ディルドリン試薬(和光純薬, 京都)を N,N-dimethylformamide(DMF)に希釈して $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ に調製したものを標準液とした。

堆肥原料 5 g にディルドリン標準液を $25 \mu\text{L}$ 加えて十分に混合後、ポリエステル製不織布(95 mm $\times$ 70 mm; トキワ, 愛媛)に入れて埋設試料とした。

3) 堆肥化

堆肥原料 5 kg を小型堆肥化試験装置(かぐやひめ; 富士平工業, 東京)に充填した。底部から 10 cm $\sim$ 20 cm の位置に埋設用試料を静置した。中心部に温度測定用センサーを埋設し、堆肥原料

の品温を自動測定した。密閉後、装置下部より $0.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ の流量で連続通気した。品温が最高に達した時点で 1 台を開封し、品温が低下したと判断した時点でもう 1 台を開封し、28 日後にもう 1 台を開封して試験を終了した。

4) 堆肥原料の一般成分分析

堆肥原料および小型堆肥化試験装置の開封時の内容物を採取後、速やかに分析に供した。約 10 g の現物試料をろつぽに入れ、 60°C で 48 時間通風乾燥した減少量より水分含量を求めた。これを 590°C で強熱処理した時の減少量を有機物含量とした。現物試料 10 g を 100 mL 容ポリ瓶に入れ、脱イオン水を 50 mL 加えて 30 分間振とうし、ガラス電極で pH を測定した。現物試料 2 g をケルダール分解後、セミクロ蒸留法(土壤養分測定法 1975)でケルダール窒素を測定した。現物試料 5 g に 10% 塩化カリウム水溶液を加えて 30 分間振とうし、ろ過 (No.5A; アドバンテック, 東京) 後、ブルームナー法(Bremner と Keeney 1965)で無機態窒素を測定した。

5) デイルドリン分析

不織布の内容物にメタノール 50 mL を加え、20 分間振とう後 5 分間 2000 rpm で遠心分離した。上清を No.5A ろ紙でろ過し、残さにアセトン 50 mL を加えて同様に処理した。さらに、残さに *n*-ヘキサン 50 mL を加えて同様に処理した。それぞれの上清液を合わせて減圧濃縮後、*n*-ヘキサンに転溶した。10% 塩化ナトリウム液 10 mL を加えて振とう後、下層部を排出した。これを 3 回繰り返した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。これを減圧濃縮した後 GPC 溶離液(酢酸エチル:シクロヘキサン=3:7)に転溶し、G-Prep GPV8100(ジーエルサイエンス, 東京)で精製した。精製物を減圧濃縮後、酢酸エチルに転溶し、二層固相抽出カートリッジ(ジーエルサイエンス)で色素を除去後 10 mL に定容した。これをイオントラップ型ガスクロマトグラフ質量分析計(TRACE GC ULTRA, Thermo Electron Corporation 社, 米国)に注入した。分離用カラムとして DB-5 (内径 0.25 mm × 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μm ; アジレント, 米国)を用いた。ガスクロマトグラフは 100°C で 1 分間維持後、 $20^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ で 320°C まで昇温し、3 分間維持した。また、注入口温度は 200°C とした。

4.2.3 結果

デイルドリンを混合した堆肥原料を封入した不織布を埋設した小型堆肥化試験装置は、3 機とも順調に品温が上昇し、2 日後に最高品温の 71°C に達した (Fig.4.1)。その後、速やかに品温が低下し、8 日後に外気温とほぼ同じ品温になった。品温低下後は試験を終了した 28 日後まで外気温とほぼ同じ値で推移した。堆肥化前後の牛糞および堆肥原料の理化学成分値を Table 4.1 に示す。試験に使用した牛糞は水分が 85% でパーライト、米ぬかを混合することで 54% に低下した。牛糞はパーライト、米ぬか、戻し堆肥を混合しても pH に変化はなかった。無機資材であるパーライトの混合により有機物含量は 28% と大幅に低下した。これを堆肥化した結果、最高品温に達した 2 日後は水分が 51%、有機物含量は 25% に低下した。pH は 8.4 に上昇した。また、品温が低下した 8 日後はさらに水分と有機物含量が低下し、pH は 9.1 に上昇した。8 日後から試験終了時の 28 日後にかけて水分、有機物含量、pH に変化は認められなかった。ケルダール窒素は試験期間を通じほぼ変わらず、アンモニア態窒素は品温低下時にやや高くなる傾向を示したものの、大量に生成されることはなかった。牛糞とパーライト、米ぬかを混合した堆肥化原料と埋設した不織布内の堆肥化原料の堆肥化期間中における成分に大きな違いはなく、不織布内も同じ堆肥化が進行したことが確認された。

不織布内の堆肥化原料に添加したディルドリンの回収率を Fig. 4.2 に示した。最高品温に達した時点のディルドリン回収率は65%, さらに品温低下時には48%に低下し, 不織布内のディルドリンが堆肥化過程で段階的に減少したことが明らかになった。品温低下後から試験を終了した 28 日後までの間はほとんど低減しなかった。

同じ堆肥化試験を同じ条件で繰り返した結果, 品温上昇は 1 回目とほぼ同じ推移を示した (Fig.4.3)。また, 理化学成分値も開始時, 最高品温時および品温低下時ではほぼ同等の値を示した (Table 4.2)。さらに, ディルドリンの回収率も 1 回目の試験結果と同様に, 最高品温時で大幅に減少し, 品温低下後に僅かに低下する傾向を示した (Fig.4.4)。この試験においては品温上昇途中で開封し, ディルドリンの回収率を求めた。その結果, 品温上昇途中のディルドリンは試験開始時の回収率と変わらず, 堆肥化に伴う低減は認められなかった。

4.2.4 考察

ドリソ類は 1954 年に農薬登録された土壌殺虫剤で, 環境中での残留性, 生物蓄積性, 人や生物への毒性が高いことから, 2001 年に PCB や DDT とともに残留性有機汚染物質としてストックホルム条約 (環境省 HP) で製造および使用の廃絶や排出削減が規定されている。日本国内でも 1975 年に販売が全面禁止されたが, 登録から販売中止までの 21 年間で約 690t が使用されたとされている。土壌中での半減期はエンドリンが 12 年, ディルドリンが 5 年とされている (Nagami1997) が, 使用が禁止された現在でも土壌中や野菜中での残留が報告 (Suda ら 1976; Otabe と Sato 1998) されている。安全な農産物生産のためには農地土壌に残留するドリソ類の除去が強く望まれている。しかし, 広範に使用されたドリソ類を土壌中から除去することは困難であり, 微生物による分解除去技術の開発が強く望まれている。ドリソ類の微生物分解については Matthews と Matsumura (1969) がラットの糞便性微生物がドリソを分解することを, Matsumoto ら (2008) が土壌微生物群集によってディルドリンおよびエンドリンが分解されると報告している。一方, Kamei ら (2010) は真菌である白色腐朽菌 *Phlebia* sp. YK543 株によるディルドリンの分解を報告している。この白色腐朽菌は本研究で低減化を試みたヘプタクロルの分解も報告 (Xiao ら 2010) されている。堆肥化微生物によって難分解性化学物質を低減した事例としては, Antizar-Ladislao (2006) らによる多環式芳香族炭化水素の分解が, また難分解性の DDT については Purnomo ら (2010) が堆肥化過程で増殖する真菌類によって分解除去できると報告している。

堆肥化は家畜糞尿や生ゴミなどの有機性廃棄物の処理法として一般的に用いられる手法であり, 焼却に比べて時間を要するものの低コストで分解できる特長がある。製品として得られる堆肥は, 土壌の物理性, 化学性および微生物性を向上させる土壌改良資材として農地へ投入されている。堆肥化によるドリソ類の処理が可能となれば低コストで安全な処理法として環境修復の加速化が期待できる。

4.2.5 小括

堆肥化過程の微生物によって塩素系農薬の減少が可能であることを明らかにするために, パーライトと米ぬかを混合した乳牛糞を堆肥化し, その内部にディルドリンを埋設した。堆肥化過程中, 最高品温に達した時点でディルドリンは35%減少し, 品温が外気温までに低下した時点では48%減少した。品温が上昇している場合や品温が外気温と同等に低下した後はディルドリンの低減はほとんどない。

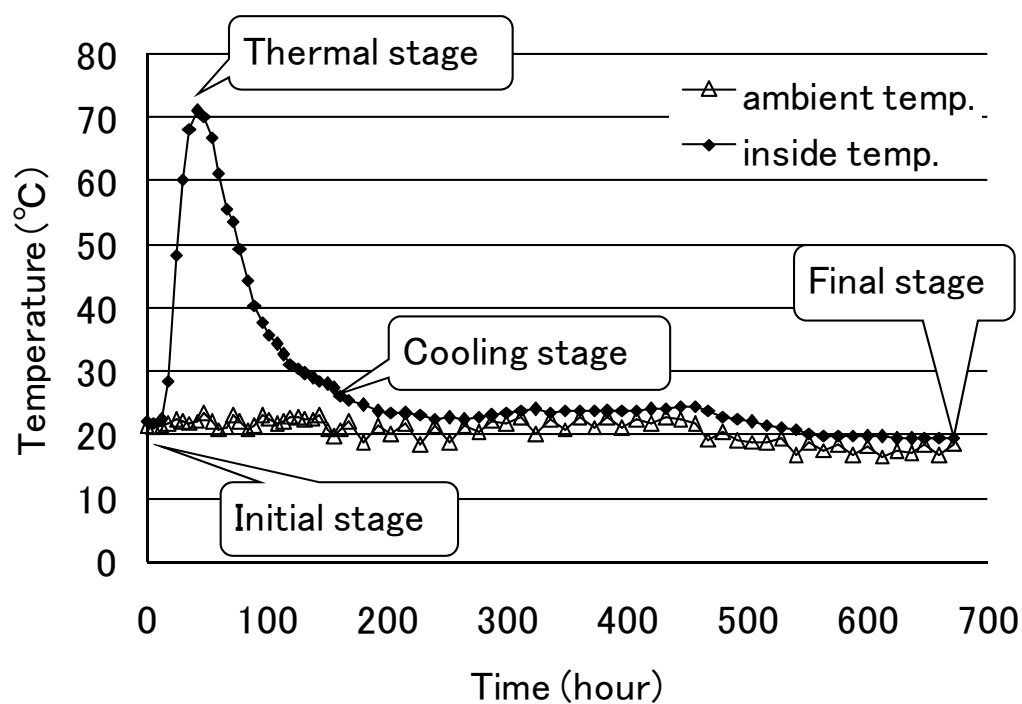


Fig. 4.1 牛糞の堆肥化過程における品温推移

Table 4.1 ディルドリンを添加した牛糞を埋設した牛糞堆肥化過程における
理化学性成分値

		Moisture	Organic matter	pH	Kj-N	NH ₄ ⁺ -N	NO _x ⁻ -N
		%	%		%	%	%
Daily cattle manure		84.6	87.7	6.5	—	—	—
Initial stage		54.3	27.5	6.5	0.75	0.02	ND
Thermal stage	outside	50.7	25.0	8.4	0.72	0.05	ND
	inside	50.1	26.4	8.3	—	0.05	ND
Cooling stage	outside	42.3	21.7	9.1	0.74		
	inside	40.5	21.8	9.0	—	0.10	ND
Final stage	outside	43.0	20.4	8.9	0.72	0.06	ND
	inside	40.2	20.6	9.1	—	0.06	ND

注) outside: 堆肥化試験装置内の堆肥原料

inside: 堆肥化試験装置に埋設した不織布内部の堆肥原料

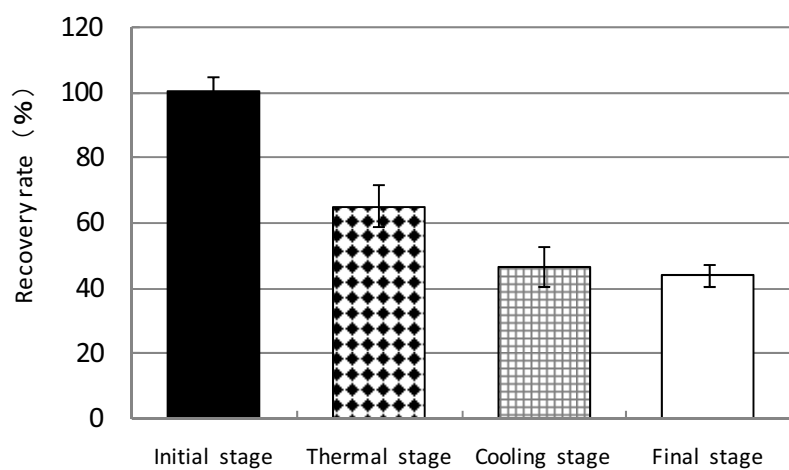


Fig. 4.2 牛糞の堆肥化過程に埋設したディルドリンの回収率

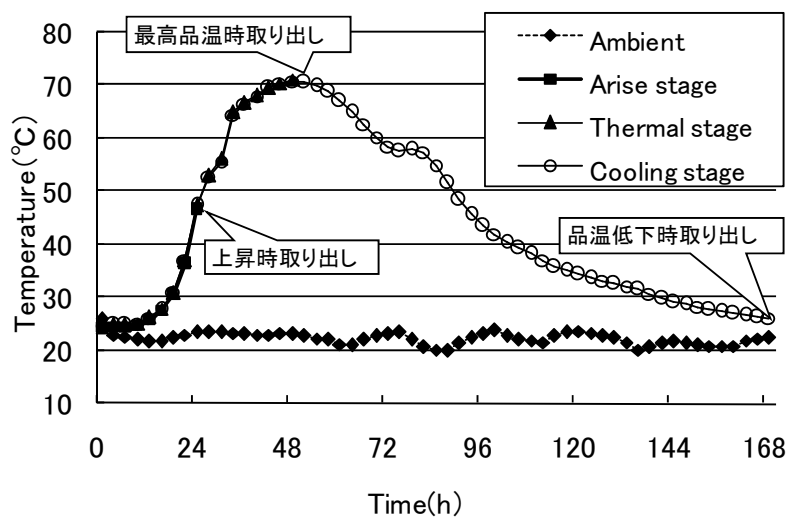


Fig. 4.3 牛糞の堆肥化過程における品温推移 (2 回目)

Table 4.2 ディルドリンを添加した牛糞を埋設した牛糞堆肥化過程における
理化学性成分値(2回目)

		Moisture	Organic matter	pH
		%	%	
daily cattle manure		84.0	87.7	6.1
Initial stage		53.1	26.8	6.3
Arise stage	outside	54.6	27.3	6.6
	inside	53.6	26.5	6.3
Thermal stage	outside	49.3	25.0	8.9
	inside	49.0	25.0	9.1
Cooling stage	outside	39.0	21.0	9.0
	inside	38.3	21.5	9.0

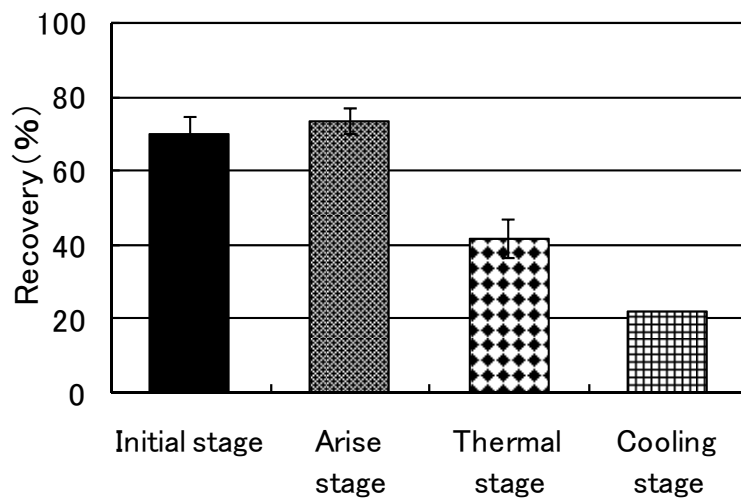


Fig. 4.4 牛糞の堆肥化過程に埋設したディルドリンの回収率(2回目)

4.3 牛糞堆肥化微生物によるディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルの低減

4.3.1 序言

第 2 節ではディルドリン単独の低減を試みたが、汚染土壌は複数の塩素系農薬が残留している (Hashimoto2007)。そこで、本研究ではディルドリンにエンドリンとヘプタクロルを混合して牛糞堆肥化過程に埋設した場合に減少するのか検討した。エンドリンはドリ剤のひとつでディルドリンの立体異性体である。ディルドリンと同様に土壌殺虫剤として 1975 年まで使用され、半減期が 12 年の難分解性物質 (環境省 HP) である。また、ヘプタクロルはシロアリ駆除剤、殺虫剤として使用され、半減期 3 年の塩素系農薬 (環境省 HP 2004) である。いずれも、ディルドリンと同様に 2001 年のストックホルム条約 (環境省 HP) において製造および使用が禁止された残留性有機汚染物質のひとつである。第 2 節において、ディルドリンが低減した時期は最高品温時であった。その最高品温は 70℃ 近くに達したため、添加した塩素系農薬が不織布外へ漏出した可能性が否定できない。そこで、塩素系農薬を添加した牛糞に堆肥化微生物の活性を低下させる目的でアジ化ナトリウムを添加した区を設定し、添加しなかった区と比較した。

4.3.2 試験方法

1) ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルの堆肥化過程への埋設試験

ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルの標準液 (和光純薬) を DMF に溶解して $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 濃度に調製した。これを第 2 節と同様に搾乳牛の新鮮糞とパーライト、米ぬか、完熟堆肥混合物に $10 \mu \text{L}$ ずつ添加し、堆肥化試験を実施した。最高品温時と品温が 30℃ を下回った時点と品温が外気温と同等になった時点で試験装置を開封して、第 2 節と同様の抽出、精製、分析を行った。

2) アジ化ナトリウムを添加した堆肥化試験

1) と同様の試験を行い、不織布内の堆肥原料に重量比で 2% のアジ化ナトリウムを添加し、堆肥化に関与する細菌の活性を低下させた区を設定した。最高品温時に 3 台の装置を同時に開封し、第 2 節と同様の方法で不織布内のドリ剤類とヘプタクロルを分析した。

統計処理は、添加区と無添加区の 2 群間でのディルドリン、エンドリンおよびヘプタクロル回収率の平均値を t 検定により有意差検定した。全ての検定の有意水準は危険率 5% 以下とした (SPSS Japan Inc, SPSS 15.0J for Windows)。

4.3.3 結果

ディルドリン、エンドリンおよびヘプタクロルを同時に添加した堆肥原料を埋設した堆肥の品温の推移を Fig.4.5 に示す。冬季に実施したために外気温が低く、第 2 節の実験に比べ、品温の上昇が緩慢で、最高品温は 50℃ までに留まった。また、品温が外気温と同等になるまでに 10 日間を要した。

理化学成分値は、第 2 節の結果と同等になった (Table 4.3)。

最高品温時の回収率はディルドリンが 64%, エンドリンが 55%, ヘプタクロルは 40% に低下した (Fig. 4.6)。堆肥化開始時の回収率に対する低減率はそれぞれ 30%, 36%, 59% となった。さらに、品温低下時のディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル回収率はそれぞれ 58%, 43%, 35% に低下し、堆肥化開始時に対する低減率はそれぞれ 38%, 49%, 65% を示した。

アジ化ナトリウムを系内に 2% 加えた試料の回収率は最高品温時においてディルドリンが 83%, エ

ンドリンが 82%, ヘプタクロルが 56%であった。これに対し, アジ化ナトリウムを添加しなかった区における試料の回収率はそれぞれ 69%, 69%, 40%であり, 統計的に有意に低下した (Fig. 4.7)。このことから, ドリン類, ヘプタクロルの回収率低下は微生物による分解であることが推察された。

4.3.4 考察

4.2 節において, 堆肥化過程に埋設したディルドリンが最高品温期において低減することが明らかになったが, エンドリン, ヘプタクロルを混合した場合においても最高品温時に大幅な低減が認められた。また, 品温低下過程ではほとんど低減しなかった。各物質とも堆肥化による牛糞の分解にともない低減したことが推察される。しかし, 品温が 50℃を上回るうえ, 装置底部から通気していることから, 不織布系外へのディルドリン, エンドリンおよびヘプタクロルの漏出が懸念される。このため, アジ化ナトリウムによって不織布内部の微生物の活性を低下させた試料を同時に埋設した実験を再度実施した。その結果, アジ化ナトリウムによって堆肥化微生物の活性を抑制した条件では減少率が低下したことから, 堆肥化微生物による分解であることが強く示唆された。

4.3.5 小括

堆肥化過程の微生物によって塩素系農薬の減少が可能であることを明らかにするために, パーライトと米ぬかを混合した乳牛糞を堆肥化し, その内部にディルドリン, エンドリンおよびヘプタクロルを埋設した。堆肥化過程中, 最高品温に達した 2 日後にディルドリンは 35%減少し, 品温が外気温までに低下した時点では 48%減少した。ディルドリン, エンドリン, ヘプタクロルを混合した試料を堆肥過程に埋設した結果, 最高品温時においてそれぞれ 30%, 36%, 59%低下した。アジ化ナトリウムを添加して微生物の活性を低下させた場合に比べ, いずれの物質も有意に減少したことから, ヘプタクロルとドリン類の堆肥化過程における減少は微生物による効果であることが示唆された。

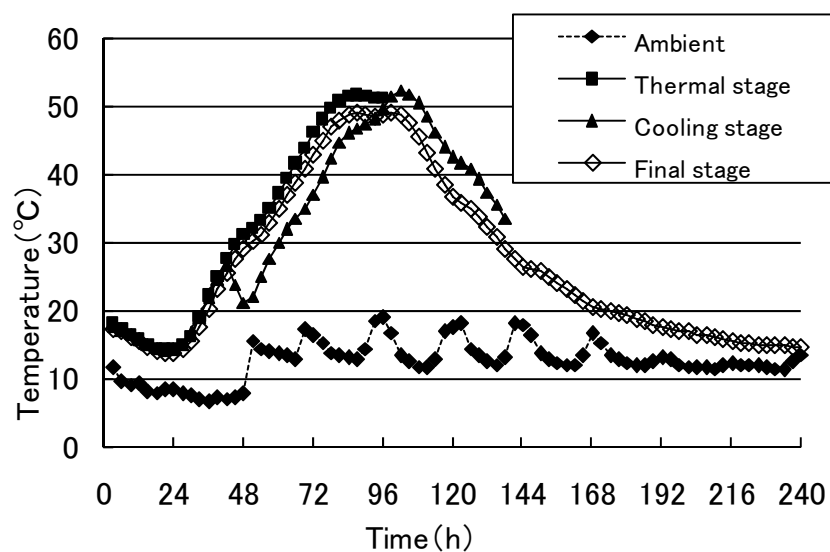


Fig.4.5 ディルドリン，エンドリン，ヘプタクロル混合添加牛糞を埋設した
牛糞の品温推移

Table 4.3 ディルドリン，エンドリン，ヘプタクロル混合添加牛糞を埋設した
牛糞の理化学成分値

	Moisture %	Organic matter DM%	pH	Kj-N DM%	NH ₄ ⁺ -N DM%	NO _x ⁻ -N DM%
Daily cattle manure	84.7	85.9	6.6	2.25	0.09	ND
Initial stage	53.8	25.7	6.6	0.72	0.03	ND
Thermal stage	49.3	24.2	8.9	0.77	0.06	ND
Cooling stage	46.8	21.8	8.9	0.76	0.05	ND
Final stage	46.0	22.3	8.7	0.76	0.05	ND

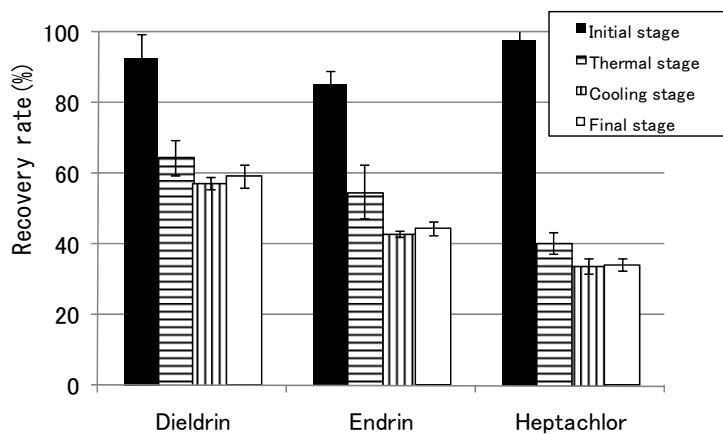


Fig. 4.6 ディルドリン, エンドリン, ヘプタクロルを混合添加した牛糞の堆肥化における回収率

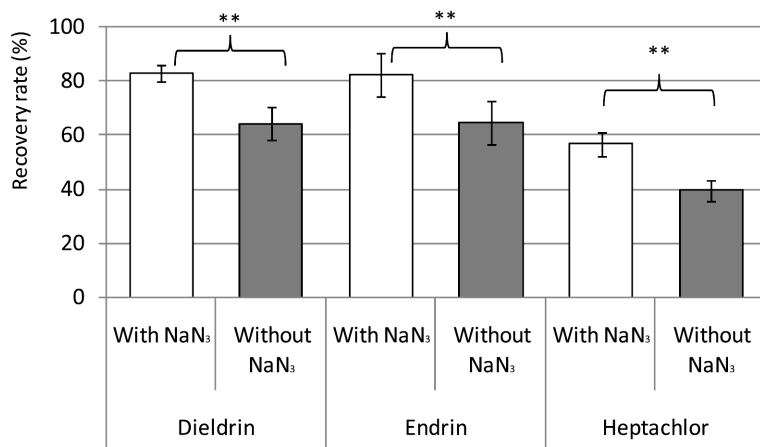


Fig. 4.7 最高品温時におけるディルドリン, エンドリン, ヘプタクロル低減効果に対するアジ化ナトリウム添加の影響

** : $P < 0.01$

4.4 ディルドリンを分解除去する堆肥化微生物の菌叢解析

4.4.1 序言

複合微生物群集の解析には T-RFLP (Terminal restriction fragment length polymorphism) 法や DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis) 法が用いられている。T-RFLP 法は、末端蛍光標識したプライマーセットで鋳型 DNA を PCR 増幅し、制限酵素による消化後、フラグメント解析を行い、塩基配列の違いから制限酵素切断部位が異なることを利用し、検出ピークの強度、位置、数により評価する断片多系型解析である。腸内細菌の解析事例 (Andoh A.ら 2008) があるが、得られる検出パターンが複雑であり、データの解釈が困難という欠点がある。一方、DGGE 法は環境中の微生物から抽出した DNA を PCR 増幅後、DNA 変性剤の濃度勾配をつけたポリアクリルアミドゲル中で電気泳動を行って分離させる方法で、難培養性微生物の検出が可能な利点がある一方、1 バンドに複数の微生物が存在するという欠点がある。両法とも菌叢の全体像を迅速に把握することができるものの分離された菌種の同定に労力がかかっている。

近年、谷口ら(2004)は糞便や土壌から抽出した微生物群集の DNA を大腸菌にクローニングし、任意に釣菌した大腸菌の塩基配列から菌叢を解析する「クローニングライブラリ法」を確立した。この手法により、環境中の微生物の細菌種をデータベースに照合し、迅速な同定作業ができるようになった。

そこで、本研究ではディルドリンを低減した実験系の牛糞堆肥原料と最高品温時の堆肥原料および品温低下時の堆肥原料を採取し、それぞれの細菌叢を解析し、ディルドリン分解との関係について言及する。

4.4.2 試験方法

ディルドリンの堆肥化試験における堆肥原料と最高品温時の内容物および品温低下時の内容物を 0.5g 採取し、谷口ら(2004)の方法に従って溶菌し、DNA を抽出した (Fig.4.8)。抽出した粗 DNA を鋳型に、16S ribosomal RNA 遺伝子の universal primer (341F および 907R) を用いて PCR 法により部分断片を増幅した。得られた PCR 産物は TOPO TA cloning kit (Invitrogen 社、米国) を用いて大腸菌に組み込み、任意に釣菌後、各検体 96 クローンの塩基配列を決定した。得られた塩基配列は、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) により相同性検索を行った。相同性が 85% 未満のクローンは unclassified に分類した。

4.4.3 結果

牛糞堆肥化原料は乳牛糞と水分調整材であるパーライト、発酵促進資材として加えた米ぬかと戻し堆肥で構成される。堆肥化開始時における細菌叢から 89 クローンが検出されたが、そのうち糞便性の細菌である *Escherichia coli* が 11 クローン、*Clostridium* 属が 20 クローン、*Enterococcus* 属が 6 クローン検出された (Table 4.4.1)。一方、戻し堆肥由来と考えられる *Bacillus* 属も 4 クローン検出された。

堆肥化原料が最高品温に達した時点の細菌叢からは 91 クローン検出された。このうち 44 クローンは *Bacillus* 属細菌でそのうち 29 クローンは *Bacillus carboniphilus* 種と同定された。堆肥化開始時に優占した糞便性の細菌は大幅に減少し、*Clostridium* 属が 13 クローンとなり *Escherichia coli* は検出されなかった。

品温が低下した時点での堆肥原料内の細菌叢からは 90 クローンが検出された。糞便性の微生物はさらに検出数が低下し、*Clostridium* 属が 8 クローンとなり *Enterococcus* 属は検出されなかった。また、最高品温時に検出されなくなった *Escherichia coli* も検出されなかった。最高品温時に優占菌種となった *Bacillus* 属細菌は 33 クローン検出され、やや優占割合が低下した。一方、堆肥化開始時には検出されなかった *Thermobifida fusca* が 12 クローン、*Ureibacillus thermosphaericus* が 9 クローン検出され、堆肥化にともなって大幅に細菌叢が変動することが明らかになった。

4.4.4 考察

堆肥化過程の細菌叢が変化することは Ishii ら(2000)や Takaku ら(2006)が報告しているが、本研究でディルドリンが減少した堆肥化過程の細菌叢を調査した結果、高温発酵期には *Bacillus* 属が半数を占め、そのうち 66%は *Bacillus carboniphilus* 種であることが明らかになった。品温低下後も同菌種が多数を占めたが、高温性細菌である *Thermobifida* 属や *Ureibacillus* 属の割合がやや高くなった。品温低下時にはドリン類、ヘプタクロルの低減が顕著でなかったことから、これらの低減に寄与する微生物は *Bacillus* 属であり、主として *B. carboniphilus* 種であると推察された。*B. carboniphilus* は、14~47℃、pH5.6 で増殖し、GC 率 38%のグラム陽性菌(Fujita ら 1996)であるが、この菌種を用いた環境浄化の報告はない。当該菌種を含む堆肥を投入することでドリン類やヘプタクロルが残留する土壌の浄化促進が期待できるが、単独菌種による浄化効果検討などさらなる研究が必要である。

4.4.5 小括

ディルドリンを低減させた堆肥化過程の微生物菌叢を遺伝子工学的手法によって解析した結果、牛糞の堆肥化開始時において糞便性の細菌が 75%を占めたが、最高品温時には *Bacillus* 属が優占し、その中で *B. carboniphilus* 種が半数を占めたことから、塩素系農薬の減少には同種の関与が予想された。

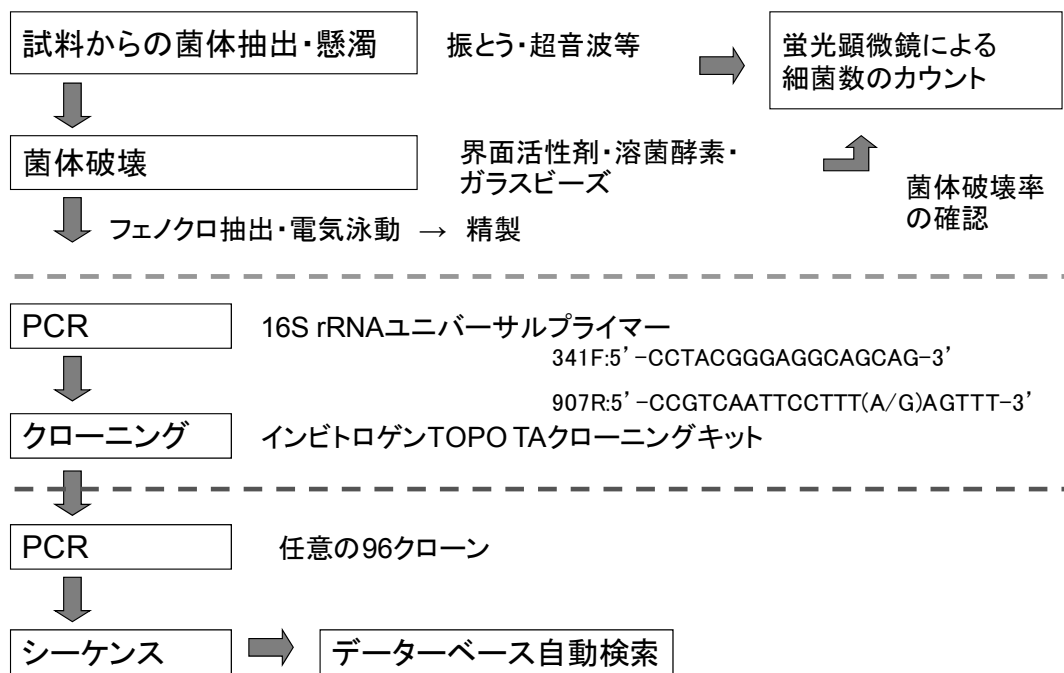


Fig. 4.8 クローンライブラリー法の処理フロー

Table 4.4 牛糞堆肥原料の細菌叢

superkingdom	Num	phylum	Num	class	Num	order	Num	family	Num	genus	Num	species	Num	Max%	Min%
Bacteria	89	Proteobacteria	16	Gammaproteobacteria	16	Pseudomonadales	4	Moraxellaceae	4	Acinetobacter	4	Acinetobacter baumannii	4	95	94
						Enterobacteriales	12	Enterobacteriaceae	12	Escherichia Pantoea	11	Escherichia coli Pantoea ananatis	11	100	99
		Firmicutes	66	Bacilli	32	Bacillales	9	Bacillaceae	4	Bacillus	4	Bacillus silvestris Bacillus carboniphilus Bacillus psychrodurans	2	99	98
												Bacillus amyloliticus Planomicrobium okeanoicoites Paenibacillus amylohydricus Turicibacter sanguinis Streptococcus lutetensis Enterococcus faecalis Enterococcus casseliflavus Enterococcus mundtii Aerococcus viridans Carnobacterium viridans Desemzia incerta Trichococcus palustris Syntrophococcus sucromutans Clostridium lituseburese Clostridium irregulare Clostridium xylanolyticum Clostridium disporicum Ruminococcus obeum Ruminococcus schinkii Eubacterium tenue Acetobacterium paludosum Mogibacterium neglectum Dysgonomonas mossii Arthrobacter nicotianae Unclassified	2	99	96
						Lactobacillales	23	Streptococcaceae Enterococcaceae	6	Streptococcus Enterococcus	3	Streptococcus	3	100	99
												Enterococcus	6	99	99
								Aerococcaceae Carnobacteriaceae	4	Aerococcus Carnobacterium	9	Aerococcus Carnobacterium viridans Desemzia incerta Trichococcus Syntrophococcus Clostridium	4	100	100
												Desemzia	2	99	99
						Clostridia	34	Clostridiaceae	20	Clostridium	20	Clostridium lituseburese Clostridium irregulare Clostridium xylanolyticum Clostridium disporicum Ruminococcus obeum Ruminococcus schinkii Eubacterium tenue Acetobacterium paludosum Mogibacterium neglectum Dysgonomonas mossii Arthrobacter nicotianae Unclassified	1	97	96
												Trichococcus	2	97	96
								Lachnospiraceae	3	Ruminococcus	3	Ruminococcus	3	100	99
												Ruminococcus	1	96	96
								Eubacteriaceae	11	Eubacterium Acetobacterium Mogibacterium	8	Eubacterium tenue Acetobacterium paludosum Mogibacterium neglectum Dysgonomonas mossii Arthrobacter nicotianae Unclassified	1	92	92
												Eubacterium	1	93	93
								Porphyromonadaceae	1	Porphyromonadaceae	1	Porphyromonadaceae	1	87	87
												Actinobacteria	2	93	92
								Micrococcaceae	2	Micrococcaceae	2	Micrococcaceae	2	85	85
												Unclassified	4	99	99
												Unclassified	4	99	99
												Unclassified	4	99	99

Table 4.5 牛糞堆肥化過程における最高品温時の細菌叢

superkingdom	Num	phylum	Num	class	Num	order	Num	family	Num	genus	Num	species	Num	Max%	Min%
Bacteria	91	Proteobacteria Firmicutes	1	Alphaproteobacteria Bacilli	69	Rhizobiales Bacillales	1	Brucellaceae Bacillaceae	1	Brucella Bacillus	44	Brucella melitensis Bacillus halodentrificans Bacillus thermocloacae Bacillus infernus Bacillus silvestris Bacillus carboniphilus Bacillus niacini Bacillus pycnus Ureibacillus thermosphaericus Paenibacillus polymyxa Paenibacillus campinasensis Paenibacillus granivorans Brevibacillus borstelensis Thermobacillus xylanilyticus Ammoniphilus oxalaticus Turcibacter sanguinis Streptococcus infantarius Streptococcus lutetensis Enterococcus faecalis Enterococcus casseliflavus Enterococcus mundtii Enterococcus villorum Clostridium litusebureense Clostridium disporicum Eubacterium tenue Mogibacterium neglectum Rubrobacter xylanophilus Thermobifida fusca Cryptosporangium minutisporangium Unclassified	1	89	89
Actinobacteria	4	Actinobacteria (class)	4	Actinobacteria (class)	4	Rubrobacterales Actinomycetales	1	Rubrobacteraceae Kineosporiaceae	1	Rubrobacter	2	Thermobifida Cryptosporangium	2	86	86
Unclassified	1	Unclassified	1	Unclassified	1	Unclassified	1	Unclassified	1	Unclassified	1	Unclassified	1	89	89

Table 4.6 牛糞堆肥化過程における品温低下時の細菌叢

superkingdom	Num	phylum	Num	class	Num	order	Num	family	Num	genus	Num	species	Num	Max%	Min%
Bacteria	90	Proteobacteria	2	Alphaproteobacteria	2	Rhizobiales	1	Rhizobiaceae	1	Hyphomicrobium	1	Hyphomicrobium hollandicum	1	97	97
		Firmicutes	74	Bacilli	63	Rhodospirillales Bacillales	1 63	Rhodospirillaceae Bacillaceae	1 47	Azospirillum Bacillus	1 33	Azospirillum amazonense Bacillus halodenitrificans Bacillus cohnii Bacillus thermocloacae Bacillus infernus Bacillus silvestris Bacillus carboniphilus Bacillus niacini Bacillus pycnus	1 3 1 7 3 1 16 1 1	90 96 94 89 91 91 100 97 93 100	90 96 94 89 91 91 100 96 93 100
										Exiguobacterium Geobacillus	2 2	Exiguobacterium aurantiacum Geobacillus caldxylosilyticus Geobacillus subterraneus Ureibacillus thermosphaericus Marinibacillus marinus Paenibacillus agarexedens Brevibacillus borstelensis Aneurinibacillus thermoaerophilus Ammoniphilus oxalaticus Sulfobacillus disulfidooxidans bacterium K1	2 2 9 1 2 2 3 2 2 1 4 8 2	86 91 91 100 92 94 99 98 91 90 89 87 90	85 91 91 100 92 94 99 98 90 89 87 90
										Thermoactinomyces Turicibacter Clostridium	1 4 8	Thermoactinomyces intermedius Turicibacter sanguinis Clostridium lituseburensense Clostridium irregulare Clostridium disporicum Thermaerobacter nagasakiensis Eubacterium tenue Rubrobacter xylanophilus Thermobifida fusca Unclassified	1 4 5 2 1 2 2 12 2	95 98 97 98 100 88 99 86 100	95 97 97 98 100 88 99 86 98
Actinobacteria	14	Actinobacteria (class)	14					Syntrophomonadaceae Eubacteriaceae Rubrobacteraceae Nocardiopsaceae Unclassified	1 2 2 12 2	Thermaerobacter Eubacterium Rubrobacter Thermobifida Unclassified	1 2 2 12 2	Thermaerobacter nagasakiensis Eubacterium tenue Rubrobacter xylanophilus Thermobifida fusca Unclassified	1 2 2 12 2	88 99 86 100	88 99 86 98

第 5 章 総合考察

家畜糞堆肥は農地の地力維持増進に欠かせない資材であるだけでなく、微量元素を含む肥料成分を含有し、農産物の肥料としても利用されている。耕種農家は家畜糞堆肥を土壌改良材として利用し、その肥料成分を考慮しないために土壌の富栄養化が進行し、農作物の収量が低下するなどの問題も生じている。そのため著者らは家畜糞堆肥の肥料成分を把握し、堆肥施用量に応じて化学肥料の使用量を低減することを提唱してきた(小山と高椋 2000;2001)。この施肥法は 2007 年に始まった肥料高騰化により、化学肥料の代替資材として家畜糞堆肥が注目されるようになってきたことをきっかけに多くの耕種農家で普及してきた。このため、家畜糞堆肥は今後需要が高まり、品質の高い堆肥の調製が求められている。しかし、家畜糞尿を原料とする堆肥化施設において臭気は必ず発生することから、堆肥の安定供給を確保するためには適正な臭気対策を実施しなければならない。福岡県のように一般住民との混住化が進行する地域においては特に十分な臭気対策が求められる。そこで、本研究ではまず家畜糞尿堆肥化施設の臭気の実態を把握した。調査対象は最も臭気物質濃度が高い豚糞尿堆肥化施設とした。施設内に搬入される豚糞および豚糞尿混合物からは閾値濃度の低いトリメチルアミン、メチルメルカプタン、*n*-酪酸、スカトールが検出され、強い臭気を形成していることが示された。特に、豚糞尿混合物からは大量のトリメチルアミン、スカトールが検出されたことから豚の管理においては糞尿を分離処理する必要性が示唆された。通常のスノコ式豚舎ではスノコに落下した糞と尿が分離する仕組みになっているが、施設の老朽化や排水管の目詰まりなどにより分離が不十分となる場合がある。臭気対策上、これらの施設の改修や排水管の清掃が求められる。回収された豚糞および豚糞尿は製品堆肥を水分調整材にして混合することで、糞および糞尿から揮発する臭気物質濃度が大幅に低減した。揮発する臭気物質が低い製品堆肥を混合することで糞および糞尿の臭気物質が希釈されたこと、水分調整によって好気的な条件になったことによると考えられるが、堆肥化施設内では豚舎から搬入された糞尿を速やかに製品堆肥で水分調整することで臭気の実態を抑えることができるといえる。さらに、この堆肥原料を強制通気することで低級脂肪酸以外の臭気物質は大幅に低減できた。堆肥化開始時に通気処理することも臭気対策上有効であることが示された。しかし、低級脂肪酸は堆肥化に伴い、揮発する物質濃度が上昇した。低級脂肪酸は嫌気条件下で生成される物質であることから通気量の不足が考えられる。堆積型強制通気方式における通気量は $100\text{L}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min}$ (小山 2007)とされており、調査対象施設の装備で十分にこの通気量は確保できているといえる。しかし、豚糞尿の易分解性成分量は牛糞に比べ多く、より大量の空気を通気する必要があるのかもしれない。また、通気管の穿孔部や通気用ブロアの吸入口の閉塞なども原因として考えられる。低級脂肪酸はいずれの物質も閾値濃度が低く、不快度の高い物質である。地域におい環境を保全するためにはこれらの対策により低級脂肪酸の発生を防止する必要がある。また、堆肥化開始時には高濃度のアンモニアが発生したが、アンモニアは有機態窒素が好気的に分解される過程で大量に発生することから、微生物処理や吸着などによって別途処理する必要があるといえる。

本研究では豚糞尿堆肥化施設内の臭気をガスクロマトグラフ質量分析計を用いて分析した。悪臭防止法で規制対象となっている物質の測定は、ガスクロマトグラフで行うこととされている(悪臭法令研究会編 2001)。しかし、ガスクロマトグラフは感度が低く、物質が分離できなかった場合の定量性に問題がある。また、妨害物質の混入なども頻繁に発生し、検出ピークを誤認する懸念もある。こ

れに対し、ガスクロマトグラフ質量分析計は選択イオンによって解析できることから高感度分析ができるだけでなく、分離したピークの物質を正確に判定できる。また、複数の臭気物質を網羅的に分析し、規制対象物質以外の臭気物質の発生状況も把握することもできる。本研究では、高極性カラムを用いて低級脂肪酸と同時にフェノール類を検出することができた。今後は、同カラムでスカトールなどのインドール類の分析も同時に測定するための条件を設定するとともに微量の臭気物質を捕集する手法を検討する必要がある。

臭気を低減させる資材の効果について述べた報告は多い(田中ら 1995;河原ら 1996;黒田 2006)が、顕著な効果が認められた報告は少ない(黒田 2006)。畜舎や堆肥舎、污水处理施設など様々な発生源から多種類の臭気物質が発生するため、各発生源や特定臭気物質に対してそれぞれの対策を講じる必要がある。そこで、本報では 2 章の堆肥化施設で最も大量の発生が認められたアンモニアの対策を目指した。畜産物の生産コストを引き上げないために臭気防止対策に係る費用を極力抑える必要がある。そこで、まず微生物による低減化を目指し、Kuroda ら(2004)が選抜した *Bacillus* sp. TAT105 株の効果を実験室規模と実用規模に分けて検証した。その結果、水分調整した豚糞尿 1 kg に対し *Bacillus* sp. TAT105 株添加培地 20 mL (3.5×10^{12} CFU 相当)を混合することで、豚糞尿堆肥化時に発生が予想されるアンモニア揮発量を 40~60%低減でき、微生物資材としての可能性が示唆された。低減されたアンモニア量と固形物中の有機態窒素量が同等であったことから、供試株が揮発するアンモニアを菌体中に取り込んだと考えられる。今後、一般農家が取り扱いやすいように凍結乾燥などによって粉末状にする必要がある。また、よりアンモニア低減効果の高い微生物の探索を実施する必要がある。

微生物以外のアンモニア対策として有機性資材による吸着法を検討した。アンモニアは極性が高く、pHが高いことから吸着用資材としてスギ樹皮に着目した。Chen ら(2009)は畜舎の臭気を吸引し、スギ樹皮を充填した脱臭槽に導入した。しかし、吸引するための動力が必要となるうえ、脱臭槽を整備する必要がある。そこで、イナワラを発生源に被覆して污水ピットの脱臭を試みた Blanes-Vidal ら(2009)の報告を参考に、アンモニア発生源にスギ樹皮を被覆する手法でアンモニア脱臭を試みた。アンモニア発生源として最も大量にアンモニアが発生する鶏糞を供試した。その結果、スギ樹皮はpHが低いだけでなく、陽イオン交換能が高いことから、1 g あたり 0.9 mg 程度のアンモニアガスを吸着することができる。スギ樹皮を鶏ふん堆積物の表面に被覆することで堆肥化過程から発生するアンモニアガスを $33 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 吸着可能であるといえた。被覆による臭気対策は、脱臭装置に吸引する動力も不要で、安価な技術として有効である。また、製材工程で発生する有機性廃棄物であるスギ樹皮が畜産の臭気対策用資材として活用できることから、製材業および林業の振興に貢献できる。

堆肥化施設において臭気を低減するためには製品堆肥を速やかに流通させる必要がある。堆肥の流通が停滞することで処理能力が低下し、臭気問題が発生する。耕種農家が堆肥を使用する時期は作物によって異なるが、3 月と 8 月に集中する傾向にある(福岡県農政部編 2000)。堆肥の流通を促進するためには堆肥の新しい機能を明らかにし、需要期以外の堆肥の利用拡大を図る必要がある。本研究では、堆肥の微生物性に着目した環境修復資材としての可能性を検討した。修復対象として、30 年前に使用が禁止されたにもかかわらず土壌への残留が問題となっている残留性塩素系農薬であるドリノ類とヘプタクロルを供試した。牛糞にディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルを添加して不織布で包装し、同様の牛糞を充填した小型堆肥化試験装置内に埋設して堆肥化を試みた。堆肥化終了時の理化学成分値に違いがなかったことから、不織布内の牛糞は小型試験装置

内の牛糞と同等の堆肥化が進行したことが確認された。埋設した塩素系農薬は 10 日間の堆肥化処理によってディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルがそれぞれ 38%、49%、65%減少した。塩素系農薬の分解試験においては対象農薬の分解代謝産物の検出が求められる。本研究では、イオントラップ式ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて対象物質とともに代謝産物の検出も試みたが、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルのいずれも代謝産物は検出できなかった。このため、品温の上昇や通気に伴う塩素系農薬の不織布外への漏出が懸念された。そこで、アジ化ナトリウムを添加して微生物の活性を低下させた系を設定し、同様の堆肥化試験を実施した。その結果、アジ化ナトリウムを添加した不織布内のドリン類、ヘプタクロルの減少量は無添加のものに比べて有意に少なくなり、塩素系農薬の減少は堆肥化に関与する微生物による分解であると推察された。

牛糞堆肥化過程の細菌叢をクローンライブラリー法によって解析した結果、堆肥化開始時には *Clostridium* 属などの腸内細菌の割合が高く、最高品温時には高温耐性の *Bacillus* 属が主となり、そのうち半数を *B. carboniphilus* 種が占めた。品温低下時には *Bacillus* 属、*Thermobifida* 属、*Ureibacillus* 属を主体とする群集が形成された。塩素系農薬が最も低減した期間は最高品温時であったことから、これらの低減には *Bacillus* 属の細菌が関与していると推察された。これらの結果により、牛糞堆肥化過程の微生物は塩素系農薬が残留している農地などの環境修復資材として期待できるといえ、堆肥化施設で調製した堆肥が環境修復に活用できる可能性が示された。今後は、どの堆肥化微生物がドリン類やヘプタクロルの低減に寄与しているかを検討するとともに分解代謝産物の検出により微生物による分解であることを証明する必要がある。本研究では細菌叢解析を行ったが、Purnomo ら(2010)が報告しているように、堆肥には真菌も存在しており、これらがドリン類とヘプタクロルの低減に寄与したことが考えられる。真菌のデータベースと照合し、真菌の微生物叢を今後明らかにしていく必要がある。また、ドリン類やヘプタクロル以外の残留性塩素系農薬を対象に低減試験を実施する必要がある。

摘 要

家畜糞堆肥調製時の臭気対策および堆肥の新規機能性に関する研究

家畜糞堆肥は、農地の地力維持・増進のために欠かせない土壌改良資材である。一般に通気装置などが付設された堆肥化施設で調製されているが、糞尿を原料とするために施設からは多種類の臭気物質が大量に発生し、地域内において環境が脅かされている。そこで、本研究では家畜糞の堆肥化に伴う臭気発生実態を明らかにするとともに特定臭気物質に対する脱臭法を検討した。また、調製した堆肥の利用拡大のためには土壌改良効果以外の新しい機能の開拓も必要である。そこで、堆肥化微生物が有する有機物分解能に着目し、残留性の高い塩素系農薬の低減を試み、環境修復資材としての能力を評価した。

豚糞尿堆肥化施設における複合臭の発生状況を把握するために、糞尿混合物から発生する臭気と堆肥化過程で発生する臭気を採取し、高感度分析が可能なガスクロマトグラフ質量分析計を用いて分析した。その結果、豚糞尿にはトリメチルアミン、メチルメルカプタン、低級脂肪酸が大量に含まれており、これにスカトールやクレゾールなどの芳香族物質が加わることで強いにおいを形成していることが示された。特に糞尿混合物は尿が混入していない糞に比べて臭気物質含量が高く、豚舎内での分離処理の必要性が強く示唆された。豚糞尿の臭気物質濃度は製品堆肥と混合することで大幅に低下し、さらに堆肥化することで速やかに低減された。以上のことから、豚舎から搬出された糞尿を短時間に堆肥と混合し、堆肥化することが臭気対策上重要であることを明らかにした。

アンモニアは堆肥化過程で大量に発生する臭気物質であるが、大気中で酸化され、酸性雨や湖沼の富栄養化の原因となることから特に対策を講じる必要がある。そこで、堆肥化過程で増殖し、アンモニア低減能力が高いとされる *Bacillus* sp. TAT105 株を添加して豚糞尿を堆肥化し、その過程で発生するアンモニアの抑制効果を検討した。その結果、豚糞尿 1 kg に同株を 3.5×10^{12} CFU 相当混合することで、豚糞尿の堆肥化時に発生するアンモニアを 40~60% 低減できることが明らかになった。

豚糞尿よりさらに高濃度のアンモニアが発生する鶏糞に対してはスギ樹皮のアンモニア吸着能に着目し、堆肥化過程の表層に被覆する脱臭法を検討した。その結果、1 kg の鶏糞にスギ樹皮を 74 g 被覆した条件下で、揮発するアンモニア $15.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ を吸着した。アンモニア吸着後のスギ樹皮内の窒素形態を分析した結果、水溶性窒素が 22%、イオン交換性窒素が 23%、有機態窒素 47% であり、高い陽イオン交換能に伴うイオン結合だけでなく、共有結合による除去も示唆された。スギ樹皮は鶏糞の表面を被覆するだけでアンモニアの発生を抑制できることから、安価で簡便な臭気対策資材としての活用が期待される。

家畜糞堆肥は有機物分解能力の高い多様な微生物叢を形成しているため、残留性の高い塩素系農薬に汚染された土壌の浄化資材としての活用も期待できる。そこで、塩素系農薬の牛糞堆肥化過程での分解を明らかにするために、牛糞にディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルを添加して不織布で包装し、同様の牛糞を充填した小型堆肥化試験装置内に埋設して堆肥化を試みた。堆肥化終了時の理化学成分値に違いがなかったことから、不織布内の牛糞は小型試験装置内の牛糞と同等の堆肥化が進行したことが確認された。埋設した塩素系農薬は 10 日間の堆肥化処理によってディルドリン、エンドリン、ヘプタクロルがそれぞれ 38%、49%、65% 減少した。品

温の上昇や通気に伴う塩素系農薬の不織布外への漏出が懸念されたため、アジ化ナトリウムを添加して微生物の活性を低下させた系を設定し、同様の堆肥化試験を実施した。その結果、アジ化ナトリウムを添加した不織布内のドリソ類、ヘブタクロルの減少量は無添加のものに比べて有意に少なくなり、塩素系農薬の減少は堆肥化に関与する微生物による分解であると推察された。牛糞堆肥化過程の細菌叢をクローンライブラリー法によって解析した結果、堆肥化開始時には *Clostridium* 属などの腸内細菌の割合が高く、最高品温時には高温耐性の *Bacillus* 属が主となり、そのうち半数を *B. carboniphilus* 種が占めた。品温低下時には *Bacillus* 属、*Thermobifida* 属、*Ureibacillus* 属を主体とする群集が形成された。塩素系農薬が最も低減した期間は最高品温時であったことから、これらの低減には *Bacillus* 属の細菌が関与していると推察された。

謝 辞

本論文の取りまとめにあたって、懇篤なるご指導とご助言を賜った九州大学農学研究院生物資源環境科学府教授，近藤隆一郎博士に心から感謝し，厚くお礼申し上げます。

本論文の取りまとめにあたって，懇切なご指導とご助言を賜った農学研究院生物資源環境科学府准教授，堤祐司博士に衷心から感謝申し上げます。また，論文の審査にあたり有益な助言を賜った東京工業大学大学院理工学研究科教授，中崎清彦博士，九州大学農学研究院資源生物学部門准教授，下條雅敬博士に心から感謝し，厚くお礼申し上げます。

九州大学における研究の機会を与えて頂き，激励を賜った福岡県農業総合試験場長松江勇次博士，前研究企画部長津留崎正信氏，前専門研究員福田憲和氏に心から感謝申し上げます。

本研究のとりまとめにあたり，終始懇切なご指導ならびにご鞭撻いただいた，前豊前分場山本富三博士，豊前分場長矢羽田第二郎博士，土壌・環境部茨木俊行博士，同荒木雅登博士に深く感謝申し上げます。

本研究遂行にあたり，労苦を共にし，協力を惜しまれなかった畜産環境部環境衛生チームの浅田研一専門研究員，尾上武研究員，福原絵里子研究員，手島信貴主任技師，北崎直美技能員に心から感謝申し上げます。

本研究遂行にあたって，調査や試料調製等でお手伝いいただいた臨時職員，松藤尚美氏，本田洋子氏に心からお礼申し上げます。

今研究に関わった畜産環境部，家畜部，土壌環境部の職員ならびに臨時職員の方々に感謝の意を表す。

引用文献

- 悪臭法令研究会編 (2001) ハンドブック悪臭防止法 (四訂版). pp. 27-30. ぎょうせい. 東京.
- Andoh A., Tsujikawa T., Sasaki M., Mitsuyama K., Suzuki Y., Matsui T., Matsumoto T., Benno Y., Fujiyama Y. (2008) Fecal microbiota profile of Crohn's disease determined by terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 29(1), 75-82.
- Antizar-Ladislao B., Lopez-Real J., Beck AJ. (2006) Bioremediation of polycyclic hydrocarbons (PAHs) in an aged coal-tar-contaminated soil using different in-vessel composting approaches. *Journal of Hazardous Materials B137*, 1583-1588.
- Bixby MW., Boush GM., Matsumura F. (1971) Degradation of dieldrin to carbon dioxide by a soil fungus *Trichoderma koningi*. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 6(6), 491-494.
- Blanes-Vidal V., Hansen MN., Sousa P. (2009) Reduction of Odor and Odorant Emissions from Slurry Stores by Means of Straw Covers. *Journal of Environmental Quality* 38, 1518-1527.
- Blunden J., Aneja VP. (2008) Characterizing Ammonia and Hydrogen Sulfide Emissions from a Swine Waste Treatment Lagoon in North Carolina. *Atmospheric Environment* 42, 3277-3290.
- Bremner JM., Keeney DR. (1965) Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta* 32, 485-495.
- Chen L., Hoff S., Cai L., Koziel J., Zelle B. (2009) Evaluation of Wood Chip-Based Biofilters to Reduce Odor, Hydrogen Sulfide, and Ammonia from Swine Barn. *Journal of the Air & Waste Management Association* 59, 520-530.
- 土壌養分測定法委員会編 (1975) 土壌養分測定法. pp. 171-176. 養賢堂, 東京.
- Fujita T, Shida O., Takagi H., Kunugita K., Pankrushina AN., Matsushashi M. (1996) Description of *Bacillus carboniphilus* sp. nov. *International Journal of Systemtic Bacteriology* 46, 116-118.
- 福岡県農政部編 (2000) 農業関係試験研究の成果. pp. 89-90.
- 福岡県農政部編 (2006) 農業関係試験研究の成果. pp. 59-60.
- 福岡県農政部編 (2007) 有機質資材等の利用上の手引き. pp.7.
- Haga K. (1998) Animal Waste Problems and Their Solution from the Technological Point of View in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly* 32, 203-210.
- Harada Y, Haga K, Osada T, Izawa T, Nishimura Y. (1998) Decomposition of Organic Matter during the Maturing Process of Cattle Waste Compost. *Animal Science Technology* 69, 1085-1093.
- Harada Y, Haga K, Osada T, Koshino M. (1993) Quality of Compost Produced from Animal Waste. *Japan Agricultural Research Quarterly* 26, 238-246.
- Hartung J., Phillips VR. (1994) Control of Gaseous Emissions from Livestock Buildings and Manure Stores. *Journal of Agricultural Engineering Research* 57, 173-189.
- Hashida K., Makino R., Ohara S. (2009) Amination of pyrogallol nucleus of condensed tannins and

- related polyphenols by ammonia water treatment. *Holzforschung* 63(3), 319-326.
- Hashimoto Y. (2005) Dieldrin Residue in the Soil and Cucumber from Agricultural Field in Tokyo. *Journal of Pesticide Science* 30, 397-402.
- Hashimoto Y. (2007) Reduction of dieldrin concentration in cucumber fruits using Cucurbita rootstocks and activated carbon. *Journal of Pesticide Science* 32, 229-234.
- 蓮沼俊哉, 大川内康郎, 高橋理平, 丸山富美子(2005) 未利用木質資源を活用した家畜ふん堆肥化過程の悪臭低減. *畜産の研究* 59(3), 365-370.
- 樋口隆哉, 浮田正夫, 関根雅彦, 今井 剛(2008) パークによるアンモニア吸着および脱臭特性に関する実験的研究. *におい・かおり環境学会誌* 39(1):17-23.
- Hobbs PJ., Misselbrook TH., Pain BF. (1995) Assessment of Odours from Livestock Wastes by a Photoionization Detector, an Electronic Nose, Olfactometry and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural Engineering Research* 60, 137-144.
- 北條 亨, 神辺佳弘, 斎藤忠史, 杉本俊昭 (2004) もどし堆肥利用による環境負荷要因の解明. *栃木県畜産試験場研究報告* 20, 44-52.
- 本多勝男, 石川嘉彦, 米持勝利(1992) 飼養管理技術の改善による臭気軽減に関する試験. *神奈川県畜産試験場研究報告* 82, 1-27.
- 伊神裕司, 村田光司(2003) 製材工場における木質残廃材の発生と利用. *森林総合研究所研究報告* 12(2), 111-114.
- 池田加江, 小山 太, 高椋久次郎, 福田憲和(2006) 家畜ふん堆肥の腐熟度判定における発芽インデックス法の有効性. *福岡県農業総合試験場研究報告* 25,135-140.
- 池田加江, 小山 太(2007) 家畜ふん堆肥の腐熟度判定における根長測定試験法と発芽インデックス法の精度比較. *福岡県農業総合試験場研究報告* 26,75-78.
- 池田一徹(1986) 資材の特性と利用. *農業技術体系土壌施肥編* 7 巻. pp.25-26.農山漁村文化協会, 東京.
- 井の子昭夫, 原田靖夫, 菅原和夫(1982) 都市廃棄物コンポスト化製品の農業利用. *農業技術センター研究報告* 33, 165-213.
- Ishii K., Fukui M., Takii S. (2000) Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology* 89, 768-777.
- Jongbloed AW, Lenis NP. (1992) Alteration of nutrition as means to reduce environmental pollution by pigs. *Livestock Production Science* 31, 75-94.
- Kamei I., Takagi K., Kondo R. (2010) Bioconversion of dieldrin by wood-rotting fungi and metabolite detection. *Pesticide Management Science* 66, 888-891.
- 環境省 <http://env.go.jp/chemi/pops/index.html> 2004.
- 環境庁大気保全局大気生活環境室編(1999) ”悪臭防止技術の手引き(16)畜産農業編”, 社団法人臭気対策研究協会, 東京, pp. 53-57.
- 河原雅広, 豊田知紀, 矢野裕一, 杉本俊昭, 増山文男(1996) 家畜糞尿の悪臭防止に関する試験(脱臭新資材の臭気低減及び経済性に関する試験). *栃木県畜産試験場研究報告* 12, 49-80.

- Kerr BJ., Ziemer CJ., Trabue SL., Crouse JD., Parkin TB. (2006) Manure composition of swine as affected by dietary protein and cellulose concentration. *Journal of Animal Science* 84, 1584-1592.
- Kosaka J., Honda C., Iseki A. (1959) A new rapid and accurate method for the determination of carbon in soils. *Soil and Plant Food* 5, 44-83.
- 厚生労働省 <http://www.mhlw.go.jp> 2006.
- 小山 太(2007) インバータ・タイマー併用による通気式堆肥舎の低コスト・省エネルギー運転法. 畜産技術 613, 55-60.
- 小山 太, 黒田和孝, 浅田研一, 尾上 武, 近藤隆一郎(2011) *Bacillus* sp.TAT105 株添加による豚糞堆肥化過程のアンモニア揮散低減効果. 日本畜産学会報 82, 163-169.
- 小山 太, 高椋久次郎(2000) 家畜ふん堆肥の成分的特徴(第 1 報) 副資材と堆積場所の差違が乳牛および肉牛ふん堆肥の化学成分に及ぼす影響. 福岡県農業総合試験場研究報告 19, 110-114.
- 小山 太, 高椋久次郎(2001) 家畜ふん堆肥の成分的特徴(第 2 報) 鶏ふん堆肥, 豚ふん堆肥および牛ふん混合堆肥の化学成分. 福岡県農業総合試験場研究報告 20, 97-100.
- 小山 太, 福田憲和(2004) 牛ふん堆肥の成分調整およびエクストルーダによる成型化. 福岡県農業総合試験場研究報告 23, 88-92.
- 小山 太, 山口昇一郎, 村上徹哉, 福田憲和(2006) 肥育豚への低タンパク質飼料の給与がふん尿の堆肥化に及ぼす影響と臭気の発生状況. 福岡県農業総合試験場研究報告 25, 141-144.
- 黒田和孝(2006) 養豚で利用される臭気対策資材. 日本養豚学会誌 43, 143-167.
- Kuroda K, Hanajima D, Fukumoto Y, Suzuki K, Kawamoto S, Shima J, Haga K. (2004) Isolation of Thermophilic Ammonium-tolerant Bacterium and Application to Reduce Ammonia Emission during Composting of Animal Wastes. *Bioscience Biotechnology Biochemical* 68, 286-292.
- Kuroda K, Osada T, Yonaga M, Kanematsu A, Nitta T, Mouri S, Kojima T. (1996) Emission of Malodorous Compounds and Greenhouse Gases from Composting Swine feces. *Bioresource Technology* 56, 265-271.
- 松田基宏, 中西一夫(1995) 子牛胃液由来の乳酸菌を利用した悪臭防除効果の検討. 和歌山県畜産試験場研究報告 6, 47-54.
- Matsumoto E., Kawanaka Y., Yun SJ., Oyaizu H. (2008) Isolation of dieldrin- and endrin-degrading bacteria using 1,2-epoxycyclohexane as a structural analog of both compounds. *Applied Microbiology Biotechnology* 80, 1095-1103.
- Matthews HB., Matsumura F. (1969) Metabolic fate of dieldrin in the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 17, 845-852.
- McKinney JD., Matthews HB., Fishbein L.(1972) Major Fecal Metabolite of Dieldrin in Rat: Structure and Chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20, 597-602.
- Muck. RE. (1982) Urease activity in bovine feces. *Journal of Dairy Science* 65, 2157-2163.
- 村中謙昭, 岸本一郎, 青山茂夫, 番匠宏行(1999) 箱形脱臭槽による資材別アンモニア低減効果. 広島県立畜産技術センター研究報告 12, 60-65.

- Nagami H. (1997) Dieldrin and Chlordane Residue in Agriculture Fields. *Bulletin Environment Contamination and Toxicology* 59, 383-388.
- 新田孝子, 毛利重徳, 兼松あかね, 小島知子, 黒田和孝, 長田 隆, 代永道裕(1993) 豚糞の堆肥化に伴う発生臭気に対する返送堆肥添加の影響. 沖縄県畜産試験場研究報告 31, 83-90.
- 農林水産省 <http://www.acis.go.jp> 2002.
- 大原誠資(2001) 樹皮及び樹皮抽出成分の利用技術. *木材工業* 56, 209-215.
- O'NEILL DH., PHILLIPS VR.(1991) A Review of the Control of Odour Nuisance from Livestock Buildings: Part 1, Influence of the Techniques for Managing Waste Within the Building. *Journal of Agricultural Engineering Research* 50, 1-10.
- O'NEILL DH., PHILLIPS VR. (1992) A Review of the Control of Odour Nuisance from Livestock Buildings: Part 3, Properties of the Odorous Substances which have been Identified in Livestock Wastes or in the Air around them. *Journal of Agricultural Engineering Research* 53, 23-50.
- 尾上 武, 立花文夫, 鮫ヶ井靖雄, 小山 太, 手島信貴, 山口昇一郎, 浅田研一(2010) タンパク質飼料を給与した肥育豚の糞尿の堆肥化過程における窒素動態とアンモニアの発生状況. *日本養豚学会誌* 47, 8-15.
- 太田欽幸, 池田 貢(1979) 微生物による豚ふんの急速無臭化法. *日本農芸化学会誌* 53, 277-284.
- Otani T., Seike N.(2006) Comparative effects of rootstock and scion on dieldrin and endrin uptake by grafted cucumber(*Cucumis sativus*) . *Journal of Pesticide Science* 31, 316-321.
- 乙部裕一, 佐藤龍夫 (1998) 作物の有機塩素殺虫剤(ディルドリン)吸収特性. 北海道立農業試験場集報 75, 21-24.
- Purnomo AS., Koyama F., Mori T., Kondo R. (2010) DDT degradation potential of cattle manure compost. *Chemosphere* 80, 619-624.
- Richardson A., Robinson J. (1971) The identification of a major metabolite of HEOD(dieldrin) in human faeces. *Xenobiotica* 1(3), 213-219.
- 佐藤留美, 蒲生卓磨, 島 純, 川本伸一(2002) 臭気低減化細菌の 16SrDNA 遺伝子配列解析による系統分類. *食品総合研究所研究報告* 66, 9-14.
- 佐藤 俊(1985) 木質物の堆肥化過程の解析と木質系堆肥の熟度の基準値策定に関する研究. *林業試験場研究報告* 334, 53-164.
- 塩入陽介, 崎尾さやか, 松本竹男, 小滝正勝(1996) 畜舎の抑臭技術確立に関する研究. *埼玉県畜産試験場研究報告* 34, 36-49.
- 須田鉄弥, 岩田直記, 山田 要(1976) ウリ科植物を接ぎ木台木としたキュウリによる土壌中のドリノ剤の吸収. *日本農薬学会誌* 1, 59-63.
- 鈴木睦美, 福光健二, 高橋朋子(1991) 畜産農家等の悪臭実態調査(第 1 報). *畜産の研究* 45, 43-46.
- 鈴木睦美, 福光健二, 高橋朋子(1992) 低級脂肪酸を中心とした悪臭実態調査(第 2 報). *群馬県農業研究報告 C 畜産* 9, 150-154.
- 田近克司, 高野了一, 水口吉則(1994) 樹皮の土壌改良材としての利用(第 2 報). *農業用高品質広*

- 葉樹バーク堆肥の製造. 富山県林業技術センター研究報告 7, 49-56.
- 高原康光, 加藤邦夫, 井奈波良一, 岩田弘敏(1993) 木酢液による悪臭除去に関する研究(第 2 報). 日本公衆衛生学会誌 41, 147-156.
- Takaku H., Kodaira S., Kimoto A., Nashimoto M., Takagi M. (2006) Microbial communities in the garbage composting with rice hull as an amendment revealed by culture-dependent and -independent approaches. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101, 42-50.
- 田中 博(1988) 畜産臭気の特徴について. 農業機械学会誌 51, 99-104.
- 田中 博(1990) 臭気処理対策の基本. 畜産の研究 44, 116-120.
- Tanaka H, Kuroda K, Osada T, Yonaga M, Suzuki M, Inaba M. (1991) Aerial VFA in Livestock Houses and Animal Waste Treatment Facilities. *Animal Science and Technology* 62, 955-962.
- 田中米實, 村田 晃, 林田晋策(1995) 放線菌による穀類焼酎蒸留廃液の迅速堆肥化. 生物工学会誌 73, 365-372.
- 谷口初美, 福田和正, 王 岩, 山内和紀, 市原剛志, 水野康平, 石松継世, 世良暢之, 濱崎光宏, 高橋浩司, 堀川和美(2004) 土壌細菌叢評価法の構築: 廃棄物処分場の硫化水素ガス発生対策のために. 産業医科大雑誌 26, 349-367.
- Tiquia SM. (2005) Microbial community dynamics in manure composts based on 16S and 18S rDNA T-RFLP profiles. *Environmental Technology* 26, 1101-1113.
- Wakase S., Sasaki H., Itoh K., Otawa K., Kitazume O., Nonaka J., Satoh M., Sasaki T., Nakai Y. (2008) Investigation of the microbial community in a microbiological additive used in a manure composting process. *Bioresouce Technology* 99, 2687-2693.
- Wedemeyer G. (1968) Partial Hydrolysis of Dieldrin by *Aerobacter aerogenes*. *Applied Microbiology* 16, 661-662.
- Xiao P., Mori T., Kamei I., Kondo R. (2011) Metabolism of organochlorine pesticide heptachlor and its metabolite heptachlor epoxide by white rot fungi, belonging to genus *Phlebia*. *FEMS Microbiol Letters* 314, 140-146.
- 山本朱美, 伊藤 稔, 古谷 修(2003) 豚糞尿混合物のpH, 尿中窒素含量および脱臭資材の添加が *in vitro* アンモニア揮散量に及ぼす影響. 日本畜産学会報 74, 369-373.
- 柳田友隆, 江 耀宗, 松本 聡(1995) 籾殻の理化学性に及ぼす炭化処理の影響. 日本土壌肥料学雑誌 65, 270-272.
- Yasuhara A., Fuwa K. (1977) Odor and Volatile Compounds in Liquid Swine Manure. I. Carboxylic Acids and Phenols. *BULLETIN OF CHEMICAL SOCIETY OF JAPAN* 50, 731-733.

Studies of Management for Odor during Composting of Livestock Manure and a new Utilization of Livestock Compost

Summary

It is important that organic materials are added for farmland. Livestock manure composts in organic materials are prepared to harness the aeration in composting facilities, generally. Odor exhaling from the facilities have been due to treatment for livestock manure.

The first purpose of this study was clearing the odor from a swine manure facility, description of odor's countermeasure. Secondary, to develop a new utilization of livestock manure compost, bioremediation of organochlorine pesticides utilized composting microorganism was challenged.

1. To develop technology for deodorizing swine manure facility, (which odor raises a number of complaints,) the volatile compound of swine manure in the facility was investigated using gas-chromatograph and gas-chromatograph mass spectrometry. Ammonia, trimethyl amine, sulphide, volatile fatty acids, phenols and indoles were detected in the swine manure. The detected odor components were remarkably decreased in swine manure added with matured compost. After swine manure was piled in an aeration chamber for 15 days, the concentrations of ammonia, trimethyl amine, methanethiol, dimethyl sulfide, dimethyl disulfide decreased. Therefore, it is most important that swine manure is mixed with matured compost and aerated immediately to deodorize the facility.

2. A thermophilic bacterium, *Bacillus* sp. TAT105, was reported to have efficient reduction of ammonia. To estimate the effect of adding *Bacillus* sp. TAT105 on ammonia emission during the composting process of swine manure, laboratory scale composting was done, and counted the numbers of thermophilic ammonium-tolerant bacterium. Swine manure was mixed with fresh dung and urine collected from sows, furthermore mixed perlite as bulking agent. The 5 kg manure was mixed with 100 mL culture adding *Bacillus* sp. TAT105, whereas the 5 kg manure was mixed with 100 mL TAT105-not-added culture. Each mixture was placed into a composting apparatus and kept continuous aeration. Tenfold of thermophilic ammonium-tolerant bacterium were observed in manure by adding *Bacillus* sp. TAT105 in comparison to control. Nitrogen emitted from manure adding TAT105 during composting test was decreased about 60% in comparison to

control. Maximum ammonia emitted from pile of swine manure mixed rice hull adding *Bacillus* sp. TAT105 in 1 m³ piled scale decreased about 40% in comparison to control. Therefore, *Bacillus* sp. TAT105 was conceded as deodorizer of ammonia emitted during composting of swine manure.

3. The aim was to investigate the extent of reduction of ammonia emissions from poultry manure by utilizing cedar bark, which occurs plentifully from timber trimming facilities and has an ability to adsorb ammonia. In a laboratory scale study, cedar bark was contacted with an ammonia concentration of 620ppm in Tedlar bags for 5 minutes. The result showed that the bark reduced ammonia by 99.5%. This study compiled data on ammonia above poultry manure covered with cedar saw dust or cedar bark during a period of 3 weeks. The results indicated that both types of covering agents achieved significant reductions in ammonia concentrations. The adsorption of ammonia was 11 mg·g⁻¹ and 33 mg·g⁻¹ for saw dust and bark respectively. Water-soluble nitrogen, ionic nitrogen, and organic nitrogen accounted for 22%, 23% and 47%, respectively, of increased nitrogen in the bark during composting. It suggested that the increase in ionic nitrogen was due to the higher cation exchange capacity. The increase in organic nitrogen may be attributed to covalent bond. The results showed that the reduction in the emission of ammonia appears to be caused by the bark cover acting as an inexpensive and simple deodorizer.

4. We evaluated degradation of dieldrin, endrin and heptachlor belong to organochlorine pesticides during the composting process of dairy cattle manure. Mesophilic phase materials were put into polyester packaging, and then added dieldrin as substrate. The sample was put into reactor for composting process. The dieldrin concentration was reduced approximately 35% and 52% at 2 and 8 days, respectively. Furthermore, same method was repeated which used dieldrin, endrin and heptachlor as substrates. The dieldrin, endrin and heptachlor were reduced approximately 30%, 36% and 59% at thermophilic phase, respectively. The decrease of the concentration of substrates in the polyester package during composting might be caused by the mechanical migration, not by the action of microorganism. The each pesticides into composting materials were greatly reduced at thermophilic phase compared to control materials which killed by adding sodium azide. Therefore, it would be possible that the decrease of dieldrin, endrin and heptachlor were due to microorganism in composting materials. A bacterial flora based on the molecular-technique using 16S rRNA gene was performed to clarify the influence of bacteria in the composting material. The fecal bacteria were detected approximately at 75% in mesophilic phase material. In thermophilic phase material, *Bacillus* genus bacteria were detected

approximately at 46%, and *Bacillus carboniphilus* species was dominant 69% in the genus. *B. carboniphilus* species might attribute on the decrease of dieldrin, endrin and heptachlor. However, further study is needed to establish bioremediation of organochlorine pesticides.

福岡県農業総合試験場特別報告
第38号

家畜糞堆肥調製時の臭気対策および
堆肥の新規機能性に関する研究

発行 平成24年 3月

福岡県農業総合試験場
〒818-8549 福岡県筑紫野市吉木 587
TEL 092-924-2971

著書 小山 太

印刷所 株式会社 星光社
〒812-0042 福岡県博多区豊1丁目5-26
TEL 092-475-7711