

図-27 根圈土壤中の微生物量

菌は豚ふん堆肥区画と豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で、化学肥料区画よりスイートコーン栽培土壤、ナス栽培土壤ともに多かった。バクテリアは豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で、化学肥料区画よりスイートコーン栽培土壤、ナス栽培土壤ともに多かった。また、豚ふん堆肥区画でもスイートコーン栽培土壤で多かった。カビは豚ふん堆肥区画、豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で少なかった。

植物の根の周りの土壤（根圈土壤）に生息する微生物は、根から離れた部分の土壤中の微生物と異なり、植物と微生物の相互間で物質のやりとりがなされたり、互いに助け合ったりしていると考えられている。そこで、根圈土壤中の微生物の解析が重要となる。図-27にはナスの根圈土壤中の微生物相の解析を行った結果を示す。根圈土壤中の放線菌は豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で多かった。バクテリアは豚ふん堆肥区画および豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で共に多かった。カビは豚ふん堆肥区画および豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で共に少なかった。

3-8 ナス根圈土壤中放線菌の同定

ナス根圈土壤中の放線菌数は図-27に示すごとく化

表1 根圈土壤中の放線菌の属の分類と種類

放線菌の属名	化学肥料	豚ふん堆肥	豚ふん+ ブドウ滓堆肥
<i>Thermobifida</i>		1	1
<i>Saccharomonospora</i>		1	1
<i>Amycolatopsis</i>	1	1	2
<i>Glycomyces</i>	1	1	1
<i>Kitasatospora</i>	1	1	
<i>Kribbella</i>		1	2
<i>Microbispora</i>			1
<i>Nonomuraea</i>		1	1
<i>Streptomyces</i>	11	11	14
<i>Thermoclospum</i>		1	
合 計	14	19	23

表の数値は、根圈土壤を30°Cと50°Cそれぞれ培養した条件で認められた放線菌の種類の合計（重複を除く）。

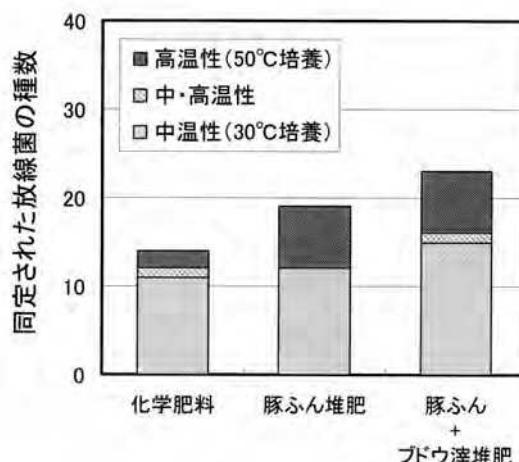


図-28 同定された放線菌の種数

学肥料施用区画に比べ、豚ふん堆肥区画、豚ふん+ブドウ滓堆肥区画の順に多いことが明らかとなった。そこで、ナス根圈土壤中の放線菌の属と種の同定を行った。その結果を表-1に示す。化学肥料区画では4属14種、豚ふん堆肥区画では9属19種、豚ふん+ブドウ滓堆肥区画では8属23種の放線菌が同定された。

図-28は表-1で示したデータを基に、放線菌の培

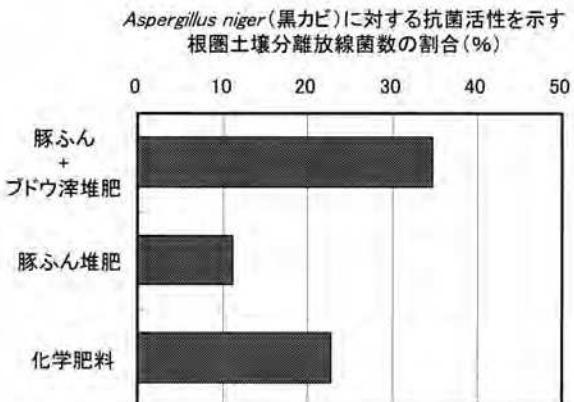


図-29 放線菌の抗カビ活性

養条件別に同定された菌数を示したグラフである。この結果から、豚ふん+ブドウ滓堆肥を施用すると根圏土壤中の放線菌の種類が多くなることが明らかとなった。

3-9 根圏土壤放線菌分離株の抗カビ活性

根圏土壤放線菌分離株の抗カビ活性を検討した結果、図-29に示すとく、*Aspergillus niger*（黒カビ）に対して、豚ふん+ブドウ滓堆肥を施用した根圏土壤から分離した放線菌株の35%に抗カビ活性のあることが明らかとなった。さらに、抗カビ活性を示した35%の放線菌株の半数は豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で特異的に認められた放線菌株であった。

3-10 根圏土壤放線菌分離株のリン酸可溶化能

植物は可溶性の物質しか吸収することができない。一方、一部の放線菌には土壤中のリンを可溶化して植物利用を助ける働きのあることが知られている。そこで、放線菌のリン酸可溶化能について検討を行った。図-30に示すとく、豚ふん+ブドウ滓堆肥を施用した根圏土壤から分離された放線菌株の42%にリン酸可溶化能のあることが示された。さらに、リン酸可溶化能が陽性であった42%の放線菌株のうち70%が豚ふん+ブドウ滓堆肥区画で特異的に認められた放線菌株であった。

リン酸可溶化能を示す
根圏土壤分離放線菌数の割合(%)

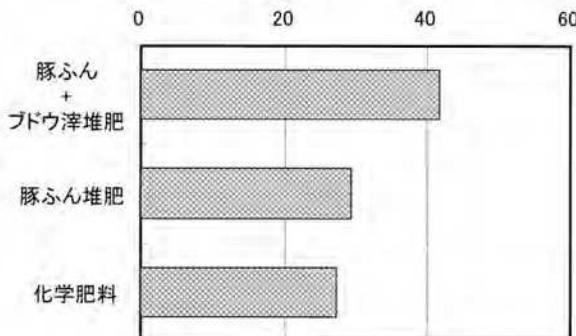


図-30 放線菌のリン酸可溶化能

3-11 ブドウ搾り滓と豚ふんを処理する過程で発生する温暖化ガスと消費されるエネルギー、富栄養化に関するLCA

実験方法2-21に示した二つのシナリオに従って、排出される温暖化ガス(CO_2 , CH_4 , N_2O)、消費されるエネルギー(石油、石炭、天然ガスなど)、富栄養化(窒素、リンなど)についてそれぞれインベントリ分析を行った。得られた各物質の排出量や消費量から、産業総合技術研究所によって開発された被害算定型環境影響評価手法LIME (Life-cycle Impact assessment Method based on Endpoint modeling)に基づいて地球温暖化指

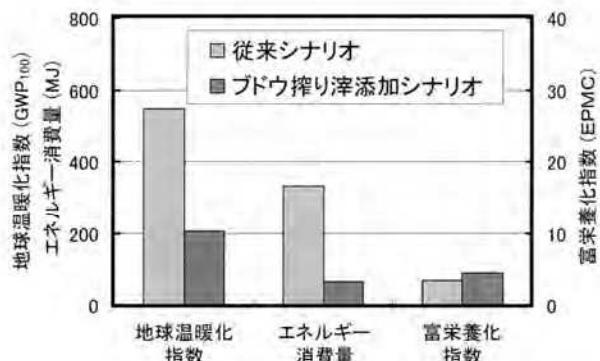


図-31 各環境領域のインパクト評価

数 (GWP_{100})、エネルギー消費量 (MJ)、富栄養化指数 (EPMCI) を算定し、各シナリオについてそれぞれの環境影響領域への負荷を比較した。その結果を図-31に示す。

地球温暖化・エネルギー消費に関しては従来シナリオの方が影響が大きくなり、富栄養化に関してはブドウ搾

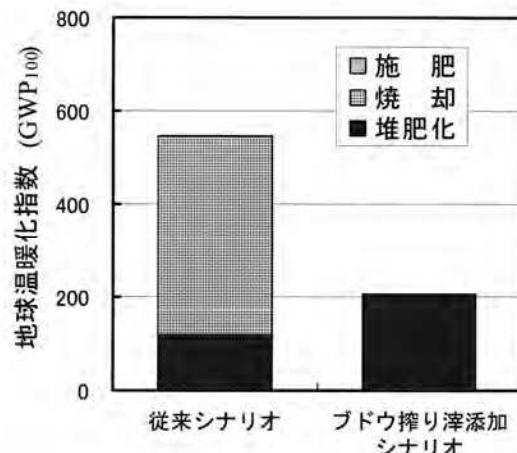


図-32 各シナリオの地球温暖化指数

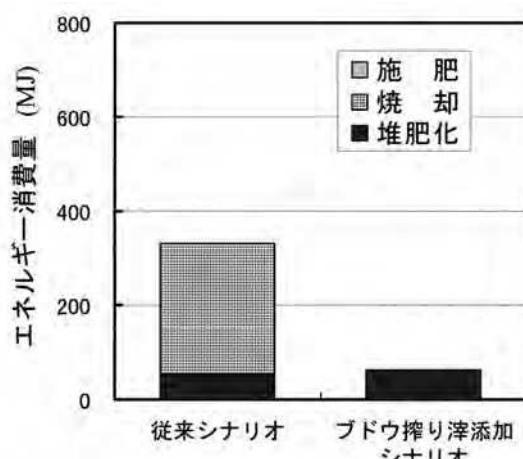


図-33 各シナリオのエネルギー消費量

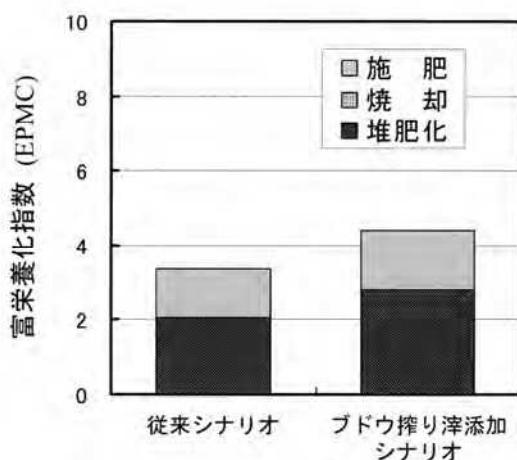


図-34 各シナリオの富栄養化指数

り滓添加シナリオの方が大きくなることが示された。そこで、それぞれの環境影響領域への負荷について堆肥化・焼却・施肥のプロセスごとに分析をおこなった(図-32、図-33、図-34)。

地球温暖化指数とエネルギー消費に関しては、堆肥化プロセスのみを比較した場合、ブドウ搾り滓を添加した分従来シナリオよりもブドウ搾り滓添加シナリオのほうが温暖化への影響が大きいが、従来シナリオではブドウ搾り滓を焼却によって処理するため、焼却プロセスで排出されるCO₂やCH₄が加算され、結果的に従来シナリオの温暖化への影響が大きくなっていることが示された。また、富栄養化に関しては、ブドウ搾り滓添加シナリオの堆肥化・施肥プロセス共に従来シナリオの負荷よりも大きくなっている。これは堆肥化プロセスでブドウ搾り滓を添加した分流出する汚水が多くなることと、施肥プロセスにおいて作物や土壤へ固定されずに浸透水へ溶脱する窒素量が多くなっていることが原因だと考えられる。

以上の結果から、ブドウ搾り滓を豚ふんに添加して堆肥化させた方が地球温暖化への影響とエネルギー資源の消費を低減できるが、水域への富栄養化を促進させることが示された。ブドウ搾り滓を豚ふんに添加して堆肥化するシステムをより環境負荷の低いものとするため、今後は堆肥化プロセスでの汚水軽減対策と、堆肥の効率的な施用を検討することが必要だと考えられた。

3-12 工学的手法による悪臭物質の分解

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。昨年まで、金属酸化触媒をマイクロ波照射装置で加熱して悪臭物質を分解する実験を行ってきた。マイクロ波照射装置を用いると、悪臭物質の分解に必要な触媒温度(約500°C)を得るのに約1分と短時間ですむが、構造的にスケールアップすることが難しい。実際の堆肥舎で発生する大量の悪臭物



写真-12 マイクロ波照射装置とセラミック電気管状炉

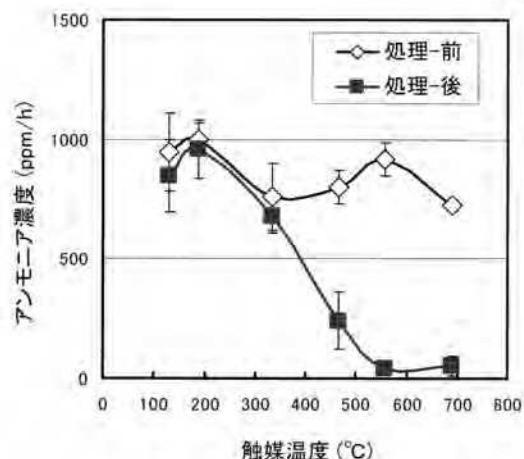


図-35 小型堆肥化実験装置から発生したアンモニアの分解

質の分解には、これまでに用いたマイクロ波照射装置一台では処理しきれない。また、マイクロ波照射装置は高価(約200万円)である。今回、比較的低価格(一台約8万円)で、スケールアップが容易なセラミック電気管状炉をマイクロ波照射装置の代わりに用いて検討を行った。

セラミック電気管状炉で金属酸化触媒を加熱し、小型堆肥化実験装置で発生する悪臭(アンモニア)の分解を検討した。セラミック電気管状炉を用いた場合、金属酸化触媒の温度上昇に約60分を要したが、約500°C以上の温度で小型堆肥化実験装置から発生する高濃度のアンモニア(約1,000ppm/h)を完全に分解できることが示された(図-35)。セラミック電気管状炉は温度が一旦上がると、安定して長時間使用することができた。

次に、この分解装置を実際の堆肥舎に設置して実験を行った。堆肥舎の吸引機能の容量から算出し、分解装置を3台並列に設置して検討を行った。その結果、図-36に示すごとく発酵ブドウ搾り滓の添加によっても除去しきれない悪臭(アンモニア)を完全に分解すること

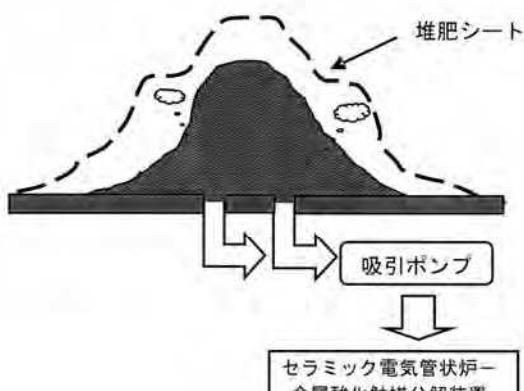


写真-14 堆肥シートで被覆した堆肥

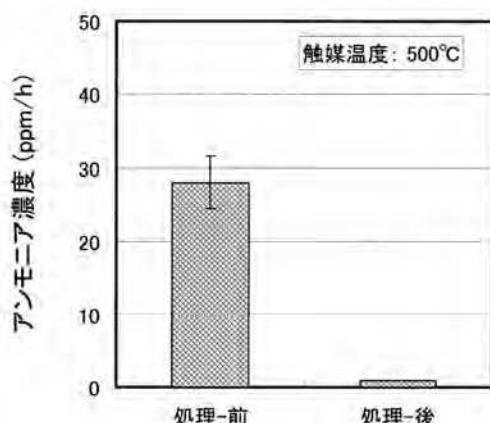


図-36 堆肥舎での堆肥発酵時に発生した臭気の分解

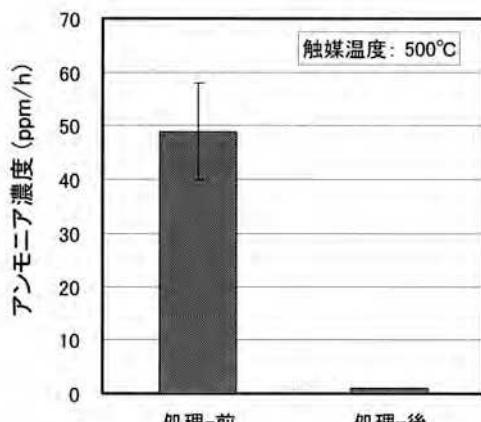


図-37 堆肥シートで被覆した条件での悪臭分解

ができた。

また、悪臭物質の吸引効率を上げるために、堆肥シートで堆肥を覆い、同様の検討を行った。図-37に示すごとく、この場合においても発生したアンモニアをほぼ完全に分解することができた。

4. 考察・今後の展望

今年度で本研究は終了となる。これまでに畜産農家で実際に使える技術を提案することを目的として本研究を行ってきた。ブドウ搾り滓を豚ふんに加えることによる悪臭低減効果は、再現性があり実用化できると考えられる。以下にこの研究の考察および今後の展望を記す。

○豚ふんは畜産農家から一年中コンスタントに発生する。一方、ブドウ搾り滓はワイン製造が行われる時期にしか発生しない。そこで、ブドウ搾り滓を低コストで一年中保存する技術が必要となる。昨年度、冷凍ブドウ搾り滓と発酵ブドウ搾り滓で悪臭低減効果に差がないことを明らかにした。今回、発酵ブドウ搾り滓を分析した結果、糖が分解して有機酸が合成されpHが減少していることが示された。このことにより、ブドウ搾り滓の保存性が高くなり、一年中ブドウ搾り滓の供給が可能になることが示された。この技術は、ブド



写真-15 圧搾機から回収された甲州の搾り滓

ウドリ澤を肉牛に飼料として与えている牧場でも使われている。

○ブドウ搾り滓には白ワインの製造過程で生じるものと赤ワインの製造過程で生じるものがある。我々は「甲州」ブドウを原料にして白ワインの作製過程で生じるブドウ搾り滓を用いて検討を行ってきた。残念ながら、三年間の研究でブドウ搾り滓の種類の違いを検討することはできなかった。今後、山梨県のワインの銘柄別生産量や悪臭低減放線菌の増殖促進効果、ポリフェノール類の含量等を総合的に検討して、最も適したブドウ搾り滓を検索することも必要となるかもしれません。

○豚ふんにブドウ搾り滓を加え堆肥を発酵させると、豚ふんのみで発酵させた場合に比べ、悪臭低減作用が認められた二種類の放線菌 (*Thermobifida fusca* と *Saccharomonospora viridis*) の増殖が促進していることが明らかとなった。この二つの放線菌はブドウ搾り滓に含まれていないことを確認している。従って、ブドウ搾り滓中にはこれら二種類の放線菌の増殖を促進する化学物質が含まれている可能性が考えられた。

○*Thermobifida fusca*と*Saccharomonospora viridis*の悪臭低減作用のメカニズムに関しては、今回の検討で明らかにすることはできなかった。推定できるメカニズムとして、これらの放線菌が豚ふんに含まれている尿素をアンモニアに変換する酵素（ウレアーゼ）の阻害作用を示す抗生物質を生産する可能性などがある。将来、放線菌のメタボローム解析に関する研究によって明らかにされるに違いない。

○豚ふんにブドウ搾り滓を加えなくても、直接 *Thermobifida fusca* 胞子懸濁液あるいは *Saccharomonospora viridis* 胞子懸濁液を加えることにより悪臭の発生を低減することができた。これらの放線菌を豚ふん中で確実に増殖させる技術の研究が進めば、これらの菌を堆肥作製時に加えるだけで悪臭を低減できる新技術となるかもしれない。

○豚ふん+ブドウ滓堆肥中で確認された *Saccharomonospora viridis* と豚ふん+ブドウ滓堆肥を施用した土壤で認められた *Saccharomonospora viridis* が同一の菌株であるか rep-PCR で解析した結果、同一の菌株であることが確認された（データ省略）。従って、堆肥中の放線菌が土壤に定着することが明らかとなつた。

○ブドウ搾り滓添加によっても低減しきれない悪臭を、セラミック電気管状炉を用いた金属酸化触媒式分解装置で完全に分解することができた。セラミック電気管状炉はマイクロ波発生装置よりコストを安く、かつ処理量を多くすることが容易で、実際の堆肥舎での成績も良好であった。今後、この分解装置を堆肥の発酵期間中に連続運転するのか、あるいは、切り返し前後に単発的に運転するのかなど、運転の仕方について現場で畜産農家の人に交えて検討する必要がある。

○豚ふんとブドウ搾り滓で堆肥をいくら作っても、栽培農家が使ってくれなくては、何もならない。この堆肥におけるスイートコーンとナスへの施肥効果を検討し

写真-16 平成21年度やまなし産学官連帯研究交流事業研究公開での発表が山梨日日新聞で紹介された

た結果、スイートコーンとナスの生長に特に良いと言う結果は得られなかった。しかし、土壤中の放線菌やバクテリアの数と種類を増やすことは認められた。この特徴をアピールして栽培農家に使ってもらうことが今後の課題である。また、「やまなしワイン堆肥」などのネーミングで、一般家庭菜園用の製品としてマーケットを開拓することも必要であろう。

○ブドウ搾り滓の悪臭低減効果を、豚ふん以外の牛ふんや鶏ふんについて検討することはできなかった。放線菌の悪臭低減メカニズムがはっきりしていないため、牛ふんや鶏ふんに対する効果を予想することはできない。もし、牛ふんや鶏ふん中に放線菌の悪臭低減効果を阻害する物質が含まれていなければ、その効果は十分に期待できると考えられる。ただし、原料となるそれぞれの動物のふんに対するブドウ搾り滓の添加割合の検討が必要であろう。

○これらの三年間の研究成果を基に、今後は行政と農業・畜産関連の普及センターとが連携して、畜産農家・栽培農家への普及活動を進めていくことが望まれる。

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。これらの一一部は飼料、滓とりプランタ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。そこで、このブドウ搾り滓に着目し、これらを豚ふんを原料として作られる堆肥の発酵過程に加えた。その結果、発酵過程で発生する悪臭を低減することができた。そして、完成した堆肥の施肥効果は他の堆肥と比べ劣ることはなかった。ブドウ搾り滓を豚ふんに加えることにより悪臭低減作用のある放線菌 (*Thermobifida fusca* と *Saccharomonospora viridis*) が多く増殖し、悪臭の低減に寄与していることが明らかとなった。また、ブドウ搾り滓を焼却処理することと比較すると、ブドウ搾り滓を豚ふんに加え堆肥化することは、地球温暖化防止に役立つことが示された。

6. 謝 辞

ブドウ搾り滓を快く提供してくださいました中央葡萄酒株式会社および小林牧場には厚く御礼申し上げます。堆肥発酵過程の切り返しにおいて、重機（ホイルローダー）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中山三男氏、深沢 豊氏、宮川千加雄氏、永井 豊氏、平澤祥司氏には大変お世話になりました。片山 努研究員、赤尾友雪研究員には堆肥作製において適切なアドバイスをしていただきました。環境科学

研究所の半田さおりさん、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ポリフェノール類の分析においてお世話になりました。ブドウ搾り滓中の有機酸分析においては、山梨県ワインセンターの原川 守特別研究員、恩田 匠研究員、小松正和研究員に御協力をしていただきました。心から感謝致します。また、ライシメーターでのスイートコーンとナスの栽培試験では、総合農業技術センターの長坂克彦研究員、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していただきました。御礼申し上げます。山梨大学大学院医学工学総合研究部の山村英樹助教、大学院生の落合知君、川良香さん、功刀伸夫君にも協力をしていただきました。ありがとうございました。

最後に、研究開始一年目・二年目において研究分担者として研究に従事してくれた環境科学研究所齊藤奈々子元研究員、富士工業技術センター高尾清利研究員（現在、工業技術センター主任研究員）、畜産試験場高橋照美研究員（現在、中北林務環境事務所主任）にも御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 長谷川達也、森智和、齊藤奈々子、高橋照美、山崎修平、上垣良信、高尾清利、御園生拓、金子栄廣、早川正幸：ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発。山梨県総合理工学研究機構研究報告書第3号、53-64、2008
- 2) 長谷川達也、森智和、吾郷健一、高橋照美、山崎修平、上垣良信、寺澤章裕、御園生拓、金子栄廣、早川正幸：ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発（その2）。山梨県総合理工学研究機構研究報告書第4号、11-27、2009
- 3) 小松正和、中山忠博、恩田匠、上垣良信、鈴木幾雄、莊富盛、久本雅嗣、奥田徹、前島善富：甲州種ワインの高品質化に向けた栽培・醸造技術に関する研究、平成20年度山梨県工業技術センター研究報告、38-44、2009
- 4) 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
- 5) 川良香：家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術に関する研究、山梨大学大学院医学工学総合教育部（工学領域）平成21年度修士論文、2010
- 6) 石黒辰吉：臭気の測定と対策技術、オーム社、2002
- 7) 日本国土協会編：堆肥等有機物質分析法、2000
- 8) 功刀伸夫：圃場における豚ふん堆肥の施用効果お

- および微生物の多様性に関する研究, 山梨大学大学院医学工学総合教育部(工学領域) 平成21年度修士論文, 2010
- 9) 土壤微生物研究会編: 新編 土壤微生物実験法, 養賢堂, 1992,
- 10) 日本生化学会編集: 新生化学実験講座 微生物実験法, 化学同人社, 1992
- 11) El-Azouni, L.M.: Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of Soybean (*Glycine max* L.) plants, *J. Appl. Scienc Res.*, 4: 592-598, 2008
- 12) Zhu, P., Yang, X., Xu, Y., Ouyang, H. and Shen, Q.: High effective phosphate-solubilizing bacteria: Their isolation and promoting effect on corn seedling growth. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 18: 107-112, 2007
- 13) 長田隆: 家畜排泄物からの環境負荷ガスの発生について, 日本畜産学会報, 72: 167-176, 2001
- 14) 長田隆: 豚のふん尿処理に伴う環境負荷ガスの発生, 畜産草地研究所研究報告, 2: 15-62, 2002
- 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
- 17) 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
- 18) 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
- 19) 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
- 20) 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
- 21) 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
- 22) 伊坪徳宏, 稲葉敦: ライフサイクル環境影響評価手法 LIME: LCA, 環境会計, 環境効率のための評価手法・データベース, (社)産業環境管理協会, 2005

- 2) 川良香, 山村英樹, 御園生拓, 金子栄廣, 早川正幸, 長谷川達也, 森智和, 吾郷健一, 高橋照美, 菊嶋敬子, 山崎修平, 上垣良信, 寺澤章裕 (2010) ブドウ搾り滓を添加した豚ふんの堆肥化における放線菌相の解析. 日本農芸化学会2010年度大会(東京)
- 3) 功刀伸夫, 山村英樹, 御園生拓, 金子栄廣, 早川正幸, 長谷川達也, 森智和, 吾郷健一, 高橋照美, 菊嶋敬子, 山崎修平, 上垣良信, 寺澤章裕 (2010) ブドウ搾り滓添加堆肥の施用効果と土壤微生物相の解析. 日本農芸化学会2010年度大会(東京)
- 4) 吾郷健一, 森智和, 長谷川達也, 山崎修平, 川良香, 山村英樹, 御園生拓, 金子栄廣, 早川正幸 (2009) ブドウ搾り滓を用いた豚ふん堆肥化過程におけるアンモニア発生抑制. 第20回 廃棄物資源循環学会(名古屋)
- 5) 川良香, 山村英樹, 御園生拓, 金子栄廣, 早川正幸, 長谷川達也, 森智和, 吾郷健一, 高橋照美, 菊嶋敬子, 山崎修平, 上垣良信, 寺澤章裕 (2008) ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発—ブドウ搾り滓添加堆肥の発酵に関する放線菌相の解析と悪臭発生抑制作用の検証—. 平成21年度 やまなし産学官連携研究交流事業 研究公開(甲府)
- 6) 功刀伸夫, 山村英樹, 御園生拓, 金子栄廣, 早川正幸, 長谷川達也, 森智和, 吾郷健一, 高橋照美, 菊嶋敬子, 山崎修平, 上垣良信, 寺澤章裕 (2008) ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発—圃場におけるブドウ搾り滓添加堆肥の施用効果および微生物相の動態解析—. 平成21年度 やまなし産学官連携研究交流事業 研究公開(甲府)

論文発表

- 1) Hayakawa, M., Yamamura, H., Nakagawa, Y., Kawa, Y., Hayashi, Y., Misonou, T., Kaneko, H., Kikushima, N., Takahashi, T., Yamasaki, S., Uegaki, Y., Terasawa, A., Takao, K., Mori, T., Ago, K., Saito, N. and Hasegawa, T. (2010) Taxonomic diversity of actinomycetes isolated from swine manure compost. *Actinomycetologica*, in press

成果発表状況

学会発表

- 1) 長谷川達也 (2008) ブドウ搾り滓を利用した堆肥の悪臭低減化技術と堆肥中の重金属の挙動. 第12回 MTKO MICE研究会(熱海)