

原 著

ワイン粕サイレージ由来乳酸菌含有飼料を与えた豚の排せつ物の たい肥化時に観察された臭気発生と発酵遅延

古屋元宏^{1*}・五味敬子²・乙黒美彩³・長田 隆⁴

¹山梨県畜産酪農技術センター, 山梨県中央市, 409-3812

²山梨県総合農業技術センター, 山梨県甲斐市, 400-0105

³山梨大学ワイン科学研究センター, 山梨県甲府市, 400-0005

⁴国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構, 茨城県つくば市, 305-0901

*現所属:山梨県東部家畜保健衛生所, 山梨県笛吹市, 406-0034

要約 ワイン粕から分離した乳酸菌(LAB)含有飼料の給与が、豚排せつ物たい肥化時における発酵や臭気発生、温室効果ガス(GHG)インベントリに關与するアンモニア(NH₃)排出係数に及ぼす影響を検討した。本研究では、2通りの飼養形態を想定し、ふん尿混合(実験Ⅰ)とふん尿分離(実験Ⅱ)の条件で試験を行った。各試験において、飼料にLABを10⁷個/gFM添加給与した試験区と無添加の対照区を設定し、両区の豚排せつ物を回収し、オガ屑で水分60%としてたい肥化に供した。結果として、実験Ⅰは試験区の初期昇温が対照区に比べ緩慢だったものの、3週から典型的な好氣的発酵となり区間に差は見られなかった。一方、実験Ⅱの試験区は原料ふん中の有機酸が生成され、臭気ガスとして揮発性脂肪酸(VFA)が持続的に発生し、遅れて18週に発酵開始した。NH₃排出係数は、実験Ⅰで試験区が対照区よりやや低かったが、2015年日本国GHGインベントリ報告書(NIR)に示された排出係数より両区とも高かった。実験Ⅱは試験区が対照区より高かったが、NIR基準と同程度であった。NH₃抑制には、ふん尿分離が重要であると再確認できたが、LAB添加による臭気低減効果は確認できず、特にふんのみのたい肥化に利用した場合には有機酸生成にともなうpH低下によって発酵遅延やVFA発生を助長する結果となった。

キーワード: アンモニア、揮発性脂肪酸、豚排せつ物たい肥、乳酸菌、発酵遅延

受領日: 30.09.2021. 受理日: 20.01.2022.

日本畜産環境学会会誌 No.21(1) pp1-13. 2022

緒 言

日本の狭い国土においては農業地と住宅地の混在化が進み、畜産業に起因する環境問題は年々深刻化している[10]。養豚業では豚排せつ物に由来する悪臭への苦情が多い。特に排せつ物をたい肥化处理する際に発生する高濃度臭気

の抑制は近隣と共存するうえで大きな課題となっている。加えて、地球規模の観点では温室効果ガス(GHG)が取り沙汰され、少量でも大きな温室効果を有する一酸化二窒素の前駆物質であるアンモニア(NH₃)の発生量の低減が求められている[3,11]。

一方、ワイン醸造過程で排出されるワイン粕の有効利用の一つにたい肥利用があるが、ワイン粕と畜ふんを混合してたい肥化処理する生産現場において、臭気の軽減とともに発酵期間延長等の現象が感覚的であるが観察されている。長谷川らはワイン粕の副資材的利用による豚ふんたい肥化時の臭気低減を報告[6]しており、ワイン粕自体やそれに含まれる乳酸菌(LAB)[9,12]が発酵状態や臭気発生に関与している可能性がある。

そこで、本研究ではワイン粕サイレージ中に見出したLABに着目し、豚への経口給与によってその排せつ物処理時に同様の現象が発現するか確認するため、LAB添加飼料を給与した豚の排せつ物をたい肥化し、発酵状態および揮散する臭気濃度を比較検討した。供試菌株はワイン粕から分離した菌株のうち、配合飼料中乾燥状態での生存性に優れた候補株[9,12]を選択した。本試験では養豚現場で取り組まれる2通りの飼養形態を鑑み、ふん尿混合処理と、尿を自然分離したふん処理の2とおりの実用規模実験とした。さらに、 NH_3 についてはGHG発生の指標となる排出係数を算出し評価した。

材料および方法

1. 乳酸菌(LAB)添加飼料の調製

LABは、約半年間バンカーサイロで貯蔵したワイン粕サイレージから分離し、熱安定性および酵素安定性を有する菌株のうち、配合飼料中での生存性の高い候補株(*Weissella* 属、6S35M314株)[9,12]を選抜して用いた。

飼料は市販の豚肥育後期用飼料(TDN78.0%以上、CP12.0%以上)をベースとした。LABは培養菌液を飼料に段階的に予備混合し、市販の乳酸菌資材(NSバイオジャパン(株)製NS乳酸菌)を参考に、これを指定の使用法で飼料添加したものと菌数が同じ 10^7 個/gFMとなるように調製した。

2. 供試豚

豚は同時期生まれのフジザクラDB種の肥育

後期豚48頭を用いた。平床豚房に24頭(ふん尿混合処理;実験Ⅰ用)とスノコ式豚房に24頭(ふん尿分離処理;実験Ⅱ用)を飼養し、それぞれを半分の12頭ずつに群分けしてLAB無添加(対照区)と添加(試験区)の2種類の飼料を給与した。

3. たい肥化実験

実験は山梨県畜産酪農技術センター内の環境試験用ハウス(寸法;間口7.5×奥行15.0×軒高4.0m、盤コンクリート敷床(6.5×15.0m、約100 m^2)、遮光フィルム被覆パイプハウス式屋根)内で行った。

実験Ⅰでは、コンクリート平床豚房で飼育する両区の豚の尿をオガ屑に吸着させたふん尿混合物を朝夕の2回/日、用手回収貯蔵し、オガ屑を副資材として均一に用手混合し、それぞれ約800kg(含水率約60%、容積重:対照区669 kg/m^3 、試験区591 kg/m^3)の初発混合堆積物とした。これをコンクリートパネルを敷いたたい肥舎床面に、円錐形に堆積して自然通気式堆積発酵とした。切返しは、手動的に4週までは週に1回、それ以後は2週に1回実施した。

実験Ⅱでは、スノコ床(鋼鉄製、板幅8.5cm、隙間2.5cm)豚房で飼育する両区の豚の尿を自然分離したふんのみを回収して、それぞれ約400kg(調整前含水率約73%⇒調整後約60%、容積重:対照区529 kg/m^3 、試験区536 kg/m^3)の初発混合堆積物とし、実験Ⅰと同様にたい肥化を行った。

たい肥化期間は実験Ⅰ、Ⅱとも初発から11週(切返し後に昇温しなくなった段階)を基本とし、発酵の遅延が認められた区は26週まで延長した。実験期間は10月～翌1月(延長は5月まで)とした。

発酵温度はワイヤレスサーモレコーダー(ESPEC(株)製RTW-31S)、外気温湿度はワイヤレスデータロガー((株)T&D製RTR-503)を用い、1時間毎に記録した。発酵温度はたい肥中心の底部から2/3高の位置とした。

たい肥の成分分析は切返しのたびに行い、堆積重量、含水率、有機物含量(VS)、pH、電気伝導度(EC)、全窒素(T-N)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$

N、C/N 比、BOD、有機酸含量を測定した。たい肥重量は動物用体重計(GALLAGHER 製 Smart Scale 200)とコンパネで作成した荷台を用い計量した(写真1)。含水率、VS、ケルダール窒素は土壤環境分析法[2]にしたがって測定した。T-N はケルダール窒素分析値に $\text{NO}_2\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ を加算した値を採用した。C/N 比は初発および終了時に乾式燃焼法により全炭素を求め算出した。pH および EC は 10 倍量抽出液を pH/EC 計(HANNA Instruments Japan(株)製 HI-1282)を用い測定した。BOD は圧力センサー式 BOD 測定器((株)ACTAC 製 BOD センサーシステム6)を用い、溶存酸素の減少による容器内圧力変化を酸素消費量に変換し測定した。

新鮮ふんおよびたい肥化過程物の有機酸(乳酸、酢酸、プロピオン酸、 n -酪酸、 n -吉草酸)含量の測定は以降の方法で行った。新鮮ふんは試験飼料給与前、給与中の2および4週に豚の肛門から採取し、たい肥化過程物は初発、2、4、6、10週に採取した。これらの一定量からの抽出溶液をブランチング処理(80°C 、30 分)、振盪抽出した抽出液を遠心分離(2,000rpm、10 分)し、得られた上清を孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過した試料溶液を高速液体クロマトグラフ((株)島津製作所製有機酸分析システム、Sim-pack SCR-102H カラム2連、Sim-pack SCR-102H ガードカラム、溶離液 5mmol/L p -トルエンスルホン酸、反応液 5mmol/L p -トルエンスルホン酸・ $100\ \mu\text{mol/L}$ EDTA・ 20mmol/L Bis-Tris、オーブン 45°C 、流速 0.8ml/分 、CDD-10A 検出器)での分析に供した。

4. 捕集方法と NH_3 測定方法

発生ガスの捕集は、前報[4]に準じた方法で実施した。すなわち、円錐形に堆積したたい肥を捕集チャンバーで被覆し、常時定量吸引換気する排気経路から光音響マルチガスモニター(LumaSense Technologies 製 INNOVA-1412-5i)に導き、 NH_3 濃度について1時間に1回測定した。



写真1. たい肥重量測定用機材

*上/コンパネ平板に荷こぼれ防止木枠を組み合わせた積載箱。下/枠を外し電子秤での測定風景

5. その他の臭気物質測定方法

揮発性脂肪酸(VFA)は週に1回、捕集チャンバーから常時定量吸引換気する排気経路内排気を臭気測定公定法[8]にしたがって、プロピオン酸(P)、 n -酪酸(n -B)、 i -吉草酸(i -V)および n -吉草酸(n -V)についてガスクロマトグラフ((株)島津製作所製 GC-8A、 $3\phi \times 1.6\text{m}$ カラム(Carbopack B 60/80 mesh ($0.3\%\text{FFAP}+0.3\%\text{H}_3\text{PO}_4$), $80 \Rightarrow 200^\circ\text{C}$ 昇温)を用い測定した。同様にして硫黄化合物は硫化水素(H_2S)、メチルメルカプタン(MM)、硫化メチル(DMS)、二硫化メチル(DMDS)についてガスクロマトグラフ((株)島津製作所製 GC-14B、 $3\phi \times 3.0\text{m}$ カラム、 β - β -ODPN (Chromosorb W 80/100 mesh)、 70°C 定温)を用い測定した。臭気指数は週毎に塩ビ管内排気を畜環研式ニオイセンサー(NEW COSMOS ELECTRIC(株)製 XP-329ⅢR)により測定した。

表1. 乳酸菌添加飼料給与前と給与中の排せつ直後の新鮮豚ふん中の有機酸含量およびpH

			Experiment I			Experiment II		
			before addition	add for 2 weeks	add for 4 weeks	before addition	add for 2 weeks	add for 4 weeks
Lactic acid	Cont		0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00
	(mg/g)	Test	0.21	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00
Acetic acid	Cont		5.83	6.55	12.05	6.38	4.83	4.31
	(mg/g)	Test	5.40	6.66	6.10	4.74	4.90	3.79
Propionic acid	Cont		2.96	4.15	4.38	5.58	2.93	2.53
	(mg/g)	Test	3.05	2.61	4.11	2.44	2.85	2.75
n-Butyric acid	Cont		2.23	3.08	4.67	4.90	2.26	2.13
	(mg/g)	Test	2.41	1.87	3.51	2.08	2.56	2.04
n-Valeric acid	Cont		0.64	0.69	1.28	1.71	0.79	0.55
	(mg/g)	Test	0.90	0.70	1.50	0.75	0.75	0.61
pH	Cont		6.67	6.50	6.67	6.54	6.09	6.45
	Test		6.61	7.18	6.59	6.87	6.02	6.32

6. NH₃ガス排出係数

NH₃排出係数は土屋ら[15]と同様の方法でNH₃の揮散量はチャンバー換気量の1時間平均値(m³/hr)と、吸気と排気中の濃度測定値(mg/m³)から1時間の発生量を次式により算出した。

$$\text{NH}_3\text{ガス発生量(mg/hr)} \\ = ([\text{排気中濃度 mg/m}^3] - [\text{吸気(外気)中濃度 mg/m}^3]) \times \text{換気量(m}^3\text{/hr)}$$

さらに、NH₃発生量に総測定時間を乗じて算出した総排出量を、初発ふん中窒素量で除した値を排出係数とした。

7. 統計解析

各実験区の測定値を反復測定分散分析によりF値を検定した。解析には統計ソフトR(R Development Core Team 製)[13]を用いた。

結 果

1. たい肥化実験

表1に実験I、IIの供試豚から得られたLAB添加飼料給与前と給与中の新鮮豚ふん中の有機酸含量およびpHを示した。実験I、IIのいずれも対照区との比較、給与前と給与中の比較において差はなく、一定の傾向は認められなかった。

図1に実験I、IIのたい肥化過程における発酵温度の推移を示した。実験Iでは、初発にお

ける試験区の昇温がやや遅れたものの、対照区および試験区とも典型的な発酵となり、3～6週にかけてピーク温度は70℃近くに達した。7週以降は切返し後の昇温が鈍り、11週でたい肥化を終了した。

実験IIでは、実験Iと同様に典型的な発酵となった対照区に対し、試験区は初期に昇温せず、1週から数度切返したが低温のまま推移した。その後、17週に昇温が見られ、25週にかけて切返し直後に温度ピークが現れる好気性発酵が観察され、27週でたい肥化を終了した。

実験I、IIの初発と終了時のたい肥化の状況を表2に、また、たい肥化過程における含水率、pHおよびECの推移を図2に示した。pHは実験I、IIとも初発から終了時にかけて試験区が有意($P<0.05$)に低く、実験Iで対照区6.70⇒8.70、試験区6.26⇒8.64に上昇し、実験IIで対照区5.78⇒8.86、試験区5.38⇒5.09⇒8.64となり、試験区は14週まで5.5以下で推移したが、26週終了時には8.64まで上昇した。ECは実験I、IIともたい肥化終了時に試験区が有意($P<0.001$)に低く、推移は実験Iではいずれの区も横這いであったが、実験IIでは対照区5.56⇒2.58 mS/cm、試験区5.64⇒1.59 mS/cmと低下した。たい肥化終了時にNH₄-Nは実験Iでは両区とも全体的に

乳酸菌給与豚ふんたい肥発酵遅延

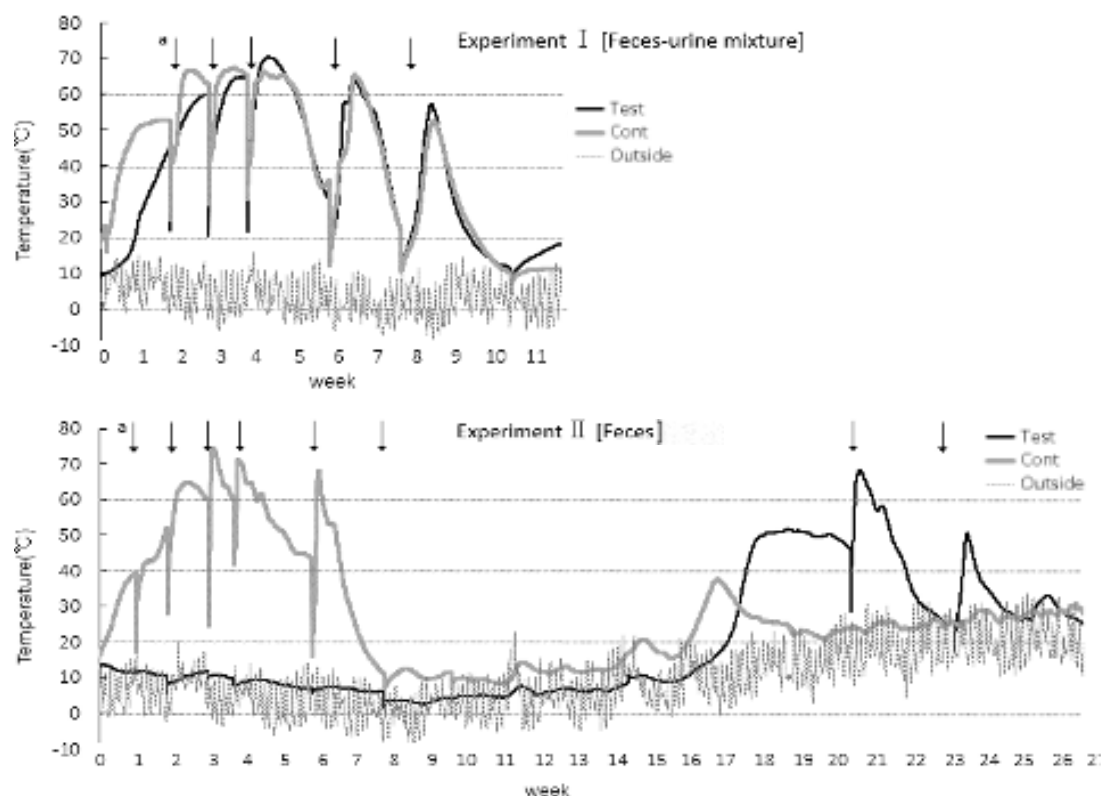


図1. たい肥化過程における発酵温度の推移
* a↓: 切返し, * 下図: 発酵遅延したため調査期間を延長

表2. たい肥化の状況

		Experiment I [Feces-urine mixture]					Experiment II [Feces]				
		Control		Test			Control		Test		
Progress days	(week)	Ini	Fin	Ini	Fin		Ini	Fin	Ini	Fin	
		0w	11w	0w	11w	26w	0w	11w	0w	11w	26w
		(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a	(SD) ^a
Moisture	(%)	59.7	49.0	60.0	49.7	-	57.6	32.1	62.1	53.0	25.1
		(2.0)	(1.3)	(0.7)	(0.3)		(1.2)	(1.6)	(2.6)	(1.8)	(0.3)
VS	(%)	33.9	40.9	34.3	41.4	-	38.3	54.1	33.3	40.8	65.6
		(1.7)	(1.3)	(1.0)	(0.7)		(3.2)	(1.2)	(2.8)	(1.8)	(1.3)
T-N	(%/DM)	3.3	2.4	2.9	1.5	-	3.1	3.1	4.5	2.9	3.2
pH		6.70	8.70	6.26	8.64	-	5.78	8.86	5.38	5.09	8.64
		(0.02)	(0.01)	(0.03)	(0.02)		(0.02)	(0.02)	(0.08)	(0.05)	(0.01)
EC	(mS/cm)	1.92	1.93	1.58	1.62	-	5.56	2.58	5.64	2.34	1.59
		(0.01)	(0.01)	(0.02)	(0.02)		(0.02)	(0.01)	(0.01)	(0.04)	(0.02)
C/N		14.1	18.1	17.0	29.3	-	16.4	14.8	11.1	17.5	14.7
NH ₄ -N	(mg/kgDM)	3,210	1,307	3,600	1,481	-	7,846	2,029	10,317	8,616	1,778
NO ₂ -N	(mg/kgDM)	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NO ₃ -N	(mg/kgDM)	5.2	60.7	2.2	13.1	-	151.9	183.1	18.9	22.0	184.3
BOD	(mgO ₂ /gDM)	15,055	535	14,987	898	-	10,917	2,371	14,010	14,148	3,693
		(2,751)	(457)	(1,112)	(195)		(796)	(333)	(449)	(150)	(255)
Weight	(gross kg)	803	404	710	425	-	404	179	435	431	215
	(%) ^b		[50]		[60]			[44]		[99]	[49]
Volume weight	(kg/m ³)	669		591			529		536		

^a (SD) ; 標準偏差, n=3. *Ini ; 初発, Fin ; 終了時 ^b[%] ; 残存率

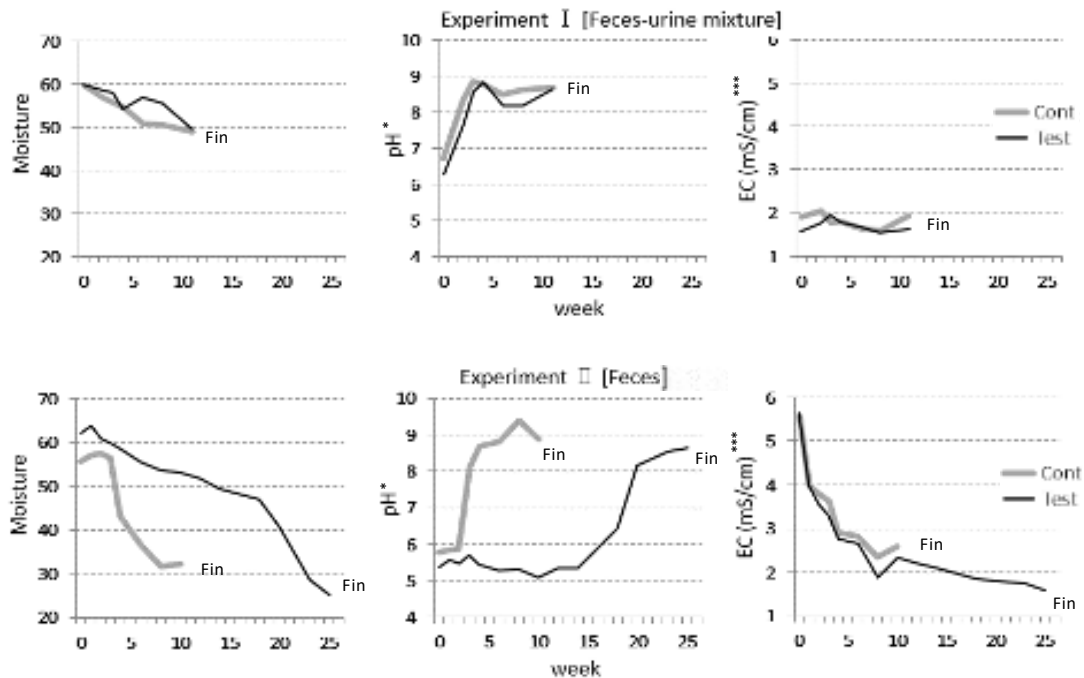


図 2. たい肥化過程における含水率, pH, ECの推移
*区間に有意差あり (*P<0.05, ***P<0.001)

低く、推移としては対照区 3,210⇒1,307 mg/kgDM、試験区 3,600⇒1,481mg/kgDMの低下を示し、実験Ⅱでは両区とも初発で全体的に高いものの、その推移としては対照区 7,846⇒2,029 mg/kgDM、試験区 10,317⇒8,616⇒1,778mg/kgDM まで低下した。容積重は初発のみの計測で、800kg 規模の実験Ⅰで対照区 669kg/m³、試験区 591 kg/m³、400kg 規模の実験Ⅱで対照区 529 kg/m³、試験区 536 kg/m³となり、実験規模が大きく自重が掛かる実験Ⅰのほうが容積重は高めであった。このほか、含水率は初発から終了時にかけて低下したが、実験Ⅱのほうが低下率は大きかった。VSはいずれの区も緩やかに上昇、T-Nは緩やかに減少、C/N比は実験Ⅰの試験区で終了時に 29.3 と高値を示した以外は概ね 11～18 程度の低値で推移した。NO₂-Nはいずれの区においても検出されなかった。NO₃-Nは実験Ⅰに比べ実験Ⅱのほうが全体的に高く、いずれの区も初発から終了にかけて増

加した。BODは各区ともたい肥化の進行とともに減少したが、実験Ⅱの終了時は対照区 2,371mgO₂/gDM、試験区 3,693 mgO₂/gDM と高かった。実験Ⅰ、Ⅱともたい肥重量は初発に比べ終了時 44～60%まで減少した。

2. 臭気発生状況

図3にたい肥化過程における NH₃、VFA、硫黄化合物の臭気発生状況および臭気指数の推移を示した。NH₃は、実験Ⅰでは対照区のたい肥化初期に約350ppmと急激に発生し、試験区はやや遅れて 200ppm 強のピークが現れた。実験Ⅱでは対照区の初期に 100ppm 弱の発生があったが、試験区は 16 週まで全く発生なく経過し、発酵が始まった 17 週から発生し始め 26 週まで数十～60ppm 程度の持続的な発生となった。VFAは、実験Ⅰでは両区とも初期にのみ発生し試験区が高濃度となった。一方、実験Ⅱでは対照区でたい肥化初期のみ発生し、試験区でたい肥化期間中に持続的に発生し、n-Vは有意に高濃度であっ

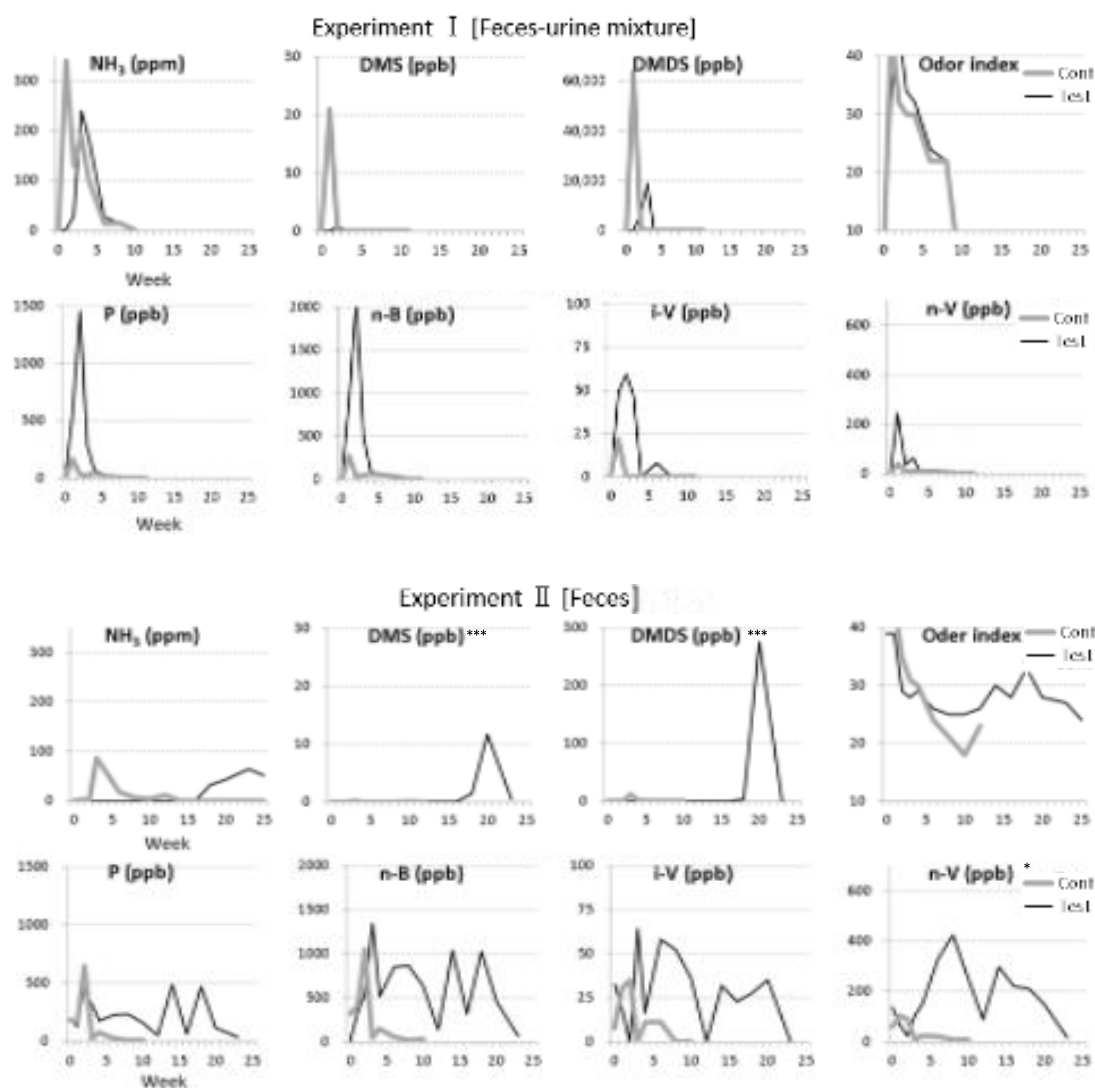


図3. たい肥化過程におけるアンモニア, 低級脂肪酸, 硫黄化合物, 臭気指数の推移
区間に有意差あり($P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

た。硫黄化合物は、実験Ⅰでは対照区の初期にDMDSが高濃度に発生し、実験Ⅱでは対照区で初期にわずかに発生し、試験区は遅延した発酵に同調して20週辺りをピークとしDMS、DMDSが有意($P < 0.001$)に高濃度で発生した。また、H₂SおよびMMはいずれの区も極低レベル濃度で推移した。臭気指数は、実験Ⅰでは両区とも初期に高く、たい肥化進行にともなって低下し、実験Ⅱでは試験区で15週以降の後半まで高値を示した。

図4にたい肥化過程物中の有機酸含量の推移

を示した。実験Ⅰでは対照区に比べ試験区の乳酸は初発に低く、酢酸は4週目に高く、P、n-B、n-Vは初発から終了時にかけての減少率が緩やかであった。実験Ⅱでは実験Ⅰとはほぼ同様に推移した対照区に比べ、試験区は乳酸、酢酸、P、n-B、n-Vは初発から10週まで減少せず横這いで推移した。

3. NH₃ガスの排出係数

実験Ⅰ、Ⅱの各区におけるNH₃の排出係数を表3に示した。実験Ⅰでは対照区30.1%に比べ試

乳酸菌給与豚ふんたい肥発酵遅延

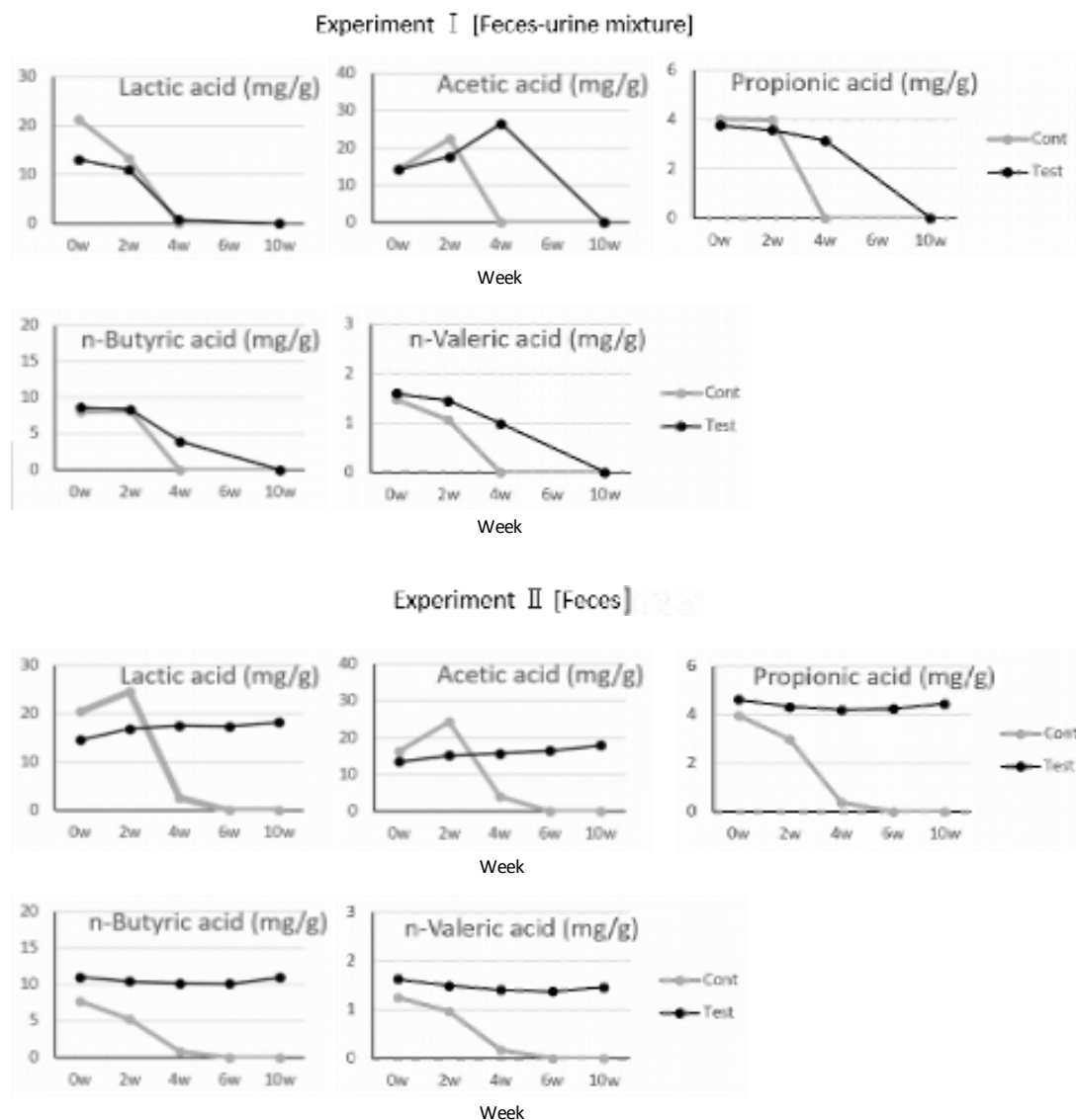


図4. たい肥化過程物中の有機酸含量の推移

表3. アンモニア排出係数

		NH ₃ -N %gNH ₃ -N/gTN
Experiment I [Feces-urine mixture]	Control	30.1
	Test	29.5
Experiment II [Feces]	Control	17.9
	Test	21.5
NIR2015* Pig manure composting		
[Feces-urine mixture]		24.2
[Feces]		19.7

* National GHG Inventory Report of JAPAN (2015)

験区は 29.5%と同程度であった。実験Ⅱでは対照区 17.9%に比べ試験区は 21.5%と高くなった。

考 察

1. たい肥化および臭気発生状況

LAB の飼料添加が豚の腸内環境に影響を及ぼし新鮮ふんの有機酸含量が変化すると想定したが、実験Ⅰ、Ⅱとも想定した傾向は見出せなかった。また、本実験では給与開始から4週までの新鮮ふんを測定対象としたため、4週以降の新鮮ふん pH に対する LAB の影響については推測の域をでない。供試菌株は植物表面や植物発酵食

品に存在し、ヒトや動物消化管中の最優勢 LAB の一種(*Lactobacillales* 目 *Weissella* 属)で、一般に通過菌とされるが本実験で新鮮ふん中に当該目の増加傾向があったものの当該属の存在まで特定できなかった。新鮮ふんは豚の肛門を刺激して排便を促し、数頭分採取・混合したが、各区 12 頭の豚から毎回同個体での採取とはならなかった。仮に豚個体による LAB 摂取への反応に差があるとすれば、豚を個別に調査することも必要であったと考える。また、本研究ではたい肥化に供するまでたい肥舎に2週間ストックした間の原料ふんの性状変化の調査は実施できなかったが、たい肥化初発の試験区で pH5.5 前後であったことを考慮すると、ストック中に新鮮ふんの pH6~7 から低下したと考えられた。有機酸含量は全区ともたい肥化初発時に高く、生成が進んだと考えられる。たい肥化初発の試験区の P、n-B、n-V が高めとなっているが pH 低下の裏付けとするには実験例数を増やす必要がある。今後新鮮ふん採取方法に加え、採取期間の延長、LAB 添加濃度の設定等条件を広げ、新鮮ふんあるいは腸内の細菌叢、ストック期間中の変化まで調査項目に加え考察を深めたい。

たい肥化過程の成分値について、図3の pH に示すように実験Ⅱの試験区の初発 pH は 5.1~5.4 と低く、17 週付近まで pH6.0 以下で推移しており、図4のたい肥化過程の有機酸に示すように乳酸を始め有機酸が初発~10 週まで蓄積している。10 週以降は、発酵過程で酢酸を始めとする VFA を多く生成すると pH が低下し、長時間にわたってたい肥化の遅延が見られるとする北脇らの報告[7]に一致する。また、LAB 飲料摂取期間中のヒトのふん便 pH が低下するとの報告[1]もある。豚を使った本研究では、LAB の摂取により、排せつ後にたい肥化に供するまでの間にふん pH が低下することが初期のたい肥化発酵阻害に関与したと考えられた。北脇らによるとコンポスト返送や添加材の混合等による pH 上昇や酸の希釈によって発酵阻害を緩和できるとしており[7]、実験Ⅰ

は尿の混合によって元々の初発 pH が 6.2~6.7 と比較的高めであったため、低 pH による発酵阻害は起きなかったと考えられた。

表2から実験Ⅱの pH は初発から 11 週まで 5.5 以下で、硝化が進んでいないことから至適 pH が中性からアルカリ域となる硝化菌の活動が抑制されたものと推測された。実験Ⅱでは対照区と試験区の初発容積重を同程度としながらも初発含水率に 4.5%の差があったのは、含水率の測定ボリュームが 1kg 程度と小さかったことによるサンプリングの偏りが要因と思われた。また、終了時 BOD が残存していたことから、たい肥化によって含水率低下が進み発酵停止した可能性もある。試験区は初発の N が高く、C/N 比が低くなっていることから、今回微生物動態まで確認できなかったが、有機酸増加等たい肥化前のストック期間中に原料中の微生物が C をエネルギー利用し、N は有機化・無機化を繰り返し菌体タンパク質として残存させる代謝に利用したことも推察された。

発生臭気について、実験Ⅰでは、試験区では初発の NH_3 、DMDS が低く、VFA は初発時のみ発生した。これは、豚ふんと尿の混合において尿の添加量が多くなるほど VFA 揮散が抑制されるとの報告[14]と傾向が一致する。ふんのみを用いた実験Ⅱでは、有機酸濃度の高い試験区に発酵遅延が生じると、たい肥化序盤から中盤における NH_3 発生がなかった。これは発酵に適した pH は存在微生物により 6~8 付近とする報告[17]があり、たい肥化原料の pH がこれより低い場合は NH_3 揮散が抑えられること、pH5 および 6 では pH7 以上と比較し NH_3 発生が低くなったとする報告[16]、またワイン粕そのものを豚ふんと混合たい肥化するとワイン粕の生・サイレージに限らず 20%の混合で NH_3 が半減し、ワイン粕に含まれるポリフェノール類や微生物類の関与を示唆する報告[6]と傾向が一致する。一方、有機酸含量が高いため VFA が発生しやすく、遅れて開始した発酵では NH_3 、DMS、DMDS が発生する傾向があると考えられた。

2. NH_3 排出係数への影響

環境負荷ガスの一つである NH_3 ガスについて、GHG 発生量の評価に用いられる排出係数で比較した。ふん尿混合物を用いた実験Ⅰの排出係数は試験区でやや低かったが、国内の観測データをもとに設定された 2015 年日本国温室効果ガスインベントリ報告書(NIR)[5]表 5-38(家畜排せつ物からの揮散割合(畜舎・処理時))に示された排出係数 24.2%を基準に比較すると、いずれの区も5ポイント以上高い排出係数であった。これは NIR に示された排出係数がふん尿混合および分離すべての処理方式を含んでいるのに対し、実験Ⅰは NH_3 の発生しやすいふん尿混合のみに限定しているためと考えられた。一方、尿分離したふんのみを用いた実験Ⅱでは試験区のほうが高くなったが、両区とも実験Ⅰに比べ約3分の2の排出係数であった。 NH_3 発生を抑制するためには尿の分離が不可欠と考えられ、従来から家畜排せつ物処理において指導がなされている固液分離の重要性を再確認できた。豚ふんたい肥処理の NIR の値 19.7%を基準に比較してほぼ同程度であった。

以上の結果より、ワイン粕由来 LAB の飼料添加は、豚排せつ物のふん尿混合物のたい肥化では発酵や臭気発生に影響しなかった。一方、尿分離しふんのみの場合には LAB の飼料添加によりふんの pH 低下による発酵遅延が起こる可能性があり、初期～中盤の NH_3 発生はないが、不快度の高い VFA や硫黄化合物が高濃度に発生する恐れがあるなど、当初期待した臭気抑制は達成できず逆の結果となった。またいずれの処理方式であっても、LAB 添加が NH_3 排出係数に及ぼす影響はほとんどないと考えられた。

本研究で用いた乳酸菌は *Weissella* 属の1種類の菌株であったが、複数種の菌株を添加すれば異なる結果となったかもしれない。

現在、薬剤耐性対策として世界的に進められているワンヘルスの取り組みでは、ヒト以外の分野の研究も含め幅広い取り組みがなされている。養豚分野では抗菌剤の習慣的使用が見直され、

抗菌性飼料添加物の代替として生菌剤等の利用が推進されているが、本成績は場合によって生菌剤の飼料添加がたい肥調製時の悪臭発生につながる可能性を示唆すると同時に、ワイン粕由来 LAB を飼料添加した豚ふんをたい肥化する際には初発の pH や品温に注意を払い、発酵阻害を起こさない管理が必要であることを示した。

謝 辞

飼料添加用 LAB 液の調製にご尽力くださった山梨県産業技術センター(旧工業技術センター)食品酒類・バイオ科の長沼孝多主任研究員、佐藤憲亮研究員ほか同科職員の皆様に、また現場における豚の飼養管理、たい肥化作業全般にご尽力くださった山梨県畜産酪農技術センター(旧畜産試験場)養豚科の保坂和彦主任技能員ほか同科職員の皆様に心から感謝する。

付 記

本研究は山梨県総合理工学研究機構平成 26～28 年度研究課題「環境負荷を低減するための豚の飼料調整に関する研究」および国委託研究プロジェクト平成 27～28 年度「家畜ふん尿処理からの悪臭低減技術の高度化」の助成を受け実施した。

文 献

- [1]東 幸雅、伊藤和徳、大木篤史、井上明浩、井上 和 久、佐 藤 学、辨 野 義 己 (2001) *Lactobacillus gasseri* NY0509 および *Lactobacillus casei* NY0301 発酵乳酸菌飲料の健常成人のふん便内菌叢に及ぼす影響: 日本食品科学工学会誌:48(1):35-43.
- [2]土壤環境分析法編集委員会(1997)土壤環境分析法:博友社、東京.
- [3]Food and Agriculture Organization of the United Nations (2006) Livestock's Long Shadow—Environmental Issues and Options: FAO report.
- [4]古屋元宏、長田 隆、荻野暁史、清水景子、福

- 沢昭文(2017)食用油または尿素を添加した豚糞の堆肥化過程における臭気および温室効果ガス発生特性:日本畜産環境学会誌:16(1):50-60.
- [5]Greenhouse Gas Inventory Office of Japan (GIO), Center for Global Environmental Research (CGER), National Institute for Environmental Studies, Japan (NIES) (2015): National GHG Inventory Report of Japan 2015.
- [6]長谷川達也、森 智和、齋藤奈々子、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(2008)ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物のたい肥化および環境負荷低減技術の開発:山梨県総合理工学研究機構研究報告書:3:53-64.
- [7]Hidetoshi Kitawaki, Kenji Fujita (1984) Inhibition by lower fatty acids in composting: Proc. of Environ. & Sani. Eng. Research: 20:175-181.
- [8]環境庁告示9号(1972)特定悪臭物質の測定の方法:悪臭防止法施行規則:第5条、別表.
- [9]長沼孝多、古屋元宏、佐藤憲亮、長坂克彦、柳田藤寿、乙黒美彩、小西啓太、木村英生(2015)飼料配合を目的とした乳酸菌凍結乾燥粉末の調製:山梨県総合理工学研究機構研究報告書:10:117-120.
- [10]農林水産省生産局畜産部畜産振興課環境計画班(2021)畜産経営に起因する苦情発生状況.
- [11]長田 隆(2001)家畜排泄物からの環境負荷ガスの発生について:日畜会報:72(8):167-176.
- [12]乙黒美彩、小西啓太、長沼孝多、佐藤憲亮、木村英生、長坂克彦、古屋元宏、柳田藤寿(2015)ブドウサイレージからの乳酸菌の分離とその性質:山梨県総合理工学研究機構研究報告書:10:121-124.
- [13]R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- [14]坂井隆宏、花島 大、羽賀清典、鈴木直人(2003)豚ふんと尿の混合が 24 時間以内の悪臭物質揮散に与える影響:日豚会誌:40(2):39-47.
- [15]土屋いづみ、悦永秀雄、堂岸 宏、坂本卓馬、石田三佳、長谷川三喜、長田 隆(2014)鶏ふん乾燥処理施設における温室効果ガス発生量の測定:日畜会報:85(1):61-69.
- [16]山本朱美、伊藤 稔、古谷 修(2003)豚ふん尿混合物の 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:日畜会報:74(3):369-373.
- [17]八杉龍一、小関治男、古谷雅樹、日高敏隆(1996)岩波生物学事典第4版:109:岩波書店、東京.

Original Paper

Odor generation and fermentation delay phenomenon observed during manure composting of pigs fed with feed containing lactic acid bacteria isolated from wine-pomace silage

Motohiro Furuya^{1*}, Keiko Gomi², Misa Otoguro³, Takashi Osada⁴

¹Yamanashi Livestock and Dairy Technology Center, Chuo, Yamanashi 409-3812, Japan

²Yamanashi Agri-technology Center, Kai, Yamanashi 400-0105, Japan

³The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan

⁴National Agriculture and Food Research Organization, Tsukuba, Ibaraki 305-0901, Japan

*Present address: Yamanashi Toubu Livestock Hygiene Service Center, Fuefuki, Yamanashi 406-0034, Japan

We investigated the effects of diets containing lactic acid bacteria (LAB) isolated from wine-pomace silage on fermentation and odor generation during pig-manure composting, plus ammonia (NH₃) emission factors involved in greenhouse gas (GHG) inventories. We conducted tests assuming two different breeding-facility types: manure mixing (feces + urine; Experiment I) and manure separation (feces only; Experiment II). In each, a test pig group with 10⁷ cells/gFM of LAB added to the diet and a control group without LAB were examined. Excrement from both groups was collected and composted with sawdust at 60% moisture. Experiment I: The test section's initial temperature rise was slower than the control section's, but fermentation started from 3 weeks and did not differ between the sections. Experiment II: Organic acids were produced in the test-section manure, and volatile fatty acids (VFA) were produced as odor gas; fermentation started 18 weeks later. NH₃ emission factors were slightly lower in the test section versus control section in Experiment I, but the factors in both sections were higher than those in the National GHG Inventory Report (NIR). The test section's NH₃ level was higher than the control section's in Experiment II but at the same level as the NIR standard. These results reconfirmed that manure separation is important for NH₃ suppression, but the odor reduction effect of LAB addition was not confirmed, especially when manure separation was used only for feces composting, which resulted in delayed fermentation and VFA generation due to a pH decrease caused by organic acid production.

Key word: delayed fermentation, lactic acid bacteria, NH₃, pig manure compost, volatile fatty acid

Corresponding: Motohiro FURUYA furuya-vtf@pref.yamanashi.lg.jp

Receipt of Ms: 30.09.2021. Accepted: 20.01.2022.
Journal of Animal Production Environment Science No21 (1) pp1–13. 2022