

廃棄物処理等科学研究費補助金 総合研究報告書概要版

研究課題名・研究番号=生ごみ処理機の微生物活動評価を通しての再検討

国庫補助金精算所要額（円） = 27,527,000 円

研究期間（西暦） = 2003-2006

研究年度（西暦） = 2003-2005

研究代表者名 = 西野徳三（東北生活文化大学）

共同研究者 = 中山 亨（東北大学），邊見 久（東北大学）

研究目的=われわれはコンポスト化作用が弱酸性条件下で長期間にわたり持続し、微生物基剤（種菌）を交換する必要がないユニークな生ごみ処理を見いだし、「アシドロコンポスト化」と命名していた。しかしながら本技術の学問的裏づけは手薄であり、微生物の評価に着手して、機器との相互関係を総合的に評価する必要があった。

そこで本研究事業の初年度では、本プロセスの経過観察を行い、本プロセスの上に述べた特徴が長期間にわたり持続することをさらに確認するとともに、本プロセスの微生物叢の特徴を明らかにすることを目的とした。その結果、本プロセスでは乳酸菌が主要な微生物として存在するという手がかりをつかんだ。この結果に基づいて第二年度では、複数の方法を用いて本プロセスの微生物叢における乳酸菌の存在をより定量的に把握し、本プロセスが安定に維持される理由を微生物生化学的に明らかにすることを試みた。またアシドロコンポスト化ばかりでなく他社の高速コンポスト化機器についても詳細な微生物評価を行い、相互の結果を比較検討するとともに、得られるコンポストの安全性について考察した。最終年度ではアシドロコンポスト化開始後、微生物叢が乳酸菌を主体とするものに変遷していく過程を解明し、本コンポストプロセス特有の微生物叢の形成についての理解をさらに深めることを目的とした。また、添加微生物の消長を定量 PCR で追跡することにより、アシドロコンポスト化生ごみ処理機の微生物学的な安全性を別の角度から評価した。さらに乳酸菌での発酵製品と考えられる特徴を生かし、同コンポストの飼料としての特性も評価した。さらにアシドロ方式の大型機への利用の可能性も検討した。

研究方法=ほぼ毎日生ゴミが投入されているアシドロコンポスト化装置につき、コンポストの温度と pH および装置から排出される臭気を測定した。アシドロ方式との比較に用いた他社の高速コンポスト化機器としては、4 社 (A, B, C, D 社；1 日最大処理量 1 kg または 2 kg) のものを用い、各装置に同組成の生ごみを同じ要領で投入した。

採取されたコンポストサンプルから DNA を精製し、これを PCR (polymerase chain reaction) の鑄型とした。PCR は 520F および GC1400R をプライマーとして用いて行った。次いで変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) を行い、分離された増幅 DNA バンドについて塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列に基づいて、最も近縁な微生物をデータベース検索した。

FISH (Fluorescence in situ hybridization) 解析は蛍光標識プローブ EUB338-FITC [5'-(fluo)GCT GCC TCC CGT AGG AGT-3'] および LAB-Cy3 [5'-(Cy3)GGT ATT AGC AYC TGT TTC CA-3'] を用いて行った。また、定量 PCR には LightCycler 1.0 (Roche Diagnostics)

を使用し、乳酸菌検出用のプライマーには Lac 1(5' - AGC AGT AGG GAA TCT TCC A - 3') および Lac 2(5' - ATT YCA CCG CTA CAC ATG - 3') を用いた。

アシドロコンポスト化生ごみ処理機に外部から大量の微生物 (*Bacillus subtilis* と *Pseudomonas putida*) を意図的に添加し、添加微生物の消長を定量 PCR で追跡した。添加微生物と乳酸菌の細胞数を測定するため、各微生物に特異的なプライマーを用いて定量 PCR を行った。

アシドロコンポストの飼料としての特性を評価するため、品質(栄養成分：水分、粗たんぱく質、粗脂肪、粗纖維、粗灰分、リン、カルシウム) および有害物質(ヒ素、鉛、カドミウム、総水銀、総クロム) について分析を行った。

結果と考察=アシドロコンポスト化プロセスは少なくとも 5 年間以上も基材を追加・交換することなくコンポスト化作用が持続した。コンポストの pH が自発的に 3.5~6.5 付近に維持される点についても、全調査期間中確認することができた。コンポスト化は中性から弱アルカリ性で進行するのが常識とされており、酸性条件下でコンポスト化がこのように長期間にわたり効果的に進行している例はこれまでない。アシドロコンポスト化により得られたコンポストは、こげたようなカラメル様の弱いにおいを有した。アシドロコンポスト化による生ごみ処理装置から排出されるにおいの除去のために、木片に有機資材を加えた脱臭剤が効果を挙げており、臭気発生のほとんどないコンポスト化プロセスとすることができた。

アシドロコンポスト化過程における微生物叢を PCR-DGGE で解析したところ、アシドロコンポストには乳酸菌が長期間安定に存在することが示された。そこで FISH 法によって乳酸菌の割合を調べたところ、乳酸菌は全真正細菌中の約半数を占める主要な微生物であることがわかった。さらに定量 PCR で乳酸菌数の推移を調べたところ、乳酸菌は水分や栄養を得てコンポスト内で活発に活動していることがわかった。アシドロコンポスト中の微生物叢が非乳酸菌から乳酸菌を優占種とするものに変遷するまでには、約 2 週間を要した。

アシドロ方式とは異なる他の 4 社の高速コンポスト化機器を用い、各装置に同組成の生ごみを処理しながらコンポスト中の微生物叢を PCR-DGGE 法にて比較した。その結果、アシドロコンポストからは、BSL 1 (成人に感染の報告がない微生物類) の微生物種しか検索されなかつたのに対し、他の 4 社のコンポストからは BSL 2 (中程度のリスクがありガイドラインに沿った取り扱いを必要とする微生物類) の微生物種が検索された。土壤環境や水環境中にも BSL 2 に該当する微生物種は多く存在するが、安全性の面からの比較ではアシドロコンポスト化が最も優れているといえる。また外来微生物はアシドロコンポスト中で増殖できず、その細胞数がコンポスト化の進行とともに減少していくことが明らかになった。このことからもアシドロコンポスト化の微生物学的な安全性が強く示唆された。

アシドロコンポストの飼料としての特性を評価した。栄養成分の分析結果からアシドロコンポストは飼料として適したものであることがわかった。有害物質については指導基準値を超えるものはなく、飼料として安全であると考えられた。

神奈川県の神奈川漬物工業組合が運営する神漬グリーンリサイクルセンターの密閉型のセミプラントを使用して実験を行った。漬物材料の加工残滓を粉碎器により搾汁して得られる残滓を、日平均で 3.1 から 4.2 t (湿重量) を 200 日間 (日曜日以外の毎日) 投入した。合計 702 t (湿重量) の残滓をアシドロコンポスト化で処理して 30 t のコンポストを得た。この間、コンポストの pH は 3.9~4.3 で推移し、菌やおがくずは一度も交換しなかった。得られたコンポストは非常に良好な堆肥であった。

結論=アシドロコンポスト化は、生ごみのコンポスト化作用が長期間（5年以上）にわたり弱酸性で持続し、微生物基材（種菌）を交換する必要がなく、臭気発生もほとんどないユニークなコンポスト化過程である。アシドロコンポスト化では乳酸菌が主要な微生物群として存在しており、その存在比は全細菌数の 54%にも達する。アシドロコンポスト中の微生物叢が非乳酸菌から乳酸菌を優占種とするものに変遷するまでには2週間程度を要する。乳酸菌を優占種とする微生物叢がいったん形成された後では、外来微生物はコンポスト中で増殖できない。調べた限りでは、良好な分解を示しつつ安定な微生物叢を示すプロセスはアシドロコンポスト化のみであり、微生物学的な安全性の点からもアシドロコンポスト方式の優位性が得られた。アシドロコンポストは栄養成分の点で飼料としても安全かつ有効である。密閉型のセミプラントを使用してアシドロコンポスト化のスケールアップ実験を行った結果、1日 4 トン程度の残滓の投入は問題なかった。