

炭酸塩資材によるメタン発酵消化液の殺菌効果と分析上の問題点の検討

Sterilizing effect of sodium carbonate on methane fermentation digested slurry and problems in analysis of fecal indicator microbes in this investigation

○折立文子*・山岡 賢**・中村真人**

ORITATE Fumiko, YAMAOKA Masaru and NAKAMURA Masato

1. はじめに 家畜排せつ物などの処理とエネルギー生産を同時に行えるメタン発酵は地域資源の循環に適った技術である。メタン発酵処理システムにおいては発酵残渣である消化液の取扱いが課題であり、地域資源循環とコスト低減によるシステムの持続性の観点からは農地における液肥利用が望ましい。一方、原料由来の病原性微生物などが消化液中に残存する可能性もあるため、ヨーロッパの家畜ふん尿等のメタン発酵処理施設においては、55°Cで7.5時間以上もしくは70°Cで1時間以上の加熱処理による衛生面の安全性確保が義務付けられており（Regulation (EC) No 1774/2002）、わが国でもこれが推奨されている（畜産環境整備機構，2011）。加熱処理は高コストであるため、システムの持続性の観点からはより低コストな殺菌手法の提案が求められる。微生物活性の規定要因として、熱の代わりにpHに着目した例がある。Diez-Gonzalezら（2000）は炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムの添加によるアルカリ処理（pH>8.5）が、大腸菌および病原性大腸菌に対して良好な殺菌効果を持つこと、さらにそれらによる処理が比較的lowコストであること（牛1頭あたり年間10 USD未満）を、Arthursら（2001）は炭酸ナトリウムや炭酸カリウムが乳牛ふん尿スラリーに対して良好な大腸菌削減効果を持つことを示している。一方で、これらの研究においては、処理後の農地利用を想定し、肥料成分である窒素についての具体的検討は行われていない。そこで、本研究では炭酸塩資材のひとつである炭酸ナトリウムの消化液への殺菌効果および殺菌に伴うpHおよび窒素成分の変化の確認と、殺菌効果の確認において生じた分析上の問題点について検討した例を報告する。

2. 方法 家畜ふん尿を主原料とする中温メタン発酵後の消化液100gに炭酸ナトリウムを0, 0.4, 0.8, 1.6gずつ添加し（0, 4, 8, 16 g/kg）、ゆるく蓋をかぶせ、資材が均一になるように攪拌した後約22°Cに維持された室内で静置し、試験開始0, 1, 2, 3, 4, 5日後に各試料のpHをpH計（TOA DKK）、衛生指標菌数をメンブレンフィルター法（下水試験方法）で測定した。衛生指標菌のうち、ふん便性大腸菌群の分析にはm-FC培地（下水試験方法）を、大腸菌および大腸菌群については合成発色酵素基質培地のひとつであり、かつUS-EPAにより水の分析の代替法として承認され、広く使われているクロモカルトコリフォーム寒天培地（以下、CC培地）を用いた。今回、衛生指標菌の分析にメンブレンフィルター法を用いた理由は分析上のpHの影響をできる限り小さくするためである。また、試験前後の試料中のアンモニア態窒素濃度をインドフェノール吸光光度法で分析した。

3. 炭酸ナトリウムの添加が試料中ふん便性大腸菌群の動態におよぼす影響 図1に各炭酸ナトリウム添加量における時間経過に伴う試料中のpHの変化を、図2にふん便性大腸

*農研機構本部 Headquarters, NARO **農研機構農村工学研究部門 Institute for Rural Engineering, NARO キーワード：消化液、衛生指標菌、クロモカルトコリフォーム寒天培地

菌群の動態を示す。pHは炭酸ナトリウムの添加量に応じた上昇を示したが、各試料において時間経過に伴う大きな変化は見られなかった。ふん便性大腸菌群は炭酸ナトリウムの添加量に応じた減少を示し、添加量が16 g/kgの時は、添加したその日のうちに、8 g/kgでは1日後、4 g/kgでは4日以内に、US-EPAが定める下水汚泥を農地還元する際の基準(クラスA)を満たす値となっていた。一方、0 g/kgでは、今回の試験期間中で大きな変化はみられず、US-EPAの基準を満たす値にはならなかった。

試料中のアンモニア態窒素濃度については、最も炭酸ナトリウム添加量の多い試料において試験前後で2割程度の減少がみられ、アンモニア揮散による損失が考えられた。液肥利用においてはこれを考慮した施肥設計が必要であると考えられた。

4. 分析上の問題点 CC培地における大腸菌および大腸菌群の判定基準に基づく、試験期間中にいずれの試料においても大腸菌群がほとんど減少しないという結果となった。そのため、CC培地上に検出されるコロニーについて擬陽性のものが多く含まれる可能性が考えられた。図3に消化液をCC培地で分析した際に、培地上に検出されるコロニーを示す。これらの主なもの(優占種、上位3つ)についてグラム染色と顕微鏡観察を行った結果、培地上の色調の判別では「大腸菌群」と判定されるコロニーの多くがグラム陽性菌(大腸菌群はグラム陰性無芽胞性の短桿菌)であることが明らかになった。上記のCC培地上の優占種上位3種についてDNA解析による遺伝子同定を行った結果、いずれも大腸菌群に属さないグラム陽性桿菌(芽胞性)であることが明らかとなり、本試験の大腸菌・大腸菌群の分析においてCC培地の妥当性は低いことが示された。

謝辞 本研究は、科学研究費補助金(16K18777, 若手B)の助成を受けたものである。

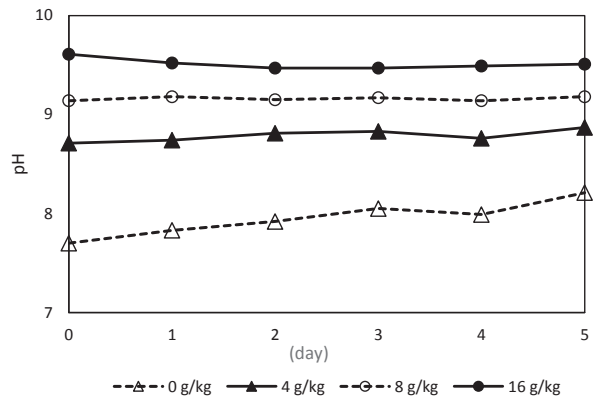


図1 各炭酸ナトリウム添加量におけるpHの変化
Changes of pH in each sample treated with each quantity of sodium carbonate

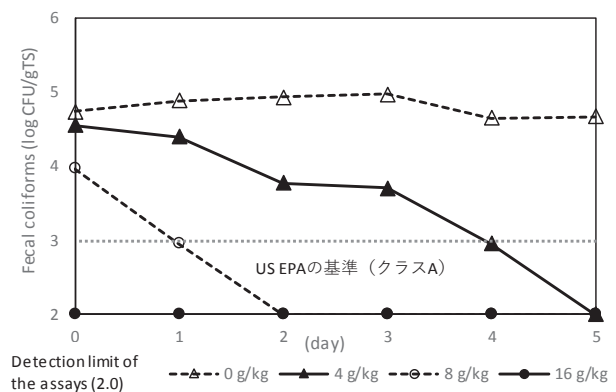


図2 各炭酸ナトリウム添加量におけるふん便性大腸菌群数の動態
Fate of the Fecal coliforms in each sample treated with each quantity of sodium carbonate

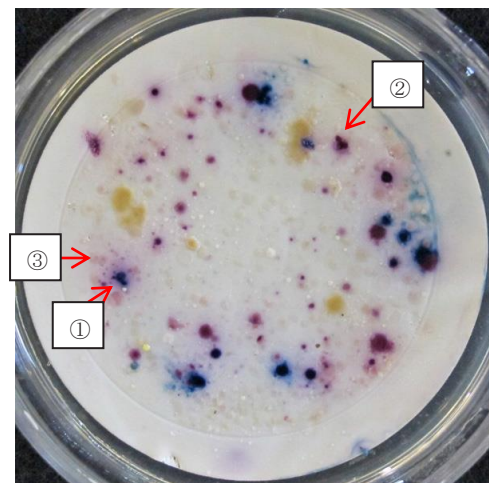


図3 CC培地上に検出され、グラム染色および遺伝子同定の対象としたコロニー
Colonies on CC plate which were analyzed for gram staining and gene identification