

[J. Ferment. Technol., Vol. 54, No. 5, p. 333~339, 1976]

糸状菌による畜産排出物の処理*

田中 米実・林田 晋策・本江 元吉

九州大学農学部農芸化学科

Treatment of the Feces of Domestic Animals with Molds*

Yonemi Tanaka, Shinsaku Hayashida, and Motoyoshi Hongo

Laboratory of Applied Microbiology, Department of Agricultural Chemistry
Kyushu University, Fukuoka

Molds which could grow predominantly in pig and cow feces without sterilization, and could promptly deodorize it, were obtained. *Coprinus macrorhizus*, *Mucor* sp. and *Helminthosporium* sp. were found effective for the rapid decrease in BOD, $\text{NH}_3\text{-N}$ and NO_2 , $\text{NO}_3\text{-N}$, and increase in Org-N. Optimal conditions for the fungal growth in the feces were 50–60% moisture, 20–40°C material temperature, 0.3–0.4 kg/l packing density and pH 6.5–7.5.

The semi-continuous treatment of feces by feed-back of a part of the material treated for 7 days with a mixture of the three strains of molds was performed in an automatic *koji*-making apparatus at 30°C. Manufacturing the matured “mold manure” required 14 days.

緒 言

近年、本邦の畜産業は、多頭多羽化に伴う大量のふん尿によって、悪臭発生¹⁾や水質汚濁²⁾などの環境汚染をひき起している。従って、畜産排出物の能率的処理方法の確立が急務となっている。

畜産大動物の排出物は、ふん部と尿部とからなり、ふん部は排出物の総 BOD の約90%、全懸濁物質の95%以上を占める。従来、その処理には、まず固液分離を行い、液部は各種廃水処理法や土壌浸透蒸散法³⁾を適用して処理している。固形部に対しては、脱水焼却、土壌埋没による処理、タイ肥による利用⁴⁾さらに近年、天日乾燥ふんおよび未熟生ふんの多量圃場還元⁵⁾が各地で行われている。しかし、環境の再汚染、作物への悪影響は益々深刻な社会問題となりつつある。

本研究では、畜ふんの能率的な大量処理法の確立とそ

の利用を目的として、まず処理能率の高い糸状菌を分離選出し、優良菌株の混合使用による処理と、その結果えられた糸状菌タイ肥について基礎的検討を行った。“糸状菌タイ肥”の特徴は、処理物の pH およびアンモニア態窒素 ($\text{NH}_3\text{-N}$) が低く、有機態窒素 (Org-N) は増加するため、畜ふん特有の悪臭が速やかに消失する点にある。

実 験 方 法

糸状菌の分離 分離培地の組成はふすま抽出液 (ふすま 100 g と水 900 ml を20分間煮沸し、ガーゼで濾過) 100 ml, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 g, K_2HPO_4 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, クロラムフェニコール 20 mg および寒天 2 g で、これを 120°C, 30分間殺菌して使用した。畜ふんおよびタイ肥を主分離源として、それぞれ 20°C, 30°C および 45°C で糸状菌を分離した。

有用菌株の選出 選出培地は、牛、豚および鶏のふんに3倍量の水道水を加え、20メッシュで濾過後、

* 廃棄物の微生物処理に関する研究 (第4報)
Microbiological Treatments of Waste (IV)

pH 7.2 に調整し、綿栓試験管 (径 1.6 cm) に 10 ml 分注し、120°C、30 分間殺菌した。前項の分離菌各 1 株について 3 本宛接種し、20°C、30°C および 45°C で直立、静置してそれぞれ 7 日間培養後、液面の菌蓋を採取し、5 ml の蒸留水で 3 回洗浄後、100°C で乾燥して菌体量とした。

処理試料 処理試験に供試した畜ふんは乳牛 (混播牧草と配合飼料混合飼育)、肥育豚 (配合飼料飼育) の排出後 24 時間以内のものを使用した。菌数測定用および分析用試料は各検体の 6 個体 (処理ふんでは 6 カ所) からそれぞれ 10 g を採取し、これをおろくほぐし、均一にして用いた。

菌数測定 前記試料 10 g について土壤微生物の希釈平板法⁶⁾に従って、各々の微生物の菌数を測定した。なお、生菌数測定用培地として、一般細菌数には、加糖肉汁寒天培地を、大腸菌数には遠藤培地をそれぞれ用いた。糸状菌数には前項の糸状菌分離用培地を、また、放線菌数には、前報⁷⁾の粗製尿タンパク質顆粒培地をそれぞれ使用し、30°C および 45°C で 5 日間培養し、形成コロニー数から算出した。

糸状菌の分類は、Barnett,⁸⁾ Ainsworth & Sussman⁹⁾ および原色菌類図鑑¹⁰⁾に従った。

分析法 BOD は、前記試料の 10 g に滅菌生理食塩水を添加し、最終定量 200 ml として、米国標準分析法¹¹⁾に準じて測定した。上記試料について $\text{NH}_3\text{-N}$ 、亜硝酸・硝酸態窒素 ($\text{NO}_2\text{-NO}_3\text{-N}$) は Conway 法,¹²⁾ Org-N および灰分は衛生試験法¹³⁾に従って測定した。

実 験 結 果

糸状菌の分離および選出 分離源から 20°C で 48 株、30°C で 46 株、45°C で 34 株の糸状菌をそれぞれ分離した。各菌株を選出培地で培養して菌体量を測定し、生育良好な菌株を選出し、これを同定して Table 1 に示した。次いで、無殺菌ふんでの増殖を検して、菌株の第二次選出を行った。糸状菌増殖に適した水分および疎密度に調節するため、豚ふん 80 に対して鋸くず 20 を重量比で混合し、これを 1 l 容培養瓶 (Fig. 1) に入れ、120°C、30 分間殺菌した後、Table 1 の菌株を最適増殖温度で、7 日間培養した。この培養物 50 g を種菌として、鋸くず 70 g を混合した牛、あるいは豚ふん 350 g に接種し、前記 1 l 容培養瓶に詰め、無殺菌のまま各菌株の適温で 7 日間培養を行い、 $\text{NH}_3\text{-N}$ および BOD の対照比較減少率を算定した。その結果を Fig. 2 に示す。 $\text{NH}_3\text{-N}$ と BOD を最も顕著に減少さ

せた菌株は 30°C 処理の *Coprinus macrorhizus* No. 8 であったが *Helminthosporium* sp. No. 14 もかなり優れていた。20°C および 45°C 培養では、この 2 菌株に匹敵するものはなかったが、20°C では *Mucor* sp. No. 1 が、45°C では *Myriococcum albomyces* No. 15 が優れていた。

次いで選出菌株の増殖に及ぼす pH の影響を、豚ふん培地で検討した。一般糸状菌は弱酸性で良好な生育を示すのに対し、選出された優良菌株は pH 8 においても良好な生育を示す点に特徴が認められた。

種菌混合の影響 前項で選出された菌株の混用による処理効果を検討した。水分 70% を含む豚ふん 80 に、水分 10% を含む鋸くず 20 を重量比で添加したものに、*Coprinus macrorhizus* No. 8, *Helminthosporium* sp. No. 14 と *Mucor* sp. No. 1 の 2 株混合および *Coprinus macrorhizus* No. 8, *Helminthosporium* sp. No. 14, *Mucor* sp. No. 1 の 3 株混用して接種し、1 l 容培養瓶に疎密度 0.4 g/l で詰め、30°C で培養を行ない Fig. 3 の結果をえた。*Coprinus macrorhizus* No. 8 単独処理に比して 3 種混合では BOD, NH_3 がやや減少した。しかし、その差は僅少で *Coprinus macrorhizus* No. 8 が主要菌であると考えられる。

混合種菌による処理条件の検討 本処理法では糸状菌が細菌類に優先して増殖を開始しなければならな

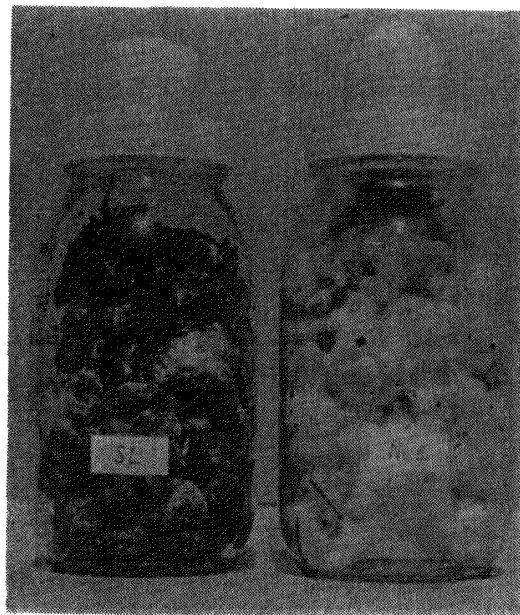


Fig. 1. Pig feces treated with or without fungi. left: the control without inoculation of fungi. right: the pig feces inoculated with mixed strains of *Coprinus macrorhizus* No. 8, *Mucor* sp. No. 1 and *Helminthosporium* sp. No. 14 at 30°C, for 7 days.

Table 1. Screening of fungi for feces treatment.

Strain No.	Identified fungi	Dry matter of mycelium (mg) ^a		
		Pig feces-medium	Cow feces-medium	Hen feces-medium
Cultivation at 20°C				
1	<i>Mucor</i> ^b	15.5	8.6	7.5
2	<i>Mucor</i>	12.9	10.8	4.5
8	<i>Coprinus macrorhizus</i> ^c	10.5	7.2	8.6
12	<i>Cladosporium</i>	9.0	5.5	7.2
14	<i>Helminthosporium</i> ^d	12.8	8.8	7.5
Cultivation at 30°C				
1	<i>Mucor</i> ^b	17.2	10.0	4.3
4	<i>Rhizopus</i>	11.4	5.4	3.6
5	<i>Aspergillus</i>	9.2	4.5	8.6
6	<i>Aspergillus</i>	8.0	4.2	5.4
7	<i>Coprinus</i>	22.0	10.0	16.6
8	<i>Coprinus macrorhizus</i> ^c	30.8	11.5	14.2
9	<i>Coprinus macrorhizus</i> IFO 8371 ^e	20.5	10.2	13.0
10	<i>Coprinus</i>	8.8	8.2	8.5
11	<i>Pleurotus</i>	7.5	13.5	6.2
12	<i>Cladosporium</i>	13.5	8.5	12.8
13	<i>Cepharosporium</i>	11.0	6.2	12.0
14	<i>Helminthosporium</i> ^d	20.2	11.5	14.0
Cultivation at 45°C				
3	<i>Mucor</i>	7.8	6.7	8.4
7	<i>Coprinus</i>	10.0	6.8	7.0
8	<i>Coprinus macrorhizus</i> ^c	13.5	10.2	8.5
15	<i>Myriococcum</i>	15.0	9.5	12.4
16	<i>Humicola</i>	8.5	6.3	7.2
17	<i>Mulbranchea</i>	9.8	8.4	6.5
18	<i>Myriococcum</i>	12.2	8.2	13.5

^a. Screening medium containing (NH₄)₂SO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.1%, K₂HPO₄ 0.2% and feces 25%, was adjusted to pH 6.8 and autoclaved at 1 kg/cm² for 30 min. Incubation was done at the described temperature for 7 days.

^b. Non-septate mycelium; no stolon was formed; sporangiophore was not branched; columellate sporangia borne apically on the sporangiophores.

^c. Basidiocarp well developed; pileus oval, brown 2–5 cm diameter with many gills, easily deliquescent at maturing; stipes creamed colored, 3–6 cm; basidiospores ovate, dark, 6–11 μm.

^d. Light mycelium; conidiophore long, septate, branched, bearing conidia successively on new growing tips; conidia dark, typically containing more than 3 cells, ellipsoid, sometimes slightly cuved, end rounded.

^e. An authentic strain obtained from the Institute for Fermentation, Osaka.

い. Table 1 に示した通り, *Mucor* sp. No. 1, *Helminthosporium* sp. No. 14 両菌は 20°C でよく増殖するから, 初期の比較的低温時にも細菌増殖に打勝ってまず増殖を開始することが期待され, 従って, 以下 3 種菌混合による処理条件を検討した.

1) 温度の検討: 鋸くず 20% を添加した牛および豚の

ふんに, 上記混合種菌 10% を接種し, 水分 65% に調整した後, 1 l 容培養瓶に培地疎密度 0.4 kg/l となるように詰めて, 20°C, 30°C および 45°C で 7 日間培養後の菌数を前記の方法に従って測定した. その結果, 豚ふんでは, 糸状菌数は 30°C で 1×10⁶/g に達し, 最も良好な増殖を示したが, 40°C では糸状菌数は 1.8×

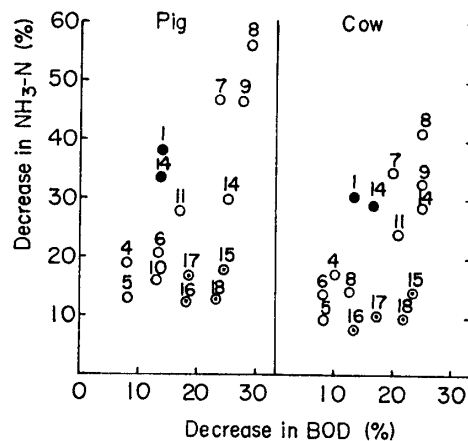


Fig. 2. Decrease in $\text{NH}_3\text{-N}$ and BOD in the treatment of feces with the various fungi.

Fresh feces of pig or cow supplemented with 20% saw-dust was prepared as a medium, inoculated with each fungal strain, and incubated for 7 days at the respective temperatures of $\bullet$ 20°C, $\circ$ 30°C or $\odot$ 45°C.

The numbers indicate the strain No's shown in Table 1.

Percentage decrease rates of $\text{NH}_3\text{-N}$ or BOD =

$$\frac{(\text{NH}_3\text{-N or BOD in control}) - (\text{NH}_3\text{-N or BOD in fungal-treated feces})}{(\text{NH}_3\text{-N or BOD in control})} \times 100$$

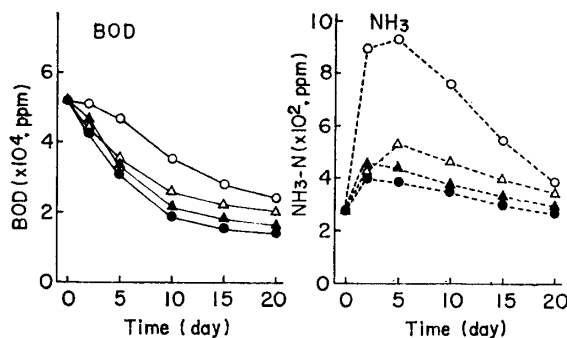


Fig. 3. Effect of the mixed inoculation of three fungal strains.

Pig feces containing 20% saw-dust (65% moisture) was prepared as the medium without any sterilization, and inoculated with: $\triangle$ *Mucor* sp. No. 1 and *Helminthosporium* No. 14; $\blacktriangle$ *Coprinus macrorhizus* No. 8; $\bullet$ *Coprinus macrorhizus* No. 8, *Mucor* sp. No. 1 and *Helminthosporium* sp. No. 14; $\circ$ control

$10^5/\text{g}$ に減少し、放線菌や細菌が旺盛に増殖することを認めた。なお、20°C では細菌の増殖は低下し、糸状菌数も $1.2 \times 10^5/\text{g}$ に低下した。

2) 培地疎密度の影響：鋸くずを20%添加した牛、豚ふんに種菌10%分(重量%)を混合し、水分65%に調整した。これを培養瓶にそれぞれ 0.3~0.7 kg の範囲で入れ、深さ 16 cm (容積 1 l) となるように圧縮して詰め、培地疎密度として、重量(kg)/見かけの容積(l)で示した。各培地の表面に混合種菌を接種し、30°C で7日間培養し、培地表面から菌糸の増殖先端までの距

離を測定した。その結果、菌糸は 0.4 kg/l 以下では 16 cm の底部まで全面増殖できたが、 0.7 kg/l の密な培地では、表面より 4 cm まで増殖したにすぎなかった。

3) 添加物の影響：稲わらを5メッシュ以下に粉碎し、これを牛あるいは豚ふんに添加量を変えて混和し、種菌を接種して、水分を65%に調整し、1 l 容培養瓶に 0.4 kg/l となるように詰め、30°C で7日間培養後、菌数を測定した。その結果、糸状菌の生育は豚ふんに稲わら20~30%が最も良く、牛ふんでは無添加または10%が良好であった。細菌や放線菌は稲わらの添加量の増加に伴ない減少する傾向を示した。

4) 含水量の影響：糸状菌増殖におよぼす牛、豚ふんの水分含量の影響を検討した。牛、豚ふんを20~25°C で5時間通気乾燥して水分40%とした後、鋸くず20%および種菌培養10%を混合し、滅菌水で各水分含量となるように調整し、30°C、7日間培養した後、菌数を測定した。その結果、糸状菌数は水分50~60%で最大となり、水分80%では著しく減少した。

糸状菌による畜ふんの半連続処理試験 以上の処理条件を基礎として、Fig. 4 のフローシートにより、畜ふんの半連続処理試験を実施した。自動製糞機(ウィザー技研製 200 W 型)を使用し、1回の処理ふん量は 90 kg、層の厚さは 12~16 cm とした。初回は鋸くずの添加量(通常10~20%)によって水分を65~70%となるように調整して上記混合種菌の接種を行った。以後は7~8日目の処理物を種菌としてふん量の20~

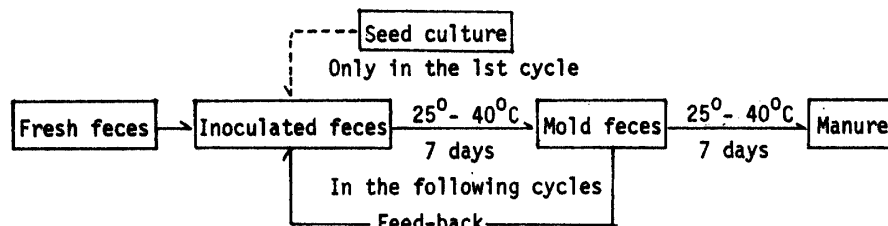


Fig. 4. Flow sheet of the feces treatment by fungi.

In the first step of continuous process, 90 kg fresh feces was mixed with 20% straw or 20% saw-dust, and inoculated with 10% mixed seed cultures of *Coprinus macrorhizus* No. 8, *Mucor* sp. No. 1 and *Helminthosporium* sp. No. 14, which had been previously prepared in the sterilized feces medium at 30°C for 10 days. In this report, the treatment was carried out for three cycles.

30%返送し, その返送量によって水分を調節し, 半連続的に処理した. 本報では 7 回返送のうち 2 回返送の成績についてのみに記述したが, 処理の品温および pH の変化を Fig. 5, 6 に示す. すなわち, 室温 25~27°C では牛および豚ふんの品温は, 処理後 3 日で最高の

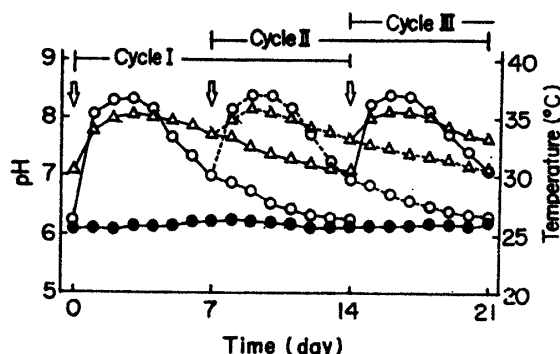


Fig. 5. Changes in pH and temperature during the fungal treatment of pig feces.

●, material temperature; ○, room temperature; △, pH; ↓ shows the beginning of each cycle of treatment.

The above symbols are used in Fig. 6.

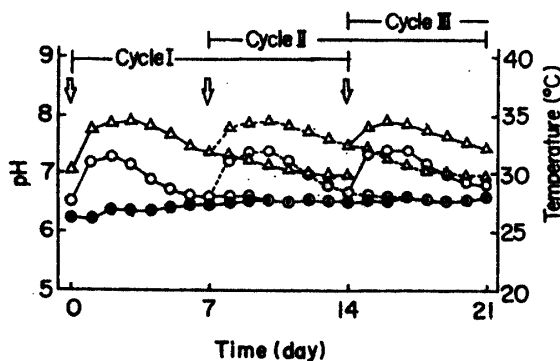


Fig. 6. Changes in pH and temperature in the fungal treatment of cow feces.

Only the data in Cycle I are shown in the following figures; almost the same data were obtained in Cycles II and III.

32°C および 37°C にそれぞれ達した. 従来のタイ肥製造での最高品温 70~75°C に比して, はるかに低温であった. 6~7 日後には *Coprinus macrorhizus* No. 8 の子実体が形成され, pH は 7.8 に低下した. 処理 9 日目の子実体形成の状況を Fig. 7 に示した. 処理中の BOD は, Fig. 8 の通り, 子実体形成時に著しく減少した. さらに $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-NO}_2\text{-N}$ および Org-N の糸状菌処理による変化は, Fig. 9, 10 の通りで, 3~5 日後, 豚ふんの $\text{NH}_3\text{-N}$ は糸状菌無接種の対照のその 1/2 以下であった. 本法の顕著な脱臭効果は, 前述の処理初期の比較的低温, 低 pH と相まって, アンモニアの揮散による悪臭の発生が抑制されることによるものと考察される. なお, 子実体形成以後には茸臭が認められた. また, 牛ふんでは処理開始直後から $\text{NH}_3\text{-N}$ が減



Fig. 7. Fruiting bodies of *Cop. macrorhizus* No. 8 grown on the pig feces in the continuous treatment by fungi.

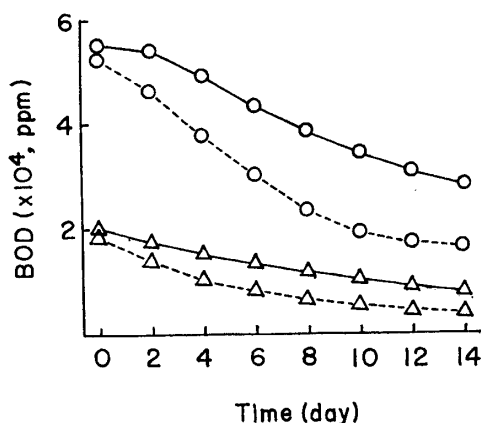


Fig. 8. Changes in BOD during a cycle of the fungal treatment of feces.
— control; --- inoculated; ○ pig feces;
△ cow feces.

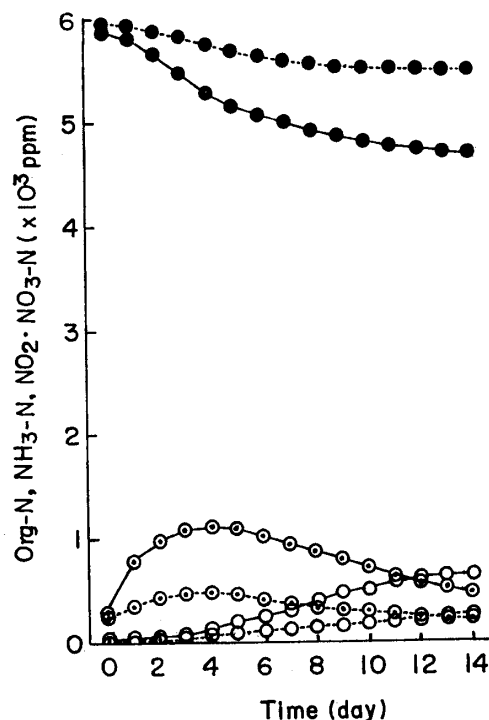


Fig. 9. Changes in nitrogen during a cycle of the fungal treatment of pig feces.
— control; --- inoculated; ● Org-N; ● NH₃-N; ○ NO₂·NO₃-N
The above symbols are used in Fig. 10.

少し、アンモニア臭は豚ふんの場合よりも一層速やかに消失した。また対照では NO₂·NO₃-N が急速に増加し、硝化作用の促進が、認められたが、糸状菌処理では対照の1/2程度であった。これに対し、Org-N は大で、経時的減少も緩慢であった。

牛、豚ふんの糸状菌処理における菌数の変化を、

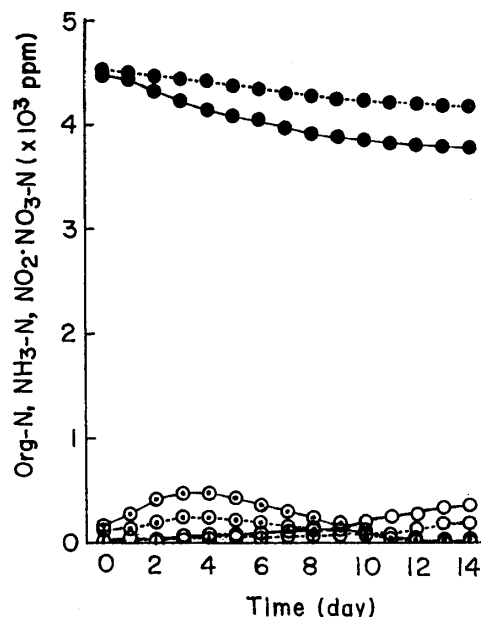


Fig. 10. Changes in nitrogen during a cycle of the fungal treatment of cow feces.

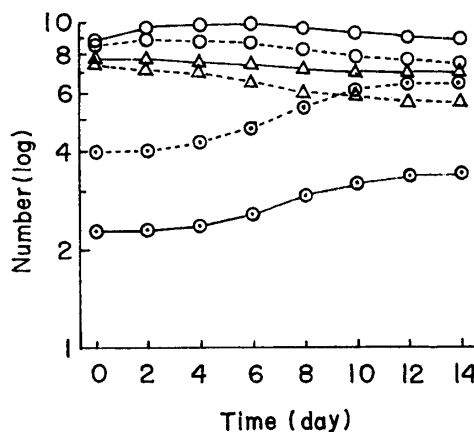


Fig. 11. Changes in microbial numbers during a cycle of the fungal treatment of pig feces.
— control; --- inoculated; ○ bacterial numbers; △ *E. coli* numbers; ● Fungal numbers
The above symbols are used in Fig. 12.

Fig. 11, 12 に示す。4 日以後糸状菌数は急激に増え、6 日以後は一般細菌数および大腸菌数はさらに減少し、10 日以後は対照の1/10となった。

考 察

蟻川⁴⁾は、通常のタイ肥製造では、水分を60%に調整し、品温を 50~60°C 以上に上昇させることが必要条件としているが、その初期には、細菌の脱アミノ作用により一時的に大量のアンモニアが生成し、これが高 pH (pH 8~9) と高温 (50~60°C) になることによ

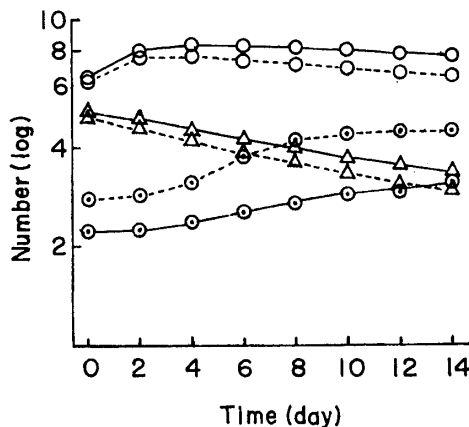


Fig. 12. Changes in microbial numbers during a cycle of the fungal treatment of cow feces.

り揮散し、悪臭の主原因となり、次いで硝化作用が急激に進み、処理後期には大量の亜硝酸、硝酸が蓄積して悪臭は減少すると考察される。この硝化作用は好氣的処理^{14,15)}によって促進され、さらに脱窒が起こるとされている。一方、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 量の増大は保健衛生上好ましくないとされており、¹⁶⁾例えば宮崎¹⁷⁾らは缶詰のトマトジュースのスズ異常溶出の原因となる果実中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 蓄積は土壌中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度増大に起因することを指摘している。他方、丸本¹⁸⁾らは、微生物菌体、ことにそのアミノ糖区分が地力窒素の重要な給源であると考察している。牛、豚ふんの糸状菌処理では、品温 $30\sim 40^\circ\text{C}$ 、水分 $50\sim 60\%$ 、 $\text{pH } 6.5\sim 7.5$ 、培地疎密度 0.4 kg/l 以下が適当で、 $\text{NH}_3\text{-N}$ あるいは $\text{NO}_3\text{-N}$ のような速効性窒素の生成は少ないが、糸状菌体に由来する Org-N が増加しているから、本処理法は速やかに畜ふんを脱臭し、 BOD をも急速に低下させ、短期間にタイ肥化して畜産公害の防止に有効に機能すると考察される。一方、促成された“糸状菌タイ肥”は多量に施肥した場合にも、 $\text{NO}_3\text{-N}$ による環境汚染の懸念も少なく、肥効も優れていると期待される。今後、処理装置を試作し適当な時期に通気と温度を調節することにより、処理期間をさらに短縮し、大量処理システムを設定する必要がある。

要 約

畜ふんの能率的衛生処理法を確立するため、糸状菌の選択と、それによる処理法を検討し、次の結果を得た。

1. BOD の減少や $\text{NH}_3\text{-N}$ の揮散防止に有効な菌株は *Coprinus macrorhizus* No. 8, *Mucor* sp. No. 1 および

Helminthosporium sp. No. 14 であった。

2. この3菌株混用による畜ふん処理の条件は水分 $50\sim 60\%$ 、品温 $20\sim 40^\circ\text{C}$ 、培地の疎密度 $0.3\sim 0.4$ および $\text{pH } 6.5\sim 7.5$ が適当であった。

3. 7日目の処理物の一部を種菌と水分調節の目的で返送することを特徴とする半連続処理を実施した結果、7日後のタイ肥は対照に比して $\text{BOD } 34\%$ 、 $\text{NH}_3\text{-N } 55\%$ が減少し、また、 $\text{NO}_2\text{-NO}_3\text{-N}$ は 50% の低値を示し、 Org-N は 15% 多量に含む等の特徴が認められた。

文 献

- 1) 坂本：日本公衛誌，**19**，315 (1972)。
- 2) 遠崎：公害と対策，**9**，117 (1974)。
- 3) 相沢：畜産の研究，**27**，145 (1973)。
- 4) 蟻川：農業および園芸，**7**，935 (1973)。
- 5) 三村：畜産の研究，**27**，127 (1973)。
- 6) 東大農芸化学実験室編：実験農芸化学(上)，朝倉書店，71 (1960)。
- 7) 田中，林田，本江：農化，**49**，69 (1975)。
- 8) Barnett H. L.: *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 2th, ed, 112, Burgess publishing Co. Minneapolis (1960)。
- 9) Ainsworth G. C., Sussman, A. S.: *The Fungi* I. VA, Academic Press., New York and London. (1973)。
- 10) 今関，本郷：原色日本菌類図鑑 I(1957)，II(1965)。保育社。
- 11) American Public Health Association Inc: *Standard Method for the Examination of Water and Waste Water* 11th ed, 489, New York (1960)。
- 12) Bremner J. M., Shaw, K.: *J. Agric. Sci.*, **46**，320 (1955)。
- 13) 日本衛生学会編：衛生試験法注解，745，金原出版 (1965)。
- 14) 遠矢：下水道協会誌，**74**，21 (1970)。
- 15) Rainbow, C., Rose, A.H.: *Biochemistry of Industrial Microorganisms*, 525, Academic Press, London and New York, (1963)。
- 16) Simios A.: *Munch. med. Wschr.*, **106**，1180 (1964)。
- 17) 宮崎，国里，美谷：食品工試，**19**，16 (1972)。
- 18) 丸本，古川，吉田，甲斐，山田，原田：日本土肥誌，**45**，23 (1974)。

(昭50.12.26受付)