

平成21年度 戦略的基盤技術高度化支援事業

「施肥後の土壌酸性化を大きく低減する
きのこ廃菌床堆肥製造技術の研究開発」

成 果 報 告 書

(概 要 版)

平成22年 3月

委託者 中部経済産業局

委託先 (財)名古屋産業科学研究所

目 次

第 1 章	研究開発の概要	1
1-1	研究開発の背景・研究目的及び目標	
1-2	研究体制（研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者）	
1-3	成果概要	
1-4	当該プロジェクト連絡窓口	
第 2 章	土壌酸性化抑制技術の研究開発とラボテストによる堆肥化過程構築に関する研究開発	8
2-1	研究目的及び目標	
2-2	実験方法	
2-3	研究成果	
第 3 章	フィールドテストによる実施環境下におけるコンポスト化手順確立に関する研究開発（自然環境下ないしは実施環境下における堆肥化のフィールドテスト）	17
3-1	研究目的及び目標	
3-2	実験方法	
3-3	研究成果	
第 4 章	施肥土壌に対する影響度合いと農作物への影響に関する研究開発	20
4-1	研究目的及び目標	
4-2	実験方法	
4-3	研究成果	
第 5 章	全体総括	22
5-1	成果の総括	
5-2	工業所有権の取得状況及び対外発表等の状況	
5-3	今後の事業化に向けた取組み	

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

【研究背景】

きのこ生産業分野においては、きのこの人体に対する抗酸化機能や免疫力増強機能（抗腫瘍機能）など健康維持・増進効果への注目が高まり、それに伴って大幅に需要が増加している。しかしながら、きのこの生産には食用部分の約2～3倍の廃菌床（廃培地）部分が廃棄物として発生することから、その処理方法が大きな課題となっている。

廃菌床の処理技術については、発酵による有用堆肥化が一番容易な処理法であると考えられ、従来から運用研究が行われてきたが、廃菌床の「pHが強酸性である」「含水量が非常に多い」「発酵に長期間（1～3年間）を要してしまう」等の要件が堆肥化のボトルネックとなってきた。そのため、既存の製造技術では未熟な堆肥になることが多く、施肥後に土壤中の窒素が極度に失われたり、土壤酸性化が起こるなどの不良事例が多数報告されている。一方で、土壤有機質資源としての諸性質やその原因について確定的に研究報告するものはほとんどない。

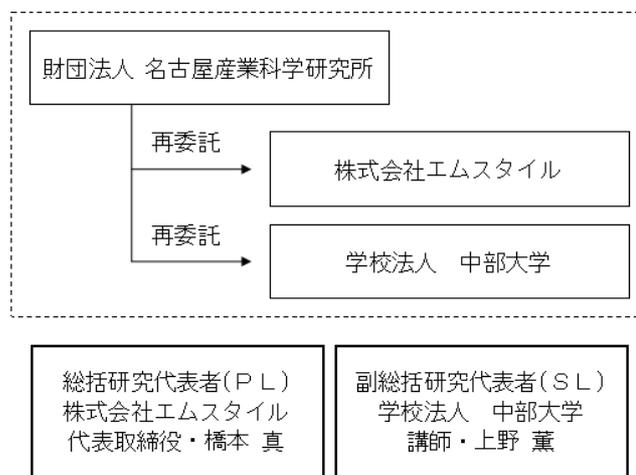
【研究目的及び目標】

現在は、きのこ廃菌床を消費する方法として、未熟堆肥のまま流通させてしまっているため、それが周辺の農地に深刻な土壤酸性化を引き起こしている。きのこを収穫した後に残る廃菌床には、きのこ菌が残留しているので、自然放置でも腐食させることは可能だが、廃菌床自体が複数の問題をあわせ持っているため、取扱いが極めて難しい。

そのため、これらの問題解決に有効なコンポスト化技術を確立することが本研究の重要な目的である。

1-2 研究体制

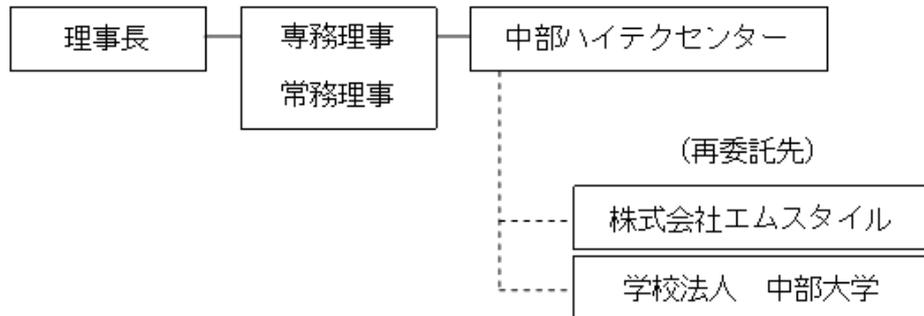
(研究組織)



(管理体制)

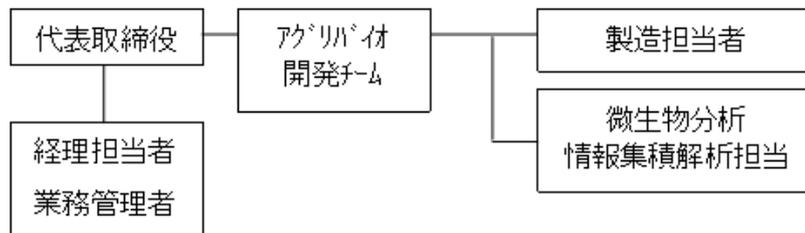
①事業管理者

(財団法人 名古屋産業科学研究所)

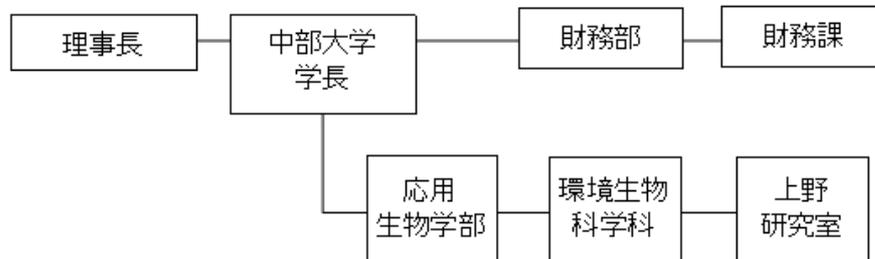


②再委託先

(株式会社エムスタイル)



(学校法人 中部大学)



(管理員および研究員)

【事業管理者】

財団法人 名古屋産業科学研究所 (管理員)

氏 名	所属・役職
藤根 道彦	中部ハイテクセンター 産学連携支援部長
安部 浩二	中部ハイテクセンター 事務局長
浅田 節子	中部ハイテクセンター
兼松 幸子	中部ハイテクセンター

【再委託先】

株式会社エムスタイル（研究員）

氏名	所属・役職
橋本 真	代表取締役
長谷川牧美	取締役開発責任者
古山 卓也	アグリハブ開発チーム 製造担当

学校法人 中部大学（研究員）

氏名	所属・役職
上野 薫	講師

（経理担当者及び業務管理者の所属、氏名）

【事業管理者】

財団法人名古屋産業科学研究所

（経理担当者） 中部ハイテクセンター 事務局長 安部 浩二
 （業務管理者） 中部ハイテクセンター 産学連携支援部長 藤根 道彦

【再委託先】

株式会社エムスタイル

（経理担当者） 代表取締役 橋本 真
 （業務管理者） 代表取締役 橋本 真

学校法人 中部大学

（経理担当者） 財務部 財務課長 岡畑 満孝
 （業務管理者） 応用生物学部 環境生物科学科 講師 上野 薫

（協力者・アドバイザー）

長野県農業協同組合中央会 地域農政部 部長 藤本 人寿 氏
 社団法人長野県農協開発機構 主席研究員 大熊 桂樹 氏
 J A 中野市 常務理事 前澤 憲雄 氏
 J A 中野市 課長 海谷 栄治 氏
 長野県生協 元専務理事 祖父江 哲一 氏

1-3 成果概要

●本研究開発により、次のような結果を得ることができた。

①土壌酸性化抑制技術の研究開発とラボテストによる堆肥化過程構築に関する研究開発

図1に示すような農地の土壌酸性化の影響を及ぼす要因（酸性化物質）を可能な限り除外したきのこ廃菌床の堆肥化手法を確認できた。

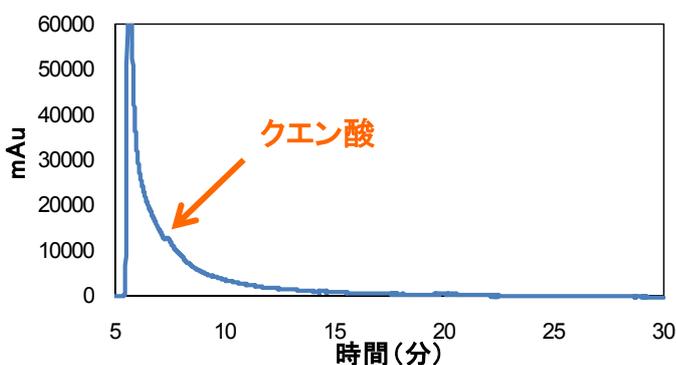
この手法は、自然界から特定に選別した微生物群を有機材に定着させ、新鮮なきのこ廃菌床に添加すると、堆肥化を短期間に終了し、その後は土壌に投入しても土壌酸性化などの化学的影響を極力抑えることができるものである。

現在この手法を用いて、きのこ廃菌床堆肥の経代生産を実施している。

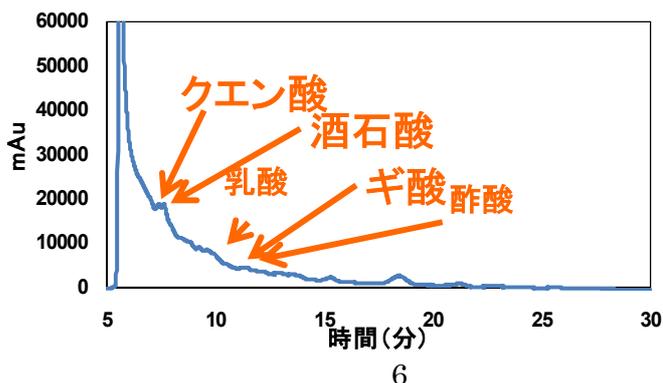
- 1) 従来なきのこ廃菌床堆肥、試作した微生物添加型きのこ廃菌床堆肥のふたつに対し、一般的な熟成期間を経過したものを分析して、含まれる化学成分を比較することから、堆肥化時の発生成分を確認した。また、新鮮なきのこ廃菌床に、試作した微生物添加有機材を添加し、一定期間において経過観察／分析を実施することで、堆肥化時の発生成分を確認した。

(図1) [きのこ廃菌床堆肥の成分分析結果 (HPLCによるもの)]

[A] 本研究による微生物資料を添加した廃菌床堆肥 (4ヶ月経過)



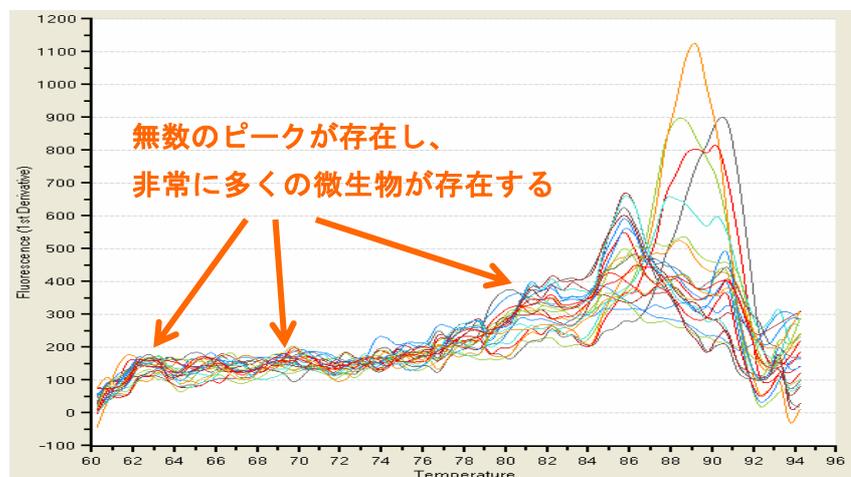
[B] 従来どおりの製造法で作った廃菌床堆肥 (4ヶ月経過)



結果として、本研究による微生物試料を用いたきのこ廃菌床堆肥は、従来の廃菌床堆肥と比べて4ヶ月の熟成が終わった後に有機酸物質がほとんどなくなることを確認できた。この状態なら田畑の土壤に施用しても影響が出ることはほとんどないといえる。

- 2) A/Bに対してサンプリングを実施し、サンプル中の微生物活性から、堆肥化時の微生物的構造と活性化状態を確認した。
微生物資材を添加したもの(A)では、最終成果物中に50種を越える微生物が生息していることがわかり、高度で複雑な生態系が構築されていることを確認した。

(図2) [微生物添加型きのこ廃菌床堆肥中の核酸量を分光光度計で計測]



本研究による微生物試料は、きのこ廃菌床の中のきのこ菌や長野県の土着菌群などの多くの菌群と共生でき、機能的な補完関係を構築できることがわかった。

- 3) 微生物構造の解析により、好気性条件で硝化/脱窒作用を発生させていると思われる微生物を確認した。硝化作用に関連していると思われる微生物は繊維質分解に優れる3種を確認できた。また、脱窒作用に関しても1種を確認した。全ての微生物は堆肥化後のサンプルから検出できたもので、定着残存率が非常に高い有用な微生物であることを確認した。
- 4) きのこ廃菌床の堆肥化に適正な含水量・温度・pHなどの条件について小規模実験下で確認した。50gのきのこ廃菌床に10ml程度の選定微生物の水溶液を加え、恒温機で管理したところ、従来に無い高速な腐食作用を確認することができた。
- 5) 大量生産を想定した規模拡張型堆肥化試験により、堆肥化に適正な含水量・温度などの各種条件の変化について確認した。

②フィールドテストによる実施環境下におけるコンポスト化手順確立に関する研究開発

小規模実験により確認できた条件が産業生産時にも適用できることを確認した。きのこ廃菌床堆肥のベースに使用するきのこ廃菌床はフィールドテストでは何百倍の量に飛躍的に増えるが、添加する微生物資材量と処理できるきのこ廃菌床量について具体的な事例となる条件を得ることに成功した。フィールドテストはJA中野市のきのこ廃菌床管理センターで実施し、約70tベースに適応できる条件を確認した。

(図3) [フィールドテスト実施状況]



③廃菌床堆肥を実際の農地に適用したときの土壌単体の理化学性のモニタリングから適正な施用法を研究

微生物添加型のきのこ廃菌床堆肥を農地圃場に施用し、土壌状態の変化を確認した。

- 1) きのこ廃菌床堆肥を全農が定める堆肥基準に照らしても、図4にあるように性能的にも一般堆肥と遜色ないか、もしくは優れている製品になっていることを確かめた。

項目はpH、EC、C/N比を比較したが、いずれも規定範囲内であった。

併せて、CEC、粒径などについても検証を行ったが、既存の製造方法に比べてよい効果を得られることを確認した。

- 2) 本手法を用いて作ったきのこ廃菌床堆肥を実際の農地土壌に施用してみて、施用内容を変更しながら植生の変化を確認した。

平成22年2月下旬～3月上旬までの短期間であったが、各種の農産物の定植を行い、本資材の施用による弊害・異常などが端的に発生しないことを確認した。

(図5) [定植農産物の生育事例]



(ソラマメ)



(ナガネギ)



(中国菜)

いずれも冬季の条件的には厳しい時期での定植試験であったが、想像以上に良い生育をしており、本資材が悪い影響を及ぼしている可能性を見出すことはなかった。特に地温の上昇効果には高い効果を期待できる結果を得た。

1-4 当該プロジェクト連絡窓口

財団法人 名古屋産業科学研究所 産学連携支援部門 藤根 道彦

〒460-0008 愛知県名古屋市中区栄二丁目10番19号 名古屋商工会議所ビル8階
連絡先 Tel 052-223-6639 Fax 052-211-6224 E-Mail fujine@nisri.jp

第2章 土壤酸性化抑制技術の研究開発とラボテストによる堆肥化過程構築に関する研究開発

2-1 研究目的及び目標

①堆肥化時に起こる強酸性化現象の要因把握

まずはじめに、きのこ廃菌床を堆肥化する際に起こる強酸性化現象を抑制する技術を開発するための要因の解明を行う。

②堆肥化時に起こる強酸性化現象の微生物学的把握

堆肥化資材をサンプリングし、微生物相（構成）並びに微生物の正体を把握する。また微生物相の変化を時系列で追跡し、主体的に働く微生物とそのDNA量の変化を把握する。また、廃菌床は畜糞に比べて格段に繊維質が多い原料であるので、主要な成分であるリグニン等の高分子繊維質を極めて短時間に分解することが必須である。この作用を一番高く発現している時は腐食による酸の生成量が多い時でもあるので、その時期を捉えて、前述と同様の方法により、影響を大きく及ぼす微生物について特定する。

③好気性条件で脱窒を行う微生物の探索

繊維質を分解した後の脱窒過程も速やかに作用を発生させることができ、なおかつお互いの存在や作用効果が干渉しないような有用微生物の適正な選定と管理条件の設定を行う。

④連続的な好気性発酵による完全堆肥化の条件探索

きのこ菌は、一般的に15~38℃を活性温度域にしている。現在の処理法による廃菌床の野積み保管では、その温度が容易に40℃以上に達するため、きのこ菌自身による分解発酵は期待できない。このことを通常ありうる外気温の範囲で②において特定する微生物群が十分に機能することを恒温機、乾熱滅菌機等を用いた耐熱試験・擬似耐候試験により実証し、堆肥化過程での環境管理条件を設計する。堆肥化条件設計の際には、堆肥化資材中の水分保持力が分解効率（速度）と密に関係し、特に繊維質を含む有機物の分解の速度向上に影響すると考えられることから堆肥化資材のサンプルを時系列に取得し、水分保持力の変化を調査し、効率堆肥化に寄与する妥当な水分保持力とそれに基づく含水量条件を確立する。

⑤繊維質腐食、臭気抑制等の必要事項を配慮した条件設定

酸性化抑制技術の概要が定まり次第、実験用ラボにおいて堆肥製造検証を行う。ここでいう概要とは、適正な水分保持力を特定することによる堆肥原料の含水調整や微生物の働きとその発現タイミングの把握を微生物相の分析から行うことで、酸性化を抑制し、かつ高速熟成する資材製造スケジュールを把握することを指しており、その各条件を基に少しスケールアップした規模用に調整し、更に多少の自然条件を取り入れた、実用に近い形での堆肥化手順を構築する。

2-2 実験方法

- ①微生物が働くことにより硝化過程が促進され、堆肥化資材中に酸性物質が生じて酸性化が起こると考えられることから、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)を用いて具体的な物質群の特定をする。
- ②堆肥化資材を粉碎して資材中に含まれる微生物のDNAを抽出・加工し、PCR法、DGGE法による微生物構造解析、DNAシーケンサーによる塩基配列解析等を行って、一番活性が高く繁殖力が旺盛な微生物を特定する。
- ③②で特定するそれぞれの作用に秀でた微生物を培養して廃菌床に加え、効率的に作用させられる配合法と条件、適正配合量を特定する。従来の堆肥化と同じように発酵分解過程を進ませた時、どのようなプロセスになっているかを調べる。
- ④特定された高機能有用微生物の適用により外気温 30℃以上の条件で 50Kg の廃菌床を 2 週間を目安に一定の腐植レベルまで到達させられる高速プロセスを確立するための条件を導く。堆肥化の条件各種については、全農推奨基準値を目標としてステップごとに比較し、準ずる値が得られた時点を堆肥化完了とする。
 全国農業協同組合連合会の推奨基準値は次の通りとし、pH : 5.5~8.5 EC : 3.0dS/m 以下 C/N 比 : 10~40 (12 を推奨) を目安に検討を行う。
 また、一般的に水分保持力(水分活性)と微生物活性は比例するので、水ポテンシャル装置を用いて同資材を分析し、水分保持力と微生物の活性度合いから、堆肥化促進・微生物繁殖に最適な環境中の水分状態を調査する。
- ⑤堆肥化過程のタイミングを知る上で、作用開始時間・作用完了時間の把握は、後の大規模実用試験での作業手順の組み立てに必須であるため、この規模で可能な回数リトライを行って、それぞれの時間や状態変化に関する綿密なデータ集積を行い、堆肥化手順に妥当性を付加する。
 また得られたデータ/条件を基に繊維質腐食/臭気発生などの堆肥化の際に副次的ではあるが、非常に重要視され、堆肥化の際の中核問題になりうる項目にも留意し、繊維質がよく分解するタイミング、臭気が急速に無くなるタイミングにおける堆肥内の状況を確認する。

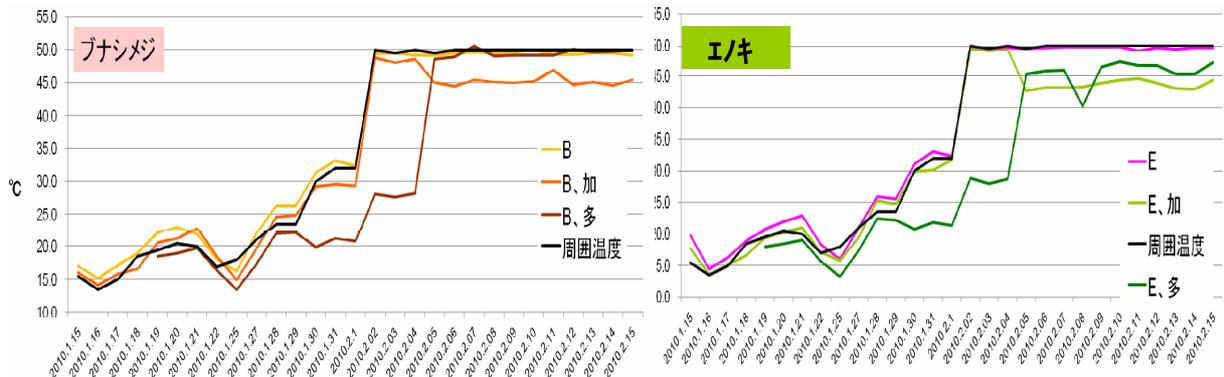
2-3 研究成果

本研究に使用する原試料は、主に以下の4つとした。

原資料	pH (0time)	主原料	微生物
シメジ廃菌床(新鮮なもの)	5.5~6.0	スギ・マツ・穀類	きのこ菌のみ
エノキ廃菌床(〃)	7.0~7.5	コソコブ	きのこ菌のみ
混合廃菌床(4ヶ月経過)	6.0	コソコブ・カグス・穀類	自然流入
自然の恵み混合廃菌床(〃)	7.5	上記のもの+バーク+畜糞	自然流入+人工添加

対象の4試材のうち、堆肥化が進んでいない新鮮な廃菌床2種を小分けして水分

調整し、管理温度下に置くことで、初期の堆肥化作用が始まり、有機酸物質等の発生により、酸性化現象がHPLCの成分分析により確認できると考えた。



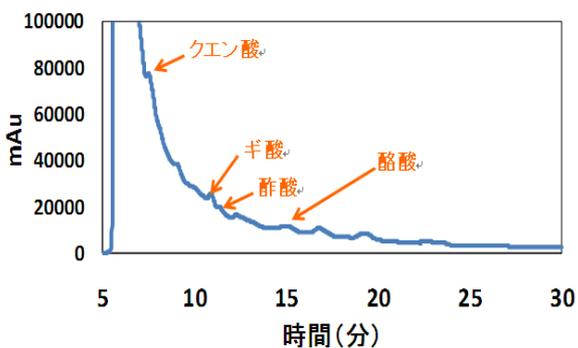
0～1週目は30℃室内で15～20℃平均で管理。2週目以降は恒温機を用いて50℃の恒温管理を実施した。

シメジ廃菌床			エノキ廃菌床		
非加水	含水量少	含水量多	非加水	含水量少	含水量多
188%	277%	317%	158%	258%	288%
pF3.8 以上	pF3.7	pF2.5	pF3.8 以上	pF3.55	pF3.0

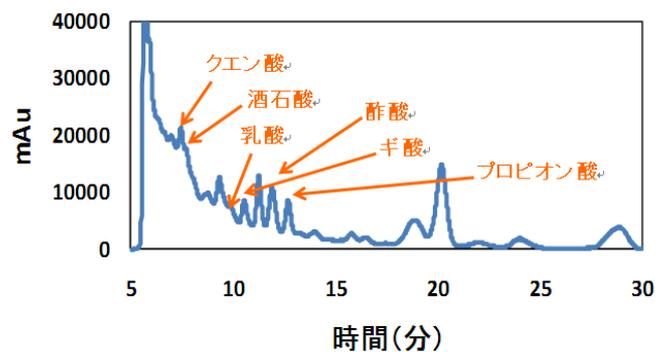
本条件における水分量の設定には土壌水分計、温度計測には温度センサーおよびロガーを用いた。

これらの試料を4週間程度堆肥化させた後、酸性化現象を裏付ける成分の溶出を期待し、HPLC分析により有機酸物質を調べたところ、下記のグラフを得た。

(a. シメジ廃菌床のHPLCデータ)



(b. エノキ廃菌床のHPLCデータ)

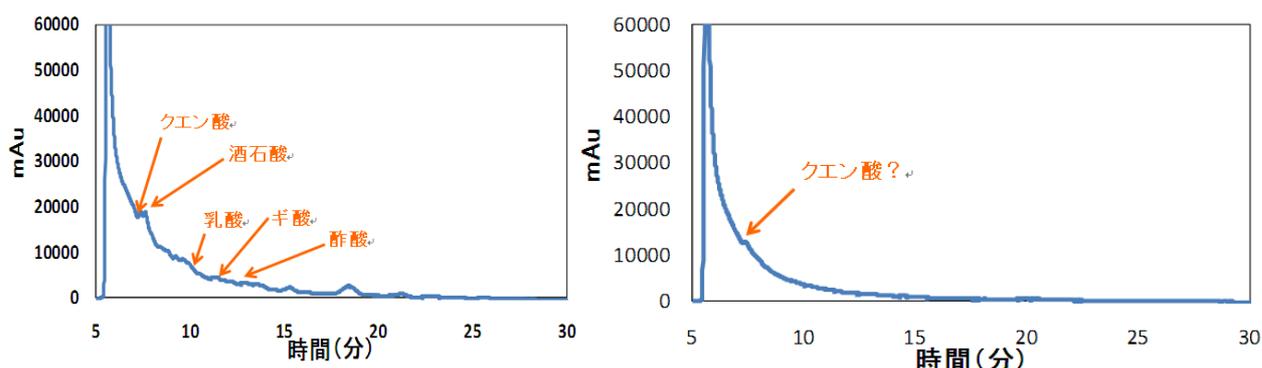


シメジ廃菌床においてはオガクズ等が多まれることから、リグニンなどの難分解性有機物が多いことが予測され、早ければフェノールなどの酸性物質が検出されるかと思われたが、シメジやエノキの廃菌床単体の堆肥化初期過程においては、易分解性有機物を中心にモニタリングしていたこともあってか、フェノールなどは検出されなかった。しかし、クエン酸をはじめとした多くの酸性物質が検出され、特に全体としてシュウ酸様物質が高濃度に含有されていることがわかった。また今後の分解進行により、より多くの有機酸が生成されることは間違いないと考えられた。

非常に夾雑物が多く、複雑な構成であるので、シメジ廃菌床などで検出のピーク幅が大きくないように見える場合でもかなりの有機酸物質が含まれていることは間違いないと言える。

一方で堆肥化4ヶ月を経過したエノキ・シメジの混合廃菌床堆肥を分析したところ下記のグラフを得た。

(c. エノキ・シメジ混合廃菌床堆肥 d. 微生物試料を用いた堆肥/4ヶ月経過のHPLCデータ)



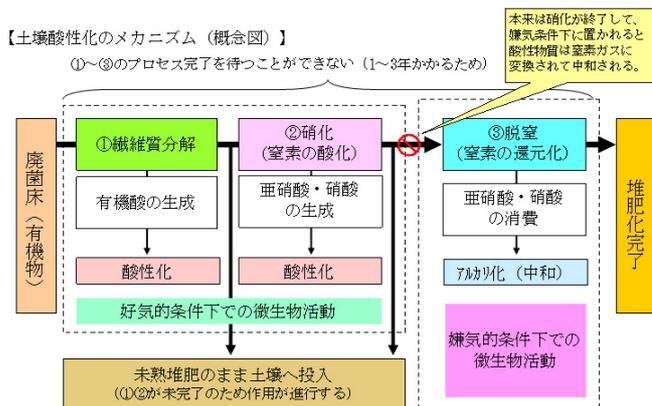
新鮮な廃菌床堆肥と比べると有機酸の検出（ピーク）が小さくなっていることがわかる。しかし、それでもまだ夾雑物が多いようで、精査すると多種多量の有機酸物質が残っているであろうと考えられた。

最後にエノキ・シメジの廃菌床混合堆肥に我々の持つ微生物試材を添加して4ヶ月を経過したものを分析したところdのグラフを得た。

このサンプルにおいては、ほとんど有機酸物質が検出されなかった。

これは、選定微生物を添加して堆肥化させた廃菌床には、ほとんど有機酸物質が含まれておらず、この堆肥を土壌にいれても土壌は酸性化に関しては、ほとんど何の影響も受けないであろうことを示している。

また、堆肥の土壌への影響を小さくできる順番は【d > c > b = a】であるといえることがわかった。



当初、堆肥化時の酸性化のメカニズムを前頁のように想定していたため、第一段階である繊維質分解によるフェノール類を主とする有機酸物質の発生と第二段階である窒素の酸化による硝化作用の発生とが酸性化の要因であると考えていたが、今回の分析では a / b においてフェノール等の強酸性物質の検出ができなかった

ことと a / b に対して継続的な pH 計測を実施した結果、期間内には初期に 5.5 ~ 7.0 / 7.0 ~ 8.5 であった試料が 4 週間後には 1.5 程度上昇し、アルカリ性を示したため、4 週間で大きな酸性化現象を確認することはできなかった。

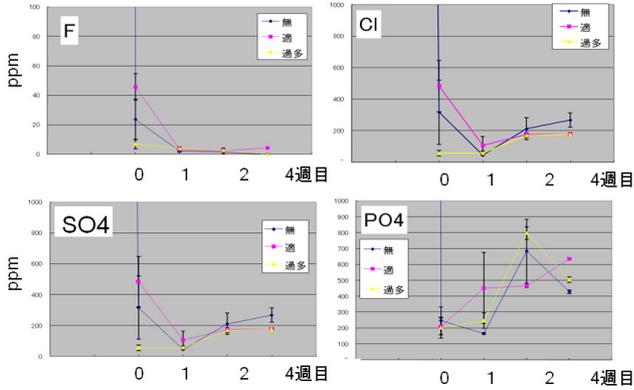
4 ヶ月間経過させた試料 c / d ではそれぞれ pH が 4.0 ~ 6.0 / 7.5 ~ 8.0 となっていたことから、きのこ廃菌床の堆肥化の進行過程では pH は、以下のような推移

	初期	前期	中期	後期	末期
微生物なし	弱アルカリ性	酸性	強酸性	弱酸性	弱アルカリ性
微生物あり	弱アルカリ性		酸性	弱アルカリ性	

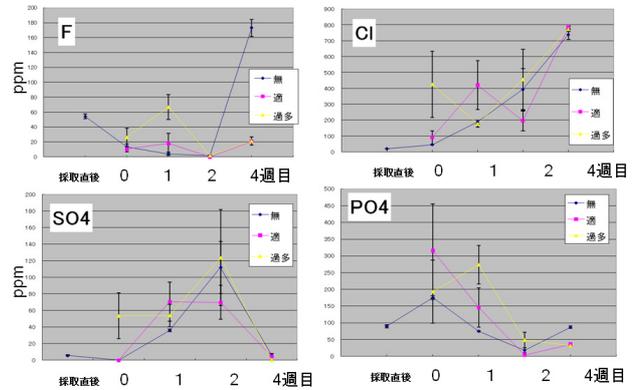
をみると推測できた。

このpH変動の要因を把握するために陰／陽イオン分析を行ったところ、下記の結果を得た。

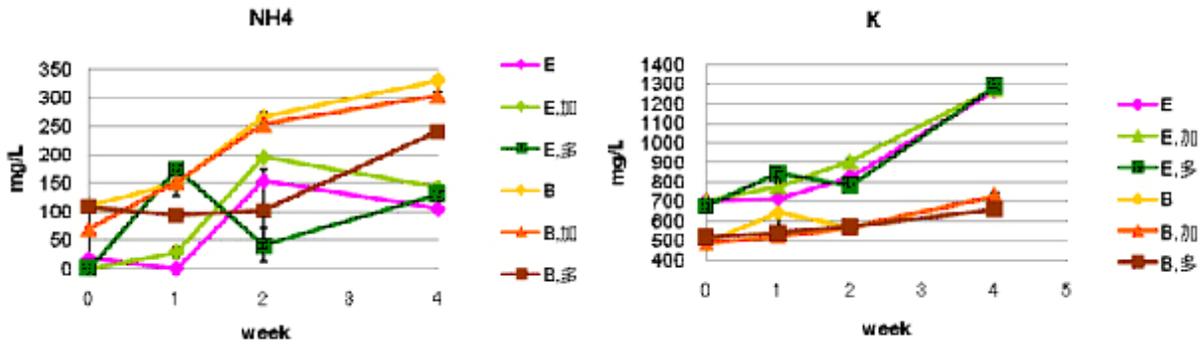
(e. シメジ廃菌床堆肥・陰イオン)



(f. エノキ廃菌床堆肥・陰イオン)



(g. エノキ・シメジ廃菌床堆肥・陽イオン)

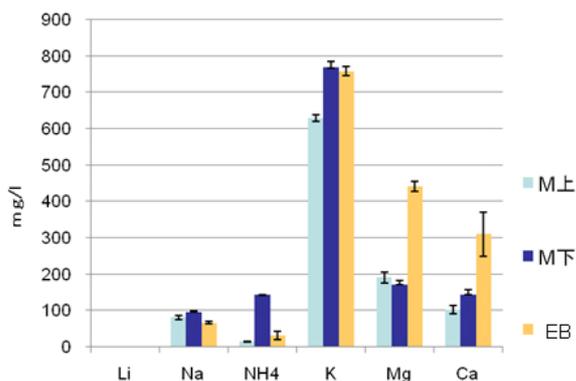


陽イオン分析からは、図gからアンモニウムイオンとカリウムイオンが時間の経過に伴い多く溶出していることがわかった。

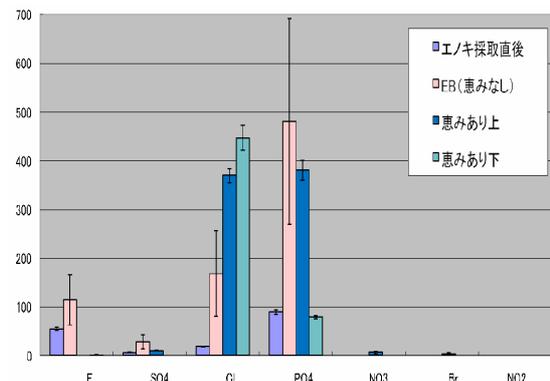
このことからpHが初期に弱アルカリ化する現象は、分解過程でアンモニウムイオンが生成されるためであると考えられた。

これに比較して、4ヶ月堆肥化した試料のイオン分析を行ったところ下記の結果を得た。

(h. 4ヶ月堆肥・陽イオン分析)



(i. 4ヶ月堆肥・陰イオン分析)



e / f / g に比べてアンモニウムイオンやカリウムイオンが低下傾向にある。

4 週間以降 4 ヶ月までの堆肥化過程では、陽イオンのアンモニウムイオンとカリウムイオンが消費されていることがわかった。

陰イオンでは、自然の恵み非添加試料ではフッ素イオンや硫酸イオン、リン酸イオンが多く残留していたが、自然の恵み添加試料ではそれが低下あるいは消失していた。

微生物試料を添加した堆肥においては、酸性物質が極めて少ないことが明らかにされた。このことにより、完全堆肥化と呼ばれる状態のひとつの形が微生物試料を添加したきのこ廃菌床堆肥の状態であると考えられることができる。

従って、初期の堆肥化課程で分解作用の結果に生成されるアンモニアが、硝化細菌の働きによって硝酸や亜硝酸などの酸性物質に変化する過程で一旦酸性化しその後脱窒菌によりガス化して堆肥試料中から開放されて減少していくために最終的に弱アルカリ性の pH に落ち着くのであろうと推察された。

- ②当初想定した堆肥化のメカニズムにおいて、早期に発現すると考えていた酸性化が、4 週間の初期堆肥化期間にはほとんど発現せず、またある程度、堆肥化が完了した後期・末期においてもアルカリ性質になってしまっていることから堆肥化過程において、リアルタイムに酸性化の時期を特定することは難しいと考えられたが、①で実施した陰・陽イオンの分析から堆肥化過程のどこかで一旦は酸性化していることは間違いないと思われた。

そのため、廃菌床の堆肥プロセスの中で硝化作用に係わっているであろう微生物を単離培養により分離し、特定することにした。

微生物を廃菌床堆肥から切り離すために廃菌床を滅菌水で洗浄してから上澄みを採取し、有機ゴミなどを除去した後、再度集約したものを利用した。

これを新しい寒天培地に植え込み、48 時間置いた結果、様々な形質をもつ微生物のコロニーが現れたので、目視により色・厚み・硬度・臭いなどを確認しながら単離培養を実施した。

この結果、51 種類の微生物を単離培養することに成功した。

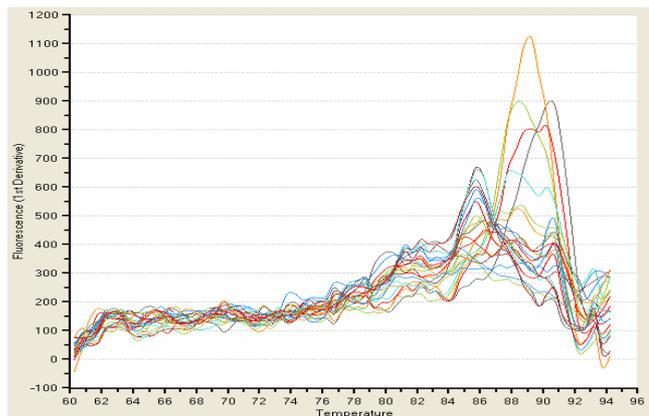
主な培養菌種については、現在も経代培養を重ね、菌株の保管を継続している。

当初きのこ菌は活性温度域が 15~38°C 程度しかないため、50~70°C 以上が継続的に維持される堆肥という高温の塊内で活性を保つことは難しいと考えていた。

しかし、微生物試材を添加して製作したきのこ廃菌床堆肥の中には、死滅したはずのきのこ菌や近似の低温・中温活動菌が堆肥化完了後のサンプル試料中から確認できてしまったため、きのこ廃菌床堆肥の発酵プロセスを再調査する必要性が出てきた。

(j. サンプル試料中から確認した微生物活性の状況)

1



この図 j は、サンプル試料をビーズビーターという特殊な粉碎装置で粉碎し、腐植物質などを遠心分離機と薬品で全て取り除いた純粋な DNA 溶液を PCR 装置で増幅し、分光光度計で μL 内に存在する量を蛍光量で捉えたものである。

蛍光量 (Y 軸) が大きいほどたくさんの DNA が含まれていると考えられ

るもので、それぞれの色線のピークが個々の微生物の DNA をおよそ示すことができる。この分析を行ったことで、重複したピークを外して大まかなものだけをカウントしても 50 以上あることがわかり、きのこ廃菌床堆肥には、新たに 10 種類以上の微生物が入り込んでいる。通常、微生物は拮抗作用と呼ばれる他の微生物を自らの生存圏に入れないようにする作用を示すため、なかなか他の微生物と共生したり同調したりすることは難しいといわれる。

従って、多くの有用機能を持った微生物が同時に活性を上げられる環境が微生物試料を投下しているきのこ廃菌床内に作り出せることがわかった。

ちなみに単離培養した微生物群は、期間中に 22 種類の塩基配列解析を終了することができた。

その結果に基づいて、微生物 DNA を DNA シーケンサーで塩基配列解析し、取得できた塩基配列データを NCBI の BLAST データベースに照会して処理したところ、繊維質特にリグニンを分解する能力に秀でた微生物を 3 種類確認することができた。

また、この解析で確認された微生物群は、微生物試料に初期から配合されている微生物であり、微生物試料中での共生は当然であるが、きのこ廃菌床堆肥の完成後も高い残存率を示す結果となった。

加えて、きのこ廃菌床でも特にシメジ廃菌床は、針葉樹のオガクズを培地原料に使用することからリグニンの含有量が多く、その分解に時間がかかることから、このリグニン分解を短時間に完了できる 3 種の微生物群があることで、短時間ではあるかもしれないが、微生物分解によってフェノール等の酸性化物質が発生するタイミングが必ず存在すると推察できた。

③本研究では②と同じ手法を用いて、脱窒作用を行う微生物の特定を行った。

脱窒作用とはアルカリ性化の働きであるので、堆肥化作用の初期に生じている現象と同じものが、堆肥化後期・末期にも始まる可能性を想定した。

この根拠として 4 週間の堆肥化 (初期堆肥化過程) では、陰イオン分析により硫酸イオンとリン酸イオンが多い傾向があり、陽イオン分析からはアンモニウムイ

オンとカリウムイオンが多く溶出している傾向が挙げられた。(図 e, f)

このことは易分解性有機物や低分子の糖類、タンパク質などを分解する微生物の活動が生じていたことが推察できた。

②の実験により3種は繊維分解菌であったが、そのうち1種が脱窒菌で知られている菌であることから、脱窒効果を期待できるのではないかと推察した。

本件については、今後各種試験を今後実施して確認する。

④4週間の堆肥化(初期堆肥化過程)では、易分解性有機物や低分子の糖類、タンパク質の分解が生じていたと考えられた。

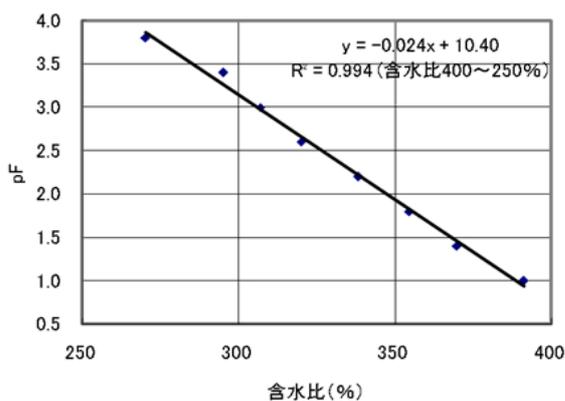
その過程を促進する条件は、最も乾燥側の条件であるpF3.7程度であることがわかった。(図m, n)

従って初期段階においては完熟堆肥化を目指すのに廃菌床に加水をする必要はないことになる。それよりも完全堆肥化を目指す場合、まずはpF3.7程度の状態を維持しながら、きのこ廃菌床堆肥の混合体を活性化させる必要がある。

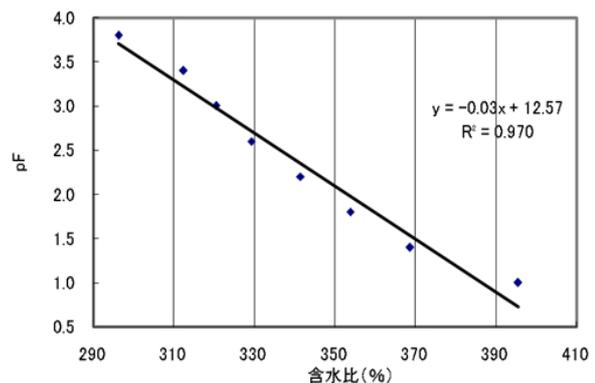
また、4ヶ月堆肥の分析結果と実例から考察して、微生物試料を利用する場合にはこれまでのような感覚的な切り返しの実施をした場合でも『完熟堆肥』といえる状態に4ヶ月程度で到達することがわかった。

現在の製造における切り返し作業は作業者の経験則に基づくとところが大きいですが、今後はその判断基準を水分条件やpH、硝酸量などを簡単に計測して判断できる方法を考案して、誰でも状況/データに基づいて実施できる方式に置換する。

(m. エノキ廃菌床 pF水分特性)



(n. シメジ廃菌床 pF水分特性)



⑤繊維質腐植および臭気低減を考慮した場合の堆肥化手法としては、微生物試料をどのような形で混合するかにより大きく依存するのではないかと考えた。

小規模テスト実施の中で、新鮮なきのこ廃菌床をいかに早く腐植させるかを考察した場合に特殊な条件環境を作ったときに今までにない早い腐植作用が現れた。

この手法を実施した方法は、環境こそ理想に近い状態に管理して実施したものであるが非常に高い活性状態の菌群がきのこ廃菌床に定着することにより、非常に

早い速度で腐植反応が進むということを確認できた点では意味は大きいと考える。



2月15日

2月22日

3月3日

3月3日のものは非常に良い腐植を示しており、臭気も縁の下の臭いのみ

第3章 フィールドテストによる実施環境下におけるコンポスト化手順確立に関する研究開発（自然環境下ないしは実施環境下における堆肥化のフィールドテスト）

3-1 研究目的及び目標

次に自然環境下における堆肥化実証研究を行い、不確定要素を加えた、より現実に近い形での発酵過程の検証を行う。ラボテストで行った理想条件下に比べ、この研究では実用化を考慮して、堆肥化させる廃菌床の対象量や気温・湿度などの変動条件、受入時の廃菌床の状態などを実際の運用に近い厳しい条件を想定してコンポスト化研究を実施する。本研究は長野県中野市のJA中野市きのかセンター（廃菌床保管場）を主な実験場とする。

3-2 実験方法

まず、理想条件下との差異を考慮して、自然環境下で最も発酵速度に優れる管理条件を特定する。具体的には菌体資材の混合率を変えた複数の処理対象物を作り、最大効果がある混合率と普及効果がある混合率の2つを特定する。

1-①で把握する「繊維質の分解過程」・「硝化（窒素の酸化）過程」・「脱窒（窒素の還元）過程」の各状態に短時間で到達できる混合条件を導き出す。各状態に到達したかどうかは、1-①中で定義される微生物相・成分・水分保持力を主とした総合的な条件に分析結果がマッチするかどうかによって判断する。

加えて、発酵熟成完了の目安については、pH、EC、C/N比等の土壌の状態変化を図る数値を継続的に取得し、全農推奨基準値に準じた計測値が得られた時点で堆肥化完了とする。

3-3 研究成果

J A中野市のきのこ廃菌床管理センターにおいて、70tあまりを対象とする堆肥化試験を実施した。

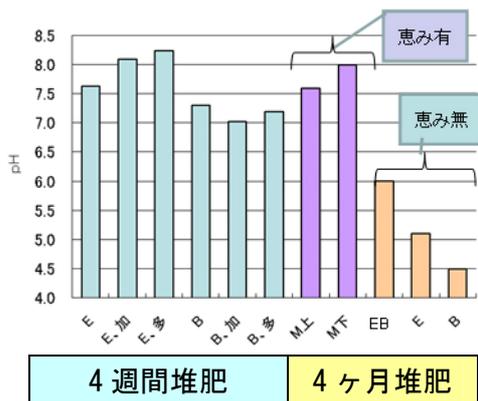


配合量は、きのこ廃菌床（シメジ・エノキ混合）70tに対し、微生物資材を1.2t加えた。比率としては、約1.8%であったが、当初想定6ヶ月を上回る約4ヶ月で完熟となった。

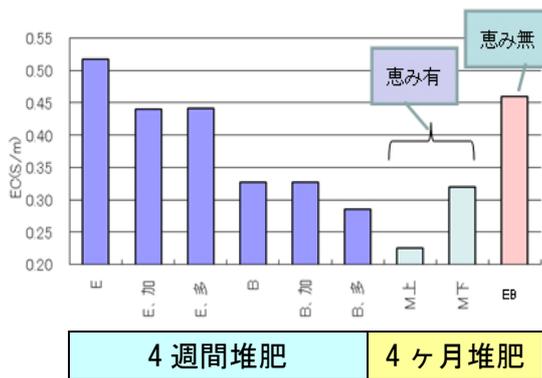
撮影時点では、まだ水蒸気が出ているので未熟なところがあったと思われる。現行作っている4ヶ月堆肥のうち、微生物試料を添加して作った製品を精査し、性能的な部分で全農の堆肥化基準を網羅できているかどうかを調べた。

[全農堆肥基準との比較]		
項目	全農堆肥化基準	微生物利用廃菌床堆肥
pH	5.5~8.5	7.5~8.0
EC	0.3又は0.5dS/m以下	0.325dS/m以下
C/N比	10~40(12程度が理想)	16~18

(o. pHについて)



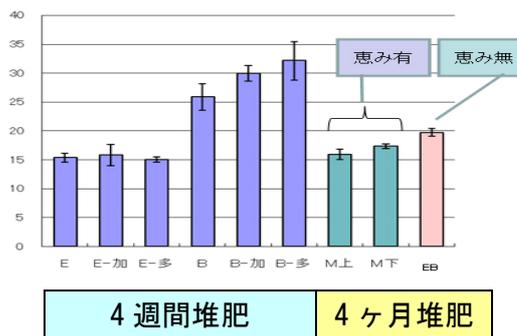
(p. ECについて)



調査結果では、微生物試料を添加したきのこ廃菌床堆肥のpHは7.5~8.0となり、全農堆肥基準5.5~8.5と比較して、十分に範囲内であった。

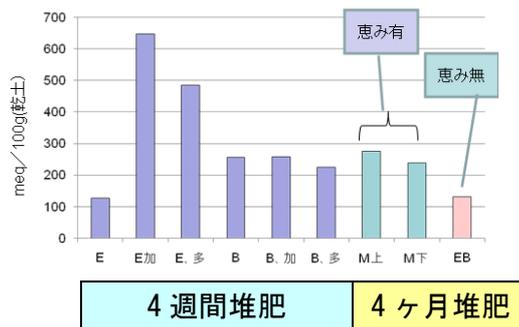
調査結果では、微生物試料を添加したきのこ廃菌床堆肥のECは0.225~0.325dS/mとなり、全農堆肥基準と比較したときに、パーク基準の場合は上限0.5dS/m範囲内ではあるが、畜糞基準の場合は上限0.3dS/m以下であることから堆肥塊の場所によってはECが過剰になっているところがあった。

(q. C/N比について)



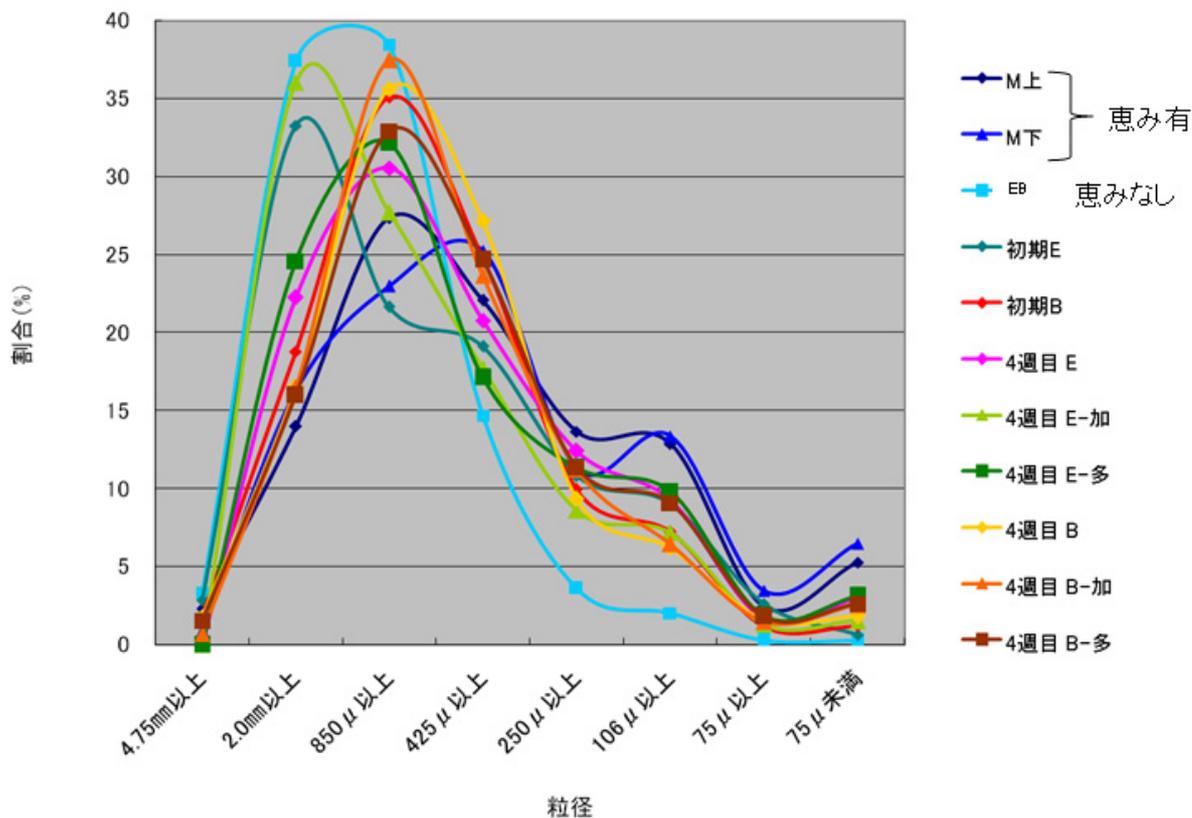
調査結果では、微生物試料を添加したきこの廃菌床堆肥のC/Nは16~18となり、全農堆肥基準10~40と比較して、範囲内ではあった。しかし、一般的には12~14程度が望ましいとされていることから、熟成期間の延長によって、もう5ポイント程度低下させることが可能かどうかを検証する必要がある。

(r. CECについて)



調査結果では、微生物試料を添加したきこの廃菌床堆肥自体のCECは220~280となった。資材そのもののCECはあまり問題にされることもなく、全農基準でも明確な定義はないが施用対象とする土壌に対しての陽イオン飽和度計算などに用いることができる。

(s. 粒度について)



微生物試料を用いた場合、300 μ 以下の粒径については一番保持していることがわかった。このことは製品が粒ぞろいであること意味し一定に近い製品粒径を自然的に保っているということなので、きのこ廃菌床堆肥の製品付加価値も高いことを意味する。

第4章 施肥土壌に対する影響度合いと農作物への影響に関する研究開発

4-1 研究目的及び目標

廃菌床堆肥を実際の農地に適用したときの土壌単体の理化学性のモニタリングから適正な施用法を研究

実際の農作物の育成と理化学性のモニタリング・収穫量から適正な施肥法を研究

廃菌床堆肥の機能と製造方法が確立した段階で実際の農地にこれを適用し、土壌状態の変化を施用試験を行って把握する。堆肥化過程を新たに構築し直したことにより、本研究によって開発される資材は、農地土壌へ施用した後に酸性化が起きなくなっているはずである。

次に土壌への影響が確認でき、適正施用量が判明した段階で、実際に農作物を植える農地へ施用して、農作物の生育状況と収量について検証を行う。

4-2 実験方法

本研究は実際の農家圃場でフィールドテストを行う。

4-3 研究成果

実際の農業者さんにご協力いただき定植を実施した。

定植試験に入れたのが3月に入ってからであったため、具体的に定植できた農産物は、長ネギ、そら豆、中国菜の3種類だけであった。



それも、種からの植え込みはかなり状況から見て難しいとのことであったので、既に2週間苗育てていただいたものを、簡易ハウス（外畝にナイロンカバーのみ）に植え替えた状態で経過観察を行った。

当初は厳しい環境状況によって立ち枯れなどを心配したが、結果としては下記の記録のようによい生育を見ることができた。

[実定植試験記録]									
年月日	葉長 (cm)			丈 (cm)			地温 (°C)		
	マ	サ	升	マ	サ	升	マ	サ	升
10-03-01	06	32	12	22	05	08	07	07	07
10-03-03	06	33	12	22	05	08	08	09	09
10-03-04	07	33	13	22	05	08	07	09	10
10-03-05	07	34	13	23	05	08	12	13	13
10-03-06	07	34	14	23	05	08	11	12	13
10-03-07	08	34	15	23	06	10	10	12	12
10-03-08	08	34	15	23	06	11	11	12	13
10-03-10	08	34	16	23	06	11	09	11	12
10-03-13	08	34	17	23	06	12	10	12	13
10-03-14	09	35	17	23	06	12	11	11	12
10-03-15	09	35	17	24	06	13	12	11	12
10-03-17	09	35	18	24	07	14	11	10	11
成長 (Max-Min)	+03	+03	+06	+02	+02	+06	+05	+06	+06

第5章 全体総括

5-1 成果の総括

(1) 研究成果のまとめ

微生物試料を用いたきのこ廃菌床堆肥は、全農堆肥化基準に定められた項目のほとんどクリアできる堆肥資材として完成した。

中部大学上野先生の強力なサポートにより農事試験場などでは時間もコストもかかる数々の情報の取得をすることができ、きのこ廃菌床堆肥の試材としての有効性を裏付ける情報を得ることができた。

また、完成後の酸性物質分析においてもほとんど酸性化物質を検出することができないなど非常に高度な熟成に至り、農地圃場に大変易しい資材ができたと考えている。

更に完熟条件については、再度精査しなくてはならないものの、現行ではおおよそ4ヶ月で到達できる今までにない高速性をもった資材にもなった。

また、堆肥化の後も生存し続けることが出来る微生物であることや繊維質分解菌、脱窒作用菌などの特定機能に優れた微生物の再確認、きのこ菌、地元菌群との共生が生まれていることなど、我々の持つ微生物試料が単純に強力だけでなく、環境に易しいツールであることなど今後に活かせる多くの情報を得ることができた。

(2) 今後の課題

研究後において今後は以下の問題を課題として取り組んでいく予定である。

① 土壤酸性化抑制技術の研究開発とラボテストによる堆肥化過程構築に関する研究開発に関するもの

今回、完熟まで4ヶ月という結果を作ったが、JA中野市におけるきのこ生産の増産量を考慮した場合、できれば更に半分の時間で完熟できる仕組みを作りたいと考える。

そのためには現在選定している微生物群に加え、更にきのこ廃菌床の堆肥化に貢献する微生物を特定し、より早く堆肥化を行える微生物資材を開発することが必要である。

また、大量生産を視野に入れた場合、今回のように有機材に微生物を定着した状態での提供は減容の面からは大きなマイナスである。できればきのこ廃菌床自体が有機繊維質材料であるので、菌群自体をきのこ廃菌床に直接定着させることで、余分な有機資材による増量をしなくてすむ堆肥化手法を開発したいと考えている。

②フィールドテストによる実施環境下におけるコンポスト化手順確立に関する研究開発に関するもの

大量生産を前提とした場合には、微生物資材が均一に定着せず、効果にムラがある製品になる可能性がある。全てのきのこ廃菌床をできるだけ同じ品質の廃菌床堆肥にするために上野先生が提唱した切り返し基準の共通化をはじめとする製造手法の改善、品質評価の検討を行いたいと考えている。

③廃菌床堆肥を実際の農地に適用したときの土壌単体の理化学性のモニタリングから適正な施用法を研究

今回の定植試験では、施用量自体が少なかったことと対象とした農作物の種類が少なすぎたため、本成果が確実に実証されたわけではないといえる。

今後、この新型きのこ廃菌床堆肥を具体的な営農家等で使用したデータを累積的に蓄積し、必要な改良を実施することで、更なる品質向上を行う。

当初予定していたJA中野市の主力生産品でのテストを実施することで、バイオマス資源の地産地消モデルの構築ができるように改善していきたい。

5-2 工業所有権の取得状況及び対外発表等の状況

特になし

5-3 今後の事業化に向けた取組み

研究終了後、JA中野市様にご協力いただき、大量生産に対応する製品クオリティの開発を行っていく予定でいる。

今回、小規模試験で実施できた微生物試料を用いたきのこ廃菌床の安全性をもう一ランク高いレベルで、実用を踏まえて検証していただく。

もちろんこれは、製品の性能は当然のこと、実際の施用の実績、市場への販売に関する有効な価格設定に至るまでを検討折衝を繰り返させて頂き、近い将来に必ずJA中野市様でお取扱いただける内容に仕上げるつもりでいる。