

コンポスト製造プロセスにおける脱窒細菌と脱窒遺伝子の多様性に関する研究

東北学院大学	工学部	環境建設工学科	学生会員	高橋	佑典
	同上		学生会員	進藤	絵里香
	同上		非会員	大坪	和香子
	同上		正会員	宮内	啓介
	同上		フェロー会員	遠藤	銀朗

1. 序論

コンポスト化技術は、生ごみや家畜糞尿を窒素バイオマス資源（有機肥料）として再利用することにより、化学肥料による土壌汚染の拡大を防ぎ、循環型および環境保全型社会に貢献する技術として注目されている。しかし、窒素成分を多く含む畜産廃棄物などを材料としたコンポスト製造過程では、温室効果ガスである亜酸化窒素（ N_2O ）が発生することが問題視されている。今後、環境を保全しつつ農作物を持続的に生産するためには、 N_2O の発生抑制機能を付与した環境保全型コンポスト製造技術の開発が必要になる。本研究は、この基盤形成として、コンポスト製造過程で起こる N_2O 発生に関与する微生物の動態を明らかにすることを目的とし、脱窒細菌の保有する亜硝酸還元酵素遺伝子（*nirS*, *nirK*）と N_2O 還元酵素遺伝子（*nosZ*）に着目し、解析を行った。本講演では、コンポストの物理化学的性状を解析した結果とともにコンポスト中の*nirS*, *nirK*, *nosZ* の存在量および多様性について発表する。

2. 実験方法

2.1 コンポストの物理化学的性状の解析

本研究では、養豚場からの豚糞尿処理の際に発生する廃棄物を原料とし、単純野積みによるコンポスト製造（単純野積み法）を行い、コンポスト化週数0～9週目に採取したサンプルについて、温度、pH、 N_2O 発生

量、無機窒素化合物（アンモニウム態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素）量を測定し、各コンポストの物理化学的性状を比較した。

2.2 定量的リアルタイムPCR 法を用いた亜硝酸還元酵素遺伝子（*nirS*, *nirK*）と N_2O 還元酵素遺伝子（*nosZ*）の定量解析

コンポスト化開始後0～9週目の各サンプルからDNAを抽出し、このDNAを鋳型として脱窒細菌の亜硝酸還元酵素遺伝子（*nirS*, *nirK*）と N_2O 還元酵素遺伝子（*nosZ*）を定量的リアルタイムPCR法によって測定した。この測定結果から、DNA1 μ gあたりの亜硝酸還元酵素遺伝子（*nirS*, *nirK*）と N_2O 還元酵素遺伝子（*nosZ*）のコピー数を算出し、各試料中に存在した亜硝酸還元酵素または N_2O 還元酵素を保有する脱窒細菌の存在量を推定した。

3. 実験結果

3.1 コンポストの物理化学的性状の解析

図1にコンポスト製造過程におけるコンポスト堆積山の温度変化を示す。図2に製造過程の各週における水溶出液pHの変化を示す。図3にコンポスト製造過程における N_2O 発生状況を示す。コンポスト化開始後に、アンモニウム態窒素の急速な増加が見られた（図4）。これは、物理化学的揮散の他に、微生物による硝化（アンモニア酸化）によるものと考えられる。

キーワード: コンポスト 微生物 N_2O

連絡先: 〒985-8537 宮城県多賀城市中央 1-13-1 東北学院大学工学部 遠藤銀朗研究室

TEL: 022-368-7493 FAX: 022-368-7070

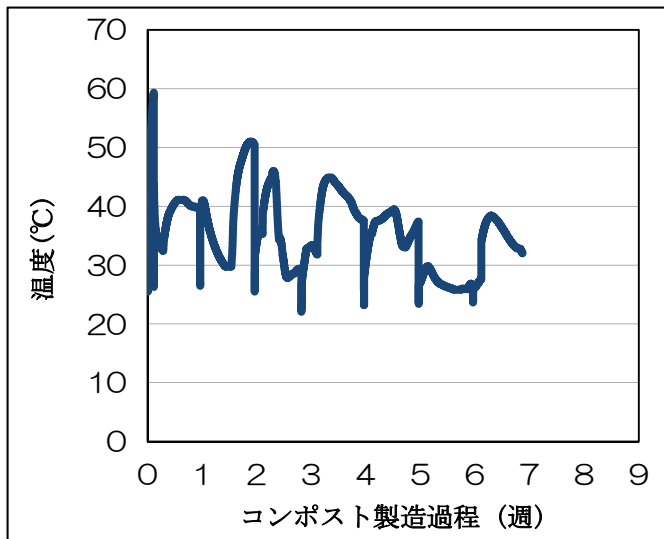


図 1. コンポストの温度変化

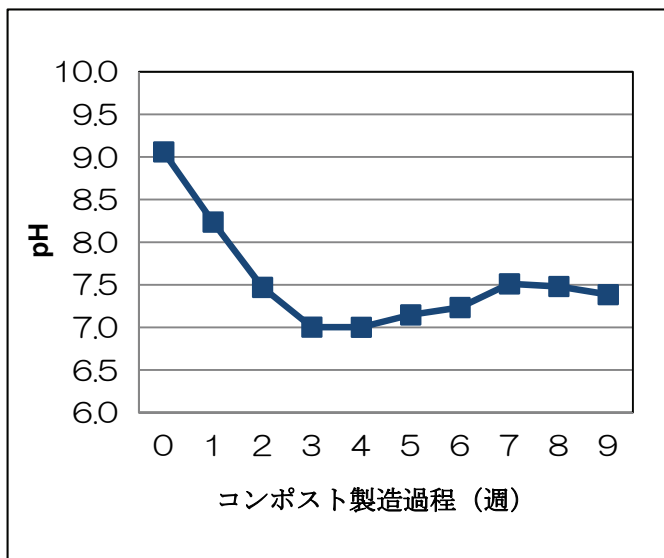


図 2. コンポストの pH の変化

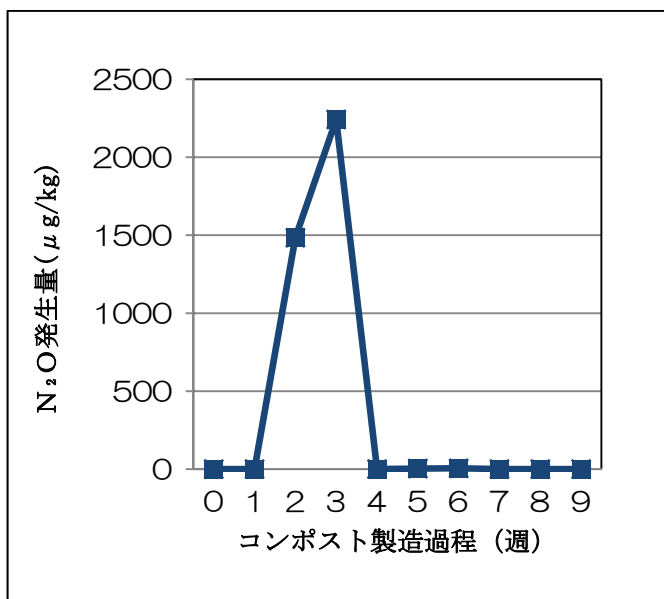


図 3. N₂O 発生量の変化

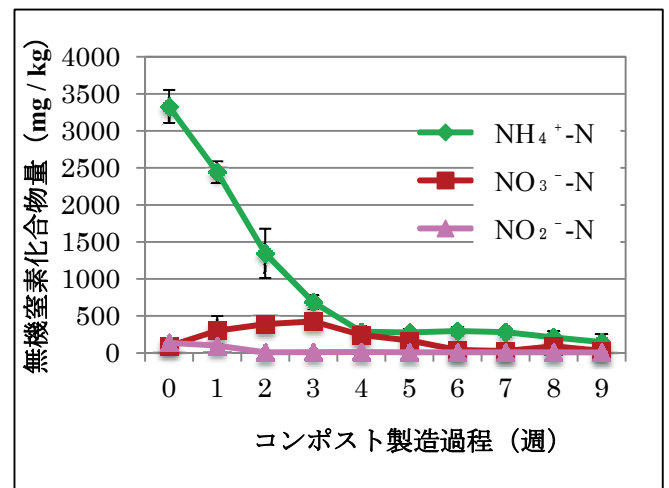


図 4. 無機窒素化合物量の変化

3.2 定量的リアルタイム PCR 法を用いた亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirS*, *nirK*) と N₂O 還元酵素遺伝子 (*nosZ*) の定量解析

nirS, *nirK*, *nosZ* のどの遺伝子もコンポストの製造過程ごとに存在量が変化していた。特にコンポスト製造過程の 3 週目と 4 週目での *nosZ* の存在量に大きな変化が見られた。

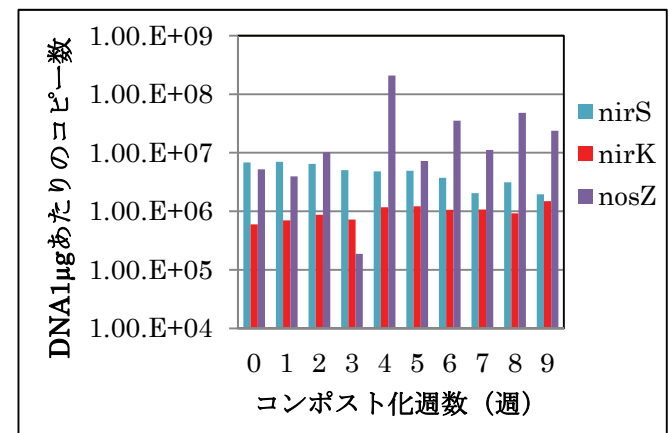


図 5. *nirS*, *nirK*, *nosZ* のコピー数

4. まとめ

本研究では、豚糞処理廃棄物を原料としたコンポスト製造過程において、N₂O の発生に関与する亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirS*, *nirK*) や N₂O 還元除去に関与する N₂O 還元酵素遺伝子 (*nosZ*) を保有する脱窒細菌の存在量の変化を明らかにした。得られた結果より、コンポスト製造過程における脱窒関連遺伝子は大きくそのコピー数を変化させることが知られた。これらの変化は、コンポストの物理化学的性状によると考えられた。また、これらの脱窒関連遺伝子の変化が N₂O の発生と関係すると考えられた。