

別 紙

論 文 の 内 容 の 要 旨

応 用 動 物 科 学 専 攻
平成 2 1 年 度 博 士 課 程 入 学
氏 名 朴 春 香
指 導 教 員 名 眞 鍋 昇

論文題目 The characteristics of novel aerobic ultra high
temperature fermented compost
(新規な好気性超高温発酵堆肥の特性に関する研究)

我国では肉用牛と乳牛が各々約 2 7 0 と 1 6 0 万頭、豚が約 9 8 0 万頭、肉用鶏と産卵鶏が各々約 1 . 2 億と 1 . 8 億羽飼養され、輸入品も含めて多量の畜産物が消費され、家畜からの廃棄物は年に 9 億トンにも達している。膨大な家畜の廃棄物は河川、地下水そして近海など環境への影響は大きく、家畜廃棄物の堆肥化、堆肥化効率の改善、堆肥化産物病原体の不活化、堆肥化産物の有効利用等を含む課題が多い。従来の家畜の排泄物は野外に野積みにして約一年近く放置すると自然に嫌気性発酵が進み未熟な堆肥化が進められた。野外に野積みされると雨水に病原体を含む汚水が河川と地下水を汚染し、未熟な堆肥を畑に撒くと野菜と果物に汚染が及ぶ。やがて人の健康と生命を脅かす。畜産は、腸管を介して感染する疾病（腸管感染症）による家畜の経済的損失、環境汚染および食中毒病原微生物による食品汚染を介した人の健康危害の二大問題を内包しており、これら問題克服は家畜の衛生飼養管理における本質的課題である。近年、堆肥の好気性発酵法が開発され（発酵温度 60～70℃）、幅広く使われるようになって、発酵効率は大きく改善されたが、病原体の不活化には限定的である。腸管感染症においては、糞口感染を阻止することが、感染症の暴露と増幅の循環を絶つ最も有効な方法である。

本研究の目的は、当牧場で採用されている斬新な好気性超高温発酵法（100～110℃）を用いて家畜廃棄物の堆肥化効率改善と有効性を検討している。好気性菌叢の増殖に最適な状態を検討し、空気調整による超高温状態を維持し、発酵効率と菌叢関係を調べる事と超高温状態で家畜糞尿や農場残渣に含まれる腸管感染症の病原微生物を不活化する事を目的である。

第一章では、好気性超高温発酵菌が、発酵槽内で有酸素状態で100℃以上の高温で発酵できるための最適発酵条件の検討を行った。東京大学附属牧場（以下牧場）で飼養している牛、山羊および馬が排泄する糞尿、飼料残渣、畜舎の敷料廃棄物および腐敗したヘイレージなどの牧草等の農場廃棄物を混合した材料を床面に2本の送気パイプを設置した4面コンクリート製（床面、奥面および両側面・横400cm、縦220cm、奥行700cm）の発酵槽内に積み込んで、発酵処理しながら、最適な発酵条件を探った。糞尿や農場残渣が混合した原料と発酵終了産物を概ね等容量混合して水分含量を約60%に調製したものを発酵槽内に積み込み、発酵槽背面に設置したブロアーを用いて底面送風を開始した。送風量は、送風量ゼロの無送風群、低送風量群（0.4-0.6 m³/時間）、高送風量群（1.2-1.8 m³/時間）と調整型送風群（二日間高送風量、二日間低送風、二日間調整型送風と一日無送風）を設定し研究を進めた。送風量を含む最適な発酵条件下では、最高発酵温度は117℃に達した。外気温が0℃以下になる厳冬期でも発酵温度は110℃以上を維持した。1週間に1回ホイールローダーを用いて槽内の全ての発酵物を他の空の発酵槽に移し替えるオールアウト・オールイン法で攪拌し、これを水分含量が35%以下、重量が発酵開始時の30%以下になるまで繰り返した。最適な発酵条件下では、4週間で発酵が終了し、発酵最終産物は1/10容以下にまで減少し、敷料中の藁なども全て分解されてパウダー状になった。これまで全尿が混じるために水分含量が多く、飼料中に抗菌物質が含まれることが多いために発酵処理が容易でなかった豚糞、エネルギー源が少なくて発酵が困難であると考えられていた廃棄牧草、通常の堆肥過程で腐敗してしまったものなどを原料として用いても、100℃以上の高温発酵を行うことができ、4から6週間で水分含量が35%以下の発酵最終産物を生産できた。

第二章では、110℃以上の発酵温度を維持できる最適発酵条件における発酵槽内と高温発酵に失敗した発酵槽内の菌叢解析を行い、高温発酵を担う細菌叢を同定した。菌叢解析は細菌の16S rDNAを変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（denaturing gradient gel electrophoresis : DGGE）にて解析し、主要な菌種については塩基配列解析を行うことで進めた。6門（*Actinobacteria*、

Bacteroidetes、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Chloroflexi* および *Deinococcus-Thermus*) に属する 17 種の特異的な菌種が同定され、それらの中の *Acidimicrobiaceae bacterium*、*Planifilum fimeticola*、*Planifilum yunnanense*、*Thermaerobacter composti* および *Thermus thermophiles* が高温発酵の維持に重要であることが分かった。これらの主要な菌種が適切に増殖できない発酵条件の場合には、発酵温度があがらない。

第三章では、最適発酵条件を保って 110℃以上の発酵温度を維持して生産した発酵最終産物の安全性評価と実用性評価を行った。雌雄成マウスに発酵最終産物を飲料水に懸濁して 28 日間給与すること、およびケージ床に敷料として用いて体重、摂餌量と摂水量の推移、各種臓器の病理組織学的評価、血液生化学検査成績などを指標として毒性を調べた結果、特段の毒性を検出できず、発酵最終産物は安全であると考えられた。次いで発酵最終産物を等量の大鋸屑と混合したものを牛の敷料として供し、敷料中の大腸菌レベルを調べたところ、すみやかに減少したことから、敷料における微生物の統御に有効であると考えられた。発酵最終産物を肥料として供した場合の有効性を評価するために牧草（イタリアンライグラス）、稲、玉蜀黍、隠元豆、葱、茄子、甘藍などの 19 種の作物に対する施肥試験を牧場および近隣農家で実施した。発酵最終産物を施肥することで、牧草、稲、隠元豆、葱などにおいて初期生育に優れて化学肥料以上の効果が認められたが、玉蜀黍に対しては有効でないことが分かった。発酵最終産物は作物の種類や施肥方法の最適化などを行うことで、肥料として有効に利用できると考えられた。このように、110℃以上の高温発酵を 1 月以上継続することで生産された発酵最終産物は好気性超高温発酵菌叢以外の微生物をほとんど含まないもので、安全性が高く、敷料や肥料としても有効であることが確認できた。

本研究によって創出された好気性超高温発酵堆肥では、110℃以上の熱を介した殺菌効果によって病原性微生物が死滅しており、本法を農場で実用することで腸管感染症における糞口感染を阻止することが可能となる。さらに糞尿などの原料を約 10 分の 1 以下に減量できるので、農場環境の統御にも有効である。