

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	中村 嘉孝
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 石橋 松二郎
	副査 鹿児島大学 准教授 濱中 大介
	副査 琉球大学 准教授 平良 英三
	副査 鹿児島大学 准教授 紙谷 喜則
	副査 佐賀大学 教授 田中 宗浩
審査協力者	印
題目	豚糞を基質とした高効率メタン発酵に関する研究 (Study on highly efficient methane fermentation using swine feces as substrate)
<p>鹿児島県は全国有数の農業・畜産県として知られている。2016年に行われた農林水産省畜産統計調査の報告によると、鹿児島県の養豚飼育頭数は、全国1位（133万頭）を誇り、九州の約44%の規模を占めている。これに伴い豚糞排出量が年間87万t、豚尿排出量が184万tにのぼり、これらの処理は鹿児島県の大きな社会問題となっている。近年農畜産業が盛んな地域を中心に、家畜排せつ物を安価かつ効率よく処理する方法としてメタン発酵法が注目を集めている。メタン発酵法の最大の特徴は、豚糞のような廃棄物系バイオマスを処理できると同時に、エネルギーとしてメタンガスの回収とN、P、Kなどの肥料用成分が豊富な消化液を獲得できることである。</p> <p>有機物を嫌氣的に分解するメタン発酵は、発酵槽中の微生物群集の活性が低く、発酵初期では十分な発酵が行われないことがある。また実際の現場では、pHの下降等によってメタン発酵が突然止まってしまうことがある。豚糞には多くの病原性細菌が存在しているので、まずメタン発酵消化液が安全な液肥として供給できるかを検討した。豚糞などに存在し、ヒトや動物に食中毒を引き起こす可能性のある <i>Salmonella enterica</i> をモデル細菌として、メタン発酵効率が消化液中の <i>S. enterica</i> の生残率に与える影響を調査した。その結果、メタン生成量と <i>S. enterica</i> の</p>	

生残率の間に正の相関性があることを示した。このことは、メタン発酵が十分に行われていない消化液や、途中でメタン発酵が止まった消化液を利用した液肥には病原性細菌が含まれている可能性のあることを示唆している。

次にメタン発酵の早い立ち上がりと高い発酵効率を実現するために、豚糞を基質としたメタン発酵では、どのような微生物菌叢が最適であるかを検討した。異なるメタン発酵施設から集めた6種類の種汚泥を用いてメタン発酵効率を調べたところ、最も高いメタン発酵効率を持つ種汚泥(H-DS)と最も低いメタン発酵効率を持つ種汚泥(L-DS)を獲得することができた。そこで、これらのメタン生成ポテンシャルの違いを明らかにするために、それぞれ16S-rRNA アンブリコン解析を行い、微生物菌叢を比較した。この結果、H-DSには、酢酸生成細菌および酢酸資化性のメタン生成古細菌の相対存在比が高いことが明らかになった。このことは、高いメタン発酵効率のためには、発酵中に生成したプロピオン酸、酪酸、イソ酪酸などの揮発性脂肪酸から酢酸を生成する細菌 *Syntrophomonas* 属、*Clostridium* 属、*Tissierella* 属などと、その酢酸を資化しメタン生成できるメタン菌 *Methanosarcina* 属などの存在比が重要であることを示している。この結果は豚糞を基質としたメタン発酵の最適な微生物菌叢を16S-rRNA 遺伝子解析により明らかにした最初の例となった。

次に、嫌気性メタン菌を含む最適な微生物菌叢を現場のメタン発酵施設で利用するために、種汚泥の適切な保存方法を検討した。これまで種汚泥の保存方法としては、グリセロールストックが一般的であった。これは-80℃凍結による細胞構造の損傷を防ぐためにグリセロールを添加するからである。しかし、現場においてこの作業を行うためには、嫌気的な作業が可能な特殊な設備が必要である。そこで嫌気的な設備を用いない3種類の保存方法(冷凍保存、グリセロール入り冷凍保存、冷蔵保存)を検討した。この結果、特別な嫌気的な設備を用いなくても、冷凍保存と冷蔵保存において種汚泥を高いメタン生成ポテンシャルを維持した状態で保存できることが明らかになった。またグリセロールを用いた凍結保存では、酸素が多く溶け込み、逆に嫌気性菌を含む種汚泥の保存方法には向かないことが明らかになった。

本研究成果は、豚糞を基質としたメタン発酵に適した微生物菌叢を明らかにし、その微生物菌叢の保存方法とメタン発酵による肥料用消化液の安全性を考察したものである。このことはメタン発酵を利用した豚糞の効率的な処理方法に寄与するものである。

以上のことから、本論文は博士(農学)の論文として十分に価値のあるものと判定した。