

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏名 石田 恭弘

学位の種類 博士（農学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 メタン発酵後処理後分離固分の敷料利用技術

審査委員

主査	教授	高橋	圭二（動物資源生産学）
副査	教授	小宮	道士（動物資源生産学）
副査	教授	森田	茂（動物資源生産学）
副査	准教授	岡本	英竜（病理・害虫学）

【目的】

北海道では、酪農の経営規模拡大に伴い発生する家畜ふん尿の処理方法の一つとして発電や臭気低減も可能なメタン発酵処理が広く普及しており、消化液の利用の有効性も認められている。一方、米国ではこの消化液の分離固分が敷料に利用されている。我が国では、敷料としてはおがくずが広く利用されてきたが、価格高騰により入手が困難となっている。もし我が国でも分離固分が敷料として有効に利用できれば、その利点は極めて大きい。しかし、米国では利用されている技術ではあるが、分離直後の無処理での利用法であるため、高温多湿の我が国での利用に当たっては、乳房炎の発症など安全性に不安が残る。類似した代替敷料である「戻し堆肥」については、その調製法や大腸菌抑制効果が明らかとなっており、分離固分についても同様な検討が強く望まれる。

そこで本研究では、高温多湿な我が国で消化液の分離固分が敷料として利用可能なのかを明らかにするとともに、利用技術を確立することを目的とする。具体的には、①バイオガスプラント導入農家の敷料利用実態調査により分離固分の敷料利用時の問題点を把握し、②敷料調製時の大腸菌の消長を解明し、③敷料利用時の大腸菌消長について、季節（気温）変化、水分変化および乳牛利用との関係を明らかにし、④一般的敷料（おがくず、もみがら、麦稈）利用農家との比較により、代替敷料資材としての位置付けを明確にするるとともに、適切な利用技術を確立する。

【方法】

- 1. バイオガスプラント導入農家の敷料利用の実態解明：** 同一メーカーにより設計・施工されたバイオガスプラント 24 カ所の実態を調査し、分離固分発生量の算出、分離固分・敷料の大腸菌数と処理・利用方法および気温との関係を検討した。大腸菌数はコンパクトドライ「ニッスイ」EC（日水製薬）を用いた希釈平板法により測定した。
- 2. 分離固分の敷料調製時の大腸菌消長：** 分離固分を敷料利用している酪農場において敷料調製過程の分離固分の衛生状態について大腸菌を指標に評価した。大腸菌数はクロモカルト・コリフォーム寒天 ES（Merck）、コンパクトドライ「ニッスイ」EC（日水製薬）を用いた希釈平板法により測定した。
- 3. 分離固分の敷料利用時の大腸菌消長：** 同上の酪農場において敷料利用時の衛生状態について気温、水分などとの関係を大腸菌を指標に評価した。
- 4. 総合考察 ～ 一般的敷料資材との比較検討と分離固分敷料の利用技術確立 ～：** おがくず、もみがら、麦稈の一般敷料の利用農場における季節的な大腸菌消長を調査し、これらと分離固分敷料を比較することでその特徴を明らかにするとともに、代替敷料資材として利用時の技術的留意点を明らかにした。

【結果】

1. バイオガスプラント導入農家の敷料利用の実態解明

消化液，分離固分，分離液の水分割合から算出した分離固分発生量は4～13kg/日であった。調査24プラントのうち固液分離機を導入している農場は21戸あり，このうち分離固分を敷料利用している農場は10戸であった。敷料投入前に発酵処理をしている農場が3戸，おがくずと混合が3戸，かんなくずと混合が1戸，無処理利用が3戸であった。

分離直後固分の水分は60～72%，大腸菌数は $10^1\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ であった。発酵処理後と堆積固分内部の試料の水分は66～71%，大腸菌数は検出限界以下であり，発酵処理は分離固分の大腸菌除去に有効であると考えられる。また，数回にわたる分離直後固分のサンプルの大腸菌数は $10^1\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ で，堆積内部，温度の高い箇所では検出限界以下であった。

調査農場全体の敷料の大腸菌数は $10^3\sim 10^7\text{CFU/g-wet}$ であった。敷料水分と大腸菌数の間には相関はなかった。平均気温と牛床敷料の平均大腸菌数の関係では，敷料の種類，調製方法，交換頻度の違いにより，同じまたは低い温度でも大腸菌数にばらつきがみられた。切り返し後に牛床に投入された敷料の大腸菌数は，平均気温 16°C のとき 10^5CFU/g-wet ， 21°C のとき 10^6CFU/g-wet 以上であった。これに対し，切り返しをしていない場合は $4\sim 6^\circ\text{C}$ で $10^5\sim 10^6\text{CFU/g-wet}$ 以上であった。分離固分を発酵処理しているかなどの調製方法や敷料利用時の交換頻度の違いが，平均気温の差が 10°C 以上あるにもかかわらず敷料の大腸菌数が多い要因と考えられ，分離固分を敷料として安全に利用するためには，適切な処理・利用法が重要であることが明らかとなった。

2. 分離固分の敷料調製時の大腸菌消長

分離固分は，2日分堆積し，これを2日ごとに移動・再堆積（切り返し）し計4回切り返した後，敷料として利用された。2日ごとの切り返しにより分離固分の温度は夏期 $45\sim 80^\circ\text{C}$ ，冬期 $40\sim 70^\circ\text{C}$ で推移し，年間を通して4回目の切り返し前までに 55°C 以上を延べ100h以上持続した。大腸菌数は分離直後の $10^2\sim 10^3\text{CFU/g-wet}$ から牛床投入前には試料の8割以上が検出限界以下まで減少した。以上から，分離固分の好気性発酵は敷料の大腸菌除去に有効であった。敷料調製過程の留意点は， 55°C 以上を維持するために分離固分の堆積温度が高い状態で，専用のホイールローダによる全量切り返しを行うこと，冬期間は分離固分の堆積場所の扉を閉めるなどの保温対策を実施することである。

3. 分離固分の敷料利用時の大腸菌消長

牛舎内平均気温と分離固分敷料の大腸菌数の関係は牛舎内平均気温 $-0.8\sim 23.7^\circ\text{C}$ の範囲で高い正の相関があり ($R^2=0.783$, $p<0.01$)， 22°C 以上では大腸菌性乳房炎の問題が発生するとされる 10^6CFU/g-wet 以上になると推定された (図2)。敷料の大腸菌数は投入前の検出限界以下あるいは $2\times 10^2\text{CFU/g-wet}$ 未満から投入後2～3hで $10^3\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ に増加した (図3)。牛舎内平均 THI と敷料平均大腸菌数の関係は牛舎内平均 THI $36.3\sim 70.4$ の範囲で高い正の相関があり ($R^2=0.761$, $p<0.01$)，70以上では 10^6CFU/g-wet 以上になると推定された。ブリスケット部材前に堆積した未利

用敷料の大腸菌数は $10^3 \sim 10^4$ CFU/g-wet であった。牛床後方の敷料残存重量と大腸菌数の間には有意な負の相関があり、敷料残存重量が多いほど大腸菌数は少なくなる傾向があった。

分離固分敷料は、①投入時の水分が約 78%と高い、このことにより、②水分が高いほど大腸菌数が少ない傾向がある、③牛舎内気温が低いと水分が高く大腸菌数は少ない、④牛舎内気温が高いと水分が低く大腸菌数は多い傾向がある、という特徴が明らかとなった。

4. 総合考察 ～ 一般的敷料資材との比較検討と分離固分敷料の利用技術確立 ～

分離直後固分の大腸菌数は $10^1 \sim 10^4$ CFU/g-wet であり、堆積内部、温度の高い箇所では検出限界以下であった。敷料水分は、麦稈では 10～35%と低く、もみがら+消石灰、おがくず+消石灰では大きな差はなかった。もみがらとおがくずの敷料水分と大腸菌数の間には有意な正の相関がみられた。牛舎内平均気温ともみがら敷料の平均大腸菌数の間には気温が高いほど大腸菌数が多い傾向があった。好気処理や消石灰混合により大腸菌数を検出限界以下とした分離固分敷料、および麦稈、もみがら、おがくず敷料の牛舎内平均気温と敷料大腸菌数の関係は、「結果 3」で示された回帰式を上限とする範囲内に大腸菌数が分布していると考えられた。また、ブリスケット部材前に堆積したもみがら、おがくずの未利用敷料は、分離固分敷料と同じように汚れていることがわかった。

分離固分の敷料調製・利用時の技術的留意点をまとめ、「メタン発酵処理後分離固分の敷料調製・利用時の技術的留意点」として示した（表 2）。

表1 敷料調製過程における分離固分の大腸菌数と55℃以上の持続時間(2016~2017年)

調査日 (試料採取)	水分 (%)		大腸菌数 (CFU/g-wet)				55℃以上持続時間 (h:min)				延べ持続時間 (h)	備考	
	分離直後 固分	8日間 堆積固分	分離直後 固分	2日間			4日間			6日間 堆積固分			8日間 堆積固分
				堆積固分	堆積固分	堆積固分	堆積固分	堆積固分	堆積固分				
16/09/16	79.2	76.4	1.1×10^3	ND	ND	ND	ND	00:00	38:10	48:40	45:30	132.3	
16/09/30	77.7	76.4	1.3×10^3	ND	ND	ND	ND	06:00	43:00	41:40	41:50	132.5	
16/10/14	76.9	76.3	1.5×10^3	<200	ND	ND	ND	2:10	33:30	37:10	32:10	105.0	
16/10/28	74.6	76.5	1.4×10^3	ND	ND	ND	ND	21:00	39:20	31:10	64:00	155.5	
16/11/11	78.4	77.0	7.6×10^2	<200	ND	ND	ND	24:50	35:50	39:10	42:50	142.7	
16/11/25	77.6	77.0	3.1×10^3	<200	ND	ND	ND	11:10	57:30	48:50	30:00	147.5	
16/12/09	77.0	77.1	2.8×10^3	<200	ND	ND	ND	30:20	16:50	43:50	38:30	129.5	欠測多
16/12/23	79.4	77.1	7.8×10^2	<200	ND	ND	ND	16:20	47:10	44:50	49:10	157.5	
17/01/06	78.9	77.1	2.7×10^3	<200	ND	ND	ND	29:30	46:20	46:00	48:30	170.3	
17/01/20	78.5	78.6	2.8×10^3	<200	ND	ND	ND	25:30	21:30	37:30	47:00	131.5	
17/02/03	82.1	79.2	2.4×10^3	<200	ND	ND	ND	15:50	31:20	44:00	38:30	129.7	
17/02/17	79.8	79.8	2.9×10^3	<200	ND	ND	<200	0:00	34:00	21:10	47:20	102.5	
17/03/03	79.8	79.5	1.9×10^3	-	-	-	-	23:20	47:20	35:20	10:40	116.7	欠測多
17/03/17	79.9	79.5	2.4×10^3	-	-	-	-	17:10	38:30	43:40	17:40	117.0	
17/03/31	80.3	79.3	1.8×10^3	-	-	-	-	1:40	40:10	46:30	37:30	125.8	
17/04/14	80.5	79.8	5.5×10^2	-	-	-	-	0:00	43:30	19:50	41:10	104.5	
17/04/28	79.3	79.3	1.9×10^3	-	-	-	-	36:40	22:30	41:40	35:10	136.0	
17/05/16	80.2	78.7	1.2×10^3	-	-	-	-	23:10	48:10	33:10	46:30	151.0	
17/05/26	78.6	78.6	8.8×10^2	-	-	-	-	0:00	31:00	58:50	13:30	103.3	欠測多
17/06/09	80.1	78.9	3.3×10^3	-	-	-	-	4:30	37:00	46:30	23:50	111.8	欠測多
17/06/23	80.3	78.6	9.6×10^2	-	-	-	-	4:50	47:10	0:00	23:50	75.8	欠測多
17/07/07	80.3	79.0	5.6×10^2	-	-	-	-	3:10	46:50	34:10	40:20	124.5	
17/08/03	80.1	79.4	6.3×10^2	-	-	-	<200	0:00	48:00	23:10	49:50	121.0	
17/08/17	80.9	78.7	3.7×10^2	-	-	-	-	6:30	46:50	35:20	36:00	124.7	
17/09/05	80.5	78.2	2.3×10^2	-	-	-	-	0:00	46:30	46:40	36:40	129.8	
17/09/15	77.9	78.8	9.4×10^2	-	-	-	-	0:30	47:40	24:30	48:40	121.3	
17/10/06	79.0	79.0	6.0×10^2	-	-	-	-	11:30	45:50	33:30	43:30	134.3	
17/10/20	80.2	78.6	3.4×10^3	-	-	-	-	21:00	45:50	35:40	33:00	135.5	

ND:Not Detected

図1 敷料調製過程の分離固分の温度推移

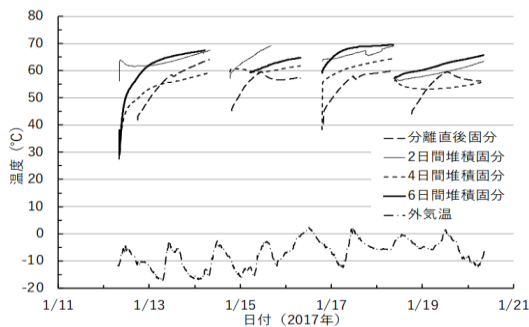


図2 牛舎内平均気温と牛床敷料の平均大腸菌数の関係

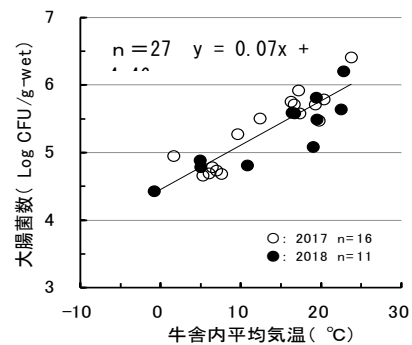


図3 牛床投入後の敷料の大腸菌数の推移



表2 分離固分の敷料調製・利用時の技術的留意点

敷料調製時の留意事項

分離直後固分の大腸菌数は $10^1 \sim 10^4$ CFU/g-wet であるため、牛床投入前の大腸菌数をできるだけ検出限界以下にする。

- 1) 曝露温度・時間：55℃以上、延べ100h以上
 - ・最低1回以上の切り返し、最低4日間の堆積（発酵）
- 2) 均一な高温曝露
 - ・分離固分の堆積温度が高い状態で全量の移動・切り返しを数回行う。
- 3) 外部からの汚染の最小化
 - ・移動・切り返しの機械・装置は専用とする。
- 4) 堆積温度の低下を防ぐため、外気温の影響を防ぐ

敷料利用時の留意事項

敷料の大腸菌数が 10^6 CFU/g-wet 以上にならないようにする

- 1) 投入頻度
 - ・毎日投入が望ましい、牛舎内平均気温 22℃以上、牛舎内平均 THI70 以上の時、大腸菌数は乳房炎発症のおそれがある (10^6 CFU/g-wet 以上) ため、清掃回数、投入頻度を増やす。
- 2) プリケット部材前の未利用敷料は暑熱時には利用しない。
 - ・大腸菌で汚染されているため、残さないようにする。
- 3) 牛床後方の敷料の追加
 - ・牛床後方の敷料は、少なくなったら追加する。
- 4) 短期間の発酵処理では大腸菌が増殖するおそれがある。

【目的】

北海道では、酪農の経営規模拡大に伴い発生する家畜ふん尿の処理方法の一つとして発電や臭気低減も可能なメタン発酵処理が広く普及しており、消化液の利用の有効性も認められている。一方、米国ではこの消化液の分離固分が敷料に利用されている。我が国では、敷料としてはおがくずが広く利用されてきたが、価格高騰により入手が困難となっている。もし我が国でも分離固分が敷料として有効に利用できれば、その利点は極めて大きい。しかし、米国では利用されている技術ではあるが、分離直後の無処理での利用法であるため、高温多湿の我が国での利用に当たっては、乳房炎の発症など安全性に不安が残る。類似した代替敷料である「戻し堆肥」については、その調製法や大腸菌抑制効果が明らかとなっており、分離固分についても同様な検討が強く望まれる。

そこで本研究では、高温多湿な我が国で消化液の分離固分が敷料として利用可能なのかを明らかにするとともに、利用技術を確立することを目的とする。具体的には、①バイオガスプラント導入農家の敷料利用実態調査により分離固分の敷料利用時の問題点を把握し、②敷料調製時の大腸菌の消長を解明し、③敷料利用時の大腸菌消長について、季節（気温）変化、水分変化および乳牛利用との関係を明らかにし、④一般的敷料（おがくず、もみがら、麦稈）利用農家との比較により、代替敷料資材としての位置付けを明確にするとともに、適切な利用技術を確立する。

【方法】

- 1. バイオガスプラント導入農家の敷料利用の実態解明：** 同一メーカーにより設計・施工されたバイオガスプラント 24 カ所の実態を調査し、分離固分発生量の算出、分離固分・敷料の大腸菌数と処理・利用方法および気温との関係を検討した。大腸菌数はコンパクトドライ「ニッスイ」EC（日水製薬）を用いた希釈平板法により測定した。
- 2. 分離固分の敷料調製時の大腸菌消長：** 分離固分を敷料利用している酪農場において敷料調製過程の分離固分の衛生状態について大腸菌を指標に評価した。大腸菌数はクロモカルト・コリフォーム寒天 ES（Merck）、コンパクトドライ「ニッスイ」EC（日水製薬）を用いた希釈平板法により測定した。
- 3. 分離固分の敷料利用時の大腸菌消長：** 同上の酪農場において敷料利用時の衛生状態について気温、水分などとの関係を大腸菌を指標に評価した。
- 4. 総合考察 ～ 一般的敷料資材との比較検討と分離固分敷料の利用技術確立 ～：** おがくず、もみがら、麦稈の一般敷料の利用農場における季節的な大腸菌消長を調査し、これらと分離固分敷料を比較することでその特徴を明らかにするとともに、代替敷料資材として利用時の技術的留意点を明らかにした。

【結果】

1. バイオガスプラント導入農家の敷料利用の実態解明

消化液，分離固分，分離液の水分割合から算出した分離固分発生量は4～13kg/日であった。調査24プラントのうち固液分離機を導入している農場は21戸あり，このうち分離固分を敷料利用している農場は10戸であった。敷料投入前に発酵処理をしている農場が3戸，おがくずと混合が3戸，かんなくずと混合が1戸，無処理利用が3戸であった。

分離直後固分の水分は60～72%，大腸菌数は $10^1\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ であった。発酵処理後と堆積固分内部の試料の水分は66～71%，大腸菌数は検出限界以下であり，発酵処理は分離固分の大腸菌除去に有効であると考えられる。また，数回にわたる分離直後固分のサンプルの大腸菌数は $10^1\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ で，堆積内部，温度の高い箇所では検出限界以下であった。

調査農場全体の敷料の大腸菌数は $10^3\sim 10^7\text{CFU/g-wet}$ であった。敷料水分と大腸菌数の間には相関はなかった。平均気温と牛床敷料の平均大腸菌数の関係では，敷料の種類，調製方法，交換頻度の違いにより，同じまたは低い温度でも大腸菌数にばらつきがみられた。切り返し後に牛床に投入された敷料の大腸菌数は，平均気温 16°C のとき 10^5CFU/g-wet ， 21°C のとき 10^6CFU/g-wet 以上であった。これに対し，切り返しをしていない場合は $4\sim 6^\circ\text{C}$ で $10^5\sim 10^6\text{CFU/g-wet}$ 以上であった。分離固分を発酵処理しているかなどの調製方法や敷料利用時の交換頻度の違いが，平均気温の差が 10°C 以上あるにもかかわらず敷料の大腸菌数が多い要因と考えられ，分離固分を敷料として安全に利用するためには，適切な処理・利用法が重要であることが明らかとなった。

2. 分離固分の敷料調製時の大腸菌消長

分離固分は，2日分堆積し，これを2日ごとに移動・再堆積（切り返し）し計4回切り返した後，敷料として利用された。2日ごとの切り返しにより分離固分の温度は夏期 $45\sim 80^\circ\text{C}$ ，冬期 $40\sim 70^\circ\text{C}$ で推移し，年間を通して4回目の切り返し前までに 55°C 以上を延べ100h以上持続した。大腸菌数は分離直後の $10^2\sim 10^3\text{CFU/g-wet}$ から牛床投入前には試料の8割以上が検出限界以下まで減少した。以上から，分離固分の好気性発酵は敷料の大腸菌除去に有効であった。敷料調製過程の留意点は， 55°C 以上を維持するために分離固分の堆積温度が高い状態で，専用のホイールローダによる全量切り返しを行うこと，冬期間は分離固分の堆積場所の扉を閉めるなどの保温対策を実施することである。

3. 分離固分の敷料利用時の大腸菌消長

牛舎内平均気温と分離固分敷料の大腸菌数の関係は牛舎内平均気温 $-0.8\sim 23.7^\circ\text{C}$ の範囲で高い正の相関があり（ $R^2=0.783$ ， $p<0.01$ ）， 22°C 以上では大腸菌性乳房炎の問題が発生するとされる 10^6CFU/g-wet 以上になると推定された。敷料の大腸菌数は投入前の検出限界以下あるいは $2\times 10^2\text{CFU/g-wet}$ 未満から投入後2～3hで $10^3\sim 10^4\text{CFU/g-wet}$ に増加した（図3）。牛舎内平均THIと敷料平均大腸菌数の関係は牛舎内平均THI $36.3\sim 70.4$ の範囲で高い正の相関があり（ $R^2=0.761$ ， $p<0.01$ ），70以上では 10^6CFU/g-wet 以上になると推定された。ブリスケット部材前に堆積した未利用

敷料の大腸菌数は $10^3 \sim 10^4$ CFU/g-wet であった。牛床後方の敷料残存重量と大腸菌数の間には有意な負の相関があり、敷料残存重量が多いほど大腸菌数は少なくなる傾向があった。

分離固分敷料は、①投入時の水分が約 78%と高い、このことにより、②水分が高いほど大腸菌数が少ない傾向がある、③牛舎内気温が低いと水分が高く大腸菌数は少ない、④牛舎内気温が高いと水分が低く大腸菌数は多い傾向がある、という特徴が明らかとなった。

4. 総合考察 ～ 一般的敷料資材との比較検討と分離固分敷料の利用技術確立 ～

分離直後固分の大腸菌数は $10^1 \sim 10^4$ CFU/g-wet であり、堆積内部、温度の高い箇所では検出限界以下であった。敷料水分は、麦稈では 10～35%と低く、もみがら+消石灰、おがくず+消石灰では大きな差はなかった。もみがらとおがくずの敷料水分と大腸菌数の間には有意な正の相関がみられた。牛舎内平均気温ともみがら敷料の平均大腸菌数の間には気温が高いほど大腸菌数が多い傾向があった。好気処理や消石灰混合により大腸菌数を検出限界以下とした分離固分敷料、および麦稈、もみがら、おがくず敷料の牛舎内平均気温と敷料大腸菌数の関係は、「結果3」で示された回帰式を上限とする範囲内に大腸菌数が分布していると考えられた。また、ブリスケット部材前に堆積したもみがら、おがくずの未利用敷料は、分離固分敷料と同じように汚れていることがわかった。

分離固分の敷料調製・利用時の技術的留意点をまとめ、「メタン発酵処理後分離固分の敷料調製・利用時の技術的留意点」として示せたことから、申請者は、博士（農学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2019年2月 8日

審査員

主査	教授	高橋	圭二
副査	教授	小宮	道士
副査	教授	森田	茂
副査	准教授	岡本	英竜