Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費　終了研究成果報告書

ミズアブの機能を活用した
革新的資源循環系の構築
(1-1604)

平成28年度～平成30年度

Development of Innovative Resource Recycling System
Using the Function of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*)

〈研究代表機関〉
地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所

〈研究分担機関〉
国立大学法人 愛媛大学
国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター
国立大学法人 香川大学

平成31年5月

目次

Ⅰ．成果の概要　・・・・・・・・　1
１．はじめに（研究背景等）
２．研究開発目的
３．研究開発の方法
４．結果及び考察
５．本研究により得られた主な成果
６．研究成果の主な発表状況
７．研究者略歴

Ⅱ．成果の詳細
Ⅱ－１　ミズアブの機能を活用した革新的資源循環系の確立　・・・・・・・・　10
（大阪府立環境農林水産総合研究所）
要旨
１．はじめに
２．研究開発目的
３．研究開発方法
４．結果及び考察
５．本研究により得られた成果
６．国際共同研究等の状況
７．研究成果の発表状況
８．引用文献

Ⅱ－２　幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発　・・・・・・・・　23
（愛媛大学）
要旨
１．はじめに
２．研究開発目的
３．研究開発方法
４．結果及び考察
５．本研究により得られた成果
６．国際共同研究等の状況
７．研究成果の発表状況
８．引用文献

Ⅱ－３　ミズアブ成虫の繁殖メカニズム効率化　・・・・・・・・　39
（国際農林水産業研究センター）
要旨

１．はじめに
２．研究開発目的
３．研究開発方法
４．結果及び考察
５．本研究により得られた成果
６．国際共同研究等の状況
７．研究成果の発表状況
８．引用文献

Ⅱ－３　外部環境に対する資源循環系の評価　・・・・・・・・　51
（香川大学）
要旨
１．はじめに
２．研究開発目的
３．研究開発方法
４．結果及び考察
５．本研究により得られた成果
６．国際共同研究等の状況
７．研究成果の発表状況
８．引用文献

Ⅲ．英文Abstract　・・・・・・・・　69

Ⅰ. 成果の概要

課題名　1-1604 ミズアブの機能を活用した革新的資源循環系の構築
課題代表者名　藤谷　泰裕 （地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所 研究管理監）
研究実施期間　平成28～30年度

累計予算額　102,503千円
（うち平成28年度：34,748千円、平成29年度：34,746千円、平成30年度：33,009千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード リサイクル、廃棄物処理、食品廃棄物、昆虫利用、養魚飼料、養鶏飼料、温室効果ガス

研究体制
（1）ミズアブ機能を活用した資源循環系の確立（地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所）
（2）幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発（国立大学法人 愛媛大学）
（3）ミズアブ成虫の繁殖メカニズム効率化（国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター）
（4）外部環境に対する資源循環系の評価（国立大学法人 香川大学）

研究協力機関
該当なし

1. はじめに（研究背景等）

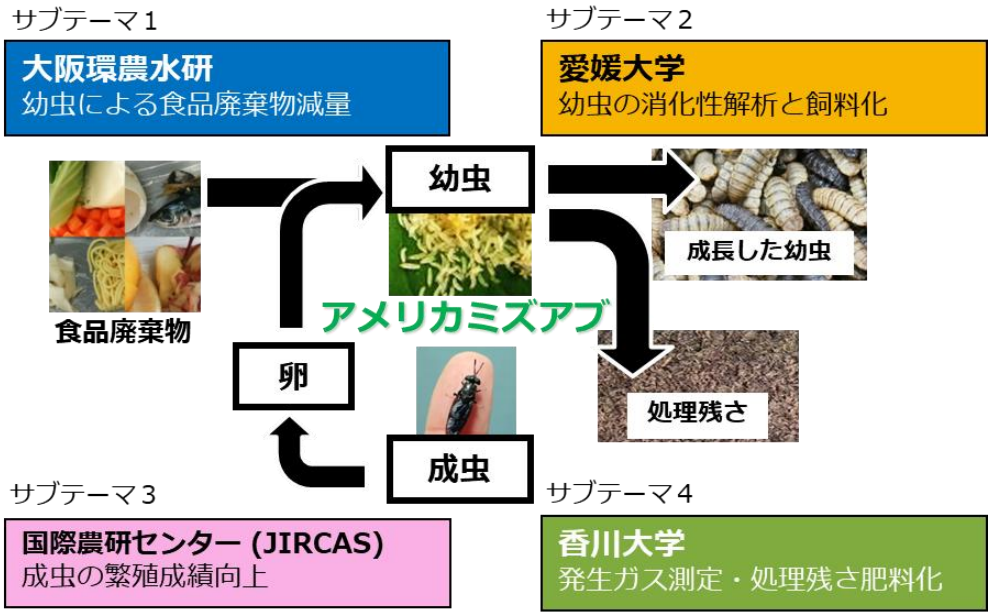
日本国内において食品廃棄物は推定1,700万t/年と大量に排出されているが、高水分や分別の難しさなどから再生利用率は3割以下に留まっている（平成28年バイオマス活用推進基本計画より）。未利用分を焼却・埋立するために4,000億円/年の経費、454,000 t/年の二酸化炭素が発生していると計算され（三菱総研2014、環境省2013等より算出）、経済および環境に対して大きな負担となっている。利用率の低さの原因としては食品廃棄物の分別の難しさや、高い水分による腐敗しやすさなどが挙げられる。利用率を2025年の目標値である40%以上に引き上げるには、自然生態系において高水分の有機物が高効率で循環利用されているメカニズムを活用・模倣した、新たな資源循環系の構築が有効と考えられる。

そこで我々は昆虫が有する消化・物質転換能力に注目した。今回研究に使用するアメリカミズアブ（*Hermetia illucens*, 以下ミズアブとする）は我が国を含む世界の熱帯から温帯に広く分布する昆虫である。ミズアブの幼虫は非常に広い範囲の有機物を活発に摂食して成長するため、その食性を廃棄物の減量に利用できる。また、吸収した栄養分を体内に蓄積するため、動物性タンパク質源として水畜産飼料に活用する取組みが世界各地で提案されている。さらに、成虫はイエバエのようにヒトの食物に誘引されることはなく、人畜・作物への害や病原体媒介の危険が少ないとされる。こうした昆虫の利用技術は必要な投入エネルギーが少なく、温室効果ガスの排出抑制にも繋がることが期待されるが、ミズアブ幼虫による廃棄物の処理効率、幼虫の飼料としての有用性、成虫の飼育と繁殖の方法等を科学的プロセスで統合的に検証した例はほとんどなく、廃棄物処理の安定した技術とはなっていない。そのため、これらの要素を定量的に明らかにし、その上でミズアブによる廃棄物処理・有価物回収の実用化を行うことが必要である。

2. 研究開発目的

本研究は、ミズアブの生理機能を利用した、環境に優しい廃棄物処理及び資源循環系構築を目指すものである。ミズアブが持つ高い消化能力や物質転換能力といった特性を最大限に活用することで、食品廃棄物の低エネルギーでの減量化、廃棄物処理に伴う温室効果ガス排出の削減、高価値な水畜産飼料の生産、さらに廃棄物処理残さの肥料利用までが可能になると期待される。

そこで本研究ではまず、幼虫による処理に適した食品廃棄物の種類、および減量化効率を向上させるための最適な処理条件を検証する（サブテーマ１）。また処理後に回収された幼虫を飼料利用した際の栄養価や機能性（サブテーマ２）、さらに処理残さの肥料としての安全性・利用性（サブテーマ４）についても定量的に明らかにして、これら回収有価物の経済的価値を評価する。加えて、処理に使用する幼虫を安定して供給するために、成虫の飼育・繁殖をはじめとするミズアブの飼育方法の改良を行い、人工飼育下での効率的な大量繁殖方法を確立する（サブテーマ３）。これらの研究開発を個々に行うほか、ミズアブ繁殖～廃棄物処理～飼料・肥料利用の一連の流れを大規模で実証し、ミズアブによる資源循環技術を実用化に近づける。



図．本研究課題サブテーマ1-4の関連

３．研究開発の方法

（１）ミズアブ機能を活用した資源循環系の確立（地方独立行政法人　大阪府立環境農林水産総合研究所）

・幼虫による食品廃棄物減量の効率化

本サブテーマはミズアブ幼虫による食品廃棄物の減量効果を最大化するための条件設定とその大規模実証を主な目的とする。そのため、まず1年目には数百g規模の食品廃棄物にミズアブ幼虫を投入して温度・湿度一定の環境下で処理させる小規模処理試験を開始した。その際に、処理期間・温度・幼虫添加数などの処理条件を様々に変えて、処理効率（廃棄物の重量減量率と、廃棄物あたりの回収幼虫量）を向上させられる条件を検討した。試験にあたっては、将来的に昆虫による処理を目指す廃棄物である家庭生ごみを模して、野菜・肉その他の食品素材を混合粉砕した「モデル生ごみ」を調製して条件検討に使用したほか、この構成素材を用いて昆虫による処理に適した食品廃棄物種類を推定した。

その後2年目以降に、処理容器を試験用密封容器から簡易なコンテナに変更し、またインキュベーター中で行っていた処理を、エアコンのみで空調制御した簡易な建屋内へと移行した。これにより処理規模を引き上げ、最終的には1ロット100kgの食品廃棄物を処理する規模にまで拡大した。これにより、100kg/日の食品廃棄物を処理施設で毎日受け入れて幼虫を投入し一定期間処理し幼虫と残渣を回収するという半連続方式を想定した実証試験を行った。この際、モデル生ごみに加えて、食品製造事業所から回収した廃棄物として豆腐粕も処理の対象とした。

・大量繁殖設備の開発

以上の試験および大規模実証に使用する大量の幼虫を確保するために、ミズアブ繁殖設備を大型化・効率化して研究所内に設置した。研究開始時点では成虫を交尾・産卵させるためのケージとして数十L規模のものを恒温高湿設備中で運用していたが、研究2-3年目には成虫への給餌や飼育密度が及ぼす影響など、サブテーマ3で得られた知見を利用し、廃棄物100kg規模の処理が毎日開始可能な数量の幼虫（受精卵）が得られる省

力型のケージや飼育方式を開発・製作して、繁殖成績を記録した。

・有価物の回収と利用

廃棄物処理に伴って成長した幼虫や前蛹は、処理終了後に回収してサブテーマ2・4での給餌試験による飼料価値評価に利用した。またその予備試験として、回収幼虫・前蛹を用いて愛媛大学の技術により魚類飼料を調製し、食用魚のキジハタおよびマダイの未成魚への小規模給餌を行った。試験では対照飼料および、その主原料である魚粉の一部もしくは全量を幼虫に置き換えた飼料を試験魚に給餌して、体重増加や飼料効率などを比較した。

廃棄物処理の残渣はサブテーマ4で肥料としての安全性・利用性評価に利用した。

(2)幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発(国立大学法人 愛媛大学)

・幼虫の消化性解析

試験1年目より、幼虫が廃棄物を処理する際に利用する消化酵素について酵素化学的な特性の検証を開始した。また、幼虫が好んで摂食し成長にも重要な消化基質としてタンパク質と微生物(酵母など)を想定し、それらを摂食・消化することが幼虫に及ぼす影響を検証した。試験では、サブテーマ1のモデル生ごみの成分を元にカゼインやデンプンなどから成る標準飼料を作成し、これで飼育した幼虫の消化器から抽出した酵素に対して、消化器の部位(唾液腺～後腸)や幼虫の成長段階ごとに活性を合成基質などで測定した。微生物の消化に関しては、細胞壁成分を消化する炭水化物分解酵素の活性を測定したほか、飼料中に酵母・細菌や抗菌剤を添加して飼育することで、生育環境(飼料)中の微生物が成長に及ぼす影響についても検証した。

・ミズアブの免疫賦活性に関する解析

飼料応用技術開発としてはまず、ミズアブ幼虫や前蛹のもつ免疫賦活作用(飼料として利用した時に給餌した動物の免疫活性を高める作用)について検証し、機能性飼料としてのポテンシャルを評価した。測定サンプルには消化性解析の試験で得られた幼虫やそれをさらに成長させた前蛹・蛹を用い、成長段階や飼料の違いなどの各条件において、虫体抽出物を培養細胞に添加することで免疫賦活能を定量した。また、免疫賦活能のもととなる多糖類を虫体から抽出して同定し、構成糖などをGC/MSにより解析した。

・水産給餌試験による飼料価値評価

以上の基礎研究を経て、3年目にはミズアブ幼虫・前蛹が魚粉や魚油の代替物として飼料利用できるかの検証を、世界で魚粉消費量が最も多い水産養殖種であるバナメイエビの飼育試験により行った。また、培養細胞での試験で高い免疫賦活作用を示した前蛹について、実際に飼料利用した際の免疫賦活性の評価をメダカ飼育試験により行った。なお、採卵鶏(レイヤー)用飼料としての評価についてはサブテーマ4で報告する。

バナメイエビ飼育試験では、サブテーマ1でモデル生ごみの幼虫処理によって得られた幼虫および前蛹を溶媒により脱脂し、脱脂物および油脂を用いて、対照飼料に含まれる魚粉や魚油を完全代替した試験飼料を調製した。これらをバナメイエビに対し給餌して体重や全長の増加を測定した。メダカ飼育試験では、試験飼料の魚粉の一部を前蛹の脱脂物で置き換えた試験飼料をメダカに給餌し、体組織からmRNAを抽出して遺伝子発現の変化を解析した。また、魚類の感染症の原因となる細菌*Edwasiella tarda*を含む液にメダカを浸漬して飼育し、生残率の変化を観察した。

(3)ミズアブ成虫の繁殖メカニズム効率化(国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター)

・幼虫飼育環境が及ぼす影響

試験1年目より、ミズアブの幼虫時の飼料及び飼育密度が成長および繁殖成績に与える影響を検討して、繁殖用個体の飼育方法を決定するためのデータとした。飼料として米ヌカ飼料、もしくは平成27年度までに独自に開発した人工飼料によりミズアブを孵化から成虫まで飼育し、蛹化率および羽化率を調べた。また、飼育密度として人工飼料1gあたりの幼虫数を3段階に設定して同様の条件で成長を比較した。

・成虫飼育環境および成虫への給餌が及ぼす影響

幼虫飼育環境試験と並行して、成虫飼育時の密度・雌雄の性比・給餌が繁殖成績に与える影響を検証し、環境の最適化および新たな発想による繁殖成績の向上を試みた。目視により雌雄判別した成虫を計数して小型のポリエチレン製ケージ中に放飼し、頭数および雌雄が産卵数および生存率の変化に及ぼす影響を観察した。また、同様の飼育条件において水・砂糖・養蜂用花粉を与えた場合について観察を行った。

・成虫誘引物質の解明

成虫の交尾・産卵を促進するため、これらを誘引する作用のある化合物の探索を試みた。センター構内で成虫の誘引が見られた場所の臭気を補修してGC/MSで分析したほか、これまで野外での成虫誘引効果が見られた資材を基にした市販化学物質を誘引物質候補として、小型ケージおよび風洞試験装置を用いた行動学的試験を行った。

（4）外部環境に対する資源循環系の評価（国立大学法人　香川大学）

・廃棄物処理に伴う臭気の分析と抑制

幼虫による食品廃棄物処理の過程で発生する主な臭気物質を定量するため、モデル生ごみを利用して試験を行った。またそれを低く抑えるための条件検討を行った。

サブテーマ1で標準条件とした飼育条件（飼育密度・温度・期間など）を基本としてモデル生ごみに対し幼虫を添加し、飼育終了後の残渣に含まれる臭気物質をGC/MSおよび液体クロマトグラフィーで分析して悪臭の原因となる物質を測定した。また、飼育密度や温度、さらにモデル生ごみの水分含量を変化させて処理した場合について、同様の機器分析による臭気物質測定と官能評価による臭気指数算出を行い、臭気の軽減効果が見られるかを検討した。

・廃棄物処理に伴う温室効果ガスの定量

幼虫による廃棄物処理時に発生する温室効果ガス量を把握するため、測定および推定を行った。飼育容器中にモデル生ごみおよび幼虫を封入し、一定速度で大気を供給しながら、排出される気体中の二酸化炭素およびメタンをガスモニターで、亜酸化窒素濃度をGC/MSで測定した。また処理系の加温に必要な恒温設備の稼働により発生する二酸化炭素量を、設備の消費電力から算出した。

また、幼虫による処理が環境に及ぼす負荷を焼却処理と比較する目的で、モデル生ごみの焼却時に発生する温室効果ガス量を測定及び推定した。電気炉でモデル生ごみを焼却し、発生する気体を二酸化炭素モニターおよびメタンガスモニターにより分析したほか、環境省作成の温室効果ガス排出量算定ガイドラインの値を用いて、亜酸化窒素の発生量と、さらに焼却の際の燃料から発生する温室効果ガスの量も算出した。

・処理残渣の安全性・肥料利用性評価

食品廃棄物の幼虫処理残渣が作物肥料として利用できるかの検討としてまず、堆肥の品質評価に準じた試験によって作物に対する安全性を確認した。サブテーマ1で発生したモデル生ごみ処理残渣と、比較対象として市販の堆肥をサンプルとし、窒素・アンモニアなどの主要肥料成分の測定、およびコマツナ種子による発芽試験を行って、中央畜産会作成のマニュアルに従って評点を付けた。その後、同様の残渣や堆肥などを用いてプランター中でホウレンソウ栽培試験を行い、作物の生育に対する影響を検証した。

・採卵鶏（レイヤー）への給餌試験

サブテーマ2と同様に、幼虫および前蛹の飼料としての評価を採卵鶏への給餌試験により行った。サブテーマ1で得られた幼虫および前蛹を乾燥し、脱脂は行わずに使用した。対照飼料に含まれる大豆粕の約半分量および大豆油の全量を幼虫または前蛹で代替した試験飼料を調製して試験鶏に給餌し、摂食量や産卵成績の記録、卵質の測定を行った。また給餌終了後の血液や消化管組織内容物を採取して各種の分析に供した。

4. 結果及び考察

（1）ミズアブ機能を活用した資源循環系の確立（地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所）

・食品廃棄物の減量

環境温度を変更しての試験により、幼虫の食品廃棄物処理における最適温度域が26-34℃程度の広い範囲に存在することや、処理能力の維持には23℃程度が最低限必要なことが示唆された。また幼虫添加密度と廃棄物処理効率の関係を明らかにして、目標値とした重量減少率80%を達成できる処理条件を明らかにした。幼虫での処理に適した食品廃棄物の種類や性状を推定した。

処理規模の拡大に向けては、容器の形状およびサイズ、試験場所を変更しても廃棄物の減量率には有意な差は見られないことを確認した。これらの結果を利用して1ロット100kg規模での実証試験を行い、小規模試験と同等の減量率を得た。

・大量繁殖設備の開発

成虫の投入・回収や採卵が容易な省力管理型ケージ（特願2018-052997）を開発し、食品廃棄物処理試験と同様の簡易建屋内に設置した。このケージにより、最大効率時で36,000/日/基の幼虫を処理用に得ることが可能な繁殖成績を達成した。このケージ3台を稼働させることにより、100kg/日の食品廃棄物受け入れに連続して対応できる受精卵（幼虫）の確保が実現できたと考えられた。また同時に、サブテーマ3の目標値である、雌個体あたりの産卵率50%を超える繁殖成績をこのスケールでも達成したと考えられた。

・有価物の回収と利用

キジハタ未成魚への給餌試験では、幼虫・前蛹混合物で魚粉を100%代替した飼料で飼育しても成長や飼料効率に有意な変化は見られず、これにより今回の飼料化技術によって調製したミズアブ飼料の安全性および有用性が確認された。マダイ未成魚への給与試験では、幼虫は魚粉を100%代替した場合でも体重や尾叉長の増加は有意に変化せず、飼料効率においても対照飼料と有意差がなかった。前蛹では100%代替で体重増加の抑制が見られた。これらの結果より、食品廃棄物処理後に回収された幼虫に対して今回の飼料化技術を利用することによって、これまでの魚類へのミズアブ給餌試験で報告されていた魚粉代替率を上回る、100%の代替が可能であると考えられた。この結果をサブテーマ2での水産給餌試験の試験設定に利用した。

（2）幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発（国立大学法人 愛媛大学）

・幼虫の消化性解析

消化器の部位ごとにアミラーゼやペプシンなど代表的な消化酵素の活性を明らかにした。特にタンパク質分解酵素のペプシンについては消化管の口側ほど活性が高く、また中腸において強い酸性が検出されたことから、体外・体内の両方でタンパク質分解が強く起こることが推測され、ミズアブのタンパク質分解能力の高さが酵素化学的に裏付けられた。成長段階における変化については、ペプシン活性が孵化後4日において孵化後10日よりも有意に高いことが明らかになり、また標準飼料のタンパク質含量を変えて幼虫を10日齢まで飼育した試験では、タンパク質40%という高い（モデル生ごみの約2倍）の含有量において最も高い成長が見られたことから、幼虫の初期成長にもタンパク質が重要であることが示唆された。

また、初期成長については酵母生菌の添加によって成長が促進されたこと、死菌や大腸菌の添加ではその効果が見られなかったこと、さらに抗真菌剤のフルコナゾールの添加によっては逆に成長が抑制されたことなどから、酵母など真菌の存在が初期成長にプラスの効果を及ぼすと考えられた。さらに、リゾチームやβ-グリコシダーゼをはじめとして細胞壁分解に働くと考えられる複数の酵素の活性が消化管から検出されたことなどから、ミズアブ幼虫が真菌を消化して栄養源としていると推測された。ミズアブが属する双翅目昆虫の一部では、幼虫が微生物を摂食し栄養源とすることがすでに知られており、ミズアブでも同様の食性を持つと考えられた。タンパク質消化と合わせて、幼虫を初期成長の段階において大きく成長させて廃棄物処理や繁殖に利用するための知見がこれらの結果から得られた。

・ミズアブの免疫賦活性に関する解析

幼虫から前蛹・蛹へと成長段階が進むにつれて免疫賦活性が高まる傾向が見られた。飼料の影響について

は幼虫の段階では野菜を与えたもので高いなどの傾向があったが、蛹化後には飼料による差はほとんど見られなくなった。このことから、幼虫の飼料利用においては、免疫賦活性を重視する場合には成長段階の進んだものが適するなどの基礎的知見が得られた。

前蛹に含まれる、免疫賦活作用を有する新規な多糖類を同定することに成功した。その構成糖を解析したところ、ウリミバエやカイコガなど、これまで愛媛大学で同定してきた昆虫由来多糖類と似た特徴が観察され、これらの多糖類と類似の機能を有することが推測された。

・水産給餌試験による飼料価値評価

バナメイエビ飼育試験では、幼虫により魚粉を完全代替しても体重増加に関して有意な差は見られず、良好な魚粉代替性が確認された。前蛹では魚粉に比べて成長率が劣り、魚粉代替を目的とした飼料原料は幼虫を用いることが好ましいことが分かった。油脂については幼虫・前蛹の両方で魚油の完全代替が可能であるという結果が得られ、ミズアブの飼料利用性の高さが明らかになった。

メダカ飼育試験では、全ての前蛹添加区において*E.tarda*感染後の生残率は対照区を上回り、特に前蛹0.1%添加区において有意に高い値となった。この区における遺伝子発現の解析の結果、免疫に関わる遺伝子の発現変動が起きていることも確認された。

これらの試験結果や、サブテーマ4で述べる採卵鶏での試験の結果を踏まえて、脱脂した幼虫を魚粉と同等の価格で、稚魚用サプリメントと同等の価格で販売するなどの試算を行った。廃棄物処理後に回収されたミズアブは、飼料・飼料添加物としての利用によって魚粉代替物に留まらない金銭的価値をもつことが期待された。

以上のように、当初計画した通りのスケジュールで試験を行い成果を得た。

（3）ミズアブ成虫の繁殖メカニズム効率化（国立研究開発法人　国際農林水産業研究センター）

・幼虫飼育環境が及ぼす影響

国際農林水産業研究センターで開発した人工飼料により飼育した個体の蛹化率・羽化率は、従来の米ヌカ飼料で飼育した場合に対して有意に高く、羽化後も受精卵を採取できた。これにより、サブテーマ１および３で繁殖に利用する幼虫飼料を確定した。

・成虫飼育環境および成虫への給餌が及ぼす影響

これまでに砂糖の給餌により成虫の寿命が延長することを明らかにしていたが、本試験により、砂糖給餌区では水給与区に比べ雌１頭あたりの産卵数が約３倍、同じく受精卵数が約２倍となった。さらに、水のみの給与では卵巣成熟が起こらなかった小型の雌成虫において砂糖を給餌すると卵巣成熟が観察されたことから、成虫の摂餌が自然状態でも起こっている可能性が高まった。

飼育環境の改善、および成虫への給餌によって、累代飼育下での平均受精卵率を65.0%まで高め、目標値である「雌個体あたりの産卵率50%」を超える数値を達成した。そこで、これらの成果を用いて、大阪府立環境農林水産総合研究所での大量繁殖に使用するケージの基本設計を行った。

・成虫誘引物質の解明

臭気の分析によりイソチオシアネート類が誘引に関与する可能性が考えられたが、今回用いた市販の化学物質34種については誘引効果が見られず、誘引作用を持つ化合物を特定するには至らなかった。

風洞装置を用いた試験により、幼虫飼育残渣の成虫誘引効果が確認された。また、誘引される割合が雌雄で異なること、雌が卵巣成熟のピークの時期において最も強く誘引を受けることを明らかにした。これらの結果から、ミズアブ成虫の誘引効果の検定法が確立され、交尾・産卵の促進の目途が立ったと考えられた。

（4）外部環境に対する資源循環系の評価（国立大学法人　香川大学）

・廃棄物処理に伴う臭気の分析と抑制

残渣に含まれる主な臭気物質としてアンモニア・トリメチルアミンや揮発性脂肪酸類が検出された。これらは幼虫の飼育密度の高い条件において標準要件より低濃度となり、その際の臭気指数も有意に低かったことから、

幼虫の添加数により残渣臭気の軽減が図れる可能性が見出された。また、低温条件下では臭気指数が高値となったことから、加温などにより幼虫の活動を促進することが臭気の抑制についても重要であることが推測された。

・廃棄物処理に伴う温室効果ガスの定量

今回試験では幼虫処理に伴うメタンガス発生量は検出限界以下となったことから、ミズアブ幼虫による食品廃棄物処理においては顕著なメタンガス発生は起こらないと考えられた。

二酸化炭素と亜酸化窒素の発生量推定の結果、幼虫処理では焼却処理に比べて二酸化炭素・亜酸化窒素ともに発生量が少なく、恒温設備の運転を考慮に入れても41～66%もの温室効果ガス発生を削減できるとの試算が得られた。ミズアブ幼虫による食品廃棄物処理では廃棄物中の窒素・炭素が幼虫として回収されるため、温室効果ガスとして環境へ放出される量が少ないことがこれらの数値から確認された。

・処理残渣の安全性・肥料利用性評価

化学分析により、モデル生ごみ処理残渣は肥料の三要素である窒素・リン酸・カリをいずれも十分に含み、特に窒素の含有量が多く、アンモニア態窒素:硝酸態窒素の比からは化成肥料に近い使用方法が可能と考えられる、などの特性が明らかになった。発芽試験の結果および総合評価点からは、残渣は低濃度で使用することにより市販肥料と同程度の品質の肥料として利用できることが示唆された。

ホウレンソウ栽培試験では、ホウレンソウの地上部新鮮重において残渣を施肥した区が全試験区中で最大となり、窒素含有量の高さが良好な施肥効果に繋がったと推測された。以上のように、食品廃棄物の幼虫処理残渣が良質な肥料として利用可能と考えられるデータや、適切な利用方法を示す知見を得た。

・採卵鶏(レイヤー)への給餌試験

飼料効率や産卵成績、消化管組織に試験区間での有意差は見られず、ミズアブの幼虫および前蛹によって大豆粕や大豆油を高い割合で置換可能であると考えられた。卵殻厚が前蛹区で高くなる傾向と、盲腸内容物の解析結果からは、前蛹が盲腸内で発酵基質として作用して短鎖脂肪酸を増加させ、ミネラルの消化管吸収を促進させたことが考えられた。以上のように、食品廃棄物の処理後に回収されるミズアブ幼虫・前蛹が高品質な採卵鶏用飼料として利用可能であることを示唆する結果が得られた。

5. 本研究により得られた主な成果

(1)科学的意義

サブテーマ1では、廃棄物の処理効率に関わる詳細な条件を明らかにした。これまで幼虫の昆虫学的性質としての最適生育温度や飼育密度の影響などが調べられてきたものの廃棄物の分解・減量化という観点からアプローチした研究は極少ない。先行研究では幼虫の成長や回収量が注目されていたのに対し、本研究では統合的に試験検討を行い、特に食品廃棄物処理に適した条件を定量的に明らかにした。これらのデータは今後、ミズアブだけでなく昆虫による廃棄物処理に関する研究全般での活用が期待できる。

サブテーマ2では上記にも関連して、幼虫が廃棄物を分解する消化酵素の特性を明らかにした。その過程で、幼虫が微生物を消化する酵素を持つだけでなく、飼料(廃棄物)中の酵母が幼虫の成長に大きく影響するという興味深い現象を見出した。これはミズアブ幼虫と酵母との新規の共生系である可能性がある。また、ミズアブの飼料利用に関する検討の中で前蛹が高い免疫賦活作用や抗病性を示すことを見出し、その本体である新規な多糖類の同定と構造解析にも成功した。

サブテーマ3では、これまでミズアブ成虫が摂食をしないとされてきたことに対し、成虫への給餌が寿命の延長に留まらず繁殖成績の向上にまで効果を示すことを明らかにし、さらに花粉など自然環境中の有機物を摂食している可能性も示した。また、繁殖行動に関して、雌が複数回産卵するなどこれまでに報告されていない現象を見出した。これらは人工繁殖の効率向上に繋がる知見であることに加えて、世界各地に分布する昆虫であるミズアブの生態について従来の定説に一石を投じる成果である。

サブテーマ4ではミズアブによる廃棄物処理で発生する温室効果ガス量を明らかにして従来の焼却処理に

対する有意性を定量的に示し、持続可能な資源循環系の可能性を高めた。

（2）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

内容に優れるとともに社会的関心が高いと考えられる成果として、農林水産技術会議事務局により2018年農業技術10大ニュースに選定された。

タイトル「未利用バイオマス資源でアメリカミズアブを生産、水畜産飼料化にめど」

＜行政が活用することが見込まれる成果＞※IPCC等、国際的な枠組みへの貢献も含む。

本研究は環境研究・環境技術開発の推進戦略（平成27年）の重点課題③（環境問題の解決に資する新たな技術シーズの発掘・活用）の例として示された「生態系が持つ低環境負荷かつ高度な機能を活用・模倣する技術の応用」というテーマに合致するものである。生態系を構成する生物の中で昆虫、とりわけミズアブ幼虫が低品位の有機物を高効率かつ衛生的に分解し有用な物質に変換する能力に着目して、その能力を実用化に近づける知見を得た。

サブテーマ1・2では、ミズアブ幼虫の消化吸収能力が食品廃棄物の処理に適用可能であることを確認し、廃棄物重量減少率や窒素の回収率の定量的データを得た。サブテーマ4では幼虫による処理時の温室効果ガス発生量が焼却処理時より大幅に少ないことなど環境負荷の低さを確認した。高水分で焼却のために大量の化石燃料を必要とする食品廃棄物に対して本技術が利用されれば、温室効果ガスの発生が抑制されると共に焼却炉などへの負荷が軽減され、重点課題⑩「廃棄物の適正処理と処理施設の長寿命化・機能向上に資する研究・技術」にも繋がることが期待される。食品廃棄物のうち外食産業・食品小売業で排出されるものは飼料・肥料化利用に適しない等の理由から再生利用等実施率が各46%・24%と低く（平成26年）、食品リサイクル法で目標設定された55%・50%を下回っている。本技術は将来的にこれらの実施率の引き上げに貢献することが期待される。

さらにサブテーマ2・4では、廃棄物処理後に回収される幼虫や残渣を機能性飼料や肥料として利用する手法を開発し、特に飼料利用については魚粉を100%代替することが可能であるなど高い経済的価値が期待された。魚粉代替飼料の開発は重要な課題であり、国際的な食料安全保障の観点からも本成果の活用が見込まれる。

6．研究成果の主な発表状況

（1）主な誌上発表

＜査読付き論文＞

1） 平康博章、和智仲是、瀬山智博、笠井浩司、藤谷泰裕： 大阪府立環境農林水産総合研究所研究報告、第4号 (2017).
アメリカミズアブ幼虫を利用した食品廃棄物処理

2） K. Kawasaki, Y. Hashimoto, A. Hori, T. Kawasaki, H. Hirayasu, S. Iwase, A. Hashizume, A. Ido, C. Miura, T. Miura, S. Nakamura, T. Seyama, Y. Matsumoto, K. Kasai and Y. Fujitani: Animals 9(3), 98; https://doi.org/10.3390/ani9030098, (2019)
Evaluation of Black Soldier Fly (Hermetia illucens) Larvae and Pre-Pupae Raised on Household Organic Waste, as Potential Ingredients for Poultry Feed.

（2）主な口頭発表（学会等）

1） 平康 博章、瀬山智博、吉田弦、笠井浩司、藤谷泰裕：関西畜産学会第66回大会（2016）
廃棄物によるアメリカミズアブ幼虫生産に温度および接種密度が与える影響」

2） 井戸篤史、橋爪篤史、三浦智恵美、三浦猛：日本昆虫学会第77回大会（2017）
大量生産系の確立に向けたミズアブ幼虫の成長現象の解明」

3） 中村 達：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）

昆虫利用による食料資源循環を目指して:アメリカミズアブ成虫に関する既知情報と新知見の比較」

4） Y. Hashimoto, K. Kawasaki, H. Hirayasu, A. Hashizume, A. Ido, T. Miura, Y. Fujitani, Y. Matsumoto: 11th Asia Pacific Poultry Conference (2018)

Effects of Black soldier fly (Hermetia illucens) larvae and pre-pupae as partial to soybean protein and oil in layer diets on egg quality and intestinal villi

7. 研究者略歴

研究代表者

藤谷 泰裕

岡山大学大学院農学研究科修士課程修了、農学博士、現在 大阪府立環境農林水産総合研究所 研究管理監

研究分担者

1） 三浦 猛

北海道大学大学院水産学研究科博士後期課程修了、水産学博士、現在 愛媛大学大学院農学研究科 教授

2） 中村 達

信州大学大学院農学研究科修士課程修了、農学博士、現在 国際農林水産業研究センター 主任研究員

3） 松本 由樹

大阪府立大学大学院生命科学研究科博士後期課程単位取得退学、医学博士、現在 香川大学農学部 准教授

II．成果の詳細

Ⅱ－１　ミズアブ機能を活用した資源循環系の確立

地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所
研究管理監　藤谷泰裕
環境研究部　資源循環グループ　主幹研究員　笠井浩司
同　主任研究員　平康博章
同　研究員　岩瀬俊一郎
水産研究部　水産支援グループ　主任研究員　辻村浩隆

平成28～30年度累計予算額：33,855千円
（うち平成28年度：11,722千円、平成29年度:11,350千円、平成30年度:10,783千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
アメリカミズアブ幼虫の消化・物質転換能力を利用して食品廃棄物の減量を行う上で、その効率を最大化させるための条件検討を行った。家庭から排出される生ごみを模した「モデル生ごみ」を調製し、これに幼虫を添加して、廃棄物の減量率が最大となる温度・飼育密度などを検証した。また、幼虫への処理に適した食品廃棄物種類の検討として、食品カテゴリーごとの処理効率、塩分・脂肪分濃度の影響なども検証した。以上によって最適処理条件を決定し、規模を拡大して、１ロット100kgの食品廃棄物を処理する実証試験を行った。
処理に必要な大量の幼虫を確保するために、サブテーマ３で得られた成虫飼育・繁殖技術を利用した大規模飼育施設を所内に導入し、年間を通じて室内での繁殖と幼虫供給が可能な体制を整えた。
処理後に回収された幼虫はサブテーマ２・４の飼料価値評価に利用した。また、それらの予備試験として魚類への給餌試験を小規模に行い、ミズアブ幼虫が魚粉を代替する飼料原料として有望な素材であることを確認した。処理残渣はサブテーマ４での肥料化試験に利用した。

［キーワード］
廃棄物処理、食品廃棄物、リサイクル、昆虫利用

１．はじめに

※参考文献を引用した場合は、本文中の記載箇所の右肩に初出順に1),2),3)‥‥の番号を付け、引用した文献を、８.に列記すること。文献の記載法については概要様式６．の書式説明に準じること。

日本国内において食品廃棄物は推定1,700万t/年と大量に排出されているが、高水分や分別の難しさなどから再生利用率は3割以下に留まっている[1)]。利用率を2025年の目標値である40%以上に引き上げるには、自然生態系において高水分の有機物が高効率で循環利用されているメカニズムを活用・模倣した、新たな資源循環系の構築が有効と考えられる。

当研究所では各種の生物を利用した廃棄物の減量化・再資源化の研究に取り組んできており、平成25年頃からはアメリカミズアブ（*Hermetia illucens*、以下ミズアブとする）が有する消化・物質転換能力に注目し、これを利用した畜産廃棄物の減量試験などを継続してきた。

ミズアブは北米原産と考えられているが、物流に付随して分布を拡げ、日本を含む世界の熱帯から温帯に広く侵入・定着している。アメリカミズアブの幼虫は食品廃棄物や家畜排せつ物などの高水分の有機物を幅広く利用できる食性を持ち、炭素・窒素分を脂肪やタンパク質の形で体内へ蓄積する。またイエバエのようにヒトの食物に誘引されることはなく、人畜・作物への害や病原体媒介の危険が少ないとされる。これらの性質を活かした廃棄物処理と飼料生産の取り組みが提案されているが、これまで行わ

れてきたアメリカミズアブに関する研究は幼虫の効率的な飼育を目的とするものが多く、幼虫による食品廃棄物処理の効率を向上させることを目的として定量的な検討を行った研究は少数にとどまっている。

２．研究開発目的

ミズアブの生理機能を利用した、環境に優しい廃棄物処理手法の開発資源循環系の構築を目指して、本サブテーマではミズアブ幼虫による食品廃棄物の減量効率を最大化する条件を明らかにしそれを拡大規模で実証する。そのため、環境温度や幼虫添加数などの処理条件、処理に適した廃棄物性状などを小規模試験で明らかにすること、それをプラントサイズでの処理に向けた規模に拡大して実証することを目的とした。

また、食品廃棄物処理後に回収される幼虫や処理残渣の飼料・肥料としての利用性評価（サブテーマ２・４）を行うための試験サンプルの供給もこのサブテーマでの目的とした。

３．研究開発方法

（１）幼虫による廃棄物処理効率の向上

①最適な廃棄物処理条件の検討

ｉ　廃棄物処理試験の標準条件の設定

この①節で行う廃棄物処理試験において、材料および標準条件を以下のように設定した。

供試虫は、大阪府羽曳野市で採集された成虫由来、もしくは茨城県つくば市で採集され、JIRCASで維持されている系統由来の幼虫とした。25℃で6-8日間米ヌカ飼料で予備飼育した後に、試験に供した。

廃棄物のモデルとして、表(1)-1に示す「モデル生ごみ」を調製した。構成材料および配合率は京都市の家庭生ごみ排出状況調査データ[2)]および李らのメタン発酵試験で使用されたモデル[3)]を参考に決定し、破砕機で破砕したのち均一に混合して使用直前まで冷凍保存した。

これまでの基礎データから、「廃棄物1 gあたり幼虫添加個体数1 頭、廃棄物の厚さ約1.5cm、温度30℃、湿度60-80%RH、15日間処理」を標準条件と定めた。ナイロンメッシュの換気口を設けたプラスチック円筒容器中にモデル生ごみおよび幼虫を封入してインキュベーター中に静置し、処理期間終了後に幼虫（もしくは蛹の前段階である前蛹まで成長したもの）をピンセットで回収し、処理残渣の重量を計量し、乾物率を乾燥法で測定して、モデル生ごみの乾物減少率を算出した。また、処理前の廃棄物重量1gから得られる幼虫の重量を幼虫収率と定義した。計算式を以下に示す。

乾物減少率(%) ＝
　100×[1-{処理前廃棄物重量(g)×処理前廃棄物乾物率(%)}／{処理残渣重量(g)×処理残渣乾物率(%)}]

幼虫収率(%) ＝
　100×[処理後に回収された幼虫もしくは前蛹の重量(g)／処理前廃棄物重量(g)]

以降の試験では、モデル生ごみを幼虫に処理させた際の乾物減少率・幼虫収率を廃棄物の処理効率や幼虫利用効率を代表する値とした。温度などの処理条件を標準条件から変化させた場合廃棄物処理効率の変化を調べ、最適条件の検討を行った。

表(1)-1. 「モデル生ごみ」の組成

	現物重量(%)	
品名	品目別	カテゴリー別
キャベツ	17	野菜 50
ジャガイモ	16	
ニンジン	17	
リンゴ(搾汁粕)	5	果物 18
グレープフルーツ(搾汁粕)	4	
オレンジ(搾汁粕)	4	
バナナ(皮)	5	
豚挽肉	8	肉 10
卵(殻)	2	
魚(アジ)	10	魚 10
米飯	3	炭水化物 12
パン	3	
うどん	3	
中華麺	3	
合計	100	100

ii　温度が廃棄物処理に及ぼす影響

ミズアブ幼虫による廃棄物処理に適した温度域を検討した。ミズアブ幼虫は低温では摂食や成長などの活動が低下し、また高温では成虫まで成長する個体の割合が低下することが報告されている。そこでまず日本の春～秋を想定した温度域として14, 20, 26, 30, 34, 38 ℃に設定したインキュベーター中で幼虫の廃棄物処理能力を調べた。その後、26℃以下の温度域において処理能力が低下する閾値を検証し秋～冬の処理においてどの程度の加温が必要かの参考データとした。モデル生ごみおよび予備飼育した幼虫を用いて、温度以外の条件は①と同様とし処理させて乾物減少率を測定した。

iii　幼虫添加個体数が廃棄物処理に及ぼす影響

廃棄物重量あたりの最適な幼虫添加個体数を検討した。モデル生ごみ1 gあたり、幼虫を0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 頭添加し、処理させた。添加個体数以外の条件はｉと同様とした。

②処理に適した廃棄物の選定

i　幼虫による処理に適した食品廃棄物のカテゴリー

この②節では、モデル生ごみを基本として改変を加えた廃棄物モデルを幼虫に処理させ、処理に適した廃棄物種類や性状を推定した。

まず、幼虫による処理に適した食品廃棄物のカテゴリーを調べた。モデル生ごみを構成する材料を分類し、野菜・果物・肉・魚・炭水化物の5種類のカテゴリー別モデル生ごみを調製した。これらを各々、幼虫に15 日間処理させ､経時的に乾物減少率･幼虫収率を算出した｡その他の条件は①ｉと同様とした。

ii　破砕処理の程度が処理に及ぼす影響

②iで使用したカテゴリーのうち「野菜」「果物」について、前処理（破砕処理）の程度が処理効率に及ぼす影響を検討した。3 cm角・5 mm角・粉砕の3段階に前処理した野菜もしくは果物をそれぞれ②iと同条件で処理させた。

iii　塩分・脂肪分が廃棄物処理に及ぼす影響

加工・調理済みの食品廃棄物（厨芥残渣等）の処理を想定し、塩分・脂肪分が幼虫の廃棄物処理能力（処理効率）に及ぼす影響を検討した。モデル生ごみに食塩もしくはナタネ油を添加して、最終塩分含有率0.1，0.5，1.0，2.0%w/w、最終粗脂肪含有率2.5，5，10，20%w/w（ともに現物重量比）に調整し、①ｉの条件で処理させた。塩分および粗脂肪の含有率は福岡市の厨芥残渣等調査結果2)等を参考に決定した。

（２）処理規模の拡大と実証

①処理形態の変更

処理規模を拡大していくにあたって、処理容器を(1)で使用していた直径9cm×高さ8cmのプラスチック円筒容器から内寸43×31×16cm^{3}のプラスチックコンテナに変更し、１コンテナあたり数kgの廃棄物とそれに対応した量の幼虫を投入し、多数の容器を棚に並べることにより規模を拡大できる構造とした（図(1)-2）。

また(1)密封型（通気性あり）で幼虫の逃走を防いでいたものを開放型に変更した。容器に対して幼虫と廃棄物を投入する際、廃棄物を一括投入せず複数回に分けて数日ごとに投入することにより開放容器でも幼虫の脱走が防げるという方法（Sandec 2017など）の利用を試みた。

さらに、試験場所を(1)の恒温高湿のインキュベーター内から簡易な空調制御のみの室内に移行することを試みた。畜舎として使用していた建屋を改装し、エアコンのみで温度制御する簡易なプラントとした。この環境で開放型プラスチックコンテナでの処理が可能かを検討した。

図(1)-2 拡大規模での処理装置（左）と開放型プラスチックコンテナ（右）

②拡大規模処理試験

①の容器及び環境を用いて、廃棄物100kg規模での処理試験を行って小規模と同等の処理効率が得られるかを検討した。

処理対象の食品廃棄物としてはモデル生ごみのほか、将来的に幼虫処理に使用される可能性のある事業系の食品製造残渣を用いた。現在大阪府内の食品製造事業所から大量に排出されている豆腐粕の提供を受けた。また②iのカテゴリー試験の結果から、豆腐粕に対し炭水化物を添加することで処理が促進されると予想し、事業所からの定期的な排出の可能性のある素材として豆腐粕と米飯を重量比9:1で混合したものを用いた。さらに厨芥残渣への適用可能性を探るため、大阪府内の食堂で発生した厨芥残渣（調理残渣および）の提供を受けた。

(1)の各試験および(2)①で得られた知見より、処理条件は「廃棄物1 gあたり幼虫添加個体数1 頭、廃棄物の厚さ約2-3cm、温度24～34℃、15日間処理」とし、食品廃棄物は0，5，10日目に３分の１重量ずつ投入した。

（３）大規模繁殖に向けた取り組み

②の100kg規模処理に必要な大量の幼虫を安定確保するため、室内の人工環境でミズアブを卵から成虫まで飼育し繁殖させる累代飼育の体制を整えた。

サブテーマ３(1)の累代飼育方法に従い、恒温高湿室中での人工繁殖手法を導入した。その後、サブテーマ３の研究成果より交尾促進に必要な成虫密度設定や成虫への給餌を導入し、また当研究所で得られた知見を活かして、成虫の投入引抜や採卵を効率的に行う機構などを備えた、容積約1.2m^{3}の成虫繁殖ケージ（図(1)-3）を開発して、これを簡易プラント内で運用して大規模繁殖を行った。

図(1)-3　開発した成虫繁殖ケージ

（４）魚類への給餌試験

①安全性確認のための試験

サブテーマ２で行う水産試験の予備試験としてまず、ミズアブの飼料としての安全性および魚粉代替物としての利用性を小規模な給餌試験により確認した。試験魚種は、食用魚として栽培漁業が行われていおり当研究所の飼育経験があるキジハタ（*Epinephelus akaara*）を利用した。

ミズアブ幼虫を小麦ふすま他からなる人工飼料（サブテーマ３の表(3)-1を参照）で飼育し、平均体重150 mg程度の幼虫もしくは前蛹まで成長させたのち、愛媛大・三浦らの方法（特願2016-113379）により脱脂・粉末化した。飼料中に60%w/wの魚粉が含まれる配合飼料を対照とし、その魚粉の0，33，50，100%w/wをミズアブ粉末に置き換えた試験飼料を調製した（表(1)-2）。化学分析により求められる栄養価は各飼料が等しくなるよう調整した。各飼料を20尾×3水槽のキジハタ未成魚（平均体重8g）に30日間飽食給餌して体重および全長の増加率、飼料効率を算出した。

表(1)-2 キジハタへの給餌試験飼料の配合

飼料原料	対照	ミズアブ33%	ミズアブ50%	ミズアブ100%
魚粉	60.00	40.00	30.00	0.00
ミズアブ（脱脂・乾燥）	0.00	20.00	30.00	60.00
コーングルテンミール	3.00	6.00	7.50	12.00
大豆粕	7.00	7.00	7.00	7.00
小麦粉	12.80	9.70	8.15	3.50
オキアミ	5.00	5.00	5.00	5.00
魚油	5.00	5.00	5.00	5.00
ビタミンMIX	0.80	0.80	0.80	0.80
ミネラルMIX	0.40	0.40	0.40	0.40
塩化コリン	0.10	0.10	0.10	0.10
安定化ビタミンC	0.10	0.10	0.10	0.10
リン酸二水素ナトリウム	0.80	0.80	0.80	0.80
リン酸二水素カリウム	0.80	0.80	0.80	0.80
乳酸カルシウム	1.50	1.50	1.50	1.50
タウリン	1.20	1.30	1.35	1.50
CMC	1.50	1.50	1.50	1.50

合計	100.00	100.00	100.00	100.00

②食品廃棄物処理後に回収された幼虫および前蛹の利用試験

①の結果を受けて、食品廃棄物処理で回収されたミズアブ幼虫（もしくは前蛹）を10-15日間の処理の後に回収されたミズアブ個体を黒化の程度により幼虫と前蛹に分別し、それぞれについて給餌効果を検討した。試験魚種は、より生産量の多い養殖魚としてマダイ（*Pagrus major*）を用いた。

配合飼料中魚粉の0，50，100%w/wをミズアブ幼虫もしくは前蛹の脱脂粉末に置き換えた試験飼料を①と同様に調製した（表(1)-3）。これらをマダイ未成魚（開始時体重約7g）に対し、各試験区10 尾×3 水槽に40 日間給与して体重および全長の増加率、飼料効率を算出した。

表(1)-3 マダイへの給餌試験飼料の配合

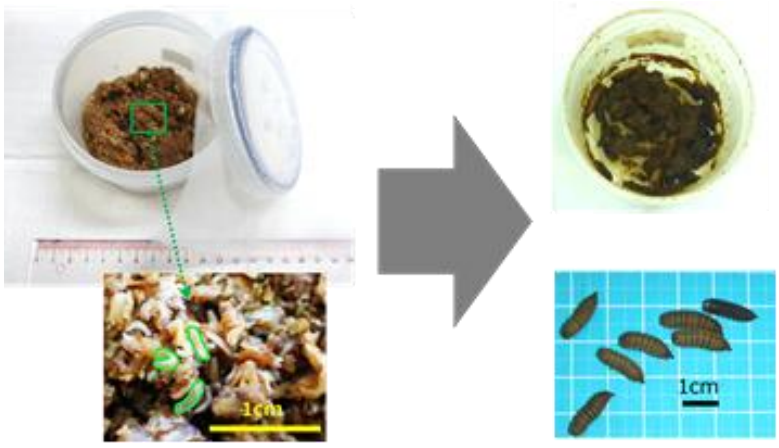
飼料原料	対照	幼虫50%	幼虫100%	前蛹50%	前蛹100%
魚粉(CP65)	900.00	246.00		246.00	
幼虫脱脂乾燥物		246.00	492.00		
前蛹脱脂乾燥物				246.00	492.00
オキアミミール（CP60）	75.00	41.00	41.00	41.00	41.00
魚油（タラ油）	45.00	36.90	49.20	36.90	45.10
澱粉	301.50	85.69	6.56	85.69	10.66
コーングルテンミール（CP60）		65.60	131.20	65.60	131.20
大豆粕	75.00	41.00	41.00	41.00	41.00
タウリン	18.00	11.07	12.30	11.07	12.30
ビタミンMIX	12.00	6.56	6.56	6.56	6.56
ミネラルMIX	6.00	3.28	3.28	3.28	3.28
塩化コリン	1.50	0.82	0.82	0.82	0.82
安定化ビタミンC	1.50	0.82	0.82	0.82	0.82
リン酸二水素ナトリウム	12.00	6.56	6.56	6.56	6.56
リン酸二水素カリウム	12.00	6.56	6.56	6.56	6.56
乳酸カルシウム	22.50	12.30	12.30	12.30	12.30
カルボキシメチルセルロース(CMC)	18.00	9.84	9.84	9.84	9.84
合計	1500.00	820.00	820.00	820.00	820.00

４．結果及び考察

①最適な廃棄物処理条件の検討

i　廃棄物処理試験の標準条件の設定

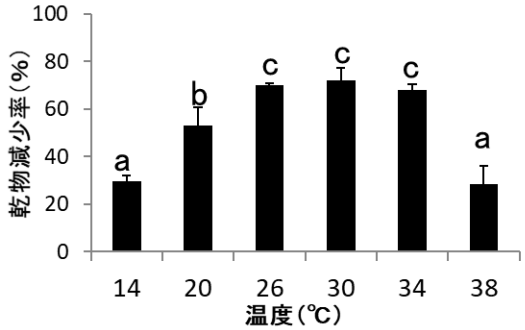
モデル生ごみは3回調製して水分80.3 ± 0.6%w/w・粗タンパク質4.0 ± 0.2%w/w・粗脂肪2.5 ± 0.2%w/w（平均 ± 標準誤差、以下同じ）であった。標準条件で幼虫に処理させたモデル生ごみの乾物減少率は6試行の結果71.3 ± 1.4%、幼虫収率は13.8 ± 0.3%であった。処理前後のモデル生ごみ・幼虫の外観変化を下に示す。試行間で値の大きなばらつきがなく、標準条件として利用できると考えられた。



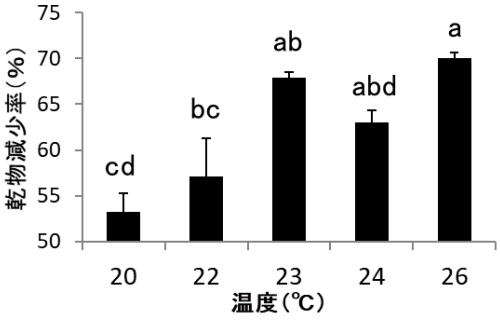
図(1)-4 小規模処理前後のモデル生ごみおよびミズアブ幼虫

ii　温度が廃棄物処理に及ぼす影響

26 ℃から34 ℃の温度範囲では、モデル生ごみの乾物減少率は68%～72%で差は無かったが、20 ℃以下と38 ℃では有意に低下した（図(1)-5a）。幼虫の回収重量も同じ傾向を示した。先行研究においても低温・高温下でミズアブ幼虫の活動が低下することは示唆されていたが、本研究により定量的な値が示された。特に高温条件において、34 ℃までは乾物減少率が低下しなかったことから、夏季においても特別な空調を使用せず廃棄物処理が可能であると考えられた。一方、26 ℃未満の低温条件において、乾物減少率が26 ℃の場合よりも有意に低下する温度を詳細に調べたところ、23 ℃付近にその閾値が存在すると推測された（図(1)-5b）。このことより、実証試験において最低限維持すべき室内温度を24 ℃に設定した。



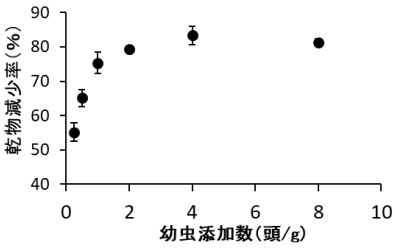
図(1)-5a 14-38 ℃におけるモデル生ごみ減量率
値は3 試行の平均値±標準誤差を示す。異符号間に有意差あり（Tukey’s test, $P<0.05$）。以下同じ。



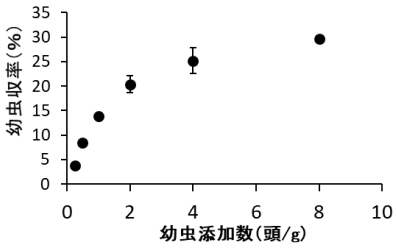
図(1)-5b 20-26 ℃におけるモデル生ごみ乾物減量率

iv　幼虫添加個体数が廃棄物処理に及ぼす影響

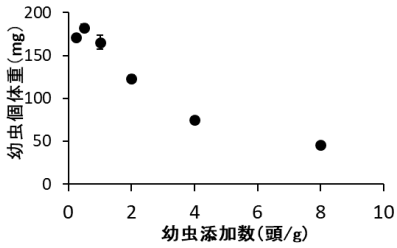
幼虫添加個体数が0.25 頭/gから1 頭/gの範囲では頭数増加に伴って乾物減少率が直線的に上昇した（$r^2=0.9673$）が、2 頭/g以上添加しても更なる乾物減少率の上昇はみられなかった（図(1)-6a）。また幼虫収率は幼虫添加個体数の増加に伴って上昇するもののグラフの傾きは小さくなり（図(1)-6b）、幼虫1頭の平均重量を計算するとで低くなった（図(1)-6c）。以上の結果から、処理に用いる幼虫の確保と有価物（飼料原料）としての幼虫回収を考慮すると、最適な幼虫密度は、廃棄物1 gあたり1から2 頭と考えられた。



図(1)-6a 幼虫添加個体数とモデル生ごみ乾物減少率の関係
値は3 試行の平均値±標準誤差を示す。以下同じ



図(1)-6b 幼虫添加個体数と幼虫収率の関係

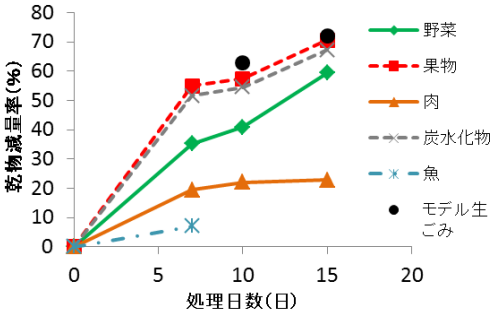


図(1)-6c 幼虫添加個体数と幼虫個体重量の関係

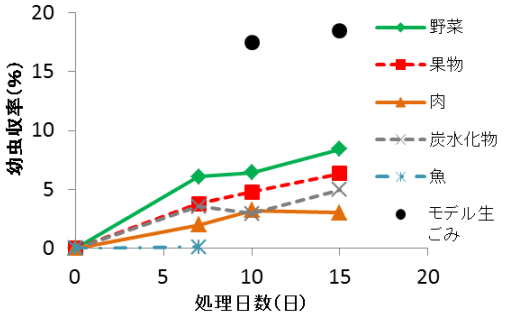
②処理に適した廃棄物の選定

i　食品廃棄物のカテゴリーが処理に及ぼす影響

乾物減少率では、野菜・果物・炭水化物の各カテゴリーの値は、肉・魚の各カテゴリーより高く、モデル生ごみとほぼ同等であった（図(1)-7a）。幼虫収率でも、野菜・果物カテゴリーの値は、肉・魚カテゴリーより高かったが、モデル生ごみと比較すると、半分以下に留まった（図(1)-7b）。この結果から、単一カテゴリーとして、ミズアブ幼虫による処理に適するのは、肉・魚よりも野菜・果物等の植物系の廃棄物であると見られた。しかしながら、モデル生ごみの結果と比較して、幼虫収率すなわち幼虫の成長という観点からは野菜・果物などの単一カテゴリーの廃棄物だけでは不十分であり、動物性タンパク質をも含むモデル生ごみのような廃棄物が有利であることが示された。肉・魚カテゴリーは、単一では幼虫での処理に適さず、特に魚では処理開始7 日目で幼虫が死滅したが、モデル生ごみのように植物性の廃棄物と混合することで処理が可能になり、幼虫の発育、ひいては廃棄物の処理を促進する要素になり得ると見られた。以上のことから、ミズアブ幼虫による処理には、単一のカテゴリーの廃棄物よりも、植物系・動物系両方が混合された廃棄物が適していると考えられたが、その最適な混合比率および調整方法についてはさらなる検討が必要である。



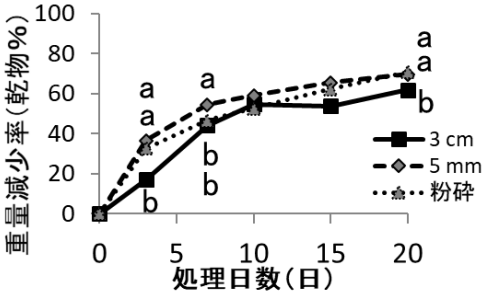
図(1)-7a 食品カテゴリーごとの乾物減量率
値は3 試行の平均値±標準誤差を示す。以下同じ



図(1)-7b 食品カテゴリーごとの幼虫収率

ii　破砕処理の程度が処理に及ぼす影響

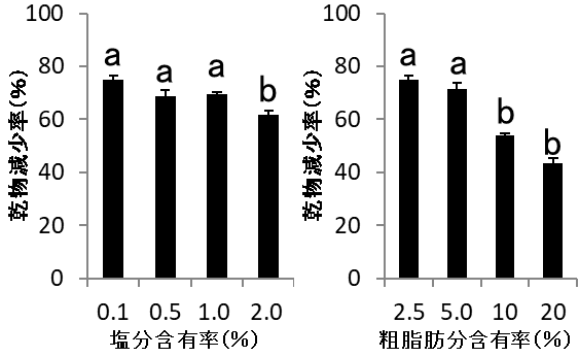
果物では3cm区よりも破砕程度の高い試験区の方が乾物減少率が高くなる傾向があり、処理3・7・15 日目で試験区間に有意差が生じた（図(1)-8）。野菜でも同様の傾向がみられた。この結果から、幼虫による廃棄物処理の前に機械的な破砕処理を加えることが処理効率の向上に繋がる可能性が示唆された。ただし、その効果とコストの関係は今後の検討課題である。



図(1)-8 廃棄物（果物カテゴリー）の破砕の程度が乾物減少率に及ぼす影響
値は3 試行の平均値±標準誤差を示す。
各時点で異符号間に有意差あり（Tukey’s test, P<0.05）

iii　塩分・脂肪分が廃棄物処理に及ぼす影響

塩分含有率2.0%w/w以上、粗脂肪含有率10%w/w以上で乾物減少率が有意に減少した（図(1)-9）。各種厨芥残渣由来堆肥の塩分を調査したデータ[4]から、厨芥残渣の塩分含有率は水分含量を80%に調整した場合0.2～0.7%w/w（湿潤重量比、以下同じ）程度と推測される。よってアメリカミズアブ幼虫は多くの食品廃棄物に含まれる程度の塩分からは処理に影響を受けないと考えられ、本技術は堆肥化やメタン発酵が困難な塩分を含む食品廃棄物に対しても有効な技術である可能性が示唆された。しかし脂肪分に関しては、給食センターの調理残渣で1.0～9.6%w/w、同じく食べ残しで6.1～22.9%w/wという含有率の報告例があり[5]、食品廃棄物の種類によっては脂肪分が幼虫に負の影響を及ぼす可能性が考えられた。



図(1)-9. モデル生ごみ中の塩分・脂肪分の含有率と乾物減量率
値は3 試行の平均値±標準誤差を示す。
異符号間に有意差あり（Tukey’s test, P<0.05）

（２）処理規模の拡大と実証

①処理形態の変更

容器の形状およびサイズを変更してもモデル生ごみの乾物減少率には有意な差は見られなかったものの、容器中の廃棄物の厚さが4 cmを超えると標準条件（厚さ約1.5 cm）に比べ乾物減少率が低下する傾向が見られた。このことから1コンテナあたり6.7 kgの廃棄物を5日間隔で3回に分割投入して厚さを2-3cm程度に維持することとした。15容器を並列し、モデル生ごみおよび、豆腐粕＋米飯それぞれ100 kgを15 日間で処理させる試験を行った。

②拡大規模処理試験

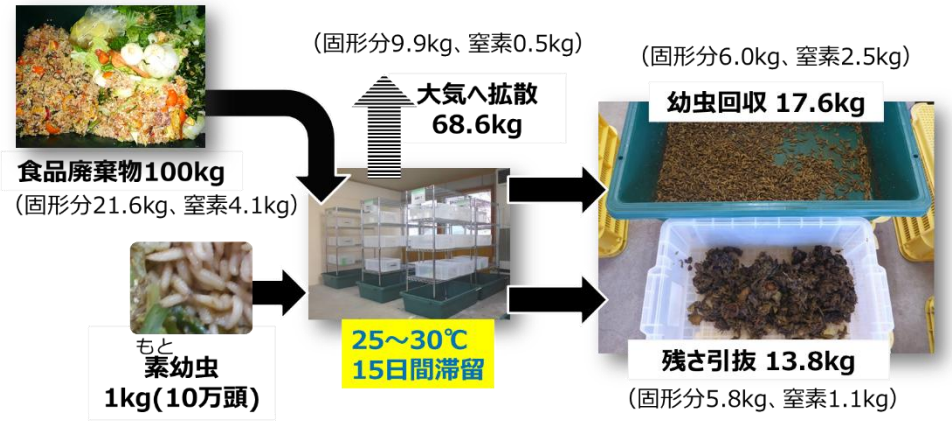
表(1)-4の通り、モデル生ごみ、豆腐粕＋米飯ともに小規模試験とほぼ同等の乾物消失率が得られた。また、厨芥残渣（10kg規模）を同様の方法で処理し、同等の乾物消失率に加え高い幼虫収率（処理後に

回収された幼虫重量／処理した廃棄物重量）が得られた。

今回の厨芥残渣を100kg規模で処理した場合のマスバランスを計算し、図(1)-10に示した。次節（大規模繁殖に向けた取り組み）での成果と合わせ、100kgの廃棄物を毎日受け入れて幼虫を投入し15日間処理する、半連続式の処理が可能になったと考えられた。

表(1)-4 拡大規模処理試験の廃棄物減少と回収された幼虫の量

食品廃棄物	乾物消失率（%）	幼虫収率（%）	幼虫個体重（mg）
モデル生ごみ	65.4	12.0	162
豆腐粕＋米飯	73.5	10.5	117
厨芥残渣	73.5	17.6	208



図(1)-10 拡大規模処理試験（厨芥残渣）のマスバランス

（３）大規模繁殖に向けた取り組み

研究1-2年目で、サブテーマ３(1)の累代飼育方法を導入しての安定飼育に成功した。また、今回開発した成虫繁殖ケージからは、従来の小型ケージに比べ、成虫当たり・空間あたりのいずれにおいても高い効率で受精卵を採卵できた。効率最大時の採卵状況とそこから得られた幼虫数を表(1)-5に示す。この時のケージ稼働により平均して36,000頭/日/基の幼虫を処理用に得ることが可能であった。このケージ3台を並列で稼働させることにより、毎日100kgの廃棄物を受け入れて処理することが可能と考えられた。

表(1)-5 成虫繁殖ケージからの採卵状況

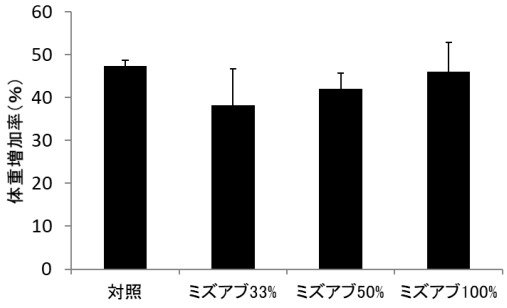
成虫飼育日数(日目)	推定卵塊数(個)	受精卵率（%）	誕生幼虫数（個体）
5	278	60.6	36,842
6	228	79.8	34,931
7	305	63.9	54,639
8	145	43.4	63,198
11	271	63.1	24,479
12	23	47.8	3,325

（４）魚類への給餌試験

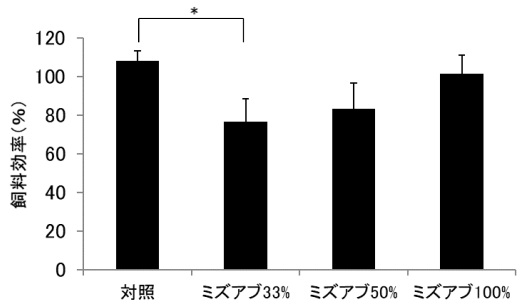
①安全性確認のための試験

いずれの試験区においても、キジハタ未成魚の体重（図(1)-11a）や全長の増加率について対照区との有意差はみられなかった。飼料効率は33%代替区が対照区よりも有意に低値となったが、50%, 100%代替区では対照区との間に有意差はなかった（図(1)-11b）ことから、ミズアブによる魚粉の代替はキジハタ

未成魚の生育に対しマイナスの影響を及ぼさないと考えられた。



図(1)-11a 脱脂したミズアブ（幼虫・前蛹金剛）で魚粉を代替した飼料で飼育したキジハタの30日間の体重増加率。値は3 水槽間の平均値±標準誤差を示す。

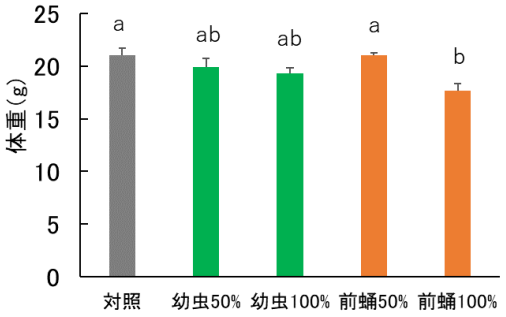


図(1)-11b 脱脂したミズアブ（幼虫・前蛹金剛）で魚粉を代替した飼料でキジハタを30日間飼育した際の飼料効率（体重増加量／摂食重量）。*印は有意差を示す（Tukey’s test, P<0.05）

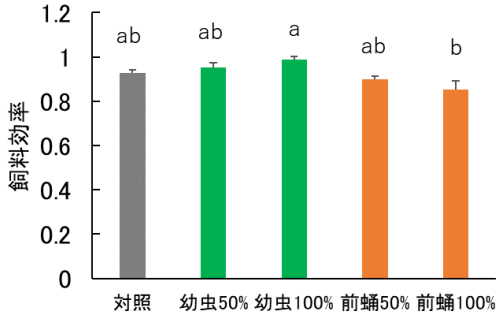
②食品廃棄物処理後に回収された幼虫および前蛹の利用試験

幼虫は魚粉を100%代替した場合でも40日目まで体重（図(1)-12a）および尾叉長の増加に有意な変化が見られず、飼料効率においても対照飼料と差がなかった（図(1)-12b）。一方、前蛹では100%代替すると体重増加が抑制される結果となった（図(1)-12a）。ミズアブ幼虫が魚粉代替物として有望であることが確認されたほか、幼虫と前蛹との差も観察された。前蛹での体重増加の低さは、体表面の硬化などにより飼料としての利用性が幼虫よりも低下するなどの既に報告されている原因が考えられた。

これらの結果より、食品廃棄物処理後に回収された幼虫に対して本研究で用いた飼料化技術により、養魚飼料の魚粉を100%代替可能な高品質な飼料とできることが示唆された。これらの結果をサブテーマ２での試験設計に利用した。



図(1)-12a 脱脂幼虫もしくは前蛹で魚粉を代替した飼料で飼育したマダイの試験最終日（40日目）の体重。値は3 水槽間の平均値±標準誤差を示す。
異符号間に有意差あり（Tukey’s test, P<0.05）
以下同じ。



図(1)-12a 幼虫もしくは前蛹で魚粉を代替した飼料でマダイを40日間飼育した際の飼料効率（体重増加量／摂食重量）。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

これまでのミズアブ利用の研究においては、ミズアブ幼虫の飼料利用を主目的として幼虫の体重増加や成長速度を効率化するための条件検討を行ったものが多かったのに対して、本研究では幼虫による廃棄物の減量効率を向上させるための条件設定を行い、さらにそれを大規模で実証した。また本研究で開発した試験の標準条件、特に食品廃棄物モデルはミズアブや昆虫のみならず各種の食品廃棄物処理研究に適用可能である。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

ミズアブ幼虫による廃棄物処理技術が、水分の多い食品廃棄物に適した処理方法であることが確認された。また処理用幼虫の確保のための大規模繁殖を効率化・省力化し、毎日100kg規模の食品廃棄物を受け入れて処理する半連続式の処理を可能とした。このように、幼虫による廃棄物処理の実用化に向けて開発を進展させた。サブテーマ４の成果と合わせて、焼却処理に代わる低環境負荷な食品廃棄物処理法としての活用が見込まれる。本処理技術が実用化された場合、再生利用率が現在24%と低い食品廃棄物の利用率を引き上げ、焼却・埋立される量を減らし二酸化炭素・メタンなどの温室効果ガス発生量が削減されることが期待される。また、水分の多い食品廃棄物の焼却量が減ることにより、焼却炉への負担が軽減され耐用年数の延長にも繋がる。

６．国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

特に記載すべき事項はない。

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1) 平康博章、和智仲是、瀬山智博、笠井浩司、藤谷泰裕：大阪府立環境農林水産総合研究所研究報告、4, 1-5 (2017)
アメリカミズアブ幼虫を利用した食品廃棄物処理
2) 和智仲是、平康博章、瀬山智博：昆虫と自然、53, 1, 4-7 (2018)
アメリカミズアブを用いた食品廃棄物処理の実現可能性

（２）口頭発表（学会等）

1) 平康博章・辻村浩隆・瀬山智博・井戸篤史・三浦猛・三浦智恵美・藤谷泰裕：2016年日本水産学会春季大会 (2016)
アメリカミズアブ幼虫を魚粉代替物とした飼料の未成魚への給餌試験
2) 和智仲是、中村 達、平康博章、瀬山智博、笠井浩司、藤谷泰裕、第77回日本昆虫学会 (2017)
アメリカミズアブ（双翅目：ミズアブ科）の幼虫の特性を利用した食品廃棄物処理
3) 平康博章・瀬山智博・和智仲是・中村達・笠井浩司・藤谷泰裕、第28回廃棄物資源循環学会(2017)：食品廃棄物の水分・塩分含量等が昆虫による減量化処理に及ぼす影響

（３）知的財産権

1) 瀬山智博、藤谷泰裕、平康博章：大阪府立環境農林水産総合研究所；「昆虫繁殖用装置」、特願2018－052997
2) 藤谷泰裕：大阪府立環境農林水産総合研究所；「動物遺体を処理する方法と処理装置」、特願2018-053000

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1) 一般公開シンポジウム「昆虫機能を利用した持続可能な動物生産科学 ―ミズアブ機能を活用した革新的資源循環系の構築―」（関西畜産学会中のプログラムとして実施、平成28年10月15日、香川大学、参加者約150名）を開催
2) 一般公開シンポジウム「昆虫の新たな用途展開の可能性を探る ／Perspective on the utilization of insects for feed and food-」（主催：農研機構、平成28年11月29日、日比谷コンベンションホール、参加者約200名）中で２題講演
3) 大阪府立大学･生命環境科学研究科の学外実習（主催：大阪府立大学、平成29年5月2日、大阪府立環境農林水産総合研究所、参加者約30人）内で本研究について紹介・意見交換
4) 企業向け講演会「廃棄物・環境セミナーウィーク2017in関西」（主催：日報ビジネス社、平成29年10月5日、大阪産業創造館、参加者約70人）「昆虫を活用した革新的食品リサイクル技術」
5) 公開ビジネス化マッチングセミナー（主催：当研究所および大阪府産業化戦略センター、平成30年6月29日、あべのトラス、参加者約30人）を開催

（５）マスコミ等への公表・報道等

1) 日報ビジネス社「週刊 循環経済新聞」2018年2月5日号「プロジェクトＢ」欄に取材記事掲載
2) 産経新聞（2019年2月5日夕刊、全国版、１面、「食の循環　虫が救世主？　アメリカミズアブの幼虫　廃棄物を食べ　養殖魚を餌に」）として取材記事掲載

（６）その他

内容に優れるとともに社会的関心が高いと考えられる成果として、農林水産技術会議事務局により2018年農業技術10大ニュースに選定された（本研究課題による４機関での成果として選定）。

タイトル「未利用バイオマス資源でアメリカミズアブを生産、水畜産飼料化にめど」

８．引用文献

1) 平成28年バイオマス活用推進基本計画
2) 京都市，第57回京都市廃棄物減量等推進審議会 資料5（2015）
3) 李ら，環境工学論文集 35，29-39（1998）
4) 草野ら，福岡市保健環境研究所報 31，127-131（2008）

II－２　幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発

国立大学法人愛媛大学
大学院農学研究科　三浦　猛
三浦　智恵美（平成28年度）
橋爪　篤史（平成28年度～29年度）

平成28～30年度累計予算額：41,362千円
（うち平成28年度：14,054千円、平成29年度：13,654千円、平成30年度：13,654千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
本研究は、アメリカミズアブ（*Hermetia illucens*）の生理機能を利用し、環境に優しい廃棄物処理手法と、及び資源循環系の構築を目指すものである。ミズアブの廃棄物処理を効率化するため、ミズアブの成長に必要な要因を解析したところ、ミズアブ幼虫の初期成長には、酵母等の共存微生物の存在が重要であることを明らかにした。共存微生物の生育しやすい環境を整えることで、廃棄物処理の効率化が可能と考えられる。また、廃棄物から生産されたミズアブ幼虫や前蛹の養殖用飼料への利用方法を検討した。有機溶媒で脱脂したミズアブ幼虫で魚粉を完全代替した飼料を作製し、バナメイエビで飼育試験を実施したところ、魚粉飼料と同程度の成長性が確認された。また、ミズアブから免疫賦活活性を有する新規多糖類の同定に成功し、幼虫よりも免疫賦活活性が高い前蛹を0.1%含有する飼料をメダカに与えると、魚病細菌に対する耐病性が向上した。これらの結果から、ミズアブを利用した資源循環系では、金銭的価値の高い飼料原料の生産が可能であると考えられた。

［キーワード］
ミズアブ（*Hermetia illucens*）、養殖飼料、魚粉、飼料、免疫賦活

１．はじめに

本研究は、アメリカミズアブ（*Hermetia illucens*）（以下、ミズアブ）の生理機能を利用し、環境に優しい廃棄物処理手法と、及び資源循環系の構築を目指すものである。ミズアブは効率的な生産が可能な昆虫種として知られ、食品残渣や家畜排泄物を原料とした生産手法の報告がなされているが、幼虫そのものの消化能力や成長メカニズムを検討した例はほとんどない。大規模な生産条件の確立に向けては、ミズアブ幼虫の成長現象を生物学的に理解することが必要である。そこで、ミズアブ幼虫の消化性を解析し、その成長を最大化するために必要な要因を検討した。

また、ミズアブの幼虫や前蛹で魚粉を代替した飼料で海産魚を育成した場合には、魚粉を含有する飼料と比較して大幅な成長遅滞が生じることが報告されている[1)]。そこで、ミズアブ幼虫や前蛹の成分解析から、魚類の成長を高める飼料原料の製造方法の開発や、免疫賦活能等による新たな付加価値の創出を検討し、廃棄物から生産されたミズアブ幼虫・前蛹の、飼料原料としての金銭的価値を高める技術開発を実施した。

２．研究開発目的

（１）　ミズアブ幼虫の消化性解析

ミズアブを用いた廃棄物処理をコンパクトに設計するためには、幼虫による廃棄物の処理速度を可能な限り高めなければならない。廃棄物の処理速度は、ミズアブ幼虫の成長に依存するため、幼虫の成長メカニズムを明らかにし、幼虫の最大成長を引き出す条件を明らかにすることが必要である。そこで、本サブテーマでは、大阪環農水研で設計されたモデル生ごみの組成を基に、幼虫が安定的に成長する標準飼料を設計し、幼虫が分解・利用可能な成分、及び共存微生物を推定し、さらに各器官に含まれる消化酵素の同定及び酵素発現・活性の解析を行った。

（２）ミズアブ幼虫・前蛹の飼料応用技術の開発

我々は、過去の研究において、双翅目のウリミバエ（*Bactrocera cucurbitae*）のサナギに非常に強い免疫賦活能を見出し、その原因物質を新規多糖Dipteroseと同定した。また、ウリミバエの免疫賦活能は蛹化後・羽化直前に飛躍的に活性が高まること明らかにした[2)]。同様に、鱗翅目のヤママユ（*Antheraea yamamai*）[3)]やカイコガ（*Bombyx mori*）[4)]からも、類似の多糖の同定に成功した。ミズアブの蛹における免疫賦活能は、ウリミバエと同等程度に高いことが予備試験から示唆されており、免疫賦活能によって水畜産飼料への利用方法が異なるため、各成長段階の飼料原料としての特性を見極める必要がある。そこで、幼虫～前蛹の免疫賦活能を分析して明らかにし、ミズアブ由来の多糖類をHPLCやGC/MSを用いて同定した。さらに、魚粉代替性や免疫賦活性の面から、大阪環農水研で生産された幼虫の飼料特性を明らかにし、飼料原料としての金銭的価値の評価を目的とした飼育試験を実施した。魚粉代替性では、海面での養殖生産量が世界で最も多い魚種で、且つ最も多くの魚粉を消費しているバナメイエビ（*Litopenaeus vannamei*）を対象として、ヘキサン・エタノールで脱脂して得られるタンパク質を多く含む画分と、脱脂により除去された脂溶性画分の成長に対する影響を調べた。また、免疫賦活能では、モデル動物としてミナミメダカ（*Oryzias latipes*）を用いて、魚病細菌に対する耐病性効果を指標とした感染試験を実施した。

３．研究開発方法

（１） ミズアブ幼虫の消化性解析

①幼虫が分解可能な成分の推定

幼虫による処理に適した廃棄物の傾向を特定するため、幼虫が好んで摂食し、成長が良好な飼料成分として、タンパク質・微生物を想定し、以下の試験を実施した。

i　標準飼料の設計

以降の試験で用いる基礎飼料とするため、ミズアブ幼虫が安定的に成長する「標準飼料」を設計した。大阪環農水研が設計したモデル生ごみの組成・成分を考慮して、タンパク質（カゼイン）40%、炭水化物（デンプン・フルクトース等）50%、脂質（魚油）5%等を配合した「標準飼料」を調製した。

ii　分解可能な成分の推定

幼虫が分解可能な成分としてタンパク質に着目し、孵化直後から、タンパク質含量を0, 10, 20, 40, 60, 80, 90%に変えた標準飼料で10日齢まで育成し、幼虫重量・体長を測定した。

iii　分解可能な微生物の推定

双翅目昆虫の一部では、幼虫が微生物（酵母等）を摂食し栄養源とすることが知られているため、酵母（ドライイースト）・大腸菌・抗生物質（アンピシリン）・抗真菌薬（フルコナゾール）を標準試料に添加し、幼虫飼育中に飼料に発生する微生物が幼虫の成長に与える影響を調べた。アンピシリンは終濃度50μg/gになるように、フルコナゾールは終濃度500μg/gになるように添加した。

②幼虫の消化酵素の解析

幼虫の消化特性を把握するため、様々な飼育条件での消化酵素活性を測定した。

消化器の部位ごとに発現する消化酵素の活性を調べた。標準飼料で飼育した 23 日齢の幼虫を解剖し、前腸（Foregut）、中腸（Midgut）、後腸（Hindgut）それぞれの pH を測定した。さらに、唾液腺（Salivary gland）、前腸、中腸、後腸を分取し、それぞれビーズで破砕して、類似の先行研究を参考に消化酵素の活性を測定した。また、成長初期段階における消化酵素の生成量の違いを調べるため、4 日齢及び 10 日齢の幼虫全体をビーズで破砕し、上述の方法で消化酵素の活性を測定した。また、摂取飼料の違いが消化酵素活性に及ぼす影響を調べるため、孵化直後からモデル生ごみ・野菜混合物・人工飼料で飼育した 21 日齢の幼虫を供試し、幼虫全体をビーズで破砕して消化酵素の活性を測定した。

さらに、飼料中に共存する微生物の存在が消化酵素活性に及ぼす影響を解析するため、12日齢まで標準飼料で飼育し、その後、標準飼料・酵母添加飼料・フルコナゾール添加飼料で18日齢まで飼育した。飼育後、幼虫から腸管を摘出し、ビーズで破砕して測定サンプルとした。ミズアブ幼虫の消化管内にお

ける炭水化物分解酵素（α-glicosidase、β-mannosidase、N-acetyl-β-glucosamidase、Neuramidase、β-glycosidase、α-mannosidase、Chitinase、及びβ-1, 3-glucanase）の活性を測定した。さらに、10日齢のミズアブ幼虫全体をビーズで破砕して、消化機能の１指標としてリゾチームの有無をザイモグラムで測定した。色素基質は、Sigma社より購入した凍結乾燥菌体と色素を用いて作成した。

③ミズアブの成長に関与する共存微生物の同定

ミズアブ幼虫を5日間飼育した標準飼料と、ミズアブ幼虫を飼育せずに同期間放置した標準飼料を用いて、各飼料のpHと、飼料中に含まれる生菌数を、PDA培地及びLB培地を用いて測定した。さらに、PDA培地で得られたコロニーを形成する微生物を、ITS領域または28S領域シークエンスにより同定した。

（２）ミズアブ幼虫・前蛹の飼料応用技術の開発

①ミズアブ幼虫の飼育条件による免疫賦活活性の変化

孵化直後からモデル生ごみ・野菜混合物・人工飼料飼育した21日齢の幼虫を供試した。幼虫は腸内容物の影響を排除するため、3日間絶食させたものを測定に用いた。乾燥したミズアブ幼虫又は蛹に対して10倍量のTris-HCl緩衝液で免疫賦活活性物質を抽出後、細胞培養液で希釈してRAW264細胞株の培養系に添加した（抽出液の添加率は終末濃度で0.0012～5%）。陽性対照としてリポ多糖（終末濃度0.012～50ng/mL）を用いて、培養液中の一酸化窒素の産出を測定した。

さらに、ミズアブ幼虫の成長に対する影響が非常に大きいと考えられる真菌類が、ミズアブ幼虫の有する免疫賦活性にも影響を与えるか否かについて調べた。孵化直後から標準飼料で10日間育成した幼虫を用い、その後、酵母添加飼料又は抗真菌剤（フルコナゾール）添加飼料に移して5日間飼育し、乾燥させた。乾燥したミズアブ幼虫に対して10倍量のTris-HCl緩衝液で免疫賦活活性物質を抽出後、細胞培養液で希釈してRAW264細胞株の培養系に添加した（抽出液の添加率は終末濃度で0.0012～5%）。陽性対照としてリポ多糖（終末濃度0.012～50ng/mL）を用いて、培養液中の一酸化窒素の産出を測定した。測定結果から、最小二乗法により近似し、半数効果濃度（EC50）を求めた。

②ミズアブ由来の多糖類の同定

ミズアブに含有され、免疫賦活活性を示す多糖を構成する単糖の同定を行った。ミズアブ前蛹を粉砕してペースト状にし、遠心分離して上清画分を得た。さらに、ロータリエバポレータを用いて減圧濃縮を行い、4倍量のメタノールを添加して撹拌し、遠心した沈殿物に対して水抽出を行い、水抽出画分を得た。ゲルろ過クロマトグラフィのカラムにはHiPrep 16/60 Sephacryl S-500 HR（GEヘルスケア社製）を用いて、水抽出画分に含まれる多糖類を精製した。精製された多糖類を2 Mのトリフルオロ酢酸（TFA）100℃、16時間の条件で加水分解し、加水分解で得られた単糖及びその誘導体に窒素を吹き付けて乾固させ、NaBH4の還元によりアルジトールアセテート誘導体とし、さらに等容量の無水酢酸－ピリジンによりアセチル化した。HP-5キャピラリーカラム(30 m × 0.35 mm × 0.25 μm)を備えたAgilent 7890 Aガスクロマトグラフィシステム（Agilent Technologies社製）を用いて、各昆虫から得られた多糖類の構成糖を分析した。得られたトータルイオンクロマトグラム（TIC）から、ピークに対応する単糖及びその誘導体の面積比を算出し、標準品を用いて単糖及びその誘導体の構成比（モル%）を算出した。

③バナメイエビ飼育試験による魚粉代替性の評価

大阪環農水研の食品廃棄物処理試験で回収されたミズアブ（BSF）幼虫又は前蛹（乾燥）を、4倍量のヘキサン・エタノール（9:1）で脱脂し、BSFL/P meal及びBSFL/P oilを得た。試験飼料は、対照区の魚粉23%を、BSF mealで完全代替した飼料（LB/PB）、及び魚粉23%及び魚油3をBSF meal及びBSF oilで完全代替した飼料（LBO/PBO）を製造した（表(2)-1）。

バナメイエビ（平均魚体重0.4 g）を、200L水槽に、1水槽につき50尾収容し、各試験区に2水槽を使用した。63日間の飼育を行い、毎日3回ずつ（日曜日以外：手撒2回・給餌器1回；日曜日：給餌器3回）、魚体重の4～5%/日を目途に給餌した。飼育開始時、開始後23日、開始後40日に体重と全長を測定した。

表(2)-1. バナメイエビ用飼料組成

原料	Cont.	LB	LBO	PB	PBO
魚粉	23.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BSFL meal	0.0	30.0	30.0	0.0	0.0
BSFP meal	0.0	0.0	0.0	30.0	30.0
魚油	3.0	3.0	0.0	3.0	0.0
BSFL oil	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0
BSFP oil	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
DHA	0.0	0.2	0.6	0.2	0.6
イカ内臓ミール	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆粕	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
小麦粉	32.3	24.1	23.7	24.1	23.7
小麦グルテン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆レシチン	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
コレステロール	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
ビタミンmix	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
ミネラルmix	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
塩化コリン	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
ビタミンC	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
リン酸水素二カリウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
リン酸2水素カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
リン酸水素2ナトリウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
硫酸マグネシウム水和物	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
メチオニン（Met）	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3
リジン（Lys）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
スレオニン（Thr）	0.0	0.3	0.3	0.3	0.3
アルギニン（Arg）	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

④メダカ飼育試験による免疫賦活活性の評価

大阪環農水研の食品廃棄物処理試験で回収されたミズアブ前蛹（乾燥）を、4倍量のヘキサン・エタノール（9:1）で脱脂して得られた粉末（BSFP meal）を用いて、0.01%、0.1%、1%、及び10%のBSF mealで魚粉を置き換えた飼料を製造した（表(2)-2）。

表(2)-2. メダカ用飼料組成

原料	Cont	BSF(P)0.01%	BSF(P)0.1%	BSF(P)1.0%	BSF(P)10.0%
オキアミミール	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
魚粉	60.0	59.99	59.9	59.0	50.0
BSFP meal	0.0	0.01	0.1	1.0	10.0
大豆粕	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
小麦粉	9.3	9.3	9.3	9.3	9.3
CMC	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
魚油	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆レシチン	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ビタミン MIX	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
ミネラル MIX	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
塩化コリン	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
リン酸二水素ナトリウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
リン酸二水素カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
乳酸カルシウム	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

各試験区で2水槽を用い、2週間給餌した後、腸管、肝臓、皮膚の各組織をRNA抽出用にサンプリング

し、RNA-seqにより、mRNAの相対的発現変化を解析した。さらに、魚類に対して病原性を持つ細菌であり、愛媛県愛南町の養殖場にて斃死したマダイより単離された*Edwasiella tarda*を1×10^6 cell含む菌液に残りのメダカを浸漬し、生残率を測定した。斃死したメダカからは腎臓から菌を単離し、PCRにより単離された菌が*E. tarda*か否かを同定した。

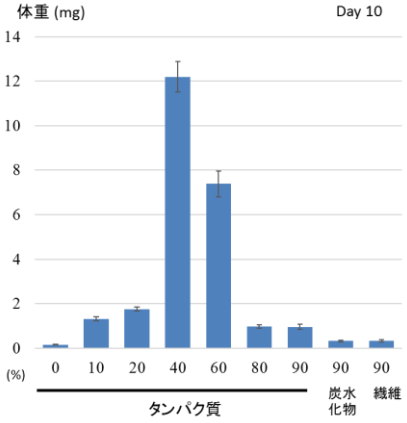
４．結果及び考察

（１） ミズアブ幼虫の消化性解析

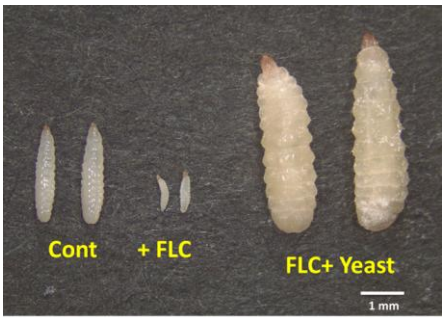
①幼虫が分解可能な成分の推定

標準飼料（タンパク質40%）で10日齢飼育し、12.2 mgまで成長することを確認した。標準飼料をベースとして、栄養成分の含有量を変えて孵化後10日目の幼虫の成長を比較した結果、幼虫の成長はタンパク質含有量に大きく依存し、タンパク質を40%含む飼料を使用した場合に最も優れた成長を示した（図(2)-1）。体重の増加は飼料摂取量・分解量と相関することが推測され、成長初期の幼虫が特に分解可能な成分が、タンパク質であることを明らかにした。

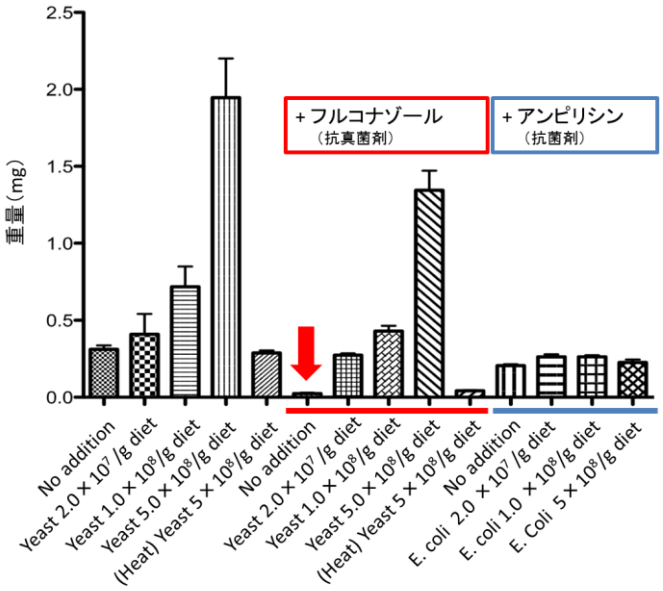
ミズアブ幼虫の成長が良い飼料は、アルコール発酵に近い匂いが漂うことから、ミズアブ幼虫の成長には酵母等の共存菌が重要なのではと考え、抗真菌剤（フルコナゾール）や、抗菌剤（アンピシリン）と、酵母や大腸菌の添加によるミズアブの成長を比較した。標準飼料にフルコナゾールを添加すると、幼虫の成長は大きく抑制された。一方で、酵母を添加した場合には、酵母の濃度依存的に成長が促進され、フルコナゾールと酵母を同時に添加した場合でも同様であった。また、オートクレーブで121℃・20分の熱処理を行った酵母では、成長促進効果は確認されなかった。したがって、ミズアブ幼虫の成長は、細菌ではなく、酵母の存在に大きく依存することが明らかとなった（図(2)-2, 3）。



図(2)-1　標準飼料中のタンパク質含量と幼虫体重の変化



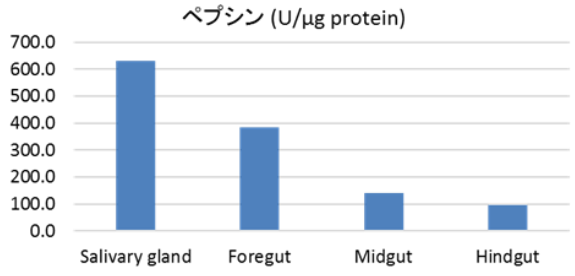
図(2)-2　抗真菌剤（FLC）及び酵母（Yeast）添加による幼虫の成長への影響



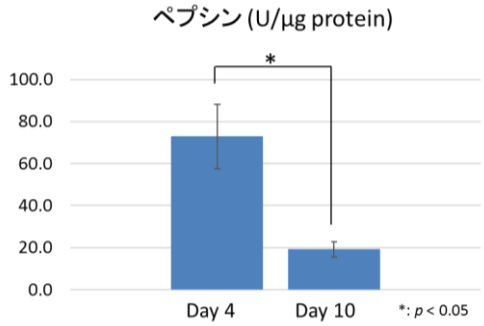
図(2)-3　酵母、抗真菌、大腸菌（*E. coli*）、及び抗菌剤の添加と幼虫体重の変化

②幼虫の消化酵素の解析

孵化後 23 日目の幼虫では、アミラーゼ活性は唾液腺及び前腸、トリプシン活性は中腸で、ペプシンとリパーゼは唾液腺から前腸にかけて強い活性が確認された。いずれの酵素も、後腸では、他の部位よりも高い消化酵素活性は確認されなかった（図(2)-4）。また、消化管の pH は、前腸で 5.6～6.5、中腸の後方では 8.0～8.9 であったが、中腸の前方では、個体によってばらつきはあるものの、1.2 という強い酸性を示すものもあった。このことからも、幼虫がタンパク質の分解を得意とすることが示唆された。また、孵化後 4 日目の幼虫と孵化後 10 日目の幼虫の消化酵素活性を比較すると、孵化後 4 日目の幼虫の消化酵素活性が高い傾向があり、ペプシンでは顕著な差がみられた（図(2)-5）。成長率の高い孵化直後は、栄養要求を満たすために消化酵素の活性が高まっていることが示唆された。特に、タンパク質分解酵素の活性の変化が大きいことから、ミズアブ幼虫の成長初期には、他の栄養成分と比較して、タンパク質に対する要求が高いものと考えられた。



図(2)-4　孵化後23日目の幼虫の部位別ペプシン活性

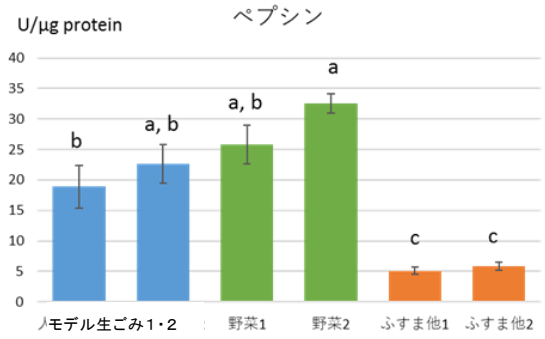


図(2)-5 孵化後4日目及び10日目の幼虫におけるペプシン活性

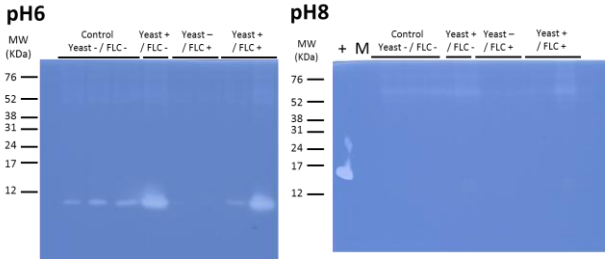
大阪環農水研で、様々な飼料で飼育されたミズアブ幼虫の酵素活性を比較したところ、は、野菜混合物で飼育された幼虫が、いずれの消化酵素についても高い活性を示した。一方で、ふすま等からなる配合飼料で飼育した幼虫は、いずれの消化酵素の活性も低く、野菜混合物で飼育された幼虫との間には顕著な差がみられた（図(2)-6）。野菜混合物は低タンパクではあるが、他の飼育条件よりもミズアブ幼虫の成長性に優れていたことが、消化酵素活性が高いことと関連があると考えられる。本解析の対象は幼虫全体の酵素活性であり、共存する微生物由来の酵素活性も含まれているため、幼虫のみならず、共存

微生物を含めた生物相として、他の飼料と比べて野菜混合物を効率的に利用できる状態にあり、結果的に幼虫の成長にも良い影響を与えている可能性がある。

また、真菌類の細胞壁等の糖分解酵素の幼虫腸管における活性を飼育条件毎に比較すると、全体的に酵母を添加した条件で活性が高く、フルコナゾールを添加した条件で活性が低い傾向があった。一方で、β-1,3-glucanaseは、酵母を添加した条件で活性が低くなった。これらの糖分解酵素の活性は、ミズアブ幼虫の成長と相関する傾向がみられており、糖分解がミズアブ幼虫の成長において重要な役割を持つと考えられた。孵化後10日目のミズアブ幼虫の腸管におけるリゾチームをザイモグラムで検出したところ、pH6においては、卵白リゾチームよりやや小さい約12 KDa付近に明瞭なシグナルが検出された。酵母を添加した条件では活性が強く、フルコナゾールを添加して酵母を添加しない条件では活性が弱かった。また、pH8では、52～80 KDa付近に弱いバンド2本または3本が検出された（図(2)-7）。酵母の存在／非存在によって分子量が変化しなかったことから、今回検出されたリゾチームはミズアブ幼虫内在性の可能性があり、幼虫の成長が良好な条件ではリゾチーム活性が強いことがわかった。



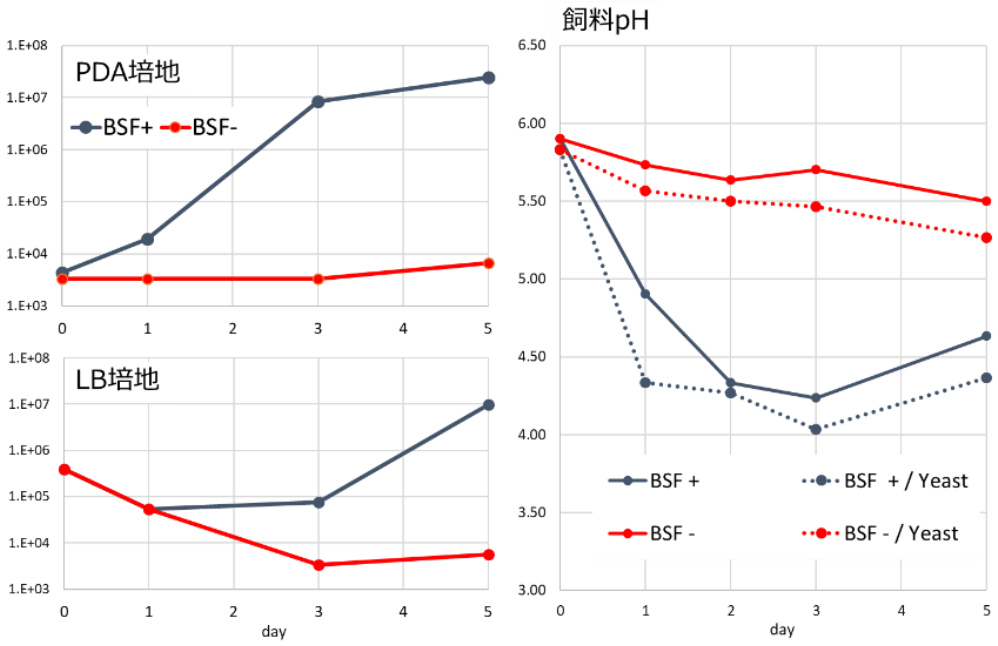
図(2)-6 さまざなまな飼料で飼育された幼虫のペプシン活性



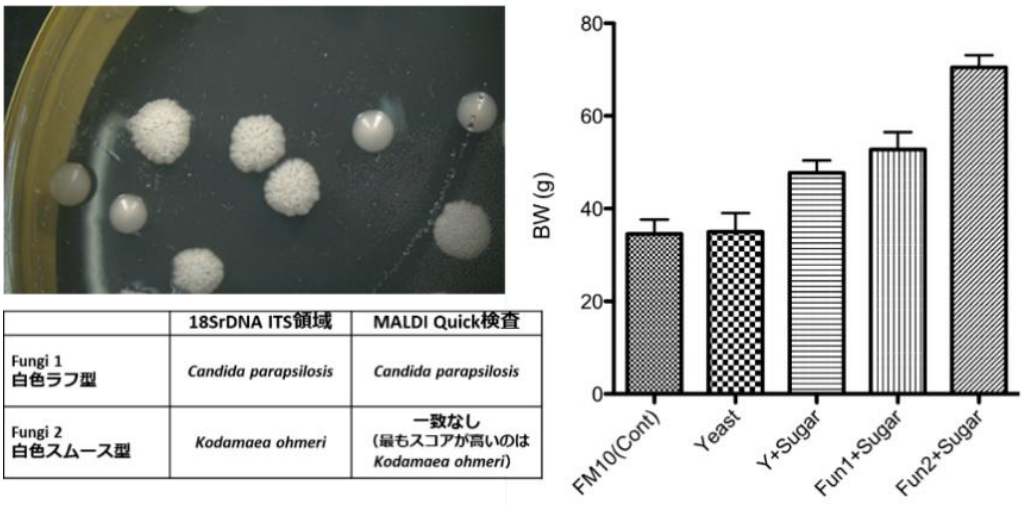
図(2)-7 孵化後10日目のリゾチームのザイモグラム

③ミズアブの成長に関与する共存微生物の同定

PDA培地及びLB培地で検出される生菌数は、ミズアブ幼虫を飼育しない飼料よりも、幼虫を飼育した飼料で増加し、飼料中のpHはミズアブの飼育により低下した（図(2)-8）。ミズアブ幼虫の分泌する消化液等により飼料のpHが酸性に傾いたと考えられ、その結果、酵母等の真菌類の生育に適した環境が形成されたと考えられる。ミズアブ幼虫が作り出した環境で生育した真菌類の存在により、ミズアブ幼虫の成長が促進されるという共生関係にあることが推察された。また、PDA培地で得られたコロニーを同定したところ、いずれも環境中に多く存在する真菌類であった。これらの真菌類は、酵母よりもミズアブ幼虫の成長を促進させたことから（図(2)-9）、これらの微生物の生育に適した環境を整えることが、ミズアブ幼虫の効率的な成長に重要であると考えられた。



図(2)-8 PDA培地及びLB培地による標準飼料中の生菌数推移、及び標準飼料中のpH推移

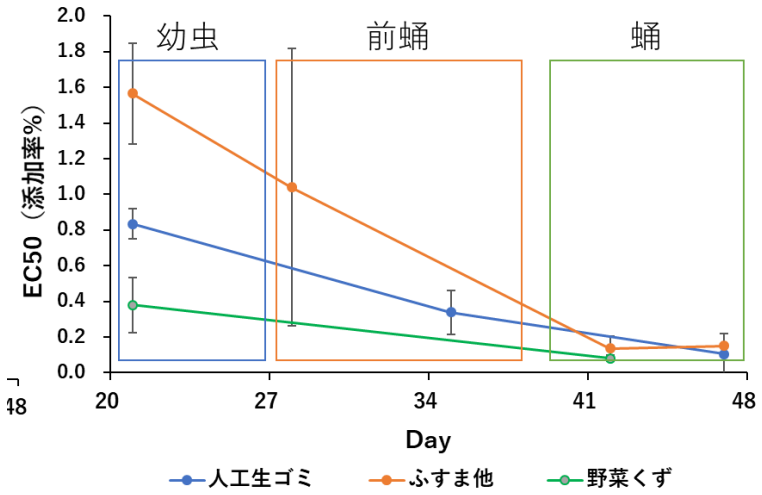


図(2)-9　PDA培地で検出されたコロニーの菌種同定、及び同菌の添加により飼育した幼虫体重

（２）幼虫の消化性解析と飼料応用技術開発

①ミズアブ幼虫の飼育条件による免疫賦活性の変化

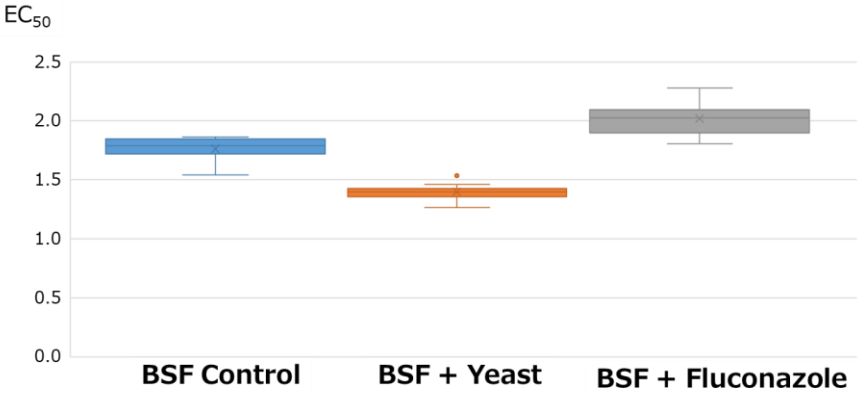
幼虫から蛹への成長段階による免疫賦活活性の差を一酸化窒素の産生量最大値および50%効果濃度（EC_{50}）で評価すると、ミズアブの成長段階の進行に伴い、EC_{50}が低くなり、免疫賦活能が強まることがわかった。飼料では、野菜くずで飼育した幼虫に高い免疫賦活活性が認められたが、蛹化後は、飼料間の活性の違いはほとんど見られなくなった（図(2)-10）。幼虫や前蛹の魚類飼料への利用に際しては免疫賦活活性の変化を考慮して適切な成長段階を選択するべきと考えられた。



図(2)-10 飼料及び各成長段階のミズアブ免疫賦活能の変化

各飼育条件において得られたミズアブ幼虫の、RAW264細胞における一酸化窒素の産出量を図1に示す。標準飼料で飼育した幼虫と比較して、酵母添加飼料で飼育した幼虫は活性が高くなり、抗真菌剤（フルコナゾール）を添加した飼料で飼育した幼虫は、活性が低下する傾向が見られた。半数効果濃度（EC_{50}）は、酵母添加した標準飼料で低下し、抗真菌剤添加により高くなった（図(2)-11、12）。

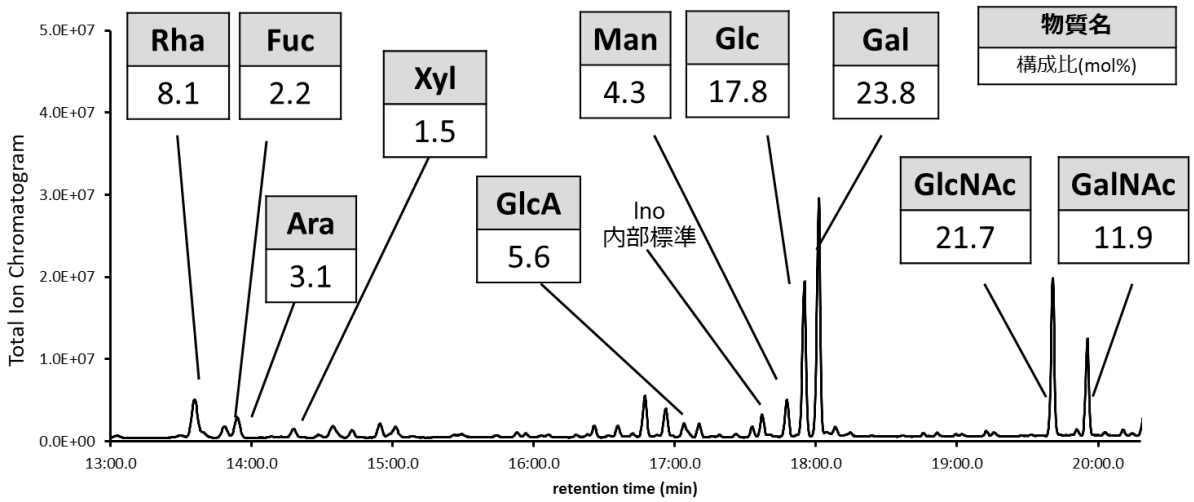
酵母添加により一酸化窒素産出活性が高まったことは、酵母そのものの影響を否定することはできない。一方で、抗真菌剤を添加しても免疫賦活能は極端に抑制されなかったために、ミズアブ幼虫の免疫賦活能には、共存微生物だけでなく、幼虫本来が持つ活性の存在も示唆される。また、成長段階毎の変化では、幼虫から前蛹・蛹を経るに従って免疫賦活能が高くなる傾向が見られたため、幼虫の成長は共存微生物を利用して最大化し、魚粉代替用の飼料原料としては幼虫を、免疫賦活作用を期待するのであれば前蛹を利用することが適切であると考えられた。



図(2)-12 ミズアブの各飼育条件における免疫賦活能EC_{50}

②ミズアブ由来の多糖類の同定

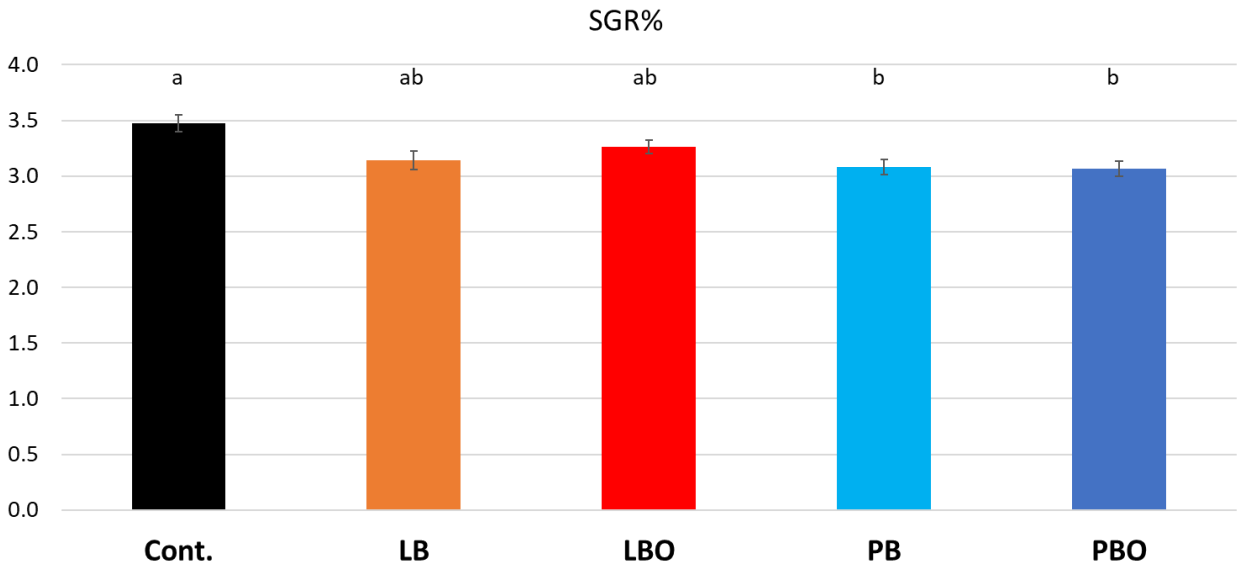
ミズアブ前蛹に含有され、免疫賦活作用を有する多糖類の構成糖をGC/MSを用いて解析したところ、ガラクトースや、N-アセチルグルコサミンやN-アセチルガラクトサミンに加えて、ラムノースやフコース等のデオキシ糖が検出された（図(2)-13）。これまで、愛媛大学で同定してきたウリミバエ[2)]、ヤママユ[3)]、カイコガ[4)]と同様の単糖から構成されており、類似の機能を有することが推測された。



図(2)-13 ミズアブ前蛹の免疫賦活性多糖類の構成糖を解析したGC/MSのTotal Ion Chromatogram

③バナメイエビ飼育試験による魚粉代替性の評価

各区のバナメイエビの日間成長率（Specific growth rate; SGR(% day^{-1}) = [(ln 最終魚体重 – ln 開始時) / 飼育日数] × 100）を示す（図(2)-14）。幼虫により魚粉を完全に代替した区（LB及びLBO）は、魚粉を用いた対照区に比べてやや成長率が劣る傾向にあったが、有意な差は見られず、高い魚粉代替性が確認された。前蛹では魚粉に比べて成長率が劣り、魚粉代替を目的とした飼料原料は幼虫を用いることが好ましいことが分かった。一方、バナメイエビに対しては、ミズアブの幼虫や前蛹由来の脂溶性画分の添加による成長抑制は確認されず、幼虫や前蛹の脂質も有効に使用できることが示された。



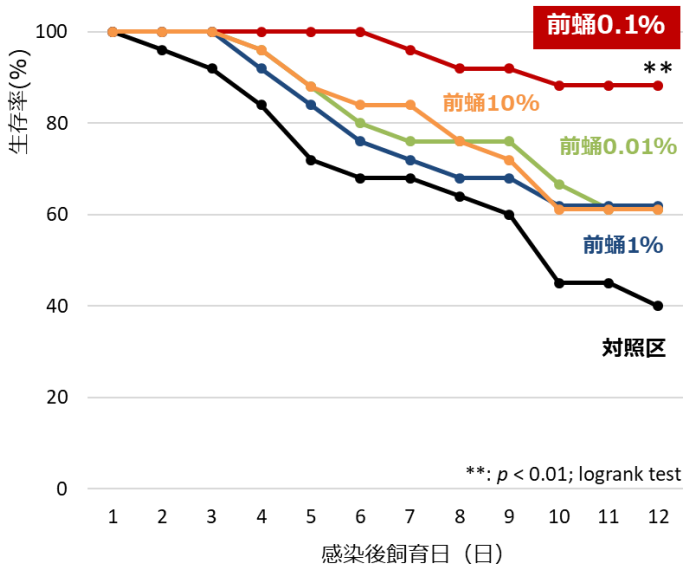
図(2)-14 日間成長率（Specific growth rate; SGR）
BarはSEを示す。統計検定はBonferroni調整したKruskal-Wallis検定を用いた。

④メダカ飼育試験による免疫賦活性の評価

メダカに対するE.tarda感染後の生残率を図(2)-15に示す。0.01%～10%の前蛹で魚粉を代替した飼料を供与した群の生残率は対照群を上回り、前蛹0.1%含有した飼料を与えた群の生残率は有意に高かった。斃死個体の一部から生菌分離したところ、全て*E.tarda*が検出され、*E.tarda*感染が直接的な斃死要因となっていることを確認した。

また、最も生残率が高かった前蛹0.1%区と対照区のメダカの肝臓・腸管及び皮膚のRNAseqを比較

し、前蛹0.1%で発現が向上する遺伝子群を明らかにした（表(2)-3～-5）。免疫に関わる遺伝子等の発現変動が確認されており、今後、これら遺伝子群の解析を進め、作用機序を明らかにする。



図(2)-15 *E.tarda*強制感染後のメダカ生残率

表(2)-3 前蛹0.1%飼料を与えたメダカで発現が向上した遺伝子群（肝臓）

gene_id	Genbank_id	Description	対照	前蛹0.1%
rna22915	XM_011493991.2	lanosterol 14-alpha demethylase, transcript variant X1	198	8,079
rna36180	XM_020710717.2	acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic, transcript variant X1	25	1,244
rna1592	XM_020704079.2	methylsterol monooxygenase 1	763	7,578
rna6835	XM_004067615.3	24-dehydrocholesterol reductase	320	2,571
rna50595	XM_011491728.2	complement C1q subcomponent subunit B-like	72	716
rna39893	XM_004083948.4	complement C1q-like protein 3	148	1,021
rna43761	XM_004081303.4	mannose receptor C-type 1	13	172
rna21165	XM_004086493.4	ELOVL fatty acid elongase 6	40	247

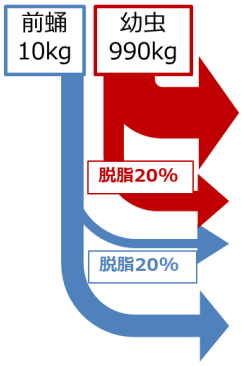
表(2)-4 前蛹0.1%飼料を与えたメダカで発現が向上した遺伝子群（腸管）

gene_id	Genbank_id	Description	対照	前蛹0.1%
rna39893	XM_004083948.4	complement C1q-like protein 3	66	849
rna41065	XM_023949217.1	pancreatic secretory granule membrane major glycoprotein GP2-like	1	131
rna40178	XM_020711776.2	C-C motif chemokine 5	12	132
rna41017	XM_020711888.2	protocadherin-15, transcript variant X3	36	185
rna39895	XM_004079959.4	complement C1q-like protein 3, transcript variant X3	3	77
rna20881	XM_004072842.3	syntaxin-binding protein 1	0	57
rna39894	XM_023966002.1	complement C1q-like protein 3, transcript variant X1	5	63
rna20502	XM_020706238.2	netrin receptor UNC5D	4	58
rna45916	XM_011489970.3	complement C3-like	24	110
rna10936	XM_004069184.4	cytokine like 1	17	88
rna47554	XM_023951768.1	fibronectin type III domain containing 5, transcript variant X1	5	55
rna51022	XM_004083755.4	cathepsin B	5568	7,068
rna4326	XM_004086043.4	CD59 molecule (CD59 blood group)	41	102
rna7911	XM_023954361.1	kininogen-1, transcript variant X2	12	47

表(2)-5 前蛹0.1%飼料を与えたメダカで発現が向上した遺伝子群（皮膚）

gene_id	Genbank_id	Description	対照	前蛹0.1%
rna1214	XM_020699512.2	translation initiation factor IF-2-like	131	1379
rna17327	XM_004071472.2	parvalbumin beta	1423	9,755
rna35046	XM_020710279.2	trypsin-2	3	115
rna9789	XM_004068818.4	elastase-1	0	75
rna37489	XM_023964957.1	proteoglycan 4-like, transcript variant X2	37	332
rna12953	XM_023955969.1	myosin heavy chain, fast skeletal muscle-like	85	585
rna40245	XM_023948857.1	ependymin-2-like	91	435
rna37466	XM_004079144.4	fat storage-inducing transmembrane protein 1	35	201
rna4582	XM_011486340.3	HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha 1 chain	55	269
rna12231	XM_004069582.4	CD81 antigen	51	185
rna28644	XM_011482870.3	TNF receptor superfamily member 19, transcript variant X2	100	299
rna1901	XM_020704896.2	C1q and TNF related 6	140	390
rna20646	XM_004072803.4	C-C motif chemokine 19	60	189
rna11820	XM_004069489.4	interferon-induced transmembrane protein 5	53	169
rna12309	XM_004069595.4	CD151 antigen, transcript variant X1	40	124
rna4690	XM_023951777.1	cathepsin D	52	146

魚粉代替性及び免疫賦活性を検証した飼育試験の結果から、脱脂幼虫であれば魚粉（200円/kg）と同程度の成長が期待できること、前蛹0.1%の添加により顕著な免疫賦活作用が期待できることが明らかとなった。これらの飼育試験結果を踏まえ、1t/日のミズアブ幼虫・前蛹を生産した場合の金銭的価値を試算した（図(2)-16）。幼虫だけでなく、前蛹を10kg/日生産し、これを免疫賦活効果が期待できる飼料用サプリメントとして、養殖魚の健康管理が重要な稚魚期に使用することができる。同様の飼料用サプリメントは3,000～5,000円/kgで販売されており、前蛹の販売価格を3,000円/kgと設定することで、幼虫のみを販売した場合と比較して、1～2千万円/年の売上増加が期待できる。



	数量	価格	目的	国内市場
幼虫（脱脂）	792 kg/d 289 t/y	200 円/kg	魚粉代替 →マダイ	37.6千t/y （FCR2, 魚粉含有量30%）
幼虫油 （＋前蛹油）	200 kg/d 73 t/y	100 円/kg	卵殻強化 →レイヤー	64.7千t/y （飼料1%添加）
前蛹（脱脂）	8 kg/d 3 t/y	3,000 円/kg	免疫賦活 →ブリ稚魚 →マダイ稚魚	18.4 t/y （~200g, FCR1.2, 0.1%添加）

魚粉代替だけでなく、免疫賦活能により付加価値の高い販売戦略が可能に。

202,400 円/d, 73,876千円/y

比較			
	脱脂なし、乾燥のみ	幼虫（乾燥）1,000 kg/d （150円/kg）	150,000円/d, 54,750千円/y
	脱脂のみ	幼虫（脱脂）800kg/d＋幼虫油200kg/d	180,000円/d, 65,700千円/y

図(2)-16 生産されたミズアブの養殖飼料化における金銭的価値

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

・ミズアブ幼虫の初期成長に酵母等の共存微生物の存在が重要であることが明らかとなった。

・ミズアブ幼虫から免疫賦活能を有する新規多糖類の同定に成功した。

・有機溶媒で脱脂したミズアブ幼虫でバナメイエビ用飼料の魚粉を完全代替し、魚粉飼料と同程　度の成長性が確認された。

・ミズアブ前蛹を0.1%含有する飼料により魚病細菌に対する耐病性が向上し、金銭的価値の高い飼料原料の生産が可能と試算された。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

2016年4月の「Ｇ７新潟農業大臣会合宣言　－世界とともに新しい時代を切り拓く－」において、推進すべき研究として「我々は、例えば養殖漁業飼料用昆虫等の未利用生物資源の利用のような飼料チェーンにおける代替タンパク源の研究」が挙げられている。本研究は、G7で宣言された内容を体現したものであり、国際的な食料安全保障の上で、今後の成果の活用が見込まれる。

６．国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

特に記載すべき事項はない。

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1) 井戸篤史，三浦猛，橋爪篤史、昆虫と自然、2018年1月号
「昆虫生産は世界の食糧危機を救うことができるのか？―その秘められた可能性を探る」
2) 三浦猛， 橋爪篤史，井戸　篤史，三浦智恵美、昆虫と自然、2018年1月号
「新たな飼料原料である昆虫が拓く水産養殖の未来」

（２）口頭発表（学会等）

1) 井戸篤史、橋爪篤史、三浦智恵美、三浦猛：日本昆虫学会第77回大会（2017）
「大量生産系の確立に向けたミズアブ幼虫の成長現象の解明」

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1) 国際シンポジウム「昆虫の新たな用途展開の可能性を探る」（主催：農研機構・農林水産省、2016年11月29日、日比谷コンベンションホール、聴講者約200名）にて講演（三浦猛、演題「魚類養殖用飼料原料としての昆虫の特性」）
2) 新和産業株式会社主催「養殖セミナー」（2018年10月17日、聴講者約100名）にて講演（井戸篤史）
3) 宇和島市水産課主催「宇和島市魚類養殖講演会」（2019年2月5日、聴講者約80名）にて講演（井戸篤史・演題「なぜ昆虫が注目されているのか、その背景」、三浦猛「昆虫の機能性と水産養殖への利用」

（５）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

８．引用文献

1) Kroeckel, S.; Harjes, A.G.E.; Roth, I.; Katz, H.; Wuertz, S.; Susenbeth, A.; Schulz, C.: *Aquaculture, 364–365*, 345–352 (2012)
When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*).
2) Ohta, T.; Ido, A.; Kusano, K.; Miura, C.; Miura, T.: *PLoS ONE*, *9*, e114823 (2014)
A Novel Polysaccharide in Insects Activates the Innate Immune System in Mouse.
3) Ohta, T.; Kusano, K.; Ido, A.; Miura, C.; Miura, T.: *Carbohydr. Polym.*, *136*, 995–1001 (2016)
Silkrose: A novel acidic polysaccharide from the silkmoth that can stimulate the innate immune response.
4) Ali, M.F.Z.; Yasin, I.A.; Ohta, T.; Hashizume, A.; Ido, A.; Takahashi, T.; Miura, C.; Miura, T.: *Sci. Rep.*, *8*, 3–5 (2018)

The silkrose of *Bombyx mori* effectively prevents vibriosis in penaeid prawns via the activation of innate immunity.

Ⅱ－３　ミズアブ成虫の繁殖メカニズム効率化

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター
企画連携部　再雇用職員　中村　達

平成28～30年度累計予算額：14,784千円
（うち平成28年度：5,112千円、平成29年度：4,960千円、平成30年度：4,712千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
食料循環を目指す上で、本種は世界的に注目・利用され各国で営利を目的とする企業が立ち上がっている。本種幼虫は比較的簡単に飼育でき、死亡率も低いことから、企業は幼虫の大量飼育に勢力を集中してきた。しかし、必要な量の幼虫を得るには、それに見合った数の受精卵が必要となる。にもかかわらず、これまで成虫の行動や生態に関する研究はほとんど行われてこなかった。視察したいくつかの先進的な企業でも、20年近く前に公表された情報を基に成虫の飼育を行い受精卵を得ている。このような状況から、我々は成虫の行動や生態に関する基礎的な調査から行い、より効率的な繁殖を目指して研究を進め様々な新知見を得ることができた。

［キーワード］
産卵、給餌、誘引物質、卵巣成熟

１．はじめに

食料循環の一翼を担う目的から本種は世界的に注目されるのにつれ、本種を利用して食物残渣を分解し、分解させた幼虫を飼料として利用する営利を目的とした企業が世界各地で立ち上がっている。そのような状況の中、我が国は現在本種利用において最も遅れた国のひとつといえるだろう。

本種幼虫は比較的簡単に飼育可能な上、飢餓耐性が強く、高・低密度のいずれの条件下でも死亡率が非常に低い特性をもっている。また、上記の多くの企業は幼虫の大量飼育に努力を注ぎ、成虫の行動や生態にあまり関心を示して来なかった。周年を通して成虫や受精卵を得られる環境にある熱帯・亜熱帯地域では、幼虫の確保は野外の成虫の産卵に依存できる。これに対して、冬期に野外成虫を得られない温帯地方では、幼虫を安定的に確保するには、成虫の室内飼育が必要になる。また、この地域に属するいわゆる先進国と呼ばれる経済協力開発機構(OECD)加盟国では、製品となる幼虫の安全性の観点から、受精卵を飛来してくる野外成虫に依存できず、一定基準に沿った餌を与えて育てた幼虫から羽化させた成虫に産卵させる必要がある。筆者は幸いこの分野で世界的に先駆的な北米２社、南アフリカ１社の企業を視察する機会を得ている。ほとんどの情報は企業秘密として公にされないものの、視察中に意見交換することで現状をある程度把握することができた。これまで幼虫に関する論文が多く発表されているのに対して、成虫の論文は非常に少ない。これらの企業では、室内に設けた飼育施設で採卵しており、その方法は２００２年に発表された３報の論文に沿った成虫飼育法と採卵技術に従っている。このため、空間を確保し太陽光を取り入れるために空調施設のある巨大な温室を設ける必要がある。このような現状を垣間見て、成虫に関する情報や研究の必要性を痛感するに至った。

２．研究開発目的

資源循環の主役を担うため、廃棄物を処理し、処理個体が飼料となるのは幼虫そのものである。しかし、必要量の幼虫を供給するには卵の確保が重要な課題となる。世界的に本種が注目され、すでにいくつかの民間企業が利潤を上げているものの、主体となる幼虫は注目され研究が行われているものの、卵を生産する成虫の研究は非常に少ない。上記の民間企業でも、発表された数本の科学論文にしたがって採卵が行われており、受精卵の確保が幼虫生産のボトルネックになっている。しかし、情報が少ない上

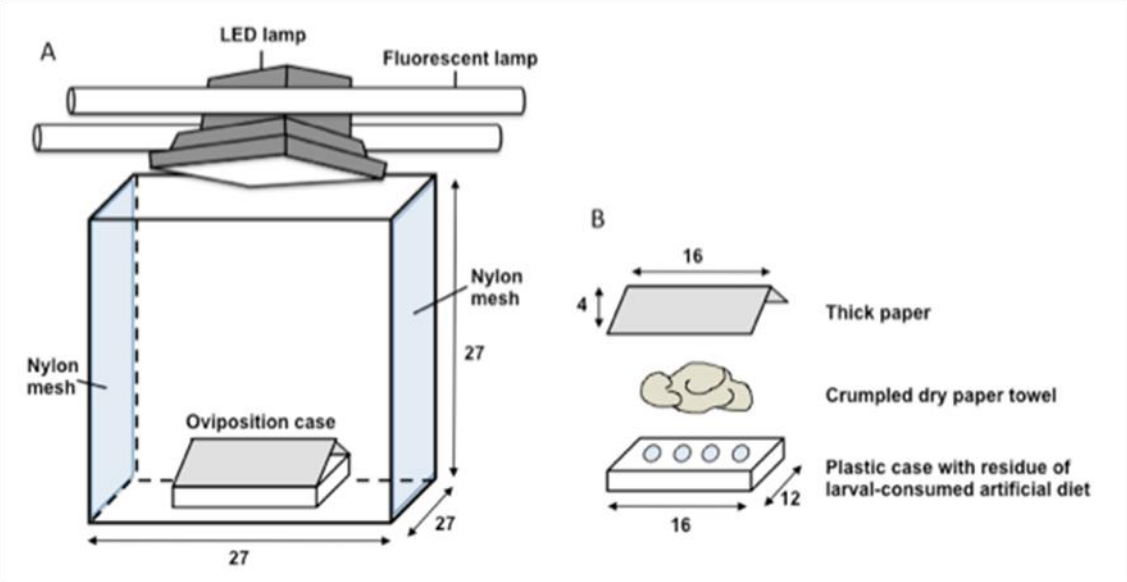
に間違った報告がそのまま引用されている事実がある。そこで、これまで明らかにされていなかった成虫の繁殖に関わる行動・生態を詳細に調査し、より効率的に受精卵を得るため、限られた空間内で受精率５０％以上を確保することを目的とする。

３．研究開発方法

（１）材料と室内累代飼育方法

2016年5月に茨城県つくば市(36° 03′ N, 140° 04′ E) で採集したアメリカミズアブ雌成虫の産下した卵から幼虫を得、累代飼育を行った。図(3)-1のように成虫繁殖設備を製作し累代飼育を行った。雌雄の成虫(羽化後15 時間以内)各50 頭を、通気性を確保したポリエチレン製のケージ(27 × 27 × 27 cm)に入れ、中村ほか2016年の論文[1)]に従い、ケージ内のプラスチック容器（16 × 13 × 3 cm）に幼虫飼育残渣を入れ産卵誘引剤とした。厚紙を屋根様に置いた下に薄い紙を丸めて入れ、産卵場所とした（図(3)-1）。ケージの上、約10 cmの位置に40 W蛍光灯2 本を、約5 cmの位置に20 WのLEDライト（発光波長400-800 nm、ピーク波長451 nm・555 nm、ケージ上端での光強度790 μmol/m2s）1 個を設置した。蛍光灯は06:00-22:00点灯、LEDライトは09:00-15:00点灯とした。晴天日には、10:00-12:00にケージを日光に当てた。また、1日3回（09:00・13:00・17:00）約10 mlの蒸留水をケージ越しに噴霧して給水した（図(3)-2）。

卵はシャーレ（直径9 cm × 高さ2 cm)に入れ、水分75%に調整した米ヌカで7 日間飼育した。その後、空気が通るようメッシュを張った蓋付きのプラスチック容器（14 × 10 × 4.5 cm）に幼虫を移し、同様の米ヌカまたは生ゴミを、約７０％の幼虫が前蛹の兆候である黒化が起きるまで適宜与えた。その後、この容器の蓋を外し、蛹化用に乾燥させたコーヒー滓を入れた一回り大きいプラスチック容器(28 × 22 × 10 cm）に容器ごと入れた。ほとんどの前蛹は内側の容器をはい出てコーヒー滓内で蛹化した。ここから羽化した成虫は、上記のポリエチレンケージに入れて産卵させた。



図(3)-1 A：蛍光灯とLED照明下に置いたポリエチレン製成虫飼育用ケージ
B：産卵容器。数字はセンチメートルを表す（Nakamura *et al.*, 2016より改変）

図(3)-2. 採卵用成虫ケージと室内飼育の様子

（２）幼虫飼育環境が繁殖成績に及ぼす影響

①幼虫飼育飼料の決定

飼料の種類が幼虫の蛹化・羽化率に及ぼす影響を検討した。孵化後6 時間以内の幼虫100 頭をシャーレ（直径9 cm × 高さ2 cm)に入れ、水分75%に調整した米ヌカで7 日間飼育した。その後、幼虫をプラスチック容器（14 × 10 × 4.5 cm）に移し、同様の米ヌカまたは独自に開発した人工飼料（表(3)-1）を与えて飼育を継続し、蛹化率と羽化率を調べた。反復数はそれぞれ7とした。飼育環境は25℃、湿度70 ± 5%RH、日長16L-8Dに設定した。iiおよび以下の実験も同様の飼育環境で実施した。

表(3)-1. アメリカミズアブ幼虫用人工飼料組成

材料	量
小麦胚芽 (g)*	100
家畜用飼料 (g)**	60
乾燥酵母 (g)***	10
蒸留水 (ml)	240

* ハイギーB、フレッシュ・フード・サービス株式会社
** RC4、オリエンタル酵母工業株式会社
***エビオス、アサヒグループ食品株式会社

②幼虫飼育密度の影響

ミズアブ幼虫は野外では集団で存在する。そこで密集させて飼育することにより成長促進などの効果（集合効果）が生じるかを調べるとともに、育成初期での最適な幼虫個体数を調べた。

500 ml三角フラスコに人工飼料（表(3)-1）200 gを入れ、孵化後6 時間以内の幼虫を人工飼料1 g当たり1.25・2.5・3.75 頭/gの密度となるように添加した（各n = 5）。孵化後14 日目に取り出して生存幼虫数を調べた。また、この幼虫から無作為に選んだ10 頭の重量を測り成長を比較した。

（３）成虫飼育密度と性比が繁殖成績に及ぼす影響

成虫繁殖設備内での成虫の飼育密度や性比が繁殖成績に及ぼす影響を検討した。上記のポリエチレン製のケージ（27 × 27 × 27 cm）を使用し、同様の成虫飼育条件下で、雄と雌の数を様々な組合せで予備実験をした後、特に20-20・15-15・20-10・5-20 頭（雄-雌 頭数）について産卵数と成虫密度を調べた。

（４）成虫への給餌が繁殖成績に及ぼす影響

上記の成虫飼育条件下で、成虫への給餌が繁殖成績に及ぼす影響を検討した。上記のケージを用い、同様の飼育環境の下、雌雄の成虫（羽化後15 時間以内）各50 頭を入れて実験を行った。水のみを与える区では、1日3回（09:00・13:00・17:00）約10 mlの蒸留水をケージ越しに噴霧して給水し、餌を与える区では、この水の噴霧とともに餌として角砂糖を与え、毎日産卵数と成虫の生存数を調べた。なお、本種は卵塊で産卵するため、あらかじめ様々な大きさの卵塊を70%エタノールでばらし、顕微鏡下で撮影・印刷して卵を数え、卵塊の大きさからおおよその卵数を推定する指標とした。

この実験に加え、上記の実験で砂糖を与えた区と、さらに砂糖だけでなく養蜂用に市販されている花粉を与えた場合の２つの区について比較し、花粉の影響について調べた。

また、Tomberlinら[2)]は、室内飼育した幼虫から羽化した成虫は野外で採集した個体に比べて小さく、通常サイズの個体が産卵したのに対して、これらの小さな個体はまったく産卵しなかったと報告している。双翅目昆虫では体サイズのバラツキは数多く報告されており、野外でもしばしば小型のミズアブ成虫が採集できることから、自然条件下では小さい成虫がごく普通に存在するはずである。しかし、我々の予備実験でも、水のみを与えた場合には小型個体は未受精卵すら産卵しなかった。このことから、幼虫期に餌を十分に与えずに小型化した雌成虫(頭幅約3.8mm､小型雌)と普通サイズの雌成虫(頭幅約4.4mm､普通雌）について、羽化後10日まで水のみを与えて飼育し、顕微鏡下で解剖して卵巣成熟を確認した(n=30)。また、同じように得た小型の成虫について、角砂糖を餌として与えた区と水のみを与えた区を設け、上記のように雌雄成虫各50頭を集合飼育して産卵を調べた。

（５）成虫誘引物質の解明

採卵効率を向上させるため、産卵を誘引する化合物の探索を試みた。国際農林水産業研究センター構内の実験室外壁の換気扇付近に、50頭を越える本種成虫が飛来しているのを確認したことから、この換気扇に臭気捕集材（モノトラップ：GLサイエンス社）を設置した。3 時間の捕集により吸着された物質をジエチルエーテルで抽出してガスクロマトグラフ・質量分析計で分析した。この時採集した成虫は実験室Ⅱ持ち帰って雌雄を確認し、雌の場合は死亡後に解剖して卵巣の成熟と交尾の有無を確認した。

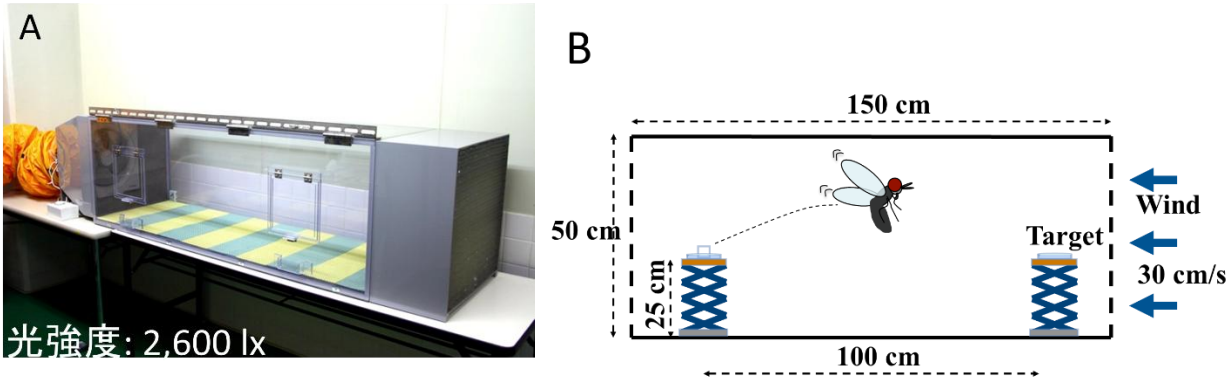
また、これまでに野外で成虫が誘引されるのを観察した物質のうち、これらの匂い物質と同じような成分を持つといわれる市販の化学物質34種（表(3)-2）について、室内飼育時の産卵用容器に幼虫飼料残渣を対照区として、産卵誘引性の選択実験を行った（図(3)-3）。

さらに成虫の匂いに対する飛翔反応と誘因効果を調べるため風洞内で検定を行った（図(3)-4）。羽化後0日齢から5日齢までの未交尾の雌雄と､羽化後0日目に交尾させた雌それぞれ25頭について匂い源に対する反応を調べた。匂い源は幼虫飼育残渣を用い、成虫は１回のみ実験に使用し、放飼後３分以内に匂い源に到達した個体数を記録した。

表(3)-2. アメリカミズアブ成虫の産卵選択実験に用いた化学物質

	試薬名	匂いの種類	メーカー	容量、コード
1	β-フェニルエチルアルコール	花のニオイ		
2	メチルシクロペンテノロン	あまいこげ臭		
3	イソ吉草酸	むれたくつ下のニオイ		
4	γ-ウンデカラクトン	熟した果実臭		
5	スカトール	カビ臭いニオイ		25ml, 081-06292
6	ヘキサン酸	銀杏のニオイ	wako	25ml, 081-06292
7	ヘキサン酸エチル	バナナ、パイナップル	wako	25ml, 056-00683
8	デカン酸エチル	ナッツ、ワイン	wako	25ml, 052-02123
9	l-メントール	ペパーミント	wako	25g, 132-03752
10	シンナムアルデヒド	シナモン	wako	25ml, 031-03453
11	ヒドロキシシトロネラール	スズラン、モモ	wako	5ml, 084-06581
12	バニリン	バニラ	wako	25g, 224-00682
13	カダベリン	腐敗臭	wako	1ml, 101181
14	酢酸エチル	果物	wako	500ml, 058-00366
15	酢酸ヘキシル	リンゴ	wako	25ml, 082-02023
16	酪酸メチル	リンゴ	wako	25ml, 135-02103
17	サリチル酸メチル	グリーン	wako	25ml, 135-03063
18	酪酸ペンチル	ナシ、アンズ	wako	25g, 016-05282
19	ジヒドロジャスモン	果物	wako	5ml, 040-19291
20	アネトール	フェンネル	wako	25g, 010-03982
21	オイゲノール	チョウジ油	wako	25g, 053-03932
22	ゲラニオール	果物	wako	25ml, 076-01383
23	酪酸エチル	juckfruit	wako	25ml, 052-00663
24	酢酸ブチル	juckfruit	wako	500ml, 025-03276
25	イソ吉草酸エチル	juckfruit	wako	25ml, 052-01903
26	酪酸ブチル	juckfruit	wako	25ml, 025-03553
27	2-メチル酪酸エチル	juckfruit	東京化成工業	25ml, M0757
28	γ-デカラクトン	モモ	東京化成工業	25g、H0233
29	1-ヘキサノール	青葉の匂い系	wako	25ml, 087-00513
30	cis-3-ヘキセン-1-オール	青葉の匂い系	wako	25ml, 082-06722
31	2-メチルシクロヘキサノール	青葉の匂い系	wako	25g, 138-02252
32	linalool	青葉の匂い系	wako	25ml, 126-00993
33	*cis*-3-Hexenyl Acetate	青葉の匂い系	東京化成工業	25ml, A0888
34	ヘキサナール	青葉	wako	25ml, 085-02633

図(3)-3. 匂い物質に対する産卵選好性を調べるための選択実験用ケージ



図(3)-4. A：風洞写真、B：風洞の模式図

４．結果及び考察

（１）材料と室内累代飼育方法

「３．方法」で記載した通りにミズアブを累代飼育して試験に供した。

（２）幼虫飼育環境が繁殖成績に及ぼす影響

①幼虫飼育飼料の決定

米ヌカだけで飼育した場合の孵化幼虫あたりの蛹化率・羽化率は、ともに38.6 ± 4.6%で、人工飼料で飼育した場合の88.1 ± 4.7%と87.1 ± 4.6%に比べて有意に低かった。人工飼料での飼育による蛹化率・羽化率は維持繁殖に十分な値であり、また以下に示すようにここから得られた成虫から一定の受精卵を採卵できたことから、以後の試験ではこの人工飼料を幼虫飼育に使用することとした。いずれの餌の場合も、蛹あたりの羽化率はほぼ100%と非常に高かったことから、蛹化した個体の羽化率に対する餌の質の影響はほとんどないと考えられた。

②幼虫飼育密度の影響

孵化後14 日目の生存率はどの区でも90%以上となり、幼虫密度による有意な差は見られなかった（ANOVA, P = 0.1984）（表(3)-3）。一方、幼虫の重量は、幼虫密度が高いほど低下する傾向が見られ、2.5 頭/gと3.75 頭/g区では、1.25 頭/gに比べて有意に軽くなった（Tukey-Kramer HSD検定, $P < 0.05$）。このことから、今回調べた範囲の幼虫密度と餌量では集合効果は見られず、密度増加によって成長抑制などの負の効果（密度効果）のみが現れたと考えられた。この人工飼料で飼育した幼虫の成長量は、飼

育期間や幼虫密度の影響を調べる上での指標として有用であると考えられる。一方で、人工飼料の改良次第では密度効果の現れ方も変わる可能性が残されている。いずれにしろ、孵化から最初の14日間この人工飼料で飼育することで、得られた羽化成虫より採卵が可能で省力化になることから、若齢期間はこの方法で飼育することとした（図(3)-5フラスコ）。

表(3)-3. アメリカミズアブ孵化幼虫を 500ml フラスコ内で 14 日間
200g の人工飼料を与えて飼育した場合の生存率と幼虫 10 頭あたりの重量.

幼虫添加数	生存率(%)*	幼虫重量(g)**	n
1.25 頭／g	95.9±1.6	1.07±0.03a	5
2.5 頭／g	91.6±1.6	0.94±0.02b	5
3.75 頭／g	95.0±1.6	0.89±0.03b	5

*± s.e. 生存率に有意差無し(ANOVA, p=0.198)
**幼虫重量は 10 頭あたり。異なるアルファベットで有意差有り
(Tukey-Kramer HSD、$p<0.0001$)

図(3)-5. フラスコを用いた若齢幼虫人工飼料育

（３）成虫飼育密度と性比が繁殖成績に及ぼす影響

今回の実験では、雄-雌の数が20-20・15-15・10-20 頭の各区で受精卵が得られたものの、20-10・5-20 頭区では得られなかった。上記のうち10-20 頭区の結果を、「成虫への給餌が及ぼす影響」について調べたときの給餌なし飼育（50-50 頭区）の結果と対比して表(3)-4に示した。10-20 頭区の雌あたり産卵数は50-50 頭区に比べて、密度が低いにもかかわらず有意に高い値であった（ANOVA, $P = 0.0056$）。また、統計的に有意とはならなかったものの、雌あたりの受精卵数も約2.5 倍高かった(ANOVA, $P = 0.0563$)。ただ、これは今回使用した小型ケージでの結果であり、ケージの大きさごとの最適な成虫密度はそれぞれの場合について検証しなければならない。

表(3)-4. アメリカミズアブ成虫をケージあたり異なる数入れた場合の産卵と寿命の比較

	ケージあたり成虫密度 *			
	♂50:♀50	♂10:♀20	P	n
産卵前期間(日)	4.4 ± 0.3	5.2 ± 0.2	0.0353	5
産卵期間(日)	9.4 ± 0.8	8.0 ± 1.0	0.2948	5
産卵数／♀	240.2 ± 31.6	582.0 ± 85.4	0.0056	5
受精卵数／♀	84.4 ± 19.0	207.0 ± 51.6	0.0563	5
雄寿命(日)	14.1 ± 0.3a	16.9 ± 0.4a	<0.0001	
雌寿命(日)	12.7 ± 0.2b	13.7 ± 0.2b	0.0111	

* 平均± s.e.

**各列内の異なるアルファベットは有意差を示す (t-test, p < 0.05)

（4）成虫への給餌が繁殖成績に及ぼす影響

本種成虫は摂食しないと一般的に考えられ、雌成虫は１卵塊を産卵後、数時間で死亡すると報告されている(Tomberlin, et al. 2002)。個体飼育した成虫に砂糖を餌として与えると寿命が延びることがNakamura et al. (2016)により明らかになっているが、今回の集合飼育実験でも、水のみの場合よりも餌を与えた場合、有意に寿命は延びた（表(3)-5、図(3)-6）。また雌あたり産卵数は3 倍以上増加した。雌あたり受精卵数は有意とはならなかったものの水のみの場合が84.4 ± 19.0 個なのに対して餌を与えた場合には169.5 ± 57.4 個と約2 倍になった。

この砂糖を与える条件に加え、さらに養蜂用の市販の花粉を与えると、産卵期間や総産卵塊数は変わらないものの、孵化卵塊数が19.5 ± 2.9から28.0 ± 3.9と増える傾向を示した。まだ反復数が少ないためか統計的には有意な差とはならなかったが(F=3.034; df=1, 44: p=0.0885)、その原因は現在のところよくわかっていない。

普通雌が水のみを与えた場合でも卵巣成熟したのに対して、小型雌は調査した30頭がすべて卵巣成熟しなかった（図(3)-7）。しかし、小型雌に砂糖を与えて上記と同様の集合飼育をしたところ、受精卵が得られたことから、野外では小型雌も摂食することで繁殖行動をとっていることが推察された。

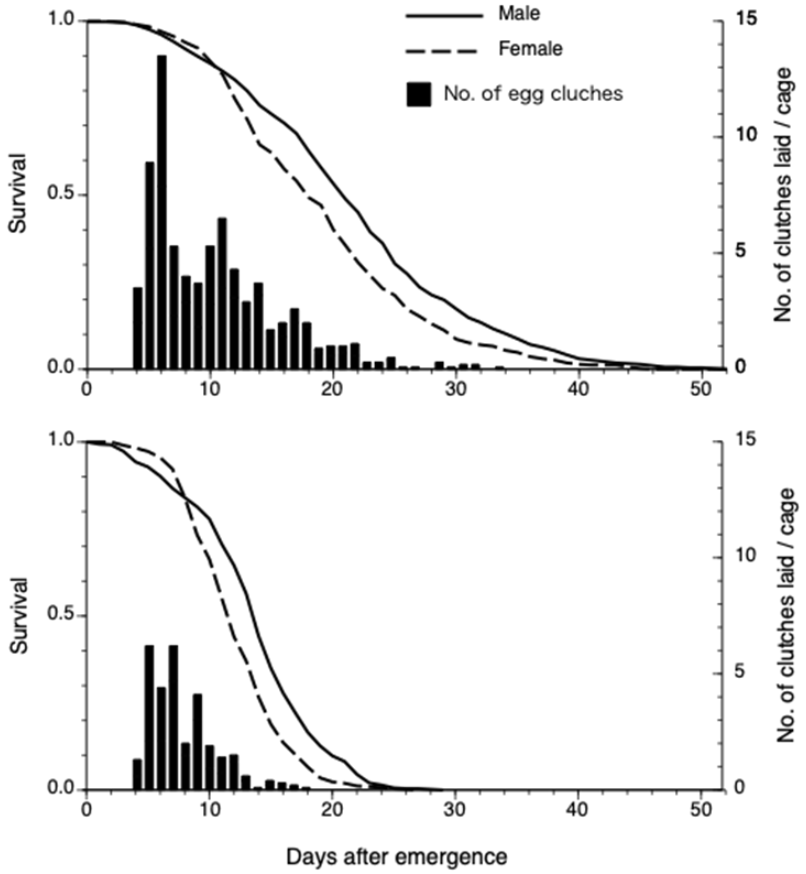
以上のように、飼育環境の改善、および成虫への給餌によって繁殖成績を向上させ、目標値である「雌個体あたりの産卵率50%」を超える産卵成績を達成した。累代飼育下での平均受精卵率は65.0%になった。これらの成果を用いて、大阪府立環境農林水産総合研究所での大量繁殖に使用するケージの基本設計を行った。

表(3)-5. アメリカミズアブ成虫の餌条件による産卵と寿命の比較

	餌 *			
生活史要因	砂糖+水	水のみ	p	n
産卵前期間(日)	4.7 ± 0.3	4.4 ± 0.3	0.550	5
産卵期間(日)	21.0 ± 1.81	9.4 ± 0.8	0.0004	5
産卵数／♀	751.1 ± 59.3	240.2 ± 31.6	<0.0001	5
受精卵数／♀	169.5 ± 57.4	84.4 ± 19.0	0.2277	5
雄寿命(日)	21.9 ± 0.5a	14.1 ± 0.3a	<0.0001	250
雌寿命(日)	17.4 ± 0.4b	12.7 ± 0.2b	<0.0001	250

* 平均± s.e.

**各列内で異なるアルファベットは有意差を示す (t-test, p < 0.05)



図(3)-6. ミズアブの産卵・生存曲線。
A：角砂糖と水を与えた場合、B：水のみを与えた場合（各n=10）.

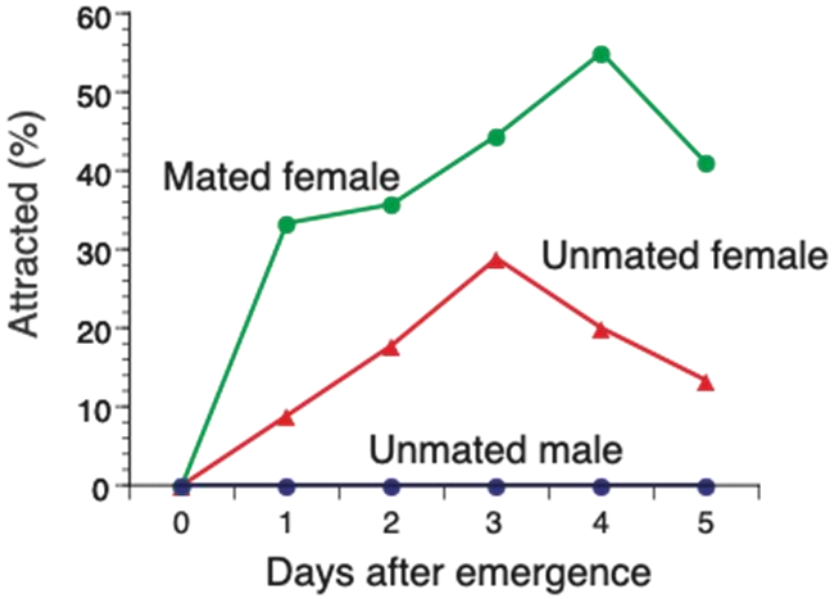
（５）成虫誘引物質の解明

捕集材の抽出物からはイソチオシアネート様の質量スペクトルを示す物質が検出され、イオウ系のイソチオシアネート類が雌の誘引に関与する可能性が示唆された。なお、この時採集した53頭の成虫はすべて雌で交尾済みであった。雌のみが採集されたのは、雌雄で匂い物質に対する反応が異なることを示し、下記の風洞実験結果を共通する点である。

また、市販の化学物質に対する産卵選択実験では、室内飼育用ケージ内で雌成虫が幼虫飼育残渣にこれまで同様産卵したのに対して、市販の化学物質34種についてはまったく産卵しなかった。数種の化学物質については、産卵誘因効果があると予想し、その反応を確かめてから化学物質濃度を変えてさらに成虫の反応を調べようと考えていただけに予想外の結果になり驚いた。

匂い物質の成虫誘引効果を調べる風洞内での生物検定では、匂い源に対して雌雄と羽化後の日齢により反応の差が見られた。雄成虫が匂い源にまったく誘引されなかったのに対して、雌は日齢を追うごとに誘引される個体の割合が高まり、特に交尾の有無が割合に影響した。この飼育条件では、羽化後4日目に卵巣成熟し、産卵を開始することがわかっているが（図(3)-8）、交尾雌では羽化後4日目にそのピークが現れることが明らかになった。これによりミズアブ成虫の誘引効果の検定法が確立され、交尾・産卵の促進に利用する目途が立った。

図(3)-7. 羽化後１０日目の水のみを与えた場合のアメリカミズアブの卵巣。
A：小型雌成虫、B：普通雌成虫



図(3)-8. 風洞内における日齢ごとの雌雄ミズアブ成虫が匂い源に対して誘引される割合。
匂い源は幼虫飼育残渣を用い、材料となる成虫は１回のみ使用（各n=25）。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

これまで「成虫は摂食しない」とされていたミズアブの性質について新しい知見を得た。すでに平成27年度までに成虫に砂糖を給餌することにより寿命が延長されることを見出していたが、本研究ではさらに成虫への給餌が繁殖効率にも影響することを明らかにした。このことは、人工繁殖での効率向上に繋がる知見であることに加えて、自然環境下におけるミズアブの生態についても従来の定説に一石を投

じるものである。また、繁殖用のミズアブ幼虫の飼料として考案した人工飼料は、幼虫の成長や成虫の繁殖効率の基準となりうる飼料であることが示唆された。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

特に記載すべき事項はない。

６．国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

特に記載すべき事項はない。

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1)　中村　達：昆虫と自然、53, 1, 8-10 (2018)
　アメリカミズアブ利用による産業化への課題

（２）口頭発表（学会等）

1)　中村　達：国際シンポジウム　昆虫の新たな用途展開の可能性を探る(2016)
　開発途上地域における動物飼料としての昆虫利用
2)　中村　達：第61回日本応用動物昆虫学会大会（2017)
　餌や光がアメリカミズアブ成虫の産卵に与える影響
3)　和智仲是、中村達、平康博章、瀬山智博、笠井浩司、藤谷泰裕：第61回日本応用動物昆虫学会大会(2017)
　餌水分含量がアメリカミズアブ（双翅目：ミズアブ科）幼虫の成長に与える影響」
4)　中村　達：日本昆虫学会第77回大会（2017)
　アメリカミズアブ産業化へのボトルネック？：成虫の繁殖行動
5)　Nakamura S：9th International Congress of Dipterology
　Simple laboratory method for harvesting fertilised eggs of the Black soldiery, *Hermetia illucens* (L.) (Stratiomyidae)
6)　中村　達：第62回日本応用動物昆虫学会大会（2018)
　昆虫利用による食料資源循環を目指して：アメリカミズアブ成虫に関する既知情報と新知見の比較
7)　Aye Aye Thinn、斉藤秀、田端純、戒能洋一、中村達：第62回日本応用動物昆虫学会大会（2018)
　アメリカミズアブ成虫の誘引実験

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない。

（５）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

８．引用文献

1) Nakamura S, Ichiki TR, Shimoda M, Morioka S: Appl. Ent. Zool. 51(1), 161-166 (2016)
Small-scale rearing of the black soldier fly, Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae), in the laboratory: Low cost and year-round rearing.

2) Tomberlin JK, Sheppard DC, Joyce JA: Ann Entomol Soc Am 95:379-386 (2002)
Selected life-history traits of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets.

II．成果の詳細
Ⅱ－４　外部環境に対する資源循環系の評価

国立大学法人香川大学
農学部　准教授　松本　由樹
農学部　助教　川﨑　淨教

平成28(開始年度)～30年度累計予算額：13,891千円
（うち平成28年度：3,884千円、平成29年度：5,226千円、平成30年度：4,781千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
様々な人間活動において、持続可能性が考慮されつつある中で、現在、生ごみの多くが焼却処理されている。焼却処理に代わり昆虫の有機廃棄物処理能力を利用することで、温室効果ガス排出量を低減するだけでなく、有機廃棄物処理後に獲得可能な虫体の飼料原料としての可能性と処理残渣の堆肥としての利用性を明らかにすることで、持続可能な資源循環技術が構築可能となる。
本研究では、家庭生ごみのような有機廃棄物をミズアブに処理させることで得られる幼虫や前蛹の飼料原料としての利用可能性を示しただけでなく、昆虫生産により発生する温室効果ガス排出量が焼却処理に比べ著しく少ないこと､昆虫生産で排出される処理残渣が堆肥として利用可能であることを示した。

［キーワード］
アメリカミズアブ、温室効果ガス、臭気、採卵鶏、微生物叢

１．はじめに
日本国内において食品廃棄物は推定1,700万t/年と大量に排出されているが､高水分や分別の難しさなどから再生利用率は3割以下に留まっており、焼却・埋立のコスト増加や温室効果ガス・大気汚染ガスの発生を引き起こしている。食品廃棄物の有効活用や、処理過程で生じる環境問題対応のためには、高水分の有機物が高効率で利用され循環している自然生態系を参考にした新たな資源循環系の構築が有効と考えられる。
今回研究に使用するアメリカミズアブ（以下、ミズアブとする）は我が国を含む世界の熱帯～温帯に広く分布する昆虫であり、病原体媒介の危険性が低く、幼虫の消化吸収能力が非常に高いため、幼虫の食性を利用した廃棄物減量や、その際に栄養分を体内に蓄積した幼虫を動物性資源として水畜産用飼料に活用する取組みが世界各地で提案されている。昆虫による物質転換技術は必要投入エネルギーが少なく、温室効果ガス・大気汚染ガスの排出も少ないことが期待される。しかし、廃棄物処理に伴う温室効果ガス発生量の測定、幼虫や残渣の有用性を科学的プロセスで統合的に検証した例はほとんどない。そこで、これらの要素を定量的に明らかにし、その上でミズアブによる廃棄物処理、有価物生産の実用化を計画することが必要である。
本学ではこれまでに臭気・温室効果ガスの分析に関する研究を行ってきた。また、イエバエなどの昆虫を養鶏飼料として利用する試験を行い、安全性や給与効果を明らかにしてきた。これらの知見を活かして、ミズアブ利用技術の環境影響評価と飼料肥料の品質評価が可能である。

２．研究開発目的
本研究は、ミズアブの生理機能を利用した環境に優しい廃棄物処理、及び資源循環系構築を目指すものである。廃棄物処理に伴う温室効果ガス排出の削減効果、廃棄物処理により成長した幼虫の畜産飼料への利用および処理残渣の肥料利用による影響を調査する。

３．研究開発方法

①発生する臭気物質の特定と定量

幼虫による食品廃棄物処理の過程で発生する主な臭気物質を特定し定量した。

モデル生ごみ 1g あたり幼虫（7 日齢）を 0、 1 または 4 頭添加し、30℃で 15 日間処理させ、残渣を臭気測定用サンプルとした。

臭気物質の捕集は固相マイクロ抽出（SPME）ファイバーを用いた。残渣 1g を 30℃、10 分加温し SPME ファイバーに捕集した。臭気物質の同定にはガスクロマトグラフ質量分析計を用いた。カラムは InertCap for Amines（60 m×0.32 mm、GL Science）を用いた。また、残渣中の悪臭性低級脂肪酸（VFA：プロピオン酸、n-酪酸、iso-吉草酸、n-吉草酸）は有機酸分析液体クロマトグラフィーシステムを用いて測定した。

②発生する臭気が抑制される処理条件

ⅰ 臭気強度（臭気指数）に対する処理条件の影響

幼虫による廃棄物処理時に発生する臭気を低く抑えるには、どのような条件下での処理が適切かを、生活圏での悪臭による不快度を良く反映するとされる臭気強度（臭気指数）を指標として調べた。

供試幼虫数、温度、水分を様々に変えた 5 試験区（表(4)-1）を設け、幼虫にモデル生ごみ 50 g を 15 日間処理させた。15 日目に飼育容器をガスバッグに入れ、10 L の無臭空気を満たし 25℃で 30 分放置した後、気層だけを別のガスバッグに移し、これを臭気官能評価対象とした。予め基準臭 5 種によるパネル選定に合格した 6 人の被験者により、臭袋三点比較法（排出口法）に基づいて官能評価を行い、臭気指数を算出した。この値を残渣の臭気指数とした。

表(4)-1　廃棄物処理条件が臭気に及ぼす影響の検討 試験区ごとの処理条件

試験区	添加幼虫密度	温度	生ごみ水分	説明
標準条件区	1頭/g	30℃	80%	標準条件
高密度区	4頭/g	30℃	80%	幼虫添加高密度
低温区	1頭/g	20℃	80%	低温処理
低水分区	1頭/g	30℃	60%	生ごみ低水分含量
幼虫無添加区	0頭/g	30℃	80%	標準条件(幼虫無添加)

ⅱ 処理条件が臭気検出項目数に及ぼす影響

ⅰの試験後、残渣を採取し臭気測定用サンプルとした。①と同様に SPME ファイバーおよび GC-MS を用いて臭気物質を定量した。

③温室効果ガス発生量

ⅰ 幼虫による処理時に発生する温室効果ガス

幼虫による廃棄物処理時に発生する温室効果ガス量を把握するため、二酸化炭素モニターおよびメタンガスモニターを用いて測定した。飼育容器にモデル生ごみ 250 g および幼虫（7 日齢）250 頭を添加し、0.5 L/min で大気を供給しながら 30℃に保ち 15 日間処理させて、排出される二酸化炭素およびメタンガスの濃度を 10 分間隔で測定した。幼虫無添加についても同時に測定し、幼虫添加区から差し引くことで昆虫の活動に由来するガス発生量を算出した。

また、亜酸化窒素については、飼育容器にモデル生ごみ 150 g および幼虫（7 日齢）150 頭を添加し、0.5 L/min で大気を供給しながら 30℃に保ち 15 日間処理させて、2 日おきにガスバッグ(10L)に気層だけを移し、ガスタイトシリンジによりガスクロマトグラフ質量分析計にアプライし、亜酸化窒素発生量を測定した。カラムは TC-BOND Q （0.32 mm×30 m×10 μm、GL サイエンス）を用

いた。

ⅱ 焼却による処理時に発生する温室効果ガス

廃棄物の焼却処理時に発生する温室効果ガス量を把握するため､焼却炉のモデルとして電気炉を用い、800℃で 30 分間、モデル生ごみ約 0.1 g を焼却後、高熱ガス測定用付属品を装着した二酸化炭素モニターおよびメタンガスモニターでガス濃度を測定した。モデル生ごみ無しの焼却時にも同様にガス濃度を測定し、両者の差からモデル生ごみ焼却に由来するガス発生量を算出した。

また、亜酸化窒素については、焼却処理は温室効果ガス総排出量算定方法ガイドライン[1)]（環境省、平成 29 年 3 月）値から概算した。

④食品廃棄物処理残渣の安全性確認試験

ⅰ食品廃棄物処理残渣中細菌の多様性解析

昆虫生産残渣（1 頭/g)、市販堆肥（牛糞、馬糞、バーク、鶏糞)、から DNA 抽出用キット（FastDNA Spin Kit for Soil、MP Biomedicals)を使用し DNA を抽出し、微生物叢解析に用いた。細菌叢は 16S rRNA V4 領域を増幅後、株式会社生物技研に Miseq(illumina)によるシーケンスを外注した。その後得られた biom ファイルや tree ファイル等を解析ソフト R の phyloseq を用い、細菌の多様性解析を行った。

ⅱ 食品廃棄物処理残渣の化学的性状分析およびコマツナ発芽試験

ⅰと同様のサンプルを用い、公定法に沿って、全窒素、アンモニア態・亜硝酸態・硝酸態窒素、可給態リン酸、カリウムを測定した。また、コマツナを用い、発芽試験、根部伸長試験を行った。発芽試験は、発芽シートに試料の抽出液を注入し30℃暗所条件下で72時間培養した後、発芽率を測定した。根部伸長試験は、シードパックに抽出液を注入し30℃暗所条件下で5日間培養した後、根部の測定を行った。また、各試験は発芽率、外観評価、およびそれらを総合した評価を中央畜産会発行の「堆肥化施設設計マニュアル」(表1)を参考に行った。

表(4)-2　中央畜産化発酵堆肥化施設発酵マニュアル

発芽評価		外観評価		総合評価
発芽率	配点	外観	配点	
100%以上	5	葉・根・細根を確認	5	発芽評価+外観評価の合計で示し、総合評価 8 未満は発芽抑制に注意が必要
80%以上 100%未満	4	葉・根を確認	4	
60%以上 80%未満	3	葉あるいは根どちらか一方を確認	3	
60%未満	2	芽を切る	2	
0%	1	未発芽	1	

ⅲ食品廃棄物処理残渣によるホウレンソウ栽培試験

サブテーマ１で回収された食品廃棄物処理残渣区、モデル生ゴミ区、牛糞堆肥区、無施肥区の計 4 区でホウレンソウの栽培試験を行った。ホウレンソウは 680*340*260（mm）で容量 37 L のものを使用した。施肥量は、10 a あたり 2 トンになるよう調整し、１プランター当たり 462.4 g とした。1 プランターに土壌 15 L 充填後、試料をその上に隙間なく施肥し、さらに土壌 15 L を充填した。また、播種直前に有機石灰 23.12 g を加えた。栽培期間中は、朝夕に水やりを行った。発芽が揃った後初めて間引きを行い、その後化成肥料を 10.51 g 施肥した。その後も生育段階に応じ間引きし、最終的に同数になるよう調整した。

⑤採卵鶏へのミズアブ幼虫の給餌試験

飼育試験

モデル生ゴミで飼育したミズアブ幼虫および前蛹を飼料として使用した。すなわち、7 日齢で、幼虫をモデル生ゴミに播種し（1 頭/ g)、25～30℃で 10～15 日間飼育した。鶏用飼料に使用する前に幼虫の消化管内容物を除去するために、得られた幼虫および前蛹を 25 ± 2℃で 2 日間絶食させた。幼虫および前蛹を、乾燥器（DKN 602、ヤマト科学）を使用して 60℃で 48 時間乾燥した。採卵鶏飼料中の大豆粕および大豆油を幼虫または前蛹と代替した場合の影響を調べるために、基礎飼料と実験飼料を作成した（表(4)-3)。キチンを除く飼料の化学組成は、AOAC 法 [2)]に従って分析し、キチン濃度は、以前の文献 [3),4)]を参考に計算した。

合計 54 の産卵鶏（Julia; 168 日齢）を産卵率に基づいて P（蛹前)、L（幼虫）および C（対照）群（n = 18）に均等に割り当てた。食餌および水は自由摂取とし、5 週間飼育試験を行った。卵重および産卵率を毎日測定した。試験最終日に、鶏を断頭により屠殺し、十二指腸、空腸、回腸、肝臓および盲腸内容物を採取した。産卵率が平均値に近い小腸組織および盲腸内容物 30 羽（1 群あたり 10 匹）を分析サンプルに使用した。動物実験は香川大学動物実験委員会の許可を得て行った（許可番号：2018-18648)。

表(4)-3　採卵鶏飼育試験飼料組成

組成 (%)	**C**	**L**	**P**
トウモロコシ	68.0	68.0	68.0
大豆粕	19.0	10.0	10.0
ミズアブ幼虫	0.0	10.0	0.0
ミズアブ前蛹	0.0	0.0	10.0
大豆油	1.0	0.0	0.0
第三リン酸カルシウム	1.0	1.0	1.0
炭酸カルシウム	9.0	9.0	9.0
食塩	1.0	1.0	1.0
ビタミンミネラルミックス	1.0	1.0	1.0
成分値(原物中%) と総エネルギー (Kcal/kg)			
乾物 [a]	89.6	90.5	90.6
粗タンパク質 [a]	14.4	14.6	16.5
粗繊維 [a]	2.3	2.8	3.0
酸性デタージェント繊維 [a]	4.3	5.1	4.8
中性デタージェント繊維 [a]	17.6	20.8	20.8
粗脂肪 [a]	3.5	3.7	5.1
粗灰分 [a]	12.7	14.7	14.8
カルシウム [a]	3.6	3.5	3.3
リン [a]	0.5	0.5	0.5
マグネシウム [a]	0.2	0.2	0.2
キチン [b]	-	0.39	0.67
総エネルギー [b] (kcal/kg)	3159.4	3103.0	3169.3

C:対照飼料; L: 幼虫飼料; P: 前蛹飼料. [a] 分析値; [b] 計算値.

ⅰ摂食量、産卵率、飼料効率

試験期間中の摂食量、産卵率、飼料効率を測定した。

ⅱ絨毛高と陰窩深

十二指腸、空腸、および回腸からの腸試料（0.5 ㎝）を、4%リン酸緩衝パラホルムアルデヒドに 48 時間浸漬することによって固定した。次いで、これらのサンプルをリン酸緩衝生理食塩水溶液で洗浄し、エタノールに連続浸漬することによって脱水した（12 時間 70%、1 時間 80%、1 時間 90%、および 1 時間 99.5%)。最後に、腸のサンプルをキシレンですすぎ、パラフィンに包埋した。十二指腸、空腸および回腸における絨毛の高さおよび陰窩の深さは、顕微鏡写真（BX51、Olympus）および画像解析ソフトウェア（WinROOF ver 7.4.5、MITANI Corporation）を用いて測

定した。

ⅲ卵質

実験 30 日目に産卵した卵を分析に使用した。採卵後、卵を 20℃で 24 時間保存し、総卵重量、卵黄重量、アルブミン重量、卵殻重量、卵殻厚、卵殻強度、卵黄色、卵黄高、およびハウユニットを測定した。卵殻厚は、卵殻厚計（富士平工業株式会社）を用いて測定した。卵殻強度は、自動卵強度計（富士平工業株式会社）を用いて測定した。卵重量、卵黄重量、アルブミン重量、卵殻重量、卵黄色、卵黄高、およびハウユニットを、自動卵品質測定装置（EMT-5000、JA 全農たまご株式会社）を用いて測定した。

ⅳ血漿中のカルシウム、無機リン、マグネシウム濃度

血漿を得るために、鶏の断頭時に血液試料を採取し、4℃で 15 分間 500×g で遠心分離し、さらに分析するまで-80℃で保存した。血漿中のカルシウム、リンおよびマグネシウムの濃度は、血液分析器（Spotchem EZ SP-4430、アークレイ）を用いて測定した。

ⅴ盲腸内容物中の短鎖脂肪酸（SCFA）

盲腸内容物中の SCFA の濃度は、高速液体クロマトグラフ（カラム：Shim-Pack SCR-102H、検出器：Shimadzu CDD10A；島津製作所）を使用して測定した。

ⅵ盲腸内細菌叢解析

Fast DNA SPIN Kit for Soil（MP Biomedicals）を用いて盲腸内容物から DNA を抽出した。16S rRNA 遺伝子の可変領域 V3-4 は、ユニバーサルプライマー341F [5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3']および 805R [5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3']を用いて増幅した。サンプル（アンプリコン）は、AMPure XP ビーズ（Beckman Coulter）を用いて精製した。MiSeq 試薬キット v2（Illumina、カリフォルニア州サンディエゴ）を使用して、Illumina MiSeq シーケンサー（Illumina、カリフォルニア州サンディエゴ、Illumina）を用いて、全サンプル（ライブラリー）のペアエンドシークエンシングを行った。その後、④-ⅰと同様に菌叢解析を行った。

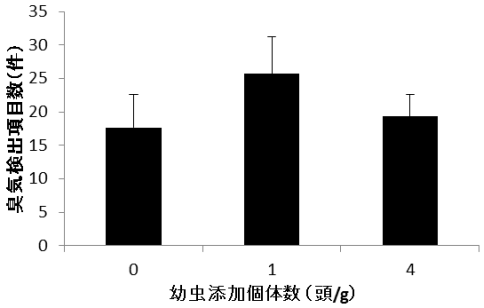
４．結果及び考察

①発生する臭気物質の同定

本試験条件で得られた各試験区の臭気検出項目件数は、0 頭/g区で17.7 ± 4.9、1 頭/g区で25.7 ± 5.5、4 頭/g区で19.3 ± 3.2であった（図(4)-1、平均 ± SD、n = 3)。試験区間で有意差はみられなかった。

主な臭気物質としてアンモニア・トリメチルアミン・VFA（プロピオン酸・n-酪酸・iso-吉草酸・n-吉草酸）等が確認された。

0 頭/g 区に対し、1 頭/g 区では、アンモニア・トリメチルアミン・VFA の濃度が高値となったが、4 頭/g 区ではトリメチルアミンおよび VFA 濃度が低かった（表(4)-2)。このことから、幼虫による食品廃棄物処理時に添加する幼虫個体数が少なかった場合、廃棄物の分解による臭気発生の程度が腐敗による臭気発生を上回ってしまうことが示唆された。しかしある程度以上の個体数を添加することにより臭気を抑えられると考えられた。



図(4)-1廃棄物処理残さからの臭気検出項目数 区間に有意差なし

表(4)-4 廃棄物処理残さの臭気物質濃度
0 頭/g区の臭気を100%とした比率を示す

試験区	臭気物質					
	アンモニア	トリメチルアミン	プロピオン酸	n-酪酸	iso-吉草酸	n-吉草酸
0頭/g	100%	100%	100%	100%	100%	100%
1頭/g	179%	154%	145%	160%	281%	154%
4頭/g	149%	69%	40%	11%	41%	39%

②発生する臭気が抑制される処理条件

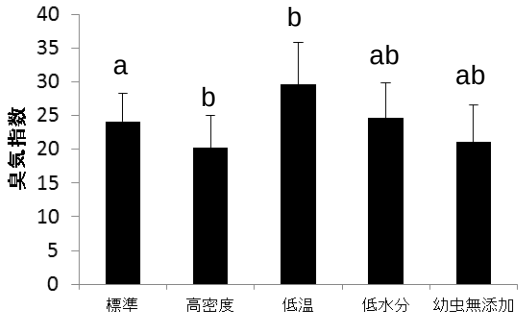
i 処理条件の、臭気強度（臭気指数）への影響

20℃下に置いた低温区は、30℃下に置いた標準条件区に対し有意に高い臭気指数を示し、幼虫 4 頭/g の高密度区では 1 頭/g の標準条件区に対し、有意に低い値を示した（Dunnett’s test, $P < 0.05$）（図(4)-2）。低温条件下では幼虫の活動が緩やかとなり生ごみ処理の程度が他の条件に比べ低く、臭気発生を抑えるに至らなかったと考えられた。また、①と同様に幼虫の添加数を高めることで、臭気指数が減少することが確認された。繁殖用幼虫を低水分飼料で飼育した経験などから、低水分区では臭気指数が低値となることが期待されたが、本試験においては標準条件区との間に差はみられなかった。これについては、乾物重量あたりの幼虫個体数が低水分区では標準条件の半分であり、実質的な幼虫密度が低く臭気発生が抑えられなかったことが原因として考えられる。

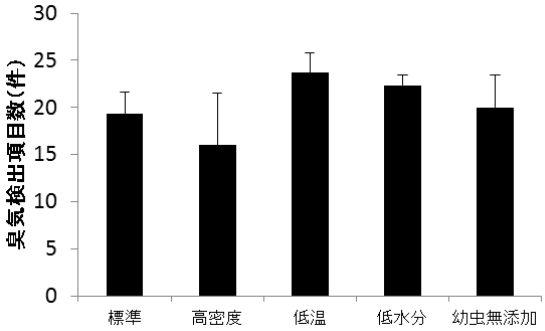
ii 処理条件が臭気検出項目数に及ぼす影響

高密度区の臭気検出項目数が他の試験区に比べ低い値を示したものの試験区間に有意差はみられなかった（図(4)-3）。また、検出された臭気物質の種類に試験区間で顕著な違いはみられなかった。

i, ii の結果から、この温度や幼虫添加個体数といった処理条件の違いは臭気物質の濃度に影響を及ぼすものの、発生する臭気成分を質的に大きく変化させることはないと考えられた。



図(4)-2 処理条件が臭気指数に及ぼす影響 異符号間に有意差あり



図(4)-3 処理条件が臭気検出項目数に及ぼす影 区間に有意差なし

③温室効果ガス発生量

i　幼虫による処理時の温室効果ガス

15 日間の幼虫活動由来の平均二酸化炭素濃度は 1,575.66 ppm、メタンガス濃度は検出限界以下であった。二酸化炭素の総排出量を以下の計算式で算出したところ 28.97 g となった。

二酸化炭素総排出量（g）＝
｛二酸化炭素平均濃度（ppm）× 総気体流量（L）÷ 1,000,000｝ ÷ 22.4（L/mol）× 44（g/mol）

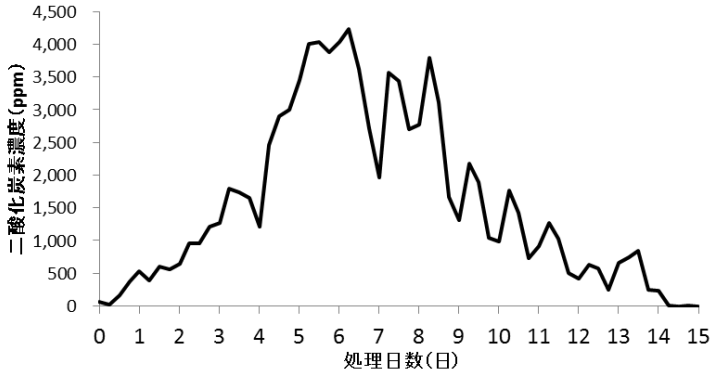
さらにモデル生ごみ処理量を 1t とした場合の二酸化炭素排出量を計算し、幼虫による生ごみ大規模処理時の環境負荷を試算した。

250 g での処理を 1 t に単純拡大した場合の二酸化炭素排出量は 115.88 kg と計算される。また、1 t 規模の処理に必要な恒温設備の稼働に係る二酸化炭素排出量を下記の式を用いて算出した。

二酸化炭素排出量（kg-CO_2） ＝
消費電力(kW) × 稼働時間(h) × 実排出係数(kg-CO_2/kWh)

恒温設備の消費電力は H 社の 8 kW および I 社の 4.4 kW を用いた。稼働時間は 15 日間とし、関西電力（株）の二酸化炭素実排出係数は 0.531 kg-CO_2/kWh を用いた。恒温設備の稼働に係る二酸化炭素排出量は 841.10 kg～1529.28 kg と算出された。

すなわち、ミズアブを用いた 1 t の生ごみ処理時の二酸化炭素総排出量は 956.98 kg～1645.16 kg と推定された。



図(4)-4　幼虫による廃棄物処理中に発生する昆虫活動由来二酸化炭素濃度の経時変化

また、15 日間の幼虫処理時の平均亜酸化窒素濃度は 53.24 ppm であった。亜酸化窒素の総排出量を以下の計算式で算出したところ、0.56 mgとなった。

亜酸化窒素総排出量（g）＝
｛亜酸化窒素平均濃度（ppm）× 総気体流量（L）÷ 1,000,000｝ ÷ 22.4（L/mol）× 44（g/mol）

さらにモデル生ごみ処理量を 1t とした場合の亜酸化窒素排出量を計算し、幼虫による生ごみ大規模処理時の環境負荷を試算した。150 g での処理を 1 t に単純拡大した場合の亜酸化窒素排出量は 3.76 g と計算される。なお、温暖化係数による二酸化炭素換算量は 3.76 g に 298 を乗じた値の 1.12 kg となる。

ii 焼却時に発生する温室効果ガス

モデル生ごみ焼却時のメタンガス濃度は幼虫による処理時と同様、検出限界以下であった。モデル生ごみ 1t 焼却時の二酸化炭素排出量を③i と同様の計算式で算出したところ、237.62 kg となった。

また、燃料の使用に伴う二酸化炭素の排出量を温室効果ガス総排出量算定方法ガイドライン[1)]（環境省、平成 29 年 3 月）により以下の式で算出した。燃料は A 重油と仮定し、燃料使用量は中部エコテック株式会社の資料[5)]（2011）より 760 L とした。単位発熱量は 39.1 MJ/L、炭素排出係数は 0.0189 kg-C/MJ とした。

二酸化炭素排出量（$kg\text{-}CO_2$） ＝
燃料使用量（L）×単位発熱量（MJ/L）× 炭素排出係数（kg-C/MJ）× 44/12 （$kg\text{-}CO_2/kg\text{-}C$）

上記算定式より、1 t の生ごみを焼却する際に燃料から排出される二酸化炭素量は 2,059.60 kg となり、生ごみから排出されるものとの合計は 2,297.22 kg となる。

また、モデル生ゴミ 1t 焼却時の亜酸化窒素排出量を温室効果ガス総排出量算定方法ガイドライン[1)]（環境省、平成 29 年 3 月）により、以下の式で算出した。

亜酸化窒素排出量（$t\text{-}N_2O$） ＝
廃棄物量(t) × 亜酸化窒素排出係数（$t\text{-}N_2O/t$）

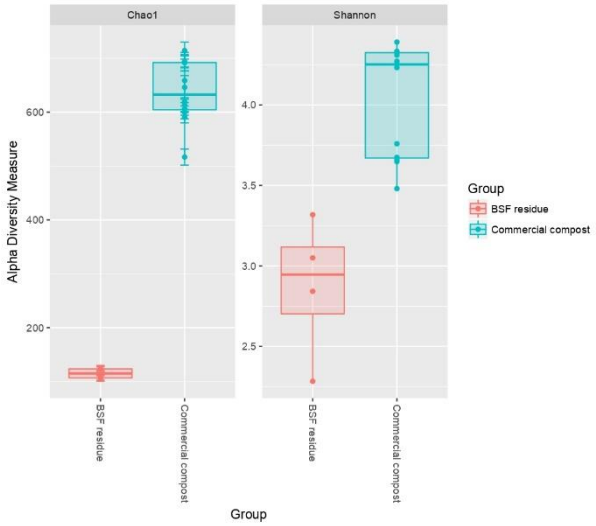
上記算定式より、1 t の生ごみを焼却する際に排出される亜酸化窒素量は 56.7 g となる。なお、温暖化係数による二酸化炭素換算量は 56.7 g に 298 を乗じた値の 16.90 kg となる。

i, ii から、ミズアブ幼虫による生ごみ処理は、恒温設備の運転による電力消費を含めても、焼却処理に比べ 41～66%もの温室効果ガス発生を削減できるとの試算が得られた。

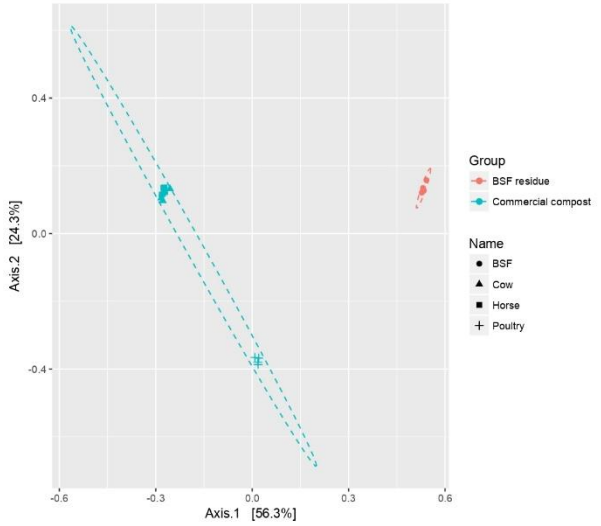
④食品廃棄物処理残渣の安全性確認試験

ｉ昆虫生産残渣中細菌の多様性解析

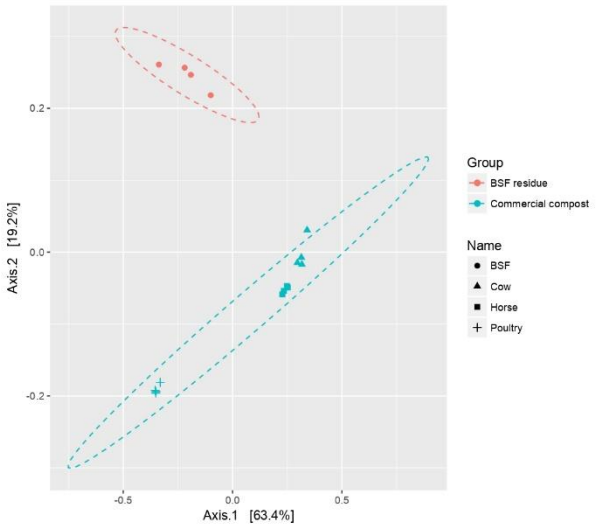
昆虫生産残渣は市販堆肥に比べ、α多様性の Chao1 指数（豊富さ）や Shannon 指数（均等度）が低かった（図(4)-5)。また、菌組成表では昆虫生産残渣と市販堆肥の間で異なる菌叢であることが示された（図(4)-6、図(4)-7)。



図(4)-5　昆虫生産残渣および市販堆肥のα多様性(左：Chao1、右：Shannon)



図(4)-6　昆虫生産残渣および市販堆肥のβ多様性（unweighted UniFrac）



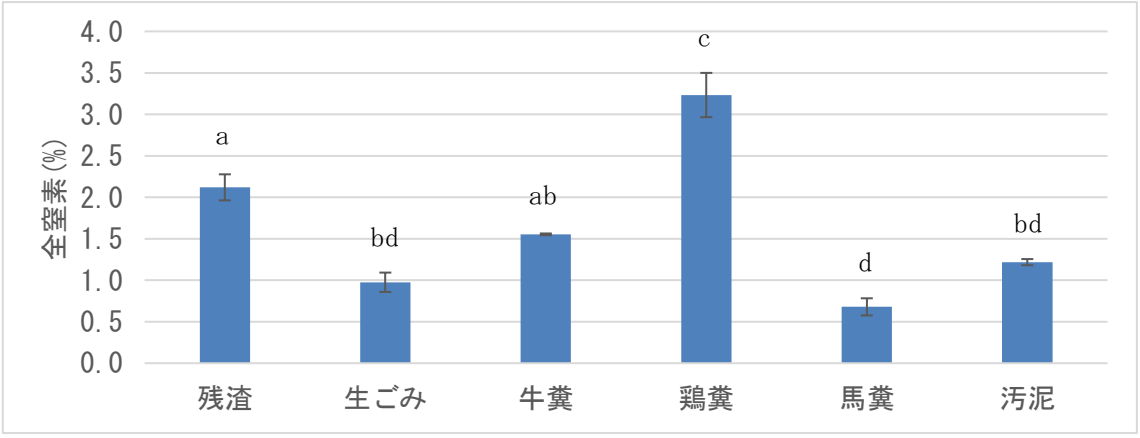
図(4)-7　昆虫生産残渣および市販堆肥のβ多様性（weighted UniFrac）

ii 処理残渣の化学的性状分析およびコマツナ発芽試験

化学的性状分析

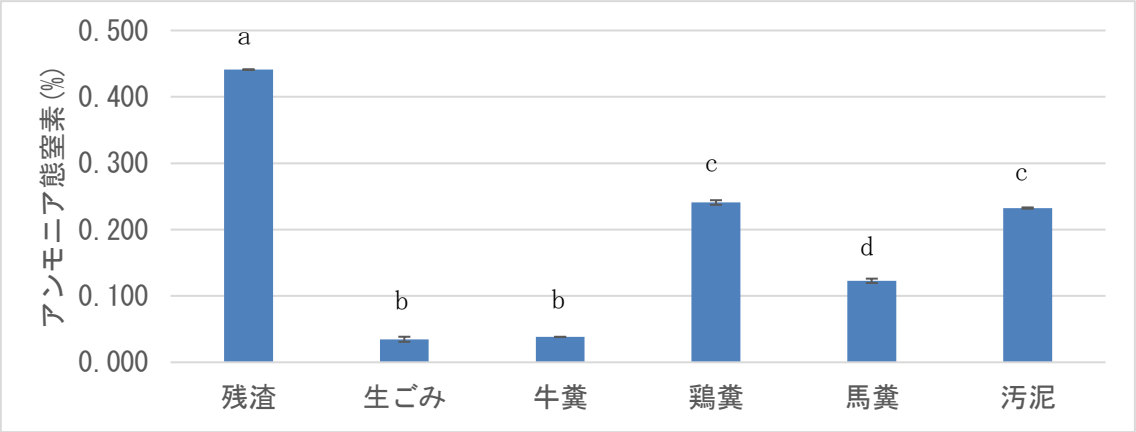
全窒素では、残渣は、生ごみと馬糞、汚泥と比べ有意に高く、鶏糞と比べ有意に低かった。残渣原料である生ごみと比べ約 2 倍全窒素率が有意に高かった(図(4)-8)。アンモニア態窒素では、残渣はいずれの区と比べても有意に高く、市販肥料の中で最もアンモニウム態窒素率の高い鶏糞と比べても、約 2 倍有意に高かった(図(4)-9)。亜硝酸態窒素・硝酸態窒素は牛糞・鶏糞よりも低かったが、その他とは有意差は見られなかった（グラフ省略）。可給態リン酸およびカリウムでも全サンプル中で中程度の水準であった（グラフ省略）。

全窒素測定の結果から、残渣は市販肥料と同等、もしくはそれ以上窒素が含まれていた。また、アンモニア態窒素は特に豊富に含まれており、化成肥料区を除くいずれの区と比べても有意に高い値であった。残渣は肥料の三要素を十分に含み、特に持続性のあるアンモニア態窒素を豊富に含むと示唆された。また、残渣のアンモニア態窒素と硝酸態窒素の比は 8:2 であり、これは化成肥料の 9:1 と類似しているため、化成肥料と同様な使用方法も考えられる(図(4)-10)。

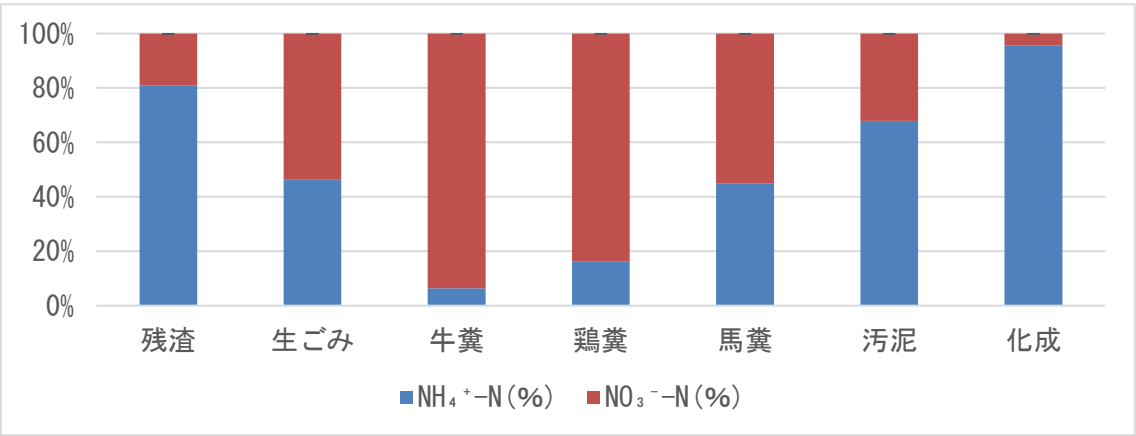


図(4)-8　全窒素

Tukey's test(p<0.05)異文字間で有意差あり(平均値±SE, n=3)



図(4)-9　アンモニア態窒素(%)
Tukey's test(p<0.05)異文字間で有意差あり(平均値±SE,n=3)



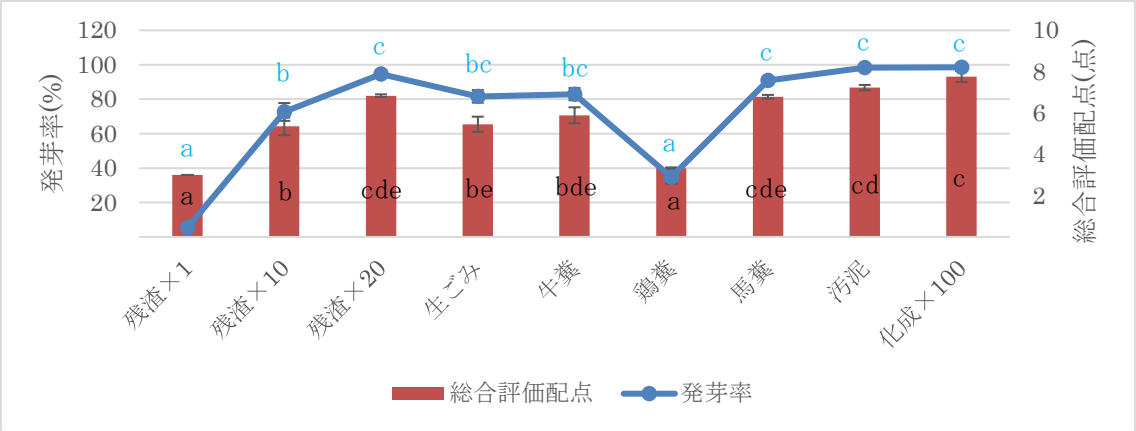
図(4)-10 窒素組成

コマツナ発芽試験

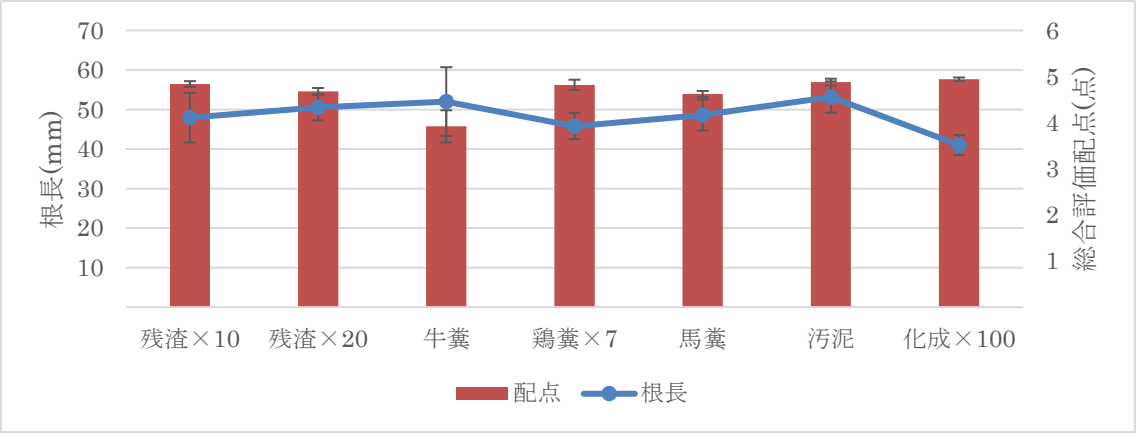
発芽率は、残渣区5.4%、10倍希釈残渣区は72.6%、20倍希釈残渣区は94.6%でありそれぞれ有意差が見られた。また、残渣区は鶏糞を除くいずれの市販肥料区と比べても有意に低く、10倍希釈残渣区は馬糞区、汚泥区、化成肥料区と比べ有意に低かった。一方で、20倍希釈残渣区は鶏糞を除くいずれの市販肥料区とも有意差はみられなかった。総合評価配点も同様な相関関係となった(図(4)-11)。

また、根長、総合評価配点ともに有意差はみられなかったが、目視判定の結果、残渣区において細根が多く確認された。

発芽試験では、残渣区の抽出原液では発芽率が対照区と比べて有意に非常に低い発芽率だったことから、抽出原液では発芽が阻害されていると示唆された。一方で、10倍、20倍希釈抽出液では発芽率が回復していることから、希釈により発芽阻害は抑制されると示唆された。また、残渣区において細根が多く確認されたことから、植物が何らかのストレスを受け水分や養分の吸収のため根を伸ばしたと示唆された(図(4)-12)。以上の結果より、食品廃棄物処理残渣は高濃度において発芽・出芽阻害を引き起こす場合があるため、肥料として利用する際は濃度調整をする必要があると示唆された。そして、低濃度において市販肥料と同程度の発芽・出芽率であることが明らかとなった。



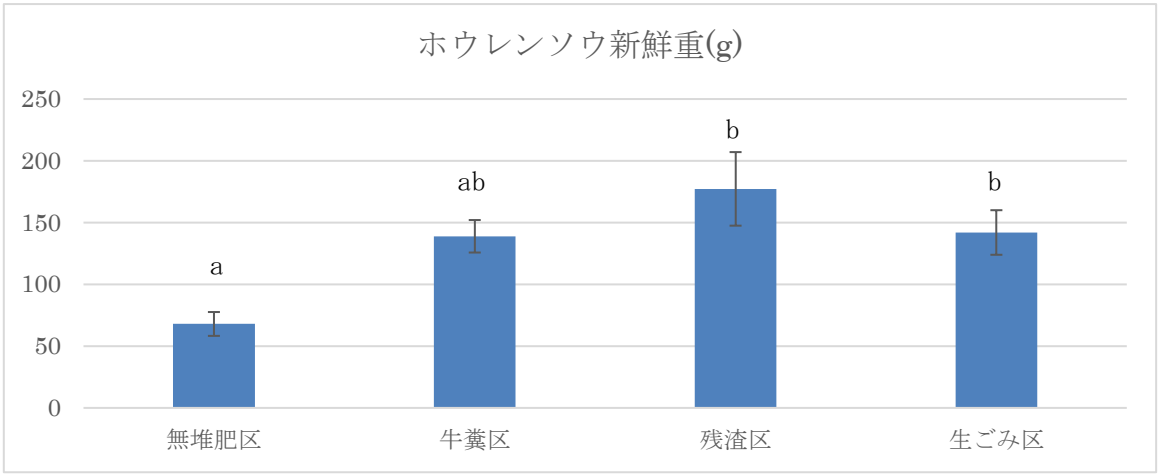
図(4)-11　発芽率と総合評価配点
Tukey's test(p<0.05)異文字間で有意差あり(平均値±SE, n=3)



図(4)-12　根長と総合評価配点
Tukey's test(p<0.05)異文字間で有意差あり(平均値±SE, n=3)

ⅲ食品廃棄物処理残渣によるホウレンソウ栽培試験

ホウレンソウの地上部新鮮重は残渣区が最も高い値を示し、無堆肥区が最も低い値を示した(図(4)-13)。ⅱで示した通り、食品廃棄物処理残渣は生ゴミや牛糞堆肥に比べ、窒素含量が高く、窒素中のアンモニア態窒素の割合も高いため、本試験のように同量を施肥した場合は、食品廃棄物処理残渣は他の堆肥に比べホウレンソウの成長を促進すると考えられる。しかし、堆肥の過剰供給により窒素供給量が過剰となった場合は葉のちじれ等の生育阻害が生じる可能性があるため、10aあたり2tといった適切な施肥量にする必要がある。



図(4)-13　ホウレンソウの新鮮重
Tukey's test(p<0.05)異文字間で有意差あり(平均値±SE,n=9)

⑤採卵鶏へのミズアブ幼虫の給餌試験

ⅰ摂食量、産卵率、飼料効率

鶏舎の温度は24.8±3.4℃であった。群間で飼料摂取量、および産卵率に有意差はなかった(表(4)-5)。また、試験期間中に鶏の死亡は観察されなかった。

表(4)-5 採卵鶏の摂食量や産卵率、飼料効率(n=18)

項目	C	L	P
摂食量 (g/day)	79.8±0.6	77.5±1.3	76.2±4.9
産卵率 (%)	70.3±5.5	70.6±6.3	70.7±3.1
卵重 [c] (g)	48.0±0.3 [a]	49.0±0.7 [a]	51.1±0.3 [b]
飼料効率	2.5±0.1	2.3±0.2	2.2±0.1

C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区. Data: 平均値 ± 標準誤差
[a,b] $p < 0.05$. [c] 35 日目の卵を使用.

ⅱ絨毛高と陰窩深

群間で十二指腸、空腸および回腸の絨毛の高さ、ならびに十二指腸、空腸および回腸の陰窩の深さに有意差はなかった（表(4)-6）。

表(4)-6 小腸絨毛高および陰窩深 (n=10)

項目	C	L	P
絨毛高			
十二指腸	1028.9±51.8	993.2±63.0	893.8±48.4
空腸	604.6±30.7	590.1±23.4	561.2±31.6
回腸	318.4±17.5	351.1±26.0	321.7±17.2
陰窩深			
十二指腸	103.9±3.2	107.0±8.8	98.1±3.1
空腸	63.3±4.1	62.1±2.6	63.5±2.4
回腸	59.9±3.0	66.1±2.3	58.4±4.4

C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区. Data: 平均値 ± 標準誤差

ⅲ卵質

卵重および卵白重はP区が他区に比べ有意に高い値を示した（p<0.05）が、卵黄重量、卵殻重量、卵殻強度およびハウユニットに有意差は見られなかった。 また、C区とL区の間で卵殻厚に有意差は見られなかったが、C区とP区の間で有意差が見られた（p<0.05）。 さらに、卵黄色と卵白高は、C区よりもミ

ズアブ給餌区で有意に高い値を示した（$p<0.05$）。

表(4)-7 飼育 30 日目の卵質（n = 18).

項目	C	L	P
卵重（g)	45.66±1.15 [a]	45.61±0.88 [a]	49.91±0.60 [b]
卵黄重（g)	12.02±0.31	12.03±0.25	12.56±0.24
卵白重（g)	26.79±0.81 [a]	27.10±0.63 [a]	30.04±0.46 [b]
卵殻重（g)	6.86±0.30	6.49±0.29	7.32±0.23
卵殻厚（mm)	0.38±0.02 [ab]	0.37±0.02 [a]	0.43±0.01 [b]
卵殻強度（kgf/cm^2)	3.69±0.33	3.64±0.30	4.44±0.17
卵黄色	5.21±0.30 [a]	6.28±0.22 [b]	5.92±0.36 [ab]
卵白高（mm)	7.16±0.32 [a]	7.64±0.14 [ab]	8.08±0.18 [b]
ハウユニット	88.59±1.94	91.70±0.69	92.66±0.93

C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区. Data: 平均値 ± 標準誤差、 [a,b] $P<0.05$.

ⅳ血漿中のカルシウム、無機リン、マグネシウム濃度

血漿中カルシウム濃度は、L区よりもP区が有意に高い値を示したが、群間で血漿中無機リン濃度およびマグネシウム濃度に有意差はみられなかった（表(4)-8）。

表(4)-8 血漿中カルシウム、無機リン、マグネシウム濃度（mg/dL）(n=18)

項目	C	L	P
カルシウム	23.1±1.7 [ab]	17.6±1.6 [a]	24.6±2.3 [b]
無機リン	2.1±0.1	1.7±0.1	2.3±0.1
マグネシウム	2.7±0.1	1.7±0.1	2.7±0.4

C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区. Data: 平均値 ± 標準誤差、 [a,b] $P<0.05$.

ⅴ盲腸内容物中の短鎖脂肪酸（SCFA）

群間で盲腸内容物中酢酸濃度、プロピオン酸濃度、n-酪酸濃度および総SCFA濃度に有意差はみられなかった（表(4)-9）。

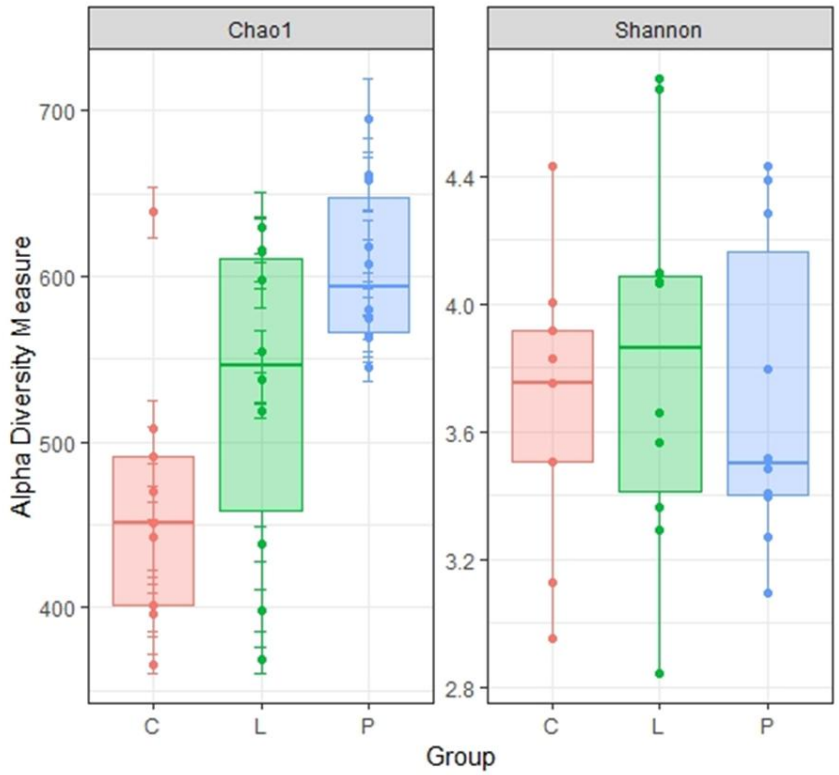
表(4)-9 盲腸内短鎖脂肪酸（SCFA）濃度（μg/L）（n=10).

項目	C	L	P
酢酸	87.4±17.3	110.2±13.0	95.4±11.0
プロピオン酸	41.7±7.7	64.9±9.7	53.1±5.9
酪酸	204.9±83.5	197.5±45.7	276.6±138.7
総 SCFA	334.0±102.5	372.5±61.2	425.1±142.1

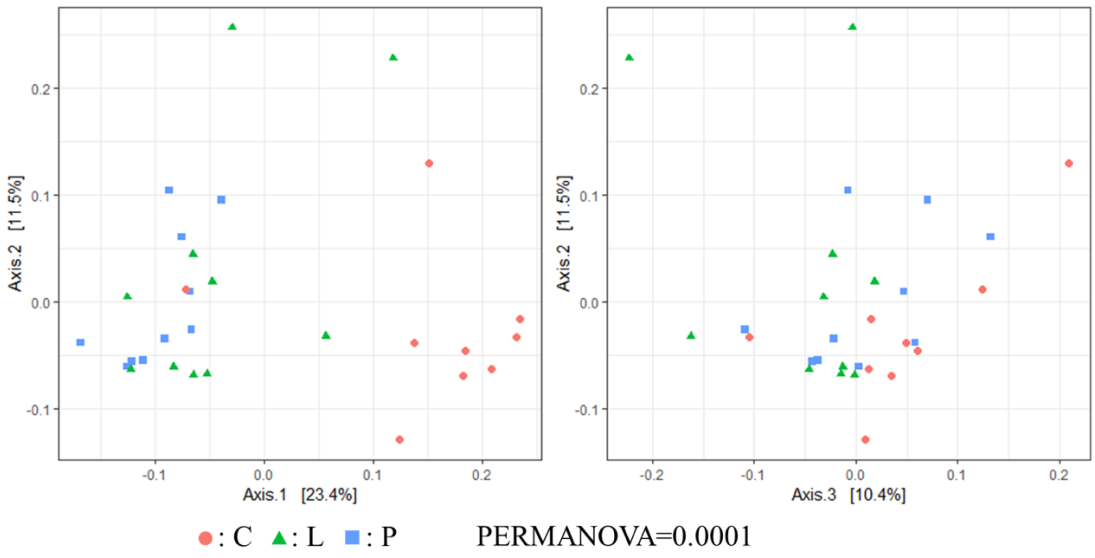
C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区. Data: 平均値 ± 標準誤差.

ⅵ盲腸内細菌叢解析

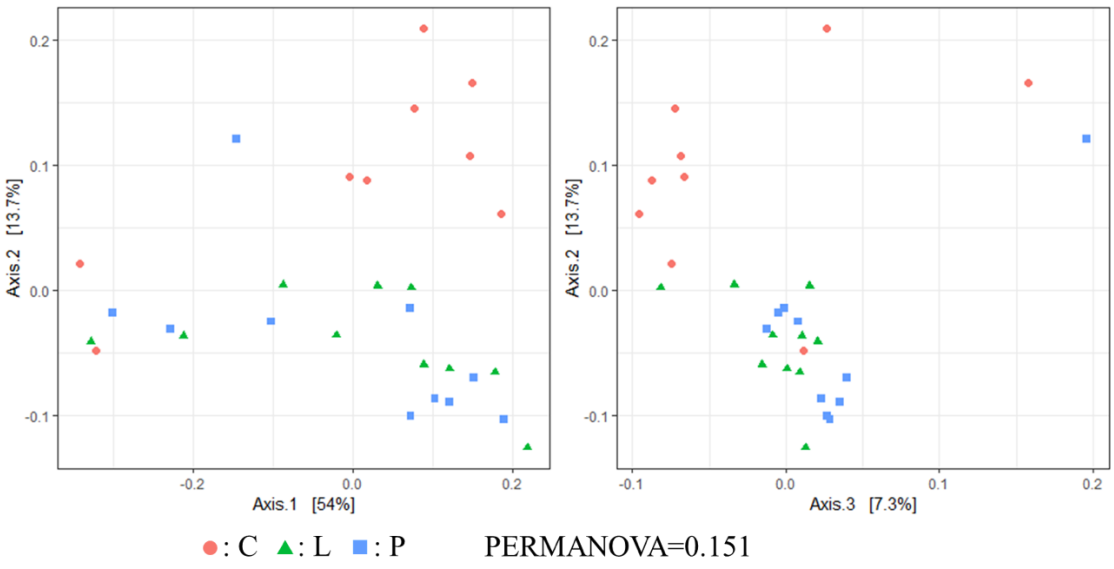
C区の１つのライブラリーを増幅することはできなかったが、合計904のOTUが1,426,724のシーケンス中に検出された。 すべての区におけるα多様性（Chao 1指数：豊富さ、Shannon指数：均等度）を比較したとき、Chao 1指数はC区よりもミズアブ給餌区において有意に高い値を示した（$p<0.05$）が、Shannon指数では区間で有意差は見られなかった（図(4)-14）。β多様性では、unweighted UniFracに関しては、ミズアブ給餌区とC区との間に有意差がみられた(PERMANOVA <0.05、図(4)-15)。しかしながら、weighted UniFracは、区間で有意差が見られなかった（図(4)-16）。また、属レベルで盲腸内細菌の相対量を比較すると、それぞれC区とL区で13種、C区とP区で12種、L区とP区で5種が有意に異なっていた（図(4)-17）。



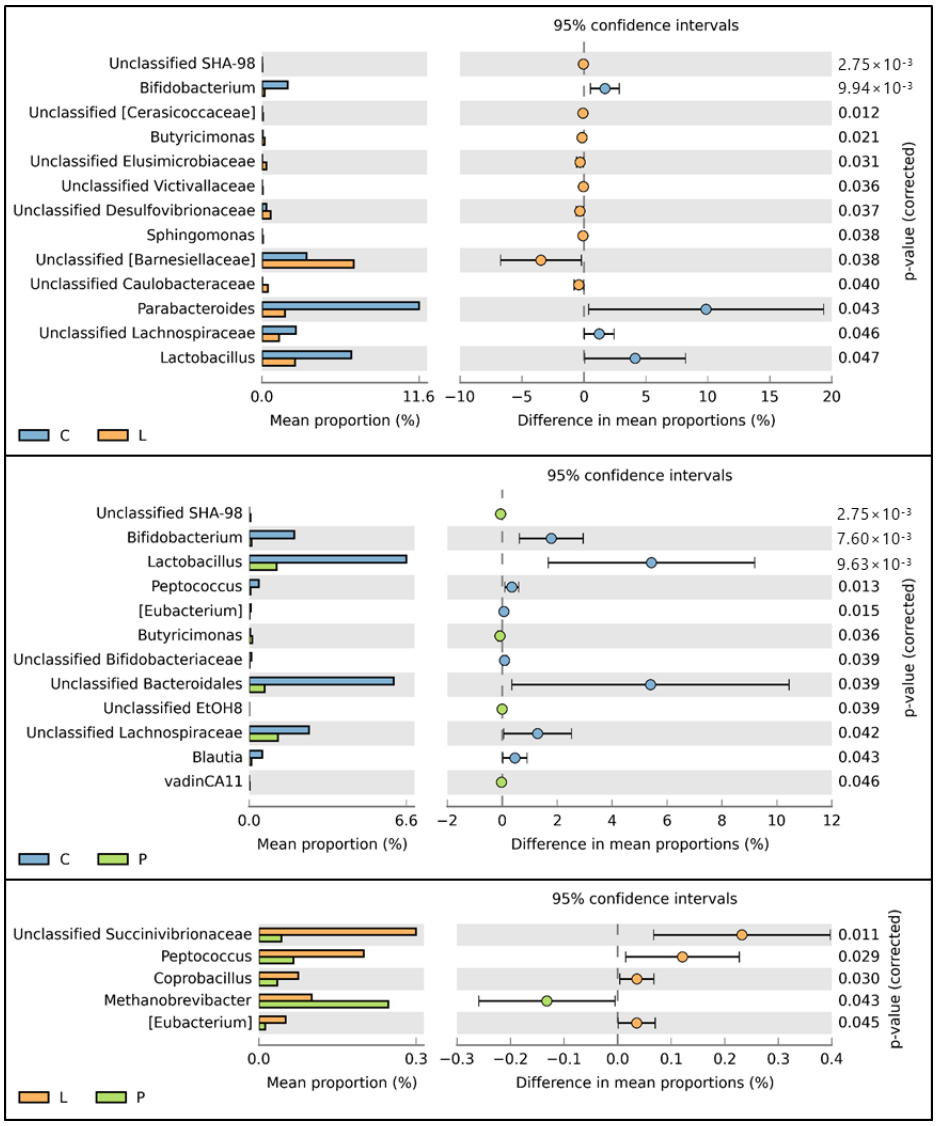
図(4)-14 盲腸内細菌のα多様性(C: n=9; L: n=10; P: n=10). C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区.



図(4)-15 盲腸内細菌のβ多様性の unweighted UniFrac distance principal coordinate analysis (PCoA) プロット図(C: n=9; L: n=10; P: n=10). C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区.



図(4)-16 盲腸内細菌のβ多様性の weighted UniFrac distance principal coordinate analysis (PCoA) プロット図(C: n=9; L: n=10; P: n=10). C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区.



図(4)-17 盲腸内細菌の属レベルでの比較図(C: n=9; L: n=10; P: n=10). C: 対照区; L: ミズアブ幼虫給餌区; P: ミズアブ前蛹給餌区.

本研究では、基礎飼料中の大豆粕（47.4%）および大豆油（100%）をミズアブ幼虫または前蛹に置き換えた。飼育試験により、採卵鶏の摂食量や産卵率、小腸絨毛高や陰窩深に影響はみられなかったため、ミズアブ幼虫および蛹前は飼料原料として大豆粕や大豆油と代替可能であると考えられる。

また、群間で卵殻強度に有意差は見られなかったが、卵殻厚はP区で有意に高い値を示した。この要因として、ミズアブ前蛹給餌区（P区）の高い盲腸内SCFA濃度が、P区の飼料中ミネラルの吸収能の増加に寄与した可能性が考えられる。

産卵鶏の盲腸内細菌叢では、Chao1指数はC区よりP区で有意に高い値を示した。したがって、ミズアブ前蛹が鶏の盲腸内で発酵基質として作用したと考えられる。 β多様性では、鶏群間でweighted UniFracに有意差は見られなかったが、unweighted UniFracは有意差が見られた。特にミズアブ前蛹給餌区（P区）の盲腸内細菌叢において、特定の微生物集団に影響を与えたことが示唆された。

採卵鶏の盲腸内細菌属に関しては､L区およびP区のビフィドバクテリウムおよびラクトバチルスがC区に比べ有意に低い値を示した。上記の細菌属が減少した理由は不明であるが、ラクトバチルスやビフィドバクテリウムは宿主にとって有益な菌として広く知られているため、ミズアブ幼虫および前蛹の給餌により減少したラクトバチルスとビフィドバクテリウムの飼料への添加が必要と考えられる。

以上のことから、生ゴミで育てられたミズアブの幼虫や蛹前は、家禽の飼料の原料として使用できる可能性があるが、飼料原料との代替率の検討に加え、肉や卵の栄養組成や風味への影響を調査する必要がある。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

本研究は、家庭生ごみのような有機廃棄物をミズアブに処理させることで得られる幼虫や前蛹の飼料原料としての利用可能性を示しただけでなく、昆虫生産により発生する温室効果ガス排出量が焼却処理に比べ著しく少ないこと、昆虫生産で排出される処理残渣が堆肥として利用可能であることを示した。様々な人間活動において、持続可能性が考慮されつつある中で、現在、生ごみの多くが焼却処理されている。本研究成果は、持続可能な資源循環系の可能性を示す重要なものといえる。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

ミズアブによる生ゴミ等有機廃棄物の処理に伴う温室効果ガス発生量推定値の活用(環境省)に加え、ミズアブの飼料添加物としての検討および認可（農林水産省）

６．国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

1) K. Kawasaki, Y. Hashimoto, A. Hori, T. Kawasaki, H. Hirayasu, S. Iwase, A. Hashizume, A. Ido, C. Miura, T. Miura, S. Nakamura, T. Seyama, Y. Matsumoto, K. Kasai and Y. Fujitani: Animals 9(3), 98; https://doi.org/10.3390/ani9030098, (2019), Evaluation of Black Soldier Fly (Hermetia illucens) Larvae and Pre-Pupae Raised on Household Organic Waste, as Potential Ingredients for Poultry Feed.

＜その他誌上発表（査読なし）＞

川﨑淨教、片山進亮、松本由樹: 昆虫と自然、53、21-23、(2018)、アメリカミズアブの幼虫を利用した有機廃棄物処理が環境に与える影響

（２）口頭発表（学会等）

※発表済みのもの又は確実に発表する予定のものにとどめること。

1) 川﨑淨教、平康博章、堀晃宏、橋本結花、松本由樹、瀬山智博、吉田弦、笠井浩司、藤谷泰裕:日本畜産学会第122回大会（2017）
「アメリカミズアブ幼虫に処理させた有機性廃棄物残渣中の悪臭性低級脂肪酸濃度」

2) 川﨑淨教、平康博章、和智仲是、堀晃宏、橋本結花、松本由樹、瀬山智博、吉田弦、笠井浩司、藤谷泰裕: 第67回関西畜産学会大阪大会（2017）
「アメリカミズアブ幼虫による有機性廃棄物処理時に発生する二酸化炭素排出量の検討」

3) Y. Hashimoto, K. Kawasaki, H. Hirayasu, A. Hashizume, A. Ido, T. Miura, Y. Fujitani, Y. Matsumoto: 11th Asia Pacific Poultry Conference (2018)
「Effects of Black soldier fly (Hermetia illucens) larvae and pre-pupae as partial to soybean protein and oil in layer diets on egg quality and intestinal villi」

4) T. Kawasaki, K. Kawasaki, H. Hirayasu, Y. Matsumoto, T. Seyama, K. Kasai, Y. Fujitani: 18th Asian Australasian Animal Production Congress (2018)
「The features of the residue generated from household organic waste by Black Soldier Fly, Hermetia illucens, as fertilizer」

5) 川崎稔弥、塩田琢巳、堀晃宏、矢野公伸、川﨑淨教、松本由樹、平康博章、瀬山智博、笠井浩司、藤谷泰裕: 第68回関西畜産学会徳島大会（2018）
「家庭系食品廃棄物のアメリカミズアブ（Hermetia illucens）による処理で生じる残渣の特徴と肥料としての有用性」

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1) 香川大学博物館第21回企画展「動物の世界って、どなんなっとんな？」（実行委員長:松本由樹、2018年7月20日～9月1日、香川大学博物館展示室、観客約1000名）にて研究紹介

（５）マスコミ等への公表・報道等

1) 西日本放送ラジオ、AM1449、さわやかラジオおはようハイタッチ内のコーナー「知識の神様Ｚ」にて研究目的、研究内容、実生活との関連を説明、約20分、2017年4月6日

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

８．引用文献

1) 環境省、温室効果ガス総排出量算定方法ガイドライン ver.1.0、2017 年 3 月
2) AOAC (Association of Official Analytical Chemists) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed.; Horwitz, W., Ed.; AOAC International: Gaithersburg, MA, USA, 2002; ISBN 0-93558-67-6.
3) Cutrignelli, M.I.; Messina, M.; Tulli, F.; Randazzi, B.; Olivotto, I.; Gasco, L.; Loponte, R.; Bovera, F. Evaluation of an insect meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as

soybean substitute: Intestinal morphometry, enzymatic and microbial activity in laying hens. Res. Vet. Sci. 2018, 117, 209-215.
4) Marono, S.; Piccolo, G.; Loponte, R.; Meo, C. Di; Attia, Y.A.; Nizza, A.; Bovera, F. In vitro crude protein digestibility of tenebrio molitor and hermetia illucens insect meals and its correlation with chemical composition traits. Ital. J. Anim. Sci. 2015, 14, 338-343.
5) 中部エコテック株式会社、「エネルギー消費を抑えるために、私たちが出来ること」、（2011年4月15日）、http://www.chueco.co.jp/news/2106.html

III. 英文Abstract

Development of Innovative Resource Recycling System Using the Function of Black Soldier Fly (Hermetia illucens)

Principal Investigator: Yasuhiro FUJITANI
Institution: Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture
442 Shakudo, Habikino-City, Osaka 583-0862, JAPAN
Tel: +81-72-958-6551 / Fax: +81-72-956-9691
Cooperated by: Ehime University, Japan International Research Center for Agricultural Science, Kagawa University

[Abstract]

Key Words: Recycle, Waste Treatment, Food waste, Insect Utilisation, Fish Feed, Poultry Feed, Greenhouse Effect Gas

In Japan, 17 million tons / year of food waste is generated, but the recycling rate remains below 30% due to high moisture content and difficulty in separation. For improving the recycling rate, it is considered effective to develop a new resource recycling system that uses and mimics natural ecosystem mechanisms.

We focused on the digestive ability and material conversion ability possessed by insects, especially black soldier fly (*Hermetia illucens*, BSF). BSF larvae's ability to feed on a very wide range of organic matter can be used to food waste treatment and feed production. However, few researches integratedly examined waste treatment by larvae, feed utilization of larvae, and breeding methods. Therefore, we conducted researches to quantitatively clarify the efficiency of each process and to promote practical application of the insect utilization.

The optimum conditions, such as temperature and rearing density, of food waste treatment by BSF larvae were clarified by using the food waste model developed in this study. After that, the treatment was scaled up to 100 kg food waste in a plant with simple structure. The treatment efficiency of the food waste model and the residue received from the food plant was equivalent to that of the small-scale test.

The larvae and prepupae collected after the food waste treatment were processed to fish feed and poultly feed. Feeding studies with red sea bream (*Pagrus major*) and white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) showed that the larvae can replace fish meal in these feed by 100%. The prepupae showed the strong immunostimulatory activity *in vitro* and *in vivo*. A polysaccharide which is the molecular basis of the immunostimulatory activity were identified. Larvae and prepupae could also be used as substitute for soybeans given to layers without affecting productivity. The economic value of BSF as feed material was estimated from these results.

The method for using the treated residue as fertilizer was clarified by chemical analysis and fertilization test with plant. It was also confirmed that the greenhouse effect gas generated

in the food waste processing by larvae was lower than incineration.

New findings of adult reproductive behavior and nutrient intake tripled the number of eggs laid by females and doubled the number of fertilized eggs. By using the knowledge, improved artificial breeding facilities was set up to supplied larva of the quantity necessary for large food waste treatment.