

イネホールクroppサイレージ調製における付着乳酸菌事前発酵液の改良

齊藤健一・米本貞夫

Improvement on Fermented Juice of Epiphytic Lactic Acid Bacteria Addition in Whole Crop Rice Silage

Ken-ichi SAITOH and Sadao YONEMOTO

要 約

米ぬかとトウモロコシの葉を用いて調製する付着乳酸菌事前発酵液（改良型 FJLB）の有効性を検討するため、乳熟期のクサホナミを用い、地上 10cm 以上部分（水分含量 62.9%）を長さ 2.6cm に細断後、改良型 FJLB を現物重量当り 1% 添加してパウチ法でサイレージ調製を行ない、以下の結果を得た。

1. 米ぬか及びトウモロコシの葉を用いて調製した改良型 FJLB は pH2.91、乳酸 1.32%、酢酸 0.66%、酪酸 0.00%、総酸 1.98% および乳酸菌数は 4.98×10^8 cfu/ml であった。
2. 改良型 FJLB の添加により、飼料イネサイレージの発酵品質が改善された。

緒 言

飼料イネ栽培の定着普及には、高品質なサイレージを安定的に調製することが重要である。これまで蔡ら¹⁾は、飼料イネサイレージの発酵品質を改善する添加剤として、飼料イネ専用の乳酸菌添加剤「畜草 1 号」を実用化している。しかし千葉県内での利用は価格が高い等の理由により、その普及は進んでいない。

一方、平岡ら²⁾は身近な道具を用いて、安価に作製できる手作り乳酸菌添加剤（付着乳酸菌事前培養液：fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria = FJLB）の利用により、飼料イネサイレージの発酵品質を改善できることを実証した。しかし現行の FJLB 調製には、収穫直前のイネをミキサー破碎するなどの煩雑な作業が必要である。そのため広大な面積の飼料イネを数週間にわたって収穫する場合、FJLB を調製する作業には多くの時間が必要であり、労働力に余裕のある農家の利用に限られ、その普及は畜草 1 号と同様に進んでいない。

本研究では、大規模面積の飼料イネ収穫を行なう農家においても導入が可能になる新たな FJLB の調製方法を開発するため、米ぬかとトウモロコシの葉を用いた調製方法について開発検討した。

材料および方法

1. 供試イネおよびサイレージ調製

供試イネは旭市内で飼料用に栽培された乳熟期のクサホナミ（水分含量 69.2%）を用いた。サイレージ調製はパウチ法³⁾により実施した。イネは平成 17 年 9 月 8 日に採取し、地上 10cm 以上部分（水分含量 62.9%）を飼料用マウントカッター（FC13B, スター農機）により長さ 2.6cm に細切し、100g づつストマッカ用積層フィルム袋（飛竜 KN タイプ 180mm × 260mm, 旭化成）に詰込み、バキュームシーラ（SQ202, シャープ）により真空密閉しサイレージ調製を行った。

2. 試験区分

試験区分は、従来型 FJLB を添加する従来型 FJLB 区と、改良型 FJLB を添加する改良型 FJLB 区、および無添加区の 3 区分を設定した。FJLB の添加量は材料草現物重量の 1.0% 量とし、各試験区ともに 3 反復づつ実施し、室内で 49 日間貯蔵後、開封して発酵品質について調査を行った。

3. FJLB の調製方法

従来型 FJLB は大島らの方法⁴⁾に準じて行なった。すなわちサイレージ調製 3 日前の平成 17 年 9 月 5 日に、飼料イネ収穫圃場において乳熟期のクサホナミ（水分含量 71.1%）の地上 20cm 以上部を採取し、水道水 1L に対してイネ 200g の重量割合で混合し、家庭用ジューサーミキサー（TM805, TESCOM）で磨砕し、得られた緑汁液を二重ガーゼでろ過した。その後、ろ液 1L に対して調理用白糖 20g を添加して、

平成 18 年 8 月 31 日受付

常温で3日間嫌気培養し、さらにイネ添加直前に調理用上白糖 20gを加えて従来型 FJLB とした。

それに対して米ぬかとトウモロコシの葉を用いて調製を行なう改良型 FJLB の調製方法は、当センター内で栽培された乳熟期の飼料用トウモロコシ (カネコ 127:KD-777) 地上 150cm 以上の葉部分を、平成 17 年 7 月 12 日に採取し水道水 1L に対してトウモロコシの葉 25g の割合で混合し、ジュサーミキサで摩砕後、緑汁液を二重ガーゼでろ過した。その後このろ液に調理用上白糖 20g を添加して、密閉容器に入れて室温下で3日間培養した。次にこの培養液 6cc を、千葉市内で生産された水分含量 13.2% の生米ぬか 300g に添加し、さらに調理用上白糖 6g と水道水 90cc を加えて良く混合攪拌し密閉容器に入れて室温下で 51 日間貯蔵し、米ぬかの発酵物 (発酵ぼかし) を作製した。そしてサイレージ調製 3 日前に、水道水 1L に対して発酵ぼかし 10g、調理用上白糖 20g、調理用穀物酢 15ml を加えてよく攪拌し、室内で 3 日間培養した。その後さらにイネに添加する直前に上白糖 20g を加えて、改良型 FJLB とした。

4. 調査項目と分析方法

サイレージの発酵品質は、サンプル 70g に蒸留水 250ml を加え、冷蔵庫中で 24 時間浸漬後、2 重ガーゼによりろ過した回収液を用いて行なった。pH 値はガラス電極 pH メータ (IF-20E, 東亜電波工業) により測定し、乳酸および揮発性脂肪酸 (酢酸、プロピオン酸、酪酸) については渡辺ら⁵⁾の方法に準じて、高速液体クロマトグラフ (カラム: 島津 SCR102-H, 7mm × 25mm) による、揮発性脂肪酸 (以下 VFA) と乳酸の同時定量法で行った。その他の項目について品質評価ガイドブック⁶⁾に基づき、揮発性塩基態窒素 (VBN) は水蒸気蒸留法、全窒素量 (TN) はケルダール法でそれぞれ分析し、発酵品質については、酢酸と酪酸含量および VBN/TN によって求める V スコアで評価した。またサイレージおよび試験に用いた飼料イネ材料草中の水分含量は、熱風乾燥法 (70°C, 72 時間) により測定した。

各 FJLB 中の乳酸菌数は、微生物遺伝資源利用マニュアル⁷⁾に従い、滅菌生理食塩水で段階希釈した後、Lactobacilli MRS 寒天培地 (DIFCO Laboratories) を使用して、嫌気ジャー (アネロパック, 三菱ガス化学) にて 37°C で 2 日間培養し、平板培養法により新鮮試料 1ml あたりのコロニー形成数 (cfu, colony forming unit) として計測した。

統計処理は一元配置の分散分析により各処理間の有意差を検討した。

結 果

異なる調製方法で作製した 2 種類の FJLB の pH、有機酸および乳酸菌数を表 1 に示した。各 FJLB とも pH 値は 3.0 以下まで低下し、乳酸含量は改良型で 1.32mg/ml、従来型で 1.77mg/ml の生成量があり、総酸中に占める乳酸割合は改良型で 66.5%、従来型で 95.3% と、従来型に比べて改良型の方が乳酸割合が低かった。一方、酢酸含量は改良型で 0.66mg/ml、従来型で

0.09mg/ml の生成量があり、総酸中に占める酢酸割合は改良型で 33.3%、従来型で 4.7% と、改良型の方が酢酸の生成割合が高かった。またプロピオン酸含量は改良型で 0.004mg/ml、従来型で 0.000mg/ml と、両 FJLB ともほとんど生成されておらず、さらに酪酸については両 FJLB とも検出されなかった。

乳酸菌数は改良型 FJLB 区で、 4.9×10^8 cfu/ml、従来型 FJLB 区で 7.0×10^7 cfu/ml と、改良型 FJLB 区の方が乳酸菌数が多かった。

サイレージの発酵品質を表 2 に示した。水分含量は従来型 FJLB 区が 70.1% と他の区に比べ有意 ($p < 0.05$) に高く、pH 値も同様に有意 ($p < 0.05$) に高かった。VBN/TN は有意な差は認められなかったが、改良型 FJLB 区が 10.7% と他の区に比べ低下傾向を示していた。サイレージ中の乳酸含量は、改良型 FJLB 区が 0.82% と他の区に比べ有意 ($p < 0.05$) に高かったが、逆に酢酸およびプロピオン酸含量では有意 ($p < 0.05$) に低くなっていた。酪酸含量は無添加区で 0.30% と他の区に比べ有意 ($p < 0.05$) に高くなっていた。また総酸含量では無添加区が 1.60% と他の区に比べ有意 ($p < 0.05$) に高く、続いて従来型 FJLB 区が 1.42% と改良型 FJLB 区よりも有意 ($p < 0.05$) に高くなっていた。V スコアでは改良型 FJLB 区が 78 点ともっとも点数が高く、他の区に比べ有意 ($p < 0.05$) に発酵品質が優れていた。また従来型 FJLB 区も 58 点と無添加区の 47 点に比べ有意 ($p < 0.05$) に高くなっていた。

考 察

飼料イネの収穫は一般的に水分含量 65% 以下の黄熟期で行うことで、品質の良いサイレージに調製可能である⁸⁾。しかし大規模面積の飼料イネを収穫するコントラクタ組織などでは収穫作業が長期化することが多く、作業効率を優先するため水分の高いイネを早刈りで収穫する場合や、秋雨期の不良天候時に多少の降雨であっても作業を行うことが想定され、必ずしも飼料イネの水分含量が低下していない場合でも収穫作業が行われる。今回これらの場面を想定して、水分含量 69.2% の乳熟期のイネを用いて試験を行ったが、これまでの報告^{9,10)}と同様に、水分含量の高いイネにおいても従来型 FJLB を添加してサイレージ調製を行うことで、無添加の場合に比べ発酵品質を改善できた。また今回新たに考案した、米ぬかとトウモロコシの葉を用いて調製する改良型 FJLB の添加により V スコアでは 78 点と、試験区の中で最も発酵品質が優れる結果となり、従来型と同等かそれ以上の効果があることが示唆された。これは乳酸含量が 0.82% と他の区に比べ生成量が多かったことから、添加剤の利用により乳酸菌が効率良く乳酸を生成し、その結果酪酸発酵を抑制し高品質なサイレージに調製されたものと推測された。なお、従来型 FJLB は改良型の FJLB よりも V スコアで低くなっていたが、これはサイレージ中の水分含量が高かったことが要因と考えられる。いずれにしても乳熟期で水分含量の高い飼料イネに、作製方法を改良して調製した FJLB を添加しても十分に発酵品質を改善する効果があり、生産現場での利用が可能と考えられた。

試験に用いた改良型 FJLB 中の乳酸菌数は、これまでの報告²⁾と同レベルの 10^8 cfu/ml であり、従来型 FJLB の 10^7 cfu/ml よりも多かった。これはおそらく従来型 FJLB の pH が 2.73 と改良型 FJLB の 2.91 より低かったことが原因と考えられる。すなわち乳酸菌の生息 pH 領域は 3.8 から 4.8 程度¹¹⁾といわれているが、改良型 FJLB に比べ従来型 FJLB の方が大きく生息 pH 領域を下回っていたため、乳酸菌の増殖数が低かったものと推察される。また改良型および従来型 FJLB とともに今回の調製では酪酸の生成は認められなかった。このことは米ぬかとトウモロコシの葉の利用による改良型 FJLB 調製でも、不良発酵の無い良質な添加剤として作成が可能であることを示すものである。なお、今回の発酵ぼかしの貯蔵期間は 51 日間であったが、飼料イネ収穫の 2 ヶ月程度以前で農作業の少ない時期を利用して発酵ぼかしを作成しておくことで、飼料イネ収穫時期に従来型 FJLB のような煩雑な作業を行わずに調製が可能であり、大規模面積の飼料イネ収穫を行なう農家において導入可能な技術と考えられる。

謝 辞

本研究の実施にあたり飼料イネを提供して頂いた中央農業総合研究センターの石川哲也氏、並びに乳酸菌培養法についてご指導を頂いた畜産草地研究所の蔡義民氏に深謝いたします。

引用文献

- 1) 蔡義民・藤田泰仁・村井勝・小川増弘・吉田宣夫・北村享・三浦俊治 (2003) 日本草地学会誌 49 : 477-485
- 2) 平岡啓司・山本泰也・吉村雄志・浦川修司・苅田修一・後藤正和 (2006) 日草誌 52 (1) : 29-32
- 3) 田中治・大桃定洋 (1995) 日草誌 41 (1) : 55-59
- 4) Ohshima, M., L.M. Cao, E. Kimura, Y. Ohshima and H. Yokot (1997) Grassland Science 43 : 56-58
- 5) 渡辺晴生・堀田正樹・高梨 勝・佐藤公明 (1998) 千葉畜セ研報 22 : 49-57
- 6) 自給飼料品質評価研究会編 (2001) 改訂 粗飼料の品質評価ガイドブック、日本草地畜産種子協会、東京
- 7) 独立行政法人農業生物資源研究所編 (2004) 微生物遺伝資源マニュアル (15) : 1-12
- 8) 農業技術研究機構編 (2002) 稲発酵粗飼料生産・給与マニュアル
- 9) 平岡啓司・山本泰也・浦川修司・山田陽稔・苅田修一・後藤正和 (2006) 日草誌 52 (2) : 89-94
- 10) 齊藤健一・米本貞夫 (2005) 千葉畜セ研報 5 : 59-63
- 11) 須藤浩 (1971) : サイレージと乾草 養賢堂 東京

表1 試験に用いた FJLB 中の特性

処理区	pH	乳酸	酢酸	プロピオン酸	酪酸	総酸	乳酸菌数 (cfu/ml)
		(mg/ml)					
改良型 FJLB 区	2.91	1.32 (66.5)	0.66 (33.3)	0.004 (0.2)	0.00 (0.0)	1.98	4.9×10^8
従来型 FJLB 区	2.73	1.77 (95.3)	0.09 (4.7)	0.000 (0.0)	0.00 (0.0)	1.85	7.0×10^7

* () 内は、総酸に対する各酸の割合 (%) を示す。

表2 FJLB の添加が飼料イネサイレージの発酵品質に及ぼす影響

処理区分	水分 (%)	pH	VBN/T-N (%)	有機酸総量 (新鮮物中%)				V スコア (点)	
				乳酸	酪酸	プロピオン酸	酢酸		
無添加区	63.8 ^b	4.5 ^b	13.8	0.55 ^b	0.73 ^a	0.02 ^b	0.03 ^a	1.60 ^a	47 ^c
改良型 FJLB 区	67.7 ^b	4.6 ^b	10.7	0.82 ^a	0.30 ^c	0.01 ^c	0.10 ^b	1.23 ^c	78 ^a
従来型 FJLB 区	70.1 ^a	4.7 ^a	13.4	0.64 ^b	0.55 ^b	0.04 ^a	0.18 ^b	1.42 ^b	58 ^b

* 縦列異符号間に 5% 水準で有意差あり