

生米ぬかを用いた乳酸菌培養液の調製法と 飼料イネサイレージへの添加効果

齊藤健一・細谷 肇

Preparation of Lactic Acid Bacteria Culture Solution with Rice Bran and Effect of Addition to Rice Silage

Ken-ichi Saito and Hajime Hosoya

要 約

飼料イネサイレージの発酵品質改善を目的に、飼料イネに乳酸菌培養液として米ぬかと上白糖を用いて調製した米ぬかFJLB（付着乳酸菌事前発酵液）を添加する区、トウモロコシ葉と米ぬかおよび上白糖を用いて調製を行った改良型FJLBを添加する区、市販の乳酸菌添加剤「畜草1号」を添加する区、および対照として無添加区を設け、約1,800cm³の小型サイロにより2~13ヵ月間貯蔵し発酵品質を調査した。

かび廃棄率およびpHは、5ヵ月貯蔵では無添加区に比べ添加剤を用いた各区が低く推移し、特に米ぬかFJLBは9ヵ月貯蔵までのかびによる廃棄率が10%以下と、他の区より低かった。乳酸含量は、無添加区に比べ乳酸菌培養液添加の各区が5ヵ月貯蔵までは高く推移したが、9ヵ月貯蔵では無添加区の方が高くなった。酪酸含量は、培養液添加区が無添加区と比べ同程度もしくは低くなる傾向にあった。VBN/TNは、貯蔵期間が長くなるに従い各区とも高くなる傾向にあったが、9ヵ月貯蔵まではいずれも10%以下にとどまった。Vスコアは、培養液添加の各区が9ヵ月貯蔵までは80点を超える良評価となった。

これらの結果から、高温になる夏場前までの9ヵ月間程度の貯蔵期間であれば、作業手順を簡略化した米ぬかFJLBは、先に考案した改良型FJLBと遜色のない添加効果があるものと考えられた。

緒 言

飼料増産のひとつとして稲発酵粗飼料（以下では飼料イネサイレージ）の生産が推進され、稲作農家が栽培管理した飼料イネをコントラクター等の組織もしくは稲作農家自らがホールクロップサイレージとして収穫調製し、製品として畜産農家側に供給するようになった。この形態を安定的に維持し発展させるためには高品質なサイレージ調製が必要である。しかし、材料草であるイネは飼料用トウモロコシに比べて野生の付着乳酸菌数が少なく¹⁾、また糖含量も少ないため²⁾良質な乳酸発酵が得られにくい。

飼料イネのロールバールサイレージ収穫調製体系は、牧草用収穫機による予乾体系と、飼料イネ専用収穫機に

よるダイレクト収穫体系に大別される。前者は予乾により材料草の水分含量が低下することで乳酸菌の活動が抑制されるためサイレージ発酵が不十分となるが、劣質発酵や腐敗の原因になる微生物も増殖が抑制されるため問題の少ない品質が望める。一方ダイレクト収穫体系は収穫時期など適切な条件下では発酵に適した水分含量となるため、乳酸発酵を活発にすることが可能である。そのため、専用収穫機の開発・改良による梱包密度の向上や材料草の細断・破碎などの工夫による乳酸発酵促進の技術開発が進められ、その有効性が明らかになってきた³⁾。また付着する野生乳酸菌数が少ない不利を補う方法として飼料イネ専用の乳酸菌製剤が開発されている⁴⁾。一方、自家製造可能な乳酸菌培養液としてFJLB (fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria: 付着乳酸菌事前発酵液) が試みられ、これまでにアルファルファを対象に大島ら⁵⁾、飼料イネを対象に平岡ら⁶⁾が報告しているが、これらは調製の規模が小さいことと工程の煩雑さの点から、栽培面積の拡大が進んでいる実際の生産現場での適

平成26年 8月31日受付

用が難しいものと考えられる。これらの手法を「従来型FJLB」と位置づけた筆者ら^{7,8)}は、米ぬかを乳酸菌の培地とする「改良型FJLB」技術を開発し生産現地での普及を図ったが、培養が長期にわたる欠点があった。一方、生米ぬか自体にも野生の乳酸菌が付着しており⁹⁾、さらに米ぬかは入手しやすく形状も粉末状で取り扱いやすいことから、この生米ぬかに付着している乳酸菌をそのままFJLB培養に使用すれば、これまでよりもさらに簡略化したFJLBの調製が可能と考え、新たなFJLB調製技術の開発を試みた。

材料および方法

1. 改良型FJLBの調製

材料草は当センター圃場内(千葉県八街市)で栽培の飼料用トウモロコシ(カネコKD777)の葉を用いて、まず従来型FJLBの調製を行った。2007年7月10日出穂前のトウモロコシ(同年5月8日播種)の上位葉(最上位展開の第9あるいは第10葉、着葉高約150cm)を約100g採取し、2~3cm長に細断・混合した。このトウモロコシの葉25gを水1,100mlとともに家庭用刃付きミキサに入れて破碎後二重ガーゼでろ過した。このろ液(緑汁)100mlと砂糖(上白糖)2gを2L容ビーカーに移して攪拌を行いながらビーカーすりきりまで水道水で満たした。ビーカー上面はラップフィルムで覆って密封し、室温で静置・培養して従来型FJLBとした。

同年7月14日に4日間培養の従来型FJLB40mlと、生米ぬか2kg、砂糖40g、水600mlを清浄な状態でよく混合し、手の圧で空気を追い出しながらポリエチレン製袋(350×500mm、厚0.05mm)に密封した(この作製量は、約70a相当の収穫に使用できる量である)。その後、室内暗所にて2ヵ月半の間常温保存し、これを「発酵ほかし」とした。

同年10月1日に表1の通り、発酵ほかし30gと砂糖60g、さらに水3Lを3L容ビーカーに入れ、良く攪拌後ラップフィルムを上にかけて密封し、室内常温で4日間静置・培養して、この培養液を改良型FJLBとした。

2. 乳酸菌製剤・米ぬかFJLBの培養液の作製

2007年10月1日に乳酸菌製剤と米ぬかFJLBの調製を行った。表1に示した通り、市販の畜草1号製剤3gと砂糖60g、水3Lを3L容ビーカーに入れ攪拌後ラップフィルムを上にかけて密封し、室内常温で3日間静置・培養して、これを畜草1号培養液とした。同様に、3L容ビーカーに生米ぬか60gと砂糖60g、さらに水3Lを加えて良く攪拌後ラップフィルムをかけて室内常温で4日間培養し、これを米ぬかFJLBとした。なお本試験では、生米ぬかの野生乳酸菌付着量を測定しておらず不明であったため米ぬか使用量を多めに

し、原物重量で改良型FJLBの発酵ほかしの倍量とした。

表1 乳酸菌培養の材料

区分	培養乳酸菌	砂糖 (上白糖)	水 (水道水)
畜草1号	乳酸菌製剤 3g	60g	3L
改良型FJLB	発酵ほかし 30g	60g	3L
米ぬかFJLB	生米ぬか 60g	60g	3L

3. 小規模サイロによる各乳酸菌培養液の添加試験

各培養液培養4日後の2007年10月5日に、千葉県東金市で栽培し黄熟期に達した飼料イネ専用品種「はまさり」(水分58.6%)を地際からの刈り高5cmで採取し、全草を3~5cmに細切後試験に供した。飼料イネ、砂糖および各培養液を表2の割合で添加混合し、ポリエチレン製袋(260×380mm、厚0.03mm)に詰込み、家庭用電気掃除機により脱気して輪ゴムを用いて開口部を留め小規模サイロ(脱気後の容量は平均で約1,800cm³)とした。なお各培養液を添加した各区について、それぞれ畜草1号区、改良型FJLB区、米ぬかFJLB区とし、対照として飼料イネのみを詰込む無添加区を設定した。

サイロの開封は、調製2ヵ月後(2007年12月11日)、5ヵ月後(2008年3月26日)、9ヵ月後(同年7月15日)、13ヵ月後(同年11月10日)に各処理区とも1反復で実施した。いずれの期間も、空調設備のない屋内にて常温保管とした。

表2 小規模サイロによる乳酸菌添加試験の材料

処理区分	材料草(原物)	培養液添加	砂糖(上白糖)
無添加	500g	-	-
畜草1号	500g	5ml	-
改良型FJLB	500g	5ml	0.1g
米ぬかFJLB	500g	5ml	0.1g

4. 調査項目と分析方法

サイレージの発酵品質は、粗飼料の品質評価ガイドブック¹⁰⁾に基づき、新鮮物抽出液を用いて、pH値はガラス電極pHメータ(東亜電波工業社製1F-20E)により測定した。抽出液の有機酸分析は高速液体クロマトグラフ(カラム:島津SCR102-H 7mm×25mm)によるポストカラムpH緩衝化電気伝導度検出法により、揮発性脂肪酸(VFA)と乳酸の同時定量法を行った¹¹⁾。

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た¹⁰⁾。またこれらの分析値からサイレージの評価基準であるVスコア¹⁰⁾を求めたほか、目視により確認されたかびなど好気性微生物の菌糸などの発生部位は手作業で分

離して廃棄部分とし、正味原物重量に対する廃棄率を算出した。

結果および考察

1. 従来型FJLBの培養結果

培養中のpHの推移を表3に示した。培養開始後pHは順調に低下し、培養3日間でpH4.78まで低下した。これはトウモロコシ葉に付着していた乳酸菌が培養液中に増殖し、糖を利用して乳酸を生成したことによるものと推測された。本試験ではトウモロコシの上位葉を用いて調製を行ったが、乳酸菌数は茎葉部より花穂部の方が多いとされており¹⁾、花穂部に近い上位葉の方が下位葉に比べて乳酸菌が多いものと考えられ、またトウモロコシ下位葉は上位葉に比べ土壌などの付着物が多い可能性が高く、この土壌などの付着物中にはサイレージ発酵に好ましくない酪酸菌等が多く生息していることから¹²⁾、FJLBの培養には土壌などの付着が少なく乳酸菌数が多いと考えられる上位葉を用いた方が、調製には有利と考えられる。

表3 従来型FJLBによる培養期間とpHの推移

区分	0日間	3日間	4日間	7日間	13日間	20日間
従来型FJLB	7.30	4.78	4.71	4.46	4.8	5.17

2. 乳酸菌製剤・改良型FJLB・米ぬかFJLBの培養結果

表1の材料を用いて調製した各培養液のpH推移を表4に示した。米ぬかFJLB区は培養3日目でpH3.21まで低下し、区中最もpHが低下していた。このことから米ぬかFJLBは改良型FJLB区および畜草1号区と比較して遜色ない乳酸菌の増殖が得られ、乳酸生成が順調に行われたものと推測された。

表4 乳酸菌製剤・改良型FJLB・米ぬかFJLBによる培養期間とpHの推移

区分	0日間	1日間	2日間	3日間	4日間	8日間	10日間	14日間
畜草1号	6.88	5.28	4.59	4.07	3.82	3.49	3.43	3.31
改良型FJLB	6.53	5.46	3.64	3.25	3.09	2.93	2.93	2.90
米ぬかFJLB	6.67	6.50	3.90	3.21	3.08	2.96	2.99	2.99

小規模サイロ密閉後2ヵ月から13ヵ月にわたり4回の開封を行い発酵品質について調査を行った。その結果、5ヵ月貯蔵までは培養液を添加した3区とも、かび発生量が少なく廃棄率は5%以下であり、無添加区の40%以上に比べて少なかった。しかし9ヵ月貯蔵以降では結果にばらつきがあったものの廃棄量が増加し始め、夏を越えた13ヵ月貯蔵では全区とも腐敗状態となり、20~70%の廃棄率となった(図1)。これは気温の上昇と、酸素を透過するポリエチレン素材の影響と考えられる。米ぬかFJLB区の廃棄率は9ヵ月貯蔵ま

FJLBの調製期間に関して平岡らは、3日間程度の培養時間がかかるとしており、それ以降、乳酸菌添加剤としての効果は経時的に低下したと報告している¹³⁾。また、乳酸菌の増殖に適するpH領域は3.8から4.8程度とされており¹⁴⁾、本培養結果でも培養3日間でpH値が3.3以下まで急激に低下していたのに対し、4日目を以降のpH値の低下が緩やかだったことから、乳酸菌が十分に増殖したと推定される培養3日目の培養液を添加に用いるのが適当と考えられる。実際の添加現場では、適正な調製が行われたことを確認するためにも培養液中のpH値の確認を行い、4.0程度まで低下していることを確認する事が重要と考えられる。

なお本試験で用いた米ぬかは新鮮なものを使用し培養容器など使用器具についても事前に洗浄した清潔なものを使用したが、実際の生産現場でも衛生上の注意を払いながら調製を行う必要がある。また培養期間中に酵母など乳酸菌以外の微生物が生産したと思われる固形物が培養液の表面に浮遊しているのが確認されたが、これはかび発生の栄養源となるので1日に1回程度は、培養液の状態を確認するとともに固形物はすくい取り、除去する等の管理が必要である。なお、培養液中への固形物の混入は収穫機に装備された添加剤溶液噴霧装置の目詰まりを招くことから、二重ガーゼ等でろ過したものを使用する等の注意が必要と考えられる。

3. 小規模サイロによる各乳酸菌培養液の添加結果

前出の表2に従って作製したポリエチレン袋製小規模サイロの梱包密度は、平均で109.6kg乾物/m³であった。これはコンバイン型飼料イネ専用収穫機(切断長の長い従来型機)と同程度の低い水準で、良質なサイレージ発酵に必要なとされている梱包密度の150kg/m³以上に比べ低く¹⁵⁾、乳酸発酵には比較的不利な条件となっていた。

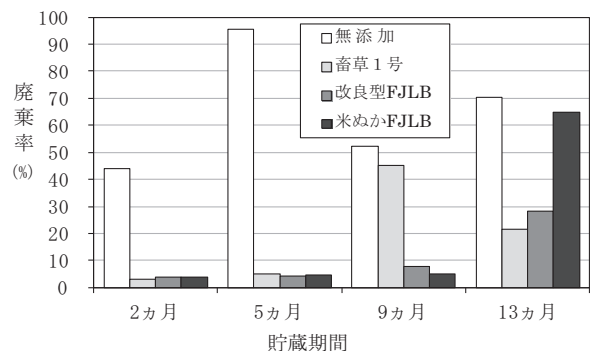


図1 かび発生による廃棄率(原物)の推移

では比較的低水準で推移し、少なくとも他2区の培養液添加技術と同等のかび抑制効果が期待できるものと考えられた。

VBN/TNの推移(図2)は、全区とも9ヵ月貯蔵までは10%以下で適切な数値であったが、腐敗の進んだ13ヵ月貯蔵ではいずれも20%前後で不良評価の水準に達し、また、処理区間による明確な差異が認められなかった。

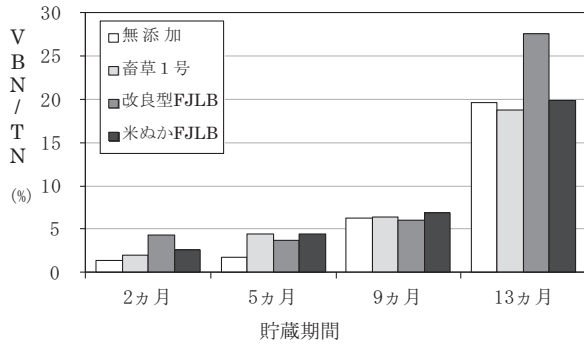


図2 VBN/TNの推移

pHの推移(図3)は、5ヵ月貯蔵までは培養液を添加した各区が無添加区に比べ低下傾向にあったが、9ヵ月貯蔵では無添加区も遅れて発酵が進行したため差異がなくなり、13ヵ月貯蔵では腐敗に伴い各区とも値が上昇した。

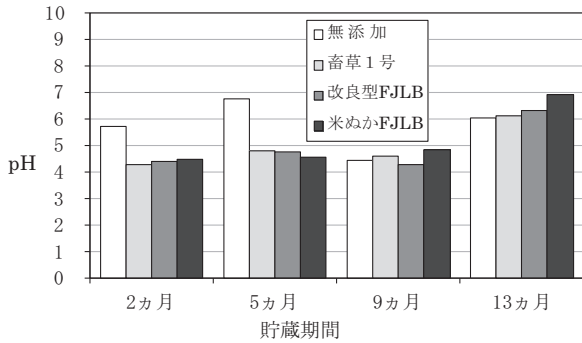


図3 pHの推移

乳酸含量の推移(図4)は、5ヵ月貯蔵までは培養液添加各区の方が無添加区に比べ高く推移したが、9ヵ月貯蔵では無添加区の乳酸含量が最も高くなっていった。また畜草1号および改良型FJLBを添加した区は9ヵ月貯蔵までは乳酸含量が増加していたが、米ぬかFJLB区では逆に減少する結果となった。さらに13ヵ月貯蔵では各区とも腐敗に伴い乳酸の消失が進む結果となった。

一方、酪酸含量の推移(図5)は培養液添加の3区については9ヵ月貯蔵まで低く抑制されており、培養液添加による乳酸発酵の早期促進が効果を示したものと推察された。ただし、13ヵ月貯蔵では腐敗の影響により酪酸含量が各区とも増加する結果となったが、米

ぬかFJLB区の酪酸含量は他の区に比べ低い傾向にあった。

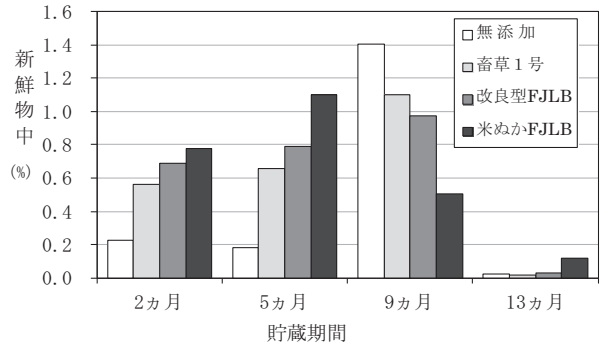


図4 乳酸含量の推移

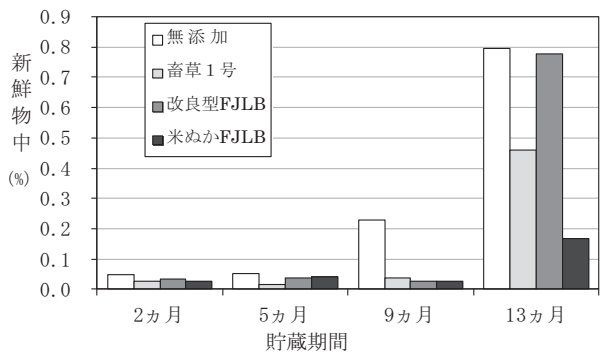


図5 n-酪酸含量の推移

Vスコアの推移(図6)は、無添加区の5ヵ月貯蔵までは良評価を示す80点を示したが、9ヵ月貯蔵では80点以下に低下した。それに対し、培養液添加の3区は9ヵ月貯蔵までは良評価である80点以上を維持した。13ヵ月貯蔵になると、各区とも腐敗の影響により大幅に点数が下がり、概ね10点程度まで低下したが、比較的酪酸含量の低かった米ぬかFJLB区は32点であった。

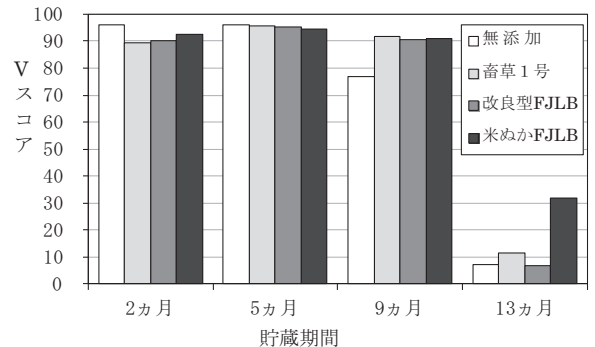


図6 Vスコアの推移

以上の結果から、米ぬかFJLBは乳酸菌培養技術およびサイレージ発酵品質改善技術として有効と考えられた。なお本試験は簡易サイロで梱包密度が低かったためサイレージ調製翌年の夏を越える13ヵ月貯蔵で腐敗を招いたが、長期貯蔵での効果については、梱包密

度を高めた場合の効果等さらに検証が必要である。

4. 経済性の試算

新たに考案した米ぬかFJLBは、生米ぬか・糖類・水・培養する容器（フタ付）・木綿袋等の身近にある材料を用いて作製することができ、また低コストで作製可能である。添加剤の材料の直接経費は市販乳酸菌製剤ではその販売価格から収穫面積1ha当たり18,400円と試算される。それに対し米ぬかFJLBは、仮に生米ぬかを近隣の精米所等から無償で入手できるとした場合、培養に必要な材料は上白糖のみとなるが、この価格を200円/kgとすると1ha当たり800円、添加直前に乳酸菌の活性化のためにさらに同量の上白糖を加えたとしても1ha当たり1,600円程度で、乳酸菌製剤の10分の1以下のコストで調製可能と試算される。

ここまでFJLBを用いたサイレージ調製について検討を行ったが、本技術はあくまでも乳酸発酵の初期段階での発酵を促す一技術である。良質な飼料イネサイレージの生産には、土砂の混入防止や材料草の適度な水分含量、適切なロール梱包密度やラップフィルムによる外気から遮断などの基本技術の上に成り立つものであり、これらのサイレージ調製の基本事項を必ず励行することが重要である。

引用文献

- 1) 蔡 義民・大桃定洋・熊井清雄 (1994)、飼料作物・牧草に付着する乳酸菌の分布とその乳酸発酵特性、日草誌39 (4):420-428
- 2) 蔡 義民 (2003)、乳酸菌「畜草1号」を活用した稲発酵粗飼料の調製技術、Grass vol.16、全国農業協同組合連合会:40-42
- 3) 細谷 肇・鈴木一好・山田真希夫 (2011)、汎用型飼料収穫機で調製した飼料イネ及びコムギサイレージの発酵品質と長期貯蔵性、千葉畜セ研報11:67-71
- 4) 蔡 義民・藤田泰仁・除 春城・吉田宣夫・小川増弘 (2002)、乳酸菌畜草1号による飼料イネロールベールサイレージの調製、日草誌48 (別):190-191
- 5) Ohshima, M., L. Cao, E. Kimura, Y. Ohshima and H. Yokota (1997), Influence of Addition Previously Fermented Juice to Alfalfa Ensiled at Different Moisture Contents. J.Japan.Grassl.Sci.43:56-58
- 6) 平岡啓司・山本泰也・浦川修司・水谷将也・山田陽稔・乾 清人・荻田修一・後藤正和 (2003)、付着乳酸菌事前培養液の添加がイネ (*Oryza sativa* L.) ホールクロップサイレージの発酵品質と飼料特性に及ぼす影響、日草誌49 (5):460-464
- 7) 齊藤健一・米本貞夫 (2006)、イネホールクロップサイレージ調製における付着乳酸菌事前発酵液の改良、千葉畜セ研報6:55-57
- 8) 齊藤健一 (2006)、飼料イネサイレージの発酵品質と保存性の改善、平成17年度試験研究成果発表会資料 酪農・肉牛部門:40-45
- 9) 山本幸夫・小平律子・下坂 誠・岡崎光雄 (2001)、米ぬかより分離した乳酸菌が生産するバクテリオシンについて、日本生物工学会大会、講演要旨集:304
- 10) 自給飼料利用研究会編 (2009)、サイレージの分析法、三訂版粗飼料の品質評価ガイドブック、社団法人日本草地畜産種子協会:64-78
- 11) 渡邊晴生・堀田正樹・高梨 勝・佐藤公明 (1998)、外来雑草の混入がトウモロコシサイレージの発酵品質に及ぼす影響、千葉畜セ研報22:49-57
- 12) 蔡 義民 (2012)、サイレージに関与する微生物、最新サイレージバイブル (安宅一夫監修)、酪農学園大学エクステンションセンター:35-44
- 13) 平岡啓司・山本泰也・吉村雄志・浦川修司・荻田修一・後藤正和 (2006)、イネホールクロップサイレージ調製における付着乳酸菌事前発酵液添加の実用性、日草誌52 (1):29-32
- 14) 須藤 浩 (1971)、IIサイレージの上手なつくり方、サイレージと乾草、養賢堂:8-61
- 15) 日本草地畜産種子協会編 (2012)、収穫・調製・輸送、稲発酵粗飼料生産・給与マニュアル平成23年度版、社団法人日本草地畜産種子協会:52-77