

国産資源のウシ飼料への循環型
利活用に関する研究

岩手大学大学院連合農学科
生物資源科学専攻

二井博美

目次

第1章 緒言

1-1. はじめに	1
1-2. 牛の消化生理特異性	3
1-3. 飼料自給率向上のための稲利用の現状と問題点	4
1-4. 稲の副産物の利活用と問題点	6
1-5. 食品残さの利活用の推進と問題点	8
1-6. 本研究の目的	10

第2章 非加熱粉碎法である衝撃波処理による食用玄米の第1胃分解特性の検討

2-1. はじめに	11
2-2. 供試材料	12
2-3. 試験方法	15
2-4. 結果	17
2-5. 考察	24
2-6. まとめ	26

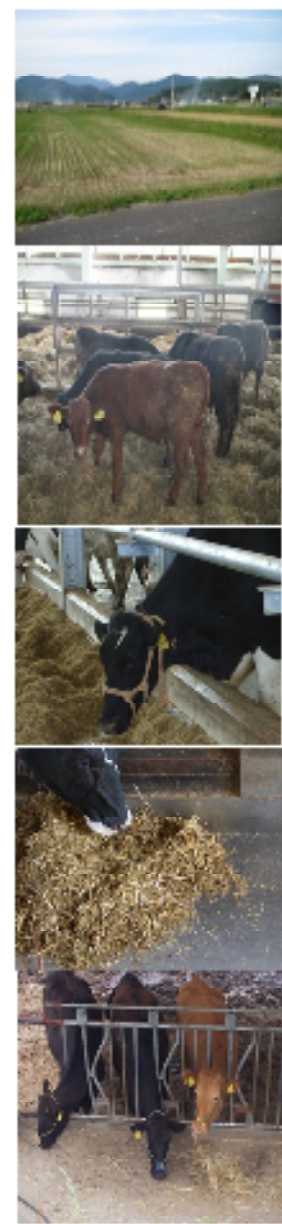
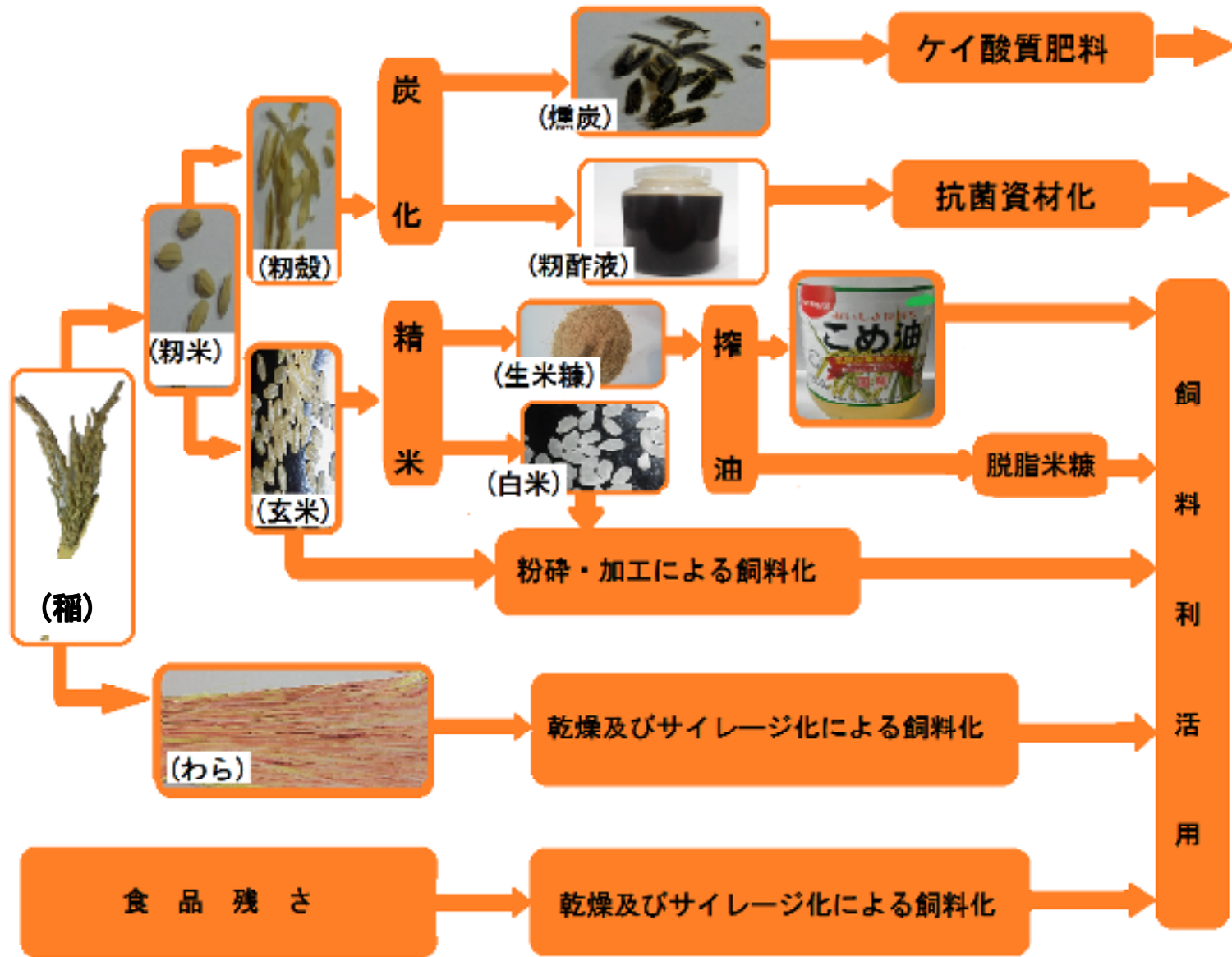
第3章 粃酢液の環境・飼料への抗菌性の検討

3-1. はじめに	27
3-2. 畜産環境への抗菌性 I	
3-2-1. 供試材料	27
3-2-2. 試験方法	28
3-2-3. 測定と分析	28
3-2-4. 結果	29
3-3. TMR 飼料への抗菌性	
3-3-1. 供試材料	31
3-3-2. 試験方法	34
3-3-3. 測定および分析	34
3-3-4. 結果	36
3-4. 畜産環境への抗菌性 II	
3-4-1 供試材料	38
3-4-2. 試験方法	38

3-4-3. 測定および分析	38
3-4-4. 結果	39
3-5. 考察	41
3-6. まとめ	44
第4章 食品残さの第1胃内分解特性の検討	
4-1. はじめに	45
4-2. 食品残さの第1胃内分解特性	
4-2-1. 供試材料	47
4-2-2. 試験方法	47
4-2-3. 測定および分析	48
4-2-4. 結果	48
4-3. 発酵 TMR の発酵前と発酵後の第1胃内分解特性	
4-3-1. 供試材料	51
4-3-2. 試験方法	53
4-3-3. 測定および分析	53
4-3-4. 結果	53
4-4. 考察	56
4-6. まとめ	59
第5章 新規食品残さのアミノ酸ケーキの繊維分解性の検討	
5-1. はじめに	61
5-2. アミノ酸ケーキによる NDF 分解性	62
5-2-1. 供試材料	62
5-2-2. 試験方法	64
5-2-3. 測定および分析	65
5-2-4. 結果	68
5-3. アミノ酸ケーキの NDF 分解性と細菌数の検討	
5-3-1. 供試材料	73
5-3-2. 試験方法	73
5-3-2. 測定および分析	73
5-3-3. 結果	74
5-4. 考察	80

5-5. まとめ	81
第6章 総合考察	
6-1. 本研究の総括	82
6-2. 国産資源 100%利用でのコスト試算	83
6-3. 今後の課題	86
参考文献	88
謝辞	98

本研究の目的とするフローチャート



第1章 緒言

1-1. はじめに

我が国の飼料自給率は、農林水産省の統計によると昭和40年には55%であったが、昭和50年には34%、昭和60年には28%となり、平成24年度は26%となっている[1]。

飼料自給率が低下した要因としては、粗飼料自給率と濃厚飼料自給率が共に低下したことである。粗飼料自給率は、昭和60年には92%であったが平成24年度には77%まで下がっている。また濃厚飼料自給率では、昭和40年は31%であったが昭和50年には17%、平成24年度は12%まで低下している（図1-1）[1]。この現状から農林水産省は、平成32年には飼料自給率を38%にするという目標を掲げている。

飼料自給率を向上させるための対策として、農林水産省は飼料作物作付面積を93万haから105万haに拡大すること、稲ホールクロップサイレージ、乾草、稲ワラ利用を増加させることで現在77%である粗飼料自給率を100%にすることを目標としている。すなわち輸入されている粗飼料（乾草、サイレージ、稲わら）の23%分をすべて国内生産とするとしている。濃厚飼料（配合飼料原料を含む）は、現在12%である濃厚飼料自給率を19%にすることとして、その対策に食品残さ等の未利用資源・糠類・粕類・飼料米の利用と、コントラクター（飼料作物の収穫作業集団化）とTMRセンター設置（Total Mixed Ration：自給飼料、粗飼料と濃厚飼料を混合して給与する飼料を製造する施設）を推進する内容となっている。

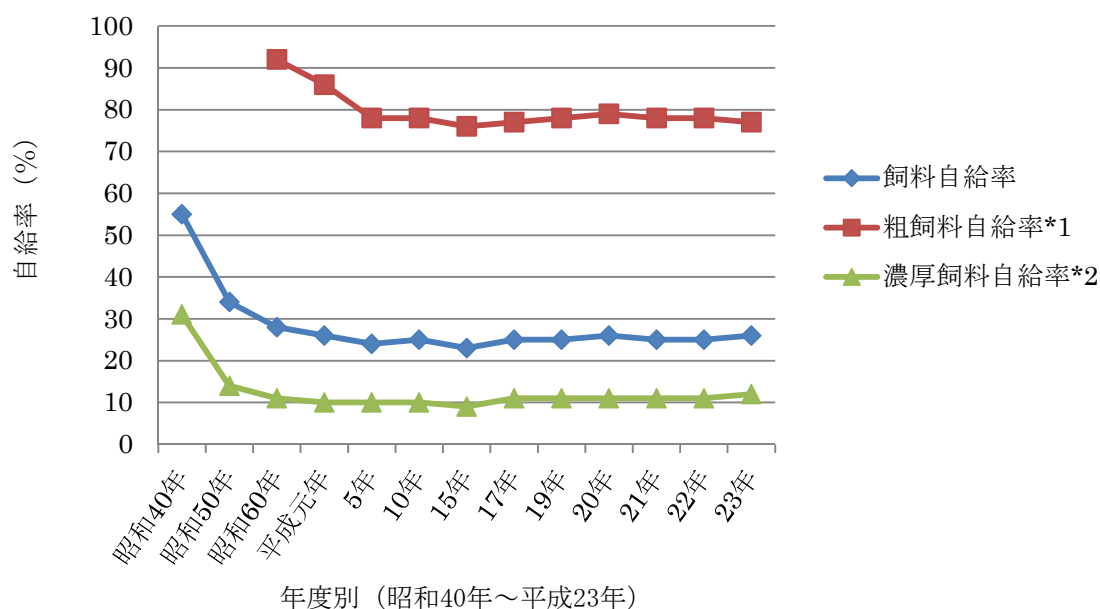


図1-1 飼料自給率の推移

*1 粗飼料自給率は、昭和60年以降からの統計

*2 濃厚飼料自給率は、国内産に由来する国内産飼料用小麦、大麦等のものである。

飼料自給率低下の背景には、昭和 50 年後半からアメリカより乳用牛の高泌乳型の飼料給与システムが導入されたことと、乳用牛と肉用牛共に大型の設備投資による飼養頭数の増加で規模拡大が進んだことがある。

高泌乳技術は、乳用牛において 1 頭当たりの 1 乳期中の泌乳量を 7,000 kg にするという「チャレンジフィーディング」と呼ばれた技術であり、それまでは分娩後の飼料給与は馴らしながらゆるやかに増量する方法と異なり、乳牛に対して分娩前後から積極的に栄養供給量を高める方法である。栄養供給量を高める方法としては、栄養価の高い粗飼料（マメ科牧草）や加熱大豆、油脂や配合飼料を給与する方法である。この技術に合わせて、ボディコンディション技術（ウシの肉付きや乳房の色や張りなど外貌から健康状態を判別する方法）や TMR（Total Mixed Ration：自給飼料、粗飼料と濃厚飼料をミキサーで混合させて給与する方法）などが積極的に国内に紹介され、取り組みが推進された。

肉用牛では、若齢牛肥育が行われるようになり、従来よりも短期間に肥育して出荷すること主流となってきた。この若齢肥育方法は、配合飼料の栄養成分のタンパク質とカロリーを高くし、給与量を増加させることで短期間に増体させる方法である。これらの技術が推進されたことで乳用牛、肉用牛とも 1 頭当たりの飼料給与量（特に配合飼料）が増加して飼料自給率の低下に影響したと思われる（図 1-2）[2],[3]。

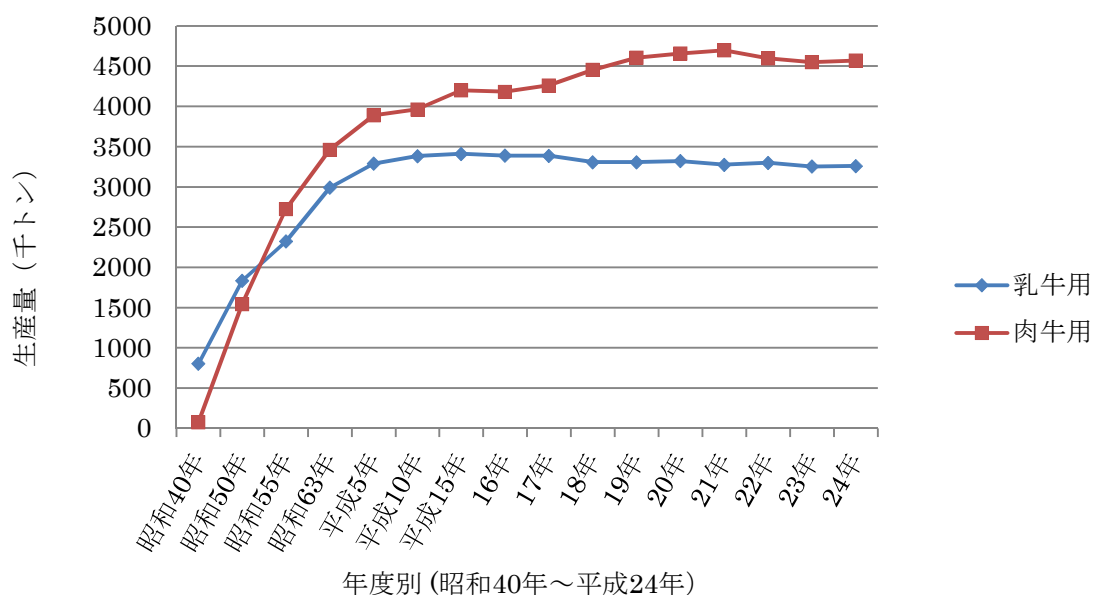


図 1-2 年度別ウシ用配合飼料生産量推移

さらに生産規模の拡大が進むが、自給飼料の生産が増加を伴わず、不足分の粗飼料を購入する方向となっていった。そのために需要の増加により輸入される乾牧草などの粗飼料も増加した（図 1-3）。特に都府県では、その傾向が顕著に見られた[1]。

規模拡大で飼養頭数増えても飼料作物栽培面積が増加しないことから限られた畑への

糞尿還元量が多くなり、土壌の偏ったミネラル状況により自給飼料の硝酸態窒素やカリウムの過剰などのミネラルバランスの崩れや自給飼料の品質低下により乳生産性の低下、ミネラル障害による疾病や死亡事故がが発生した[4],[5]。糞尿過剰投与により自給飼料の品質低下が疾病発生の原因になったことから自給飼料生産の意欲を低下させる要因となり、糞尿処理としての畑にすき込むだけとなり、飼料作物を栽培できなくなった。また円安により輸入粗飼料の価格が安価であったことも要因となった。

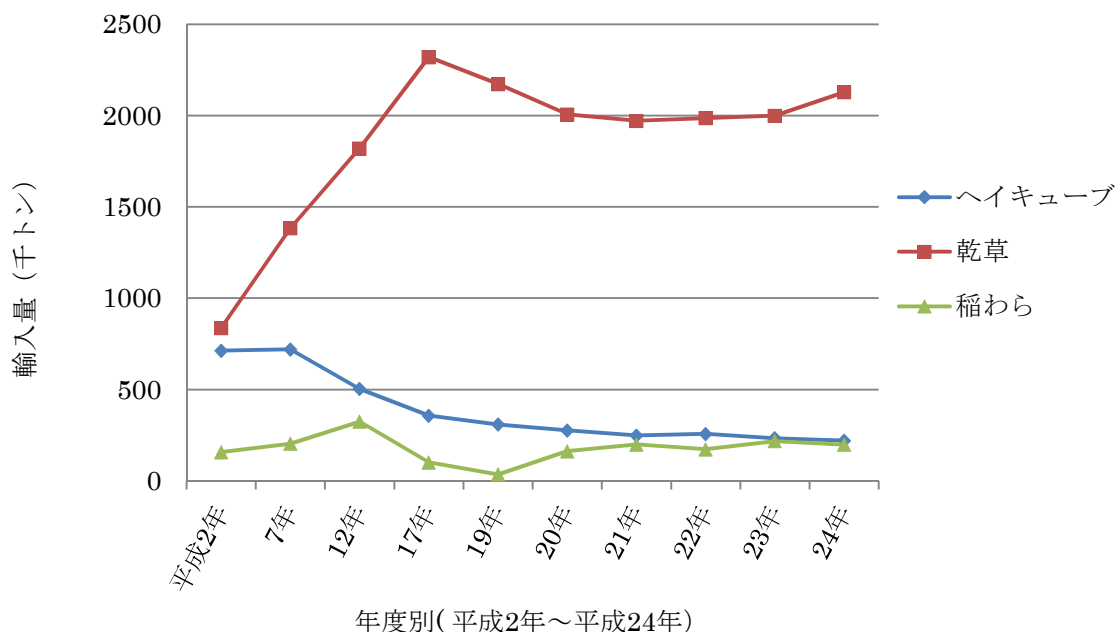


図 1-3 輸入粗飼料の年度別推移

1-2. ウシの消化生理特性

ウシは、草から栄養を得ることができる機能を持っている。これは、特異的に4つの胃を持っており（図 1-4, 図 1-5）、その中の1つの第1胃（ルーメン：Rumen）内に、原虫類（プロトゾア）、細菌類（バクテリア）、真菌類（カビ類）の3種類が生育している。その生育密度は、原虫類が $10^5 \sim 10^6$ 個/ml、細菌類が $10^{10} \sim 10^{11}$ 個/ml、真菌類が $10^4 \sim 10^5$ 個/ml いると推測されている[6]。これらの微生物により、嫌気性微生物で胃内に流入した飼料に含まれるデンプンやセルロースなどの炭水化物を分解する。揮発性脂肪酸あるいは低級脂肪酸と呼ばれている酢酸、酪酸、プロピオン酸ができる。これらが第1胃壁より吸収されてウシのエネルギー源になる。微生物に最適な環境であるが有機酸が生成されすぎると pH が低下して酸性に傾くと微生物相に偏りが生じる。十分な繊維量を摂取していると第1胃の pH は弱酸性で、温度は 40°C 程度であるが、pH 調整機能として唾液が中和効果を示し、第1胃の環境を保っている。摂取されたタンパク質は、微生物によりアンモニア

にまで分解される。このアンモニアの 80%程度はバクテリアに取り込まれて微生物の体内でタンパク質に合成される。そのバクテリアもプロトゾアに摂取されてタンパク質に合成される。これらのバクテリアやプロトゾアは、下部消化管に流入して酵素に分解されて腸管から吸収される。このような反芻動物特有の分解消化機能をもっていることにより乳や肉の生産を行っている。

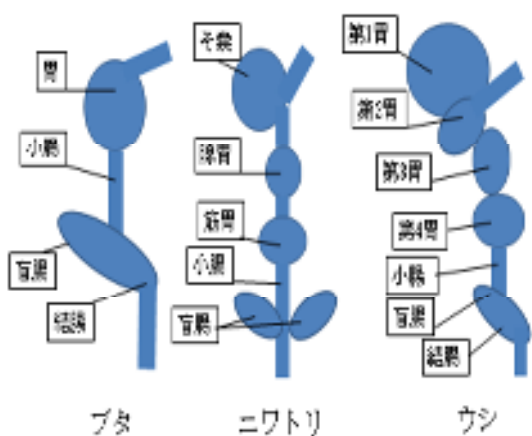


図 1-4 家畜の消化の仕組み比較略図



図 1-5 第 1 胃の右側のはく製写真

1-3. 飼料自給率向上での稲の利用と問題点

農林水産省は、飼料自給率を向上させるために主な施策として飼料用米の利用と食品残さなどの未利用資源の利用促進を掲げている[5]。飼料用米については、食用米過剰対策として水田減反政策が行われており、減反により水田面積の約 37%程度が食用米の作付けがされていない。この減反面積が多いことや耕作放棄地の増加などから飼料用米の作付けは、通常の米栽培と同じ作業体系でできることから生産現場で受け入れやすいとされており実際に作付面積も拡大してきていた (表 1-1) [1]。

農林水産省は、飼料用米の栽培メリットとして、①水田の有効利用、②通常の稲作栽培体系と同様であるために取り組みやすい、③農機具、設備に新規投資が不要、④連作障害がないことを挙げている[1]。畜産農家のメリットとしては、①輸入トウモロコシより安くなれば配合飼料原料として利用可能である、②長期保存が可能、③配合飼料の場合には、特別な設備、施設と手間が不要としている[1]。飼料用米利用の課題としては、①輸入トウモロコシとの価格差の縮小、②稲作生産者と製造事業者、畜産農家等が連携した安定した供給計画の策定、③保管、流通体制の確立、④配合飼料の原料として本格的に取り扱うには、既存の施設見直し等配合飼料工場の条件整備が挙げられている[1]。

表 1-1 飼料用米の作付面積[1]

(単位：ha)

平成 20 年度	平成 21 年度	平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度
1,410	4,123	14,883	33,955	34,525

表 1-2 稲ホールクロップサイレージの作付面積[1]

(単位：ha)

平成 20 年度	平成 21 年度	平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度
9,089	10,203	15,939	23,086	25,672

水田利用として推進されているのは、稲ホールクロップサイレージ（稲 Whole Crop Silage:以下稲 WCS）がある。稲 WCS は、飼料向けに稲の茎葉と子実をすべて収穫してロールでラップしたサイレージ（嫌気発酵させたもの）である。稲 WCS は、乳熟期の適期に収穫されたものは、ウシの嗜好性もよくて摂取量も多い。稲 WCS の栽培面積の推移は表 1-2 に示した。

飼料用米も稲 WCS も専用の品種改良がされており、飼料用米では子実である米の収量が多い品種である。稲 WCS は、収穫が遅れて刈遅れるとリグニンやケイ酸含有量が高くなり、サイレージの水分も低くなり嗜好性と摂取量が低下する。そのために稲 WCS の品種は晩生種や茎葉割合が多い品種となっている[7]。

24 年度の飼料用米栽培面積は、利用促進が図られてきたにも関わらず 470ha 増加しかなかった。その理由としては、飼料用米では、①飼料用米の種籾不足、②飼料用米を作付けする水田周辺に食用米が作付けされていると花粉による交雑が起これ食用米の食味が低下するという不安から食用米作付けしている生産者が飼料用米専用種の栽培を認めないこと、③稲作生産では、稲の育苗を地域の育苗センターからの購入が主体のために飼料用米専用種の苗が作れられていないことなどが挙げられる。稲 WCS の 24 年度は、栽培面積の増加は、2,570ha となっている（表 1-2）。稲 WCS も栽培面積増加がやや鈍った理由としては、稲 WCS 専用機での刈取り、収穫、ラッピングを行っているが 1 日あたりの収穫面積が 2ha 程度しかできない。そのため栽培面積が多くなると刈遅れのサイレージが多くなり、嗜好性が低下する。また専用機以外での収穫作業および搬出作業は、天候の影響を受けてしまい水田が乾燥していないとトラクターでの作業が行えない。稲 WCS は、ラップされているので 1 度にトラックなど運搬できる稲 WCS の数が限定されるために運搬効率が悪いことが挙げられる。農林水産省も水田活用として飼料用米と稲ホールクロップサイレージを推進させるために 10a 当たり 80,000 円（25 年度）の直接交付金を支払い、また飼料用米の稲わらを利用すればプラス 13,000 円/10a が上積みをしている[1]。

この交付金支払いについては、飼料用米専用品種に限定されていないことから食用米品

種を飼料用米向けにして作付けを行っているケースがあり、すでに食用米が飼料用米として利用されている。しかし食用米利用についての研究は少ない。稲生産者が同じ品種であれば作業体系や収穫後の品種別の分別をする必要もないことから今後も食用米が飼料用米として栽培される可能性は高いと推察される。減反面積にすべて飼料用米を作付けしたと推定すると 25 年度の減反されている減反面積は、約 70 万 ha となり、10a 当たり玄米での収穫量を 500 kg として試算すると約 350 万トンの飼料用米が収穫される試算となる。

この生産量は、飼料用輸入トウモロコシが 1,060 万トン (24 年度) あるので飼料用米と置換えると約 33%になる[8],[9]。しかし飼料用米を配合飼料原料としてウシでの使用量は、ニワトリ、ブタよりも少ない。この理由としては、ウシでは米デンプンが第 1 胃での分解速度が速いことから第 1 胃内 pH が低下しやすいことがある[10]。永西らの報告によると米デンプンは、トウモロコシより大麦に近いデンプンの分解速度である原料とされている[11]。米は、比重が重いために粉碎処理をしないで給与すると第 1 胃の底部に溜まりやすく、そのまま原粒で糞に排泄される。そのために米を給与するには、粉碎や蒸気圧篇などの処理が必要である[12]。米の利用形態は、粳米、玄米、白米である。粳米は、粳殻つきなので粉碎すると粳殻と玄米部分が比重の違いで分離しやすくなるために均一な給与になりにくい。また粳米を乾燥させないで粉碎して加水しサイレージにするソフトグレインサイレージも行われている。これは、粉碎、加水、袋詰め作業を行い貯蔵場所が必要である。また粳米での保存は、ガサが多くなるので保存場所の確保も必要となる。玄米は、収穫後乾燥させて粳摺り、粉碎して利用する。栄養価も糠部分の脂肪分やタンパク質がある。白米は、乾燥、粳摺り、精米して利用する。しかし糠部分を取り除くので栄養価は下がり、糠の処理が必要となる。現在、飼料用米は、ガサが少なく栄養価から玄米での利用形態が多い。今後も作業体系や栄養価から玄米での利用が多いと推察される。農林水産省から 2018 年に減反廃止の方針が出されていることから、飼料用米の生産が増加する可能性が高くなっている。ウシ用飼料原料として飼料用米を利用促進する課題として、第 1 胃内でのデンプン分解速度をいかに低減した粉碎加工するか、知見の少ない食用米デンプンの第 1 胃内分解特性などから利用性の研究が必要である。

1-4. 稲の副産物の利活用

稲は、穀実 (デンプン源) と稲わら (繊維源) の他に副産物として、玄米を精米して発生する米糠と粳殻がある。生米糠は、米油と脱脂米糠になる。米油については、主に食用油として利用されている他に米油より取り出した有用成分 (イノシトールやオリザノールなどの食品、化粧品原料) や米油抽出精製過程で発生する副産物より飼料用抗酸化剤などが製造されており配合飼料や家畜用の代用乳などの原料に幅広く利用されている[13]。ま

た脱脂後の米糠は、飼料用、肥料用原料や化粧品原料や漬物用つけ床などに利用されている[13],[14]。稲わらの発生量は約 854 万トン(平成 22 年度)であり、その 86 万トンは飼料用に利用され、自給率は 82%である[1]。中国より利用量の 18%にあたる約 30 万トン(平成 24 年度)が輸入されており、特に平成 19 年度以降の輸入量が増加している(図 1-3)。

稲わらは、コンバインで切断して排出した後、収穫後、水田にそのまま落とされた状態になっているものが通常である。これは、水田にすき込むことを前提しているからである。

コンバインから排出された稲わらは、水分が 30%程度あるために飼料として利用するためには乾燥させる必要がある。コンバインから水田に細断されないで排出された稲わらは、畜産農家が結束して立てかけて乾燥させる方法もあるがこれはすべて手作業であることと田んぼからの持ち出しも手作業となり効率が悪い。稲わらをそのままロールにしてラッピングしてサイレージにする方法もあるが、作業機を水田で使うので天候次第となる。

水田にそのままにした状態では、雨により水田んぼが冠水などでわらの品質が低下したり水田が乾かないと収穫作業機が入れなくなったりして安定しない。

これらの対応としてコンバインからの水田への排出時に、わらを結束する結束機(ノッタ)が開発されている。これは、コンバインから結束された稲わらを水田に排出するときに立てることができる装置である(図 1-6) [15]。このノッタにより稲わらの立てかけ作業が不要になることで田んぼでの乾燥を行うことができるようになり装置が普及している。しかし水田からの回収作業は手作業かトラクターによるロール播きやベール梱包にする作業が必要である。乾燥した稲わらをロールにしたものは、運搬作業では重量よりも容量(がさ)が大きいため効率が悪いことも問題である。容量を小さくするか積み込み効率のよい形態にすることが課題である。その 1 つの解決方法として、岩手大学農学部木質資源工学研究室で研究されており枠の中にわらを入れて簡易的に梱包する技術で実用化が期待される(図 1-7) [16]。



図 1-6 コンバインノッタ



図 1-7 稲わらの梱包

籾殻の発生量は玄米重量の 1/4 程度であり、平成 24 年度の玄米生産量が約 852 万トンであるが[17]、213 万トンの籾殻が発生していると推定される。籾殻は、畜舎などの敷料と堆肥水分調整用、暗渠、床土で約 60%利用されて、焼却や燃料として 15%利用され燻炭利用が約 4%、残り約 21%が用途不明となっている[18]。

海外では、NEDO が中心となり籾殻発電が行われている[19]。しかし籾殻は約 30%程度のケイ酸を含んでいることから畜舎や堆肥の水分調整剤としては効果が低い。約 4%が籾殻を燃焼させて籾酢液（燻炭液）と燻炭を採取して利用されている[18]。籾酢液については、木酢液や竹酢液と同じような強酸性（pH2.0～3.0）であり、木酢液や竹酢液と同じように抗菌性を利用や消臭効果の利用事例がある[20]。燻炭は、炭と同じように多孔質資材として土壌改良剤や消臭資材として利用されている。中央農業センターの研究によると籾殻にはケイ酸成分が多くあり焼却温度が 400℃～500℃であれば籾殻灰中のケイ酸成分の溶解性が高いことが報告されておりケイ酸肥料として使うことができる[21]。これらの事例から籾殻を燻炭にした肥料や籾酢液を抗菌資材として利活用できる可能性がある。稲からの副産物である米糠、稲わら、籾殻を有効利活用できることは、子実の米は食用、飼料用になることから米のすべてを利活用することで米のゼロエミッションが可能となる。

1-5. 食品残さの利活用と問題点

食品残さは、主として食品工場から排出されている。平成 22 年度で年間 2,086 万トン発生しており、そのうち 1,400 万トン（68%）を飼料・肥料・メタン利用・油脂採取などに再利用している。再利用されている食品残さ 1,400 万トンの内 75%は飼料用として利用されている[1]。

昭和 40 年代には、食品残さは飼料として給与されていた。かつては町には、個人経営の製造販売が行われていて、毎日出てくる豆腐粕（おから）を一斗缶に入れて酪農家に持って行き毎日新鮮な豆腐粕を給与していた。製造工場が小さいことで小回りが利き新鮮である原料であったが、工場が大型化して量販店での販売が主流になると同じく飼料給与も配合飼料主体となり、高水分で変敗しやすい豆腐粕の多くは産業廃物として処分されるようになった。

食品残さの多くが、①高水分、②変敗しやすい、③季節の偏りがある、④栄養成分の偏りがある、⑤取り扱いに手間が掛かるなどの理由で使われなくなっていた。しかし、配合飼料原料の高騰により飼料コストを下げる必要が高まったことと、TMR 技術（濃厚飼料と粗飼料をミキサーにより混合する）の普及により容易に給与が可能になったことで再び脚光を浴びている。飼料のタンパク質原料である大豆がアメリカの天候不順による収穫量の減少から価格高騰となり、その代替として豆腐粕がタンパク質原料として見直しされて

きた。また豆腐工場の一部では、豆腐粕や豆乳粕を乾燥させて飼料原料化しており、これらは飼料工場での取り扱いができるので原料としての取り扱いが増加した。

これらに伴い、平成 13 年 5 月に食品リサイクル法（平成 19 年改正）が制定されたこととメーカーの CSR（Corporate Social Responsibility：企業社会的責任）として取り組む必要性が高まったまた政策として平成 21 年よりエコフィールド認証制度が始まりに伴い食品残さの飼料利用が進んでいる[22],[23]。

食品残さのデメリットは、①高水分のために水分を除いた乾物重量での価格を換算すると安価でないこと、②食品製造工場からの距離があるほど輸送費が高くなること、③タンパク質含有量が多いことからタンパク質の変性が起きやすいこと、④保存状態が悪いと変敗やカビが発生して飼料給与が出来なくなること、⑤発生する季節性の偏りがあるジュース粕類（ミカン、リンゴなど）は保存管理と貯蔵場所の問題がある。これらの問題点は、製造側で乾燥処理や嫌気性にして保存するサイレージ化などで対応しているがこれらの処理コストが原料に付加されることになり価格メリットが低下する。また、食品加工由来の原料は栄養に偏りがあり（タンパク質が高く脂肪含有量も多いものなど）、また BSE 発生に伴い動物性油脂を使っているためにウシには給与出来なくなったりしているものがある。飼料としての栄養面では、食品残さを乾燥処理や嫌気性保存すると栄養成分が変化してしまう。栄養成分の 1 つであるタンパク質は、熱変性されやすく乾燥工程で乾燥温度と時間によりタンパク質が熱変性し、ウシが体内で分解消化できなくなってしまう[24],[25]。このような場合は、第 1 胃でのタンパク質不足になることから、現場事例では、糞が固くなり色も黒っぽくなり、搾乳牛では乳生産量が減少し、肥育牛では増体量が低下することが起こりやすくなる[26]。また嫌気保存のサイレージ化では、タンパク質が保存中に微生物により無機物までに分解されて、第 1 胃ですぐに分解されやすい溶解性の割合が高まることも知られている[27]。このように同じ原料でも加工方法や加工条件によってはウシの反応が違ったものになることがある。飼料給与すると栄養成分は、第 1 胃での微生物分解作用を受けることから栄養成分の化学分析値だけでは測れない問題がある。一般的には、化学分析値を把握することで飼料栄養設計の目安にしているが現場では、常にウシの反応を見ながら飼料給与を調整することになる。これらの対応として第 1 胃内での微生物による飼料原料の分解特性を把握するための手法として、第 1 胃で直接培養するナイロンバックを用いた *In situ* 法と第 1 胃から取り出した胃液を取り出して試験管などで培養する *In vitro* 法がある。これらの方法から飼料原料の第 1 胃での分解速度などのパラメータを算出して化学的な栄養分析値と合わせた飼料給与設計が可能となる。

1-6. 本研究の目的

日本の畜産業では、飼料自給率を高めて低コスト生産を安定的にさせることが重要である。ウシ用飼料でも飼料原料であるトウモロコシ、大麦、大豆などの輸入原料に依存していると生産コストは為替状況により大きく影響を受ける。近年、中国や中近東、ASEANでの飼料原料需要の高まりとバイオエタノールでのトウモロコシ利用や天候不順（洪水、干ばつなど）により価格は高止まりしている状況である。同様に輸入粗飼料も天候に影響されやすく、各国需要が増して粗飼料生産地での買い付けが活発化している。これらのことから輸入原料で依存度高い状況では、酪農や肉牛肥育、繁殖の経営できなく可能性もある。国際状況では TPP（環太平洋経済戦力的経済連携協定：Trans-Pacific Partnership）の締結などにより厳しい環境になると推測されている。TPP による影響は、農林水産省の試算では、牛乳製品で生産量減少率 56%、生産減少額で 4,500 億円、牛肉では生産減少率 75%、生産減少額 4,500 億円と試算されている [28]。

本研究では、国内資源の循環利活用によりウシの 100%自給率の飼料給与システムを構築するために、食用米の玄米利活用と稲副産物である籾殻から抽出した籾酢液の飼料と環境への抗菌性を検討した。また食品残さの有効な利活用について化学分析ではなく第 1 胃での微生物分解による特性を解析し、さらに食用玄米や食品残さの第 1 胃分解特性の結果から国産資源の利用による飼料給与の試算を行った。

米を飼料利用では、1-3 に記載のようにデンプンの第 1 胃分解速度が速いことが問題となる。第 2 章では、熱変性による米デンプンの凝集が第 1 胃内での分解速度に影響している可能性から非加熱粉砕法の 1 つである衝撃波を利用して粉砕を行った食用玄米と通常の粉砕法した食用玄米との第 1 胃での分解性の違いを検討した。

第 3 章では、籾酢液の抗菌性について検討した。籾殻を燻炭して採取した籾酢液を畜産由来の細菌と真菌についての抗菌性と TMR 飼料への混合による抗菌性を検討した。

第 4 章では、原料での飼料特性を *In situ* 法（ナイロンバック法）のデータからパラメータを算出し、実際に食品残さを利用している発酵型 TMR 飼料（粗飼料と食品残さと濃厚飼料の混合飼料）の第 1 胃内の分解特性を発酵前後で比較検討した。

第 5 章では、新規の食品残さであるアミノ酸ケーキの繊維分解性について人工培養装置ルシテックを用いて検討した。

第 6 章では、総合考察として本研究の総括と国産資源 100%でのコスト試算を行い今後の課題をまとめた。

第2章 非加熱粉砕法である衝撃波処理による食用玄米の第1胃分解特性の検討

2-1. はじめに

米は麦類やトウモロコシと同様にデンプン含量が高い穀実である。飼料米専用種での飼料利用の研究は進められているが食用米の飼料利用についての研究は少なく、そのためには食用米のウシに対する飼料特性を明らかにすることは重要である。永西らや Cone and Wolters は、米の第1胃内分解速度はトウモロコシより高い特徴を持つと報告している[1],[2]。また永西らによると食用米であるコシヒカリの玄米は、有効分解率が高く消化速度は速いことと、玄米を粉砕することで乾物消化率が大幅に高まると報告されている[3]。

農林水産省委託プロジェクト研究の粗飼料多給による日本型家畜飼養技術開発によると、飼料用米を含めた穀類を粒度2mmに粉砕した第1胃での分解速度は、速い順にえん麦、小麦>大麦、飼料用米>トウモロコシとされている[4]。乾や関らは、飼料用玄米を未処理のまま給与すると約25%、飼料用米の粳米では、約30%が排泄されると報告されている[5],[6]。浅井らは、粒度2mm以上が100%の割合では、糞中排泄率が17.4%となり、粒度2mm以上の割合を40%以上にすると2%以下となると報告している[7]。これらの報告から飼料として利用するには未処理では利用率が低いために粉砕などの加工することが必要となる。食用米の粉砕に関しては、嶽本らは白米をジェットミルで米粉に粉砕すると表面に多くのデンプン凝集が起こることを報告している[8]。米デンプンの凝集は粉砕時における熱変性による糊化であるが、デンプンの凝集についての研究は、食品利用分野の研究で行われており、粉砕される米の粒度が100 μ m以下のものが多く、飼料利用での目的とした粉砕粒度は2mm程度である。また食用米に関する米デンプンの損傷率や粉砕時の凝集に関する報告はない。米デンプンの凝集を少なくする方法として嶽本らは、米粉製造向けに衝撃波を利用した粉砕装置を開発している(図2-1)。この装置は、伊東らの行った研究によるとジェットミルによる粉砕よりもデンプン損傷率が低く、米でんぷん粒子の形状も良好で、大腸菌、土壌菌、黄色ブドウ球菌数など有害微生物への殺菌効果を報告されている[9]。

輸入されている飼料用トウモロコシの代替えとして飼料用米を利用するためには、第1胃内でのデンプン分解速度性をコントロールする必要がある。今までのデンプン源としての主なトウモロコシは、粉砕したミール、挽き割り、加熱蒸気フレークなど加工により第1胃でデンプン分解を速くする方法が用いられている。しかし飼料用米では、トウモロコシと同じような加工方法では、デンプン分解速度が速めることになりウシでのデンプンの利用性が低下する。飼料用米のデンプン利用に関しては、トウモロコシとは異なったアプローチが必要である。すなわち米デンプンを第1胃での分解を遅くする加工方法が必要

となる。食用米は、すでに飼料用として流通しており飼料製造工場の原料として利用されている。稲作生産者の作業体系の現状から、食用米が飼料向けに転用されて飼料用米として利用される割合は高くなると推測される。飼料用米利用では、粳米での利用も検討されているが粳の消化性が低いことや粳消化を高めるために加水してサイレー化の試験製造も行われている。しかし貯蔵施設や調整・製造コストを含めると価格メリットが出にくい。現状では、通常の米収穫後に乾燥させて粳摺りをした玄米が運搬・加工面からも飼料原料として扱いやすい。そこで本研究では、食用米であるコシヒカリの玄米を用いてデンプンの凝集が少ない加工である非加熱粉碎である衝撃波による粉碎をした試料を用いてカッターブレンダーで粉碎した試料との比較を第1胃内での *In situ* 法により検討を行った。

2-2. 供試材料

供試材料は、平成 23 年度産の宮崎県で栽培されたコシヒカリ玄米を用いた。栄養成分値は、表 2-1 に示した。このコシヒカリ玄米を沖縄工業高等専門学校（以下、沖縄高専）にある衝撃波発生装置（図 2-1、図 2-2）を用いて粉碎した。粉碎は玄米 200g を 200ml のポリ容器に入れて衝撃波発生装置で約 35MPa の圧力により行った（図 2-3~図 2-9）。3 回衝撃波処理後 2mm メッシュの篩を通したものを試料とした（以下、衝撃波区）。但し、3 回の処理では 2mm 以下の粉碎量が少なかったために、2mm メッシュの篩上の玄米を再度 3 回の粉碎繰り返して得たものを試料とした（図 2-10）。対照区である通常粉碎は、ワンダーブレンダー-WB-1（大阪ケミカル(株)製）により粉碎した玄米を 2mm の篩を通した試料を用いた（以下、通常区）。また玄米と同様に飼料用トウモロコシ（雪印種苗(株)鹿嶋工場飼料原料）を衝撃波による粉碎処理を行いトウモロコシ衝撃波粉碎区と、玄米と同じ装置で通常粉碎を行ったトウモロコシ通常粉碎区を試料とした。

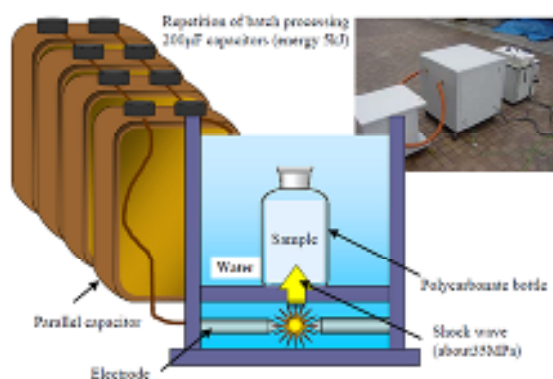


図 2-1 衝撃波装置概略図

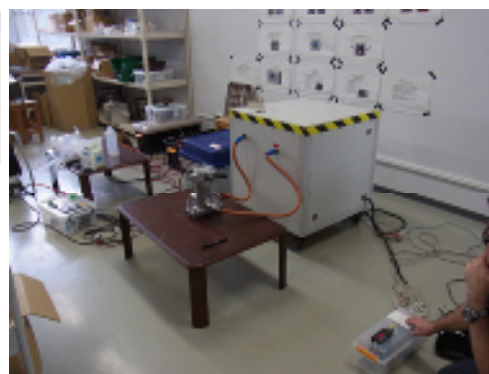


図 2-2 衝撃波装置（沖縄高専）

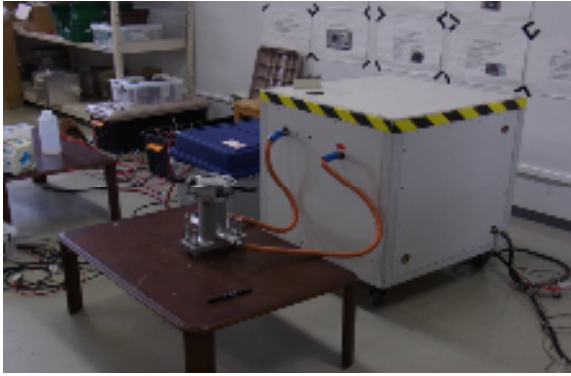


図 2-3 衝撃波粉碎に用いた装置外観

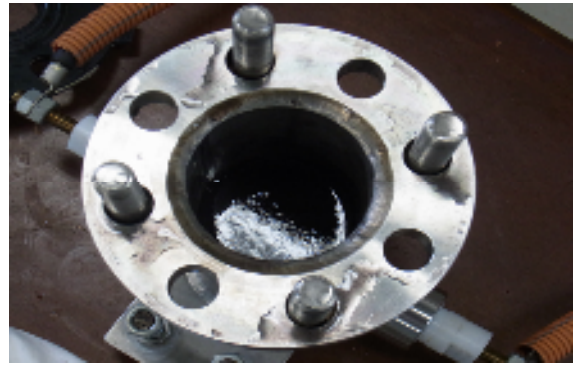


図 2-4 衝撃波を当てる所で水を入れる



図 2-5 ポリ容器に入れた玄米 (約 200g)

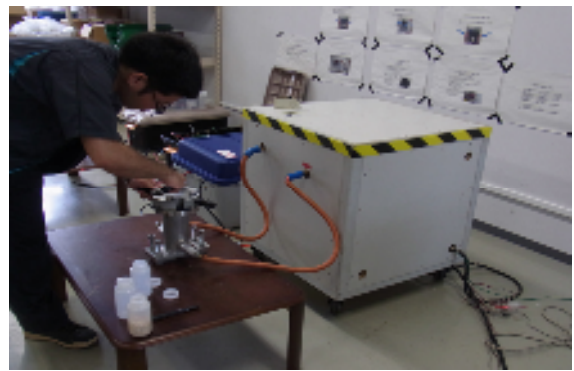


図 2-6 試料を入れた容器をセット



図 2-7 衝撃波を発生させる



図 2-8 衝撃波を当て取り出した容器



図 2-9 容器から取り出した玄米



図 2-10 2mmの篩をかけて分離



図 2-11 フィステル装着牛*

*雪印種苗(株)北海道研究農場繋留の育成牛

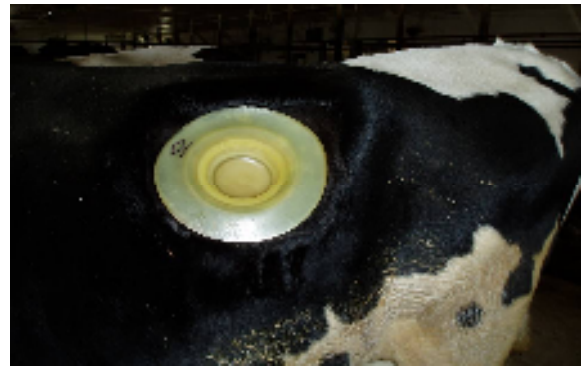


図 2-12 フィステルの様子*



図 2-13 フィステルからの第1胃内部



図 2-14 ナイロンバックの道具

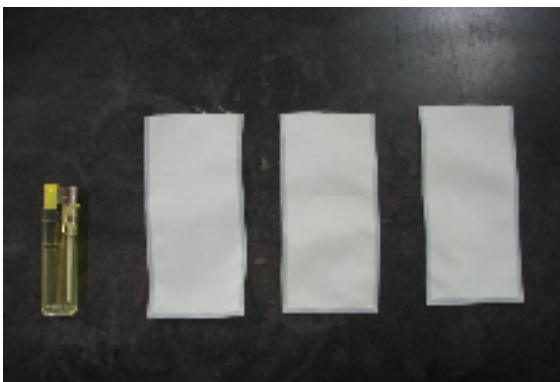


図 2-15 ナイロンバック (50mm×100mm)



図 2-16 ナイロンバックに試料詰め様子



図 2-17 ナイロンバックの取り出し様子

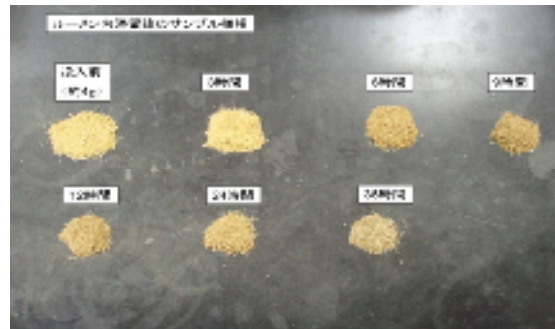


図 2-18 ナイロンバックから取り出し試料

表 2-1 コシヒカリ玄米の栄養分析値

(単位：%)

水分	粗タンパク質*	粗脂肪*	粗灰分*	NDF*	NFE*	デンプン*
15.6	8.2	1.2	6.79	2.95	73.2	68.9

*乾物中%：一定温度で加熱乾燥し、恒量が得られた時点を経験している

2-3. 試験方法

試験方法は *In situ* 法に基づき、衝撃波区と通常区のサンプルを、ナイロンバック (100mm×200mm、50µm メッシュ) にそれぞれ約 4g 入れた後 (図 2-16)、秤量したナイロンバックをフィステル装着した搾乳牛 2 頭 (雪印種苗(株)千葉研究農場に繋留) にナイロンバックを 1 頭あたり 2 個ずつ投入した。第 1 胃内での培養時間が 1、2、3、6、9、12、24、36 時間になるように投入時間を逆算して行った。投入する時間割を表 2-2 に示した。培養 36 時間後に一斉に投入したすべてのナイロンバックを取り出して氷水 (4℃程度) に入れた後に流水にてナイロンバックから色が出なくなるまで洗浄した [10],[11],[12],[13]。洗浄後、通風乾燥機 (株東洋製作所製 ADVANTECF-410) で 60℃ 48 時間乾燥させた。また試料を入れたナイロンバックを 40℃の温水に 1 時間浸漬して培養後の試料と同じく 60℃で 48 時間乾燥処理して *Washing loss* として算出した。*In situ* 法では、タンパク質を例とすると A 分画、B 分画、C 分画の 3 つに分けて、A 分画は、非タンパク態窒素や急激に溶解するタンパク質、ナイロンバックに入れた試料の微小粒子などである。微小粒子片は、ナイロンバックの穴径よりも小さいもので、*In situ* 法では、A 分画中のこれらの窒素分を分別できなく、A 分画の分解速度も測定できない。そのためバックから消失した分を分解されたと見なすことにしている。C 分画は分解の終点としてルーメンでの分解はこれ以上起きないところ点を決めることにより測定する。B 分画はナイロンバックに残存する量である。この 3 つの分画から B 分画の分解速度を測定する。、そのために *Washing loss* を測定した [14]。*In situ* 法の手順については、図 2-11～図 2-17 に示した。

表 2-2 ナイロンバック投入時間割

	36 時間	24 時間	12 時間	9 時間	6 時間	3 時間	2 時間	1 時間	回収
バック投入時間	1 日目 8 : 00	20 : 00	2 日目 8 : 00	11 : 00	14 : 00	17 : 00	18 : 00	19 : 00	20 : 00

2-4. 測定および分析

乾燥したナイロンバックを秤量し、培養後のナイロンバックを含む乾物重量と投入前の

ナイロンバックを含んだ重量から培養時間ごとの乾物消失量を算出した。ナイロンバックから取り出した試料のデンプン含量を培養 0、1、2、3、6、9、12、24、36 時間ごとに Total starch kit (総デンプン測定キット : Megazyme, Co, Wicklow, Bray, Ireland: 日本バイオコン(株)販売) を用いて測定した。測定したデンプン量を培養 0、1、2、3、6、9、12、24、36 時間の分析値からデンプン消失率を算出した。Total Starch Assay Kit (総デンプン量測定キット) は、試料に α -アミラーゼを加えて完全に加水分解・可溶化し、アミログルコシダーゼでグルコースに完全に分解し、このグルコース量を吸光度に測定によって求める方法である[15]。このキットは、AOAC¹⁾ 公定法 996.11 と AACC²⁾ 公定法 76.13 に準拠したものである [16],[17]。また通常区と衝撃波区の玄米とトウモロコシの試料の損傷デンプンを Starch Damage Assay Kit (損傷デンプン測定キット : Megazyme, Co, Wicklow, Bray, Ireland: 日本バイオコン(株)販売) を用いて測定した。Starch Damage Assay Kit は、カビ α -アミラーゼで損傷デンプンのみをマルトサッカライドと難消化性デキストリンに分解し、これをアミログルコシダーゼでグルコースまで分解する。生成されたグルコース量を吸光度測定によって定量する方法である。このキットは、AACC 法 76-31、ICC³⁾ (International Cereals Congress) 法 No164 で認められている [18]。

¹⁾ AOAC : Association of Official Analytical Chemists 分析科学分野での分析法のバリデーション、実務、制度管理などに関わる科学者などから構成されて、分析法などを認定する組織で公定法として国際的に最も信頼が高い。

²⁾ AACC : American Association of Cereal Chemists 穀物関係での標準試験法をまとめている。主に小麦関係が多い。

³⁾ ICC : International Association for Cereal Science and Technology 穀類とその 1 次、2 次加工品の評価方法を国際的に統一することを目的としている。

乾物消失率とデンプン消失率から第 1 胃での分解パラメータを Orskov and McDonald の①の式にあてはめて算出した[19]。

$$P=a+b(1-e^{-ct}) \quad \text{①}$$

(P: 消失率, a: 速分解性区分, b: 遅分解性区分, c: b 区分の分解速度定数 (h^{-1}), t: 培養時間: 時間) に当てはめて算出した[18]。飼料の有効分解率 (Effective Degradability : ED) を第 1 胃通過速度を AFRC より 1 時間あたり 5% として①式から得た、a, b, c を用

い、次式②より求めた[10]。

$$ED = a + b \times c / (c + k) \quad \text{②}$$

得られたデータは、有意差検定は一元配置分散法を用いて行った。

培養したナイロンバックから取り出した試料を、青森県産業技術センター青森県総合工業研究所にある走査型電子顕微鏡 (SEM、高分解能走査電子顕微鏡 HITACHI SU6600) により低真空モードで培養時間の 1、2、3、6、9、12、24、36 時間ごとの経時変化と培養前の通常区と衝撃波区の試料を観察した。同様にトウモロコシ衝撃波区とトウモロコシ通常区の試料を SEM で比較観察した。

2-5. 結果

2-5-1. 損傷デンプン

損傷デンプンの結果を表 2-3 に示した。損傷デンプンは、粒度サイズが 2mm 以下では、通常区が衝撃波区より高いが、2mm 以上の粒度サイズでは、両区に差は見られなかった。

表 2-3 損傷デンプン含量 (単位：%)

試料名	玄米		トウモロコシ	
	通常区	衝撃波区	通常区	衝撃波区
粒度サイズ				
2mm 以下	2.64	1.95	1.37	0.77
2mm 以上	0.31	0.30	0.22	0.38

2-5-2. 乾物消失率

衝撃波区と通常区の乾物消失率の推移を表 2-4 および図 2-19 に示した。

衝撃波区は通常区より低い消失率の傾向であった。衝撃波区では、通常区よりも培養時間開始 1 時間後、2 時間後、3 時間後で有意な差が認められた (1 時間、3 時間は $P < 0.05$, 2 時間は $P < 0.01$)。その他の培養時間では差がなかった。培養開始 36 時間後では、乾物消失率は両区とも 97% 以上であった。

表 2-4 培養時間ごとの乾物消失率

(単位：%)

	0 時間	1 時間	2 時間	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間	24 時間	36 時間
通常区	24.97	35.48*	52.24**	60.27*	71.20	90.02	94.66	97.50	97.65
衝撃波区	22.27	29.17*	35.46**	46.39*	66.89	84.06	92.98	96.72	97.14

*P<0.05 で有意差あり **P<0.01 で有意差あり

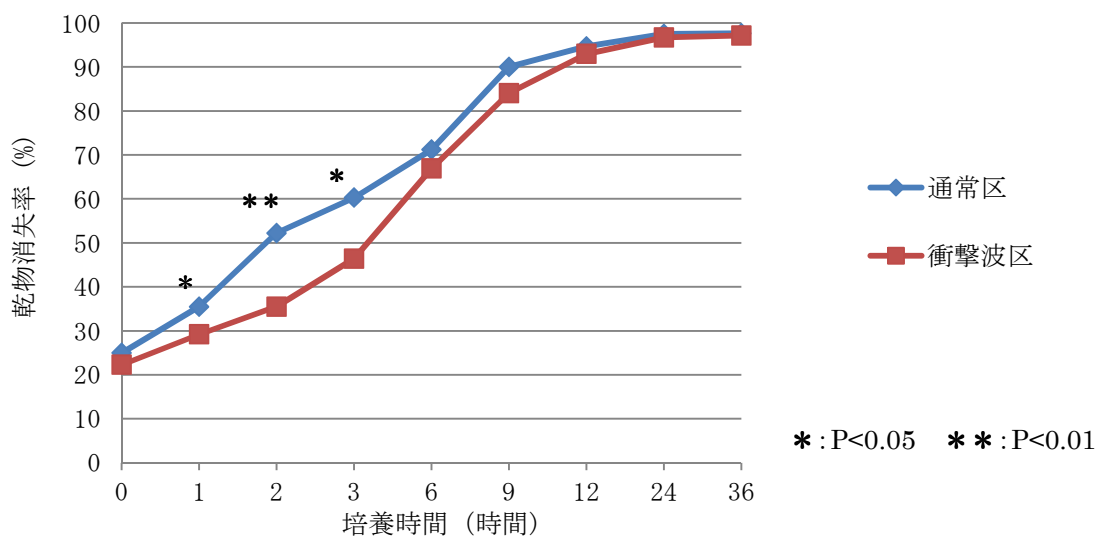


図 2-19 培養時間ごとの乾物消失率推移

2-5-3. デンプン消失率

衝撃波区と通常区のデンプン消失率を表 2-5 および図 2-20 に示した。尚、培養開始 12 時間後以降では、デンプンの残存量がなく分析できなかったため消失率は、培養開始後 12 時間までで算出した。培養開始 0 時間～9 時間後では、通常区よりも衝撃波区が低く、消失率は培養開始 12 時間後で両区とも 99%以上の消失率となりほとんど分解された結果であった。培養開始 2 時間後と 3 時間後で通常区が衝撃波区よりも高い消失率で有意な差が認められた (P<0.05)。その他の培養時間では、両区に差がなかった。

表 2-5 培養時間ごとのデンプン消失率

(単位：%)

	0 時間	1 時間	2 時間	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間
通常区	7.75	16.35	33.35*	64.01*	67.65	93.60	99.79
衝撃波区	1.60	7.90	15.19*	48.25*	66.60	83.59	99.92

*P<0.05 で有意差あり

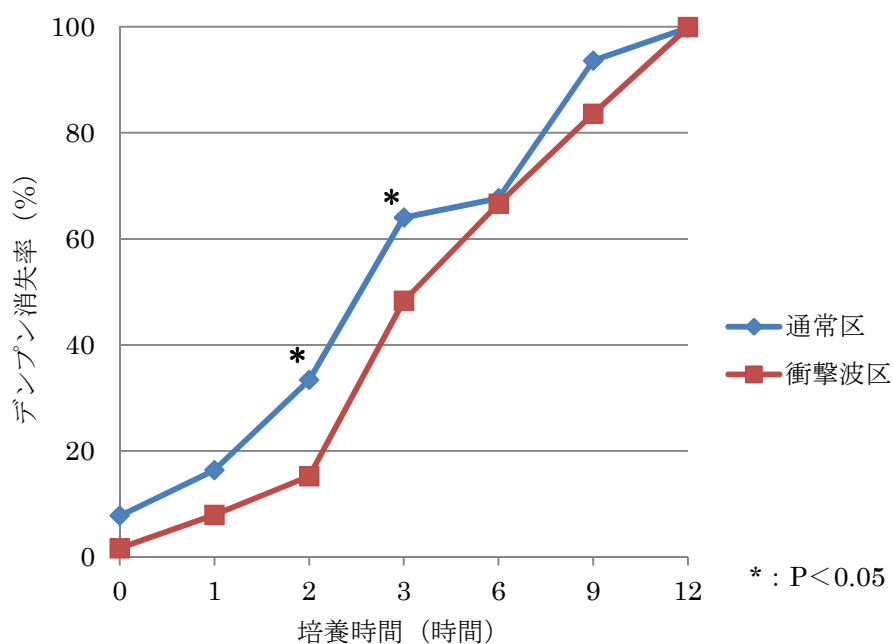


図 2-20 デンプン消失率推移

2-5-4. 乾物分解パラメータ

乾物消失率から算出した分解パラメータを表 2-6 に示した。分解パラメータは、速分解性区分で両区の差があった ($P < 0.05$)。有効分解率、分解速度定数、遅分解性区分は両区に差が認められなかった。

表 2-6 乾物分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度定数(h^{-1})	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
通常区	88.91	0.37	29.79*	67.11
衝撃波区	87.64	0.34	22.64*	74.56

* : $P < 0.05$ で有意差あり

2-5-5. デンプン分解パラメータ

デンプン消失率から算出した分解パラメータの結果を表 2-7 に示した。分解パラメータは、衝撃波区が有効分解率、遅分解性区分で高い傾向を示し、分解速度定数、速分解性区分では通常区が高い傾向であったが差はなかった。分解速度定数は、有意差 ($P < 0.05$) が認められた。

表 2-7 デンプン分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度定数(h ⁻¹)	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
通常区	84.27	1.09*	8.76	78.97
衝撃波区	87.06	0.60*	7.80	85.86

* : P<0.05 で有意差あり

2-5-6. 走査型電子顕微鏡観察

玄米の培養時間ごとの試料を SEM にて観察した結果を図 2-21～図 2-38 に示した。通常区は、粉碎した試料でデンプンの凝集が認められた (図 2-21,a)。しかし衝撃波区 (図 2-22) は、粉碎した試料で表面にデンプンの凝集が認められない。培養開始 1 時間後では、両区に大きな差が認められない (図 2-23, 図 2-24)。培養開始 2 時間後では、通常区は細胞内にあるデンプン粒を包んでいるアミロプラストからデンプン粒が出ているのが認められた (図 2-25,a)。衝撃波区は、通常区のようなデンプン粒は、たくさん認められない (図 2-26)。培養開始 3 時間後では通常区は、細胞壁の間に隙間ができて組織の分解が進んでいる (図 2-27)。衝撃波区は、細胞壁の隙間は見られず細胞組織は詰まった状態である (図 2-28)。培養開始 6 時間後は、通常区はさらに細胞組織の分解が進んでいる (図 2-29)。衝撃波区も分解が進んできているのが、デンプン粒がアミロプラストに包まれているのが認められる (図 2-30)。培養開始 9 時間、12 時間後では両区の差があまり認められない (図 2-31～図 2-32)。培養開始 12 時間後以降では、両区とも玄米の種皮の部分しか確認できなくなりほとんどが分解されていることが認められる (図 2-33～図 2-38)。

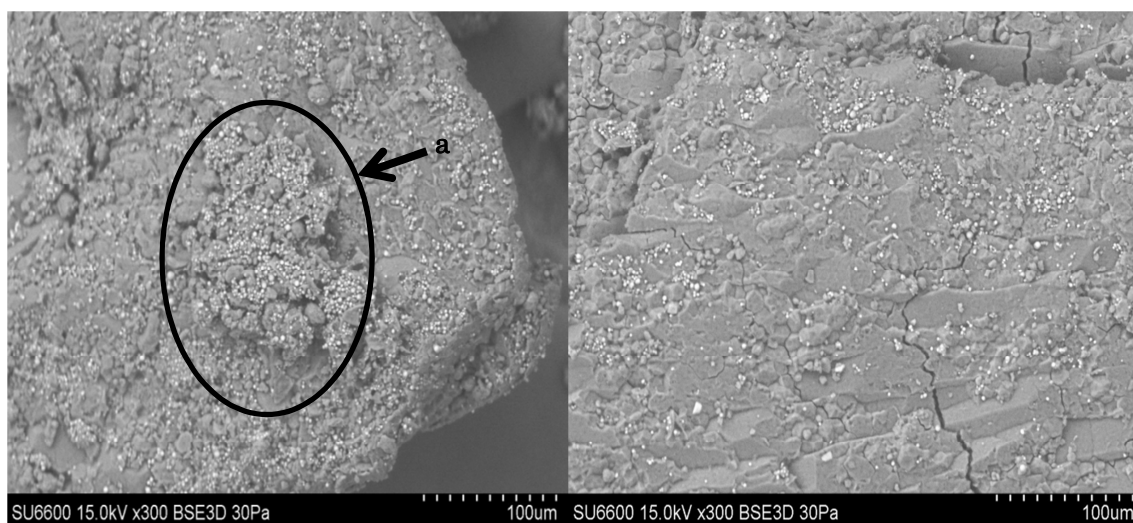


図 2-21 通常粉碎区原料

図 2-22 衝撃波区原料

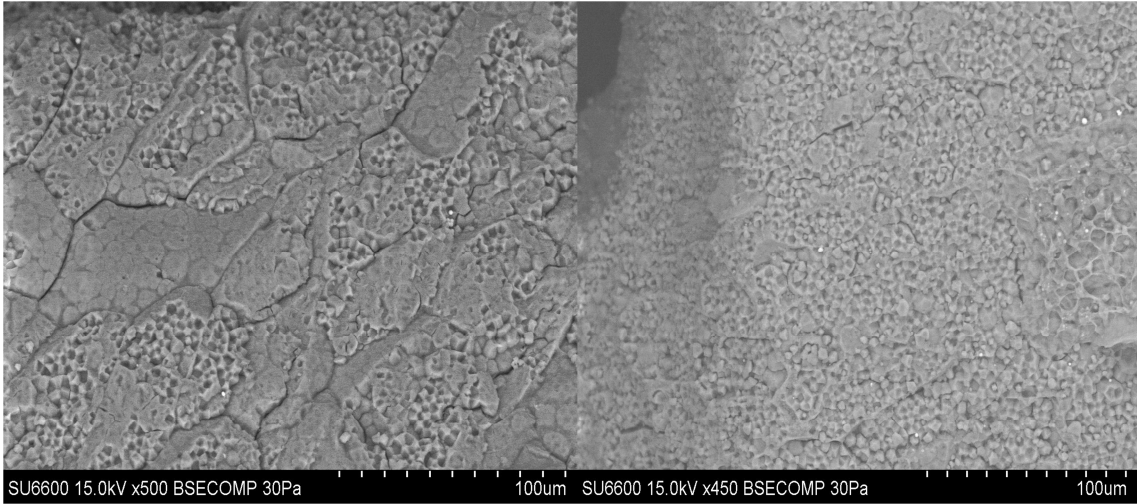


図 2-23 通常区培養後 1 時間

図 2-24 衝撃波区培養後 1 時間

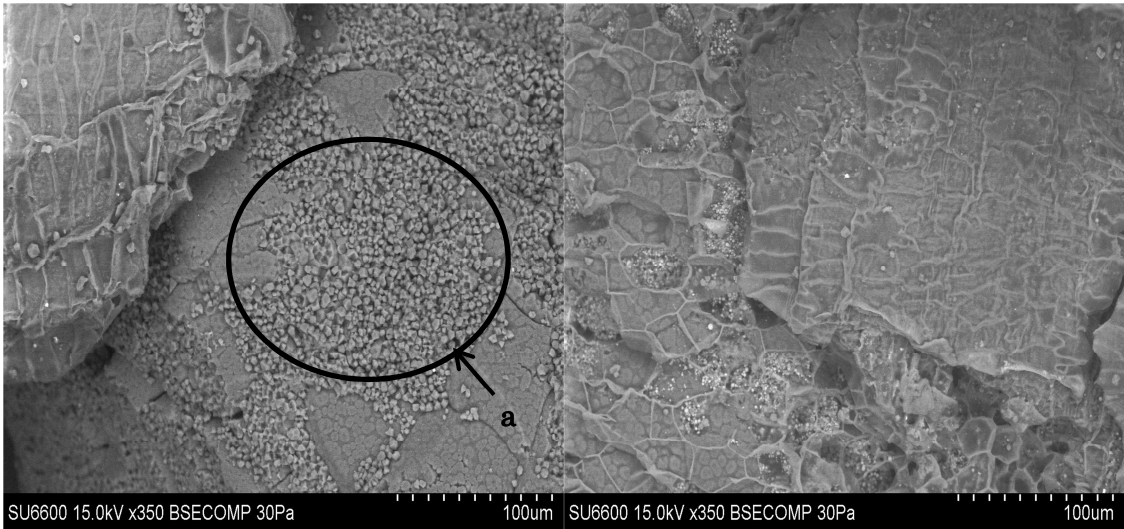


図 2-25 通常区培養後 2 時間

図 2-26 衝撃波区 培養後 2 時間

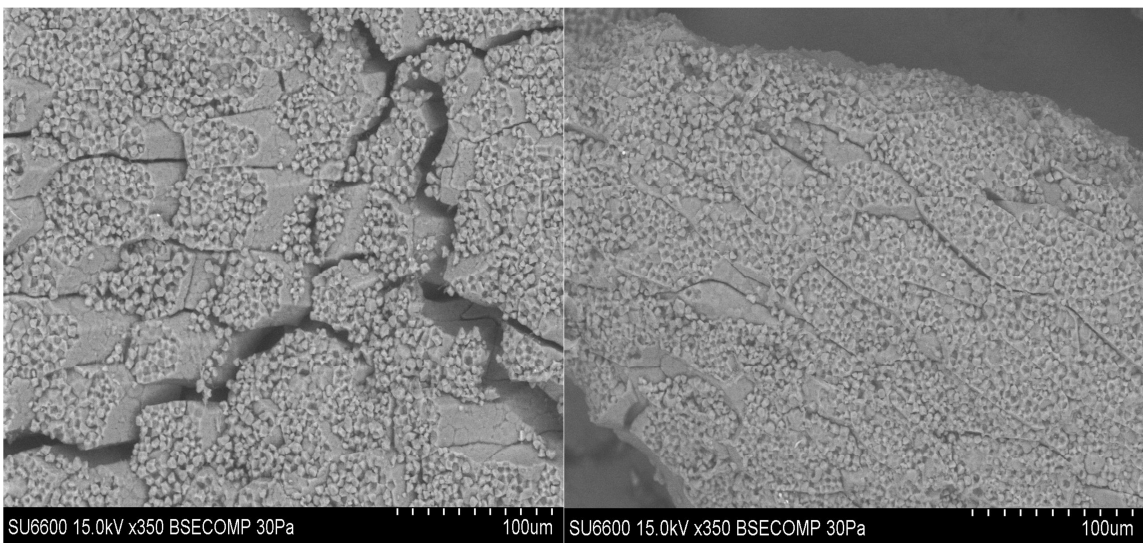


図 2-27 通常区培養後 3 時間

図 2-28 衝撃波区培養後 3 時間

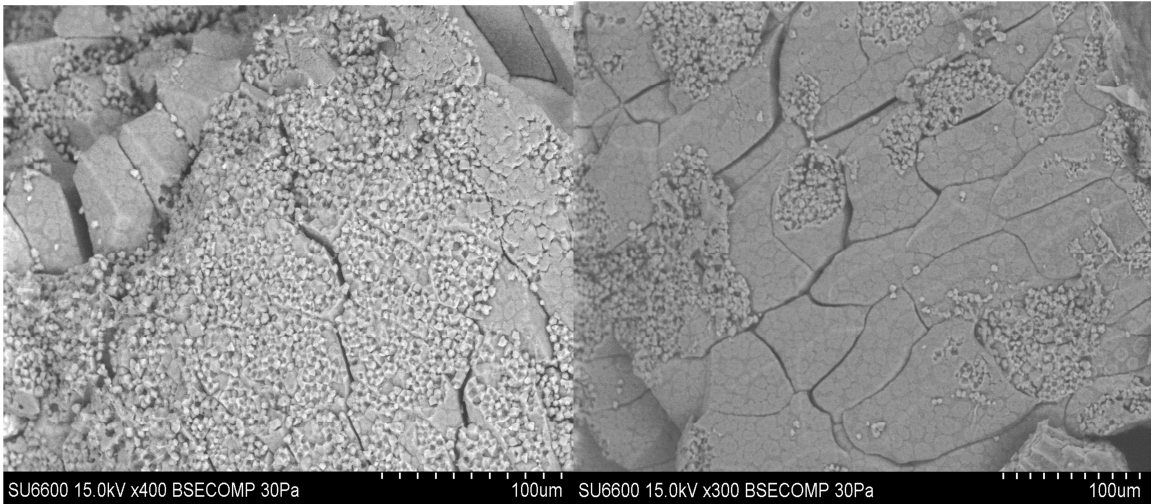


図 2-29 通常区培養後 6 時間

図 2-30 衝撃波区培養後 6 時間



図 2-31 通常区培養後 9 時間

図 2-32 衝撃波区培養後 9 時間

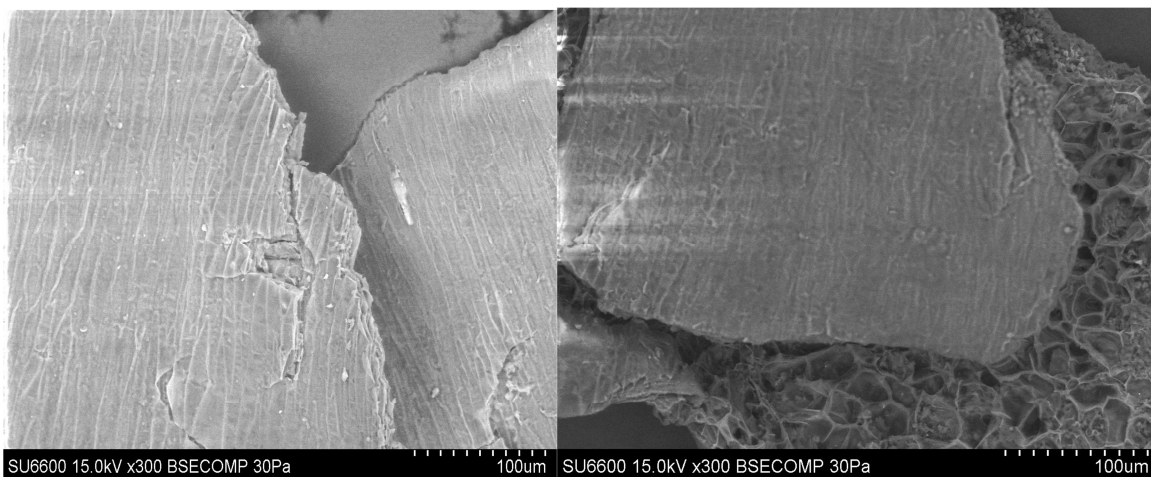


図 2-33 通常区培養後 12 時間

図 2-34 衝撃波区培養後 12 時間

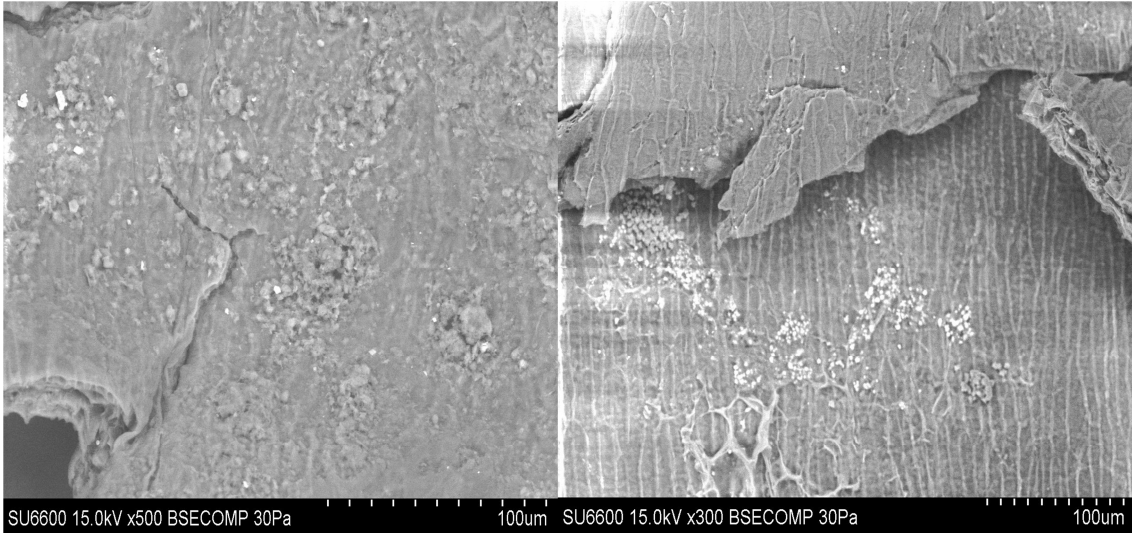


図 2-35 通常区培養後 24 時間

図 2-36 衝撃波区培養後 24 時間

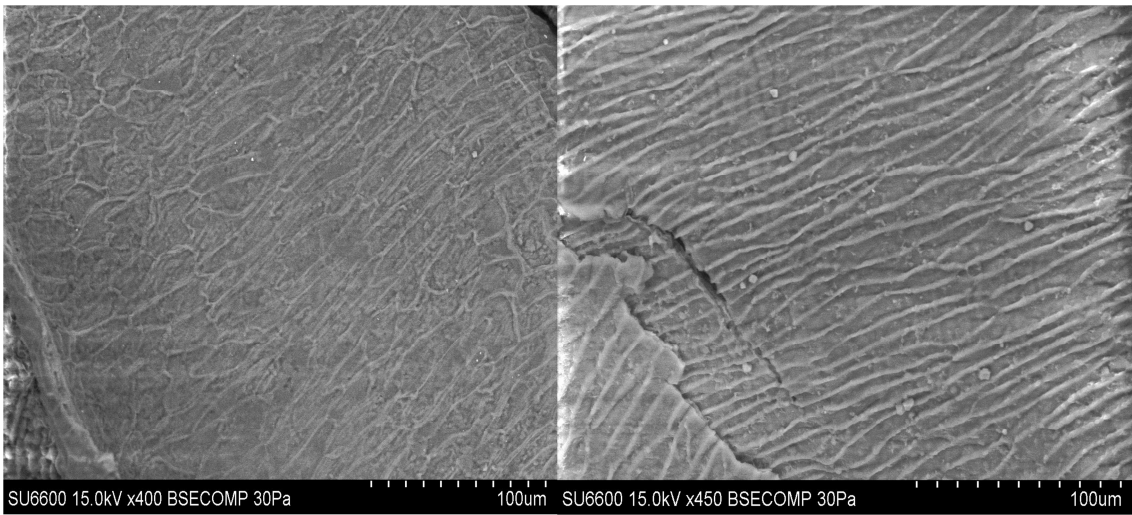


図 2-37 通常区培養後 36 時間

図 2-38 衝撃波区培養後 36 時間

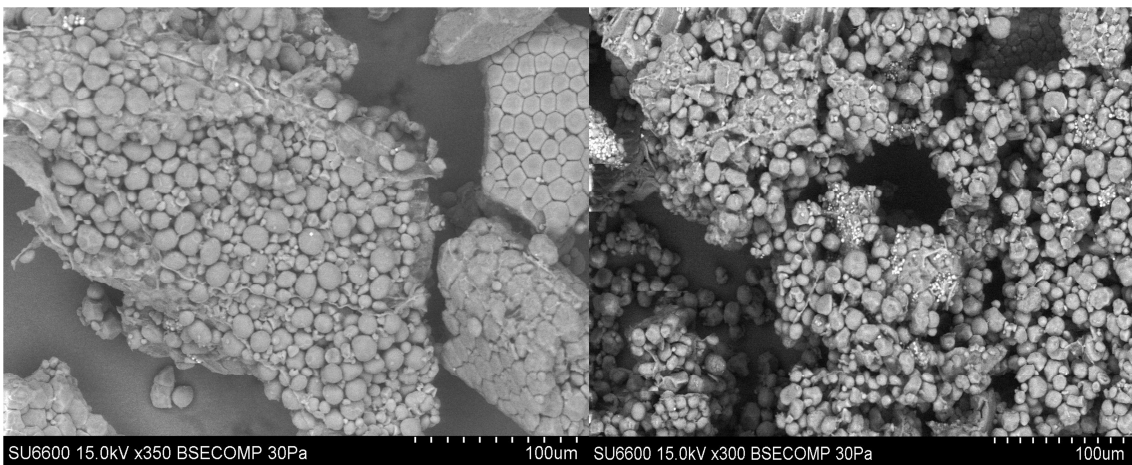


図 2-39 トウモロコシ通常区

図 2-40 トウモロコシ衝撃波区

トウモロコシの衝撃波処理区と通常粉砕区の観察では、米のようにデンプンの凝集は認められずトウモロコシデンプンは、米デンプンよりも熱変性を受けにくい原料であることが認められた（図 2-39, 図 2-40）。

2-6. 考察

飼料利用されている穀類は、粉砕や圧篇などの物理的な処理やアルカリ処理などの化学的な処理をすることで分解率や分解速度を向上することが知られている[20]。特に蒸気圧篇処理では、デンプン糊化により粉砕処理では微細化によりデンプンの表面積が拡大するために、トウモロコシは圧篇処理や粉砕処理によって第 1 胃での分解率が高くなることが報告されている[21],[22]。梶川らは、黒毛和種去勢肥育牛での飼料用米を粒度 1.18mm 以上 53%とした給与調査で開始直後には第 1 胃内 pH が下がり危機的な状況になり、その後乳酸生成に適応されていくと報告している[23]。飼料用米をトウモロコシと同様に処理して用いると第 1 胃内でのデンプン分解が速いことから急速なデンプン分解が起こり、乳酸生成量が増加して第 1 胃内 pH が低下して急性あるいは慢性型の乳酸アシドーシスになることが想定される。第 1 胃内の pH の状況が不安定であれば乳生産や肥育などに影響が出ることから、飼料としての米給与では第 1 胃内の pH を安定させることが重要である。永西らの報告では、玄米と粳米を無粉砕でナイロンバック法により培養した結果、乾物消失率は玄米が 51~60%、粳米が 20~28%で、これを粉砕して 2mm 以下の篩を通した玄米では 94~97%になり、粳米が 79%前後まで高まっている[3]。宮地らは加工した飼料用米試験結果より粳米、玄米を有効利用させるには無加工は実用的でないとして、玄米部を粉砕する加工法を施すことが必要であると報告している[24]。第 1 胃 pH は、ウシが摂取する飼料内容によっても変化する。デンプン過剰は、第 1 胃内の pH は低下しやすくなるが、第 1 胃内に唾液が十分流入すれば中和されて安定した pH 状態を保つことができる。そのため、米デンプン給与では、十分に反芻をさせりために繊維給与を十分に摂取させて反芻を促すことが重要である。しかし、夏場の暑熱時や粗飼料の品質が悪くなるなど繊維の摂取量が減少してしまう。季節や飼養環境などで常に同じ条件での飼養管理は難しいことから、安定的に牛へ飼料用米を利活用させるためにはデンプンの第 1 胃での分解速度をコントロールさせる必要がある。

デンプンの分析結果から、損傷率は粒度が 2 mm 以下では、衝撃波区では通常区より損傷率に低いことが示された。米粉は粉砕により、デンプン損傷率が 1.9%~22%となり、米粉の粒径が小さいほど損傷率が高いと報告している[25],[26]。これらの報告は、食品用として粉砕装置により損傷デンプン率が異なるとも報告されている。本試験に用いた試料

は、粉砕後 2mm の篩を通した粒度サイズで米粉のように微粉砕ではないことから通常区と衝撃波区とのデンプン損傷率に差が出なかったと推察される。

食用玄米の第 1 胃の乾物消失率は、衝撃波区では培養開始 1 時間後~9 時間後は通常区より緩やかに分解されることが認められた (表 2-4, 図 2-19)。デンプン消失率は、培養開始 12 時間後では両区とも 99%以上の消失率になってほとんど分解されていた。SEM 観察の結果から、粉砕時に通常区ではデンプンの凝集が認められるが、衝撃波区では認められない (図 2-21,a,図 2-22)。培養開始 2 時間後、3 時間後、6 時間後で通常区の細胞組織分解が進んでいる様子が認められる。その後は、認められない。

第 1 胃の分解パラメータから、乾物では有効分解率は、両区に差がない。しかし速分解性区分に差が認められた (表 2-6)。デンプンの第 1 胃の分解パラメータから、分解速度定数に差が認められた (表 2-7)。これらの結果は、衝撃波による粉砕では米デンプンの凝集が起りにくいといことを示している。そのため衝撃波区が通常区よりも第 1 胃内での分解が緩やかに起こると推察される。衝撃波区と通常区で分解特性に差がある要因は、玄米が粉砕されてデンプンの凝集が起こっている部分から微生物の分解が進みやすくなっていることが要因と推察される。SEM 観察から通常区は、培養前の粉砕された状況で表面にデンプンがあり培養開始 1 時間後では、細胞内のデンプン粒も分解が進んできていることが認められる (図 2-23) が衝撃波区では、培養前には、表面に凝集したデンプンは認められない (図 2-22)。

本検討から本試験で用いた衝撃波粉砕装置は、飼料向けにも利用できることが明らかとなった。衝撃波による効果として、飼料用米で問題となっている粘に発生する稲こうじ病に対する殺菌効果も期待される[9]。しかし加工コストは、価格に反映されるので装置の開発では、低コストで操作が容易なことが条件となる。また飼料用米の飼料原料としての加工は、米生産者において粉砕されている事例もあることから、米生産者が非加熱加工を行い飼料原料として飼料メーカーやウシ飼養農家と連携して供給することで米の加工業として経営の多様性の 1 つとして期待できる。



図 2-41 循環型衝撃波粉砕装置

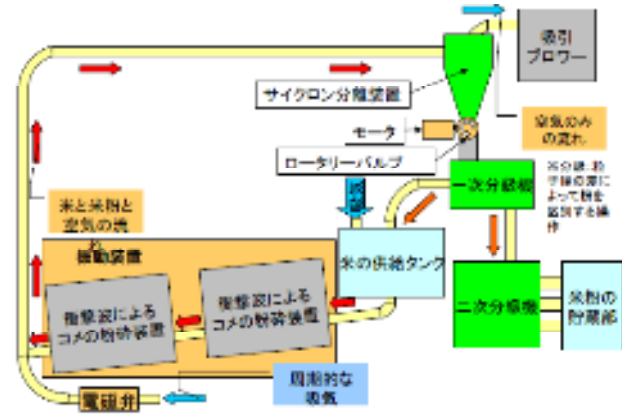


図 2-42 装置循環システム動作概要図

2-7. まとめ

本章では、米は牛飼料として利用する場合に第 1 胃内分解速度が速いことに問題であった。米の粉砕時におけるデンプンの熱変性を少なくするために非加熱粉砕法である衝撃波を利用した粉砕による第 1 胃での分解特性を検討した結果、通常粉砕法よりも乾物とデンプンの第 1 胃内分解速度が遅くなることが認められた。

- (1) 培養開始 2～6 時間後で乾物消失率、デンプン消失率に差があった。
- (2) 乾物分解パラメータとデンプン分解パラメータからどちらも有効分解率については差がなかったことから第 1 胃での利用性は差がなかった。
- (3) 衝撃波区の乾物分解パラメータは、速分解性区分、デンプン分解パラメータは、分解速度定数において差があったことから第 1 胃内で緩やかに分解される特性があった。
- (4) これらの培養時間ごとの試料を SEM で観察したところ通常粉砕は、衝撃波粉砕より、培養開始後速い時間から組織の分解が進むことが観察された。

衝撃波粉砕により食用玄米の第 1 胃での分解速度を遅くすることが認められてウシ飼料への利活用が期待される。

第3章 粉酢液の環境・飼料への抗菌性の検討

3-1. はじめに

粉酢液と同じく炭化物製造過程から採取される木酢液、竹酢液は畜産現場で、糞尿、畜舎の悪臭防止として利用されており、立枯病への抗菌作用や殺蟻活性や土壌微生物の糸状菌への減少効果が報告されている[1],[2],[3],[4]。粉酢液については、渡辺が大腸菌の抗菌性や佐藤らが灰色カビ病菌、イネごま葉枯病菌などの抗菌性の試験を行っている[5],[6]。

しかし粉酢液の畜産利用に関する知見はほとんどない。畜産現場では、鳥インフルエンザや口蹄疫、サルモネラ、ヨーネ病など非常に伝染性の強いウイルスや細菌による家畜への被害が発生しており、家畜衛生でのバイオセキュリティの重要性が増している。また飼料では、カビの多いサイレージの混合や暑熱時に TMR 飼料を給与すると 2 時発酵が起きたり、発熱したりして嗜好性が低下することで乳生産や肥育牛の増体に悪影響となる。

そこで粉酢液の有効利活用する方法として、環境では子牛由来の大腸菌とトウモロコシサイレージ由来の酵母と酪酸菌への抗菌性と TMR 飼料への添加混合による抗菌性の検討を行った。

3-2. 畜産環境への抗菌性 I

3-2-1 供試材料

供試試料については、粉酢液は製造条件の異なる 3 種類を用いた (表 3-1)。対照区として竹酢液 2 種類、木酢液 2 種類を用いた (表 3-1)。

表 3-1 畜産環境での抗菌性試験の供試試料一覧

No	試料名	製造条件他	pH
①	竹酢液	高周波過熱水蒸気温度 500°C、ホールド 500°C 3h/加水 2ℓ	2.20
②	竹酢液	黒炭方式 ¹⁾ 炭化炉による採取で温度は 800°C 程度	1.80
③	粉酢液	送風式粉殻炭化装置による製造、炭化温度は 800°C 程度	2.05
④	粉酢液	pH3.0 になるように加水されたもの	2.22
⑤	木酢液	白炭方式で炭化温度 1000°C の条件で製造	1.50
⑥	木酢液	高周波過熱水蒸気温度 500~600°C 製造ホールド 500°C/3h	4.82
⑦	粉酢液	高周波過熱水蒸気温度 250°C ホールド 500°C 1h/加水 2ℓ	2.84

¹⁾ 白炭方式とは、炭焼きの仕上げ段階で窯の中に空気を入れ、ほぼ焼き上がった炭の窯を 1000°C の高温で燃やし、窯から取り出し灰と土を混ぜて水分を含くませた消粉をかぶせて消化させる方法で製造される。

抗菌アッセイは、2種類の細菌と1種類の真菌を用いた。

大腸菌 (*Escherichia coli*) は、北海道で飼養している子牛糞便中から分離した株をものである。酪酸菌 (*Clostridium tyrobutyricum* JCM11008 株) は、理化学研究所・バイオリソースセンターより購入したものをを用いた。酵母は、北海道の農場で調製したデントコーンサイレージから分離した (*Issatchenkia orientalis*) を用いた。

3-2-2. 試験方法

抗菌アッセイについては、対照とした菌に応じた培地を用いて行った。

大腸菌の培地は、寒天培地①Tryptone (Difco) 10g, Yeast Extract (Difco) 5g, Sodium Chloride (Wako) 5g, Agar (Ina Agar) 15g を計量する。寒天培地②Tryptone (Difco) 10g, Yeast Extract (Difco) 5g, Sodium Chloride (Wako) 5g, Agar (Ina Agar) 10g を計量する。計量後各々にイオン交換水を加え、十分に混合したのち、121°C15分間オートクレーブで滅菌した。滅菌後、インキュベーター内で55°Cに調整した。

酪酸菌と酵母については、①寒天培地ポテトデキストロース (Nissui) 39g を計量する。

②寒天培地 PotatoDextrose Broth (Difco) 24g, Agar (Ina Agar) 7.5g を計量する。

計量後各々イオン交換水を加えて、十分に混合した後、121°C15分間オートクレーブで滅菌した。滅菌後インキュベーター内で55°Cに調整した。

7.5cm×22.5cmの角形シャーレに、①寒天培地を40ml流し、室温で30分固化させて滅菌したステンレスカップ(外径8mm)をシャーレに等間隔におく。供試菌を入れた菌液40μLを滅菌チューブ50mlに入れて十分混和した②寒天培地を供試菌の入った滅菌チューブに入れて上下反転でよく混ぜた後、角形シャーレに40ml流し、室温で30分固化させた。固化後ステンレスカップを外し、直径8mmのウェルを作成した。無希釈の供試試料を各50μlをウェルに添加し、37°Cインキュベーター内で24時間培養した。また強酸性による抗菌力の影響を除くために10M NaOHを用いてpH6.5に調整した供試試料を同じプレート上で抗菌アッセイを行った。

3-2-3. 測定および分析

抗菌アッセイ結果は、それぞれ大腸菌と酪酸菌の場合は、ペニシリンカリウムを用いて25unit/well, 10unit/well, 5unit/well, 2.5unit/well, 1.0unit/wellを同じプレート上に作成してクリアゾーンの測定値から検量線を作成して試料のクリアゾーンを測定して算出した。酵母の場合は、ナイアスチンを用いて100unit/well, 50unit/well, 10unit/wellを同じプレート上に作成してクリアゾーンの測定値から検量線を作成して試料のクリアゾーン

を測定して算出した。pH は、(株)堀場製作所製のガラス電極式水素イオン濃度計 D-22 を用いて測定した。

3-2-4. 結果

抗菌アッセイ結果を表 3-2 に示し、大腸菌のアッセイを図 3-1、酪酸菌のアッセイを図 3-2、酵母のアッセイを図 3-3 に示した。

大腸菌は、原液条件では、竹酢液②、籐酢液③、竹酢液①、木酢液⑤、籐酢液④に抗菌性が認められたが、木酢液⑥と籐酢液⑦には抗菌性は認められなかった。pH6.5 調整条件では、籐酢液③、竹酢液①、竹酢液②、木酢液⑤に抗菌性が認められたが、その他の試料には認められなかった。

酪酸菌は、原液条件では、籐酢液③、竹酢液①、木酢液⑤の順で抗菌性が認められたが、その他の試料には認められなかった。pH6.5 調整条件では、籐酢液③と竹酢液①に抗菌性が強く認められたが、その他試料は、認められなかった。

酵母は、原液条件では、籐酢液③、竹酢液①、木酢液⑤の順で抗菌性が認められたが、他の試料は認められなかった。pH6.5 条件下は、籐酢液③、竹酢液①の順に抗菌性が認められたが、他の試料では認められなかった。

この結果から籐酢液を使っても木酢液や竹酢液と同じように抗菌性が得られることを確認した。

表 3-2 抗菌アッセイ結果

試料名	大腸菌 (<i>E.coli</i>)		酪酸菌 (<i>C.tyrobutyricum</i>)		酵母 (<i>I. riantalis</i>)	
	原液	pH6.5 調整	原液	pH6.5 調整	原液	pH6.5 調整
竹酢液①	864	99	13	8	264	109
竹酢液②	2,934	99	n.d.	n.d.	n.d.	150
籐酢液③	1,286	282	21	14	18,390	1,505
籐酢液④	32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
木酢液⑤	616	49	11	n.d.	29	n.d.
木酢液⑥	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
籐酢液⑦	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
(単位)	Penicillin K unit/ml		Penicillin K unit/ml		Nystatin unit/ml	

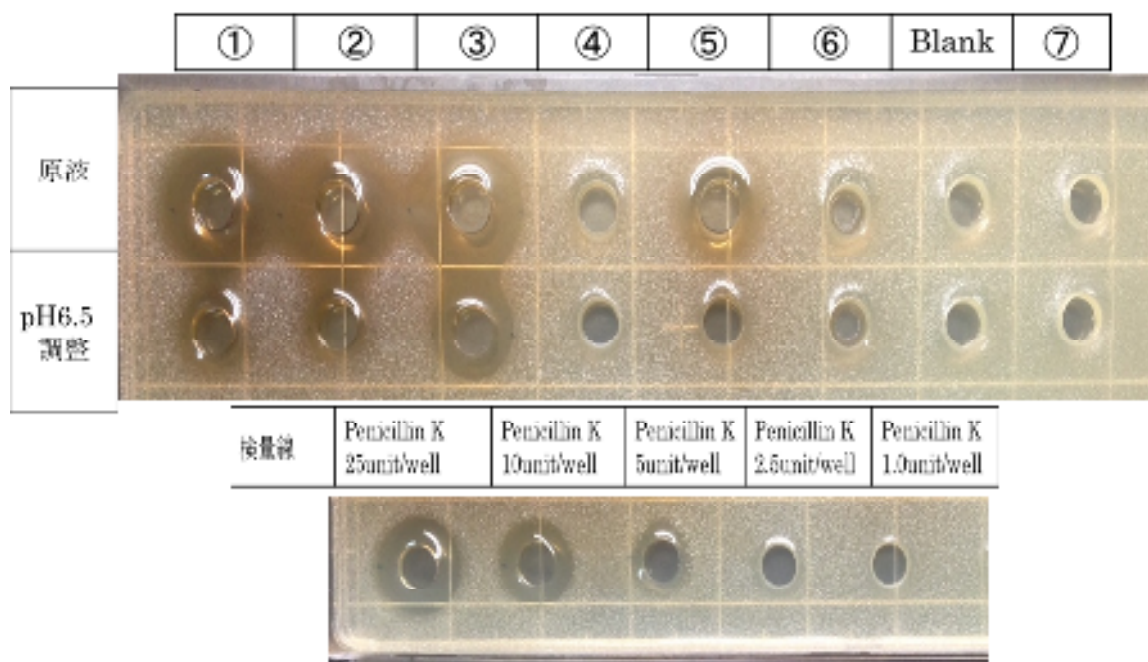


図 3-1 大腸菌 (*E.coli*) に対する抗菌アッセイ

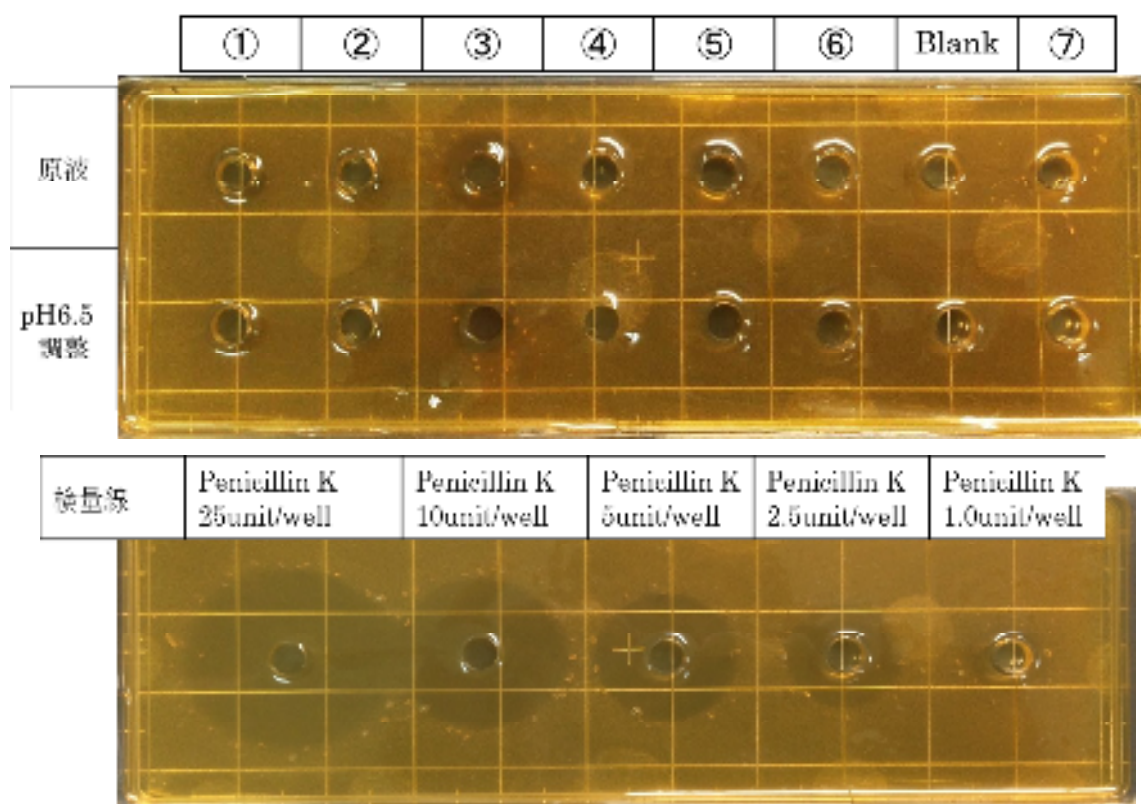


図 3-2 酪酸菌 (*C.tyrobutyricum*) に対する抗菌アッセイ

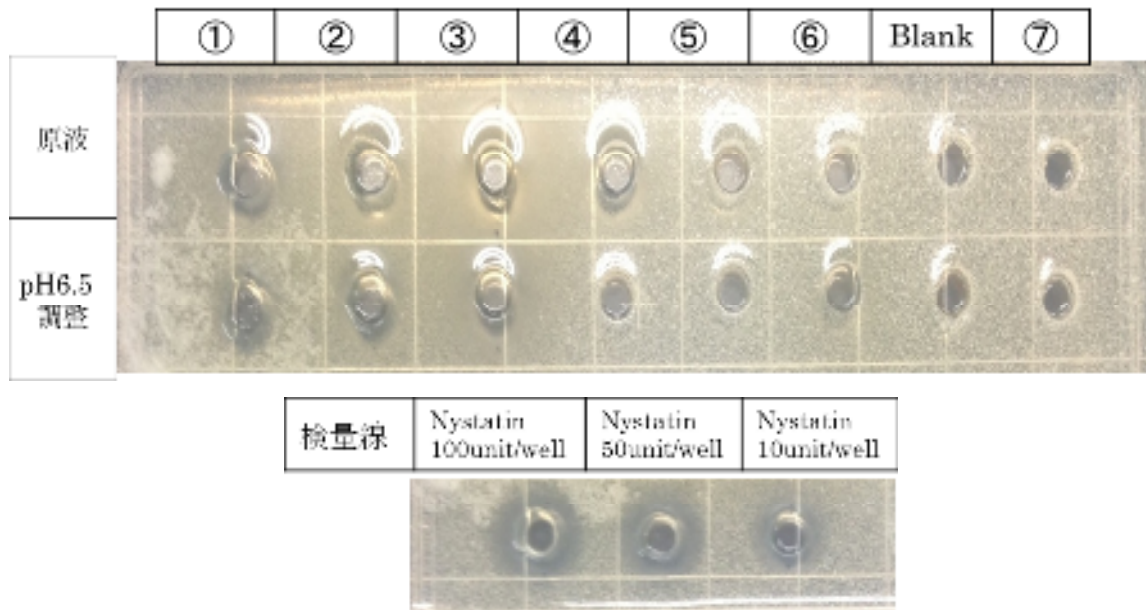


図 3-3 酵母 (*I.orientalis*) に対する抗菌アッセイ

3-3. TMR 飼料への抗菌性

3-3-1. 供試材料

粉酢液は、製造条件の異なる 4 種類 (A、B、D、E) を用いた (表-3-3)。対照として竹酢液H、木酢液J、木酢油を用いた。

試験に用いた飼料は、青森県にある TMR センター (自給飼料と濃厚飼料など混合する製造工場) で製造された TMR 飼料を用いた。pH は、榊堀場製作所製のガラス電極式水素イオン濃度計 D-22 を用いて測定した。

粉酢液Aを製造した装置は図 3-4、粉酢液Bを製造した装置は図 3-5、粉酢液Eおよび竹酢液Hを製造した装置は図 3-6 と装置の概略図を図 3-7 に示した。

表 3-3 TMR 飼料に用いた試料

No	試料名	製造条件他	pH
A	粉酢液	蓄熱方式により製造 炭化温度 500℃ ホールド 500℃/3h	2.38
B	粉酢液	送風方式粉殻炭化装置により製造、炭化温度は 800℃程度	2.37
D	粉酢液	高周波過熱水蒸気温度 250℃、ホールド 500℃ 1h/加水 1ℓ	2.85
E	粉酢液	高周波過熱水蒸気温度 560℃、ホールド 500℃ 2h/加水 2ℓ	2.90
H	竹酢液	高周波過熱水蒸気温度 360℃、ホールド 500℃ 2h/加水 2ℓ	2.53
J	木酢液	白炭方式で製造 炭化温度 1000℃	1.81



図 3-4 蓄熱分解物回収装置

①装置での採取状況 ②炉への籾殻 ③出来上がった籾殻燻炭



図 3-5 アイセック社製 TM-50 送風型籾殻燻炭装置

①装置での稼働状況（左下のポリタンクで籾酢液採取） ②籾殻燻炭排出

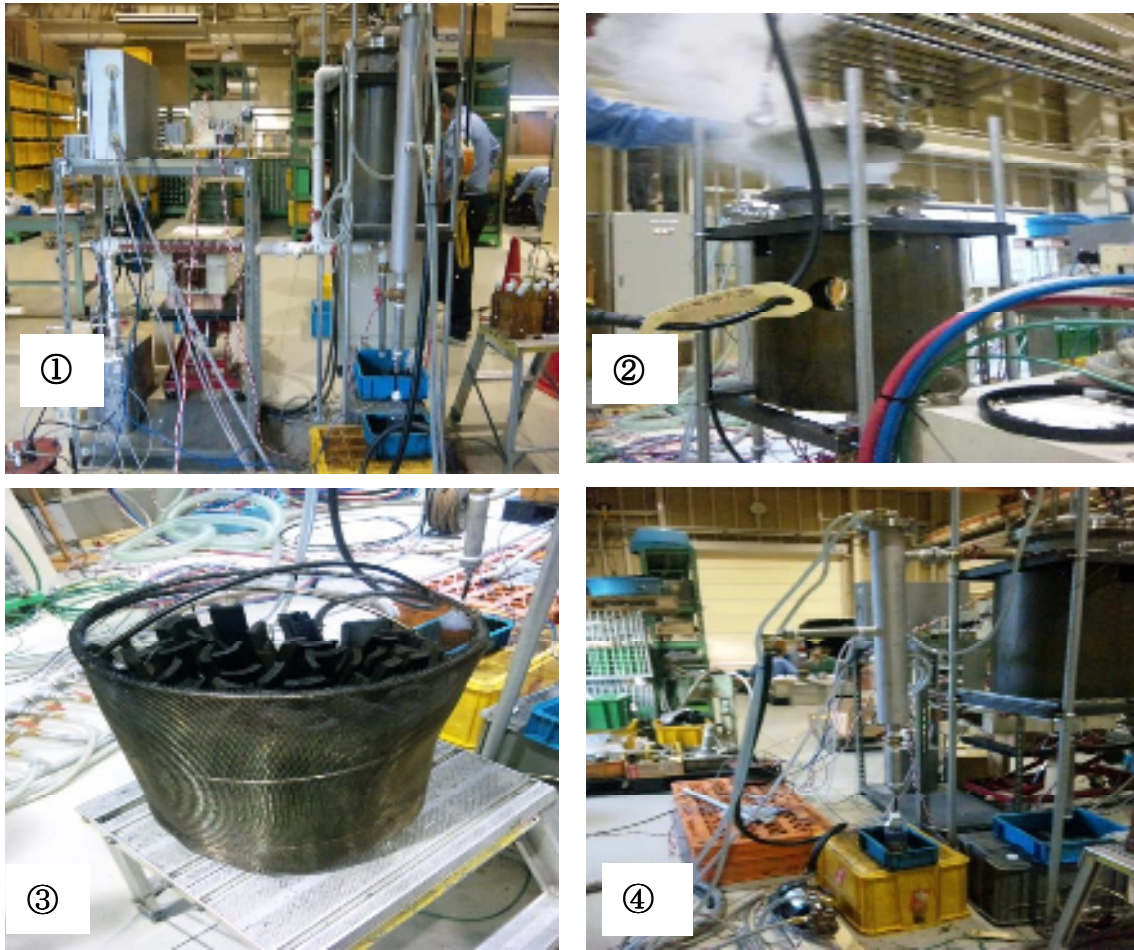


図 3-6 高周波過熱水蒸気装置試作機 NDK エンジニアリング(株)製

①装置外観 ②炉の開封状況 ③炉から取り出した竹炭 ④燻炭液回収口

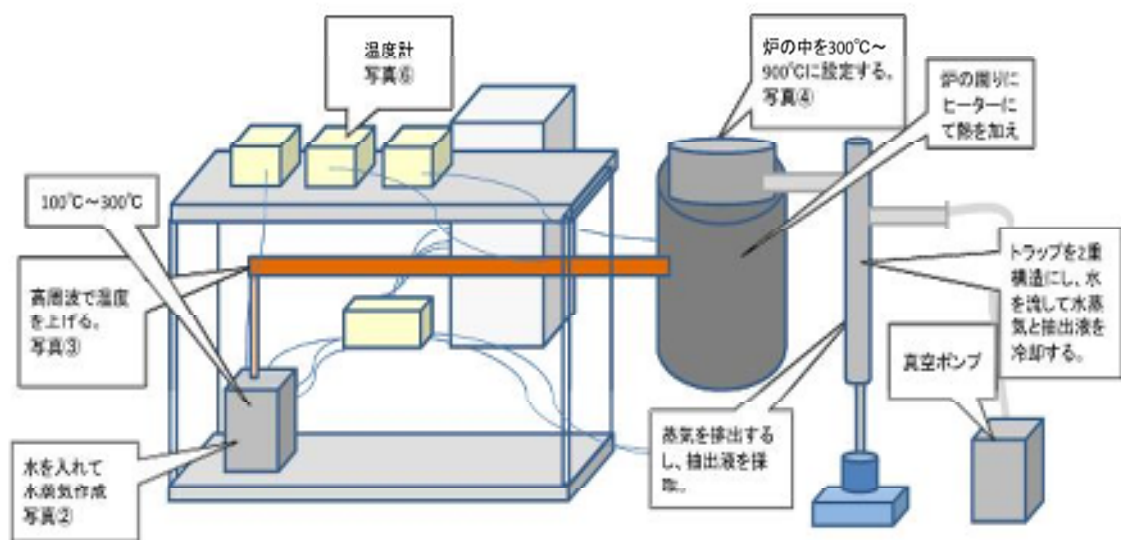


図 3-7 高周波過熱水蒸気装置の説明略図

3-3-2. 試験方法

表 3-3 に記載した試料 100 μ ml をそれぞれ 900 μ l の水と混合して TMR 飼料 100g に噴霧した。添加混合した試料は全て、ポリエチレン製のストマッカー袋 (GSI クレオス社製) に入れ、口を折りたたみ 30 $^{\circ}$ C インキュベーター内で 3 日間保存した (図 3-8, 図 3-9)。



図 3-8 試料を入れたストマッカー袋

図 3-9 インキュベーター保存状態

3-3-3. 測定および分析

表 3-3 の試料の靱酢液、竹酢液、木酢液についてフェノール含量をそれぞれ測定した。フェノールの定量法は、JIS K0102.28.1.2 に基づいた 4-アミノアンチピリン法による比色法で行った[7],[8],[9]。分光光度計は、HITACHI U-1000 spectrophotometer を用いた。

各試料を噴霧した TMR 飼料は、インキュベート終了後、約 30g (30.0~30.9g の範囲) のサンプルをとり、90ml の滅菌イオン交換水を加え、フィルター付きのストマッカー袋で 1 分間抽出を行なった。

抽出液から全 DNA を回収してアルタイム PCR (Applied Biosystems Step One™) を用いて TMR 飼料中の総細菌数を定量した。

リアルタイム PCR の測定は、

- ①抽出液 1ml を 1.5ml チューブに移し、20393 \times g (15000rpm)、3min 遠心分離する。
- ②上清を廃棄(ピペッティング)、ライシスバッファ500 μ l (組成は表 3-6) を加え、ボルテックスして菌体を破壊する。
- ③懸濁液をビーズチューブに移す (軽く遠心を行ない、全量を収集する)
- ④Beads Beater で細胞破碎、フルで 1 分間。
- ⑤70 $^{\circ}$ C、15min 溶菌 (ドライバス)。
- ⑥20393 \times g (15000rpm)、室温で 5 分間遠心、

表-3-4 ライシスバッファー組成

500mM_NaCl	NaCl	8.77g
50mM_EDTA	EDTA	5.58g
4%_SDS	SDS	12.0g
50mM_Trис-HCl, pH8.0	Tris-HCl, pH8.0	300ml

- ⑦上清を、1.5mlのエッペンに移す。
- ⑧はじめの1.5mlチューブにライシスバッファーを250 μ l添加しボルテックスして軽く遠心、全量をビーズチューブに移し、④から⑦の工程を実施する。
- ⑨中性フェノール溶液750 μ lを添加しボルテックスする。
- ⑩20393 \times g(15000rpm)、5分間遠心分離し、上層を別のチューブ(1.5ml)に回収する。
- ⑪510 μ lの中性フェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール溶液を加えてボルテックスする。
- ⑫20393 \times g(15000rpm)、5分間遠心分離し、上層を別のチューブ(1.5ml)に回収する。
- ⑬400 μ Lのクロロホルムを加えてボルテックスする。
- ⑭20393 \times g(15000rpm)、3min遠心し、上清250 μ lを別のチューブ(1.5ml)に移し、3M酢酸ナトリウム25 μ l、エタチメイト(タカラバイオ社)1.0 μ l、99.5%エタノールを700 μ l加え、20393 \times g(15000rpm)、15min遠心後、上清を廃棄する。
- ⑮70%エタノールを500 μ l加え、20393 \times g(15000rpm)、15min遠心後、上清を廃棄し風乾させる、
- ⑯TEbuffer100 μ lに溶解させる。
- ⑰TE Bufferに溶解したのち、冷凍(-30 $^{\circ}$ C)する。
- ⑱試薬: KOD SYBR qPCR Mix (日東紡)、試薬の混合は、KOD: 5 μ l (ROX Dye 混合: 内部標準液) プライマーF: 0.5 μ l、プライマーR: 0.5 μ l、水(DNA/RNA Free): 3 μ l、DNA: 1 μ lの計10 μ lで95 $^{\circ}$ C for 3min, (95 $^{\circ}$ C for 10sec, 60 $^{\circ}$ C for 20sec, 72 $^{\circ}$ C for 1sec) \times 40 cycle条件で測定した[10],[11]。

尚、リアルタイムPCRで用いた総細菌数のプライマーを表3-5に示した。また測定した総細菌数とフェノール含有量との相関について分析した。

表 3-5 総細菌数に用いた総 16SrDNA プライマー

	Primer List	5'→3'
Total Bacteria	341f	CCTACGGGAGGCAGCAG
	534r	ATTACCGCGGCTGCTGC

3-3-4. 結果

1) フェノール含有量

各試料のフェノール含有量を表 3-6 と図 3-10 に示した。木酢液①、籾酢液⑧、籾酢液⑥、竹酢液⑨、籾酢液④、籾酢液③の順でフェノールが含まれていた。籾酢液でも試料による差があり、高周波過熱水蒸気装置では、製造条件によりフェノール含有量に差があった。

表 3-6 フェノール含有量 (単位 : mg/ml)

試料	籾酢液③	籾酢液⑧	籾酢液④	籾酢液⑥	竹酢液⑨	木酢液①
含有量	7.6	133.5	22.9	125.9	91.6	236.9

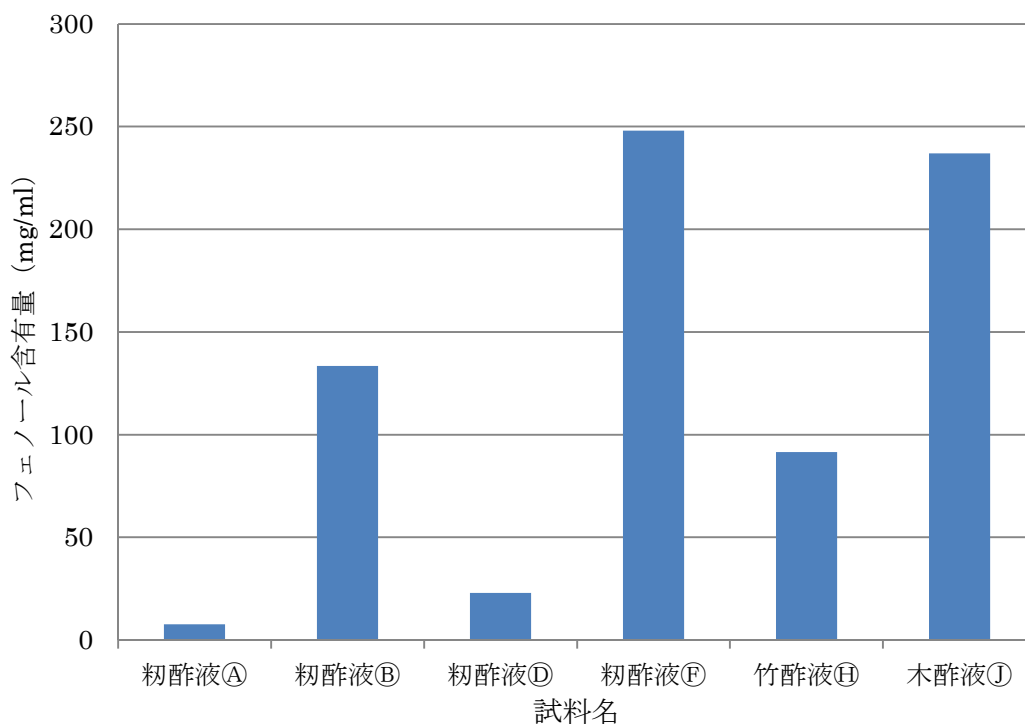


図 3-10 各試料のフェノール含有量

2) リアルタイム PCR による総細菌数

TMR 飼料中の総細菌数の結果は、表 3-7 と図 3-11 に示した。

TMR 飼料への総細菌数は、籾酢液⑧、籾酢液④、籾酢液⑥、竹酢液⑨、籾酢液③、木酢液①の順で総細菌数が少なくなった。特に籾酢液⑧と籾酢液④では、総細菌数が他の試料よりも低くなった。木酢液①と籾酢液③は、無処理区と同じレベルであった。

表 3-7 TMR 飼料中の総細菌数

	試料名	総細菌数 (cfu/g)
Ⓐ	籾酢液	1.76×10^6
Ⓑ	籾酢液	1.11×10^3
Ⓓ	籾酢液	6.81×10^3
Ⓕ	籾酢液	1.91×10^4
Ⓖ	竹酢液	8.00×10^5
Ⓙ	木酢液	4.29×10^6
-	無処理区	4.82×10^6

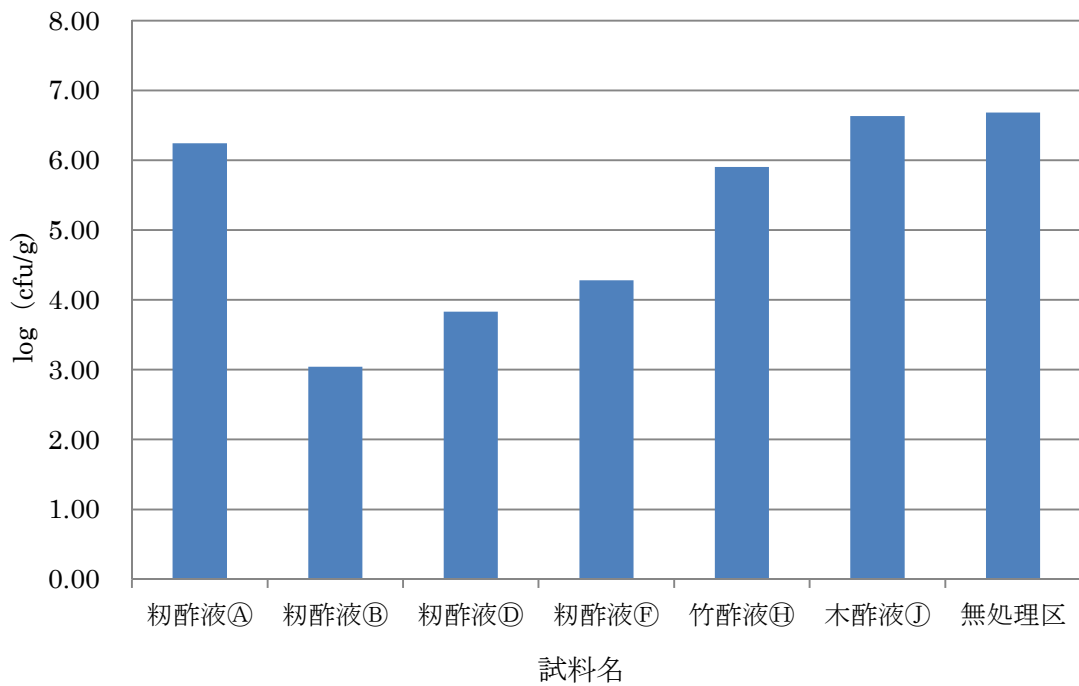


図 3-11 TMR 飼料中の総細菌数

3) TMR 飼料への抗菌性とフェノール含有量との相関

TMR 飼料での TMR 試料中の総細菌数とフェノール含有量との相関分析を行った結果は、相関係数は 0.027 で相関は認められなかった (図 3-12)。

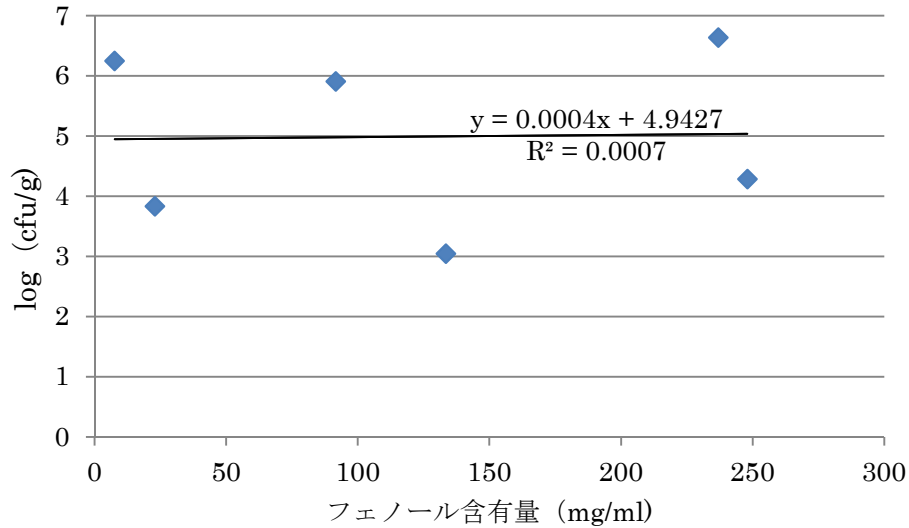


図 3-12 TMR 飼料での総細菌数とフェノール含有量の散布図

3-4. 畜産環境への抗菌性 II

3-2 で用いた大腸菌と酵母に対して 3-3 で用いた試料の抗菌アッセイを行った。

3-4-1. 供試材料

3-2-1 に記載しの大腸菌と酵母をで用いた。試料は、3-2 の TMR 飼料に用いた試料を用いた (表 3-3)。

3-4-2. 試験方法

3-2-1 に記載のと同じ方法で行った。

3-4-3. 測定および分析

アッセイ結果について大腸菌は、ペニシリンカリウムを用いて 250unit/well, 100unit/well, 50unit/well, 25unit/well, 10unit/well, 5unit/well, を同じプレート上に作成してクリアゾーンの測定値から検量線を作成して試料のクリアゾーンを測定して算出した。酵母は、ナイアスチンを用いて 500unit/well, 250unit/well, 100unit/well, 50unit/well, 10unit/well, 0unit/well を同じプレート上に作成してクリアゾーンの測定値から検量線を作成して試料のクリアゾーンを測定して算出した。またフェノール含有量と抗菌性との相関を分析した。

3-4-4. 結果

結果は、表 3-8 に示し、大腸菌のアッセイを図 3-14、酵母のアッセイを図 3-15 に示した。大腸菌に対しては、原液条件で靱酢液③、竹酢液④、靱酢液⑥、木酢液⑦、靱酢液⑧、靱酢液⑩で抗菌性が認められた。pH6.5 調整条件では、靱酢液③、竹酢液④、靱酢液⑥、靱酢液⑧で抗菌性が認められたが、靱酢液⑩、木酢液⑦では認められなかった。

酵母に対しては、原液条件で靱酢液③、竹酢液④、靱酢液⑥、靱酢液⑧で抗菌性が認められたが、靱酢液⑩と木酢液⑦は認められなかった。pH6.5 調整条件では、靱酢液③、竹酢液④で抗菌性は認められたが、靱酢液⑧、靱酢液⑩、靱酢液⑥、木酢液⑦は認められなかった。フェノール含有量と抗菌性との相関係数は 0.37 で、認められなかった (図 3-9)。

表 3-8 抗菌アッセイ結果

試料名	フェノール含有量(mg/ml)	大腸菌 (<i>E.coli</i>)		酵母 (<i>I.orientalis</i>)	
		原液	pH6.5 調整	原液	pH6.5 調整
靱酢液⑧	7.6	109	n.d.	72	n.d.
靱酢液③	133.5	410	69	465	322
靱酢液⑩	22.9	30	n.d.	n.d.	n.d.
靱酢液⑥	248.0	230	35	101	n.d.
竹酢液④	91.6	253	44	192	110
木酢液⑦	236.9	141	n.d.	n.d.	n.d.
(単位)		Penicillin K unit/ml		Nystatin unit/ml	

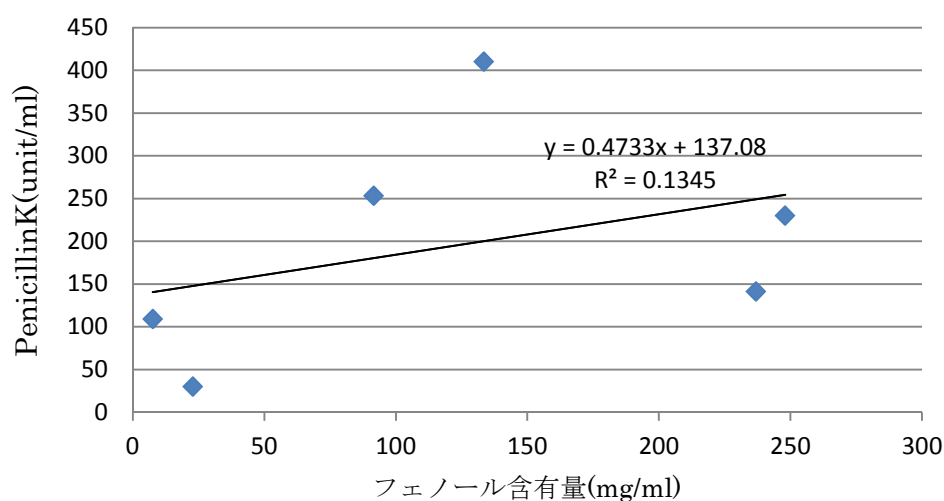


図 3-13 大腸菌における原液の抗菌性とフェノール含有量の散布図

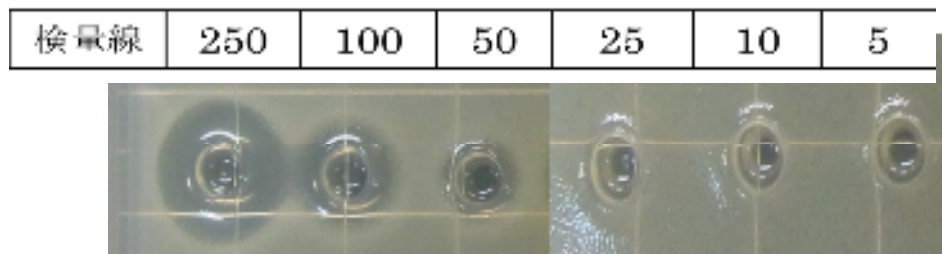
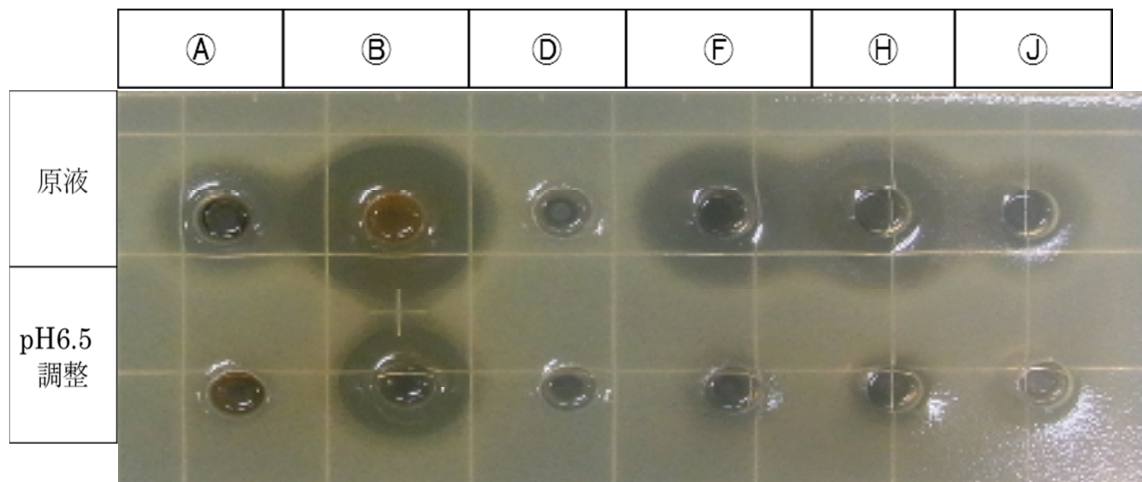


図 3-14 大腸菌 (*E.coli*) に対する抗菌アッセイ

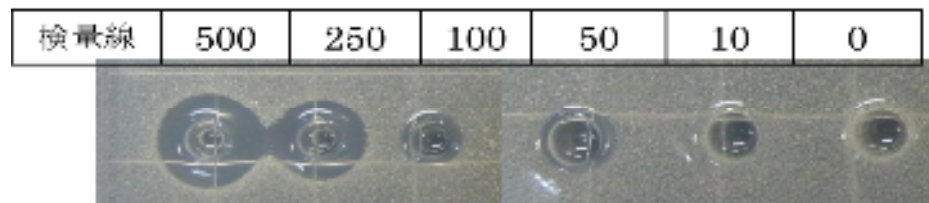
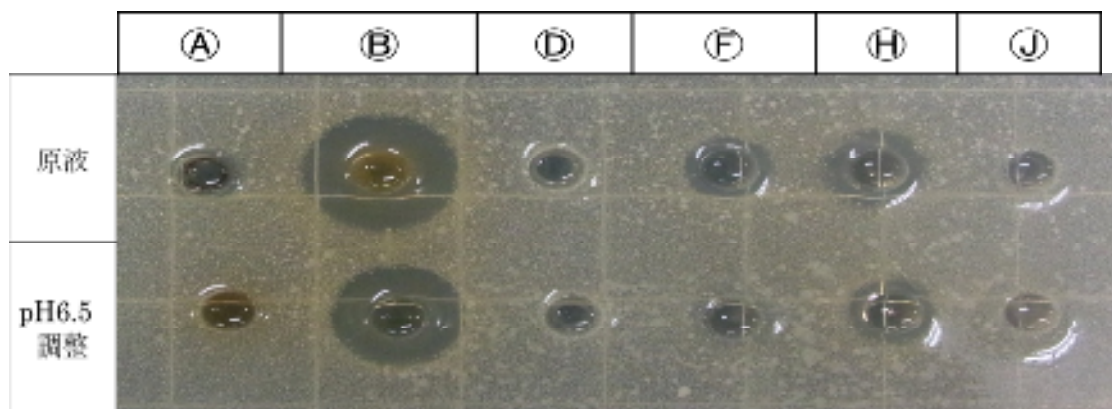


図 3-15 酵母 (*I.orientalis*) に対する抗菌アッセイ

3-5. 考察

畜産環境への抗菌性 I から籾酢液の大腸菌、酪酸菌、酵母に対する抗菌性については、籾酢液③が原液と pH6.5 調整で大腸菌、酪酸菌、酵母に認められた。籾酢液④は、原液で大腸菌に抗菌性が認められたがその他では抗菌性は認められなかった。籾酢液⑦は、すべての大腸菌、酪酸菌、酵母に対して抗菌性は認められなかった。対照として用いた竹酢液①は、原液と pH6.5 調整で大腸菌、酪酸菌、酵母に対して抗菌性が認められた。竹酢液②は原液では、大腸菌だけ抗菌性が認められ、酪酸菌には原液、pH6.5 調整で抗菌性は認められなかった。酵母には、pH6.5 調整で認められた。竹酢液②では、pH6.5 調整で酵母に対する抗菌性があったが、竹酢液①は酵母に対する抗菌性は、原液と pH6.5 調整で認められることから、竹酢液としての異なる点は、採取温度にあることから温度により採取される成分に違いがあることが影響していると推測される

木酢液では、木酢液⑤で大腸菌に対して原液と pH6.5 調整で抗菌性が認められ、酪酸菌と酵母には原液に抗菌性が認められた。その他の木酢液には抗菌性が認められなかった。

この結果からは、籾酢液は、採取する温度条件や装置により効果が異なることが推察される。木酢液は、原材料である樹種や採取する条件によりその成分に違いがあることは、谷田貝により報告されている[4]。

籾酢液は、原料が籾殻のみで製造されるので異なるのは、採取の温度条件や装置がである。栗山、野本らは、木材での炭化過程から 200℃前後で分解が始まり、260℃でヘミセルロースが分解し、260℃～310℃でセルロースが分解、310℃～450℃でリグニンが分解すると報告している[11],[12]。籾酢液③、竹酢液②、木酢液⑤は、採取する温度が他の試料よりも高いことから温度により成分に影響していることが推察される。佐藤らは 120℃～270℃で採取した籾殻液を用いて灰色カビ病菌、イネごま葉枯病菌などに対して 1.0%以上の濃度で抗菌があると報告している[5]。渡辺は、生理食塩水中の大腸菌と黄色ブドウ球菌を含む生理的食塩水へ濃度をそれぞれ 1%、3%、5%にした籾酢液を加えて 2 時間保温した結果、生育率が 大腸菌は、1%区では 39%、3%区では 10%、5%区では 6%となり、黄色ブドウ球菌は 1%区では 6%、3%区では 3%、5%区では 0%となると報告している[6]。

これは籾酢液③が大腸菌に抗菌性を示していることと同じような傾向である。大腸菌に対する抗菌性は、試料の pH が 2.22 以下のものがその抗菌活性が高くなっていることから大腸菌への抗菌性は、強酸性による効果が推察される。

木酢液の酸性成分は、酢酸が主体によるものと松下らにより報告されており、リグニン、セルロース、ヘミセルロースの熱分解に由来する[14]。西本らは、木酢液を製造 6 ヶ月後の分析から有機物中の酢酸が増加して、酢酸以外の成分が減少する傾向があることから木酢液中の成分に化学変化が起きていると報告している[15]。籾酢液においても酢酸が増加

するのは、継時的な変化を確認する必要がある。森田らは木酢液に含まれる化学成分は、約 90%は水、約 10%は酢酸、1%程度が有機酸やクレゾール、グアヤコールなどのフェノール性の成分であると報告し、谷田貝は、籾酢液、木酢液、竹酢液には、フェノール成分が1~3%程度含まれているとしている[16],[17]。フェノールは、1834年に Runge が石炭タールから発見された物質で石炭酸と命名されて、その後タールの蒸留により大量生産されてからフェノールと変わった。フェノールは、Lister により手術の消毒薬として利用されるようになり感染症の予防につながった[18]。すなわちフェノール自体が殺菌成分である。籾酢液、木酢液、竹酢液に含まれるフェノール含量と抗菌性の関係がある要因とされている。

飼料への抗菌性試験の結果では、籾酢液の総細菌数に対する抗菌性が高くなっている。この要因として籾酢液は、木酢液や竹酢液と異なり木タールなどの粘ちょう性物質が少なく水に対する親和性が高いことが挙げられる[6]。この水に対する親和性の高さにより TMR 飼料のような水分を約 50%程度含んだ材料に対しては全体に試料が行きわたり抗菌効果があったと考察できる。籾酢液は、飼料用の抗菌資材として利活用できることを明らかにした。

自給飼料であるグラスサイレージやトウモロコシサイレージを配合飼料などと混合して給与する TMR 飼料の場合には、サイレージ由来の微生物が多くなる。サイレージ中に酪酸菌が多いとタンパク質を分解してアンモニアを生成し、嗜好性も下がることが知られている[19]。また気温の高い夏場などは、TMR 飼料自体が発熱して残飼が増えて乾物摂取量が低下して乳生産などに悪影響が出る。これに対して生産現場では、品質の悪いサイレージを給与しないとか夏場は TMR 飼料の混合する量を減らして回数を増やすことなどの対策を行っている。また食品残さなども水分が多く変敗しやすい原料である。今後飼料への抗菌性を生産現場での TMR 飼料やサイレージなどに対する試験やウシでの嗜好性、乳生産性や肥育牛の増体などを試験調査して実用化を目指したい。

木酢液や竹酢液では、飼料としての給与利用についての報告がある。木酢液では、坂井田が炭と木酢液を混合した飼料原料をニワトリに給与してサルモネラ、カンピロバクター、インフルエンザウィルスへの効果が報告されている[20],[21],[22]。竹酢液の飼料添加では、Chu らにより肥育豚に対して 0.3%を飼料添加することで増体や飼料効率、糞中の微生物叢が向上すると報告している[23]。また Mebungwan らは、木酢液と木炭化物の混合物が子豚の腸絨毛の機能亢進について報告している[24]。ウシでは、Watarai らが木酢液と木炭化物との混合物が子牛の下痢の原因であるクリプトスポリジウムに有効であると報告している[25]。Kook らは、韓牛に対して竹酢液 3%添加で増体とマーブリング(脂肪交雑)が高まり肉質が向上をすると報告している[26]。これらの木酢液、竹酢液の家畜への投与

試験は行われているが、粉酢液については、ほとんど行われていないことから飼料への添加、混合だけでなく、今後飼料原料として給与することによるウシの乳生産や肥育牛の増体などの影響について検討を行いたい。フェノール含有量と抗菌性の相関は認められなかった。

環境への抗菌性試験Ⅱでは、粉酢液⑧が原液と pH6.5 調整で大腸菌と酵母に抗菌性が認められた。粉酢液⑨は、原液が大腸菌と酵母に pH6.5 調整は、酵母に抗菌性が認められた。粉酢液⑩は原液のみ大腸菌と酵母に対する抗菌性が認められた。粉酢液⑪は原液のみ大腸菌に抗菌性が認められた。対照の竹酢液⑫は、原液と pH6.5 調整で大腸菌と酵母に抗菌性が認められた。木酢液は、原液のみ大腸菌に抗菌性が認められた。環境への抗菌性試験Ⅰと環境への抗菌性試験Ⅱから、800℃程度の温度で製造された粉酢液⑧は、pH6.5 調整後も大腸菌、酪酸菌、酵母に対する抗菌性があった。

粉酢液⑧よりも粉酢液⑨のフェノール含有量が多いが TMR 飼料への抗菌効果は高くない。フェノール含有量と抗菌性の相関は見られないことから、抗菌に関わる成分についての検討が必要である。粉酢液を採取は、粉殻を 12 時間燃焼させて約 200ℓ で粉酢液を約 2～3ℓ 程度採取、500ℓ の粉殻から粉酢液は約 6～7ℓ 採取できる[27]。しかし粉殻燃焼させると排煙は酸性が強く装置の寿命を短くする。粉殻燻炭作りでは、その製造する装置にもよるが、粉殻燻炭作りでは燃焼させた後に空気を遮断して消火させるのに 12 時間程度が必要である。簡易的な方法であるドラム缶での製造では、時間がかかり粉酢液の採取には、効率が悪い。粉酢液を十分に採取する方法や装置の検討が必要である。その 1 つとして本章で用いた高周波過熱水蒸気装置は、現在開発中の装置で過熱水蒸気を使って製造すること、原材料が少ない容量からでも採取できること、採取する溶液の濃度調製も可能なこと、溶液を無駄なく回収できることなどから炭化物からの溶液採取に適していると考えられる。しかし本装置は現在まだ開発中であり採取条件による効果の違いや製造コストの検討が十分に必要である。

粉酢液の畜産分野での利活用は、木酢液や竹酢液と同様臭気対策が挙げられる。ウシでは、糞尿を自給飼料畑に散布する際の悪臭や牛舎から臭気が問題となる。この臭気対策は難しく、コストをかけても生産物の価格に反映されないために特に小規模な生産者での取り組みが遅れがちになる。一方牛舎の大型化に伴い糞尿のスラリー処理方式が多くなるに伴い問題が拡大している。ウシではないが青森県の養豚農家での聞き取りから自家生産の粉殻燻炭と粉酢液を用いて無投薬、無添加剤の飼養管理を実現させている。その養豚農家では、粉殻燻炭を敷料に混合し粉酢液を豚舎に散布することで臭気問題を解決している。また粉酢液を尿散布時に尿 2,500ℓ に対して粉酢液 2～4ℓ 混合して散布することで臭気対策をしている酪農家の事例もある。今後これら事例を臭気対策と畜舎での抗菌対策として生産農家でも粉酢液と粉殻燻炭と組合せを含めた利活用を検討したい。

さらに渡辺がアスベストの処理技術、荒川らは、籾酢液と木酢液による 6 価クロムの還元効果についても報告している[28],[29]。今後の籾酢液の利用が幅広く行われる可能性がある。

3-6. まとめ

- (1) 籾酢液の畜産環境由来の大腸菌、酵母と酪酸菌に対する抗菌活性が認められた。
- (2) フェノール含有量は、同じ原料でも籾酢液の採取条件などで含有量が異なり、フェノール含有量が高いことと TMR 飼料への混合した抗菌能との相関はなかった。
- (3) TMR 飼料に対する籾酢液の抗菌性は高くなった。籾酢液は粘ちょう性成分が少なく水に対する親和性が高いことにより TMR 飼料の水分が 50%程度あることから混合されて飼料全体に広がりやすいことが要因と推察される。

これら結果から籾酢液は、飼料・畜産環境や飼料への利活用が出来ることが示唆された。

籾殻の有効利活用の 1 つとして籾酢液の知見を得られたことから最も利活用が難しかった籾殻の有効利活用として籾酢液の知見を得られたことからウシを利用した「米のゼロエミッション」につながることを期待される。

第4章 食品残さの第1胃内分解特性の検討

4-1. はじめに

畜産では、古くから食品残さの利用は行われており、和牛では昭和25年には、ビール粕、しょうゆ粕、豆腐粕、飴粕、蚕沙（蚕の食べ残した桑葉や蚕の糞が混ざった残さ）などを利用した[1]。農林水産省は、平成32年には飼料自給率を38%目標としている。その柱の1つに食品残さの飼料化が挙げられている[2]。食品残さの利用した飼料をエコフィードとして認証制度を作り積極的な食品残さの利用推進も行われている。エコフィードとは、ecological と economical と feed から作られた造語である[3]。

食品残さは、①ドライ化（乾燥させて保存）、②サイレージ化（密封して嫌気性にすることで保存させる方法）、③リキッド化（水分を加えてスープのような液状にする方法）などにより利用されている。加工しないでそのまま（生の状態で）給与している事例も多い。これらを飼料原料として用いる場合には、栄養成分を化学分析してから栄養要求量に基づいて計算して給与される。しかしウシの場合は、摂取した飼料は第1胃での微生物による分解されてしまう。このために化学的な分析値は、第1胃での分解される栄養評価とは異なる。そのために第1胃での分解特性を知ることは重要である。これらの問題を補うためにタンパク質の評価としてアメリカの飼養標準である NRC の乳牛飼養標準（National Research Council : Nutrient Requirements of Dairy Cattle）や日本飼料標準では、化学分析によりタンパク質の分解性を評価している（図4-1）[4],[5]。しかし、ウシ第1胃内での挙動と化学分析との差が出ることがある。そのため化学分析と *In vivo* や *In vitro* を利用した評価の両方を行うことで飼料の評価が高まることになる。

発酵 TMR は、食品残さと配合飼料やサイレージなどの粗飼料を TMR ミキサー使って混合してパッケージして嫌気発酵させて飼料とする方法である。嫌気発酵の過程で微生物により栄養成分が分解されて第1胃内微生物の利用性が変化して、発酵 TMR の発酵前と発酵後では、第1胃の分解特性が異なることが推察される。発酵 TMR では、水分を50%程度含んでいるので乾物換算した飼料価格が高くなっている。発酵前と発酵後の TMR の飼料を第1胃の分解特性から検討した知見はない。そこで第4章では、青森県で流通している食品残さの第1胃での分解特性を検討し、4つの発酵 TMR の発酵される前と発酵後（製造後60日）の製品の第1胃での分解特性を比較した。

	化学分析		<i>In situ</i> 分析	成分の消化性
	NPN	SIP		
粗タンパク質 (CP)	DIP		A 分画	急激に分解
	UIP			B 分画
	BP		C 分画	緩やかに分解
				バイパス
				不消化

図 4-1 第 1 胃での粗タンパク質の分画[5]

(図 4-1 の用語解説)

- 粗タンパク質 (Crude Protein : CP)
飼料中の窒素含量に 6.25 を掛けて算出する。(タンパク質の窒素含量が平均 16% 含まれるので $100/16=6.25$ となる)
- 分解性タンパク質 (Degraded Intake Protein : DIP)
第 1 胃内で分解され最終的にアンモニアやアミノ酸まで分解されて微生物に利用され微生物タンパク質になる。微生物菌体タンパク質とも呼ばれる。
- 非分解性タンパク質 (Undegraded Intake Protein : UIP)
第 1 胃内で分解されず小腸で吸収される。微生物タンパク質が不足すると利用される。
- 溶解性タンパク質 (Soluble Intake Protein : SIP)
分解性タンパク質の一部であり第 1 胃内で急速にアンモニアまで分解される。溶解性タンパク質が高いと第 1 胃壁から吸収されて血中に取込まれ肝臓で尿素に分解され尿として排出される。体内の pH が高くなる原因である。
- 結合性タンパク質 (Bound Protein : BP)
繊維と結合しており、消化管では分解・吸収されないで糞として排出される。
- 非タンパク態窒素 (Non-Protein Nitrogen : NPN)
第 1 胃内で急激に溶解される。尿素などがある。
- A 分画 : 第 1 胃内で溶解される部分
- B 分画 : 第 1 胃内で微生物によって分解を受ける部分
- C 分画 : 第 1 胃内で分解されない部分

4-2. 食品残さの第1胃内分解特性

4-2-1. 供試材料

青森県で流通している、醤油粕、キノコ菌床粕（ブナシメジの菌床粕）、豆腐粕サイレージ、リンゴジュース粕、脱水ビール粕を *In situ* 法の試験に用いた。それぞれの原料は、ポリ袋で密封されてフレコンバックで保存されているものを用いた。各試料の栄養成分を表4-1に示した。栄養分析は、三訂版粗飼料の皮質評価ガイドブックに基づき実施した[6]。

表 4-1 試料の栄養成分値 (単位：%)

原料名	水分	粗タンパク質*	粗脂肪*	粗灰分*	NDF*	NFE*
醤油粕、	32.54	21.62	23.47	13.88	35.69	22.51
キノコ菌床粕	58.42	8.08	1.31	6.24	59.60	59.53
豆腐粕サイレージ	75.83	24.95	16.89	4.04	29.33	35.15
リンゴジュース粕	84.17	4.70	6.82	2.43	29.11	67.30
脱水ビール粕	65.13	23.52	14.91	3.76	66.99	41.53

*乾物中%：一定温度で加熱乾燥し、恒量が得られた時点を経験している

表 4-2 試料の粗タンパク質分画割合 (単位：%)

試料名	分解性タンパク質	溶解性タンパク質	非分解性タンパク質	結合タンパク質
醤油粕	86.0	48.0	14.0	8.8
キノコ菌床粕	58.0	45.0	42.0	25.6
豆腐粕サイレージ	70.0	25.6	30.0	3.2
リンゴジュース粕	67.0	41.7	33.0	5.6
脱水ビール粕	66.0	9.2	34.0	48.3

4-2-2. 試験方法

5つの試料を、ナイロンバック（50mm×100mm、50μm）にそれぞれ約4g入れて正確に秤量した。正確に秤量したナイロンバックを、雪印種苗(株)北海道研究農場に繋留しているフィステル装着した未経産牛2頭に培養時間が3、6、9、12、24、36時間になるように1頭に時間ごとに2個ずつ投入した（表4-3）。培養開始36時間後に一斉にフィステルよりナイロンバックを取り出して氷水（4℃程度）に入れた後に流水にてナイロンバックから色が出なくなるまで洗浄した。洗浄後、直ちに熱風循環式乾燥機（(有)共和商事製）

にて 60℃で 48 時間乾燥処理した。また試料を入れたナイロンバックを 40℃の温水に 1 時間浸漬して培養後の試料と同じく 60℃で 48 時間乾燥処理して Washing loss として算出した[5]。

表 4-3 ナイロンバック投入時間割

	36 時間用 バック	24 時間用 バック	12 時間用 バック	9 時間用 バック	6 時間用 バック	3 時間用 バック	全バック 回収
バック 投入時間	1 日目 8:00	20:00	2 日目 8:00	11:00	14:00	17:00	20:00

4-2-3. 測定および分析

乾燥させたナイロンバックを秤量して培養後の重量から培養前の重量の差より乾物消失率を算出した。またナイロンバックから取り出した試料の粗タンパク質含量を培養 0、3、6、9、12、24、36 時間ごとの分析を行った。粗タンパク質の分析は、粗飼料の品質評価ガイドブックに基づき実施した[6]。測定した粗タンパク質量を培養 0、3、6、9、12、24、36 時間ごとの分析値から粗タンパク質消失率を算出した。乾物消失率から第 1 胃分解パラメータ、粗タンパク質消失率から粗タンパク質第 1 胃分解パラメータを 2-4 と同様の方法にて算出した。また粗タンパク質の化学分析値と粗タンパク質パラメータとの比較を行った。

4-2-4. 結果

1) 乾物消失率

乾物消失率の結果を表 4-4 と図 4-2 に示した。

醤油粕とリンゴジュース粕は、0 時間で 62%を超える消失率となりその後緩やかに消失し培養開始 36 時間後では 89%の消失率となった。キノコ菌床粕は、0 時間で 46%の消失率となりその後は緩やかに消失して培養開始 36 時間後では 65%の消失率であった。脱水ビール粕は、0 時間では 10%の消失でその後は緩やかに消失して培養開始 36 時間後では 59%の消失率であった。豆腐粕サイレージは、0 時間では脱水ビール粕と変わらない値であった培養開始 9 時間後以降急激に消失し培養開始 36 時間後では 86%の消失率であった。培養開始 36 時間後での乾物消失率は、リンゴジュース粕、醤油粕、豆腐粕サイレージ、キノコ菌床粕、脱水ビール粕での順で大きい値であった。

表 4-4 培養時間ごとの乾物消失率の推移

(単位：%)

原料名	0時間	3時間	6時間	9時間	12時間	24時間	36時間
醤油粕	62.29	69.51	71.06	75.69	83.69	87.45	89.88
キノコ菌床粕	46.95	52.70	53.80	55.17	57.75	59.58	65.22
豆腐粕サイレージ	10.71	19.94	22.00	31.29	51.86	73.96	86.81
リンゴジュース粕	62.56	68.25	72.19	77.87	86.89	92.49	93.39
脱水ビール粕	10.27	21.14	26.63	33.37	43.68	51.14	59.29

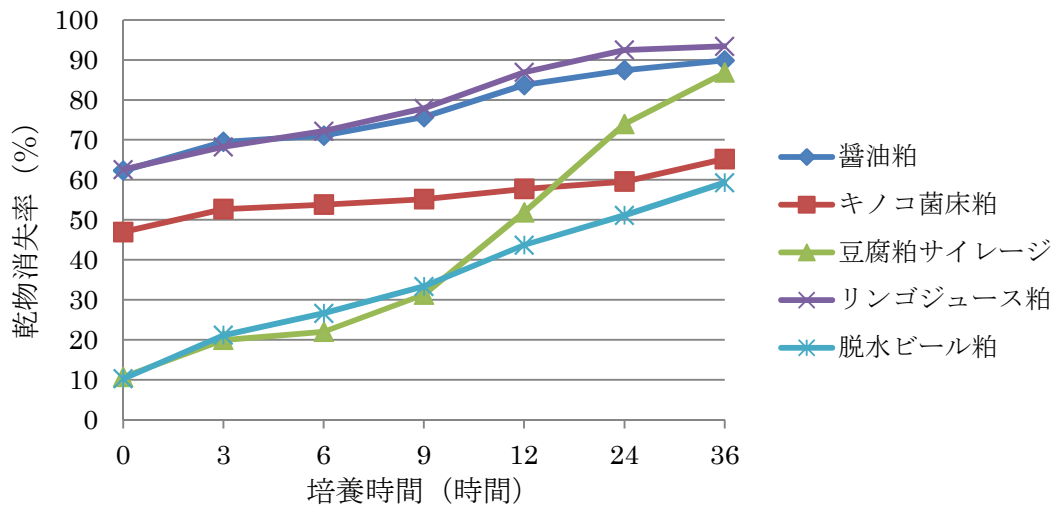


図 4-2 乾物消失率の推移

2) 粗タンパク質消失率

粗タンパク質消失率の結果を結果を表 4-5 と図 4-3 に示した。

粗タンパク質消失率は、醤油粕とキノコ菌床粕は 0 時間の時点で 72% と 81% と高い消失率であり、その後は緩やかに推移して培養開始 36 時間後では醤油粕が 97%、キノコ菌床粕が 90% の消失率であった。リンゴジュース粕は、培養開始から 9 時間後まで緩やかな消失であったが培養開始 9 時間後以降 24 時間後の間に急激に消失し、培養開始 36 時間後では 93% の消失率であった。脱水ビール粕は、0 時間の時点で 10% の消失率でその後緩やかに消失して培養開始 36 時間後では 80% の消失率であった。豆腐粕サイレージは、培養開始から 9 時間後まであまり消失されなかったが培養開始 9 時間後以降に急激に消失し培養開始 36 時間後には 77% の消失率であった。培養開始 36 時間後での粗タンパク質消失率は、醤油粕、リンゴジュース粕、キノコ菌床粕、脱水ビール粕、豆腐粕サイレージの順に大きい値であった。

表 4-4 培養時間ごとの粗タンパク質消失率推移

(単位：%)

原料名	0 時間	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間	24 時間	36 時間
醤油粕	72.85	80.62	82.27	86.52	94.28	97.43	97.92
キノコ菌床粕	81.52	83.57	85.94	85.88	86.96	88.53	90.80
豆腐粕サイレージ	8.14	14.34	13.19	14.77	31.38	62.36	77.60
リンゴジュース粕	27.36	39.17	42.52	48.28	73.15	91.71	93.94
脱水ビール粕	10.71	22.88	26.78	40.36	61.34	72.47	80.50

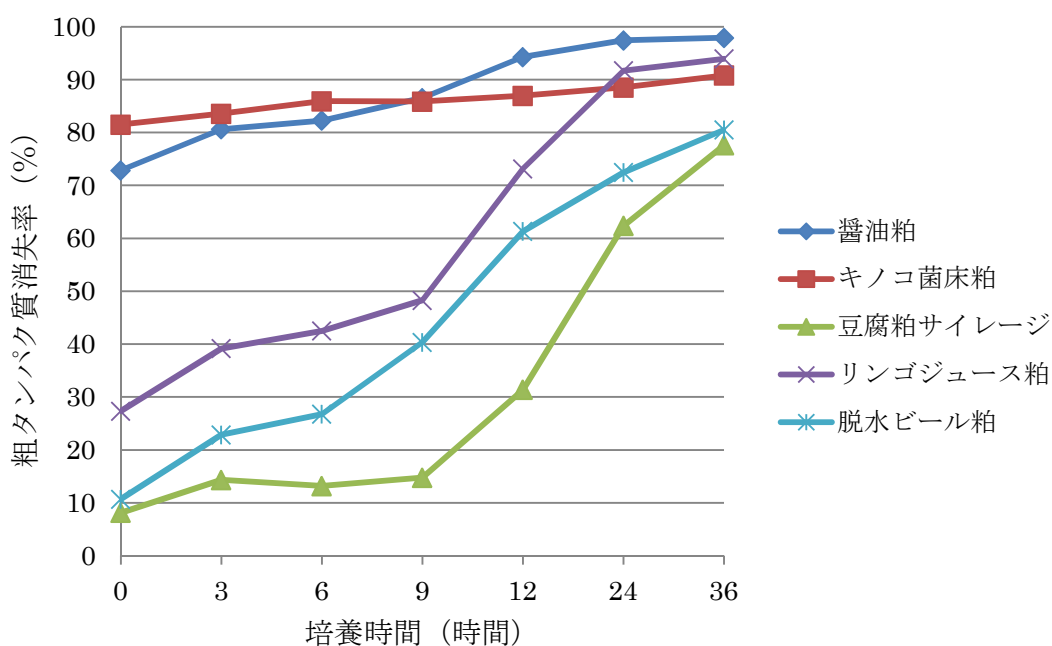


図 4-3 粗タンパク質消失率推移

3) 乾物分解パラメータ

乾物の分解パラメータを表 4-5 に示した。有効分解率は、リンゴジュース粕が最も高く、次いで醤油粕、豆腐粕サイレージ、キノコ菌床粕、脱水ビール粕の順であり、脱水ビール粕とキノコ菌床粕は低い割合であった。速分解性区分は、醤油粕がもっとも高く、次いでリンゴジュース粕、キノコ菌床粕、脱水ビール粕、豆腐粕サイレージの順であった。豆腐粕サイレージと脱水ビール粕が低い割合であった。遅分解性区分では、豆腐粕サイレージがもっとも高く、次いで脱水ビール粕、リンゴジュース粕、醤油粕、キノコ菌床粕の順であった。分解速度定数は、脱水ビール粕がもっとも高く、次いで豆腐粕サイレージ、醤油粕とリンゴジュース粕が同じでキノコ菌床粕の順であった。

表 4-5 乾物分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度定数(h ⁻¹)	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
醤油粕	81.92	0.11	62.21	28.67
キノコ菌床粕	58.45	0.07	48.46	17.13
豆腐粕サイレージ	69.02	0.17	11.10	74.95
リンゴジュース粕	84.64	0.11	61.35	33.88
脱水ビール粕	47.47	0.19	12.45	44.23

4) 粗タンパク質分解パラメータ

粗タンパク質の分解パラメータを表 4-6 に示した。有効分解率は、醤油粕がもっとも高く、次いでキノコ菌床粕、リンゴジュース粕、脱水ビール粕、豆腐粕サイレージの順であった。速分解性区分は、キノコ菌床粕がもっとも高く、次いで醤油粕、リンゴジュース粕、脱水ビール粕、豆腐粕サイレージの順であった。遅分解性区分は、豆腐粕サイレージがもっとも高く、次いでリンゴジュース粕、脱水ビール粕、醤油粕、キノコ菌床粕の順となった。分解速度定数は、脱水ビール粕がもっとも高く、次いでリンゴジュース粕と豆腐粕サイレージが同じで醤油粕、キノコ菌床粕の順であった。

表 4-6 粗タンパク質分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度定数(h ⁻¹)	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
醤油粕	91.33	0.12	72.81	26.24
キノコ菌床粕	87.41	0.08	81.87	9.01
豆腐粕サイレージ	63.48	0.15	6.80	75.57
リンゴジュース粕	79.35	0.15	26.01	71.12
脱水ビール粕	66.15	0.23	10.70	67.51

4-3. 発酵 TMR の発酵前と発酵後の第 1 胃内分解特性

4-3-1. 供試材料

青森県にある TMR センターで製造されている発酵 TMR の青森セミ TMR、あおいもり TMR、みちのくウェット、青森ウェットの 4 種類を用いた。青森セミ TMR とあおいもり TMR は配合飼料が混合されている TMR であり、みちのくウェットと青森ウェットは、配合飼料を混合していない TMR で粗飼料主体の TMR の設計となっている。各試料の食品残さの水分を含んだ現物での混合割合は、青森セミ TMR で 58.1%、あおいもり

TMRで60.3%、みちのくウェットで80.6%、青森ウェットで79.5%である。但し、食品残さとして砂糖を抽出した後に発生するシュガービート(甜菜)の搾り粕を乾燥させた輸入ビートパルプを含んでいる。各発酵TMRの発酵前後の栄養成分を表4-7に、混合している割合は表4-8に示した。

表4-7 各試料の発酵前後の栄養成分値 (単位：乾物中%*)

原料名	水分	粗タンパク質*	ADF*	NDF*
青森セミ TMR 発酵前	50.9	16.2	18.8	39.3
青森セミ TMR 発酵後	51.7	16.3	20.5	40.4
あおいもり TMR 発酵前	43.1	15.6	20.1	41.5
あおいもり TMR 発酵後	43.6	15.8	22.3	42.8
みちのくウェット発酵前	48.5	11.1	29.4	51.1
みちのくウェット発酵後	48.9	11.9	31.6	53.1
青森ウェット発酵前	53.4	12.5	32.6	56.2
青森ウェット発酵後	53.9	12.9	34.3	55.7

(黄色付きが発酵後)

表4-8 各試料の混合割合 (単位：現物中%*)

原料名	青森セミ TMR	あおいもり TMR	みちのくウェット	青森ウェット
醤油粕	6.4	6.6	7.8	8.3
キノコ菌床粕	6.3	6.6	23.3	8.3
豆腐粕サイレージ	8.0	8.3	9.7	20.6
リンゴジュース粕	17.5	18.2	21.4	22.7
脱水ビール粕	10.3	10.7	12.6	13.4
ビートパルプ	9.6	9.9	5.8	6.2
オーツ乾草	—	3.3	3.9	4.0
チモシー乾草	—	3.3	—	—
小麦稈	10.0	8.3	15.5	16.5
配合飼料	31.9	24.8	—	—

*現物とは、原料が水分を含んでいる状態

4-3-2. 試験方法

それぞれの発酵 TMR を製造時にサンプリングした発酵前の試料と 60 日間発酵させて開封後、サンプリングした発酵後の試料を熱風循環式乾燥機 ((有)共和商事製) 60℃で 48 時間乾燥させて用いた。これ以降は、4-2-1 と同じ方法で培養時間を、3、6、9、12、, 24 時間とした。

4-3-3. 測定および分析

測定および分析は、4-2-1 と同じ方法で行った。発酵前と発酵後の有意差は一元配置法分散法を用いて行った。

4-3-4. 結果

1) 発酵前後の乾物消失率

発酵前後の乾物消失率を表 4-9 に示した。発酵前の乾物消失率は、培養開始 24 時間後では、あおいもり TMR、青森セミ TMR、みちのくウェット、青森ウェットの順であった。発酵後の乾物消失率は、培養開始 24 時間後の消失率は、あおいもり TMR、青森セミ TMR、みちのくウェット、青森ウェットの順であった。発酵前後の比較では、0 時間後では、発酵後にすべての試料で低下する傾向であった。培養 3 時間後から 12 時間後の消失率の推移は、発酵後が減少する傾向が認められなかった。培養開始 24 時間後での比較では、青森セミ TMR、あおいもり TMR と青森ウェットが発酵前の方が高くあり、みちのくウェットが発酵後高くなっている。各試料の発酵前後の消失率には、有意差は認められなかった。

表 4-9 発酵前後の乾物消失率 (単位：%)

原料名	0 時間	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間	24 時間
青森セミ TMR 発酵前	41.6	46.2	52.3	54.2	61.7	73.3
青森セミ TMR 発酵後	32.1	46.7	50.1	55.2	60.0	71.5
あおいもり TMR 発酵前	39.7	44.5	50.5	54.0	59.3	73.5
あおいもり TMR 発酵後	33.4	47.5	50.4	55.0	58.0	71.7
みちのくウェット発酵前	33.3	40.6	44.3	45.8	49.3	60.6
みちのくウェット発酵後	29.8	41.7	44.5	48.9	52.3	62.0
青森ウェット発酵前	30.1	36.2	40.5	44.6	50.0	59.9
青森ウェット発酵後	26.3	34.1	38.9	42.6	46.7	55.6

(黄色付きが発酵後)

2) 発酵前後の粗タンパク質消失率

発酵前後の粗タンパク質消失率を表 4-10 に示した。

発酵前の粗タンパク質消失率は、培養開始 24 時間後では、あおいもり TMR、青森ウェット、みちのくウェット、青森セミ TMR の順であった。発酵後の消失率は、培養開始 24 時間後では、あおいもり TMR、青森ウェット、青森セミ TMR、みちのくウェットの順であった。各試料の発酵前後の比較では青森ウェットですべての培養時間で有意に差があった ($P<0.05$)。

表 4-10 発酵前後の粗タンパク質消失率 (単位：%)

原料名	0 時間	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間	24 時間
青森セミ TMR 発酵前	48.8	58.9	65.0	66.6	72.6	79.1
青森セミ TMR 発酵後	48.4	64.1	66.9	69.3	73.1	83.1
あおいもり TMR 発酵前	54.2	58.9	64.7	68.2	71.4	86.4
あおいもり TMR 発酵後	56.0	69.3	68.9	72.4	74.7	86.8
みちのくウェット発酵前	49.5	62.5	64.7	66.8	70.9	83.7
みちのくウェット発酵後	52.1	63.4	66.1	68.7	73.5	82.3
青森ウェット発酵前	53.9*	65.6*	67.6*	70.0*	77.9*	85.5*
青森ウェット発酵後	54.2*	63.9*	66.8*	73.2*	74.5*	84.0*

(黄色付きが発酵後)

*有意差あり $P<0.05$

3) 乾物分解パラメータ

乾物の分解パラメータを表 4-11 に示した。乾物の分解パラメータの発酵前と発酵後では、有効分解率がすべての試料で減少した。速分解性区分、遅分解性区分との発酵後は減少している。分解速度定数は、すべての試料で発酵前より発酵後には増加した。みちのく TMR は、有効分解率には発酵前後に差はなく、分解速度定数、速分解性区分には有意差が認められた ($P<0.05$)。その他の試料は発酵後に有効分解率、分解速度定数、速分解性区分において発酵前後の試料間で有意差があった ($P<0.05$)。遅分解性区分については、すべての試料で発酵前後に差は認められなかった。

表 4-11 発酵前後の乾物分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度数(h ⁻¹)	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
青森セミ TMR 前	68.16 *	0.080 *	41.45 *	43.41
青森セミ TMR 後	63.39 *	0.144 *	34.83 *	38.47
あおいもり TMR 前	68.56 *	0.077 *	39.72 *	47.56
あおいもり TMR 後	63.79 *	0.121 *	36.53 *	38.52
みちのくウェット前	55.77	0.080 *	34.83 *	34.03
みちのくウェット後	55.13	0.139 *	31.94 *	31.54
青森ウェット前	54.16 *	0.106 *	30.39 *	34.98
青森ウェット後	49.58 *	0.133 *	27.20*	30.80

(色付きが発酵後の値)

*有意差あり P<0.05

4) 粗タンパク質分解パラメータ

粗タンパク質の分解パラメータを表 4-12 に示した。粗タンパク質の分解パラメータの有効分解率は、発酵前より発酵後にみちのく TMR と青森 TMR で減少し、青森セミ TMR とあおいもり TMR は高まっていた。

速分解性区分では、青森セミ TMR、あおいもり TMR、みちのく TMR は発酵後に高くなり、青森ウェットは発酵後に減少していた。遅分解性区分は、青森セミ TMR が高くなり、その他の試料では減少していた。分解速度定数は、青森セミ TMR は差がなく他の試料は発酵後に高まっていた。それぞれの試料の発酵前と発酵後には有意差は認められなかった。

表 4-12 発酵前後の粗タンパク質分解パラメータ

試料名	有効分解率(%)	分解速度定数(h ⁻¹)	速分解性区分(%)	遅分解性区分(%)
青森セミ TMR 前	72.40	0.144	49.83	30.41
青森セミ TMR 後	75.21	0.144	51.40	32.08
あおいもり TMR 前	77.27	0.057	54.51	42.73
あおいもり TMR 後	80.13	0.082	59.18	33.73
みちのくウェット前	76.49	0.090	52.47	37.36
みちのくウェット後	75.44	0.113	53.95	31.00
青森ウェット	78.57	0.110	55.61	33.40
青森ウェット	77.03	0.118	55.25	31.02

(黄色付きが発酵後の値)

4-4. 考察

醤油粕の乾物消失率と粗タンパク消失率は、0 時間から高く、培養開始 36 時間後では乾物消失率が 89%、粗タンパク質消失率は 97%であった。これは、第 1 胃分解パラメータでも乾物、粗タンパク質の有効分解率が高く、速分解性区分も高いことから醤油粕は、第 1 胃内で速く分解される原料であることを示している。永西らの報告によると醤油粕の第 1 胃内での有効分解率は、乾物で 69.6%、粗タンパク質で 82.3%であり、乾物、粗タンパク質分解パラメータでの速分解性区分が高く、遅分解性区分は低いとされている[7]。

醤油粕は、乾物中に粗タンパク質を 21%含んでいる高タンパク質な飼料原料であるが、分解特性から 0 時間での消失率が高いことと第 1 胃分解パラメータでの粗タンパク質速分解性区分が高いことから、給与に際しては第 1 胃での分解されない非分解性割合の高いタンパク質原料を給与して第 1 胃分解されるバランスを調整する必要がある。須藤は、醤油粕の給与量は、濃厚飼料の 10~15%程度に制限が必要としている[8]。醤油粕は食塩を乾物中 8%程度含んでいるので給与する飼料全体で食塩が過剰にならないように調整が必要である[9]。また醤油粕は、表 4-1 に示したように醤油粕は粗脂肪含有量が高いので飼料中の脂肪量が多くなりすぎない組み合わせが必要となる。

キノコ菌床粕は、乾物の消失率は、0 時間は 46%と高いがその後は緩やかな消失率で推移しており乾物は培養後 36 時間の消失率は 65%であった。これは、菌床原料であるコーンコブにはリグニン含量も多いことから難溶解性の繊維源が多く含まれていることが要因と推察される。粗タンパク質消失率も乾物と同様な推移であるが、0 時間での消失率は 81%と高く、培養開始 36 時間後では 90%であるために速く分解されてしまう原料である。

第 1 胃分解パラメータは、乾物の速分解性区分が 48%で遅分解性区分は 17%、粗タンパク質の速分解性区分が 81%、遅分解性区分が 9%であることから、キノコ菌床粕は、乾物と粗タンパク質とも第 1 胃内で速く分解されやすい原料である。Xu らは、キノコ菌床粕を発酵 TMR に使いヒツジの給与試験を行いキノコ菌床粕は、飼料に 6.5%の混合割合がよいと報告している[10]。キノコ菌床粕は、第 1 胃で速く分解される割合が高いので給与する時には、第 1 胃での分解が遅い原料を組合せる必要がある。

豆腐粕サイレージは、乾物、粗タンパク質も培養開始 9 時間後まで緩やかな消失率で推移し、9 時間後以降に急激に消失した。第 1 胃での分解パラメータは、乾物、粗タンパク質の速分解性区分が高く、有効分解率は、乾物で 69%、粗タンパク質で 63%であった。

西口らは、濃厚飼料多給条件での有効分解率を豆腐粕は 56%、ビール粕で 36%と報告している[11]。永西らは、豆腐粕の乾物と粗タンパク質は速分解性区分が低く、遅分解性区分が高く、乾物の有効分解率が 66.7%、粗タンパク質の有効分解率が 65.3%と報告し

ている[7]。豆腐粕は速分解性区分が低く遅分解性区分が高い原料である。本試験では、豆腐粕をサイレージ化した原料を用いており、これまでの報告は、生の豆腐粕を用いていることからサイレージ化により嫌気発酵したことで有効分解率が高まっていることが推察される。甘利らは、豆腐粕を多給すると有機酸の急激な生成により第1胃のpHが低下すると報告している[12]。今井は、肥育牛では、乾物中20%までの給与は影響がないと報告している[13]。井出は、乳牛ではTMR給与であれば乾物11%程度、分離給与で原物5kg程度と報告している[14]。豆腐粕は、表4-1に示したように粗脂肪含有量が多いことから給与する飼料全体の粗脂肪含量が多くならないような注意が必要である。飼料中に含まれる粗脂肪含有量が多いと第1胃での微生物活性を妨げてしまうことで生産性が低下することが知られており、飼料中の脂肪を6%以下にすることが推奨されている[15],[16],[17]。

また飼料中の粗脂肪含有量が多い状態で繊維の摂取量が低下すると乳脂肪が低下することも知られている[18],[19]。そのために粗脂肪含有量が高い豆腐粕サイレージや醤油粕の給与量は、他に給与する飼料で粗脂肪含有量を調整することが重要となる。

リンゴジュース粕の乾物消失率は、0時間は高いがその後は醤油粕と同様に緩やかに消失している。粗タンパク質消失率は、低い割合であるが培養開始9時間後以降に急速に分解されて培養開始36時間後では93%の消失率となった。乾物の分解パラメータは醤油粕と同じ傾向である。粗タンパク質の第1胃内の分解パラメータは、乾物と異なり速分解性区分が低く、遅分解性区分が高くなった。リンゴジュース粕は、乾物、粗タンパク質の有効分解率が高いことから第1胃での利用性の高い原料である。リンゴジュース粕のNFE（可溶性無窒素物）は67%である（表4-1）。NFEは糖類、デンプン、ペクチン、セルロース・ヘミセルロースであるので第1胃内微生物の利用性が高い成分を多く含むことで有効分解率が高くなっている要因と推察される。リンゴジュース粕は、リンゴ生産地で製造が主体で収穫時期以降の秋から冬場に集中して発生している。リンゴジュース粕は、水分が高いために輸送経費をかけると乾物単価が高くなるので輸送コストかからない地域での利活用が適している。

脱水ビール粕は製造工場ビール粕を脱水して水分を65%に調整されたものである。ビール粕は、食品残さでは古くから利用されてきた原料である。須藤は、ビール粕はすべての反芻動物に適する飼料としている[20]。乾物の消失率は、0時間では10%と低く、培養開始36時間後では59%であった。粗タンパク質の消失率は、0時間では10%で培養開始36時間後には80%であった。粗タンパク質のパラメータの有効分解率は66%であった。永西らはビール粕の乾物の有効分解率が50%、粗タンパク質を63%と報告している[6]。西口らの報告では、ビール粕の乾物の有効分解率は36%と報告している[8]。本研究の結果は、有効分解率は乾物47%、粗タンパク質は66%であった。これは永西や西口

の報告よりも高くなっていた。この要因は、脱水ビール粕は工場から発生後、ポリビニールに密封されてフレコンに入れられているおり給与までの期間で嫌気発酵が起こっている。嫌気発酵によりサイレージ化したことで豆腐粕同様に有効分解率が高まっていると推察される。ビールの製造量は減少して発泡酒や第3のビールなどに置換わってきたことからビール粕には、ビール製造以外の発泡酒や第3のビールの残さ原料も含まれている。これらのビール以外の残さが混ぜられた原料の種類などで第1胃の分解特性が異なることが推測される。そのため利用するビール粕の第1胃内での分解特性についてはさらにを確認することが必要である。

発酵前後の乾物の有効分解率は、みちのくウェットは発酵前56%が発酵後55%となり約1%低下し、青森ウェットは発酵前54%が発酵後49%となり約5%低下していた。青森ウェットをウシに乾物で10kg給与すれば発酵前後の乾物有効分解率から計算すると第1胃で利用される量に0.5kgの違いとなる。

みちのくウェットにはキノコ菌床粕が約23.3%、リンゴジュース粕が21.4%、豆腐粕サイレージ9.7%、脱水ビール粕12.6%混合されており、青森ウェットには、キノコ菌床粕8.3%、豆腐粕サイレージ20.6%、リンゴジュース粕22.7%、脱水ビール粕13.4%混合されている。食品残さの乾物有効分解率は、キノコ菌床粕58%、豆腐粕サイレージ69%、リンゴジュース粕84%、脱水ビール粕47%であったことから、みちのくウェットは、キノコ菌床粕が多いために乾物の有効分解率は低く、青森ウェットは、豆腐粕サイレージが多いので乾物の有効分解率が高くなると想定していたが結果は異なった。この結果から組み合わせる原料だけで設計を行うと第1胃での分解特性と異なることになる。粗タンパク質のパラメータからみちのくウェットと青森ウェットの有効分解率は、発酵前が高く、青森セミTMRとあおいもりTMRは、発酵後に高くなっていた。また青森ウェット以外は、速分解性区分が高くなっていたことから発酵によりタンパク質が分解されたと推察される。

トウモロコシや牧草などをサイレージにすると、嫌気発酵により第1胃での分解特性が変化することが知られている。これは微生物により糖分は、乳酸菌に利用されて乳酸に分解され、タンパク質は無機態窒素に分解されてしまうことで第1胃での分解特性が変化しやすいことが知られている[21],[22],[23],[24],[25]。これらの報告から嫌気発酵させている発酵TMRは、第1胃での分解が速くなると推測していたが乾物の分解パラメータの有効分解率は、すべての試料は発酵前より発酵後に減少していた。粗タンパク質の分解パラメータの有効分解率は、発酵前より発酵後に青森セミTMRとあおいもりTMRは増加していた。この結果は、発酵により栄養成分が微生物により分解されてしまい、第1胃で分解される粗タンパク質が増加していることを示している。

発酵 TMR は、①品質の安定性、②低・未利用飼料資源の活用、③嗜好性の低い飼料の採食性向上、④開封後の好気性変敗抑制とされている[26]。食品残さを利用する方法としての発酵 TMR の利用は増加してきたが、TMR を製造するミキサーの機種、発酵期間中の貯蔵場所、貯蔵中の品質管理、製造に関わる経費（人件費を含む）、季節性の原料の使い方、季節により気温による発酵品質の違いなどの問題がある。生産現場においては、TMR ミキサーの機種などにより製造 TMR の分離や粗飼料の繊維のミキサーによる粉砕程度に大きな差がある。そのために飼料設計して混合された TMR がウシの選び食いや繊維の粉砕による反芻回数の不足などが起こり生産性に影響を与えることがある。

本研究の結果から発酵前後の第 1 胃での分解特性からは、発酵による分解により有効分解率が低下するなど発酵させる有利性は高くないと推察される。食品残さや発酵 TMR を給与するには、栄養成分の化学分析だけでなく第 1 胃での分解特性を解析して利活用することが重要である。発酵 TMR は、水分を含む現物ではなく乾物に換算したコストを算出し、その栄養成分だけでなく第 1 胃での分解特性を踏まえて利用するには十分な検討が必要である。

食品残さは、出来るだけ輸送費をかけないで地域で入手できるものを利用することが重要である。自給の粗飼料と組み合わせて発酵 TMR を利用するには、必要な栄養成分や第 1 胃内の分解特性にマッチングさせることが必要となる。しかし、自給の粗飼料は天候や作物の品種により異なっており毎年同じ栄養成分、品質ものが調製できることはない。発酵 TMR を個別の生産者の粗飼料条件や飼養管理に合わせることは、飼養頭数が多くて利用量が多いと可能であるが、すべて個別での対応は製造や貯蔵管理から難しいことである。

食品残さを利用するには、種類、季節性、地域性、入手量などの状況に応じて自給飼料と組み合わせて飼料コストも含めて検討して利活用すべきである。

4-5. まとめ

食品残さである醤油粕、キノコ菌床粕、豆腐粕サイレージ、リンゴジュース粕、脱水ビール粕の 5 種類と発酵 TMR の発酵させる前と発酵後の第 1 胃内分解特性を検討した結果、

- (1) 醤油粕とキノコ菌床粕は、乾物、粗タンパク質とも速い分解特性であった。
- (2) 豆腐粕サイレージは乾物、粗タンパク質とも緩やかな分解特性であった。
- (3) リンゴジュース粕は、乾物で分解が速く粗タンパク質が緩やかな分解特性であった。
- (4) 脱水ビール粕は、乾物、粗タンパク質とも遅分解性割合の高い特性であった。
- (5) 発酵 TMR は、発酵における有利性は高くはない傾向であった。

食品残さや発酵 TMR を利用するには、自給飼料や他の飼料との組み合わせと乾物換算した飼料コストを検討して利活用することが重要である。

第5章 新規食品残さのアミノ酸ケーキの繊維分解性の検討

5-1. はじめに

食品残さについて第4章で検討したが、タンパク質含有量の高い食品残さは粗脂肪含量が高いものが多く、粗脂肪含有量が高い原料は給与できる量に制限が必要であるため粗脂肪含有量の少ない原料が必要となる。そこで今まで飼料原料として利用されていなかった味液を製造した残さとして発生しているアミノ酸ケーキに着目した。アミノ酸ケーキの栄養分析した結果、粗脂肪含有量が少なく、粗タンパク質が高い原料であった(表5-1)。

アミノ酸ケーキが発生する味液の製造工程は、図5-1に示した。味液は、粗脂肪含乳量の少ない脱脂大豆油粕が原料で製造されていることから、アミノ酸ケーキの粗脂肪含有量が少なく、粗タンパク質が高くなっている。味液は醤油製造の添加剤として利用されていることから季節性がなくアミノ酸ケーキの発生量は年間で安定している[1]。味液は、粗脂肪含乳量の少ない脱脂大豆油粕が原料で製造されていることから、アミノ酸ケーキは粗脂肪含有量が少なく、粗タンパク質含有量が高い。飼料原料としてアミノ酸組成分析を行った結果では分枝鎖アミノ酸であるロイシン、イソロイシン、バリンのアミノ酸中の割合が28.8%であった(表5-2)。Robinson and Allisonは、分枝鎖アミノ酸が第1胃内で炭素数の少ない分枝鎖脂肪酸になり、この分枝鎖脂肪酸が多く第1胃内微生物の生育因子になっていると報告している[2]。高橋らは、ロイシンが分枝鎖脂肪酸のイソ酪酸に、イソロイシンが分枝鎖脂肪酸のイソバレリアン酸に、バリンが分枝鎖脂肪酸の2-メチル酪酸に分解されると報告している[3]。Bryant and Doetschは、イソ酪酸、イソバレリアン酸、2-メチル酪酸は、第1胃内でセルロース分解能を高めると報告している[4]。アミノ酸ケーキに多い分枝鎖アミノ酸は、第1胃内での繊維分解性を高めることが報告されていることから、国内資源の稲WCSや稲わらを効率よく利用するためには、第1胃内での繊維分解能力を高めることが重要である。

そこで本章では、アミノ酸ケーキの繊維分解性について検討した。アミノ酸ケーキは、溶解性が高くアミノ酸ケーキだけではナイロンバックが利用出来なかったこととリアルタイムPCRによる繊維分解菌の測定するためには閉鎖系の実験が必要なことからルシテックを用いた。またリアルタイムPCRにより培養液中の繊維分解菌として *Fibrobacter succinogenes* (最初に第1胃から分離された主要なセルロース分解菌) と *Ruminococcus albus* (主要なセルロース分解菌) と総細菌の菌数測定を行なった。

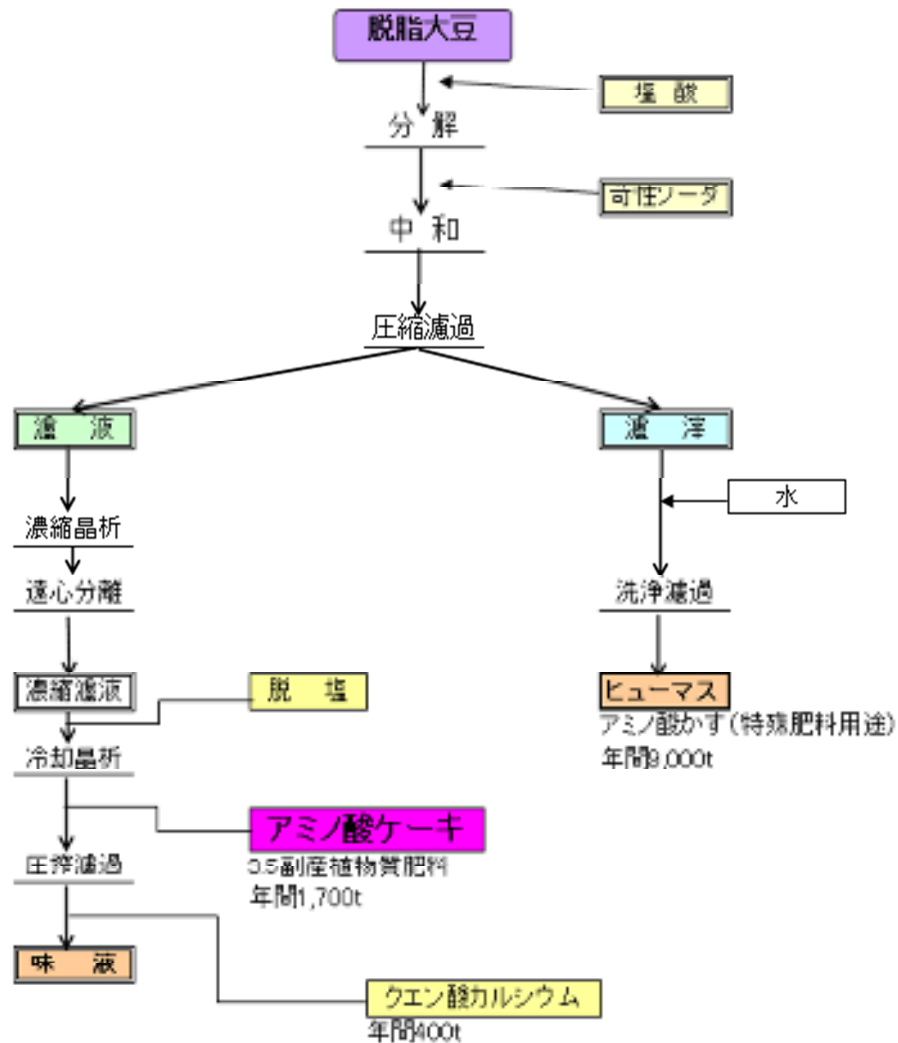


図 5-1 アミノ酸ケーキ製造工程

5-2. アミノ酸ケーキによる NDF*分解性の検討

5-2-1. 供試材料

原料であるアミノ酸ケーキは、味の素株式会社川崎工場より提供されたものを 60°C48 時間通風乾燥して用いた。アミノ酸ケーキの栄養成分分析値を表 5-1、アミノ酸組成を表 5-2、タンパク質分画分析値を表 5-3 に示した。栄養成分分析とタンパク質分画分析は、三訂版粗飼料の品質ガイドブックに基づき行った[5]。アミノ酸組成分析は、日本分析センターに依頼して行った。

*NDF は、Neutral Detergent fiber の略 (図 5-2)

表 5-1 アミノ酸ケーキ成分値

(単位：乾物中%)

原料名	水分	粗タンパク質	粗脂肪	粗灰分	NDF	NFE
アミノ酸ケーキ	44.50	51.20	0.29	19.40	1.18	28.43

表 5-2 アミノ酸ケーキの遊離アミノ酸含有量

遊離アミノ酸名	g/100g
アルギニン	0.16
リジン	0.19
ヒスチジン	0.05
フェニルアラニン	3.82
チロシン	5.12
ロイシン*	19.7
イソロイシン*	7.19
メチオニン	1.43
バリン*	1.92
アラニン	0.71
グリシン	0.15
プロリン	0.16
グルタミン酸	0.75
セリン	0.16
スレオニン	0.15
アスパラギン酸	0.36
トリプトファン	—
シスチン	—

(*分枝鎖アミノ酸)

表 5-3 アミノ酸ケーキのタンパク質分画割合

	粗タンパク	分解性タンパク	溶解性タンパク	非分解性タンパク	結合タンパク
乾物中	51.20%	50.83%	43.20%	0.210%	0.16%
CP 中	—	99.30%	84.40%	0.40%	0.30%

5-2-2. 試験方法

試験装置は、人工培養装置であるルシテック（汎用型人工ルーメン：三紳工業(株)製）を用いて行った（図 5-3～図 5-8）。ルシテックの 8 個の発酵槽を対照区 4 個、試験区 4 個に調製した。対照区として、培養に用いる飼料として、ナイロンバック（100mm×200mm、メッシュ 50 μ m）に粉碎して 2mm の篩を通したスーダン乾草 6.8g、トウモロコシフレーク 2.0g、脱脂大豆油粕 1.2g の計 10g を入れ、口を輪ゴムで留めた。

試験区として、対照区と同じ飼料内容に乾燥させたアミノ酸ケーキ 1g を加えたナイロンバックを用いた。

ルシテックの手順については、

- ①発酵槽に入れる第 1 胃液を雪印種苗(株)千葉研究農場で繋留しているフィステル装着牛 1 頭から取り出す。
- ②取り出した第 1 胃液を 4 重ガーゼでろ過した後、二酸化炭素を通気しているバケツに入れる。
- ③ガーゼから取り出した第 1 胃内の固形分をナイロンバック（100mm×200mm、メッシュ 50 μ m）に 70g 秤量してゴムで口を閉じておき使用まで二酸化炭素を通気させておく。
- ④発酵槽に二酸化炭素を通気させて、対照区と試験区の飼料用ナイロンバックを穴あき飼料容器に入れる。
- ⑤さらに③で作った固形分を入れたナイロンバックを 1 つ入れる。
- ⑥シャフトを装着してある蓋をする。
- ⑦発酵槽に 400ml の第 1 胃から取り出してろ過したおいた第 1 胃液を入れて発酵槽の上端より 15mm 下まで人工唾液（表 5-4）を入れてフランジを取り付けて発酵槽を密閉する。
- ⑧密閉したら人工唾液流入用チューブを発酵槽の注入口に取り付けて発酵からの流出液出口のチューブも接続する。
- ⑨流出液用チューブは流入液採取瓶に接続する。
- ⑩準備が出来たらシャフトを上下させるモーターと人工唾液を注入するポンプを稼働させる。
- ⑪恒温水槽は、ヒータで水温を 39 $^{\circ}$ C にしておき培養期間中は 39 $^{\circ}$ C で保持させる。
- ⑫培養開始 24 時間後（2 日目）に対照区と試験区の飼料用ナイロンバックを 1 つ追加で穴あき容器に入れる。
- ⑬飼料用ナイロンバック入れる時は、シャフトのモーターと人工唾液流入ポンプのスイッチを切り発酵槽に装着しているチューブを取り外す。

- ⑭穴あき飼料容器からルーメン固形部と古い飼料の入った飼料用ナイロンバックを容器に取り出し、100mlの人工唾液で素早く洗浄した後、その洗った液を発酵槽に戻す
- ⑮穴あき飼料容器に残っている飼料用ナイロンバックの下に新しい飼料用ナイロンバックを1つ入れて、シャフトのついた蓋をして発酵槽内に戻してチューブを装着して培養を再開する。
- ⑯3日目以降は、古い飼料用ナイロンバックを1つ取り出して新しい飼料用ナイロンバックを入れる。
- ⑰これを毎日24時間ごとに繰り返して行い対照区と試験区の飼料を用いて発酵槽の微生物叢の馴致培養を6日間行った後に本試験を行った[6]。

分析用試料入りのナイロンバックは、培養時間が4、12、30および48時間になるように、培養開始後0、18、36および44時間ごとに発酵槽に入れた。

分析用の試料として、粉碎して2mmの篩を通したスーダン乾草を約4g入れてナイロンバック(100mm×200mm、メッシュ50 μ m)ごと秤量し口を輪ゴムで留めおいたナイロンバックを培養時間ごとに各発酵槽に1個入れた。尚、試験中も発酵槽の対照区と試験区の飼料用ナイロンバックの取り替えは行った

表 5-4 人工唾液の内容

試薬名	g/L
NaHCO ₃	9.8
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	7.0
KCl	0.57
NaCl	0.47
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.12
Cystein · HCl	0.04
レサズリン	0.001

上から順番に蒸留水に溶かしていき1リットルにする。
調製後は、冷蔵庫にて保存する。

5-2-3. 測定と分析

試験の培養開始後0、18、36、44、48時間ごとに発酵槽より培養液を採取して、直ちにpH測定をガラス電極式水素イオン濃度計D-22(株堀場製作所製)で行った。

揮発性脂肪酸(VFA: Volatile fatty acid)分析に用いる試料は、発酵槽から取り出した培養液を蓋付きスピッツ管に約10ml入れて、直ちに-10℃以下で凍結保存した。揮発性脂肪酸(VFA)の測定は、凍結保存していた試料を室温にて解凍後4重ガーゼでろ過した。ろ液に、5Nリン酸溶液にクロトン酸0.52645g混合し100mlした溶液を1:1の割

合で混合し、1662×g (3000rpm)、30分で遠心分離した上清液をガスクロマトグラフィー (GC-2014 : カラム : ガラスカラム 7G3.2×φ1.1: 充填剤は、PEG6000 60/80 100m、SHIMADZU 製) で測定した。スタンダードとして酢酸 300 mg/dl、プロピオン酸 370.7mg/dl、イソ酪酸 440.6mg/dl、ノルマル酪酸 440.6mg/dl、イソバレリアン酸 510.7mg/dl、ノルマルバレリアン酸 510.7mg/dl、クロトン酸 430.5mg/dl が混合されたものを用いた。カラムでの測定条件は、カラム温度 : 158℃、インジェクト : 250℃、レンジ : 10³、キャリアガス : 60ml/分、H₂ : 0.6ml/分、Air : 0.6ml/分の条件でのピークから各試料の酸組成を算出した。

アンモニア態窒素の分析に用いるための試料は、発酵槽から取り出した培養液を蓋付きスピッツ管に正確に 5ml 入れ、50%トリクロロ酢酸 (TGA) を 0.1ml 加えて、直ちに-10℃以下で凍結保存した。アンモニア態窒素は、室温で解凍後 739×g (2500rpm)、20分で遠心分離し上層より 1ml 取り蒸留水 4ml を加えて混合する。これを試験管に 0.1ml 入れて試薬 A (フェノール 10g、ニトロブルシッドナトリウム 50mg、タングステン酸ナトリウム 8.25g を蒸留水で 10にしたもの) を 4 ml、試薬 B (リン酸二ナトリウム・無水 25g、水酸化ナトリウム 5g、5.25%次亜塩素酸ナトリウム 50ml を蒸留水で 10したもの) を 4ml 加えて室温 60 分培養後キュベットに入れ 625nm の吸光度で測定した[7]。スタンダードとして乾燥させた硫酸アンモニウム 0.388g に 10のイオン交換水を加えたアンモニア溶液から作成して分析用試料と同様に試薬 A を 4ml、試薬 B を 4ml 加えて室温で 60 分培養後キュベットに入れ 625nm の吸光度で測定し検量線を作成した。

またスーダン乾草を入れて秤量しておいたナイロンバックを、培養時間が 4、12、30、48 時間になるように発酵槽に投入して 48 時間後にすべてのスーダン乾草の入ったナイロンバックを発酵槽より取り出し、直ちに氷水 (4℃程度) に入れた後、ナイロンバックを流水で色が出なくなるまで洗浄後、通風乾燥機 (株東洋製作所製 ADVANTECFC-410) を用いて 60℃48 時間乾燥処理した。乾燥後、スーダン乾草入ったナイロンバックごと秤量して重量を測定して乾物消失率を算出した。秤量した試料をナイロンバックから取り出して、NDF を粗飼料の品質ガイドブックに基づき分析した[5]。有意差検定は一元配置分散法を用いて行った。

細胞内容物	灰分		NDF	ADF
	脂肪			
	タンパク質			
	糖・デンプン			
細胞壁構成物	ペクチン		NDF	ADF
	ヘミセルロース			
	リグニン	易溶性		
		難溶性		
	セルロース			
灰分				
水分				

図 5-2 植物組織と分析用語

*NDF は、植物の細胞壁構成物の中性デタージェントに不要な部分を示し、ヘミセルロース、リグニン、セルロースを含んでいる。NDF は、総繊維とも呼ばれている。繊維の評価として ADF（酸性デタージェント繊維：Acid detergent fiber）は酸性デタージェントに不要な部分を示し、リグニンとセルロースを含むもので、NDF の一部に含まれている（図 5-2） [5]。



図 5-3 ルシテック本体

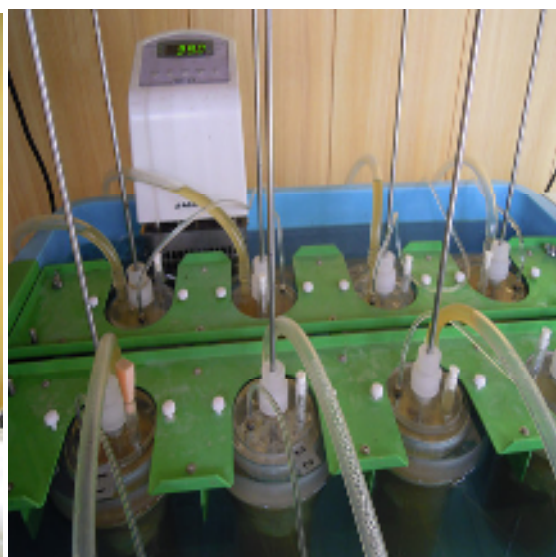


図 5-4 培養中の様子

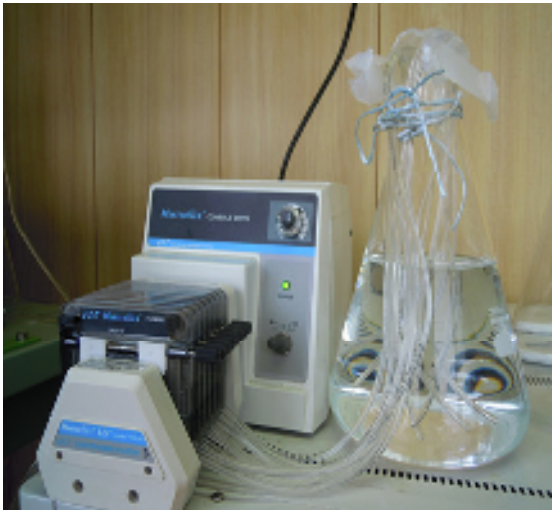


図 5-5 人工唾液流入ポンプと人工唾液



図 5-6 発酵槽と飼料容器(白い部分)



図 5-7 流入液採取ビン



図 5-8 飼料の入ったナイロンバック

5-2-4. 結果

1) 乾物消失率

乾物消失率の推移を表 5-5 と図 5-9 に示した。乾物消失率は、対照区、試験区とも時間経過とともに消失率が高くなった。培養開始 30 時間後、48 時間後降では、試験区が対照区より高い値であった差はなかった。

表 5-5. 乾物消失率の推移 (単位：%)

培養時間	4 時間	12 時間	30 時間	48 時間
対照区	19.72	26.34	41.62	47.56
試験区	20.33	29.77	47.07	51.92

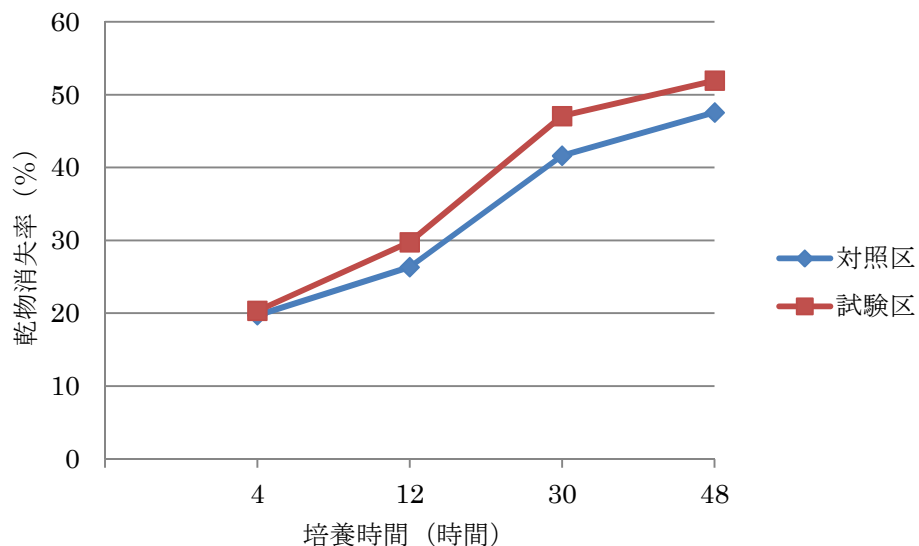


図 5-9 乾物消失率の推移

2) NDF 消失率

NDF 消失率の推移を表 5-6 と図 5-10 に示した。NDF 消失率は、培養開始 4 時間後から培養開始 48 時間までに試験区が対照区より高い傾向であったが有意差は認められなかった。

表 5-6 NDF 消失率の推移 (単位：%)

培養時間	4 時間	12 時間	30 時間	48 時間
対照区	1.98	11.99	31.02	38.02
試験区	4.25	15.20	37.55	44.41

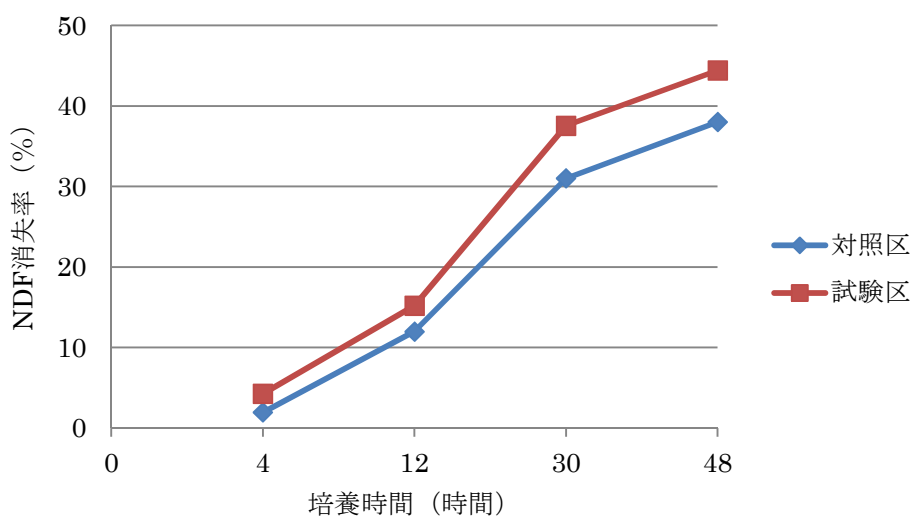


図 5-10 NDF 消失率の推移

3) 培養槽液 pH

培養液の pH の推移を表 5-7 と図 5-11 に示した。培養液の pH は、有意差は認められなかった。

表 5-7 培養液の pH の推移

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	6.10	6.24	6.21	6.24	6.26
試験区	6.34	6.33	6.15	6.24	6.31

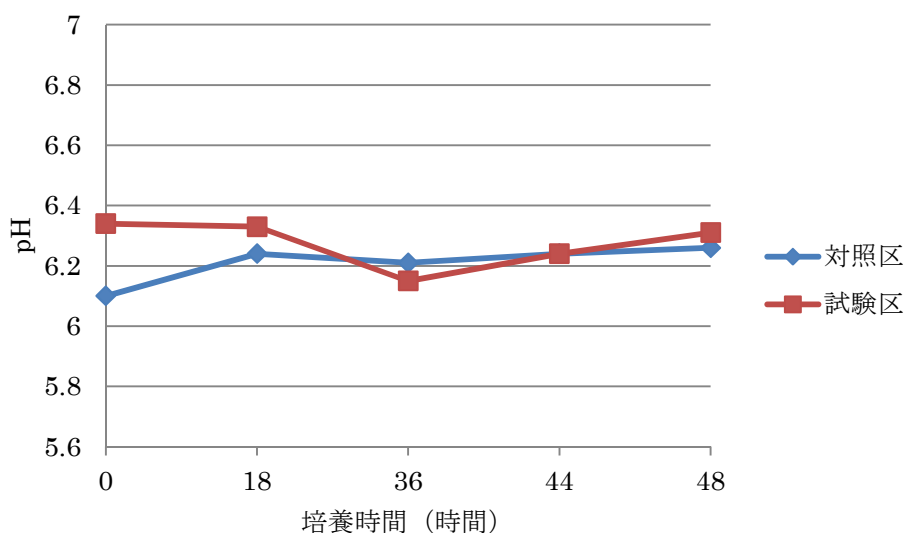


図 5-11 培養槽液 pH の推移

4) アンモニア態窒素

アンモニア態窒素の推移を表 5-8 と図 5-12 に示した。培養液中のアンモニア態窒素は、試験区において培養開始 0 時間から 48 時間後まで高い値で推移し、有意差が認められた ($P < 0.05$)。

表 5-8 アンモニア態窒素の推移 (単位 : mg/L)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	53.10	43.75	27.86	25.99	20.07
試験区	97.81*	93.92*	75.84*	69.46*	54.19*

*有意差あり $P < 0.05$

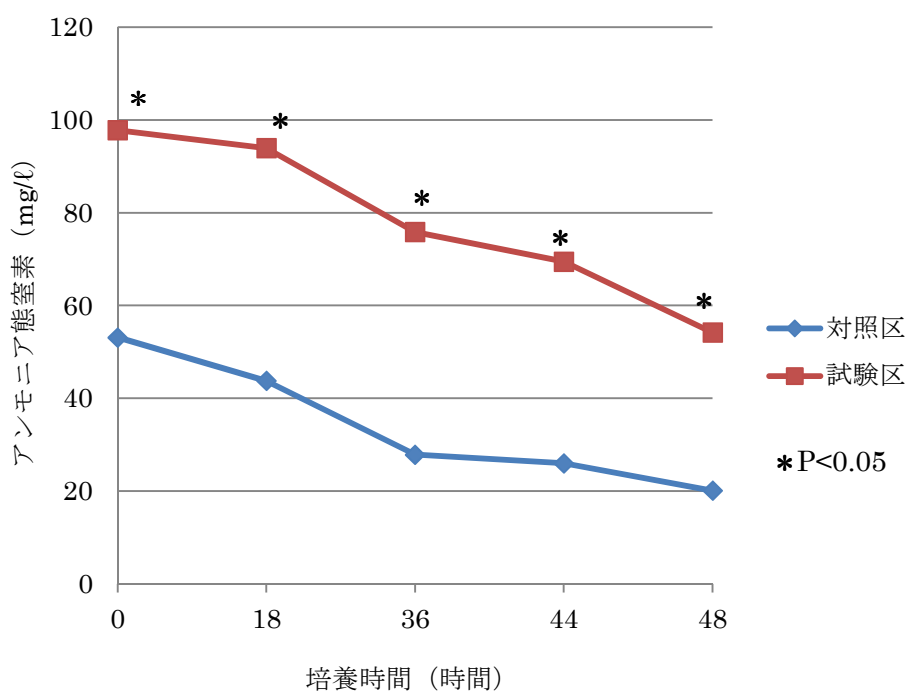


図 5-12 培養液中のアンモニア態窒素の推移

5) 揮発性脂肪酸 (VFA) 組成

揮発性脂肪酸 (VFA) は、総揮発性脂肪酸 (Total VFA) を表 5-9、酢酸を表 5-10、プロピオン酸を表 5-11、イソ酪酸を表 5-12、ノルマル酪酸を表 5-13、イソバレリアン酸を表 5-14、ノルマルバレリアン酸を表 5-15 に示した。

総揮発性脂肪酸、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、ノルマル酪酸、ノルマルバレリアン酸には有意差が認められなかったが、イソバレリアン酸は、培養時間 0 時間から 48 時間後まで高い値で推移し、有意差が認められた ($P < 0.05$)。

表 5-9 総揮発性脂肪酸の推移 (単位: mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	118.87	115.47	121.78	116.61	96.99
試験区	125.52	117.14	116.96	130.19	112.37

表 5-10 酢酸の推移 (単位: mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	55.88	55.98	64.27	64.30	56.44
試験区	56.03	53.56	54.08	62.74	64.28

表 5-11 プロピオン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	37.39	34.72	33.40	30.27	22.67
試験区	36.37	32.09	32.91	36.97	29.38

表 5-12 イソ酪酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	10.56	9.90	9.40	9.05	6.18
試験区	11.53	10.54	10.19	10.90	5.97

表 5-13 ノルマル酪酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	9.85	9.75	9.42	8.36	7.28
試験区	10.40	10.21	9.65	10.17	6.55

表 5-14 イソバレリアン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	2.92	2.99	2.98	2.69	2.81
試験区	4.10*	4.28*	3.85*	3.59*	2.38*

*有意差あり (P<0.05)

表 5-15 ノルマルバレリアン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	18 時間	36 時間	44 時間	48 時間
対照区	2.92	2.99	2.98	2.69	2.81
試験区	4.10	4.28	3.85	3.59	2.38

5-3. アミノ酸ケーキと NDF 分解性とリアルタイム PCR による菌数測定

5-3-1. 供試材料

供試材料は、5-2-1 と同様に乾燥させたアミノ酸ケーキを用いた。

5-3-2. 試験方法

5-2-1 と同様にルシテックを用い、5-2-1 と同じ内容の原料を入れた飼料用ナイロンバックに脱脂大豆油粕を 1g 加えた対照区、飼料用ナイロンバックに乾燥アミノ酸ケーキを 1g 加えた試験区を設定した。ルシテックの発酵槽は、対照区 2 個、試験区を 3 個の発酵槽を調製した。培養時間は、0、4、24、36 時間とした。またルシテックに投入するスーダン乾草は、5-2-1 と同じくナイロンバック (100mm×200mm、50 μ m) に入れたものを培養開始時に発酵槽に 4 つ入れておき、培養開始 4、12、24、36 時間後に 1 個ずつ取り出して乾物と NDF の分析に用いた。取り出し後直ちに氷水 (4 $^{\circ}$ C 程度) に入れ、流水にて色が出なくなるまで洗浄して通風乾燥機 (株東洋製作所製 ADVANTECFC-410) を用いて 60 $^{\circ}$ C48 時間で乾燥処理した。

5-3-3. 測定および分析

培養開始 4、12、24、36 時間後に取り出したスーダン乾草の入ったナイロンバックを直ちに氷水 (4 $^{\circ}$ C 程度) に入れた後、流水にて色が出なくなるまで洗浄して通風乾燥機 (株東洋製作所製 ADVANTECFC-410) を用いて 60 $^{\circ}$ C48 時間で乾燥処理した。5-2-3 と同様の方法で乾物消失率と NDF 消失率を算出した。スーダン乾草を取り出す培養開始 4、12、24、36 時間ごとに培養液を採取して 5-2-3 と同様の方法で処理を行った。

pH は、ガラス電極式水素イオン濃度計 D-22 (株堀場製作所製) で測定した。

揮発性脂肪酸 (VFA) とアンモニア態窒素の分析は、5-2-2 と同様に行った。リアルタイム PCR に用いた試料は、取り出した培養液をスクリーキャップチューブに 2ml を入れて直ちに -10 $^{\circ}$ C で凍結させた。

リアルタイム PCR の測定は、3-3-3 と同じ方法にて行った。測定条件は、*Fibrobacter succinogenes* は、95 $^{\circ}$ C for 3min, (95 $^{\circ}$ C for 10sec, 60 $^{\circ}$ C for 20sec, 72 $^{\circ}$ C for 1sec)×40cycle で *Ruminococcus albus* は、95 $^{\circ}$ C for 3min, 55 $^{\circ}$ C for 20sec, 72 $^{\circ}$ C for 1sec)×40cycle で行った。

測定に用いた 2 種類の繊維分解菌は、第 1 胃内で主要な繊維分解菌であり、発酵槽内で繊維分解性が高まれば増殖することが想定されるために菌数測定に用いた [8],[9]。*Fibrobacter succinogenes* は、第 1 胃から最初に分離された主要なセルロース分解菌でウシ第 1 胃内容物から抽出した 16SrRNA の 5~6%がこの菌由来と報告されている [10]。*Ruminococcus albus* は、主要なセルロース分解菌とされている。ウシの第 1 胃には 10⁶

個/ml レベルで存在すると報告されている[11]。

スタンダード DNA は、総細菌数 (Total Bacteria)、繊維分解菌である *Fibrobacter succinogenes* と *Ruminococcus albus* を北海道大学の家畜栄養学研究室の小池助教授より提供を受けて用いた[8],[9]。尚、用いたプライマー配列を表 5-16 に示した。有意差検定は一元配置分散法を用いて行った。

表 5-16 リアルタイム PCR で用いた繊維分解菌のプライマー配列

	Primer List	5'→3'
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	193f	GGTAGGGATGAGCTTGC
	654r	GCCTGCCCCTGAACTATC
<i>Ruminococcus albus</i>	RUMALf	CCCTAAAAAGCAGTCTTAGTTCG
	RUMALr	CCTCCTTGCGGTTAGAACA

5-3-4. 結果

1) 乾物消失率

乾物消失率の推移を表 5-17 と図 5-13 に示した。乾物消失率は、培養開始 2 時間後~36 時間後で試験区がやや高い傾向であったが有意差は認められなかった。

表 5-17 乾物消失率の推移 (単位：%)

培養時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	24.95	28.17	35.82	38.58
試験区	25.94	27.84	37.19	41.81

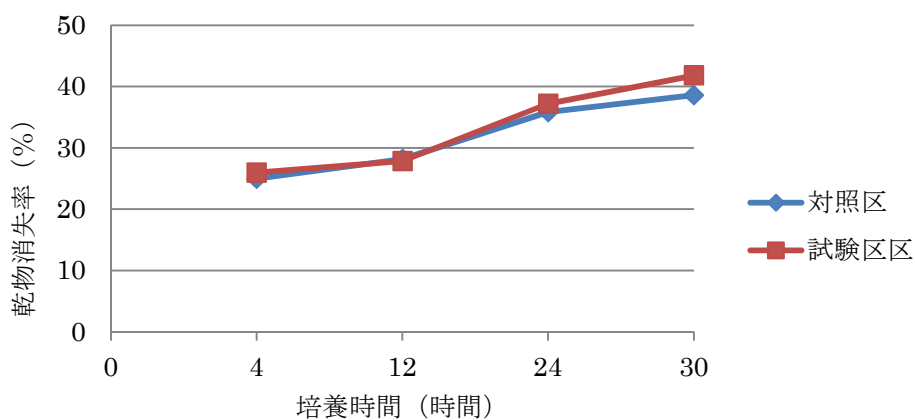


図 5-13 乾物消失率の推移

2) NDF 消失率

NDF 消失率の推移を表 5-18 と図 5-14 に示した。NDF 消失率は、培養時間 0 時間から 36 時間後まで試験区が高い傾向であったが有意差は認められなかった。

表 5-18 NDF 消失率の推移 (単位：乾物%)

培養時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	0.77	3.35	13.57	17.40
試験区	3.41	6.57	16.34	22.94

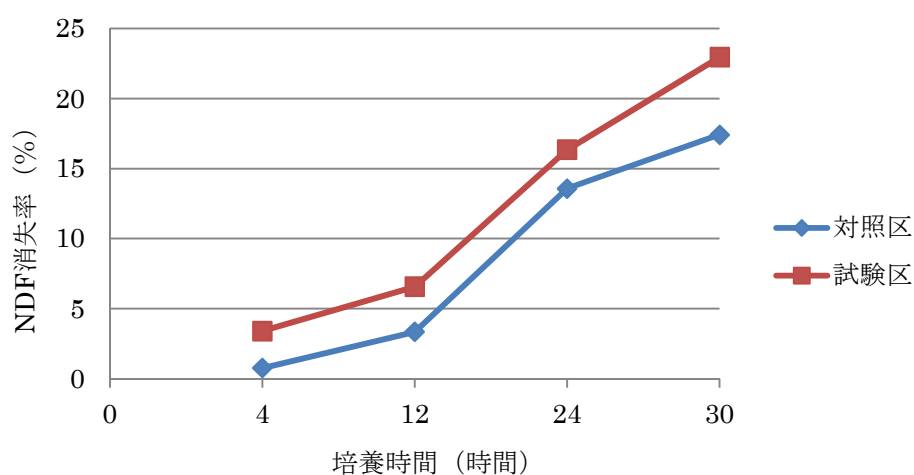


図 5-14 NDF 消失率の推移

3) 培養液 pH の推移

培養液液の pH の推移を表 5-19 と図 5-15 に示した。培養液 pH は、両区において有意差は認められなかった。

表 5-19 発酵槽液の pH の推移

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	6.88	6.62	6.76	6.86	6.75
試験区	6.88	6.59	6.71	6.70	6.75

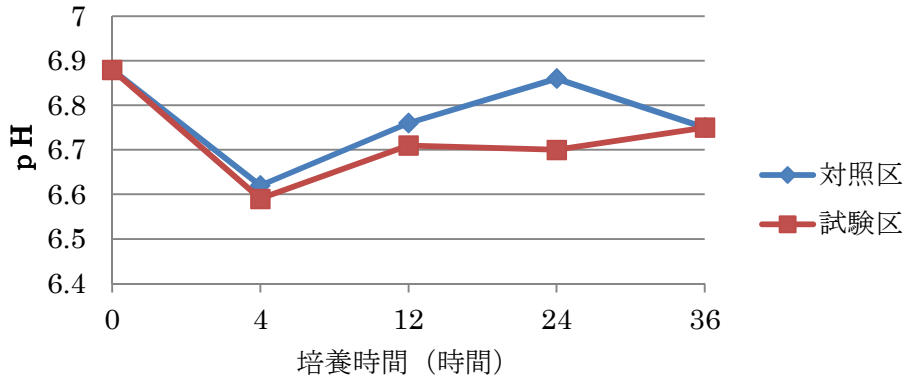


図 5-15 発酵槽液の pH 推移

4) アンモニア態窒素

アンモニア態窒素の推移を表 5-20 と図 5-16 に示した。アンモニア態窒素は、試験区が培養時間 0 時間から 36 時間後まで高くなり、有意差が認められた。(P<0.01)

表 5-20 アンモニア態窒素の推移 (単位: mg/L)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	98.38	94.15	81.13	81.30	83.84
試験区	152.76*	182.18*	162.68*	127.40*	155.13*

*有意差あり P<0.01

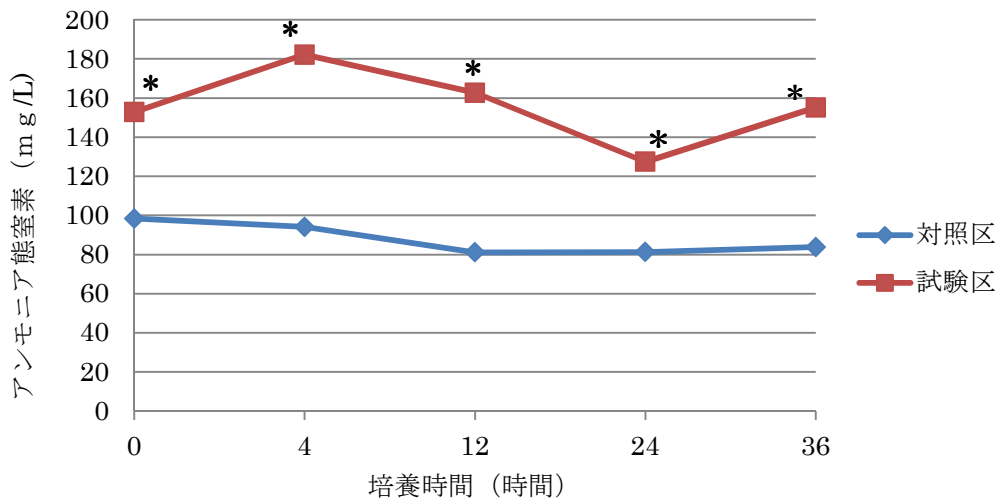


図 5-16 アンモニア態窒素の推移 *有意差あり P<0.01

5) 揮発性脂肪酸 (VFA) 組成

総揮発性脂肪酸 (Total VFA) は、両区とも同じような推移を示し、有意差は認められなかった (表 5-21)。酢酸は、試験区が対照区より低く推移したが有意差は認められな

った (表 5-22)。プロピオン酸は、両区において有意差は認められなかった (表 5-23)。ノルマル酪酸は、両区において有意差は認められなかった (表 5-24)。イソバレリアン酸は、試験区が対照区より培養時間 0 時間から 36 時間後まで高く推移し、有意差 (P<0.05) が認められた (表 5-25)。ノルマルバレリアン酸は、両区において有意差は認められなかった (表 5-26)。5-2 では、揮発性脂肪酸のイソ酪酸は検出されたが今回の分析では、検出できなかった。

表 5-21 総揮発性脂肪酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	24.56	31.05	31.89	33.10	27.56
試験区	25.72	32.45	31.54	28.64	26.53

表 5-22 酢酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	11.49	14.43	14.51	14.59	12.83
試験区	10.72	13.49	12.86	11.85	10.27

表 5-23 プロピオン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	6.70	7.94	8.18	8.88	7.44
試験区	7.10	8.57	8.24	7.53	6.84

表 5-24 ノルマル酪酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	3.97	5.57	5.83	5.46	4.61
試験区	3.46	4.65	4.71	4.27	4.19

表 5-25 イソバレリアン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	0.97	1.15	1.27	1.74	1.06
試験区	2.82*	3.61*	3.51*	2.95*	3.30*

*有意差あり P<0.05

表 5-26 ノルマルバレリアン酸の推移 (単位：mM)

培養時間	0 時間	4 時間	12 時間	24 時間	36 時間
対照区	1.43	1.96	2.10	2.44	1.62
試験区	1.62	2.13	2.21	2.05	1.94

6) リアルタイム PCR による総細菌数、繊維分解菌数

①総細菌数

総細菌数の推移を図 5-17 に示した総細菌数では、試験区が培養開始 4 時間後で高くなる変化を見られたが有意差は認められなかった。

②*Fibrobacter succinogenes* 菌数

Fibrobacter succinogenes の菌数の推移を図 5-18 に示した。*Fibrobacter succinogenes* は、対照区、試験区とも培養開始 12 時間後に高くなる変化を示したが両区に有意差は認められなかった。

③*Ruminococcus albus* 菌数

Ruminococcus albus の菌数の推移を図 5-19 に示した。*Ruminococcus albus* は、両区とも培養時間 36 時間後まで菌数は低下する変化を示したが両区に有意差は認められなかった。

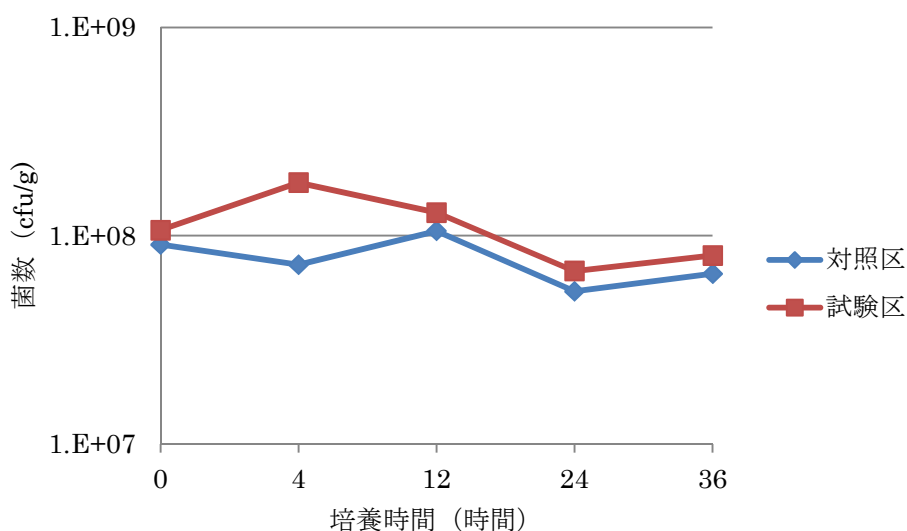


図 5-17 リアルタイム PCR による総細菌数の推移

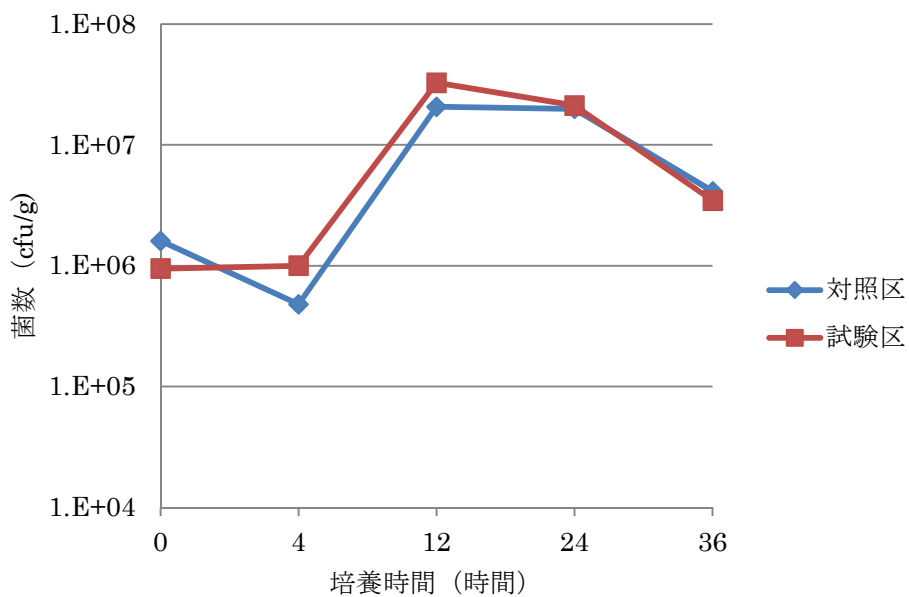


図 5-18 *Fibrobacter succinogenes* の菌数の推移

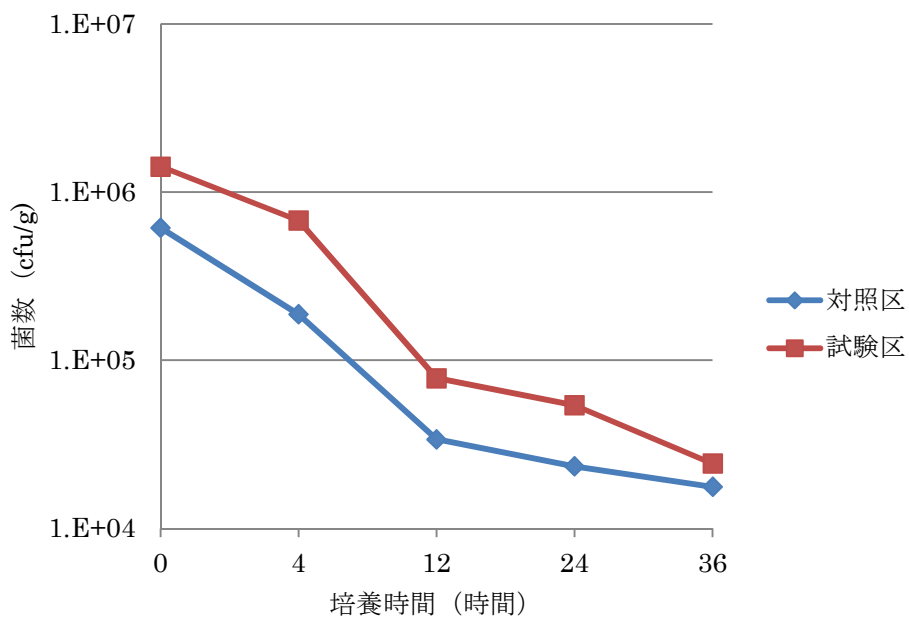


図 5-19 *Ruminococcus albus* の菌数の推移

5-5. 考察

アミノ酸ケーキによる繊維分解性を高める検討を行ったが、乾物消失率および NDF 消失率には効果が認められなかった。5-2 のアミノ酸ケーキの混合試験では、アンモニア態窒素が対照区よりも高くなり有意差が認められた。5-3 のアミノ酸ケーキ混合加試験では、対照区に脱脂大豆油粕を混合して結果からも有意差が認められた。このことはアミノ酸ケーキの混合によりアンモニア生成が高まることが確認された。

第 1 胃内のアンモニアは、微生物に取込まれるか第 1 胃壁より吸収される。ルシッテクは、閉鎖系であるために第 1 胃内のように胃壁より吸収されないことからアンモニアは微生物に取込まれることになる。しかしリアルタイム PCR による総細菌数は、増加を示していない。このことは、発酵槽内で微生物の増殖にアンモニアが影響していないことが推察される。リアルタイム PCR の結果は、総細菌数、繊維分解菌である *Fibrobacter succinogenes*、*Ruminococcus albus* に有意差は認められなかった。

揮発性脂肪酸組成は、イソバレリアン酸に有意差が認められた。分枝鎖脂肪酸のイソ酪酸は、5-2 での試験では検出されたが、5-3 の試験では検出されなかった。検出されない要因は、繊維分解菌に取込まれたのであれば総細菌数が増加するが、リアルタイム PCR の総細菌数の結果から増加はしていない。イソ酪酸に分解されなかった可能性があるが推察される。イソ酪酸は、第 1 胃液の分析から 1~4%程度の割合に含まれている[12],[13],[14]。イソ酪酸を 5-2 の結果から総揮発性脂肪酸に占める割合を算出すると、試験区は約 5%~18%となり、対照区は約 6%~8%となり高い割合であった。

梶川らは、分枝鎖アミノ酸であるイソロイシンの添加で第 1 胃内細菌の増殖および飼料の消化・発酵阻害するが、阻害効果は、ロイシン、バリンの他の分枝鎖アミノ酸の存在により緩和されると報告している[15]。Hopkins らは、搾乳牛に分枝鎖アミノ酸とアルギニンの給与試験で繊維含量の少ない飼料を給与した場合に生産性の低下が抑制されると報告している[16]。アミノ酸の分解作用に Stickland 反応がある。これは、2 種類以上のアミノ酸が共存すると、一方が水素供与体、もう一方が受容体となり単独で存在するより分解が速やかに進む反応である。*Clostridium* 属の細菌について見られており、水素の受容体はグリシン、プロリンで供与体はアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン等である。

アラニンは酢酸、その他は分枝鎖脂肪酸を生じる[17][18]。分枝鎖アミノ酸は、第 1 胃内の絨毛虫類体内にかなり取り込まれることが知られている。Onodera らは、第 1 胃内の絶食させたプロトゾア（第 1 胃内原生動物）は、バリンからイソ酪酸、ロイシンからイソバレリアン酸、イソロイシンから 2-メチル酪酸が生成され、分枝鎖アミノ酸の第 1 胃内分解速度をバリンで 5.8 nmol/ml/h、ロイシンを 15.6nm/ml/h、イソロイシンを 30.0 nm/ml/h としている[19]。Ahuja らは、混合ルーメン絨毛虫類による L-ロイシンおよび

L-セリンの取り込みを検討し、体内に取り込まれたアミノ酸プールと体タンパク質の加水分解によって生じたアミノ酸プールは別々のようであると報告している [20],[21]。これらの報告から分枝鎖アミノ酸については、他のアミノ酸や繊維毛虫などの第1胃内の微生物の影響を受けていることから分枝鎖アミノ酸だけでなく他のアミノ酸との関連などを検討が必要である。ルシテック発酵槽の液を PCR 測定用の試料として採取した。しかし繊維分解菌の場合には、飼料のスーダン乾草に多く付着していることも推察される。培養液の液相よりもスーダン乾草の試料の方に菌数が高い可能性があったのでリアルタイム PCR の結果から総細菌数や *Fibrobacter succinogenes*、*Ruminococcus albus* の増殖が認められなかった要因と推察される。第1胃内の微生物増殖効果についての試験法の検討もアミノ酸ケーキの添加はアンモニア態窒素が高くなることから、アミノ酸ケーキの給与方法として第1胃内での速く分解されるデンプンに組み合わせることができる可能性がある。これは、第1胃内でアンモニアが過剰になると微生物によるアンモニアの取り込みが低下する[22]。アンモニアを微生物が取り込みするには、エネルギーが必要となる。アミノ酸ケーキのようなアンモニア生成が速いと供給するエネルギーも速い原料の必要がある。そこで2章で検討した米デンプンのような第1胃で分解されやすい原料を組み合わせることで第1胃内での効率の良く微生物のタンパク質合成が出来ることが推察される。

国産資源を有効に利活用するために、アミノ酸ケーキは、粗タンパク含有量が乾物あたり 50%程度あり粗脂肪含有量が低いことと価格も安価であることから利用方法について米デンプンとの組み合わせや稲わらのようなリグニンが多い粗飼料のウシでの利用効率向上について検討を行うことが必要である。

5-6. まとめ

第5章では、アミノ酸ケーキの繊維分解性についての検討を行った。

- (1) アミノ酸ケーキは、NDF 消失率を高める効果が認められなかった。
- (2) アミノ酸ケーキは、イソバレリアン酸の生成量を高めた。
- (3) アミノ酸ケーキは、アンモニアの生成量を高めた。
- (4) リアルタイム PCR による繊維分解菌である *Fibrobacter succinogenes* と *Ruminococcus albus* と総細菌数からは、増殖する傾向は認められなかった。

アミノ酸ケーキは、粗脂肪含有量が少なく、アンモニア生成が多いことから、飼料用米給与での第1胃でのデンプンとアンモニアのバランスが取れることが推察される。

第6章 総合考察

6-1. 本研究の総括

本研究では、国内資源をウシ飼料への循環型利活用を構築することを目的としており、各章の概要を以下に述べる。

第1章では、我が国における飼料自給率低下の要因をまとめ国産資源として期待されている稲の子実である米の利用性についての問題点について述べた。そして稲については子実以外である籾殻、稲わらの副産物の現状と利活用について述べ、稲の副産物を含めてすべてを利用することで、「米のゼロエミッション」につながることにについて述べた。食品残さは、利用性についての問題点について述べた。

第2章では、米をウシ給与には、第1胃での分解速度を遅くすることが求められている。米デンプンは、粉碎での摩擦熱により表面のデンプン凝集が起きて第1胃での分解が速くなる問題がある。そこで摩擦熱が発生しにくい非加熱粉碎法である衝撃波を用いて粉碎した食用玄米を *In situ* 法による第1胃内での分解特性を検討した結果、非加熱粉碎法である衝撃波処理により米デンプンの分解速度を遅くすることができることがわかった。また第1胃内で培養した試料を SEM 観察より衝撃波処理のデンプン分解が遅くなるっていることが認められた。

第3章では、稲の副産物である籾殻を燻炭処理することで得られる籾酢液を環境と飼料への抗菌性について検討した。環境での抗菌性は、畜産環境由来の大腸菌、酵母と酪酸菌に対して籾酢液の抗菌性を確認した。また飼料への抗菌性は、TMR 飼料へ籾酢液を混合した結果、籾酢液の抗菌性が確認できた。特に籾酢液は、木酢液や竹酢液と異なることは、水に対する親和性が高いことである。そのため水分を含む TMR 飼料や食品残さへの抗菌資材として利活用が期待できる。籾酢液が利活用できれば、稲の子実（米）、籾殻、稲わらとウシを利用した「米ゼロエミッション」の可能性も高まった。

第4章では、食品残さの飼料利用性を検討した。食品残さである醤油粕、キノコ菌床粕、豆腐粕サイレージ、リンゴジュース粕、ビール粕を *In situ* 法により第1胃内の分解特性を算出した。その結果は、各飼料とも分解特性が異なることから、化学分析値だけでなく分解特性も考慮した給与が望まれる。また発酵 TMR の発酵前と発酵後を *In situ* 法による第1胃分解特性からは、発酵前後では大きな差はなく発酵によるメリットは少ないと判断された。発酵 TMR は、食品残さを利用しているが製造コストと輸送コストがかかることから食品残さ利用とのコストの格差があることから利用するにあたりコストと自給飼料との組み合わせなどを十分に検討する必要がある。

第5章では、新規原料としてアミノ酸ケーキの繊維分解性について検討を行った。アミ

ノ酸ケーキは、粗脂肪が少なく分枝鎖アミノ酸の割合が高いことから稲わらなどのリグニンが多い粗飼料の繊維分解性を高めることを目的として人工培養装置であるルシテックを用いて検討を行った。アミノ酸ケーキによる繊維分解性の効果は認められなかった。

6-2. 国産資源 100%利用でのコスト試算

酪農家では、配合飼料を主体として輸入されている原料を使っている。本研究の結果から輸入原料を国産資源にすべて置換えた試算を行った。この試算では、現在実際に行われている TMR センターで使われている飼料原料をベースとして、現状 TMR として製造されている飼料の輸入原料をすべて国産飼料に置換えた。国産飼料は、実際に入手可能な飼料として価格も聞き取りを行い出来るだけ正確なコストを算出した(表 6-1)。搾乳牛の栄養要求量に対する充足率をできるだけ 100%にするように行った。搾乳牛の条件は、体重 630 kg、2 産目、乳量 30 kg/1 日、乳脂肪 3.8%、乳タンパク質 3.3%での設定で栄養要求量を求めた。

表 6-1 飼料価格表 (平成 25 年 10 月時点)

飼料名	円/kg	飼料名	円/kg
グラスサイレージ	13.0	イナワラ	20.0
コーンサイレージ	12.0	食塩	30.24
ロールサイレージ ¹⁾	13.0	キノコ菌床粕	7.0
チモシー乾草	56.5	醤油粕	3.5
牧草ストロー ²⁾	53.92	豆腐粕サイレージ	6.72
アルファルファ乾草	58.52	リンゴジュース粕	2.8
ビートパルプ	55.92	脱水ビール粕	15.48
加熱脱脂大豆油粕 ³⁾	121.76	アミノ酸ケーキ	27.0
配合飼料	49.43	玄米	28.0
第 2 リンサンカルシウム	155.25	カビ吸着剤 ⁴⁾	637.52

1) ロールサイレージは、ロール状に巻いた牧草の水分があるものは変敗するのでラップにより嫌気性状態にした。

2) 牧草ストローは、通常の刈取りをしたものではなく、主に種子の採取した残りの茎葉部分を乾燥させたもの。通常の牧草の乾燥よりも安い栄養価は低い。

3) 過熱脱脂大豆粕は、脱脂大豆油粕を約 140℃で加熱させて第 1 胃で分解するタンパク質を減らして小腸で吸収させるために加工された。

4) カビ吸着剤は、飼料中に含まれるカビを消化管内で吸着させるためのもの

表 6-2 給与量とコスト試算 (単位：水分を含んだ現物 kg)

飼料名	現行	国内資源 100%
グラスサイレージ (kg)	10	10
コーンサイレージ (kg)	20	20
チモシー乾草 (kg)	4.0	—
牧草ストロー (kg)	1.5	—
ルーサン乾草 (kg)	1.5	—
加熱脱脂大豆油粕 (kg)	0.5	—
配合飼料 (kg)	9.0	—
炭酸カルシウム (kg)		—
第 2 リン酸カルシウム (kg)	0.05	0.05
食塩 (kg)	0.05	—
しょうゆ粕 (kg)	—	3.0
豆腐粕サイレージ (kg)	—	8.0
リンゴジュース粕 (kg)	—	6.0
脱水ビール粕 (kg)	—	5.0
アミノ酸ケーキ (kg)	—	2.5
キノコ菌床粕 (kg)	—	2.0
粉碎玄米 (kg)	—	3.0
稲わら (kg)	—	2.0
カビ吸着剤 (kg)	0.01	0.01
コスト(1 頭/1 日/円)	1376.5	794.9
乾物(kgコスト/円)	55.2	32.7

飼料価格については、1 頭 1 日あたりで比較すると現行では 1376.5 円、国内資源 100% 利用では 794.9 円と算出された。その差は、581.6 円になる。乾物当たりの kg コストは、現行では、55.2 円、国内資源は、32.7 円であった。

飼料給与での問題点は、国内資源では、食品残さの影響で水分含量が高くなっており、代謝タンパク質の充足率が低いことで予想乳量が低くなっている。

この要因は、第 1 胃分解される区分が多いことなので飼料をよりゆっくり分解する原料の検討が必要である。また粗脂肪含量も高いことから給与した場合には、乳成分、乳量の他に糞性状や体の状態を観察することが重要である。

表 6-3 栄養計算結果

栄養成分	現 行	国内資源 100%
現物重量 (kg)	48.6	65.5
乾物重量 (kg)	29.4	24.3
CP ¹⁾ (充足%)	102	100
MP ²⁾ (充足%)	104	96
TDN ³⁾ (飼料中%)	69.7	69.2
デンプン (飼料中%)	22.5	18.1
粗脂肪 (飼料中%)	3.3	4.9
ADF (飼料中%)	25.7	27.4
NDF (飼料中%)	43.8	45.3
粗飼料比率 ⁴⁾ (乾物%)	61.1	53.1
MP 予想乳量 (kg/日)	31.0	28.0
速分解性区分 (A)	29.4	45.4

1) Crude protein の略で粗タンパク質

2) Meabliic protein の略で代謝タンパク質

代謝タンパク質は、第 1 胃以降で消化され、アミノ酸として小腸で吸収される純タンパク質である。

3) Total Digestible Nutrients の略で可消化養分総量

飼料のエネルギー含量を示す指標である。粗タンパク質、粗繊維、粗脂肪、NFE (可溶性無窒素物) のそれぞれ消化される分を合計したものである。

4) 粗飼料比率は、給与している飼料中に粗飼料が含まれている割合を示す。

栄養評価としては、

①水分を含んだ現物での給与量は国内資源の方が多くなっている。

②代謝タンパク質 (MP) からの予想乳量は、現行の方が高い。

③デンプン含量は、現行が高い。

④粗脂肪量は、国内資源で高くなっている。

⑤繊維分である NDF と ADF は国内資源が高くなっている。

⑥第 1 胃内で速分解性区分は、国内資源が約 16%高い。

6-3. 今後の課題

本研究では、国内資源のウシ飼料を検討してきた。試算から国内資源 100%で飼養管理が可能となり、コスト低減も可能なことを示した。

一方問題点としては、生産コスト重視は重要であるが、牛乳や牛肉は食品であり食品としての品質を低下させないことである。低コストであっても消費者が受け入れてもらえる生産物であることが重要である。これからの農産物の自由化になれば国産であるものは、高品質な生産物であることが求められることになる。国内資源を利活用した飼料給与においても生産物の品質まで追求することが重要である。品質については、安全、安心はもちろんであるがより美味しさや食味などを十分に検討する必要がある。

一般に乳用牛は最低でも 3 産（分娩 3 回）以上の期間飼養が必要である。肥育肉用牛でも品種により異なるが、18 ヶ月齢から 30 ヶ月齢までの飼養期間がある。ウシの第 1 胃の特性から飼料を急変させるとその飼料への第 1 胃微生物の馴致が行われてその期間にウシがダメージを受けることがある。「牛は虫飼い」であるといわれるほど第 1 胃の微生物環境が重要である。

試算において、国内資源利用では、第 1 胃内の分解速度が早くなっていることから第 1 胃内での飼料の分解速度を調整することが必要である。今日まで第 1 胃での分解消化性を高めることを求めてきた研究からは、異なる視点が必要とされる。この分解消化が遅い飼料原料は、リグニンの多い稲わらなどのリグニンが多い粗飼料が最適な材料である。

今後 TPP（環太平洋戦力的経済連携協定）の締結になると安価な乳製品や牛肉が輸入されると輸入品と同等な品質であればその価格と競合してしまう。それに価格で対抗する方法を選択する場合もあれば、品質で対抗する方法もある。例えば、牛肉では、ホルスタイン雄去勢の牛肉では、特徴や価格が輸入肉と競合してしまうが、黒毛和牛種では高級ブランドであるので競合は少ない。黒毛和牛種では、牛肉中の脂肪酸でオレイン酸が多いことを強調した戦略を立て美味しさの評価などを標準化する動きもある。牛乳でも個別の牧場でのブランド牛乳は多くあるが、こだわりを進めている生産者は、この乳牛から搾った牛乳すなわち 1 頭の牛を指定した牛乳を届けようとする生産者もいる。このようにいろいろな形の経営が生まれると思われる。

国内資源である食品残さの醤油粕、豆腐粕、アミノ酸ケーキは、製造される原料は輸入大豆である。これは大豆の輸入がなければ、タンパク質の原料が不足することになる。

特にウシでは動物性タンパク質が BSE により給与制限されているので植物性タンパク質原料の生産をどのようにするのが大きな課題である。

しかし、すべての対応を飼料だけに求めても限りがある。ウシの場合には、無機質の窒素も第 1 胃で微生物が取り込みタンパク質にできる機能を持っている。そのためにタンパ

ク質原料としての尿素を利用した給与についての研究を進める必要がある。またウシの遺伝的な改良によってウシ自体でタンパク質の利用効率を高めることが必要である。生産現場での事例から黒毛和種を哺乳時期から稲わらの給与を行っても発育には問題が起きていない。また黒毛和種の肥育素牛で8カ月齢から粗飼料を稲わらだけで飼養した場合でも肥育成績（増体、枝肉重量など）に問題はなかった事例もある。黒毛和種は、古来日本で育種改良されてきた品種であり、かつて人の栄養状態悪い時代でも生き延びてきた。

1950年代以前では大豆などは人の貴重なタンパク質であったため給与することなどなかった。そのために低いタンパク質量に対応できるように改良されたと推測している。黒毛和牛種は、タンパク質の給与量が少なくても効率よく利用できる遺伝的な要素を持っている可能性がある。これは、ホルスタイン種や外国産種のウシとは異なる点である。この飼料効率を遺伝資源として利用し、低タンパク質でも飼養できる品種改良などの取り組みも重要である。

国内資源の循環的利活用するためには、飼料給与だけでなくウシ自体の飼料利用効率も改良することでより効果的にすることが国内での安定した生産ができる基礎となると思われる。

第1章 参考文献

- [1] 飼料をめぐる情勢 農林水産省生産局畜産部 農林水産省ホームページ
http://www.maff.go.jp/chikusan/siryo/l_siryo/pdf/siryo_data_2508
- [2] 日本の飼料産業 配合・混合飼料の生産量 協同組合日本飼料工業会ホームページ
http://jamar.or.jp/japan_output.html
- [3] 公益社団法人配合飼料供給安定機構 配合飼料・混合飼料の生産動向
http://mf-kikou.lin.gr.jp/seisan/seisa_old.html
- [4] 飯塚三喜、野本貞夫、村上大蔵、小野斉 飼料飼料作物と牛の生理障害 硝酸塩中毒、
グラストタニー・起立不能症 農村漁村文化協会 p20-40,p100-106,昭和 58 年
- [5] 動物衛生研究所 家畜中毒情報, 硝酸塩中毒
http://www.Naro,affrc.go.jp/org/niah/disease_poisoning/No3.html.
- [6] 板垣久雄 反芻動物の栄養生理学 佐々木康之監修 小原嘉昭編 農村漁村文化協会
p88 (1998)
- [7] 飼料米の生産給与マニュアル 2012 年版 独立行政法人農業・食品産業技術研究機構
- [8] 農林水産省農林水産統計 平成 25 年度産水陸稲の収穫量
http://www.maff.go.jp/j/toukei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html
- [9] 農林水産省畜産統計 平成 24 年
http://www.maff.go.jp/j/council/seisaku/tikusan/bunkai/h2401/pdf/data4_1_2.pdf
- [10] 稲発酵粗飼料生産給与技術マニュアル (社) 日本草地畜産種子協会 p111,
平成 24 年 3 月
- [11] 永西修、寺田文典、石川哲也, 数種穀類の飼料成分と第一胃内消化特性
日本草地学会誌,Vol146, No3・4,305-308 (2000)
- [12] 原 悟志 モミ米および玄米の破碎処理がメンヨウおよびウシによる成分消化率に
及ぼす影響 日本畜産学会報 Vol.81,No1,p 21-27 (2010)
- [13] 築野食品工業(株)ホームページ <http://www.tsuno.co.jp/j/04/main/htm>.
- [14] 森本宏 飼料学 養賢堂 p158-162,昭和 44 年
- [15] (社)全国農業改良普及支援協会 みんなの農業広場
<http://www.jeirou.com/benri/rice/2008/02/211601.html>
- [16] 岩手大学農学部森林科学コース木質資源工学研究室
- [17] 米の生産関連情報 米穀機構米ネット 公益社団法人 米穀安定供給機構
<http://www.komenet.jp/jukuuab/826.html>
- [18] 荻須吉洋 新エネルギーもみ殻発電

- <http://www.oo.em-net.ne.jp/~y~ogisu/momigara.pdf>
- [19] 籾殻発電ガス化発電プロジェクト化をカンボジアで実施
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 プレスリリース
http://www.nedo.go.jp/news/press/AA5_10083.html
- [20] 農村漁村文化協会編 木酢液・竹酢液・モミ酢液とことん活用読本 農村漁村文化協会 p136-150 (2008)
- [21] 籾殻の低温燃焼による高溶解性ケイ酸質肥料資材化,
独立行政法人農業食品産業研究機構 中央農業研究センター2004年成果情報
<http://www.naro.affric.go.jp/project/result/laboratory/narc/2004/narc04-06.html>
- [22] エコフィード情報 中央畜産会経営支援部
<http://ecofeed.lin.gr.jp/about/index.html>
- [23] エコフィードをめぐる情勢 農林水産省生産局畜産部畜産振興課 農林水産省ホームページ http://www.maff.go.jp/chikusan/sinko/l_ekofeed_201306.pdf
- [24] 前田良之、岡本明治、吉田則人 ヒートダメージ飼料における蛋白質の溶解性とアミノ酸組成に関する研究 北海道草地学会誌 Vol.17,p161-164 (1983)
- [25] Maeda.Y, M.Okamoto and N.Yoshida. Heat-damage in hay-making of big bale.
日本草地学会誌 Vol.34,No3,p193-201 (1988)
- [26] 酪農・豆知識 第38号 日産合成工業(株)学術・開発部 平成22年6月
- [27] 大山嘉信 サイレージ発酵に関連する諸問題
日本畜産学会報 Vol.42,No7,p301-317,1971
- [28] 農林水産省 包括的経済連携に関する資料
農林水産省の試算 (平成22年11月公表) 品目別の生産減少額等の一覧表
http://www.maff.go.jp/kokusai/renkei/fta_kanren/pdf/19_hinmoku.pdf

第2章参考文献

- [1] 永西修、寺田文典、石川哲也 数種穀類の飼料成分と第一胃内消化特性
日本草地学会誌 Vol.46,No.3・4, p305-308,2000
- [2] Cone.J.W. and G.E..Wolters Starch 42, p298-301,1990
- [3] 永西修、寺田文典、石川哲也 アミロースおよびタンパク質含有率の違いが玄米の第一胃消化特性に及ぼす影響 日本草地学会誌 Vol.47,No6,p599-603,2002
- [4] 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編
飼料用米の生産・給与マニュアル<2012年版> p111,2012
- [5] 乾清人、西口茂、川村純也、平岡啓司、関誠、野中和久 飼料米の加工方法の違いが乾乳牛の消化性におよぼす影響 日本草地学会誌 Vol.55,別号,p54,2008
- [6] 関誠、小橋友里、島津是之、高橋英太、野中和久 乳牛用飼料としての飼料用玄米への加工方法の違いが栄養価に及ぼす影響 日本草地学会誌 Vol.56,別号,p63,2009
- [7] 浅井英樹、河合恒祐、林登、吉村義久、野中和久 飼料用玄米の可能粒度の違いが乾乳牛の消化性に及ぼす影響 日本草地学会誌 Vol.57,別号, p77,2010
- [8] 嶽本あゆみ、工藤康文、三牧奈美、宮藤義孝、下嶋賢、比嘉修、伊東繁 瞬間的高圧処理による米粉の処理条件と特性の相関関係解明に関する研究 第20回日本MRS学術シンポジウム,SessionK-17,yokohama, 2010.12
- [9] Takemoto.A, Y.Miyafuji, K.Shimajima, H.Higa, O.Higa, Y.Kudoh, N.Minaki, T.Watanabe, and S.Itoh. On the instantaneous high pressure sterilization of *Staphylococcus aureus* in the rice powder. 第12回 MRS 学術シンポジウム SessionN-09,yokohama, 2011.12
- [10] 自給飼料利用研究会編 三訂版粗飼料の品質評価ガイドブック (社)日本飼料作物種子協会 p83-86,2009
- [11] Cherney.D.J.R., Paterson.J.A, Lemenager.P.P. Influence of in situ bag rinsing technique on determination of dry matter disappearance
Journal of Dairy Science Vol.73,No2, p391,1990
- [12] Batajoo.K.K., R.D. Shaver. In situ dry matter, crude protein, and starch degradabilities of selected grains and by-product feeds
Animal feed Science and Technology., Vol.71, p165-176,1998
- [13] Nocek J.K In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. Journal Dairy Science Vol 71,No8,p2051-2069,1988
- [14] NRC 乳牛飼養標準—2001年・第7版— Natinal academy Press Washinton,D.C.

デーリィ・ジャパン社 p60-62,2001

- [15] McCleary.B.V., Solah, V. and Gibson.T.S. Quantitative measurement of total starch in cereal flours and products
Journal of Cereal Science Vol.20, p51-58, 1999
- [16] McCleary.B.V., Gibson.T.S. and Mugford, D.C. Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase- α - amylase method : Collaborative study.
Journal of AOAC Int.80, p571-579,1997
- [17] American Association of Cereal Chemists : "Approved Methods of the AACC."
Method 76-11, October,1976
- [18] Evers. A.D. and Stevens.D.J. "Starch Damage" , in "Advances in Cereal Science and Technology", Vol.VII. (Promeranz. Y.Ed.) , American of Cereal Chemists Inc., Paul, Minesota, p321-349,1985
- [18] Orskov. E.R and McDonald.I The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted accroding to rate of passage.
Journal of Agric. Science. Comb.92, p449-503,1979
- [19] Campling.R.C. Processing cereal grains for cattle. A review
Livestock product of science, Vol 28, p223-234,1991
- [20] Galyean, M.L., Wagner, D.G. Owens, F.M. Dry matter and starch disappearance of corn and sorghum as influenced by particle size and processing
Journal of Dairy Science Vol.64,No9, p1804-1812,1981
- [21] Lykos.T.,and Varga.G.A. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ
Journal of Dairy Science Vol 78,No8, p1789-1801,1995
- [22] 全国畜産農業協同組合連合会 国産飼料米を利用した肉用牛の生産が肉質に及ぼす影響等に関する調査報告書 2012年5月
- [23] 宮地慎、野中和久、松山裕城、細田謙次、小林良次 品種および加工法の異なる飼料米の第一胃内分解特性 日本草地学会誌 Vol 56,No1, p13-19,2010
- [24] 荒木悦子、池田達哉、芦田かなえ、高田兼則、谷中美貴子、飯田修一 損傷デンプンの量と米粉の形状は米粉の製パン性に影響する 近畿中国四国農業研究成果情報、Vol.2006, p21-22,2006
- [25] 小河拓也、永井耕介 製粉方法が米粉の特性および製パン性に及ぼす影響 兵庫県立農林技術総合センター研究報告[農業編] Vol.59, p19-23,2011

第3章参考文献

- [1] 寺下隆貴代 土壤微生物のフロラにおよぼす木酢液の影響 日本林学会誌, Vol.42, No2, p52-61, 1960
- [2] 寺下隆貴代、陳野好之 植物病原菌に及ぼす木酢液の影響 林業試験場研究報告 No.96, p129-144, 1957
- [3] 杉浦銀次 廃材炭と木酢液による鶏ふん乾燥時の消臭効果、木材工業、Vol.29, No5, p206-208, 1974
- [4] 谷田貝光克 木竹酢液ハンドブック 特性と利用の科学 海青社 p123-135, 2013
- [5] 佐藤拓道、田尻明男、野呂裕美子、藤田潤子、佐々木甚一、原田幸雄, 農産廃棄物から得た木酢液の成分と抗菌活性 木質化学会誌 Vol.2, No1/2, p59-66, 2006
- [6] 渡辺紀元 粉酢の除菌能 水処理技術 Vol.40, No5, p211-214, 1999
- [7] 尾崎知良 光電比色計による微量フェノール類の分析 JAPAN ANALYST. Vol.7, p278-283, 1958
- [8] 倉田泰人 環境におけるフェノール類の分析 埼玉県公害センター研究報告 Vol.19, p1-32, 1992
- [9] 栗原誠 ヨウ素を用いる 4-アミノアンチピリン法による廃水中のフェノールの吸光度定量 分析化学 Vol.32, p766-768, 1989
- [10] Koike.S, H.yabuki, Y.kobayashi Validation and application of real-time polymerase chain reaction assays for representative bacteria Animal Science Journal Vol.78, No2, p135-141, 2007
- [11] Koike.S. and Y.Kobayashi. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria : Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus albus and Ruminococcus flavefaciens FEMS Microbiol. Lett. 204, No2, p361-366, 2001
- [12] 栗山旭 木材の炭化過程に関する研究：林業試験場研究報告 No349, p7-76, 1979
- [13] 野本寛、本庄孝子 バイオマス半炭化の原理と応用 高温学会誌 Vol.37, No2, p43-49, 2011
- [14] 松下洋一、菅本和寛、日高健一、松井隆尚 スギ辺材およびその構成成分から調製した木酢液の分析 日本化学会誌 Vol.2002, No3, p385-391, 2002
- [15] 西本円佳、堀啓映子、谷田貝光克、榎本雄司 木酢液の経時変化 第52回日本木材学会講演要旨集 p613, 2002
- [16] 森田康弘、岡部敏弘、光源寺宏治、福井徹、福田清春 木材の熱分解物から調製した木酢油の抗菌活性と木材保存剤としての利用

- 木材保存 Vol.37,No4,p165-170 ,2011
- [17] 谷田貝光克 木竹酢液ハンドブック 特性と利用の科学 海青社 p18-19,2013
- [18] 山口恵三 抗菌薬は人類に幸せをもたらしたか 日本化学療法学会雑誌
Vol.50,No9,p611-612,2002
- [19] 安宅一夫 サイレージの理論と実際 酪農学園短期大学酪農学校 p42-46,昭和 59 年
- [20] 坂井田節 炭と木酢液の有効活用(29) 鶏の研究 Vol.82, No7 p56-59,2007
- [21] 坂井田節 炭と木酢液の有効活用(30) 鶏の研究 Vol.82, No8 56-59,2007
- [22] 坂井田節 炭と木酢液の有効活用(31) 鶏の研究 Vol.82, No9 80-83,2007
- [23] GhuG.M, C.K.Jung, H.Y.Kim, J.H.Ha, J.H.Kim, H.S.Jung, etal. Effect of bamboo charcoal and bamboo vinegar as antibiotic alternative on growth performance, immune responses and fecal microflora population in fattening pigs Animal Science Journal Vol.84, No1,p113-120,2013
- [24] Mekbungwan.A, K.Yamuchi and T.Sakurada Intestinal villus histological alterations in piglets fed dietary charcoal powder including wood vinegar compound liquid Anatomia, Histologia, Embryologia, Vol.33, No1,p11-18,2004
- [25] Watarai.S, Tana. and M.Koiwa. Feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-Rich) is effective as treatment for Cryptosporidiosis in calves Journal of Dairy Science. Vol.91,No4, p1456-1463,2008
- [26] Kook.K and Kim.K.H. The effect of supplemental levels of bamboo vinegar on growth performance, serum profile and meat quality in fattening Hanwoo cow Journal of Animal Science and Technology Vol.45,No1, p57-68,2003
- [27] 木酢・竹酢・モミ酢とことん活用読本 農文協編 p147-148 ,2008
- [28] 渡辺紀元 粉酢処理アスベストの理化学特性. 機能材料 Vol.27,No2,p63-68 ,2007
- [29] 荒川裕史、岩崎正行、渡辺紀元 粉酢液および木酢液におけるポリフェノール類の存在と 6 価クロム還元への関与 水環境学会誌. Vol.26,No4,p203-207,2003

第4章 参考文献

- [1] 農林水産省 生産畜産部飼料振興課、消費・安全局畜水産安全管理課
飼料をめぐる情勢 平成25年6月
http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/l_hosin/pdf/siry_data_2506pdf
- [2] 最新の和牛 社団法人全国和牛登録協会編 p258-259, 昭和25年
- [3] 農林水産省 生産畜産部飼料振興課 エコフェードをめぐる情勢 平成25年3月
http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siry/pdf/ecofeed_201309.pdf
- [4] Hoover. W.H., Stokes. S.R., Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield
Journal of Dairy Science Vol.74,No10, p3630-3644,1991
- [5] NRC 乳牛飼料標準 - 2001年 第7版ー デーリィ・ジャパン社 p44-48,2001
- [6] 三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック 自給飼料利用研究会編 (社)日本草地畜産飼料協会 p25-31,2009
- [7] 永西修、寺田文典、樋口浩二、A.Prunomoodi ビール粕、豆腐粕、しょうゆ粕のタンパク分画 草地学会誌 Vol.45,別号, p288-289,1999
- [8] 須藤浩 カス類飼料と給与法 p70-76, 養賢堂 昭和50年
- [9] 榊田精一、森本宏、今井達郎、亀岡喧一 醤油粕の飼料価値について 畜産の研究,Vol.4, No8, p467-469,1950
- [10] Xu.C, Y.Cai, J.Zhang, H.matsuyama Feeding value of total mixed ration silage with spent mushroom substrate Animal Science Journal Vol.81, No2, p194-198,2010
- [11] 西口靖彦、安藤貞、早坂貴代史 濃厚飼料多給条件下で測定した各種飼料のルーメン内分解特性 近畿中国四国農業研究センター研究報告 Vol.4,p61-67,2005
- [12] 甘利雅弘、古賀照章、阿部章 豆腐粕の牛用飼料としての飼料価値と消化特性 畜産試験場研究報告 Vol.54,p34-42,1994
- [13] 今井明夫 トウフ粕を利用した牛の肥育技術 日本草地学会誌 Vol.48, No1,p78-82,2002
- [14] 井出忠彦 乳牛の TMR におけるトウフ粕の給与 日本草地学会誌 Vol.48,No1, p73-77,2002
- [15] Jenkins,T.C. Lipid metabolism in the rumen Journal of .Dairy science Vol.76, No12, p3851-3863,1993
- [16] Chilliard, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs,

- and rodents : A view. Journal of Dairy Science Vol.76, No12,p3897-3931,1993
- [17] Jerred, M.J., D.J.Carrol, D.K. Combs, and R.R. Grummer Effect of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on nutrient utilization and lactation performance of dairy cattle
Journal of Dairy Science Vol.73, No10, p2842-2854,1990
- [18] Gaynor P.J, R.A. Erdman, B.B. Teter, J.Sampigna, A.I.Capuco et.al Milk fat yield and composition during abomasal infusion of *cis* or *trans* octadecenoates in Holstein cows Journal of Dairy Science Vol.77, No11, p157-165,1994
- [19] Griiari, J.M, D.A. Dwyer, M.A. McGuire, D.E. Bauman, D.L. Palmquist and K.V.V. Nurumela *Trans*-octadecaenoic acid and milk fat depression in lactating dairy cow Journal of Dairy Science Vol.81,No5, p1251-1261,1998
- [20] 須藤浩 カス類飼料と給与法 養賢堂 p13-18,昭和 50 年
- [21] 大山嘉信 サイレージ発酵に関連する諸問題 日本畜産学会報 Vol42,No7,p301-317 ,1971
- [22] 劉建新、近藤誠司、関根純二郎、大久保正彦、朝日田康司 サイレージの貯蔵利用過程における養分組成および発酵品質の推移 北海道大学農学部農場報告 Vol.25,p35-62,1987
- [23] 北海道立総合研究機構根釧農業試験場 平成 11 年酪農研究通信 9 号 牧草サイレージの調整条件とタンパク質分画の関連,1999
- [24] 高野信雄 安宅一夫 監修 サイレージの理論と実際 酪農学園短期大学酪農学校 p29-42,1994
- [25] 高野信雄 安宅一夫 監修 サイレージバイブル 酪農学園出版部 p25-43,p47-51, 1996
- [26] 稲発酵粗飼料生産・給与マニュアル (社) 日本草地畜産種子協会 p180-183,2012

第5章 参考文献

- [1] しょうゆ情報センターホームページ (<http://www.soysauce.or.jp/koutei/index.html>.)
- [2] Robinson, I.M. and M.S.Allison. Isoleucine biosynthesis from 2-methylbutyric acid by anaerobic bacteria from the rumen *Journal of Bacteriology*, Vol.97,No3,p1220-1226,1969
- [3] 高橋直射、高橋豊三郎、後藤正幸. 分枝鎖脂肪酸ならびに分枝鎖アミノ酸のルーメン内微生物によるセルロース分解作用に及ぼす影響 *明治大学農学部研究報告* Vol.38,p15-23,1977
- [4] Bryant,M.P and R.N.Doetsch. Factors necessary for the growth of *Bacteroides succinogenes* in the volalite acid fraction of rumen fluid *Journal of Dairy Science* Vol.38,No4, p340-350,1955
- [5] 三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック 自給飼料利用研究会編 (社)日本草地畜産種子協会 p12-18,p25-31,2009
- [6] 梶川博、金海、寺田文典、須賀庸行 新たに改良された汎用型人工ルーメン (ルシテック) の操作と特性 *畜産草地研究所研究資料* 第2号,2003
- [7] Chaney, A.L., and E.P. Marbach. Modified reagents for determination of urea and ammonia *Clinical Chemistry* Vol.8,No2, p130 ,1962
- [8] Koike.S and Y.Kobayashi. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria : *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens* *FEMS Microbiol. Lett.* 204,No2, p361-366, 2001
- [9] Koike.S, H.yabuki, Y.kobayashi Validation and application of real-time polymerase chain reaction assays for representative bacteria *Animal Science Journal* Vol.78, No2, p135-141,2007
- [10] Briesacher.S.L., T.May, K.N.Grigsby, M.S.Kerley, R.V.Anthony and J.A.Paterson. Use of DNA probes to monitor nutritional effect on ruminal prokaryotes and *Fibrobacter succinogenes* S85 *Journal of Animal Science* Vol.70,No1, p289-295 1992
- [11] Varel,V.H. and B.A.Dehority Ruminal cellulolytic bacteria and protozoa from bison, cattle-baison hybrids, and cattle fed three alfalfa-corn diets *Applied and Environment Microbiology*.Vol.55, p148-153,1989
- [12] 東浦裕紀、青木直人、手塚友喜、高田保之、小西直樹、佐藤幹、板垣久雄 コーヒー粕の給与が乳牛の乳生産とルーメン発酵に及ぼす影響 *日本畜産学会*第 114 回大

会講演要旨 p127,2011

- [13] 杉本昌仁、八千田千鶴、佐藤幸信、宮崎元 放牧時に併給する濃厚飼料のタンパク質含量が黒毛和種去勢育成牛の発育、飼料摂取量、ルーメン内溶液に及ぼす影響
北海道立畜産試験場報告 第24号,p1-10,平成13年
- [14] Sciliano-Jones.J and M.R.Murphy. Production of volatil fatty acid in the rumen and cecum-colon of steers as affected by forage: concentrate and forage physical form
Journal of Dairy Science Vol.72,No2, p485-492 ,1989
- [15] Kajikawa.H, K.Tajima, M.Mitsumori, A.Takenaka. Inhibitory effect of isoleucine and antagonism of the other branched-chain amino acid on fermentation parameter by mixed ruminal microbed in batch cultures and rumen simulating fermenters
Animal Science Jornal Vol.78.No3, p266-274,2007
- [16] Hopkins,B.A., A.H.Rakes, T.E.Daniel, C.A.Zimmerman, and W.J.Croom,Lr.
Effect of intraperitoneal L-luecine, L-isoluecine, L-valine, and L-arginine on milk fat despression in early lactation cows
Journal of Dairy Science Vol.77,No4, p1084-1092,1994
- [17] 中村亮八郎 新飼料学下 チクサン出版, p140-144 昭和56年
- [18] 小野寺良次 ルーメンの世界 - 微生物生態と代謝機能 - 神立誠・須藤恒二監修
養賢堂, p234-245 ,1985
- [19] Onodera,R. and Y. Goto The metabolism of branched-chain amino acid by starved rumen protozoa
Journal of Zootech Science Vol 61,No9, p843-849, 1990
- [20] Ahuja.S.P and T.C.Sarmah, Studies on the activity of rumen protozoa. I . Role of ammonium ions and free amino acid in the regulation of nitrogen metabolism in rumen protozoa
Zentralblatt f ür Vetrinärmedizin Reihe A Vol.26.No6, p482-492, 1979
- [21] Ahuja,S.P. and T.C.Sarmah, Studies on the activity of rumen protozoa II . Utilization of U-C-L-leucine and U-C-L-serine by rumen protozoa
Zentralblatt f ür Vetrinärmedizin Reihe A Vol.26.No7, p 551-557,1979
- [22] 阿部亮 生産獣医医療システム乳牛編2 (社)農山漁村文化協会 p26-30,2003

謝辞

本研究の遂行と取りまとめにあたり、終始懇切なご指導を賜りました岩手大学大学院連合農学研究科の岡部敏弘教授に深謝いたします。

また本研究の遂行にあたり有益なご助力、ご助言をいただいた岩手大学農学部森林科学コースの関野登教授と弘前大学農学生命科学部分子生命科学科の園木和典准教授に深謝いたします。

フィステル装着牛を用いた *In situ* 試験とフィステル装着牛よりルーメンジュースを採取してルシテックを用いた *In vitro* 試験ならびに分析測定に際し、多くのご尽力及びご助言をいただいた雪印種苗株式会社千葉研究農場飼料研究グループの高浦一希氏に深謝致します。またフィステル装着牛での *In situ* 試験の習得と遂行上のご助力とご指導をいただいた雪印種苗株式会社北海道研究農場飼料研究グループの壹岐修一氏に深謝致します。

またリアルタイム PCR の習得および分析測定にご助力とご助言をいただいた雪印種苗株式会社技術研究所の本間満氏に深謝致します。

In situ 法及びルシテック試験での分析に際し、ご助力及びご助言をいただいた雪印種苗株式会社分析グループの篠田英史氏に深謝致します。

青森県総合工業研究所には、の走査型電子顕微鏡の操作及び習得や靱酢液製造などご指導およびご助力いただいた皆様に深謝致します。

衝撃波粉碎において衝撃波粉碎装置の習得とご指導をいただいた沖縄工業高等専門学校
の伊東繁校長と機械工学システム科の下嶋賢准教授、生物資源工学科の嶽本あゆみ助教授
に深謝致します。

最後に、これまで支えてきてくれた家族に深謝いたします。