

## 酵素等による食品廃棄物等有効利用技術の開発

誌名	岡山県総合畜産センター研究報告 = Bulletin of the Okayama Prefectural Center for Animal Husbandry & Research
ISSN	09154728
巻/号	13
掲載ページ	p. 25-30
発行年月	2002年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 酵素等による食品廃棄物等有効利用技術の開発 — 乳酸菌添加副資源飼料給与がふん臭気等に及ぼす影響(Ⅱ) —

白石 誠・秋山俊彦・黒岩力也・谷田重遠

## Development of Technics of Use of the Fermented Food Factory Waste — Effects of Feed involved Lactic Acid Bacteria on Excrement Odor(Ⅱ) —

Makoto Shiraishi, Toshihiko Akiyama, Rikiya Kuroiwa and Shigetou Tanida

### 要 約

食品製造工程で排出される廃棄物を乳酸発酵させ、飼料として給与した乳牛から排泄されるふんについて、二次的効果としての臭気低減効果を調査した。

- 1 作成した飼料は、pH4.0前後で十分な乳酸発酵が行われていた。
- 2 ふん中のlactobacillusやstreptococcusは増加しておらず、また、pHも低下していないことなどから、乳酸菌が定着できなかったと推察された。
- 3 牛ふんから発生する臭気を測定したところ、肥育豚に認められた臭気の高減は得られなかった。これは、消化管に違いがあるため、使用した乳酸菌が定着せず、先住菌により排除されたためと考えられた。

キーワード： 食品製造副資源、乳酸菌、牛ふん、臭気、腸内細菌

### 緒 言

平成13年5月、食品に係る有効利用と廃棄物の排出抑制を図るため「食品循環資源の再生利用等の促進に関する法律（いわゆる食品リサイクル法）」が施行され、食品製造工程における廃棄物の処理が大きな問題となっている。このようななか、廃棄物を副資源として位置づけ、飼料としての利用やその水分低下、保存技術等の研究が行われている<sup>4)</sup>。

一方、近年の畜産経営に起因する環境問題は、環境三法の施行等にみられるように大きな問題となっている。こうしたなか、悪臭問題に対し、以前からプロバイオティクスとして利用されている乳酸菌<sup>6,11)</sup>が脱臭資材<sup>2)</sup>としても用いられはじめた。そこで、これらの副資源に乳酸菌を添加し保存性を高めた飼料<sup>10)</sup>を各家畜に給与したところ、肥育豚において臭気の高減が示唆された<sup>14)</sup>。本年度は、乳牛に対し乳酸菌発酵飼料の長期給与を行い、牛ふんに対する抑臭効果を検討した。

### 材料及び方法

#### 1 牛ふんの抑臭効果試験

既報<sup>14)</sup>において、乳牛の予備試験2週間、本試験を1週間とする二重反転法による試験では臭気高減が認められなかった。しかし、これは予備期間が短く使用した乳酸菌の持続、ルーメン中の微生物群の干渉により効果が発現しなかった可能性も考えられた。そこで、今回長期にわたる給与を行い、排泄ふんから発生する臭気及び微生物数等について比較検討を行った。

#### (1) 試験区の設定

試験牛群と試験区の配置を表1に示した。

当センターで飼養しているホルスタイン種泌乳牛6頭をTMR給与区、乳酸発酵TMR給与区、乳酸発酵食品副資源(ビール粕、豆腐粕)TMR給与区に各2頭づつ3群に分け、長期間にわたる給与試験を実施した。

表1 試験牛群と試験配置

試験区	給 与 飼 料	頭数
1区	当センター慣行TMR	2頭
2区	乳酸発酵TMR	2頭
3区	乳酸発酵食品副資源TMR	2頭

## (2) 供試牛

表2に供試牛の概要を示した。

表2 供試牛

試験区	生年月日	産次	分娩年月日
1区	H10.9.30	初	H12.9.23
	H10.7.20	初	H12.10.21
2区	H8.5.23	2	H12.2.14
	H9.6.30	2	H13.3.26
3区	H8.5.12	3	H12.8.2
	H9.5.30	2	H13.4.8

## (3) 給与飼料

TMR飼料設計は、SPALTAN Dairy Ration Evaluator/Balancerの飼料設計システムにより表3の条件下における栄養水準で設計した。

TMR飼料の混合割合については表4に示した。1区及び2区は、トウモロコシ、大麦といった濃厚飼料主体の配合とした。3区は、トウフ粕、ビール粕といった食品副資源主体の配合とした。

2区、3区は、TMR混合後、乳酸培養したトウフ絞り液を添加し、約2ヶ月間保存後給与試験に供した。また、1区についてはTMR混合当日給与試験に供した。

表3 飼料設計条件

体重	乳量	乳期	脂肪率	蛋白質率	BCS
612kg	30kg	分娩後120日	3.5%	3.1%	3.00

表4 飼料配合割合

飼料名	1区	2区	3区	%
ビートパルプ	8.00	8.00	7.83	
ビール粕	-	-	18.27	
コイーングルテンフィード	1.71	1.71	1.67	
トウフ粕	-	-	18.27	
大麦	8.00	8.00	5.74	
トウモロコシ	10.67	10.67	9.13	
スーダンハイ	6.14	6.14	5.22	
オーツハイ	8.00	8.00	7.83	
アルファルファハイ	9.34	9.34	7.83	
大豆乾熱	1.47	1.47	1.46	
ホミニー粕	1.07	1.07	1.04	
コーングルテンミール	1.60	1.60	0.10	
綿実	1.07	1.07	1.30	
大豆粕	2.43	2.43	2.09	
アマニ粕	1.60	1.60	1.57	
第2リンカル	0.21	0.21	0.21	
糖蜜	5.07	5.07	4.96	
醤油粕	0.11	0.11	0.10	
炭カル	0.16	0.16	0.16	
水	33.35	33.35	5.22	
合 計	100.00	100.00	100.00	
乳酸菌	無添加	添加	添加	

## (4) 試験期間

2001年4月～12月

2 牛ふんの採取方法

牛ふんは試験期間中に8回、直腸から直接採取し直ちに試験に供した。

3 調査項目及び方法

(1) 飼料

給与飼料は、水分、pHを測定した。乳酸菌数については、飼料を滅菌生理食塩水で段階的に希釈後、BCP加プレートカウント法に混釈し37℃72時間培養後得られたコロニーを計測した。

(2) 牛ふん臭気調査

ア 臭気発生

牛ふんの臭気を発生させるため、円筒形塩ビ管、有効容積2L、内部に網を張った三脚を置き中央にふんを投入する装置を作成した。通気を下部から行い上部をサンプリング部とした。この装置に牛ふん300g投入し、空気の漏出がないよう密閉後30℃の恒温槽内に設置した。通気は1L/分で30分間通気後発生する臭気を採取し試験に供した。

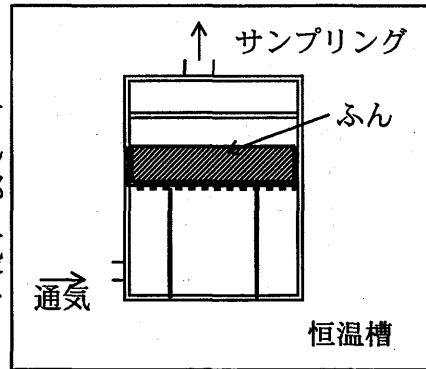


図1 臭気発生装置

イ 臭気調査

発生させた臭気は、アンモニアは北川式ガス検知管で、硫化水素(H<sub>2</sub>S)、メチルメルカプタン(MM)、硫化メチル(DMS)、二硫化メチル(DMDS)の硫黄化合物類はテドラバックに採取後FPD付きガスクロマトグラフにより分析した。プロピオン酸、n-酪酸、i-吉草酸、n-吉草酸の低級脂肪酸類は1%水酸化ストロンチウムで被覆したアルカリ-ズに吸着後FID付きガスクロマトグラフで分析した。

(3) 微生物調査

ふん中の微生物数については、採取後直ちに希釈液<sup>8)</sup>により段階的に希釈後培地に塗抹し、得られたコロニー数を計測した。使用した培地はlactobacilliを変法LBS寒天培地<sup>8)</sup>で37℃48時間嫌気培養、streptococciについては、TATAC寒天培地<sup>8)</sup>により37℃48時間好気培養を行った。clostridium perfringensを含むレシチンゼ陽性のclostridiumについては卵黄加カマイ含有CW寒天培地で37℃20時間好気培養、大腸菌群数はDHL寒天培地により37℃24時間好気培養を行った。

(4) ふん固形分調査

含水率は赤外線式水分計により、pHは蒸留水で10倍希釈後ガラス電極法により測定した。灰分は600℃4時間加熱後、乾燥条件で測定し、強熱減量は固形分あたりの有機物量とした。T-N、T-CはCNコーダーにより、NH<sub>4</sub>-Nは2N-KClで振とう後遠心分離を行い得られた上澄み液をブルムナ法により分析した。ふん成分についてはP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>をバットモリブデン法、K<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>O、MgO、CaOについては原子吸光分光光度法により分析測定した。

結果及び考察

1 試験飼料

試験飼料の性状を表5に示した。

表5 試験飼料の性状

試 験 飼 料	水分	p H	乳 酸 菌 数 %, CFU/g
1区 T M R 給 与	37.89	5.74	-
2区 乳 酸 発 酵 T M R 給 与	42.88	4.02	3.1×10 <sup>7</sup>
3区 乳 酸 発 酵 食 品 副 資 源 T M R 給 与	40.27	4.18	2.1×10 <sup>7</sup>

試料水分は各区とも40%程度であり、谷田らがTMR保存性試験において示した最適な含量40%程度であった<sup>15)</sup>。pHは2区で4.02、3区で4.18であったが、サイレージの化学分析による簡易評価法の

中でpHは、 $\leq 4.2$ を良、4.3~4.5を中、 $4.5 \leq$ を不良としており<sup>3)</sup>、これに当てはめた場合両区とも低く、十分乳酸発酵が行われていると考えられた。乳酸菌数は、 $10^7$ 個であり、既報<sup>14)</sup>の乳牛の試験で用いた飼料よりは低めであった。古川らは<sup>1)</sup>豚において $10^3 \sim 10^6$ 程度の乳酸菌数では臭気低減効果がなかったとしているが、これらより高い菌数が得られている。

## 2 ふん臭気

各試験区のふん臭気調査結果を、表6に示した。なお、統計処理は一元配置法によったが、i-, n-吉草酸については、検出限界値以下が多く処理しなかった。

その結果、乳酸発酵を行った2区の硫化水素は1区に比べ高く、5%水準で有意差を認めた。肥育豚において行った試験では<sup>14)</sup>、硫化水素は低減しており異なる結果となった。他の臭気については、有意差は認められず、既報<sup>14)</sup>の乳牛の予備試験2週間、本試験を1週間とする二重反転法による結果とほぼ同様であった。

以上のことから、肥育豚で認められた臭気低減効果は、乳牛においては得られなかった。奥村<sup>13)</sup>らは、自らの生活の維持を消化管の微生物に大きく依存している反芻動物においてこそプロバイオティックスは有効である可能性が強いと述べている。しかし、同時に、動物種により消化管の形態に違いがあり消化管内のpH等の環境が大きく異なるため、たとえある動物において有効であっても必ずしも他の種に有効とは限らない<sup>12)</sup>。と述べている。このように今回使用した乳酸菌では、消化管の違いにより乳牛では効果が得られなかったと考えられた。

表6 ふん臭気

		ppm		
		1区	2区	3区
アンモニア	平均値	0.23 a	0.31 a	0.70 a
	標準偏差	0.42	0.61	0.70
硫化水素	平均値	0.0828 a	0.2648 b	0.1719 ab
	標準偏差	0.0847	0.2732	0.1618
メチルメルカプタン	平均値	0.0598 a	0.0515 a	0.1032 a
	標準偏差	0.0393	0.0579	0.1534
硫化メチル	平均値	0.0463 a	0.0283 a	0.0440 a
	標準偏差	0.0380	0.0397	0.0528
二硫化メチル	平均値	0.0066 a	0.0042 a	0.0057 a
	標準偏差	0.0032	0.0030	0.0034
プロピオン酸	平均値	0.0119 a	0.0137 a	0.0224 a
	標準偏差	0.0266	0.0123	0.0239
n-酪酸	平均値	0.0042 a	0.0071 a	0.0134 a
	標準偏差	0.0090	0.0078	0.0243
i-吉草酸	平均値	0.0003	0.0035	0.0105
	標準偏差	0.0006	0.0048	0.0285
n-吉草酸	平均値	n. d.	0.0035	0.0098
	標準偏差	-	0.0059	0.0250

異符号間に有意差あり (p<0.05)

## 3 微生物

ふん中の微生物数を図2~5に示した。

非選択培地であるBL培地上に生育したコロニーは嫌気性細菌とした。

全体的に微生物数については、大腸菌群も含め試験区3が多く認められた。嫌気性菌数については、各区とも $10^8$ 個であった。lactobacilli数については、3区が最も多く次いで2区、1区の順であった。streptococci数についても同じような傾向であった。微生物数についても一元配置法による統計処理を行ったが有意差は認められなかった。

Nakai<sup>9)</sup>は、家畜のふん便を高湿度下24℃に保存し、ふん便中の微生物叢の変化を7日間観察している。この中の各試験区を0日目と比較すると、streptococci数 $10^7$ 個ではほぼ同様だが、lactobacilli数については $10^6$ 個で本試験が若干多く認められたものの、乳酸菌飼料添加により有意に差があるとはいえなかった。なお、β-ヘモリジン陽性clostridiumについては、すべて $10^3$ 個以下であった。

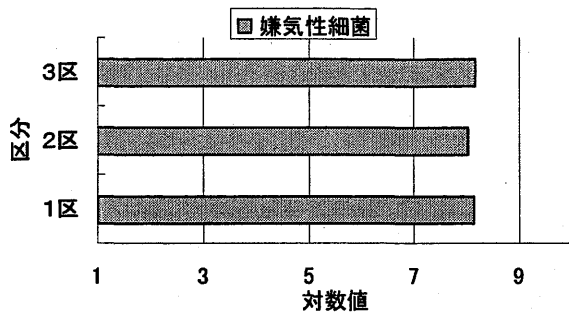


図2 嫌気性細菌数

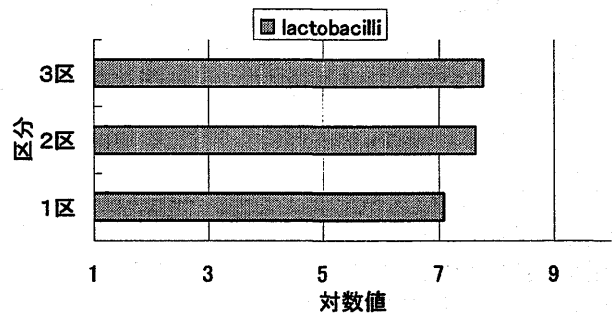


図3 lactobacilli数

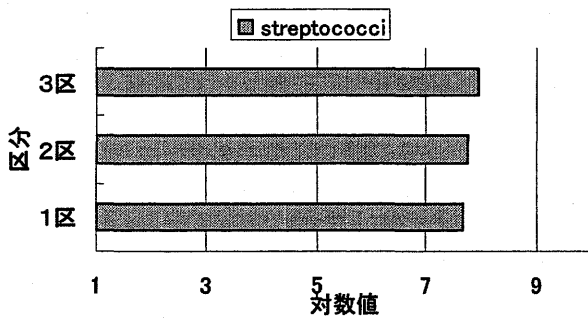


図4 streptococci

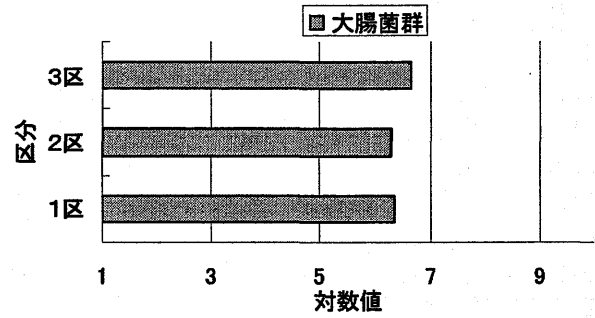


図5 大腸菌群数

4 固形分

固形分について表7に示した。

表7 固形分

mS/cm, %, DM中%

	pH	水分	有機物	灰分	NH4-N	T-N	T-C	C/N
1 区	6.93	85.9	88.2	11.8	0.04	2.25	39.21	17.4
2 区	6.84	85.5	87.4	12.6	0.08	2.63	39.72	15.1
3 区	7.08	84.3	89.1	10.9	0.07	2.28	37.39	16.4

pHについては、各試験区とも7前後であり乳酸菌給与による、ふん中pHの低下は認められなかった。乳酸菌投与による病原微生物排除や腐敗物質除去の効果が、腸内の乳酸菌増加による乳酸等短鎖脂肪酸の生成とそれに伴うpHの低下<sup>5)</sup>であれば、今回のpH低下は各区に認められず、乳酸菌は定着しなかったものと考えられた。

水分については、85%前後であり堆肥舎施設設計に用いられる水分量とほぼ同じであった。また、T-C、T-N、C/Nについても平均的な数値<sup>10)</sup>であり、乳酸菌や副資源投与による差異は認められなかった。

以上のことから、肥育豚で得られた乳酸菌による臭気低減は認められなかった。奥村ら<sup>12)</sup>と同様に光岡<sup>7)</sup>もたとえ腸内菌であっても動物種が異なれば他種の動物では定着できない場合もあり、また、外から投与した場合、先住菌によって排除される傾向が強いことも指摘している。本試験において使用した乳酸菌は、肥育豚にみられるような単胃動物では、給与期間中乳酸菌が定着し効果を発揮した。

しかし、そのう、腺胃、筋胃を持つ鶏、今回試験を行った第1～4胃を有する乳牛と消化管の形態が異なる動物については、胃内もしくは腸内の先住菌により排除されたためその効果は発揮できなかったと考えられた。一方、同じ乳酸菌を用いた野上<sup>10)</sup>による哺乳子牛への下痢予防効果では、代用乳に乳酸菌飼料を添加することにより軟便、下痢、白痢の発症を軽減し得ることが示唆されている。

哺乳子牛では第1胃は未発達であり直接第4胃に入ることから、単胃動物である肥育豚とほぼ同様な状況となり、給与した乳酸菌が腸管に定着し、効果を発揮したと考えられた。このように、ルーメンという大きな培養槽を持つ成牛については、今回給与した乳酸菌は、希釈、選別等が行われ先住菌により排除されたと考えられた。しかし、哺乳子牛の下痢予防効果試験のように、消化管内での細菌叢等のバランスが崩れ、下痢を起こした成牛に対する整腸作用等の調査は行っておらず、今後の検討

が必要である。

以上のことから、乳牛においては、臭気低減等の二次的効果を期待するよりは、副資源と乳酸菌による保存性の高い飼料製造等の有効活用を主眼とした利用方策が重要と考えられた。

### 引用文献

- 1) 古川陽一・脇本進行・河原宏一・内田啓一・辻誠之(2000)：酵素等による食品廃棄物等有効利用技術の開発-乳酸菌添加副資源飼料給与がふん臭気等に及ぼす影響-。10, 23-32
- 2) 羽賀清典(1996)：各種資材の特徴と使い方。畜産環境対策大事典, 農産漁村文化協会, 479-50
- 3) 自給飼料品質評価研究会編(2001)：改訂粗飼料の品質評価ガイドブック。91~92
- 4) 梶川博(1996)：わが国における副産物飼料の利用と特性。畜産の研究, 50, 5, 599-605
- 5) 松田基宏・中西一夫(1995)：子ウシ胃液由来の乳酸菌を利用した悪臭防除効果の検討。和畜試研報 6, 47~54
- 6) 光岡知足(1978)：腸内菌叢と家畜の生産性 (I)。日獣会誌, 31, 199~207
- 7) 光岡知足(1978)：腸内菌叢と家畜の生産性 (II)。日獣会誌, 31, 259~267
- 8) 光岡知足(1994)：嫌気性腸内細菌の同定。最新微生物同定法, 工業技術会, 41-85
- 9) Nakai, Saito, Nakatani, Kouhda, Ando, Iwamoto and Ogimoto(1995)：Changes in Microbial Flora of Animal Feces after Excretion. Anim. Sci. Technol. (Jpn) 68, 2, 138-143
- 10) 野上與志郎(2000)：乳酸菌処理豆腐飼料添加代用乳による哺乳子牛への下痢予防効果。岡山総畜セ研報11, 13-18
- 11) 奥村純市・古瀬充宏(1994)：プロバイオティックス (1)。畜産の研究, 48, 4, 512-515
- 12) 奥村純市・古瀬充宏(1994)：プロバイオティックス (3) -総論-。畜産の研究, 48, 6, 725-729
- 13) 奥村純市・古瀬充宏(1995)：プロバイオティックス (12)。畜産の研究, 49, 9, 1035-1040
- 14) 白石誠・脇本進行・馬場彩・吉元和明・河原宏一・森尚之・古川陽一(1999)：酵素等による食品廃棄物等有効利用技術の開発-乳酸菌発酵飼料がふん臭気に及ぼす影響-。岡山総畜セ研報, 10, 23-32
- 15) 谷田重遠・難波博一・関哲生・森尚之・山下政道・行森美枝・早瀬文繁(1998)：微生物等による食品副資源の有効利用技術の開発。岡山総畜セ, 9, 21-30
- 16) 代永道裕(1996)：ふん尿の性状。畜産環境対策大事典, 農産漁村文化協会, 5-15