

サイレージ化による廃棄花卉の有効利用

学部名 学科名
2年生 生物資源科学部 アグリビジネス学科 加藤 史子
小松 理央
中村 紫
森 桃花

指導教員 学部名 学科名
生物資源科学部 アグリビジネス学科 伊藤 謙
佐藤 勝祥
横尾 正樹

研究の背景および目的

今回、私たちは資源循環につながるエコフィードなどの家畜飼料に興味を持ち、さらに近年問題視されている農業廃棄物に着目した。

2018年現在、我が国の飼料自給率は27%であり、前年度から1%増えたものの依然として低い値を示している^[1]。粗飼料に関してはある程度日本国内での自給はできているものの、大豆やトウモロコシ等の濃厚飼料は9割を海外からの輸入に依存している現状にある。畜産経営の中で飼料費は大部分を占めるため、飼料価格の変動は畜産農家の経営に大きな影響を与える。飼料価格に左右されず、安定した畜産経営を実現するためには、国産自給飼料の生産が必要不可欠である。そこで近年では、食品製造副産物や余剰食品、調理残渣や農場残渣を利用して製造された家畜用飼料である「エコフィード」の利用を推進する事業が実施されている^{[3][4]}。

花卉は採花後、茎や葉が廃棄され、売れ残り枯れた花卉も農業廃棄物として廃棄される。年々農業廃棄物の量は増加しており、対策が求められている。そこで本研究では、廃棄花卉を牛のエコフィードとして再利用することで、農業廃棄物の減少と国内飼料自給率の向上を目的とした。目的を達成するために、廃棄花卉のサイレージを調製するだけでなく、牛の飼料として有効か否かも調査した。

調製したサイレージが牛の飼料として適切か否か評価する方法としてIn situナイロンバック法やin vitroでの人工ルーメン法が挙げられる。本研究ではより簡便であり、食品副産物の利用の研究で前例のある^[5]人工ルーメン法により花のサイレージが牛の飼料として有効か否か調査した。

材料および方法

(1)花のサイレージ調整

廃棄花卉サイレージとして、フィールド教育センターで不要になったマリーゴールドを用いた。マリーゴールドの花、葉および茎の水分含量がそれぞれ、68.72%、43.74%、52.73%となるまで室内に放置し、サイレージに適した水分含量まで乾燥させた。乾燥させたマリーゴールドを真空パックし、室温で放置した後、-50℃で凍結保存した。



フィールド教育センター内で採取した牧草(一番草)も同様に真廃棄花卉のサイレージ化後に-50℃で凍結保存した(図1)。

花のサイレージと牧草サイレージを粉砕機でそれぞれ粉砕した後、サンプル中の花のサ

イレージ割合が5%, 10%, 20%および40%となるように粉碎した花のサイレージを牧草サイレージと混合した。対照区は花のサイレージを添加しない牧草のみのサイレージ(0%)とした。

(2)人工ルーメン培養

はじめに表1に示した組成で人工唾液を調製した^[6]。

表1. 人工唾液組成

試薬名	量
NaHCO ₃	9.8 g
KCl	0.57 g
Na ₂ PO ₄ · 12H ₂ O	9.3 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.12 g
CaCO ₃	0.04 g
NaCl	0.47 g
システイン	0.25 g
リサズリン0.1%溶液	1.0 mL
蒸留水	1 Lへメスアップ

フィールド教育センターの日本短角種3頭(睦貴, ただやま397, らんこ)からルーメン液を採取した(図2)。ルーメン液採取の際には胃管チューブおよび回収瓶をCO₂ガスで充満させ, 嫌気状態を維持した。採取したルーメン液の微生物の働きを停止させるため, 採取後直ちに回収瓶を氷上に静置した。採取したルーメン液を4重にしたガーゼで濾過し, 濾過したガーゼを洗うように人工唾液を加え, 濾液:人工唾液=1:4となるように調整し, 培養液とした。また, 図3のようにブンゼンバルブを作成し, 10個用意した。

調製した各処理区のサンプルを250 mg秤量し, 50 mLのU字試験管に移した後, 培養液を25 ml加え, 各処理区の反復数がn=4となるようにした。試験管上部に残存する空気をCO₂ガスで置換し, 直ちにブンゼンバルブで蓋をした。

39°Cの恒温振盪機にサンプルを入れ, 4時間培養を行なった。培養中, 未分解飼料が浮遊しやすい為, 1時間おきに混合し(図4), ルーメン微生物の観察を行った(図5)。

培養後, 試験管を氷上で冷やして発酵を停止した後, 50mL遠沈管に移し, 10,000×g, 4°C, 30minで遠心分離した。遠心分離後, 上澄みを1mL回収し, 分析まで-50°Cで凍結保存した。

(3)ガスクロマトグラフィー(GC)による揮発性遊離脂肪酸(VFA)測定



図2. ルーメン液採取の様子

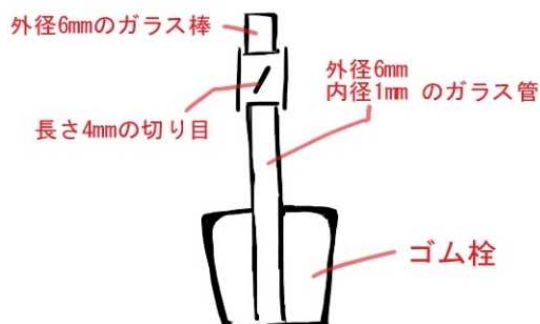


図3. ブンゼンバルブの模式図



図4. 人工消化試験

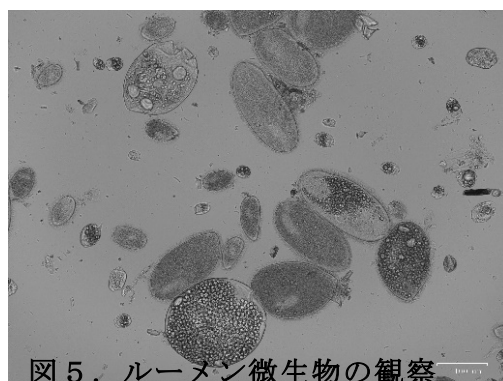


図5. ルーメン微生物の観察

クロトン酸(内部標準)濃度が20 mmol/Lになるように調整した。サンプルに内部標準を加え、さらに除タンパク質処理を行うためにサンプル500 μ Lに対してクロトン酸を500 μ L加えて混合した。リン酸を10 μ L加えて混合し、4°C下で1晩静置した。10,000 x g, 4°C, 10 minで遠心分離し、上澄みを1 mL回収した後、GC用ガラスバイアルに入れ、GCによる分析を行なった(図5)。分析条件は以下の通りである。

カラム：SH-Stabilwax (30 m x 0.32 mm I.D. x 0.50 μ m),

キャリアガス：He

検出器：FID(水素炎イオン化検出器)

昇温条件：60°C 1min, 60-150°C(30°C/min), 150-200°C(5°C/min), 200°C 1min

サンプル注入量：0.5 μ L



図6. GCによるVFA濃度測定

(4)統計処理

統計ソフトウェアは「R」および「R studio」を用いた。説明変数を処理区、応答変数を各VFA濃度、ランダム要因をルーメン液採取日とし、一般線形モデル(GLM)で解析を行なった。有意差検定はTukey-HSD検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差とした。

結果

本研究では、廃棄花卉のサイレージを人工ルーメン液内で培養し、サンプルを採取した。採取したサンプルをCGで分析し、各処理区におけるVFA濃度を求め、廃棄花卉サイレージが人工ルーメン液内でのVFA発酵に及ぼす影響を調べた(表2)。

廃棄花卉サイレージの割合が増加してもどのVFA濃度は対照区と比較して有意な差は認められなかった。また、ルーメン発酵状態の指標となるA/P比も対照区と比較して有意な差は認められず、全処理区で4.3以上を示していた。

表2. 花のサイレージが人工ルーメン培養におけるVFA発酵に及ぼす影響

VFA濃度(mmol/L)	対照区	花のサイレージ添加割合				Pooled SE
		5%	10%	20%	40%	
酢酸	8.41	8.47	8.32	8.61	8.62	0.70
プロピオン酸	2.02	2.01	1.95	2.05	1.98	0.33
n-酪酸	1.12	1.14	1.11	1.15	1.11	0.19
iso-酪酸	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.01
n-吉草酸	0.15	0.15	0.15	0.15	0.14	0.01
iso-吉草酸	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.01
n-カプロン酸	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.01
iso-カプロン酸	NA	NA	NA	NA	NA	NA
A/P比	4.34	4.36	4.42	4.37	4.48	0.38

各処理区におけるVFA濃度を平均値で表し、標準誤差はPooled SEとして表記した。 $p < 0.05$ を有意差とした。検出できなかった値はNAとして表記した。反復数=4。A/P比は酢酸とプロピオン酸のモル濃度比で算出した。

考察

牛のルーメン内ではルーメン微生物により飼料中のセルロース、ヘミセルロース、デンプン等が分解され、ピルビン酸から酢酸、酪酸、プロピオン酸等のVFAが産出される。通常、サイレージは牧草に付着した乳酸菌や酢酸菌の作用により乳酸および酢酸発酵が起こる。しかし、サイレージ中へ土壌由来のクロストリジウム菌の混入や、サイレージ発酵中に酸素が混入することで二次発酵が起こると、サイレージ中の酪酸含量が高くなり、質の悪いサイレ

ージとなる。また、酪酸含量の高く質の悪いサイレージを給与するとルーメン中の酪酸濃度も増加する原因となる。本試験の結果では、廃棄花卉のサイレージ割合を増加しても酪酸濃度が増加することがなかった事から、廃棄花卉のサイレージは封入中の酪酸発酵を避けられ、さらにルーメン発酵に悪影響を及ぼさないことが明らかとなった。

また、本試験ではルーメン発酵の指標であるA/P比を算出した。A/P比は酢酸(Acetic acid)とプロピオン酸(Propionic acid)のモル比をとったものであり、2.5以上が理想とされている。乳牛ではA/P比の増加とともに乳脂率が増加し、さらにA/P比が低いとルーメン内溶液のpHが低下し、ルーメンアシドーシスの原因になることが明らかとなっている^[7]。本試験の結果では、A/P比に関しても対照区と比較して廃棄花卉サイレージにより値が上限することが無く、牛の飼料として利用できる可能性が示唆された。

以上から、廃棄花卉のサイレージは牛の飼料として有効であることが明らかとなった。しかし、本研究で用いた廃棄花卉はマリーゴールド1種類のみであり、他の種類の花弁では同様の結果が得られると限らない。今後は他の種類の廃棄花卉や複数の種類の廃棄花卉からサイレージを調製し、同様の手法を用いて調査する必要がある。また、実際の現場での利用方法の検討を行う必要がある。

謝辞

本研究で廃棄花卉を提供していただきました生物資源科学部アグリビジネス学科先進園芸技術開発プロジェクト 神田 啓臣准教授、ルーメン液採取にご協力いただきましたワールド教育センターの小沢聡恵様にこの場を借りて深くお礼申し上げます。

参考文献

[1]農林水産省，飼料をめぐる情勢,平成 28 年 7 月

[2]稲熊利和，立法と調査 288 刊 2009

[3]農林水産省,平成 30 年度エコフィード増産対策事業の概要.2018

[4]農林水産省，エコフィードをめぐる情勢．2018

[5]山田徹夫，有安則夫，広金弘史．各種副産物が粗飼料の *in vitro* 分解率に及ぼす影響．

岡崎県農業総合センター農業試験場研究報告，2: 13-16. 2012.

[6]日本草地学会．草地科学実験・調査法．全国農村教育協会．2004.

[7]三森眞琴．亜急性ルーメンアシドーシスにおけるルーメン微生物の動態．日本獣医師会雑誌，65: 503-510. 2012.