

氏 名 王 超  
授与した学位 博 士  
専攻分野の名称 学 術  
学位授与番号 博甲第 4287 号  
学位授与の日付 平成 23 年 3 月 25 日  
学位授与の要件 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻  
(学位規則第 5 条第 1 項該当)  
学位論文の題目 食品副産物を多用した発酵混合飼料の微生物フローラに関する研究  
論文審査委員 准教授 西野 直樹 教授 近藤 康博 教授 宮本 拓

### 学位論文内容の要旨

食品副産物の飼料化リサイクルにおいて、発酵 TMR (Total mixed ration ; 多種類の原料を混合して必要な栄養素を含有させた飼料) の製造は有効な選択肢のひとつである。牧草の発酵貯蔵と異なり、季節を問わず製造できるほか、開封後に変敗しにくいという優れた特徴をもつ。微生物制御による安定貯蔵や変敗防止因子の解明が期待されているが、発酵 TMR の貯蔵性および好氣的安定性に関わる微生物フローラは十分に調べられていない。本研究では、市販品を対象とした実態調査を行うとともに、微生物フローラの変動要因および新規微生物製剤の開発に向けた実験的研究を行った。

まず、国内 3 ヶ所の発酵 TMR 製造工場から、それぞれ 3 回サンプルを採集して発酵特性と細菌フローラを調査した。製造工場および製造ロットによる違いが認められたが、3 工場の製品に共通する細菌も存在した。この実態調査から、発酵 TMR は牧草サイレージと異なり、*Lactobacillus panis* をはじめとする特徴的な乳酸菌が複数存在することが明らかとなった。

次に、他の発酵 TMR 製造工場 1 ヶ所から、春、夏、秋および冬製品をそれぞれ 3 点ずつ採集して発酵特性と細菌フローラを調べた。乳酸含量に季節変動は見られなかったが、酢酸と 1-プロパノールは春、夏および秋製品で多く、エタノールは逆に冬製品が多かった。細菌フローラにも明確な季節変動が認められ、実規模発酵 TMR には、*L. panis*、*Lactobacillus frumenti*、*Lactobacillus farciminis* といった、サワードウ (パン種) に特徴的な乳酸菌が存在することが明らかとなった。

続いて、*L. panis*、*L. frumenti* および *L. farciminis* の変敗防止能を調査した。発酵 TMR とサワードウはいずれも変敗しにくく、共通する乳酸菌に好氣的変敗を防止する能力があるかもしれない。予乾したイタリアンライグラス (乾物率 500 g kg<sup>-1</sup>) に 10<sup>9</sup> cfu kg<sup>-1</sup> レベルで添加したが、3 種のなかでは効果の大きかった *L. panis* でも、変敗防止能は強いものではなかった。

さらに、実規模製品で見られた季節変動が、環境温度 (貯蔵温度) で説明できるかについて検証した。発酵 TMR 製造工場 (これまでの 4 工場とは異なる) から材料 TMR を採取し、5、15、25 および 35°C で 10、30 および 90 日間貯蔵した。15°C で貯蔵するとエタノールが多く、35°C で貯蔵すると酢酸が多く生成したことから、環境温度が季節変動の主要因であると考えられた。*L. panis* および *L. acetotolerans* も環境温度が高い発酵 TMR で検出され、実態調査の知見が実験的に確認できた。

以上の実験から、食品副産物を多用した発酵 TMR は、サワードウに特徴的とされる多様な乳酸菌を有することが明らかとなった。発酵生成物および細菌フローラが製造工場 (地域) や製造季節によって変動することも示され、環境温度が高い時期の製品は、ヘテロ発酵型乳酸菌の役割が大きくなって、酢酸の割合が高くなることも判明した。発酵 TMR が牧草サイレージとは異なる微生物フローラをもつことが初めて示されたが、発酵 TMR の好氣的安定性を説明する微生物フローラは特定できなかった。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、食品副産物を多用した発酵 TMR (Total mixed ration ; 多種類の原料を混合して必要な栄養素を含有させた飼料) の微生物フローラについて、市販品を対象とした実態調査、季節変動の要因解明および新規微生物製剤の探索と評価を行ったものである。発酵 TMR は我が国特有の貯蔵飼料であり、開封後きわめて変敗しにくいという特徴をもつ。これらに関わる微生物因子を明らかにし、食品リサイクルの推進および飼料の貯蔵技術向上に資することを目的とした。得られた知見は以下の通りである。

発酵 TMR の製造工場から実規模製品を収集し、発酵特性と細菌フローラを調査した。製造工場および製造ロットによる違いが認められたが、牧草サイレージと比較すると、発酵 TMR には非常に多様なヘテロ発酵型乳酸菌が存在することが明らかとなった。また、春、夏、秋および冬製品を調査したところ、酢酸と 1-プロパノールは春、夏および秋製品で多く、エタノールは逆に冬製品で多いという特徴が示された。細菌フローラにも明確な季節変動が認められ、これらの実態調査から、発酵 TMR には、*Lactobacillus panis*、*Lactobacillus frumenti*、*Lactobacillus farciminis* といった、サワードウ (パン種) に特徴的な乳酸菌が存在することが明らかとなった。

次に、*L. panis*、*L. frumenti* および *L. farciminis* の変敗防止能を調査した。予乾したイタリアンライグラス (乾物率 500 g kg<sup>-1</sup>) に 10<sup>9</sup> cfu kg<sup>-1</sup> レベルで添加したところ、*L. panis* と *L. frumenti* に強力ではないが変敗防止能が認められた。

さらに、実規模製品で見られた季節変動が環境温度で説明できるかについてモデル実験を行った。酢酸とエタノールの季節変動を実験的に再現するとともに、環境温度が高い発酵 TMR でサワードウ乳酸菌が検出されやすいことを実証した。

これらの知見は貯蔵飼料の高度利用に有用な情報を提供するだけでなく、分子生物学的手法に基づく微生物フローラの解析が、効率的かつ有効な研究手法となることを示している。市販品の実態調査は関連産業および関連研究者からの評価も高く、王 超氏は自然科学研究科の博士 (学術) の学位を受ける資格があるものと判断した。