

県産エコフィード等を活用した機能性牛乳生産技術の開発

西村友佑¹⁾・加藤絢・谷村英俊

¹⁾ 現 福井県嶺南振興局農業経営支援部

要 約 健康機能性成分を有しながらも、これまで利活用が進んでいなかった県産エコフィードを用い、当該機能性成分の乳中への移行を目的に、ホルスタイン種経産牛を用い給与試験を実施した。試験 1：泌乳中後期牛 4 頭を供試し、粉碎したナツメ種子を最大 800g/日給与した。試験 2：泌乳中後期牛を 4 頭供試し、粉碎したそば殻を最大 3.2kg/日給与した。試験 3：そば殻のサイレージ化を目的に、パウチ法で最適な発酵条件および、機能性成分であるルチンの変化を調査した。試験 4：試験 III で決定した条件を基にフレコンでサイレージを調整し、泌乳中後期牛 4 頭を供試して最大 5.5kg/日給与した。試験 I, II, IV において、機能性成分の乳中への移行は確認されなかったものの、試験 IV において、供試した一部の個体の血中にルチンが確認された。また、試験 III において、粉碎処理を行った場合に、そば殻中のルチンが有意に上昇した。

キーワード：機能性成分、未利用資源、ルチン、パウチ法、サイレージ

諸 言

特色のある農産物を生産する動きが活発になる中、生産物の差別化の図りづらい酪農分野においてもこうした動きが見られるようになった。

筆者らは前報(西村ら,2016)で、健康機能性成分を有する県産エコフィードとして、そば殻(ルチン)、昆布屑(フコキサンチン)、あん粕(アントシアニン類)の 3 資源を選定し、これらを用いた給与試験により、当該機能性成分(括弧内の成分)の乳中への移行を検討したが、いずれの成分も乳中で確認できなかった。今年度は引き続きそば殻に着目し、加えてナツメ種子を給与資源として選定し、これらの加工等が乳中の機能性成分に及ぼす影響について検討した。

試 験 方 法

試験 1. 粉碎ナツメ種子給与試験

1 供試牛、給与区分および実施期間

試験は平成 28 年 10 月から 11 月にかけて行い、供試牛には泌乳中後期のホルスタイン種経産牛を 4 頭用いた。

給与区分は①50g/日、②100g/日、③200g/日、④400g/日、⑤800g/日の 5 区分とし、各区 1 週間として給与量を順次引き上げ実施した。

2 供試資源および給与方法

供試したナツメ種子は、エキス抽出のため压榨されたナツメ果実の残渣であり、県内食品加工業者から発生しているものである。種子は非常に硬くそのままでは給与に適さないと考えられたため、2mm メッシュ程度まで粉碎を行ったものを買受けた。

これを、全試験期間、朝と夕(8:00、16:00)の 1 日 2 回にトップドレスで給与した。飼料については、混播サイレージ・粉碎飼料用粃米・市販配合飼料・ビートパルプを混合飼料(TMR)とし、1 日 1 回(16:00)給与で自由採食とした。TMR の飼料成分は粗蛋白質(CP) 14.9%、粗脂肪(EE) 1.9%、中性デタージェント繊維(NDF) 39.3%、可消化養分総量(TDN) 67.6%とした。

3 調査項目および分析方法

(1) 乳量および乳成分

乳量は、ミルクメーター(オリオン機械株式会社製)を使用して毎日計測した。

乳成分は、各試験期最終 2 日間、各朝夕の計 4 回分の採取を行い、分析は北陸酪農業協同組

合連合会に依頼した。また、後述する乳中ベツリン酸含量測定用として 50ml 採取し、分析まで -80°C で凍結保存した。

(2) 血液生化学性状

血液は、各試験期の最終日の午前 10 時 30 分に尾静脈より採取して血漿を分離し、血液生化学自動分析装置(富士フィルムメディカル(株)製富士ドライケム 4000sV) を用いて測定した。

(3) 第一胃内溶液性状

第一胃内容を各試験期の最終日の飼料給与前(14:00)に経口カテーテルを用いて採取した。採取した第一胃内溶液は二重ガーゼでろ過し、直ちに pH メーター((株)佐藤計量器製作所製、ガラス電極 pH メーター K-620PH) を用いて pH を測定した。

(4) 乳中ベツリン酸含量

生乳 1ml を 2-プロパノール 2.75ml およびヘキサン 1.25ml と共にファルコンチューブに入れ、1 分間 3 回振とう抽出を行った。3,000 回転で 5 分間遠心した後、抽出液を回収し、残渣にさらに 2-プロパノール 2.75ml およびヘキサン 1.25ml、脱イオン水 1ml を入れ 1 分間 3 回振とう抽出を行った。その後同様に遠心操作をし、抽出液を回収し、最初の抽出液と合わせた。合わせた抽出液について、窒素ガスにて溶媒を完全に留去した。乾燥した試料に 0.1M KCl を 1ml 加え懸濁した。クロロホルム-メタノール(2:1)、メタノール、0.1M KCl で処理した C18 SepPack (Waters社製) カートリッジにアプライし、さらに水 1ml で洗浄した。メタノール 1ml、クロロホルム-メタノール(2:1) 2ml で溶出し、これらの画分は一つに合わせ、窒素ガスを用いて完全に溶媒を留去した。この試料を 100% アセトニトリルに再溶解し C18 SepPack に通して、100% アセトニトリルで溶出させ、窒素ガスで溶媒を留去した。これを 100% アセトニトリルに再溶解して HPLC サンプルとした。

HPLCの測定条件

分析カラム：shiseido CAPCELL PAK C18 ACR
(4.6 mm i.d.×150 mm)
移動相：水、アセトニトリル (20 : 80)
(0.1%ギ酸)
流速：1.0 mL/min.
検出：紫外分光光度計 210 nm

試験 2. 粉碎そば殻給与試験

1 供試牛、給与区分および実施期間

試験は平成 28 年 5 月から 7 月にかけて行い、供試牛には泌乳中後期のホルスタイン種経産牛を 4 頭用いた。

給与区分は①2.2kg/日、②2.7kg/日、③3.2kg/日の 3 区分とし、各区 2 週間(馴致 9 日間)として給与量を順次引き上げ実施した。

2 供試資源および給与方法

供試したそば殻は県内製麺業者の製粉行程で実と分けられた黒皮の部分である。これを製粉機(國光社製 ひかり号 A2)で 2mm メッシュになるまで粉碎処理を行った。その他給与方法等の条件は試験 1 と同様である。

3 調査項目および分析方法

乳量および乳成分、血液生化学性状は試験 1 と同様に調査した。

(1) 第一胃内性状

採取方法、pH 測定方法は試験 1 と同様である。アンモニア態窒素は Conway の微量拡散法で測定した。

(2) そばアレルギー検査

試験最終日に生乳サンプリングを行い、4 頭分を合乳して 200ml としたものを分析まで -80°C で凍結保存した。分析は一般社団法人日本食品分析センターに依頼した。

(3) 各種機能性成分

1) 総ポリフェノール

Folin-denis 法により測定し、(+) カテキン換算量として算出した。

2) ACE 阻害活性値

測定キット(同人化学研究所製 ACE-kit WST)を用い、 IC_{50} 値として算出した。

3) ルチン・ケルセチン含量

ルチンは既報(中川ら,2011)に準じて分析した。ケルセチンはルチン分析の手法に準じたが、検出波長を 370nm とした。

試験 3. そば殻サイレージ発酵条件の検討

1 試験方法

試験 2 で用いたそば殻を供試し、表 1 の通りに試験区を設け、各区 200g のそば殻をパウチに脱気封入し、平成 28 年 5 月 20 日から 30 日間、室内静置した。乳酸菌は *Lactobacillus buchneri* IWT192 株

(市販名：畜草2号)を農研機構畜産研究部門より譲与されたものを使用した。

2 調査項目

調査項目は、pH、有機酸割合、微生物叢、ルチン含量とし、ルチン含量以外の項目は農研機構畜産研究部門で分析を行った。

表 1. 調整条件と試験区

試験区	そば殻 粉碎	水分	糖蜜 (現物あたり5%)
A	○	35%	○
B	○		×
C	○	45%	○
D	○		×
E	×	35%	○
F	×		×
G	×	45%	○
H	×		×

試験 4 そば殻サイレージ給与試験

1 供試牛および実施期間

試験は平成 29 年 1 月から 2 月にかけて行い、供試牛には泌乳中後期のホルスタイン種経産牛を 4 頭用いた。試験期間は 3 週間(馴致 2 週間)とした。

2 供試資源および給与方法

供試したそば殻サイレージは試験 3 で最適な発酵条件と考えられたものを基に、フレコンスケールで作成した。馴致期間中に給与量を 5kg まで段階的に引き上げて給与を行った。その他給与方法等の条件は試験 1 と同様である。

3 調査項目および分析方法

乳量、乳成分、血液生化学性状、第一胃内性状、そばアレルギー検査、生乳・血漿中ルチン含量を調査した。サンプルの採取は試験開始前日と試験最終日に行った。

結 果

試験 1

結果は表2のとおりである。乳成分、第一胃内性状、血液生化学性状については、給与量間で差は見られなかった。飼料効率は有意でないものの、増給に従い上昇傾向にあった。乳中のベツリン酸

含量は、最大800 g/日給与した場合においても、乳中に確認することはできなかった。また、飼料効率はナツメの増給に伴い上昇する傾向にあった。

表 2. 乳成分、飼料効率ほか

項目	50g区	100g区	200g区	400g区	800g区
乾物摂取量 (kg/日)	23.0	22.4	21.3	20.7	21.3
乳量 (kg/日)	29.8	29.7	29.7	29.2	29.7
乳成分					
乳脂肪率 (%)	4.1	4.3	4.4	4.4	4.4
乳蛋白質率 (%)	3.5	3.6	3.6	3.5	3.6
無脂乳固形分 (%)	9.2	9.0	9.0	8.9	9.0
MUN (mg/dl)	12.3	12.1	12.4	11.6	12.4
ベツリン酸含量 (mg/100g)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
第一胃内性状					
	7.56	7.44	7.51	7.51	7.51
血液生化学性状					
GLU (mg/dl)	76	76	73	74	73
BUN (mg/dl)	11.0	11.5	11.1	10.8	11.1
TP (g/dl)	7.9	7.5	7.6	7.7	7.6
TCHO (mg/dl)	203	194	195	204	195
GOT (U/L)	69	86	62	68	62
飼料効率 [※]	1.3	1.4	1.5	1.5	1.5

※ ((15*乳脂肪率/100+0.4)*乳量)/乾物摂取量

試験 2

乳生産性、健全性に関する結果は表3、各種機能性成分は表4のとおりであった。第二期、第三期の第一胃内アンモニア態窒素で有意差がみられたものの、他の項目に差はなく、乳生産性に影響を及ぼさなかった。また、そば殻を最大3.2kg/日給与した場合でも、乳中でルチンおよびケルセチンを検出することはできなかった。また、総ポリフェノール量およびACE阻害活性値においても、給与量間で有意な差は見られなかった。

表 3. 乳成分、血液生化学性状ほか

項目	第一期	第二期	第三期
	2.2kg区	2.7kg区	3.2kg区
体重 (kg/日)	734	746	740
乾物摂取量 (kg/日)	22.5	22.9	21.9
乳量 (kg/日)	23.4	24.1	23.7
乳成分			
乳脂肪率 (%)	4.1	4.5	4.5
乳蛋白質率 (%)	3.5	3.6	3.8
無脂乳固形分 (%)	9.2	8.7	9.0
MUN (mg/dl)	12.0	12.1	12.4
第一胃内溶液性状			
pH	7.30	6.80	6.96
アンモニア態窒素 (mg/dl)	7.31	6.72 ^A	8.98 ^B
血液生化学性状			
GLU (mg/dl)	69	73	73
BUN (mg/dl)	11.4	11.2	12.0
TP (g/dl)	7.9	7.7	7.6
TCHO (mg/dl)	203	194	207
GOT (U/L)	69	86	50

A, B: p<0.05

表 4. 乳中の各種機能性成分

項目	生乳中 (参考)				そば殻中
	無給与	第一期 2.2kg区	第二期 2.7kg区	第三期 3.2kg区	
ルチン (mg/100g)	ND	ND	ND	ND	24
ケルセチン (mg/100g)	ND	ND	ND	ND	2.3
総ポリフェノール (カテキン当量mg/100g)	1.73	1.48	1.57	1.53	650.4
A C E 阻害活性値 IC ₅₀ (mg/ml)	1.38	-	-	1.5	1.17

ND:不検出

試験 3

各試験区の開封後のpH、有機酸含量、微生物叢は表5の通りであった。Cの条件が有意な差ではないものの、pHが低下し、乳酸・酢酸が上昇する傾向にあった。同様にルチン含量は表の通りであり、処理方法の3要因間における三元配置分散分析を行った結果、粉碎を行った場合にルチン含量が有意 (p<0.001) に上昇することが分かった (表7)。また以上のことから、後述する試験4にはCの条件で作成したサイレージを供することとした。

表 6.開封後のルチン含量

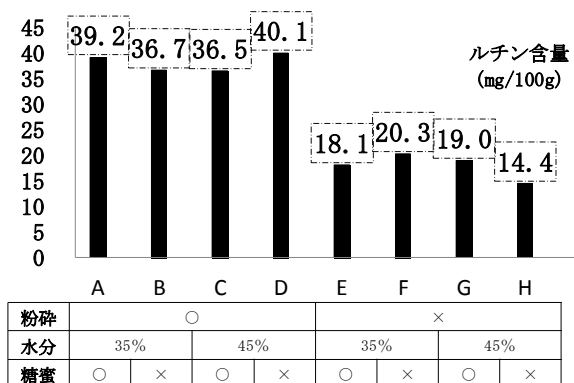


表 5.パウチ開封後の各種成分

試験区	処理			pH	有機酸			微生物叢			
	粉碎	水分 %	糖蜜		乳酸 %FM	酢酸 %FM	酪酸 %FM	乳酸菌	カビ	大腸菌	一般好気性細菌
								log cfu/g	log cfu/g	log cfu/g	log cfu/g
A	○	35	○	4.71	0.55	0.56	0.04	9.22	ND	ND	5.23
B	○		×	5.21	0.23	0.31	ND	9.47	ND	ND	5.72
C	○	45	○	4.47	0.75	0.55	ND	9.68	ND	ND	5.07
D	○		×	5.35	0.11	0.26	0.08	9.74	ND	6.89	6.39
E	×	35	○	4.55	0.58	0.53	ND	9.36	ND	ND	3.85
F	×		×	5.16	0.19	0.27	ND	9.48	ND	5.4	4.98
G	×	45	○	4.46	0.55	0.67	ND	9.7	ND	ND	1.85
H	×		×	5.08	0.02	0.3	0.35	9.25	ND	ND	6.72

表 7.三元配置分散分析による要因間分析

要因	p
粉碎	****
水分	n.s.
糖蜜	n.s.
粉碎-水分	n.s.
水分-糖蜜	n.s.
糖蜜-粉碎	n.s.

****:p<0.001 n.s:非有意

試験 4

試験前と試験最終日の各種調査項目の結果は表8の通りであった。乳生産性や血液生化学性状等に変化は見られなかった。試験最終日に採取した生乳からはルチンが検出されなかったが、供試牛4頭中2頭の血漿中からルチンが検出された。

表 8.試験前後の乳生産性、健全性の変化およびルチン含量

項目	試験前	最終日
乳量 (kg/日)	22.6	22.1
乳成分		
乳脂肪率(%)	4.1	3.9
乳蛋白質率(%)	3.4	3.5
無脂乳固形分(%)	9.1	8.9
MUN (mg/dl)	12.1	12.0
第一胃内容液性状		
pH	7.10	7.30
血液生化学性状		
GLU(mg/dl)	75	74
BUN(mg/dl)	9.9	10.0
TP(g/dl)	7.9	7.5
TCHO(mg/dl)	203	194
GOT(U/L)	69	86
ルチン含量 (mg/100g)		
生乳中	n.d.	n.d.
血漿中	n.d.	0.13*

*検出された2頭の平均

考 察

試験 1 において、ナツメ種子を最大800g/日給与した場合であっても、乳中にベツリン酸を確認することができなかった。ベツリン酸はイソプレンを構成単位とするテルペン類の一種であり、一般的に疎水性である。テルペン類に着目した研究(高田ら,2003)によると、L-メントール、シトラール、オイゲノールの3種のテルペン類の乳中への移行量は、元となるハーブの給与量と有意な正の相関関係にあることを報告している。今試験では、ナツメ種子の価格・確保可能量を鑑み、最大800g/日までしか給与を行うことが出来なかったが、更なる増給により乳中に検出可能な量まで移行させることができると考えられる。一方、飼料効率は増給に従い有意でないものの上昇する傾向にあった。例えば、酒粕を給与した場合にはルーメン微生物叢の安定化、ルーメン内環境の安定といった機能的側面があることが報告されている(安藤,2011)が、今回もベツリン酸あるいは他の成分がルーメン環境に対し何らかの形で作用し、繊維分解が促進された可能性がある。この作用機序の解明は将来的に機能性飼料の利活用を考えるうえで重要な根拠となる部分であり、今後の課題としたい。

試験 3 では、適切な条件のもとでサイレージ化を行った結果、そば殻中のルチンが有意に向上するといった結果を得た。使用した乳酸菌株の持つ特殊な酵素が、粉砕処理により露出したそば殻の内部構造に作用したことが推察されるが、このような研究成果は前例がなく、今後も引き続き農研機構畜産研究部門と連携し、詳細なアプローチを行っていききたい。

試験 2 では、そば殻の粉砕処理が生乳中の機能性成分に及ぼす影響を検討したものである。ルチンがルーメン微生物に分解される可能性が考えられたため、下部消化管への移行量を増やすべく粉砕処理を施し、そば殻がルーメン内の液相と共に速やかに下部消化管へ移行することを期待した。加えて、粉砕により単位重量当たりの体積が減少したため、前報での給与量2.2kg/日よりも増給が可能であることが考えられた。その結果、最大3.2kg/日まで給与した場合でも乳生産性に影響は見られなかったものの、乳中あるいは血中の

各種機能性成分に影響は及ばなかった。反芻動物におけるフラボノイド類の代謝胴体に関しては知見が乏しいが、ヤギを供試した例(De Feo et al.,2006)ではルチンを435mg/週摂取し、105mg/週を乳中に排出したことを報告している。排出量/摂取量は概ね25%となり、この数値を本試験に当てはめた場合、生乳中ルチン濃度は検出可能な濃度となることが考えられたが、実際には不検出となったため、乳牛における移行率はさらに低いものと推察された。

試験 4 では、試験 3 で最適と思われた条件でそば殻のサイレージ化を行い、試験 2 の最大給与量3.2kg/日に相当する現物量である5.0kg/日の給与を行った。結果、乳中にルチンは移行しなかったものの、試験牛4頭中2頭の血漿中からルチンが検出された。各個体の採食量を測定してないものの、目算でサイレージの食い込みの良い個体から検出されたというわけではなく、ルチンの移行率には個体差が関与していることが推定される。乳中に検出可能な水準まで引き上げるには、非現実的なそば殻の給与量とならざるを得ないことが考えられるものの、試験4における給与量が今後議論をするうえでの1つの目安となると思われる。

なお、試験1, 2, 4において採取した生乳からは、いずれもそばアレルギーの陽性反応が見られなかったことから、一般消費者に牛乳を提供するにあたり、乳牛へのそば殻の給与は問題ないことが示された。これまで飼料としてほとんど活用が進んでこなかったそば殻を給与するという事象が生乳生産の過程におけるストーリー作りの一助となり、消費者に訴求できる要素となりうることが期待される。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、農研機構畜産研究部門の遠野雅徳主任研究員には、サイレージ成分分析の実施や乳酸菌の提供や調整方法に対するご助言など、多岐にわたりご協力を頂戴いたしました。この場を借りて深く感謝いたします。

文 献

- 西村友佑, 和田卓也, 二本木俊英地域資源の有効利用及び健康機能性を付与した高付加価値牛乳の開発..福井県畜産試験場研究報告.2016,29
- 中川 友里, 橋本 直哉, 駒野 小百合, 久保 義人. 播種期および収穫期の異なる夏型ソバ品種の品質調査.平成23年度食品加工に関する試験成績,34,2011
- 高田修, 篠倉和己, 河智義弘, 中西克美, 安藤貞, 細田鎌次, 石田元彦.乳牛へのハーブ給与によるハーブ精油成分の牛乳中への移行特性.兵庫県立農林水産技術総合センター研究報告. 畜産編, 39 : 22-25, 2014
- 安藤貞:酵母を中心とした醸造副産物の畜産利用. 畜産技術, 669, 18-21. , 2011
- De Feo,V. Quaranta,E. Fedele,V. Craps,S. Rubino,R and Pizza,C., Flavonoids and terpenoids in goat milk in relation to forage intake. Italian Journal of Food Science,18:85-92, 2006

Developing health-functionality-added milk by utilizing local resource effectively.

Yusuke NISHIMURA¹⁾, Aya KATO, Hidetoshi TANIMURA

Fukui Prefectural Livestock Experiment Station

1) Reinan Regional Bureau Agricultural Management Support Division

Abstract

To consider adding health functionality to milk, we carried out following four feeding test. Test1:We fed crushed jujube seed at most 800g/day as feeding test. Four Holstein cows were assigned to this test. Test2:We fed crushed buckwheat hull at most 3.2kg/day as feeding test. Other conditions were same to test1. Test3:To investigate crushed buckwheat hull silage(CBHS) qualities, we studied by small-scale fermentation experiment. Thirty days after fermentation period, we mainly measured rutin quantity. Test4:We fed CBHS at most 5.0kg/day as feeding experiment. CBHS for this experiment were made by optimal condition determined by result of test3. As a result of test1.2.4, we can't detect any functional component in milk. But rutin were detected in plasma collected from a part of experimental cows.

Key ward: health functionality, buck wheat hull, rutin, small-scale fermentation test