(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)公開番号
特開2023-133258
(P2023-133258A)
(43)公開日　令和5年9月22日(2023.9.22)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ２３Ｋ　10/38　(2016.01)		Ａ２３Ｋ	10/38	２Ｂ００５
Ａ２３Ｋ　10/33　(2016.01)		Ａ２３Ｋ	10/33	２Ｂ１５０
Ａ２３Ｋ　50/10　(2016.01)		Ａ２３Ｋ	50/10	

審査請求　未請求　請求項の数　10　　ＯＬ　（全16頁）

(21)出願番号　特願2023-37549(P2023-37549)
(22)出願日　令和5年3月10日(2023.3.10)
(31)優先権主張番号　特願2022-36775(P2022-36775)
(32)優先日　令和4年3月10日(2022.3.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
日本国(JP)

(71)出願人　311000524
農業生産法人 有限会社 やえやまファーム
沖縄県石垣市平得５５４番地　１
(74)代理人　100149032
弁理士　森本 敏明
(74)代理人　100181906
弁理士　河村 一乃
(72)発明者　菊地 数晃
沖縄県石垣市平得５５４－１　ＨＡＬＳ　ＥＲビル２Ｆ　農業生産法人・有限会社やえやまファーム内
(72)発明者　島田 洋平
沖縄県石垣市平得５５４－１　ＨＡＬＳ　ＥＲビル２Ｆ　農業生産法人・有限会社やえやまファーム内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　飼料原料の発酵物、並びにメタン生成抑制用組成物及びメタン生成抑制方法

(57)【要約】
【課題】
本発明の目的は、反芻動物の健康を阻害することなく安全で、経済性の高い、メタン生成を抑制するために利用できる飼料、並びに該飼料を使用したメタン生成抑制用組成物及びメタン生成抑制方法を提供することにある。
【解決手段】
上記目的は、固形飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物、並びに該飼料原料の発酵物を含む、メタン生成抑制用組成物により解決される。また、当該飼料原料の発酵物を、反芻動物に給餌して、反芻動物内のメタン生成を抑制する工程を含む、メタン生成抑制方法などにより解決される。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
固形飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物。
【請求項２】
前記酒粕が、泡盛蒸留粕である、請求項１に記載の飼料原料の発酵物。
【請求項３】
前記飼料原料の発酵物は、ｐＨが３．０～６．０であり、及び／又は酵母の数が１．０×１０^{3} ＣＦＵ／ｇ～１．０×１０^{8} ＣＦＵ／ｇである、請求項１に記載の飼料原料の発酵物。
【請求項４】
前記飼料原料における酒粕の割合は、前記固形飼料　１００質量部に対して、１０質量部～９０質量部である、請求項１に記載の飼料原料の発酵物。
【請求項５】
さらに糖蜜及び塩を含む、請求項１に記載の飼料原料の発酵物。
【請求項６】
請求項１～５のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物を含む、メタン生成抑制用組成物。
【請求項７】
前記メタン生成抑制用組成物は、反芻動物内のメタン生成を抑制するためのメタン生成抑制用組成物である、請求項６に記載のメタン生成抑制用組成物。
【請求項８】
前記反芻動物は、ウシ、ヒツジ、ヤギ及びシカからなる群から選ばれる少なくとも１種の反芻動物である、請求項７に記載のメタン生成抑制用組成物。
【請求項９】
請求項１～５のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物を、反芻動物に給餌して、反芻動物内のメタン生成を抑制する工程を含む、反芻動物のメタン生成抑制方法。
【請求項１０】
固形飼料に、泡盛蒸留粕を噴霧して、飼料原料を得る工程と、
前記飼料原料を、発酵して、飼料原料の発酵物を得る工程と
を含む、飼料原料の発酵物の製造方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、飼料原料の発酵物、並びに該飼料原料の発酵物を含むメタンガスの生成を抑制するための組成物及びその使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
ウシ、ヒツジなどの反芻動物の第一胃（ルーメン）には、多種多様の微生物が生息している。反芻動物が摂取した飼料は、これらの微生物によって分解され、エネルギー源として消化吸収される。この過程において、酢酸、プロピオン酸、酪酸などの揮発性脂肪酸、水素、二酸化炭素などのガスなどが生成される。このうち、水素は、微生物によってさらに代謝され、メタンガスとして主に呼気から体外に排出される。
【０００３】
メタンガスは、地球温暖化現象に寄与する強力な温室効果ガスである。地球上の反芻動物から排出されるメタンガス量は、メタンガスの全排出量に対して約４０％を占めるともいわれている。
このように、反芻動物から排出されるメタンガスを抑制することは、地球環境保護の観点から望まれる。
【０００４】
反芻動物から排出されるメタンガスを抑制する方法としては、ガラクトオリゴ糖及び硝

酸塩を反芻動物に経口投与する方法（特許文献１）、プロテアーゼ耐性バクテリオシン産生乳酸菌を使用する方法（特許文献２）、バチルス属微生物、ラクトバチルス属微生物、ストレプトコッカス属微生物、キャンディダ属微生物及びピキア属微生物といった複数の微生物種を使用する方法（特許文献３）などが知られている。

【０００５】

一方で、蒸留酒の醸造工程においては、副産物として蒸留粕が産生される。このような蒸留粕は、廃棄ロスの削減のため、有効利用が求められている。しかし、例えば、泡盛の蒸留粕を含む泡盛副産物は、沖縄県内で年間約４万ｔが排出され、そのうちの３０％にあたる１．２万ｔが利用されずに廃棄物処理されている（非特許文献１）。泡盛蒸留粕は、クエン酸などの有機酸や必須アミノ酸が豊富に含まれているため、圧搾ろ過などの固液分離に供して得られる液体が「もろみ酢」として利用されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】特許第５１９２１０８号公報

【特許文献２】特開２０１０－２００７３０号公報

【特許文献３】特開２００９－０５７２８４号公報

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】沖縄県畜産研究センター研究報告、第４９号（２０１１）、ｐｐ．４１－４６

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

特許文献１～３に記載の方法によれば、反芻動物から排出されるメタンガスを抑制する可能性がある。しかし、特許文献１に記載の方法は高価なガラクトオリゴ糖を使用することから、これを飼料に入れてウシなどを畜産するにはコストがかかるという問題がある。また、特許文献２に記載の方法は、使用する乳酸菌が産生するプロテアーゼ耐性バクテリオシンは抗生物質の一種であり、このような抗生物質を使用することにより、耐性菌の出現や畜体への残留が懸念されるという問題がある。特許文献３に記載の方法は、複数の微生物種を使用する方法であり、これらの微生物を用意するためには非常に手間がかかり、経済的に不利である。

【０００９】

泡盛蒸留粕はもろみ酢などとして有効利用されることが期待されている。しかし、非特許文献１に記載されているように、泡盛蒸留粕は水分量が多く、収集が困難であり、飼料化のためにはコストが課題になっている。

【００１０】

そこで、本発明は、特許文献１～３に記載の方法と比べて、反芻動物の健康を阻害することなく安全で、経済性の高い、メタン生成を抑制するために利用できる飼料、並びに該飼料を使用したメタン生成抑制用組成物及びメタン生成抑制方法を提供することを、発明が解決しようとする課題とする。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究を行う中で、泡盛蒸留粕の有効利用として、飼料化することを試みた。しかし、泡盛蒸留粕は水分量が多く、そのままでは飼料には適さなかった。そこで、本発明者らは、固形飼料に泡盛蒸留粕を噴霧することにより、固形状の飼料原料を得た。そして、該飼料原料の栄養価を高めるべく、発酵処理に供して、飼料原料の発酵物を得た。

【００１２】

得られた飼料原料の発酵物をウシに給餌したところ、驚くべきことに、ウシの呼気中の

メタンガス濃度を低減することができ、結果としてウシの呼気によるメタンガスの発生量を低減することができることを見出した。

【００１３】

泡盛蒸留粕は、もろみ酢として利用されているように、ウシなどの反芻動物に安全なものである。また、大部分が廃棄物として処理されていることからも、入手するに際して経済的に有利である。そして、本発明者らは、遂に、本発明の課題を解決できるものとして、固形飼料及び泡盛蒸留粕等の酒粕を含む飼料原料の発酵物、並びに該飼料原料の発酵物を含む、ウシなどの反芻動物におけるメタン生成を抑制するための組成物及びそのための方法などを創作することに成功した。本発明はこのような成功例や、本発明者らによって初めて見出された知見に基づいて完成するに至った発明である。

【００１４】

したがって、本発明の一態様によれば、以下のものが提供される：

［１］固形飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物。

［２］前記酒粕が、泡盛蒸留粕である、［１］に記載の飼料原料の発酵物。

［３］前記飼料原料の発酵物は、ｐＨが３．０～６．０であり、及び／又は酵母の数が１．０×１０^{3} ＣＦＵ／ｇ～１．０×１０^{8} ＣＦＵ／ｇである、［１］～［２］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物。

［４］前記飼料原料における酒粕の割合は、前記固形飼料　１００質量部に対して、１０質量部～９０質量部である、［１］～［３］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物。

［５］さらに糖蜜及び塩を含む、［１］～［４］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物。

［６］［１］～［５］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物を含む、メタン生成抑制用組成物。

［７］前記メタン生成抑制用組成物は、反芻動物内のメタン生成を抑制するためのメタン生成抑制用組成物である、［６］に記載のメタン生成抑制用組成物。

［８］前記反芻動物は、ウシ、ヒツジ、ヤギ及びシカからなる群から選ばれる少なくとも１種の反芻動物である、［７］に記載のメタン生成抑制用組成物。

［９］［１］～［５］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物を、反芻動物に給餌して、反芻動物内のメタン生成を抑制する工程を含む、反芻動物のメタン生成抑制方法。

［１０］固形飼料に、泡盛蒸留粕を噴霧して、飼料原料を得る工程と、

前記飼料原料を、発酵して、飼料原料の発酵物を得る工程と

を含む、飼料原料の発酵物の製造方法。

［１１］［１］～［５］のいずれか１項に記載の飼料原料の発酵物を含む、反芻動物の腸内細菌叢中のメタン産生菌増殖抑制用組成物。

【発明の効果】

【００１５】

本発明の一態様である飼料原料の発酵物及びメタン生成抑制用組成物によれば、これらを反芻動物に給餌して与えることにより、反芻動物の健康を阻害することなく安全に、反芻動物におけるメタン生成を抑制することができる。また、飼料原料に使用する泡盛蒸留粕等の酒粕は、廃棄物として処理されているように経済的に有利であり、さらに入手が容易である。したがって、本発明の一態様である飼料原料の発酵物及びメタン生成抑制用組成物は工業的規模で製造し、産業的に使用することが可能なものである。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

【図１】図１は、本発明の一態様の飼料原料の発酵物の製造過程を示す写真画像である。

【図２】図２は、本発明の一態様の飼料原料の発酵物を示す写真画像である。

【図３】図３は、後述する実施例に記載されているとおりの、メタンガス濃度の結果を表した図である。

【図４】図４は、後述する実施例に記載されているとおりの、メタンガス発生量の結果を表した図である。

【発明を実施するための形態】
【００１７】
以下、本発明の各態様の詳細について説明するが、本発明の技術的範囲は本項目の事項によってのみに限定されるものではなく、本発明はその目的を達成する限りにおいて種々の態様をとり得る。
【００１８】
本明細書における各用語は、別段の定めがない限り、当業者により通常使用される意味で使用され、不当に限定的な意味を有するものとして解釈されるべきではない。
【００１９】
「含有量」との用語は、本明細書において、濃度と同義であり、組成物の全体量（例えば、体積）に対する成分の量（例えば、質量）の割合（例えば、質量％）を意味する。
「含む」は、含まれるものとして明示されている要素以外の要素を付加できることを意味する（「少なくとも含む」と同義である）が、「からなる」及び「から本質的になる」を包含する。すなわち、「含む」は、明示されている要素及び任意の１種若しくは２種以上の要素を含み、明示されている要素からなり、又は明示されている要素から本質的になることを意味し得る。要素としては、成分、工程、条件、パラメーターなどの制限事項などが挙げられる。
数値範囲の「～」は、その前後の数値を含む範囲であり、例えば、「０％～１００％」は、０％以上であり、かつ、１００％以下である範囲を意味する。「超過」及び「未満」は、その前の数値を含まずに、それぞれ下限及び上限を意味し、例えば、「１超過」は１より大きい数値であり、「１００未満」は１００より小さい数値を意味する。
整数値の桁数と有効数字の桁数とは一致する。例えば、１の有効数字は１桁であり、１０の有効数字は２桁である。また、小数値は小数点以降の桁数と有効数字の桁数とは一致する。例えば、０．１の有効数字は１桁であり、０．１０の有効数字は２桁である。
【００２０】
［飼料原料の発酵物］
本発明の一態様の飼料原料の発酵物は、固形飼料及び酒粕を含む。
【００２１】
本発明の一態様の飼料原料の発酵物は、少なくとも固形飼料及び酒粕を含む飼料原料を発酵することにより得られるものである。
本発明の一態様の飼料原料の発酵物によれば、基本的に、固形飼料単独に比べて、栄養価が高いものであることから、これを家畜に給餌することにより、食味及び栄養価の高い家畜を育成することができ、加えて、家畜が反芻動物である場合においては、メタン生成の抑制を図ることができる。
【００２２】
［固形飼料］
発酵物の飼料原料である固形飼料としては、家畜の固形飼料として一般的に使用されるものであれば、特に限定されない。
例えば、固形飼料は、牧草や穀類などを粉砕、混合及び／又は乾燥などして加工した固形状の飼料である。特に、穀実類、油かす類、ぬか類、製造粕類、動物性飼料などで調製され、繊維が少なく、デンプンやタンパク質などの栄養濃度が高い固形状（粉体状）の濃厚飼料が、発酵効率の観点から、好ましい。
【００２３】
固形飼料としては、市販されているものを使用しても、公知の製造方法で製造したものを使用してもよい。
固形飼料の市販品としては、例えば濃厚飼料である「ＪＡ石垣牛　後期」（沖縄県農業協同組合製）（穀類７３％（とうもろこし、加熱処理大麦、加熱処理とうもろこし、大麦）、そうこう類１８％（ふすま、コーングルテンフィード、米ぬか）、植物性油かす類７％（なたね油かす、大豆油かす）、その他２％（糖蜜、食塩、炭酸カルシウム））が挙げられる。

【００２４】
固形飼料の形態は、特に限定されないが、例えば、粉体状、ペレット状、フレーク状などが挙げられる。
固形飼料の含水量は、１５質量％以下、より具体的には、５質量％～１５質量％であることが好ましい。
また、固形飼料のｐＨは、特に限定されないが、６．０～７．５程度であることが好ましい。
【００２５】
［酒粕］
本発明においては、発酵物の飼料原料である酒粕は、酒類の醸造粕（酵母発酵物）をいう。酒粕としては、特に限定されないが、清酒、焼酎（泡盛を含む）、果実酒類（ワイン等）、ウイスキー類、スピリッツ類、リキュール類、ビール、発泡酒類の醸造粕等が挙げられる。これらの中でも、特に泡盛の蒸留粕が好ましい。
【００２６】
泡盛蒸留粕は、泡盛の製造工程で生じる残渣である。泡盛は、通例、原料のタイ米（インディカ米）に黒麹を添加して米麹とし、これに水と酵母を加えてもろみを調製した後、アルコール発酵することにより熟成もろみとし、この熟成もろみを蒸留することにより製造される。熟成もろみの蒸留工程における蒸留残渣が泡盛蒸留粕である。
発酵物の飼料原料である泡盛蒸留粕においては、泡盛の製造に使用されるタイ米や黒麹、酵母などに特に制限はない。
【００２７】
泡盛蒸留粕としては、市販されているものを使用しても、公知の方法で得られたものを使用してもよい。
本発明においては、泡盛蒸留粕を飼料化することにより、廃棄ロスの削減に貢献すると共に、コストの低減を図ることができる。
【００２８】
泡盛蒸留粕は、蒸留残渣をそのまま使用することが好ましいが、適当な手段で固液分離し、液体部分をそのまま、あるいは濃縮した濃縮液や、さらにこれを乾燥した乾燥物として使用することもできる。または、固液分離した固体部分をそのまま、あるいは乾燥した乾燥物、さらに粉末にして粉末物として使用してもよい。
【００２９】
泡盛蒸留粕の成分としては、特に限定されないが、通常、例えば、水分（９５％±３％）、粗タンパク質（３％±１％）、粗繊維（１％±１％）、粗脂肪（０．５％±０．５％）、粗灰分（０．１％±０．１％）などとされる。
また、泡盛蒸留粕には、クエン酸などの酸が含まれるため、泡盛蒸留粕のｐＨは低く、弱酸性であり、具体的には、３．０～６．０程度である。
【００３０】
飼料原料における酒粕の割合は、特に限定されないが、固形飼料　１００質量部に対して、１０質量部～９０質量部であることが好ましく、より好ましくは２０質量部～７０質量部、さらにより好ましくは３０質量部～４０質量部である。
【００３１】
飼料原料には、本発明の課題を解決し得る限り、固形飼料及び酒粕に加え他の成分が含まれていてもよい。他の成分としては、特に限定されないが、例えば、糖蜜、塩、ビタミン、酵素などが挙げられる。これらのなかでも、発酵促進の観点から、糖蜜、塩が好ましい。
飼料原料における他の成分の割合は、固形飼料　１００質量部に対して０．１質量部～５質量部であることが好ましく、より好ましくは、１質量部～３質量部である。
【００３２】
［発酵物］
本発明の一態様の飼料原料の発酵物は、少なくとも固形飼料及び酒粕を含む飼料原料に

含有（付着）される微生物や空気中に存在する落下菌による自然発酵物である。自然発酵を行う微生物は、麹菌、酵母、乳酸菌、酢酸菌などが挙げられる。

なお、本発明において、発酵物は、飼料原料に由来する微生物などが主体となって進む自然発酵によって得られるもの（すなわち、発酵促進用の微生物を添加せずに発酵させたもの）であるが、自然発酵と共に、発酵促進用の微生物を添加して発酵させたものを除外するものではない。

【００３３】

発酵物は、別段の記載がある場合を除き、発酵物をそのまま使用してもよいし、適宜希釈した希釈物若しくは適宜濃縮した濃縮物を発酵物として使用してもよい。また、発酵物を乾燥した乾燥物や粗精製した精製物を発酵物として使用してもよい。

【００３４】

発酵物における微生物菌数（ＣＦＵ）は、特に限定されないが、例えば、好気性菌（一般生菌）の菌数が、３．０×１０^{2} ＣＦＵ／ｇ～４．０×１０^{5} ＣＦＵ／ｇ程度であり、酵母の菌数が、１．０×１０^{3} ＣＦＵ／ｇ～１．０×１０^{8} ＣＦＵ／ｇ程度である。

また、発酵物における乳酸菌は、該発酵物のｐＨが、３．０～６．０程度であるため、自然発酵により乳酸菌が増殖したこと、その後自ら生成した乳酸により死滅していると考えられる。

なお、本発明において、発酵物における微生物菌数（ＣＦＵ）及びｐＨは、後述の実施例に記載した通りに測定することができる。

【００３５】

発酵物の形態は、固形飼料及び／又は酒粕の形態によって異なるが、反芻動物への給餌効率の観点から、湿潤状態又は低湿潤状態の粉体であることが好ましい。

発酵物の含水量は、特に限定されないが、例えば、１０質量％～９０質量％が好ましく、より好ましくは２０質量％～７０質量％、さらにより好ましくは３０質量％～５０質量％である。

【００３６】

［製造方法］

本発明の一態様の飼料原料の発酵物の製造方法は、特に限定されないが、固形飼料と酒粕とを混合して飼料原料を得る工程と、飼料原料を発酵して飼料原料の発酵物を得る工程とを含む方法が挙げられる。より具体的には、例えば酒粕が泡盛蒸留粕の場合においては、固形飼料に、泡盛蒸留粕を噴霧して、飼料原料を得る工程と、飼料原料を、発酵して、飼料原料の発酵物を得る工程とを含む。このようにして得られた発酵物は、そのまま、又は、必要に応じて、乾燥処理や殺菌処理などをして使用することができる。

【００３７】

酒粕が泡盛蒸留粕の場合において、飼料原料の発酵物の具体的な製造方法としては、以下の通りである。

工程１；固形飼料として濃厚飼料をサイロに投入する。

工程２；液状の泡盛蒸留粕、糖蜜及び塩を混合して、液状混合物を得る。

工程３；通気性のないビニール袋に、工程１の濃厚飼料をサイロから投入しながら、同時に工程２で得られた液状混合物を均等に噴霧して混合することにより、飼料原料を得る（図１参照）。

工程４；工程３で得られた飼料原料の入ったビニール袋の口を閉めて、室温（例えば２５℃）で３日以上静置し、該飼料原料を自然発酵することにより発酵物を得る（図２参照）。

【００３８】

工程２においては、次工程３で得る飼料原料の水分調整のため、液状混合物に水を添加してもよい。含水量としては、使用する飼料原料の含水量、天候や季節によって適宜設定されるが、飼料原料において３０質量％～５０質量％であることが好ましい。

【００３９】

工程３において、工程２で得られた液状混合物を固形飼料に均等に噴霧する方法として

は、特に限定されないが、例えば定量吐出の高粘度液移送ポンプ、汚泥用スラリーポンプなどを使用して噴霧することができる。

【００４０】

飼料原料には、固形飼料及び酒粕に加え他の成分が含有されていてもよい。他の成分としては、特に限定されないが、糖蜜、塩、ビタミン、酵素などが挙げられる。これらのなかでも、発酵促進の観点から、糖蜜、塩が好ましい。

飼料原料の含有比率については、本発明の課題を解決し得る限り特に限定されないが、具体例として、（固形飼料：酒粕：糖蜜：塩）が、質量比で４．５～９０：１０～９０：０．５～５：０．１～０．５である。

【００４１】

工程４においては、閉口状態又は準閉口状態で、飼料原料を室温で静置することにより、麹菌、酵母、乳酸菌などの微生物の作用によって自然発酵が行われる。

工程４の自然発酵においては、具体的には、酵母発酵及び乳酸発酵が行われると考えられる。酵母発酵においては、アルコールと二酸化炭素が生成されると共に、酸素が消費されるため、乳酸発酵は嫌気条件下で行われる。

【００４２】

発酵条件としては、発酵温度は１５℃～４５℃であることが好ましく、より好ましくは３７℃～４１℃であり、発酵期間は、数日間～数十日間であることが好ましく、より好ましくは１日間～１０日間、さらに好ましくは３日間～７日間である。また、発酵の開始時において、飼料原料のｐＨは、発酵効率の観点から、４．０～９．０が好ましく、より好ましくは５．０～８．０、さらにより好ましくは６．０～７．０程度に調整される。

【００４３】

［メタン生成抑制用組成物］

本発明の一態様のメタン生成抑制用組成物は、飼料原料の発酵物を含む。このメタン生成抑制用組成物は、反芻動物内のメタン生成を抑制するためのメタン生成抑制用組成物である。

【００４４】

本発明の一態様のメタン生成抑制用組成物が有するメタン生成抑制作用は、後述する実施例に記載があるとおりに、反芻動物の呼気中に含まれるメタンガス濃度及び／又はメタンガス発生量を解析することで評価、確認することができる。具体的には、本発明の一態様のメタン生成抑制用組成物を反芻動物に給餌した場合に、本発明の一態様の組成物を給餌しない場合と比べて、呼気中に含まれるメタンガス濃度及び／又はメタンガス発生量が抑制・低減されていることにより確認することができる。

【００４５】

［反芻動物］

反芻動物とは、偶蹄目反芻亜目に属する哺乳類であって、胃が３室又は４室に分かれ、食物を反芻するものをいう。具体的には、ウシ、ヒツジ、ヤギ、シカなどが挙げられる。

本発明の一態様のメタン生成抑制用組成物は、反芻動物のなかでもウシの飼料として好ましく使用される。

【００４６】

本発明の一態様のメタン生成抑制用組成物においては、固形飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物が含まれていれば、本発明の課題を解決し得る限り、他の成分が含まれていてもよい。

【００４７】

［メタン生成抑制方法］

本発明の一態様の反芻動物のメタン生成抑制方法は、本発明の一態様の飼料原料の発酵物（メタン生成抑制用組成物）を、反芻動物に給餌して、反芻動物内のメタン生成を抑制する工程を含む。このように、該組成物を反芻動物の飼料として給餌することにより、反芻動物の健康を阻害することなく安全で、経済性の高い、メタン生成を抑制することができる。

【００４８】
［給餌量］
飼料原料の発酵物（メタン生成抑制用組成物）の給餌量としては、反芻動物の種類や月齢などにより適宜選択できるが、例えば、１日当たり、１ｇ／ｋｇ体重～２０ｇ／ｋｇ体重が好ましく、より好ましくは３ｇ／ｋｇ体重～１５ｇ／ｋｇ体重、さらにより好ましくは５ｇ／ｋｇ体重～１０ｇ／ｋｇ体重である。
【００４９】
［給餌時期］
飼料原料の発酵物（メタン生成抑制用組成物）の給餌時期としては、反芻動物の種類や月齢などにより適宜選択できるが、例えばウシの場合、生後以降、特に、固形物含有飼料を給餌する時期である離乳期以降が好ましいが、なかでも、第一胃が充分に発達する時期以降、具体的には１４ヶ月齢以降が好ましい。
【００５０】
［給餌方法］
飼料原料の発酵物（メタン生成抑制用組成物）は、単独で反芻動物に給餌しても、他の飼料と共に給餌してもよい。
他の飼料としては、例えば、粗飼料、濃厚飼料などが挙げられる。なお、粗飼料は、栄養価が濃厚飼料に比べて低いものであり、例えば、生草、サイレージ、乾草、わら類などが挙げられる。
他の飼料の給餌量としては、例えば粗飼料においては、１日当たり、４ｇ／ｋｇ体重～１０ｇ／ｋｇ体重が好ましく、また例えば濃厚飼料においては、１日当たり、１０ｇ／ｋｇ体重～２５ｇ／ｋｇ体重が好ましい。すなわち、１日当たり１ｋｇ体重当たりの飼料として、（粗飼料：濃厚飼料：飼料原料の発酵物）が質量比で、０．８～２：２～５：１～２である。
【００５１】
［メタン産生菌増殖抑制用組成物］
本発明の一態様のメタン産生菌増殖抑制用組成物は、飼料原料の発酵物を含み、反芻動物の腸内細菌叢中のメタン産生菌増殖を抑制する作用を発揮する。
【００５２】
本発明の一態様のメタン産生菌増殖抑制用組成物が有するメタン産生菌増殖抑制作用は、後述する実施例に記載があるとおりに、反芻動物の糞便中に含まれる腸内細菌叢を解析することで評価、確認することができる。具体的には、本発明の一態様のメタン産生菌増殖抑制用組成物を反芻動物に給餌した場合に、本発明の一態様の組成物を給餌しない場合と比べて、糞便中に含まれるメタン産生菌の増殖が抑制・低減されていることにより確認することができる。
【００５３】
以下、本発明を実施例によりさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではなく、本発明の課題を解決し得る限り、本発明は種々の態様をとることができる。
【実施例】
【００５４】
［１．飼料］
下記Ａ～Ｃを飼料として使用した。
飼料Ａ：粗飼料（稲わら）
飼料Ｂ：濃厚飼料「ＪＡ石垣牛　後期」（穀類７３％（とうもろこし、加熱処理大麦、加熱処理とうもろこし、大麦）、そうこう類１８％（ふすま、コーングルテンフィード、米ぬか）、植物性油かす類７％（なたね油かす、大豆油かす）、その他２％（糖蜜、食塩、炭酸カルシウム））
飼料Ｃ：飼料原料の発酵物
飼料Ｃの飼料原料の発酵物は、以下の工程１～４によって得た。

【００５５】
工程１；上記飼料Ｂの濃厚飼料「ＪＡ石垣牛　後期」１，０００ｋｇをサイロに投入した。
工程２；どろどろとした液状の泡盛蒸留粕５００Ｌに、糖蜜（石垣島製糖（株）製；糖度７５％）２０Ｌ（３０ｋｇ）及び塩（「石垣の塩」、（株）石垣の塩製；にがり含有）２ｋｇを入れて、ロータリーポンプ（「ＶＲＰ－１Ｄ－ＦＡ」、三浦工業（株）製）を使用して混合し、液状混合物を得た。
工程３；工程１のサイロに入れた濃厚飼料２５０ｋｇを内側に通気性のないビニール袋を敷いたフレキシブルコンテナバッグに入れつつ、同時に工程２で得られた液状混合物１２５Ｌを均等に濃厚飼料と混ざるようにロータリーポンプ（「ＶＲＰ－１Ｄ－ＦＡ」、三浦工業（株）製）を使用して噴霧して混合することにより、飼料原料を得た（図１参照）。なお、飼料原料の含水量が４０質量％程度となるように、水を添加した。
工程４；工程３で得られた飼料原料の入ったビニール袋の口を閉めて、室温（２５℃）で３日間以上静置し、該飼料原料を自然発酵することにより飼料原料の発酵物を得た（図２参照）。
【００５６】
飼料Ｃの飼料原料の発酵物における各成分の含有比率については、下記表１の通りである。
【００５７】
【表１】

飼料Ｃ	質量（ｇ）	乾物量（ｇ）	水分量（ｇ）
濃厚飼料	100.00	90.00	10.00
泡盛蒸留粕	50.00	1.50	48.50
糖蜜	3.00	2.25	0.750
塩	0.200	0.200	0.000
合計	153.20	93.95	59.25

【００５８】
［２．飼料Ｃの菌数］
飼料ＣのｐＨ及び微生物菌数（ＣＦＵ）を計測したところ、以下の通りであった。なお、ｐＨは、飼料Ｃを５０質量％になるように水に溶解して得た溶液について、ｐＨメーター（「防水型ペンタイプ　ｐＨＴｅｓｔｒ１０ＢＮＣ」、ニッコー・ハンセン（株）製）を使用して測定した。菌数は、適当に希釈した飼料Ｃの希釈液を３ＭペトリフィルムＡＣプレート（一般細菌）、３ＭペトリフィルムＬＡＢプレート（乳酸菌）及び３ＭペトリフィルムＲＹＭプレート（酵母）に塗抹し、各微生物の増殖に適した温度及び時間で培養することによって形成されるコロニー数（ＣＦＵ／ｇ）により測定した。
ｐＨ：４．４５
好気性菌（一般生菌）：３．５×10^3 ＣＦＵ／ｇ
乳酸菌（嫌気培養）：陰性
酵母：４．５×10^6 ＣＦＵ／ｇ

以上の結果より、飼料ＣのｐＨは４．４５と低いことから、自然発酵により乳酸菌が増殖したこと、その後自ら生成した乳酸により死滅したことがわかる。一方、酵母の数から、自然発酵により酵母の増殖が起こったことがわかる。

【００５９】

［３．供試動物］

供試動物として、下記表２に示す肥育牛〔１〕～〔６〕を使用した。

【００６０】

【表２】

	肥育牛№	生年月日	月齢	雌雄	推定体重（kg）
試験群	〔１〕	2020/5/4	20	雄	650
	〔２〕	2020/6/5	19	雄	600
	〔３〕	2020/7/17	18	雄	650
対照群	〔４〕	2020/9/3	16	雌	400
	〔５〕	2020/9/15	16	雌	400
	〔６〕	2020/9/28	16	雌	400

【００６１】

［４．給餌方法］

試験群及び対照群の肥育牛ともに、生後１０ヶ月齢から１３ヶ月齢までは、飼料Ａ及び飼料Ｂを下記表３に示す量で給餌した。次いで、試験群〔１〕～〔３〕の肥育牛について、１４ヶ月齢以降は、飼料Ａ、飼料Ｂ及び飼料Ｃを下記表３に示す量で４～６ヵ月間給餌した。一方、対照群の肥育牛〔４〕～〔６〕には、１４ヵ月齢以降も、飼料Ａ及び飼料Ｂを下記表３に示す量で２ヵ月間給餌した。

【００６２】

【表３】

１日当たりの量	１０ヶ月齢から１３ヶ月齢まで		１４ヶ月齢以降	
	試験群	対照群	試験群	対照群
飼料A（kg）	3.790	3.790	2.375	3.790
飼料B（kg）	8.450	8.450	7.125	8.450
飼料C（kg）	0.000	0.000	3.460	0.000
合計（kg）	12.240	12.240	12.960	12.240

【００６３】

［５．呼気中のメタンガス濃度及びメタンガス発生量］

試験群及び対照群の肥育牛の呼気を、午前の給餌から約３時間後に、自作した呼気捕集マスクをウシの口にきつく装着しながら、７０Ｌ容の捕集バッグに呼気を誘導し、３０秒間ごとにバッグを変えて３～４個のバッグに収集した。メタンガス濃度（ｐｐｍ）は、検

知管（「高感度可燃性ガスモニターＮＣ－１０００」、理研計器（株）製）を使用して測定した。結果を下記表４に示す。

【００６４】

また、測定されたメタンガス濃度から、メタンガス発生量を算出した。結果を下記表４に示す。なお、メタンガス発生量（Ｌ／日／頭）は、以下式の通りに算出した。なお、換気量は、文献値（ＧＡＬＬＩＶＡＮ，Ｇ．Ｊ．：Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｉｎ Ｖｅｔｅｒｉｎａｒｙ Ｓｃｉｅｎｃｅ １９８９，４６，３２２－３３０）である１分間あたりの成牛の換気量（０．２１８２Ｌ／分／ｋｇ）を使用した。

式：メタンガス発生量（Ｌ／日／頭）＝メタンガス発生量（Ｌ／分／頭）×１４４０

（メタンガス発生量（Ｌ／分／頭）＝換気量（Ｌ／分／頭）×メタンガス濃度（ｐｐｍ）×10^{-6}）

【００６５】

【表４】

	肥育牛No.	推定体重（kg）	呼気中のメタンガス濃度（ppm）							換気量*（L/min/頭）	メタンガス発生量**（L/min/頭）	メタンガス発生量***（L/day/頭）		
			1回目	2回目	3回目	4回目	個体平均	同群平均	標準偏差			個体平均	同群平均	標準偏差
試験群	〔1〕	650	650	685	760	1415	878	1996	1106	141.83	0.124	179	392	202
	〔2〕	600	1880	4320	3070		3090			130.92	0.405	583		
	〔3〕	650	1480	1390	3190		2020			141.83	0.286	413		
対照群	〔4〕	400	5420	2360	10000		5927	5932	1515	87.28	0.517	745	746	190
	〔5〕	400	5570	6780	10000		7450			87.28	0.650	936		
	〔6〕	400	3910	6010	3340		4420			87.28	0.386	556		
								p=0.0128						p=0.0462

*: 換気量(L/min/頭)＝0.2182L/min/kg ×体重(kg)

**: メタンガス発生量(L/min/頭)＝換気量(L/min/頭) ×メタンガス濃度(ppm)×10^{-6}

***: メタンガス発生量(L/day/頭)＝メタンガス発生量(L/min/頭) ×1440

【００６６】

また、上記表４の結果について、試験群及び対照群の群間比較においては、対応のない片側検定を実施した。有意差水準は、５％として有意差検定を行った。呼気中メタンガス濃度及びメタンガス発生量の群間比較を図３～４に示す。

【００６７】

表４の結果より、対照群の肥育牛〔４〕～〔６〕の呼気中のメタンガス濃度は、平均で５，９３２ｐｐｍであり、いずれも４，４２０ｐｐｍ以上であった。それに対して、試験群の肥育牛〔１〕～〔３〕の呼気中のメタンガス濃度は、平均で１，９９６ｐｐｍであり、さらにいずれの肥育牛においても３，０９０ｐｐｍ以下であり、対照群の肥育牛と比べると低かった。また、１分間あたりのメタンガス発生量及び１日あたりのメタンガス発生量についても同様の傾向を示し、試験群の肥育牛〔１〕～〔３〕の値は低かった。また、対照群の肥育牛に対する試験群の肥育牛による発生メタンガスの削減量（メタンガス発生量の差分：７４６（Ｌ／日／頭）－３９２（Ｌ／日／頭））は３５４（Ｌ／日／頭）であり、飼料１ｋｇ当たりに換算すると１０２（Ｌ／日／頭／ｋｇ）であった。

【００６８】

また、図３～４の結果より、試験群及び対照群の群間比較から、試験群の呼気メタンガス濃度及びメタンガス発生量は、いずれにおいても、対照群と比較して、有意に低かった。

【００６９】

以上の結果より、飼料Ｃ、すなわち、固形状の濃厚飼料及び泡盛蒸留粕を含む飼料原料を発酵して得られる飼料原料の発酵物を、飼料としてウシなどの反芻動物に給餌すること

により、反芻動物の呼気中のメタンガスの生成を抑制できることがわかった。

【００７０】

［６．腸内細菌叢中のメタン産生菌の占有率］

上記結果を受け、本発明者らは、固形状の濃厚飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物（飼料Ｃ）を反芻動物に給餌することによる呼気中のメタンガス生成量が低減する現象を解明するため、腸内細菌叢中のメタン産生菌（Ｍｅｔｈａｎｏｂｒｅｖｉｂａｃｔｅｒ属）の占有率（相対存在率）（％）を測定した。

具体的には、供試動物として、下記表５に示す肥育牛〔Ｉ〕～〔ＶＩ〕を使用し、試験群の肥育牛〔Ｉ〕～〔ＩＶ〕には、飼料Ａ、飼料Ｂ及び飼料Ｃを下記表５に示す量で３ヶ月間給餌し、対照群の肥育牛〔Ｖ〕～〔ＶＩ〕には、飼料Ａ及び飼料Ｂを下記表５に示す量で３ヶ月間給餌した。給餌後、試験群及び対照群の糞便を採取し、糞便中のメタン産生菌の占有率（％）を１６ＳリボソームＲＮＡ解析により測定し、比較した。

【００７１】

【表５】

	肥育牛No.	生年月日	月齢（サンプル採取時）	雌雄	推定体重（kg）	飼料A（kg/日）	飼料B（kg/日）	飼料C（kg/日）	合計（kg/日）
試験群	〔I〕	2020/8/17	24	雄	600	2.375	7.125	3.460	12.960
	〔II〕	2020/7/17	25	雄	610	2.375	7.125	3.460	12.960
	〔III〕	2020/12/7	20	雌	500	2.375	7.125	3.460	12.960
	〔IV〕	2020/12/12	20	雌	500	2.375	7.125	3.460	12.960
対照群	〔V〕	2020/7/12	25	雄	610	3.790	8.450	-	12.240
	〔VI〕	2020/11/30	20	雌	500	3.790	8.450	-	12.240

【００７２】

１６ＳｒＤＮＡ（１６ＳｒＲＮＡ）部分塩基配列を標的としたアンプリコンシーケンス解析により、検体の微生物群集を解析した。

定法に従ってＤＮＡを抽出し、１６ＳｒＲＮＡ遺伝子のＶ３－Ｖ４領域を増幅し、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＭｉＳｅｑによるメタ１６Ｓ菌叢解析を行った。Ｍｅｔａｇｅｎｏｍｅ@ＫＩＮ（Ｗｏｒｌｄ　Ｆｕｓｉｏｎ，Ｊａｐａｎ）を用いて菌叢解析を行った。得られた菌叢解析から、科・属レベルの菌叢構成を求めた。メタン産生菌であるＭｅｔｈａｎｏｂｒｅｖｉｂａｃｔｅｒ属の細菌の糞便中の占有率（相対存在率）（％）を表６に示す。

【００７３】

【表６】

	肥育牛No.	Methanobrevibacter属 占有率	平均
試験群	〔I〕	1.66%	1.39%
	〔II〕	1.23%	
	〔III〕	1.14%	
	〔IV〕	1.53%	
対照群	〔V〕	2.32%	2.09%
	〔VI〕	1.85%	

【００７４】
表６の結果より、試験群のメタン産生菌の占有率に比べ、対照群のメタン産生菌の占有率が高いことが確認された。
【００７５】
以上のことから、固形飼料及び酒粕を含む飼料原料の発酵物を、飼料としてウシなどの反芻動物に給餌することにより、反芻動物の呼気中のメタンガスの生成を抑制できることができ、この現象の理由のひとつとして、腸内細菌叢における古細菌であるメタン産生菌が低減することが考えられる。
【産業上の利用可能性】
【００７６】
本発明によれば、飼料原料として酒粕を使用することにより、廃棄ロス及びコストの削減を図ると共に、反芻動物の健康を阻害することなく、反芻動物から排出される強力な温室効果ガスであるメタンガスを削減するために利用でき、もって地球環境保護に貢献する。

【図面】

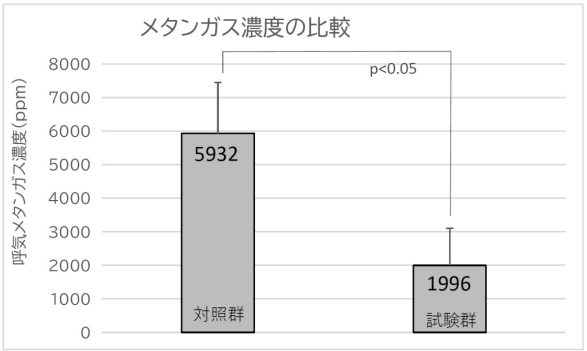
【図１】



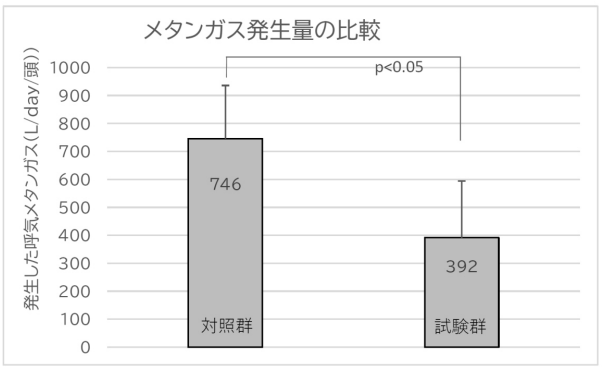
【図２】



【図３】


メタンガス濃度の比較
呼気メタンガス濃度(ppm)
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
p<0.05
5932
対照群
1996
試験群

【図４】


メタンガス発生量の比較
発生した呼気メタンガス(L/day/頭))
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
p<0.05
746
対照群
392
試験群

フロントページの続き

(72)発明者　山田 耕太郎
大阪府大阪市生野区巽西１丁目８番１号 ロート製薬株式会社内

Ｆターム（参考）　2B005　BA01 BA05 BA07
2B150　AA02 AB20 AE01 BB01 BC03 CB01 CC04 DH19