



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I744295 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：106108308

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 14 日

(51)Int. Cl. : C12N1/20 (2006.01)

A23K30/10 (2016.01)

A23K30/18 (2016.01)

C12R1/225 (2006.01)

(30)優先權：2016/03/15 日本

2016-050808

(71)申請人：日商雪印種苗股份有限公司 (日本) SNOW BRAND SEED CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：本間滿 HONMA, MITSURU (JP)；北村亨 KITAMURA, TORU (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

US 2005/0281917A1

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：4 項 圖式數：9 共 35 頁

(54)名稱

青貯料調製用乳酸菌及青貯料調製用添加劑

(57)摘要

本發明之課題是提供抑制青貯料的二次發酵，對調製理想的青貯料有用的乳酸菌。又本發明之課題是提供製造抑制二次發酵的青貯料的方法。作為解決手段是以具有抗酵母作用的迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 作為青貯料調製用乳酸菌。

The present invention provides a lactic acid bacterium suppressing secondary fermentation of silage and being useful for a preferable silage preparation.

Another object of the present invention is to provide a method for producing a secondary fermentation-suppressed. As a silage solution means, *Lactobacillus diolivorans* having an anti-yeast action is used as a lactic acid bacterium for silage preparation.

I744295

發明摘要

※ 申請案號：106108308

※ 申請日：106/03/14

※ I P C 分類：
C12N 1/20 (2006.01)
A23K 30/10 (2016.01)
A23K 30/18 (2016.01)
C12R 1/225 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

青貯料調製用乳酸菌及青貯料調製用添加劑

LACTIC ACID BACTERIUM FOR SILAGE
PREPARATION AND ADDITIVE FOR SILAGE
PREPARATION

【中文】

本發明之課題是提供抑制青貯料的二次發酵，對調製理想的青貯料有用的乳酸菌。又本發明之課題是提供製造抑制二次發酵的青貯料的方法。作為解決手段是以具有抗酵母作用的迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)作為青貯料調製用乳酸菌。

【英文】

The present invention provides a lactic acid bacterium suppressing secondary fermentation of silage and being useful for a preferable silage preparation.

Another object of the present invention is to provide a method for producing a secondary fermentation-suppressed. As a silage solution means, *Lactobacillus diolivorans* having an anti-yeast action is used as a lactic acid bacterium for silage preparation.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：本案無圖式。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

青貯料調製用乳酸菌及青貯料調製用添加劑

LACTIC ACID BACTERIUM FOR SILAGE
PREPARATION AND ADDITIVE FOR SILAGE
PREPARATION

【技術領域】

【0001】 本發明是關於青貯料調製用的乳酸菌及使用該乳酸菌的飼料調製用添加劑或青貯料調製用添加劑及使用該添加劑的青貯料的調製方法。

【先前技術】

【0002】 青貯料對牛而言是作為主食的重要飼料，其品質對酪農之經營有甚大影響。青貯料是為了將生的牧草或飼料作物等長期間貯藏，而將其作成醃漬品狀態的技術。但是在製造青貯料時，以往就有 2 個課題被指出。1 個是要抑制密封貯藏中以酪酸菌為原因的酪酸發酵，另 1 個是要抑制青貯料開封後因酵母等的增加導致之發熱、腐敗的二次發酵。為了解決此二課題，以往已進行對青貯料添加物的檢討，但尚未提供有可解決兩者課題的青貯料添加物。尤其是二次發酵的問題隨著 TMR 飼料的普及而增加。

【0003】 以往，有針對這些課題的提案。主要的提案是於青貯料調製時，添加在青貯料中的乳酸產生能力高

的乳酸菌，由乳酸促進青貯料的 pH 降低，由此想要抑制有害微生物的增殖。在專利文獻 1 中，記載使用具有優異的耐酸性及乳酸發酵能力的乳酸菌：胚芽乳酸桿菌 (*Lactobacillus plantarum*) 畜草 1 號株 (FERM P-18930) 或對好氣性細菌及酪酸菌有抗菌作用的乳酸菌：乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) R050 株 (FERM P-18931) 作為青貯料用乳酸菌而可防止由於有害微生物而降低青貯料的品質。但是專利文獻 1 的發明並未記載可抑制二次發酵，效果不明。

【0004】 專利文獻 2 是使用產生殺菌素 (bacteriocin) 的乳酸菌屎腸球菌 (*Enterococcus faecium*) NAS62 菌株 (NITE P-781) 作為青貯料用乳酸菌，係藉由殺菌素的抗菌作用而抑制有害微生物的技術。在專利文獻 2 中記載青貯料中未檢出絲狀菌，發酵 TMR 飼料中也未檢出絲狀菌。

【0005】 專利文獻 3 是提案含有具有抗真菌作用的洛德因 (reuterin) 生產能力的同型發酵乳酸菌、甘油、及維生素 B12 的青貯料調製用添加劑。洛德因 (reuterin) 是洛德乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 在嫌氣性環境下在含有甘油的培養基中產生的抗菌性物質。在上述培養上清液中，檢出為甘油發酵產物的 β -羥基丙醛 (β -hydroxypropionaldehyde)，此 β -羥基丙醛被推定是在水溶液以單體、水合物及二聚體的形態存在，而稱為洛德因。洛德因是對革蘭氏陽性細菌、革蘭氏陰性細菌、酵母及黴菌表現抗菌性。但是，為了產生洛德因，需要大量的甘油，因而在實際調製青貯料的情況，實施的現實性低。

【0006】 在專利文獻 4 中，揭示使用具有抗菌性物質的乳酸鏈球菌素(nisin)產生能力的乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)及使用具有乳酸耐性的乳酸菌的青貯料生產用的組成物。

在專利文獻 5 中，記載添加由青貯料分離的迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的青貯料未發生異常發酵。

【0007】 如上述，有種種的用於調製青貯料的乳酸菌及使用該乳酸菌的青貯料製造用添加劑的提案，但現況係不一定可滿足者。尤其是青貯料的二次發酵的問題是相當大的課題。

青貯料的二次發酵的問題就是，簡而言之，青貯塔或包捲(roll wrapping)開封後的好氣性腐敗。將此完全解決的青貯料用乳酸菌，在以往技術中並未見到。開封前的青貯塔或包捲青貯料內是充滿碳酸氣，氮氣等，在一定的低 pH 環境下是相當安定狀態。附著於原料，而在裝填時一起進入青貯塔或包捲內的各種微生物，在此狀況下是休眠狀態。但是，將青貯塔開封，或將包捲開封而青貯料成為曝露於空氣的狀態時，在有空氣的狀態下活動的微生物，即好氣性微生物會急速增殖。特別是酵母在適度的濕度、溫度、養分(酵母是以在青貯料中生成的乳酸等作為養分)而急速開始活動，青貯料的溫度會急激上昇。然後，被此發熱刺激之黴菌開始增殖，其結果青貯料呈茶褐色，不只放出異臭，還招致牛的嗜好性降低、消化率降低、青貯料乾物的損失、更有乳牛的下痢、酒精不安定性乳的發生等大

的損失。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0008】

專利文獻 1：日本特開 2004-041064 號公報

專利文獻 2：日本特開 2011-41474 號公報

專利文獻 3：日本特開 2008-35728 號公報

專利文獻 4：國際公開第 2013/001862 號

專利文獻 5：美國專利申請公開 2005/0281917 號說明書

【發明內容】

[發明要解決的課題]

【0009】 本發明之課題是提供抑制青貯料的二次發酵，對調製理想的青貯料有用的乳酸菌。又本發明之課題是提供製造抑制二次發酵的青貯料的方法。

[解決課題的手段]

【0010】 本發明者等為了解決上述課題而廣泛研究，反覆篩選青貯料及飼料調製用的乳酸菌的結果，由以往作為青貯料調製用的乳酸菌並不太受注目的迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 中發現具有抗酵母作用的一群迪氏乳桿菌，並確認此一群迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 的乳酸產生能力及乙酸生產能力高，會提升青貯料的品質。藉由活用此一群迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 而達成上述課題的解決。

【0011】 本發明是包含以下構成的發明。

(1) 一種青貯料調製用乳酸菌，係具有抗酵母作用的
迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)。

(2) 如(1)所述的青貯料調製用乳酸菌，其中，迪氏乳
桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 是，迪氏乳桿菌
(*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0006 株(NITE BP-02208)、迪
氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0007 株(NITE
BP-02209)、迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0009
株(NITE BP-02210)。

(3) 一種青貯料，其含有如(1)或(2)所述的乳酸菌迪氏
乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)。

(4) 一種青貯料調製用添加劑，其含有如(1)或(2)所述
的乳酸菌迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)。

(5) 一種青貯料的調製方法，其特徵為：於青貯料材
料中添加如(4)所述的青貯料調製用添加劑。

[發明的效果]

【0012】 本發明可提供一種乳酸菌迪氏乳桿菌
(*Lactobacillus diolivorans*)，該乳酸菌的特性是：具有抗酵
母作用，在實際的青貯料發酵條件下，對以酵母為主的真
菌具有抑制作用，且在該乳酸菌的培養液中會產生抗真菌
性物質。該乳酸菌可具有優異的耐酸性，並且可提供作為
良質乳酸發酵的青貯料用添加物。所得的青貯料係抑制二
次發酵。因此，應用於 TMR 飼料等時，成為腐敗氣味及腐
臭氣味受抑制的飼料，安全性高，家畜的採食性改善，可

期待肥育牛的體重增大及乳牛的乳量增加等。

【圖式簡單說明】

【0013】

第 1 圖係表示本發明的乳酸菌迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 的菌體破碎物抑制酵母發酵畢赤酵母 (*Pichia fermentans*) 的生長圖。

第 2 圖係本發明的乳酸菌迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 的菌體破碎物抑制酵母東方伊薩酵母 (*Issatchenkia orientalis*) 的生長圖。

第 3 圖係酵母發酵畢赤酵母 (*Pichia fermentans*) 的生長抑制作為指標的乳酸菌迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 的篩選試驗的結果。

第 4 圖係酵母東方伊薩酵母 (*Issatchenkia orientalis*) 的生長抑制作為指標的乳酸菌迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 的篩選試驗的結果。

第 5 圖係第 3 圖、第 4 圖所示的篩選試驗的結果以散布圖表示的圖。是用於一覽評估對 2 種酵母的抗酵母效果的圖。

第 6 圖係表示添加實施例 1 至 4，及比較例的青貯料用乳酸菌，在 25℃ 發酵的青貯料的發酵品質的圖。

第 7 圖係表示添加實施例 1 至 4，及比較例的青貯料用乳酸菌，在 15℃ 發酵的青貯料的發酵品質的圖。

第 8 圖係表示添加實施例 1 至 4，及比較例的青貯料用乳酸菌而調製的青貯料在開封後達到 30℃ 的時間的圖。

第 9 圖係表示添加實施例 1 至 3，比較例 1、比較例 2 的青貯料用乳酸菌，在 15℃ 保存條件下調製的青貯料在開封後達到 30℃ 的時間的圖。

【實施方式】

【0014】 本發明是關於具有抗酵母作用的新穎乳酸菌迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的發明。

又本發明是關於以添加含有前述乳酸菌的飼料調製用添加劑或前述菌株為特徵的青貯料等的飼料及其調製方法。

以下，詳細說明本發明。

【0015】 本發明的乳酸菌迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)是異型發酵的乳酸菌。可篩選由青貯料分離的該乳酸菌而得。

通常將由青貯料分離的乳酸菌株中，被分類為乳酸菌迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的菌株，在馬齒玉米等用於調製青貯料植物的細切材料中，添加由青貯料分離酵母的培養液，在聚乙烯包裝袋添加迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)，在 25℃ 下保存 2 個月後開封，以所得的青貯料中的有機酸含量、酵母菌數、乳酸菌數、開封後達到 30℃ 的時間(二次發酵時間)作為指標進行第 1 次篩選。

【0016】 繼而，將作為青貯料而呈現理想的有機酸含量、酵母菌數、乳酸菌數、開封後達到 30℃ 的時間(二次發酵時間)的迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)以

MRS 培養基或 GYP 培養基加以培養，回收菌體後加以破碎，將所得物以由青貯料分離的屬於酵母之膜璞畢赤酵母 (*Pichia membranifaciens*)、東方伊薩酵母 (*Issatchenkia orientalis*)、發酵畢赤酵母 (*Pichia fermentans*) 中之任一者之增殖作為指標，確認抗酵母作用(酵母增殖抑制作用)即可篩選。

【0017】 具有上述特性的具有抗酵母作用的乳酸菌迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 而言，除抗酵母作用之外，以具有乳酸生產量高，理想的品質特性的青貯料發酵作用者為佳。

具體例而言，可例示本發明者所分離，而在(獨立行政法人)製品評估技術基盤機構 (National Institute of Technology and Evaluation) 專利微生物寄託中心 (NITE Patent Microorganisms Depositary (NPMD)) (日本國千葉縣木更津市 Kazusa 鎌足 2-5-8 122 號室(郵政信箱 292-0818) (#122, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, Japan) 在 2016 年 2 月 22 日國際寄託的迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0006 菌株 (NITE BP- 02208)、迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS -0007 菌株 (NITE BP-02209)、迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS- 0009 菌株 (NITE BP-02210)。

【0018】 上述乳酸菌的培養可使用通常的乳酸菌用培養基而實施。培養基而言，只要可用於乳酸菌培養的培養基即無特別的限定。例如可使用 GYP 培養基、MRS 培養

基。對於培養條件並無特別的限定，但通常可在 pH5.0 至 7.0，25 至 40℃，培養 10 至 48 小時。經培養的該乳酸菌可以培養液或將菌體濃縮的濃縮液的狀態，添加於調製青貯料用的原料，或發酵終了後的青貯料或 TMR 等的發酵飼料。亦可將上述液作成冷凍品而使用。又可將經培養的乳酸菌與適當的保護劑或基材一起冷凍乾燥、噴霧乾燥、流動層乾燥而成的粉末狀態，使用作為青貯料調製用添加劑。乳酸菌的冷凍乾燥粉末，必要時可添加繭糖(trehalose)或碳酸鈣粉末等。又可添加促進青貯料發酵用的公知成分，例如纖維素酶等。

【0019】 本發明的青貯料調製用添加劑可使用於各種各樣的青貯料或發酵飼料的調製。用於調製青貯料或發酵飼料的原料而言，只要是作為通常飼料而利用的原料即無特別的限定，惟可例舉如作為牧草及飼料作物的苜蓿草(alfalfa)、三葉草、梯牧草(timothy)、果園草(orchard grass)、利甘草(reed canary grass)、偃麥草(Elymus repens)、黑麥草(Italyan rye grass)、多年生黑麥草(perennial rye grass)、高羊茅(tall fescue)、草原狐草(meadow fescue)、羊茅黑麥草屬(Festulolium)、肯塔基藍草(Kentucky blue grass)、小糠草(red top)、天竺草(guinea grass)、薔薇草(rose grass)、狼尾草(Napier grass)、燕麥、大麥、黑麥、高粱、蘇丹草、稗、玉米、飼料稻等，及玉米及米的種子為主體的軟粒(soft grain)。食品製造副產物可例舉啤酒粕、發泡酒粕、豆腐渣、茶粕、燒酎粕、威士忌粕、甜菜渣、甘蔗渣、咖啡渣、果

汁渣、芥藍渣，澱粉渣等。農產副產物可例舉稻草、麥草、規格外蔬菜等。又，亦可添加在將食品製造副產物、青貯料、農產副產物、乾草、濃厚飼料、維生素-礦物質製劑等混合調製的發酵 TMR 中。該等青貯料及發酵飼料原料以將水分調節為 40 至 90 質量%而使用為宜。

【0020】 作為青貯料調製用添加劑的使用量，添加的菌數是合計成為對原料每 1g 添加 10^3 至 10^7 個，較佳是添加 10^4 至 10^6 個。在本發明中，只要是青貯料或發酵飼料所使用的牧草或飼料作物即無特別的限定，但例如可舉苜蓿草、三葉草、梯牧草、果園草、利甘草、偃麥草、黑麥草、多年生黑麥草、高羊茅、草原狐草、羊茅黑麥草屬、肯塔基藍草、小糠草、天竺草、薔薇草、狼尾草等牧草，或玉米、高粱等飼料作物。使用容易引起二次發酵的玉米或高粱為宜。牧草及飼料作物的形態而言，以收割的生草的狀態使用也可以，但冷藏或冷凍保存者也可以，以將通風乾燥、冷凍乾燥的牧草粉碎的乾燥粉末的狀態使用也可以。又，可為利用作為飼料而流通的苜蓿顆粒(lucerne pellets)或乾草塊(hey cubes)，亦可為利用玉米或米的種子為主體的軟粒。

青貯料或發酵飼料是在嫌氣條件下發酵。發酵用的容器只要是能夠保持若干程度的嫌氣狀態者即無特別的限定，但例如可舉青貯槽(bunker silo)、乾草倉(stack silo)、青貯壕(trench silo)、青貯塔(tower silo)、地下青貯塔、混凝土磚青貯塔(block silo)、青貯杯(cup silo)、捲網(roll

bale)、柔性集裝袋(flexible container bag)等。通常是在外氣溫 5 至 30℃ 左右，理想是 15 至 25℃，放置 1 週至 2 個月使其發酵即可成為青貯料。

【0021】 使用本發明的青貯料調製用添加物而得的青貯料及發酵飼料，因在開封後不會引起二次發酵，牛的嗜好性、採食量良好，不會產生飼料營養價的降低。

[實施例]

【0022】 其次舉實施例、比較例進一步說明本發明。又，以下的記述是用於說明本發明，並非將本發明限定於實施例，自不待言。

< 1. 迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的第一次篩選>

使用雪印種苗股份有限公司由青貯料分離，確認為迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的乳酸菌菌株 18 菌株。在雪印種苗股份有限公司的菌株名如下。3、66、126、128、183、187、379、518、547、574、586、602、603、617、707、746、767、小田 2。

(1) 青貯料的調製

將此 18 株，以 GYP 液體培養基培養，調製 1.5×10^9 CFU/mL 的培養液，將其冷凍乾燥，而得乳酸菌粉末。使用該粉末進行 1 次篩選試驗。

1 次篩選試驗是在秋天採取，於作為青貯料材料而冷凍保存的馬齒玉米細切品 300 g 中，添加既存的由青貯料分離的酵母培養液(7.0×10^8 CFU/mL)3 mL，再噴霧添加將上述乳酸菌粉末 30 mg 懸浮於 100 mL 離子交換水所得的液 1

mL 並混合後(相當於 1 mg/kg)，將此各秤量 100g 並密封於聚乙 烯製包裝袋(3 重複)。將此密封的袋在青貯料的調製條件 25℃ 保存 2 個月。

【0023】 (2) 青貯料的品質

經過預定的期間後開封而取出青貯料，測定 pH、有機酸含量(HPLC)、乳酸菌數、酵母菌數。又，在 25℃ 的室溫中，測定開封後的品溫上昇，而測定達到為青貯料二次發酵的指標的 30℃ 的時間。測定結果示於下述的第 1 表。

【0024】 第 1 表

試驗菌株	pH	有機酸含量 (%)				酵母 (log cfu/g)	乳酸菌 (log cfu/g)	到達30℃時間
		乳酸	乙酸	丙酸	酪酸			
未添加乳酸菌	4.22	0.77	1.64	0	0	5.78	8.38	13
3	4.35	0.15	2.08	0.03	0	5.51	9.22	19
66	4.33	0.05	2.23	0.06	0	5.33	9.25	21
126	4.33	0.06	2.14	0.07	0	5.52	9.12	21
128	4.32	0.04	2.27	0.11	0	5.53	9.11	19
183	4.34	0	2.24	0.08	0	5.66	8.89	23
187	4.33	0.01	2.31	0.08	0	5.47	9.23	19
379	4.3	0.1	2.22	0.06	0	5.2	9.22	18
518	4.31	0.16	2.17	0.04	0	5.31	9.06	19
547	4.31	0.01	2.37	0.07	0	5.74	9.19	19
574	4.32	0.11	2.26	0.06	0	4.89	8.59	17
586	4.31	0	2.57	0.05	0	6.03	9.2	19
602	4.33	0.04	2.45	0.08	0	5.2	9.14	18
603	4.35	0	2.56	0.08	0	5.73	9.13	18
617	4.34	0.12	2.25	0.05	0	5.38	9.08	17
707	4.33	0.06	2.31	0.06	0	5.62	9.11	19
746	4.33	0.01	2.39	0.09	0	5.08	9.09	19
767	4.31	0.02	2.46	0.09	0	4.9	9.14	21
小田2	4.34	0	2.56	0.07	0	5.65	8.35	20

【0025】 如第 1 表所示，供試驗的 18 菌株的廸氏乳桿菌，確認是在青貯料中產生乙酸、丙酸，而不產生酪酸的理想的菌株。但是以冷凍保存的馬齒玉米作為原料的青貯料則是，乙酸成為主體的青貯料，但不能確認藉由抑制酵母而防止二次發酵。

【0026】 < 2. 廸氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*) 的第 2 次篩選 >

使用在前述的第 1 次篩選中所使用的廸氏乳桿菌 18 株，調製馬齒玉米青貯料，以開封後的二次發酵，達到 30℃ 的時間做為指標進行 2 次篩選。

(1) 青貯料的調製

收割馬齒玉米(黃熟期)，使用粉碎機細切，再與第 1 次篩選同樣對馬齒玉米每 1 kg 添加 1 mg 乳酸菌粉末，充分混合後在 1 L 容量的密封瓶中裝入 800 g，作為青貯料。設定青貯料的保管溫度為 25℃，發酵期間為 10 週。

【0027】 (2) 藉由青貯料的品質變化篩選菌株

經過預定的期間後開封，取出青貯料，測定開封後的品溫變化，測定為青貯料二次發酵指標的達到 30℃ 的時間，選出抑制二次發酵的菌株。其結果，確認 603 菌株及 767 菌株的 2 菌株是特別長時間(100 小時以上)未使開封後的青貯料的品溫上昇者。又確認 603 菌株、767 菌株的青貯料是酵母的增殖受到抑制者。

【0028】 < 3. 由 767 菌株分離 767S 菌株及 767R 菌株 >

將 767 菌株以 MRS 平板培養基繼代的結果，分離為菌落的形狀是圓滑(smooth)的殖株(clone)及菌落周緣是粗面(rough)的殖株。前者命名為 767S，後者命名為 767R。

以下所述的試驗是以此 767S、767 R、603 的 3 菌株作為對象而說明。

【0029】 <4. 酵母生長抑制試驗>

767S、767R、603 菌株在青貯料中抑制酵母的生長，並且 767S、767R、603 菌株的菌破碎物在酵母的純培養系中也會抑制增殖。以下顯示代表性的例而加以說明。

(1) 試驗方法

1) 乳酸菌的菌體破碎液的調製

將 MRS(Difco)液體培養基與玉米粉末 10%煮汁培養基以 1:1 混合。接種乳酸菌而在 37℃ 培養 5 日。將培養液 10 mL 分注於 15 mL FALCON 管，以 3500 rpm ×15 分鐘離心分離。繼而廢棄上清液，將沉澱物以 PBS(-)清洗 2 次。再度，以 3500 rpm ×15 分鐘離心分離，將沉澱在 1mL PBS(-)中懸浮。將裝水 50mL 的 FALCON 管放在冰冷袋內，將 15 mL 的 FALCON 管以放在其中的狀態，以超音波破碎機破碎細胞 5 分鐘。以 3500 rpm ×5 分鐘實施離心分離，將上清液以 0.2 μ m 的膜過濾器過濾滅菌而得菌體破碎液。作為試驗用的乳酸菌萃取液。又實施本試驗的乳酸菌是已知在青貯料中會抑制酵母生長的副乾酪乳桿菌 (*Lactobacillus paracasei*) 2347、布氏乳桿菌 (*Lactobacillus buchneri*) NK01、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis* TJ48)(SBS0001)，以

及上述所分離的 767S、767R 菌株。

【0030】 2) 酵母的生長抑制試驗

將調整為 pH 4.0 的 Yeast Nitrogen Base(Difco)180 μ L、調整為 100mM 的碳源 10 μ L、及試驗乳酸菌的菌體破碎液 10 μ L 分注於 96 孔微盤，再添加經 PBS(-)清洗的酵母以 YPD 培養基於 27°C 培養 48 小時之培養液，酵母為發酵畢赤酵母(*Pichia fermentans*，以下稱「Pf」)、東方伊薩酵母(*Issatchenkia orientalis*)(*Candida krusei*，以下稱「Ck」)2 μ L。於 Pf 之情形中碳源是乳酸，於 Ck 之情形中碳源是乙酸。又酵母都是使用本發明者等由青貯料分離並鑑定的酵母。

在 27°C 好氣培養 48 小時，以吸管吸取攪拌培養液後測定在 600nm 的 O.D.，評估酵母的生長抑制作用。

【0031】 (2) 結果

將酵母 Pf 的生長抑制試驗結果示於第 1 圖，酵母 Ck 的抑制試驗結果示於第 2 圖。

可確認 767S、767R 菌株的菌體破碎液比其他的乳酸菌更明顯地抑制酵母的生長。判斷此試驗可使用於抗酵母作用的篩選。

繼而，將同樣的試驗對以抑制青貯料的品溫上昇而篩選的 603 菌株、547 菌株實施的結果，可確認 603 菌株及 547 菌株的菌體破碎液也顯著地抑制酵母的生長。此酵母抑制作用可預想是由於在乳酸菌體內產生的某種顯示抗酵母作用的物質。

生產此種抗酵母作用物質的迪氏乳桿菌是以往完全無

所知的。

由以上的試驗結果，確認本發明者等由青貯料分離、篩選的迪氏乳桿菌具有良好的青貯料發酵能力，且進一步具有抗酵母作用的新穎的一群微生物。

又，係據本申請人之 767S 菌株以迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0006 菌株 (NITE BP-02208)，767R 菌株以迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS 0007 菌株 (NITE BP-02209)，603 菌株以迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0009 菌株 (NITE BP-02210) 國際寄存於(獨立行政法人)製品評估技術基盤機構 專利微生物寄存中心。

【0032】 < 5. 603 菌株、547 菌株、767S 菌株、767R 菌株的菌學性質 >

上述 603 菌株、547 菌株、767S 菌株、767R 菌株被分類為迪氏乳桿菌。此 4 菌株之中，再將該 4 菌株的菌學的性质(糖利用性)依照 Bergey's Manual 確認。發現在 48 小時培養及 5 日培養其利用性有差異。下述第 2 表是顯示 48 小時培養後的利用性，第 3 表是顯示 5 日培養的利用性。

又，第 2 表是顯示與迪氏乳桿菌的標準菌株，公開資訊提供的 JCM12183 菌株(理化學研究所生物資源中心提供菌株)的糖利用性的對比。

【0033】 [第 2 表]

48 小時	文獻 JCM12183	#547	#603	#767S	#767R	
Control	—	—	—	—	—	對照
Glycerol	—	—	—	—	—	甘油
Erythritol	—	—	—	—	—	赤藻糖醇
D-Arabinose	—	—	w	w	w	D-阿拉伯糖
L-Arabinose	+	+	+	+	+	L-阿拉伯糖
D-Ribose	+	+	+	+	+	D-核糖
D-Xylose	+	+	+	+	+	D-木糖
L-Xylose	—	—	w	—	—	L-木糖
D-Adonitol	—	—	—	—	—	D-核糖醇
Methyl-BD-Xylopyranoside	+	+	w	w	+	甲基-BD-木呷喃糖苷
D-Galactose	+	—	—	+	+	D-半乳糖
D-Glucose	+	—	—	+	+	D-葡萄糖
D-Fructose	+	w	w	+	+	D-果糖
D-Mannose	—	—	—	w	w	D-甘露糖
L-Sorbose	—	—	—	—	—	L-山梨糖
L-Rhamnose	—	—	—	—	—	L-鼠李糖
D-Dulcitol	—	—	—	—	—	D-甜醇
Inositol	—	—	—	—	—	肌醇
D-Mannitol	—	—	—	w	w	D-甘露糖醇
D-Sorbitol	—	—	—	w	w	D-山梨醇
Methyl-AD-Mannopyranoside	—	—	—	—	—	甲基-AD-甘露呷喃糖苷
Methyl-AD-Glucopyranoside	+	—	—	w	w	甲基-AD-葡萄糖呷喃糖苷
N-Acetyl Glucosamine	—	—	—	—	—	N-乙醯葡萄糖胺
Amygdalin	—	—	—	—	—	苦杏仁苷
Arbutin	—	—	—	—	—	熊果苷
Esculin ferric citrate	—	—	—	—	—	栗糖苷檸檬酸鐵
Salicin	—	—	—	—	—	柳苷
D-Cellubiose	—	—	—	—	—	D-纖維素二糖
D-Maltose	+	—	—	w	+	D-麥芽糖
D-Lactose	—	—	—	w	w	D-乳糖
D-Melibiose	+	—	—	+	+	D-蜜二糖
D-Sucrose	—	—	—	—	—	D-蔗糖
D-Trehalose	—	—	—	—	—	D-藴糖
Inulin	—	—	—	—	—	菊糖
D-Melezitose	—	—	—	—	—	D-松三糖
D-Rafinose	w	—	—	w	w	D-棉仔糖
Starch	—	—	—	—	—	澱粉
Glycogen	—	—	—	—	—	肝糖
Xylitol	—	—	—	w	w	木糖醇
Gentiobiose	—	—	—	—	—	龍膽二糖
D-Turanose	—	—	—	—	—	D-松二糖
D-Lyxose	—	—	—	—	—	D-來蘇糖
D-Tagatose	—	—	—	—	—	D-塔格糖
D-Fucose	—	—	—	—	—	D-海藻糖
L-Fucose	—	—	—	—	—	L-海藻糖
D-Arabitol	+	—	—	+	+	D-阿拉伯糖醇
L-Arabitol	—	—	—	—	—	L-阿拉伯糖醇
Gluconate	+	—	—	w	w	葡萄糖酸鹽
2-keto-gluconate	—	—	—	—	—	2-酮-葡萄糖酸鹽
5-keto-gluconate	+	w	w	w	w	5-酮-葡萄糖酸鹽

【0034】 [第 3 表]

5 天	#547	#603	#767S	#767R	
Control	—	—	—	—	對照
Glycerol	—	—	—	—	甘油
Erythritol	—	—	w	w	赤藻糖醇
D-Arabinose	—	w	w	w	D-阿拉伯糖
L-Arabinose	+	+	+	+	L-阿拉伯糖
D-Ribose	+	+	+	+	D-核糖
D-Xylose	+	+	+	+	D-木糖
L-Xylose	—	w	—	w	L-木糖
D-Adonitol	—	w	—	—	D-核糖醇
Methyl-BD-Xylopyranoside	+	+	+	+	甲基-BD-木呷喃糖苷
D-Galactose	—	—	+	+	D-半乳糖
D-Glucose	w	+	+	+	D-葡萄糖
D-Fructose	w	w	+	+	D-果糖
D-Mannose	—	—	w	w	D-甘露糖
L-Sorbose	—	—	—	—	L-山梨糖
L-Rhamnose	—	—	—	—	L-鼠李糖
D-Dulcitol	—	—	—	—	D-甜醇
Inositol	—	—	—	—	肌醇
D-Mannitol	—	—	w	w	D-甘露糖醇
D-Sorbitol	—	—	w	w	D-山梨醇
Methyl-AD-Mannopyranoside	—	—	—	—	甲基-AD-甘露呷喃糖苷
Methyl-AD-Glucopyranoside	—	—	w	w	甲基-AD-葡萄糖呷喃糖苷
N-Acetyl Glucosamine	—	—	—	—	N-乙醯葡萄糖胺
Amygdalin	—	—	—	—	苦杏仁苷
Arbutin	—	—	—	—	熊果苷
Esculin ferric citrate	—	—	—	—	栗糖苷檸檬酸鐵
Salicin	—	—	—	—	柳苷
D-Cellubiose	—	—	—	—	D-纖維素二糖
D-Maltose	—	—	w	+	D-麥芽糖
D-Lactose	—	—	w	w	D-乳糖
D-Melibiose	—	—	+	+	D-蜜二糖
D-Sucrose	—	—	+	w	D-蔗糖
D-Trehalose	—	—	—	—	D-菌糖
Inulin	—	—	—	—	菊糖
D-Melezitose	—	—	—	—	D-松三糖
D-Rafinose	—	—	w	+	D-棉仔糖
Starch	—	—	—	—	澱粉
Glycogen	—	—	—	—	肝糖
Xylitol	—	—	w	w	木糖醇
Gentiobiose	—	—	—	—	龍膽二糖
D-Turanose	—	—	—	—	D-松二糖
D-Lyxose	—	—	—	—	D-來蘇糖
D-Tagatose	—	—	—	—	D-塔格糖
D-Fucose	—	—	—	—	D-海藻糖
L-Fucose	—	—	—	—	L-海藻糖
D-Arabitol	—	—	+	+	D-阿拉伯糖醇
L-Arabitol	—	—	—	—	L-阿拉伯糖醇
Gluconate	—	—	w	w	葡萄糖酸鹽
2-keto-gluconate	—	—	—	—	2-酮-葡萄糖酸鹽
5-keto-gluconate	w	w	w	w	5-酮-葡萄糖酸鹽

【0035】 又確認 767S 及 767R 菌株具有乳糖利用性，且具有在基準菌株沒有看到的蔗糖利用性。又 547 菌株及 603 菌株之半乳糖及葡萄糖的利用性低為其特徵之一。

【0036】 < 6 . 迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*) 的第 3 次篩選 >

如上述，第 2 次篩選是由青貯料中的酵母抑制而篩選出 767S 菌株、767R 菌株。將此試驗再度使用本發明者由青貯料分離的迪氏乳桿菌(*Lactobacillus diolivorans*)的保存菌株，藉由抗酵母作用進行第 3 次篩選。供試驗的菌株如下。

126、128、183、187、518、547、574、586、602、603、617、707、746、767S、767R、小田 2 的 16 菌株作為對象。

(1) 試驗方法

1) 乳酸菌的菌體破碎液的調製

與上述的 4.的試驗同樣將迪氏乳桿菌(*Lb. diolivorans*)的 MRS 培養液 100 μ L，接種於 MRS(Difco)液體培養基與玉米粉末 10%煮汁培養基以 1：1 混合的培養基，在 37℃ 培養 5 日。

將培養液以 3000 G $\times$ 15 分鐘離心分離，廢棄上清液，在沉澱物中添加 1mL 的 PBS(-)，在冰冷下使用超音波破碎機，將細胞破碎。將破碎液以 3000G $\times$ 15 分鐘離心分離，破碎液的上清液使用 0.22 μ m 的膜過濾器進行過濾滅菌。

繼而在 96 孔的微盤，添加上述上清液 10 μ L、含有 0.1% 葡萄糖的 YNB 培養基(pH 4.0)180 μ L、100mM 的碳源(乳

酸、乙酸)100 μ L，接種酵母的 YPD 培養液 2 μ L，在 27°C 培養 48 小時。乳酸作為碳源時，酵母是使用發酵畢赤酵母 (*Pichia fermentans*)(Pf)，乙酸做為碳源時，酵母是使用東方伊薩酵母 (*Issatchenkia orientalis*)(Ck)。

培養終了後，各孔以吸管吸取充分混合、攪拌，以微盤讀取儀 (microplate reader) 測定 600nm 波長的吸光度。由先前的抗酵母試驗，在乳酸培養基、乙酸培養基二者中，篩選出之吸光度 0.35 以下時，判定為有抗酵母抑制作用。

【0037】 2) 結果

將乳酸(LA)作為碳源時的抗酵母作用的評估(吸光度)示於第 3 圖，將乙酸(AA)作為碳源時的抗酵母作用的評估(吸光度)示於第 4 圖。又，在 AA 是以吸光度作為 X 軸，在 LA 是以吸光度作為 Y 軸，製成散布圖。將此散布圖示於第 5 圖。由製成的散布圖，可同時對不同型的酵母菌種的效果加以判斷。

由第 3 圖、第 4 圖、第 5 圖可明白，篩選出為酵母生長指標的吸光度在 0.35 以下的迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) 菌株 547、602、603、707、767S、767R 菌株。

再者，由使用下述所示的實施例的試驗結果，判明若以 Pf 或 Ck 為試驗酵母，則可篩選出具有抗酵母作用的迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*)。即，上述的抗酵母效果試驗可判斷是作為對青貯料開封後的二次發酵(品溫上昇)具有抑制作用的乳酸菌的篩選方法，是優異的方法。

【0038】 <6. 使用 767S 菌株，及 767R 菌株、603 菌

株、547 菌株的青貯料添加劑的製造>

1. 菌體的培養

斟酌乳酸菌的生長速度等，在以下的實施例使用 767S 菌株、767R 菌株、603 菌株、547 菌株而製造青貯料添加劑。

將下述第 4 表所示的葡萄糖-酵母萃取物-蛋白胰液體培養基調整為 pH 5.5 後，在 121℃ 滅菌 15 分鐘。培養基是各分別調製活化培養用 10mL、接種用 8L、本培養用 1600L。

由個別菌的-80℃ 保存之菌體，將一白金耳，接種於活化培養用培養基，在 37℃ 培養 24 小時。培養終了後，在接種用 8L 中接種活化培養液 8 mL，在 37℃ 培養 24 小時。培養完成後，再在本培養用 1600L 中，添加接種培養液的全量，在 37℃ 培養 24 小時。

【0039】 [第 4 表]

培養基組成

成分名	比率
葡萄糖	2.00%
酵母萃取物	1.00%
蛋白胰	1.00%
硫酸鐵	0.01%
硫酸鎂	0.01%
硫酸錳	0.01%

【0040】 2. 菌體的冷凍乾燥

由本培養得到菌體密度 6.0×10^9 CFU/mL 的培養液 1600L。將培養液的全量以連續式離心分離器加以離心分離，得到 1.0×10^{11} CFU/mL 的菌體濃縮物 40 L。在 121°C 滅菌 15 分鐘並放冷的 80L 的 15% 繭糖溶液中添加上述菌體濃縮物 40 L，在 15°C 懸浮 30 分鐘後，在 -30°C 冷凍，保存至冷凍乾燥。將冷凍的菌體以常法加以冷凍乾燥。所得的冷凍乾燥粉末中的生菌數是 2.4×10^{11} CFU/g。

【0041】 3. 青貯料調製用粉末的製造

經回收的冷凍乾燥粉末在測定生菌數後，與繭糖粉末混合使成為 2×10^{11} CFU/g。以如此調製的 767S 菌株的粉末作為以下實施例 1，767R 菌株的粉末作為實施例 2，603 菌株的粉末作為實施例 3，547 菌株的粉末作為實施例 4。

又，此粉末是成為青貯料調製用粉末的原體者。將此再以繭糖、碳酸鈣、沸石等的粉末稀釋 5 至 1000 倍作為青貯料添加用劑。

【0042】 <7. 青貯料調製用粉末的效果試驗(I)>

(1) 試驗品

使用實施例 1 至 4 的粉末而調製青貯料，並確認效果。再做為比較例是使用將雪印種苗股份公司販賣的青貯料調製用乳酸菌製材「Silo SP」所用的布氏乳桿菌 NK-01 菌株同樣調製者。

【0043】 (2) 青貯料的調製

在調製玉米青貯料時，將實施例 1 至 4 及比較例的乳酸菌粉末，以使各青貯料原料之乳酸菌數成為 10^6 CFU/g 之

方式添加並混合，將其約 800g，裝入於 1L 容量的試驗瓶中，密封而在 25℃ 以及 15℃ 的 2 條件下保存 2 個月而調製青貯料。2 個月後開封而實施以下的試驗。又試驗用瓶是各例均設定為 3 支。

【0044】 (3) 青貯料的品質試驗

瓶全部沒有觀察到異常發酵。將青貯料中的 pH、乳酸量(LA)、乙酸量(AA)、琥珀酸量(SA)以常法測定，評估作為青貯料的品質。又也確認發酵味的良否。將在 25℃ 的保存青貯料的品質示於第 6 圖，將在 15℃ 保存的青貯料的品質示於第 7 圖。

實施例 1 至 4 的 25℃ 保存的青貯料都表現低的 pH，較比較例 1、無添加者優異。又確認作為青貯料的理想香味，並未表現有問題的異常發酵。

實施例、比較例的 15℃ 保存青貯料在品質上均無大的差異。

【0045】 (4) 開封後的二次發酵試驗

開封後達到 30℃ 的時間、剛開封的酵母數、25℃ 保管品在開封後經過 2 日後的酵母數、在 15℃ 保管品在開封後 3 日的酵母數

1) 達到 30℃ 的時間

測定實施例、比較例、無添加的青貯料達到 30℃ 的時間。測定結果是以平均值及標準偏差表示。又以 Student Test 的 t 檢定實施各例的顯著差檢定(顯著水準：5%)。結果示於下述的第 5 表及第 8 圖。

【0046】 [第 5 表]

達到 30℃ 的時間(到 2 次發酵的時間)

	25℃ 保存			15℃ 保存		
	小時	標準偏差	t-test	小時	標準偏差	t-test
無添加	31.33	2.89	a	33	4	a
比較例 (Silo SP)	33.67	1.15	a	31.67	0.47	a
實施例 1 (767S)	184	0	b	57.33	8.99	ab
實施例 2 (767R)	177.67	5.69	b	50.33	15.57	ab
實施例 3 (603)	184	0	b	66.33	9.84	b
實施例 4 (547)	184	0	b	41.67	4.99	ab

t-test 在不同符號間是具有顯著差

【0047】 如第 5 表及第 8 圖所示，實施例中添加青貯料添加用乳酸菌製劑的青貯料任一者都顯著抑制二次發酵。又在青貯料理想調製溫度的 25℃ 保存時其效果顯著，達比較例的約 6 倍的時間。本發明實施例品具有抑制青貯料的二次發酵作用之事得到佐證。

15℃ 保存的青貯料超過比較例及對照的無添加青貯料的二次發酵約 20 小時。

【0048】 2) 25℃ 保管青貯料的剛開封及開封 2 日後的酵母數

測定在 25℃ 保管的實施例、比較例、無添加的青貯料

的剛開封的酵母數及開封後經過 2 日的青貯料的酵母數。
測定結果是以平均值及標準偏差表示。又以 Student Test 的
t 檢定實施各例的顯著差檢定(顯著水準：5%)。結果示於
下述的第 6 表。

【0049】 [第 6 表]

酵母菌數，25℃ 保存

	剛開封			開封 2 日後		
	酵母數 Log(cfu/g)	標準偏差	t-test	酵母數 Log(cfu/g)	標準偏差	t-test
無添加	4.85	0.08	c	8.54	0.03	b
比較例 (Silo SP)	3.6	1.73	bc	8.25	0.27	b
實施例 1 (767S)	1.6	0	a	2.94	0.58	a
實施例 2 (767R)	1.6	0	a	2.94	0.58	a
實施例 3 (603)	1.6	0	a	2.6	0	a
實施例 4 (547)	1.6	0	a	2.6	0	a

t-test 在不同符號間是具有顯著差

【0050】 如第 6 表所示，實施例中經添加青貯料添加
用乳酸菌製劑的青貯料的任一者，剛開封的酵母數都被抑
制在比較例及對照(無添加)的 1/1000 以下。其結果開封 2
日後的酵母數與對照及比較例相較是被抑制在 1/100000 以
下。

【0051】 3) 15℃ 保管青貯料的剛開封及開封 3 日後
的酵母數

將 15℃ 保管的實施例、比較例、無添加的青貯料的剛開封的酵母數及開封後經過 3 日的青貯料的酵母數加以測定。測定結果是以平均值及標準偏差表示。又以 Student Test 的 t 檢定實施各例的顯著差檢定(顯著水準：5%)。結果示於下述的第 7 表。

【0052】 [第 7 表]

酵母菌數，15℃ 保存

	剛開封			開封 3 日後		
	酵母數 Log(cfu/g)	標準偏差	t-test	酵母數 Log(cfu/g)	標準偏差	t-test
無添加	5.36	0.22	ab	8.44	0.23	ab
比較例 (Silo SP)	5.48	0.16	b	8.49	0.2	b
實施例 1 (767S)	3.44	0.73	ab	7.11	1.11	ab
實施例 2 (767R)	4.79	1.45	ab	7.82	0.51	ab
實施例 3 (603)	3.04	1.28	a	5.82	1.93	a
實施例 4 (547)	4.99	0.29	ab	8.1	0.32	ab

t-test 在不同符號間是具有顯著差

【0053】 如第 7 表所示，實施例中添加青貯料添加用乳酸菌製劑的青貯料的任一者與比較例相較，受到抑制但其效果並不大。開封後第 3 日的酵母數也是同樣。

【0054】 <8. 青貯料調製用粉末的效果試驗(II)(15℃發酵青貯料的試驗)>

對於在低溫時的青貯料調製發生的 2 次發酵，實施本發明品的抑制效果的再試驗。

(1) 試驗品

使用實施例 1 至 3 的粉末及比較例 1 的粉末而調製青貯料並確認效果。

再者比較例 2 是使用為本發明使用的廸氏乳桿菌的標準菌株 JCM 12183 菌株(理化學研究所生物資源中心提供菌株)同樣調製者而調製青貯料。

【0055】 (2) 試驗方法

青貯料的調製是與 7.的試驗同樣實施，在低溫地域的青貯料發酵條件的 15℃ 保存 2 個月而調製青貯料。2 個月後開封並實施開封後的二次發酵試驗。即，將開封後達到 30℃ 的時間，與 7.的試驗同樣測定。

【0056】 (3) 試驗結果

3 支瓶達到 30℃ 的時間的平均值示於第 9 圖。

無添加、比較例 1 是在約 30 小時達到 30℃。比較例 2 是在 39 小時達到 30℃。另一方面實施例 1 至 3 達到 30℃ 是經過 50 小時以上的結果。即，本發明的青貯料添加劑是抑制低溫調製的青貯料的 2 次發酵，其效果較公知的青貯料調製用菌株的布氏乳桿菌 NK-01 及廸氏乳桿菌的標準菌株的 JCM 12183 菌株更優異。

本發明的青貯料調製用乳酸菌製劑抑制青貯料中酵母

的增殖，抑制因二次發酵的青貯料的溫度上昇，抑制開封後的青貯料的品質降低。特別是可確認在低溫發酵的青貯料中也有高的效果。

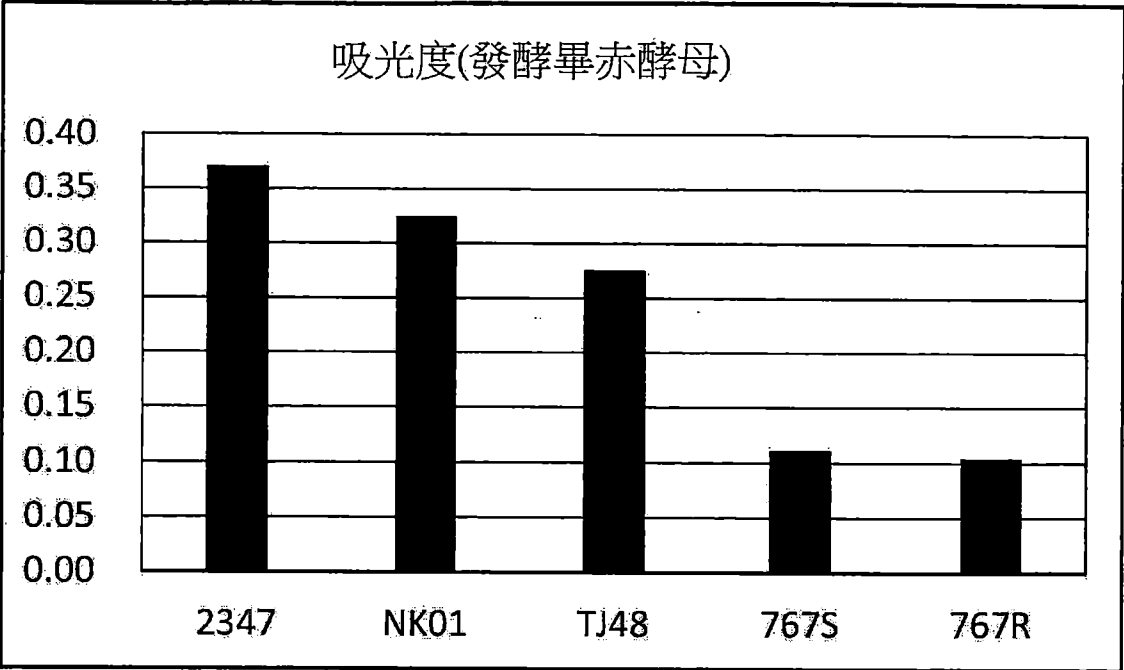
【符號說明】

無。

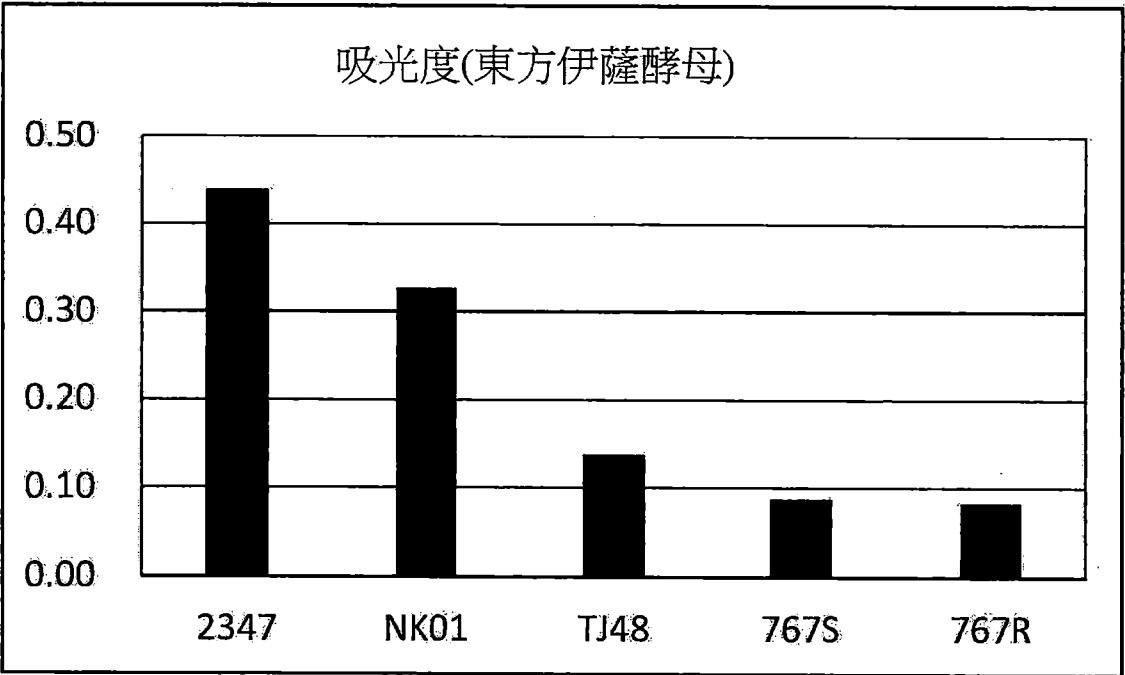
申請專利範圍

1. 一種乳酸菌株，其係青貯料調製用乳酸菌，並且其係迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0006 株 (NITE BP-02208)、迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0007 株 (NITE BP-02209)、迪氏乳桿菌 (*Lactobacillus diolivorans*) SBS-0009 株 (NITE BP-02210) 中之任一者。
2. 一種青貯料，其含有如申請專利範圍第 1 項所述的乳酸菌株。
3. 一種青貯料調製用添加劑，其含有如申請專利範圍第 1 項所述的乳酸菌株。
4. 一種青貯料的調製方法，其特徵為：於青貯料材料中添加如申請專利範圍第 3 項所述的青貯料調製用添加劑。

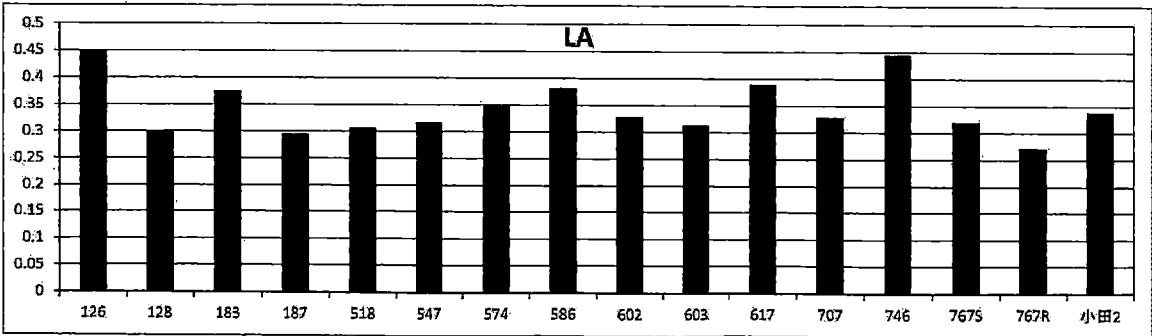
圖式



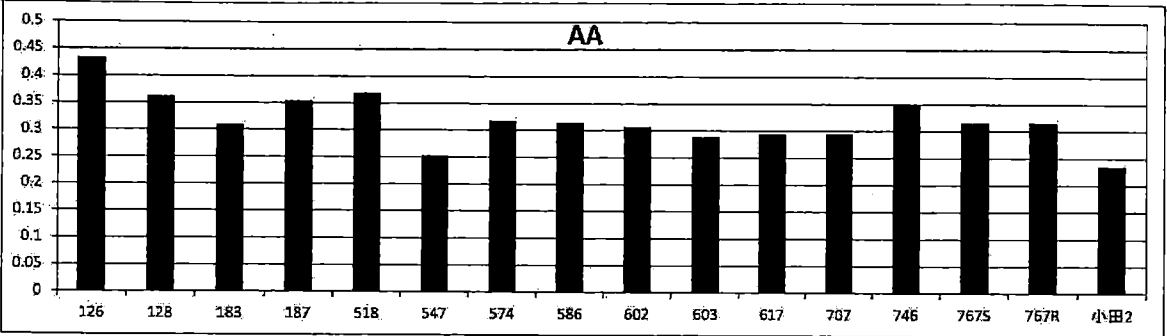
第1圖



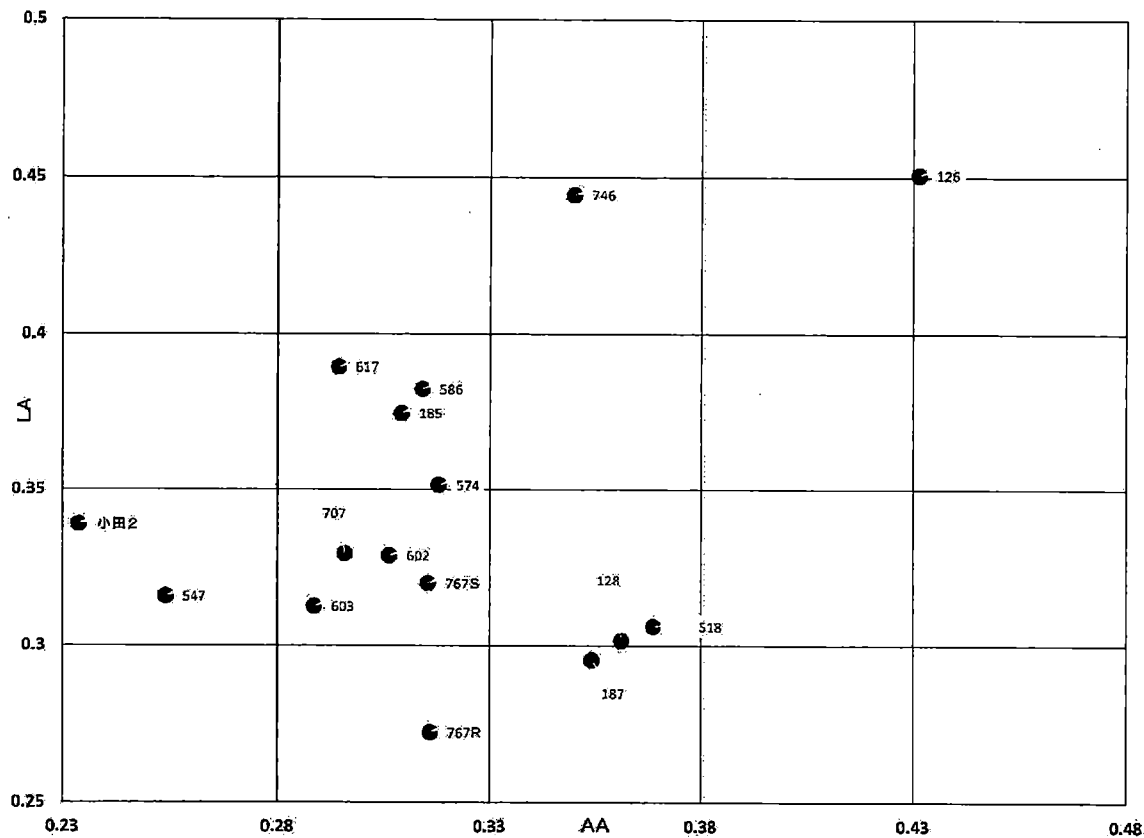
第2圖



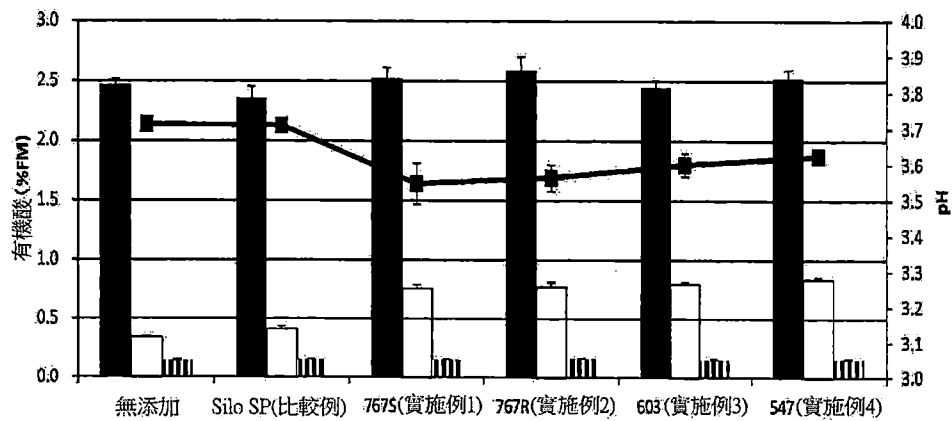
第3圖



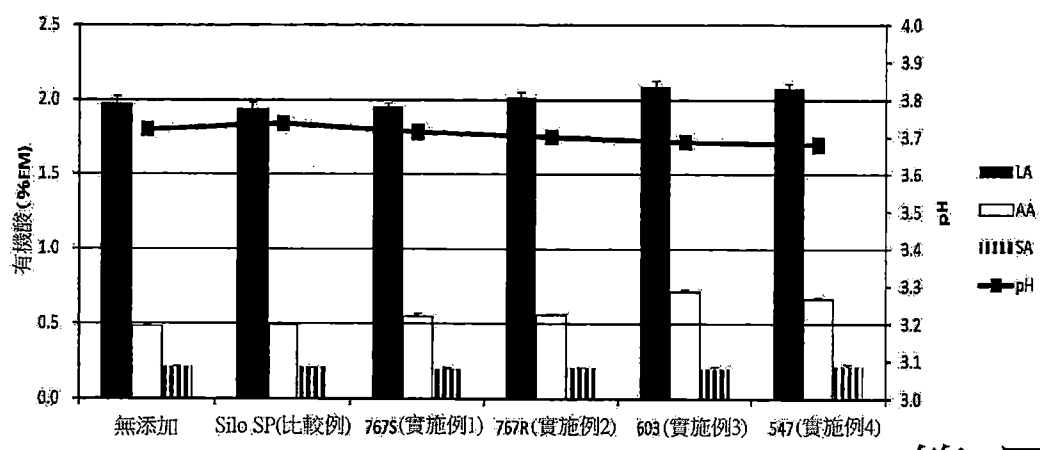
第4圖



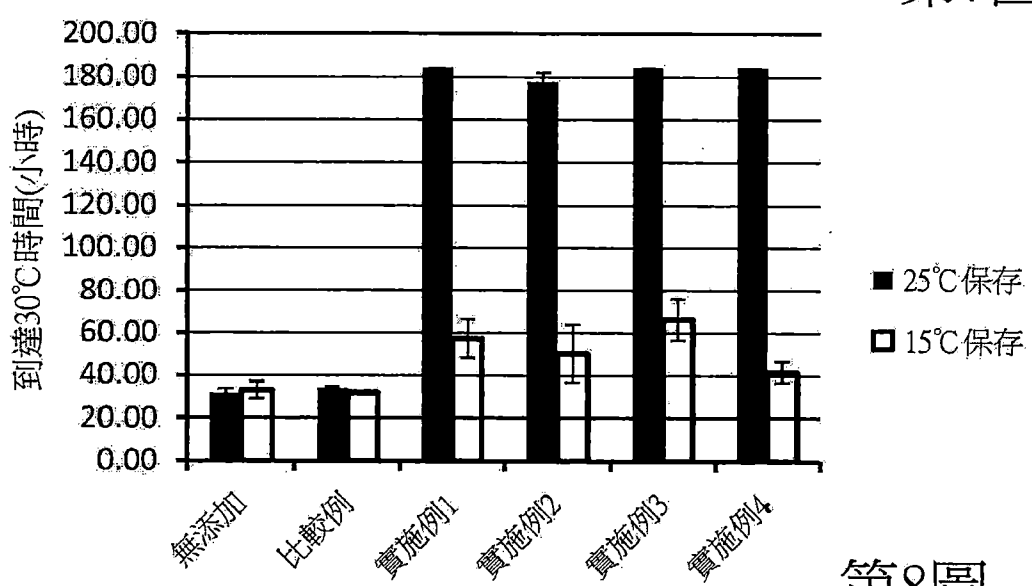
第5圖



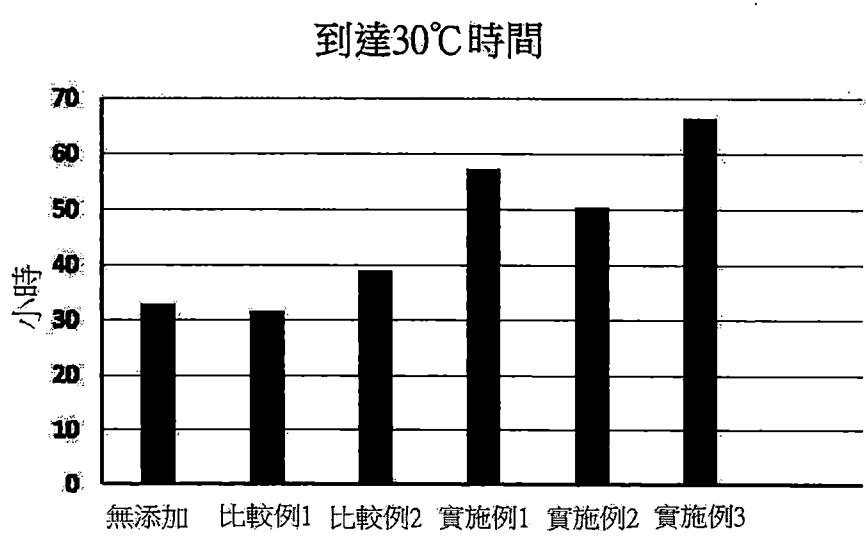
第6圖



第7圖



第8圖



第9圖