

サイレージの発酵品質と蛋白質のルーメン内分解性に及ぼす牧草の刈取時期と添加物の影響

艾尼瓦爾艾山・安宅 一夫・檜崎 昇
酪農学園大学, 江別市 069

Effects of Maturity and Additives on Fermentation and Protein Degradability of Grass Silage

Aniwaru Aisan, Kazuo Ataku, Noboru Narasaki

Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069

キーワード : ギ酸, サイレージ, セルラーゼ, 蛋白質分解性, 乳酸菌

Key words : formic acid, silage, cellulase, protein degradability, inoculant.

要 約

開花初期と開花盛期のアルファルファおよび出穂初期と出穂盛期のチモシーを用いて、無添加、*Acremonium* 由来のセルラーゼ (AC) 0.01% 添加, 乳酸菌 (LC) 0.002% 添加, AC+LC 添加およびギ酸添加 (アルファルファには 0.5%, チモシーには 0.3%) のサイレージを調製した。AC あるいは AC+LC の添加によって、サイレージの発酵が活発になり、特に AC と LC の併用による相乗効果が認められた。ギ酸添加は酸の生成を強く抑えた。CP に対する SIP と DIP の割合は、原料草、サイレージのいずれもアルファルファの方がチモシーより高かった。アルファルファサイレージの SIP の割合は、適刈りが遅刈りより高く、いずれもギ酸添加によって低くなった。また、サイレージの DIP の割合は、両草種の遅刈りで AC 添加により増加した。

緒 言

アメリカにおける乳牛に対する新しい蛋白質システムでは、粗蛋白質 (CP) は溶解性蛋白質 (SIP), 分解性蛋白質 (DIP) 及び非分解性蛋白質 (UIP) に分けられている (ROE *et al.*; 1990)。乳牛の生産を最大にし、健康にするために、CP の給与量とともに、SIP, DIP, UIP のバランスが重要であるとされている (安宅; 1993)。牧草の蛋白質はサイレージの調製中に植物の酵素や微生物によって分解されることが知られている (McDONALD *et al.*; 1991, 大山; 1970, 1971)。しかし、サイレージの SIP, DIP および UIP に及ぼすサイ

レージ発酵の影響に関する報告はほとんど見られない。

サイレージの発酵を好ましい方向に制御するために多くの添加物が研究されている。サイレージの添加物は、乳酸発酵を促進して不良発酵を抑えるタイプと直接不良発酵を抑えるタイプに分類され、それぞれ代表的なものとして、乳酸菌, 糖, セルラーゼなどとギ酸があげられる (安宅; 1986)。そこで、本実験ではセルラーゼ, 乳酸菌およびギ酸の添加が刈取時期の異なるアルファルファとチモシーの発酵品質と蛋白質のルーメン内分解性に及ぼす影響を検討した。

材料および方法

材料草には酪農学園大学附属農場で栽培されたアルファルファ (ユーバ) 1 番草の開花初期 (適刈り) と開花盛期 (遅刈り) およびチモシー (ホクセン) 1 番草の出穂初期 (適刈り) と出穂盛期 (遅刈り) を用いた。材料草は、1994 年 6 月 21 日 (適刈り) と 7 月 4 日 (遅刈り) に刈り取り、無予乾でサイレージを調製した。材料草の成分は表 1 に示した。材料草は 1 cm の長さ

表 1 材料草の成分

	水分 (%)	WSC (%DM)	CP	SIP (%CP)	DIP (%CP)	UIP
アルファルファ 適刈り	79.7	8.0	16.5	40.4	81.2	18.8
遅刈り	72.5	9.3	13.5	35.5	78.9	21.1
チモシー 適刈り	79.5	8.4	8.4	21.2	74.7	25.3
遅刈り	72.7	9.0	7.5	22.9	72.1	27.9

WSC : 可溶性炭水化物, CP : 粗蛋白質, SIP : 溶解性蛋白質, DIP : 分解性蛋白質, UIP : 非分解性蛋白質。

に切断し、所定の添加物とよく混合し、1ℓの実験サイロに2反復して詰め込んだ。添加処理は新鮮材料に対して、無添加、乳酸菌製品 (*Lactobacillus casei*, LC; 雪印種苗株式会社)0.002%添加, *Acremonium* 由来のセルラーゼ (AC; 明治製菓株式会社) 0.01%添加, LC+ACおよびギ酸添加 (アルファルファに対して0.5%, チモシーに対して0.3%)とした。サイロは室温 (18.7~26.8℃) で50日間放置した後開封し、分析に供した。

材料草とサイレージは60℃で24時間乾燥し、ウィレー式粉碎機によって1mmの篩を通るように粉碎したものを試料とした。水分と粗蛋白質は常法、可溶性炭水化物 (WSC) は Anthrone 比色法により定量した (森本; 1971)。サイレージの発酵品質は新鮮物の純水抽出液を用いて、pHはガラス電極 pHメーターにより測定し、NH₃-Nは水蒸気蒸留法、有機酸はガスクロマトグラフィー (島津GC-14A型, 検出機: FID, カラム: 1.6m ガラス製, 昇温: 120→190℃, 5℃/分, 充填剤: PEG 6000)により定量した。SIPとDIPはコーネル大学で用いられている方法に準じて測定し、UIPはCPからDIPを減じて求めた (ROE *et al.*; 1990)。

結 果

1. サイレージの発酵特性

アルファルファおよびチモシーサイレージの発酵品質をそれぞれ表2と表3に示した。

pH: pHは、アルファルファでは、適刈りと遅刈りとも、無添加に比べ、ACの単独添加によって有意に低下し (P<0.05), LCとACを併用添加するとさらに低くなった (P<0.01)。ギ酸添加でも低下の傾向がみら

れた。全体的に適刈りの方が遅刈りより低い値であったが、ギ酸添加では逆であった。

本実験で用いた各種添加物によるチモシーサイレージのpHの変化はアルファルファとほとんど同じであった。

乳酸含量: 乳酸含量は、両草種において、無添加では低いが、LC (アルファルファの遅刈を除く) およびACの単独添加によって有意に高くなり (P<0.05), LC+AC添加によってさらに高い値となった (P<0.01)。一方、ギ酸添加では最も低い値となった。また、例外もあるが、適刈りが遅刈りより高い傾向がみられた。

酢酸含量: 酢酸含量は、アルファルファでは、適刈りと遅刈りとも、無添加に比べ、LCとACの単独添加およびLC+AC添加によって高くなり、適刈りで有意差がみられた (P<0.05)。ギ酸添加では、適刈りで有意に低下したが (P<0.05), 遅刈りではやや高くなった。

一方、チモシーの適刈りでは無添加に比べ、各処理とも有意に低下したが (P<0.01), 他の処理間に有意差はなかった。遅刈りでは、無添加に比べ、LCとACの単独添加によって有意に高くなった (P<0.01)。LCとACの単独添加では遅刈りが適刈りに比べて高い値であったが、他の処理では逆に低い値となった。

酪酸含量: アルファルファでは、適刈りと遅刈りとも無添加では多量の酪酸がみられたが、AC添加, LC+AC添加およびギ酸添加によってほとんどなくなり、適刈りでは有意差がみられた (P<0.01)。LC添加では、適刈りでは有意に低下したが (P<0.01), 遅刈りでは効果がなかった。

一方、チモシーでは、無添加の適刈りだけに多量の

表2 アルファルファサイレージの発酵品質

	水分 (%)	pH	乳酸	酢酸	プロピオン酸	i-酪酸	n-酪酸	i-バレリアン酸	n-バレリアン酸	i-カプロン酸	n-カプロン酸	総酸	フリーク 評点
適刈り													
無添加	80.8 ^{ABab}	4.79 ^{Bc}	0.96 ^{Bb}	0.28 ^{ABb}	0.02	0	0.47 ^B	0	0	0	0	1.73 ^{Bb}	34 ^B
LC	80.9 ^{ABab}	4.34 ^{ABb}	2.11 ^{Cd}	0.42 ^{Bc}	0.03	0.05	0.02 ^A	0	0	0	0.01	2.61 ^{Bc}	79 ^C
AC	82.6 ^{Bc}	4.18 ^{Aab}	1.66 ^{Cc}	0.91 ^{Cd}	0.04	0	0 ^A	0.02	0	0	0	2.63 ^{Bc}	75 ^C
LC+AC	82.1 ^{Bbc}	3.90 ^{Aa}	3.27 ^{De}	0.44 ^{Bc}	0.01	0.01	0.01 ^A	0	0	0	0	3.73 ^{Cd}	100 ^D
ギ酸	79.8 ^{Aa}	4.47 ^{ABbc}	0.18 ^{Aa}	0.13 ^{Aa}	0.02	0.01	0.07 ^A	0.01	0.01	0	0.02	0.44 ^{Aa}	18 ^A
SE	0.25	0.072	0.077	0.020	0	0.012	0.045	0	0	0	0.010	0.131	1.1
遅刈り													
無添加	76.2 ^{ab}	5.89 ^{Bc}	0.42 ^{Aa}	0.17	0.06	0.01	0.86	0.01	0	0	0.16	1.77 ^{Bb}	11 ^{Aa}
LC	76.7 ^b	5.33 ^{ABbc}	0.67 ^{Aa}	0.39	0.1	0	0.67	0.09	0	0	0.08	2.00 ^{Bbc}	18 ^{Aa}
AC	75.9 ^{ab}	4.23 ^{ABb}	0.81 ^{ABb}	0.44	0.02	0.02	0.02	0.01	0.1	0.01	0.01	2.33 ^{Bc}	80 ^{ABb}
LC+AC	75.8 ^{ab}	4.03 ^{Aa}	0.67 ^{Bb}	0.46	0.05	0.01	0.01	0.01	0	0	0	3.20 ^{Cd}	99 ^{Bb}
ギ酸	74.5 ^a	4.39 ^{ABb}	0.23 ^{Aa}	0.23	0.03	0	0.01	0.01	0	0.01	0	0.51 ^{Aa}	22 ^{ABa}
SE	0.33	0.215	0.191	0.112	0.014	0	0.169	0.042	0	0	0.036	0.086	9.2

ABC: 異文字間 P<0.01, abcd: 異文字間 P<0.05

SE: 平均値の標準誤差

表3 チモシーサイレージの発酵品質

	水分 (%)	pH	乳酸	酢酸	プロピオン酸	i-酪酸	n-酪酸	i-バレリアン酸	n-バレリアン酸	i-カプロン酸	n-カプロン酸	総酸	フリーク評点
適刈り													
無添加	82.6 ^{Bc}	5.14 ^B	0.32 ^{Aa}	0.37 ^B	0.11	0.38	0.70 ^B	0	0.01	0	0.04	1.92 ^{ABb}	5 ^{Aa}
LC	81.3 ^{ABab}	3.88 ^A	1.63 ^{ABb}	0.13 ^A	0	0	0.06 ^A	0.08	0	0	0	1.90 ^{ABb}	78 ^{ABbc}
AC	82.1 ^{ABbc}	3.49 ^A	2.52 ^{BCbc}	0.19 ^A	0.01	0	0 ^A	0	0.02	0	0	2.74 ^{BCbc}	100 ^{Bc}
LC+AC	82.4 ^{ABbc}	3.44 ^A	3.37 ^{Cc}	0.20 ^A	0.02	0	0.01 ^A	0.01	0	0	0	3.61 ^{Cc}	100 ^{Bc}
ギ酸	80.8 ^{Aa}	4.74 ^B	0.28 ^{Aa}	0.14 ^A	0.02	0.01	0.13 ^A	0	0	0	0.02	0.58 ^{Aa}	29 ^{ABab}
SE	0.20	0.081	0.171	0.200	0	0	0.035	0.037	0.007	0	0.007	0.165	9.8
遅刈り													
無添加	74.3 ^{ABab}	5.35 ^C	0.49 ^A	0.11 ^A	0.02	0	0	0	0	0	0.15	0.78 ^{Ab}	40 ^a
LC	75.1 ^{Bb}	4.22 ^B	1.35 ^{BC}	0.32 ^B	0.03	0.01	0.04	0	0	0	0.03	1.78 ^{Bc}	67 ^{ab}
AC	75.2 ^{Bb}	4.11 ^B	1.06 ^B	0.58 ^C	0.02	0.01	0	0	0	0	0	1.66 ^{Bc}	77 ^{ab}
LC+AC	74.8 ^{ABb}	3.57 ^A	2.28 ^D	0.14 ^A	0	0	0	0.01	0	0.01	0.02	2.45 ^{Cd}	90 ^b
ギ酸	73.0 ^{Aa}	4.16 ^B	0.26 ^A	0.06 ^A	0.01	0	0	0.01	0	0	0	0.33 ^{Aa}	87 ^b
SE	0.24	0.025	0.053	0.019	0	0	0	0	0	0	0.019	0.058	8.3

表4 アルファルファおよびチモシーサイレージにおける蛋白質分解性

	アルファルファ					チモシー				
	CP (%DM)	NH ₃ -N*	SIP	DIP (%CP)	UIP	CP (%DM)	NH ₃ -N*	SIP	DIP (%CP)	UIP
適刈り										
無添加	17.2 ^{ab}	13.2 ^{Bc}	80.6 ^B	83.8	16.2	8.0 ^a	25.2 ^B	74.6 ^{Bcd}	75.8	24.2
LC	17.0 ^{ab}	10.3 ^{ABb}	79.0 ^B	83.7	16.3	8.9 ^b	6.4 ^A	64.0 ^{Bbc}	80.2	19.8
AC	18.6 ^b	10.2 ^{ABb}	79.3 ^B	83.9	16.1	8.7 ^{ab}	5.5 ^A	78.0 ^{Bd}	79.0	21.0
LC+AC	18.2 ^b	8.7 ^{ABab}	77.5 ^B	85.1	15.0	8.6 ^{ab}	4.4 ^A	61.6 ^{Bb}	79.4	20.6
ギ酸	16.5 ^a	3.8 ^{Aa}	61.0 ^A	84.8	15.2	8.4 ^{ab}	4.4 ^A	44.3 ^{Aa}	80.1	19.9
SE	0.29	1.02	1.01	0.57	0.57	0.14	0.92	1.99	0.83	0.82
遅刈り										
無添加	13.8	19.4 ^B	74.0 ^B	80.4 ^{ab}	19.6 ^{bc}	7.7	12.1 ^{Bd}	68.7 ^B	77.3 ^{ab}	22.7 ^{ab}
LC	14.1	18.7 ^B	74.3 ^B	80.8 ^{abc}	19.2 ^{abc}	7.8	8.7 ^{Bc}	69.2 ^B	77.3 ^{ab}	22.8 ^{ab}
AC	14.5	5.5 ^A	72.2 ^B	83.4 ^c	16.6 ^a	8.0	5.1 ^{Ab}	68.8 ^B	80.1 ^b	19.9 ^a
LC+AC	14.8	5.6 ^A	71.8 ^B	82.8 ^{bc}	17.2 ^{ab}	7.8	4.2 ^{Ab}	65.5 ^B	78.5 ^{ab}	21.6 ^{ab}
ギ酸	13.9	1.9 ^A	61.8 ^A	79.7 ^a	20.3 ^c	7.3	1.5 ^{Aa}	54.2 ^A	76.9 ^a	23.1 ^b
SE	0.31	0.95	0.62	0.52	0.52	0.15	0.42	0.82	0.51	0.51

*：全窒素に対する割合 (%)

酪酸がみられたが、その他の処理では著しく低下あるいはなくなった。

フリーク評点：フリーク評点は、アルファルファでは、適刈りと遅刈りとも AC の添加によって有意に高くなり (P<0.05), LC と併用するとさらに高くなった。

一方、チモシーでは、適刈りの無添加では5点と最も低かったが、LC の添加によって有意に高くなり (P<0.05), AC 添加および LC+AC 添加では100点と最高点となった (P<0.01)。遅刈りでも添加物によって適刈りと同じように変化した、適刈りほど顕著ではなかった。

2. 蛋白質の分解性

アルファルファおよびチモシーサイレージの蛋白質のルーメン内分解性を表4に示した。

NH₃-N：全窒素に対する NH₃-N の割合は、いずれの草種および刈取時期 (アルファルファの遅刈りを除く) においても、無添加に比べ、LC と AC の単独添加によって有意に低下し (P<0.05), そして両者の併用添加によってさらに低くなり (P<0.01), ギ酸添加で最も低くなった (P<0.01)。

SIP：CP に対する SIP の割合は、いずれの草種と刈取時期においても、ギ酸添加は他の処理より有意に低下した (P<0.01)。チモシーの適刈りでは、無添加に比べ LC+AC 添加によって有意に低下した (P<

0.05). また, LC, LC+AC と AC 添加間に ($P<0.05$) およびそれらとギ酸添加の間に ($P<0.01$) それぞれ有意差がみられた。

DIP:CP に対する DIP の割合は, アルファルファの適刈りでは各処理間に有意差はなかったが, 遅刈りでは, AC 添加で最も高くなり, 無添加およびギ酸添加よりも有意に高くなった ($P<0.05$). また, チモシーの適刈りにおいてもアルファルファと同様に処理間に差はなかったが, 遅刈りの AC 添加で最も高くなり, ギ酸添加との間に有意差が認められた。

考 察

サイレージの発酵品質に及ぼす乳酸菌添加について, MUCK *et al.* (1993) はアルファルファ, 寒地型イネ科牧草およびトウモロコシサイレージの約3分の2が発酵改善に成功していないと述べている。本実験では, サイレージの発酵品質を pH, 有機酸組成および $\text{NH}_3\text{-N}$ 比率で評価すると, アルファルファの遅刈りに対して効果はなかったが, アルファルファの適刈りとチモシーサイレージの品質改善に対して乳酸菌添加の効果が認められた。本実験では, 刈取時期の異なるアルファルファとチモシーに対して AC を 0.01% 添加すると, ほぼ確実に良質のサイレージができた。これに対し, LC と AC を併用添加するとその効果はさらに著しくなった。この結果は, ギニアグラス (BAYORBOR *et al.*; 1993) での結果と類似している。本実験のギ酸添加では, いずれの草種あるいは刈取時期においても, 酸の生成が強く抑制され, pH が低い, 良質のサイレージができた。これはアルファルファの2番草 (ATAKU *et al.*; 1995) での結果と類似している。

本実験において, CP に対する SIP と DIP の割合は, 原料草, サイレージのいずれにおいてもアルファルファがチモシーよりも高いことを認めた。McDONALD *et al.* (1991) は, 草種による蛋白質の分解性の差異は十分に明らかになっていないとしているが, アメリカ北東部酪農家で生産されたサイレージのデータは, アルファルファサイレージの DIP は 80~90%, SIP 45~60% に対し, イネ科牧草サイレージではそれぞれ 70~80%, 40~55% であり, いずれもアルファルファが高く (CHASE and PELL; 1991), 本実験の結果はこれと一致している。刈取時期の影響では, 原料草はチモシーの SIP を除いて, 適刈りが遅刈りよりも高い値を示した。しかし, アルファルファサイレージでは, SIP と DIP の割合は, 添加物にかかわらず適刈りが遅刈りよりも高かったが, チモシーでは添加物によって刈取時期の影響が異なった。添加物の影響では, SIP の割合は, いずれの草種および刈取時期においてもギ酸添加によって有意に低下した。ATAKU *et al.* (1995) は, アルファルファ2番草のサイレージにおい

て, ギ酸添加は無添加より SIP と DIP の割合が有意に低下することを報告しており, 本実験の結果はこれを支持している。一方, LC はチモシー適刈りで SIP を低下させ, AC は, 両遅刈りサイレージの DIP を増加させたが, それ以外で効果は認められなかった。また, PITT and SHAVER (1990) は, 蛋白質の溶解性は, 植物酵素, いわゆるプロテアーゼ的作用によって起こり, 植物の収穫後, 調製中に劇的に増加し, その程度は, 草種や貯蔵条件などによって左右されるとしているが, 本実験ではこれを支持するような結果は得られなかった。

本研究において, サイレージの発酵を添加物を使って制御することによって蛋白質の分解性を変化させることができることが示唆されたが, さらに, これを牧草の種類, 刈取時期, 水分, 添加物との関連において詳しく検討する必要があると考える。

引用文献

- 安宅一夫, (1986) サイレージバイブル, 77-90. 酪農学園出版部.
- 安宅一夫・上條守広・植崎昇, (1992) サイレージ品質に及ぼす乳酸菌と *Acremonium* セルラーゼ添加による相乗効果. 日草誌 (別号), 48: 251-252.
- 安宅一夫, (1993) 90年代の酪農技術, 117-125. 酪農学園大学エクステンションセンター.
- ATAKU, K., L. E. CHASE and M. VIRRKI, (1995) Effect of addition of formic acid and Ensimax on fermentation of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*, 78 (Supplement 1): 356.
- ATAKU, K., E. NO and N. NARASAKI, (1993) Effects of the addition of cellulase from *acremonium cellulolyticus* on silage fermentation. *Silage Research* 1993, 764-773.
- BAYORBOR, T. B., S. KUMAI, R. FUKUMI and I. HATTORI, (1993) Effects of *acremonium* cellulase and lactic acid bacteria inoculant on the fermentation quality and digestibility of guineagrass silages. *J. Japan. Grassl. Sci.* 39: 317-325.
- CHASE, L. E and A. N. PELL, (1991) Balancing dairy ration using the NSC/DIP concept. *Feed Dealer Seminars*, Cornell University. 19-24.
- 森本 宏監修, (1971) 動物栄養実験法. 第 I 版. 養賢堂. 東京.
- McDONALD, P., A. R. HENDERSON and S. J. E. HERON, (1991) *The Biochemistry of Silage* (second edition). 250-293. Chalcombe Publications.
- MUCK, R. E, (1993) *Silage Production*. 105-116. NRAES. Ithaca, NY.
- ROE, M. B., C. J. SNIFFEN and L. E. CHASE, (1990) *Techniques for measuring protein fractions in*

feedstuffs. 1990 Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.
81-89.

PITT, R. E and R. D. SHAVER, (1990) Dairy Feeding
Systems. 72-87. NRAES.

大山嘉信, (1970) 牧草蛋白質の自己分解について. 日

畜会報, 41 : 585-592.

大山嘉信・柁木茂, (1971) 蛋白質添加及び空気導入処
理を行ったサイレージにおける蛋白質の分解過程.

日畜会報, 42 : 318-325.