

牧草のサイレージ化にともなう構造的炭水化物の分解と消化率の変化およびそれに与える添加剤の影響

ブランダ ローラデス ノエミ・藤田 裕・松岡 栄
帯広畜産大学, 畜産管理学科, 帯広市 080

Breakdown of structural carbohydrates and changes in their digestibility during ensiling process of grass with or without commercial additive

Lourdes Noemi BRANDA, Hiroshi FUJITA and Sakae MATSUOKA

Department of Animal Production and Agricultural Economics,
Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine,
Obihiro-shi 080

キーワード：サイレージ, 牧草, 構造的炭水化物, 分解, 消化率

Key words: silage, grass, structural carbohydrates, breakdown, digestibility

要 約

アルファルファとチモシーの混播草を供試して、サイレージ貯蔵中(35日間)の構造的炭水化物の分解の程度と消化率の変化を調べるとともに、添加剤の影響を検討した。サイレージ(水分含量:75%)貯蔵中のヘミセルロース、セルロース、ペクチンの分解率は、それぞれ18%、2%、10%であり、市販の酵素(セルラーゼ)製剤の添加はこれら成分の分解を促進した。これに対し、乳酸菌製剤の添加はヘミセルロースの分解を強く抑制した。無処理および乳酸菌添加サイレージの構造的炭水化物の消化率は原料草との間に大きな差はなかったが、酵素製剤の添加は消化率を低下させる傾向がみられた。

緒 言

サイレージの栄養価は、原料草の成分と貯蔵中の発酵の良否に一義的に左右される。この観点から、サイレージ発酵過程において、どの成分が基質として分解、利用され、どのような役割を演じているかについて多くの研究が行われている(大山;1971)。

一般に、サイレージ発酵過程において基質として分解、利用されるおもな成分は可溶性炭水化物(WSC)を中心とした非構造的炭水化物であるとされ、構造的炭水化物についてはあまり注目されてこなかった。しかし、ヘミセルロースがサイレージ発酵において、かなりの程度で分解、利用されたとする報告もあり(McDONALD *et al.*; 1960, McDONALD *et al.*; 1962,

DEWAR *et al.*; 1963), また、最近、酵素を詰め込み時に添加することにより、ヘミセルロース、セルロースを積極的に分解させ、発酵基質として利用させようとする試みもなされている(McDONALD *et al.*; 1991)。これらのことは、構造的炭水化物もサイレージ発酵において重要な役割を演じていることを示唆しているものと考えられるが、現在のところ、その様相は完全に明らかにはされていない。

本実験は、牧草のサイレージ化にともなう構造的炭水化物の分解の程度とそれに及ぼす添加剤の影響を調べるとともに、消化率との関係も検討した。

材料および方法

サイレージの調製

軽く予乾したアルファルファとチモシーの混播、一番草を供試した。約1tの材料草を5等分し、1つは直ちに冷凍保存した(-10℃)。以降、これを原料草とよぶ。残り4つには、以下の処理を施し、サイレージを調製した。すなわち、3つには、市販の乳酸菌製剤、酵素(セルラーゼ)製剤、乳酸菌と酵素を混合した製剤をそれぞれ添加し、1つは無添加とした。以降、それぞれ乳酸菌区、酵素区、混合区、対照区とよぶ。これらの処理草をそれぞれ3個の90ℓ容ポリ製容器に詰め込み(50~60kg)、35日間貯蔵した。なお、乳酸菌製剤は *Lactobacillus casei* からなるものであり、酵素製剤は *Trichoderma* 属菌由来のセルラーゼからなるものである。これら添加剤は、処方推奨量に従い、前者は材料草1kgあたり4mg、後者は材料草1kgあたり50mgの割合で供試した。

貯蔵中の成分消失率の計算

貯蔵中の成分の消失率は以下のとおり算出した。すなわち、材料草の詰め込み量と成分含量から詰め込んだ成分量(A)を求め、また、35日間貯蔵後のサイレージの取り出し量と成分含量から取り出した成分量(B)を求め、 $(A-B)/A \times 100$ の式より計算した。

消化試験

上記の原料草と4つのサイレージについて(5試験期)、サフォーク種去勢雄めん羊4頭(平均体重:52.2 kg)を用いて、5×4のユーデン方格法により消化試験を行った。試験は全糞採取法により行い、予備期5日間、糞採取期5日間とした。給与量は、乾物で代謝体重(kg^{0.75})当たり45 g/日とし、朝と夕の2回、1日分の半量ずつを給与した。水は自由飲水とし、ミネラルブロックを常備した。

分析方法

原料草、サイレージおよび糞の一般成分の分析は常法どおり行った。ただし、原料草とサイレージの水分含量は凍結乾燥により求めた。ADFはVAN SOEST (1963)の方法、NDFはVAN SOEST and WINE (1967)の方法により定量し、ヘミセルロースはNDF-ADFの計算値とした。エネルギーは自動熱量計(燃研式)を用いて測定した。原料草とサイレージのセルロースはCRAMPTON and MAYNARDの方法(阿部;1971)、可溶性炭水化物(WSC)はアンスロン法(梶木;1971)、ペクチンは塩酸による抽出液(KING;1987)についてカーバゾール法(TAYLOR and BUCHANAN-SMITH;1992)により定量した。サイレージのアンモニアは微量拡散法(CONWAY and O'MALLEY;1942)、乳酸はBARKER and SUMMERSON (1961)の方法により定量

し、VFAはガスクロマトグラフィーを用いて測定した。

結 果

原料草とサイレージの化学成分含量は表1のとおりである。

サイレージの可溶無窒素物、ヘミセルロースの含量は全体として原料草より低い傾向にあり、WSCの含量は著しく低かった。これに対して、脂肪含量は高い傾向にあった。構造性炭水化物の含量をサイレージの処理間で比較してみると、酵素区と混合区は対照区より低い傾向がみられたが、乳酸菌区は対照区との間に大きな差はみられなかった。

サイレージの発酵品質は表2のとおりである。

対照区に比べ、酵素区と混合区のpHは有意に低く、乳酸含量は有意に高かった。乳酸菌区のアンモニア含量は対照区より有意に高かった。酪酸はいずれのサイレージにおいても検出されなかった。

貯蔵中の乾物、構造性炭水化物、WSCの消失率は表3のとおりである。

乾物の消失率には、処理間に有意な差はなかった。構造性炭水化物の消失率についてみると、全体として、酵素区と混合区は対照区より高い傾向にあり、その差は酵素区のADFとセルロースにおいて有意であった。これに対し、混合区のWSC消失率は対照区より有意に低かった。

原料草とサイレージの消化率は表4のとおりである。

粗脂肪の消化率は、すべてのサイレージにおいて原料草より有意に高かったが、可溶無窒素物の消化率は、

Table 1 Chemical composition of grass and subsequent silages (%)

	Grass	Silages			
		Control	Bacteria	Enzyme	Mixture
Moisture	73.7	75.0	75.9	77.1	77.6
Crude protein	15.5	16.1	16.3	16.8	17.5
Crude fat	2.7	3.7	3.6	4.0	4.1
Crude fiber	32.0	33.8	33.8	32.4	31.6
N-free extract	42.4	38.9	38.7	39.3	39.3
Crude ash	7.3	7.5	7.6	7.6	7.5
ADF	39.5	41.7	41.9	40.1	39.3
NDF	58.3	59.1	59.7	56.7	55.2
Hemicellulose	18.8	17.4	17.8	16.6	15.9
Cellulose	32.0	33.2	33.1	31.0	30.3
Pectin	5.9	5.7	5.7	5.4	5.3
WSC	4.0	0.9	0.8	1.0	1.0
Gross Energy (cal/g)	4,387	4,454	4,408	4,497	4,486

Moisture is expressed in fresh matter, other values are in dry matter basis.

Control: untreated, Bacteria: inoculated with lactic bacteria, Enzyme: treated with cellulase.

Mixture: treated with a mixture of lactic bacteria and enzyme.

Table 2 Fermentation characteristics of the silages

	Control	Bacteria	Enzyme	Mixture	SE
pH	4.14	4.19	3.91**	3.92**	±0.01
Organic acid (Dry matter %)					
Lactic acid	7.3	7.1	9.6**	9.0**	±0.15
Acetic acid	2.2	2.6	2.6	2.5	±0.21
Butyric acid	—	—	—	—	
Ammonia N (% Total-N)	9.7	10.7*	10.5	10.3	±0.18

Values in the same row with superscript are significantly different with control (**P<0.01, *P<0.05).
SE: Standard error

Table 3 Disappearance of dry matter, structural carbohydrates and water soluble carbohydrates during the ensiling period (%)

	Control	Bacteria	Enzyme	Mixture	SE
Dry matter	5.4	4.5	5.4	3.6	±0.43
NDF	6.4	0.9**	9.2	8.1	±0.47
ADF	0.7	-1.0	4.5*	3.2	±0.64
Hemicellulose	17.9	5.3**	19.0	18.2	±0.85
Cellulose	2.2	3.2	8.3**	6.2	±0.50
Pectin	10.0	9.0	14.2	12.7	±0.97
WSC	79.4	79.9	77.0	76.2**	±0.47

Values in the same row with superscript are significantly different with control (**P<0.01, *P<0.05).
SE: Standard error

Table 4 Digestibility of grass and silages (%)

	Grass	Silages				SE
		Control	Bacteria	Enzyme	Mixture	
Dry matter	60.8	59.5	60.1	59.1	60.4	±0.83
Organic matter	62.1	60.8	61.4	60.6	62.0	±0.78
Crude protein	69.8	71.7	71.7	71.4	73.3	±0.87
Crude fat	52.8	62.2**	62.8**	65.0**	66.2**	±0.96
Crude fiber	60.8	61.2	61.7	58.8	58.9	±1.03
N-free extract	60.8	55.8**	56.6**	57.0*	58.9	±0.73
ADF	56.3	54.9	56.7	54.5	54.6	±1.19
NDF	60.5	58.9	60.2	56.7	57.6	±0.98
Hemicellulose	68.9	67.8	68.1	62.1**	65.2	±1.37
Energy	59.4	58.6	59.0	58.9	60.2	±0.78

Values in the same row with superscript are significantly different with grass; (**P<0.01, *P<0.05).
The difference was not significant among treated silages.
SE: Standard error

対照区, 乳酸菌区, 酵素区において有意に低かった。粗繊維, ADF, NDF, ヘミセルロースの消化率についてみると, 全体として, 酵素区と混合区は原料草に比べ低い傾向にあり, 酵素区のヘミセルロースの差は有意であった。

なお, サイレージでは, すべての成分の消化率において処理間に有意な差はなかった。

考 察

牧草中の構造的炭水化物には, ヘミセルロース, セルロース, ペクチンが分類されている。このうち, サイレージ発酵過程においてかなりの程度で分解されることが示されているのはヘミセルロースである (McDONALD *et al.*; 1960, McDONALD *et al.*; 1962,

DEWAR *et al.*; 1963). 牧草中のヘミセルロース含量は品種、生育段階により異なるが、CZERKAWSKI (1986) は、イネ科牧草で20%、マメ科牧草で7%という平均値を示している。本実験で用いた原料草の含量は19%であり、35日間の貯蔵中のその分解率は18%であった(対照区)。McDONALD *et al.* (1962) は、イタリアンライグラス(貯蔵期間111日)とオーチャードグラス(貯蔵期間84日間)で、その分解率はともに約30%であったと報告している。貯蔵中にヘミセルロースを分解する要因として、(1)植物体自身が持っている酵素による分解、(2)微生物による分解、(3)生産された酸による加水分解があげられている(DEWAR *et al.*; 1963)。これらの要因の分解に対する寄与率については明らかにされていないが、(3)の要因が働いているとすれば、サイレージの貯蔵期間が分解率を左右することになり、これが本実験の分解率がMcDONALD *et al.* (1962)の値より低かったことの一因となっている可能性がある。

セルロースの分解率は、ヘミセルロースに比べると、非常に小さく、本実験では2%であり(対照区)、McDONALD *et al.* (1962) は、イタリアンライグラスで5%、オーチャードグラスで4%であったと報告している。

牧草のペクチン含量は、マメ科で6%、イネ科で2%程度であるが(CZERKAWSKI; 1986)、サイレージとしても利用されるビートパルプには23%含まれている(田中ら; 1995)。本実験の原料草のペクチン含量は6%であり、貯蔵中の分解率は10%であった(対照区)。SUZZI *et al.* (1987) は、一般酪農家からのビートパルプサイレージを調査して、多くの試料にペクチン分解性微生物(pectolytic clostridia)が存在していることを確認し、さらに、この微生物をビートパルプに接種してサイレージを調製したところ、ビートパルプの組織が崩れていたと報告している(分解率は示されていない)。このことは、サイレージ貯蔵中に、微生物によるペクチン分解が起きることを示すものである。しかし、上述の(1)と(3)の要因をペクチンについて検討した報告はみられない。

最近、セルラーゼ、ヘミセルラーゼなどの酵素がサイレージの添加剤として市販されている。この目的は、構造的炭水化物を積極的に分解させ、それを発酵基質として利用させ、サイレージの品質を向上させようとするところであり(McDONALD *et al.*; 1991)原料草にWSC含量が少ないときに、とくに効果が表れるとされている。本実験において、酵素の添加は、構造的炭水化物の分解を促進し、とくにセルロースにおいて著しかった。そして、サイレージの発酵品質は、pH、乳酸含量からみて、有意に向上していた。ちなみに、本実験に用いた原料草のWSCの含量は4%であった。WSC含量は、チモシーで11%、アルファルファ(開

花初期)で5%という数値が示されているが(McDONALD *et al.*; 1991)、これらの数値からみて、本実験の原料草の含量が低かったが、これは、作業の都合により、原料草を予乾、細切後、一晚屋外に放置したため、この間にWSCが消失したことによるものと思われる。一方、乳酸菌の添加はヘミセルロースの分解率を著しく低下させた。これは、乳酸菌がヘミセルロース分解性微生物の活動を抑制した結果の可能性(McDONALD *et al.*; 1991)もあるが、この点については、さらにデータを集積してから考察したい。

本実験では、セルロースとペクチンの消化率は求めなかった。そこで、ヘミセルロースと構造的炭水化物に関連しているとされる粗繊維、ADF、NDFの消化率についてみると、全体として、対照区と乳酸菌区は原料草との間に大きな差はみられなかったが、酵素区と混合区では、原料草より低下する傾向がみられた。酵素添加の目的には、上述の目的の他に、酵素により構造的炭水化物の部分分解を起こさせ、その消化率を向上させることにもある(McDONALD *et al.*; 1991)とされている。しかし、本実験では、そのような効果はみられず、むしろ負の効果が示され、野中ら(1995)の報告と一致した。

以上、本実験では、サイレージ貯蔵中にヘミセルロース、セルロース、ペクチンがそれぞれ18%、2%、10%分解され、この程度の分解では、構造的炭水化物の消化率に大きな影響を与えないように思われた。ヘミセルロースについては、50%の分解を示唆する報告(McDONALD *et al.*; 1960)もあり、分解程度の幅は非常に大きいようである。構造的炭水化物の分解の程度と発酵条件との関係の解明が今後の課題として残された。

文 献

- 阿部 亮, (1971) 動物栄養試験法(森本 宏監修), 第1版, 346-348. 養賢堂. 東京.
- BARKER, S. B. and W. H. SUMMERSON, (1961) The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, **138**: 535-554.
- CONWAY, E. J. and E. O'MALLEY, (1942) Microdiffusion methods: ammonia and urea using buffered absorbents (revised method for ranges greater than 10 μ g. N). *Biochem. J.*, **36**: 655-661.
- CZERKAWSKI, J. W., (1986) An introduction to rumen studies. 1st ed. 151-170. Pergamon Press. Oxford.
- DEWAR W. A., P. McDONALD and R. WHITTENBURY, (1963) The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. *J. Sci. Fd Agric.*, **14**: 411-417.
- KING K., (1987) Method for rapid extraction of pectic substances from plant materials. *Fd*

- Chemistry., **26**:109-118.
- 梶木茂彦, (1971) 動物栄養試験法 (森本 宏監修), 第1版, 422-424. 養賢堂. 東京.
- McDONALD P., A. C. STIRLING, A. R. HENDERSON and R. WHITTENBURY, (1962) Fermentation studies on wet herbage. *J. Sci. Fd Agric.*, **13**: 581-590.
- McDONALD P., A. C. STIRLING, A. R. HENDERSON, W. A. DEWAR, G. H. STARK, W. G. DAVIE, H. T. MACPHERSON, A. M. REID and J. SLATER, (1960) Studies on ensilage. *Edin. Sch. Agric. tech. Bull.*, **24**: 1-83.
- McDONALD P., A. R. HENDERSON and S. J. E. HERON, (1991) The biochemistry of silage. 2nd ed. 19-47. 184-236. Chalcombe Publications. Marlow.
- 野中和久・名久井 忠・原 慎一郎, (1995) セルラーゼ添加が水分含量の異なるアルファルファ2番草サイレージの発酵品質と消化性に及ぼす影響. *北畜会報*, **37**: 24-27.
- 大山嘉信, (1971) サイレージ発酵に関連する諸問題. *日畜会報*, **42**: 301-317.
- SUZZI G., F. PAPA and L. GRAZIA, (1987) Pectolytic clostridia isolated from sugar beet pulp silages in Italy. *J. Applied Bacter.*, **63**: 481-485.
- 田中勝三郎・有塚 勉・佐渡谷裕朗・佐藤 忠, (1995) ビートパルプの反芻家畜飼料資源としての利用に関する研究. *北畜会報*, **37**: 8-14.
- TAYLOR K. A. and J. G. BUCHANAN-SMITH, (1992) A colorimetric method for the quantitation of uronic acids and a specific assay for galacturonic acid. *Analytical Biochem.*, **201**: 190-196.
- Van SOEST P. J., (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. *J. Ass. Off. Analytical Chemists.*, **46**: 829-835.
- Van SOEST P. J. and R. H. WINE, (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents. *J. Ass. Off. Analytical Chemists.*, **50**: 50-55.