

研究ノート

0.3%アンモニア処理したとうもろこしの
サイレージ発酵過程における微生物相

阿部 英則

北海道立畜産試験場 (081-0038 北海道新得町字新得西5線39)

A Change of Microbial Population during Silage Fermentation
of Whole-Crop Corn Treated with 0.3% Ammonia

Hidenori ABE

Hokkaido Animal Research Center, Shintoku-cho, Hokkaido, 081-0038, Japan

キーワード: アンモニア処理, とうもろこしサイレージ, 微生物相

Key words: Ammoniation, Corn silage, Microbial population

緒 言

サイレージ用とうもろこしをサイレージ調製前にアンモニア (NH_3) 処理して, 発酵品質を高める検討が多くなされている。それによると, NH_3 処理することで乳酸含量が増加したという報告例が多い (HUBER and SANTANA, 1972; HUBER ら, 1979; JOHNSON ら, 1982)。これらの場合の NH_3 処理濃度は原物重当たり 0.17~0.89% である。

一方, 糖含量の高い早刈り牧草を NH_3 処理すると有害物質が生成し, 中毒症状を示す場合があるとされ, 農林水産省では牧草に対する NH_3 処理を控えるよう指導している (農林水産省畜産局流通飼料課長・自給飼料課長, 平成4年6月22日付け通達)。この懸念はとうもろこしについても考えられ, アメリカ合衆国のガイドラインではとうもろこしに対する NH_3 処理は 0.3% 以下としている (萬田ら, 1996)。しかし, NH_3 処理したサイレージの微生物相の検討例は少ない (KUNG ら, 2000)。これらを検討することはなぜ乳酸が増すかを明らかにするだけでなく, サイレージ発酵過程における養分損失や開封後の好気的変敗の発生の推測や抑制に役立つものと考えられる。

本試験ではとうもろこしをサイレージ調製前に原物重当たり 0.3% の濃度となるように NH_3 処理し, その後のサイレージ発酵過程における微生物相について調べた。

方 法

旧北海道立滝川畜産試験場の圃場でとうもろこし晩生早種 (品種名 P3732) を栽培し, 播種 110 日後の黄熟期に刈り取り, 切断長 3 cm に設定した小型カッターで細切した。水分含量は 67.9% であった。これに原物重当たり NH_3 濃度が 0.3% となるように, アンモニア水を加えた。アンモニア水無添加 (無処理) と NH_3 0.3% 処理について, 実験用サイロである各 5 本の 1 L 容ポリビンに力を加えながら一杯に詰め, 密閉後に室温で静置した。詰め込み量は 700 g 前後であった。この 2 処理について詰め込み 3, 9, 17, 35, 50 日後にそれぞれ 1 本ずつ開封し, pH と微生物相を調べた。50 日後のサイレージについては乳酸含量と乾物損失率も測定した。乾物損失率は詰め込み時と 50 日後の乾物量の差から求めた。なお, 無処理材料について微生物相, pH を測定し, これを NH_3 およびサイレージ処理前の詰め込み時 (0 日) の値とした。

微生物は *Lactobacilli*, *Streptococci*, 好気性グラム陰性細菌, 酵母, 糸状菌を測定した。*Lactobacilli* は変法 LBS 寒天培地 (光岡, 1980) を用い, ガスパック (BBL 社) を用いた嫌気ジャーで 32°C, 3 日間嫌気培養した。この際, いずれの培養についてもコロニーを無作為にグラム染色したところ, ほとんどがグラム陽性桿菌であった。*Streptococci* は TATAC 寒天培地 (光岡, 1980) を用い, 32°C で 2 日間培養した。好気性グラム陰性細菌は酵母エキス, トリプトンにクリスタルバイオレットを添加した寒天培地 (大山ら, 1970) を用い, 32°C で 2 日間培養した。酵母と糸状菌はポテトデキストロース寒天培地 (光岡, 1980) を用い, 25°C で 3 日間

培養した。

上記の微生物数の測定はいずれも希釈平板法で行った。

また、サイレージ 70 g に水 140 ml を加えて、24 時間冷蔵庫に静置後、ガーゼでろ過し、ろ液の pH と乳酸含量を測定した。pH は pH メータを用い、乳酸は BARKER and SUMMERSON 法 (森本, 1971) で測定した。

結 果

サイレージ発酵過程における pH の変化を図 1 に示した。無処理では pH は詰め込み後すみやかに低下して、3 日後以降は 3.5 前後に保たれた。NH₃ 処理した場合は 3 日後の pH は高かったが、その後すみやかに

低下し、9 日後以降は 4 以下に保たれた。

Lactobacilli, *Streptococci*, 好気性グラム陰性細菌、酵母の菌数のサイレージ発酵過程における変化を図 2 に示した。なお、図では微生物が検出されない場合の logCFU/g を 2 とした。*Lactobacilli* については、無処理は詰め込み 3 日後で菌数が 9.4 と最も高くなったが、その後は 8 前後で推移した。NH₃ 処理では詰め込み後ゆるやかに菌数が増し 17 日後には 9.8 に達し、その後低下したものの無処理を下回ることにはなかった。

Streptococci は *Lactobacilli* と同様に、詰め込み 3 日後までは無処理で菌数が高かったが、9 日後以降 NH₃ 処理の菌数が増して無処理を上回った。両処理ともその後菌数は低下し、35 日後では検出されなくなった。

好気性グラム陰性細菌は詰め込み後、無処理ではす

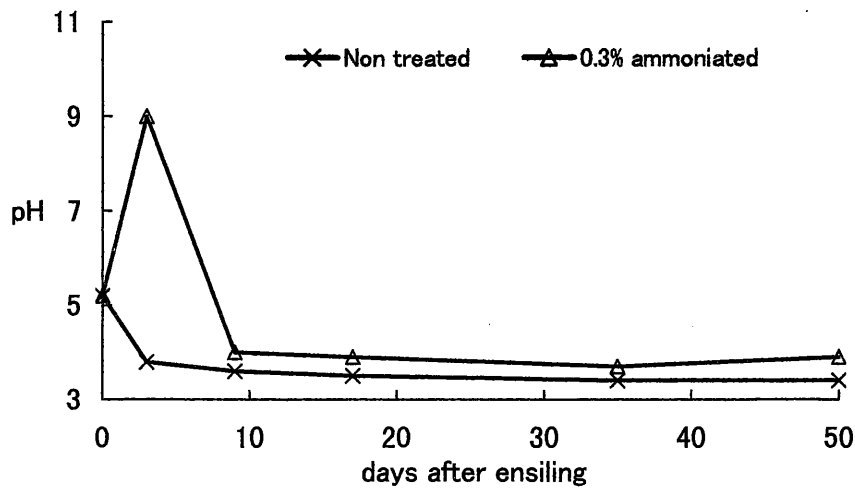


Fig. 1 Change of pH during silage fermentation

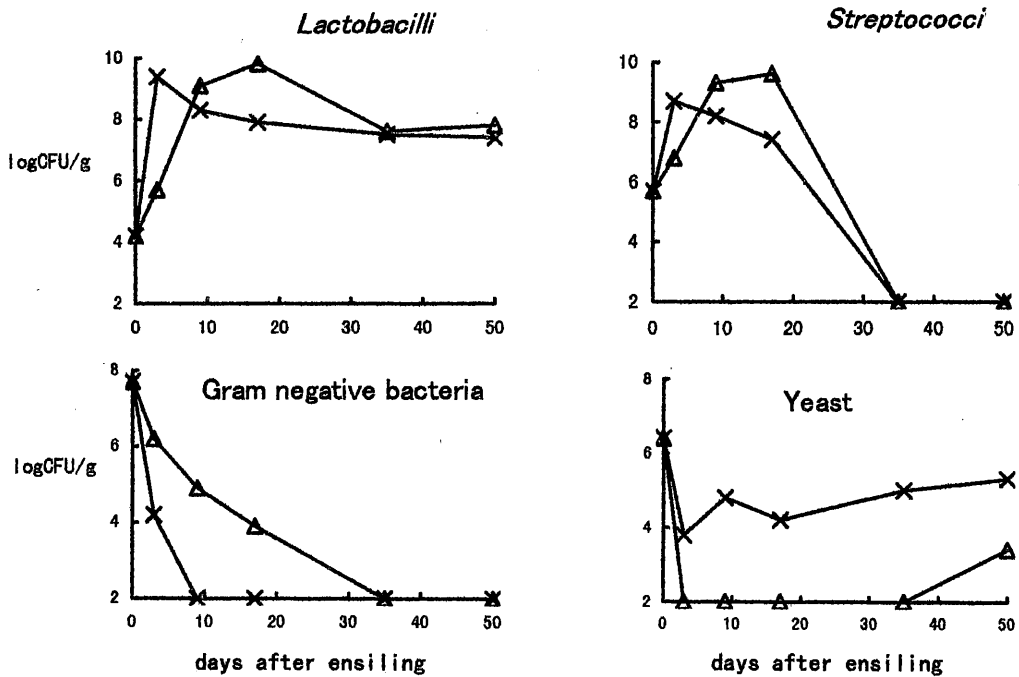


Fig. 2 Change of microorganisms during silage fermentation

—x— Non treated —Δ— 0.3% ammoniated

みやかに低下した。NH₃ 処理ではこれよりも遅れて低下したが、35 日後には検出されなくなった。酵母については、無処理の場合 3 日後の菌数は詰め込み時よりも低かったが、その後やや増し 9 日後以降は 5 前後で推移した。NH₃ 処理した場合は 3 日後以降は検出されなくなったが、50 日後にやや出現した。糸状菌 (図なし) は、無処理では 9 日後に、NH₃ 処理の場合は 3 日後には検出されなくなった。

表 1 に詰め込み 50 日後のサイレージの乳酸含量と乾物損失率を示した。乳酸含量は無処理、NH₃ 処理でそれぞれ 1.5 および 2.5 原物%であった。乾物損失率は NH₃ 処理が高い値であった。

Table 1 Lactic acid content and dry matter loss of silage at 50 days after ensiling

	Lactic acid (FM%)	Dry matter loss (%)
Non treated	1.5	5.2
0.3% ammoniated	2.5	9.2

考 察

サイレージ調製の目的は嫌気的条件下を付与することで好気性微生物による損耗を防止すること、および嫌気的条件下で増殖する *Clostridia* による酪酸発酵を防止することにある (大山と森地, 1979)。これを達成するためには詰め込み直後における乳酸菌の急速な増殖とそれによる pH の低下が必要である。

無処理では乳酸桿菌、球菌ともすみやかに増殖したが、その後の菌数低下もすみやかであった。このことはサイレージ発酵過程では一般に観察されることであり、これは pH の急激な低下により乳酸菌の増殖が抑制されたためと考えられる。一方、NH₃ 処理では乳酸桿・球菌の増殖は遅れたが、無処理と比べては高い菌数が長く保たれた。HUBER and SANTANA (1972) は NH₃ 処理による乳酸の増加は NH₃ がサイレージの緩衝能を高めサイレージ発酵を持続させるためとしている。また、大山と柁木 (1968) は牧草サイレージ詰め込み時に炭酸カルシウムとグルコースを添加すると、pH はあまり低下しないものの乳酸が顕著に増えたとしている。本試験の結果はこれらを裏付けたものといえる。なお、*Clostridia* については pH4.2 以下では増殖しないとされ (内田, 1999)、NH₃ 処理の pH は 9 日以降は 4 以下であった。

好気性グラム陰性細菌は乳酸菌と競合するとされ (大山と柁木, 1968)、好気性菌の指標と考えられるが、これは無処理ではすみやかに低下したのに反し、NH₃ 処理では乳酸菌の増殖が遅れたのに伴ってその低下もやや遅れた。このことと乾物損失率が無処理の 5.2%

に対し NH₃ 処理では 9.2%であることを考慮すると、本条件下ではサイレージ過程における乾物損失は抑制されず、むしろ無処理を上回ることが考えられた。このことは NH₃ 処理により乾物回収率は低下するという BOLSEN らの指摘 (KUNG ら, 2000) を裏付けるものである。

他方、酵母や糸状菌の増殖によって好気的変敗が発生するとされる (内田, 1999) が、本試験でも KUNG ら (2000) の報告と同様に、NH₃ 処理することでこれらの菌はすみやかに検出されなくなることから、好気的変敗の抑制が推測される。

このように、サイレージ用とうもろこしを NH₃ 0.3% 処理してサイレージ化すると、乳酸桿菌、球菌の増殖が旺盛になって乳酸含量が高まることが明らかになった。また、この条件下ではサイレージ過程での乾物損失はやや高くなるものの、開封後の好気的変敗が抑制される可能性が推測された。

引用文献

- HUBER, J. T. and O. P. SANTANA (1972) Ammonia-Treated Corn Silage for Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, **55**, 489-493.
- HUBER, J. T., J. FOLDAGER and N. E. SMITH (1979) Nitrogen Distribution in Corn Silage Treated with Varying Levels of Ammonia. *J. Anim. Sci.*, **48**, 1509-1515.
- JOHNSON, C. O. L. E., J. T. HUBER and W. G. BERGEN (1982) Influence of Ammonia Treatment and Time of Ensiling on Proteolysis in Corn Silage. *J. Dairy Sci.*, **65**, 1740-1747.
- KUNG, JR. L., J. R. ROBINSON., N. K. RANJIT., J. H. CHEN., C. M. GOLT and J. D. PESEK (2000) Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid-Based Preservative. *J. Dairy Sci.*, **83**, 1479-1486.
- 萬田富治・村井 勝・山崎昭夫・鶴川洋樹 (1996) わら類の飼料化処理技術。北海道農業試験場。札幌。68-69.
- 光岡知足 (1980) 腸内菌の世界—嫌気性菌の分離と同一—。叢文社。東京。321-326.
- 森本 宏監修 (1971) 動物栄養試験法。養賢堂。東京。413-416.
- 大山嘉信・柁木茂彦 (1968) サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究 I 可溶性炭水化物および蛋白質の含量がサイレージの品質に及ぼす影響。日畜会報, **39**, 61-67.
- 大山嘉信・柁木茂彦・森地敏樹 (1970) サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究 VIII 空気を導入したサイレージにおける微生物相および有機酸組成の

経時的变化. 日畜会報, 41, 625-631.
大山嘉信・森地敏樹 (1979) サイレージにおける微生物の動態. 微生物の生態 6, 学会出版センター. 東

京. pp 161-178.
内田仙二編集 (1999) サイレージ科学の進歩. デーリィ
ジャパン社. 東京. 86-89.