

# 受賞論文

## 二次発酵の要因解析とその防止に関する研究

北農試(現中国農試) 山下良弘

### 1. はじめに

二次発酵は以前から低水分サイレージ利用上の主要な問題点の1つであったが、サイレージの通年給与が普及し、サイロが大型化するのに伴ってトウモロコシサイレージでも問題にされるようになった。二次発酵はサイレージ中の発酵基質、抑制物質、微生物相及び取出しに伴う物理的条件が複雑にからみ合って引き起されるものと考えられるが、本来のサイレージ発酵とは根本的に異なる好気的変敗現象であることから、制菌剤の添加効果に関する試験を除きほとんど取り上げられていなかった。

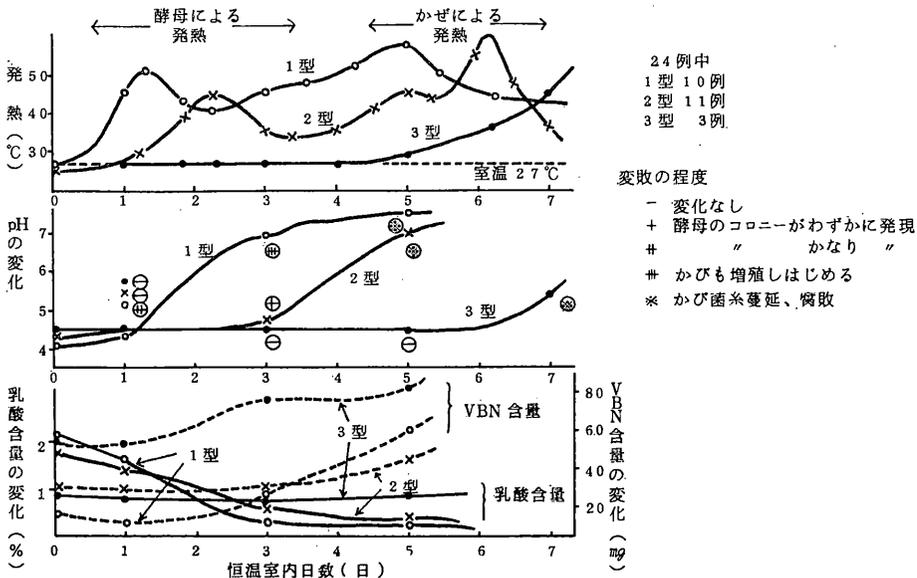
本研究では二次発酵の機序を解明し、調製・利用法との関係を明らかにするために、二次発酵しやすいサイレージのスクリーニングから始まる一連の試験を実施した。

### 2. 二次発酵しやすいサイレージの特性

種々の品質の牧草サイレージを調製し、保温容器に移して本道の真夏を想定した27℃の恒温室内で二次発酵の誘発を試み、搬入後5日目までに発熱したサイレージに共通する特性を調べた。概して酪酸含量が少なく、酵母の数の多いサイレージが二次発酵しやすく、一方、水分含量、pH、乳酸含量そのものはそれほど大きなファクターではないと考えられた。かび数は酵母のような直接的関係は認められなかった。

### 3. 二次発酵に関与する微生物

二次発酵は従来発かび現象とされていたが乳酸資化能力を有する酵母の働きが重要であり、第1図に



第1図 二次発酵のパターン

示す1、2型のようにかびよりも速く生育するためにスターターとして初期の急激な発熱を誘起し、その後にかびが増殖してくるケースが多かった。しかし、かび単独の増殖から始まり、緩慢な発熱が継続するうちに菌糸が蔓延しているケース(3型)もみられた。これらの真菌類は通常、材料1g当り $10^2 \sim 10^5$ 個程度附着してサイロ内に詰め込まれるが、サイレージ発酵の過程で減少し、あるいはほとんど死滅する。しかし、調製・貯蔵条件によってはその多くが開封時まで残存し、利用条件次第で二次発酵を起すことが明らかになった。

#### 4. 二次発酵に伴う成分変化

酵母は乳酸を消費し、pHを上昇させるが、発熱によって酢酸も減少した。VBN含量はpHが5を越えるところから細菌類の活動が始まるのに伴って漸増した(第1図)。また、給与に耐える範囲の変敗で2~4%の乾物損失があり(トウモロコシサイレージ)、たん白質、脂肪の消化率に有意差が示された(オーチャードグラス、第1表)。ホル種去勢牛4頭(平均体重520kg)に前期6週間、かびはほとんどいないが、酵母数が $10^4 \sim 10^7$ オーダーで気温よりも10℃程度発熱しているオーチャードグラスサイレージを、後期4週間は同一原料の正常なサイレージをそれぞれ飽食させ、大麦2kgずつを補給した結果、DGは前期1.11kg、後期1.33kgで後期がよかったが有意差ではなかった。

二次発酵による発熱は最高約60℃以上に達し、サイレージはヒートダメージを受けることが明らかになった。その程度は55℃・30日間と70℃・7日間がほぼ同じであり、70℃・15日間ではADIN比、artifact ligninが急増した。

#### 5. サイレージの発酵成分と二次発酵との関係

酪酸含量の高いサイレージが二次発酵し難いことからVFAによる抑制作用を検討した結果、ギ酸、酢酸、プロピオン酸及びカブロン酸も酵母の増殖を抑えることが明らかになった。この作用は炭素数が多くなるほど強く、かびに対する効果も認められた。カブロン酸、酪酸がサイレージ乾物当り0.7~1.0%存在すると酵母に対する殺菌効果が認められた。

アンモニアもまた酵母・かびの生育を抑制し、サイレージに添加した場合、アンモニア水1.5%(Nとして0.35%)でプロピオン酸1.0%と同等の効果がみられ、9℃の恒温室内では0.75%で同じ効果があった(第2表)。

炭素数の多いVFA及びアンモニアはいずれも劣質サイレージの成分であり、したがって、良質サイレージの変敗を防ぐにはサイレージ中の菌数の減少を図ることがポイントであると考えられた。

#### 6. サイレージ調製条件と二次発酵との関係

サイロ開封時まで残存する酵母・かび数は発酵初期~熟成期間中のサイロ内の炭酸ガス濃度、熟成温度及び熟成期間によって影響された。第3表に水分含量と開放(密封の遅れ)の影響を示した。詰め込

第1表 二次発酵サイレージの消化率

		良質サイレージ	二次発酵サイレージ
水分(%)		56.9	49.8
温度(℃)		23	46
pH		4.52	4.94
菌数( $10^{11}$ )	酵母	5.1	9.5
	かび	2.0	5.0
消化率(%)	乾物	64.1	62.0
	たん白質	56.2	50.3*
	脂肪	58.8	49.6**
	NFE	64.0	61.3-
	繊維	69.8	77.2-
可消化成分(%)	DCP	5.1	4.7-
	TDN	63.0	60.7-

第2表 NPN剤の添加効果(イヤコーンサイレージ<sup>1)</sup>)  
(A:サイレージに添加、B:添加後9ヶ月熟成)

添加量 (%)	pH	菌数(10 <sup>n</sup> )		品質安定性 <sup>2)</sup>					
		酵母	かび	27℃			9℃		
				R	H	S	R	H	S
(A) 無添加 アンモニア水 0.75 <sup>3)</sup> " 1.50 <sup>3)</sup> " 2.75 <sup>3)</sup> プロピオン酸 0.5 " 1.0	4.7	8.2	4.4	13	1.62	8	7	0.7	10
				19	1.12	17	33	0.1	330
				71	0.40	178	240	0.1	2,400
				143	0.10	1,430			
				25	0.50	50			
(B) 無添加 DUIB 1.10 <sup>4)</sup> アンモニア水 1.44 <sup>4)</sup> 尿素 0.75 <sup>4)</sup>	4.0	1.1	1.0	68	0.03	2,267			
	3.7	< 1	1.8	120	0.03	4,000			
	5.0	< 1	< 1	135	0.02	6,750			
	4.1	1.9	1.7	90	0.10	900			

注1) サイレージ水分(A)49%、(B)48~51%

注2) R:恒温室(27℃)へ搬入後の品質保持時間(hr)

H:発熱開始から1回目のピークまたは48hr後までの発熱勾配(℃/hr)

S:品質安定係数( $S = \frac{R}{H}$ )

注3) Nとしてそれぞれ0.17、0.35、0.63%

注4) " いずれも0.34%

第3表 水分含量と開放の影響(アルファルファ<sup>1)</sup>)

水分 (%)	CO <sub>2</sub> 濃度(%)		温度(℃)	サイレージ pH	詰込時菌数(10 <sup>n</sup> )		開封時菌数(10 <sup>n</sup> )		品質安定性 <sup>2)</sup>		
	1日後	1.5ヶ月後			酵母	かび	酵母	かび	27℃		
									R	H	S
直後密封	77	58	22	5.7	3.6	3.1	< 1	< 1	-	-	∞
	58	34	30	5.6	5.1	5.3	< 1	1.7	-	-	∞
	52	29	26	5.7	5.1	5.0	< 1	1.2	-	-	∞
	44	25	48	31	5.7	4.2	5.1	1.0	1.4	120	0.05
2日間開放	77	65	47	5.8			< 1	< 1	-	-	∞
	58	24	51	6.2			1.0	2.7	120	0.10	1,200
	52	24	48	6.0			3.3	1.7	95	0.15	633
	44	15	33	46	6.1			4.2	5.7	60	0.19

注1) 密度 150 ~ 170 kg DM/m<sup>3</sup>、外気温21~26℃で2日間開放

注2) 第2表参照

み後直ちに密封すれば、水分44%のように炭酸ガスの生成速度が遅く、最終濃度が低くても熟成後の菌数は減っており、品質は安定していた。しかし、密封が2日間遅れると水分が高くても炭酸ガスの生成は不活発で、残存菌数が多く、安定性は著しく低下した。とくに低水分化するほどその影響が大きかった。なお水分33%では直ちに密封したサイレージでも変敗は速く、40%前後が水分処理の限界と考えられた。

熟成温度が45℃のとき5日以内に酵母・かびは死滅するが、温度が低ければ長期間生存し、15℃では、酵母は40日後も初期の菌数を維持した。

## 7. サイレージの利用条件と二次発酵との関係

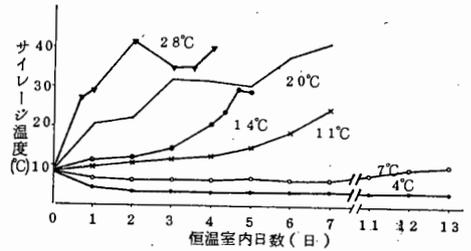
酵母・かびの増殖とその速さは環境温度、外気との接触の程度によって左右され、菌数が多くても必ずしも二次発酵するとは限らない。酵母は27℃前後が生育適温であり、急激な増殖を示すが、7℃以下ではほとんど増殖しなかった(第2図)。

また、取出した都度、密封して炭酸ガス濃度を35~50%に保つと菌数の多いサイレージでも安定した利用が可能であった。しかし、オープンの場合にはサイレージ層内の酸素濃度は表層から20cm以上内部でも16~20%であり(トウモロコシ、水分67%、密度 $539 \text{ kg/m}^3$ )、二次発酵の発熱の中心が通常15~30cm内部であることから、外気の

透過はかなり深部に達していると考えられる。したがって、酵母・かびが増殖可能な温度条件下ではその増殖速度とバランスのとれた取出し速度が必要であり、後者が遅れると表層付近の菌数が日毎に増加して二次発酵を誘発することが実用サイロで確認された。

## 8. 二次発酵の予防及び停止技術

以上の結果から二次発酵それ自体は開封後の問題であるが、これを予防するには調製条件を含む視野の広い対応を必要とすることが明らかになった。添加物としてはVFAの一部及びアンモニアは高い効果がみられた。しかし、予防剤として販売されている薬剤の中には必ずしも効果のはっきりしないもの、酵母は減少したが、かびには効果のないものがあった。毎日取出しを続けても一度始まった発熱は順次下方へ移行するので、これを止めるのは難しいが塔型サイロに予め敷設した中間仕切りが予防及び停止に効果があり、サイロ水ぶたを利用した一時的密閉、冷却による停止効果が高かった。



第2図 外気温と変敗の速度