

# *Acremonium*由来のセルラーゼの添加が サイレージの乾物回収率と発酵品質に及ぼす影響

艾尼瓦爾艾山・安宅一夫・檜崎 昇・野 英二

Effects of Addition of *Acremonium* Cellulase on Dry Matter Recovery  
and Fermentation of Grass Silage

Aniwaru AISAN, Kazuo ATAKU, Noboru NARASAKI and Eiji NO

## Summary

Using alfalfa (blooming) and timothy (heading) from first-cutting grasses, we prepared silage by adding the following percentages of cellulase derived from *Acremonium*: 0, 0.005, 0.01, and 0.02% to alfalfa, and 0, 0.006, 0.012, and 0.024% to timothy. The quality of the silage improved for alfalfa due to two factors: the addition of cellulase caused the production of butyric acid to stop, and as the percentage of cellulase increased, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  of total nitrogen decreased and the content of lactic acid increased. On the other hand, the dry matter recovery significantly decreased with the addition of cellulase. The quality of timothy silage also increased due to the absence of butyric acid. The quality of silage and dry matter recovery were highest with 0.006% and 0.012% additions of cellulase, but low with 0.024% addition of cellulase. The results show that an addition of cellulase in the range of 0.005%~0.01% is best for improving the fermentation quality of silage. Adding a large amount of cellulase does not produce favorable results.

キーワード：乾物回収率，サイレージ，セルラーゼ，発酵品質。

Key words: Cellulase, Dry matter recovery, Fermentation characteristics, Silage.

## 緒言

最近、糖含量の少ない牧草に対して、セルラーゼを主体とする細胞壁分解酵素（以下セルラーゼと呼ぶ）を添加すると、サイレージの発酵品質が改善されることが報告されている<sup>1,4,6,8,9,10</sup>。セルラーゼはセルロースやヘミセルロースを分解し、糖を生成し、これを乳酸菌に供給しようとするものである<sup>1)</sup>。

これまで研究あるいは実用化されたセルラーゼは *Aspergillus* と *Trichoderma* 由来の二種類のセルラーゼであるが<sup>6)</sup>、最近 *Acremonium* 由来の新規セルラーゼが開発された。新規セルラーゼは従来のものより細胞壁成分の分解力が強く、サイレージ添加物としての効果が期待されている<sup>2)</sup>。しかし、このセルラーゼの添加適量や適用条件についてはまだ知られていない。

そこで、今回は、北海道の代表的草種であるアルファルファとチモシーを用いて、新規セルラーゼの添加水準がサイレージの発酵品質と乾物回収率に及ぼす影響を検討した。

## 材料および方法

材料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（品種：ユーバ、開花期）とチモシー（品種：ホクセン、出穂期）の1番草を用いた。材料草は1994年6月21日に刈り取り、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1cmの長さに切断し、*Acremonium*由来のセルラーゼ（明治製菓株式会社）とよく混合し、1ℓの実験用サイロに2反復して詰め込んだ。セルラーゼの添加量は新鮮材料に対して、アルファルファでは0、0.005、0.01および0.02%、チモシーでは0、0.006、0.012および0.024%とした。サイロは室温

酪農学園大学（069 北海道江別市文京台緑町582）

Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

「平成6年度研究発表会において発表」

表1. 材料草の成分

	水分 (%)	粗蛋白質 ————— (%DM)	WSC (%DM)	NDF
アルファルファ	79.7	16.5	8.0	49.4
チモシー	79.5	8.4	8.4	68.0

WSC：可溶性炭水化物

NDF：中性デタージェント繊維

(18.7~26.8℃) で50日間放置した後開封し、サイロの重量とサイレージの発酵品質を調べた。

### 結果

アルファルファとチモシーサイレージの発酵品質と乾物回収率をそれぞれ表2と表3に示した。

アルファルファサイレージでは、セルラーゼの添加量の増加に伴い、pHとNH<sub>3</sub>-N比率は低下し、乳酸含量と総酸含量は増加した。これらの値は、無添加に対し、セルラーゼ0.005%添加 (pH、NH<sub>3</sub>-N) およびセルラーゼ0.01%添加 (乳酸、総酸) で有意差が認められた (P<0.05)。酢酸含量は無添加の0.28%に対し、セルラーゼ添加によっていずれも有意に、そして著しく高くなったが (P<0.01)、添加量による差はなかった。酪酸含量は無添加で0.47%と高かったが、セルラーゼ添加により無くなった。フリーク評点は、セルラーゼ添加により

有意に改善されたが (P<0.01)、添加量による差は無かった。

チモシーサイレージでは無添加から、0.012%添加まではセルラーゼ添加量の増加に伴い、pHは有意に低下し (P<0.01)、乳酸含量は有意に増加したが (P<0.01)、0.024%添加では0.012%添加に比べ、pHは上昇し (P<0.05)、乳酸含量は減少した (P<0.01)。酢酸含量は無添加に比べると0.006%と0.012%添加では有意に減少したが、0.024%添加ではむしろ有意に増加した (P<0.01)。酪酸含量は無添加で0.69%と高かったが、添加各区ですべてにおいて生成がみられなかった。総酸含量は無添加、セルラーゼ0.006%、0.024%添加の間には有意差が無かったが、セルラーゼ0.012%添加で有意に増加した (P<0.01)。フリーク評点は無添加で5点と著しく悪かったが、セルラーゼ添加により改善され (P<0.01)、特に0.006%添加と0.012%添加で著しかった。NH<sub>3</sub>-N比率はセルラーゼ添加量が0.012%まで低下した。

アルファルファサイレージの乾物回収率は無添加に対し、セルラーゼの添加によって有意に低下したが (P<0.01)、セルラーゼ添加量による有意差はなかった。チモシーサイレージの乾物回収率はセルラーゼの添加により0.006%と0.012%添加までは上昇し、0.024%添加では低下したが、各区分には有意差はなかった。

表2. アルファルファサイレージの発酵品質

セルラーゼ添加量 (%)	水分 (%)	pH	乳酸	酢酸	酪酸	総酸	フリーク評点	NH <sub>3</sub> -N*	乾物回収率 (%)
			————— (%)						
0	80.8 <sup>A</sup>	4.79 <sup>Cc</sup>	0.96 <sup>Aa</sup>	0.28 <sup>A</sup>	0.47 <sup>B</sup>	1.73 <sup>Aa</sup>	33 <sup>A</sup>	13.2 <sup>Bc</sup>	93.2 <sup>D</sup>
0.005	82.3 <sup>B</sup>	4.46 <sup>Bcb</sup>	1.01 <sup>Aa</sup>	0.84 <sup>B</sup>	0 <sup>A</sup>	1.95 <sup>Ab</sup>	65 <sup>B</sup>	10.5 <sup>Ab</sup>	86.3 <sup>A</sup>
0.010	82.6 <sup>B</sup>	4.18 <sup>Ab</sup>	1.66 <sup>Ab</sup>	0.91 <sup>B</sup>	0 <sup>A</sup>	2.63 <sup>Bcb</sup>	75 <sup>B</sup>	10.2 <sup>Ab</sup>	84.7 <sup>A</sup>
0.020	82.1 <sup>B</sup>	4.03 <sup>Aa</sup>	1.94 <sup>Bb</sup>	0.84 <sup>B</sup>	0 <sup>A</sup>	2.84 <sup>Cb</sup>	64 <sup>B</sup>	8.8 <sup>Aa</sup>	87.5 <sup>A</sup>
SE	0.12	0.037	0.084	0.053	0.042	0.076	2.8	0.27	0.49

\*：全窒素に対する割合 (%)、SE：平均値の標準誤差

ABC：P<0.01、abc：P<0.05

表3. チモシーサイレージの発酵品質

セルラーゼ添加量 (%)	水分 (%)	pH	乳酸	酢酸	酪酸	総酸	フリーク評点	NH <sub>3</sub> -N*	乾物回収率 (%)
			————— (%)						
0	82.6	5.14 <sup>Bc</sup>	0.32 <sup>A</sup>	0.37 <sup>B</sup>	0.69 <sup>B</sup>	1.92 <sup>Aa</sup>	5 <sup>Aa</sup>	25.2 <sup>Bc</sup>	83.0
0.006	82.0	3.84 <sup>Ab</sup>	1.35 <sup>B</sup>	0.15 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	1.52 <sup>Aa</sup>	90 <sup>Bc</sup>	8.1 <sup>Ab</sup>	86.7
0.012	82.1	3.49 <sup>Aa</sup>	2.51 <sup>C</sup>	0.19 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	2.74 <sup>Bb</sup>	100 <sup>Bc</sup>	5.5 <sup>Aa</sup>	87.0
0.024	82.7	3.91 <sup>Ab</sup>	1.07 <sup>B</sup>	0.88 <sup>C</sup>	0 <sup>A</sup>	2.00 <sup>Ab</sup>	50 <sup>Ab</sup>	5.4 <sup>Aa</sup>	83.3
SE	0.18	0.048	0.079	0.01	0	0.086	5.8	0.43	0.86

\*：全窒素に対する割合 (%)、SE：平均値の標準誤差

ABC：P<0.01、abc：P<0.05

## 考 察

本実験において、無添加のサイレージは、チモシー、アルファルファとも著しく品質の悪いものであったが、セルラーゼを添加すると、乳酸含量の増加と、pHおよびNH<sub>3</sub>-N比率の低下がみられ、品質が改善された。一方、セルラーゼ添加により酪酸の生成は抑制されたが、酢酸含量の増加が認められた。これらの結果、pH、有機酸組成およびNH<sub>3</sub>-N比率で総合的に評価すると、アルファルファではセルラーゼの添加量が多くなるにつれてサイレージの品質が良くなったが、チモシーでは、0.006%~0.012%で品質が最高になり、それ以上の添加では品質が逆に低下した。チモシーでの結果は小川ら<sup>5)</sup>の結果と同様であった。サイレージの品質を改善するためにはアルファルファではチモシーよりセルラーゼが多く必要であった。その原因を知るため、今後アルファルファとチモシーの細胞壁分解に対するセルラーゼの効果を比較する必要があると考える。

一方、乾物回収率はアルファルファではセルラーゼの添加量が多くなるにつれて低下し、チモシーではサイレージの品質と同様に、セルラーゼ0.006%~0.012%添加で最高となった、0.024%添加では無添加と同レベルに低下した。本実験によって、チモシーではサイレージの品質と乾物回収率はほぼ一致したが、アルファルファではサイレージの品質と乾物回収率が逆の傾向を示した。セルラーゼを添加すると乾物回収率が低下することはBOLSEN<sup>3)</sup>、名久井ら<sup>7)</sup>、STOKES<sup>9)</sup>も認めている。サイレージの発酵は、微生物相と材料の成分によって大きく影響されることが知られている<sup>6)</sup>。本実験においてセルラーゼを添加すると発酵が促進されるが、必ずしも乳酸発酵の好ましい方向ばかりでなく、酢酸の生成を伴う好ましくない発酵も促進された。本実験の結果からセルラーゼの添加適量はアルファルファ、チモシーとも0.005~0.01%で十分と考えられ、過剰の添加は好ましくないことが示唆された。

## 引用文献

1) 安宅一夫 (1991) 90年代の日本酪農・酪農学園大学

エクステンションセンター. pp. 26-35.

- 2) ATAKU, K., E. NO and N. NARASAKI (1993) *Silage Research* 1993, 764-773.
- 3) BOLSEN, K. K (1993) *Konzervace Objemnych Krmiv*. 51-58.
- 4) No, E., Y. HARASAWA, K. ATAKU, N. NARASAKI and T. SUEYOSHI (1985) *Proc. XV International Grassland Congr.* 937-938.
- 5) 小川増弘・松崎正敏・滝澤静雄 (1994) 日本草地学会誌40 (別号), 189-190.
- 6) MCDONALD, P., A. R. HENDERSON and S. J. E. HERON (1991) *The Biochemistry of Silage* (second edition). Chalcombe Publication. pp. 194-196.
- 7) 名久井忠・野中和久・原楨一郎 (1994) 日本草地学会誌40 (別号), 193-194.
- 8) PITT, R. E., (1990) *J. Dairy Sci.* 73, 1788-1799.
- 9) STOKES, M. R and J. CHEN (1994) *J. Dairy Sci.* 77, 3401-3409.
- 10) STOKES, M. R. (1992) *J. Dairy Sci.* 75, 764-773.

## 摘 要

1 番草のアルファルファ (開花期) とチモシー (出穂期) を用い、*Acremonium*由来セルラーゼをアルファルファには、0、0.005、0.01および0.02%、チモシーには、0、0.006、0.012および0.024%添加してサイレージを調製した。サイレージの品質はアルファルファでは、セルラーゼの添加によって酪酸の生成が無くなり、添加量が増加するにつれてpHとNH<sub>3</sub>-N比率の低下および乳酸含量の増加がみられ、品質が向上した。しかし、乾物回収率はセルラーゼの添加によって有意に低下した (P<0.01)。チモシーでもセルラーゼの添加によって酪酸が無くなり、品質が向上した。サイレージの品質と乾物回収率は、セルラーゼ0.006%と0.012%添加で最もすぐれたが、0.024%は効果がやや低下の傾向がみられた。サイレージの発酵品質を改善するためのセルラーゼの添加量は0.005~0.01%で十分であり、過剰の添加は好ましくないことが示唆された。

(1995年4月14日 受理)