

# 材料牧草の水分含量がサイレージ発酵に およぼす影響

木部久衛・野田恵利子・唐澤 豊  
信州大学農学部 家畜飼養・飼科学教室

## 緒 論

従来、材料草の水分含量とサイレージの品質との関係については数多くの研究<sup>1-2)</sup>がなされている。一般に高水分材料を用いた場合には生成する酸の総量が多くなるが、一旦生成された乳酸は時間の経過とともに消失して、酪酸が増加するといわれ、また予乾した材料を用いた場合発酵全体が抑制されることから、有機酸の総量が少なくなり、かつ酪酸発酵を抑制する傾向となることは STIRLING<sup>3)</sup>、GORDON ら<sup>4)</sup>、GOUET ら<sup>5)</sup>、大山・榎木<sup>6)</sup>により報告されている。

しかし予乾の効果については乳酸含量が多くなったとする報告<sup>7-11)</sup>と、逆に少なくなったとする報告<sup>4)12)</sup>があり、必ずしも一様な結論とはなっていない。GOUET ら<sup>5)</sup>は材料草の予乾処理とサイレージ中の乳酸含量の多少について検討した結果、水分含量の少ないサイレージほど初期の乳酸量は少ないが、高水分サイレージの場合と異なり、生成した乳酸がそのまま維持されるために最終的には予乾処理の方が、高水分の場合にくらべて乳酸含量が高くなることを認めている。

一方、材料草の水分含量とサイレージの発酵過程における品質との関係を微生物の消長との関連で比較検討した例は少ない。

そこで今回はこのような点を検討すべく材料水分の違いがサイレージの埋蔵過程における微生物相および有機酸組成などにどのような影響をおよぼすかについて実験を行なった。

## 材料および方法

供試材料として10月1日刈取りのオーチャードグラス（本学部附属農場産、3番草）を用い、これをチョッパーにより約3cmに細切した後よく混合して、予乾処理によりつぎの4区すなわち無予乾(a)区、軽度予乾(b)区、中等度予乾(c)区および高度予乾(d)区を設けた。これらの処理草を大型試験管（30×200mm）に密に詰め、water sealによる発酵栓をほどこして室温（12-19°C）にて貯蔵した。詰込量（生草重換算）は(a)、(b)、(c)および(d)区でそれぞれ70、100、150および180gであった。

詰込後0、3、7、14、21、28および56日を経過してからそれぞれ開封して、pH、有機

Table 1. Composition of media (g/l)

|                             | YEA <sup>1)</sup> | TAA <sup>2)</sup> |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|
| Yeast extract               | 5.0               | 5.0               |
| Peptone                     | 5.0               | 5.0               |
| Beef extract<br>(Lab-Lemco) | 5.0               | 5.0               |
| Glucose                     | 5.0               | —                 |
| Fructose                    | —                 | 10.0              |
| MgSO <sub>4</sub>           | 5.0               | —                 |
| Tween 80 (ml)               | —                 | 0.5               |
| Agar                        | 12.0              | 15.0              |
| pH                          | 6.8               | 5.4               |

1) Yeast extract agar.

2) Tween acetate agar: Before pouring TAA, 10ml sterile acetate buffer (glacial acetic acid 2.0ml, sodium acetate 3H<sub>2</sub>O 22.5g in 100ml H<sub>2</sub>O) was added to 100ml agar.

酸組成, 揮発性塩基態窒素 (VBN) および可溶性炭水化物 (WSC) 含量を測定するとともに, 試料を滅菌リンゲル液で稀釈した後, 全菌数および乳酸菌数を平板培養 (20-22°C, 48 h) により測定した。

分析用試料については, 各区ともサイレージの上層部を廃棄して残りの全量を取り出し, よく混合した後直ちに細菌数ならびに水分含量の測定を行なった。なおこれらの操作はできるだけ無菌的に実施した。

水分含量は 105°C 乾燥法<sup>13)</sup>, pH 値はガラス電極 pHメーター, 揮発性脂肪酸 (VFA) 含量は水蒸気蒸溜とガスクロマトグラフィ-<sup>14)</sup>, 乳酸含量は BARKER & SUMMERSON 法<sup>15)</sup>, 可溶性炭水化物 (WSC) 含量は MC-DONALD & HENDERSON 法<sup>16)</sup>, 全窒素 (TN) は KJELDAHL 法<sup>13)</sup>, また揮発性塩

基態窒素 (VBN) は CONWAY の微量拡散中和法<sup>17)</sup> によりそれぞれ測定を行なった。

つぎに細菌数の測定に使用した供試培地として全菌数については, 酵母エキス寒天培地 (YEA), 乳酸菌数については TWEEN ACETATE 寒天培地 (TAA) をそれぞれ使用し, その組成<sup>18)</sup>を第1表に示した。

## 結 果

供試草の水分含量は(a), (b), (c)および(d)区でそれぞれ84, 70, 64および56%となり, また56日目におけるサイレージの水分含量はそれぞれ84, 72, 63および55%となった。なお埋蔵過程における各区の経時的な水分含量には大差はみられなかった。

つぎに細菌数の経時変化については第1図に示した通りである。(a)区では全菌数が3日目に急増した後やや低下し, その後は僅かに増加の傾向を示した。また(b)および(c)区においても3日目にピークを示したが, その後の変化のパターンは両者とも類似した。しかし(b)区の場合の変動は(c)区より大きく, 全菌数は他の3区と異なり3日目に最大となった。しかし7日目には急に減少し, その後は漸増の傾向を示した。また(d)区における全菌数は他の3区より遅れて7日目に増加を示し, その後は減少したが, 21日目からは漸増の経過をたどった。

一方乳酸菌数の経時変化については, 各区とも埋草後3~7日目までは急激な増加を示し, それ以後は漸増のパターンとなったが, (a)区のみは14日目にかんりの減少を示した。なお各区の乳酸菌数は(a)区を除いて14日目頃から, 全菌数とはほぼ平衡的に推移したが56日目における(a), (b), (c)および(d)区の乳酸菌数はそれぞれ $1.9 \times 10^8$ ,  $1.5 \times 10^8$ ,  $9.3 \times 10^7$ および $7.1 \times 10^7$ であった。

つぎに pH の変化については第2表に示した通りである。(a)区が3日から7日目にかけて

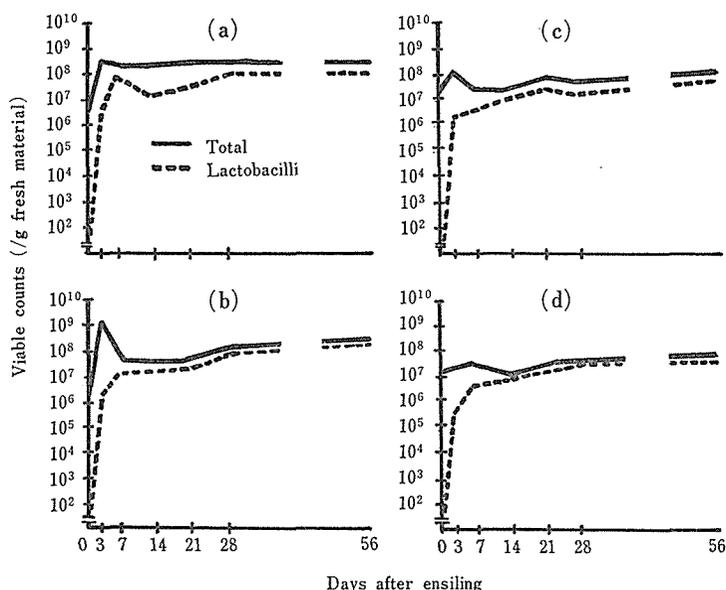


Fig.1. Changes in microflora during ensilage.  
 (a) Unwilted (b) Light wilt (c) Moderate wilt (d) Heavy wilt  
 Values are means of triplicate.

Table 2. Changes in pH values during ensilage

| Lot Treatment     | Days after ensiling |      |      |      |      |      |      |
|-------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|
|                   | 0                   | 3    | 7    | 14   | 21   | 28   | 56   |
| (a) Unwilted      | 6.59                | 6.30 | 5.05 | 5.20 | 5.21 | 5.16 | 4.92 |
| (b) Light wilt    | 6.59                | 6.99 | 6.83 | 6.83 | 6.63 | 6.43 | 5.42 |
| (c) Moderate wilt | 6.59                | 6.90 | 6.90 | 6.81 | 6.62 | 6.38 | 5.91 |
| (d) Heavy wilt    | 6.59                | 6.78 | 6.83 | 6.80 | 6.73 | 6.70 | 6.40 |

Values are means of triplicate.

急激な低下を示し、その後も比較的低い値で推移した。他の3区は埋蔵後やや上昇したが、その後21日目頃までは変化が緩慢でかなり高目の値で経過し、以後減少傾向をたどった。56日目のpH値は(a), (b), (c)および(d)区でそれぞれ4.92, 5.42, 5.91および6.40となった。

乳酸含量の経時的変化は第3表に示した通りである。これによれば各区の乳酸含量はpHの変化と全く対照的な変化を示し、(a)区の場合が14日目に最高値(乾物中5.6%)となり、その後も比較的高含量を維持した。しかし他の3区の場合は、56日目においていずれも乾物中3%以下にとどまった。

Table 3. Changes in lactic acid contents during ensilage (% of DM)

| Lot | Treatment     | Days after ensiling |     |     |     |     |     |     |
|-----|---------------|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     |               | 0                   | 3   | 7   | 14  | 21  | 28  | 56  |
| (a) | Unwilted      | —                   | 3.0 | 4.8 | 5.6 | 4.3 | 5.3 | 5.0 |
| (b) | Light wilt    | —                   | 1.6 | 2.2 | 2.7 | 2.6 | 2.5 | 3.0 |
| (c) | Moderate wilt | —                   | 1.1 | 1.5 | 1.6 | 1.7 | 2.5 | 2.3 |
| (d) | Heavy wilt    | —                   | 0.3 | 1.2 | 1.9 | 1.8 | 2.0 | 1.8 |

Values are means of triplicate.

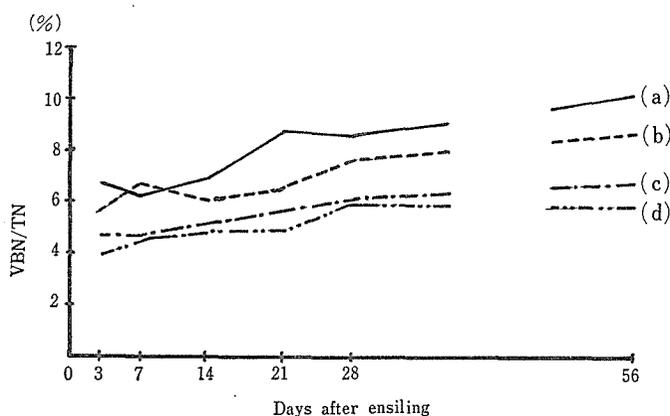


Fig. 2. Changes in ratios of VBN/TN during ensilage.

(a) Unwilted (b) Light wilt (c) Moderate wilt  
(d) heavy wilt

Values are means of triplicate.

つぎに全窒素 (TN) に対する揮発性塩基態窒素 (VBN) の割合 (第2図) は各区ともいづれも徐々に増加の傾向を示し、56日目においては(a), (b), (c)および(d)区においてそれぞれ10.1, 8.8, 6.6および5.8となり、サイレージの水分含量が多くなるほど VBN の割合も増加した。

つぎに可溶性炭水化物 (WSC) 含量 (第3図) は、埋蔵時において既に差を生じ、予乾によって若干減少したが、その後の減少の程度は全体的に緩慢であり、サイレージの水分含量が低くなる程減少量も少なくなる傾向がみられた。

揮発性脂肪酸 (VFA) 含量については第4図に示した通りである。全 VFA 含量は各区とも経時的に増加の傾向を示したが、(a)区を除いては増加の程度は緩慢であった。なお(a)区においても56日目の値が乾物100g中350mg程度でそれほど多い値ではなかった。また各区ともプロピオン酸を含めた酪酸以上の高級 VFA の生成割合はいずれも少なかった。

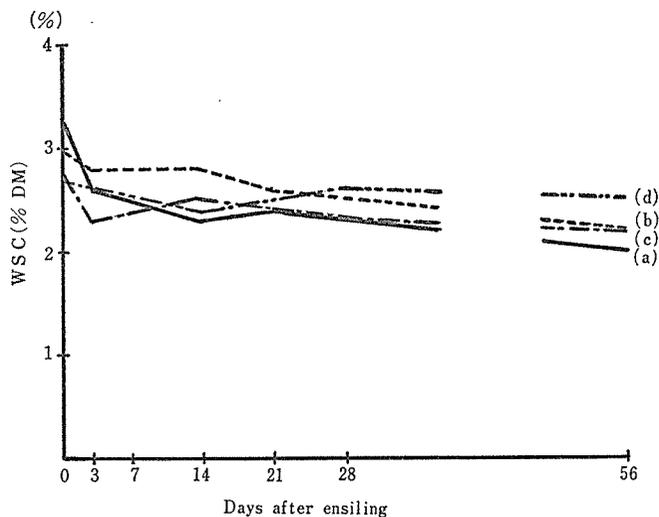


Fig. 3. Changes in WSC contents during ensilage.  
 (a) Unwilted (b) Light wilt (c) Moderate wilt  
 (d) Heavy wilt  
 Values are means of triplicate.

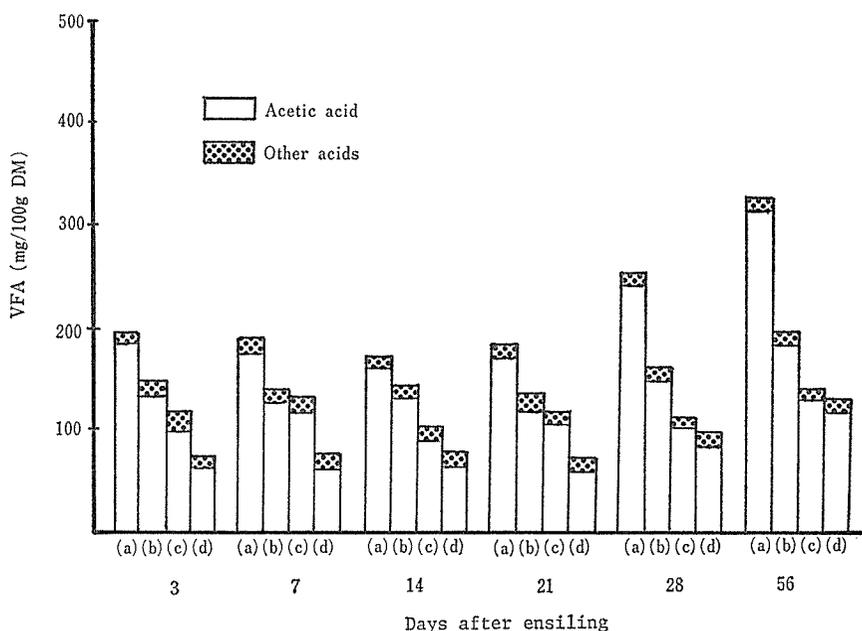


Fig. 4. Changes in contents of VFA during ensilage.  
 (a) Unwilted (b) Light wilt (c) Moderate wilt (d) Heavy wilt  
 Values are means of triplicate.

## 考 察

サイレージの発酵は詰込み材料の水分含量によって大きな影響を受ける<sup>1)</sup>といわれている。材料が高水分の場合は一般に微生物の活動も盛んとなり生産される有機酸の総量も多くなるが、同時に嫌気性芽胞菌(クロストリジア)の増殖を招き<sup>19)</sup>、酪酸含量の多い劣質サイレージとなる場合が多い。

本実験結果(第1図)からも全菌数ならびに乳酸菌数ともに材料草の水分含量と密接に関係していることが伺われた。すなわち材料草が高水分の場合は、微生物の中でも乳酸菌の増殖が活発となり、その結果乳酸含量が高く pH の低いサイレージとなった。しかし日数の経過とともに発酵が停滞する傾向がみられたが、高水分および低水分の(a)および(d)区にくらべて或程度予乾した(b)および(c)区の場合は、乳酸菌および乳酸含量の漸増傾向が28日以降も持続することが認められた。

PEREVERZEVA & LAPOTYSHKIN<sup>20)</sup> は、供試草として赤クロバーを用いた場合、74%の水分含量では3日目に全菌数がピークに達したが、水分含量をそれぞれ64, 50および40%に予乾した場合は7日目に最高数に達し、全菌数の中に占める乳酸菌数の割合は88—100%であったと報告している。さらに発酵初期における乳酸菌数の割合は水分含量を64ないし55%に予乾した場合に最も高かったとしている。

材料草の違いはあるが、本実験の場合も、低水分含量の(d)区は他の区にくらべて全菌数がやや遅れて(7日目)最高値に達した。

HENDERSON ら<sup>10)</sup>も予乾したペレニアルライグラスサイレージの場合全菌数は3日目に増加を示したが、乳酸菌数は3日目に一時減少した後、4日目には急増し、23日目頃までかなりのレベルを保ったと報告している。

なお(a)区の場合乳酸菌数が14日目で一時的に低下した理由は明らかではない。

つぎに pH と乳酸含量の経時的な変化は全く対照的であり、(a)区の場合が他の3区にくらべて値も高く、また変動も著しかった。特に(a)区においては発酵初期の乳酸菌数が多く、その後もかなり高い菌数を維持したことから、乳酸含量も高く、したがって pH も低く経過したものと考えられる。なお(a)区の場合乳酸菌数がやや低下した14日目に乳酸含量が最高となった点については、3日目から7日目にかけての乳酸菌の急増による乳酸の蓄積が考えられ、また(a)区の pH が7日目に低下した理由については、乳酸の増加に加えて VBN/TN 比が7日目にやや低下したことによるものと推察される。

VBN/TN 比は各区ともそれ程大きな変化はみられず、最も高かった(a)区の場合でも9%程度にとどまった。これは VFA 含量の変化(第3図)にもみられるように、各区ともプロピオン酸を含めた酪酸以上の高級 VFA の生産割合が意外に少なかったことから考えて、発酵過程における蛋白質の二次分解が少なかったことが推察される。これは詰込後の嫌気条件がよく保たれたこと、GIBSON ら<sup>21)</sup>らも云っているように貯蔵中の室温が比較的冷涼であったために、クロストリジウムの発育が抑えられた結果によるものと考えられる。

今回供試したオーチャードグラスは、可溶性炭水化物含量が詰込時で3.3%(乾物中)とかなり低い値を示し、また予乾により若干減少したことから、十分な乳酸発酵を期待するこ

とはできなかった。しかし高水分サイレージ(a)区の場合でもかなりの乳酸(乾物中約5%)が生成され、またその含量が維持されたことは発酵過程の室温がかなり低く経過したこと<sup>22)</sup>によるものと考えられる。また一部ヘミセルローズの分解によって生じたペントースの発酵による<sup>19)</sup>ことも考えられるが、この点については今後の検討が必要と思われる。

## 要 約

材料草の水分含量がサイレージの埋蔵過程における微生物相ならびに有機酸組成などにどのような影響をおよぼすかを調査した。供試材料としてはオーチャードグラス(3番草)を用い、細切した後予乾処理を行ないつぎの4区すなわち無予乾(a)区、軽度予乾(b)区、中等度予乾(c)区および高度予乾(d)区を設けた。これらの処理草を試験管(30×200mm)に詰め、発酵栓をほどこして室温(12-19°C)にて貯蔵した。

詰込後0, 3, 7, 14, 21, 28および56日目にそれぞれ開封して、pH, 有機酸組成、揮発性塩基態窒素(VBN)および可溶性炭水化物(WSC)含量を測定するとともに、全菌数ならびに乳酸菌数を測定した。

(a), (b)および(c)区の全菌数は貯蔵後3日目に急増し、それぞれ $4.6 \times 10^8$ ,  $1.4 \times 10^9$ ,  $1.1 \times 10^8$ となり、また(d)区においては7日目に $6.0 \times 10^7$ に達した後いずれも減少した。しかし21日目から各区とも漸増の傾向を示したが、発酵後期における菌数には(d)区を除いて処理間には大きな差はみられなかった。

一方乳酸菌数は各区とも7日目までは急激な増加を示したが、それ以後は(a)区を除いて漸増のパターンを示した。(a)区は14日目にやや減少した。貯蔵後56日目における(a), (b), (c)および(d)区の乳酸菌数は、それぞれ $1.9 \times 10^8$ ,  $1.5 \times 10^8$ ,  $9.3 \times 10^7$ および $7.1 \times 10^7$ となった。

各区における乳酸含量の経時的な変化は、乳酸菌数と密接に関連し、またpHの変化とは全く対照的であった。56日目における乳酸含量は(a)区が最も高く、ついで(b), (c)および(d)区の順に低下した。

全窒素(TN)に対するVBNの割合は各区とも経時的にいずれも徐々に増加の傾向を示したが、サイレージの水分含量が多くなるほどVBNの割合も増加した。

つぎに材料草のWSC含量は予乾によって若干減少した。また各区とも経時的に緩慢な減少を示したが、水分含量が多いほど減少割合は高かった。

各区のVFAは経時的に増加し、またサイレージの水分含量が高いほどVFA含量も高かった。56日目におけるVFAの大部分(92%以上)は酢酸であり高級酸の割合は低かった。

## 引 用 文 献

- 1) KROULIK, J.T., L.A. BURKEY, C.H. GORDON, H.G. WISEMAN and C.G. MELIN, J. Dairy Sci., **38**: 263-271. 1955.
- 2) WILKINS, R.J., D.F. OSBOURN and J.C. TAYLER, J. Brit. Grassl., Soc. **25**: 37-43. 1970.
- 3) STIRLING, A.C., Proc. Soc. appl. Bact., **14**: 151-156. 1951.

- 4) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE, W.C. JACOBSON and J.L. HUMPHREY J. Dairy Sci., **48** : 1062-1068. 1965.
- 5) GOUET, P., N. FATIANOFF, S.Z. ZELTER, M. DURAND and R. CHEVALIER, Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., **5** : 79-100. 1965.
- 6) 大山嘉信, 柁木茂彦, 日畜会報, **39** : 168-174. 1968.
- 7) MURDOCH, J.C., J. Brit. Grassl. Soc., **15** : 70-73. 1960.
- 8) ZIMMER, E. and C.H. GORDON, J. Dairy Sci., **47** : 652-653.
- 9) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE, H.G. WISEMAN, E.A. KANE and C.G. MELIN, J. Dairy Sci., **44** : 1299-1311. 1961.
- 10) HENDERSON, A.R., P. McDONALD and M.K. WOOLFORD, J. Sci. Fd Agric., **23** : 1079-1087. 1972.
- 11) 内田仙二, 須藤 浩, 岡山大学農学部學術報告, **50** : 71-76. 1977.
- 12) MURDOCH, J.C., D.A. BALCH, M.C. HOLDSWORTH and M. WOOD, J. Brit. Grassl. Soc., **10** : 181-188. 1955.
- 13) 森本 宏, 動物業養試験法, 283, 286. 養賢堂. 東京. 1971.
- 14) KIBE, K., Jap. J. Zootech. Sci., **38** : 141-147. 1967.
- 15) BARKER, S.B. and W.H. SUMMERSON, J. Biol. Chem., **138** : 535-554. 1941.
- 16) McDONALD, P. and A.R. HENDERSON, J. Sci. Fd Agric., **15** : 395-398. 1964.
- 17) CONWAY, E.J., Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, 95-96. Crosby Lockwood and Son Ltd. London. 1950
- 18) Silage Microbiology. Proposed "Standard" Methods, The Edinburgh School of Agriculture. Personal communication. 1975.
- 19) McDONALD, P. and R. WHITTENBURY, Chemistry and Biochemistry of Herbage, Vol. 3, 33-60. Academic Press. London and New York. 1973.
- 20) PEREVERZEVA, G.I. and R.A. LAPOTYSHKIN, Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokh-ozyaistvennoi Akademii, **4** : 27-33. 1971.
- 21) GIBSON, T., A.C. STIRLING, R.M. KEDDIE and R.F. ROSENBERGER, J. gen. Microbiol., **19** : 112-129. 1958.
- 22) OHYAMA, Y., S. MASAKI and T. MORICHI, Jap. J. Zootech. Sci., **44** : 59-67. 1973.

## Effect of Moisture Level of Material Grass on Silage Fermentation

Kyuei KIBE, Eriko NODA and Yutaka KARASAWA

Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science,  
Fac. Agric., Shinshu Univ.

### Summary

Silage experiments were carried out to study the effects of moisture level of the material grass on the microbiological processes and chemical quality. Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), a third cut, harvested on 1 October was chopped by hand, and then following four kinds of treatments were employed, (a) unwilted, (b) light wilt, (c) moderate wilt and (d) heavy wilt, by pre-wilting. The treated grasses were ensiled in the grass tubes (30×200mm) equipped with fermentation seals. The silos were incubated at ambient temperature (about 12–19°C) and the sequence changes in chemical quality and in viable micro-organisms numbers of silages at 0, 3, 7, 14, 21, 28 and 56 days after ensiling were measured, respectively.

The moisture contents of material grasses (a), (b), (c) and (d) were 84, 70, 64 and 56%, respectively. The total numbers of micro-organisms in silages (a), (b) and (c) markedly increased on the 3rd day and were  $4.6 \times 10^8$ ,  $1.4 \times 10^9$  and  $1.1 \times 10^8$ /g fresh weigh, respectively. But, the micro-organisms counts in silage (d) reached  $6.0 \times 10^7$ /g fresh weight on 7th day. Then, the total numbers of micro-organisms in all silages declined progressively and thereafter increased gradually in the later stages of fermentation. There were no appreciable differences in numbers of micro-organisms among the silages (a), (b) and (c) at the 56th day, but in silage (d) the numbers of micro-organisms were lower than those of other three silages. The numbers of lactic acid bacteria in all silages increased rapidly the first 3–7 days after ensiling, thereafter increased gradually except silage (a). In silage (a) the numbers of lactic acid bacteria fairly decreased temporarily on the 14th day. The numbers of lactic acid bacteria on the 56th day were  $1.9 \times 10^8$ ,  $1.5 \times 10^8$ ,  $9.3 \times 10^7$  and  $7.1 \times 10^7$ /g fresh weight for silages (a), (b), (c) and (d), respectively.

The sequence changes in lactic acid contents in all silages during ensilage were closely related to the numbers of lactic acid bacteria, and were in contrast to pH values. The lactic acid contents on the 56th day were considerably higher in silage (a) than in silages (b), (c) and (d) in that order.

The ratios of volatile basic nitrogen to total nitrogen (VBN/TN) in all silages became higher with time, and were also higher in high-moisture silage than in low-moisture silage.

The water soluble carbohydrate (WSC) content of the material grass was decreased by pre-wilting, and the contents of WSC in all silages decreased gradually with time during ensilage.

The rate of increase of volatile fatty acids (VFA) in silage (a) was faster than in others, and the greater part (92% or more) of total VFA on 56th day was acetic acid in all silages.