

暖地型牧草付着乳酸菌発酵液添加がサイレージ発酵品質 に及ぼす影響

眞嗣平 守川信夫 長利真幸 望月智代
嘉陽稔*

I 要 約

暖地型牧草付着乳酸菌発酵液(FJLB)のサイレージへの添加効果を調査するため、FJLB中の乳酸菌数(colony forming unit;cfu)の確認を行なった。さらにローズグラス、ギニアグラス、パンゴラグラスおよびジャイアントスターグラスを無予乾ならびに予乾処理後、FJLB無添加、0.1%添加および1.0%添加する処理を行いサイレージの発酵品質を調査したところ結果は以下のとおりであった。

1. 暖地型牧草付着乳酸菌数は5月、8月および11月において $10^5 \sim 10^6$ cfu/gFMであった。
2. FJLB中の乳酸菌数は5月、8月および11月において $10^8 \sim 10^{10}$ cfu/mlであり、材料草に対し0.1%および1.0%添加することにより、サイレージ発酵に必要とされている材料草1g当たり 10^6 cfu/gFM以上の乳酸菌を常に確保することができる。
3. FJLB添加によりpHが有意に低下した。
4. 予乾処理後、FJLBを添加することで乳酸発酵が有意に促進された。
5. 無予乾サイレージにおいてはFJLB添加による乳酸発酵の促進、酪酸発酵の抑制および揮発性塩基態窒素(VBN)含量の低下はみられなかった。

以上のことからFJLBは予乾処理と併用し、0.1%および1.0%添加することで添加効果を得られることが示唆された。

II 結 言

サイレージの発酵品質向上のために市販の乳酸菌添加剤を利用する方法があるが、乳酸菌製剤は数種類の純粋培養した菌の混合物であるため、それらの菌に適した環境条件が与えられないと添加効果を発揮しない場合がある^{1, 2)}。

大島ら^{1~3)}は、牧草と水をミキサーで磨砕して手軽に得られるFJLBをサイレージ材料に0.1%添加することで、多種類の土着乳酸菌を補い、良質なサイレージが得られることを報告している。暖地型牧草においては、嘉陽ら^{4, 5)}がセタリアグラスとギニアグラスにFJLBを添加することにより乳酸発酵の促進、酪酸発酵の抑制、pHおよび総窒素中の揮発性塩基態窒素(VBN/TN)の低下を報告しているが、FJLB中の乳酸菌数は確認されておらず、草種、添加量など要因は検討されていない。また、ギニアグラスにおいて、予乾処理と添加効果が検討⁶⁾されているが、他の暖地型牧草を用いた知見はない。そこで、沖縄県の主要牧草である、ローズグラス、ギニアグラス、パンゴラグラスおよびジャイアントスターグラスを用いて、暖地型牧草付着乳酸菌数、FJLB中乳酸菌数の確認ならびに予乾処理と添加効果の関係を草種ごとに調査したので報告する。

III 材料および方法

1. 供試草種

供試草種は、ローズグラス(品種：カタンボラ)、ギニアグラス(品種：ガットンパニック)、パンゴラグラス(品種：トランスバーラ)およびジャイアントスターグラスを用いた。

2. FJLB の調製

それぞれの新鮮草 100g と水 500ml をミキサーにかけ、得られた緑汁をガーゼで濾過し、2.0%のグルコースを添加後、嫌気条件下約 30°C で 2 日間培養し調製した。

3. サイレージの調製

サイレージ原料草は、2003 年 5 月 13 日(再生 40 日目)に刈取り、それぞれの草種を天日で約 4 時間予乾処理をした。その後、約 1cm に細断し、約 300g をプラスチックフィルム(パウチ)⁷⁾ に入れ、FJLB 無添加、材料草に対し FJLB を 0.1% 添加および 1.0% 添加する処理を行ない吸引脱気した後、密封した。続いて 2003 年 11 月 12 日(再生 40 日目)に刈取り後、無予乾で直ちにサンプルを採取し先に述べた方法で FJLB を添加後密封した。これらを室温で 30 日間保存後、サイレージ発酵品質の分析に供試した。

サイレージの分析は、水分含量を加熱乾燥法、pH はガラス電極法、VBN 含量は水蒸気蒸留法⁸⁾ および有機酸組成を高速クロマトグラフ法(島津製作所 SPD-10A)によりそれぞれ測定した。

4. 乳酸菌数の確認

牧草付着乳酸菌数と FJLB 中の乳酸菌数の調査は、2003 年 5 月 13 日(再生 40 日目)、2003 年 8 月 14 日(再生 40 日目)および 2003 年 11 月 12 日(再生 40 日目)の計 3 回行ない、Bromo Cresol Purple Plate Count Agar 培地(BCP 加プレートカウント寒天培地)を用い、37°C で 3 日間嫌気培養後、コロニー数を計測した。

IV 結果および考察

表 1 に牧草付着乳酸菌数と FJLB の培養後における乳酸菌数を示した。牧草付着乳酸菌は 8 月に多い傾向がみられたが、5 月、8 月、11 月においていずれも $10^5 \sim 10^6$ cfu/gFM であった。蔡⁹⁾ はサイレージ発酵において、乳酸菌が素早く増殖して不良微生物の増殖を圧倒的に抑えるためには、材料草 1g 当たり 10^6 cfu/gFM 以上の乳酸菌を必要としている。今試験では 8 月のローズグラス、パンゴラグラスおよびジャイアントスターグラスを除いては 10^6 cfu/gFM 以上を満たしていなかった。このことから乳酸菌発酵型の安定した良質サイレージを得るためには、調製時に乳酸菌の添加が必要であることが示唆された。

FJLB の乳酸菌数は $10^8 \sim 10^{10}$ cfu/ml であり、チモシーとオーチャードグラス¹⁰⁾、アルファルファ^{2, 3)} およびギニアグラス¹¹⁾ による報告と同様であった。よって、これらを材料草に対し 0.1% および 1.0% 添加することにより常に、 10^6 cfu/gFM 以上の乳酸菌が確保することができる。

表 1 暖地型牧草付着乳酸菌数および FJLB 中の乳酸菌数

| | 草種 | 牧草付着乳酸菌数 | FJLB 中乳酸菌数 |
|-----|--------------|-------------------|----------------------|
| | | cfu/gFM | cfu/ml |
| 5月 | ローズグラス | 5.0×10^5 | 3.0×10^9 |
| | ギニアグラス | 5.0×10^5 | 5.0×10^8 |
| | パンゴラグラス | 5.0×10^5 | 1.0×10^8 |
| | ジャイアントスターグラス | 2.0×10^5 | 2.0×10^8 |
| 8月 | ローズグラス | 3.0×10^6 | 2.0×10^9 |
| | ギニアグラス | 2.0×10^5 | 1.0×10^9 |
| | パンゴラグラス | 1.0×10^6 | 1.0×10^9 |
| | ジャイアントスターグラス | 2.0×10^6 | 1.0×10^{10} |
| 11月 | ローズグラス | 5.0×10^5 | 2.0×10^9 |
| | ギニアグラス | 5.0×10^5 | 1.5×10^9 |
| | パンゴラグラス | 5.0×10^5 | 1.0×10^8 |
| | ジャイアントスターグラス | 2.0×10^5 | 8.0×10^8 |

注) cfu: colony forming unit.

表 2 に予乾処理を行なったサイレージの発酵品質を示した。サイレージの水分含量は平均 64.5% であ

った。ギニアグラスを除く3草種について、添加区が無添加区に比べ有意に乳酸産生割合が増加し、0.1%添加区よりも1.0%添加区で大きい傾向がみられた。さらにギニアグラスを除いてFJLBを添加することによりpH、VBN含量の低下傾向がみられた。V2スコアは、無添加区、添加区ともに酪酸などがほとんど生成されなかったため高得点であった。

表2 予乾処理におけるサイレージ発酵品質

| 草種 | 添加量 | 水分含量(%) | pH | VFA含量(新鮮物中%) | | | | | VBN mg/新鮮物 100g | V2スコア |
|------------------|------|---------|-------------------|--------------------|------|--------|------|-----|-----------------------|-------|
| | | | | 乳酸 | 酢酸 | プロピオン酸 | 酪酸 | 吉草酸 | | |
| ローズグラス | 無添加 | 63.7 | 5.37 | 0.47 ^B | 0.51 | nd | nd | nd | 37.4 | 92.4 |
| | 0.1% | 63.7 | 4.63 | 1.61 ^A | 0.11 | nd | nd | nd | 30.3 | 97.1 |
| | 1.0% | 63.6 | 4.39 | 1.81 ^A | 0.11 | nd | nd | nd | 30.1 | 97.2 |
| ギニアグラス | 無添加 | 69.9 | 5.21 ^C | 0.69 | 0.18 | nd | nd | nd | 49.7 ^B | 91.7 |
| | 0.1% | 71.0 | 5.45 ^B | 0.38 | 0.29 | nd | nd | nd | 58.8 ^{AB} | 88.4 |
| | 1.0% | 70.6 | 5.53 ^A | 0.28 | 0.30 | 0.02 | 0.03 | nd | 72.4 ^A | 82.1 |
| パンゴラグラス | 無添加 | 60.1 | 5.39 ^A | 0.53 ^C | 0.10 | nd | nd | nd | 57.0 | 89.7 |
| | 0.1% | 64.3 | 5.18 ^B | 1.17 ^B | 0.21 | nd | nd | nd | 60.3 | 88.5 |
| | 1.0% | 64.0 | 4.52 ^C | 1.76 ^A | 0.14 | nd | nd | nd | 53.2 | 90.8 |
| ジャイアント スターグラス | 無添加 | 61.1 | 5.31 | 0.55 ^B | 0.06 | nd | nd | nd | 35.7 | 95.6 |
| | 0.1% | 60.6 | 4.43 | 1.23 ^{AB} | 0.15 | nd | nd | nd | 31.8 | 96.7 |
| | 1.0% | 61.6 | 4.74 | 1.75 ^A | 0.16 | nd | nd | nd | 26.2 | 98.3 |

注 1) 同草種内で同列の異符号間に有意差あり(P<0.01)。

2) nd:非検出を示す。

3) V2スコアの評価は80点以上が良, 60~80点が可, 60点以下が不良。

表3に無予乾サイレージの発酵品質を示した。水分含量は平均77.2%であり、高水分サイレージであった。乳酸含量はパンゴラグラスの1.0%添加区においてわずかに検出されたものの、他の区においては検出されなかった。酪酸発酵の抑制およびVBN含量の低下効果はみられずFJLBの添加効果は得られなかった。

表3 無予乾におけるサイレージ発酵品質

| 草種 | 添加量 | 水分含量(%) | pH | VFA含量(新鮮物中%) | | | | | VBN mg/新鮮物 100g | V2スコア |
|------------------|------|---------|------|--------------|------|--------|------|-----|-----------------------|-------|
| | | | | 乳酸 | 酢酸 | プロピオン酸 | 酪酸 | 吉草酸 | | |
| ローズグラス | 無添加 | 76.2 | 5.73 | nd | 0.35 | 0.06 | 0.37 | nd | 106.6 | 54.3 |
| | 0.1% | 76.3 | 5.70 | nd | 0.43 | 0.04 | nd | nd | 94.4 | 77.3 |
| | 1.0% | 76.7 | 5.71 | nd | 0.53 | 0.05 | nd | nd | 94.6 | 76.4 |
| ギニアグラス | 無添加 | 77.5 | 5.66 | nd | 0.32 | 0.03 | nd | nd | 83.9 | 81.1 |
| | 0.1% | 77.8 | 5.62 | nd | 0.32 | 0.06 | nd | nd | 82.9 | 81.2 |
| | 1.0% | 78.7 | 5.55 | nd | 0.33 | 0.06 | nd | nd | 84.1 | 80.7 |
| パンゴラグラス | 無添加 | 78.8 | 5.63 | nd | 0.23 | 0.03 | nd | nd | 76.2 | 83.7 |
| | 0.1% | 78.6 | 5.45 | nd | 0.30 | 0.02 | nd | nd | 75.5 | 83.6 |
| | 1.0% | 78.8 | 5.37 | 0.06 | 0.23 | 0.02 | 0.04 | nd | 71.0 | 82.4 |
| ジャイアント スターグラス | 無添加 | 75.1 | 5.80 | nd | 0.38 | 0.07 | 0.03 | nd | 158.1 | 57.1 |
| | 0.1% | 75.8 | 5.88 | nd | 0.38 | 0.03 | 0.02 | nd | 154.2 | 59.1 |
| | 1.0% | 75.5 | 5.79 | nd | 0.36 | 0.07 | 0.04 | nd | 142.6 | 61.2 |

注 1) nd:非検出を示す。

2) V2スコアの評価は80点以上が良, 60~80点が可, 60点以下が不良。

表2, 表3の結果を基に草種と予乾処理および添加量の影響を検討するため、これら3つを要因として分散分析したのが表4である。pHと乳酸含量にFJLB添加による影響がみられた。VBNとV2スコアは草種と予乾の影響がみられた。

表4 サイレージ発酵品質の分散分析表

| 要因 | 自由度 | 水分 | pH | 乳酸 | 酢酸 | プロピオン酸 | 酪酸 | 吉草酸 | VBN(mg) FM100g中 | V2スコア |
|-----------|-----|------|------|------|------|--------|------|------|--------------------|-------|
| 草種 | 3 | ** | ns | * | ** | ** | ns | ns | ** | ** |
| 予乾 | 1 | ** | ** | ** | ns | ns | ns | ns | ** | ** |
| 添加量 | 2 | ns | ** | ** | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| 草種×予乾 | 3 | * | ** | * | ns | ns | ns | ns | ** | ** |
| 草種×添加量 | 6 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| 予乾×添加量 | 2 | ns | ns | ** | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| 草種×予乾×添加量 | 6 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| 誤差 | 36 | 5.98 | 0.08 | 0.11 | 0.03 | 0.001 | 0.03 | 0.01 | 255.9 | 31.3 |

注) **: P<0.01 * : P<0.05

pHにおいては、添加量の主効果が有意であったため、添加量間の比較を表5に示す。添加量が増すごとにpHが低下しFJLB1.0%添加区と無添加区において有意差がみられた。

表5 サイレージのpH

| 区 | 無添加区 | 0.1%区 | 1.0%区 |
|----|-------------------|--------------------|-------------------|
| pH | 5.47 ^A | 5.32 ^{AB} | 5.10 ^B |

注) 異符号間に有意差あり(P<0.01)。

乳酸については予乾処理と添加量との間に交互作用が有意であった。このことは、予乾処理を行った場合と行わない場合とでは、添加効果が異なることを意味するため、表6において予乾処理と無予乾処理でFJLBの添加効果を検討した。予乾処理した場合、FJLBを添加することにより乳酸生成が有意に促進された。しかし無予乾の場合はFJLBの添加効果はみられなかった。

表6 サイレージの乳酸含量(新鮮物中%)

| 区 | 無添加区 | 0.1%区 | 1.0%区 |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|
| 予乾 | 0.56 ^A | 1.09 ^B | 1.40 ^B |
| 無予乾 | 0.14 | 0.09 | 0.11 |

注) 異符号間に有意差あり(P<0.01)。

以上のことから、暖地型牧草4草種にFJLBの添加試験を実施し、サイレージを調製した結果、pHにおいては予乾有無を問わずFJLB添加による低下傾向がみられた。さらに予乾処理し添加することにより、乳酸発酵が有意に促進され添加効果がみられた。しかし、無予乾の場合は乳酸発酵促進や酪酸発酵抑制およびVBN含量低下などの添加効果はみられず、大島ら¹²⁾や嘉陽ら⁶⁾の報告とは異なる結果になった。玉田ら¹³⁾やブリーノら¹⁰⁾はFJLB単独添加ではサイレージ発酵品質を高める効果は低く糖分を添加することにより効果がみられたと報告している。本試験においては、予乾処理をすることにより材料草の水分が減少し糖分濃度が高まった¹⁴⁾と考えられる。さらにFJLB添加によって増加した乳酸菌がこの糖分を発酵基質として利用した結果、添加効果があらわれたと推察される。よってFJLBは単独では効果は低く、予乾処理と併用し、0.1%および1.0%添加することで高い効果が得られることが示唆された。

V 引用文献

- 1) 大島光昭, 1999, 新しいサイレージ用自家製乳酸菌添加剤 - 緑汁発酵液の提案 -, 畜産の研究, 53, (3), 45-49

- 2) Ohshima M., Kimura E. and Yokota H., 1997, A Method of Making Good Quality Silage From Direct Cut Alfalfa by Spraying Previously Fermented Juice, *Animal Feed Science Technology*, **66**, 129-137
- 3) Ohshima M., Ohshima Y., Kimura E. and Yokota H., 1997, Fermented Quality of Italian Ryegrass Silages Treated with Previously Fermented Juice Prepared from both The Herbage, *Anim. Sci. Technol. (Jpn)* **68**, 41-44
- 4) 嘉陽稔・与古田稔・国吉祥子・伊村嘉美・川本康博, 1999, 緑汁発酵液 (FGJ) および糖蜜添加による暖地型牧草サイレージの発酵品質 (1) パウチ法による試験, 沖縄畜試研報, **37**, 84-86
- 5) 嘉陽稔・与古田稔・伊村嘉美・国吉祥子・後藤正和・川本康博, 2000, 緑汁発酵液 (FGJ) および糖蜜添加による暖地型牧草サイレージの発酵品質 (2) ロールペールラップサイレージへの添加効果, 沖縄畜試研報, **38**, 60-63
- 6) 嘉陽稔・与古田稔・後藤正和・伊村嘉美・川本康博, 2000, 緑汁発酵液 (FGJ) および糖蜜添加による暖地型牧草サイレージの発酵品質 (3) ギニアグラスへの添加と予乾による効果, 沖縄畜試研報, **38**, 64-67
- 7) 田中治・大桃定洋, 1995, プラスチックフィルムを用いた小規模サイレージの発酵試験法 (パウチ法) の開発, 日草誌, **41**, 55-59
- 8) 自給飼料品質評価研究会編, 2001, 改訂粗飼料の品質評価ガイドブック, 日本草地畜産種子協会, 91-101
- 9) 蔡義民, 2001, サイレージ乳酸菌の役割と高品質化の調製, 日草誌, **47**, 527-533
- 10) Masuko T., Hariyama Y., Takahashi Y., L M CAO., Goto M. and Ohshima M., 2002, Effect of Fermented Juice of Epiphytic Lactic Acid bacteria Prepared from Timothy and Orchardgrass on Fermentation Quality of Silages, *Grassland Science*, **48**, 120-125
- 11) ブリーノ スマジャイ・川本康博, 2002, サイレージ発酵品質に及ぼすギニアグラス付着乳酸菌発酵液の添加の影響, 日草誌, **48**(別), 224-225
- 12) Ohshima M., L M CAO., Kimura E., Ohshima Y. and Yokota H., 1997, Influence of Addition of Previously Fermented Juice to Alfalfa Ensiled at Different moisture Contents, *Grassland Science*, **43**, 56-58
- 13) Tamada J., Yokota H., Ohshima M. and Tamaki M., 1999, Effect of Additives, Storage Temperature and Regional Difference of Ensiling on the Fermentation Quality of Napier Grass (*Pennisetum purpureum Schum.*) Silage, *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, **12**, 28-35
- 14) 安藤文桜・越智茂登一, 1977, サイレージのすべて, 132, 酪農事情社

研究補助：平良樹史，竹内千夏，具志堅興司