

サイレージの有機酸発酵ならびに

好気的変敗の制御に関する研究

服部育男

1994

①

愛媛大学大学院博士論文

サイレージの有機酸発酵ならびに
好气的変敗の制御に関する研究

STUDIES ON THE SILAGE FERMENTATION
AND REGULATION OF AEROBIC DETERIORATION
OF SILAGE

生物資源生産学講座
動物生産学専攻

服部 育男

IKUO HATTORI

1994

目 次

第 1 章	序 論	1
第 2 章	サイレージの有機酸発酵に関する研究	
第 1 節	乳酸緩衝能 (L B C) および可溶性炭水化物 (W S C) がサイレージの発酵品質に及ぼす影響	9
第 2 節	添加糖の種類と添加水準が各種サイレージ の発酵品質に及ぼす影響	23
第 3 節	サイロ詰め込み後の埋蔵温度並びにグルコ ース添加がサイレージの発酵品質に及ぼす影響	41
第 4 節	摘 要	57
	SUMMARY	61
第 3 章	サイレージの好気的変敗の機構に関する研究	
第 1 節	緒 言	65
第 2 節	トウモロコシサイレージの好気的変敗過程 における微生物相並びに化学成分の推移	67
第 3 節	サイロ開封後の空気容量と詰め込み密度が トウモロコシサイレージの好気的変敗に及 ぼす影響	78
第 4 節	サイロ開封後の環境温度がトウモロコシ サイレージの好気的変敗に及ぼす影響	91
第 5 節	摘 要	100

第4章 サイレージの好気的変敗の抑制技術に関する研究

第1節 緒言 ---- 105

第2節 サイロ開封後における各種薬剤処理が
ソルガムサイレージの好気的変敗
に及ぼす影響 ---- 106第3節 サイロ詰め込み時における各種薬剤処理が
トウモロコシホールクロップサイレージの
好気的変敗に及ぼす影響 ---- 116第4節 トウモロコシサイレージの好気的変敗に
対するカプロン酸とソルビン酸の有効
阻止濃度 ---- 127

第5節 脱酸素剤による好気的変敗抑制の可能性 ---- 140

第6節 摘要 ---- 152

SUMMARY ---- 156

第5章 総括 ---- 160

謝辞 ---- 164

引用文献 ---- 165

第1章 序 論

近年、米をはじめ多くの農産物の消費が減少ないし停滞傾向で推移するなかで、肉類とくに牛肉と乳製品の消費は漸増傾向にある。その理由は、牛肉においては家庭における各生鮮肉の消費構成の変化があげられ、生鮮肉消費量がここ数年、12～13kg/人/年と横ばいで推移するなかで、牛肉自由化にともなう価格の低下が需要を喚起し、牛肉のみが堅調に伸びているためである。一方、乳製品についてみると、飲用牛乳の1人当たりの消費量は、品揃えの増加、消費者の健康志向の高まり等によって昭和62年度以降順調に増加してきたが、平成3年度においては夏場以降の天候不順等により停滞し、4年度に入ってからほぼ前年度並みで推移している。しかし、クリームやバター等の乳製品向け生乳処理量が増加し、全体的にみると乳製品需要は増加傾向にある。このような背景からわが国の農業粗生産額は畜産部門が堅調に伸びており、その結果、畜産部門が米作部門に代わって首位を占めるに至った。

一方、肉用牛の飼養動向をみると、ここ数年年率5%前後の減少を続けている飼養戸数は、平成4年には約21万戸となった。飼養頭数は昭和63年までは乳用種を中心に、平成元年以降は肉専用種を中心に増加し、平成4年には前年比3.3%増の289万8千頭となった。この結果、1戸あたりの飼養頭数は繁殖経営においては4.2頭（62年3.3頭）、肉専用種肥育経営において20.6頭（同9.5頭）、乳用種肥育経営で65.2頭（同35.1頭）と着実に拡大している。また、乳用牛の飼養頭数は前年比0.7%減の206万8千頭であるが、生乳

生産量は経産牛1頭あたりの生乳生産量が増加しているため、増加傾向で推移している。乳用牛の飼養戸数についてみると、平成4年のそれは前年比7.6%減の約5万戸であったが、1戸あたりの飼養頭数は40.6頭（同30.4頭）となっている。この結果、わが国の酪農経営は米国並の大規模飼養層がかなりの比率を占めるようになり、少なくとも頭数規模の上ではECの水準を凌駕するに至っている。

このように肉、乳製品の需要が増加し、また、経営規模の拡大により生産効率が向上しているにも拘らず、大家畜畜産経営の収益性は停滞または低下傾向にある。この理由は、前述したように牛肉輸入自由化にともなう牛肉価格や乳価の低下があげられる。このような状況のなかで収益性を向上させるためには、生産コストを下げる必要がある。そのためには、まず生産費の大部分を占める飼料コストの低減と規模拡大によって労働生産性を高める必要がある。近年、飼養頭数規模の拡大に飼料生産基盤の強化が伴わないことから、円高の進行を背景とした購入飼料の割安感と利便性により、粗飼料を購入する農家が増加している。しかし、大家畜を飼養する上で必要不可欠な粗飼料を自給することは、大家畜畜産経営のコスト低減につながるとともに、購入飼料の価格変動等の外部要因による影響を緩和し、経営体質の強化を図ることができるなどの経営上の利点が多い。つぎにわが国の家畜飼養の全般的な問題として、家畜糞尿の処理に多くの経費がかかることがあげられる。すなわち、多頭化によって多量の糞尿が排泄されるにも拘らず、それを還元するための草地や飼料畑の拡大が伴わず、それを処理するための経費がかかるためと考えられる。

これらの点からみて、わが国の農畜産業が国際化を迎えた今日、大家畜畜産経営の体質を一層強化し、多頭化のメリットをより顕著に発揮させ、その収益性を向上させるためには、飼料生産基盤を強化して草地畜産を定着させ、より低廉な自給飼料生産を図ることが必須の課題である。

飼草を生産した場合、生産量の季節的変動のために飼草の保蔵が必要である。飼草の保蔵法としては乾草やサイレージがあげられ、近年ではロールベラーやラッピングマシンによるロールベールドサイレージの調製が北海道を中心に急速に普及しつつある。しかし、わが国は北海道を除き降雨量が多く、乾草やヘイレージ調製の適地が少ないことや、中山間部で畜産を営む農家が多いため、前述のような大型機械の導入が困難である。したがって、大家畜の粗飼料給与体系としては、従来の栄養価の変動が小さく、生産コストが節減できるホールクロップサイレージやグラスサイレージの通年給与方式が依然として主流を占めるものと考えられる。このような背景から、ロールベールドサイレージを含むサイレージの重要性が一段と高まり、高品質サイレージを安定的に調製する技術の開発が要請されている。近年、発酵品質が優れたサイレージはサイロ開封後の好氣的条件によって微生物が急増殖し、いわゆるサイレージの好氣的変敗（二次発酵）を起こし易いことが指摘されるようになった。換言すれば、高品質化すればするほど一層、好氣的変敗を加速する二律背反的矛盾を生じ、サイレージの調製利用上の難問として浮上し、これの技術的解決に迫られている。

Watson(1939)の著書によると、サイレージに関する最も早い論文

は1842年に発表されたGrieswaldによるもので、牧草の貯蔵法としてサイレージの調製技術を紹介したものであった。また、当時はサイレージの容器、すなわちサイロの形状に関する研究が中心で、サイレージの品質に及ぼす乳酸発酵の役割が十分に理解されていなかったが、今世紀に入って、サイレージ発酵の機序やそれに影響する諸要因に関する研究がしだいに解明されてきた。

Ruschmann(1939)は当時、発表されたサイレージ発酵に関与する微生物に関するデータを収集し総説としてとりまとめた。それによると、サイレージの酸性化は嫌氣的条件下で乳酸菌の活動によって起こるものであり、酸性化によって望ましくない微生物の活動を抑え、サイレージの長期保蔵が可能になることが明らかになり、サイレージ発酵の機作はしだいに解明された。さらにBarnett(1954)によると、サイレージ発酵は次のような経過をたどるものとしている。すなわち、第1期：植物細胞の呼吸が続き、単純な炭水化物を消費して炭酸ガスを生成する。第2期：コリ型細菌によって少量の酢酸が生産される。第3期：乳酸菌の増殖によって炭水化物から乳酸が生成される。第4期：乳酸の量が1~1.5%になり、pHが4.2以下になって安定する。もし、乳酸の生成量が少なく酸性化が不十分な場合には第5期に移行し、酪酸菌が残存している炭水化物および生成された乳酸を消費して酪酸および揮発性脂肪酸(VFA)を産生し、また、アミノ酸からアンモニアを生成する。以上の変化のうち第3期までは詰め込み後約3日間で完了し、第4期が終わるまでは2~3週間かかるとしている。

この発酵過程は条件によって若干異なる場合があるとしても、一

般に適用できるものと考えられる。したがって、これ以降サイレー
ジ発酵に関する研究は、これらの研究成果に基づき、サイレー
ジ調製に不適當な高水分で可溶性炭水化物(WSC)の含量が低い材料
草を用いて品質の良いサイレージを調製するための添加物などに関
する実用的な技術の開発が中心となった。これらの成果はMcDonald
(1981)やWoolford(1984)の著書に要約されている。すなわち、物理
面からは細切、圧密、サイロ構造、脱気、排汁および予乾やビート
パルプ等の添加による材料草の水分調整、化学面からは、乳酸菌に
よる自然発酵に頼らず、強制的にpHを低下させることを目的とした
AIV法や蟻酸添加法、発酵そのものを抑制することを目的とした
ホルマリン添加法やアンモニア処理、発酵基質を補うことを目的と
した糖蜜等の糖添加法、セルラーゼ等の糖化酵素添加法等の技術が
開発されつつある。また、微生物学的な面からはホモ発酵型優良乳
酸菌を添加して、乳酸発酵の促進や他の不良微生物の繁殖を抑制す
ることを目的とした乳酸菌添加法が普及している。

このようにサイレージ調製について様々な技術が開発されている
が、いずれの調製法も酪酸菌等による不良発酵を抑制し、乳酸菌の
増殖を促進させることが基本となっている。しかしながら、これら
の微生物は規格化された培地で培養される場合と異なり、サイレー
ジ材料草の化学成分やサイレージ発酵過程中的微生物の発育に関与
する環境条件が多様であり、しかも、微生物相互の競合関係もあっ
てこの問題は一層複雑になっている。これまでにサイレージ発酵の
機構は一応解明されたかに見えるがなお未知の点が多く、それらを
明らかにすることは今後より安定した調製技術を開発するために、

極めて重要な課題と考えられる。また、わが国におけるサイレージに関する試験研究は歴史が浅く、その急激な普及もあって応急的、対症療法的な実用的研究に終始し、基礎的研究に欠けていたように考えられる。

一方、1960年代のヨーロッパにおいては前述したごとく添加物による発酵抑制を行ったいわゆる非発酵サイレージ(Non-fermented silage)が主流となり、その結果、サイレージ中に多量のWSCが残存し、給与時に好気的変敗を誘発し大きな問題となった。わが国においても、1970年代になってトウモロコシホールクロップサイレージの調製が全国的に普及し、それによって高品質サイレージの給与が容易になった反面、好気的変敗が頻発するようになった。好気的変敗が問題化した背景には、次のようなことがあげられる。すなわち、1)バンカーのような表面積の広いサイロの普及、2)低水分サイレージの増大、3)サイレージの通年給与方式の普及による夏季のサイロ開封、4)トウモロコシホールクロップサイレージの利用増大である。

この好気的変敗を取り扱った論文としては、Beck and Grossが1964年に発表したものが最も古い。同氏らは1)サイレージの品質(例えばフリーク評点)と開封後の安定性には関係がない、2)酵母の数が多いと変敗しやすい傾向がある、3)酵母による乳酸の分解、pHと温度の上昇および乾物の損失が起こることを明らかにした。これに関するいくつかの総説(大山, 1981a; Woolford, 1978; Crawshaw and Woolford, 1979; Honig and Woolford, 1980)によると、好気的変敗が発現した場合、1)酵母、糸状菌、一般細菌が

増殖する。2) 品温やpHの上昇, 3) 乳酸等の有機酸の減少が起きるとしている。さらに, 変敗による被害は1) 乾物の損耗, とくに栄養価の高いものが変敗によって損失する, 2) 消化率の減少, 3) 摂取量の低下, 4) 乳量の減少, 5) 微生物のつくる代謝生産物によって, 中毒症状が起きること等が明らかとなった。

その後, 好気的変敗の機作や影響を及ぼす要因の解明を目的とした研究が進み, 物理面からは, サイレージの密度, 曝気時間および気温との関係等, 化学面からは, 水分, 糖, 乳酸含量, pHおよび揮発性脂肪酸(VFA)との関係, 微生物学面からは, 酵母, 糸状菌および一般細菌数との関係などが発表された(大山, 1981a)。しかし, VFAが多いサイレージ, すなわち, 低品質サイレージは好気的変敗が起こらないということが明らかにされたが, 他の要因については統一された見解が出ないまま今日に至っている。そのため, 好気的変敗の抑制技術についても, 好気的条件を避けるための踏圧, 密封, 取り出し方法, サイロの型式, 変敗の原因となる微生物の増殖を防ぐための添加剤の使用等が研究されているが, 的確な解決策は見出されていない(大山, 1981b)。したがって, わが国, とくに西南暖地のようなトウモロコシホールクロップサイレージやソルガムサイレージが粗飼料の主流となっている地域にとって好気的変敗の抑制技術を確立することは, 自給飼料に立脚した畜産経営にとって最重要課題のひとつと考えられる。

以上のような背景と観点に立って本研究では, まず第一にサイレージの有機酸発酵の機序を解明し, そこから得られた基礎的知見をもとに高品質サイレージの調製技術の確立を目指した。次にサイロ

開封後の好気的変敗について、その機作を明らかにするとともに、得られた結果から好気的変敗の抑制技術の創出に注力した。筆者は以上の研究を3ヵ年にわたって鋭意遂行し、新しい知見が得られたので、ここに学位論文としてとりまとめ報告する次第である。

第2章 サイレージの有機酸発酵の制御に関する研究

第1節 乳酸緩衝能 (LBC) および可溶性炭水化物 (WSC) が サイレージの発酵品質に及ぼす影響

緒言

サイレージ発酵の原理は、乳酸菌がサイレージ材料草中の可溶性炭水化物 (WSC) を資化して乳酸を生成し、pHを4.2以下に下げることによってサイレージを長期に亘って保蔵することである。したがって、材料草中のWSC含量はサイレージ発酵、とくに乳酸発酵に深く関与し、その品質に多大な影響を及ぼすことが知られている (Barnett, 1954; Elitz and Vandemark, 1959; Heathら, 1958; McDonald, 1981)。

ところで、サイレージ発酵過程において材料草中のWSC含量が充分でない場合には、pHが至適域まで下がらず、酪酸菌などが活動し、サイレージ品質を低下させてしまう。したがって、埋草中のpHをすばやく下げることが、不良発酵を抑制し乾物の損失を防ぐために極めて重要である。サイレージが至適pH域に達するに十分な乳酸を生成するには、WSC含量は一般に乾物中に8~10%以上が必要であるとされている (Smith, 1962)。また、WSCを構成する成分は主に単少糖類であり、構成糖はサイレージの発酵品質とくに有機酸組成に影響を及ぼすことが指摘されている (Elitz and Vandemark, 1959; Heathら, 1958)。草類の炭水化物については多

くの研究があるが、それらは主に草類の再生と関連した貯蔵炭水化物（非構造的な多糖類）を対象とした報告が多い（Smith, 1972）。小島・伊沢（1967）は地上部の貯蔵性炭水化物について、ほとんどのイネ科草はフラクトサン、デンプンおよびシュクロースであることを報告した。さらに貯蔵性炭水化物の組成から以下の3つのグループに飼料作物・牧草を分類した。すなわち、1）フラクトサンを主成分とし、シュクロースを含有する草類。2）デンプンを主成分とし、シュクロースを含有する草類。および3）シュクロースを主成分として含有する草類とに群別した。さらに、同氏らは1）は北方系または寒地型の草類、2）と3）は南方系または暖地型の草類が属するとした。しかし、飼料作物、牧草の単少糖の構成成分を系統立てて検討した報告はほとんど見当たらない。

ところで、サイレージを調製した場合、同量の乳酸が生成されても材料草によってpHの下がり方に差がある。Virtanen（1947）はタンパク質含量が高く、サイレージ化してもpHが至適域まで下がり難い牧草に対し、鉍酸によって強制的にpHを低下させる、いわゆるA I V法を提案した。同氏はアルファルファとアカクローバで実験を行い、両種を至適pH域まで下げるのに必要なA I V液量が違うことを報告した。McDonald（1981）は草種によってpHの下がり方が異なるのは、牧草自体の持つ緩衝能の大きさが影響するものとしている。Playne and McDonald（1966）は緩衝能の大きさに関与する要因を植物体内に存在する有機酸塩であるとした。また、McDonald and Henderson（1962）は緩衝能を構成する要因は有機酸とタンパク質であり、その中でタンパク質の割合は10～20%程度であるとし、

同時に乳酸を使って緩衝能を測定する方法を提唱して、これを乳酸緩衝能 (LBC) と定義し、2, 3のイネ科草のLBCを測定した。その他、緩衝能の測定方法と数種の牧草についての緩衝能の草種間差異 (Greenhill, 1964a)、緩衝能の番草別差異 (Jasaitisら, 1987) などの研究が行われてきたが、飼料作物・牧草を網羅し、系統立てて緩衝能の測定を行った報告はほとんど見当たらなかった。

そこで筆者らは、各種飼料作物・牧草の緩衝能を測定するとともに可溶性炭水化物とその構成糖の分析を行い、糖類がサイレージの発酵品質に及ぼす影響を検討した。

材料および方法

実験材料は愛媛大学農学部圃場 (松山市樽味町) において、21草種を1988年4月から1990年8月の期間に栽培した。また、農学部勝山圃場 (松山市東野町)、愛媛県美川町大川嶺草地および松山市内の水田より、6草種を採取した。これら27草種を原則としてサイレージの調製適期と思われる出穂期から黄熟期に刈り取り、実験に供した。その詳細を表1に示した。

供試サイレージは約2 cmに細切した材料草を1ℓ容のポリ製ミニサイロに詰め込み、密封した後40日間室内に置床して調製した。WSCと単少糖類の分析試料の調製は、細切した材料草の一部を真空凍結乾燥機で乾燥後粉碎し、1 mmのフルイにかけたものを用いた。LBC測定用の試料は、細切した材料草の一部を冷凍庫で一昼夜凍結したものを供試した。

Table 1. Experimental forage species

Classification	Crop	Scientific name	Variety	Growth stage
Corn and sorghum	corn	<u>Zea mays</u> L.	P3352	dough
			Yumi 113	early yellow ripe
			Pioneer 956	milk-dough
	sorghum	<u>Sorghum bicolor</u> Moench	High sugar	dough
			FS-305	dough
Soiling millet and paddy rice	African millet	<u>Eleusine coracana</u> (L.) Gaerth.		elongation
	barnyard millet	<u>Echinochloa crus-galli</u> P. Beauv. var. <u>frumentacea</u> Wight	Aoba millet	heading
	paddy rice	<u>Oryza sativa</u> L.	Matsuyama mii	milk
Temperate grass and oats	Italian ryegrass	<u>Lolium multiflorum</u> Lam.	Wasehikari	heading
	oats	<u>Avena sativa</u> L.		heading
	orchardgrass	<u>Dactylis glomerata</u> L.		flowering
	rescue grass	<u>Bromus catharticus</u> Vahl		heading
	tall fescue	<u>Festuca arundinacea</u> Schreb.		flowering
Tropical grass	dallisgrass	<u>Paspalum dilatatum</u> Poir.		flowering
	fall panicum	<u>Panicum dichotomiflorum</u> Michx.		heading
	green panic	<u>Panicum maximum</u> Jacq. var. <u>trichoglume</u>		flowering
	guineagrass	<u>Panicum maximum</u> Jacq.	Natsukaze	flowering
	napiergrass	<u>Pennisetum purpureum</u> Schumach		elongation
	Rhodesgrass	<u>Chloris gayana</u> Kunth.	Katambora	heading
	Sudangrass	<u>Sorghum sudanense</u> (Piper) Stapf		heading
Temperate legume	alfalfa	<u>Medicago sativa</u> L.	Natsuwakaba	flowering
	crimson clover	<u>Trifolium incarnatum</u> L.		flowering
	red clover	<u>Trifolium pratense</u> L.	Sapporo	flowering
	white clover	<u>Trifolium repens</u> L.		flowering
Tropical legume and soy bean	greenleaf desmodiu	<u>Desmodium intortum</u> (Mill.) Urb.		elongatin
	phasey bean	<u>Macroptilium lathyroides</u> (L.) Ur		flowering
	siratro	<u>Macroptolium atropurpureum</u> (DC)		elongation
	soy bean	<u>Glycine max</u> (L.) Merr.	Kurosengoku	pod forming
	stylo	<u>Stylosanthes guianensis</u> (Aubl.)		flowering
The other	sunflower	<u>Helianthus annuus</u> L.		dough

乾物率は真空凍結乾燥機を使用し、WSCの分析はアンスロン法(森本, 1971)、LBCの測定はMcDonald and Henderson (1962)の方法をそれぞれ用いた。また、単少糖類は乾燥試料を80%エチルアルコールで抽出し、液体クロマトグラフィー(検出器: 日立 L-3300 RI, 使用カラム: NH2P-50, 溶離液: 75%アセトニトル)で分別定量した。pHはガラス電極pHメーター、有機酸組成はフリーク法(森本, 1971)、揮発性塩基態窒素(VBN)は減圧蒸留法(森本, 1971)、全窒素(T-N)はケルダール法(森本, 1971)によってそれぞれ定量した。また、得られたデータの有意差検定は、すべてダンカン法によった。

結 果

サイレージ材料草の乾物率、WSCおよびLBCを表2に示した。WSC含量についてイネ科牧草とマメ科牧草を比較した結果、前者の平均値が7.5%であったのに対し、後者のそれは6.6%と有意差が認められなかったが、イネ科牧草が高い傾向が認められた。LBCについて比較すると、前者の平均が35.7であるのに対し、後者のそれは46.8とマメ科草が有意に高かった。また、WSC含量とLBCについて寒地型牧草と暖地型牧草を比較した結果、LBCに関しては有意差が認められなかったが、WSC含量については寒地型牧草が有意に高かった。乾物率、WSCおよびLBCについて草種別に比較した結果、乾物率については有意差が認められなかった。WSC含量についてみると、トウモロコシ等のサイレージ用飼料作物は、

Table 2. DM^{a)}, WSC^{b)} and LBC^{c)} of silage material

Species (Variety)	DM(%)	WSC(%)	LBC
corn (P3352)	23.0	15.4	10.0
(Yumi 113)	25.5	12.9	12.3
sorghum (Pioneer 956)	21.5	8.2	14.5
(High sugar)	20.5	13.8	10.4
(FS-305)	26.5	19.5	13.1
mean	23.4 ^A	14.0 ^A	12.1 ^A
African millet	12.2	4.2	50.2
barnyard millet (Aoba millet)	16.5	6.2	45.9
paddy rice	35.4	8.6	31.7
mean	21.4 ^A	6.3 ^B	42.6 ^B
Italian ryegrass (Wasehikari)	17.8	10.2	35.3
oats	19.4	9.5	28.2
orchardgrass	21.5	7.8	32.9
rescue grass	22.9	10.2	37.5
tall fescue	26.4	7.3	42.8
mean	21.6 ^A	9.0 ^B	35.3 ^B
dallisgrass	19.5	4.9	37.8
fall panicum	17.4	9.1	42.2
green panic	19.1	4.5	30.5
guineagrass (Natsukaze)	18.4	4.5	30.0
napierrgrass	15.7	5.8	33.9
Rhodesgrass (Katambora)	18.0	4.4	31.8
Sudangrass	32.9	12.0	45.9
mean	20.1 ^A	6.5 ^B	36.0 ^B
alfalfa (Natsuwakaba)	18.3	7.9	43.6
crimson clover	19.0	7.9	54.4
red clover (Sapporo)	16.5	6.7	57.1
white clover	11.0	7.6	36.1
mean	16.2 ^A	7.5 ^B	47.8 ^B
greenleaf desmodium	14.3	5.3	39.1
phasey bean	17.8	6.9	46.5
siratro	15.8	5.7	40.8
soy bean (Kurosengoku)	24.2	7.7	70.4
stylo	18.9	3.9	32.8
mean	18.2 ^A	5.9 ^B	45.8 ^B
sunflower	12.5 ^A	10.3 ^{AB}	95.1 ^C

a) Dry matter. b) Water soluble carbohydrate.

c) Lactic buffer capacity (Lactic acid mg/DM).

Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

他と比べ高い傾向を示した。LBCについては、ヒマワリが95.1と最高値を示し、サイレージ用飼料作物は有意に低かった。

飼料作物・牧草の単少糖類含量を表3に示した。単少糖類の主成分はフルクトース、グルコースおよびシュクロースであった。糖組成についてみると、トウモロコシ・ソルガム、青刈雑穀類、暖地型イネ科草およびヒマワリはシュクロースの比率が高く、グルコースとフルクトースは同程度であった。一方、寒地型のイネ科草とマメ科草はフルクトースの比率が高く、シュクロースとグルコースは同程度であった。(図1)

これらの材料草で調製したサイレージの発酵品質を表4に示した。pHについてみると、サイレージ用飼料作物、寒地型イネ科草、オオクサキビ、ネピアグラス、スーダングラス、アルファルファはpHの至適域とされる4.2以下に低下した。一方、青刈雑穀類、暖地型マメ科草およびヒマワリは至適pH域より高い値となった。サイレージ用飼料作物と寒地型イネ科草類の乳酸含量を比較すると、前者の平均が1.97%であるのに対し、後者のそれは2.50%を示し寒地型イネ科草類が高い傾向を示した。酪酸含量はpHが至適域まで低下しなかった草種の内、比較的pHの低かったアカクローバとファゼービーンを除く草種で認められた。酢酸含量は暖地型マメ科草がやや高い傾向を示した。VBN/T-Nについてはサイレージ用飼料作物、寒地型イネ科草、アカクローバおよびアルファルファが低かった。

以上の結果をもとに、DM、WSCおよびLBCとpH、乳酸およびフリーク評点との間のそれぞれの相関係数を算出した(表5)。このうちDMについては、乳酸含量との間に $p < 0.05$ 、フリーク評点と

Table 3. The concentration of total and components of MOSD^{a)} of individual crops

Crops (Variety)	Total MOSD	MOSD component		
		Fructose	Glucose	Sucrose
corn (P3352)	14.1	1.5	1.7	10.9
(yumi 113)	12.8	1.8	1.8	9.2
sorghum (pioneer 956)	8.2	1.0	0.8	6.4
(high sugar)	14.0	2.1	1.8	10.1
(FS-305)	13.1	2.0	2.0	9.1
African millet	4.7	0.9	0.5	3.3
barnyard millet	8.7	1.0	0.8	6.9
paddy rice	8.6	1.0	1.0	6.6
Italian ryegrass	7.5	2.0	1.6	3.9
oats	9.5	4.4	3.0	2.1
orchardgrass	7.8	3.8	1.8	2.2
rescue grass	10.3	5.3	2.5	2.5
tall fescue	7.3	3.4	2.1	1.8
dallisgrass	3.1	0.7	0	2.4
fall panicum	9.1	2.1	0.8	6.2
green panic	4.7	1.4	0	3.3
guineagrass	7.8	1.1	0.6	6.1
napiergrass	5.8	2.8	0.9	2.1
Rhodesgrass	5.5	0.8	0.6	4.1
Sudangrass	12.0	2.2	1.6	8.2
alfalfa	6.6	4.0	1.1	1.5
crimson clover	7.9	5.0	1.6	1.3
red clover	6.7	4.3	1.2	1.2
white clover	7.6	5.2	1.3	1.1
greenleaf desmodium	5.7	3.9	0.8	1.0
phasey bean	7.4	2.1	3.9	1.4
siratro	7.0	4.0	1.2	1.8
soy bean	6.5	4.1	0.9	1.5
stylo	3.9	2.2	0.7	1.0
sunflower	10.4	2.1	0.8	7.0

a) Mono-, oligo saccharides.

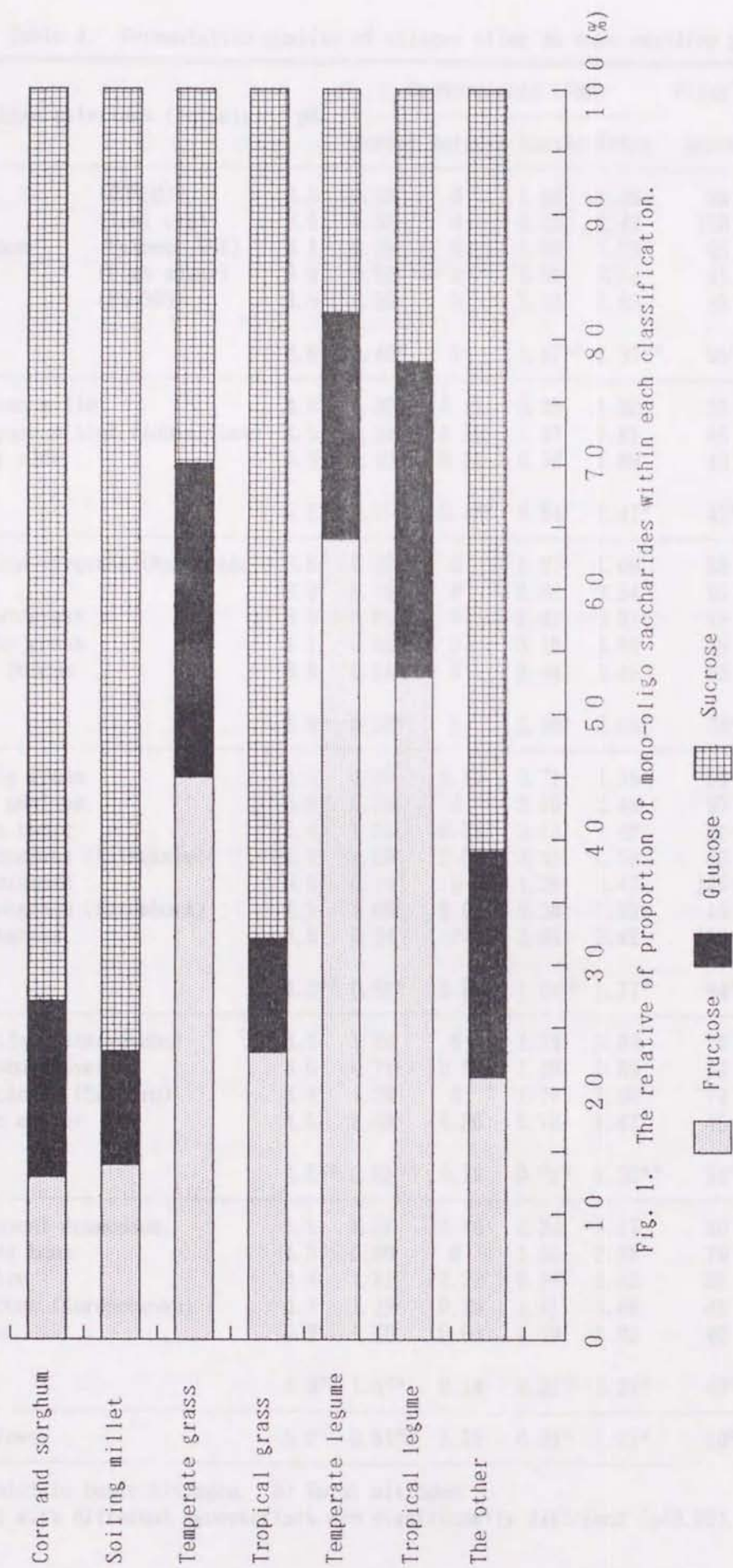


Fig. 1. The relative of proportion of mono-oligo saccharides within each classification.

Table 4. Fermentative quality of silages after 40 days ensiling period

Silage materials (Variety)	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	VBN ^{a)} —(%) T-N ^{b)}
		Acetic	Butyric	Lactic	Total		
corn (P3352)	3.6	0.38	0	1.92	2.30	95	6.0
(Yumi 113)	3.6	0.31	0	2.12	2.43	100	3.9
sorghum (Pioneer 956)	3.6	0.31	0	1.64	1.95	95	5.4
(High sugar)	3.6	0.52	0	2.02	2.54	95	3.6
(FS-305)	3.5	0.50	0	2.13	2.63	95	3.1
mean	3.6 ^A	0.40 ^A	0	1.97 ^{AB}	2.37 ^{AB}	96 ^A	4.4 ^A
African millet	4.6	1.30	0.17	0.35	1.32	30	21.5
barnyard millet (Aobamillet)	4.5	0.54	0.20	1.07	1.81	65	17.5
paddy rice	6.3	0.43	0.16	0.50	1.09	40	13.2
mean	5.1 ^{BC}	0.75 ^A	0.18	0.64 ^C	1.41 ^B	45 ^{BC}	17.4 ^{BC}
Italian ryegrass (Wasehikari)	3.8	0.47	0	1.21	1.68	88	5.4
oats	3.9	0.72	0	2.82	3.54	95	3.9
orchardgrass	3.9	0.65	0	2.42	3.07	95	4.1
rescue grass	4.1	0.56	0	3.10	3.66	95	3.9
tall fescue	3.8	0.51	0	2.94	3.45	95	4.5
mean	3.9 ^A	0.58 ^A	0	2.50 ^A	3.08 ^A	94 ^{AB}	4.4 ^A
dallis grass	4.5	0.55	0.10	0.71	1.35	50	12.5
fall panicum	3.9	0.38	0	2.10	2.48	95	10.7
green panic	5.4	1.35	0.35	0.13	1.48	20	32.3
guineagrass (Natsukaze)	4.5	1.00	0.08	0.45	1.59	40	19.3
napierrgrass	3.8	0.19	0	1.28	1.47	100	5.3
Rhodesgrass (Katambora)	4.5	1.00	0.03	0.56	1.59	45	18.0
Sudangrass	3.9	0.34	0	2.08	2.42	100	4.3
mean	4.3 ^{AB}	0.68 ^A	0.08	1.04 ^{BC}	1.77 ^B	64 ^{BC}	14.6 ^B
alfalfa (Natsuwakaba)	4.2	1.24	0	1.79	3.03	70	6.4
crimson clover	5.0	0.72	0.54	1.29	2.55	50	21.1
red clover (Sapporo)	4.4	1.20	0	1.76	2.96	70	8.2
white clover	4.6	0.49	0.20	0.78	1.47	45	12.4
mean	4.6 ^{AB}	0.91 ^{AB}	0.19	0.72 ^C	2.50 ^{AB}	59 ^{CD}	12.0 ^{AB}
greenleaf desmodium	5.6	1.07	0.16	0.24	1.47	30	14.0
phasey bean	4.3	0.99	0	1.39	2.38	70	10.7
siratiro	4.8	1.81	0.22	0.29	2.32	30	25.1
soy bean (Kurosengoku)	4.7	1.29	0.29	1.41	3.08	45	16.3
stylo	5.2	1.70	0.03	0.29	2.03	40	16.6
mean	4.9 ^{BC}	1.37 ^A	0.14	0.24 ^C	2.26 ^B	43 ^{CD}	16.5 ^B
sunflower	5.2 ^C	0.51 ^B	1.16	0.24 ^C	1.91 ^B	10 ^D	26.6 ^C

a) Volatile basic nitrogen. b) Total nitrogen.

Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

の間に $p < 0.01$ で有意な正の相関が認められた。WSC 含量については、フリーク評点、乳酸含量との間に $p < 0.001$ で正の相関、pH との間に $p < 0.01$ で有意な負の相関が認められた。また、LBC については、pH との間に $p < 0.05$ で有意な正の相関があり、フリーク評点とは $p < 0.01$ で有意な負の相関があったが、乳酸との間には有意な相関が見られなかった。

Table 5. Correlation between pH, lactic acid and Flieg's score and DM, WSC and LBC

	DM	WSC	LBC
pH	-0.09 ^{NS}	-0.54 ^{**}	0.45 [*]
Lactic acid	-0.45 [*]	0.61 ^{***}	0.30 ^{NS}
Flieg's score	0.47 ^{**}	0.64 ^{***}	-0.53 ^{**}

NS; not significant. *: significant $p < 0.05$.

** : significant $p < 0.01$. ***: significant $p < 0.001$.

考 察

草種別のWSC, LBCを検討した結果, WSC含量については, トウモロコシなどのサイレージ用飼料作物が高く, 寒地型牧草は暖地型牧草に比べて総じて高かった。一方, LBCについては, マメ科草がイネ科草より高かったが, これはMcDonald and Henderson (1962)の報告と良く一致した。また, 同氏らはLBCには材料草中のタンパク質含量が関与していると報告しているが, 本試験の結果においてもタンパク質含量が高いマメ科草のLBCは, イネ科草のそれより高かった。

単少糖組成についてみると, 今回供試した材料草の単少糖組成は1) シュクロースが主成分, 2) フルクトースが主成分の2つに分類された。前者は熱帯, 亜熱帯に起源を持つ草種, 後者は温帯と亜寒帯の冷涼気候帯に起源を持つ草種であり, 貯蔵性糖類の草種別分類と関連性が認められた。すなわち, デンプンまたはシュクロースを貯蔵する熱帯系の草種のWSCはシュクロースが主成分であり, フラクトサンを貯蔵する寒地型の草種のWSCはその構成糖であるフルクトースが主成分であった。ところで, サイレージ発酵の際, 乳酸菌は2つの経路を使って糖を乳酸に資化する。すなわち, 6炭糖1分子から2分子の乳酸を生成する経路と5炭糖1分子から1分子の乳酸と1分子の酢酸を生成する経路である。前者はホモ型発酵, 後者はヘテロ型発酵と呼ばれる(Whittenburyら, 1967)。したがって, 6炭糖は5炭糖と比較して効率的に乳酸に資化される。一方, 今回の実験において草類の単少糖組成はフルクトース, グルコース

およびシュクロースであった。これらはいずれもホモ型発酵によって乳酸へ資化されるので草類中に存在する単少糖の構成比率はサイレージの発酵品質に影響を及ぼさず、WSC含量が発酵品質を支配するものと考えられた。

WSC含量がサイレージのpH、フリーク評点および乳酸含量に及ぼす影響については、pHとの間に有意な負の相関($p < 0.01$)、フリーク評点、乳酸との間にそれぞれ有意な高い正の相関($p < 0.001$)が認められた。これはWSC含量に応じて乳酸が産生されたことと、それに伴ってpHが低下したことを示している。またpHの低下が酪酸発酵を抑制したことも、フリーク評点が高くなった原因である。したがって、高品質サイレージを調製するには、まず第一にWSC含量の高い草種を選定することが重要である(Barnett, 1954; McDonald, 1981)。

次にLBCとサイレージのpH、フリーク評点との関係については、pHと有意な正の相関($p < 0.05$)、フリーク評点とは有意な負の相関($p < 0.01$)があった。すなわち、LBCは材料草あるいはサイレージの緩衝能の大きさを示すものであるから、LBCが高位値を示す草種は、サイレージのpHを至適域まで下げるために多くの有機酸、とくに乳酸を必要とするので、WSC含量が不足するとpHが低下せず、その結果、酪酸発酵を起こし易いのでサイレージ用として適さないものと考えられる。

以上述べたように、サイレージ用適草種の具備すべき条件は、WSC含量が高く、LBCが低いことであることが明らかとなった。したがって、それらの条件を満たしている登熟期のトウモロコシと

ソルガムは、サイレージ用草種として最適である。一方、その他の草種でWSCが比較的高い材料草で調製したサイレージの発酵品質についてみると、イタリアンライグラスやアルファルファのようにLBCが中程度のものは良質サイレージが調製され、ヒマワリや青刈大豆のようにLBCがとくに高いものは低品質のサイレージとなった。この結果はLBCがある程度高い草種でも、pHを至適域まで低下させるのに十分なWSCを含有していれば、乳酸含量が高い良質サイレージが調製できることを示している。本試験では、イタリアンライグラスやエンバクのようにWSCが高く、LBCが中程度の草種のサイレージは、トウモロコシやソルガムなどのLBCが低いサイレージより多くの乳酸が認められている。また、トウモロコシやソルガムなどの乳酸含量の低いサイレージでは、詰め込み時に尿素や炭酸カルシウムを添加すれば、pHがなかなか下がらず乳酸菌の活動期間が長くなって高乳酸サイレージが調製されたとする報告もある(Britt and Huber, 1975; Heinrichs and Conrad, 1984)。

以上の結果、WSCとLBCがサイレージの発酵品質に及ぼす影響については、WSCが品質向上に、LBCがその低下に互いに作用するが、pHを至適域まで低下させるのに十分なWSCを材料草が含有している場合は、LBCの影響が消去される。また、LBCがとくに高いか、もしくはWSC含量が低いときには、発酵品質の劣るサイレージが調製されることが判明した。

第2節 添加糖の種類と添加水準が各種サイレージの発酵品質に及ぼす影響

緒言

前節より、サイレージ発酵品質は材料草中のWSCとLBCが強く影響することが明らかとなった。そこで材料草中のWSCが不足する場合には、糖を添加して乳酸発酵を促進し、サイレージの発酵品質を改善する糖添加法が技術化されている。その代表的な添加物としては糖蜜(Changら 1988; Masuko and Awaya, 1989; McDonald and Purves, 1956)、グルコース(Masuko and Awaya, 1989; 山野ら, 1987)があげられ、一部の例外(大山ら, 1971)を除き、多くの報告によってその添加効果が認められている。しかし、草種、生育ステージによって材料草のWSC含量や緩衝能に差異があり、必要とする糖の添加量が異なるものと考えられる。

一方、糖の種類によって乳酸菌による資化性が異なることは、McDonald(1981)によってすでに指摘されている。また、糖の種類によって生成する有機酸が異なるとする報告もある(Gibbsら, 1950; Heathら, 1958)。大山・柁木(1968b)はグルコース、コーンスターチ、糖蜜吸着物などを供試し、その添加効果の比較を行った。大島・何森(1980)は2, 3の糖の純品を添加してサイレージを調製し、その発酵品質に及ぼす影響を報告した。また近年、サイレージの発酵品質や飼料価値を高めるためにセルラーゼを主成分とする酵素を材料草に添加し、細胞壁構成成分である構造的炭水化物を単少糖に

酵素分解することにより、単少糖を溶出させて乳酸発酵を促し、サイレージの発酵品質や消化性を改善させたとする研究がある (Hederson and McDonald, 1977, 1982; Jacobs and McAllan, 1991; Mchan, 1986)。しかし、糖の添加効果に関してはグルコース、フルクトース等の若干の糖質を添加して調製したサイレージの発酵品質に論及した断片的な報告 (Gonzalez and Capintero, 1989; Sealら, 1986) があるにすぎない。

そこで、本試験では糖の種類がサイレージ発酵に及ぼす影響を解明するために、4種の材料草に7種の糖を添加してサイレージを調製し、その発酵品質に及ぼす影響を検討するとともに、添加グルコースの水準の違いがサイレージの発酵品質に及ぼす影響についても検討した。

材料および方法

試験 I

試験 I では添加糖の種類がサイレージの発酵品質に及ぼす影響を検討した。実験材料は愛媛大学農学部圃場 (松山市樽味町) で1988年5月から1989年6月の間に刈り取ったエンバク (*Avena sativa* L.), ギニアグラス (*Panicum maximum* var. JACQ), 青刈イネ (*Oryza sativa* L.) およびアルファルファ (*Medicago sativa* L.) の2番草で、品種として前進, ナツカゼ, 松山三井およびナツワカバをそれぞれ供試した。詰め込み時の生育ステージ, 乾物率, 詰め込み日および化学組成を表6に示した。

Table 6. Chemical composition of silage materials

	Material			
	Oats	Paddy rice	Guineagrass	Alfalfa
Ensiling date	May/9/88	Sep./4/89	Aug./22/89	Jun./6/89
Growth Stage	Heading	Dough	Flowering	Flowering
DM (%)	19.4	36.2	21.8	17.1
Crude protein (DM%)	6.9	11.9	12.4	19.6
W S C (DM%)	10.7	9.8	4.5	5.5
WSC/CP	1.5	0.8	0.4	0.3
L B C ^{a)}	28.2	32.6	30.0	43.1

a) Unit: Lactic acid mg/DM g.

添加した糖は前節で得られた材料草のWSCの構成成分であるグルコース、フルクトースおよびシュクロースの他、細胞壁成分である多糖類の構成糖である5炭糖からD-キシロース（以下キシロース）とL-アラビノース（以下アラビノース）、ヘテロ発酵型乳酸菌がフルクトースを資化したときの生産物であるD-マンニット（以下マンニット）および貯蔵性多糖類であるデンプンをそれぞれ供試し、表7に示した濃度で詰め込み時に添加した。材料草は約2cmに細切し、対照区はそのまま1ℓ容のポリ製ミニサイロに一定量（550g）を4連で詰め込み密封した後、詰め込み後7日目、50日目に2連でサイロを開封した。一方、糖添加区は材料草に対して糖

Table 7. Sugars for silage additives and application rate

Saccharides		Material	Oats	Paddy rice	Guineargrass	Alfalfa
		rate(%FM)	1%	2%	1%	2%
Mono- saccharide	Pentose	D-Xylose	○	○	○	○
		L-Arabinose	-	○	○	-
	Hexose	D-Glucose	○	○	○	○
		D-Fructose	○	○	○	○
		D-Mannit	○	○	○	○
	Disaccharide	Sucrose	○	○	○	○
Polysaccharide	Starch	○	○	○	○	

Remark: ○ : Additive. - : No additive.

をそれぞれ1%, または2%混合して対照区と同様にミニサイロに4連で詰め込み、7日目と50日目に2連で開封してサイレージの発酵品質を調査した。

試験Ⅱではグルコースの添加水準がサイレージの発酵品質に及ぼす影響について検討した。実験材料はイタリアンライグラス、アルファルファ、エンバクを用い、それぞれ1989年4月に刈り取った。材料草は約2cmに細切し、対照区はそのまま1ℓ容のポリ製ミニサイロに500gを詰め込み密封した後、40日間室内に置床した。一方、糖添加区はグルコースを混合した材料草を対照区と同様に詰め込み置床した。なお、サイロは1処理区2連で詰め込んだ。材料草の化学組成、詰め込み時の処理、生育時期等を表8に示した。

Table 8. Chemical composition and additive rate of experimental materials for silage

	Material		
	Italian ryegrass	Oats	Alfalfa
Growth Stage	Flowering	Heading	Eary flowering
DM (%)	18.9	19.4	16.8
Crude protein(DM%)	8.3	6.9	17.0
W S C (DM%)	7.9	10.7	5.5
WSC/CP	1.0	1.6	0.3
L B C ^{a)}	32.6	28.2	42.2
Glucose additive rate (FM%)	0, 1, 2, 3	0, 0.5, 2, 3	0, 1, 2, 3

a) Unit: Lactic acid mg/DM.

供試材料草の一般成分は常法(森本, 1971)により分析した。サイレージについてはWSC, LBC, pH, 有機酸組成およびVBN/T-N比を検討した。各測定または分析方法は前節に準じた。なお処理サイレージ間のpH, 乳酸含量と酢酸含量について、ダンカンの有意差検定を行った。

結 果

試験 I

エンバク：エンバクサイレージの発酵品質を表9に示した。エンバクのようにWSCが充分存在し、かつWSC/CP比の高かった材料草で調製したサイレージについては、有機酸組成は対照区と糖添加区の間にはほとんど差がなく、いずれも高品質サイレージが調製されており、添加糖の種類による発酵品質の差異は僅かであった。

青刈イネ：青刈イネサイレージの発酵品質を表10に示した。材料草は予乾したため、乾物率が他の材料草と比較して高い値を示したが、WSC/CP比がサイレージ発酵に望ましいとされる0.5 (Gordonら, 1964) より低かった。このため、対照区サイレージは酪酸が認められ、品質が劣った。しかし、デンプンを除く糖添加区は発酵品質の改善が認められるものが多かった。その内訳を7日目開封のサイレージについてみると、有機酸組成では5炭糖のキシロース区とアラビノース区の酢酸含量が特異的に高かった。また、マンニット区の酢酸含量は著しく低い値を示した。デンプン区は酪酸が認められなかったが、pHは対照区とほぼ等しく、添加効果が明瞭で

Table 9. The effect of saccharides on the fermentative quality of oats silage

Treatment	7-days ensiling period						50-days ensiling period						
	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	VBN (%) T-N
		Acetic	Butyric	Lactic	Total			Acetic	Butyric	Lactic	Total		
Control	3.8 ^a	0.41 ^a	0	2.20 ^b	2.61	95	3.7 ^a	0.48 ^a	0	2.89 ^{ab}	3.37	100	8.2
D-Xylose	3.8 ^a	0.46 ^a	0	2.79 ^a	3.25	100	3.7 ^a	0.49 ^a	0	3.18 ^a	3.67	100	6.5
D-Glucose	3.8 ^a	0.38 ^a	0	2.83 ^a	3.21	100	3.7 ^a	0.49 ^a	0	2.87 ^{ab}	3.36	95	6.3
D-Fructose	3.9 ^a	0.42 ^a	0	2.59 ^{ab}	3.01	100	3.8 ^a	0.55 ^a	0	3.01 ^{ab}	3.56	95	7.0
D-Mannit	3.8 ^a	0.38 ^a	0	2.86 ^a	3.24	100	3.8 ^a	0.40 ^a	0	2.95 ^{ab}	3.35	100	6.5
Sucrose	3.8 ^a	0.40 ^a	0	2.85 ^a	3.25	100	3.8 ^a	0.42 ^a	0	3.12 ^a	3.54	100	5.7
Starch	3.8 ^a	0.34 ^a	0	2.58 ^{ab}	2.92	100	3.8 ^a	0.45 ^a	0	2.67 ^b	3.12	95	6.5

* Values within the column with different superscripts are significantly different ($P < 0.01$).

Table 10. The effect of saccharides on the fermentative quality of paddy rice silage

Treatment	7-days ensiling period						50-days ensiling period					
	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score
		Acetic	Butyric	Lactic	Total			Acetic	Butyric	Lactic	Total	
Control	4.7 ^e	0.37 ^d	0.02	0.69 ^d	1.08	70	4.4 ^d	0.24 ^d	0.04	1.00 ^a	1.28	80
D-Xylose	4.0 ^{bc}	0.83 ^b	0	1.86 ^c	2.69	80	4.1 ^{ab}	0.67 ^a	0	1.66 ^{bc}	2.33	88
L-Arabinose	4.1 ^c	0.72 ^c	0	1.66 ^{bc}	2.38	88	4.2 ^{bc}	0.62 ^{ab}	0	1.79 ^{ab}	2.41	88
D-Glucose	3.9 ^{ab}	0.30 ^d	0	2.14 ^b	2.44	100	4.1 ^{ab}	0.36 ^c	0	1.37 ^{cde}	1.73	95
D-Fructose	3.9 ^{ab}	0.33 ^d	0	2.96 ^a	3.29	100	4.0 ^a	0.39 ^c	0	1.44 ^{bcd}	1.83	95
D-Mannit	3.8 ^a	0.16 ^e	0	2.06 ^{bc}	2.22	100	4.2 ^{bc}	0.17 ^d	0	1.25 ^{de}	1.42	100
Sucrose	3.9 ^{ab}	0.33 ^d	0	2.11 ^{bc}	2.44	100	4.1 ^{ab}	0.40 ^c	0	1.58 ^{bcd}	1.98	95
Starch	4.5 ^d	0.37 ^d	0	0.56 ^d	0.93	80	4.3 ^{cd}	0.41 ^c	0	1.22 ^{de}	1.63	88

* Values within the column with different superscripts are significantly different ($P < 0.01$).

なかった。フリーク評点では、グルコース区、フルクトース区、マンニット区およびシュクロース区が100点であった。50日目開封のサイレージについてみると、5炭糖各区の酢酸含量は7日目のそれと比較して減少が認められ、6炭糖各区とほぼ同程度となった。しかし、マンニット区は酢酸含量が低く、逆に乳酸含量が高まった。

ギニアグラス：ギニアグラスサイレージの発酵品質を表11に示した。材料草のWSCは比較的高いが、粗タンパク質含量が高く、WSC/CP比が低かった。詰め込み後7日目のpHおよび有機酸組成について見ると、対照区は酪酸が認められなかったものの、pHが高い値を示した。一方、糖添加区についてはデンプン区を除きpHが低く、乳酸含量が対照区と比べ顕著に増加し、品質の改善が認められた。キシロース区は青刈イネサイレージと同様酢酸含量が高く、乳酸含量が他の添加区と比べてやや低かった。しかし、50日目についてみると、酢酸含量に差異はほとんどなく、乳酸含量についても差異は認められなかった。デンプン区については、対照区と同様酪酸が認められ品質が劣った。

アルファルファ：アルファルファサイレージの発酵品質を表12に示した。材料草はWSC含量が低く、粗タンパク質含量が高いためにWSC/CP比が低い値を示した。したがって、対照区は7日目、50日目とも酪酸が認められ、低品質のサイレージとなった。糖添加区はデンプン区を除き、詰め込み後7日目の時点で対照区より発酵品質が改善した。有機酸組成についてみると、キシロース区は特徴的に酢酸含量が高く、乳酸含量が低い値を示した。また、マンニット区は酢酸含量が低かった。50日目の発酵品質をみると、

Table 11. The effect of saccharides on the fermentative quality of guineagrass silage

Treatment	7-days ensiling period						50-days ensiling period					
	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score
		Acetic	Butyric	Lactic	Total			Acetic	Butyric	Lactic	Total	
Control	4.4 ^c	0.55 ^b	0	1.67 ^d	2.22	88	4.5 ^c	0.42 ^{bc}	0.05	1.10 ^e	1.57	73
D-Xylose	4.1 ^b	1.03 ^a	0	2.53 ^c	3.56	88	3.9 ^{ab}	0.47 ^{bc}	0	2.96 ^{ab}	3.43	100
L-Arabinose	3.9 ^a	0.56 ^b	0	2.62 ^c	3.18	95	4.0 ^b	0.40 ^{bc}	0	2.83 ^{ab}	3.23	100
D-Glucose	3.8 ^a	0.49 ^b	0	3.23 ^a	3.72	100	3.9 ^{ab}	0.41 ^{bc}	0	2.38 ^{cd}	2.79	95
D-Fructose	3.9 ^a	0.45 ^b	0	3.18 ^{ab}	3.63	100	3.9 ^{ab}	0.56 ^{bc}	0	2.30 ^{cd}	2.86	95
D-Mannit	3.9 ^a	0.19 ^c	0	3.51 ^a	3.70	100	3.8 ^a	0.34 ^c	0	2.58 ^{bc}	2.92	100
Sucrose	3.8 ^a	0.46 ^b	0	3.30 ^a	3.76	100	3.9 ^{ab}	0.41 ^{bc}	0	2.12 ^d	2.53	95
Starch	4.3 ^c	0.56 ^b	0	1.50 ^d	2.06	78	4.4 ^c	0.59 ^{ab}	0.02	1.17 ^e	1.78	75

* Values within the column with different superscripts are significantly different ($P < 0.01$).

Table 12. The effect of saccharides on the fermentative quality of Alfalfa aftermath silage

Treatment	7-days ensiling period						50-days ensiling period						
	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score	VBN (%) T-N
		Acetic	Butyric	Lactic	Total			Acetic	Butyric	Lactic	Total		
Control	4.9 ^e	0.60 ^{bc}	0.10	1.67 ^c	2.37	73	4.8 ^d	0.96 ^a	0.15	1.77 ^c	2.88	65	12.6
D-Xylose	4.3 ^d	1.36 ^a	0	1.92 ^c	3.28	70	4.3 ^b	1.04 ^a	0	2.41 ^b	3.45	88	9.8
D-Glucose	3.9 ^a	0.48 ^{cde}	0	3.26 ^a	3.74	100	4.0 ^a	0.44 ^c	0	2.80 ^{ab}	3.24	100	7.0
D-Fructose	4.1 ^{bc}	0.59 ^{bcd}	0	2.88 ^{ab}	3.47	95	4.1 ^a	0.73 ^b	0	2.92 ^a	3.65	95	8.3
D-Mannit	4.2 ^{cd}	0.39 ^e	0	2.65 ^b	3.04	100	4.1 ^a	0.40 ^c	0	3.11 ^a	3.51	100	7.9
Sucrose	4.1 ^{bc}	0.59 ^{bcd}	0	3.08 ^b	3.67	95	4.1 ^a	0.66 ^b	0	2.82 ^a	3.48	95	8.1
Starch	4.8 ^e	0.68 ^b	0.09	1.97 ^c	2.74	73	4.6 ^c	0.71 ^b	0.10	1.91 ^c	2.72	73	11.2

* Values within the column with different superscripts are significantly different ($P < 0.01$).

7日目開封と同様の傾向が認められた。

試験 II

グルコースの添加水準を変えて調製したサイレージの発酵品質について、材料草別にその特徴を以下に述べる。

イタリアンライグラス：材料草は粗タンパク質、WSCおよびLBCも中程度の値を示した。WSC/CP比は1.0であった。

イタリアンライグラスサイレージの発酵品質を表13に示した。対照区においてもpHが至適域まで低下し乳酸含量の高い高品質のサイレージとなった。有機酸組成についてみると、添加量の増加にもなって酢酸含量と乳酸含量は増加した。

Table 13. The effect of glucose additive level on the fermentative quality of Italian ryegrass silage

Treatment	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score
		Acetic	Butyric	Lactic	Total	
Control	3.9	0.35	0	2.32	2.67	100
Glucose 1%	3.8	0.40	0	2.53	2.93	100
Glucose 2%	3.7	0.42	0	2.90	3.32	100
Glucose 3%	3.7	0.45	0	3.35	3.80	100

エンバク：材料草は粗タンパク質含量が低く、WSC含量、WSC/CP比ともに高い値であった。LBCは中程度の値を示した。

エンバクサイレージの発酵品質を表14に示した。対照区を含め、高品質サイレージが調製された。乳酸含量と総酸含量はグルコースの添加水準に応じて増加した。しかし、イタリアンライグラスサイレージやアルファルファサイレージと比べてその増加率は低かった。

Table 14. Effect on the glucose additive level on the fermentative quality of oats silage

Treatment	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score
		Acetic	Butyric	Lactic	Total	
Control	3.7	0.48	0	2.89	3.37	100
Glucose 0.5%	3.7	0.45	0	2.90	3.35	100
Glucose 2%	3.6	0.50	0	3.08	3.58	100
Glucose 3%	3.6	0.50	0	3.24	3.74	100

アルファルファ：材料草は粗タンパク質含量が高く、WSC含量が低い値を示し、WSC/CP比も低い値となった。また、LBCは42.2と高い値を示した。

アルファルファサイレージの発酵品質を表15に示した。対照区は酪酸が認められ、品質の劣るサイレージとなった。添加量に応じてpHと酢酸含量は低下し、乳酸含量、総酸含量およびフリーク評点は増加した。

Table 15. The effect of glucose additive level on the fermentative quality of alfalfa silage

Treatment	pH	Organic acid (FM%)				Flieg's score
		Acetic	Butyric	Lactic	Total	
Control	4.6	0.96	0.1	2.10	3.16	73
Glucose 1%	4.2	0.75	0	2.85	3.50	95
Glucose 2%	4.0	0.58	0	3.29	3.87	95
Glucose 3%	3.9	0.45	0	3.48	3.93	100

考 察

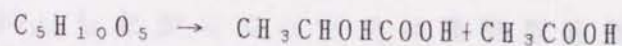
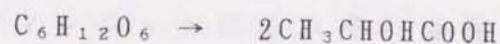
材料草と糖添加効果：材料草別に糖の添加効果を検討すると、エンバクのようにWSC含量が高く、粗タンパク質含量とLBCがともに低い材料草は、対照区においても高品質サイレージが調製されたため、明瞭な糖の添加効果や糖の種類による発酵品質の差異は認められなかった。このように、乳酸を生産するに十分なWSCを含有している材料草では糖添加の必要性が認められなかった。一方、アルファルファやギニアグラスのようなWSC含量が低い材料草については、糖添加による発酵品質の改善効果や糖の種類による発酵品質の差異が顕著に認められた。したがって、WSC含量が低く、かつLBCが高い材料草で高品質サイレージを調製するためには糖の添加が必要である。

詰め込み日数と有機酸組成：ほとんどのサイレージにおいて、詰

め込み後7日目と50日目のpH、総酸含量はほぼ同じ値を示した。熊井ら(1990)は詰め込み後数日でサイレージ発酵がほぼ終了し、それ以後サイレージ発酵は微弱となり、安定期に入ることを報告しているが、本実験でも同様の結果を示した。しかし、有機酸組成は糖添加によって差異が認められ、青刈イネサイレージおよびギニアグラスサイレージの5炭糖各区においては、7日目開封では酢酸含量が著しく高い値を示したが、50日目開封では酢酸含量が著減した。この酢酸の消失はエステル化による酢酸エチルの生成、微生物によって他の有機物に資化された可能性や菌体にとりこまれたものと考えられるが、この点については、今後の詳細な検討が必要である。

添加糖の種類と乳酸発酵：ここでは添加効果が顕著であった青刈イネ、ギニアグラス、アルファルファの各サイレージについての考察を述べる。

各サイレージともデンプン区を除く糖添加区の乳酸含量は対照区より総じて高い値を示したが、そのなかで5炭糖各区の乳酸含量は低い傾向が認められた。これは次式に示すようにホモ発酵型乳酸菌の場合、グルコースなどの6炭糖は理論上、1分子の糖から2分子の乳酸を生成するのに対し、5炭糖は1分子の糖から1分子の乳酸と1分子の酢酸を生成する。したがって、5炭糖区は糖の一部が酢酸に異化され、6炭糖区と比較して乳酸生成効率が低くなったものと考えられる。



一方、デンプンについては、いずれのサイレージにおいても乳酸

含量に影響を与えなかった。このことは、デンプンはアミロース、アミロペクチンの2成分からなり、前者はD-グルコースが $\alpha-1,4$ 結合で数個から数百個、長鎖状に結合したもので、後者はアミロースからさらに $\alpha-1,6$ 結合で多数の分枝を生じたものであり、水に不溶でかつ分子量が大きい。したがって、乳酸菌はこれを直接利用できないことや、サイレージ中の微生物が分泌するアミラーゼ等のデンプン分解酵素の至適pHが中性域であるので、サイレージ中では酵素活性が低かったためと考えられる。

添加糖の種類と酢酸発酵：キシロース区とアラビノース区の5炭糖各区は、7日目開封の時点で酢酸含量が総じて高い値を示した。これは前述したように、5炭糖は理論上、乳酸菌によってヘテロ発酵されるためと考えられる。一方、マンニット区は酢酸含量が他の添加区と比べ低い傾向を示した。McDonald(1981)によると、マンニットはサイレージ中に存在する乳酸菌の内、*Lactobacillus plantarum* や *L. casei* などのホモ発酵型乳酸菌にのみに資化され、*L. brevis* や *L. buchneri* などのヘテロ発酵型乳酸菌にはほとんど資化されないため、酢酸生成が抑えられたものと考えられている。本試験におけるマンニット添加区は酢酸含量が著しく低く、McDonaldの報告と一致した。すなわち、多くの6炭糖はホモ発酵型乳酸菌によって2分子の乳酸を生成するが、ヘテロ発酵型乳酸菌は、グルコースを乳酸、エチルアルコールおよびCO₂に、フルクトースを乳酸、酢酸およびマンニットにそれぞれ分解する(Elitz and Vandemark, 1959)。したがって、ヘテロ発酵型乳酸菌が多く存在する場合には、乳酸生成効率が低くなり、乳酸ばかりでなく酢酸等を

生成する。それ故に、ホモ発酵型乳酸菌のみに利用され、ヘテロ発酵型乳酸菌にほとんど利用されないマンニットは、酢酸含量が他の糖添加区と比べ低くなったものと考えられる。

添加糖の種類がサイレージ発酵品質に及ぼす影響：WSC含量が低い材料草は添加糖の効果が明瞭に発現した。すなわち、5炭糖を添加したサイレージは酢酸含量が高く、乳酸への資化性の高い単糖類や2糖類を添加したサイレージは乳酸含量が比較的高かった。その結果、糖添加によりフリーク評点の向上が認められ、とくに6単糖添加各区、2糖類添加各区は、フリーク評点が高かった。一方、デンプンは乳酸への資化性がなく、発酵品質の改善がほとんど認められなかった。大山・柁木(1968a)は、サイレージ発酵における非構造化炭水化物の量的変化を検討した結果、デンプンはサイレージ中の残存率が他の糖と比較してとくに高いことを報告している。サイレージは詰め込み後、数日でほぼ乳酸発酵が完了し、迅速にpHが至適域まで下がらなければ、養分を損失し二次的に酪酸発酵を生じ品質の劣るサイレージとなる。須藤ら(1971)によるとコーンスターチ単独添加は、グルコースと比較してほとんどサイレージ品質の改善効果がないことを報告しており、今回の試験の結果と一致した。したがって実用上、デンプン添加はサイレージ品質を改善する効果がほとんど認められないと考えられた。また、糖蜜の主成分であるシュクロースは、詰め込み後速やかに、フルクトースとグルコースとに分解される(柁木・大山, 1979)。Whittenburyら(1967)によると、フルクトースはホモ発酵型乳酸菌による乳酸生成効率においてグルコースと差はないが、ヘテロ発酵型乳酸菌による場合にはグル

コースより劣ると報告している。したがって、シュクロースはグルコースと比較して乳酸生成効率が若干劣るが、シュクロースの代替としての糖蜜添加は、価格的な面も考慮して有利である。

グルコースの添加水準がサイレージの発酵品質に及ぼす影響：供試したすべての草類においてグルコース添加量の増加にともなって乳酸が増加した。また、イタリアンライグラスは添加量の増加と共に酢酸も増加したのに対し、アルファルファでは添加量の増加に応じて酢酸含量は減少した。これらは草種によって差異を生じたものか否か今後の検討が必要である。

次に乳酸含量の増加率を見ると、最も高いのはアルファルファで、次にイタリアンライグラス、そして最も増加率の低かったものはエンパクであった。アルファルファは緩衝能が高いため、WSCと添加糖が最も効率的に資化されたためと思われる。逆に乳酸の増加率が低いエンパクはLBCが28.2と比較的低いのでpHが速やかに低下し乳酸菌の活動期間がアルファルファなどと比べて短かったためと推測される。

以上の結果、サイレージの乳酸発酵と糖類との関係については、乳酸に効率よく資化されるグルコースなどの6炭糖が最も優れ、次いでシュクロースなどの二糖類が良く、キシロースなどの5炭糖は乳酸生成効率が前二者より劣った。また、デンプン添加は乳酸発酵にとってほとんど効果がないことが示された。さらに、WSCを充分に含み、かつLBCが低い材料草では添加効果がほとんどなく、逆に、WSC含量が低く、LBCが高いものほど、糖の添加効果が顕著に発現することが認められた。

第3節 サイロ詰め込み後の埋蔵温度ならびにグルコース添加がサイレージの発酵品質に及ぼす影響

緒言

従来より埋蔵中の温度がサイレージの発酵品質に影響を及ぼすことが知られていた (Greenhill, 1964b; Lanigan, 1965; Murdoch, 1960; Wieringa, 1960)。Ohyamaら (1973) はオーチャードグラスとイタリアンライグラスを用いた実験で、高温 (30℃) 区と低温 (15℃) 区およびグルコース添加区を組み合わせ、埋蔵温度がサイレージ発酵中の有機酸組成や、乳酸菌数に及ぼす影響を検討した結果、グルコースを2%添加した場合には温度に関わらず良質サイレージが調製されたが、無添加の場合には30℃では常に劣質となり、15℃では草種によって結果が異なることを認めた。Tjandraatmadjaら (1991) はソルガムを供試し、埋蔵中の環境温度、可溶性炭水化物 (WSC) 等の要因がサイレージの発酵品質に及ぼす影響を検討した結果、低温区が高温区より発酵品質が優れていたことを報告した。また、乳酸菌の活性には温度が深く影響していることは周知のとおりである (Lanigan, 1963; Lesins and Schulz, 1968; Stirling, 1951)。しかし、特徴の異なる材料草すなわち、高品質サイレージの調製が容易なものと、劣質サイレージになり易いものを用いた場合や品質の劣化に作用する酪酸菌、糸状菌および酵母について、埋蔵温度を変えて比較、検討した報告はほとんど見受けられない。そこで、本実験は埋蔵温度が異なる材料草で調製したサイレージの発

酵品質に及ぼす影響を比較するとともに、従来より発酵品質の改善に用いられている糖(Sealら, 1986)の効果を埋蔵温度を変えた条件下で比較検討した。

材料および方法

供試材料は糊熟期トウモロコシと開花期ギニアグラス2番草で、表16に詰め込み日、生育ステージ、乾物率および化学成分を示した。

材料草は刈取り後、カッターで約2cmに細切し、トウモロコシは550gを、ギニアグラスはグルコースを新鮮物当たり1.0%添加して良く混合した後、対照区とともに500gを1ℓ容のポリ製ミニサイロに各42個詰め込んだ。サイレージの品温はサイロの中心部に棒状温度計を挿入して測定した。処理として低温区(15℃)、中温区(25℃)および高温区(35℃)を設け、それぞれの恒温器内にサイロを各14個置床し、サイロ内の温度が設定温度に達した時点で密封した。サイロ内の温度が各恒温器の設定温度に達する時間は、いずれも置床後約4時間であった。サイロは詰め込み後2日、5日、7日、14日、25日および100日目に各区毎に2連で開封し、サイレージの微生物相、pHおよび有機酸組成を検討した。

乳酸桿菌、乳酸球菌、酵母および糸状菌の生菌数は、希釈平板法によって計測した。すなわち、開封したサイロからサイレージをクリーンベンチ内で無菌的に取り出し、よく攪拌した後、30gを滅菌済みストマッカー用ポリ袋にとり、滅菌した生理食塩水270gを加

えて10分間攪拌したものを10倍希釈液とした。この液を適当に希釈して、滅菌済みシャーレにとり、各種培地を注入した。

Table 16. Ensiling date, growth stage, dry matter and chemical composition of silage materials

	material	
	Guineagrass	Corn
Ensiling <u>date</u>	Sep./15/92	Aug./21/92
Growth stage	flowering	dough-ripe
DM (%)	22.1	22.3
Chemical Composition (DM%)		
Crude protein	8.1	5.9
Crude fat	3.5	1.2
Crude fiber	32.5	17.4
NFE ^{a)}	42.9	69.9
Crude ash	13.0	5.5
WSC ^{b)}	4.4	9.4

a) Nitrogen free extract.

b) Water soluble carbohydrates.

乳酸桿菌はAcetate agar(森地, 1986)を調製し、使用時に4N酢酸緩衝液(pH 5.3)を寒天培地60mlに対して4mlを加えて平板を作成し、固化後に1%寒天を重層して30℃で3~4日間培養した。なおAcetate agarには乳酸球菌も増殖するので、コロニーの形態によって乳酸桿菌のみを計測した。乳酸球菌についてはLee's agar(Lee

ら, 1974) を用い, 30℃で3~4日間培養後, コロニーの形態によって乳酸球菌のみを計測した。酵母, 糸状菌については, 抗菌剤として10%酒石酸を加えてpHを約3.5に調製したポテトデキストロース寒天培地(Britt and Huber, 1975)を使用し, 25℃で48時間培養後, コロニーの形態により生菌数をそれぞれ計測した。また, 酪酸菌はヒートショック後, チオグリコレート培地(佐々木, 1972)を用い, 32℃で48時間培養し, 最確数表から菌数を求めた。

なお, サイレージ中の有機酸の定量はフリーク法, pHの測定はガラス電極pHメーターによった。

結 果

トウモロコシサイレージ

微生物相: トウモロコシサイレージの埋蔵過程における微生物相の推移を表17示した。乳酸桿菌数についてみると, 詰め込み後2日目の菌数は処理温度が低下するにしたがって低い値を示した。菌数がピークに達するまでの期間は, 低温区と中温区が14日目であるのに対し, 高温区は2日目と早かった。またピーク時の菌数は区間に差がほとんどなかった。100日目における菌数は処理温度が低いほど高い値を示した。乳酸球菌数についてみると, 各区の菌数はいずれも2日目にピークに達し, 低, 中温区は25日目から, 高温区は14日目から減少した。100日目における菌数は処理温度が低い区ほど高い値であった。酪酸菌数についてみると, 高温区は詰め込み25日目以降, 酪酸菌の増殖が認められたが, 他の区はいずれ

Table 17. The influence of temperature on the viable counts of bacteria
of corn silage during ensiling

Temperature		Ensiling period (Day)							
		0	2	5	7	14	25	45	100
Lactobacilli (log ₁₀ N/FMg)	1.5 °C	4.8	5.4	7.0	7.6	7.9	7.1	7.0	6.8
	2.5 °C	4.8	7.0	7.5	7.7	8.2	7.1	6.2	6.2
	3.5 °C	4.8	7.5	7.4	6.6	6.3	4.9	4.9	5.3
Streptococci (log ₁₀ N/FMg)	1.5 °C	6.6	7.2	7.5	7.3	7.2	5.6	6.1	6.3
	2.5 °C	6.6	7.3	7.5	7.4	7.4	5.4	5.5	6.0
	3.5 °C	6.6	7.3	7.5	7.7	5.8	4.8	5.2	5.7
Clostridia (log ₁₀ N/FMg)	1.5 °C	1.0	0.6	1.1	1.4	1.6	1.4	1.1	1.2
	2.5 °C	1.0	0.8	0.9	1.7	1.7	1.3	0.9	1.5
	3.5 °C	1.0	1.3	1.7	1.7	1.7	1.3	3.0	2.8
Mould (log ₁₀ N/FMg)	1.5 °C	4.4	4.7	3.0	2.7	4.9	4.4	3.7	4.0
	2.5 °C	4.4	5.1	4.5	3.5	5.7	4.7	1.8	1.2
	3.5 °C	4.4	6.0	5.0	3.2	3.4	4.8	3.7	1.0
Yeast (log ₁₀ N/FMg)	1.5 °C	3.2	3.0	6.1	2.4	4.0	3.0	2.8	1.5
	2.5 °C	3.2	1.7	3.9	2.7	4.1	3.9	1.0	1.0
	3.5 °C	3.2	4.7	4.2	2.5	2.8	4.2	3.1	1.0

も試験期間を通じて低い菌数にとどまった。糸状菌数についてみると、高温区の菌数は2日目にピークに達し、その後減少傾向を示した。一方、低、中温区の菌数は2日目に一度増加したが、その後減少し、14日目に再び増加した。その後中温区の菌数は減少したが、低温区はその後10⁴個前後で推移した。酵母菌数についてみると、高温区は2日目、低、中温区は5日目にピークに達し、ピーク時の菌数は低温区が比較的多かった。その後菌数は減少し、100日目では各区ともほとんど認められなかった。

発酵品質：トウモロコシサイレージの埋蔵過程における発酵品質の推移を表18に示した。pHについてみると、いずれの区も詰め込み後2日目から至適域である4.2以下となり、7日目で最低値に達した。なお、pHは試験期間を通じて低温区がやや低い傾向を示した。有機酸含量についてみると、酢酸含量はいずれの区も1%以下で推移し、多少の変動はあったものの処理間に差が認められなかった。酪酸含量は高温区の100日目にのみわずかに認められた。乳酸含量についてみると、中、高温区は45日目以降減り、最終的にピーク時の半分以下となった。一方、低温区では徐々に増加を続け、最終的には高温区のピーク時と同程度の含量に達した。総酸含量についてみると、45日目までは処理間に差が見られなかったが、実験終了時には低温区が高い値を示した。フリーク評点についてみると、処理間に差がほとんどなかった。

ギニアグラスサイレージ

微生物相：ギニアグラスサイレージの埋蔵過程における微生物相の推移を表19に示した。乳酸桿菌数についてみると、いずれの区

Table 18. The influence of temperature on the pH, organic acids content - 47 -
and Flieg's score of corn silages during ensiling

	Temperature	Ensiling period (Day)						
		2	5	7	14	25	45	100
pH	1 5 °C	3.8	3.7	3.5	3.8	3.8	3.8	3.9
	2 5 °C	3.9	3.9	3.8	3.9	4.0	3.9	3.9
	3 5 °C	3.8	3.8	3.7	3.8	3.8	3.9	3.9
Acetic acid (FM%)	1 5 °C	0.41	0.40	0.38	0.45	0.55	0.56	0.72
	2 5 °C	0.49	0.48	0.41	0.68	0.77	0.55	0.31
	3 5 °C	0.46	0.37	0.40	0.40	0.50	0.71	0.27
Butyric acid (FM%)	1 5 °C	0	0	0	0	0	0	0
	2 5 °C	0	0	0	0	0	0	0
	3 5 °C	0	0	0	0	0	0	0.01
Lactic acid (FM%)	1 5 °C	1.23	1.11	1.09	1.28	1.27	1.73	1.59
	2 5 °C	1.10	1.21	1.10	1.18	1.24	1.44	0.78
	3 5 °C	1.31	1.14	1.40	1.46	1.42	1.43	0.76
Total acid (FM%)	1 5 °C	1.64	1.50	1.47	1.74	1.82	2.30	2.31
	2 5 °C	1.60	1.69	1.51	1.86	2.01	1.99	1.09
	3 5 °C	1.77	1.51	1.79	1.86	1.92	2.14	1.05
Flieg's score	1 5 °C	88	88	88	83	88	88	80
	2 5 °C	80	88	88	80	80	88	88
	3 5 °C	88	88	95	95	88	80	78

も5日目にピークに達し、その時の菌数は低温ほど多い傾向にあった。その後、処理温度が高くなるにしたがって菌数は顕著に減少した。乳酸球菌数についてみると、各区は乳酸桿菌のそれとほぼ同様の推移をたどった。酪酸菌数についてみると、低温区は試験期間を通し、ほとんど生息しなかった。一方、中温区は5日目、高温区は2日目からそれぞれ増加し、25日目にほぼピークに達した後減少した。糸状菌数についてみると、いずれの区も5日目にピークに達しその後減少した。菌数は高温ほど低い水準で推移し、高温区は14日目以降ほとんど認められなかった。酵母菌数についてみると、低温区は全般に中、高温区より高い水準で推移したが100日目にはほとんど見当たらなかった。一方、中温区は7日目にピークに達し、25日目以降はほとんど認められなかった。また、高温区については多少の増殖を示したが、7日目以降ほとんど生息しなかった。

発酵品質：ギニアグラスサイレージの埋蔵過程におけるpHと有機酸含量の推移を表20に示した。pHについてみると、いずれの区も試験期間を通じて至適pHとされる4.2まで低下しなかった。また、処理間に顕著な差が認められなかった。有機酸組成についてみると、低温区の酢酸含量は25日目まで増加したが、その後減少した。一方、中、高温区は100日目まで増加を続けた。酪酸含量については、低温区は25日目まで0.1%前後の低い値で推移したが、その後増加して0.4%に達した。一方、中、高温区は処理開始から終了時まで増加を続け、高温区が1.02%、中温区が0.86%に達し、いずれも低温区より高かった。乳酸含量についてみると、低温区は1.0%以下、中、高温区は0.5%以下の水準で推移し、各区とも14日目以降変化がほ

Table 19. The influence of temperature on the viable counts of bacteria
of guineagrass control silage during ensiling

		Ensiling period (Day)							
		Temperature							
		0	2	5	7	14	25	45	100
Lactobacilli (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.9	6.4	8.6	8.6	8.1	7.7	7.4	7.0
	2 5 °C	1.9	6.4	8.2	7.7	6.6	6.8	6.0	6.1
	3 5 °C	1.9	6.4	7.5	7.0	6.1	5.6	4.2	2.2
Streptococci (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	3.8	7.2	8.3	8.6	7.9	7.7	7.3	6.8
	2 5 °C	3.8	7.2	8.4	7.9	7.4	6.8	6.1	6.3
	3 5 °C	3.8	7.0	7.6	7.4	6.5	5.6	4.3	3.5
Clostridia (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.1	0.1	0.0	0.6	0.4	0.0	0.9	0.5
	2 5 °C	1.1	0.8	3.2	4.5	5.5	5.7	4.8	2.3
	3 5 °C	1.1	4.0	4.2	5.2	5.2	5.7	5.7	2.5
Mould (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	2.3	3.5	4.6	3.8	3.4	2.9	2.6	2.1
	2 5 °C	2.3	3.3	3.0	3.1	2.7	1.0	2.0	2.1
	3 5 °C	2.3	2.5	3.2	1.4	1.0	1.0	1.0	1.0
Yeast (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.0	1.9	2.9	2.7	2.1	2.0	1.9	1.0
	2 5 °C	1.0	2.2	2.5	2.8	2.2	1.0	1.0	1.0
	3 5 °C	1.0	1.6	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Table 20. The influence of temperature on the pH, organic acids content - 50 -
and Flieg's score of guineagrass control silages during ensiling

	Temperature	Ensiling period (Day)						
		2	5	7	14	25	45	100
pH	1 5 °C	5.9	5.9	5.4	5.1	5.0	5.0	5.2
	2 5 °C	6.1	5.7	5.5	5.3	5.2	5.1	5.0
	3 5 °C	5.7	5.3	5.2	5.2	5.1	5.0	5.0
Acetic acid (FM%)	1 5 °C	0.35	0.29	0.28	0.41	0.48	0.37	0.30
	2 5 °C	0.38	0.44	0.52	0.56	0.63	0.65	0.82
	3 5 °C	0.44	0.58	0.58	0.54	0.64	0.61	0.83
Butyric acid (FM%)	1 5 °C	0.09	0.12	0.09	0	0	0.18	0.42
	2 5 °C	0.13	0.16	0.2	0.43	0.56	0.73	0.86
	3 5 °C	0.17	0.29	0.38	0.65	0.81	0.97	1.02
Lactic acid (FM%)	1 5 °C	0.33	0.34	0.39	0.75	0.76	0.68	0.50
	2 5 °C	0.27	0.25	0.31	0.39	0.45	0.38	0.36
	3 5 °C	0.33	0.33	0.43	0.37	0.42	0.39	0.38
Total acid (FM%)	1 5 °C	0.76	0.76	0.77	1.15	1.23	1.23	1.22
	2 5 °C	0.78	0.85	1.03	1.37	1.65	1.77	2.04
	3 5 °C	0.94	1.19	1.38	1.56	1.85	1.97	2.23
Flieg's score	1 5 °C	45	40	45	80	80	50	30
	2 5 °C	30	25	25	20	25	15	10
	3 5 °C	30	30	20	15	15	15	15

とんどなかった。総酸含量についてみると、低温区はやや増加の傾向があったが、14日目以降変化がほとんどなかった。一方、中、高温区は試験期間を通して増加し、高温区が中温区より高い水準で推移した。フリーク評点についてみると、低温区は試験期間を通じて他より高く高品質であった。また、低温区は14日目と25日目に、中、高温区は2日目に最も高い評点が得られた。

グルコース添加ギニアグラスサイレージ

微生物相：グルコース添加ギニアグラスサイレージの埋蔵過程における微生物相の推移を表21に示した。乳酸桿菌数についてみると、いずれの区も5日目にピークに達した。また、ピーク時の菌数は区間に差がほとんどなく、ギニアグラスサイレージの低温区におけるピーク時の菌数と同程度であった。その後いずれの区も減少傾向にあったが、高温区は14日目以降他より低い菌数で推移した。しかし、高温区はギニアグラスサイレージのような顕著な減少が認められなかった。乳酸球菌数についてみると、各区とも乳酸桿菌と同様に推移した。酪酸菌数についてみると、低、中温区は試験期間を通し、1.0以下の低い値で推移した。一方、高温区は14日目以降、菌数が増えたが、その後変化がほとんどなかった。糸状菌数についてみると、低、中温区は14日目、高温区は5日目以降減少する傾向を示した。酵母菌数についてみると、5日目まではいずれの区も増加したが、その後減少し100日目には1.0以下とほとんど認められなかった。

発酵品質：グルコース添加ギニアグラスサイレージの埋蔵過程における発酵品質の推移を表22に示した。pHについてみると、い

Table 21. The influence of temperature on the viable counts of bacteria
of glucose treated guineagrass silage during ensiling

		Ensiling period (Day)							
		Temperature							
		0	2	5	7	14	25	45	100
Lactobacilli (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.9	8.4	8.5	7.1	7.7	7.7	6.7	5.4
	2 5 °C	1.9	6.7	8.6	8.4	7.4	7.5	6.1	5.6
	3 5 °C	1.9	6.9	8.1	7.7	6.5	6.3	5.1	5.2
Streptococci (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	3.8	7.2	8.3	7.9	7.8	7.6	7.0	5.2
	2 5 °C	3.8	7.2	8.4	8.2	7.6	7.1	6.0	5.2
	3 5 °C	3.8	7.2	7.7	7.7	6.7	6.7	5.3	5.4
Clostridia (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.1	0.2	0.6	0.7	0.5	0.0	0.8	0.4
	2 5 °C	1.1	0.3	0.3	0.9	1.0	0.5	0.5	0.4
	3 5 °C	1.1	2.1	0.7	0.9	2.3	2.5	2.4	2.8
Mould (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	2.3	3.7	3.7	3.8	2.3	2.9	1.0	0.9
	2 5 °C	2.3	3.7	3.3	3.3	3.1	3.2	1.0	1.0
	3 5 °C	2.3	3.7	3.3	3.3	3.4	3.2	1.0	1.0
Yeast (log ₁₀ N/FMg)	1 5 °C	1.0	2.2	2.8	2.4	1.8	1.8	1.0	1.0
	2 5 °C	1.0	2.2	2.4	2.6	3.0	2.7	1.0	1.0
	3 5 °C	1.0	2.1	2.0	1.0	1.0	1.5	1.2	1.0

Table 22. The influence of temperature on the pH, organic acids content and Flieg's score of glucose treated guineagrass silages during ensiling - 53 -

	Temperature	Ensiling period (Day)						
		2	5	7	14	25	45	100
pH	1 5 °C	4.2	4.1	4.0	3.9	4.0	3.9	4.0
	2 5 °C	4.3	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.3
	3 5 °C	4.4	4.1	4.2	4.1	4.2	4.1	4.7
Acetic acid (FM%)	1 5 °C	0.27	0.35	0.17	0.23	0.26	0.37	0.29
	2 5 °C	0.29	0.34	0.34	0.31	0.33	0.33	0.37
	3 5 °C	0.32	0.37	0.26	0.30	0.33	0.36	0.15
Butyric acid (FM%)	1 5 °C	0	0	0	0	0	0	0
	2 5 °C	0	0	0	0	0	0	0.07
	3 5 °C	0	0	0	0	0	0	0.58
Lactic acid (FM%)	1 5 °C	1.35	1.55	1.33	1.20	1.41	1.79	2.04
	2 5 °C	1.04	1.50	1.59	1.33	1.39	1.72	1.81
	3 5 °C	1.14	1.53	1.28	1.63	1.37	1.80	1.14
Total acid (FM%)	1 5 °C	1.63	1.86	1.50	1.44	1.67	2.08	2.33
	2 5 °C	1.33	1.84	1.93	1.64	1.72	2.04	2.25
	3 5 °C	1.46	1.90	1.53	1.93	1.70	2.16	1.87
Flieg's score	1 5 °C	95	95	100	95	95	100	100
	2 5 °C	95	95	95	95	95	95	80
	3 5 °C	95	95	95	95	95	95	50

れの区も2日目に至適域に達した。100日目のpHは、処理温度が高い区ほど高い値を示し、低温区はpH4.2以下の至適域に収まったが、中、高温区はそれぞれ4.3、4.7であった。

有機酸組成についてみると、酢酸含量はいずれの区も0.5%以下の水準で推移し、区間に差が認められなかった。酪酸含量についてみると、低温区では試験期間を通じて認められなかった。一方、中、高温区では100日目に酪酸が認められたものの、いずれもギニアグラスサイレージのそれと比較して低い値であった。乳酸含量についてみると、45日目まではどの区も増加の傾向が認められた。100日目では低、中温区は45日目より増加したが高温区は減少した。また、いずれの区もトウモロコシサイレージのそれと比較して高い水準で推移した。総酸含量についてみると、いずれの区も増加の傾向が認められた。フリーク評点についてみると、すべてのサイレージは95点以上の高い水準で推移したが、高温区は100日目に50点に低下した。

考 察

埋蔵温度が高い区ほど、日数の経過にともなってサイレージ中の乳酸桿菌と乳酸球菌が減少し、酪酸菌が増加する傾向が認められた。このことは微生物学的にみて埋蔵過程における高温条件がサイレージの発酵品質の劣化に結びつくことを明瞭に示している。なお、発酵品質についてはトウモロコシサイレージとグルコース添加ギニアグラスサイレージでは埋蔵温度による差がほとんど認められなかつ

た。したがって、WSC含量の高い材料草や糖添加した材料草では乳酸菌の活動が活発となり、高温埋蔵条件の悪影響を軽減し高品質サイレージが調製されることが判明した。

サイレージは嫌気条件下で乳酸菌による乳酸発酵が行われることによってその保蔵が可能になるが、サイレージ発酵に関与する微生物の好適温度に関しては、乳酸桿菌では30～35℃(Beck and Wieringa, 1964) 酪酸菌では37℃前後(McDonald, 1981)とされている。本実験において埋蔵温度が高まるにともなって品質が低下した理由は、乳酸菌は高温であるほど増殖が早く(Greenhill, 1964)、酪酸菌の資化源となる乳酸が速やかに産生され、かつ高温は酪酸菌にとって最も増殖しやすい環境であったためと考えられる。一方、22℃以下の低温環境において酪酸菌の活動は著しく阻害される(Woolford, 1984)ことが報告されており、低温区では酪酸菌の増殖が抑制されたために発酵品質が高温区より優れていたものと考えられる。

今回の実験において、ギニアグラスサイレージのように高品質サイレージの調製が困難な草種については埋蔵温度の影響が大きく、トウモロコシサイレージやグルコース添加ギニアグラスサイレージのように高品質サイレージが調製できるものについてはその影響が小さかった。ギニアグラスのように低品質サイレージになり易い材料草は乳酸菌の資化源であるWSCが低く、サイレージを調製した場合pHが至適域に達するまでに資化源が消費され尽くされて、乳酸菌の活性が弱まる。このような環境は酪酸菌にとってもっとも適しており、その後は酪酸菌が発酵を支配することになる。酪酸菌の増

殖は埋蔵温度が高まるにつれて旺盛になる (Murdoch, 1960) ので、高温は発酵品質の低下に作用し、低温は酪酸菌の活動を阻害するため発酵品質の向上に働く結果、埋蔵温度の影響が顕著に現れたものと考えられる。一方、前述のようにトウモロコシサイレージとグルコース添加ギニアグラスサイレージの中、高温区においては酪酸菌が増殖し品質が劣化する傾向が認められたが、発酵品質的にみて、グルコース添加ギニアグラスサイレージの100日目における中、高温区を除き、埋蔵温度の影響がほとんど見られなかった。これはトウモロコシサイレージでは2日目、グルコース添加ギニアグラスサイレージでは4日目にいずれの区も至適pH域に達し、その後は酪酸菌の増加もなく微生物相が安定し、大きく変化することがなかったためと考えられる。グルコース添加ギニアグラスサイレージがトウモロコシサイレージより埋蔵温度の影響を受けた理由は、グルコース添加ギニアグラスサイレージはpHがトウモロコシサイレージより高く、かつトウモロコシサイレージと比較して乳酸含量が高いため、酪酸菌にとってトウモロコシサイレージより増殖しやすい環境であったためと考えられる。

ところで、今回の実験において酵母と糸状菌は品質が比較的良いサイレージで多く、品質が劣るサイレージで少ない傾向を示した。これらの菌は嫌気条件下においてサイレージ中のVFAによって生育が阻害されることが知られており (Moon and Ely, 1979)、VFAが多量に存在するサイレージでは酵母や糸状菌の生育が阻害されたために、これらの菌数が少なかったものと考えられる。また、ギニアグラスサイレージの中、高温区は埋蔵日数が進むにつれて酢酸含

量が高くなった。酢酸は主に乳酸菌が5炭糖をヘテロ発酵した際に産生される(McDonald, 1981)。植物中、あるいは微生物に由来するヘミセルラーゼの至適温度は30~40℃で至適pHは6.0である(Woolford, 1984)。したがって、高温・高pH環境下ではこれらの酵素により植物の細胞壁から構造型炭水化物の一部が酵素分解され、5炭糖が溶出した結果(McDonaldら 1968)、長期にわたりヘテロ発酵が行われ、酢酸が増加し続けたものと推定されるが、この点については今後の詳細な研究が望まれる。一方、トウモロコシサイレージやグルコース添加ギニアグラスサイレージの中、高温区では酢酸の増加が認められなかった。これは前述のように、埋蔵の早い時期にpHが至適域まで低下したためにヘミセルラーゼの活性が低下したものと考えられる。

以上の結果、埋蔵温度はサイレージ発酵過程における微生物相に影響を及ぼすことによってサイレージの発酵品質を支配するものと推察され、高温条件はサイレージの発酵品質を低下させた。また、その悪影響はWSC含量の低い草種ほど大きく、糖添加によって緩和されることが明らかとなった。

第4節 摘 要

サイレージの通年給与の普及によってサイレージ用に適した飼料作物選定の重要性が認識されてきた。そこでサイレージ用作物の選定基準を明らかにするために、サイレージの発酵品質に影響を及ぼす要因として材料草の乳酸緩衝能(LBC)と可溶性炭水化物(W

S C) を取り上げサイレージ発酵との関係を検討した。さらに、サイレージ発酵過程における埋蔵温度がサイレージ発酵に及ぼす影響を検討した。得られた結果を要約すると以下の通りである。

W S C, L B C と発酵品質に関連する項目との相関係数を求めた結果、W S C は pH, フリーク評点および乳酸含量との間に高い正の相関が認められた。一方、L B C は pH, フリーク評点との間に負の相関が認められた。したがって、W S C はサイレージの品質向上に、L B C はその低下に互いに作用するが、材料草中に乳酸菌が乳酸を資化するのに十分な W S C を含有していれば、L B C がサイレージの発酵品質に及ぼす影響は軽減されることが示唆された。また、材料草の L B C がとくに高い場合、もしくは W S C 含量がとくに低い場合にはサイレージの発酵品質は低いことが明らかとなった。

添加糖の種類と添加水準がサイレージの発酵品質に及ぼす影響についてみると、5炭糖を添加したサイレージは酢酸含量が高く、6炭糖並びに2糖類を添加したサイレージは、乳酸含量が比較的高かった。また、デンプンの添加は有機酸組成に影響をほとんど及ぼさなかった。なお、マンニットを添加したサイレージは、酢酸含量が他の糖添加区より低い値を示した。この理由は、ヘテロ型乳酸菌がマンニットをほとんど資化できないことによるものと推定した。以上の結果、単糖の6炭糖と2糖類が最も効率的に乳酸へ資化され、5炭糖は乳酸への資化性が劣り、デンプンはほとんど乳酸に資化されず、発酵品質に影響を及ぼさないものと結論された。また、グルコースの添加水準に応じて、乳酸とフリーク評点が上昇し、pHが減少したが、その影響はL B Cが高いものほど大きいことが明らかと

なった。

埋蔵温度がサイレージの発酵品質に及ぼす影響についてみると、トウモロコシサイレージの乳酸桿菌数と乳酸球菌数は初期発酵の段階で高温区が、最終段階では低温区が多かったが、ギニアグラスサイレージでは初期発酵、最終段階ともに低温区が多かった。一方、グルコース添加ギニアグラスサイレージは初期発酵の段階において処理間に差がほとんどなかったが、埋蔵日数の経過にともなって高温区は他よりやや低い菌数で推移した。トウモロコシサイレージとグルコース添加ギニアグラスサイレージの高温区は20日目または14日目以降酪酸菌が増殖した。ギニアグラスサイレージの酪酸菌数は低温区では少なかったのに対し、中、高温区は温度が高くなるにしたがって埋蔵初期から増加し、その傾向は高温区が著しかった。pHについてみると、トウモロコシサイレージ、ギニアグラスサイレージおよびグルコース添加ギニアグラスサイレージともに、処理間にほとんど差が認められなかったが、低温になるにしたがって若干低くなる傾向が認められた。有機酸組成についてみると、乳酸含量は各サイレージとも低温区が高い傾向が認められた。酢酸含量はギニアグラスサイレージの中、高温区が高い値を示した。また、ギニアグラスサイレージの酪酸含量と総酸含量は、温度が高くなるにしたがって高い値を示した。以上の結果より、サイレージは埋蔵温度が高いと急速に、低いと緩慢に発酵が進み、低温埋蔵が酪酸発酵を抑制した。さらに、埋蔵温度がサイレージの発酵品質に及ぼす影響はWSC含量が高い草種では小さく、WSC含量が低い草種では大きいことが示唆され、グルコース添加によって、サイレージの発酵

品質は改善されるとともに埋蔵温度による影響が小さくなることが認められた。

キーワード： 緩衝能, 可溶性炭水化物, サイレージ添加物,
埋蔵温度, 発酵品質, 微生物相.

Chapter 2 Studies on the silage fermentation.

SUMMARY

It is essential to establish a more rational and stable ensiling method for better economic production of ruminant feed. A series of experiments were carried out to obtain fundamental data for making good silages. The following results were obtained:

- 1) The effect of water soluble carbohydrate (WSC) and lactic buffering capacity (LBC) on the fermentative quality of silage.

Several forage and legume crops were analyzed for WSC and LBC. Grasses had higher WSC content than legumes. Forage crops for ensilage (corn and sorghum) gave significantly higher WSC content than grasses and legumes. The LBC values of legumes were higher than those of grasses. The LBC value in almost all temperate forage crops were lower compared to those of tropical crops. Improvement on the fermentative quality of silages was greater on WSC rather than LBC. The LBC did not influence the ensilability of forage crop which contained enough WSC content to produce the necessary lactic acid. When the LBC value is too high or WSC content is too low in the crop for ensilage, LBC influenced the fermentative quality of silage.

2) The Effect of Saccharide Additives on The Fermentative Quality of Silage.

Oats, guineagrass, wilted paddy rice and alfalfa (aftermath) were ensiled with or without saccharide additives in 1 l laboratory silos. The additives examined were : 1) pentose (xylose, arabinose), 2) hexose (glucose, fructose, mannitol), 3) disaccharide (sucrose), 4) polysaccharide (starch). Composition of organic acid and pH were investigated at 7 and 50 days after ensiling. The quality of each oats silage was high because of high WSC content and low LBC. While, the fermentative quality of other materials, such as alfalfa, with low WSC, were relatively low. With regards to organic acid components, pentose saccharides as silage additive resulted in the production of higher acetic acid than other forms of saccharides. Because, in theory 1 mole of pentose is fermented to 1 mole of lactic and acetic acid by lactic acid bacteria. Starch as silage additive did not influence the fermentation quality of silage. Among the silage additives, hexose saccharides efficiently produced lactic acid, because in theory 1 mole of hexose is fermented to 2 moles of lactic acid by lactic acid bacteria. Thus, hexose was considered as the best additive compared to the other forms of saccharides. Silage treated with mannitol was significantly low in acetic acid content, because heterofermentative lactic acid bacteria can not ferment mannitol.

The results showed that in terms of lactic acid production, hexose and

disaccharides were more efficient than pentose, so the former are better than the latter as silage additives. As an additive, starch did not influence the fermentation quality of silage.

3) Effect of Temperature and additives on the Fermentative Quality and Microflora of Silages.

The silage materials used in this study were dough stage of corn (*Zea mays*, P3358) and flowering stage of guineagrass (*Panicum maximum* var. Natsukaze). After ensiling, silos were stored at 15 °C (low), 25 °C (medium) and 35 °C (high) temperature rooms. The silos were opened at 2, 5, 7, 14, 25 and 100 days after ensiling. The results obtained were as follows:

At lower temperature, the pH of both corn and guineagrass silages tended to be low, although there were no significant difference among silages. The viable counts of lactic acid bacteria of the silage stored at high temperature was higher 7 days after ensiling and that of the silage stored at low temperature was higher at the end of ensiling period in corn silage. On the other hand, the viable counts of lactic acid bacteria of the silage stored low temperature was higher through out the ensiling period in guineagrass silage. Clostridia appeared only in the corn silage stored at high temperature 20 days after ensiling. While, the viable counts of clostridia increased earlier in the guineagrass silage stored at higher temperature. With regard to organic acid

contents, the contents of lactic acid of both silages stored at low temperature were higher than those stored at higher temperature. The acetic acid contents of the silages stored at high and medium temperatures were higher than that of low temperature in guineagrass silage. The contents of butyric and total acids were higher in the silage stored at higher temperature in guineagrass silage.

These results showed that the silage fermentation advanced more slowly when stored at lower temperature and storage of silage at low temperature is desirable to inhibit undesirable fermentation such as clostridia. Temperature had little effect on the fermentation material capable of producing high quality silage such as corn but had influenced the material which is difficult to make high quality silage such as guineagrass.

The LAB additive had no effect on fermentation quality and microflora of corn silage. On the other hand, the fermentation quality of guineagrass silage was improved and the ill effect of temperature was decreased by glucose additive.

Key words: Fermentative quality, Lactic acid bacteria, Organic acid,

Saccharides, Silage, Silage additives,

第3章 サイレージの好気的変敗の機構に関する研究

第1節 緒言

サイロ開封後におこるサイレージの好気的変敗は、夏期の高温時に発生しやすく、一旦変敗が始まると表層から急速に拡がり、サイレージの品質を著しく低下させる(松岡ら, 1983)。好気的変敗は様々な要因によって生起するが、一般に予乾サイレージなどの乾物率の高いものは、好気的変敗を生じ易いとされている(Ohyamaら, 1980)。一方、微生物との関係については、サイレージ1g中に酵母菌数が 10^5 個以上生息するサイレージは好気的変敗を起こし易かったとする報告がある(Kochら, 1972; O'learyら, 1981)。Woolfordら(1978, 1979)はトウモロコシサイレージでは細菌が、牧草サイレージでは酵母が変敗の主因菌であると見なしている。

一方、好気的変敗による化学成分の変化については、変敗が生起すると乳酸や糖が減少することを多くの研究者が認めている(Beck and Gross, 1964, 松岡ら, 1992)。このようにサイレージの好気的変敗過程における微生物や化学成分の推移を調査した報告はあるが、微生物(Mennら, 1981)、または化学成分(Kibe and Kasuya, 1979; Ohyamaら, 1975)のみを検討したものが多く、変敗過程における両者の推移を経時的に精査した報告はほとんど見当たらない。

ところで、サイロ開封後サイレージが好気条件にさらされる場合、サイロの形状や規模との関連において、新鮮空気の侵入やその量が影響を受け、その程度によって好気的変敗の発現に差異があるもの

と考えられる。白田・太田(1974,1975)は好気的変敗対策に関する一連の研究のなかで、詰め込み密度との関係を検討した結果、低密度サイレージは好気的変敗を生じ易いことを報告した。

また、Ohyamaら(1975)は開封後の環境温度が好気的変敗に及ぼす影響について検討し、5~10℃の場合には16例中すべてが変敗しなかったが、10~15℃の範囲では22例中7例が7日以内に温度が上昇し、25~30℃では38例中23例が発熱を示したと報告した。また、Pittら(1991)は文献から集めたデータを解析した結果、10℃以下または40℃以上の範囲では好気的変敗が遅れることを報告した。しかし、これらはいずれも環境温度と好気的変敗の有無との関係を示すにとどまっており、微生物学的な側面から環境温度が好気的変敗に及ぼす影響を検討した報告は、ほとんど見受けられなかった。

そこで本実験は好気的変敗の機作を解明することを目的として、トウモロコシサイレージの好気的変敗過程における微生物相ならびに化学成分の変化を経時的に追跡した。次に好気的変敗に影響を及ぼす諸要因のうち、空気量、詰め込み密度および環境温度がトウモロコシサイレージの好気的変敗に及ぼす影響について検討し、開封後のサイレージの好気的変敗の様相とその機作の究明を試みた。

第2節 トウモロコシサイレージの好気的変敗過程における微生物
相ならびに化学成分の推移

材料および方法

供試サイレージは糊熟期トウモロコシ(P3358)を1992年8月20日に刈り取って2~3cmに細切後200ℓ容のプラスチックサイロに詰め込んで調製した。1993年3月5日にサイロを開封して実験に供した。材料草の乾物率と化学組成を表23に、開封時の発酵品質を表24に示した。

Table 23. Ensiling date, dry matter, chemical composition of silage materials

Item	corn
Ensiling <u>date</u>	Aug. /21/92
DM (%)	21.8
Crude protein(%DM)	7.4
Crude fat(%DM)	1.2
Crude fiber(%DM)	17.4
NFE ^{a)} (%DM)	68.5
Crude ash(%DM)	5.5
NSC ^{b)} (%DM)	
Arabinose	0.89
Fructose	1.75
Glucose	2.80
Sucrose	2.52
Starch	15.9

a) Nitrogen free extract.

b) Nonstructural carbohydrates.

Table 24. Fermentation quality of corn silage

DM (%)	pH	Organic acids (FM%)				VBN ^{a)}	
		Acetic	Propionic	Lactic	Total	(%)	
						T-N	
22.0	3.6	0.51	0.17	1.82	2.50	0.69	

a) Volatile basic nitrogen.

好気的変敗の過程を追跡するためにサイロから取り出したサイレージを直ちにビニールシート上でよく混合し、10ℓ容の発泡スチロール製の断熱容器（20×20×25cm、厚さ2cm）24個にそれぞれ2.5kg 圧密を加えずに軽く詰め直し、20℃の恒温室内で7日間静置してサイレージの品温を連続測定した。一方、処理後のサイレージ中の生菌数、有機酸含量等の変化を追跡するためにサンプリングは発熱開始までの間は24時間、発熱開始から発熱が収まるまでの間は6時間、その後実験最終日までの間は24時間または48時間間隔で断熱容器を2連で取り出して行った。各サンプルは生菌数の計測、pHの測定、有機酸含量、非構造型炭水化物（NSC）含量、純蛋白質含量および揮発性塩基態窒素（VBN）の分析に供した。

サイレージの品温は、断熱容器内のサイレージの中心部にサーモメーターを埋設し、自記記録計（オシログラフ 千野EH200-12型）を使用して連続測定した。品温はサイレージ間で2時間程度のずれ

があったが、ほぼ同じ推移をたどった。

微生物相については、酵母、糸状菌および一般細菌数を計測した。各生菌数の計測は希釈平板法により行った。なお、酵母と糸状菌の計測は、抗菌剤として10%酒石酸を1ℓ当たり8ml添加したポテトデキストロース寒天培地(Britt and Huber, 1975)を用い、25℃で3日間培養して行った。また、一般細菌については、普通寒天培地(駒形, 1975)を用い、32℃で3日間培養して計測した。pHはガラス電極メーターで、有機酸組成はガスクロマトグラフィー法(檜山, 1986)でそれぞれ測定した。NSC含量は単少糖区分については、乾燥試料を80%エチルアルコールで抽出したものを液体クロマトグラフィー(検出器; 日立 L-3300 RI, カラム; NH2P-50, 移動相; 80% CH₃CN 流量; 1.0 ml/min)で分析定量し、デンプン区分はタカジアスターゼ法(森本, 1971)で定量して両者の和をNSCとした。また、粗タンパク質含量は高感度N.C. ANALYZER(SUMIGRAPH MODEL NC-80)を用い、純蛋白質含量はバルスライン法(作物分析法委員会編, 1975)で、VBN含量は減圧蒸留法(森本, 1971)によってそれぞれ定量した。

結 果

サイレージの品温とpHの推移

断熱容器に収納後のサイレージの品温とpHの推移を図2に示した。品温は実験開始約30時間後から上昇を開始し、54時間後にピークに達した。また、発熱ピークが収まった72時間後以降も外温より5℃前後高い温度を維持した。pHは発熱の開始に伴って急激に発

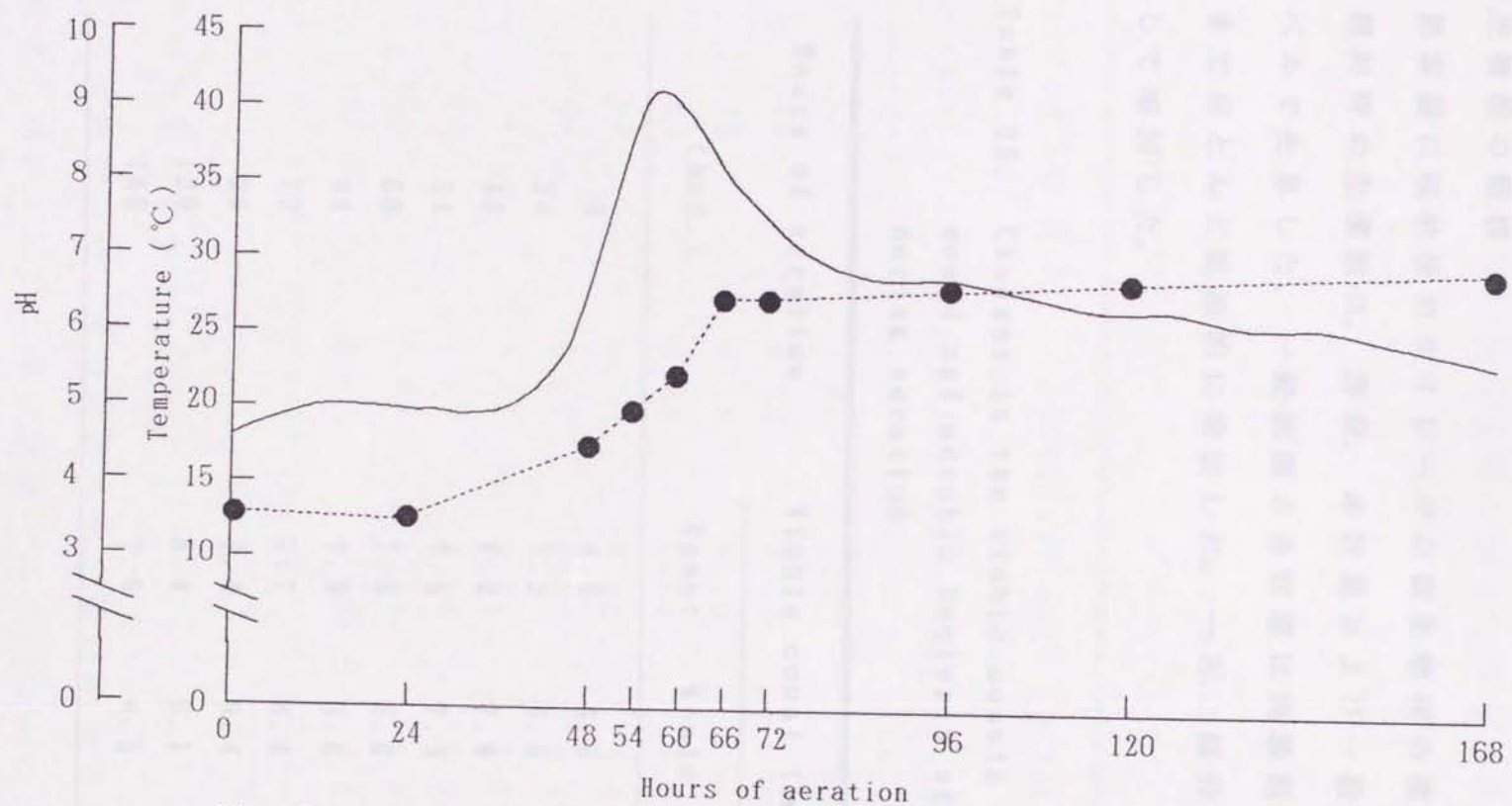


Fig. 2. Changes in temperature and pH of corn silage during aeration.

— Temperature ·····●···· pH

熱ピークに達した66時間目以降は緩やかに上昇し、実験終了時には6.9とほぼ中性を示した。

微生物相の推移

断熱容器に収納後のサイレージの微生物相の推移を表25に示した。開封時の生菌数は、酵母、糸状菌および一般細菌数ともに 10^4 個レベルで生息した。一般細菌と糸状菌は実験開始直後から66時間目までほとんど直線的に増加した。一方、酵母はpHの推移とほぼ連動して増加した。

Table 25. Changes in the viable counts of yeast, mould and aerobic bacteria of silage during aeration

Hours of aeration (hrs.)	Viable count ($\log_{10}N/ FMg$)		
	Yeast	Mould	Aerobic
0	4.6	4.6	4.5
24	5.2	6.8	6.8
48	6.2	7.8	6.7
54	7.6	7.9	7.9
60	7.8	8.3	7.9
66	7.9	8.6	8.6
72	7.7	8.4	7.8
96	7.4	8.4	7.9
120	8.4	9.1	9.3
168	7.0	8.5	8.6

有機酸含量の推移

断熱容器に収納後のサイレージの有機酸含量の推移を表 26 に示した。乳酸と酢酸は、pH の上昇が始まった 48 時間目から急激に減少し、乳酸は 66 時間目、酢酸はほぼ 72 時間目にそれぞれ消失した。

Table 26. Changes in organic acid content of silage during aeration

Hours of aeration (hrs.)	Organic acid contents (FM%)			
	Acetic	Propionic	Butyric	Lactic
0	0.51	0.17	tr.	1.82
24	0.43	0.12	tr.	1.81
48	0.23	0.10	tr.	0.39
54	0.12	0.14	0.06	0.32
60	0.08	0.02	0.03	0.14
66	0.12	0.03	0.06	0
72	0.06	0.02	0.06	0
96	0.05	0.04	0.05	0
120	0.05	0.02	0.04	0
168	0.04	0.02	0.01	0

N S C 含量の推移

サイロ開封後における N S C 含量の推移を表 27 に示した。サイロ開封後、残存していた単少糖は、リボースがほとんどで、少量の

マンニットが存在した。リボース含量は54時間目まで残存していたが、60時間目には消失した。また、マンニット含量は60時間目までほとんど変化がなく、66時間目には消失した。一方、デンプン含量については試験期間を通し、ほとんど変化が認められなかった。

Table 27. Changes in nonstructural carbohydrate (NSC) contents of silage after during aeration

Hours of aeration (hrs.)	NSC (DM%)		
	Ribose	Mannit	Starch
0	4.29	1.03	15.2
24	4.32	0.80	16.2
48	3.29	0.82	15.4
54	3.12	0.75	15.3
60	0	0.64	15.4
66	0	0	16.3
72	0	0	16.8
96	0	0	16.7
120	0	0	15.3
168	0	0	15.8

窒素化合物含量の推移

サイロ開封後における窒素化合物含量の推移を表28に示した。全窒素含量と純タンパク態窒素質含量は開封後、やや増加する傾向

を示したが、VBN含量は開封時においては0.57%と少なかったが、発熱が始まると同時に減少し、72時間目までに消失した。

Table 28. Changes in content of nitrogenous compounds of silage during aeration

Hours of aeration (hrs.)	T-N ^{a)} (DM%)	TPN ^{b)} (DM%)	VBN ^{c)} (FM%)
0	1.22	0.70	0.57
24	1.16	0.78	0.51
48	1.20	0.92	0.33
54	1.20	0.88	0.30
60	1.28	0.98	0.34
66	1.36	0.80	0.26
72	1.26	0.86	0.14
96	1.32	0.96	0
120	1.40	0.95	0
168	1.32	0.80	0

a) Total Nitrogen.

b) True protein nitrogen.

c) Volatile basic nitrogen.

考 察

サイレージのpHはその酸含量と緩衝能によって決定される (Wilson, 1935)。今回の実験でpHは乳酸含量の減少に比例して上昇

した。また、サイレージの品温が上がり始めた30時間目からpHが著しく上昇した。好気的変敗中の発熱は微生物の呼吸熱に由来することが知られている(原ら, 1979)。したがって、酵母が活動を開始することによって乳酸含量が減少し、pHと温度が上昇したものと考えられる。糸状菌と一般細菌は発熱ピークに達するまではほぼ直線的に増加したが、品温はそれらの増加に連動しなかった。Ohyamaら(1979)はこれらの菌が主因菌となって好気的変敗を行う場合、温度上昇が比較的緩やかに進むことを報告している。したがって、今回の実験において、糸状菌と一般細菌は好気的変敗の主因菌ではないことが示唆された。

サイロ開封後、サイレージ中のデンプンは試験期間を通じほとんど変化しなかった。これはデンプンがアミロース、アミロペクチンの2成分からなり、前者はD-グルコースが α -1,4結合して数個から数百個、長鎖状に結合したもので、後者はアミロースからさらに α -1,6結合で多数の分枝を生じたものであり、水に不溶でかつ分子量が大きいので、微生物がこれを直接利用できないことやデンプンは主としてトウモロコシの穀粒内に存在し、微生物が利用できなかったためと考えられる。好気的変敗はトウモロコシホールクロップサイレージなど、デンプン含量の高いものに発現し易いことが知られており、その理由としてはデンプンが微生物の資化源となるなどが考えられたが、今回の実験の結果、デンプンは微生物にほとんど利用されていないことが明らかとなった(原・大山, 1982)。一方、単少糖類についてみると、サイロ開封後に残存していた糖は5炭糖のリボースと6炭糖のマンニットであり、材料草に存在した糖

と異なるものであった。前者はサイレージ発酵段階で微生物由来の酵素によって細胞壁成分から溶出したことによるものと考えられる。一方、後者は次式のようにヘテロ発酵型乳酸菌がフルクトースを資化する過程で産生したものと考えられている (Elitz and Vandemark, 1959)。



サイレージ中のリボースは発熱開始後、急激に減少した。これは酵母の増殖と連動しているので、主として酵母によって消費されたと考えられる。Chanberlain(1988)によると還元糖は乳酸資化能をもつ酵母の活動を助長するとしており、今回の実験結果と一致した。一方、マンニットはリボースが消失してから減少を始めた。このことはマンニットがリボースより微生物による利用性が劣ることを示唆している。

開封後の全窒素含量と純タンパク態窒素含量は一定ないしやや増える傾向を示したが、サイレージの好気的変敗にともなって乾物が損失するために見かけ上両者が増えたものと考えられる。Ohyama(1976)はサイレージの好気的変敗が生起するとサイレージ中の遊離アミノ酸が分解され、その結果アンモニアを生じることがあると報告しているが、本実験の結果、VBN含量は開封後徐々に減少し最終的にほとんど消失した。これはVBNが菌体蛋白に一部がとりこまれるとともに、サイレージの発熱によって揮発したものと考えられる (Ohyamaら, 1975)。

一般にサイレージの好気的変敗を起こす主因菌として酵母、糸状菌および一般細菌があげられるが、そのいずれがスターターの役割を果たすかということについては、明確にされていない（原・大山，1978）。今回の実験では、温度やpHの上昇を促した主力菌は酵母であることが示唆された。一方、本試験の結果よりサイロ開封後一般細菌と糸状菌が酵母より早い時期から増殖してサイレージ中の有機酸を消費しpHが上昇すると、耐酸性に欠ける酵母の活動が誘発され、好気的変敗が一気に進むことが示唆された。これらの菌は表26の結果から乳酸を主として利用しながら増殖するものと考えられるが、この点については詳細な研究が必要である。

以上より、サイレージの好気的変敗は糸状菌や一般細菌が活動を開始することによってサイレージのpHが上昇し、それが酵母の活動を誘発して、好気的変敗が生起するものと考えられた。したがって、糸状菌と一般細菌がサイレージの好気的変敗に対してスターターの役割を、酵母が主因菌として働くものと推定されたが、今後、詳細な実験を重ね確認する必要がある。

第3節 サイロ開封後の空気容量と詰め込み密度がトウモロコシサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

材料および方法

糊熟期トウモロコシ(P3352)を1992年8月に詰め込みサイレージを調製した。1992年11月にサイロを開封して実験に供した。開封時の発酵品質を表29に示した。

Table 29. Fermentation quality of corn silage

DM(%)	pH	Organic acids (FM%)				VBN ^{a)}
		Acetic	Propionic	Lactic	Total	(%)
						T-N
19.3	3.6	0.43	0.08	1.73	2.24	0.73

a) Volatile basic nitrogen.

サイロ開封後、サイレージをビニールシート上で良く混合し、実験Iでは容量が20ℓ、35ℓ、50ℓおよび65ℓ容の発泡スチロール製の断熱容器(底面積400cm²(20×20cm)、厚さ2cm)にサイレージをそれぞれ2.0kg 圧密を加えずに詰め直した後、蓋をして密封し、さらに容器全体を空気の侵入を防ぐためビニールで包んでシールした処理区と蓋をせず空気の侵入を自由にした開放区とを設け、

3 反復して室温で6日間静置した。

実験Ⅱについては10ℓ容のプラスチック製容器に2.5kgのサイレージを入れ、これに踏圧を加えて容器表面から10cmまで詰め込んだ高密度区、5cmまで詰め込んだ中密度区および全く踏圧を加えずに容器の表面までサイレージで満たした状態の低密度を設け、これらを発泡スチロール製の容器内に置床し、3反復して室温で6日間静置した。

実験ⅠとⅡのサイレージについて、品温を連続測定し、実験開始時、3日目および6日目にサンプリングを行い、微生物の生菌数の計測、pH、有機酸含量を調べた。サイレージの品温、微生物相、pHおよび有機酸組成は前節と同じ方法を用いた。

結 果

実験Ⅰ

サイロ開封後の温度変化を図3に示した。各処理区の発熱開始時間は処理開始後約40時間でほぼ同じであった。60～70時間後に発熱ピークに達したが、ピーク時の品温はサイロ容積が減少するにともなって低下した。また、20ℓ区は発熱がほとんど見られなかった。

サイロ開封後のpHの推移を図4に示した。3日目、6日目ともにサイロ容積に応じて高い値を示し、20ℓ区と35ℓ区は6日目においても至適pH域内にとどまった。

サイロ開封後の各種微生物の生菌数の推移を図5に示した。糸状

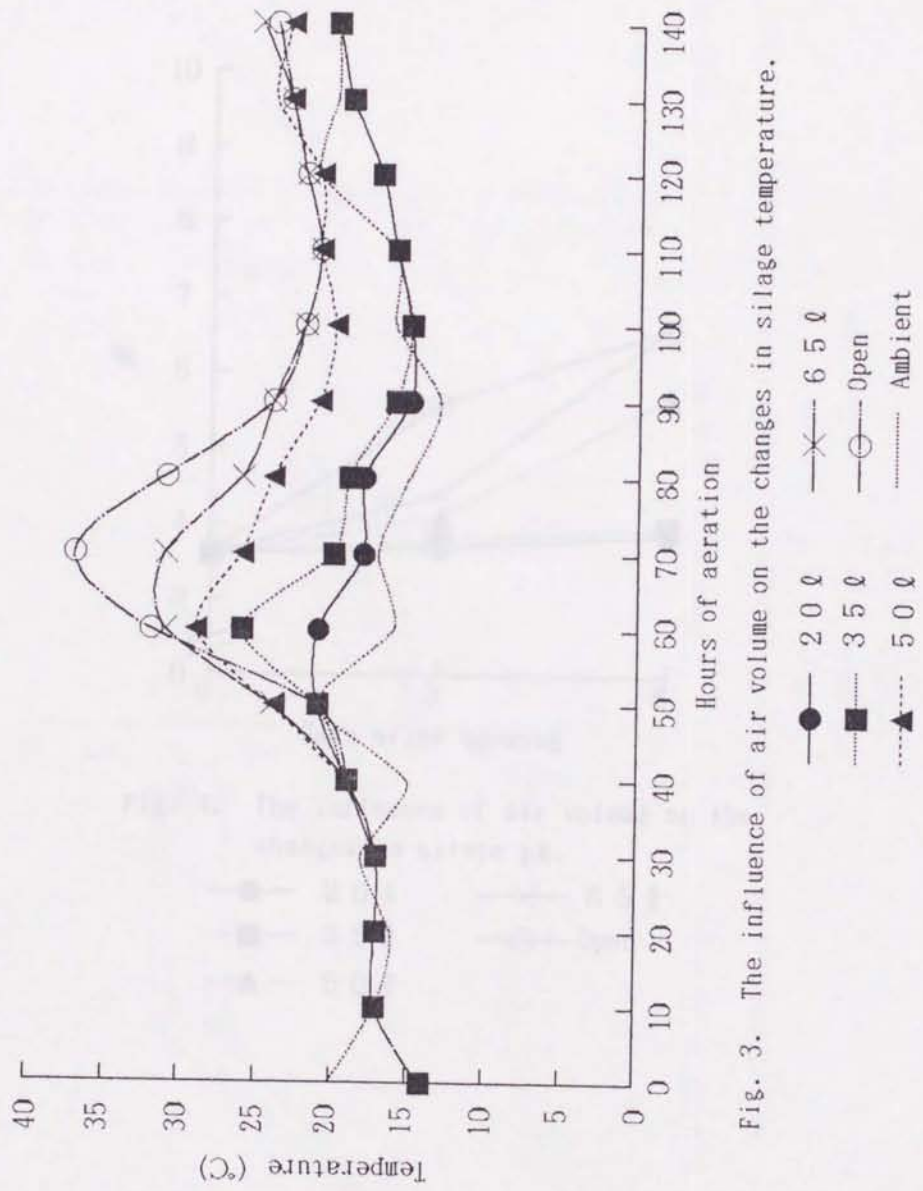


Fig. 3. The influence of air volume on the changes in silage temperature.

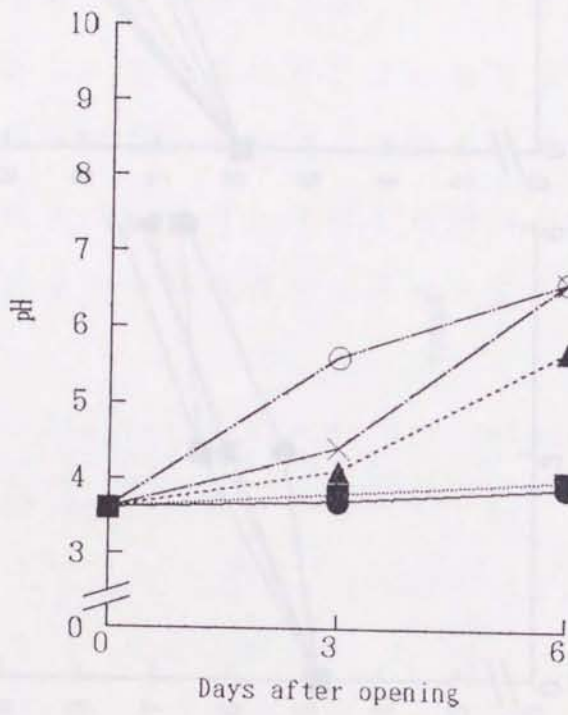


Fig. 4. The influence of air volume on the changes in silage pH.

- 20 l
- 35 l
- ▲ 50 l
- × 65 l
- Open

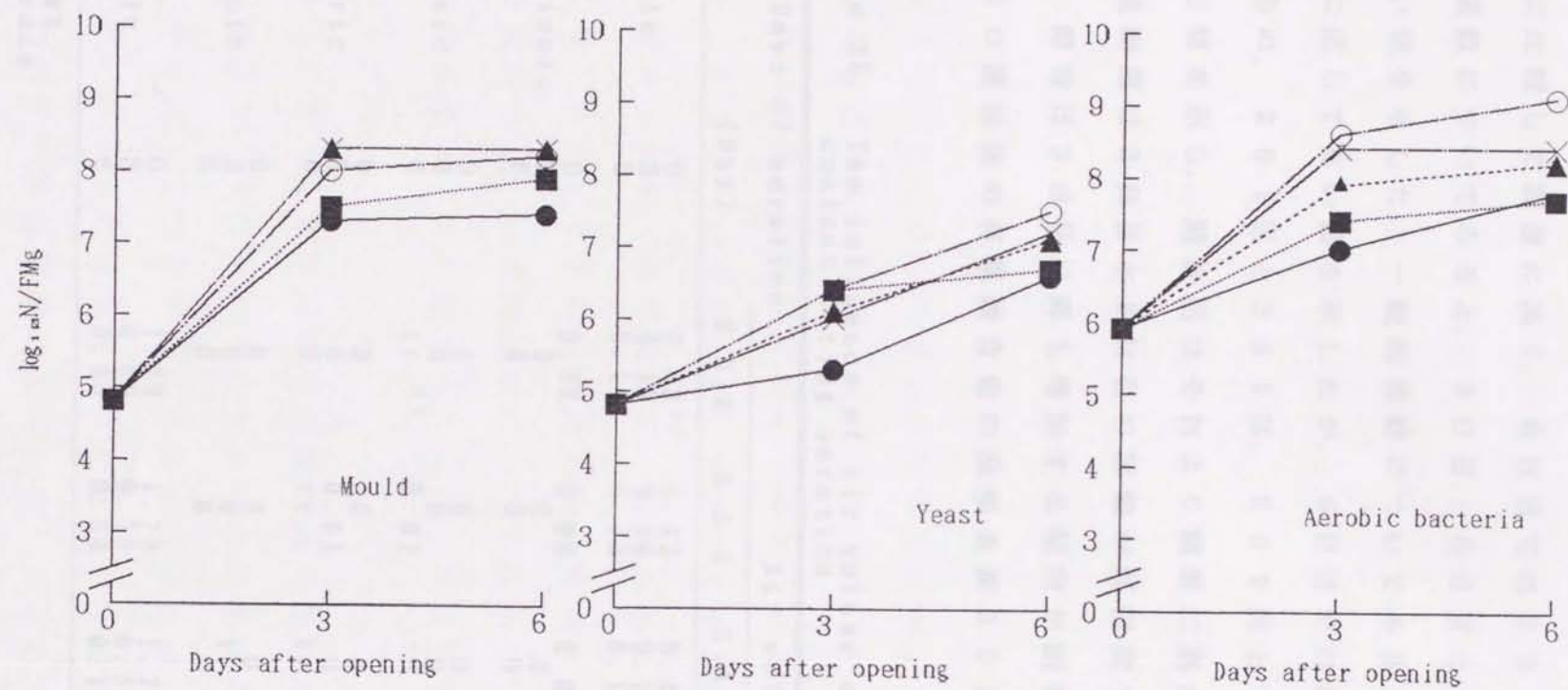
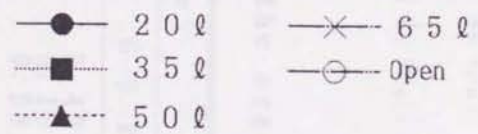


Fig. 5. The influence of air volume on the changes in viable counts of mould, yeast and aerobic bacteria.



菌数についてみると、3日目では50ℓ以上の区は25ℓ区と35ℓ区に比較して顕著に高く、6日目では20ℓ区が低い値を示した。酵母菌数についてみると、3日目、6日目ともにサイロ容積に応じて高い値を示した。一般細菌数についてみると、3日目ではサイロ容積に応じて高い値を示したが、6日目では同様の傾向が認められたものの、20ℓ区と35ℓ区、50ℓ区と65ℓ区がそれぞれほぼ同じ値を示し、開放区はそれより顕著に高かった。また、糸状菌と一般細菌は3日目と6日目の菌数が同程度で増殖しなかったのに対し、酵母は3日目以降も増加する傾向が認められた。

サイロ開封後の有機酸含量の推移を表30に示した。

Table 30. The influence of air volume on the organic acid content during aeration

	Days of aeration (Day)	Air volume				
		20ℓ	35ℓ	50ℓ	65ℓ	Open
Acetic acid	0	0.43 ^{a)}	0.43	0.43	0.43	0.43
	3	0.15	0.16	0.14	0.15	0.14
	6	0.14	0.12	0.16	0.08	0.06
Propionic acid	0	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
	3	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0
Butyric acid	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0.01	tr.
	6	tr. ^{b)}	0.01	0	0.02	tr.
Valeric acid	0	0	0	0	0	0
	3	0	0.01	0	0	0.01
	6	0	tr.	tr.	tr.	0
Caproic acid	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	tr.	0	0
	6	0	0	0	0	0
Lactic acid	0	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73
	3	0.89	0.75	0.55	0.57	0.21
	6	0.45	0.24	0.12	tr.	tr.

a) FM%.

b) trace.

酢酸含量についてみると、3日目では差がほとんど認められなかったが、6日目ではサイロ容積が増えるにともなって低い値を示した。乳酸含量についてみると、3日目、6日目ともにサイロ容積の増大にともなって低い値を示し、6日目の65ℓ区と開放区は消失した。

実験Ⅱ

サイロ開封後の温度変化を図6に示した。各処理区とも発熱開始時間は約40時間目で差が認められなかったが、発熱ピーク時の品温はサイレージの詰め込み密度が高まるにつれて低下した。

サイロ開封後のpHの推移を図7に示した。3日目では詰め込み密度が高まるにしたがって低い値を示したが、6日目では処理間に差がほとんど認められなかった。

サイロ開封後の生菌数の推移を図8に示した。糸状菌数についてみると、3日目、6日目ともに密度が高まるにつれて低い値を示す傾向が認められた。酵母菌数についてみると、低密度区と中密度区は3日目、6日目ともに差が認められなかったが、高密度区はそれらより低かった。一般細菌数についてみると、3日目では密度が高まるにともなって低い値を示したが、6日目では差がほとんど認められなかった。

表31にサイロ開封後の有機酸含量の推移を示した。酢酸含量についてみると、3日目、6日目ともに処理間の差が認められなかったが、いずれも日数の経過にともなって減少した。乳酸含量についてみると、3日目では密度が高まるにしたがって高い値を示したが、いずれも開封時より顕著に減少した。6日目ではいずれの処理区も

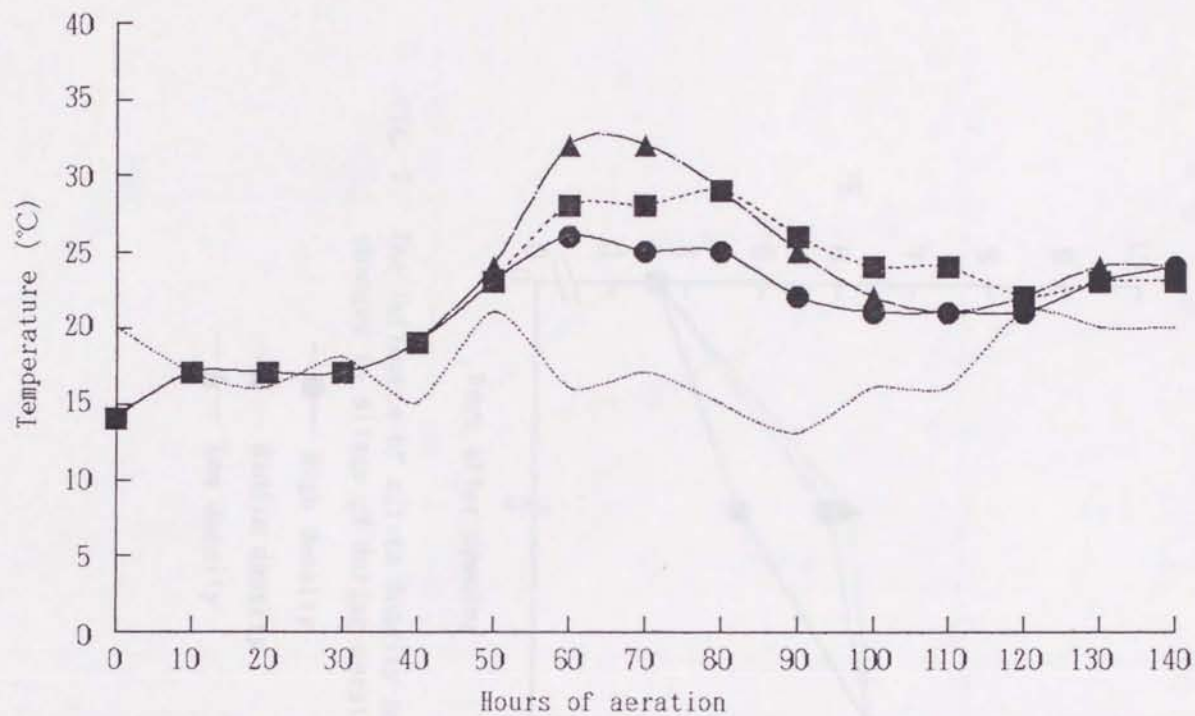


Fig. 6. The influence of silage density on the changes in silage temperature during aeration.

● High density ▲ Low density
 ■ Middle density Ambient

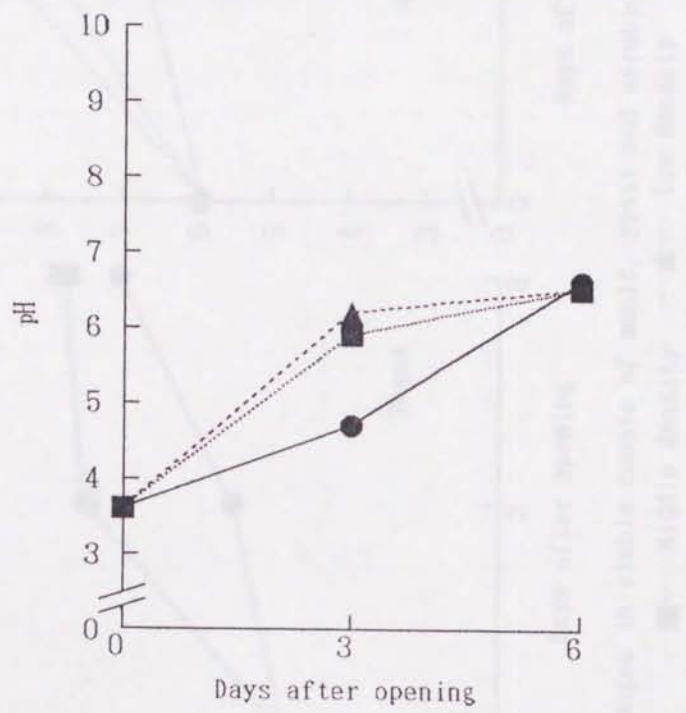


Fig. 7. The influence of silage density on the changes in silage pH during aeration.

- High density
- - -■- - Middle density
-▲..... Low density

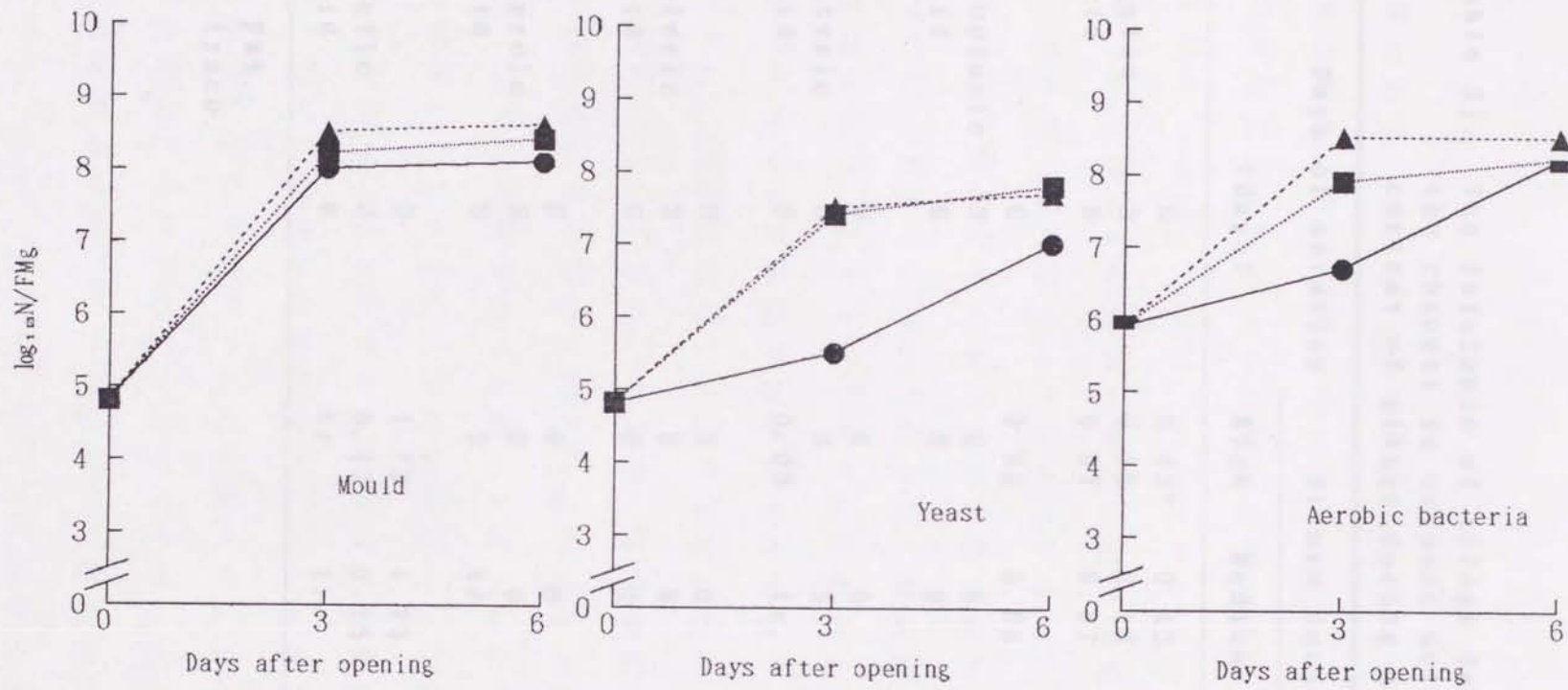


Fig. 8. The influence of silage density on the changes in viable counts of mould, yeast and aerobic bacteria during aeration.

● High density ■ Middle density ▲ Low density

ほとんど消失した。

Table 31. The influence of silage density on the changes in organic acid content of silage during aeration

	Days of aeration (Days)	Silage density		
		High	Medium	Low
Acetic acid	0	0.43 ^{a)}	0.43	0.43
	3	0.15	0.16	0.14
	6	0.07	0.07	0.08
Propionic acid	0	0.08	0.08	0.08
	3	0	0	0
	6	0	0	0
Butyric acid	0	0	0	0
	3	0	0	0
	6	0.03	tr.	0.01
Valeric acid	0	0	0	0
	3	0	0	0
	6	0	0	0
Caproic acid	0	0	0	0
	3	0	0	0
	6	0	tr.	0
Lactic acid	0	1.73	1.73	1.73
	3	0.17	0.15	tr.
	6	tr.	tr.	tr.

a) FM%.

b) trace.

考 察

実験 I

本実験の結果、サイロ内の空気容量が小さいほどサイレージの発熱が抑制された。好気的変敗時の発熱は微生物の呼吸熱によるものであり、変敗にはサイレージ表層への酸素の供給が不可欠である (Pahlow and Zimmer, 1985)。

本試験の結果をもとに好気的変敗を生起させるに必要な酸素量を推定してみよう。すなわち、20ℓ、35ℓ、50ℓおよび65ℓ区のサイロ内の酸素をサイレージの体積を除いて求めるとそれぞれ3.9、8.4、12.9および17.4gであった。開放区のサイレージの最高発熱温度は37℃、65ℓ区で32℃、50ℓ区で29℃、35ℓ区で26℃さらに20ℓ区では20℃となり、65ℓ区においても酸素は不足し、開放区のピークより5℃も低かったが、サイレージは好気的変敗を生じていた。そこで、65ℓ区のサイロ内の酸素によって、好気性の微生物が乳酸を呼吸源として好気的変敗を生じたとすると、呼吸に消費される乳酸は18gから19gと推定され、本試験に供試したサイレージ中の乳酸量の1/2に相当した。

この例から判るように、サイレージの好気的変敗は一種の燃焼現象であり、第一に微生物の呼吸源（燃料）となる乳酸主体とする有機酸、可溶性の糖類およびタンパク質がサイレージ中に存在し、さらに酸素が十分に供給されることが必要であり、両条件が成立すれば好気性微生物が活動してサイレージの好気的変敗が生起するものと考えられる。なお、参考までに好気的変敗を誘導するために必要

とする酸素量を65ℓ区のデータに基づいて推定すると、乾物サイレージ1kgあたり79g以上の酸素を必要とすることが判った。

また、酵母は糸状菌と比較して増殖が遅れ、その増殖率も糸状菌より低かった。これは糸状菌が酵母より早い時期から増殖を開始したため糸状菌によって酸素が消費され、遅れて活動を開始した酵母は低酸素条件下のため、増殖が抑制されたものと考えられる。

糸状菌と一般細菌は3日目以降増殖が止まったが、酵母は3日目以降も増殖が認められた。佐々木(1972)はサイレージ熟成中における酵母と糸状菌の推移を調査した結果、糸状菌と一般細菌は密封後、速やかに減少したが、酵母は前2者より減少しないことを報告した。今回の実験においても発熱ピークに達した時点で酸素濃度が低下したが、嫌気条件下においても生育可能な酵母がその後も増殖したと考えられる。

実験Ⅱ

今回の実験において詰め込み密度が高まると発熱が抑制され、Barryら(1980)および木部(1979)の結果と一致した。これはサイレージの詰め込み密度が高まると空気の侵入が困難になるからである。微生物の活動可能な範囲は空気が侵入した層のみであるから、密度が高まると空気の侵入が阻止され、発熱が上層部のみに限られた結果、微生物の増殖を抑制したと考えられる。

以上より、サイレージの好気的変敗はサイロ内の空気容量が少なく、かつ詰め込み密度が高いものほど発熱を抑制し、変敗の程度が軽減されることが明らかとなった。

第4節 サイロ開封後の環境温度がトウモロコシサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

材料および方法

供試サイレージは糊熟期トウモロコシ(P3352)を1992年8月21日に刈り取って2~3cmに細切後100ℓ容のプラスチックサイロに詰め込み調製した。1992年10月25日に開封して実験に供した。開封時の発酵品質を表32に示した。

Table 32. Fermentation quality of corn silage

DM(%)	pH	Organic acids (FM%)				VBN ^{a)}
		Acetic	Propionic	Lactic	Total	(%)
						T-N
22.3	3.6	0.33	0.12	0.97	1.42	0.66

a) Volatile basic nitrogen.

サイロ開封後、サイレージをビニールシート上で良く混合し、10ℓ容の発泡スチロール製の断熱容器(20×20×25cm, 厚さ2cm)にそれぞれ2.5kg 圧密を加えずに詰め直して、10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃および35℃の恒温室内に各6個、開封したまま7日間静置した。

これらサイレージについて、品温を連続測定し、実験開始時から5日目までの毎日と7日目にサンプリングを行った。各サンプルは微生物生菌数の計測、pH、有機酸含量の測定に供した。なお、サンプリングは毎回サイレージを恒温器から取り出し、すばやく混合して行った。

サイレージの品温、微生物相、pHおよび有機酸組成の分析方法は前節に準じた。

結 果

サイレージの品温の推移

サイロ開封後におけるサイレージの品温の推移を図9に示した。各サイレージは実験開始後10時間以内に設定温度に達したが、35℃区と30℃区の品温は実験開始時から発熱ピークまではほぼ直線的に上昇し、発熱ピークは実験開始約24時間後で、最高温度はそれぞれ47℃と45℃に達した。一方、25℃、20℃、15℃および10℃の各区はそれぞれ約24時間、30時間、30時間および72時間後から発熱を開始し、環境温度が低いほど発熱が遅くなる傾向が認められた。また、ピーク時の品温は、それぞれ40℃、40℃、33℃および31℃と環境温度の低下にともなって低くなる傾向を示した。温度変化のパターンについてみると、25℃以上の各区は発熱ピークに達した後も設定温度より高い温度で推移したのに対し、20℃以下の各区は発熱ピーク後、比較的速やかに設定温度まで下降した。

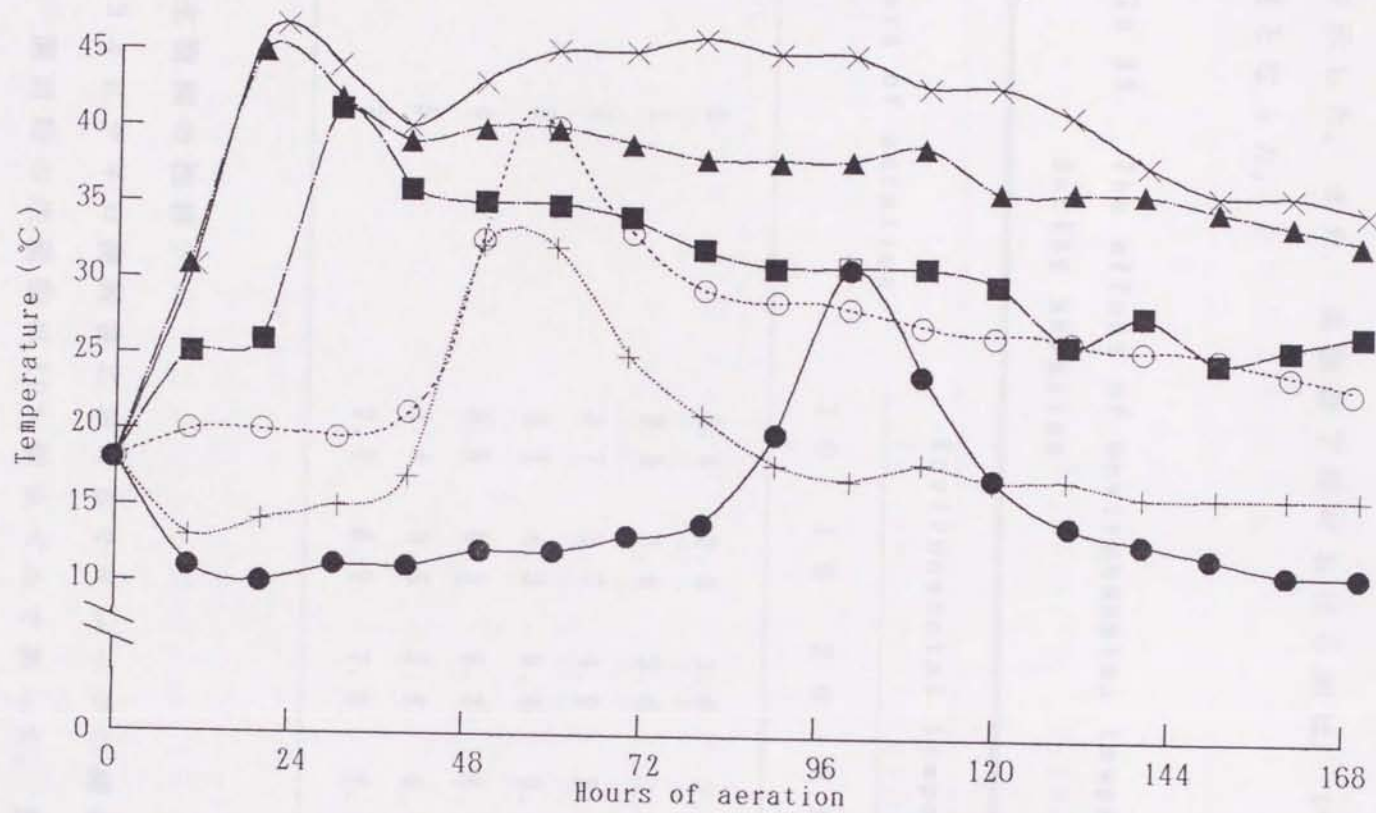
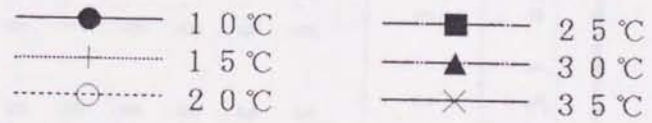


Fig. 9. The influence of environment temperature on silage heating during aeration.



pHの推移

表33にサイロ開封後におけるサイレージのpHの推移を示した。pHは環境温度が高まるにつれて、開封後の早い時期から上昇する傾向を示した。また、実験終了時におけるpHは、いずれの処理区も同程度となった。

Table 33. The effect of environmental temperature on pH during aeration

Days of aeration	Environmental temperature (°C)					
	10	15	20	25	30	35
0	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6
1	3.6	3.6	3.6	3.6	4.5	3.8
2	3.7	3.7	4.0	5.9	6.5	5.8
3	3.7	4.3	6.4	6.4	6.6	6.8
4	3.8	6.3	6.2	6.7	6.7	6.6
5	4.4	5.8	5.8	6.7	6.8	6.8
7	7.0	6.9	7.0	7.1	7.5	7.5

微生物相の推移

表34にサイロ開封後におけるサイレージの酵母菌数の推移を示した。開封時の生菌数は 10^4 個レベルであった。処理開始1日目では、環境温度が高い区ほど菌数が増え、30°C区と35°C区は 10^7

レベルに達した。その後、30℃区と35℃区はほとんど増殖が認められなかった。一方、その他の区は徐々に増殖したが、いずれの区もほぼ 10^7 個レベルで増殖がとまった。 10^7 個レベルに達する時間は、25℃、20℃および15℃区ではいずれも実験開始3日目であり、10℃区では5日目であった。

Table 34. The effect of environmental temperature on the viable counts of yeast ($\log_{10} N/FMg$) during aeration

Days of aeration	Environmental temperature (°C)					
	10	15	20	25	30	35
0	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6
1	3.6	4.3	5.2	6.5	7.2	7.4
2	4.5	5.5	6.2	6.6	6.3	6.8
3	5.8	7.4	7.7	7.6	7.7	7.5
4	6.9	7.1	7.4	7.5	7.3	6.5
5	7.5	7.3	8.4	6.3	7.6	7.6
7	7.2	7.3	7.0	6.0	6.2	4.9

表35にサイロ開封後におけるサイレージの糸状菌数の推移を示した。糸状菌数は実験開始時では 10^4 個レベルであった。糸状菌は処理開始1日目から処理温度が高まるにつれて菌数が高まる傾向を示し、 10^8 個レベルでピークに達した。

Table 35. The effect of environmental temperature on the viable counts of mould ($\log_{10}N/FMg$) during aeration

Days of aeration	Environmental temperature (°C)					
	10	15	20	25	30	35
0	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6
1	4.6	4.8	6.8	6.9	7.9	7.9
2	5.5	6.6	7.1	7.1	6.6	6.6
3	6.7	7.8	8.4	8.4	8.2	7.5
4	7.8	8.6	8.4	8.2	8.5	7.7
5	8.2	8.2	9.1	7.3	8.1	8.3
7	8.7	8.4	8.5	7.7	7.5	6.3

表 36 にサイロ開封後における一般細菌数の推移を示した。処理開始 1 日目では、処理温度が高まるにつれて菌数が高まる傾向があった。その後、20°C 以上の区は同様の推移を示し、 10^8 から 10^9 個レベルに達した。一方、15°C 区の菌数はそれらより遅れて増加し、10°C 区のそれはさらに遅れて増加したが、最終的な菌数はいずれの区も同程度であった。

有機酸含量の推移

表 37 に開封時と実験終了時における有機酸組成を示した。乳酸含量はいずれの区も減少し、10°C 区を除くすべての区で消失した。酢酸とプロピオン酸含量についてはいずれの区も残存していたが、これらも開封時と比較して顕著に減少した。

Table 36. The effect of environmental temperature on the viable counts of aerobic bacteria ($\log_{10} N/FMg$) during aeration

Days of aeration	Environmental temperature (°C)					
	1 0	1 5	2 0	2 5	3 0	3 5
0	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
1	4.7	4.5	6.8	6.9	7.8	7.8
2	4.8	5.2	6.7	6.9	6.6	6.8
3	5.8	7.8	7.8	7.8	7.9	7.8
4	7.7	8.2	7.9	8.6	8.7	8.0
5	9.0	8.4	9.3	9.1	9.5	8.2
7	8.0	8.0	8.6	8.9	8.4	8.5

Table 37. The effect of environmental temperature on the organic acids contents on 7th day after opening the silo

Treatment	Organic acids (FM%)		
	Lactic	Acetic	Propionic
Opening	0.97	0.33	0.12
10°C	0.12	0.09	0.07
15°C	0	0.05	0.05
20°C	0	0.04	0.05
25°C	0	0.04	0.06
30°C	0	0.03	0.04
35°C	0	0.03	0.03

考 察

環境温度が高まるとサイレージの発熱が早く始まる傾向が認められた。微生物はその種類によってそれぞれ最適の生育温度（至適温度）をもっている。サイレージの好気的変敗の主因菌は酵母、糸状菌のいずれかであり（Woolfordら，1982），酵母では *Pichia*，*Hansenula*，*Candida* および *Saccharomyces* 属が，糸状菌では *Monascus*，*Geotrichum*，*Byssochlamys*，*Mucor*，*Aspergillus*，*Penicillium* および *Fusarium* 属が主因菌となり得るものである（McDonald，1981）。これらはそのほとんどが中温性の微生物に属し，25℃から40℃が至適温度であるとされている（相磯，1976）。また，微生物の最低生育温度と最高生育温度は，それぞれ約15℃と約45℃である（相磯，1976）。したがって，環境温度が25℃以上の各区のサイレージは，好気的変敗に関与する微生物の生育環境が好適温度域であり，各区はほぼ同じ時期から増殖を開始して発熱したものと考えられる。また，一般に微生物の増殖速度は，至適温度以下の場合，低温になるにつれて遅くなる（相磯，1976）。表34から表36の結果によると処理開始後1日目の菌数に差が認められたことは，低温の影響によるものである。なお，10℃区は15℃区より40時間程発熱が遅れた。この理由としては10℃という環境温度は多くの好気的変敗に関与する微生物の生育温度限界を超えたものであり，低温性の微生物しか繁殖できなかつたためと考えられる。このように，環境温度が低くサイレージの品温が微生物の増殖至適温度域を下まわっている場合は，微生物の増殖速度が遅れるた

めに、一定の微生物生菌数(O'learyら, 1981)に達し、サイレージの品温(Ohyamaら, 1975)やpHが上昇するなど、微生物が繁殖しやすい環境が整った時点で、微生物が急激に増殖して好気的変敗が生起すると考えられる。

また、25℃以上の区と20℃以下の区では温度変化のパターンが異なったことについては、サイレージ自体の熱伝導性が悪く、熱がサイレージ内にこもりやすいこと、そして25℃以上の区の恒温機はヒーターのみの機種でクーラーを装備していなかったため、設定温度より温度が高まった場合にそれを低下させる機能を持たなかったのに対し、20℃以下の区は恒温機がヒーターとクーラーの併用型であったためにサイレージの発熱が終息した後、速やかに冷却されたことによる。

今回の実験において、環境温度が低い区ほど発熱ピーク時の品温が低くなる傾向を示した。変敗による発熱は微生物の呼吸熱に由来することが知られている(原ら, 1979)が、糸状菌と酵母の生菌数についてみると、いずれの区においても発熱ピーク時の菌数レベルはほぼ等しく、最終的にはどのサイレージも変敗するものと考えられた。なお発熱ピーク時の品温に差異が認められた理由は、環境温度の影響によると考えられる。

以上の結果から、サイレージの好気的変敗は、高温環境下では生起が早く、発熱ピーク時の品温が高くなり変敗過程が劇的に進むので、サイロ開封後のサイレージはできるだけ低温環境下で保蔵することが重要である。

第 5 節 摘 要

本章では好気的変敗の機作を解明することを目的として好気的変敗過程における微生物相ならびに化学成分を経時的に追跡するとともに、空気容量、詰め込み密度ならびに環境温度の影響についても検討した。得られた結果を要約すると以下の通りである。

変敗過程における微生物相は糸状菌と一般細菌が酵母より早く増殖した。また、酵母はpHの上昇とほぼ連動して増加した。乳酸と単少糖類は酵母の増加にともなって減少した。また、乳酸は単少糖類より早い時期から減少を開始した。デンプンと純タンパク質は試験期間を通し、ほとんど変化しなかった。

以上より、サイレージの好気的変敗の機作は開封後の好気条件下で糸状菌と一般細菌が有機酸を利用して増殖を開始することによってサイレージのpHが上昇し、それが酵母の増殖を誘発し、さらに酵母が乳酸を消費することにより、pH、温度の急上昇が始まり変敗が生起することが示唆された。

空気容量の影響についてみると、各処理区の発熱開始時間は処理開始後約40時間でほぼ等しく、60時間から70時間後に発熱ピークに達したが、ピーク時の品温は空気量が少なくなるにつれて低下した。また、20ℓ区は発熱がほとんど見られなかった。

詰め込み密度の影響についてみると、各処理区とも発熱開始時間は開封後約40時間で差が認められなかったが、発熱ピーク時の品温は密度が高まるにともなって低下した。

環境温度の影響についてみると、サイレージの品温は環境温度が高いと早い時期から発熱し、ピーク時の品温も環境温度が高い区ほど高くなった。pHの上昇は品温の発熱開始時間と同様の傾向を示したが、最終的なpHはいずれの区も等しかった。微生物相についても、増殖開始時期と品温の上昇が連動する傾向を示したが、各区のピーク時の菌数には差が認められなかった。実験終了時の有機酸についてみると、10℃区の乳酸は残存していたが、その他の区では消失した。

以上より、サイレージの好気的変敗は高温環境下で速やかに生じた。また、低温環境下では変敗開始が大幅に遅れるが、一旦変敗が始まると高温環境下と同様に変敗が進むことが明らかとなった。

キーワード： 環境温度, 化学組成, 空気容量, 好気的変敗,
詰め込み密度, トウモロコシサイレージ, 微生物相.

Chapter 3 The Studies on the Aerobic Deterioration of Corn Silage.

SUMMARY

Upon exposure to air silage deteriorates fast resulting in losses in dry matter. Therefore, the need to inhibit aerobic deterioration of silage cannot be overemphasized. In order to devise methods for inhibit aerobic deterioration, it is essential to understand the mechanisms of aerobic deterioration. Thus, this study was carried out to determine the mechanisms of aerobic deterioration of corn silage. The results are as follows:

1) Changes in microflora and chemical composition of corn silage during aerobic deterioration.

The viable counts of mould and aerobic bacteria increased earlier than that of yeast. The increase in viable count of yeast tended to be similar with pH increase. The contents of organic acids and nonstructural carbohydrate (NSC), with the exception of starch, decreased with the increase in yeast and disappeared by the end of the experiment. The content of starch and true protein did not change during the exposure period. The content of volatile basic nitrogen (VBN) was low at opening the silo, and decreased from the time of heating.

These results suggested that the aerobic deterioration of corn silage was

started by the metabolism of lactic acid by yeast which resulted in increase in pH and temperature of silage. Consequently, the excited aerobic deterioration of corn silage was controlled by yeast activity which was induced by the activities of mould and aerobic bacteria.

2) Effect of amount of air and silage density on the aerobic deterioration of corn silage.

The silages of all the treatments, except those transferred into 20 l container, started to heat about 40 hours after aerobic exposure. The peak temperature of silages with lower air content was low and the silage transferred into 20 l container did not heat. In exp. 2, the silage of all the treatments started to heat about 40 hours during the aerobic phase. The peak temperature of higher density silage was lower than that of low density silage.

These results showed that the aerobic deterioration of corn silage were more inhibited by lower air content and higher silage density.

3) The effect of storage temperature during aerobic phase on the aerobic deterioration of corn silage.

Silage stored at higher temperature (35 °C) was the first to rise in temperature. The temperature rise in silage stored at lower temperature (10 °C) was delayed by 70 hours, and the maximum was lower. Similarly, the increase in pH of silages stored at higher temperatures occurred earlier than those stored at lower temperature but the pH value of all the silages were almost the same at

第4章 サイレージの好気的変敗の抑制技術に関する研究

第1節 緒言

前章の結果、好気的変敗を抑制するためには、微生物の活動を阻止し、好気条件を避けることが重要であることを指摘した。従来、微生物の活動を阻止するための方法として殺菌あるいは静菌効果を有する多くの添加剤(原・大山, 1979; 伊藤・高橋, 1982; Mennら, 1981; Ohyama and McDonald, 1975; Ohyama and Hara, 1979)の有効性が検討されてきた。Ohyamaら(1977)はVFAが多く存在するサイレージは好気的変敗を生じ難いことや、サイロ開封後のVFA添加は好気的変敗を抑制することを明らかにした。その他、ギ酸(伊藤・高橋, 1982)による抑制効果を認めたという報告もある。このように微生物の活動を抑えるための薬剤処理、空気を遮断する二次発酵防止板の応用(名久井ら, 1981)などの対策が講じられているものの、経済性や安全性、さらには労力面からみても確かつ効果的な抑制技術が未だ開発されておらず、その確立が急務となっている。

そこで本章では、サイレージの好気的変敗の抑制技術を開発するために有効と思われる種々の薬剤を供試して、サイレージの好気的変敗に対する抑制効果を検討するとともに、得られた結果から有効な薬剤をスクリーニングし、それらについて実用化の可能性を模索するために有効阻止濃度を推定しようとした。さらに、脱酸素剤を応用してサイロ内の酸素分圧を低下させることによる好気的変敗抑制の効果についても併せ検討した。

第2節 サイロ開封後における各種薬剤処理がソルガムサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

材料および方法

乳熟期ソルガム（ハイグレン）を1991年8月20日に刈り取って約2cmに細切し100ℓ容のプラスチックサイロに詰め込み、サイレージを調製した。なお開封時の発酵品質を表38に示した。

Table 38. Fermentation quality of sorghum silage.

DM(%)	pH	Organic acids (FM%)				VBN ^{a)} (%)
		Acetic	Butyric	Lactic	Total	
28.8	3.6	0.37	0	2.21	2.58	3.7

材料草詰め込み後100日目にサイロを開封した後、タンニン酸、プロピオン酸およびソルビン酸をサイレージ新鮮物当たり0.5%、エチルアルコールをサイレージ新鮮物当たり1.0%それぞれ添加し、10ℓ容のポリ容器に2.5kgを圧密を加えず3連で詰め込んだ。ポリ容器は蓋をせずに発泡スチロール製の断熱容器に納め、25℃の恒温室に10日間置床した。

これらサイレージについて品温を連続測定し、微生物の生菌数を処理開始直後、2日、4日、7日および10日目に計測した。また、pHと有機酸組成を処理開始時と実験最終日に調査した。

サイレージの品温、微生物相およびpHの測定は前章に準じた。有機酸含量についてはフリーク法で定量した。また、揮発性塩基態窒素(VBN)は減圧蒸留法、全窒素(T-N)含量は高感度N.C. ANALYZER (SUMIGRAPH MODEL NC-80) でそれぞれ測定した。

結 果

各サイレージの品温の推移を図10に示した。プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージの品温は、処理開始時から終了時まで外温とほぼ変わらず、温度変化がほとんど認められなかった。一方、対照サイレージ、エチルアルコール添加サイレージおよびタンニン酸添加サイレージの品温は、実験を開始して約40時間後に上昇を開始し約100時間後にピークに達した。ピーク時の品温は外温よりも15℃前後高かった。

表39に各サイレージの生菌数の推移を示した。糸状菌は処理開始時において 10^3 個レベルで生息した。プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージは、実験終了時においても 10^5 個レベル内に収まり、変敗時に見られる急激な増殖がほとんど認められなかった。一方、対照サイレージとタンニン酸添加サイレージは、2日目において既に 10^5 個レベルまで増殖し、最終日には対照サイレージが 10^9 個、タンニン酸添加サイレージが 10^8 個レベルまでそ

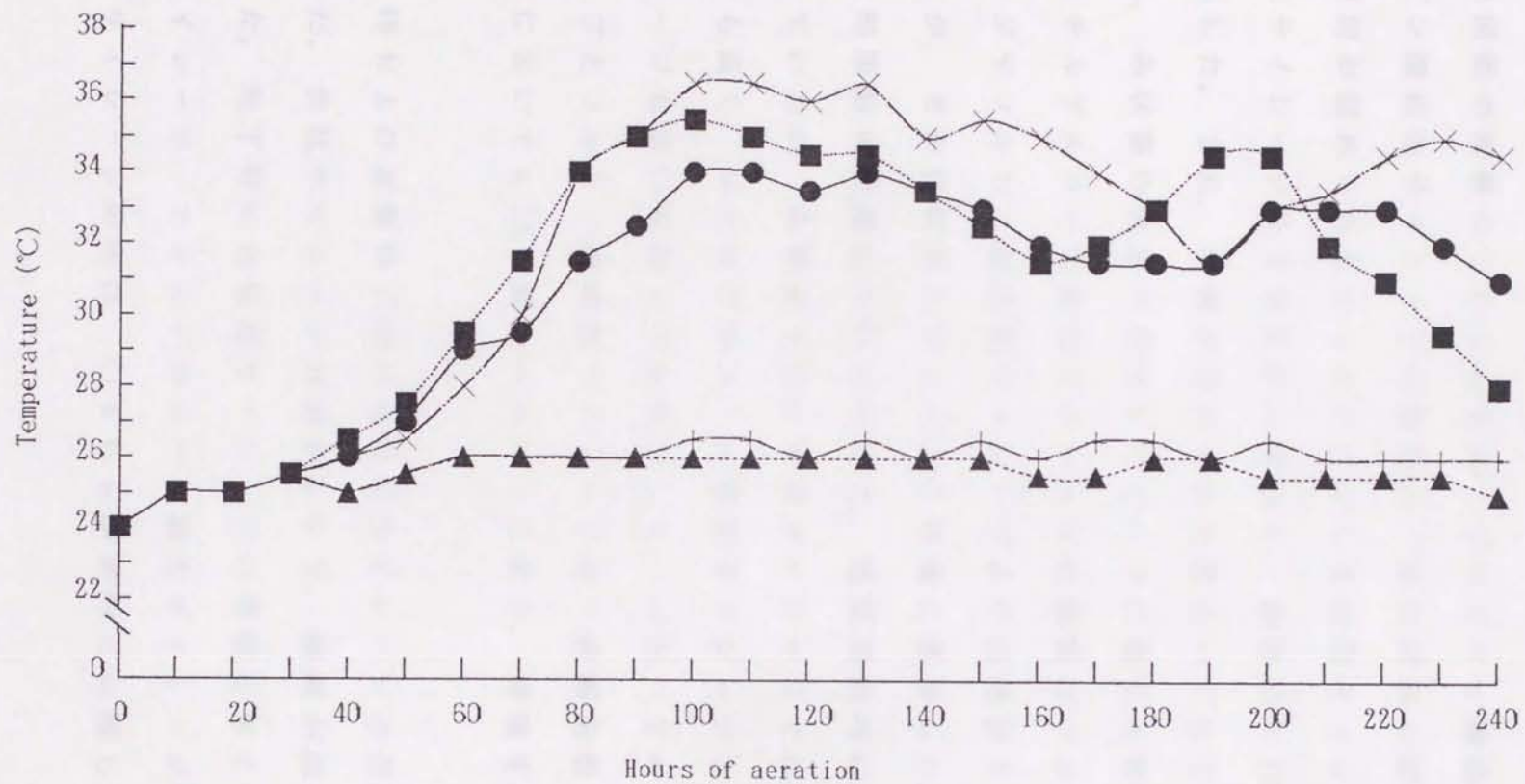


Fig. 10. The effect of chemical additives after opening the silo on the changes in temperature of silages during aeration.
 ● Control × Ethyl alcohol ■ Tannic acid + Propionic acid ▲ Sorbic acid

れぞれ増殖した。なお、エチルアルコール添加サイレージの菌数は処理開始後2日目まで変化が認められなかったが、その後増殖を開始し最終的に 10^8 個レベルに達した。

酵母菌数の推移についてみると、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージの菌数は、糸状菌数の推移と同様にほとんど増加が認められなかったのに対して対照サイレージとタンニン酸添加サイレージは2日目から増加し、最終的に 10^7 個～ 10^8 個レベルに達した。また、増殖が認められた区はいずれも7日目にピークに達し、糸状菌の推移と比較してピークに達する時間が遅れた。なお、エチルアルコール添加サイレージの菌数はプロピオン酸添加サイレージやソルビン酸添加サイレージより処理後2日目までは少なかったが、その後対照サイレージと同様に増加した。

一般細菌数の推移についてみると、処理開始時に 10^5 個レベルで生息していたが、実験終了時に対照サイレージでは 10^{11} 個レベルに達し最も高く、エチルアルコール添加サイレージとタンニン酸添加サイレージも高い菌数レベルを示した。一方、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージの一般細菌数は処理開始後10日目においても 10^5 個レベルにとどまり、増殖をほとんどしなかった。

開封時および実験終了時におけるサイレージの発酵品質を表40に示した。供試サイレージはpHが3.6で、酪酸が認められず高品質であった。終了時の各処理サイレージの発酵品質についてみると、対照サイレージ、エチルアルコール添加サイレージおよびタンニン酸添加サイレージのpHは、いずれも開封時と比較して、著しく上昇

Table 39. The influence of chemical additives after opening the silo on the viable counts of mould, yeast and aerobic bacteria of silage during aeration

Days ^{a)}	Treatments				
	Control	Ethyl alcohol	Tannic acid	Propionic acid	Sorbic acid
Mould					
0	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
2	5.8	4.0	5.5	3.0	3.1
4	8.3	8.0	8.4	3.5	4.1
7	9.2	8.5	8.6	4.5	4.5
10	9.9	8.4	8.0	5.2	4.0
Yeast					
0	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
2	3.0	2.0	3.7	3.1	3.1
4	7.3	6.7	7.1	3.5	3.1
7	7.6	7.9	7.7	3.0	3.0
10	7.3	7.7	7.3	3.3	3.0
Aerobic bacteria					
0	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8
2	5.0	4.3	5.2	4.9	4.6
4	5.9	6.1	6.5	4.6	4.2
7	8.6	8.9	9.0	4.4	4.5
10	11.3	8.5	9.0	5.5	5.2

a) Days after opening the silo.

した。一方、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージのpHは、開封時とほぼ同じ値であった。有機酸組成についてみると、変敗の認められた対照サイレージ、エチルアルコール添加サイレージおよびタンニン酸添加サイレージは酢酸含量、乳酸含量および総酸含量が顕著に減少した。一方、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージの酢酸含量と乳酸含量は、開封時の値とほぼ同じであったが、多量の酪酸がそれぞれのサイレージで認められた。VBN/T-N比についてみると、対照サイレージ、エチルアルコール添加サイレージおよびタンニン酸添加サイレージは、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージに比べ低い値を示した。

Table 40. The influence of chemical additives after opening the silo on the pH, organic acid composition and VBN/T-N of silage at 10 days aeration period

Treatment	pH	Organic acid composition (FM%)				VBN ^{a)}
		Acetic	Butyric	Lactic	Total	(%) T-N ^{b)}
at opening	3.6	0.37	0	2.21	2.58	3.7
Control	6.3	0.08	0	0.25	0.33	2.4
Ethyl alcohol	5.7	0.08	0	0.52	0.61	2.5
Tannic acid	6.3	0.05	0	0.21	0.26	2.1
Propionic acid	3.5	0.41	0.37	2.19	2.97	4.4
Sorbic acid	3.5	0.43	0.32	2.34	3.09	4.1

a) Volatile basic nitrogen.

b) Total nitrogen.

考 察

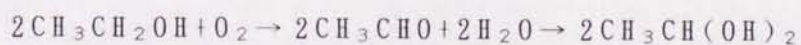
本実験の結果、対照区、エチルアルコール区およびタンニン酸区の品温は、処理後40時間後から上昇を開始し100時間でほぼピークに達したが、プロピオン酸区とソルビン酸区は240時間を経過しても品温の上昇が認められず、プロピオン酸とソルビン酸は変敗を完全に抑制した。

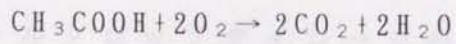
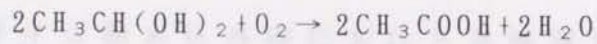
言うまでもなく、変敗はサイロ開封後の好氣的条件が酵母、糸状菌および一般細菌の活動を促し、これらがサイレージ中の乳酸等の有機酸(Moon and Ely, 1979)、残存糖(Moonら, 1980)およびタンパク質(Moonら, 1980)等を利用して増殖するものと考えられる。本実験では変敗にともなって乳酸、酢酸含量が著減しており、その結果、サイレージのpHが上昇したものと考えられる。なお、VBN/T-N比は変敗を生じた対照サイレージ、エチルアルコール添加サイレージおよびタンニン酸添加サイレージで低く、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージではむしろ高い結果を示した。この理由は変敗したサイレージは微生物によるタンパク質の分解が進み多量のVBNを発生させたが、その一部は菌体に利用され、さらに品温の上昇によってアンモニアが揮散した結果による(Ohyamaら, 1975)ものと考えられる。なお、表40の結果、実験終了時においてプロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージに多量の酪酸含量が認められているが、本実験では有機酸をフリーク法によって分析した結果、プロピオン酸とソルビン酸がそれぞれ酪酸区分として定量された結果であり、ガスクロマトグラフィーによ

る再確認の結果では両区とも酪酸が検出されていない。

本実験によってソルビン酸とプロピオン酸は、強い制菌作用が認められ変敗を阻止した。これらは微生物の細胞を破壊し、酵素活性を阻害するとされており(相磯, 1975)、本実験の結果でも糸状菌、酵母および一般細菌の種類を問わず非選択的に増殖を抑え、制菌効果が顕著であった。ソルビン酸は現在、食品防腐剤として最も多く使用されており、経済性、安全性の両面からみて好気的変敗の抑制剤として実用化の可能性が最も高いものと考えられる。ところで、カマボコ等の練り製品や果実酒等の食品に対するソルビン酸の使用基準は、食品の種類によって異なるがソルビン酸として0.05g~2g/kgである。本実験の添加水準は0.5%すなわち5g/kgであり、食品と飼料の違いがあるもののかなり高い濃度であったと考えられる。したがって、今後は実用面から変敗を抑制する最低阻止濃度を求める必要がある。

一方、エチルアルコールの殺菌機構は脱水、タンパク質の破壊等の作用によるとされている(芝崎, 1983)が、本実験では変敗の抑止効果がほとんど認められなかった。しかし、表39の結果から処理後2日目までは微生物の発育を阻止したが、その後対照区と同様のパターンを示し品温が上昇した。この理由はエタノールがサイレージ中に存在する酢酸菌(Spoelstraら, 1988)によって次式のように酢酸に変わり、さらには炭酸ガスと水に分解されるためと考えられる。





McLeod(1974)はタンニン酸の微生物学的な意義は、タンパク質分解酵素を不活性化して微生物の増殖を抑えると述べているが、本実験ではタンニン酸の抑制効果が明瞭でなかった。タンニン酸は植物から抽出・精製した成分であり、原料の種類によって効力も異なることも考えられるので、追試が必要と考えられた。

以上の結果、サイレージの好気的変敗の抑制効果はプロピオン酸とソルビン酸で高く、エチルアルコールとタンニン酸では認められなかった。

Table 10. The amount of organic acids produced by *S. cerevisiae* in the presence of various organic acids.

	Organic acids (g/100g)			
	Formic	Acetic	Propionic	Total
Control	1.7	4.15	1.0	6.85
Ethyl alcohol	1.7	4.15	1.0	6.85
Tartratesynon	1.7	4.15	1.0	6.85
Acetyldehyde	1.7	4.15	1.0	6.85
Formic acid	1.7	4.15	1.0	6.85
Acetic acid	1.7	4.15	1.0	6.85
Propionic Acid	1.7	4.15	1.0	6.85
Capric acid	1.7	4.15	1.0	6.85
Sorbic acid	1.7	4.15	1.0	6.85

第3節 サイロ詰め込み時における各種薬剤処理がトウモロコシホ
ールクroppサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

材料および方法

供試サイレージは糊熟期トウモロコシ(P3352)を1992年8月21日に刈り取った後、カッターで約2cmに細切した後、対照サイレージを除いて薬剤を混合し、100ℓ容のプラスチックサイロに60kgを詰め込み室内に置床して調製した。供試した薬剤はエチルアルコール、アセトアルデヒド、ホルムアルデヒド、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、カプリン酸およびソルビン酸でこれらを材料草あたり各0.1%添加した。サイロは約100日後に開封し変敗試験に供した。これらサイレージの開封時における発酵品質を表41に示した。

Table 41. Fermentation quality of corn silages treated some additives.

	pH	Organic acids (FM%)			
		Acetic	Propionic	Lactic	Total
Control	3.7	0.13	0	1.78	1.91
Ethyl alcohol	3.6	0.12	0	1.28	1.40
Formaldehyde	3.7	0.18	0	0.90	1.08
Acetaldehyde	3.6	0.10	0	0.88	0.98
Formic acid	3.6	0.09	0	0.55	0.64
Acetic acid	3.6	0.25	0	1.18	1.43
Propionic acid	3.6	0.12	0.03	0.89	1.08
Capric acid	3.6	0.15	0	0.98	1.13
Sorbic acid	3.6	0.14	0	1.30	1.44

好気的変敗試験：サイロ開封後、サイレージを取り出しビニールシート上で良く混合した後、10ℓ容の発泡スチロール性断熱容器にサイレージを各2.5 kg、1処理につき9連で詰め直し、実験室内に8日間置床した。サンプリングは処理開始後3日、6日および8日目に各処理について断熱容器を3連で取り出し、微生物相、pHおよび有機酸含量を調べた。

サイレージの品温、微生物相およびpHの測定は前章に準じた。有機酸含量についてはガスクロマトグラフィーで定量した。また、揮発性塩基態窒素（VBN）は減圧蒸留法、全窒素（T-N）含量は高感度N.C. ANALYZER（SUMIGRAPH MODEL NC-80）でそれぞれ分析した。

結 果

サイロ開封後におけるサイレージの品温の推移を図11に示した。対照サイレージは処理開始後約40時間目に発熱を開始した。アセトアルデヒド添加サイレージ、酢酸添加サイレージおよびエチルアルコール添加サイレージは対照サイレージに比較して約10時間早く発熱した。ホルムアルデヒド添加サイレージとプロピオン酸添加サイレージは10時間、ギ酸添加サイレージは30時間、カプリン酸添加サイレージは60時間それぞれ対照サイレージより発熱が遅れたが、ソルビン酸添加サイレージは試験期間を通じて発熱が認められなかった。

サイロ開封後におけるpHの推移を表42に示した。開封時におけ

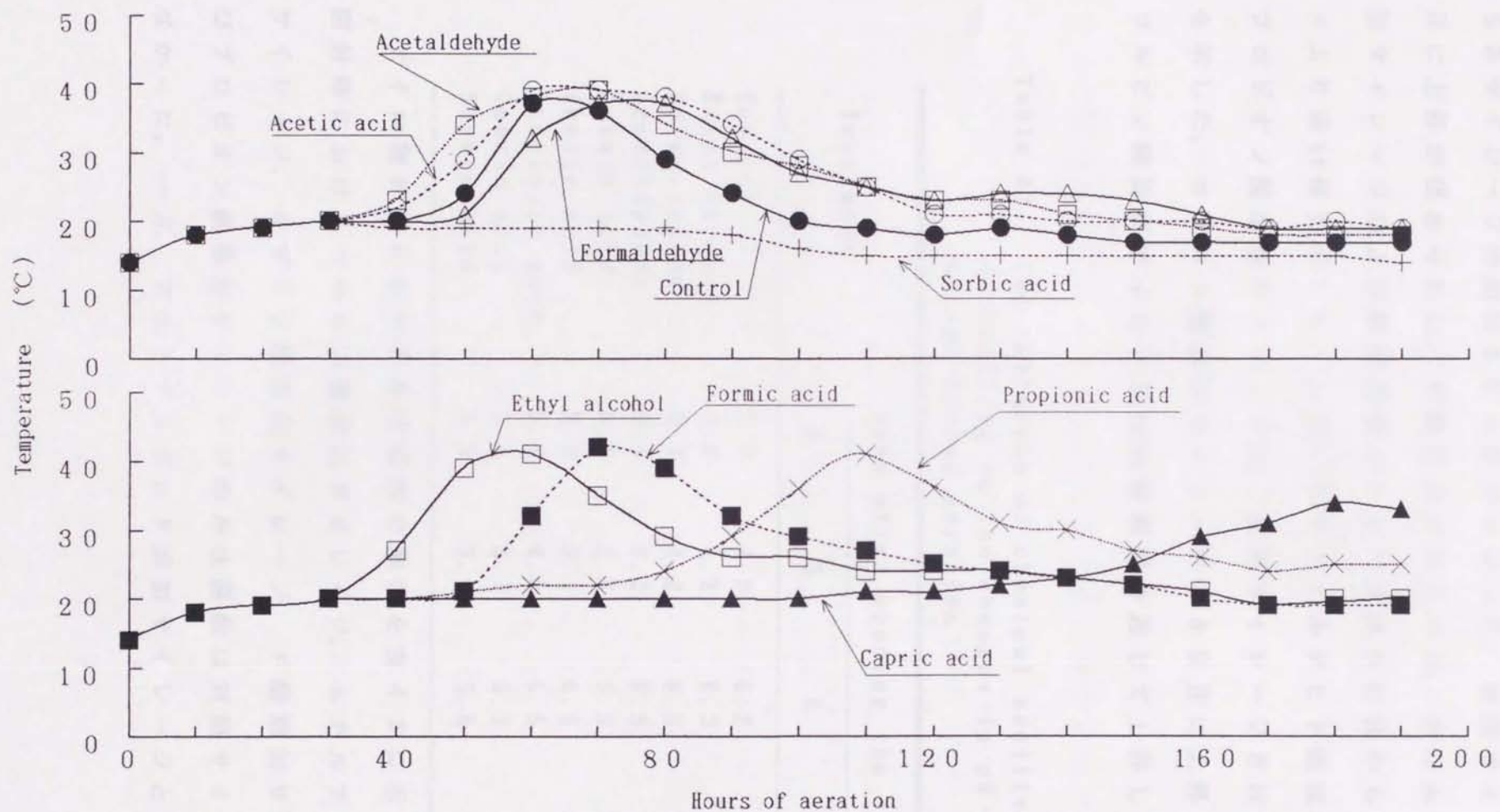


Fig. 11. The effect of chemical additives at ensiling on the changes in silage temperature during aeration.

る各サイレージのpHは3.6と差がなかった。対照サイレージは3日目に上昇が認められた。ギ酸添加サイレージ、ホルムアルデヒド添加サイレージおよび酢酸添加サイレージは3日目から対照サイレージより高い値を示した。一方、アセトアルデヒド添加サイレージとプロピオン酸添加サイレージは、対照サイレージとほぼ同様の推移を示した。カプリン酸添加サイレージは8日目に上昇が認められ、ソルビン酸添加サイレージは試験期間を通じて上昇しなかった。

Table 42. The influence of chemical additives at ensiling on the changes in pH of silage during aeration

Treatment	Days after opening the silo			
	0	3	6	8
Control	3.7	4.2	6.2	6.5
Ethyl alcohol	3.6	4.2	6.3	6.7
Formaldehyde	3.7	4.2	6.5	6.7
Acetaldehyde	3.6	5.2	6.5	6.8
Formic acid	3.6	3.6	5.5	6.7
Acetic acid	3.6	5.1	6.5	6.5
Propionic acid	3.6	4.0	6.5	6.5
Capric acid	3.6	3.7	3.7	5.2
Sorbic acid	3.6	3.6	3.6	3.5

サイロ開封後における糸状菌数の推移を表43に示した。サイロ開封時におけるソルビン酸添加サイレージ、エチルアルコール添加サイレージ、カプリン酸添加サイレージ、ギ酸添加サイレージおよびプロピオン酸添加サイレージの糸状菌数は対照サイレージより少なかった。一方、アセトアルデヒド添加サイレージとホルムアルデ

ヒド添加サイレージは対照サイレージより多かった。アセトアルデヒド添加サイレージ、ホルムアルデヒド添加サイレージ、酢酸添加サイレージおよびエチルアルコール添加サイレージは3日目に上昇し、その後対照サイレージと同様の推移を示した。また、プロピオン酸添加サイレージについても対照サイレージと同様の推移を示したが、ピーク時の菌数は対照サイレージより減少した。カプリン酸添加サイレージの糸状菌数は6日目に増加が認められた。一方、ソルビン酸添加サイレージは試験期間を通じ増加が認められなかった。

Table 43. The influence of chemical additives at ensiling on the changes in viable counts of mould ($\log_{10} N/FMg$) of silage during aeration

Treatment	Days after opening the silo			
	0	3	6	8
Control	5.0	8.2	8.6	8.8
Ethyl alcohol	3.8	8.1	8.8	8.4
Formaldehyde	5.9	7.8	9.0	8.7
Acetaldehyde	6.1	8.0	8.8	8.5
Formic acid	4.5	7.6	7.8	7.8
Acetic acid	5.9	8.5	8.8	8.4
Propionic acid	3.9	5.4	8.3	8.1
Capric acid	2.5	2.7	5.9	7.3
Sorbic acid	2.2	3.0	2.1	3.3

サイロ開封後の酵母菌数の推移を表44に示した。各区における酵母菌数の推移は同一処理区のもの糸状菌数と類似した動きを示した。

Table 44. The influence of chemical additives at ensiling on the change in viable counts of yeast ($\log_{10} N/FMg$) of silage during aeration

Treatment	Days after opening the silo			
	0	3	6	8
Control	4.2	5.8	7.6	7.1
Ethyl alcohol	2.3	7.2	7.8	7.3
Formaldehyde	4.3	6.5	7.7	7.9
Acetaldehyde	4.5	6.9	7.8	7.6
Formic acid	4.3	7.0	6.9	7.1
Acetic acid	4.5	7.5	7.6	7.8
Propionic acid	1.0	4.0	7.2	6.8
Capric acid	1.0	1.8	4.4	6.1
Sorbic acid	1.0	1.0	1.5	1.9

各処理サイレージの一般細菌数の推移を表45に示した。処理別サイレージの好気性菌数は対応する区の糸状菌や酵母と同様の推移を示した。

サイロ開封後の有機酸含量の推移を表46に示した。開封時の乳酸含量についてみると、ソルビン酸添加サイレージは対照サイレージと差が認められなかったが、ソルビン酸添加サイレージを除く処理サイレージは対照サイレージより低い値を示し、かつ変敗したサイレージは日数の経過にともなって乳酸含量が減少し、最終日には全く認められなかった。一方、変敗しなかったソルビン酸添加サイレージや変敗があまり進まなかったカプリン酸添加サイレージでは、乳酸含量が変敗したサイレージより高かった。

Table 45. The influence of chemical additives at ensiling on the changes in viable counts of aerobic bacteria ($\log_{10} N/FMg$) of silage during aeration

Treatment	Days after opening the silo			
	0	3	6	8
Control	5.6	7.3	8.2	8.3
Ethyl alcohol	4.6	8.2	8.7	9.9
Formaldehyde	5.8	8.1	9.0	8.9
Acetaldehyde	6.3	8.0	8.6	8.6
Formic acid	6.2	7.9	7.3	9.2
Acetic acid	6.3	8.3	8.7	9.0
Propionic acid	5.6	6.5	8.3	9.0
Capric acid	4.8	4.3	5.3	8.2
Sorbic acid	4.2	4.1	4.5	4.0

Table 46. The effect of chemical additives at ensiling on the organic acid content of silage during exposed air period

Treatments	Days after openig silos	Organic acids (FM%)					
		Acetic	Propionic	Butyric	Valeric	Caproic	Lactic
Control	0	0.13	0	0	0	0	1.78
	3	0.12	0	tr.	tr.	0	0.99
	6	0.12	tr.	tr.	0.02	0	0.65
	8	0.05	tr.	tr.	0.01	0	0
Ethyl alcohol	0	0.12	0	0	0	0	1.28
	3	0.15	0	tr.	0	tr.	0.90
	6	0.14	tr.	0.02	tr.	0	0
	8	0.13	tr.	tr.	tr.	0	0
Formaldehyde	0	0.18	0	0	0	0	0.90
	3	0.12	0	tr.	0	0	0.62
	6	0.11	tr.	0.01	0.01	tr.	0
	8	0.10	0	tr.	0	0	0
Acetaldehyde	0	0.10	0	0	0	0	0.88
	3	0.08	0	tr.	0.02	0	0.42
	6	0.16	tr.	0.01	tr.	0	0
	8	0.12	tr.	tr.	tr.	0	0
Formic acid	0	0.09	0	0	0	0	0.55
	3	0.15	0	0	0	tr.	0.60
	6	0.13	0	0.05	0	0	0.54
	8	0.12	0	0.02	tr.	0	0
Acetic acid	0	0.25	0	0	0	0	1.18
	3	0.14	0	tr.	0	0	0.75
	6	0.16	tr.	0.01	0.01	0	0
	8	0.22	0	0.12	0	0	0
Propionic acid	0	0.12	0.03	0	0	0	0.89
	3	0.23	0.15	0.08	0.07	0	1.02
	6	0.17	0.01	0.02	tr.	0	0
	8	0.17	0	tr.	tr.	0	0
Capric acid	0	0.15	0	0	0	0	0.98
	3	0.74	0	0	0.10	0	0.59
	6	0.70	0	tr.	tr.	tr.	0.67
	8	0.18	0	tr.	tr.	tr.	0.46
Sorbic acid	0	0.14	0	0	0	0	1.30
	3	0.50	0	0	tr.	tr.	1.75
	6	0.55	0	0	tr.	0	1.46
	8	0.40	0	tr.	0	0	1.27

tr. : trace.

考 察

今回供試した添加剤のうち、酢酸、アセトアルデヒドおよびエチルアルコールの各区は対照区より酵母の増殖が早かった。これらの殺菌機構は脱水、タンパク質の破壊等の作用によるとされている(芝崎, 1983)が、本実験では変敗の抑止効果がほとんど認められなかった。これらの化合物は好気的変敗の原因菌となり得る酢酸菌のエネルギー源とされており(Spoelstraら, 1988)、酢酸はそのまま、アセトアルデヒドとエチルアルコールはそれぞれ酸化、あるいは過酸化の過程を経て酢酸菌に利用される。したがって、これらの添加区は結果的に対照区よりエネルギー源が多く存在することになり、好気的変敗を加速したものと考えられる。

ギ酸を添加したサイレージは好気的変敗の発現を遅らせた。しかし、開封時における生菌数は対照区のそれと同程度であった。したがって、ギ酸は乳酸発酵を抑制するために糸状菌や酵母の資化源がサイレージ中の残存糖に限られた結果、糸状菌や酵母が増殖してもpHがなかなか上昇せず、酵母の増殖が遅れ気味となって好気的変敗の進行が緩やかになったと考えられ、Ohyama and McDonald (1975)の報告と一致した。

カプリン酸添加サイレージは開封時における糸状菌と酵母の菌数が低く、嫌気条件下において糸状菌と酵母の増殖を抑えることが示唆された。したがって、カプリン酸の好気的変敗に対する抑制機作は、開封時の菌数が低いために好気的変敗が遅れたものと推察された。

また、プロピオン酸添加サイレージは好気的変敗が遅れた。Moon and Ely (1979)によると、糸状菌は嫌気条件下ではプロピオン酸を利用できないが、好気条件下ではその利用が可能であるとしており、本実験においても6日目では、サイレージ中のプロピオン酸は消失して酵母、糸状菌数も増殖しているので、プロピオン酸の好気的変敗に対する抑制効果は強いものとは考えられなかった。一方、Ohya ma and Hara (1975)によると、低品質サイレージの抽出液が酵母の増殖を抑える理由は、栄養素の欠乏ではなくプロピオン酸の阻害作用であることを認めた。本実験でも、プロピオン酸添加サイレージは開封時において酵母がほとんど生息しなかったが、糸状菌数が多いので、プロピオン酸が糸状菌に利用されるにともなって酵母が増殖するようになり、好気的変敗を生ずるものと考えられた。したがって、その抑制効果はあまり強くないことが示唆された。

また、カプリン酸添加サイレージとプロピオン酸添加サイレージは乳酸含量が顕著に低く、ギ酸添加サイレージと同様にpHの上昇が遅れた。このことも好気的変敗の発現を遅らせた一因であると考えられる。

ソルビン酸添加サイレージは開封時から対照サイレージより各菌数が低い値を示し、その後も微生物の増殖を強く抑制した。また、ソルビン酸添加サイレージの乳酸含量は対照サイレージとほぼ同等であった。したがって、ソルビン酸は嫌気、好気の両条件において好気的変敗の主因菌となり得る糸状菌と酵母の増殖を抑制して好気的変敗を強く抑止したので、好気的変敗の抑制剤として最も有望と考えられる。

以上を要約すると、サイレージの好気的変敗を抑制するためにサイレージ調製時における各種薬剤添加試験を実施した結果、ソルビン酸はサイレージ中の好気性微生物の増殖を非選択的に抑え、かつ乳酸発酵を阻害しなかつたので抑制剤として最も優れていた。ソルビン酸に次いでカプリン酸、プロピオン酸が変敗抑制効果を示した。今後はこれら抑制効果の高かつた薬剤、とくにソルビン酸について、好気的変敗の抑制剤としての利用を計るために好気的変敗を抑制する最低濃度について検討を進める必要がある。

Table 40. Fermentation pattern of corn silage treated with various organic acids.

Treatment	pH	Organic acids (g/kg)		
		Acetic	Caproic	Lactic
Control (CK)				
0.1%	4.8	0.31	0	1.30
0.25%	4.4	0.12	0	1.28
0.5%	4.4	0.25	0.11	1.20
1.0%	4.4	0.13	0.04	1.19
2.0%	4.4	0.20	0.15	1.04
Sorbic acid (SA)				
0% (Control)	4.8	0.18	0	1.07
0.025%	4.8	0.22	0	1.05
0.05%	4.8	0.12	0	1.02
0.1%	4.4	0.26	0	1.07
0.2%	4.4	0.18	0	1.05

第4節 トウモロコシサイレージの好気的変敗に対するカプロン酸とソルビン酸の有効阻止濃度

材料および方法

糊熟期トウモロコシ(P3352)で調製したサイレージを供試した。サイレージは材料草を刈り取った後、カッターで約2 cmに細切し、試験Ⅰではカプロン酸、試験Ⅱではソルビン酸を材料草に対し重量比で新鮮物当たり0.025%、0.05%、0.1%および0.2%を添加してよく混合した後、100 g容のプラスチックサイロに対照区とともに詰め込み密封し、室温で約100日間置床して調製した。開封時における各処理サイレージの発酵品質を表47に示した。

Table 47. Fermentation quality of corn silages treated caproic acid or sorbic acid.

Treatment	pH	Organic acids (FM%)			
		Acetic	Caproic	Lactic	Total
Caproic acid (FM%)					
0% (Control)	3.6	0.21	0	1.50	1.71
0.025%	3.6	0.12	tr.	1.39	1.51
0.05%	3.6	0.15	0.01	1.33	1.49
0.1%	3.6	0.13	0.04	1.12	1.29
0.2%	3.6	0.20	0.16	1.05	1.41
Sorbic acid (FM%)					
0% (Control)	3.6	0.18	0	1.97	2.15
0.025%	3.6	0.32	0	2.05	2.37
0.05%	3.6	0.16	0	1.88	2.04
0.1%	3.6	0.26	0	1.97	2.23
0.2%	3.6	0.18	0	1.66	1.84

サイロ開封後、サイレージをビニールシート上で良く混合し10ℓ容の発泡スチロール製断熱容器に2.5kg圧密を加えずに詰め込み、試験Ⅰは8日間、試験Ⅱは7日間室内に放置した。

これらサイレージの品温を連続測定するとともに、pH、微生物の生菌数および有機酸組成を試験Ⅰでは実験開始直後から8日目まで1日おきに、試験Ⅱでは実験開始直後、2日、4日および7日目に調べた。サンプリングは毎回各処理当たり断熱容器を2連で取り出して行った。

サイレージの品温は断熱容器内のサイレージの中心部にサーモメーターを埋設し、自記記録計（千野EH200-12型）を使用して連続測定した。微生物相の菌数の計測は前節に準じ、酵母、糸状菌および一般細菌数を計測した。有機酸組成はガスクロマトグラフィー法で分析し、pHはガラス電極メーターで測定した。

結 果

試験Ⅰ カプロン酸

サイロ開封後のサイレージの品温の推移を図12に示した。対照区と0.025%添加区は発熱開始時間とピーク時の品温がほぼ同じであった。0.05%添加区は対照区より発熱開始が約10時間遅れたが、ピーク時の品温は対照区とほぼ同じであった。0.1%添加区は対照区より発熱開始が約40時間遅れ、ピーク時の品温も約10℃低かった。0.2%添加区は発熱が認められなかった。

サイロ開封後におけるサイレージのpHと生菌数の推移を表48に

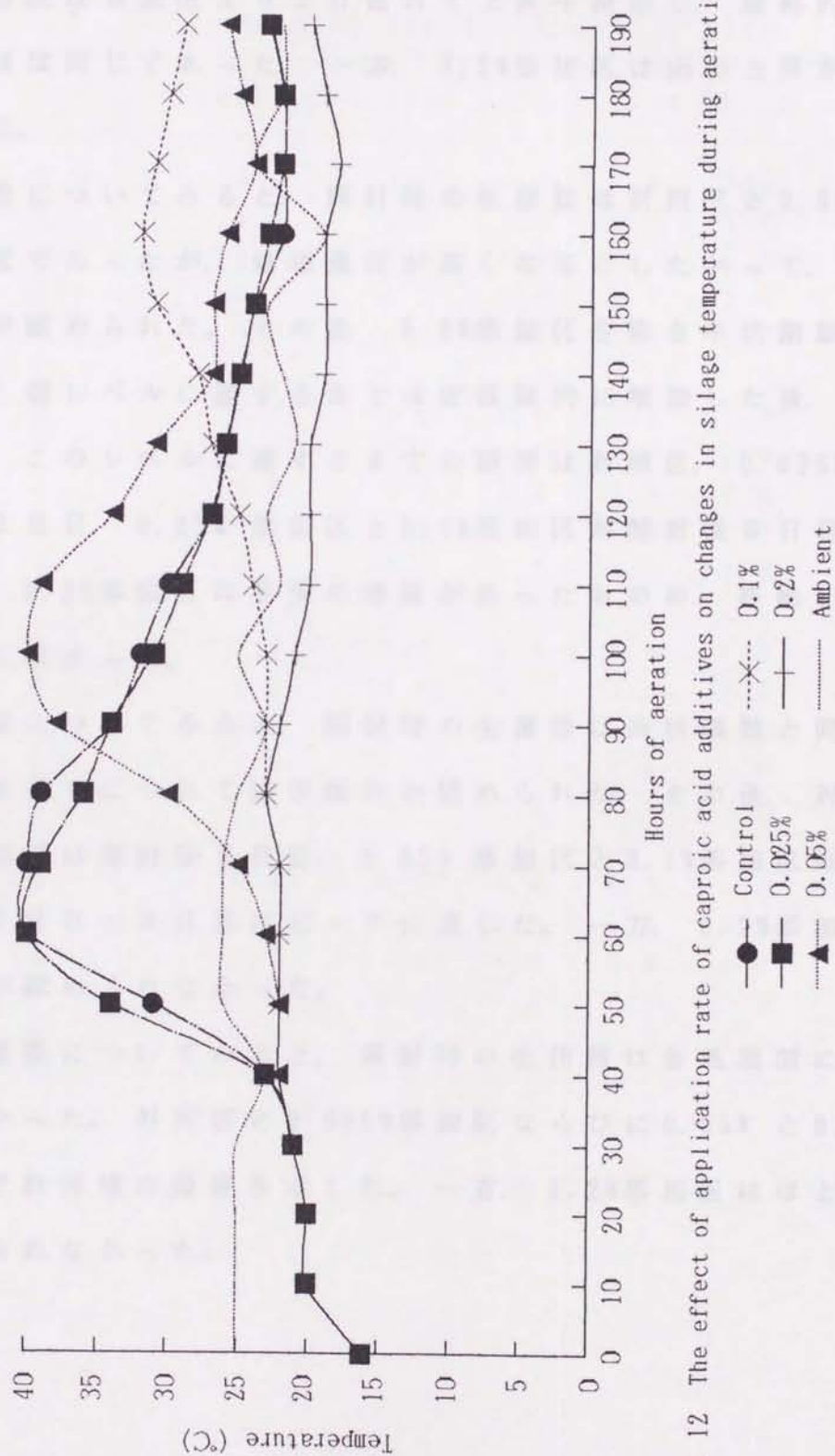


Fig. 12 The effect of application rate of caproic acid additives on changes in silage temperature during aeration.

示した。開封時における各区のpHは同程度であった。対照区と0.025%添加区は4日目に上昇を示しほぼ同様に推移した。0.05%添加区と0.1%添加区は対照区より2日遅れて上昇を開始し、最終的なpHは対照区とほぼ同じであった。一方、0.2%添加区はpHの上昇が認められなかった。

糸状菌数についてみると、開封時の生菌数は対照区と0.025%添加区が同程度であったが、処理濃度が高くなるにしたがって、少なくなる傾向が認められた。その後、0.2%添加区を除き糸状菌数は 10^7 個から 10^8 個レベルに達するまでほぼ直線的に増加した後、増殖が止まった。このレベルに達するまでの期間は対照区、0.025%添加区が開封後2日目、0.05%添加区と0.1%添加区が開封後6日目であった。一方、0.2%添加区は多少の増殖があったものの、終始 10^3 個レベル以下に収まった。

酵母菌数についてみると、開封時の生菌数は糸状菌数と同様に処理濃度が高まるにつれて減少傾向が認められた。その後、対照区と0.025%添加区は開封後2日目、0.05%添加区と0.1%添加区はそれぞれ開封後6日目と8日目にピークに達した。一方、0.2%添加区では菌の増殖が認められなかった。

一般細菌数についてみると、開封時の生菌数は各処理間に差が認められなかった。対照区と0.025%添加区ならびに0.05%と0.1%添加区はそれぞれ同様の推移を示した。一方、0.2%添加区はほとんど増殖が認められなかった。

Table 48. The effect of application rate of caproic acid additives on changes in pH and viable counts of mould, yeast and aerobic bacteria during aeration

Days ^{a)}	Rate of caproic acid additive					
	Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.2%	
pH	0	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6
	2	3.6	3.5	3.4	3.4	3.4
	4	5.2	5.7	3.9	3.7	3.6
	6	6.1	6.2	6.4	4.2	3.5
	8	6.3	6.3	6.1	6.1	3.6
Mould	0	4.4 ^{b)}	4.5	2.6	2.1	1.0
	2	7.3	7.0	5.0	4.7	1.0
	4	8.0	7.1	6.4	5.4	2.0
	6	7.8	7.6	7.4	7.3	3.2
	8	7.5	7.5	7.1	7.7	1.0
Yeast	0	3.8	3.7	2.4	1.0	1.0
	2	7.2	6.9	4.1	3.9	1.0
	4	6.9	5.6	6.7	5.6	1.0
	6	5.6	6.3	7.4	6.5	1.0
	8	6.5	6.5	7.1	7.1	1.0
Aerobic bacteria	0	4.3	4.5	4.8	5.3	5.2
	2	6.3	6.1	4.8	5.0	3.8
	4	7.6	7.6	6.9	6.8	4.4
	6	6.2	8.0	8.6	7.7	5.0
	8	7.8	6.3	7.2	7.5	4.3

a) Days after opening the silo.

b) $\log_{10} N/FMg$.

サイロ開封後におけるサイレージの有機酸含量の推移を表49に示した。

Table 49. The effect of application rate of caproic acid additive on changes in organic acid content during aeration

	Days ^{a)}	Rate of caproic acid additive				
		Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.2%
Acetic acid	0	0.21 ^{b)}	0.12	0.15	0.13	0.20
	2	0.07	0.07	0.11	0.12	0.07
	4	0.11	0.03	0.10	0.08	0.12
	6	0.11	0.03	0.05	0.05	0.09
	8	0.09	0.07	0.13	0.02	0.14
Propionic acid	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	4	tr. ^{c)}	tr.	0	0	0
	6	0	tr.	tr.	0	0
	8	0.01	tr.	0.01	tr.	0
Butyric acid	0	0	tr.	0.01	0	0
	2	0	0	tr.	0	0
	4	tr.	0.01	tr.	tr.	tr.
	6	0	0.01	0.02	tr.	tr.
	8	0.03	0.01	0.03	0.02	tr.
Valeric acid	0	tr.	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	4	tr.	0.01	0	0	0
	6	0	tr.	tr.	0	0
	8	0	0	0	tr.	tr.
Caproic acid	0	0	tr.	0.01	0.04	0.16
	2	0	tr.	tr.	0.04	0.05
	4	0	tr.	0.01	0.02	0.06
	6	0	0	0	0.02	0.06
	8	0	0	0	0.02	0.04
Lactic acid	0	1.50	1.39	1.33	1.12	1.05
	2	0.71	0.98	1.29	0.90	0.96
	4	tr.	tr.	0.63	0.94	1.07
	6	0	0	0.48	0.45	1.08
	8	0	0	0	0	0.96

a) Days after opening the silo.

b) FM%.

c) trace.

酢酸含量についてみると、各区間に差はほとんどなく、日数の経過にともなって減少した。カプロン酸含量についてみると、開封時において0.025%添加区はごく微量にしか残存しなかった。また、0.

0.5% 添加区と0.1%添加区は添加量の半分以下, 0.2%添加区は8割近くの量がそれぞれ残存した。その後カプロン酸は日数の経過にともなって減少し, 0.025%添加区と0.05% 添加区は開封後6日目に消失したが, 0.1%添加区と0.2%添加区は開封後8日目まで残存した。乳酸含量についてみると, 開封時ではカプロン酸の処理濃度が高まるにつれて低下した。対照区と0.025%添加区は開封後2日目, 0.05% 添加区は4日目, 0.1%添加区は6日目からそれぞれ減少し, いずれも最終日には消失した。一方, 0.2%添加区はほとんど変化が認められなかった。

試験Ⅱ ソルビン酸

サイロ開封後におけるサイレージの品温の推移を図13に示した。対照区は実験開始約40時間後から品温が上昇した。0.025%添加区は対照区より20時間遅れて発熱を開始した。0.05% 添加区は0.025%添加区とほぼ同時に発熱を開始したが, 温度上昇が緩慢で実験終了時までピークに達しなかった。0.1%添加区と0.2%添加区は品温が全く上昇しなかった。

サイロ開封後におけるサイレージのpHと生菌数の推移を表50に示した。開封時における各区のpHは同程度であった。pHは対照区で開封後4日目, 0.025%添加区と0.05% 添加区では開封後7日目に上昇が認められた。最終日には処理濃度が高まるにともなって低くなり, 0.05% 以上を添加した区はサイレージの至適pH域内におさまった。

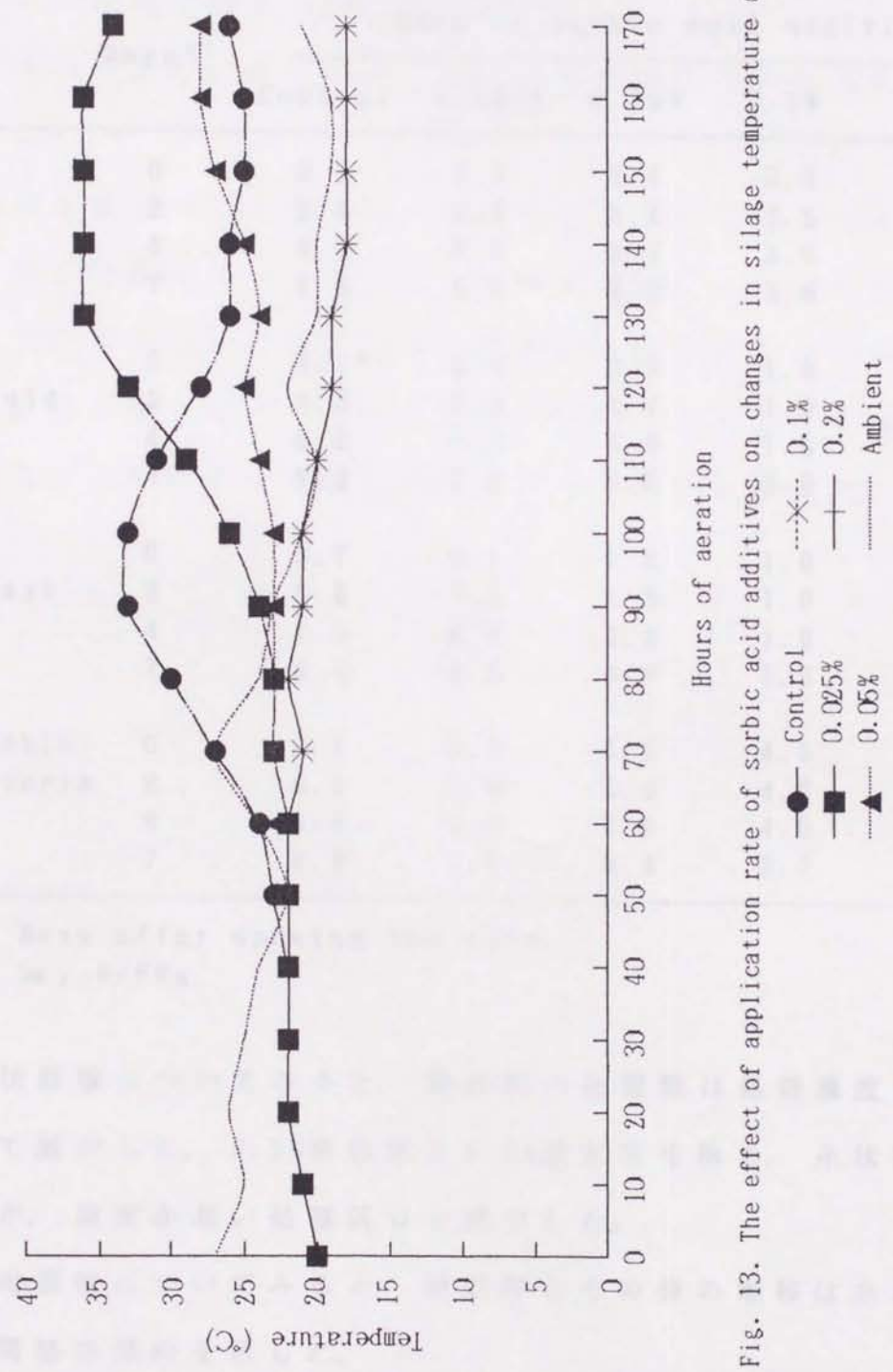


Fig. 13. The effect of application rate of sorbic acid additives on changes in silage temperature during aeration.

Table 50. The effect of application rate of sorbic acid additive on the changes in pH and viable counts of mould, yeast and aerobic bacteria during aeration

Days ^{a)}	Rate of sorbic acid additive					
	Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.2%	
pH	0	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6
	2	3.6	3.6	3.6	3.5	3.5
	4	3.8	3.7	3.7	3.6	3.6
	7	6.3	5.5	4.2	3.6	3.6
Mould	0	4.1 ^{b)}	3.0	3.3	1.0	1.0
	2	6.8	3.3	3.1	1.0	1.0
	4	8.2	6.3	4.9	1.0	1.0
	7	9.3	7.6	5.8	2.0	1.0
Yeast	0	3.7	2.1	1.8	1.0	1.0
	2	5.8	3.5	1.9	1.0	1.0
	4	7.3	6.9	2.4	1.0	1.0
	7	8.4	8.5	4.7	1.6	1.0
Aerobic bacteria	0	6.1	5.7	6.8	4.5	4.5
	2	6.1	5.0	5.0	4.2	4.4
	4	6.6	7.5	7.0	4.0	4.2
	7	8.9	7.9	8.4	3.7	4.7

1) Days after opening the silo.

2) $\log_{10} N/FMg.$

糸状菌数についてみると、開封時の生菌数は処理濃度が高まるにつれて減少した。0.1%添加区と0.2%添加区を除き、糸状菌数は増加したが、濃度が高い処理区ほど減少した。

酵母菌数についてみると、開封時とその後の推移は糸状菌数のそれと同様の傾向を示した。

一般細菌数についてみると、開封時の生菌数は0.1%添加区と0.2%添加区が低い値を示した。対照区、0.025%添加区および0.05%添加区は開封後4日目から増殖した。一方、0.1%添加区と0.2%添加区はほとんど増殖が認められなかった。

サイロ開封後におけるサイレージの有機酸含量の推移を表51に示した。

酢酸含量についてみると、各処理間に大きな差はほとんどなく、開封後の推移については一定した傾向が認められなかった。乳酸含量についてみると、開封時は処理間に差がほとんどなかったが、0.2%添加区を除くすべての区で日数の経過にともなって減少し、その減少程度は処理濃度が低くなるにつれて大きくなった。

Table 51. The effect of application rate of sorbic acid additive on the changes in organic acid content during aeration

	Days ^{a)}	Rate of sorbic acid additive				
		Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.2%
Acetic acid	0	0.18 ^{b)}	0.32	0.16	0.26	0.18
	2	0.12	0.18	0.18	0.16	0.17
	4	0.05	0.20	0.17	0.24	0.21
	7	0	0.10	0.29	0.49	0.43
Propionic acid	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0.05
Butyric acid	0	0	0	0	0	tr. ^{c)}
	2	0	0	0	0	0
	4	0	tr.	0	0	0
	7	0	0.01	0	0	0
Valeric acid	0	tr.	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	7	0	tr.	tr.	tr.	tr.
Caproic acid	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	7	0	0	tr.	0.02	0.02
Lactic acid	0	1.97	2.05	1.88	1.97	1.66
	2	0.55	0.63	0.92	1.46	1.43
	4	0.42	0.55	0.99	1.22	1.62
	7	0	0.25	0.33	0.98	1.84

a) Days after opening the silo.

b) FM%.

c) trace.

考 察

今回供試したカプロン酸とソルビン酸は好気性微生物の増殖を阻止しサイレージの好气的変敗を抑制する効果が高かった。ソルビン酸添加区は開封時における糸状菌、酵母および一般細菌の各菌数が

処理濃度に反比例して減少したのに対し、カプロン酸添加区は開封時の一般細菌数が処理濃度に影響されなかった。さらに、カプロン酸0.2%添加区は開封時において酵母と糸状菌の生育を完全に抑制したにもかかわらず、一般細菌数は低濃度の添加区とほとんど変わらなかった。したがって、カプロン酸は嫌気条件下において一般細菌の生育を抑制する効果が低いものと考えられた。また、開封時の乳酸含量をみると、ソルビン酸は処理間に差が認められなかったのに対し、カプロン酸は処理濃度が高まるにともなって乳酸含量が低下した。このようにカプロン酸は乳酸菌の生育を抑制し、ソルビン酸は乳酸菌の活動に影響を及ぼさないことが示唆された。カプロン酸添加はサイレージの粘り気や家畜の中毒症状などの被害を起こす一般細菌の資化源である糖を多量に残存させることになり、この面からもソルビン酸より劣った。

ところで、一般に好気的変敗の防止には発熱を開始するまでの時間、いわゆるパンクライフを2日程度遅らせることができれば、サイレージの取り出し深度の関係から、変敗が始まる前にサイレージを家畜に給与できるので、それが防止できるとされている。本実験において、対照区と比較して48時間以上パンクライフが遅れた処理区はカプロン酸では0.2%、ソルビン酸では0.1%添加区であった。原・大山(1978)は抑制剤の効果はその水分中の濃度によって決定されるとした。本実験では供試した材料草の水分含量が異なるため、そのままでは効果を比較できない。そこで、これらを水分中の濃度に換算したところ、カプロン酸では0.25%、ソルビン酸では0.13%と推定され、ソルビン酸はカプロン酸の1/2の濃度で同等の抑制

効果があった。

以上の結果、カプロン酸とソルビン酸の好気的変敗の有効阻止濃度は、ソルビン酸がカプロン酸より低濃度で抑制効果があることが認められた。このソルビン酸は食品の防腐剤として広く利用されており、ソルビン酸の価格は他の薬剤と比較して低廉であり、経済性や安全性の面からみてサイレージの好気的変敗の抑制剤として充分実用できるものと考えられた。また、ソルビン酸はサイロ詰め込み時に添加でき、かつ乳酸発酵を阻害しない優れた特長を有していた。

第5節 脱酸素剤による好気的変敗抑制の可能性

材料および方法

試験Ⅰの実験材料としては、1992年8月25日に糊熟期トウモロコシを刈り取った後、カッターで約2cmに細切し、100ℓ容のプラスチックサイロに詰め込んで密封し、室温で約100日間置床して調製したサイレージを用いた。試験Ⅱでは、1993年9月2日に刈り取った糊熟期トウモロコシを材料草とし、試験Ⅰと同様に100ℓ容のサイロを8連で詰め込み約90日後に開封したサイレージを用いた。

試験Ⅰではサイロ開封後、サイレージをビニールシート上で良く混合し10ℓ容の発泡スチロール製断熱容器に2.5kgを入れて圧密を加えずに詰め込んだ。これを空の100ℓ容のプラスチックサイロ内に置床し、サイロ表面を発泡スチロール板で蓋をしてさらにビニールで密封した。これらサイロの中に20ℓ、40ℓおよび60ℓに相当する空気中の酸素を無酸素化する能力を持つ脱酸素剤（三菱瓦斯化学、エージレス）をそれぞれ定置し、脱酸素剤を入れない対照区とサイロの蓋をせず、空気の侵入を自由にした開放区を設け室温で8日間放置した。なお実験時における室温は平均12℃と低かったため、実験開始120時間後よりヒーターを用いて加温した。

これらサイレージについて、品温を連続測定し、酸素濃度を1日3回測定した。また、pH、微生物の生菌数および有機酸組成を実験開始時と終了時に調べた。それぞれの分析および測定方法は前節に準じた。なお、酸素濃度については微量酸素濃度分析計（飯島電子

工業（株） R0-101）を用いて測定した。

試験Ⅱではサイロを開封してサイロ内のトップスポイレージを除去した後、サイロ表面から10 cmの深さまで層を崩さないようにしてサイレージを取り除いたサイロを用いた。サイロ内のサイレージ層は重量が43 kgで高さ40 cm、体積は70 ℓであった。処理は開放区、表面をビニールで被覆して空気の侵入を遮断した対照区と空気量30 ℓ分の脱酸素剤をサイレージ表層に定置して表面をビニールで被覆し、空気の侵入を遮断した脱酸素区を各2連で設けた。処理開始後、対照区と脱酸素区はサイレージの取り出しを仮定して毎日3時間開封してサイロ内の空気を置換し、脱酸素区は新しい脱酸素剤と取り替えて再び密封した。処理後、対照区と脱酸素区は酸素濃度の測定を行い、密封が行われていることを確認した。試験期間は30日で期間中の平均気温は16℃、最低と最高気温はそれぞれ10℃と22℃であった。

これらサイレージの品温を表層から10 cmと30 cmの箇所を中心にセンサーを埋設して連続測定した。実験終了時には、微生物の生菌数とpHを変敗層、移行層および移行層から下を3層に分けてサンプリングを行い計測、測定した。

結 果

試験Ⅰ

サイロ開封後における品温の推移を図14に示した。各区の品温は処理開始約50時間後から室温を上廻り、110時間後から急激に

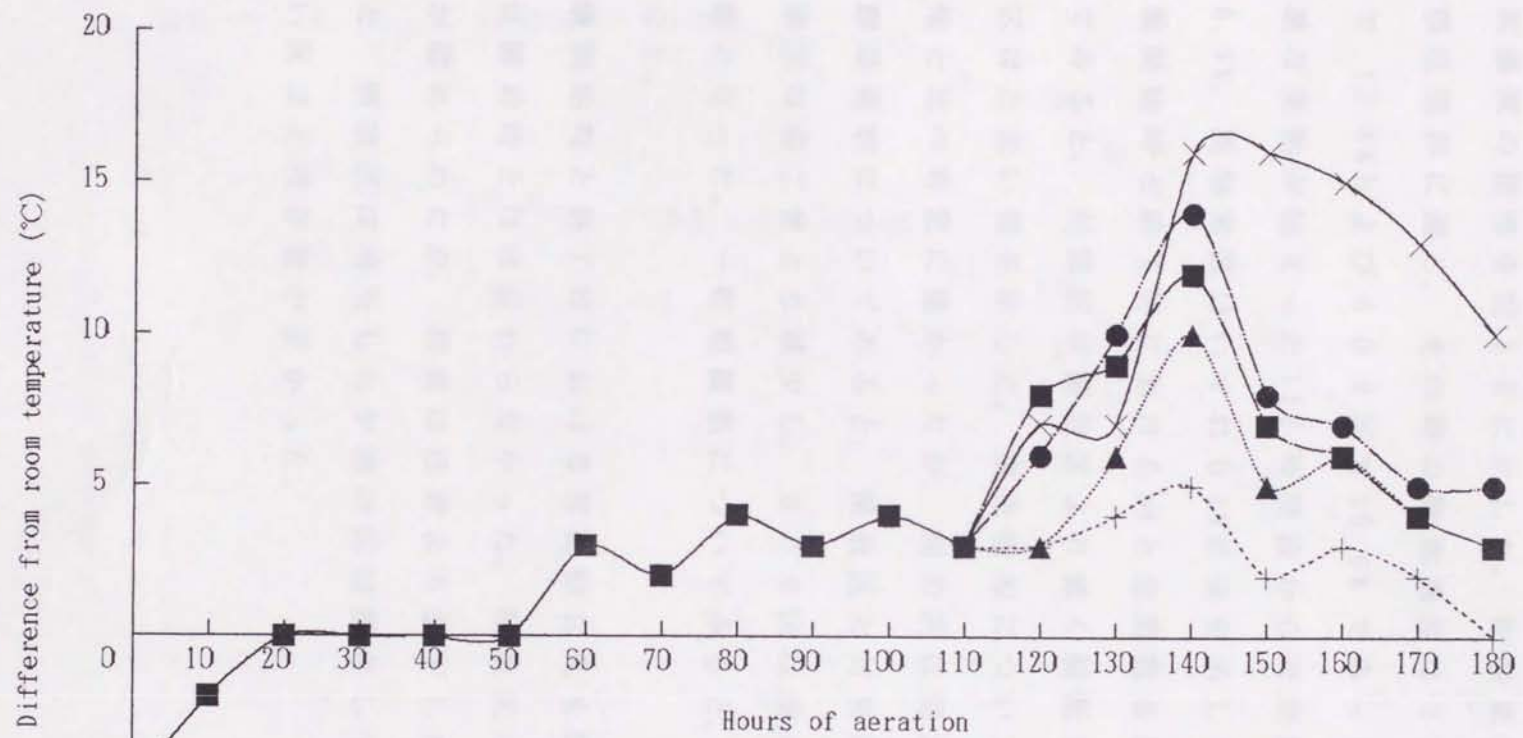
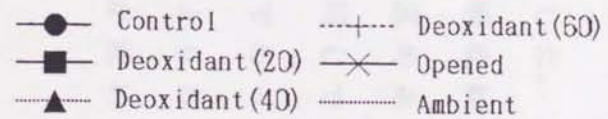


Fig. 14. The effect of deoxidant level on the changes in silage temperature during aeration.



上昇し140時間後に発熱ピークに達した。ピーク時の品温は対照区が開放区のそれより低く、酸素吸収能力が高い区ほど低くなった。

酸素濃度の推移を図15に示した。脱酸素剤は処理開始20時間後に吸収限界に達し、その時の酸素濃度は20ℓ区で16.3%、40ℓ区で13.8%および60ℓ区で10.9%であった。その後、酸素濃度は急激な発熱が始まった110時間後から対照区も含め減少し、対照区は6.3%、脱酸素区はいずれも4%前後を示した。

実験開始時と終了時におけるpHと生菌数を図16に示した。pHについてみると、対照区は開放区より低く脱酸素区は酸素吸収能力が高い区ほど低い値を示した。微生物相については60ℓ区の糸状菌数は他と比べ有意に低かったが、他の区は開放区とほぼ同じであった。酵母菌数についてみると、開放区と対照区は同程度であったが、脱酸素区は前二者より減少し、60ℓ区は他の脱酸素区よりさらに低い値となった。一般細菌数についてみると、区間に差が認められなかった。

実験開始時と終了時における有機酸含量を図17に示した。脱酸素区は開封時とほぼ変わらなかった。開放区と対照区は酢酸含量の低下が認められたが、前者は後者より低下した。乳酸含量についてみると、開放区は消失したが他の区は残存しており、酸素吸収能力が高い区ほど残存量が多かった。

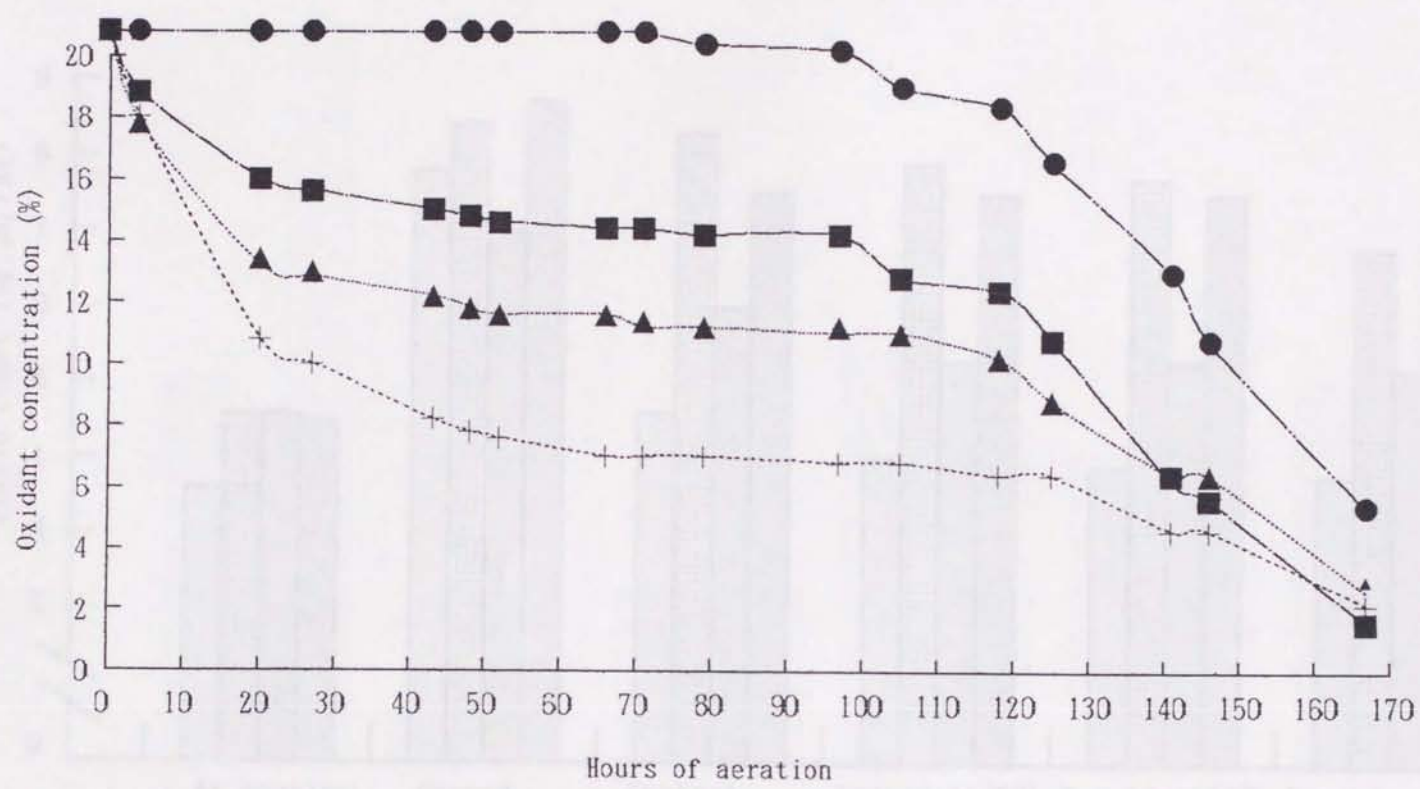


Fig. 15. The effect of deoxidant level on the changes in oxidant concentration during aeration.

●	Control (0 l)	▲	Deoxidant2 (40 l)
■	Deoxidant1 (20 l)	+	Deoxidant3 (60 l)

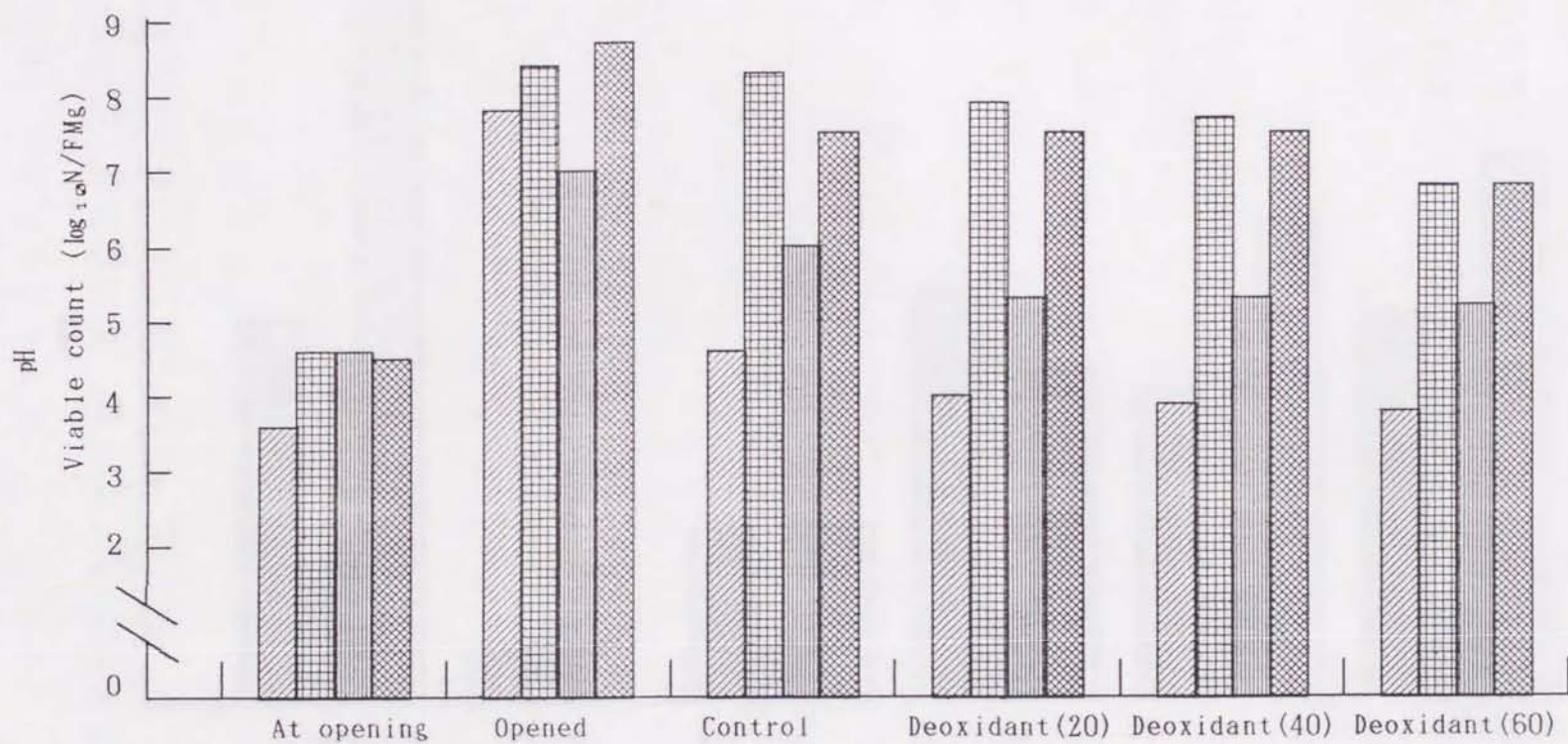


Fig. 16. The effect of deoxidant level on the pH and viable count of mould yeast and aerobic bacteria after aeration.

pH
 Mould
 Yeast
 Aerobic bacteria

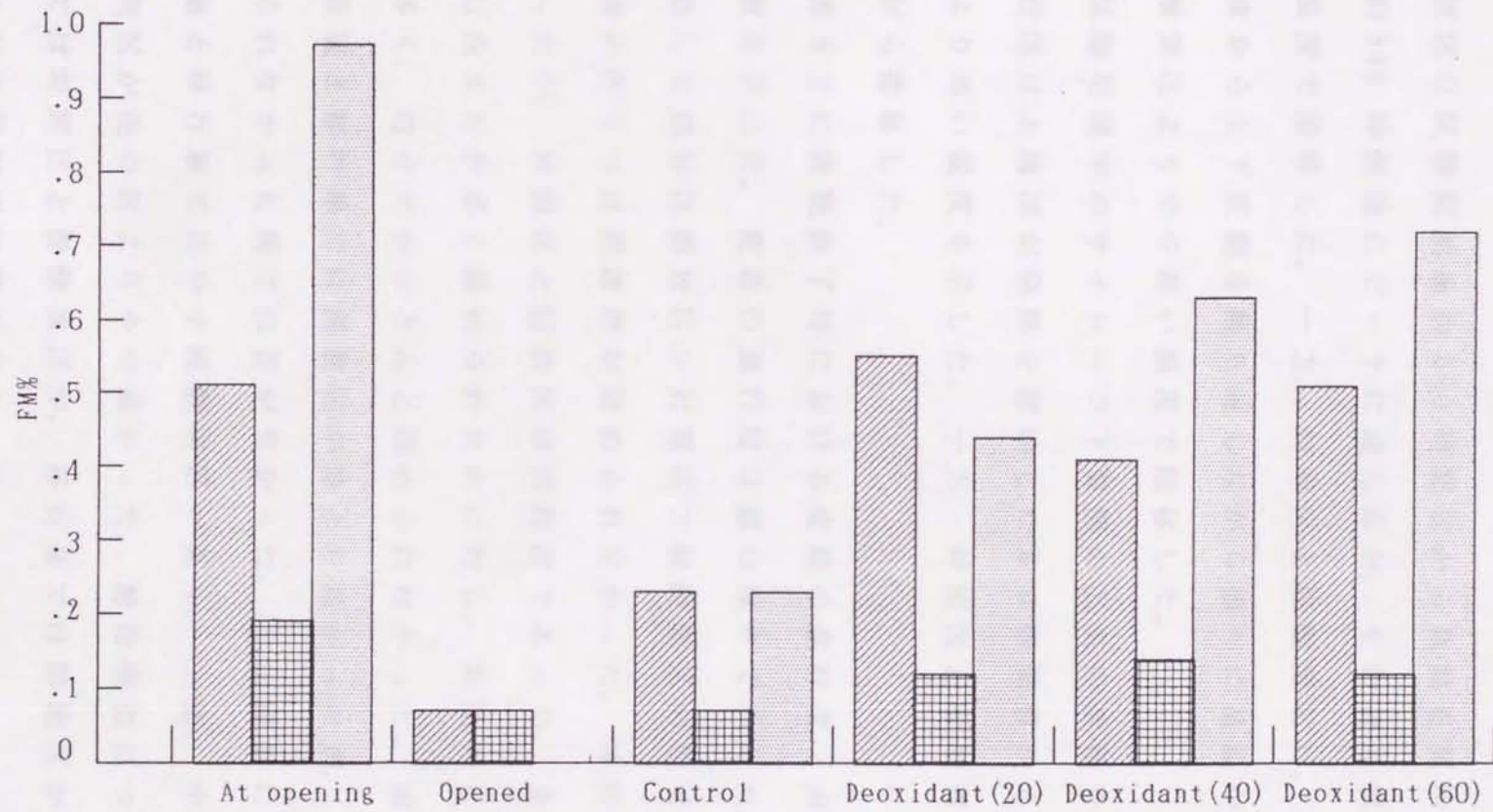


Fig. 17. The effect of deoxidant level on the organic acid contents of silage after aeration.

Acetic acid
 Other VFA
 Lactic acid

試験 II

試験期間中のサイレージ上層部の品温の推移を図 18 に示した。開放区は試験開始後約 60 時間目から発熱を開始し、徐々に上昇して約 300 時間後にピークに達したが、その後も室温より 5℃ 以上高い温度で推移した。一方、対照区と脱酸素区は、実験開始約 180 時間後から上下変動を繰り返しながら徐々に品温が上昇し、対照区が脱酸素区よりやや高い温度で推移した。

試験期間中のサイレージ下層部の品温の推移を図 19 に示した。開放区は上層部が発熱を開始した 60 時間目から、対照区と脱酸素区より高い温度を示した。一方、対照区と脱酸素区は気温に連動しながら推移した。

表 52 に実験終了時における変敗の進行度、pH および微生物の生菌数を示した。変敗の進行度は層の厚さで示した。完全に変敗して変色した部分は開放区 > 対照区 > 脱酸素区の順で厚く、脱酸素区の 2 連の内 1 つは変敗部が認められなかった。移行層は脱酸素区が薄かったが、対照区と開放区は同程度であった。また、開放区の移行層は白カビが多く認められたのに対し、対照区と脱酸素区は青カビが多く、白カビがほとんど認められなかった。pH についてみると、変敗層と移行層では開放区が他より高かったが、変敗がほとんど認められなかった層では差がなかった。糸状菌数についてみると、変敗層と移行層ではやや脱酸素区が高く、上層、中層および下層部は対照区が他の区よりやや高かった。酵母菌数についてみると、変敗層では対照区と脱酸素区が、移行層では開放区が高く、上層、中層および下層部では差がなかった。

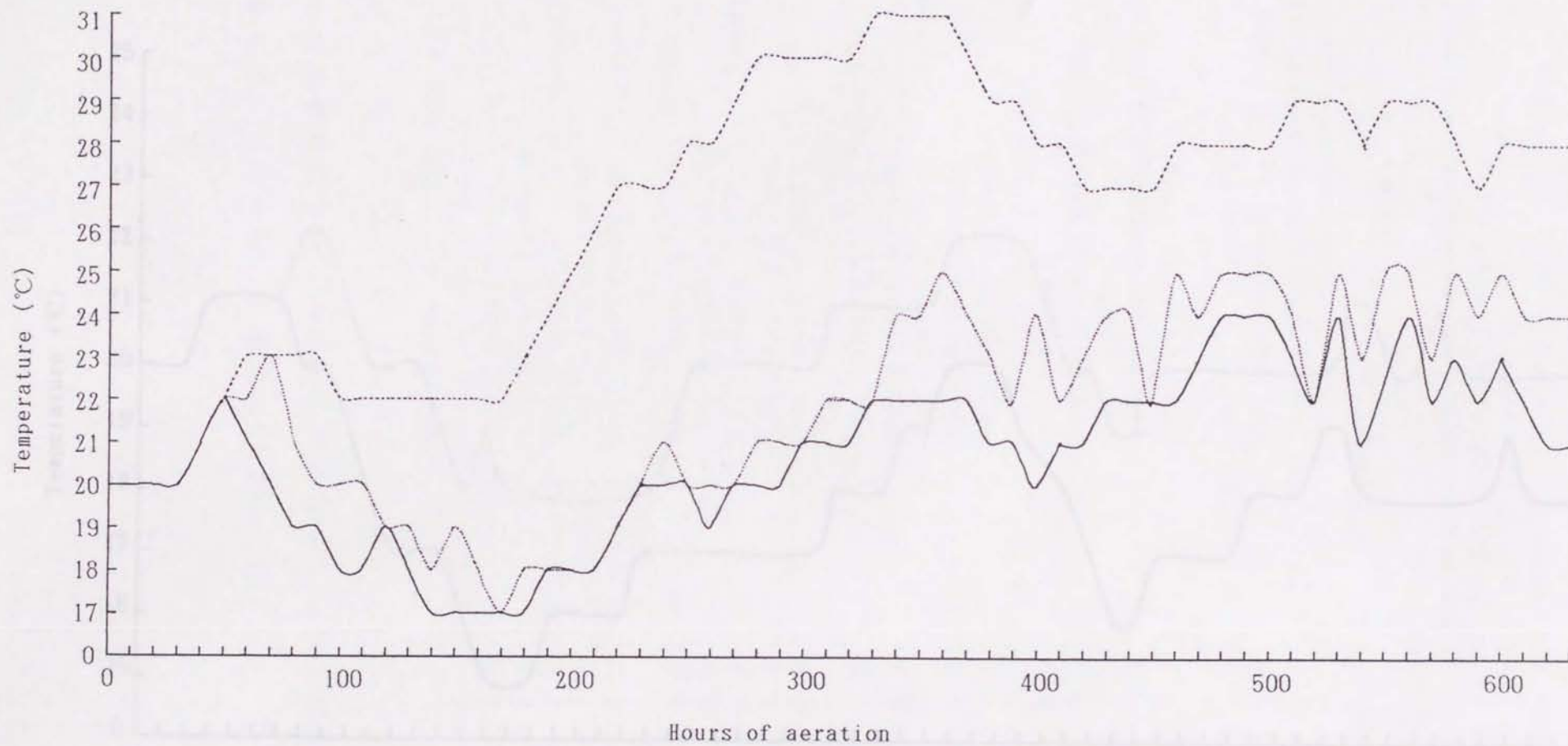


Fig. 18. The effect of deoxidant on the changes in temperature of upper parts of silage during aeration.

..... Opened - · - · - Control — Deoxidant

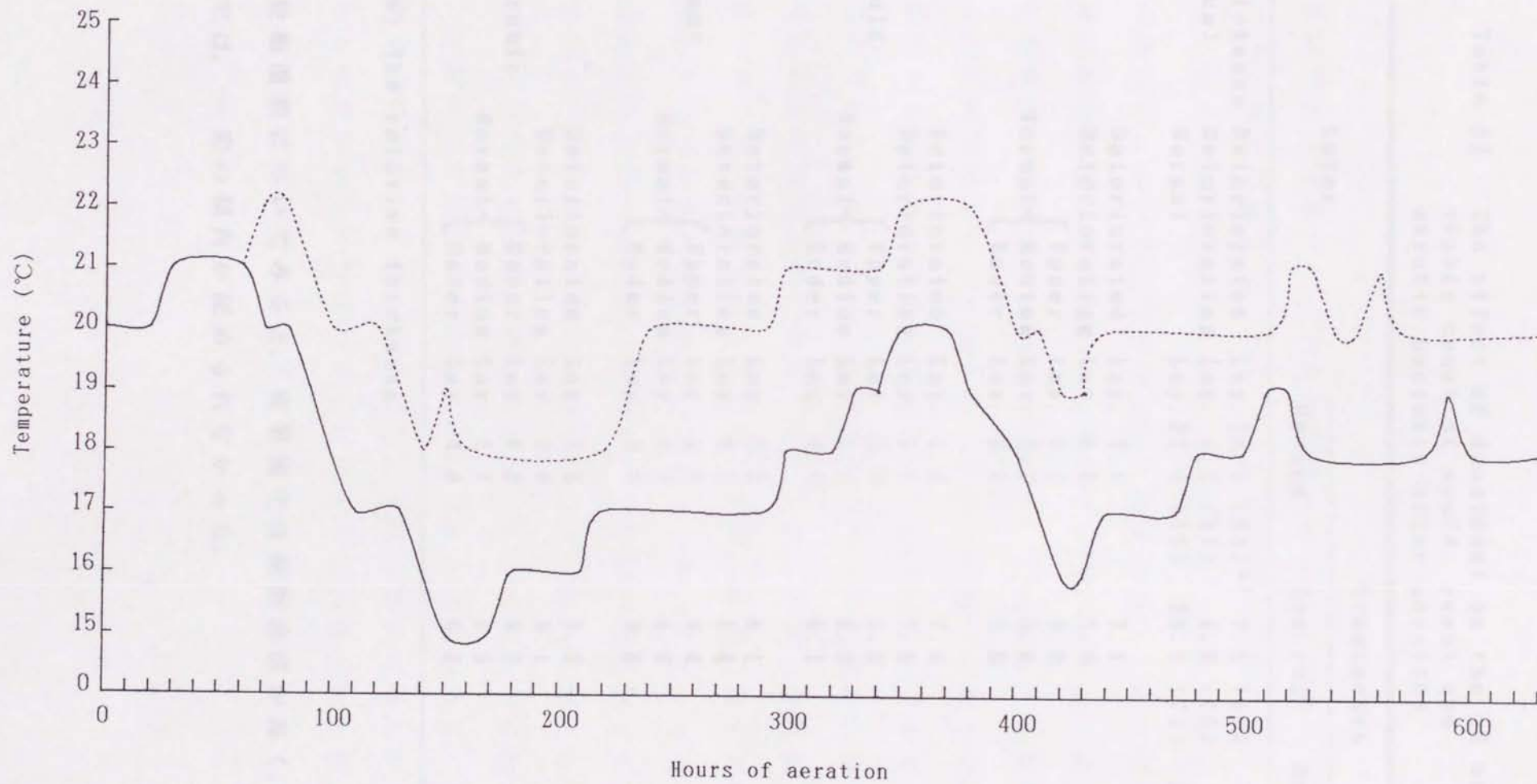


Fig. 19. The effect of deoxidant on the changes in temperature of under parts of silage during aeration.

----- Opened - - - - - Control ——— Deoxidant

Table 52. The effect of deoxidant on the pH and viable count of mould, yeast and aerobic bacteria after aeration

Layer		Treatments			
		Opened	Control	Deoxidant	
Thickness (cm)	Deteriorated	Lay. 13.5 (34) ^{a)}	7.5 (19)	2.5 (6)	
	Deteriorating	Lay. 4.5 (11)	4.0 (10)	1.5 (4)	
	Normal	Lay. 22.0 (55)	28.5 (71)	36.0 (90)	
pH	Deteriorated	Lay. 7.4	7.1	7.0	
	Deteriorating	Lay. 5.6	5.0	5.0	
	Normal	Upper	Lay. 3.8	3.8	3.8
		Medium	Lay. 3.7	3.6	3.6
		Under	Lay. 3.6	3.6	3.6
Mould	Deteriorated	Lay. 6.8	7.4	7.8	
	Deteriorating	Lay. 7.1	7.0	7.8	
	Normal	Upper	Lay. 5.9	5.6	5.8
		Medium	Lay. 4.4	6.3	5.6
		Under	Lay. 4.9	6.1	5.3
Yeast	Deteriorated	Lay. 5.3	6.1	6.0	
	Deteriorating	Lay. 6.9	5.4	5.1	
	Normal	Upper	Lay. 4.9	4.4	4.2
		Medium	Lay. 2.5	4.8	4.6
		Under	Lay. 3.9	3.8	3.1
Aerobic	Deteriorated	Lay. 7.8	7.7	9.5	
	Deteriorating	Lay. 8.0	9.1	8.7	
	Normal	Upper	Lay. 6.2	7.7	5.6
		Medium	Lay. 5.1	6.5	5.9
		Under	Lay. 4.8	6.2	5.5

a) The relative thickness.

一般細菌数についてみると、変敗層では脱酸素区が高く、その他の層では、一定の傾向が認められなかった。

考 察

脱酸素区は発熱のピークが対照区や開放区より低く、かつパンクライフが若干遅延した。また、酸素吸収能力が高い区ほど発熱のピークは低下した。詰め込んだ時の状態を崩さずに、変敗の進行を調べた試験Ⅱにおいても、脱酸素剤の使用によって変敗層が減少し、好気的変敗の進行を抑制した。前章で述べたように、サイレージの好気的変敗には酸素量の影響が大きい。したがって、脱酸素剤により、好気的変敗を起こす微生物の発育に必要な酸素の供給が抑えられた結果、微生物の活動が不活発となり発熱ピークが低下したものと考えられる。ところで、対照区においても発熱が抑制され、乳酸含量もわずかではあるが残存した。このことは、脱酸素剤の使用の有無に拘らず、密封することによって酸素量を制限すれば、好気的変敗が抑制できることを示している。したがって、サイレージの好気的変敗を抑制するには、サイレージ取り出し後速やかにサイレージ表層をビニールシートで被覆し、外気の侵入を断つとともにサイレージ内の酸素を脱酸素剤で吸収して酸素分圧を下げれば、サイレージの好気的変敗を防止することが可能と考えられる。また、従来、同様の目的で用いられてきた二次発酵防止板と比較してこの方法は作業が簡便であり、変敗防止を目的とした脱酸素剤の使用は効果的であり、実用的な試験をさらに重ねる必要がある。

第 6 節 摘 要

前章の結果から、サイロ開封後に生起する好気的変敗を抑制するためには、好気性微生物の増殖を抑えることやサイレージ表層への酸素の侵入を防ぐことが重要であることを明確にした。

そこで本章ではサイレージの好気的変敗の抑制技術を開発することを目的として、好気性微生物に対して静菌あるいは殺菌効果を有する薬剤を供試して、効果の高い薬剤をスクリーニングし、好気的変敗に対する最低阻止濃度を検討した。さらに、脱酸素剤の使用による好気的変敗抑制の可能性についても検討した。得られた結果を要約すると以下の通りである。

1) サイロ開封後における各種薬剤添加がサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

タンニン酸添加サイレージとエチルアルコール添加サイレージは、対照区と同様に品温が上昇した。変敗したサイレージはpHの上昇、酵母、糸状菌および一般細菌数の増加、さらに乳酸、酢酸含量の低下が認められた。一方、プロピオン酸添加サイレージとソルビン酸添加サイレージは品温とpHが上昇せず、微生物相や発酵品質も安定していた。

以上の結果、サイレージの好気的変敗に対してソルビン酸とプロピオン酸の抑制効果が高いことを明らかにした。

2) サイロ詰め込み時における各種薬剤添加がサイレージの好気的変敗に及ぼす影響

アセトアルデヒド添加サイレージ、酢酸添加サイレージおよびエ

チルアルコール添加サイレージは対照サイレージより好気的変敗の開始が早かった。これらの添加物は好気的変敗の主因菌となり得る酢酸菌に利用されるものであり、栄養素や呼吸源の増加が好気的変敗を促進したものと推測された。ホルムアルデヒド添加サイレージは対照サイレージとほとんど同時に変敗した。好気的変敗の抑制効果が認められた添加物はソルビン酸、カプリン酸、ギ酸およびプロピオン酸であった。サイレージの好気的変敗の抑制効果はソルビン酸が最も高く、次いでカプリン酸、プロピオン酸が高いことを明らかにした。

3) トウモロコシサイレージの好気的変敗に対するカプロン酸とソルビン酸の有効阻止濃度

カプロン酸添加試験において、対照区と0.025%添加区は発熱開始時間とピーク時の品温がほぼ同じであった。0.05%添加区は発熱開始が約10時間、0.1%添加区は発熱開始が約40時間それぞれ対照区より遅れた。また、0.2%添加区は発熱が認められなかった。一方、ソルビン酸添加においては、対照区は実験開始約40時間後から品温が上昇した。0.025%添加区は対照区より20時間遅れて発熱を開始した。0.05%添加区は0.025%添加区とほぼ同時に発熱を開始したが、温度上昇が緩慢で実験終了時までピークに達しなかった。0.1%と0.2%添加区は品温が全く上昇しなかった。pHについてみると、カプロン酸添加は開封時において各区のpHが同程度であった。対照区と0.025%添加区は開封後4日目から上昇し、ほぼ同様に推移した。0.05%添加区と0.1%添加区は対照区より2日遅れて上昇を示し、最終的なpHは対照区とほぼ同じであった。一方、0.2%添加区はpHの上

昇が認められなかった。ソルビン酸添加では、開封時における各区のpHは同程度であった。対照区は4日目、0.025%添加区と0.05%添加区は7日目に上昇が認められた。実験終了時には処理濃度が高まるにつれてpHが低くなり、0.05%以上添加の各区はサイレージの至適pH域内におさまった。微生物相については、開封時においてカプロン酸とソルビン酸の各区は処理濃度が高まるにつれて各菌数が減る傾向を示した。開封後の菌数の推移は対応する処理のpHの推移とほぼ同様の傾向を示した。有機酸含量の推移についてみると、開封時におけるカプロン酸添加区は処理濃度が高まるにつれて乳酸含量が低下した。ソルビン酸添加区では区間に差がほとんどなかった。一方、開封後の乳酸含量の推移はカプロン酸添加区、ソルビン酸添加区ともに処理濃度が低い区ほど早い時期から減少したが、0.2%添加区はいずれも減少しなかった。以上より、ソルビン酸の好気的変敗の有効阻止濃度はカプロン酸より低濃度で効果があり、材料草当たり0.1%程度の添加が必要と考えられる。

4) 脱酸素剤による好気的変敗抑制の可能性

各区の品温は同時期に発熱を開始したが、酸素吸収能力が高い区ほど発熱ピークが低くなった。酸素濃度についてみると、脱酸素剤は処理開始20時間後に吸収限界に達し、その時の酸素濃度は20ℓ区で16.3%、40ℓ区で13.8%および60ℓ区で10.9%であった。その後、酸素濃度は急激な発熱が始まった110時間後から対照区も含め減少した。実験終了時における微生物の生菌数についてみると、60ℓ区の糸状菌数は他と比べ有意に低い値を示したが、他の区は開放区とほぼ同じであった。酵母菌数についてみると、開放区と対

照区は同程度であった。脱酸素区は前二者より減り、60%区は他の脱酸素区より減少した。一般細菌数についてみると、処理区間に差が認められなかった。実験終了時におけるpHと有機酸含量についてみると、対照区のpHは開放区のそれより低い値を示し、脱酸素区は酸素吸収能力が高まるにともなって低い値を示した。有機酸組成についてみると、開放区の乳酸は消失したが他の区は残存しており、残存量は酸素吸収能力が高まるにともなって多くなった。

これらの結果、脱酸素剤の使用は微生物の活動を不活性化し、好気的変敗を抑制するものと考えられる。

キーワード： 脱酸素剤, 変敗防止剤, 好気的変敗,

トウモロコシサイレージ.

Chapter 4 The method of inhibiting aerobic deterioration.

SUMMARY

The result of chapter 3 showed that inhibition of aerobic deterioration could be achieved by the following methods: 1) To inhibit active of microorganisms causing aerobic deterioration such as yeast, 2) To keep anaerobic condition. Thus, this study was carried out to find the most effective method of inhibitory aerobic deterioration. The results are as follows:

- 1) The effect of some additives prior ensiling or after opening the silo on the aerobic deterioration of silage.

When added prior to ensiling, the silages treated acetaldehyde (AL), acetic acid (AA) and ethanol (E) deteriorated earlier than that of untreated. It was speculated that these additives were utilized by acetic acid bacteria which is one of main microorganisms of aerobic deterioration.

The aerobic deterioration of the untreated silage and of silage treated with formaldehyde (FL) were similar. Therefore, FL did not inhibit aerobic deterioration.

The silages treated sorbic acid (SA), capric acid (CA), formic acid (FA), and

propionic acid (PA) deteriorated less or later than untreated silage. The addition of tannic acid (TA) and E, after opening of the silos resulted in increased silage temperature, pH and viable counts of yeast, mould and aerobic bacteria and decreased in the content of lactic acid. These changes were the same in untreated silage. The results showed that these treatments did not inhibit aerobic deterioration. The silages treated with SA, CA and PA did not deteriorate compared with untreated silage. The effects of these treatments were to inhibit yeast and mould growth which are the main microorganisms responsible for the initiation of aerobic deterioration of silage.

These results showed that among the additives, SA treatment was the best followed by CA and PA in inhibiting aerobic deterioration.

2) Effective additive rate of caproic and sorbic acid on inhibition of aerobic deterioration.

The treatment of silages with 0.025% caproic acid had little or no effect of aerobic deterioration. Silages treated 0.05% and 0.1% additives started to heat 10 and 40 hours later than those of control respectively. No heating occurred in silages treated with 0.2% additive. With regard to silages treated with sorbic acid, at 0.025% application rate, the silage started to heat 20 hours

later than that of control. Both silages treated with 0.05 % and 0.025 % sorbic acid started to heat almost at the same time, but later heated more slowly. No heating was observed in silages treated with 0.1 % and 0.2 % sorbic acid.

The viable count of yeast, mould and aerobic bacteria were lower with higher concentration of each treatment. Although lactic acid content of silage was lower with higher concentration of caproic acid, the lactic acid content of all of silages treated with sorbic acid was almost same as that of control silage.

These results showed that compared to caproic acid, lower concentration of sorbic acid was more effective in inhibiting aerobic deterioration.

3) The possibility of inhibiting aerobic deterioration using dioxidant.

The silages of all the treatments started to heat about 110 hours after aerobic exposure. The peak temperature of silages with higher capacity of dioxidant was low. The oxidant concentration of dioxidant added to the silages were 16.3 % (20 l capacity), 13.8 % (40 l) and 10.9 % (60 l) at 20 hours after the start of the experiment. The onset of heating was associated with a rapid decrease in oxidant concentration of all dioxidant added silages with control silage.

In experiment 2, 100 l capacity silos with 43 kg of corn silage were used. The upper part of the opened silage started to heat about 60 hours after

starting of experiment. The upper part of control and dioxidant silages started to heat about 180 hours after the start of the experiment and former was changing higher temperature than latter. In under part of silage, opened silage started to heat about 60 hours after the start of the experiment. The silages of control and dioxidant did not heat. At the end of experiment, the relative thickness of spoilage for opened, control and dioxidant were 34 %, 19% and 6 % respectively.

These results showed that using dioxidant after opening the silo was effect in protecting aerobic deterioration.

第 5 章 総 括

本研究は高品質サイレージを調製するための基礎資料を得ることを目的として、材料草の可溶性炭水化物含量と乳酸緩衝能ならびに添加糖の種類と水準がサイレージの有機酸発酵に及ぼす影響を検討した。さらに埋蔵中の環境温度がサイレージの微生物相と有機酸組成に及ぼす影響について検討を加えた。つぎにサイレージの高品質化にともなうサイレージの好気的変敗の抑制技術を確立することを目的として、サイレージの好気的変敗の様相と微生物の動態を経時的に追跡し、好気的変敗の機構を明らかにするとともに、空気量、詰め込み密度および環境温度の影響についても検討を加えた。さらに、得られた結果から好気的変敗に対する抑制技術の確立を目指したものである。

第 1 章では、わが国の畜産業の発展にともなうサイレージの高品質化の必要性和それに付随して起きる好気的変敗を抑制する技術を開発することの重要性について述べるとともに、高品質サイレージ調製と好気的変敗抑制に関する既往の研究について概述した。

第 2 章ではサイレージの有機酸発酵に影響を及ぼす諸要因について検討した。すなわち、27草種30品種の飼料作物等について、可溶性炭水化物(WSC)と乳酸緩衝能(LBC)がサイレージの発酵品質に及ぼす影響を検討した結果、WSC含量はフリーク評点との間に正の相関、LBCは負の相関が認められた。次に個々の牧草、飼料作物のWSC含量とLBCを調べた結果、サイレージ用草種としてはトウモロコシ(*Zea mays*)、ソルガム(*Sorghum bicolor*)が最も適し、次いでイタリアンライグラス(*Lolium multiflorum*)、

オーチャードグラス (*Dactylis glomerata*) 等の寒地型イネ科草, スーダングラス (*Sorghum sudanese*), オオクサキビ (*Panicum dichotomiflorum*) が優れていることを明らかにした。

ところで, W S C 含量の低い草種をサイレージ材料草として高品質サイレージを調製するために, 詰め込み時に単少糖, 細胞壁成分を分解するセルラーゼ等の添加が行われている。そこで添加糖の種類がサイレージ発酵品質に及ぼす影響について検討した結果, 5炭糖添加は乳酸菌によるヘテロ発酵が進み酢酸サイレージとなり, 6炭糖添加はホモ発酵が進み乳酸サイレージが調製された。なお, ヘテロ発酵型乳酸菌はマンニットを資化できないために, マンニット添加サイレージは酢酸含量が著しく低い特性を示した。一方, デンプンは微生物に資化されず, サイレージの発酵品質に影響しなかった。また, 糖の添加水準と L B C との関係を検討した結果, L B C が高い草種では添加水準に応じて乳酸含量が高まった。

さらに, サイレージ発酵過程の埋蔵温度 (環境温度) が微生物相, 有機酸発酵等に及ぼす影響を検討した結果, W S C 含量が低い材料草を高温条件下で埋蔵すると, 乳酸発酵が不十分なために pH が下がらず酪酸菌が増殖して酪酸サイレージとなったが, 低温条件下では酪酸菌が増殖せず, 乳酸サイレージとなった。一方, W S C 含量の高い材料草では, 埋蔵温度に関わりなく乳酸サイレージが調製されることを明らかにした。

第3章では, サイレージの好気的変敗の機序と変敗に影響を及ぼす諸要因について検討した。

トウモロコシサイレージにおける好気的変敗の機序をサイレージ品温の変化, 微生物の動態および化学成分の消長から検討した結果,

サイロ開封にともなう好気条件によって、糸状菌や好気性細菌が活動を開始してサイレージのpHが上昇し、酵母の活動が励起されて品温とpHの急激な上昇が起こり、それらに伴って乳酸、VFAおよび可溶性糖類が減少した。また、品温とpHの上昇と酵母の増殖曲線が一致した。したがって、好気的変敗の主因菌は酵母であることが示唆された。一方、サイロ内の空気量を制限すると変敗が抑止され、サイレージの詰め込み密度が高いものほど品温の上昇は抑えられた。開封後のサイロの環境温度が変敗に及ぼす影響については、高温環境では迅速に品温が上昇し、パンクライフは短かったが、低温環境では微生物の活動が不活発でパンクライフは著しく遅延した。

第4章では、サイレージの好気的変敗の抑制技術について検討した。

サイレージの好気的変敗の抑制法として、防菌・防ばい剤を応用した化学的制御、空気を遮断して微生物の発育を抑制する物理的制御および酵母の発育を他の微生物により抑える生態的制御が考えられるが、本研究においては前二者について検討した。

第1にサイレージの好気的変敗の防止に効果があると考えられる化学物質をサイレージ材料草に添加したり、サイロ開封後に処理して添加効果の高い薬剤をスクリーングした結果、ソルビン酸、プロピオン酸およびカプロン酸は酵母、糸状菌および一般細菌に対して強い制菌作用が認められた。そこでこれらのうち効果が高かった2者について、好気的変敗の阻止濃度を検討した結果、ソルビン酸は材料草当たり重量比で0.05%添加によってパンクライフを48時間以上遅延させることができ、経済性や安全性の面からみて実用性が認められた。

つぎにサイロ開封後、あるいはサイレージ取り出し後にサイロ表層に脱酸素剤を定置し、シートで被覆して空気を遮断した結果、好気的変敗に対する抑制効果が認められた。以上の結果、脱酸素剤の使用による好気的変敗の抑制技術は、操作も簡便であり実用化の可能性が高いものと考えられる。

謝 辞

本研究の遂行と取りまとめにあたり、終始ご懇篤なご指導とご校閲を賜った恩師、愛媛大学教授熊井清雄先生に謹んで深謝の意を表す。また、ご指導およびご助言を戴いた元愛媛大学教授丹比邦保先生ならびに栗原昭三先生、助教授福見良平先生、上田博史先生および香川大学教授一色 泰先生に深く感謝申し上げます。

また、本研究の実施にあたり、ご協力を戴いたLyndon F. Quinitio博士、蔡 义民博士、Thomas B. Bayorbor博士、武内哲郎氏、木村徹哉氏、秋山 格氏、大津直樹氏、桜井里香氏、田中慎二氏、中田美幸氏、浜本 陽氏、細川啓一郎氏、登丸亨介氏、本河大典氏および辻田恵美子氏の愛媛大学農学部畜産学研究室出身の各氏ならびに愛媛大学大学院修士課程の竹村 哲典氏を始め、愛媛大学農学部草地・畜産学研究室所属の学生諸氏に記して謝意を表す。

本研究の実施に当たり、雪印種苗(株)技術研究所から乾燥乳酸菌の提供を受けた。記して謝意を表す。

博士課程入学時より奨学金を下さった日本育英会に感謝申し上げます。

最後に九年間にわたる学生生活を滞りなく送るために、物心両面にわたりご支援、激励を戴いた、両親、家族に心から感謝申し上げます。

引用文献

- 相磯和嘉 監修 (1976) 食品微生物学. 医歯薬出版. 東京.
pp. 63-76.
- Barnet, A. J. G. (1954) Silage Fermentation (1st Ed.).
Butterworths. London. pp. 78-97.
- Barry, T. N., E. D. M. Menna, P. R. Webb and J. N. Parle (1980)
Some observations on aerobic deterioration in untreated
silages and in silage made with formaldehyde containing
additives. *J. Sci. Food Agric.* 31, 133-146.
- Beck, T. and F. Gross (1964) The causes of differences in
keeping properties of silage. *Das. Wirtschaftseigene
Futter.* 10, 298-312.
- Beck, T. and Wieringa, G. W. (1964) Investigations on the
use of cultures of lactic acid bacteria in the
preparation of silage in small containers. 2.
Inoculation experiments with active Lactobacillus
cultures. *Das. Wirtschaftseigene Futter.* 10, 45-54.
- Beck, T. (1978) Fermentation of silage - A Review. *National
Feed Ingredients Association.* Iowa. pp. 61-115.
- Britt, D. G. and J. T. Huber (1975) Fungal growth during
fermentation and re-fermentation of nonprotein nitrogen
treated corn silage. *J. Dairy Sci.* 58, 1666-1671.
- Carpintero, M. C., A. J. Holding and P. McDonald (1969)
Fermentation studies on lucerne. *J. Sci. Food Agric.*

- 20, 677-681.
- Chanberlain, D.G. (1988) Effect of added glucose and xylose on the fermentation of perennial ryegrass silage inoculated with *L. plantarum*. *J. Sci. Food Agric.* 46, 129-138.
- Chang, S.J., R.H. Li, and K.M. Lin (1988) Studies on the processing of bag silage. *Taiwan Sugar Res. Inst. Ann. Report.* 13-14.
- Crawshaw, R. and M.K. Woolford (1979) Aerobic deterioration of silage in and out of the silo. *ADAS Quarterly Review.* 34, 151-178.
- Elitz, R.W. and P.J. Vandemark (1959) Fructose dissimilation by *Lactobacillus brevis*. *J. Bact.* 79, 763-776.
- Gibbs, M., R. Dumrose, F.A. Bennett and M.R. Bubeck (1950) On the mechanism of bacterial fermentation of glucose to lactic acid studied with C¹⁴-glucose. *J. Biol. Chem.* 184, 545-549.
- Gonzalez-Raurich, M. and C. Capintero (1989) Improvement of lucerne silage by addition of inoculants and different carbohydrate sources. *Proc. 16th IGC, Kyoto.* 969-970.
- Gordon, C.H., J.C. Derbyshire, H.G. Weiseman and W.C. Jacobson (1964) Variation in initial composition of orchardgrass as related to silage composition and feeding value. *J. Dairy Sci.* 47, 987-992.
- Greenhill W.L. (1964a) The buffering capacity of pasture

- plants with special reference to ensilage. *Aust. J. Agric. Res.* 15, 511-519.
- Greenhill, W.L. (1964b) Plant juices in relation to silage fermentation. 2. Factors affecting the release of juices. *J. Br. Grassl. Soc.* 19, 231-236.
- 原 慎一郎・大山嘉信 (1978) サイレージ変敗防止剤の添加効果と微生物相 - 材料水分並びに薬剤抵抗性菌との関係について. *日畜会報*. 49, 794-801.
- 原 慎一郎・伊藤 稔・大山嘉信 (1979) サイレージ好気的変敗の際の品温, ガス代謝量及び熱発生量と微生物相の相互関係. *日畜会報*. 50, 549-556.
- 原 慎一郎・大山嘉信 (1979) トウモロコシサイレージの好気的変敗に関与する酵母及び糸状菌 - カブロン酸及び塩酸添加による変敗防止効果との関連 -. *日畜会報*. 50, 375-385.
- 原 慎一郎・大山嘉信 (1982) 糖添加ならびに材料水分の相違がサイレージの微生物叢ならびに好気的変敗に及ぼす影響. *日草誌*. 28, 269-270 (講要).
- Heath, E.C., J. Hurwitz, B.L. Horecker and A. Ginsburg (1958) Pentose fermentation by *Lactobacillus plantarum*. I The cleavage of xylulose 5-phosphate by phosphoketolase. *J. Biol. Chem.* 231, 1009-1029.
- Heinrichis, A.J. and H.R. Conrad (1984) Fermentation characteristics and feeding value of ammonia treated corn silage. *J. Dairy Sci.* 67, 82-87.
- Henderson, A.R. and P. McDonald (1977) The effect of

- cellulase preparations on the chemical changes during the ensilage of grass in laboratory silos. *J. Sci. Food Agric.* 28, 486-490.
- Henderson, A.R., J.M. Ewart and G.M. Robertson (1979) Studies on the aerobic stability of commercial silages. Changes in silage on exposure to air. *J. Sci. Food Agric.* 30, 223-228.
- Henderson A.R., P. McDonald, and D. Anderson (1982) The effect of a cellulase preparation derived from *Trichoderma viride* on the chemical changes during the ensilage of grass, lucerne and clover. *J. Sci. Food Agric.* 33, 16-20.
- 檜山圭一郎 (1986) サイレージ中の揮発性脂肪酸と乳酸のガスクロマトグラフィーによる同時定量. 畜産の研究. 40, 1410-1412.
- Honig, H. and M.K. Woolford (1980) Changes in silage on exposure to air. *Br. Grassl. Soc. Occ. Symp.* 11, 76-87.
- 伊藤寛治・高橋淳根 (1982) サイレージの養分保持に関する研究. 1 薬剤添加が発酵抑制及び好気的変敗に及ぼす影響. 秋田県農短大研報. 8, 89-99.
- Jacobs, J.L. and A.B. McAllan (1991) Enzymes as silage additives. 1. Silage quality, digestion, digestibility and performance in growing cattle. *Grass and Forage Sci.* 46, 63-73.
- Jasaites, D.K., J.E. Wholt and J.L. Evans (1987) Influence of feed content on buffering capacity of ruminant

- feedstuffs *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 70, 1391-1403.
- Kibe, K. and T. Kasuya (1979) Changes in composition of volatiles in grass silage after opening silos. *J. Japan. Grassl. Sci.* 25, 251-259.
- 木部久衛 (1979) 生イナワラの水分含量と詰め込み密度がサイレージの品質並びに二次発酵に及ぼす影響. 日草誌. 25, 246-250.
- Koch, G., A. Movered, G. Avendunk and M. Kirchgessner (1972) The effect of silo cover on the keeping quality of silage made with corn at different stage of maturity. *Das. Wirtschaftseigene Futter.* 18, 280-292.
- 駒形和雄 (1975) 微生物の分類と同定. 東大出版会. 東京. pp. 210.
- 熊井清雄・木村徹哉・福見良平・蔡 义民・L. F. Quinitio (1990) 乳酸菌添加がサイレージの微生物相の変遷並びにサイレージの発酵品質に及ぼす影響. 日草誌. 36, 231-237.
- Lanigan, G.W. (1961) Studies on ensilage. I A comparative laboratory study of molasses and sodium metabisulphite as acids to the conservation of lucerne. *Aust. J. Agric. Res.* 12, 1023-1038.
- Lanigan, G.W. (1963) Silage bacteriology. 1. Water activity and temperature relationships of silage strains of *Lactobacillus plantum*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus cerevisiae*. *Aust. J. Biol. Sci.* 16, 606-615.
- Lanigan, G.W. (1965) Silage bacteriology. 2. Influence of temperature differences on the composition of the lactic

- microflora. *Aust. J. Biol. Sci.* 18, 555-561.
- Lee, S.Y., E.R. Vedamuthu, C.J. Waxman and G.W. Reinbold
(1974) *J. Milk Food Technol.* 37, 272-276.
- Lesins, K. and Schulz, F.H. (1968) Some effects of bacterial
inoculation on silage making. *Canadian J. Anim. Sci.* 48,
15-25.
- Mann, E.M. and P. McDonald (1976) The effect of formalin
and lower fatty acids on silage fermentation. *J. Sci.
Food Agric.* 27, 612-616.
- 梶木茂彦・大山嘉信 (1979) サイレージ発酵過程における糖の変化,
乳酸, 揮発性脂肪酸の生成. 日畜会報. 50, 280-287.
- Masuko, T. and K. Awaya (1989) Effect of inoculation of
lactic acid bacteria on silage fermentation. *Proc. 16th
IGC, Kyoto.* 975-976.
- 松岡 栄・尾上富見男・加藤勝幸・藤田 裕 (1982) 好気的変敗の
程度が異なる牧草サイレージの飼料価値. 日畜会報. 53,
786-791.
- 松岡 栄・板垣 隆・浜田美紀・高橋潤一・藤田 裕 (1983) 好気
的変敗の程度が異なるトウモロコシサイレージの飼料価値.
帯大研報. 13, 161-166.
- Matsuoka, S., H. Fujita, J. Takahashi, N. Asano and H. Ochi
(1985) Effect of aerobic deterioration on feeding value
of low-moisture and high moisture grass silages. *Jpn. J.
Zootech. Sci.* 56, 913-919.
- 松岡 栄・尾上富見男・加藤勝幸・藤田 裕 (1992) 好気的変敗の

- 程度が異なる牧草サイレージの飼料価値. 日畜会報. 53, 786-791.
- McDonald, P. and D. Purves (1956) Effects of the addition of molasses on the composition and digestibility of field silage. *J. Sci. Food Agric.* 7, 189-196.
- McDonald, P. and A.R. Henderson (1962) Buffering capacity of herbage samples as a factor in ensilage. *J. Sci. Food Agric.* 13, 395-400.
- McDonald, P., A.R. Henderson and A.W. MacGregor (1968) Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass. *J. Sci. Food Agric.* 19, 125-132.
- McDonald, P. (1981) *The Biochemistry of Silage.* (1st ed.). John Wiley and Sons. New York. pp. 1-218.
- McLeod, M.N. (1974) Plant tannins - their role in forage quality. *Nutrition Abst. and Reviews.* 44, 803-812.
- Menn, M.E., J.N. Paele and R.J. Lancaster (1981) The effect of some additives on the microflora of silage. *J. Sci. Food Agric.* 32, 1151-1156.
- Moon, N.J. and L.O. Ely (1979) Identification and properties of yeasts associated with the aerobic deterioration of wheat and alfalfa silage. *Micopathologia.* 69, 153-156.
- Moon, N.J., L.O. Ely and E.M. Sudweeks (1980) Aerobic deterioration of wheat, lucerne and maize silage prepared with *Lactobacillus acidophilus* and a *Candida*

- spp. *J. Appl. Bact.* 49, 75-87.
- 森地敏樹 (1986) 微生物の分離法. R and D プランニング. 東京.
pp. 435-444.
- 森本 宏 編 (1971) 動物栄養試験法. 養賢堂. 東京.
- McHan, F. (1986) Pretreatment of coastal bermudagrass with sodium hydroxide and cellulase before ensiling. *J. Dairy Sci.* 69, 1837-1846.
- Muck, R.E. and R.P. Walgenbach (1985) Variations in alfalfa buffering capacity. *Am. Soc. Agric. Eng.* 85, pp.1535
- Murdoch, J.C. (1960) The effect of temperature on the silage fermentation. *Proc. 8th IGC.* 502-505.
- 名久井 忠・佐藤文俊・西部 潤・及川 博 (1981) トウモロコシホールクロップサイレージの二次発酵抑制に関する試験. 第4報 大規模塔型サイロにおけるプロピオン酸添加の効果. 畜産の研究. 35, 1251-1254.
- O'Leary, J., R.W. Hemiken and L.S. Bull (1981) Evaluation of forage ensiled in concrete stave and oxygen-limiting silos. *Proc. 14th IGC.* 660-662.
- 大島光昭・何森 健 (1980) フォルモース, グルコース, D-アラビノース, あるいはL-アラビノースの添加がサイレージ発酵に及ぼす影響. 日草誌. 26, 293-294 (講要).
- 大山嘉信・榎木茂彦 (1968a) 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タンパク質の含量がサイレージ品質に及ぼす影響. 日畜会報. 39, 61-67.
- 大山嘉信・榎木茂彦 (1968b) サイレージ発酵に影響する諸要因に関

- する研究. Ⅲ サイレージ発酵による可溶性炭水化物およびタンパク質の量的変化. 日畜会報. 39, 133-139.
- 大山嘉信・柁木茂彦・滝川明宏・森地敏樹 (1971) サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究. IX 乳酸菌添加とグルコース添加の相乗効果. 日畜会報. 42, 1-8.
- Ohyama, Y. and S. Masaki (1971) Deterioration of silage after opening silo. 1. Changes in temperature and chemical composition of some wilted silage. *J. Japan. Grassl. Sci.* 17, 176-183.
- Ohyama, Y., S. Masaki and T. Morichi (1973) Effect of temperature and glucose addition on the process of silage fermentation. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 44, 59-67.
- Ohyama, Y. and P. McDonald (1975) The effect of some additives on aerobic deterioration of silages. *J. Sci. Food Agric.* 26, 941-948.
- Ohyama, Y. and S. Hara (1975) Growth of yeasts isolated from silages on various media it's relationship to aerobic deterioration of silage. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 46, 713-721.
- Ohyama, Y., S. Masaki and S. Hara (1975) Factors influencing aerobic deterioration of silages and changes in chemical composition after opening silos. *J. Sci. Food Agric.* 26, 1137-1147.
- Ohyama, Y. (1976) Changes in free amino acids of silages after opening silos and their relation to aerobic

- deterioration. *Bull. Nat. Inst. Anim. Ind.* 31, 37-45.
- Ohyama, Y. and S. Hara, (1979) The effect of two additives in preventing aerobic deterioration of maize silage after opening silos. *Jpn. J. Zootech Sci.* 50, 182-188.
- Ohyama, Y., S. Hara and S. Masaki (1979) The influence of hydrochloric acid on the effect of caproic acid in preventing aerobic deterioration of silage. *J. Sci. Food Agric.* 30, 107-111.
- Ohyama, Y. and S. Hara (1979) The effect of two additives in preventing aerobic deterioration of maize silage after opening silos. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 50, 182-188.
- Ohyama, Y., S. Hara and S. Masaki (1980) Forage conservation in the 80's. *Br. Grassl. Soc., Dec. Symp.* 11, pp. 257
- 大山嘉信 (1981a)サイレージの好気的変敗とその防止対策(1)
畜産の研究. 35, 997-1002.
- 大山嘉信 (1981a) サイレージの好気的変敗とその防止対策(2)
畜産の研究. 35, 1118-1120.
- Ojima, K. and T. Isawa (1967) Physiological studies on carbohydrates of forage plants. 2. Characteristics of carbohydrate compositions according to species of plants. *J. Japan. Grassl. Sci.* 13, 39-50.
- Pahlow G. and E. Zimmer (1985) Effect of lactobacillus inoculant on fermentation and aerobic stability of grass silage. *Proc. 15th IGC.* 877-879.
- Pitt, R.E., R.E. Muck and N.B. Pickering (1991) A model of

- fungus growth in silage. 2. Aerobic stability. *Grass and Forage Sci.* 46, 301-312.
- Playne, M.J. and P. McDonald (1966) The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food Agric.* 17, 264-268.
- Ruschmann, G. (1939) *Bayer. Landw. Jahrb.* 88, pp. 135
- 佐々木 博 (1972) グラスサイレージの微生物学的研究. 北大農学部邦文紀要. 8, 189-247.
- Seale, D.R., A.R. Henderson, K.O. Petterson and J.F. Lowe (1986) The effect of addition of sugar and inoculation with two commercial inoculants on the fermentation of lucerne silage in laboratory silos. *Grass and Forage Sci.* 41, 61-70.
- 芝崎 勲 (1983) 新・食品殺菌工学. 光琳. 東京. pp. 238.
- 白田 尚・太田金一 (1974) 夏季におけるサイレージの二次発酵対策試験 (第2報). 山形畜試研報. 13, 98-111.
- 白田 尚・太田金一 (1975) 夏季におけるサイレージの二次発酵対策試験 (第3報). 山形畜試研報. 15, 50-73.
- Smith, L.H. (1962) Theoretical carbohydrate requirement for alfalfa silage production. *Agron. J.* 54, 291-293.
- Smith, D. (1972) Total nonstructural carbohydrate concentrations in the herbage of several legumes and grasses at first flowering. *Agron. J.* 64, 705-706.
- Spoelstra, S.F., M.G. Courtin and J.A.C. Van Beers (1988) Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration

- of whole crop maize silage. *J. Agric. Camb.* 111, 127-132.
- Stirling, A.C. (1951) Bacteriological changes in experimental laboratory silage. *Proc. Soc. Appl. Bact.* 14, 151-156.
- 須藤 浩・内田仙二・安則久雄 (1964) エンシレージの調製法に関する研究. 第6報 ブドウ糖の添加効果. 岡大農学報. 24, 37-46.
- 須藤 浩・内田仙二・三宅一憲 (1971) サイレージの調製法に関する研究. 第15報 埋蔵時における二, 三添加物の効果. 岡大農学報. 37, 51-60.
- Svenson, L. and M. Tveit (1964) Effect of different supplements on the fermentation process in silage. *J. Sci. Food Agric.* 15, 78-82.
- Tajandraatmadja, M., B.W. Norton and I.C. MacCrae (1991) Fermentation patterns of forage sorghum ensiled under different environmental conditions. *World J. Microbiol. and Biotech.* 7, 206-208.
- 内田仙二・須藤 浩 (1973) サイレージ調製法に関する研究. 第21報 材料作物の還元糖及び全窒素含量並びにトウモロコシサイレージの埋蔵初期における還元糖の変化. 岡大農学報. 41, 53-60.
- Virtanen, A.I. (1947) Silage by AIV method. *Econ. Proc. Roy. Dublin Soc.* 3, 311-342.
- Watson, S.J. (1939) The Science and practice of conservation : Grass and Forage crops. *Fertiliser and Feeding Stuffs*

- Journal*. London.
- Whittenbury, R., P. McDonald and D.G. Bryan-Jones (1967) A short review of some biochemical and microbiological aspects of ensilage. *J. Sci. Food Agric.* 18, 441-444.
- Wieringa, G.W. (1960) Some factors affecting silage fermentation. *Proc. 8th IGC.* 497-502.
- Wiese, F. (1971) The influence of initial aeration on the fermentation process of grass silage. *Landw. Forsch.* 26, 63-70.
- Wiese, F. and HONIG, H. (1975) Influence of different wilting periods on the fermentation process of meadow fescue. *Das. wirtschaftseigene Futter.* 21, 10-24.
- Wilson, J.K. (1935) The neutralizing power of forage crops for organic and mineral acids. *J. Dairy Sci.* 18, 317-325.
- Woolford, M.K. (1975) Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C₁-C₁₂) as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.* 26, 219-228.
- Woolford, M.K. (1978) The aerobic deterioration of silage. *Agric. Res. Council Res. Rev.* 4, 8-12.
- Woolford, M.K., H. Honig and J.S. Fenlon (1978) Studies on the aerobic deterioration of silage using a small-scale technique. 2. The microbiological, physical and chemical changes during the aerobic deterioration of corn silage. *Das. Wirtschaftseigene Futter.* 24, 125-139.

Woolford, M.K., H. Honig and J.S. Fenlon (1979) Studies on the aerobic deterioration of silage using a small-scale technique. 3. The microbiological, physical and chemical changes during the aerobic deterioration of direct-cut and wilted grass silage. *Das. Wirtschaftseigene Futter.* 25, 158-177.

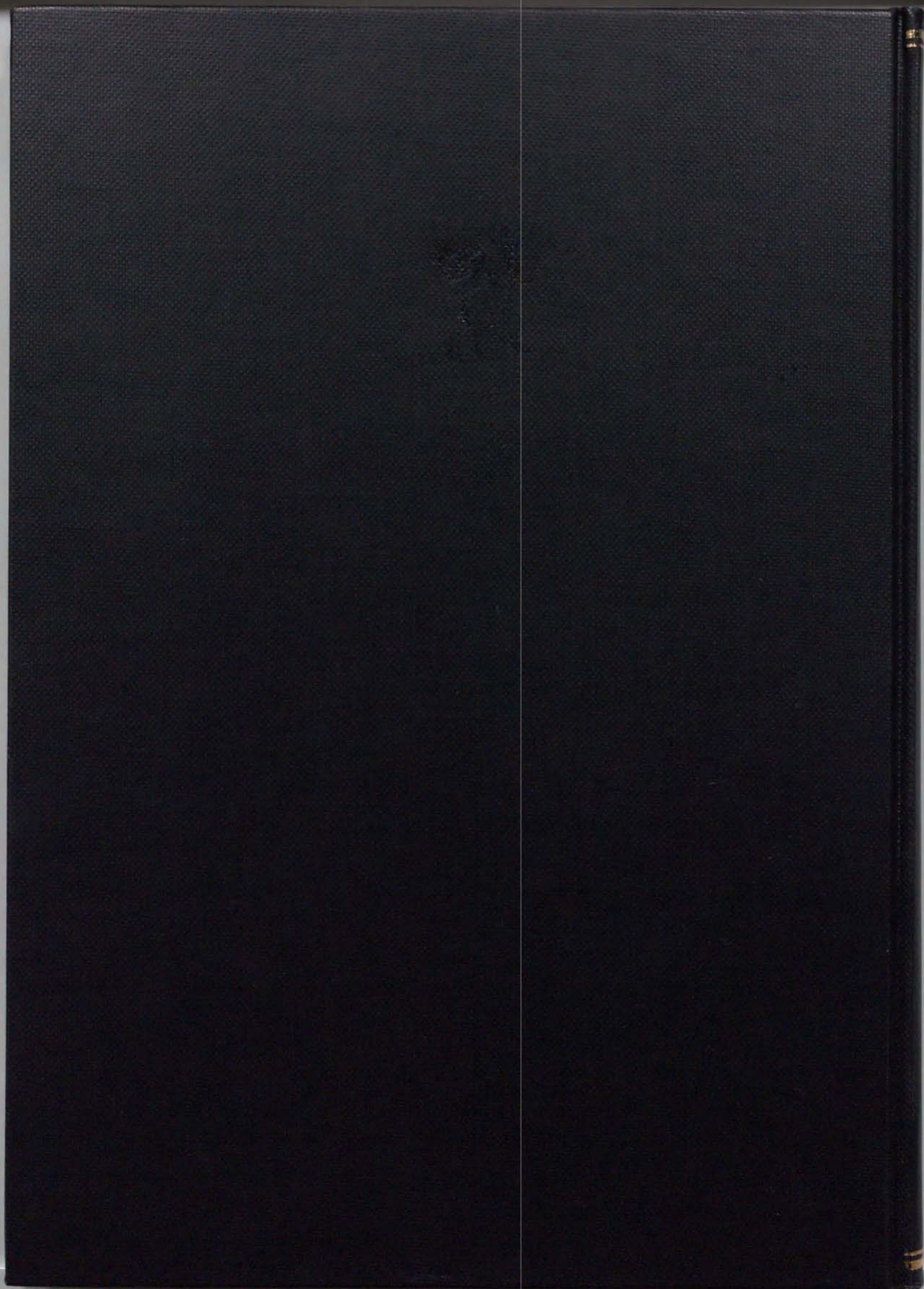
Woolford, M.K., K.K. Bolsen and L.S. Peart (1982) Studies on the aerobic deterioration of whole crop cereal silages. *J. Agric. Sci. Camb.* 98, 529-535.

Woolford, M.K. (1984) The Silage fermentation. Marcel Dekker Inc. New York. pp. 350.

山野大偉治・小林民憲・五斗一郎 (1987) グリーンパニックパニック高水分サイレージの発酵過程と発酵品質. 九大農学報. 41, 9-13.

Zimmer, E. (1980) Efficient silage systems. *Br. Grassl. Soc. Occ. Symp.* 11, 186-197.

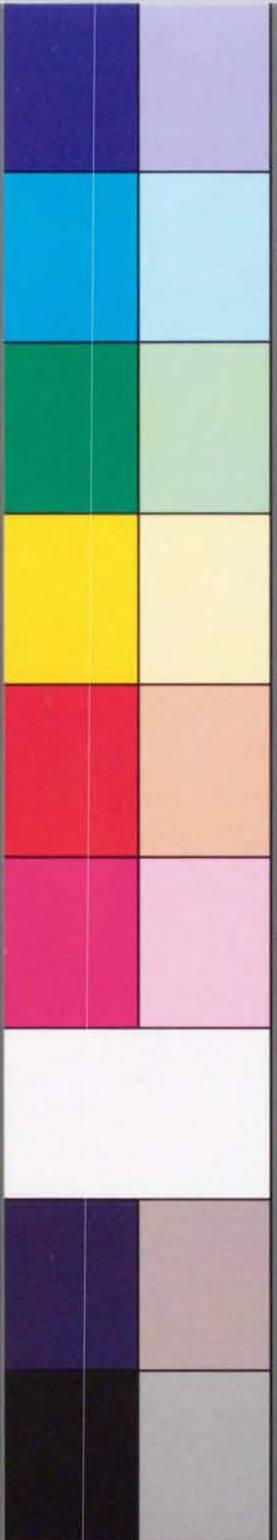
作物分析法委員会編 (1975) 栄養診断のための栽培植物分析測定法. pp. 247.



inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19



© Kodak, 2007 TM: Kodak