

物理的および化学的要因が発酵 TMR の品質と開封後の 好氣的安定性に及ぼす影響

高橋 敏能^{*1)}・内田 豪^{**}・堀口 健一^{*}・吉田 宣夫^{***}

*山形大学農学部食料生命環境学科

**山形大学大学院農学研究科生物生産学専攻

***山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター

(平成26年11月7日受理)

Effects of Physical and Chemical Factors on the Quality and the Aerobic Stability after Opening in a Fermented Total Mixed Ration

Toshiyoshi TAKAHASHI ^{*1)}, Tsuyoshi UCHIDA ^{**}, Ken-ichi HORIGUCHI ^{*} and Norio YOSHIDA ^{***}

* Course of Safe and Reliable Agricultural Production, Department of Food, Life
and Environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Yamagata University,
Wakaba-machi, Tsuruoka-shi 997-8555, Japan

** Science of Bioproduction, Graduate School of Agricultural Science (Master Program),
Yamagata University, Wakaba-machi, Tsuruoka-shi 997-8555, Japan

*** Yamagata Field Science Center, Faculty of Agriculture, Yamagata University,
Takasaka, Tsuruoka-shi 997-0369, Japan

(Received November 7, 2014)

Summary

This experiment was conducted to examine the fermentation quality of fermented total mixed rations (TMR) ensilaged using unused resources under various physical and chemical conditions, and the aerobic stability after the opening silo. Fermented TMRs were made under different water contents and dried feed density, different numbers of materials which were same water soluble contents (WSC) as dry matter basis, and organic acids or ethanol supplementations. As a result, all TMRs were high fermentation quality with more than 85 points in Flieg's and V-scores. In the aerobic stability that was judged by a temperature rise after having opened silo, an aerobic deterioration was hard to occur in case of water content was less than 55% and dried density of feed material was more than 300 kg/m³. If WSC content was approximately 13% as dry matter basis, an aerobic deterioration seemed to be hard to occur regardless of the numbers of material. In addition, from the results of experiment to add various additives at storage and after washing to be opened, an aerobic deterioration was controlled when acetic acid and propionic acid were added. Furthermore, it was thought that it was effective to prepare fermented TMR in order to control an aerobic deterioration when it was stored for more than one month. It was considered that when fermented TMR was stored for more than one month, an aerobic deterioration was hard to occur because the nourishment source which was necessary for an aerobic deterioration decreased owing to the ingredients such as starches of glucose and starch were consumed during the storage. An advance of aerobic deterioration in fermented TMR was not seemed to relate with pH and the VBN/T-N ratio.

Key words : aerobic deterioration, control factors, fermentation quality, fermented total mixed ration, temperature rise, unused resources

キーワード：発酵品質，発酵 TMR，好氣的変敗，未利用資源，温度上昇，抑制要因

¹⁾ 現在：山形大学客員教授 (Visiting Professor, Yamagata University)

本研究は2010～2012年度農林水産省 委託プロジェクト研究「自給飼料を基盤とした国産畜産物の高付加価値化技術の開発 (国産飼料プロ)」(3系 発酵 TMR) の研究成果の一部である。

緒 言

近年、地球環境の保全と有用資源を活用する立場から食品残渣などの未利用資源を利用した発酵TMR (Total Mixed Ration: 完全混合飼料) をウシの飼料として利用する技術が全国的に普及している。地域で発生する水分含量を多く含む食品製造副産物や農産副産物をフレッシュTMRで利用するとカビの発生が危惧されるが、発酵TMRに調製すると嫌気貯蔵のため乳酸発酵が進んで良質なサイレージとして長期間貯蔵出来る利点がある(野中 2012)。この発酵TMRは、一般に乳酸発酵に必要な水溶性炭水化物(WSC)を多く含むためpHが低く乳酸含量が高いサイレージとして調製出来ることが知られている。本研究室で実施した未利用資源を用いて良質な発酵TMRを調製する研究成果だけでも、乳酸菌や糖蜜を添加して調製すると更に乳酸含量が高くなる(曹ら 2009; Caoら 2010a)、フレッシュTMRより消化率と飼料の嗜好性が優れている(Caoら 2009; 曹ら 2009; Caoら 2012)、リードカナリーグラスなどの低品質粗飼料を用いた発酵TMRに調製するとき酵素を利用すると品質が向上する(田川ら 2011; Tagawaら 2014a)、緑茶殻を乾物当たり10から30%程度配合するTMRサイレージを調製するとき水分含量を55%程度に調製することが望ましい(須藤ら 2007)などがある。また、発酵TMRの持つ付加価値として地球温室効果ガスである反芻家畜からのメタン生成を抑制する(Caoら 2009; Caoら 2010b; Caoら 2012; Caoら 2013)が、調製上の注意点として乳牛などの飼料にビタミンA剤を混合して発酵TMRを調製すると品質が良好な程ビタミンAの消失量が多いので、このビタミン剤を添加するときは給与直前に添加することが望ましい(Tagawaら 2014b)などの報告がある。

一方、発酵TMRはフレッシュTMRより好気的変敗が起こり難いことが広く知られており、24℃の温度下(高橋ら 未発表データ)や夏季の暑熱時(内田ら 2011)でも開封後の好気的変敗を抑制する効果があることを確認している。この要因として、発酵TMRでは酵母の活性が抑制されている(Wang・Nishino 2008b; 平岡ら 2005)ことが報告されているが、明確な微生物学的、物理的および化学的抑制要因については明らかにされていないと思われる。微生物学的には、1, 2-プロパンジオールを生成するヘテロ型乳酸菌 (*Lactobacillus buchneri*)

が好気的変敗を抑制するために有効である(Driehuisら 2001; Huら 2009; Nishinoら 2004)ことが示されている。また、好気的変敗と物理的要因の関係では、水分含量との関係を示した近藤ら(2005)があり、化学的要因として非解離型分子の有効性(西野 2012; Wilkinson・Davis 2012)を強調している。しかし、画一された物理的および化学的要因と好気的変敗に関する研究成果はみられないようである。

本研究は要因のうち、水分、乾物密度と貯蔵期間が異なる物理的および素材数と添加物が異なる化学的な画一された要因が発酵TMRの品質および開封後の好気的変敗に及ぼす影響を検討したので報告する。

材料および方法

発酵TMRの調製、処理設定および発酵品質の調査

後述の素材数の違いの実験以外の発酵TMRは、日本飼養標準の肉用牛(農林水産省農林水産技術会議事務局編 2000)より肥育牛に必要な成分(乾物%:粗タンパク質12, 粗繊維7および可消化養分総量(TDN)70以上)を満たすように各素材を配合した。

素材数の違いの実験以外の発酵TMRの調製に供試した素材(原物配合割合%)は、約1cmに細断した稲ワラ(品種:はえぬき)20, 玄米(品種:はえぬき)24, フスマ20, 生米ヌカ10, 乾燥豆腐粕10, ビートパルプ5, 市販配合飼料(新和牛B, 北日本くみあい飼料, 宮城)10および第二リン酸カルシウム1を供試した。その際、異なる水分含量(35, 45, 55および75%の4処理)、異なる密度(200, 300, 400および500kg/m³の4処理)、異なる素材数(4素材(稲ワラ, 玄米, ビートパルプおよび第二リン酸カルシウム):WSC含量が13%(乾物))を基本として、それにWSCが13%になるように2素材(フスマと生米ヌカ)と4素材(フスマ, 生米ヌカ, 乾燥豆腐粕および市販配合飼料)を加えた6と8素材の3処理)、および有機酸(乳酸3%, 酢酸とプロピオン酸0.3%)またはエタノール(3%)をそれぞれ単味で添加し発酵TMRを調製して品質を調査した。異なる水分含量以外の水分は45%に調製し、密度の実験以外は原物350gをパウチ(飛龍, 旭化成パックス株, 東京)に入れてバキュームシーラー(SQ33, シャープ株, 東京)を用いて脱気後密封した。また、異なる密度の実験は、500mLのプラスチック製ボトルを使用した。調製した発酵TMRをコン

テナにまとめて入れて、 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ の室内温度下で有機酸とエタノールを添加した実験は14日間と28日間、それ以外の実験は28日間貯蔵した後発酵TMRの品質調査のために100g(原物)を採取した。調査項目は、pH、有機酸(乳酸と揮発性脂肪酸(VFA))、揮発性塩基態窒素(VBN)/総窒素(T-N)比およびエタノールを調査し、これらの分析結果からフリーク評点とV-scoreを算出した。

好氣的変敗の調査方法

発酵TMRの品質調査のために試料を採取した後、水銀温度計を先端が中央部になるように差し込み、開封後8時間毎の発酵TMRの温度を調査した。外気温は温度データロガー(おんどとり、(株)T&D、長野)を用いて測定した。

発酵TMRの品質の実験に加えて異なる貯蔵期間で無添加の発酵TMRを調製し、開封して水で洗浄した後各種添加物を添加して好氣的変敗の進行を調査した。すなわち、貯蔵期間を14日間と28日間の2処理を設定し水道水で洗浄して脱水した後、無添加を対照とし実際の発酵TMRの濃度に近いと思われる有機酸(新鮮物%:乳酸3、酢酸0.3、プロピオン酸0.3)およびエタノール3%(新鮮物)をそれぞれ単味で添加して8時間毎の温度を9日間測定した。

好氣的変敗の指標となる項目として、上述の温度に加えて開封時、開封後1日、4日および9日後のpHとVBN/T-N比を調査した。なお、発酵品質と好氣的変敗の実験のすべての反復数は3反復とした。

試料の分析方法

実験に供試した一部の発酵TMRの一般成分、中性デタージェント繊維(NDFom)および酸性デタージェント繊維(ADFom)は常法(自給飼料研究会編2009a)により分析した。また、カルシウムとTDNのうち市販配合飼料は保証成分、それ以外の各飼料は日本標準飼料成分表(農業・食品産業技術総合研究機構2010)の数値から引用した。WSCは、日本食品分析センターに依頼してアンスロン法(柗木1971)により行った。

エタノール以外の発酵TMRの品質と好氣的変敗の調査のために試料100g(原物)を採取してポリ袋に入れて脱気後冷蔵便で十勝農業協同組合連合会農産化学研究所(北海道)に送って分析を委託した。その際、粗飼料の品質評価ガイドブック(自給飼料研究会編2009b)に準じ

て分析した。すなわち、生サンプル50gに純水を100mL加えて 4°C 下で16時間以上浸漬処理後No.5Aの濾紙を使用して濾過した濾液を用いてpHメーター(F-52、(株)堀場製作所、京都)でpHを測定した。有機酸は遠心分離して水で6倍に希釈した濾液を用いて高速液体クロマトグラフィー(HPLC:CCP&8020、東ソー(株)、東京)で測定した。HPLCの運転時に、サンプラーAS-8020、カラムオープンCO-8020および検出器UV-8020の型式の各種器具を用いた。総窒素はケルダール法、VBNはオートアナライザー(QuAAtro、(株)ビーエルテック、東京)を用いて比色法で測定した。エタノールは、ガスクロマトグラフィー(GC-4000、ジーエルサイエンス(株)、東京)を用いて測定した。その際、直径2mm×長さ2mのステンレスカラムにGaskuropack54(60/80mesh、ジーエルサイエンス(株)、東京)を充填剤として用い、カラム温度 110°C 、注入部温度 250°C および検出器温度 250°C として標準エタノールを注入した検量線からエタノール濃度を測定した。

統計処理方法

発酵TMRの品質の実験結果は、JMP[®]10(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いて一元配置または二元配置による分散分析を行って平均標準誤差(SEM)を計算し、5%水準で有意差が認められた場合Tukeyの多重検定を行った。

結果および考察

発酵TMRの化学成分と発酵品質

表1に各飼料の日本標準飼料成分表(農業・食品産業技術総合研究機構編2010)実際の分析値または保証成分、および実際に分析またはそれらから算出した調製前の発酵TMRの化学成分と栄養価を示した。

その結果、素材数の実験以外の実験は、基準とした粗タンパク質、粗繊維およびTDN含量を満たすことが出来た。また、肉牛を肥育する際必要とされる成分(乾物%)NDFom16、ADFom10、カルシウム0.3(農業・食品産業技術総合研究機構編2010)も満たしており、実用可能な飼料配合と思われた。素材数違いによる実験は、基準としたWSC含量(乾物(13%))を満たすことが出来た。しかし、粗繊維含量は基準値を満たしていたが、4素材と6素材の場合の粗タンパク質、およびすべての素

表1. 供試飼料の化学組成と栄養価

項目	稲ワラ ¹	玄米 ¹	フスマ ¹	生米ヌカ ¹	乾燥豆腐粕 ¹	ビートパルプ ¹	配合飼料 ²	第二リン酸カルシウム ¹	発酵TMR ²			
									8素材	4素材	6素材	8素材
配合割合(乾物%)	20.0	24.0	20.0	10.0	10.0	5.0	10.0	1.0				
素材数が異なる実験の配合割合(乾物%)	4素材	12.5	12.5	0.0	0.0	0.0	62.5	0.0	12.5			
	6素材	12.5	12.5	20.8	20.8	0.0	20.9	0.0	12.5			
	8素材	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5			
水分(%)	12.2	14.8	13.2	12.0	8.2	11.5	11.8	4.0	-	45.0	45.0	45.0
粗タンパク質(乾物%)	5.4	8.8	18.1	16.8	27.0	9.6	14.7	0.0	13.1	7.8	11.0	12.6
粗脂肪(乾物%)	2.1	3.2	4.9	21.0	0.6	1.0	2.8	0.0	4.7	1.3	6.3	4.3
NFE ³ (乾物%)	42.8	85.6	60.2	43.4	56.6	64.3	65.9	0.0	57.7	56.2	51.0	52.5
WSC ⁴ (乾物%)	8.3	19.4	15.5	17.7	2.5	15.5	24.0	0.0	14.6	13.1	13.6	12.9
粗繊維(乾物%)	32.3	0.8	10.9	8.8	11.5	19.5	11.3	0.0	17.2	16.3	12.3	11.9
NDFom ⁵ (乾物%)	63.1	-	42.7	28.3	27.5	48.7	42.5	0.0	29.8	-	-	-
ADFom ⁶ (乾物%)	39.2	-	14.1	11.7	15.9	24.6	7.1	0.0	15.4	-	-	-
粗灰分(乾物%)	17.4	1.6	5.9	10.0	4.3	5.7	5.3	100.0	7.3	18.4	19.4	18.7
Ca(乾物%)	0.30	0.04	0.14	0.03	0.40	0.94	0.34	30.00	0.52	4.4	4.0	4.3
TDN ⁷ (乾物%)	42.9	94.9	72.3	91.5	88.1	76.0	80.5	0.0	75.6	64.7	67.1	68.7

¹: 日本標準飼料成分表から抜粋(WSCを除く), ²: 日本標準飼料成分, 分析値および保証成分から算出, ³: 可溶無窒素物, ⁴: 水溶性炭水化物, ⁵: 中性デタージェント繊維, ⁶: 酸性デタージェント繊維, ⁷: 可消化養分総量.

材数のときのTDNは基準値より低くなった。素材数の実験を供試した発酵TMRの品質が良好であっても低タンパク質、低エネルギー飼料であるため肉牛の飼料として実用化には向かないことが示された。

異なる水分含量、異なる乾物密度、異なる素材数および調製時に有機酸を添加して調製した発酵TMRの発酵品質の結果を表2～表5に示した。

異なる水分含量で貯蔵した発酵TMRの品質の結果(表2)、水分含量は調製時の水分含量をほぼ保っており、pHとエタノールは水分含量が低いほど、乳酸含量とVBN/T-N比は水分含量が高いほどそれぞれ有意に高かった。また、VFAが少なかったため、フリーク評点とV-scoreはいずれの発酵TMRとも95点以上と良好なサイレージの品質だった。通常、細断型ロールパル発酵TMRの水分は40～55%程度で調製されており(喜田ら2007; 平岡ら2005)、乳酸含量も1～4%(新鮮物)である。一方では、ポリエチレンバッグサイロに水分40～75%まで4段階の水分含量で2週間貯蔵すると水分含量が高いほど乳酸含量が低下する報告(近藤ら2005)もある。しかし、本実験の結果は水分が75%でも乳酸は1.96%(新鮮物)含まれており、近藤ら(2005)の報告と異なる結果だった。この違いの原因は不明だが、坂本・辻(1978)はイタリアンライグラスを異なった水分含量でサイレー

ジにすると、水分と乳酸含量は負の相関、酪酸含量は正の相関が認められている。これらのことから、良質な発酵TMRを調製するために適当な水分含量は40～50%程度と思われた。

異なる乾物密度で貯蔵した発酵TMRの品質の結果(表3)、水分含量は47%程度であり、ほぼ調製時の水分含量を保っていた。乳酸含量は密度が高くなるほど有意に高くなる傾向を示した。酢酸含量は全体として高くなったが、処理間に大きな差はなかった。VBN/T-N比も処理間に差はなかったが、エタノール含量は乾物密度が低いほど有意に高くなる傾向だった。V-scoreは乾物密度が200kg/m³のとき87.6と若干低かったがフリーク評点は100点であり、問題ない品質であると判断された。別途行った8素材を用いて水分45%で発酵TMRをパウチで調製した場合の乾物密度は332kg/m³だったことから、パウチを用いた発酵TMRの実験も300kg/m³以上の乾物密度で発酵TMRを調製すれば、良質の品質を得られると思われた。最近急速に普及している細断型ロールペーラを利用した発酵TMRは従来のトランスバッグの乾物密度(200kg/m³)に比較して1.23倍の乾物密度まで高めたことを確認している(喜田ら2007)。また、牧草サイレージの乾物密度が高くなるほどV-scoreが高くなる(清水2008)ことや、乾物密度とpHとは負の相関、

表2. 貯蔵時の水分含量の違いが発酵TMR¹の開封時の発酵品質に及ぼす影響 (28日間貯蔵)

項目	水分含量 (%)				SEM ²	有意性
	35	45	55	75		
pH	5.50 ^{a4}	4.50 ^b	4.00 ^c	3.90 ^c	0.07	** ⁵
水分 (%)	34.1 ^d	47.5 ^c	53.4 ^b	75.8 ^a	4.6	**
乳酸 (新鮮物%)	0.40 ^c	1.94 ^b	2.79 ^a	1.96 ^b	0.16	**
酢酸 (新鮮物%)	0.11 ^b	0.20 ^a	0.22 ^a	0.22 ^a	0.03	* ⁶
プロピオン酸 (新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS ⁷
酪酸 (新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS
VBN/T-N ³ (%)	1.03 ^b	3.87 ^a	4.23 ^a	5.17 ^a	0.33	**
エタノール (新鮮物%)	0.54 ^a	0.27 ^b	0.13 ^b	0.10 ^b	0.04	**
フリーク評点	98.3	90.0	100.0	100.0	3.0	NS
V-score	100.0	96.6	99.8	99.0	1.2	NS

¹: Total Mixed Ration, ²: Standard Error of Means, ³: Volatile Basic Nitrogen/Total Nitrogen, ⁴: 異符号間に5%水準で有意差あり, ⁵: $P < 0.01$, ⁶: $P < 0.05$, ⁷: Not Significant.

表3. 貯蔵時の乾物密度の違いが発酵TMRの開封時の発酵品質に及ぼす影響 (28日間貯蔵)

項目	乾物密度 (kg/m ³)				SEM	有意性
	200	300	400	500		
pH	4.30 ^a	4.10 ^b	4.00 ^c	4.00 ^c	0.00	**
水分 (%)	48.8	47.4	48.5	47.7	0.30	NS
乳酸 (新鮮物%)	2.26 ^b	2.67 ^b	2.93 ^a	2.90 ^{ab}	0.06	**
酢酸 (新鮮物%)	0.34 ^a	0.28 ^c	0.30 ^{bc}	0.31 ^{ab}	0.01	**
プロピオン酸 (新鮮物%)	0.00 ^b	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00	**
酪酸 (新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS
VBN/T-N (%)	3.93	3.93	3.67	3.63	0.65	NS
エタノール (新鮮物%)	0.41 ^a	0.30 ^{ab}	0.28 ^{ab}	0.25 ^b	0.03	*
フリーク評点	100.0	96.7	100.0	100.0	1.7	NS
V-score	87.6	98.7	99.2	99.1	5.7	NS

脚注：表2参照.

表4. 貯蔵時の素材数の違いが発酵TMR開封時の発酵品質に及ぼす影響 (28日間貯蔵)

項目	素材数			SEM	有意性
	4素材	6素材	8素材		
pH	4.30 ^a	4.10 ^b	4.00 ^c	0.00	**
水分 (%)	45.7	46.6	47.8	0.40	NS
乳酸 (新鮮物%)	0.12 ^c	1.31 ^b	1.65 ^a	0.05	**
酢酸 (新鮮物%)	0.06 ^c	0.31 ^a	0.21 ^b	0.01	**
プロピオン酸 (新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	NS
酪酸 (新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	NS
VBN/T-N (%)	1.80 ^c	2.97 ^a	2.23 ^b	0.08	**
エタノール (新鮮物%)	0.20 ^b	0.29 ^a	0.29 ^a	0.02	*
フリーク評点	86.0 ^b	100.0 ^a	100.0 ^a	1.8	**
V-score	99.1 ^b	99.9 ^a	100.0 ^a	0.1	**

脚注：表2参照.

表5. 貯蔵時の各種添加物の添加と貯蔵期間の違いが発酵TMRの開封時の発酵品質に及ぼす影響

項目	14日間貯蔵					28日間貯蔵					SEM	有意性		
	乳酸 ¹	酢酸 ²	プロピオン酸 ³	エタノール ⁴	無添加	乳酸 ¹	酢酸 ²	プロピオン酸 ³	エタノール ⁴	無添加		添加物	期間	添加物×期間
pH	3.73 ^b	4.07 ^{ab}	4.00 ^{ab}	4.37 ^a	4.20 ^{ab}	3.87 ^{ab}	4.03 ^{ab}	4.03 ^{ab}	4.07 ^{ab}	4.17 ^{ab}	0.05	*	NS	NS
水分(%)	55.3 ^c	54.0 ^c	55.9 ^c	54.7 ^c	52.9 ^c	58.0 ^b	57.7 ^b	58.2 ^b	57.1 ^b	61.2 ^a	0.5	NS	**	*
乳酸(新鮮物%)	3.23 ^a	2.40 ^a	2.90 ^a	0.78 ^b	2.77 ^a	3.11 ^a	2.77 ^a	2.90 ^a	2.96 ^a	2.53 ^a	0.14	**	*	**
酢酸(新鮮物%)	0.11 ^{cd}	0.88 ^a	0.27 ^{bcd}	0.09 ^d	0.37 ^{bc}	0.31 ^{bcd}	0.51 ^b	0.38 ^{bc}	0.33 ^{bcd}	0.39 ^b	0.02	**	NS	**
プロピオン酸(新鮮物%)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.16 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.12 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	0.01	**	NS	NS
酪酸(新鮮物%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS	NS	NS
VBN/T-N(%)	1.33 ^f	2.27 ^{def}	2.50 ^{de}	1.97 ^{ef}	3.07 ^{cd}	3.73 ^{bc}	4.70 ^{ab}	5.50 ^a	4.53 ^{ab}	5.37 ^a	0.09	**	**	**
エタノール(新鮮物%)	0.42 ^c	0.33 ^d	0.23 ^e	1.31 ^a	0.25 ^e	0.19 ^{ef}	0.13 ^f	0.14 ^f	0.82 ^b	0.19 ^{ef}	0.01	**	**	**
フリーク評点	100.0 ^a	93.3 ^b	98.3 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a	0.3	**	**	**
V-score	100.0 ^a	94.7 ^d	98.3 ^{abc}	100.0 ^a	98.6 ^{abc}	99.2 ^{ab}	97.6 ^{abc}	96.7 ^{cd}	99.0 ^{abc}	97.3 ^{bc}	0.2	**	NS	**

脚注：表2参照. 添加量(新鮮物%) = ¹: 乳酸3.0, ²: 酢酸0.3, ³: プロピオン酸0.3, ⁴: エタノール3.0.

乳酸含量とは正の相関がある(坂本・辻 1978) ことが認められている。乾物密度を高めることは、調製時に酸素を放出するので梱包後の牧草の呼吸が抑制され、乳酸発酵に必要なWSCが残存するため良質なサイレージを調製出来ると判断される。

WSC含量を13%(乾物)にして素材数を変えて調製した発酵TMRの結果(表4)、水分45~48%, pH4.0~4.3, V-score3以下, フリーク評点86点以上およびV-score99点以上といずれの素材数とも良好な品質だった。4素材の乳酸含量が0.12%と有意に低かった。4素材数の乳酸含量が低かった原因に調製時の素材のバラツキ等が考えられるが、その後の好気的変敗の実験では乳酸含量も高かったことから、明確な原因は不明だった。しかし、フリーク評点86点, V-score99点と良好な評価だったことから、特に問題になる品質ではないと判断された。豆腐粕またはビール粕単体、およびこれらの飼料に7種類の素材を2~10%(新乾物)配合して14日間および56日間貯蔵すると乾物中のWSC含量が高いほどpHが低く乳酸含量が高くなる傾向だった(Wang・Nishino 2008b) こと、3, 4, 5および6素材の飼料を用いてWSCを8%(乾物)に統一して14日間および56日間貯蔵するとpHは4.1~4.4, 乳酸含量は0.5~1.2%(Wang・Nishino 2008a) と差が小さかった報告を考慮すると、発酵TMRの品質は素材数には関係なく貯蔵時のWSC含量の高さに関係すると思われた。

調製時に有機酸またはエタノールを添加して貯蔵期間を14日間と28日間として調製した発酵TMRの結果(表5)、いずれの貯蔵期間とも調製時に添加した物質の影響

が開封時に反映していた。このことは添加した物質が多少は揮発されてしまうものの分解されることなく残っていたと思われる。酢酸やプロピオン酸は、後述の好気的変敗の抑制に使用される(北村 2014; 近藤ら 2006; Sebastian 1996) ことが多いが、これらの有機酸を添加しても開封時のフリーク評点とV-scoreも良好であり、好気的変敗の抑制を考慮すると調製時の添加を推奨されるかも知れない。大場ら(2002)は、エタノールは好気性菌類の活性を抑制する効果があり、青刈りエンバクに3%まで添加すると乳酸含量は増加するが、イタリアンライグラスライグラスに添加すると寧ろ減少することを報告している。この違いは材料草の化学成分あるいは付着する乳酸菌種が異なると推察している。本実験ではエタノール添加で乳酸含量が増加しなかったが、WSC含量が高い素材を用いた場合は乳酸発酵をさらに促進するなどの影響は弱かったと思われる。また、28日間貯蔵すると、14日間貯蔵よりVBN-/T-N比が高くエタノール濃度は低くなった。このことは、長期間貯蔵すると飼料中のタンパク質の変性が進んだためと思われた。Wang・Nishino(2008)も14日間と56日間の貯蔵期間の違いをみると、貯蔵期間の延長により乳酸と酢酸の増加を認めている。しかし、塩谷ら(2007)は、1年間貯蔵した細断型トウモロコシロールペールをウシに給与しても消化率と栄養価が変わらなかったことから発酵TMRでも同様のことが考えられ、1年間程度は貯蔵が可能であることを指摘している。これらのことから、発酵TMRの品質は、1年間程度の貯蔵期間であれば極端に劣化することではなく、実用給与可能な範囲であると考えられた。

好氣的安定性

各種要因で好氣的安定性を調査するために好氣的変敗の進行の結果を図1～図7に示した。好氣的変敗を調査する項目として、好氣的変敗が起こった判断として常温より2℃以上の温度上昇がある (Wang・Nishino 2008b) こと、好氣的変敗が進むとタンパク質の腐敗によりアンモニアが多くなり、その結果pHが上昇することから考えられることから、温度、pHおよびVBN/T-N比の変化を図に示した。

異なる水分含量で調製した発酵TMRの開封後の好氣的変敗の結果 (図1)、水分含量が55%以下の場合には9日間外気温と比較してほぼ2℃以内の温度差であったが、75%の場合には開封2日後位に25℃を超え4日後まで温度上昇が続いた。また、開封後の日数の経過に伴い水分含量が高いほどpHは低く、VBN/T-N比は高く推移した。高水分ほどタンパク質の分解が進んでアンモニアが生成されてVBN/T-N比が高くなったと思われるが、同時にpHは高くなり、図示しなかったが他の有機酸と照合してもこの現象を明確に説明出来なかった。近藤ら(2005)も水分40～75%まで4段階の水分含量で2週間貯蔵した後開封して30℃の人工気象室に120時間放置した結果、水分75%の場合開封24時間以降48時間までに35℃まで急激に上昇し、その後も下降することなく上昇する傾向を続けたが、一方、水分が64%以下の場合には120時間まで温度上昇が認められないことを報告している。水分含量が高くてもプロピオン酸濃度が高いと好氣的変敗が抑制される (McDonaldら 1991) が、開封時のプロピオン酸が0.22% (新鮮物) と低かったため好氣的変敗を抑制出来なかったと思われる。一方、バーミュダーグラスを予乾してサイレージにすると乳酸含量が増加するが、開封後の温度上昇が無予乾より早く出現する報告 (Umanaら 1991) もある。しかし、水分含量が高いと好氣的変敗を促進する理由として、微生物の成育 (増殖) は総水分により促進されるのではなく、微生物に利用される自由水により促進される (指原 2006) ので、一般に水分含量が高いと好氣的微生物に利用される自由水が多いことから水分含量75%のとき好氣的変敗が進むと考えられた。これらのことから発酵TMRの水分は前述のように40～50%程度にすることが推奨される。

異なる乾物密度で調製した発酵TMRの開封後の好氣

的変敗の結果 (図2)、乾物密度が200kg/m³の場合、開封2日～4日後までに外気温より2～3℃高くなったが、いずれの乾物密度でも総じて急激な温度上昇はみられなかった。また、開封後のpHとVBN/T-N比はいずれの乾物密度でも9日間開封時の値をほぼ維持しており、処理間の差も殆どなかった。牧草サイレージのように乾物密度が90～200kg/m³の場合、乾物密度と開封後の好氣的変敗は有意な相関はない (坂本・辻 1978) ことが報告されているが、本実験の発酵TMRや細断型ロールベール発酵TMRのように乾物密度が300kg/m³を超える場合、好氣的変敗が起こりにくく、その結果開封後のpHとVBN/T-N比も処理間に差がなく低く推移したと考えられた。

WSC濃度を13% (乾物) に統一して異なる素材数で調製した発酵TMRの開封後の好氣的変敗の結果 (図3)、素材数が4素材のとき開封後4～5日後までに2～3℃高くなったが、前述の異なる乾物密度の実験と同様に急激な温度上昇はみられなかった。一方、開封後のpHはいずれの素材数も9日間開封時の値を維持していたが、VBN/T-N比は6と8素材数のとき開封後9日後に急激に上昇した。この原因として、6素材のとき生米ヌカが20.8% (乾物) 配合、8素材のとき生米ヌカ、乾燥豆腐粕および配合飼料が合計37.5% (乾物) 配合と比較的変成し易いタンパク質が多く配合されていたためと思われる。また、VBN/T-N比が高く推移してもpHは処理間に差がなくほぼ開封時の値を維持した原因は、前述の異なる水分の実験と同じく相矛盾する結果と思われるが、この現象を説明するには乳酸やVFAなどと複合的な考察が必要と思われる。本実験では明らかに出来なかった。Wang・Nishino (2008b) は、豆腐粕とビール粕単体または他の素材と混合して14日間および56日間サイレージ発酵させた後開封すると、両貯蔵期間とも単体の場合4日以内に温度上昇がみられたが、他の7種の素材と一緒にする開封5日後まで温度上昇がみられなかったことを報告している。このとき、単体サイレージの温度上昇が早かった原因として、サイレージの調製時のWSC含量が3～4% (乾物) と少なかったことと、サイレージ中乳酸含量が少ないことに関係しているようだった。また、乾物中のWSCを8%に統一して3, 4, 5および6素材で14日間と56日間貯蔵した発酵TMRは開封後、56日間貯蔵ではいずれ発酵TMRとも14日以上温度上昇がみられなかった

が、14日間貯蔵では3素材が5日後、他の素材は9~12日後に温度上昇がみられた(Wang・Nishino 2008a)。また、この場合もすべての素材で開封7日後までのpHは、本実験と同様に開封時の値を維持していた。本実験と直接比較は出来ないが、WSCが10%（乾物）程度以上ある素材を28日間以上の貯蔵期間で発酵TMRを調製すると素材数に関係なく好気的変敗が起こり難いのかも知れない。発酵TMRの好気的変敗の進行を素材数とWSCの関係で追求する詳細な検討がさらに必要であると思われた。

貯蔵時に各種添加物を利用して14日間（図4）と28日間（図5）貯蔵した発酵TMRの開封後の好気的変敗の結果、14日間無添加で貯蔵した発酵TMRの場合、開封1日後から温度上昇が始まり2日後に30℃、乳酸とエタノールを添加した場合も開封1日後に25℃をそれぞれ超えた。開封後のpHは日数の経過に伴い上昇する傾向を示し、特にエタノールを添加すると開封9日後には6以上と高いpH値を示した。しかし、VBN/T-N比は処理間の差が若干みられたが、5以下と低く推移して上昇する傾向はみられなかった。一方、28日間貯蔵した発酵TMR場合、無添加で開封2日後、乳酸添加で開封7日後若干の温度上昇がみられたが、総じて外気温より低く推移する傾向だった。開封後のpHは開封後上昇する傾向を示し、特に無添加で開封9日後6近い高い値を示した。しかし、VBN/T-N比は14日間貯蔵と同様に一定の傾向はみられなく、処理間のバラツキが大きいものの、5以下と低く推移した。

無添加の素材から14日間（図6）と28日間（図7）で調製した発酵TMRを開封して水道水で洗浄し、水分が50%程度になるように脱水後有機酸とエタノールを添加した発酵TMRの好気的変敗の結果、14日間貯蔵した発酵TMRの場合無添加とエタノール添加が開封2日後約35℃まで急激な温度上昇、乳酸添加で2.5日後25℃を超える温度上昇がみられたが、他の処理は外気温とほぼ同じ温度で推移した。pHは4日後上昇し安定する傾向を示したが、乳酸を添加すると低く推移した。VBN/T-N比はいずれの処理も3以下の低い値で推移した。一方、28日間貯蔵した発酵TMRの場合すべての処理は外気温より2℃以上高くなることはなく、むしろ外気温より低く推移する傾向だった。pHは開封1日後一端上昇するものの以後下降する傾向を示した。乳酸添加により14日間貯

蔵と同様に4以下の値で低く推移した。VBN/T-N比も14日間貯蔵と同様にいずれの処理も4以下の低い値で推移した。

調製時および開封・洗浄後有機酸またはエタノールを添加して14日間貯蔵した場合、酢酸とプロピオン酸を添加すると温度上昇を抑えるなど好気的変敗抑制効果があることを示した。有機酸の抗菌作用を理解する上でpHと非解離型分子との関係は極めて重要であり、酢酸とプロピオン酸は、pHが4のときの非解離型分子の割合が乳酸より高い（西野 2012）。非解離型酢酸0.6~1.4%になるように添加（近藤ら 2006）、プロピオン酸添加（Sebastianら 1996）および高プロピオン酸濃度コーンサイレージ（Kungら 2000）でも好気的変敗抑制が確認されているが、水分含量が高い条件下ではより高いプロピオン酸濃度が必要である（Kung 2000）ことが指摘されており、今後、これらの非解離型分子の高低と好気的安定性についてさらなる検討が必要と思われる。また、近藤ら（2006）は、エタノール添加により開封24時間以降発酵TMRの温度上昇を認めており、エタノールは好気的変敗を抑制する効果はないと判断された。14日間貯蔵の場合乳酸を添加すると開封2日後以降温度上昇がみられたが、大部分の酵母は乳酸の資化能を有する（McDonaldら 1991）ことから、開封後これらの酵母の増殖が活発になったため14日間貯蔵で温度上昇があったと考えられた。28日間貯蔵すると温度上昇が小さかったが、Umanaら（1991）とWang・Nishino（2008a；2008b）も貯蔵期間の延長で好気的変敗が抑制されることから、1カ月間貯蔵するとグルコースや澱粉などの易発酵性の成分が消費されたため温度上昇がみられなかったと推察された。

以上の結果、発酵TMRの好気的変敗を抑制する物理的と化学的要因のうち、水分、乾物密度、非解離性分子の物質および貯蔵期間が重要であることがあったと思われる。また、好気的変敗の進行と、pHおよびVBN/T-N比は直接的な関係がないと判断された。

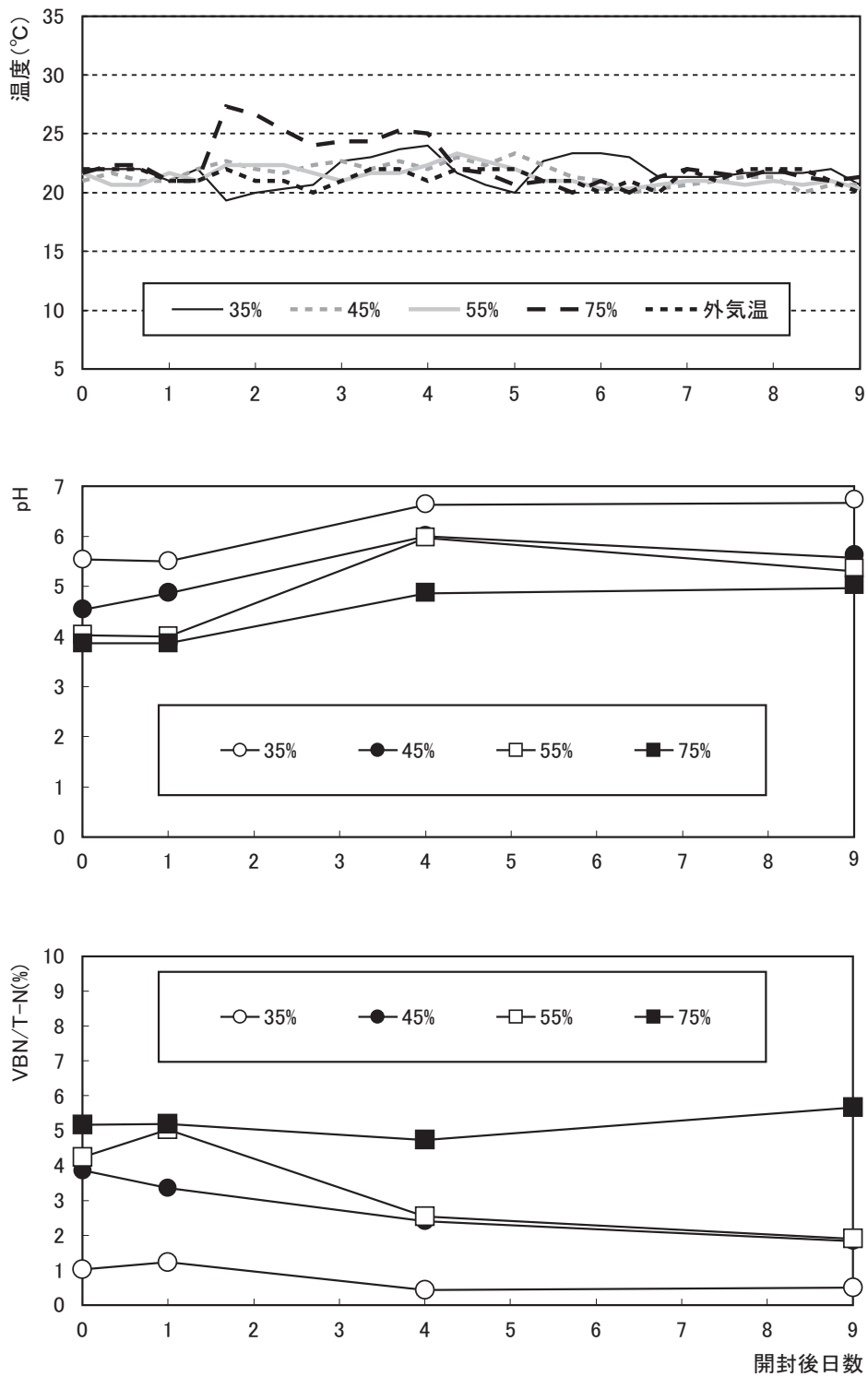


図1. 貯蔵時の水分含量の異なる発酵TMRの開封後の温度, pHおよびVBN/T-Nの変化

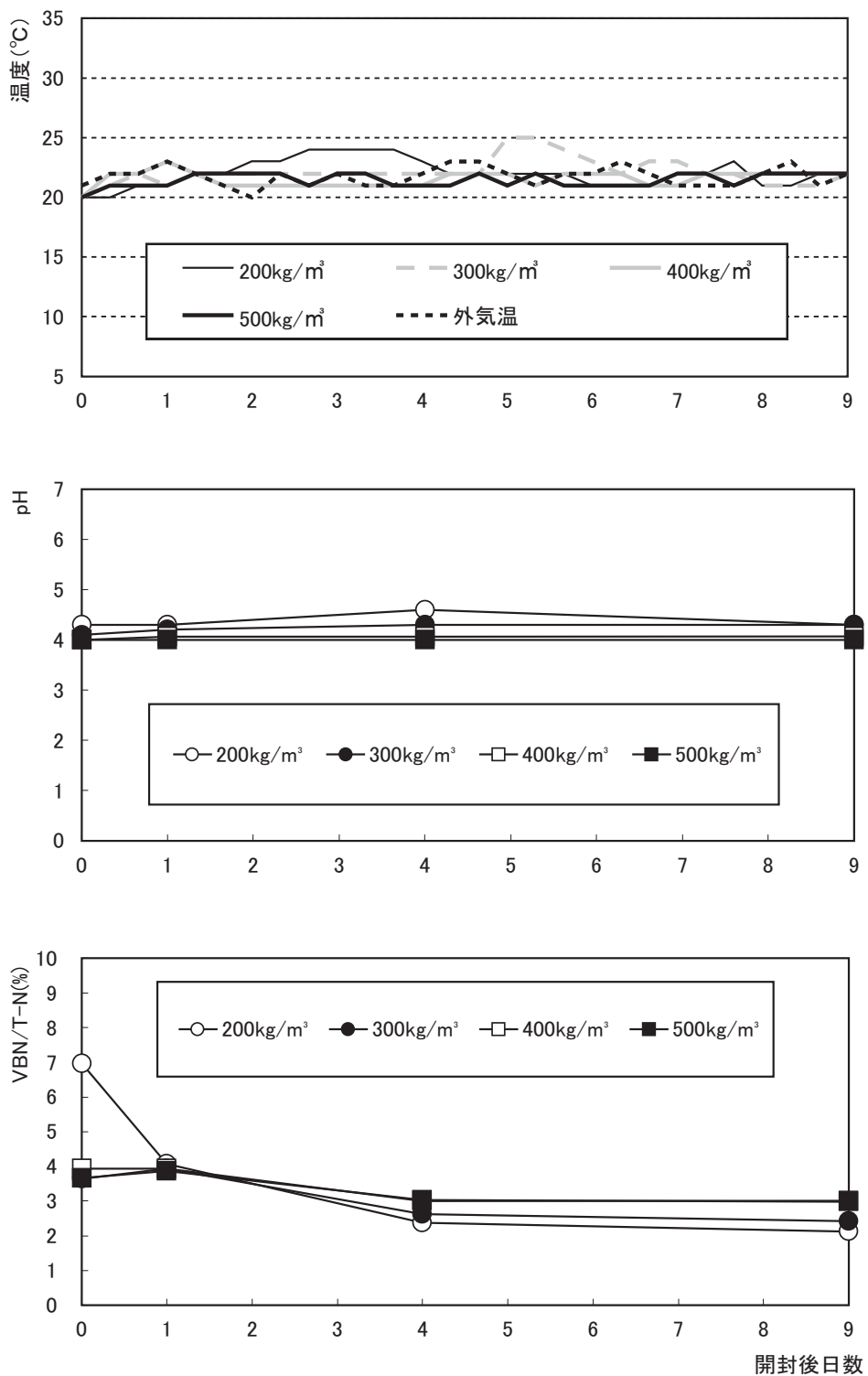


図2. 貯蔵時の乾物密度が異なる発酵TMRの開封後の温度，pHおよびVBN/T-Nの変化

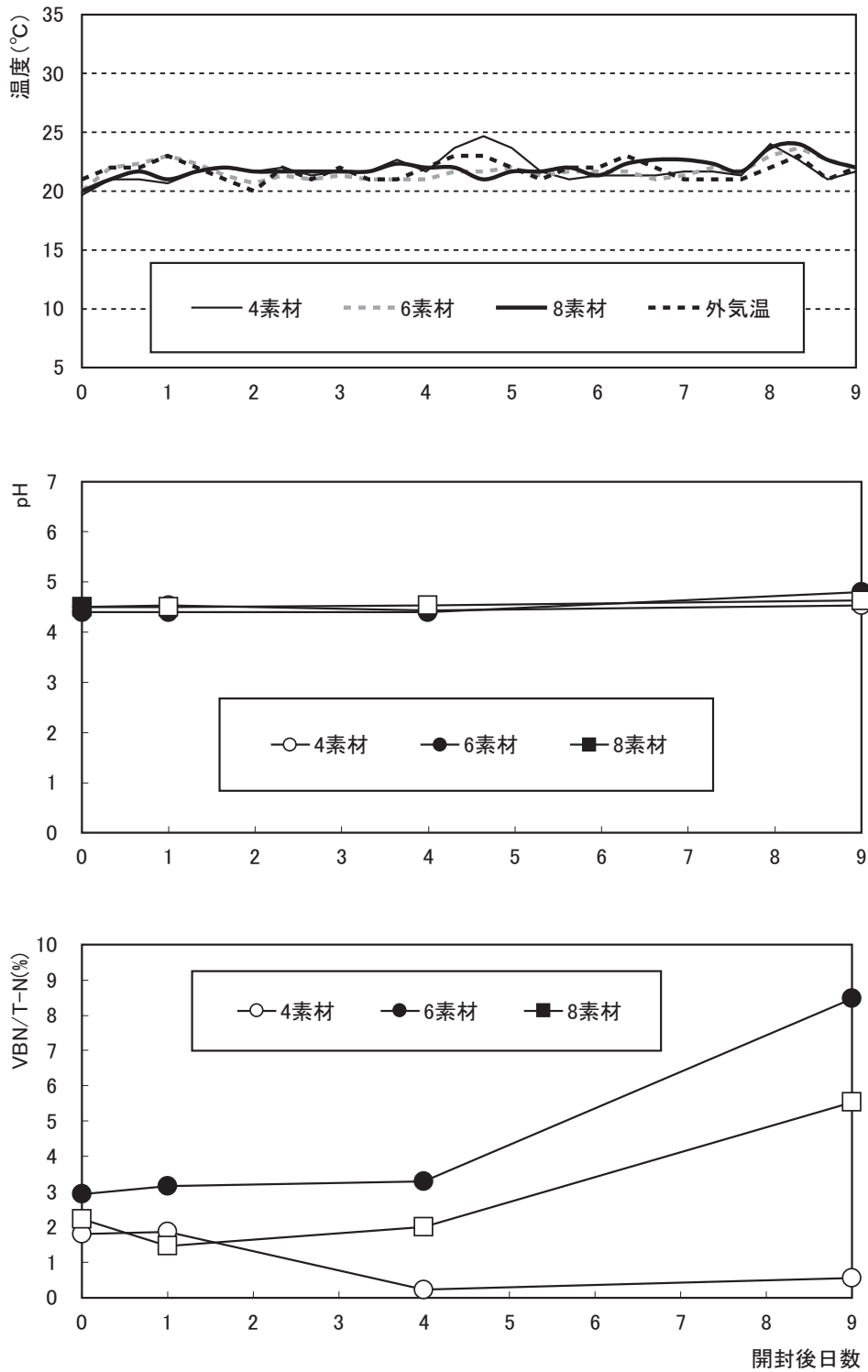


図3. 貯蔵時の素材数が異なる発酵TMRの開封後の温度、pHおよびVBN/T-Nの変化

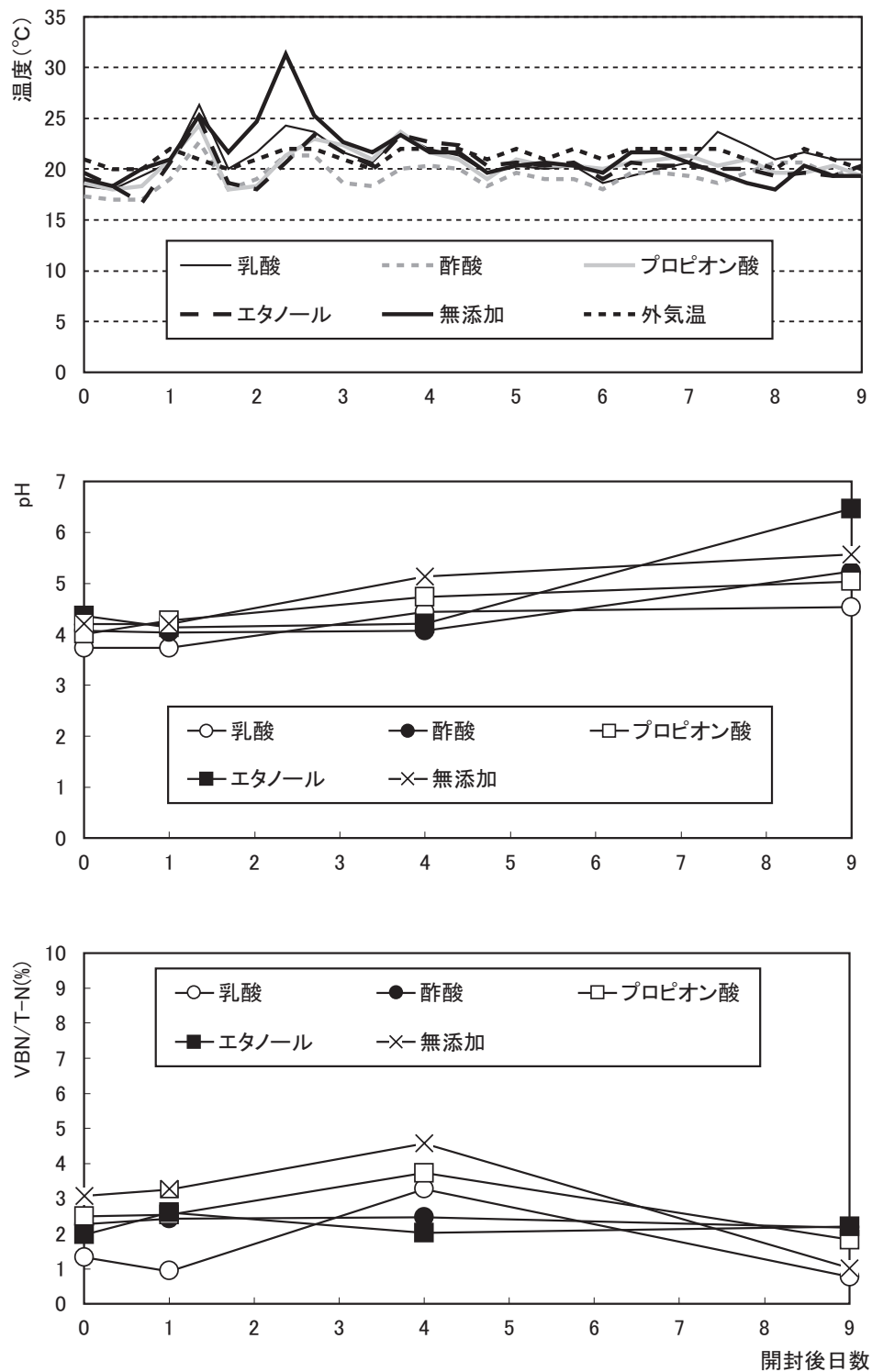


図4. 貯蔵時に各種添加物を利用した発酵TMRの開封後の温度、pHおよびVBN/T-Nの変化 (14日間貯蔵)

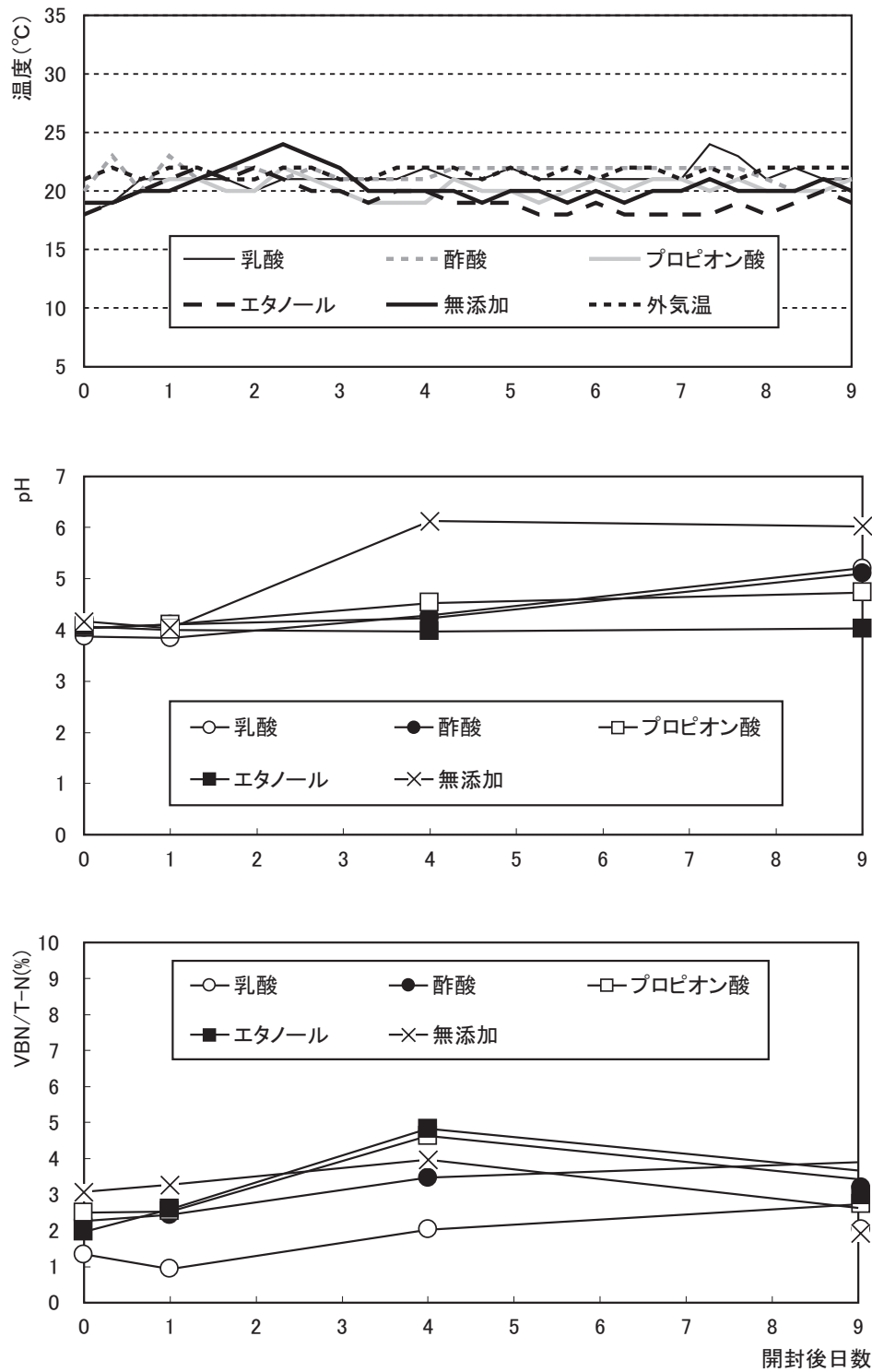


図5. 貯蔵時に各種添加物を利用した発酵TMRの開封後の温度、pHおよびVBN/T-Nの変化(28日間貯蔵)

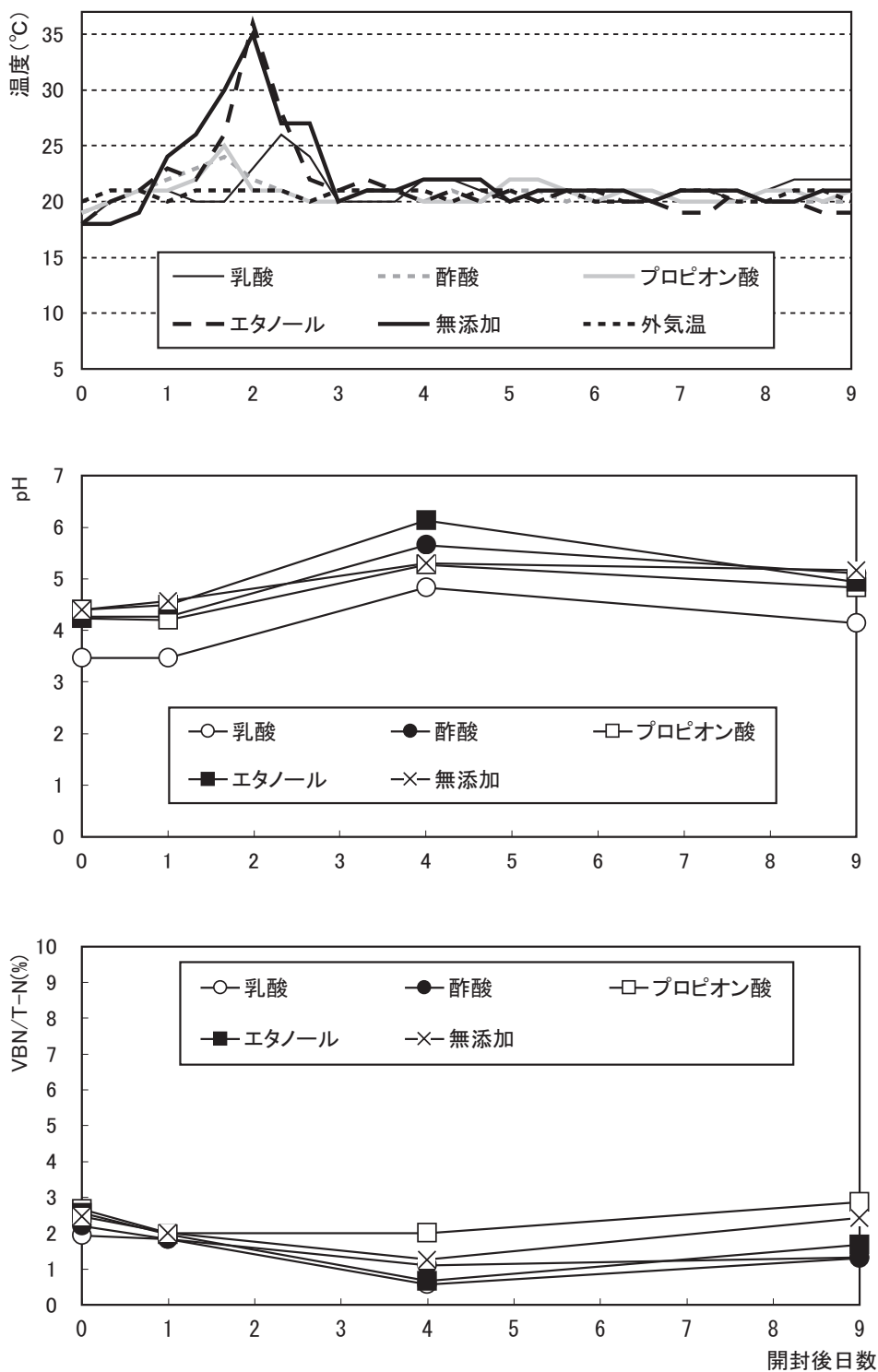


図6. 発酵TMRを開封・洗浄して各種添加物を添加後の温度、pHおよびVBN/T-Nの変化(14日間貯蔵)

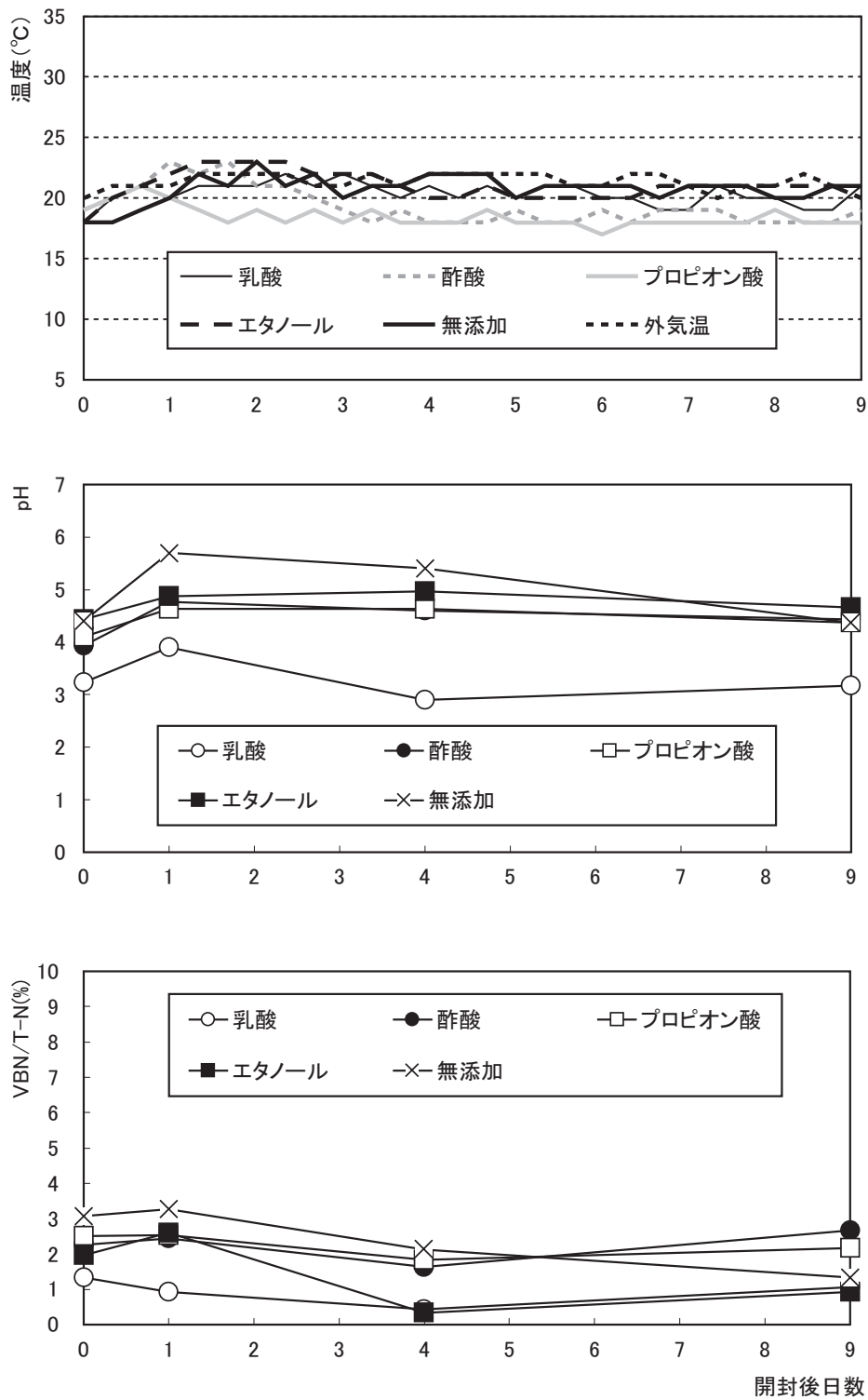


図7. 発酵TMRを開封・洗浄して各種添加物を添加後の温度、pHおよびVBN/T-Nの変化(28日間貯蔵)

摘 要

未利用資源を利用し各種物理的および化学的条件下で発酵TMRを調製して発酵品質と開封後の好氣的安定性を調査した。異なる水分含量と乾物密度, 乾物中WSC含量を統一して素材数が異なる発酵TMR, および有機酸またはエタノールを添加して発酵TMRを調製した。その結果, いずれの発酵TMRともフリーク評点とV-scoreが85点以上の良質な発酵品質のサイレージを調製することが出来た。発酵TMRを開封した後温度上昇から判断される好氣的安定性のうち, 水分含量が55%以下および乾物密度が300kg/m³以上であれば好氣的変敗が起り難いことが分かった。WSCが13%程度(乾物)であれば素材数に関係なく好氣的変敗が起り難いようだった。また, 貯蔵時と開封・洗浄後に各種添加物を添加する実験から, 酢酸とプロピオン酸を添加すると好氣的変敗を抑制することが示唆された。さらに, 好氣的変敗を抑制する発酵TMRを調製するには, 1カ月以上貯蔵すると有効であることが分かった。この原因として発酵TMRを調製するために1カ月以上貯蔵すると, グルコースや澱粉などの糖が貯蔵中に消費されるので好氣的変敗に必要な栄養源が減少したため好氣的変敗が起り難いと考察した。発酵TMRの好氣的変敗の進行とpHおよびVBN/T-N比は関係ないと思われた。

引用文献

- Cao, Y., T. Takahashi and K. Horiguchi (2009) Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 151 : 1-11.
- Cao, Y., T. Takahashi, K. Horiguchi and Y. Yoshida (2010a) Effect of adding lactic bacteria and molasses on fermentation quality and *in vitro* ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. *Grassland Science*. 56 : 19-25.
- Cao, Y., T. Takahasahi, K. Horiguchi, Y. Yoshida and Y. Cai (2010b) Methane emission from sheep fed fermented or non-fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. *Animal Feed Science and Technology*. 52 : 72-78.
- Cao, Y., T. Takahashi, K. Horiguchi, Y. Yoshida and D. Zhou (2012) *In vitro* ruminal dry matter digestibility and methane production of fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. *Grassland Science*. 58 : 133-139.
- Cao, Y., Y. Cai and T. Takahashi (2013) Ruminal digestibility quality of silage converted via fermentation by *Lactobacilli*. *Lactic Acid Bacteria*. (Edited by M. Kongo) 363-378. Intech. Croatia.
- Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wixselaar (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*. 56 : 330-343.
- 平岡啓司・山本泰也・小出 勇・田中善之・乾 清人・浦川修司 (2005) ラップサイロに調製した稲発酵粗飼料主体TMRの好氣的変敗抑制効果. *日本草地学会誌*. 51 (別) : 124-125.
- Hu, W., R. J. Schmidt, E. E. McDonell, C. M. Klingerman and L. Kung Jr. (2009) The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science*. 92 : 3907-1788.
- 自給飼料研究会編 (2009a) 粗飼料の品質評価ガイドブック. 6-21. (社)日本草地畜産種子協会. 東京.
- 自給飼料研究会編 (2009b) 粗飼料の品質評価ガイドブック. 64-78. (社)日本草地畜産種子協会. 東京.
- 北村 亨 (2014) トウモロコシサイレージにおける乳酸菌の役割と二次発酵抑制資材のご紹介. *牧草と園芸*. 62 : 26-29.
- 喜田環樹・松尾守展・重田一人・松山裕城・守谷直子 (2007) 市販細断型ロールベールによるロール発酵TMR調製事例. *日本草地学会誌*. 53 (別) : 114-115.
- 近藤 誠・柳沢淳二・喜多一美・横田浩臣 (2005) TMRサイレージの開封後における安定性と水分含量の関係. *東海畜産学会報*. 16 : 26-28.
- 近藤 誠・柳沢淳二・西野直樹・喜多一美・横田浩臣 (2006) 酸およびアルコール添加による牛用混合飼料(TMR)の変敗の抑制の検討. *日本草地学会誌*. 52

- (別) : 368-369.
- Kung, L., J. R. Robinson, N. K. Ranjit, J. H. Chen, C. M. Golt and J. D. Pesek (2000) Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science*. 83 : 1149-1155.
- Kung, L. and N. K. Ranjit (2001) The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*. 84 : 1149-1155.
- 榎木茂彦 (1971) 動物栄養試験法 材料 (牧草) 中の可溶性炭水化物の定量. (森本 宏監修)422-424. 養賢堂. 東京.
- McDonald, P., N. Henderson and S. Heron (1991) The biochemistry of silage. Second edition. 12-111. Chalcombe Publications. Bucks. United Kingdom.
- Nishino, N., H. Wada, M. Yoshida and E. Sakaguchi (2004) Microbial counts, fermentation products and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Dairy Science*. 87 : 2567-2570.
- 西野直樹 (2012) 最新サイレージバイブル. (安宅一夫監修)16-23. 酪農学園大学エクステンションセンター. 北海道.
- 農業・食品産業技術総合研究機構編 (2010) 日本標準食品成分表. 27-103. 136-161. 中央畜産会. 東京.
- 野中 和夫 (2012) 最新サイレージバイブル. (安宅一夫監修) 182-187. 酪農学園大学エクステンションセンター. 北海道.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (2000) 日本飼養標準・肉用牛. 4-18. 31-34. 89-99. 中央畜産会. 東京.
- 大場 憲子・飛佐 学・下條雅敬・矢野 蜜蜂・増田 泰久 (2002) 青刈りエンバク及びイタリアンライグラスサイレージ調製におけるエタノール添加効果. 九州大学大学院農学研究院学芸雑誌. 57 : 11-15.
- 坂本 登・辻 久郎 (1978) 梱包サイレージの密度に関する研究 第1報 梱包密度と品質および二次発酵の関係. 三重県農業研究所研究報告. 6 : 79-84.
- 指原信廣 (2006) 微生物学 食物保存と微生物汚染. (堀越弘毅監修) 270-280. オーム社. 東京.
- Sebastian, S., L. E. Phillip, V. Feller and E. S. Idziaki (1996) Comparative assessment of bacterial inoculation and propionic acid treatment of aerobic stability and microbial populations of ensiled high-moisture ear corn. *Journal of Animal Science*. 74 : 447-456.
- 清水 友 (2008) サイレージ発酵を左右する要因について. 牧草と園芸. 56 : 5-7.
- 塩谷 繁・細田健次・松山裕城 (2007) 発酵 TMR の飼料特性と利用の展望. 栄養生理研究会報. 51 : 1-5.
- 曹 陽・堀口健一・高橋敏能 (2009) 食品残渣と乳酸菌の利用が飼料イネ TMR サイレージの発酵品質改善ならびに *in vitro* による乾物消失率に及ぼす影響. 日本草地学会誌. 55 : 1-8.
- 須藤 立・堀口健一・高橋敏能・豊川好司 (2007) 緑茶飲料残渣の配合割合と水分含量が TMR サイレージの発酵品質と *in situ* 消失率に及ぼす影響. 日本草地学会誌. 53 : 127-132.
- 田川伸一・堀口健一・吉田宣夫・高橋敏能 (2011) リードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) 発酵 TMR の発酵品質に及ぼすミカンジュース, トウフ粕, トウモロコシジスチラーズグレインソリュブルおよび酵素の利用の影響. 日本草地学会誌. 57 : 7-12.
- Tagawa, S., M. Morita, K. Horiguchi Y. Yoshida and T. Takahashi (2014a) The effect of use of tofu cake, corn distiller's dried grains with solubles and enzyme on fermented total mixed ration with second cutting reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.). *Bulletin of Yamagata University (Agricultural Science)*. 17 : 1-7.
- Tagawa, S., K. Horiguchi, N. Yoshida and T. Takahashi (2014b) Changes in vitamin A added to a fermented total mixed ration prepared with reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.). *Animal Science Journal*. 85 : 787-791.
- 内田 豪・堀口健一・吉田宣夫・高橋敏能 (2011) 夏季と冬季に調製した発酵 TMR の品質の改善と二次発酵に及ぼす影響. 東北畜産学会報. 61(2) : 23.
- Umama, R., C. R. Staples, D. B. Bates, C. J. Wilcox and W. Mahanna (1991) Effects of a Microbial and (or) sugarcane molasses on the fermentation, aerobic

- stability, and digestibility of bermudagrass ensiled at two moisture contents. *Journal of Animal Science*. 69 : 3588-4601.
- Wang, F. and N. Nishino (2008a) Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration formulation, air infiltration and storage period on fermentation characteristics and aerobic stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88 : 133-140.
- Wang, F. and N. Nishino (2008b) Ensilaging of soybean curd residue and wet brewers grains with or without other feeds as a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*. 91 : 2380-2387.
- Wilkinson, J. M. and D. R. Davis (2012) The aerobic stability of silage : key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*. 68 : 1-19.