

13 簡易型反射式光度計を用いたサイレージのアンモニア態窒素濃度測定

中央家畜保健衛生所

二ノ宮 奈緒子

肉用牛の生産現場では、飼料用稲やイタリアン等の自給飼料サイレージが広く利用されており、発酵品質や栄養価を現場でも簡易かつ迅速に評価できる方法が望まれている。

発酵品質の重要な指標物質の一つが、タンパク質の分解により生じる揮発性塩基態窒素(VBN)であるが、サイレージ中のVBNの大部分はアンモニアであることが判明している。また、家畜への影響では、アンモニアの増加による採食量の減少などが報告されている¹⁾。アンモニア態窒素を測定する公定法には、微量拡散法や水蒸気蒸留法などが知られているが、操作が煩雑で判定までに長時間を要したり、大型の特殊機械を必要とするなど、現場での測定は困難である。

そこで今回、硝酸態窒素濃度の測定などに使用される簡易型反射光度計(RQフレックス)を用いてサイレージ中のアンモニア態窒素濃度の簡便な測定方法(RQフレックス法)について検討したので、その結果を報告する。

1 材料および方法

(1) RQフレックス法の有用性の検討

材料には、平成27年6月から10月に黒毛和種繁殖農家10戸で採材した、ラップサイレージ21検体(イタリアン15検体、稲5検体、スーダン1検体)を用いた。

方法は、同じ検体を公定法である水蒸気蒸留法とRQフレックス法によりアンモニア態窒素濃度を測定し、測定値の比較を行った。測定は、まず、サイレージを蒸留水に浸して、4℃で16~24時間静置後、濾紙(No.5A)で抽出液を回収した。

水蒸気蒸留法は専用試験管に抽出液20mLを分

注、ホウ酸緩衝液(pH9.5)50mLを加え混合し、ケルダール自動蒸留滴定装置にて測定した。なお、滴定指示薬には0.1%プロモクレゾールグリーンおよび0.1%メチルレッド溶液を用いた。

一方、RQフレックス法は、専用容器に抽出液を分注し、恒温槽で25℃に保ちながら、付属の試薬(27%水酸化ナトリウム水溶液)を加え十分に攪拌し、試験紙を約2秒間浸して直に取り出し15分間反応後、速やかに測定した(図-1)。



図 - 1 ケルダール自動蒸留滴定装置(左)およびRQフレックスと試験紙(右)

(2) RQフレックス法における試料温度の影響

RQフレックス法において、抽出液の温度が測定値に及ぼす影響を調べるため、25℃と4℃の条件下で測定し、測定値を比較した。

(3) サイレージの抽出時間および濾過の影響

抽出時間を10分間に短縮し、濾過しない抽出液と(1)の抽出液を用いたRQフレックス法の測定値を比較した。

2 成績

(1) RQフレックス法の有用性の検討

RQフレックス法と公定法の相関について、相関係数 $r=0.944$ と高い相関が認められた(図-2)。

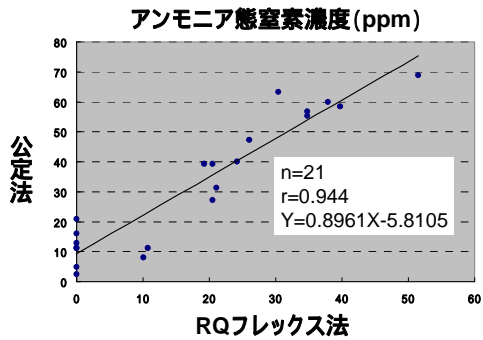


図 - 2 RQフレックス法と公定法の相関

また、今回公定法で 20ppm 未満となった検体のほとんどは、RQ フレックス法で検出できなかったことから、20ppm 未満を検出限界とし、20ppm 以上の測定値について単回帰分析を行ったところ、回帰式は $Y=1.162X+2.455$ (Y: 公定法, X: RQ フレックス法) と表された (図 - 3)。

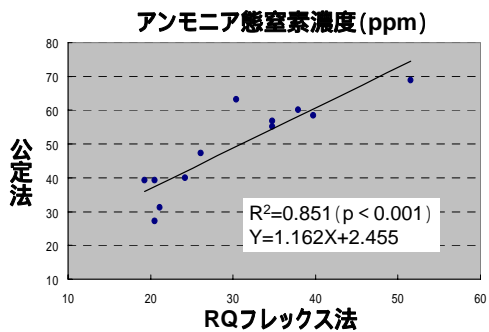


図 - 3 20ppm以上の検体の回帰式 (RQフレックス法 公定法)

(2) RQ フレックス法における試料温度の影響
RQ フレックス法は試料温度により測定値に差があった。

4 では検出限界未満となることが多く、また、検出された場合でも、25 と比較して低い値を示した (図 - 4)。

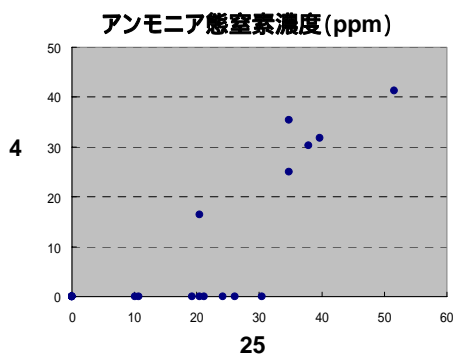


図 - 4 測定時の試料の温度の影響 (RQフレックス法)

(3) サイレージの抽出時間および濾過の影響

サイレージの抽出のため、一晚静置後濾過した検体と、約 10 分間静置後、濾過せずそのまま試験紙を浸して RQ フレックスで測定を行った場合について比較したところ、ほとんどその値に差は認められなかった (図 - 5)。

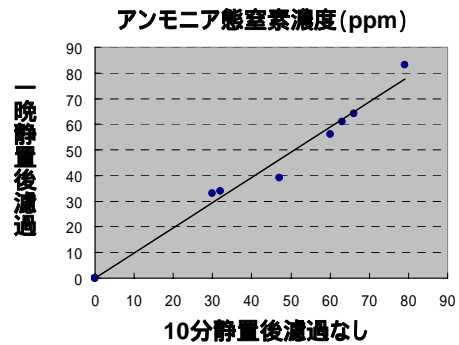


図 - 5 抽出時間、濾過の影響 (RQフレックス法)

3 まとめ

今回用いた RQ フレックス法によるアンモニア態窒素濃度測定法は簡便で、公定法との相関も良好な結果が得られた。

公定法でアンモニア態窒素濃度が 20ppm 以上の検体は、回帰式で RQ フレックス法から公定法の値へ推定可能であることが示唆され、RQ フレックス法は活用可能と思われた。

RQ フレックスの取扱説明書によると、アンモニア測定の場合、その測定値は試料温度に依存するとされており、その影響についても検討したところ、温度により測定値が大きく異なる結果が得られた。したがって、やはり試料は恒温槽などを使用し、取扱説明書記載の温度 (20 ~ 180ppm の場合 15 ~ 25) に保つ必要があると思われた。

さらに、抽出段階において、一晚静置後濾過した検体と、10 分間静置後濾過しない検体について測定値を比較したところ、その結果にほとんど差が認められなかったことから、サイレージからの抽出時間短縮および省力化が可能と思われた。今回 RQ フレックス法を用いたサイレージ中のアンモニア態窒素濃度の測定方法を図 - 6 に示した。

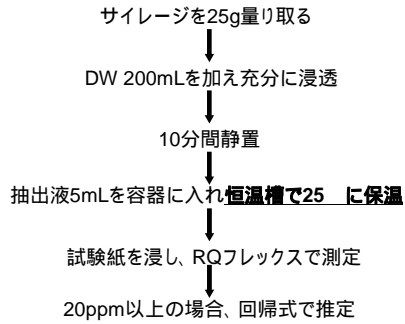


図 - 6 RQフレックス法によるサイレージのアンモニア態窒素濃度の簡易測定法

しかし、今回はアンモニア態窒素濃度が100ppm以上のデータが得られなかったことから、高濃度の検体でもアンモニア態窒素濃度の測定が可能か精度の検証が必要と思われた。今後はさらに検体数を重ね、抽出方法などを検討することで、精度の向上を図り、簡易にサイレージの品質を判定できる基準を確立したい。

最後に、ケルダール自動蒸留測定装置を用いたサイレージのアンモニア態窒素濃度測定についてご指導・ご助言いただいた長崎県農林技術開発センター畜産研究部門に深謝いたします。

参考文献

- 1) 自給飼料利用研究会：三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック,74-77, (2009)