

## 窒素源の違いが *in vitro* におけるトウモロコシデンプンの分解に及ぼす影響

渡辺 隆成・谷口 幸三  
小櫃 剛人・山谷 洋二

広島大学生物生産学部, 東広島市 724

1993年4月25日 受付

**要旨** 粗濃比50:50と20:80, 粗蛋白質含量12%と17%とする4種類の飼料を摂取している羊の反芻胃内容液を用いて, *in vitro* でのトウモロコシデンプンの分解率に及ぼす添加窒素源(コーングルテンミール, コーングルテンミール+リジン, カゼイン, 尿素)の影響を調べた。トウモロコシデンプンの分解率は, 低蛋白質飼料給与時の反芻胃内容液に比べて, 高蛋白質飼料給与時の反芻胃内容液による培養で高くなった。いずれの反芻胃内容液でも, カゼインおよび尿素の添加培養によるデンプン分解率がコーングルテンミールの単独添加あるいはリジン混合物の添加培養に比べて高くなった。培養基質へのリジンの添加はデンプン分解率に影響を及ぼさなかった。アミノ酸よりもアンモニア態窒素がトウモロコシデンプンの分解の程度に密接に関係していると推察された。

**キーワード:** *in vitro*, 粗蛋白質含量, 粗濃比, 窒素源, デンプン分解

### 緒 言

穀類中に含まれる炭水化物は主にデンプンであり, デンプンの反芻胃内での消化の程度は微生物合成や宿主へのエネルギー供給に大きな影響を及ぼす。反芻胃内におけるデンプンの消化率は, 穀類の種類によって違い, トウモロコシデンプンは大麦デンプンに比べて, 反芻胃内消化率の低いことが知られている (MCARTHY *et al.*, 1989)。しかし, 反芻胃内におけるデンプンの消化に及ぼす補給蛋白質源の影響については不明である。

TANIGUCHI *et al.* (1991)は, 去勢牛にトウモロコシあるいは大麦と大豆粕あるいはコーングルテンミールを組み合わせて給与した際, デンプンの反芻胃内消化率は, 大麦では蛋白質源によって影響されなかつたが, トウモロコシでは大豆粕添加に比べて, コーングルテンミール添加で低下することを見い出した。トウモロコシとコーングルテンミールの組合せでは, 反芻胃内微生物の利用可能なアンモニア態窒素量が少ないために, デンプンの消化率が低くなるのかもしれない。またトウモロコシとコーングルテンミールはともにそのアミノ酸組成上, リジン含量の少ないので特徴であり, デンプン分解菌の増殖に対してリジンが制限アミノ酸になったとも考えられる。

本試験では, 粗濃比および粗蛋白質含量の異なる飼料を給与した羊から反芻胃内容液を採取し, *in vitro* でのトウモロコシデンプンの分解に及ぼす添加窒素源(コーングルテンミール, コーングルテンミール+リジン, カゼイン, 尿素)の影響について検討した。

### 実験方法

#### 供試家畜と飼養管理

第一胃にカニューレを装着したコリデール×サフォーク雑種去勢羊3頭を供試し(平均体重49.4 kg; 43~61 kg), 個体毎にペンで飼育した。羊には圧片トウモロコシ・コーングルテンミール・細切イタリアンライグラス1番刈り乾草・ミネラル・ビタミンを給与した。これら飼料原料の配合割合を変えることにより, 粗飼料と濃厚飼料の乾物比が50:50, 飼料中の粗蛋白質含量が乾物中12% (以下, 中濃・低蛋白飼料) と17% (中濃・高蛋白飼料) の飼料, ならびに粗飼料と濃厚飼料の乾物比が20:80, 粗蛋白質含量が乾物中12%

(高濃・低蛋白飼料) と 17% (高濃・高蛋白飼料) の都合、4 種類の飼料を給与した (Table 1)。給与飼料の化学組成を Table 2 に示した。

各羊とも、中濃・高蛋白飼料→中濃・低蛋白飼料→高濃・低蛋白飼料→高濃・高蛋白飼料の順に飼料を給与した。飼料の給与量は、中濃・高蛋白飼料を 3 週間自由採食させ、そのときの各羊の最大摂取量を試験終了時まで、1 日 2 回 (8:30, 17:00) 等分給与した。各飼料区とも予備期を 2 週間とし、15 日目の朝の給飼前に反芻胃内容液を採取した。

#### *in vitro* 消化試験

培養基質：培養基質には、デンプン源として圧片トウモロコシ (0.5 g) を用い、添加窒素源としてコーングルテンミール、コーングルテンミールとリジンの混合物、カゼインあるいは尿素を用いた。これらの基質のうち、トウモロコシおよびコーングルテンミールは通風乾燥 (60°C, 2 日間) し、1 日室温に放置した後、1 mm メッシュで粉碎したものを使用した。培養基質は窒素源の種類を変えることによって 6 つの添加区を設けた。窒素源にカゼインと尿素を用いた添加区をそれぞれ CA 区、U 区とした。また、窒素源にコーングルテンミールのみを用いた添加区を CL<sub>0</sub> (リジン含量 : 2.4%) 区、コーングルテンミールとリジンの混合物を用いた添加区を CL<sub>1</sub> (3.1%), CL<sub>2</sub> (3.8%), CL<sub>3</sub> (4.5%) 区とした。括弧内の数値は基質の粗蛋白質中のリジン含量である (Table 3)。各培養処理とも培養基質からの窒素量は 12.8 mg (粗蛋白質含量で 17%) 一定とした。なお、中濃・高蛋白飼料給与時における *in vitro* 消化試験では U 区を設けなかった。

培養液：培養液には反芻胃内容液と緩衝液の混合液を用いた。採取した反芻胃内容液 (約 800 ml) を 2

Table 1. Ingredients of diets given to sheep on a dry matter basis.

Ingredients	Hay:Concentrate			
	50:50		20:80	
	CP12% <sup>1)</sup>	CP17%	CP12%	CP17%
%				
Italian ryegrass hay	50.0	50.0	20.0	20.0
Steam-flaked corn	40.8	33.0	72.9	65.1
Corn gluten meal	6.2	14.0	4.1	11.9
Calcium phosphate dibasic	0.6	0.6	0.6	0.6
Calcium carbonate	0.8	0.8	0.8	0.8
Sodium chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
Mineral/vitamin mixtures <sup>2)</sup>	1.1	1.1	1.1	1.1

<sup>1)</sup> Crude protein content.

<sup>2)</sup> Contained MgSO<sub>4</sub>, 200 g; FeSO<sub>4</sub>, 3.2 g; MnCO<sub>3</sub>, 2.3 g; ZnCO<sub>3</sub>, 3.5 g; CuSO<sub>4</sub>, 1.4 g; Ca (IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 10 mg; CoSO<sub>4</sub>, 20 mg; Vit.A, 400000IU; Vit.D<sub>3</sub>, 40000IU; Vit.E, 2000 mg per kg.

Table 2. Chemical composition of diets given to sheep on a dry matter basis.

Composition	Hay:Concentrate			
	50:50		20:80	
	CP12% <sup>1)</sup>	CP17%	CP12%	CP17%
%				
Organic matter	94.6	94.5	96.1	96.1
Crude protein	12.0	17.0	12.0	17.0
Neutral detergent fiber	31.9	31.8	18.3	17.3
Acid detergent fiber	18.2	18.8	9.3	9.4
Starch	32.9	28.1	54.8	50.0

<sup>1)</sup> Crude protein content.

Table 3. The amount and the lysine content of substrate used for incubation.

Substrate	Treatment <sup>1)</sup>					
	CL <sub>0</sub>	CL <sub>1</sub>	CL <sub>2</sub>	CL <sub>3</sub>	CA	U
	mg					
Corn	500	500	500	500	500	500
Corn gluten meal	41.9	40.9	39.9	38.9	—	—
Lysine	0	0.7	1.5	2.2	—	—
Casein	—	—	—	—	37.2	—
Urea	—	—	—	—	—	9.8
	%					
Lysine <sup>2)</sup>	2.4	3.1	3.8	4.5	4.7	1.7

<sup>1)</sup> All treatments contained 12.8 mg nitrogen.

<sup>2)</sup> Percentage in crude protein.

重のガーゼでろ過した後、遠心分離し (120×g, 5 分間)，上澄液を培養に使用した。緩衝液は BRYANT and BURKEY (1953) の処法を参照して調製した。調製した緩衝液は38℃の湯浴中で炭酸ガスを通気して飽和させ、液が透明になったものを使用直前まで38℃で保温し、供用した。

培養方法：培養方法はブンゼンバルブ使用の TILLEY and TERRY (1963) の方法を参照した。粉碎したトウモロコシと各窒素源を 50 ml 容のポリ遠沈管に採り、緩衝液 20 ml とルーメン液 10 ml を加え、炭酸ガス通気後、ただちにブンゼンバルブつきのゴム栓で密封した。遠沈管は38℃の恒温槽内で 2, 4, 8, 12 時間振盪培養した。培養中、培養液内の pH の低下を防ぐために、培養開始から 2 または 4 時間に 1 N の炭酸ナトリウム溶液を 1 ml 添加した。培養終了後、分析時まで遠沈管のまま凍結保存した。すべての処理は二連で行い、反芻胃内容液と緩衝液のみからなる基質ブランクも同時に培養した。

#### 分析項目と分析法

反芻胃内容液の採取時における pH とアンモニア態窒素濃度および各培養時間における培養物中の残存デンプン量を測定した。

pH: 採取直後の反芻胃内容液の pH をガラス電極 pH メータ (東亜電波工業, HM-60S) で測定した。

アンモニア態窒素: 除蛋白直接比色法 (OKUDA *et al.*, 1965) によって分析した。

デンプン: 培養物中のデンプンは AOAC (1985) の方法を参照し、熱安定α-アミラーゼ (EC 3.2.1.1) とグルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3) によってデンプンをグルコースにまで加水分解し、生成したグルコースを酵素法で定量した (長谷川・安井, 1980)。酵素処理は培養物全量に対して行った。デンプン量はグルコース相当量で表示した。各培養時間でのデンプン消失量は培養前のデンプン量から各培養時間での基質由來の残存デンプン量を引くことによって求めた。デンプン分解率はデンプン消失量を基質のデンプン量で除することにより算出した。

#### 統計処理

供試羊の反芻胃内アンモニア態窒素濃度と pH の給与飼料間の違いは対応のある t - 検定によって解析した。給与飼料の粗濃比および粗蛋白質含量の違いが各添加区の *in vitro* におけるデンプン分解率に及ぼす影響については、培養時間毎に 2 × 2 の 2 元要因配置法を各羊をブロックとした乱塊法と組み合わせることによって解析した。また同一の反芻胃内容液を用いた場合での各添加区の平均値の差は TUKEY の多重検定法により解析した。

## 結 果

#### 反芻胃内容液の性状

培養に供した反芻胃内容液の pH は、給与飼料の粗濃比および粗蛋白質含量の違いによる影響がなく、すべての飼料給与時で 6.5～6.6 の範囲内にあった (Table 4)。アンモニア態窒素濃度は、粗蛋白質含量 12%

飼料給与時に比べて17%飼料給与時の方が高くなかった。また高濃・低蛋白飼料給与時では、他の飼料給与時に比べて極端に低かった。

#### デンプン分解率

Table 4. Concentration of ammonia nitrogen and pH of the ruminal fluid from sheep fed different diets.

Item	Hay:Concentrate				
	50:50		20:80		
	CP12% <sup>1)</sup>	CP17%	CP12%	CP17%	SE <sup>2)</sup>
Ammonia-N (mg/dl)	10.7 <sup>ab</sup>	17.7 <sup>a</sup>	1.8 <sup>b</sup>	14.4 <sup>a</sup>	3.4
pH	6.5	6.5	6.7	6.5	0.1

<sup>1)</sup> Crude protein content.

<sup>2)</sup> Standard error.

<sup>a, b</sup> Mean values in the same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

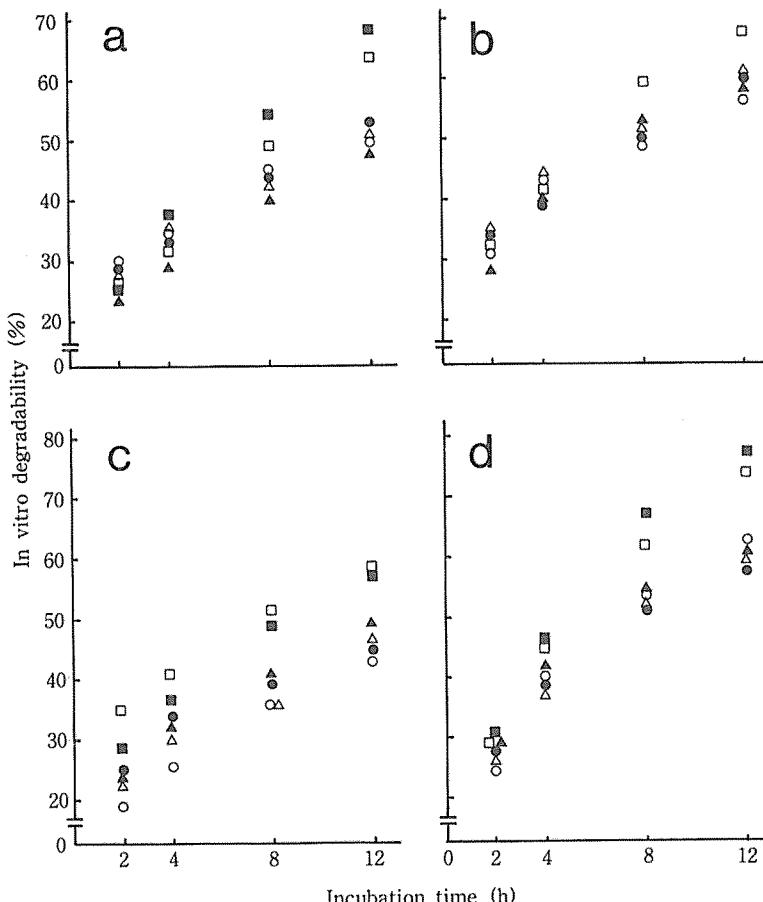


Fig 1. Effect of supplemental nitrogen sources on *in vitro* starch degradability of corn incubated with different ruminal fluids.

Ruminal fluids were taken from sheep fed diets containing concentrate 50% (a, b) or 80% (c, d) and crude protein 12% (a, c) or 17% (b, d).  $\circ$ : CL<sub>0</sub>,  $\bullet$ : CL<sub>1</sub>,  $\triangle$ : CL<sub>2</sub>,  $\blacksquare$ : CA,  $\blacksquare$ : U; see Table 3.

Table 5. Effect of supplemental nitrogen sources on *in vitro* degradability of corn starch after 12 h incubation in different ruminal fluids.

Nitrogen source <sup>1)</sup>	Hay:Concentrate					Significance of difference	
	50:50		20:80		SE <sup>3)</sup>	CP effect	Concentrate ratio effect
	CP12% <sup>2)</sup>	CP17%	CP12%	CP17%			
CL <sub>0</sub>	50.8 <sup>abAB</sup>	57.0 <sup>ab</sup>	43.6 <sup>aA</sup>	61.2 <sup>b</sup>	3.8	※	NS
CL <sub>1</sub>	53.0 <sup>A</sup>	59.7	44.5 <sup>A</sup>	58.3	3.4	※	NS
CL <sub>2</sub>	50.9 <sup>AB</sup>	60.0	47.5 <sup>AB</sup>	59.2	3.1	※	NS
CL <sub>3</sub>	48.0 <sup>B</sup>	58.8	51.2 <sup>AB</sup>	61.1	3.1	※	NS
CA	63.8 <sup>c</sup>	68.0	59.6 <sup>B</sup>	73.5	3.0	NS	NS
U	68.8 <sup>D</sup>	ND	57.4 <sup>AB</sup>	77.2	5.7	—	—

<sup>1)</sup> See Table 3. <sup>2)</sup> Crude protein content.<sup>3)</sup> Standard error. ND: Not determined. NS: Not significant ( $P > 0.05$ ). ※:  $P < 0.05$ .Interaction between CP and concentrate ratio was not detected ( $P > 0.05$ ).a, b, c Mean values in the same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).A, B, C, D Mean values in the same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

添加窒素源の違いがデンプン分解率の経時的变化に及ぼす影響を Fig. 1 に、12時間培養でのデンプン分解率を Table 5 に示した。

いずれの飼料給与時の反芻胃内容液においても、8時間培養以降のデンプン分解率は、カゼイン添加区および尿素添加区がコーングルテンミールを添加した区 (CL<sub>0</sub>, CL<sub>1</sub>, CL<sub>2</sub>, CL<sub>3</sub>) に比べて高い傾向にあった。

尿素添加区とカゼイン添加区のデンプン分解率を比べると、中濃・低蛋白飼料給与時の反芻胃内容液による培養でのみ差があったもの ( $P < 0.05$ )、その差は小さかった。

高濃・低蛋白飼料給与時の反芻胃内容液で培養したときのデンプン分解率は、12時間培養のとき、リジン含量が増加するにつれ、デンプン分解率も高まる傾向にあったが、有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。また他の飼料給与時の反芻胃内容液による培養では、どの培養時間においてもリジン含量の増加はデンプン分解率に影響を及ぼさなかった。

反芻胃内容液の違いによるデンプン分解率に対する影響は給与飼料の粗濃比によってではなく、粗蛋白質含量によって異なる。すなわち、低粗蛋白質飼料給与時の反芻胃内容液に比べて、粗蛋白質含量の高い飼料を給与した反芻胃内容液による培養で、デンプン分解率が高く推移する傾向にあった。

## 考 察

本試験でのコーングルテンミールにリジンを添加した場合の基質の粗蛋白質中のリジン含量は、CL<sub>3</sub> 区の4.5%が最大であり、カゼインの粗蛋白質中のリジン含量 (4.7%) に近い値であった。しかし、これらリジン含量の増加はデンプン分解率に影響を及ぼさなかった。反芻胃内微生物が利用する窒素源は、主にアンモニア態窒素であるが、アミノ酸やペプチドも利用される (STERN and HOOVER, 1979)。また *in vitro* の培養では、窒素源がアンモニア態窒素のみのときに比べて、アミノ酸やペプチドおよびそれらと尿素との混合物で微生物の増殖が活発になると報告されている (MAENG and BALDWIN, 1976; ARGYLE and BALDWIN, 1989)。本試験では、微生物数を測定していないが、どの反芻胃内容液を用いても、コーングルテンミール添加培養に比べて、カゼインあるいは尿素添加培養によって *in vitro* でのトウモロコシデンプンの分解率は高くなった。また、尿素添加とカゼイン添加でのデンプン分解率は、どの飼料給与時の反芻胃内容液による培養でも近似値を示した。従ってデンプン分解率からみる限りでは、アミノ酸が微生物の増殖を介してのデンプン分解の制限要因になっているとは考えられない。

カゼインおよび尿素は反芻胃内で大部分がアンモニア態窒素に速やかに分解されるのに対して、コーングルテンミールの反芻胃内蛋白質分解度は45%にしかすぎない (NRC, 1988)。そのため、カゼイン添加区および尿素添加区はコーングルテンミール単独添加区およびリジン混合添加区に比べて、より多くのアンモニ

アモニアを産生し、微生物による窒素の利用を高め、結果としてデンプン分解が活発になったと推察される。BRYANT and ROBINSON (1962) は、反芻胃内微生物の82%がアンモニア態窒素だけで生育でき、そのうち25%がアンモニア態窒素を必須の窒素源としていることを報告している。

反芻胃内アンモニア態窒素濃度と微生物体蛋白質の最大合成との関係は、飼料条件によってかなり変動するようである。SATTER and SLYTER (1974) は、*in vitro*において添加する尿素の量を変化させたときのアンモニア態窒素濃度と微生物体蛋白質合成量との関係を調べており、彼らの結果では、微生物体蛋白質合成量はアンモニア態窒素濃度が 5 mg/dl になるまで、アンモニア態窒素濃度の増加にともない直線的に増加したが、それ以上の濃度では蛋白質合成量は増加しなかった。しかし *in vivo* による試験では、反芻胃内アンモニア態窒素濃度が 8.8 mg/dl (HUME *et al.*, 1970), 16 mg/dl (ALLEN and MILLER, 1976) あるいは 23.5 mg/dl (MEHREZ *et al.*, 1977) で微生物体蛋白質合成量が最大値に達することが報告されている。

本試験での供用反芻胃内容液中のアンモニア態窒素濃度 (Table 4) によるデンプン分解率 (Table 5) への影響をみると、アンモニア態窒素濃度の最も低い反芻胃内容液 (1.8 mg/dl: 高濃・低蛋白飼料) でデンプン分解率が最も低く、反芻胃内容液中のアンモニア態窒素濃度が増加するにつれて、デンプン分解率も高くなつた。しかしアンモニア態窒素濃度が 14.4 mg/dl (中濃・高蛋白飼料) と 17.7 mg/dl (高濃・高蛋白飼料) の反芻胃内容液間で、デンプン分解率に差がなかった。アンモニア態窒素濃度が約 14 mg/dl まではアンモニア態窒素濃度とデンプン分解率は微生物の増殖を介して、正比例的な関係にあるのかもしれない。

デンプン分解と供用反芻胃内容液との関係をより明確にするために、各飼料給与時の反芻胃内容液による培養での培養時間とデンプン分解率 (Fig. 1) を  $y = ae^{ct}$  の指数関数式に適用し、添加区毎に分解速度定数 ( $c$ ) を求めた。ここで、 $y$  は各培養時間 ( $t$ ) でのデンプン分解率を示す。尿素添加区を除いた 5 添加区の定数  $a$  の平均値±標準偏差は中濃・低蛋白飼料、中濃・高蛋白飼料、高濃・低蛋白飼料、高濃・高蛋白飼料給与時の反芻胃内容液による培養でそれぞれ、 $24.5 \pm 2.13$ ,  $30.7 \pm 1.83$ ,  $23.7 \pm 5.50$ ,  $26.6 \pm 1.68$  となり、培養初期において、粗蛋白質含量 12% 飼料給与時の反芻胃内容液による培養に比べて、17% 飼料給与時の培養でデンプンが急速に分解されることが示された。同様に、分解速度定数の平均値はそれぞれ、 $0.067 \pm 0.012$ ,  $0.060 \pm 0.007$ ,  $0.065 \pm 0.011$ ,  $0.078 \pm 0.008$  となり、高濃・高蛋白飼料給与時で高い傾向にあった。

このように高濃・高蛋白質飼料を給与した場合、デンプン分解率や分解速度が高くなるのは、デンプン分解菌に対してより多くのエネルギーと窒素が供給され、デンプン分解菌の増殖と活性が高まるためかもしれない。LU *et al.* (1987) は、泌乳牛に濃厚飼料を 0~67% まで高めた飼料を給与し、その反芻胃内容液で精製飼料を培養した際、濃厚飼料 67% の反芻胃内容液の培養で微生物数が最も多く、0% 時に最も少なかったことを観察している。MALESTEIN *et al.* (1988) は、牛に粗飼料のみ、あるいは粗飼料と濃厚飼料を併給したときの反芻胃内容液を採取し、*in vitro* における各種穀類のデンプン分解率を測定した結果、すべての穀類でデンプン分解率は濃厚飼料を併給したときの反芻胃内容液による培養で高くなったことを報告している。また CONE *et al.* (1989) や CONE and MARCELLA VLOT (1989) も同様な結果を報告するとともに、この原因是、濃厚飼料割合を高めると微生物から分泌されるアミラーゼの活性が高まるためと推察している。

以上のことから、反芻胃内におけるトウモロコシデンプンの分解はアミノ酸よりもむしろアンモニア態窒素濃度によって大きく影響されることが明らかになった。また濃厚飼料割合が高く、かつ蛋白質含量の高い飼料では反芻胃内でのトウモロコシデンプンの分解性が高まることが示唆された。

## 引用文献

- ALLEN, S. and MILLER, E. L., 1976, Determination of nitrogen requirement for microbial growth from the effect of urea supplementation of a low N diet on abomasal N flow and N recycling in wethers and lambs. *Br. J. Nutr.*, 36 : 353-368.
- AOAC, 1985, Total dietary fiber in foods enzymatic-gravimetric method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68 : 399.
- ARGYLE, J. L. and BALDWIN, R. L., 1989, Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields. *J. Dairy Sci.*, 72 : 2017-2027.
- BRYANT, M. P. and BURKEY, L. A., 1953, Cultural methods and some characteristics of some of the

- more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *J. Dairy Sci.*, 36 : 205-217.
- BRYANT, M. P. and ROBINSON, I. M., 1962, Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. *J. Bacteriol.*, 84 : 605-614.
- CONE, J. W., CLINE-THEIL, W., MALESTEIN, A and VAN'T KLOOSTER, A. TH, 1989, Degradation of starch by incubation with rumen fluid. A comparison of different starch sources. *J. Sci. Food Agric.*, 49 : 173-183.
- CONE, J. W. and MARCELLA VLOT., 1989, Comparison of degradability of starch in concentrates by enzymes and rumen fluid. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 63 : 142-148.
- 長谷川幸・安井 健, 1980, 農産食品中のでん粉の定量法. 食総研報., 36 : 98-114.
- HUME, I. D., MOIR, R. J. and SOMERS, M., 1970, Synthesis of microbial protein in the rumen. I. Influence of the level of nitrogen intake. *Aust. J. Agric. Res.*, 21 : 283-296.
- LU, C. D., TSAI, L. S., SCHAEFER, D. M. and JORGENSEN, N. A., 1987, Alteration of fermentation in continuous culture of mixed rumen bacteria by isolated alfalfa saponins. *J. Dairy Sci.*, 70 : 799-804.
- MAENG, W. J. and BALDWIN, R. L., 1976, Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: Effect of urea and amino acids over time. *J. Dairy Sci.*, 59 : 643-647.
- MALESTEIN, A., VAN'T KLOOSTER, A. TH and CONE, J. W., 1988, Degradability of various types of starch by incubation with rumen fluid or with bacterial  $\alpha$ -amylase. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 59 : 225-232.
- MCCARTHY, R. D., KLUSMEYER, JR. T. H., VICINI, J. L. and CLARK, H., 1989, Effect of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 72 : 2002-2016.
- MEHREZ, A. Z., FRSKOV, E. R. and McDONALD, I., 1977, Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.*, 38 : 437-443.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 1988, Nutrient requirements of dairy cattle. 6th ed. Nat. Acad. Press., Washington, DC.
- OKUDA, H., FUJII, S. and KAWASHIMA, Y., 1965, A direct colorimetric determination of blood ammonia. *Tokushima J. Exptl. Med.*, 12 : 11-23.
- SATTER, L. D. and SLYTER, L. L., 1974, Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.*, 32 : 199-208.
- STERN, M. D. and HOOVER, W. H., 1979, Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. *J. Anim. Sci.*, 49 : 1590-1603.
- TANIGUCHI, K., HANADA, M., OBITSU, T. and YAMATANI, Y., 1991, Combination of different source of starch and protein: Effect on site and extent of carbohydrate digestion in steers. *Anim. Sci. Technol.*, 62 : 699-710.
- TILLEY, J. M. A. and TERRY, R. A., 1963, A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, 18 : 104-111.

## Effect of Supplemental Nitrogen Sources on *In Vitro* Starch Degradation of Corn

Takashige WATANABE, Kohzo TANIGUCHI, Taketo OBITSU and Yoji YAMATANI

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University,  
Higashi-Hiroshima 724, Japan*

Starch degradation of corn was measured after incubation with ruminal fluids supplemented with six nitrogen sources; urea, casein and corn gluten meal plus four levels of lysine. Ruminal fluids were obtained from sheep fed four diets whose hay to concentrate ratios were 50:50 and 20:80 at 12 or 17% crude protein. Incubations with ruminal fluids from sheep fed the high-protein diets caused higher degradation than those from sheep fed the low-protein diets. The degradation of starch incubated with urea or casein was higher than that with corn gluten meal plus lysine. Additions of lysine to corn gluten meal were not able to enhance starch degradation by any ruminal fluids. Ammonia nitrogen rather than amino acid seems strongly to affect *in vitro* degradation of starch in corn.

**Key words:** concentrate level, crude protein content, *in vitro*, nitrogen source, starch degradation