

易利用性炭水化物の給与が、反すう動物第1胃内揮発性脂肪酸の産生におよぼす影響 (*in vitro* 試験)

小島 洋一・金光 徹雄・小松 明德

YOICHI KOJIMA, TETSUO KANEMITSU and AKINORI KOMATSU

Effect of readily available carbohydrate on VFA production by rumen micro-flora

要旨: チモシー乾草を朝夕に飽食させている去勢牛より、給飼前に第1胃より第1胃液を採取した。それを培養液として、まず第1胃内での分解速度の異なる炭水化物を基質として培養を行い、基質の違いによるVFA産生状況、また尿素添加によるVFA産生状況の変化について調べた。その結果、分解速度の速い基質ほどVFA産生量は多く、VFA産生割合は酢酸が低くプロピオン酸、酪酸が増加した。尿素添加によってpHは上昇し、アンモニアが多量に産生された。

次に基質として小麦粉を用いて同様の培養試験を行い、基質の多小および煮沸処理、また尿素添加によるVFA産生状況の変化について調べた。その結果基質量の多いほどVFA産生は多く、VFA産生割合は酢酸で小さく、プロピオン酸、酪酸で大きかった。煮沸処理によりその傾向は強められた。尿素添加の影響は第1試験と同様であった。

最後に培養液として飼料給与後3時間目に採取した第1胃液を用い、小麦粉を基質として培養試験を行いVFA産生状況を調べた。その結果、基質添加によってVFA産生は多くなるがその値は煮沸処理により低くなり第2試験とは逆の傾向を示した。尿素を添加した場合は無処理よりも煮沸した場合の方がVFA産生量は高かった。VFA組成は基質添加によって酢酸は小さく、プロピオン酸は大きくなったが、煮沸処理によって無処理より酢酸では大きく、プロピオン酸では小さくなった。尿素添加によって煮沸したものと無処理のものとの差はほとんど無くなった。尿素添加によってアンモニア産生量は増加したが、第1・第2試験ほどでは無かった。

I 結 言

反すう動物は、反すう胃内に棲息する微生物が摂取した飼料を発酵分解しその発酵産物を吸収利用するという単胃動物とは異なる機能を有し、そのため単胃動物に比較して、繊維質の利用、蛋白質およびビタミン類の合成等にすぐれた点をもっていることが認められている。一方このような微生物の発酵作用が介在するが故に単胃動物よりも複雑かつ繊細な消化生理機構を持っており、反すう胃内での微生物の発酵作用を正常に保つこと、すなわち反すう胃内の恒常性を保つことが反すう動物飼養のキーポイントとなると言っても過言

ではない。しかしながら、我国における肉牛肥育は諸外国に比して粗飼料の生産利用に不利な条件下にあるが故に、必要エネルギーの大半を穀類に求めているのが実状であり、このような易利用性の炭水化物であるでんぷん質を多給する飼養形態では反すう胃内の発酵作用が正常に行なわれずしばしば肥育牛の生産能力の低下をきたすような生理的障害が起こることが指摘されている。また最近、さらに肥育効率を高めるために、著しいでんぷん質飼料の多給、穀類飼料の加熱処理、またそれらの飼養形態から必然的に起るであろうN源の不足に対応するために給与飼料への尿素的添加などが行なわれている。この研究においては、このよ

京都府立大学農学部畜産学研究室

Laboratory of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.

昭和50年7月31日受理

うな飼養方法によって反すう胃内に出現する発酵状況を予測するため, 微生物の利用速度の異なる種々の基質を用いて, 基質の多少, 発酵速度の違い, 基質の加熱処理, N源の添加などによって発酵産物とくに揮発性脂肪酸の産生状況がどのように変化するかを *in vitro* にて検討したものである。

II 実験方法

テモシーを朝夕に飽食させている第1胃フィステル付去勢褐毛和種牛1頭より朝の飼料給与直前に第1胃内液を約2ℓフィステルより採取し, それを4重ガーゼで濾過して培養液とした。あらかじめ基質を入れておいた第1図に示すような200ml フラスコへ培養液を150ml ずつ分注しウォーターバスにて39.5°Cに保ちCO₂を常時通気して振とう培養した。サンプリングは各培養フラスコから, 培養前, 培養開始後1, 3, 6時間に行ない, ただちにpHをpHメーターにて測定した後, 飽和昇汞水を2~3滴加え-24°Cにて分析に供するまで凍結保存した。分析はVFA総量および組成はガスクロマトグラフ(島津GC4BM)にてPackettの方法¹⁾で行ない, アンモニア態窒素はConwayの微量拡散法²⁾で行なった。

第1試験では, 培養基質としてグルコース(G)小

麦でんぷん(S)およびセルロース(C)をそれぞれ1フラスコ当り1.8g単独で用いた区と, これら3つの基質を0.6gずつ混合して1.8gとした区をつくった, また各区について1フラスコ当り尿素を150mg添加した区をつくり尿素添加の影響も併せて検討した。

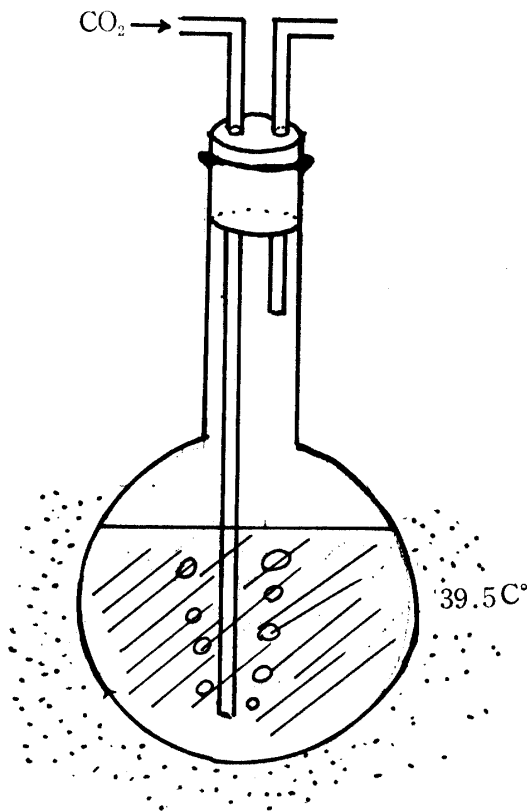
第2試験では, 基質として小麦粉を1フラスコ当り0.5gおよび3gを用いさらにそれら基質を煮沸処理(煮)した区をつくり, またこれらすべての区について第1試験と同様尿素添加区をもうけた。小麦粉の煮沸処理は水20ml当り, 小麦粉0.5および3gを含む培養基質液を水分の蒸発をふせぐために冷却管をつけたフラスコに入れ10分間煮沸し行なった。無処理区には無処理の培養基質液を, 煮沸区には煮沸をほどこした培養基質液を39°Cに保温し培養液150mlを含む培養フラスコに20mlずつ分注した。

第3試験では第1, 第2試験とは異なり, 培養液として反すう胃内での発酵が最も盛んであると考えられる飼料給与後3時間の第1胃内液を採取しそれを培養液とし, 基質として小麦粉3gを用いて第2試験と同様, 無処理区(生)煮沸区(煮)をつくり, また各区について尿素添加区をもうけ培養試験を行なった。

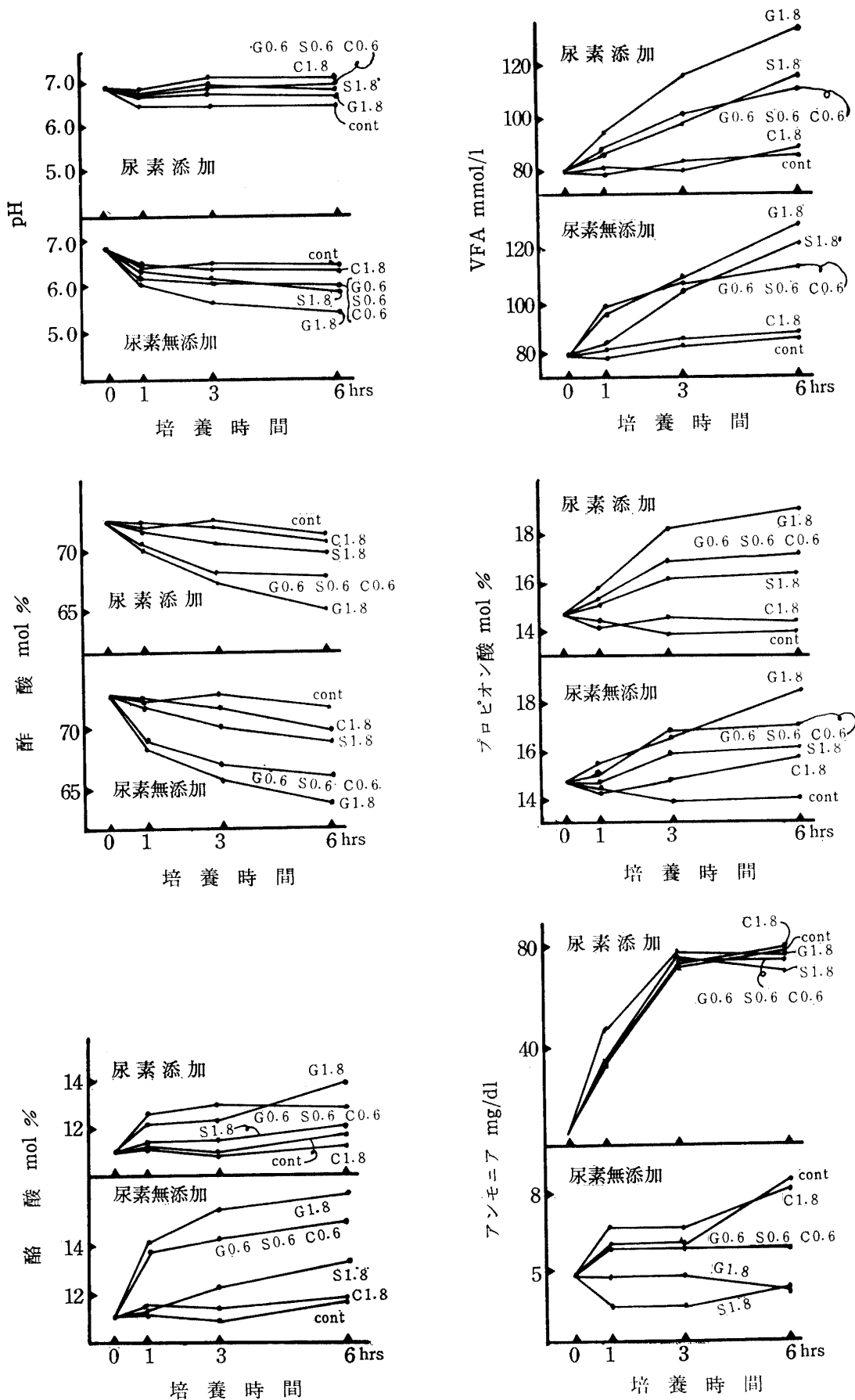
III 実験結果および考察

第1試験:pHは基質を加えたもの無添加のものともに培養時間の経過とともに低下していた。各基質について比較してみれば, 反すう胃内微生物によって最も早く分解利用されると考えられるグルコースを加えたものが最も急速に低下し, 次にでんぷん, セルロースの順に高くなっており, 各基質を等量加えたものはその中間的な値で経過していた。VFA産生量は時間の経過とともに増加しているが, 各基質について比較すると培養初期においてはグルコースおよび各基質等分に加えたものがVFAの産生速度が急速であった。しかし培養が進むとVFA産生量はグルコースを最大とし, でんぷん, 混合基質, セルロースの順となった。尿素添加によってpHは全般にわたり上昇しているが, これは添加された尿素が分解されてアンモニアとなり第1胃内pHを上昇させたためと考えられる。一方, VFA産生への尿素添加の影響はほとんど認められなかった。

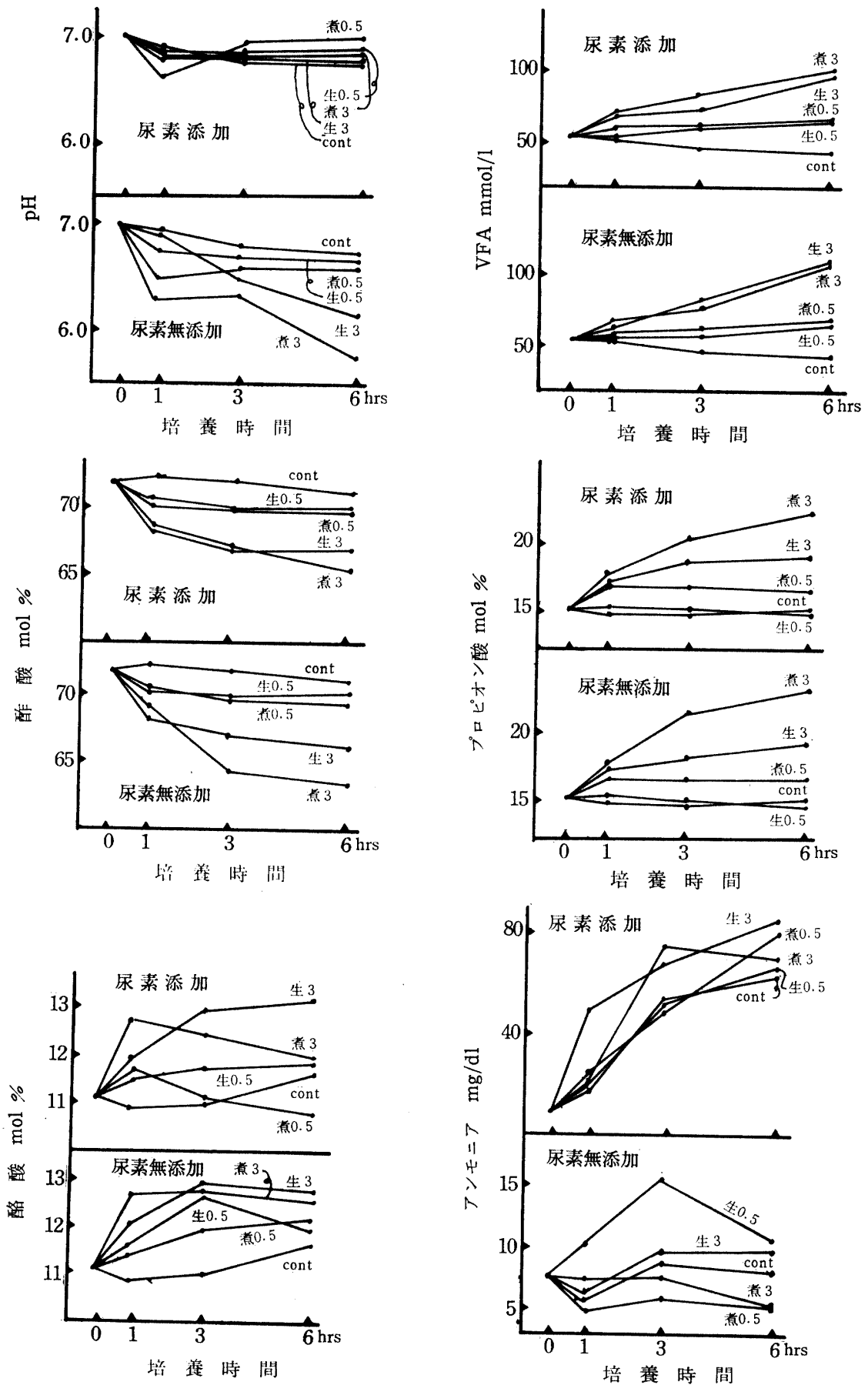
VAF組成に関しては, 利用性の高い炭水化物ほど培養時間の経過とともに酢酸の割合が減少し, プロピオン酸および酪酸の割合が増加していた。また尿素の添加によって利用性の高い基質でプロピオン酸の割合が増加し酪酸の割合がいくぶん減少していた。



第1図 培養フラスコ



第2図 第1試験の結果



第3図 第2試験の結果

アンモニア濃度は尿素無添加では各区とも10mg/dl以下であり、尿素添加区では培養初期に急速な産生がみとめられる3時間後には80mg/dl近くにも達していた。

これらの結果は、第1胃内で発酵分解を受けやすいものほど急速にVFAを産出し、さらに穀類等、利用性の高い炭水化物を与えると、第1胃内の酢酸の割合が減少し、プロピオン酸および酪酸の割合を増加させるという*in vivo*で一般に認められている発酵パターンを*in vitro*にて作り得たことを示している。また尿素添加によってアンモニアを多量に分解産生したにもかかわらずVFA産生状況にほとんど影響がなかったのは、これら基質を分解するのに必要なN源がすでに充分培養液中に含まれていたものと考えられる。さらに尿素無添加区に比して添加区では非常に高いアンモニア含量であったにもかかわらず、VFA産生にはほとんど影響をみなかったことは第1胃内VFA産生に参与する微生物がかなりのアンモニアの存在下においてもその活動をさまたげられないことを示している。

第2試験：培養液のpHは培養時間の経過とともに低下し基質の量が多いものおよび煮沸処理をほどこしたもので急速であった。尿素添加によって第1試験と同様、顕著なpHの上昇が認められた。

VFA総量は、基質の多い方が時間の経過とともに増加が大きく、煮沸の影響はほとんど認められなかった。尿素添加の影響はほとんど認められなかったが、基質量が3gの場合に尿素添加区で煮沸した場合にいくぶん高くなっていた。

VFA組成についてみると、酢酸の割合は基質量の多いほどその割合は小さくなり、基質量0.5gでは煮沸処理の影響はみられないが、基質量3gでは煮沸処理をした方が培養後3.6時間に小さくなっていたが尿素を添加した場合はほぼ同じ値を示していた。プロピオン酸の割合は基質の量が多いほど大きくなり、また煮沸処理によってさらに大きくなっていた。尿素添加による影響はみられなかった。酪酸の割合は基質量が3gの場合、その割合もいくぶん大きくなる傾向がみられ、煮沸処理によって培養1時間後の割合がとくに大きくなっていた。

アンモニア含量は、第1試験と同様尿素添加区において著しく高くなったが、基質量および煮沸処理による差はみられなかった。

以上第2試験では、基質量の多い場合、また煮沸処理をほどこした場合のVFA産生に与える影響と、第1試験における利用性の高い基質を与えた場合の影響とは軌を一にしていた。このことは易利用性の炭水化

物を多く含む穀類とさらに増加して与えた場合と穀類に煮沸処理をほどこして与えた場合とは第1胃内のVFA産生に与える影響は同一であることを示唆しているものと考えられる。

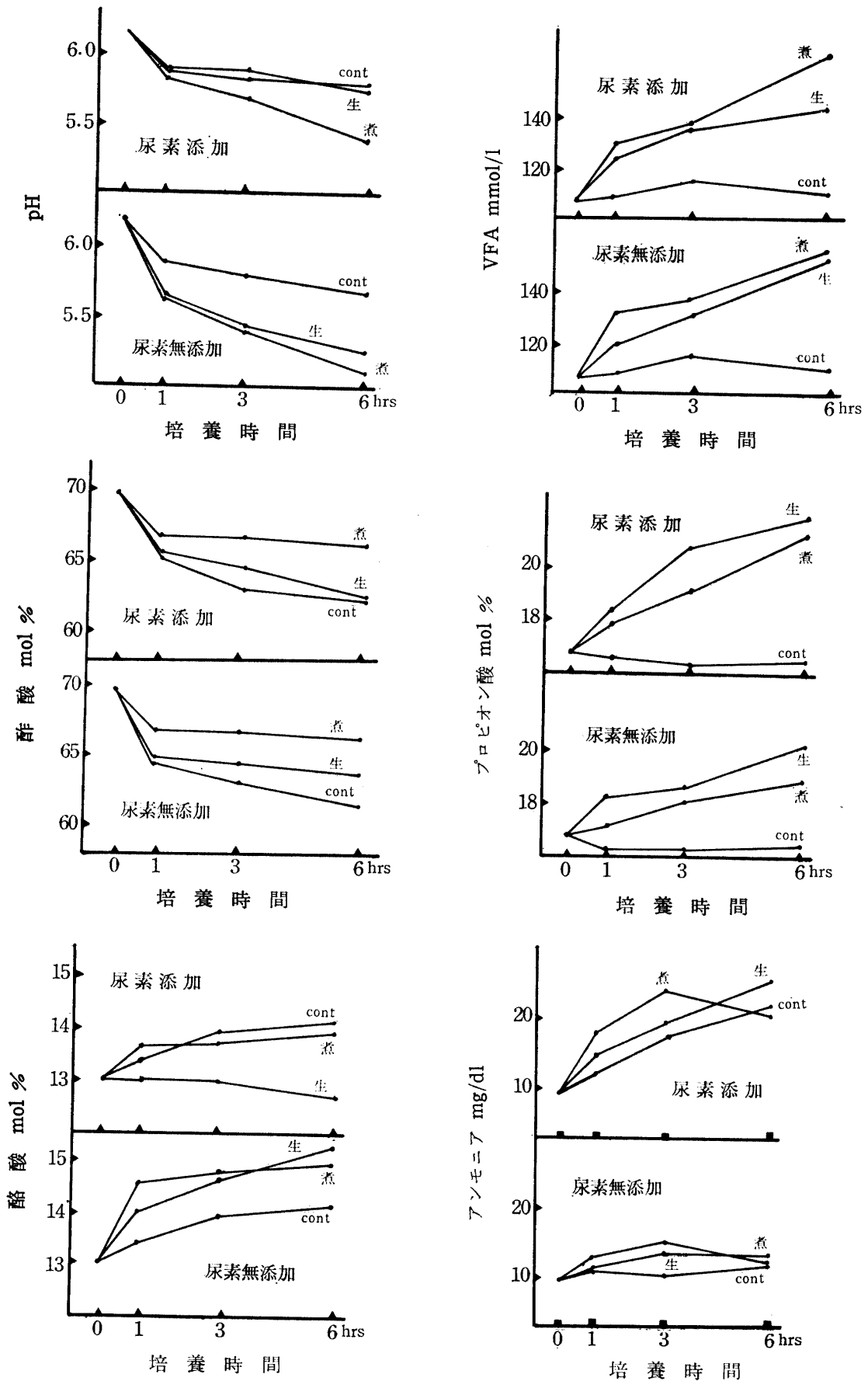
第3試験：この試験では第1胃内での発酵が最盛期と考えられる飼料給与後3時間に第1胃液を採取しそれを培養液として使用することによって、発酵最盛期にある微生物にさらに易利用性の炭水化物を多くふくむ基質を与えてVFA産生に及ぼす影響をみたものである。

第1、第2試験と異り培養開始時のpHは約6.5であり、これはすでに培養液として用いた第1胃液中の微生物がその採取時に旺盛な発酵を行っていたことを示している。培養が進むとpHは急速に低下し、培養6時間後ではpHは5近くまで達している。

尿素添加によって一様にpHは上昇したが、第1、第2試験の様な著しい上昇はみられなかった。とくに煮沸区においてはまだかなりのpHの低下がみられた。このことは旺盛な活動を行っている第1胃内微生物にそのうえさらに利用性の高い炭水化物を与えると、著しくpHを低下させ、この試験の尿素添加量では第1、第2試験のようにpHを上昇させ得なかったためであろう。

VFAの産生は培養6時間後まで増加していたが、煮沸処理の影響はほとんどみられなかった。これは第2試験における基質量の多い場合のVFA産生が尿素無添加区では生の場合が高く、尿素添加区では煮沸区の方がいくぶん高い傾向がみられたことと考えあわせると興味深い。すなわち、一般に易利用性の炭水化物に煮沸処理を行ったり、また与える易利用性の炭水化物の量を増加させることによってVFA産生の増加を期待出来るが、微生物がすでに旺盛な発酵を行っている場合には逆にVFA産生がおさえられる。しかし尿素を添加するとその抑制が無くなることを示唆している。小島³⁾らは、羊を用いて尿素添加によってpHの上昇がなかったがVFA総量が増加したことを報告している。またLewisら⁴⁾Chouら⁵⁾は易利用性炭水化物の発酵には充分なN源が必要であることを報告している。この試験においては多量の易利用性炭水化物の発酵に必要なN源が尿素添加によって補なわれたものと考えられる。

VFAの各酸の産生割合についてみれば、酢酸の割合は基質添加によって低下しプロピオン酸および酪酸の割合が増加しているのは第1、第2試験と同じ傾向であった。また煮沸処理によって酢酸は無処理に比較して大きくなり、プロピオン酸は低くなっている。



第4図 第3試験の結果

この煮沸の影響は第2試験のそれとは全く逆であり、また煮沸処理が基質の炭水化物の微生物による利用を高めているとするなら、第1試験の結果に対しても逆の影響を示している。このことは発酵最盛期の微生物に利用性の高い炭水化物をさらに与えた場合、また過剰の易利用性炭水化物を反すう動物に与えた場合に通常の発酵とは逆の発酵が第1胃内で行われる可能性を示している。

尿素の添加によってこの逆の方向への発酵がいくぶん抑えられるのは、アンモニア産生によるpHの上昇または微生物へのN源の補給が原因と考えられる。事実、尿素の添加によってアンモニアの産生は増加しているが、第1、第2試験ほどの量ではなく、微生物のN源として多く利用されたことが充分考えられる。

Summary

Rumen liquid collected from fistulated steer before feeding was used as culture solution.

In the first place, incubation was carried out with substrates which were different in availability to examine the effect of availability of substrate on VFA production. The more available substrate produced the higher VFA concentration, the lower molar proportion of acetic acid and the higher molar proportions of propionic and butyric acids.

Secondly, wheat flour was used as substrate to examine the effect of the amount of substrate on VFA production. The more

引用文献

- 1) Packet, L. W. and R. W. McCune (1965) Appl. Microbiol. 13: 22—27.
- 2) Conway, E. J. (1961) Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, 3rd ed. London Crosby Lockwood and Son Ltd.
- 3) 小島洋一・川島良治・上坂章次 (1971) 日畜会報 42: 79—86.
- 4) Lewis, D. and I. W. Mac Donald (1958) J. Agric. Sci., 51: 108—118.
- 5) Chou, K. C., and D. M. Walker (1964) J. Agric. Sci., 62: 7—13.

amount of substrate produced the high VFA concentration, the lower molar proportion of acetic acid and the higher molar proportions of propionic and butyric acids. These trends were strengthened by cooking of wheat flour.

Lastly, the rumen liquid which was collected three hours after feeding was used as culture solution. Similar results were obtained as in the second incubation in VFA production. The molar proportion of acetic acid was decreased by cooking of wheat flour, however, this trend disappeared following urea addition.