

メン羊の肥育時における体脂肪性状
に及ぼす各種飼料の影響に
関する研究

山形大学農学部

高橋 敏能

メン羊の肥育時における体脂肪性状
に及ぼす各種飼料の影響に
関する研究

目 次

	頁
第一章 緒 言	3
第二章 各種飼料給与下における第一胃内脂質および血漿脂質の 変化	7
第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合が脂質性状に与える影響	7
第一項 第一胃内総脂質含量および脂肪酸組成に与える影響	7
第二項 血漿脂質に与える影響	30
第二節 VFA塩添加給与が脂質性状に与える影響	49
第一項 第一胃内総脂質含量および脂肪酸組成に与える影響	49
第二項 血漿脂質に与える影響	65
第三章 各種飼料給与時の肥育効果と体脂肪性状の変化	71
第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響	72
第二節 VFA塩添加給与の影響	86
第四章 VFA塩多量給与下における肥育効果と体脂肪性状の 変化	101

第一節	肥育効果と体脂肪性状に与える影響	101
第二節	第一胃内総脂質含量および脂肪酸組成に与える影響	114
第三節	ハムスターにおける増体と体組成に与える影響	124
第五章	各種飼料給与下における第一胃内水素添加能とVFA	
	産生能の変化	134
第一節	濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響	134
第二節	VFA塩多量添加給与の影響	153
第六章	総合考察	164
第七章	総括	174
	謝辞	180
	引用文献	182

第一章 緒言

反芻家畜の脂質代謝は単胃動物に比較すると様相が大きく異なっている。その第一の大きな特徴は不飽和脂肪酸が、第一胃内に棲息している微生物により水素添加されて飽和脂肪酸に変換されることがあげられる。^{19, 41, 42, 98, 102, 107, 108, 113, 115-118, 129, 130, 132, 134)}

即ち、通常の飼料中に多く含まれる炭素数18の不飽和脂肪酸がそのまま体脂肪の脂肪酸中に多く出現する豚^{46, 51)}などの単胃動物に比較して、牛やメソ羊などの反芻動物ではC18:0のステアリン酸に富む体脂肪^{15, 16, 24, 26)}を有することである。このことが反芻家畜の体脂肪の融点を高く固くさせている所以である。不飽和脂肪酸は水素添加されC18:3のリノレン酸からC18:2のリノール酸を経て最後にはC18:0のステアリン酸にまで変換されるが、その経路はDawson and Kemp²⁰⁾によると3通りあるという。その経路の途中に中間水素添加物として種々の不飽和脂肪酸のトランス型のisomerとしての幾何異性体が存在し、体脂肪や乳脂肪にも出現することが認められている。この微生物による水素添加作用は不飽和度が高いと界面活性によって細胞壁透過性が変化し、微生物の生活、増殖が妨げられるため、飽和化して阻害作用を弱くする自衛措置であると説明されている。⁸³⁾

際、飽和化に利用される水素は、炭水化物が揮発性脂肪酸(VFA)として発酵するとき生ずるが、その基質については未だ明解な説明がなされていない。しかし、Viviani¹²⁸⁾がリノール酸とピルビン酸または蟻酸をインキュベートすると水素添加が促進されると述べていることを考慮すると第一胃内で酢酸が優先して生成されたとき、それに伴って蟻酸が産

生することから、VFAの産生比率と何らかの関係があるように思える。

Keeneyらの報告によれば乳牛の第一胃内でプロゾトアを主とする微生物が1日に合成する体脂質は140gにもなり、乳脂肪生産量の約1/4に及ぶことを指摘している。これらの微生物の脂質にはC15:0やC17:0脂肪酸の分枝脂肪酸^{49,54,55,124)}を多く含むため、体脂肪はこれらの脂肪酸に富むことが知られている。

反芻動物を肥育する場合、肉牛、メン羊についてNRC飼養標準、ARRC飼養標準²⁾および日本飼養標準⁸⁶⁾とも期待される増体量に必要な飼料のエネルギー量を中心に規定されている。粗飼料の必要量については日本飼養標準⁸⁶⁾で濃厚飼料多給による肝臓瘍、尿石症、第一胃不全角化症などの代謝障害を防止するために必要な最低乾物量を10~15%としている。それに加えて、濃厚飼料多給により、粗繊維の消化率が低下する所謂澱粉^{28,40)}減退による飼料価値の低下が伴う。一方、Lofgreen and Garrett⁶⁶⁾によれば粗飼料は一般に正味エネルギーが低いため粗飼料多給による飼料価値の低下がある。牛やメン羊を肥育する場合、濃厚飼料と粗飼料を最も有効な比率で給与する必要があるが、肥育とは脂肪量の増大のみでなく、肉質を佳良にし、筋肉間に脂肪を混在させて風味を増加させることである⁸⁹⁾。つまり、肥育することは、体脂肪の量だけでなく質の向上が伴うことを意味する。

単胃動物の体脂肪脂肪酸合成のための前駆物質はグルコース、反芻家畜のそれは酢酸²⁴⁶⁾であること、また合成される部位は前者が肝臓^{90,109)}であり後者が体脂肪組織⁴⁷⁾であることはよく知られた事実である。反芻動物の場合

酢酸は第一胃内で炭水化物から発酵により生成された産物である。通常の飼料給与条件では第一胃内のVFAは酢酸が優先するが、柴田⁽¹⁶⁾は牛を用いて粗飼料多給与による肥育形態でプロピオン酸比を高くしたVFA—グリセリドを給与して、第一胃内のプロピオン酸/酢酸比を高めることにより、1日増体量が向上したことを実証している。このことは、単位当たりのエネルギー価においてプロピオン酸が酢酸の1.37⁽¹⁷⁾倍あることと、体内でのheat incrementにおいても酢酸が高い⁽¹⁸⁾ことなどから説明できると思われる。また体内においてはプロピオン酸から糖新生されたグルコースが増加することによりインシュリンなどのホルモンが作用して相乗的に体内の脂質や蛋白合成が促進されていることも原因になっていると考えられる。

本研究の目的は反芻動物であるメン羊を肥育するために給与する飼料として濃厚飼料と粗飼料をとりあげ、その給与割合がメン羊の肥育と体脂肪生産に与える影響を調べることに、次にそれらの飼料の給与割合を変えたとき第一胃内で生成されるプロピオン酸と酢酸の生成量および生成比が異なることからこれらの酸による体脂肪生成機構を量と質の面から明らかにしようとしたものである。

その目的のために、先ずメン羊に種々の飼料を給与したときの第一胃内液の脂質性状を調べ、消化管から吸収された脂質がどのような経路で体脂肪組織に蓄積されるかを推察するために血漿中の脂質を調べて、脂質の中間代謝の一端を明らかにしようとした。次に、実際に肥育試験を行なって、濃厚飼料と粗飼料の給与割合と給与量が肥育および脂肪酸組

成などの脂肪性状に及ぼす影響を調べて体脂肪および脂肪酸生成機構について考察した。また加えてプロピオン酸と酢酸の肥育と体脂肪生成に対する意義についても実験を行ない考察を加えたものである。

第二章 各種飼料給与下における 第一胃脂質および血漿脂 質の変化

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合が脂質性状に与える影響

第一項 第一胃内総脂質含量および脂肪酸組成に与える影響

反芻家畜の第一胃内での脂質代謝に関する研究は第一胃内微生物による水素添加と加水分解に関するもの、第一胃内微生物の脂質合成に関するものが主流であった。すなわち、Reiser¹⁰²⁾によって不飽和脂肪酸が第一胃内で微生物により水素添加され飽和脂肪酸に変換されることが最初に報告された。このことが反芻家畜の体脂肪を固くする原因であることはよく知られた事実である。Keeney¹⁰³⁾らは1日500 gのバター¹⁰⁴⁾の脂肪を生産している牛では約1/4が微生物によって合成された脂肪であることを示した。一方、微生物中の脂質は分枝・奇数炭素数脂肪酸を多量に有するため、単胃動物ではみられないそれらの脂肪酸に富む体脂肪を形成することが知られている。また、Garton¹⁰⁵⁾らの報告で大麦を多量に給与すると第一胃内でプロピオン酸が過剰に産生され、肝でのプロピオン酸からの長鎖脂肪酸合成過程でメチルマロニルC₆A¹⁰⁶⁾が過剰に蓄積され、それが分枝・奇数炭素数脂肪酸へとりこまれてその結果柔らかい体脂肪を形成することが確かめられた。

濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変化させた場合、それが第一胃微生物の菌相に影響を与え、ひいては飼料中のアミノ酸、澱粉またはVFAなどからの脂肪酸合成に相違が生ずることが考えられる。本項では、市販配合飼料と牧乾草の給与割合を変えた場合の第一胃液のVFA組成を調べ、総脂質含量と脂肪酸組成ならびにプロトゾアと細菌の脂肪酸組成を採食後経時的に調査した。

材料および方法

体重約30kgの去勢メン羊3頭に第一胃フィステルを装着して供した。濃厚飼料（日本農産工業K. K. 肉用牛肥育用ビーフデラックス、TDN70%、DCP10%、原材料；穀類（とうもろこし、マイロ、大麦）56%、そうじょう類（ふすま、米糠）26%、植物性油粕類（大豆油粕、なたね油粕）7%、その他11%）と牧乾草（チモシー主体の一番草）の比を9：1（濃厚飼料多給）、5：5（濃厚・粗飼料等量）および1：9（粗飼料多給）の割合で配合した3種類の飼料を作り、それぞれ1日1頭当たり600～700gを2週間給与した。実験は同一飼料を3頭に与え、それぞれのメン羊について3回づつ行った。飲水は自由に与え20℃のズートロン内で飼育した。それぞれの飼料で2週間飼養した後、給餌後24時間にわたり1～3時間間隔で第一胃内容を12回採取し、2重ガーゼで口過し、第一胃液とした。第一胃液中のVFAの濃度の測定は第一胃液10mlから水蒸気蒸留により留出した総VFAを1/10N NaOH

で滴定後90℃で蒸発乾固し、リン酸数滴で溶解、少量のエーテルで抽出後ガスクロマトグラフィー（日立F6-D型）により各VFAを分離した。その際、DOPとDEGS+リン酸を充填したステンレス製カラム（1m x 2本）を用い、カラム温度を125℃注入部およびFID検出器温度を250℃にした。キャリアガスは窒素ガスを用い流速を50ml/分とした。標準物質を用いて補正係数を算出し、チャート面積からVFA組成を求めた。

プロトゾアおよび細菌画分の調製方法はItabashi and Kandatsu の方法¹⁸⁾に準じた。すなわち、プロトゾア画分は分液ロートを用いて1時間培養後、下層部を120 x gで2分間遠沈し、沈殿物をさらに0.9% NaCl

溶液で5回洗浄した。細菌画分は第一胃内液培養後の上層部を20,000 x gで20分間遠沈後、さらに1回洗浄した。

脂質の抽出はFolch らの方法¹⁸⁾に準じた。上記各画分に対して15倍容のクロロホルム/メタノール（2:1 (V/V)）と約20%の水を加え3分間激しく振とうして一昼夜放置後、下層部をロータリーエバポレーターで減圧・乾固した。脂肪酸メチルエステル作成のためのメタノリシスは封管内で5% (W/V) 無水塩酸メタノールを用いて5時間おこなった。メチル脂肪酸の抽出は少量の水を加えたのちn-ヘキサンで3回行い、減圧・乾固後1~2滴のn-ヘキサンで溶解し、その1μlをガスクロマトグラフィーに注入した。その際、butane diol succinate (B. D. S.) をコーティングした45m（内径0.5mm）のステンレス製キャピラリーカラムを用い、カラム温度を160℃、注入部およびFID

検出器の温度を350℃にした。キャリアガスは窒素ガスを用い、流速を2.5 ml/分、分配比を1:15、チャートスピードは0.5 cm/分とした。各脂肪酸の同定は標準混合脂肪酸（日本クロマト工業K. K. Cat. No. 18828、19101 および19101）と試料のrelative retention time から行った。標準試薬のない脂肪酸の同定はequivalent chain length value (E. C. L. V.) から推定した。図2-1-1-1に第一胃液脂質の脂肪酸のガスクロマトグラム、表2-1-1-1に直鎖の飽和脂肪酸を基準にしたときのE. C. L. V. を示した。その結果、合計20個の脂肪酸が同定され、イソの分枝脂肪酸は小数点以下0.2台、アンテイソの分枝脂肪酸は0.5台また不飽和結合1つの脂肪酸は0.18となった。対応する直鎖脂肪酸と比較して分枝脂肪酸で低く、不飽和脂肪酸で高かった。Ackman¹⁾は同じB. D. S. を使ったカラムでE. C. L. V. を計算しているが、イソとアンテイソの分枝脂肪酸のE. C. L. V. が本実験より接近している。著者の用いたカラムがイソとアンテイソの分枝脂肪酸に関して分離能が優れていることが考えられる。また、C_{18:1}脂肪酸付近に不飽和脂肪酸への水素添加に伴うトランス型の幾何異性体の脂肪酸²⁾とみられる3つのピークが確認されたが無視して計算した。

データの評価は、飼料と時間の2元配置による分散分析によって行ったが、その分析は東北大学大型計算センターアプリケーションプログラムライブラリーPANVA2を使用して行った。

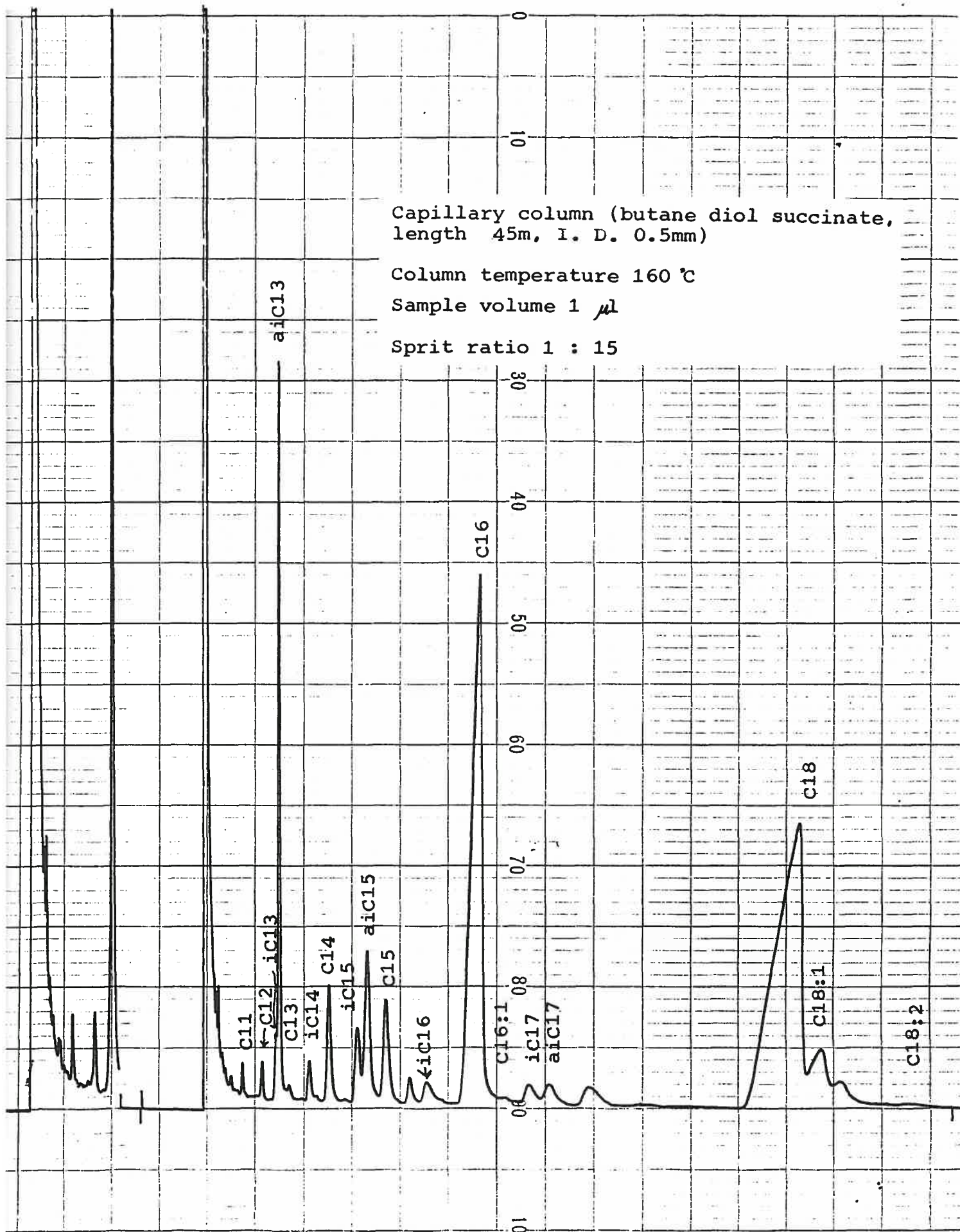


Fig. 2-1-1-1 Gas chromatogram of fatty acid methyl esters in total lipid of sheep rumen liquor.

Table 2-1-1-1. Equivalent chain length value (E.C.L.V.) of fatty acids

E.C.L.V.	E.C.L.V.	E.C.L.V.	E.C.L.V.
	*C11	11.00	
	*C12	12.00	
**iC13 12.26	**aiC13	12.57	
*iC14 13.29			
**iC15 14.23	*aiC15	14.52	
*iC16 15.27			*C16:1 16.18
**iC17 16.28	*aiC17	16.55	**C17:1 17.18
	*C18	18.00	*C18:1 18.18
			*C18:2 18.52

*Identified from relative retention time of standards and samples.

**Identified from E.C.L.V. with gas chromatography. i=iso, ai=anteiso.

結果および考察

図 2-1-1-2 に採食量と飲水量の経時的变化を示した。総給与量 600 ~ 700 g のうち濃厚飼料多給、濃厚飼料・粗飼料等量給与および粗飼料多給時における各飼料の採食所要時間はそれぞれ 85 分、153 分および 280 分であり、牧乾草を多給すると採食所要時間が長くなった。また、飲水量はそれぞれ 2,200 ml、1,500 ml および 1,300 ml で濃厚飼料多給の場合に多くなった。表 2-1-1-2 に供試飼料の一般成分と脂肪酸組成と、採食に伴う第一胃液中の VFA の濃度と割合の経時的变化を図 2-1-1-3 と図 2-1-1-4 に示した。その結果、VFA 総量で濃厚飼料多給により採食開始 3 時間後に著しく上昇し、4.5 時間後までに採食前の濃度に戻り以後 24 時間までほぼ一定の濃度を示した。粗飼料多給では最高濃度に達する時間が遅く、濃度も低かった。各 VFA の濃度のうち酢酸では採食 3 時間後で濃厚飼料多給で高かったが、7 ~ 24 時間まで粗飼料多給で高くなった。プロピオン酸では終始濃厚飼料多給で高い濃度を持続した。酪酸では粗飼料多給で低かった。3 つの VFA の mol % を比較すると、いずれの給与割合とも酢酸が最も高く、次いでプロピオン酸、酪酸の順であった。濃厚飼料を多給するほどプロピオン酸の割合が高く、粗飼料を多給するほど酢酸の割合がそれぞれ高かった。採食に伴う経時的变化では、いずれの給与割合とも変動の巾が少なかった。濃厚飼料と粗飼料の割合を変えて給与したとき第一胃内 VFA 濃度がどのように変化するかについての報告はいくつかある。押尾⁹⁶⁾

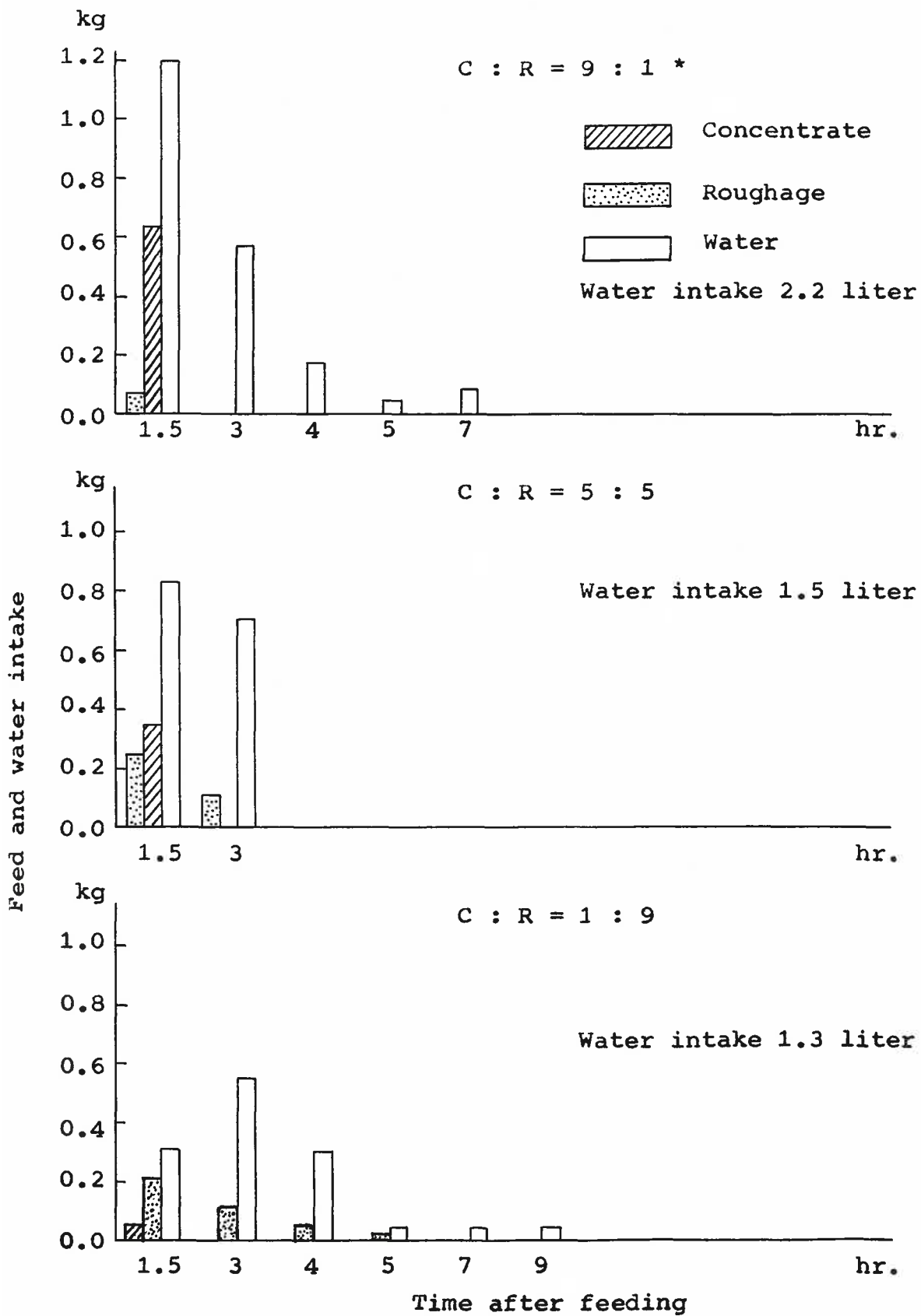


Fig. 2-1-1-2. Change of feed and water intake.
*C---concentrate, R---roughage.

Table 2-1-1-2. Chemical component and fatty acid composition of diets used in the experiment

	Item	Concentrate*	Roughage**
Chemical component	Moisture	13.7 %	12.3 %
	C.protein	13.0	6.6
	C.fat	3.3	2.1
	N.F.E.	58.2	42.1
	C.fiber	4.6	32.3
	C.ash	7.2	4.6
Fatty acid composition	C11	0.1 %	0.3 %
	C12	0.1	0.8
	C13		1.0
	C14	0.1	1.9
	C15		0.8
	C16	19.3	41.1
	C16:1	1.4	0.8
	C17		0.6
	C18	0.9	6.6
	C18:1	27.4	11.2
	C18:2	47.2	21.1
	C18:3	2.2	7.7
	Remainders	1.3	6.1
	U.S.F.A.***	78.2	40.8

*Concentrate was formula feed (Beef Deluxe) made by Nihon Nosan Kogyo Co., Ltd.

**Roughage was mainly grass hay mixed with timothy.

***Unsaturated fatty acid.

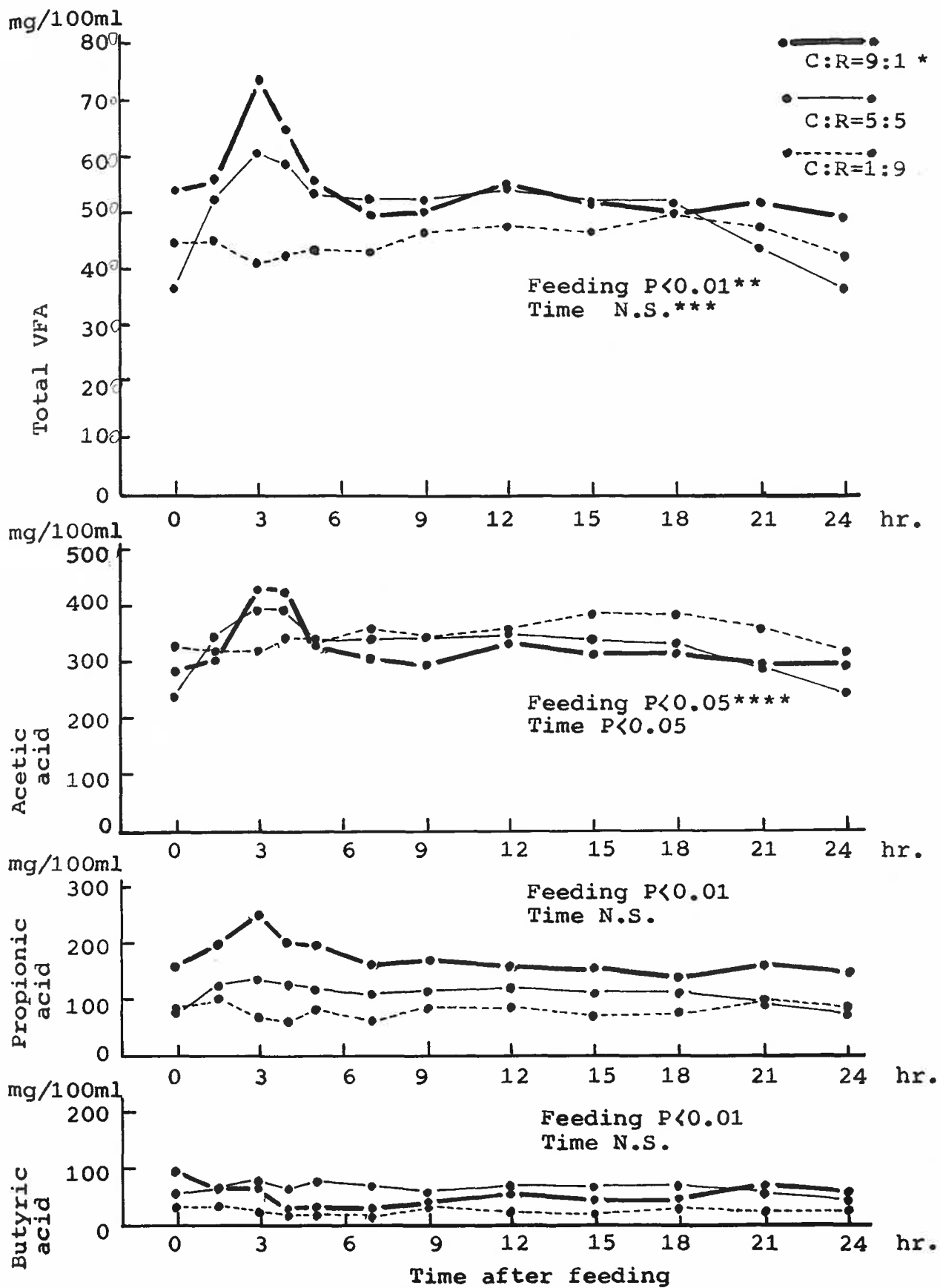


Fig. 2-1-1-3. Change in concentration of VFA in rumen liquor.
*C---concentrate, R---roughage. **Significant at 1 % level of probability, ***Not significant, ****Significant at 5 % level of probability.

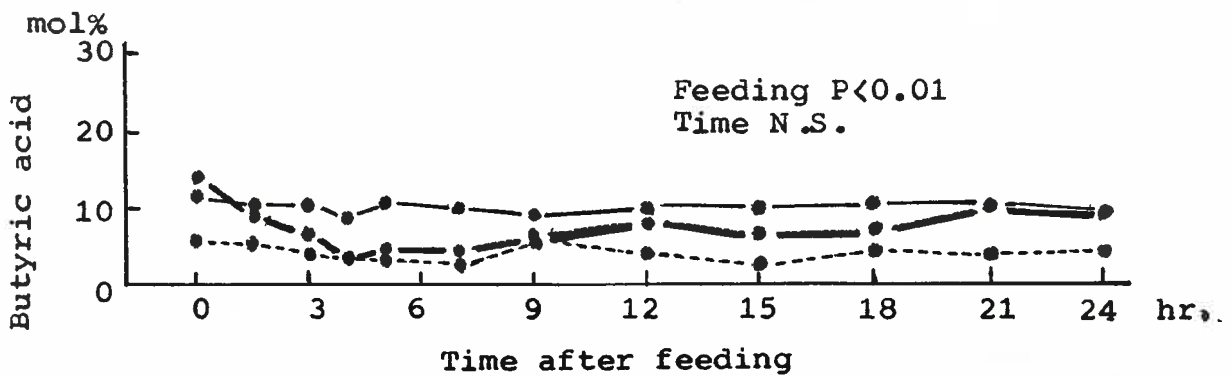
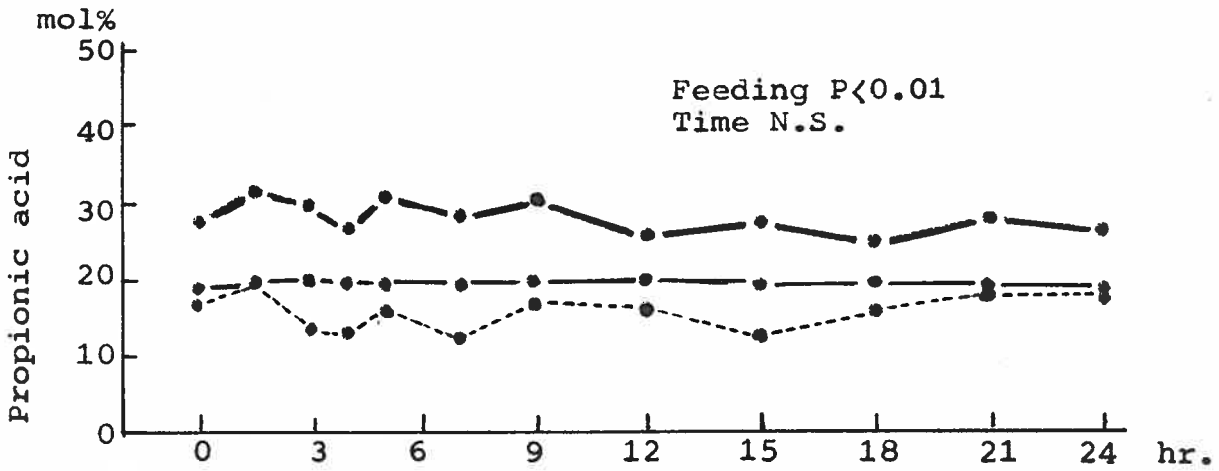
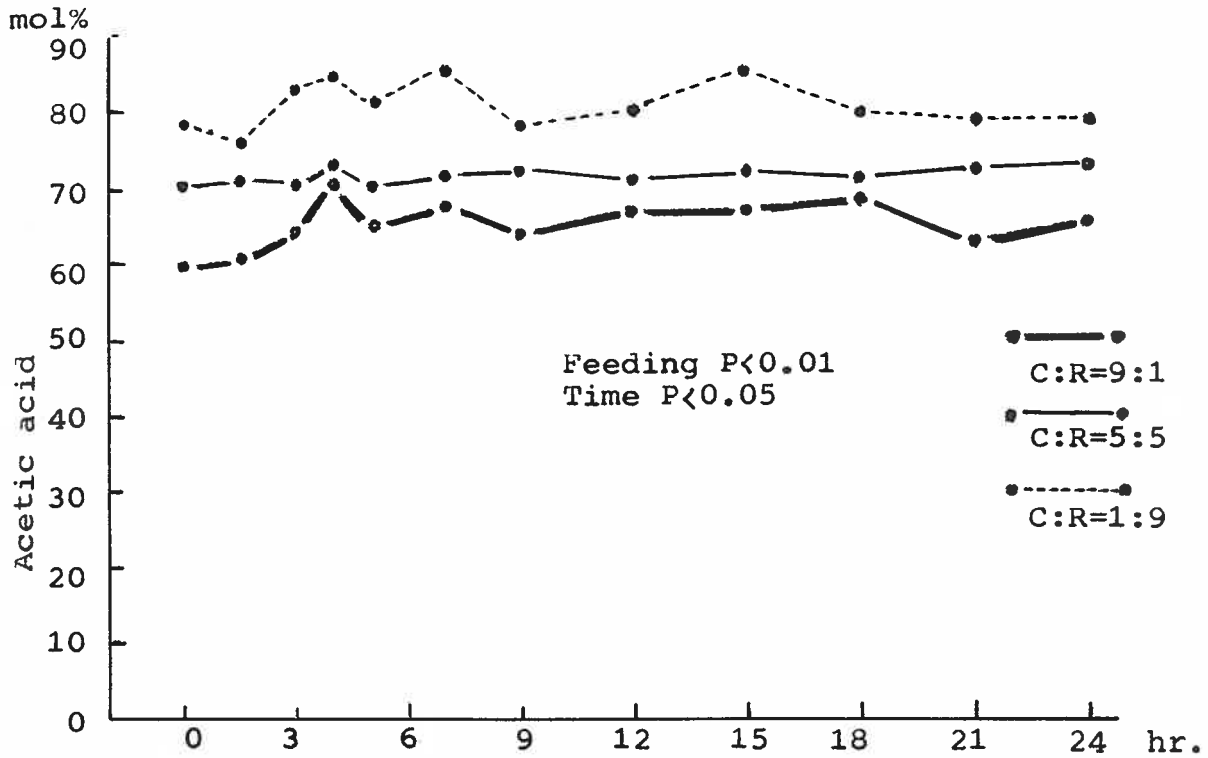


Fig. 2-1-1-4. Change in mol percentage of VFA in rumen liquor.

は大麦と乾草の給与割合を変えて本実験と同様なことを報告し、Bath and Rook⁹⁾ が構造的炭水化物と酢酸割合の間に高い正の相関を認めており、粗繊維成分が酢酸発酵、澱粉などの易発酵性炭水化物はプロピオン酸発酵の主要な基質になっている。

濃厚飼料の脂肪酸組成はC_{18:2}のリノール酸が47.2%と約半分を占め、不飽和脂肪酸は78.2%と牧乾草の約2倍に達している。一方、牧乾草の脂肪酸組成はC_{16:0}のパルミチン酸が41.1%と半分近くを占め、C_{18:1}およびC_{18:2}脂肪酸がそれぞれ11.2%、21.1%と成っている。

図2-1-1-5に採食開始から24時間までの第一胃液の総脂質と総脂質に占める脂肪酸割合の変化を示し、併せて飼料と時間の2元配置による分散分析の結果を付記した。測定日の給餌前の第一胃液の総脂質含量は濃厚飼料多給で471 mg/100 g、濃厚・粗飼料等量給与で127 mg/100 gであり、給与飼料中の粗脂肪含量が大差ないにもかかわらず、濃厚飼料多給で多くなる(P<0.01)ことが認められた。また、総脂質含量を給餌後経時的にみると粗飼料多給で殆ど変化がなかったが、濃厚飼料多給で採食開始後4時間で採食前の1/3に減少し、以後15時間後まで漸増する傾向を示した。濃厚飼料多給で飲水量が増加し第一胃液が薄められて総脂質含量が減少することも考えられるが、第一胃の容積は10 liter以上あり¹²⁾ 2 liter位の飲水量では希釈にはそれほど影響しないと思われる。第一胃内容の脂質は飼料に含まれているもの、微生物体に存在するものおよび無菌液中に存在するものがあり、牧乾草のみ給与の場合の微生物体に含まれる脂質は19.7%にすぎない⁸⁾。しかし、濃厚飼

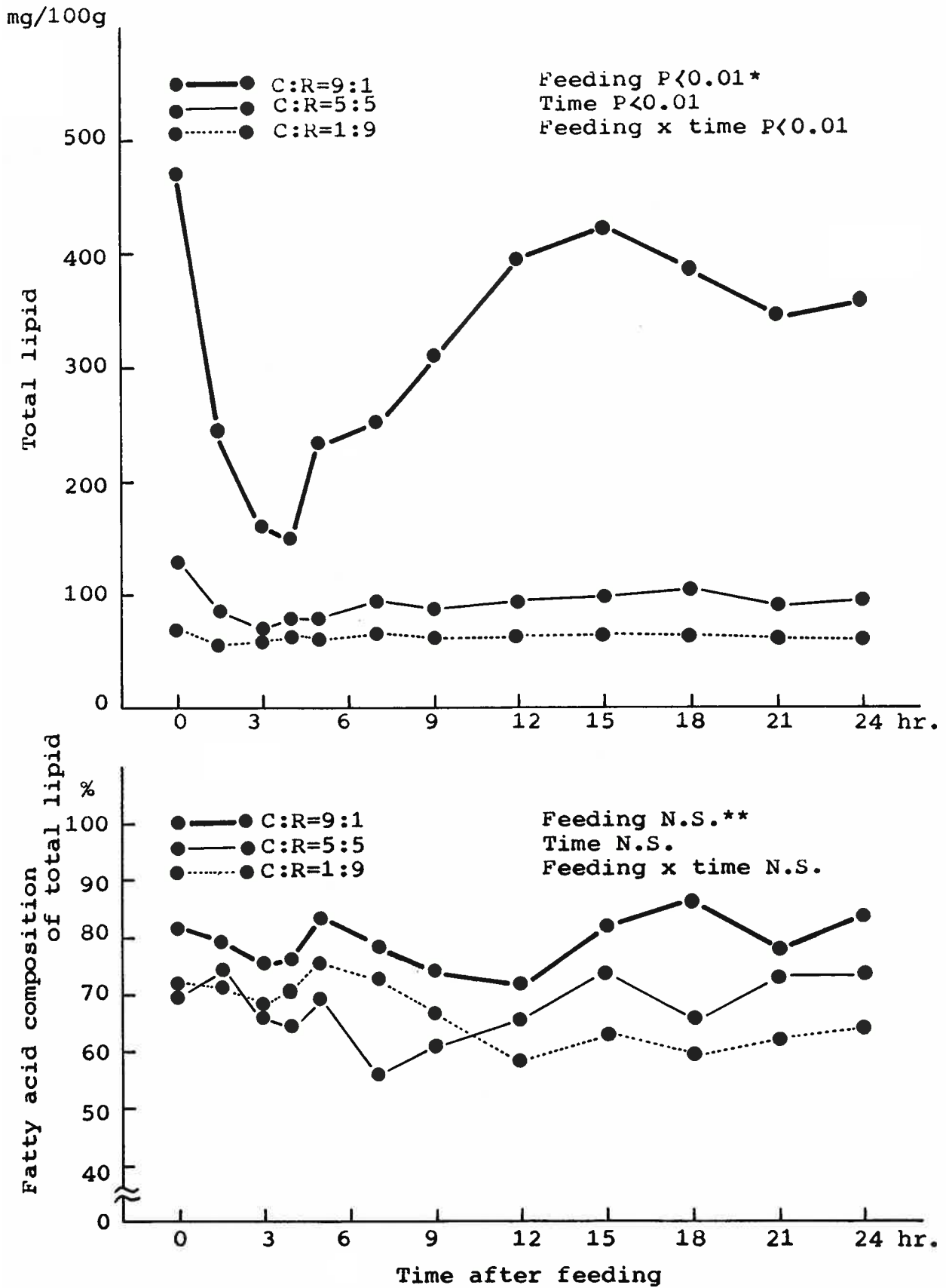


Fig. 2-1-1-5. Change of total lipids and fatty acid content of total lipids in rumen liquor.*Significant at 1 % level of probability, **Not significant.

料を多給すると細菌の数が著しく増加する。¹⁸⁾ 一方、プロトゾアはメン羊に600 gの濃厚飼料と1,500 gの牧乾草給与で牧乾草だけ給与より増加するが、¹⁹⁾ 穀類を多給すると減少することより、²⁰⁾ 濃厚飼料を多給すると細菌脂質含量割合が増加すると考えられる。²¹⁾ Minatoらは、²²⁾ 第一胃液中に澱粉粒またはセルロース粉末を加えると10~20%の細菌がこれらの固形基質に投入直後付着する現象を見出した。濃厚飼料多給の場合、採食後第一胃液で総脂質含量の顕著な低下現象があったことは、相当量の細菌を主とする微生物が澱粉粒に付着し2重カーゼロ過時に飼料残渣として除去された為ではないかと思われる。

一方、Katz and Keeney²³⁾ はアルファルファ乾草を給与した乳牛の固形物を含む第一胃内容物の総脂質含量は平均541 mg/100 gで経時的には殆ど変化しないことを報告している。また、Hawke and Robertsonの報告では²⁴⁾ 生草給与の乳牛の2重カーゼロ過第一胃液中の総脂質含量は採食前の69mg/dlから採食2時間後には122 mg/dlと2倍近く増加し、6時間後に採食前にもどる変化をしている。この成績は著者の測定結果と一致しないが、後述の再実験でも採食後減少する結果が得られている。この違いの明確な理由は現在のところ見だし難い。濃厚・粗飼料等量給与時と粗飼料多給時には総脂質含量に顕著な差がなかった。このことは濃厚飼料が50%以下の給与割合の時は微生物の増殖に著しい差がなく、主として飼料中脂質の差がそのまま第一胃液中総脂質含量の差になったものと思われる。第一胃液総脂質が粗飼料多給の場合100 mg/100 g以下であったことは、アルファルファ乾草給与の場合微生物

体の脂質は94.5mg / 100gであったという報告²⁾を考え合わせると、
無菌液中には脂質は少量しか含まれていないことを示唆している。

図2-1-1-5に示したように、総脂質に占める脂肪酸の割合は濃厚飼料で多くなる傾向にあった。また、表2-1-1-2に示したように、飼料中脂質脂肪酸組成において濃厚飼料は長鎖のC₁₆脂肪酸が、牧草は短鎖のC₁₆脂肪酸がそれぞれ多かったことと、穀物脂質はトリグリセリド、牧草脂質はモノあるいはジグリセリド¹¹⁾が大部分なので飼料中脂質の不ケン価物の割合において濃厚飼料が低いことが原因であると考えられる。総脂質中の脂肪酸の割合は三種類の飼料とも採食後経時的に変動したが周期性はみられなかった。飼料を含めた第一胃内容物の総脂質に対する脂肪酸の割合が40%であったという報告¹²⁾と比較すると、本実験では飼料残渣を除去しているためか、60~80%とかなり高くなっている。第一胃内では飼料中の脂肪酸エステルが、細菌のリパーゼにより加水分解されるが、生成された長鎖脂肪酸は代謝されず、一方グリセリンは直ちにVFAに変換されるために¹³⁾第一胃液の遊離脂肪酸画分が多くなることが予想される。

第一胃液、プロトゾアおよび細菌画分の脂質に含まれるC_{16:0}およびC_{18:0}脂肪酸の採食に伴う経時的变化を図2-1-1-6、図2-1-1-7に示した。C_{16:0}脂肪酸は全画分とも全脂肪酸中1/5~1/4程度を占めており、第一胃液中のC_{16:0}脂肪酸は粗飼料多給で多く、経時的には採食後1.5時間まで直ちに上昇し以後漸減し7時間以後から安定する変化を示している。微生物中のC_{16:0}脂肪酸はプロトゾア、細菌画分

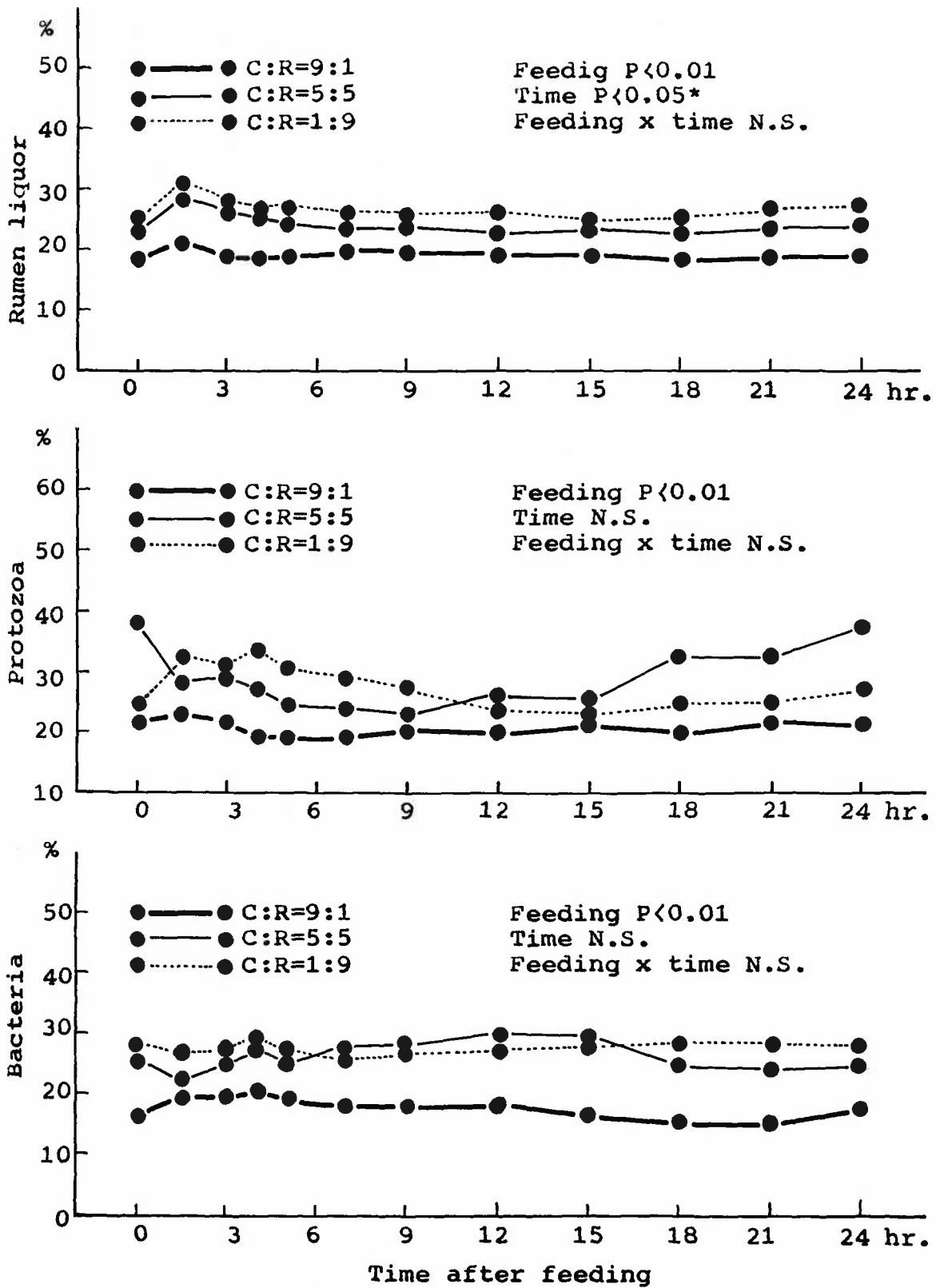


Fig. 2-1-1-6. Change in proportion of C16:0 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor, protozoa and bacteria. *Significant at 5 % level of probability.

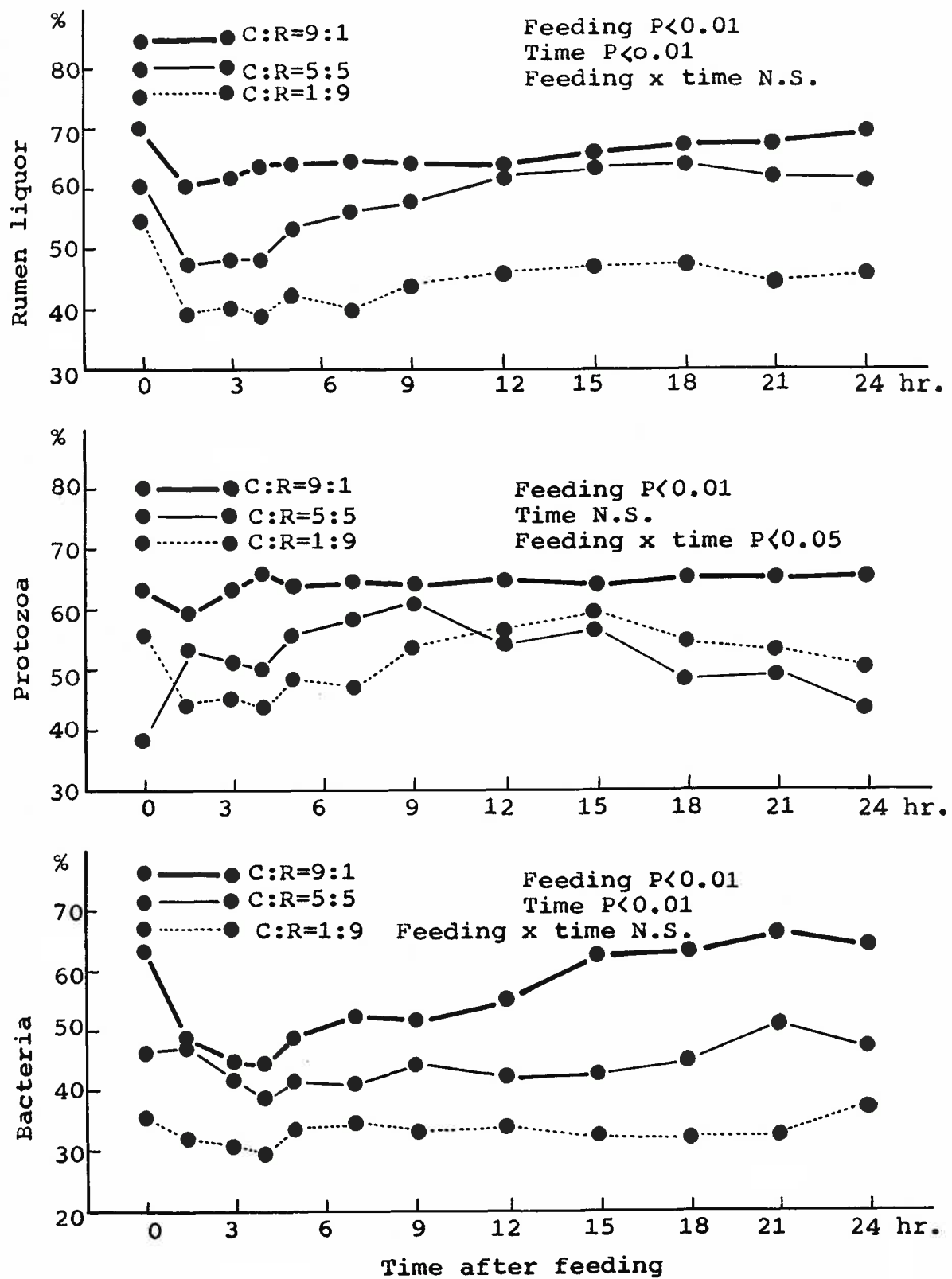


Fig. 2-1-1-7. Change in proportion of C18:0 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor, protozoa and bacteria.

とも濃厚飼料多給で低くなる結果 ($P < 0.01$) が得られた。採食後経時的には若干の変動があったが有意差がなかった。このことから、濃厚飼料と粗飼料の給与割合は微生物脂質中の $C_{16:0}$ 脂肪酸の採食に伴う経時的变化には影響を与えないものと思われる。

いずれの画分とも最も多い脂肪酸は $C_{18:0}$ 脂肪酸で、特に濃厚飼料多給で多くなり全脂質の約 $2/3$ を占めた。濃厚飼料を多給すると細菌脂質の $C_{18:0}$ 脂肪酸が著しく高くなる^{11a)} ことが知られており、本実験でも同様の結果であった。第一胃液の $C_{18:0}$ 脂肪酸はいずれの飼料給与時にも採食後直ちに減少し、3時間後位から漸増する結果を示した。周知のごとく穀物などの飼料中に多く含まれている C_{18} の不飽和脂肪酸は第一胃内で水素添加されてステアリン酸に変化する。しかし、亜麻仁油、サフラワー油などの C_{18} の不飽和脂肪酸が多量に含まれている油脂を第一胃内に注入すると第一胃内容の遊離脂肪酸とグリセリド画分中の $C_{16:0}$ および $C_{18:0}$ 脂肪酸は、 $C_{18:1}$ または $C_{18:2}$ 脂肪酸の急激な上昇に伴い減少^{11b)} する。Hawke and Robertson の報告では、これらの油脂を添加してもしなくても $C_{16:0}$ および $C_{18:0}$ 脂肪酸は採食後減少している。Katz and Keeney¹²⁾ は固形物を含む第一胃内容物の $C_{18:0}$ 脂肪酸は採食開始から2時間後まで46.0から41.0%と減少し、 $C_{16:0}$ 脂肪酸は逆に26.6から30.8%に増加すると報告している。以上のように、一般的に採食後の第一胃内の $C_{16:0}$ 脂肪酸の変動は報告によりまちまちであるが、 $C_{18:0}$ 脂肪酸は減少するといえよう。本実験で、 $C_{16:0}$ 脂肪酸がいずれの給与割合でも増加する傾向にあった。これは、濃厚飼料と牧乾草には $C_{18:0}$ 脂肪酸に

比べてC_{16:0}脂肪酸が多く、第一胃内に流入後直ちに加水分解をうけて、その後不飽和脂肪酸への水素添加が起こるため採食直後の第一胃液中の脂肪酸は飼料中の脂肪酸組成を反映しているものと思われる。プロトゾアのC_{18:0}脂肪酸の採食に伴う経時的変化には周期性がなかったが、細菌のC_{18:0}脂肪酸はいずれの給与割合でも採食とともに減少し4時間位から漸増する傾向を示した。

次に、不飽和脂肪酸の大部分を占めているC_{18:1}脂肪酸の変化を図2-1-1-8に示した。第一胃液と細菌中のC_{18:1}脂肪酸は飼料間の差、採食後の経時的変化とも同様な変化を示した。すなわち、飼料間では濃厚飼料多給で多く、採食開始3時間まで2倍以上に上昇し以後漸減し24時間後にはほぼ採食前の値にもどった。しかし、プロトゾア中のC_{18:1}脂肪酸はいずれの飼料給与時にも10%前後であり、明らかな経時的変化はみられなかった。プロトゾアと細菌中の脂肪酸組成に関する報告は多数^{49,54,55,124,131)}みられる。しかし、採食に伴うこれらの経時的変化に関する報告は非常に少ない。また、脂肪酸組成も報告者により組成が異なっている。ただ、細菌中のC_{18:1}脂肪酸は採食前の2~3%¹²⁴⁾から採食5時間後13%⁵⁵⁾であったことは本実験の結果を支持するものと思われる。このことは、細菌は飼料中脂質を速やかに利用するので、C_{18:0}およびC_{18:1}脂肪酸は第一胃液と同様な経時的変化を示したものと考えられる。一方、プロトゾア中のC_{18:1}脂肪酸で経時的変化がみられなかったことは、飼料や細菌を捕食する時間と2分裂時間が15時間と増殖に要する時間が長い⁷⁾ためと思われる。

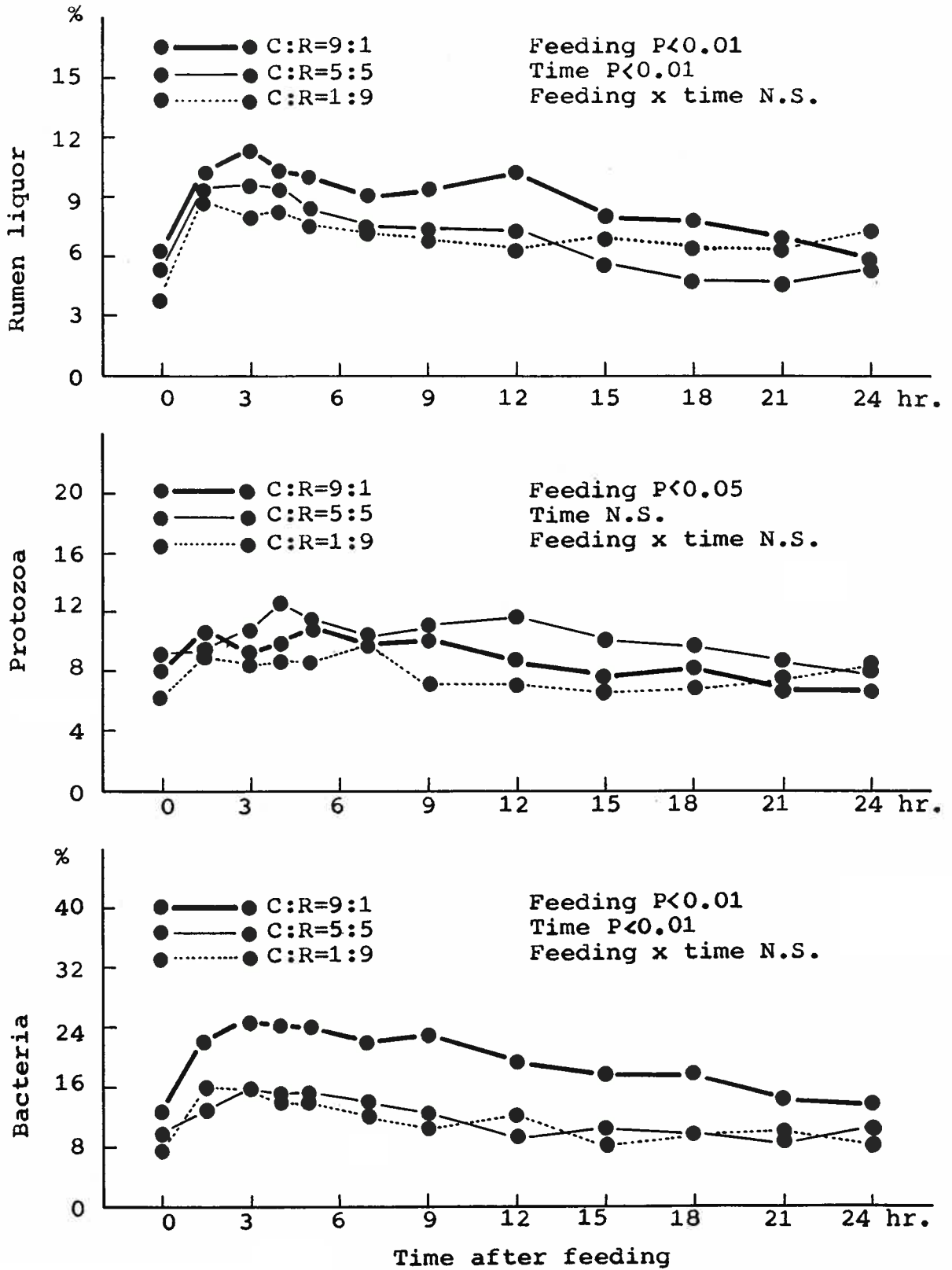


Fig. 2-1-1-8. Change in proportion of C18:1 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor, protozoa and bacteria.

図 2-1-1-9 にイソとアンテイスを合計した分枝脂肪酸の採食に伴う経時的変化を示した。第一胃液、プロトゾアおよび細菌のいずれの画分でも分枝脂肪酸は牧乾草多給で多く、濃厚飼料多給で少なかった。第一胃液中の分枝脂肪酸の粗飼料多給時の経時的変化は採食開始から 4 時間後まで 8.7 から 21.6% と著しく上昇し以後漸減する変化を示したが、濃厚飼料多給ではその含量は 3% 程度と低く採食に伴う経時的変化も全くみられなかった。一方、微生物中の分枝脂肪酸はプロトゾアと細菌とも粗飼料多給時に多かったが、採食に伴う経時的変化はいずれの給与割合でも殆どみられなかった。給与飼料による違いは特に細菌で顕著であり、その差は 5~8% であった。

なお、ここで注目すべきは第一胃液中のアンテイス C_{13} 脂肪酸の経時的変化である (図 2-1-1-10)。採食前 0.5% から採食 4 時間後 11.1% と 20 倍以上も増加した。図示しなかったが、プロトゾアおよび細菌脂質中のアンテイス C_{13} 脂肪酸は終始 1% 以下と低く経時的変化がなかったことより、この上昇は無菌口液中で起こる現象であることを示唆する。後述の、酢酸やプロピオン酸のごとき短鎖脂肪酸からの変換も証明し得ず、その生成機構は現在不明である。なお、このアンテイス C_{13} 脂肪酸と同定した物質は GC-MS による同定でも分枝脂肪酸と同定できた。

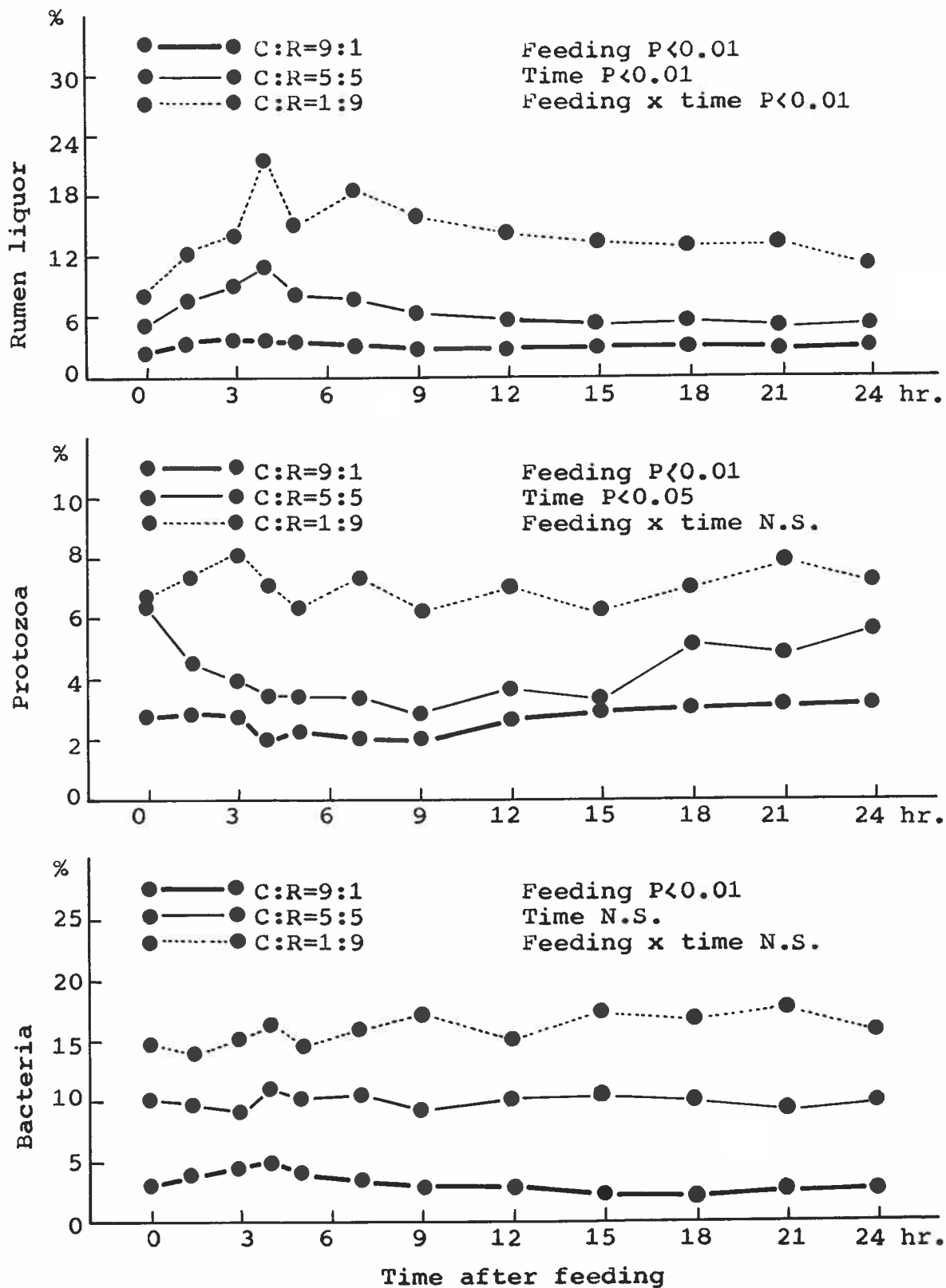


Fig. 2-1-1-9. Change in proportion of iso + anteiso branched chain fatty acids to total lipids in rumen liquor, protozoa and bacteria.

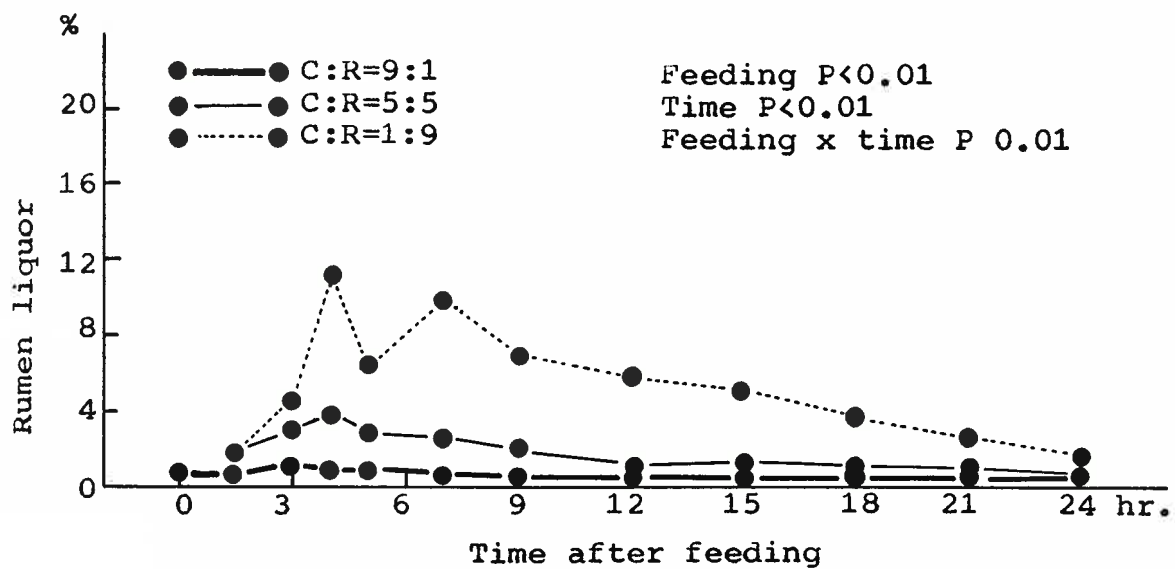


Fig. 2-1-1-10. Change in proportion of anteiso C13 branched chain fatty acid to total fatty acids in rumen liquor.

第二項 血漿脂質に与える影響

反芻家畜は、飼料中に多量に含まれるC18:2やC18:3などの高度不飽和脂肪酸を多く摂取するが、第一胃内で微生物により水素添加されるので体脂肪中には僅かしか含まれていない。しかし、反芻家畜の血漿中コレステロールエステルやリン脂質画分中には多くの不飽和脂肪酸が含ま^{74,87,114)}れている。このことは、第一胃内で水素添加を免れた不飽和脂肪酸が消化管から吸収されて血漿中に存在したと思われる。

また、血漿脂質画分のうち遊離脂肪酸は採食後減少^{3,58,101,114)}することはよく知られた事実である。他の脂質画分のうちトリグリセリドは採食後上昇⁵⁸⁾し、リポ蛋白となって血中に存在³⁸⁾する。

本項ではこれらの採食に伴う血漿中脂質画分や脂肪酸組成に濃厚飼料と粗飼料の給与割合が影響を与えるか否かを検討して、反芻家畜を肥育する場合の体脂肪合成における中間代謝の一端を明らかにすることを目的とした。

材料および方法

平均体重39.4kgのサフォーク種またはその雑種メン羊（明け2才、去勢雄）9頭を用いて、濃厚飼料（市販配合飼料）対粗飼料（牧乾草）比を7:3（濃厚飼料多給与）、5:5（等量給与）および3:7（粗飼料多給与）を設定した。各飼料給与にはメン羊を3頭ずつ配分した。1日当た

り体重の3.8 %を午前9時に給与した。飲水は自由に与え、5週間後頸静脈カテーテルを装着して採食開始から24時間にわたり3時間間隔で9回採血した。1回の採血量は20mlとし。常法により血漿を分離して総脂質はFolch らの方法²⁸⁾に準じて抽出して前項と同様にガスクロマトグラフィーにより分離定量を行なった。また各脂質画分に含まれる脂肪酸を測定するための脂質の分画は薄層クロマトグラフィー³⁰⁾により行なった。即ち、展開溶媒にはn-ヘキサン/エチルエーテル/酢酸 (80:20:1, V/V) を用いプレートにはSilica gel Gを用いて、40~50分間展開を行なった。ヨウ素を粉霧して各脂質のスポットを確認した後マイクロスパーテルでかき取り、コレステロールエステル、トリグリセリド、遊離脂肪酸はクロロホルムで、リン脂質はメタノールで抽出した。各脂質画分のメタノリシスは総脂質と同様に行なった。また、血漿中の各脂質画分の測定のうち、総脂質はBragdon 重量法¹²⁾、総コレステロールはKilliani反応によるZak の抽出法³⁰⁾、トリグリセリドはFletcherの方法²⁷⁾、遊離脂肪酸は和光純薬工業株式会社のNEFA-TEST Wako のキットを用いて、またリン脂質はフォスファチジルコリンとみなして脂質中のリンを測定したのち25を乗じた¹²⁾。また、血漿中グルコースは和光純薬のGLUCOSE-TEST-Wako を用いて測定した。

結果および方法

各飼料給与の採食量と飲水量の経時的変化を図2-1-2-1, 図2

- 1 - 2 - 2 に示した。いずれの飼料給与割合とも濃厚飼料は1時間以内で採食を終了し、牧乾草は濃厚飼料多給と等量給与で6時間、粗飼料多給は約15時間の採食時間を費やした。飲水量の経時的変化では、いずれの給与割合とも採食量に伴った経時的変化を示した。即ち、濃厚飼料を多給するほど、採食後の飲水量が多く、採食が終了すると飲水は殆ど行わなかった。粗飼料の多給与により採食開始から約12時間まで飲水が継続した。1日当たりの総飲水量では、濃厚飼料を多給するほど採食時間が短く、飲水量が増加する結果は前項の結果と全く同様だった。

各脂質画分の含量と総脂質の合計を100とした場合の百分率の経時的変化を図2-1-2-3, 図2-1-2-4に示した。トリグリセリドとコレステロールは濃厚飼料多給により多くなり、コレステロールは採食に伴う変化はなかったが、トリグリセリドは採食後減少する傾向を示した。遊離脂肪酸は濃厚飼料を多給するほど低く、採食に伴い濃厚飼料多給と等量給与は減少したのに対し、粗飼料多給では、僅かに増加する傾向を示した。また、リン脂質は給与飼料間の差は明確でなかったが、採食後いずれの飼料給与とも減少し、採食9時間後漸増する変化を示した。総脂質含量では上述のトリグリセリドとリン脂質が減少したことにより、いずれの飼料給与とも採食後減少する結果だった。以上4つの脂質の合計を100とした場合の各脂質画分の百分率では概ね、リン脂質が50%、コレステロールが30%、トリグリセリドが20%、遊離脂肪酸が1~2%の比率だった。経時的には採食後いずれの飼料給与ともトリグリセリドとリン脂質が減少したことによりコレステロールの割合が高くな

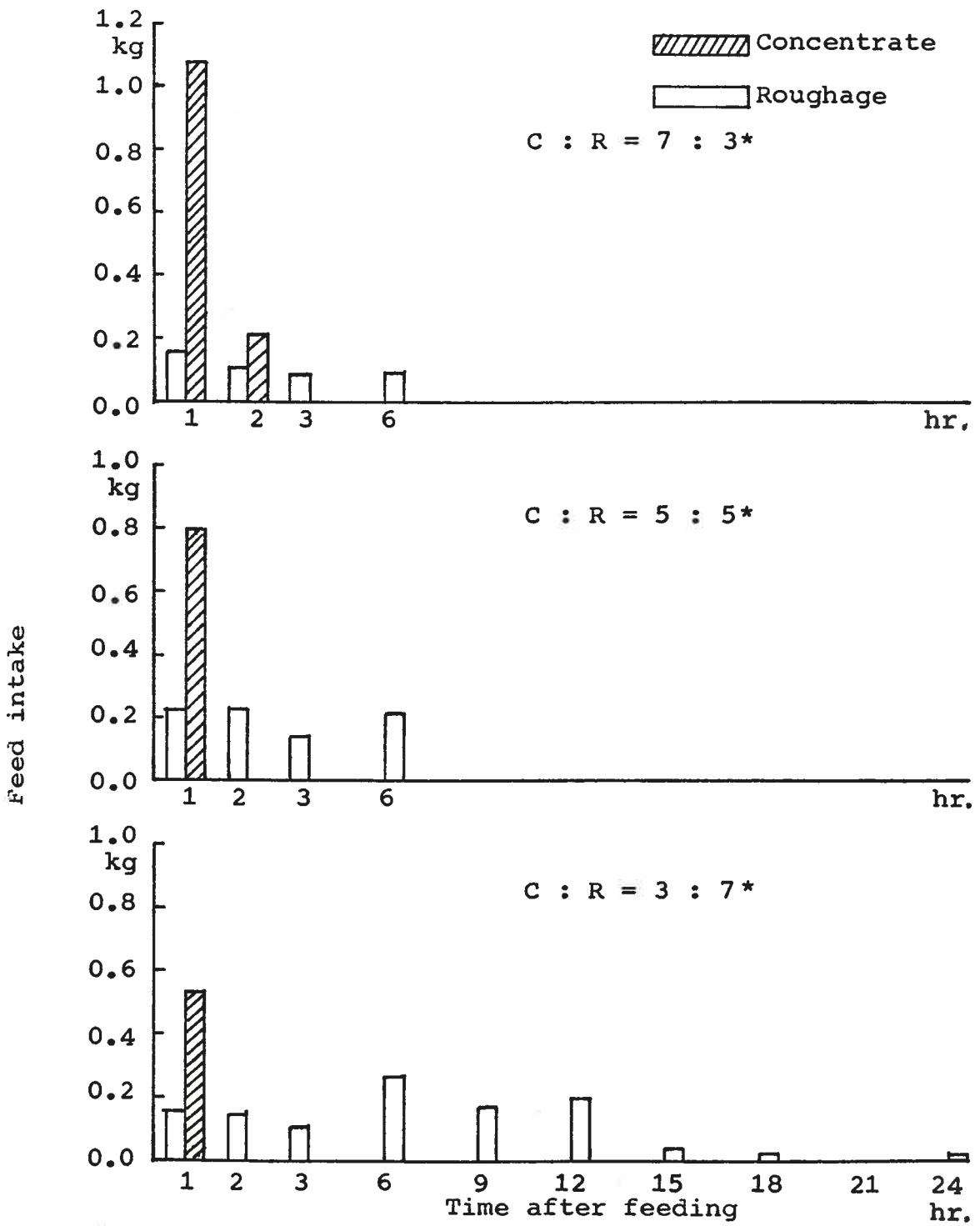


Fig. 2-1-2-1. Change of feed intake. *C---concentrate, R---roughage,

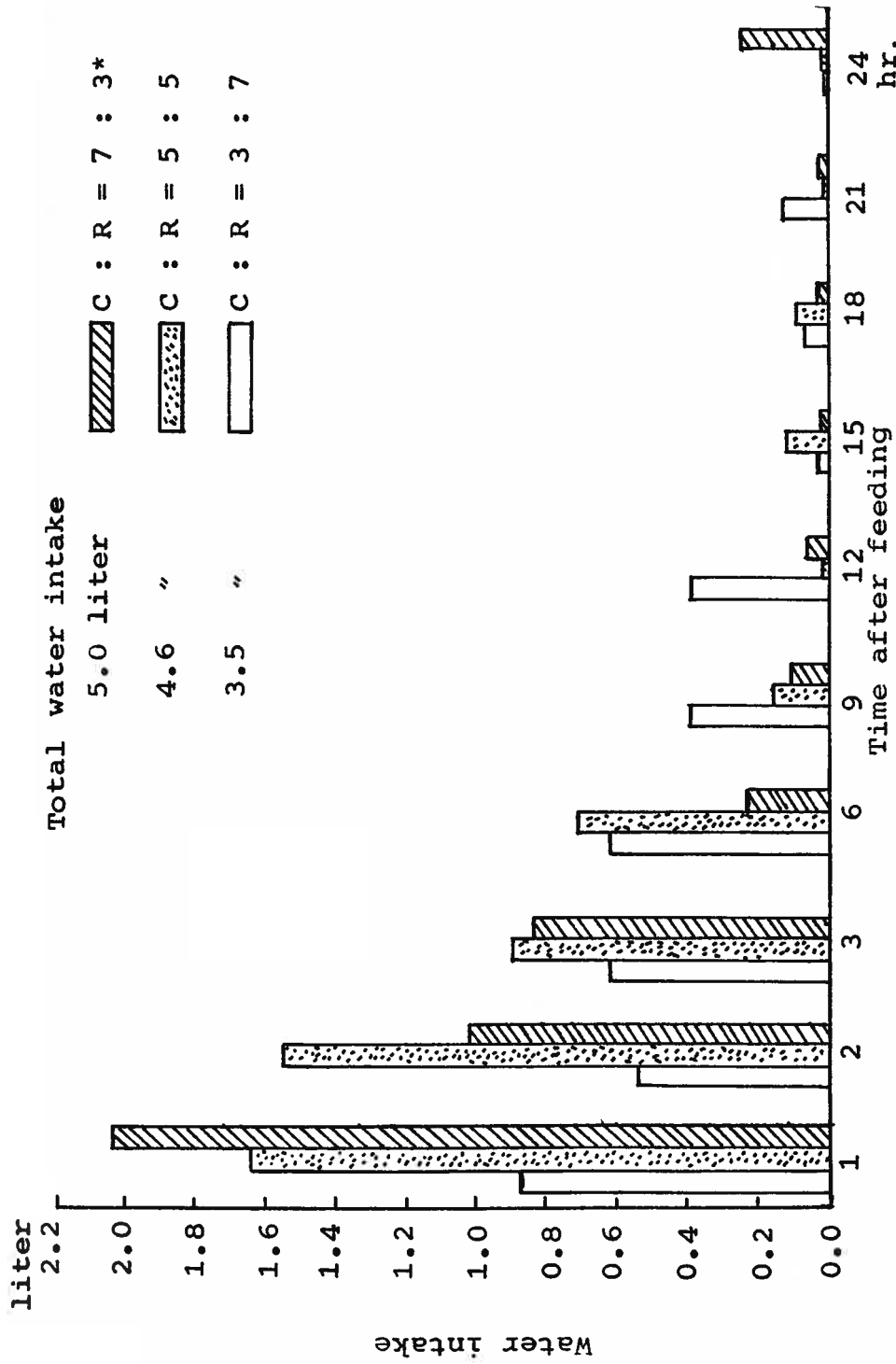


Fig. 2-1-2-2. Change of water intake with feeding. *C---concentrate, R---roughage.

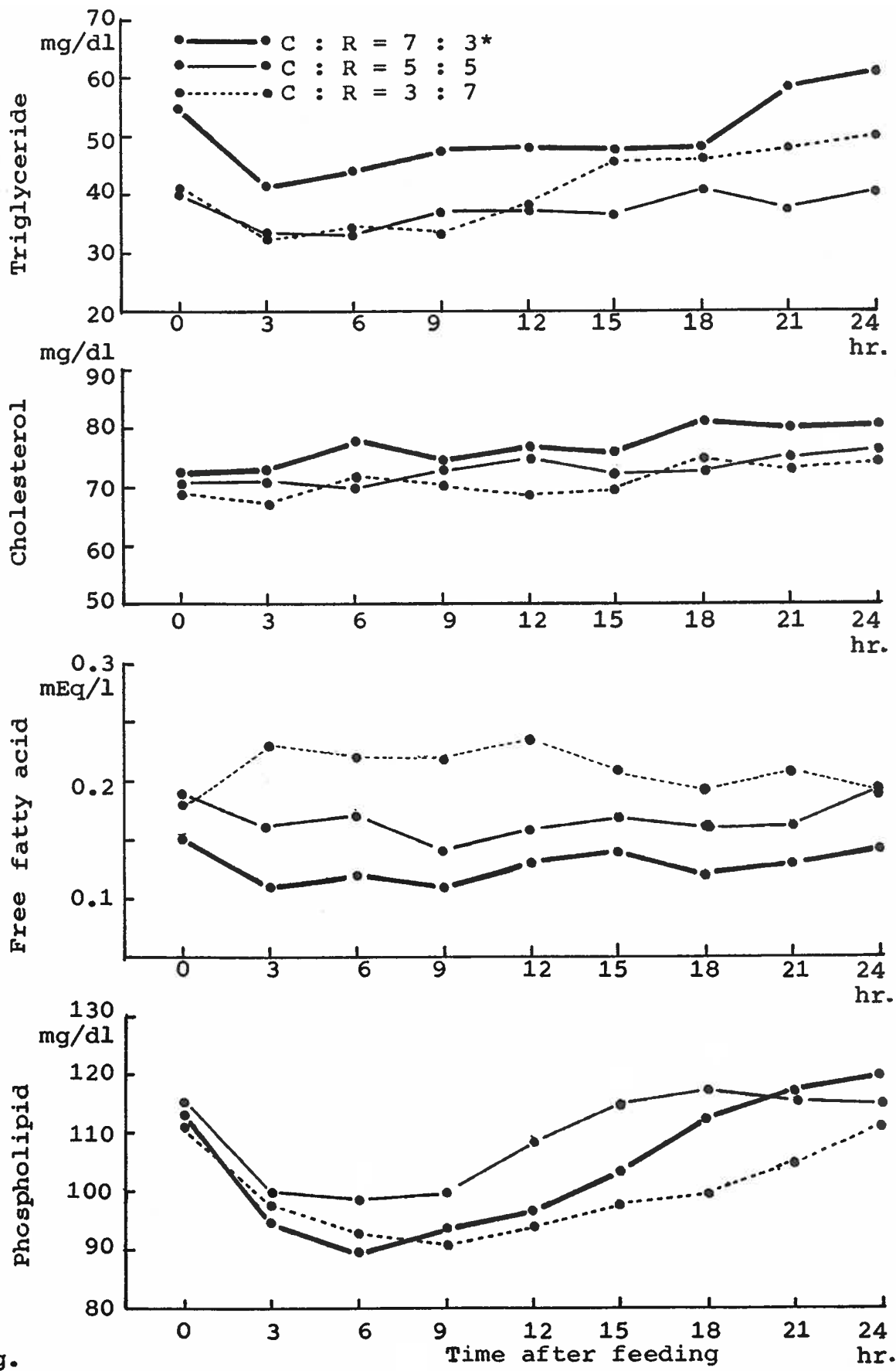


Fig. 2-1-2-3. Change of concentration of each lipid fraction in blood plasma. *C---concentrate, R---roughage.

WT

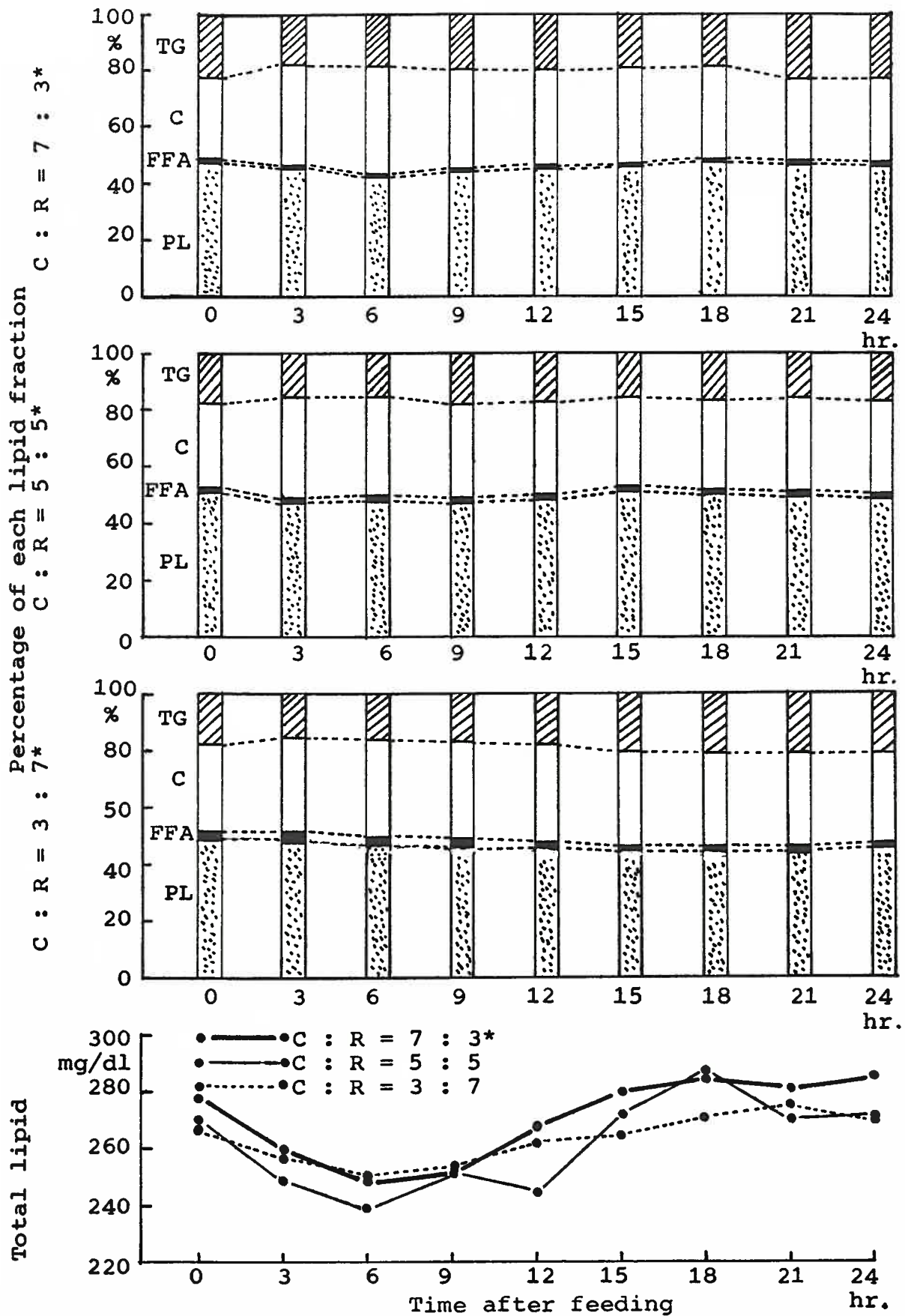


Fig. 2-1-2-4. Change of percentage of each lipid fraction and total lipid concentration in blood plasma.
*C---concentrate, R---roughage.

った。図2-1-2-5に血漿中のグルコース濃度の経時的变化を示した。濃厚飼料多給では採食開始6時間後急激に上昇し、12時間までに採食前の濃度に戻った。等量給与と粗飼料多給与では、採食後明らかなグルコース濃度の増加はみられなく、粗飼料多給与では減少する変化だった。採食に伴う血漿脂質のうち、遊離脂肪酸の変化については、採食後減少するという報告は多数ある。このように、採食するに伴い減少することは、第一胃から吸収されたVFAからのエネルギー供給が行なわれていることを示し、逆に増加する現象は絶食状態のときに現われ、エネルギー収支を知るうえで遊離脂肪酸の増減は有効な指標となっている。従って、濃厚飼料多給と等量給与で減少していることは、遊離脂肪酸がアルブミンと結合して体脂肪蓄積に利用されているためと思われる。しかし、粗飼料多給で採食後減少しなかったことについては納得しがたい。このことをさらに確認するために、薄層クロマトグラフィーで展開して分離した脂質に希硫酸を噴霧して、その黒色化度で遊離脂肪酸の濃度を測定したクロマトグラムを図2-1-2-6と図2-1-2-7に示した。このクロマトグラムより遊離脂肪酸画分の黒色度合は濃厚飼料多給では採食後薄くなったが、粗飼料多給では採食に伴い黒色度が薄くならなかった。このことは、採食後のグルコース濃度との減少とともに通常の変化と異なっているが、Lofgren and Warner⁴⁷⁾も採食後遊離脂肪酸濃度が増加する傾向を認めている。この採食後遊離脂肪酸が低下しない原因に、禾本科主体の牧乾草の採食には相当量のエネルギーを消費しているか、採血量が1回20mlでは多くストレスになったことなどが考えられる

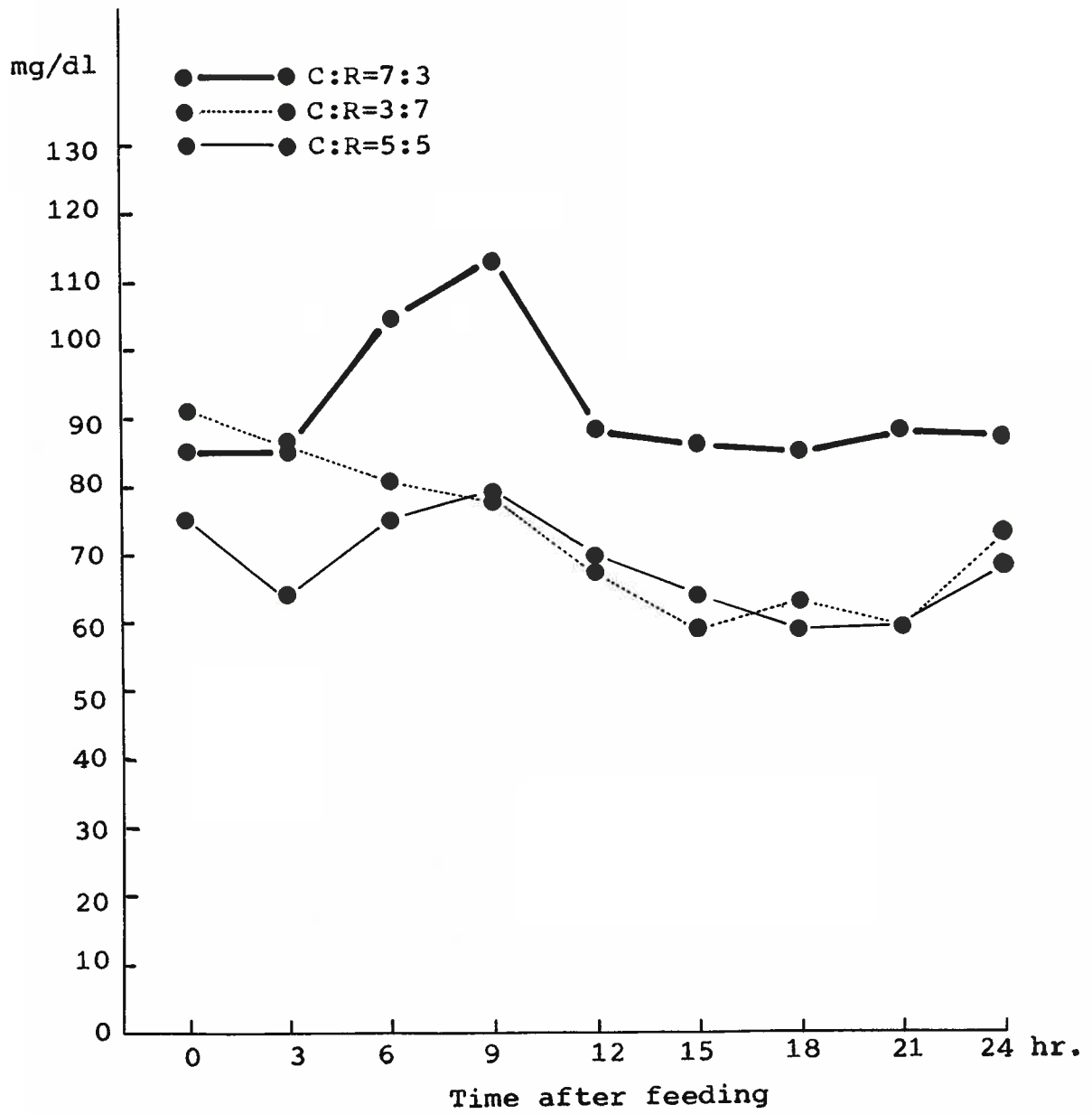


Fig. 2-1-2-5. Change of glucose concentration in blood plasma.

Concentrate : Roughage = 3 : 7

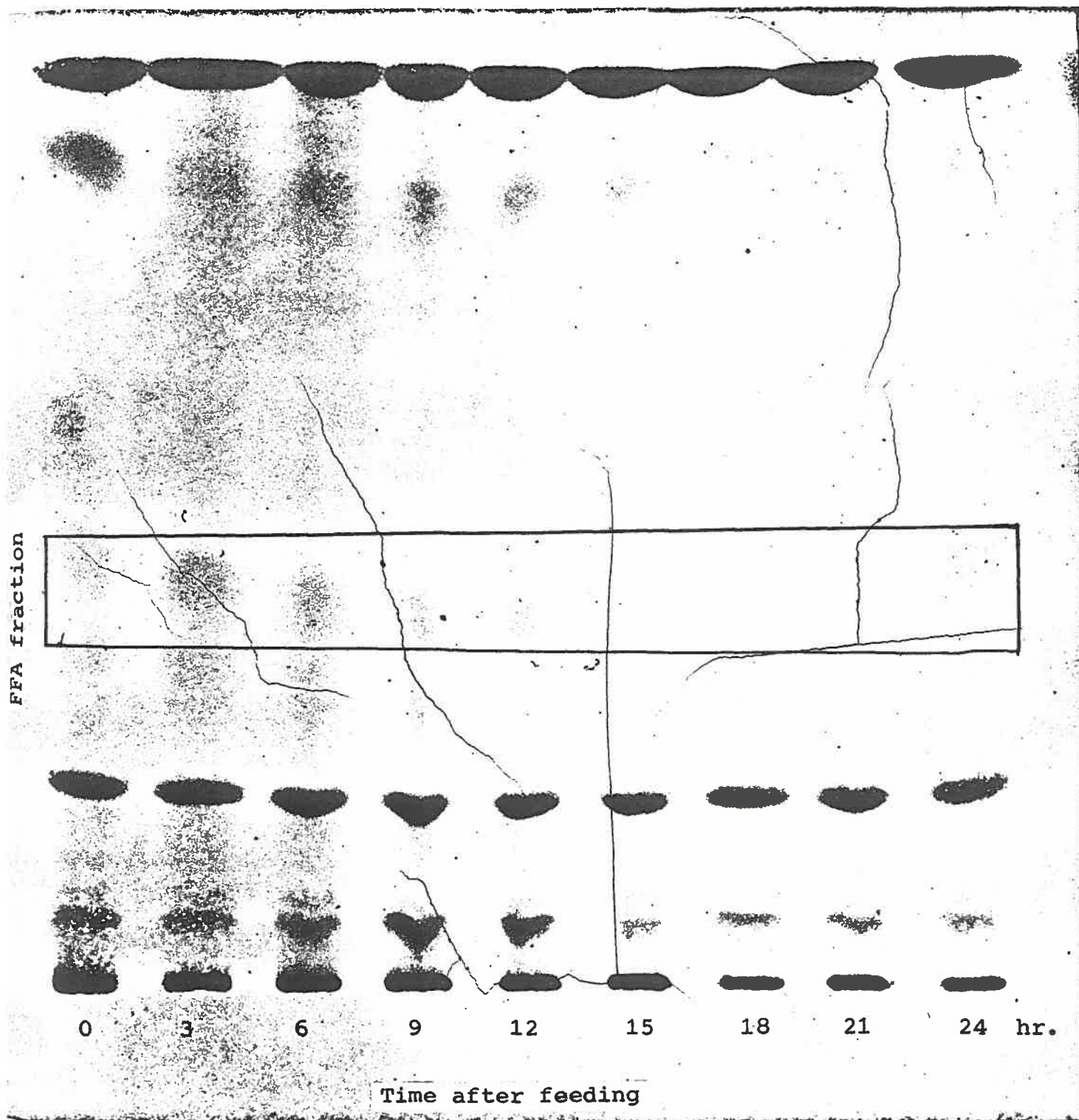


Fig. 2-1-2-6. Thin layer chromatogram of lipids of blood plasma.

Concentrate : Roughage = 7 : 3

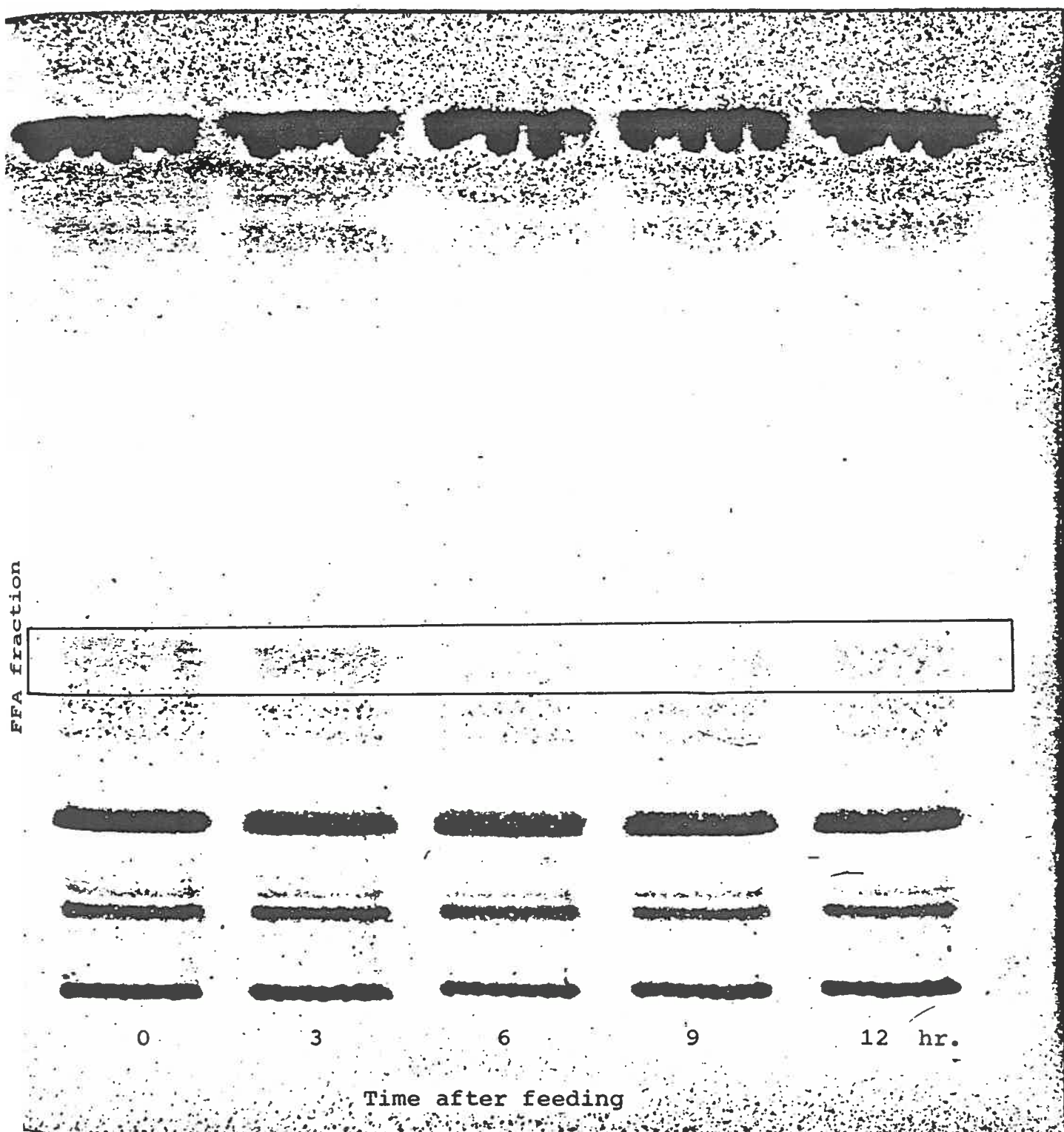


Fig. 2-1-2-7. Thin layer chromatogram of lipids of blood plasma.

が明らかにするにはさらに例数を重ねて追試する必要がある。飼料の種類と遊離脂肪酸レベルとの関係では乾物の給与量が多いとレベルが低⁴⁰⁾くなる。また、同じ粗飼料でも良質のアルファルファで低く、品質の悪い禾本科牧草で高いレベルにあることを報告している。本実験でも濃厚飼料⁹²⁾を多給するほど遊離脂肪酸のレベルは低くなった。トリグリセリドは貯蔵のための脂質の輸送の上で重要な役割を担っているが、カイロミクロンや超低密度リポ蛋白として主にグロブリンと結合して搬送され、採食後外因性の脂肪の吸収によって増加する³⁸⁾。本実験では、濃厚飼料多給によりトリグリセリド含量は高かったが、採食後むしろ減少する傾向だった。この原因についても現在不明であるが、さらに詳細な検討が必要である。反芻動物のリン脂質の機能については明らかにされていないが、肉牛でトリグリセリドとの相関をみると0.95以上の高い値が得られ⁵⁹⁾、リン脂質の変化の様相はトリグリセリドの変化と同様と考えられた。本実験でもトリグリセリドとリン脂質は共に採食後減少しており、この報告と一致した。

次に血漿総脂質中の主要な脂肪酸組成の変化を図2-1-2-8に示した。C16:0とC18:1脂肪酸は飼料給与間と経時的にも差が認められなかった。C18:0脂肪酸は粗飼料を多給するほど高く、経時的にはいずれの給与割合とも採食後減少する傾向を示し、逆にC18:2脂肪酸は濃厚飼料を多給するほど高く経時的にはいずれの給与割合とも増加し、採食後9時間位から減少した。その結果、不飽和脂肪酸総量ではC18:2脂肪酸と同様な変化を示した。即ち、濃厚飼料多給で採食前52.4%から9時間

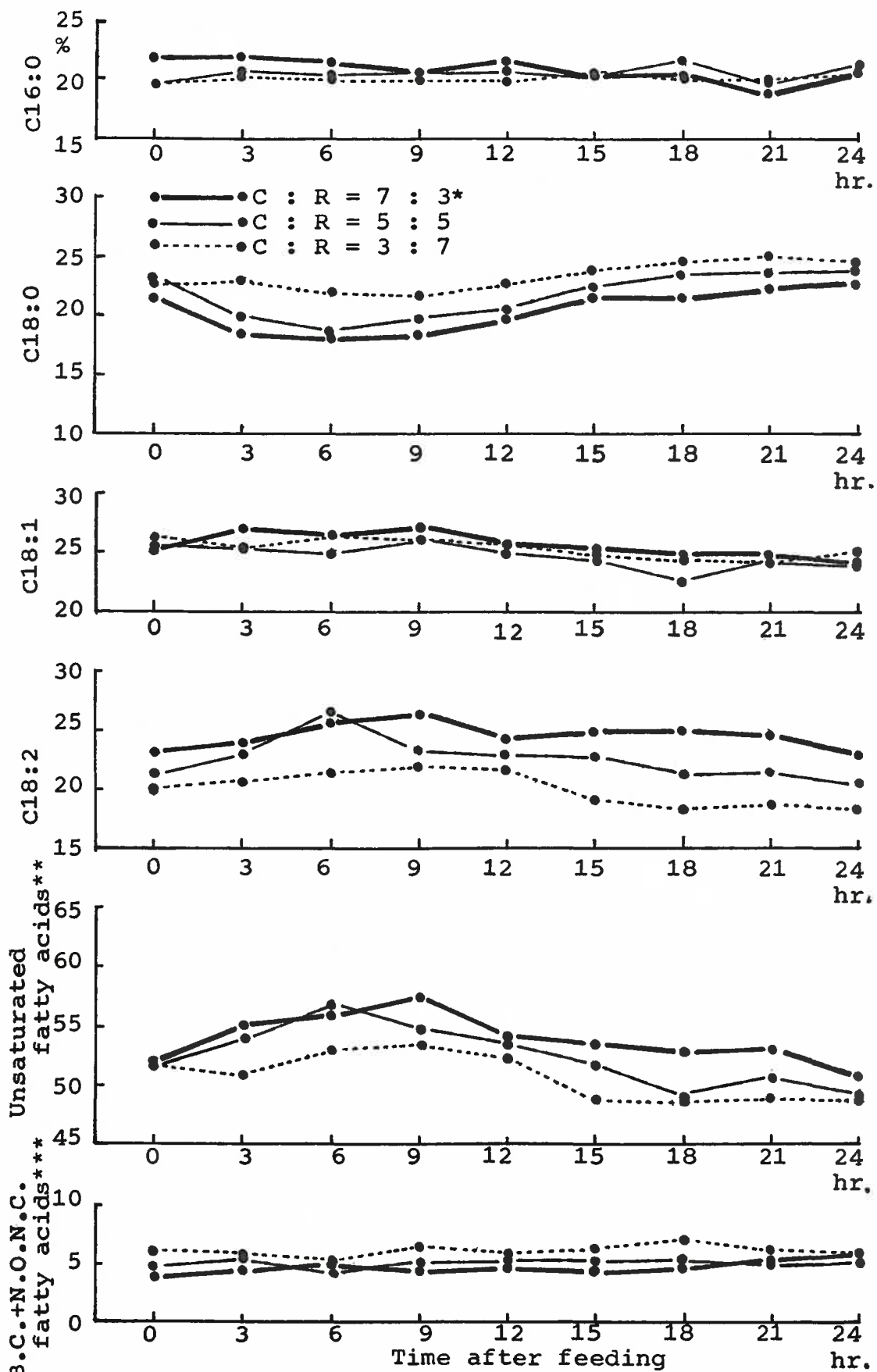


Fig. 2-1-2-8. Change of fatty acid composition of total lipids in blood plasma from sheep fed different diets. *C---concentrate, R---roughage.

後56.8%と最も著しく上昇した。分枝・奇数炭素脂肪酸 (B.C.+ N.O.N. C. fatty acids) では粗飼料多給により多くなり、前項の第一胃内液の結果と同様だった。

各脂質画分の脂肪酸組成の変化を図2-1-2-9から図2-1-2-12に示した。トリグリセリドとリン脂質画分脂肪酸組成は変動が大きく、濃厚飼料と粗飼料の給与割合と採食に伴う変化との明らかな関係は見い出せなかった。コレステロールエステル画分にはC18:1やC18:2の不飽和脂肪酸が多く含まれ、濃厚飼料多給の場合、採食に伴いC18:0脂肪酸の減少とC18:2の上昇が認められた。その結果、不飽和脂肪酸総量で全脂肪酸の約2/3以上を占めており、濃厚飼料多給で採食後C18:2脂肪酸が上昇したことにより採食後9時間に約16%も上昇した。上述のように濃厚飼料多給与の場合、総脂質中の不飽和脂肪酸が採食に伴い上昇したが、原因にリン脂質とトリグリセリドが採食に伴い減少することにより、コレステロールの比率が高まることと、コレステロールエステル画分中のC18:2脂肪酸の上昇したことが相重なって現われた。コレステロールはエステル型と遊離型の状態で存在するが、エステル型が全体の80~85%と高い割合で一定した割合であることが知られているためコレステロールエステルの結果が総コレステロールにそのまま反映すると思われる。田中らとMooreらはメン羊にC18:2のリノール酸を投与すると血漿脂質のコレステロール画分とリン脂質画分のC18:2脂肪酸が上昇したことを報告しているが、本実験のように47%のC18:2脂肪酸を含む濃厚飼料や遊離のC18:2脂肪酸を投与すると第一胃内では微生物による

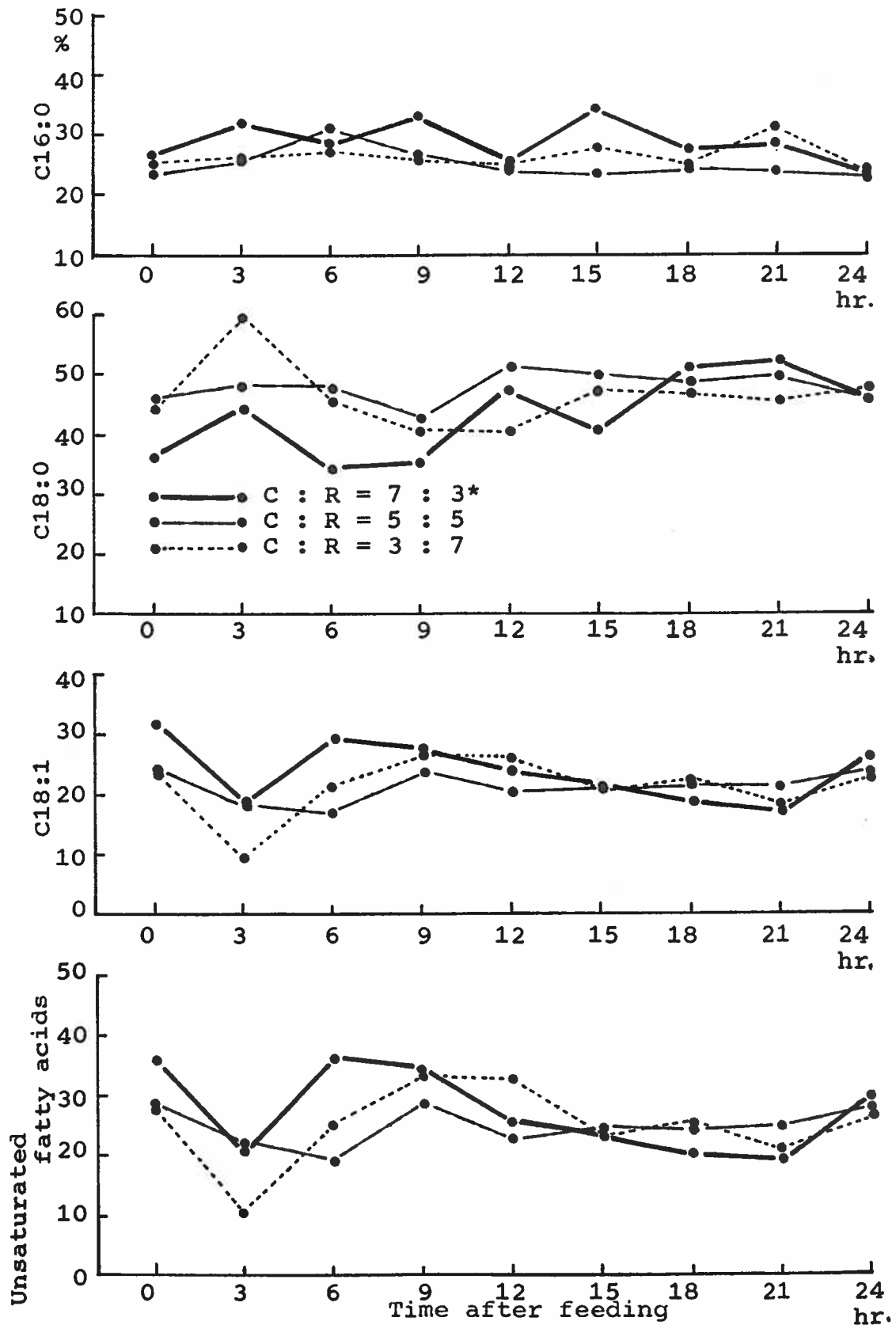


Fig. 2-1-2-9. Change of fatty acid composition of triglyceride in blood plasma from sheep fed different diets. *C---concentrate, R---roughage.

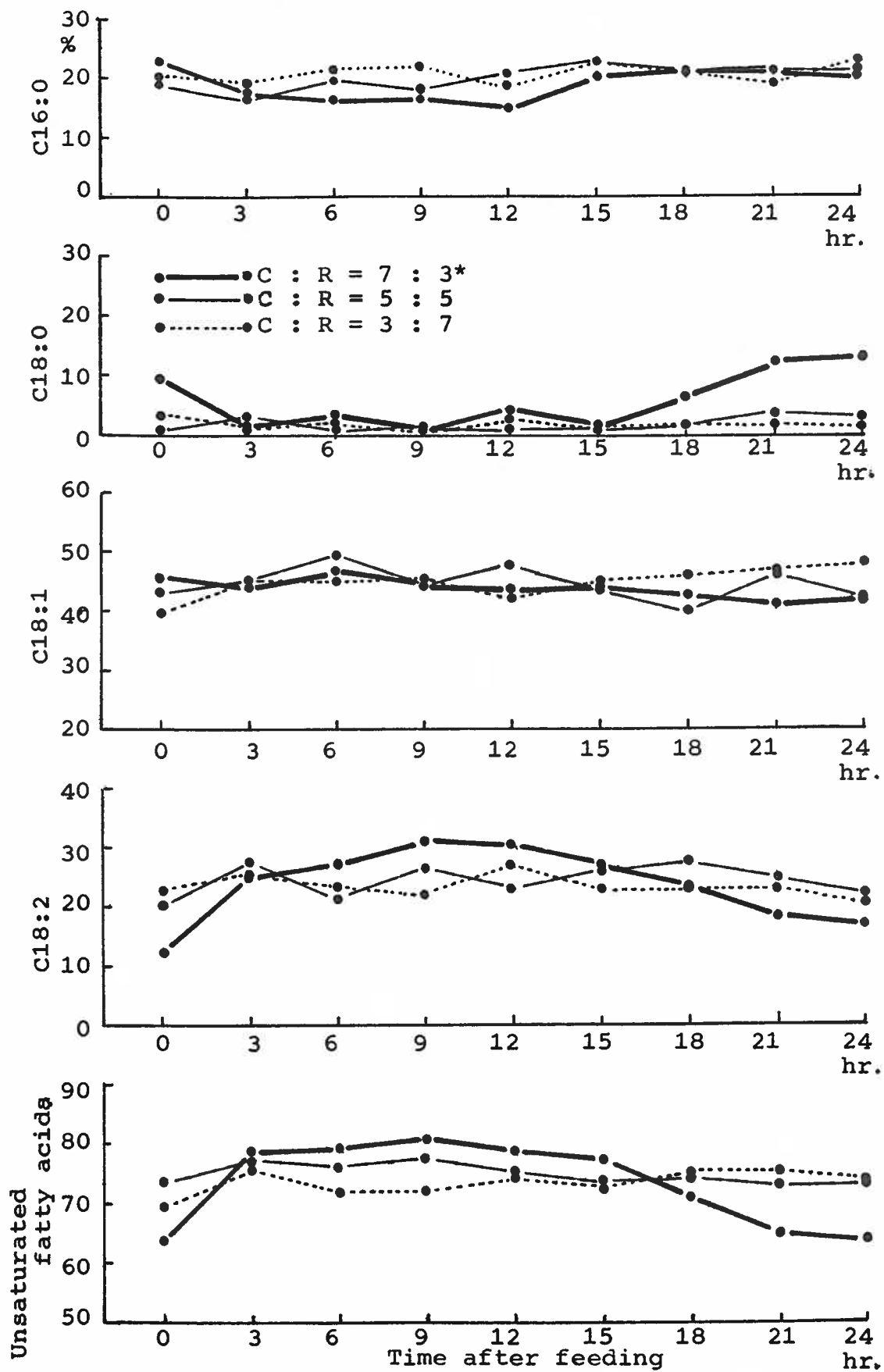


Fig. 2-1-2-10. Change of fatty acid composition of cholesterol ester in blood plasma from sheep fed different diets. *C---concentrate, R---roughage.

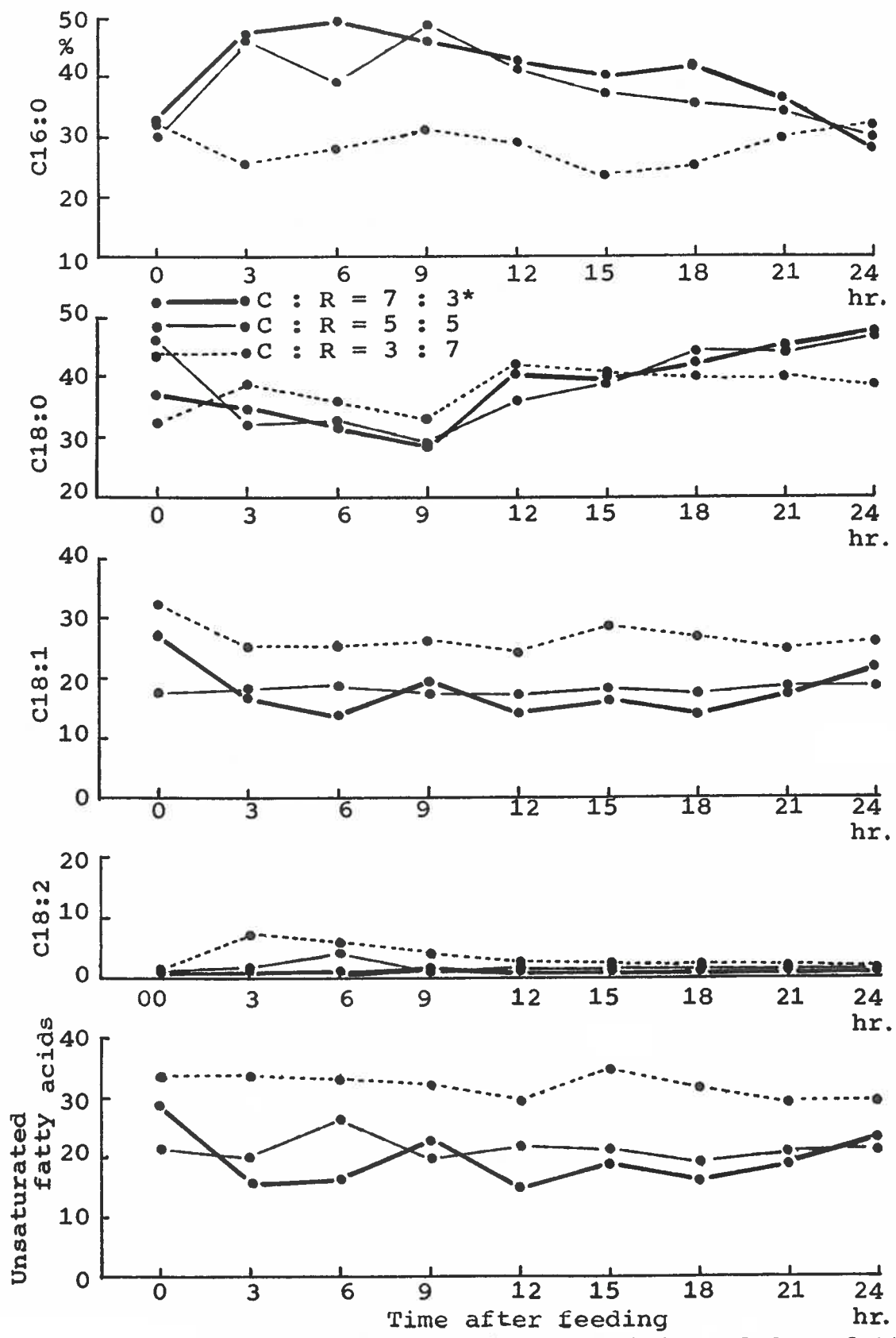


Fig. 2-1-2-11. Change of fatty acid composition of free fatty acids in blood plasma from sheep fed different diets. *C---concentrate, R---roughage.

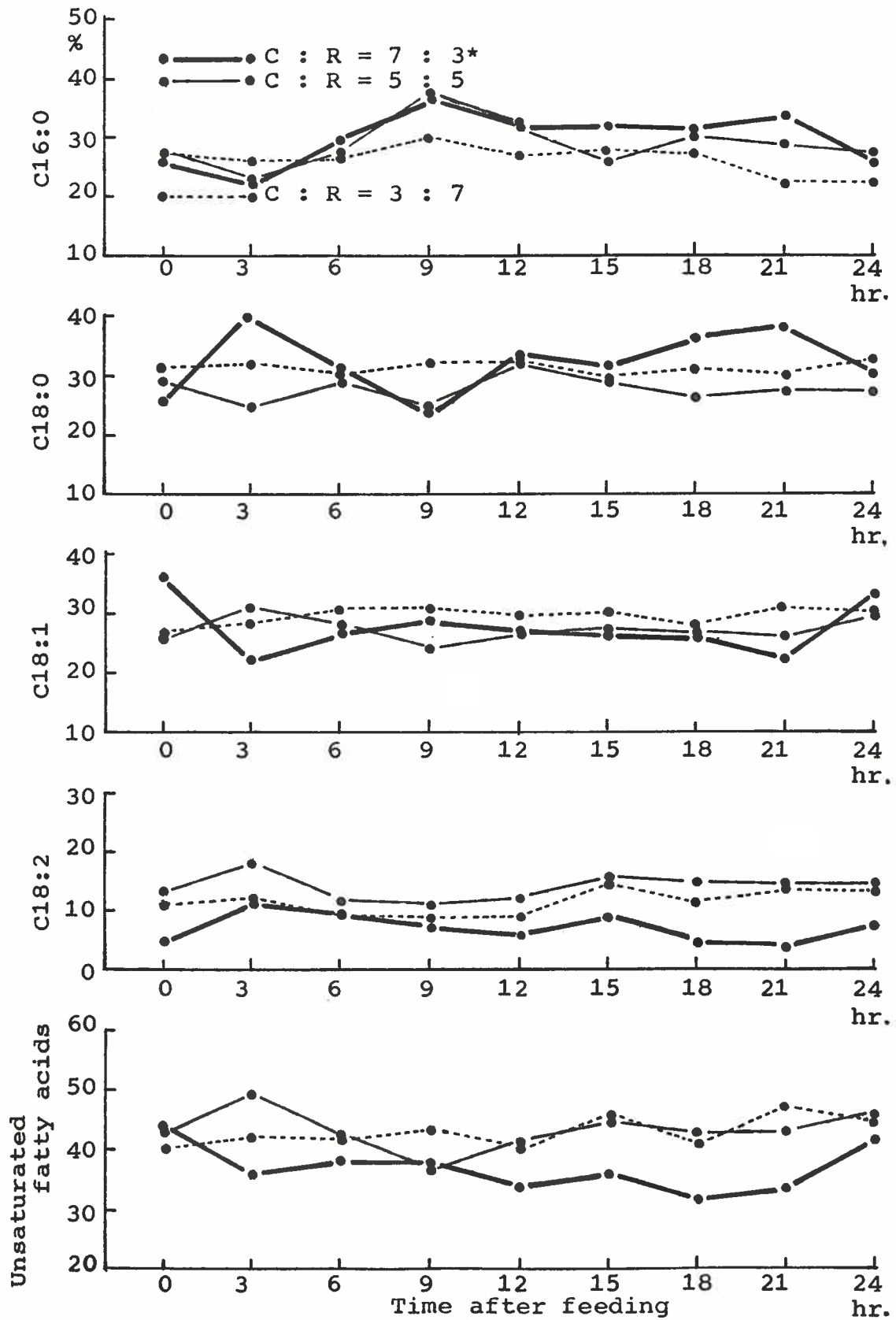


Fig. 2-1-2-12. Change of fatty acid composition of phospholipid in blood plasma from sheep fed different diets. *C---concentrate R---roughage.

水素添加を免れ、下部消化管に送られ、小腸粘膜の細胞に取り込まれ、カイロミクロン生成に利用され、小腸リンパ系から胸管リンパ系を通過して血液中に運ばれ、リン脂質やコレステロールエステルの合成に利用されたのであろう。

遊離脂肪酸の脂肪酸組成のうち粗飼料多給でC18:1とC18:2の不飽和脂肪酸が高くなる傾向を示した。血漿中遊離脂肪酸組成は体脂肪の脂肪酸組成と類似しており本実験の粗飼料多給の遊離脂肪酸組成が類似しておいたことは前述の遊離脂肪酸濃度と一緒に考察すると、エネルギー収支の関係で脂肪酸の動員とよく一致するが、結論付けるにはさらに例数を重ねることが必要と思われる。

第二節 V F A 塩添加給与が脂質性状に与える影響

前節で濃厚飼料と粗飼料の給与割合が第一胃内と血漿中の脂質に影響を与えることを述べた。濃厚飼料と粗飼料の給与割合が第一胃内の V F A 組成に違いが生じることより第一胃内で V F A から合成された長鎖脂肪酸に違いが生じることが考えられる。また、この第一胃内での V F A から合成された長鎖脂肪酸組成の違いが、循環血漿中の脂質に影響を与えることが推察される。一方、反芻動物では肝での脂肪酸合成が少なく、大部分は体脂肪組織で合成されると言われている。

本節では濃厚飼料と粗飼料の給与割合を 5:5 としてプロピオン酸と酢酸の V F A 塩を実験的に加えてメン羊の第一胃液と血漿中の脂質に与える影響を調べた。

第一項 第一胃内総脂質含量および脂肪酸に与える影響

材料および方法

体重約 30kg のフィステル装着メン羊 3 頭（雑種・去勢雄）を用いた。給与飼料は前節一項とほぼ同量の 1 日 1 頭当たり濃厚飼料（配合飼料）と牧乾草の給与割合を 5:5 とし体重の 2.4 % ずつ給与した。V F A のナトリウム塩の 17% 溶液を pH 6.8 に調整した。給与量は牛を用いて添加給与した板橋の報告を参考にして V F A を体重の 0.06% 摂取するように濃

厚飼料に混合した。飼料の種類は対照としてのVFA塩無添加、酢酸塩添加およびプロピオン酸塩添加の三種である。同一の飼料を同一時期に3頭に給与した。メソ羊は20℃のズートロン内で飼育し、飲水は自由とした。それぞれの飼料を2週間給与して飼育した後、1～3時間間隔で24時間にわたり第一胃内容を12回採取し、2重ガーゼで濾過後脂質分析に供した。

in vitroによる実験も同時に行なった。その方法は第一胃液10mlに McDougall の人工唾液³⁰⁾40mlを加えた溶液に上記の17%のVFA塩溶液(プロピオン酸・酢酸共)を0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, および5.0ml 注加して24時間39℃で培養した。その結果、2ml注加した場合にプロトゾアの運動が検鏡で鈍っていないことを確認したので、2ml注加を選ぶことにした。培養後の採取時間・採取回数はin vivo と全く同様に行なった。in vitroの実験は3連の繰り返しで行なった。

採食後の第一胃液中のVFAも前節一項と同様に行なった。

第一胃液の総脂質含量と脂肪酸組成の分析は前節と全く同様に行なった。

結果および考察

第一胃内容採取日の採食時間(分)と飲水量(ml)はそれぞれ、プロピオン酸ナトリウム添加給与114, 2400 酢酸ナトリウム添加給与114, 1900 無添加飼料162, 2200 であり、いずれも3飼料間に有意差はなかつた。

た。

図2-2-1-1～図2-2-1-3に採食に伴う第一胃内液のpHとVFAの濃度の変化を示した。その結果、pHはいずれの給与飼料とも採食後3時間まで急激に下降し、以後24時まで漸増し続け採食前の値に戻る変化を示した。VFA塩添加給与は無添加給与より若干pH値が高い傾向を示したがこれはVFA塩の緩衝作用があったためと思われる。総VFA濃度では3つの飼料給与とも採食開始後直ちに上昇して3時間まで最大VFA濃度を示し、以後漸減し24時間に採食前の濃度に戻った。当然のことながら、酢酸濃度は酢酸ナトリウム添加時に、プロピオン酸濃度はプロピオン酸ナトリウム添加時にそれぞれ高かった。図2-2-2-3のmol %比率の変化から、3つの飼料給与時とも飼料由来の酢酸の生成が相当量あるため、無添加時に較べて酢酸ナトリウム添加時の酢酸の濃度差よりもプロピオン酸ナトリウム添加時のプロピオン酸の濃度差が明らかに大きかった。酪酸濃度はプロピオン酸ナトリウム添加時に高くなる傾向だった。

次に採食に伴う第一胃内液の総脂質含量と脂肪酸の変化を図2-2-1-4から図2-2-1-10に示した。第一胃内液の総脂質含量は3つの飼料給与とも前節一項と同様に採食後3～5時間まで減少し、その後漸増する傾向がみられた。採食開始後9時間以後では酢酸ナトリウム添加給与がプロピオン酸ナトリウム添加給与より多くなった。in vitroでも培養開始とともに脂質含量は減少した。また、プロピオン酸ナトリウム添加では20mg/dl程度多かったが、1.5時間以後増減はなかった。

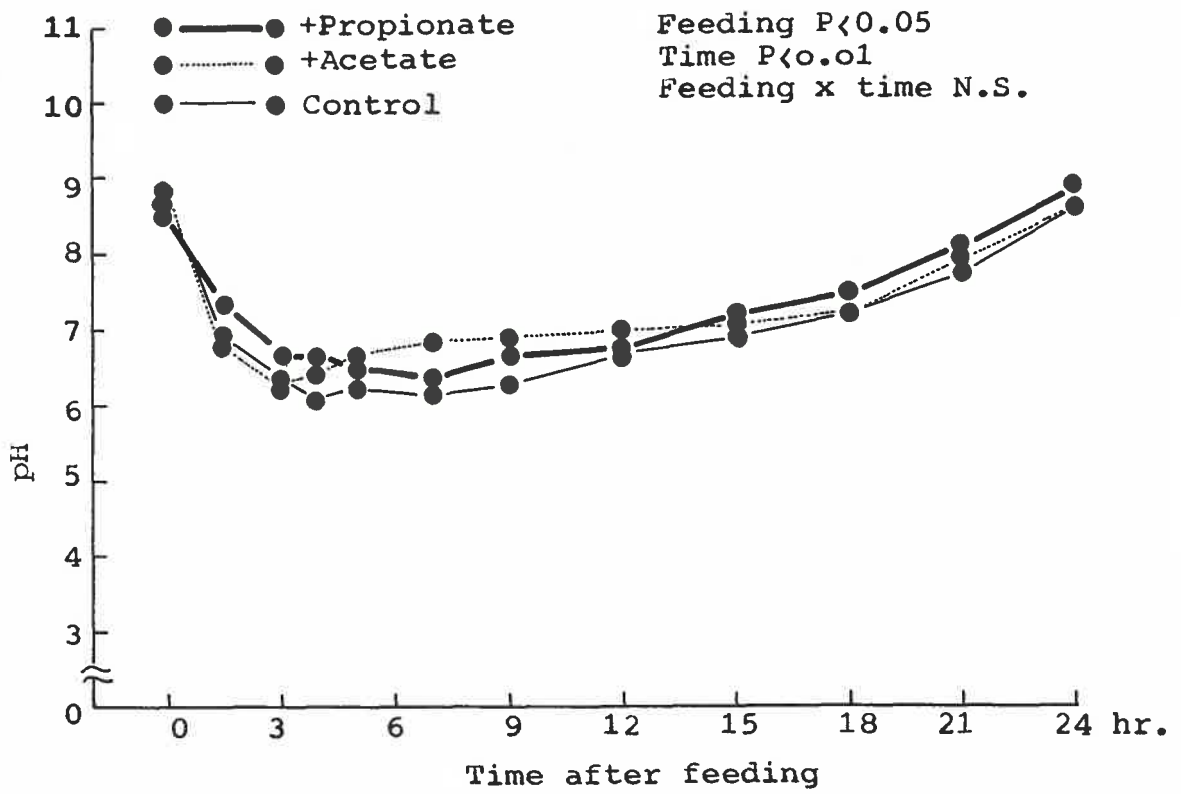


Fig. 2-2-1-1. Change of pH of rumen liquor.

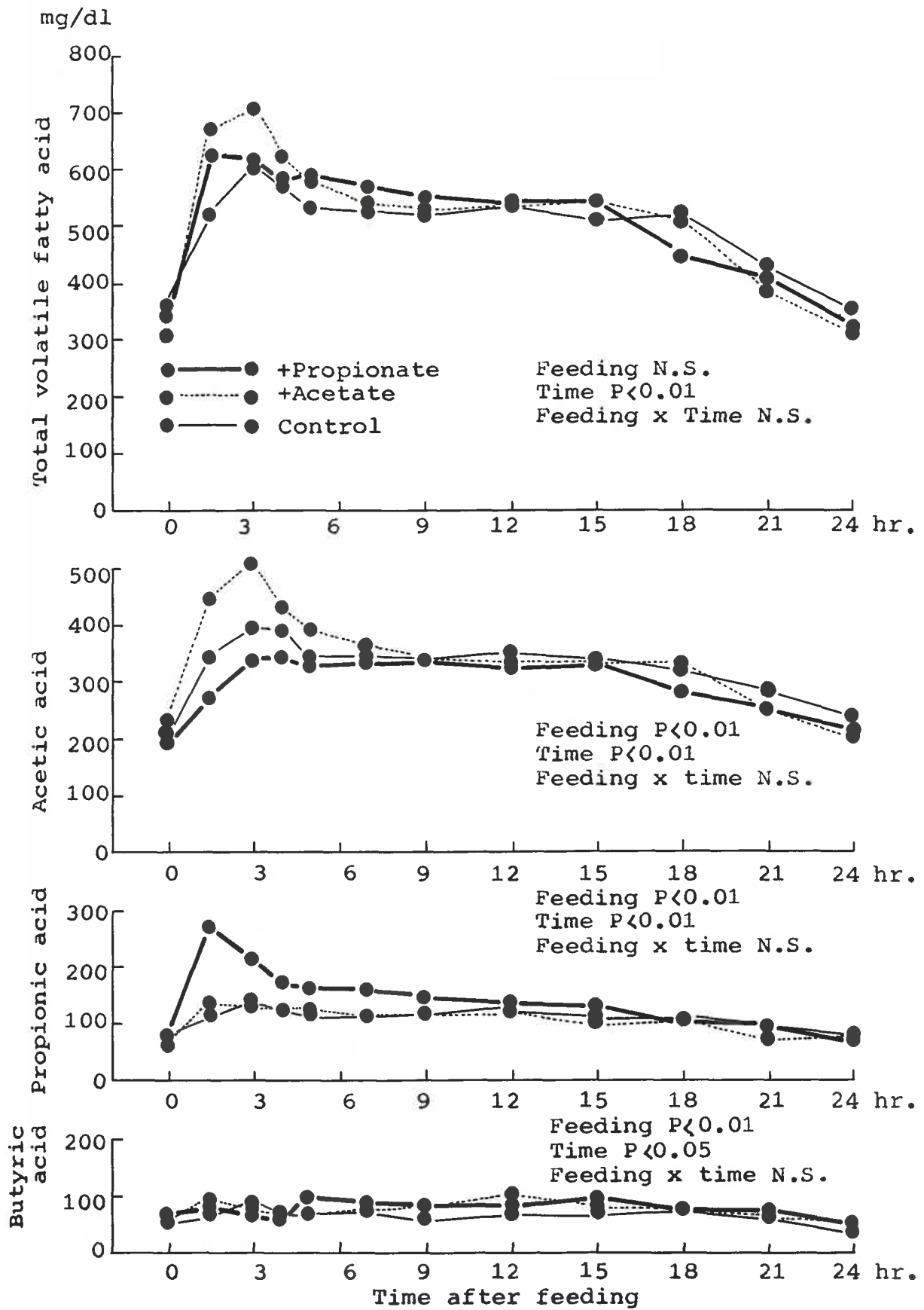


Fig. 2-2-1-2. Change in concentration of VFA in rumen liquor.

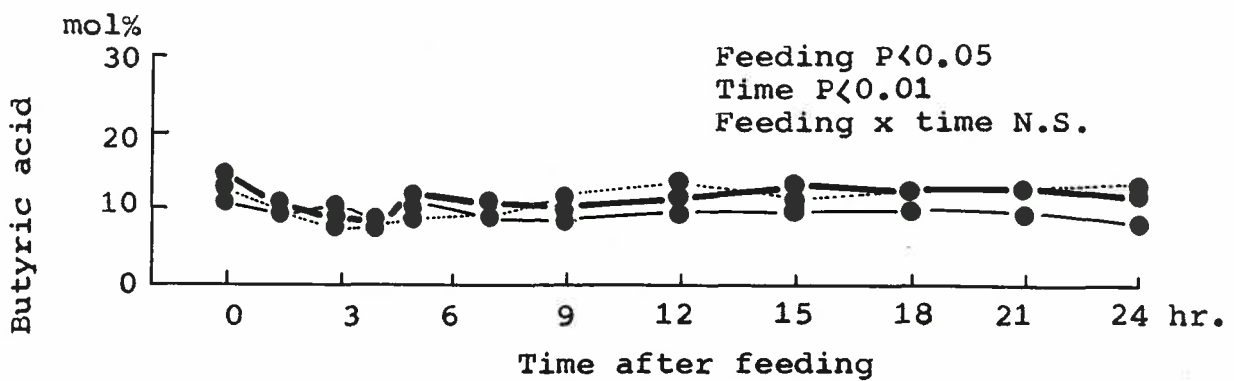
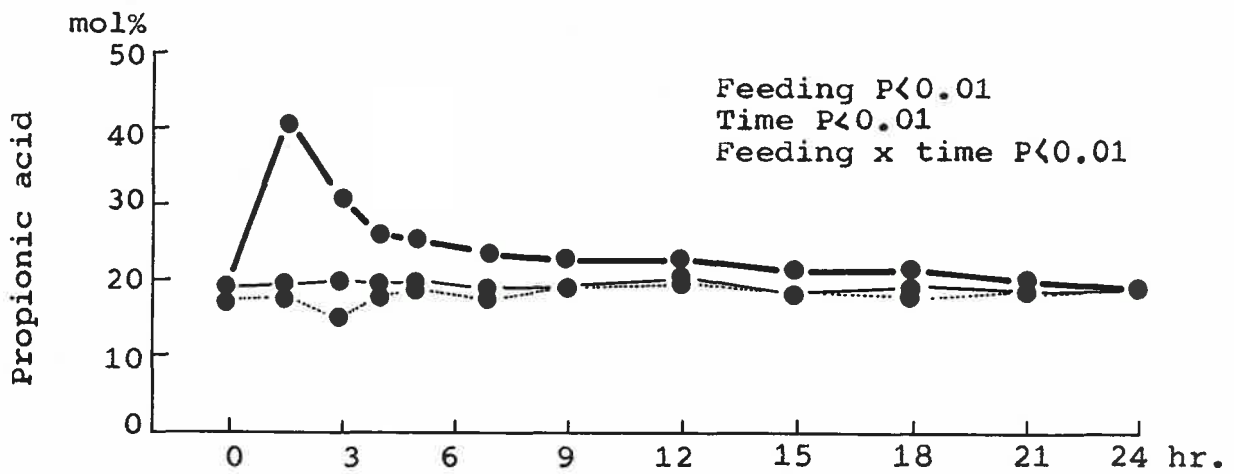
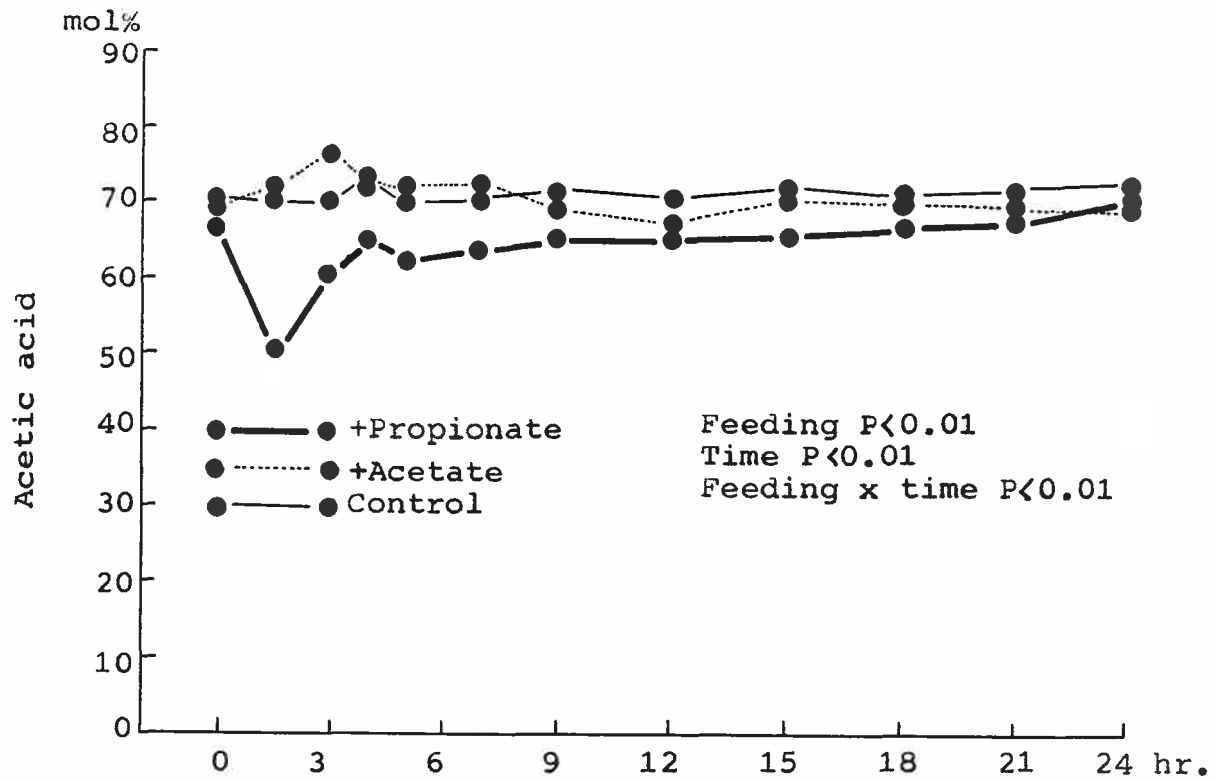


Fig. 2-2-1-3. Change in mol percentage of VFA in rumen liquor.

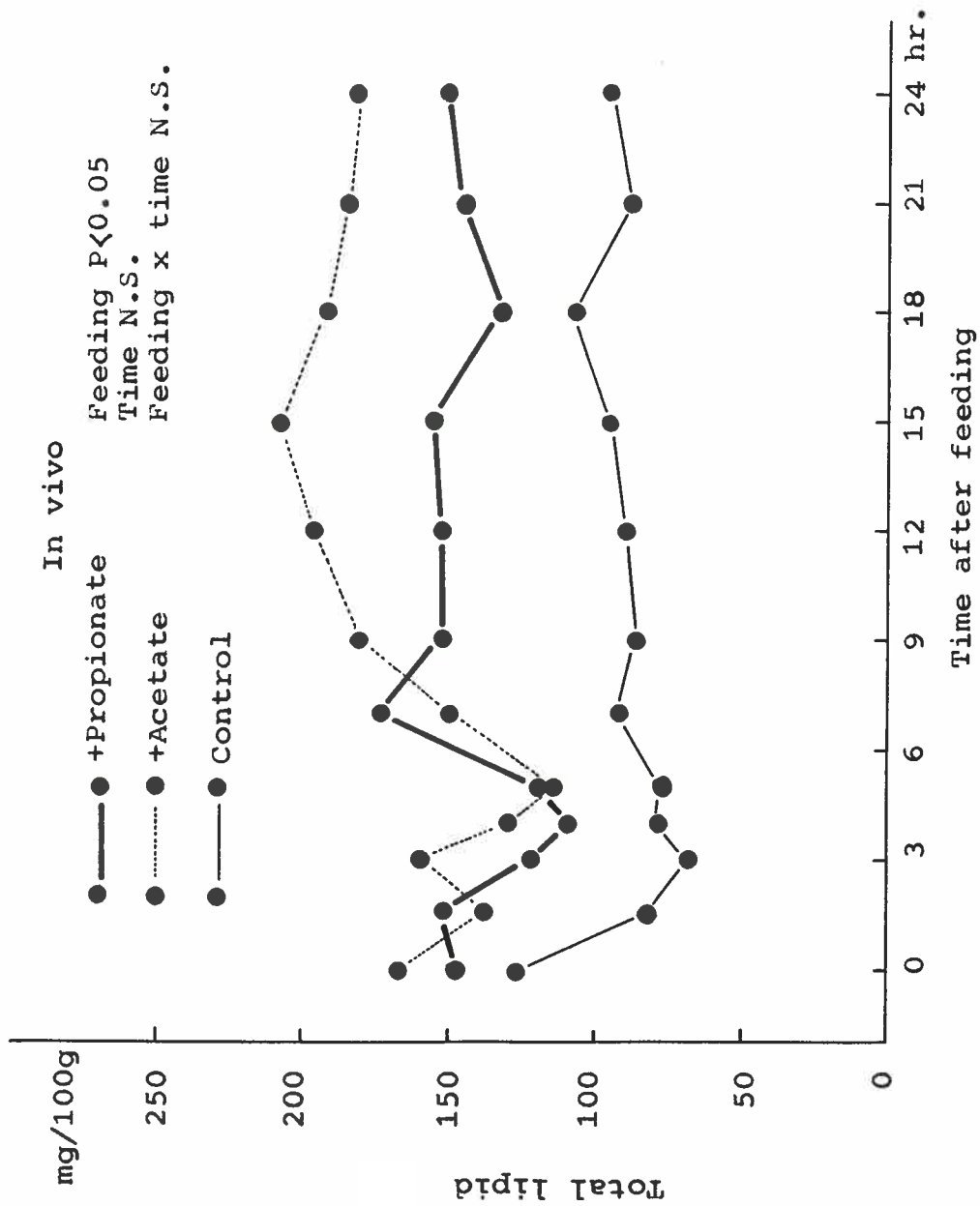


Fig. 2-2-1-4. Change in concentration of total lipids in rumen liquor.

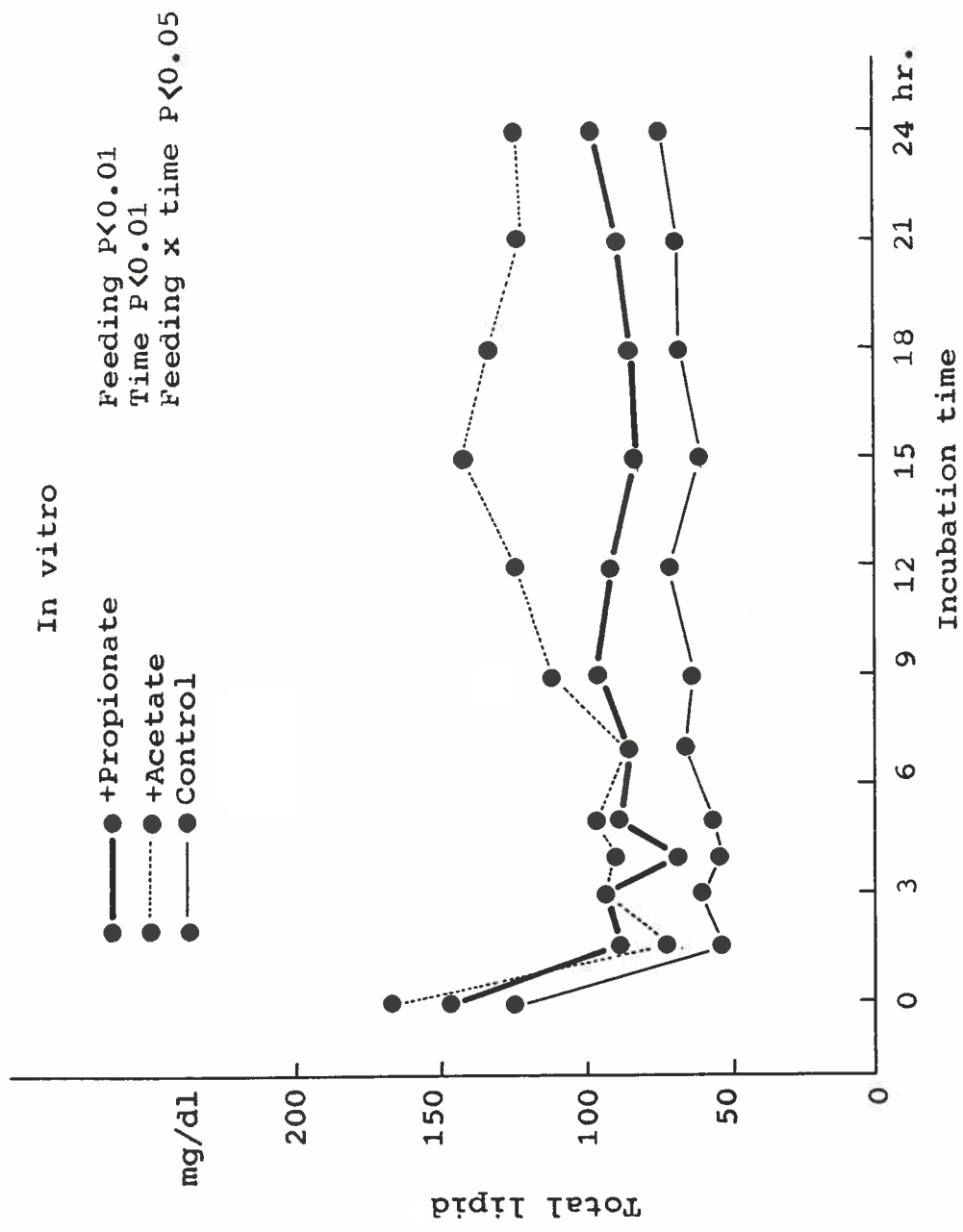


Fig. 2-2-1-5. Changes of composition of total lipids in rumen liquor.

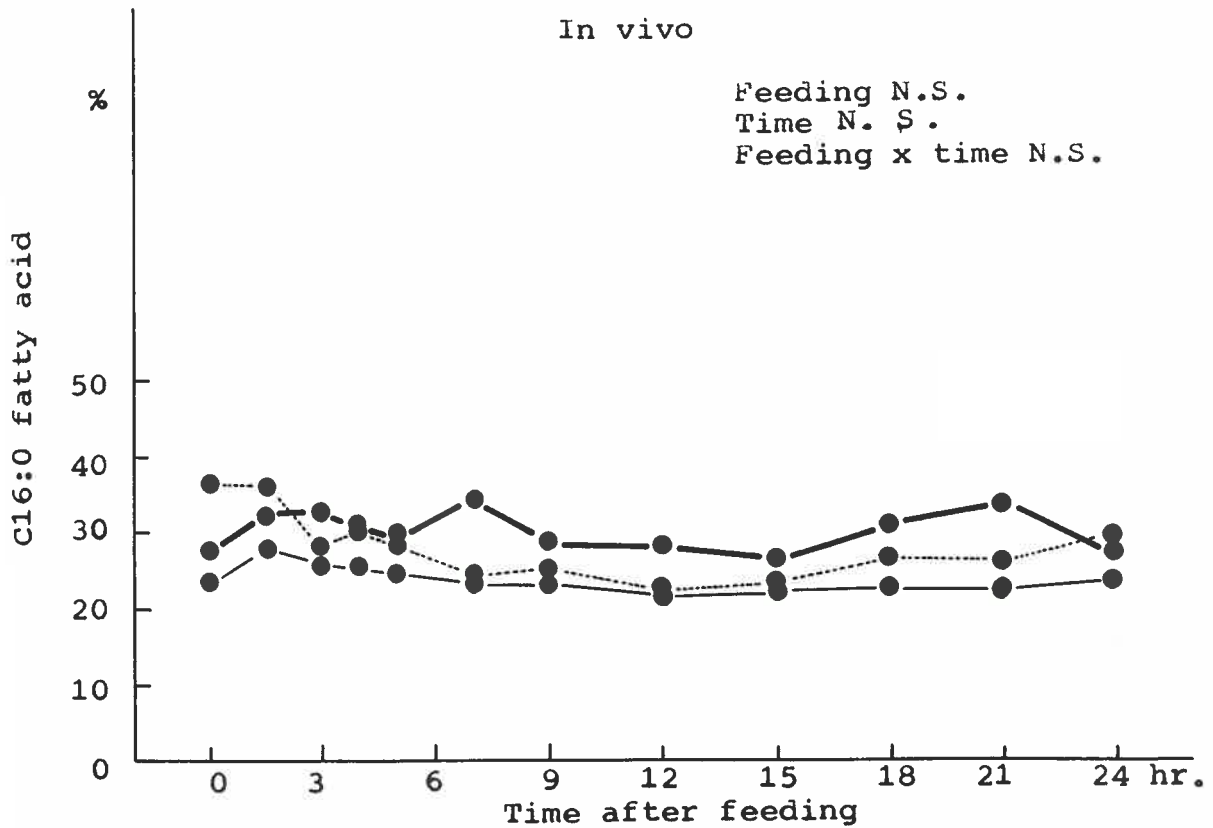
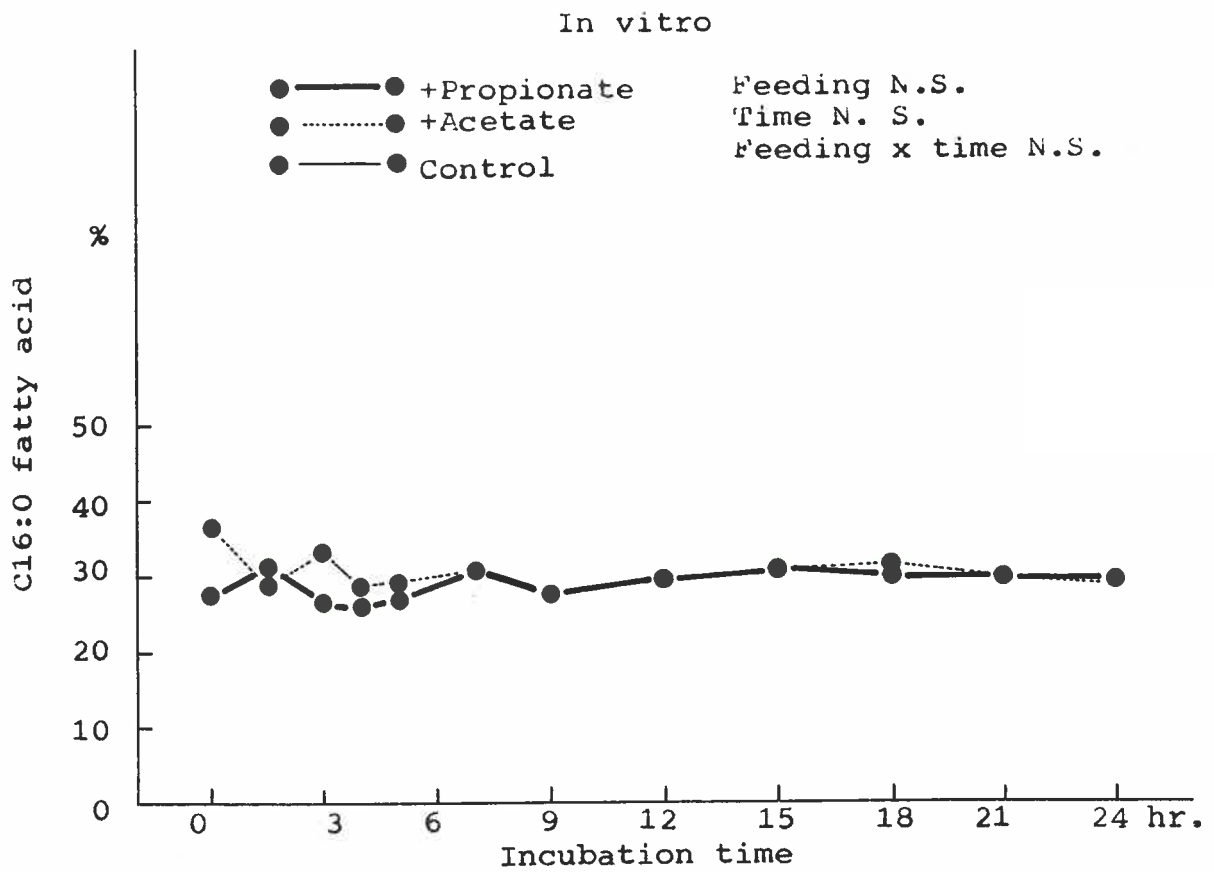


Fig. 2-2-1-6. Change in proportion of C16:0 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor.

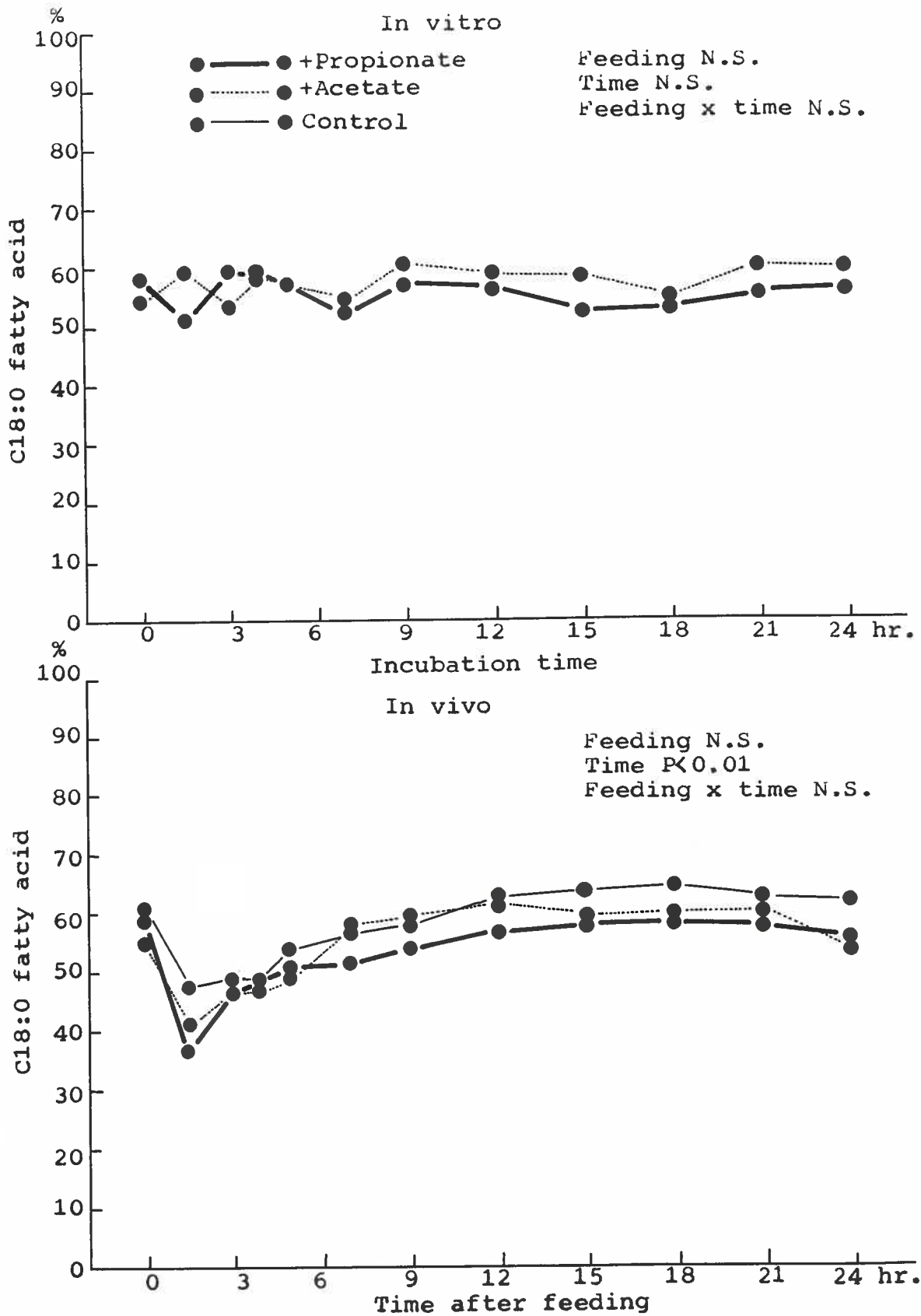


Fig. 2-2-1-7. Change in proportion of C18:0 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor.

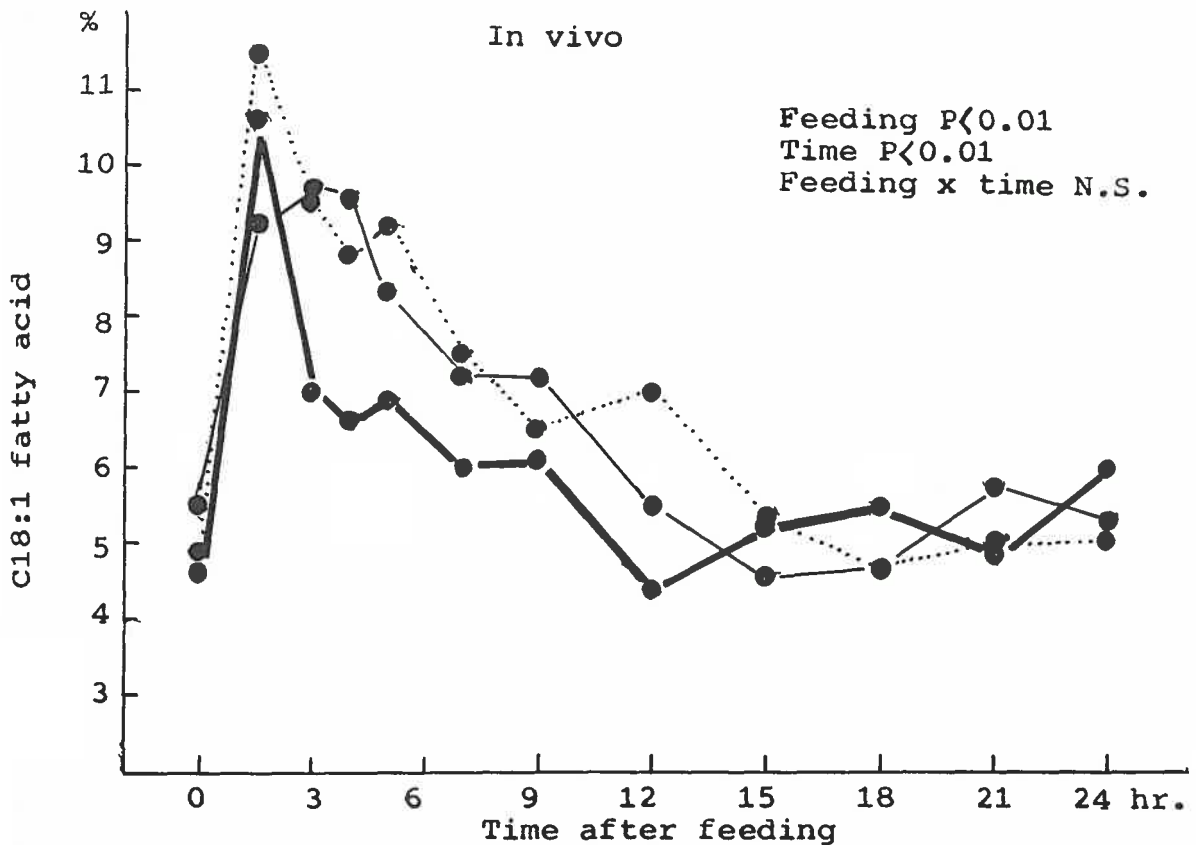
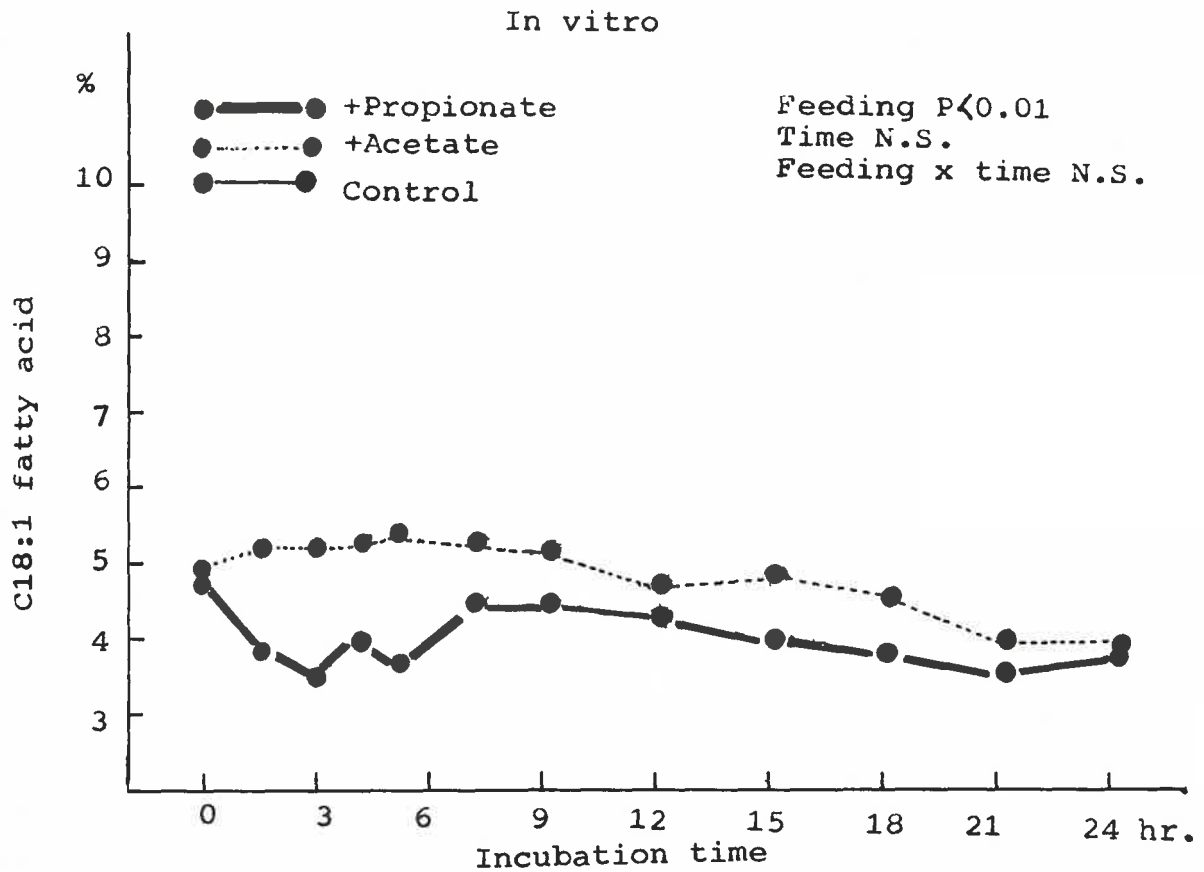


Fig. 2-2-1-8. Change in proportion of C18:1 fatty acid to total fatty acids in rumen liquor.

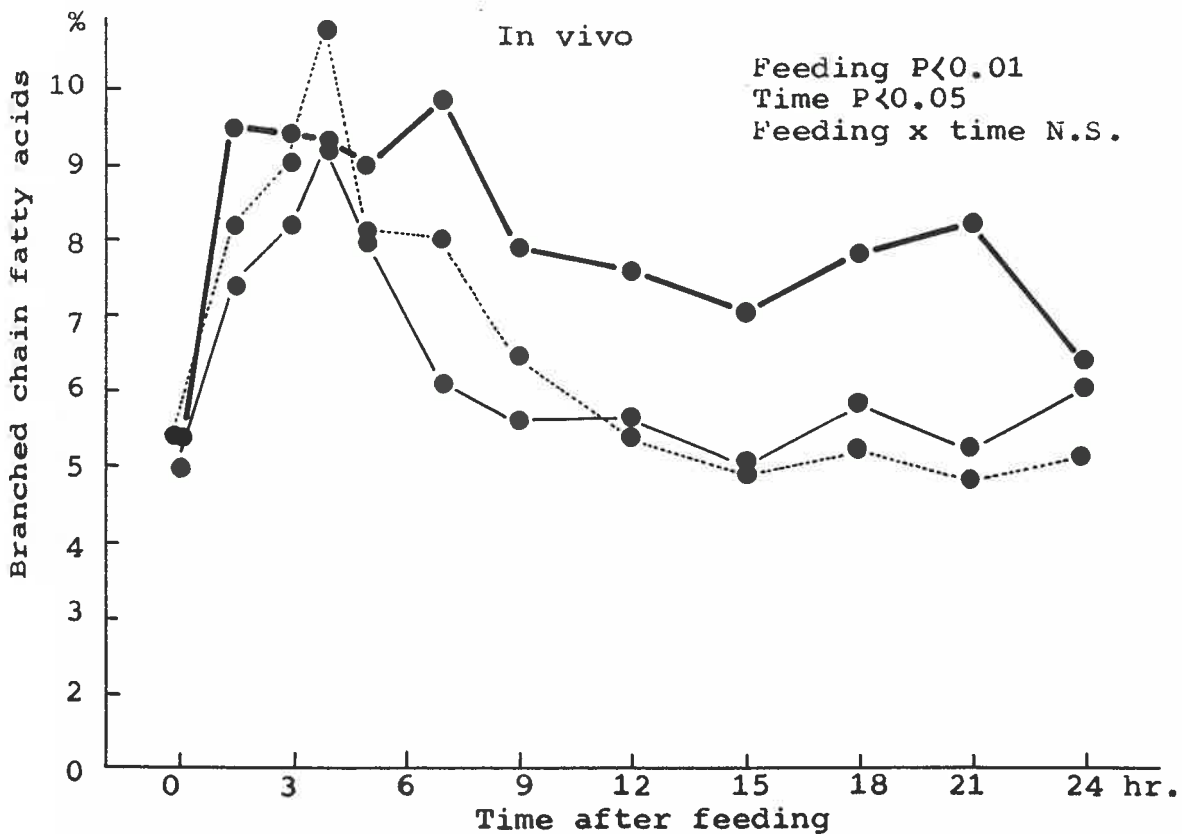
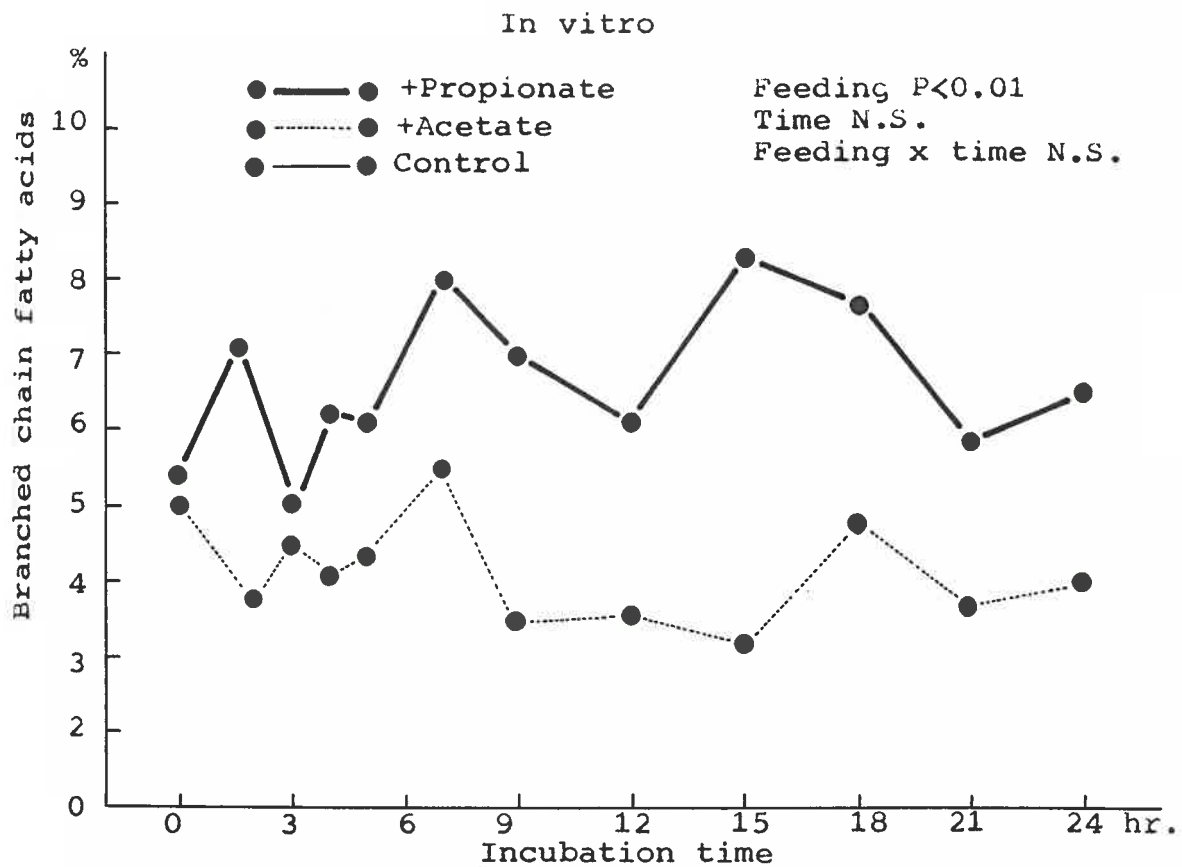


Fig. 2-2-1-9. Change in proportion of branched chain fatty acids to total fatty acids in rumen liquor.

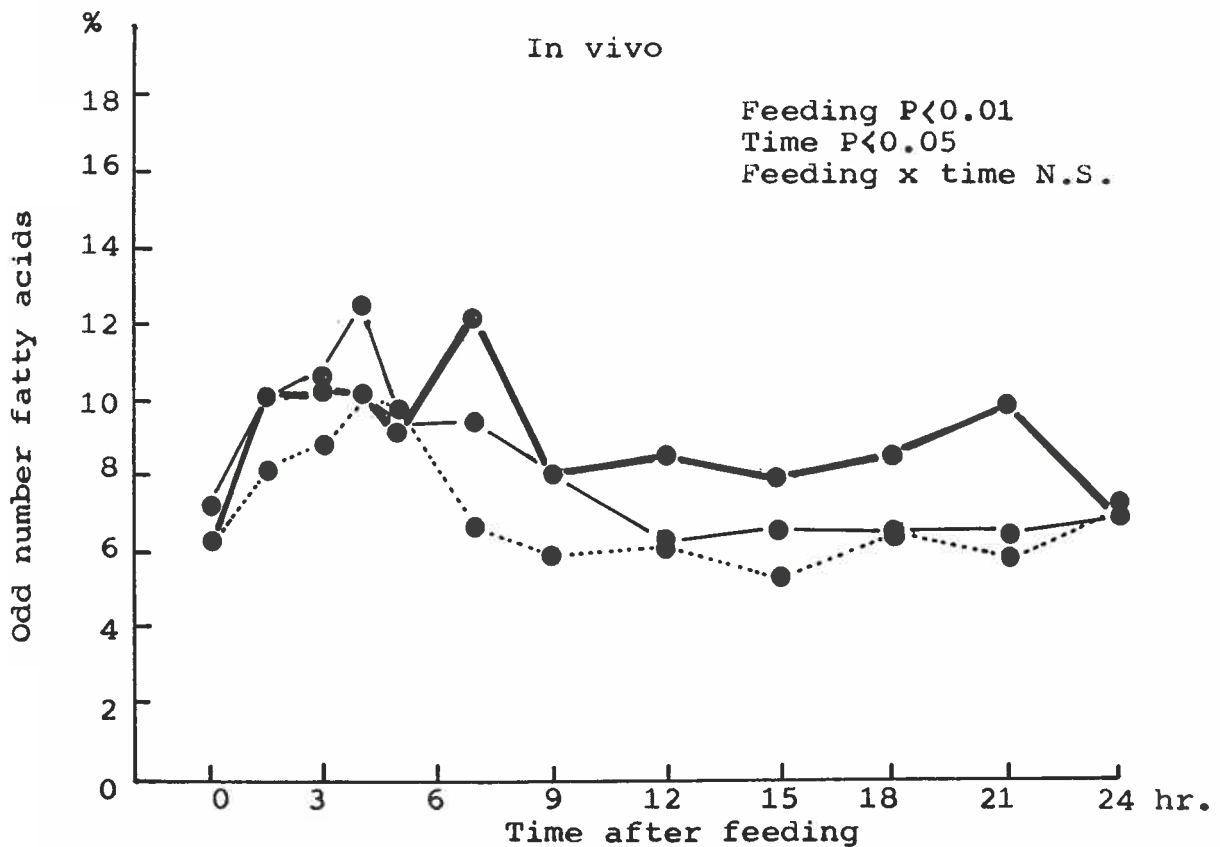
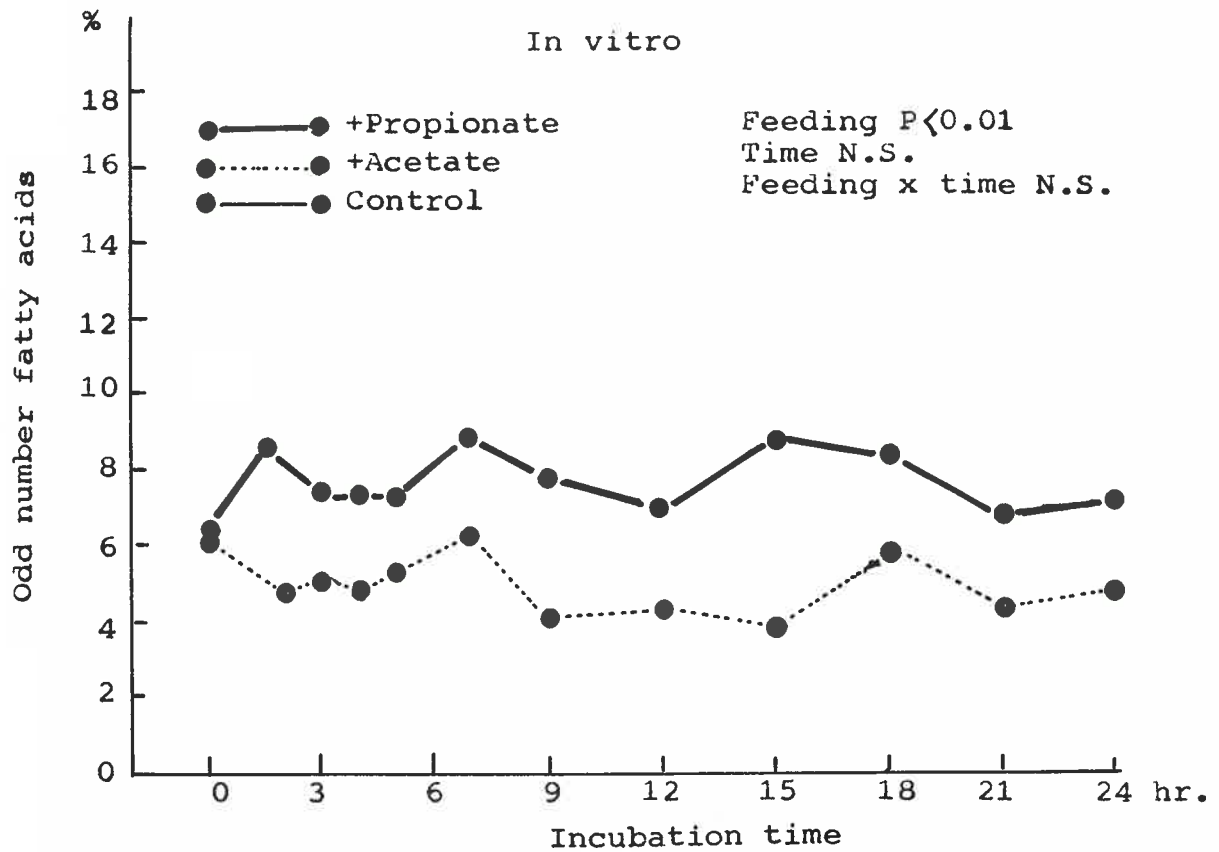


Fig. 2-2-1-10. Change in proportion of odd number fatty acids to total fatty acids in rumen liquor.

しかし、酢酸ナトリウム添加では9時間以後漸増し15時間後には無添加との差が80mg/dl と最大に達した。次に各VFAから合成される脂質の量が問題となるがin vivo の実験では2週間継続給与しているため第一胃に停滞している脂質があること、第一胃液の一部しか採取していないため部位の差を考慮していないこと、また胃容積・内容物の移動などの条件から計算に無理があると思われる。そこで、in vitroの実験で比較してみると、VFA塩無添加との差が最も大きかったときで計算してみるとプロピオン酸100g当たり7.7g、酢酸100g当たり32gの脂質量となった。勿論、この値は目安であり、実際は絶えず第一胃からVFAが吸収されているので第一胃内でVFAから合成される長鎖脂肪酸の割合はこの数値より低いと推測される。培養後直ちに総脂質量が低下する原因は培養開始後微生物のエネルギー源として費やされることが考えられるが、このことを明らかにするためには別の実験で検討する必要がある。

次に脂肪酸組成のうちC16:0のパルミチン酸はin vivo, in vitroの両実験とも全脂肪酸の約30%を占めており、in vivo でプロピオン酸添加給与により多い傾向だったが、有意差は認められず経時変化もなかった。C18:0脂肪酸は全脂肪酸の約半分を占めており、in vivo では採食後1.5時間に直ちに減少し以後漸増する変化を示した。in vitroでも酢酸ナトリウム添加で多くなる傾向だったが、VFA塩間に有意差はなかった。in vivo で採食後C16:0脂肪酸が減少しないでC18:0脂肪酸が減少したことは、採食後の脂質量の減少と併せて考慮すると、採食後C18:0脂肪酸が特異的に代謝されていたことが推察される。不飽和脂肪

酸の大部分を占める C18:1 脂肪酸は *in vivo* で採食後いずれの飼料給与とも飼料中に多く含まれる C18:1 脂肪酸が加水分解を受けることにより直ちに増加し、以後水素添加により減少する変化を示すが、酢酸ナトリウム給与はプロピオン酸ナトリウム給与より、減少する勾配が緩やかな傾向であった。*in vitro* の C18:1 脂肪酸も同様に酢酸ナトリウム添加が高い組成であった。分枝脂肪酸と奇数炭素脂肪酸は *in vivo*, *in vitro* ともプロピオン酸ナトリウム添加で多くなる傾向だった。

前述の総脂質含量と脂肪酸組成の増減の関係をみると、総脂質含量が最も多かった酢酸ナトリウム添加による脂質含量の増加と C18:1 脂肪酸の増加に時間のズレがある。即ち、C18:1 脂肪酸の増加が早く、総脂質含量の増加が遅くなっている。このことは、C18:1 脂肪酸の増加時に、一方では C18:0 脂肪酸の消費が相当活発で、その後 C18:1 への水素添加がされるため C18:1 脂肪酸が減少し C18:0 脂肪酸が増加したと思われる。しかし、これらの脂肪酸の量的相互関係は全くの推測であるので更に詳細な実験が望まれる。第一胃内で微生物による脂肪酸合成に関する報告は多数ある。その中で、Emmanuel²⁶⁾ は ¹⁴C でラベルした種々の物質から合成される混合プロトゾア体中の脂肪酸との関係をみているが、酢酸からの合成量は活発でプロピオン酸からの合成量の 21 倍になっている。また、とり込む脂肪酸は C16:0 脂肪酸が最も多く次いで C18:1, C17:0 脂肪酸が多くなっている。一方、プロピオン酸からプロトゾア体に合成される脂肪酸は C13:0, 15:0, C17:0 の奇数直鎖と分枝脂肪酸で全体の 90% 以上を占めており、特に C15:0 と C17:0 の直鎖脂肪酸が多くなっていたこ

とは本実験と同様な傾向を示した。Patton⁹⁷⁾らは混合細菌体のリン脂質と中性脂肪にとり込まれる酢酸から合成される脂肪酸はC16:0, C18:0およびC18:1が多いことを示している。Vivianiは酢酸からは2重結合1個の不飽和脂肪酸に最も多くとり込まれる⁹⁸⁾ことを示しており、必ずしも報告者により一致していないように思える。また、微生物による脂肪酸の合成はプロゾトアによる合成量が半分以上を占めている⁹⁹⁾ことを考慮すると、第一胃内の微生物による全体の脂肪酸の合成量において細菌脂質にとり込まれる脂肪酸は量的に少ないと判断される。

Keeney¹⁰⁰⁾は微生物由来の乳脂肪は全体の約1/4を占めておりその重要性を強調しているが、第一胃内ではVFAは絶えず吸収されており、本実験の第一胃内でVFAから合成された脂質が、生体内では果たしてどの位体脂肪に反映するのか疑問のあるところである。後述のVFA塩給与による肥育試験でこのことについて検討することにした。

ただし、この実験で言えることは、第一胃内では酢酸からの脂肪酸合成はプロピオン酸より活発で、酢酸は偶数炭素脂肪酸へプロピオン酸は分枝・奇数炭素脂肪酸へ向けられていることが判明した。

第二項 血漿脂質に与える影響

前項で、プロピオン酸ナトリウム、または酢酸ナトリウムを飼料に添加してメン羊に給与すると、いずれの場合にも、採食開始約9時間後に第一胃液中の総脂質含量が増加し、その程度は酢酸ナトリウム添加の方がプロピオン酸ナトリウム添加よりも大きいこと、ならびにプロピオン酸ナトリウム添加により分枝・奇数炭素脂肪酸が酢酸ナトリウム添加によりオレイン酸がそれぞれ増加することを述べた。

それらの結果は第一胃微生物によるVFAからの合成に加えて、第一胃より吸収されたVFAの一部が肝臓で脂肪酸に合成され、循環血漿中の総脂質含量あるいは脂肪酸脂質組成に影響を与えることを示唆しているものと考えられ、それらの相互関係を明らかにするために本実験を実施した。

材料および方法

第一胃フィステルと頸静脈カテーテルを装着した去勢雄メン羊（体重約30kg）3頭を供試動物とした。市販配合飼料と牧乾草（5：5）を一日一頭当たり生体重の2.4%宛給与した。VFA塩は生体重の0.06%になるようにプロピオン酸ナトリウムまたは酢酸ナトリウム溶液（17%（w/v），pH6.8に調整）を配合飼料に混合して給与した。飲水は自由として20℃のズートロン内で飼育した。VFA塩給与3週間後、1

～3時間間隔で24時間にわたり12回採血した。1回の採血量は20mlとし、
血漿分離後Folch²⁸⁾らの方法に準じて全脂質を抽出した。総脂質重量を測
定した後、5%の無水塩酸メタノールで5時間メチルエステル化を行な
い脂肪酸の分離定量をガスクロマトグラフィーにより前節二項と同様に
行なった。

結果および考察

図2-2-2-1に血漿中総脂質含量、図2-2-2-2にC16:0、
およびC18:1脂肪酸組成、図2-2-2-3に不飽和脂肪酸および分枝
・奇数炭素脂肪酸組成を示した。VFA塩添加により血漿総脂質含量は
明らかに増加し、その程度はプロピオン酸ナトリウム添加時の方が酢酸
ナトリウム添加時より高かった。経時的には3飼料給与とも採食開始か
ら約12時間まで漸減し、以後漸増して24時間後にはほぼ採食前の濃度に
戻る傾向を示した。脂肪酸組成のうちC16:0とC18:1および不飽和脂肪
酸はプロピオン酸ナトリウム添加で高かった。一方C18:0は酢酸ナトリ
ウム添加で高かった。分枝・奇数炭素脂肪酸は変動があったがプロピオ
ン酸ナトリウム添加で高くなる傾向を示した。経時的にはいずれの脂肪
酸組成とも有意差は認められなかった。

VFAからの肝や脂肪組織での脂肪酸合成のうち、プロピオン酸から
糖新生により生じたグルコースからの脂肪酸合成の割合は少なく、酢酸
からの合成が大部分である。³⁶⁾しかし、グルコース分解の際のペントース

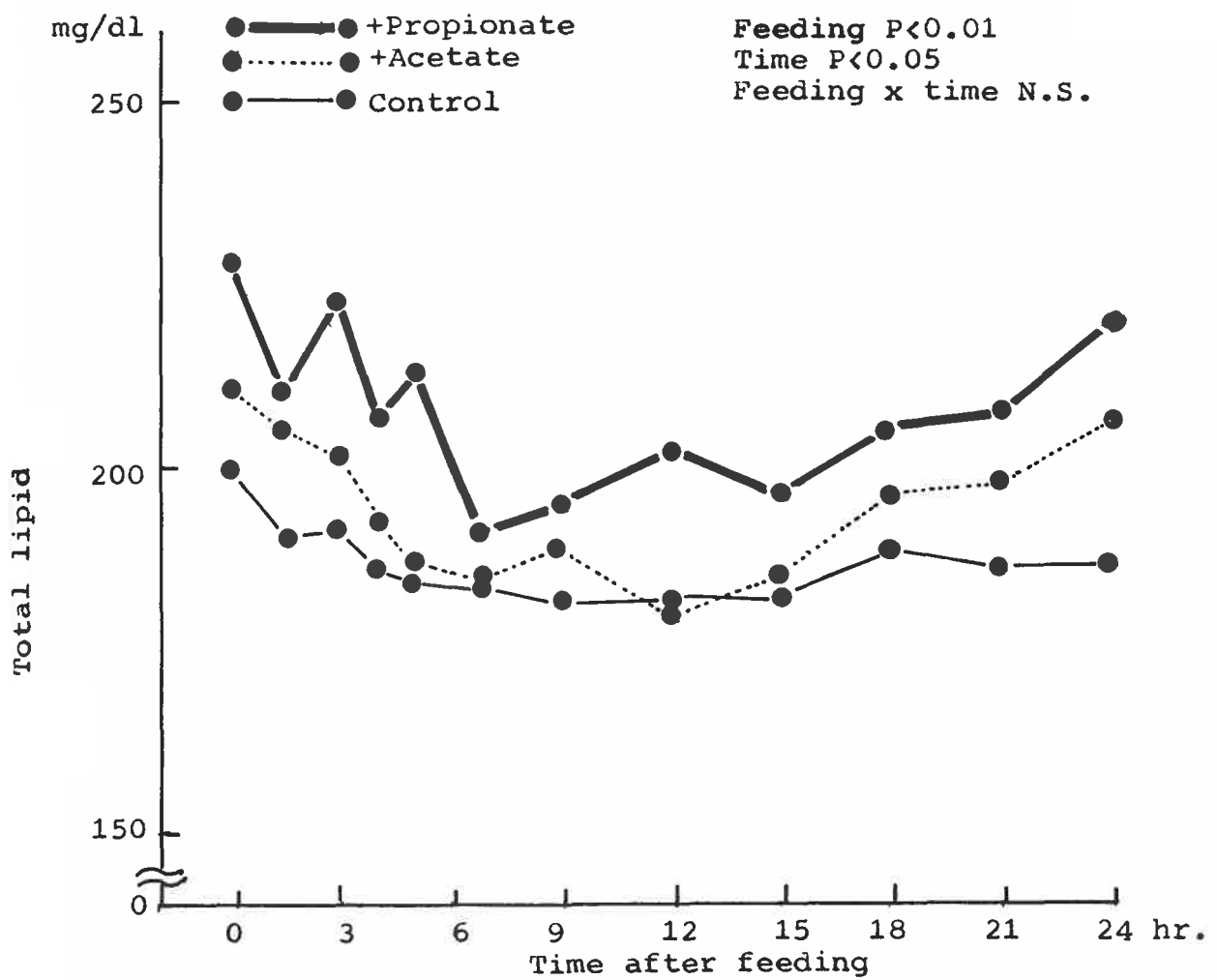


Fig. 2-2-2-1. Change of concentration of total lipid in blood plasma.

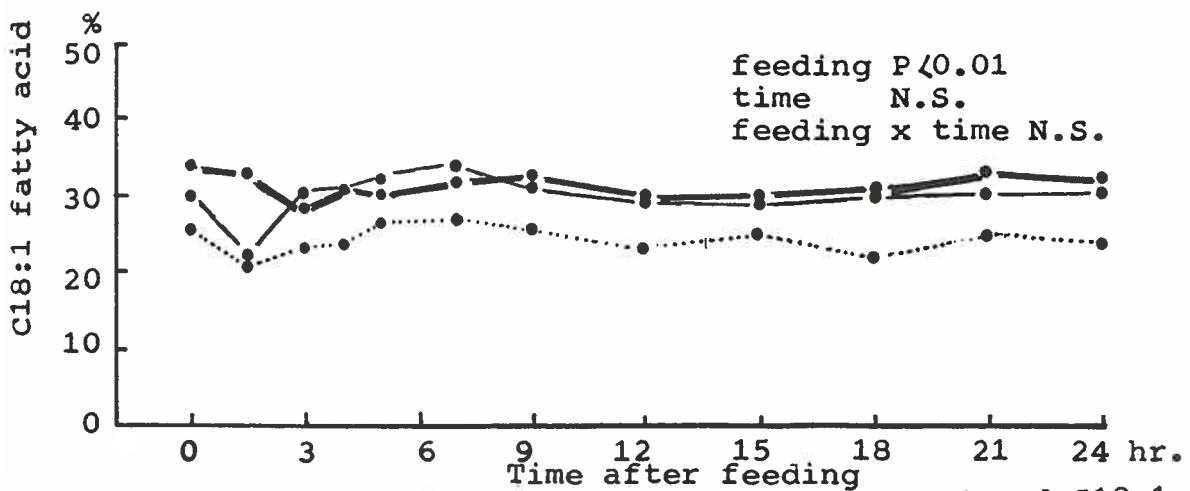
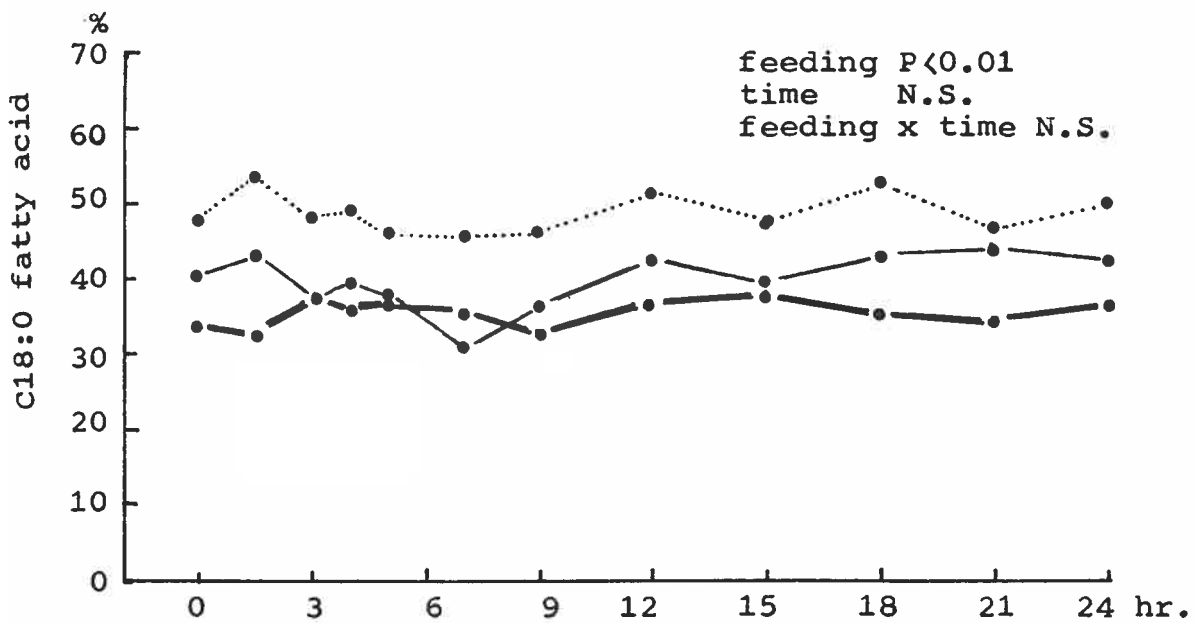
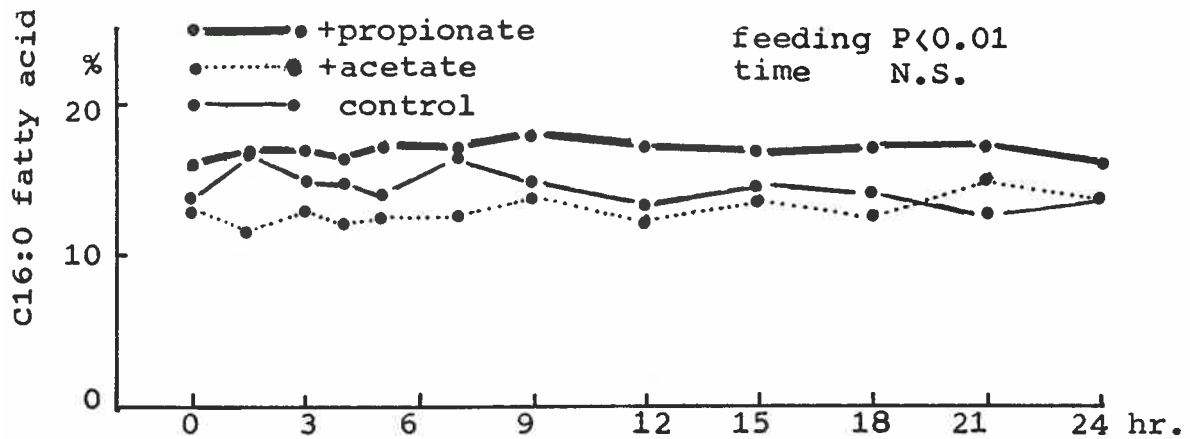


Fig. 2-2-2-2. Change in proportions of C16:0, C18:0 and C18:1 fatty acids to total fatty acids in blood plasma.

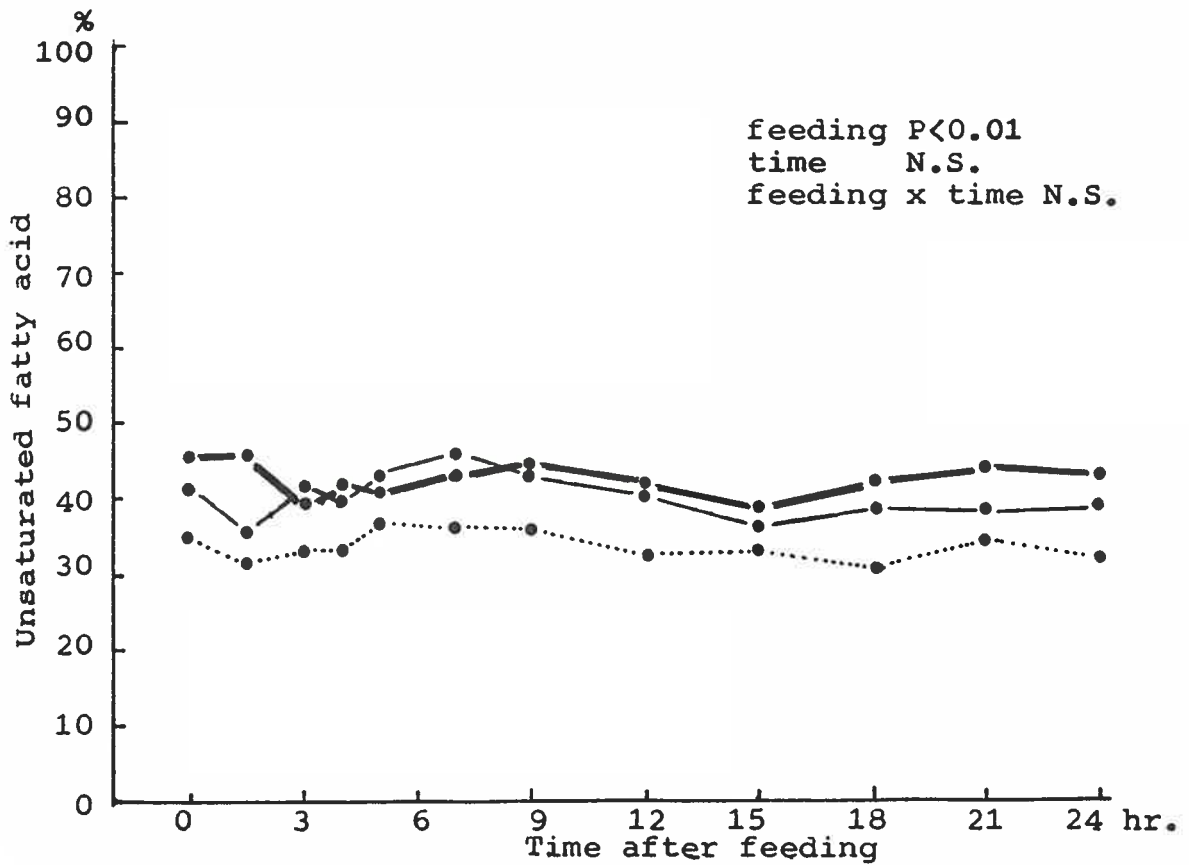
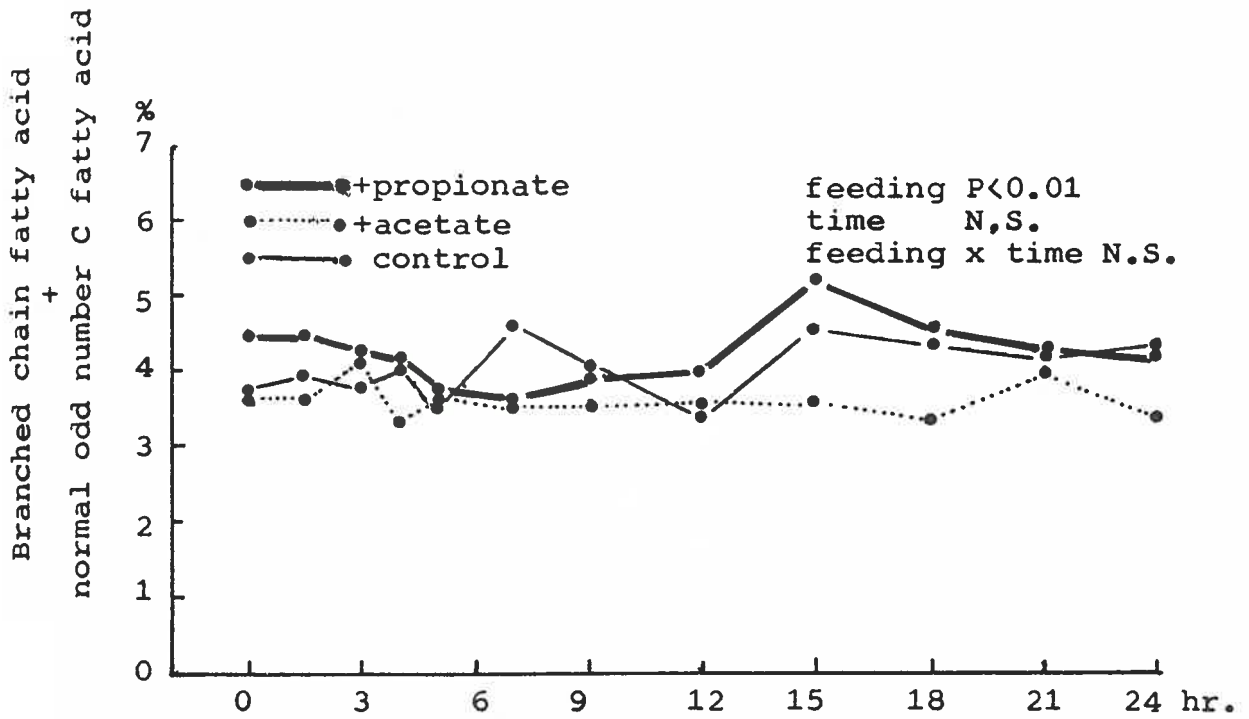


Fig. 2-2-2-3. Change in proportions of branched chain + normal odd number C and unsaturated fatty acids to total fatty acids in blood plasma.

回路で生じたNADPHが脂肪酸合成を促進し、1モルのプロピオン酸が3.8モルの酢酸または酪酸を脂肪酸にとりこませることが理論的に示されている。⁴⁾ また、肝は脂肪組織よりも脂肪酸合成能は低い⁵⁾が3週間以上糖質飼料の投与を続けると肝での脂肪酸合成能は適応的に上昇する。⁸⁾ 本実験において、プロピオン酸ナトリウム添加時にも第一胃内で飼料から産生される酢酸は相当量あったことにより、過剰のプロピオン酸から生じたグルコースが肝において酢酸からの脂肪酸合成を促進したことが考えられる。また、前項のように第一胃液では、酢酸ナトリウム添加で総脂質含量が高かった。しかし、下部消化管へ流れるもの、微生物により消費される脂質があるので、第一胃で合成された脂質がすべて吸収される訳ではない。この点については今後、同じエネルギー量のプロピオン酸ナトリウムと酢酸ナトリウムを添加給与して長期にわたる給与試験を行ない、体脂肪への影響をも併せて確かめる必要がある。血漿脂肪酸組成のうちC18:0脂肪酸はQureshi ¹⁰⁾らの報告により多かったが、これは、飼料給与量が2.4%とNRC標準より少なかったため、第一胃内での水素添加が十分に行なわれたことによるものと考えられる。

第三章 各種飼料給与時の肥育効果と体脂肪性状の比較

正味エネルギーは維持と生産に関わるエネルギーに分けられ、維持に必要な正味エネルギーは $70 \text{ kcal/kg}^{0.75}$ と体重によって規定されており、増体に必要な正味エネルギーは濃厚飼料で高く粗飼料で低い。牛を肥育する場合、濃厚飼料多給による種々の生理障害を防ぐため粗飼料由来の乾物摂取量が最低10~15%必要とされている。また、濃厚飼料を多給すると穀物の中に多量に含まれる澱粉を第一胃内の微生物が分解して多量の有機酸を生じて酸性に傾き繊維素の分解が鈍くなる、いわゆる澱粉減退による飼料価値の低下がある。NRC標準は、メン羊の体重別の乾物給与量を規定しているが、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えてほぼ、同一重量給与した場合の飼料の利用性、屠体成績に与える影響についての報告はみられない。

第一胃内で不飽和脂肪酸は水素添加され飽和化されるので一般に体脂肪脂肪酸は飼料の影響を受けにくいとされている。しかし、二章一節一項で述べたように濃厚飼料を多給すると穀物中に多量に含まれる不飽和脂肪酸の影響を受け第一胃液と細菌中脂質のオレイン酸が増加する。このことより、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて長期間飼育することにより蓄積される体脂肪中の脂肪酸はこれら飼料の影響を受けることが考えられる。一方、第一胃内のVFAにおいて、濃厚飼料多給でプロピオン酸、粗飼料多給で酢酸がそれぞれ優先する。また、二章二節一項で

述べたようにプロピオン酸または酢酸を実験的に給与すると分枝・奇数炭素数脂肪酸またはオレイン酸がそれぞれ増加する。その結果、VFAから合成された長鎖脂肪酸が体脂肪脂肪酸組成に相違を生じさせることも考えられる。肝にプロピオン酸が過剰に吸収されると、プロピオン酸からの肝での長鎖脂肪酸合成過程でメチルマロニルC₆Aが過剰に蓄積され、それが分枝・奇数炭素数脂肪酸へとりこまれて軟らかい体脂肪を形成するが、不飽和と飽和脂肪酸の量的関係は判然としてない。

本章は、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えた場合およびVFA塩を添加給与した場合についてメン羊の肥育と肥育に伴う体脂肪の脂肪酸組成に与える影響について検討した。

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響

材料および方法

平均体重39.2 kg のサフォーク種またはその雑種（去勢雄、明け2才）を用いた。濃厚飼料（肉牛肥育用市販配合飼料TDN70%、DCP10%）：粗飼料（イネ科主体牧乾草TDN45%）比を7：3（濃厚飼料多給区、4頭）、5：5（濃厚飼料・粗飼料等量区、3頭）および3：7（粗飼料多給区、3頭）の重量割合で給与する試験区を設定した。NRC標準に準じて1日当たり風乾物を体重の3.3～3.8%給与した。飲水は自由として、肥育試験期間は19週間とした。体重は1週間ごとに測定して

給与量を調整し、前日給与した飼料に残食があった場合は計量して採食量を修正して飼料要求率の算定をした。なお、それぞれの給与した飼料の消化率は、平均体重57kg時に5日間の全糞採取法で行った。体脂肪性状調査のための体脂肪の採取は、試験開始時、開始後3、7、13週目に大網膜脂肪を右腹部を切開して採取した。採取にあたっては2%塩酸プロカインで局所麻酔して脂肪組織を採取した後、縫合した。採取当日の飼料の給与量は規定量の半量与えた。肥育試験終了屠殺後、屠体重量を測定し、左半丸の枝肉を筋肉、脂肪および骨に分割して、計量した。筋肉については一般成分も調べた。

体脂肪の脂肪酸の分析はFolch ²⁸⁾らの方法に準じて抽出した脂質を二章一節一項と同様にメタノリシスを行い、ガスクロマトグラフィーを用いて分離・定量を行った。ヨウ素価は安田法 ²⁹⁾で、融点は内径1mmの毛細管を用いて上昇融点(open-tubed melting point)を測定した。

結果および考察

図3-1-1に肥育試験期間中のそれぞれの試験区の平均体重の変化を示した。濃厚飼料の割合を高くするほど増体が高くなった。

飼料の利用性と屠体成績の結果を表3-1-1、消化率の結果を表3-1-2に示した。すなわち、一日増体量(g/日)と飼料要求率はそれぞれ濃厚飼料多給区175、10.6濃厚飼料・粗飼料等量区144、11.7および粗飼料多給区102、16.1であった。濃厚飼料を多給するにつれて飼料

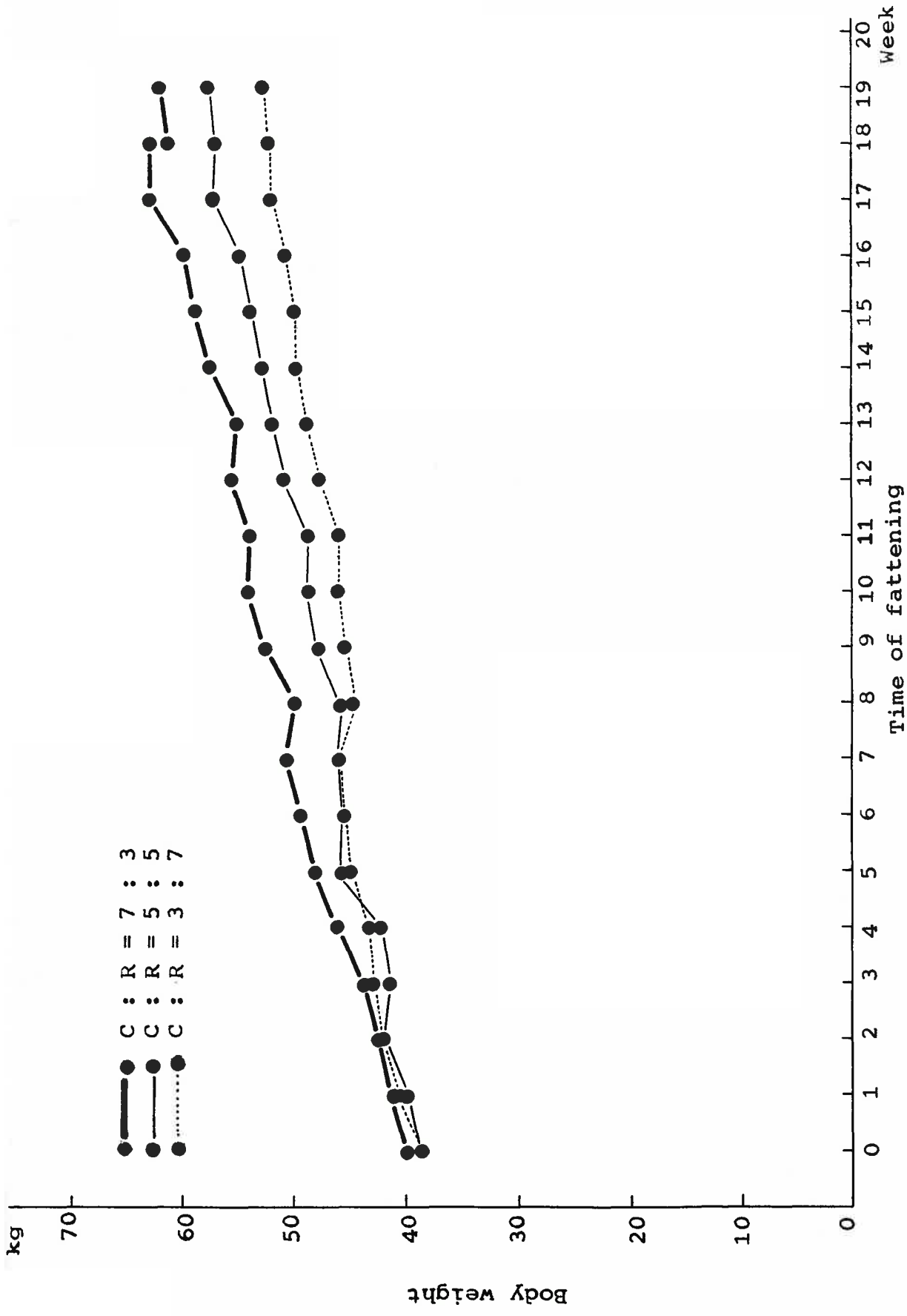


Fig. 3-1-1. Change of body weight during fattening.

Table 3-1-1. Comparison of feed utilization and carcass constitution

	C:R=7:3	C:R=5:5	C:R=3:7
Feed utilization			
Initial body weight (kg)	39.9 ± 3.6	38.7 ± 2.5	38.7 ± 3.6
Final body weight (kg)	63.0 ± 2.8 ^{A 1)}	58.1 ± 1.3 ^{AB}	52.4 ± 5.5 ^B
Daily energy intake (kcal/day)	4938 ± 473	4297 ± 242	4073 ± 504
Daily gain (g/day)	175 ± 5 ^A	144 ± 9 ^B	102 ± 29 ^C
Feed conversion ratio	10.6 ± 0.8 ^A	11.7 ± 1.4 ^{AB}	16.1 ± 4.4 ^B
Carcass constitution			
Dressed carcass (kg)	29.1 ± 2.0 ^A	25.0 ± 0.9 ^B	20.8 ± 3.2 ^C
(%)	(46.0 ± 0.8) ^{A 2)}	(43.0 ± 0.5) ^B	(39.7 ± 1.8) ^C
Digestive organ (kg)	12.7 ± 1.2	14.0 ± 0.8	14.4 ± 1.9
(%)	(20.1 ± 2.3) ^A	(24.1 ± 1.8) ^{AB}	(27.7 ± 4.4) ^A
Internal depot fat (kg)	3.7 ± 0.5 ^A	2.7 ± 0.1 ^B	1.8 ± 0.3 ^C
(%)	(5.7 ± 0.6) ^A	(4.6 ± 0.2) ^B	(3.5 ± 0.7) ^C

1) Means with same superscript or without superscript are not significantly different at the 0.05 probability level.

2) Figures in parenthesis are given percentage of live weight.

Table 3-1-2. Comparison of apparent digestibilities

	C. protein (%)	C. fat (%)	NFE (%)	C. fiber (%)
C:R=7:3	63.2 ± 2.6	76.4 ± 14.7	78.5 ± 0.1	58.3 ± 10.1
C:R=5:5	62.5 ± 4.9	77.7 ± 7.6	74.3 ± 4.0	69.2 ± 3.3
C:R=3:7	62.5 ± 11.2	68.0 ± 10.2	75.0 ± 5.4	69.6 ± 10.8

	DCP (%)	TDN (%)
C:R=7:3	7.2 ± 0.6	60.1 ± 2.5
C:R=5:5	6.5 ± 1.0	57.9 ± 4.8
C:R=3:7	5.8 ± 1.5	59.3 ± 5.9

の利用性が優れていた。肥育試験期間中に行った消化試験の結果から給与飼料のTDN含量を求めると、57.9から60.1%と2.2%の差があるにすぎなかった。一般に濃厚飼料中には可溶無窒素物が多く粗繊維が少ないことから、前述の澱粉減退による粗繊維消化率が著しく低下するので、本実験の粗繊維消化率でも濃厚飼料多給区で53.3%粗飼料多給区で69.6%と濃厚飼料多給で著しく減少したものと思われる。他の粗蛋白質、粗脂肪および可溶無窒素物の成分は濃厚飼料多給で多いが、消化率において殆ど差がなかったことよりTDN含量にそれほど差が生じない結果が得られた。

屠体構成のうち枝肉重量(kg)と枝肉歩留まりはそれぞれ濃厚飼料多給区29.1、46.0等量区25.0、43.0および粗飼料多給区20.8、39.7と濃厚飼料多給時に枝肉重量が重く、枝肉歩留まりが大きくなった。逆に、全消化器重量は濃厚飼料多給時に軽くなった。内臓脂肪重量では濃厚飼料多給区で3.7 kgと粗飼料多給区1.8 kgの2倍の重量を示した。

左半丸枝肉構成と筋肉中の一般成分含量の比較を表3-1-3に示す。枝肉中の筋肉重量は5.8～7.1 kgの範囲で試験区間に有意差がなかったが、脂肪重量は濃厚飼料を多給するほど多くなった。すなわち、濃厚飼料多給区が4.1 kgと粗飼料多給区1.7 kgの2倍以上に及んだ。また、各試験区間に骨と筋肉重量に有意差がなく、濃厚飼料多給区で内臓と枝肉中の蓄積脂肪重量が増加したことより肥育度が進んでいたことを示している。筋肉中の一般成分も濃厚飼料多給区で水分含量が少なく、粗脂肪含量が多くなっている(P<0.01)。一般に脂肪交雑と深い関係があ

Table 3-1-3. Comparison of constitution of left side carcass and chemical composition of carcass muscle

	C:R=7:3	C:R=5:5	C:R=3:7
Constitution of left side carcass			
Muscle (kg)	7.1 ± 0.6	6.2 ± 0.4	5.8 ± 0.8
(%)	(50.0 ± 2.8) ¹⁾	(52.2 ± 1.4)	(56.9 ± 4.8)
Fat (kg)	4.1 ± 0.5 ^A	2.9 ± 0.1 ^B	1.7 ± 0.9 ^C
(%)	(29.1 ± 0.6) ^A	(24.5 ± 2.0) ^A	(15.7 ± 6.1) ^B
Bone (kg)	2.5 ± 0.5	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.3
(%)	(17.9 ± 1.3) ^A	(20.3 ± 0.7) ^B	(23.6 ± 1.5) ^C
Chemical composition of carcass muscle (%)			
Moisture	72.0 ± 1.8 ^A	74.0 ± 1.1 ^B	75.2 ± 0.7 ^C
Crude protein	20.0 ± 1.2	20.4 ± 1.1	20.0 ± 0.9
Crude fat	5.9 ± 1.8 ^A	3.5 ± 1.0 ^B	2.9 ± 1.4 ^B
Crude ash	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1

1) Figures in parenthesis are percentage of carcass.

る筋肉内脂肪は内臓などの沈着脂肪より後にできることが知られていることより、濃厚飼料を多給するほど肥育を促進させていることを裏付けている。

代謝エネルギーから発熱量を差し引いたエネルギーが生産のための正味エネルギーになるが、Armstrong and Blaxter³⁾は小麦稈の正味エネルギーが澱粉のそれより低くなる理由に、小麦稈給与は採食に多くのエネルギーを費やすこと、第一胃で発酵に要する時間が長いことから発酵熱が多く生ずることなどをあげている。更に、彼らは、VFA 100 kcalの代謝エネルギーのうちheat incrementとして失われる量は酢酸67%、プロピオン酸44%、酪酸38%と酢酸の損失量が最も高いことを示している⁴⁾。それ故、一般に粗飼料を多給すると第一胃内のVFA組成において酢酸がプロピオン酸より優先するので、粗飼料多給では粗飼料由来による発酵熱の産生とVFA組成の違いによるheat incrementの上昇などから生産のための正味エネルギーが減少することが考えられる。また、Lofgreen and Garrett⁵⁾は種々の飼料の正味エネルギー (Mcal/kg)のうち、ルーサン乾草で0.70、コーン穀実で1.32と粗飼料で著しく低くなっていることを示している。本実験でも濃厚飼料と粗飼料の給与割合の違いがTDN含量にそれ程差を与えないで、粗飼料多給区の飼料要求率が劣っていたことは、これらの報告を裏付ける結果となった。

次に、大網膜脂肪の脂肪酸組成、ヨウ素価および融点の肥育に伴う変化を図3-1-2～図3-1-3に示す。その結果、C_{16:0}脂肪酸と分枝・奇数炭素数脂肪酸は試験区差異と肥育に伴う経日的変化はほとんど

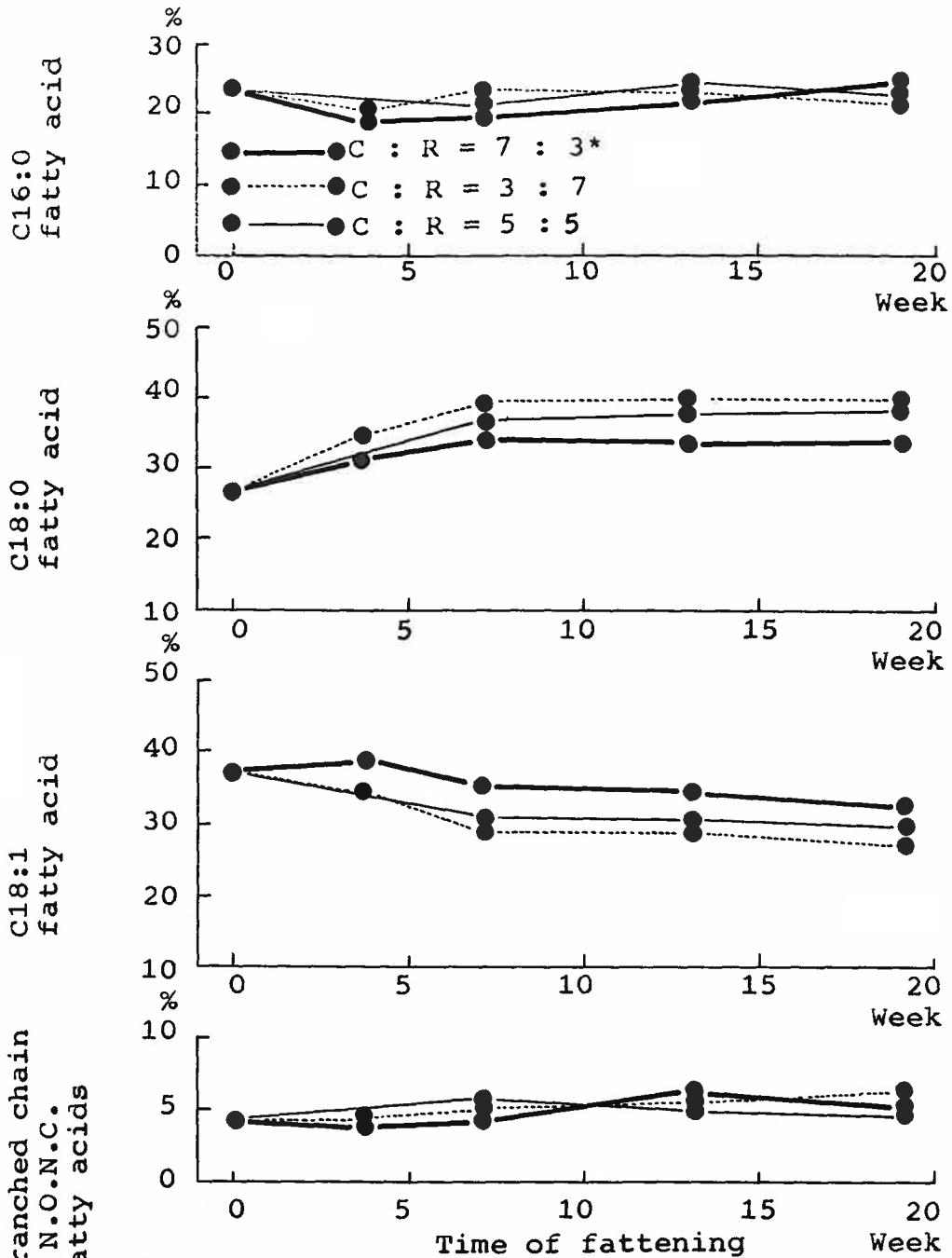


Fig. 3-1-2. Change in composition of C16:0, C18:0, C18:1 and branched chain + normal odd number C fatty acids of omental adipose tissue during fattening.*C----concentrate, R----roughage.

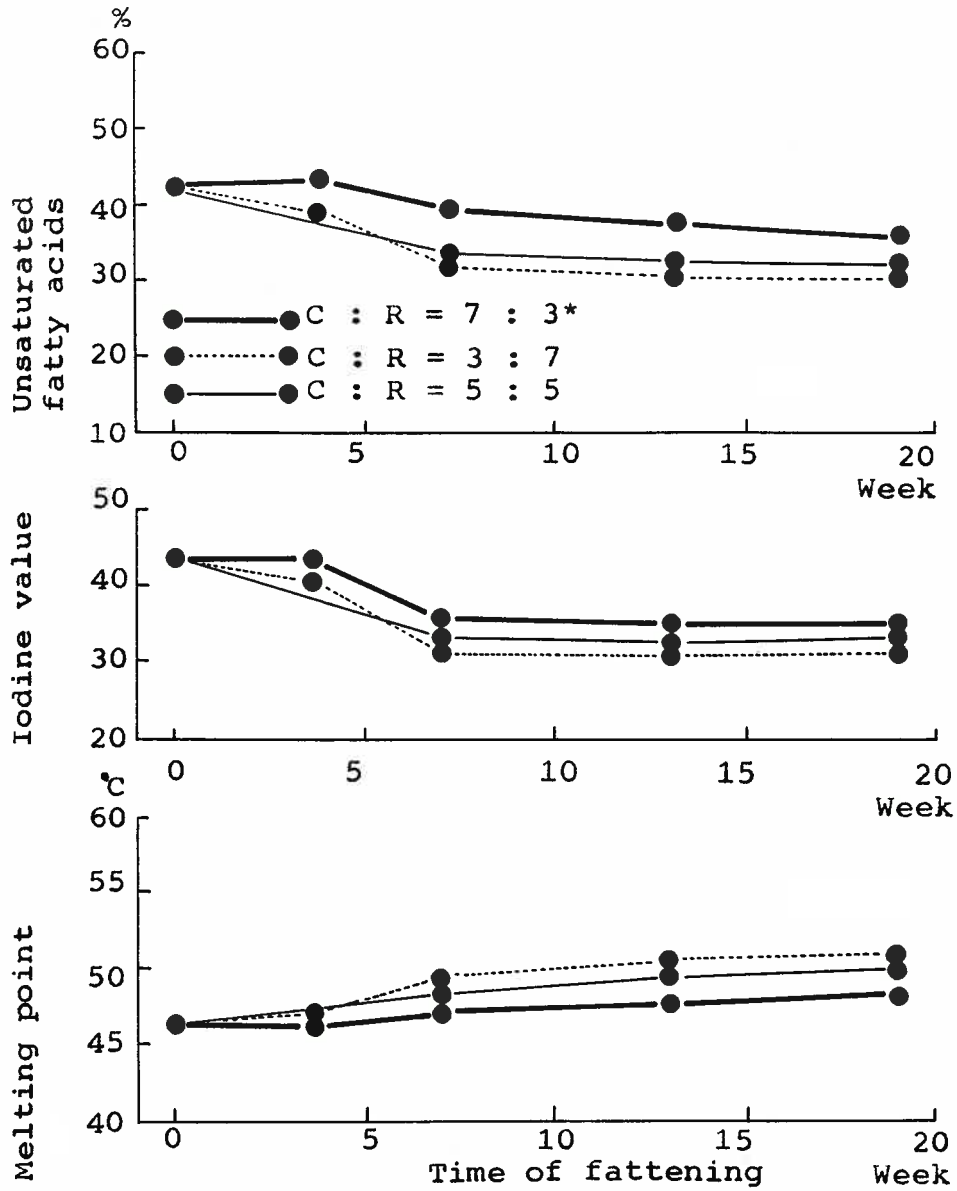


Fig.3-1-3. Change in composition of unsaturated fatty acids, iodine value and melting point of omental adipose tissue during fattening. *C---concentrate, R---roughage.

なかった。C_{18:0}脂肪酸は粗飼料多給区で高く、経日的にはいずれの試験区とも7週目まで上昇し、以後変化がなかった。逆に、不飽和脂肪酸の大部分を占めるC_{18:1}脂肪酸は濃厚飼料多給区で高く、いずれの試験区とも7週目まで減少、以後安定する変化を示した。その結果、開始時から屠殺時までの粗飼料多給区の不飽和脂肪酸41.2→31.5%、ヨウ素価42.7→31.4、融点46.0→50.0℃と肥育が進に伴い著しく飽和化される変化を示した。屠殺時の皮下、筋肉内、腎および大網膜脂肪の脂肪酸組成、ヨウ素価、融点を表3-1-4に示す。C_{16:0}脂肪酸は筋肉内脂肪を除いて試験区間に有意差がなく各部位とも総脂肪酸のほぼ1/4を占めていた。C_{18:0}脂肪酸と分枝・奇数炭素数脂肪酸は粗飼料多給区で高い傾向であった。部位別の不飽和脂肪酸、ヨウ素価ではいずれの試験区とも筋肉内>皮下>大網膜>腎の順位で皮下と筋肉内の試験区間差異が著しかった。このことより、内臓脂肪の脂肪酸組成は濃厚飼料・粗飼料給与割合の影響を受けにくく、肥育の進行に伴い飽和化されること、逆に筋肉内と皮下脂肪の脂肪酸組成は濃厚飼料・粗飼料給与割合の影響を受け易いことが判明した。なお、肥育試験期間中に体脂肪採取のため4回切開手術をしたためストレスによる飼料要求率の上昇が考えられるが、Elliotら²⁾の27~35kgまでの比較的増体のよい時期の飼料要求率が11程度になっており、次節と四章一節の実験でも4回切開しても11~12程度の飼料要求率が得られたことより成長に対する切開手術の影響は殆ど無視できるものと思われる。

反芻家畜の成長あるいは肥育の進行と体脂肪脂肪酸組成に関しては、

Table 3-1-4. Comparison of fatty acid composition, iodine value and melting point of different adipose tissues at slaughter time

		C:R=7:3	C:R=5:5	C:R=3:7
Fatty acid composition (%)				
C16:0 fatty acid	Subcutaneous	25.7 ± 2.7	23.3 ± 2.1	25.3 ± 0.8
	Intramuscular	21.6 ± 2.4 ^{AB}	21.3 ± 1.6 ^A	24.3 ± 2.2 ^B
	perinephric	23.1 ± 1.4	22.8 ± 1.8	23.0 ± 1.3
	Omental	23.4 ± 2.3	22.4 ± 0.7	22.7 ± 2.2
C18:0 fatty acid	Subcutaneous	21.6 ± 3.4 ^A	27.4 ± 2.3 ^{AB}	30.5 ± 1.9 ^B
	Intramuscular	18.8 ± 2.8 ^A	21.8 ± 1.9 ^B	25.5 ± 3.3 ^C
	Perinephric	36.1 ± 3.1 ^A	41.0 ± 1.6 ^{AB}	43.6 ± 1.4 ^B
	Omental	34.4 ± 5.9	38.3 ± 1.3	39.1 ± 2.7
C18:1 fatty acid	Subcutaneous	42.9 ± 1.7 ^A	39.6 ± 0.2 ^B	34.3 ± 3.1 ^B
	Intramuscular	51.0 ± 2.5 ^A	48.3 ± 2.0 ^A	41.7 ± 3.3 ^B
	Perinephric	31.6 ± 3.8 ^A	28.5 ± 1.7 ^A	23.9 ± 1.2 ^B
	Omental	31.8 ± 5.3	30.0 ± 2.4	27.2 ± 2.9
B. C. + N. O. N. C. fatty acids ¹⁾	Subcutaneous	3.6 ± 0.4 ^A	3.8 ± 0.1 ^A	4.8 ± 0.5 ^B
	Intramuscular	3.0 ± 0.4	2.7 ± 0.5	2.8 ± 1.6
	Perinephric	4.2 ± 0.5 ^A	3.3 ± 0.7 ^A	4.8 ± 0.8 ^B
	Omental	5.0 ± 1.3	4.5 ± 0.5	5.9 ± 0.3
Unsaturated fatty acids	Subcutaneous	46.5 ± 2.1 ^A	42.7 ± 0.9 ^B	37.0 ± 3.6 ^B
	Intramuscular	55.8 ± 2.2 ^A	52.8 ± 2.4 ^B	46.1 ± 3.4 ^C
	Perinephric	34.9 ± 3.9 ^A	31.1 ± 1.7 ^A	26.6 ± 1.3 ^B
	Omental	35.1 ± 6.0	32.9 ± 2.2	30.5 ± 2.8
Iodine value				
	Subcutaneous	42.8 ± 4.1 ^A	38.2 ± 0.6 ^{BA}	34.6 ± 4.9 ^B
	Intramuscular	50.4 ± 2.9 ^A	48.2 ± 0.9 ^A	42.0 ± 2.7 ^B
	Perinephric	32.9 ± 2.8	30.1 ± 1.6	28.0 ± 1.7
	Omental	34.9 ± 3.1	33.4 ± 1.4	31.4 ± 1.3
Melting point (°C)				
	Subcutaneous	44.0 ± 1.4 ^A	45.7 ± 1.5 ^A	49.0 ± 1.0 ^B
	Intramuscular	39.8 ± 2.0 ^A	42.0 ± 1.8 ^B	44.5 ± 1.0 ^C
	Perinephric	49.5 ± 1.7 ^A	51.7 ± 1.2 ^{AB}	52.7 ± 0.6 ^B
	Omental	47.7 ± 1.5	49.7 ± 0.6	50.0 ± 1.0

1) Branched chain + normal odd number C fatty acids.

牛では生後約1年までは腎脂肪のC_{18:0}脂肪酸は急激に上昇しそれ以後肥育に伴いC_{18:0}脂肪酸は下降、C_{16:1}とC_{18:1}脂肪酸は上昇する。⁴¹⁾

ClementsらとLinkら⁴²⁾も牛を用いて、生後1年以後体脂肪が不飽和化されることを報告している。メン羊でも生後1年半までの内臓脂肪は飽和化され、それ以後は一定になる。⁴³⁾ また、体重の増加との比較では32kgから50kgまでの内臓脂肪ではC_{18:1}脂肪酸を中心とする不飽和脂肪酸が減少しており、⁴⁴⁾ 本実験の大網膜脂肪と比較すると試験開始7週齢体重が45~50kg程度のときであり、これらの報告とほぼ一致していた。生後1年から1年半まで飽和化される原因に、牛、メン羊とも成長に伴う第一胃容積の増大により水素添加能が増進することが考えられる。また、肥育の進行に伴いメン羊で安定する原因は、体重の増加により飼料の給与量は増加するが第一胃の発達に停滞するため水素添加を免れる不飽和脂肪酸が生ずるためと思われる。一方、牛で生後1年以後不飽和化されるのは、*in vitro*で加齢が進につれて牛の脂肪組織での酢酸からのオレイン酸の合成が多くなるため、⁴⁵⁾ 加齢に伴い体脂肪の不飽和脂肪酸を合成する酵素の活性に種属間差異があるように思える。

次に、濃厚飼料と粗飼料の給与割合との比較では使用した配合飼料中には不飽和脂肪酸が78.2%、牧乾草には40.8%と配合飼料中には牧乾草の約2倍の不飽和脂肪酸が含まれていることと、濃厚飼料は粗飼料より消化管の通過速度が、速いことを考慮すると、濃厚飼料多給により第一胃内における水素添加が不十分になり体脂肪の不飽和脂肪酸が増加したものと考えられる。筋肉内の不飽和脂肪酸含量に最も差が生じたことは、

今後“霜降り”の形成と脂肪の質・量との関係を究明するために興味のあるところである。濃厚飼料多給で、 $C_{18:0}$ 脂肪酸を中心とする不飽和脂肪酸、粗飼料多給で $C_{18:0}$ 脂肪酸がそれぞれ多くなる結果を、Rumsey¹⁰²⁾らが牛、Miller⁷⁾らがメン羊を用いて報告している。しかし、 $C_{16:0}$ 脂肪酸に関しては本実験ではそれ程差異がなかったが、Rumsey¹⁰²⁾らは濃厚飼料多給、Miller⁷⁾らは粗飼料多給でそれぞれ多くなっており、報告により一致していない。

二章一節一項で述べたように、粗飼料多給で第一胃内の分枝・奇数炭素脂肪酸が増加し、体脂肪にそのまま反映した結果はDuncan and Garton²³⁾

のメン羊と山羊を使った報告と異なるが、この原因は現在不明である。

第二節 V F A 塩添加給与の影響

材料および方法

平均体重45.7kgのサフォーク種またはその雑種（去勢雄、明け2才）を用いて、プロピオン酸ナトリウム添加区2頭、酢酸ナトリウム添加区2頭を設定した。等量の配合飼料と牧乾草を1日当たり体重の3.3～3.8%給与した。各V F A 塩は、pH 6.8に調整したV F A 塩液（36%（W/V））を用いた。V F A 塩給与量は、柴田がホルスタイン去勢牛を用いてV F A ーグリセリドを体重250kg から 520kgまで給与した平均給与量である体重の0.13%を摂取するように各V F A 塩を配合飼料に混合した。その結果、結合エネルギーから計算した1g当たりのエネルギーはプロピオン酸5.16kcal、酢酸3.77kcalであり、N R C 飼養標準の必要T D N に換算するとプロピオン酸ナトリウム添加区8.7%、酢酸ナトリウム添加区6.3%に相当した。前節の濃厚飼料・粗飼料等量区を対照区として比較した。飲水は自由として、肥育期間は19週間とした。体重は2週間ごと測定して給与量を調整し、前日給与した飼料に残食があった場合は計量して採食量を修正して飼料要求率の算定をした。なお、それぞれの給与した飼料の消化率は、平均体重56kgの時期に5日間の全糞採取法で行った。体脂肪性状調査のための体脂肪の採取は、前節と同時期の試験開始時、開始後3、7、13週目に右腹部を切開して大網膜脂肪を採取した。また、前節で屠体時の皮下脂肪性状に飼料間の差異が著しかったこ

とを考慮して、同時期の皮下脂肪（胸最長筋上部の背脂肪）を採取した。採取にあたっては、2%塩酸プロカインで局所麻酔して、脂肪組織を採取した後、縫合した。採取当日の飼料の給与量は規定量の半量を与えた。肥育試験終了屠殺後、屠体重量を測定し、左半丸重量の枝肉を筋肉、脂肪および骨に分割して計量した。筋肉については一般成分も調べた。

体脂肪中の脂肪酸組成の定量、ヨウ素価および融点の測定は前節と全く同様である。

結果および考察

図3-2-1に肥育試験期間中のそれぞれの試験区の平均体重の変化を示した。3つの飼料給与間に増体の伸びの差がなく、開始時の体重の差が終了時まで持続した。

飼料の利用性と屠体成績の結果を表3-2-1、消化率の結果を表3-2-2に示した。すなわち、一日増体量（g/日）と飼料要求率はそれぞれプロピオン酸ナトリウム添加区144、12.5酢酸ナトリウム添加区138、13.2および対照区144、11.7であった。VFA塩添加給与は飼料の利用性を改善しなかった。肥育試験期間中におこなった消化試験の結果から給与飼料のTDNを求めると、57.3から58.4%と1.1%の差があるにすぎなかった。Elliotらはアルファルファに10%の**酢**プロピオン酸または酢酸を添加給与すると、TDN含量は無添加に比較して4~5%低下することを報告している。しかし、VFA塩を添加することにより飼料

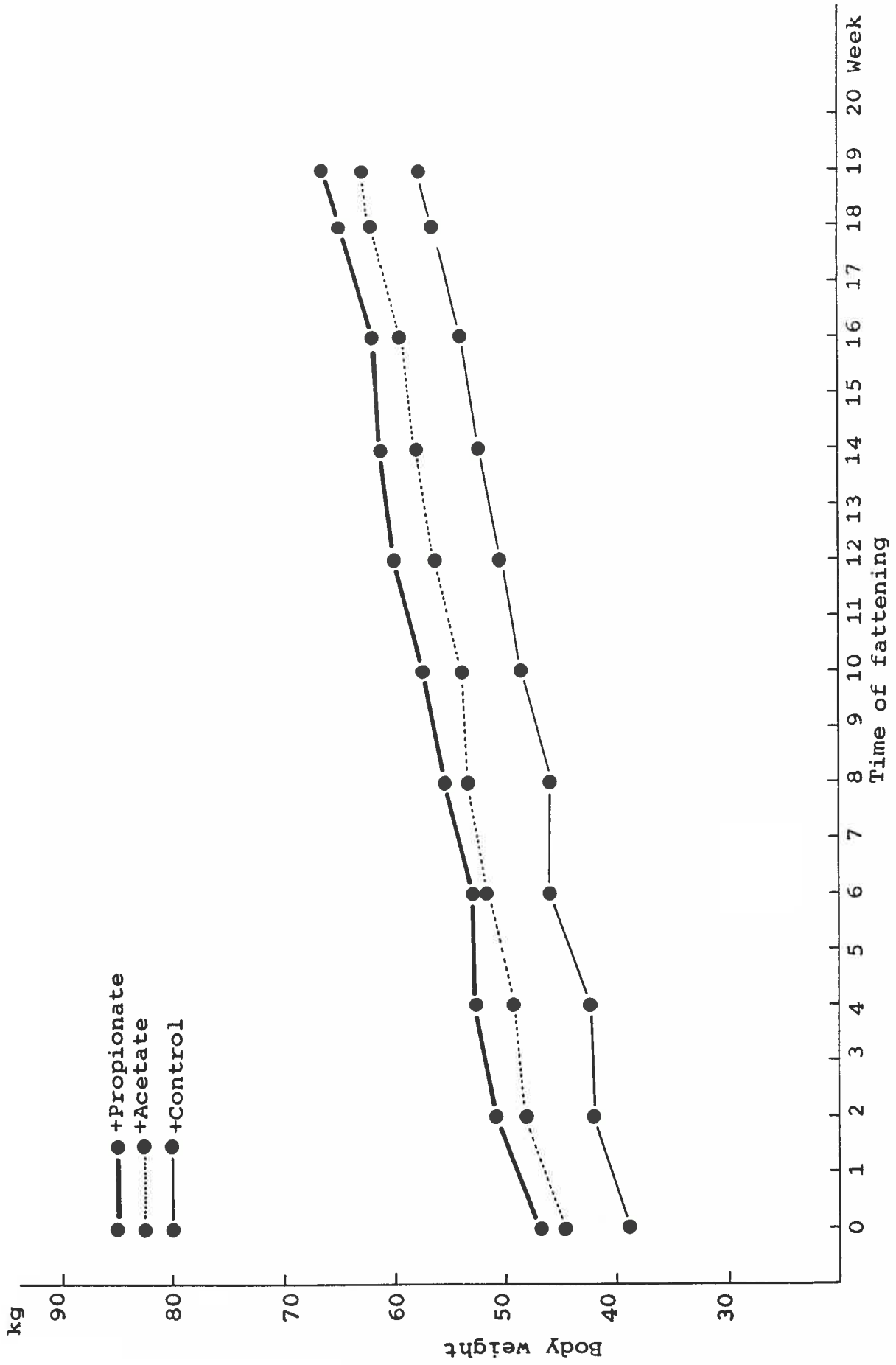


Fig. 3-2-1. Changes of body weight during fattening.

Table 3-2-1. Comparison of feed utilization and carcass constitution

	+Propionate	+Acetate	Control
Feed utilization			
Initial body weight (kg)	47.0 ± 0.2	44.5 ± 6.4	38.7 ± 2.5
Final body weight (kg)	66.2 ± 9.2	62.9 ± 8.4	58.1 ± 1.3
Daily energy			
intake (kcal/day)	4636 ± 395	4613 ± 569	4297 ± 242
Daily gain (g/day)	144 ± 70	138 ± 16	144 ± 9
Feed conversion ratio	12.5 ± 3.7	13.2 ± 0.2	11.7 ± 1.4
Carcass constitution			
Dressed carcass (kg)	32.0 ± 6.4	30.3 ± 3.2	25.0 ± 0.9
(%)	(48.3 ± 3.1) ^A 1) 2)	(48.2 ± 1.4) ^A	(43.0 ± 0.5) ^B
Digestive organ (kg)	12.4 ± 1.5	10.6 ± 2.0	14.0 ± 0.8
(%)	(18.7 ± 0.4) ^A	(16.8 ± 0.9) ^A	(24.1 ± 1.8) ^B
Internal depot fat (kg)	3.8 ± 0.8 ^A	4.3 ± 0.2 ^A	2.7 ± 0.1 ^B
(%)	(5.7 ± 0.4) ^A	(6.8 ± 0.6) ^A	(4.6 ± 0.2) ^B

1) Means with same superscript or without superscript are not significantly different at the 0.05 probability level.

2) Figures in parenthesis are percentages of live weight.

Table 3-2-2. Comparison of apparent digestibilities

	C. protein (%)	C. fat (%)	NFE (%)	C. fiber (%)
+Propionate	62.2±0.1	76.0±0.3	75.2±1.1	70.6±0.5
+Acetate	62.5±0.6	77.3±1.2	73.8±1.8	68.1±2.8
Control	62.5±4.9	77.7±7.6	74.3±4.0	69.2±3.3

	DCP (%)	TDN (%)
+Propionate	6.8 ±0.1	58.4±0.7
+Acetate	6.9 ±0.1	57.3±1.3
Control	6.5 ±1.0	57.9±1.3

中の有機物含量が相対的に低下するため消化率が変わらなくてもTDN含量は無添加区に比較して低くなるが、もし、粗灰分を除いて計算すると全く変わらないと説明している。しかし、本実験ではVFA塩添加により有機物含量は低下するが粗繊維消化率がよかったためTDN含量は無添加と比較して差がなかった。この粗繊維消化率が優れていた原因は用いたメン羊の体重が、Elliotらは29kg、本実験では56kgの体重のメン羊を用いており、体重にかなりの差があったため第一胃の発達の差に基^ん因していたためであろう。

屠体構成のうち枝肉重量 (kg) と枝肉歩留まり (%) はそれぞれプロピオン酸ナトリウム添加区32.0、48.3酢酸ナトリウム添加区30.3、48.2対照区25.0、43.0とVFA塩給与時に枝肉重量が重く、枝肉歩留まりが大きくなった。逆に、全消化器重量はVFA塩給与時に軽くなった。内臓脂肪重量では、対照区2.7kg に対しVFA塩給与区は約4kgにも及び添加されたVFA塩が体脂肪蓄積に利用されたことがうかがわれる。

左半丸枝肉構成と筋肉中の一般成分含量の比較を表3-2-3に示す。枝肉中の筋肉重量は6.2 から7.8kg の範囲で試験区間に有意差がなかったが、脂肪重量はVFA塩給与区で多くなる傾向だった。また、骨と筋肉重量に有意差がなく、VFA塩給与区で内臓と枝肉中の蓄積脂肪重量が増加している傾向であったことより肥育度が進んでいたことを示している。筋肉中の一般成分もVFA塩添加区で水分含量が少なく、粗脂肪含量が多くなっている (P < 0.01)。前節の濃厚飼料多給区の粗脂肪含量5.9 %よりVFA塩多給で更に高くなっていることより、VFA塩給

Table 3-2-3. Comparison of constitution of left side carcass and chemical composition of carcass muscle

	+Propionate	+Acetate	Control
Constitution of left side carcass			
Muscle (kg)	7.8 ± 1.1	7.3 ± 0.5	6.2 ± 0.4
(%)	(52.5 ± 2.1)	(53.3 ± 0.5)	(52.2 ± 1.4)
Fat (kg)	3.8 ± 1.3	3.8 ± 0.7	2.9 ± 0.1
(%)	(25.1 ± 4.6)	(27.9 ± 2.8)	(24.5 ± 2.0)
Bone (kg)	3.0 ± 0.4	2.3 ± 0.8	2.4 ± 0.1
(%)	(20.5 ± 0.6)	(17.0 ± 1.9)	(20.3 ± 0.7)
Chemical composition of carcass muscle (%)			
Moisture	71.0 ± 2.1 ^A	71.9 ± 0.6 ^A	74.0 ± 1.1 ^B
Crude protein	18.6 ± 0.5 ^A	19.2 ± 1.0 ^{AB}	20.4 ± 1.1 ^B
Crude fat	✓ 8.5 ± 2.4 ^A	✓ 6.8 ± 1.1 ^A	✓ 3.5 ± 1.0 ^B
Crude ash	0.9 ± 0.1 ^A	1.0 ± 0.1 ^A	1.2 ± 0.1 ^B

1) Figures in parenthesis are percentages of carcass.

与が特に肥育を促進させることを示している。

VFA塩給与は屠体重量と体脂肪重量を増加させるが、プロピオン酸と酢酸のheat incrementとして失われる量はプロピオン酸が低いこと^ぶにより、この両VFAの間の生産のための正味エネルギーに差が生ずることが考えられる。このことを確かめるためには、給与するVFAのエネルギーレベルを同じくして出来るだけ多く給与するか、他の実験動物を多く供試するなど別の肥育試験が必要と思われる。

次に、大網膜脂肪と皮下脂肪の脂肪酸組成、ヨウ素価および融点の肥育に伴う変化を図3-2-2から図3-2-5に示す。大網膜脂肪ではプロピオン酸塩給与区でC_{18:1}脂肪酸と不飽和脂肪酸、酢酸塩給与区でC_{16:0}脂肪酸が高い傾向を示した。経日的には前節と同様、VFA塩給与によりC_{18:0}脂肪酸の上昇C_{18:1}脂肪酸の減少が認められた。皮下脂肪ではプロピオン酸塩添加区は酢酸塩添加区よりC_{16:0}とC_{18:0}脂肪酸で低く、C_{18:1}脂肪酸で高くなっており、経日的にはいずれの脂肪酸、ヨウ素価、融点ともほとんど変化がなかったが、酢酸塩添加区はC_{18:0}脂肪酸の上昇、C_{18:1}脂肪酸の減少が認められた。その結果、酢酸塩添加区の不飽和脂肪酸52.0→42.3%、ヨウ素価55.3→39.5%、融点40.0→45.0%と酢酸塩給与で肥育の進行に伴い飽和化される傾向であった。また、分枝・奇数炭素数脂肪酸はプロピオン酸塩添加区で高く、経日的にも増加する傾向を示した。皮下脂肪の不飽和脂肪酸の経日的変化は、プロピオン酸塩添加区で殆ど変化がなかったが、酢酸塩添加区で13週目から著しく減少していることより、この部位の脂肪酸は内臓脂肪などの体

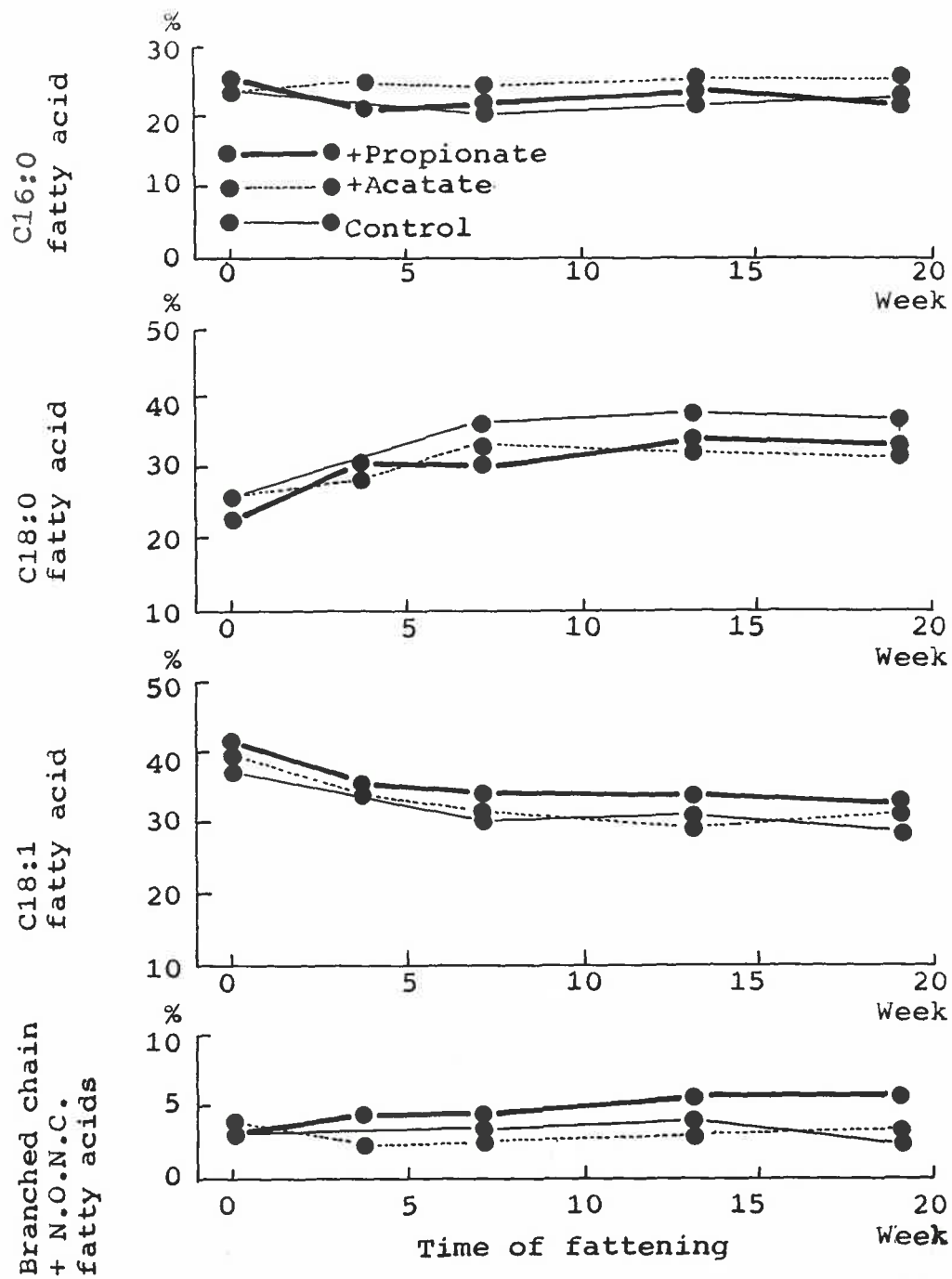


Fig.3-2-2. Change in composition of C16:0, C18:0, C18:1 and branched chain + normal odd number C fatty acids of omental adipose tissue during fattening.

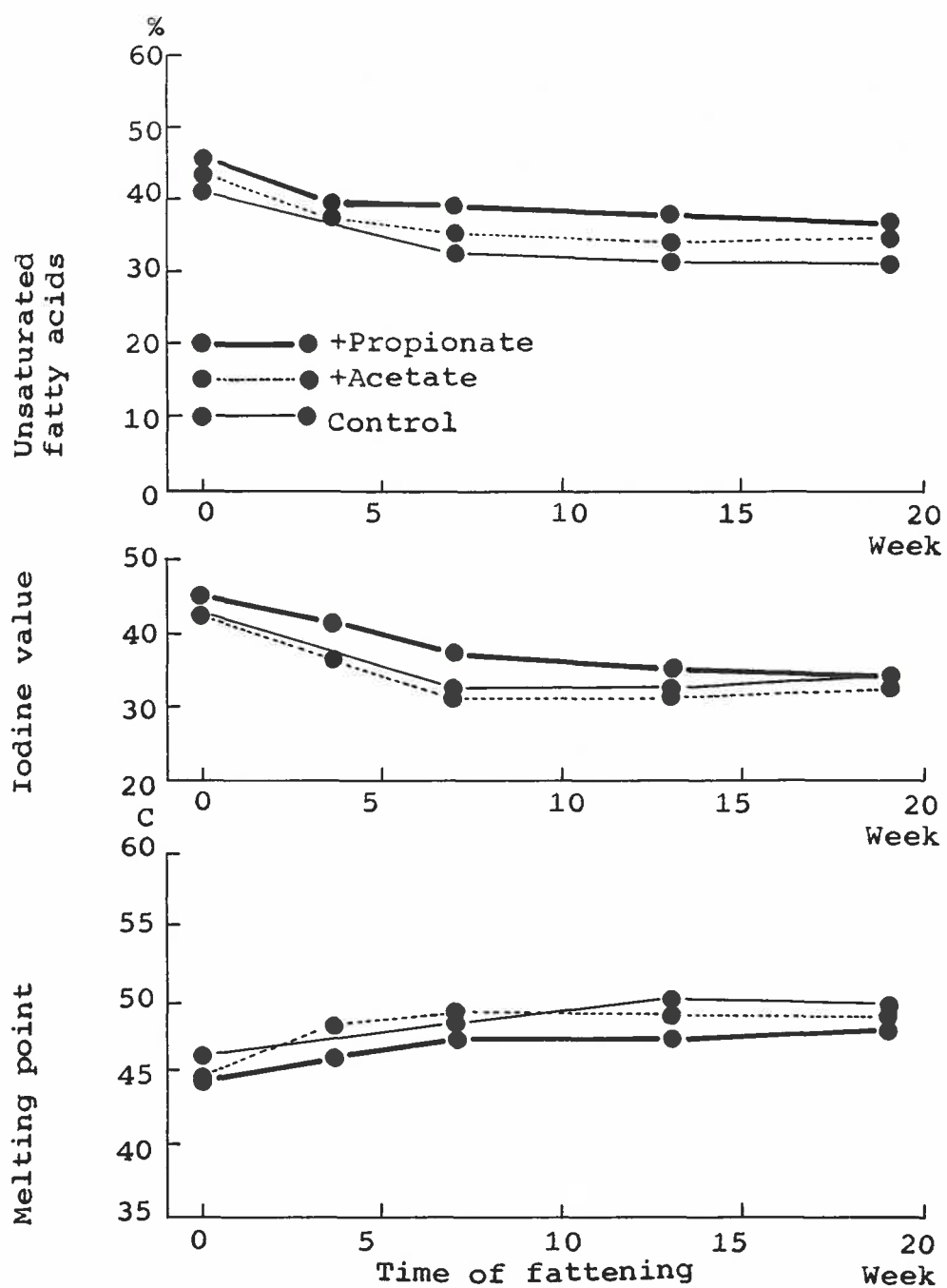


Fig.3-2-3. Change in composition of unsaturated fatty acids, iodine value and melting point of omental adipose tissue during fattening.

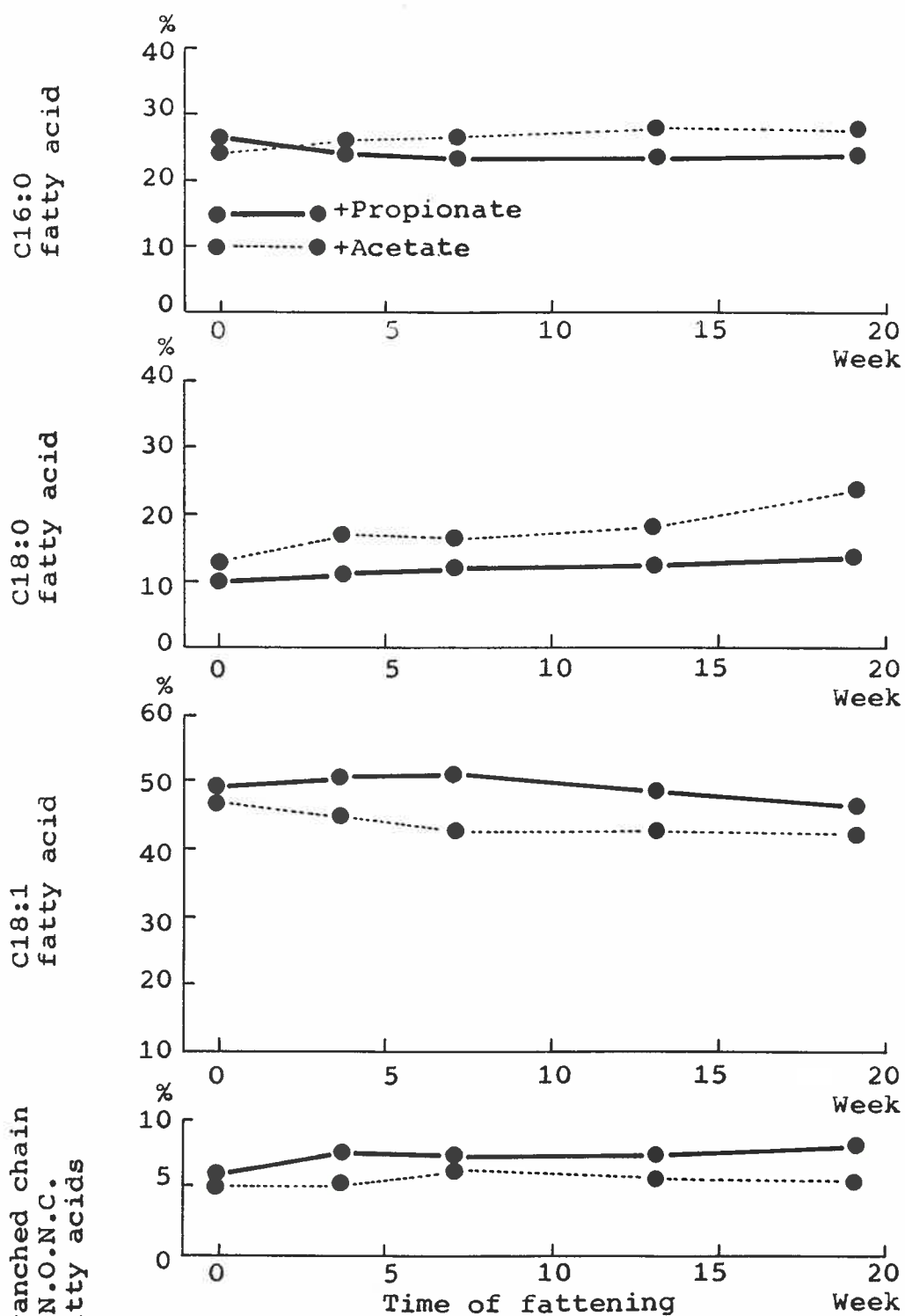


Fig. 3-2-4. Change in composition of C16:0, C18:0, C18:1 and branched chain + normal odd number C fatty acids of subcutaneous adipose tissue during fattening.

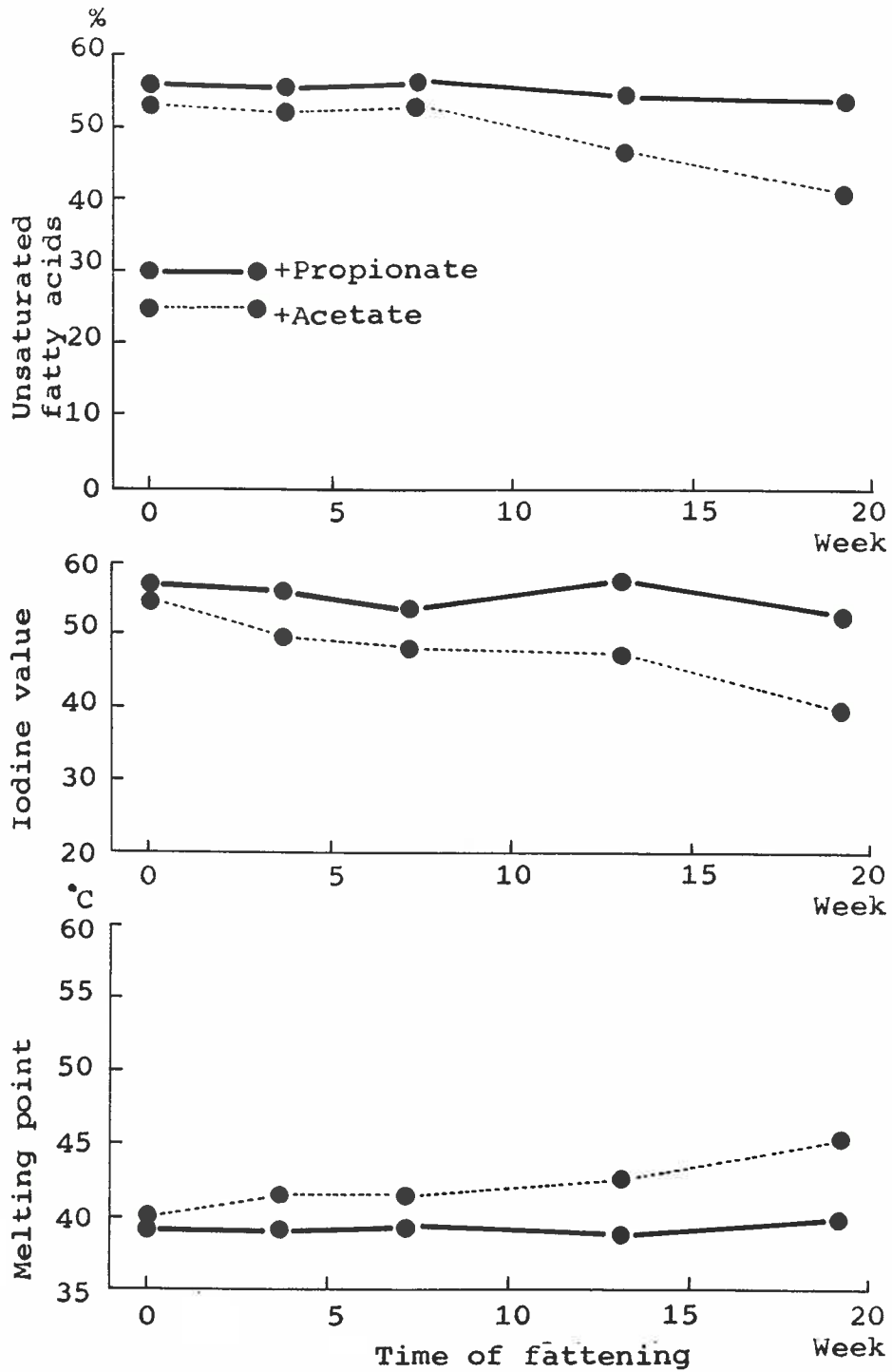


Fig.3-2-5. Change in composition of unsaturated fatty acids, iodine value and melting point of subcutaneous adipose tissue during fattening.

内の脂肪酸よりも飼料の影響を受けやすい部位と判断される。屠殺時の皮下、筋肉内、腎および大網膜脂肪の脂肪酸組成、ヨウ素価、融点を表3-2-4に示す。腎と大網膜脂肪の内臓脂肪では両VFA塩添加区にそれ程差が生じなかったが、皮下と筋肉内脂肪ではプロピオン酸塩添加区の分枝・奇数炭素数脂肪酸、不飽和脂肪酸およびヨウ素価の増加、C_{18:0}脂肪酸の減少が顕著になっている。一方、酢酸塩添加区ではC_{16:0}脂肪酸が高い傾向をしていた。

VFA塩給与ととメン羊の体脂肪脂肪酸組成との関係については、プロピオン酸塩給与により分枝・奇数炭素数脂肪酸が増加するという報告³⁵⁾があり本実験と同様である。しかし、不飽和脂肪酸はプロピオン酸塩給与により増加していない³⁶⁾。一方、牛ではプロピオン酸塩添加給与によりC_{18:1}脂肪酸が増加³⁷⁾、酢酸塩給与によりC_{16:0}脂肪酸が増加するという報告³⁸⁾がある。また、in vitroでは酢酸からはC_{16:0}とC_{18:0}脂肪酸が合成される主要な脂肪酸である³⁹⁾。糖尿病動物にインシュリンを投与するとモノ不飽和脂肪酸の生成能の低下を防止できること、メン羊の脂肪組織を酢酸を基質として培養する場合、グルコースを加えると酢酸からの脂肪酸合成が3~10倍増加することが指摘されている⁴⁰⁾。一方、プロピオン酸から直接、長鎖脂肪酸は生成され難いとされているので、濃厚飼料あるいはプロピオン酸給与により血糖値が高くなり、それに伴ってインシュリン分泌が活発となり、酢酸から不飽和化酵素系を介して不飽和脂肪酸合成が促進される⁴¹⁾ことが考えられる。

二章二節一項で述べたように酢酸塩給与により第一胃内のオレイン酸

Table 3-2-4. Comparison of fatty acid composition, iodine value and melting point of different adipose tissues at slaughter time

		+Propionate	+Acetate	Control
Fatty acid composition (%)				
C16:0 fatty acid	Subcutaneous	23.6 ± 0.3	27.3 ± 3.3	23.3 ± 2.1
	Intramuscular	23.1 ± 1.2 ^A	25.0 ± 2.0 ^A	21.3 ± 1.6 ^B
	Perinephric	22.1 ± 0.7	24.0 ± 2.3	22.8 ± 1.8
	Omental	22.3 ± 2.4	26.2 ± 0.4	22.4 ± 0.7
C18:0 fatty acid	Subcutaneous	13.9 ± 3.8 ^A	23.4 ± 2.9 ^{AB}	27.4 ± 2.3 ^B
	Intramuscular	14.1 ± 0.9 ^A	20.4 ± 2.5 ^B	21.8 ± 1.9 ^B
	Perinephric	34.5 ± 5.4	37.0 ± 1.9	41.0 ± 1.6
	Omental	32.9 ± 4.3	31.8 ± 1.3	38.3 ± 1.3
C18:1 fatty acid	Subcutaneous	46.9 ± 0.5 ^A	38.1 ± 0.7 ^B	39.6 ± 0.2 ^C
	Intramuscular	50.3 ± 2.7 ^A	45.8 ± 3.2 ^B	48.3 ± 2.0 ^A
	Perinephric	30.8 ± 3.1	29.4 ± 0.3	28.5 ± 1.7
	Omental	32.5 ± 0.6	32.9 ± 1.4	30.0 ± 2.4
B.C. + N.O.N.C. fatty acids ¹⁾	Subcutaneous	8.1 ± 1.3 ^A	5.2 ± 0.4 ^B	3.8 ± 0.1 ^B
	Intramuscular	5.1 ± 1.1 ^A	2.7 ± 0.9 ^B	2.7 ± 0.5 ^B
	Perinephric	5.8 ± 0.2 ^A	3.9 ± 0.1 ^B	3.3 ± 0.7 ^B
	Omental	6.0 ± 1.5	4.0 ± 0.4	4.5 ± 0.5
Unsaturated fatty acids	Subcutaneous	53.8 ± 2.5 ^A	42.3 ± 0.0 ^B	42.7 ± 0.9 ^B
	Intramuscular	56.5 ± 1.1 ^A	50.6 ± 3.1 ^B	52.8 ± 2.4 ^B
	Perinephric	35.6 ± 4.2	32.8 ± 0.0	31.1 ± 1.7
	Omental	36.5 ± 0.2	35.4 ± 0.6	32.9 ± 2.2
Iodine value				
	Subcutaneous	52.6 ± 2.8 ^A	39.5 ± 2.1 ^B	38.2 ± 0.6 ^B
	Intramuscular	49.5 ± 0.8 ^A	44.6 ± 2.1 ^B	48.2 ± 0.9 ^B
	Perinephric	36.2 ± 2.1	34.1 ± 2.8	30.1 ± 1.6
	Omental	34.7 ± 0.5	33.3 ± 1.3	33.4 ± 1.4
Melting point (°C)				
	Subcutaneous	40.0 ± 1.4 ^A	45.0 ± 1.4 ^{AB}	45.7 ± 1.5 ^B
	Intramuscular	40.3 ± 0.5 ^A	42.3 ± 0.9 ^B	42.0 ± 1.8 ^B
	Perinephric	48.0 ± 1.4 ^A	48.5 ± 0.7 ^A	51.7 ± 1.2 ^B
	Omental	48.0 ± 0.0	48.5 ± 0.7	49.7 ± 0.6

1) Branched chain + normal odd number C fatty acids.

が増加したが、体脂肪中の増加と一致しなかったことは、全体の体脂肪合成からみると第一胃内でのVFAからの体脂肪合成はそれほど活発でないことを示唆する。

第四章 V F A 塩多量給与下における肥育効果と体脂肪性状の変化

前章で濃厚飼料と粗飼料の給与割合がメン羊の肥育と体脂肪性状に与える影響を検討した。また、それらの飼料の給与割合の違いにより第一胃内のプロピオン酸と酢酸の生成割合が変化することにより、それらの V F A を給与して肥育と体脂肪性状に与える影響を検討した。本章では出来るだけ多量の V F A 塩を給与した場合のメン羊の肥育と体脂肪性状への影響の確認と第一胃内 V F A と長鎖脂肪酸性状に及ぼす影響を調べた。更に、実験小動物（ハムスター）を用いてプロピオン酸と酢酸の生産エネルギーに対する貢献度を比較した。

第一節 肥育効果と体脂肪性状に与える影響

三章二節において V F A 塩添加給与がメン羊の肥育を促進し、プロピオン酸塩給与により体脂肪が不飽和化されることを述べた。この体脂肪が不飽和化される原因にプロピオン酸塩給与により血糖値が高くなってインシュリン分泌が活発になり、酢酸からの不飽和脂肪酸合成が促進されると推察した。この現象を更に確認するため、メン羊を肥育するとき利用される単味の V F A を出来るだけ多く給与する必要があると考え本実験を行った。

材料および方法

同じ父親から生まれたメン羊4頭（15箇月齢、平均体重52kg）とサフオーク種の雑種（7箇月齢、体重32kg）を供試動物とした。各メン羊は濃厚飼料（肉牛用配合飼料、TDN70%、DCP10%）と粗飼料（イネ科主体牧乾草、TDN45%、DCP5%）の重量比を6：4にした飼料を体重の3.3%給与した3週間の対照期を設定した。対照期終了後、各メン羊をプロピオン酸塩と酢酸塩を添加給与したものと第一胃にフィステルから直接注入したものとに分けた。酢酸塩注入メン羊は2頭割り当てた。添加給与の場合、牧乾草を400～500g/日給与して出来るだけ多量のVFA塩を摂取して必要TDN（1.83kg/100kgB.W.^{122）}を充足するように濃厚飼料とVFA塩給与量を調整した。注入給与の場合は牧乾草を400～500g/日給与して必要TDN（1.83kg/100kgB.W.）と必要DCP（0.22kg/100kgB.W.^{122）}を充足するよう、濃厚飼料（肉牛配合飼料と大豆粕（TDN77%、DCP43%））給与量とVFA塩注入量を調整した。用いたVFA塩はCa塩がNa塩よりメン羊への生理的反応に与える影響が少なかったこと^{39）}を考慮して、Ca塩を用いた。但し、酢酸塩はCa塩とNa塩を3：1の重量比にして給与すると嗜好性が良かったので混合塩を用いた。第一胃への注入速度は1ml/分とした。飲水と鉱物質の摂取は自由としてVFA塩添加給与または注入による肥育期間を12～16週間とした。以下に体重50kg時にプロピオン酸塩を必要TDNの20%添加給与する場合と30%注入給与する場合との飼料とVFA塩の給与量の

計算例を示した。

★プロピオン酸塩で必要TDNの20%充足する場合の給与飼料とVFA塩添加量 (g)

	乾草 (定数)	濃厚飼料	プロピオン酸塩
必要TDN	= 500 x 0.45	+ X x 0.7	+ 必要TDN x 0.2
915	= 500 x 0.45	+ 724x0.7	+ 183/0.93

(プロピオン酸カルシウム添加量 : 183/0.93=197)

∴プロピオン酸カルシウム 1g = TDN 0.93g)

★必要TDNの30%充足する場合の給与飼料とVFA塩第一胃注入量 (g)

	乾草 (定数)	濃厚飼料	大豆粕	プロピオン酸塩
必要DCP	= 400 x 0.05	+ X x 0.1	+ Y x 0.43	
必要TDN	= 400 x 0.45	+ X x 0.7	+ Y x 0.77	+ 必要TDN x 0.3
110	= 400 x 0.05	+ 576x0.1	+ 76x0.43	
915	= 400 x 0.45	+ 576x0.7	+ 76x0.77	+ 275/0.93

(プロピオン酸カルシウム注入量 : 275/0.93=296)

対照期終了時とVFA塩給与期に3～7週間間隔で右側腹部の大網膜脂肪と胸最長筋上部の背脂肪を三章と同様に切開して採取した。但し、採取にあたってはペントバルビタールナトリウムを規定量の半量を頸静脈より注入して全身麻酔後切開して採取後、縫合した。採取当日の飼料

給与量は規定量の半量与えた。肥育試験終了後屠殺し、前章と同様に屠体重量を測定し、枝肉を筋肉、脂肪および骨に分割して計量した。筋肉については一般成分も調べた。

体脂肪中の脂肪酸組成の定量、ヨウ素価の測定は前章と全く同様である。

結果および考察

飼料の利用性と屠体構成の比較を表4-1-1に示した。必要TDNに占める平均VFA給与量は17.1~22.4%の範囲であった。プロピオン酸塩が酢酸塩よりも1%多く給与でき、両VFA塩とも注入給与が添加給与よりも約4%多く給与できた。酢酸塩注入メン羊一頭が注入開始11日目に斃死した。この時期の酢酸塩液はCa塩(pH6.2)だけを給与していたため、多量に注入することにより血液中の酸・塩基平衡が崩れたためと思われる。VFA塩給与による一日増体量は85から152で対照期の47~84%に減少した。また、飼料要求率では酢酸塩注入メン羊を除いて対照期の120から169%に上昇していた。その結果、VFA塩給与は飼料の利用性を改善し得なかった。枝肉重量(kg)と枝肉歩留まり(%)はそれぞれ、プロピオン酸塩添加37.5、52.7プロピオン酸塩注入31.5、48.9酢酸塩添加33.0、51.4酢酸塩注入19.7、43.6であった。VFA塩を多量に添加または注入給与すると、前章のVFA塩給与に比較して枝肉歩留まりが上昇した。一方、体重に占める消化器重量%は前章のV

Table 4-1-1. Comparison of feed utilization and carcass composition of sheep fed propionate and acetate.

	Control period	Propionate period		Acetate period	
	(5 heads)	Supplement	Infusion	Supplement	Infusion
Age (month)	13	15	15	7	15
Initial body weight (kg)	48.2	56.6	55.0	54.4	36.0
Final body weight (kg)	51.8	71.2	64.4	64.2	45.2
Amount of propionate (% of TDN)		18.5	22.4		
Amount of acetate (% of TDN)				17.1	21.5
Daily gain(g/day)	180	152	85	102	110
Feed conversion ratio	9.1	10.9	12.9	15.4	7.9
Carcass composition					
Dressed carcass (kg)		37.5	31.5	33.0	19.7
(%)		(52.7)*	(48.9)	(51.4)	(43.8)
Digestive organ (kg)		11.8	13.9	10.6	8.5
(%)		(16.6)	(21.5)	(16.5)	(18.8)
Internal depot (kg)		4.7	2.8	3.3	2.5
fat (%)		(6.6)	(4.4)	(5.1)	(5.5)

* : Figures in parenthesis are percentages of body weight.

VFA塩給与に比較すると減少する傾向を示し、内臓脂肪重量%はほぼ同量だった。

枝肉構成と筋肉中の一般成分の比較を表4-1-2に示した。筋肉と脂肪の重量と枝肉中に占める割合は個体差が大きく変動が著しかった。しかし、プロピオン酸塩給与下で酢酸塩給与下より枝肉中に占める脂肪の重量割合が高い傾向を示した。筋肉中の粗脂肪含量は前章のVFA塩給与の結果よりも高く、特にプロピオン酸塩給与が11%のレベルで著しく高い粗脂肪含量を示した。

VFAを人為的に第一胃に注入または飼料に添加給与した報告は多数ある。その目的はプロピオン酸と酢酸などの単味のVFAのエネルギー効率への貢献度、heat incrementによるエネルギー損失量さらには成長あるいは肥育試験を通じての生産効率と蓄積脂肪の性質を明らかにすることなどである。VFAの給与形態は直接VFAを給与する方法、NaまたはCa塩のアルカリ塩で給与する方法と最近ではVFA-グリセリドとして多量に給与する方法がある。浜崎は酢酸をCa塩で第一胃に基礎代謝量の半量に相当するエネルギー量を5日間注入した場合、メン羊の生理反応に殆ど影響を与えなかったことを報告している。高橋らは、基礎代謝量を満たすエネルギー量をVFA-グリセリドとして第一胃に5週間注入することに成功している。また、柴田はホルスタイン去勢牛にプロピオン酸/酢酸比を高める目的で基礎代謝量の約40%のVFA-グリセリドを給与することにより増体効率を高くすることを示唆する報告をしている。本実験のVFA塩給与量はこれらの報告と比較すると、

Table 4-1-2. Comparison of carcass composition and chemical composition of carcass muscle of sheep fed propionate and acetate.

	Supply of propionate		Supply of acetate	
	Supplement	Infusion	Supplement	Infusion
Carcass composition				
Muscle (kg)	16.0	16.0	17.5	9.2
(%)	(46.4)*	(57.5)	(56.1)	(49.7)
Fat (kg)	12.7	6.8	7.3	5.6
(%)	(36.8)	(24.5)	(20.5)	(20.1)
Bone (kg)	5.8	5.0	6.4	3.7
(%)	(16.8)	(18.0)	(20.5)	(20.1)
Chemical composition of carcass muscle (%)				
Moisture	68.1	66.5	71.3	70.8
Crude protein	18.1	19.2	19.0	19.7
Crude fat	✓11.6	✓11.3	✓7.4	✓7.4
Crude ash	1.0	1.0	1.1	1.1

* : Figures in parenthesis are percentages of carcass.

基礎代謝量の55～72%の給与量になっており、しかも3箇月間給与できたので酢酸とプロピオン酸それぞれのVFA塩の肥育に対する貢献度を充分示したものと判断される。

酢酸がプロピオン酸よりheat incrementにより失われるエネルギーが高いこと⁵⁾より、プロピオン酸と酢酸のエネルギーレベルを同じにして給与した場合生産効率において両酸の間に差が生ずることが考えられるが、柴田¹⁰⁶⁾はプロピオン酸/酢酸比の増加が増体効率を向上させる可能性があることを提示している。しかし、Elliot⁹⁵⁾らの報告で酢酸を4.4%、プロピオン酸を7.7%と酢酸をプロピオン酸より少なく添加給与しても飼料要求率に差がなかった。三章二節の実験および本実験でも一日増体量と飼料要求率において両酸の間に明確な差が生じなかった。また、メン羊を長期にわたって肥育した場合、屠体重量を上昇させる効率において、個々のVFAの間^{92, 94)}に有意差がなかった。更に、Ørskov⁹⁵⁾らによれば、通常の飼育条件下で考えられるプロピオン酸/酢酸比の範囲0.4から1.8まではエネルギー効率に差が生じなかった。本実験のVFA塩注入後のプロピオン酸/酢酸比はプロピオン酸塩注入で2.9、酢酸塩注入で0.2と上述の範囲に入っていないので、今後供試頭数を増やしプロピオン酸と酢酸のエネルギー効率を確かめる肥育試験を実施すれば増体効率に差が生ずるものと思える。しかし、計算上肥育に必要なエネルギーの基礎代謝量は約1/3にすぎないこと⁶⁰⁾、肥育という実験の性質が体脂肪生産に重点が置かれていることなどから、同じエネルギー量のプロピオン酸と酢酸を給与した場合増体量の差として現れにくいことも考えられる。何れ

にしろ、この二つのVFAのエネルギー効率の差を成長あるいは肥育現象で証明することが必要と思われ、本章三節で実験動物（ハムスター）を用いて検討した。

前章二節と本実験でVFA塩添加給与は飼料の利用性を改善しなかったが、両実験とも体脂肪量が増加しており、VFA塩が体脂肪生産に利用されたことは疑いのない事実と思われる。

大網膜脂肪と皮下脂肪の肥育に伴う主要な脂肪酸組成の変化を図4-1-1に、分枝・奇数炭素数脂肪酸、不飽和脂肪酸および融点の変化を図4-1-2に示した。その結果、両脂肪組織ともC_{16:0}脂肪酸は肥育に伴い若干増加する傾向だった。C_{17:0}脂肪酸（マーガリン酸）は分枝・奇数炭素数脂肪酸のほぼ半分の割合を占めていたが、プロピオン酸塩給与5～7週目に著しく増加し、以後肥育終了まで数%のレベルで安定した組成を示した。C_{18:0}脂肪酸はプロピオン酸塩給与により両脂肪組織とも著しく減少した。この現象はプロピオン酸塩注入で明確だった。一方、酢酸塩給与は、添加給与の大網膜脂肪を除いて増加する傾向を示した。不飽和脂肪酸で最も多いC_{18:1}脂肪酸は両脂肪組織とも酢酸塩給与により減少、プロピオン酸塩給与により増加した。分枝・奇数炭素数脂肪酸はC₁₃、C₁₅、C₁₆およびC₁₇のイソ、アンテイソの分枝と直鎖脂肪酸が確認された。プロピオン酸塩給与により分枝・奇数炭素数脂肪酸と不飽和脂肪酸の増加が顕著であり、その結果融点が低下した。特に、この変化はプロピオン酸塩注入の皮下脂肪で最も明らかに現れ、注入開始7週目まで分枝・奇数炭素数脂肪酸は2.9 から13.4%、不飽和脂肪酸

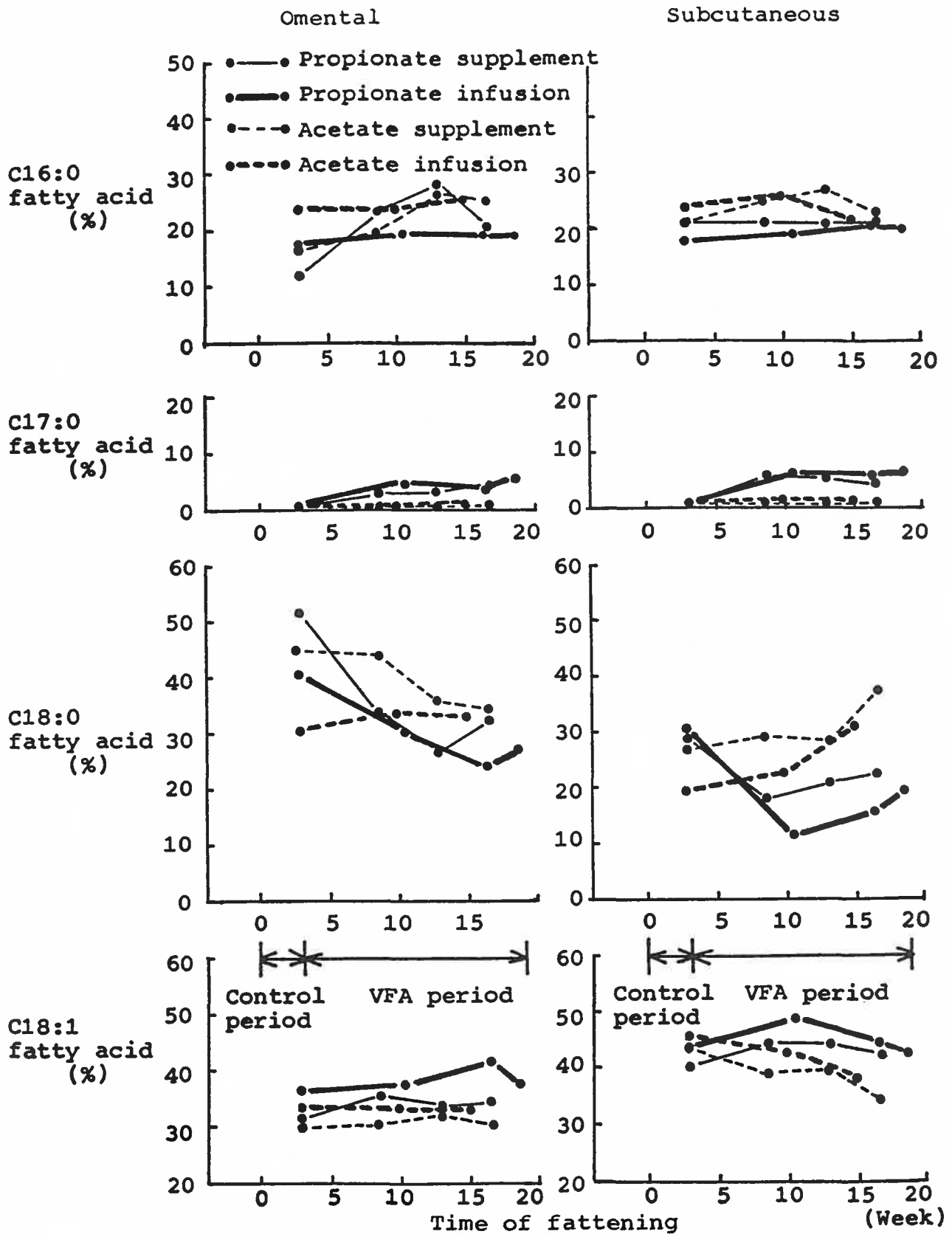


Fig. 4-1-1. Change in composition of C16:0, C17:0, C18:0 and C18:1 fatty acids of adipose tissues during fattening by VFA salts feeding.

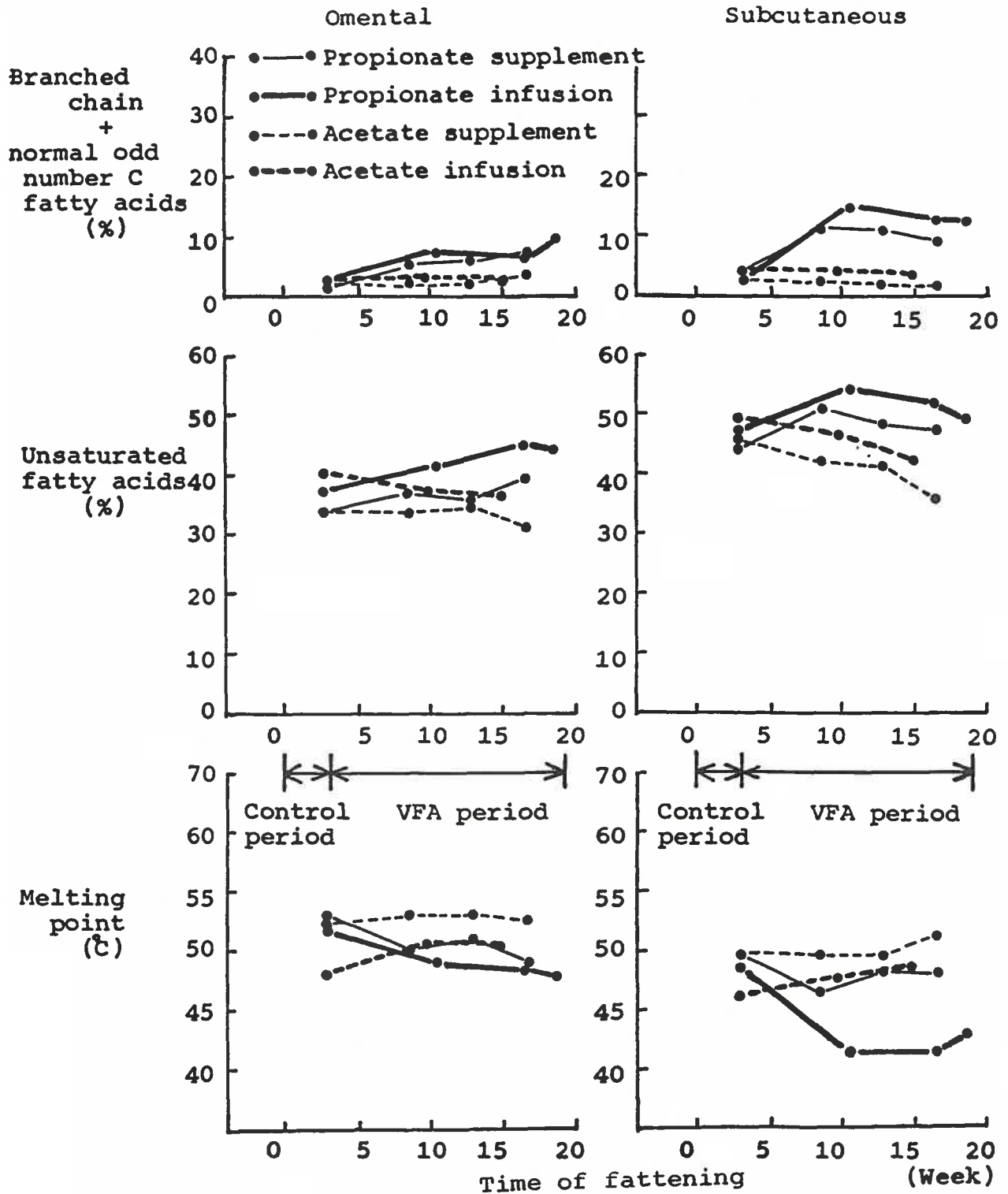


Fig. 4-1-2. Change in composition of branched chain + normal odd number C, unsaturated fatty acids and melting point of adipose tissues during fattening by VFA salts feeding.

47.5から54.3%、融点47.5から41.5℃と著しく体脂肪が不飽和化された。しかし、酢酸塩給与により、不飽和脂肪酸と融点はプロピオン酸塩給与と比較すると逆の変化を示した。

体脂肪組織の脂肪酸合成に必要な前駆物質は単胃動物はグルコース、^{6, 10)}反芻動物は酢酸^{7, 16)}であることはよく知られた事実である。しかし、前述のようにプロピオン酸を酢酸より優先させるとエネルギー効率を高くする可能性があるという基礎的実験から考えると、プロピオン酸がどのような経路で成長あるいは肥育の際の体脂肪生産に貢献しているか考える必要がある。

プロピオン酸が過剰に吸収されたときはクエン酸回路で消費される主な物質はグルコースであり、グルコースが分解するときの解糖の側路であるペントースリン酸回路で生成されるNADPHが長鎖脂肪酸合成に必要であるが、この酵素の存在下で酢酸からの脂肪酸合成が促進したと推察される。プロピオン酸からの体脂肪酸合成が少ないとすれば、ホルモンや酵素を媒介して酢酸からの体脂肪酸合成が促進していると考えるのが妥当と思える。体脂肪の脂肪酸組成はトリグリセリド中に偶数の長鎖脂肪酸を多く含むが、^{16, 18)}肝臓に過剰のプロピオン酸が吸収された場合、メチルマロニルCoAが蓄積して分枝・奇数炭素数脂肪酸が生成される。この現象はメン羊に代謝エネルギーの21%をプロピオン酸塩で代替して給与したGartonらの報告と本論文の三章二節の実験で認められている。¹⁹⁾本節の実験でも対照期に比較して分枝・奇数炭素数脂肪酸が増加し、C_{17:0}脂肪酸が増加した分枝・奇数炭素数脂肪酸の主要な脂肪酸だった。

しかし、分枝・奇数炭素数脂肪酸総量は10%程度の組成にすぎないため、プロピオン酸からの脂肪酸合成は少ないと言える。一方では、プロピオン酸塩給与によりC_{18:0}脂肪酸の減少、C_{18:1}脂肪酸の増加、酢酸塩給与によりこれらの脂肪酸が逆転する現象は、三章二節の実験と牛にVFA塩を給与した報告に認められている。この現象を説明するのに、プロピオン酸から糖新生されたグルコースの増加に伴いインシュリンの分泌が多くなり、モノ不飽和脂肪酸の合成を促進することと、NADPHが飽和脂肪酸より不飽和脂肪酸を選択的に合成を高めることに加えて、in vitroでグルコースの存在下で酢酸からの脂肪酸合成が3~10倍高まることなどが考えられる。

以上の結果から、VFA塩給与が肥育を促進し、プロピオン酸が体脂肪構成脂肪酸を不飽和化し、酢酸が飽和化することを確認できた。

第二節 第一胃内総脂質含量および脂肪酸組成に与える影響

二章二節一項で第一胃内では酢酸からの脂肪酸合成はプロピオン酸より活発で、酢酸は偶数炭素脂肪酸へプロピオン酸は分枝・奇数炭素脂肪酸へ向けられていることを述べた。また、前章二節と本章一節でプロピオン酸塩給与により体脂肪が不飽和化されることも述べた。

本節ではVFA塩多量給与により、第一胃内での微生物による水素添加能が低下していることが想定されるので、前節と同じメン羊を用いてVFA塩を多量に第一胃内に注入したときの採食に伴う第一胃内の長鎖脂肪酸組成の変化と併せてVFAと総脂質含量の変化を調べ、体脂肪酸組成との関連を考察した。

材料および方法

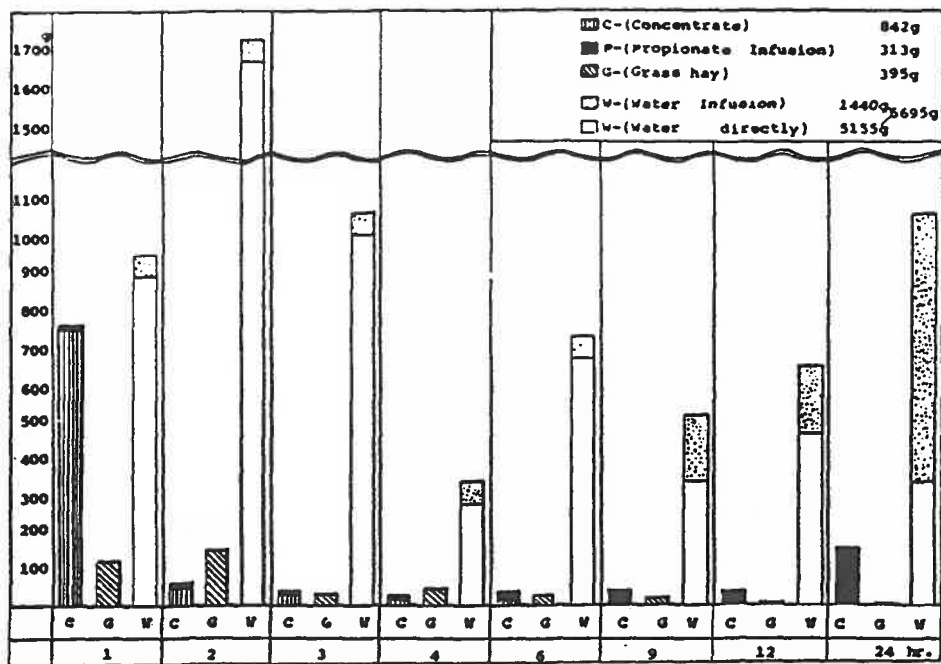
前節で述べたプロピオン酸または酢酸カルシウム塩を必要TDNの25～30%第一胃に定速注入(1ml/分)したフィステル装着メン羊2頭より第一胃液を採取した。採取胃液は二重ガーゼで濾過して供試材料とした。注入開始前、開始後2, 4, 6, 9, 12および24時間後の合計7回の第一胃液を採取し、二章一節と全く同様に第一胃液を調整した。また、濃厚飼料と牧乾草の給与量も前節と同様である。なお、それぞれの実験は3回繰り返し、その平均値で表わした。

結果および考察

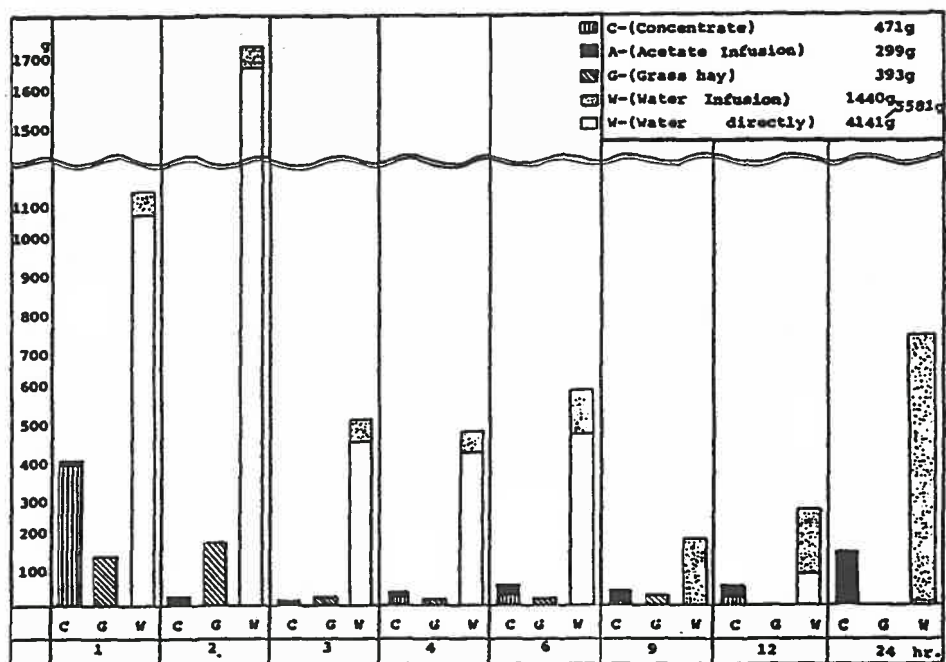
図4-2-1にVFA塩を第一胃に注入給与したときの採食量と飲水量の日内の推移を経時的に表わした。参考として図4-2-2にVFA塩を経口的に添加給与した場合のものも示した。その結果、いずれの飼料給与とも濃厚飼料は1時間では採食を終了し、12時間で牧乾草の採食も終了した。また、飲水量ではVFA塩無給与で3661mlだったが、VFA塩給与により52~87%飲水量が増加した。プロピオン酸と酢酸塩給与の間では飲水量に明らかな違いはなかった。

図4-2-3と図4-2-4に採食に伴うVFA濃度とVFA間の比率の変化を示した。その結果、濃度では当然のことながらプロピオン酸カルシウム注入によりプロピオン酸、酢酸カルシウム注入により酢酸がそれぞれ著しく多くなった。VFA塩無給与で酢酸濃度がプロピオン酸濃度より、高かったためと酢酸の単位当たりのエネルギー価がプロピオン酸より低いことから同エネルギー量を注入するには酢酸カルシウムで多く注入したため、プロピオン酸カルシウム注入でのプロピオン酸と酢酸の濃度差より、酢酸カルシウム注入での酢酸とプロピオン酸との濃度差が大きかった。また、総VFA濃度では無給与で採食開始後4時間で最大濃度に達し、以後約12時間まで持続する変化を示したが、VFA塩注入でのVFA濃度最大時は採食開始後10~12時間だった。両VFA塩注入後2時間位で採食がほぼ終了していたが、総VFA濃度に達する時間が6時間位遅れていたことは、炭水化物を分解する第一胃内微生物

+Propionate



+Acetate



Control

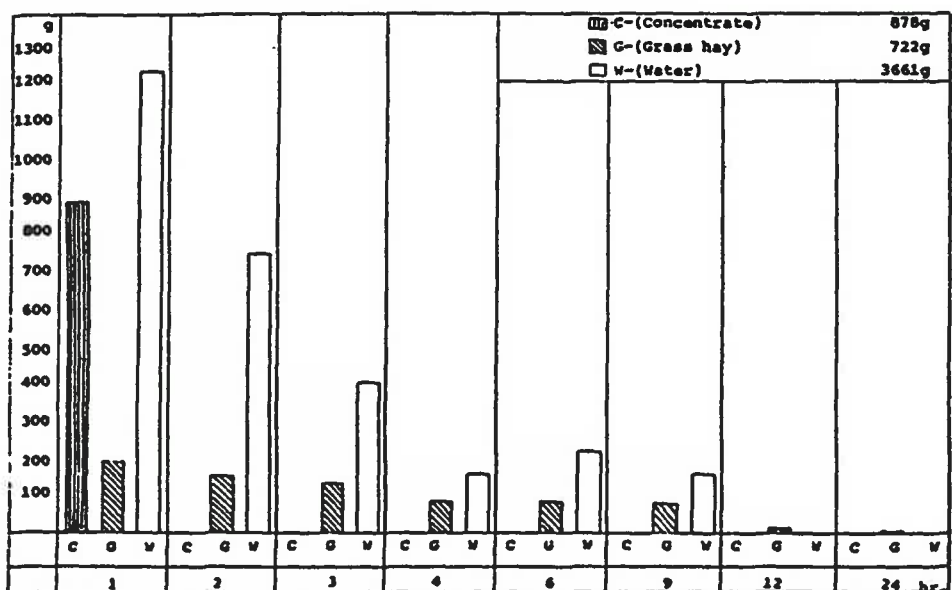
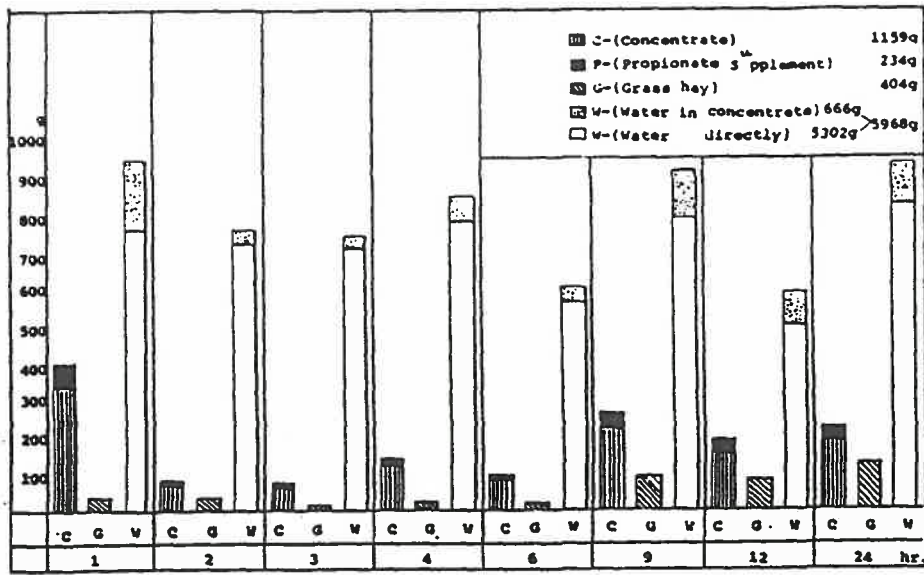
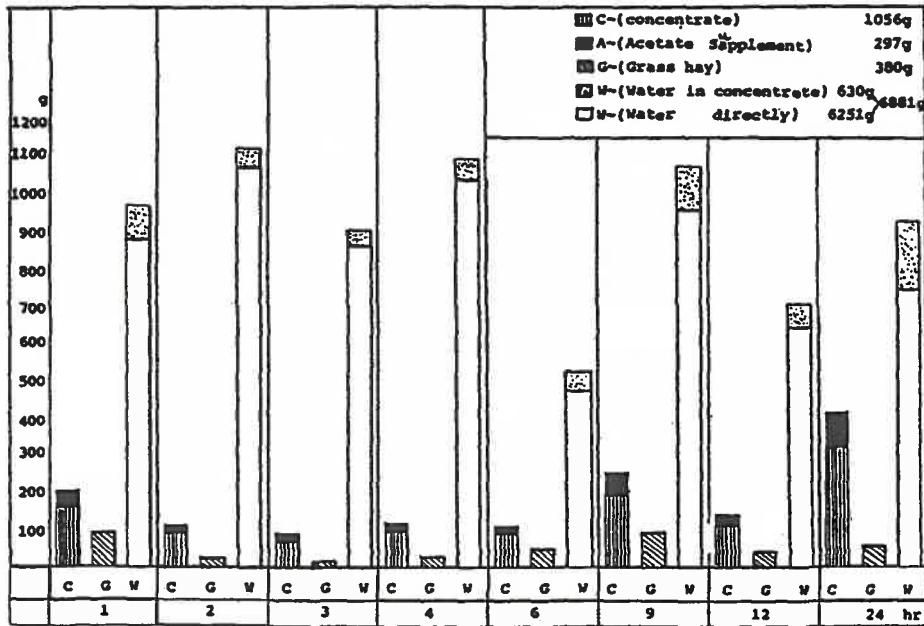


Fig. 4-2-1. Change in feed and water intake in the VFA salts infusion.

+Propionate



+Acetate



Control

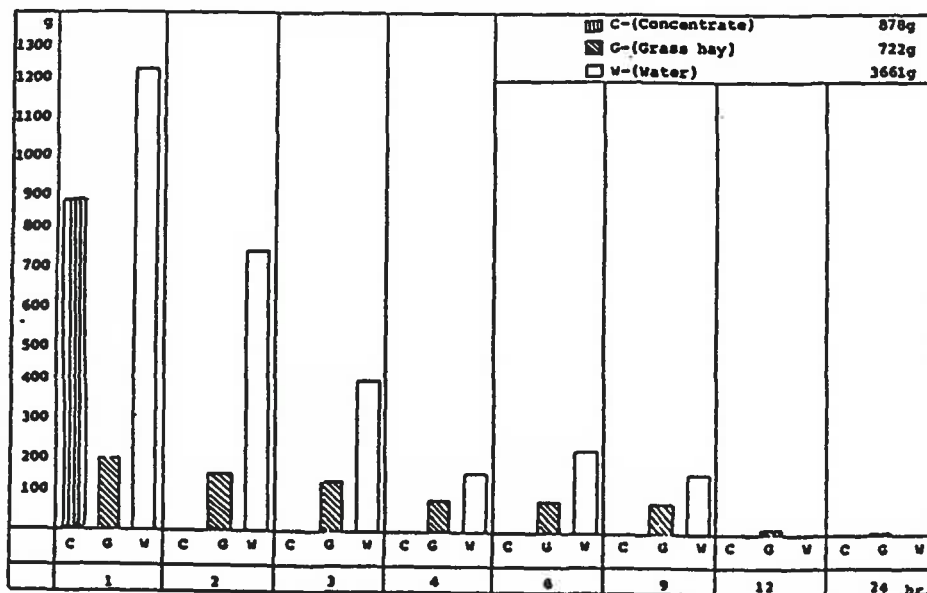


Fig. 4-2-2. Change in feed and water intake in the VFA salts feeding.

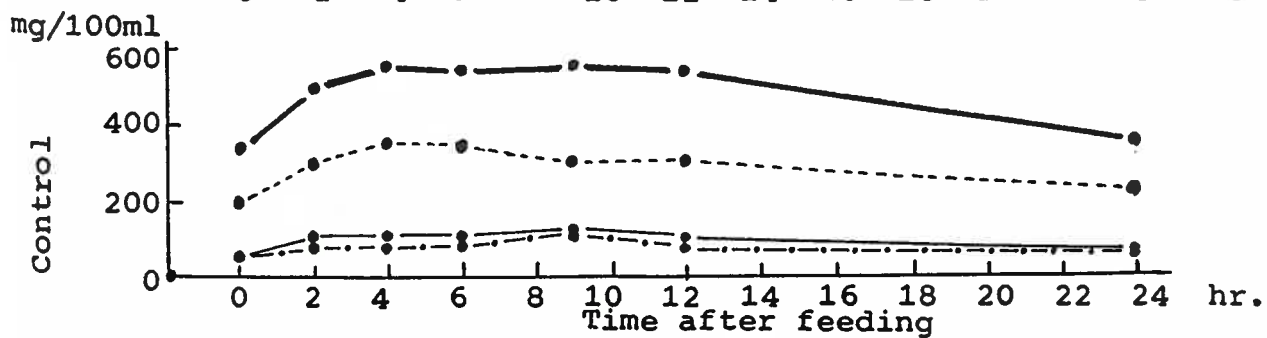
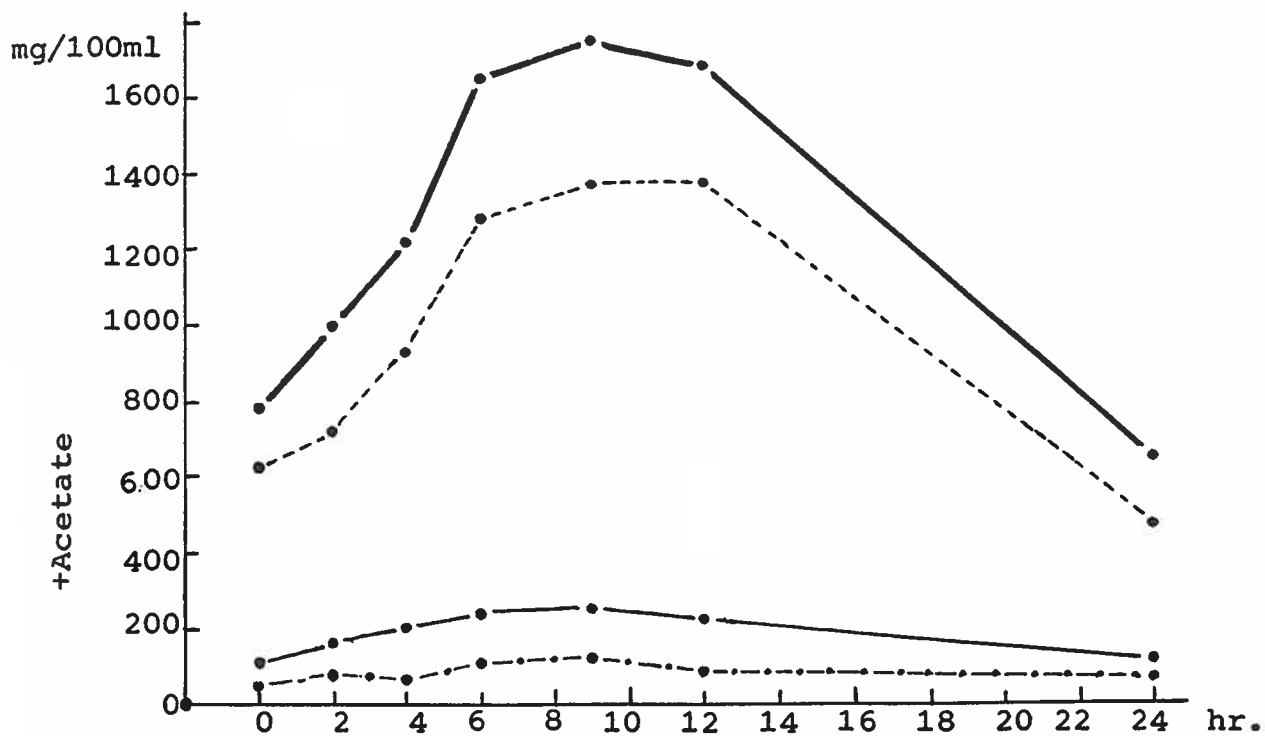
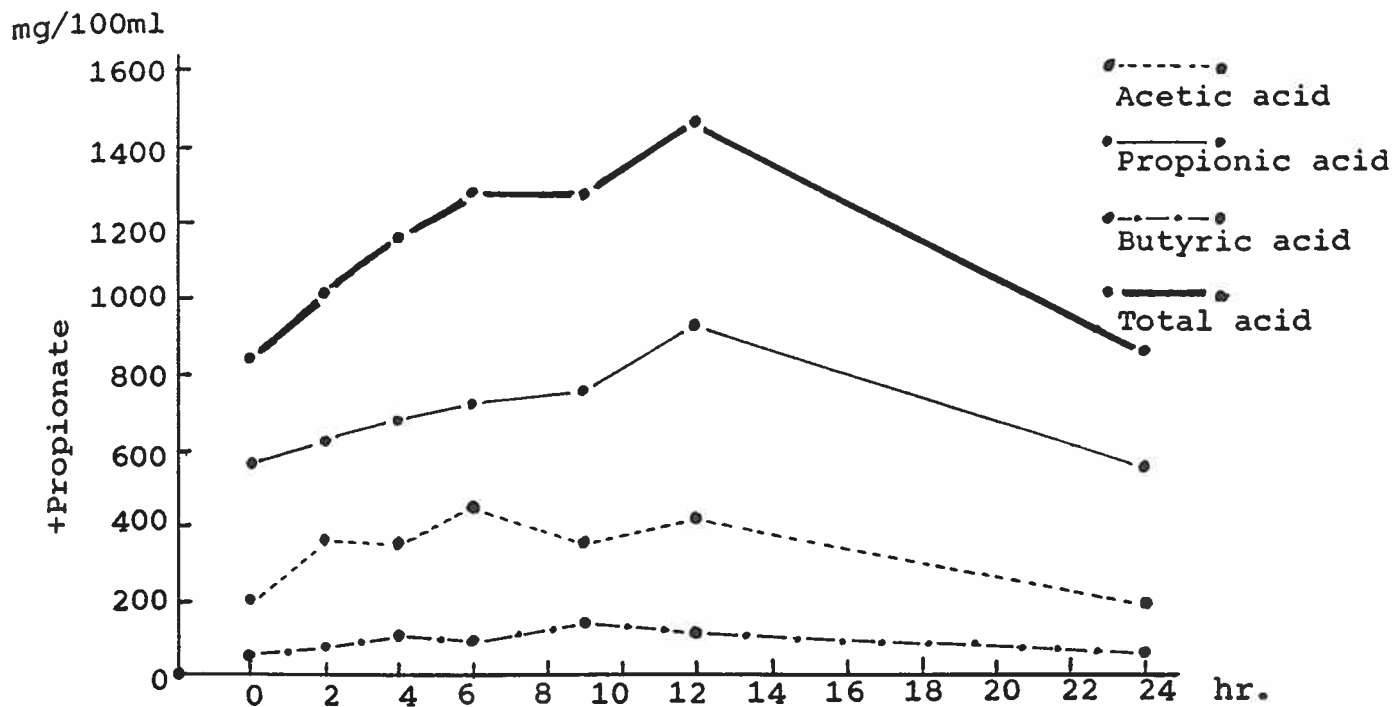


Fig. 4-2-3. Change in composition of VFA of rumen liquor in the VFA salts infusion.

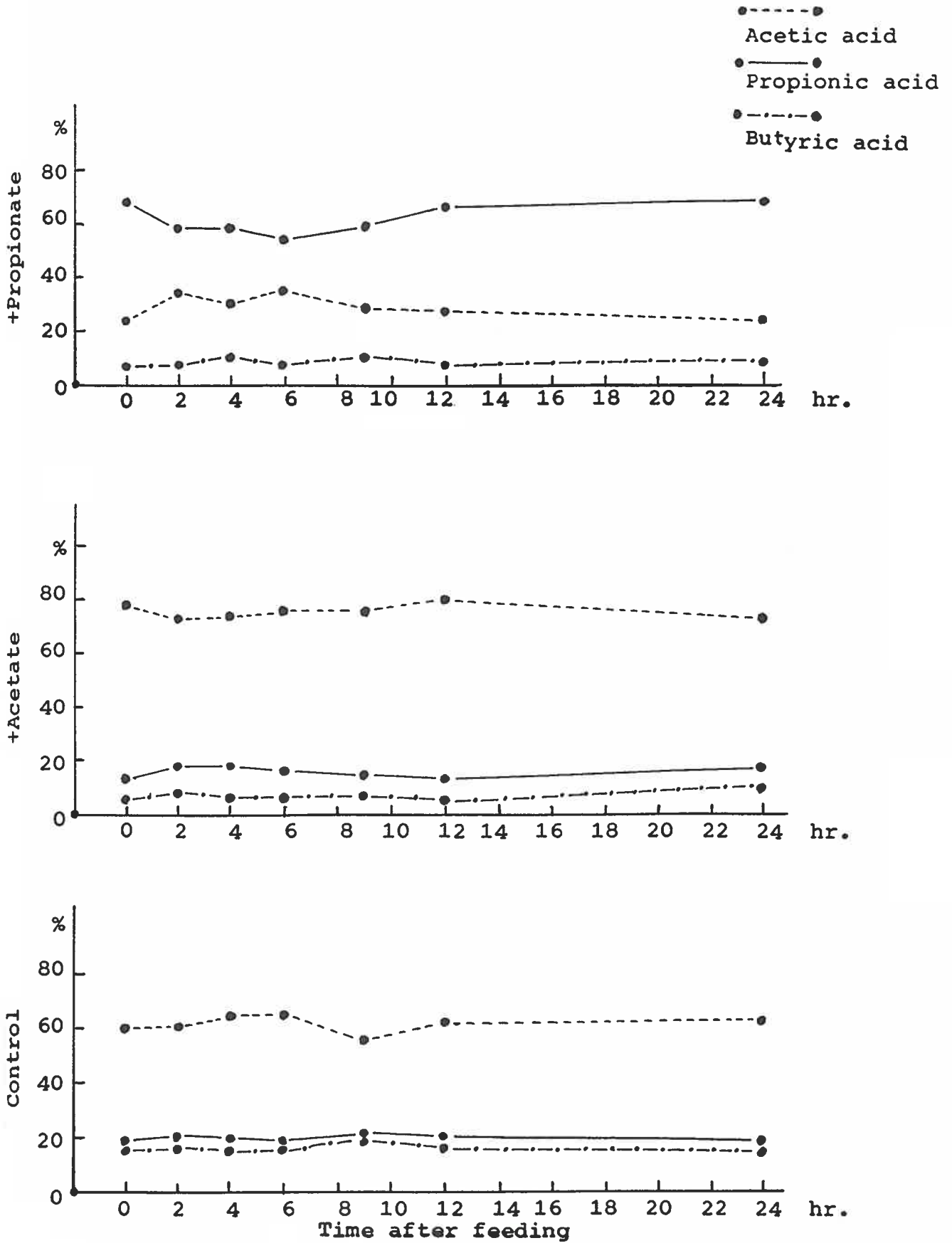


Fig. 4-2-4. Change in percentage of VFA composition of rumen liquor in the VFA salts infusion.

の活性が鈍っていたためと思われる。しかし、両VFA塩注入により総VFAの最高濃度は1.4g/100mlとVFA塩無給与の約3倍の濃度を示した。各VFA間の比率ではプロピオン酸カルシウム注入で採食後若干プロピオン酸が減少、酢酸が増加したが、24時間にわたりほぼ一定の比率を示した。

表4-2-5と表4-2-6に採食に伴う総脂質含量と長鎖の脂肪酸組成の経時的変化を示した。総脂質含量ではVFA塩注入により少くなる結果を示し、特に酢酸カルシウム注入による減少が著しかった。二章二節一項では酢酸ナトリウム給与で第一胃内液の総脂質含量が増加したが、本実験では全く逆の結果を示した。このことは、明らかにVFA塩を多量に給与すると第一胃内微生物の脂質合成能が低下していることを示す。二章の実験では採食後第一胃内液の総脂質含量は低下したが、本実験では経時的変化は殆んどなかった。Hawke and Robertsonの報告⁸⁾の生草給与の場合、採食後増加する例もあり、給与飼料種・量で微妙に異なるように思える。酢酸カルシウム注入がプロピオン酸カルシウム注入より総脂質含量が低かったことは、酢酸カルシウムの絶対量が多いため第一胃内液の浸透圧の変化が大きく微生物が適応出来なく脂肪酸合成能がかなり低下したものと思われる。長鎖の脂肪酸組成の変化のうち、両VFA塩注入はVFA塩無給与よりC16:0, C18:1脂肪酸で高く、C18:0脂肪酸で低かった。C18:2脂肪酸では3つの飼料給与間に殆んど差がなかった。経時的には、二章での実験と同様に飼料中に多量に含まれているC18:1, C18:2脂肪酸が微生物により加水分解されて第一胃液中

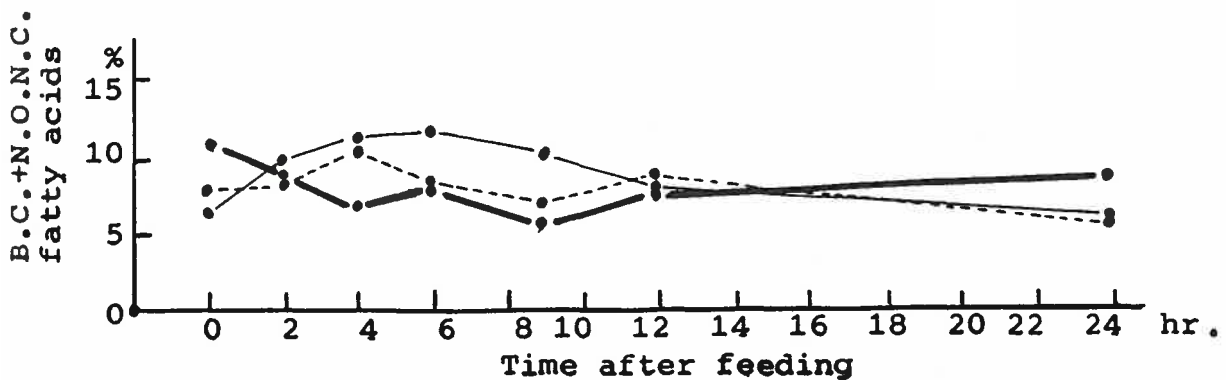
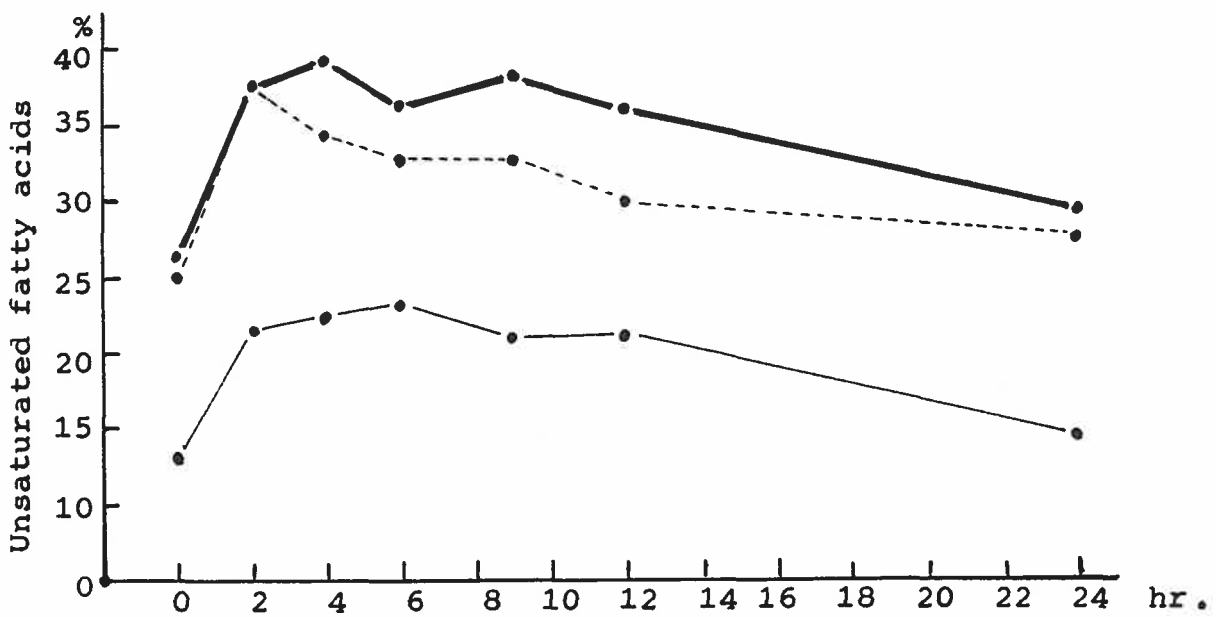
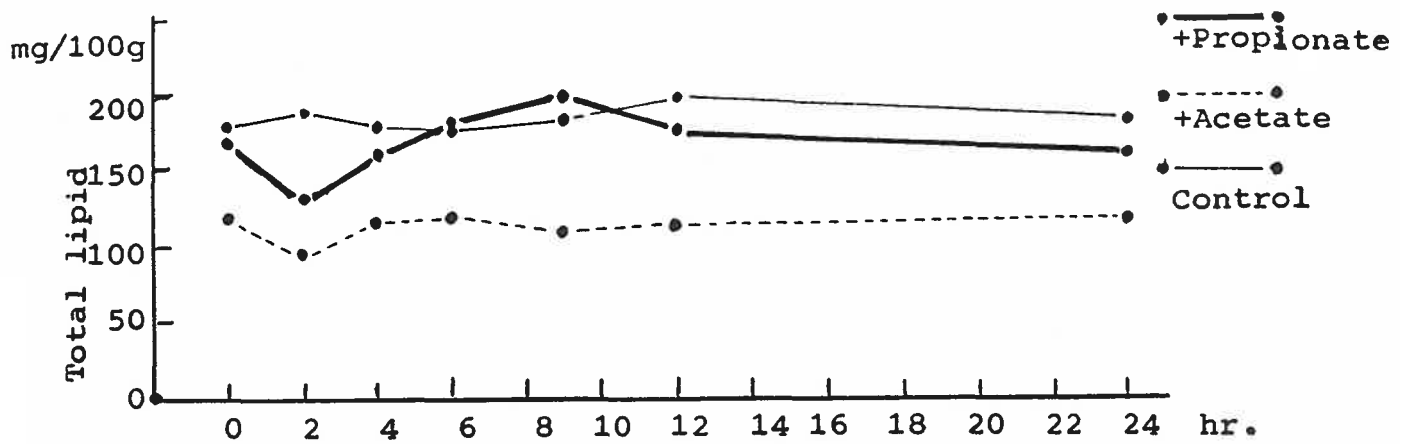


Fig. 4-2-5. Change in composition of total lipid, unsaturated acids and branched chain + normal odd number C fatty acids of rumen liquor in the VFA salts infusion.

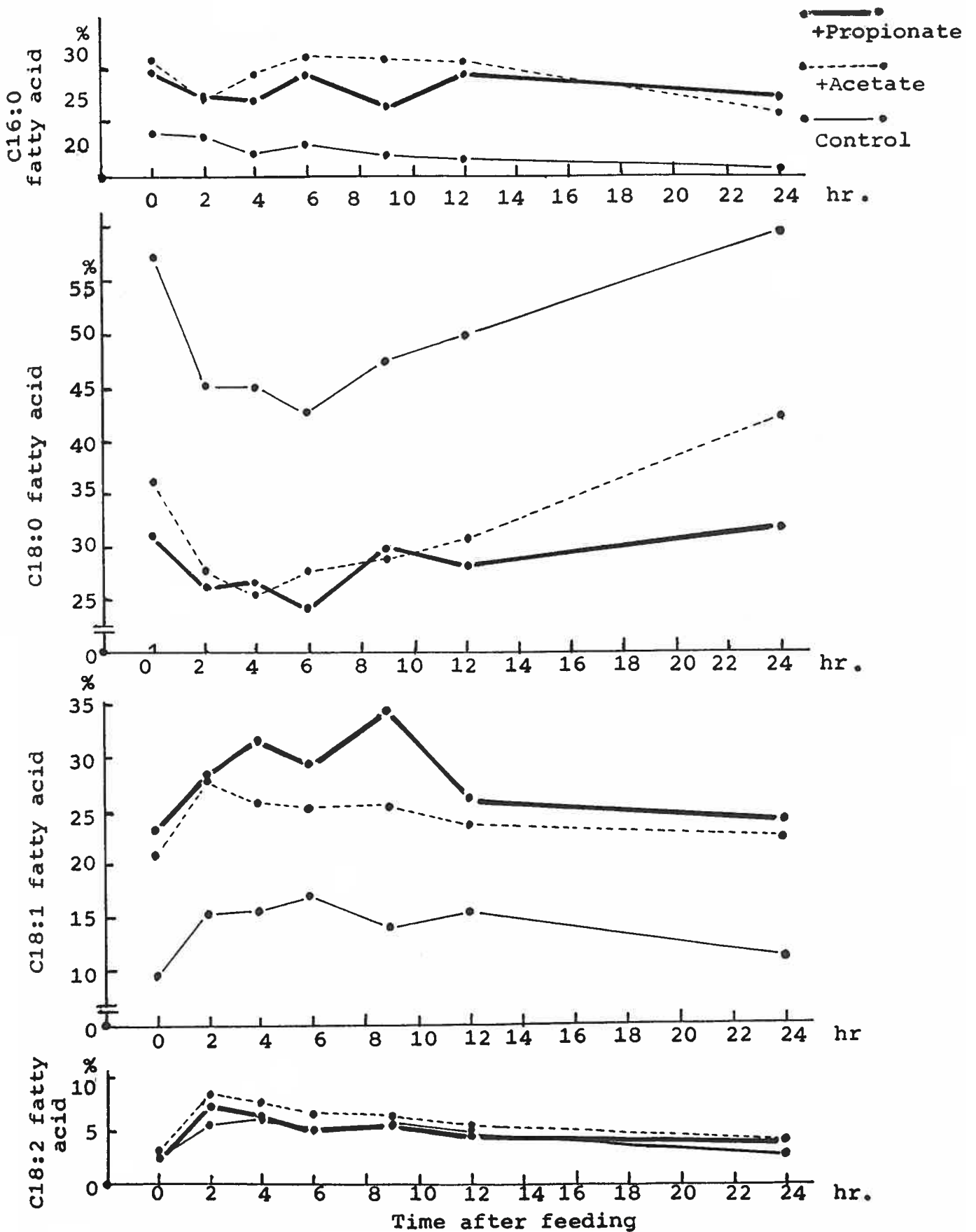


Fig. 4-2-6. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in the VFA salts infusion.

に放出されるため採食後直ちに多くなる。また、微生物によりC18の不飽和脂肪酸は水素添加されC18:0脂肪酸に変換される。3つの飼料給与とも上述の変化を示したが、採食前の脂肪酸濃度において両VFA塩給与によりC18:0脂肪酸が低く、C18:1脂肪酸が高かったため図のように採食前の濃度がそのまま維持するほぼ平行した変化だった。このことは長期にわたるVFA塩注入により第一胃内の微生物が適応した結果、採食前の脂肪酸濃度の差に現われたと思われる。プロゾトアと細菌液中脂質の脂肪酸組成には触れなかったが、本実験の脂肪酸組成の違いが微生物に基因しているのか、または無菌液中に基因しているのか極めて興味があるところであるが、後日検討の予定である。プロゾトア体の脂質はプロピオン酸からC15:0とC17:0の奇数脂肪酸を取り込むが、本実験の分枝・奇数炭素脂肪酸では差がみられなかった。また、若干プロピオン酸カルシウム注入で酢酸カルシウム注入より不飽和脂肪酸が多い傾向を示した。このことはプロピオン酸の過剰がルーメン細菌叢の脂肪に対する水素添加能を抑制したことによると考えられる。これらの点について次章の各種飼料給与下におけるin vitroでのVFA産生能と水素添加能を調べることにより詳細に検討した。

第三節 ハムスターにおける増体と体組成に与える影響

前章二節と本章一節でVFA塩給与がメン羊の肥育を促進することを述べた。Armstrong and Blaxter⁵⁾が報告しているようにVFA間でheat incrementとして失われる熱量が異なることから長期にわたるプロピオン酸または酢酸塩の給与により増体効率や体組成に違いが生じることが考えられる。しかし、前節までのメン羊を用いた実験ではプロピオン酸と酢酸のエネルギー効率の間に明らかな差が生じなかった。このエネルギー効率の違いを生産エネルギーとして表わして、プロピオン酸と酢酸の生産効率の違いを確認するために他の実験が必要と思われる。そこで、反芻家畜の栄養生理的特性⁶⁸⁾と体脂肪合成系の特性⁷⁶⁻⁷⁹⁾が類似しているとみなされているハムスターが有用であると判断し、実験動物として供試して検討した。

材料および方法

本実験に先だって飼料の給与量とVFAのカルシウム塩の最大添加給与量を決定するため予備実験を行なった。

基礎飼料には船橋農場K・K製造のマウス・ラット・ハムスターの繁殖用固型飼料を用いた。VFA塩の添加給与量は本章一節とほぼ同じ添加量を目標にした。即ち、基礎飼料のTDN含量を80%とみなしてプロピオン酸と酢酸で20%のTDN含量の増加になるように添加した。添加

方法はペレット飼料を粉砕して粉末飼料に添加した。飼料の給与量はVFA塩無添加飼料をg体重の $\frac{3}{4}$ 乗の³²⁾30%を給与した。飲水は自由として、前日の給与飼料に残食があった場合は計量して採食量を求めて飼料要求率の算定を行なった。また、飼育温度は18~23℃に保つように配慮した。♂7匹、♀6匹を用いて最大VFA塩量給与量決定のための3週間の予備実験を行なった結果、無添加飼料とプロピオン酸カルシウム添加飼料の平均の飼料要求率はそれぞれ、♂で9.6, 9.1 ♀で13.2, 6.7とプロピオン酸カルシウム添加給与により飼料の利用性を改善できた。しかし、酢酸カルシウム添加給与では飼料の摂取量が減少したため、♂と♀で各一匹ずつ負の増体量を示した。

この予備実験の結果から酢酸カルシウムを本章一節のメン羊と同じ量のTDN換算で20%増加して給与することは無理であると判断して、本実験では両VFA塩とも半量の10%を増加給与することにした。プロピオン酸カルシウム添加給与6匹、酢酸カルシウム添加給与6匹、無添加給与5匹の合計17匹のハムスターを用いて、試験期間は49日間として予備実験と同様に行なった。但し、体重が100gに達したら基礎飼料はg体重の $\frac{3}{4}$ 乗の28%を給与した。本実験開始後4週目に1週間の全糞採取法による消化試験を実施した。本実験終了後にエーテルで全身麻酔後脊椎を脱臼させて屠殺し、ジュースーでホモジナイズして常法による一般成分分析に供した。エネルギー評価は中村の基準に従った。即ち、1g当⁸⁾たり粗蛋白質は5.65kcal、粗脂肪は9.40kcalとした。また、100%から水分、粗蛋白、粗脂肪および粗灰分を差し引いた成分を糖分とみなして、

エネルギーは 1g 当たり 4.15kcal とした。成長前のハムスター 3 匹を同様にホモジナイズ後分析し、終了時との総エネルギー含量の差と飼料摂取量から Fraps の表示法²⁵⁾ に準じて生産エネルギーを算定した。

結果および考察

図 4-3-1 に 7 週間の体重の変化、表 4-3-1 に飼料の利用性の比較を示した。開始前平均体重 48.8g が 1 週間以後プロピオン酸カルシウム添加給与により体重の増加量が大きくなり、週齢が経過するに伴って酢酸カルシウム添加給与と無添加給与との体重の差が大きくなった。その結果、終了時ではプロピオン酸カルシウム添加給与が 110.8g と他の給与飼料より約 18g 重い体重だった。酢酸カルシウム添加給与と無添加給与では終始ほぼ同じ増体曲線を示した。1 日増体量 (g/日) と飼料要求率はそれぞれプロピオン酸カルシウム添加給与 1.3・6.2, 酢酸カルシウム添加給与 0.9・7.9, 無添加給与 0.9・7.6 とプロピオン酸カルシウム添加により著しく飼料の利用性を向上させた。また、消化試験による乾物消化率の結果では 3 つの飼料給与の間で 83.0% から 84.7% と 1.7% の差があるにすぎず、配合飼料に TDN 換算で 10% の VFA 塩を添加給与しても消化率を低下させないと判断される。従って、プロピオン酸と酢酸の生産エネルギー評価の算定を行なう場合、基礎飼料 (市販の配合飼料) のエネルギー評価を無添加飼料と同等に評価しても差し支えないと思われる。また、消化試験中の 1 日当たりの飲水量はいずれの飼

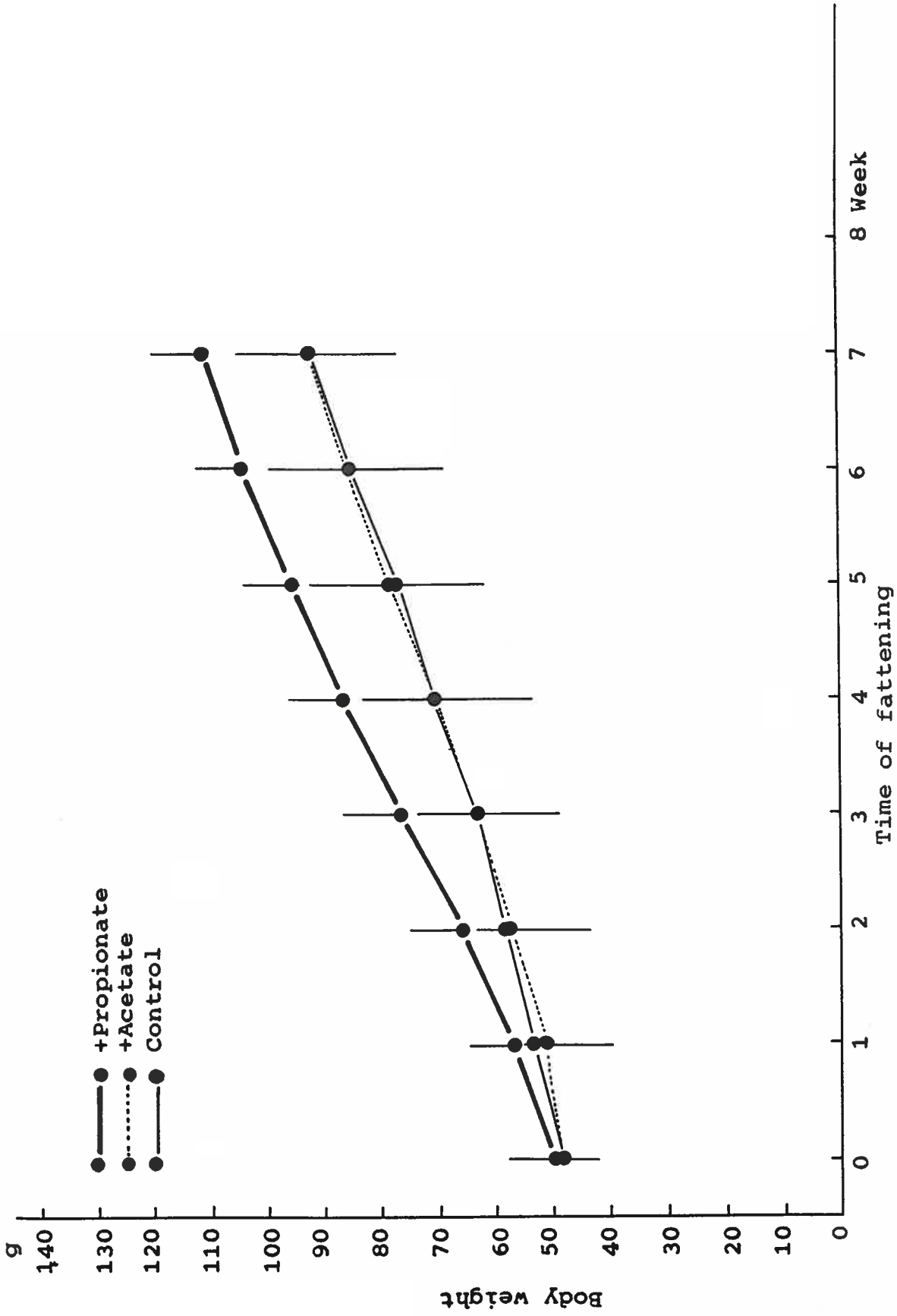


Fig. 4-3-1. Change of body weight of hamster fed VFA salts.

Table 4-3-1. Comparison of feed utilization by supplying VFA salts to hamster

	+Propionate	+Acetate	Control
Initial body weight (g)	49.5 ±7.4 ¹⁾	48.9 ±10.1	48.0±6.7
Final body weight (g)	110.8 ±9.2 ^{1) 2)}	92.8 ±12.8 ^B	92.2±15.5 ^B
Body weight gain (g)	61.3 ±8.4 ^A	43.8 ±5.4 ^B	44.2±9.3 ^B
Daily gain (g)	1.3 ±0.2 ^A	0.9 ±0.1 ^B	0.9±0.2 ^B
Feed intake (g)			
Basal fodder	343.1 ±27.6 ^A	308.0 ±35.0 ^B	328.4±35.2 ^B
VFA calcium	29.7 ±2.5	36.0 ±3.7	
Total	372.8 ±30.1 ^A	343.9 ±38.4 ^B	328.4±35.2 ^B
Feed conversion ratio	6.15 ±0.76 ^A	7.88 ±0.66 ^B	7.60±1.09 ^B
Dry matter digestibility(%)	83.0 ±1.3	83.1 ±1.9	84.7±1.2

1) Mean ±standard deviation.

2) Means with the same superscript or without superscript are not significantly different at the 0.05 probability level.

料給与とも8～9mlであり、前節のメン羊でVFA塩を給与したとき飲水量が極めて多くなった結果とは違った結果を示した。

次に表4-3-2に終了時の屠体中の一般成分分析値、一般成分量と総エネルギー量の計算値、試験期間中の増加エネルギー量と市販配合飼料、各VFAのCa塩および各VFAの100g当たりの生産エネルギーを示した。なお、試験開始時の屠体の分析値(%)は水分67.3, 粗蛋白質16.0, 粗脂肪11.3, 粗灰分2.3で総エネルギー量は101 kcalであった。終了時の一般成分の水分ではプロピオン酸カルシウム添加給与により無添加給与より3%程度低く、逆に粗脂肪含量が3%程度高い分析値だった。一方、酢酸カルシウム添加給与は無添加給与と変わらない分析値だった。これらの結果からこの成分含量に体重を乗じた成分量ではプロピオン酸カルシウム添加給与の粗蛋白質量と粗脂肪量が有意に多くなった。単位重量当たりのエネルギー量を中村の基準に従って算出した各成分の総エネルギー量とその合計量でもプロピオン酸カルシウム添加給与が有意に多くなった。特に粗脂肪に由来するエネルギー量は約43%も多くなり、プロピオン酸が体脂肪合成を著しく促進させていたことがうかがえた。

エネルギー増加量では粗蛋白質と粗脂肪ともプロピオン酸カルシウム添加給与で多くなり、特に粗脂肪では無添加給与より56%の熱量が増加した。生産エネルギー(kcal/100g)では市販配合飼料45に対してプロピオン酸カルシウム256, 酢酸カルシウム64であり、プロピオン酸と酢酸の単味のVFAに換算するとそれぞれ322, 84とプロピオン酸は酢酸の3.8

Table 4-3- 2. Comparison of chemical composition and energy of whole body at slaughter time by supplying VFA salts to hamster

	+Propionate	+Acetate	Control
Chemical composition (%)			
Moisture	56.8±1.7 [^]	59.2 ±1.2 ^{^B}	60.3±3.0 ^{^B}
C. protein	17.1±0.9	17.1 ±0.7	17.0±0.7
C. fat	20.7±2.5	17.9 ±2.1	17.4±4.2
C. ash	3.4±0.4	3.7 ±0.3	3.7±0.4
Others	2.0±0.5	2.1 ±0.4	1.6±0.7
Chemical composition (g)			
Moisture	62.9±4.8	54.8 ±6.7	55.2±6.9
C. protein	18.9±1.2 [^]	15.9 ±2.5 ^{^B}	15.6±2.1 ^{^B}
C. fat	23.0±4.1 [^]	16.7 ±3.5 ^{^B}	16.5±6.4 ^{^B}
C. ash	3.8±0.6	3.5 ±0.5	3.4±0.4
Others	2.2±0.6	1.8 ±0.5	1.4±0.5
Energy (kcal)			
C. protein	108.7±7.2 [^]	89.6 ±14.1 ^{^B}	88.3±11.8 ^{^B}
C. fat	215.9±38.8 [^]	157.0 ±32.8 ^{^B}	155.3±60.5 ^{^B}
Others	9.0±2.3	7.6 ±1.9	5.7±2.2
Total	333.6±48.3 [^]	254.2 ±48.8 ^{^B}	249.3±74.5 ^{^B}
Energy gain (kcal)			
C. protein	61.9±8.3 [^]	45.4 ±7.3 ^{^B}	44.9±6.3 ^{^B}
C. fat	163.3±35.1 [^]	105.1 ±24.7 ^{^B}	104.4±53.7 ^{^B}
Others	5.2±2.0	2.9 ±1.8	2.9±1.8
Total	230.4±45.5 [^]	153.4 ±33.8 ^{^B}	152.2±61.8 ^{^B}
Productive energy (kcal/100g)			
VFA calcium or basal fodder	256.0±90.0 [^]	64.0 ±16.8 ^{^B}	44.7±13.4 ^{^B}
VFA	321.7±114.2 [^]	83.7 ±22.1 ^{^B}	

倍の生産エネルギー値を持っていることが示された。

三章二節と本章一節でVFA塩給与はメン羊の体脂肪量を増加させ肥育を促進させることを述べたが両酸の成長あるいは肥育の効率に対する相違は明らかに出来なかった。このことをメン羊で明らかにするためには頭数を多くすること、種牡を同じくするなど遺伝的要因を揃えることなど困難な制約がある。これらの点を解消するために栄養生理的特質が反芻動物に類似しているハムスターを供試動物に用いたが、ハムスターの脂肪酸合成系については村田が肝臓と脂肪組織におけるNADPH 生成酵素活性は草食動物型に類似していることを示した。⁷⁶⁻⁷⁸⁾ さらに、肝臓と副こう丸脂肪組織のグルコースと酢酸のin vitroによる脂肪画分への取り込み能を検討したところ、低蛋白高繊維質飼料を給与したハムスターの脂肪合成能は肝臓で低下し副こう丸脂肪組織で高まり、草食動物と類似した結果を示した。⁷⁸⁾ また、乳腺組織の脂肪画分へ各基質の取り込み能を調べた試験においても、酢酸からの取り込み活性が高いことを認めている。⁷⁹⁾ 他の実験小動物の脂肪酸合成系では、ラット・マウスはグルコースを経由する脂肪酸合成酵素活性が極めて高く、⁸⁾ モルモットでは酢酸からの合成能がグルコースより高くなっている。¹⁰⁴⁾

本実験でのハムスターにおいては酢酸カルシウム給与で、飼料の利用性、屠体中の体脂肪量に無添加給与との間に差がなく、その結果100g当たりの生産エネルギーでも基礎飼料との間に有意差がなかったことは、ハムスターでは酢酸からの体脂肪合成はそれほど亢進していないことを示すものと思われた。しかし、ハムスターの体脂肪合成系の酵素活性は

飼料により適応することから、本実験のように基礎飼料として高蛋白低
繊維質飼料を給与するとラット・マウス型に傾いていることも考えられ
る。そのため、基礎飼料に低蛋白高繊維質飼料を中心に給与した場合、
酢酸からの体脂肪合成が亢進することも考えられる。いずれにしるハム
スターでの酢酸由来の体脂肪合成能を明らかにするためには低蛋白高繊
維質飼料を基礎飼料として給与した実験とラット・マウスなどを用いて
並行した実験を行なうなど詳細な検討が必要である。プロピオン酸カル
シウム給与により飼料の利用性が良くなり、屠体中の脂肪量が有意に増
加し、その結果プロピオン酸の生産エネルギーが著しく高くなった。こ
のことは、プロピオン酸が肝臓で糖新生されたグルコース経由での体脂
肪合成が亢進したか、ハムスターは前胃と盲腸で炭水化物を微生物がV
F Aに分解する機能をもっているため、酢酸を中心とするV F Aから体
脂肪合成が亢進したか明らかではない。しかし、三章二節と本章一節の
メン羊に給与した結果で推察したように、糖新生でグルコースが増加し
てインシュリン分泌が活発になったことは確かなように思える。インシ
ュリンは、中性脂肪の合成を促進し、細胞内へのアミノ酸輸送を促進し、
蛋白質合成を増大させる機能をもっている。¹²²⁾ 本実験でプロピオン酸カル
シウム給与により体脂肪量と体蛋白量が著しく増加したことは、このホ
ルモンの分泌が亢進していることを裏付けるものであり、動物種を問わ
ずプロピオン酸給与が体重の増加、体脂肪量の増加に極めて有効である
と言えよう。V F A塩給与とハムスターの体脂肪中脂肪酸組成との関
係についても興味が深いところであるが、現在分析予定であり別の機会

に述べることにする。

第五章 各種飼料給与下における第一胃内水素添加能とVFA産生能の比較

前章まで濃厚飼料を多給すると、体脂肪が不飽和化される原因に穀物中に多く含まれるリノール酸を中心とする不飽和脂肪酸は第一胃内で水素添加され飽和化されるが、消化管の通過速度が速いことから水素添加を免れる不飽和脂肪酸が粗飼料多給する場合より多く、このことが体脂肪中に反映すると推察した。また、プロピオン酸を給与すると体脂肪の不飽和脂肪酸が増加することも述べた。

本章では、これらの各種飼料を一定期間給与した場合、微生物の水素添加能をin vitroで調べることにより、各種飼料中の脂肪酸が体内に吸収される以前の状態と体脂肪中脂肪酸との関連性を検討することを目的とした。併せて、VFAの産生能も調べて、水素添加能との相互関係も考察した。

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響

メン羊に濃厚飼料を多給すると、第一胃液中プロトゾアの運動が鈍くなっていることが検鏡により確かめられた。そこで、水素添加能はプロトゾアの作用が強いとされているという説¹³²⁾を考慮すると濃厚飼料多給の場合、粗飼料多給の場合より、水素添加能が低下していると考えられた。

また、これらの飼料の給与割合の違いが第一胃内の微生物相を変えていることを想定すると産生される総VFA量と各VFA間の比率に差が生じることも推察された。濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて飼育した場合、メン羊第一胃液に同一飼料を基質として培養した場合、産生されるVFAの量と組成の違いを検討し、併せて水素添加能との相互関係を調べた。

材料および方法

フィステル装着サフォーク種の雑種メン羊2頭（去勢雄、明け2才）を用いて濃厚飼料（市販配合飼料）と牧乾草の比を8:2（濃厚飼料多給）、5.5:4.5（対照）および3:7（粗飼料多給）の給与期をこの順序でそれぞれ2週間設定した。給与飼料は1日1頭当たり体重の3.3%ずつ給与し、給与割合の変換時は3～4日位要して徐々に変換して目的の給与割合で給与した。それぞれの給与割合の2週間後にin vitroによる水素添加能とVFA産生能の実験を行なった。水素添加能の実験は一重ガーゼで濾過した第一胃液10mlに39℃に保ってある MacDougallの人工唾液⁷⁰⁾ 40mlを加えて培養液とした。基質として、濃厚飼料と牧乾草粉末をそれぞれ0.5gを培養液に入れた。水素添加される不飽和脂肪酸にリノール酸（純正化学試薬1級）を用い0.02mlをマイクロピペットで注加した。炭酸ガスを充填後、直ちにブンゼンバルブを取り付け、39℃で24時間にわたり、振盪培養した。その際、管壁に付着した培養液中の内容物を取り

除くため、時々上下に逆転させた。採取時は培養開始後1, 2, 4, 6, 9, 12および24時間の7回採取した。脂肪酸の分析の際のメチルエステル化は前述と全く同様であるが、ガスクロに用いたカラムは前述の分枝・奇数炭素脂肪酸を考慮する必要がないのでシラ-10C（ガスクロ工業80/100メッシュ）を充填した1m×2本のステンレスカラムを用いて、カラム温度を165℃とした。窒素ガスをキャリアガスに用いて流速を20ml/分、注入部とFID検出器温350℃とした。注入量は0.1μlとし、チャートスピードは0.5cm/分にした。

VFA産生能の実験は、水素添加能実験と全く同様に3種の給与割合で飼育したメン羊の第一胃液10mlに人工唾液40mlを加えて培地に用い、基質となる濃厚飼料と粉碎牧乾草の量は0.5g添加とした。培養温度は水素添加能実験と同じく39℃に設定して振盪培養を行ない、採取時間も全く同じ時間間隔で7回採取した。VFAの測定は二章一節一項と同様に行ない、培養前のVFAの濃度との差をVFA産生量とした。

結果及び考察

本実験に先だち添加するリノール酸の量ができるだけ多い方が水素添加されて不飽和脂肪酸が飽和化される現象を明らかにできると予想し、二章一節一項の濃厚飼料と牧乾草を1:1の重量比で給与したときの脂質含量（約200mg/100g）の10倍量に相当する量0.2mlを第一胃液10mlに添加してin vitroによる予備実験を行なった。

濃厚飼料と牧乾草の比率を8:2（濃厚飼料多給）5.5:4.5（便宜上濃厚飼料・粗飼料等量給与）および3:7（粗飼料多給）にして体重の3.3%を2週間給与した後の第一胃液10mlにリノール酸0.2mlと人工唾液40mlを入れて39℃で24時間振盪培養した場合の脂肪酸組成の変化を図5-1-1に示した。

培養前から培養後24時間経過した後の不飽和脂肪酸の減少率は濃厚飼料多給2.8%、等量給与1.8%、粗飼料多給3.8%と3種の飼料給与間に差がなかった。しかし、分子式の二重結合の数が異なることから、二重結合1個に添加される水素の量に違いが生じると考え、オレイン酸に比較した場合、2個のリノール酸を2倍、3個のリノレン酸を3倍に評価してみると、濃厚飼料多給18.1%、等量給与16.1%、粗飼料多給25.5%と粗飼料多給で飽和化される度合いが強かった。オレイン酸からステアリン酸に変換されるのが遅かったため24時間後いずれの給与割合でもオレイン酸は数%増加した。Polanらと田中らもC18:2脂肪酸から18:1脂肪酸への交換よりもC18:1脂肪酸からC18:0脂肪酸への交換が遅れ、添加給与される不飽和脂肪酸の量が多いほどその傾向は大きくなると報告している。このC18:2→C18:1脂肪酸よりC18:1→C18:0脂肪酸の交換が遅れる原因は明らかにされていないが二重結合の少ない比較的硬い脂肪酸は水素添加される反応が遅いことから脂肪酸の硬さと関係あるように思える。また、給与あるいはin vitroで添加される不飽和脂肪酸が多いと水素添加反応が鈍る原因は、微生物の細胞壁透過性が変化し、微生物の生活増殖が妨げられるためと考えられ、水素添加はこの阻害作用

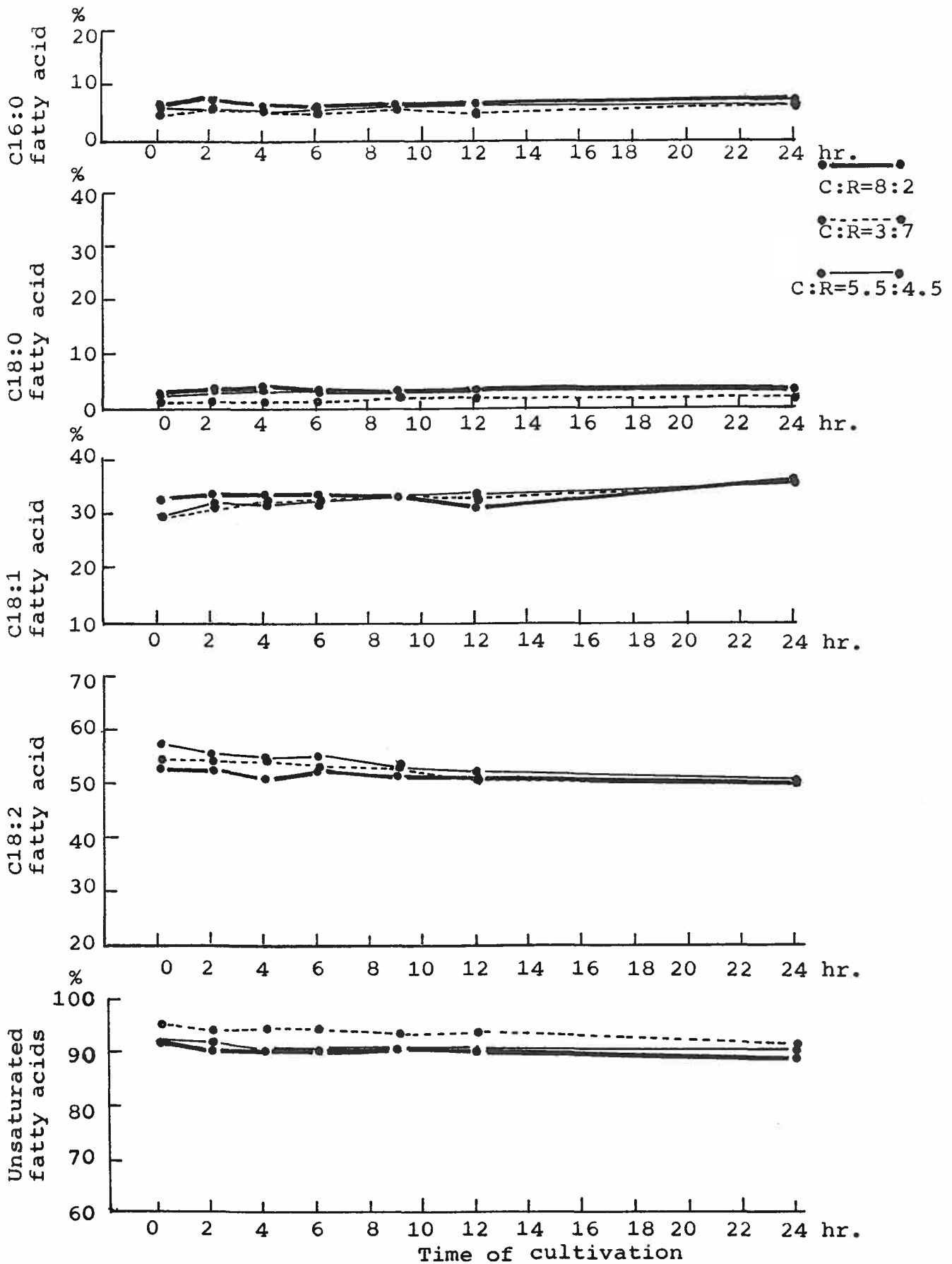


Fig. 5-1-1. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in vitro added linoleic acid (0.2ml) in the feeding of three types of rations with different ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

の強い不飽和脂肪酸を作用の弱い飽和脂肪酸に変えるための自衛措置であると説明されている。⁸³⁾ ¹⁸⁾ Czerkavskiらはin vitroの実験で培養液100mlに150mg以上の亜麻仁油脂肪酸を添加するとプロトゾアの活性が低下して水素添加の速度が著しく遅くなると報告している。本予備実験ではリノール酸の比重(0.9046)を考慮すると12倍の添加量であったので本実験では予備実験の10分の1に相当する量、第一胃液10mlにリノール酸0.02mlを添加した。この場合は24時間後のプロトゾアの運動は鈍らなかった。なお、市販のリノール酸の脂肪酸組成を分析した結果リノール酸60%、オイレン酸29%、その他の脂肪酸11%の組成だった。

リノレン酸が水素添加されてステアリン酸に変換されるまでの経過は3通り考えられているが、培地中に飼料粒子が存在する場合のみ完全に行なわれ、それを除くと反応は著しく低下することが明らかにされている。⁸⁴⁾ これは、添加した不飽和脂肪酸が飼料粒に付着し、そこに細菌の体外酵素が作用するためと考えられている。⁸⁵⁾ 一方、飼料中の炭水化物が最終的にVFAに発酵される際は共通の中間物質であるピルビン酸から酢酸とプロピオン酸が生成される。⁸⁶⁾ 酢酸生成のもう1つの経過であるピルビン酸が燐酸を得て蟻酸を生成し、その蟻酸は第一胃内で炭酸ガスと水素に分解されて速やかにメタンに合成される。⁸⁷⁾ しかし、メタンの生成が阻害された場合、水素が不飽和脂肪酸への添加に利用されることが考えられる。また、ピルビン酸からプロピオン酸が生成される場合コハク酸経路とアクリル酸経路の2回路があるが何れも水素を得てプロピオン酸が生成される。⁸⁸⁾ つまり、酢酸が生成されるとそれに付随して水素が生成

され、一方プロピオン酸生成のためには水素がなければ生成されないことになる。更には二章一節一項で述べたように濃厚飼料と粗飼料の給与割合において、濃厚飼料を多給するほどプロピオン酸，粗飼料を多給するほど酢酸がそれぞれ優先して生成されることを考慮して、濃厚飼料または牧乾草の粉末を基質として別々に培地に加え本実験を行なった。

本実験は予備実験と同様に行なった。培養液24時間にわたる脂肪酸組成の変化を図5-1-2，図5-1-3に示した。また、24時間後のそれぞれの脂肪酸の増減の結果を表5-1-1に示した。その結果、不飽和脂肪酸の減少率は濃厚飼料または牧乾草を基質にしたときそれぞれ、濃厚飼料多給で15.8、11.6%，等量給与で21.2、21.6%および粗飼料多給で25.5、19.1%と基質に加えた飼料のいかに拘らず濃厚飼料多給で水素添加能が著しく低下した。個々の脂肪酸の増減をみると、C18:3脂肪酸はいずれの給与割合、基質とも直線的に減少し、24時間後までに全く消失した。C18:2脂肪酸も直線的に減少したが、濃厚飼料を多給するほど減少率が低く、いずれの給与割合とも粗飼料を基質にした場合減少率が高かった。C18:1脂肪酸は、いずれの給与割合、基質とも培養後9時間位までは増加し、以後24時間まではほぼ一定であった。C18:0脂肪酸は培養開始後6時間位までは、増加の程度も低かったが、6時間以後急激に上昇した。このことはC18:2からC18:1脂肪酸の変換が、脂肪酸の18:1からC18:0脂肪酸の変換より優先して行なわれていることを示している。飼料の給与割合の比較では、濃厚飼料多給で両基質ともC18:2からC18:1脂肪酸とC18:1からC18:0脂肪酸への変換が鈍く、同程度

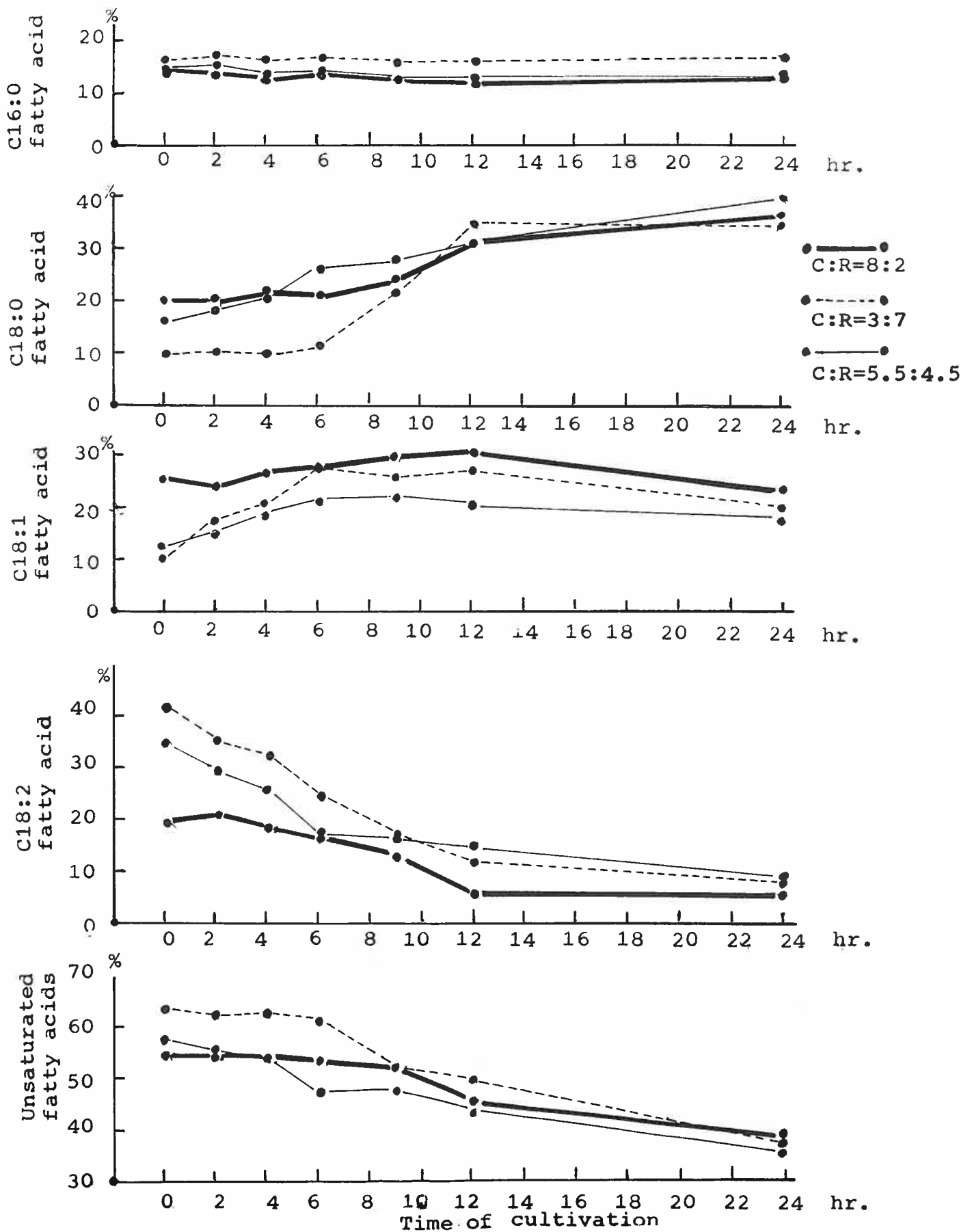


Fig. 5-1-2. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in vitro added formula feed and linoleic acid in the feeding of three types of rations with different ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

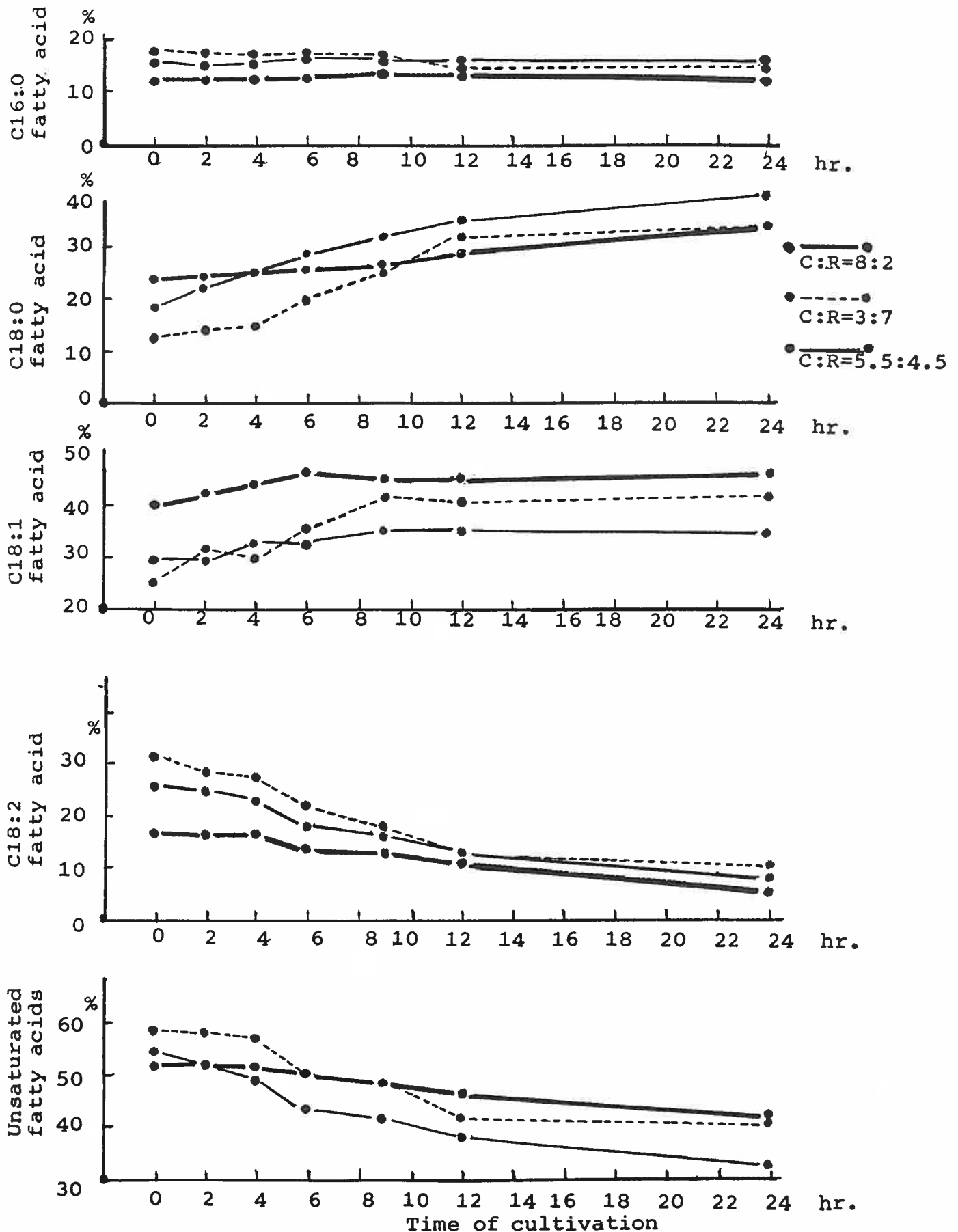


Fig. 5-1-3. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in vitro added grass hay and linoleic acid in the feeding of three types of rations with different ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

Table 5-1-1. Variation of unsaturated and saturated fatty acids during 24 hours

Rumen liquor from the sheep fed with:	C:R=8:2	C:R=5.5:4.5	C:R=3:7
Added substance to incubation fluid: formula feed			
C _{18:3} fatty acid	±0.0	-1.1	-1.6
C _{18:2} fatty acid	-13.6	-26.1	-33.7
C _{18:1} fatty acid	-2.2	+6.0	+9.8
C _{18:0} fatty acid	+16.6	+23.8	+24.5
Total unsaturated fatty acids	-15.8	-21.2	-25.5
Added substance to incubation fluid: grass hay			
C _{18:3} fatty acid	-5.6	-8.6	-11.8
C _{18:2} fatty acid	-11.6	-18.0	-21.9
C _{18:1} fatty acid	+5.6	+5.0	+14.6
C _{18:0} fatty acid	+10.4	+20.9	+21.3
Total unsaturated fatty acids	-11.6	-21.6	-19.1

だったためC18:1の増減は殆どなかった。等量給与と粗飼料多給では、C18:1からC18:0脂肪酸への変換も活発で、24時間後のC18:0脂肪酸は、濃厚飼料を基質としたとき、等量給与と粗飼料多給でそれぞれ23.5%、24.5%、粗飼料を基質にしたとき、20.9% 21.6%増加した。

以上の結果から、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて一定期間メソ羊を飼育すると、濃厚飼料が55%給与までは第一胃内の水素添加能をそれほど低下させないことが分かった。濃厚飼料と粗飼料粉末の基質の比較で、若干濃厚飼料を基質にしたときの減少率が高かったが、それほど減少率に差異がなかったことは一定期間一定飼料を給与すると、第一胃内の微生物の水素添加作用が適応して、急激に飼料が変わってもその作用に影響を与えないことを示唆するものと思われる。

水素添加反応での水素給与体に関しては、水素源となり得る基質と補助因子については明らかにされていない。Viviani⁴³⁾は、リノール酸とピルビン酸または蟻酸とインキュベイトすると水素添加能が著しく促進されることを報告している。前述のように、第一胃内で酢酸が産生される場合、ピルビン酸からもう一つの経路として磷酸を得て蟻酸になり炭酸ガスと水素に分解される経路⁴⁴⁾があるが、水素添加が促進されるために、この回路が活発になる背景に酢酸の産生が活発であることが必要と考えVFAの産生実験をin vitroにより検討した。

図5-1-4, 図5-1-5に濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて2週間飼育した後の第一胃液に濃厚飼料または粗飼料を基質にして24時間39℃で振盪培養したときの乾物基質100g当たりのVFA産生量の変化

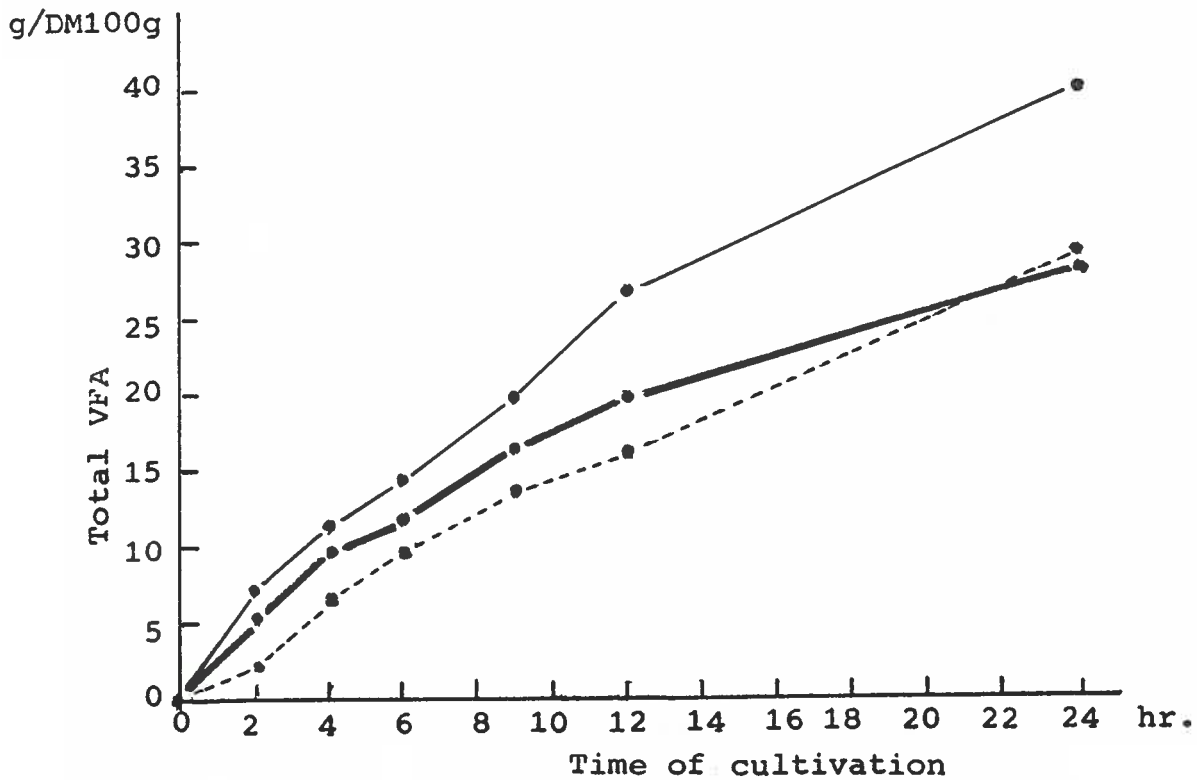
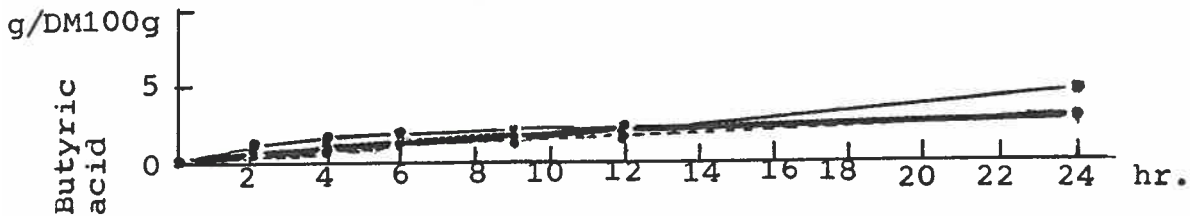
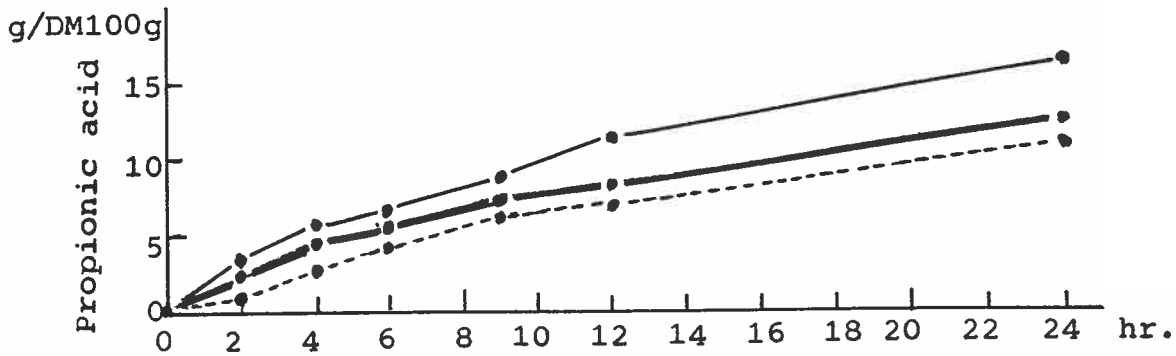
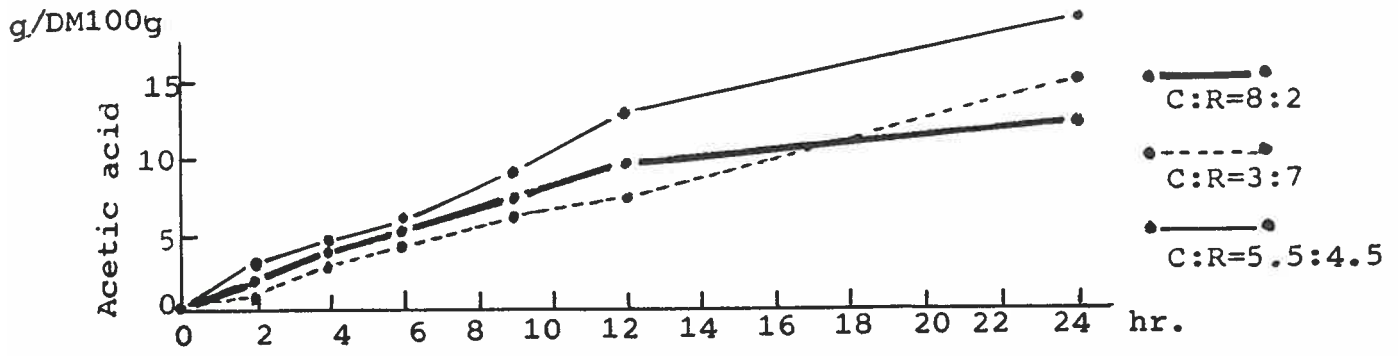


Fig. 5-1-4. Change in amount of VFA production from formula feed in vitro in the feeding of three types of rations with different weight ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

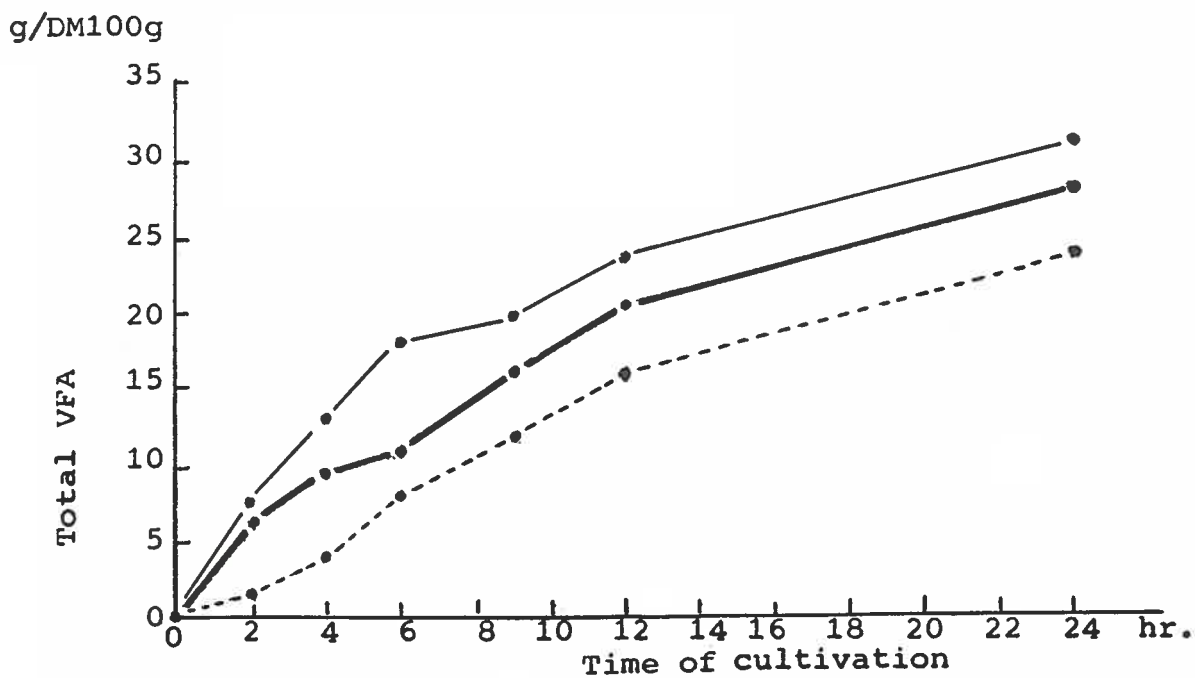
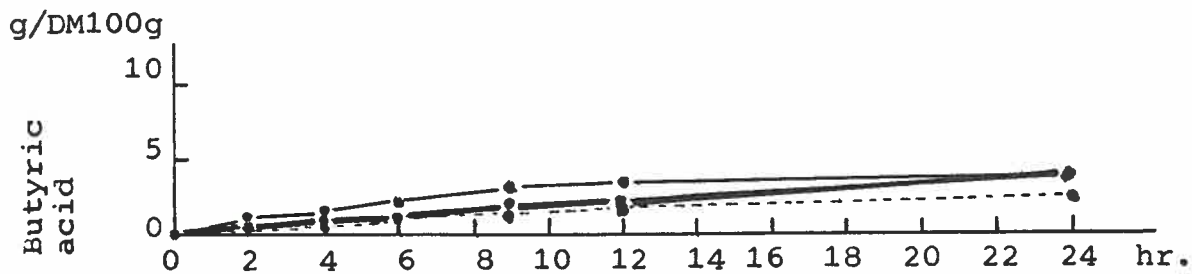
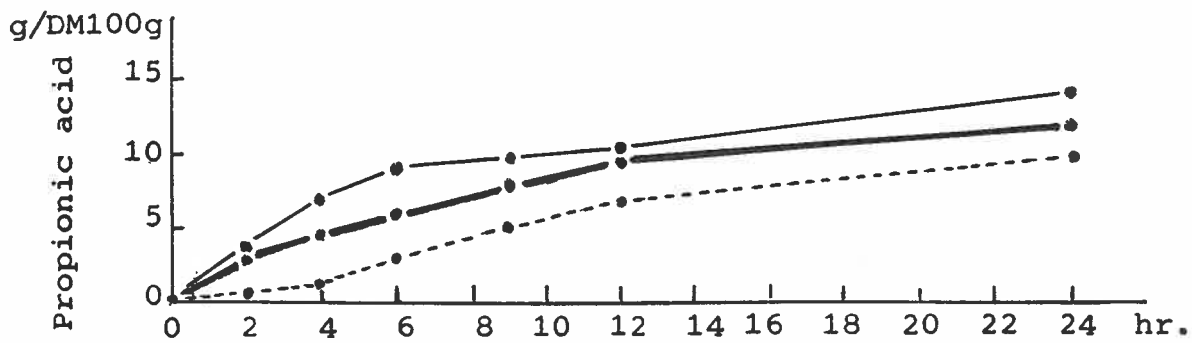
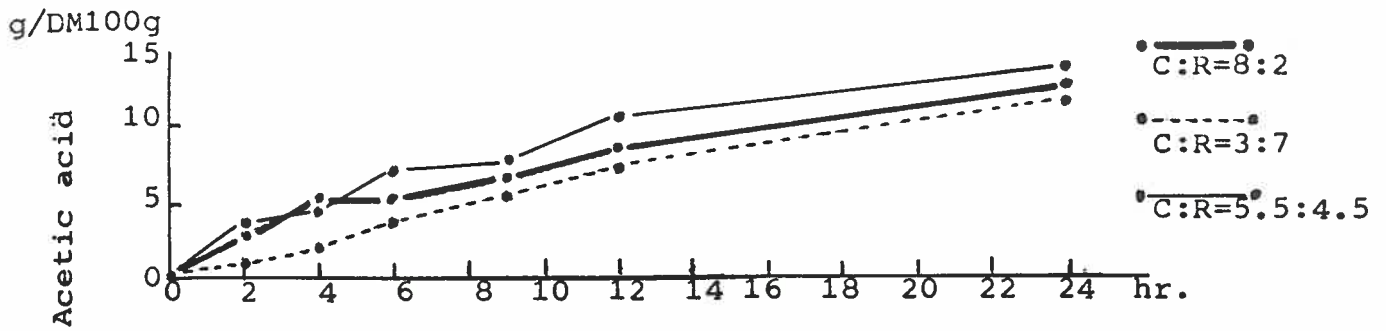


Fig. 5-1-5. Change in amount of VFA production from grass hay in vitro in the feeding of three types of rations with different weight ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

を示した。また、24時間後のVFA産生量の結果を表5-1-2に示した。その結果、いずれの給与割合と基質とも培養開始から24時間まで直線的にVFAが産生し、濃厚飼料を基質にしたときは等量給与が最もVFA産生量が多く、24時間後乾物100g当たり39.7gの産生だった。濃厚飼料と粗飼料多給では産生量は共に低く約28gだった。一方、粗飼料を基質にしたときは、等量30.6g、濃厚飼料多給27.8g、粗飼料多給23.3gと濃厚飼料を基質にしたときと同様に等量給与が最もVFA産生量が高かった。

第一胃内で摂取した飼料から産生するVFAの量を測定する方法は、放射性物質で標識したVFAを一時的または継続して第一胃内に投与して、その希釈度からVFAの生成量を求める方法^{10, 43)}、第一胃壁を灌流する動・静脈中のVFA濃度の差から求める方法⁸²⁾と本実験のように第一胃液の生体外培養で特定の基質の発酵産物を測定するin vitroによる方法がある。このうち中村は実際の飼養条件で実施できる点で、アイソトープ希釈法が理論上最も難点が少ないとしている。アイソトープを用いた実験でBergman¹⁰⁾らとLeng⁴³⁾らは24時間で乾草の乾物100g当たり0.7mol、Gray⁸²⁾らは0.5~0.6molが産生されることを報告している。本実験では後述の産生比率の最も高い酢酸に換算すると概ね0.5~0.6molの産生量であり、これらのin vivoの実験と殆ど変わらない産生量だった。このことより、飼料からVFA産生量を測定する場合、本実験のようにin vitroによる簡便な方法でも十分対応できるものと思われた。次に各VFA間の産生量を比較してみると、両基質において酢酸、プロピオン酸および

Table 5-1-2. VFA production during 24 hours

Rumen liquor from the sheep fed with:	C:R=8:2	C:R=5.5:4.5	C:R=3:7
Added substance to incubation ————— g/DM 100g —————			
fluid: formula feed			
Acetic acid	12.5	19.1	14.8
Propionic acid	12.5	16.1	10.9
Butyric acid	3.0	4.5	3.0
Total VFA	28.0	39.7	28.7
Added substance to incubation			
fluid: grass hay			
Acetic acid	12.3	13.4	11.7
Propionic acid	11.6	13.5	9.2
Butyric acid	3.8	3.8	2.5
Total VFA	27.7	30.7	23.4

酪酸とも24時間にわたりほぼ直線的に産生しており、これら各VFA間の量的関係をさらに明らかにするために百分率の変化を図5-1-6、図5-1-7に示した。その結果、粗飼料を多給して牧乾草粉末を基質にした場合、培養開始から9時間まで酢酸の産生割合が高くプロピオン酸の割合が低かったが、他は酢酸とプロピオン酸の比率はいずれも概ね40~50%で経時的にも殆ど変化がなかった。酪酸は10~15%位の割合で経時的変化がなかった。

前述のように、濃厚飼料多給により第一胃内ではプロピオン酸、粗飼料多給により酢酸がそれぞれ優先するが、本実験のin vitroで濃厚飼料と牧乾草を基質にした場合、酢酸とプロピオン酸の産生比率に際だった差異がなかった。岡本・広瀬⁹¹⁾とBarnett and Reid⁸⁾も牧乾草を基質にしたin vitroの実験でもプロピオン酸と酢酸の産生mol 比率が40 ~50%と殆ど変わらないことを報告している。また、中村⁸²⁾はセルロースを炭素源とする第一胃液培養で酢酸/プロピオン酸比が狭くなる現象は時々見られることを指摘している。このことは、培養の際基質に用いた牧乾草を粉末にしているために、澱粉分解菌群が繊維分解菌群より早く作用したためプロピオン酸が優先したと思われる。

以上から濃厚飼料と粗飼料の給与割合と第一胃内での水素添加能、VFA産生量・産生比率を比較してみると、濃厚飼料を多給したとき水素添加能が低下したが、仮説として考えたVFA産生量において粗飼料多給時に比較してプロピオン酸が増加していなかった。また、粗飼料を多給した第一胃液で牧乾草を基質にした場合、酢酸の産生量が多かったが、

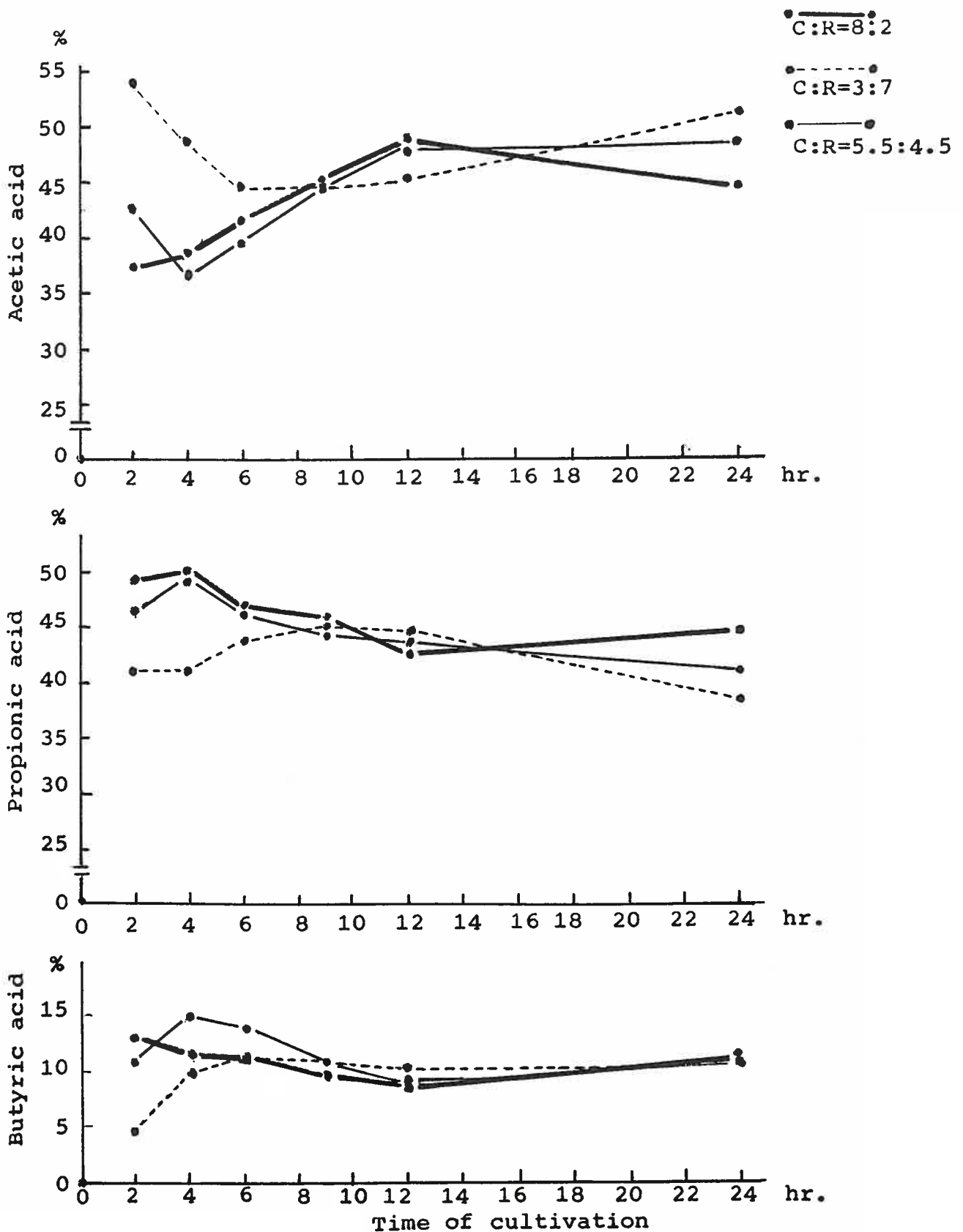


Fig. 5-1-6. Change in composition of VFA production from formula feed in vitro in the feeding of three types of rations with different weight ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

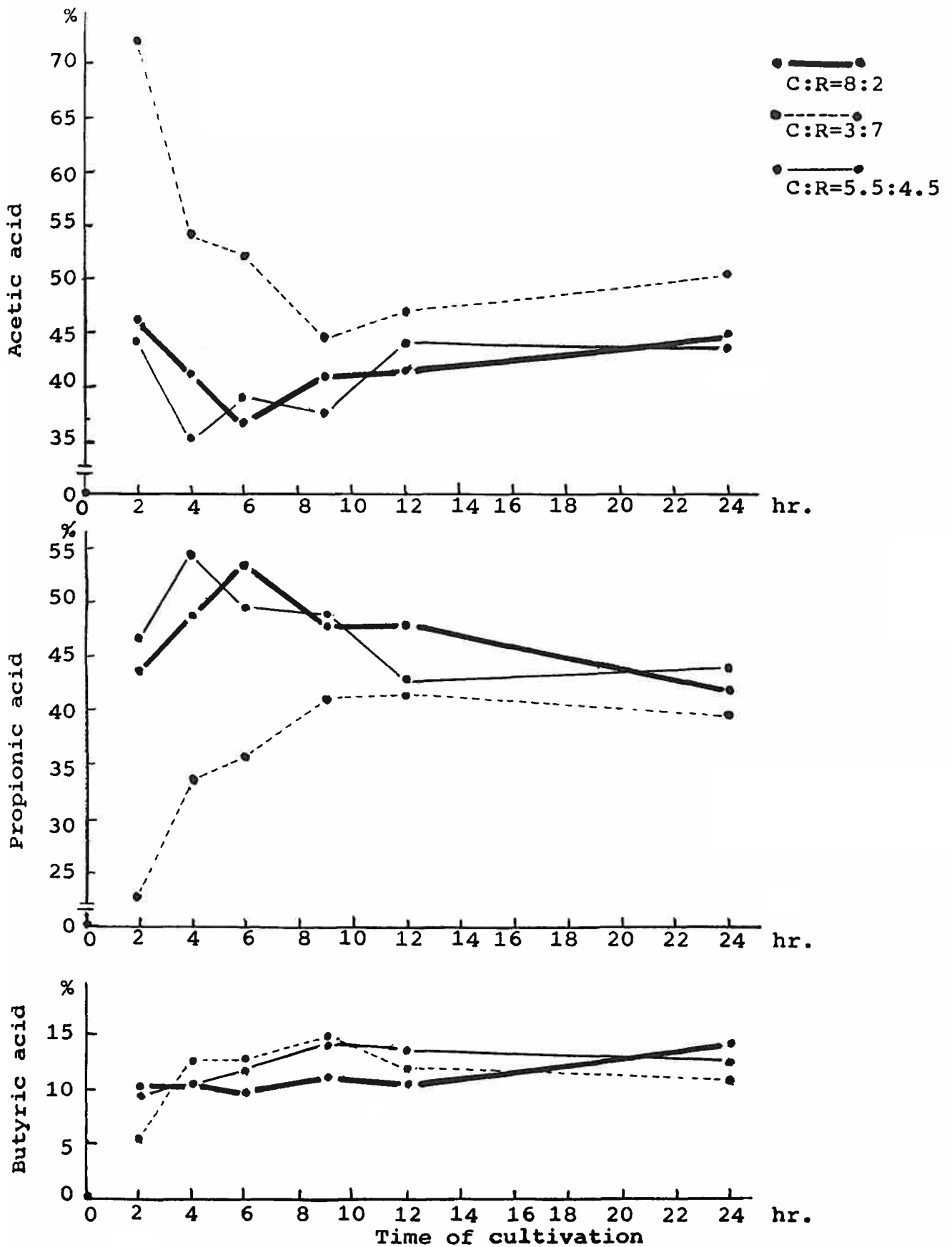


Fig. 5-1-7. Change in composition of VFA production from grass hay in vitro in the feeding of three types of rations with different weight ratios; ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

水素添加能との関係では明らかでなかった。このことより、水素添加能を抑制する原因にプロピオン酸の産生が増進することが必要とはいえないことを知った。第一胃にリノール酸を投与するin vivo による同様な実験が今後の検討課題と言える。

第二節 V F A 塩多量添加給与の影響

三章二節と四章一節にプロピオン酸塩給与により体脂肪が不飽和化されること、四章二節でV F A 塩を多量給与すると第一胃内での水素添加能が低下することが示された。本節で、*in vitro*によりV F A 塩を多量給与した場合の水素添加能と併せてV F A 産生量（産生比率）への影響を調べ、前節と同様に両者の相互関係を考察することを目的とした。

材料および方法

前節と同じメソ羊2頭を用いた。濃厚飼料と牧乾草の比を5.5:4.5、体重の3.3%の飼料に必要なエネルギーの20%に相当するプロピオン酸カルシウムまたは酢酸カルシウムを濃厚飼料に混合して2週間給与した。

*in vitro*による水素添加能とV F A 産生能の実験は前節と全く同様に行なった。なお、前節の濃厚飼料：粗飼料給与比5.5:4.5を無添加（対照）として比較検討した。

結果および考察

図5-2-1、図5-2-2に培養後24時間の脂肪酸組成の変化、表5-2-1に24時間後のそれぞれの脂肪酸組成の増減を示した。その結果、濃厚飼料と牧乾草を基質にしたときの不飽和脂肪酸の減少率はそれぞれ、プロピオン酸塩給与で14.2%、13.2%酢酸塩給与で22.9%、18.8

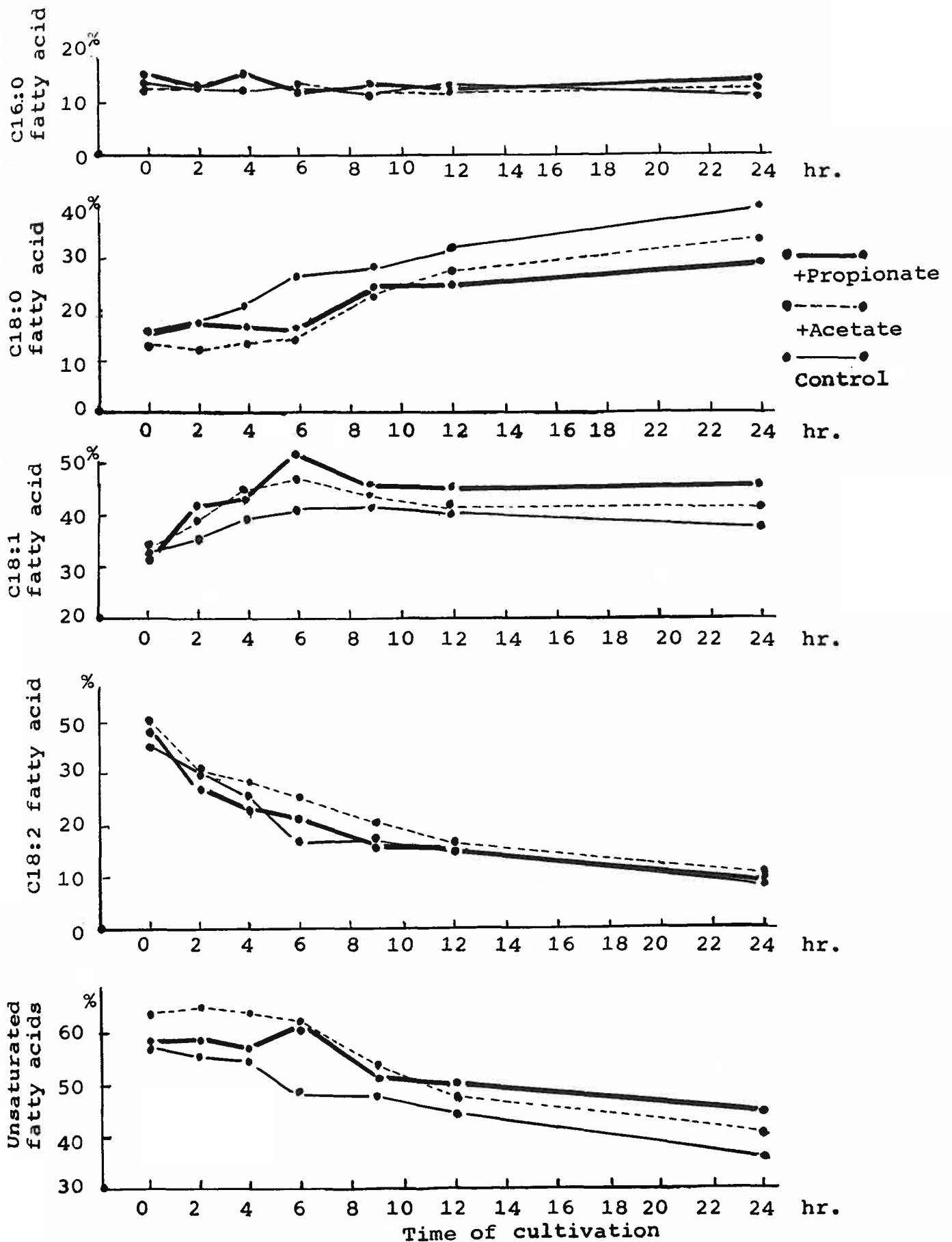


Fig. 5-2-1. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in vitro added formula feed and linoleic acid in the VFA salts feeding.

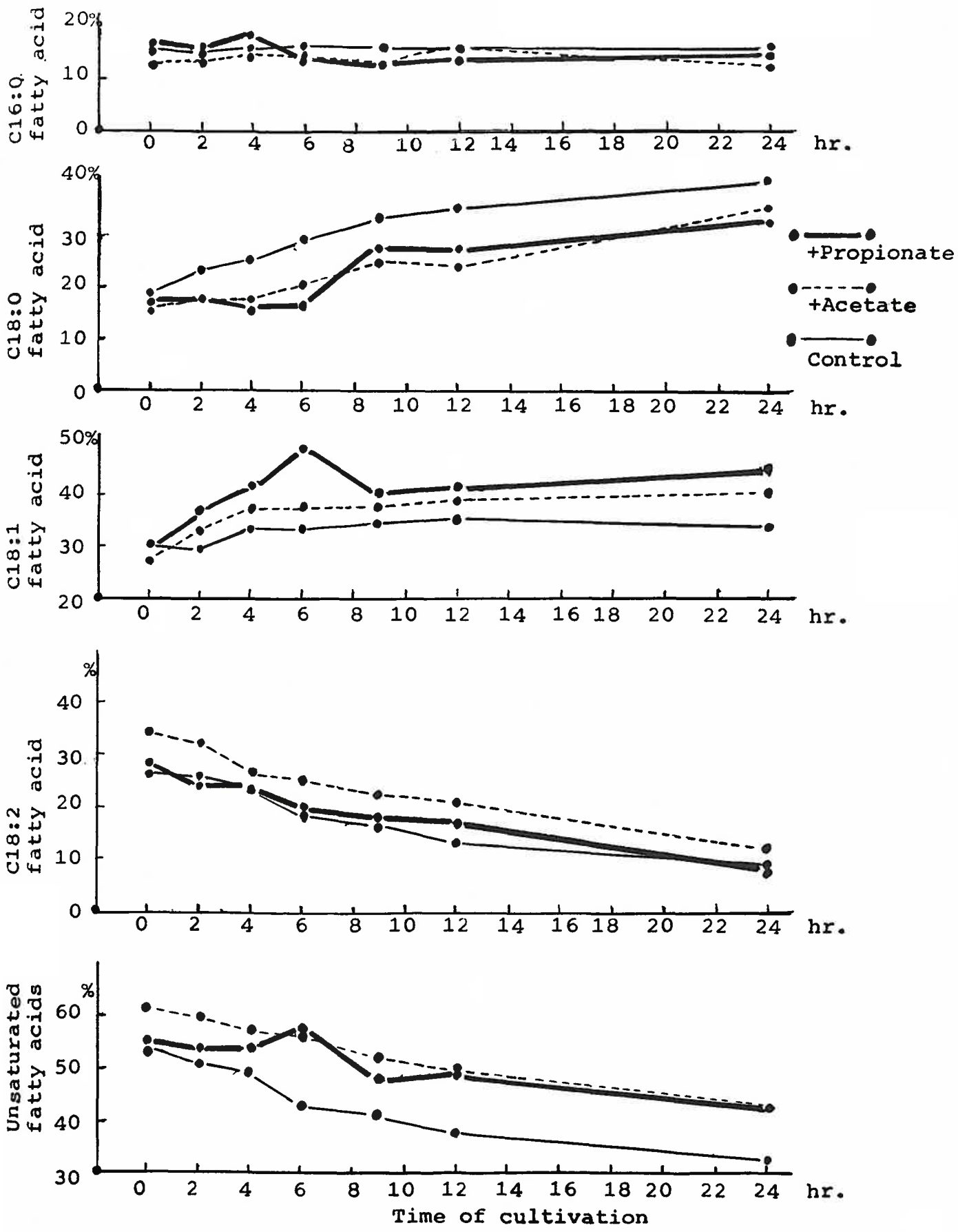


Fig. 5-2-2. Change in composition of fatty acids of rumen liquor in vitro added grass hay and linoleic acid in the VFA salts feeding.

Table 5-2-1. Variation of unsaturated and saturated fatty acids during 24 hours

Rumen liquor from the sheep fed with:	+Propionate	+Acetate	Control
Added substance to incubation fluid: formula feed			
C _{18:3} fatty acid	±0.0	-1.2	-1.1
C _{18:2} fatty acid	-29.6	-29.3	-26.1
C _{18:1} fatty acid	+15.4	+7.6	+6.0
C _{18:0} fatty acid	+13.3	+20.5	+23.8
Total unsaturated fatty acids	-14.2	-22.9	-21.2
Added substance to incubation fluid: grass hay			
C _{18:3} fatty acid	-7.5	-10.2	-8.6
C _{18:2} fatty acid	-20.7	-21.6	-18.0
C _{18:1} fatty acid	+15.0	+13.0	+5.0
C _{18:0} fatty acid	+14.8	+18.8	+20.9
Total unsaturated fatty acids	-13.2	-18.8	-21.6

%と両基質ともプロピオン酸塩給与が酢酸塩給与より減少率が低かった。個々の脂肪酸の増減をみるとC18:3脂肪酸は前節と同じく24時間後まで全く消失し、C18:2脂肪酸は濃厚飼料を基質にした場合26~29%、粗飼料を基質にした場合18~21%とVFA塩給与により減少率に殆ど影響を与えなかった。しかし、C18:1脂肪酸ではVFA塩無添加給与で数%の増加率だったのに比較してVFA塩給与により増加率は上昇した。その結果VFA塩給与ではC18:1からC18:0脂肪酸への変換が抑制されたことを意味し、特にプロピオン酸塩給与によりC18:1からC18:0脂肪酸への増加率が鈍かった。以上のことから四章二節のin vivoの実験と同様にin vitroでもVFA塩多量給与は第一胃内の水素添加能を低下させることが判った。また、プロピオン酸塩給与が酢酸塩給与よりも若干水素添加能が低下しているように思えた。

次に図5-2-3, 図5-2-4にVFA塩を添加給与した第一胃液に濃厚飼料または牧乾草を基質にして24時間39℃で振盪培養したときの乾物基質100g当たりのVFAの産生量の変化を示した。その結果、24時間後の乾物100g当たりのVFA産生量は、濃厚飼料と牧乾草を基質でそれぞれ無添加給与（濃厚・粗飼料等量給与）39.7g, 30.6g プロピオン酸塩給与24.6g, 21.5g および酢酸塩給与22.3g, 19.3g とVFA塩給与により34~40%もVFA産生量が低下した。図5-2-5, 図5-2-6に産生される各VFA間の百分率の変化を示した。無添加給与、VFA塩給与とも酢酸とプロピオン酸の産生割合はいずれも概ね40~50%で、各VFA塩給与と産生されるVFA割合の相互関係は全くみられなかった。

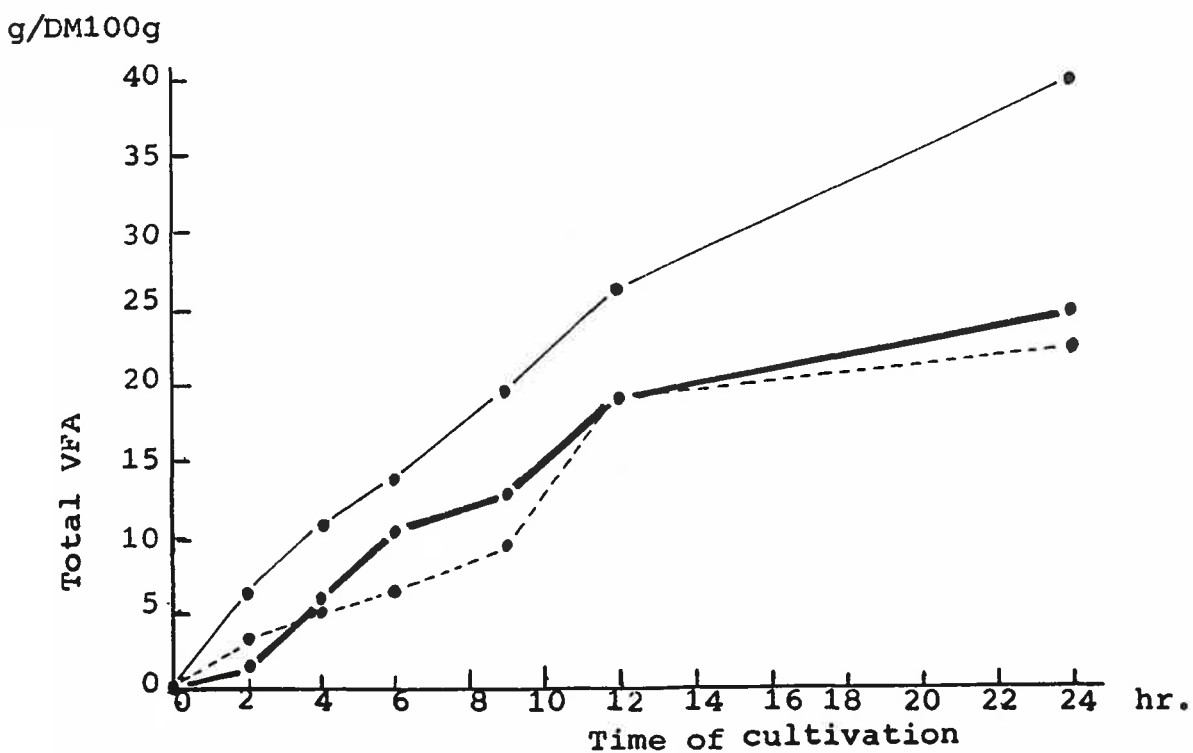
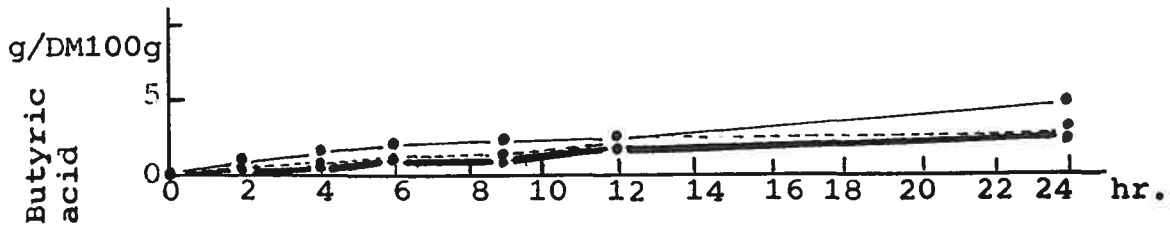
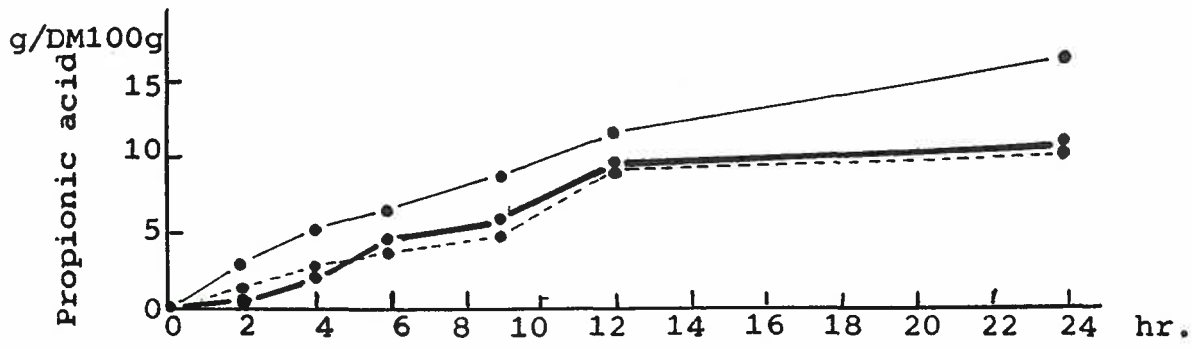
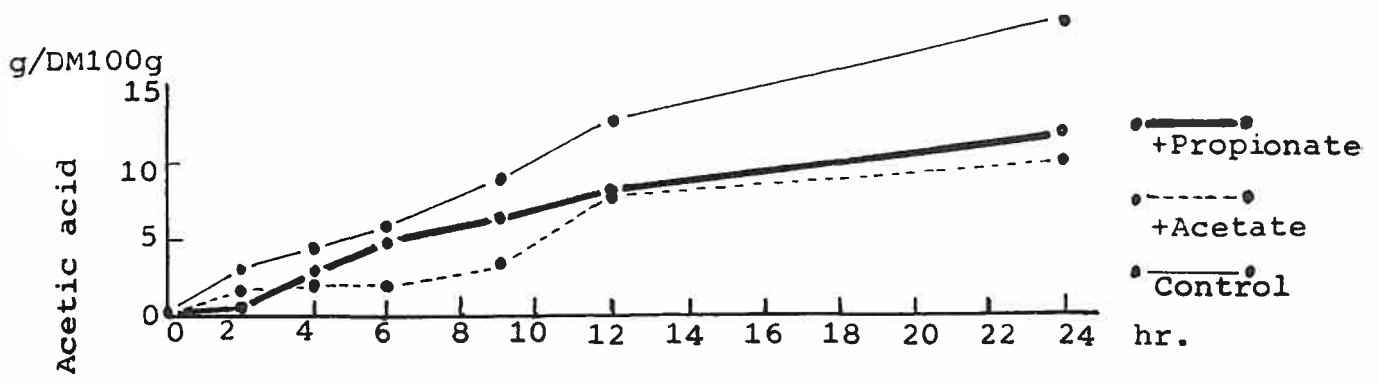


Fig. 5-2-3. Change in amount of VFA production from formula feed in vitro in the VFA salts feeding.

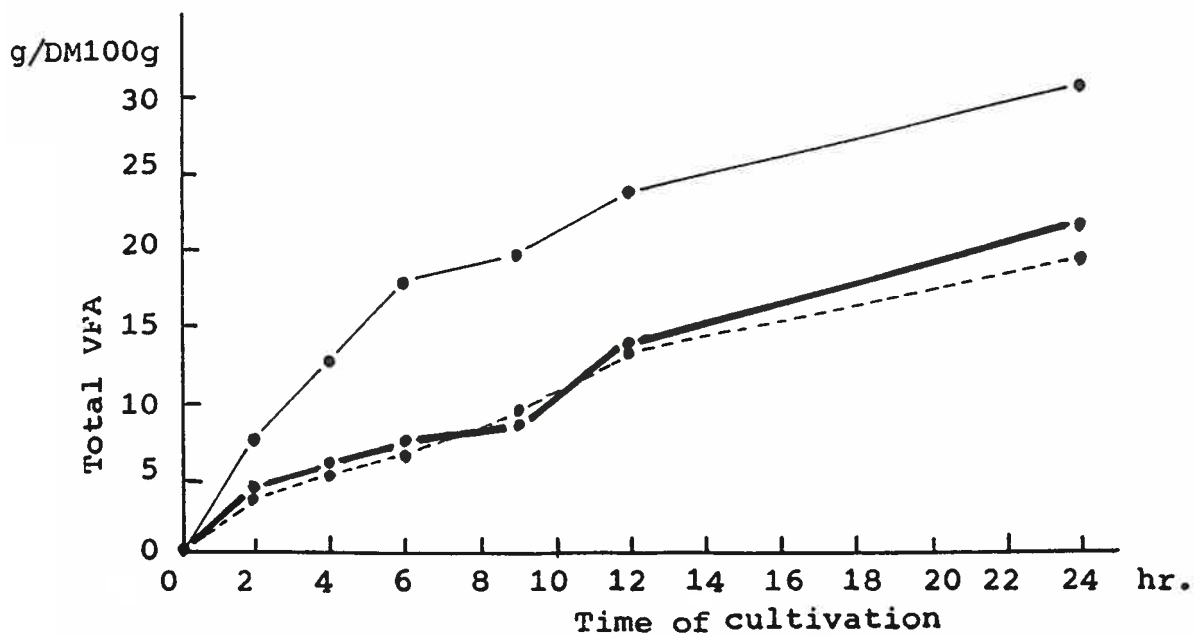
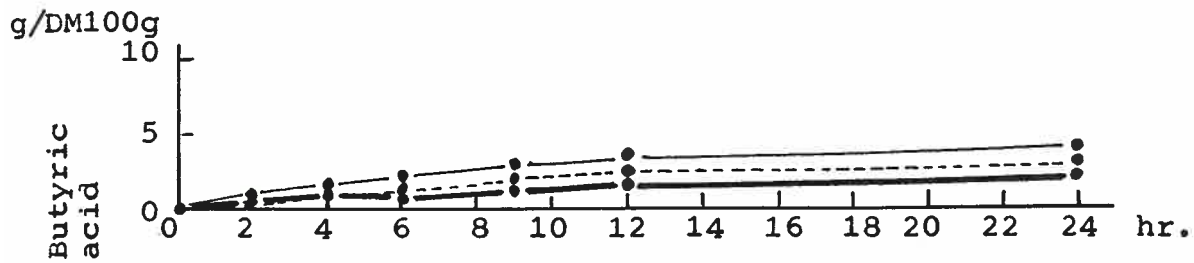
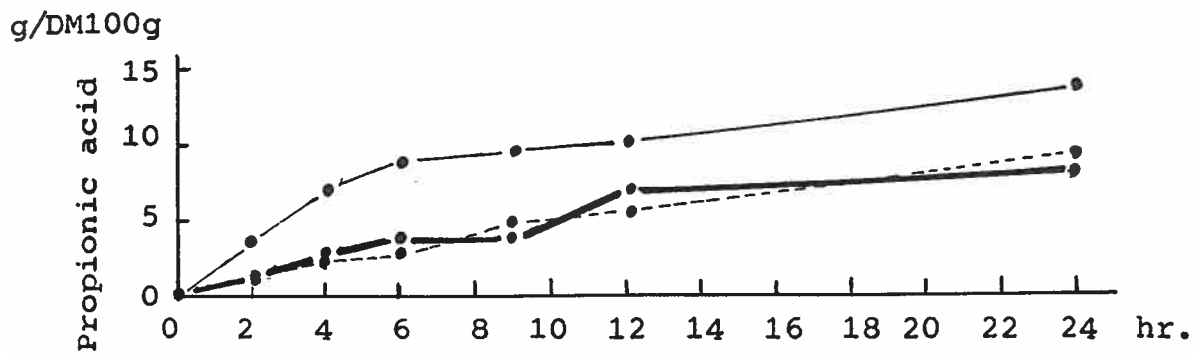
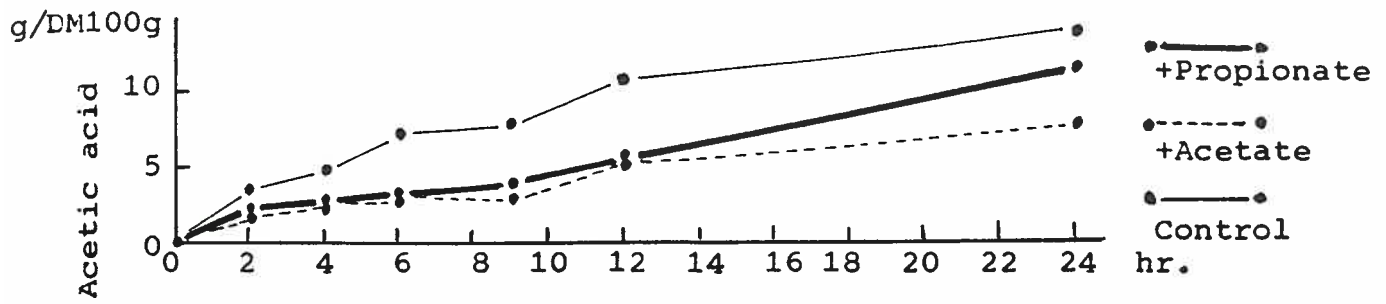


Fig. 5-2-4. Change in amount of VFA production from grass hay in vitro in the VFA salts feeding.

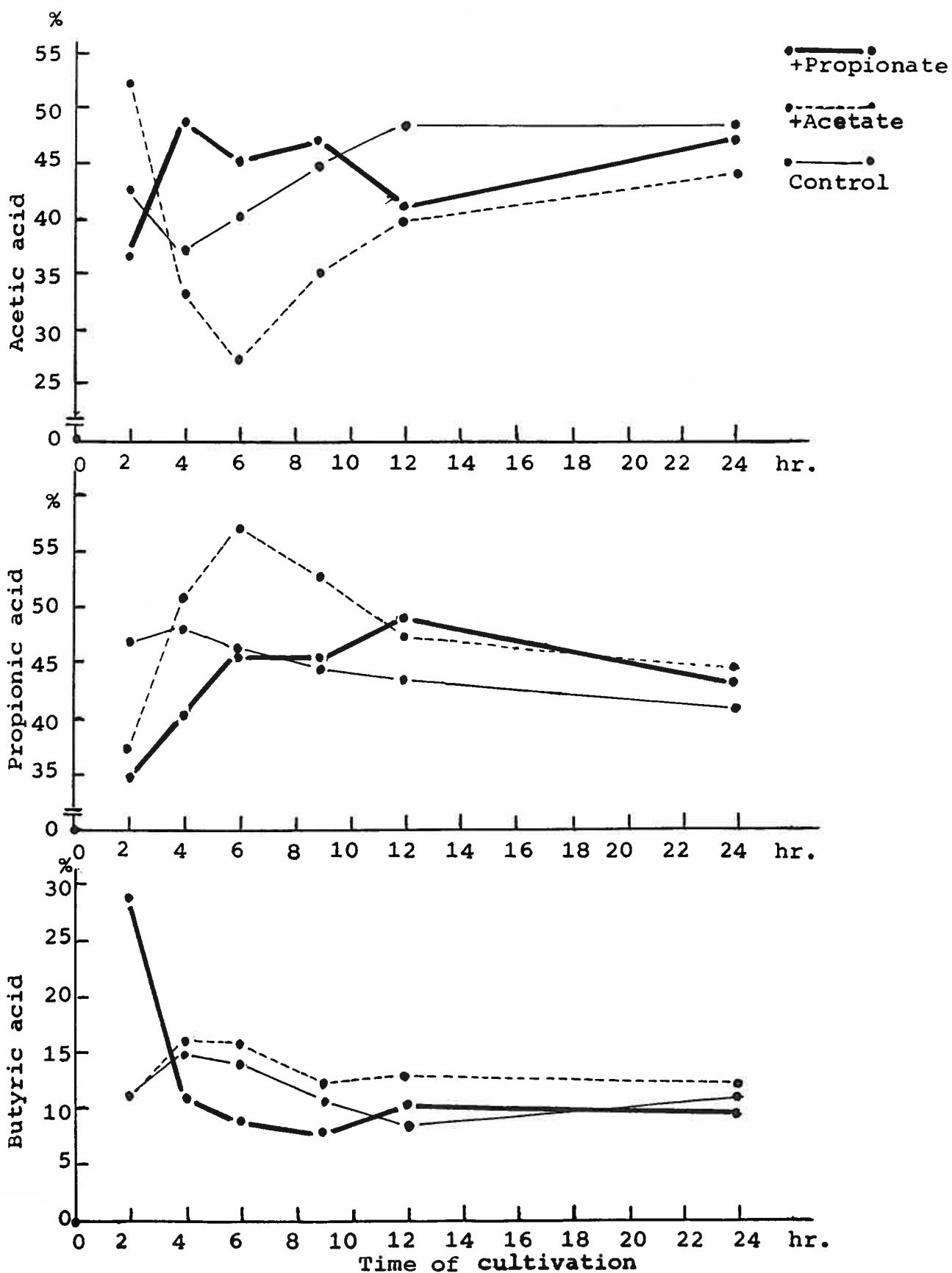


Fig. 5-2-5. Change in composition of VFA production from formula feed in vitro in the VFA salts feeding.

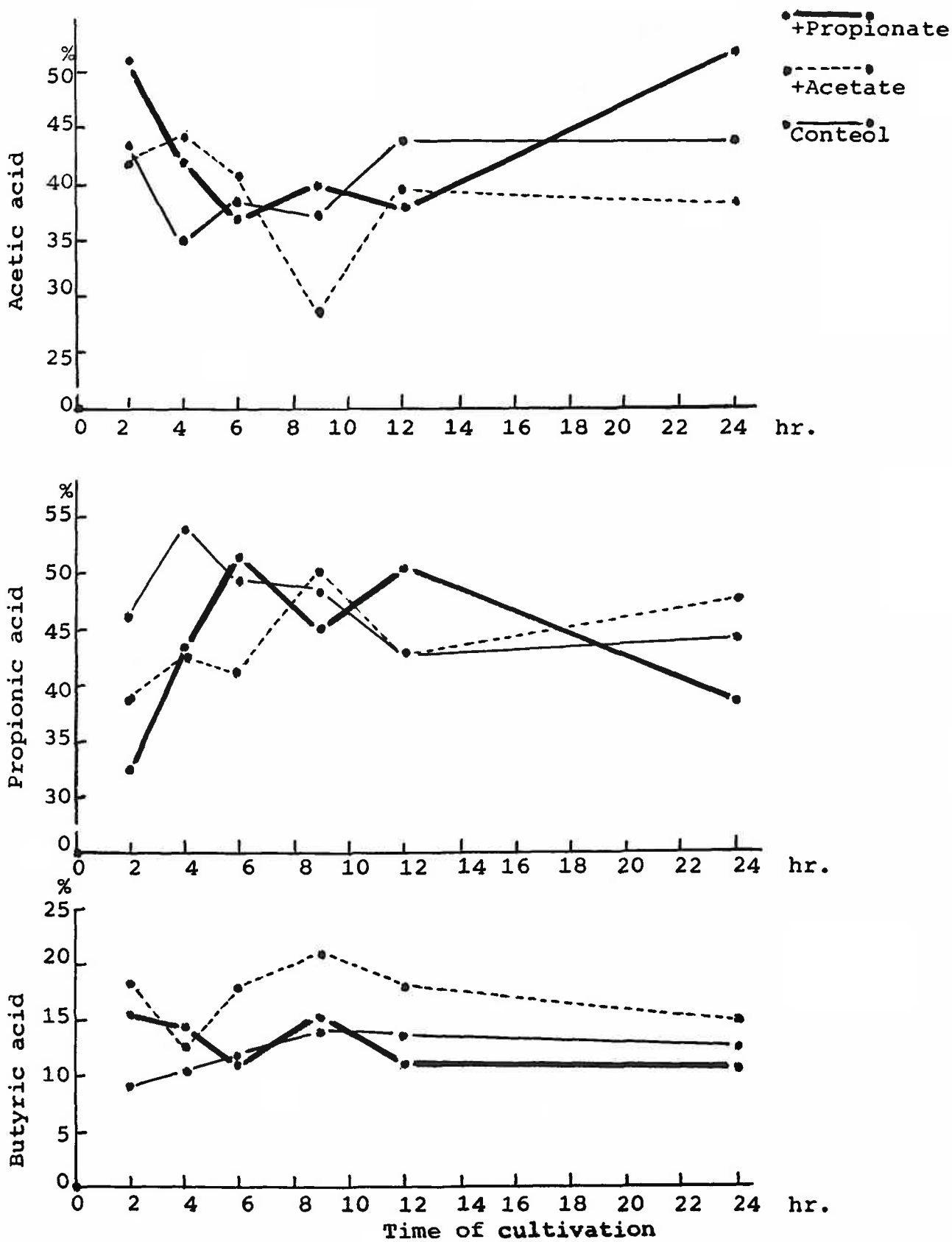


Fig. 5-2-6. Change in composition of VFA production from grass hay in vitro in the VFA salts feeding.

本節においてVFA塩を多量給与すると水素添加能とVFA産生量ともに低下していることが確認できた。

培地中に10~300mg/lのカルシウムの添加は第一胃細菌の増殖速度を速め、VFA生成およびセルロース分解を促進する。¹³⁾プロトゾアのVFA生成も、培地中に250mg/lのカルシウムを添加することにより促進¹²⁾することが認められている。この原因に、カルシウムは細胞壁の合成と安定性に関与するとともに、プロテアーゼのような体外加水分解酵素の活性化の作用に関係があると推察されている。¹⁴⁾しかし、多量に添加すると毒性として作用することも認められており、Martinez and Church¹⁵⁾はその限界添加量は1000ppmとしている。この毒性は、微生物の代謝に直接作用するよりも浸透圧やpHなどの変化を通しての影響が強いと考えられている。本実験では体重50kgの場合、プロピオン酸カルシウムで197g、カルシウムとして30gの添加量となる。第一胃容積を20リットルと仮定すると1500ppmの添加量となり毒性限界を越える計算になった。同様に酢酸カルシウム添加の場合、1800ppmの添加量となり毒性限界を大幅に越えていた。これらのVFA塩液のpHはプロピオン酸カルシウムで6.7、

酢酸カルシウムで6.2と通常の第一胃内での発酵によるpHの範囲に入っており、本実験の水素添加能とVFA産生能が低下した原因は、浸透圧の測定は行っていないが、おそらく浸透圧の上昇により第一胃内の微生物の活動が鈍くなったと推察される。

また、もう1つの目的であったプロピオン酸塩給与によりプロピオン酸、酢酸塩給与により酢酸の発酵がそれぞれ促進されるかどうかについ

ては、これらのVFA塩給与では産生するVFA組成には全く影響を与えなかった。従って、産生するVFA組成の違いに基因する水素添加能の違いは考えられなかった。四章二節のin vivoによる実験と同様にプロピオン酸塩給与が酢酸塩給与によりC18:1からC18:0脂肪酸に変換する能力が劣っていたが、田中¹⁾は水素添加を完全に行なうためにはまだ同定されていない補助因子が第一胃内に存在していることを予想しており、今後の検討に期待する。

四章一節の実験でプロピオ酸塩多量給与により体脂肪が不飽和化される原因に、糖新生によりインシュリン分泌の促進が関係していると考察した。本節でこの不飽和化される原因に第一胃内での水素添加能の低下も関係していることが明らかとなった。一方、酢酸塩多量給与でも第一胃内の水素添加能が低下したにもかかわらず四章一節の実験で体脂肪が飽和化されたことより、酢酸が第一胃内で優先するとC16:0やC18:0の飽和脂肪酸合成に利用されていることが確認できた。

第六章 総合考察

反芻動物の肥育を給与飼料との関係で栄養生理学的観点から考えるとき、まず第一に濃厚飼料と粗飼料の給与割合との関係を明らかにすることが必要であろう。この目的のためにはその比率をできるだけ極端な比率にして給与して肥育現象を捕えるために維持飼料以上のエネルギーをもつ飼料を長期期間給与する必要がある。そのため、濃厚飼料の割合を高くして給与したメン羊には種々の栄養障害が伴う可能性が高い。また、粗飼料多給の場合、一般に嗜好が劣るが、濃厚飼料多給と同じ風乾物量を摂取して成長あるいは肥育に必要な要求量を満たす必要がある。以上の条件を備えて、NRC標準の子羊肥育に必要な風乾物給与量対体重比⁸⁾ 4.0 ~ 4.4 %を考慮して給与した三章一節の実験濃厚飼料と粗飼料の給与割合7:3 と3:7 , 対体重比3.3 ~ 3.8 %給与は上述の目的のために妥当な給与割合、給与量だったと判断できる。反芻家畜に澱粉を多く含む濃厚飼料を多給すると所謂澱粉減退により粗繊維消化率が低下する現象は本実験でも同様に認められた。即ち、粗蛋白、粗脂肪、NFEの各成分では濃厚飼料を多給するほど多いが、消化率において顕著な差がなかったことと、濃厚飼料多給により粗繊維含量が著しく低くなったうえ澱粉減退により粗繊維消化率が53%と粗飼料多給より17%も低下した。その結果、濃厚飼料の給与割合を30~70%にした場合のTDN含量は3%位の差しかでなかつたことは予想外の結果だった。しかし、上述のTDN含量がそれほど異なっていない飼料を給与した肥育試験の結果、飼料

要求率において粗飼料多給で16と濃厚飼料多給の10より著しく高く、飼料の利用性において粗飼料の割合を高くするほど劣る結果だった。牛、メン羊などの反芻動物を肥育する場合の飼養標準で、粗飼料の必要性を濃厚飼料多給による障害を防止するために、粗飼料の給与割合としては給与飼料全体のうち乾物で10~15%が最低必要であるとしているが、粗飼料の給与割合を高くした場合、TDNから尿中に排泄されるエネルギー、体熱増加で失われるエネルギーを差し引いた所謂正味エネルギーが低くなることについては触れていない。このことについて本実験から言えることは、反芻動物ではTDNを基準にして給与飼料を決定する場合、濃厚飼料と粗飼料のTDN含量は増体などの生産エネルギーへの貢献度は本質的に異なることを念頭において飼料設計する必要がある。この粗飼料において正味エネルギーが低い原因に採食に多くのエネルギーを要すること、第一胃内で微生物の活動が活発になるため消費エネルギーが多くなることなどが考えられる。もう一つの原因に各VFAの代謝エネルギーがheat incrementとして失われるエネルギー損失量は酢酸67%、プロピオン酸44%、酪酸38%と酢酸が最も多く、粗飼料多給により第一胃内でのVFA発酵において酢酸が優先するため粗飼料多給で正味エネルギーが低くなることも考えられる。この点についてメン羊にVFA塩を給与した実験ではプロピオン酸塩と酢酸塩の間の飼料の利用性の比較では明らかな違いが生じなかったが反芻家畜と栄養生理的機能が類似していると言われているハムスターを実験動物にしてVFA塩を配合飼料に添加給与した場合、極めて興味深い結果が得られた。即ち、プロピオ

ン酸の生産エネルギーが322kcal/100gと酢酸のそれより3.8 倍に相当するエネルギー価が得られた。この結果は腸管から吸収されたプロピオン酸が肝臓で糖新生され、それに伴ってインシュリンが分泌され、中性脂肪と蛋白質合成が促進したと考えるのが妥当だろう。おそらく、この場合の体脂肪合成のための前駆物質は単胃動物と同様にグルコースがその主役になったと思える。このハムスターの成績が反芻動物の体脂肪合成系と類似しているのか否かを確かめるためには、脂肪合成系が給与飼料に適応²⁸⁻²⁹⁾ されると言われているので基礎飼料を粗飼料主体にしてVFAを添加給与する肥育試験が必要と思われる。もし、その実験でプロピオン酸を添加した場合、飼料の利用性が向上したときはインシュリンの分泌刺激で酢酸からの体脂肪酸合成が促進したと言える。また、体脂肪合成の前駆物質がグルコースと言われているラット⁶⁾ と並行して行なえば一層この点が明らかになるだろう。メン羊や牛を使っての各VFAの正味エネルギーや生産エネルギーを測定することも呼吸試験などの手法を使って将来必要であろう。しかし、メン羊にVFA塩を添加給与した実験でも筋肉内の粗脂肪含量がプロピオン酸塩給与で高くなっており、結論付けるには例数を重ねる必要があるが、肉牛の枝肉評価の際ロース芯の霜降りの度合が決定的に左右することを考慮すると、あるいはプロピオン酸給与が霜降りの形成に極めて有効なのかも知れない。

肥育とは家畜に多量の飼料を与えて肥らせ、脂肪組織の増大のみでなく、肉質を佳良にし、筋肉間に脂肪を混在させて風味を増す⁸⁾ ことを意味する。豚などの単胃動物では、飼料中に多く含まれるオレイン酸やリノ

ル酸の不飽和脂肪酸がそのまま体脂肪の脂肪酸組成に反映するため所謂軟脂豚が問題になっている。一方、既に述べたように牛やメソ羊の反芻家畜では第一胃内で不飽和脂肪酸は微生物により水素添加されるので飽和化され固い体脂肪を形成するが、人間の食用にすると動脈硬化などの疾病になり易いと言われている。換言すれば自然の節理に相反する体脂肪に市場性がある訳であるが、メソ羊に種々の給与飼料を与えて体脂肪脂肪酸組成に与える影響を検討した。通常、濃厚飼料中にはトウモロコシ、マイロなどの不飽和脂肪酸に富む穀物が多量に配合されており、牧草などの粗飼料には比較的飽和脂肪酸が少ない。二章一節の実験で、濃厚飼料を多給すると第一胃内と血漿中の不飽和脂肪酸が多かったことは、粒度が細かい濃厚飼料の第一胃内に滞留している時間が短いため、水素添加を免れた不飽和脂肪酸が下部消化管に移動し小腸から吸収され、血漿中のコレステロールエステル画分に取り込まれたものと思われた。また、この実験で第一胃内の細菌は濃厚飼料を多給すると増殖力が活発になり、飼料中の澱粉からの脂質の合成と飼料脂質の取り込みが旺盛になっていることがわかったことは、第一胃内で合成される脂質の量は濃厚飼料を多給すると全体の脂質合成の相当な部分を占めていることを示唆するものであろう。また、濃厚飼料を多給するほど血漿中の遊離脂肪酸濃度が低かったことも、体脂肪組織での脂肪酸合成が活発であることを示し、濃厚飼料多給の場合、外因性、内因性の脂肪酸合成が促進すると思えた。種々の飼料給与と家畜との中間代謝の関係を調べるために、肥育・泌乳などの終末現象から推測するのも有効な方法と思える。

その意味で、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて行なった肥育試験において、濃厚飼料量が多いほど体脂肪量が増加し、体脂肪中不飽和脂肪酸が多かったことは水素添加を 免れる 不飽和脂肪酸量が多くなるという前述の仮説を確固なものにする。肥育と体脂肪脂肪酸組成を考えると、動物の年齢の問題がある。加齢が進むにつれて、体脂肪の飽和化活性酵素が鈍り不飽和脂肪酸が増加するという報告⁹⁾もあり、今後飼料と年齢の両面から体脂肪酸合成を考えていく必要がある。

第一胃内で炭水化物から発酵するVFA組成のうち、濃厚飼料中に多く含まれる澱粉からはプロピオン酸が、粗飼料中に多く含まれる繊維質からは酢酸がそれぞれ優先することは広く知られている。また、これらのVFAは反芻動物が必要とする維持エネルギーの2/3にも及ぶと言われている。さらには、VFAが維持エネルギー以上の量が吸収されると体脂肪の原料として利用される筈である。反芻動物の体脂肪の前駆物質は前述のように酢酸が主役になっているが、本研究のようにプロピオン酸を人工的に多量に吸収するようにした場合、体脂肪が増加する。その体脂肪中の脂肪酸組成において、不飽和脂肪酸が増加する結果を示したことはその生成機構を明らかにする必要がある。前述のように反芻動物では濃厚飼料多給の場合第一胃内で合成される脂質の量は相当量あることを述べたが、第一胃から吸収される以前のVFAから合成される量は少ないと判断された。即ち、二章二節一項の実験で、酢酸塩を添加給与したとき、in vivo とin vitroの実験で総脂質含量と不飽和脂肪酸濃度が高かったが、血漿中と体脂肪中の脂肪酸組成には第一胃内でのこの結

果が一致しなかったことから第一胃内でVFAから合成される脂質の量が少ないと推察される。また、反芻動物は肝臓では脂肪酸合成量は少ないと言われているが、二章二節二項の実験でプロピオン酸ナトリウム添加給与により血漿中の総脂質と不飽和脂肪酸含量が増加した。第一胃内液の結果と比較すると酢酸塩給与で総脂質含量と不飽和脂肪酸含量が増加したように、プロピオン酸と酢酸が第一胃内と血漿中の脂質に対照的に作用するところが興味深い。糖質飼料を3週間以上給与を続けると肝臓での脂肪酸合成量が適応的に上昇することから、本実験でもプロピオン酸から糖新生されたグルコースが酢酸からの不飽和脂肪酸合成を促進して循環血漿中に現われたと思われた。

肥育に必要なエネルギーの数%をVFA塩で代替して行なったメン羊を肥育する実験でプロピオン酸ナトリウム添加給与で体脂肪中のC18:1のオレイン酸が増え、酢酸塩給与でC16:0のバルミチン酸とC18:0のステアリン酸が増えた。即ち、プロピオン酸塩給与でヨウ素価が高く融点が高い柔らかい体脂肪が蓄積され、酢酸塩給与でヨウ素価が低く融点が高い硬い体脂肪が蓄積された。この傾向は大網膜や腎脂肪などの内臓脂肪より皮下脂肪や筋肉内の体表面に近い脂肪組織で著しかった。プロピオン酸からの偶数の直鎖脂肪酸合成量が少ないとすれば、この現象を説明するには、ホルモンや酵素を媒介にして起こっていることと推察した。プロピオン酸が肝臓で糖新生により生じたグルコースが増加するに伴ってインシュリン分泌が促進され体脂肪の蓄積と不飽和化が亢進することと、グルコースがペントースリン酸回路に入って分解される際生じるNADPHが

脂肪酸合成を促進していると考えた。この場合、体脂肪の基質になるのは酢酸であり、解糖系で消費されているのはグルコースが優先しているのであろう。さらにVFA塩を用いてこの現象を確認するためにできるだけ多量に給与して行なった実験でもプロピオン酸カルシウム給与と同様に体脂肪が不飽和化された。VFA塩を多量給与した場合水素添加能が低下していることがin vitroの実験で示され、VFA塩多量給与のときは前述のホルモンと酵素が媒介されて体脂肪が不飽和化されるのに加えて外因的な原因があることが指摘された。しかし、酢酸塩多量給与により第一胃内での水素添加能が低下したにもかかわらず体脂肪が飽和化される傾向だったことはインシュリンの分泌が亢進しないときの酢酸からの脂肪酸合成はC16:0やC18:0脂肪酸が多いと思われた。なお、このインシュリンの体脂肪不飽和化作用についてはインシュリンを長期間静脈注入するなど詳細な実験が必要と思われ、現在計画中である。

第一胃内では酢酸産生の場合水素が発生しプロピオン酸産生の場合水素が消費されることに注目して、各VFA塩給与によりプロピオン酸または酢酸産生に適応してプロピオン酸塩給与が酢酸塩給与より水素添加能が低下するのではないかという仮説をたてた。しかし、両VFA塩添加により、産生されるVFA種に明らかな違いがなく、第一胃内微生物は適応されにくいと思われた。一方、濃厚飼料を多給するほど第一胃の水素添加能が低下する結果を示したことは、濃厚飼料多給で体脂肪が不飽和化される原因に濃厚飼料の通過速度が速く水素添加を免れる不飽和脂肪酸が生じることと水素添加能が低下していることが考えられた。

メン羊に大麦を多給した実験とプロピオン塩をMEの21%になるように給与した実験で体脂肪中の分枝・奇数炭素脂肪酸が増加することを報告しているが、この経路は、過剰に吸収されたプロピオン酸からメチルマロニルCoAを經由して分枝・奇数炭素脂肪酸に取り込まれることが証明された¹⁴⁾。このことが反芻動物の体脂肪を柔らかくすると強調している¹⁵⁾。本実験でもプロピオン酸塩給与によりこの現象が認められたが、濃厚飼料と粗飼料の給与割合ではむしろ粗飼料多給により第一胃内と体脂肪で分枝・奇数炭素脂肪酸が多くなり、Duncan and Garton²³⁾の大麦を多量に給与した結果と異なっていた。本実験で牧乾草給与で第一胃無菌液中のanteiso C13:0脂肪酸が上昇したことが主原因だが、このメカニズムについては現在不明であり、今後の検討に期待したい。しかし、彼らはこれらの分枝・奇数炭素脂肪酸の融点が低いことより、しまりのない軟らかい体脂肪を形成すると述べているが、融点はC15:0で52.3℃、C17:0で61.3℃、C18:1のオレイン酸で12~16℃と不飽和脂肪酸に比較すると高いことと分枝・奇数炭素脂肪酸は10%位の含有量であるため、この分枝・奇数炭素脂肪酸が軟脂形成の主原因であるとは納得し難い。

第一胃内でのもう1つのVFAである酪酸の肥育と体脂肪形成については全く触れなかったが、今後プロピオン酸と酢酸と同様な検討が必要であろう。

最後に、メン羊の肥育時における各種飼料給与と体脂肪生成過程の関連を図6-1、図6-2に示した。

濃厚飼料多給時

粗飼料多給時

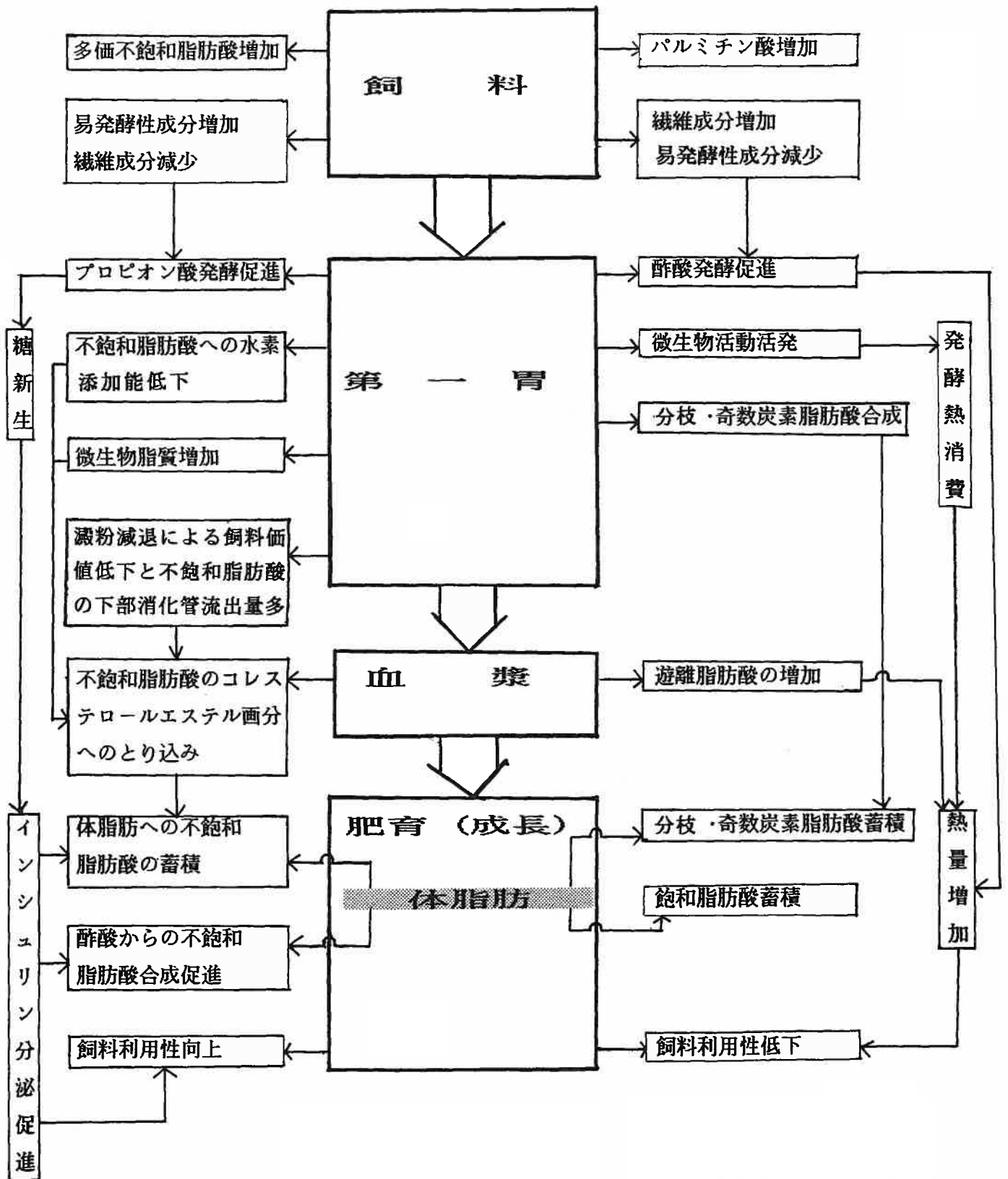


図 6-1. 濃厚飼料多給と粗飼料多給による肥育時における体脂肪生成過程

プロピオン酸塩給与時

酢酸塩給与時

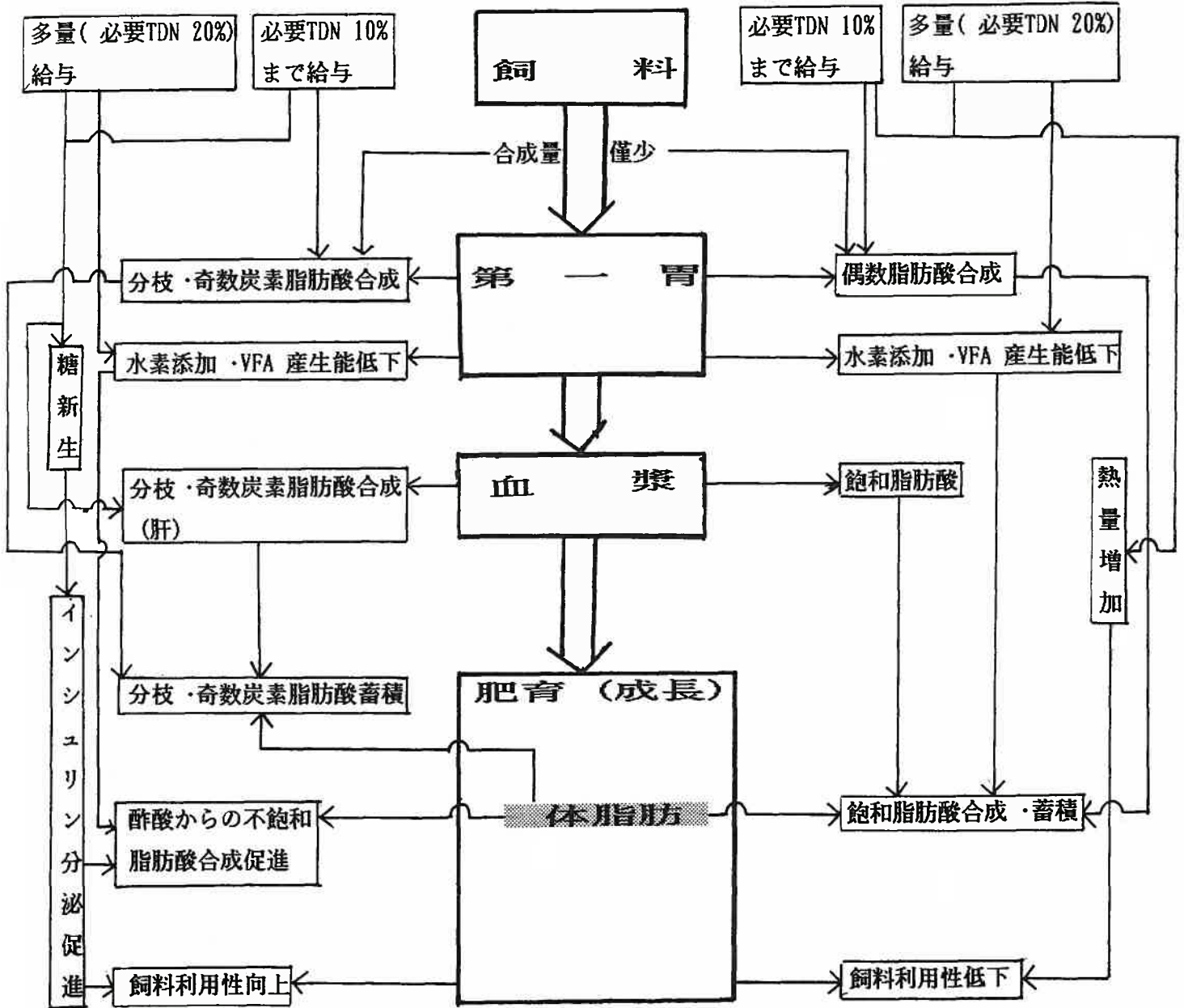


図 6-2. VFA塩給与による肥育時における体脂肪生成過程

第七章 総括

反芻動物の脂質代謝は単胃動物に比較すると様相が大きく異なっている。その第一の特徴は不飽和脂肪酸が、第一胃内に棲息している微生物により水素添加されて飽和脂肪酸に変換されるため、牛やメソ羊などの体脂肪はステアリン酸を中心とする飽和脂肪酸に富む融点の高い体脂肪を形成することである。また、乳脂肪生産量の約1/4が第一胃内で微生物により合成され、内因的な体脂肪合成の主要な前駆物質は単胃動物ではグルコース、反芻動物では酢酸であり、合成部位は前者が肝臓、後者が体脂肪組織であることも大きな相違点である。第一胃内微生物には直鎖と分枝のC15とC17の脂肪酸を含むため、単胃動物にはみられないこれらの脂肪酸に富む体脂肪を形成することも知られている。

反芻動物を肥育する場合、NRC（アメリカ）、ARC（イギリス）および日本飼養標準とも期待される増体量に必要な飼料の給与エネルギー量を中心に規定されており、粗飼料の必要量については日本標準で種々の濃厚飼料多給による代謝障害を防止するために最低必要な乾物量を規定しているにすぎない。それ故に反芻動物の脂肪量の増大のみでなく、筋肉間に脂肪を混在させ、風味を増加させるために有効な濃厚飼料と粗飼料の給与割合と給与量を提示する必要がある。

一方、濃厚飼料と粗飼料の給与割合により第一胃内で生成される揮発性脂肪酸（VFA）のうちプロピオン酸と酢酸の産生比率に違いが生ずることが広く知られており、これらのVFAから合成される体脂肪脂肪

酸についても質的、量的な関係がいまだ未解決な問題として残されている。

本論文はメン羊に種々の飼料を給与したときの第一胃内液および血漿中の脂質性状を調べてその中間代謝の一端を明らかにしようとした。また、肥育試験を行なって、濃厚飼料と粗飼料の給与割合が肥育と体脂肪性状に及ぼす影響を調べ、さらにプロピオン酸と酢酸からの体脂肪生成機構を量と質の面から明らかにしようとしたものである。以下に各章で得られた結果について概括し、本論文の総括を試みた。

第二章 各種飼料給与下における第一胃内脂質および血漿脂質の変化

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合が脂質性状に与える影響

第一項 第一胃内液脂質に与える影響

濃厚飼料（配合飼料）と粗飼料（牧乾草）の重量比を 9 : 1、5 : 5、1 : 9 とし、600 ~ 700 g / 日給与して採食に伴う脂質性状の変化を 24 時間に亘り調べた。第一胃内液の総脂質含量は濃厚飼料多給で採食後一旦減少するものの、その後著しく多くなった。第一胃内液と微生物中の C18:0 と C18:1 脂肪酸は濃厚飼料多給で、C17 以下の脂肪酸は粗飼料多給でそれぞれ多かった。第一胃内液と細菌分画中の C18:1 脂肪酸は採食 4 時間まで急増し、以後漸減した。第一胃内の脂質は給与飼料の影響を受け、濃厚飼料多給により微生物脂質が増加していることがわかれた。

第二項 血漿脂質に与える影響

濃厚飼料と牧乾草の重量比を 7 : 3、5 : 5、3 : 7 とし、体重の 3.

3 ~ 3.8%を給与して採食に伴う脂質性状の変化を24時間に亘り調べた。総脂質中の不飽和脂肪酸は濃厚飼料多給で採食前52%から採食9時間後57%まで上昇した。この上昇にはコレステロールエステル画分のC18:2脂肪酸が寄与していた。おそらく濃厚飼料多給で第一胃内で水素添加を免れる不飽和脂肪酸があるのであろう。一方、粗飼料を多給する程遊離脂肪酸が増加する傾向にあった。

第二節 VFA塩添加給与が脂質性状に与える影響

第一項 第一胃内液脂質に与える影響

第一胃内でVFAから長鎖脂肪酸に合成される様相を知るためVFAのNa塩を体重の0.06%給与して24時間に亘り脂質性状を調べた。酢酸給与はプロピオン酸給与より脂質含量とC18:1脂肪酸を多くする傾向を示した。プロピオン酸給与により分枝と奇数炭素脂肪酸が多くなった。In vitroの実験でも同様な結果が得られた。酢酸からの脂肪酸合成は活発で、酢酸は偶数炭素脂肪酸へ、プロピオン酸は分枝・奇数炭素脂肪酸の合成に向けられていると考えられた。

第二項 血漿脂質に与える影響

第一項の条件下で24時間に亘り脂質性状を調べた。プロピオン酸給与で総脂質含量とC18:1脂肪酸が多くなった。プロピオン酸から糖新生で生じたグルコースが酢酸からの脂肪酸合成を促進していると推察された。

第三章 各種飼料給与下における肥育効果と体脂肪性状の変化

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響

メソ羊10頭を用いて二章一節二項の条件下で19週間の肥育試験を行なった。給与飼料中のTDN含量(%)、飼料要求率はそれぞれ濃厚飼料

多給で60.1、10.6、等量給与で57.9、11.7、粗飼料多給で57.9、16.1とTDN含量に大差なく、濃厚飼料を多給する程飼料の利用性が向上した。また、濃厚飼料を多給する程枝肉と体脂肪量が増加した。肥育に伴う大網膜脂肪の脂肪酸組成では、いずれの給与割合とも7週目までC18:0脂肪酸は上昇、C18:1脂肪酸は減少した。粗飼料多給は濃厚飼料多給よりC18:0脂肪酸が高く、C18:1脂肪酸が低かった。粗飼料を多給するとheat incrementの増大から正味エネルギーが低くなること、濃厚飼料多給は穀物中に多量に含まれる不飽和脂肪酸の相当量が水素添加を免れて下部消化管に移動していると推察した。

第二節 VFA塩添加給与の影響

前節の濃厚飼料：粗飼料 5：5 にVFAを体重の0.13%摂取するように濃厚飼料に混合して給与し19週間の肥育試験を行なった。給与飼料中のTDN含量(%)、飼料要求率はそれぞれプロピオン酸給与58.4、12.5、酢酸給与57.3、13.2とVFA塩給与は消化率と飼料の利用性を改善しなかったが枝肉と内臓脂肪重量が著しく増加した。プロピオン酸給与により体脂肪のC18:1と分枝・奇数炭素脂肪酸及びヨウ素価が増加した。給与されたVFA塩は体脂肪蓄積に利用され、プロピオン酸給与は体脂肪構成脂肪酸の不飽和化を促進した。

第四章 VFA塩多量給与下における肥育効果と体脂肪性状の変化

第一節 肥育効果と体脂肪性状への影響

VFAのCaまたはNa塩をできるだけ多量に添加給与または第一胃に連続注入して12~16週間肥育した。必要TDNに占めるVFA塩給与

量は17.1~22.4%の範囲であって、注入が添加給与より4%多く充足できた。VFA塩給与により枝肉歩留りと筋肉内の粗脂肪含量が増加した。プロピオン酸給与により肥育に伴い不飽和脂肪酸とC17:0脂肪酸が上昇した。特にプロピオン酸注入7週間後の背脂肪で不飽和脂肪酸47.5→54.3%（融点48.5→41.5℃）と著しく不飽和化された。酢酸給与により不飽和脂肪酸はプロピオン酸給与と逆の変化傾向を示した。VFA塩給与が肥育を促進し、プロピオン酸が体脂肪構成脂肪酸を不飽和化、酢酸が飽和化していることが確認できた。

第二節 第一胃内液脂質への影響

前節の実験時に24時間に亘り第一胃内の脂質を調べた。総脂質含量はVFA塩給与により多くならなかった。プロピオン酸と酢酸注入ともC18:0脂肪酸が低くC18:1脂肪酸が高くなった。特にプロピオン酸注入でこの傾向が顕著だった。プロピオン酸注入により分枝・奇数炭素脂肪酸は高くならなかった。VFA塩を多量に給与すると第一胃内での不飽和脂肪酸への水素添加能と脂肪酸合成能が低下することがうかがわれた。

第三節 ハムスターにおける増体と体組成への影響

プロピオン酸と酢酸の生産エネルギーの違いを確認するためにハムスターが有用であると判断して本実験を実施した。繁殖用飼料をg体重の3/4乗の28~30%、VFAのCa塩をTDNの10%添加給与して49日間の成長試験を行なった。1日増体量（g）と飼料要求率はそれぞれプロピオン酸給与1.3、6.2、酢酸給与0.9、7.9、無添加給与0.9、7.6

とプロピオン酸給与により飼料の利用性が著しく向上した。プロピオン酸給与により屠体中の粗蛋白質と粗脂肪量が有意に増加した。生産エネルギー (kcal/100g) はプロピオン酸322、酢酸84とプロピオン酸は酢酸の3.8倍のエネルギー価を示した。

第五章 各種飼料給与下における第一胃内水素添加能とVFA産生能の変化

第一節 濃厚飼料と粗飼料の給与割合の影響

給与割合を8:2、5.5:4.5、3:7として1日当たり体重の3.8%を2週間給与後in vitroで第一胃液に配合飼料または牧乾草とリノール酸を基質として添加して飽和化される過程を24時間に亘り調べた。両基質とも濃厚飼料を多給する程水素添加能が低下し、特にC18:1からC18:0脂肪酸への変換が鈍った。VFA産生量は濃厚飼料と粗飼料を多給すると低下した。

第二節 VFA塩多量添加給与の影響

前節の給与割合5.5:4.5にプロピオン酸または酢酸のCa塩を必要TDNの20%添加給与してin vitroにより前節と同様に調べた。VFA塩給与により水素添加能が低下し、特にプロピオン酸給与によりC18:1からC18:0脂肪酸への変換が鈍るように思われた。VFA産生量もVFA塩を添加給与した時低下したが、各VFAの産生割合と水素添加能の関係は明らかでなかった。

謝

辞

本論文は、筆者が昭和54年に東北大学農学部家畜生理学教室に内地留学したときに本題のテーマを授かり、昭和60年まで7年間の研究結果である。

この間、浅学非才だった筆者は、終始適切なる御指導と懇篤なる御援助を東北大学農学部教授津田恒之博士から賜った。

津田博士と本研究を通じて、農学と畜産学の領域における家畜と飼料問題を扱うにあたって家畜栄養生理学の重要性とこの学問の深さの一端を学び得ることができたような気がする。

また、岩手大学教授安保佳一博士、東北大学助教授佐々木康之博士には反芻動物の脂質代謝を研究するにあたっての基本的な考え方を御教示して頂いた。東北大学助手庄司芳男先生、同大学助手中塚晴夫博士には脂質の分析法、同大学技官大友泰氏には体脂肪の生体採取法を教えて頂いた。

山形大学教授保井忠彦博士と助教授五十嵐喜治博士には動物飼養の実験と化学成分分析方法、同大学助手上木厚子博士と農水省家衛試験一博士には分枝・奇数炭素脂肪酸の同定方法、山形大学助教授富樫二郎博士には第一胃内微生物の分離法を教えて頂いた。

前山形大学教授有森康濼博士、同大学助教授小坂末藏博士、東北大学教授水間豊博士からは筆者の東北大学内地留学の際に便宜を計って頂いた。また、実験にあたっては前山形大学付属農場教授石川俊雄先生、同

大学付属農場助手太田三郎先生、畜産部技官諸氏および畜産学講座専攻学生の協力を得た。

本論文の作成にあたっては、山形大学助教授萱場猛夫博士には実際の論文作成において技術的な面で御教示かつ援助して頂いた。木村幸子、佐藤絵美の両氏には図表作成とワープロ入力で労を煩わした。

ここに、記して、各氏に対し深甚の謝意を表する。

引用文献

- 1) Achman, R.G., J.Chromatog., 28: 225-231. 1967.
- 2) Agricultural Research Council, The Nutrient Requirements of Farm Live-
stock, No.2. Ruminants, A.R.C., London, 1965.
- 3) Annison, E. F., Aust. J. Agr. Res., 11: 58-64. 1960.
- 4) Annison, E. F. and D.G.Armstrong, Physiology of Digestion and Metabo-
lism in the Ruminant, 430. Newcastle upon Tyne. 1970.
- 5) Armstorong, D.G.and K.L.Blaxter, Br.J.Nutr., 11: 413-425. 1957.
- 6) Ballard, F.J., R.W.Hanson and D.S.Kronfeld, Fed. Proc., 28: 218-231.
1969.
- 7) Ballard, F.J., F.D.Hovell and I.G.Jarrett, Biochem. J., 126: 193-200.
1972.
- 8) Barnett, A.J.G. and R.L.Reid, J. Agr. Sci., 49: 180-183. 1957.
- 9) Bath, I.H. and J.A.F.Rook, J. Agr. Sci., 61: 341-348. 1963.
- 10) Bergman, E.N.et al, Biochem. J., 97: 53-58. 1965.
- 11) Body, D.R., Phytochemistry, 13: 1527-1530. 1974.
- 12) Bragdon, J.H., Lipids and the Steroid Hormones in Clinical Medicine.
6-8 Lippincott, Philadelphia. 1960.
- 13) Bryant, M.P., I.M.Robinson and H.Chu, J. Dairy Sci., 42: 1831-1847.
1959.
- 14) Cardinale, G.J., T.J.Carty and R.H.Abeles, J. Biol. Chem., 245: 3771-

3775. 1970.
- 15) Chacko, G.K. and E.G.Perkings, J. Am. Oil Chem. Soc., 42: 1121-1124.
1965
 - 16) Christie, W.W. and J.H.Moore, J. Sci. Fd. Agric., 22: 120-124. 1971.
 - 17) Clements, E., V.Arthaud, R.Mandigo and W.Woods, J. Anim. Sci., 37:
1326-1331. 1973.
 - 18) Czerkavski, J.W., K.L.Blaxter and F.W.Wainman, Br. J. Nutr., 20: 349-
362.1966.
 - 19) Dawson, R.M.C. and P.Kemp, Biochem. J., 115: 351-352. 1969.
 - 20) Dawson, R.M.C. and P.Kemp, Physiology of Digestion and Metabolism in
the Ruminant, 509-518. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, 1970.
 - 21) Deeth, H.C. and W.W.Christie, Int. J. Biochem., 10: 577-582. 1979.
 - 22) Duncan, W.R.H. and G.A.Garton, J. Sci. Fd. Agric., 18: 99-102. 1967.
 - 23) Duncan, W.R.H. and G.A.Garton, Br. J. Nutr., 40: 29-33. 1978.
 - 24) El-Sharzly, K., B.A.Deholity and R.R.Johnson, J. Anim. Sci., 20: 268-
273 1961 .
 - 25) Elliot, J.M., D.E.Hogue., G.S.Myers, J.R. and J.K.Loosli, J. Nutr.,
87: 223-238. 1965.
 - 26) Emmanuel, B., Biochim. Biophys. Acta, 337: 404-413. 1974.
 - 27) Fletcher, M.J., Clin. Chim. Acta, 22: 393-397. 1968.
 - 28) Folch, J., M.Lees and G.H.Sloam-Stanley, J.Biol.Chem., 226: 497-509.
1957.

- 29) 藤野安彦, 脂質分析法入門. 48-55. 学会出版センター, 東京, 1978.
- 30) 藤野安彦, 脂質分析法入門. 85-112. 学会出版センター, 東京, 1978.
- 31) 藤森正宏・正井博行・藤野安彦, 酪農科学の研究, 25: A29-A34. 1976.
- 32) 舟田信寿・篠原 久・萱場猛夫, 草食家畜用実験動物, 4: 24-27. 1979.
- 33) Garton, G.A., Nature, Lond., 187: 511-512. 1960.
- 34) Garton, G.A. and W.R.H.Duncan, Br. J. Nutr., 23: 421-427. 1969.
- 35) Garton, G.A., F.D.DEB.Hovell and W.R.H.Duncan, Br. J. Nutr., 28: 409-416. 1972.
- 36) Gillis, A.T., N.A.M.Eskim and R.L.Cliplef, J. Fd. Sci., 38: 408-411. 1973.
- 37) Gray, F.V. et al, Aust. J. Agr. Res., 18: 625-634. 1967.
- 38) Griel, L.C.Jr. and R.D.McCarthy, J. Dairy Sci., 52: 1233-1243. 1969.
- 39) 浜崎正雄, 東北大学博士論文. 1973.
- 40) Hamilton, T.S., J. Nutr., 23: 101-110. 1942.
- 41) Harfoot, C.G., R.C.Noble and J.H.Moore, Biochem. J., 132: 829-832. 1973.
- 42) Hawke, J.C. and J.A.Robertson, J. Sci. Fd. Agric., 15: 283-289. 1964.
- 43) Hawke, J.C. and W.R.Silcock, Biochim. Biophys. Acta, 218: 202-212. 1970.
- 44) Holmes, J.H.G. and L.J.Lambourne, Res. Vet. Sci., 11: 27-36. 1970.
- 45) Hood, R.L. and C.E.Allen, J. Nutr., 103: 353-362. 1973.
- 46) Ingle, D.L., D.E.Bauman and U.S.Garrigus, J.Nutr., 102: 609-616. 1972.

- 47) 今井 陽, 生化学, 34: 428. 1962.
- 48) Itabashi, H. and M.Kandatsu, Jpn. J. Zootech. Sci., 46: 409-416. 1975.
- 49) 板橋久雄, 栄養生理研究会報, 23: 85-95. 1979.
- 50) 板橋久雄, ルーメンの世界, 430-457. 農山漁村文化協会, 東京, 1985.
- 51) Joyce, L.B., J. Agric. Fd. Chem., 10: 120-123. 1962.
- 52) 上坂章次・川島良治・善林明治, 京大食研報告, 29: 21-32. 1966.
- 53) Katz, I. and M.Keeney, J. Dairy Sci., 49: 962-966. 1966.
- 54) Katz, I. and M.Keeney, Biochim. Biophys. Acta, 144: 102-112. 1967.
- 55) Keeney, M., I.Katz and M.J.Allison, J. Am. Oil Chem. Soc., 39: 198-201. 1962.
- 56) Keeney, M., Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, 489-503. Oriel Press, Newcastle upon tyne. 1970.
- 57) Kemp, J.D., M.Mahyuddin, D.G.Ely, J.D.Fox and W.G.Moody, J. Anim. Sci. 51: 321-330. 1981.
- 58) 北川政幸・川島良治, 日畜会報, 52: 483-485. 1981.
- 59) 北川政幸, 栄養生理研究会報, 27: 119-129. 1983.
- 60) Kleiber, M., Physio. Rev., 37: 511-541. 1947.
- 61) Leat, W.M.F., J. Agr. Sci., Camb., 85: 551-558. 1975.
- 62) Leat, W.M.F., Meet Animals. 177-193. Plenum Press. New York. 1976.
- 63) Leng, R.A.and G.J.Leonard, Br. J. Nutr., 19:469-483. 1965.
- 64) Leng, R.A., Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, 406-421. Oriel Press. Newcastle upon tyne. 1970.

- 65) Link, B.A., R.W.Bray, R.G.Gassens and R.G.Kauffman, J. Anim. Sci., 30: 722-725. 1970.
- 66) Lofgreen, G.P. and W.N.Garrett, J. Anim. Sci., 27: 793-806. 1968.
- 67) Lofgren, P.A. and R.G.Warner, J. Anim. Sci., 35:1239-1247. 1972.
- 68) 萬田富治, 栄養生理研究会報, 23: 111-128. 1979.
- 69) Martinez, A. and D.C.Church, J. Anim. Sci., 31: 982-990. 1970.
- 70) McDougall, E. I., Biochem. J., 43: 99-109. 1948.
- 71) Miller, G. J., T.R.Varnell and R.W.Rice, J. Anim. Sci., 26: 41-45. 1967.
- 72) Minato, H., A. Endo, Y.Ootomo and T.Uemura, J. Gen. Appl. Microbiol., 12: 53-69. 1966.
- 73) 湊 一・植村定治郎, 発酵と微生物 . 246-261. 朝倉書店. 東京. 1970.
- 74) Moore, J.H., R.C.Noble and W.Steele, Br. J. Nutr., 22:681-688. 1968.
- 75) 森本 宏, 家畜栄養学. 291-292. 養賢堂. 東京. 1969.
- 76) 村井 勝・萬田富治, 草食家畜用実験動物, 2: 70-77. 1977.
- 77) 村井 勝・萬田富治, 草食家畜用実験動物, 3: 13-15. 1978.
- 78) 村井 勝・萬田富治, 日畜学会第66回大会講演要旨, 17. 1977.
- 79) Nakamura, K. and S.Kanegasaki, J. Dairy Sci., 52: 250-255. 1969.
- 80) 中村良一・米村寿男・須藤恒二, 牛の臨床検査法. 8・32-8・33. 農山漁村文化協会 東京. 1973.
- 81) 中村亮八郎, 新飼料学上. 115-116. チクサン出版社. 東京. 1977.
- 82) 中村亮八郎, 新飼料学下. 86-95. チクサン出版社. 東京. 1981.
- 83) 中村亮八郎, 新飼料学下. 244-246. チクサン出版社. 東京. 1981.

- 84) 中村亮八郎, 新飼料学下. 36-39. チクサン出版社. 東京. 1981.
- 85) National Research Council, Nutrient Requirement of Sheep, 4th ed.
National Academy of Science. Washington, D.C. 1968.
- 86) National Research Council of Agriculture, Forestry and Fishery. Japanese
Feeding Standard for Beef Cattle, Central Association of Livestock
Industry. Tokyo. 1975.
- 87) Nelson, G.J., Comp. Biochem. Physiol., 30: 715-725. 1969.
- 88) 日本生化学会編, 生化学データブック . 793-799. 東京化学同人. 東京.
1979.
- 89) 日本畜産学会編, 畜産用語辞典. 172. 養賢堂. 東京. 1977.
- 90) O'Hea, E.K. and G.A. Leveille, J. Nutr., 99: 338-344. 1969.
- 91) 岡本全弘・広瀬可恒, 日畜会報, 43: 499-505. 1972.
- 92) O'Kelly, J.C., Aust. J. Biol. Sci., 21:1025-1032. 1968.
- 93) Ørskov, E.R., F.D. Hovell and D.M. Allen, Br. J. Nutr., 20: 307-315.
1966.
- 94) Ørskov, E.R., D.E. Allen, Br. J. Nutr., 20: 519-532. 1966.
- 95) Ørskov, E.R., D.A. Grubb and T.S. Smith, Br. J. Nutr., 41: 541-551.
1979.
- 96) 押尾秀一, 東北大学博士論文. 1985.
- 97) Patton, R.A., R.D. McCarthy and L.C. Gliel, J. Dairy Sci., 53: 460-465.
1970.
- 98) Polan, C.E., J.J. McNeill and S.B. Tove, J. Bacteriol., 88: 1056-1064.

1964.

99) Pothoven, M.A., D.C.Beitz and A.Zimmerli, J. Nutr., 104: ⁴³⁰~~403~~-433.

1974.

100) Qureshi, S.R., D.E.Waldern, T.H.Blosser and R.W.Wallenius, J. Dairy Sci., 55: 93-101. 1972.

101) Reid, R.L. and N.T.Hinks, Aust. J. Agr. Res., 13:1112-1123. 1962.

102) Reiser, R.,Fd. Proc., 10: 236. 1951.

103) Rumsey, T.S., R.R.Oltjen, K.P.Bovard and B.M.Priode, J. Anim. Sci., 35: 1069-1075. 1972.

104) Saggerson, E.D., Biochem. J., 140: 211-224. 1974.

105) Seubert, W. and E.R.Podach, Molec. Cell. Biochem., 1: 29-40. 1973.

106) 柴田章夫, 栄養生理研究会報, 21: 50-57. 1977.

107) Shorland, F.B., R.O.Weenink and A.T.Johns, Nature. Lond., 175: 1129-1130 1955.

108) Shorland, F.B., R.O.Weenink, A.T.Johns and I.R.C.McDonald, Biochem. J., 67: 328-333. 1957.

109) Shrago, E., T.Spennetta and E.Gordon, J. Biol. Chem., 244: 2761-2766. 1969.

110) 須藤恒二, 微生物の生態 7. 168-171. 学生出版センター. 東京. 1980.

111) 鈴木梅太郎・二國二郎, 栄養化学. 5-27. 岩波全書. 東京. 1954.

112) 高橋 潔・佐野宏明・安保佳一・津田恒之, 日畜会報, 54: 302-308. 1983.

113) Tanaka, K. and H.Hayashi, Jpn. J. Zootech. Sci., 42: 582-592. 1971.

- 114) 田中桂一・長繩寿信・林 英夫, 岐阜大農研報, 33: 309-314. 1972.
- 115) 田中桂一・林 英夫, 日畜会報, 43: 20-25. 1972.
- 116) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 143-147. 1973.
- 117) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 212-215. 1973.
- 118) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 278-279. 1973.
- 119) 田中桂一, 日畜会報, 45: 307-318. 1974.
- 120) 田中桂一, 栄養生理研究会報, 27: 101-117. 1983.
- 121) 丹羽正治・北村元仕・斎藤正行, 臨床化学分析 . 98-105. 東京化学同人.
東京 1974.
- 122) 田先威和夫・大谷勲・吉原一郎・松本達郎, 家畜飼養学. 218-219. 朝倉書店.
東京. 1973.
- 123) 津田恒之, 家畜生理学. 68-69. 養賢堂. 東京. 1982.
- 124) Tweedie, J.W., M.G.Rumsby and J.C.Hawke, J. Sci. Fd. Agric., 17: 241-
244 1966.
- 125) 梅津元昌, 乳牛の化学. 44. 農山漁村文化協会. 東京. 1966.
- 126) 梅津元昌, 乳牛の化学. 150. 農山漁村文化協会. 東京. 1966.
- 127) Viviani, R., A.R.Borgatti and G.Cristig, Nuova Vet, 43: 6-11. 1967.
- 128) Viviani, R., Adv. Lipid Res., 8: 267-346. 1970.
- 129) Ward, P.F.V., T.W.Scott and R.M.C. Dawson, Biochem. J., 92: 60-68.
1964.
- 130) Watanabe, Y., T.Kyuma and H.Murai, Jpn. J. Zootech. Sci., 40: 390-396.
1969.

- 131) Williams, P.P. and W.E. Dinusson, J. Anim. Sci., 36: 151-155. 1973.
- 132) Wood, R.D., M.C. Bell, R.B. Granges and R.A. Teekel, J. Nutr., 79: 62-68.
1963.
- 133) Wright, D.E., Nature, Lond. 184: 875-876. 1959.
- 134) Wright, D.E., Nature, Lond. 185: 546-547. 1960.
- 135) 山本 清, ホルモンと脂質の代謝. 79-81. 共立全書. 東京. 1982.