

メン羊における各種飼料給与が第一胃内 水素添加能とVFA産生能に及ぼす影響

高橋 敏 能
(山形大学農学部畜産学研究室)
(昭和61年9月1日受理)

Effects of Various Types of Feeding on the Ability of Biohydrogenation
and VFA Production in Sheep Rumen *in Vitro*

Toshiyoshi TAKAHASHI
Laboratory of Zootechnical Science, Faculty of Agriculture,
Yamagata University, Tsuruoka 997, Japan
(Received September 1, 1986)

緒 言

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。その最大の特徴は飼料中に多く含まれる不飽和脂肪酸が、第一胃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¹⁻¹⁶⁾ため、牛やメン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¹⁷⁻²⁰⁾ことである。

濃厚飼料を多給すると第一胃内液²¹⁾および体脂肪中のオレイン酸が増加する²²⁾が、この体脂肪中のオレイン酸が増加する主な原因は、濃厚飼料は一般に粒度が細かいことより第一胃を通過する速度が粗飼料より速いため水素添加を免れる不飽和脂肪酸があると推察した。また、飼料中の炭水化物は第一胃内で微生物により揮発性脂肪酸(VFA)に発酵されるが、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して発酵することは広く知られている。これらのVFA給与と体脂肪構成脂肪酸との関係では、プロピオン酸給与により不飽和化、酢酸給与により飽和化されることが認められている²²⁾²³⁾。

第一胃内で炭水化物からピルビン酸を経て酢酸が生成されるとき、もう一つの経路でメタンが生成される²⁴⁾が、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。このことより、種々の飼料を給与したとき第一胃内の水素添加能に影響を与えると思われる。

本実験は、各種飼料をメン羊に一定期間給与した場合、第一胃内での微生物による水素添加能を *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。

I. 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を検鏡により確かめた。そこで、水素添加能はプロトゾアの作用が強い²⁵⁾とされているという説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ことが考えられた。また、これらの飼料の給与割合の違いが産生される各VFA間の比率に差を生じさせることから、第一胃内の微生物相を変えていることも推察された。そこで、濃厚飼料と粗飼料の給与割合を変えて飼育した場合、また、メン羊第一胃液に同一飼料を基質として培養した場合、不飽和脂肪酸への水素添加能への影響を検討し、併せて産生されるVFAの量と組成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(肉牛用市販配合飼料)と牧草(オーチャードグラス主体一番草)の重量比を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)の割合で給与する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3.8%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飼料を2週間給与後に *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10 mlに39℃に保ってあるMacDougallの人工唾液²⁶⁾ 40 ml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0.5 g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0.02 ml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、管壁に附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。採取時間は培養開始後1, 2, 4, 6, 9, 12および24時間の7回採取した。Folchら²⁷⁾の方法に準じて抽出した脂質に5%(W/W)無水塩酸メタノールを加えて封管内で5時間脂肪酸のメチルエステル化を行なった。脂肪酸の分離・定量はガスクロマトグラフィーで行ない、その際、シラー10C(ガスクロ工業, 80/100メッシュ)を充填した1m×2本のステンレス製カラムを用いて、カラム温度を165℃とした。キャリアガスに窒素ガスを用いて流速を20 ml/分、注入部とFID検出器温度を350℃とした。試料注入量は0.1 μlとし、チャートスピードは0.5 cm/分にした。

VFA産生能の実験は水素添加能の実験と全く同様に行なった。即ち、3種の給与割合で2週間飼育した第一胃液10 mlに人工唾液²⁶⁾ 40 mlを加えて培地に用い、基質となる濃厚飼料と粉末牧乾草をそれぞれ0.5 g添加した。VFAの濃度の測定は、水蒸気蒸留により留出した総VFAを1/10 N NaOHで滴定後90℃で蒸発乾固し、リン酸数滴で溶解、少量のエチルエーテルで抽出後ガスクロマトグラフィーに0.2 μl注入して各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×2本)を用い、カラム温度125℃、注入部およびFID検出器温度を250℃とした。キャリアガスは窒素ガスを用いて流速を50 ml/分、チャートスピードを1.0 cm/分とした。培養後と培養前のVFAの濃度の差をVFA産生量として表わした。

結果および考察

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、既報²¹⁾の濃厚飼料と牧乾草を1:1の重量比で給与したときの第一胃液の脂質含

量(約200 mg/100 g)の10倍に相当する量0.2 mlを第一胃液10 ml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給与割合を既述の3種として体重の3.8%を2週間給与した後の第一胃液10 mlにリノール酸0.2 mlと人工唾液²⁶⁾ 40 ml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Fig. 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

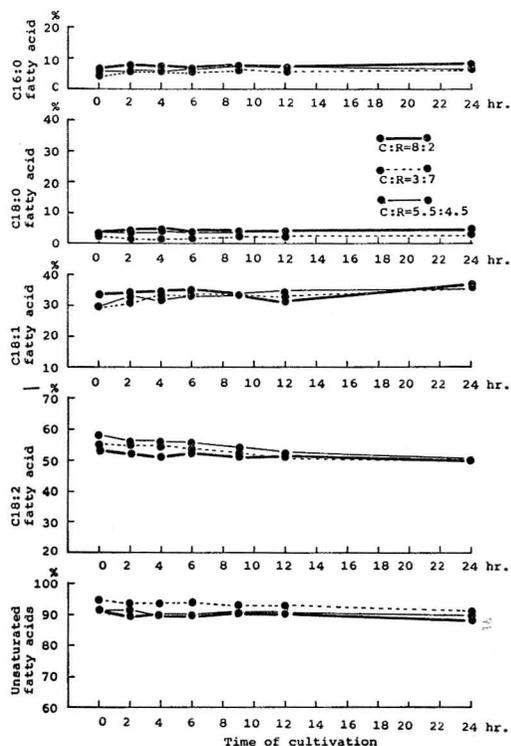


Fig. 1-1. Change in composition of fatty acids of rumen liquor *in vitro* added linoleic acid (0.2 ml) in the feeding of three types of rations with different weight ratios: ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

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、二重結合一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

化される度が強かった。オレイン酸からステアリン酸に変化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⁴⁾と田中ら¹⁰⁻¹²⁾も C18:2 脂肪酸から C18:1 脂肪酸への変換よりも C18:1 脂肪酸から C18:0 脂肪酸への変換が遅れ、添加される不飽和脂肪酸の量が多い程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 脂肪酸の変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と考えられ、水素添加はこの阻害作用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²⁹⁾。Czerkavski ら²⁹⁾は *in vitro* の実験で培養液 100 ml に 150 mg 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 1/10 に相当する量、第一胃液 10 ml にリノール酸 0.02 ml 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、市販のリノール酸を分析した結果リノール酸60%、オレイン酸29%、その他の脂肪酸11%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路は3通り考えられている³⁰⁾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³⁾。これは、添加した不飽和脂肪酸が飼料粒に付着し、そこに細菌が産生する異性化酵素が作用するためと考えられている³¹⁾。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²⁴⁾。酢酸生成のもう1つの経路であるピルビン酸がリン酸を得てアセチルリン酸と蟻酸を生成し、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²⁴⁾。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²⁴⁾。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、濃厚飼料を多給する程プロピオン酸、粗飼料を多給する程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て本実験を行なった。

培養後24時間にわたる脂肪酸組成の変化を Fig. 1-2、Fig. 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 Table 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程減少率が低く、

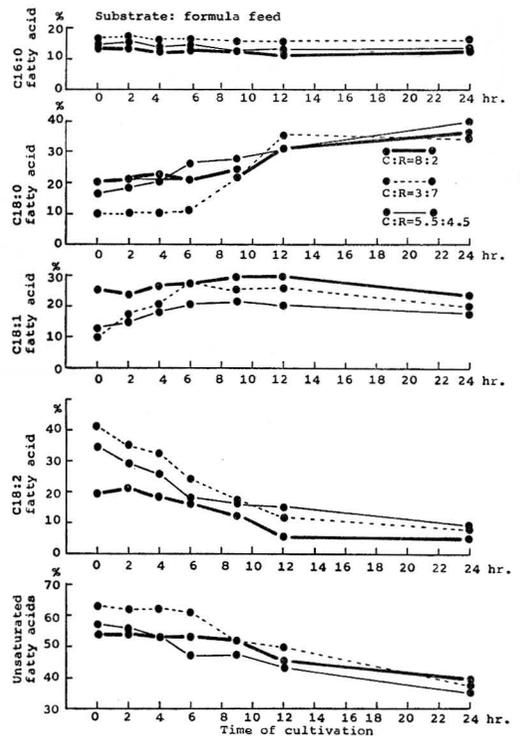


Fig. 1-2. Change in composition of fatty acids of rumen liquor *in vitro* added formula feed and linoleic acid in the feeding of three types of rations with different weight ratios: ratio is 8:2, 5.5:4.5 and 3:7 of concentrate and roughage.

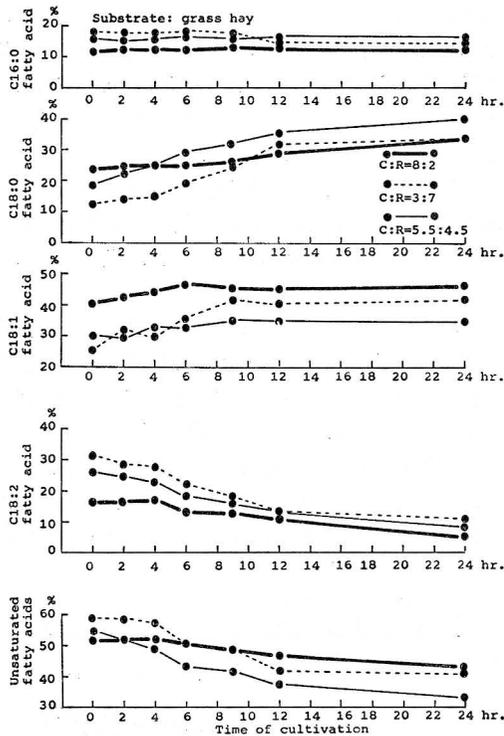


Fig. 1-3. Change in composition of fatty acids of rumen liquor *in vitro* added grass hay and linoleic acid in the feeding of three types of rations with different weight ratios: ratio is 8:2, 5.5:4.4 and 3:7 of concentrate and roughage.

いずれの給与割合とも牧乾草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。これらのことはC18:2からC18:1脂肪酸の変換がC18:1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、両者の変換の程度が同程度だったためC18:1脂肪酸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ン羊を飼育すると、濃厚飼料の給与割合が55%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、減少率に著しい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。

Table 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 substrate to incubation fluid: formula feed	%		
C18:3 fatty acid	0.0	-1.1	-1.6
C18:2 fatty acid	-13.6	-26.1	-33.7
C18:1 fatty acid	-2.2	+6.0	+9.8
C18:0 fatty acid	+16.6	+23.8	+24.5
Total unsaturated fatty acids	-15.8	-21.2	-25.5
Added substrate to incubation fluid: grass hay			
C18:3 fatty acid	-5.6	-8.6	-11.8
C18:2 fatty acid	-11.6	-18.0	-21.8
C18:1 fatty acid	+5.6	+5.0	+14.6
C18:0 fatty acid	+10.4	+20.9	+21.3
Total unsaturated fatty acids	-11.6	-21.6	-19.1

い、Viviani ら³²⁾はリノール酸とピルビン酸または蟻酸とインキュベー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、第一胃内でピルビン酸が磷酸を得てアセチル磷酸が産生される経路と蟻酸になり炭酸ガスと水素に分解される経路がある²⁴⁾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。

Fig. 1-4., Fig. 1-5. に乾物基質 100 g 当たりの VFA 産生量の変化を示した。いずれの給与割合と基質とも培養開始から24時間後まで直線的に 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 産生能が多く、24時間後乾物 100 g 当たり 39.7 g の産生量だった。濃厚飼料と粗飼料多給では産生量は共に低く約 28 g だった。一方、牧乾草を基質にしたときは、等量給与 30.6 g、濃厚飼料多給 27.8 g、粗飼料多給 23.3 g 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³³⁻³⁵⁾、第一胃壁を灌流する動・静脈中の VFA の濃度差から求める方法³⁶⁾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³⁶⁾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 Bergman ら³³⁾と Lengra ら³⁴⁾は24時間で乾草の乾物 100 g 当たり 0.7 mol、Gray ら³⁵⁾は 0.5~0.6 mol 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 0.5~0.6 mol 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

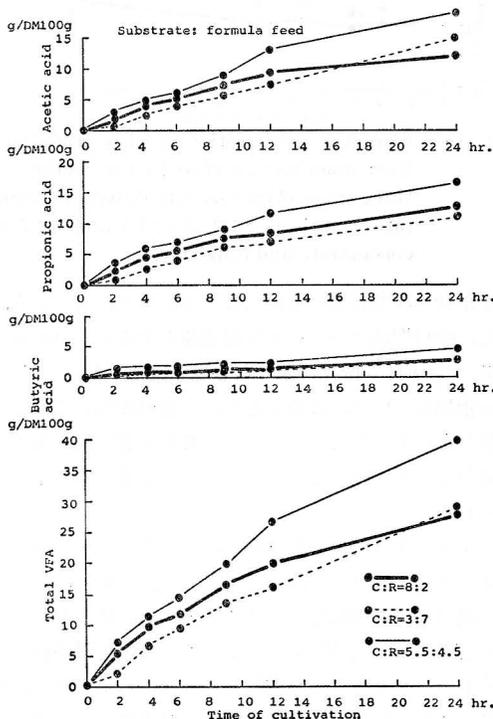


Fig. 1-4. Change in amount of VFA productin from formula feed *in vitro* in the feeding of three types of rations with different weight ratios : ratio is 8 : 2, 5.5 : 4.5 and 3 : 7 of concentrate and roughage.

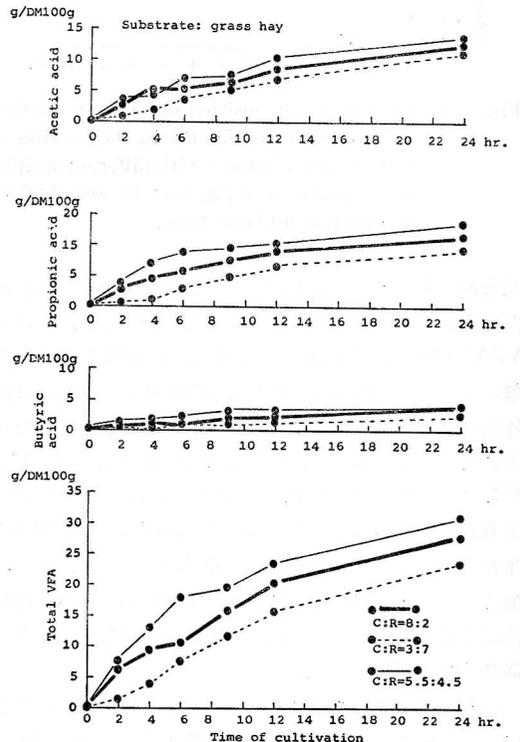


Fig. 1-5. Change in amount of VFA production from grass hay *in vitro* in the feeding of three types of rations with different weight ratios : ratio is 8 : 2, 5.5 : 4.5 and 3 : 7 of concentrate and roughage.

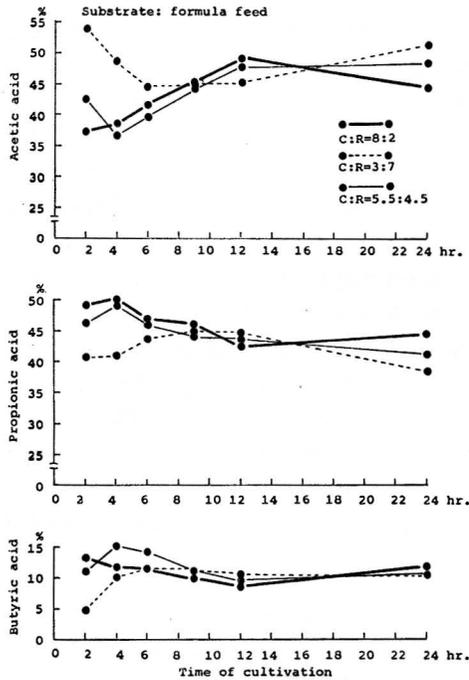


Fig. 1-6. Change in composition of VFA production from formula feed *in vitro* in the feeding of three types of rations with different weight ratios : ratio is 8 : 2, 5.5 : 4.5 and 3 : 7 of concentrate and roughage.

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 Fig. 1-6, Fig. 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時間後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%位の割合で経時的变化がなかった。

一般に濃厚飼料多給によりプロピオン酸、粗飼料多給により酢酸がそれぞれ優先して発酵するが、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立った差異がなかった。岡本・広瀬³⁷⁾と Barnett and Reid³⁸⁾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

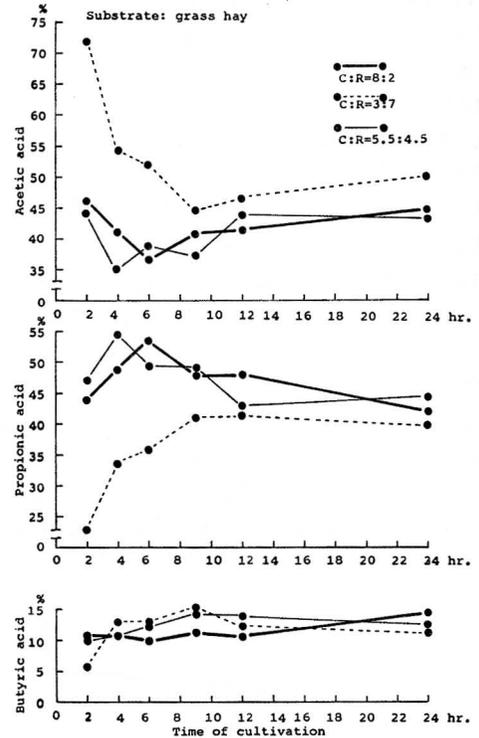


Fig. 1-7. Change in composition of VFA production from grass hay *in vitro* in the feeding of three types of rations with different weight ratios : ratio is 8 : 2, 5.5 : 4.5 and 3 : 7 of concentrate and roughage.

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³⁶⁾はセルロースを炭素源とする第一胃培養で酢酸/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、酢酸の産生能が多かったが、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言えないことを知った。

II. VFA 塩多量添加給与の影響

プロピオン酸塩給与によりメン羊の体脂肪構成脂肪酸が不飽和化されることを報告した²²⁾²³⁾。また, VFA 塩を多量に給与すると *in vivo* の第一胃内での水素添加能が低下することが認められている (高橋敏能, 未発表)。本実験は, VFA 塩を多量に給与した場合の水素添加能と VFA 産生量 (産生比率) への影響を *in vitro* 法により調べることにし, I. と同様に両者の相互関係と併せて体脂肪構成脂肪酸の関連を考察することを目的とした。

材料および方法

I. の実験と同じメン羊 2 頭を用いた。濃厚飼料と牧草の重量比を 5.5 : 4.5, 体重の 3.8% の給与飼料に必要なエネルギー³⁹⁾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適量の水と一緒に混合してメン羊 1 頭づつに 2 週間給与した。 *In vitro* による水素添加能と VFA 産生能の実験は I. と全く同様に

行なった。なお, それぞれの実験は 2 回繰り返して実施した。 I. 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

Fig. 2-1, Fig. 2-2. に培養後 24 時間の脂肪酸組成の変化, Table 2. 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% 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 I. 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%, 牧草を基質にした場合 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 8~15% までに上昇した。この結果は

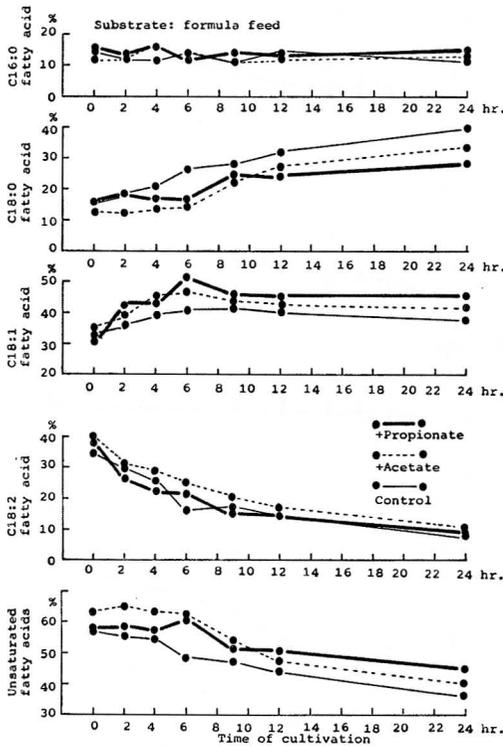


Fig. 2-1. Change in composition of fatty acids of rumen liquor *in vitro* added formula feed and linoleic acid in the VFA salts feeding.

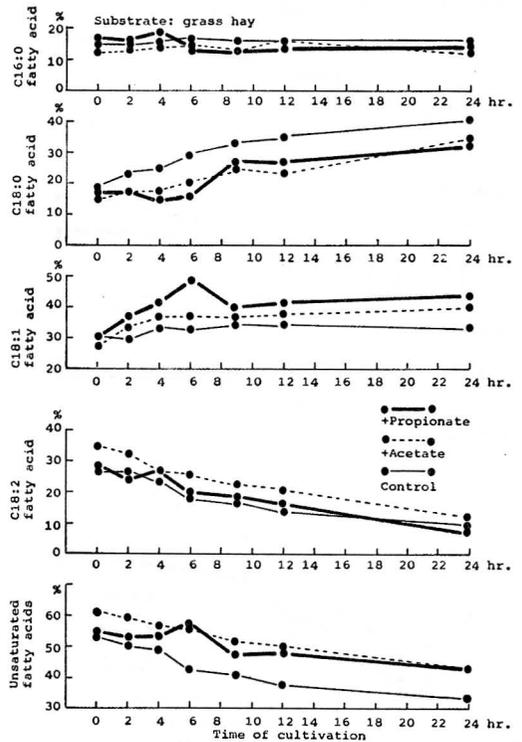
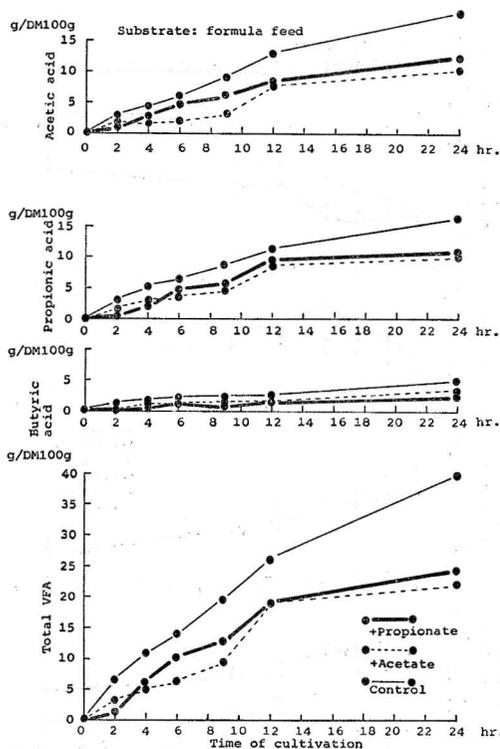
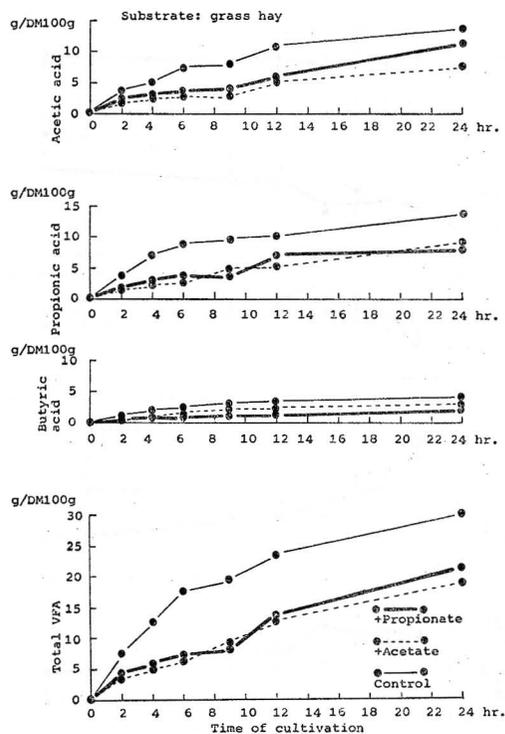


Fig. 2-2. Change in composition of fatty acids of rumen liquor *in vitro* added grass hay and linoleic acid in the VFA salts feeding.

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

Rumen liquor from the sheep fed with :	+Propionate	+Acetate	Control
Added substrate to incubation fluid : formula feed		%	
C18:3 fatty acid	0.0	- 1.2	- 1.1
C18:2 fatty acid	-29.6	-29.3	-26.1
C18:1 fatty acid	+15.4	+ 7.6	+ 6.0
C18:0 fatty acid	+13.3	+20.5	+23.8
Total unsaturated fatty acids	-14.2	-22.9	-21.2
Added substrate to incubation fluid : grass hay			
C18:3 fatty acid	- 7.5	-10.2	- 8.6
C18:2 fatty acid	-20.7	-21.6	-18.0
C18:1 fatty acid	+15.0	+13.0	+ 5.0
C18:0 fatty acid	+14.8	+18.8	+20.9
Total unsaturated fatty acids	-13.2	-18.8	-21.6

Fig. 2-3. Change in amount of VFA production from formula feed *in vitro* in the VFA salts feeding.Fig. 2-4. Change in amount of VFA production from grass hay *in vitro* in the VFA salts feeding.

VFA 塩給与により C_{18:1}から C_{18:0}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この傾向が著しかった。以上のことから VFA 塩多量給与は *in vitro* での第一胃内の水素添加能を低下させることが分かった。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 Fig. 2-3, Fig. 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 100 g 当たりの VFA の産生量の変化を示した。その結果、24時間後の産生量は濃厚飼料と牧乾草を基質としたときそれぞれ、プロピオン酸塩給与 24.6 g, 21.5 g, 酢酸塩給与 22.3 g, 19.3 g および無添加給与 39.7 g, 30.6 g と VFA 塩給与により34~40%も VFA 産生量が低下した。Fig. 2-5, Fig. 2-6. に産生される各 VFA 間の百分率の変化を示した。VFA 塩給与、無添加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。本実験において VFA 塩を多量に給与すると水素

添加能と VFA 産生能ともに低下していることが確認できた。

培地中に 10~300 mg/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⁴⁰⁾。プロトゾアの VFA 生成も、培地中に 250 mg/l のカルシウムを添加することにより促進する⁴¹⁾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³¹⁾。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 Church⁴²⁾はその限界添加量は 1,000 ppm 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。本実験ではメソ羊の体重 50 kg の場合、プロピオン酸カルシウムで 197 g, カルシウムとして 30 g の添加量となる。第一胃容積を20リットルと仮定すると 1,500 ppm 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、1,800 ppm の添加量と

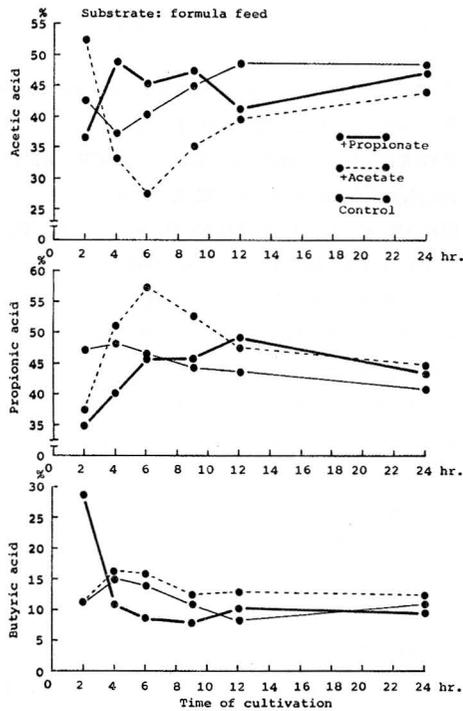


Fig. 2-5. Change in composition of VFA production from formula feed *in vitro* in the VFA salts feeding.

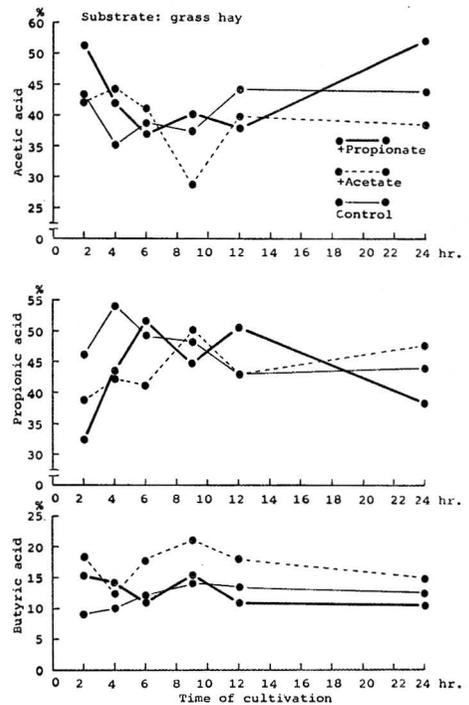


Fig. 2-6. Change in composition of VFA production from grass hay *in vitro* in the VFA salts feeding.

なり毒性限界を大幅に越えていた。これらの VFA 塩の 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, 本実験で水素添加能と VFA 産生能が低下した原因は, 浸透圧の測定は行なっていないが, 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。

プロピオン酸塩給与によるプロピオン酸の, また酢酸塩給与による酢酸の発酵が適応して促進される現象は見られなく, これらの VFA 塩給与は産生する 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。プロピオン酸塩給与が酢酸塩給与より C₁₈:1 から C₁₈:0 脂肪酸に変換する能力が若干劣っていたが, 田中⁴³⁾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, この原因については今後の検討課題である。

既報で²²⁾²³⁾, プロピオン酸塩給与により体脂肪構成脂肪酸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が亢進して体脂肪中の不飽和化酵素が刺激される⁴⁴⁾と考察した。本実験で, 多量にプロピオン酸塩を給与した場合, 体脂肪が不飽和化される²³⁾原因に第一胃内の水素添加能の低下も関係していることも考えられた。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体脂肪が飽和化される傾向にあったこと²³⁾より, 酢酸が第一胃内で優先すると C₁₆:0 や C₁₈:0 の飽和脂肪酸の合成に利用されていることが確認できた。

摘 要

フィステル装着メソ羊 2 頭を用いて濃厚飼料と粗飼料の給与割合と VFA 塩多量給与がルーメン内の水素添加能と VFA 産生能に及ぼす影響を *in vitro* により調べた。

I. 濃厚飼料と粗飼料の給与割合を 8:2, 5.5:4.5, 3:7 として 1 日当たり体重の 3.8% を 2 週間給与した。第一胃液をとり配合飼料または牧乾草粉末にリノール酸 (C₁₈:2 脂肪酸) を加えたものを基質として, 不飽和脂肪酸が飽和化される過程を 24 時間にわたり調べた。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。濃厚飼料と粗飼料を多給した胃内溶液を用いた場合, VFA 産生量は配合飼料または牧乾草のいずれを基質としても低下し

た。

II. 濃厚飼料と粗飼料の給与割合 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% を 2 週間添加給与して, I. と同様に不飽和脂肪酸が飽和化される過程を調べた。VFA 塩給与により水素添加能が低下し, 特にプロピオン酸塩給与により C₁₈:1 から C₁₈:0 脂肪酸の変換が著しく鈍った。VFA 産生量も VFA 塩を添加給与した胃内溶液を用いた場合に低下した。しかし, 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

本研究を遂行するにあたり, 東北大学農学部津田恒之教授と佐々木康之助教授には貴重な御助言を賜わった。また, 実験に際しては山形大学農学部萱場猛夫助教授, 同大学附属農場太田三郎助手と畜産部技官諸氏には多大な御協力を得た。

ここに厚く感謝の意を表する。

引用文献

- 1) DAWSON, R. M. C. and P. KEMP, *Biochem. J.*, 115: 351-352. 1969.
- 2) HARFOOT, C. G., R. C. NOBLE and J. H. MOORE, *Biochem. J.*, 132: 829-832. 1973.
- 3) HAWKE, J. C. and W. R. SILCOCK, *Biochim. Biophys. Acta.* 218: 202-212. 1970.
- 4) POLAN, C. E., J. J. MCNEIL and S. B. TOVE, *J. Bacteriol.*, 88: 1056-1064. 1964.
- 5) REISER, R., *Fd. Proc.*, 10: 236. 1951.
- 6) SHORLAND, F. B., R. O. WEENINK and A. T. JOHNS, *Nature, Lond.*, 175: 1129-1130. 1955.
- 7) SHORLAND, F. B., R. O. WEENINK, A. T. OHNS and I. R. C. MCDONALD, *Biochem. J.*, 67: 328-333. 1957.
- 8) TANAKA, K. and H. HAYASHI, *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 42: 582-592. 1971.
- 9) 田中桂一・林 英夫, 日畜会報, 43: 20-25. 1972.
- 10) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 143-147. 1973.
- 11) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 212-215. 1973.
- 12) 田中桂一・清水良三・林 英夫, 日畜会報, 44: 278-279. 1973.

- 13) WARD, P. F. V., T. W. SCOTT and R. M. C. DAWSON, *Biochem. J.*, 92 : 60-68. 1964.
- 14) WATANABE, Y., T. KYUMA and H. MURAI, *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 40 : 390-396. 1969.
- 15) WOOD, R. D., M. C. GRANGES and R. A. TEEKEL, *J. Nutr.*, 79 : 62-68. 1963.
- 16) WRIGHT, D. E., *Nature, Lond.* 185 : 546-547. 1960.
- 17) CHACKO, G. K. and E. G. PERKINGS, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 42 : 1121-1124. 1965.
- 18) CHRISTIE, W. W. and J. H. MOORE, *J. Sci. Fd. Agric.*, 22 : 120-124. 1971.
- 19) GARTON, G. A. and W. R. H. DUNCAN, *Br. J. Nutr.* 23 : 421-427. 1969.
- 20) GILLIS, A. T., N. A. M. ESKIN and R. C. CLIPLEF, *J. Fd. Sci.*, 38 : 408-411. 1973.
- 21) 高橋敏能, *日畜会報*, 55 : 13-19. 1984.
- 22) 高橋敏能・太田三郎, *日畜会報*, 56 : 711-719. 1985.
- 23) 高橋敏能・斎藤常幸・伊藤浩之・太田三郎・萱場猛夫, *日畜学会第77回講演要旨*, 99. 1985.
- 24) LENG, R. A., *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, 406-421. Oriel Press. Newcastle upon Tyne. 1970.
- 25) WRIGHT, D. E., *Nature, Lond.* 184 : 875-876. 1959.
- 26) MCDUGALL, E. I., *Biochem J.*, 43 : 99-109. 1948.
- 27) FOLCH, J., M. LEES and G. H. SLOAN-STANLEY, *J. Biol. Chem.*, 226 : 497-509. 1957.
- 28) 中村亮八郎, *新飼料学下*. 244-246. チクサン出版社. 東京. 1981.
- 29) CZERKAVSKI, J. W., K. L. BLAXTER and F. W. WAINMAN, *Br. J. Nutr.*, 20 : 349-362. 1966.
- 30) DAWSON, R. M. C. and P. KEMP, *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, 509-518. Oriel Press. Newcastle upon Tyne. 1970.
- 31) 板橋久雄, *ルーメンの世界*. 430-457. 農山漁村文化協会. 東京. 1985.
- 32) VIVIANI, R., A. R. BORGATTI and G. CRISTIG, *Nuova Vet.*, 43 : 6-11. 1967.
- 33) BERGMAN, E. N., R. S. REID, M. G. MURRAY, J. M. BROCKWAY and F. G. WHITELAW, *Biochem. J.*, 97 : 53-58. 1965.
- 34) LENG, R. A. and G. J. LEONARD, *Br. J. Nutr.*, 19 : 469-483. 1965.
- 35) GRAY, R. V., *Aust. J. Agr. Res.*, 18 : 625-634. 1967.
- 36) 中村亮八郎, *新飼料学下*. 86-95. チクサン出版社. 東京. 1981.
- 37) 岡本全弘・広瀬可恒, *日畜会報*, 43 : 499-505. 1972.
- 38) BARNETT, A. J. G. and R. L. REID, *J. Agr. Sci.*, 49 : 180-183. 1957.
- 39) 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.
- 40) BRYANT, M. P., I. M. ROBINSON and H. CHU, *J. Dairy Sci.*, 42 : 1831-1847. 1959.
- 41) 上坂章次・川島良治・善林明治, *京大食研究報告*, 29 : 21-32. 1966.
- 42) MARTINEZ, A. and D. C. CHURCH, *J. Anim. Sci.*, 31 : 982-990. 1970.
- 43) 田中桂一, *日畜会報*, 45 : 307-318. 1974.
- 44) 山本 清, *ホルモンと脂質の代謝*. 79-81. 共立全書. 東京. 1982.

Summary

This study was carried out to examine the effects of ratio of concentrate to roughage and large amount of VFA salts feeding on the ability of biohydrogenation and VFA production in sheep rumen liquor *in vitro*.

1. Two sheep fitted with rumen fistula were fed for two weeks with the mixture rations of formula feed and grass hay in the ratios of 8 : 2, 5.5 : 4.5 and 3 : 7, equivalent in weight to 3.8% of its live weight. The process of saturation of unsaturated fatty acids was investigated for 24 hours using rumen liquor to which substrate of formula feed or grass hay to linoleic acid (C₁₈:₂ fatty acid) was added. The higher the ratios of concentrate to roughage in both the substrates, the ability of biohydrogenation to unsaturated fatty acids was lower, especially the conversion of C₁₈:₁ to C₁₈:₀ fatty acid which became remark-

ably dull. In both the cases of over fed concentrate or roughage, VFA production was lower on the occasions of using the substrates of formula feed and grass hay.

2. After two sheep were fed for two weeks on a ration of formula feed and grass hay in the ratio of 5.5 : 4.5 to which was added 20% energy level of Ca-propionate or Ca-acetate for fattening, the process of saturation or unsaturated fatty acids was similarly investigated for 24 hours. The ability of biohydrogenation was lower with VFA salts feeding, especially in case of propionate feeding the conversion of C₁₈:₀ fatty acid was considerably weakened. Amount of VFA production decreased with VFA salts feeding. However the relation between the proportion of each VFA and biohydrogenation was not clear.