

1 新技術情報 その1

反芻家畜糞中リン排泄軽減化に関する研究

京都大学農学研究科応用生物科学専攻 矢野秀雄

1. はじめに

家畜の飼料中には単胃家畜が利用できないフィチン態リンが多く存在している。単胃家畜においてはフィチン態リンの利用性改善により排泄物中のリンを軽減化する様々な方法が開発されており、現在フィターゼ等の利用が実際に行われている。一方、反芻家畜におけるフィチン態リンの利用性は不明な点が多い。過去に飼料中フィチンは反芻胃内でほぼ完全に分解されることが報告されていたため、反芻家畜の飼料中フィチンの存在は考慮されてこなかった。しかし、我々のナイロンバッグ法を用いた先の試験では、メンヨウ反芻胃内における油粕中のフィチンの分解性は80%であることが示された。また、飼料タンパク質を効率よく利用させることを目的として、反芻胃内におけるタンパク質分解性を抑制する加熱やフォルムアルデヒドによる「バイパス処理」が行われているが、これらバイパス処理を行うとフィチンの反芻胃内分解性は30%にまで低下することが明らかとなった。しかし、これらの試験では、ナイロンバッグ中の飼料粒子から溶出したフィチン量を測定することによりフィチン分解性を求めており、溶出したフィチンが反芻胃内で完全に分解されると仮定している。そのため、反芻胃内非分解性フィチン量を過小評価している可能性があるが、反芻胃内で分解されないフィチン量を直接検討した報告はない。そこで、第一試験ではメンヨウに非加熱または加熱処理を行ったナタネ粕を給与し、十二指腸に流下するフィチンを測定した。

近年、ラットやブタの小腸上皮細胞はフィチン分解酵素活性を有することが示されており、この酵素活性はフィチンにより誘導されることが示唆されている。そこで、メンヨウの十二指腸に流下したフィチンも部分的には分解され、フィチン態リンが利用される可能性も考えられる。そこで、第二試験では、メンヨウの各消化管内におけるフィチンの分解を検討した。

反芻家畜において小腸に流下したフィチン態リンは利用性が低いと考えられるので、リン利用性の高いバイパス飼料の開発が不可欠となる。我々は大豆粕に対して麹菌による発酵処理を施すことにより、タンパク質栄養に影響を及ぼさずほぼ完全にフィチンを分解できることを報告しており、またこの発酵処理大豆粕はブタやニワトリにおいて高いリン利用性を示すことを明らかにしている。そこで、第三試験では発酵処理した大豆粕に加熱処理を行い、そのタンパク質の反芻胃内分解性をナイロンバッグ法により検討し、反芻家畜に適したリン利用性が高く、かつ反芻胃内非分解性タンパク質が多い飼料の開発を試みた。

第一試験

ナタネ粕の加熱処理がメンヨウ十二指腸に流下するフィチンに及ぼす影響

材料および方法

ナタネ粕は通風乾燥器内で133°Cまたは143°Cで3時間加熱処理を行った。体重約50 kgの4頭の雌メンヨウに対して幽門部の下方約5 cmにT型カニューレを装着した。メンヨウは3期×3処理の反転試験にランダムに割り当て、体重当たり0.85%量の非加熱ナタネ粕飼料(対照区)、133°C加熱ナタネ粕飼料(133区)または143°C加熱ナタネ粕飼料(143区)を12時間間隔で2回給与した。通過速度のマーカーとして非吸収性のイッテルビウム(Yb)で標識したナタネ粕を用いた。

7日間の馴致の後に飼料給与30分、1、3、5、7、9および11時間後に十二指腸内容物をカニューレから2日間連続して採取した。内容物は凍結乾燥を行い-20°Cで保存した。

ナタネ粕および十二指腸内容物中のフィチン(イノシトール-六リン酸;IP6)ならびにその代謝産物であるイノシトール-五リン酸(IP5)、イノシトール-四リン酸(IP4)、イノシトール-三リン酸(IP3)を高圧液体クロマトグラフィー法により測定した。Yb標識飼料および消化管内容物中Ybは硝酸・過塩素酸により灰化した後にICP発光分析法により測定した。

各IPの1日当たりの十二指腸流下量は下記の式を用いて算出した。

IP流下量 = (十二指腸内容物平均IP濃度 / 十二指腸内容物平均Yb濃度) × (Yb摂取量)

総IPs態リンは各IPモル量にそれぞれに含まれるリンのモル数を乗じて算出した。

### 結果および考察

加熱処理によりナタネ粕中IP6含量は減少したか、IP5およびIP4含量は増加した(表1)。この結果は加熱処理により部分的なIP6の分解が生じていることを示している。このため、加熱処理により総IPs態リンは減少した。この結果は以前の我々の報告と一致した。しかしながら、この減少は8%とわずかであり、ほとんどリン利用性には影響を及ぼさないと考えられた。

IP6ならびに他のIPsは非加熱ナタネ粕を給与したメンヨウの十二指腸内容物で認められ、摂取した総IPs態リンの22%が十二指腸で回収された(表2)。ナイロンバッグを用いた先の試験では非加熱ナタネ粕中フィチンの約37%が反芻胃内における分解を受けずに、下部消化管へ流入することが示唆されており、若干本試験の方が低めであった。

加熱処理はIP3以外のIPsの十二指腸流下量を増加した。133区における総IPs態リンの十二指腸流下量はその摂取量の約37%であり、143区では摂取量の約55%となった。これらの結果から、十二指腸へ流下する総IPs態リン量は加熱処理による反芻胃内タンパク質分解抑制のため増加することが示唆された。

表1 加熱処理がナタネ粕中イノシトールリン酸含量に及ぼす影響(μmol/g 乾物)

	IP6	IP5	IP4	IP3	IPP
非加熱	38.05	3.40	ND	ND	245.3
133°C処理	30.75	8.75	1.00	ND	232.3
143°C処理	28.25	10.40	1.25	ND	226.5

IP3, IP4, IP5, IP6 : イノシトール-三、-四、-五、-六リン酸  
 IPP : イノシトールリン酸態リン  
 ND : 検出限界以下

表2 非加熱ナタネ粕または加熱処理ナタネ粕を給与されたメンヨウの十二指腸に流下するイノシトールリン酸およびイノシトールリン酸態リン(μmol/day kg live weight)

	IPP摂取	十二指腸に流下したイノシトールリン酸				
		IP6	IP5	IP4	IP3	IPP
非加熱	382.4	10.35a	2.21a	0.63a	2.25	82.4a
133°C処理	367.7	14.87a	6.48a	2.04b	2.14	136.2a
143°C処理	360.0	20.14b	10.81b	3.64c	2.81	197.9b
SEM		1.55	0.82	0.28	0.30	14.3

IP3, IP4, IP5, IP6 : イノシトール-三、-四、-五、-六リン酸  
 IPP : イノシトールリン酸態リン  
 abc : P < 0.05  
 ND : 検定せず

### 第二試験

ナタネ粕を給与したメンヨウ消化管各部位におけるフィチンの分解材料及び方法

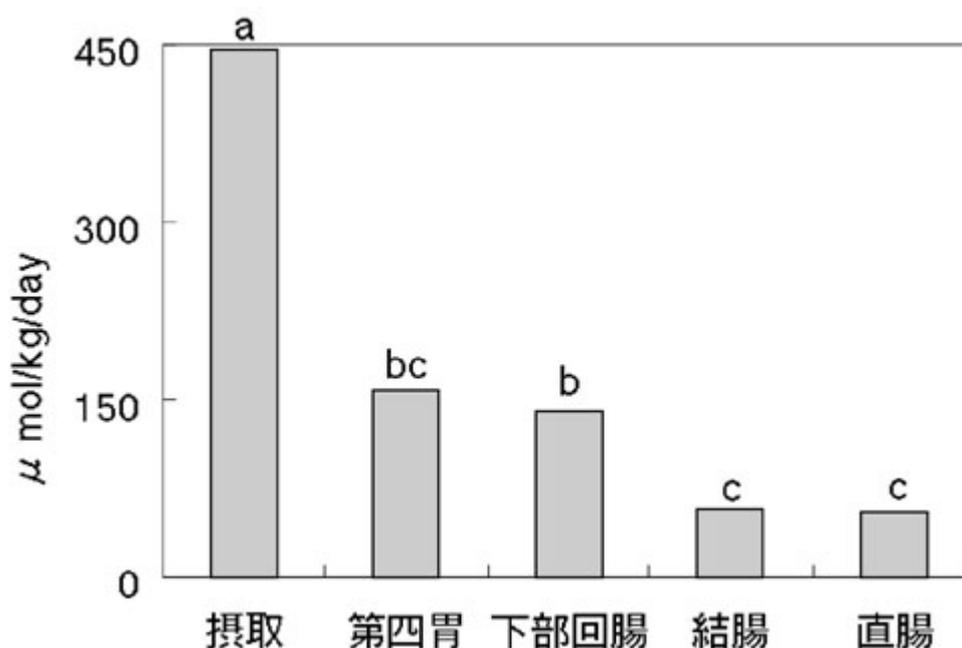
50%チモシー乾草、23%デンブンならびに20%ナタネ粕からなる飼料を調製した。なお、ナタネ粕の1%はYbにより標識した。この飼料中のフィチンはほとんどがナタネ粕由来であった。これら

の飼料を体重約50 kgの3頭の雌メンヨウに一日当たり体重の1.6%を、2時間間隔で給与した。5日間の給与の後に動物をと殺し、第四胃、下部回腸、上行結腸、直腸から内容物を採取した。消化管各部位の総IPs態リンならびにYb量を測定し、各消化管における1日当たりの総IPs態リン通過量を第一試験と同様の方法で求めた。

### 結果及び考察

第四胃に達する総IPs態リンは摂取量の約30%であり、ナタネ粕中フィチンの70%が反芻胃内で分解されることが示された(図1)。第四胃と下部回腸を通過する総IPs態リンは差が認められないことから、メンヨウの小腸ではフィチンは分解されないことが示唆された。一方、下部回腸と比較し、直腸に達する総IPs態リンは著しく少なく、大腸では流入した総IPs態リンの約60%が消失することが明らかとなった。結果として、メンヨウでは摂取したフィチン態リンの約10%が糞中に排泄された。そこで反芻胃内と同様に大腸内においても消化管微生物の作用によりフィチンは分解されることが示唆された。反芻家畜では大腸でリンはほとんど吸収されないことが報告されていることから、大腸においてIPsの分解から生じる無機リンは利用されないことが示唆された。これらより、油粕中フィチン態リンの利用性は70%程度であることが考えられる。

反芻家畜の糞中リン排泄を低減させるには、飼料中リン量を最低限とする必要がある。この場合には、飼料中リンの利用性を考慮しないとリン欠乏を生じる可能性があることが示唆された。



abc: 異なる文字間で有意差あり(P<0.05)

図1 ナタネ粕を給与したメンヨウにおける消化管各部位の総イノシトールリン酸態リンの通過量

### 第三試験

加熱処理が反芻胃内における発酵大豆粕のタンパク質分解性に及ぼす影響

#### 材料及び方法

市販の大豆粕を麹菌 (*Aspergillus usarii*) 発酵処理を施した。次いで、大豆粕ならびに発酵大豆粕を通風乾燥器内で用い135°C・3時間の加熱処理を行った。これらを粉碎し2mmのふるいにかかけ供試試料とした。

第一胃フィストラを装着した交雑種雌メンヨウ3頭(体重約60 kg)を用い、5gの供試試料を口径30 μmのナイロンバッグ内に入れた後にフィストラから第一胃内に挿入し、3、6、24、48、72時間培養を行った。採取したナイロンバッグは流水中で洗浄の後に分析に供した。試料の粗タンパク質含量はケルダール法により分析した。また、飼料中フィチン態リン濃度ならびに酸性デタージェント不溶粗タンパク質を分析した。

ナイロンバッグからの粗タンパク質消失と培養時間との関係をOrskovらの方法を用いて、各パラ

メーターを算出した。さらに、試料の反芻胃内通過速度を0.05/時間として、粗タンパク質の有効分解性(Effective degradability)を求めた。

### 結果及び考察

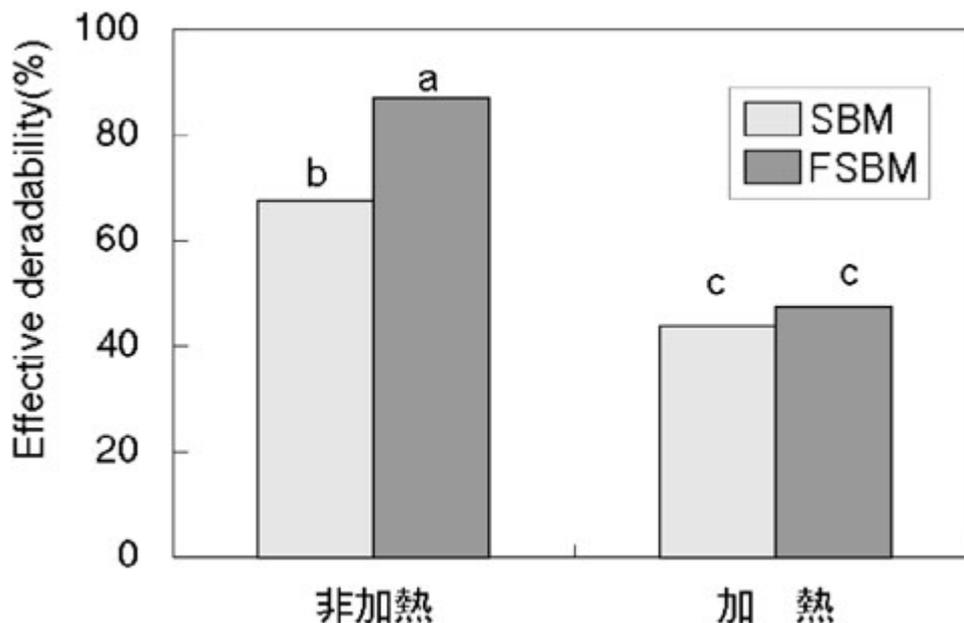
大豆粕中には約0.5%のフィチン態リンが存在していたが、発酵処理によりほぼ完全にフィチンは分解された(表3)。大豆粕においても発酵大豆粕においても酸性デタージェント不溶粗タンパク質含量は加熱処理により増加した。しかしながら、最も酸性デタージェント不溶粗タンパク質が増加した加熱処理発酵大豆粕においても、酸性デタージェント不溶粗タンパク質含量は総粗タンパク質の5%程度であり、本試験で行った加熱処理による酸性デタージェント不溶粗タンパク質の増加はタンパク質の小腸における消化吸収に大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

大豆粕中粗タンパク質の反芻胃内分解性は発酵処理により促進され、加熱処理により抑制された(図2)。一方、加熱処理の効果は特に発酵大豆粕で顕著であり、加熱処理を行うと未発酵大豆粕と発酵大豆粕の反芻胃内分解性の差は消失した。

これらの結果から、フィチンを含まない発酵大豆粕においても加熱処理は著しく反芻胃内におけるタンパク質分解性を抑制することが明らかとなった。先の試験において大豆粕の発酵処理は可溶無窒素物以外の一般成分に大きな影響を与えず、また、アミノ酸組成も変化しないことが示されている。そこで、本研究により開発した加熱処理発酵大豆粕は、反芻家畜においてフィチンを含まない、有効リン含量の高い「バイパス」飼料として利用可能であることが推察された。

表3 加熱処理が通常の大豆粕ならびに発酵処理大豆粕の粗タンパク質含量、酸性デタージェント不溶粗タンパク質(ADIN)ならびにフィチン態リン含量に及ぼす影響

処 理	粗タンパク質	ADIN	フィチン態リン
大豆粕			
非加熱	49.03	3.77	0.49
加 熱	48.75	4.18	0.44
発酵処理大豆粕			
非加熱	55.67	3.98	0.08
加 熱	54.49	5.62	0.01
% (風乾物当たり)			



発酵処理の効果:  $P < 0.01$   
加熱処理の効果:  $P < 0.01$   
交互作用:  $P < 0.01$   
abc: 異なる文字間で有意差あり ( $P < 0.05$ )

図2 加熱処理が通常の大豆粕(SBM)または発酵処理大豆粕(FSBM)中粗タンパク質の反芻胃内分解性に及ぼす影響

### まとめ

反芻家畜においても油粕中フィチン態リンは完全に利用されることはなく、特にバイパス処理を行うと、反芻胃内のフィチン分解性は著しく低下した。反芻家畜のリン排泄を低減するにはリン摂取量を要求量下限とすることが有効である。しかし、その場合には飼料中リン利用性を考慮する必要があり、反芻家畜においても飼料設計に当たり有効リンの概念を導入する必要があると考えられた。麹菌発酵により脱フィチン化が可能であり、発酵処理した大豆粕にする加熱処理は飼料中粗タンパク質のバイパス性を通常の大豆粕と同程度高めることが示された。この飼料は反芻家畜において利用性の高いリンを含む「バイパス」飼料として利用可能であると考えられた。

### 今後の課題

本試験はメンヨウの消化管に流下するフィチン量からその利用性を評価したが、ウシにおけるリン出納を調べ、油粕ならびにバイパス処理油粕中リンの利用性を明らかにする必要がある。また、ナイロンバッグ法により加熱処理発酵大豆粕の有効性を検討したが、この飼料の有効性もウシを用いた実証的な検討が必要である。