

**原 著**

## サイレージ主体 TMR 給与の乳牛における乳汁のアセトン、 3-ヒドロキシ酪酸およびアルコール濃度

藤 木 なつみ・佐 藤 博

(酪農学園大学獣医学部生産動物医療学教室)

### 要 約

アセトン、3-ヒドロキシ酪酸 (3-HB)、第一胃発酵に由来するイソプロパノールおよびエタノールの乳汁中濃度を検討するため、初産乳牛20頭から116点、経産牛30頭から158点の乳汁を採取した。供試牛にはサイレー

ジと配合飼料が主体の混合飼料 (TMR) を自由採食させ、TMR の発酵品質も測定した。アセトン、3-HB、イソプロパノールおよびエタノール濃度の全平均はそれぞれ0.09、0.04、0.03および0.27mMであったが、乳汁アセトンは初産、経産牛とも分娩直後の移行期に高く、逆に3-HBは泌乳後期に高い傾向を示した。イソプロ

パノールの検出例は少ないが、泌乳初・後期（初産）あるいは中期（経産）に高かった。乳汁エタノール濃度には乳期による差を認めなかった。約10週間の調査中における TMR は良好であった（平均で乳酸 1.1%・原物、V スコア=93点）。

## 緒 論

乳牛においてケトーシスは重大な代謝病であり、体液中にケトン体（アセトン、3-ヒドロキシ酪酸（3-HB）、アセト酢酸）が異常に増加している。明瞭な臨床症状をきたさない非臨床的（以下、潜在性とする）ケトーシスにおいてもケトン体上昇がみられ、泌乳量の減少や他の疾病を誘発している（Gustafsson ら1996）。潜在性ケトーシス判定の指標として一般に血液3-HB濃度が用いられ、1.2（あるいは1.4）mM がカットオフ値とされている（Clark ら2005、Enjalbert ら2001、Geishauser ら2000）。乳汁3-HB用の試験紙もあるが、コスト面の問題や定量性に欠けるなどデータの相互比較などには困難が多く、乳汁3-HBについて明瞭なカットオフ値は確立されていない。いっぽう、アセトンは血液と乳汁中の濃度が近似しており（Andersson 1984）、最近では乳汁アセトン濃度への関心が高まっている（Cook ら2001、Gustafsson ら1996、Reist ら2003）。

乳牛飼養では第一胃発酵はもとより食品副産物やサイレージの給与など発酵産物への依存が高い。揮発性脂肪酸（VFA）が反芻動物の主要エネルギーであることに加えて多くのエネルギーがエタノールから供給される場合もあり、高泌乳牛でエタノールの大量摂取は肝臓への負担を高めるとも指摘されている（Jean-Blain ら1992）。また、第一胃内ではイソプロパノールも生産されて容易に吸収されるが（筒井ら2005）、乳牛の血液あるいは乳汁のアルコール濃度については情報が少ない。本報告はサイレージ主体の TMR 飼養の牛群における乳汁中のケトン体、エタノールおよびイソプロパノール濃度を飼料発酵品質とあわせて予備的に調査したものである。

## 材料および方法

### 動物と飼料：

酪農学園大学附属農場で飼養されている健康な泌乳牛を用いた。高および低泌乳群に分けフリーストール牛舎で飼養し、パーラーで2回搾乳した。これらの牛群には混合飼料（TMR）を自由採食させ、その割合は1頭あたりトウモロコシ主体のサイレージが約40kg、配合飼料その他が15kg弱であった。

### 試料採取：

乳汁試料は高泌乳牛群の前搾り乳とし、約10週間にわたって週1回ずつ20頭以上から採取したが、必ずしも常に同一個体ではなかった。結果的に延べ50頭（ホルスタイン種47頭、ジャージー種3頭）からの採材となり初産20頭、経産30頭であった。試料数は初産牛から116点、経産牛から158点の計274点であり、異常乳は含まなかった。乳汁採取時に延べ10点の TMR を採取し、直ちに水で抽出して pH、有機酸、エタノール、アンモニアの分析に供した。別途、乾物率を測定した後に窒素分析用の粉碎試料も準備した。

### 分析方法：

採取乳汁を直ち（概ね1時間以内）に過塩素酸で除蛋白処理した後の遠心上清、および全乳試料の一部を凍結保存した。後日、上記の除蛋白上清を用いてアセトン、イソプロパノール、エタノールをガスクロマトグラフィー法で分析した（筒井ら 2005）。また、全乳を用いて Somogyi 除蛋白後に酵素発色法で3-HBを測定した（Boehringer 製907979）。TMRの抽出液を用いて乳酸、VFA、アンモニアを測定し（柁木ら 1994）、エタノールは乳汁と同様に分析した。TMRの乾燥・粉碎試料の窒素をケルダール法で分析し、これに水抽出によるアンモニア窒素量を加えて全窒素とした。

### データ解析と統計処理：

乳汁データを初産、経産ごとに、さらに以下の4乳期（ステージ）に分けた。分娩後3週までを移行期、その後10週までを初期、その後20週までを中期、20週以降を後期とした。また、乳量データは原則として採材前後3日間の平均とした。4ステージ間での比較は Kruskal Wallis 検定および Scheffe の対比較の組合せによった（エクセル統計2004）。

## 結 果

給与 TMR の発酵品質を表1に示した。pH は4.4~4.9、原物当たりの乳酸は0.9~1.2%、酢酸+プロピオン酸は0.2~0.4%、酪酸は0.02~0.19%、エタノールは0.09~0.25%、全窒素中のアンモニア-Nの割合は2.2~4.3%であった。これを V スコア配点（柁木ら1994）により評価すると、平均で100点満点の93点で、発酵品質は良好であった。

表2に初産と経産に分けて乳汁分析値の平均、検出率、さらに乳量を乳期別に示した。アセトンの検出率は初産

表1 給与した TMR の発酵品質

	pH	原 物 あ た り %						NH <sub>3</sub> -N /全 N*	発酵評価 (V スコア)
		水 分	NH <sub>3</sub> -N	乳 酸	酢酸+ プロピオン酸	酪 酸	エタノール		
平 均	4.60	56.2	0.028	1.05	0.29	0.09	0.16	0.031	92.6
SD	0.15	2.2	0.009	0.11	0.05	0.07	0.05	0.007	5.8
最 大	4.85	47.2	0.044	1.23	0.38	0.19	0.25	0.043	98
最 小	4.40	40.8	0.020	0.92	0.23	0.02	0.09	0.022	84

10例の TMR を分析、\*揮発性アンモニアを補正した全 N

表2 初産および経産牛の乳汁アセトン、3-ヒドロキシ酪酸 (3-HB)、イソプロパノールおよびエタノール濃度

初 産 (20頭)						経 産 (30頭)					
乳 期*	乳 量 (kg/日)	アセトン (mM)	3-HB (mM)	イソプロ パノール (mM)	エタノール (mM)	乳 期*	乳 量 (kg/日)	アセトン (mM)	3-HB (mM)	イソプロ パノール (mM)	エタノール (mM)
移行期 平均	25.6 <sup>a</sup>	0.180	0.026	0 <sup>a</sup>	0.334	移行期 平均	30.8 <sup>ab</sup>	0.132	0.020 <sup>a</sup>	0.021	0.249
(n=27) SD	4.6(n=23)	0.399	0.020	0	0.481	(n=14) SD	5.7(n=11)	0.145	0.009	0.068	0.273
初 期 平均	31.2 <sup>b</sup>	0.071	0.026	0.058 <sup>bc</sup>	0.207	初 期 平均	37.5 <sup>a</sup>	0.061	0.040 <sup>ab</sup>	0.006	0.214
(n=17) SD	3.4	0.083	0.024	0.126	0.166	(n=38) SD	7.2	0.106	0.029	0.019	0.240
中 期 平均	31.7 <sup>bc</sup>	0.077	0.028	0.038 <sup>ab</sup>	0.256	中 期 平均	33.7 <sup>a</sup>	0.064	0.043 <sup>bc</sup>	0.048	0.301
(n=20) SD	3.0	0.090	0.026	0.117	0.261	(n=42) SD	8.8	0.066	0.024	0.101	0.315
後 期 平均	28.7 <sup>a</sup>	0.100	0.035	0.062 <sup>bc</sup>	0.294	後 期 平均	28.5 <sup>b</sup>	0.058	0.071 <sup>cd</sup>	0.011	0.261
(n=52) SD	4.2	0.094	0.022	0.143	0.261	(n=64) SD	5.5	0.060	0.053	0.032	0.278
全 期 (n=116)	検出率(%)	71	100	24	92	全 期 (n=158)	検出率(%)	66	100	17	93

\*: 移行期 <分娩後3週、初期 3週<~≤10週、中期 10週<~≤20週、後期 20週<~

a、b、c、d: 初産、経産ごとに各項目の異文字には乳期間の差あり(p<0.05)

71%、経産66%と高かった。その多くは0.1mM以下であったが、初産、経産とも0.2~0.3mMに達する例もあった。しかし、イソプロパノールの検出率は低く、それは初産24%、経産17%であった。初産、経産ともに3-HBの検出率は100%であった。また、濃度的には移行期を除いて初産よりも経産で3-HBが高い傾向にあった。乳汁エタノールも初産92%、経産93%と検出率が高く、今回の4成分中で最も高い濃度であった。

図1では初産、経産牛の乳期別にアセトン、3-HB、イソプロパノール、エタノール濃度、そして乳量を比較した。3-HBには初産、経産ともに乳期が進むにつれて高まる傾向がみられた。イソプロパノールの検出率は低かったが、検出された例では泌乳初期と後期(初産)、中期(経産)に高かった。エタノールには乳期差がほとんど見られなかった。

## 考 察

### 1. 乳汁アセトン

アセトン濃度の平均は初産牛で0.07~0.18mM、経産牛で0.06~0.13mMであった(表2)。アセトン濃度は乳汁と血液とで近似といわれる(Andersson 1984)。このため、潜在性ケトーシスの診断においては乳汁アセトンへの信頼性が高まっており(Clarkら2005、Dirksenら1993)、潜在性ケトーシスの乳汁アセトンの下限は約0.14mM(Clarkら2005)や0.16mM(Enjalbertら2001)ともいわれる。これらのレベルを境界とすれば、今回の牛にも潜在性ケトーシス例が含まれていた可能性も考えられる。しかしながら、フィールドでの成績(乳量や繁殖)なども考慮して、乳汁アセトンのカットオフ値としてはやや高い0.4mM(Anderssonら1985、Cookら2001、Reistら2003)や0.7mM(Gustafssonら1996)の数値も提案されている。

### 2. 乳汁3-HB

血液3-HB濃度のカットオフ値は1.2(あるいは1.4)mMであるが、乳汁3-HBにも広く関心がよせられて

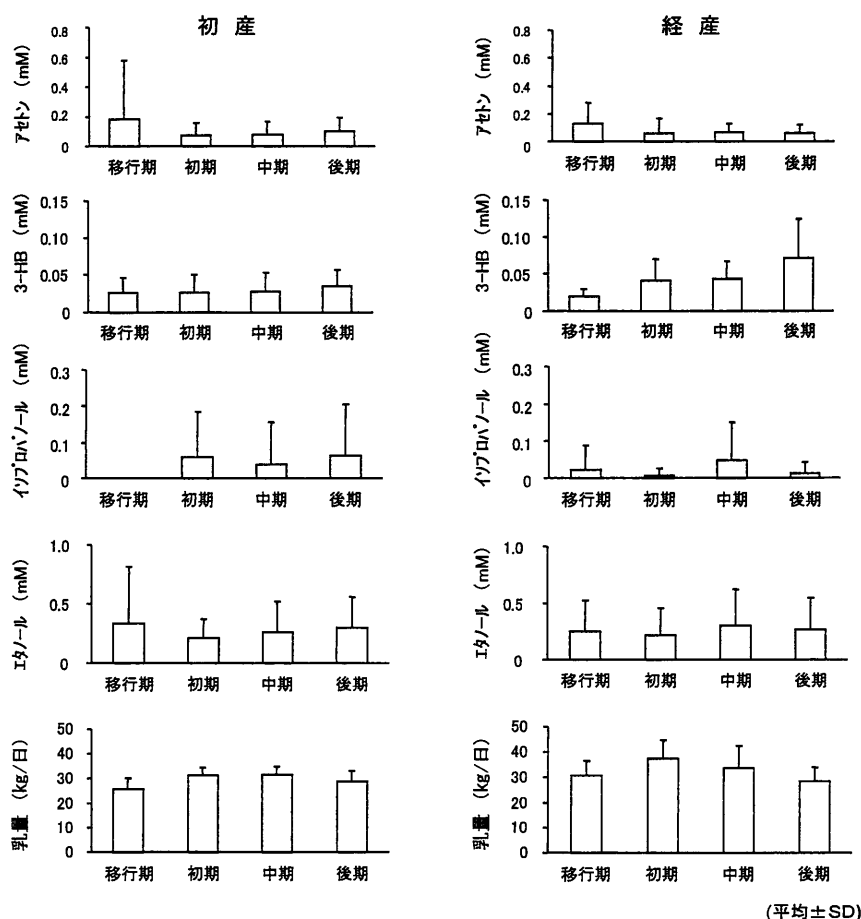


図1 初産および経産牛の乳汁アセトン、3-ヒドロキシ酪酸(3-HB)、イソプロパノールおよびエタノール濃度乳期：移行期、＜分娩後3週：初期、3週＜～≤10週：中期、10週＜～≤20週：後期、20週＜～

きた(Enjalbert ら2001、Geishauser ら1997、2000、Nielen ら1994)。今回の乳汁3-HB (0.02～0.07mM；表2)は健康牛の血液3-HB濃度(Enjalbert ら2001、Geishauser ら2000、Nielsen ら2003)に比べて非常に低く、血液の約1/10程度といえる。

正常乳汁での主要ケトン体は3-HBであるが、ケトシスの病態進行につれて他のケトン体が増加して3-HB比率は低下している(Thin ら1953)。例えば、ケトシス診断においては乳汁の3-HBおよびアセトンともに感度は高いが、3-HBの特異度はアセトンより劣るといわれる(Cook ら2001)。また、血液と乳汁間での3-HB濃度の相関は一般に低く(Andersson 1984、Clark ら2005)、その理由として乳脂肪合成のために3-HBが乳腺で消費されることも考えられる。以上のことから乳汁3-HBのカットオフ値については0.1mM前後が検討されている(Enjalbert ら2001、Geishauser ら2000)。本実験でも殆ど全ての乳汁3-HBは0.2mM以下であり、それ以上の例は初産牛で3点、経産牛で17点であった。

乳汁3-HBはアセトンとは逆に泌乳後期に高かった。

3-HBは肝臓のみならず酪酸を原料にして第一胃壁でも合成される。乳期進行にともなう乳汁3-HBの上昇には採食・第一胃発酵の増進、さらに後期においては乳腺での3-HB利用の減退によることも考えられる。

### 3. 乳汁イソプロパノール

イソプロパノールの検出率は他に比べると低く初産、経産とも25%以下であったが、一部では高濃度例もみられた。給与TMRの分析ではイソプロパノールは一部で痕跡程度か、あるいは全く検出されなかった。今回は第一胃液を分析していないが、第一胃内でアセトンからイソプロパノールが産生され(筒井ら2005)、一部が乳汁に移行したものと考えられる。

### 4. 乳汁エタノール

平均的にエタノールは0.2～0.3mMであり、乳期や産次による差は明瞭でなかった。Jean-Blain ら(1992)によると発酵飼料が給与されている動物であっても血液エタノールが5.4mM (0.25g/L)以上にならないとされる。事実、今回の乳汁エタノールも上限の1/10以下

であった。一般に良質発酵のサイレージでは低品質なものにくらべてエタノール含量が高く、また可溶性炭水化物の多い原料ほどエタノール発酵が活発といわれる (Randby ら1999)。今回は調査期間中における給与サイレージの品質変化を小さくするため比較的短期の実験であり、その変動は小さく V スコア (柁木ら1994) に示されるようにサイレージ品質は良好といえる (表1)。

エタノールは水と脂質に易溶性なので生体膜を容易に通過して全身の体液に分布するので、牛乳フレーバーやエネルギー代謝の面から関心がもたれる。飼料由来あるいは胃内発酵によるエタノールは第一胃微生物によって代謝されたり、一部エタノールは吸収されて肝臓に達する (Randby ら1999)。今回の乳牛の平均乾物摂取を22kg (TMR 原物として50kg)/日と仮定すると、概算では約80g/日のエタノールが摂取されたことになる (表1)。乳中濃度から計算される乳汁へのエタノール分泌量は摂取量の約0.5%前後となり、これは以前の報告値0.2~0.3% (Randby ら1999) に概ね近似なものであった。乳汁へのエタノール分泌はフレーバーなど乳質面からも重要課題であり、発酵品質などの異なる飼料条件でさらに調査・研究が必要といえる。

本研究は2006年度酪農学園大学共同研究の一部である。

## 引用文献

1. Andersson, L. 1984. Zbl. Vet. Med. 31 : 683-693.
2. Andersson, L. et al. 1985. Prev. Vet. Med. 3 : 449-462.
3. Clark, C. E. F. et al. 2005. Livest. Proc. Sci. 94 : 199-211.
4. Cook, N. B. et al. 2001. Vet. Rec. 148 : 769-772.
5. Dirksen, G. et al. 1993. J. Vet. Med. A. 40 : 779-784.
6. Enjalbert, F. et al. 2001. J. Dairy Sci. 84 : 583-589.
7. Geishauser, T. et al. 1997. J. Dairy Sci. 80 : 3188-3192.
8. Geishauser, T. et al. 2000. J. Dairy Sci. 83 : 296-299.
9. Gustafsson, A. H. et al. 1996. Anim. Sci. 63 : 183-188.
10. Jean-Blain, C. et al. 1992. Reprod. Nutr. Dev. 32 : 83-90.
11. 柁木 茂彦ら. 1994、79 - 94. 日本草地協会. 東京.
12. Nielen, M. et al. 1994. Can. Vet. J. 35 : 229-232.
13. Nielsen, N. I. et al. 2003. J. Vet. Med. A. 50 : 88-97.
14. Randby, A. T. et al. 1999. J. Dairy Sci. 82 : 420-428.
15. Reist, M. et al. 2003. Am. J. Vet. Res. 64 : 188-194.
16. Thin, C. et al. 1953. J. Comp. Path. 63 : 184-194.
17. 筒井孝太郎ら. 2005. 北獣会誌. 49 : 264.