

牛の消化過程における食物中アミノ酸組成の変化

白鳥聖也¹⁾・保原達¹⁾・泉賢一²⁾

Changes in amino acid composition of feed in digestion process of dairy cows

Seiya SHIRATORI¹⁾, Satoru HOBARA¹⁾ and Kenichi IZUMI²⁾
(Accepted 25 July 2011)

はじめに

牛の第一胃の中では、反芻により食物が入りし噛み砕かれている段階の表層と、噛み砕かれたのち堆積しそのまま細菌などにより分解を受けている深層というように大まかに分けることができる。牛の第一胃でのこうした層化は、自然土壤中で深さによって層位が形成されていること(松中 2003)と外見上類似している。また、分解細菌が多く生息していること、その分解細菌から多くの分解酵素が出ていること、植物由来有機物が分解を受けていることも牛の第一胃と土壌とで類似している。それゆえ、牛の消化過程での物質変化と森林の落葉分解過程での物質変化にも興味深い類似点があるのではないかと考えられる。

では、どのような化学的変化が、牛の胃と土壌中で、具体的に類似するだろうか。分解の進んだ土壌中では、微生物群集が異なってもアミノ酸の組成が非常に似ることが知られており(Isnor and Warman 1990, 荻内ら 2000)、これは細菌などの細胞壁の組成と関係があると考えられている。それゆえ、生息する細菌の種類が異なっても胃と土壌とで有機物分解過程におけるアミノ酸の組成の変化が似ている可能性がある。しかしながら、こうした牛の消化作用と落葉分解に対して比較報告した例はない。

そこで、本研究では牛の食物の消化過程における化学的変化を追い、土壌中における有機物の物質変化と比較を行うことで分解による物質変化の特徴や類似性をとらえようとするを目的とする。特に本研究では土壌での分解過程で普遍性があるといわ

れている(樋口 1981, 1982)アミノ酸に注目する。なお、土壌における分解過程のサンプルは、長野県菅平高原にて採取されたりターバックについて調べた結果(野呂 2011)を用いた。また、アミノ酸については、加水分解性のアミノ酸および抽出可能な遊離性アミノ酸について調べた。

材料と方法

サンプルの採取は、酪農学園大学構内インテリジェント牛舎および放牧地で行った。ここでは、胃にフィステルを形成した牛は搾乳を行う泌乳牛と搾乳を行わない乾乳牛の2種類が飼育されており、それぞれ給餌されている飼料が異なっていた。そこで、泌乳牛と乾乳牛の2パターンの牛について、餌と胃内容物、および糞について調べることにした。胃内容物の採取に関しては、層位の違いを見るために第1胃フィステル周辺を表層、フィステルから腕を限界まで奥まで入れられる地点(深さ約30 cm)を深層とし、また、肛門から手を入れ最初に掴める部分を直腸糞とした。そして、2パターンの牛それぞれについて、餌、第一胃表層、第一胃深層、直腸糞を採取した。

泌乳牛に関する採取にあたっては、まず飼料は牧草にデントコーン等を混ぜ多少発酵された飼料(TMR)が与えられていたので、それを無作為に1掴み分の分量を3繰り返し採取した。そして、第1胃の表層、深層、そして直腸糞をそれぞれ1掴み分の分量を3繰り返し採取した。

乾乳牛は放牧地にて飼育されており、放牧地の青草(牧草)及び牧草を乾燥させた乾草を飼料として与えられていた。牧草地に生えている牧草の種類は

¹⁾ 酪農学園大学環境システム学部生命環境学科生態系物質循環研究室

Department of Biosphere and Environmental Sciences, Biogeochemical Cycles, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学附属農場ルミノロジー研究室

Ruminology, Research Farm, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

チモシー、ペレニアルライグラス、オーチャードグラス、白クローバーなどである。そこで、まず乾草飼料を無作為に1掴み分の分量を3繰り返し、牧草地にて青草飼料を無作為に3地点選び採取した。また、泌乳牛と同じく第1胃表層、深層、そして直腸糞をそれぞれ1掴み分の分量を3繰り返し採取した。

採取したサンプルは、乾燥機にて110℃で48時間以上の乾燥処理後、粉碎機にて粉末状に処理した。処理した各サンプルを約30 mg 量りとり、下記要領にて加水分解性アミノ酸濃度を測定した。まず、量り取ったサンプルをVRT (Vacuum Reaction Tube) 試験管に移し、6 M HClと12 mM アスコルビン酸溶液を加えた後に減圧窒素置換を行い、ヒーターブロックで110℃20時間の加水分解を行った。その後、超純水(MQ)を加えて希釈し15 ml 遠心管に移した後、遠心分離機にて3000 rpmで10分の処理後、上澄み液をエバポレーターにて脱酸した。その後、0.1 M HClを加えた後、超音波洗浄機にて溶解させ、HPLC 前処理用ディスクフィルター(0.45 μm)にて濾過後、AccQ-Tag kit (Waters 社製)による誘導体化を行い、蛍光検出器を付けたHPLC (ポンプ: Waters 1525, 検出器: Waters 2475)を用いてアミノ酸の濃度を求めた。これにより求めた値を重量で割った値を加水分解性アミノ酸濃度とした。また、各サンプルを約25 mg 測りとりNCアナライザーにて各サンプルの全窒素濃度を測定した。

さらに、遊離アミノ酸濃度については、まずサンプル約100 mgを15 ml 遠心管に量りとりMQを10 ml 加え、シェーカーにより200 rpmで2時間の攪拌抽出を行った後、遠心分離機にて3000 rpmで10分の処理を行った。その後、上澄み液をディスクフィルター(0.45 μm)にて濾過後、AccQ-Tag法(Waters 社製)によるプレカラム誘導体化を行い、蛍光検出器を付けたHPLC (Waters 1525, Waters 2475)を用いてアミノ酸の濃度を求めた。

加水分解性および遊離アミノ酸は、16種類のアミノ酸について分析を行った。

引用したリターの結果は、長野県菅平高原にてリターバック試験により回収された葉を分析したものである。試験では、ミズナラの落葉をメッシュに詰め8カ所に埋め、3か月毎に回収した。0, 3, 6, 9, 18, 21, 24, 36ヶ月後に回収したものをそれぞれQC0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7とし、分解度合いの異なったミズナラ葉サンプルのアミノ酸組成比を計測したものである(野呂2011)。

結 果

泌乳牛における加水分解性アミノ酸濃度(図1)は、ほぼ全てのアミノ酸において表層から深層、そして糞へと消化が進むにつれて減少する傾向がみられた。また、飼料段階のアミノ酸濃度と比較して表層、深層のほうが高い値を示した。

アミノ酸の組成比(図2)においては、個々のアミノ酸の種類によって増加傾向にあったり減少傾向にあったりと様々であった。特に増加傾向を示したのはグリシン、リジン、セリンであった。逆に、減少傾向を示したのはアスパラギン酸、グルタミン酸、チロシンであった。

乾乳牛は、表層から深層にかけて一度アミノ酸濃度が増加し糞にかけて減少する傾向が見られた(図3)。飼料と消化過程を比べると乾草よりも表層および深層のほうが高い値を示したが、青草のアミノ酸と比べると逆に低い値を示した。

乾乳牛のアミノ酸組成の変化(図4)では、濃度でみられたような深層にて一度増え糞で減少するといった傾向は見られなかった。特に増加傾向を示したのはアラニン、グリシン、セリンで、逆に減少傾向を示したのはアスパラギン酸、ヒスチジン、ロイシンであった。

泌乳牛と乾乳牛のアミノ酸濃度を比較すると(図1, 3)、消化が進むにつれアミノ酸濃度が減少する泌乳牛と表層から深層にかけて一度増えてから糞で

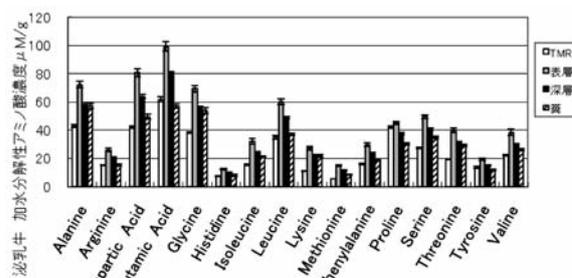


図1 泌乳牛加水分解性アミノ酸濃度

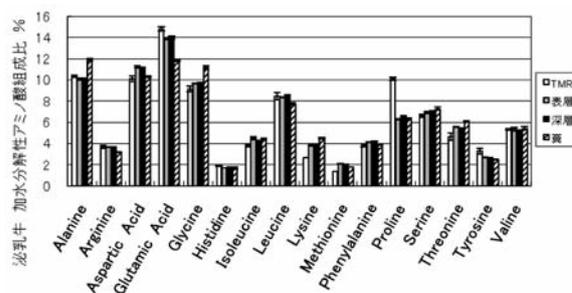


図2 泌乳牛加水分解性アミノ酸組成比

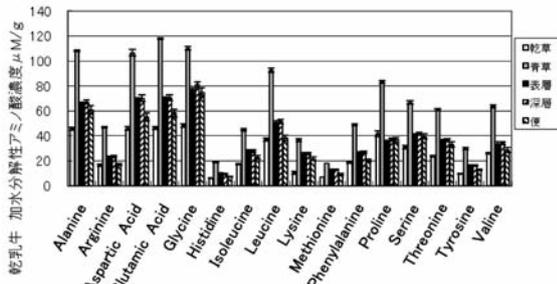


図3 乾乳牛加水分解性アミノ酸濃度

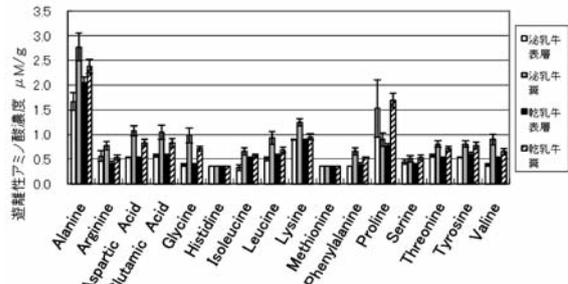


図5 遊離性アミノ酸濃度

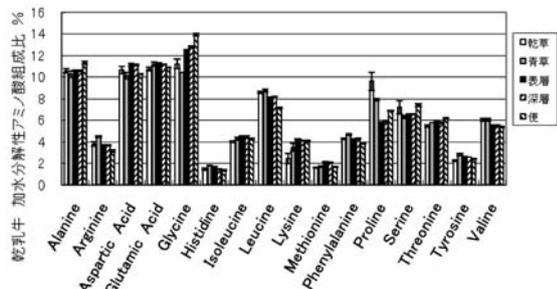


図4 乾乳牛加水分解性アミノ酸組成比

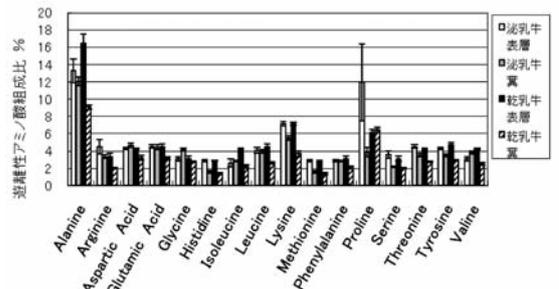


図6 遊離性アミノ酸組成比

減少する乾乳牛といったように、濃度の変化の仕方に大きな差があった。また、泌乳牛飼料と乾草のアミノ酸濃度がよく似ているが、青草に関しては他の飼料に比べて非常に高いアミノ酸の濃度を示した。それにもかかわらず、胃から糞といった消化過程におけるアミノ酸濃度は泌乳牛も乾乳牛も大きな差異は見られなかった。唯一、グリシンに関しては乾乳牛の方が高い結果となった。またグルタミン酸では、飼料段階で青草>TMR>乾草の順で濃度に違いがあったが泌乳牛の方が高い値を示しその差はTMRと乾草の差とほぼ同等であった。

泌乳牛と乾乳牛とでアミノ酸組成を比較すると(図2, 4), 分解に伴う変化は全体的に同じで、特に消化過程の最後である糞においては同じような組成を示す傾向が見られた。特にグルタミン酸において飼料段階や胃表層において大きな差を示していたが、消化が進むにつれて10%付近に落ち着く傾向を示した。

遊離性アミノ酸濃度は加水分解性と比べ表層から糞にかけて濃度が上昇する傾向が見られた(図5)。また、遊離性アミノ酸濃度はアラニン・リジン・プロリンが比較的多く検出され、他のアミノ酸はほぼ横ばいで一定となった。遊離性アミノ酸組成比では、遊離アミノ酸濃度と同じく、アラニン・リジン・プロリンが多く、その他の組成比はほぼ横ばいであった(図6)。しかし、表層から糞での変化は逆で、消化が進むと減少しているものが多かった。特に濃度

の上昇が多かったアラニン・リジンに関してその傾向が強かった。

全窒素、加水分解性アミノ酸態窒素、遊離性アミノ酸態窒素の濃度と全窒素に占める割合を比較すると(表1), 加水分解性アミノ酸のすべてが遊離性ではないという傾向が見られ、また全窒素濃度はどちらの牛においても表層から糞にかけて減少しているが、加水分解性アミノ酸の乾乳牛の結果より、表層から深層にかけて一度上昇してから糞にかけて減少していることが分かった。また、青草では、アミノ酸濃度は非常に高い値を示したが、全窒素に占める割合としては消化過程の値よりも低い結果となった。遊離性アミノ酸の結果については表層から糞で泌乳牛・乾乳牛のどちらも濃度・全窒素に占める率が上昇している結果となった。

ミズナラ葉のリターバックの結果(野呂2011)では、グリシン、セリンで増加傾向、ロイシンで減少傾向を示し、この傾向は泌乳牛、乾乳牛のアミノ酸組成の変化の仕方とよく似ており、特に乾乳牛との類似性が見られた。

考 察

それぞれの牛から採取されたサンプルとリターバックの分析結果より、牛の消化過程と落葉の分解過程において類似性がみとめられた。これは消化過程及び落葉分解過程におけるアミノ酸組成の変化、特にグリシン、グルタミン酸において収束性のある

表 1. 全窒素, 加水分解性アミノ酸窒素, 遊離性アミノ酸窒素の比較
全窒素に占めるアミノ酸含有率 (%N) の比較

	全窒素	加水分解性アミノ酸窒素		遊離性アミノ酸窒素	
	mgN g ⁻¹	mgN g ⁻¹	(%N)	ugN g ⁻¹	(%N)
泌乳牛					
TMR	8.09	5.85	72.28		
胃表層	22.01	10.05	45.67	138.23	0.63
胃深層	19.71	8.05	40.84		
糞	17.20	6.76	39.39	183.23	0.96
乾乳牛					
乾草	9.40	6.05	64.33		
青草	39.56	14.76	37.32		
胃表層	22.09	8.70	39.39	139.49	0.63
胃深層	20.85	8.85	42.45		
糞	19.13	7.51	39.26	206.53	1.20

有機物変化をしている可能性を示唆し、有機物の最終的な組成には類似性があると考えられる。また、アミノ酸の酸性、中性、塩基性の違い及び含硫族・芳香族といった違いによる組成の変化には明瞭な傾向は見られなかった。

グルタミン酸に着目し、分解初期の有機物で比較すると、泌乳牛胃表層で13.85%、乾乳牛胃表層で11.23%、QC0で9.13%とそれぞれ異なる値を示していたが、最終物で比較すると泌乳牛糞で11.81%、乾乳牛糞で10.86%、QC7で9.39%とおおよそ10%に近づいていた。グリシンの組成比においては、どのサンプルにおいても他のアミノ酸の値に比べて著しく増加しておりこの値はまだ増加すると考えられる。

加水分解性アミノ酸濃度の泌乳牛・乾乳牛の差は、乳牛飼料では飼料製造段階時点ではじめから発酵がなされているため容易に消化吸収がしやすいが、乾乳牛の干し草・青草飼料では反芻段階ではじめて発酵が始まるため吸収しやすいアミノ酸組成になるまでに泌乳牛と比べて少しの時間がかかるので胃深層で一度アミノ酸濃度が上昇した、などの理由が考えられる。

胃表層から胃深層でアミノ酸の総量が減少していること、また全窒素中のアミノ酸含有率は減少していることは、第一胃内でのアミノ酸流出は考えにくいことから、第一胃内細菌のアミノ酸利用による減少が考えられる。

さらに、胃の表層から胃深層にかけてアミノ酸総量が増加し、全窒素中のアミノ酸含有率も同様に胃表層から胃深層にかけて増加している。これは、消化過程においてアミノ酸以外の有機物構造が優先的に分解されアミノ酸が濃縮したことや、微生物体の

生成によりアミノ酸合成が行われたことなどが考えられる。

また、胃内容物から糞にかけての全窒素に占めるアミノ酸含有率が40%付近で推移していることから、牛の消化管内でのアミノ酸含有率は40%前後に落ち着くものと考えられる。

加水分解性アミノ酸については、濃度・組成比ともにリジンが高かった。リジンは、TMRにおいて制限アミノ酸となりやすいとされる(National Research Council 2001, 扇ほか2002)ことから細菌体による供給が示唆される。Tremblay and Benner (2006)によると、マングローブの水中有機物分解過程でも分解にしたい細菌体の影響が強くなることが示唆されており、牛の消化過程でも同様のメカニズムで消化産物に微生物体が混入している可能性が多分にある。

アミノ酸組成で興味深い点は、加水分解性アミノ酸が多かったアミノ酸の種類と、遊離性アミノ酸が多かったアミノ酸の種類が必ずしも一致しなかったことである。このことは、アミノ酸の遊離しやすさは餌や消化管内の有機物中に含まれる構造体アミノ酸の含量に依存するとは限らないことを示している。

今後の課題としては、牛の第一胃内容物のサンプル採取において腕が一番深くまで入る部分を深層としていたが、牛の胃の大きさからその深さにおいて実際は中ほどを少し超えた位置位であると思われるため、採取方法をもう少し深くまで採取できるよう考える必要があると考えられる。また、分析結果から青草飼料のアミノ酸濃度の数値が乾草・TMRと比べて極端な数値が出ていることから、乾乳牛が青草飼料を食べていない冬季にもう一度サンプル採取

をする必要があると考えられる。

総 括

本研究で主に明らかになったことは、以下の3点である。

- ・ 泌乳牛と乾乳牛では食べている飼料に違いはあっても、消化過程を経てアミノ酸組成が類似してゆく傾向にあり、何らかの似た物質に収斂している可能性がある。
- ・ 牛の消化過程における有機物中のアミノ酸濃度の変化は、加水分解性と遊離性とで異なり、遊離しやすさは含量に依存しないことが明らかとなった。
- ・ 牛の消化過程におけるこうしたアミノ酸の変化は、自然土壌におけるミズナラ葉の分解過程に非常に似ており、微生物体による強い影響が反映されていることが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるにあたって、京都大学の犬園享司准教授にはリターバックに関する様々な情報をいただきました。また、生態系物質循環研究室の皆様には実験に際し多くの協力をいただきました。心より感謝を申し上げます。

なお、本研究は、文科省科研費補助金（課題番号21710014、代表：保原 達）の助成を部分的に受けて実施されたものである。

参 考 文 献

- 1) 樋口太重 (1981) 緩衝液による有機化窒素及び土壌有機態窒素の抽出特性. 日本土壌肥料学雑誌 52(6), 481-489
- 2) 樋口太重 (1982) 緩衝液で抽出される有機窒素化合物の性質について. 日本土壌肥料学雑誌 53(1), 1-5
- 3) Isnor, R. A. and Warman, P. R. (1990) Amino acid composition of soil peptides chromatographed by high performance liquid chromatography on C18 and C8 columns.

Biology and Fertility of Soils 10: 213-217

- 4) 松中照夫 (2003) 土壌学の基礎. 農文協 pp 388
- 5) 荻内謙吾, 中嶋直子, 阿江教治, 松本真吾 (2000) リン酸緩衝液抽出物中に含まれる有機態窒素のアミノ酸組成. 土壌肥料科学会誌 71: 385-387
- 6) 野呂健太. 2011. 様々な有機物の加水分解性アミノ酸組成比の比較. 酪農学園大学環境システム学部卒業論文
- 7) Tremblay, L. and Benner, R. (2006) Microbial contributions to N-immobilization and organic matter preservation in decaying plant detritus. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70: 133-146
- 8) National Research Council. (2001) Nutrient requirements of dairy cattle, 7th, reserved edition, 2001. National Academy Press. Washington, D. C.
- 9) 扇勉, 花田正明, 峰崎康裕, 藤田眞美子, 高橋雅信, 斉藤繁 (2002) 牧草サイレージ主体飼養における泌乳初期牛の乳生産および血液成分に及ぼす魚粉給与の影響. 日畜会報 73(4): 489-494

要 旨

牛の第一胃の中では、反芻されたものが堆積し微生物による分解を受け層位が形成されており、土壌中における層位の形成と外見上似ている。本研究では、牛の消化過程における餌および消化産物のアミノ酸組成について調べ、これを自然土壌中のミズナラ葉の分解過程におけるアミノ酸組成変化と比較した。その結果、食べている飼料に違いはあっても、消化過程を経てアミノ酸組成が類似してゆく傾向にあった。また、牛の消化過程における有機物中のアミノ酸濃度の変化は、加水分解性と遊離性とで異なり、遊離しやすさは含量に依存しないことが明らかとなった。これらのことから、牛の消化過程におけるこうしたアミノ酸の変化は、自然土壌におけるミズナラ葉の分解過程に非常に似ており、微生物体の消化産物への強い影響が示唆された。

Summary

Digested organic matter accumulates in first rumen of dairy cow, and is stratified into several layers, which would be similar to layers found in natural soil system. In this study, we measured amino acid composition of feed and its digested matter through cow's digestion process, and compared with that of decomposing litter through soil's decomposition process. The results showed some difference in amino acid composition between feed types, but also similarity in the composition especially in latter decomposition process. The change in amino acid composition of feeds varied between hydrolysable and free amino acids,

indicating that release of free amino acid is not determined by their composition in hydrolysable forms. These results suggest that the changes in amino acid composition during cow's digestion process is similar to that found in litter decomposition, and is strongly influenced by microorganisms.