飼料の炭水化物成分の表現方法と牛用飼料の 簡易栄養価評価法

阿 部 亮

農林水産省畜産試験場，筑波農林研究団地 305

Analysis of the Carbohydrates and Laboratory Methods for Predicting the Nutritive Value of Feeds for Cattle

Akira ABE

National Institute of Animal Industry

Tsukuba Norindanchi P.O. Box 5, Ibaraki-ken 305

は じ め に

給与飼料の栄養価を適切に把握するという事は家畜飼養上の重要な一面であり，そのための方法としては家畜を用いる消化試験法が中心に位置づけられる。しかし，この方法は一定の家畜頭数，飼料，労力，試験期間等を必要とし，その適用範囲はおのずから制限される。そこで，それに代わるものとしてより簡易に栄養価を推定するための研究が従来より非常に多く蓄積されてきている。本報告では，これらの研究成果を飼料の主な構成成分である炭水化物に中心を置いて整理したものである。

1. 一般成分分析法にもとづく 栄養価評価法

我が国のみならず，世界各国で最も広く用いられている飼料分析のシステムは一般分析とも6成分分析とも言われている Weende system であり，これは飼料の炭水化物を粗繊維と可溶無窒素物（NFE）に分ける事が特徴的な性質である。Weende system という名称は粗繊維定量の研究が行なわれたドイツの Weende Experimental Station にちなんで名付けられたものであり¹⁾，100年以上の間，現在においてもなお広く用いられている方法である。その様式は飼料の乾物を粗蛋白質（CP），粗

脂肪（EE），NFE，粗繊維（CF）および灰分に分けるものであり，現在我が国において常法として用いられているものは森本・堀井ら²⁻⁵⁾によって改良された方法である。乳牛の飼養標準の設定に関する試験研究が1957年から6カ年にわたって農林省畜産試験場を中心に実施されたが，その研究の一環として一般成分分析法に基づく地域的飼料の成分調査が行なわれ，成分含量と同時にその消化率，可消化養分総量（TDN）および可消化粗蛋白質（DCP）含量等の内容を含む飼料成分表が1964年に刊行されている⁶⁾。以来，対象試料の一般分析を行ない，各成分の含量と成分表中の消化率からその飼料のTDN，DCP含量を知るという方法が一般的に行なわれるようになって来ている。

一方，消化率又はTDN含量を成分含量から統計的に推定するという研究も数多い。

SCHNEIDER *et al.*⁷⁻¹⁰⁾は粗蛋白質，粗脂肪，NFE，粗繊維の含量から，これら成分の消化率ひいてはTDN含量を求める算出式を生草，乾草，サイレージ，濃厚飼料別に設定している。MEYER and LOFGREEN^{11,12)}は粗繊維含量とTDN含量との間に高い負の相関がある事を利用して，粗繊維含量からTDN含量を推定する式をアルファルファ乾草について提案している。又，ADAMS *et al.*^{13,14)}は種々の粗飼料について，DONKER and NAIK¹⁵⁾はト

ウモロコシサイレージとアルファルファ乾草を用いて粗繊維と粗蛋白質の含量から TDN 含量を推定している。

NAGA and EL-SHAZLY¹⁶⁾は有機物(OM)と粗蛋白質、粗脂肪とから TDN 含量を推定する方法の検討を行なっている。つまり、TDN/CP の値を y 軸に、OM+1.25 EE/CP の値を x 軸に取ると、両者の間で各飼料群毎に高い相関が認められ、

$$\text{TDN} = a(\text{OM} + 1.25 \text{ EE}) + b \cdot \text{CP}$$

の式が得られるところから、各種牧草、飼料原料および配合飼料について、a b の値を決定し、TDN 算出式として提案している。

WALKER¹⁷⁾は種々の乾草について、エネルギーの消化率は粗繊維含量の増加にともなって直線的に減少する事を報告し、粗繊維含量からのエネルギー消化率推定の可能性を示唆している。更に TDN のレベルを越えて、代謝エネルギー (ME) および正味エネルギー (NE) の含量を一般成分分析値から知ろうとする研究もなされている。まず ADAMS *et al.*¹³⁾は粗飼料について粗蛋白質と粗繊維の含量から ME を求める式を報告しており、一方、DONKER and NAIK¹⁵⁾はトウモロコシサイレージとアルファルファ乾草を用いて、粗繊維又は粗繊維と蛋白質の含量から NE (Estimated NE, ENE) を推定する式を提唱している。NEHRING *et al.*¹⁸⁾は粗蛋白質、粗脂肪、NFE および粗繊維の含量から試料の総エネルギー (GE) 含量を、又これらの成分の可消化量から NEfat の含量を推定する式を提案している。乳量と粗繊維との関係について、BRAHMAKSHATRIYA and DONKER¹⁹⁾はアルファルファ乾草とサイレージ給与の試験を行ない、粗繊維の含量と乳量との間に高い負の相関 ($r = -0.95$, $P < 0.01$) がある事を認め、両者の間に $Y = 10136.6 - 199.3 \text{ CF}$ (Y : 乳量, kg, 305 日, 4% FCM) の回帰式を得ている。

以上のように一般成分の含量から飼料の栄養価を推定するための種々の方式が提案されてきているが、決め手となるような方法とはいずれについても言えない。森本・堀井²⁰⁾は SCHNEIDER の算出式¹⁰⁾の検討を行なっているが「SCHNEIDER の算出式により飼料の消化率、TDN 含量を求める事は出来るが、その数値に信頼を持ち過ぎる事は危険であって、消化率の 1 つの目安として考えるべきであろう」と結び、石栗²¹⁾はトウモロコシサイレージについて ADAMS 法¹³⁾で得た TDN 含量と *in vivo* の値が相違するという結果を示している。

更に MOHRENWEISER²²⁾はアルファルファ乾草について ADAMS *et al.* の方法^{13,14)}と MEYER and LOFGREEN の方法¹²⁾で TDN 含量を計算し示しているが、方法間にかなりの差が認められる。

一般成分分析を栄養価評価に用いる際の中心的な成分は粗繊維であるが、これはいずれの研究においても TDN 含量を律速する指示物質として表現されている。例えば DONKER and NAIK の式¹⁵⁾では、 $\text{TDN} = 90.25 - 1.175 \text{ CF}$ と記されている。つまり、粗繊維含量が 1% 増加すると TDN 含量は 1.2% 減少するという意味である。

そこで問題となるのは、粗繊維は最良の指示物質であろうか？、種々の側面から見てその資格を備えているかという事である。具体的には、消化過程で栄養学的な特異性を示すとか、又は飼料の種類を問わず、常に一定の化学的性質を持っているか、というような事である。しかし、以下に述べるように粗繊維は必ずしもそのような個有の特質を持っているものではない、そこに、粗繊維含量に基づく栄養価評価法の限界があるように思われる。

2. 一般成分分析の持つ欠陥とその改良に関する研究

一般成分分析において炭水化物分画を表現するのは粗繊維と NFE の両成分であるが、これについては栄養学的な側面と化学的な側面からの不備が指摘されて来ている。粗繊維分析法が提案された当初、それは飼料中の不消化物質の含量を示す指標であり、NFE は逆に高消化性の炭水化物を示す区分であると考えられていた²³⁾。しかしながら、CRAMPTON and MAYNARD²⁴⁾によって、反芻家畜の飼料では粗繊維の方が NFE よりも高い消化率を示す場合も多くある事が示され、それを契機に粗繊維と NFE の栄養学的意義の不明瞭さが問題点として大きくクローズアップされるようになった。一方、NORDFELDT *et al.*²⁵⁾はセルロース、ペントサンおよびリグニンが一般分析では粗繊維と NFE の両分画に跨って存在し、その分布率は試料によって異なる事を報告している。化学分析がより単一な成分への分画を指向する性質のものであるとすれば、この事実は一般成分分析が炭水化物の分画に関しては非常に不合理なものであると言える。また、一般分析の操作上、糖、デンプンと言った炭水化物は NFE 分画にはいる所から、NFE は可溶性の炭水化物と後述するように不消化なリグニン、及び構造性炭水化物の混合分画という性質のものになっている。1950 年以降、これらの点を改良すべく、多くの研究が蓄積されてきているが、一貫している考え方は繊維性の構造性炭水化物 (セルロース、ヘミセルロース) と非繊維性の非構造性炭水化物 (糖類、デンプン、フラクトサン) およびリグニンとに明確に分けて表現するという事である。

RICHARDS and REID²⁶⁾はセルロース、ヘミセルロース、

糖類、ペクチン、デンプンおよびリグニンを分析し、放牧草ではリグニンは不消化であり、糖類は 99% 以上の消化率であり、またセルロース、ヘミセルロースは牧草の生育時期の進展にともなってその消化率が低下することを示した上で、分析法としては粗繊維の代わりにリグニンを定量し、炭水化物は以下のようにして全炭水化物の形で示す事を提案している。

全炭水化物 = $100\% - (\text{CP} + \text{EE} + \text{粗灰分} + \text{リグニン})$

また Ely and Moore²⁷⁾は構造性炭水化物をホロセルロースとして定量し飼料成分は、

乾物 = 粗灰分、粗蛋白質、リグニン、アルコールベンゼン抽出物、ホロセルロース、熱水抽出物

または

乾物 = 粗灰分、粗蛋白質、リグニン、アルコールベンゼン抽出物、ホロセルロース、他の炭水化物

の形で表現することを提案している。

Gaillard²⁸⁻²⁹⁾は粗飼料について更に詳細な炭水化物の分画法を検討している。その内容は非構造性炭水化物については単少糖類とフラクトサンを分析し、ヘミセルロースについても KOH による分画を行ない、更にペクチン、セルロース、リグニンの定量法を検討している。また、単少糖類はその消化率が 100% を示すとしている³⁰⁾。Waite and Gorrod³¹⁾、および Waite *et al.*³²⁾も詳細な炭水化物の分画法を試みているが、ヘミセルロースオキシラン、アラバン、グルカン、ガラクトサンおよびアルドピオン酸に分けて表示している。そして、ライグラスの場合、セルロースとヘミセルロースの消化率は早刈の時点では差はないが、生育の進展にともなってヘミセルロースの消化率がセルロースの消化率に比較して低下するという結果を示している³²⁾。

また Deriaz³³⁾は日常分析に適する方法として、シュウ酸アンモニウム、希硫酸、72%硫酸の連続処理と比色法によって、可溶性糖類、ペントサン、ヘキソサン、リグニンの分別定量法を提供している。

一方、穀類、配合飼料およびトウモロコシサイレージなどではデンプンの含量が非常に高い性質のものであるが、飼料中のデンプン定量法は従来、希塩酸加水分解→還元糖の定量→粗デンプンとしての表示というシステム³⁴⁾で行なわれてきたが、この場合、希塩酸による構造性炭水化物由来の加水分解糖の混入によるデンプンの過大評価という問題があるため、阿部・堀井³⁵⁾は村山らの方法³⁶⁾を一部改良した過塩素酸抽出→加水分解→グルコースオキシダーゼ比色のシステムを示した。また、Macrae *et al.*³⁷⁾は牧草を用い種々のデンプン定量法についての比較検討を行なっている。

粗繊維、NFE に代わるべき炭水化物の表現形式としては以上のような種々の方法が提案されているが、飼料中の不消化部分の表現型として粗繊維の代わりにリグニンをを用いているというのが大きな特徴である。リグニン含量と TDN 含量との間には高い負の相関が存在する¹²⁾所から、リグニンを指示物質として栄養価の推定を行なうという研究も数多い^{11,12,38-40)}。

3. 細胞膜物質と細胞内容物質への分離、その方法と応用

1960 年代の中頃迄には上記したような炭水化物、リグニンについての系統的な分画法は一応完成されたが、この間、これとは逆の傾向の研究、つまり詳細な成分分析をするのではなく、栄養学的に類似した性質を持つ物質群を 1 つの“かたまり”として把握していこうという動きが同時に進行していた。具体的には飼料の乾物を細胞膜物質 (CW) と細胞内容物質 (CC) にまず分けることから、飼料の性質を検討していこうとするものである。この場合、後述するように CW 中には構造性炭水化物とリグニンが CC 中には非構造性炭水化物、粗蛋白質、粗脂肪が主に含まれる。

試料の乾物を CC と CW とに分ける場合、種々の処理によって CC を溶解除去し、汚紙上に CW を残渣として得るという手法を取るが、その際リグニン、セルロース等の CW 成分を溶出することなく、かつ CC 中の各成分をより多く除去しなければならない。そしてその場合、粗蛋白質をいかに多く除去するかという事が最大の関心事になる。粗飼料の場合、糖など可溶性の炭水化物はどのような温和な処理でも簡単に溶出、除去され、脂質も残渣の洗浄を行なう際、適当な有機溶媒を選択することにより問題は解決するからである。したがって、CW の抽出・定量の研究においては蛋白質の分解・除去に何をどう用いるかが重要なテーマになっている。その手法としてまず最初に完成されたのが界面活性剤 (デタージェント) を用いる方法である。

デタージェントは古くから蛋白質の変性・抽出剤として用いられ⁴¹⁾ていたが、Bevenue and Williams⁴²⁾は豆類を材料として種々のデタージェントによる蛋白質の除去効果を比較検討している。同様な試験が Van Soest⁴³⁾によっても行なわれているが、Van Soest は蛋白質の除去率の面から酸溶液とセチルトリメチルアンモニウムブロマイドの組合せ、また弱アルカリ溶液とラウリル硫酸ナトリウムの組合せが効果的である事を確認し、その知見をもとに CW の定量法を確立している⁴⁴⁾。

つまり、試料をラウリル硫酸ナトリウムを主成分とし

て含む中性デタージェント溶液にて1時間煮沸処理し、その残渣をCWとするものであり、CC含量は100-CWとして求める。このようにして求められたCWの性質に関しては、COLBURN and EVANS⁴⁵⁾、堀井・阿部⁴⁶⁾、更にはBAILEY and ULYATT *et al.*⁴⁷⁾が検討しているが、堀井・阿部⁴⁶⁾は稲わら、パガスなどの高繊維質材料を用いデタージェント法によって得られたCWが構造的炭水化物の研究のための出発物質として適当であると報告している。

更にVAN SOEST⁴⁸⁾はセチルトリメチルアンモニウムブロマイドを含む酸性デタージェント溶液で試料を煮沸処理して得られる残渣をAcid Detergent Fiber (ADF)とし、粗繊維に代わるべきものとして提案している。

ADFの性質の検討およびADFと粗繊維の比較についてはCOLBURN and EVANS⁴⁵⁾、KIM *et al.*⁴⁹⁾、堀井・阿部⁵⁰⁾および阿部・堀井⁵¹⁾らによってなされている。また、阿部・堀井⁵²⁾はイネ科乾草を用いCW、ADF、セルロース、粗繊維等の含量、消化率の相互関係を検討し、それらの含量間にはいずれも高い相関係数が得られ、イネ科乾草では回帰式を用いる事によって相互換算が可能であることを示すと同時に、CWと粗繊維の消化率は類似することを報告している。

現在、米国NRCの飼料成分表⁵³⁾には粗繊維の含量とともに、これらデタージェント分析によるCW、ADFの含量が示されている。

つい最近まで、CWの定量は一部の粗飼料に限定されていた。デンプンを含むトウモロコシサイレージ、穀類、配合飼料ではデタージェントとの煮沸処理によりデンプンが糊化してコロイド状となり汚過不能となるためであった。しかし阿部・堀井⁵⁴⁾およびMcQUEEN and NICHOLSON *et al.*⁵⁵⁾は、これらの試料についてもアミラーゼ前処理を施すことによってCW定量を可能とし、デタージェント分析の適用範囲を拡大した。

一方、CWの抽出・定量に関してデタージェント以外の試薬・酵素を用いる方法も検討されてきている。

MOIR^{56, 57)}はペプシン溶液→エタノール抽出→エーテル抽出→熱水又はシュウ酸アンモニウム溶液抽出のシステムを提案しており、また菊地ら⁵⁸⁾は脱脂大豆のCW抽出に蛋白質分解酵素のプロナーゼを用いている。ABE *et al.*⁵⁹⁾はアミラーゼ→プロナーゼの連続処理による、そしてMORRISON⁶⁰⁾はプロナーゼ単独処理によるCWの定量法を提案している。デタージェント法とプロナーゼ法との比較については、蛋白質の除去率の面からみるとプロナーゼ法が優っていると報告されている^{64, 60)}。

CCとCWの分離法については以上のようなのであるが、VAN SOEST⁶¹⁾はデタージェント法によって求めたCCと

CWの性質を基に、飼料の栄養価評価法を確立している。その考え方と方法は以下のものである。

まず、両分画の化学的内容についてCCは糖類、フラクトサン等の可溶性炭水化物、デンプン、ペクチン、非蛋白態窒素化合物、蛋白質、脂質およびその他の可溶物質とから成り、CWはヘミセルロース、セルロース、リグニンおよび熱損傷を受けた蛋白質から成ると規定し、多くの試料について両分画の栄養的な均一性を調査している。その結果、CCはその乾物中の含量と*in vivo*の消化試験で得られる可消化量との間には非常に高い相関係数($r=0.99$, $P<0.01$)が得られ、この分画が栄養的な均一性を持つものであることを確認し、CCの含量(x)と可消化量(y)との間に $y=0.98x-12.9$ の回帰式を得ると同時に、この式からCC分画の真の消化率は100%に近い(98%)としている。また、CWはCCと異なって含量と可消化量との間には高い相関係数が得られず、栄養的な均一性を持つとは言えなかったが、CWの消化率と $\log(\text{リグニン}/\text{ADF} \times 100)$ の間には高い負の相関係数($r=-0.98$, $P<0.01$)が得られるところから、ADFとリグニンの含量を測定することにより、CWの消化率を推定出来るとしている。そして、以上の結果から飼料の可消化乾物含量を算出するための基本的な考え方を以下の式で示している。

可消化乾物=可消化CC+可消化CW

$$=0.98 \text{ CC} + \text{CW} [147.3 - 78.9 \times \log(\text{リグニン}/\text{ADF} \times 100)] - 12.9$$

更にこの式で求められた値に対してケイ酸の補正⁶²⁾およびADF中の窒素補正⁶³⁾を行なって最終的な値を得るというものであり、これはデタージェント分析の方法とともに普及版⁶⁴⁾にまとめられている。

また、MINSON⁶⁵⁾は同様の考え方を多くの暖地型牧草に適用し、有機物消化率推定の回帰式を設定し、その式から得られた値と、*in vivo*の有機物消化率との間に $r=0.93$ ($P<0.001$)の高い相関係数を得ている。

MOIR⁶⁶⁾はペプシン溶液→エタノール抽出→エーテル抽出→熱水又はシュウ酸アンモニウム溶液抽出で得たCWと粗蛋白質とから、可消化有機物含量を推定し、36点のイネ科、マメ科の牧草において*in vivo*との間に $r=0.912$ ($P<0.01$, RSD 3.18)の結果を得ている。

4. ルーメン内容液を利用する *in vitro* 人工消化試験

これまでに述べてきた種々の栄養価評価法は、いずれも化学的な手法によって得られた成分の性質と、統計処理をかみ合せた推定法である。

それに対してより生物学的な手法としての *in vitro* 人工消化試験法が同時に古くから検討されてきている。

フィステル装着の反芻家畜から第1胃内容液を採取し、一定の処理を施した上で検体試料を添加し、第1胃内と似た環境条件（塩類濃度、pH、温度、嫌気性の維持等）の下で培養し、そこで得られた乾物、有機物等の消失率を *in vitro* の消化率とするものである。

in vitro のルーメンジュース法は1950年の初期から中期にかけて BENTLEY, JOHNSON *et al.* の Ohio Agric. Exp. St. のグループによって精力的にその研究が展開され⁶⁷⁻⁶⁹)たが、それはルーメン細菌による繊維素分解に関しての基礎的な研究が主であり、直接飼料の栄養価評価法に結びつくものではなかったが、繊維素分解性菌の栄養要求の解明など、栄養価評価法に対しての基礎的な知見が集積されたと言ってよいであろう。

これに対し、ルーメンジュース法を飼料の栄養価評価の目的に沿って簡素化し、実験室で日常的に利用出来る方法としたのは TILLEY and TERRY⁷⁰)の研究である。これは第1段階のルーメンジュース培養、第2段階のペプシン処理から構成されているが、第1段階のルーメンジュース培養においてブンゼンバルブを利用するなど、従来の *in vitro* 法を大幅に簡素化し、一度に多数の試料を処理し得る方法とし、牧草の栄養性育種の研究に対して強力な手法を提供することとなった。その後、DENT⁷¹)、ROGERS and WHITEMORE⁷²)、ALEXANDER and MCGOWAN⁷³) および MINSON and McLEOD⁷⁴) *et al.* によって種々の改良が加えられてきている。最近、OSBOURN and TERRY⁷⁵) は牧草の *in vitro* 法についてのレビューを行なっているので参照されたい。

このほか、*in vitro* 法は多方面に用いられているが、ALEXANDER and MCGOWAN⁷⁶) および SCHMID *et al.*⁷⁷) によってサイレージに対しての利用も検討されている。

また、糸野・西松⁷⁸) および KUMENO *et al.*⁷⁹) らは濃厚飼料への *in vitro* 法の適用を試み、*in vitro* の乾物消化率と *in vivo* の乾物、NFE、有機物の消化率および TDN 含量との間には有意な相関がある事を認めている⁷⁸)。

これらの研究と同時に、構造化炭水化物の評価を行なう手段としても *in vitro* 法が用いられている。SMITH *et al.*⁸⁰) はチモシー、アルファルファなどを用いそのCWのルーメン細菌による分解過程を *in vitro* に追跡し、その消化は1次反応で進行すること、またその消化速度は試料によって異なる事を明らかにし、消化速度とリグニンとの関係についても検討している。また、阿部・堀井⁸¹) および佐原⁸²) は種々の試料から CW を抽出し、その標品を *in vitro* 消化試験に供試し、CW のPoten-

tial Availability の比較も行なっている。CARLIER *et al.*⁸³) はデタージェント法での CW の *in vitro* 消化率と *in vivo* の消化率の間には非常に高い相関係数が得られるところから、CW の栄養価評価法として *in vitro* 消化試験が有効であるとしている。

更に、牧草の刈取時期と栄養価の変化を *in vitro* 法によって追跡する研究が TILLEY *et al.*⁸⁴)、岡本・広瀬⁸⁵) らによって行なわれ、また MOWAT *et al.*⁸⁶) はリグニン含量が CW の消化率に及ぼす影響を *in vitro* 法で検討し、乾物中のリグニン含量と CW の *in vitro* 消化率の間に負の相関があり、そしてそれはイネ科牧草に顕著であると報告している。岡本・広瀬⁸⁷) は牧草の消化に及ぼすリグニンの影響を検討するため、脱リグニン試料、リグニン添加試料の *in vitro* 消化試験を行ない構造化炭水化物の消化に対するリグニンの影響は物理的なものであるとしている。

リグニン以外にも CW の消化を規制する要因は考えられるが、その1つとして構造化炭水化物自体の結晶性の程度があげられる⁸⁸)。

この要因の影響についても *in vitro* 法が利用され⁸⁸⁻⁹⁰)、繊維の配列の疎密、つまり構造化炭水化物の結晶性は消化の初期反応速度を律速する事が報告⁸⁹⁻⁹⁰) されている。

in vitro のルーメンジュース法は以上の様に多面的な利用性を持ち、かつ反芻家畜の消化過程の一部をなぞっている有用な方法ではあるが、反面、反芻家畜へのフィステルの装着およびその維持、更には培養中の嫌気性の維持など操作上の複雑さなどを考慮すると、その適用範囲は限られるという性質を持つ方法であろう。

5. セルラーゼの利用

牧草を例にとり、その *in vitro* 消化における物質の分解様式を考えてみると、それは(1)可溶性炭水化物、非蛋白態窒素化合物、その他の可溶物の液層への単純な移行、第1胃内細菌による(2)蛋白質の分解、(3)構造化炭水化物の分解、とから成ると考えられる。

粗飼料の場合には(3)の部分が重要な位置を占めている事は周知の事実である。構造化炭水化物の分解は第1胃内細菌のセルラーゼ、ヘミセルラーゼによってなされるものである。そこで、こうした繊維素分解酵素を利用する栄養価評価の研究が *in vitro* 法に代わるものとして DONEFER *et al.*⁹¹) 以来、積極的に展開されてきている。

用いられている酵素はセルラーゼであるが、これは多くの場合ヘミセルラーゼ活性をも含む、いわゆる粗酵素標品である。セルラーゼの微生物オリジンとその分解力の比較については JONES and HAYWARD⁹²)、CLARK and

BEARD⁹³, REXEN⁹⁴および McQUEEN and VAN SOEST *et al.*⁹⁵によって検討されているが、現在、最もよく用いられているのは *Trichoderma* セルラーゼである。

構造化炭水化物の分解反応につき、セルラーゼと *in vivo* ないしは *in vitro* 法との比較、検討がなされ⁹⁶⁻¹⁰⁰。その結果、セルラーゼが飼料（特に粗飼料）の栄養価評価に利用出来るという事が確認されるに至っている。それらの知見を背景としてセルラーゼ処理を中心とした種々の評価法が提案されているが、それを整理すると以下のものである。

JONES and HAYWARD⁹⁶および JARRIGE *et al.*¹⁰¹はセルラーゼ溶液のみでの処理法を提案し、JONES and HAYWARD⁹⁶はこの方法で得られた乾物分解率と *in vivo* の乾物消化率との間に $r=0.92$ ($P<0.001$, RSD 2.5) の関係が得られ、かつ非常に簡易であるところから、牧草の栄養性育種の際のスクリーニングテストに適するとしている。

また、JONES and HAYWARD⁹², CLARK and BEARD⁹³, GOTO and MINSON *et al.*¹⁰²によってペプシン→セルラーゼの連続処理法が検討され、阿部ら¹⁰³⁻¹⁰⁴によっては熱水→セルラーゼおよび亜硫酸ナトリウム→セルラーゼ、等の二段解法が検討されている。

更に阿部・堀井¹⁰⁰は中性デタージェント→セルラーゼの連続処理システムを試み、多くの牧乾草で連続処理によって得られる乾物分解率と *in vivo* の乾物消化率および TDN 含量との間に高い相関が得られる事を報告している。

以上の研究においては試料はすべて粉砕試料を用いているが、最近、樽本・正岡¹⁰⁵および正岡・樽本¹⁰⁶らは未粉砕の新鮮葉に直接セルラーゼ処理を施す簡易法の検討を行なっている。

一方、牧草以外の材料に対してのセルラーゼ法の利用も行なわれているが、それは主に低品質粗飼料に対してのものであり、具体例としては REXEN⁹⁴, GUGGOLTZ *et al.*¹⁰⁷および 李・阿部¹⁰⁸らの農産廃棄物、さらにはそのアルカリ処理製品の栄養価評価への応用があげられる。

セルラーゼ利用に際しての手法については以上のような様であるが、阿部ら^{99,100}はセルラーゼの加水分解についての基礎的な研究を通じて、セルラーゼ法が栄養価評価に際して有効である事への理論的根拠を与えている。

まずセルラーゼによる CW の分解反応は速度定数の異なる 2 つの 1 次反応から成る事を認め¹⁰⁰、セルラーゼによって短時間（4 時間）に分解される CW 部分（a-領域）は消化率が非常に高く、オーチャードグラスおよ

びオーチャードグラス主体の乾草（8 点）では、その消化率は平均値で 96.5%、アルファルファ乾草（6 点）では 91.5%の値を示す。

逆に、セルラーゼに不溶の残渣（b-領域）の平均消化率はそれぞれ 36.7%と 22.6%であることを報告¹⁰⁹している。つまり、CW はセルラーゼ分解によって高消化率の区分（a）と低消化率の区分（b）とに分離することが出来、b の含量と CW 消化率の間には乾草の場合、高い負の相関（ $r=-0.919$, $P<0.01$ ）⁹⁹が得られるところから、a の含量が減少し b の含量が増加するにつれて CW の消化率が低下することを明らかにしている。

阿部ら^{99,107}は更に、セルラーゼでの処理を中心にした酵素分析のシステムを提案しているが、これはアミラーゼ→プロナーゼの処理で試料の有機物をまず CC と CW とに分け、次に CW をセルラーゼ処理によって a 分画と b 分画とに分けるものである。

VAN SOEST¹¹¹はデータジェント法によって得られた CC 分画は栄養的な均一性を持つが CW 分画はその様な性質を持たない事を報告しているが、酵素分析の場合でも、それは同じ傾向^{109,110}である。しかし、栄養的に不均一な性質を持つ CW 分画も、セルラーゼ処理で a, b という 2 つの分画に分けた場合、その各々が明瞭な栄養的均一性を示すことがイネ科乾草およびトウモロコシサイレージで立証されている^{109,110}。

更に CC, a, b の栄養的均一性を利用して、可消化有機物の含量を酵素分析によって推定する事も併せて検討されている¹⁰⁹。

6. 種々の方法間の比較・検討

以上、種々の栄養価評価法についての紹介を行ってきたが、どの方法を用いるかは、精度、試験の目的、設備、労力等、総合的に判断して決められることになるであろう。

種々の方法間の精度の比較については、HI KON OH and BAUMGARDT¹¹¹, TINNIMIT and THOMAS¹¹², McLEOD and MINSON¹¹³, AERTS *et al.*¹¹⁴および堤・阿部ら¹¹⁵によって検討されている。この中で、AERTS *et al.*¹¹⁴の研究の規模が最も大きい。つまり、42 点のイネ科乾草、56 点のサイレージおよび 39 点のペレットを供試し、種々の成分表の消化率の利用、一般成分分析の成分からの栄養価評価、デタージェント分析による各成分の利用による栄養価評価法、*in vitro* 法およびナイロンバッグ法等について、比較検討し、各々の方法での有機物消化率と *in vivo* 有機物消化率の相関係数、回帰式等が飼料群毎に示されている。

お わ り に

試料の化学分析法と栄養価評価に関する研究は、より化学的な合理性と簡素化を目指して進展してきているが、決して完成された方法が提供されているわけではない。

したがって、栄養価評価法に関して言うならば当面は推定誤差をより小さくしていく努力が今後とも続けられねばならないであろうし、そのためには既存の方法の改良と、新しい手法の開発が積極的に行なわれるべきであろう。

文 献

- 1) WEINSTOCK, A. and G. H. BENHAM, *Cereal Chem.*, **28**: 490-497. 1950.
- 2) 森本 宏・阿部彦郎・堀井 聡・野崎能孝・高野一雄・平野昌三・野辺田清, 農技研報告, **G 16**: 1-18. 1959.
- 3) 森本 宏・堀井 聡・吉田 実・田中孝之助・小松昌義, 農技研報告, **G 19**: 143-152. 1960.
- 4) 森本 宏・堀井 聡・田中孝之助・野崎能孝・高野一雄・平野昌三・野辺田清, 畜試研報, **2**: 79-86. 1963.
- 5) 堀井 聡・森本 宏, 畜試研報, **4**: 35-40. 1964.
- 6) 畜産試験場特別報告, No. 3. 乳牛の飼養標準に関する研究, IV. 地域的飼料の成分調査成績, 1964.
- 7) SCHNEIDER, B. H., H. L. LUCAS, H. M. PAVLECH, and M. A. CIPOLLONI, *J. Anim. Sci.*, **9**: 373-379. 1950.
- 8) SCHNEIDER, B. H. and H. L. LUCAS, *J. Anim. Sci.*, **9**: 504-512. 1950.
- 9) SCHNEIDER, B. H., H. L. LUCAS, H. M. PAVLECH and M. A. CIPOLLONI, *J. Anim. Sci.*, **10**: 706-713. 1951.
- 10) SCHNEIDER, B. H., H. L. LUCAS, M. A. CIPOLLONI and H. M. PAVLECH, *J. Anim. Sci.*, **11**: 77-83. 1952.
- 11) MEYER, J. H. and G. P. LOFGREEN, *J. Anim. Sci.*, **15**: 543-549. 1956.
- 12) MEYER, J. H. and G. P. LOFGREEN, *J. Anim. Sci.*, **18**: 1233-1242. 1959.
- 13) ADAMS, R. S., *J. Dairy Sci.*, **44**: 2105-2112. 1961.
- 14) ADAMS, R. S., J. H. MOORE, E. M. KESLER and G. Z. STEVENS, *J. Dairy Sci.*, **47**: 1461. 1964.
- 15) DONKER, J. D. and D. G. NAIK, *J. Dairy Sci.*, **62**: 424-432. 1979.
- 16) NAGA, M. A. and K. EL-SHAZLY, *J. Agric. Sci.*, **77**: 25-31. 1971.
- 17) WALKER, D. M. and W. R. HEPBURN, *J. Agric. Sci.*, **45**: 298-310. 1955.
- 18) NEHRING, K. and G. F. W. HAENLEIN, *J. Anim. Sci.*, **36**: 949-964. 1973.
- 19) BRAHMAKSHATRIYA, R. D. and J. D. DONKER, *J. Dairy Sci.*, **53**: 680. 1970.
- 20) 森本 宏・堀井 聡, 畜試研報, **2**: 69-78. 1963.
- 21) 石栗敏機, 新得畜試研報, **3**: 1-12. 1972.
- 22) MOHRENWEISER, H. W. and J. H. DONKER, *J. Dairy Sci.*, **51**: 373-377. 1968.
- 23) VAN SOEST, P. J., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **49**: 546-551. 1966.
- 24) CRAMPTON, E. W. and L. A. MAYNARD, *J. Nutr.*, **15**: 383-395. 1938.
- 25) NORDFELDT, S., O. SVANBERG and O. CLAESSON, *Acta. Agr. Suecana*, **3**: 135-177. 1949.
- 26) RICHARDS, C. R. and J. T. REID, *J. Dairy Sci.*, **36**: 1006-1015. 1953.
- 27) ELY, R. E. and L. A. MOORE, *J. Anim. Sci.*, **14**: 718-724. 1955.
- 28) GAILLARD, B. D. E., *J. Sci. Fd. Agric.*, **9**: 170-177. 1958.
- 29) GAILLARD, B. D. E., *J. Sci. Fd. Agric.*, **9**: 346-353. 1958.
- 30) GAILLARD, B. D. E., *J. Agric. Sci.*, **59**: 369-373. 1962.
- 31) WAITE, R. and A. R. N. GORROD, *J. Sci. Fd. Agric.*, **10**: 308-317. 1959.
- 32) WAITE, R., M. J. JOHNSON and D. G. ARMSTRONG, *J. Agric. Sci.*, **62**: 391-398. 1964.
- 33) DERIAZ, R. E., *J. Sci. Fd. Agric.*, **12**: 152-160. 1961.
- 34) 東京大学農学部農芸化学教室編, 実験農芸化学, 上巻, 131. 朝倉書店. 東京. 1962.
- 35) 阿部 亮・堀井 聡, 畜試研報, **30**: 27-32. 1976.
- 36) 村山 登・吉野 実・大島正男・塚原貞雄・川原崎裕司, 農技研報告, **B 4**: 123-165. 1955.
- 37) MACRAE, J. C., D. SMITH and R. M. MCCREADY, *J. Sci. Fd. Agric.*, **25**: 1465-1469. 1974.
- 38) FORBES, R. M. and W. P. GARRIGUS, *J. Anim. Sci.*, **9**: 354-362. 1950.
- 39) LAUBE, W., *Arch. Tierernähr.*, **10**: 99-112. 1960.
- 40) MORRISON, I. M., *J. Br. Grassld. Soc.*, **28**: 153-154. 1973.
- 41) FORSTER, J. F., J. T. YANG and N. H. YUI, *Cereal Chem.*, 477-487. 1950.
- 42) BEVENUE, A. and K. T. WILLIAMS, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **42**: 441-444. 1959.
- 43) VAN SOEST, P. J., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **46**: 825-829. 1963.
- 44) VAN SOEST, P. J. and R. H. WINE, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **50**: 50-55. 1967.
- 45) COLBURN, M. W. and J. L. EVANS, *J. Dairy Sci.*, **50**: 1130-1135. 1967.
- 46) 堀井 聡・阿部 亮, 畜試研報, **23**: 83-87. 1970.

- 47) BAILEY, R. W. and M. J. ULYATT, N. Z. J. Agric. Res., **13**: 591-604. 1970.
- 48) VAN SOEST, P. J., J. Assoc. Off. Anal. Chem. **46**: 829-835. 1963.
- 49) KIM, J. T., J. T. GILLINGHAM and C. B. LOAD-HOLT, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **50**: 340-343. 1967.
- 50) 堀井 聡・阿部 亮, 畜試研報, **25**: 63-68. 1972.
- 51) 阿部 亮・堀井 聡, 畜試研報, **27**: 1-4. 1973.
- 52) 阿部 亮・堀井 聡, 畜試研報, **25**: 69-74. 1972.
- 53) National Research Council, Nutrient requirement of dairy cattle, National Academy Science, Washington D. C. 1978.
- 54) 阿部 亮・堀井 聡, 日草誌, **25**: 70-75. 1979.
- 55) McQUEEN, R. E. and J. W. G. NICHOLSON, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **62**: 676-680. 1979.
- 56) MOIR, K. W., J. Sci. Fd. Agric., **22**: 338-341. 1971.
- 57) MOIR, K. W., J. Agric. Sci., **78**: 351-353. 1972.
- 58) 菊地忠昭・石井茂孝・福島男児・横塚 保, 農化誌, **45**: 228-234. 1971.
- 59) ABE, A., S. HORII and K. KAMEOKA, J. Anim. Sci., **46**: 1483-1490. 1979.
- 60) MORRISON, I. M., J. Agric. Sci., **80**: 407-410. 1973.
- 61) VAN SOEST, P. J., J. Anim. Sci., **26**: 119-128. 1967.
- 62) VAN SOEST, P. J. and L. H. P. JONES, J. Dairy Sci., **51**: 1644-1648. 1968.
- 63) VAN SOEST, P. J., J. Assoc. Off. Anal. Chem., **48**: 785-790. 1965.
- 64) GOERING, H. K. and P. J. VAN SOEST, Forage fiber analysis, Agriculture handbook No. 379. U. S. D. A. Washington D. C. 1970.
- 65) MINSON, D. J., Aust. J. Agric. Res., **22**: 589-598. 1971.
- 66) MOIR, K. W., J. Agric. Sci., **78**: 355-362. 1972.
- 67) BENTLEY, O. G., R. R. JOHNSON, T. V. HERSHBERGER, J. H. CLINE and A. L. MOXON, J. Nutr., **57**: 389-399. 1955.
- 68) BENTLEY, O. G., A. LATONA, P. De PAUL and C. H. HUNT, J. Anim. Sci., **10**: 1038. 1951.
- 69) BENTLEY, O. G., R. R. JOHNSON, S. VANECKO and C. H. HUNT, J. Anim. Sci., **13**: 581-593. 1954.
- 70) TILLEY, J. M. A. and R. A. TERRY, J. Br. Grassld. Soc. **18**: 104-111. 1963.
- 71) DENT, J. W., J. Br. Grassld. Soc. **18**: 181-188. 1963.
- 72) ROGERS, H. H. and E. T. WHITMORE, J. Br. Grassld. Soc., **21**: 150-152. 1966.
- 73) ALEXANDER, R. H. and M. McGOWAN, J. Br. Grassld. Soc., **21**: 140-147. 1966.
- 74) MINSON, D. J. and M. N. McLEOD, Technical paper, Division of Tropical Pastures, CSIRO Australia No. **8**: 15. 1972.
- 75) OSBOURN, D. F. and R. A. TERRY, Proc. Nutr. Soc., **36**: 219-225. 1977.
- 76) ALEXANDER, R. H. and M. McGOWAN, J. Br. Grassld. Soc., **24**: 195-198. 1969.
- 77) SCHMID, A. R., R. D. GOODRICH, G. C. MARTEN, J. C. MEISKE, R. M. JORDAN and J. L. HALGERSON, Agron. J., **67**: 243-246. 1975.
- 78) 桑野文雄・西松一郎, 日畜会報, **39**: 162-167. 1967.
- 79) KUMENO, F., B. A. DEHORITY and R. R. JOHNSON, J. Anim. Sci., **26**: 867-871. 1967.
- 80) SMITH, L. W., H. K. GOERING, D. R. WALDO and C. H. GORDON, J. Dairy Sci., **54**: 71-76. 1971.
- 81) 阿部 亮・堀井 聡, 日畜会報, **49**: 733-738. 1978.
- 82) 佐原重行・沢田耕尚・日高 操・武田 功・阿部 亮, 日草誌, **24**: 345-352. 1979.
- 83) CARLIER, L. A., B. G. COTTYN and J. V. AERTS, Anim. Feed Science and Technology, **1**: 607-617. 1976.
- 84) TILLEY, J. M. A., R. A. TERRY, R. E. Deriaz and G. E. Outen, J. Br. Grassld. Soc., **24**: 238-243. 1969.
- 85) 岡本全弘・広瀬可恒, 日畜会報, **43**: 499-505. 1972.
- 86) MOWAT, D. N., M. L. KWAIN and J. E. WINCH, Can. J. Plant Sci., **49**: 499-504. 1969.
- 87) 岡本全弘・広瀬可恒, 日畜会報, **43**: 554-560. 1972.
- 88) BARKER, J. T., G. QUICKE, O. G. BENTLEY, R. R. JOHNSON and A. L. MOXON, J. Anim. Sci., **18**: 655-662. 1959.
- 89) 堀井 聡・阿部 亮, 畜試研報, **23**: 89-94. 1970.
- 90) RICHARDS, G. N., Carbohydrates research in plants and animals, Miscellaneous paper, **12**: 129-135. Landbouwhogeschool Wageningen, 1976.
- 91) DONEFER, E., P. J. NIEMAN, E. W. CRAMPTON and L. E. LLOYD, J. Dairy Sci., **46**: 965-970. 1963.
- 92) JONES, D. I. H. and M. V. HAYWARD, J. Sci. Fd. Agric., **26**: 711-718. 1975.
- 93) CLARK, J. and J. BEARD, Anim. Feed Science and Technology, **2**: 153-159. 1977.
- 94) REXEN, B., Anim. Feed Science and Technology, **2**: 205-218. 1977.
- 95) McQUEEN, R. and P. J. VAN SOEST, J. Dairy Sci., **58**: 1482-1491. 1975.
- 96) JONES, D. I. H. and M. V. HAYWARD, J. Sci. Fd. Agric., **24**: 1419-1426. 1973.
- 97) HARTLEY, R. D., E. C. JONES and J. S. FENLON, J. Sci. Fd. Agric. **25**: 947-954. 1974.
- 98) BAILEY, R. W. and D. I. H. JONES, N. Z. J. Agric. Res., **14**: 847-857. 1971.

- 99) 阿部 亮・堀井 聡・亀岡暄一, 日畜会報, **43**: 141-145. 1972.
- 100) 阿部 亮・堀井 聡, 日草誌, **20**: 16-21. 1974.
- 101) JARRIGE, P., P. THIVAND and C. DEMARQUILLY, Proc. XI Int. Grassld. Cong. Queensland, Australia, p. 762-766. 1970.
- 102) GOTO, I. and D. J. MINSON, Anim. Feed Science and Technology, **2**: 247-253. 1977.
- 103) 阿部 亮・堀井 聡・亀岡暄一, 日畜会報, **43**: 146-154. 1972.
- 104) 阿部 亮・堀井 聡・亀岡暄一, 日畜会報, **43**: 175-180. 1972.
- 105) 樽本 勲・正岡淑邦, 日草誌, **24**: 1-9. 1978.
- 106) 正岡淑邦・樽本 勲, 日草誌, **24**: 337-344. 1979.
- 107) GUGGOLZ, J., R. M. SAUNDERS, G. O. KEHLER and T. J. KLOPHENSTIN, J. Anim. Sci., **33**: 167-170. 1971.
- 108) 李宗遠・阿部 亮, 日畜会報, **50**: 356-362. 1979.
- 109) 阿部 亮・名久井忠, 日草誌, **25**: 231-240. 1979.
- 110) 阿部 亮, 日畜会報, **50**: 28-34. 1979.
- 111) HI KON Oh and B. R. BAUMGARDT, J. Dairy Sci., **49**: 850-855. 1966.
- 112) TINNIMIT, P. and J. W. THOMAS, J. Anim. Sci., **43**: 1058-1065. 1976.
- 113) McLEOD, M. N. and D. J. MINSON, Anim. Feed Science and Technology, **1**: 61-72. 1976.
- 114) AERTS, J. V., D. L. De BRABANDER, B. G. COTTNY and F. X. BUYASSE, Anim. Feed Science and Technology, **2**: 337-349. 1977.
- 115) 堤 光明・阿部 亮, 日草誌, **23**: 252-255. 1977.