In vitro, in situ 法およびペプシン消化試験によるマイクロ波 処理大豆粕蛋白質の溶解性・消化性の評価

劉 添仁・中村 豊・吉田條二

茨城大学農学部, 茨城県阿見町 300-03

(1994. 11. 9 受付)

Key words : *in vitro, in situ*, soybean meal protein, microwave treatment, digestibility.

大豆粕蛋白質の加熱処理は、ルーメン内での蛋白質分解率を下げ、十二指腸への飼料蛋白質の供給を増す利点があると報告されている^{1,8,9)}。本報では、乾熱処理品よりも処理効果が劣らず、短時間で処理可能であるマイクロ波処理品³⁾について、*in vitro* または *in situ* の条件におけるルーメン液内揮発性塩基態窒素 (VBN) 生成量、窒素 (N) 消失量を調べ、さらにルーメン液非分解残渣のペプシン消化率を求めて第4胃以下での可消化部分を推測した。あわせて、*in vitro* および *in situ* バッグ法により得られた窒素のルーメン (液) 内消失率とルーメン液非浸漬試料のペプシン消化試験により得られた塩酸液溶解率との比較を試みた。

材料および方法

1. 夾雑物を除いた市販大豆粕を乳鉢で $\phi 1\sim 2$ mm まで粉碎し、この粉碎大豆粕 10 g に家庭用電子レンジ (東芝 KK, ER-320S, 発振周波数 2450 ± 50 MHz) を用いて、出力 500 W で 80 秒間マイクロ波処理を行ない、100 メッシュ以上のものを *in vitro* および *in situ* 法の実験に供した。

2. 維持養分要求量⁶⁾を満たすように、配合飼料、アルファルファヘイキューブおよびチモシー乾草を給与している第1胃フィステル装着メン羊 (日本コリデール種, 雄, 体重約 50 kg) 3 頭を供試した。

3. *in vitro* バッグ法 (実験1)

1) 上記動物から、夕方の飼料給与1時間前にルーメ

ン内容物を採取し、二重ガーゼろ液を分液ロートに取り、CO₂ 通気の嫌気箱内で 38°C に保温し、浮上飼料片を除き、3 頭分の下部液層に等容の McDougall 人工唾液を加えて混合し、混合液 500 ml に蒸留水 5 ml を加え、非滅菌ルーメン液 (URF) とした。他方、前記の飼料片除去ルーメン液を 121°C、15 分間オートクレーブ滅菌後、人工唾液と等容混合し、この溶液 500 ml に抗生物質溶液 (ペニシリン G, 3.2 mg/ml; ストレプトマイシン, 1.0 mg/ml) を 5 ml 加えたものを滅菌ルーメン液 (SRF) とした。

2) 試料を 10 g ずつナイロンバッグ (4.7×11.5 cm, 200 メッシュ) に封入し、505 ml の URF と SRF 中に入れ、CO₂ 気流中、38°C で振盪培養を行なった。バッグ投入直前と投入 18 時間後、培養液を 10 ml ずつ採取し、冷凍して VBN, 全 N (T-N) の測定に供した。培養終了後、バッグ内の残渣を 100 倍希釈した抗生物質液で洗いながらビーカーに移し、それを 4000 rpm, 10 分間遠心分離し、沈澱物をさらに希釈抗生物質液で洗浄後、この残渣を 40°C で減圧乾燥して風乾試料を得た。これを残渣の N 分析およびペプシン消化試験の材料とした。

4. *in situ* バッグ法⁵⁾ (実験2): 上記動物を用い、試料を 12 g ずつ別々のナイロンバッグに封入し、これを夕方の飼料給与前にフィステルよりルーメン内に投入した。24 時間後にバッグを取り出し、直ちに抗生物質入り

Evaluation of Solubility and Digestibility of Microwave Treated Soybean Meal Protein by *In Vitro, In Situ* and Pepsin Digestion Trial: Tienjen LIU, Yutaka NAKAMURA and Joji YOSHIDA (Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami-machi, Ibaraki-ken 300-03)

N 分析などの材料とした。

5. ペプシン消化試験および塩酸液溶解試験

1) 無処理およびマイクロ波処理大豆粕,あるいは実験 1, 2 で得られた不消化残渣をそれぞれ 1 g 秤取し, 0.075 N 塩酸液に溶解して調製した 0.002% ペプシン液を 150 ml 加えて, $39 \pm 2^\circ\text{C}$ で 24 時間消化試験を行なった²⁾。消化試験終了後, No. 5 A ろ紙でろ過し, さらに 0.075 N 塩酸液で残渣を洗浄した。このろ液中の N を定量し, 試料の N に対する百分率をペプシン消化率 (PD) とした。また, この値から後述の塩酸液溶解率を差し引いた値を純ペプシン消化率 (TPD) とした。

2) ペプシン液の代りにペプシン液の調製に用いた 0.075 N 塩酸液を使用し, 前記 1) の方法と同様の操作を行ない, 塩酸液に溶出した N 量を定量し, その塩酸液溶解率 (HCS) を算出した。

なお, 上記の *in vitro*, *in situ* バッグ法およびペプシン消化試験, 塩酸液溶解試験では, 1 処理区につき 3 連で実施した。

6. 培養液の pH は, ガラス電極 pH メーターで測定し, 培養液中の VBN は水蒸気蒸留法⁴⁾により, また試料とろ液中の全 N はケルダール法によって定量した。

結果および考察

表 1 に示すように, 実験 1 の *in vitro* バッグ法では, 培養前後の pH 値は 6.17~6.95 の範囲内に維持されており, いずれも大きな変化ではなかった。URF では, 培養後無処理区, 処理 (500 W, 80 秒) 区とも VBN の増加が示され, 特に無処理区の増加量は 178.6 mg/505 ml であった。これはルーメン微生物が活発に活動していることを示すものであろう。また, 処理区では増加量が 49.7 mg/505 ml と無処理区の約 1/4 であり, 処理区からの VBN 生成は著しく抑制されることが認められた。本実験では, VBN の大部分がアンモニア態 N であったので, 前記 VBN の増加はアンモニア態 N の生成を反映したものであり, PLEGGE ら⁷⁾の報告と類似の結果が示された。他方, SRF では, 無処理区, 処理区ともに VBN 増加はほとんどなく, 微生物の活動はなかったと判断された。T-N の増加量は, URF では, 無処理区, 処理区とも増加を示したが, 処理区の増加量 101.6 mg/505 ml は無処理区の 279.2 mg/505 ml と比べ, 約 1/2 であり, VBN と同様に処理区の方が著しく抑制されることが認められた。また, SRF では, 無処理区, 処理区とも T-N

Table 1. Comparison of disappearance rate, residual rate and its pepsin digestibility (PD) on *in vitro*, *in situ* and pepsin digestion trial with untreated or microwave (MW) treated soybean meal nitrogen (N)

		Untreated		MW (500 W, 80 s)	
<i>In vitro</i> bag method (Exp. 1)		URF ¹⁾	SRF ²⁾	URF	SRF
Media pH	0 h	6.79± 0.11 ³⁾	6.95±0.26	6.79± 0.11	6.95±0.26
	18 h	6.23± 0.03	6.55±0.05	6.17± 0.04	6.54±0.04
Increased VBN ⁴⁾ in media	(mg)	178.6 ±43.7	1.6 ±2.2	49.7 ± 7.9	1.4 ±0.6
Increased T-N ⁵⁾ in media	(mg)	279.2 ±48.4	161.4 ±4.8	101.6 ±17.7	87.8 ±4.1
Disappearance rate of N	(%)	38.7 ± 7.0	19.7 ±3.5	15.2 ± 2.0	7.1 ±3.3
Residual rate of N	(%)	61.4 ± 7.1	80.4 ±3.5	84.8 ± 2.0	93.0 ±3.3
PD of residual N	(%)	94.6 ± 1.2	95.6 ±2.2	90.3 ± 1.6	87.9 ±1.5
Estimated PRD ⁶⁾	(%)	58.1 ± 7.4	76.9 ±5.1	76.6 ± 3.1	81.8 ±4.3
<i>In situ</i> bag technique (Exp. 2)		%			
Disappearance rate of N		47.2±11.0		21.0± 7.7	
Residual rate of N		52.8±11.0		79.0± 7.7	
PD of residual N		96.6± 2.9		91.8± 3.4	
Estimated PRD		50.9±10.5		72.6± 7.4	
Pepsin digestion		%			
Pepsin digestible N (PD)		86.5± 0.8		76.8± 0.4	
HCl soluble N (HCS)		37.1± 0.1		15.2± 0.3	
True pepsin digestible N (TPD)		49.4± 0.6		61.6± 0.7	

¹⁾ Unsterilized rumen fluid. ²⁾ Sterilized rumen fluid. ³⁾ Values are means $\pm$ SD. ⁴⁾ Volatile basic nitrogen.

⁵⁾ Total nitrogen. ⁶⁾ Postruminal digestibility.

の増加が認められたが、ここでも処理区の方が増加が少なく、無処理区の 161.4 mg/505 ml の約 1/2 であった。このように処理品はルーメン微生物に分解されにくだけでなく、ルーメン液への N 溶解性も大きく抑制されることが認められた。

また、培養後の残渣部分の N 量は試料中の全 N 量に対して、URF 区では、無処理品が 61.4%，処理品が 84.8% であり、微生物が活動する培養液では、無処理品よりも処理品の方が約 23.4% 多かった。SRF 区では、無処理品と処理品がそれぞれ 80.4%，93.0% であり、ルーメン微生物が活動しない培養液の場合でも、処理品の方が約 12.6% 多かった。

本実験の結果から、大豆粕を 500 W, 80 秒でマイクロ波処理すれば、ルーメンバイパス性が高まることが示唆された。しかし、ルーメンバイパス部分には、飼料の元来の不消化部分と加熱処理により生じた不消化部分を含むので、培養残渣部分について、ペプシン消化試験を行った。その結果は、URF 区残渣ではペプシン消化率が無処理品の 94.6% より処理品は 90.3% とやや劣ったが、残渣中のペプシン可消化 N 量の試料全 N 量に対する比率、すなわち表 1 中の PRD は無処理品の 58.1% に対して処理品が 76.6% と著しく増加したので、この処理がバイパス効果を顕著に高めると考えられた。

実験 2 での *in situ* バッグ法の結果においては、24 時間消化後の残渣中の全 N 量は試料全 N 量に対して、無処理品は 52.8%，500 W, 80 秒処理品が 79.0% と、処理品の方が約 26% 多かった。さらに、残渣部分を使ってペプシン消化試験を行なった結果は、無処理品では 96.6% であり、処理品では 91.8% であった。このことは処理品は熱変性により難消化部分が多くなることを示すものであろう。また、残渣中のペプシン可消化 N 量の試料全 N 量に対する比率 (PRD) は、無処理品の 50.9% に対して、処理品は 72.6% であった。以上のように、第 4 胃以下で消化・吸収できる N 量と仮定された残渣中のペプシン可消化 N 量は試料全 N 量に対して、処理品の方が無処理品よりも約 22% (1.4 倍) 多いことが示された。

これらの結果を大豆粕試料に直接行なったペプシン消化試験結果と比べると、無処理品および処理品のルーメン液による *in vitro* の N 消失率はそれぞれの塩酸液溶解 N 部分の比率 (HCS) と極めて近似していたが、*in*

situ バッグ法によるルーメン内 N 消失率は HCS より 6～10% 高く、SD も大きかった。

以上のように、市販大豆粕ではマイクロ波 (2450 MHZ) で 500 W, 80 秒処理という短時間の処理により実際にルーメン内での分解を抑制し、かつ第 4 胃以下での可消化 N 部分を多くすることが可能な利点があると認められた。

穀類の加熱圧扁に際して、赤外線を使って加熱処理するマイクロナイズ処理があるが、超短波の電波 (マイクロ波) を使う処理は水分子などの共振による発熱により処理物を内部から短時間で加熱しうる特長を有し、有用性が高いと考えられるが、この実用化には出力、水分含量など、さらに検討が必要と考えられる。

文 献

- 1) BRODERICK, G.A. and W.M. CRAIG, Effect of heat treatment on ruminal degradation and escape, and intestinal digestibility of cottonseed meal protein. *J. Nutr.*, **110**: 2381-2389. 1980.
- 2) 堀井 聰, 動物栄養試験法, 消化性を判定する人工的方法の項執筆 (森本 宏監修), 第 1 版, 448-454. 養賢堂, 東京, 1971.
- 3) 劉 添仁・中村 豊・吉田條二, 大豆粕蛋白質のペプシン消化性に及ぼすマイクロ波処理と乾熱処理の影響, 日畜会報, **66**: 386-388. 1995.
- 4) 森本 宏監修, 動物栄養試験法, 421-422. 養賢堂, 東京, 1971.
- 5) 森本 宏監修, 動物栄養試験法, 450-452. 養賢堂, 東京, 1971.
- 6) National Research Council, Nutrient requirements of sheep. 6th revised ed. 45. National Academy Press. Washington, DC. 1985.
- 7) PLEGGE, S.D., L.L. BERGER and G.C. FAHEY, Jr., Effect of roasting temperature on the proportion of soybean meal nitrogen escaping degradation. *J. Anim. Sci.*, **61**: 1211-1218. 1985.
- 8) STERN, M.D., K.A. SANTOS and L.D. SATTER, Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat treated whole soybeans. *J. Dairy Sci.*, **68**: 45-56. 1985.
- 9) TAGARI, H., F. PENA and L.D. SATTER, Protein degradation by rumen microbes of heat-treated whole cottonseed. *J. Anim. Sci.*, **62**: 1732-1736. 1986.