

# ルーメン内における窒素代謝の量的考察

渡 辺 泰 邦

信州大学農学部 家畜衛生学研究室

## 目 次

	頁		頁
第1章 緒 論	47	第8節 ガス産生能の変動	77
第1節 緒 論	47	第9節 考 察	79
第2節 窒素代謝の量的考察の必要性	49	第5章 ルーメン内における蛋白質の質的 変化	80
第3節 アミノ酸, 尿素の吸収	51	第1節 実験方法	81
第2章 ルーメン全内容量の経時的計測法	53	第2節 窒素量の変化	81
第1節 ルーメンフィステル法	53	第3節 アミノ酸組成の変化	82
第2節 第二第三胃間孔栓塞法	57	第6章 ルーメン内における尿素よりの蛋 白質合成	84
第3節 第二第三胃間孔栓塞法の検討	58	第1節 実験方法	85
第3章 ルーメンからのアンモニアの吸収	61	第2節 総窒素量の変動	86
第1節 実験方法および結果	61	第3節 蛋白態窒素量の変動	87
第2節 考察	65	第4節 非蛋白態窒素量の変動	89
第4章 ルーメン内窒素化合物量の経時的 変化とルーメン発酵	66	第5節 考 察	90
第1節 実験方法	66	第7章 吸収アンモニアの処理能力	92
第2節 総窒素量の変動	67	第1節 実験方法および結果	92
第3節 蛋白態窒素量の変動	69	第2節 考 察	95
第4節 非蛋白態窒素量の変動	71	総 括	96
第5節 アンモニア態窒素量の変動	72	謝 辞	98
第6節 ルーメンからの窒素の吸収量	74	引用文献	99
第7節 揮発性脂肪酸量の変動	76	Summary	102

## 第1章 緒 論

### 第1節 緒 論

反芻動物の蛋白質に関する栄養生理学的様相は、単胃の動物と比較して膨大な容積を持つルーメンが存在することが原因となつて、より異なることが知られている。しかしこの事実が実証されたのは1940年前後である。

Ritzman & Benedict<sup>56)</sup> (1938) はルーメンは反芻、咀嚼を受けるための貯蔵器官にすぎず、摂取物の消化には全く関与しないとしている。しかしながら、古く Weiske ら<sup>78)</sup> (1879) はメンヨウにおいてアスパラギンが体重を増加させ、かつその窒素平衡がプラスとなることを報告している。また Zuntz<sup>82)</sup> (1891) はルーメン内に存在する微生物が簡単な窒素

化合物からその体蛋白を合成し、したがって飼料蛋白の代替になりうるとの説を提起している。また Hagemann<sup>24)</sup> (1891) はルーメン内において合成された微生物体蛋白が、その宿主の動物によつて消化され、動物の蛋白質源として有効に利用されうることを示唆した。

このような事実を反芻動物のルーメン内で実験的に証明したのは、Schlotteke<sup>59)</sup> (1936), Sym<sup>66)</sup> (1938), Pearson & Smith<sup>50,51)</sup> (1943), らが、ルーメン内に存在するバクテリアおよびプロトゾアが、蛋白質分解能を持つことを観察したのが端緒である。すなわち Sym<sup>66)</sup> (1938) はルーメン内容物が強力な蛋白質分解能を持つことを報告した。Pearson & Smith<sup>50,51)</sup> (1943) らはルーメン内において蛋白質の分解および微生物体蛋白質の合成がおこりうることを証明した。彼等の意図するところは、ルーメン内において尿素窒素よりの微生物体蛋白質の合成の事実を、in vivo において確認することにあつた。しかしながらその方法においての困難性のために、in vitro においてのルーメン内微生物による蛋白質の分解、および尿素窒素の微生物体蛋白質への合成を確認するのに止まっている。

このように1940年前後より、反芻動物のルーメン内微生物による蛋白質の分解、また非蛋白態窒素よりの微生物体蛋白質合成の事実が認められ、実際に反芻家畜の飼料に蛋白質の代替としての非蛋白態窒素の利用の可能性がしめされた。以後今日に至るまで尿素を中心とし、アンモニア塩、アマイド類、尿素誘導体等についての多くの研究が行なわれて来た。

ルーメン内における尿素あるいはアンモニア塩等からの微生物体蛋白質合成の事実を、Fingerling ら<sup>20)</sup> (1937), Studt<sup>65)</sup> (1939) らは窒素平衡試験によつて間接的に証明した。また Harris & Mitchell<sup>25)</sup> (1941) は窒素平衡試験に並行して、メンヨウの成長試験を行ない、尿素の給与によつてプラスの窒素平衡と、メンヨウの成長促進効果を観察している。また Wegner ら<sup>76,77)</sup> (1940, 1941) は低蛋白の飼料に尿素を添加することによつて、ルーメン内容の蛋白質含量が増加することを報告している。

Harris ら<sup>26)</sup> (1943) はルーメン内容中の蛋白質含量が、チモシー乾草給与飼料に尿素を添加することによつて、上昇することを報告した。

Harris ら<sup>25,26)</sup> (1941, 1943) の報告によると、ルーメン内容物の屠殺後の分析によつて、ルーメン内において尿素給与によつて純蛋白質が増加していることを観察している。このようなルーメン内蛋白質の合成に関する量的観察は、種々の方法によつて行なわれている。

飼料に尿素のみを窒素源としてウンに給与した場合に、ルーメン内において尿素窒素はその90%が蛋白態窒素に転換したとの報告がある<sup>17)</sup>。Pearson & Smith<sup>51,52)</sup> (1943) はルーメン内容液の in vitro における培養によつて、非蛋白態窒素からの蛋白質への合成量についての検討を行つた。Loosli ら<sup>40)</sup> (1949) は純粋無蛋白質飼料に尿素を窒素源として給与したメンヨウにおいて、10種の必須アミノ酸がルーメン内に合成されることを報告した。また Watson ら<sup>75)</sup> (1949) は  $N^{15}$  標識尿素をメンヨウに給与した際に、ルーメン内微生物体蛋白質に尿素窒素が取り入れられ、これが動物に利用されることを証明した。

このように各種の直接的あるいは間接的方法によつて、ルーメン内微生物が非蛋白態窒素を利用してその微生物体蛋白質を合成することは、多くの実験事実によつて明らかにされている。

一方摂取された飼料蛋白質はルーメン内微生物によつて分解を受ける。Sym<sup>66)</sup> (1938) はルーメン内容の強力な蛋白質分解能を観察し、また Pearson & Smith<sup>51)</sup> (1943) によつて

in vitro におけるルーメン内容の蛋白質分解能が証明された。Warner<sup>71)</sup> (1956) はルーメン内の蛋白質分解力の半量はバクテリアに起因することを明らかにした。すなわち in vitro においてトルエンの存在下でルーメン内バクテリアの培養によつて、添加した蛋白質の分解が基質特異性を失つて同様の傾向となることを観察している。同様の傾向は Annison<sup>3)</sup> (1956) によつてもえられている。このようなルーメン内における蛋白質分解の問題は、McDonald<sup>41, 42)</sup> (1949, 1952) によつてさらに進展され、ルーメン内における蛋白質分解の量的意義の重要性が指摘された。McDonald はその一連の研究において、蛋白質分解の主要終末産物はアンモニアであることを示しており、給与する飼料蛋白質の性質の相違によつて、ルーメン内にアンモニアが蓄積する速度に相違のあることを見ている。また彼はアンモニアがバクテリアの成長に利用されることを指摘した。これらの研究は Annison ら<sup>2)</sup> (1954) によつてさらに展開され、in vivo において多量の蛋白質を動物に供給することによつて、ルーメン内にアンモニアが蓄積することが観察された。

McDonald<sup>42)</sup> (1952) はルーメン粘膜からのアンモニアの直接吸収の事実を指摘し、メンヨウにおいてその一日量が4ないし5 gにおよぶことを報告した。また Lewis ら<sup>37)</sup> (1957) はメンヨウのルーメンからのアンモニア吸収量は一日に14 gにおよぶことを報告した。ルーメン内における蛋白質分解の終末産物としてのアンモニアの重要性が McDonald<sup>41)</sup> (1948), Chalmers ら<sup>12, 13)</sup> (1954) によつて指摘されて来たが、Warner<sup>71)</sup> (1956) の in vitro の研究によつても蛋白質のほぼ半量がルーメン内微生物によつてアンモニアに転換することを認めている。El-Shazly<sup>18)</sup> (1952), および Sirotnak ら<sup>62)</sup> (1953) は洗滌菌体懸濁液によつて、蛋白質の終末の発酵分解産物がアンモニアおよび揮発性脂肪酸であることを指摘した。

このような研究によつて、反芻動物の蛋白質の消化、吸収の過程には次のような特異性を持つことが明らかとなつた。

すなわち、ルーメン内においては蛋白質はルーメン発酵によつて一部は分解を受け、アンモニアおよび揮発性脂肪酸となる。産生されるアンモニア量は蛋白質の性質、量および同時に給与される炭水化物の性質、量によつて決定される。

ルーメン内で蛋白質の分解によつて産生されたアンモニアは直接ルーメン粘膜より吸収されて、ルーメン静脈をへて肝へ到達する。

ルーメンより吸収されたアンモニアは、その一部は唾液中の尿素としてルーメンへ再循環する。

ルーメン内ではアンモニアなどの非蛋白態窒素化合物より、微生物体蛋白質が合成されこれが動物の蛋白質源として消化、吸収される。

これら一連の事実より、著者はメンヨウのルーメン内における蛋白質の量的変化の追及を中心とし、合せてルーメン内容のアミノ酸組成の変化について論及した。またルーメンからのアンモニアの吸収量とアンモニア吸収によつて引き起される動物体の反応について論及した。

## 第2節 窒素代謝の量的考察の必要性

ルーメン内において蛋白質、アミノ酸等は微生物によつて分解を受け、分解終末産物としてアンモニアおよび揮発性脂肪酸を産生する。飼料として給与される窒素化合物は主として蛋白質であるが、通常の飼料中には非蛋白態窒素化合物も含有している。ルーメン内におい

ではこれら非蛋白態窒素化合物からも、分解終末産物としてアンモニアが産生される。これら分解産物のアンモニアおよびアミノ酸からルーメン内微生物はその微生物体蛋白質を合成する。したがってルーメン内においては、摂取飼料蛋白質の分解および微生物体蛋白質合成の二つの過程が並行して行なわれる。すなわち、飼料として給与された蛋白質は微生物の分解を受けて減少する。一方蛋白質の分解産物であるアンモニア、アミノ酸から、微生物体蛋白質の合成がある。また飼料中の非蛋白態窒素、唾液中の尿素等もアンモニアに分解され、これらより微生物体蛋白質に合成される。したがって、ルーメン内において飼料由来の蛋白質は減少し、微生物体蛋白質は増加する可能性がある。

反芻動物においては、蛋白質をその動物体が分泌する蛋白質分解酵素によつて分解し、アミノ酸として吸収する部位は第四胃以下の腸管である。この部位における蛋白質のアミノ酸への分解と、アミノ酸の吸収の過程は単胃の動物と同様であると考えられる。したがって、ルーメンより第三胃を通り第四胃へ至る蛋白質の量が、反芻動物への蛋白質の眞の給与量となると云える。飼料として給与される蛋白質はルーメン内においてその一部は微生物体蛋白質となる。それゆえ、動物が消化、吸収する蛋白質は飼料蛋白質と微生物体蛋白質である。ルーメンが存在することによつて、飼料として給与された蛋白質とはその量においても質においても異なつたものを反芻動物は消化、吸収をする。したがって反芻動物に対する蛋白質の栄養価値を評価するにあつては、給与蛋白質の見掛けの消化率によつて判定するのみでは不十分であると云える。

ルーメンは摂取された飼料蛋白質を減少させることもまた増加させることも可能な器官である。ルーメン内における蛋白質の変動を観察した実験としては次のような報告がある。Mills ら<sup>47)</sup> (1942) はルーメン全内容をフイステルより取り出し、計量、サンプリングを行いこれをルーメンへ戻す方法を採用した。この方法によつて、ルーメン内の蛋白質の含量がチモシー乾草、澱粉を尿素と同時に給与することによつて増加することを観察している。同様の実験方法によつて Agrawara ら<sup>1)</sup> (1953) はウシに給与窒素源をすべて尿素として、ルーメン内において蛋白質が増加することを観察した。また Gray & Pilgrim<sup>22)</sup> (1956)、Gray ら<sup>23)</sup> (1958) は飼料およびメンヨウの第四胃内容物中のリグニンと窒素の比率を求めて、第四胃に到達する窒素量に多くの変異が飼料によつてあることを認めている。また亀岡ら<sup>33, 34)</sup> (1962) は反芻胃分離法によつて、ルーメンおよび第三胃における窒素の吸収を測定し、飼料中の蛋白質との相関を見ている。

このようなルーメン内における物質の変動、特に蛋白質の実量の消長を検索するには、多くの困難性があることを Pearson ら<sup>50)</sup> (1943) が指摘している。彼等はその報告において、ルーメン内容が不均一であるために、ルーメンからフイステルを通じて眞にルーメン内全体を代表する試料採取が困難であることを指摘している。実際にルーメンフイステルからの直接のルーメン内容サンプリングは、通常固い内容物が不均一にあるために困難である。ルーメン内における蛋白質その他窒素化合物濃度の経時変化は、Pearson らが指摘するようにルーメン内容サンプリングの困難性が存在する。またルーメン内蛋白質の変動には、ルーメン内での分解、合成以外に、唾液の流入、第三胃への内容の移動、ルーメン粘膜からの水の出入などを考えなければならない。したがって、ルーメン内における窒素化合物の量的変化を検索するためには、通常のルーメン内容中の濃度の変化を追求するのみでは、その意味

するところが少ない。

ルーメン内においては、飼料中の蛋白質あるいは非蛋白質態窒素化合物より、微生物体蛋白質の合成が行なわれる。そのために、給与飼料の蛋白質とは異なつたアミノ酸組成の微生物体蛋白質をも動物は消化し吸収する。ルーメン内において、アミノ酸組成の変化が全体として行なわれる可能性がある。この変化によるルーメン内全体としてのアミノ酸組成の変化に関しては、ほとんど研究が行なわれていない。わずかに、ルーメン内バクテリア、プロトゾアの生物価、消化率に関しての若干の実験が報告されている<sup>44,46)</sup>。このことは、ルーメン内容を飼料性の蛋白質と微生物体蛋白質との分別が困難であることも、一つの原因であると考えられる。

ルーメン粘膜より蛋白質の発酵終末産物であるアンモニアが吸収されることは、すでに多くの知見がある。実際に尿素給与、高蛋白質飼料の過給等によつて、アンモニア中毒症を呈することが、野外においてまた実験的にも認められている<sup>9,81)</sup>。これらの症状はルーメンからのアンモニア吸収によるものであることは、うたがいのないところである。そこでアンモニアのルーメンからの吸収量を決定する必要がある。

著者はこれらの問題に対して、メンヨウのルーメン内容全量の経時的計量法を基礎として、ルーメン内の蛋白質、その他関連する窒素化合物についての量的変化を中心主題として実験を行なつた。

### 第3節 アミノ酸、尿素の吸収

ルーメン内において蛋白質は分解を受けアミノ酸を産生する。またアミノ酸は脱アミノされてアンモニアが産生される。しかしルーメン内にはアンモニアと比較して、アミノ酸濃度は通常きわめて低濃度である。Annison<sup>9)</sup> (1956)によれば、ルーメン内に存在するアミノ窒素は0.5ないし10mg/dlにすぎない。これに対しアンモニア態窒素は後述のように、その濃度は飼料によつて著しい相違があるが、5ないし70mg/dl、時には130mg/dlにおよぶことを観察した<sup>74)</sup>。このようにアミノ酸がルーメン内に微量のみの存在を示すと云う事実は、アミノ酸の産生と分解の速度の平衡が、産生よりも分解が速く、アミノ酸として蓄積しないことが考えられる。しかし、一方ルーメン粘膜からのアミノ酸の吸収も問題となる。

尿素は唾液中に存在し、多量に分泌される唾液によつてルーメン内に相当量流入する<sup>4)</sup>。また蛋白質代替飼料として、反芻動物に給与することがすでに多く行なわれている。尿素は反芻動物ルーメン内ですみやかに分解し、アンモニアを産生する<sup>35,57,74)</sup>。しかしながら尿素のルーメン粘膜からの直接吸収の有無を確認する必要がある。

これらアミノ酸、尿素のルーメン粘膜からの吸収程度を検索するために、津田<sup>67,68,69)</sup> (1956)の小胃法によつて実験を行なつた。

#### 1 グリシンの吸収

実験方法はグリシン110mgを0.9% NaCl, 100mlに溶解し、110mg/dl (0.014M) 溶液とした。この試験液を小胃開口部より小胃内へ注入し、4時間内の吸収を測定した。以下実験動物はあらかじめ小胃をルーメンに手術によつて作つたメンヨウについて行なつた。グリシンの定量は sodium- $\beta$ -naphthochinonsulfonic acid による比色定量によつた。

実験結果は第1図に示すように、実験開始後1時間ごとの吸収率はそれぞれ0, -6, -5, -13と濃度が濃くなる傾向が観察された。すなわち、浸透圧がこの場合ほぼ等張であ

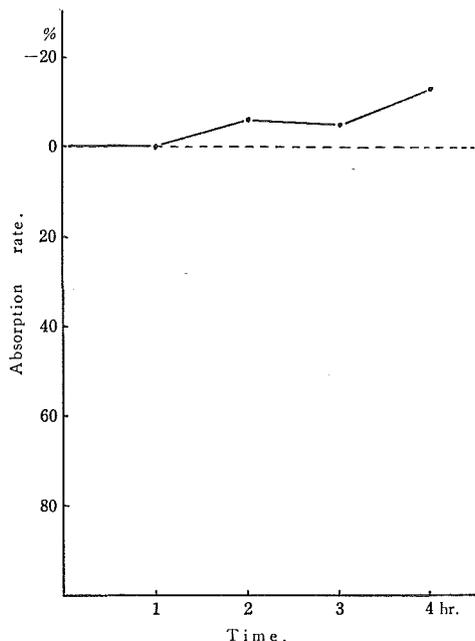


Fig. 1. Absorption of glycine from rumen pouch.

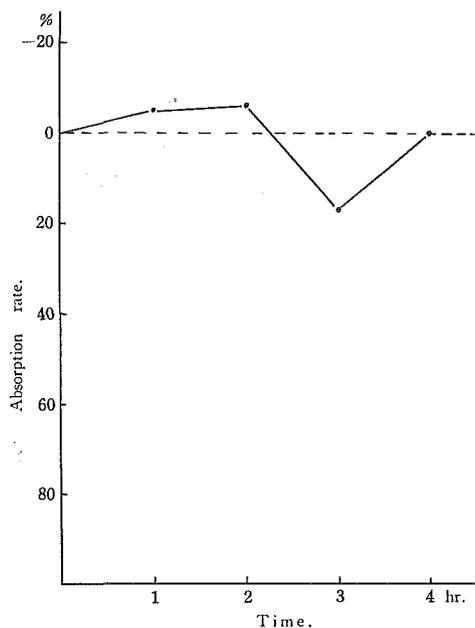


Fig. 2. Absorption of casein hydrolyzate from rumen pouch.

るために、水の吸収があり若干のグリシン濃度の増加があつたと説明することができる。本実験においてアミノ酸の吸収は観察されなかつたが、実験に用いたアミノ酸濃度は低濃度であり、この実験によつてただちにアミノ酸の吸収がないとは断定できない。それゆゑ次の実験をさらに行なつた。

## 2 カゼイン水解物の吸収

実験にはアミノ酸混合物であるカゼインの酸分解物(カザミノ酸)を使用した。カザミノ酸のアミノ窒素含有量は7.0ないし7.5%であつた。溶液濃度は0.2 Mとし、前項と同様の実験を行なつた。

実験結果は第2図に示すように、実験開始後1, 2, 3, 4時間の吸収率はそれぞれ5, 5, 17, 0%を示した。3時間後においてやや吸収を示した理由は不明であるが、他の各時間においては0%, あるいはやや濃度の増加することが観察された。すなわち、アミノ酸混合物の積極的吸収は観察されなかつたと云える。以上の結果より、アミノ酸はルーメン粘膜より積極的吸収はないと云えよう。

Annison<sup>3)</sup>(1957)はメンヨウのルーメン内にカゼインの水解物100gを投入して、門脈血および動脈血中のアミノ窒素を定量して、アミノ酸のルーメン粘膜からの吸収は存在しないことを報告している。ルーメン粘膜よりアミノ酸の吸収が認められないので、ルーメン内にアミノ酸が低濃度のみ存在する理由としては、ルーメン内微生物によるアミノ酸の利用ないしは分解がすみやかであることが推定される。

## 3 尿素の吸収

尿素はルーメン内においてすみやかにアンモニア、炭酸ガスに分解される<sup>35, 52, 74)</sup>。ルーメン内において尿素窒素がアンモニアに分解される以前に、直接ルーメン粘膜より吸収されるならば、尿素は動物体の組織栄養素とし

て有効なものではないから、いたずらに損失となるところである。

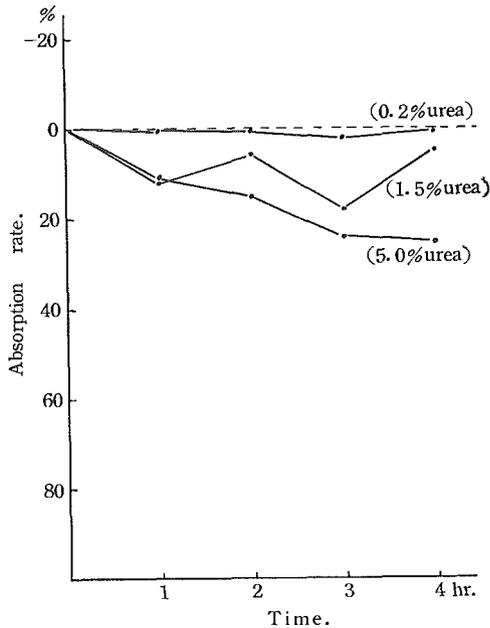


Fig. 3. Absorption of urea from rumen pouch.

1.5%尿素溶液の場合0.9% NaCl 溶液に尿素を溶解した。やや高張溶液となる。吸収率は1, 2, 3, 4時間後にそれぞれ12, 6, 18, 5%の吸収率を示している。(第3図) この場合にも尿素の吸収を積極的に証明する値はえられなかった。

5% (0.83M) 尿素溶液の場合にも0.9% NaCl 溶液に溶解した。この溶液は、1.14M溶液となり、かなり高張な溶液である。結果は第3図に示すように1, 2, 3, 4時間の吸収率は11, 15, 24, 25%を示した。この結果からすると、尿素は4時間で25%の吸収を示したことになる。すなわち、特に積極的な吸収とは考えられないが、高濃度の場合には吸収されることになる。このような事実は物質が活性吸収されず、受動的拡散によつて吸収されるのが主要部分をしめる場合に観察される。しかし、5%尿素溶液の場合にはかなり高張溶液を用いており、このような場合には水の逆吸収がおりうる。したがつて、この場合にも水の小胃内への排出によつて、濃度の減少を招いたことも考えられる。

尿素を反芻動物に給与した場合のルーメン内尿素濃度は0.5%以下である。(Watanabe & Umezu<sup>74)</sup> したがつてルーメン粘膜からの尿素の吸収は、ほとんど存在しないと考えられる。

ルーメン粘膜からの尿素の吸収程度を観察するために、前項と同様に小胃法によつて尿素の吸収についての実験を行つた。実験方法は尿素0.2, 1.5, 5.0% 溶液を用いた。尿素の定量方法は p-Dimethyl による比色定量法<sup>29)</sup>および Urease による微量拡散法<sup>15)</sup>によつた。0.2% (0.03M) 尿素溶液は等張溶液をえるために、0.68% NaCl水溶液に溶解して用いた。

実験結果は第3図に示すように、0.2%では3時間目においてやや吸収を示すが、積極的吸収はないと云える。さらに pH の変化が尿素の吸収におよぼす影響を見るために、pH 6, pH 8 の磷酸 Buffer を用いて同様に0.2% 尿素溶液について吸収実験を行つた。その結果両者にほとんど差は認められなかった。すなわち、0.2%の尿素液では尿素の吸収は観察されなかった。

## 第2章 ルーメン全内容量の経時的計測法

### 第1節 ルーメンフィステル法

1940年前後より、ルーメン内窒素化合物の経時的变化を検索する方法として、各種の方法が考えられ実験が行なわれた。その一つは飼料摂取後の動物を屠殺して、そのルーメン内容の窒素濃度を測定する方法である<sup>26)</sup>。この方法によつて、飼料摂取後のある時間のルーメン

内容量を計測することはできるが、経時的变化を見るためには、多数の動物を使用してその変化を推定しなければならない。また Gray ら<sup>23)</sup>(1958) はメンヨウについて屠殺後の第四胃でのリグニンと蛋白質の比率によつて、ルーメン内での蛋白質の増減を推定している。このような方法によつては、同一個体での経時的变化の観察は不可能であり、動物による個体差を考慮に入れなければならない。

同一個体の動物について各種の飼料を給与した場合のルーメン全内容量を測定する方法としては、ルーメンフィステル法以外には困難である。またルーメン内容全量を一時体外にとり出し、十分に攪拌した上で試料採取を行なわなければ、前述のようなルーメン内容の不均一性による試料採取の不確実性を除くことができない。したがつて、できるだけ短時間でルーメンよりその全内容を体外に取り出すことのできる方法として、大ルーメンフィステル法を採用した。メンヨウのルーメン背囊部左側に、手術によつて開口部が直径8ないし10 cm のほぼ円型のルーメンフィステルを作つた。(第4図)このフィステルを経て、片手を完全にルーメン内へ挿入することが可能であり、したがつて、ルーメン内容物全量を完全に体外に取り出すことができる。ルーメンと第二胃の内容物を区別することは不可能であるので、以下両者はルーメン内容として取り扱つた。

このルーメンフィステルは常時は第4図および第6図に示すようなカニューレによつて閉鎖した。カニューレはアクリル樹脂製の外板および内板と、ポリスチレン発泡剤製のスポンジによるフィステル閉鎖部とを真鍮製のボルトによつて締め付ける方法を用いた。外板および内板は厚さ4 mm の透明アクリル樹脂製板を15×12 cm にとり、角を取り動物のフィステル部の腹部曲面に合せて加熱整形した。ポリスチレンスポンジは外板および内板に同一の大きさに厚さ15 mm のものを切り取つた。このスポンジには、内板に接するスポンジには外側、外板に接するスポンジには内側に厚さ1 mm のゴムフィルムを接着剤によつて接着した。フィステル開口部を充填するスポンジは両面にゴムフィルムを接着した。このフィステル開口部を充填するスポンジは、フィステルを最大限に拡張させた時の開口の大きさに合せた。

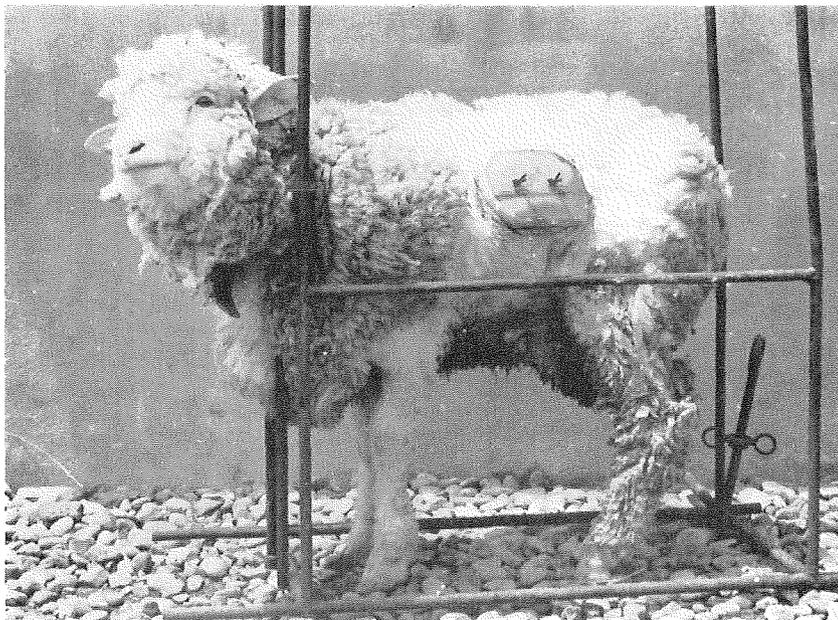
カニューレのフィステルへの取り付け方法は第6図のように、内板をフィステルよりルーメン内へ挿入し、ボルトの頭部をルーメン側に入れ足部をフィステルより外部へ出す。次に内部スポンジを内板とルーメン粘膜の間にボルトを通して入れる。次にフィステル開口部を充填するスポンジをボルトを通して入れ、フィステル開口部は充填閉鎖される。この外側に外部スポンジを皮膚面に入れて外板を取り付ける。これを蝶形ネジによつて締める。

この方法によつてルーメン内容物の外部への漏洩は完全に防ぐことができるが、カニューレの締め付けが不十分で、動物が多量に採食するとルーメン内容の外部への漏洩をきたす。一方締め付けが過度であると、フィステル部位の組織の壊死をひき起すおそれがある。このカニューレを分解し、フィステル開口部を開く操作、またフィステルをカニューレによつて閉鎖する操作もほぼ1分以内に行なうことができる。

このルーメンフィステルから、ルーメン内容全量を容易に取り出すことができ、このルーメン内容を計量し、試料採取を行い、またフィステルより内容をルーメン内へ戻すこともできる。この方法をくり返すことによつて、ルーメン全内容量の経時的計量が可能となる。またルーメン全内容物を体外へ取り出して、容器内で充分攪拌の上試料採取を行なうことがで



(A) Large rumen fistula



(B) Fistula closed by cannula

Fig. 4. Large rumen fistula and cannula.

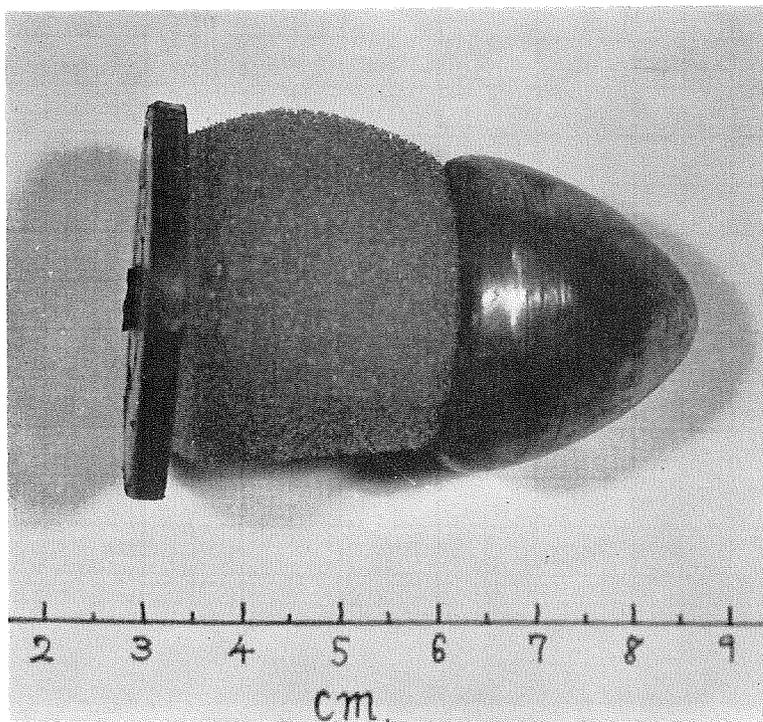


Fig. 5. Reticulo-omasal orifice plug.

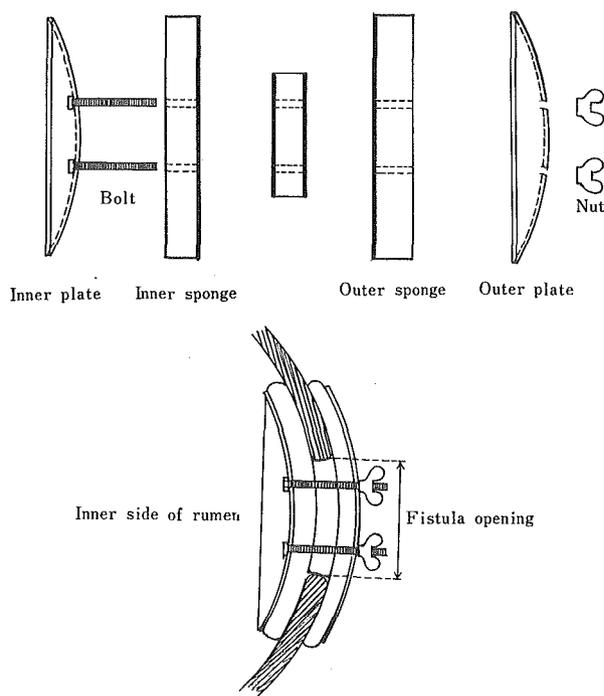


Fig. 6. Construction of cannula of rumen fistula.

りすぐれた方法は考えられていない。

## 第2節 第二第三胃間孔栓塞法

ルーメン内容は第二第三胃間孔 (reticulo-omasal orifice) を経て第三胃へ移動する。この移動の速度は常に一定のものではなく、ルーメンの生理的条件、あるいはルーメン内容の形態などによつて異なるものである。ルーメン内容の第三胃への移動速度は、採食することによつて約2倍に増すことを Balch<sup>6)</sup> (1958) は報告している Phillipson<sup>53)</sup> (1952) は第四胃カニューレによる観察によつて採食によつてルーメンから第三胃への内容の移動が増加していることを観察している。また染色した細木片が休息期よりも採食期、反芻期にルーメンからの内容の通過速度が速くなることを観察している。また彼は粉碎した乾草が長い乾草よりも、第三胃への通過速度がすみやかであることを観察している。同様に染色によつて標識した濃厚飼料は、標識した乾草よりもすみやかにルーメンより第三胃へ移動するとの報告もある。

このような事実から、ルーメン内においては、微小な粒子が粗大な粒子よりもすみやかに第三胃へ移動することが示唆される。またルーメン内容はその形状、大きさ、比重などによつて第三胃への移動速度が異なる。そのために、ルーメン内容はその全量に変化するのと同時に、ルーメンより第三胃へ移動する内容はその形状によつて移動速度が異なるから、ルーメン内の濃度も変化することが考えられる。したがつて、ルーメン内での窒素の実量変化を観察するためには、このルーメン内容の第三胃への移動を一時停止させる手段を必要とする。なおこの移動を停止させることによつて、ルーメン内の発酵に、またルーメンの運動、

きるので、ルーメン全内容を真に代表する試料をえることができる。

この方法によると、ルーメン内容物を一時的に体外に取り出すために、嫌氣的に保たれているルーメン内に外気が流入し、また内容物も空気に触れることによつて、嫌氣度が変わられるおそれがある。またルーメン内の温度が、ルーメン内容を体外に取り出すことによつて低下するおそれがある。したがつて、くりかえしてルーメン内容の取り出し操作を行うことは、正常なルーメン発酵を阻害するおそれがある。しかしながら現在、ルーメン全内容を短時間に取り出し、その全量を正確に計測するためには、本法よ

反芻などルーメンおよび動物体の生理的条件に異常を与えないことが実験目的上必要である。第二第三胃間孔からのルーメン内容の第三胃への移動を停止させるために、手術によつて第二第三胃間孔を縛る方法もあるが、この方法では動物を長い期間にわたつて反復使用することはできない。

著者はルーメン内容の第三胃への移動を、一定時間停止させる方法として、ルーメン内より第二第三胃間孔を栓塞する方法を考案した(Watanabe & Umezumi<sup>73)</sup>(1962))。

実験に用いたメンヨウは、ルーメンにルーメン全内容を取り出すことのできるルーメンフィステルを作製しておく。このフィステルより手を入れて、ルーメン内壁をたどり、噴門、食道溝、第二第三胃間孔を指先にて確認することができる。また指先を第二第三胃間孔へ入れて第三胃内部を確認することもできる。したがつて、ルーメン側より第三胃へ向つて第二第三胃間孔を栓塞することが可能である。この目的のために第5図に示すような第二第三胃間孔栓塞プラグを考案、作製した。

この第二第三胃間孔栓塞プラグは軽金属製の直径35 mmの先端部と後端板を持ち、これを直径5 mmの軸で連結した。先端部の長さは25 mmで全長は55 mmである。この軸部をポリスチレン製発泡剤によつて、直径35 mmの円筒形の栓塞部を作つた。

ルーメン内容の第三胃への移動を一定時間停止させるために、この第二第三胃間孔栓塞プラグ(以下プラグと略記する。)を第二第三胃間孔へ入れる。挿入方法はルーメンフィステルのカニューレを取りはずし、ルーメン全内容を体外に取り出す。右手をフィステルよりルーメン内へ入れ、第二第三胃間孔を指先にて確認し、プラグの先端部を第二第三胃間孔へ入れ、先端部を第三胃内へ完全に入れる。この操作によつてスポンジの円筒部が第二第三胃間孔を栓塞する。後端板部は第二胃内にあつてプラグの第三胃への没入を防止する。

第二第三胃間孔をプラグによつて栓塞することによつて、動物の反芻およびルーメン運動に障害を起すような影響は観察されなかつた。使用するプラグは動物の第二第三胃間孔を拡張させた場合の、最大伸長の大きさを十分に栓塞できる大きさを持つ必要がある。プラグが第二第三胃間孔を栓塞するために充分の大きさがないと、ルーメン内容の第三胃への漏れがおこる。またプラグが大きすぎると第二第三胃間孔への挿入が困難である。このプラグの第二第三胃間孔への挿入、とりはずしにさいし、特に動物に対する著明な影響は観察されなかつた。しかしプラグの挿入にさいして指にて食道溝、第二第三胃間孔附近を一時的に刺激することによつて、唾液の分泌および暖気反射を一時促進することが観察された。この現象は第二第三胃間孔栓塞後は引続いて観察されず、プラグ挿入時の一時的な刺激による現象と考えられる。

### 第3節 第二第三胃間孔栓塞法の検討

第二第三胃間孔をプラグによつて栓塞した場合に、ルーメン内容の第三胃への移動を停止させることが可能かどうかを検討することが必要である。すなわち、栓塞をした場合のルーメン内容の第三胃への漏出を検討するために、第二第三胃間孔を栓塞した上、ルーメン内に標識物質を投入して、一定時間後の標識物質の回収率を測定した<sup>73)</sup>。

使用する標識物質はルーメン内で分解あるいは吸収を受けず、また動物体に特に影響をおよぼさない物質を使用する必要がある。ルーメン内容の栓塞した第二第三胃間孔からの漏出を検討するために、水溶性のポリエチレングリコール No. 4000, (PEG) および酸化クロ

ームの二種の標識物質のルーメンからの回収率を測定した。

### 1 酸化クロームの回収率

第二第三胃間孔栓塞時のルーメン内における酸化クロームの回収率を測定した。第1表に示すように5種の飼料をメンヨウに給与し、2時間内に採食をさせた。採食開始2時間後、ルーメンフィステルよりルーメン全内容を完全に体外に取り出し、計量した。取り出したルーメン内容をポリエチレン容器内へ入れ、約10gの酸化クロームを正確に秤量して混入した。内容を取り出したルーメンの第二第三胃間孔をプラグで栓塞した後、ただちに酸化クロームを混入したルーメン内容をルーメン内へ投入し、カニューレによつてフィステルを閉鎖した。以後動物は9時間にわたつて飼料、水は給与せず、ケージ内に繋留した。実験開始後3時間および9時間後に、全ルーメン内容をフィステルより取り出して計量し、約50gの試料を取り再びルーメン内へ戻した。実験9時間後に栓塞プラグは取り除いた。

Table 1. The weight change of the rumen contents and recovery rate of  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  under reticulo-omasal orifice plugging

Time after feeding	Experimental ration					
	(A)		(B)		(C)	
	Weight of rumen contents	Recovery rate of $\text{Cr}_2\text{O}_3$	Weight of rumen contents	Recovery rate of $\text{Cr}_2\text{O}_3$	Weight of rumen contents	Recovery rate of $\text{Cr}_2\text{O}_3$
(hr)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
0	4460	100.0	4170	100.0	4730	100.0
3	5000	97.0	4510	93.7	5005	101.3
9	4975	94.3	4570	93.7	4745	97.0
	(D)		(E)		Mean	
	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
0	7100	100.0	6700	100.0	—	100.0
3	7170	98.9	6300	99.8	—	98.1
9	7090	100.6	6010	103.1	—	97.7

(A): Orchard hay.

(B): Orchard hay, Soybean oil meal.

(C): Ladino clover.

(D): Corn ensilage.

(E): Soybean oil meal, Wheat bran.

第1表に示すように、採食後3時間、9時間後におけるルーメン全内容量の変動が観察された。特に乾草給与時においては、ルーメン全内容量は515g、すなわち11%以上の増加が観察された。ルーメン内において、このように内容量が増加する要因としては、主として唾液の流入が考えられる。ルーメン内容量の変動するための要因としては、第三胃への移動は停止させているのであるから、唾液の流入以外には、揮発性脂肪酸など発酵産物の吸収、

水のルーメン粘膜を通じての吸収排出などが考えられる。津田<sup>69,70)</sup>(1964)は、浸透圧によつてルーメン粘膜からの水分の吸収、あるいは排出の方向が決定されることを小胃法によつて確認している。実験A, Bにおける著明なルーメン内容の増加は、乾草給与による反芻促進の結果、唾液分泌量が増加したものと考えられる。実験C, Dにおいては、ルーメン内容量の変動は少なく、採食後3時間においてやや増加を見せているが、9時間においては採食直後の量とほぼ同じである。このようなクローバー生草、コーンサイレージなどの多汁質の飼料では、比較的反芻の頻度は少なく、したがつて唾液分泌の少ないことが推定される。したがつてルーメン全内容量の変動も少ない。一方、ダイズ粕、フスマの濃厚飼料のみを給与した実験Eにおいては、ルーメン全内容量は9時間内に690gの減少を見せている。この場合、反芻はほとんど停止している。そのために唾液の分泌量も少ないことが推定される。このような飼料はルーメン内においては乾草、生草、サイレージなどよりも発酵分解が速く、したがつてルーメンからの揮発性脂肪酸、その他発酵産物の吸収もすみやかであることが推定される。したがつてルーメン内容の減少がすみやかであることが考えられる。

第二第三胃間孔栓塞時のルーメン内における酸化クロームの9時間の回収率は、第1表に示す通りである。実験A, Bすなわちオーチャード乾草給与を除きその他の実験例においては、いずれも97%以上の回収率を示し、第二第三胃間孔栓塞は、ほぼ完全にその目的を果している。

オーチャード乾草給与時において、酸化クロームの回収率が9時間において93.7%と低い値を示している。この原因としては、特に反芻あるいは咀嚼の頻度が高く、またルーメン内に粗大な内容が存在するために、ルーメン運動が他の飼料と比較して活発に行なわれたことが推定される。したがつて、通常のルーメン内に存在する物質と比較して重い比重を持ち、かつ微粒子である酸化クロームが、ルーメン運動によつて第二第三胃間孔を栓塞するプラグの間隙を通過したことが推定される。酸化クロームはルーメン内において湿潤した固型物の表面に吸着しやすい。したがつて、乾草給与のように比較的粗大な物質がルーメン内に存在する時には、濃厚飼料給与時のように微細な粒子が粥状になつて存在する場合とは異なつて表面積が少なく、そのために酸化クロームはルーメンの底部に沈澱しやすい。その結果ルーメン底部すなわち第二胃に酸化クロームが貯留して、ルーメンの収縮運動によつてプラグの間隙より第三胃へ移動したことが推定される。

全実験を通じての酸化クロームの平均回収率は3時間において98.1%、9時間において97.7%を示した。酸化クロームは、ルーメン内においては固形物に吸着され、またルーメン底部に沈澱しやすい。第二第三胃間孔栓塞によつて、酸化クロームの回収率が上記のような値を示したことは、栓塞がルーメン内固形物の第三胃への移動を、ほぼ完全に停止していることを示しているものと考えられる。

## 2 ポリエチレングリコールの回収率

ポリエチレングリコール(PEG)は水溶性であり、ルーメン内では不活性でありルーメン粘膜からの吸収も行なわれない。Sperberら<sup>64)</sup>(1953)はPEG4000をルーメン内容量と、ルーメンからの内容の第三胃への移動量測定に用いている。

第二第三胃間孔を栓塞して、ルーメン内にPEGを注入し、一定時間後にルーメン内におけるPEGの回収率を測定することによつて、ルーメン内の溶液の第三胃への漏出を検討す

ることができる。

実験方法はメソウのルーメン全内容をルーメンフィステルより取り出し、ルーメン内を生理的食塩水にて洗滌した。ルーメン内を完全に空にした後、第二第三胃間孔を栓塞し、ルーメンフィステルにカニューレを取りつけた。このカニューレを通じて、ポリエチレン製チューブ内径 6 mm をルーメン内へ通した。このチューブより、実験Aでは 3 l の 10mM 酢酸ソーダ水溶液、実験Bでは 3 l の 20 mM 酢酸ソーダ水溶液をルーメン内に注入し同時に 10 g/dl の PEG を 7.0 ml、それぞれ注入した。この後動物は 7 時間にわたつてケージ内に保定した。試験液注入後 7 時間でカニューレよりルーメン内液を取り出して計量した。この液中の PEG 量を Hydén<sup>30)</sup> (1955) の方法によつて比濁定量した。

Table 2. Weight change of Na-acetate solution and recovery rate of PEG in the rumen under reticulo-omasal orifice plugging

Time after infusion of solution  (hr.)	Experiment A		Experiment B	
	Weight of rumen fluid (g)	Recovery rate of PEG (%)	Weight of rumen fluid (g)	Recovery rate of PEG (%)
0	3100	100.0	3000	100.0
7	2755	98.8	5110	99.6

その結果第 2 表に示すように、第二第三胃間孔栓塞下のルーメン内における PEG の回収率は、実験Aにおいて 98.8%，実験Bにおいて 99.6% を示し、ほぼ完全に栓塞の目的を達している。ルーメン内の液量は実験Bにおいては 2 l 以上の増量を示している。このルーメン内液の増加は、注入した酢酸ソーダの濃度が高濃度であるために、唾液の分泌、ルーメン粘膜よりの水分のルーメンへの移動があつた結果と考えられる。一方実験Aにおいては、ルーメン内で液量は減少している。すなわち、このような低濃度の溶液では、ルーメン粘膜からの水分吸収量が唾液の流入量を上まわつた結果と考えられる。

### 3 考 察

このように酸化クロームおよびポリエチレングリコールを使用しての第二第三胃間孔栓塞の結果は、9 時間程度の栓塞が充分可能であることを示している。9 時間程度の栓塞によつても以後の採食、反芻に特に異常は見られず、また栓塞中も反芻が観察され、ルーメンの運動も行なわれている。ルーメン内容の第三胃以後への移動を一時停止することの動物体への影響を考え、ルーメンの第二第三胃間孔栓塞による内容量変化の観察は 9 時間とした。試みに 24 時間の栓塞を行つたが、以後の動物体に著しい影響は観察されなかつた。

## 第 3 章 ルーメンからのアンモニアの吸収

### 第 1 節 実験方法および結果

ルーメン内において、蛋白質の分解産物としてアンモニアが産生される事実が、McDonald

41) (1948) によつて明らかにされた。このアンモニアが、ルーメン粘膜より直接吸収を受けることについては、すでに多くの知見があるがアンモニアの吸収量に関しては、その報告は少ない。McDonald<sup>42)</sup>(1952) はメノウのルーメンから、アンモニアが1日量4ないし5 g 吸収されることを観察している。また Lewisら<sup>37)</sup> (1957) は同じく吸収量が14 g におよぶことを報告している。

ルーメン粘膜からのアンモニア吸収に際して、もつとも問題となるのはルーメン内アンモニア濃度であることが推定される。それゆゑに、メノウのルーメン内にアンモニアを投入して、ルーメンからのアンモニアの吸収量を測定した。

実験方法はメノウのルーメン内容をフィステルより完全に取り出し、存在する微生物によるアンモニアの利用、および飼料からのアンモニア産生などの影響によるアンモニアの量変化を除去した。内容を完全に取り除いたルーメン内を生理的食塩水にて洗滌し、第二第三胃間孔を前述の方法で栓塞した。このルーメン内にアンモニア塩溶液を投入して、その吸収量を測定した。アンモニア溶液は、重碳酸アンモニウム溶液を1%食塩水に溶解し、pHを調整してルーメン内に投入し、アンモニアの吸収量を測定した。それにともなつて血中の尿素、アンモニア、血糖、炭酸濃度を測定した。尿素、アンモニア、および炭酸は Conwayの微量拡散法<sup>15)</sup>、血糖は Hagedorn-Jensen 法<sup>80)</sup> によつて定量した。またルーメン内アンモニアは Pearson ら<sup>50)</sup>の方法によつて定量した。

#### 1 100 mg/dl アンモニア態窒素投与実験

投与したアンモニア塩は、重碳酸アンモニウム17 gを、1%食塩水溶液3.0 lに溶解し、これに1 N 酢酸30 mlを加えpHを7.8に調整した。この液のアンモニア態窒素の濃度は100 mg/dlである。

投与法はルーメン内容全量をフィステルより取り出し、ルーメン内をほぼ体温にまで加温した生理的食塩水で洗滌した。ここで投入前の採血を行い、次いで39°Cに加温した上記アンモニア塩溶液3.0 lを、第二第三胃間孔を栓塞したルーメン内へ投入した。以後30分、1、2、3、4、5、6時間においてルーメン内液10 ccおよび頸静脈血5 ccを採取した。

ルーメン内におけるアンモニアの濃度変化および実験終了後のルーメン内液の残存量から算出したアンモニアの吸収量は第7図に示すとおりである。アンモニア態窒素100 mg/dl投与の結果は、ルーメン内アンモニア濃度は1.5時間で50 mg/dlと半量にまで低下し、3時間で30 mg/dl、6時間では15 mg/dlとすみやかな吸収を示している。この間の吸収実量は1時間で1.0 g、2時間で0.5 g、以後吸収量は低下している。このように

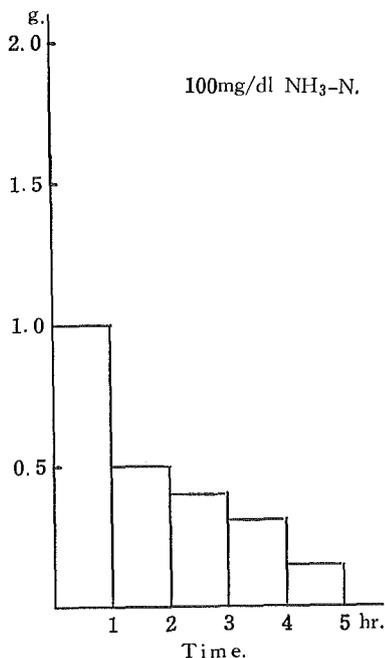


Fig. 7. Absorption of  $\text{NH}_3$ -nitrogen from rumen.

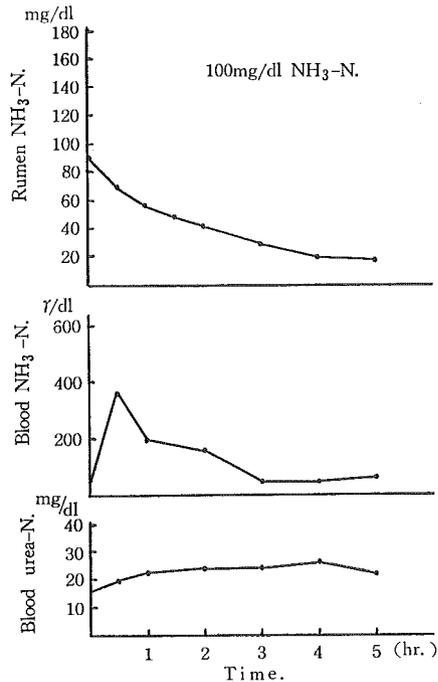


Fig. 8. Concentrates of rumen NH<sub>3</sub>-N, blood NH<sub>3</sub>-N and urea.

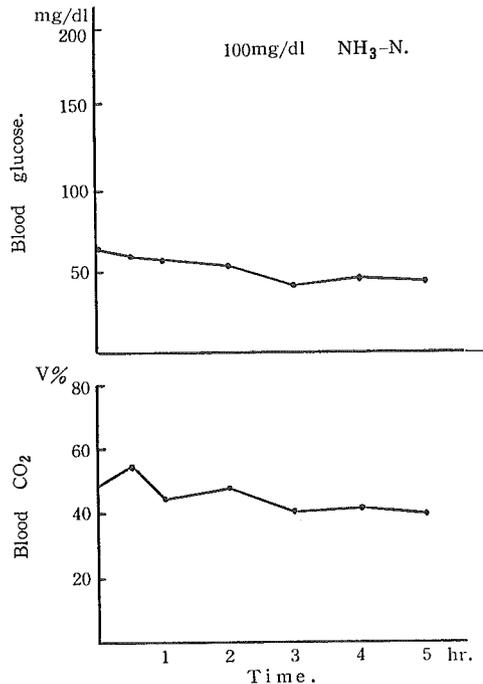


Fig. 9. Concentrates of blood glucose and CO<sub>2</sub>.

ルーメン内アンモニア態窒素濃度が 100 mg/dl のとき、1 時間内に 1.0 g のアンモニア態窒素がルーメン粘膜より吸収されることが観察された。第 4 章において、高蛋白質に尿素を加えた飼料を給与した際に、ルーメン内アンモニア態窒素濃度は常に 100 mg/dl を維持し、その窒素の吸収量は 9 時間内に 9.58 g を示した。この実験と本実験でえられたルーメン内アンモニア態窒素濃度と、アンモニア吸収量の関係は、良く一致している。

このようなアンモニアの吸収を示した際のルーメン内アンモニア、血中アンモニア態窒素、尿素態窒素、炭酸、血糖の経時変化は第 8, 9 図に示すとおりである。ルーメンからのアンモニアの吸収にともない、血中アンモニアはアンモニア投与前 50 γ/dl であったものが、30 分で 360 γ/dl と急激な増加を見せている。それ以後は濃度が減少し、3 時間後には投与前の値にまで低下している。これにともなつて、血中尿素態窒素は、実験開始後 4 時間までやや増加している。すなわち、門脈を経て肝に流入するアンモニアは、そこで尿素となる。したがつて、ルーメンからのアンモニア流入の増大の結果、血中尿素濃度の上昇が観察された。血中アンモニアが 1 時間以後において減少するのは、1 部が排泄されるのと同時に、肝においてのアンモニア処理があり、その結果血中アンモニア量は低下し、尿素の増加が観察されたものと考えられる。また血糖については、3 時間までの経時的な低下が観察された。すなわち、吸収アンモニアの処理のために、糖の消費が増大したためと考えられる。

ルーメン内容を除去する絶対飢餓における動物の生理状態については、柴田<sup>61)</sup> (1963) によつて研究されている。すなわち、血糖、血中炭酸等は絶食 48 時間以後にいずれも低下の傾向を観察している。したがつて、第 9 図に示す血糖の短時間内の低下は、アンモニア処理

のために糖の消費が促進されたことが推定される。血中炭酸は血液の酸、塩基平衡を現わす一つの指標である。血中アンモニア、尿素の上昇にともなつて、血中炭酸容量はわずかに低下している。すなわち、アンモニアの処理にともなつて、血中に酸物質、有機酸等の増加によつて、絶対的なアルカリ予備が低下したものと考えられる。アンモニアイオンそのものの絶対的な血中濃度は、上昇するとは云え微量であり、直接的なアルカリ予備低下の原因とは考えられない。

## 2 200 mg/dl アンモニア態窒素投与実験

実験方法は前項の実験と同様である。投与アンモニア塩量を前項の実験の倍量、200 mg/dl として同一方法によつて実験を行なつた。

結果は第11図に示すように、ルーメン内アンモニア濃度は急速に減少し、1時間内に100 mg/dl にまで減少している。以後の減少もすみやかであり、5時間後においては20 mg/dl にまで低下している。アンモニア態窒素の吸収量は、実験開始後1時間内に2.2 gに達し、以後の吸収量は急激に低下している。実験時間の5時間内におけるアンモニア態窒素の全吸収量は3.37 gである。このような多量のアンモニア吸収を示した場合のルーメン内および血中アンモニアおよび尿素の変化は第11図の様である。血中アンモニアは実験開始後急速に上昇し、1時間後には800  $\mu$ /dl 以上の値を示し、以後急速に減少している。この際脈拍数の低下が観察され、動物は後軀をよろめかせ不安定となり、明らかにアンモニア中毒の症状を出現させた。同時にルーメン内液を嘔吐することが観察された。これらの症状は2時間以後血中アンモニア濃度の低下にともなつて消滅した。

血糖および炭酸は第12図に示すとおりである。

血糖は実験開始直後より急速に上昇し、2時間までに215 mg/dl、ないし235 mg/dl と異常な高血糖症状を呈した。以後血中アンモニア濃度の低下にともなつて、血糖は低下し、5時間後には実験開始前の値にまで戻つた。このような急激な血

糖値の上昇は、前項の低濃度のアンモニア供給実験では観察されなかつた。すなわち、本実験においては著しい高血糖と、血中アンモニアの異常な高濃度が、アンモニア中毒症状と並行して観察された。このような高血糖は、アンモニアの肝における処理のために、貯蔵グリコーゲンの急激な動員による血糖の上昇が推定される。また血中アンモニアが増加したために、直接糖中枢に影響して、そのために血糖の上昇が引き起こされたことも考えられるが、この原因に関して詳細を論ずることは、この実験のみでは困難である。

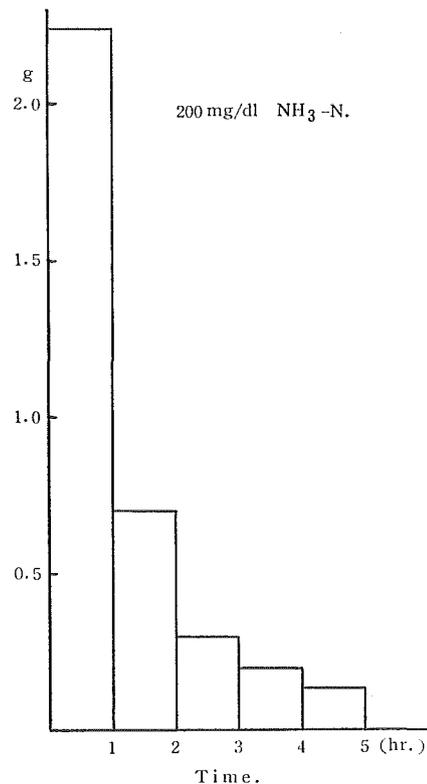


Fig. 10. Absorption of NH<sub>3</sub>-Nitrogen from rumen.

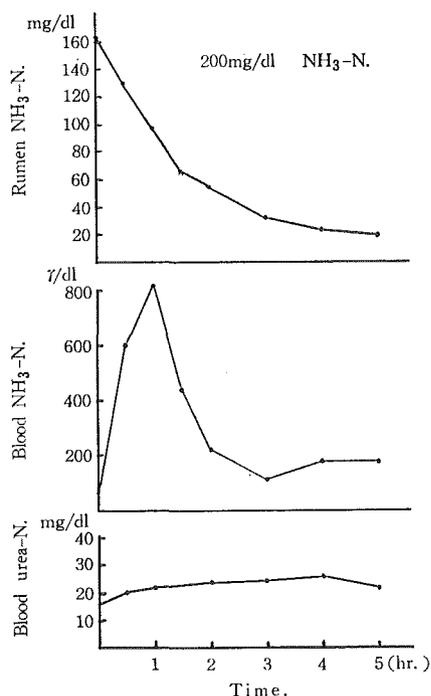


Fig. 11. Concentrates of rumen NH<sub>3</sub>-N, blood NH<sub>3</sub>-N and urea.

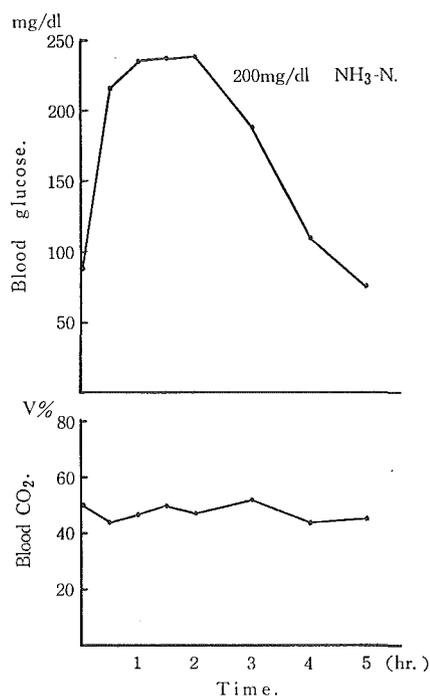


Fig. 12. Concentrates of blood glucose and CO<sub>2</sub>.

## 第2節 考 察

通常の飼料給与の実験下でルーメン内アンモニア濃度は、最大値が 136 mg/dl であつた<sup>74)</sup>。(第4章)ルーメン内のアンモニア態窒素が 100 mg/dl を常時維持するような条件では、血中アンモニア、尿素の上昇が起り、アンモニア中毒症状をひきおこすおそれがある。

この二つの実験例において、ルーメン内アンモニア濃度と頸静脈血中アンモニア濃度の関係は、ルーメン内アンモニア濃度が 50 mg/dl 以下の時には、血中アンモニア濃度は 200 γ/dl をこえることはない。以後ルーメン内アンモニア濃度の上昇ともなつて、血中アンモニア濃度は直線的に上昇し、ルーメン内に 100 mg/dl では血中に 500 γ/dl, 130 mg/dl では 600 γ/dl と上昇する。このように、ルーメン内アンモニア濃度と血中アンモニア濃度の間には、直線的な関係が存在する。ルーメン内アンモニア濃度が 50 mg/dl までは血中アンモニア濃度は 200 γ/dl をこえないが、ルーメン内濃度が 50 mg/dl 以上となると、血中アンモニア濃度は急激に上昇する。したがつて、ルーメン内アンモニア濃度が 50 mg/dl 以上の値を示すような時には、アンモニア中毒症をひきおこすおそれがある。ルーメン内アンモニア濃度は各種の飼料の相違、採食後の時間によつても異なり、筆者は 1~136 mg/dl の範囲を観察している<sup>74)</sup>。また Annisonら<sup>2)</sup>(1954)も 5ないし 120 mg/dl とほぼ同様の値を観察している。

ルーメン内に高濃度にアンモニアの産生する条件は、蛋白質の損失ともなり、また動物がアンモニア中毒となる原因にもなる。

## 第4章 ルーメン内窒素化合物量の経時的変化とルーメン発酵

### 第1節 実験方法

第2章においてルーメン内での窒素化合物の実量の経時的変化を検索する目的の、ルーメン内容全量の測定法および第二第三胃間孔栓塞法について記述した。この方法によつて、各種の飼料を給与した場合のルーメン内における蛋白質、その他窒素化合物の量的変化を検討した。

実験動物は体重 35 kg のメノヨウに、ルーメンフィステルを作つたものを使用した。

実験飼料は第3表に示すように9種類の飼料についてそれぞれの実験を行つた。比較的蛋白質含量の少ない粗飼料のみを給与する実験として、オーチャード乾草A、コーンサイレージD、ラジノクローバー生草Cを給与する実験を行つた。また比較的高蛋白質の飼料としては、オーチャード乾草、ダイズ粕B、ダイズ粕、フスマEおよびラジノクローバー生草、ダ

Table 3. Composition of experimental ration

	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
	(g)								
Orchard hay	380	240	—	—	—	—	—	260	260
Soybean oil meal	—	300	—	—	300	180	180	—	—
Wheat bran	—	—	—	—	250	270	270	—	—
Ladino clover	—	—	1500	—	—	1350	1350	—	—
Corn ensilage	—	—	—	1500	—	—	—	—	—
Potato	—	—	—	—	—	—	—	1000	1000
Urea	—	—	—	—	—	—	13	—	13

Table 4. Chemical composition of experimental diets

	Moisture	Crude protein	Ether extract	N F E	Crude fiber	Ash
	(%)					
Orchard hay	12.5	6.4	2.6	32.1	38.9	6.5
Soybean oil meal	12.0	44.5	6.0	25.0	7.2	5.3
Wheat bran	14.5	14.0	17.2	36.0	9.5	8.8
Ladino clover	82.0	3.6	0.8	11.0	5.6	1.0
Corn ensilage	75.0	1.5	0.8	7.0	10.1	1.6
Potato	74.0	2.5	0.3	21.5	0.7	1.0

イズ粕，フスマF等の給与の実験を行つた。また低蛋白質飼料としてオーチャード乾草，バレイシヨH，およびこれに尿素を加えた実験I，また高蛋白質飼料Fに尿素を加えた実験Gを行なつた。

全実験を通じて，飼料の給与は1日1回，午前9時に行い，水および塩類混合物（鉍塩，日本全業工業製）を自由に採らせた。飼料の採食はできるだけすみやかに採食させるように慣らし，実験飼料はいずれも2時間内の採食量をもつて実験飼料の給与量とした。実験飼料の化学組成は第4表に示すとおりである。各実験飼料は実験前10日間以上同一実験飼料を同様に給与し，同一飼料についての実験を5日間以上の間かくで2回行なつた。

飼料給与開始後2時間で飼料の給与を打ち切り，ただちにルーメンフィステルよりルーメン全内容を完全に取り出した。ルーメン内容を完全に取り出した後，第二第三胃間孔を栓塞プラグによつて栓塞した。次いで取り出したルーメン内容を計量し，試料採取を行い，ルーメンフィステルよりルーメン内へその全量を戻した。以後同様の操作を採食終了後3時間，9時間において行ない，各々約200gのルーメン内容の試料を採取した。この間9時間にわたつて，第二第三胃間孔は栓塞プラグによつて栓塞しておく。採食9時間後のルーメン内容計量，試料採取の後，栓塞プラグは除去した。9時間の実験時間内は絶食状態におき，水の給与も行なわなかつた。

ルーメンより採取した試料はただちにブレンダーによつて均質化し，窒素の定量その他操作を行なつた。総窒素，非蛋白態窒素，およびアンモニア態窒素は Pearson & Smith<sup>50)</sup> (1943)の方法によつて行なつた。彼等はルーメン内容の除蛋白法として，トリクロール酢酸法，タングステン酸法，アルコール法等を比較検討して，タングステン酸法を採用している。蛋白態窒素は総窒素より非蛋白態窒素を減じて算出した。同時にルーメン内揮発性脂肪酸(VFA)を Friedmann<sup>21)</sup>の水蒸気蒸溜法によつて定量した。採取したルーメン内容について，その発酵能を柴田ら<sup>61)</sup> (1961)のガス生成能測定法によつて測定した。

## 第2節 総窒素量の変動

ルーメン内における総窒素の変動は第5表に示すとおりである。全実験を通じてルーメン

Table 5. The weight change of total nitrogen in the reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging

Time after feeding (hr.)	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
0	9.25	27.30	25.71	7.74	31.30	42.26	48.84	12.76	13.20
3	9.64	27.41	25.62	7.78	29.70	40.14	42.74	12.77	12.72
	(100.2)	(100.4)	(99.6)	(100.5)	(94.9)	(95.0)	(87.5)	(100.1)	(96.4)
9	10.03	25.62	24.20	6.50	27.70	38.70	39.26	11.76	11.53
	(108.4)	(93.8)	(94.1)	(84.0)	(88.5)	(91.6)	(80.4)	(92.2)	(87.3)

内総窒素は、オーチャード乾草給与の実験Aを除いて、9時間でいずれも減少している。その減少が著しいのは、高蛋白質の飼料に尿素を加えた実験Gであり、その減少量は9.58g、約20%におよんでいる。総窒素のルーメン内における減少は、この高蛋白質に尿素を加えた実験を最大とし、ダイズ粕、フスマ(実験E)の濃厚飼料のみを給与した実験、生草、ダイズ粕、フスマ給与(実験F)等の例は、いずれも3g以上の減少を見せている。以上の3例は高蛋白質の飼料であり、いずれも高蛋白質の濃厚飼料を給与した実験例である。このような飼料はルーメン内において、その発酵分解がすみやかに行なわれるいわば易発酵性の飼料といえる。したがって、ルーメン内において飼料の発酵による分解はすみやかに行なわれ、蛋白質の分解量も多く、終末産物としてのアンモニアの産生が増大する。

特に著しく総窒素の減少を見せたのは、高蛋白質、易発酵性の飼料に尿素を加えた実験Gである。実験Gより尿素を除いた実験Fと比較すると、約6gの総窒素の減少が増加している。したがって、この窒素がすべて尿素に由来するものとすれば、給与した尿素量13gの窒素は、ほとんどルーメン粘膜より吸収されたこととなる。このように易発酵性であり、かつ高蛋白質の飼料に尿素を加えると、ルーメン内で分解を受けやすい尿素はすみやかにアンモニアおよび炭酸ガスに分解される。

第二第三胃間孔を栓塞してルーメン内容の第三胃への移動を止めているために、ルーメン内における総窒素の減少は、窒素がルーメン粘膜より直接吸収された結果にほかならない。ルーメン粘膜から吸収される窒素化合物は主としてアンモニアであり、アンモニアは通常ルーメン内非蛋白態窒素化合物中もつとも多量に存在している。ルーメン粘膜から吸収されるアミノ酸はほとんどなく、通常のルーメン内におけるアミノ酸濃度は10mg/dl以下である<sup>3)</sup>。

オーチャード乾草、ダイズ粕給与の実験Bにおいては、比較的高蛋白質の条件であるが、ルーメン内における総窒素の減少は1.68g(6.15%)に止まっている。このような飼料はルーメン内においてはいわば難発酵性の飼料といえる。乾草はルーメン内微生物による分解に生草よりも多くの時間が必要である。したがって、高蛋白質の条件であつても、このような難発酵性の飼料の場合には、ルーメン内における蛋白質分解の速度は比較的緩やかである。それゆえに、高蛋白質の条件であつても、総窒素の減少およびその割合が低蛋白質の飼料と同様の傾向を示すものと考えられる。実験E、実験Fにおいては、窒素の減少は3.5g前後の値を示した。これらはいずれも高蛋白質で、なおかつ易発酵性の飼料である。またルーメン内にアンモニアの蓄積が著しく、70mg/dlを越える場合がある。最大の窒素の減少は生草、濃厚飼料、尿素給与の実験Gにおいて観察され、吸収量は9.58g、総窒素の約20%におよんでいる。このように易発酵性、高蛋白質のルーメン内条件に尿素を添加した場合、添加した尿素窒素はほぼその全量がルーメン粘膜よりアンモニアとして吸収されたことを示している。

一方低蛋白質の飼料を給与した場合、すなわちラジノクローバー(実験C)、コーンエンシレージ(実験D)、オーチャード乾草、パレイショ(実験H)等においては、総窒素の減少量はそれぞれ1.51g、1.24g、1.00gといずれも少なく、その減少率は5.87%、16.02%、7.84%であつた。

乾草給与の実験Aにおいては、ルーメン内総窒素は0.78g増加している。この飼料の場合には、ルーメン内アンモニア濃度は8.9mg/dl以下と非常に低く、アンモニアの吸収はほと

んどないことが推定される。このような飼料はルーメン内では難発酵性であり、蛋白質の分解も少なくアンモニアが蓄積しない。その上唾液の分泌が多く、唾液によつてルーメン内に流入するムチン、尿素等によつて総窒素が増加したものと考えられる。

コーンエンシレージ給与（実験D）においては、窒素の減少は少ないがその減少率はやや高い。この飼料においては、総窒素の実量と比較して、非蛋白態窒素特にアンモニアの量が多い。このような飼料は低蛋白質であるが多汁質であり、ルーメン内では比較的易発酵性である。そのために、短時間内のアンモニア産生が比較的多く、窒素の吸収が多くなるものと考えられる。

低蛋白質飼料に尿素を加えた実験Iにおいては、総窒素の減少量は1.67gと比較的少なく、尿素を加えない実験Hと比較して0.67gの減少増にとどまつている。

全実験を通じて総窒素が増加したのはオーチャード乾草給与の実験Aのみである。すなわち、0.78gの窒素がルーメン内に増加している。乾草のみを給与する条件はルーメン内では低蛋白質かつ難発酵性であり、蛋白質の分解速度もおそくほとんど減少しない。その上唾液分泌量も多く、窒素量がこのように増加したものと考えられる。

### 第3節 蛋白態窒素量の変動

ルーメン内における蛋白態窒素の変動は第6表に示すとおりである。ルーメン内において、9時間内に蛋白質の増加が観察されたのはオーチャード乾草（実験A）、コーンエンシレージ（実験D）、オーチャード乾草、バレイショ（実験H）および実験Hに尿素を添加した実験Iである。また蛋白質の減少が観察されたのは、オーチャード乾草、ダイズ粕（実験B）、ラジノクローバー（実験C）、ダイズ粕、フスマ（実験E）、ラジノクローバー、ダイズ粕、フスマ（実験F）、および実験Fに尿素を添加した実験Gの5種の実験である。

Table 6. The weight change of protein nitrogen in the reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging

Time after feeding (hr.)	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
0	8.57	26.00	22.95	5.55	28.50	36.67	35.93	10.07	6.16
3	9.12 (106.4)	25.90 (99.6)	21.52 (93.9)	5.45 (98.2)	25.50 (89.5)	34.16 (93.2)	32.72 (91.1)	11.78 (117.0)	9.38 (152.4)
9	9.41 (109.8)	23.60 (90.8)	21.25 (92.7)	5.60 (100.9)	23.60 (82.8)	33.53 (91.4)	30.46 (84.8)	11.37 (112.9)	10.60 (172.2)

蛋白質の増加が観察された実験はいずれも低蛋白質の飼料であり、濃厚飼料は給与していない。その増加量は実験Aおよび実験Dの粗飼料のみを給与した場合には1g以下であり、10%以内の増量に止まつている。このように、ルーメン内において、発酵による分解には比

較的時間のかかる、いわば難発酵性の飼料においては、蛋白質の分解はすみやかには行なわれない。したがって、飼料中に存在する非蛋白態窒素および唾液中に存在する尿素によって、微生物体蛋白質の合成がある。また唾液として流入するムチンによる蛋白質の増加も推定される。しかしながら、唾液の流入量にも限界があり、また微生物体蛋白質の合成素材となるための非蛋白態窒素も、このような飼料においては少ない。したがって、ルーメン内蛋白質の増加は少量観察されるのみである。

一方低蛋白質ではあるが、易発酵性の澱粉質を多給した実験Hにおいては、蛋白態窒素は3時間内に1.7gの増加を見せている。このようなルーメン内は、易発酵性の炭水化物が豊富に存在し、また非蛋白態窒素の減少傾向から見て、ルーメン内における微生物体蛋白質合成が、積極的に行なわれたことが示唆される。

全実験を通じてもつともルーメン内蛋白質量が増加したのは、低蛋白質高澱粉飼料に尿素を添加した実験Iである。すなわち、ルーメン内はクローバー生草、バレイシヨによつて比較的low protein, high carbohydrateの条件にありかつ易発酵性であるといえる。このような条件はアンモニアの産生量も少なく、また、そのアンモニア量は経時的に著しく減少を見せている。このようなルーメン内は、ルーメン内微生物にとって窒素の供給不足の状態にあるといえる。したがって、このような条件に尿素を添加した場合、尿素はルーメン内微生物によつてその体蛋白質合成に有効に利用される。実験Iにおいては9時間で4g以上の蛋白態窒素の増加が観察された。このようにルーメン内において微生物体蛋白質合成によつて蛋白質が増加するためには、ルーメン内が低蛋白質で高エネルギーの条件に保たれ、なおかつルーメン内微生物がこれを発酵分解する速度と適した速度で窒素源が供給されることが必要である。同様に低蛋白質の条件であつても、有効なエネルギー源の存在の有無と発酵の難易によつて、微生物体蛋白質合成に相違のあることが示唆される。

ルーメン内において蛋白質が減少する実験例は、ラジノクローバー給与の実験Cを除き、いずれも濃厚飼料を給与しており、ルーメン内は高蛋白質の条件にある。もつとも蛋白質の減少の著しいのは、濃厚飼料のみを給与した実験Eであり、実量約5g(17%)の減少を見せている。このような高蛋白質でかつ易発酵性の飼料においては、ルーメン内における蛋白質の分解量も多く、発酵能の高いことはアンモニア産生量の多いことから推定される。クローバー生草、ダイズ粕、フスマ給与の実験Fにおいては、約3g(8.6%)の蛋白態窒素の減少が観察された。このように、易発酵性でかつ高蛋白質の条件に尿素を添加した結果は、実験Gに示すように蛋白質の分解を増大する結果となつた。すなわち、実験Gは実験Fと比較して実量として2.3g(6.6%)の蛋白態窒素の分解量が増大している。すなわち、尿素を添加することによつて、易発酵性のルーメン内にさらに易発酵性の窒素源が加えられる。したがって、ルーメン内微生物は容易に利用できる窒素源を得る。その結果、これら窒素源を利用して、ルーメン内微生物はさらにその発酵性を高める。したがって、蛋白質の分解とアンモニアの産生が増加したものと考えられる。同時に発酵分解産物としての揮発性脂肪酸とルーメン内容のガス産生能とが著しく増大することが観察された。

オーチャード乾草、ダイズ粕給与の実験Bにおいては、フスマ、ダイズ粕給与の実験Eと比較して蛋白質の減少は少ない。ほぼ同量の蛋白質量が存在するにもかかわらず、同時にルーメン内に存在する内容が、一方は乾草と比較的難発酵性であり、一方はフスマによつて

比較的易発酵性の条件を与えられている。その結果、前者の発酵は緩やかであるために蛋白質の分解は少なく、一方後者はすみやかな発酵分解によつて蛋白質の分解が多くなつたものと考えられる。

#### 第4節 非蛋白態窒素量の変動

蛋白態窒素の変動と関連して、非蛋白態窒素は微生物体蛋白質合成のための素材であり、また蛋白質の分解産物としての意義がある。したがつて、非蛋白態窒素の消長は蛋白質の分解による蓄積、あるいは微生物体蛋白質合成のための消費と関連して、ルーメン内蛋白質の消長に関係する主要な要因の一つである。非蛋白態窒素の消長は第7表に示すとおりである。非蛋白態窒素はオーチャード乾草給与の実験Aにおいては変動は少なくやや減少の傾向を見せており、9時間で0.06 gの減少がある。これに対し蛋白態窒素は0.84 g増加している。したがつて、このような傾向を示すルーメン内では、非蛋白態窒素からの蛋白質合成以外に、唾液によるムチン、尿素等による蛋白の増量が推定される。粗飼料の給与によつて唾液の分泌が増大することが認められる。このように乾草のみを給与する低蛋白質、難発酵性の飼料では、ルーメン内での蛋白質の分解量は少ない。また微生物体蛋白質合成の素材となるための非蛋白態窒素も少ないために、蛋白質の増加も少ない。

Table 7. The weight change of non protein nitrogen in the reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging

Tim <sup>o</sup> after feeding (hr.)	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
0	0.68	1.30	2.76	2.19	2.80	5.59	12.91	2.69	7.04
3	0.52	1.50	4.06	2.34	4.20	5.98	10.02	0.99	3.34
9	0.62	2.00	2.95	0.90	4.10	5.17	8.80	0.39	0.75

ルーメン内において、蛋白質の増加が積極的に観察されたクローバー生草、バレイショ給与の実験Hにおいては、非蛋白態窒素は著しく低下している。すなわち、蛋白態窒素の1.3 gの増加に対し、2.3 gの非蛋白態窒素の減少がある。この差の1.0 gの窒素はルーメン粘膜より直接吸収されたものと考えられる。この飼料に尿素を添加した実験Iにおいては、非蛋白態窒素はほとんど直線的に低下する。この場合蛋白態窒素の増量と比較すると、3時間後に蛋白態窒素の増量が3.22 gに対し、非蛋白態窒素は3.7 g減量している。また9時間後には、蛋白態窒素が4.4 gの増量に対し、7.3 gの減量となつている。このように、低蛋白でありかつ易発酵性の飼料給与の場合には、ルーメン内の非蛋白態窒素は微生物体蛋白質合成に積極的に利用され、経時的には著しく減少する。実験Hと比較すると、尿素の添加によつて3.1 gの蛋白態窒素の増加が、6.2 gの非蛋白態窒素の減少にともなつて現われた。すなわち13 gの尿素の給与によつて、ルーメン内では約19 gの蛋白質の増加が観察された。このように、ルーメン内で蛋白質が増加した実験例では、いずれも非蛋白態窒素は経時的に減少している。

ルーメン内において、蛋白態窒素の量にほとんど変動を見せなかつたオーチャード乾草、コーンエンシレージ等の実験例では、非蛋白態窒素量には著しい変化はなかつた。しかし実験Dにおいて、9時間後にやや非蛋白態窒素が減少しているのは、ルーメン粘膜から一部吸収されたものと考えられる。

一方ルーメン内において蛋白態窒素が減少する傾向を見せた濃厚飼料を給与している実験例では、非蛋白態窒素はいずれも3時間後に増加を示している。この非蛋白態窒素の一時的な増加は、蛋白質の分解とそれとともなつてのアンモニア態窒素の蓄積の結果である。以後9時間ではいずれも減少の傾向を見せている。オーチャード乾草、ダイズ粕給与の実験Bにおいては、非蛋白態窒素は3時間より9時間において増加している。このような条件においては、蛋白質の分解によるアンモニアの蓄積が比較的緩やかに行なわれるために、他の高蛋白、易発酵性の条件と比較して、非蛋白態窒素の増加が時間的に延引したものと考えられる。

クローバー生草、ダイズ粕等易発酵性の飼料による実験C、実験E、実験F等では、3時間後に非蛋白態窒素は最大値となり、9時間では減少する傾向を見せている。このような高蛋白、易発酵性の飼料では、蛋白質は急速な分解を受け、アンモニアの蓄積が急激に行なわれる。9時間後に非蛋白態窒素が減少する原因としては、微生物体蛋白質への非蛋白態窒素の転換と、アンモニアが高濃度となるために、ルーメン粘膜からの直接吸収が多くなることが考えられる。非蛋白態窒素が一時的に増加する実験例においては、総窒素の減少、すなわち窒素のルーメンからの吸収が多いことが観察される。高蛋白、易発酵性の飼料に尿素を添加した実験Gにおいては、非蛋白態窒素は減少を見せているが、蛋白質は増加しない。すなわちこの実験例はアンモニアの蓄積が著しく、アンモニアの吸収による総窒素の減少が著明に観察された。

このような経時的な非蛋白態窒素の変動は、蛋白の分解産物、主としてアンモニア態窒素の蓄積による増加と、アンモニア等が微生物によつて利用され、微生物体蛋白に合成される減少によつて支配される。またアンモニアがルーメン内に高濃度に存在するときには、これが吸収されることによつても減少する。したがつて非蛋白態窒素が増加することは、非蛋白態窒素からの微生物体蛋白合成よりも、蛋白質の分解量が多いことを示している。

#### 第5節 アンモニア態窒素量の変動

ルーメン内に存在する非蛋白態窒素中、通常最も多くの割合を占めているのはアンモニア態窒素である。蛋白質の分解とともなつてルーメン内に産生されるアンモニアは、ルーメン発酵の分解終末産物としての蓄積としては、揮発性脂肪酸と類似していると云える。揮発性脂肪酸はルーメンより吸収され、動物体のエネルギー源として有効に利用される。しかしながら、アンモニアは同様にルーメン粘膜から直接吸収を受け、主として肝において尿素となり腎より尿中に排泄される。一部は唾液中尿素としてルーメンへ再循環するが、動物体にとつては有害物質の吸収であり問題となる点が多い。

ルーメンからのアンモニアの吸収が肝のアンモニア処理能以上にあると、末梢循環血中のアンモニア濃度が高まり、動物はアンモニア中毒におち入る可能性がある。また蛋白質の分解産物であるアンモニアは、他方ルーメン内微生物の窒素源として、微生物体蛋白質合成に利用される。したがつて、ルーメン内におけるアンモニアの消長は、蛋白質の分解および微

Table 8. The weight change of  $\text{NH}_3$ -nitrogen in the reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging

Time after feeding (hr.)		Experimental ration								
		(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
0	(g)	0.40	0.70	1.95	0.57	1.80	4.05	6.90	0.89	0.60
	(mg/dl)	8.9	16.8	27.9	12.9	37.0	60.5	107.3	17.9	15.1
3	(g)	0.20	1.20	2.90	1.25	2.70	4.86	8.52	0.68	2.08
	(mg/dl)	3.9	26.1	42.1	28.0	52.9	77.4	136.4	13.0	46.0
9	(g)	0.31	1.50	2.18	0.62	3.50	4.37	7.27	0.21	0.41
	(mg/dl)	6.3	33.8	31.9	14.3	74.1	72.4	118.0	1.5	4.2

生物体蛋白質の合成に密接な関係がある。

本実験におけるアンモニア態窒素の消長は第8表に示す。これら実験例においてアンモニア態窒素の変動の傾向は、採食後経時的に減少する傾向の例と、増加する例の二つに分けられる。ルーメン内において、蛋白質の量が増加した低蛋白質の飼料、実験A、実験H等では、アンモニア量は常に1g以下であった。またアンモニアの濃度は、採食直後に実験Aで8.9mg/dl、実験Hで17.9mg/dlと低い値を示し、経時的には減少している。同様に低蛋白質の飼料であるが、比較的難発酵性の乾草給与の実験Aでは、アンモニア態窒素は3時間で減少の後、9時間でやや増加することが観察された。すなわち、ルーメン発酵の速度が実験Hと比較して緩やかであることを示している。また低蛋白質、易発酵性でルーメン内蛋白質量がほとんど変動しなかつた実験Dにおいては、アンモニア態窒素は3時間で増加し、以後減少している。すなわち、そのアンモニア量は低レベルであるが飼料が易発酵性であることを示している。またアンモニアがやや増加し、かつ蛋白質がやや減少することは、ルーメン内微生物にとって有効なエネルギー源が不足していることを示している。一方低蛋白質で易発酵性であり、ルーメン内で蛋白質の増加があつた実験Hにおいては、アンモニアは採食直後の値を最高として経時的に減少している。このように、ルーメン内で蛋白質が増加する方向にある場合には、アンモニアの蓄積は認められなかつた。またそのアンモニア濃度は9時間後には採食直後の10%以下に減少している。このような低蛋白質、高澱粉質でなおかつ易発酵性の飼料に尿素を加えた実験Iにおいては、尿素の分解によつて採食3時間後のアンモニア量は増加しているが、9時間後には採食直後の量より低下している。このようにルーメン内において蛋白質の増加が観察された実験例では、ルーメン内アンモニア濃度は比較的低下度であり、経時的には減少する傾向にある。

一方ルーメン内において蛋白質が減少する傾向を示した高蛋白質、易発酵性の実験例についてはアンモニアは次のような傾向を示した。すなわち、高蛋白質の濃厚飼料を含む実験

B, 実験E, 実験Fなどでは, ルーメン内アンモニア量はいずれも採食後3時間において急激な増加を示している。なおかつそのアンモニア濃度も高濃度である。特に実験E, 実験F等高蛋白質で易発酵性のルーメン内においては70 mg/dl以上のアンモニア濃度が観察された。またクローバー生草, コーンエンシレージ等の実験例では, 低蛋白質であるが多汁質で比較的易発酵性である。この場合比較的アンモニア産生の多いことが観察された。このような易発酵性のルーメン内では, アンモニア産生は採食後3時間に多く, 9時間では減少している。すなわち, 急速なルーメン発酵の結果, 採食後短時間内に蛋白質の分解がおり, アンモニアが蓄積する。蓄積したアンモニアは, ルーメン粘膜より吸収される。9時間後にアンモニアが減少する原因としては, 蛋白質の分解によるアンモニアの産生量を, ルーメン粘膜からのアンモニアの吸収量および微生物体蛋白質への合成量が上まわるとき, このような減少となるものと考えられる。

全実験を通じてもつともアンモニアが高濃度となつたのは, ラジノクローバー生草, ダイズ粕, フスマ給与の実験Fおよびこれに尿素を添加した実験Gである。このような高蛋白質, 易発酵性の飼料では, 蛋白質の分解が多いが, その結果はアンモニアの蓄積となつて現われている。高蛋白質の飼料に尿素を添加した実験Gではルーメン内アンモニアは特に高濃度となり, 採食3時間後には136 mg/dlを示している。高蛋白質, 易発酵性の飼料に尿素を添加することによつて, ルーメン内アンモニアは異常な高濃度にまで蓄積した。このようにルーメン内アンモニアが高濃度を示すとき, 動物はアンモニア中毒症をひきおこすおそれがある。

反芻動物は循環血中のアンモニア濃度が0.6 mg/dl以上となると, アンモニア中毒の症状を呈する<sup>37)</sup>。ルーメン内アンモニア濃度が50 mg/dl以下の場合には, 血中アンモニア濃度は, 正常値にあるが, ルーメン内濃度が50 mg/dl以上となると血中アンモニア濃度は増大し, アンモニア中毒の症状を呈する。ルーメン内アンモニア濃度が100 mg/dlをこえるような飼料は, アンモニア中毒の危険性が充分にある。実験Gにおいては蛋白質の分解量が実験Fと比較して増大している。尿素の分解によつて産生されたアンモニアを, ルーメン内微生物はこれを窒素源として, さらに蛋白質分解を促進したものと考えられる。

#### 第6節 ルーメンからの窒素の吸収量

ルーメン粘膜から直接吸収される窒素化合物としては, アンモニアがルーメン内に比較的高濃度にあり, 特にアンモニアに着目され多くの研究が行なわれて来た<sup>4, 10, 14)</sup>。

McDonald<sup>41)</sup> (1948) はルーメンを灌流する血液の動静脈差を測定することによつて, アンモニアの吸収を観察した。また Houpt<sup>28)</sup> (1959) は摘出したルーメンの灌流実験によつて, メンヨウのルーメンでは約2.5 m mole/hourのアンモニアが吸収されることを報告している。アンモニアがルーメン粘膜から直接吸収を受けることは, 多くの報告がありうたがいのないところである。第2章における実験においても, アンモニアの吸収量について確認した。ルーメン内で蛋白質は分解してその窒素は1部はアンモニアとして吸収され, 肝において尿素となり尿中に排泄される。したがつて, この経路を経る蛋白態窒素は, 動物に対する蛋白質の供給量としてはマイナスの結果となる。

本実験においてルーメンからの総窒素の減少量は, 第二第三胃間孔を栓塞している条件であるために, ルーメン粘膜からの直接吸収による減少量と考えられる。本実験におけるルー

Table 9. The absorption of total nitrogen from the reticulo-rumen under reticulo-omasal orifice plugging in 9 hour

Experimental ration								
(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
(g)								
-0.78	1.68	1.51	1.24	3.60	3.56	9.58	1.00	1.67

メンからの窒素の9時間の減量は第9表にあげるとおりである。この量はルーメンからの総窒素の減量として測定されたものである。したがって、ルーメン粘膜からの窒素の吸収量は、主としてアンモニアの形での吸収量に加えて、唾液としてルーメン内に流入する窒素量を考慮に入れなければならない。佐々木、梅津<sup>58)</sup>(1962)によれば、耳下腺唾液の尿素窒素は平均9.9 mg/dlであることが報告されている。本実験において、ルーメン内容量の増加は、最大の増加を示したもので実験Aにおける約500 gである。したがって、唾液として流入する窒素量は、本実験ではほとんど無視しうる程度と考えられる。それゆえに、本実験において観察されたルーメンからの窒素の減量は、ほぼアンモニアの吸収量を示すものと考えられる。アミノ酸、尿素がアンモニアと比較して吸収が少ないことはすでに第1章において記述した。

ルーメン内における窒素の9時間内の減少量と、その場合のアンモニア濃度を比較検討すると、明らかにアンモニア濃度が高濃度であるほど窒素の減少量が大きである。すなわち、ルーメン内にアンモニアが高濃度となるほど、ルーメン粘膜よりアンモニアの吸収量がより大となる。最大の吸収量を示したのは、高蛋白質の飼料に尿素を添加した場合で、その量は9時間で9.58 gにおよんでいる。この例においては、ルーメン内アンモニア態窒素の蓄積が著しく、3時間後に136 mg/dlを最高値として、常に100 mg/dl以上の濃度を示している。高蛋白質、易発酵性の飼料を給与した実験E、実験F等では、窒素の吸収量はこれに次いで9時間で3.5ないし3.6 gを示した。これらの実験例では、ルーメン内アンモニア態窒素濃度は37 mg/dl以上を示し比較的高濃度である。その他の実験例では、ルーメンからの窒素の吸収量は1.24ないし1.68 gであり比較的小さい。これらの実験例では、ルーメン内アンモニア態窒素濃度は最高値が46 mg/dlであり、ほとんどが30 mg/dl以下である。実験Aにおいて例外的に0.78 gの窒素の増加が観察されている。この実験例では、ルーメン内アンモニア態窒素は最大値8.9 mg/dlであり、著しく低濃度である。したがって、アンモニアの吸収はほとんどなく、唾液の流入による窒素の増加が観察された。

Annison<sup>3)</sup>(1956)によると、通常ルーメン内アンモニア態窒素の濃度は10ないし60 mg/dlであるとしている。本実験において、このようなルーメン内アンモニア濃度を示した場合には、アンモニアとしてのルーメンからの吸収量は、9時間で3.5 g前後であることが推定される。Lewisら<sup>37)</sup>(1957)はルーメンからのアンモニアの吸収量は1日量14 gにおよぶことを推定している。亀岡ら<sup>33,34)</sup>(1962)は反芻胃分離法によつて、反芻胃から吸収される窒素量と飼料の蛋白質含量との関係を観察している。McDonald<sup>42)</sup>(1952)はルーメンからのアンモニアの吸収量は4ないし5 gの日量となることを、第四胃の通過物を測定することによ

つて推定している。

本実験において、ルーメン内アンモニアが異常に高濃度を示した事例では、窒素の吸収量は日量に計算して25gに達するものがあるが、3.3ないし9.7gの範囲内にあることが観察された。

### 第7節 揮発性脂肪酸量の変動

ルーメン内における蛋白質の発酵分解によつて産生される終末産物としては、第一にアンモニアがあげられる。またルーメン発酵の分解終末産物の揮発性脂肪酸は主として高分子の炭水化物より産生されるが、蛋白質を基質としての揮発性脂肪酸産生もルーメン内微生物によつて行なわれることが知られている。El-Schazly<sup>19)</sup> (1958) はアミノ酸混合物のルーメン微生物による分解によつて、揮発性脂肪酸の産生があることを示している。また Sirotnak<sup>62)</sup> はアミノ酸のルーメン内微生物による脱アミノの速度を検討して、同時に揮発性脂肪酸の産生を認めている。

ルーメン内における揮発性脂肪酸の消長はルーメン内容の発酵能を現わす一指標ともなる。揮発性脂肪酸は動物体にとつて有効なエネルギー源として利用される。それゆえに、蛋白質の量の消長と関連して、揮発性脂肪酸のルーメン内での消長を検討した。(第10表)

Table 10. The weight change of VFA in the reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging

Time after feeding	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
(hr.)									
0	(M) 0.30	0.29	0.48	0.28	0.26	0.37	0.66	0.27	0.27
	(mM/l) 67	70	69	63	55	56	102	53	69
3	(M) 0.35	0.44	0.90	0.54	0.66	0.59	0.96	0.37	0.41
	(mM/l) 71	98	133	122	126	95	155	70	89
9	(M) 0.30	0.49	0.78	0.57	0.69	0.62	1.00	0.20	0.27
	(mM/l) 59	107	114	142	147	105	168	29	55

揮発性脂肪酸は採食直後から3時間後に、全実験例とも増加している。しかしながら、9時間後にはさらに増加するもの、また減少する例もあり、種々の様相を呈している。

乾草給与の実験Aにおいては、他の実験例と比較して、採食直後の揮発性脂肪酸量はほぼ同様である。しかし他の実験例が以後経時的に相当量の増加を見せているのに対し、実験Aでは3時間後にやや増加しているがほとんど変動していない。蛋白質が増加し、アンモニア産生のほとんどない乾草給与の実験例では、揮発性脂肪酸量は変動が少ないことが観察された。すなわち、ルーメン発酵が緩やかに経過していることを示すものである。乾草に濃厚飼料の加わつた実験Bにおいては、採食直後の揮発性脂肪酸量は実験Aとほぼ同一レベルにあ

るが、以後の揮発性脂肪酸量は著しく増加している。すなわち、蛋白質の分解、アンモニアの蓄積が観察された本例においては、揮発性脂肪酸の産生も増加していることが観察された。同様の傾向はクローバー生草給与の実験C、生草および濃厚飼料給与の実験F、濃厚飼料のみ給与の実験E等についても観察された。これらの実験例はいずれも蛋白質の分解量が多く、またアンモニアの蓄積が観察された。このようにルーメン発酵が急速でかつ高蛋白質の飼料では、蛋白質の分解と並行して、揮発性脂肪酸産生量の増大が観察された。

コーンエンシレージ給与の実験Dにおいては、蛋白質はほとんど変動しなかつたが、揮発性脂肪酸産生に関しては、濃厚飼料を給与した実験例と、ほぼ同一レベルでありまた同様の経時的变化を示した。低蛋白質の飼料であるが揮発性脂肪酸産生の基質となる有効な炭水化物源が多く、また多汁質で易発酵性であるためと考えられる。

高蛋白質、易発酵性の飼料に尿素を添加した実験Gの結果は、蛋白質の分解促進とアンモニア蓄積の増大が観察された。ルーメン内微生物にとって利用されやすい尿素を窒素源として、比較的易発酵性のルーメン内へ加えた結果、揮発性脂肪酸の著明な増大が観察された。尿素を添加することによつて、揮発性脂肪酸はほぼ倍量にまで増加する結果をえた。高蛋白質、易発酵性の飼料に尿素を添加すると、ルーメン内で蛋白質の分解とアンモニアの産生を促進するが、同時に揮発性脂肪酸産生を促進する結果をえた。

一方低蛋白質の飼料の実験Hに尿素を添加した実験Iにおいては、積極的な蛋白質の増加が観察されたが、揮発性脂肪酸の産生量は10ないし30%の増加に止まつている。このような条件においては、添加尿素窒素は微生物体蛋白合成に利用されるが、その結果として発酵能は増大しているが揮発性脂肪酸の産生は多少増加しているのに止まつている。

これらの実験例より、揮発性脂肪酸の産生には窒素源としてアンモニア態窒素のみではなく、蛋白質の分解によるペプチッド、アミノ酸の存在も重要な要因であることが推定される。

#### 第8節 ガス産生能の変動

柴田ら<sup>49,60)</sup>はルーメン内揮発性脂肪酸濃度と揮発性脂肪酸産生能を比較測定した結果、ルーメン内揮発性脂肪酸濃度と *in vitro* における揮発性脂肪酸産生能、ガス産生能は比例

Table 11. The gas production activity of reticulo-rumen contents under reticulo-omasal orifice plugging \*

Time after feeding (hr.)	Experimental ration								
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)
	(ml)								
0	6.4	12.8	7.0	—	11.4	24.0	40.0	22.5	25.5
3	7.6	9.2	24.5	—	7.6	16.0	26.0	15.0	17.0
9	7.8	4.8	9.5	—	5.6	12.0	24.5	9.8	7.0

\* Amount of gas production was measured after 4 hours incubation of 10 g rumen contents in 37°C.

することを報告している。

すなわち、ガス産生能は給与飼料がルーメン内で発酵を受ける程度の難易を現わすものとも云える。ルーメン内における蛋白質と揮発性脂肪酸の消長と同時に、*in vitro* におけるルーメン内容のガス産生能を合せて検討した。方法は柴田ら<sup>60)</sup>(1961)の方法により、発酵管によるルーメン内容 10 ml 当りの 37°C、4 時間の培養による、総ガス産生量を定量した。ガス産生能の変動は第11表に示すとおりである。

乾草給与の実験Aにおいてのガス産生能は、経時的にほとんど変動を見せていない。乾草は難発酵性の飼料であり、揮発性脂肪酸の産生量にも急速な変動は観察されない。また蛋白質の急速な分解も観察されない。経時的なガス産生能の変動は、他の易発酵性の飼料と比較して必ずしもその量は低くはなく、徐々にではあるが上昇する傾向を示している。すなわち、ルーメン内は緩徐で持続的なルーメン発酵を維持していると云える。したがって、ルーメン微生物による蛋白質の分解も緩やかに行なわれる結果、ルーメンからの窒素の吸収も少ない。

生草給与の実験Cにおいては、ルーメン内容のガス産生能は採食3時間後において最大の値を示し、9時間後には減少している。生草給与においては、ルーメン発酵能は採食後短時間内に最大となり以後減少する。この場合ルーメン内揮発性脂肪酸量も採食3時間後に最大値を示している。またアンモニア濃度も採食3時間後に最大値を示している。このように生草は乾草と比較して、ルーメン内で発酵による分解がすみやかに行なわれることが明らかである。飼料にダイズ粕を含む実験B、実験E、実験F等においては、同時にルーメン内に乾草、生草、フスマ等の発酵性の異なる飼料が存在している。これらはいずれもガス産生能は採食直後にもつとも高く、以後経時的に減少している。ダイズ粕の様な高蛋白質、易発酵性の飼料は、ルーメン内で短時間内に分解を受け、急速なルーメン発酵能の増大が観察された。したがって経時的な発酵能の減少もすみやかである。実験B、実験E、実験Fのガス産生能を比較すると、ダイズ粕に生草を加えた場合にもつとも高く、フスマがこれに次ぎ、乾草給与が最低となつている。発酵の容易に行なわれる飼料では、飼料給与直後のガス産生能が高く、経時的に減少している。このような発酵形を示す飼料では、ルーメン内揮発性脂肪酸は、採食直後より9時間までいずれも増加している。この事実はルーメン粘膜からの揮発性脂肪酸の吸収を上まわる産生があり、ルーメン内に蓄積したものと考えられる。ほぼ同様の傾向がアンモニア態窒素にも観察された。すなわち、採食直後にルーメン内ガス産生能の高い飼料では、アンモニア態窒素の蓄積がある。アンモニア濃度はルーメン内容のガス産生能の高いほど高まる傾向にあることが観察された。

易発酵性で高いルーメン内容ガス産生能を示す飼料の実験Fに尿素を加えた実験Gでは、蛋白質分解の促進、アンモニア産生の増大を招いた。この事実はルーメン内ガス産生能の増大としても現われている。すなわち、尿素を添加することによつて、ルーメン内容ガス産生能は採食直後では60%以上、9時間後には2倍以上に増大した。尿素の添加によつてルーメン内微生物は有効な窒素源をえて、発酵能を増大したものと考えられる。全実験を通じて、この実験Gにおいてルーメン内容ガス産生能は最大の値を示し、また発酵分解産物の揮発性脂肪酸、アンモニア濃度も最大の値を示した。

乾草、バレイシヨ給与の実験Hにおいては、そのルーメン内容ガス産生能は高蛋白質、易

発酵性の飼料と同様な傾向を示した。すなわち、採食直後に高いルーメン内容ガス産生能を示し、経時的に減少傾向を示すことが観察された。しかしながら、このような低蛋白質の条件では、ルーメン内揮発性脂肪酸量は急激には増大していない。またアンモニアは蓄積せず、減少することが観察された。この実験Hの例においては、そのルーメン内容ガス産生能は比較的高いが、揮発性脂肪酸は実験A等と比較して低い値をえた。すなわち、ルーメン内微生物は有効な窒素源が不足している状態であることが推定される。低蛋白質の条件にあるために、アンモニア産生も少ない。

このような条件のルーメン内へ尿素を添加した実験Iにおいては、ルーメン内容ガス産生能は実験Hと比較してやや増加している。また揮発性脂肪酸産生量もやや増加していることが観察された。このように、蛋白質が積極的に増加した実験例では、ガス産生能、揮発性脂肪酸産生量ともに著しく増加しない。ルーメン内で微生物体の増殖が活発に行なわれる時、発酵分解産物の産生が必ずしも増加しない場合がある。

ルーメン内容の *in vitro* におけるガス産生能測定によつて、揮発性脂肪酸の産生能を推定することはある程度可能である。しかしながら、ガス産生能からただちに蛋白質のルーメン内における分解能を推定するにはやや問題が残る。通常の蛋白質レベルでは、ガス産生能から判定し得るルーメン内発酵の難易と、蛋白質の分解の程度には、ほぼ関係がある。しかしながら、低蛋白質の条件では、ガス産生能が高い場合に蛋白質合成の方向にある実験例も観察された。したがつて、ルーメン内容のガス産生能は、蛋白質の分解あるいは合成のいずれかを積極的に進めていることを示すと云える。ルーメン内容のガス産生能が低い条件では、蛋白質の合成、分解のいずれも積極的にないことが観察された。

### 第9節 考 察

Annison<sup>3)</sup> (1956) は *in vitro* におけるルーメン内細菌の洗滌懸濁液によつて、各種の飼料蛋白質の分解を検討している。その結果、カゼイン、ダイズ蛋白、アラキシン等はトーモロコシ蛋白、ウシ血清アルブミン、コムギグルテン等より分解されやすいことを報告している。また容易にルーメン内微生物が利用しうる炭水化物を供給することによつて、アンモニア産生が抑制しうることを報告している。McDonald<sup>42)</sup> (1952), Warner<sup>71)</sup> (1956) も同様の傾向を観察している。Lewis ら<sup>38)</sup> (1958) は澱粉がグルコース、キシラン等よりもアンモニアの産生抑制には効果的であり、セルロースはアンモニア産生の抑制にもつとも効果が少ないことを認めている。また Phillipson<sup>54)</sup> (1959) らは澱粉を飼料に添加することによつて、高蛋白質の飼料条件におけるルーメン内アンモニアの減少効果は、一部アンモニアを利用する菌群の増殖の効果によるとしている。

本実験によつてルーメン内で蛋白質の分解産物として産生されるアンモニアは、飼料中の蛋白質のレベルとその発酵性によることが示唆された。蛋白質含量の高い飼料ほど、ルーメン内アンモニアの濃度が高く、したがつて蛋白質の分解量が多い。Johns<sup>31)</sup> (1955) の観察によると、蛋白質含量の高い生草をウシに給与すると、ルーメン内アンモニア濃度は130 mg/dl におよぶことを観察している。本実験例においても、高蛋白質飼料に尿素を添加した結果、136 mg/dl におよぶアンモニア濃度を観察した。高濃度にルーメン内にアンモニアが蓄積することは、アンモニアとしての吸収による蛋白質の損失以外に、アンモニアの吸収によつて動物がアンモニア中毒症をひきおこす危険性がある。

ルーメン内における蛋白質の分解におよぼす要因として、第二には飼料の発酵性があげられる。蛋白質の分解割合は飼料そのものの発酵を受ける難易によつて異なつて来る。ルーメン内では多汁性の生草、サイレージ、あるいは細粉された濃厚飼料などは発酵性がすみやかである。このような飼料を給与した実験例では、アンモニア濃度も高く、ルーメン内での蛋白質の分解、減少が多い。その発酵形は飼料給与直後に高い活性を示し、以後経時的に著明に低下する。すなわち、易発酵性の飼料とも云える。したがつて、短時間内に発酵分解産物は著しく蓄積する傾向を示す。一方乾草、根菜類等のように比較的乾燥したまた固い形態を持つ飼料は、ルーメン内での分解に比較的長時間を要する。このような発酵の形は、いわば持続形のルーメン発酵とも云える。ルーメン内でこのように比較的蛋白質含量が低く、また緩やかな発酵形を呈する飼料では、ルーメン内蛋白質の量には大きな変動を示さなかつた。このように難発酵性の飼料では、蛋白質の分解そのものが緩やかに行なわれ、アンモニアは除々に遊離する。したがつて、急速なアンモニアの産生は観察されない。このアンモニアは澱粉が存在すると、有効に微生物体蛋白質合成に利用されることが観察された。したがつて、ルーメン内全体としては、除々にアンモニアが産生され、一方このアンモニアが微生物体蛋白質合成に利用されるために、ルーメン内の全蛋白質量は見掛けの変動を示さない。しかしながら、飼料由来の蛋白質は微生物体蛋白質にある程度転換していることが推定される。

## 第5章 ルーメン内における蛋白質の質的变化

前章において、ルーメン内における蛋白質の量的変化を各種の飼料について検討した結果について述べた。ルーメン内において蛋白質はルーメン微生物によつて分解を受け、飼料として供給される蛋白質は多くの場合減少する。飼料蛋白質の分解によつて産生されたアミノ酸、アンモニアは、その一部が微生物体蛋白質に再合成される。ルーメン内において、飼料蛋白質の一部は、バクテリア、プロトゾア体蛋白質に転換すると云える。

これら微生物体蛋白質の生物価 (Biological Value) は、反芻動物に対する蛋白質の栄養価値を評価するに際して、考慮されねばならない。ルーメン内微生物体蛋白質の生物価に関しては、McNaught ら<sup>45,46)</sup> の報告がある。彼等は Mitchell の方法によつて、ラットに対し飼料中の蛋白質含量として8%になるようにして給与した。その結果、ルーメン内バクテリアおよびプロトゾア体蛋白質の生物価は、それぞれ81%、80%であることを報告した。その他の研究者によつても、ルーメン内微生物体蛋白質の単胃の動物に対する生物価は、比較的良質のものであることが報告されている<sup>32,79)</sup>。

ルーメン内微生物体蛋白質のアミノ酸組成に関しては、若干の知見が報告されている。Duncan ら<sup>17)</sup> (1953) は尿素のみを窒素源としたウシのルーメン内容中に、10種の必須アミノ酸の存在を認めている。Holmes ら<sup>27)</sup> (1953) はメンヨウのルーメン微生物体蛋白質のアミノ酸組成を、ペーパークロマトグラフ法によつて卵白と比較している。彼等は15種のアミノ酸を比較して、ルーメン微生物体蛋白質においては、メチオニンおよびイソロイシンが制限アミノ酸であるとしている。

動物に給与された飼料蛋白質は、その一部がルーメン内で微生物体蛋白質に転換して、第四胃以下において消化吸收を受ける。実際にこの過程によるアミノ酸組成の変化をルーメン

内で追及することによつて、その意義が明確にされる。すなわち、飼料給与後経時的にルーメン内容蛋白質のアミノ酸組成の変化を検討することによつて、質的なアミノ酸組成の変化を全体として量的に検索する必要がある。これによつて、ルーメン内における飼料蛋白質の微生物体蛋白質への転換が、動物体に対していかなる蛋白質の価値の変化をもたらすかを、比較検討することが可能となる。前章と同様の実験方法によつて飼料とルーメン内容のアミノ酸組成を比較検討し、またルーメン内容のアミノ酸組成の経時的变化を検索した。

### 第1節 実験方法

実験方法は前章と同様にメンヨウを用い、ルーメンフィステル法、第二第三胃間孔栓塞法を採つた。この方法によつて、ルーメン内における蛋白質量の変動と、そのアミノ酸組成の変化を検討した。

Table 12. The composition of feed mixture

Ingredients	Weight(g)	Nitrogen(g)
Orchard hay	500	5.20
potato	900	3.08
Urea	13	6.06
Filtrate of rumen juice	2180	1.58
Saliva	280	0.10
Total	3873	16.02

使用した飼料は第12表に示すように、前章においての実験 I とほぼ同様の飼料を用いた。本実験においては採食させず、フィステルより飼料の混合物を投入した。飼料は約 2 mm に細切したオーチャード乾草 500 g に一定量のルーメン内容のガーゼ濾過液を加え、蒸煮して磨砕したバレイショ 900 g、尿素 13 g を加え、一定量の唾液を添加して温湯を加えルーメン内へ投入した。この際混合物の一部をただちにドライアイス中で冷却し、0 時間の試料とした。混合物はルーメン内に投入する際に、ルーメン内の温度となるように調整した。また流入する唾液量を知るために、食道にカニューレを装着する佐々木、梅津<sup>58)</sup> (1962) の intraoesophageal funnel 法によつて唾液を体外に取り出し、1 時間ごとに唾液量を測定してルーメン内へ投入した。以後経時的にルーメン内容の総重量を測定し、約 200 g の試料を採取し、ただちにドライアイス中で冷却した。残りは全量をルーメン内へ投入した。試料は先ず湿潤状態のまま一定量につき全窒素を定量し、一部は凍結乾燥標品としてアミノ酸の定量に供した。

### 第2節 窒素量の変化

結果は第13表に示すとおりである。ルーメン内総窒素は、時間とともにやゝ減少する傾向が見られる。蛋白態窒素、非蛋白態窒素はともにほぼ同様の減少傾向を見せている。ここで観察された総窒素の減少は、尿素を添加しているために比較的アンモニア濃度が高く、したがつてルーメン粘膜からのアンモニア吸収の結果と考えられる。本実験において全ルーメン

Table 13. The weight change of nitrogenous compounds in the rumen

Time after incubation (hr.)	Total nitrogen	Non-Protein nitrogen (g)	Protein nitrogen
Whole rumen contents			
0	13.68	5.59	7.75
3	11.77	4.78	6.98
6	11.26	4.51	6.24
9	10.90	4.09	6.01
Gauze filtrates			
0	1.39	0.36	1.03
3	6.22	4.72	1.50
6	5.29	3.82	1.47
9	4.78	3.50	1.28

内容中の蛋白態窒素は経時的に減少する結果をえた。このルーメン内容を二重ガーゼで濾過し、濾液区分についての窒素量の変化は第13表に示すとおりである。この採食直後、0時間の価は尿素を加える以前のルーメン内容混合物の濾液についての価である。ガーゼ濾液についても3時間以後9時間まで、総窒素、非蛋白態窒素、蛋白態窒素はいずれも減少している。飼料添加前のガーゼ濾過液中の蛋白態窒素は、非蛋白態窒素よりも多量に存在している。3時間後には尿素の添加によつて、当然非蛋白態窒素が増加している。一方蛋白態窒素は、3時間後にガーゼ濾過液中に約50%増加している。しかし全内容中の蛋白態窒素は減少傾向にあるから、この増加は飼料に由来するものが多く、微生物体蛋白質の増加は少ないものと考えられる。3時間以後9時間まで、蛋白態窒素の減少の傾向は全内容、ガーゼ濾液についていずれもほぼ同様の傾向を示した。

本実験例では前章の実験I例とほぼ同様の飼料組成について実験を行なつたが、実験I例とは異なり蛋白態窒素は減少する傾向を示した。この原因として考えられるのは、本実験例では前章の実験と異なり、飼料を粉碎したために発酵性を増したことがあげられる。そのため飼料は比較的易発酵性となり、蛋白質の分解が増加したものと推定される。

### 第3節 アミノ酸組成の変化

前節の実験方法によつて採取したルーメン内容について、そのアミノ酸組成の経時的変化を検討した。前節の実験において採取した試料を分析に供した。試料は採取したルーメン内容を凍結乾燥し、全ルーメン内容については乾燥試料についてそのまま分析に供した。またガーゼ濾過液については乾燥試料をガーゼ濾過し、抽出液についてトリクロール酢酸終末濃度6%に保持し、遠心沈澱物を分析に供した。

これらを6N塩酸にて105°C、20時間の加水分解を行なつた。アミノ酸の定量は日立製、

Table 14. The amino acid composition of rumen contents and orchard hay

Time (hr.)	Gauze filtrate protein				Whole rumen contents				Orchard hay
	0	3	6	9	0	3	6	9	
	(%)								
Lysine	7—8	5	5	5	6	6—7	6	5	3—4
Histidine	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Arginine	3	2—3	2—3	2—3	3—4	3—4	3—4	3	1
Aspartic acid	8	5—6	5	5—6	13	13	11	9	7
Threonine	5	4	3—4	4	4	4—5	4	4	4
Serine	4	3—4	3—4	4	5	5	5	4	5
Glutamic acid	7—8	5—6	5—6	5—6	10—11	11	10	9	7
Proline	3	3	3	3	4—5	5	4	4	4—5
Glycine	7	5	5	5—6	7	8	7	7	7—8
Alanine	7	5	5	5	7—8	9	8	6—7	7
Valine	4—5	3	3—4	4	5	5	4—5	4	4—5
Isoleucine	4	2—3	2—3	3	3—4	3	3	2—3	3
Leucine	6—7	5	5	5	6—7	7	6—7	5—6	7
Tyrosine	2—3	1—2	1—2	1—2	2	2	2	2	1—2
Phenylalanine	3	2	2	2—3	3	3	3	3	3

アミノ酸分析計，KLA—2型によつて行なつた。

結果は第14表に示す通りである。全ルーメン内容およびそのガーゼ濾過液中の蛋白質のアミノ酸組成を、飼料として用いたオーチャード乾草蛋白質のアミノ酸組成と比較検討した。その結果、リジン、アルギニン、アスパラギン酸はルーメン内容中にオーチャード乾草よりも、かなり多く含まれている。またオーチャード乾草と比較してルーメン内容で若干少ないものとしては、プロリン、グリシン、ロイシンが挙げられる。その他のアミノ酸については、オーチャード乾草とルーメン内容について比較した場合、若干の差違が観察されたものもあるが、全体として著しい差違は観察されなかつた。

これらの結果は、微生物体蛋白質のアミノ酸組成がオーチャード乾草と比較して、著しい相違のないことを示している。しかしながら、ルーメン内にリジン、アルギニン、アスパラギン酸が増加している。これら塩基性アミノ酸は必須アミノ酸であり、動物にとつてはアミノ酸組成の有効な転換と考えられる。

以上の実験結果より、飼料蛋白質の微生物体蛋白質への転換によるアミノ酸組成の変化は、著しい組成変化としてはあらわれていない。したがつて、ルーメン内においてのアミノ酸組成の経時的变化にも、特に個々のアミノ酸について著しい変化はないといえる。Weller<sup>79)</sup>

(1957) はルーメン内バクテリアのアミノ酸組成は、牧草蛋白質のアミノ酸組成とほとんど同様であることを報告している。本実験においても、オーチャード乾草とルーメン全内容の蛋白質のアミノ酸組成に著しい変化は観察されなかつた。若干の組成の相違は、飼料蛋白質の一部が微生物体蛋白質に転換したものであると考えられる。

McNaught<sup>45)</sup> (1951) は、プロトゾアおよびバクテリア体蛋白質のラットにおける消化率はそれぞれ91%、74%であることを報告している。したがつて、比較的消化率の高い微生物体蛋白質にある程度転換しているとすれば、蛋白質の消化率を上げると云う利点を持つことが考えられる。

## 第6章 ルーメン内における尿素よりの蛋白質合成

前章までにおいて、各種の飼料を給与した場合の、ルーメン内の蛋白質その他窒素化合物の消長と、ルーメン発酵についての考察を行なつた。ルーメン内における飼料蛋白質の分解、微生物体蛋白質合成におよぼす、飼料とルーメン内の条件について考察した。

反芻動物のルーメンが給与蛋白質の利用におよぼす特異性を利用し、動物の経済的飼育を目的として尿素を給与することが行なわれている。1930年前後より尿素の反芻動物への蛋白質代替効果が着目され、多くの研究がなされて来た<sup>7)</sup>。尿素の反芻動物による利用は、窒素平衡試験、成長試験、乳産生試験あるいは動物体組成の分析等によつて、数多くの研究が行なわれている。より直接的なルーメン内における尿素窒素の微生物体蛋白質への利用を *in vivo* で観察した報告もある<sup>47, 48, 77)</sup>。このような尿素窒素の微生物体蛋白質への転換を、直接ルーメン内で観察する方法は、McNaught ら<sup>43)</sup> (1947)、Pearson ら<sup>50)</sup> (1943) も指摘するように、多くの困難性がある。それゆえに、これら初期の実験以後、この種の研究は方法論の問題でほとんど行なわれていない。

前章までにおいて、第二第三胃間孔栓塞、全ルーメン内容の経時的計測法によつて、ルーメン内での蛋白質の消長について検討を加えて来た。この方法によつて、尿素窒素のルーメン内における蛋白質への転換、すなわち微生物体蛋白質への合成におよぼすルーメン内環境についての検討を行なつた。本章の実験の目的は、ルーメン内において尿素より微生物体蛋白質合成におよぼす要因を解明することである。そのために、飼料中の蛋白質レベルと易発酵性の高分子炭水化物レベルおよびこれらの相互関係が、尿素の利用性にどのような影響を与えるかを検討した。第4章の実験によつて、ルーメン内微生物が尿素を利用してその微生物体蛋白質を合成する環境としては、飼料中の蛋白質の量と同時に炭水化物の量が問題となることが示唆された。

尿素のルーメン内での分解はすみやかであり、アンモニアが急速に蓄積する。このアンモニアを窒素源として微生物がその体蛋白質を合成するためには、炭水化物の存在が必要である。このような事実を考慮し、飼料中の蛋白質と易発酵性の高分子炭水化物量を規制して給与した。これらの飼料が、ルーメン内微生物による尿素窒素より、微生物体蛋白質合成に与える条件を検討した<sup>72)</sup>。

第4章において述べたように、飼料中の蛋白質および炭水化物の含量と同時に、飼料の形態の差異によるルーメン発酵性の相違によつて、蛋白質の分解、合成に大きな影響を与える

ことが明らかとなった。したがって、発酵性の異なる飼料によつて、その組成のみを比較検討することは、組成以外の要素によつて、影響されて解明しにくい。それゆえに、飼料の基本的構成を同じくし、その成分含量を特に蛋白質、炭水化物の組成を規制して尿素の利用性を検討する実験を行なつた。

### 第1節 実験方法

実験方法は第4章においての実験と同様である。すなわち、飼料採取後ただちにルーメン全内容をとり出し、第二第三胃間孔を栓塞し、以後3時間、9時間後にルーメン内容量の計量、試料採取を行ない、窒素量の経時的变化を追及した。

給与飼料は第15表に示すとおりである。

Table 15. Chemical composition of the experimental ration\*

Protein	High	High	Low	Low
NFE	High	Low	High	Low
	(%)			
Crude protein	15.6	13.1	8.4	8.7
NFE	63.2	49.0	68.4	49.2
Crude fiber	11.7	21.4	13.0	24.0
Ether extract	0.7	1.0	0.6	1.0
Crude ash	8.8	15.5	9.6	17.1
	(g)			
Wheat gluten	75.0	40.0	0.0	18.5
Potato starch	300.0	70.0	325.0	43.3
Rice straw	250.0	250.0	250.0	250.0

\*Two rations were prepared for each ration mentioned above, the one was 13 g of urea added and the other was not added. Therefore 8 experiments in total were carried out.

すなわち同種の飼料構成をもつて、飼料中の蛋白質および可溶性無窒素物(NFE)をそれぞれ高および低の二つの組成とした。これらを高および低蛋白、高および低NFEのそれぞれの組合せにより、高蛋白高NFE、高蛋白低NFE、低蛋白高NFE、低蛋白低NFEの4種の飼料を作成した。飼料構成は第15表に示すように、コムギグルテン、パレイショ澱粉、稲わらの三種を用いて、それぞれの配合によつて上記の飼料を作成した。それぞれの飼料の配合割合およびその飼料組成は第15表に示すとおりである。

すなわち、高蛋白は13.1ないし15.6%、低蛋白は8.4ないし8.7%とし、NFEについては高NFEは63.2ないし68.4%、低NFEは49.0ないし49.2%とした。また粗繊維含量については高NFEでは11.7および13.0%、低NFEでは21.4および24.0%に規制している。このような飼料に尿素を添加した場合の、ルーメン内における蛋白質の消長を検討した。

飼料の給与法、試料採取法および定量法等は第4章における実験と同様である。

## 第2節 総窒素量の変動

ルーメン内における総窒素の変動は第16表にあげるとおりである。

Table 16. Weight changes of the total nitrogen in reticulo-rumen under reticulo-omasal orifice plugging

Protein	Experimental ration							
	High		High		Low		Low	
	High		Low		High		Low	
Urea	not added	added	not added	added	not added	added	not added	added
Time after feeding (hr.)	g (%)							
0	19.49	25.95	7.91	15.16	13.15	19.20	4.72	11.27
	(100.0)							
3	19.04	23.28	7.37	14.12	12.78	20.92	5.37	9.26
	(97.7)	(89.7)	(93.2)	(93.1)	(97.2)	(108.9)	(113.8)	(82.2)
9	18.50	20.15	6.50	11.69	13.45	21.00	5.13	7.83
	(94.9)	(77.7)	(82.2)	(77.1)	(102.3)	(109.4)	(108.7)	(69.5)

尿素を添加しない場合にもつともルーメン内での総窒素の減少が著しいのは、高蛋白質、低NFE飼料であり、約18% (1.4 g) の窒素がルーメン内で9時間内に減少している。これに次いで高蛋白質、高NFEで約5% (1 g) の窒素が減少している。このような高蛋白質の飼料では、NFEの高低にかかわらずルーメンからの窒素の減少が観察された。NFEの高低を比較して、窒素の減少は低NFEの方が多量であつた。これらにはいずれもアンモニアの蓄積が観察された。

このような高蛋白質の条件に尿素を添加すると、ルーメン内には尿素の分解によつてアンモニアが増大する。その結果ルーメンよりアンモニアの吸収が増大し、総窒素の減少が増大する結果となつた。

一方低蛋白質の場合には、尿素を添加しない場合にもその総窒素はいずれも増加している。すなわち、低蛋白質、高NFEの場合には2.3%、低蛋白質、低NFEの場合には8.7%の増加が9時間で観察された。このような低蛋白質の飼料を給与した場合には、ルーメン内総窒素の増加が観察されルーメン内の蛋白質分解が少ない。すなわち、蛋白質の分解産物であるアンモニアの産生が少なく、多少産生されたアンモニアは微生物体蛋白質合成に利用される。そのためにルーメン粘膜からの直接吸収は少ないことが推定される。一方唾液としてルーメンに流入する窒素が原因となつて、ルーメン内総窒素は増加を示す。その増量は高NFEでは0.30 g、低NFEでは0.41 gであつた。

このような低蛋白質の条件に尿素を加えた結果は、総窒素の変化はNFEの高および低によつて著しく異なつている。すなわち、低蛋白、高NFEに尿素を添加した場合には9.4% (1.8g)の増加を示しているのに対し、低蛋白、低NFEに尿素を添加した場合には30.5% (3.44g)の減少が観察された。このように低蛋白、高NFEに尿素を加えた場合には、尿素は微生物体蛋白質合成に利用され、ルーメンからの吸収量は少ない。したがつて1.8g以上の唾液窒素の流入が推定される。低蛋白、低NFEの条件に尿素を加えた場合には、総窒素は3.44gと著しい減少を見せている。すなわち尿素の分解によるアンモニアがルーメン粘膜より吸収された結果である。

尿素を添加することによつて、ルーメン内総窒素の変動は低蛋白、高NFEの例を除いて、尿素を添加しない場合と比較していずれも総窒素の減少率が高くなつている。高蛋白質の飼料においては、いずれもルーメン内の蛋白態窒素の減少があり、尿素の添加によつても蛋白質の増加は観察されない。尿素の添加によつてアンモニアの増加が著しくあり、アンモニア態窒素として、ルーメン粘膜から吸収されたことが推定される。低蛋白質においても低NFEの場合には、高蛋白と同様に尿素の添加によつて総窒素は減少している。

尿素の添加によつて総窒素の減少が観察されなかつた低蛋白、高NFEの場合には、ルーメン内で積極的な蛋白質の増加が観察された。この場合尿素の添加によつてアンモニアの産生がやゝ増加しているが、著明な増加は観察されなかつた。産生されたアンモニアは積極的に微生物体蛋白質合成に利用され、ルーメン粘膜からの吸収はほとんどなかつたことが推定される。

### 第3節 蛋白態窒素量の変動

ルーメン内における蛋白態窒素の変動は第17表に示すとおりである。高蛋白、高NFE飼料においては、蛋白態窒素は9時間で約10%減少している。この飼料に尿素を加えた結果、

Table 17. The weight change of the protein nitrogen in the reticulo-rumen under reticulo-omasal orifice plugging

Protein NFE	Experimental ration							
	High		High		Low		Low	
	High	Low	High	Low	High	Low	High	Low
Urea	not added	added	not added	added	not added	added	not added	added
Time after feeding (hr.)	g (%)							
0	17.80	16.36	7.19	8.96	11.89	13.83	4.35	5.29
	(100.0)							
3	16.52	14.35	5.85	8.43	11.34	16.46	4.83	4.97
	(92.8)	(87.7)	(81.4)	(94.1)	(95.4)	(119.0)	(111.0)	(93.9)
9	16.18	13.81	4.66	7.72	12.24	17.51	4.87	4.65
	(90.9)	(84.4)	(64.8)	(86.2)	(103.0)	(126.6)	(111.9)	(87.9)

蛋白質の減少はさらに促進され、約15%の蛋白態窒素が減少している。高蛋白、高NFE飼料に尿素を添加した結果は、ルーメン内で蛋白質の分解を促進する結果をえた。すなわち、高蛋白、高NFEの条件はルーメン内は易発酵性でもあり、アンモニアの産生も多い。このような条件のルーメン内へ尿素を添加すると、アンモニアは急激に増加する。それゆえにルーメン粘膜より吸収される窒素量が増大する。尿素の分解によつて産生されたアンモニアが微生物の窒素源となつてさらに蛋白質の分解を促進し、また微生物体蛋白質を合成する。しかしアンモニアの蓄積量が多く、ルーメン粘膜からの窒素の吸収量が多くなる。すなわち総窒素の減少量は1gから尿素の添加によつて5.8gにまで増加している。

高蛋白、低NFEの条件では、ルーメン内で蛋白質の分解はさらに増大している。すなわち、9時間で35.2% (2.53g) の蛋白態窒素の減少が観察された。高蛋白、低NFEの条件はルーメン内でもつとも蛋白質の分解されやすい条件と云える。この条件ではルーメン内は易発酵性のNFEが不足し、難発酵性の繊維質が多い。したがつてルーメン内微生物は、比較的分解しやすい蛋白質をまず分解することが、蛋白質分解のすみやかな原因と考えられる。

高蛋白、低NFEの条件に尿素を添加した場合には、蛋白態窒素は減少する方向にあるが、尿素を添加しない場合と比較してその減少量は少なくなつてることが観察された。すなわち蛋白質の減少量は13.8% (1.24g) と尿素を添加しない場合と比較して半量以下に止まつている。この事実は尿素の添加によつて微生物体蛋白質の合成が促進されたことも推定される。しかし極端な高アンモニア条件となつた結果、ルーメン内微生物はその窒素源を尿素由来のアンモニアに求める。またエネルギー源としての易発酵性炭水化物の不足によつて発酵能に限界があり、その結果蛋白質の分解量が減少したことが推定される。また極端な高アンモニア産生によつて、ルーメン内pHの上昇による発酵抑制の効果も推定される。

これに対し高蛋白、高NFEの場合には、ルーメン内微生物にとつて易発酵性の炭水化物源が存在するために、尿素の添加によつて産生されたアンモニアを窒素源としてさらに発酵能を高め、その結果蛋白質の分解が促進されたものと考えられる。

低蛋白質の条件においては、NFEの高および低にかかわらず、ルーメン内において蛋白質はいずれも若干の増加が観察された。すなわち、低蛋白質の条件のためにルーメン内での蛋白質の分解量も少なく、急速なアンモニア産生は観察されない。観察された若干のルーメン内蛋白質の増量は、総窒素の増、非蛋白態窒素の減から、唾液による窒素の流入と非蛋白態窒素からの微生物体蛋白質の合成によつての増加と考えられる。いずれにせよ蛋白質合成の基質となるべき窒素源が、このような条件においては僅少であるために、蛋白態窒素の増加は高NFEの条件で0.35g、低NFEでは0.52gに止まつている。

このような低蛋白質の条件に尿素を添加した場合、ルーメン内における蛋白態窒素の消長はNFEの高および低によつて著しく異なつている。すなわち、低蛋白、低NFEの場合には、尿素を添加することによつてルーメン内における蛋白質の減少が促進される。すなわち、尿素を添加しない場合に0.52gの増加であつたものが、尿素を添加することによつて0.64g、(22.1%)の減量となつた。この事実は尿素の給与によつて、ルーメン内微生物が比較的容易にえられる窒素源が供給される。その結果易発酵性の炭水化物源の不足のために蛋白質を分解する。したがつて、ルーメン内蛋白質が減少したものと考えられる。

一方低蛋白、高NFEの場合には、尿素を添加することによつて26.6% (3.68g) の蛋白

態窒素の増加を見せている。すなわち、尿素を添加しない場合に3.0% (0.34 g) の蛋白態窒素の増加が、尿素の添加によつて26.6% (3.68 g) にまで増加している。このように低蛋白、高NFEの条件では、ルーメン内微生物による尿素からの積極的な蛋白質の合成による増加が観察された。低蛋白質、高NFEの条件はルーメン内微生物にとっては、窒素源が不足で易発酵性炭水化物のエネルギー源が十分に存在する状態である。このようなルーメン内に、微生物が容易に窒素源とすることができるアンモニアが尿素の形で投入されると、ルーメン内微生物はこのアンモニアを窒素源とし、一方豊富に存在する易発酵性の澱粉質をエネルギー源として微生物体蛋白質を合成する。したがつて、ルーメン内微生物は蛋白質の分解産物を窒素源とすることが少なく、ルーメン内の飼料由来の蛋白質は分解されることが少ない。このような理由によつて、低蛋白、高NFEの条件に尿素を加えると、もつとも積極的にルーメン内蛋白質が増加すると考えられる。

#### 第4節 非蛋白態窒素量の変動

非蛋白態窒素の変動は第18表に示すとおりである。尿素を添加しない場合には、非蛋白態窒素はいずれの場合においても3時間で増加し、以後9時間でやゝ減少している。採食3時間後における非蛋白態窒素の増加は、蛋白質の分解によつてアンモニア等が産生するものと、唾液中の尿素の流入によつて増加するものと考えられる。

Table 18. The weight change of the non protein nitrogen in the reticulo-rumen under reticulo-omasal orifice plugging

Protein NFE Urea	Experimental ration							
	High		High		Low		Low	
	High	Low	High	Low	High	Low	High	Low
	not added	added	not added	added	not added	added	not added	added
Time after feeding (hr.)	(g)							
0	1.69	9.55	0.72	6.25	1.26	5.37	0.37	5.98
3	2.52	8.93	1.52	5.69	1.44	4.46	0.54	4.29
9	2.32	6.34	1.31	3.49	1.21	3.49	0.26	3.18

非蛋白態窒素中のアンモニア態窒素の変動は第19表に示すとおりである。非蛋白態窒素の増加は、蛋白質の分解および唾液中の尿素窒素の流入による非蛋白態窒素の増加が、微生物体蛋白質への合成およびルーメン粘膜からの吸収を上まわる結果、ルーメン内に蓄積するものと考えられる。非蛋白態窒素の蓄積があるルーメン内は、多くは蛋白質が分解の方向にあると云える。低蛋白、低NFEの場合に、蛋白態窒素、非蛋白態窒素ともにやゝ増加しているが、これらはいずれも唾液中の窒素の流入によつて増加したものと考えられる。採食3時間以後9時間までに、非蛋白態窒素はいずれも減少している。ルーメン発酵の時間の経過に

Table 19. The weight change of the  $\text{NH}_3$  nitrogen in the reticulo-rumen under reticulo-omasal orifice plugging

Protein	High		High		Low		Low	
	High		Low		High		Low	
Urea	not added	added						
Time after feeding (hr.)	(g)							
0	0.88	3.47	0.42	0.53	0.45	1.09	0.08	0.73
3	1.49	7.00	0.76	3.31	0.23	1.79	0.35	2.72
9	1.43	4.89	1.15	2.25	0.26	1.83	0.18	1.98

ともなつて、蛋白質の分解量の減少ないしは非蛋白態窒素の微生物体蛋白質への合成が増大した結果と考えられる。高蛋白質の条件においては、蛋白質の分解は引続いて観察され、アンモニア態窒素の増加がある。また総窒素の減少傾向より、この非蛋白態窒素の減少は、アンモニアの蓄積によつてルーメン粘膜からのアンモニアの吸収量の増大に起因することが推定される。

このような飼料に尿素を添加した場合、非蛋白態窒素はいずれも経時的に減少傾向を示している。その減少量は高蛋白、高NFEにおいて3.25g、低蛋白、低NFEにおいては1.88gであり、その減少率は全実験を通じて53ないし66%の範囲内にある。すなわち、非蛋白態窒素としての減少の傾向は、いずれの実験例においてもほぼ同様と云える。しかしながら、高蛋白の条件ではアンモニアの蓄積が多く、高蛋白、高NFEにおいてもつとも高く、高蛋白、低NFEおよび低蛋白の条件がこれに次いでいる。この事実は尿素がルーメン内においてすみやかにアンモニアに分解されることを示している。このように尿素的の添加によつてアンモニアの蓄積が著しい場合には、ルーメン内において蛋白質の減少が観察される。ルーメン内で蛋白質が分解しアンモニアの蓄積がある環境に、さらに尿素を添加すると、尿素はアンモニア態窒素としてルーメン内に蓄積する。このようにしてアンモニアがルーメン内に高濃度となると、ルーメン粘膜より吸収されることが観察された。

一方低蛋白の飼料の場合には、尿素的の添加によつてのアンモニア態窒素の変動はやゝ増加することが観察されたが、高蛋白質の飼料給与時のように急速な蓄積は観察されなかつた。ルーメン内で積極的な微生物体蛋白質合成の観察された低蛋白、高NFE条件の場合には、アンモニア態窒素は3時間後に0.7gの増加を見せているのにすぎない。すなわち、アンモニアは微生物体蛋白質合成に利用され、ルーメン内に蓄積して吸収を受けることが少ない。

### 第5節 考 察

反芻動物に蛋白質代替飼料として尿素的を供給して、ルーメン内における微生物体蛋白質の合成を促進させることは、動物の経済的飼育を目的として多く試みられているところである。

しかしながら、ルーメン内において尿素を窒素源として微生物がその体蛋白を合成するためには、そのルーメン内の環境が適切でないとその目的に適合することができない。

Pearson ら<sup>52)</sup> (1943) はルーメン内における尿素窒素の利用に及ぼす炭水化物の影響について *in vitro* での成績を報告している。ルーメン内における易発酵性の炭水化物、すなわち、比較的 low molecular weight の糖類および澱粉が尿素の利用に有効であることは多く報告されている<sup>54, 5, 46)</sup>。

尿素窒素からの微生物体蛋白質合成の効率に関して、飼料の条件として特に問題となるのは、飼料中の蛋白質と易発酵性の炭水化物であることが考えられる。飼料中のセルロース等粗繊維性のものは比較的難発酵性であり、ルーメン内での分解は緩慢である。一方尿素はルーメン内では分解されやすく、短時間内にアンモニアに分解される。この尿素の分解と同時に分解利用される易発酵性の炭水化物が存在しないと、必然的にアンモニアはルーメン内に蓄積する。この結果アンモニアはルーメン粘膜より吸収されて、動物はアンモニアの中毒症をひきおこす可能性がある<sup>81)</sup>。

本実験によつてアンモニアの産生と同時に、ルーメン内に易発酵性の炭水化物が十分に存在すると、アンモニアは有効に微生物体蛋白質合成に利用されることが明らかとなつた。易発酵性炭水化物の量にかかわらず、蛋白質がルーメン内に高濃度に存在すると、アンモニアが高濃度に蓄積して、こゝに尿素を添加すると著しい高アンモニアの状態となる。ルーメン内ではこのような状態ではさらに蛋白質の分解を高め、ルーメン内蛋白質の減少を招くことが観察された。ルーメン内において蛋白質が分解を受けて減少する割合は、供与飼料の蛋白質量が高いほど著しい。しかし同様に高蛋白質のレベルであつても、NFE のレベルによつて蛋白質の減少量に相違のあることが観察された。すなわち、低NFE の場合には蛋白質の分解量が多いことは、ルーメン微生物がその発酵のための基質を蛋白質に求めたために、分解が増大したことが考えられる。また炭水化物源の不足のために、微生物体蛋白質の合成量が蛋白質の分解のレベルにまで至らず、全体としての減少と考えられる。

一方高NFE の場合には易発酵性の炭水化物が十分に存在するために、ルーメン内微生物は発酵の基質を蛋白質のみに求めることなく、結果として蛋白質の分解量が少なくなる。さらに易発酵性炭水化物と蛋白質の分解によるアンモニアによつて、微生物体蛋白合成が促進されたものと考えられる。

このような条件を持つルーメン内に尿素を添加すると、高蛋白質、高NFE の場合には蛋白質の分解を促進する結果をえた。すなわち、充分の易発酵性炭水化物源が存在するところに、さらに有効な窒素源をえて発酵能を増大し、その結果蛋白質の分解量も増大したものと考えられる。一方高蛋白質、低NFE の条件に尿素を添加した結果は、蛋白質の減少を抑制することが観察された。この事実は低NFE のために、易発酵性の基質が少なく、ルーメン微生物は積極的に蛋白質分解を行なつていゝと考えられる。こゝに窒素源がさらに投入される結果、微生物体蛋白質の合成量が増大したものと考えられる。

他方低蛋白質の条件ではNFE の高および低にかかわらず、蛋白質の減少は観察されなかつた。このような条件では、ルーメン内で蛋白質の分解する絶対量も少なく、また流入する唾液中の窒素および飼料由来の非蛋白質態窒素を消費して、微生物体蛋白合成を行ない、その量が蛋白質の分解量をこえて、蛋白質の増加となるものと考えられる。しかしながら、この傾

向にもNFEの高および低によつて、やゝ相違がある。すなわち、高NFEにおいては、3時間で一時蛋白質がやゝ減少している。すなわち、ルーメン内は高NFEのために易発酵性であり、すみやかなルーメン発酵の結果、蛋白質も分解し減少する。こゝで産生されたアンモニア等非蛋白態窒素は、易発酵性炭水化物の存在によつて、微生物体蛋白質に合成され、以後の蛋白質の増加が観察されたものと考えられる。

低蛋白、低NFEの条件では、蛋白態窒素、非蛋白態窒素、アンモニア態窒素がいずれも3時間で増加している。この条件はもつとも難発酵性であり、飼料採取直後のルーメン発酵が緩やかであり、蛋白質の分解もしたがつて少ない。唾液窒素の流入によつて全体的な増加を見せたものと考えられる。以後緩徐なルーメン発酵にもなつて、アンモニアの減少と同時にやゝ蛋白質が増加しているが、ほとんど量的には変動がなく経過している。

このような低蛋白の条件に尿素を添加した場合、高NFEにおいて著明に蛋白質の増加が観察された。このように易発酵性で窒素源の少ない環境では、尿素によつて窒素源を供給される結果、その発酵能を増大して微生物体蛋白質が増大する結果となる。一方低蛋白、低NFE条件に尿素を加えた結果は、蛋白質の分解を促進する方向に傾いた。このように難発酵性でかつ窒素不足の条件に尿素として窒素源が投入された結果は、蛋白質の分解を促進する結果をえた。

## 第7章 吸収アンモニアの処理能力

### 第1節 実験方法および結果

前章までの実験によつて、ルーメン内アンモニア濃度と吸収アンモニア量および血中アンモニア量との関係について論及し、合わせてこれに伴つて発現するアンモニア中毒症状についての知見をえた。

一般にアンモニア中毒症は肝の機能低下による尿素合成能低下、あるいは蛋白飼料の多給、尿素等非蛋白態窒素の供給等の場合に多く問題となるところである。高蛋白の濃厚飼料の多給、尿素の供給によつてルーメン内アンモニア濃度が増加し、その結果ルーメンからのアンモニアの吸収が増え、血中アンモニア量が増加するが、その関係が第3章に記述した実験によつて得られた。

そこに問題となるのは、動物の吸収されたアンモニアを処理する能力、すなわちどのくらいの量のアンモニアが吸収されれば動物が中毒症状を呈するかについての解析を行なう必要性が生じる。従来の中毒量決定試験では、毒物の静脈注入、あるいは経口投与法が常法である。しかし消化管から吸収され、門脈を通り肝にて処理を受けて後、アンモニアが中毒症状を発現するとすれば、これらの方法によつては明確に判断することができない。すなわち一般に行われる頸静脈注射では、稀釈されるため、又経口投与では、吸収実量が明確にし得ないため、肝に到達する実量が判明しない。よつて門脈にカテーテルを挿入し、直接このカテーテルを通してアンモニアを定速注入する門脈カテーテル法を採用した。

#### 1 実験方法

実験方法はヤギに手術によつて門脈に直径2mmのポリエチレンカニューレを腸間膜側より肝に向つて挿入し固定した。カニューレは右腹部より体外に導き出し切開部は縫合する。

このカニューレよりアンモニア液を定速注入器（夏目製作所製）によつて注入することによつて、ルーメン粘膜よりルーメン静脈を経て門脈に至るアンモニア量を、ルーメン壁からの吸収を経ずに定量的に肝に至らしめることができる。

投与するアンモニアは重炭酸アンモニウム  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  の形で、酢酸によつて pH 7.4 に調整したものを定速注入器によつて注入した。

アンモニアの供給量は 11.8 ないし 36.1 mg  $\text{NH}_3\text{-N/hr. kg}$  に規制した。頸静脈血中アンモニアおよび尿素態窒素を Conway<sup>15)</sup> (1950) の微量拡散法によつて測定した。この時に動物に発現する一般症状を観察した。

## 2 血中アンモニア濃度

第13図に示したように血中アンモニア態窒素濃度は通常 50 ないし 100  $\gamma/\text{dl}$  であり、対照として水及び食塩水を注入してもその濃度はほとんど変化しない。アンモニアを注入すること

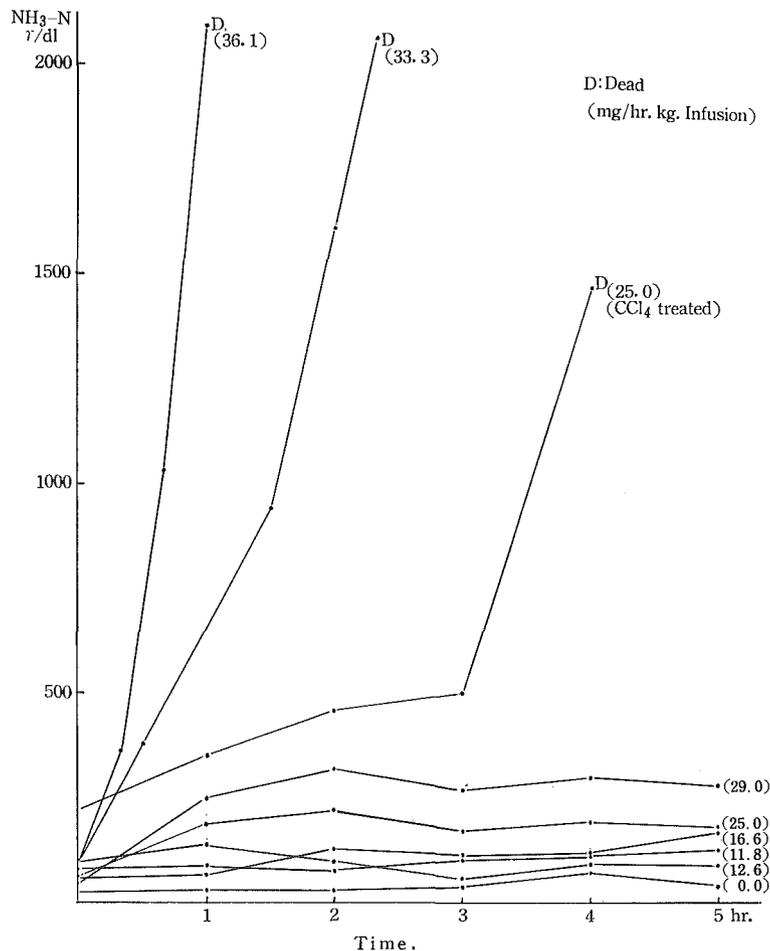


Fig. 13. Concentrates of blood  $\text{NH}_3\text{-N}$ . with infusion of  $\text{NH}_3$  into portal vein.

によつて、注入量の増加にほぼ並行して血中アンモニア態窒素濃度は上昇する。しかしアンモニア供給量が 29 mg/hr. kg 以下では血中アンモニア濃度は 300  $\gamma$ /dl を越すことはない。注入量が 29 mg/hr. kg から 33 mg/hr. kg に増加すると血中アンモニア濃度は急激に増量し、動物は中毒症状を呈し短時間内に斃死した。

### 3 血中尿素濃度

第14図に示したように対照として水及び食塩水を注入した対照動物では血中尿素はほとんど変動を見せなかつた。各濃度のアンモニアを注入した場合には、全例において血中尿素の上昇が観察された。この場合その上昇はアンモニア供給量とほぼ並行しているが、斃死した例と耐過したものとの濃度差は少なく、アンモニア濃度におけるような閾値は観察されなかつた。また尿素濃度はアンモニアの上昇にともなつて上昇するが、極端な高濃度となることはない。肝の尿素合成能に限界があり、また尿中に排泄されるために、血中に著しく尿素が

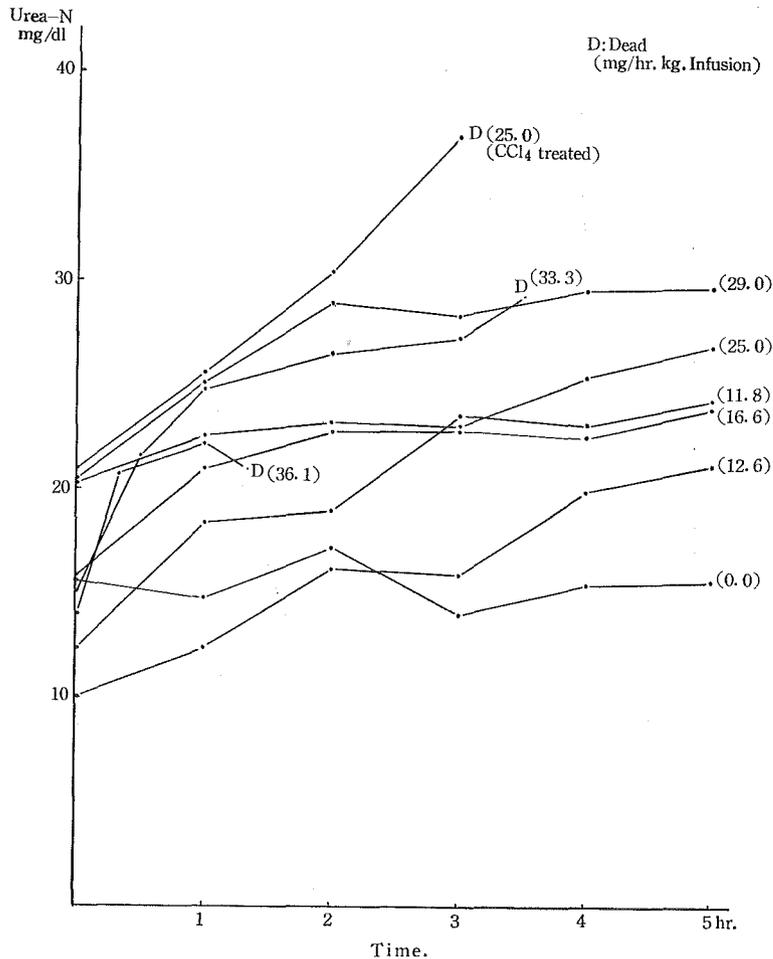


Fig. 14. Concentrates of blood urea with infusion of  $\text{NH}_3$  into portal vein.

蓄積することはない。肝における尿素の合成能以上に、門脈よりアンモニアが流入すると血中にアンモニアが蓄積してアンモニア中毒症を出現する。アンモニアの供給量が 30 mg/hr. kg をこえると、血中アンモニア濃度が急激に増加する。アンモニアからの尿素合成の最大値は、アンモニア供給量が、30 mg/hr. kg 程度であることが推定される。

#### 4 血中アンモニア濃度と中毒症状

本実験において門脈へのアンモニア供給にともなつて動物は種々の症状をあらわした。その症状は血中アンモニアの濃度が上昇するにつれて不安、流涎、伏臥、まどろみ、四肢無力、起立不能、後軀攣縮、昏睡、強直、呼吸困難、窒息死の転機をたどる。血中アンモニア濃度が 250  $\gamma$ /dl 程度で四肢の無力症状が出現し、300  $\gamma$ /dl に至ると起立が不能となる。以後 700~800  $\gamma$ /dl では強直、呼吸困難を呈し、1500~2000  $\gamma$ /dl に至る時必ず斃死することが観察された。

#### 5 肝障害時におけるアンモニア処理能

四塩化炭素を体重 1 kg 当り 0.5 cc の量を投与して、実験的肝障害にした動物を使用して、前記門脈カテーテル法によるアンモニア注入試験を行なつた。動物は実験前の四塩化炭素処理によつて肝の蛋白生成機能（グロス反応）、色素排泄機能（ブロームサルファレイン負荷試験）が低下していることを確認した。その結果、肝の正常な健康動物においては、血中アンモニア濃度を高めなかつたアンモニア供給量であるところの 25 mg/hr. kg の注入によつても、血中アンモニア濃度は増加し、動物は斃死した。すなわち肝障害によつてアンモニア処理能が低下することが実験的に証明された。

## 第 2 節 考 察

これらの結果から、肝のアンモニア処理能には一定の閾値があり、これを越して多量のアンモニアが吸収されると循環血中にアンモニアが急速に蓄積する。その結果動物は急激にアンモニア中毒症状を呈し短時間内に死亡した。反芻動物においてこの閾値はほぼ 30 mg/hr. kg であることが明らかとなつた。

第 2 章の実験において、アンモニアのルーメンからの吸収量は 100 mg/dl のアンモニア態窒素供給の場合当初はほぼこの閾値に近く、200 mg/dl においてはこの倍量近くが当初の 1 時間で吸収されていることになる。後者の実験においては明らかにアンモニア中毒症を呈したが、以後の吸収量の減量のため血中アンモニアは低下し斃死はまぬがれている。

Lewis ら<sup>37)</sup> (1957) はアンモニア中毒の症状は 600 ないし 900  $\gamma$ /dl に血中アンモニア濃度が増大した場合に発現する事を報告している。

本実験において血中アンモニア濃度が、250  $\gamma$ /dl でアンモニア中毒の初期の症状が出現し、以後濃度が上昇するにつれて症状は激しくなる。血中濃度が 600  $\gamma$ /dl をこえると呼吸困難、強直等の激しい中毒症状となり、1500  $\gamma$ /dl に達すると必ず斃死する。この門脈へのアンモニア供給による中毒症の発現は、ルーメンからのアンモニア供給による中毒症の発現とほぼ同様の傾向を示している。またルーメンからの吸収にともなう循環血中アンモニア濃度と、門脈注入による濃度はほぼ同じレベルになる。したがつて、ルーメン粘膜におけるアンモニアの代謝量は少なく、吸収アンモニアはそのほとんどが門脈より肝に流入することが推定される。

## 総 括

反芻動物のルーメン内に棲息する微生物は、摂取した飼料蛋白を分解し、また蛋白質の分解産物および飼料として給与された非蛋白態窒素を窒素源として、微生物体蛋白を合成する。したがって、ルーメン内において蛋白質の全量は飼料蛋白の分解による減少と、微生物体蛋白の合成による増量の双方によつて規制される。蛋白質が消化吸收を受ける第四胃以下に至る以前に、ルーメンによつて摂取飼料蛋白質はその量および質を変える。ルーメン内の状態如何が反芻動物の蛋白質の栄養に大きな影響を与える所である。

本論文ではこのようなルーメン内における蛋白質の量的変化を、ルーメン内容全量の経時的測定法によつて観察し、ルーメン内蛋白質の消長に及ぼす飼料の条件を検討した。また、尿素の給与によつて、ルーメン内で蛋白質の合成による増量の有無とその条件について観察した。合わせてルーメン内の蛋白質のアミノ酸組成の変化を検討した。また蛋白質の分解産物としてのアンモニアのルーメン壁からの吸収量と、吸収アンモニアのひきおこすアンモニア中毒症について論及した。

### I ルーメン全内容量の経時的観察法

ルーメン内容は第二第三胃間孔を経て、第三胃へ移動して経時的に減量する。この移動を一定時間停止してルーメン全内容を経時的に計測し、目的とする物質の全量の変化を知る方法を案出した。メンヨウのルーメン内に片手を挿入して、ルーメン全内容を容易に体外に取り出すことのできる口径を持つフィステルを手術により作成した。このフィステルは常時スポンジおよびプラスチック板をボルトで締めるカニューレによつて閉鎖する。さらにルーメン内容の第三胃への移動停止法として、第二第三胃間孔栓塞法を案出した。第5図に示すような第二第三胃間孔栓塞プラグを作成した。プラグはルーメンフィステルよりルーメン内へ入れ、その頭部を第二第三胃間孔より第三胃内へ挿入することによつて、第二第三胃間孔を栓塞する。この状態でルーメン内に酸化クロームおよびポリエチレングリコールを投入して回収率を測定した結果、ルーメン内容の第三胃への移動はほぼ完全に停止せしめ得ることが観察された。(第2章)

### II ルーメン壁からのアンモニアの吸収

ルーメンからアンモニアが吸収される事実は、古くより指摘されている。ルーメン内の蛋白量の変化を考察する場合、ルーメンからのアンモニアの吸収量を把握しておく必要がある。本章においては第二第三胃間孔栓塞、ルーメンフィステル法によつて、ヤギのルーメン内を空虚としてアンモニア溶液を投入して吸収実量を検討した。その結果重炭酸アンモニアの窒素濃度 100 mg/dl において1時間に 1.0 g, 200 mg/dl において2.1 g に及ぶ吸収が観察された。アンモニアの吸収はすみやかであり、かつ濃度の高いほど吸収量の多いことが明らかとなつた。このようなアンモニアの吸収を示す時、血中アンモニアの一時的な増加および血中尿素の漸増が観察された。また高濃度のアンモニア吸収においては、一時的な高血糖が観察された。(第3章)

### III ルーメン内窒素化合物量の経時的变化とルーメン発酵

メンヨウに前述の方法によつてルーメンフィステルを作成した。この実験動物に9種類の

飼料を給与し、各々の飼料給与後9時間のルーメン内窒素の経時的消長を、第二第三胃間孔栓塞下で総窒素、蛋白態窒素、非蛋白態窒素各分割について測定した。

総窒素の変動はオーチャード乾草給与時に増量するが、その他の実験例においてはいずれも減少した。高蛋白、易発酵性の飼料において総窒素の減量が大きく、高蛋白、尿素飼料において9.58 gを最大とし、クローバー生草、濃厚飼料および濃厚飼料のみにおいてそれぞれ3.56 g、3.60 gの総窒素の減少が観察された。他方低蛋白の飼料、すなわちクローバー生草、コーンエンシレージ、乾草+バレイシヨ給与においては総窒素の減量はそれぞれ、1.51 g、1.24 g、1.00 gといずれも比較的低く、乾草給与時には若干の増量が観察された。このような総窒素の減少は、ルーメン壁からの窒素の吸収に起因するものであり、窒素の吸収量の多い条件においてはルーメン内アンモニアの蓄積が多く、アンモニアの吸収が推定される。

蛋白態窒素は乾草、エンシレージ、乾草+バレイシヨ、これに尿素添加等比較的低蛋白の条件においては増加することが観察され、濃厚飼料を含有する実験群および生草給与の場合には減少することが観察された。蛋白質の増量が観察された実験はいずれも低蛋白質の飼料であり、濃厚飼料を含んでいない。その増量は粗飼料のみの給与によつて1.0 g以下であり、易発酵性の澱粉質を多給した場合には、1.30 gで、これに尿素を添加した結果4.44 gと積極的な蛋白の増量が観察された。飼料にダイズ粕を含有する実験条件においては、蛋白質量の減少が観察されたが、同時に存在する粗飼料としての生草、乾草、フスマ等の発酵性の相違によつて、醗酵がすみやかと思われるものほど蛋白質の分解量が大きであつた。易発酵性で蛋白分解量の多い条件に尿素を添加した結果は、蛋白分解を促進する結果を得た。

非蛋白態窒素はルーメン内で蛋白の増量が観察された実験においては経時的に減少した。一方ルーメン内で蛋白態窒素が減少する傾向を見せた実験においては、非蛋白態窒素は増加を示している。アンモニア態窒素の濃度は、蛋白質の増加が観察された実験においては最大46 mg/dlでいずれも低く、蛋白質の減量の観察された実験では、アンモニア濃度は高く、最大136 mg/dlであつた。

VFA量に関しては蛋白質の分解、アンモニアの増量が観察された実験例においては、VFA産生も増加する事が観察された。易発酵性、高蛋白の飼料においては、蛋白分解の増大と平行してVFA産生が増大した。尿素の添加によつてVFA産生が増大する事が観察された。

発酵管法による *in vitro* のルーメン内容ガス産生能を同時に測定した結果、蛋白質の分解が大きく易発酵性の場合には、採食直後の発酵能が高く、経時的に減少する傾向が観察された。尿素の添加によつてガス産生能は増大した。

これらの結果よりルーメン内において蛋白質の分解、合成による量的変動の要因として、飼料中の蛋白含量の差違がルーメン内における発酵性に影響することが主要なものであらうと結論した。(第4章)

#### Ⅳ ルーメン内における蛋白質の質的变化

ルーメン内において摂取された蛋白質は、一部微生物体蛋白に転換する故、アミノ酸組成が変化する。ルーメン内でおこる蛋白質の転換率は、蛋白質の種類によつて差のあることが知られている。

これをルーメン内全体の蛋白アミノ酸組成の経時的な全量変化について検討した。ルーメン内容ガーゼ濾過液に乾草、バレイシヨ、尿素を混合し、第二第三胃間孔栓塞をしたルーメン内に投入し、9時間のルーメン内容について経時的にその蛋白のアミノ酸組成を、アミノ酸自動分析機によつて定量した。その結果、飼料乾草のアミノ酸組成とルーメン内容についてはほぼ同様であり、大差はなかつた。経時的には各アミノ酸とも減少する傾向を示した。この際同時に測定したルーメン内窒素化合物量の変動は、前述の結果とやゝ異なるが、主として実験方法の差に由来するものと思われる。(第5章)

#### V ルーメン内における尿素よりの蛋白質合成の観察

尿素を反芻動物に給与し、ルーメン内微生物による非蛋白態窒素合成能を利用してその体蛋白に変換せしめ、ルーメン内蛋白の増加を計ることは多く試みられている。本論文の第二第三胃間孔栓塞、全ルーメン内容計量法によつて、この尿素の利用性に及ぼす飼料の条件を検討した。稲わら、コムギグルテン、バレイシヨ澱粉によつて、高蛋白、低蛋白、高NFE低NFEの4種の組合わせの飼料を給与し、第二第三胃間孔栓塞下のルーメン内蛋白の実量変化を検討した。その結果低蛋白、高NFE条件に尿素を添加するとき、最も積極的にルーメン内蛋白の増量が観察された。これ以外の条件においてはルーメン内で尿素の添加によつてかえつて蛋白分解を促進するか、若干の蛋白分解を抑制する程度の効果であることが観察された。(第6章)

#### VI 吸収アンモニアの処理能力

前章までの実験によつてルーメン内の条件如何によつては、多量のアンモニアが発生し、動物がアンモニア中毒におちいる危険があることを知つた。ルーメンからのアンモニア吸収によつて発現するアンモニア中毒症状を、アンモニア吸収量との関係においてさらに、明確にするために門脈カテーテル法によつてヤギの門脈内に重炭酸アンモニアを定速注入して、注入量とアンモニア中毒症の関係についての観察を行つた。その結果門脈内注入量が30 mg/hr. kg 以下の場合には、血中アンモニアの若干の増量が観察されたが、動物は耐過した。これが30 mg/hr. kg 以上となると血中アンモニアは急速に増加し、動物は斃死した。アンモニア中毒を発現するアンモニアの吸収量には、閾値の存在する事が観察された。また実験的肝障害動物においては、この閾値が低下する事が観察された。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、終始懇切なる御指導と御助言とをいただいた日本獣医畜産大学学長梅津元昌博士(元東北大学農学部教授)に対し謹んで感謝の意を表する。

また本研究実施上有益なる御助言と御協力をいただいた東北大学農学部助教授津田恒之博士をはじめ、名古屋大学助教授柴田章夫博士(元東北大学農学部)、東北大学農学部助手安保佳一博士、同村松道子博士、に対し深く感謝の意を表する。また実験動物の管理等実験遂行上多くの協力をいただいた元技術員大平早雄氏、技術員大友泰氏ならびに家畜生理学教室専攻学生諸氏に対し感謝の意を表する。

なお、本論文のとりまとめにあつて、信州大学農学部教授村井秀夫博士、同助教授松尾信一博士の多大の御厚意と御援助をいただいた。こゝにあらためて感謝の意を表する。

## 引用文献

- 1) Agrawara, I. P., Duncan, O. W. and Huffman, C. F. (1953). *J. Nutr.*, 49, 29.
- 2) Annison, E. F., Chalmers, M. I., Marshall, S. B. M. and Synge, R. L. M. (1954). *J. Agric. Sci.*, 44, 270.
- 3) Annison, E. F. (1956). *Biochem. J.*, 64, 705.
- 4) Annison, E. F. and Lewis, D. (1959). *Metabolism in the Rumen*, London, Methuen.
- 5) Arias, C., Burroughs, W., Gerlaugh, P. and Bethke, R. M. (1951). *J. Anim. Sci.*, 10, 683.
- 6) Balch, C. C. (1958). *Brit. J. Nutr.*, 6, 366.
- 7) Barnett, A. J. G. and Reid, R. L. (1961). *Reactions in the Rumen*. P. 107. London, Edward Arnold.
- 8) Belasco, I. J. (1956). *J. Anim. Sci.*, 15, 496.
- 9) Bessman, S. P. (1958). *Proc. 4th Int. Congr. Biochem.*, Vienna, 3, 141.
- 10) Blackburn, T. H. (1965). *Physiology of Digestion in the Ruminant*. Edited by Dougherty, R. W., London, Butterworths.
- 11) Blaizot, J. and Raynaud, P. (1957). *C. R. Acad. Sci.*, 244, 802.
- 12) Chalmers, M. I. and Synge, R. L. M. (1954). *J. Agric. Sci.*, 44, 263.
- 13) Chalmers, M. I. and Synge, R. L. M. (1954). *Advanc. protein Chem.*, 9, 93.
- 14) Chalmers, M. I. (1961). *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminant*, P. 205. Edited by Lewis, D., London, Butterworths.
- 15) Conway, E. J. (1950). 石坂音治訳, 微量拡散分析及び誤差論, 東京, 南江堂.
- 16) Cuthbertson, D. P. and Chalmers, M. I. (1950). *Biochem. J.*, 46, 17.
- 17) Duncan, C. W., Agrawara, I. P., Huffman, C. F. and Leucke, R. W. (1953). *J. Nutr.*, 49, 41.
- 18) El-Schazly, K. (1952). *Biochem. J.*, 51, 647.
- 19) El-Schazly, K. (1958). *J. Agric. Sci.*, 51, 149.
- 20) Fingerling, G., Hientzsch, B., Kunze, H. and Reifgerst, K. (1937). *Landw. VersStat.* 128, 221.
- 21) Friedmann, T. E. (1938). *J. Biol. Chem.*, 123, 161.
- 22) Gray, F. V. and Pilgrim, A. F. (1956). *Nature*, London, 178, 94.
- 23) Gray, F. V., Pilgrim, A. F. and Weller, R. A. (1958). *Brit. J. Nutr.*, 12, 413.
- 24) Hagemann, O. (1891). *Landw. Jb.* 20, 264.
- 25) Harris, L. E. and Mitchell, H. H. (1941). *J. Nutr.*, 22, 167.
- 26) Harris, L. E., Work, S. H. and Henke, L. A. (1943). *J. Anim. Sci.*, 2, 328.
- 27) Holmes, P., Moir, R. J. and Underwood, E. J. (1953). *Aust. J. Biol. Sci.*, 6, 637.
- 28) Houpt, T. R. (1959). *Amer. J. Physiol.*, 197, 115.
- 29) 藤井暢三 (1961). 生化学実験法 (定量論), 東京, 南山堂.
- 30) Hydén, S. (1955). *LandbrHögsk. Ann.*, 22, 139.
- 31) Johs, A. T. (1955). *N. Z. J. Sci. Tech.*, 37A, 323.

- 32) Johnson, B. C., Hamilton, T. S., Robinson, W. B. and Garey, J. C. (1944). *J. Anim. Sci.*, 3, 287.
- 33) 亀岡暄一, 森本宏 (1962). 農技研報, G;21, 189.
- 34) 亀岡暄一, 森本宏 (1962). 農技研報, G;21, 195.
- 35) 木村和彦, 梅津元昌 (1954). 宮城県農業短大学報, 1, 71.
- 36) Lewis, D. (1955). *Brit. J. Nutr.*, 9, 215.
- 37) Lewis, D., Hill, K. J. and Annison, E. F. (1957). *Biochem. J.*, 66, 587.
- 38) Lewis, D. and McDonald, I. W. (1958). *J. Agric. Sci.*, 51, 108.
- 39) Lewis, D. (1961). *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminant*. P. 127, London, Butterworths.
- 40) Loosli, J. K., Williams, H. H., Thomas, W. E., Ferris, F. H. and Maynard, L. A. (1949). *Science*, 110, 144.
- 41) McDonald, I. W. (1948). *Biochem. J.*, 42, 584.
- 42) McDonald, I. W. (1952). *Biochem. J.*, 51, 86.
- 43) McNaught, M. L. and Smith, J. A. B. (1947). *Nutr. Abstr. Rev.*, 17, 18.
- 44) McNaught, M. L., Smith, J. A. B., Henry, K. M. and Kon, S. K. (1950). *Biochem. J.*, 46, 32.
- 45) McNaught, M. L. (1951). *Biochem. J.*, 49, 325.
- 46) McNaught, M. L., Owen, E. C., Henry, K. M. and Kon, S. K. (1954). *Biochem. J.*, 56, 151.
- 47) Mills, R. C., Booth, A. N., Bohstedt, G. and Hart, E. B. (1942). *J. Dairy Sci.*, 25, 925.
- 48) Mills, R. C., Lardinois, C. C., Rupel, I. W. and Hart, E. B. (1944). *J. Dairy Sci.*, 27, 571.
- 49) 扇元敬司, 柴田章夫, 古坂澄石 (1962). 日畜会報, 32, 330.
- 50) Pearson, R. M. and Smith, J. A. B. (1943). *Biochem. J.*, 37, 142.
- 51) Pearson, R. M. and Smith, J. A. B. (1943). *Biochem. J.*, 37, 148.
- 52) Pearson, R. M. and Smith, J. A. B. (1943). *Biochem. J.*, 37, 153.
- 53) Phillipson, A. T. (1952). *J. Physiol.*, 116, 84.
- 54) Phillipson, A. T., Dobson, M. J. and Blackburn, T. H. (1959). *Nature, Lond.*, 183, 402.
- 55) Reed, F. M., Moir, R. J. and Underwood, E. J. (1949). *Aust. J. Sci. Res.*, 2, 304.
- 56) Ritzman, E. G. and Benedict, F. G. (1938). *Nutritional Physiology of the Adult Ruminant*. Washington: Carnegie Inst., Pub. No. 494.
- 57) Roberts, K. E., Thompson, F. G., Poppell, W. J. and Vanamee, P. (1956). *J. Appl. Physiol.*, 9, 367.
- 58) Sasaki, Y. and Umezu, M. (1962). *Tohoku J. Agr. Res.*, 13, 211.
- 59) Schlotteke, E. (1936). *S. B. naturf. Ges. Rostock, Ser. 3*, 6, 59.
- 60) 柴田章夫, 扇元敬司, 古坂澄石 (1961). 日畜会報, 32, 159.
- 61) 柴田章夫 (1963). 名大農学部家畜飼養学教室業績, No.3. P.45.
- 62) Sirotnak, F. M., Doetsch, R. N., Brown, R. E. and Shaw, J. C. (1953). *J. Dairy Sci.*, 36, 1117.

- 63) Smuts, D. B., du Toit, B. A. and van der Wath, J. G. (1941). *Onderstepoort J. Vet. Sci.*, 16, 181.
- 64) Sperber I., Hydén, S. and Ekman, J. (1953). *LandbHögsk. Ann.*, 20, 337.
- 65) Studt, E. (1939). *Z. Tierz. U. ZuchtBiol.*, 44, 253.
- 66) Sym, E. A. (1938). *Acta Biol. exp., Varsovie*, 12, 192.
- 67) Tsuda, T. (1956). *Tohoku J. Agr. Res.*, 7, 231.
- 68) Tsuda, T. (1956). *Tohoku J. Agr. Res.*, 7, 241.
- 69) 津田恒之 (1963). *日畜会報*, 34, 235.
- 70) Tsuda, T. (1964). *Tohoku J. Agr. Res.*, 15, 83.
- 71) Warner, A. C. I. (1956). *Biochem. J.*, 64, 1.
- 72) 渡辺泰邦 (1960). *栄養障害研究会誌*, 5, 38.
- 73) Watanabe, Y. and Umezu, M. (1962). *Tohoku J. Agr. Res.*, 13, 221.
- 74) Watanabe, Y. and Umezu, M. (1963). *Tohoku J. Agr. Res.*, 14, 29.
- 75) Watson, C. J., Davidson, W. M. and Kennedy, J. W. (1949). *Sci. Agric.*, 29, 185.
- 76) Wegner, M. I., Booth, A. N., Bohstedt, G. and Hart, E. B. (1940). *J. Dairy Sci.*, 23, 1123.
- 77) Wegner, M. I., Booth, A. N., Bohstedt, G. and Hart, E. B. (1941). *J. Dairy Sci.*, 24, 51.
- 78) Weiske, H., Shrodt, M. and Dangel, S. V. (1879). *Z. Biol.*, 15, 261.
- 79) Weller, R. A. (1957). *Aust. J. Biol. Sci.*, 10, 384.
- 80) 吉川春寿 (1962). *臨床医化学(I)実験篇* 東京, 協同医書出版.
- 81) 吉田条二, 畠山義祝, 中村亮八郎 (1963). *日畜会報*, 34, 22.
- 82) Zuntz, N. (1891). *Pflug. Arch. ges. Physiol.*, 49, 477.

## Quantitative Aspects of Nitrogen Metabolism in the Rumen

By Yasukuni WATANABE

Laboratory of Animal Hygiene, Fac. Agric., Shinshu Univ.

### Summary

It has been suggested that the protein and the other nitrogenous compounds are degraded by the vast numbers of ruminal micro-organisms in the rumen. The ammonia and the other end products of fermentation can be utilized by ruminal micro-organisms and be made up to their own body protein. The processes of the degradation of feed protein and the resynthesis to the micro-organisms body protein are carried out simultaneously in the rumen. Therefore, the amount of the whole protein in the rumen will decrease or increase depending on the results of protein degradation and resynthesis of it from the other nitrogenous compounds. The experiments described in this paper provide the weight change of the protein and the other nitrogenous compounds in the rumen of sheep under various feeding conditions by using reticulo-omasal orifice plugging technique. Furthermore, observations were made on the protein synthesis and breakdown in the rumen with urea feeding by using same technique. Moreover, the alteration of amino acid composition of protein in the rumen contents were determined. In addition, absorptive rate of ammonia through the rumen epithelium and toxicity of absorbed ammonia were discussed.

#### I Method for determination of whole rumen contents.

One corridale sheep, fitted with large rumen fistula was used in these studies. The rumen fistula was closed by plastic plate and foam rubber cannula. In order to prevent the passage of the rumen contents into the abomasum, the reticulo-omasal orifice plugging technique was devised. The prevention of passage of the rumen contents into the abomasum by the method of reticulo-omasal orifice plugging, were confirmed by the recovery experiments of  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  and PEG from the rumen contents.

#### II Absorption of ammonia through the rumen epithelium.

The absorptive rate of ammonia through the rumen epithelium was determined under the reticulo-omasal orifice plugging condition. It was observed that 1.0 to 2.1 g of ammonia were absorbed from rumen in one hour with the concentration

of ammonia nitrogen 100 to 200 mg/dl in the rumen. The evidence thus obtained supports the suggestion that a large amounts of ammonia were readily absorbed from the rumen epithelium.

### III Fluctuation of nitrogenous compounds in the rumen and rumen fermentation.

The experiments were performed on a sheep subjected to nine different feeds. Observations were made on fluctuation of nitrogenous compounds, VFA and gas production ability of the rumen contents in nine hours after feeding. The total nitrogen in the rumen was decreased markedly in readily fermentable and high protein feeding. On the other hand, total nitrogen were slightly decreased in low protein and hardly fermentable feeds, and was increased slightly with hay fed condition. The results obtained suggests that the decreasing of total nitrogen were due to the absorption of ammonia nitrogen through the rumen epithelium. The protein nitrogen was increased with low protein and hardly fermentable feeds in the rumen. The experiments which showed the increase of the protein nitrogen in the rumen were low protein feeds and were not contained the concentrates. The decreasing of the protein nitrogen were observed with the experiments which contained high protein concentrates. However, the decreasing rate of protein nitrogen differed with the addition of roughages. The maximum value of concentrate of the ammonia nitrogen was 46 mg/dl in the experiment which showed increasing of protein in the rumen. The experiments which observed decreasing of protein in the rumen, the maximum value of ammonia nitrogen was 136 mg/dl.

The production of VFA were nearly paralleled with the increasing rate of protein and ammonia production in the rumen. The gas production ability of the rumen contents *in vitro* were showed high values just after the feeding and decreased in nine hours experimental periods in the case of protein decreased experiments.

From the results of these experiments, it seems most reasonable to conclude that the main factors for the fluctuation of protein in the rumen are the protein level and the rate of fermentation of each feeds.

### IV Qualitative fluctuation of protein in the rumen.

The fluctuation of the amino acid composition of the protein in the rumen contents were determined. No marked difference of the amino acid composition could be observed between hay and rumen contents. These results suggest that the amino acid composition of hay and rumen micro-organisms were not differed markedly. However, the basic amino acids were slightly increased in the rumen in contrast with hay.

#### V Effect of urea on the protein synthesis in the rumen.

The fluctuation of protein in the rumen was determined by the addition of urea to the four various protein and NFE level feeds. The protein nitrogen was increased only in the addition of urea to the low protein and high NFE feed. The protein nitrogen was not increased by the addition of urea in the other feeds.

#### VI Disposal ability of absorbed ammonia.

The ammonia nitrogen were absorbed through the rumen epithelium in short period. The toxic syndrom of ammonia which occurred by the absorption of ammonia from the rumen was determined with the method of infusion of ammonia into the portal vein. The sheeps were brought to death by the infusion of ammonia nitrogen over 30 mg/hr.kg into the portal vein.