

発芽玄米サイレージの反芻家畜における  
消化に及ぼす影響

平成 29 年  
(2017)

帯広畜産大学大学院畜産学研究科  
修士課程 畜産生命科学専攻  
安 倍 逸 太 朗

Effects of feeding sprouted brown rice  
silage  
on digestibility for ruminants

2017

ABE Itsutaro  
Master's Program in  
Life Science and Agriculture  
Graduate School of Animal Husbandry  
Obihiro University of  
Agriculture and Veterinary Medicine

第 1 章 緒 論	1
第 2 章 in vitro おける SBRs 消化試験	
2-1. 材料および方法	3
2-2. 結果および考察	6
2-3. 小括	7
第 3 章 綿羊における玄米と SBRs が消化率に及ぼす影響	
3-1. 材料および方法	8
3-2. 結果および考察	12
3-3. 小括	15
総 括	17
要 約	18
図 表	20
写 真	29
謝 辞	38
参考文献	39
SUMMARY	42

## 第 1 章

### 緒 論

近年、海外の飼料価格の高騰により、国内の飼料自給率の向上が重要視されている(農林水産省 2016)。その一環として、耕畜連携による休耕田の有効利用による飼料用米の生産が進められている(農林水産省 2017)。飼料用米の活用方法としては、子実を粉砕し給与する方法や、子実を粉砕や加熱圧パンなど加工しサイレージ調製したソフトグレインサイレージ(SGS)、草本を青刈りしサイレージ調製したホールクロップサイレージ(WCS)が主流である。これらの給与は反芻動物において、有用なエネルギー源として成果を上げており研究が進められている。今後、さらに飼料用米の生産量の増加がされていく可能性があると考えられる中、給与方法や新たな加工方法が必要になると考えられる。なぜなら、飼料用米は加工しなくては反芻動物が利用することは難しい。特に、牛において粳米や玄米は無処理で給与すると、糞中に原物が排出されたと報告されている(原、2010)。原因として考えられているのは、粳米は外皮である籾殻がリグニンを多く含んでおり、玄米は胚乳に糠層が被覆していることで、糠層に含まれている非分解性蛋白質のトリプシンインヒビターが、胚乳の消化・分解を阻害していることが大きな要因である。無処理の玄米と破砕処理を施した玄米では、消化率に大きな差があることが報告されている(原、2010)。つまり、外皮に傷がつき、胚乳が露出することで初めてエネルギー源として利用が可能である。そこで、本実験では発芽玄米に着目した。玄米を発芽させることで、胚芽が糠層を突き破り、胚乳が露出する。それによって消化が可能になるのではないかと考え、先行研究として、*in situ* において玄米と発芽玄米を牛の第一胃内乾物消化率で求めたところ、玄米と比較して、発芽玄米のほうが有意に高い値を示した(安倍 2015)。

さらに、発芽玄米にはγアミノ酪酸(Gamma amino butyric acid：以下 GABA)が多く含まれている。高等動物において、GABA には降圧作用やストレス緩和の効果があるとされており、反芻動物において小腸で吸収が促進されているという報告がある(R.Rackwitz et al. 2017)。このことから、発芽玄米は家畜のエネルギーだけでなくストレス緩和の効果が期待できると考えられる。しかし、発芽玄米は、水分含量が高く、放置しておくとかびなどの有害物質が発生するため、飼料としては不安定である。実際に発芽玄米の給与試験をするため、冷凍保存によって給与試験を行った報告がある(浅井 2009)。そこで、発芽玄米の安定的な供給を図るためにサイレージ調製を施すことで、通年的な供給が可能になると予想される。

したがって、本研究の目的として、発芽玄米の貯蔵を可能にするためにサイレージ調製を行い、*in vitro* 消化試験における消化性と綿羊を用いて反芻動物における消化率を検討するとともに、発芽玄米サイレージ(Sprouted brown rice silage:以下 SBRS)による血中 GABA 濃度の変化を調査した。

## 第 2 章

### in vitro おける SBRs 消化試験

SBRs の第一胃内有機物消化率を検証することで物理的消化作用がない場合の消化率を調べることを目的とし、反芻家畜からルーメン液を採取し、それを用いて in vitro で消化率を測定した。

#### 2-1.材料および方法

##### (1)サイレージ調製

飼料用として 2014 年 11 月に収穫された栃木県産ホシアオバの玄米を使用した。その飼料用玄米に発芽処理を施し、サイレージ調製を行った。発芽処理は市販のゴミ取りネットに約 200g 量り容れ、エアーポンプ(観賞魚用エアーポンプ,ジェックス株式会社)を設置した容器に蒸留水を入れ、30℃に水温を設定し、30 時間浸け置きした。その後、水を切り、450ml ガラスビンに詰め込んだ。この時、乳酸菌(畜草 1 号+, 雪印種苗株式会社)を添加した。その後、室内に保存し、開封後、凍結乾燥法(VD-40, タイテック株式会社),で 48 時間凍結乾燥後、室温で 24 時間放置して風乾物を調製した。調製期間は 2015 年 8 月下旬から 10 月上旬とした。

##### (2)供試動物およびルーメン液

ルーメン液は、ルーメンフィステル装着ホルスタイン種乾乳牛 2 頭から採取した。供試動物は本学畜産フィールド科学センター(FSC)内の特別管理牛舎で繋留し、個別飼養管理を行った。飼料は、同 FSC で収穫されたチモシー主体の乾草を用い、午前 8 時と午後 4 時の 2 回に分けて維持量を給与した。水とミネラル

ブロック(鉍塩セレンクス TZ,日本全訳工業株式会社,福島)は自由に摂取できるようにした。

ルーメン液の採取は、ルーメンフィステルから灯油ポンプを用いて汲み取り、ナイロン布でろ過し、あらかじめ温めていた魔法瓶に入れ、実験室に持ち帰り使用した。

### (3)試験方法

培養装置は、牛の第一胃内の温度と同程度の 39℃に設定した恒温水槽と、350ml ポリエチレン製のボトルを用いた。開始前に二酸化炭素を 1 時間通気しておいた McDougall 人工唾液(McDougall, 1948, 表 3)40ml と、凍結乾燥を施した粒状の SBRs を 0.5g 測り、350ml ポリエチレン製のボトルに入れ、恒温水槽にて内部を 39℃にした。39℃になったら、ルーメン液を 10ml 入れ、しっかりフタを閉じ、よく混ぜ合わせた。12 時間と 24 時間培養するボトルにおいて、ガス発生を考慮し、ガスの貯留が可能なフタを用いた。培養時間は 4, 8, 12, 24 時間とし、各時間経過にガラスろ過器(1G P100, 柴田)を用いて洗浄、ろ過した。それらを 100℃, 24 時間で乾燥・秤量した。秤量後、直接灰化法によって灰分量を算出し、得られた値から有機物消化率を算出した。試験は 4 反復行った。

### (4)分析項目および分析方法

SBRs の一般成分の分析は乾物(DM)、粗蛋白質(CP)、粗脂肪(EE)、粗灰分(CA)、中性デタージェント繊維(NDF)、酸性デタージェント繊維(ADF)を測定した。DM は 135℃, 2 時間乾燥法, CP はケルダール法 (ケルダール蒸留装置ケルテック 2100, フォス・ジャパン株式会社, 東京), EE はジエチルエーテル抽出法, CA は直接灰化法, NDF および ADF はデタージェント分析法にて分析を行った。

SBRS の発酵品質については pH, 乳酸, 有機酸(VFA), アンモニア態窒素を分析するために抽出液を作成した。抽出液は新鮮物 40g に蒸留水 140ml を加え, 冷蔵庫に 24 時間放置した。その際, 2 時間ごとに攪拌させた。その後, ガーゼで濾過し, ろ紙(No.5A)で濾したものを抽出液とした。pH はポータブル水質系(HM-21P, 東亜ディケーケー株式会社)に pH センサー(GST-2729C, 東亜ディケーケー株式会社)を用いて測定をした。乳酸は, 抽出液を 100 倍に希釈し, 希釈液 1ml に蒸留水 8ml, 20%硫酸銅 1ml, 水酸化カルシウム 1g 加え攪拌させ, 遠心分離(CENTRIFUGE 05P-21 日立工機株式会社, 3000rpm 10 分)し, 得られた上澄み 1ml に 4%硫酸銅 0.05ml 加えた。次に, 冷水に浸しながら濃硫酸を 6ml 加え, 5 分間沸騰水中で加熱し, 冷水に浸して室温に戻した。その後, パラヒドロキシジフェニル試薬 0.1ml 加え, 恒温水槽(Termal Robo TR-1AR アズワン株式会社, 30℃ 30 分)で加温し, 冷水に浸して室温に戻した後, マイクロプレートリーダーに 0.2ml 入れ, 吸光度計(SH-シリーズ 吸光グレーティングマイクロプレートリーダー, コロナ電気株式会社)を用いて 560nm で比色した。得られた値から新鮮物中の乳酸含量を算出した。有機酸(VFA)の測定は抽出液を前処理として 0.8ml に 25%メタリン酸 0.2ml を加え混合し, 一晩冷蔵保存した。翌日解凍し, 遠心分離機(機械名)遠心分離(8000g 15 分)し, 得られた上澄み 0.5ml に 10mM の 2-エチルブチルを 0.5ml 加え混合し, 冷蔵保存した。前処理終了後, ガスクロマトグラフィー(機械名)を用い, 内部標準液法に従って測定を行った。アンモニア態窒素は, Mc Cullough(1967)の方法を用いて測定を行った。得られた値から V スコアならびにフリーク評点に当てはめ, サイレージの発酵品質を評価した。



## 2-2 結果および考察

### (1) 一般成分

使用した SBRS の一般成分は表 1 に示した。参考資料として、代替が考えられるトウモロコシ(日本飼養標準, 乳牛, 2006)を表記した。比較するとほとんどの成分において同等であった。このことから、トウモロコシの代替として利用ができることが示唆された。

発酵品質に関して、サイレージの発酵品質を表 2 に示した。pH は 3.87 と低く、サイレージの基準である 4.2 以下であることから、不良発酵はしていないことが確認された。また、新鮮物中の有機酸組成からフリーク評点を換算したところは 97 点となり、乳酸を考慮せず、全窒素中のアンモニア態窒素を加えて換算する V スコアでは 99 点となった。サイレージの基準である両評価で高い点数となり、良質なサイレージであることが示唆された。これは、サイレージ調製時に乳酸菌を添加していること、低水分サイレージであること、子実のみを使用しているため乳酸菌の栄養である糖質が多く、さらに粒度が小さいため、嫌気性が高まったことから、乳酸菌によって pH の急激な低下が起こり、他の有機酸の増加が防げたことで、評価の高いサイレージが調製できたと考えられる。

### (2) *in vitro* 消化試験

有機物消化試験は表 3 に示した。今回使用した SBRS は、24 時間で 43.8%有機物の消化がみられた。これによって咀嚼効果がない場合でも消化されることが確認でき、咀嚼されることでさらに消化率が向上されたと考えられた。また、先行研究である *in situ* における発芽玄米の第一胃内分解率(2015 安倍)と比較すると、ホシアオバの発芽玄米において *in situ* では、24 時間で 25.0%の分解率で

あることから、本実験の結果より、SBRSの消化率が24時間で43.8%と発芽玄米に比べて高いことが確認された。これは、玄米が発芽による $\alpha$ 化で子実が軟化し、サイレージ調製したことで、詰め込み時の鎮圧によって、糠層に傷がつき先行研究の発芽玄米に比べ消化率が上昇したと考えられる。このことから、発芽玄米をサイレージに調製することでより消化率が上昇することが示唆された。

### 2-3.小括

発芽玄米にサイレージ調製するとVスコア、フリーク評点において高い値のサイレージができることから、発芽玄米をサイレージに適していることが確認された。また、*in vitro*において先行研究の*in situ*(安倍 2015)に比べて高い有機物消化率であることが確認された。これは、SBRSのサイレージ調製の工程において、玄米の発芽による $\alpha$ 化によって軟化することで、詰め込みおよび鎮圧時に糠層に傷がつくと考えられるため、発芽玄米に比べ、消化性が高いことが考えられた。このことから、実際に反芻家畜を用いて給与試験を行い、咀嚼による破碎効果によって、SBRSの消化率が上昇するのか検証することにした。

## 第3章

### 綿羊における玄米と SBRs が消化率に及ぼす影響

反芻家畜における咀嚼効果によって、SBRs の消化率が先行研究の *in situ* 法および *in vitro* 法に比べ、上昇することを明らかにし、玄米と比較することを目的とした。そのため、反芻家畜である綿羊を用いて *in vivo* 法により、SBRs の消化率および糞中排泄率を玄米と比較することで SBRs の可能性を調査した。

#### 3-1.材料および方法

##### (1) 発芽処理

試験飼料は、飼料用として、2015 年 11 月に収穫された栃木県産ホシアオバの玄米を使用した。その飼料用玄米に発芽処理を施し、サイレージ調製した SBRs を用意した。発芽処理は飼料用玄米を新鮮物あたり 30 kg 用意し、10 kg ずつ市販のランドリーネットに入れ、常温でコンテナに水道水を約 60L 入れて浸漬させ、市販のエアーポンプ(観賞魚用エアーポンプ、ジェックス株式会社)で発芽を誘発させた。水は 3 日に一回取り換え、計 6 日間水の中に漬した。水温は約 25℃ であった。飼料用玄米の発芽率については、発芽試験を行った。発芽試験はシャーレにろ紙(1A, 東洋ろ紙)を引き、飼料用玄米を 20 粒入れた。そこに蒸留水をろ紙に浸る程度入れた後、30℃に設定したインキュベーター(INCUBATOR ICV-300, アズワン株式会社)に入れ、24, 36, 48, 72, 96 時間ごとに観察した。シャーレは 20 個用意し、14 日間続けた。

##### (2)サイレージ調製

発芽玄米を 60L のポリ袋に入れ、90L のポリバケツに詰め込んだ。このとき乳酸

菌(畜草 1 号+,雪印種苗株式会社)を製品に従い, 1kg あたり  $5 \times 10^3 \text{g/ml}$  霧吹きで添加しながら詰め込み, 漬物石をかぶせて 40 日間貯蔵した。開封後は常温にて保管し, 給与試験に用いた。調製時期は 2016 年 5 月下旬から 7 月上旬であった。

### (3) 供試動物と消化試験

消化試験は 2016 年 7 月 11 日から 8 月 16 日に実施した。ポールドーセット種去勢綿羊 2 頭(平均体重:  $64.8 \pm 4.8 \text{kg}$ , 18 ヶ月齢), およびコリデール種を 2 頭(平均体重:  $72.0 \pm 5.5 \text{kg}$ , 102 ヶ月齢)供試した。消化試験は観察期を 10 日間とし, 馴致期を 7 日間, 本試験期 5 日間とするクロスオーバー法により行い, 全糞尿採取法を実施した。給与飼料は基礎飼料としてクレイングラス乾草(タイセイ飼料, 北海道)を用い, 試験飼料である玄米区と SBR5 区に分け, 乾物給与割合は飼料の餌箱での飛び出しや消化性を考慮して粗濃比を 7 : 3 に設定し, 午前 9 時と午後 5 時の 2 回に分けて, 維持量 ( $55 \text{gDM/BWkg}^{0.75}$ ) は, 永野(2014)の維持要求量を参考に給与した。給与は, 玄米および SBR5 を乾草の上にかけて給与した。供試動物は本学中家畜舎において個別の代謝ケージで飼養し, 水とミネラルブロック(鉍塩セレンクス TZ, 日本全訳工業株式会社, 福島)は自由に摂取できるようにした。代謝試験では, 飼料給与量, 残飼量, 糞および尿の量をケージ毎に毎日記録した。糞は供試動物にハーネスを付け, それに糞回収用袋を取り付けて, 午後の給餌時と翌朝の給餌前に回収し 1 日分の糞量とした。また, 全ての糞は各代謝試験終了時まで冷凍庫で保存した。尿は朝のみ回収し, 全量の約 10% の量をサンプルとして採取して分析まで冷凍庫で保存した。なお尿は, 尿回収用バケツにガーゼを被せて不純物の混入を防ぎ, さらにアンモニアが揮発しないように尿回収用バケツに濃度 10% の硫酸を 100ml 入れておいた。

#### (4)採血

採血は各消化試験の最終日に行い、羊の頸静脈から採血を行い(テルモシリンジ注射針付, 5ml, テルモ株式会社), 5ml 採血管(ベノジェクトⅡ真空採血管, テルモ株式会社)に採血をした。血液は素早く冷蔵し, 一度 38℃で 15 分間乾燥機に入れる。その後, 遠心分離機(ハイキャパシティ冷却遠心機, 3000g, 20 分, 4℃)によって血清に分け, 冷凍保存した。帯広臨床センターにて血中 GABA 濃度の分析を依頼した。分析方法は HPLC 法(HPLC システム, 株式会社島津製作所, 株式会社日立製作所, 日本分光株式会社)で試薬に O-フタルアルデヒドを用いて測定された。

#### (5)分析項目および分析方法

供試した乾草,飼料用玄米は, 60℃で 48 時間通風乾燥させた後,室温で 24 時間放置して風乾物を調製した。SBRS は凍結乾燥法(VD-40, タイテック株式会社), で 48 時間凍結乾燥後, 室温で 24 時間放置して風乾物を調製した。糞は, 各代謝試験終了後, ケージ毎に 5 日分を混合し,そこから約 200g のサンプリングを行い, アンモニアが揮発しないように 1N HCl を霧吹きで適量吹きかけ, 60℃で 48 時間通風乾燥させた後, 室温で 24 時間放置して風乾物を調製した。それぞれ風乾物に調製したサンプルは, ウイレー型粉砕機(1029-A, 株式会社吉田製作所, 東京)で粒度約 1mm に粉砕して分析に用いた。

分析項目は乾物(DM), 粗蛋白質(CP), 粗脂肪(EE), 粗灰分(CA), 中性デタージェント繊維(NDF), 酸性デタージェント繊維(ADF), アミロース含量を測定した。DM は 135℃2 時間乾燥法, CP はケルダール法(ケルダール蒸留装置ケルテック 2100, フォス・ジャパン株式会社, 東京), EE はジエチルエーテル抽出法, CA は直接灰化法, NDF および ADF はデタージェント分析法, アミロース含量

は専用の分析キット(AMYLOSE/AMYLOPECTIN, Megazyme, Ireland)の手順に従って測定を行ない、各成分の含有量を算出した。玄米およびSBRsのGABA含量は一般財団法人日本食品分析センターに分析を依頼した。分析方法はアミノ酸自動分析法で行い、前処理として試料に10%スルホサリチル酸溶液を混合し、20分間振とうさせ、3mol/l水酸化ナトリウム溶液を加え、pHをクエン酸ナトリウム緩衝液で調整後、濾過が行われた。前処理後試験溶液をJLC-500/V(日本電子株式会社)にかけて、GABA濃度の測定がされた。サイレージの発酵品質は実験1と同様の項目と方法で行い、発酵品質の評価を行った。また、糞中に供試飼料である玄米とSBRsが含まれていないか確認するため、本試験期のケージ毎に5日分の糞を混合し、全糞量の10%を採取し、粒の大きさを考慮し1mmメッシュのステンレスふるい(アズワン株式会社)を用いて水洗いし、玄米とSBRsを回収した。回収した試料は直ちに風乾物と同様の処理を行い、DMを測定した。得られた値から、各試験における玄米とSBRsの乾物あたりの総採食量と換算し、実際の玄米とSBRsの糞中未消化物を求めた。尿サンプルは解凍後、CPと同様の測定を行い、窒素出納を算出した。

#### (6)統計

得られたデータは、SASのGLMプロシジャーを用いて玄米とSBRsの消化率および、排泄率の処理間差の検定をTukey法を用いて行った。有意水準は $p<0.05$ とした。

### 3-2.結果および考察

SBRS の発酵品質は表 5 に示した。*in vitro* に調製したサイレージと比べると酢酸が高く、これによってフリーク評点が低い値を示した。酢酸の値が高くなった原因としては、詰め込みの容器と容量が変わり、嫌気度が低くなったことで、酢酸の生成が行われ高くなったと考えられる。しかし、不良発酵の要因である酪酸などの有機酸含量はみられないことから、サイレージとしての貯蔵能力は高いと考えられた。

供試飼料の成分は表 6 に示した。玄米と SBRS の乾物中の一般成分を比較すると、大きな変化はみられないことからサイレージ調製による品質の低下はないといえる。また、代替飼料として現在使われている、代表的な飼料のトウモロコシの成分(日本飼料成分表)と比較すると、乾物中の成分においてほとんどの成分に類似した値を示したことから代替が可能であることが示唆された。

次に消化率について表 7 に示した。玄米と SBRS の乾物摂取量は同等で、消化率は乾物消化率において、玄米では 63.9%に対し、SBRS では 67.1%で 3 ポイント高いが有意差はみられなかった。他の各成分における消化率も SBRS のほうが玄米に比べ、消化率が高い値を示したが、すべての成分において区間による有意差はみられなかった。これは玄米の消化率が粗飼料の割合が高いことで反芻が促され、咀嚼による子実の破碎が起こったことで SBRS に類似した値になったと考えられる。過去に乾乳牛において粳米、玄米、発芽玄米、粉碎米の未消化糞排泄物率が、玄米と発芽玄米の乾物排泄率では同程度の値であったと報告(浅井 2009)や、緬羊において穀類の破碎粒度による消化率の違いには有意差がみられないとした報告(阿部 1984)があることから、玄米において咀嚼により、粒が細かくされたことで、消化率が SBRS と類似した値になったと考えられる。本試験において給与割合が粗飼料のほうが多く、反芻が促進されたこと

で咀嚼による破碎の効果が同程度だったことが変化しなかった要因の一つだと思われる。

各個体における玄米および SBRS の糞中の残量は表 8 に示した。T1, T3, T4 において玄米に比べ, SBRS の糞中排泄量の減少が見られたが区間による有意差はみられなかった。しかし, 品種でみるとコリデール種は玄米と SBRS の糞中未消化物排泄率は同程度に対し, ポールドーセット種は玄米の方が排泄率が高く, SBRS の方が低い結果になった。ポールドーセット種はコリデール種に比べ若齢で, 第一胃がコリデール種に比べて発達していないと考えられるため, ポールドーセット種では咀嚼による効果を受けずに消化できる SBRS の方が利用されたと示唆された。

窒素出納は表 9 に示した。各成分において大きな差はないものの, 窒素消化率において玄米が 68.6%に対し, HGS は 73.2%と約 5 ポイント高い傾向を示した。これは SBRS が玄米に比べて糠層に傷がついているため消化性が高く, 第一胃内微生物のエネルギー利用に使われ, タンパク質の分解が促進されたことで傾向が見られたと考えられる。

飼料中の GABA 濃度は表 10 に示した。玄米が 5mg/100mg に対し, 約 9 倍の 44mg/100mg と高い含有量であった。玄米は発芽することでアミノ酸組成が変わり, 玄米に比べて栄養価が上昇することから, 他のアミノ酸組成に変化があると考えられる。

血液中の GABA 濃度は表 11 に示した。血液中における GABA 濃度の変化は, 各個体にばらつきがあり, 区間による有意差はみられなかった。これは GABA が遊離脂肪酸であるため第一胃内の微生物に分解されたことが原因だと考えられる。過去の研究では, GABA の効果を調査するために経口投与において第一胃内で分解されない様に加工されたものを使用している報告があり



(J.B.Cheng et al 2014), GABA 濃度の高い SBRS を無処理で給与したことにより、第一胃内で GABA が分解され、吸収が高いとされる腸管に流出されなかったことで血中 GABA 濃度に変化が起こらなかったと考えられる。GABA の吸収機構に関しては小腸における吸収の方が第一胃に比べて高いことが報告 (R.Rackwitz et. 2017)されている。そのため、本試験において飼料中の GABA 濃度による血中 GABA 濃度の変化はみられなかった。

### 3-4.小括

SBRS の発酵品質に関しては、容器や容量の増加に伴い酢酸の増加が確認されたが、不良発酵の指標である酪酸などが確認されないことから、サイレージとしての品質は保持できることが確認された。玄米と SBRS の一般成分に関しては、本実験では玄米を発芽させることで一般成分の変化はさほど現れていないが、発芽させることで一般にアミノ酸組成が大きく変化するという報告があり(間野, 2005), 本試験において GABA の濃度が玄米と SBRS で約 9 倍 SBRS の方が高い値を示したことから、他のアミノ酸組成が変化していることが考えられた。各成分の消化率において、玄米と SBRS は乾物消化率で有意な差が見られなかった。このことから、咀嚼による物理的な消化作用によって玄米の消化率は SBRS と同程度になることが確認された。糞中排泄率で有意差はないものの、T3, T4 において玄米に比べて SBRS の排出率が大きく減少していることが確認できた。今回、試用した綿羊において品種や月齢が違う個体を 2 頭ずつ選択しており、T3, T4 は若齢のポールドーセット種であることから品種や月齢による採食、消化能力の違いがあると考えられる。さらに反芻動物において動物種による能力の違いがあり、同じ穀類であるトウモロコシの子実において無処理及び粉碎粒度の違いで綿羊に比べて牛のほうが、粒が無処理に近づくに従って消化率が低い値を示すことが報告されている(阿部 1984)。このことから、牛を用いた消化試験を行うことで、玄米と SBRS の消化率において差が出ると考えられるため、このことを検討する必要があると考える。窒素出納において、可消化窒素/摂取窒素において SBRS の方が玄米に比べて高い値を示した。これにより、糠層に傷がついている SBRS は玄米に比べ、第一胃内微生物に利用されやすいことが確認された。本実験において血中 GABA 濃度の変化はみられなかった。本試験で用いた SBRS の GABA は加工されていないことから第一胃内で微生物

による分解が行われたことで血中 GABA 濃度に変化が起こらなかったことが確認された。

## 総 括

本研究では牛のルーメン液を用いた *in vitro* 法による SBRs の有機物消化率および綿羊を用いた *in vivo* 法による玄米と SBRs の消化率、糞中排泄率を調査した。*in vitro* においては、先行研究である *in situ* と比べて、43.8%と高く、サイレージにすることで、慎圧による子実の破碎がおこり、発芽玄米よりも消化性が高くなり、咀嚼による物理的効果が加わることで、さらに消化率が上がる可能性があることを示唆した。

*in vivo* において、綿羊における SBRs の消化は、無処理の玄米と同程度であることから、玄米の加工方法として、SBRs は有効でないといえる。これは咀嚼が加わったことで玄米の破碎がおこり、玄米の消化率が上がることを *in situ* ならびに *in vitro* と比較して確認された。しかし、本試験で供試動物の品種、年齢による違いで個体による差が出た。要因の一つとして咀嚼能力の違いが考えられる。このことから今後、個体の統一や年齢による評価をすることで咀嚼能力の低い個体に有効であることを確認し、牛は綿羊よりも咀嚼能力の低いと報告(阿部 1984)がされていることから、牛を用いた試験を検討する必要がある。

## 要 約

飼料用米は、国内の飼料自給率向上の一環として、生産を拡大している飼料である。反芻家畜において、有用なエネルギー源であるトウモロコシなどの代替作物として検討されている。飼料用米は無処理で給与すると、糞中に未消化物が排泄されることから、様々な加工方法が模索されている。今後も生産量が増加される可能性のある飼料用米の新たな加工方法を検討し、発芽玄米に着目した。発芽処理を施すことで外皮に傷がつき、胚乳の利用が可能になると考え、実際に先行研究において、牛を用いて *in situ* 法による第一胃内分解率を調査したところ無処理の玄米に比べ、高い分解率であった。また、発芽玄米には  $\gamma$ -アミノ酪酸(以下 GABA)が多く含まれており、降圧作用やストレス緩和に効果があるとされている。しかし、発芽玄米は水分含量が高く、放置しておくとも腐敗する恐れがある。そこで、発芽玄米をサイレージ調製することで、通年的な供給が可能になると考え、発芽玄米サイレージ(以下 SBRS)の反芻家畜における消化性をおよび血中 GABA 濃度の変化について調査した。

第 2 章ではウシから採取したルーメン液を用いて、*in vitro* で SBRS の有機物消化率を求めた。実験方法は本学フィールド科学センターで飼養管理されている、ルーメンフィステル装着ホルスタイン種乾乳牛 2 頭から採取したルーメン液と人工唾液、SBRS をボトル内で混合させ、恒温水槽内でそれぞれ 4 時間、8 時間、12 時間、24 時間培養した。培養で得られた値をもとに、有機物消化率を算出した。結果としては 43.8%であった。これは先行研究の牛を用いた *in situ* による第一胃内分解率と比較すると SBRS の方が高い値を示した。このことから、発芽玄米より優れた消化性である可能性が示された。

第 3 章では新たに調製した SBRS を本研究室で飼育管理している去勢綿羊 4

頭を用いて, in vivo で SBRs と無処理の玄米を給与し, 全糞採取法のクロスオーバー法を用いて消化率および糞排泄量を比較した。また, 各試験期の終わりに採血を行い, 血中 GABA 濃度を分析した。消化率は, 玄米に比べ SBRs の方が高い傾向を示したが, 有意差はなかった。糞中排泄量において, SBRs の方が玄米に比べ, 減少傾向であったが有意差はみられなかった。個体によっては SBRs の糞中排泄量が玄米に比べ低いことから, 年齢による咀嚼能力の検討が必要だと考える。

表1. in vitroに用いた  
SBRSの化学成分

	SBRS <sup>10</sup>	トウモロコシ <sup>※</sup>
	————— %FM <sup>11</sup> —————	
DM <sup>1</sup>	55.3	86.5
	————— %DM —————	
OM <sup>2</sup>	97.4	98.5
NFC <sup>3</sup>	79.9	79.1
CA <sup>4</sup>	2.6	1.5
CP <sup>5</sup>	5.7	9.2
NDF <sup>6</sup>	2.4	10.5
ADF <sup>7</sup>	2.4	3.0
ADL <sup>8</sup>	0.8	ND
EE <sup>9</sup>	3.1	4.4

1 乾物 2 有機物 3 非繊維性炭水化物 4 粗灰分

5 粗蛋白質 6 中性デタージェント繊維 7 酸性デタージェント繊維

8 リグニン 9 粗脂肪 10 発芽玄米サイレージ 11 原物

※日本飼養標準 乳牛 2006参考

表2. *in vitro*に用いた  
SBRSの発酵品質

区分	SBRS <sup>3</sup>
pH	3.87
有機酸(原物%)	
乳酸	1.46
酢酸	0.36
プロピオン酸	0.03
酪酸	
VBN <sup>1</sup> /TN <sup>2</sup> (%)	2.34
フリーク評点	97
Vスコア	99
1. アンモニア態窒素	
2. 全窒素	
3. 発芽玄米サイレージ	

表3. *in vitro*における  
SBRSの有機物消化率(%)

サンプル名	培養時間			
	4h	8h	12h	24h
SBRS <sup>1</sup>	24.6	26.9	31.2	43.8

1. 発芽玄米サイレージ



表4. McDougall人工唾液の化学組成

試薬名	試薬量(g/L)
炭酸水素ナトリウム	9.80
リン酸水素二ナトリウム	3.70
塩化ナトリウム	0.47
塩化カリウム	0.60
炭酸カルシウム	0.02
硫酸マグネシウム七水和物	0.07

表5. *in vivo*に用いた  
SBRSの発酵品質

区分	SBRS <sup>3</sup>
pH	3.83
有機酸(原物%)	
乳酸	1.47
酢酸	1.26
プロピオン酸	0.03
酪酸	—
VBN <sup>1</sup> /TN <sup>2</sup> (%)	2.37
フリーク評点	64
Vスコア	92

1. アンモニア態窒素

2. 全窒素

3. 発芽玄米サイレージ

表6. 消化試験に用いた  
供試飼料の化学成分

	玄米	SBR <sup>10</sup>	クレイニングラス
		%FM <sup>11</sup>	
DM <sup>1</sup>	85.3	61.9	88.2
		%DM	
OM <sup>2</sup>	98.0	97.9	90.8
NFC <sup>3</sup>	82.7	79.1	3.7
CA <sup>4</sup>	2.0	2.1	9.2
CP <sup>5</sup>	4.3	5.8	16.2
NDF <sup>6</sup>	8.3	9.4	68.2
ADF <sup>7</sup>	2.0	1.9	34.7
ADL <sup>8</sup>	0.8	0.8	4.0
ヘミセルロース	6.2	7.4	33.6
セルロース	1.2	1.2	30.7
EE <sup>9</sup>	2.8	3.6	2.6
アミロース/アミロペクチン	23.8	28.4	10.4

1 乾物 2 有機物 3 非繊維性炭水化物 4 粗灰分

5 粗蛋白質 6 中性デタージェント繊維 7 酸性デタージェント繊維

8 リグニン 9 粗脂肪 10 発芽玄米サイレージ 11 原物

表7.乾物摂取量および各成分消化率

項目	玄米区	SBRS <sup>9</sup> 区	SEM	P値
DMI <sup>1</sup> ,g/day/BW <sup>0.75</sup>	49.76	49.60	1.72	0.950
DM <sup>2</sup> 消化率,%	63.9	67.1	1.21	0.113
CP <sup>3</sup> 消化率,%	71.5	74.2	1.49	0.249
CA <sup>4</sup> 消化率,%	57.9	60.4	1.90	0.402
NDF <sup>5</sup> 消化率,%	60.9	62.6	1.50	0.446
ADF <sup>6</sup> 消化率,%	58.8	60.8	1.90	0.492
ADL <sup>7</sup> 消化率,%	18.7	25.3	3.35	0.208
EE <sup>8</sup> 消化率,%	54.5	59.3	2.20	0.174

1 乾物摂取量 2 乾物 3 粗蛋白質 4 粗灰分

5 中性デタージェント繊維 6 酸性デタージェント繊維

7 リグニン 8 粗脂肪 9 発芽玄米サイレージ

成分消化率＝飼料摂取量中成分含量÷糞中成分含量×100

SEM:標準誤差,P<0.05で有意差有

表8.玄米およびSBR5維持量給与における  
糞中未消化の排泄割合

個体	総採食量 DM <sup>1</sup> g		排出量DM g		排出率%	
	玄米区	SBR5 <sup>2</sup> 区	玄米区	SBR5区	玄米区	SBR5区
T1	2155.9	2155.5	62.8	42.9	2.9	2.0
T2	1920.1	1920.4	63.4	66.0	3.4	3.4
T3	1778.7	1778.2	281.0	72.2	15.8	4.1
T4	1984.4	1985.4	424.1	275.8	21.4	13.9

1 乾物 2 発芽玄米サイレーシ

※区間に有意差なし

T1,T2,T3,T4は供試個体(綿羊)

表9.窒素出納

%	玄米区	SBR <sup>2</sup> 区	SEM	P値
—— g/day/BW <sup>0.75</sup> ——				
摂取N <sup>1</sup>	6.09	6.31	0.28	0.591
糞中N	1.90	1.69	0.08	0.118
尿中N	1.10	1.44	0.15	0.167
可消化N	4.19	4.62	0.25	0.264
蓄積N	3.09	3.18	0.27	0.823
———— % ————				
可消化N/摂取N	68.62	73.16	1.34	0.054
蓄積N/摂取N	50.20	50.52	3.16	0.946
蓄積N/可消化N	72.97	69.02	3.71	0.480

1 窒素 2 発芽玄米サイレージ

可消化N=摂取N－糞中N

蓄積N=摂取N－糞中N－尿中N

SEM:標準誤差,P<0.05で有意差有

表10.玄米およびSBR<sup>1</sup>S中の  
遊離  $\gamma$  - アミノ酪酸濃度

試料	遊離 $\gamma$ - アミノ酪酸 mg/100mg
玄米	5
SBR <sup>1</sup> S	44

1 発芽玄米サイレージ

表11.各個体における  
血中GABA<sup>1</sup>濃度

個体	玄米区	SBR <sup>2</sup> S区 pmol/ml
T1	44	36
T2	18	30
T3	19	16
T4	20	29

1  $\gamma$  - アミノ酪酸

2 発芽玄米サイレージ

※区間に有意差なし

T1,T2,T3,T4は供試個体(綿羊)

## 第2章の資料写真



写真 1. 詰め込み後の様子



写真 2. in vitro 試験の培養装置



### 第3章の資料写真



写真 1. ランドリーネットに玄米  
を投入している様子



写真 2. 発芽処理中



写真 3. 発芽した玄米



写真 4. 発芽玄米の詰め込み



写真 5. 乳酸菌添加(畜草 1 号+, 雪印種苗株式会社)





写真 6. 脱気後の様子



写真 7. 保管時の様子



写真 8. SBRS 取り出し



写真 9. SBRS



写真 10. 玄米給与



写真 11. SBR 給与



写真 12. 採食の様子





写真 13. 採血の様子①



写真 14. 採血の様子②



写真 15. 採取後血液の処理

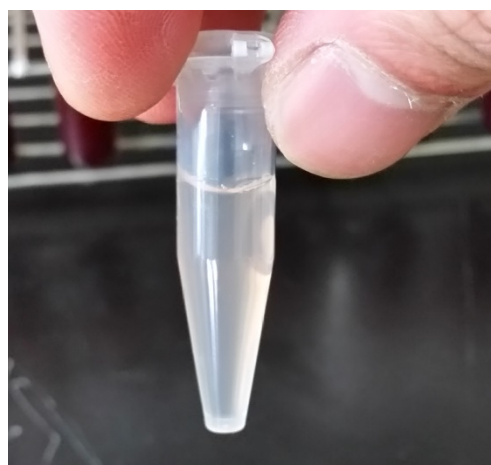


写真 16. 血清



写真 17. 糞の水洗い①



写真 18. 糞の水洗い②



写真 19. 糞の水洗い③



写真 20. 糞の水洗い④



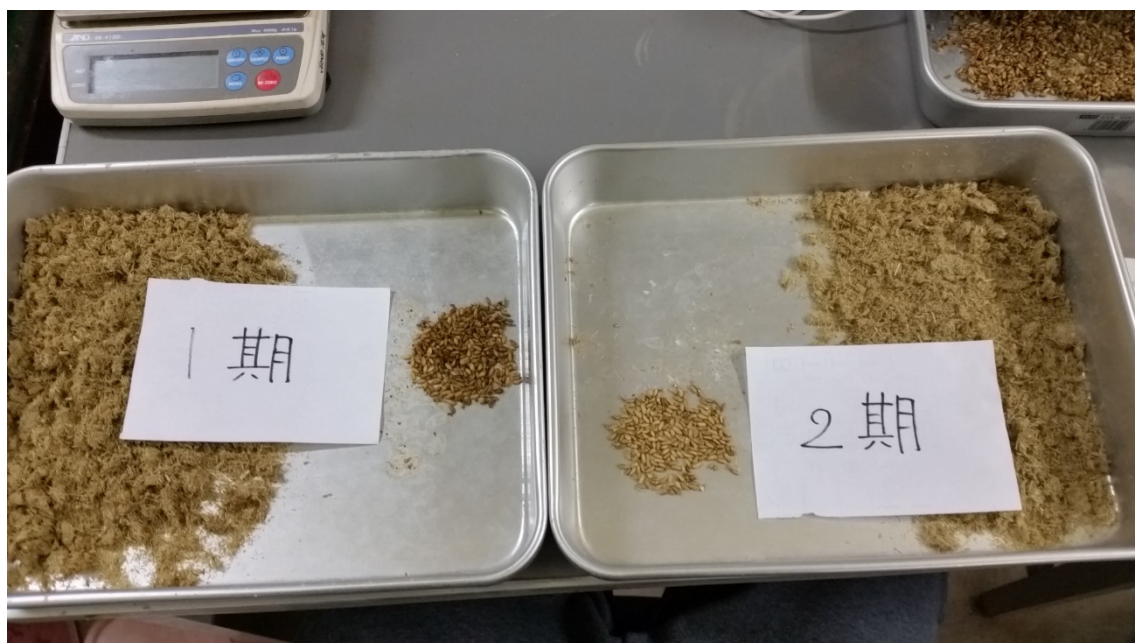


写真 21. T1 における風乾後の糞中排泄物(1 期 : 玄米, 2 期 : SBRS)



写真 22. T2 における風乾後の糞中排泄物(1 期 : SBRS, 2 期 : 玄米)

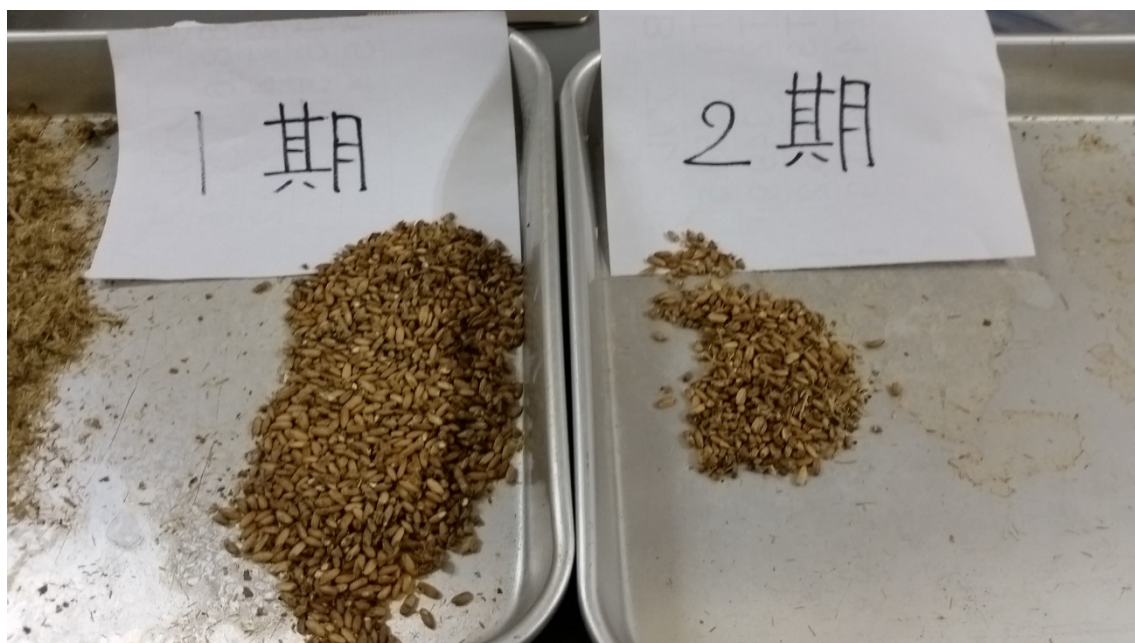


写真 23. T3 における風乾後の糞中排泄物(1 期 : 玄米, 2 期 : SBRS)



写真 24. T4 における風乾後の糞中排泄物(1 期 : SBRS, 2 期 : 玄米)



## 謝 辞

本実験の実施および本論文を作成するにあたり、本学畜産衛生学研究部門環境衛生学分野の西田武弘准教授には、大変お忙しい中、熱心にご指導ご鞭撻いただき、心より感謝申し上げます。研究室所属から大学院の約4年間、本当にお世話になりました。

本学畜産生命科学研究部門家畜生産科学分野の花田正明准教授、日高智教授には、それぞれ主指導教官、副指導教官を快く引き受けていただき、心より感謝申し上げます。ありがとうございました。

本研究の実施や分析方法に関して、本学畜産生命科学研究部門家畜生産科学分野の村西由紀助教授には助言や相談に応じてもらい、大変お世話になりました。また、論文執筆で福間直希助教授にはアドバイスをいただき、無事に提出することができました。ありがとうございました。

本研究の皆さんには、実験のお手伝いをしていただきました。特に修士1年細谷侑汰君には本当にお世話になりました。

また同期の藤井翔子さん、齋藤永二君には実験機械の使い方や分析手順などの指導をしていただき、失敗なく分析をすることができました。ありがとうございました。

本論文の作成において、上記以外にもたくさんの方々にも多くのご指導、ご鞭撻をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。ありがとうございました。

## 参考文献

- ・浅井 英樹, 吉村 義久, 野中 和久, 2009

飼料用米の加工および給与方法の違いが乾乳牛の消化性に及ぼす影響. 岐阜県畜産研究所研究報告 9, 35-40

- ・安倍 逸太郎 2015

発芽処理された飼料用玄米および精米の第一胃内分解特性について.

平成 26 年度帯広畜産大学卒業論文

- ・阿部 亮, 岩崎 薫, 篠田 満, 1984

反芻家畜による飼料の消化試験: トウモロコシ子実の粉碎粒度と乳牛, 緬羊による成分消化率, TDN 含量との関係. 日本畜産学会報 55, 755-759

- ・原 悟志 2010

モミ米および玄米の破碎処理がメンヨウおよびウシによる成分消化率に及ぼす影響. 日本畜産学会報 81, 21-27

- ・J.B. Cheng, D.P. Bu, J.Q. Wang, X.Z. Sun, L. Pan, L.Y. Zhou,

W. Liu, J.B.Cheng 2014

Effects of rumen-protected  $\gamma$ -aminobutyric acid on performance and nutrient digestibility in heat-stressed dairy cows. Journal of Dairy Science 97, (9), 5599–5607

- ・神谷 裕子, 野中 最子, 田中 正仁, 服部 育男, 神谷 充, 野中 和久 2007

破碎玄米の給与が乳牛の乾物摂取量および泌乳成績に及ぼす影響. 日本畜産学会報 85, 495-502

- ・間野 康男 2006

発芽玄米の食品学的機能. 30, 37-44, 北海道文教大学研究紀要

・宮地 慎, 野中 和弘, 松山 裕城, 細田 謙次, 小林 良次 2010

品種および加工方法の異なる飼料米の第一胃内分解特性. 日本草地学会報 56(1), 13-19

・永野 雄大 2014

過炭酸ナトリウム給与が反芻家畜のメタン排出量, 消化率, ルーメン発酵性状, 窒素およびエネルギー出納に及ぼす影響

平成 25 年度帯広畜産大学大学院修士論文

・西村 慶子, 中村 高士, 中西 良考 2011

圧ぺん処理したモミ米の給与割合が乳用牛の養分摂取, 第一胃内容溶液性状ならびに窒素出納に及ぼす影響. 日本暖地畜産学会報 54(2), 195-201

・農文協 2016

耕畜連携をひらく 飼料米・飼料イネ活用ガイドブック. 農文協

・農林水産省 2015

飼料をめぐる情勢 生産局畜産部

・農林水産省 2017

飼料用米の推進について

・大久長範, 大能 俊久, 森 勝美, 2003

発芽玄米と粳発芽玄米の  $\gamma$ -アミノ酪酸および遊離アミノ酸含量. 日本食品科学工学会報 50, (7), 316-318

・小沢 亙, 吉田 宣夫 2008

飼料用米の栽培・利用. 創森社

・ R. Rackwitz, G. Gäbel 2017

Gamma-aminobutyric acid (GABA) permeates ovine ruminal and jejunal epithelia, mainly by passive diffusion. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101, 38-45

・ 佐々木 泰弘 2016

ポストハーベスト技術で活かすお米の力. 農文協

・ 篠田 満, 櫛引 史郎, 新宮 博行, 嶺野 英子 2007

穂またはモミの給与およびモミ粒の大きさが牛における糞中未消化モミ排泄量に及ぼす影響. *日本畜産学会報* 52, 227-231

## SUMMARY

### Effects of feeding sprouted brown rice silage on digestibility for ruminants

#### Chapter1.

Rice production as feed is increasing as part of improving feed self-sufficiency rate in Japan. It has been considered as an alternative crop to the corn which was a useful energy source in ruminant animals. When untreated rice is fed, it is excreted undigested in feces, so various processing methods were researched. Then I examined a new processing method for rice, and focused attention on sprouted brown rice. I thought that sprouting damage on the hulls of brown rice was useful for digesting an albumen by animals. In the previous study, we researched the rumen degradability rate of using cattle by in situ method and found sprouted brown rice had higher ruminal degradability rate than brown rice. In addition, sprouted brown rice contains high gamma amino butyric acid (GABA). GABA is said to be effective in antihypertensive action and stress relief. However, sprouted brown rice has high moisture content and it may rot when left there. Therefore, I suggest that silage making from sprouted brown rice would be a possible option for year round supply as feed. I aimed to determine the digestibility of sprouted brown rice silage (SBRS) in ruminant livestock and changes in blood GABA concentration.

## Capter2.

In vitro experiment was done using SBRS and rumen fluid (from cows). SBRS is incubated at 4h, 8h, 12h, and 24h, and organic matter digestibility was calculated each incubation time. As result, organic matter digestibility of SBRS was 43.8% at 24h. This result is higher rumen degradability rate of sprouted brown rice than in previous study.

## Capter3.

The sheep at different age were SBRS and brown rice in the experiment. Digestibility was determined fed by whole fecal sampling method in a crossover design. In addition, at the end of each test period, blood samples were gathered from each sheep and blood GABA concentration was analyzed. The digestibility of SBRS was numerically higher than brown rice, but there was no significant difference. Similarly the fecal excretion was numerically lower in SBRS than in brown rice, but there was no significant difference. These effects were caused by wide variation among the different age sheep which might be due deterrence in chewing time and ability