

若狭牛の低コスト肥育技術の確立 (第 1 報)

田賀千尋・川森庸博

要 約 枝肉重量および肉質を維持しつつ肥育期間を短縮することを目的に、黒毛和種肥育牛に特定のアミノ酸を給与することが体重や胸最長筋面積に及ぼす影響について調査を行った。本報では牛の血漿中遊離アミノ酸の日内変動に関する調査および血漿中遊離アミノ酸の分析手法に関する調査について報告する。黒毛和種去勢牛の血漿中遊離アミノ酸濃度について、午前 8 時半から午後 5 時半まで大きな日内変動は見られなかった。また、採血管は EDTA-2K 加真空採血管を、除タンパク剤には 6% スルホサリチル酸を用いたときのサンプルが最も高い遊離アミノ酸の値を示した。これらの結果から、以降の調査では配合飼料給与前後 2 時間以内に EDTA-2K 加真空採血管を用いて得た血漿を 6% スルホサリチル酸で除タンパクし、分析に供することとした。

キーワード：黒毛和種，肥育期間短縮，血漿中遊離アミノ酸

諸 言

環太平洋パートナーシップに関する包括的及び先進的な協定 (CPTPP) 等の自由貿易網の拡大、輸入国の作況や貿易紛争の余波に伴う穀物国際価格の変動等、和牛肥育経営の不安要素が多くあることから、和牛生産の競争力強化のため、枝肉重量と肉質の変化に留意しながら肥育期間を短縮する効率的な生産構造への転換が必要とされている²⁾。

また、2015 年の家畜改良増殖目標では、2025 年までに黒毛和種の出荷月齢を 29 カ月齢から 24~26 カ月齢まで短縮することを目標としている⁸⁾。

肥育期間を短縮することで飼料費の削減や牛舎の回転率向上を図ることができる一方で、枝肉重量の減少や肉質の低下に伴う枝肉販売価格の低下が懸念される。黒毛和種去勢牛の肥育期間短縮について、肥育前期の濃厚飼料給与量を増やすことで、出荷月齢を 30 カ月齢から 3 カ月早めても同等の肉質と肉量を確保できると報告されている⁶⁾。本県においても、黒毛和種雌牛の肥育試験において、肥育飼料への切替開始時期を 2 カ月早め、肥育前期の濃厚飼料給与量を

増やし、本県平均出荷月齢の 28 カ月齢から 3 カ月早い 25 カ月齢での出荷を行った¹⁴⁾。しかし枝肉重量については 28 カ月齢出荷と比べて小さくなる傾向が見られ、脂肪交雑については有意に低くなった。

交雑種去勢牛においてバイパスタンパク質に増体改善効果があることが報告されている¹²⁾。また、黒毛和種去勢牛においても、肥育前期にバイパスタンパク質を補給することで、6 カ月齢で肥育を開始し、24 カ月齢で出荷したときの肥育成績が向上する可能性が示唆されている¹⁾。一方で、肉用牛では飼料の摂取量と飼料エネルギーの利用効率を最大にするためには飼料中粗タンパク質 (CP) 含量は 12% 前後が最適であり、タンパク質の過剰給与は、第一胃内アンモニア濃度および血中尿素態窒素 (BUN) の上昇を引き起こすことが知られている¹⁰⁾。これは牛に悪影響を及ぼす^{10) 13)} だけではなく、家畜排せつ物による環境汚染の増大という点からも問題となる¹⁶⁾。

タンパク質は約 20 種類のアミノ酸から構成されており、これらのアミノ酸は牛の体内で合成される非必須アミノ酸と、飼料や第一胃内微生物から供給されなければならない必須アミノ

酸がある¹⁰⁾。タンパク質を有効利用するには、アミノ酸の要求量を求め、アミノ酸の不足をなくすることが重要である。反芻家畜については、発育の際に不足しがちなアミノ酸としてメチオニン、リジン、イソロイシンなどがあげられており¹⁰⁾、肉用交雑種においてメチオニンやリジンが発育に効果があることが報告されている⁷⁾¹⁵⁾。しかし黒毛和種肥育牛においてアミノ酸給与が肥育成績に及ぼす報告は少ない。そこで、枝肉重量および肉質を維持しつつ肥育期間を短縮することを目的に、黒毛和種肥育牛に不足するアミノ酸を給与することが体重や胸最長筋面積に及ぼす影響を調査することとした。本試験では、黒毛和種去勢牛を毎月採血し、月齢に伴う血漿中遊離アミノ酸を測定する。本報では、牛の血漿中遊離アミノ酸の日内変動に関する予備調査および血漿中遊離アミノ酸の分析手法に関する予備調査について報告する。

材料および方法

1 血漿中遊離アミノ酸の日内変動

31 カ月齢の黒毛和種去勢牛 2 頭について、午前 8 時半から午後 5 時半まで 1 時間おきに計 10 回採血を行った。採血時はロープで保定し、採血時以外は自由行動とさせた。粗飼料として稲わらを午前 9 時および午後 3 時に給与した。濃厚飼料は CP 13%、可消化養分総量 (TDN) 75% の自家配合飼料を午前 10 時および午後 4 時に給与した。

採血は頸静脈からヘパリンリチウム加真空採血管 (ベノジェクト II 真空採血管, テルモ株式会社, 東京) を用い、遠心分離 (3,000rpm, 4°C, 15 分) によって血漿を採取した。得られた血漿に同量の 10% トリクロロ酢酸 (TCA) を加えて除タンパクした。遠心分離 (3,000rpm, 4°C, 30 分) を行った後、ディスクフィルター (Millex-LH 0.45 μ m 25mm, Merck Millipore Ltd., アイルランド) を用いて濾過した。ろ液を pH2.2 クエン酸リチウム緩衝液で希釈したものを、アミノ酸分析 HPLC システム (島津製作所, 京都) を用いてポストカラム蛍光誘導体化検出法により分

析した。測定項目はメチオニン (Met), リジン (Lys), スレオニン (Thr), ヒスチジン (His), フェニルアラニン (Phe), バリン (Val), イソロイシン (Ile), ロイシン (Leu), グリシン (Gly), アラニン (Ala), アスパラギン (Asn), アスパラギン酸 (Asp), グルタミン (Gln), グルタミン酸 (Glu), セリン (Ser), アルギニン (Arg), プロリン (Pro) およびチロシン (Tyr) とした。

2 血漿中遊離アミノ酸分析用サンプルの採血管の種類および調製時の除タンパク方法

10 カ月齢の黒毛和種去勢牛 1 頭について、飼料給与 1 時間後に採血を行った。採血はヘパリンリチウム加真空採血管 (ベノジェクト II 真空採血管, テルモ株式会社, 東京) および EDTA-2K 加真空採血管 (ベノジェクト II 真空採血管, テルモ株式会社, 東京) を用い、遠心分離 (3,000rpm, 4°C, 15 分) によって血漿を採取した。各採血管から得られた血漿をそれぞれ 2 本の試験管に入れ、2 本のうち 1 本に同量の 10% TCA を加え、もう 1 本に同量の 6% スルホサリチル酸 (SSA) を加え、除タンパクした。遠心分離 (3,000rpm, 4°C, 30 分) を行ったあと、ディスクフィルター (Millex-LH 0.45 μ m 25mm, Merck Millipore Ltd. アイルランド) を用いて濾過した。ろ液を pH2.2 クエン酸リチウム緩衝液で希釈したものを、島津製作所のアミノ酸分析 HPLC システムを用いてポストカラム蛍光誘導体化検出法により分析した。分析項目は Met, Lys, Thr, His, Phe, Val, Ile, Leu, Gly, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Ser, Arg, Pro, Tyr, トリプトファン (Trp) とした。

結 果

1 血漿中遊離アミノ酸の日内変動

ほぼすべての血漿中遊離アミノ酸について、午前 8 時半から午前 10 時半にかけて増加傾向がみられた (図 1)。その後わずかに減少しているものの、大きな変化は見られなかった。午後 4 時の配合飼料給与後に再び増加傾向がみられた。Arg について、他のアミノ酸と同様に、午前 10

時の配合飼料給与前まで増加傾向を示したものの、給与後は午後 2 時半まで減少し、その後増加傾向を示した。

2 血漿中遊離アミノ酸分析用サンプルの採血管の種類および調製時の除タンパク方法

すべての血漿中遊離アミノ酸について、EDTA-2K 加真空採血管で採血したサンプルの方がヘパリンリチウム加採血管で採血したものよりも高い値が得られた(表 1)。除タンパクの方法については、SSA の方が TCA よりも高い値となった。

考 察

飼料給与開始前の午前 8 時半から飼料給与後の 10 時半にかけて見られた血漿中遊離アミノ酸の増加傾向は飼料摂取に伴う変動であると考えられる。Arg は尿素回路に関連していることが知られており、尿素が合成される際に Arg が消費される^{4) 5)}。アンモニアは飼料摂取後に増加する¹¹⁾ ことから、今回の調査において飼料摂取後に Arg が減少傾向を示したと考えられた。いずれの変動も有意な差は認められなかったことから、血漿中アミノ酸濃度に日内変動はないと判断した。しかし今回調査した供試牛は、配合飼料が飽食状態の肥育牛であったために大きな変動が見られなかった可能性がある。よって調査条件を揃えるため、以降の調査の採血時間を配合飼料給与前後 2 時間以内に行うこととした。

ヒトの血漿中遊離アミノ酸濃度の測定方法として、採血時に EDTA-2Na 採血管もしくは EDTA-2K 採血管を用い、ポストカラム誘導体化を原理としたアミノ酸分析計で分析する場合は TCA もしくは SSA を用いて除タンパクを実施することとされている⁹⁾。牛の精漿中アミノ酸濃度分析時の除タンパク方法について、ピクリン酸あるいは SSA を使用したところ、SSA の方が正しい結果が得られるという報告がある³⁾。本試験においても EDTA-2K 加真空採血管を用いて得た血漿を SSA で除タンパクしたサン

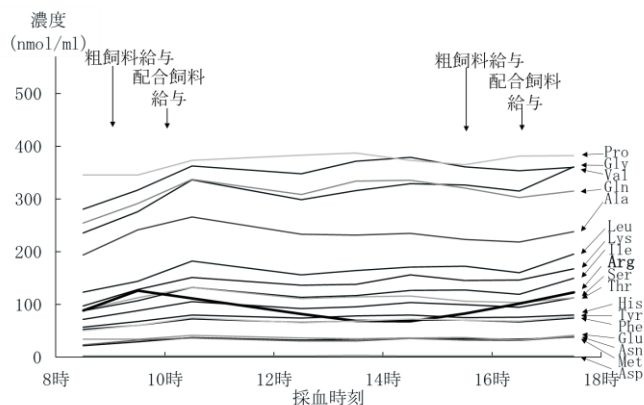


図 1 血漿中アミノ酸の日内変動

表 1 採血管および除タンパク剤別の血漿中アミノ酸濃度

採血管	ヘパリンリチウム		EDTA-2K		(nmol/ml)
	TCA	SSA	TCA	SSA	
血漿中アミノ酸					
Met	27.8	28.4	28.5	28.7	
Lys	90.5	92.2	93.7	95.2	
Thr	72.9	74.0	80.0	80.9	
His	65.6	66.5	69.3	69.6	
Trp	24.9	24.8	26.7	25.9	
Phe	55.7	58.8	58.8	60.5	
Val	181.6	184.4	194.6	195.9	
Leu	105.9	108.4	111.2	112.4	
Ile	85.8	88.1	92.2	92.8	
Gly	237.2	240.7	240.2	242.9	
Ala	255.9	260.4	263.5	266.2	
Asn	29.0	29.4	31.8	32.0	
Asp	6.4	6.2	7.6	7.1	
Gln	278.9	283.8	305.6	307.9	
Glu	53.1	54.0	51.0	50.8	
Ser	70.4	71.6	74.2	74.7	
Arg	15.1	11.2	16.4	12.2	
Pro	80.1	81.4	80.0	81.2	
Tyr	60.9	62.4	64.1	64.2	

ルが最も高いアミノ酸の値を示した。このことから、以降の血漿中アミノ酸濃度分析時の採血には EDTA-2K 加真空採血管を、除タンパクには SSA を用いることとした。

文 献

- 1) 安部亜津子・成相伸久・入江正和・高野彰文・荒川泰卓・小櫃剛人, 黒毛和種去勢牛 24 カ月齢出荷体系における肥育前期のバイパスタンパク質飼料補給が肥育成績に及ぼす影響, 日本畜産学会報, 89 (3) :329-337, 2018
- 2) 農畜産業振興機構, 肥育期間短縮に取り組む黒毛和種肥育経営, 畜産の情報, 12:64-74,

2016

- 3) Al-Hakim MK・Graham EF・Schmehl ML, Free amino acids and amino compounds in bovine seminal plasma, *Journal of dairy science*, 53 (1) :84-88, 1969
- 4) Chacher B・Wang DM・Liu HY・Liu JX, Degradation of L-arginine and N-carbamoyl glutamate and their effect on rumen fermentation in vitro, *Italian Journal of Animal Science*, (11) e68:374-377, 2012
- 5) Goldsworthy PD・Middleton MD・Kelly KA・Bombeck CT・Aoki T・Nyhus LM, Effects of arginine, glutamate, and aspartate on ammonia utilization in the perfused bovine liver, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 128 (1) :153-162, 1968
- 6) 狩又亮治・中村陽介・加茂辰生, 黒毛和種去勢肥育牛の出荷月齢早期化技術の確立(第1報), 佐賀県畜産試験場研究報告, 55:16-21, 2018
- 7) Klemesrud MJ・Klopfenstein TJ・Lewis AJ, Metabolizable methionine and lysine requirements of growing cattle, *Journal of Animal Science*, 78:199-206, 2000
- 8) 農林水産省, 家畜改良増殖目標, 2015
- 9) 中山聡・宮野博, 血漿中遊離アミノ酸濃度の基準範囲と試験法の標準化, *ぶんせき, 公益社団法人日本分析化学会*, 2:58-66, 2019
- 10) 農業・食品産業技術総合研究機構編, 日本飼養標準・肉用牛(2008年版), 中央畜産会, 東京, 2009
- 11) 岡田啓司・古川岳大・安田準・内藤善久, 乳牛における高デンプン・高タンパク飼料給与後のルーメン環境および血中乳酸・アンモニア濃度の変化, *日獣会誌*, 55:713-718, 2002
- 12) Oney CR・Hilscher FH・Bondurant RG・Watson AK・Erickson GE・Klopfenstein TJ, Effect of increasing supplemental rumen undegradable protein (RUP) on performance of calves fed a silage growing diet, *Nebraska Beef Cattle Reports*, 1011:27-28, 2017
- 13) 嶋澤光一・橋元大介・中山昭義, 濃厚飼料中の分解性蛋白質割合の違いが黒毛和種去勢牛の粗飼料利用性に及ぼす影響, *西日本畜産学会報*, 47:73-77, 2004
- 14) 田賀千尋・川森庸博, 美味しさ成分が高まる若狭牛飼養技術の確立(第4報), 福井県畜産試験場研究報告, 33:1-9, 2020
- 15) Teixeira PD・Tekippe JA・Rodrigues LM・Ladeira MM・Pukrop JR・Kim YHB・Schoonmaker JP, Effect of ruminally protected arginine and lysine supplementation on serum amino acids, performance, and carcass traits of feedlot steers, *Journal of Animal Science*, 97 (8) :3511-3522, 2019
- 16) 寺田文典・阿部啓之・西田武弘・柴田正貴, 肥育牛の窒素排泄量の推定, *日本畜産学会報*, 69 (7) :697-701, 1998

**Low cost producing system of Wakasa-gyu, Japanese black, by shortening the fattening period
(the 1st report)**

Chihiro TAGA and Nobuhiro KAWAMORI
Fukui Prefectural Livestock Experiment Station

Abstract

Reduction in the cost of producing Wakasa-gyu, Japanese Black brand in Fukui, by shortening fattening period was needed to compete against imported beef and other Japanese Black beef brand, nevertheless shortening the fattening period might cause a carcass weight to decrease and a beef quality to lower. The influences of feeding rumen protected amino acid on weights and *M.longissimus thoracis* cross-sectional area of Japanese Black were examined in order to shorten the fattening period while keeping valuable size and quality of beef. As the first report of this examination, the results of the experiments about the fluctuation of the free amino acid concentrations in bovine plasma within a day and about the methods of preparing plasma samples for amino acid analysis would be discussed in this paper. There was no significant fluctuation in amino acid concentration in bovine plasma from 8.30 to 17.30. The plasma sample collected by an EDTA-2K vacuum blood-collecting tube and prepared using 6% sulfosalicylic acid yielded the highest concentrations of free amino acids. Blood samples would be taken from Japanese Black within 2 hours they fed using EDTA-2K vacuum blood-collecting tubes and prepared by 6% sulfosalicylic acid in posterior research.

Keyword: Japanese Black, shortening the fattening period, plasma free amino acid