

タンニンによる飼料用大豆粕のたん白質消化制御

近藤 誠*

三重大学大学院生物資源学研究科

Regulation of Protein Digestibility of Soybean Meal by Tannins in Ruminant Feedstuffs

Makoto KONDO

Graduate School of Bioresources, Mie University, Tsu 514-8507

ABSTRACT

The current experiment was conducted to study the effect of different types of tannin on ruminal degradation and post-ruminal digestion of treated soya bean meals (SBM) with respect to *in vitro* and *in vivo* digestibility. Samples of SBM were prepared by spraying 100 g SBM with distilled water containing 10 g of 6 types of tannin extracted from tara, gambier, chestnut, myrabolam, quebracho, and mimosa. Ruminal degradability of tannin-treated SBM was significantly decreased and intestinal digestibility of the protein was slightly suppressed. As a result, digestible rumen undegradable protein (RUP) was high in SBM treated with tannins, especially chestnut and myrabolam. In comparison to commercial soybean feedstuffs, these tannin-treated SBM were similar or higher in digestible RUP content. In the next experiment, *in vivo* digestibility, nitrogen balance and ruminal NH₃-N concentration in goats fed SBM treated with chestnut or tannin were determined. Protein digestibility, urinary N excretion and ruminal NH₃ concentration were not affected by the tannin treatment. It was therefore concluded that tannin treatment of SBM effectively improved protein utilization of SBM *in vitro* but not *in vivo*. Further research is required to bind SBM proteins to tannins strongly enough to regulate protein digestibility in ruminants. *Soy Protein Research, Japan* **13**, 149-153, 2010.

Key words : soybean meal, ruminant, protein degradability, tannin

*〒514-8507 津市栗真町屋町1577

近年、穀物資源の需要拡大に伴い、世界規模で飼料原料の供給が不安定になり、ひいては乳・肉など畜産物の安定生産が危惧されている。特に狂牛病の発生以後、反芻家畜（牛や山羊）に対して動物性飼料の給与が禁止され、たん白質を豊富に含む飼料としては大豆粕が中心となっている。

反芻家畜が摂取したたん白質は第一胃内に生息する微生物により分解を受けるが（分解性たん白質）、一部はその分解を逃れて第一胃を通過し、下部消化管（第四胃、小腸）へ流下し消化・吸収される。これはバイパスたん白質と呼ばれ、泌乳牛や育成牛にとって特に必要とされている。逆に第一胃内でのたん白質の過剰な分解からは多くのアンモニアが発生する。この余剰のアンモニアは、肝臓を経て尿中へ排泄されるため、家畜にとって摂取したたん白質の損失となる。主要なたん白質飼料である大豆粕には分解性たん白質が多く、バイパス性たん白質が不足している。一方、タンニンは複数のフェノール性水酸基を持つ化合物でたん白質と結合する性質を持つ。一般にこのタンニン-たん白質結合体の形成はpHに依存的であり、中性域では結合体を形成し、酸・アルカリ性域では解離することが報告されている。注目すべき点としては、反芻家畜の第一胃液はpH6-7、続く第四胃液はpH2-3を示すことである。すなわち第一胃内ではタンニン-たん白質結合体が微生物の分解を逃れ、下部消化管内でその結合体が解離して消化酵素によりたん白質が消化されることが期待される。これまで、ケブラチョのタンニンや化学用試薬のタンニン酸がたん白質と結合すると、第一胃内における飼料分解を抑制することが報告されている^{1,2)}。しかし、植物タンニンは非常に多様であり、その化学構造も複雑であるため、たん白質との結合力もタンニンによって大きく異なる。そこで本研究では、大豆粕に対して分類の異なる6種類の樹木から抽出されたタンニン材を付加することで、タンニンの違いが反芻動物の第一胃内および下部消化管内におけるたん白質消化に及ぼす影響について検討を行った。

方 法

大豆粕に付加するタンニンは、タラ（南米産タラ実の莢から抽出したタンニン材）、ミラボラム（インド産ミラボラム実から抽出したタンニン材）、ガンビア（インドネシア産ガンビア葉から抽出したタンニン材）、ミモザ（南アフリカ産ミモザ樹皮から抽出したタンニン材）、チェストナット（イタリア産チェスト

ナット幹から抽出したタンニン材）、ケブラチョ（南米産ケブラチョ幹から抽出したタンニン材）の6種類を用いた。ここで、タラ、ミラボラムおよびチェストナットは加水分解型タンニンに分類され、ガンビア、ミモザおよびケブラチョは縮合型タンニンに分類される。タンニン付加大豆粕の調製は、大豆粕に対して各タンニン材が10%となるように、タンニンを20 mLの蒸留水に懸濁した溶液をスプレーで噴霧し、その後50℃で24時間乾燥させた。また、タンニン付加大豆粕のたん白質消化制御効果を市販の大豆粕加工飼料と比較するため、加熱大豆粕、加糖加熱大豆粕、エクストルーダ処理大豆粕、いり大豆を比較対象として用いた。

*In vitro*での消化試験は、第一胃、第四胃、小腸の3段階を想定して行った。第一胃でのたん白質分解率は、シバヤギより採取した第一胃内容液と各種大豆粕を嫌気培養し、24時間後の培養残さのたん白質量を測定して求めた。第四胃および小腸における消化率は、第一胃内容液と培養した残さを、塩酸とペプシンで1時間培養し、続けて緩衝液-パンクレアチン溶液で24時間培養し、残さのたん白質量を測定して求めた。可消化バイパスたん白質は、第一胃で分解せずに第四胃と小腸で消化された画分の割合を算出した。

*In vitro*の結果から、チェストナットおよびミラボラム付加によって可消化バイパスたん白質含量が増加することが明らかになったため、これらのタンニン材を付加した大豆粕の効果を*in vivo*で検証した。去勢シバヤギ6頭（体重20.3±1.0 kg）をそれぞれ代謝ケージに収容し、反復のある3×3ラテン方格法による消化試験を行った。対照区にはチモシー乾草と大豆粕を乾燥重量あたりそれぞれ65%、35%の割合で給与し、ミラボラム区にはミラボラム由来のタンニン材を付加した大豆粕を、チェストナット区にはチェストナット由来のタンニン材を付加した大豆粕を給与した。試験は1期16日（予備飼育10日、糞尿回収5日、第一胃液採取1日）を3期間行い、窒素出納を測定した。

結果と考察

Table 1に各種タンニン材を10%付加した大豆粕の*in vitro*消化管内におけるたん白質分解率および可消化バイパスたん白質含量を示した。第一胃内における分解率はすべてタンニン材を付加することにより有意に低下した。第4胃および小腸内における消化率はガンビア、タラ付加においては分解率の低下はみられなかったが、他の処理区においては有意に低下した。さらに、ケブラチョは他のタンニン材と比べ、第4胃および小

Table 1. Protein digestibility in the *in vitro* rumen and post-rumen and contents of digestible rumen undegradable protein of soybean meal treated various tannins

Treatment	Digestibility (%)		Digestible RUP* (% protein)
	rumen	post-rumen	
Soybean meal	64.2 a	86.2 a	30.8 f
+ Gambier	61.3 b	83.7 ab	32.4 ef
+ Tara	54.4 c	85.7 a	39.1 c
+ Mimosa	54.2 d	76.8 c	35.2 d
+ Quebracho	46.3 e	62.8 e	33.7 de
+ Myrabolam	36.8 f	81.6 b	51.6 b
+ Chestnut	17.6 g	72.9 d	60.1 a

*RUP, rumen undegradable protein

a-g, means that within lines, values with different letters differ significantly ($p<0.05$)

腸におけるたん白質の分解をより減少させた。また、ガンビア以外のタンニン材付加により無処理区と比較して可消化バイパスたん白質含量が増加したが、その効果は加水分解型のタンニンを多く含むミラボラムおよびチェストナットの付加によって特に高くなった。たん白質とポリフェノールの結合体合成に必要な構造としてポリフェノールの水酸基の数や立体構造の自由度が考えられており、水酸基を複数有するガロイル基が多いほど結合体の形成が容易である³⁾。加水分解型タンニンは没食子酸や数個のフェノールカルボン酸が糖やフェノールなどの水酸基とエステル結合した構造をもち、縮合型タンニンはカテキン類が縮合した構造をもち、加水分解型は比較的低分子であり、水酸基を複数有する没食子酸を基本骨格とすることから、カテキン類が多数重合した構造で自由度が低い縮合型タンニンよりもたん白質と結合を形成しやすいと考えられる。本研究においても、加水分解型のミラボラムやチェストナット由来のタンニンがたん白質の分解制御効果が高かった原因として、これらのタンニンが大豆粕のたん白質との結合が強かったことが原因であると推察された。続いて、本実験で調製したタンニン付加大豆粕を市販の大豆加工製品と比較した結果をTable 2に

示した。第一胃内における分解率は、各処理の中でもチェストナット付加大豆粕において最も低下し、次いで加糖加熱処理大豆粕、ミラボラム付加大豆粕が続いた。また、第四胃および小腸内における分解率も同様にチェストナット付加大豆粕において最も低下し、次いで加糖加熱処理大豆粕、ミラボラム付加大豆粕の順であった。加熱大豆粕、エクストルーダ処理大豆粕、いり大豆においては無処理区に対して差は認められなかった。可消化バイパスたん白質含量は各種処理により有意な増加が認められたが、特にチェストナット付加、加糖加熱処理、ミラボラム付加によって多く増加した。

続いて、チェストナットおよびミラボラム抽出タンニン材を付加した大豆粕をシバヤギに給与した結果、たん白質の消化率は対照区、チェストナット区、ミラボラム区のいずれの処理区においても有意な差は認められなかった (Table 3)。タンニンを多く含む飼料の給与により採食量や窒素の消化率が低下することが報告されているが^{4, 5)}、本研究においては採食量、消化率ともにタンニン給与による影響は認められなかった。また本試験の結果では、第一胃内NH₃-N濃度や尿中への窒素排泄量に有意な差は認められなかった。タ

Table 2. Protein digestibility in the *in vitro* rumen and post-rumen and contents of digestible rumen undegradable protein of various types of soybeans and tannin-treated soybean meal

Treatment	Digestibility (%)		Digestible RUP* (% protein)
	rumen	post-rumen	
Soybean meal	66.3 a	87.2 a	29.4 f
Heated soybean meal	57.7 b	87.0 ab	36.8 e
Extruded soybean	56.7 b	87.0 ab	37.7 e
whole roasted soybeans	44.5 c	84.7 ab	47.0 d
Myrabolam treated soybean meal	33.9 d	83.7 b	55.3 c
Heat, sugar-treated soybean meal	23.7 e	77.6 c	59.2 b
Chestnut treated soybean meal	17.4 f	74.3 d	61.4 a

a-f, means that within lines, values with different letters differ significantly ($p<0.05$)

Table 3. Protein digestibility, nitrogen balance and ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration of goats fed the diets supplemented soybean meal with or without tannins.

	Control	Chestnut	Myrabolam
Protein digestibility (%)	66.5	65.9	67.0
Nitrogen balance (g/day)			
Intake N	7.99	7.99	7.99
Fecal N	2.67	2.73	2.63
Urinary N	3.98	3.82	3.84
Absorbed N	5.32	5.27	5.36
Retained N	1.34	1.45	1.52
Ratio to intake N (%)			
Retained N	16.7	18.1	19.0
Ratio to absorbed N (%)			
Retained N	24.8	27.5	28.2
Ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration (mg/100mL)	15.1	14.6	14.7

ンニンを含む飼料を反芻動物に給与することにより、糞中窒素排泄量の増加⁶⁾および第一胃内容液中の $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度の低下が見られることも報告されている⁷⁾。これらはタンニンによって第一胃内におけるたん白質の分解が抑制されそれに伴い発生する $\text{NH}_3\text{-N}$ が減少し、さらに不消化のたん白質が増加して糞中へ排出される事が要因であると推察されている。本実験では、タンニン付加大豆粕給与による第一胃内 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度への影響は認められなかったことから、本試験で用いたタンニン材がたん白質から解離し、*in vivo*の消化管内ではたん白質の消化制御効果が認められなかったと考えられた。タンニンは第一胃内において、飼料中の

たん白質と結合し、たん白質分解を抑制していると考えられているが、*in vivo*の実験においては、試験管内で行われる*in vitro*の実験と異なり、動物による反芻、咀嚼、内容物の流下、唾液の流入などが起こる。これら生体内の条件により、本研究においては第一胃内におけるたん白質の分解が抑制されなかった可能性が示唆された。今後、ミラボラムやチェストナットを中心に加水分解型タンニンをより強固に大豆粕と結合させ、*in vivo*で効率的にたん白質の消化制御を行う方法を探索する必要がある。

要 約

反芻家畜が摂取したたん白質は第一胃内に生息する微生物により分解を受けるが、一部はその分解を逃れて第一胃を通過し、下部消化管（第四胃，十二指腸など）へ流下し消化・吸収される。これはバイパスたん白質と呼ばれ、泌乳牛や育成牛にとって特に必要とされている。そこで第一胃内で分解性が高い大豆粕のバイパス効率を高めるために、タンニンによる大豆粕たん白質の消化制御効果について検討した。まず6種類の樹木（ミモザ、ガンビア、タラ、ミラボラム、チェストナット、ケブラチヨ）から抽出されたタンニンをそれぞれ大豆粕に添加し、タンニン付加大豆粕を作成した。各タンニンを付加した大豆粕を*in vitro*にて第一胃内容液と培養した結果、6種類のタンニンすべてがバイパス効率を増加させ、特にチェストナットやミラボラムなど加水分解型のタンニンは効果が大きかった。さらにチェストナットおよびミラボラムを付加した大豆粕は、市販の大豆粕加工製品より*in vitro*でのたん白質の利用効率が高かった。続いてこれらのタンニンを付加した大豆粕を実際にシバヤギに給与し、*in vivo*における効果の確認を行った。その結果、消化率、窒素出納、第一胃内容液の $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度において、チェストナットあるいはミラボラムのタンニン付加の影響は認

められなかった。以上の結果から、本研究における方法では、*in vitro*ではたん白質消化を効率的に改善するが、*in vivo*ではその効果が薄れたため、今後タンニンをより強固に付着させる方法を検討する必要があると考えられた。

文 献

- 1) Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Fernández M and Mantecón AR (2000): Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. *J Agric Sci*, **134**, 101-108.
- 2) Hervás G, Frutos P, Serrano E, Mantecón AR and Giráldez FJ (2000): Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *J Agric Sci*, **135**, 305-310.
- 3) 松尾友明 (2000) : 果実のタンニンと関連化合物の化学と利用 [1]. 農業および園芸, **75**, 3-13.
- 4) Waghorn GC and Shelton ID (1997): Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. *J Agric Sci*, **128**, 365-372.
- 5) Barry TN and McNabb WC (1999). The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Brit J Nutr*, **81**, 263-272.
- 6) Woodward A and Reed JD (1997). Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *J Anim Sci*, **75**, 1130-1139.
- 7) Min BR, McNabb WC, Kemp PD and Barry TN (1998). Effect of condensed tannins on the production of wool and on its processing characteristics in sheep grazing *Lotus corniculatus*. *Austral J Agric Res*, **49**, 597-606.