

牧草サイレージ中のCu, Zn, Mn, Mg の定量における前処理法の検討

仲宗根 一 哉

I はじめに

近年、世界各国で反芻家畜の微量元素栄養に関する研究が進められてきたが、特定元素の定量法の確立や生体内での機能、微量元素間の相互作用および拮抗作用等について解明されるべき課題はまだ数多く残されている。微量元素は生体内で金属酵素あるいは金属要求酵素として働き、牛の繁殖機能及び免疫反応等生理機能に深く関与¹⁾することが明らかにされており、今後家畜の生産能力を最大限に発揮させるためには飼料中の微量元素について十分考慮する必要がある。

我が国においても飼料中に含まれるミネラルについて様々な研究²⁾が行われてきた。その中には、粗飼料中のCu, Zn, Seの含有量が乳牛の要求量に対して低く、不足する可能性があるという報告³⁾や、高温環境下において乳牛の微量元素要求量が増加するという報告⁴⁾がある。最近では特に乳牛の飼養において粗飼料の品質が重要視されてきているが、地域で利用される粗飼料中の微量元素含有量を把握することも重要と考えられる。

一般的に植物体中のミネラル含有量を測定するにあたっては、ほとんどの元素について原子吸光法⁵⁾が用いられている。同法で定量分析する際、主な前処理法として硝酸一過塩素酸による湿式灰化法⁶⁾及び1規定塩酸抽出法⁷⁾がある。後者は処理が簡単であり、分析精度も高いことからCu, Zn, Mn, Mgの定量によく用いられている。しかし、サイレージ試料に関しては、1規定塩酸抽出法を適用することが妥当か否か検討した例はなく、明確にされていない。そこで今回、県内の農家から収集した牧草サイレージ及び乾草について、それぞれ湿式灰化法及び1規定塩酸抽出法の2種類の前処理を行い、原子吸光法により、Cu, Zn, Mn, Mgの4元素を定量し、分析精度の検討を行ったのでその結果を報告する。

II 材料及び方法

1. 供試材料

供試材料草は表-1のとおりである。県内農家から収集した乾草15点と牧草サイレージ15点を60℃、24時間乾燥後、1mm以下に粉碎した。

表-1 供試材料

	乾 草		サイレー ジ	
草 種	パンゴラグラス	2	ローズグラス	9
	ネピアグラス	3	ギニアグラス	3
	ローズグラス	5	コーン+ネピア	2
	ギニアグラス	5	ケイントップ	1
	計	15点	計	15点
サイロ型			スチール	12
			バンカー	3

2. 調査項目

- 1) Cu, Zn, Mn, Mg 含有量 (原子吸光法)
- 2) 粗蛋白質 (ケルダール法)
- 3) CW 中粗蛋白質含量 (酵素分析で分画したCW中の窒素をケルダール法により分析)
- 4) 元素抽出率 (同一試料について湿式灰化法により得られた元素含有量に対し、1 規定塩酸抽出法により得られた含有量を100分率で表した。)

3. 実験方法

同一試料について硝酸一過塩素酸による湿式灰化法及び1 規定塩酸抽出法で前処理を行い、原子吸光法により、島津原子吸光分光光度計AA 680を用いてCu, Zn, Mn, Mgの4元素を定量し、乾草試料とサイレー ジ試料についてそれぞれ1 規定塩酸による元素抽出率および分析精度を比較検討した。

III 試験結果及び考察

1. 供試材料について

供試したサイレー ジ試料はすべて県内の農家から収集したものであり、材料草はもとより、発酵品質、水分、サイロ型等について様々である。乾草およびサイレー ジ試料中に含まれる4元素の含有量は湿式灰化法で前処理された試料液を用いて定量した。各元素の含有量については、表-2に示した。

これらの元素の平均含有量は、これまでに県内で調査された牧草中の元素含有量¹⁰⁾とほぼ同程度であった。

表-2 供試試料のミネラル含有量

(n=15)

元 素	区 分	含 有 量		
		平 均	最 小	最 大
Mn	乾 草	257.9	52.8	402.4
	サイレー ジ	187.1	22.0	359.3
Mg	乾 草	0.202	0.149	0.280
	サイレー ジ	0.210	0.148	0.299
Cu	乾 草	9.8	5.1	17.9
	サイレー ジ	9.9	5.2	25.3
Zn	乾 草	25.0	17.9	38.8
	サイレー ジ	27.3	21.0	43.3

※ Mg は乾物中%、他は乾物中ppm。

2. 元素抽出率について

各元素について得られた平均抽出率および変動係数、有意差検定の結果は、表-3に示した。

Mn, Mgでは乾草及びサイレージ試料とも97%以上の高い抽出率を示し、変動係数は3%以下で、乾草とサイレージの平均抽出率の間に有意差は認められなかった。しかし、Cu及びZnについては、乾草試料で96%以上の高い抽出率を示したのに対し、サイレージ試料の平均抽出率は乾草試料に比較して有意 ($P < 0.01$) に低い値を示した。特にCuについては、変動係数が34.2%と著しく高く、大きなバラツキを示した。

表-3 1 規定塩酸抽出処理による元素抽出率

元素	区分	平均抽出率 (%)	t 検定	標準偏差 S.D	標準誤差 S.E	変動係数 (%)
Mn	乾草	99.2	N.S	2.2	0.6	2.2
	サイレージ	97.5		2.6	0.7	2.7
Mg	乾草	100.5	N.S	1.8	0.5	1.8
	サイレージ	99.6		1.4	0.4	1.4
Cu	乾草	96.6	SIG. ($P < 0.01$)	4.0	1.0	4.1
	サイレージ	58.4		20.0	5.2	34.2
Zn	乾草	98.0	SIG. ($P < 0.01$)	2.8	0.7	2.9
	サイレージ	89.1		2.5	0.7	2.8

3. 抽出時間の検討

上記の結果は、従来の1規定塩酸抽出法に従い、一昼夜の抽出時間により得られたものである。そこで、サイレージ試料について抽出時間とCu及びZnの抽出率の関係を検討した。

Cu及びZnの抽出率がそれぞれ、37.2、92.2%と低かったサイレージ試料について、24、48、120、240時間で抽出処理し、Cu及びZnを定量した。表-4に抽出時間による元素抽出率を示した。

抽出時間によってもCu及びZnの抽出率はほとんど変化せず、分析値には有意差は認められなかった。

表-4 抽出時間と元素抽出率

抽出時間	抽出率 (%)	
	Cu	Zn
24	37.2	92.2
48	36.0	91.8
120	34.9	91.8
240	34.9	90.9

4. 熱変性との関連性

1 規定塩酸によってCu及びZnが抽出されなかったサイレージ試料では細胞中で何等かの形態的变化が起こっているものと推察されたが、この形態的变化が何に由来するのかは明確ではない。しかし、サイレージの発酵過程における生物的、化学的变化が¹¹⁾Cu及びZnの1規定塩酸不溶に影響を与えている可能性がある。

また、サイレージ貯蔵中に温度上昇が観察されることがある。通常、サイレージ調製の初期に起こる植物の呼吸作用による発熱は30℃程度であるが、気密不良等による好気性菌の増殖によって、約70℃まで温度上昇する場合もある。さらに、低水分(30~40%)条件下で、好気性発酵が進行した場合、サイレージ自体の断熱効果により、発酵熱が蓄熱する。その結果、化学的酸化反応であるアミノカルボニル反応(メイラード反応)が急激に進行して、70℃以上の温度上昇が生じ、くん炭化¹²⁾を起こすこともある。

一般に牧草類が高温により蛋白質等の有機物に損傷を受けることをヒートダメージと称している¹⁶⁾。これまでの牧草類のヒートダメージに関する研究では、有効蛋白質の減少¹³⁾、一部アミノ酸の消失¹⁶⁾、乾物の減少¹⁷⁾等が報告されている。

今回供試したサイレージ試料について、阿部らの方法に従って、酵素分析を行い、非消化性蛋白質が多く含まれると考えられるCW (cell wall) 中の粗蛋白質量¹⁸⁾を測定することにより、全粗蛋白質含有量に対する非消化性蛋白質の割合を算出した。また、同一試料について試料中の全Cu及びZn量の和に対する1規定塩酸不溶のCu及びZn量の和の割合を算出した。そして算出された2つの変数から両者の相関を求めた。その結果を図-1に示した。

相関係数は0.727で高い相関を示したことから、サイレージ貯蔵中の発熱による蛋白質の熱変性がCu及びZnの1規定塩酸不溶化と関係する可能性が示唆された。

但し、今回供試した乾草、サイレージの全試料については、60℃、24時間乾燥後に粉碎し分析に供しており、試料の調製段階ですでに加熱されている。しかし、乾草については前述したように1規定塩酸抽出によるCu及びZnの抽出率が高いことから、熱変性が起こる要因として温度、被熱時間とともに水分が関与するものと推察され、いわゆる“蒸れ”の状態にあってこのような現象が生ずるものと考えられた。

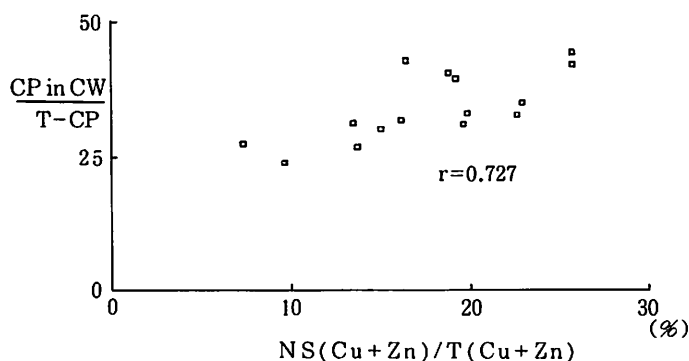


図-1 1規定塩酸不溶Cu, ZnとCW中CPの関係

農家サイレージでは30~50°Cの温度上昇は珍しいことではない¹⁰⁾ことから、サイレージ試料中のCu及びZnを原子吸光法で定量する際、1規定塩酸抽出法を用いて前処理を行うことは不適當と考えられた。また、牧草中のCu及びZnの1規定塩酸不溶化と温度、水分、被熱時間等の関係をさらに検討する必要がある。

IV 要 約

県内の農家から収集した牧草サイレージ及び乾草について、それぞれ湿式灰化法及び1規定塩酸抽出法の2種類の前処理を行い、原子吸光法により、Cu, Zn, Mn, Mgの4元素を定量し、分析精度の検討を行った。その結果は次のとおりである。

1. Mn, Mgでは乾草及びサイレージ試料とも97%以上の高い抽出率を示し、変動係数は3%以下で、乾草試料とサイレージ試料の平均抽出率の間には有意差は認められなかった。
2. Cu, Znでは、牧草サイレージ試料の平均抽出率が乾草試料に比べ有意 ($P < 0.01$) に低い値を示した。特にCuについては、変動係数が34.2%と著しく高く、大きなバラツキを示した。
3. サイレージ貯蔵中の発熱による蛋白質の熱変性が、Cu及びZnの1規定塩酸不溶化と関係する可能性が示唆された。
4. サイレージ試料中のCu及びZnを原子吸光法で定量する際、1規定塩酸抽出法を用いて前処理を行うことは不適當と考えられた。

V 文 献

- 1) 川島良治、ミネラルの重要性と疾病、臨床獣医、8.19-23、1990
- 2) 農林水産技術会議事務局、草地におけるミネラルの分布と動態に関する研究、研究成果106、1978
- 3) 農林水産技術会議事務局、土壌-植物-家畜系における微量元素の動態解明に関する研究、研究成果196、1988
- 4) 久米新一、乳牛におけるミネラルの重要性、臨床獣医、8.24-29、1990
- 5) Shinichi KUME., et al, Effect of Environmental Temperature on Trace Element Metabolism of Cows during Feeding and Fasting, Jpn. J. Zootech. Sci., 57 (8) : 687-693, 1986
- 6) 作物分析法委員会、栄養診断のための栽培植物分析測定法、養賢堂、39~44、1976
- 7) _____、61、1976
- 8) 串崎光男、原子吸光分光分析に植物試料抽出法を併用したMn, Cu, Zn, Mg定量の簡易迅速化、土肥誌、39、489、1968
- 9) 阿部亮、炭水化物を中心とした飼料分析法とその飼料栄養価評価法への応用、畜産試験場研究資料第2号、1988
- 10) 吉野昭夫、八重山地方における各種土壌群の肥沃度と牧草の無機成分組成、沖繩畜産、22、

23-24、1987

- 11) 高野信雄、これからの自給飼料戦略・サイレージ調製給与の理論と展開、日本草地協会、21～31、1984
- 12) 的場輝佳、加工保蔵工程における食品タンパク質の化学変化、化学総説43食品と化学、日本化学会、107～118、1984
- 13) 吉田則人、高野信雄、最新サイレージ、デーリィマン社、155～158、1989
- 14) 杉本亘之、異常サイレージとサイレージ給与に関連する家畜の病気の問題(1)、畜産の研究、39(5)、1077-1082、1985
- 15) 松岡栄 外3名、好氣的変敗の程度が異なる牧草サイレージの飼料価値、日畜会報、53(12)、786-791、1982
- 16) 古川良子 外3名、トウモロコシサイレージ貯蔵中の褐変による品質低下、日草誌、30(3)、291-296、1984
- 17) 藤田裕、牧草サイレージの栄養価をめぐる最近の諸問題、日畜会報、55(12)、903-910、1984
- 18) 阿部亮 外2名、酵素分析と化学分析の組合わせに基づく飼料成分の表示2、畜試研報、35、101-115、1979