

最近の飼料作物の栄養評価に関する研究の動向

農研機構 畜産研究部門

永西 修

1. はじめに

飼料作物の飼料成分や栄養価は、品種、生育時期、施肥、気象条件、調製・加工法などによって大きく変動する。一方で、牛への粗飼料給与では栄養素の供給に加えて、物理性の確保が重要である。輸入飼料価格の高騰を背景に、自給飼料生産への取組みが加速しており、従来の牧草や飼料作物生産に加えて、飼料用イネやイアーコーンなどの国産濃厚飼料生産が注目されている。牛が必要とする栄養量を過不足なく給与することは飼料費の節減に結びつくほか、生産性の向上や健康に飼育する上でも重要な意味を持つ。また、家畜排せつ物の低減といった環境負荷面への貢献が期待できる。そのため、事前に飼料特性を正確に把握し、それに基づく飼料設計を行うことが牛を合理的に飼養するために不可欠である。一方、牛の栄養管理技術の進展により分析項目が増えるとともに、新たな分析機器が開発されている。本稿では、飼料作物を対象に最近の栄養評価法に関する研究成果を紹介する。

2. 炭水化物

飼料の炭水化物画分を図1に示した。炭水化物は非繊維性炭水化物 (NFC) と繊維性炭水化物に大別でき、牛にとっての主要なエネルギー源である。飼料の炭水化物は多くの構成成分からなり、化学的性質や有効性が異なる。一般的に NFC の消化率は中性デタージェント繊維 (NDF) よりも高い。NDF はヘミセルロース、セルロースおよびリグニンからなる。ヘミセルロースとリグニン、セルロースとリグニンの間に化学結合を有し、リグニンの型、炭水化物の種類および結合の位置により牛での利用性は異なる。有機酸は正確には炭水化物ではないが、脂質やタンパク質よりも炭水化物と関連性が深いことから NFC に含めている。

細胞内容物			細胞壁構成成分				
非繊維性炭水化物 (NFC)			繊維性炭水化物 (NDF)				
有機酸	単糖・二糖類・多糖類	デンプン	β-グルカン	ペクチン ガラクトース	ヘミセルロース	セルロース	リグニン

図1 飼料の炭水化物画分

1) 中性デタージェント繊維 (NDFom)

飼料作物の主成分は繊維で、NDF 分析は飼料の総繊維含量を測定する方法として広く用

いられている。本来 NDF 分析は粗飼料を対象に考案されたものであるため、濃厚飼料や製造副産物といったデンプンやタンパク質を多く含む飼料ではそれらの除去が不十分で NDF 含量が過大に評価される問題があった。そのため、デンプン除去として耐熱性 α -アミラーゼ、タンパク質除去として亜硫酸ナトリウムの使用が提案されている。なお、亜硫酸ナトリウムを用いたからといって全てのタンパク質が除去できるわけではないことに留意する。

NDF で灰分を含まないものを NDFom、灰分を含むものを NDF と記載し、耐熱性 α -アミラーゼを用いてデンプン除去を実施している場合には、aNDFom と記載する。また、亜硫酸ナトリウム使用の有無についても記載すべきである。

ここでは、耐熱性 α -アミラーゼを用いた NDF 分析法を記載する。基本的な手法は AOAC Official Method 2002.04 に記載されている。ビーカーを用いた分析手順は以下のとおりである。なお、Hiraoka ら (2012) は α -アミラーゼの添加法に関する検討を行なっている。

試薬

中性デタージェント溶液：エチレンジアミン四酢酸二水素ナトリウム・二水和物 18.6g、四ホウ酸ナトリウム・十水和物 6.8g、リン酸水素二ナトリウム 4.6g、n-ドデシル硫酸ナトリウム 30.0g、トリエチレングリコール 10ml に蒸留水を加えて 1L にメスアップする。NDS 溶液の pH は 6.95～7.05 であるか確認し、必要に応じて塩酸または水酸化ナトリウム溶液で pH を調整する。

測定

a) トールビーカーにサンプル 0.5g を量る (W1)。

*亜硫酸ナトリウムを用いる場合は、1 サンプル当たり亜硫酸ナトリウム 0.5g をトールビーカーに量って使用するが、吸湿により固まることから測定する直前に入れるようにする。あるいは中性デタージェント溶液に 1 サンプルあたり 0.5g となるように亜硫酸ナトリウムを溶解して使用する。

*粗脂肪含量が 5%以上含まれるサンプルはアセトンによる脱脂処理を行なう方が良い。10%以上のサンプルは必ず脱脂処理を行なう。ガラスフィルターにアセトン 40ml を入れ、サンプルを攪拌しろ過する。この操作を 2～3 度繰り返し、アセトン臭が無くなるまで風乾したものを ND 溶液でトールビーカーに移す。

b) ND 溶液 50ml を加え、沸騰後 1 時間煮沸する。ビーカー壁にサンプルが付着した場合は最小量の ND 溶液で洗い流すと良い。

*耐熱性 α -アミラーゼの添加法を以下に記載した。

c) 煮沸後、ガラスフィルター (40～60 μ m) をろ過し (軽く吸引しながら)、熱水で十分に洗浄する。

*熱水の取り扱いには十分に注意する。その他の分析でも同様である。

d) アセトンを加え脂質を除去する。通常は 2 回程度行う。

e)十分にアセトンを飛散させた後、135℃で 2 時間あるいは 105℃で 3 時間乾燥し重量を

測定する (W2)。

f) 500℃に設定したマッフルで 2 時間灰化し、重量を測定する (W3)。

$$\text{NDFom} = (\text{W2} - \text{W3}) / \text{W1} \times 100$$

耐熱性 α -アミラーゼの添加法

耐熱性 α -アミラーゼは、Termamyl 120 (Novozyme 社) を用いる。なお、Sigma-Aldrich 社の耐熱性 α -アミラーゼ A3403 と同一のものである。1unit は pH6.9 で 20℃、3 分間で 1.0mg のマルトースをデンプンから遊離する。耐熱性 α -アミラーゼの添加量については、活性に応じて添加量が異なるため、分析前に添加量をヨウ素反応により決定する必要がある。

耐熱性 α -アミラーゼを蒸留水で 10 倍希釈し、冷蔵庫で保管する。Hiraoka ら (2012) によると、 α -アミラーゼの添加のタイミングは煮沸後直ぐ、1 時間の煮沸が終了する直前の 2 回を推奨している。また、残さは熱水で洗浄するが、デンプンの除去が十分ではない場合には、さらに耐熱性 α -アミラーゼを使用してデンプンの除去を実施する。

ヨウ素反応はヨウ素 1g、ヨウ化カリウム 2g を蒸留水 100ml に溶解し、褐色瓶に入れて保管する。なお、ヨウ素は劇薬であるため取り扱い・保管には注意する。

2) 酸性デタージェント繊維 (ADFom) および酸性デタージェントリグニン (ADL)

基本的な手法は AOAC Official Method 973.18 に記載されている。NDF 同様に灰分を含まない酸性デタージェントを ADFom と記載する。硫酸の取り扱いには十分注意するとともにゴーグル (めがね) や手袋は必ず着用し安全対策を施す。その他の分析も同様である。

試薬

72%硫酸：濃硫酸 1200g を蒸留水 440ml に加え冷却し、比重が 1,634g/L (20℃) となるように水または濃硫酸を加えて比重を調節する。

酸性デタージェント溶液 (AD 溶液)：臭化セチルトリメチルアンモニウム 20 g を 0.5 モル硫酸 1L に溶解する。0.5 モル硫酸は、98%濃硫酸を 18 モルとすると、蒸留水：98%硫酸を容積比で 35：1 に混合して作成する。

測定

酸性デタージェント繊維 (ADFom)

a) ガラスフィルター (40~60 μ m) の重量を量る (W1)。通風乾燥機を用い 105℃で 3 時間以上乾燥させる。

b) トールビーカーにサンプル約 1g を量る (W2)。

c) AD 溶液 100ml を加え、煮沸台で 1 時間煮沸する。

d) 煮沸後ガラスフィルターでろ過し (軽く吸引しながら)、熱水で十分に洗浄する。

e) アセトンを加え脂質を除去する。通常は 2 回程度行う。

f) 十分にアセトンを飛散させた後、135℃で 2 時間あるいは 105℃で 3 時間乾燥し重量を測定する (W3)。

酸性デタージェントリグニン

a) ガラスフィルターを 50ml 容のビーカーに入れる。

- b) 72%硫酸をサンプル全体が浸るまで入れる。72%硫酸の温度は15℃にする。
- c) 1時間ごとにサンプルを緩やかにかき混ぜる。72%硫酸の温度は20～23℃の範囲にあることが望ましい。
- d) ビーカーの底に溜まった硫酸を（スポイトなどで）ガラスフィルター内に戻す。
- e) 3時間経過後、熱水でサンプルを十分に洗浄する。硫酸が残っているかをリトマス試験紙などで確認すると良い。
- f) 100℃に設定した通風乾燥機で1時間乾燥させ、重量を測定する（W4）。
- g) 500℃に設定したマッフルで2時間灰化し、重量を測定する（W5）。

$$ADF_{om} = 100 \times (W3 - W5) / W2$$

$$ADL = 100 \times (W4 - W5) / W2$$

$$ADF \text{ 中の灰分} = 100 \times (W5 - W1)$$

3) デンプン

デンプンの測定は煮沸水中で80%エタノールにより低分子の糖を除去し、デンプンの抽出や加水分解を行なう前に糊化、可溶化を行なう必要がある。その中で、デンプン分析では酵素による不完全な溶解性や可触性が重要な課題である。デンプン分析法はAOAC920.40に記載されていたが、アミログルコシダーゼのRhozyme Sの販売が中止されたため、新たな分析法の開発が必要となっていた。そのため、McClearyら(1994)やHall(2015)らの飼料デンプン含量の測定法（AOAC Official Method 2014.10）が開発された。

分析サンプルは0.5～1.0mmのスクリーンを通過、カッティングミルの場合は0.5mmのスクリーンが通過できるよう粉砕する。デンプン含量の測定では、その処理過程で分析サンプルが酵素（α-アミラーゼ、アミログルコシターゼ）処理を受ける必要がある。一般分析では1mmのスクリーンを通過できるように粉砕をするが、デンプンの測定では不十分な酵素処理とならないよう0.5mmのスクリーンを通過できる粒度への粉砕が必要と思われる。

デンプンの簡易測定キット（Megazyme Total starch kit）が販売されている。詳細は添付のマニュアル（Assays per Kit）を参考にしたいが、分析操作の概要は図2のとおりである。

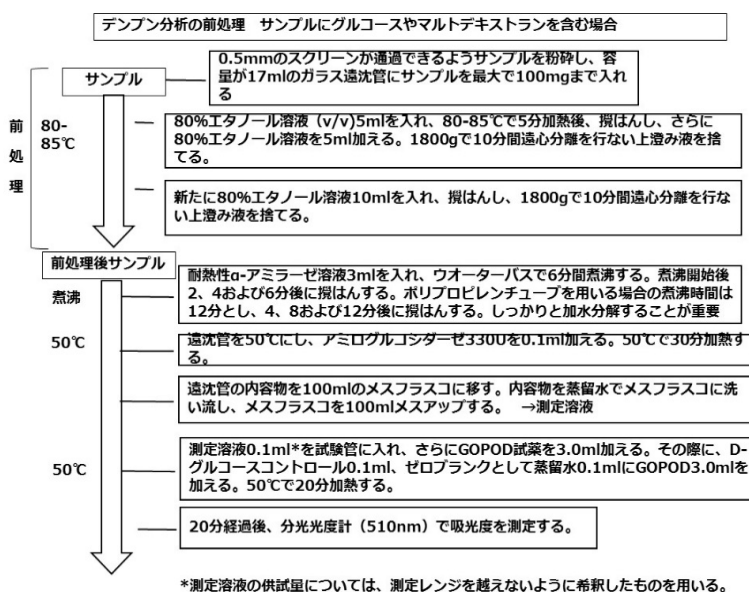


図 2. デンプン分析の手順（一例）

3. タンパク質（窒素）

飼料の窒素含量の測定法としては、ケルダール法 (Kjeldahl) と燃焼法 (Dumas) がある。燃焼法でのサンプル量は 20～500mg と少ないことから、サンプルを細かく粉碎し測定によるバラツキを小さくするほか、消耗品の交換頻度を抑えるために乾燥したサンプルを用いることが望ましい。燃焼法で測定した窒素含量はケルダール法より若干高い。これは燃焼法では硫酸で分解が困難な硝酸や有機化合物を含むからである (Lakin 1978; Petterson ら 1999)。また、Strong and Duarte (1992) は簡易かつ迅速なタンパク質測定法としてビューレット法を提案している

飼料の窒素画分を図 3 に示した。第一胃内での溶解性や分解性にに基づきいくつかに分画できる。酸性デタージェント不溶窒素は結合性窒素とも呼ばれ、第一胃微生物の利用性が低い。

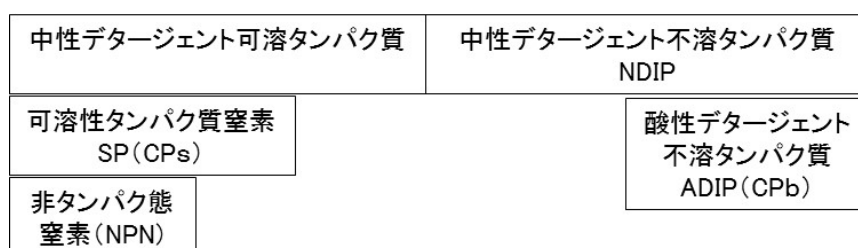


図 3 飼料の窒素画分

1) 中性デタージェント不溶タンパク質および酸性デタージェント不溶窒素タンパク質

NDFom および ADFom を測定したあとの残さの窒素含量を求める。ガラスフィルターで NDFom や ADFom を測定した場合は、ガラスろ過板に付着した残さを回収する。また、ろ紙やフィルターバックを用いて NDFom や ADFom を測定した場合は、ろ紙ごとあるいはフィルターバックごとケルダールチューブに入れケルダール法で窒素含量を測定する。その際には、ブランクとして空のフィルターバックを用いる。また、燃焼式窒素測定装置 (NC レコーダー) で窒素含量を測定する場合は、残さの一部を NC レコーダーにセットし窒素含量を測定する。その際には残さの水分含量を求め、乾物当たりの含量に補正する必要がある。

2) 可溶性タンパク質（溶解性タンパク質） Krishnamoorthy ら (1982)

リン酸ホウ酸緩衝液 (pH6.8) を調整する。サンプル 0.5g を 50ml 容の容器に量り、緩衝液 50ml を加えて 1 時間 38℃ で攪はんする。攪はん後にろ紙でろ過し、最初の洗浄は緩衝液で行ない、続いて蒸留水で洗浄する。残さの窒素含量を測定する。

リン酸 2 水素ナトリウム・1 水和物 12.2g と四ホウ酸ナトリウム・10 水和物 8.91g を蒸留水 1L に溶解する。

タンパク質の溶解性は pH との関係性を調べた報告 (De Jonge ら 2009) によると、pH の低い緩衝液 (pH5.0) を使った場合にはほとんどの飼料で低下することが知られている。

3) 非タンパク態窒素

トリクロロ酢酸を蒸留水 1L に 400g 溶解したトリクロロ酢酸溶液を作成する。トリクロ

ロ酢酸溶液 2ml を溶解性タンパク質の測定に用いたろ液（例えば 25ml）に加え攪はんして 10 分間放置する。3000g で 10 分間（20℃）遠心分離を行ない沈殿物の窒素含量を測定する。溶解性窒素から沈殿に含まれる窒素を引き算したものが非タンパク態窒素含量である。

残さの窒素含量 - 沈殿の窒素含量 = 非タンパク態窒素含量
残さの窒素含量 = (ろ液の量 (ml) / 50ml) × 沈殿の窒素含量 (%) / サンプル重量(g) × 100

4. 飼料の物理性

乳牛では飼料摂取量 (Clark and Davis 1980)、咀嚼行動 (Bailey and Balch 1961)、乳脂肪 (Van Soest 1963)、ルーメン発酵 (Carruthers ら (1997)) を正常に保つために物理性が求められる。繊維の物理性を評価するための多くの試みが行われてきた。eNDF (effective NDF) の概念は適正な乳脂肪生産が維持するための粗飼料の全般的な能力である。また、peNDF (physical effective NDF) は、咀嚼行動などを起こす物理的な繊維の特性に基づく指標である。Mertens (1997) は乳牛の第一胃内の平均 pH を 6 とするためには、乾物 1kg 当たり 220g の peNDF、少なくとも乳脂肪が 3.4% を維持するためには 200g の peNDF が必要であるとしている。牛を用いた飼料の物理性の測定は労力や時間がかかるため、日常的な測定法にするには困難である。そのため Lammers ら (1996) は粗飼料の粒度分布をスクリーン (19mm、8mm、1.18mm) で篩い分けするパーティクルセパレーター (PSPS、ペンシルバニア大学) を考案した (2002 モデル)。その後、2013 年モデルでは 4mm のスクリーンが追加され現在に至っている。スクリーンのサイズでルーメンマットの形成や咀嚼、消化性などに違いがある。また、Paul and Mika (1981) や De Boeve ら (1993) は、飼料の物理性として粉砕抵抗力を反すうや咀嚼と見なした粗飼料の構造的な特性に基づく指標を提案している。このほか、第一胃内での粗飼料の分解の程度や速度を測定する方法として、ポリエステルバックやガス培養試験による方法が提案されている。

1) 粉砕抵抗性

乾燥サンプル 200g を約 5cm に細切するために必要な電気量を測定する。さらに、乾燥粗飼料 100g を 5mm のスクリーンが通過できるように粉砕するための電気量を測定する。電気量の測定に用いた細切機や粉砕機のメーカーが記載されている。

2) 保水力 (Ramansin ら 1994)

乾燥サンプル 5g を予め重量を測定した 50ml の遠沈管に量る。少量の蒸留水を乾燥サンプルに加え、2000g で 10 分間遠心分離を行なう。上澄み液を捨てた後に遠沈管の重量を量る。

$$((\text{遠沈管の重量} + \text{沈殿物}) - (\text{遠沈管の重量} + 5)) \div 5$$

5. 飼料の第一胃内分解率の測定

1) ポリエステルバックによる第一胃分解性の測定

Dohme らの方法 ポリエステルバックを同時にフィステルに投入

ポリエステルバック（10×20cm、53μm）に乾燥した粗飼料（4mmのスクリーンが通過できるよう粉碎したもの）を乾物で5g入れる。また、フィステル牛には粗飼料を主体とした飼料を朝夕方の2回に分けて給与し、飼料への馴致を行う。全てのポリエステルバックを第一胃内へ投入する前に39℃の流水に15分間浸ける。これは、第一胃内に投入した際に生じる飼料分解のラグタイムを抑えるためである。第一胃内への投入時間は0（非投入）、3、6、12、24、48および96時間とし、ポリエステルバックを取り出した後は直ぐに氷水に5分間浸け、その後は流水で十分に洗浄する。洗浄後にポリエステルバックを60℃で48時間乾燥し計量する。各時間当たりのポリエステルバックの反復は3以上とする。

Yuらの方法 ポリエステルバックを同時に取り出し

ポリエステルバック（10×20cm、53μm）に乾燥した粗飼料（27.8mg/cm²）となるように量る。ポリエステルバックの培養時間は2、4、8、12、24、48および72時間で、取り出しは一斉に行い、取り出し時間から第一胃内に投入する時間を逆算する。ポリエステルバックを第一胃内から取り出し後、冷水で洗浄し微生物の活性を止め、手で洗浄を行なう。第一胃に投入しない0時間のポリエステルバックも同様の処理を行なう。洗浄後、55℃で24時間乾燥し重量を測定する。ポリエステルバック内の残さを1mmのスクリーンが通過できるよう粉碎し、有機物やCPの分析に用いる。

$$\text{有機物：残さの(\%)} = C + (100 - A - C) \times e^{-Kd \times (t - T_0)}$$

$$\text{粗タンパク質：残さの(\%)} = C + (100 - A - C) \times e^{-Kd \times t}$$

粗タンパク質ではラグタイム(T₀)を0として計算する(Orskov and McDonald 1979)

$$\text{第一胃内で分解するCPの割合(RDP\%)} = A + (B \times Kd) / (Kd + Kp)$$

なお、K_pは4%/hを用いる(Tammingaら1994)

$$\text{第一胃内で分解する有機物の割合(ROMD\%)} = A + (B \times Kd) / (Kd + Kp)$$

同様に粗飼料でもK_pを4%/hとして求める。

6. ガス培養試験法

インビトロ法による飼料の分解率の測定は飼料の栄養的価値を測定する方法として使われている。ガス培養試験法はMenkeら(1979)によって提案され、100mlの注射筒にサンプルを0.2g入れ、人工培養液50mlを加えて39℃の恒温器内で培養し、ガスの発生量の推移注射筒の目盛りを読んで調べるものである。近年では、注射筒を使わずに培養瓶を用い、圧力計でガス発生量を求める方法が提案されている(Coneら1996)。Muetzelら(2014)はMcDougall緩衝液とMould緩衝液で培養液の短鎖脂肪酸濃度を測定しており、McDougall緩衝液を用いた場合に、吉草酸、カプロン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸の割合が高いことを報告している(Muetzelら2014)。

Muetzel(2014)の緩衝液

リン酸二水素カリウム (KH₂PO₄) : 6.0mM (0.816g/L)、リン酸水素二ナトリウム (Na₂HPO₄) : 9.6mM (1.363g/L)、塩化マグネシウム (MgCl₂) : 0.5mM (0.048g/L)、炭酸水

素ナトリウム (NaHCO_3) : 64.5mM (5.417g/L)、炭酸水素アンモニウム (NH_4HCO_3) : 17.8mM (1.407g/L)、これらの緩衝液を 2.5L に二酸化炭素を用いて嫌気性を保ち、水酸化ナトリウム (NaOH) : 2.5mM (0.1g/L)、L-シスチン塩酸塩 2.5mM (0.439g/L) を加える。

7. 脂肪酸

乳や畜産物は必須脂肪酸やビタミンの供給源として重要である。一般に乳中の飽和脂肪酸は 70~75% で、第一胃内微生物の水素添加により高い割合を示す。また、生乳では 1 価の不飽和脂肪酸が 20~25%、多価不飽和脂肪酸は 5% である。育種改良あるいは栄養管理による脂肪含量や脂肪酸組成の制御は酪農業にとっても感心が高い。多くの総説において乳脂肪酸組成は生草やサイレージの給与により変化することが示されている。ドライアイス、 -20°C での凍結および 4°C での保存したサンプルの脂肪酸組成は予乾サンプルより、C16:0 が高いとの報告があり (Arvidsson ら 2009)、分析サンプルの調整は留意する必要がある。また、予乾やサイレージなどの調製法と乳中脂肪酸組成との関係に関する総説がある (Dewhurst ら 2006)。また、脂肪酸組成の測定は、サンプルから総脂質を抽出し、誘導体化により脂肪酸メチルとしガスクロマトグラフで分析する。脂肪酸組成の分析法については、多くの文献があるのでそれらを参考にしてほしい。

8. 微量ミネラル

健康促進のための栄養素を供給する新たな乳製品としての期待がある。乳には主要あるいは微量栄養素が含まれ、250ml 摂取することで成人が一日に必要な量を補うことができる。そのため、乳および乳製品に含まれる栄養素をヒトの要求量に従い強化する検討が行なわれている。乳成分を操作する手法としては第一胃内微生物、遺伝および飼料給与面での対応がある。特に乳中のセレン、ヨウ素、鉄、コバルト、葉酸およびカルシウム濃度を高めることが望ましいと考えられている (Knowles ら 2006)。乳への移行可能な程度は、動物の栄養状態、処理、乳腺組織での乳への移行能などにより影響を受けるが、銅、マンガン、亜鉛は採食量による影響が大きい。一方、セレンやヨウ素は消化管の細胞膜を透過し易いことが知られている。飼料への添加による乳への移行の応答性は、セレン~ヨウ素 > 亜鉛~銅 > カルシウム~鉄 > マンガンと考えられている (Knowles ら 2006)。微量ミネラルの強化は牛乳の差別化の一方策と考えられるかも知れない。

9. おわりに

本稿では飼料作物を中心に栄養評価に関する分析法を記載した。牛の飼料設計の基礎となる栄養成分の分析に加えて、ルーメン性状の安定や家畜の健康に繋がる機能成分など分析が果たす役割は多様で拡大すると考えられる。飼料作物の高度利用を図るためには、含有する機能性成分などを検出し、それを最大活用できる給与技術の開発が求められる。そのためには、分析分野と家畜飼養分野との更なる連携強化が必要である。

引用文献

- Arvidsson K. Gustavsson A.-M. Martomsspm K. (2009) Fatty acids in forage: A comparison of different pre-treatments prior to analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151:143-152.
- Bailey C.B. and Balch C.C. (1961) The effect of absorption on the acidity of rumen contents. 2. Composition and rate of secretion of mixed saliva in cow during rest. *Br. J. Nutr.* 15:383-402.
- Carruthers V.R. Neil P.G. Dalley D.E. (1997) Effect of altering the non-structural: structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. *Anim. Sci.* 64:393-402.
- Clark J.H. and Davis C.L. (1980) Some aspects of feeding high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63:873-885.
- De Boeve J.L. De Smet A. De Brabamder D.L. Boucque C.V. (1993) Evaluation of physical structure. 1. Grass silage. *J. Dairy Sci.* 76:140-153.
- De Jonge L.H. Spek J.W. Van Laar H. Dijkstra J. (2009) Effects of pH, temperature and osmolality on the level and composition of soluble N feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153:249-262.
- Dewhurst R.J. SAingfield K.J. Lee M.R.F. Scollan N.D. (2006) Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:168-206.
- Dohme F. Graf C.M. Arrigo Y. Wyss U. Kreuzer M. (2007) Effect of botanical characteristics, growth stage and method of conservation on factors related to the physical structure of forage – An attempt towards a better understanding of the effectiveness of fibre in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 138:205-227.
- Hall M.B. (2015) Determination of dietary starch in animal feeds and pet food by an enzymatic-colorimetric method: collaborative study. *J. AOAC Int.* 98:397-409.
- Hiraoka H. Fukunaka R. Ishikuro E. Enishi O. Goto T. (2012) Improvement and validation of the method to determine neutral detergent fiber in feed. *Anim. Sci. J.* 83:690-695.
- Knowles S.O. Grace N.D. Knight T.W. McNabb W.C. Lee J. (2006) Reason and means for manipulating the micronutrient composition of milk from grazing dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:154-167.
- Krishnamoorthy U.V. Muscato T.V. Sniffen C.J. Van Soest P.J. (1982) Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 65:217-225.
- Lakin, A.L. (1978) Determination of nitrogen and estimation of protein in foods. In R.D. King, ed. *Developments in Food Analysis Techniques*. Applied Science Publishers, London. Vol 1, pp. 43-74.
- Lammers B.P. Buchmaster D.R. Heinchs A.J. (1996) A simple method for the analysis of particle

- sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79:922-928.
- McCleary B.V. Gibson T.S. Solah V. Mugford D.C. (1994) Total starch measurement in cereal products: Interlaboratory evaluation of a rapid enzymic test procedure. *Cereal Chem.* 71:501-505.
- Megazyme (2011) Total starch assay procedure.
- Menke A. Raab L. Salewski, A. Steingass H. Fritz D. Schneider W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci.* 93: 217–222.
- Mould F.L. Morgan R., Kliem K.E. Krystallidou E. (2005) A review and simplification of the *in vitro* incubation medium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123:155–172.
- Mertens D.R. (1997) Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463-1481.
- Orskov E.R. and McDonald I (1979) Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92:499-503.
- Paul C. and Mika V. (1981) Measurements of milling resistance in roughages. II. Relationships between milling resistance and forage quality parameters. *Landbauforsch. Volkenrode* 31:163-169.
- Petterson, D.S. Harris, D.J. Rayner, C.J. Blakeney, A.B. and Choct, M. (1999) Methods for the analysis of premium livestock grains. *Aust. J. Agri. Res.* 50: 775–787.
- Ramanzin M. Bailoni L. Bittante G. (1994) Solubility, water-holding capacity, and gravity of different concentrates. *J. Dairy Sci.* 77:774-781.
- Strong, F.C. III and Duarte, A.M.A. (1992) A room-temperature, rapid method for the determination of protein in wheat and other grains by the biuret reaction. *Cereal Chem.* 69: 659–664.
- Tamminga S. Van Straalen, W.M. Subnel A.P.J. Meijer R.M.G. Steg A. Wever C.J.G. Blok M.C. (1994) The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB system. *Livest. Prod. Sci.* 40: 139–155.
- Van Soest P.J. (1963) Ruminant of fat metabolism with particular reference to factors affecting low milk fat and feed efficiency. *J. Dairy Sci.* 46:204-216.
- Yu P.A. Egan R. Leury B.J. (1999) *In sacco* evaluation of rumen protein degradation characteristics and *in vitro* enzyme digestibility of dry roasted whole lupin seeds (*lupines albus*.) *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 12:358-365.

平成28年度 自給飼料利用研究会 資料

編集・発行 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門
企画管理部 那須企画管理室 企画連携チーム
Tel. 0287-37-7005 Fax. 0287-36-6629
〒329-2793 栃木県那須塩原市千本松 768 番地

発行日 平成28年12月5日
印刷所 株式会社 近代工房 Tel. 0287-29-2223

本資料より転載・複製する場合は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構の許可を得て下さい。