

くず大豆の飼料成分とサイレージ発酵特性、タンパク質画分

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): Chemical composition, Protein fraction, Silage fermentation, Soybean waste, Total mixed ration. 作成者: 河本, 英憲, 増田, 隆晴 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001265

くず大豆の飼料成分とサイレージ発酵特性、タンパク質画分

河本 英憲*¹⁾・増田 隆晴*²⁾

抄 録：大豆の選別課程で発生する残渣「くず大豆」の飼料成分およびサイレージ発酵特性、タンパク質画分を明らかにすると共に、混合飼料（TMR）に配合して発酵させた場合の飼料成分や発酵品質に及ぼす影響を大豆粕と比較した。供試くず大豆は、不良子実が大部分を占め、茎や莢などの夾雑物の混入が5.4%認められた。くず大豆の粗タンパク質と粗脂肪、中性デタージェント繊維含量は、それぞれ39.2%と18.2%、20.0%（乾物中）であった。くず大豆を水に1時間浸漬後、実験室規模のサイレージに調製したところ、乳酸菌製剤添加の有無に関わらず乳酸発酵が優占する良好な発酵品質であった。一方、乳酸菌製剤添加区は無添加区と比べて粗タンパク質中の溶解性と分解性画分が高かった（それぞれ $P<0.01$ と $P<0.05$ ）。また、くず大豆または大豆粕を乾物比で4.1%配合した発酵TMRを調製して比較すると、いずれも良好な発酵品質であったが、くず大豆区の粗脂肪含量と粗タンパク質中の溶解性画分割合は大豆粕区よりも高かった（ $P<0.01$ ）。

キーワード：くず大豆、飼料成分、サイレージ、タンパク質画分、混合飼料

Chemical Composition, Silage Fermentation, and Protein Fraction of Soybean Waste : Hidenori KAWAMOTO*¹⁾ and Takaharu MASUDA*²⁾

Abstract : The chemical composition, silage fermentation, and protein fraction of soybean waste (refuse beans) were investigated, and the influence of the addition of soybean waste to fermented total mixed ration (TMR) was also examined. The soybean waste was composed of defective seed and 5.4% plant fragments. The content of crude protein, ether extract, and neutral detergent fiber in the soybean waste was 39.2%, 18.2%, and 20.0%, respectively. The silage fermentation qualities were good, with or without lactic acid bacteria inoculation, when the soybean waste was soaked in the water for one hour while making laboratory-scale silage. The inoculation of lactic acid bacteria raised the protein solubility and degradability of the silage ($P<0.01$ and $P<0.05$, respectively). The fermentation quality of TMR to which the soybean waste was added (4.1% of dry matter) was good. The fermentation TMR including soybean waste had a higher ether extract content and soluble protein fraction than those of fermentation TMR to which soybean meal was added at the same quantity ($P<0.01$).

Key Words : Chemical composition, Protein fraction, Silage fermentation, Soybean waste, Total mixed ration.

I 緒 言

大豆の選別課程で発生する残渣「くず大豆」は、主に肥料用途に無償または安価で引き取られているが、一部は飼料としても利用されている。くず大豆の資源量は潤沢にあるとはいえないが、岩手県を例にとれば、奥州市のような転作組合による大豆作付面積が拡大基調にある地域では、各組合において毎

年数t程度は発生すると見積られる。よって、安価な利点を活かしつつ、地域飼料資源として効率よく利活用すべきであろう。

くず大豆は全粒であるため、飼料として利用するためには消化性を改善する加工が必要である。このため、くず大豆を利用する畜産農家では、粉碎して給与する場合もあるが、吸水膨潤させて給与することが最も簡便・低コストな方法として用いられてい

* 1) 農研機構 東北農業研究センター (NARO Tohoku Agricultural Research Center, Morioka, Iwate 020-0198, Japan)

* 2) 岩手県農業研究センター畜産研究所 (Iwate Agricultural Research Center Animal Industry Research Institute, Takizawa, Iwate-gun, Iwate 020-0173, Japan)

2012年10月19日受付、2013年1月15日受理

る。吸水膨潤（時として煮沸）した大豆は保存性が劣るため、毎日の作業が必要となり、手間をかけざるを得ない。この吸水膨潤処理に保存性を付与する方策として、吸水させたくず大豆を密封してサイレージに調製することが考えられる。そして、くず大豆のサイレージ調製を地域の混合飼料（TMR）センターにおける発酵TMR調製行程に組み込むことができれば、効率的にくず大豆の利活用を図る事ができると考えられる。しかし、くず大豆の飼料利用に関しては、繁殖障害の原因となり得るホルモン様物質含量に関する報告（濱田・吉玉 2003）があるものの、その飼料成分含量に関しては標準飼料成分表2009年版（農業・食品産業技術総合研究機構2010）にも記載されておらず、不明な点が多い。同様に、そのサイレージ適性に関しても不明である。また、大豆や大豆粕の飼料利用において、そのタンパク質がルーメンで急速に分解してしまうことが知られており、加熱処理による分解抑制方策が盛んに研究されていることから（Mielke・Schinquoethe 1981、Faldet *et al.* 1991、McNiven *et al.* 1994）、くず大豆のタンパク質においても、その溶解性や分解性などの質的な特性を把握することが重要であると考えられる。そこで、本研究では、くず大豆の一般飼料成分およびサイレージ発酵特性と粗タンパク質中の溶解性、分解性、結合性画分の割合を明らかにすると共に、TMRに添加して発酵TMRに調製した場合の飼料成分や発酵品質に及ぼす影響を大豆粕と比較した。

II 材料と方法

1. サイレージ材料と調製方法

1) 実験1

岩手県内のIライスセンターから入手したくず大豆（普通品種のナンブシロメとスズカリの混合、一次選別品、写真1）を供試した。くず大豆20kgをよく混合し、飼料成分分析用および夾雑物割合測定用サンプル各2kgを採取した後、実験1と2のサイレージ調製に用いた。実験1では、12kgのくず大豆をその3倍量の水（くず大豆1kgあたり3Lの水）に1時間浸漬後、水分を軽く切って300gずつ200×300mmのパウチサイロ（ポリエチレン・ナイロンの積層フィルム製袋「飛竜 KN-210」、旭化成パックス株式会社、東京）に入れ、吸気性能－500mmHgのパキュームシーラ（SQ-303、SHARP

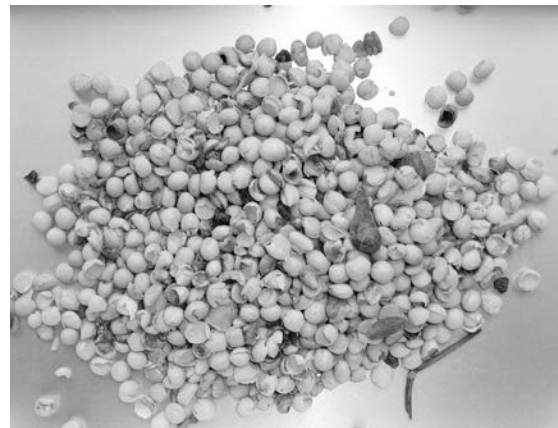


写真1 供試したくず大豆

表1 基本 TMR の構成

	乾物比率
トウモロコシサイレージ	39.1
牧草サイレージ	21.6
配合飼料 ^{a)}	38.9
重曹	0.2
塩	0.1

a) スーパーミルクイー+ハイホス+出光パワーミックス。

株式会社、大阪）で脱気して密封貯蔵した。また、密封貯蔵時に無添加区に加えて、2種類の乳酸菌製剤添加区を設定した。乳酸菌製剤添加区に用いたのは、製剤A（畜草1号、雪印種苗株式会社、札幌）と繊維分解酵素が加えられている製剤B（ニューサイプロラクトS、全国酪農業協同組合連合会、東京）の2種類で、それぞれメーカー推奨量を添加した。これらサイレージは、7、14、28、50日間の室温貯蔵（最低11.8℃、最高32.3℃）後にそれぞれ3個ずつ開封して発酵品質の経時的変化および50日貯蔵後のサイレージの飼料成分を調査した。

2) 実験2

トウモロコシサイレージ、牧草サイレージ、配合飼料等からなる基本TMR（表1）へタンパク源としてくず大豆または同量の大豆粕（市販品、フレーク）を添加した。くず大豆のTMRへの添加割合にあたっては以下の点を考慮した。マメ科植物は、過剰摂取すれば繁殖障害を引き起こす植物性エストロジェン（イソフラボノイド）を含有する（萬田・高野 1980）。特に、感染や障害などのストレスを受けたマメ科植物は、イソフラボノイドの中でも発情ホルモン様活性が高いクメステロールなどの蓄積量

が増大するため、不良子実を含むくず大豆は一般的な大豆よりもホルモン活性が高いことが指摘されている（濱田・吉玉 2003）。このため、くず大豆に限っては飼料中の割合を5%以下にすることが繁殖障害防止の観点から推奨されている（柏崎 2003）。よって、本実験ではTMR中のくず大豆の添加割合を5%以下のTMR中4.1%（乾物比）とした。すなわち、基本TMR4,795gにくず大豆205gまたは大豆粕205gを加えてよく混合して飼料成分分析用サンプル各2kgを採取したのち、300gずつ実験1と同様にフィルム製袋に入れて脱気密封した。50日間の室温貯蔵後にそれぞれ3個ずつ開封して発酵品質と飼料成分を調査した。

2. 分析方法

60℃で72時間乾燥後に1mmメッシュで粉砕したサンプルを用いて、以下に示す一般飼料成分含量を分析した。乾物率、粗タンパク質、粗脂肪、粗灰分を常法（自給飼料利用研究会 2009）で定量した。中性デタージェント繊維（NDF）、酸性デタージェント繊維（ADF）はVan Soest *et al.* (1991)の方法で定量した。ただし、NDF分析では亜硫酸ナトリウムの添加は行わず、耐熱性アミラーゼを用いてaNDFとして定量した。また、aNDFとADFは残渣灰分を除いてaNDFomとADFomとして表示した。粗タンパク質中の溶解性画分（CPs）をKrishnamoorthy *et al.* (1982)の方法で、分解性画分（CPd）をRoe *et al.* (1991)の方法で定量すると共に、酸性デタージェント繊維中の粗タンパク質を結合性画分（CPb）として定量した（自給飼料利用研究会 2009）。サイレージpHはガラス電極pHメーターで、有機酸は高速液体クロマトグラフを用いて大桃ら（1993）の方法で定量した。揮発性塩基態窒素（VBN）は、微量拡散法（自給飼料利用研究会 2009）で定量した。発酵TMRにおいては、酢酸、プロピオン酸、n酪酸含量と総窒素に占めるVBNの割合（VBN/TN）からVスコア（自給飼料利用研究会 2009）を計算し、発酵品質を評価した。

サイレージの発酵品質および飼料成分の有意差検定は、サイロを反復とした一元配置分散分析によって行った。また、有意差（ $P<0.05$ ）が認められた場合にはTukeyのステューデント化範囲検定で多重比較を行った。計算は、全てSAS Add-In 4.3 for Microsoft Office (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いて、SAS9.2のANOVAプロシジャで行った。

III 結 果

1. 実験1

供試したくず大豆は、くだけ粒、未熟粒、着色粒などの不良子実がほとんどを占めていたが、茎や莢などの明らかに子実とは異なる夾雑物の混入が原物1000gあたり53.8g認められた。供試くず大豆の一般飼料成分とタンパク質画分を表2に示した。くず大豆の飼料成分含量を大豆粕と比べると、粗タンパク質含量は低く、繊維含量は高い傾向があった。飼料成分含量の比較において、一番差が大きかったのが脂肪含量であった。当然、くず大豆は搾油後の副産物である大豆粕よりも粗脂肪含量が高かった。タンパク質画分においては、くず大豆の分解性画分は大豆粕に近似するものの、溶解性画分は大豆粕よりも高い傾向にあった。

くず大豆を水に浸漬すると急速に吸水膨潤して1時間で乾物率が41.8%に低下した。これを密封貯蔵してサイレージに調製した場合のpHおよび発酵産物の経時的变化を図1に示した。pHは、貯蔵期間を通して乳酸菌製剤添加区が無添加区と比べて低く推移した（ $P<0.05$ ）。乳酸含量は、貯蔵2週間後にピークとなり、製剤添加区が無添加区よりも高くなった（ $P<0.05$ ）。この乳酸のピーク含量においては、製剤間にも有意差が認められ（ $P<0.05$ ）、製剤A添加区の含量が製剤B添加区の含量よりも高まった。ただし、その他の貯蔵期間においては、製剤間およ

表2 供試したくず大豆、大豆粕、各混合飼料（TMR）の一般飼料成分含量（乾物中%）とタンパク質画分（粗タンパク質中%）

	くず大豆	大豆粕	くず大豆 配合TMR	大豆粕 配合TMR
乾物率	89.2	86.2	45.0	45.5
粗タンパク質	39.2	48.9	16.4	16.8
粗脂肪	18.2	2.9	5.2	4.0
粗灰分	6.1	6.7	7.7	7.6
aNDFom	20.0	14.0	39.0	37.6
ADFom	16.6	12.7	22.9	22.6
タンパク質画分				
CPs	47.9	20.2	31.4	29.0
CPd	68.8	70.7	69.7	72.0
CPb	7.8	7.2	5.5	5.5

すべてサイレージ発酵前の値。

aNDFom：中性デタージェント繊維、ADFom：酸性デタージェント繊維、CPs：溶解性画分、CPd：分解性画分、CPb：結合性画分。

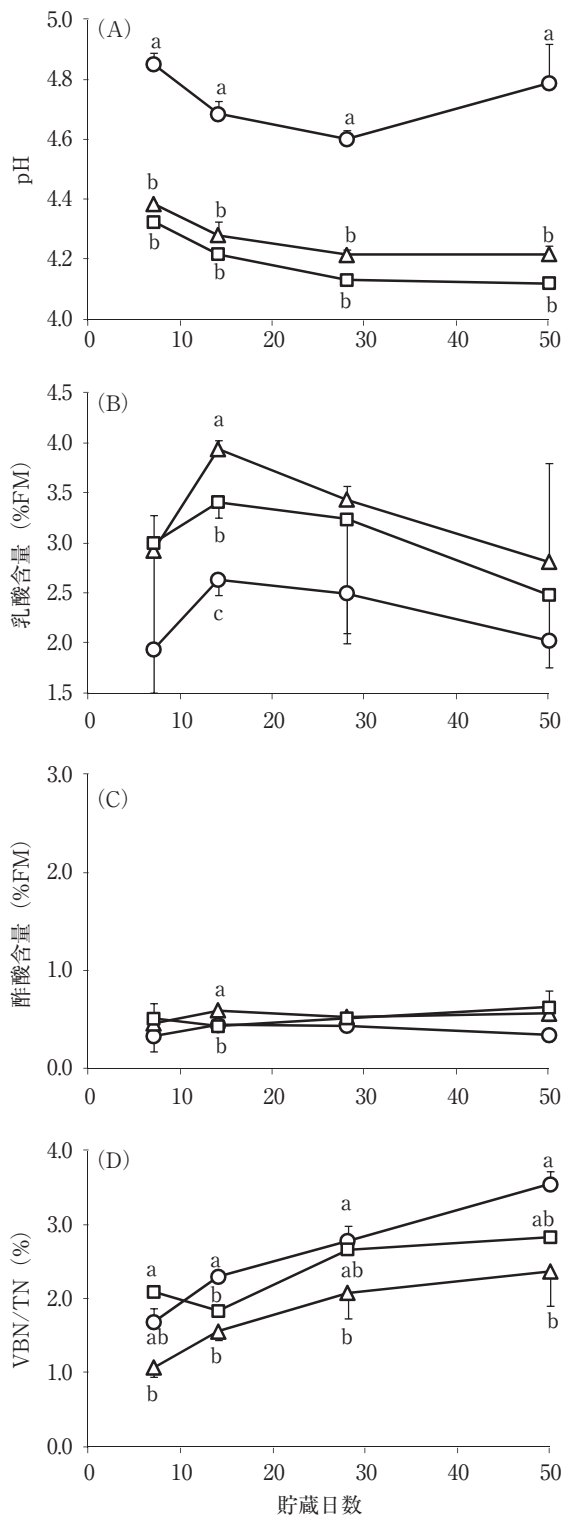


図1 くず大豆サイレージにおける (A) pH、(B) 乳酸含量、(C) 酢酸含量、(D) 総窒素 (TN) に占める揮発性塩基態窒素 (VBN) の割合の経時的変化

注. ○: 無添加区、△: 乳酸菌製剤A添加区、□: 乳酸菌製剤B添加区。
 平均値±標準偏差、各貯蔵日における異文字間に有意差有り (P<0.05)。

び製剤添加区と無添加区間に有意差は認められなかった。酢酸含量は一部で有意差がみられたものの、乳酸と比べて著しく少なく、処理区間差も小さかった。プロピオン酸は、いずれのサイレージにも検出されなかった。酪酸は、無添加区の貯蔵50日後に微量 (原物中0.06%) が検出されたのみであった。VBN/TNは、貯蔵期間に伴って増加する傾向が認められた。また、貯蔵期間を通して製剤A添加区が無添加区よりも有意に低かったが (P<0.05)、いずれの処理区も4%に満たなかった。

くず大豆サイレージの一般飼料成分含量とタンパク質画分を表3に示した。一般飼料成分には、処理区間に有意な差が認められなかったが、タンパク質の溶解性画分と分解性画分は、乳酸菌製剤添加区が無添加区と比べて有意に高かった (それぞれP<0.01とP<0.05)。

2. 実験2

発酵TMRの発酵品質を表4に示した。くず大豆区と大豆粕区の両区ともVスコアで良 (>80) と判定される良好な発酵品質であり、pH、有機酸含量、VBN/TNに有意な差は無かった。発酵TMRの一般飼料成分含量とタンパク質画分を表5に示した。くず大豆区は大豆粕区と比べて有意な差ではないが繊維成分含量が高く、粗タンパク質含量が低かった。粗脂肪含量においては、くず大豆区は大豆粕区よりも有意 (P<0.01) に高くなった。両区のタンパク質の溶解性画分は、サイレージ発酵前 (表2) は大きな違いは無かったが、発酵TMRでは、くず大豆区

表3 くず大豆サイレージの一般飼料成分含量 (乾物中%) とタンパク質画分 (粗タンパク質中%)

	無添加区	乳酸菌製剤A区	乳酸菌製剤B区	SEM
乾物率	42.0	42.6	41.6	0.3
粗タンパク質	43.4	43.0	43.2	0.4
粗脂肪	18.5	19.5	17.6	0.5
粗灰分	6.4	6.4	6.5	0.1
aNDFom	16.4	15.9	15.4	0.5
ADFom	16.1	14.7	15.0	0.7
タンパク質画分				
CPs	50.9 ^B	63.2 ^A	68.8 ^A	1.6
CPd	68.8 ^b	78.6 ^a	79.6 ^a	1.9
CPb	4.4	4.6	4.3	0.2

SEM: 平均値の標準誤差、aNDFom: 中性デタージェント繊維、CPs: 溶解性画分、CPd: 分解性画分、CPb: 結合性画分。同一成分内の異文字間に有意差有り (abP<0.05, ABP<0.01)。

表4 発酵混合飼料 (TMR) の発酵品質

	くず大豆区	大豆粕区	SEM
pH	4.32	4.34	0.01
有機酸含量 (原物中%)			
乳酸	2.53	2.95	0.32
酢酸	1.15	1.19	0.06
プロピオン酸	0.14	0.12	0.01
n酪酸	0.07	0.07	0.01
VBN/TN (%)	7.81	6.72	0.63
Vスコア	83	80	2

SEM：平均値の標準誤差、VBN/TN：総窒素に占める揮発性塩基態窒素の割合。

が大豆粕区よりも有意に高くなった ($P<0.01$)。分解性画分においても、両区に有意な差がみられたが ($P<0.01$)、その差は小さく、サイレージ発酵前と同様の傾向であった。

IV 考 察

1. 一般飼料成分

供試したくず大豆は、不良子実に莢・茎などの夾雑物が混合しており、明らかに高品質な大豆とは異なる外観を呈していたが、粗タンパク質含量が39.2%であり、一般的な大豆の粗タンパク質含量41.4% (日本標準飼料成分表2009年版) と比べて遜色なく、ヌカ・フスマ類 (粗タンパク質13-21%、標準飼料成分表2009年版) やトウフ粕 (同26-28%)、ビール粕 (同25%) などよりも高いタンパク含量を持つ飼料資源と考えられた。ただし、くず大豆を大豆粕の代替として利用する場合は、本実験2で得られた結果 (表5) のように、給与飼料中の粗タンパク質含量の低下や繊維含量の増加に注意を払う必要があると考えられた。一方、くず大豆の脂肪含量は大豆粕よりも高く、一般的な大豆の18.6% (標準飼料成分表2009年版) に近い値であった。本実験2では、くず大豆の配合割合をTMR中5%以下に抑える条件下であったが、同量の大豆粕を配合した場合よりも発酵TMR中の粗脂肪含量を高めることができた (表5)。乳牛用飼料においては、適度な脂肪含量の増加は乳生産に好影響を与えるとされ (Palmquist・Jenkins 1980)、特に大豆 (全脂大豆) はタンパク質の供給源のみならず脂質の供給源として泌乳初期のエネルギー摂取量を高めることに利用される (McNiven *et al.* 1994)。よって、くず大豆の脂肪含量が高い特性を活かせば、乳牛用TMRの

表5 発酵混合飼料 (TMR) の一般飼料成分含量 (乾物中%) とタンパク質画分 (粗タンパク質中%)

	くず大豆区	大豆粕区	SEM
乾物率	43.2	45.5	1.1
粗タンパク質	15.9	17.2	0.6
粗脂肪	4.9 ^A	3.9 ^B	0.1
粗灰分	7.7	7.3	0.2
aNDFom	39.1	35.1	1.82
ADFom	24.6	21.5	1.47
タンパク質画分			
CPs	50.7 ^A	42.0 ^B	0.8
CPd	75.1 ^B	77.9 ^A	0.4
CPb	6.3	5.6	0.2

SEM：平均値の標準誤差、aNDFom：中性デタージェント繊維、ADFom：酸性デタージェント繊維、CPs：溶解性画分、CPd：分解性画分、CPb：結合性画分。
AB同一成分内の異文字間に有意差有り ($P<0.01$)。

調製において、他の油実類の節約ができると考えられた。

2. サイレージ発酵品質

本実験1の結果から、くず大豆を水に1時間ほど浸漬して適切に密封すると、乳酸発酵が優占する良好なサイレージに調製できると考えられた。一般的に大豆子実は、平均16.6%の可溶性糖類を含むと報告されている (Hymowitz *et al.* 1972)。国産大豆に限れば、大豆油を抽出する用途ではなく、すべて豆腐や味噌、納豆、煮豆などの食品原料向けであり、その旨味や納豆の良発酵に欠かせない糖含量の平均値は28.3%と大変高いことが示されている (平ら 1989)。糖分が高いという国産大豆の特性が、くず大豆サイレージに良好な発酵をもたらした一因と推察された。くず大豆には大豆皮が含まれており、この大豆皮は易消化性の繊維である (DeFrain *et al.* 2002)。本実験の乳酸菌製剤Bは、繊維分解酵素を含んでおり、これによって乳酸発酵のための基質供給がなされ、より多くの乳酸生成によるpH低下を期待した。しかしながら、繊維酵素を含まない乳酸菌製剤A区においても、製剤B区と同様に原物あたり3%を超える乳酸生成が認められ、両区に明確な差は認められなかった。くず大豆の糖含量、すなわち基質供給能が十分であることは、繊維分解酵素の効果がなかった事からも裏付けられた。

本実験条件では、無添加区でも乳酸発酵が優占しており、酪酸発酵はほぼ抑制されていたことから、不良発酵抑制に対する乳酸菌製剤添加の必要性については判断できなかった。マメ科牧草は、植物タン

バク質や有機酸などの緩衝作用を持つ成分を多く含むためにサイレージpHが下がりにくいことが指摘される (Playne・McDonald 1966)。本実験においても、乳酸生成量が最も低かった無添加区のpHは、酪酸発酵抑制の目標とされる4.2 (増子 1999) を上回っていた。一方、乳酸菌製剤添加区は、酪酸発酵抑制の目標pHにほぼ達していた。実規模のトランスバクなどでの貯蔵では、本実験条件よりも気密性が劣る可能性がある。よって、乳酸菌製剤の添加の必要性に関しては、実規模試験において別途検討する必要がある。

3. タンパク質画分

本実験で供試したくず大豆のタンパク質は、大豆粕よりも溶解性が高い傾向があり (表2)、ルーメンでより急速に分解されやすいと考えられた。さらに本実験1では、水に浸漬したくず大豆をサイレージ調製した場合、乳酸菌製剤添加区で溶解性と分解性が高まるのが観察された (表3)。サイレージ発酵過程において、タンパク質は植物体の酵素作用ならびに微生物の作用によってアミノ酸やアンモニア、アミンに分解されるが、これらは乳酸発酵や酪酸添加によるpH低下によって抑制される (大山・榎木 1968, McDonald *et al.* 1991)。特に酪酸菌や腸内細菌による脱アミノ作用 (アンモニア生成) は、サイレージ発酵品質と深く関わっており、pH低下が十分でない劣質サイレージでは増加する (大山・榎木 1968)。しかし、実験1のくず大豆サイレージでは、溶解性が高まった添加区は無添加区よりもVBN/TNが低い傾向であり、より多くの乳酸生成による低いpH値であった。良質サイレージにおいても、乳酸菌をはじめとする様々な微生物によるタンパク分解や脱アミノ作用が観察されることが知られている (Kim・Uchida 1991)。よって、くず大豆サイレージにおけるタンパク質の溶解性、分解性は乳酸発酵が促進しても高まりやすいことが示唆されるが、そのメカニズムに関しては別途検討が必要である。本実験2では、くず大豆を添加したTMRのタンパク質の溶解性画分は大豆粕を添加したものよりも高く、サイレージ発酵を経ると差が広がる傾向であった (表2、5)。くず大豆区TMRの粗タンパク質に占めるくず大豆由来割合は約10%と計算されるが、発酵TMRのタンパク質溶解性において、くず大豆区と大豆粕区との間に差が認められた。よって、発酵TMR中の大豆粕をくず大豆で代

替する場合、粗タンパク質含量の低下のみでなく、ルーメン内でより急速に分解されやすいタンパク画分が増加することにも注意を払う必要があると考えられた。

引用文献

- 1) DeFrain, J.M.; Shirley, J.E.; Titgemeyer, E.C.; Park, A.F.; Ethington, R.T. 2002. A Pelleted Combination of Raw Soyhulls and Condensed Corn Steep Liquor for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85 : 3403-3410.
- 2) Faldet, M.A.; Voss, V.L.; Broderick, G.A.; Saller, L.D. 1991. Chemical, in vitro, and in situ evaluation of heat-treated soybean proteins. *J. Dairy Sci.* 74 : 2548-2554.
- 3) 濱田真海, 吉玉國二郎. 2003. くず大豆が給与された褐毛和種雌牛に発生した無発情の原因調査. *日獣会誌* 56 : 722-727.
- 4) Hymowitz, T.; Collins, F.I.; Panczner, J.; Walker, W.M. 1972. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. *Agron. J.* 64 : 613-616.
- 5) 自給飼料利用研究会. 2009. 三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック. 日本草地畜産種子協会. 195p.
- 6) 柏崎 守. 2003. 雌牛へのくず大豆飼料のくれ過ぎに注意. *技術の窓* No.1168. 日本政策金融公庫. <http://www.jfc.go.jp/a/information/technology/stock-l/pdf/1168.pdf> [2012年9月10日参照].
- 7) Kim, K.H.; Uchida, S. 1991. Comparative studies of ensiling characteristics between temperate and tropical species. 3. The effects of addition of glucose and formic acid on fermentation and proteolysis during ensilage. *J. Japan. Grassl. Sci.* 37 : 253-260.
- 8) Krishnamoorthy, U.; Muscato, T.V.; Sniffen, C.J.; Van Soest, P.J. 1982. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 65 : 217-225.
- 9) 萬田富治, 高野信雄. 1980. 牧草中のエストロゲン様物質に関する研究 VIII. マメ科牧草のエストロゲン活性のサイレージ発酵による変化. *日草誌* 26 : 318-323.

- 10) 増子孝義. 1999. サイレージの発酵. (内田仙二編. サイレージ科学の進歩). デーリィ・ジャパン社. p.86-131.
- 11) McNiven, M.A.; Robinson, P.H.; MacLeod, J.A. 1994. Evaluation of a new high protein variety of soybeans as a source of protein and energy for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 2605-2613.
- 12) McDonald, P.; Henderson, A.R.; Heron, S.J.E. 1991. The biochemistry of silage. Second edition. Chalcombe publications. Marlow. p.62-151.
- 13) Mielke, C.D.; Schingoethe, D.J. 1981. Heat-treated soybeans for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 64 : 1579-1585.
- 14) 農業・食品産業技術総合研究機構. 2010. 日本標準飼料成分表 (2009年版). 中央畜産会. 287p.
- 15) 大桃定洋, 田中 治, 北本宏子. 1993. 高速液体クロマトグラフィーによるサイレージ中の有機酸の定量. 草地試研報 48 : 51-56.
- 16) 大山嘉信, 榎木茂彦. 1968. サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究. II. サイレージ発酵による可溶性炭水化物および蛋白質の量的変化. 日畜会報 39 : 133-139.
- 17) Palmquist, D.L.; Jenkins, T.C. 1980. Fat in Lactation Rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63 : 1-14.
- 18) Playne, M.J.; McDonald, P. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food and Agri.* 17 : 264-268.
- 19) Roe, M.B.; Chase, L.E.; Sniffen, C.J. 1991. Comparison of in vitro techniques to the in situ technique for estimation of ruminal degradation of protein. *J. Dairy Sci.* 74 : 1632-1640.
- 20) 平 春枝, 田中弘美, 斎藤昌義. 1989. 国産大豆の全糖・遊離型全糖および遊離糖類の含量. 日食工誌 36 : 968-980.
- 21) Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 : 3583-3597.