

高度集約型反芻家畜生産における 副産物資材の飼料価値評価

令和4年

(2022)

日本大学大学院生物資源科学研究科
博士後期課程 生物資源生産科学専攻

LIU CHUNYAN

目 次

第一章 緒 論	3
第二章 ダイコン残渣の飼料評価	
2.1 緒 言	5
2.2 材料および方法	5
2.2.1 バッチ培養試験 (ダイコン残渣)	5
2.2.2 ヤギを用いた飼養試験 (ダイコン残渣)	6
2.2.2.1 試験動物、飼料および試料採取	6
2.2.2.2 サンプル分析・統計	7
2.3 結 果	8
2.3.1 バッチ培養試験 (ダイコン残渣)	8
2.3.2 ヤギを用いた飼養試験 (ダイコン残渣)	11
2.4 考 察	13
第三章 パイナップル残渣の飼料価値評価	
3.1 緒 言	16
3.2 材料および方法	16
3.2.1 供試動物、飼料および試料採取	16
3.2.2 サンプル分析・統計	17
3.3 結 果	18
3.3.1 摂取量、消化率および可消化養分総量 (TDN)	18
3.3.2 ルーメン内特性	19
3.3.3 血液特性	20
3.3.4 抗酸化活性	21
3.3.5 飼料の物理特性と消化管内の動態	21
3.4 考 察	23
第四章 ヒマワリ粕の飼料価値評価	
4.1 緒 言	26
4.2 方 法	27
4.2.1 インシチュ試験・アミノ態 N 分析 (ヒマワリ粕)	27
4.2.2 ヤギを用いた飼養試験 (ヒマワリ粕)	27
4.2.2.1 試験動物、飼料および試料採取	27
4.2.2.2 試料分析と統計処理	28
4.2.3 ウシを用いた飼養試験 (ヒマワリ粕)	29
4.3 結 果	30
4.3.1 インシチュ試験・アミノ態 N 分析 (ヒマワリ粕)	30

4.3.2 ヤギを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）	32
4.3.3 ウシを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）	35
結 論	42
謝 辞	43
引用文献	44

第一章 緒 論

世界ではまだ食べられる食糧が年間 13 億トンも廃棄され、それは世界の食糧生産量の 3 分の 1 を占めている (FAO 2017)。そのうち日本での廃棄量は、約 522 万トンになる。日本での食品ロスの原因の半分以上が、スーパーマーケットやコンビニエンスストアなど小売店での売れ残りや返品、飲食店での食べ残し、売り物にならない規格外品といった事業系食品ロスで、年間 275 万トンになる (農林水産省 2020)。食品リサイクル法 (食品循環資源の再生利用などの促進に関する法律) では、食品関連事業者は食品循環資源の再生利用を取り組むことが求められており、資源循環の再生利用の優先順位は、飼料化、肥料化、その他の順になっている。このことから、食品製造副産物の家畜飼料としての有効利用は、環境負荷の少ない資源循環の促進に貢献するものと期待されている。

日本の飼料の大部分は輸入に依存しており、TDN 換算での国内飼料の自給率は 40%で、そのうち粗飼料は 76%、濃厚飼料の自給率は 13%である。この自給率を改善することは、畜産業界における最大の問題の一つであり、それを 45%までに引き上げるべく取り組みがなされている (農林水産省 2021)。そのうち、安価な自給飼料の開発・利用は、近年の飼料価格高騰に対抗して家畜の低コスト生産へ結びつく可能性があり、さらに資源の無駄や輸入飼料輸送の削減を通じて環境問題の改善にも結びつく (家 2007、西ら 2015、石川ら 2017)。

低・未利用資源の中には、多種多様な豊富な栄養成分を含む高栄養価のものも多く (棟加登 2000)、食品・農産製造副産物を含め、様々な研究が行われている (佐伯ら 2006、小林ら 2013、浅野ら 2020)。しかし、低・未利用資源の利用を促進するためには、解決すべき点がいくつか存在するが、第一に、安定した発生量と保存中の品質の確保があげられる。製造副産物は水分が多く変質しやすいものが多いが、加熱乾燥にはコストがかかるため、脱水圧搾装置による脱水や、嫌気発酵によるサイレージ化を行うことで保存性を高める場合が多い (小川ら 2012)。発酵 TMR としての利用も検討されている (徐ら 2004、塩谷 2008、西村ら 2015)。次に、反芻家畜の嗜好性や採食性に関する要因も重要である。製造副産物の中には嗜好性が悪いのもあるが (額田ら 2001、大澤ら 2004、上田ら 2008)、糖蜜等の添加により嗜好性が改善されるという報告もある (小熊ら 1956)。さらに、動物の健康面に対する影響に関しても考慮する必要がある。特に、野菜関係の副産物には硝酸塩含量が高いものも多く (飼料の乾物中に 1.5%以上)、硝酸塩中毒の発生が懸念される (堀尾ら 1981、家 2007)。

反芻家畜の有用性としては、食糧にならない高繊維質の牧草等を利用して畜産物を生産することにある。しかし近代以降は、より生産性の高い畜産生産を達成するために、本来食糧としても利用可能な栄養価の高い飼料を給与する高度集約型畜産が、主に日本も含めた先進諸国で展開されている。しかし将来的な食糧危機を考慮すると、低・未利用資源の利用は避けては通れない問題であり、資源の有効利用による環境問題の改善としても重要な課題である。

低・未利用資源の飼料化は、慣行飼料と同等の飼料価値が示されれば利用化の道が開ける。しかし高度集約型の生産性の高い畜産システムにおいては、それ以上のなんらかの価値を有する飼料資材が求められている。本研究では、その可能性のある資材の中から、ダイコン残渣（高エネルギー）、パイナップル残渣（高エネルギー・高繊維）およびヒマワリ粕（高蛋白質）の3つに焦点を絞ってそれらの飼料価値を明らかにし、反芻家畜用飼料としての利用可能性を検討した。

第二章 ダイコン残渣の飼料評価

2.1 緒言

食品・農産製造副産物などの低・未利用資源の反芻家畜用飼料としての活用は、飼料自給率を向上させ、輸入飼料の利用を減少などに繋がる。食品リサイクル法および食品ロス削減推進法において、家庭系及び事業系の食品廃棄物を 2030 年度までに 2000 年度比での半分、489 万トンまで減らす目標が定められている。そのためにもこれら食品系副産物の家畜飼料への再生利用が望まれる。

農林水産省（2020）によるとダイコン残渣は年間が 103 万トン出荷されている。近年、家族化の進展や共働き世帯の増加に伴い、食の簡便化が進み、小売店では購入してすぐに食べられるカット野菜の需要が増えている。そのうちダイコンは廃棄率が約 15%になり、廃棄部分の多くは皮である（日本食品標準成分表 2020）。

ダイコンは可溶性炭水化物を多く含むことから、高エネルギー飼料としての利用が考えられ、肉牛を用いた研究ではダイコンの TDN を乾物ベースで 71%と報告されている

（Omokanye ら 2021）。しかし同時に、ダイコンの給与はルーメン内での急速な発酵に伴うルーメンアシドーシス発症のリスクが懸念される（Nocek 1997、Stone 2004）。ルーメンアシドーシスは、高泌乳牛や後期肥育牛で発生する可能性が多く、また致命的な症状に至らないまでも、経済的損耗が大きい潜在性生産病である（小原ら 2008）。またダイコンは水分含量が高く、どの程度摂取可能かという家畜の採食性に対する影響を考慮する必要がある。さらに、ダイコンには辛み成分であるイソチオシアネートが含まれ、この物質は咀嚼等の細胞破損時に発生することが考えられる（岡野ら 1990）。この成分が採食性にどの程度影響するかも検討する必要があるが、イソチオシアネートはメタンの抑制が報告されていることから（Soliva ら 2011）、ルーメン内でのメタン産生に及ぼす効果に関しても研究が必要である。

そこで本研究では、ルーメン微生物を用いたバッチ培養試験でダイコン残渣（DKR）の消化・発酵性を予備調査した。その後、反芻動物（ヤギ）も用いた飼養試験を実施して、成分消化率とエネルギー価である可消化養分総量（TDN）を測定し、同時に、ルーメン発酵特性と血液性状に及ぼす効果も検討して、ダイコン残渣の飼料価値を明らかにした。

2.2 方法

2.2.1 バッチ培養試験（ダイコン残渣）

ルーメンフィステル装着ホルスタイン牛（体重 750kg）にイタリアンライグラス乾草、加熱圧片コーン、大豆粕（SBM）（それぞれ乾物で 50%、45%および 5%）を給与し、インシチュ試験で用いた（Nocek 1988）。給与量は、米国飼養標準（NRC 2001）に従って、エネルギー維持量の 110%および十分な CP を充足するものとした。実験は、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号 AP19BRS088-2）。

上記の牛からフィステル経由でルーメン内容を吸引ポンプで採取し、8重ガーゼでろ過した液を、39°Cで30分培養して上層（主として軽い飼料片）、中間層（主として細菌）および下層（主として重い飼料片とプロトゾア）に分離した。中間層をさらに遠心分離（750xg、10°C、10分）して下層部分を除去した上清を嫌気緩衝液（1.4 mM K₂HPO₄、1.8 mM KH₂PO₄、2.1 mM NaCl、0.4 mM MgSO₄・7H₂O、0.4 mM CaCl₂・2H₂O、5.2 mM Na₂S・9H₂O、5 mM レサズリン Na および 47 mM Na₂CO₃、pH6.5）で5倍希釈して培養菌液を調製した。

日本国内のカット野菜工場（茨城）から入手したDKRおよび、対照飼料としてコーン（加熱圧片）とイタリアンリアグラス乾草（IRG）を穴あきキャップ付き試験管（20ml、三紳工業、横浜）に現物で秤量し（乾物で各100mg）、上記培養液を10ml加えて経時的に嫌気培養した（ブチルゴムで密栓）。培養は、各飼料3連で実施した。DKRはバッチ培養試験と後述するヤギ飼養試験で用いたものはロットが異なるため、結果では前者をDKR1、後者をDKR2と表記した。

培養後に針付き圧力計（Type a、ジーエルサイエンス、東京）を用いてガス圧を測定したした後、ガス組成（水素、メタン、二酸化炭素）をパラパック（Type Q）カラムを用いたTCA装着ガスクロマトグラフ（GC-8A、島津製作所）で分析した。開封後、pH（HR-25R、DKK-TOA社製）および酸化還元電位（ORP）（D-50、堀場製作所）を測定し、その後、化学分析まで冷凍保存した。揮発性脂肪酸（VFA）は、キャピラリーカラム（Nukol, 15 m, 0.25- μ m ID, 0.25-mm df, Supelco/Sigma-Aldrich）を用いてFID装着ガスクロマトグラフ（7890A, Agilent Technologies, Inc.）により分析した。乳酸、フマル酸やコハク酸などの非揮発性有機酸は、メチルエステル化後にVFA分析と同じカラムと装置を用いて測定した（Holdeman ら 1977）。

分析用飼料の調整は、コーンとIRGはそのまま粉碎し、DKRは水分含量の高いため60°Cで風乾試料を調製した後に粉碎した（全て0.5mmスクリーン使用）。飼料の一般成分分析は基本的に米国公定規格に従って実施した（AOAC International, 2002）。粗蛋白質（CP）は燃焼法によって分析し（スミグラフNC-200F、住化分析センター）、繊維成分（NDFomおよびADFom、自給飼料利用研究会 2009「粗飼料の品質評価ガイドブック」）はFiber Analyzer（A200、ANKOM Technology, NY）（Vogel ら 1999）を用いて分析した。酸性デタージェントリグニン（ADL）はVan Soest（1963）に従い、さらに中性および酸性デタージェント不溶性CP（それぞれNDICPとADICP）は、Krishnamoorthy ら（1982）の方法で測定した。

2.2.2 ヤギを用いた飼養試験（ダイコン残渣）

2.2.2.1 試験動物、飼料および試料採取

去勢の雄シバヤギ4頭（平均体重42kg）を実験室内（室内温度25°C）に設置した代謝ケージで個別飼育した。実験は、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号AP20BRS003-1）。

飼料として、基礎区 (AH 区) はアルファルファヘイキューブ (AH) のみを米飼養標準 (NRC 2007) に従って、エネルギーは維持量を、蛋白質は充足可能な量を計算して給与した。ダイコン残渣区 (DKR 区) では、基礎区の AH を DKR (DKR2) で置換した。置換割合は、DKR を徐々に増給して残渣が出なくなる量で設定したが、置換上限を DKR の水分含量の高いから 20%とした。DKR は試験直前にカット野菜工場から供給された圧搾脱水されたものを用いたが、試験期間中は品質保持のために 10°Cで冷蔵保存した。試験配置としては DKR の給与量があらかじめ設定できないため、全頭で AH 区実施の後に、DKR 区の実施とした。各区は 14 日間実施し、最初の 7 日間は予備試験とし、その後 7 日間の本試験を設けた。AH 区と DKR 区の間には、DKR 給与量を決める馴致期間を設けた。飼料は毎日 10:00 に給与し、水は自由に与えた。

本試験期間中に全糞と全尿を分離して採取し、飼料消化率の測定に用いた。消化試験は、日本における公定規格 (飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律告示 No.56_b1594 号) (FAMIC 1981) に準拠して実施した。試験飼料の消化率および TDN は、基礎区との間に加法性が成り立つことを前提に算出した。消化管内動態のマーカであるイッテルビウム (Yb) を AH 区と DKR 区においてそれぞれ AH および DKR に吸着させて本試験の 2 日目に給与した (酸化 Yb として 100 mg/頭)。その後、経時的に採取した糞中の Yb を測定して飼料の消化管内動態を推定した (Ellis ら、1979)。

ルーメン液は小型反芻動物用ストマックチューブ (三紳工業、横浜) を用いて本試験の 5 日目と 7 日目の 13:00~14:00 間に経口採集した。さらに、血液は真空採血管 (テルモ、東京) を用いてルーメン液の採取と同時間帯に頸静脈から採血した。ルーメン液は 8 重ガーゼでろ過し、pH (HR-25R、DKK-TOA、東京) と酸化還元電位 (ORP) (D-50、堀場製作所、京都) を測定した後、化学分析まで冷凍保存した。

2.2.2.2 サンプル分析・統計

飼料の代表サンプルは、給与飼料の秤量時にその一部を採取して成分分析等に供与した。AH はそのまま粉砕し、DKR と糞は水分含量の高いため 60°Cで風乾試料を調製した後に粉砕した (全て 0.5mm スクリーン使用)。飼料および糞の成分分析およびルーメン中の VFA と非揮発性有機酸濃度の測定は、バッチ培養試験 (2.2.1) で記載した方法と同様に実施した。アンモニアは、Chaney と Marbach (1962) の方法に従い分光光度計 (V-630BIO 型、日本分光株式会社) を用いて測定した。ルーメンプロトゾア数は、Ogimoto と Imai (1981) に従って計数した。ルーメン微生物によるタンパク質合成量は、尿中プリン体排泄量 (アラントインおよび尿酸) に基づいて推定した (IAEA 1997)。

血清中のグルコース、中性脂肪 (TG)、遊離脂肪酸 (NEFA) 総蛋白、血中尿素窒素 (BUN)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、アラントランスアミナーゼ (ALT) は分析専門機関に依頼して測定した (保健科学研究所 2018)。給与飼料および血漿中の抗酸化活性は FRAP 法より (Benzie と Strain 1999)、また血漿中の酸化ストレスマーカーであるマ

ロンジアルデヒドは (MDA) は菊川ら (1992) の方法で分析した。

糞中 Yb は、試料を乾式灰化後に 0.1M 硝酸で溶解したものを誘導結合型プラズマ発光分光法 (ICPE-9000、島津製作所) により測定した。飼料の通過速度 (kp) は、非線形解析用ソフトウェア (Prizm ver.6、GraphPad) 用いて算出した (Titgemeyer ら 2004)。

各試験区のデータは、一元配置モデルによる分散分析に基づいて以下の式により判定した (Prizm ver.6、GraphPad)。

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + e_{ij}$$

ここで Y_{ij} は測定値、 μ は全体の平均値、 D_i は飼料の効果、 A_j は動物個体の効果および e_{ij} は残渣とした。F 検定に基づいて有意差検定 ($P < 0.05$ は有意差あり、 $P < 0.10$ は傾向あり) を行った (Snedecor と Cochran 1967)。

2.3 結果

2.3.1 バッチ培養試験 (ダイコン残渣)

表 2-1 に、バッチ培養試験で用いた飼料の成分組成を示した。DKR (DKR1) は水分が多く、乾物含量が 11% しかなかった。有機物含量は 89%、粗灰分 11% と比較的灰分含量の高い飼料であった。NDF 含量は 34% と IRG (69%) とコーン (18%) の中間的な値を示し、NFC 含量も同様に 45% と IRG (19%) とコーン (70%) の間の値を示した。ADF および ADL 含量も同様に、IRG とコーンの間の値を示した。CP は 10% とイネ科牧草と同様の値を示した。

Table2-1. Chemical composition of the feeds for the batch incubations

Composition	IRG	Corn	DKR1
DM (% as fed)	90.7	89.0	10.6
Organic matter (OM)	95.5	98.4	88.9
Ether extract (EE)	1.9	4.3	1.5
Crude protein (CP)	7.8	8.2	9.5
Neutral detergent fiber (NDF)	69.1	18.0	34.2
Nonfiber carbohydrate (NFC)	19.3	70.2	45.2
Acid detergent fiber (ADF)	40.3	2.3	24.0
Acid detergent lignin (ADL)	7.6	0.8	4.1

NDF, ADF: not containing ash and CP

IRG: Italian ryegrass hay, DKR: daikon (Japanese radish) residue

Table2-2. The digestion and fermentation properties of the batch cultures

	Incubation Time (h)			
	8	24	48	72
pH				
IRG	6.6	6.4	6.3	6.2
Corn	6.2	5.8	5.8	5.8
DKR	6.2	6.1	6.0	6.0
DM digestibility (%)				
IRG	23.7	42.5	58.0	68.2
Corn	30.1	74.0	88.6	100
DKR	48.5	78.8	98.3	100
Volatile fatty acid (mM)				
IRG	33.4	73.0	66.9	67.5
Corn	44.8	75.7	86.3	92.3
DKR	44.0	88.6	91.4	95.1
Acetate				
IRG	21.5	47.3	41.5	41.4
Corn	28.8	40.5	37.7	38.1
DKR	29.6	52.3	51.8	53.0
Propionate				
IRG	9.9	21.5	20.7	20.9
Corn	9.2	24.0	29.4	29.3
DKR	12.2	29.0	30.3	32.0
Butyrate				
IRG	1.9	4.0	4.1	4.2
Corn	2.8	10.3	7.8	20.1
DKR	1.9	5.5	7.0	7.2
Nonvolatile organic acids (mM)				
Lactate				
IRG	ND	ND	ND	ND
Corn	ND	ND	ND	ND
DKR	21.1	ND	0.4	ND
Fumarate + Succinate				
IRG	0.1	ND	ND	ND
Corn	1.7	1.2	3.9	1.9
DKR	2.3	3	3.3	3.4

ND: not detectable

IRG: Italian ryegrass hay, DKR: daikon residue

バッチ培養試験における乾物消化率と発酵酸濃度（揮発性および非揮発性有機酸）は表 2-2 に示した。乾物消化率では、粗飼料の IRG よりも濃厚飼料のコーンが高く推移したが、DKR はほとんどの時間においてコーンよりもさらに高い値を示した。総 VFA でも同様に、コーンは IRG よりも高く推移したが、DKR は 24 時間以降コーンよりも高い値を示した。主要な VFA である酢酸、プロピオン酸と酪酸においても、基本的には総 VFA と同様な傾向を示した。DKR で産生された主要な非揮発性有機酸は乳酸であり、8 時間目で 21 mM という高い値を示したが、24h 以降はほとんど検出されなかった。発酵酸濃度は DKR でコーンよりも高い値を示したものの、pH はコーンと同等かむしろ高い値を示した。

表 2-3 にバッチ培養における総ガス産生量とガス組成を示した。総ガス産生量では発酵酸濃度と同様に、粗飼料の IRG よりも濃厚飼料のコーンが高く推移したが、DKR は発酵初期むしろコーンよりも高い値を示し、それ以降もほぼコーンと同等に推移した。二酸化炭素産生量に関しても総ガス産生量と同じ傾向を示した。またメタン産生量は二酸化炭素産生量と同様に IRG よりもコーンが高く推移したが、DKR はほとんどメタンの産生を示さなかった。水素は 24 時間以降、コーンと DKR で高い産生量が示された。

Table 2-3. Gas production of the batch cultures

		Incubation Time (h)			
		8h	24h	48h	72h
Gas production (ml/g DM)					
Total gas					
	IRG	21.6	85.2	113.1	136.0
	Corn	60.7	158.5	192.5	202.8
	DKR	80.0	166.3	187.5	192.8
CO ₂					
	IRG	20.0	76.3	100.6	120.0
	Corn	56.5	135.1	164.0	174.6
	DKR	79.3	158.8	174.7	179.1
CH ₄					
	IRG	1.5	8.9	12.4	15.8
	Corn	3.8	13.0	13.6	22.5
	DKR	0.5	0.3	0.3	0.4
H ₂					
	IRG	0.1	0.1	0.1	0.2
	Corn	0.3	10.4	14.8	5.7
	DKR	0.2	7.2	12.8	11.1

IRG:Italian ryegrass hay, DKR: daikon residue

2.3.2 ヤギを用いた飼養試験（ダイコン残渣）

表 2-4 には DKR 飼料の採食量と試験飼料および単体飼料の組成を示した。飼養試験で用いた DKR (DKR2) は、バッチ培養で用いたもの (DKR1) に比べてさらに水分含量が高いものとなった (94 対 89%、表 2-1)。また CP 含量も DKR2 で高くなったが (12.6 対 9.5%)、その他の組成 (EE、NDF および NFC) では、両者の間に大きな差は見られなかった。DKR 区の DKR 割合は全個体で設定上限の 20% (乾物) まで採食した。また基礎飼料 (AH 飼料) に比べて DKR 飼料では、CP と NDF 含量が低く、NFC 含量で高くなったが、DKR 飼料でも CP 含量は約 17% と高い水準であった。なお抗酸化能を表す FRAP ($\mu\text{mol/g DM}$) は AH が 38 に対して DKR が 14 と低い値を示したが、代表的な抗酸化資材である落花生皮や緑茶粕 (700~900) に比べると両者ともはるかに低い値であった。

Table 2-4. Intake, ingredient and chemical composition of the diets and DKR used in the feeding trials

	Treatment		
	AH diet	DKR diet	DKR2
DM intake (kg/d)	0.729	0.729	-
Ingredient (% DM)			
Alfalfa haycube (AH)	100	20	-
Daikon residue (DKR2)	-	80	-
Chemical composition (% DM)			
Dry matter (DM, % as fed)	91.2	22.6	5.6
Organic matter (OM)	89.1	89.1	89.2
Ether extract (EE)	2.1	2.0	1.6
Crude protein (CP)	17.9	16.9	12.6
Neutral detergent fiber (NDF)	36.9	35.4	32.2
Non-fiber carbohydrate (NFC)	32.2	34.9	45.5
Acid detergent fiber (ADF)	-	-	23.2
Acid detergent lignin (ADL)	-	-	2.5

Table 2-5. Digestibility and total digestible nutrients (TDN) of experimental feeds and individual diets

	Treatment				
	AH diet	DKR diet	SEM	<i>P</i> -Value	DKR2
Digestibility (%)					
DM	62.9	67.8	0.4	0.00	87.3
OM	66.3	70.6	0.4	0.00	88.1
EE	36.1	37.8	3.6	0.76	46.7
CP	75.7	75.2	0.4	0.45	72.4
NDF	47.4	54.4	1.0	0.00	89.9
NFC	84.7	86.8	0.7	0.08	92.6
TDN(%DM)	60.1	63.9	0.3	0.00	79.4

表 2-5 には試験飼料の成分消化率と TDN、および両試験区の結果から算出した DKR の消化率と TDN を記載した。AH 区に比べ DKR 区で、DM、OM、NDF、NFC 消化率および TDN において有意に高い値を示した。DKR (DKR2) の推定消化率は、NDF 消化率が極めて高く、AH の約 2 倍の値であり、NFC 消化率とはほぼ同程度であった。そのため DM および OM 消化率も 87~88% と高く、TDN も 79% という高い値を示した。

表 2-6 にはルーメン内特性を示した。揮発性脂肪酸と非揮発性有機酸濃度および pH には両区間に有意差は見られなかった。また ORP、アンモニア濃度およびプロトゾア数にも両区間で有意差は見られなかった。さらに尿中プリン体排泄量から推定したルーメン内微生物合成量にも、両飼料区間で差は見られなかった。

Table 2-6. Ruminal properties on the experimental diets

	Treatment			
	AH diet	DKR diet	SEM	P- Value
pH	6.0	6.2	0.1	0.125
ORP	-263	-261	11.6	0.399
Volatile fatty acid (mM)				
Total VFA	140.7	127.3	17.7	0.588
Acetate	83.1	74.9	9.3	0.558
Propionate	43.4	38.0	6.7	0.534
Butyrate	9.5	10.1	1.4	0.784
Iso acids	4.7	4.3	0.7	0.639
Nonvolatile organic acid (mM)				
Lactate	ND	0.3	0.1	0.391
Fumarate	1.4	1.6	0.3	0.790
Succinate	0.3	0.3	0.1	0.722
Ammonia-N (mg/L)	439	396	30.3	0.436
protozoa (×1000/ml)	38.2	48.0	6.1	0.302
Microbial CP (g/kg DMI)	47.5	45.7	2.2	0.579

Iso acids: sum of valeric, isovaleric, and caproic acids.

ND: not detectable; ORP: oxidation–reduction potential

表 2-7 に血液性状を示した。血糖値、中性脂肪、NEFA に両区間で有意差は見られなかったが DKR 区でケトン体が高く、総蛋白質と BUN で低い結果が示された。肝臓系の酵素である AST と ALT に有意差は見られず、抗酸化力 (FRAP) や酸化ストレスマーカー (MDA) にも両区間で差は見られなかった。

Table 2-7. Blood properties on the experimental diets

	Treatment			
	AH diet	DKR diet	SEM	P- Value
Glucose (mg/L)	561	563	15.7	0.926
Triglyceride (mg/L)	169	215	24.1	0.161
NEFA (mEq/L)	0.15	0.14	0.01	0.252
Total ketone body (μ M)	290	451	22.3	0.009
β -Hydroxybutyrate	284	437	21.8	0.008
acetoacetate	6	14	1.3	0.043
Total protein (g/L)	67	65	1.2	0.026
BUN (mg/L)	270	234	18.9	0.007
AST (U/L)	56	53	2.2	0.151
ALT (U/L)	11	11	2.0	0.836
FRAP (Fe^{2+} mM)	0.137	0.143	0.003	0.365
MDA (μ M)	2.5	2.8	0.1	0.124

NEFA: nonesterified fatty acids, BUN: blood serum urea, AST: aspartate transaminase

ALT: alanine transaminase, FRAP: ferric reducing antioxidant power

MDA: malondialdehyde

2.4 考 察

本研究におけるバッチ培養試験では、DKR は乾物消化率、VFA 濃度および総ガス産生量で高い値を示しており、特にエネルギー価の高い穀実であるコーン (Huntington ら 1997) と同等かもしくはそれ以上の消化・発酵性が示されたことは、DKR が高エネルギー飼料として有用であることを示唆している。実際にヤギ飼養試験においても、乾物中の TDN が 79.4% という高い値を示しており、エネルギー的には濃厚飼料の範疇に区分される。DKR の高いエネルギー価は、高消化性の炭水化物、特に、一般的に消化性の低い繊維成分 (NDF) において高消化性炭水化物 (NFC) と同等程度の 90% という高い消化率を示したことに起因すると考えられる。DKR のリグニン (ADL) 含量が IRG の半分程度であったことから、DKR におけるリグニン炭水化物複合体 (LCC) の構造が脆弱で、繊維分解性のルーメン微生物もしくは繊維分解酵素の組織内部への侵入を容易に許してしまった可能性がある

(Chesson 1988)。あるいは、粗飼料繊維の成分分画を目的に開発されたデタージェント分析法 (Van Soest 1967) が、DKR という特殊な資材には適応されずに、いわゆる繊維でない高消化成分を NDF として分画した可能性も考えられる。ダイコンに関する他の報告では、Omokanye ら (2021) は乾物中の CP 16%、NDF 33%、ADF 25% で、肉用牛を用いて求めた TDN を 71% としている。また Okine ら (2007) は、ダイコンの CP は 18% であり、NDF が 18% 含量も可溶性炭水化物含量が 38%、総エネルギー (GE) が 17.4KJ/kg であることを示唆している。日本食品標準成分表 2020 は水分が 5.4%、乾物で CP は約 7.5%、EE は 1.8%、

灰分は 11.1%、炭水化物としては約 55.6%、繊維は約 24%を示した。本試験の結果は、これらの報告よると成分組成は日本食品標準成分表と類似し、成分に差があったのはダイコンの品種差の可能性はある (Gamda ら 2021)。TDN が高い値を得ている。それでもダイコンが高エネルギー飼料としての特性を有することは変わらない。

バッチ培養試験では、DKR の培養初期に乳酸の産生が見られた。乳酸は VFA (pKa 4.8-4.9) と比べて強い酸であり (pKa 3.9)、その継続的な産生は急性アシドーシスを引き起こす (Nocek 1997)。このことは DKR が穀類 (コーン) と比べても *Streptococcus bovis* 等の乳酸酸性菌の増殖に有効な基質であることを示唆しているが、24 時間目以降は乳酸が消失しておそらくはプロピオン酸に変換されたことから、その作用が極めて強いとは考えられない。ところで急性アシドーシスに至らないまでも、発酵性の高い飼料は高濃度の VFA を産生して亜急性アシドーシス (SARA) を引き起こし、特に乳牛の代謝疾病の発症につながる (Stone 2004、小原ら 2008)。本試験で DKR はコーンと同程度以上の VFA 濃度を示しており、高い SARA 発生の可能性を示している。しかし pH の推移はコーンよりも低いことから、SARA 発生のリスクは穀類よりは低いと考えられるが、DKR は灰分含量が高く (11%)、そのうち特にアルカリ金属であるカリウム含量が高いことから (4.3%、日本食品標準成分表 2020)、それが pH 低下は抑制に働いているのかもしれない。実際にヤギ飼養試験では、対照区との間にルーメン内特性において有意差のある項目はなく、DKR を乾物で 20% 給与しても、安全なルーメン内環境を維持することが示された。

DKR の乾物含量は 6~11% と低い値を示したが、水分含量の高い飼料は採食量を低下させるという報告もある (Lahr ら 1983)。またダイコンには刺激を伴う辛味成分があり (岡野ら 1990、Friis と Kjaer 1966)、それが嗜好性を抑制する可能性もある。ヤギ飼養試験においても DKR の採食上限は 10%以下であろうと当初は予想していたが、実際には給与設定上限である乾物 20%の割合でも摂取し、馴致後は DKR 区をどの個体も 30 分程度で完食した。この時の DKR の現物割合は 80%以上であった。このことから、DKR は水分が非常に高いにも関わらず、良好な採食性を示す飼料であると考えられた。ヤギの飼養試験期間中は DKR を冷蔵保存したが、特に保存中の変質等は見られなかった。しかし実用化において冷蔵保存は現実的ではないため、サイレージ化 (Omokanye ら 2021) や発酵 TMR としての利用が考えられる。

バッチ培養試験では、DKR でメタン産生量がほとんど見られず、何らかのメタン産生菌抑制物質が含まれると考えられた。ダイコンにはイソチオシアネートが含まれ (Gamba ら 2021)、その成分がメタンを抑制する可能性があると報告されている (Soliva ら 2011)。実際に Lila ら (2003) は、インビトロ試験でイソチオシアネートの添加により、メタン産生が抑制され、同時にプロピオン酸産生を促進することを報告しており、本試験でも DKR で同様の結果を得た。メタンは強力な温室効果ガスであり、その削減は地球環境の保持に貢献する (Hristov ら 2013)。またメタン削減に共役するプロピオン酸の産生増加は、動物が利用可能なエネルギー量を増加させ、飼料効率の改善へとつながる (小林 2011)。今後の課題

として、実際に DKR を動物に給与した際にどの程度メタンが削減されるのかという測定と、DKR の保存や加工条件でメタン削減能がそのまま保持されるかを検討する必要がある。

DKR 給与の健康上の問題として、ヤギ飼養試験の DKR 区で血清中の総ケトン体で有意に高い値が示された。ケトン体はケトーシス発症の原因となり、脂肪組織から動員される遊離脂肪酸 (NEFA) やルーメン内で産生される酪酸に由来するが、本研究では両者ともに有意差が認められていないことから原因の解明が今後の課題となる。しかし潜在性ケトーシスの診断基準値として、総ケトン体で 1.2 mM 以上とされていることから (水谷 2022)、本研究での DKR 区の値は正常の範囲内であると考えられる。また本研究では、DKR 区で数値的には差が低いものの、血中の総蛋白質と BUN に有意に低い値が見られた。DKR は置換した AH に比べて蛋白質含量が低いために、その影響が出た可能性が考えられる。BUN に影響を与えるルーメン内のアンモニア N 濃度には両区間で差は見られなかったが、同濃度は日間変動が大きいいため、BUN とは連動しなかった可能性もある。しかし、ヤギの血清中総蛋白質の正常範囲の基準値は 64-70 g/L であることから (水谷 2022)、本研究での値 (65-67 g/L) は正常範囲内であると考えられた。また肝臓系酵素の AST や ALT、および酸化ストレスの指標となる FRAP や MDA の値は両区間に差は見られず、DKR 給与は AH 給与と比べてこれらの点においても特に問題はないと考えられた。また野菜には硝酸塩含量が高いものが多く (家 2007、堀尾ら 1981)、飼料中に硝酸塩含量として 0.23% を超えると反芻動物に対して有害とされている (Yaremcio 1991)。その点、ダイコンの硝酸塩濃度は 0.04% 程度と報告されている (Omokanye ら 2021)。DKR 給与による硝酸塩中毒発症のリスクは低いものと考えられた。

第三章 パイナップル残渣の飼料価値評価

3.1 緒言

農業や食品産業から排出される副産物を飼料資源として利用することで、飼料輸送のコスト負担を軽減し、より多くの食料を供給できるとともに、有機物を廃棄することによる環境汚染を低減することが可能である。パイナップルの世界生産量が増加し、年間 2,500 万トン以上に達しており（食糧農業機関[FAO] 2020）、日本での消費量は、年間約 16 万トン（うち国産は約 5%）（農林水産省[MAFF] 2020）である。また、パイナップルの不可食部割合は 45%と推定される（文部科学省[MEXT] 2020）。

パイナップルの果実や葉の副産物を含むパイナップル廃棄物は、主に熱帯地域の飼料資源として利用することが試みられている（Dahlan ら 1992, Jetana ら 2009, Kellems ら 1979）。しかし、缶詰工場やカットフルーツ加工品などの食品加工工業から排出されるパイナップル冠、外皮および芯を含むパイナップル残渣（PR）の反芻家畜用飼料としての評価は十分に行われていない。

PR は、高い不溶性繊維含量を示すと同時に、可溶性炭水化物の含量も高いと考えられる（Caselles ら 2014）。PR の高い水分含量が飼料摂取量を制限する可能性はあるものの、PR に含まれる糖類が嗜好性および飼料摂取量を促進する効果も考えられる（Lahr ら 1983）。しかし PR に含まれる可溶性糖質は、高消化率と発酵性を有すると考えられ、多量に摂取した場合には亜急性ルーメンアシドーシス（SARA）を発症して、特に乳牛の生産と健康に深刻な問題をもたらす可能性もある（Stone 2004）。一方、飼料に含まれる繊維成分は、その物理的特性から反芻刺激と唾液分泌を誘引してルーメン発酵の安定性を維持する機能を有するが（Mertens 1997, Sudweeks ら 1981）、PR に含まれる繊維成分は、一般的な粗飼料とは異なる特性を示す可能性もある。PR にはミリセチンやサリチル酸などの抗酸化物質も含まれている（Larrauri ら 1997）。また、集約的家畜生産システムで頻繁に引き起こされる酸化ストレスを緩和する効果も期待出来る。

日本標準飼料成分表（農業・食品産業技術総合研究機構 [NARO] 2009）にはパイナップル粕の成分組成は記載されているものの、PR として科学論文に発表された値は限られており、PR の反芻家畜への採食性や消化・代謝特性に対する効果に関する知見も不明な点が多い。そこで本研究では、PR の採食性を検討するとともに、成分消化率およびエネルギー価（可消化養分総量：TDN）を測定し、PR の給与がルーメン内発酵特性および血中代謝産物に及ぼす影響を検討した。さらに PR の粗飼料としての物理的有効性も評価した。

3.2 材料および方法

3.2.1 供試動物、飼料および試料採取

供試動物として、個体別牛床で飼養されている 4 頭の非泌乳ホルスタイン牛（平均生体重 597kg）を使用し、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した。（承認番号：

AP19BRS047-1)。

基礎飼料としてイタリアンライグラス乾草、アルファルファヘイキューブ、圧片コーン、大豆粕（乾物（DM）でそれぞれ40%、30%、25%、5%）を給与した（基礎区）。基礎区の飼料給与量は、米国飼養標準（NRC, 2001）に従ってエネルギーは維持要求量、蛋白質は充分量が給与されるように設計した。基礎飼料のDMで20%をPRで置換したものをパイン区（LP飼料）とし、LP飼料にさらに乾物で2倍PRを暫時増加して少なくとも1頭に残滓が出るものを多給区（HP飼料）とした。但し、残飼が出ない場合でも、PRの給与上限は乾物で40%とした。これはPRが高水分であることからこれ以上の割合（現物で約8割）は現実的ではないと判断したためである。この実験で使用されたPRは、国内のカットフルーツ工場からフレコンバッグに積み込まれて（約600kg/個）、試験開始直前に配送されたものである。多給区の摂取量が予め決められないため、試験配置は基礎区、パイン区および多給区のこの順番で行った。試験は各区にそれぞれ7日間の予備試験と本試験を設け、本試験期間中に糞と尿を分離して全量を採取した。各試験区間には最低7日間の馴致期間を設けて、飼料を暫時置き換えた。飼料給与は毎日10時と18時に実施し、水は自由飲水とした。

飼料成分消化率およびTDNは、飼料間で加法性が保持されることを前提に、NARO（2009）に従って算出した。ルーメン液は、本試験5日と7日目の13時から14時の間にストマックチューブ（富士平工業）を用いて経口的に採取した。同時に血液は尾静脈より真空採血管（テルモ社製）を用いて採血を行った。ルーメン液は8重ガーゼを通過した液のpH（HR-25R；DKK-TOA社製）および酸化還元電位（ORP）（D-50；堀場製作所）を測定し、その後、化学分析まで冷凍保存した。希土類元素イッテルビウム（Yb, 1.0g/頭 シグマ・アルドリッチ社）は2%塩酸水溶液に溶解したものを、基礎区ではアルファルファヘイキューブ、パイン区および多給区ではPRの一部に吸着させた（Ellisら、1979）。Yb吸着飼料は60℃で乾燥させ、本試験の2日目にウシに給与して、糞中へのYb排泄パターンから飼料の消化管通過速度を推定した。

飼料の物理性を示す指標である粗飼料因子（RVI）（Sudweeksら、1981）は、本試験3～4日目の48時間の咀嚼時間（摂食時間＋反芻時間）を目視観察により測定し、摂取飼料乾物あたりの時間（min/kg DMI）で表示した。PR単体のRVIは、飼料消化率推定と同様に加法性の成立を前提として計算した。

3.2.2 サンプル分析・統計

飼料の代表サンプルは、給与飼料の秤量時にその一部を採取して成分分析等に供与した。PR以外の飼料はそのまま粉碎し、PRと糞は水分含量の高いため60℃で風乾試料を調製した後に粉碎した（全て0.5mmスクリーン使用）。飼料および糞の一般成分分析はダイコンの飼料価値評価で記載した方法（2.2.1）に従って実施した。飼料の粒度分布は、Penn State particle separator（PSPS、）を用いて測定し（Heinrichs 1996）、糞の粒度分布は、流水下で標準ふるいを用いて分離測定した。

ルーメン中の揮発性脂肪酸（VFA）、非揮発性有機酸およびアンモニア濃度の測定はダイコンの飼料価値評価で記載した方法（2.2.1 および 2.2.2.2）に従って行った。ルーメン内のデンプン分解菌、セルロース分解菌およびメタン菌は選択培地を用い、また総生菌数は非選択培地を用いてロールチューブ法で嫌氣的に培養し（Hungate 1969、梶川ら 1989、1990）、最確法によって計数した（日本薬学会 1973）。ルーメンプロトゾア数は、Ogimoto と Imai（1981）に従って計測した。ルーメン微生物によるタンパク質合成量は、尿中プリン体排泄量（アラントインおよび尿酸）に基づいて推定した（IAEA 1997）。

血清中の成分および血漿中の抗酸化活性（FRAP）と酸化ストレスマーカー（MDA）は、ダイコンの飼料価値評価で記載した方法（2.2.2.2）で測定した。糞中 Yb は、試料を乾式灰化後に 0.1M 硝酸で溶解したものを誘導結合型プラズマ発光分光法（ICPE-9000、島津製作所）により測定した。飼料の通過速度（kp）は、非線形解析用ソフトウェア（Prizm ver.6、GraphPad 社）を用いて算出した（Titgemeyer ら 2004）。

各試験区のデータは、一元配置モデルによる分散分析に基づいて以下の式により判定した（Prizm ver.6 GraphPad）。

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + e_{ij}$$

ここで Y_{ij} は測定値、 μ は全体の平均値、 D_i は飼料の効果、 A_j は動物個体の効果および e_{ij} は残渣とした。分散分析（F 検定）で有意な項目（ $P < 0.05$ ）に関しては、Tukey のペア Q 検定を用いて試験区間の有意差検定を行った（Snedecor と Cochran 1967）。

3.3 結果

3.3.1 摂取量、消化率および可消化養分総量（TDN）

基礎区およびパイン区（LP）では残渣が見られず、乾物摂取量（DMI）は各 7.0 および 6.9 kg/日とほぼ同一であり（表 3-1）、パイン区（LP）中の PR は乾物で 1.4 kg/日であった。また多給区（HP）では PR の残飼を出すことなしに最大設定値（DM 中 40%）に達し、DMI 全体では基礎区もしくはパイン区の 1.3 倍となった。また多給区中の PR 摂取量は、乾物で 3.6kg/日、原物で 24kg/日に達し、飼料全体の 80%を占めた。

表 3-2 には、PR の成分とパイン区（LP）および多給区（HP）における PR の成分消化率および TDN を示した。PR は EE および CP の含量が低く（それぞれ 2% および 6%）、その一方で NDF 含量が 56%と高く、また非繊維性炭水化物（NFC）も 32%と粗飼料と比べると高い値を示した。飼料の消化率はパイン区（LP）DM 消化率は 71%であり、TDN も 70% DM と良質の粗飼料よりも高い値を示した。また CP 消化率は低い値（41%）を示したが、炭水化物（NDF および NFC の消化率は高い値を示した。消化率および TDN は、すべての項目でパイン区（維持量水準）と比較して多給区で低い値を示したが、有意差が見られたのは NFC のみであった。

Table 3-1. Intake, ingredients and composition of the experimental diets

	Treatment		
	basal diet	LP diet	HP diet
Intake (kg/d)			
Dry matter (DM)	7.0	6.9	9.2
As fed	7.7	14.0	30.5
Ingredient (% to total amount of the basal diet on DM)			
Italian ryegrass hay	40	32	32
Alfalfa haycube	30	24	24
Rolled corn grain	25	20	20
Soybean meal	5	4	4
Pineapple residue	0	20	52
Total	100	100	132
Composition (% DM)			
DM (% as fed)	91.0	47.9	30.0
Organic Matter (OM)	94.1	94.4	94.8
Ether extract (EE)	2.2	2.2	2.2
Crude protein (DP)	11.7	10.7	9.4
Neutral detergent fiber (NDFom)	42.0	43.7	47.4
Non-fiber carbohydrate (NFC)	38.3	37.8	35.8

Table 3-2. Composition and digestibility of the pineapple residue

	Composition	Digestibility (%)		SEM	P-value
	% DM	LP diet	HP diet		
DM (% as fed)	14.8	70.8	63.8	5.5	0.222
OM	95.9	71.7	64.7	5.4	0.183
EE	2.1	58.3	48.8	12.0	0.521
CP	6.0	40.8	26.6	12.1	0.280
NDFom	55.6	63.6	58.4	7.0	0.496
NFC	32.1	92.0	83.5	2.4	0.036
ADFom	31.5	-	-	-	
ADL	2.4	-	-	-	
NDICP	1.1	-	-	-	
ADICP	0.4	-	-	-	
TDN (% DM)	-	70.3	63.4	5.4	0.184

3.3.2 ルーメン内特性

ルーメン内の物理化学的および化学的特性を、表 3-3 に示した。pH は各区間で差が見られなかったが、ORP は多給区 (HP) で他区と比べて有意に低くなった。総 VFA 濃度は、多給区 (HP) で高い傾向があったが、各酸の中では酢酸のみに多給区 (HP) で高い傾向が見られた。また非揮発性の有機酸では、乳酸とフマル酸はどの区も検出されなかったが、低濃度のコハク酸が各区で検出された。アンモニア態窒素は、基礎区で数値的に高い値を示したが、有意差は見られなかった。

ルーメン内の微生物学特性を、表 3-4 に示した。総生菌数、でんぷん分解菌、セルロース

分解菌およびメタン細菌は各区間で差が見られなかった。総プロトゾア数および中型および大型のプロトゾアである非エントディウム属の割合も、各区間で差は見られなかった。さらに尿中のプリン体排泄量から推定したルーメン内微生物合成量にも、各区間で有意差は見られなかった。

Table 3-3. Ruminal fermentation properties on the experimental diets

	Treatment			SEM	P-value
	basal diet	LP diet	HP diet		
pH	6.94	6.87	6.86	0.08	0.728
ORP (mV)	-352	-354	-319	5	0.002
Volatile fatty acid (VFA) (mM)					
Total VFA	90.3	95.9	109.0	4.8	0.054
Acetate	60.7	65.8	75.0	4.0	0.082
Propionate	17.5	17.4	20.0	1.1	0.248
Butyrate	9.0	7.4	8.2	0.8	0.406
Iso acids	3.1	5.2	5.8	0.9	0.117
Acetate/propionate	3.46	3.76	3.85	0.28	0.595
Non-volatile organic acid (mM)					
Lactate	ND	ND	ND	-	-
Fumarate	ND	ND	ND	-	-
Succinate	0.01	0.02	0.01	0.01	0.575
Ammonia-N (mM)	5.58	3.75	3.35	0.83	0.187

ND: not detective

Table3-4. Ruminal microbial properties on the experimental diets

	Treatment			SEM	P-value
	basal diet	LP diet	HP diet		
Bacteria					
Total Viable counts (x108CFU/ml)	4.5	7.7	4.8		0.119
Starch Digesters (x107/ml)	2.8	6.2	6.2	2.3	0.497
Cellulolytic bacteria (x105/ml)	14.9	12.4	8.1	5.3	0.796
Methanogens (x105/ml)	2.0	1.4	1.8	0.6	0.785
Protozoa					
Total counts (x1000/ml)	113	102	115	32	0.949
Non- <i>Entodinium</i> spp. (%)	4.9	14.2	6.9	4.8	0.388
Microbial CP (estimated from urinary purine derivatives)					
(g/kg DMI)	58.1	83.4	71.6	10.1	0.256

3.3.3 血液特性

血液の代謝特性は、表 3-5 に示した。血糖値に試験区間で差は見られなかったが、脂質代謝に関連する中性脂肪と遊離脂肪酸 (NEFA) は、多給区 (HP) で他区よりも有意に低い値が示された。また蛋白質関連では、総蛋白質には区間差が見られなかったが、尿素態窒素 (BUN) では HP で対照区より低い値が示された。肝臓系の酵素では、ALT では差が見られなかったが、AST では HP で有意に低い値が示された。

Table 3-5. Blood properties on the experimental diets

	Treatment			SEM	P-value
	basal diet	LP diet	HP diet		
Glucose (mg/L)	578	573	585	36	0.970
Triglyceride (mg/L)	139	146	85	12	0.011
NEFA (mEq/L)	0.141	0.101	0.088	0.010	0.012
Total protein (g/L)	72.1	71.8	70.4	1.7	0.762
BUN (mg/L)	125	105	76	9	0.010
AST (GOT, U/L)	44.0	43.4	55.4	2.9	0.029
ALT (GPT, U/L)	15.6	15.5	18.1	1.2	0.273
Malon dialdehyde (mM)	2.89	2.19	2.65	0.78	0.818

NEFA: nonesterified fatty acids, BUN: blood serum urea, AST: aspartate transaminase

ALT: alanine transaminase

3.3.4 抗酸化活性

飼料の抗酸化能を示す還元力 (FRAP) では、PR が他の試験飼料に比べ高い値を示した (表 3-6)。そのため混合飼料中の FRAP も、PR の含量が高くなるにつれて高い値となった。しかし代表的な「抗酸化資材」である落花生皮や緑茶粕に比べると、PR の FRAP ははるかに低い値であった。また酸化ストレスマーカーである血中のマロンジアルデヒドの値は、試験区間で差は見られなかった (表 3-5)。

Table 3-6. Antioxidant value of the experimental feeds

	FRAP (Fe ²⁺ mmol/gDM)
Pineapple residue	94
Italian ryegrass hay	23
Alfalfa haycube	35
Rolled corn grain	60
Soybean meal	9
basal diet	35
LP diet	53
HP diet	60
Peanut skin	746
Green tea residue	733

FRAP: ferric reducing antioxidant power

3.3.5 飼料の物理特性と消化管内の動態

試験で用いた飼料と各試験区の混合飼料、および糞便中の粒度分布を表 3-7 に示した。PR の風乾物 (ADM) は PR 現物 (As Fed) よりも大きな粒度、特に 1.9 cm 以上のものが減少して、細かいサイズのものが増えた。また PR (風乾物・現物ともに) は、アルファルファキューブやコーンサイレージに比べて、大きな粒度 (1.9 cm 以上) のもので少ない割合を示した。糞便中の粒度分布は、いずれの区においてもほとんどが 0.15 mm 未満であり、各区間の粒度分布に差は認められなかった。

Table 3-7. Particle size distribution and dry matter content of the experimental feeds and feces (%)

Feeds (PSPS) (cm)	Pineapple residue		Alfalfa haycube	Corn silage
	(As fed)	(ADM)	(As fed)	(ADM)
under 0.4	0.0	9.1	26.8	1.9
0.4 to 0.8	3.5	33.4	21.5	6.6
0.8 to 1.9	60.7	49.4	23.7	16.0
over 1.9	35.8	8.1	28.0	75.5
DM (%)	14.8	92.3	89.5	94.5

Feces (Wet sieving) (mm)	Treatment		
	basal diet	LP diet	HP diet
under 0.15	89.2	89.6	89.1
0.15 to 0.60	4.6	4.3	3.8
0.60 to 1.18	3.3	3.2	3.5
1.18 to 4.75	2.3	2.7	2.9
over 4.75	0.6	0.3	0.7
DM (%)	16.8	16.4	16.1

ADM: air-dry matter

飼料の採食および反芻に伴う咀嚼時間およびとそれから求めた粗飼料因子、および飼料のルーメンからの流出速度 (kp) と消化管内滞留時間を表 3-8 に示した。採食に伴う咀嚼時間 (min/日) は多給区 (HP) で有意に長い時間を示したが、反芻時間および総咀嚼時間には差は見られなかった。また飼料乾物 1 kg あたりの咀嚼時間は、採食と反芻を含め飼料区間に差は見られなかった。また基礎区とパイン区から求めた PR の粗飼料因子 56.7 min/kg DMI であった。

Table 3-8. Chewing time, roughage value index and feed passage in the digestive tract on the experimental diets

	Treatment			SEM	P-value
	basal diet	LP diet	HP diet		
Chewing time (min/day)					
Ingestion	49	50	78	5	0.003
Rumination	213	228	340	52	0.220
Total	262	278	418	56	0.146
Roughage value index (RVI)† (min/kg DMI)	37.4	40.8	44.9	3.0	0.251

†Estimated RVI of the pineapple residue : 56.7 min/kg DMI

糞便中のイッテルビウムの排泄プロファイルから推定した、アルファルファヘイキューブ (基礎区) と PR (LP および HP) のルーメンからの流出速度 (kp) と消化管内滞留時間 (MRT) を同様に 3-9 に示した。各試験区間に有意差は見られなかったが、数値的にはアルファルファヘイキューブに比べて PR は kp が速く、MRT が短い高い値を示した。

Table 3-9. Solid digesta passage in the digestive tracts of the experimental feeds

	Alfalfa haycube	Pineapple residue		SEM	P-value
	basal diet	LP diet	HP diet		
Ruminal outflow rate (%/h)	1.92	2.72	3.11	0.40	0.155
Mean retention time (h)	65.4	57.5	53.7	3.7	0.107

3.4 考 察

パイナップル残渣 (PR) は、脱水処理を行ったものでも水分含量が 85 % 以上もある高水分資材である。Lahr ら (1983) は、DM 含量が 60%未満の飼料では飼料摂取量 (DMI) が減少することを報告しているが、水分含量は DMI に影響を及ぼさないという報告もある (Logan と Haydon 1964)。本試験では、多給区の水分含量が高い (70%) にもかかわらず、良好な DMI を示した。多給区における PR の採食量は、未経産ホルスタイン (Saver ら 1984) や乳牛 (Teller ら 1990) で示されたサイレージの摂取量と同程度であった。また、PR は維持量給与 (LP 区) において、給与後 30 分以内に完食されたことから、嗜好性も良好であると考えられた。PR は水分含量が高いにもかかわらず、2 か月以上、腐敗やカビの発生が見られなかったが、この安定性はその高い酸性度 (pH3.6) に起因するものと考えられた。同様な特性が、シトラスパルプでも報告されている (Bampidis と Robinson, 2006)。PR に含まれる主要な酸は、クエン酸やリンゴ酸などの非揮発性有機酸であると考えられる (文部科学省, 2020)。

PR の DM 消化率および TDN は、いずれもほぼ 70%であった。TDN は、日本食品標準成分表 (NARO 2009) の値 (DM で 71%) ほぼ同じ値である。これらの値は、PR が生育初期の牧草よりもエネルギー価が高いことを示している。PR の NDF と NFC の高い消化率は、その良好な品質に寄与している主な要因である。別の *in vitro* 試験では、パイナップルの皮も 70%以上という高い消化率が報告されている (Negesse ら 2009)。しかし、PR のタンパク質含量は低く、消化率も低いことが明らかになったことから、その多給には適切なタンパク質を補給する必要がある。

PR で示されたように、炭水化物消化率の高い飼料はルーメンアシドーシスになる可能性がある。これは VFA や乳酸等の発酵酸濃度の上昇や pH の低下、酢酸/プロピオン酸比の低下、プロトゾア、メタン菌やセルロース分解菌などいくつかの微生物数を減少させる特徴がある (梶川ら 1990)。多給区では VFA が増加する傾向にあったが、酢酸/プロピオン酸の比は変化せず、弱酸の中でも強い酸であり急性アシドーシスの原因となる乳酸も PR を含む区では検出されなかった。Uchida ら (1980) の研究報告において、PR ペレットを中心とした飼料は PR と同程度の可消化エネルギーを持ち、濃厚飼料の一部を置き換えることでルーメンの急激な発酵を緩和するビートパルプと同様な機能を有することが示された。ルーメン内の繊維消化率は pH の低下に感受性があることが知られているが (Stewart, 1977)、多給区での NDF 消化率には大きな変化は見られなかった。さらに細菌やプロトゾア数およびルーメン内微生物 CP 合成量などにも、区間で有意な差は見られなかった。これらのことから、PR を多給しても、ルーメン微生物相の変化によってルーメンアシドーシスが引き起こされるリスクは低いことが示唆された。

多給区で ORP 値が高くなったのは、PR の摂取に伴いその水分中に含まれる酸素が影響したことが考えられる。ルーメン内には、セルロース分解菌やメタン生成菌など酸素に対して高い感受性を示す微生物が存在することから (Hungate, 1969)、飼料の消化・発酵性を抑制する可能性がある。しかし、本研究では、多量に PR を与えても微生物数は変化せず、ORP

の上昇に伴う負の効果は低いものと考えられる。

血中の脂肪代謝物（中性脂肪と遊離脂肪酸）は、いずれも多給区で低下した。中性脂肪は腸からの吸収と脂肪組織への取り込みのバランスを反映し、遊離脂肪酸は脂肪組織からの脂肪酸の動員の指標となる（Murray ら 2007）。多給区でこれらの値が低かったのは、PR から主に糖として吸収された利用性の高いエネルギーが、脂肪代謝に対して抑制的に働いた可能性が考えられる。多給区で BUN の濃度が低かったのは、PR の CP 含量が低く、それがルーメンアンモニアを通じて血液中の尿素濃度を低下させたことが考えられる。さらに PR には高消化性の炭水化物が多く含まれ、それが微生物の増殖に利用されることから案のニア濃度を低下させたことも考えられる。しかしアンモニア N 濃度が 3.6 mM 未満になると、ルーメンでの微生物合成が阻害される可能性があるため（Satter と Slyter, 1974）、PR 多給時には蛋白質の補給を考慮する必要があると考えられる。肝臓系の酵素である ALT は有意差がなかったが、多給区で AST が有意に増加したのは、PR を給与に伴い栄養の流入が高まり、肝臓に負担がかかったことが反映されているのかもしれない。しかしその値は乳牛の正常範囲内であった（加藤ら, 2019）。

PR は、本研究で使用された他の単味飼料より抗酸化力が高いが、落花生皮や緑茶の残渣などの抗酸化飼料として特徴付けられるものと比較すると、低い値であった。血液中の酸化ストレスマーカーである MDA は、落花生皮（Saito ら 2006）や緑茶残渣（Nishida ら 2006）のように、PR では改善が見られなかった。多給区でエネルギー摂取量が多いことは、酸化ストレスに影響を与える可能性がある。酸化ストレスは分娩に伴うエネルギー摂取量が増加するとこ上昇されると報告されている（Castillo ら 2005）、一方で泌乳牛の負のエネルギーバランスを低く維持するためにエネルギー摂取量を多くすると酸化ストレスが減少することも報告されている（Pedernera ら 2010）。PR の給与によった酸化ストレスマーカーに効果が見られなかったのは、PR の抗酸化作用と高エネルギー摂取が拮抗した可能性も考えられるが、維持量給与で使用されている実験環境下では、もともと抗酸化作用が効果を発揮するほどストレスがかかっていなかったことも考えられる。

粒度分布は、反芻動物用飼料の物理性を表す重要なパラメータである。飼料やルーメン消化物の比較的大きな粒子は、ルーメンに滞留すると咀嚼を促進して唾液の分泌を促し、ルーメン内の緩衝能を高める機能を持つ。綿羊の第三胃は 1.2 mm 以上の粒子がほとんど通過できないことが示されている（Poppi ら 1980）。しかし綿羊と牛はサイズが異なることから、パンシルヴァニア州大では牛の飼料の粒度分布を評価するために PSPS が開発された。PSPS では、牧乾草では粒子の大きさが 1.9 cm を超えが 10~20 %、0.8~1.9 cm の範囲が 45 %、0.4~0.8 cm の範囲が 30 %、そして 0.4 cm 未満が 10 % 未満と推奨されている（Heinrichs 1996）。粒度分布が推奨範囲以外の飼料を使用した場合、粒子が小さいことからルーメン内の緩衝能力が低下すると同時に、好みの飼料を選択摂取する可能性がある。現物 PR は風乾 PR よりも粒子が大きいことがわかるが、これは粒子同士がくっつきやすいためと考えられる。風乾 PR の粒度分布は 1.9 cm 超以外は、乾牧草として推奨される条件を満たしており、また典

型的な粗飼料（アルファルファヘイキューブやコーンサイレージ）よりもむしろ良好な分布を示しており、適切な粒度分布と判断できる。

さらにより直接的に飼料の物理性を表す指標として、飼料の咀嚼時間を基に推定される粗飼料因子（RVI）が提案されている（Sudweeks ら 1981）。RVI が 30 min/kg DM 以下では、乳牛で低脂肪が発生するリスクが高まる（Davis & Brown 1970）。彼らによると、RVI は粗飼料で 40 min/kg DM 以上、副産物飼料で 30 min/kg DM 以下、穀類では 20 min/kg DM 以下であることが示されている。本試験では PR の RVI は 57 min/kg DM と粗飼料と同等と推定され、多給区の咀嚼時間の有意な増加は、PR の給与量が多いことに起因していると考えられた。PR のルーメンからの流出速度（kp）は約 3 %/h であり、kp および MRT はアルファルファヘイキューブと有意な差は見られなかった。kp の値は濃厚飼料が 3.8-7.3 %/h であるのに対し、牧草は 2.9-5.3 %/h と低い値である（Chalupa ら 1991）。このことから、PR は粗飼料と同様に、反芻動物のルーメンマットを構成し、十分な咀嚼によりルーメン緩衝能力保持する役割があると考えられた（Welch 1982）。

第四章 ヒマワリ粕の飼料価値評価

4.1 緒言

生産・輸送コストの上昇とタンパク質飼料の世界的な需要の高まりが、代表的な家畜用蛋白質飼料として多く使用されている大豆粕 (SBM) の価格高騰を引き起こしている (FAO 2021)。そのため、代替の蛋白質飼料源を新たに開発する必要がある。ヒマワリ種子から油を溶媒抽出した後に作られるヒマワリ粕 (SFM: Sunflower meal) は SBM よりも安価で (USDA-AMS 2022)、SBM、菜種粕および綿実粕とともに世界で最も使用されている油糧種子の一つである (USDA-FAMS, 2022)。一方、ヒマワリから機械的に油を抽出した残渣はヒマワリ粕 (SFC: Sunflower cake) SFM に対して用語的に曖昧さがある副産物であるが、先進国・途上国を問わず主に小規模生産で広く発生している (Heuze ら 2016)。また EU では、有機畜産物の生産には有機溶媒の使用が禁止されており (EU 2007)、安心・安全な食糧生産の点でも注目を集めている。日本でも、ヒマワリの生産量は多くはないもの (農林水産省統計局 2007)、国産原料由来の SFC が安心・安全な飼料として今後広まっていくと考えられる。

SFM はルーメン内での高い蛋白質分解性が示されている (Erasmus ら 1994、NARO 2009)。このため、微生物に対するエネルギー源 (主に炭水化物) が十分に供給された場合には、ルーメン微生物合成量が高まる可能性がある (Nocek と Russell 1988)。しかし同時に、ルーメン分解性蛋白質 (RDP) が高い飼料を多給すると、高泌乳牛の場合には、ルーメンからのバイパス蛋白質不足により代謝性蛋白質 (MP) の収量が不足する可能性がある (NRC 1985)。飼料の化学的処理や熱処理によって、ルーメン内での蛋白質分解性を抑制する技術も開発されているが (Hamilton ら 1992、Arroyo ら 2011)、SFC に対するそれらの効果もほとんど報告されていない。ルーメン内での蛋白質分解性のみならず、SFC に関しては、全消化管での消化率もこれまで明確になっていない。

ヒマワリ種子を機械的に圧搾した場合、相当量の油脂が残るため、高エネルギー飼料源ともなり得る。しかし、脂肪を多く含む飼料を大量に給与すると、繊維分解菌を含むルーメン内の微生物、特にグラム陽性菌とプロトゾア (Czerkawski 1973、Maczulak ら 1981) の増殖が抑制されることが知られている。また SFC は高い繊維含量に起因する消化率の低下が考えられ、高い脂肪含量の利点が相殺される可能性もある。しかし SFC の繊維消化率に関するデータも少ない。

本研究では、牛を用いたインシチュ (*in situ*) 試験で、SFC のルーメン内の蛋白質分解パラメータを明らかにするとともに、実際の反芻家畜の飼養試験で SFC の成分消化率、TDN および窒素出納を求め、代表的な蛋白質飼料である SBM と飼料の利用性を比較した。最初にヤギを用いた試験で両試験区 (SFC 区と SBM 区) の CP 含量を揃えた試験を、続けて牛を用いた試験で CP と高利用性炭水化物 (NFC) 含量を揃えた試験を実施した。またルーメンおよび血液性状を分析することで、動物の代謝特性や安全性に対する影響を検討した。

4.2 方法

4.2.1 インシチュ試験・アミノ態 N 分析（ヒマワリ粕）

ルーメンフィステル装着ホルスタイン牛（体重 750kg、4.49 歳）にイタリアンライグラス乾草、圧片コーン、SBM（それぞれ乾物で 50%、45%および 5%）を給与し、インシチュ試験で用いた（Nocek 1988）。給与量は、米国飼養標準（NRC 2001）に従って、エネルギー維持量の 110%および十分な CP を充足するものとした。実験は、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号 AP19BRS088-2）。

日本国内で収穫されたヒマワリから機械搾油した 2 種類の SFC（SFC1 および SFC2）を使用した。これらの品種は同じ（春りん蔵）であるが、収穫地（兵庫県と岩手県）および搾油設備が異なる。

インシチュ試験では SFC 5.0 g（DM）をポリエステルバッグ（10×20 cm 平均孔径 40 μm、Ankom Technology、Fairport、NY、USA）に秤量した。対照飼料として、SBM およびビール粕もそれぞれ RDP の高い飼料と低い飼料の代表として秤量した。各飼料について 4 連で 4、8、24、48、72h 牛のフィステルを通してルーメン内で培養した。可溶性画分は、未培養飼料を十分な水で洗浄してその残渣から求めた。培養した飼料は、水で洗浄水が透明になるまで洗浄し、乾燥機（60℃）で恒量になるまで乾燥した。飼料および残渣飼料中の CP 含量は、燃焼法で求めた（スミグラフ NC-200F；住化分析サービス、大阪市）。ルーメンの乾物および蛋白質パラメータは、Orskov と McDonald（1979）に従って、非線形解析用ソフトウェア（Prizm ver.6; GraphPad, San Diego, CA, USA）を用いて算出した。

従来、蛋白質分解パラメータの可溶性画分（a 画分）は、そのほとんどが非蛋白態窒素（NPN）としてルーメン微生物に即座に利用されるものと仮定されてきた（Hedqvist と Udén 2006）。しかしインシチュ試験の結果から、SFC の a 画分が極めて高く（70%）、その全てが NPN であることに疑問があるため、以下の方法で、可溶性画分中のアミノ態窒素の含量を測定した。

SFC の他に、可溶性画分の高い SBM とアルファルファをそれぞれ 20 ml ネジロ試験管に乾物で 0.25 g 秤量し、マクドゥーガル人工唾液（pH 6.8、10 ml）を加えて室温で 15 分間振盪した後（TAITEC SR-1）、遠心分離した（HITACHI CR21N、10,000 rpm、20min、4℃）。その上清を、Moore と Stein（1948）に従って、ニンヒドリン法で測定したものを低分子アミノ態 N（アミノ酸+オリゴペプチド）とした。また分離上清を 6M 塩酸で分解（110℃、16 時間）した後に 6M の NaOH で中和してニンヒドリン法で測定したものを全アミノ態 N とし、低分子アミノ態 N との差を高分子アミノ態 N（ポリペプチド+蛋白質）とした。

4.2.2 ヤギを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）

4.2.2.1 試験動物、飼料および試料採取

去勢の雄シバヤギ 4 頭（平均体重 33kg）を実験室内（室内温度 25℃）に設置した代謝ケージで個別飼育した。実験は、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号

AP19BRS013-1)。

飼料として、基礎区 (AH 区) はアルファルファヘイキューブ (AH) のみを米飼養標準 (NRC 2007) に従って、エネルギーは維持量を、蛋白質は十分量を充足可能な量を計算して給与した。ヒマワリ粕区 (SFC 区) では、基礎区の AH を乾物で 30%をヒマワリ粕 (SFC2 を使用) で置換した。大豆粕区 (SBM 区) では、CP 含量を SFC 区と同等にするために、AH 区の一部を SBM で置き換えた (表 4.3)。SFC30%を含む飼料がヤギに摂取可能かの保証がないため、全てのヤギで SFC 区を SBM 区より前に配置した。AH 区は、SFC と SBM の消化率を求めるために設けたことから、SFC 区の前に実施した。各区は 14 日間実施し、最初の 7 日間は予備試験とし、その後 7 日間の本試験を設けた。異なる区の間には 7 日間の馴致期間を設けた。飼料は毎日 10:00 に給与し、水は自由に与えた。本試験期間中に全糞と全尿を分離して採取し、飼料消化率および窒素出納の測定に用いた。消化試験は、日本における公定規格 (FAMIC, 1981) に準拠して実施した。採取した尿はアンモニアが揮発しないように直ちに硫酸を添加した。消化管内動態のマーカであるイッテルビウム (Yb) を AH 区、SFC 区および SBM 区においてそれぞれ AH、SFC および SBM に吸着させて本試験の 2 日目に給与した (酸化 Yb として 100 mg/頭)。その後、経時的に採取した糞中の Yb を測定して飼料の消化管内動態を推定した (Ellis ら、1979)。

ルーメン液は小型反芻動物用ストマックチューブ (三紳工業、横浜) を用いて本試験の 5 日目と 7 日目の 13:00~14:00 間に経口採集した。さらに、血液は真空採血管 (テルモ、東京) を用いてルーメン液の採取と同時間帯に頸静脈から採血した。ルーメン液は 8 重ガーゼでろ過し、pH (HR-25R; DKK-TOA、東京) と酸化還元電位 (ORP、D-50; 堀場製作所、京都) を測定した後、化学分析まで冷凍保存した。

4.2.2.2 試料分析と統計処理

飼料の分析用試料は、給与する飼料の秤量時に採取した。飼料および糞のサンプルは 60°C で乾燥させたあと風乾状態にして粉碎した (0.5 mm フィルター)。飼料および糞の成分分析は第二章のダイコン残渣における同様の材料と方法で行った。またルーメン液特性、血液性状および消化管内の動態評価も同様に、第二書のダイコン残渣における材料と方法を用いて分析した。

3 区平均の比較を行った場合 (すなわち消化率と通過速度等)、データは以下のモデルで分散分析 (Prizm ver.6) にかけた。

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + e_{ij}$$

ここで Y_{ij} は測定値、 μ は全体の平均値、 D_i は飼料の効果、 A_j は動物個体の効果および e_{ij} は残渣とした。分散分析 (F 検定) で有意な項目 ($P < 0.05$) に関しては、Tukey のペア Q 検定を用いて試験区間の有意差検定を行った (Snedecor と Cochran 1967)。SFC 区と SBM 区の平均値を比較する場合は、paired-t test を適用した (Prizm ver.6)。

4.2.3 ウシを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）

ヤギの飼養試験で SFC 飼料と SBM 飼料で窒素保持量に差が見られたことから、この試験では CP 及び NFC 含量をともに揃えることで、ルーメン内微生物合成量が同一になるように設定した。試験は日本大学生物資源科学部付属農場で行われ、ホルスタイン種非泌乳牛 4 頭（平均体重 505kg）を用いて交差法による実験を実施した。供試牛は個別別の牛床に収容され、飼料は 1 日 2 回（10:00 および 18:00）同量を給与し、自由飲水とした。実験は、日本大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号 AP20BRS002-1）。

本研究は、アルファルファヘイキューブ（AH）、イタリアンライグラス乾草（IRG）、加熱圧片コーンを含む基礎飼料給与区を設け（AH 区）とし、米飼養標準（2001）に従って、エネルギーは維持量を、蛋白質は十分量を充足可能な量を計算して給与した。さらに AH の代わりにヒマワリ粕を加えた SFC 区と大豆粕を加えた SBM 区を設けた。用いた SFC はヤギ飼養試験で用いたもの（SFC2）と入手先は同じであるが、ロット（時期）が異なるものである（SFC3 と表記）。試験区間の CP と NFC 含量（それぞれ 12.5 および 40%）を揃えるために、IRG とコーンの比率を調整した。試験は 1 群のみ 2 頭とした 3x3 ラテン方格による日程で実施した。試験期間は各試験区で予備試験と本試験を 7 日間とし、試験区の間 7 日間の馴致期間を設けた。本試験期間中に全糞と全尿を分離して採取し、飼料消化率および窒素出納の測定に用いた。消化試験は、日本における公定規格（FAMIC, 1981）に準拠して実施した。ルーメン液は牛用ストマックチューブ（富士平工業、東京）を用いて本試験の 5 日目と 7 日目の 13:00~14:00 間に経口採集した。さらに、血液は真空採血管（テルモ、東京）を用いてルーメン液の採取と同時間帯に頸静脈から採血した。ルーメン液は 8 重ガーゼでろ過し、pH（HR-25R; DKK-TOA、東京）と酸化還元電位（ORP、D-50; 堀場製作所、京都）を測定した後、化学分析まで冷凍保存した。

飼料の分析用試料は、給与する飼料の秤量時に採取した。飼料および糞のサンプルは 60°C で乾燥させたあと風乾状態にして粉碎した（0.5 mm フィルター）。飼料および糞の成分分析は第二章のダイコン残渣における同様の材料と方法で行った。またルーメン液特性、血液性状および消化管内の動態評価も同様に、第二章のダイコン残渣における材料と方法を用いて分析した。また、ルーメン微生物によるタンパク質合成量は、尿中プリン体排泄量（アラントインおよび尿酸）に基づいて推定した（IAEA 1997）。

データは以下のモデルで分散分析（Prizm ver.6）にかけた。

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + e_{ij}$$

ここで Y_{ij} は測定値、 μ は全体の平均値、 D_i は飼料の効果、 A_j は動物個体の効果および e_{ij} は残渣とした。分散分析（F 検定）で有意な項目（ $P < 0.05$ ）に関しては、Tukey のペア Q 検定を用いて試験区間の有意差検定を行った（Snedecor と Cochran 1967）。

4.3 結果

4.3.1 インシチュ試験・アミノ態N分析（ヒマワリ粕）

表 4-1 にインシチュ試験およびヤギ飼養試験で用いた飼料の成分組成を示した。SFC1 は SFC2 よりも高い脂肪含量を示したが（EE で 20 対 11%）、この差は炭水化物、特に NDF に反映された。CP 含量では、SFC1 と SFC2 は BWG と同程度の値を示し（26-28%）、SBM（50%）の約半分の値となった。SFC1 と SFC2 の NDICP と ADICP 含量は、いずれも AH と SBM の中間で、BWG より低い値となった。

Table 4-1. Chemical composition of the experimental feeds (% DM)

Composition	AH	SBM	BWG	SFC1	SFC2
Dry matter (DM, % as fed)	89.0	90.0	33.9	93.2	89.2
Organic Matter (OM)	86.3	93.0	96.9	92.9	93.9
Crude protein (CP)	18.3	50.2	26.2	26.2	28.2
Ether extract (EE)	2.7	1.6	10.9	19.7	10.8
Neutral detergent fiber (NDF)	37.5	13.0	50.7	28.6	41.5
Non-fiber carbohydrate (NFC)	27.7	28.2	9.1	18.5	13.5
Acid detergent fiber (ADF)	27.1	11.0	20.4	30.5	29.3
Acid detergent lignin (ADL)	9.4	0.3	6.5	8.4	10.6
Neutral detergent insoluble CP (NDICP, % CP)	17.1	3.4	21.9	4.2	9.0
Acid detergent insoluble CP (ADICP, % CP)	4.2	1.5	8.2	2.9	3.9

AH:Alfalfa hay, SBM:soybean meal, BWG:brewers grains, SFC:sunflower cake

NDF, ADF: not containing ash and CP

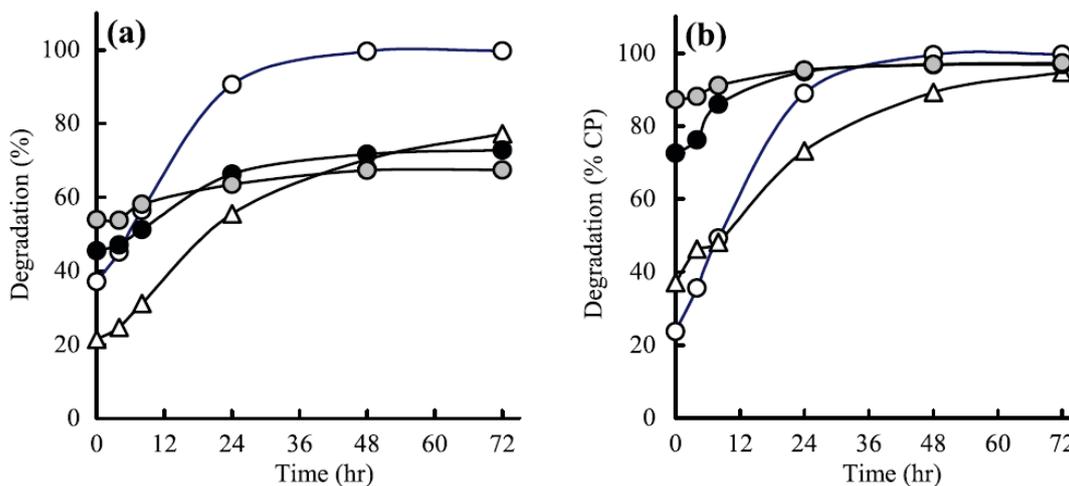


Fig. 1. *In situ* ruminal degradations of the dry matter (DM) (a) and crude protein (CP) (b) of the experimental feeds.

○: SBM (soybean meal), △: BWG (brewer's grains), ●: SFC1 (sunflower cake 1), ●: SFC2 (sunflower cake 2).

Table 4-2. *In situ* degradation parameters of the feeds in the rumen

	SBM	BWG	SFC1	SFC2
DM				
a (%)	33.8	18.9	43.5	52.9
b (%)	69.2	65.9	31.2	15.6
kd (%/hr)	5.88	3.11	4.58	4.59
CP				
a (% CP)	20.5	36.5	71.3	86.8
b (% CP)	82.6	65.0	26.0	10.8
kd (%/hr)	6.18	3.32	8.82	6.00

SBM: soybean meal, BWG: brewers grain, SFC: sunflower cake

a: soluble fraction, b: degradable fraction by rumen microbes,

kd: degradation rate of fraction "b"

インシチュ試験で各飼料のルーメン内での DM および CP 分解性を図 1 に、またそれから求められる分解パラメータを表 4-2 に示した。DM 分解において、ルーメン分解性蛋白質 (RDP) を多く含む蛋白質飼料である SBM は、RDP が低い BWG と比較してすべての培養時間で高い分解率を示した。ヒマワリ粕は SFC1、SFC2 とともに、培養開始時は SBM よりも高い値を示したが、72h 後には BWG とほぼ同じ値となった。CP 分解に関しては、SBM は BWG と比べて 24-36 時間で高い値を示したが、培養初期および後期 (分解率がほぼ 100% に到達) では両者はほぼ同じ値となった。これに対して SFC1 および SFC2 は、0 時間での分解率 (いわゆる可溶性画分) の値が、SBM や BWG と比べて著しく高く (70% 以上)、24 時間では 100% に近い値となった。

表 4-2 に示した分解パラメータでは、SFC の潜在的な DM 分解率 (a + b) は 65%~75% であり、そのうち可溶性画分 a が約 60~80% を占めていることが判明した。また CP 分解パラメータは、SFC の可溶性画分 (a) が 70~90% と非常に高く、SFC1 および SFC2 とともに潜在的な分解性蛋白質 (a + b) は 97% 以上に達した。

Table 4-3. Nitrogen fraction of the soluble CP in each feeds

	AH	SBM	SFC2
Fraction (% in the soluble CP)			
Amino acids + origopeptides	16.8	8.9	7.4
Polypeptide + Protein	26.3	47.7	56.1
Amino-N (as CP)	43.1	56.6	63.5
Non protein-N (as CP)	56.9	43.4	36.5

SBM: soybean meal, BWG: brewers grain, SFC: sunflower cake

可溶性蛋白質の画分を表 4-3 に示した。SFC2 ではポリペプチド+蛋白質の割合が 56% に及び、アミノ酸とオリゴペプチドを加えた総アミノ態窒素化合物では 64% と、非蛋白態窒素化合物よりもはるかに高い割合を示した。また RDP が高いことで知られる AH や SBM

もアミノ態窒素化合物の割合が 40-60%もあることが示された。

4.3.2 ヤギを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）

ヤギ飼養試験における給与飼料の摂取量（DMI）とその組成を表 4-4 に示した。摂取飼料中の CP 含量を SFC 区と SBM 区で揃えるため、SBM の割合を 10%にした結果、両区の CP 含量はほぼ同等となった（21.3 と 21.5%）。しかし炭水化物の特性は SFC と SBM の組成を反映して、SFC 区で NDF が高く、NFC が低い値となった。

Table 4-4. Intake, ingredients and chemical composition of the diets used in the feeding trial

	Treatment		
	basal diet	SFC diet	SBM diet
DM intake (kg/d)	0.632	0.631	0.631
Ingerdient (% DM)			
Alfalfa haycube (AH)	100	70.1	90.1
Sunflower cake (SFC2)	0	29.9	0
Soybean meal (SBM)	0	0	9.9
Chemical Composition (% DM)			
Dry matter (DM, % as fed)	89.0	89.0	89.1
Organic matter (OM)	86.3	88.6	86.9
Crude protein (CP)	18.3	21.3	21.5
Ether extract (EE)	2.7	5.1	2.6
Neutral detergent fiber (NDF)	37.5	38.7	35.1
Non-fiber carbohydrate (NFC)	27.7	23.5	27.8

NDF: not containing crude ash and CP

Table 4-5. Digestibilities and total digestible nutrients (TDN) of the experimental diets and individual feeds.

	Treatment				Individual feeds		
	SFC diet	SBM diet	SEM	P-value	AH	SFC2	SBM
Digestibility (%)							
DM	59.6	64.4	0.8	0.014	60.8	56.6	97.2
OM	60.0	68.3	0.9	0.014	65.0	55.6	96.0
CP	79.7	80.0	0.4	0.294	76.0	85.3	93.5
EE	75.4	47.4	0.8	< 0.0001	47.4	91.9	48.2
NDF	40.2	49.6	1.8	0.045	46.1	27.6	> 100
NFC	79.2	84.8	1.1	0.039	85.1	50.7	89.6
TDN (% DM)	59.8	60.9	0.8	0.373	57.7	64.7	90.2

AH:Alfalfa hay in the basal diet, SFC2:sunflower cake in the SFC diet, SBM:soybean meal in the SBM diet

表 4-5 には、SFC 区と SBM 区の成分消化率および TDN を示した。併せて、基礎区の消化率から求めた単体飼料の値も表記した。DM、OM、NDF および NFC 消化率は、SBM 区と比較して SFC 区で有意に低かったが、EE では反対に SFC 区で高い消化率を示した。CP

消化率および TDN には、両区間に有意な差は見られなかった。単体飼料の値に関しては、DM および OM 消化率で SFC は AH とともに 55-65% と、SBM (95%以上) に比べて低い値を示した。成分消化率から求めた TDN は SFC2 で乾物中 65% であり、AH よりも高い値であったが、SBM に比べると低い値を示した。EE 消化率は AH や SBM よりも SFC がはるかに高い値を示したが (92%)、反対に炭水化物 (NDF および NFC) の消化率は、AH および SBM よりも低い値となった。CP 消化率は 75 から 95% の範囲で SBM、SFC および AH の順で高い値を示した。

Table 4-6. Passage parameters of the experimental feeds in the digestive tract

	AH	SFC2	SBM	SEM	p-value
Ruminal passage rate (%/h)	2.34 ^b	2.86 ^{ab}	3.79 ^a	0.40	0.049
Mean retention time (h)	61.4	56.7	55.7	1.7	0.192

AH:Alfalfa hay in the basal diet, SFC2:sunflower cake in the SFC diet, SBM:soybean meal in the SBM diet

^{a, b} Values with different letters differ significantly.

AH 区、SFC 区および SBM 区における AH、SFC2 および SBM それぞれのルーメンから流出速度 (通過率、kp) および消化管内平均滞留時間 (MRT) を表 4-6 に示した。濃厚飼料である SBM は粗飼料である AH よりも早い kp を示し、SFC は両者の中間的な値を示した。MRT には試験区間で有意差は見られなかった。

Table 4-7. Nitrogen balance on the experimental diets

	SFC diet	SBM diet	SEM	p-value
Intake N (g/day)	21.5	21.7	-	-
Fecal N (g/day)	4.4	4.3	0.09	0.664
Absorbed N (g/day)	17.1	17.4	0.09	0.030
Urinary N (g/day)	12.6	10.3	0.54	0.053
Retained N (g/day)	4.5	7.1	0.57	0.037
Retained N/Intake N (%)	20.8	32.5	2.7	0.039
Retained N/Absorbed N (%)	26.1	40.6	3.2	0.042

表 4-7 に、SFC 区と SBM 区の窒素出納を示した。N 摂取量は、DMI と飼料中 CP 含量が同じであることから同等であり、糞中 N 排泄量にも差は見られなかった。しかし摂取量と排泄量の差から求めた吸収 N 量は値的には小さな差であるものの、SFC 区で低い値となった。尿中への排泄 N は SFC 区で高い傾向を示し、吸収 N と尿中 N の差から求めた保持 N 量は SFC 区で有意に低い値となった。総 N 摂取量および吸収 N 量に対する保持 N 量の割合も、SFC 区でいずれも低い値となった。試験期間中のヤギの平均体重変化は、SFC 区および SBM 区でそれぞれ 0.7 および 0.4 kg であり、試験区間で有意差はなかった。

SFC 区と SBM 区におけるルーメン内性状を表 4-8 に示した。VFA 各酸で差は見られなかったものの、総 VFA 濃度では SBM 区で有意に高い値を示した。そのほか、pH、ORP、非揮発性有機酸濃度、アンモニア N 濃度およびプロトゾア数において、両区間で差は見られなかった。

Table 4-8. Ruminal characteristics on the experimental diets

	SFC diet	SBM diet	SEM	p-value
pH	6.44	6.18	0.08	0.125
ORP (mV)	-368	-321	15	0.102
Volatile and Non-volatile organic acid (mM)				
Total acids	145.2	176.5	4.1	0.016
Acetate	97.8	121.5	6.0	0.103
Propionate	32.3	38.5	3.0	0.226
Butyrate	11.1	11.2	1.3	0.834
Iso acids	3.7	4.3	0.4	0.276
Lactate	ND	0.2	-	-
Fumarate	ND	ND	-	-
Succinate	0.4	0.8	0.2	0.286
Ammonia-N (mg/L)	605	559	31	0.193
Protozoa counts (×1000/ml)	59.1	64.8	10.1	0.144

Iso acids:sum of valeric, isovaleric and caproic acids

ND:not detectable

Table 4-9. Blood properties on the experimental diets

	SFC diet	SBM diet	SEM	p-value
Glucose (mg/L)	606	615	23	0.500
Total protein (g/L)	65.0	65.9	1.6	0.275
BUN (mg/L)	300	311	21	0.037
AST (GOT,U/L)	58.6	59.3	4.1	0.342
ALT (GPT,U/L)	9.8	11.3	2.0	0.238
FRAP (Fe ²⁺ mM)	0.111	0.121	0.005	0.083
MDA (μM)	1.96	2.32	0.21	0.156

BUN: blood serum urea, AST: aspartate transaminase, ALT: alanine transaminase

FRAP: ferric reducing antioxidant power, MDA: malonedialdehyde

表 4-9 には、SFC 区と SBM 区における血液性状を示した。BUN において SFC 区で有意に低い値が示された以外は血糖値、総蛋白質、BUN、AST および ALT において両区間で差は見られなかった。抗酸化関連では還元力 (FRAP) において SFC 区で低い傾向が見られた。各飼料中の FRAP は、AH、SFC および SBM でそれぞれ 28、63 および 7.1 mmol/g DM であったが、代表的な高抗酸化性飼料である落花生皮や緑茶粕の値 (400-800 mmol/g DM) に比

べるとはるかに低い値であった。また酸化ストレスマーカーである MDA では、両区間に差は見られなかった。

4.3.3 ウシを用いた飼養試験（ヒマワリ粕）

ウシ飼養試験で用いた個別飼料の成分組成を表 4-10 に示した。本試験で用いたヒマワリ粕（SFC3）は前述の試験で用いた 2 種類（SFC1 と SFC2）と比較すると、EE（12 と 11%）および CP（31 と 28%）含量で SFC2 に近い組成のものであった。また SFC2 と SFC3 では炭水化物の組成でも大きな差はみられなかったが、ヤギ試験で用いた SBM と比べると、NDF で高く（16 と 13%）、NFC で低い（23 と 28%）含量のものであった。

Table 4-10. Chemical composition of the experimental feed (% DM)

	IRG	Corn	AH	SFC3	SBM
Dry matter (DM, % as fed)	91.3	86.9	88.5	89.6	88.4
Organic Matter (OM)	95.5	98.5	87.5	92.6	92.5
Crude protein (CP)	5.9	8.2	19.9	31.5	52.2
Ether extract (EE)	1.2	5.1	3.9	12.1	1.7
Neutral detergent fiber (NDF)	66.4	6.4	42.1	27.8	15.8
Non-fiber carbohydrate (NFC)	22.0	78.8	21.6	21.2	22.8

IRG: Italian rygrass hay, AH: Alfalfa hay, SFC: sunflower cake, SBM: soybean meal

NDF: not containing ash and CP

表 4-11 には、予備入手した飼料の成分値を用いて各試験区間の CP と NFC 含量が同一となるように（それぞれ 12.5% および 40%）設定した飼料設計を示した。AH 区、SFC 区および SBM 区における AH、SFC3 および SBM の割合はそれぞれ 51、29 および 19% であり、成分を調整するために、SBM 区の IRG および SFC 区のコーンは高い割合となった。

Table 4-11. Ingredients of the experimental diets

Ingredient (% on DM)	Treatment		
	AH diet	SFC diet	SBM diet
IRG	22	39	59
Corn	27	32	26
AH	51	—	—
SFC3	—	29	—
SBM	—	—	15

IRG: Italian rygrass hay, AH: Alfalfa hay, SFC: Sunflower cake, SBM: Soybean meal

表 4-12 には実際に牛が摂取した飼料の組成を示した。CP および NFC 含量は SFC 区で高い数値が示された。

Table 4-12. Composition of the experimental diets (% DM)

	Treatment		
	AH diet	SFC diet	SBM diet
DM (% as fed)	88.7	89.4	89.7
Organic matter (OM)	7.7	4.4	4.2
Ether extract (EE)	3.6	5.7	2.3
Crude protein (CP)	13.6	14.2	13.4
Neutral detergent fiber (NDF)	38.0	35.8	43.2
Non-fiber carbohydrate (NFC)	37.0	40.0	36.9

表 4-13 には各試験区飼料の成分消化率と TDN を記載した。EE と NFC 消化率で SFC 区が他の試験区よりも高い値を示し、TDN 含量も SFC 区で高い傾向を示した。一方、NDF 消化率は SFC 区で有意に低い値を示した。他の項目 (DM、OM および CP) においては消化率に飼料間差は見られなかった。

Table 4-13. Apparent digestibilities and TDN of the experimental diets

	Treatment			SEM	P-value
	AH diet	SFC diet	SBM diet		
Digestibility (%)					
DM	65.60	64.27	66.25	0.58	0.296
OM	67.58	65.81	67.76	0.62	0.268
EE	72.31 ^b	86.80 ^a	69.38 ^b	5.39	0.001
CP	67.89	70.87	68.44	0.92	0.187
NDF	50.56 ^a	36.77 ^b	52.89 ^a	5.03	0.000
NFC	84.50 ^b	87.04 ^a	84.80 ^b	0.80	0.034
TDN (%DM)	65.59 ^b	69.10 ^a	66.93 ^{ab}	1.01	0.051

Table 4-14. Nitrogen balance on the experimental diet

	Treatment			SEM	p-value
	AH diet	SFC diet	SBM diet		
Intake N (g/day)	144.9	149.5	137.8	11.0	0.980
Fecal N (g/day)	46.6	43.7	43.7	2.8	0.960
Absorbed N (g/day)	98.3	105.8	94.1	3.4	0.662
Urinary N (g/day)	84.7	84.0	78.0	2.1	0.760
Retained N (g/day)	13.6	21.8	16.1	2.4	0.440

表 4-14 には各試験区における窒素出納を示した。数値的には SFC 飼料で摂取 N、吸収 N および保持 N において高い値を示したが、糞中窒素排泄および尿中窒素排泄を含む全ての項目で有意差は見られなかった。

Table 4-15. Ruminal characteristics on the experimental diets

	Treatment			SEM	p-value
	AH diet	SFC diet	SBM diet		
pH	7.1	7.1	7.0	0.0	0.922
ORP (mV)	-346	-360	-314	14	0.206
Total acid (mM)	86.8	83.3	96.2	5.8	0.436
Volatile fatty acid (VFA, mM)					
Total VFA	84.6	81.0	92.1	3.3	0.465
Acetate	53.5	50.6	58.9	2.4	0.398
Propionate	20.7	19.8	21.2	0.4	0.742
Butyrate	7.8	8.2	9.3	0.4	0.715
Non-volatile organic acid (mM)					
Lactate	0.8	0.6	1.0	0.7	0.924
succinate	1.1	0.9	0.9	0.1	0.092
Fumarate	0.4	0.5	0.5	0.1	0.287
Ammonia-N (mg/dL)	6.2	9.3	9.4	10.6	0.111
Protozoa ($\times 10,000$ /ml)	17.4	11.3	10.5	2.2	0.598
Microbial CP (MCP g/kg DMI)	73.6	74.0	81.3	2.51	0.653

Table 4-16. Blood properties on the experimental diets

	Treatment			SEM	p-value
	AH diet	SFC diet	SBM diet		
Glucose (mg/L)	614	624	628	4	0.547
Triglyceride (mg/L)	174	173	175	1	0.995
NEFA (mEq/L)	0.16	0.18	0.18	0.00	0.913
Ketone bodies (μ M)	318 ^a	243 ^b	321 ^a	25	0.034
β -Hydroxybutyrate	314	240	315	25	0.044
acetoacetate	4.1	2.9	5.4	0.7	0.065
Total protein (g/L)	70.1	70.0	70.5	0.2	0.984
BUN (mg/L)	140	121	139	6	0.110
ALT (U/L)	20.9	23.6	22.3	0.8	0.768
AST (U/L)	48.5	55.9	50.9	2.2	0.228
FRAP (mM)	0.114	0.131	0.110	0.006	0.280
MDA (μ M)	1.6	1.5	1.8	0.1	0.462

表 4-15 に各試験区におけるルーメン内特性を示した。pH、ORP、発酵酸濃度、アンモニア N 濃度およびプロトゾア数において、各区間に有意差は見られなかった。また尿中へのプリン体排泄量から推定したルーメン内微生物合成量においても、飼料間に差は認められなかった。

表 4-16 に各試験における血液性状を示した。血糖値、中性脂肪、遊離脂肪酸 (NEFA)、総蛋白質、尿素窒素 (BUN) および肝臓系酵素 (ALT と AST) においては、試験区間で差は見られなかったが、ケトン体 (β ヒドロキシ酪酸とアセト酢酸) では SFC 区で有意に低い値を示した。また体内の抗酸化力を示す FRAP と酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド (MDA) には、試験区間で差が見られなかった。

4.4 考 察

溶媒抽出のヒマワリ粕 (SFM) は、ルーメン内での蛋白質分解パラメータが、a、b、kd の値がそれぞれ 23~39%、54~71% および 6~27%/h と報告されている (Alexandrov 1998、Muia ら 2001、Oliveira ら 2019、Woods ら 2003)。これはコーングルテンミール (a、b、kd がそれぞれ 7%、69%、3%/h) や魚粉 (同 25%、63%、2%/h) (NARO 2009) と比較すると高い値であり、いわゆる高分解性蛋白質 (高 RDP) 飼料といえる。一方、本研究で使用した機械抽出したヒマワリ粕 (SFC) のルーメン内蛋白質分解性は極めて高い値を示し、特にその多くが可溶性蛋白質であった (70%以上)。この高い値は、インシチュ試験用の試料バッグの孔径よりも SFC の粒度が細かった可能性もあるが、SFC の可溶性乾物率はそこまで高くはなかった。SFC の蛋白質の高い可溶性は他でも報告されており (Mupeta ら 1997、Salgado ら 2011)、特に pH が 6 以上の時に顕著であった (Sosulski と Fleming 1977)。SFC の蛋白質は、有機溶媒で処理すると分解性が低下することが知られていることから (Salgado ら 2011)、ヒマワリを有機溶媒 (特にヘキサン) で抽出した場合には、可溶性も低下すると考えられる。

効率的なルーメン微生物合成のために、SFC のような高 RDP 飼料に適切なエネルギー源を組み合わせるのは比較的困難であると考えられており、それがうまくいかない場合には、N の利用効率が低下して、環境中に余分な N に排泄されてしまう可能性がある (Tamminga, 1992、Sannes ら 2002)。SFM の蛋白質可溶性および分解性は、ホルムアルデヒド (Hamilton ら 1992)、酸 (Arroyo ら 2011) およびタンニン (Jolazadeh と Mohammadabadi 2017) の添加、もしくは熱処理 (Schingoethe と Ahrar 1979、Arroyo ら 2011) によって低下することが報告されている。著者が知る限りでは、SFC に対しては熱処理の効果に関する報告しか得られていないが (Schroeder ら 1996)、SFC の RDP を低下させる他の方法も検討する必要がある。

ヤギ飼養試験では、SFC の TDN 含量は 65%と算出され、開花初期の良質な牧草のエネルギー価 (TDN として乾物中 56-63%) よりやや高い値であった (NARO 2009)。これは SFC の高い EE 消化率に一部由来するものと思われるが、それでも SBM の TDN (乾物中 90%)

よりかなり低い。SFC の高消化性 EE にもかかわらず、NDF 消化率が低いために、EE 由来のエネルギー価の利点が失われ、濃厚飼料としては比較的低エネルギーの飼料とみなされる。

一般的に粒子が細かい濃厚飼料は、粗飼料に比べてルーメンから速く流出する。また、繊維質飼料では、通過速度が低くて滞留時間が長いものほど、ルーメン内での繊維消化を促進する (Sniffen ら 1992)。本試験では、濃厚飼料である SBM のルーメン通過速度 (kp) は、AH よりも有意に高く、SFC の kp はそれら両者の中間であることが確認された。SFC の kp は AH のそれと有意な差がないことから、繊維の消化率が低いのは、ルーメン内における滞留時間が短いことよりも、繊維分解性微生物や酵素の侵入しにくい構造になっているためであると考えられる。NARO (2009) によれば、SFM の炭水化物消化率も可溶無窒素物で 36%、粗繊維で 22%と低く、乾物中の TDN 含量も 49%と SFC に比べて低い値が記載されているが、これは SFM の EE 含量が低い (DM 中 1.3%) ことも原因の一つと考えられる。

本試験の結果から、SBM (CP50%、CP 消化率 90%以上) と比較すると劣るものの、SFC は CP 含量 25-30%、CP 消化率 85%程度と良質な蛋白質飼料のひとつであると考えられる。SFC の CP 消化率は AH と SBM の中間に位置するが、それは繊維結合性蛋白質 (NDICP と ADICP) 含量が影響しているものと考えられる。それらはそれぞれ難分解性および非分解性蛋白質成分と考えられている (Sniffen ら 1992)。

ヤギ飼養試験では、SFC 区は SBM 区に比べ、尿中 N 排泄量が多く、N 保持量が低いことが示された。SBM と比べて SFC における N 利用効率の低さは、SFC のアミノ酸 (AA) 組成が動物組織の蛋白質合成に不利な点を示唆している。必須 AA のうち、リジン (Lys) とメチオニン (Met) は、特にトウモロコシを多く給与する体系では制限 AA になると考えられている (Schwab と Broderick 2017)。Lys と Met の含量は、動物組織ではそれぞれ CP 中 6.4%と 2.0%、牛乳中では 7.6%と 2.7%であると報告されている (O'Connor ら 1993)。また NRC (2001) では、最高乳量に対する Lys と Met 含量および Lys/Met 比はそれぞれ約 7.2%、2.4%および 3.0 であると報告されている。SFM の Lys と Met の含量およびは Lys/Met 比はそれぞれ 3.5%、2.2%および 1.6 であるのに対して、SBM ではそれぞれ 6.5%、1.3%、4.8 となっており、SBM でより理想に近い組成となっている (NARO 2009)。SFC の AA に関する報告はあまりないものの、San Juan と Villamide (2001) や Arrutia ら (2020) は SFC の Lys と Met 含量および Lys/Met 比はそれぞれ 3.4-3.5%、2.1-2.2%および 1.6-1.7%としており、SFM の値と大きな差は見られなかった。さらにモバイルバッグ法で推定した吸収可能な AA の組成は、SFM においては消化前の AA 組成と大差なかったことも報告されている (Erasmus ら 1994)。これらのことは、トウモロコシ主体の飼料に SFC を併給すると、特に高泌乳牛では代謝可能な Lys が不足する可能性を示している。一方、Lee ら (2012) は、ヒスチジン (His) が泌乳乳牛の第一制限 AA となり可能性を示唆している。His 含量は、SFM で 2.5% (NARO 2009) と SFC で 2.4% (San Juan と Villamide 2001) と報告されているが、それは動

物組織中 (2.5%) と牛乳中 (2.7%) (O'Connor ら 1993) およびルーメン微生物中 (1.9%) (Sok ら 2017) とほぼ同じかそれ以上の値で、SFM もしくは SFC の給与により His が制限 AA となる可能性は低いと考えられた。

飼料中 CP の生物価を高めるためには、ルーメン内微生物の増殖量を増やしてより生物の高い微生物蛋白質 (MCP) に変換することで代謝蛋白質 (MP) を増やすこともひとつの方法である。バクテリアとプロトゾアを含むルーメン微生物で報告された Lys と Met の含量は、それぞれ 8.1% と 2.3% であり (Sok ら 2017)、動物の成長および泌乳両方に対してほぼ理想的なプロファイルである。しかし MCP 合成のためには、RDP の他に利用性の高いエネルギー源が必要であり、ヤギ飼養試験で SFC 区が SBM 区よりも N 保持量が低かったのは、微生物のエネルギー源になりやすい NFC が不足していたためであるとも考えられた。そこで CP と NFC 含量を揃えたウシ飼養試験を実施したところ、SFC 区と SBM 区間における N 保持量には差は見られなくなり、また実際にルーメン微生物の推定合成量にも差は認められなかった。SFC を給与する場合には、NFC を多く含む飼料 (できればトウモロコシ以外) を併給すれば、ルーメン微生物の合成を促進し、N 効率を向上につながると考えられる。

バッチ培養試験では、SFC の可溶性 CP 含量が全 CP の 70% と極めて高いことが示された。多くの乳牛飼養標準で採用されている MP システムにおいては、可溶性 CP の多くは非蛋白態窒素 (NPN) であり、RDP の中でもルーメン微生物によって即座に利用できる区分と考えられている (Sniffen ら 1992)。しかし 70% 以上の CP が NPN 化合物であるとは考え難いことから、ニンヒドリン法で SFC の可溶性 CP 中のアミノ態 CP を測定したところ可溶性画分の 60% 以上を占め、そのうち酸分解が必要な蛋白質等の重合体は 55% 以上であった。報告数は少ないが、他の研究でも SFC 中の可溶性 CP 中に蛋白質が多く含まれることが示されている (Hedqvist と Udén 2006)。本研究では、SFC のみならず、AH や SBM といった代表的な蛋白質飼料においても、可溶性 CP 中に多くのアミノ態 CP が含まれていることが判明した。しかし可溶性 CP は、抽出に用いる溶液 (緩衝液等) および飼料の種類によって値が変動するため、その点も検討する必要がある (Crooker ら 1978、Krishnamoorthy ら 1982、Blethen ら 1990)。また、NPN と異なり、蛋白質を利用するにはその前に分解される必要があることから、ルーメン微生物に取り込まれるためにはラグタイムが生じる。MP システムをより精密化するためには、可溶性 CP 中のアミノ態 CP に関しても、他の RDP 画分 (b 区分) と同様に分解速度を含むパラメータを適用する必要があると考えられる。

ヤギおよびウシの飼養試験で使用した SFC は脂肪含量 10% 以上であった。報告されているヒマワリ種子の FA 組成はリノール酸が 55% (42-66%)、次いでオレイン酸 31% (22-42%)、パルミチン酸 7% (6-9%) およびステアリン酸 6% (4-7%) であった (Zimmerman と Fick 1973、Lajara ら 1990、Pérez-Vich ら 1998)。FA の中でも多価不飽和 FA は、細胞膜に対する脱共役反応のため、他の FA よりも微生物に有害であり (Galbraith ら 1971、Lai ら 1977)、SFC はリノール酸を多く含むため、その給与はルーメン微生物の増殖を阻害する可能性がある。多価不飽和 FA を豊富に含む飼料を投与すると、ルーメン内のプロトゾアおよびメ

タン生成菌の増殖を抑制してプロピオン酸濃度を高め、乳牛では低乳脂を引き起こす可能性もある (Whitelaw ら 1984、Kajikawa ら 1991)。本研究では SFC を給与してもプロトゾア数およびプロピオン酸濃度には変化が見られなかったことから、リノール酸含量の高い SFC を乾物で 30%与えても、ルーメン発酵に影響を及ぼさないことが示された。しかし、SFC の脂肪含量は 10 から 30%と幅が広く (Arrutia ら 2020)、本研究で使用した複数の SFC の脂肪含量は 11~20%と大きな変動があった。本研究で使用した SFC は、いずれもヒマワリ種子の品種は同じであるため、成分組成ばらつきが大きいのは種子の圧搾方法が設備や製造者の事業規模等によって異なることも一因と考えられた。

SFC の安全性に関しては、ヤギおよびウシ飼養試験においてルーメンおよび血液性状の多くの項目で、慣行飼料の AH や SBM 給与区の値と差が見られなかったことで問題はないと考えられた。特に血中の肝臓系の酵素に試験区間で差がないことは、SFC が SBM を安全に代替できることを示している。ヒマワリ種子とその関連副産物は、主にポリフェノール化合物に由来する高い抗酸化能力を有することが報告されている (Anjum ら 2012、Sarkis ら 2014)。本研究においても SFC は SBM と比較して高い抗酸化能 (FRAP) を示したが、いわゆる代表的な抗酸化資材である落花生皮や緑茶粕と比較するとかなり低い値であった。そのため本試験における血中の抗酸化および酸化ストレスマーカーに対して SFC 給与は改善をもたらさず、抗酸化剤としての効力は高くないものと考えられた

結 論

本研究は、食糧問題や環境問題を改善するために、低・未利用資源の飼料化に関する検討を行った。特に我が国における高度技術集約型の畜産に適用可能な付加価値の高いと考えられる3種類の食品製造副産物を用いてその飼料価値の評価を行った。

1) ダイコン残渣は、利用性の高い炭水化物を多く含み、また採食性も良好なことから高エネルギー飼料 (TDN で乾物中約 80%) としての飼料価値を有する。ただし水分含量が高いことから保存法に関する検討が今後の課題となる。

2) パイナップル残渣は、繊維成分含量が高いにも関わらず (NDF で乾物中 55%)、その消化率が良好なこともあり採食性の良好な高エネルギー飼料 (TDN で乾物中約 70%)。としての価値を有する。ただしその多給は、可溶性糖類に由来するルーメン発酵の亢進につながる可能性もある。またパイナップル残渣はそれ自体の酸度が高いことから保存性も良好である。

3) 機械搾油で産生されるヒマワリ粕 (SFC) は、可溶性蛋白質が高く、利用性の高い蛋白質飼料としての価値を有する。ただしアミノ酸の生物価は大豆粕に比べると低いため、高利用率炭水化物源を併給することで大豆粕と代替可能となる。小規模の事業者で生産可能な点や安全性の面から、今後有望な飼料資源である。

謝 辞

本研究を行うにあたり日本大学生物資源科学部飼養学研究室の梶川博教授、および浅野早苗専任講師に終始ご指導ご鞭撻を頂いた。同学の農場の職員沼田洋一氏および農場職員の皆様には動物の世話についてご指導とご支援を頂いた。また本研究のため食品副産物のサンプルを提供していただいた（有）環境テクシスの高橋慶様、その以上の皆様に重ねて御礼申し上げます。

同学部の草地学研究室の佐伯真魚教授、動物生殖学研究室の大西彰教授および三角浩司准教授審査員として本論文をご審査頂いた、厚く御礼申し上げます。

最後に、4年生の研究課題として本研究の実施にご協力頂いた飼養学研究室の尾形彦介氏、伊藤舜氏、中瀬拓洋氏、武田粹唯氏、三好京冴氏、岡田梨花氏、高谷日菜子氏および角守里咲氏と同研究の皆様に感謝の意を表す。

引用文献

第一章

- 浅野早苗, 梶原綾菜, 樋口明香里, 舛田紬, 劉春艶, 角英樹, 高橋慶, 梶川博, (2021). ヤギを用いた脱水パイナップル残渣の飼料特性評価. 日本畜産学会報, 92, 3, 293-300.
<https://doi.org/10.2508/chikusan.92.293>
- 堀尾政博, (1981). 反芻動物の硝酸塩中毒. 産業医科人学雑誌, 3, 3, 99-314.
- 家木一, (2007). 乳牛用飼料としてのケールジュース粕の特性と利用性に関する研究. 栄養生理研究会報, 51, 1, 51-65.
- 石川奈緒, 千葉啓子, 伊藤歩, 海田輝之, (2017). ヒ素吸着剤としての農畜産系副産物の有用性. 農業農村工学会論文集, 305,85-2,I_169-I_175.
- 小林泰男, (2013). カシューナッツ副産物給与によるウシからのメタン生成削減. 環境バイオテクノロジー学会誌, 13, 2, 89-93.
- 自給飼料利用研究会 2009「粗飼料の品質評価ガイドブック」
- 徐春城, 蔡義民, 喜田環樹, 松尾守展, 河本英憲, 村井勝, (2004). 緑茶飲料残さ TMR サイレージの調製,発酵品質および栄養価. 日本草地学会誌, 50, 1, 40-46.
- 西礼華, 宮崎涼子, 岩切正芳, 竹之山慎一, (2015). 肥育豚への甘藷を添加した食品製造副産物給与試験. 宮崎県畜産試験場試験研究報告, 27, 33-38.
- 西村慶子, 中原高士, 中西良孝, (2015). カンショ焼酎粕ケーキ混合発酵 TMR 中の粗飼料の違いが発酵品質,タンパク質ならびに繊維画分に及ぼす影響. 日本暖地畜産学会, 58, 2, 247-254. <https://doi.org/10.11461/jwaras.58.247>
- 農林水産省, (2020). https://www.maff.go.jp/j/pr/aff/2010/spe1_01.html
- 農林水産省, (2021). https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/
- 棟加登きみ子, (2000). 食品副産物の飼料価値. 日本草地学会九州支部会報, 30, 1, 6-11.
<https://doi.org/10.11461/jwaras1970.30.6>
- 額田和敬, 日野靖興, 田坂亮代, 高取健治, (2001). 生ゴミ等食品廃棄物を利用した家畜用飼料の製造開発(1). 岡山県総合畜産センター研究報告, 12, 25-34.
- 小川増弘, 蔡義民, 安堂吉信, (2012). 野菜残さの飼料利用に向けた調製と肉用牛への給与技術. 日本農業研究所研究報告, 25, 241-274.
- 小熊儀平, 秋山茂雄, 橋本太意, 関巖, 柳沢吉一, 牛見忠蔵, 臼井和哉, 野口一郎, (1956). 糖蜜飼料給与による山羊ケトーシス予防試験, 日本獣医師会雑誌 9, 3, 115-117.
- 佐伯真魚, 武久智之, 関川寛己, 永西修, 川島知之, (2006). 乾燥麦茶粕および麦茶粕サイレージの養豚用飼料としての栄養価. 日本畜産学会, 77, 1, 83-88.
<https://doi.org/10.2508/chikusan.77.83>
- 大澤貴之, 亀井勝浩, 丹羽美次, 金一, 川島知之, 佐伯真魚, 堀与志美, 矢後啓司, 阪上泉, 音成洋司, 阿部亮, (2004). 食品循環資源の利用による高品質肉豚肥育. 日本養豚学会, 41,

4, 207-216. <https://doi.org/10.5938/youton.41.207>

塩谷繁, (2008). 自給飼料を活用した TMR センターの展望. 日本草地学会誌, 54, 2, 178-181.

<https://doi.org/10.14941/grass.54.178>

上田七加, 富倉みな, 三浦もとみ, (2008). 十勝地域で発生する農業副産物の飼料化に関する調査. 帯広畜産大学草地畜産専修特別研究報告, 22, 29-32.

第二章

- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Chaney, A. L., & Marbach, E. P. (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, 8, 130–132. <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>
- Chesson, A. (1988). Lignin-polysaccharide complexes of the plant cell wall and their effect on microbial degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 21, 219–228. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(88\)90104-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(88)90104-6)
- FAMIC (Food and Agricultural Materials Inspection Center). (1981). Notification on the Partially Amendment of Ministerial Ordinance on the Specifications and Standards of Feeds and Feed Additives of the Ministry of Agriculture and Forestry, 56_Chiku_B_1594. Retrieved from http://famic.go.jp/ffis/feed/obj/56_b1594.pdf
- FAO (2017). (Food and Agriculture Organization). <https://www.fao.org/news/story/en/item/74192/icode/>
- Friis, P., Kjeaar, A. (1966). 4-Methylthio-3-butenyl Isothiocyanate, the Pungent Principle of Radish Root. *Acta Chemica Scandinavica*, 20, 698–705.
- Gamba, M., Asllanaj, E., Raguindin, P.F., Glisic, M., (2021), Nutritional and phytochemical characterization of radish (*Raphanus sativus*): A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 205–218.
- 堀尾政博, (1981). 反芻動物の硝酸塩中毒. *産業医科学雑誌*, 3, 3, 99–314.
- 保健科学研究所. (2018). 分析一覽参考文献 2018–2019, 183–191. <https://www.hkk.co.jp/kensa-db/pdfDL>.
- Holdeman, L. V., Cato, E. P., & Moore, W. E. C. (1977). *Anaerobic laboratory manual* (4th ed.). Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H. P. S., Adesogan, A. T., Yang, W., Lee, C., Gerber, P. J., Henderson, B., & Tricarico, J. M. (2013). Mitigation of methane and nitrous oxide emissions. *Journal of Animal Science*, 91, 5045–5069. <https://doi:10.2527/jas2013-6583>
- Huntington, G.B. (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, 75, 3, 852–867.
- IAEA (International Atomic Energy Agency) (1997). Estimation of rumen microbial protein production from purine derivatives in urine. IAEA-TECDOC-945. IAEA. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_0945_scr.pdf

- 家木一, (2007). 乳牛用飼料としてのケールジュース粕の特性と利用性に関する研究. 栄養生理研究会報, 51, 1, 51-65.
- 自給飼料利用研究会 2009 「粗飼料の品質評価ガイドブック」
- 小林泰男, (2011). 家畜からのメタン生成を低減する天然物質の探索. 日本農薬学会誌, 36, 1, 124-126. <https://doi.org/10.1584/jpestics.W10-85>
- Krishnamoorthy, U., Muscato, T. V., Sniffen, C. J., & Van Soest, P. J. (1982). Nitrogen Fractions in Selected Feedstuffs. *Journal of Dairy Science*, 65, 217-225. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82180-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82180-2)
- Kikugawa, K., Kojima, T., Yamaki, S., & Kosugi, H. (1992). Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferric ion and ethylenediamine-tetraacetic acid. *Analytical Biochemistry*, 202, 249-255. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90102-D](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90102-D)
- Lahr, D. A., Otterby, D. E., Johnson, D. G., Linn, J. G., & Lundquist, R. G. (1983). Effects of moisture content of complete diets on feed intake and milk production by cows. *Journal of Dairy Science*, 66, 1891-1900. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82027-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82027-X)
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., Itadashi, H. (2003). Effect of α -cyclodextrin-allyl isothiocyanate on ruminal microbial methane production in vitro, *Animal Science Journal*, 74, 4, 321-326. <https://doi.org/10.1046/j.1344-3941.2003.00123.x>
- 水谷尚, (2022). 牛の血液検査学
日本食品標準表 (2020). https://fooddb.mext.go.jp/details/details.pl?ITEM_NO=6_06134_7
- Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: Implications on laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80, 1005-1028. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76026-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76026-0)
- 農林水産省, (2020). https://www.maff.go.jp/j/pr/aff/2010/spe1_01.html
- 農林水産省, (2021). https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/1_siryo/
- 棟加登きみ子, (2000). 食品副産物の飼料価値. 日本草地学会九州支部会報, 30, 1, 6-11. <https://doi.org/10.11461/jwaras1970.30.6>
- 小原嘉昭, (2008). 急性ならびに潜在性ルーメンアシドーシスの諸課題. 家畜診療, 55, 309-314.
- Ogimoto, K., & Imai, S. (1981). Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press.
- Okine, A., Yimamu, M., Hanada, M., Izumita, M., Zunong, M., Okamoto, M. (2007). Ensiling characteristics of daikon (*Raphanus sativus*) by-product and its potential as an animal feed resource, 136, 248-264. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.005>
- Omokanye, A., Hernandezc, G., Lardnerd, HA., Al-Maqtaria, B., Gille, K.S., Lee, A. (2021). Iternative forage feeds for beef cattle in Northwestern Alberta, Canada: forage yield and nutritive value of forage brassicas and forbs, 49, 1, 203-210. <https://doi.org/10.1080/09712119.2021.1933990>

- 岡野邦夫, 浅野次郎, 石井現相, (1990). ダイコン品種の辛味成分含量. 園芸学会雑誌, 59, 3, 551-558. <https://doi.org/10.2503/jjshs.59.551>
- Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1967). *Statistical methods* (6th ed.). Iowa State University Press.
- Soliva, C.R., Amelchanka, S.L., Duval, S.M., Kreuzer, M. (2011), Ruminant methane inhibition 114–potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition*, 106, 114-122.
- Stone, W.C., (2004). Nutritional Approaches to Minimize Subacute Ruminant Acidosis and Laminitis in Dairy Cattle, *Journal of Dairy Science*, 87, E13-E26.
- Titgemeyer, E. C., Drouillard, J. S., Greenwood, R. H., Ringler, J. W., Bindel, D. J., Hunter, R. D., & Nutsch, T. (2004). Effect of forage quality on digestion and performance responses of cattle to supplementation with cooked molasses blocks. *Journal of Animal Science*, 82, 487–494. <https://doi.org/10.2527/2004.822487x>
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. *Journal of Animal Science*, 26, 119-128. <https://doi.org/10.2527/jas1967.261119x>
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70057-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70057-0)
- Vogel, K., Pedersen, J. F., Masterson, S. D., & Toy, J. J. (1999). Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Science*, 39, 276–279. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X003900010042>
- Yaremcio B. 1991. Nitrate poisoning and feeding nitrate feeds to livestock. Stettler: Alberta Agriculture, Livestock.

第三章

- 文部科学省. (2020). https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1365420.htm
- Cassellis, M. E. R., Sánchez-Pardo, M. E., Lopez, M. R., & Mora-Escobedo, R. (2014). Structural, physicochemical and functional properties of industrial residues of pineapple (*Ananas comosus*). *Cellulose Chemistry and Technology*, 48, 633–641.
- Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V., & Benedito, J. L. (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 169, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.02.001>
- Chalupa, W. C., Sniffen, C. J., Fox, D. G., & Van Soest, P. J. (1991). Model generated protein degradation nutrition information. In *Proceedings of Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers* (pp. 44–51). Cornell University. <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=coo.31924077324295>
- Bampidis, V. A., & Robinson, P. H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 128, 175–217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2005.12.002>
- Dahlan, I., Rahman-haron, A., & Sukri, M. H. L. (1992). Effect of agricultural by-product diets on carcass characteristics of four types of cattle in the feedlot. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 5, 455–459. <https://doi.org/10.5713/ajas.1992.455>
- Ellis, W. C., Matis, J. H., & Lascano, C. (1979). Quantitating ruminal turnover. *Federation Proceedings*, 38, 2702–2706.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2020). FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/?data/QC>
- Heinrichs, J. (1996). Evaluating particle size of forages and TMRs using the Penn State Particle Size Separator. DAS 96-20. The Pennsylvania State University. <http://www.jaylor.com/english/upload/download/76.pdf>
- Hungate, R. E. (1996). A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods in Microbiology*, 3B, 117–132. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70503-8](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70503-8)
- Jetana, T., Suthikrai, W., Usawang, S., Vongpipatana, C., Sophon, S., & Liang, J. B. (2009). The effects of concentrate added to pineapple (*Ananas Comosus* linn. Mer.) waste silage in differing ratios to form complete diets, on digestion, excretion of urinary purine derivatives and blood metabolites in growing, male, Thai swamp buffaloes. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 449–459. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9207-5>
- Kato, J., Odate, T., Kim, Y.-H., Ichijo, T., & Sato, S. (2019). Effects of feeding management on disease incidence and blood metabolites in dairy herds in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 81, 958–967. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0742>
- Kajikawa, H., Abe, A., & Nagasaki, Y. (1989). Comparison in chemical and microbial properties

- between the rumen contents taken by a stomach tube and taken through a rumen fistula. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2, 454–455. <https://doi.org/10.5713/ajas.1989.454>
- Kajikawa, H., Nagasaki, Y., & Abe, A. (1990). Comparison between colony counting method and most probable number method in enumeration of rumen bacteria fermenting specific substrates. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 61, 810–814. https://doi.org/10.2508/chiku_san.61.810
- Kajikawa, H., Odai, M., Saitoh, M., Takahashi, T., Tano, R., Abe, H., & Abe, A. (1990). Effects of sugar-beet pulp on ruminal and lactation performances of cows having different rumen fermentation patterns. *Animal Feed Science and Technology*, 31, 91–104. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(90\)90116-P](https://doi.org/10.1016/0377-8401(90)90116-P)
- Kellems, R. O., Wayman, O., Nguyen, A. H., Nolan, J. C. Jr, Campbell, C. M., Carpenter, J. R., & Ho-a, E. B. (1979). Post-harvest pineapple plant forage as a potential feedstuff for beef cattle: Evaluated by laboratory analyses in vitro and in vivo digestibility and feedlot trials. *Journal of Animal Science*, 48, 1040–1048. <https://doi.org/10.2527/jas1979.4851040x>
- Lahr, D. A., Otterby, D. E., Johnson, D. G., Linn, J. G., & Lundquist, R. G. (1983). Effects of moisture content of complete diets on feed intake and milk production by cows. *Journal of Dairy Science*, 66, 1891–1900. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82027-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82027-X)
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Calixto, F. S. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4028–4031. <https://doi.org/10.1021/jf970450j>
- Logan, V. S., & Haydon, P. S. (1964). The effect of moisture content of forage stored in polyvinyl silos on intake and performance of dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 1964(44), 125–131. <https://doi.org/10.4141/cjas64-020>
- Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 1463–1481. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76075-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2)
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2007). *Harper's illustrated biochemistry*, 27th (Japanese) ed. Maruzen.
- Nishida, T., Eruden, B., Hosoda, K., Matsuyama, H., Nakagawa, K., Miyazawa, T., & Shioya, S. (2006). Effects of green tea (*Camellia sinensis*) waste silage and polyethylene glycol on ruminal fermentation and blood components in cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19, 1728–1736. <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.1728>
- 農研機構. (2020). <https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kensaku/hin6.html>
- 農業・食品産業技術総合研究機構日本飼料標準成分表. (2009).
- Negesse, T., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2009). Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *Animal Feed Science and Technology*, 154, 204–217. https://doi.org/10.1016/j.anife_dsci.2009.09.010

- NRC (全米研究会議) (2001)。乳牛の栄養要求量 (第 7 版)。
<https://profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf>
- Ogimoto, K., & Imai, S. (1981). Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press.
- Saito, C., Asano, S., Kato, C., Kobayashi, S., Musha, M., Kuribayashi, H., Moriguchi, S., Seto, Y., Kawashima, T., Kobayashi, M., Ishizaki, S., & Kajikawa, H. (2006). Nutritional values and antioxidative activities of whole peanuts and peanut skins for ruminant feeds. *Animal Science Journal*, 87, 54–60. <https://doi.org/10.1111/asj.12405>
- Pedernera, M., Celi, P., García, S. C., Salvin, H. E., Barchia, I., & Fulkerson, W. J. (2010). Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress. *The Veterinary Journal*, 186, 352–357. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.09.003>
- Poppi, D. P., Norton, B. W., Minson, D. J., & Hendricksen, R. E. (1980). The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. *Journal of Agricultural Science*, 94, 275–280. <https://doi.org/10.1017/S0021859600028859Pub>
- Satter, L. D., & Slyter, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32, 199–208. <https://doi.org/10.1079/BJN19740073>
- Shaver, R. D., Erdman, R. A., & Vandersall, J. H. (1984). Effects of silage pH on voluntary intake of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 67, 2045–2049. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81542-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81542-8)
- Stone, W. C. (2004). Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 87 Supple., E13–E26. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70057-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70057-0)
- Sudweeks, E. M., Ely, L. O., Mertens, D. R., & Sisk, L. R. (1981). Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diets: Roughage value index system. *Journal of Animal Science*, 53, 1406–1411. <https://doi.org/10.2527/jas1981.5351406x>
- Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1967). *Statistical methods* (6th ed.). Iowa State University Press.
- Stewart, C. S. (1977). Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. *Applied and Environmental Microbiology*, 33, 497–502. <https://doi.org/10.1128/AEM.33.3.497-502.1977>
- Teller, E., Vanbelle, M., Kamatali, P., Collignon, G., Page, B., & Matatu, B. (1990). Effects of chewing behavior and ruminal digestion processes on voluntary intake of grass silages by lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, 68, 3897–3904. <https://doi.org/10.2527/1990.68113897x>
- Titgemeyer, E. C., Drouillard, J. S., Greenwood, R. H., Ringler, J. W., Bindel, D. J., Hunter, R. D., & Nutsch, T. (2004). Effect of forage quality on digestion and performance responses of cattle to supplementation with cooked molasses blocks. *Journal of Animal Science*, 82, 487–494. <https://doi.org/10.2527/2004.822487x>

- Uchida, S., Lana, I. K., & Horigome, T. (1980). Feeding value of pineapple bran produced in Philippines. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University*, 56, 55–61. <http://ousar.lib.okayama-u.ac.jp/593>
- Welch, G. J. (1982). Rumination, particle size, and passage from the rumen. *Journal of Animal Science*, 54, 885–894. <https://doi.org/10.2527/jas1982.544885x>

第四章

- Alexandrov, A. N. (1998). Effect of ruminal exposure and subsequent microbial contamination on dry matter and protein degradability of various feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 71, 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00129-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00129-6)
- Anjum, F. M., Nadeem, M., Khan, M. I., & Hussain, S. (2012). Nutritional and therapeutic potential of sunflower seeds: A review. *British Food Journal*, 114, 544-552.
- Arroyo, J. M., Gonzalez, J., Munoz, J., Alvir, M. R., Rodriguez, C. A., Ibanez, M. A., & del Castillo, M. D. (2011). In vitro efficiency of combined acid-heat treatments for protecting sunflower meal proteins against ruminal degradation. *Animal*, 5, 1188–1194. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000279>
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., & Waldron, K. W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
- Blethen, B.D., Wohlt, J.E., Jasaitis, D.k., Evans, J.L. (1990). Feed protein fractions: relationship to nitrogen solubility and degradability. *Journal of dairy science*, 73, 6, 1544-1551
- Crooker, B.A., Sniffen, C.J., Hoover, W.H., Johnson, H.H. (1978). Solvents for soluble nitrogen measurements in feedstuffs. *Journal of Dairy Science*, 61, 4, 437-447.
- Czerkawski, J. W. (1973). Effect of linseed oil fatty acids and linseed oil on rumen fermentation in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 81, 517–531. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086573>
- Erasmus, L. J., Botha, P. M., Cruywagen, C. W., & Meissner, H. H. (1994). Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen- undegradable protein from various feedstuffs. *Journal of Dairy Science*, 77, 541–551. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)76982-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76982-4)
- FAMIC (Food and Agricultural Materials Inspection Center). (1981). Notification on the Partially Amendment of Ministerial Ordinance on the Specifications and Standards of Feeds and Feed Additives of the Ministry of Agriculture and Forestry, 56_Chiku_B_1594. Retrieved from http://famic.go.jp/ffis/feed/obj/56_b1594.pdf
- FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations). (2021). Markets and Trade Division. OILSEEDS, OILS & MEALS, MONTHLY PRICE AND POLICY UPDATE, No. 140, March 2021. Retrieved from. <https://www.fao.org/3/cb3814en/cb3814en.pdf>
- Galbraith, H., Miller, T. B., Paton, A. M., & Thompson, J. K. (1971). Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, Ergocalciferol and cholesterol. *Journal of Applied Bacteriology*, 34, 803–813. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1971.tb01019.x>
- Hamilton, B. A., Ashes, J. R., & Carmichael, A. W. (1992). Effect of formaldehyde-treated sunflower meal on the milk production of grazing dairy cows. *Australian Journal of Agricultural Research*,

- 43, 379–387. <https://doi.org/10.1071/AR9920379>
- Hedqvist, H., & Udén, P. (2006). Measurement of soluble protein degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.01>
- Heuze, V., Tran, G., Hassoun, P., Lessire, M., & Lebas F. (2016). Sunflower meal. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Retrieved from <https://www.feedipedia.org/node/732>
- IAEA (International Atomic Energy Agency) (1997). Estimation of rumen microbial protein production from purine derivatives in urine. IAEA- TECDOC-945. IAEA. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_0945_scr.pdf
- Jolazadeh, A., & Mohammadabadi, T. (2017). Effect of treated sunflower meal with tannin extracted from pistachio hulls on in vitro gas production and ruminal fermentation *Veterinary Research Forum*. 8, 203-208. PMC5653883
- Kajikawa, H., Odai, M., Saitoh, M., & Abe, A. (1991). Effects of whole cottonseed on ruminal properties and lactation performance of cows with different rumen fermentation patterns. *Animal Feed Science and Technology*, 34, 203–212. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(91\)90111-5](https://doi.org/10.1016/0377-8401(91)90111-5)
- Krishnamoorthy, U., Muscato, T.V., Sniffen, C.J., Van Soest, P.J. (1982) Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *Journal of Dairy Science* ,65, 2, 217-225.
- Lai, J., Okuda, S., & Takahashi, H. (1977). Lipid A, various fatty acids, and their derivatives as proton conductors in membrane vesicles from *Escherichia coli*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 23, 137– 146. <https://doi.org/10.2323/jgam.23.137>
- Lajara, J. R., Diaz, U., & Quidiello, R. D. (1990). Definite influence of location and climatic conditions on the fatty acid composition of sunflower seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67, 618–623. <https://doi.org/10.1007/BF02540410>
- Lee, C., Hristov, A. N., Cassidy, T. W., Heyler, K. S., Lapierre, H., Varga, G. A., de Veth, M. J., Patton, R. A., & Parys, C. (2012). Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein deficient diet. *Journal of Dairy Science*, 95, 6042–6056. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5581>
- Maczulak, A. E., Dehority, B. A., & Palmquist, D. L. (1981). Effects of longchain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 42, 856–862. <https://doi.org/10.1128/aem.42.5.856-862.1981>
- Moore, s., Stein, W.H. (1948). Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *Journal of biological chemistry* .176, 367-388
- Muia, J. M. K., Tamminga, S., Mbugua, P. N., & Kariuki, J. N. (2001). Rumen degradation and estimation of microbial protein yield and intestinal digestion of napier grass (*Pennisetum purpureum*) and various concentrates. *Animal Feed Science and Technology*, 93, 177–192. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00282-6)

- Mupeta, B., Weisbjerg, M. R., Hvelplund, T., & Madsen, J. (1997). Digestibility of amino acids in protein rich tropical feeds for ruminants estimated with the mobile bag technique. *Animal Feed Science and Technology*, 69, 271–280. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\) 81641-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97) 81641-0)
- Nocek, J. E. (1988). In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. *Journal of Dairy Science*, 71, 2051–2069. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)7978](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)7978)
- Nocek, J. E., & Russell, J. B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science*,
- 農林水産省統計局 2007.
<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500505&tstat=000001020804&cycle>
- 農業・食品産業技術総合研究機構日本飼料標準成分表. (2009).
- NRC (全米研究会議). (1985). 反芻動物の窒素使用量.
- NRC (全米研究会議). (2001). 乳牛の栄養要求量. 第 7 版 (改訂版)
- NRC (全米研究会議). (2007). (小型反芻動物の栄養要求量) .
- O'Connor, J. D., Sniffen, C. J., Fox, D. G., & Chalupa, W. (1993). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. *Journal of Animal Science*, 71, 1298–1311. <https://doi.org/10.2527/1993.7151298x>
- Oliveira, A. S., Campos, J. M. S., Ogunade, I. M., Caixeta, D. S., Viana, E. P., & Alessi, K. C. (2019). Performance and utilization of nutrients in dairy cows fed with sunflower meal. *Journal of Agricultural Science*, 156, 1233–1240. <https://doi.org/10.1017/ S0021859619000091>
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499–503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- Pérez-Vich, B., Velasco, J., Fernández-Martínez, J.M. (1998). Determination of seed oil content and fatty acid composition in sunflower through the analysis of intact seeds, husked seeds, meal and oil by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 5, 547-555,
- Salgado, P. R., Molina Ortiz, S. E., Petruccielli, S., & Mauri, A. N. (2011). Sunflower protein concentrates and isolates prepared from oil cakes have high water solubility and antioxidant capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 351–360. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1673-z>
- San Juan, L. D., & Villamide, M. J. (2001). Nutritional evaluation of sunflower products for poultry as affected by the oil extraction process. *Poultry Science*, 80, 431–437. <https://doi.org/10.1093/ps/80.4.43>
- Sannes, R. A., Messman, M. A., & Vagnoni, D. B. (2002). Form of rumen- degradable carbohydrate

- and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 900–908. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74148-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74148-9)
- Sarkis, J. R., Côrrea, A. P. F., Michel, I., Brandeli, A., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2014). Evaluation of the phenolic content and antioxidant activity of different seed and nut cakes from the edible oil industry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1773–1782. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2514-2>
- Schingoethe, D. J., & Ahrar, M. (1979). Protein solubility, amino acid composition, and biological value of regular and heat-treated soybean and sunflower meals. *Journal of Dairy Science*, 62, 925–931. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83350-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83350-0)
- Schwab, G., & Broderick, G. A. (2017). A 100-year review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 10094–10112. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13320>
- Schroeder, G. E., Erasmus, L. J., & Meissner, H. H. (1996). Chemical and protein quality parameters of heat processed sunflower oilcake for dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 58, 249–265. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00866-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00866-7)
- Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1967). *Statistical Methods* (6th ed.). Iowa State University Press.
- Sosulski, F., & Fleming, S. E. (1977). Chemical, functional, and nutritional properties of sunflower protein products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54, 100A–104A. <https://doi.org/10.1007/BF02912382>
- Sniffen, C. J., O'Connor, J. D., van Soest, P. J., Fox, D. G., & Russell, J. B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70, 3562–3577. <https://doi.org/10.2527/1992.70113562x>
- Sok, M., Ouellet, D. R., Firkins, J. L., Pellerin, D., & Lapierre, H. (2017). Amino acid composition of rumen bacteria and protozoa in cattle. *Journal of Dairy Science*, 100, 5241–5249. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12447>
- USDA-AMS (United States Department of Agriculture—Agricultural Marketing Service). (2022). National Weekly Feedstuff Wholesale Prices. Retrieved from https://www.ams.usda.gov/mnreports/ms_gr852.txt
- Tammaing, S. (1992). Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, 75, 345–357. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77770-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77770-4)
- Woods, V. B., Moloney, A. P., & O'Mara, F. P. (2003). The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals. Part II: In situ ruminal degradability of crude protein. *Animal Feed Science and Technology*, 110, 131–143. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00222-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00222-0)
- Zimmerman, D. C., & Fick, G. N. (1973). Fatty acid composition of sunflower (*Helianthus annuus* L.) oil as influenced by seed position. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 50, 273–275. <https://doi.org/10.1007/BF02641352>