

ビオチンの添加が交雑種去勢肥育牛の産肉性に及ぼす影響 ー第2報ー

三根琴美・行川貴浩・諸岡佳恵*・大塚洋功

Effects of Feeding Biotin on Crossbred Steers Fattening -2nd report-

MINE Kotomi, NAMEKAWA Takahiro, MOROOKA Yoshie*, and OTSUKA Hiroyoshi

要 約

千葉県では牛肉品質向上の効果を期待してビオチンの添加試験を行っている。ビオチンは脂肪酸合成の補酵素として働く水溶性ビタミンであり、第1報では肥育中期または後期以降、出荷までの期間にビオチンを添加することで、肉の光沢、締りおよびきめを改善する可能性が示された（諸岡ら2020）。本報ではより効率的なビオチン添加方法を検討するため、交雑種去勢牛12頭を供試し試験を行った。

試験区は、ビオチンを添加しない対照区、肥育中期（15～19.9ヵ月齢）にビオチン400 mg/日/頭を添加する中期区、肥育後期（20～26ヵ月齢）にビオチン400 mg/日/頭を添加する後期区、3試験区に各4頭を配置した。その結果、ビオチン添加区で飼料摂取量が高く推移し、枝肉成績に有意な差は見られないものの肉質等級がすべて4等級以上となった。しかし、ビオチン添加による脂肪酸組成に対する影響は認められなかった。

第1報および本報の結果から、ビオチン添加は交雑種去勢牛の肥育において枝肉成績を向上させる可能性が示された。また、最も効率的に効果が期待できる添加時期は肥育後期であることが示唆された。

緒 言

黒毛和種および交雑種去勢牛の肉質向上のために添加されるビタミンやミネラルなどの微量成分の中で、ビオチンは安価であり、黒毛和種において、牛肉中のオレイン酸含量を増やす効果（大谷ら2012）や、ビタミンB6との併用により脂肪交雑とロース芯面積を増加させるなどの効果（石井ら2017）が報告されている有望な資材である。千葉県では県産牛肉の格付け向上を図るため、交雑種去勢牛へのビオチン添加の効果について検討を行ってきた。第1報では勝早桜5または北茂安93を父に持つ交雑種去勢牛にビオチン400 mg/日/頭を肥育中期から出荷まで、または肥育後期から出荷までの期間に添加することで肉質（きめ・光沢・締り）を改善する効果を報告した。本報では、交雑種去勢牛における効率的なビオチン添加について検討したので報告する。

材料および方法

1. 添加ビオチンの添加給与方法

ビオチンは、市販のd-ビオチン2%製剤（希釈物：デキストリン）を用いた。添加量は第1報の試験を参考に、

1頭当たり20 g（ビオチンとして400 mg）を1日1回トップドレスにより添加給与した。

2. 試験区と供試牛

試験区はビオチンを添加しない対照区と、肥育中期（15.0～19.9ヵ月齢）に添加する中期区、肥育後期（20.0～26.2ヵ月齢）に添加する後期区の3区を設定した。

供試牛は黒毛和種（福増）とホルスタイン種の交雑種去勢牛を用いた。平均7.3ヵ月齢で導入し、10.3ヵ月齢時点で、体重が各区で同等となるよう試験区に各4頭を配置した。試験途中で四肢負傷により廃用となった個体（後期区1頭）は除外した。

3. 試験方法と測定項目

(1) 試験期間

肥育前期を11.0～14.9ヵ月齢、肥育中期を15.0～19.9ヵ月齢、肥育後期を20.0～26.2ヵ月齢とし、平均26.2ヵ月齢で屠畜した。なお肥育試験は令和元年7月から令和3年10月にかけて実施した。

(2) 供試牛の一般管理

供試牛は、オガクズを敷いた飼育ペン（餌槽側間口4.4 m×奥行き7.0 m、直下型扇風機を設置）3区画を用意し、各区4頭を配置した。飼料給与は個体識別給飼装置（ドアフィーダ）により個体別に行い、飲水はウォーターカップによる自由飲水とした。また、尿石症予防剤入りの鉍塩を常置した。

令和4年8月31日受付

*現千葉県競馬組合

(3) 飼料給与、飼料摂取量

濃厚飼料は、TDN72.0%以上、CP12.5%以上の肉牛肥育用の市販配合飼料を用いた。粗飼料は、長さ5 cmに切断した稲わらを用いた。基礎飼料の粗濃比は、肥育前期開始時に5:5とし、肥育中期開始時に1:9となるよう段階的に濃厚飼料比を上げ、肥育中期に1:9、肥育後期から出荷までを0.9:9.1に設定した。

飼料の給与時間は午前9時と午後2時とし、給与量は飽食できる量とした。飼料給与量および残飼量から日々の飼料摂取量を算出した。

(4) 体重

体重は固定式牛衡機 (MODEL ED-302: Yamato) により4週に1回測定した。

(5) 第一胃内容液、血液性状

第一胃内容液は14.5、19.3、19.8、21.2、23.5、26.1ヵ月齢の計6回、それぞれ朝の給餌約4時間後に経口カテーテルを用いて採取した。第一胃内容液は採取後に遠心分離し上清に等量の6%過塩素酸液を加えて密閉凍結保存し、解凍して分析に供した。総揮発性脂肪酸濃度 (総VFA) および乳酸の有機酸分析には液体クロマトグラフィ (カラム: Shimadzu Shim-Pack SCR-102H) を用いた。

血液は14.5、17.5、19.3、19.8、21.2、23.2、25.1、26.1ヵ月齢の計8回、頸静脈から採血を行い、遠心分離した血漿を凍結保存し、解凍して分析に供した。生化学成分として総蛋白質 (TP)、アルブミン (ALB)、グルコース (GLU)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、血中尿素窒素 (BUN)、総コレステロール (T-Cho)、カルシウム (Ca)、リン (IP)、トリグリセリド (TG) の測定には自動血液分析機 (ピオリス30i: 東京貿易メディシス) を用いた。また、血漿中ピオチンは、明治飼糧 (株) に依頼し *Lactobacillus plantarum* ATCC8014株を用いたバイオアッセイ法による分析を行った。

(6) 枝肉格付、肉質分析

試験終了後 (平均月齢26.2ヵ月齢) に屠畜し、左半丸は東京都中央卸売市場食肉市場に搬入して日本食肉格付協会による格付を受け、市場セリ価格より枝肉価格を算出した。

右半丸から胸最長筋 (第6~7) 肋骨間部の背部を約5 cm厚で採取し、胸最長筋 (ロース芯)、皮下脂肪、筋間脂肪に分離後、肉色、脂肪色を測定し、胸最長筋はpH、加熱損失および剪断力価を測定した。水分、粗脂肪、粗蛋白質および脂肪酸組成については冷凍保存後、解凍し測定に用いた。

脂肪酸組成は、家庭用フードプロセッサ (MK-K48P: Panasonic) でミンチ状にした胸最長筋約3 gおよ

び筋間脂肪約2 gをそれぞれ50 ml容ガラスバイアルビンに入れ、数倍容積の無水硫酸ナトリウムを加えてガラス棒で混和しながら押しつぶし脱水した後、クロロホルム・メタノール混液 (2:1) を加えて抽出した脂肪について、ナトリウムメチラートでメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィ (カラム: chromosorbWAW 10%SP-2340, 温度: カラム200°C、注入部とFID230°C) を用いて測定した。

なお、肉色、脂肪色、加熱損失、水分、粗脂肪および粗蛋白質については分析マニュアル (畜産技術協会2003) に従って分析を行った。

(7) 屠畜時内臓所見

屠畜時に心臓、肺、肝臓、第一胃および第二胃の粘膜、膀胱の状態を確認し、病変、異常の有無を調査した。

4 統計処理

統計処理は統計フリーソフトEZR (Ver.1.40) を用いた。(Kanda 2013)。体重、飼料摂取量、血液生化学分析については反復分散分析を、その他の項目については一元配置法による分散分析により検定を行い、有意差が認められた場合はtukeyの多重比較検定により試験区間の差の検定を行った。なおP値が0.05未満の場合に統計的に有意な差であるとみなした。

結果および考察

1. 発育成績と飼料摂取

平均体重の推移を図1に、各時期の発育成績を表1に示した。日増体量は試験区間に差はなかった。

飼料摂取量を表2に示した。肥育中期において試験区間に差はなかったが、肥育後期および試験期間全体において中期区および後期区が対照区と比べ、有意に多くなった ($P<0.05$, $P<0.01$)。

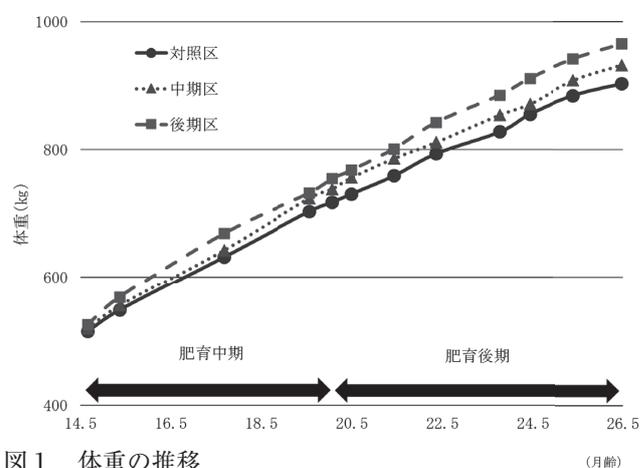


図1 体重の推移

(月齢)

表1 発育成績

		対照区	中期区	後期区	P値
体重 (kg)	試験開始時	515	520	526	0.94
	中期終了時	718	739	755	0.65
	後期終了時	904	933	966	0.37
日増体量 (kg)	肥育中期	1.25	1.35	1.41	0.54
	肥育後期	0.97	1.01	1.10	0.19
	試験期間全体	1.10	1.17	1.24	0.33

表2 飼料摂取量 (原物 kg/日)

	対照区	中期区	後期区	P値
肥育中期	13.04	13.68	13.84	0.08
肥育後期	12.48 b	13.77 a	14.02 a	0.02
試験期間全体	12.73 B	13.73 A	13.94 A	0.01

異符号間に有意差あり：大文字 $P<0.01$ 、小文字 $P<0.05$

2. 第一胃内容液性状

第一胃内容液の性状を表3に示した。総VFA濃度は肥育中期に対照区が後期区より高く、肥育後期に対照区が中期区および後期区より高かった。飼料摂取量の違いから第一胃通過速度やVFA吸収速度が変化したことが考えられるものの、原因は明らかでない。

次に、酢酸モル比率の推移を図2に示した。酢酸モル比率は試験区と採取時期との間に交互作用があり ($P<0.05$)、中期終了時に中期区が後期区より有意に低く ($P<0.05$)、後期開始時に対照区が後期区よりも

低くなった ($P<0.01$)。また、プロピオン酸モル比率は肥育中期で中期区が高い傾向があり ($P<0.1$)、これに伴い酢酸/プロピオン酸比は、肥育中期に中期区が後期区より有意に低く ($P<0.05$)、対照区より低い傾向を示した ($P<0.1$)。

ビオチンはピルビン酸カルボキシラーゼの補酵素として働くことから、ルーメン内微生物による発酵過程においてピルビン酸からオキサロ酢酸への代謝が亢進され、プロピオン酸の生成量が増加したことが推察される。プロピオン酸から合成されるグルコースは、筋肉内脂肪の基質であると考えられているが (入江ら2015)、本試験では筋肉内粗脂肪含量で中期区と対照区の間には差はなかったため、プロピオン酸増加は肉質へ影響するほどではなかったと考えられる。

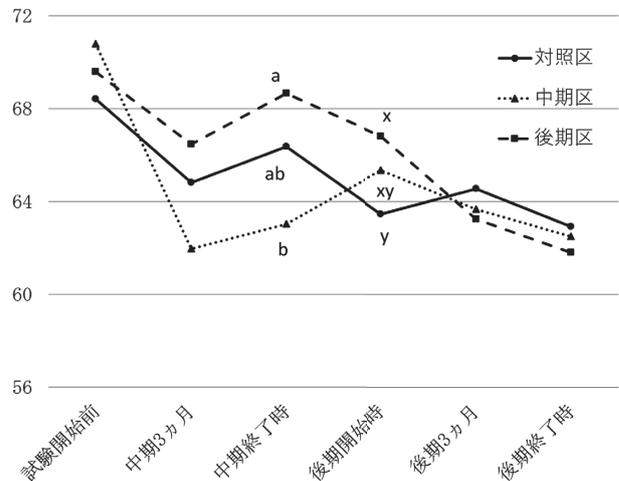


図2 酢酸モル比率 (%)
試験区×採取時期：交互作用あり ($P<0.05$) (a,b)(x,y)：異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

表3 第一胃内容液性状

		対照区	中期区	後期区	P値
総VFA濃度 (mmol/dl)	試験開始前	3.78	3.29	3.39	0.52
	肥育中期	8.66 a	7.08 ab	5.68 b	0.01
	肥育後期	9.90 A	8.25B	6.43 B	0.01
VFAモル比率 (%)	酢酸	1.25	1.35	1.41	0.54
	プロピオン酸	0.97	1.01	1.10	0.19
	酢酸	1.10	1.17	1.24	0.33
A/P比	試験開始前	19.15	19.56	19.11	0.93
	肥育中期	21.48	26.04	20.08	0.05
	肥育後期	19.53	19.62	18.45	0.46
酢酸	試験開始前	9.68	6.50	8.30	0.14
	肥育中期	10.24	8.41	9.43	0.10
	肥育後期	14.25	13.76	15.00	0.44
A/P比	試験開始前	3.63	3.63	3.65	1.00
	肥育中期	3.08 ab	2.47 b	3.40 a	0.04
	肥育後期	3.31	3.33	3.51	0.64

異符号間に有意差あり：大文字 $P<0.01$ 、小文字 $P<0.05$

3 血液性状

血液性状を表4に、血中アルブミン濃度の推移を図3、血中総コレステロール濃度の推移を図4に示した。

血中ビオチン濃度は中期区および後期区でビオチン添加した期間に大きく上昇した ($P<0.01$)。

血中アルブミン濃度は試験区と採取時期との間に交互作用があったが ($P<0.05$)、正常範囲内 (3.1~3.9 g/dl) で推移していた。対照区において後期5ヵ月に

低下し、後期区より低い傾向がみられた ($P<0.1$)。また血中総コレステロール濃度は、後期5ヵ月に対照区が後期区より有意に低かった ($P<0.05$)。これは対照区で肥育後期において他2区に比べて飼料摂取量が少なかったためであると考えられる。

血中尿素態窒素は、肥育中期に中期区が対照区より高い ($P<0.01$) もの、代謝プロファイルテストにおける正常範囲内 (<20 mg/dl) での変動であった。

表4 血液性状

		対照区	中期区	後期区	P値
ビオチン (ng/ml)	試験開始前	0.5 b	0.6 ab	0.6 a	0.03
	中期4ヶ月	0.5 B	21.7 A	0.6 B	0.01
	後期3か月	0.5 B	0.6 B	25.3 A	0.01
総蛋白質 (g/dl)	試験開始前	8.1	7.9	7.1	0.30
	肥育中期	7.4	6.9	7.4	0.33
	肥育後期	7.3	6.7	7.2	0.13
アルブミン (g/dl)	試験開始前	3.7 ab	3.6 b	3.9 a	0.05
	肥育中期	3.6	3.6	3.5	0.46
	肥育後期	3.4	3.4	3.4	0.90
総コレステロール (mg/dl)	試験開始前	100.5	103.5	103.0	0.97
	肥育中期	152.6	150.6	147.6	0.96
	肥育後期	110.4	121.9	126.2	0.45
血中尿素態窒素 (mg/dl)	試験開始前	10.9	12.1	11.7	0.54
	肥育中期	12.1 B	15.2 A	13.4 AB	0.01
	肥育後期	11.1	12.8	12.2	0.12
GOT (U/L)	試験開始前	59.5	59.0	66.3	0.46
	肥育中期	63.9	79.7	84.1	0.49
	肥育後期	52.1	69.3	76.6	0.13
γ -GTP (u/L)	試験開始前	21.8	18.8	21.0	0.17
	肥育中期	25.1	24.0	33.4	0.31
	肥育後期	22.3	23.1	32.6	0.07

異符号間に有意差あり：大文字 $P<0.01$ 、小文字 $P<0.05$

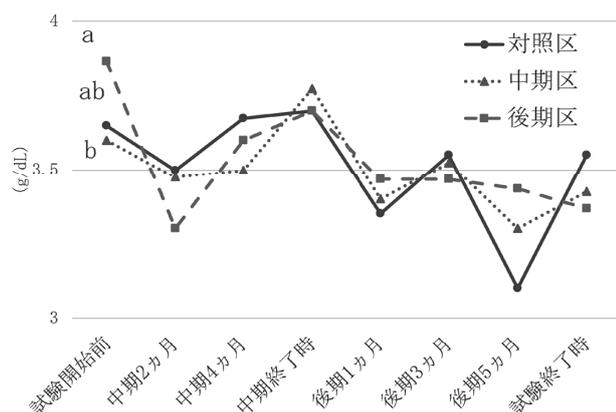


図3 血中アルブミン濃度 (g/dL)

試験区×採取時期：交互作用あり ($P<0.05$) (a,b)：異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

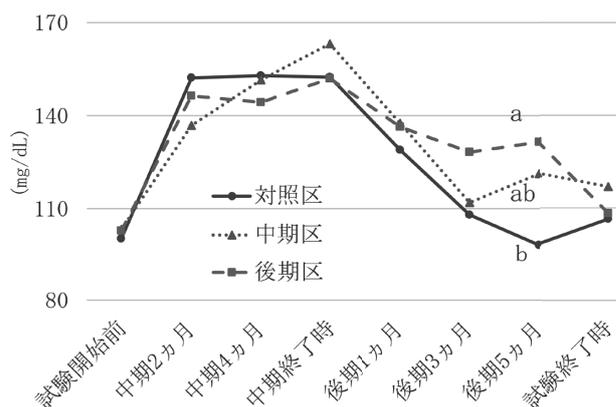


図4 血中総コレステロール濃度 (mg/dL)

(a,b)：異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

4 枝肉成績

枝肉成績を表5に示した。枝肉格付では、ビオチン添加区ですべて肉質等級4等級以上となった。第1報においてもビオチン添加区で肉質等級が改善したことを報告しており (諸岡ら2020)、本試験でも同様の結果となった。枝肉重量や肉質の結果は全ての項目で試験区間に差はなかったが、枝肉格付と同様に対照区の供

試牛間でのばらつきが大きく、他の2区では比較的小さかった。対照区における枝肉格付等級B3の2頭は、いずれも飼料摂取量が少ない個体であったことから、ビオチン添加による飼料摂取量の増加が、枝肉重量、きめ、締りおよび脂肪交雑を改善し、枝肉成績が向上したことが推察される。

表5 枝肉成績

	対照区	中期区	後期区	P値
格付け成績	A5:1 A4:1	A4:2 B4:2	A5:1 A4:2	
	B3:2			
枝肉重量 (kg)	554±26	571±30	581.3±28	0.56
ロース芯面積 (cm ²)	62.0±10.3	62.8±3.8	69.7±1.2	0.42
バラ厚 (cm)	7.7±0.6	7.6±0.5	8.3±0.4	0.30
皮下脂肪厚 (cm)	2.2±0.7	2.8±0.5	2.3±0.5	0.49
歩留基準値 (%)	71.6±1.6	70.9±1.1	72.7±0.6	0.31
BMS No.	6.3±2.3	6.3±0.8	7.7±0.5	0.51
締まり	3.8±0.4	4.0±0.0	4.3±0.5	0.53
きめ	3.8±0.8	4.0±0.0	4.3±0.5	0.53
枝肉単価 (円)	1,435±210	1,457±86	1,503±152	0.89
枝肉金額 (円)	796,147	830,342	871,299	

平均値±標準偏差

5 牛肉の理化学分析値と脂肪酸組成

胸最長筋の理化学性状を表6に示した。一般成分は後期区で水分含量が低く、粗脂肪含量が高い値を示したが、対照区および中期区のばらつきが大きく、全ての項目において試験区間に有意な差はなかった。飼料摂取量は中期区と後期区の間には差がなく、飼料摂取量の違いが肉質に及ぼす影響は小さかったと考えられ

る。ビオチンは細胞質においてアセチルCoAからマロニルCoAを合成するアセチルCoAカルボキシラーゼIの補酵素として働く。マロニルCoAは脂肪酸合成に必須の成分であることから、後期区では筋肉内に脂肪を蓄積する時期である肥育後期にマロニルCoAが多く合成され、筋肉内脂肪が増加したことが考えられる。

表6 肉質分析

	対照区	中期区	後期区	P値
最長筋 pH	5.29±0.08	5.37±0.05	5.33±0.06	0.28
剪断力価 (1b/cm ²)	5.15±3.15	5.31±0.62	4.01±1.22	0.59
加熱損失 (%)	16.8±3.2	16.9±0.6	14.6±1.2	0.32
水分含量 (%)	46.3±5.1	46.9±4.4	40.7±2.6	0.29
粗蛋白含量 (現物%)	13.9±7.6	14.2±4.8	12.1±2.8	0.31
粗脂肪含量 (現物%)	39.4±5.8	41.1±3.8	47.1±1.2	0.17
胸最長筋色	L [*] 値 51.6±1.8 a [*] 値 27.0±1.1 b [*] 値 14.9±0.4	50.3±3.1 26.2±1.6 14.4±0.9	49.7±2.3 26.9±0.4 14.9±0.4	0.60 0.61 0.48
筋間脂肪色	L [*] 値 78.4±2.1 a [*] 値 4.0±1.9 b [*] 値 6.2±0.8	80.7±1.8 2.9±0.5 5.2±0.4	80.3±1.4 2.8±0.5 5.8±0.7	0.24 0.36 0.17
皮下脂肪色	L [*] 値 78.9±2.0 a [*] 値 3.2±1.2 b [*] 値 6.0±0.5	79.4±2.6 2.5±0.6 5.0±0.8	79.8±0.8 2.9±1.1 5.4±0.4	0.82 0.62 0.16

※平均値±標準偏差

筋間脂肪と胸最長筋内脂肪の脂肪酸組成を表7に示した。いずれの項目も試験区間に有意差はなかった。大谷らは、黒毛和種雌牛へのビオチン添加試験において、ビオチン添加により筋肉内脂肪のオレイン酸含量が増加したことを報告している(大谷ら2012)が、本試験では異なる結果となった。一方、名嘉らの黒毛和

種去勢牛を用いたビオチン添加試験や第1報では、脂肪酸組成への影響はなかったと報告している(名嘉ら2020、諸岡ら2020)ことから、ビオチンによる脂肪酸組成への影響は、品種や性、飼養条件など、他の要因が関係する可能性が示された。

表7 脂肪酸組成

		対照区	中期区	後期区	P値
筋間脂肪					
ミリスチン酸	(14:0)	3.2	2.8	3.0	0.41
パルミチン酸	(16:0)	27.2	26.0	26.2	0.45
パルミトレイン酸	(16:1)	5.6	5.6	6.1	0.43
ステアリン酸	(18:0)	13.2	13.6	12.1	0.38
オレイン酸	(18:1)	46.5	47.4	47.9	0.65
リノール酸	(18:2)	2.5	2.8	2.7	0.53
不飽和脂肪酸割合		55.7	56.8	57.8	0.50
一価不飽和脂肪酸割合		53.2	54.0	55.1	0.54
胸最長筋筋肉内脂肪					
ミリスチン酸	(14:0)	2.8	2.7	2.9	0.75
パルミチン酸	(16:0)	23.8	23.8	24.3	0.94
パルミトレイン酸	(16:1)	7.0	6.5	6.9	0.80
ステアリン酸	(18:0)	11.2	13.0	11.5	0.45
オレイン酸	(18:1)	50.0	48.9	49.2	0.83
リノール酸	(18:2)	2.6	2.9	2.8	0.62
不飽和脂肪酸割合		61.0	59.5	60.3	0.82
一価不飽和脂肪酸割合		58.4	56.6	57.5	0.75

6 屠畜時内臓所見

表8に内臓所見を示した。第1報では、ビオチンの添加が第一胃の炎症を軽減させる可能性を示していた

(諸岡ら2020)が、本試験では各試験区で同程度の発生となった。

表8 内臓所見

		対照区	中期区	後期区
第一胃	炎症等	1	2	1
肝臓	炎症等	0	1	0
膀胱	充血	1	1	1
	結石	2	1	1
その他炎症等		横隔膜膿瘍×1	小腸炎症×1	—

7 飼料費と枝肉価格

試験開始から出荷までの肥育コスト試算を表9に示した。ビオチン添加により、飼料摂取量が増加したことから、飼料費は中期区と後期区で高くなった。一方、枝肉販売額は格付け成績を反映し、後期区、中期区、

対照区の順で高くなり、枝肉金額と飼料費の差額は、後期区、中期区、対照区の順で高くなった。ビオチンの添加により肉質が改善されることで、粗収益が増加する可能性が示された。

表9 肥育コスト試算

		対照区	中期区	後期区	
摂取量 (kg)	稲わら	409.5	441.0	447.6	
	配合飼料	3920.1	4227.8	4291.5	
	合計	4329.6	4668.8	4739.1	
金額 (円)	売上	796,147	830,342	871,299	
	費用	飼料費	296,884	320,145	324,965
		ビオチン添加代		6,000	7,500
		差額	499,263	504,197	538,834

kg単価：稲わら63.5円、市販配合飼料69.1円、ビオチン1 gあたり2.0円

8 添加時期

今回、交雑種去勢牛における、中期区または後期区5ヵ月間のビオチン添加で、飼料摂取を促進し、格付成績の改善に効果があることが示唆され、その傾向は後期区で大きかった。また、第1報は、出荷前11ヵ月間および5ヵ月間のビオチン添加で肉質が向上することを報告している(諸岡ら2020)。これらの結果から、ビオチンの添加は少なくとも肥育後期5ヵ月の添加期間で効果が期待できると考えられた。

以上より、肥育中期または後期にビオチンを添加すると、飼料摂取量が増加することが明らかとなり、このことから、枝肉重量、きめ、締りおよび脂肪交雑が向上し、枝肉成績が改善する可能性が示された。また、ビオチン添加は肥育後期5ヵ月間の給与が効率的であることが示唆された。

第1報と本試験では系統の異なる黒毛和種種雄牛産仔を供試したが、いずれにおいてもビオチン添加により肉質が向上する可能性が示された。交雑種去勢牛の増体や肉質には黒毛和種種雄牛による遺伝的要因の影響が大きいことが知られているが、第1報と本試験の結果から、ビオチン添加は系統の違いに関わらず、肉質成績を改善することで収益性向上に貢献することが期待できると考えられた。

本試験の実施にあたり血液中のビオチン分析を担当頂いた明治飼糧株式会社 大谷喜永氏に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 入江正和・木村信熙、2015、肉用牛の科学、第1版、肉用牛研究会：93
- 石井純一郎・浦本右文・長屋雄大・川崎裕治、2017、黒毛和種肥育用飼料へのビタミンB6とビオチンの添加が枝肉成績に及ぼす影響、肉用牛研究会報103:5-13
- Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 2013;48:452-8.
- 諸岡佳恵・小林大誠・石崎重信、2020、ビオチンの添加が交雑種去勢肥育牛の産肉性に及ぼす影響-第1報-、千葉畜セ研報20:25-31
- 名嘉修治、阿久津麗、大島藤太、櫻井由美、2020、黒毛和種去勢牛における肥育後期のビオチン添加給与が肥育成績に及ぼす影響、栃畜酪研セ研報第7号：1-4
- 大谷喜永・増子孝則・小原嘉昭・佐藤幹、2012、肥育牛における筋肉中の脂肪酸組成と脂肪酸合成関連遺伝子発現に対するビオチン及びトレハロース給与の効果、栄養生理研究会報 vol56 No.2:69-77
- 社団法人 畜産技術協会、2003、牛肉品質評価のための理化学的分析マニュアルVer.2.