

## 受賞論文

北海道内における近赤外分析を活用した粗飼料の  
栄養評価に関する取り組み

桑原 誠<sup>1</sup>・宿野部 猛<sup>2</sup>・鈴木祐志<sup>3</sup>・清水洋介<sup>4</sup>・長岡茂美<sup>5</sup>・加藤英生<sup>6</sup>・古川 修<sup>7</sup>・松田 晃<sup>8</sup>  
竹口智子<sup>9</sup>・松田雅彦<sup>10</sup>・出口健三郎<sup>11</sup>・大下友子<sup>12</sup>・飯田憲司<sup>13</sup>

フォレンジテストミーティング ( <sup>1</sup>ホクレン農業協同組合連合会, <sup>2</sup>オホーツク農業科学研究センター,  
<sup>3</sup>十勝農業協同組合連合会, <sup>4</sup>日本甜菜製糖株式会社, <sup>5</sup>浜中町農業協同組合, <sup>6</sup>明治飼糧株式会社,  
<sup>7</sup>雪印種苗株式会社, <sup>8</sup>オホーツク網走農業協同組合, <sup>9</sup>全国酪農協同組合連合会, <sup>10</sup>ホクレンくみあい飼料株式会社,  
<sup>11</sup>道総研根釧農業試験場, <sup>12</sup>北海道農業研究センター, <sup>13</sup>道総研畜産試験場)  
〒060-8651 札幌市中央区北4条西1丁目3番地 (FTM事務局:ホクレン飼料部内)

## Forage testing using Near Infrared Spectroscopy in Hokkaido

Makoto KUWAHARA, Takeshi SHUKUNOBE, Yuiji SUZUKI, Yousuke SHIMIZU, Shigeyosi NAGAOKA,  
Hideo KATO, Shu KOGAWA, Akira MATSUDA, Tomoko TAKEGUCHI, Kenzaburo DEGUCHI,  
Tomoko OHSHITA, Kenji IIDA, Masahiko MATSUDA,  
Forage Testing Meeting

3 West1-jou, North4-jou, Tyuuou-ku, Sapporo-city, Hokkaido 060-8651, JAPAN

キーワード: 粗飼料分析 フォレンジテスト 近赤外分析 北海道

Key word: forage testing, NIRS Near Infrared Spectroscopy, Hokkaido

## はじめに

家畜の生産性を高めるためには、家畜の栄養要求量に基づいた飼料設計とそれを可能にする正確な飼料成分の把握が必要である。そのため北海道内では農業団体や種苗会社などにおいて飼料分析業務が行われている。昭和56年頃から、それまで化学分析によって行われていた飼料成分分析が近赤外分析法に置き換わり、分析労力の軽減と分析時間の短縮が実現された。その一方で、近赤外分析に用いる栄養成分毎の検量線が分析機関によって異なり、分析誤差が生じていることが問題となっていた。

## 経過

平成8年2月、ホクレン農業協同組合連合会、ホクレンくみあい飼料北見工場、十勝農業協同組合連合会および北海道立新得畜産試験場(現道総研畜産試験場)の4者が会し、飼料分析の場所間誤差と近赤外分析における推定精度の問題について第1回目の会合が持たれた。この時から場所間誤差要因確認のため化学分析

値および近赤外分析値のクロスチェックを開始することとなり、道内で飼料分析サービスを行っている他機関にも参画を呼びかけることになった。

以降、第4回目の会合ではオホーツク農業科学センター(興部町)と浜中町農協が参加、第5回目からは雪印種苗株式会社中央研究農場(現北海道研究農場)が加わり、当時道内で近赤外分析による飼料分析サービスを行っているほぼ全ての機関で現状の問題点について共通認識を持つことが出来た。そこで「より高精度の近赤外分析用検量線を作成し、各分析センターが統一して用いることにより、精度の向上と分析場所間差を解消すること」を目的として対外的なアピールの意味合いも込め「フォレンジテストミーティング(略称FTM)」を立ち上げることとなった。その際には、アドバイザーとして北海道農業試験場(現北海道農業研究センター)からも参加を頂いた。

FTMとしての第1回会議は平成9年5月に開催され、以降年間2~4回の会議を持ち平成16年12月で第20回を迎えた。この間に日本甜菜製糖株式会社、明治飼糧株式会社が加わり参画機関は7機関となった。この頃までに主要草種(乾草、グラスサイレージ、青草およびトウモロコシサイレージ)毎に各7~12成分項目、計43項目の検量線が作成された他、新たな分析項

目への対応やTDN推定式の改訂、ミネラル、有機酸分析のクロスチェック、最新情報の紹介や意見交換などが行われた。

しかし、乳牛の飼養技術や飼料評価の分野はまだ発展途上にあり、新しい分析項目への対応や、既存検量線への更なる精度向上が求められていた。また、検量線の開発だけでなく、各分析機関の機器更新、修繕に伴う精度の維持作業（検量線の再移設、補正、精度確認）の比重も年々増加してきていた。

このように、検量線開発の比重が低下することにより、試験場が研究課題として関連予算を要望することが難しくなってきた。事業化の方向も探したが、北海道の財政難のおり新規の事業予算の確保も困難であった。かといって参画民間団体だけでこれまでの活動を続け、発展させていくことも困難であった。そこで第20回の会議において、①FTMを参画する分析機関のみの団体として設立すること、②そのFTMから北海道（畜試）へ検量線の開発と精度維持に関する研究を委託するという案について協議が行われ、各機関より承認された。これにより平成17年8月4日に現FTMが設立され、会則により検量線の共用や分析手法だけではなく、飼料分析結果を用いる関係者へのFTM活動のPR報告会や飼料設計についての研修会なども企画していくこととなった。

この後、平成18年にはオホーツク網走農協が、平成20年には全国酪農業協同組合連合会が参画して現在9機関となっている（図1）。また、平成18年から19年にかけて輸入アルファルファ乾草用検量線作成を、平成20年から平成21年にかけて輸入イネ科乾草用検量線作成を畜試への委託試験として行い、検量線の作成および配布が行われている。

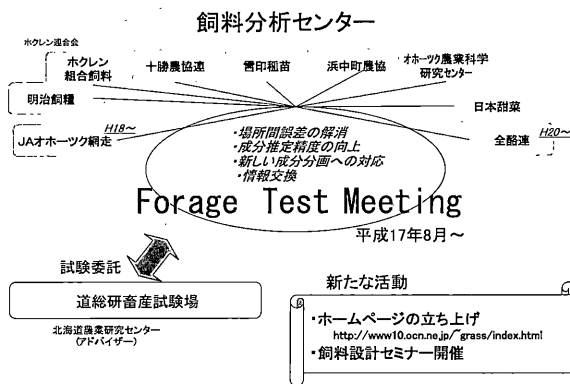


図1 フォレンジテストミーティング概念図

### FTMにおける具体的取り組みと成果

#### 1) 分析値のクロスチェックと誤差要因の検討

まず、参画団体間で生じている誤差とその要因を把握するために、図2のような流れでクロスチェック（分析値の手合わせ）を行った。その結果、一部の分析項

目については化学分析手法の違いにより誤差が生じていることが明らかとなった。特にOCW（総繊維）、Oa（高消化性繊維）、Ob（低消化性繊維）についてはアミラーゼ処理の有無と処理方法について各分析センター間で統一されていなかったことが大きな誤差要因となっていた（表1）。さらに、これらの項目は当時TDN推定式の説明変数として使われていたため、TDN推定値の誤差にもつながっていた。そこで、これら酵素分析画分については全てアミラーゼ処理をすることに統一した。

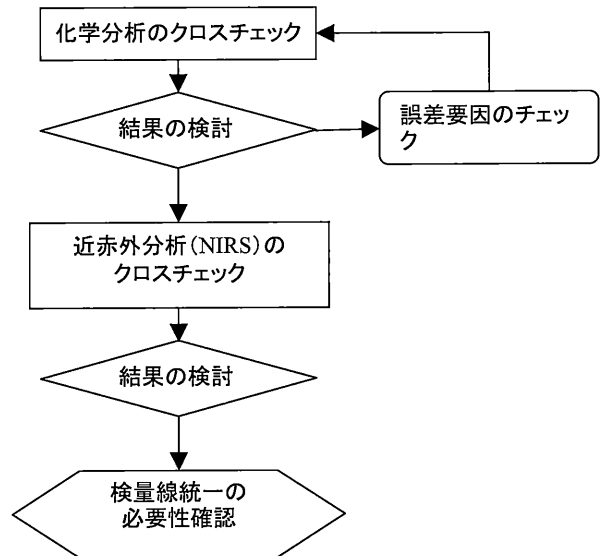


図2 分析センター間誤差検討の流れ

表1 アミラーゼ処理方法別OCWとNDF含量（DM%）

	NDF含量	OCW		
		ami分離 <sup>1)</sup>	簡易 <sup>2)</sup>	無処理
チモシー生草	52.8	52.8	56.0	53.3
チモシー乾草	76.2	74.7	77.2	76.5
グラスサイレージ	58.1	60.5	65.8	62.6
イネ科平均	62.4	62.7	66.3	64.1
アルファルファ生草	34.8	38.4	45.7	-
アルファルファ乾草	47.2	49.8	57.2	-
アカローバ乾草	59.8	61.7	67.0	-
マメ科平均	47.3	50.0	56.6	-

- 1) アクチナーゼ処理前にαアミラーゼ溶液で16時間培養、ろ過。
- 2) アクチナーゼとαアミラーゼの混合処理

#### 2) 近赤外分析用高精度検量線の作成と移設による分析精度の統一化

化学分析値に明らかな誤差がない分析項目においても近赤外分析では分析センター間で精度にばらつきが認められた。そのため、分析センター間誤差を解消するためには化学分析手法を統一した上で、近赤外分析用検量線を作り直すこととなった。検量線の作成と統一供用までの流れは図3に示した。

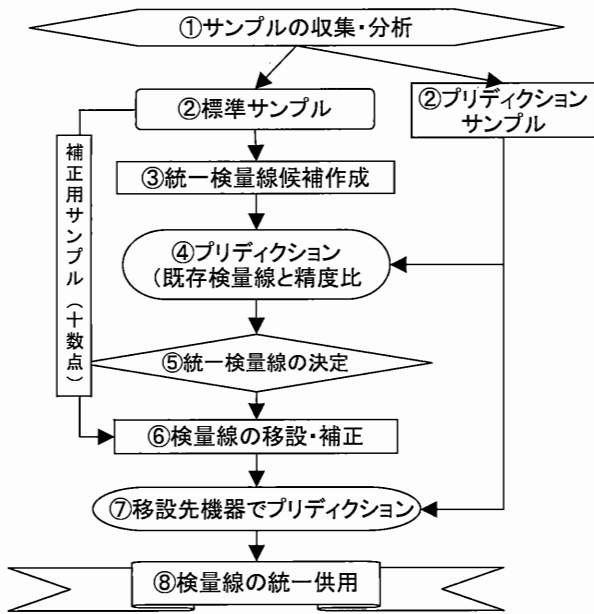


図3 検量線作成から統一供用までの流れ

(1) サンプルの収集

検量線の作成には100点以上の標準サンプルを準備する必要があり、精度は用いた標準サンプルに依存することから、この作業を各々の分析センターで行うと効率が悪く、かつ、分析値が完全に一致しない可能性が考えられた。そこで、まず各分析センターの協力を得て全道からサンプルを収集し、さらに極端に品質の良いものについては試験場でサンプルを調製し、高品質から低品質までカバーするサンプル群を準備した。次いで、サンプルの分析と検量線の作成は一箇所で行うこととし畜産試験場がその役割を担った。

(2) 検量線の作成とプリディクション

検量線作成のための重回帰分析手法については従来のMLR法(重回帰分析)からPLS法(Partial Least Squares法)への切り替えを検討した。PLS法は1980年代に近赤外スペクトルの解析を目的として主成分分析の延長線上で開発された手法で、説明変数としてある波長一断面における吸光度を用いるのではなく、連続的波長域における吸光度の変化を現す線形変数を用いることが特徴である。これにより実質的に解析に用いられる情報量は飛躍的に増やすことができ、かつ他の成分との共線性を持つことによる標本集団への過剰適合といった問題も回避できる優れた手法である。問題は得られた回帰式の中身が公開されず、高精度の回帰式が得られた理由を説明できないことであったが、粗飼料分析サービスの精度向上が最優先とし、再現性が高ければ実用性は高いと考え、同一サンプル群を使ってPLS法とMLR法の精度を比較した(表2)。その結果、未知試料群においてもPLS法の精度が優れていることが確認できたことから、すべてPLS法を基本として検量線の開発を行うこととした。

表2 未知試料におけるPLS法<sup>1)</sup>およびMLR法<sup>2)</sup>検量線の精度 (グラスサイレージ, n=39)

成分 <sup>3)</sup>	PLS法					MLR法				
	R <sup>2</sup>	SDP <sup>4)</sup>	Bias <sup>5)</sup>	EI <sup>6)</sup>	判定 <sup>9)</sup>	R <sup>2</sup>	SDP <sup>4)</sup>	Bias <sup>5)</sup>	EI <sup>6)</sup>	判定 <sup>9)</sup>
CP	0.92	0.84	0.26	11.8	A	0.92	0.77	0.69	10.9	A
CPs	0.82	0.80	0.17	20.0	B	0.73	0.97	0.67	24.3	B
CPu	0.82	0.74	-0.24	20.8	B	0.79	0.85	0.39	23.9	B
CPb	0.79	0.19	0.02	23.7	B	0.59	0.28	-0.05	35.0	C
OCW	0.92	1.70	-1.29	14.7	B	0.79	3.02	-1.2	26.0	C
Oa	0.6	1.72	0.17	32.5	C	0.4	2.11	0.33	39.8	D
Ob	0.9	2.20	-1.37	16.1	B	0.86	2.51	-1.1	18.4	B

注1) PLS法: Partial Least Square法 2) MLR法: 変数増加法による重回帰分析  
 3) CP: 粗タンパク、CPs: 溶解性CP、CPu: 非分解性CP、CPb: 結合性CP、OCW: 総繊維、Oa: 高消化性繊維、Ob: 低消化性繊維  
 4) SDP: プリディクションにおける標準偏差(誤差にBiasを含まない)。  
 5) Bias: 誤差の平均値  
 6) EI値=2×SDP/レンジ×100、精度判定はEI値の範囲0~50, 50<を5段階に分け、以下のように判定した。;  
 A: 非常に高い、B: 高い、C: やや高い、D: 低い、E: 非常に低い(水野ら1988)。

(3) 移設補正と統一供用

作成した検量線は、各々の分析センターが用いていた検量線と比較して精度が高いことを確認してから移設補正作業に移行した(表3)。教科書的には図3のプリディクションの際に各分析センターで誤差があるようならば補正するということが推奨されていたが、FTMにおいては分析センター間誤差を解消することが非常に重要であったため、標準サンプルの中から補正用サンプル群として十数点抽出し、それらで補正を行ったのちに(図3の⑥)、もう一度プリディクション(図3の⑦)を行うというダブルチェックの体制とした。この流れの作業を徹底することにより、統一検量線供用前と比較すると、分析センター間誤差は現在までに2段階小さくなってきている(図4)。

この他にも、移設元と移設先の機種が異なることにより移設が難しい点などについてはメーカーからのアドバイスも得て対応し、一連の作業で得られた知見は畜産試験場を通し、平成11年度自給飼料品質評価研究会において「NIR(近赤外分析)におけるPLS法を用いた粗飼料成分の推定」として他府県へも情報提供を行った。

表3 分析センター使用検量線と統一検量線の未知試料における成分推定精度 (平成8年当時, グラスサイレージn=39)

分析センター	分析センター使用検量線				統一検量線			
	R <sup>2</sup>	SDP <sup>1)</sup>	Bias <sup>2)</sup>	判定 <sup>3)</sup>	R <sup>2</sup>	SDP <sup>1)</sup>	Bias <sup>2)</sup>	判定 <sup>3)</sup>
ア	0.88	0.99	-1.78	B	0.77	3.09	3.7	C
イ	0.92	0.80	0.37	A	0.85	2.32	-0.27	B
ウ	0.88	0.94	-1.66	B	0.79	2.79	4.97	C
エ	0.88	0.94	0.13	B	0.69	3.29	-8.43	C
オ	0.88	0.94	0.13	B	0.69	3.29	-8.43	C
畜試	0.92	0.76	-0.16	A	0.96	1.15	-0.98	A

1) SDP: プリディクションにおける標準偏差(誤差にBiasを含まない)。  
 2) Bias: 誤差の平均値。  
 3) EI値=2×SDP/レンジ×100、精度判定はEI値の範囲0~50, 50<を5段階に分け、以下のように判定した。;  
 A: 非常に高い、B: 高い、C: やや高い、D: 低い、E: 非常に低い(水野ら, 1988)。

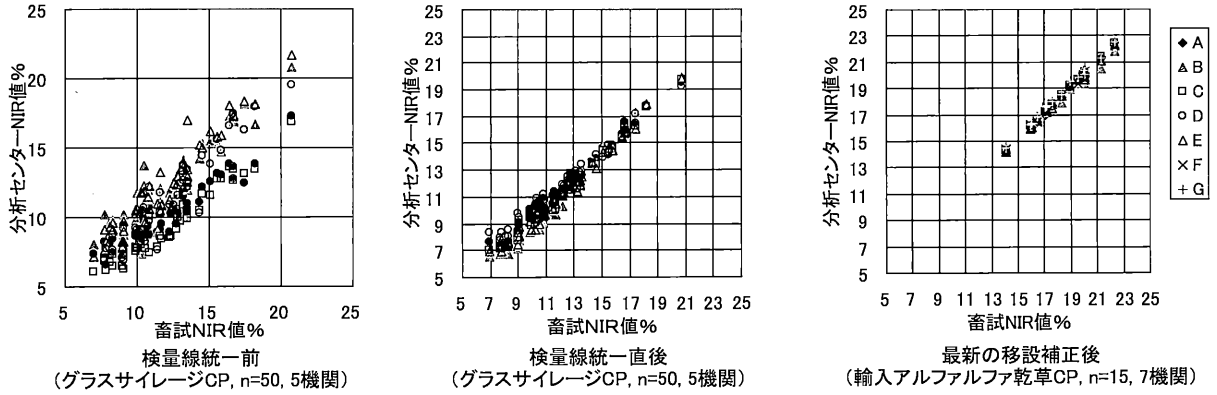


図4 検量線統一前および統一後の畜試推定値と分析センター推定値の関係 (CP)

3) TDN推定式の統一

TDNは成分含量を説明変数とする回帰式によって推定しているが、当初は用いている式が分析センター間で異なっていた。そこで北農研センターおよび畜産試験場の所有する *in vivo* TDN既知サンプルを供試してそれらの回帰式の精度を検定し、道内の粗飼料に当てはまりの良いものに統一した。イネ科主体牧草について当初統一したのは以下の式1であるが、この式ではイネ科とマメ科で分離する傾向が強く、混播牧草に対する精度が低かった。そこで、より汎用性の高い式を検討して平成11年からは式2に改定し、平成17年からはNRC2001で紹介された理論的可消化成分の積み上げ式(式3)を採用している (図5)。

$$TDN=30.4+0.654 \times (OCC+Oa) \dots \text{式1 (篠田ら1992)}$$

$$TDN=-5.45+0.89 \times (OCC+Oa)+0.45 \times OCW$$

…式2 (出口ら, 1997)

$$TDN=tdNFC+tdCP+(tdFA \times 2.25)+tdNDF-7$$

…式3 (Weiss WP, 1992)

$$tdNFC=0.98 \times \{100-[(NDF-NDICP)+CP+EE+Ash]\}$$

$$tdCP = CP \times \exp(-1.2 \times ADICP/CP)$$

$$tdFA = (EE-1) \text{ ただし } EE < 1 \text{ のとき, } FA = 0$$

$$tdNDF=0.75 \times [(NDF-NDICP)-ADL] \times [1-[ADL/(NDF-NDICP)]^{0.667}]$$

td : truly digestible      m : maintenance

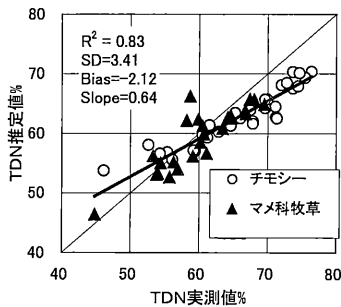


図5 理論的積み上げ式 (Weiss WP, 1992) によるTDN推定精度の検証  
 チモシー n=33, マメ科牧草 n=1

4) その他の誤差要因の解消

分析手法と検量線を統一した後も場所によっては誤差が生じているケースがあった。これまでのクロスチェックでは粉碎した試料を各分析センターに配布することによって行っていたため、サンプルの受け入れから粉碎までのサンプル調製の際に誤差が生じていると考えられた。そこで乾燥、粉碎の工程をチェックしたところ、粉碎物の回収率が異なっており、それが誤差要因になっていることが確認された。すなわち、硬い繊維質の部分ほど粉碎に時間がかかるため、粉碎時間を十分に取らない場合、粉碎試料の繊維含量が投入試料より明らかに低くなっていた(表4)。そこで粉碎時の粉碎室に残った残渣の割合が10%以下とすることを粉碎時の目安として統一した。

表4 とうもろこしサイレージの粉碎物および粉碎残渣中成分含量

(粉碎: レッチェ社パワークッティングミル、分析場所: 畜試)

粉碎時間	区分 <sup>1)</sup>	重量,g	割合,%	OCW,%	DM
3分	投入試料①	188	100	37.5	
	粉碎物②	154	81.8	39.6	
	残渣③	29	15.5	26.7	
	②/①*100			105	
5分	投入試料①	194	100	37	
	粉碎物②	178	92	37.8	
	残渣③	14.5	7.5	27.2	
	②/①*100			102	

1) 粉碎物とはメッシュスクリーンを通過したものを。残渣は通過せずに粉碎室に残ったサンプル

5) 新しい分析項目への対応

NRCやARC等ではタンパク質の分解性評価の重要性が高まってきたが、ルーメン内におけるタンパク質分解性評価のためには家畜を用いた試験を行う必要がある。検量線作成に必要な点数のデータ収集は困難であった。そこで、当時開発されつつあった酵素法による推定方法について、①粗飼料向けに若干の改良を加え、*in situ*法による値と比較した精度検証(出口ら, 1996)、②酵素法による推定値を近赤外分析で推定(出口ら,

1999)、という2段階の方法により対応した。

#### 6) ミネラルおよび有機酸の分析

ミネラルや有機酸は近赤外分析では対応できない項目であるため、通常の機器分析によっているが、共通試料を用いたクロスチェックの結果、前処理方法や使用機器の違いなどから場所間差異があることが分かった。現在も定期的にクロスチェックを行い、誤差を最小限にとどめる取り組みを行っている。

#### 7) 現在検討している項目

- ・ VBN(揮発性塩基態窒素)分析方法の統一
- ・ WSC(水溶性糖類)分析方法の検討
- ・ デンプン分析方法の改訂および方法間誤差の検討
- ・ in vitro可消化NDF含量の推定とTDN推定式への導入

### おわりに

平成18年からの国際的な穀物の価格高騰は、飼料原料のほとんどを輸入に依存する酪農畜産経営を圧迫した。現在は落ち着きを取り戻しつつあるが穀物価格は高止まりしており、この状況は継続すると見られる。北海道の酪農畜産は自給飼料を栽培できる環境にあり、今後いかに自給飼料を有効活用していくかが経営の大きなポイントになる。FTMでは、参画民間団体が一致団結して北海道の自給飼料について正確な分析値を返し、生産現場個々において適切な飼料設計に反映していただくのが最大の使命と認識しており、自給飼料の有効活用のために分析担当者のスキルアップはもとより、現行分析値の更なる精度アップ、さらには新規分析項目の検討について今後も活動を続けていく。

### 謝辞

これまでのFTMの活動にあたっては元北海道農業試験場飼料評価研究室長 名久井忠氏(現酪農学園大学教授)、同イネ科牧草育種研究室 水野和彦氏(現畜産草地研究所)、株式会社ニレコ篠原公之氏、三留肇氏、株式会社FOSSジャパンDr. Martin Andersson氏をはじめとする多くの方のご指導、ご協力を仰いだ。この場を借りて深謝いたします。

### 引用文献

- 篠田満(1992) 飼料の繊維成分分析によるTDN含量の簡易推定法. 北農 59: 62-65
- 出口健三郎・伊藤 晃(1996) 酵素法とナイロンバック法による非分解性タンパク含量推定値の比較. 日草誌42. (別)
- 出口健三郎・甘利雅弘・柁木茂彦・阿部亮(1997) 寒地型イネ科牧草数種を込みにしたTDN含量の推定および推定精度の草種間差異. 日草誌43(別): 290-291
- 出口健三郎(1999) NIR(近赤外分析)におけるPLS法を用いた粗飼料成分の推定. 平成11年度自給飼料品質評価研究会資料
- 出口健三郎(1999) デタージェント法および酵素法分画による多草種込みにしたTDN推定式精度の比較. 北草研第34回大会発表
- Weiss WP (1992) A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. Anim. Feed Sci. Technol.39: 95-110
- 水野和彦・石栗敏機・近藤恒夫・加藤忠司(1988) 近赤外線反射率測定法による乾草の成分および栄養価の推定. I 成分および栄養価の推定精度とその評価. 草地試研報 38:35-47

