

## 近赤外分析計を用いた飼料イネの飼料成分迅速推定法

平川達也\*・棟加登きみ子

近赤外分析計を用いて福岡県内で栽培された飼料イネを対象に、飼料成分を推定する検量線を作成し、検量線の推定精度と実用性について検討した。

- (1) 粗タンパク質の検量線の推定精度は、検定時の相関係数Rが0.98、推定誤差の標準偏差SDPIは0.38と小さく、非常に精度が高い検量線であった。
- (2) 繊維分画成分や粗灰分及びタンパク質画分の検量線の推定精度は、Rが0.86 - 0.96、SDPIは0.07 - 2.28と小さく、精度の高い検量線であった。
- (3) 検量線の推定精度は、線形重回帰分析 (MLR法) に比べて、最小二乗法による回帰分析 (PLS法) で作成した検量線で全体的に推定精度が高くなった。

本試験の結果、近赤外分析計 (NIRS) により作成した検量線は、重相関係数が高く推定誤差の標準偏差 (SDP) が小さいことから、飼料イネの飼料成分は非常に高い精度で推定できることが明らかになった。

[ キーワード : 近赤外分光計, 飼料イネ, 飼料成分 ]

Prediction Method of Chemical Composition in Forage Paddy Rice Using a Near-infrared Analyzer.

Tatsuya HIRAKAWA and Kimiko MUNEKADO (Fukuoka Agric. Res. Cent., Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 27: 81-85(2008)

Under examination was the accuracy and practicality of a near-infrared analyzer for chemical composition in the forage paddy rice produced in Fukuoka Pref. As a result of comparing the MLR method with the PLS method, the accuracy in calibration obtained by the PLS method turned out to be higher. The accuracy of the determination was evaluated by the correlation coefficient (R) and the standard deviation of prediction (SDP). The 'R' and SDP of Crude protein were 0.98 and 0.38 respectively. The presumed accuracy was judged to be very high. The 'R' and SDP of crude protein soluble (CPs), crude protein degradable (CPd), crude protein bound (CPb), crude ash (CA), Organic cell wall (OCW), and Organic b fraction in cell wall (Ob) were 0.86-0.96 and 0.07-2.28 respectively, and the presumed accuracy was observed to be high. These results indicated that predicting the chemical composition of forage paddy rice with acceptable accuracy can be measured by using a near-infrared analyzer.

[ Key word : Near-infrared analyzer, Forage paddy rice, Chemical composition ]

### 緒 言

粗飼料自給率の向上を目的に、飼料イネは水田機能の有効利用や飼料価値の高い夏作飼料作物として全国で取り組みが推進されている。福岡県においても2006年には作付面積が203haに達しており、田における夏作物作付面積570haの約35%を占めている<sup>1,6)</sup>。現在、一層の作付拡大を図るため西南暖地に適した飼料イネ専用品種の開発や低コスト栽培技術、サイレージ調製技術<sup>4)</sup>に関する研究が進められている。

飼料イネの迅速測定に関する研究については、飼料の一般成分及び繊維成分について、徐ら<sup>9)</sup>が飼料イネ専用品種を中心に粗タンパク質、繊維成分において、推定精度がBランク以上であったことを報告している。しかし、福岡県で利用されている飼料イネ専用品種は少なく、地域在来食用品種の利用が多いため、同様の精度になるか不明である。したがって、本県で利用されている品種について近赤外分析計による飼料成分の推定が可能か否か検討した。さらに高泌乳牛の飼料設計には第1胃内分解特性を表すタンパク質画分成分が必要であるが、徐らはタンパク質画分についてまでは検討されていないため、本試験では県内で調製された飼料イネを対象に一般成分と繊維成分およびタンパク質画分成分についても検量線を作成し、近赤外分析計の推定精度と実用性について検

討した。

### 試験方法

#### 1 供試材料および化学分析方法

供試材料は第1表に示したとおり2000年～2003年の4年間に福岡県内で栽培された飼料用イネ専用品種を6品種、食用品種4品種の計119点とし、ホールクロップサイレージを76点、生草を43点収集した。各試料は60～48時間通風乾燥した。風乾飼料は1mmメッシュを装着したウィレー式粉砕器で粗粉砕を行い化学分析用試料とした。化学分析用試料の水分は135℃2時間乾燥して水分含量を求めた。粗タンパク質 (CP) 及び粗灰分 (CA) は常法<sup>7)</sup>により、細胞壁物質 (OCW) と低消化性繊維 (Ob) は阿部ら<sup>1)</sup>の方法で分析した。溶解性タンパク質 (CPs)、結合性タンパク質 (CPb) はKrishnamoorthyら<sup>6), 10)</sup>の方法で分析した。分解性タンパク質 (CPd) はRoeら<sup>13)</sup>の方法を一部改編した出口ら<sup>5)</sup>の方法に準じて分析した。

#### 2 検量線の作成および有効性の検証

近赤外分析計 (NIRSystems社6500型) 用試料は、1mm粉砕された供試試料をさらにUdy cyclone Millで0.5mmメッシュに微粉砕したものをを用いた。スペクトルの測定は、1100～2500nmの波長域内を2nm間隔で測定した。また品種、調製法を考慮し、測定する各成分値がレンジ内に平均的に分布するように、検量線作成用試料80点、検量線の検定用試料39点に区分した (第2表)。

\* 連絡責任者 (畜産環境部)

第1表 供試した飼料イネ品種の概要

| 品 種    | n   | 乾草 | サレージ |
|--------|-----|----|------|
| クサノホシ  | 9   | 3  | 6    |
| クサホナミ  | 15  | 6  | 9    |
| ホシアオバ  | 8   | 4  | 4    |
| 西海203  | 6   |    | 6    |
| スプライス  | 2   |    | 2    |
| はまさり   | 2   | 2  |      |
| ニシホマレ  | 60  | 22 | 38   |
| ヒノヒカリ  | 8   | 3  | 5    |
| ツクシホマレ | 5   | 1  | 4    |
| レイホウ   | 4   | 2  | 2    |
| 合 計    | 119 | 43 | 76   |

測定したスペクトルはNIRS付属のNSASソフトウェアで二次微分処理(微分条件: Gap 0, Segment 20)を行い、線形重回帰分析(以下MLR法)及びPLS回帰分析(partial least squares: 以下PLS法)で候補検量線を作成した。

作成した候補検量線は、岩元ら<sup>8)</sup>が報告しているように推定誤差の平均値(Bias)やスロープ(Slope)がない重回帰式であることを確認した。また検定用試料を用いて近赤外分析計による推定値と化学分析値との重相関係数(R)、推定誤差の標準偏差(SDP: standard deviation of prediction)を求め、水野ら<sup>11)</sup>が提唱したEI(Evaluation index,  $EI = 2 \times SDP / \text{レンジ} \times 100$ )法により、検量線の有用性について検討した。

## 結果および考察

### 1. 供試した飼料イネの化学分析値

第2表に供試した飼料イネの化学成分値のレンジを示した。主要成分のレンジはCPでは3.82 - 12.07で8ポイント、CAでは8.70 - 24.11で15ポイント、OCWでは34.91 - 69.99で35ポイント、Obでは29.34 - 59.69で30ポイントとなり、比較的広い幅である。これは徐ら<sup>9)</sup>の報告と比

べて、本試験で検討した飼料成分と同程度の成分範囲であった。タンパク質画分の変動係数はCPsでは47.75%、CPdで33.48%、CPbで15.92%となり、CPsとCPdの変動係数はCPbに比べて高くなる傾向が認められた。これはCPs及びCPdは材料草調製時の水分含量や刈取りステージの影響を受けやすいこと<sup>15)</sup>が原因と考えられた。CPbは水分含量や調製方法に左右されにくく<sup>15)</sup>比較的一定であり、乾物中のCPb含有量も少ないため変動係数が小さくなる傾向を示したものと思われた。

また、検定用試料のレンジについては、検量線作成用試料のレンジ内に正規分布させないように均等に試料の選択をする必要がある<sup>2)8)</sup>ことが報告されている。今回用いた検量線検定用試料は検量線作成用試料の成分レンジ内にあり、平均値、変動係数とも検量線作成用試料と同様な傾向が認められた。

### 2. 検量線の推定精度

第3表にMLR法およびPLS法による検量線の作成結果を示した。MLR法を用いて検量線を作成した結果、水分を除き一般成分と繊維成分は2~4波長を使用したもので重相関係数Rは0.90 - 0.96と高い相関が得られた。タンパク質画分は3~4波長を使用し重相関係数RはCPsでは0.85、CPdでは0.91、CPbでは0.79となり、CPの重相関係数0.96に比べて低かったが、SECは0.09~0.44と小さい傾向を示した。タンパク質画分の波長の帰属についての報告は少ないが、本試験では第一波長はCPsでは2190nm、CPdでは2164nm、CPbでは1982nmを採用した。これらの波長は最も頻繁に使用される波長域で結合音に帰属されるが、近赤外域で観察される吸収バンドの化学的帰属表<sup>8)</sup>から判断すると、タンパク質のカルボニル基に由来する波長およびその付近の波長を含んでいることが推察された。第二波長はCPsで2260nm、CPdで2246nmを採用しており、これらの波長は2252nm近傍の吸収バンドを使用している。MLR法を用いたタンパク質画分成分に関する報告は少ないため、波長の特定はできないが、第二波長にはデンプンの構造に由来するO-H基に帰属する波長と考えられた。

第2表 供試した飼料イネの化学成分値

|      | 検量線作成用 (N=80) |             |       | 検定用 (N= 39) |             |       |
|------|---------------|-------------|-------|-------------|-------------|-------|
|      | 平均            | 幅           | 変動係数  | 平均          | 幅           | 変動係数  |
| MOIS | 6.65          | 3.77-11.79  | 26.22 | 6.43        | 3.82- 9.58  | 24.51 |
| CP   | 6.56          | 3.82-12.07  | 23.11 | 6.67        | 3.96-11.87  | 26.22 |
| CPs  | 1.68          | 0.42- 5.36  | 47.75 | 1.69        | 0.72- 4.08  | 50.23 |
| CPd  | 3.11          | 1.57- 7.84  | 33.48 | 3.14        | 1.79- 6.82  | 36.86 |
| CPb  | 0.91          | 0.61- 1.35  | 15.92 | 0.89        | 0.68- 1.26  | 16.85 |
| CA   | 14.25         | 8.70-24.11  | 22.63 | 14.10       | 8.70-22.15  | 23.82 |
| OCW  | 51.96         | 34.91-69.99 | 13.25 | 50.34       | 38.84-68.26 | 13.80 |
| Ob   | 44.58         | 29.34-59.69 | 12.71 | 43.68       | 35.99-53.91 | 11.00 |

1) 数値は乾物中%

2) 変動係数: 標準偏差 ÷ 平均値 × 100

PLS法を用いて検量線を作成した結果、MLR法により作成された検量線に比べて重相関係数は0.02~0.1高くなり、SECは0.02~0.41と小さくなる傾向を示した。また

本試験では4~13の因子を使用した<sup>6)</sup>が、CPs、CPdでは因子が10~13と多くなった。第4表にMLR法及びPLS法による検量線の検定結果を示した。MLR法による検定の結果

では、重相関係数Rは0.72~0.96, SDPIは0.11~2.43であった。PLS法では重相関係数Rが0.81~0.98, SDPが0.07~2.28となりMLR法に比べて小さい傾向を示した。特にCPbにおける重相関係数Rは0.14高くなった。推定誤差の平均値であるバイアスについてはMLR法に比べてPLS法は全体的に低い傾向を示した。既往の報告では牧草中の成分推定にMLR法を用いた場合が多い<sup>2)3)11)</sup>。本試験ではMLR法とPLS法の両法を比較した結果、CPdを除いた成分についてPLS法による検量線の推定精度は、MLR法による検量線に比べて相対的に高くなった。このことはハードスターチを多く含む飼料イネは粒質が硬いため粉砕粒度が牧草類と比べて均一でないことが多く、このことがスペクトルの測定におけるノイズにつながりMLR法の精度

低下につながったと思われる。すなわち、PLS法では解析に用いる情報量が飛躍的に増加するため、ノイズの多い飼料イネにおいてもMLR法に比べてうまく解析できたことと、PLS法の性質上説明変数として用いられる因子が互いに相関を持たないことが、MLR法に比べて精度が高くなった要因と思われる。また本試験で得られた検量線の実用性について水野ら<sup>11)</sup>の評価指数EIを用いて検討した結果、CPの検定における重相関係数は0.98, SDPは0.38であり、評価指数はAランクとなり非常に高い精度であった。繊維分画成分のOCW, Ob及びCAの検定結果は、重相関係数は0.94 - 0.96で高い相関が認められ、EIで判定するとBランクとなり、精度良く実用性の高い検量線であると考えられた。

第3表 MLR法およびPLS法による検量線作成結果 (n=80)

|      | MLR法      |      |      |      |                 |                   | PLS法             |      |      |
|------|-----------|------|------|------|-----------------|-------------------|------------------|------|------|
|      | 使用波長 (nm) |      |      |      | R <sup>1)</sup> | SEC <sup>2)</sup> | 因子 <sup>3)</sup> | R    | SEC  |
|      | 1         | 2    | 3    | 4    |                 |                   |                  |      |      |
| MOIS | 1940      | 1958 | 1734 | 2320 | 0.70            | 1.22              | 9                | 0.80 | 1.08 |
| CP   | 2168      | 1454 |      |      | 0.96            | 0.38              | 9                | 0.98 | 0.31 |
| CPs  | 2190      | 2260 | 2148 | 1402 | 0.85            | 0.43              | 10               | 0.95 | 0.22 |
| CPd  | 2164      | 2246 | 2148 |      | 0.91            | 0.44              | 13               | 0.96 | 0.30 |
| CPb  | 1982      | 2408 | 2332 | 1612 | 0.79            | 0.09              | 7                | 0.88 | 0.07 |
| CA   | 1896      | 1298 |      |      | 0.95            | 1.02              | 7                | 0.98 | 0.61 |
| OCW  | 2254      | 2038 | 2156 |      | 0.94            | 2.47              | 4                | 0.94 | 2.35 |
| Ob   | 2254      | 2034 |      |      | 0.90            | 2.45              | 4                | 0.93 | 2.09 |

1) R: 重相関係数 2) SEC: 検量線における標準誤差 (DM%)

3) 因子: スペクトルデータに内在する仮想的な変量

第4表 MLR法およびPLS法による各成分の検量線の検定結果

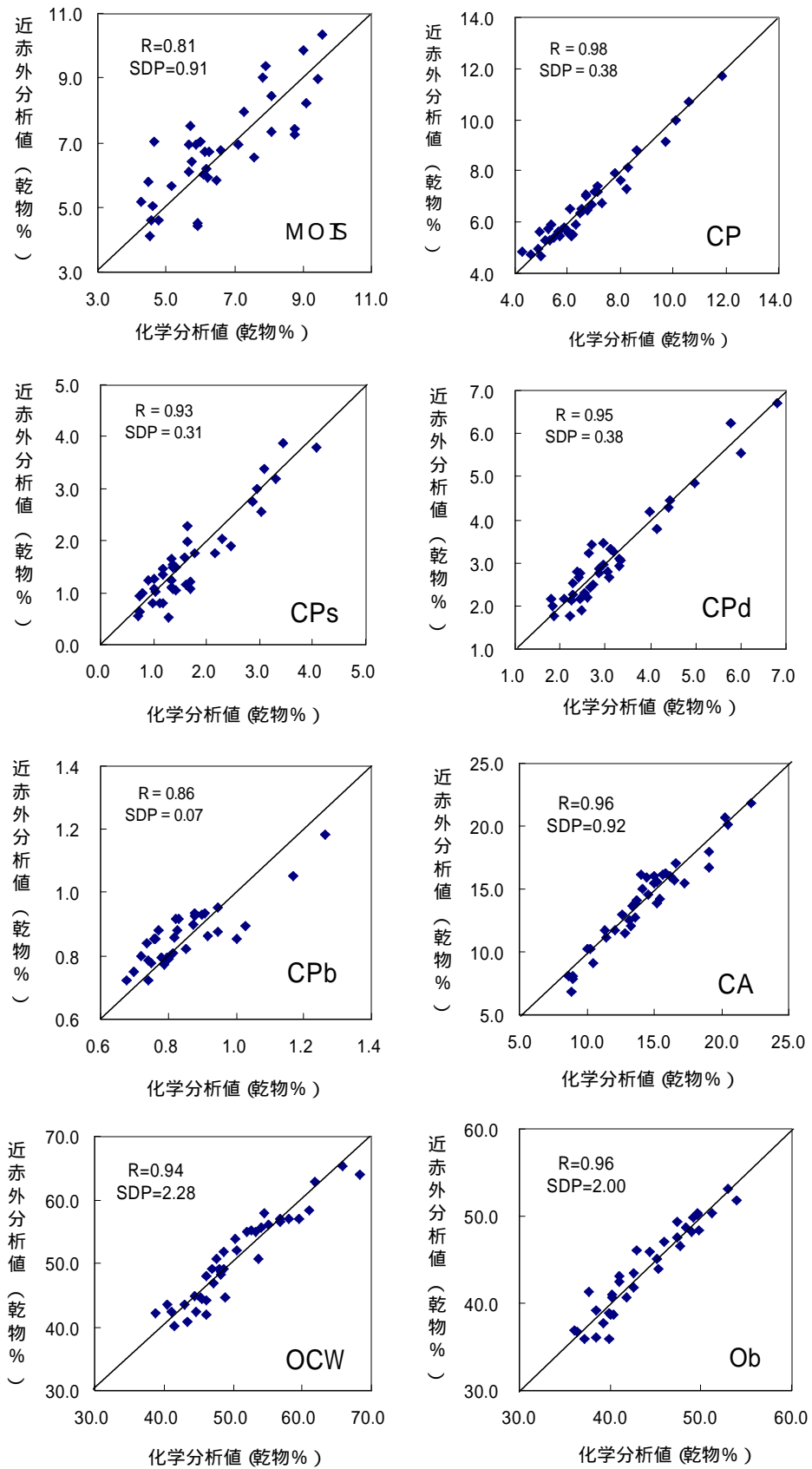
|      | MLR法            |                   |                    |                     |                  |     | PLS法 |      |       |       |      |     |
|------|-----------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------|-----|------|------|-------|-------|------|-----|
|      | R <sup>1)</sup> | SDP <sup>2)</sup> | Bias <sup>3)</sup> | Slope <sup>4)</sup> | EI <sup>5)</sup> | ランク | R    | SDP  | Bias  | Slope | EI   | ランク |
| MOIS | 0.74            | 1.03              | 0.26               | 0.93                | 38.9             | D   | 0.81 | 0.91 | 0.21  | 0.81  | 34.4 | C   |
| CP   | 0.95            | 0.56              | -0.11              | 1.03                | 14.3             | B   | 0.98 | 0.38 | -0.05 | 1.02  | 9.6  | A   |
| CPs  | 0.90            | 0.37              | -0.03              | 0.86                | 21.9             | B   | 0.93 | 0.31 | -0.07 | 0.90  | 18.7 | B   |
| CPd  | 0.96            | 0.32              | -0.02              | 0.96                | 12.7             | B   | 0.95 | 0.38 | -0.02 | 0.90  | 15.2 | B   |
| CPb  | 0.72            | 0.11              | 0.01               | 1.03                | 36.0             | C   | 0.86 | 0.07 | 0.01  | 1.18  | 22.8 | B   |
| CA   | 0.94            | 1.11              | -0.35              | 0.95                | 16.5             | B   | 0.96 | 0.92 | -0.29 | 0.91  | 13.6 | B   |
| OCW  | 0.94            | 2.43              | 0.20               | 0.93                | 16.5             | B   | 0.94 | 2.28 | 0.15  | 0.97  | 15.5 | B   |
| Ob   | 0.90            | 2.10              | 0.19               | 0.88                | 23.4             | B   | 0.96 | 2.00 | -0.05 | 0.92  | 17.1 | B   |

1) R: 重相関係数 2) SDP: 検量線の検定における標準誤差 3) Bias: 推定誤差の平均値

4) Slope: 重回帰式の傾き (1に近いほどよい。 のあるものは検量線として不適当)

5) EI = 2 × SDP / Range × 100, 0~12.4% - A, 12.5~24.9% - B, 25.0~37.4% - C, 37.5~49.9% - D, 50.0~ - E (37.5未満で有効)

6) 下線の検量線を採用



第1図 飼料イネにおける飼料成分の近赤外分析値と化学分析値との関係

タンパク質画分成分の近赤外分析値と化学分析値との関係を第1図に示した。飼料を対象とした近赤外分析では第1図が示すとおり、重相関係数が高くSDPが小さいことからCPの推定精度は高いことが数多く報告されているが、タンパク質画分成分に関する推定精度の報告は少なく<sup>5) 12) 15) 16)</sup>、特に飼料イネに関するタンパク質画分成分の推定精度についてはほとんど報告がない。山本ら<sup>14)</sup>はイネ科牧草サイレージ、イネ科牧草乾草について、長尾ら<sup>12)</sup>は7草種についてCPbの推定精度が低いことを報告しており、本研究の結果においてもCPs、CPdの検定における相関係数は0.93 - 0.95と高い値を示した。CPbについては0.86とやや精度が低くなる傾向を示した。この原因は第1図に示すとおりCPbの変動範囲が0.68 - 1.26%と非常に狭いこと、また含有量が少ないためと考えられたが、EIによる判定結果によると検量線の推定精度はBランクであり実用性の高い検量線であると考えられるた。

今回の試験においては、県内畜産農家で栽培された飼料イネ(生草・サイレージ)の飼料成分を迅速に推定する検量線の推定精度について検討を行った。その結果、第4表が示すとおり各飼料成分における検量線の推定精度は、評価指数EI値により実用性の高い検量線であると考えられた。

しかし今回の検量線については性質の違う生草とサイレージの混合検量線であるため、推定された飼料成分について違いが出やすいことが考えられる。そこで、今後は近赤外分析計による飼料イネホールクroppサイレージ専用の検量線を作成する必要があると考える。

## 引用文献

- 1) 阿部亮・堀井聡(1979)細胞膜物質の定量における中性デタージェント法と酵素分析法との比較．日草誌25：70-75
- 2) 甘利雅弘・阿部亮・田野良衛・榎木茂彦・芹沢駿治・古賀照章(1987)近赤外分析法による粗飼料の成分分析と栄養価の推定法．日草誌33(3)：219-226
- 3) 甘利雅弘・榎木茂彦・阿部亮(1998)近赤外分光法による乾草および牧草サイレージのTDN推定．日草誌44(1)：61-66
- 4) 蔡義民・藤田泰仁・村井勝・小川増弘・吉田宣夫・北村亨・三浦俊治(2003)飼料イネサイレージ調製への乳酸菌への利用．日草誌49(5)：477-485
- 5) 出口健三郎(1998)フォレージテストにおける蛋白質分画の利用法 自給飼料品質評価研究会：9-16
- 6) Goering H.K.and Van Soest P.J.(1970):Forage Fiber Analyses,Agric. Handbook No.379,ARSUSDA, Washington DC,pp.20
- 7) 石橋晃監修(2001)新編動物栄養試験法．養賢堂．東京：455-466
- 8) 岩本睦夫・河野澄夫・魚住純(1994)近赤外分光法入門 幸書房．東京：40-79
- 9) 徐春城・蔡義民・甘利雅弘・村井勝・小川増弘(2005)近赤外分析法による飼料イネの飼料成分推定．日草誌51(2)：179-183
- 10) Krishnamoorthy U., Muscato T.V.,sniffen C.J. and P.J.Van Soest (1982):Nitrogen fraction in selected feedstuffs.J.Dairy Sci.65:217-225
- 11) 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．草地試験場研究報告38：35-46
- 12) 長尾かおり・佐原重行(2003)近赤外分析装置を用いた粗飼料の飼料成分分析．広島畜技セ研報第13号：62-71
- 13) Roe,M.B.,Sniffen,C.J.,Chase,L.E.,(1990)Proc. Cornell Nutrition Conference,Dept.of Animal Science,Cornell Univercity,Ithaca,NY,pp.81-88
- 14) 山本美加・土屋いづみ・元藤映了(2000)近赤外分析法によるタンパク質分画の検量線の作成．石川農研研報第34号：32-35
- 15) 山本美加・土屋いづみ・元藤映了(2000)牧草中のタンパク質分画に及ぼす影響因子について．石川農研研報第34号：28-31
- 16) 家畜飼養頭羽数(2006)福岡県農政部畜産課：22-23