

令和4年度 成績概要書

課題コード（研究区分）： 7101-724121 （受託研究（民間））

1. 研究課題名と成果の要約

- 1) 研究成果名：とうもろこしサイレージの in vitro デンプン消化率の近赤外分析による推定
（研究課題名：粗飼料のデンプンおよびNDFのルーメン内消化率の予測）
- 2) キーワード：とうもろこしサイレージ、デンプン、in vitro デンプン消化率、NIRS 検量線
- 3) 成果の要約：とうもろこしサイレージの in vitro 7時間培養による可消化デンプン含量を予測する近赤外分光分析用検量線を開発した。本検量線で推定した値を用いて飼料設計をすることにより、とうもろこしサイレージのデンプンの質を考慮した飼料設計が可能になる。

2. 研究機関名

- 1) 代表機関・部・グループ・担当者名：畜産試験場・畜産研究部・飼料生産技術グループ・
研究主任 角谷芳樹
- 2) 共同研究機関（協力機関）：（フォレンジテストミーティング、ホクレン農業協同組合連合会訓子府実証農場）

3. 研究期間：令和2～4年度（2020～2022年度）

4. 研究概要

1) 研究の背景

道内で広く使われている飼料設計プログラムにはデンプン消化速度が組み込まれているものがあり、その算出にはルーメン液で7時間培養後のデンプン消化率が必須の入力項目となっている。近赤外分光分析（NIRS）は、飼料の品質を迅速かつ簡便に測定できるため、フォレンジテストの中心的な手法として国内の飼料分析機関で活用されている。現在、道内向けの飼料分析機関で利用されているNIRS検量線では、とうもろこしサイレージ（CS）のデンプン消化率を予測する検量線が整備されておらず、開発が求められている。

2) 研究の目的

CSの in vitro 7時間培養による可消化デンプン*含量を予測するNIRS検量線を開発する。

5. 研究内容

1) CSの in vitro デンプン消化率の分析方法

- ・担当者：畜試・畜産研究部・飼料生産技術G・研究主任 角谷芳樹
- ・ねらい：in vitro 培養7時間後のデンプン消化率を乾乳牛のルーメン液を用いて分析するにあたり、泌乳牛のルーメン液を用いた場合との差異を検討し、検量線開発に反映させる。
- ・試験項目等：試料；同一試料で粉砕粒度の異なる（1mm粉砕または4mm粉砕）CSペアサンプル17組。ドナー牛；乾乳牛（畜試の分析方法、1mm粉砕）、泌乳牛（北米の分析センターの方法に準拠、4mm粉砕）でいずれもルーメンカニューレを装着したホルスタイン種。デンプン消化率；ルーメンカニューレ装着牛から採取したルーメン液を緩衝液と混合し、遠沈管内で試料と7時間共培養（39℃、嫌気・暗条件）し、培養後の残渣物のデンプン含量（未消化デンプン**）を、酵素を用いた比色定量法（TOTAL STARCH ASSAY KIT、メガザイム社）で測定した。

2) CSの in vitro 7時間培養による可消化デンプン含量を予測するNIRS検量線の開発

- ・担当者：畜試・畜産研究部・飼料生産技術G・研究主任 角谷芳樹
- ・ねらい：CSの in vitro 7時間培養による可消化デンプン含量を予測するNIRS検量線を開発する。
- ・試験項目等：試料；道内各地で2014～2022年に収集したCS234点の乾燥粉砕物（1mm粉砕）を検量線作成用サンプル群87点、検証用サンプル群147点に分割した。検証用サンプル群のうち、検量線作成サンプルと異なる生産年度2カ年分の61点を未知試料群として経年の安定性についても検証した。ドナー牛；ルーメンカニューレ装着乾乳牛。デンプン消化率；1)と同様。分析値は4mmメッシュ粉砕物、泌乳牛ルーメン液を用いた測定値に換算し、可消化デンプンを算出した。検量線作成；近赤外スペクトルの1100～2500nm、0.5nmピッチの波長域について、ノイズ除去・ベースライン補正の前処理を行い、近赤外拡散反射スペクトルから目的成分を予測する回帰分析で、検量線を作成した。既報のデータを活用した検証；分析機関で得られたスペクトルデータを用い、異常値の出現頻度について検証した。

6. 研究成果

- 1)-(1) 未消化デンプン測定値は、泌乳牛のルーメン液を用いた方が、乾乳牛のルーメン液を用いた場合より、平均で 5.9 ± 2.2 ポイント低かった。その差は、未消化デンプン含量が高いほど広がる傾向があった（図1）。
- 1)-(2) 乾乳牛のルーメン液を用いて得られた測定値から泌乳牛での測定値を推定する式として未消化デンプン（泌乳牛） = $e^{(0.9936 \times \log(\text{未消化デンプン（乾乳牛）}) - 0.4344)}$ が得られた。
- 2)-(1) 検量線作成用サンプル可消化デンプン測定値は、平均 17.0 ± 5.1 、最小5.7、最大31.6であった。作成したNIRS検量線の検証用サンプル群でのEI値による精度判定は「B（高い）」であった（表1）。
- 2)-(2) Biasは0.38（予測値はやや過大評価となる傾向）であったが、その値はSEPよりも小さく、NIRS検量線の予測誤差の範囲であった（表1、図2）。
- 2)-(3) 未知試料のみでの検証でも、EI値による精度判定は「B（高い）」であった（表1）。以上より、作成したNIRS検量線は実用可能な精度であると考えられた。
- 2)-(4) 本試験で作成した検量線の適用対象外とする基準として、デンプン消化率の値が負となった試料、デンプン消化率が100%を超える試料およびデンプンまたは可消化デンプンの予測値が外挿となる試料（デンプン（%DM）：11.6～43.4、可消化デンプン（%DM）：5.7～31.6から外れる）を暫定的に定めた。分析機関における出現頻度はそれぞれ0.2%、0.5%、および1.7%であった（表2）。

＜具体的データ＞

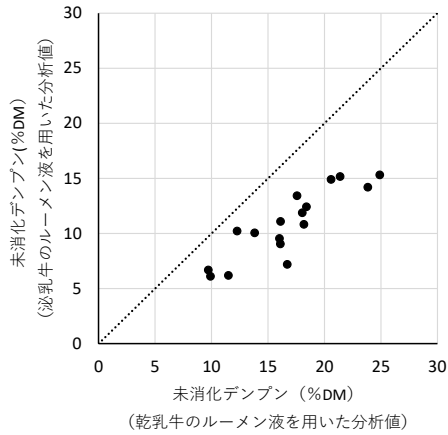


図 1. 乾乳牛のルーメン液を用いた未消化デンプン分析値（横軸）と泌乳牛のルーメン液を用いた未消化デンプン分析値（縦軸）の関係

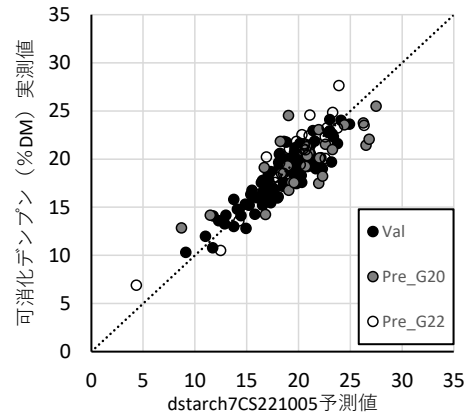


図 2. 可消化デンプンの NIRS 予測値と化学分析値の関係

Val: 検証用サンプル群

Pre: 未知試料、G20:2020年収集試料、G22:2022年収集試料

表 1. とうもろこしサイレージの in vitro7 時間培養による可消化デンプン (%DM) を予測する NIRS 検量線の精度

検量線名 ¹⁾	備考	検証用サンプル群の分析値					検量線の予測精度 ²⁾							
		n	平均	SD	最小	最大	R ²	Bias	Slope	RMSEP	SDP	SEP	EI	判定 ³⁾
dstarch7CS221005	検証用サンプル群	147	18.9	3.4	6.9	27.6	0.76	0.38	0.95	1.52	1.73	1.67	16.6	B
	未知試料群のみ	61	19.9	3.6	6.9	27.6	0.70	-0.06	0.94	2.21	2.21	2.00	21.3	B
	未知試料群以外	86	18.2	3.0	10.3	24.1	0.80	0.26	0.97	1.48	1.45	1.35	21.1	B
StarchCS210217	(参考)	147	30.3	5.3	12.3	46.0	0.80	-1.33	0.83	2.19	2.17	2.40	12.9	B

1)CS用検量線。dstarch7CS221005: 可消化デンプン、StarchCS210217: デンプン。

2)R²:寄与率、Bias:予測残差 (予測値-測定値)の平均値、Slope:予測値(y)と測定値(x)の傾き、RMSEP:予測誤差、SDP:予測残差の標準偏差、SEP:予測値(x)と測定値(y)の回帰の標準誤差、EI:200×SDP/分析値のレンジ。

3)EI値による判定。判定の基準は0.0-12.4: 非常に高い (A)、12.5-24.9: 高い (B)、25.0~37.4: やや高い (C)、37.5-49.9: 低い (D)、50.0-: 非常に低い (E)。

表 2. 飼料分析機関で取得したスペクトルデータから予測したデンプン消化率の異常値の出現頻度とその試料のデンプンおよび可消化デンプン含量 (%DM) の予測値 (n=11521)

事例	点数 ¹⁾	頻度 (%)	デンプン		可消化デンプン	
			平均	SD	平均	SD
デンプン消化率が負の値	27 (27)	0.2	3.2	6.4	-1.1	6.4
デンプン消化率が100%以上の値	54 (42)	0.5	8.5	4.3	9.8	4.4

1)括弧内はデンプンまたは可消化デンプンの予測値で外挿であった試料の点数

用語:

*可消化デンプン、**未消化デンプン、

試料をルーメン液と一定時間、共培養し、その未消化物のデンプンを測定したものを未消化デンプン (%DM)、試料のもとのデンプンから未消化デンプンを差し引いた消化したデンプンを可消化デンプン (%DM)、試料のデンプン中の可消化デンプンの割合をデンプン消化率 (%デンプン) とした。計算方法は以下の通り

$$\text{可消化デンプン (\%DM)} = \text{デンプン (\%DM)} - \text{未消化デンプン (\%DM)}$$

$$\text{デンプン消化率 (\%デンプン)} = 100 \times \text{可消化デンプン (\%DM)} / \text{デンプン (\%DM)}$$

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- (1) 開発された NIRS 検量線は、北海道向けに粗飼料分析を行っている 10 機関が参画するフォーレージテストミーティング (FTM) に導入される。本 NIRS 検量線を用いた分析値は FTM の粗飼料分析サービスを通じて、個別農家や TMR センターに提供され、飼料設計や給与診断などに活用される。
- (2) 各分析機関で分析する試料は乾燥、粉碎後の試料であるため、収穫・調製時の条件 (破碎処理の有無等) の効果は考慮されていない値であることに留意する。
- (3) 本 NIRS 検量線の適用範囲は、多様な産地、品種、調整条件を含むものであるが、適用の対象外として、デンプン消化率の分析値を提供できないことがある。
- (4) 本成績は近赤外分析機器 NIRS XDS Master Lab Analyzer (メトローム社) を用いて得られた結果であるが、NIRS6500 (ニレコ社) を用いた NIRS 検量線も開発しており、同様の予測精度が確認されている。

2) 残された問題とその対応 なし

8. 研究成果の発表等 なし