

# 北海道におけるフォレンジテストの現状と今後の展望

## はじめに

フォレンジテストとは、品質や成分が変動する自給飼料の飼料成分を主に測定するサービスで、分析値は飼料設計や給与診断などに利用されています。北海道では、農協系の機関や飼料メーカーなどの11機関がこのサービスを実施しており、粗飼料を中心に年間で3万点以上の飼料が分析されています。

このうちの10機関で組織するフォレンジテストミーティング (FTM) では、1997年の団体設立時から分析精度の向上と分析項目の拡大に取り組んできました。道総研畜産試験場は、分析手法の評価・開発などの研究開発の部分で関わっています。今回は、研究開発の話を中心に、FTMでの取り組みの現状と今後の展望について紹介したいと思います。

## 1. フォレンジテストを支える非破壊分析

フォレンジテストミーティング (FTM) でのこれまでの取り組みについては、第65巻第2号<sup>1)</sup> (出口, 2017) に詳しく紹介されています。冒頭でも触れましたが、フォレンジテストによる分析値は、飼料設計や給与診断に使われるものです。現場レベルでの迅速な対応を可能とするために、迅速かつ簡便に飼料成分を測定できる近赤外分析と蛍光X線分析の2つの非破壊分析がフォレンジテストでの分析を支えています<sup>2)</sup> (篠田, 2018)。近赤外分析では蛋白、脂肪、繊維などの一般成分を、蛍光X線分析ではミネラルを分析しています。各分析機関では、この2つの非破壊分析を駆使しながら、近赤外分析や蛍光X線分析では測定できない一部の飼料の種類や分析項目についても、できるだけタイムリーに分析結果を返答できるように努力を傾注しています。また、分析結果だけでなく、飼料設計や給与診断、営農指導などのサービスと合わせて提供している機関もあります。

近赤外分析および蛍光X線分析の仕組みは、近赤外線あるいはX線を対象物となる試料に照射し、その

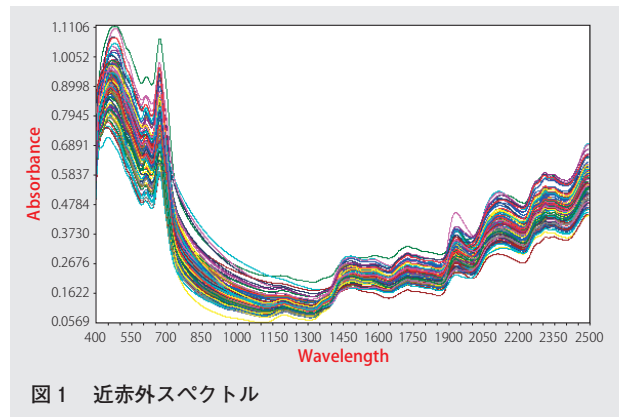


図1 近赤外スペクトル

反射光あるいは蛍光X線の強度の情報をもとに、目的とする成分を予測するものです。近赤外分析では、近赤外線が物質の化学結合に吸収される性質を利用して、波長の吸光度 (近赤外スペクトル) から成分を予測します (図1) が、飼料成分の場合は、試料の化学物質の構成が複雑なため、種類や項目毎に分析精度や適用範囲が異なり、多くの場合は間接的な予測をしていると推察されます。そのため、予測のための計算式 (検量線) の作成には、100~300点程度の化学分析を実施した試料のデータが必要になり、誤差を如何に小さくできるかは、目的とする化学分析値の幅とその精度に加えて、収集した試料の多様性 (草種、番草、生産年、生産地など) にかかっていると言えます。一方で、蛍光X線分析では、近赤外分析ほど複雑な検量線を必要としないため、どの機関でもおおむね安定した結果を得ることができています。そこで、道総研畜産試験場は、FTMで運用される近赤外分析用の検量線作成とその精度向上の役割を担っています。

## 2. 近赤外分析計 (NIRS) による分析の現状と問題点

飼料成分の分析値は、基本的には飼料設計に利用されるため、飼料設計プログラムの仕様に沿っている必要があります。乳牛を始めとした飼養研究の発展に伴って、より緻密な飼料設計を可能とするプロ

グラムが普及しています。例えば、これまでは発酵品質を評価する位置づけであった有機酸をエネルギーの一部として見積もるなど、最新の飼料設計プログラムでは新たな成分項目の分析値が求められます。加えて、蛋白、脂肪、繊維についても細分化され、その分析値の入力も必要となります。また、新たな飼料資源の利用や給与システムの提案・導入に伴い、分析機関に持ち込まれる飼料の種類も多様化しています。

このように飼料の多様化、分析項目の増加に応じて、近赤外分析に係る研究開発では、新たな項目の検量線開発や新規飼料作物の検量線開発に取り組んでいます。中でも、繊維の消化速度の推定に用いるNDF消化率は、粗飼料の栽培条件や調整条件によって変動が大きく、飼料設計への寄与が大きい分析項目です。実際に分析値を得るためには、家畜に給与する試験、あるいは家畜のルーメン液を用いた試験（in vitro消化試験）が必要なこともあり、対応可能な機関が限られています。そのため、近赤外分析用検量線の開発が急務となっており、牧草サイレージととうもろこしサイレージを中心に試料の収集、分析値の取得・検証を行ってきました。NDF消化率の検量線の開発は、牧草サイレージの48時間培養後のin vitro NDF消化率の分析値が、既に提供されており、TDNの推定式の算出に用いられています<sup>3)</sup>

（道総研根釧農業試験場、2016）。牧草サイレージの30、120、240時間培養後のin vitro NDF消化率は2019年から、とうもろこしサイレージでは2020年から分析値の提供が開始される見通しで、飼料設計プログラムの入力値として利用可能になる予定です。

道総研畜産試験場では、NDF消化速度を推定するための検量線の開発に向けて、2011年から試験に着手してきましたが、飼料設計プログラムの仕様に必要な各培養時間での消化率を予測する検量線の整備までに約10年を要しました。当初は、消化試験の分析精度の向上と、その検証に多くの時間が割かれてきましたが、分析値の変異が大きく、草種や産地、産年次など多様な試料の点数の確保が、時間を要した最大の要因でした。特に、牧草サイレージでは、リードカナリーグラスやシバムギなどの雑草の割合が高い試料で予測を大きく外す場合があり、その問題の解消に試行錯誤を重ねてきました。その結果、検量線開発に用いる試料の再選定とその分析値の精査をすることで、予測を大きく外すことのない頑健な検量線の開発に至りました。今後は、牧草サイレージやとうもろこしサイレージ以外の飼料の

NDF消化率や、でんぷんの消化率などの新たな項目の検量線を開発する予定でいますが、その開発スピードの向上が強く求められています。

### 3. 道内FTMにおけるNIRS分析の今後の展望

検量線開発の効率化には、検量線開発の方法自体を見直す必要があると考えています。これまでは、道総研畜産試験場の単一機関で化学分析値と近赤外スペクトルのデータを取得し、検量線を開発することで、高精度な検量線作成を実現してきました。しかしながら、測定項目が多様化し、近赤外分析に求められる分析精度も高まっている中で、頑健な検量線の作成に必要な基礎となるサンプル収集とその化学分析値の取得が、大きなボトルネックになっていました。この打開策の鍵となりうる状況の一つとして、近赤外分析機器の性能の向上があります（写真1）。これまでは、機器間の誤差が非常に大きく、道総研畜産試験場で開発した検量線を各分析機関へ移設・導入した場合には、そのままの検量線では予測値が外れるため、機器間補正を行うことで検量線を利用していました（出口、2017）。現在の機器は、分光性能の向上と機器校正機能が付与されているため、検量線の移設後の補正をすることなく運用可能な精度になっています<sup>4)</sup>（飯田ら、2014）。このことは、年間3万点にのぼるFTMに持ち込まれる道内粗飼料の近赤外スペクトルの情報を、そのまま検量線開発に利用できることを意味しています。もう一つの状況変化として、各FTM分析機関の化学分析値の機関間誤差の縮小があげられます。FTMでは、発足当初から分析精度の向上の取り組みの一つとして、化学分析値の相互比較（クロスチェック）

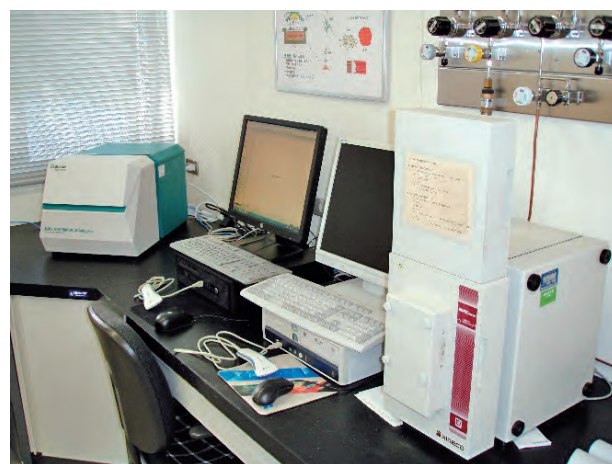


写真1 近赤外分光分析計一現行の使用機器（左奥、XDS）と以前の機器（右手前、NIRS6500）

を定期的に行い、試料の前処理方法や分析方法を見直し、工程の統一を図ってきました。その結果、改善の余地はまだあるものの、試料間の相対的な評価はほぼ一致するまでに至ってきました。各FTM分析機関での化学分析は、検量線がない分析項目や異常値が出た場合に実施しているため、検量線の新規作成や改訂に必要な化学分析値は、既に蓄積されていると言えます。以上の状況を踏まえ、検量線開発の効率化に向けて着手し始めた2つのアプローチを紹介したいと思います。

### (1) FTM分析機関の近赤外スペクトルの活用

検量線開発に利用可能な精度の膨大な近赤外スペクトルデータ(ビッグデータ)が既にある訳ですが、これら試料の化学分析値はありません。そこで、化学分析値のない近赤外スペクトルデータの活用方法について検討しました。そのひとつとして、「近赤外スペクトルデータのノイズの除去に使えないか?」というものです。従来の検量線開発では、機器の測定誤差に由来するノイズや、試料の密度に由来するベースラインを演算処理(前処理)により除去してから、近赤外スペクトルデータを回帰式の作成に利用します。その手段のひとつとして、近赤外スペクトルデータの主成分分析により次元圧縮した結果を、再度、スペクトルデータに戻した再構築スペクトルをノイズの除去に用いられている例があります<sup>5)</sup>(Jung et al., 2003)。そこで、飼料分析機関に持ち込まれる飼料全体を網羅するビッグデータを、化学分析値が得られている検量線作成用の試料と合わせて演算処理を行うことで、検量線作成用に収集した試料の偏りに由来するノイズの除去が期待できないかということを考えました。未知の試料による検証が不十分な段階ですが、試作した検量線の予測精度は従来法よりもやや優れる傾向が一部で確認できています(図2)。

### (2) FTM分析機関の化学分析値の活用

話が少し変わりますが、どの研究分野でも実験の結果、得られるデータには欠測値(データが欠落している)というものがああります。その理由は様々ですが、当研究室での化学分析値についていうと、多くは「限られたエフォートの中で手が回らなかった」あるいは、「色々な項目について分析していくうちに試料が枯渇した」の2つになります。そのため、当研究室で分析した試料は、一部の分析項目の値がないものが多くあり、当然ながら、検量線を作

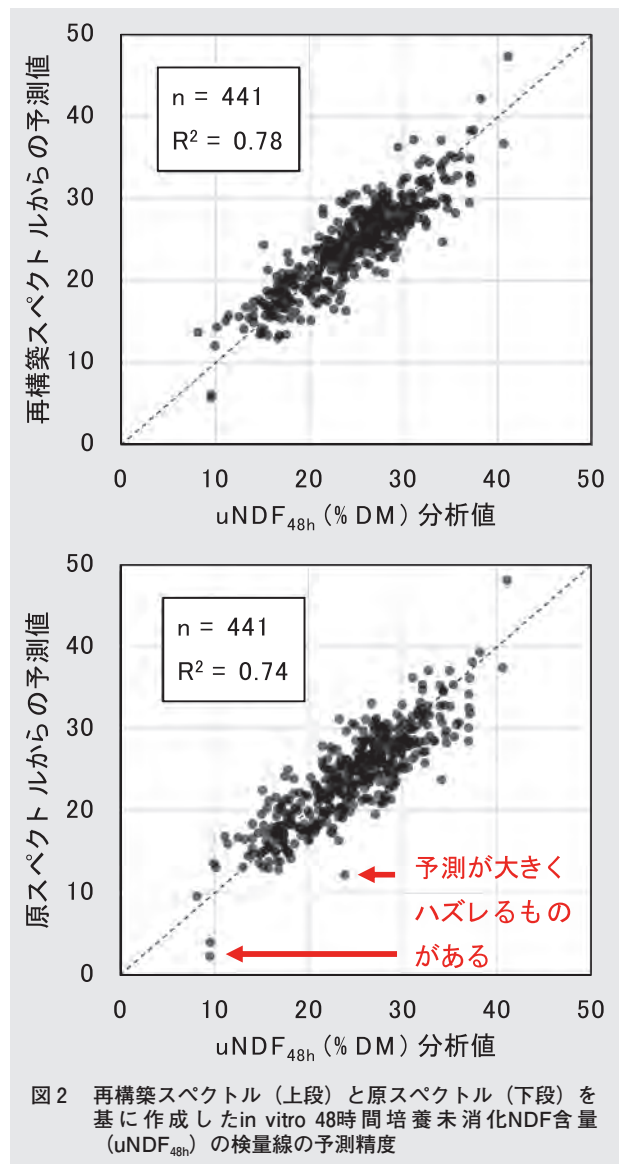


図2 再構築スペクトル(上段)と原スペクトル(下段)を基に作成したin vitro 48時間培養未消化NDF含量(uNDF<sub>48h</sub>)の検量線の予測精度

成するための試料としては選びません。しかしながら、目的とする分析値がなくとも、関連する分析値によって欠測値を補完しながら、データを解析する統計手法はあり(統計学的には正しい表現ではないかもしれませんが)、家畜育種の研究分野では、複数の調査項目でより予測の正確度を高める、あるいは数の少ない調査項目を関連する調査項目で補うなどの目的で使われています。この欠測値に対応した手法は、検量線開発でも応用できます(計算自体は可能です、という意味です)。現在、具体的な場面を想定しながら、効果の検証に取り組んでいる最中です。例えば、目的とする分析値が得られている試料の数は少ないが、関連する分析値のある試料の数は十分にあるというような場合(表1)です。もう少し規模を大きくして、全く新しい分析項目について、いくつかの試料で相互間比較を事前にしており、複数の実験室での分析値を検量線開発に使うと



表1 欠測値の補完イメージ ケース1ー

サンプル番号	関連形質A	関連形質B	目的形質	検量線開発に使う値
001	XXX	XXX	XXX	XXX
002	XXX	XXX	XXX	XXX
003	XXX	XXX	XXX	XXX
004	XXX	XXX	欠測	XXX
005	XXX	XXX	欠測	補完 XXX
006	XXX	XXX	欠測	XXX
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.

表2 欠測値の補完イメージ ケース2ー

サンプル番号	機関A分析値	機関B分析値	機関C(基準)分析値	検量線開発に使う値
共通001	XXX	XXX	XXX	XXX
共通002	XXX	XXX	XXX	XXX
共通003	XXX	XXX	XXX	XXX
A001	XXX	欠測	欠測	補完 XXX
A002	XXX	欠測	欠測	XXX
B001	欠測	XXX	欠測	補完 XXX
B002	欠測	XXX	欠測	XXX
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.

いった場合(表2)にも応用できます。検証結果が得られるのは、まだまだこれからですが、これまでにFTMで継続してきた分析値の誤差解消の取り組みにより、FTMの各分析機関の分析値は、既に実現可能な分析精度に到達できているものと考えています。

## おわりに

今回、執筆のお話を頂き、近赤外分析用検量線の開発が概ね完了し、FTMでの運用が予定されている牧草サイレージととうもろこしサイレージの

NDF消化率の紹介(と、大変お待たせしてしまった関係機関へのお詫び)ができる良い機会だと思いましたが、しかしながら、検量線開発の細かな話に脱線してしまい、「結局、誰に向けて発信しているのか分からなくなってしまった」というのが、私自身の正直な感想です。読者の皆様には、「近々、FTMで新しい項目の検量線の運用が開始される」ということ、「今後は急ピッチで分析項目の拡充をすすめていくつもり」ということが、雰囲気だけでも伝えられることを願っております。FTMの各分析機関は、ユーザーの求める情報をスピーディーかつ正確に提供できるよう努力しています。拙文ですが、皆様のご理解の一助になりましたら幸いです。

## 引用資料

- 1) 出口健三郎(2017) フォレージテストにおける精度向上の取り組みについて. 牧草と園芸 65(2): 19-22.
- 2) 篠田英史(2018) 平成29年度道内粗飼料の傾向と弊社フォレージテストを支える非破壊分析. 牧草と園芸66(2): 20-22.
- 3) 道総研根釧農業試験場(2016) 牧草サイレージのTDN推定における過小評価要因の解明と推定式の改良. 平成27年度北海道普及推進事項. <http://www.hro.or.jp/list/agricultural/center/kenkyuseika/gaiyosho/28/f1/03.pdf>
- 4) 飯田憲司、出口健三郎、三留肇(2014) 機器校正機能付き近赤外分析計における検量線移設精度の評価. 第28回近赤外フォーラム、p. 87.
- 5) Jung, Y. M., S. B. Kim, and I. Noda (2003) Application of two-dimensional correlation spectroscopy to chemometrics: self-modeling curve resolution analysis of spectral data sets. Appl. Spectr. 57: 1376-1380.