

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05933

研究課題名(和文) 中赤外分光法(MIR)による乳脂肪酸組成は泌乳牛の乾物摂取量推定に活用できる

研究課題名(英文) Development of dry matter intake estimation equations using the milk fatty acid composition in dairy cows

研究代表者

寺田 文典(Terada, Fuminori)

麻布大学・獣医学部・客員教授

研究者番号：50355111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：乳牛飼養管理の高度化のためには乾物摂取量(DMI)に関する正確な情報が必要である。そこで、乳牛のエネルギー充足状況をよく反映する乳脂肪酸(MFA)組成を活用したDMI推定式を作成した。中赤外分光(MIR)法とガスクロ法による分析値の相関は、乳中の主要な脂肪酸であるC14:0、C16:0、C18:0、C18:1において0.61～0.85を示し、MIR法がMFAの簡易分析法として活用できることが示された。また、泌乳初期の乳牛55頭および泌乳中後期の178頭のMIR法によるデータを収集しDMI推定式を作成したところ、いずれのステージにおいてもMFAを活用することで実用的な推定式を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国の酪農産業では、エネルギーバランスの乱れから疾病が多発する泌乳初期の栄養管理技術の高度化が強く要望されている。栄養管理技術の基本は乾物摂取量(DMI)の把握であるが、現場でこれを効率的に行う手段がいまだに確立されていない。本課題で開発した乳脂肪酸組成に基づくDMI予測方法は現場で情報収集を行うことが可能な非侵襲的手法であり、実用技術としての幅広い展開が期待できる。また、中赤外分光法の新たな活用方を提起した点でも大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：Accurate information on dry-matter intake (DMI) is needed for advanced dairy cow feeding management. Therefore, we developed DMI estimation equations using the milk fatty acid (MFA) composition, which indicates the energy sufficiency status of dairy cows. The MFA values measured by mid-infrared spectroscopy (MIR) and gas chromatography showed a correlation of 0.61～0.85 at C14:0, C16:0, C18:0, and C18:1, indicating that MIR can be used as a simple analytical method for MFA composition. The DMI estimation equations developed using feeding performance data and MFA information, obtained by MIR, of 55 dairy cows in the early lactation period and 178 dairy cows in the mid-to-late lactation period had sufficient accuracy for practical use in each period.

研究分野：家畜栄養学

キーワード：乾物摂取量 中赤外分光法 乳脂肪酸 推定式

1. 研究開始当初の背景

乾物摂取量 (DMI) は乳牛の飼養管理上において重要な生産形質情報であるにもかかわらず、影響要因が多様であることから、定量的な評価手法の開発が遅れている。DMI に及ぼす要因としては、家畜要因、飼料要因、環境・管理要因などがあげられ (日本飼養標準・乳牛、2017)、家畜栄養学、家畜管理学、家畜生理学等多様な視点から DMI を制御するメカニズムの解明が進められている。現在、提案されている乳牛における DMI 推定方法には、実測データに基づく多変量解析による方法、エネルギー要求量に基づく方法、繊維含量などを指標とした飼料の物理性を考慮した方法、あるいはルーメン内の飼料の物理的サイズの変化をモデル化したものなどがあるが、実用的な飼養管理情報として十分な精度で活用できるものは存在していない。

近年、乳脂肪酸 (MFA) の迅速分析法として、乳成分の一般成分分析に使われている中赤外分光法 (MIR) の活用が検討されている (IDF、2010)。また、MFA 組成は、エネルギー充足率が大きく影響する泌乳初期牛の健康リスクの評価指標としても活用できることが明らかにされている (Jorjong et al., 2015)。これらのことから、乳量、乳成分等のエネルギー要求量に関する情報に、MFA 組成による栄養充足情報を加えることで、より精密な DMI 推定法を開発することが可能であると推論した。

2. 研究の目的

MFA 組成を活用した実用的で高精度の DMI 推定法開発の可能性とその有用性を明らかにするため、本課題では次の 4 項目を目的として研究を実施した。

(1) MFA 分析手法としての MIR の精度を従来のガスクロマトグラフィー (GC) による機器分析法と比較して確認する。

(2) 従来法により精密測定を行った MFA データに基づき DMI 推定の可能性について検討する。

(3) 迅速分析法である MIR 法による MFA 情報を収集し、泌乳ステージによって MFA 組成がどのように推移するのかを明らかにしたうえで、泌乳ステージによる変動を踏えた DMI 推定式を作成する。

(4) 作成した DMI 推定式の精度を各種飼養条件下において検証する。

3. 研究の方法

(1) MFA 分析方法の比較

221 点 (朝乳 11 点、夕乳 216 点) の生乳試料を採取し、従来の機器分析法である GC 法と MIR 法により MFA の分析を行い、両者の関連性についてノンパラメトリック相関解析および回帰分析により検討した。なお、MIR による MFA 分析には CombiFoss 6000 FC (FOSS, Hillerød, Denmark) を使用した。

(2) MFA による DMI 推定の可能性評価

分娩後 1~8 週のホルスタイン種乳牛のベ 58 頭を供試して朝夕 307 組の乳サンプルを採取し、GC 法により MFA (C4:0~C20:4) を分析した。供試牛には、個体ごとに TMR (TDN 73%, CP 15% and NDF 34%) を飽食させた。DMI 推定式の作成は、分娩後週次、乳量、MFA を説明変数とする重回帰分析により行った。

(3) 泌乳ステージによる MFA の変動と DMI 推定式

DMI を実測した 233 頭の乳サンプル (朝夕) を用いて、MIR により MFA の分析を行った。

供試牛を泌乳初期 (分娩後 6~55 日)、泌乳最盛期 (56~104 日)、泌乳中期 (105~199 日)、泌乳後期 (200 日~) に区分し、泌乳成績、MFA 組成に及ぼす泌乳ステージの影響について検討した。さらに、分娩後 1~10 週 (n=55) と 11 週以降 (n=178) とにわけ、それぞれのステージにおいて、DMI 推定式を作成した。推定式の作成方法は、説明変数として季節 (暑熱期=1、通常期=0)、産次

表 1 給与飼料 (PMR) の概要

	実験 1	実験 2	実験 3
試験区	慣行	飼料米・稲 WCS 併給試験 (4 飼料区設定)	暑熱試験 (1~4 区、5 区は 10 月)
給与飼料	IRS, CS, 乾草 (オーツ、アルファルファ)	同左+SGS, WCS	IRS, 乾草 (オーツ、アルファルファ)
TDN _I	68.8	68.4-69.2	69.0-69.4
CP _I %	15.8	11.3-12.8	13.5-15.5
NDF _I	37.6	39.6-47.9	39.2-45.4
NFC	ND	26.2-33.7	29-38.6

IRS: イタリアンライグラスサイレージ、CS: トウモロコシサイレージ、SGS: ソフトグレインサイレージ、WCS: イネホルクroppサイレージ

※ ロボット内給与飼料: TDN 82.4%, CP 20.6%, EE 3.8%, NDF 59.2%

(1, 2産以上)、体重、分娩後週次、分娩後週次² (中心化処理)、乳量、乳量² (中心化処理)、乳脂率、乳タンパク質率、乳糖率、体細胞数 (リニアスコア)、および乳中の主要なMFAであるC14:0, C16:0, C18:0, C18:1を用い、K分割交差検証法 (5分割、ステップワイズ、P≤0.10、VIF≤5.0) によって行った。

(4) DMI 推定式の検証

自動搾乳システムを導入しているフリーストール牛舎において各期 12~17 頭を供試して実施した 3 実験のべ 10 飼料区の試験成績を用いて、(3)で作成した推定式の精度について確認した。実験の概要は表 1 に示した。

4. 研究成果

(1) MFA 分析方法の比較

C4~C20 までの MFA について分析したところ、MFA は C16:0、C18:1、C14:0、C18:0 の順に多く含まれており、これらにおける GC 法と MIR 法の相関は 0.56~0.81 であった (表 2)。特に、C18:1、C16:0、C14:0 については、0.7 以上の高い相関関係が認められており、MFA の簡易分析法として、MIR が十分に活用できることが明らかとなった。

表 2 GC法による乳脂肪酸測定結果とIR法-GC法の相関、回帰式

	GC測定値				IR = a + b GC								Spearmanの 順位相関係数
	平均	標準偏差	最小値	最大値	切片	SE	p値	傾き	SE	p値	RMSE	自由度 調整済R ²	
C4:0	1.44	0.29	0.56	3.19	1.30	0.05	<.0001	0.146	0.031	<.0001	0.13	0.087	0.365
C6:0	1.54	0.23	0.75	2.31	0.78	0.06	<.0001	0.468	0.040	<.0001	0.14	0.381	0.579
C8:0	1.08	0.18	0.39	1.72	0.28	0.05	<.0001	0.664	0.049	<.0001	0.13	0.443	0.593
C10:0	2.74	0.55	0.75	4.35	0.39	0.15	0.012	0.731	0.055	<.0001	0.46	0.433	0.584
C12:0	3.33	0.68	0.90	4.88	0.17	0.19	0.375	0.830	0.057	<.0001	0.58	0.480	0.618
C14:0	11.49	1.62	5.12	14.72	1.08	0.52	0.040	0.869	0.045	<.0001	1.10	0.620	0.696
C14:1	0.97	0.32	0.19	2.15	0.20	0.05	0.000	0.649	0.051	<.0001	0.25	0.414	0.628
C16:0	36.93	3.35	28.88	48.43	11.80	1.75	<.0001	0.727	0.047	<.0001	2.37	0.512	0.703
C16:1	1.68	0.44	0.72	3.56	1.23	0.07	<.0001	0.253	0.042	<.0001	0.28	0.135	0.350
C18:0	10.60	2.04	5.24	17.25	3.78	0.66	<.0001	0.704	0.062	<.0001	1.89	0.365	0.561
C18:1	22.34	3.85	13.56	38.17	2.00	0.84	0.018	0.912	0.037	<.0001	2.15	0.726	0.809
TVA	1.59	0.46	0.90	4.07	0.86	0.10	<.0001	0.546	0.059	<.0001	0.41	0.274	0.434
C18:2	2.83	0.52	0.38	5.39	2.68	0.17	<.0001	0.046	0.059	0.439	0.46	-0.002	0.034
C18:3n6	0.04	0.01	0.02	0.08	0.04	0.00	<.0001	0.003	0.047	0.943	0.01	-0.005	0.003
C18:3n3	0.32	0.08	0.18	0.66	0.30	0.02	<.0001	0.273	0.057	<.0001	0.07	0.088	0.306
CLA	0.43	0.13	0.22	0.83	0.49	0.03	<.0001	0.204	0.068	0.003	0.038	0.12	0.153
C20:0	0.14	0.03	0.06	0.38	0.17	0.01	<.0001	0.075	0.065	0.248	0.03	0.002	-0.016
C20:4n6	0.17	0.03	0.11	0.33	0.15	0.01	<.0001	0.188	0.048	0.000	0.02	0.067	0.231

TVA; トランスバクセン酸、CLA: 共役リノール酸

(2) MFA による DMI 推定の可能性評価

供試牛の乾物摂取量は 19.74kg (最小 4.6 ~ 最大 41.4kg)、乳量は 35.0kg (12.4 ~ 58.0kg) であった。主な MFA の割合は、C14:0 9.8% (2.7~14.8%)、C16:0 34.6% (28.0~49.3%)、C18:0 12.3% (3.7~18.3%)、C18:1 26.6% (13.0~46.0%) であった。産次、分娩後週次、乳量、乳成分、MFA を説明変数として、ステップワイズ法により DMI の推定式を求めたところ、

$$DMI = -2.38 + 0.655x_{\text{週次}} + 0.321x_{\text{乳量}} + 0.837x_{C14:0}$$

自由度調整済 R²=0.852、RMSE=2.33 が、得られた。また、推定値と実測値の関係について図 1 に示した。両者の関係はほぼ直線

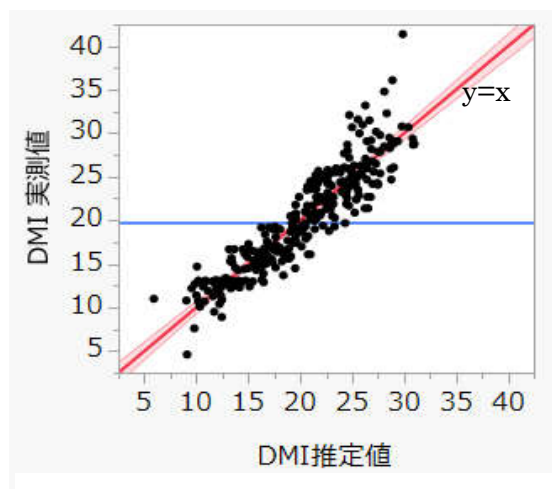


図 1 DMI 実測値と推定値の関係 (GC 法による分析値に基づく)

(y=x) であり、MFA 組成情報を活用することにより、DMI の推定精度を改善できる実用手法の可能性が示された。

(3) 泌乳ステージによる MFA の変動と DMI 推定式

泌乳初期、泌乳最盛期、泌乳中期、泌乳後期の 4 ステージに区分し、ステージの進行に伴う飼養成績と MFA 組成の推移について検討した (表 3)。DMI および C14:0、C18:1 の分散は泌乳初期において、他のステージに比較して有意に大きい値を示した。また、乳脂率、C18:0、C18:1 は泌乳初期に高い値を示し、乳タンパク質率、C14:0、C16:0 は泌乳初期に有意に低い値を示した。そのため、DMI 推定式作成に際して、n 数も考慮して分娩後 1~10 週までと 11 週以降の 2 グループに分けて検討した。

表 3 泌乳ステージに伴う飼養成績、乳脂肪酸組成の推移

	初期	最盛期	中期	後期	P	等分散の検定
DIM	34 ± 13 a	81 ± 11 b	157 ± 21 c	244 ± 32 d	<.0001	<.0001
DMI kg	20.9 ± 5.0 bc	24.6 ± 3.2 a	22.6 ± 2.6 b	20.8 ± 2.6 c	<.0001	<.0001
乳量 kg	39.0 ± 8.2 a	40.4 ± 7.1 a	34.9 ± 6.0 b	29.6 ± 6.4 c	<.0001	0.326
乳脂率 %	4.64 ± 0.73 ab	4.44 ± 0.73 b	4.39 ± 0.53 b	4.88 ± 0.91 a	0.001	0.162
乳タンパク質率 %	3.12 ± 0.33 b	3.17 ± 0.26 b	3.26 ± 0.21 b	3.58 ± 0.30 a	<.0001	0.072
乳糖率 %	4.53 ± 0.22	4.52 ± 0.17	4.53 ± 0.19	4.50 ± 0.18	0.785	0.512
C14:0 %	9.9 ± 2.0 b	11.6 ± 1.1 a	12.0 ± 0.8 a	11.9 ± 0.9 a	<.0001	<.0001
C16:0 %	35.2 ± 2.9 b	39.1 ± 2.8 a	40.0 ± 2.9 a	39.9 ± 2.5 a	<.0001	0.579
C18:0 %	13.7 ± 1.8 bc	11.2 ± 2.0 a	10.4 ± 1.7 b	10.0 ± 1.7 c	<.0001	0.420
C18:1 %	24.9 ± 4.9 a	21.0 ± 2.6 b	20.3 ± 2.3 b	21.1 ± 2.5 b	<.0001	<.0001

① 泌乳初期の DMI 推定式 (n=55)

分娩後 1~10 週の DMI 推定式として、次式が得られた

$$DMI = 19.60 + 0.4268x \text{ 週次} - 0.1017x(\text{週次}-5.53)^2 - 1.466x \text{ 季節} + 0.2948x \text{ 乳量} - 0.4347x \text{ C18:1}$$

自由度調整済 R²=0.749 RSME=2.61 1-1 式

また、週次の影響を直線的なものと仮定して 2 次の項を除外し、地域性が影響する季節の項も除いたより汎用的な次式を作成した。

$$DMI = 18.46 + 0.4206x \text{ 週次} + 0.3284x \text{ 乳量} - 0.4790x \text{ C18:1}$$

(自由度調整済 R²=0.732 RSME=2.69) 1-2 式

週次と乳量、乳脂率による推定式の RMSE が 4.35 であることを考慮すると、C18:1 項の導入がいかにか効果的なものであったかが理解できる。

② 泌乳最盛期から泌乳中後期にかけての DMI 推定式 (n=178)

分娩後 11 週以降の DMI 推定式として、次式が得られた。

$$DMI = 8.34 + 2.019x \text{ 産次} - 0.5727x \text{ 季節} + 0.2624x \text{ 乳量} + 1.342x \text{ 乳糖率} - 0.1992x \text{ C18:1}$$

(自由度調整済 R²=0.678 RSME=1.75) 2-1 式

また、汎用性を考慮して季節等の項目を除外し、

$$DMI = 13.49 + 1.842x \text{ 産次} + 0.2761x \text{ 乳量} - 0.1741x \text{ C18:1}$$

(自由度調整済 R²=0.671 RSME=1.77) 2-2 式

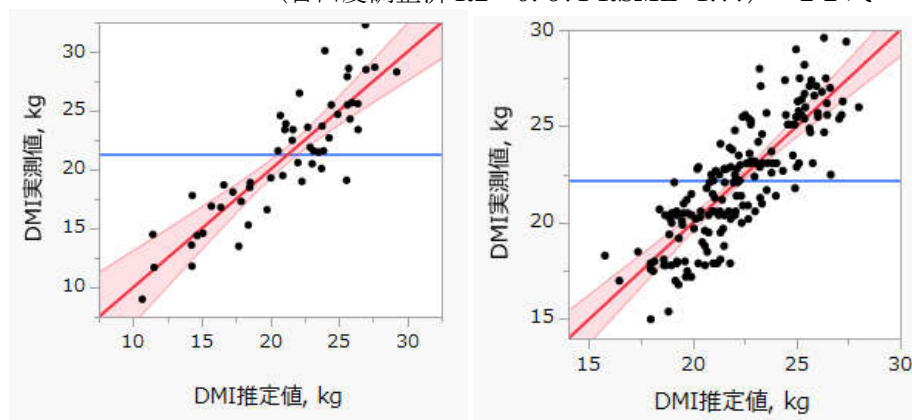


図 3 DMI 推定値と実測値の関係 (左図: 分娩後 1~10 週、右図: 分娩後 11 週以降)

を得た。分娩後 1~10 週の推定式に比べて、MFA の導入による効果は大きくないものの、**RMSE=1.8kg** という精度は、MFA を活用した DMI 推定式が泌乳最盛期以降も十分な実用性を有することを示している。

(4) 推定式の検証

推定式の精度を検討するため、別途実施した 10 回の給与試験成績 (n=142) を用いて、推定式 1-2 式、2-2 式により推定した DMI 推定値と実測値の違いを確認した。残差 (実測値と推定値の差) の平均値±標準偏差は、全体では **0.71±2.90kg** (n=142) であり、実測値に対する残差の割合は **1.1±14.4%** であり、分娩後日数に対する各個体の残差の推移をみると、分娩後 11 か月以降において推定値が過大に評価される傾向が認められた (図 4)。また、残差に対する季節の影響をみると夏は **0.29±2.45kg** (n=65)、その他の季節は **1.07±3.20kg** (n=77) であった。また、10 飼料区毎に残差の平均を求めると、**0.80±1.11kg** (最小-1.06~最大 2.69kg)、実測値に対する割合として **3.0±4.5%** (-5.3~10.3%) であった。

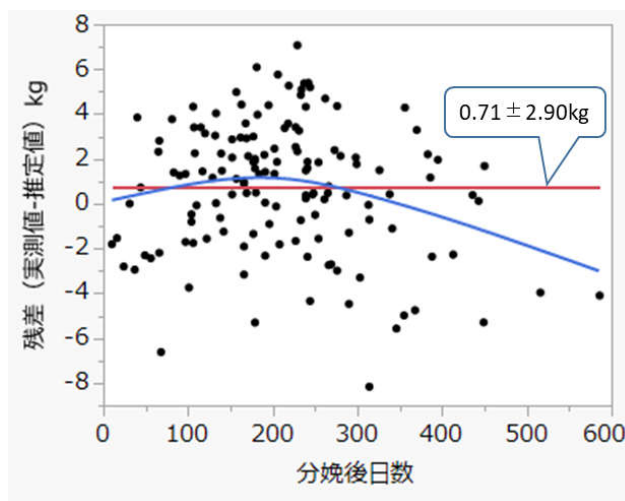


図 4 分娩後日数と残差の関係

以上、MIR による MFA を活用した DMI 推定式は、従来の手法による推定式よりも優れた精度を有していること、特に、泌乳初期において著しい精度の向上を示したこと、泌乳全ステージにおいても実用上十分に活用できることなどが明らかにされた。

引用文献

農業・食品産業技術総合研究機構編. 日本飼養標準・乳牛 (2017 年版). 中央畜産会. 東京. 2017.

International Dairy Federation. New applications of mid infra-red spectrometry for the analysis of milk and milk products saturated and unsaturated fatty acids. Bulletin of the International Dairy Federation 447. 2010.

Jorjong S., van Knegsel, A.T.M., Verwaeren J., et al. Milk fatty acids as possible biomarkers to diagnose hyperketonemia in early lactation. J. Dairy Sci., 98:5211–5221. 2015.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 田中 僚・進藤慧治・小櫃剛人・杉野利久・黒川勇三・沖田美紀・生田健太郎
2. 発表標題 イネホールクroppおよび初米サイレージの供給が乳生産および乳脂肪酸組成に及ぼす 影響
3. 学会等名 第70回関西畜産学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Terada, F., Ohtani, Y., Ikuta, K., Ishikawa, S.
2. 発表標題 Prediction of dry matter intake using milk fatty acid composition for dairy cows during early lactation
3. 学会等名 13th International Symposium on Ruminant Physiology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生田健太郎・寺田文典・大谷喜永・榎本全能・石川 翔・小原嘉昭
2. 発表標題 乳中脂肪酸組成を用いたホルスタイン種泌乳牛の乾物摂取量推定
3. 学会等名 第126回日本畜産学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Terada, F., Iwata, T., Tomaru, T., Jitsunari, N., Ikuta, K.
2. 発表標題 Effect of Milking Frequency on Within-Day Variation of Milk Fatty Acid Composition in Automatic Milking System
3. 学会等名 18th Asian-Australasian Animal Production Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	生田 健太郎 (Ikuta Kentaro) (20463408)	兵庫県立農林水産技術総合センター・淡路農業技術センター・主席研究員兼部長兼課長 (84508)	
研究分担者	石川 翔 (Ishikawa Shou) (20734859)	兵庫県立農林水産技術総合センター・淡路農業技術センター・主任研究員 (84508)	
研究分担者	小櫃 剛人 (Obitsu Taketo) (30194632)	広島大学・統合生命科学研究科(生)・教授 (15401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------