

学 位 論 文 題 名

Near Infrared Spectroscopy of Raw Milk for Cow's Biomonitoring

（生乳の近赤外分光分析による乳牛のバイオモニタリング）

学位論文内容の要旨

1. 目的と背景

酪農の経営形態は多頭飼育に変わりつつあり、乳牛の管理は個別管理から群管理へと変化しつつある。しかし、乳牛の泌乳能力の向上及び牛乳の質を向上させるためには個々の乳牛の生体状態をモニタリングし、個々の乳牛に対して適切な飼養条件を与え、健康管理を行うことが必要である。さらに、乳製品の安全確保の見地からも乳牛の生体情報と原料乳に関する各種情報を収集する必要がある。

本研究は近年、農産物や食品を対象とした非破壊計測技術として発達しつつある近赤外分光法（Near infrared spectroscopy: NIRS）を用いて脈動状態で空気を含んで流動する搾乳直後の生乳の成分値及び体細胞数の測定方法の確立、さらに乳牛の生体情報を得るために血液、尿、胃液等の測定方法を検討した。

2. 生乳の成分測定

個々の乳牛から採取した生乳について、NIRSにより、生乳中の脂肪、蛋白質、乳糖、乳中尿素態窒素（Milk urea nitrogen: MUN）を測定し、それらの測定精度を検討した。これにより、各成分に対する最適な測定波長域、光路長、光学プローブ、データ処理方法を明らかにした。測定波長域と光路長は、脂肪、蛋白質、乳糖の成分測定に対して、非常に重要な要素であった。Partial Least Squares (PLS) 回帰分析による最も精度の高い検量線モデルは、波長 1100-2500 nm、光路長 1 mm で測定し、一次微分スペクトルデータ処理を行うことで得られた。脂肪の測定では、測定標準誤差（Standard error of prediction: SEP）とその相関係数（Correlation coefficient: r ）は、それぞれ $SEP=0.113\%$ 、 $r=0.998$ となった。蛋白質と乳糖に対しては、それぞれ、 $SEP=0.095\%$ 、 $r=0.848$ および $SEP=0.082\%$ 、 $r=0.828$ となった。また、乳牛の健康栄養管理に用いられる MUN の PLS 回帰分析では、波長 700-1100 nm における原スペクトルを用いて、精度の高い $SEP=1.09$ mg/dL、 $r=0.906$ が得られた。

生乳中の体細胞数（Somatic cell count: SCC）が多いと脂肪、蛋白質、乳糖の測定精度が低下した。この問題を解決するために、二つの方法を提案した。一つは、SCC の多少により異なる検量線モデルを作成する方法である。もう一つは、前者の方法に比べて測定精度はやや低下するが、広い範囲の SCC 分布からなる大きなデータセットを用いて汎用性の高い一つの検量線モデルを作成する方法である。

3. 乳牛の生乳、血液、胃液、尿の成分と NIR スペクトルの相関関係

生乳の NIR スペクトルには、血液、胃液、尿などの生体液成分の情報が含まれることを示した。また、生乳の NIR スペクトルと生体液成分だけでなく、生体液の NIR スペクトルと生乳成分との相関関係も見られることも明らかとなった。これにより泌乳牛の様々な生理機能のプロセス間の相互作用をより良く理解することが可能である。

乳房炎によって引き起こる尿成分の変化は、ある特定の点において NIR スペクトルに影響を与え、それにより尿の NIR スペクトルから生乳中の SCC を定量分析できることが分かった。その分析結果は、SEP=0.328 Log SCC/mL、 $r=0.875$ である。乳房炎診断に関して、生乳中 SCC を閾値とし、生乳・血液・尿の NIR スペクトルに Soft independent modeling of class analogy (SIMCA 定性分析法) を適用すると、それらの結果は類似したものとなった。最も優れた分類結果は原スペクトルを一次微分した場合に得られ、それぞれの体液スペクトルデータにおいて 97-99% の識別率となった。生乳の NIR スペクトルの SIMCA 定性分析法への適用は乳房炎診断に有用であり、尿と血液の NIR スペクトルを加えることでその精度は向上することが分かった。

4. 乳牛の機能的研究のための近赤外分光法と人工知能

乳牛の生理機能を理解するためのスペクトルデータの解析に対して、二次元相関分光法 (Two-dimensional correlation spectroscopy: 2DCOS)、ウェーブレット、そして、ニューラルネットワークといった様々な解析方法が提案されている。

分娩後の乳牛の生理状態の回復について調べるため、3 年間に渡る SCC と MUN の変化と NIR スペクトルと 2DCOS により評価した。生乳中 SCC を摂動として、波長領域 700-1100nm における生乳の NIR スペクトルを 2DCOS に適用した解析結果は、分娩後の生理的な順応過程と良く一致した。また、乳成分の変動と分光学的な方法で得られる変化の順序との相関は、乳成分のみに適用した 2DCOS により得られるものと同様であった。よって、分娩後の順応における生乳成分の変動に伴った連続的な変化は、まず水から始まり、次いで脂肪、蛋白質、そして、乳糖の順番に起こることが明らかになった。

個々の乳牛生体の動的状態に関する情報を把握することを目的に、Infra Alyzer 500 を用いたアトライン測定により得られた前搾り分房乳の NIR スペクトルに対してウェーブレット変換 (WT) を行い、得られたデータの周波数特性を調べた。これより、唯一つの NIR スペクトルへの WT により、乳牛、及び、検査分房の両方について、健康であるか乳房炎であるかを同時に識別するための情報が増すことが分かった。

飼料条件の異なる牛からの Infra Alyzer 500 により得た生乳スペクトルと飼料データを収集し、個々の乳牛の飼料に対する応答について調べた。これにより、各乳牛の生乳の時間分解 NIRS とそれぞれの生理データに基づく人工ニューラルネットワーク (ANN) モデルは、乳牛の個体レベルでの飼養管理に有効なツールであることが分かった。

以上の結果から、近赤外分光法を用いた分析法を採用することによって、個々の乳牛の管理を容易に、精密に行うことが可能であることを確認した。さらに、近赤外分光法は生体機能を研究する上で生体情報を取得する手段として有効であり、新しい研究領域に利用できるものとする。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 伊 藤 和 彦
副 査 教 授 松 田 従 三
副 査 教 授 島 崎 敬 一
副 査 助 教 授 川 村 周 三

学 位 論 文 題 名

Near Infrared Spectroscopy of Raw Milk for Cow's Biomonitoring

(生乳の近赤外分光分析による乳牛のバイオモニタリング)

本論文は図 130, 表 44 を含み, 7 章からなる総頁 288 の英文論文であり, 別に参考論文 17 編が添えられている。

酪農の経営形態は多頭飼育に変わりつつあり, 乳牛の管理は個別管理から群管理へと変化している。しかし, 乳牛の泌乳能力を増加させ, 乳質を向上させるためには個々の乳牛の生体情報を常にモニタリングし, 個々の乳牛に対して適切な飼養条件を与え, 健康管理を行うことが必要である。さらに乳製品の安全確保の見地から, 乳牛の生体情報と原料乳に関する各種情報を収集する必要がある。

本研究は近年, 農産物や食品を対象とした非破壊計測技術として発達しつつある近赤外分光法 (Near infrared spectroscopy: NIRS) を用いて脈動状態で空気を含んで流動している搾乳直後の生乳の各種成分値および体細胞数の測定方法の確立, さらに乳牛の生体情報を得るために血液, 尿および胃液等の測定方法を検討した。本研究の結果は下記に要約される。

1. 生乳の成分等の測定

個々の乳牛から採取した生乳について, NIRS により生乳の成分, 即ち, 脂肪, 蛋白質, 乳糖の含有率, 乳牛の健康栄養管理の良否を判断する指標としての乳中尿素態窒素 (Milk urea nitrogen: MUN) 含有率を測定し, それらの測定の精度を検討した。

各成分に対する最適測定波長域, 光路長 (測定時の試料の厚さ), 光学フーリエおよびデータ処理方法に関して検討した。測定波長域と光路長は脂肪, 蛋白質, 乳糖の成分測定に対して非常に重要な要素であり, Partial Least Squares (PLS) 回帰分析による最も精度の高い検量線モデルは, 測定波長域を 1100~2500nm とし, 光路長 1mm で測定し一次微分スペクトルデータ処理を行うことによって得られた。脂肪含有率測定では測定標準誤差 (Standard Error of Prediction: SEP) と相関係数 (r) はそれぞれ SEP=0.113%, r=0.998 となった。蛋白質含量および乳糖含量についてはそれぞれ SEP=0.095%, r=0.848 および SEP=0.082%, r=0.828 となった。

MUN の PLS 回帰分析では、測定波長域を 700～1100nm とし、原スペクトルを用いることによって高精度 (SEP=1.09mg/dL, $r=0.906$) で測定を行うことが可能であることを確認した。

乳房炎診断の指標として用いられている生乳中の体細胞数 (Somatic Cell Count: SCC) が増加すると成分測定精度が低下した。これの解決方法として二種類の方法を提案している。一つは、SCC の多少により異なる検量線モデルを作成する方法である。他の一つは前者と比較して測定精度はやや低下するが、広範囲な SCC 分布からなる大きなデータセットを用いて汎用性の高い検量線モデルを作成する方法である。

2. 乳牛の生乳、血液、胃液および尿の成分 NIR スペクトルの相関

生乳の NIR スペクトルには、血液、胃液および尿などの生体液成分の情報が含まれていることを新たに提示した。また、生乳の NIR スペクトルと生体液成分だけではなく、生体液の NIR スペクトルと乳成分との間に相関関係があることを明らかにした。これによって、乳牛の様々な生理機能の相互作用を理解することが可能になった。

乳房炎によって引き起こされる尿成分の変化は尿の NIR スペクトルに影響を与えるため、尿の測定から生乳中の SCC を定量分析することが可能であることを明らかにした。尿の NIR スペクトルから推定した生乳中の SCC と実測値との相関式は $SEP=0.328\text{LogSCC/mL}$, $r=0.875$ を示した。従って、乳房炎の診断に生乳の NIR スペクトルに尿および血液の NIR スペクトルを加えることによってその診断精度を高めることが可能であることを明らかにした。

3. 乳牛の生理機能と NIRS

乳牛の生理機能を解析するために、分娩後の生理状態の変化を生乳および尿の NIR スペクトルの変化から検証した。測定波長域を 700～1100 とし、解析法には二次元相関分光法およびニューラルネットワークを用いて検討した結果、分娩後の生理状態の変化は生乳成分の変化と一致しており生乳の成分変化は脂肪から開始し、これに蛋白質、乳糖が続くことを明らかにした。

飼料条件を変化させて生乳の成分変化を観察したところ、個々の乳牛は飼料条件の変化に対する乳成分の変化の応答性は異なり、乳牛の個体レベルでの最適飼養管理法を定める上で NIRS 法を用いて乳牛の生体情報を収集することが有益であると結論づけている。

以上の研究成果は生乳成分を始めとする血液、胃液、尿成分を近赤外分光法を用いて非破壊測定する際の基礎的手法を明らかにしており、各種生体情報間の関係を明らかにして個々の乳牛に対する最適飼養管理法の確立に資するものであり、学術的に高く評価できると同時に酪農産業に大きく貢献するものと判断した。

よって、審査員一同は、Roumiana TSENKOVA が博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。