

近赤外分光法による肉牛ふん堆肥の 無機塩類含量の測定

梅田剛利・小山太・高椋久次郎
(畜産研究所)

肉牛ふん堆肥の肥料成分のうち無機塩類である、リン酸 (P_2O_5)、加里 (K_2O)、石灰 (CaO) および苦土 (MgO) 含量を迅速に測定するため、近赤外分光法による測定の可能性について検討した。

近赤外分光法により PLSR (部分最少2乗法による回帰分析) を用いて作成した検量線の推定精度は、すべての無機塩類で近赤外分析値と化学分析値の相関係数が 0.811~0.888 と高く、標準偏差は 0.17~0.59 と低い値となり、評価指数は 22.2~25.9% と実用上有効な値が得られたことから、近赤外分光法による無機塩類の測定は可能であると判断された。

[キーワード: 近赤外分光法, 肉牛ふん堆肥, 無機塩類, PLSR]

Determination of Mineral Concentrations of Beef Cattle Manure with Near Infrared Reflectance Spectroscopy. UMEDA Taketoshi, Futoshi KOYAMA and Kyujirou TAKAMUKU (Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818 - 8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 20 : 105 - 108 (2001)

A near infrared reflectance spectroscopic method (NIRS) was evaluated for the determination of Phosphoric acid (P_2O_5), Potassium oxide (K_2O), Calcium oxide (CaO) and Magnesium oxide (MgO) of Beef Cattle Manure (n = 144).

A partial least squares regression (PLSR) with the data obtained by standard laboratory methods and the NIRS method was carried out to make a calibration. The accuracy of the Determination was evaluated by the correlation coefficients (r), standard deviation of prediction (SDP) and evaluation index ($EI = 2 \times SDP / range \times 100 (\%)$). The 'r', SDP value and EI of all minerals were 0.811 - 0.888, 0.17 - 0.59 and 22.2% - 25.9%, respectively.

These results indicated that the concentration of P_2O_5 , K_2O , CaO and MgO of Beef Cattle Manure could be determined by using NIRS method.

[key words : Near infrared reflectance spectroscopy, Beef Cattle Manure, Mineral]

結 言

牛ふん堆肥は作物の生育等に有効な各種の肥料成分を含んでいるが、その含有量にバラツキがあるため、施肥管理を行うには肥料成分含量を測定し把握しておく必要がある。

近赤外分光法は迅速に成分含量を測定できることから、粗飼料の成分分析では早くから応用され実用化に至っている分析法である¹⁾。堆肥については、肥料成分として重要な全窒素、全炭素等の有機成分の測定は精度が高く、実用的であることが報告されている^{2, 4, 10, 13)}。このほかの肥料成分としてリン酸 (P_2O_5)、加里 (K_2O)、石灰 (CaO)、苦土 (MgO) があるが、これら無機塩類を近赤外分光法により測定した報告は少ない。東ら⁵⁾ は牛ふん堆肥 (乳牛および肉牛ふんを一括) のリン酸、加里、石灰、苦土含量の測定を試みた結果、リン酸、加里および石灰の推定精度が苦土含量に比べやや劣ることを報告しており、古橋ら⁶⁾ は牛ふん堆肥を乳牛ふん堆肥と肉牛ふん堆肥に分け、それぞれのリン酸と加里含量の測定を試みた結果、実用的な精度であることを報告している。しかし、福岡県内で生産される肉牛ふん堆肥は、成分調整を目的として他畜種ふんを混合する場合があります、こうした他畜種ふんを混合した肉牛ふん堆肥を含めて無機塩類含量の測定を行った報告はない。

そこで、県内で生産された肉牛ふん堆肥を用いて、リン酸、加里、石灰および苦土含量の測定を試み、良好な結果が得られたので報告する。

試験方法

1 供試材料および試料の調製

供試材料は、福岡県内の農家および堆肥化施設で生産された肉牛ふん堆肥 144 点を用いた。そのうち、副資材としてオガクズを使用した堆肥が 116 点、オガクズにモミガラを加えたものやバーク、モミガラを使用した堆肥が 28 点であった。

肉牛ふんに他畜種ふんを混合した堆肥は 72 点あり、内訳は、鶏ふんのみ混合が 26 点、鶏ふんと乳牛ふん混合が 12 点、乳牛ふんのみ混合が 18 点、馬ふんのみ混合が 1 点、馬ふんと乳牛ふん混合が 15 点であった。肉牛ふんのみ堆肥は 72 点であった。

堆肥試料は 105℃ で 48 時間通風乾燥後、0.5mm メッシュを装着した超遠心粉砕機で粉砕した。

2 化学分析方法

リン酸 (P_2O_5)、加里 (K_2O)、石灰 (CaO) および苦土 (MgO) 含量の化学分析は、乾燥粉砕した試料を湿式灰化法で分解し、分解液を供して行った。リン酸含量は、バナドモリブデン酸アンモニウム法⁶⁾により定量し

た。加里含量は炎光光度法⁸⁾で、石灰および苦土含量は原子吸光測定法⁹⁾で定量した。以下、化学分析で得られた分析値を化学分析値と呼ぶ。

3 近赤外分光法による検量線の作成

粉碎した堆肥試料の近赤外スペクトルは、近赤外分析計(NIRSystems社6500型)を用い、標準セルを用いた反射法により400nm~2500nmにおける減光度を2nmごとに測定した。

検量線の作成は、NIRSソフトウェアを用いて行った。すなわち、測定した全試料の近赤外スペクトルをスペクトルの特徴をより明確にするため2次微分処理(微分条件:Segment20, Gap 0)を行い、化学分析による無機塩類含量のレンジ(最小値-最大値)や平均値が同等になるように、検量線作成用と検定用に分け、検量線作成用試料90点を用いて行った。

検量線作成の回帰分析法は、線形重回帰分析(MLR)と部分最少2乗法による回帰分析(PLSR)の2種類の手法を用いた。MLRは化学分析値と近赤外スペクトルとの関係を示す校正式の説明変数による重回帰分析であり、変数となる波長を1つずつ増加させる変数増加法で行った⁹⁾。一方、PLSRは多変量解析法である主成分分析法を応用した方法で、全波長域のスペクトルを利用して目的変数(ここでは無機塩類含量)と相関の高い主成分(因子)を順番に抽出する解析法である⁹⁾。この方法により、NIRSソフトウェアを用いて因子を選択した。この回帰分析に使用した波長域は450nm~1050nm, 1150nm~2450nmである。

4 検量線の有効性の検証

作成した検量線は、検定用試料54点を用いて有効性の検証を行い、最適回帰式を決定した。有効性の検証は検量線による推定値(以下、近赤外分析値)と化学分析値との相関係数(r)、推定誤差の標準偏差(SDP)および水野ら¹²⁾の推奨する推定精度の評価指数であるEI($EI = 2 \times SDP / \text{レンジ}$, 0~12.4% - Aランク:実用性がきわめて高い, 12.5~24.9% - Bランク:実用性が高い, 25.0~37.4% - Cランク:実用性が中程度, 37.5~49.9% - Dランク:実用性が低い)を用いて比較した。

結 果

1 検量線の作成

今回測定した肉牛ふん堆肥のリン酸、加里、石灰および苦土含量は、レンジがそれぞれ0.55-5.71%, 0.22-4.68%, 0.31-6.27%および0.18-1.80%で、変動係数が31.0~46.6%であり、幅広いものであった(第1,2表)。

MLRによる検量線の使用波長は、リン酸、加里、苦土で3波長、石灰は4波長を採用する結果となった。採用した波長のうち、1500nm付近が、リン酸、加里および苦土で第1波長として選択され、リン酸と苦土では、更に第2波長に選択された。検量線の相関係数は0.750~0.818, SECは0.21~0.70であった(第3表)。

PLSRによる検量線はNIRSソフトウェアにより適合性が最も高くなるような因子数を選択して決定した。リ

第1表 検量線の作成に用いた肉牛ふん堆肥の無機塩類含量

分析項目	平均DM%	レンジDM%	標準偏差	変動係数%
P ₂ O ₅	2.61	0.55-5.71	1.08	41.4
K ₂ O	2.36	0.22-4.68	0.78	33.1
CaO	2.21	0.31-6.27	1.03	46.6
MgO	1.00	0.18-1.80	0.31	31.0

- 1) DM%: 乾物中%
- 2) P₂O₅: リン酸, K₂O: 加里, CaO: 石灰, MgO: 苦土
- 3) 値は化学分析値

第2表 検量線の作成に用いた肉牛ふん堆肥の検量線作成用および検定用試料の無機塩類含量の平均値とレンジ

分析項目	検量線作成用			検定用		
	n	平均DM%	レンジDM%	n	平均DM%	レンジDM%
P ₂ O ₅	90	2.61	0.55-5.71	52	2.60	0.70-5.67
K ₂ O	87	2.39	0.93-4.20	51	2.36	0.70-4.13
CaO	87	2.11	0.31-4.87	53	2.12	0.42-4.59
MgO	90	1.01	0.18-1.71	53	0.98	0.27-1.80

- 1) DM%: 乾物中%
- 2) P₂O₅: リン酸, K₂O: 加里, CaO: 石灰, MgO: 苦土
- 3) 値は化学分析値

ン酸の因子数は11, 加里と石灰が10, 苦土の因子数が14であった。検量線の相関係数は0.873~0.911, SECは0.13~0.54であった(第3表)。

2 検量線の有効性の検証

MLRで得られた検量線を検定用試料により検証した結果、近赤外分析値と化学分析値との相関係数が0.745~0.822, SDPが0.21~0.77であった。EIは27.3~30.8%で4項目すべての分析項目がCランク(実用性が中程度)であった(第4表)。

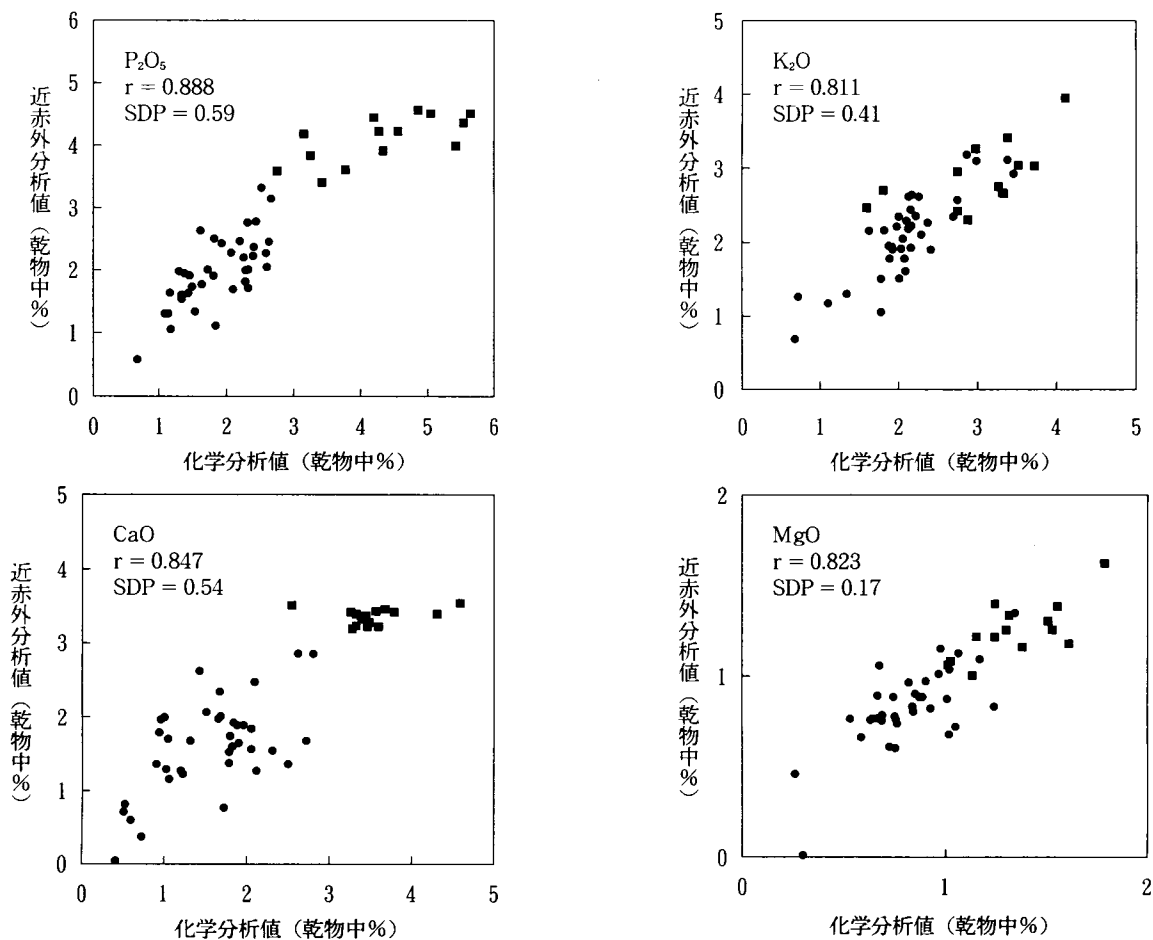
PLSRで得られた検量線を検定用試料により検証した結果、相関係数が0.811~0.888でSDPが0.17~0.59であった。EIは22.2~25.9%で4項目の分析項目すべてがBランク(実用性が高い)であった(第4表, 第1図)。

MLRとPLSRによる検量線の推定精度を近赤外分析値と化学分析値との相関係数とSDPおよびEIで比較すると、4項目の分析項目すべてにおいて、PLSRによる検量線はMLRと比べ相関係数が高く、SDPが低く、EIが低かったことから、PLSRによる検量線がMLRに比べ推定精度が良好であると判断された。

考 察

近赤外分光法による測定には、検量線の作成が必要である。この検量線は将来分析するであろう対象品目の母集団を代表する標本を用いて作成する必要がある。今回供試した肉牛ふん堆肥は福岡県全域の農家および堆肥化施設から収集している。加えて、このサンプルの無機塩類含量の平均値、レンジおよび変動係数からみて、検量線作成に妥当な試料であったと考えられる(第1,2表)。

検量線の作成はMLRとPLSRの2方法の回帰分析法で行った。MLRは一般的に用いられる方法であり、目的とする成分含量と特定の波長を直接的に結びつける解析法である。一方、PLSRは数百の波長をより少数の主



第1図 PLSRで作成した肉牛ふん堆肥無機塩類含量を測定する検量線の検定用飼料における近赤外分析値と化学分析値の関係

■：鶏ふん混合肉牛ふん堆肥

第3表 MLRおよびPLSRによる肉牛ふん堆肥無機塩類含量を測定する検量線の作成結果

分析項目	MLR				PLSR				
	波長数	採用波長 nm		r	SEC	因子数	r	SEC	
P ₂ O ₅	3	1508	1546	1672	0.763	0.70	11	0.877	0.54
K ₂ O	3	1514	896	2380	0.752	0.52	10	0.895	0.36
CaO	4	1982	2110	1014 646	0.818	0.60	10	0.873	0.52
MgO	3	1536	1500	2388	0.750	0.21	14	0.911	0.13

- 1) MLR：線形重回帰分析
- 2) PLSR：部分最少数乗法による回帰分析
- 3) r：相関係数
- 4) SEC：検量線における標準誤差

第4表 肉牛ふん堆肥のMLRおよびPLSRによる検量線の推定精度

分析項目	MLR			PLSR		
	r	SDP	EI	r	SDP	EI %
P ₂ O ₅	0.822	0.77	30.8	0.888	0.59	23.7
K ₂ O	0.745	0.53	27.3	0.811	0.41	23.9
CaO	0.811	0.63	30.1	0.847	0.54	25.9
MgO	0.761	0.21	28.0	0.823	0.17	22.2

- 1) MLR：線形重回帰分析
- 2) PLSR：部分最少数乗法による回帰分析
- 3) r：相関係数
- 4) SDP：検量線の検定における標準偏差
- 5) EI = $2 \times SDP / \text{レンジ} \times 100$

成分(因子)に圧縮する方法で全波長情報を用いて回帰式を作成, 推定する方法である⁹⁾。今回の試験において, 堆肥中の肥料成分として重要な無機塩類であるリン酸, 加里, 石灰および苦土含量の測定を近赤外分光法で行うために, 検量線を MLR と PLSR で作成し, 推定精度を比較した。その結果, 検量線の精度を示す相関係数, 標準偏差および EI のすべてについて, 各肥料成分とも PLSR が優れていた(第3, 4表)。

近赤外線は水素原子が関与する O-H, N-H, C-H の官能基による吸収が主であり, 近赤外分光法は近赤外域の吸光度による近赤外スペクトルと目的成分とを関係づける検量線により推定する方法である⁹⁾。今回検討した無機塩類は, 近赤外域での吸収を持たないので直接推定することは困難を伴うことが予想される。しかし, Clark ら³⁾ はトールフェスク等の粗飼料を供試して, 無機塩類含量推定の可能性を検討し, 比較的多量元素の P, K, Ca, Mg, は推定可能であることを報告している。そして, 無機塩類が有機分子と結合することによる有機分子の微妙な吸収波長のシフトを見だし, この波長のシフトにより無機塩類含量を間接的に推定していると推察している。今回の検量線作成に用いた PLSR は, 450nm~1050nm と 1150nm~2450nm を用いて回帰分析を行い, 一方 MLR は特定の波長を選択し, 説明変数として用いている。これらのことから, PLSR による検量線が MLR の検量線より推定精度が優れていたのは, MLR が特定の波長を説明変数とする回帰分析法であるのに対し, PLSR が得られた波長域を広く検量線の情報として用いるため, 波長のシフトによるスペクトルの差異をより良く説明できたためであると推察された。

PLSR による検量線は, 検定用試料における相関係数が 0.811~0.888 で EI による評価も B ランクと推定精度は良かった。本試験のリン酸と加里の PLSR による検量線の検定用試料における推定精度は, 相関係数と SDP および EI がリン酸で 0.888, 0.59, 23.7 で, 加里が 0.811, 0.41, 23.9 であり, 古橋ら⁸⁾ の報告と比較すると, リン酸の相関係数, SDP および EI が 0.84, 0.30, 26.7, 加里が 0.84, 0.49, 24.9 とほぼ同程度の推定精度であった。これらのことから, 近赤外分光法における福岡県内の肉牛ふん堆肥中無機塩類含量の推定は実用的であると考えられる。

なお, 今回リン酸含量が 5% を越える試料で 3 点, 適合性が低いものが観察され, これらの試料は鶏ふんを混合した堆肥であった(第1図)。今回収集した福岡県内の肉牛ふん堆肥は, 成分調整のため他畜種ふんが混合されており, 144 点中 72 点が混合堆肥で, このうち 38 点の鶏ふんを混合した堆肥があり, この鶏ふんを混合した肉牛ふん堆肥の一部で, 適合性の低い試料があった。これは, 鶏ふんがある程度以上含まれることで, 近赤外スペクトルに差異を生じ, 他の試料と同一の検量線では推定精度が低くなったためと推測されるが, 本試験では鶏ふんの割合が明確でないため, この原因は特定できない。このため, 今後精度向上に向けて検討する必要がある。加えて, 今後生産される堆肥は, 屋外堆積堆肥が減少することなどにより, その無機塩類含量が高くなると考え

られる¹¹⁾。このため, 無機塩類含量の高い堆肥を含めた近赤外分光法による適合性の検討を行う必要がある。

謝 辞

堆肥試料の収集にあたり, ご協力いただいた各地域農業改良普及センターの担当諸氏に, 厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 甘利雅弘(1993)飼料分析—近赤外分析法を中心に—。ぶんせき, No.2(1993)。日本分析化学会, 東京: p112-116。
- 2) 浅井貴之・清水伸也・古賀照章・佐藤満(1993)近赤外反射光分光分析法による牛糞きゅう肥の全窒素, 全炭素, 粗灰分の迅速測定。日本土壤肥料学雑誌 64(6): 669-675。
- 3) D. H. Clark, H. F. Mayland, and R. C. Lamb(1987) Mineral Analysis of Forages with Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Agron. J. 79: 485-490。
- 4) 東政則・古澤邦夫・田中友子・伊藤重雄(1998)堆きゅう肥品質迅速判定技術確立試験。宮崎県畜試研報 11: 68-73。
- 5) 東政則・古澤邦夫・田中友子・村田定信(1999)堆きゅう肥品質迅速判定技術確立試験—牛ふん堆肥の非窒素肥料成分と陽イオン交換容量(CEC)の迅速分析技術—宮崎県畜試研報 12: 175-180。
- 6) 肥料分析法(1982)。農林水産省農業技術研究所。茨城県: p28-53。
- 7) 古橋正・片山信也・池田博保(1994)牛糞堆肥の腐熟度及び有効性の NIRS による迅速分析法の開発—県内産堆肥(大家畜)の成分調査—静岡県畜試研報 20: 52-56。
- 8) 古橋正・片山信也・池田博保(1995)牛糞堆肥の腐熟度及び有効性の NIRS による迅速分析法の開発(第2報)—堆肥の有効性迅速分析法の開発—静岡県畜試研報 21: 50-57。
- 9) 岩元睦夫・河野澄夫・魚住純(1994)近赤外分光法入門。幸書房, 東京: p40-79。
- 10) 木下忠孝・市川明・加藤保(1997)近赤外分光分析法による牛、豚、鶏ふんに由来する有機質資材成分の簡易推定。愛知農試研報 29: 305-310。
- 11) 小山太・高椋久次郎(2000)家畜ふん堆肥の成分的特徴。第1報副資材と堆積場所の差異が乳牛および肉牛ふん堆肥の化学成分に及ぼす影響。福岡農試研報 19: 110-114。
- 12) 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 I 成分および栄養価の推定精度とその評価。草地試研報 38: 35-48。
- 13) 中谷誠・原田靖生・羽賀清典・長田隆(1995)近赤外分光法による牛ふん堆肥過程での品質変化の推定。日本土壤肥料学雑誌 66(2): 159-161。