

近赤外分析法によるスーダングラス無機成分含量推定技術

平川達也*・棟加登きみ子・梅田剛利¹⁾・家守紹光²⁾

福岡県内で利用されたスーダングラスを対象に、近赤外分析法 (NIRS) による主要無機成分の推定精度と利用法について検討した。

実用性の評価法としてEI法とRPD法を比較した結果、マグネシウムのEI値は23.2%でBランクであった。またリン、カリウム、カルシウムのEI値は26.3~34.0%でいずれもCランクと実用に十分な推定精度であったが、RPD値で評価すると1.26~2.02で、推定精度は非常に低いと判定された。しかし、水分や全窒素など成分含量の多い項目について同様に検討を行った結果、同等の推定精度を得ることができた。

これらの結果から、この推定値を飼料設計に用いるには、さらに精度の向上を図る必要があると考えられたが、ミネラルなど成分含量の少ない項目を対象とする場合、EI法だけでなくRPD法を併用して評価することで、利用目的によっては近赤外分析法の利用性は高いと考えられた。

[キーワード：近赤外分析法、スーダングラス、無機成分、EI法、RPD法]

Prediction of Inorganic Ingredient Content in Sudan Grass Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. HIRAKAWA Tatsuya, Kimiko MUNEKATO, Taketoshi UMEDA, Tsugumitsu KAMORI (Fukuoka Agric. Res. Cent., Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 25 : 131-134 (2006)

In making an accurate measurement of the inorganic ingredients in the Sudan Grass used in Fukuoka pref., Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) was used. The accuracy of the measurement was examined by comparing the readings of the EI method with those of the RPD method. The EI value of magnesium was 23.2%; the presumed accuracy was high. The EI values of phosphoric, potassium and calcium were 26.3 to 34.0%, which were acceptable for practical use. However, the RPD values stood at 1.26 to 2.02 and their accuracies were judged to be very low.

These results indicated that such presumed values obtained for feed-designing purposes need further improvement; however, even such substances existing as minor ingredients as minerals can be measured with the use of the RPD method in addition to the EI method. Depending on the purposes of use of the values, the availability of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy could be beneficial.

[Key words: Near-Infrared Reflectance Spectroscopy, Sudan Grass, EI, RPD, Inorganic Ingredients]

緒 言

乳牛の高能力化により精密な飼料給与が求められており、近赤外分析法による迅速かつ正確な飼料成分分析法の確立が要望されている。

既報³⁾において、近赤外分析法 (NIRS) によるイタリアアンライグラス無機成分含量推定値の利用価値について、水野ら⁵⁾による評価指数 (EI: Evaluation index) によれば、いずれもCランク以上と実用的な評価が得られたが、新たにWilliamsら⁸⁾が示したRPD法 (Ratio of SD of reference date in prediction sample to SEP) によると推定精度が非常に低く判定されることから、無機成分や含有量が1%以下の項目を推定する場合、評価指数 (EI) だけでなくRPD法を併用して評価することが望ましいことを報告した。しかし、草種を替えた場合について検討をしていない。

そこで、福岡県で利用されている暖地型イネ科牧草であるスーダングラスについて検討した。

試験方法

1 供試材料および試料の調製

供試材料は、1998~2001年に県内で利用されたスーダングラス計85点、及び2000~2002年に福岡県農業総合試験場内で栽培されたスーダングラス45点の合計130点を用いた。

各試料は60度48時間で通風乾燥後、1mmメッシュを装着したウィレー式粉砕器で粗粉砕し、その後0.5mmメッシュを装着したUdy cyclone Millを用いて微粉砕を行った。

第1表 供試したスーダングラスの概要

	n	生草	乾草	サイレージ
検量線作成用	80	57	18	5
検量線検定用	50	36	9	5
合計	130	93	27	10

2 化学分析項目および方法

化学分析方法は飼料分析基準注解 (第3版)⁶⁾に従い、リンは乾式灰化後バナドモリブデン酸アンモニウム法、カリウム、カルシウム、マグネシウムは乾式灰化後、原

*連絡責任者 (畜産環境部)

1) 現企画情報部 2) 現家畜部

子吸光測定法で定量した。また無機成分ではないが参考として水分は加熱乾燥法、全窒素はケルダール分解法によって定量した。これらの分析値を加熱乾燥法で求めた乾物率で除して化学分析値(乾物中%)とした。

3 近赤外分析法による検量線の作成

微粉碎した試料は、近赤外分析計(NIRSystems社6500型)を用いて波長400~2500nmの範囲内を2nm間隔で吸光度を測定し、付属のNIRSソフトウェアを用いて、取得した近赤外線スペクトルについて2次微分処理(微分条件:Segment20, Gap0)を行った。その後、測定する各成分値が測定レンジ(最大値-最小値)内に平均的に分布するよう¹⁾、検量線作成用試料80点、有効性の検証用試料50点に区分した(第1表)。

検量線作成には、線形重回帰分析(以下MLR法)と部分最小2乗法による重回帰分析(以下PLS法)の2種類の手法を用いた。MLR法は最大4波長までを使用し複数の重回帰式を作成した。

4 検量線の有効性の検証

作成した重回帰式は、検定用試料50点を用いて、近赤外分析法による推定値と化学分析値との重相関係数(R)、検定用試料における推定誤差の標準誤差(SDP)および推定誤差の平均値(Bias)や検量線のスキュー(skew)などから、SDPが小さくスキューやバイアスのない重回帰式⁴⁾を選択した。

また検量線の有用性については、既報と同様に評価指数(EI: Evaluation index, 第2表)とRPD法(第3表)により、各分析項目の利用目的から判断した。

第2表 EI法による検量線の有用性評価

EI (%)	ランク	精度	有用性
~ 12.4	A	非常に高い	極めて高い
12.5 ~ 24.9	B	高い	高い
25.0 ~ 37.4	C	やや高い	中程度
37.5 ~ 49.9	D	低い	乏しい
50.0 ~	E	非常に低い	極めて乏しい

注) EI = $2 \times \text{SDP} / \text{レンジ} \times 100$, SDP: 推定誤差の標準偏差

結果と考察

1. 供試サンプルの成分分析値

検量線作成用試料および検量線検定用試料の無機成分含量の化学分析値を第4表に示した。カリウム含量は無機成分のなかでも0.71~5.33%と比較的広い変動幅を有しているが、リン、カルシウム、マグネシウムに関しては、それぞれ0.08~0.66%, 0.15~0.60%, 0.06~0.42%といずれも1%未満の変動幅であった。しかし、変動係数は25.2~45.6%であり、既報のイタリアンライグラスと比べても幅広いものであった。

第3表 RPD法による検量線の有用性評価

RPD	精度	有用性
< 2.4	非常に低い	
2.5 - 3.0	低い	ラフなスクリーニング
3.1 - 4.9	高い	満足できるスクリーニング
5.0 - 7.9	非常に高い	品質管理分析相当
8.0 <	特に高い	化学分析と同等

注) RPD = SD / SDP , SDP: 推定誤差の標準偏差, SD: 検定試料における標準偏差

2. 検量線の作成結果

MLR法およびPLS法を用いて作成した候補検量線の作成結果を第5表に示した。

MLR法では、変数増加法を用いて重回帰式を作成した。この方法^{4,7)}は目的変数と単相関係数が最大のものを説明変数とし、次いで重相関係数が高く、検量線標準誤差(SEC)が小さくなるまで説明変数を増やしていく方法であり、リン、カルシウムで4波長、カリウムで3波長、マグネシウムで2波長採用した。

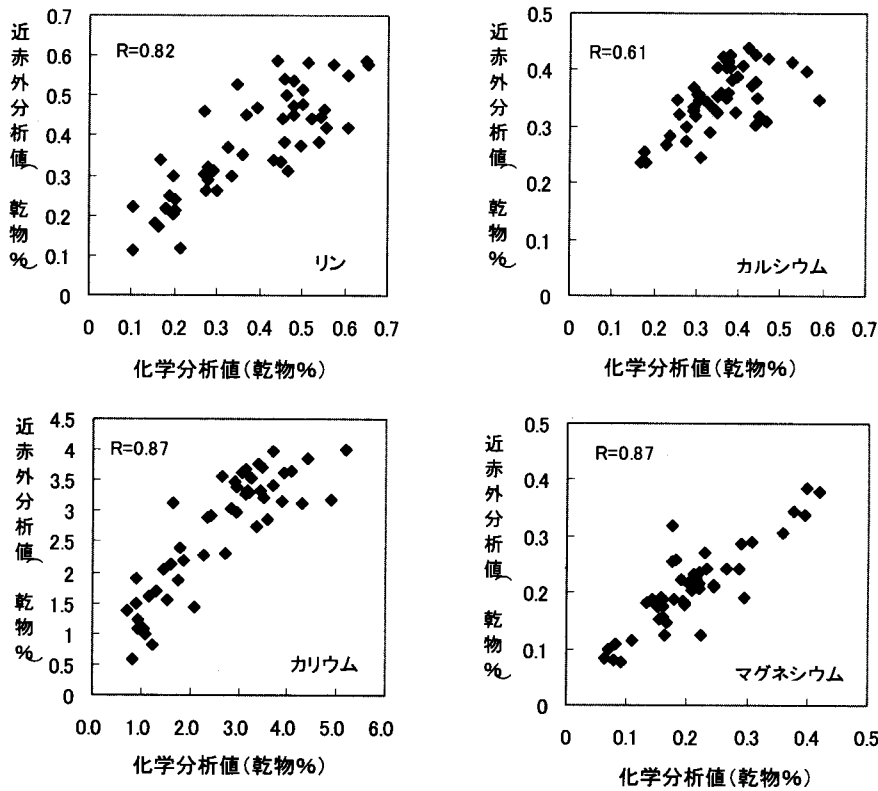
無機成分は、近赤外域で吸収を示さないため、波長の帰属については特定することはできないが、リンでは1430nm、カリウムでは1996nm、マグネシウムでは1976nmと、第一波長にタンパク質に関連した波長が含まれていた。MLR法による検量線の重相関係数Rは、マグネシウムで0.913と最も高い値を示した他、カリウム0.862、リン0.837の順で目標とする0.80以上となったが、カルシウムでは0.701と低い値であった。

第4表 供試したスーダングラスの無機成分の化学分析値

	検量線作成用 (N=80)				検定用 (N=50)			
	平均	標準偏差	幅	変動係数 ²⁾	平均	標準偏差	幅	変動係数
P	0.34	±0.13	0.58	37.8	0.38	±0.15	0.35	40.5
K	2.37	±1.07	4.62	45.1	2.60	±1.18	3.63	45.6
Ca	0.35	±0.45	0.45	26.3	0.36	±0.09	0.56	25.2
Mg	0.20	±0.08	0.36	37.0	0.21	±0.08	0.15	39.9
Mo is	7.60	±2.54	10.65	33.4	8.04	±2.22	10.15	27.6
TN	1.16	±0.48	2.04	40.0	1.25	±0.51	1.87	40.3

1) 数値は乾物中%

2) 変動係数: 標準偏差 ÷ 平均値 × 100



第1図 スーダングラス主要無機成分の近赤外分析値と化学分析値との関係

第5表 MLR法およびPLS法による検量線作成結果 (N=80)

	MLR法					PLS法				
	n	使用波長 (nm)				R ¹⁾	SEC ²⁾	Factor	R	SEC
		1	2	3	4					
P	80	1430	1812	1350	1290	0.837	0.07	7	0.922	0.05
K	80	1996	2242	1184	-	0.862	0.55	1	0.804	0.62
Ca	80	1738	1900	2238	2450	0.701	0.07	1	0.500	0.08
Mg	80	1976	2314	-	-	0.913	0.03	9	0.964	0.02
Mois	80	1413	1758	-	-	0.958	0.74	4	0.989	0.40
TN	80	2164	2286	-	-	0.967	0.12	4	0.982	0.09

1) R: 重相関係数
2) SEC: 検量線における標準誤差 (DM%)

第6表 MLR法およびPLS法による各成分の検量線の検定結果

	MLR法							PLS法						
	R ¹⁾	SDP ²⁾	Bias ³⁾	Slope ⁴⁾	EI ⁵⁾	ランク	RPD ⁶⁾	R	SDP	Bias	Slope	EI	ランク	RPD
P	0.82	0.09	-0.00	0.96	31.8	C	1.75	0.82	0.10	-0.00	0.76*	35.3	C	1.58
K	0.87	0.59	0.06	1.06	26.3	C	2.01	0.80	0.72	-0.03	1.20*	32.3	C	1.64
Ca	0.69	0.07	0.01	0.76*	32.2	C	1.33	0.61	0.07	-0.01	1.02	34.0	C	1.26
Mg	0.87	0.04	0.00	1.05	23.3	B	2.01	0.87	0.04	0.00	0.99	23.2	B	2.02
Mois	0.94	0.79	-0.12	1.04	15.6	B	2.81	0.94	0.77	-0.16	0.97	15.2	B	2.87
TN	0.96	0.13	0.01	1.01	14.3	B	3.77	0.95	0.16	-0.02	1.04	16.7	B	3.24

1) R: 重相関係数
2) SDP: 検量線の検定における標準誤差
3) Bias: 推定誤差の平均値
4) Slope: 重回帰式の傾き (※のあるものは不適当)
5) EI=2×SDP/Range×100, 0~12.4% -A, 12.5~24.9% -B, 25.0~37.4% -C, 37.5~49.9% -D, 50.0~ (37.5未満で有効)
6) RPD: 検定飼料群のSD/SDP: >2.5で実用レベルで使える精度
7) 下線の検量線を採用

一方PLS法は、説明変数として連続したスペクトルデータの中から、目的変数と相関の高い因子を順番に抽出し回帰式を作成する方法⁴⁷⁾である。解析に用いられる情報量が飛躍的に増加するため、未知試料の推定精度が高くなることが報告されているが、PLS法による重相関係数Rは、因子数を十分に確保できたマグネシウムで0.964、リンで0.922と高い値が得られ、MLR法に比べ高い相関を得ることができた。しかし、カリウム、カルシウムでは因子数が1となり、重相関係数もそれぞれ0.804、0.500とMLR法を下回る結果となった。

既報³⁾によれば、イタリアンライグラスにおいてもカルシウムの因子数は1と少なく、重相関係数も低い結果であること、また藤井ら²⁾の報告でも堆きゅう肥の無機成分の推定において因子数が1になるデータに関して重相関係数が低いことが報告されている。

このことから、PLS法において因子数が1であることは、スペクトルデータの中に目的変数と相関の高い因子が存在していない、またミネラルの存在状態が不安定でPLS法が十分に機能していないことが考えられた。

3. 検量線の実用性

第6表にMLR法およびPLS法による検量線の検定結果を示した。また、第1図に各分析項目毎に、検定用試料における近赤外分析値と化学分析値との関係を示した。

バイアス (Bias) は、すべての項目において-0.03~0.06と小さい値であり問題はみられないが、MLR法におけるカルシウム、またPLS法におけるリン、カリウムの重回帰式において、検定におけるスロープ (Slope) の値からスキューがあると判断された。これらの重回帰式は検量線として適当でないと報告されている⁴⁾ことから、リン、カリウムはMLR法、カルシウム、マグネシウムはPLS法による検量線を採用した。

カルシウムの検定における重相関係数は0.61と低い値で、その他の成分については0.82~0.87と比較的高い値であった。また各成分における検量線作成の標準誤差 (SEC) と推定誤差の標準偏差 (SDP) については、概ね同程度の数値であった。

評価指数 (EI) でみると、マグネシウムが23.2%で最も低くBランク、次にカリウム、リン、カルシウムの順で、いずれもCランクと判定されることから検量線としての利用は十分であると考えられるが、RPD値でみるとマグネシウムが2.02、カリウムが2.01、リンが1.75、カルシウムが1.26でラフなスクリーニングのレベルに達しなかった。

今回においても、既報と同様にEI法で実用的であると判定されながら、RPD法ではすべての項目において

低く判定される結果となった。

しかし、近赤外分析法で高い精度で分析が可能な水分、全窒素において同様に検討してみたところ、水分はEI値が15.2%と小さくBランクと判定され、RPD値も2.87であった。また全窒素はEI値が14.3%でBランク、RPD値に関しては3.77といずれの判定法においても実用性の高い検量線を得ることができた。

このことから、分析精度が低いとされるミネラルや成分含有量1%以下の項目を対象として近赤外分析法を摘要する場合、EI法だけでなくRPD法を併用して評価する必要があると考えられた。

以上の結果により、県内で利用されるスーダングラスの無機成分含量の推定についてもイタリアンライグラス同様、この推定値を飼料設計に用いるには、さらに精度の向上を図る必要があると考えられた。

しかし、RPD法による推定精度は低い結果となったが、従来の判定法であるEI法では中程度以上の評価が得られていることから、分析要望の高い粗飼料中のカリウム含量のスクリーニングなど、利用目的によっては近赤外分析法の利用性は高いと考えられた。

引用文献

- 1) 甘利雅弘・阿部亮・田野良衛・榎木茂彦・芹沢駿治・古賀照章 (1987) 近赤外分析法による粗飼料の成分分析と栄養価の推定法. 日草誌33(3): 219-226.
- 2) 藤井真理・東政則・古澤邦夫・須崎淑恵・須波友子・村田定信・伊藤重雄 (2001) 堆きゅう肥品質迅速判定技術確立試験-4年間試験のまとめ-宮崎畜試研報14: 98-106.
- 3) 平川達也・棟加登きみ子・梅田剛利・家守紹光 (2005) 福岡県内で生産されるイタリアンライグラスの主要無機成分含量迅速測定のための近赤外分光法の利用価値. 福岡農総試24: 99-103.
- 4) 岩本睦夫・河野澄夫・魚住純 (1994) 近赤外分光法入門幸書房. 東京: 40-79.
- 5) 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. 草地試験場研究報告38: 35-46.
- 6) 飼料分析基準注解 (第3版) (1998) 飼料基準研究会編: 34-64. 社団法人 日本科学飼料協会
- 7) 改訂 粗飼料の品質評価ガイドブック (2001) 日本草地協会. 東京: 53-70.
- 8) Williams P: Recent advances in near-Infrared applications for the Agriculture and Food Industries (1996) 第12回非破壊計測シンポジウム講演要旨集: 1-8.