

近赤外分析法における検量線の精度および 地域限定版検量線の作成

安里直和 平山なつみ* 小山裕美子*
本田祥嵩* 荷川取秀樹

I 要 約

近赤分析法における検量線の精度について、供試試料の偏りが与える影響を検証し、また、地域限定版検量線の精度を検証したところ以下のとおりとなった。

1. 供試試料に偏りのある検量線を用いて、未知試料の粗タンパク含量を分析すると推定精度が低いことが認められた。
2. 検量線の誤差は粗タンパク質含量低値側で大きく、低値側の誤差が検量線全体の精度を低下させていることが明らかとなった。
3. 地域限定版の検量線を作成することによって、粗タンパク質含量低値側の精度を大幅に向上させ、その結果、検量線全体の精度が向上させることが可能となった。

以上の結果より、既存のギニアグラスの検量線よりも分析対象の未知試料が栽培された地域の試料を用いて検量線を作成することによって、検量線（CP）の精度が大幅に向上し、より正確にその栄養価を推定することが可能となった。

II 緒 言

沖縄県では、亜熱帯の気象条件を生かした暖地型牧草の永年利用が盛んで、ローズグラス、ギニアグラス、ディジットグラスの3草種で4,543haと全牧草作付面積の8割程度を占めている¹⁾。牧草の飼料成分については、草種、刈取りステージ、肥培管理、気象条件等の様々な要因によって変動するため一様でない。そのため、牧草の栄養評価は試料ごとに個別の対応が必要となる。一般的に飼料分析については公定法が用いられるが、前処理および分析に時間を費やすため、多くの試料を迅速に分析・評価するには困難である。一方、近赤分析法は飼料成分を迅速に評価する分析方法として広く利用され、牧草、乾草、グラスサイレージ、とうもろこしサイレージ、飼料用イネ^{2, 3)}等、さまざまな飼料について分析精度が検討され、その有用性が確認されている。本研究センターにおいては、ギニアグラスの粗タンパク質（CP）および乾物消化率（IVDMD）について近赤分析法によって高い精度で推定できることを明らかにした⁴⁾。

一般的に作成した検量線について実用面で高い精度を得るには、検量線作成に用いる試料について可能な限り幅広い地域から集め、かつ、広いレンジでの飼料成分値の分散が必要とされている。しかしながら、ある一定の地域で栽培された試料をもとに作成された検量線が、その他の地域で栽培された未知試料に対して、どの程度の精度を有するか検証した報告は無い。そこで本研究は、本研究センター圃場内で栽培された試料をもとに作成されたギニアグラスの検量線が、八重山諸島の黒島で栽培された試料に対してどの程度の精度をもって成分値を推定できるか検討したので報告する。

Ⅲ 材料および方法

1. 供試試料および分析方法

検量線作成に用いた試料は、本研究センター圃場にて栽培されたギニアグラス 200 点および黒島で栽培されたギニアグラス 138 点を用いた。作成した検量線は粗タンパク質 (CP) で、検量線の作成は部分最小二乗法 (PLSR) により作成した。また、化学分析および近赤外分析の測定方法等については前報⁵⁾のとおりとした。検定用試料については、黒島にて栽培されたギニアグラス計 35 点 (平均 7.6%, 3.2-13.2%) を用いた。また、本研究センター圃場にて栽培されたギニアグラス 69 点に黒島で栽培されたギニアグラス 69 点を加えて作成した検量線 (平均 7.3%, 3.3-13.6%) および黒島にて栽培されたギニアグラス 138 点 (平均 7.9%, 3.2-14.2%) を用いて作成した検量線について、前途の検定用飼料 35 点を用いてその精度を評価した。

4. 試験の概要および検量線の精度

試験の概要を図 1 に示す。試験は図に示すとおり①～⑥の順番で実施した。まず、既存のギニアグラス検量線を用いて、黒島にて栽培された検定用試料ギニアグラス 35 点を分析しその精度を検証した。つぎに、既存の検量線に黒島で栽培された試料 138 点を追加した検量線を作成し、①で用いた同じ検定試料で新規に作成した検量線の精度を評価した。つぎに、黒島にて栽培されたギニアグラス 138 点を用いて黒島専用の検量線を作成し、①で用いた同じ検定試料で新規に作成した検量線の精度を評価した。最後に①、③および⑤で推定した分析値 (NIRS 推定) と化学分析値との関係から、既存の検量線、既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線および黒島専用の検量線の精度について総合的に評価した。

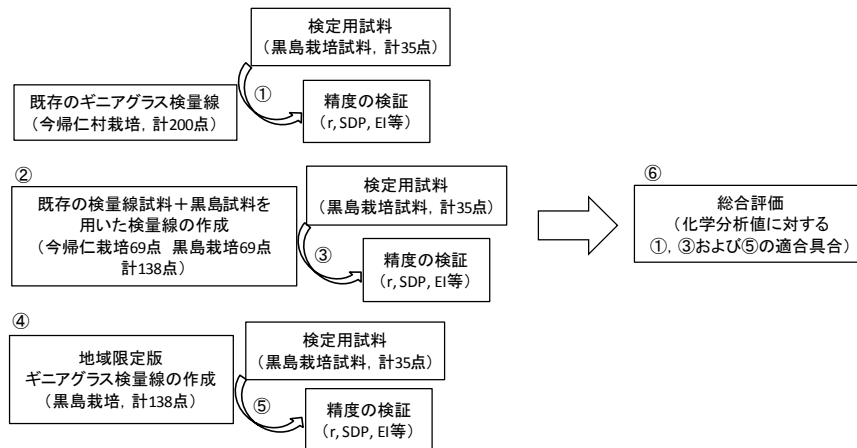


図 1 試験概要

検量線の精度は、NIRS 推定値と化学分析値との相関 (r), 誤差の平均値 (Bias), 傾き (Slope), 回帰推定からの標準偏差 (SDP) および推定精度の評価指数である EI 法⁶⁾により評価した。

Ⅳ 結果および考察

1. 既存のギニアグラス検量線の黒島栽培試料への適合性

既存の検量線について黒島栽培検定用試料で評価した結果を表 1 に示す。r については 0.80, NIRS 推定値と化学分析値との差の標準偏差である SDP については 2.19 と大きかった。また、精度の評価指数である EI については 43.8, Rank は D 評価となり、実用面での利用は難しい結果であった。

表 1 既存のギニアグラス検量線の検定試料における精度評価

	$r^{1)}$	SDP ²⁾	EI ³⁾	Rank ⁴⁾
CP ⁵⁾	0.80	2.19	43.8	D

- 注 1) r : 検量線評価時における相関係数
 2) SDP : 回帰推定からの標準偏差
 3) EI : $2 \times \text{SDP} / \text{Range} \times 100$
 4) Rank : A(0-12.4%EI, very good), B(12.5-24.9%EI, good),
 C(25.0-37.4%EI, fair), D(37.5-49.9%EI, poor),
 E(50.0%EI-, very poor)

つぎに、既存の検量線で分析したギニアグラス検定試料の推定値(NIRS 推定値)と化学分析値の関係を図 2 に示す。NIRS 推定値と化学分析値の差の平均値を示す Bias については -2.44 と大きな Bias を持つ結果となった。Bias をマイナス側に持つことは、NIRS 推定値が化学分析値に対してマイナス側に振れていることを示しており、すなわち、NIRS 推定値が実際の値を過小評価していることになる。実際、化学分析値の 3~7 近傍の値に対して、NIRS 推定値が 0 やマイナスと過少評価をしているカ所が確認された。また、1 に近ければ精度が高いと評価される Slope についても 1.21 と高い値であった。これらの結果より、既存の検量線を用いて黒島で栽培されたギニアグラスの粗タンパク質含量を推定すると、大きな誤差を生じる可能性が明らかとなった。

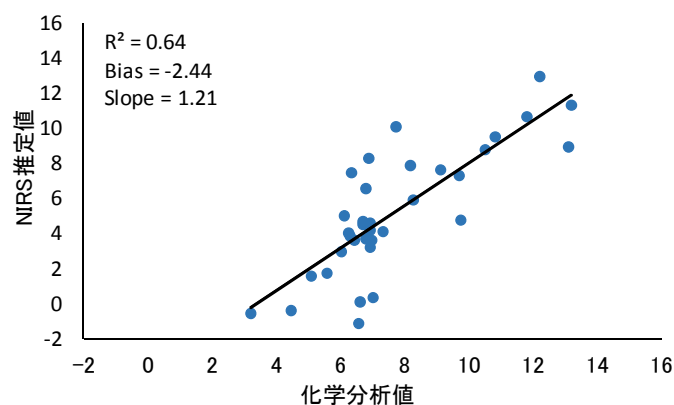


図 2 NIRS 推定値と化学分析値の関係

2. 既存の検量線試料に黒島試料を加えた新規検量線の作成

既存の検量線(今帰仁栽培 69 点)に、黒島で栽培された試料 69 点を加えた計 138 点を用いて、新規の検量線を作成した(表 2)。PLSR 法を用いて 7 の因子にて検量線を作成することができた。 r は 0.93 と高い値を示し、また、検量線作成時の標準誤差である SEC については 0.85 と低い値であった。これらの値については、既往の報告⁵⁾と同程度の精度を有する結果であった。

表 2 検量線作成結果

	Factor ¹⁾	$r^{2)}$	SEC ³⁾
CP ⁴⁾	7	0.93	0.85

- 注 1) Factor : 因子数
 2) r : 検量線作成時における相関係数
 3) SEC : 検量線作成時における標準誤差
 4) CP : 粗タンパク質含量

つぎに、作成した検量線の精度を黒島栽培検定用試料で評価した結果を表 3 に示す。 r については 0.75, NIRS 推定値と化学分析値との差の標準偏差である SDP については 1.56 となった。また、精度の評価指数である EI については 31.2, Rank は C 評価であった。表 1 で示した既存の検量線よりも精度の向上が認められたが、Rank が C であり、更なる精度の向上が求められる結果であった。

表3 既存の検量線試料に黒島試料を加えた新規検量線の検定試料における精度評価

	$r^{1)}$	SDP ²⁾	EI ³⁾	Rank ⁴⁾
CP ⁵⁾	0.75	1.56	31.2	C

- 注 1) r : 検量線評価時における相関係数
 2) SDP : 回帰推定からの標準偏差
 3) EI : $2 \times \text{SDP} / \text{Range} \times 100$
 4) Rank : A(0-12.4%EI, very good), B(12.5-24.9%EI, good),
 C(25.0-37.4%EI, fair), D(37.5-49.9%EI, poor),
 E(50.0%EI-, very poor)

作成した検量線で分析したギニアグラス検定試料の推定値(NIRS推定値)と化学分析値の関係を図3に示す。NIRS推定値と化学分析値の差の平均値を示すBiasについては-0.21と図1と比べ小さくなったが、図2と同様に実際の値を過少評価していることが示された。また、Slopeについても0.56と1から大きくずれるなど、既存の検量線より精度が悪くなる結果となった。

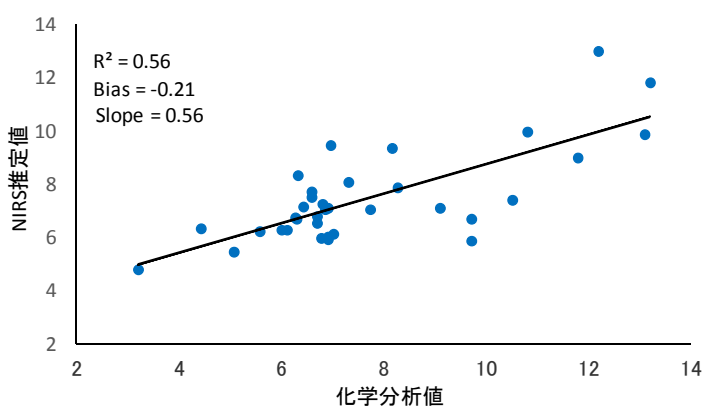


図3 NIRS推定値と化学分析値の関係

3. 地域限定版ギニアグラス検量線の作成

既存の検量線および既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線では、黒島で栽培された試料を精度高く推定することが困難であるため、黒島で栽培された試料のみを用いて地域限定版の検量線を作成した。黒島で栽培されたギニアグラス138点を用いて作成した検量線の結果を表4に示す。PLSR法を用いて10の因子にて検量線を作成することができた。 r は0.94と高い値を示し、また、検量線作成時の標準偏差であるSECについては0.79と低い値であった。これらの精度については、表2で示した既存の検量線試料に黒島試料を加えた検量線と類似した結果であった。

表4 検量線作成結果

	Factor ¹⁾	$r^{2)}$	SEC ³⁾
CP ⁴⁾	10	0.94	0.79

- 注 1) Factor : 因子数
 2) r : 検量線作成時における相関係数
 3) SEC : 検量線作成時における標準誤差
 4) CP : 粗タンパク質含量

つぎに、作成した検量線の精度を黒島栽培検定用試料で評価した結果を表5に示す。 r については0.88、NIRS推定値と化学分析値との差の標準偏差であるSDPについては1.12となった。また、精度の評価指数であるEIについては22.4、RankはB評価となり、実用面で利用できる精度となった。表1で示した既存の検量線および表3で示した既存の検量線試料に黒島試料を加えた検量線よりも全ての項目で精度の向上が認められた。特に、実用面での精度となるRankについてはD評価およびC評価からB評価と大きく改善される結果となった。

表5 地域限定版検量線の検定試料における精度評価

	$r^{1)}$	SDP ²⁾	EI ³⁾	Rank ⁴⁾
CP ⁵⁾	0.88	1.12	22.4	B

注 1) r : 検量線評価時における相関係数
 2) SDP : 回帰推定からの標準偏差
 3) EI : $2 \times \text{SDP} / \text{Range} \times 100$
 4) Rank : A(0-12.4%EI, very good), B(12.5-24.9%EI, good),
 C(25.0-37.4%EI, fair), D(37.5-49.9%EI, poor),
 E(50.0%EI-, very poor)

地域限定版検量線で分析したギニアグラス検定試料の推定値(NIRS推定値)と化学分析値の関係を図4に示す。NIRS推定値と化学分析値の差の平均値を示すBiasについては0.01と非常に小さな値となった。また、1に近ければ精度が高いと評価されるSlopeについても0.97とほぼ1に近い値となった。決定係数(R^2)についても0.77と図2および図3に示した検量線より精度が向上したことが確認された。

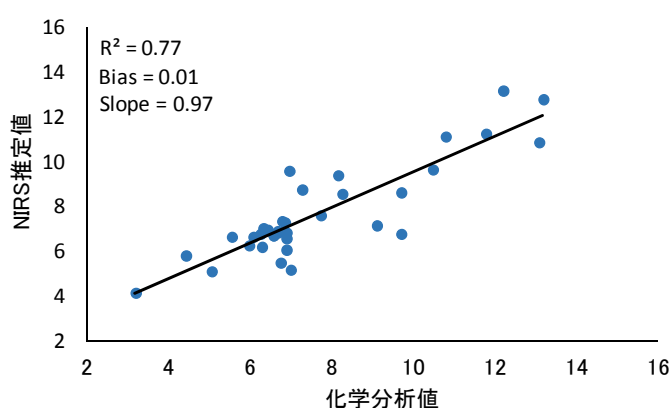


図4 NIRS推定値と化学分析値の関係

4. 総合評価

既存の検量線、既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線および地域限定版の検量線で分析したNIRS推定値と化学分析値の関係を図5に示す。また、各検量線について、化学分析値に対してどの程度の誤差を持つのか詳細に検討するため、誤差と化学分析値の関係を図6に示した。図5に示すとおり既存の検量線については、破線で示す $y=x$ の直線に対して下方にずれこみ、本試験で用いたCPのレンジ幅においては、その栄養価を過小評価する結果となった。また、その誤差については、特にCPの値が低いほど大きく、CP含量が高くなるにともない小さくなった(図6)。いっぽう、既存の検量線に対して黒島栽培の試料を加えて作成した検量線については、CP3から7%近傍では $y=x$ の直線に対して上方へずれこみ、実試料を過大評価する結果となり、逆に、CP7%以上では一転して下方へずれるなど、精度の悪さが際立つ結果となった。誤差については既存の検量線と同様に、CPの値が低いほど大きく、CP含量が高くなるにともない小さくなった。既存の検量線および既存の検量線に対して黒島栽培の試料を加えて作成した検量線ともに、CP含量3~6%における誤差が大きく、表1、図2および表3、図3で示した、これらの検量線の精度が低かった原因については、CP含量低値側における推定精度の低さに起因することが明らかとなった。これらの検量線において、CP含量低値側の推定精度が低くなった原因については不明な部分が多いが、黒島の土質や環境など、さまざまな要因の違いが精度の低下を招いたと考えられる。本試験における検量線の作成は、波長領域400から2500nmにおける全波長領域を用いてPLSRにて作成しているが、PLSRについては特定の波長を選択せず、スペクトルデータを主成分分析によって解析する手法である。すなわち、主成分の中で目的とする成分(CP)と関係が強い主成分に重み付けがなされる。このことは、今帰仁村で栽培された試料と黒島で栽培された試料のCPに対する主成分の違いがある可能性を示唆している。この主成分の違いが、低次の因子なのかあるいは高次の因子なのか、また、どの波長領域に起因するのか未知な部分が多く今後の課題となった。いっぽう、新規に作成した黒島限定版の検量線については、 $y=x$ の直線沿いにほぼ沿っており、全てのレンジにおいて、おおむね直

線上に分布した。Biasについても、既存の検量線や既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線よりも小さかった。また、誤差についてはCP含3%近傍でやや大きかったが、既存の検量線や既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線と比べ顕著に小さく、かつ、おおむね全ての領域において小さいなど他の検量線よりも精度が高いことが示された。

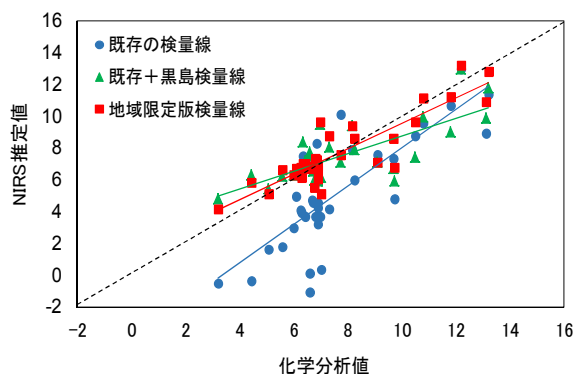


図5 3種類の検量線の精度比較

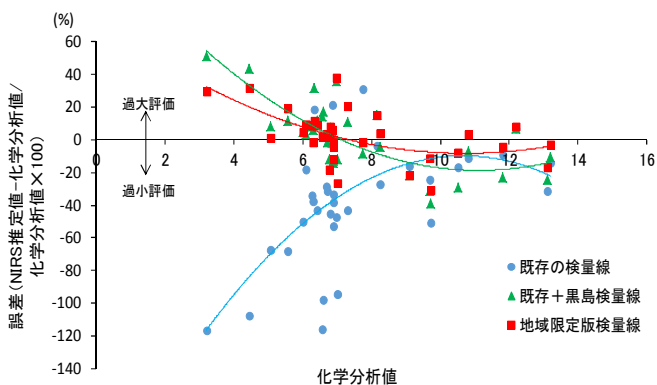


図6 3種類の検量線の誤差比較

以上の結果より、既存のギニアグラス検量線および既存の検量線試料に黒島栽培試料を加えて作成した検量線よりも、分析対象の未知試料が栽培された地域の試料のみを用いて検量線を作成することによって、検量線(CP)の精度が大幅に向上し、より正確にその栄養価を推定することが可能となった。今後の課題として、CP以外の成分であるNDFやADF等について同様な精度確認を行い、また、黒島以外の地域の試料に対しての適合性を評価し、より精度の高い検量線の整備を目指す必要があると考えられた。

V 引用文献

- 1) 沖縄県農林水産部畜産課(編)(2015)おきなわの畜産, 1-129
- 2) 甘利雅弘・阿部 亮・田野良衛・柁木茂彦・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. I. キャリブレーションの精度と未知飼料の推定精度, 日本草地学会誌, 33, 219-226
- 3) 徐 春城・蔡 義民・甘利雅弘・村井 勝・小川増弘(2005)近赤外分析法による飼料イネの飼料成分推定, 日本草地学会誌, 51, 179-183
- 4) 長利真幸・守川信夫・當眞嗣平・望月智代(2003)近赤外分析法による暖地型牧草の成分および栄養価の推定(1)ギニアグラスにおける粗タンパク質含有量および乾物消化率の検量線作成, 沖縄畜研研報, 41, 113-117
- 5) 安里直和・幸喜香織・蝦名真澄・甘利雅弘・大森英之・川本康博・島袋宏俊(2017)近赤外分析法を用いた暖地型牧草ブラキアリアグラスの飼料成分推定, 日本草地学会誌, 63(3), 148-153
- 6) 水野和彦・石栗敏機・近藤恒夫・加藤忠司(1987)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, 草地試験場研究報告, 38, 35-47