

近赤外分光分析によるソルガムサイレーズ発酵品質の迅速 評価法の検討

誌名	日本草地学会誌
ISSN	04475933
著者	江口, 研太郎 服部, 育男 野中, 和久
巻/号	58巻4号
掲載ページ	p. 249-255
発行年月	2013年1月

近赤外分光分析によるソルガムサイレージ発酵品質の迅速評価法の検討

江口研太郎*・服部育男¹・野中和久

畜産草地研究所 (329-2793 栃木県那須塩原市千本松 768)

¹九州沖縄農業研究センター (861-1192 熊本県合志市須屋 2421)

NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Nasushiobara, Tochigi 329-2793, Japan

¹ NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Koshi, Kumamoto 861-1192, Japan

受付日 : 2011 年 11 月 9 日 / 受理日 : 2012 年 7 月 4 日

Synopsis

Kentaro Eguchi, Ikuo Hattori, Kazuhisa Nonaka (2013) : The Feasibility of Near Infrared Reflectance Spectroscopy for the Analysis of Fermentation Quality of Sorghum Silage. *Jpn J Grassl Sci* 58 : 249-255

In this study, the calibration equations for determining the fermentation quality of sorghum silage extract (135 samples) were investigated. The near infrared (NIR) technique could be used to predict the pH value ($R^2=0.84$; RPD=2.48), lactic acid content ($R^2=0.54$; RPD=1.50), total VFA content ($R^2=0.90$; RPD=3.01), acetic acid+propionic acid (C2+C3) content ($R^2=0.85$; RPD=2.62), butyric acid+valeric acid+caproic acid (C4-C6) content ($R^2=0.63$; RPD=1.47) and VBN content ($R^2=0.89$; RPD=3.00) of sorghum silage extract. These results suggested that the NIR technique could also be used for estimating the pH value, total VFA content, C2+C3 content, and VBN content of sorghum whole crop silage. The accuracies of the calibration equations for the pH value, total VFA content, and C2+C3 content were high for an optical path length of about 4 mm, because the corresponding specific wavelengths were narrow and these wavelengths were out of the saturated regions. The accuracy of the calibration equation for the VBN content was high for an optical path length of about 1 mm, because the corresponding specific wavelengths were broad and the saturated regions at this optical path length were small.

Key words : fermentation quality, near infrared reflectance, optical path length, spectroscopy, sorghum.

緒 言

一般に、サイレージの発酵品質は pH 値、乳酸含量、揮発性脂肪酸 (VFA) 含量および揮発性塩基態窒素 (VBN) 含量などの化学分析値により評価される。これらの分析では、サイレージ新鮮物を蒸留水で浸して得られた抽出液を用いる。乳酸含量および VFA 含量については、イオン交換樹脂

処理を行い、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた BTB ポストラベル法 (Goto ら 1993)、ガスクロマトグラフィーを用いた定量法 (柁木・大山 1971, 蔭山ら 1973) およびキャピラリー電気泳動を用いた定量法 (石黒ら 2000) がある。また、VBN 含量については微量拡散法 (Conway 1962) あるいは水蒸気蒸留法 (大山 1971) により、サイレージ抽出液をアルカリ性にして発生するアンモニアガスを酸に吸収させて定量する。これらの分析では、いずれの手法も煩雑な作業を伴い、時間および労力の面で負担が大きい。

一方、近赤外分光分析を用いることで、サイレージ抽出液中の発酵品質関連成分を簡便かつ迅速に測定できる可能性がある。これまで液体試料の成分分析に関しては、1990 年代に醤油の品質評価に近赤外分光分析の応用が検討され、リキッドドロワーを用いて醤油およびめんつゆ類の全窒素含量、食塩含量およびアルコール含量を測定するシステムが開発されている (橋本ら 1994, 篠部ら 1995)。また、田中ら (1994) は近赤外分光分析による醤油の JAS 格付検査は、従来の化学分析と遜色ないことを明らかにしている。

サイレージの発酵品質についても同様に、抽出液を用いた近赤外分光分析の応用が検討されている。浦川・水野 (1994) は循環水型液体ドロアを用いて稲ホルクroppサイレージ抽出液から発酵品質の評価を試みたが、有機酸の検量線の精度は高くなく、特に酪酸については低濃度であるため、検量線の作成は困難であると報告した。一方、梅田ら (1999) は光路長 4 mm のキューベットセルを用いてイタリアンライグラスサイレージ抽出液における有機酸について、精度は高くないものの実用性が認められる検量線を作成した。また、篠田 (2009) は光路長の異なるキューベットセルを用いてサイレージ抽出液の VBN 含量に関する検量線を作成し、光路長 1 mm のセルで最も精度の良い検量線を作成できることを報告している。

セルの光路長と測定成分の関係について、夏賀 (2002) は、牛乳成分分析のための検量線作成に適するセルの光路長と測定波長域は、乳成分ごとに異なると報告した。このことから、サイレージ抽出液を用いた検量線を作成する場合でも発酵品質関連成分ごとに適する光路長は異なると考えられる。そこ

*連絡著者 (corresponding author) : egu@affrc.go.jp

一部は日本草地学会第 68 回発表会 (2012 年 8 月) において発表。

で、本研究ではソルガムサイレージを供試し、光路長の異なるセルを用いて、サイレージ抽出液の pH 値、乳酸含量、総 VFA 含量、VFA 組成および VBN 含量について、近赤外分光分析での推定が可能であるか、また、光路長がこれらの成分推定分析にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

材料と方法

1. 供試材料と試料調製

2009年と2010年に、九州沖縄農業研究センター内の試験圃場(熊本県合志市)で栽培したソルガム品種 KCS-105 (2009年)および SSR4 (2010年)について、1番草を開花~乳熟期にフォレージハーベスタ(Kemper製 ChampionC1200:設定切断長15mm)で収穫した。これらを実験用バンカーサイロ(容量8m³ W2m×D4m×H1m)に詰め込みサイレージ調製した。材料草の水分は76.7%(2009年の平均値)、80.6%(2010年の平均値)で、詰め込み直後のサイレージの乾物密度は約130kg/m³であった。発酵品質に幅を持たせるために2009年は無添加およびギ酸添加(ギ酸アンモニウム製剤ファームエース・350mL/新鮮物kg)の条件、2010年は無添加、ギ酸添加および乳酸菌添加(11A44・1mg/新鮮物kg)の条件でサイレージ調製した。サイロは貯蔵1ヵ月後に開封し、サイロ内から偏りのないようにサイレージサンプルを2009年に54点および2010年に81点の合計135点採取し試験に用いた。サイレージサンプルは、それぞれ新鮮物25gに蒸留水100mLを加え、16時間4℃冷蔵庫内で静置した後、No.5Aのろ紙を通したろ液をサイレージ抽出液とし、サイレージ発酵品質の分析および近赤外分光分析に用いた。

2. サイレージ発酵品質の分析

サイレージ抽出液の pH 値は、pHメーターを用いて求めた。乳酸含量および VFA 含量は、HPLCを用いた BTB ポストラベル法で測定した(自給飼料利用研究会 2009a)。VFA は、酢酸 (C2)、プロピオン酸 (C3)、イソ酪酸 (iC4)、酪酸 (C4)、イソ吉草酸 (iC5)、吉草酸 (C5)、イソカプロン酸 (iC6)、カプロン酸 (C6) を分析項目とした。VBN 含量は微量拡散法で測定した(自給飼料利用研究会 2009b)。これらの化学分析値を基に、サイレージ抽出液 135 点を処理法が偏らないよう、また、発酵品質関連成分の分析値が適切に分散するように選定し、102 点を検量線作成用に、残り 33 点を検量線評価用に分けた。

3. 近赤外スペクトル測定

近赤外分光分析装置は Model 6500 型 (FOSS NIRSystems 社) を使用した。サイレージ抽出液のスペクトル測定は、透過検出装置を装着したサンプルトランスポートモジュールを近赤外分光分析装置本体に装備し、キュベットセルを用いて行った。サイレージ抽出液を光路長 1mm, 2mm および 4mm のキュベットセルに、それぞれ 1mL, 2mL および 3mL 注入し 400-2500nm の範囲について 2nm ごとに吸光度を測定した。なお、スペクトルの測定に当たっては、キュベットセルの結露を防ぐために、4℃ 冷蔵したサイレージ抽出液を室温で 1 時間静置してからスペクトル測定を行った。測定した近赤外スペクトルは、VISION ソフトウェアを用いて、2

次微分処理(微分条件: Segment=20, Gap=0)を施した。

4. 検量線の作成および検定

近赤外スペクトルの 2 次微分値と化学分析値に基づいて重回帰 (MLR) 分析法および Partial Least Squares (PLS) 重回帰分析法により複数の検量線を作成した。MLR 分析での使用波長域は 400-2500nm とし、第 1-4 波長をソフトウェアで自動選択し複数の検量線を作成した。篠田 (2009) は光路長 1mm のセルを用いて水分に帰属する領域 1300-1600nm, 1800-2100nm および 2350nm 以降の高波長領域を除いて PLS 重回帰分析を行いサイレージ抽出液の VBN に関する精度の高い検量線を作成している。Park ら (2002) は、サイレージ原物を用いて、水分に属する領域 1400-1600nm および 1900-2000nm, また高波長領域 2000-2200nm を除いて、飼料成分に関する精度の高い検量線を作成している。これらの報告をもとに水分に帰属する領域ならびに吸光度の飽和が疑われる高波長領域を除いて、安定した電気信号を得られる波長域を検討した。本試験では、PLS 重回帰分析における使用波長域は、光路長 4mm のセルで 400-1400nm と 1600-1800nm, 光路長 2mm のセルで 400-1400nm, 1500-1900nm および 2200-2300nm, 光路長 1mm のセルで 400-1400nm, 1500-1900nm および 2100-2300nm とした。なお、PLS 重回帰分析で使用するファクター数はソフトウェアの推奨する値を基本とし複数の検量線を作成した。

次に、検量線作成時の決定係数 (R²) と標準誤差 (SEC) を求め、その後、検量線評価用の未知試料に検量線を適用して、検量線評価時の R² と重回帰推定からの標準誤差 (SEP) を求めた。検量線には SEP が最も小さいものを採用し、RPD 値 (検量線評価用の未知試料の標準偏差 (SD) ÷ SEP) により検量線の精度を評価した (William 2001)。その評価は、2.3 > RPD であれば、検量線としての精度は非常に低いと判定され、3.0 > RPD > 2.4 であれば、大まかな推定は可能であると判定され、4.9 > RPD > 3.1 であればかなりの精度で推定できると判定される (William 2001)。

結果と考察

供試サンプルの化学分析値を表 1 に示した。表 2 に MLR 分析による結果、表 3 に PLS 重回帰分析の結果を示した。供試サンプルの成分含量の変動範囲は、pH 値 3.6-4.5、乳酸含量 0.00-4.42 (%、原物)、総 VFA 含量 0.13-2.88 (%、原物)、酢酸+プロピオン酸含量 0.13-2.88 (%、原物) および酪酸+吉草酸+カプロン酸含量 0.000-0.348 (%、原物)、VBN 含量 13.6-113.0 (mg/100g 原物) であった。化学分析値は酪酸+吉草酸+カプロン酸含量を除いて比較的広い変動幅を持っていた。

1. pH

MLR 分析で求めた pH 値の R² 値, SEP 値および RPD 値は、光路長ごとに 4mm で 0.69, 0.13 および 1.83 であり、2mm で 0.69, 0.13 および 1.77 であり、1mm で 0.50, 0.16 および 1.42 であった。一方、PLS 重回帰分析で求めた pH 値の R² 値, SEP 値および RPD 値は、光路長ごとに 4mm で 0.84, 0.09 および 2.48 であり、2mm で 0.81, 0.11 および 2.10 であり、1mm で 0.81, 0.10 および 2.25 であった。3.0 > RPD > 2.4 であること

表 1. 近赤外分光分析に用いたソルガムサイレージの化学分析値.

	検量線作成用					検量線評価用				
	n	最大値	最小値	平均値	標準偏差	n	最大値	最小値	平均値	標準偏差
pH	102	4.50	3.60	3.91	0.23	33	4.50	3.60	3.91	0.23
乳酸 (% , 原物中)	102	4.42	0.00	1.72	1.13	33	3.91	0.00	1.72	1.11
総 VFA (% , 原物中) ¹	102	2.88	0.13	1.23	0.64	33	2.69	0.31	1.23	0.62
酢酸+プロピオン酸 (% , 原物中)	102	2.88	0.13	1.22	0.65	33	2.69	0.31	1.22	0.62
酪酸+吉草酸+カプロン酸 (% , 原物中) ²	102	0.348	0.000	0.008	0.041	33	0.124	0.000	0.022	0.022
VBN (mg/100g 原物) ³	102	113.0	13.6	47.1	19.9	32	103.3	23.7	45.4	16.7

¹ 酢酸+プロピオン酸+酪酸+吉草酸+カプロン酸.² 異性体を含む.³ 揮発性塩基態窒素.

表 2. 重回帰分析によるソルガムサイレージの発酵品質の推定.

分析項目	光路長 ²	検量線作成用				検量線評価用				RPD ¹⁰
		選択波長 (nm)		SEC ⁵	R ²⁶	SEP ⁷	R ²	バイアス ⁸	スロープ ⁹	
pH	4	454, 1702, 1814, 690	0.11	0.77	0.13	0.69	0.22	1.05	1.83	
	2	1706, 1812, 678, 2154	0.10	0.81	0.13	0.69	-0.27	0.92	1.77	
	1	460, 1706, 2238, 520	0.14	0.66	0.16	0.50	-0.14	0.96	1.42	
乳酸 (% , 原物中)	4	1650, 2188, 1702, 1876	0.72	0.61	0.80	0.44	-0.02	1.05	1.39	
	2	1654, 1738, 434, 2412	0.64	0.54	0.75	0.54	-0.09	0.98	1.50	
	1	1652, 1710, 1662	0.69	0.64	0.85	0.43	-0.38	0.80	1.31	
総 VFA (% , 原物中) ¹	4	1686, 1362, 440, 1806	0.28	0.81	0.34	0.73	-0.18	0.95	1.83	
	2	1712, 468, 2262, 1808	0.22	0.89	0.27	0.80	-0.03	1.00	2.25	
	1	2304, 1710, 2100	0.28	0.81	0.33	0.74	-0.22	0.83	1.86	
酢酸+プロピオン酸 (% , 原物中)	4	1674, 440, 1894, 1710	0.28	0.82	0.31	0.75	-0.16	0.92	1.97	
	2	1712, 470, 2262	0.26	0.85	0.30	0.76	-0.10	0.91	2.05	
	1	2304, 1710	0.33	0.74	0.30	0.78	0.01	0.95	2.11	
酪酸+吉草酸+カプロン酸 (% , 原物中) ³	4	1726, 1786, 1178, 1962	0.03	0.44	0.01	0.63	-0.001	0.71	1.47	
	2	1734, 2348, 698, 2360	0.03	0.38	0.02	0.38	-0.002	0.48	0.98	
	1	1726, 1136, 856, 560	0.03	0.52	0.02	0.54	-0.002	0.58	1.18	
VBN (mg/100g 原物) ⁴	4	448, 1668, 1732, 1780	9.95	0.76	7.19	0.73	-7.28	0.81	2.32	
	2	2156, 2254, 1430	8.31	0.83	6.90	0.75	-7.29	0.83	2.42	
	1	1664, 2328, 1738, 2304	9.19	0.77	8.34	0.75	-6.19	0.86	1.97	

¹ 酢酸+プロピオン酸+酪酸+吉草酸+カプロン酸.² セルの光路長 (nm).³ 異性体を含む.⁴ 揮発性塩基態窒素.⁵ 検量線が示した標準誤差.⁶ 決定係数.⁷ 検量線検定における標準誤差.⁸ 化学分析値と NIR 推定値を 1 次式で表した時の切片.⁹ 化学分析値と NIR 推定値を 1 次式で表した時の勾配.¹⁰ サンプル群の成分値の標準偏差と推定精度の比率.

から、光路長 4mm において PLS 回帰分析で作成された検量線のみ pH 値の推定は可能と判定された (図 1a)。MLR 分析において第 1 波長の吸収は、光路長 4mm と 1mm では可視光領域の 454nm と 460nm であったが、光路長 2mm では 1706nm であり、これは乳酸および VFA に由来する CH 芳香族の第 1 倍音 (1680-1690nm) に帰属すると考えられた (尾崎・河田 2008)。

2. 乳酸

MLR 分析で求めた乳酸含量の R² 値, SEP 値および RPD 値は、光路長ごとに 4mm で 0.44, 0.80 および 1.39 であり、2mm で 0.54, 0.75 および 1.50 であり、1mm で 0.43, 0.85 および 1.31 であった。一方、PLS 回帰分析で求めた乳酸含量の R² 値, SEP 値および RPD 値は、光路長ごとに 4mm で 0.50, 0.78 および 1.42 であり、2mm で 0.48, 0.82 および 1.37

であり、1mmで0.53、0.77および1.44であった。いずれも2.3 > RPDであることから乳酸含量の推定は困難と判定された(図1b)。MLR分析において第1波長の吸収は、光路長4mm、2mmおよび1mmの順に1650nm、1654nmおよび1652nmであり、これはCH芳香族の第1倍音(1680-1690nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。

3. 総VFA

MLR分析で求めた総VFA含量のR²値、SEP値およびRPD値は、光路長ごとに4mmで0.73、0.34および1.83であり、2mmで0.80、0.27および2.25であり、1mmで0.74、0.33および1.86であった。一方、PLS回帰分析で求めた総VFA含量のR²値、SEP値およびRPD値は、光路長ごとに4mmで0.90、0.20および3.01であり、2mmで0.83、0.27および2.46であり、1mmで0.86、0.25および2.48であった。いずれの光路長においてもPLS回帰分析では3.0 > RPD > 2.4であることから、総VFA含量の推定は可能と判定された(図1c)。MLR分析において第1波長の吸収は、光路長4mmでは1686nmであり、これはCH芳香族の第1倍音(1680-1690nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。光路長2mm

では1712nmであり、これはCH₃芳香族の第1倍音(1710-1730nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。光路長1mmでは2304nmであり、これはCH₂芳香族の結合音(2305-2315nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。温州ミカンやイチゴの有機酸に関する重回帰分析による近赤外分光法の検量線作成では第1波長として1714nmが選ばれている(藤原2004)。これらのことから、有機酸に関してはCH芳香族の第1倍音(1680-1690nm)、CH₂芳香族の結合音(2305-2315nm)およびCH₃芳香族の第1倍音(1710-1730nm)に帰属するスペクトル情報が重要と考えられる。

MLR分析およびPLS回帰分析ともに、光路長と検量線の精度に一定の傾向は認められなかった。光路長が長いと吸光度の飽和スペクトル領域が増し、幅の狭いスペクトル領域での解析を行うことになるが、測定可能な領域における情報量は光路長の長さに応じて増す。本試験では、光路長1、2および4mmのいずれのセルにおいても、CH芳香族の第1倍音(1680-1690nm)は顕著な飽和状態にはならなかったため、総VFA含量のPLS回帰分析による推定では、光路長1mm

表3. PLS回帰分析によるソルガムサイレージの発酵品質の推定。

分析項目	光路長 ²	検量線作成用			検量線評価用				RPD ¹¹
		nF ³	SEC ⁶	R ²⁷	SEP ⁸	R ²	バイアス ⁹	スロープ ¹⁰	
pH	4	16	0.07	0.91	0.09	0.84	0.14	1.03	2.48
	2	10	0.08	0.88	0.11	0.81	-0.59	0.84	2.10
	1	10	0.08	0.88	0.10	0.81	0.07	1.01	2.25
乳酸(%, 原物中)	4	8	0.70	0.65	0.78	0.50	-0.19	0.88	1.42
	2	9	0.62	0.72	0.82	0.48	-0.37	0.82	1.37
	1	8	0.64	0.70	0.77	0.53	-0.32	0.82	1.44
総VFA(%, 原物中) ¹	4	13	0.15	0.95	0.20	0.90	-0.04	1.01	3.01
	2	8	0.27	0.84	0.27	0.83	-0.08	0.99	2.46
	1	9	0.19	0.92	0.25	0.86	-0.21	0.86	2.48
酢酸+プロピオン酸(%, 原物中)	4	13	0.16	0.95	0.23	0.85	-0.01	0.99	2.62
	2	11	0.17	0.94	0.26	0.83	-0.09	0.95	2.41
	1	9	0.19	0.92	0.27	0.81	-0.04	0.96	2.33
酪酸+吉草酸+カブロン酸(%, 原物中) ⁴	4	5	0.03	0.30	0.01	0.60	-0.000	0.64	1.47
	2	8	0.03	0.53	0.02	0.69	0.005	0.67	1.40
	1	6	0.03	0.45	0.02	0.57	-0.002	0.62	1.25
VBN(mg/100g 原物) ⁵	4	11	7.69	0.87	7.26	0.82	-2.37	0.90	2.30
	2	11	7.64	0.87	6.95	0.81	-2.90	0.92	2.29
	1	9	4.67	0.95	5.46	0.89	-3.28	0.92	3.00

¹ 酢酸+プロピオン酸+酪酸+吉草酸+カブロン酸。

² セルの光路長(nm)。

³ ファクター数。

⁴ 異性体を含む。

⁵ 揮発性塩基態窒素。

⁶ 検量線が示した標準誤差。

⁷ 決定係数。

⁸ 検量線検定における標準誤差。

⁹ 化学分析値とNIR推定値を1次式で表した時の切片。

¹⁰ 化学分析値とNIR推定値を1次式で表した時の勾配。

¹¹ サンプル群の成分値の標準偏差と推定精度の比率。

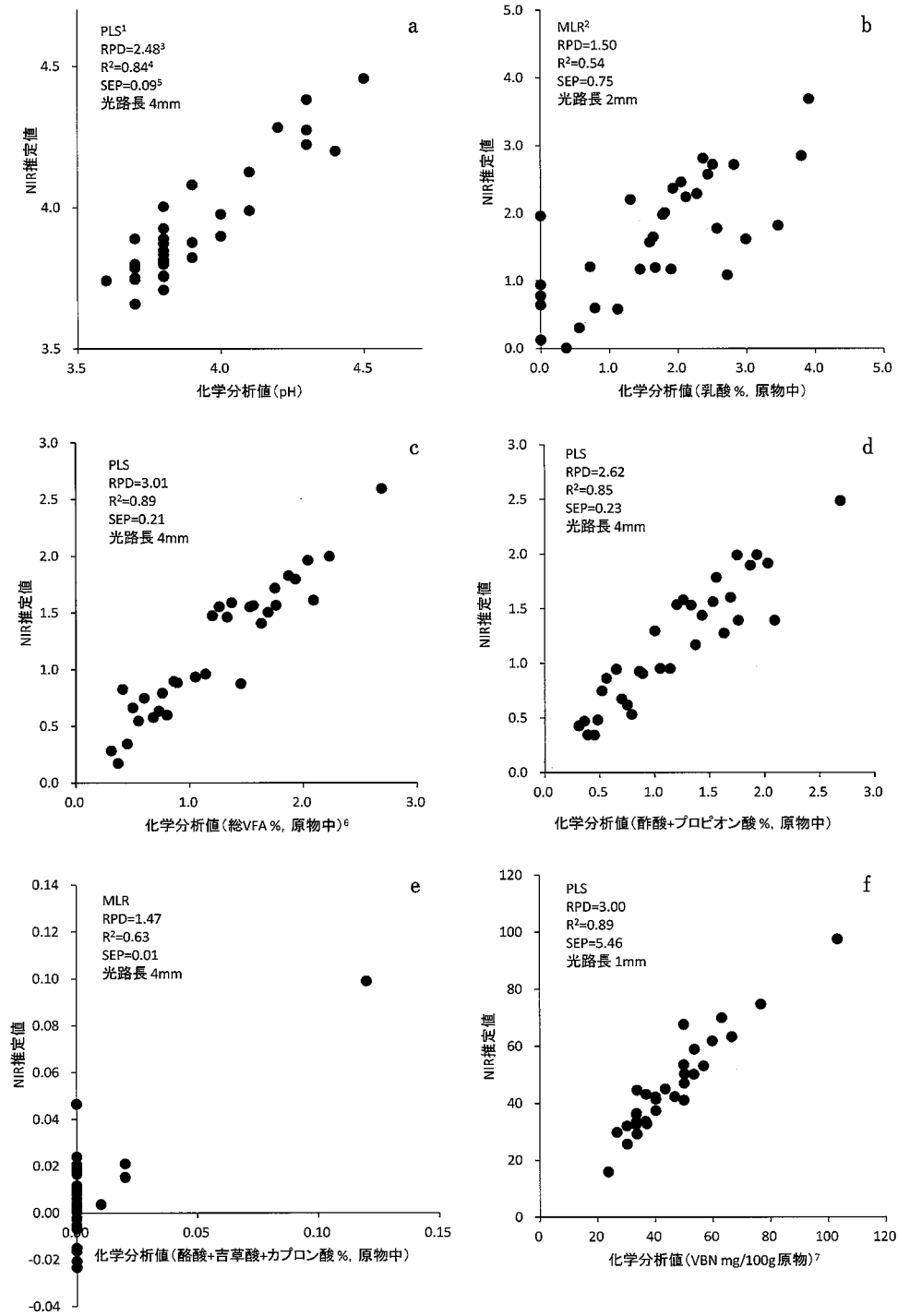


図 1. ソルガムサイレージの抽出液を測定対象として得られた、pH 値 (a)、乳酸含量 (b)、総 VFA 含量 (c)、酢酸 + プロピオン酸含量 (d)、酪酸 + 吉草酸 + カプロン酸含量 (e) および VBN 含量 (f) の近赤外推定値と化学分析値との関係 (RPD 値が最も高いものを図示した)。

¹ PLS 回帰分析.

² 重回帰分析.

³ サンプル群の成分値の標準偏差と推定精度の比率.

⁴ 決定係数.

⁵ 検量線検定における標準誤差.

⁶ 酢酸 + プロピオン酸 + 酪酸 + 吉草酸 + カプロン酸.

⁷ 揮発性塩基態窒素.

のセルよりも光路長4mmのセルで作成した検量線の方が精度は高い傾向であったと考えられる(有意差なし)。

4. 酢酸+プロピオン酸

MLR分析で求めた酢酸+プロピオン酸(C2+C3)含量の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.75, 0.31および1.97であり, 2mmで0.76, 0.30および2.05であり, 1mmで0.78, 0.30および2.11であった。一方, PLS回帰分析で求めたC2+C3の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.85, 0.23および2.62であり, 2mmで0.83, 0.26および2.41であり, 1mmで0.81, 0.27および2.33であった。検量線の推定精度は $3.0 > RPD > 2.4$ であることから, C2+C3含量の推定は2mmおよび4mmの光路長, PLS回帰分析の条件で可能と判定された(図1d)。MLR分析において第1波長の吸収は, 光路長4mmと2mmでは1674nmと1712nmであり, これはCH芳香族の第1倍音(1680-1690nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。光路長1mmでは2304nmであり, これはCH₂芳香族の結合音(2305-2315nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。

MLR分析およびPLS回帰分析ともに, 光路長と検量線の精度に一定の傾向は認められなかった。総VFA含量と同じく, PLS回帰分析では光路長4mmで作成した検量線の方が精度は高い傾向であった(有意差なし)。原因は上記の総VFA含量と同じ理由と考えられる。

5. 酪酸+吉草酸+カプロン酸

MLR分析で求めた酪酸+吉草酸+カプロン酸(C4-C6)含量の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.63, 0.01および1.47であり, 2mmで0.38, 0.02および0.98であり, 1mmで0.54, 0.02および1.18であった。一方, PLS回帰分析で求めたC4-C6含量の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.60, 0.01および1.47であり, 2mmで0.69, 0.02および1.40であり, 1mmで0.57, 0.02および1.25であった。いずれも $2.4 > RPD$ であることからC4-C6含量の推定は困難と判定された(図1e)。MLR分析において第1波長の吸収は, 光路長4mm, 2mmおよび1mmでは1726nm, 1734nmおよび1726nmであり, これはCH₃芳香族の第1倍音(1710-1730nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。浦川・水野(1994)は稲ホールクroppサイレージの酪酸は低濃度であるため検量線の作成は困難であると報告している。本試験で用いたソルガムサイレージのC4-C6含量もほとんどが0%であったことから低濃度であるため検量線の作成が困難であったと考えられた。

6. VBN

MLR分析で求めたVBN含量の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.73, 7.19および2.32であり, 2mmで0.75, 6.90および2.42であり, 1mmで0.75, 8.34および1.97であった。一方, PLS回帰分析で求めたVBN含量の R^2 値, SEP値およびRPD値は, 光路長ごとに4mmで0.82, 7.26および2.30であり, 2mmで0.81, 6.95および2.29であり, 1mmで0.89, 5.46および3.00であった。光路長2mmのPLS回帰分析において $3.0 > RPD > 2.4$ であることか

らVBN含量の推定は可能と判定された(図1f)。MLR分析において第1波長の吸収は, 光路長4mmでは可視光領域の448nmであったが, 光路長2mmでは2156nmであり, これは—CONH—第2級アミドの結合音(2150-2170nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。光路長1mmでは1666nmであり, これは—CONH—第2級アミドの第1倍音(1530-1670nm)に帰属すると考えられた(尾崎・河田2008)。PLS回帰分析では, セルの光路長が短いと吸光度の飽和スペクトルの領域が減り, 幅広いスペクトル領域での解析が可能となる。篠田(2009)はキュベットセルを用いたサイレージ抽出液のVBN含量のPLS回帰分析による推定では, 光路長4mmのセルよりも光路長1mmのセルで作成した検量線の方が精度は高いと報告した。本試験においても, PLS回帰分析によるVBN含量の検量線は, 光路長4mmのセルよりも光路長1mmのセルで作成した検量線の方が精度は高い傾向が見られた(有意差なし)。VBNに特異的な吸収帯が広範に散布しているため, 吸光度の飽和による除外領域の少ない光路長1mmのセルで作成した検量線の精度が最も良かったと考えられる。

結 論

以上のように, ソルガムサイレージの抽出液を用いた近赤外分光分析では, サイレージの乳酸含量およびC4-C6含量を推定することは難しいものの, pH値, 総VFA含量, C2+C3含量およびVBN含量については精度良い検量線($3.0 > RPD > 2.4$)を作成できることが明らかとなった。本試験では, 利用できる波長域と利用可能領域における吸光度の強さは光路長により相反する関係であったため, 成分ごとに適した光路長は異なることが示唆された。すなわち, pH値, 総VFA含量とC2+C3含量に関しては, 特異的な吸収帯が幅狭でかつ吸光度の飽和領域から外れていたため, 光路長4mmのセルで作成した検量線が最も精度が良かった。一方, VBN含量に関しては, 特異的な吸収帯が広範に散布しているため, 吸光度の飽和による除外領域の少ない光路長1mmのセルで作成した検量線が最も精度が良かった。本試験により, 近赤外分光分析は通常現場で利用されるソルガムサイレージの発酵品質のうちpH値, 総VFA含量, C2+C3含量およびVBN含量を推定できると示唆された。

引用文献

- Conway EJ (1962) Microdiffusion analysis and volumetric error. Crosby lockwood, London, p322
- 藤原孝之 (2004) 近赤外分光法による果実類の糖および酸の測定とその問題点. 食科工 5: 51-62
- Goto M, Yokoe Y, Takabe K, Nisikawa S, Morita O (1993) Effects of gaseous ammonia on chemical and structural features of cell-walls in spring barley straw. Anim Feed Sci Technol 40: 207-221
- 橋本彦堯・小林邦男・飯塚佳子・岡田稔生 (1994) 近赤外分光法の醤油品質管理への応用. 醬研 20: 205-212
- 石黒瑛一・日比野洋・曾我朋義・柳井博子・澤田浩和・平岡久明・榎木茂彦 (2000) キャピラリー電気泳動法を用いたサイレージ

- 中の各種有機酸の分析. 畜産の研究 54 : 52-54
- 自給飼料利用研究会 (編) (2009a) 改訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック, 日本草地畜産種子協会, 東京, p65-67
- 自給飼料利用研究会 (編) (2009b) 改訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック, 日本草地畜産種子協会, 東京, p68-70
- 夏賀元康・川村周三・伊藤和彦 (2002) 近赤外分光法における測定波長範囲と光路長が生乳成分の測定精度に与える影響. 農業機械学会誌 64 : 83-88
- 藤山勝弘・森 治夫・佐藤勝郎 (1973) ガスクロマトグラフィーによるサイレージの揮発性脂肪酸と乳酸の同時測定法. 日畜会報 44 : 465-469
- 証木茂彦・大山嘉信 (1971) サイレージの揮発性脂肪酸のガスクロマトグラフィーによる迅速定量法. 日畜会報 42 : 648-655
- 大山嘉信 (1971) アンモニア態窒素. 動物栄養試験法 (森本 宏監修), 養賢堂, 東京, p319-323
- 尾崎幸洋・河田 聡 (2008) 近赤外分光法. (日本分光学会編), 学会出版センター, 東京, p216-219
- Park RS, Agnew RE, Kilpatrick DJ (2002) The effect of freezing and thawing on grass silage quality predictions based on near infrared reflectance spectroscopy. Anim Feed Sci Technol 102 : 151-167
- 篠部恭三・小早川和子・西山健治 (1995) 近赤外分光法のめんつゆ類品質管理への応用 (第1報) 単一検量線による全窒素, 食塩, アルコールの測定. 畜研 21 : 1-6
- 篠田英史 (2009) サイレージ評価における VBN 測定の重要性和近赤外分析での推定. (畜産草地研究所編), 平成 21 年度自給飼料利用研究会—地域資源を活用した自給飼料の増産と利用拡大に向けた技術開発と将来展望—, 畜産草地研究所, 栃木, p51-60
- 田中秀夫・松本秀樹・鈴木邦明・兼松善範・篠部恭三・山田勝彦・大津宣明・橋本彦堯 (1994) 近赤外分光法によるしょうゆの JAS 格付検査への適用 (第1報) こいくち・うすくちしょうゆへの適用. 畜研 20 : 195-204
- 梅田剛利・藤吉弘子・棟加登きみ子 (1999) 近赤外分光法によるイタリアンライグラスサイレージの有機酸含量の測定. 福岡県農

総試報 18 : 147-151

浦川修司・水野隆夫 (1994) 稲ホールクroppサイレージの品質評価. 三重農技セ研報 22 : 45-56

Williams PC (2001) Implementation of near-infrared technology. In : Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2nd Edition (Eds Williams PC, and Norris KH), American Association of Cereal Chemist Press, St. Paul, Minnesota, p145-169

要 旨

江口研太郎・服部育男・野中和久 (2013) 近赤外分光分析によるソルガムサイレージ発酵品質の迅速評価法の検討. 日草誌 58 : 249-255.

ソルガムサイレージの抽出液 (135 点) を用いて近赤外分光分析で迅速に発酵品質を評価する技術を検討した。検量線の検定における R^2 と RPD 値の結果は, pH 値で $R^2=0.84$ および RPD=2.48, 乳酸含量で $R^2=0.54$ および RPD=1.50, 総 VFA 含量で $R^2=0.90$ および RPD=3.01, 酢酸+プロピオン酸 (C2+C3) 含量で $R^2=0.85$ および RPD=2.62, 酪酸+吉草酸+カプロン酸 (C4-C6) 含量で $R^2=0.63$ および RPD=1.47, VBN 含量で $R^2=0.89$ および RPD=3.00 であった。以上の結果から, ソルガムサイレージの pH 値, 総 VFA 含量, C2+C3 含量および VBN 含量は近赤外分光分析での推定が可能であることが明らかとなった。また, pH 値, 総 VFA 含量と C2+C3 含量に関しては, 特異的な吸収帯が幅狭でかつ吸光度の飽和領域から外れていたため (400-1400 nm および 1600-1800 nm), 光路長 4 mm のセルで作成した検量線の精度が最も良かった。一方, VBN 含量に関しては, 特異的な吸収帯が広範に分布しているため (400-1400 nm, 1500-1900 nm および 2200-2300 nm), 吸光度の飽和による除外領域の少ない光路長 1 mm のセルで作成した検量線の精度が最も良かった。

キーワード：近赤外分光分析, 光路長, ソルガム, 発酵品質.