



Title	近赤外分光法による小麦キャリブレーションの品種間差異
Author(s)	夏賀, 元康; NATSUGA, Motoyasu; 川村, 周三 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 18(1), 53-58
Issue Date	1992-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12146">https://hdl.handle.net/2115/12146</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	18(1)_p53-58.pdf



# 近赤外分光法による小麦キャリブレーションの品種間差異

夏賀元康・川村周三・伊藤 頌治\*・伊藤和彦

(北海道大学農学部農畜産加工機械学講座)

(平成3年10月14日受理)

## Statistical Differences among Varieties in the Wheat Calibrations Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy

Motoyasu NATSUGA, Shuso KAWAMURA,

Kenji ITOH and Kazuhiko ITOH

(Laboratory of Agricultural Process Engineering, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

### I. 緒 言

近赤外線とは可視光の近傍から長波長方向に広がる赤外線の一部で通常、波長が700~2,500 nmの範囲を指す。物質を構成している分子の官能基は固有の吸収バンド(基準振動バンド)を有しており、これは通常、赤外領域の2,500~15,000 nmにある。この基準振動バンドの高周波振動(倍振動および結合振動)が近赤外域に物質特有の吸収スペクトルとして現れる。近赤外分光法とはこの近赤外域の吸収スペクトルを利用して試料の成分を分析する手法である<sup>1)</sup>

近赤外分光法には次の利点がある。

- ① 化学分析のように大量の試薬や溶媒を必要とせず、安全で、かつ分析コストが安い。
- ② 前処理が簡単で、迅速な測定が出来る。
- ③ 誰でも簡単に分析できる。
- ④ 同一試料を反復利用できる。
- ⑤ 吸光性の弱い成分の定量も可能で、同時に多成分の定量が出来る。
- ⑥ 機器がコンパクトで、移動性が良く、現場での測定が出来る。
- ⑦ 使用波長全域にわたり、強い光源が利用できるので、応答時間の短いフォトセルが利用でき、分析時間が大幅に短縮され、かつ高い

S/N比が得られる。

- ⑧ 固体食品、アルコール飲料、液状食品、半固体食品など、多岐に渡って分析できる。

近赤外分光法は非破壊分析法のひとつであり、取扱いが安易であるなど、農作物の成分測定に優れた特徴を持っている。アメリカやカナダでは1978年から近赤外分光法が小麦のタンパク質の公式分析に用いられている<sup>2)</sup>

最近わが国でも近赤外分光法による成分測定が普及のきざしを見せ始めている。しかし国内産小麦に関するデータはまだ十分ではない。

そこで、小麦の品質を表す重要な成分である水分とタンパク質について、近赤外分光法による小麦キャリブレーションの品種間差異の検討を行った。

### II. 実験方法

#### A. 供試試料

Table 1 にサンプル一覧を示した。

供試した試料は、1990年に収穫したホロシリ15点、チホク65点、タクネ31点、合計111点であ

Table 1. Sample identity

Sample	Year	Variety	Number of samples
Wheat	1990	Chihoku	65
		Horoshiri	31
		Takune	15
		Total	111

(\*現 雪印乳業(株))

る。

**B. 近赤外分析**

**1. 粉碎機**

試料は粉碎して近赤外分析を行った。粉碎機は Udy Cyclone-mill モデル 3010-109(220 V, 50 Hz) を用いた。スクリーンは孔径 0.5 mmφ のものを用いた。粉碎は自動供給フィーダを用いて、試料供給速度を一定 (1.7 g/sec) にして行った。

粉碎後の試料は温度が上昇しているので、密閉容器内で3時間以上放置してから測定を行うこととした。

**2. 近赤外分析計**

近赤外分析計は DICKEY-john INSTALAB600 モデル 610 (IL610) を用いた。これは標準フィルタ 6枚とオプションフィルタ 4枚、計 10枚のフィルタを装備している固定波長型の分析計である。

供試した粉碎機と近赤外分析計は、アメリカ農務省連邦穀物検査局 (USA USDA FGIS) が小麦の公式分析用に指定している機種である<sup>2)</sup>

Table 2 に標準フィルタの波長と帰属を示した。また、Fig. 1 に供試分析計の光学系を示した。

広帯域タングステンハロゲンランプから発した近赤外波長域を多く含む光はレンズによって平行光線となり、チョッパーディスクによって周期的に分断される。さらにフィルタで必要な波長が選択され、アパーチャ (通過孔) を通過してサンプルに照射され、その反射光が検出器に達する。

供試分析計は回転試料セル方式を採用している。測光は3度ごとに120回回り、平均化する。この平均値とレファレンスとの比較値を反射率 (R) とし、log (1/R) として出力する。各フィルタの log (1/R) と化学分析で得た成分濃度とで重回帰分析を行い、成分濃度の予測式 (キャリブレーション) を作成する。ここでは6枚の標準フィルタを用いて

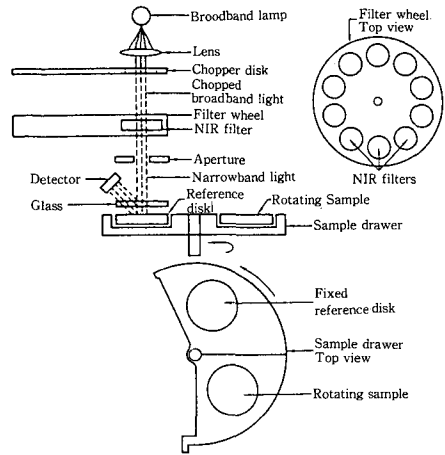


Fig. 1. Optical system of NIR analyzer

重回帰分析を行った。

**C. 化学分析**

**1. 水分**

粉碎機で粉碎した試料を、5g—粉碎—105°C—5hr 法<sup>3)</sup> で測定し湿量基準含水率で表わした。

**2. タンパク質**

粉碎機で粉碎した試料を約 1g 精秤し、ケルダール法によって全窒素量を定量した。これに窒素—タンパク質換算係数 5.70<sup>3)</sup> を乗じてタンパク質値を求めた。

**III. 結果および考察**

**A. 化学分析の再現性**

化学分析の再現性を表すものとして平行測定間の標準偏差 (SDD: Standard Deviation of the Difference) を用いた。

SDD は以下の式で定義される。

Table 2. Filters (wavelengths) and their identification

Filter NO.	Wavelength(nm)	Identification
L <sub>0</sub>	2,310	Oil, Cellulose
L <sub>1</sub>	2,230	Reference for oil
L <sub>2</sub>	2,180	Protein, Starch
L <sub>3</sub>	2,100	Moisture, Starch
L <sub>4</sub>	1,940	Moisture
L <sub>5</sub>	1,680	General reference. Alcohol

Table 3. Precision of chemical analysis(SDD\*,%)

Wheat variety	Number of samples	Protein	Moisture
Takune	31	0.056	0.030
Chihoku	65	0.039	0.047
Horoshiri	15	0.017	0.052
All samples	111	0.046	0.047

\* Standard deviation of the difference

$$SDD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n d_i^2}{2n}}$$

ここで  $d_i$  : 個々のサンプルの平行測定間の差  
 $n$  : サンプル数

Table 3 に化学分析の再現性を示した。

水分、タンパク質ともに SDD はおよそ 0.05% 以下であり、化学分析として良好な精度であった。

## B. キャリブレーションの作成

### 1. キャリブレーションの精度

キャリブレーションは、各品種ごと、および小麦全体の水分とタンパク質について作成することとした。

キャリブレーションの精度を表すものとして、重回帰式の標準誤差 (SEC : Standard Error of Calibration) と決定係数 ( $r^2$ ) を用いた。キャリブレーションの精度は SEC が小さいほど、また  $r^2$  が 1 に近いほど良い。

SEC は以下の式で定義される。

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \{(X_i - Y_i) - (\bar{x} - \bar{y})\}^2}{n - p - 1}}$$

ここで  $X_i$  : 個々の化学分析値

$Y_i$  : 個々の近赤外測定値

$\bar{x}$  : 化学分析値の平均値

$\bar{y}$  : 近赤外測定値の平均値

$p$  : 使用フィルタの枚数

$n$  : サンプル数

### 2. 波長 (フィルタ) の選択

フィルタは供試機備え付けの 6 枚の標準フィルタの中から選択した。フィルタの選択は以下の手順で行った。フィルタ 1 枚から 6 枚までの全組み合わせの重回帰分析を繰り返し、SEC と  $r^2$  を求める。各フィルタ枚数の組み合わせの中で最も良い SEC と  $r^2$  を持つものを取り出す。フィルタ枚数を 1 枚から順次増加させたときの SEC と  $r^2$  を比較し、これの有意な向上が認められる間フィルタ枚数を増加させ、フィルタ枚数とフィルタを決定する。

Fig. 2 に小麦全体の水分およびタンパク質のフィルタ枚数と SEC,  $r^2$  の関係を示したが、このように、水分ではフィルタを 2 枚以上使用しても、また、タンパク質では 3 枚以上使用しても SEC と  $r^2$  は向上しなかった。必要以上の説明変数 (フィルタ) を用いると多重共線性が生じ、キャリブレーション

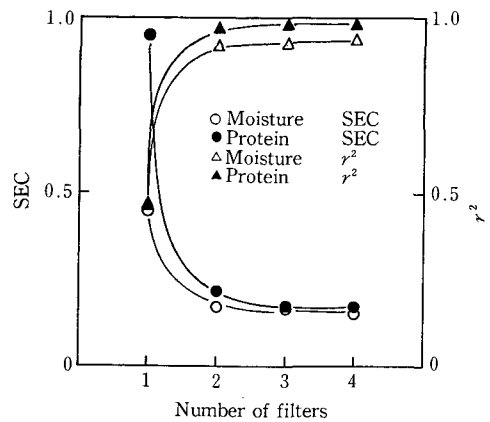


Fig. 2. Relationship between number of filters and SEC,  $r^2$  (Moisture and protein of all samples by the calibration obtained for all samples)

が不安定になることが知られている<sup>4)</sup>。そこで水分では 2 枚、タンパク質では 3 枚のフィルタを選択した。

選択したフィルタは品種ごとおよび小麦全体でいずれも同じで、水分では 2,310 nm と 1,940 nm、タンパク質では 2,180 nm、2,100 nm、1,680 nm であった。

### 3. 水分のキャリブレーション

Table 4 に作成したキャリブレーションの SEC と  $r^2$  を一括して示した。

水分値は、タンパク質含量を基準水分での値 (小麦では 13.5%) に換算するためのものである。そこで、水分の SEC がタンパク質値に与える影響を定量してみたところ、最も影響が大きくなる場合 (水分が少なく、タンパク質値が高い場合) でも 0.03% 以下であった。

一般に良好なキャリブレーションは  $r^2$  が 0.85 以上とされているが、タクネでは 0.83、ホロシリでは 0.67 であった。これは、タクネの場合は水分の範

Table 4. Coefficient of determination ( $r^2$ ) and standard error of calibration (SEC, %)

Wheat variety	Protein		Moisture	
	$r^2$	SEC	$r^2$	SEC
Takune	0.99	0.12	0.83	0.14
Chihoku	0.92	0.18	0.96	0.18
Horoshiri	0.98	0.15	0.67	0.10
All samples	0.98	0.17	0.92	0.17

囲が1.59%しかなく、狭い範囲に集中していたためである。また、ホロシリは、サンプル数が少ないこと、水分値の範囲が0.59%とタクネよりさらに狭いこと、ならびにサンプル数が少ないためである。

得られたキャリブレーションは以下の式であった。

$$\begin{aligned} \text{チホク:水分(\%)} &= 9.98 - 0.171 X_{2310} \\ &\quad + 0.184 X_{1940} \\ \text{水分範囲:} &8.14 \sim 10.76\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{タクネ:水分(\%)} &= 11.63 - 0.165 X_{2310} \\ &\quad + 0.168 X_{1940} \\ \text{水分範囲:} &9.51 \sim 11.01\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ホロシリ:水分(\%)} &= 11.28 - 0.140 X_{2310} \\ &\quad + 0.143 X_{1940} \\ \text{水分範囲:} &10.00 \sim 10.49\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{全体:水分(\%)} &= 9.85 - 0.167 X_{2310} \\ &\quad + 0.181 X_{1940} \\ \text{水分範囲:} &8.14 \sim 11.01\% \end{aligned}$$

ここで

$X_{2310}$ : 2,310 nm における  $\log(1/R)$  の値

$X_{1940}$ : 1,940 nm における  $\log(1/R)$  の値

#### 4. タンパク質のキャリブレーション

タンパク質のキャリブレーションでは、いずれも  $r^2$  は0.92以上、SECは0.18%以下であり、すべて実用上十分な精度であった。

得られたキャリブレーションは以下の式であった。

$$\begin{aligned} \text{チホク:タンパク質(\%)} &= 15.20 + 1.319 X_{2180} \\ &\quad - 1.071 X_{2100} - 0.299 X_{1680} \\ \text{タンパク質範囲:} &8.07 \sim 11.98\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{タクネ:タンパク質(\%)} &= 11.10 + 1.172 X_{2180} \\ &\quad - 0.911 X_{2100} - 0.310 X_{1680} \\ \text{タンパク質範囲:} &10.67 \sim 14.66\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ホロシリ:タンパク質(\%)} &= 9.28 + 1.254 X_{2180} \\ &\quad - 0.994 X_{2100} - 0.255 X_{1680} \\ \text{タンパク質範囲:} &9.54 \sim 12.60\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{全体:タンパク質(\%)} &= 13.79 + 1.238 X_{2180} \\ &\quad - 0.980 X_{2100} - 0.327 X_{1680} \\ \text{タンパク質範囲:} &8.07 \sim 14.66\% \end{aligned}$$

ここで

$X_{2180}$ : 2,180 nm における  $\log(1/R)$  の値

$X_{2100}$ : 2,100 nm における  $\log(1/R)$  の値

$X_{1680}$ : 1,680 nm における  $\log(1/R)$  の値

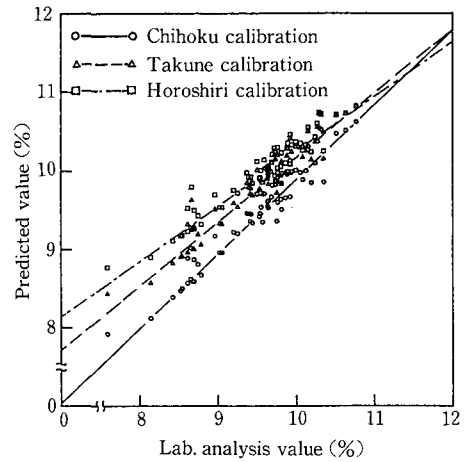


Fig. 3. Predicted moisture of Chihoku by the calibration obtained for each wheat variety

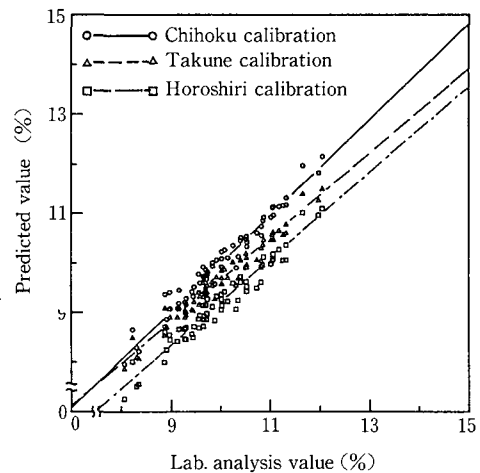


Fig. 4. Predicted protein of Chihoku by the calibration obtained for each wheat variety

### C. 各キャリブレーションの有意差の検定

#### 1. 小麦の品種ごとのキャリブレーション

品種ごとに作成したキャリブレーションが他の品種に適用できるかどうか検討を行った。

Fig. 3とFig. 4は、チホク、タクネ、ホロシリ、それぞれの品種ごとに作成したキャリブレーションによって、チホクの水分、およびタンパク質を予測したものである。

チホクのキャリブレーションでチホク自身を予測した値とチホクの化学分析との値は、水分、タンパク質いずれにおいても、ほぼ  $Y=X$  の直線とな

り、キャリブレーションの精度が良いことが示された。しかし、タクネとホロシリのキャリブレーションでチホクを予測した場合には、 $Y=X$ の直線から大きくはずれ、各キャリブレーション間にはバイアス ( $Y=X$ の直線からの平行的な変動) やスキュー ( $Y=X$ の直線との傾きの変動) があることが認められた。これらに差があるかどうか分散分析を行ったところ、危険率1%で有意な差があることが確認された。また、タクネとホロシリの水分とタンパク質の予測においても同様のことが確認された。

すなわち、ある品種で作ったキャリブレーションは他の品種には適用できないことがわかった。

## 2. 小麦全体のキャリブレーションと各品種のキャリブレーション

小麦全体のキャリブレーションによる、水分とタンパク質の化学分析値と予測値の関係を Fig. 5 と Fig. 6 に示した。

小麦全体のキャリブレーションと各品種ごとのキャリブレーションを比較検討するために、ある品種のキャリブレーションによる予測値と小麦全体で得られたキャリブレーションによる予測値の間で、分散分析を行った。その結果、ホロシリの水分を除いて、危険率5%で有意差がないと判定された。ホロシリの水分の場合は、危険率5%で有意差があったが、これは、ホロシリの点数が、15点と少なかったためであると考えられる。しかし、危険率

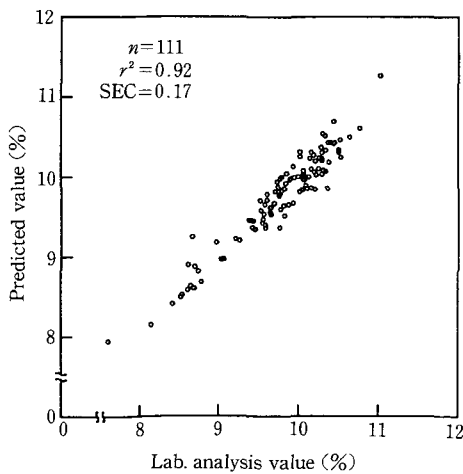


Fig. 5. Predicted moisture of all samples by the calibration obtained for all samples

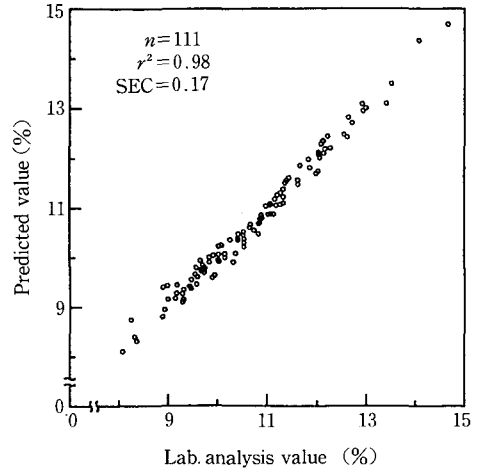


Fig. 6. Predicted protein of all samples by the calibration obtained for all samples

1%では有意差がなく、全体のキャリブレーションを使用してホロシリの水分を測定することは可能であると判断した。

以上のことから、測定する品種がわかっている場合には、全体で得られたキャリブレーションとその品種のキャリブレーションのどちらを使用しても良いことを知った。

この場合、統計的に有意な差は見られなかったが、品種ごとのキャリブレーションによる予測値の方が小麦全体で得られたキャリブレーションによる予測値より標準誤差が小さい場合が多い。したがって、高い精度が求められる研究などの場合は品種ごとのキャリブレーションを使用する方が良い。しかし、生産現場で利用する場合には、品種ごとにキャリブレーションを切り換えるより、小麦全体のキャリブレーションを使用する方が測定が簡便化され好ましいと考えられる。

## IV. 摘 要

近赤外分光法は従来の化学分析に比べて利点の多い成分分析法である。今後日本国内での普及が進んでいくと思われるが、国内での基礎データの蓄積がまだ十分ではない。そこで、1990年北海道産の3品種の小麦を用い、固定波長型の近赤外分析計による水分、タンパク質の測定精度を検討した。

結果は以下のごとくであった。

- 1) 水分のキャリブレーションは、 $SEC < 0.18$

で、タンパク質値を基準水分での値に換算するための精度として十分であった。

2) タンパク質のキャリブレーションは、 $r^2 > 0.92$ ,  $SEC < 0.18$  で、十分な精度を有していた。

3) 各品種ごとに作成したキャリブレーション間に有意な差が認められた。すなわち、ある品種で作成したキャリブレーションは他の品種には適用が困難であった。

4) 小麦全体で作成したキャリブレーションは、全品種の測定に適用できた。

5) 実験、研究など良い精度が求められる場合には品種ごとのキャリブレーションを使用し、生産現場など簡便さが求められる場合には全体のキャリブレーションを使用するのが適していた。

### 引用文献

1. WILLIAMS P., NORRIS K.: Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, AACC, 1987
2. USA USDA FGIS: Grain Inspection Handbook-Book V, Wheat Protein, 1987
3. 食糧庁編: 標準計測方法, 1989
4. 田中豊, 脇本和昌: 多変量統計解析法, 42, 現代数学社, 1987

### Summary

Near-Infrared Reflectance Spectroscopy has its

advantages in accuracy and precision compared with the usual chemical analytical methods. It will be widely adopted in the future, but we do not have an accumulation of fundamental information about domestic agricultural products. We carried out investigations regarding accuracy and precision of Near-Infrared Reflectance Analyzer in determining moisture and protein content of Hokkaido-grown wheat. The results were as follows:

1) The SEC of moisture calibrations were less than 0.18, and they were adequate to convert the protein content into its standard moisture base value.

2) The  $r^2$  and SEC of protein calibrations were greater than 0.92 and less than 0.18 respectively, and they were adequate.

3) There were significant differences among calibrations obtained for each wheat variety. Therefore, it was difficult to apply the calibration for a certain variety among other varieties.

4) The calibrations obtained for all wheat samples were applicable to all varieties to a good degree.

5) It was advantageous to use the calibrations obtained for each wheat variety in experiments and researches where a higher accuracy was required, but it was somewhat better to use the calibrations obtained for all samples in the farming stage where simplicity was required.